การพัฒนาระบบผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นระดับอุตสาหกรรม โดยการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

พิมลนาฏ สิงหนุกุลกิจ

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2565

การพัฒนาระบบผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นระดับอุตสาหกรรม โดยการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

พิมลนาฎ สิงหนุกุลกิจ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การพัฒนาระบบผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นระดับอุตสาหกรรม
โดยการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

พิมลนาฎ สิงหนุกุลกิจ

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ภูมิสุทธาผล)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรีกาญจนา คล้ายเรือง)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุวลี อันพาพรม)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะนุช เนียมทรัพย์)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)
รองอธิการบดี
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ชื่อเรื่อง การพัฒนาระบบผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นระดับอุตสาหกรรม โดยการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว
ชื่อผู้เขียน นางสาวพิมลนาฏ สิงหนุกุลกิจ
ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ภูมิสุทธาผล

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีการปลูกไผ่ซางหม่น (*Dendrocalamus sericeus*) เพิ่มมากขึ้นในแถบภาคเหนือของประเทศไทย เนื่องจากมีความต้องการมากเพื่อบริโภคและแปรรูป จึงมีการขยายพื้นที่เพาะปลูก แต่พบปัญหากล้าไม้มีราคาสูงเพราะขาดแคลนต้นพันธุ์คุณภาพดี การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นวิธีการที่มีศักยภาพสูงในการแก้ไขปัญหาการขาดแคลนต้นพันธุ์ และในปัจจุบันยังมีเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่น่าสนใจ คือ ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว (temporary-immersion bioreactor system: TIB) ซึ่งสามารถผลิตต้นพันธุ์จำนวนมากในระดับอุตสาหกรรม งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการพัฒนาวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยศึกษาการชักนำให้เกิดยอดในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งเปรียบเทียบผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ การแช่คลอรอกซ์ 15% เป็นระยะเวลา 10 และ 15 นาที หรือเมอคิวริกคลอไรด์ 0.1% เป็นระยะเวลา 3 และ 6 นาที ผลปรากฏว่า การแช่เมอคิวริกคลอไรด์ 0.1% เป็นระยะเวลา 6 นาที พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ต่ำที่สุดและมีการเกิดยอดสูงที่สุด คือ 6.45 และ 82.76% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังได้เปรียบเทียบผลของไซโตไคนินต่อการชักนำให้เกิดยอดด้วย ซึ่งทดสอบการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมไซโตไคนินหรือเติม 6-benzylaminopurine (BAP) 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ thidiazuron (TDZ) 0.125 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า การเติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถกระตุ้นการเกิดยอดได้เร็วที่สุด และทำให้มีจำนวนยอดและความสูงยอดมากที่สุด คือ 2.13 วัน, 3.03 ยอดต่อชิ้นส่วน และ 3.31 เซนติเมตร ตามลำดับ ในการศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดได้นำชิ้นส่วนกลุ่มยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีสภาวะการให้อาหารเหลวแตกต่างกัน ได้แก่ ทุก 3 หรือ 6 ชั่วโมง ครั้งละ 5 หรือ 20 นาที โดยพบว่า การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่ให้อาหารเหลวทุก 6 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที ทำให้มีจำนวนยอดใหม่และความยาวยอดมากที่สุด คือ 3.33 ยอดต่อชิ้นส่วน และ 7.33 เซนติเมตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตามกลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งไม่มีการแตกยอดใหม่เพิ่มขึ้นและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือแห้งตาย ส่วนกลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ยังคงมีสีเขียวตลอด

ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ ในส่วนของการชักนำให้ออกรากได้ทดสอบการนำชิ้นส่วนกลุ่มยอดมาเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมออกซินหรือเติม indole-3-butyric acid (IBA) และ naphthalene acetic acid (NAA) 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ผลปรากฏว่า การเติม IBA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ออกรากเป็นจำนวนมากที่สุดทั้งการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB คือ 11.67 และ 11.00 รากต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามการเติม IBA ความเข้มข้นดังกล่าวทำให้มีจำนวนยอดใหม่มากที่สุด คือ 4.33 ยอดต่อชิ้นส่วน เมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB นอกจากนี้กลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB มีใบสีเขียวสด แต่กลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งมีใบออกสีเหลืองหรือเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ต่อมานำต้นที่ออกรากในสภาพปลอดเชื้อมาปรับสภาพและย้ายปลูกโดยเปรียบเทียบผลของวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ดินร่วน ทราย ขี้เถ้าแกลบ ขุยมะพร้าว และพีทมอส ในอัตราส่วนผสมต่าง ๆ พบว่า ทุกกรรมวิธีมีการรอดชีวิตทั้งหมด สามารถตั้งตัวได้ดี และมีการแตกกอเพิ่มขึ้น โดยการใช้วัสดุปลูกเป็นดินร่วน ทราย ขี้เถ้าแกลบ และพีทมอส อัตราส่วน 1:1:3:3 ทำให้ต้นไผ่ซางหม่นมีการเจริญเติบโตที่ดี โดยเฉพาะมีจำนวนต้นใหม่และความสูงต้นมากที่สุด คือ 1 ต้นต่อกอและ 15.8 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ นำผลการศึกษาต่าง ๆ ที่ได้มาออกแบบระบบการต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นในระดับอุตสาหกรรม ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทางการผลิตต้นพันธุ์เพื่อส่งเสริมการปลูกและลดปัญหาการขาดแคลนต้นพันธุ์ต่อไป

คำสำคัญ : ไผ่ซางหม่น, สารฟอกฆ่าเชื้อ, ไซโตไคนิน, ออกซิน, ไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

Title DEVELOPMENT OF LARGE-SCALE MICROPROPAGATION SYSTEM FOR *DENDROCALAMUS SERICEUS* BY USING TEMPORARY-IMMERSION BIOREACTOR SYSTEM

Author Miss Pimonnat Singhanukunkit

Degree Master of Science in Biotechnology

Advisory Committee Chairperson Assistant Professor Dr. Paweena Pumisutapon

ABSTRACT

Nowadays, the cultivation of *Dendrocalamus sericeus* has increased in northern Thailand due to the rising demands for consumption and processing. Although the cultivation area continues to expand, the issue remains in the high sapling price due to the lack of high-quality sprouts. Plant tissue culture is a highly effective technique for propagation. At present, the temporary-immersion bioreactor (TIB) serves as an interesting technique for the industrial-scale plant propagation. This study aimed to develop an efficient *D. sericeus* propagation method through plant tissue culture. In aseptic shoot induction step, we compared the sterilization methods, including 10-min or 15-min 15% Clorox® treatment and 3-min or 6-min 0.1% mercuric chloride ($HgCl_2$) treatment. It was found that the 6-min 0.1% $HgCl_2$ treatment yielded the lowest contamination at 6.45% and the highest shoot proliferation at 82.76%. In addition, we examined the effects of cytokinin on shoot induction as well. The tested conditions included shoot induction on the semi-solid MS supplemented in 1 or 2 mg/L of 6-benzylaminopurine (BAP), 0.125 or 0.25 mg/L of thidiazuron (TDZ), and a non-supplemented control. We found that addition of 2 mg/L BAP resulted in the most rapid shoot induction (in 2.13 days) as well as the highest number of new shoots (3.03 shoots/explant) and shoot height (3.31 cm). We also evaluated the influence of TIB by comparing it with the semi-solid medium. Using the TIB system, we fed liquid medium to the plants every 3 or 6 h for 5 or 20 min. Intriguingly, we found that the 5-min, TIB-mediated feeding every 6 h induced

the highest number of new shoots (3.33 shoots/explant) as well as the tallest shoot height (7.33 cm). Furthermore, the shootlets generated in the TIB system remained lush green throughout the 4-week treatment. In contrast, we noted that the semi-solid medium gave rise to no new shoots and led to browned and dehydrated, dead explants. As for root induction, we examined the effects of auxin, indole-3-butyric acid (IBA), and naphthalene acetic acid (NAA) at 5 and 10 mg/L concentrations on the semi-solid medium vs. liquid medium in the TIB system. It was founded that 10 mg/L IBA supplementation induced the most root induction in both traditional semi-solid medium (11.67 roots/explant) and the TIB system (11.00 roots/explant). The induction in both culturing systems was not statistically different. Nonetheless, the addition of 10 mg/L IBA yielded the highest number of shootlets (4.33 shoots/explant). When cultured in the TIB system, the shootlets remained lush. In stark contrast, the shootlets on semi-solid medium with IBA supplementation turned yellow or brown. Further, we compared the influence of various materials on hardening, including loamy soil, sand, rice husk ash, coconut coir dust, and peat moss in various combinations. Intriguingly, all conditions resulted in survival, adaptation, and tillering of the bamboo plantlets. In particular, the mixture of soil: sand: rice husk ash: peat moss in the 1:1:3:3 ratio resulted in flourished bamboo with the highest tillering (1 new shoot/tillers) and height (15.80 cm) after hardening for four weeks. Taken together, we have developed the system for *D. sericeus* propagation, which can be applied to the production of other plants to promote cultivation and mitigate the sapling shortage.

Keywords : Sang Mon bamboo, disinfectant, cytokinin, auxin, temporary-immersion bioreactor (TIB)

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษางานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความกรุณาของประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีณา ภูมิสุทธาผล และกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อาจารย์ ดร. ยุวลี อันพาพรม และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศรีกาญจนา คล้ายเรือง ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือพร้อมทั้งให้ความรู้สนับสนุนให้คำปรึกษาต่าง ๆ ในระหว่างดำเนินการวิจัยและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสมบูรณ์ ทั้งนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัชณี แสงทอง ที่ให้เกียรติเป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ให้แก่ข้าพเจ้า ให้คำแนะนำ และความรู้ในหลาย ๆ ด้าน มาปรับใช้กับงานวิจัยเพื่อให้ได้งานวิจัยที่มีคุณภาพ ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนสมบูรณ์

ขอขอบคุณ นางสาว เริงฤดี วังธรรมกร ที่ให้ความช่วยเหลือ ประสานงาน และให้กำลังใจตลอดเวลาที่ศึกษาในมหาวิทยาลัยแม่โจ้แห่งนี้ จนทำให้งานวิจัยสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ที่สนับสนุนงบประมาณในการดำเนินงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณบริษัท สหโคเจนกรีน จำกัด ที่ร่วมสนับสนุนงบประมาณดำเนินงานวิจัยและกิ่งพันธุ์ไผ่ซางหม่นสำหรับใช้ในการทดลอง และคุณวรวิทย์ อินศวร ผู้ประสานงานจากทางบริษัทที่อำนวยความสะดวกต่าง ๆ

นอกจากนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณครอบครัว ที่ให้การอบรมสั่งสอน สนับสนุน และกำลังใจข้าพเจ้ามาโดยตลอด และขอบคุณน้อง ๆ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทุกคนที่ช่วยเหลือมาโดยตลอดทั้งนี้

ข้าพเจ้าหวังว่า งานวิจัยฉบับนี้จะมีประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจศึกษา จึงขอมอบความดีอันมาจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้แด่ บิดา มารดา ตลอดจนครูอาจารย์ที่อบรมสั่งสอน ประสิทธิ์ประสาทความรู้มาจนถึงปัจจุบัน

พิมลนาฎ สิงหนุกุลกิจ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

สารบัญ ..... ซ

สารบัญภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2

ขอบเขตงานวิจัย 2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและการตรวจสอบเอกสาร 4

ไผ่ซางหม่น 4

การขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่น 5

การขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (micropropagation) 7

สารเคมีสำหรับฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช 8

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 9

ไซโตไคนิน 9

ออกซิน 10

วัสดุปลูกที่ใช้อนุบาลต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 10

รายงานวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ 11

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยระบบจมชั่วคราว (TIB) 13

รายงานวิจัยเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ในระบบ TIB 14

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย 16
1. พืชทดลอง วัสดุ และอุปกรณ์ 16
2. การดำเนินการทดลอง 17
การทดลองที่ 1 การทดสอบผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อต่อการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนตาข้าง 17
การทดลองที่ 2 การทดสอบผลของไซโตไคนินต่อการชักนำให้เกิดยอด 17
การทดลองที่ 3 การทดสอบผลของความถี่และระยะเวลาให้อาหารเหลวต่อการเพิ่มปริมาณยอดในระบบ TIB 18
การทดลองที่ 4 การทดสอบผลของออกซินต่อการชักนำให้ออกรากในอาหารกึ่งแข็งและระบบ TIB 18
การทดลองที่ 5 การทดสอบผลของวัสดุปลูกต่อการปรับสภาพและย้ายปลูกในโรงเรือน 19
การวิเคราะห์ทางสถิติ 19
การออกแบบระบบการผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นระดับอุตสาหกรรม 19
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 20
1. ผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อต่อการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนตาข้าง 20
เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ 20
เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 21
2. ผลของไซโตไคนินต่อการชักนำให้เกิดยอด 22
วันที่เริ่มเกิดยอด 23
จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน 24
ความสูงยอด 25
3. ผลของสภาวะการให้อาหารต่อการเพิ่มปริมาณยอดในระบบ TIB 26
จำนวนยอดใหม่ต่อชิ้นส่วน 27
ความสูงยอด 28
4. ผลของออกซินต่อการชักนำให้ออกรากในอาหารกึ่งแข็งและระบบ TIB 29

จำนวนรากต่อชิ้นส่วน 30
ความยาวราก 31
จำนวนยอดใหม่ต่อชิ้นส่วน 32
ความสูงยอด 33
จำนวนใบต่อยอด 34
5. ผลของวัสดุปลูกต่อการปรับสภาพและย้ายปลูกในโรงเรือน 35
จำนวนต้นใหม่ต่อกอ 36
น้ำหนักสดต่อกอ 37
ความสูงต้น 38
จำนวนใบต่อต้น 39
ระบบการผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นระดับอุตสาหกรรม 41
วิจารณ์ผลการทดลอง 42
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 45
บรรณานุกรม 46
ภาคผนวก 51
ประวัติผู้วิจัย 68

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของไผ่ซางหม่น (A) กอต้น, (B) ใบ, (C) ลำต้น, (D) ดอก และ 4

ภาพที่ 2 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ 15% และเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% เป็นระยะเวลาต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์.....20

ภาพที่ 3 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอร็อกซ์ 15% และเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% เป็นระยะเวลาต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์.....21

ภาพที่ 4 การชักนำให้ยอดจากชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมไซโตไคนิน (A) หรือเติม BAP 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (B และ C ตามลำดับ) และ TDZ 0.125 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (D และ E ตามลำดับ) หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (bar = 10 มิลลิเมตร).....22

ภาพที่ 5 วันที่เริ่มเกิดยอดของชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมไซโตไคนินหรือเติม BAP และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์.....23

ภาพที่ 6 จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมไซโตไคนินหรือเติม BAP และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์.....24

ภาพที่ 7 ความสูงยอดของชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP และ TDZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....25

ภาพที่ 8 การเพิ่มปริมาณยอดจากชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารกึ่งแข็ง (A) และในระบบ TIB (B) หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (bar = 10 มิลลิเมตร 26

ภาพที่ 9 จำนวนยอดใหม่ต่อชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารกึ่งแข็งและใน ระบบ TIB ที่มีความถี่และระยะเวลาการให้อาหารเหลวต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์.....27

ภาพที่ 10 ความสูงยอดของชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ที่มีความถี่และระยะเวลาการให้อาหารเหลวต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์.....28

ภาพที่ 11 การออกรากของชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS กึ่งแข็งที่ไม่เติมออกซิน (A) หรือเติม IBA 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (B และ C ตามลำดับ) และ NAA 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (D และ E ตามลำดับ) และในระบบ TIB ที่ไม่เติมออกซิน (F) หรือเติม IBA 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (G และ H ตามลำดับ) และ NAA 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (I และ J ตามลำดับ) หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (bar = 10 มิลลิเมตร).....29

ภาพที่ 12 จำนวนรากต่อชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS บนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ที่ไม่เติมออกซินหรือเติม IBA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์.....30

ภาพที่ 13 ความยาวรากของชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS บนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ที่ไม่เติมออกซินหรือเติม IBA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์.....31

ภาพที่ 14 จำนวนยอดใหม่ต่อชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS บนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ที่ไม่เติมออกซินหรือเติม IBA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์.....32

ภาพที่ 15 ความสูงยอดของชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS บนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ที่ไม่เติมออกซินหรือเติม IBA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์.....33

ภาพที่ 16 จำนวนใบต่อยอดของชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS บนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ที่ไม่เติมออกซินหรือเติม IBA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์.....34

ภาพที่ 17 การเจริญเติบโตของต้นไผ่ซางหม่นที่ออกรากในสภาพปลอดเชื้อเมื่อนำมาปลูกในดินร่วนและทราย อัตราส่วน 1:1 (A), ดินร่วน ทราย และขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1:3 (B), ดินร่วน ทราย และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:3 (C) และดินร่วน ทราย ขี้เถ้าแกลบ และพีทมอส อัตราส่วน 1:1:3:3 (D) หลังย้ายปลูก 4 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร).....35

ภาพที่ 18 จำนวนต้นใหม่ต่อกอของไผ่ซางหม่นที่เจริญเติบโตในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 4 สัปดาห์.....36

ภาพที่ 19 น้ำหนักสดต่อกอของไผ่ซางหม่นที่เจริญเติบโตในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 4 สัปดาห์.....37

ภาพที่ 20 ความสูงต้นของไผ่ซางหม่นที่เจริญเติบโตในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 4 สัปดาห์38

ภาพที่ 21 จำนวนใบของต้นไผ่ซางหม่นที่ทดสอบวัสดุปลูกต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์.....39

ภาพที่ 22 การเจริญเติบโตของต้นไผ่ซางหม่นที่ปลูกในดินร่วน ทราย ขี้เถ้าแกลบ และพีทมอส อัตราส่วน 1:1:3:3 ในกระถางขนาด 4 นิ้ว หลังย้ายปลูก 8 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร).....40

ภาพที่ 23 แผนการผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่น 100,000 ต้น จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....41

บทที่ 1
บทนำ

ปัจจุบันมีการปลูกไผ่ซางหม่นเพิ่มมากขึ้นทางภาคเหนือของประเทศไทย โดยเฉพาะจังหวัดลำพูน ลำปาง และเชียงใหม่ เนื่องด้วยกำลังเป็นที่ต้องการเป็นอย่างมาก ทั้งหน่อเพื่อการบริโภคและลำไผ่เพื่อการแปรรูปต่าง ๆ การขยายพื้นที่เพาะปลูกพบปัญหากล้าไม้ไผ่มีราคาแพง นอกจากนี้การไม่ทราบอายุของกล้าไม้เป็นความเสี่ยงของการลงทุนในการขยายพันธุ์ไผ่ ซึ่งวงชีวิตของไผ่เมื่อออกดอกและติดผลแล้วก็จะตายลง ดังนั้นหากนำกล้าที่มาจากต้นแม่ที่อายุมากมาเพาะต่อก็จะตายตามอายุต้นแม่เช่นกัน ไม่ว่าจะเป็นการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศหรือแบบไม่อาศัยเพศ ส่งผลให้เกิดปัญหาการขาดแคลนต้นพันธุ์ไผ่ที่มีคุณภาพ

จากปัญหาการขาดแคลนต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่น จึงมีแนวทางที่จะสามารถแก้ไขปัญหาได้อย่างมีประสิทธิภาพ นั่นก็คือ การขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยในไผ่เศรษฐกิจชนิดอื่น ๆ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถขยายพันธุ์ได้ในปริมาณมาก เช่น ไผ่เลี้ยง (ธรรม and พร, 2019) และไผ่ตง (Singh et al., 2012) เป็นต้น อย่างไรก็ตามการศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นยังไม่มีรายงานมาก่อน ในการขยายพันธุ์ไผ่โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น ส่วนใหญ่นิยมใช้ข้อที่มีตาข้างมาใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้น เนื่องจากเป็นส่วนที่พร้อมจะแตกตาออกมาเป็นยอดหรือหน่อ และเป็นส่วนที่มีโอกาสเกิดการกลายพันธุ์ต่ำ โดยนำมาฟอกฆ่าเชื้อ ซึ่งจะต้องศึกษาถึงชนิดและความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ และระยะเวลาแช่สาร เพื่อหาสภาวะการฟอกฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพและไม่ทำลายชิ้นส่วนพืช สารฆ่าเชื้อที่นิยมนำมาใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนไผ่ เช่น คลอรอกซ์ (กุล et al., 2021)) และเมอร์คิวริกคลอไรด์ (Pandey and Singh, 2012) เป็นต้น หลังจากนั้นจึงเป็นการชักนำให้เกิดต้นในสภาพปลอดเชื้อ ปัจจัยที่มีผลค่อนข้างมาก คือ สารควบคุมการเจริญเติบโตโดยเฉพาะกลุ่มไซโตไคนิน ซึ่งมีบทบาทกระตุ้นการแตกของตา รายงานวิจัยส่วนใหญ่จะใช้ BAP (6-benzylaminopurine) เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดต้นไผ่ (เยาวพา และคณะ, 2553; Singh *et al*., 2012; Pandey and Singh, 2012) เมื่อเกิดต้นแล้วจึงทำการเพิ่มปริมาณให้มากขึ้น ซึ่งปัจจัยที่มีผลมากก็ยังเป็นไซโตไคนินเช่นเดียวกัน โดยส่วนใหญ่แล้วต้นในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณต้นจะมีขนาดเล็กและยังไม่ออกราก ดังนั้นในขั้นตอนต่อไปจะเป็นการกระตุ้นให้ต้นยืดยาวและออกราก ซึ่งมักจะเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินลงในอาหารเพาะเลี้ยง เนื่องจากมีบทบาทกระตุ้นการเกิดราก แต่มีรายงานในไผ่บางชนิดออกรากได้ค่อนข้างยาก เช่น ไผ่ซาง (Pandey and Singh, 2012) จึงควรมีการศึกษาในขั้นตอนนี้ เช่น การทดสอบชนิดและความเข้มข้นของออกซิน เพื่อให้ได้ต้นออกรากซึ่งพร้อมจะนำไปปลูกในโรงเรือนต่อไป

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยส่วนใหญ่จะเป็นการใช้อาหารกึ่งแข็งซึ่งเป็นวิธีการดั้งเดิม แต่ในปัจจุบันมีความสนใจนำเทคโนโลยีระบบไบโอรีแอคเตอร์ระบบจมชั่วคราว (temporary-immersion bioreactor system: TIB) มาใช้ขยายพันธุ์พืช เนื่องจากสามารถผลิตต้นได้เป็นจำนวนมาก ต้นมีการเจริญเติบโตดี และใช้ต้นทุนด้านแรงงานน้อยกว่าการใช้อาหารกึ่งแข็งอยู่หลายเท่า ซึ่งมีรายงานวิจัยในไผ่บางชนิดที่ศึกษาการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB พบว่าทำให้ต้นไผ่มีอัตราการขยายพันธุ์สูงกว่าอาหารกึ่งแข็งหลายเท่า เช่น ไผ่หวานอ่างขาง (สุริยจันทราทอง, 2545) และไผ่เก้าดาว (Gutiérrez et al., 2016) เป็นต้น โดยปัจจัยหนึ่งที่มีผลมากต่อการเจริญเติบโตของพืชในระบบ TIB ก็คือ สภาวะการให้อาหารเหลว ได้แก่ ความถี่และระยะเวลาการให้อาหารในแต่ละครั้ง ซึ่งพืชแต่ละชนิดจะตอบสนองแตกต่างกันออกไป อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานวิจัยการขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นด้วยระบบ TIB

จากปัญหาการขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นดังข้างต้น จึงมีความจำเป็นในการศึกษาวิจัยเพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในขั้นตอนต่าง ๆ ของการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ซึ่งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตต้นจำนวนมากในระดับอุตสาหกรรมตอบสนองต่อความต้องการต้นไผ่ซางหม่นที่กำลังมากขึ้นได้ หากดำเนินการพัฒนาระบบการผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นระดับอุตสาหกรรมด้วยระบบ TIB ได้สำเร็จ ก็จะสามารถนำผลงานวิจัยไปต่อยอดได้ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยทดสอบปัจจัยที่เกี่ยวข้องในขั้นตอนต่าง ๆ ได้แก่ การฟอกฆ่าเชื้อ การชักนำให้เกิดยอด การเพิ่มปริมาณยอดและการชักนำให้ออกรากในระบบ TIB

2. เพื่อศึกษาหาวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการปรับสภาพและย้ายปลูกต้นไผ่ซางหม่นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ขอบเขตงานวิจัย

1. พืชทดลอง คือ ต้นแม่พันธุ์ไผ่ซางหม่น ซึ่งได้มาจาก บริษัท สหโคเจน กรีน จำกัด นำมาปลูกอนุบาลไว้ในเรือนเพาะชำ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2. ศึกษาการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในขั้นตอนต่าง ๆ ได้แก่ การฟอกฆ่าเชื้อ การชักนำให้เกิดต้น การเพิ่มปริมาณต้น และการชักนำให้ออกราก จะดำเนินการ ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

3. การทดสอบในระบบ TIB จะศึกษาเฉพาะในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดและการชักนำให้ออกราก โดยใช้ระบบ TIB แบบขวดแฝด (twin-flasks) ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร

4. การนำต้นไผ่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาปรับสภาพและออกปลูกในโรงเรือน จะดำเนินการ ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

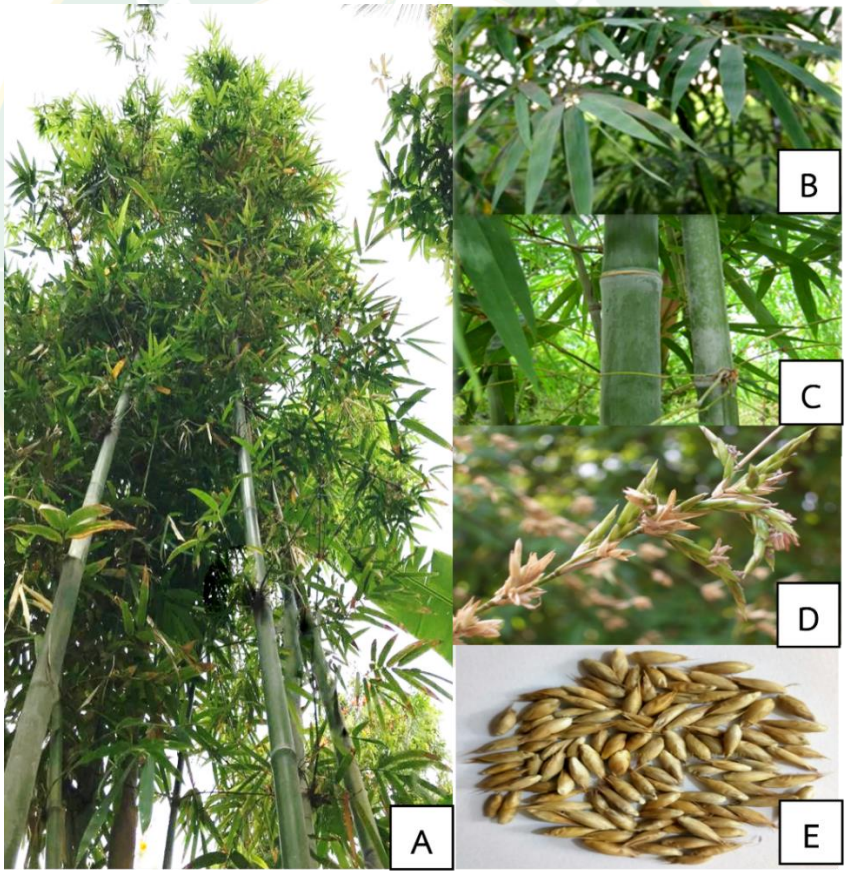
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้สภาวะที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นเพื่อพัฒนาและออกแบบระบบการผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นระดับอุตสาหกรรมโดยใช้ระบบ TIB

บทที่ 2
ทฤษฎีและการตรวจสอบเอกสาร

ไผ่ซางหม่น

ไผ่ซางหม่น *(Dendrocalamus sericeus)* จัดอยู่ในวงศ์ GRAMINEAE มีลักษณะลำใหญ่ตรง ความสูงประมาณ 15-20 เมตร ลำต้นมีสีเขียวหม่น มีแป้งสีขาวเกาะอยู่ เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีเขียวเข้ม หากอายุแก่มาก ๆ จะมีสีเหลืองส้ม ปล้องค่อนข้างสั้น เนื้อหนา โดยเฉพาะโคนต้นสั้นมาก กาบใบสีน้ำตาลอ่อน ใบมีสีเขียวสด ดอกมีสีขาวอมเหลือง มีเมล็ด แต่เมล็ดส่วนใหญ่จะลีบทำให้นำมาเพาะได้ยาก มีกิ่งก้านบริเวณโคนขึ้นไป 2-3 เมตร แต่เมื่อเจริญเติบโตนานไปจะทิ้งกิ่งก้าน แล้วจะมีกิ่งก้านบริเวณปลายยอด (อภิชาติ และณัฏฐ์ชญามนต์, 2558) (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของไผ่ซางหม่น (A) กอต้น, (B) ใบ, (C) ลำต้น, (D) ดอก และ (E) เมล็ด

ที่มา: ธีรชล (2552)

ไผ่ซางหม่นพบมากโดยเฉพาะพื้นที่จังหวัดทางภาคเหนือ เช่น เชียงใหม่ แพร่ ลำปาง และลำพูนเท่านั้น เนื่องจากไผ่ซางหม่นมีลักษณะพิเศษ คือ ลำมีขนาดใหญ่ตรง แข็งแรง เนื้อไม้หนา และมีความสวยงาม ลำไผ่ที่แก่จะไม่มีมอดและแมลงต่าง ๆ ทำลาย ไม้ไผ่แห้งจะไม่มีการแตกของปล้องเหมือนกับไม้ไผ่ชนิดอื่น ๆ จึงทำให้ขายได้ราคาสูงถึง 100-300 บาทต่อลำ อีกทั้งสามารถนำมาผลิตเป็นเฟอร์นิเจอร์ไม้ไผ่ที่มีคุณภาพดี จนได้รับขนานนามว่า "เพชรแห่งล้านนา" นอกจากนี้หน่อของไผ่ซางหม่นยังมีขนาดใหญ่รสชาติดีอีกด้วย ปัจจุบันไผ่ซางหม่นกำลังเป็นที่ต้องการของตลาดมากขึ้นเป็นอย่างมาก ดังเช่น เกษตรกรในจังหวัดลำพูนมีความสนใจที่จะขยายพื้นที่เพาะปลูกไผ่ซางหม่นมากขึ้นเพื่อนำหน่อไปบริโภคและลำไผ่จำหน่ายแก่โรงงานผลิตเฟอร์นิเจอร์ (อภิชาต และณัฏฐ์ชญามนต์, 2558; สายสวาทดิ์, 2561)

ในการเพาะปลูกไผ่ซางหม่นเพื่อใช้ประโยชน์นั้น ไผ่ซางหม่นจะเจริญเติบโตได้ดีเมื่อมีอายุ 4 ปีขึ้นไป เพราะจะมีลำไผ่ขนาดใหญ่ที่เป็นลำแม่ซึ่งให้หน่อที่มีขนาดใหญ่ หากจะนำลำไผ่มาใช้ด้านการก่อสร้างหรือแปรรูปเป็นเฟอร์นิเจอร์ราคาสูงควรเลือกลำไผ่ที่มีอายุตั้งแต่ 4 ปีขึ้นไป เพราะเมื่อลำไผ่อายุมากขึ้นจะไม่ค่อยถูกรบกวนจากมอดและแมลงศัตรู เมื่อไผ่อายุ 2 ปีจะมีหน่อแตกขึ้นมาอีก ควรคัดเลือกหน่อที่แทรกมาจากดินมีขนาดใหญ่สมบูรณ์เก็บไว้เป็นต้นใหม่ประมาณ 5-6 หน่อ เมื่อมีเริ่มเข้าอายุ 3 ปีจะมีลำประมาณ 8-10 ลำ และมีหน่อจำนวนมาก สามารถตัดหน่อไปจำหน่ายได้ เมื่ออายุ 4 ปีเป็นต้นไปก็สามารถตัดลำมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น แปรรูปเป็นเฟอร์นิเจอร์ (สายสวาทดิ์, 2561)

อย่างไรก็ตามแม้จะมีความต้องการไผ่ซางหม่นเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน แต่ยังมีการผลิตกล้าไผ่ซางหม่นค่อนข้างน้อย โดยเกษตรกรปลูกไผ่ตามบ้านเพียงไม่กี่กอ แต่ยังไม่ได้ปลูกในเชิงพาณิชย์อย่างจริงจัง ทำให้เกิดปัญหาไม้ไผ่ซางหม่นขาดตลาด ทั้งที่เป็นไม้ไผ่ที่มีคุณภาพดีกว่าไผ่อื่น ๆ อีกหลายชนิด (สายสวาทดิ์, 2561)

การขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่น

โดยทั่วไปเกษตรกรนิยมใช้วิธีตอนกิ่งไผ่ซางหม่นเช่นเดียวกับการขยายพันธุ์ไผ่ตงเพราะความเคยชิน แต่กิ่งแขนงของไผ่ซางหม่นมีจำนวนไม่มากเหมือนไผ่ตงและยังอยู่สูงจากพื้นดินมาก ทำให้การขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นทำได้ยากและมีจำนวนกิ่งพันธุ์ออกมาน้อย จึงทำให้กิ่งพันธุ์มีราคาสูงถึง 120-130 บาท ซึ่งมีวิธีการที่สามารถใช้ในการขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่น ดังนี้ (อภิชาต และณัฏฐ์ชญามนต์, 2558)

- **การเพาะเมล็ด** ตามปกติเมื่อไผ่หมดอายุขัยจะออกดอกและตาย สามารถนำเมล็ดที่แก่จัดไปเพาะ ควรคัดเลือกเมล็ดที่สมบูรณ์มาเพาะ ไม่ควรเก็บเมล็ดไว้นานเกิน 1 เดือน เพราะจะทำให้เปอร์เซ็นต์การงอกลดลง จากการสำรวจในพื้นที่อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ พบต้นที่มีการออกดอกและติดเมล็ดมาแล้วประมาณ 6-7 ปีที่ผ่านมา ในกอที่ออกดอกจะออกดอกเพียงบางลำ และตาย

เฉพาะลำที่ออกดอกเท่านั้น นอกจากนี้พบว่าไผ่ซางหม่นที่ปลูกใหม่และอยู่ในเรือนเพาะชำบางส่วนมีการออกดอก ซึ่งลำไผ่เหล่านี้ยังไม่ตายและดอกก็ติดเมล็ดด้วย แต่เป็นเมล็ดที่มีความสมบูรณ์น้อยมาก จึงทำให้การเก็บเมล็ดมาเพาะจึงทำได้ยาก

• **การตอนกิ่ง** จากการที่กิ่งแขนงของไผ่ซางหม่นมักจะอยู่สูงจากพื้นดินอย่างน้อย 3-4 เมตร และยังมีตาที่อยู่ตามซอกกิ่งมีขนาดเล็ก ทำให้ไม่ค่อยประสบความสำเร็จในการตอนกิ่ง ดังนั้นควรทำการเตรียมกิ่งเพื่อให้มีกิ่งสำหรับตอนในบริเวณต่ำ ๆ และมีตาที่พร้อมจะเจริญเป็นต้นใหม่มากขึ้น ซึ่งทำได้โดยตัดยอดของไผ่ให้ต่ำลงจากการเขย่าลำไผ่ที่ยังเป็นลำอ่อนให้ยอดหัก แล้วรอให้แตกแขนงขึ้นมาใหม่ ประมาณ 6-9 เดือนจึงสามารถตอนกิ่งไผ่ได้เหมือนการตอนไผ่ตง ก็จะได้จำนวนกิ่งพันธุ์มากขึ้น

• **การแยกกอหรือเหง้า** เป็นวิธีการที่ได้ผลดีมากวิธีการหนึ่ง ซึ่งจะได้เหง้าแม่ที่สะสมอาหารอยู่มากทำให้มีอัตราการอดชีวิตสูง ได้หน่อที่แข็งแรงและเร็วกว่าการใช้กิ่งแขนงหรือลำ และได้ต้นตรงกับสายพันธุ์เดิม โดยต้องคัดเลือกเหง้าที่มีอายุลำ 1-2 ปี อาจปลูกไผ่โดยตรงจากเหง้าโดยไม่ต้องเพาะชำไว้ก่อนหากปลูกในช่วงฤดูฝนหรือมีน้ำรดสม่ำเสมอ ในการปลูกให้นำลำเหง้ามาตัดให้เหลือ 1-1.2 เมตร วางเอียง 45 องศากับพื้นดินในหลุมปลูก กลบดินให้เต็มหลุม รดน้ำให้ชุ่ม ควรหลีกเลี่ยงการปลูกในช่วงฝนตกชุก เพราะจะทำให้รากเน่าได้

• **การชำปล้อง** วิธีการนี้ต้องเลือกลำที่มีอายุประมาณ 1-2 ปี นำมาตัดเป็นปล้องให้เหลือข้อด้านล่างไว้ ลิดกิ่งแขนงให้เหลือความยาว 10-15 เซนติเมตร นำไปชำในดินให้ท่วมข้อ กรอกน้ำใส่ให้เต็มปล้อง แล้วคลุมด้วยกระโจมพลาสติกให้มีสภาพร้อนชื้น 3-4 สัปดาห์ หมั่นเติมน้ำให้เต็มและดูแลรดน้ำให้ความชุ่มชื้นอยู่เสมอ ควรรอให้มีใบและกิ่งแขนงยาว 30-50 เซนติเมตรจึงเอาออกจากกระโจม เมื่อกล้าไผ่มีอายุ 3-4 เดือนจึงนำไปปลูกได้

• การแยกกอย่อย จะแยกกอจากกล้าไผ่ที่ได้จากการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการต่าง ๆ จะทำให้เพิ่มจำนวนกล้าไผ่ได้มากขึ้น

ในไผ่เศรษฐกิจชนิดอื่น ๆ ยังมีการใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งสามารถขยายพันธุ์ได้ในปริมาณมาก ช่วยแก้ปัญหาการขาดแคลนต้นพันธุ์ และยังแก้ไขปัญหาต้นพันธุ์ที่มาจากการเพาะชำกิ่งแขนงออกดอกและตาย เพราะหากใช้กิ่งแขนงที่มาจากต้นแม่พันธุ์อายุมากซึ่งพร้อมที่จะออกดอก โดยกิ่งแขนงนั้นจะมีอายุเท่ากับต้นแม่ ดังนั้นเมื่อต้นแม่ออกดอก กิ่งแขนงที่นำไปปลูกก็จะออกดอกแล้วตายด้วยเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามยังไม่พบว่ามีการใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่น

การขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (micropropagation)

การขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชประกอบด้วย 5 ระยะ (Debergh and Maene, 1981) ดังนี้

• **ระยะที่ 0 การเตรียมต้นแม่พันธุ์** คือ การลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ (microbial contamination) ของการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ขึ้นอยู่กับต้นแม่พันธุ์ที่นำมาเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้น หากไม่เหมาะสมอาจมีผลต่อการตอบสนองชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยง ดังนั้นจึงควรนำต้นแม่พันธุ์ที่มีการคัดเลือกมาแล้วว่ามีความแข็งแรง สมบูรณ์ ไม่เป็นโรค นอกจากนี้ยังต้องลดปริมาณจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรียและราที่ติดบนผิวต้นพืชให้เหลือน้อยที่สุด ส่วนการรดน้ำแก่แม่พันธุ์ต้องไม่รดน้ำไปสัมผัสกับชิ้นส่วนที่จะนำไปกระตุ้นน้อยที่สุด

• **ระยะที่ 1 การชักนำให้เกิดต้น** คือ การทำให้ชิ้นส่วนพืชปราศจากเชื้อ โดยการฟอกฆ่าเชื้อที่ติดบนผิวชิ้นส่วนพืช แล้วเพาะเลี้ยงในอาหารที่ชักนำให้ชิ้นส่วนเจริญเติบโตได้ ในการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ส่วนของพืชที่นำมาใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้น ได้แก่ ตายอด ตาข้าง ใบ และหัว ส่วนการกระตุ้นให้เกิดตาพิเศษนั้นค่อนข้างเสี่ยง เพราะมีโอกาสเกิดกลายกลายพันธุ์ได้ ซึ่งมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับระยะชักนำให้เกิดต้น เช่น สารที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ และสารควบคุมการเจริญเติบโตในการชักนำให้เกิดต้น เป็นต้น

• **ระยะที่ 2 การเพิ่มปริมาณต้น** จุดประสงค์ของระยะนี้ คือ การเพิ่มปริมาณต้นให้มากขึ้น รวมทั้งเป็นการเก็บรักษาต้นเพื่อใช้เป็นต้นพันธุ์หลักในรอบการผลิตใหม่ ต้นที่ได้ในระยะนี้จะอยู่ในรูปของยอดที่ไม่มีราก ในระยะนี้มีการใช้ปัจจัยส่งเสริมการเพิ่มปริมาณต้น ได้แก่ สารควบคุมการเจริญเติบโต ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มไซโตไคนิน (cytokinin) เช่น 6-benzylaminopurine (BAP) และ thidiazuron (TDZ)

• **ระยะที่ 3 การชักนำการออกราก** การนำต้นที่ได้จากระยะเพิ่มปริมาณมากระตุ้นให้ยืดยาวและออกราก เนื่องจากพืชบางชนิดเป็นต้นที่มีขนาดเล็กและไม่มีราก ทำให้ไม่สามารถนำออกปลูกได้ จึงต้องมีการยืดลำต้นและกระตุ้นให้ออกราก ให้พืชมีต้นที่สูงขึ้นและออกราก เพื่อจะได้นำต้นที่สมบูรณ์และแข็งแรงออกสู่สภาพแวดล้อมภายนอกได้ โดยการนำต้นไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งนิยมใช้กลุ่มออกซิน (auxin) เช่น indole butyric acid (IBA) และ napthalene acetic acid (NAA)

• **ระยะที่ 4 การย้ายปลูกและปรับสภาพต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ** เป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญมาก หากไม่ระมัดระวังอาจจะเกิดความเสียหายกับต้นพืชได้ เนื่องจากต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะเป็นต้นที่เกิดในขวดซึ่งอยู่ในสภาพความชื้นสูง ได้รับน้ำตาลสูง และความเข้มแสงต่ำ ส่งผลให้พืชมีการสร้างขี้ผึ้งน้อยทำให้ปากใบผิดปกติ ส่งผลทำให้ต้นพืชสูญเสียน้ำสูงมาก และพืชไม่สังเคราะห์แสงหรือสังเคราะห์แสงได้น้อยมาก เมื่อย้ายออกปลูกจึงต้องมีวิธีการดูแลที่ถูกต้องเพื่อให้พืช

สามารถปรับตัวและสังเคราะห์แสงเองได้ในสภาพแวดล้อมภายนอก โดยต้องปรับสภาพต้นในโรงเรือนก่อนที่มีการควบคุมสภาพแวดล้อมให้ได้ก่อนแล้วค่อย ๆ เปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม เช่น ลดความชื้น และเพิ่มความเข้มแสง จนพืชสามารถเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติได้ นอกจากนี้การใช้วัสดุปลูกที่เหมาะสมก็มีส่วนช่วยให้พืชปรับตัวและมีอัตราการรอดชีวิตที่สูงได้

สารเคมีสำหรับฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช

สาเหตุสำคัญของการปนเปื้อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ เชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับชิ้นส่วนพืช ซึ่งเชื้อนั้นอาจจะอยู่ภายในหรือภายนอกชิ้นส่วนของพืช หากนำพืชที่มีเชื้อจุลินทรีย์มาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก็จะพบการปนเปื้อนแน่นอน ซึ่งเชื้อเหล่านี้สามารถสร้างความเสียหายอย่างมากให้กับพืชที่เพาะเลี้ยง โดยมีการเจริญได้อย่างรวดเร็ว แย่งอาหารที่จำเป็นต่อพืช ปล่อยของเสียที่เป็นพิษต่อพืช ทำให้พืชอ่อนแอและตายในที่สุด

การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว (surface sterilization) ของชิ้นส่วนพืชเป็นวิธีการเตรียมพืชให้อยู่ในสภาพที่ปลอดเชื้อก่อนนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่จำเป็นที่จะต้องปฏิบัติอย่างยิ่ง เนื่องจากในสภาพธรรมชาติตามส่วนต่าง ๆ ของพืชจะมีเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย และเชื้อรา ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการปนเปื้อนของพืช ดังนั้นการฟอกฆ่าเชื้อจึงเป็นการกำจัดหรือลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ไม่ให้เพิ่มจำนวนมากขึ้นจนสร้างความเสียหายแก่พืชที่นำมาเพาะเลี้ยง ในการขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะลี้ยงเนื้อเยื่อ มีขั้นตอนการชักนำให้เกิดต้นจากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืช ซึ่งจำเป็นจะต้องกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดอยู่บริเวณผิวของชิ้นส่วนของพืชให้หมดเพื่อที่จะนำไปเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อต่อไป โดยขั้นตอนนี้ต้องนำชิ้นส่วนพืชมาแช่สารฟอกฆ่าเชื้อตามสภาวะที่เหมาะสมของความเข้มข้นและระยะเวลาแช่สารฆ่าเชื้อ (ปวีณา, 2545)

การฟอกฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพจะต้องอาศัยการฟอกฆ่าเชื้อ (sterilizing agent) ซึ่งมีคุณสมบัติฆ่าเชื้อหรือยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ปัจจุบันมีสารฟอกฆ่าเชื้ออยู่หลายชนิด แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพแตกต่างกัน ซึ่งจะต้องเลือกให้เหมาะสม เพื่อให้มีประสิทธิในการฆ่าเชื้อที่ดี เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อสูง หาซื้อได้ง่าย ราคาถูก มีวิธีการใช้ง่าย และไม่เป็นอันตรายต่อความมีชีวิตของคนและชิ้นส่วนพืชที่จะนำไปเพาะเลี้ยง

สารฟอกฆ่าเชื้อที่นิยมมาใช้มากที่สุดและหาซื้อได้ง่าย คือ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) มีชื่อทางการค้าว่า คลอรอกซ์ (Clorox®) โดยทั่วไปจะใช้ความเข้มข้น 5-20 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาการฟอกนาน 15-30 นาที ขึ้นอยู่กับชนิดของสภาพของชิ้นส่วนพืช กลไกการออกฤทธิ์ของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ คือ เมื่อละลายน้ำแล้วจะเกิดการแตกตัวของโมเลกุลและปลดปล่อยกรดไฮโปคอรัส (HClO) และออกซิเจน (O) ที่เป็น oxidizing agent ที่แรง มีฤทธิ์ต่อต้านแบคทีเรีย เชื้อไวรัส และเชื้อรา จากกลไกนี้จึงทำให้เกิดฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้ (อภัย, 2019) และสารฟอกฆ่า

เชื้อชนิดอื่นที่นิยมใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างเมอคิวริกคลอไรด์ (mercuric chloride, $HgCl_2$) จะใช้ที่ความเข้มข้น 0.1-1.0% ระยะเวลาการฟอกฆ่าเชื้อนาน 2-10 นาที (นพมณี, 2545) ในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์นั้นส่วนของปรอท (mercury) เป็นสารเคมีอันตรายที่เป็นโลหะหนักที่สามารถระเหยได้ ซึ่งมีความเป็นพิษสูงต่อจุลินทรีย์ (Ostrovskii et al., 2000) และส่วนของคลอรีนมีประจุลบ ดังนั้นสารประกอบคลอรีนจะมีประจุลบ ดังนั้นสารประกอบคลอไรท์จะไปออกซิไดซ์พันธะเปปไทด์ จึงทำให้เกิดการสลายโปรตีนของจุลินทรีย์ (Barrette et al., 1989)

ในการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารฆ่าเชื้อต่าง ๆ อาจจะเติมสารจับใบ (surfactant) เช่น Tween 20, Tween 80 และ Teepol ประมาณ 0.5% เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของสาร โดยเมื่อเขย่าจะทำให้เกิดฟอง ทำให้สารฟอกฆ่าเชื้อสัมผัสกับผิวชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่มีลักษณะขรุขระ ไม่เรียบเนียน หรือมีขนได้ดียิ่งขึ้น (นพมณี, 2545)

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ไซโตไคนิน

ไซโตไคนินเป็นอนุพันธุ์ของอะดินีน (adenine) ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชที่ส่งเสริมการเจริญเติบโต ไซโตไคนินที่พบมากในพืช คือ zeatin ไซโตไคนินสังเคราะห์จากการปรับปรุงทางชีวเคมีของ adenine ไซโตไคนินเกิดในปลายรากและการเจริญของเมล็ด ไซโตไคนินมีการลำเลียงผ่านไซเลม (xylem) จากรากไปสู่ยอด

ไซโตไคนินมีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อไซโตไคนินมีการรวมกันทำให้เนื้อเยื่อเกิดการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไซโตไคนินมีผลกระตุ้นการชักนำให้เกิดยอด กระตุ้นการแตกตาข้าง ชะลอการแก่ชราของใบ และสามารถเพิ่มการเปิดของปากใบในพืชบางชนิด (Davies, 2004) วัตถุประสงคของการใชไซโตไคนินในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ เพื่อทำใหสมดุลของฮอรโมนเปลี่ยนไป กระตุนการแบงเซลล กระตุนการสราง และการเพิ่มจำนวนตา (สุริยจันทราทอง, 2545) ไซโตไคนินที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายชนิด แต่ที่นิยมใช้ในการขยายพันธุ์พืช ได้แก่ BAP และ TDZ

BAP หรือ 6-benzylaminopurine จัดเป็นสารสังเคราะห์ในกลุ่มพิวรีน (purine) ที่นิยมใช้มากที่สุดในการเพิ่มปริมาณต้นพืชชนิดต่าง ๆ รวมทั้งไผ่สายพันธุ์ต่าง ๆ โดย Jiménez et al. (2006) ศึกษาการเพิ่มประมาณของไผ่เก้าดาว (*Guadua angustifolia* Kunth) โดยใช้ BAP ความเข้มข้น 1-5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS พบว่า BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด คือ 8-12 ยอด

TDZ หรือ 1-phenyl-3-(1,2,2-thidiazol-5-yl)urea เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่สังเคราะห์ขึ้นมา มีผลึกสีเหลืองอ่อน ละลายได้ดีในเอทานอล (Murthy et al., 1998) จัดเป็นอนุพันธ์ของฟีนิลยูเรีย (phenyl urea) TDZ ถูกนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ความเข้มข้นที่นิยมใช้ประมาณ 0.22-22 ไมโคโมลาร์ (Huetteman and Preece, 1993) กลไกการทำงานนั้นยังไม่ทราบชัดเจน สันนิษฐานว่า TDZ อาจจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์ ระดับพลังงาน และการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารของพืช มีผลกระตุ้นให้เกิดตายอดจำนวนมาก บางสมมุติฐานกล่าวว่า TDZ มีผลต่อการกระตุ้นกิจกรรมของไซโตไคนิน การสะสมไอออนของธาตุอาหารบางอย่างและสารเมแทบอไลต์ซึ่งประกอบด้วยโพรลีน (proline) และกรดแอบไซซิก (abscisic acid) พบในไรโบโซมและโพลีโซมจำนวนมากในไซโตพลาสซึม ทำให้การสังเคราะห์โปรตีนและกิจกรรมภายในเซลล์จำนวนมาก

ออกซิน

ออกซินเป็นสารที่พืชสามารถสร้างขึ้นเองได้ มีบทบาทในด้านการแบ่งตัวและการยืดตัวของเซลล์ การข่มตายอด และการเกิดราก ซึ่งกลุ่มสารที่พบในธรรมชาติจะอยู่ในรูปของ indole-3-acetic acid (IAA), indole-3-butyric acid (IBA) และ 2-phenylacetic acid (PAA) และเป็นกลุ่มออกซินสังเคราะห์ คือ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), **α**-naphthalene acetic acid (**α**-NAA), 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T), 4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid (picloram) และ 2,4,5-dichloroanisic acid (dicamba) และในการขยายพันธุ์พืชนิยมใช้ IBA และ NAA เพื่อกระตุ้นให้เกิดราก เช่น Wei et al. (2015) เปรียบเทียบออกซิน NAA, IBA และ BA ในการชักนำให้เกิดรากในไผ่ *Bambusa ventricosa* พบว่า NAA ความเข้มข้น 2.7 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.9 ไมโครโมลาร์ และ BA ความเข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดรากได้สูงถึง 70%

วัสดุปลูกที่ใช้อนุบาลต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

วัสดุปลูกที่เหมาะสมมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังย้ายปลูก โดยทำให้มีการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ รากของพืชสามารถเจริญแผ่วงกว้าง คุณสมบัติที่สำคัญของวัสดุปลูก คือ สามารถค้ำจุนส่วนของพืชที่อยู่เหนือดินให้ตั้งตรงอยู่ได้ มีความสามารถในการอุ้มน้ำที่ดีและเหมาะสม มีธาตุอาหารพืช ดูดซับความชื้นเพื่อเป็นประโยชน์ต่อพืช และสามารถแลกเปลี่ยนอากาศระหว่างรากพืชกับบรรยากาศเหนือวัสดุปลูก (ชัยสิทธิ์, 2551) และวัสดุปลูกที่นิยมใช้อนุบาลต้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ ดิน ทราย ปุ๋ยคอก (Banerjee et al., 2011) ขุยมะพร้าว สแฟกนัมมอส (รุ่งนภา, 2562) ขี้เถ้าแกลบ และพีทมอส ตามความเหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด

รายงานวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่

งานวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ซางหม่นยังไม่มีปรากฏ แต่ในไผ่เศรษฐกิจชนิดอื่น ๆ มีรายงานไว้ดังนี้

รุ่งนภา และสกลศักดิ์ (2540) ได้นำตาอ่อนจากข้อของไผ่เลี้ยง (*Bambusa nana*) มาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า ตาขนาดกลางและขนาดใหญ่มีอัตราการแตกยอดสูงถึง 100% บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP 4.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแตกยอด 8.7-17.5 ยอดต่อกอ ส่วนในการชักนำให้ออกรากจะสูงถึง 90% เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA 1.9 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาล 2% หลังเพาะเลี้ยงนาน 25 วัน

เยาวพา และคณะ (2553) นำชิ้นส่วนข้อของไผ่เลี้ยงมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ 10% นาน 15 นาที และ 5% นาน 10 นาที แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 3 สัปดาห์ พบว่ามีการเกิดยอด 71-90% ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อนำชิ้นส่วนกลุ่มยอด 4 ยอดต่อกอมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0, 0.1, 0.3 และ 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 3 สัปดาห์ พบว่าอาหารที่เติม BAP 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มจำนวนยอดได้มากที่สุด คือ 2.8 ยอด ส่วนในการชักนำให้กอต้นออกรากบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 9, 12, 15, 18, 20, 25 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารที่เติม BAP 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 15 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการออกราก จำนวนราก และความยาวรากสูงที่สุด คือ 81%, 3.1 ราก และ 2.36 เซนติเมตร ตามลำดับ

กนกวรรณ และคณะ (2561) ได้ศึกษาผลของ BAP และ NAA ต่อการชักนำให้เกิดยอดของไผ่ซางหม่นในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนข้อมาฟอกกำจัดเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 - 20 นาที พบว่า เปอร์เซ็นต์รอดชีวิต ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่ง การฟอกกำจัดเชื้อด้วยคลอร็อกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที เหมาะสมที่สุด โดยมีชิ้นส่วนข้อรอดชีวิตสูงสุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ จากนั้น นำชิ้นส่วนข้อที่ปลอดเชื้อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog) ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1-3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดยอด พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดที่พัฒนาสูงสุด 3.31±0.85 ยอด

ยุพิน และคณะ (2542) ได้ทำการศึกษาปัจจัยการขยายพันธุ์ของไผ่ตงเขียว โดยนำเมล็ดไผ่ตงเขียว 300 เมล็ด มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีเมล็ดงอกเป็นต้นกล้า 87 ต้น ต้นกล้าเหล่านั้นมีลักษณะสัณฐานวิทยา และการเจริญเติบโตแตกต่างกัน เนื่องจากแต่ละเมล็ดมีพันธุกรรมไม่เหมือนกัน ได้นำต้นกล้าไผ่ตงเขียวเบอร์ 6, 9, 12 และ 23 นำมาว่าเพาะเลี้ยง

อาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้น BA 0-5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน ผลการทดลองพบว่าไผ่ตงแต่ละโคลนมีการแตกกอทีแตกต่างกัน โดยอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ไผ่ตงเขียวเบอร์ 6, 23, 9 และ 12 ให้ปริมาณยอด 9.1, 7.1, 5.1 และ 3.9 ยอดตามลำดับ สำหรับการชักนำให้เกิดรากนั้น ได้แยกเป็นกอละ 3 หน่อ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0-3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BAP 0, 0.05 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน พบว่าไผ่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากดีที่สุด บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 3 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียวโดยไม่เติม BAP คือไผ่เบอร์ 12, 9, 6 และ 23 มีการเกิดราก 90, 60, 40 และ 20% ตามลำดับ เมื่อนำขวดที่มีต้นกล้าไผ่ที่แข็งแรงมาวางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำต้นกล้าไผ่ตงเขียวมาล้างวุ้นที่รากออกให้หมด แช่ในน้ำยากันเชื้อราออโธไซด์ ประมาณ 2 นาที และย้ายปลูกในถ้วยพลาสติก ที่มีดินสีดาเป็นวัสดุปลูก รดน้ำจนชุ่ม คลุมถุงพลาสติก 20x30 นิ้ว ทำการปิดปากถุง วางไว้ที่ร่มเป็นเวลา 30 วัน และทำการย้ายไผ่ตงเขียวออกจากถุงพลาสติก นำไปเลี้ยงในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 30 วัน พบว่าต้นไผ่ที่ขยายพันธุ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 99.3%

Singh et al. (2012) ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ในการขยายพันธุ์ไผ่ตง (*D. asper*) ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าฤดูกาลในการเก็บชิ้นส่วนไผ่มีบทบาทสำคัญต่อการแตกตาข้าง ซึ่งฤดูใบไม้ผลิ (กุมภาพันธุ์-เมษายน) มีความเหมาะสมที่สุด สูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุด คือ MS โดยอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด คือ 4.83 ยอดต่อชิ้นส่วน ในการเพิ่มปริมาณต้นสูตรอาหารที่เหมาะสม คือ MS ที่เติม BAP 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ adenine sulphate 75 ไมโครโมลาร์ ส่วนในการชักนำให้ออกรากสูตรอาหารที่เหมาะสม คือ MS ที่เติม IBA หรือ NAA 5.0 ไมโครโมลาร์ การนำต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ออกรากมาปรับสภาพในโรงเรือนและปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดถึง 92% เมื่อปลูกในทรายผสมปุ๋ยไส้เดือนดินอัตราส่วน 3:1 และสามารถรอดชีวิตได้สูงถึง 100% เมื่อนำออกปลูกในแปลง

Pandey and Singh (2012) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ซาง (*D. strictus*) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อ คือ การแช่เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.2% นาน 15 นาที สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดและเพิ่มปริมาณยอด คือ MS ที่เติม BAP 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ adenine sulphate 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยในการเพิ่มปริมาณยอดหากใช้ชิ้นส่วนยอดเดี่ยวหรือยอดคู่ พบว่าไม่สามารถรอดชีวิตได้ในการเพาะเลี้ยง ดังนั้นจึงใช้ชิ้นส่วนที่มี 3 ยอดเป็นอย่างน้อย ส่วนการชักนำให้ออกรากนั้นค่อนข้างทำได้ยาก ซึ่งใช้อาหารที่เติม IAA, IBA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า สามารถชักนำให้ออกรากได้สูงที่สุดเพียง 20% เท่านั้น บนอาหารที่เติม IBA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

Goyal et al. (2015) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ซาง (*D. strictus*) โดยการนำชิ้นส่วนข้อมาฟอกฆ่าเชื้อและชักนำให้เกิดยอดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP และ KIN (kinetin) 1.0-5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า BAP 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด คือ 3.68 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งเมื่อใช้ BAP ระดับความเข้มข้นดังกล่าวในการเพิ่มปริมาณต้น ก็สามารถเพิ่มปริมาณต้นในแต่ละรอบได้สูงที่สุดเช่นกัน ส่วน KIN ให้ผลการตอบสนองปานกลาง ส่วนในการชักนำให้ออกรากใช้ชิ้นส่วนที่มี 3 ยอดนำมาทดสอบ พบว่าอาหารเต็มสูตร MS ที่เติม NAA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักให้เกิดรากเป็นจำนวนมากที่สุด คือ 1.36 รากต่อชิ้นส่วน ในขณะที่หากเติม IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 3.0 จะเกิดรากยาวที่สุด คือ 1.64 เซนติเมตร โดยเมื่อนำต้นออกรากมาปรับสภาพและย้ายปลูกในโรงเรือน พบว่าสามารถรอดชีวิตได้ 70% นอกจากนี้จากการตรวจสอบความตรงตามพันธุ์ของต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปรียบเทียบกับกับต้นแม่พันธุ์โดยใช้เทคนิค RAPD และ ISSR markers พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อนั้นเป็นวิธีการที่สามารถผลิตต้นไผ่ให้ตรงตามพันธุ์ได้

Banerjee et al. (2011) ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ไผ่ตง (*D. asper*) นำยอดที่เกิดจากการชักนำจากชิ้นส่วนข้อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่มีความยาว 15-20 มิลลิเมตร อาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BAP 5 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมกับอะดีนีนซัลเฟต (ASD) 40 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเกิดยอดเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ 14 ยอด และอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม IBA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ไว คือ 10.33 วัน และมีจำนวนรากมากที่สุด 7.33 ราก และความยาวรากมากที่สุด 6.43 เซนติเมตร ส่วนการปรับสภาพโดยนำต้นกล้าไผ่มาปลูกด้วยวัสดุขุยมะพร้าวปลอดเชื้อ รดน้ำให้ชุ่มและคลุมด้วยพลาสติกใสเป็นเวลา 20 วัน หลังจากนั้นย้ายต้นกล้าไผ่มาเพาะปลูกด้วยวัสดุคือ ดิน, ทราย, ปุ๋ยคอก อัตรา (1:1:1) เป็นเวลา 35 วัน ผลพบว่าต้นกล้าไผ่มีการปรับสภาพได้ดีถึง 98% เทคนิคนี้ทำให้ต้นกล้ามีอัตรารอดสูงในการในปรับสภาพช่วงเวลาสั้น ๆ

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยระบบจมชั่วคราว (TIB)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนอกจากการใช้อาหารวุ้นแบบดั้งเดิมนั้น ยังมีเทคโนโลยีสมัยใหม่ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น เช่น เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยระบบจมชั่วคราว ซึ่งเป็นระบบในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีการทำงานแบบอัตโนมัติ โดยการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลว ซึ่งพืชจะได้สัมผัสอาหารทุกทิศทางแตกต่างจากแบบดั้งเดิมที่สัมผัสอาหารเพียงส่วนรากเท่านั้น ด้วยเหตุนี้จึงส่งผลให้พืชได้รับอาหารอย่างเต็มที่และมีการเจริญเติบโตโดยใช้ระยะเวลาที่สั้นลงและได้ปริมาณผลผลิตที่เพิ่มขึ้น อีกทั้งระบบนี้ยังสามารถจึงสามารถลดขั้นตอนต่าง ๆ และระยะเวลาในการทำงาน เช่น การตัดถ่ายเนื้อเยื่อ การเปลี่ยนอาหาร และลดพื้นที่ของชั้นวางขวดในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้อย่างมาก

หลักการทำงานของระบบ TIB คือ ภาชนะที่ใช้บรรจุชิ้นส่วนพืช และส่วนที่บรรจุอาหารเหลวที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ซึ่งสามารถส่งถ่ายอาหารเพาะเลี้ยงไปยังส่วนของภาชนะที่บรรจุชิ้นส่วนพืช แล้วแช่ไว้เมื่อถึงเวลาที่กำหนดอาหารจะถูกส่งกลับมายังภาชนะเดิมทำให้พืชไม่จมอยู่ในอาหารตลอดเวลา ในแต่ละส่วนมีท่อเชื่อมเพื่อให้มีการดันอาหารไปและกลับด้วยแรงดันลมจากปั๊มลม การให้อาหารแก่พืชโดยการแช่ชั่วคราวนั้นเป็นผลดีต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชและลดโอกาสการเกิดการฉ่ำน้ำ (hyperhydricity) ซึ่งเป็นลักษณะผิดปกติ อากาศที่เติมเข้าไปภายในภาชนะจะถูกทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองผ่านแผ่นกรองอากาศ (air filter) ขนาดรูพรุน 0.2 ไมครอน และมีการกำหนดความถี่และระยะเวลาในการให้อาหารเหลวที่เหมาะสมตามชนิดพืช (นพมณี และคณะ, 2550)

ในปัจจุบันระบบ TIB เป็นระบบที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ขยายพันธุ์พืชเศรษฐกิจต่าง ๆ หลายชนิด เช่น ในกาแฟมีการศึกษาการเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอในชุดภาชนะขนาด 1 ลิตร พบว่า พบว่าการให้อาหารทุก ๆ 4 ชั่วโมง นานครั้งละ 1 นาที สามารถเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอมากที่สุดถึง 3,081 เอ็มบริโอ (Albarrán et al., 2005) ส่วนการศึกษาในประเทศไทย (นพมณี และคณะ, 2547) มีการพัฒนาระบบการผลิตต้นพันธุ์ไม้ดอกเศรษฐกิจที่สำคัญ คือ ปทุมมา ซึ่งใช้อุปกรณ์ที่มีอยู่ในประเทศมาดัดแปลง ทำให้ได้ระบบ TIB แบบขวดแฝด (twin-flasks) ที่มีต้นทุนต่ำและมีราคาถูกกว่าแบบมาตรฐานถึง 3.11 เท่า นอกจากนี้ยังศึกษาการผลิตต้นจิ๋วปทุมมาในระยะเพิ่มปริมาณต้นในระบบ TIB ชุดภาชนะขนาด 700 มิลลิลิตร พบว่า สามารถเพิ่มจำนวนต้นจิ๋วได้ประมาณ 27 เท่า จากเริ่มต้น ซึ่งมากกว่าระบบอาหารแข็งและอาหารเหลว 10 เท่า (นพมณี และคณะ, 2553) และยังศึกษาการใช้ระบบ TIB ชุดภาชนะขนาดอุตสาหกรรม 20 ลิตร ในการผลิตต้นพันธุ์อ้อย โดยใช้ต้นอ้อยที่ได้จากระยะเพิ่มปริมาณต้นเป็นชิ้นส่วนตั้งต้นจำนวน 80 กอ (5 ต้นต่อกอ) ต่อภาชนะ และใช้อาหารเหลวที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อกระตุ้นให้ต้นยืดยาวและออกราก พบว่าระบบ TIB ขนาดอุตสาหกรรมสามารถเพิ่มจำนวนต้นได้สูงประมาณ 5,000 ต้นต่อภาชนะ ซึ่งเพิ่มขึ้นจากการใช้อาหารแข็งกว่า 16 เท่า

รายงานวิจัยเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ในระบบ TIB

งานวิจัยการใช้ระบบ TIB ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่นั้นยังมีค่อนข้างน้อย โดยส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในระบบ TIB แบบ RITA® และยังไม่มีการศึกษาในไผ่ซางหม่น

ยุพา และคณะ (2548) พัฒนาวิธีการขยายพันธุ์ไผ่หวานอ่างขาง (*D. latiflorus*) เพื่อการผลิตกล้าในเชิงพาณิชย์ ด้วยระบบ TIB โดยนำยอดมาเพาะเลี้ยงในระบบ TIB แบบ RITA® ที่มีการให้อาหารเหลวทุก 1 ชั่วโมง ครั้งละ 1 นาที และทุก 3 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที เปรียบเทียบกับเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง ใช้อาหารเพาะเลี้ยงสูตรเดียวกัน คือ MS ที่เติม BAP 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร KIN 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 8 มิลลิลิตรต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง

เป็นเวลา 60 วัน พบว่าวิธีการที่สามารถเพิ่มปริมาณยอดไผ่ได้ดีที่สุด คือ ระบบ TIB ที่มีการให้อาหารเหลวทุก 3 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที ซึ่งมีอัตราการเพิ่มปริมาณยอดสูงถึง 7.75 เท่าจากเริ่มต้น ซึ่งสูงกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งถึง 6.5 เท่า ยอดที่ได้ยังมีลักษณะที่สมบูรณ์และยืดยาวมากกว่าด้วย

García-Ramírez et al. (2014) ศึกษาผลของ BAP สัณฐานวิทยา และสรีรวิทยาของไผ่ดำ (*B. vulgaris*) ที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB แบบ RITA® โดยนำชิ้นส่วนกลุ่มยอดที่มี 3 ยอดมาเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีการให้อาหารเหลวทุก 6 ชั่วโมง ครั้งละ 1 นาที เปรียบเทียบกับอาหารเหลวแบบนิ่ง ใช้อาหารสูตรเพิ่มปริมาณยอด คือ MS ที่เติม BAP 0, 6, 12 และ 18 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ myo-inositol 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ซูโครส 3% และ vitrofural 116 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า วิธีการที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นได้ดีที่สุด คือ ระบบ TIB ที่ใช้อาหารที่เติม BAP 6 ไมโครโมลาร์ ซึ่งเพิ่มปริมาณต้นได้ถึง 5.1 ต้นต่อชิ้นส่วน โดยไม่มีการฉ่ำน้ำ นอกจากนี้ยังทำให้ต้นมีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ปริมาณสารฟีนอกลิกและลิกนิน และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดสูงกว่าการใช้ BAP 12 และ 18 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งทำให้มีปริมาณน้ำในต้นเพิ่มขึ้น ส่วนการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวแบบนิ่งทำให้เกิดการฉ่ำน้ำ

Gutiérrez et al. (2016) ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ไผ่เก้าดาว (*Guadua angustifolia*) โดยการใช้ระบบ TIB แบบ RITA® เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง โดยนำชิ้นส่วนยอดมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า สภาวะที่ดีที่สุดในการเพิ่มปริมาณต้น คือ การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีการให้อาหารเหลวทุก 6 ชั่วโมง ครั้งละ 2 นาที ซึ่งมีอัตราการเพิ่มปริมาณต้นที่ 2.7 ยอดต่อชิ้นส่วน (ตาข้าง) และยังมีการเจริญเติบโตของเหง้าที่ดีกว่าด้วย

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

1. พืชทดลอง วัสดุ และอุปกรณ์

1. ชิ้นส่วนกิ่งไผ่ซางหม่นที่เก็บตัวอย่างจากแปลงปลูกต้นแม่พันธุ์ บริษัท สหโคเจน กรีน จำกัด ตำบลนาแสง อำเภอเกาะคา จังหวัดลำปาง
2. สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)
3. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ 6-benzyl adenine (BA), thidiazuron (TDZ), naphthalene acetic acid (NAA) และ indolebutyric acid (IBA)
4. น้ำตาลซูโครส
5. เจลแลนกัม (gellan gum)
6. ขวดแก้วสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 และ 24 ออนซ์
7. อุปกรณ์ระบบจมชั่วคราวแบบขวดแฝดสำหรับชุดภาชนะขนาด 24 ออนซ์ เช่น ตัวกรองอากาศปลอดเชื้อ สายยางซิลิโคน และข้อต่อ
8. เครื่องแก้วสำหรับการตวงวัดสารเคมี ได้แก่ กระบอกตวง บีกเกอร์ และปิเปต
9. เครื่องชั่งสารทศนิยมสองและสี่ตำแหน่ง
10. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
11. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave)
12. ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ (laminar-air flow cabinet)
13. อุปกรณ์ผ่าตัดเนื้อเยื่อ เช่น ใบมีด ด้ามมีด และปากคีบ
14. สารฟอกฆ่าเชื้อคลอรอกซ์และเมอคิวริกคลอไรด์
15. ยากันเชื้อรายี่ห้อเมทาแลกซิล
16. แก้วพลาสติกใสขนาด 32 ออนซ์ พร้อมฝาปิด และขนาด 16 ออนซ์
17. กะละมังขนาด 20 x 30 เซนติเมตร
18. กระบอกฉีดน้ำ
19. วัสดุปลูก ดินร่วน ทราย ขุยมะพร้าว ขี้เถ้าแกลบ และพีสมอส
20. พลั่วพรวนดิน

2. การดำเนินการทดลอง

การทดลองที่ 1 การทดสอบผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อต่อการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนตาข้าง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) เปรียบเทียบกรรมวิธีต่าง ๆ ในการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 คลอรอกซ์ 15% นาน 10 นาที

กรรมวิธีที่ 2 คลอรอกซ์ 15% นาน 15 นาที

กรรมวิธีที่ 3 เมอคิวริกคลอไรด์ 0.1% นาน 3 นาที

กรรมวิธีที่ 4 เมอคิวริกคลอไรด์ 0.1% นาน 6 นาที

ตัดแยกกิ่งจากต้นแม่พันธุ์ไผ่ซางหม่น แบ่งเป็นท่อนสั้น ๆ ความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร แต่ละท่อนมีตาข้างอยู่ 1 ตา นำมาเช็ดทำความสะอาดด้วยแอลกอฮอล์ 70% ลอกกาบหุ้มตาออก ฟอกฆ่าเชื้อด้วยการแช่สารฆ่าเชื้อตามแผนการทดลอง ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ละกรรมวิธีมีจำนวน 30 ซ้ำ บันทึกเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดหลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 2 การทดสอบผลของไซโตไคนินต่อการชักนำให้เกิดยอด

วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบกรรมวิธีต่าง ๆ ในการชักนำในเกิดยอด ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ไม่เติมไซโตไคนิน

กรรมวิธีที่ 2 เติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 เติม TDZ 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร

ฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาข้างด้วยกรรมวิธีที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 แล้วเพาะเลี้ยงลงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมไซโตไคนินตามแผนการทดลอง แต่ละกรรมวิธีมีจำนวน 30 ซ้ำ บันทึกวันที่เริ่มแตกยอด เปอร์เซ็นต์การแตกยอด และจำนวนยอดต่อชิ้นส่วน หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 3 การทดสอบผลของความถี่และระยะเวลาให้อาหารเหลวต่อการเพิ่มปริมาณยอดในระบบ TIB

วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบกรรมวิธีต่าง ๆ ในการเพิ่มปริมาณยอด ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 อาหารกึ่งแข็ง

กรรมวิธีที่ 2 ระบบ TIB ให้อาหารเหลวทุก 3 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที

กรรมวิธีที่ 3 ระบบ TIB ให้อาหารเหลวทุก 3 ชั่วโมง ครั้งละ 20 นาที

กรรมวิธีที่ 4 ระบบ TIB ให้อาหารเหลวทุก 6 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที

กรรมวิธีที่ 5 ระบบ TIB ให้อาหารเหลวทุก 6 ชั่วโมง ครั้งละ 20 นาที

นำกลุ่มยอดที่เกิดขึ้นในสภาพปลอดเชื้ออายุ 4 สัปดาห์ มาตัดแยกให้ได้ชิ้นส่วนกลุ่มยอดที่มี 3 ยอด เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งหรือในระบบ TIB ใช้อาหารสูตร MS ที่เติมไซโตไคนินตามสภาวะที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 2 และใช้ระบบ TIB แบบขวดแฝด ชุดภาชนะขนาด 700 มิลลิลิตร แต่ละกรรมวิธีมีจำนวน 3 ซ้ำ (ขวด) ใช้กลุ่มยอดไผ่ 3 ชิ้นส่วนต่อขวด บันทึกจำนวนยอดใหม่ต่อชิ้นส่วน อัตราการเพิ่มปริมาณยอด และความสูงยอด หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 4 การทดสอบผลของออกซินต่อการชักนำให้ออกรากในอาหารกึ่งแข็งและระบบ TIB

วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบกรรมวิธีต่าง ๆ ในการชักนำให้ออกราก ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 อาหารกึ่งแข็งไม่เติมออกซิน

กรรมวิธีที่ 2 อาหารกึ่งแข็ง เติม IBA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 อาหารกึ่งแข็ง เติม IBA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 อาหารกึ่งแข็ง เติม NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 5 อาหารกึ่งแข็ง เติม NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 6 ระบบ TIB ไม่เติมออกซิน

กรรมวิธีที่ 7 ระบบ TIB เติม IBA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 8 ระบบ TIB เติม IBA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 9 ระบบ TIB เติม NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 10 ระบบ TIB เติม NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

นำกลุ่มยอดที่เกิดขึ้นในสภาพปลอดเชื้ออายุ 4 สัปดาห์ มาตัดแยกให้ได้ชิ้นส่วนกลุ่มยอดที่มี 3 ยอด เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งหรือในระบบ TIB ตามสภาวะการให้อาหารเหลวที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3 ใช้อาหารสูตร MS ที่เติมออกซินตามแผนการทดลอง และใช้ระบบ TIB แบบขวดแฝด ชุดภาชนะขนาด 700 มิลลิลิตร แต่ละกรรมวิธีมีจำนวน 3 ซ้ำ (ขวด) ใช้กลุ่มยอดไผ่ 3 ชิ้นส่วนต่อขวด

บันทึกเปอร์เซ็นต์การออกราก จำนวนรากต่อชิ้นส่วน ความสูงยอด ความยาวราก และจำนวนยอดใหม่ต่อชิ้นส่วน (ถ้ามี) หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการทดลองที่ 1-4 ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน (40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที) อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 5 การทดสอบผลของวัสดุปลูกต่อการปรับสภาพและย้ายปลูกในโรงเรือน

วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบกรรมวิธีต่าง ๆ ในการปลูก ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ดินร่วนและทราย อัตราส่วน 1:1

กรรมวิธีที่ 2 ดินร่วน ทราย และขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1:3

กรรมวิธีที่ 3 ดินร่วน ทราย และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:3

กรรมวิธีที่ 4 ดินร่วน ทราย ขี้เถ้าแกลบ และพีทมอส อัตราส่วน 1:1:3:3

นำต้นไผ่ที่ออกรากได้การทดลองที่ 4 อายุ 4 สัปดาห์มาย้ายปลูกในห้องอนุบาลกล้าไม้ ใช้วัสดุปลูกตามแผนการทดลองที่กำหนด โดยนำต้นกล้าไผ่ซางหม่นที่ออกรากมาล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง แล้วแช่เฉพาะส่วนรากในน้ำยากันรา (เมทาแลกซิล 35%) เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปลูกในแก้วพลาสติกขนาด 16 ออนซ์ ฉีดพ่นด้วยน้ำยากันราและรดน้ำให้ชุ่ม นำถ้วยที่ปลูกกล้าไผ่ใส่ลงในแก้วพลาสติกใสขนาด 32 ออนซ์ พร้อมปิดฝาให้สนิทเพื่อรักษาความชื้น โดยให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน (40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที) อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 50% แต่ละกรรมวิธีมีจำนวน 5 ซ้ำ สังเกตการรอดชีวิต จำนวนต้นที่แตกกอใหม่ จำนวนใบ และความสูงต้นหลังย้ายปลูก 4-8 สัปดาห์

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลการทดลองมาหาค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS Version 26 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และDuncan’s Multiple Range Test ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การออกแบบระบบการผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นระดับอุตสาหกรรม

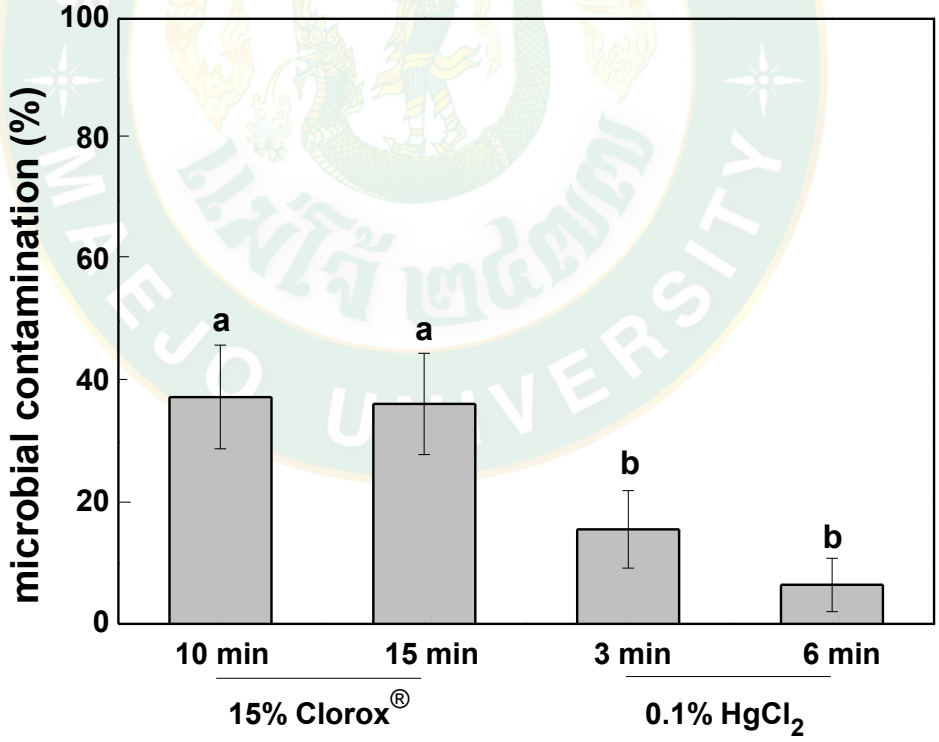
ใช้ผลสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในแต่ละระยะของการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ได้จากการทดลองทั้งหมด นำมาออกแบบระบบการผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่น สมมติกำหนดเป้าหมายการผลิตต้นพันธุ์ 100,000 ต้น

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อต่อการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนตาข้าง

เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

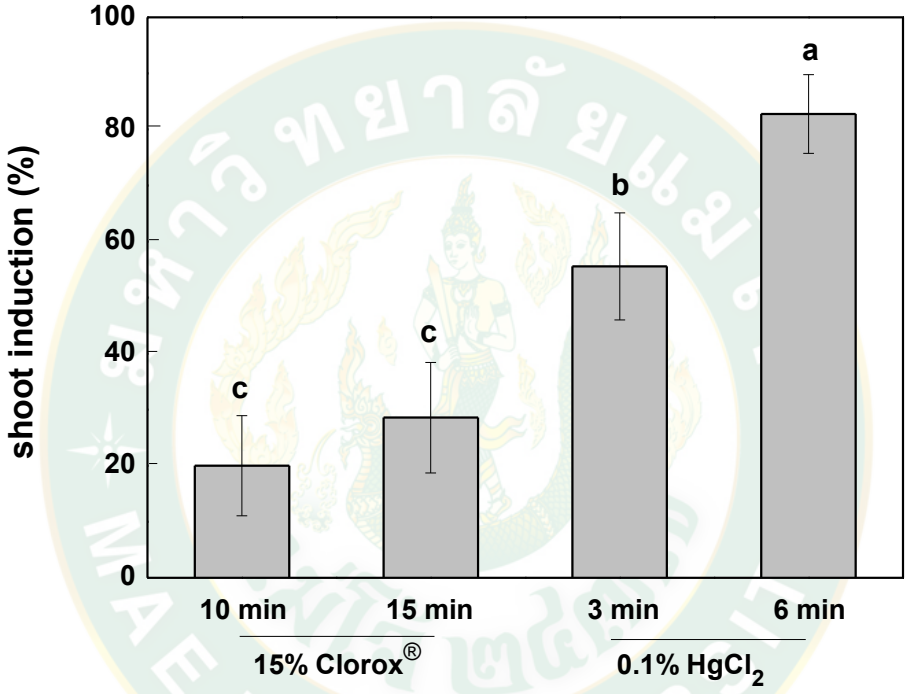
ในการนำชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ พบว่า ทุกกรรมวิธีเกิดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเกิดเฉพาะเชื้อราเท่านั้น และไม่พบการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย โดยการใช้คลอรอกซ์ 15% มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์อยู่ระหว่าง 36.36% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% ที่พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ลดลงอยู่ระหว่าง 6.45% โดยการใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% เป็นระยะเวลา 6 นาที พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ต่ำที่สุดเพียง 6.45% (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ 15% และเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% เป็นระยะเวลาต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด

การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นด้วยคลอรอกซ์ 10% และ 15% มีการเกิดยอดอยู่ระหว่าง 20.00-28.57% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% ที่พบการการเกิดยอดสูงขึ้นอยู่ระหว่าง 55.56-82.75% โดยการใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% เป็นระยะเวลา 6 นาที มีการเกิดยอดสูงที่สุด คือ 82.75% (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอร็อกซ์ 15% และเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% เป็นระยะเวลาต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

จากผลการทดลองนี้ที่พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% เป็นระยะเวลา 6 นาที มีปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ต่ำที่สุดและมีการเกิดยอดสูงที่สุด จึงใช้วิธีการดังกล่าวในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นสำหรับการทดลองถัดไป

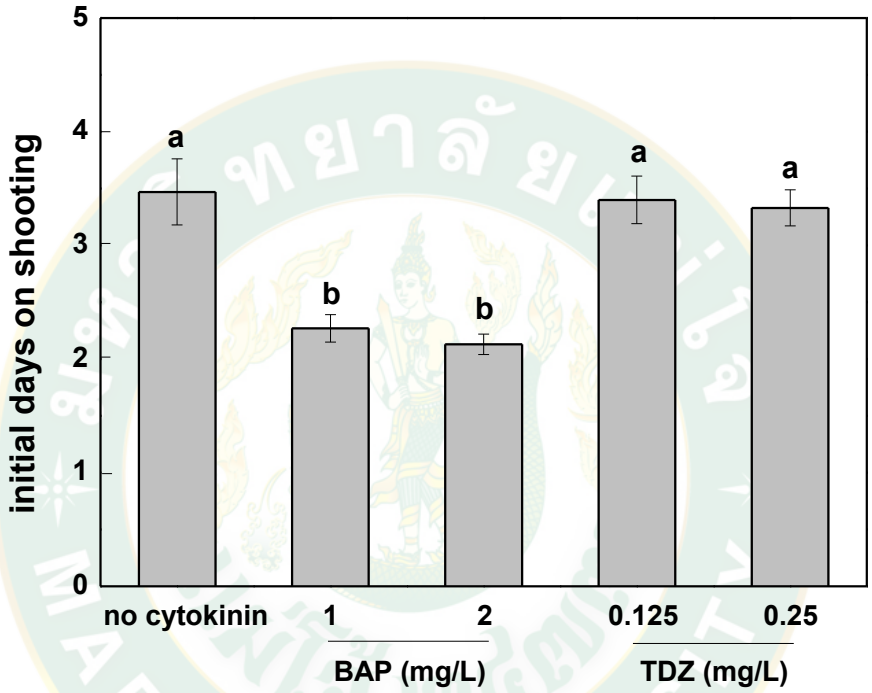
2. ผลของไซโตไคนินต่อการชักนำให้เกิดยอด

เมื่อนำชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1% เป็นระยะเวลา 6 นาที แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมไซโตไคนินชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ พบว่า ทุกกรรมวิธีสามารถกระตุ้นให้เกิดยอดได้สูงถึง 100% ซึ่งเป็นยอดที่แตกจากตาข้าง โดยทยอยแตกยอด จำนวน 2-3 ยอดต่อชิ้นส่วน (ภาพที่ 4)

ภาพที่ 4 การชักนำให้ยอดจากชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมไซโตไคนิน (A) หรือเติม BAP 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (B และ C ตามลำดับ) และ TDZ 0.125 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (D และ E ตามลำดับ) หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (bar = 10 มิลลิเมตร)

วันที่เริ่มเกิดยอด

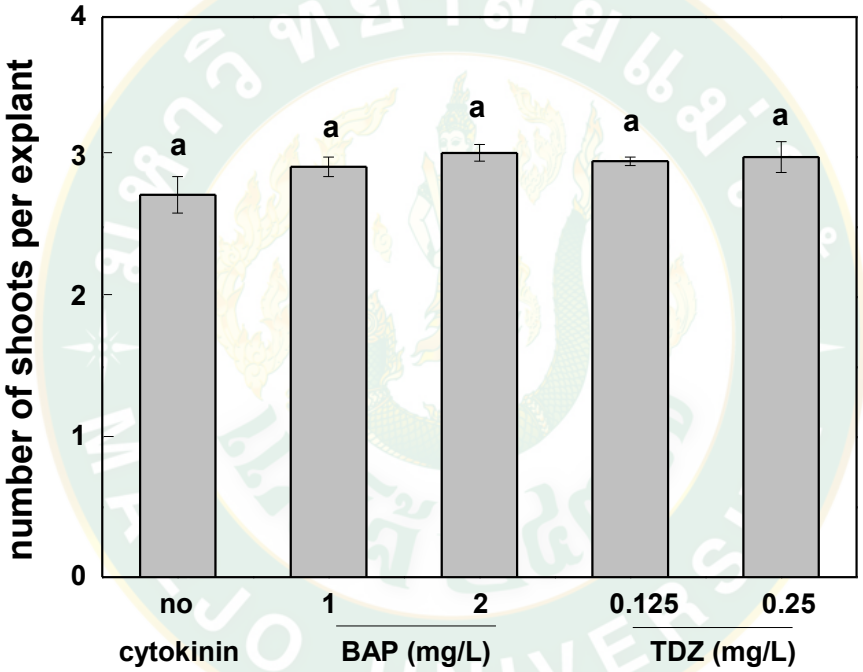
ชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BAP 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เริ่มเกิดยอดภายในระยะเวลาเพียง 2.27 และ 2.13 วัน ตามลำดับ ซึ่งเร็วกว่าและแตกต่างทางสถิติจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมไซโตไคนินหรือเติม TDZ ที่เริ่มเกิดยอดภายในระยะเวลา 3.47 และ 3.40 วัน ตามลำดับ (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 วันที่เริ่มเกิดยอดของชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมไซโตไคนินหรือเติม BAP และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน

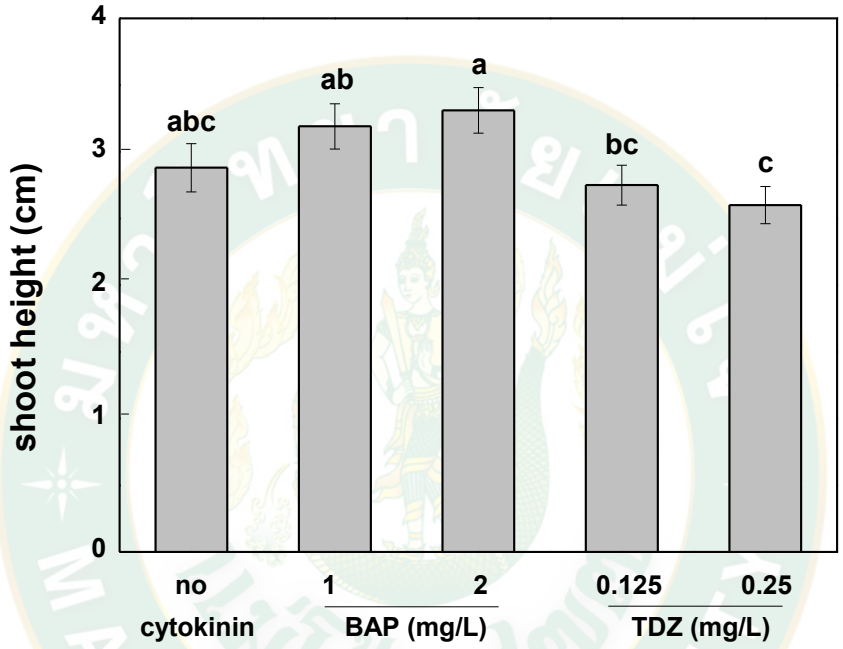
จำนวนยอดที่ชักนำได้นั้นมีค่าใกล้เคียงกันเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นบนอาหารที่เติมไซโตไคนินทั้งสองชนิด อยู่ระหว่าง 2.93-3.03 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งสูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมไซโตไคนินที่เกิดยอด 2.73 ยอดต่อชิ้นส่วน โดยพบว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดสูงที่สุด คือ 3.03 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งใกล้เคียงและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการเติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีจำนวนยอด 3.00 ยอดต่อชิ้นส่วน (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมไซโตไคนินหรือเติม BAP และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

ความสูงยอด

ความสูงของยอดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BAP อยู่ระหว่าง 3.19-3.31 เซนติเมตร ซึ่งมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมไซโตไคนินหรือเติม TDZ คือ 2.88 และ 2.60-2.75 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยการเติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูงยอดมากที่สุด คือ 3.31 เซนติเมตร (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 ความสูงยอดของชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP และ TDZ ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

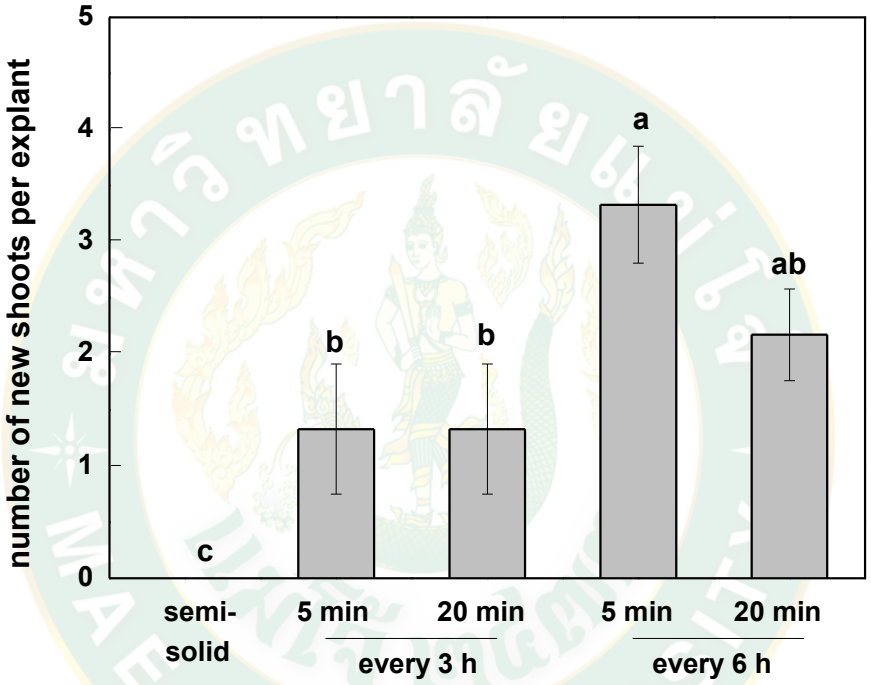
3. ผลของสภาวะการให้อาหารต่อการเพิ่มปริมาณยอดในระบบ TIB

ในการนำชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นมาเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB โดยให้อาหารเหลวทุก 3 และ 6 ชั่วโมง ครั้งละ 5 และ 20 นาที หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนกลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งใบและยอดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและสีน้ำตาล จนกระทั่งแห้งตายในที่สุด และไม่มีการแตกยอดใหม่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 8A) ในขณะที่ชิ้นส่วนกลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB มีการเจริญเติบโตแตกยอดใหม่เพิ่มขึ้นและใบยังคงมีสีเขียวตามปกติ (ภาพที่ 8B)

ภาพที่ 8 การเพิ่มปริมาณยอดจากชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารกึ่งแข็ง (A) และในระบบ TIB (B) หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (bar = 10 มิลลิเมตร

จำนวนยอดใหม่ต่อชิ้นส่วน

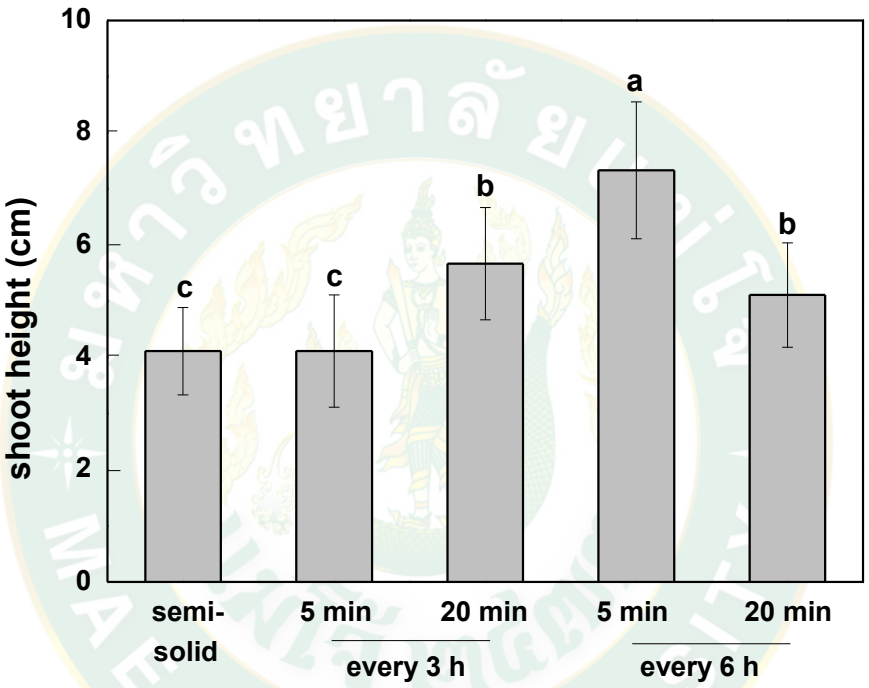
การเพาะเลี้ยงด้วยระบบ TIB ทำให้ยอดเพิ่มปริมาณมากขึ้น มีจำนวนยอดใหม่อยู่ระหว่าง 1.33-3.33 ยอดต่อชิ้นส่วน ในขณะที่การเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งไม่มีการเกิดยอดใหม่เพิ่มขึ้นเลย เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงด้วย ระบบ TIB พบว่า การให้อาหารเหลวทุก 6 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที สามารถเพิ่มปริมาณยอดใหม่ได้มากที่สุด คือ 3.33 ยอดต่อชิ้นส่วน (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 จำนวนยอดใหม่ต่อชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารกึ่งแข็งและใน ระบบ TIB ที่มีความถี่และระยะเวลาการให้อาหารเหลวต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

ความสูงยอด

การเพาะเลี้ยงด้วย ระบบ TIB ทำให้ยอดมีความสูงมากขึ้น อยู่ระหว่าง 5.11–7.33 เซนติเมตร โดยการให้อาหารเหลวทุก 6 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที ทำให้มียอดสูงมากที่สุด คือ 7.33 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีอื่น ๆ ส่วนการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทำให้ยอดมีความสูงน้อยที่สุด คือ 4.11 เซนติเมตร (ภาพที่ 10)

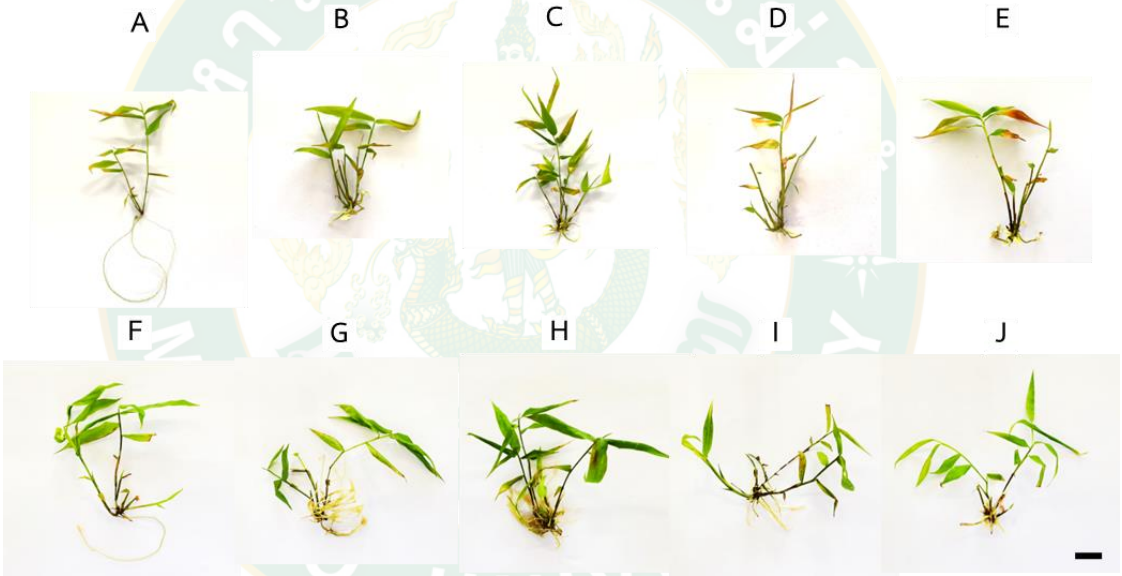


ภาพที่ 10 ความสูงยอดของชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ที่มีความถี่และระยะเวลาการให้อาหารเหลวต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

จากผลการทดลองนี้พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นในระบบ TIB ให้อาหารเหลวทุก 6 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที มีจำนวนยอดใหม่และความสูงยอดมากที่สุด จึงใช้วิธีการดังกล่าวในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นในการทดลองถัดไป

4. ผลของออกซินต่อการชักนำให้ออกรากในอาหารกึ่งแข็งและระบบ TIB

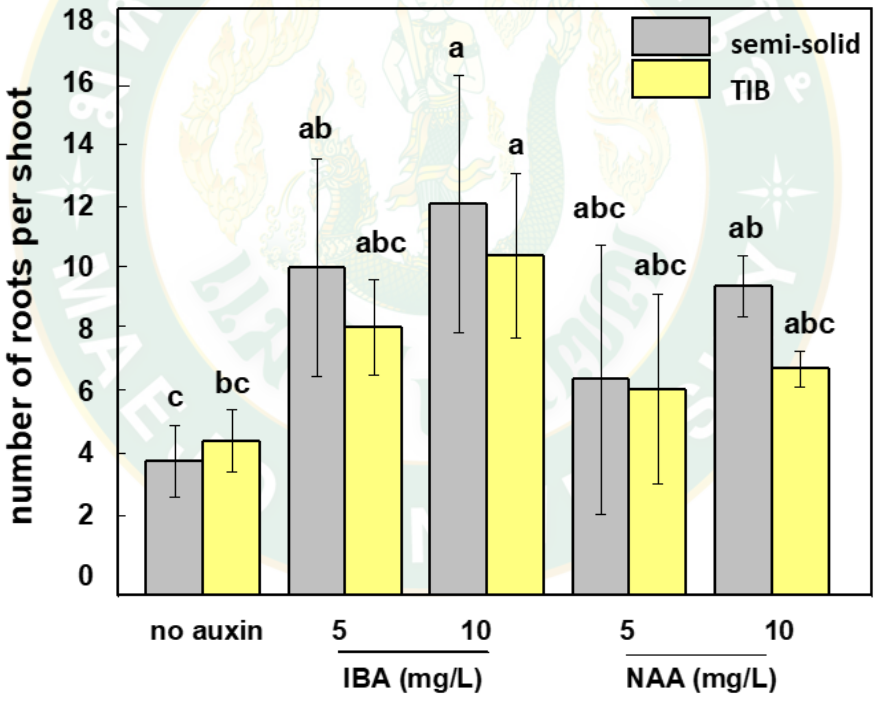
จากการนำชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นมาเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมออกซินหรือเติม IBA และ NAA 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ที่ให้อาหารเหลวทุก 6 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ทุกกรรมวิธีสามารถชักนำให้เกิดรากได้ 100% โดยกลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เติมออกซินทั้งบนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB เกิดรากที่ค่อนข้างยาวเรียว (ภาพที่ 11A และ F ตามลำดับ) ส่วนกลุ่มยอดเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร IBA และ NAA เกิดรากที่สั้นและหนา (ภาพที่ 11B-E และ G-J ตามลำดับ) นอกจากนี้ของใบกลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB (ภาพที่ 11F-J) มีสีที่เขียวสดกว่ากลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง (ภาพที่ 11A-E)



ภาพที่ 11 การออกรากของชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS กึ่งแข็งที่ไม่เติมออกซิน (A) หรือเติม IBA 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (B และ C ตามลำดับ) และ NAA 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (D และ E ตามลำดับ) และในระบบ TIB ที่ไม่เติมออกซิน (F) หรือเติม IBA 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (G และ H ตามลำดับ) และ NAA 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (I และ J ตามลำดับ) หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ (bar = 10 มิลลิเมตร)

จำนวนรากต่อชิ้นส่วน

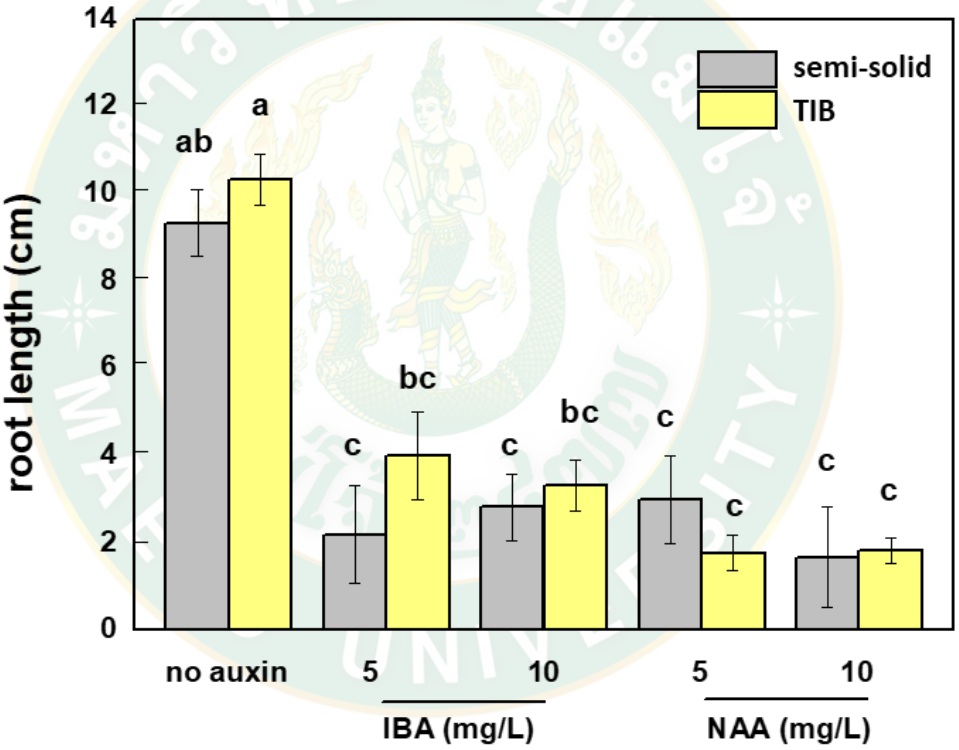
การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลุ่มยอดด้วยอาหารที่ไม่เติมออกซินทั้งบนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ทำให้ออกรากได้เพียง 3.33 และ 4.33 รากต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ในขณะที่การเพาะเลี้ยงด้วยอาหารที่เติมออกซินทั้งสองชนิดทำให้ออกรากได้เป็นจำนวนมากขึ้นอย่างชัดเจน การเติม IBA และ NAA ระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นจาก 5 เป็น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีการออกรากเป็นจำนวนที่มากขึ้นด้วย การเติม IBA ทำให้มีการออกรากเป็นจำนวนที่มากกว่าการเติม NAA เมื่อเปรียบที่ระดับความเข้มข้นเท่ากัน โดยการเติม IBA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ออกรากเป็นจำนวนมากที่สุดทั้งบนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB คือ 11.67 และ 11.00 รากต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 จำนวนรากต่อชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS บนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ที่ไม่เติมออกซินหรือเติม IBA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

ความยาวราก

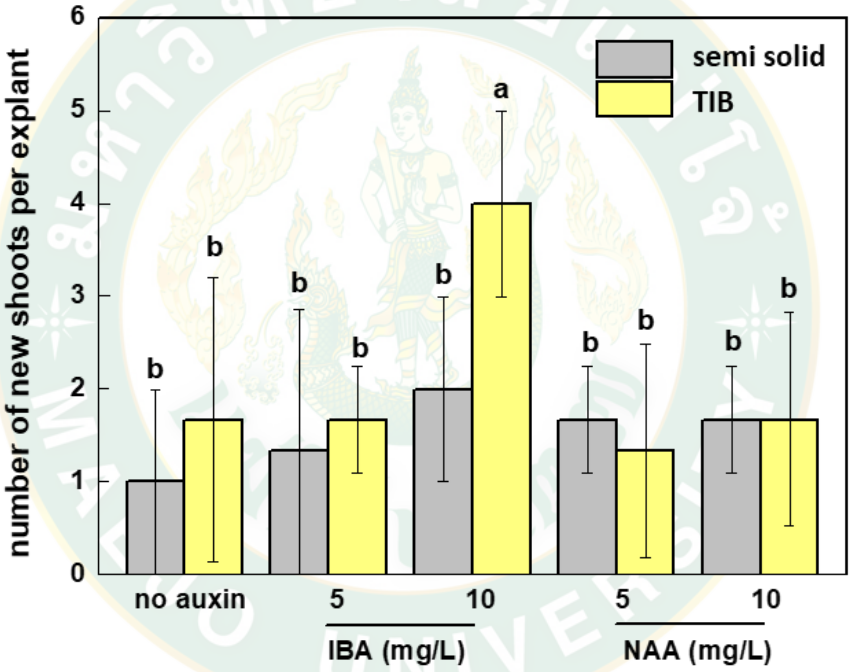
การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกลุ่มยอดในระบบ TIB ทำให้มีความยาวรากมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมออกซินหรือการเติมออกซินชนิดและระดับความเข้มข้นเดียวกัน ยกเว้นการเติม NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการไม่เติมออกซินทำให้มีความยาวรากมากที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงในระบบ TIB คือ 10.33 เซนติเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่มีความยาวราก คือ 9.33 เซนติเมตร ส่วนการเติม IBA และ NAA ทำให้ความยาวรากลดลง อยู่ระหว่าง 2.22 และ 1.76 ตามลำดับ โดยการเติม NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทำให้รากมีความยาวน้อยที่สุด คือ 1.33 เซนติเมตร (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 ความยาวรากของชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS บนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ที่ไม่เติมออกซินหรือเติม IBA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

จำนวนยอดใหม่ต่อชิ้นส่วน

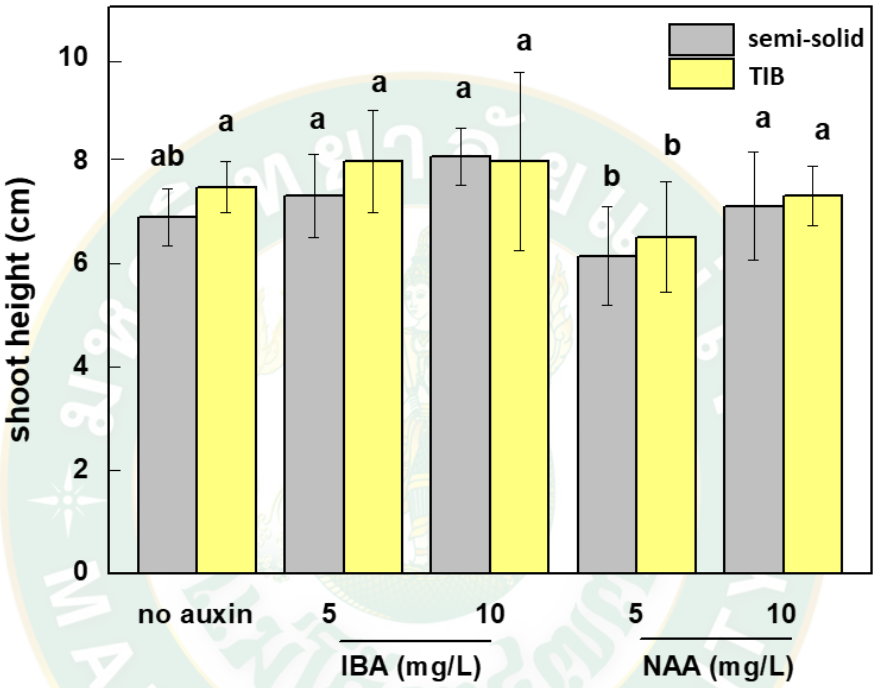
ทุกกรรมวิธีมีการเกิดยอดใหม่ โดยการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB มีการเกิดยอดใหม่เป็นจำนวนที่มากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมออกซินหรือการเติมออกซินชนิดและระดับความเข้มข้นเดียวกัน และการเติมออกซินทำให้มีจำนวนยอดใหม่เพิ่มขึ้นมากกว่าการไม่เติมออกซิน ยกเว้นการเติม NAA โดยพบว่า การเติม IBA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวทำให้มีจำนวนยอดใหม่มากที่สุด คือ 4.33 ยอดต่อชิ้นส่วน ส่วนการไม่เติมออกซินและเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งทำให้มีจำนวนยอดใหม่น้อยที่สุดเพียง 1 ยอดต่อชิ้นส่วน (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 จำนวนยอดใหม่ต่อชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS บนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ที่ไม่เติมออกซินหรือเติม IBA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

ความสูงยอด

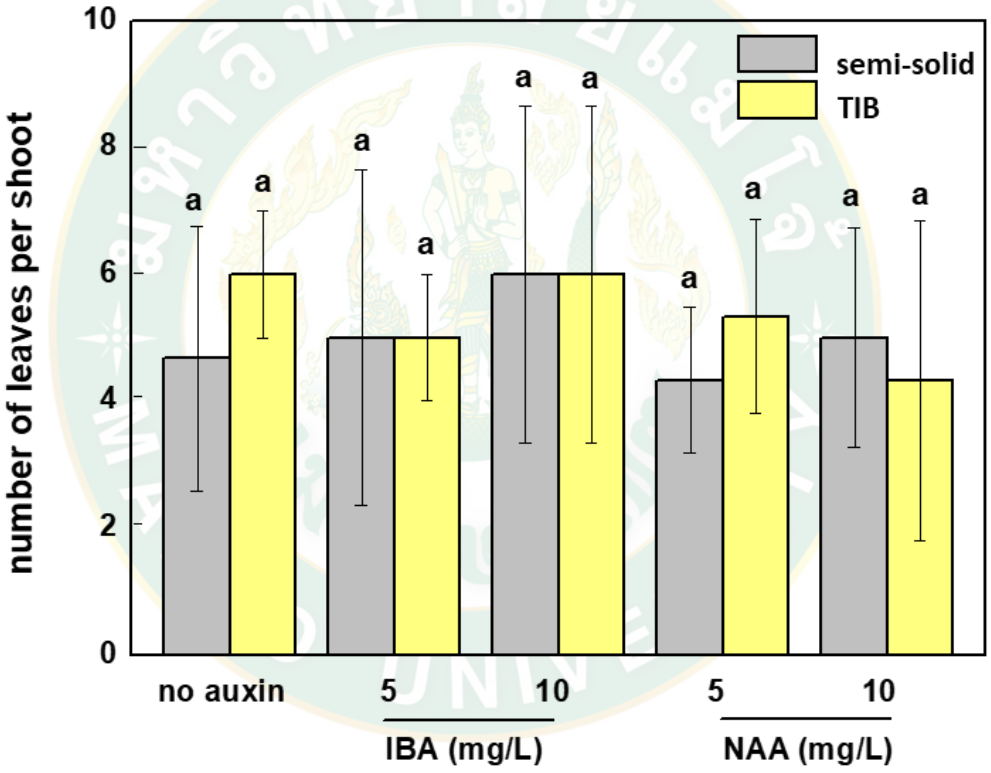
ทุกกรรมวิธีมีความสูงยอดใกล้เคียงกัน อยู่ระหว่าง 7.13-8.10 เซนติเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นการเติม NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีความสูงยอดน้อยที่สุด อยู่ระหว่าง 6.17-6.53 เซนติเมตร ที่ (ภาพที่ 15)



ภาพที่ 15 ความสูงยอดของชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS บนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ที่ไม่เติมออกซินหรือเติม IBA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

จำนวนใบต่อยอด

ทุกกรรมวิธีที่เพาะในเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ที่ไม่เติมออกซินและเติมออกซินมีจำนวนใบต่อยอด อยู่ระหว่างที่ 4.33-6.00 ใบต่อยอด ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการเติม IBA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งหรือในระบบ TIB ทำให้ยอดมีจำนวนใบมากที่สุด คือ 6.00 ใบต่อยอด ในขณะที่การเติม NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งและการเติม NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทำให้ยอดมีจำนวนใบน้อยที่สุด คือ 4.33 ใบต่อยอด (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 16 จำนวนใบต่อยอดของชิ้นส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS บนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB ที่ไม่เติมออกซินหรือเติม IBA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

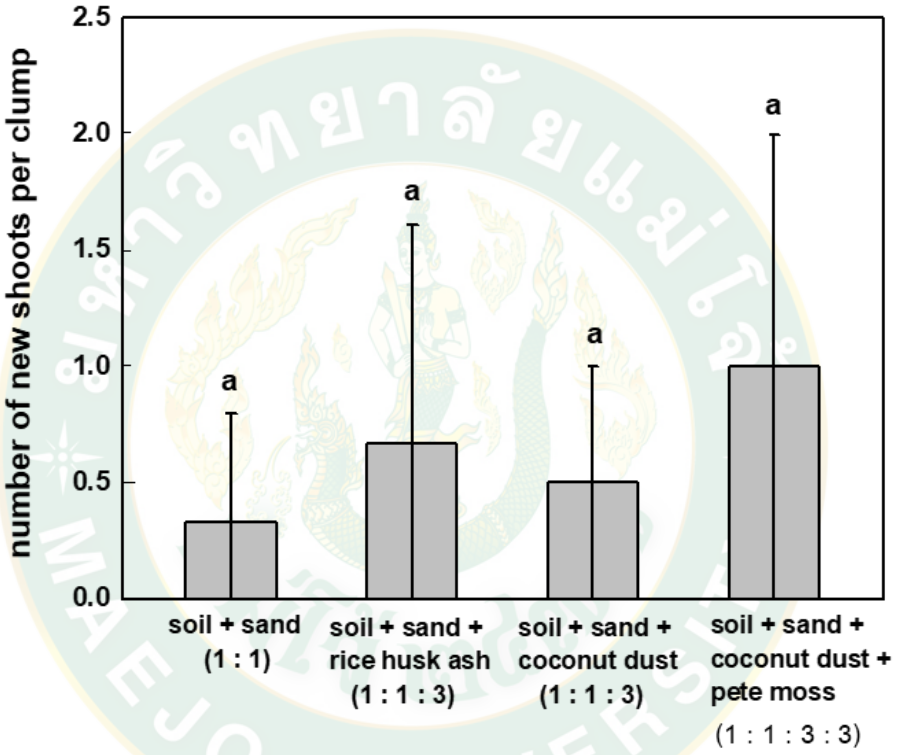
5. ผลของวัสดุปลูกต่อการปรับสภาพและย้ายปลูกในโรงเรือน

เมื่อนำกลุ่มต้นไผ่ซางหม่นที่ออกรากในสภาพปลอดเชื้อไปย้ายปลูกและปรับสภาพ โดยใช้วัสดุปลูกต่าง ๆ ได้แก่ ดินร่วน ทราย ขี้เถ้าแกลบ ขุยมะพร้าว และพีทมอส ในอัตราส่วนต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 4 สัปดาห์ พบว่า ทุกกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100% สามารถตั้งตัวได้ดี มีการแตกกอเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 17) อย่างไรก็ตามพบการเกิดเชื้อราเมื่อใช้วัสดุปลูกเป็นดินร่วน ทราย และขุยมะพร้าว ซึ่งได้ควบคุมด้วยการฉีดพ่นน้ำยากันรา

ภาพที่ 17 การเจริญเติบโตของต้นไผ่ซางหม่นที่ออกรากในสภาพปลอดเชื้อเมื่อนำมาปลูกในดินร่วนและทราย อัตราส่วน 1:1 (A), ดินร่วน ทราย และขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1:3 (B), ดินร่วน ทราย และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:3 (C) และดินร่วน ทราย ขี้เถ้าแกลบ และพีทมอส อัตราส่วน 1:1:3:3 (D) หลังย้ายปลูก 4 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร)

จำนวนต้นใหม่ต่อกอ

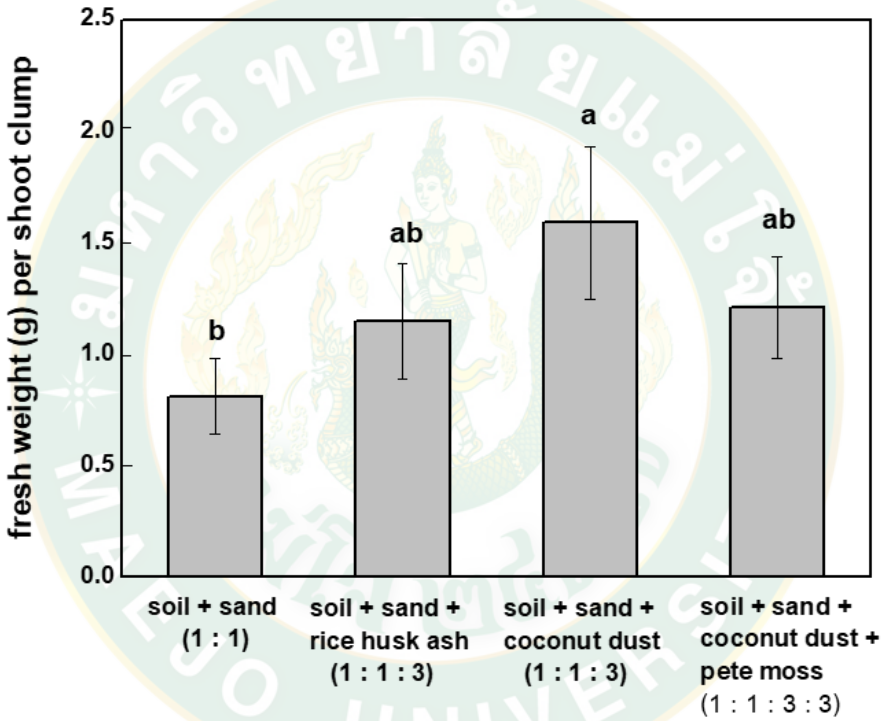
ทุกกรรมวิธีมีการเกิดต้นใหม่หลังย้ายปลูก อยู่ระหว่าง 0.47-1.00 ต้นต่อกอ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยต้นที่ย้ายปลูกในดินร่วน ทราย ขี้เถ้าแกลบ และพีทมอส อัตราส่วน 1:1:3:3 มีการเกิดต้นใหม่เป็นจำนวนมากที่สุด คือ 1.00 ต้นต่อกอ ส่วนต้นที่ย้ายปลูกในดินร่วนและทราย อัตราส่วน 1:1 มีการเกิดต้นใหม่เป็นจำนวนน้อยที่สุด คือ 0.47 ต้นต่อกอ (ภาพที่ 18)



ภาพที่ 18 จำนวนต้นใหม่ต่อกอของไผ่ซางหม่นที่เจริญเติบโตในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 4 สัปดาห์

น้ำหนักสดต่อกอ

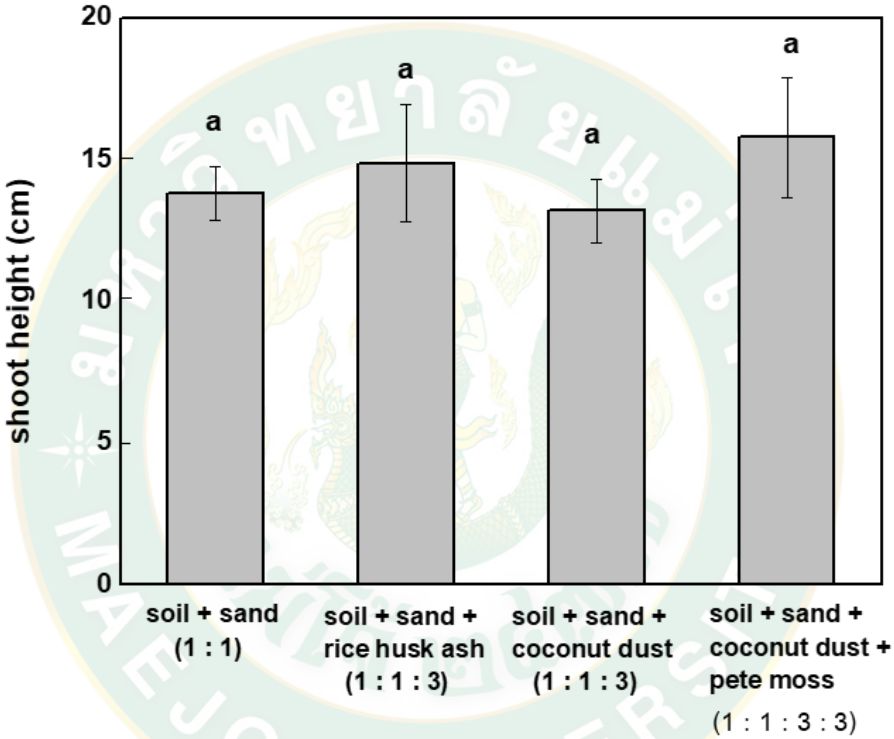
ต้นที่ย้ายปลูกในดินร่วน ทราย และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:3 มีน้ำหนักสดต่อกอสูงสุด คือ 1.59 กรัม รองลงมา คือ ต้นที่ย้ายปลูกในดินร่วน ทราย ขุยมะพร้าว และพีทมอส อัตราส่วน 1:1:3:3 และในดินร่วน ทราย และขี้เถ้าแกลบ มีน้ำหนักสดต่อกอ 1.15 และ 1.21 กรัม ตามลำดับ ส่วนต้นที่ย้ายปลูกในดินร่วนและทราย อัตราส่วน 1:1 มีหนักสดต่อกอน้อยที่สุด คือ 0.81 กรัม (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 19 น้ำหนักสดต่อกอของไผ่ซางหม่นที่เจริญเติบโตในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 4 สัปดาห์

ความสูงต้น

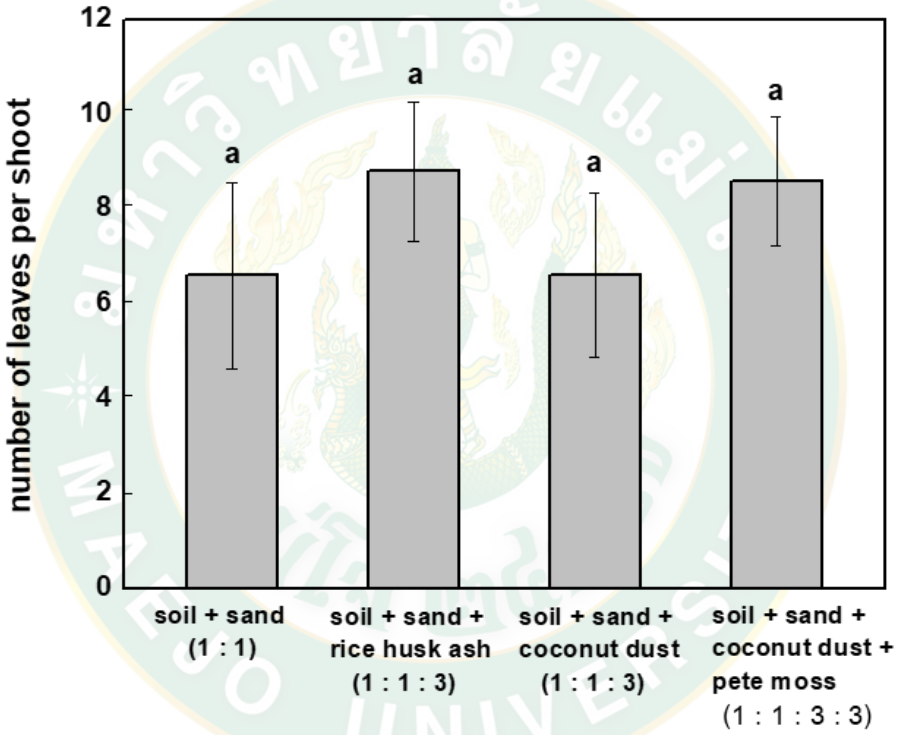
ทุกกรรมวิธีมีความสูงต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ อยู่ระหว่าง 13.8-15.80 เซนติเมตร โดยต้นที่ย้ายปลูกในดินร่วน ทราย ขี้เถ้าแกลบ และพีทมอส อัตราส่วน 1:1:3:3 มีความสูงต้นมากสุด คือ 15.8 เซนติเมตร ส่วนต้นที่ย้ายปลูกในดินร่วน ทราย และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:3 มีความสูงน้อยมากสุด คือ 13.4 เซนติเมตร (ภาพที่ 20)



ภาพที่ 20 ความสูงต้นของไผ่ซางหม่นที่เจริญเติบโตในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ หลังย้ายปลูก 4 สัปดาห์

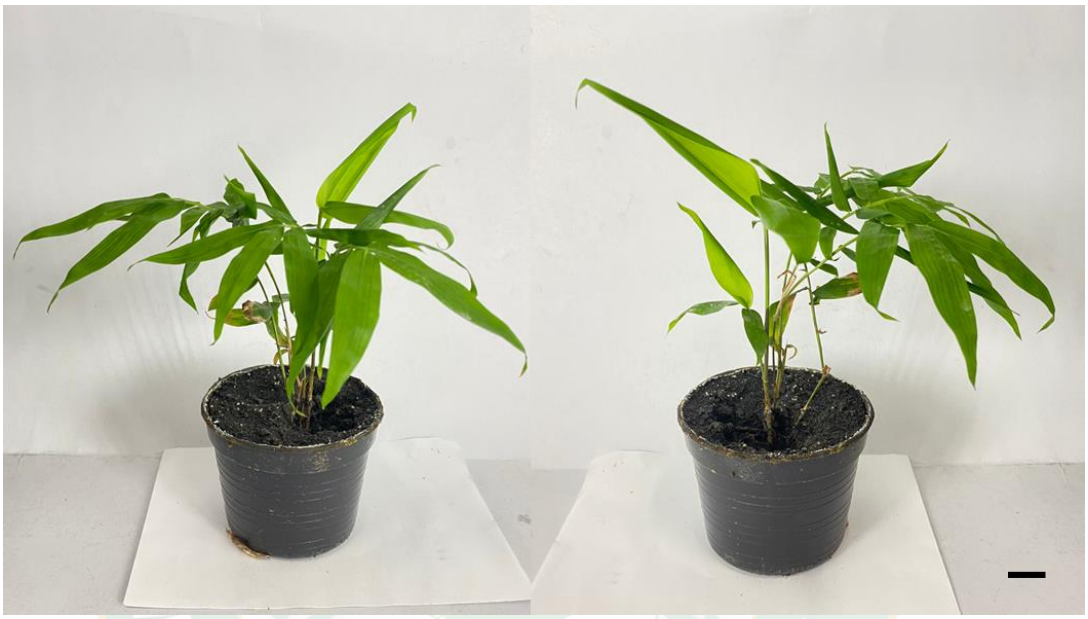
จำนวนใบต่อต้น

ทุกกรรมวิธีมีจำนวนใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ อยู่ระหว่าง 6.66-8.80 ใบต่อต้น โดยต้นที่ย้ายปลูกในดินร่วน ทราย และขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1:3 มีจำนวนใบมากที่สุด คือ 8.80 ใบต่อต้น ซึ่งใกล้เคียงมากกับต้นที่ย้ายปลูกในดินร่วน ทราย ขี้เถ้าแกลบ และพีทมอส อัตราส่วน 1:1:3:3 ที่มีจำนวนใบ 8.60 ใบต่อต้น ส่วนต้นที่ย้ายปลูกในดินร่วนและทราย อัตราส่วน 1:1 และในดินร่วน ทราย และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:3 มีจำนวนใบน้อยที่สุดเท่ากัน คือ 6.60 ใบต่อต้น (ภาพที่ 21)



ภาพที่ 21 จำนวนใบของต้นไผ่ซางหม่นที่ทดสอบวัสดุปลูกต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

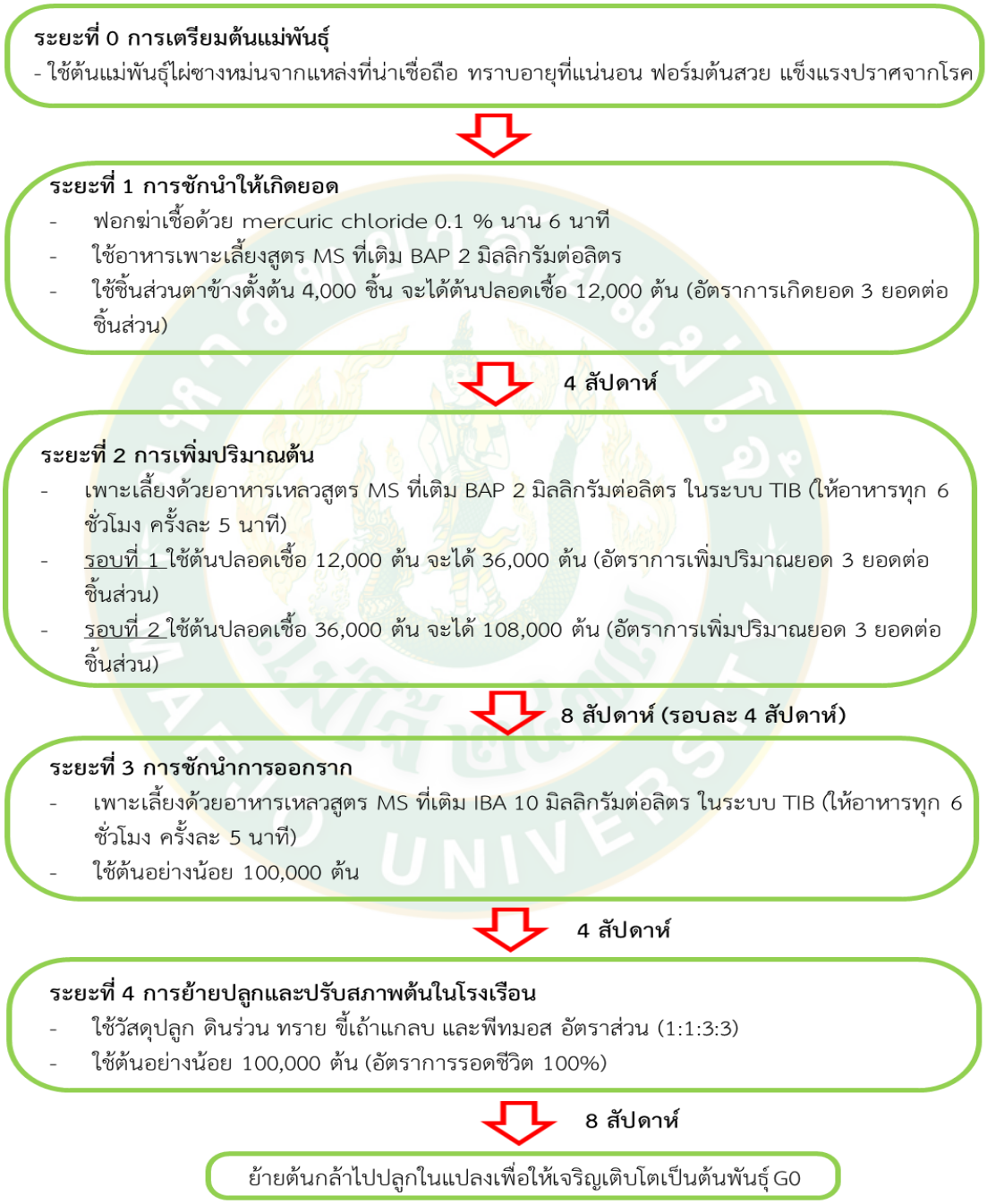
จากผลการทดลองข้างต้นพบว่า การย้ายปลูกในดินร่วน ทราย ขี้เถ้าแกลบ และพีทมอส อัตราส่วน 1:1:3:3 ส่งผลให้ต้นมีอัตราการรอดชีวิตที่สูงและมีการเจริญเติบโตในด้านต่าง ๆ ที่ค่อนข้างดีกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ โดยเฉพาะจำนวนต้นใหม่ต่อกอและความสูงต้น จึงทดสอบการย้ายไปปลูกในกระถางขนาด 4 นิ้ว หลังย้ายปลูก 8 สัปดาห์ พบว่า ต้นยังคงมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100% มีความสมบูรณ์แข็งแรง แตกยอดและใบใหม่เพิ่มขึ้น ใบมีสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 22)



ภาพที่ 22 การเจริญเติบโตของต้นไผ่ซางหม่นที่ปลูกในดินร่วน ทราย ขี้เถ้าแกลบ และพีทมอส อัตราส่วน 1:1:3:3 ในกระถางขนาด 4 นิ้ว หลังย้ายปลูก 8 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร)

ระบบการผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นระดับอุตสาหกรรม

จากผลที่ได้ในการทดลองต่าง ๆ จึงได้ใช้ผลสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในแต่ละระยะของการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นำมาออกแบบระบบการผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่น สมมติกำหนดเป้าหมายการผลิตต้นพันธุ์ 100,000 ต้น แสดงดังภาพที่ 23



ภาพที่ 23 แผนการผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่น 100,000 ต้น จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นระดับอุตสาหกรรม โดยการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวพบว่า แต่ละปัจจัยที่ศึกษาในระยะต่าง ๆ ของการขยายพันธุ์ส่งผลดังต่อไปนี้

ในระยะการชักนำให้เกิดยอดได้ศึกษาสภาวะของการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่น โดยเปรียบเทียบชนิดของสารฆ่าเชื้อและระยะเวลาในการแช่ชิ้นส่วนพืช ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า สารฆ่าเชื้อเมอร์คิวริกคลอไรด์ (0.1%) มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนได้สูงกว่าคลอรอกซ์ (15%) โดยพบว่าชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ต่ำกว่าคลอรอกซ์อย่างชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยที่พบว่า สารฆ่าเชื้อที่มีฤทธิ์แรงอย่างเมอร์คิวริกคลอไรด์สามารถฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนของไผ่ชนิดต่าง ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น ไผ่ซางดำ (*Dendrocalamus strictus*) (Pandey and Singh, 2012) และ Mishra et al. (2008) ศึกษาสารฟอกฆ่าเชื้อในไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) โดยศึกษาโซเดียมไฮโปรคลอไรด์ และเมอร์คิวริกคลอไรด์ในความเข้มข้น 0.05, 0.1 และ0.2% นาน 10 นาที พบว่าเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.05 และ0.1% สามารถฟอกฆ่าเชื้อได้ดีที่สุดและไม่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อไผ่บงดำ ความเข้มข้นนอกจากนี้ในการทดลองพบว่า การแช่ชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นในสารฆ่าเชื้อเป็นระยะเวลานานขึ้นจาก 10 เป็น 15 นาที ในคลอรอกซ์ และจาก 3 เป็น 6 นาที ในเมอร์คิวริกคลอไรด์ ส่งผลให้การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ลดต่ำลงและมีการเกิดยอดเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การแช่ชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นในสารฆ่าเชื้อเป็นระยะเวลาที่นานขึ้นส่งผลดีต่อการชักนำให้เกิดยอดที่ปลอดเชื้อ สันนิษฐานว่าเนื่องจากชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นมีเนื้อเยื่อที่ค่อนข้างแข็ง จึงมีความทนทานต่อการแช่สารฆ่าเชื้อเป็นระยะเวลานานขึ้น

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของไซโตไคนินต่อการชักนำให้ชิ้นส่วนข้อไผ่ซางหม่นเกิดยอดด้วย ซึ่งพบว่า BAP สามารถกระตุ้นการแตกยอดได้รวดเร็ว เพิ่มจำนวนยอดและความสูงยอดได้มากกว่า TDZ เช่นเดียวกับงานวิจัยไผ่ฟ้าหม่น Ramanayake et al. (2006) โดยระดับความเข้มข้นของ BAP ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ไผ่ซางหม่นเกิดยอด คือ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยในไผ่ซางดำ (*D. strictus*) ที่พบว่า BAP 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดยอดได้ดีที่สุดเช่นเดียวกัน (Pandey and Singh., 2012)

ในระยะการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่นได้เปรียบเทียบผลระบบเพาะเลี้ยง คือ อาหารกึ่งแข็งและระบบ TIB ซึ่งพบว่า การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทำให้มีการเพิ่มจำนวนยอดและความสูงยอดมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งอย่างชัดเจน โดยการที่ชิ้นส่วนพืชแช่อยู่ในอาหารเหลวทำให้มีการดูดซึมสารอาหารทางส่วนต่าง ๆ ของพืชได้อย่างทั่วถึง จึงส่งผลให้มีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนมากยิ่งขึ้น ในขณะที่การเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งชิ้นส่วนพืชจะได้รับสารอาหารทางบริเวณ

ฐานของพืชเท่านั้น จึงมีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้น้อยกว่า (Teisson and Alvard, 1995) ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มีรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ซางหม่นในระบบ TIB โดยในรายงานวิจัยของ Gutiérrez et al. (2016) ในไผ่เก้าดาว (*Guadua angustifolia*) และ García-Ramírez et al. (2014) ในไผ่ดำ (*B. vulgaris*) สามารถสนับสนุนได้ว่า ยอดไผ่ที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB มีการตอบสนองได้ดีกว่าและสามารถเพิ่มปริมาณได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง โดยในการศึกษาครั้งนี้พบว่า การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีการให้อาหารเหลวทุก 6 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที มีความเหมาะสมมากที่สุดในการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น โดยทำให้มีจำนวนยอดใหม่และความสูงยอดมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Gutiérrez et al. (2016) ที่เพาะเลี้ยงไผ่เก้าดาวด้วยระบบ TIB แบบ RITA® ซึ่งพบว่าการให้อาหารเหลวทุก 6 ชั่วโมง ทำให้มีจำนวนยอดและจำนวนใบต่อชิ้นส่วนมากที่สุด สันนิษฐานว่าการให้อาหารเหลวด้วยความถี่และระยะเวลาที่เหมาะสมสามารถส่งเสริมการเพิ่มปริมาณยอดและการเจริญเติบโตของยอดไผ่ให้มากขึ้น

นอกจากนี้ในการศึกษาระยะการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่นยังมีข้อสังเกตจากการทดลองว่าชิ้นส่วนไผ่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งไม่มีการสร้างยอดใหม่เพิ่มขึ้น สันนิษฐานว่ามีสาเหตุมาจากการสร้างสารสีน้ำตาลซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) จึงส่งผลยับยั้งการเจริญเติบโต นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งยังทำให้บริเวณโคนของกลุ่มยอดไผ่สัมผัสกับผิวหน้าของอาหารน้อย จึงมีการดูดซึมสารอาหารที่จำกัดและส่งผลให้ยอดแห้งตาย ส่วนการที่กลุ่มยอดไผ่ที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ไม่มีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล อาจเป็นเพราะสารประกอบฟีนอลิกที่หลั่งออกมาถูกเจือจางลงในอาหารเหลว ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวช่วยลดผลกระทบของสารประกอบฟีนอลิกได้ (Negi and Saxena, 2011)

ในส่วนของระยะชักนำให้เกิดรากของไผ่ซางหม่น จากการศึกษาผลของออกซินพบว่า กลุ่มยอดไผ่ซางหม่นสามารถออกรากได้ทั้งการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เติมหรือเติมออกซิน ซึ่งกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นสามารถออกรากได้เองแม้เพาะเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่เติมออกซิน เนื่องจากกลุ่มยอดมีการสังเคราะห์ออกซินที่เพียงพอในการกระตุ้นให้เกิดราก อย่างไรก็ตามพบว่า การไม่เติมออกซินในอาหารทำให้เกิดรากจำนวนน้อยและมีลักษณะรากที่ค่อนข้างเรียวยาว ซึ่งหากนำไปออกปลูกจะต้องใช้ความระมัดระวังไม่ให้เสียหาย ส่วนกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารที่เติมออกซินทั้งสองชนิด คือ IBA และ NAA ทำให้มีการออกรากเป็นจำนวนมากขึ้นอย่างชัดเจน และมีลักษณะรากที่ค่อนข้างอวบและสั้น ซึ่งทำให้สะดวกต่อการนำไปออกปลูก โดยการเติม IBA สามารถชักนำการออกรากได้เป็นจำนวนมากกว่า NAA ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานในพืชบางชนิด เช่น *Casuarina cunninghamiana* ซึ่ง IBA สามารถชักนำให้ออกรากได้ดีกว่าการใช้ออกซินชนิดอื่น ๆ เป็นต้น (Shen et al., 2010) โดยการทดลองนี้พบว่า IBA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมมากที่สุดต่อการชักนำให้กลุ่มยอดไผ่ซางหม่นออกรากทั้งการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งและในระบบ TIB โดยทำ

ให้มีจำนวนรากและจำนวนยอดใหม่มากที่สุดอย่างชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ (Singh et al., 2012) ที่ชักนำออกรากของไผ่ตงโดยพบว่า เพาะเลี้ยงในอาหาร MS ¼ ที่เติม IBA 5.0 ไมโคโมลาร์ นอกจากนี้ในการทดลองยังสังเกตเห็นว่า กลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ใบมีสีเขียวสด ในขณะที่กลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งใบมีสีค่อนข้างเหลืองและบางส่วนเป็นสีน้ำตาลสันนิษฐานว่า การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทำให้กลุ่มยอดได้รับสารอาหารอย่างทั่วถึงจึงมีการเจริญเติบโตที่ดี อีกทั้งยังช่วยลดผลกระทบจากสารฟีนอลิกที่หลั่งจากกลุ่มยอดไผ่ ทำให้มีสีเขียวตามปกติ

การศึกษาในระยะการปรับสภาพและย้ายปลูกไผ่ซางหม่นที่ออกรากในสภาพปลอดเชื้อ โดยเปรียบเทียบผลของวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ดินร่วน ทราย ขี้เถ้าแกลบ ขุยมะพร้าว และพีทมอส ในอัตราส่วนผสมต่าง ๆ พบว่า ต้นไผ่ซางหม่นที่ย้ายปลูกในทุกกรรมวิธีมีการรอดชีวิตทั้งหมด สามารถตั้งตัวได้ดี และมีการแตกกอเพิ่มขึ้น โดยการใช้วัสดุปลูกเป็นดินร่วน ทราย ขี้เถ้าแกลบ และพีทมอส อัตราส่วน 1:1:3:3 ทำให้ต้นไผ่ซางหม่นมีการเจริญเติบโตในด้านต่าง ๆ ที่ค่อนข้างดีกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ โดยเฉพาะจำนวนต้นใหม่ต่อกอและความสูงต้น ซึ่งสันนิษฐานว่าเนื่องจากวัสดุปลูกอย่างขี้เถ้าแกลบมีองค์ประกอบเป็นส่วนใหญ่เป็นซิลิกา จึงมีความพรุน ซึ่งช่วยอุ้มน้ำได้ดี และมีการอัดตัวไม่มาก จึงเพิ่มความโปร่งให้วัสดุปลูก (ศิราณีและบัญชา, 2556) ส่วนพีทมอสเป็นวัสดุที่ค่อนข้างสะอาด โปร่งตัว เมื่อรดน้ำจะไม่แน่นตัว จึงช่วยระบายน้ำและอากาศได้ดี (สมเพียร, 2524) ในขณะที่การปลูกในวัสดุปลูกที่มีขุยมะพร้าวพบว่ามีการเกิดเชื้อราด้วย อาจเป็นเพราะขุยมะพร้าวซึ่งเป็นวัสดุที่ดูดซับน้ำได้มาก ทำให้เกิดความแน่นและการระบายอากาศไม่ดี (อิทธิสุนทร, 2538) จึงไม่ควรใช้ขุยมะพร้าวเป็นวัสดุปลูก

จากการนำสภาวะที่เหมาะสมในระยะต่าง ๆ ของการขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาออกแบบระบบการผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นระดับอุตสาหกรรม โดยใช้ระบบ TIB ในระยะการเพิ่มปริมาณต้นและระยะการชักนำการออกราก ซึ่งในการผลิตต้นพันธุ์จำนวน 100,000 ต้น คาดว่าจะใช้ระยะเวลาอย่างน้อย 24 สัปดาห์ หรือประมาณ 6 เดือน อย่างไรก็ตามในสถานการณ์การผลิตจริงคาดว่าจะใช้ระยะเวลาที่มากขึ้น ซึ่งต้องปรับให้สอดคล้องกับการปฏิบัติงานของแต่ละหน่วยงาน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยด้านต่าง ๆ เช่น แรงงาน พื้นที่ วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือที่มีอยู่ นอกจากนี้การผลิตในแต่ละระยะควรเผื่อความเสี่ยงไว้อย่างน้อย 10-20% เพราะอาจเกิดความเสียหายต่อต้นไผ่ซางหม่นได้ตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง ซึ่งส่งผลให้ได้จำนวนต้นพันธุ์ที่ต่ำกว่าเป้าหมาย นอกจากนี้ในระยะการขยายพันธุ์ต่าง ๆ ควรแบ่งย่อยหลาย ๆ รอบ เพื่อลดภาระด้านแรงงาน

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการพัฒนาระบบผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นระดับอุตสาหกรรมโดยการใช้ระบบ TIB สามารถสรุปได้ดังนี้

1. ในการชักนำให้ไผ่ซางหม่นเกิดยอดในสภาพปลอดเชื้อพบว่า การนำชิ้นส่วนข้อมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริกคลอดไรด์ 0.1% เป็นระยะเวลา 6 นาที แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด
2. ในการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่นพบว่า การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง โดยมีสภาวะที่เหมาะสมที่สุด คือ การนำชิ้นส่วนกลุ่มยอดมาเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และให้อาหารเหลวทุก ๆ 6 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที
3. ในการชักนำให้ไผ่ซางหม่นออกรากพบว่า การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB มีความเหมาะสมมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง โดยการใช้อาหารเหลวสูตร MS ที่เติมา IBA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และให้อาหารเหลวทุก ๆ 6 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 5 นาที มีความเหมาะสมมากที่สุด
4. เมื่อนำต้นไผ่ซางหม่นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปปรับสภาพและย้ายปลูกในโรงเรือนพบว่าการใช้วัสดุปลูกดินร่วน ทราย ขี้เถ้าแกลบ และพีทมอส อัตราส่วน (1:1:3:3) มีความเหมาะสมมากที่สุด

บรรณานุกรม

Albarrán, J., Bertrand, B., Lartaud, M. & Etienne, H. 2005. Cycle characteristics in a temporary immersion bioreactor affect regeneration, morphology, water and mineral status of coffee (*Coffea arabica*) somatic embryos. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 81(1), 27-36.

Banerjee, M., Gantait, S. & Pramanik, B. R. 2011. A two step method for accelerated mass propagation of *Dendrocalamus asper* and their evaluation in field. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, 17(4), 387-393.

Barrette Jr., W. C., Hannum, D. M., Wheeler, W. D. & Hurst, J. K. 1989. General mechanism for the bacterial toxicity of hypochlorous acid: abolition of ATP production. **Biochemistry**, 28(23), 9172-9178.

Davies, P. J. 2004. **Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action!**: Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

Debergh, P. & Maene, L. 1981. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. **Scientia Horticulturae**, 14(4), 335-345.

García-Ramírez, Y., Gonzáles, M. G., Mendoza, E. Q., Seijo, M. F., Cárdenas, M. L. O., Moreno-Bermúdez, L. J. & Ribalta, O. H. 2014. Effect of BA treatments on morphology and physiology of proliferated shoots of *Bambusa vulgaris* Schrad. Ex Wendl in temporary immersion. **American Journal of Plant**, 5, 205-211

Goyal, A. K., Pradhan, S., Basistha, B. C. & Sen, A. 2015. Micropropagation and assessment of genetic fidelity of *Dendrocalamus strictus* (Roxb.) nees using RAPD and ISSR markers. **3 Biotech**, 5(4), 473-482.

Gutiérrez, L. G., López-Franco, R. & Morales-Pinzón, T. 2016. Micropropagation of *Guadua angustifolia* Kunth (Poaceae) using a temporary immersion system RITA®. **African Journal of Biotechnology**, 15(28), 1503-1510.

Huetteman, C. A. & Preece, J. E. 1993. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 33(2), 105-119.

Husain, M., Anis, M., & Shahzad, A. (2007). In vitro propagation of Indian Kino (*Pterocarpus marsupium* Roxb.) using thidiazuron. **In Vitro Cellular &**

Developmental Biology-Plant, 43(1), 59-64.

Vı́ctor, M. J., Castillo, J., Tavares, E., Guevara, E., Montiel, M. (2006). In vitro propagation of the neotropical giant bamboo, *Guadua angustifolia* Kunth, through axillary shoot proliferation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 86(3), 389–395.

Jiménez, V. M., Castillo, J., Tavares, E., Guevara, E. & Montiel, M. 2006. In vitro propagation of the neotropical giant bamboo, *Guadua angustifolia* Kunth, through axillary shoot proliferation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 86(3), 389-395.

Mishra, Y., Patel, P. K., Yadav, S., Shirin, F. & Ansari, S. 2008. A micropropagation system for cloning of Bambusa tulda Roxb. **Scientia Horticulturae**, 115(3), 315-318.

Murthy, B., Murch, S. & Saxena, P. K. 1998. Thidiazuron: A potent regulator ofin vitro plant morphogenesis. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, 34(4), 267-275.

Negi, D. & Saxena, S. 2011. Micropropagation of Bambusa balcooa Roxb. through axillary shoot proliferation. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, 47(5), 604-610.

Ostrovskiĭ, D., Lysak, E., Demina, G. & Biniukov, V. 2000. Interaction of bacteria with mercuric compounds. **Mikrobiologiia**, 69(5), 620-628.

Pandey, B. & Singh, N. 2012. Micropropagation of *Dendrocalamus strictus* nees from mature nodal explants. **Journal of Applied and Natural Science**, 4(1), 5-9.

Ramanayake, S., Meemaduma, V. & Weerawardene, T. 2006. In vitro shoot proliferation and enhancement of rooting for the large-scale propagation of yellow bamboo (*Bambusa vulgaris* ‘Striata’). **Scientia Horticulturae**, 110(1), 109-113.

Shen, X., Castle, W. S. & Gmitter, F. G. 2010. In vitro shoot proliferation and root induction of shoot tip explants from mature male plants of *Casuarina cunninghamiana* Miq. **HortScience**, 45(5), 797-800.

Singh, S. R., Dalal, S., Singh, R., Dhawan, A. & Kalia, R. K. 2012. Micropropagation of *Dendrocalamus asper* {Schult. & Schult. F.} Backer ex k. Heyne: an exotic edible bamboo. **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, 21(2), 220-228.

Teisson, C. & Alvard, D. 1995. A new concept of plant in vitro cultivation liquid medium: temporary immersion. In M. Terzi, R. Cella & A. Falavigna (Eds.).

Current issues in plant molecular and cellular biology (pp. 105-110). Dordrecht: Springer.

Wei, Q., Cao, J., Qian, W., Xu, M., Li, Z. & Ding, Y. 2015. Establishment of an efficient micropropagation and callus regeneration system from the axillary buds of *Bambusa ventricosa*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 122(1), 1-8.

กนกวรรณ ส่งเสริม, เยาวพา จิระเกียรติกุล, ภาณุมาศ ฤทธิไชย และธัญพิสิษฐ์ พวงจิก. 2561. ผลของ BA และ NAA ต่อการชักนำให้เกิดยอดของไผ่ซางหม่นในสภาพปลอดเชื้อ. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**, 49(1), 526-529.

ชัยสิทธิ์ ทองจู. 2551. **การผลิตวัสดุปลูกสำหรับไม้ดอกไม้ประดับ**. เอกสารประกอบการฝึกอบรม เรื่อง การปลูกและการดูแล รักษาไม้ดอกหอมเพื่อการขยายพันธุ์และการใช้ประโยชน์ ณ ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน. นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

ธีรชล แก้วปรีชา. 2552. **สารพรรณพันธุ์ไผ่.** เกษตรธรรมชาติ [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.gotoknow.org (24 เมษายน 2562).

นพมณี โทปุญญานนท์. 2545. **การขยายพันธุ์พืชโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่: IBeam Press studio.

นพมณี โทปุญญานนท์, ปวีณา นวมเจริญ, วิภาดา ทองทักษิณ, สุปัน ไม้ดัดจันทร์, รังสิมา อัมพวัน, ทิพย์สุดาปุกมณี และพรศักดิ์ บุญมณี. 2547. **รายงานการวิจัยการพัฒนาระบบการผลิตต้นปทุมมาต้นทุนต่ำด้วยการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว**. รายงานการวิจัยของสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติประจำปีงบประมาณ 2547. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 88 น.

นพมณี โทปุญญานนท์, พูนพัฒน์ พูนน้อย, จาตุพงศ์ วาฤทธิ์, ปิยะนุช เนียมทรัพย์, นลิน วงศ์ขัตติยะ, ศรีกาญจนา คล้ายเรือง, เอกชัย บูรณะไทย, อัปสร เปลี่ยนสินไชย และสัจจพร จันทะวงษ์. 2553. **รายงานการวิจัยระบบการผลิตท่อนพันธุ์อ้อยปลอดโรคด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดอุตสาหกรรม.** รายงานการวิจัยของสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติประจำปีงบประมาณ 2553. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 201 น.

นพมณี โทปุญญานนท์, รังสิมา อัมพวัน และพรศักดิ์ บุญมณี. 2550. **การสร้างเครื่องไบโอรีแอคเตอร์แบบพร้อมใช้.** หน้า 23-28. ใน รายงานสัมมนา วช: สนับสนุนผลงานวิจัยไม้ดอกเพื่อการส่งออก วันที่ 11- 12 มกราคม พ.ศ. 2550 ณ โรงแรมโลตัส ปางสวนแก้ว จังหวัดเชียงใหม่.

ปวีณา นวมเจริญ. 2545. **เทคนิคปลอดเชื้อ**. ในการขยายพันธุ์พืชโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.

นพมณี โทปุญญานนท์ (บรรณาธิการ). เชียงใหม่: iBeam Prss studio

ยุพา มงคลสุข, มะลิวัลย์ ธนะสมบัติ, รุ่งอรุณ สุ่มแก้ว, ปฏิมา ลิขิตธรรมนิตย์ และพนิดา วงษ์แหวน. 2548. **ระบบการจมชั่วคราวสำหรับการขยายพันธุ์ไผ่หวานอ่างขางเพื่อการผลิตต้นกล้าในเชิงพาณิชย์.** กรุงเทพฯ: สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลผลิตทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ยุพิน เคนตรี, อรดี สหวัชรินทร์, กฤษณา กฤษณพุกต์ และสุรียา ตันติวิวัฒน์. 2542. ผลของ benzylandenine และ napthalene acetic acid ต่อการเพิ่มปริมาณยอดและการชักนำให้เกิดรากของไผ่ตงในสภาพปลอดเชื้อ. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (ภาษาไทย).** 7(2), 34-40.

เยาวพา จิระเกียรติกุล, นิสา แซ่ลิ้ม และธัญพิสิษฐ์ พวงจิก. 2553. การเพิ่มจำนวนยอดและชักนำให้เกิดรากของไผ่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ**. แก่นเกษตร** 38(2), 163-170.

รุ่งนภา ครองธรรม. 2562. **การขยายพันธุ์ *Drosera spathulata* Labill. และ *Drosera adelae* F. Muell. ในหลอดทดลอง**. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

รุ่งนภา พัฒนวิบูลย์ และสกลศักดิ์ รัมยะรังสี. 2540. **การขยายพันธุ์ไผ่เลี้ยงโดยการเลี้ยงตาอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ.** กรุงเทพฯ: สำนักวิชาการเกษตรป่าไม้.

วราภรณ์ ภูตะลุน. 2551. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร: **แนวทางการศึกษาเพื่อผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา.** หน้า 8-20. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น. คณะเภสัชศาสตร์.

ศิราณี วงศ์กระจ่าง และบัญชา รัตนีทู. 2556. การจัดการดินทรายจัด **เพื่อใช้ประโยชน์ทางการเกษตร.** ว.มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์. 5(4), 184-194.

สายสวาทดิ์ สงวนใจ. 2561. **ไผ่ซางหม่นอนาคตและความหวังของกลุ่มวิสาหกิจชุมชนในอำเภอป่าซาง (เขตปฏิรูปที่ดิน)** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา pasang.lamphun.doae.go.th/Km_saysawas2.doc (18 พฤษภาคม 2562).

อิทธิสุนทร นันทกิจ. 2538. การปลูกพืชไม่ใช้ดิน (hydroponic). **คู่มือการฝึกอบรมการปลูกพืชระบบไม่ใช้ดิน (Soilless Culture).** น.5-27. กรุงเทพฯ: ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อภิชาติ ศรีสอาด และณัฏฐ์ชญามนต์ ดินรมรัมย์. 2558. **ไผ่นอกฤดู.** กรุงเทพฯ: นาคา อินเตอร์มีเดีย.

อภัย ราษฎรวิจิตร. 2019. **โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite)**. แหล่งรวมความรู้สุขภาพโรงพยาบาลและแพทย์ [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.haamor.com/th/

โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (15 มิถุนายน 2564)

อรอุมา สองศรี, เยาวพา จิระเกียรติกุล, ภาณุมาศ ฤทธิไชย และอรุณพร อิฐรัตน์. 2556. การฟอกกำจัดเชื้อชิ้นส่วนข้อของ *Dioscorea birmanica* เพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**, 43(2) (พิเศษ), 637-640.

ภาคผนวก

การวิเคราะห์ทางสถิติในการทดลองที่ 1 การทดสอบผลของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อต่อการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ของชิ้นส่วนตาข้าง

1. เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

ANOVA

percent

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22661.061	3	7553.687	4.413	.006
Within Groups	212260.814	124	1711.781		
Total	234921.875	127			

Percentage of microbial contamination

Duncan[a,b]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
mer0.1%,6m	31	6.4516	
mer0.1%,3m	32	15.6250	
Cl15%,15m	33		36.3636
Cl15%,10m	32		37.5000
Sig.		.377	.913

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 31.984.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

2. เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด

ANOVA

Percent

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	59571.107	3	19857.036	10.097	.000
Within Groups	182903.120	93	1966.700		
Total	242474.227	96			

Percentage of shoot induction

Duncan[a,b]

		Subset for alpha = 0.05		
Treatment	N	1	2	3
CI15%,10m	20	20.0000		
CI15%,15m	21	28.5714		
mer0.1%, 3m	27		55.5556	
mer0.1%, 6m	29			82.7586
Sig.		.508	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 23.649.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

การวิเคราะห์ทางสถิติในการทดลองที่ 2 ผลของไซโตไคนินต่อการชักนำให้เกิดยอด

1. วันที่เริ่มเกิดยอด

ANOVA

Initialdaysonshoot

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26.187	4	6.547	12.275	.000
Within Groups	37.333	70	.533		
Total	63.520	74			

Initial days on shoot

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
BA2	15	2.1333	
BA1	15	2.2667	
TDZ0.25	15		3.3333
TDZ0.125	15		3.4000
HF	15		3.4667
Sig.		.619	.642

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

2. จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน

ANOVA

Percent

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.667	4	.417	1.908	.112
Within Groups	31.667	145	.218		
Total	33.333	149			

Number of shoots per explants

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
Treatment	N	1	2
HF	30	2.7333	
BA1	30	2.9333	2.9333
TDZ0.125	30	2.9667	2.9667
TDZ0.25	30		3.0000
BA2	30		3.0333
Sig.		.069	.458

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

1. ความสูงยอด

ANOVA

Shootheight

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.998	4	2.249	3.519	.010
Within Groups	72.234	113	.639		
Total	81.231	117			

Shoot height

Duncan[a,b]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
TDZ0.25	25	2.6000		
TDZ0.125	26	2.7500	2.7500	
HF	19	2.8816	2.8816	2.8816
BA1	20		3.1875	3.1875
BA2	28			3.3125
Sig.		.264	.081	.086

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 23.062.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

การวิเคราะห์ทางสถิติในการทดลองที่ 3 ผลของสภาวะการให้อาหารต่อการเพิ่มปริมาณยอดในระบบ TIB

1. จำนวนยอดใหม่ต่อชิ้นส่วน

number of shoots per explant

Duncan[a,b]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
semi - solid medium	9	.0000		
TIS, 5 min, every 3 h	3		1.6667	
TIS, 20 min, every 3 h	3		1.6667	
TIS, 20 min, every 6 h	6		2.5000	2.5000
TIS, 5 min, every 6 h	6			3.3333
Sig.		1.000	.064	.052

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.500.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

ANOVA

numberofshootsperexplant

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		45.833	4	11.458	30.867	.000
	Linear Term	Unweighted	27.586	1	27.586	74.314	.000
		Weighted	36.408	1	36.408	98.078	.000
		Deviation	9.426	3	3.142	8.464	.001
Within Groups			8.167	22	.371		
Total			54.000	26			

2. ความสูงยอด

ANOVA

shootheight

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		49.359	4	12.340	9.385	.000
	Linear Term	Unweighted	11.414	1	11.414	8.681	.005
		Weighted	11.805	1	11.805	8.978	.005
		Deviation	37.554	3	12.518	9.521	.000
Within Groups			51.278	39	1.315		
Total			100.636	43			

shoot height

Duncan[a,b]

		Subset for alpha = 0.05		
Treatment	N	1	2	3
semi - solid medium	9	4.1111		
TIS, 20 min, every 6 h	9	5.1111	5.1111	
TIS, 20 min, every 3 h	9		5.6667	
TIS, 5 min, every 3 h	8		5.7500	
TIS, 5 min, every 6 h	9			7.3333
Sig.		.075	.278	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.780.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

การวิเคราะห์ทางสถิติในการทดลองที่ 4 ผลของออกซินต่อการชักนำให้ออกรากในอาหารกึ่งแข็งและระบบ TIB

1. จำนวนรากต่อชิ้นส่วน

ANOVA

				Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Number of roots per shoot	Between Groups	(Combined)		232.875	9	25.875	2.226	.065
		Linear Term	Contrast	2.091	1	2.091	.180	.676
			Deviation	230.784	8	28.848	2.482	.047
	Within Groups			232.500	20	11.625		
	Total			465.375	29			

Number of roots pershoot

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
Treatment	N	1	2	3
HF TIB	3	2.3333		
HF semi	3	4.3333	4.3333	
NAA5 semi	3	6.6667	6.6667	6.6667
NAA5 TIB	3	6.6667	6.6667	6.6667
NAA10 TIB	3	7.3333	7.3333	7.3333
IBA5 semi	3	8.0000	8.0000	8.0000
IBA5 TIB	3		9.5000	9.5000
NAA10 semi	3		10.0000	10.0000
IBA10 TIB	3			11.0000
IBA10 semi	3			11.6667
Sig.		.085	.088	.132

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

2. ความยาวราก

ANOVA

				Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Long of root	Between Groups	(Combined)		187.160	9	20.796	4.770	.002
		Linear Term	Contrast	33.385	1	33.385	7.658	.012
			Deviation	153.775	8	19.222	4.409	.003
	Within Groups			87.187	20	4.359		
	Total			274.347	29			

Long of root

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
Treatment	N	1	2	3
NAA10 TIB	3	1.3333		
NAA5 semi	3	1.7667		
NAA10 semi	3	1.7667		
NAA5 TIB	3	1.7667		
IBA5 semi	3	2.2000		
IBA10 semi	3	2.8333		
IBA10 TIB	3	3.3333	3.3333	
IBA5 TIB	3	4.0000	4.0000	
HF TIB	3		7.0000	7.0000
HF semi	3			9.3333
Sig.		.187	.054	.186

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

3. จำนวนยอดใหม่ต่อชิ้นส่วน

ANOVA

				Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Number of shoots per shoot	Between Groups	(Combined)		43.333	9	4.815	3.359	.012
		Linear Term	Contrast	3.398	1	3.398	2.371	.139
			Deviation	39.935	8	4.992	3.483	.011
	Within Groups			28.667	20	1.433		
	Total			72.000	29			

Number of shoots per shoot

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
HF semi	3	1.0000	
IBA5 TIB	3	1.0000	
IBA5 semi	3	1.3333	
NAA5 semi	3	1.3333	
NAA5 TIB	3	1.3333	
NAA10 semi	3	1.6667	
NAA10 TIB	3	1.6667	
IBA10 semi	3	2.0000	
HF TIB	3		4.3333
IBA10 TIB	3		4.3333
Sig.		.381	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

4. ความสูงยอด

ANOVA

				Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
hight shoot	Between Groups	(Combined)		45.147	9	5.016	5.026	.001
		Linear Term	Contrast	.163	1	.163	.163	.690
			Deviation	44.984	8	5.623	5.634	.001
	Within Groups			19.960	20	.998		
	Total			65.107	29			

hight shoot

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
IBA5 TIB	3	5.0000		
NAA5 semi	3	6.5333	6.5333	
NAA5 TIB	3	6.5333	6.5333	
HF semi	3		6.9333	
NAA10 semi	3		7.1333	
IBA5 semi	3		7.3333	
NAA10 TIB	3		7.3333	
IBA10 TIB	3		8.0000	
IBA10 semi	3		8.1000	
HF TIB	3			10.0000
Sig.		.089	.109	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

5. จำนวนใบต่อยอด

ANOVA

				Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Number of leaves	Between Groups	(Combined)		9.200	9	1.022	.247	.982
		Linear Term	Contrast	.004	1	.004	.001	.975
			Deviation	9.196	8	1.149	.278	.966
	Within Groups			82.667	20	4.133		
	Total			91.867	29			

Nuber of leaves

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
NAA10 TIB	3	4.3333
HF semi	3	4.6667
IBA5 semi	3	5.0000
NAA10 semi	3	5.0000
IBA5 TIB	3	5.0000
NAA5 semi	3	5.3333
NAA5 TIB	3	5.3333
IBA10 semi	3	6.0000
HF TIB	3	6.0000
IBA10 TIB	3	6.0000
Sig.		.391

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

การวิเคราะห์ทางสถิติในการทดลองที่ 5 ผลของวัสดุปลูกต่อการปรับสภาพและย้ายปลูกในโรงเรือน

1. จำนวนต้นใหม่ต่อกอ

ANOVA

				Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
New number shoot per clump	Between Groups	(Combined)		.333	3	.111	.133	.937
		Linear Term	Contrast	.067	1	.067	.080	.784
			Deviation	.267	2	.133	.160	.855
	Within Groups			6.667	8	.833		
	Total			7.000	11			

New number shoot per clump

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05 1
soil + sand (1 : 1)	3	.3333
soil + sand + coconut dust (1 : 1 : 3)	3	.3333
soil + sand + rice husk ash (1 : 1 : 3)	3	.6667
soil + sand + coconut dust + pete moss (1 : 1 : 3 : 3)	3	.6667
Sig.		.684

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

2. น้ำหนักสดต่อกอ

ANOVA

				Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Fresh weight	Between Groups	(Combined)		.920	3	.307	3.111	.089
		Linear Term	Contrast	.408	1	.408	4.145	.076
			Deviation	.511	2	.256	2.595	.135
	Within Groups			.788	8	.099		
	Total			1.708	11			

Fresh weight

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
soil + sand (1 : 1)	3	.8067	
soil + sand + rice husk ash (1 : 1 : 3)	3	1.1467	1.1467
soil + sand + coconut dust + pete moss (1 : 1 : 3 : 3)	3	1.2100	1.2100
soil + sand + coconut dust (1 : 1 : 3)	3		1.5867
Sig.		.170	.138

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

3. ความสูงต้น

ANOVA

				Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Hight shoot	Between Groups	(Combined)		41.748	3	13.916	.779	.538
		Linear Term	Contrast	40.311	1	40.311	2.257	.171
			Deviation	1.436	2	.718	.040	.961
	Within Groups			142.916	8	17.864		
	Total			184.663	11			

High tshoot

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05 1
soil + sand (1 : 1)	3	9.9800
soil + sand + rice husk ash (1 : 1 : 3)	3	12.1667
soil + sand + coconut dust (1 : 1 : 3)	3	14.0000
soil + sand + coconut dust + pete moss (1 : 1 : 3 : 3)	3	14.8333
Sig.		.222

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

4. จำนวนใบต่อต้น

ANOVA

				Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Number of leaves	Between Groups	(Combined)		22.150	3	7.383	2.172	.131
		Linear Term	Contrast	3.610	1	3.610	1.062	.318
			Deviation	18.540	2	9.270	2.726	.096
	Within Groups			54.400	16	3.400		
	Total			76.550	19			

Number of leaves

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05
		1
soil + sand (1 : 1)	5	6.6000
soil + sand + coconut dust (1 : 1 : 3)	5	6.6000
soil + sand + coconut dust + pete moss (1 : 1 : 3 : 3)	5	8.6000
soil + sand + rice husk ash (1 : 1 : 3)	5	8.8000
Sig.		.101

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาวพิมลนาฏ สิงหนุกุลกิจ

เกิดเมื่อ 24 เมษายน 2539

ประวัติการศึกษา พ.ศ. 2561 ปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่

พ.ศ. 2556 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนนวมินทราชูทิศ พายัพ เชียงใหม่

ประวัติการทำงาน 2564 - ปัจจุบัน ผู้ช่วยนักวิจัย ในโครงการการวิจัยและพัฒนาตีนฮุ้งดอยพืชสมุนไพรหายากเพื่อการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ องค์การสวนพฤกษศาสตร์

ผลงานทางวิชาการ

1. พิมลนาฏ สิงหนุกุลกิจ, ปวีณา ภูมิสุทธาผล. 2561. การขยายพันธุ์มันเทศญี่ปุ่นสีม่วงในสภาพปลอดเชื้อ. หน้า 302-307. ในงานประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 17 เมื่อวันที่ 19-21 พฤศจิกายน พ.ศ.2561. ณ โรงแรมเชียงใหม่ แกรนด์วิว แอนด์ คอนเวนชั่น เซ็นเตอร์ จังหวัดเชียงใหม่

2. พิมลนาฏ สิงหนุกุลกิจ, ปวีณา ภูมิสุทธาผล. 2563. การชักนำให้เกิดยอดและการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่นในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว. หน้า 105-112. ในงานการประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 17 เมื่อวันที่ 2-3 ธันวาคม พ.ศ. 2563. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน