

การชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากชิ้นส่วนข้อของไผ่ดำ
[*Phyllostachys nigra* (Lodd. Ex. Lindl.) Munro]^{*}

Multiple shoot induction from node segments of black bamboo
[*Phyllostachys nigra* (Lodd. ex. Lindl.) Munro]

Received:	February	21, 2019
Revised:	October	28, 2019
Accepted:	October	4, 2019

ธิดารัตน์ ธัญญศรีรัตน์ (Thidarat Tunyasrirut)^{**}

สุพรรณฎิภา เส็งสาย (Supanyika Sengsai)^{***}

โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธิ (Chockpisit Thepsithar)^{****}

บทคัดย่อ

การชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในไผ่ดำ [*Phyllostachys nigra* (Lodd. ex Lindl.) Munro] โดยใช้ส่วนข้อเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยง มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโต Thidiazuron (TDZ), Kinetin (Kn), 6-Benzyladenine (BA), Indole-3-butyric acid (IBA) และ Naphthaleneacetic acid (NAA) ที่เหมาะสมในอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ และการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากกลุ่มยอด (3 ยอดต่อกลุ่ม) ที่ได้จากข้อ จากการศึกษาพบว่า อาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุด 4.5 ยอดต่อข้อ และพบว่าอาหารเหลวสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากกลุ่มยอด โดยให้จำนวนยอดสูงสุด 18.2 ยอดต่อกลุ่มยอด งานวิจัยนี้เป็นรายงานแรกในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากของไผ่ดำ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการขยายพันธุ์ การเก็บรักษาพันธุ์ และการปรับปรุงพันธุ์ในไผ่ดำในอนาคต

คำสำคัญ : ไผ่ดำ การชักนำให้เกิดยอด สารควบคุมการเติบโต

^{*} เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัย

^{**} นักศึกษาปริญญาโท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม

Graduate Student, Department of Biology, Faculty of Science, Silpakorn University, Muang, Nakhon Pathom 73000, Thailand. Email: Tunyasrirut_t@silpakorn.edu

^{***} ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร., ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม

Assist. Prof., Department of Biology, Faculty of Science, Silpakorn University.

Email: supan12hotmail@gmail.com

^{****} รองศาสตราจารย์ ดร., ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม

Assoc. Prof., Department of Biology, Faculty of Science, Silpakorn University. Email: tchockpis@gmail.com

Abstract

Multiple shoot induction in black bamboo [*Phyllostachys nigra* (Lodd. ex Lindl.) Munro] using node segments as explants was established. The objectives of the research were to investigate the effects of plant growth regulators, Thidiazuron (TDZ), Kinetin (Kn) 6-Benzyladenine (BA), Indole-3-butyric acid (IBA) and Naphthaleneacetic Acid (NAA), supplemented in Murashige and Skoog (MS) medium for inducing shoot from nodes as well as inducing multiple shoots from shoot clusters (3 shoots per cluster) initiated from nodes. It was found that MS medium supplemented with 0.2 mg/L TDZ and 0.5 mg/L IBA provided the highest number of shoots at 4.5 shoots per node segment. However, liquid MS medium supplemented with 0.2 mg/L TDZ and 1.0 mg/L BA was suitable for multiple shoot induction with the highest shoots of 18.2 shoots per shoot cluster. This was the first report for multiple shoot induction in black bamboo that was advantageous for propagation, preservation and black bamboo improvement in the future.

Keywords: black bamboo, multiple shoot induction, plant growth regulator

บทนำ

ไผ่เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว จัดอยู่ในวงศ์หญ้า (วงศ์ Poaceae) จึงนับว่าเป็นพืชตระกูลหญ้าที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในโลก โดยมีถิ่นกำเนิด และการกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติอย่างกว้างขวาง ทั้งในเขตอบอุ่น เขตกึ่งร้อน และเขตร้อน ทั่วโลกมีไผ่ประมาณ 75 สกุล (Genera) 1,250 ชนิด (Species) (Benton, 2015; Kleinhenz & Midmore, 2001) มีการกระจายพันธุ์มากที่สุดในเขตร้อนของเอเชียถึง 45 สกุล 750 ชนิด (Dransfield, 1980) ในประเทศไทยมีประมาณ 12 สกุล 41 ชนิด (Lessard & Chouinard, 1980; Ramyarangsi et al., 1985) ปัจจุบันพบประมาณ 17 สกุล 72 ชนิดกระจายทั่วทุกภาคของประเทศไทย และมีการนำไผ่มาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง (รุ่งนภา และคณะ, 2544; วุฒิ, 2540; สุทัศน์, 2545)

ไผ่ดำ *Phyllostachys nigra* (Lodd. Ex. Lindl.) Munro ชื่อสามัญคือ black bamboo มีถิ่นกำเนิดในไต้หวัน และจีนตอนใต้ (Bamboos of Thailand, 2017; Lewis Bamboo, 2002) มีลำตั้งตรงสูง 3-7 เมตร ปล้องยาว 20-30 เซนติเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเต็มที่ประมาณ 4-5 เซนติเมตร ผิวเกลี้ยงมัน ขณะที่ยังอ่อนมีสีเขียว เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีดำภายใน 2 ปี ภายใต้อากาศที่มีแสง ไผ่ดำมีระบบเหง้าลำเดี่ยวลำไผ่จึงไม่อยู่เบียดกัน ใบเรียวยาวสีเขียว แผ่นใบมีขนาดยาว 6-12 เซนติเมตร กว้าง 2-3 เซนติเมตร รูปหอก (lanceolate) ใบมีส่วนที่กว้างที่สุดอยู่ต่ำกว่ากึ่งกลางใบ และค่อย ๆ แคบสู่ปลายใบ ความยาวมีขนาดเป็นสามเท่าของความกว้าง ขอบใบเรียบ (entire margins) และส่วนมากไม่มีขน (glabrous) การเรียงตัวของใบเป็นแบบสลับ มีกาบหุ้มรอบลำต้นเป็นแผ่นมีขนเล็ก ๆ สีน้ำตาลเข้ม (Lazarides et al., 1997; Lewis Bamboo, 2002; Bamboos of Thailand, 2017; Keys and Fact Sheets, 2017) ไผ่ดำเป็นไผ่ที่สวยงาม ปัจจุบันมีปลูกกระจายอยู่ทั่วไป โดยส่วนใหญ่นิยมปลูกเป็นไม้ประดับตกแต่งตามอาคารบ้านเรือน สถานที่ทำงาน มีความเชื่อปลูกเพื่อเสริมโชคลาภ มากกว่าปลูกไว้กินหน่อ

เหมือนเช่นไม้ชนิดอื่น ๆ เนื่องจากหน่อมีรสขม และราคาจำหน่ายต่อลำมีมูลค่าสูง (อภิวัฒน์, 2556) จากความสวยงามของลำจึงนำมาใช้ทำเฟอร์นิเจอร์แต่ยังไม่เป็นที่แพร่หลายเพราะมีจำนวนน้อย

เนื่องจากไม้เป็นพืชที่ได้รับการพิจารณาว่าเป็นทรัพยากรที่ใช้ไม่หมดสิ้น (renewable resource) สำหรับการผลิตชีวมวล หรือ มวลชีวภาพ biomass) ยิ่งไปกว่านี้ป่าไผ่ยังมีความสำคัญในการเป็นพืชที่มีศักยภาพในการจัดการสิ่งแวดล้อมของโลก (Bystriakova et al., 2004) ดังนั้นการพัฒนาการใช้ประโยชน์ป่าไผ่ที่มีประสิทธิภาพเป็นสิ่งจำเป็น ด้วยเหตุผลเหล่านี้จึงควรมีวิธีที่เหมาะสมในการจัดการป่าไผ่เพื่อให้มีต้นไผ่ไว้ใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนในอุตสาหกรรมต่าง ๆ รวมทั้งการวิเคราะห์สารสำคัญในต้นไผ่สำหรับการผลิตใหม่ๆ สารที่มีประโยชน์ทางสุขภาพ และความงาม เช่น สาร antioxidant, antibacterial หรือ aroma-active compounds ที่วิเคราะห์จากส่วนต่าง ๆ ของต้นไผ่หลายชนิด (Fu et al., 2002; Hu et al., 2000; Nishina et al., 1991) นอกจากนี้มีการพบกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ ในคัลลัส และในยอดของไผ่ดำ (*P. nigra*) (Ogita, 2005)

ในธรรมชาติการขยายพันธุ์ไผ่มีข้อจำกัดเนื่องจากสภาพแวดล้อม ไฟป่า แมลง สัตว์กัดกินเมล็ดพันธุ์ โรคมนุษย์ รวมทั้งสรีรวิทยาการออกดอกของไผ่ที่ต้องใช้ระยะเวลาอันยาวนานมากกว่า 1 ปี และเมื่อออกดอกครบทุกลำไผ่จะตายทั้งกอ (อนันต์, 2534) การตายของต้นไผ่ชาวบ้านเรียกว่า ตายชุย โดยชุยไผ่หมายถึงดอกไผ่ การออกดอกของไผ่ขึ้นกับวงจรชีวิตของไผ่แต่ละชนิด (ปรานอม, 2538) เมื่อเกิดการตายของต้นไผ่ทำให้ต้นพันธุ์ที่ใช้เพื่อการขยายพันธุ์ขาดแคลน ซึ่งการขยายพันธุ์โดยใช้กิ่งแขนง เหง้า และข้อปล้องที่ติดกับลำ ไม่สามารถทำได้อย่างรวดเร็ว สิ้นเปลืองทั้งค่าใช้จ่ายในการขนย้าย และแรงงาน ถึงแม้ว่าการขยายพันธุ์ด้วยวิธีข้างต้นทำให้ได้ปริมาณต้นไผ่พอสมควรแต่ต้องใช้เวลา พื้นที่ และการดูแลเอาใจใส่อย่างมาก

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นการขยายพันธุ์พืชที่มีประสิทธิภาพ และประสบผลสำเร็จในการขยายพันธุ์พืชหลายชนิด โดยสามารถผลิตต้นพันธุ์พืชปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น และพืชที่ได้มีขนาดสม่ำเสมอ การขยายพันธุ์ไผ่ชนิดต่าง ๆ ด้วยวิธีการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก มีการใช้ชิ้นส่วนเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงที่หลากหลาย แต่ชิ้นส่วนเริ่มต้นที่นิยมใช้มากที่สุดคือ ชิ้นส่วนข้อที่มีตา โดยการชักนำให้ตาเติบโตเป็นยอด และนำยอดที่ได้ชักนำมาให้เกิดยอดจำนวนมาก และชักนำให้เกิดราก เป็นต้นที่สมบูรณ์ การชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในระยะที่ไผ่มีการออกดอก และติดเมล็ดนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ส่วนมากใช้เมล็ดหรือเอ็มบริโอจากเมล็ดเพาะเลี้ยงให้เกิดต้น แล้วจึงนำยอดหรือข้อที่ได้ไปชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากและรากต่อไป โดยมีรายงานในไผ่ซาง (*Dendrocalamus strictus*), ไผ่ป่า (*Bambusa arundinaceae*), ไผ่ซางนวล (*Dendrocalamus membranaceus*), ไผ่ Mexican weeping (*Otatea acuminata aztecorum*), ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*), ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*), ไผ่หก (*Dendrocalamus hamiltonii*) และ ไผ่ดำอินโดนีเซีย (*Gigantochloa atroviolacea*) (Alexander & Rao, 1968; Ansari et al., 1996; I. Arya et al., 2012; Das & Rout, 1991; Joshi & Nadgauda, 1997; kumar Ahirwar & Bagchi, 2014; Maity & Ghosh, 1997; Mascarenhas et al., 1988; Nadgauda et al., 1990; Nadgir et al., 1984; Ravikumar et al., 1998; Saxena, 1990; Woods et al., 1992; Yasodha et al., 1997; ยุพิน และคณะ, 2542; Bisht et al., 2010)

งานวิจัยนี้้นำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งเป็นเทคโนโลยีการขยายพันธุ์พืชที่มีประสิทธิภาพ มาใช้ในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากชิ้นส่วนข้อของไผ่ดำ โดยมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาสูตรอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ และยอดจำนวนมาก โดยเปรียบเทียบผลของสารควบคุมการเติบโต Thidiazuron (TDZ), Kinetin (Kn), 6-Benzyl adenine (BA), Indole-3-butyric acid (IBA) และ Naphthaleneacetic acid (NAA) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นรายงานครั้งแรกของการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในไผ่ดำ

วิธีทดลอง

แหล่งของพืชที่ใช้การทดลอง

ใช้ส่วนข้อของไผ่ดำ จากแปลงไผ่ของวิสาหกิจชุมชนนวัตกรรมไผ่บ้านเกาะรัง อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว ประเทศไทย

การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของชิ้นส่วนพืชที่ใช้ในการทดลอง

นำชิ้นส่วนข้อจากกิ่งที่มีตา 1 ตา ของไผ่ดำที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-0.8 เซนติเมตร ยาว 4 เซนติเมตร ล้างด้วยน้ำยาล้างจานเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ และน้ำเปล่าให้สะอาด จุ่มชิ้นส่วนข้อในแอลกอฮอล์เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที โดยเขย่าเบาๆ ทุก 1 นาที ย้ายข้อลงในไฮเตอร์ (6% sodium hypochlorite) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นย้ายลงใน mercuric chloride เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที เขย่าเบาๆ ทุก 1 นาที ล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที นำชิ้นส่วนข้อที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาตัดปลายทั้งสองด้านออกให้เหลือด้านละประมาณ 1.5 เซนติเมตร จากข้อ นำเพาะเลี้ยงบนอาหาร

การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโตในอาหารแข็งต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อของไผ่ดำ

นำชิ้นส่วนข้อที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) (MS) ที่มีสารควบคุมการเติบโต BA เข้มข้น 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ IBA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ TDZ เข้มข้น 0.2 และ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ IBA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ TDZ เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA เข้มข้น 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเติบโตเป็นชุดควบคุม อาหารทุกสูตรเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และวุ้น (gelrite) 2.0 กรัมต่อลิตร ปรับความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.6 ด้วยสารละลาย potassium hydroxide หรือ hydrochloric acid ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล นำไปเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ทำการทดลองสูตรอาหารละ 15 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ข้อ

การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโตในอาหารเหลวต่อการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากกลุ่มยอดของไผ่ดำ

นำกลุ่มยอด 3 ยอดต่อกลุ่มที่ได้จากตาที่ซ้อ โดยยอดมีความสูงประมาณ 2.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเติบโต TDZ เข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 0.2-0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ Kn เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 0.2-0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA เข้มข้น 0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 0.2-0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ IBA เข้มข้น 0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 0.2-0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.25-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเติบโตเป็นชุดควบคุม อาหารทุกสูตรเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ปรับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.6 ปริมาตรอาหาร 8 มิลลิลิตร ตั้งไว้บนชั้นไฟเขย่าเองวันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 2 สัปดาห์ ทำการทดลองสูตรอาหารละ 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 กลุ่มยอด

การขยายเพิ่มปริมาณยอดจำนวนมากของไผ่ดำ

นำกลุ่มยอด (4 ยอดต่อกลุ่ม) ของไผ่ดำที่ได้จากอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มาชักนำต่อให้เกิดยอดจำนวนมากในสูตรอาหารเหลวสูตรเดิมซึ่งเป็นสูตรที่ดีที่สุด เลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 4 สัปดาห์

สภาพการเพาะเลี้ยง

ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีความเข้มแสงประมาณ 35-40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส

การวางแผนการทดลองและการเก็บผลการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomize Design) ทำการบันทึกจำนวนยอดเฉลี่ย และความยาวยอดเฉลี่ย และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range tests (DMRT)

ผลและอภิปรายผลการทดลอง

ผลของสารควบคุมการเติบโตในอาหารแข็งต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อของไผ่ดำ

จากการนำส่วนข้อกิ่งไผ่ดำที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเลี้ยงบนอาหารวุ้น ทั้งหมด 8 สูตรพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ IBA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 4.5 ยอดต่อข้อ (ตารางที่ 1, รูปที่ 1d) ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดเท่ากันคือ 3.8 ยอดต่อข้อ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยในไผ่ขน และไผ่หก ที่ใช้ส่วนข้อจากต้นมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดี (Lin and Chang, 1998; Singh et al., 2012) เมื่อพิจารณาที่

ความยาวยอดพบว่า ยอดที่เกิดขึ้นบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ IBA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงที่สุด โดยมีความยาวเฉลี่ย 2.52 เซนติเมตรต่อยอด ซึ่งไม่แตกต่างจากอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ IBA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ IBA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญ

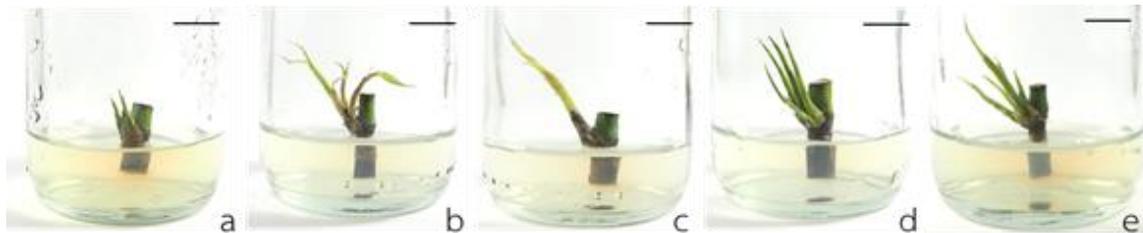
ตารางที่ 1 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ, BA และ IBA ในอาหารสูตร MS ต่อการเกิดยอดจากตาที่ข้อของไผ่ดำ ที่เลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

สารควบคุมการเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)			จำนวนยอดเฉลี่ย/ข้อ*	ความยาวยอดเฉลี่ย/ข้อ ^{*/} (เซนติเมตร)	ลักษณะของยอด
TDZ	BA	IBA			
-	-	-	1.9±0.3 ^{bc}	1.21±0.17 ^d	สีเขียวสั้น
-	2.0	0.5	2.6±0.3 ^b	1.95±0.15 ^{bc}	สีเขียวเหลืองมีขน
-	3.0	0.5	2.1±0.2 ^{bc}	2.52±0.20 ^a	สีเขียวเหลืองมีขนมาก
-	4.0	0.5	1.3±0.2 ^c	1.76±0.27 ^{bc}	สีเหลืองมีขนมาก
0.2	-	0.5	4.5±0.3 ^a	2.22±0.16 ^{ab}	มีสีเขียวยาวเสมอกัน
0.3	-	0.5	3.8±0.4 ^a	2.10±0.12 ^{ab}	สีเขียวยาวไม่เสมอ
0.2	1.0	-	3.8±0.4 ^a	1.51±0.14 ^{cd}	ยาวไม่เสมอกัน มีขนเล็กน้อย
0.2	2.0	-	2.3±0.4 ^b	1.87±0.19 ^{bc}	ยาวไม่เสมอกัน มีขนเล็กน้อย

* ทำการทดลอง 15 ซ้ำ ค่าเฉลี่ย ± SE ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p = 0.05$ วิเคราะห์โดย Duncan's multiple range tests (DMRT)

เมื่อพิจารณาจำนวนยอดเฉลี่ยกับความยาวยอดเฉลี่ยร่วมกัน พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้ค่าเฉลี่ยสูงทั้งสองค่า อีกทั้งลักษณะยอดที่เกิดใหม่ที่แตกต่างจากข้อมีลำต้นเขียว มีความยาวสม่ำเสมอ และสมบูรณ์ (รูปที่ 1d) ทั้งนี้เนื่องจาก TDZ เป็นสารสังเคราะห์กลุ่มพินิลยูเรียที่ออกฤทธิ์คล้ายสารควบคุมการเติบโตพืชประเภทไซโตไคนินที่ส่งเสริมการเกิดยอดใหม่ได้ดี เกี่ยวข้องกับการเพิ่มปริมาณออกซิน และไซโตไคนินภายในเซลล์พืชให้สูงขึ้น การใช้ TDZ ให้มีประสิทธิภาพควรใช้ในปริมาณความเข้มข้นต่ำ (วรารณ, 2552) หรือเกิดผลดีเมื่อใช้ร่วมกับสารควบคุมการเติบโตชนิดอื่น (Sight et al., 2001) และพบว่าให้ผลดีเมื่อใช้ร่วมกับสารควบคุมการเติบโตพืชประเภทออกซินที่กระตุ้นให้เกิดการขยายเซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในไผ่ *B. arundinacea* Retz. โดยเฉพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ประกอบด้วย BAP ซึ่งเป็นสารควบคุมการเติบโตประเภทไซโตไคนินที่ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ถึง 87.2 เปอร์เซ็นต์ (Venkatachalam et al., 2015) แต่จากการทดลองในไผ่ดำนี้พบว่าการเลี้ยงในอาหารที่ใช้ BA ความเข้มข้นที่

สูงๆ ส่งผลให้ยอดที่เกิดขึ้นใหม่มีลำต้นที่มีขนจำนวนมาก มีสีเขียวบนน้ำตาล ดังเช่นที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ที่เข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ IBA ที่เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ 1.3 ยอดต่อข้อ (ตารางที่ 1 รูปที่ 1c) ส่วนอาหารที่มี TDZ ระดับความเข้มข้นต่ำสามารถชักนำยอดได้โดยตรงจากเนื้อเยื่อส่วนข้อที่มีตาติด 1 ตา และให้ยอดใหม่ที่มีสีเขียวแข็งแรง



รูปที่ 1 ยอดที่เกิดขึ้นจากข้อของไผ่ดำที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต TDZ BA และ IBA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ (สเกล = 1 เซนติเมตร)

- a) ชุดควบคุม; b) BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร; c) BA 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร; d) TDZ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร; e) TDZ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ผลของสารควบคุมการเติบโตในอาหารเหลวต่อการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากกลุ่มยอดของไผ่ดำ

จากการเพาะเลี้ยงกลุ่มยอดเฉลี่ย 3 ยอดต่อกลุ่ม ของไผ่ดำที่เกิดจากข้อ ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมด้วยสารควบคุมการเติบโต TDZ Kn BA IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนกลุ่มยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 5.7 ยอดต่อกลุ่มยอด ในเวลา 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 2 รูปที่ 2d) ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารสูตร MS เติมด้วย TDZ เข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตร MS เติมด้วย TDZ เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS เติมด้วย TDZ เข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ที่เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยให้จำนวนกลุ่มยอดเฉลี่ย 5.4 5.4 และ 5.0 ยอดต่อกลุ่มยอดตามลำดับ แต่พบว่าอาหาร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ร่วมกับ Kn กลับให้ผลตรงกันข้ามคือ ให้ปริมาณยอดที่ต่ำกว่าเมื่อเลี้ยงบนอาหารเป็นเวลาถึง 4 สัปดาห์ พบว่ายอดเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (รูปที่ 2c)

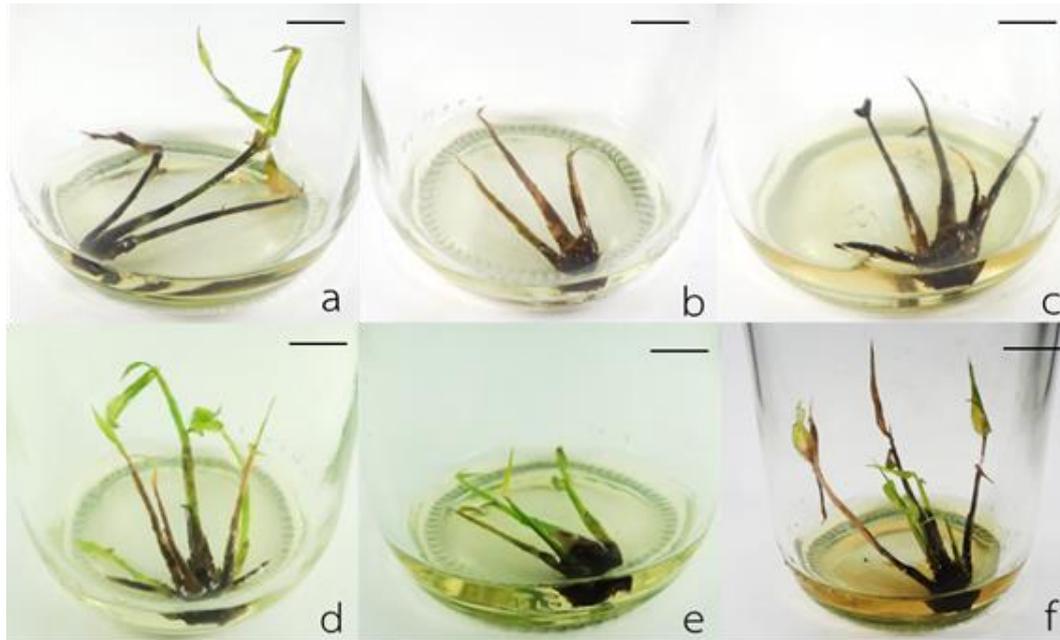
ตารางที่ 2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ Kn BA IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเกิดยอดจากกลุ่มยอดของไผ่ดำที่เลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สารควบคุมการเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)					การเติบโตของกลุ่มยอดเฉลี่ย*			
TDZ	Kn	BA	IBA	NAA	สัปดาห์ที่ 2		สัปดาห์ที่ 4	
					จำนวนยอด	ความยาวยอด (เซนติเมตร)	จำนวนยอด	ความยาวยอด (เซนติเมตร)
-	-	-	-	-	3.6±0.3 ^{abc}	4.56±0.20 ^{bc}	3.6±0.3 ^{cdef}	4.81±0.29 ^{ab}
0.4	-	-	-	-	3.3±0.4 ^{bc}	4.61±0.62 ^{bc}	3.3±0.4 ^{ef}	4.61±0.62 ^{ab}
0.2	0.2	-	-	-	3.3±0.4 ^{bc}	4.62±0.33 ^{bc}	3.5±0.3 ^{def}	4.30±0.32 ^b
0.3	0.2	-	-	-	4.1±0.5 ^{ab}	4.60±0.32 ^{bc}	4.1±0.5 ^{bcdef}	4.75±0.29 ^{ab}
0.3	-	0.5	-	-	4.2±0.2 ^{ab}	4.03±0.13 ^c	5.4±0.3 ^{ab}	3.94±0.23 ^b
0.2	-	1.0	-	-	4.7±0.5 ^a	3.91±0.13 ^c	5.7±0.5 ^a	4.00±0.09 ^b
0.3	-	1.0	-	-	4.6±0.3 ^a	3.96±0.20 ^c	5.0±0.3 ^{abc}	4.18±0.14 ^b
0.2	-	-	0.5	-	3.6±0.3 ^{abc}	3.67±0.42 ^c	4.6±0.5 ^{abcde}	3.90±0.31 ^b
0.2	-	-	1.0	-	2.8±0.1 ^c	5.67±0.38 ^{ab}	4.0±0.4 ^{bcdef}	5.33±0.28 ^a
0.3	-	-	1.0	-	2.8±0.1 ^c	4.46±0.11 ^{bc}	2.8±0.1 ^f	4.68±0.15 ^{ab}
0.2	-	-	-	0.25	3.8±0.5 ^{abc}	6.02±0.93 ^a	4.2±0.6 ^{bcdef}	4.55±0.19 ^{ab}
0.3	-	-	-	0.25	3.2±0.5 ^{bc}	3.77±0.17 ^c	4.8±0.6 ^{abcd}	3.85±0.21 ^b
0.2	-	-	-	0.5	3.6±0.3 ^{abc}	4.50±0.16 ^{bc}	5.4±0.7 ^{ab}	4.41±0.29 ^{ab}

* ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ค่าเฉลี่ย ± SE ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p = 0.05$ วิเคราะห์โดย Duncan's multiple range tests (DMRT)

นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้สารควบคุมการเติบโต TDZ ร่วมกับ NAA ซึ่งเป็นสารควบคุมการเติบโตในกลุ่มออกซินส่งเสริมให้ไผ่ดำมีจำนวนยอดสูง (รูปที่ 2f) แต่พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ อย่างเดียวความเข้มข้นสูงถึง 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 3.3 ยอดต่อกลุ่มยอด ซึ่งต่ำกว่าเมื่อเทียบกับสูตรอาหารควบคุม และยังพบว่ายอดกลายเป็นสีน้ำตาล (รูปที่ 2b) แม้กระทั่งการใช้ TDZ ความเข้มข้นที่สูงขึ้นเท่ากับ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ IBA ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สูงเช่นเดียวกัน ส่งผลให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่ำสุดที่ 2.8 ยอดต่อกลุ่มยอด โดยให้ค่าต่ำที่สุดจากตารางที่ 2 จากผลการทดลองพบว่าการใช้ TDZ อย่างเดียว หรือใช้ร่วมกับสารอื่นต้องคำนึงถึงความเข้มข้นเป็นหลักโดยต้องใช้ในปริมาณที่เหมาะสมสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sight และคณะ (2001) ที่ใช้อาหารเหลวที่เติมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.01-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดในไผ่ชางได้ดีที่สุด จากการทดลองในบางสูตรอาหารที่ใช้ความเข้มข้น TDZ ที่สูง ส่งผลให้ได้จำนวนยอดน้อย นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้สารควบคุมการเติบโต TDZ ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จะให้ผลที่ดีที่สุด โดย TDZ และ BA เป็นสารที่ออก

ฤทธิ์คล้ายกันส่งเสริมกันในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในไผ่ดำ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kapruwan และคณะ (2014) ที่พบว่าการใช้อาหาร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ร่วมกับ BA สามารถชักนำให้ไผ่ชางเกิดยอดจำนวนมากถึง 6.12 ยอด นอกจากนี้ยังพบว่าสอดคล้องกับงานวิจัยเพาะเลี้ยงไผ่ดำอินโดนีเซีย (*Gigantochloa atrovioleacea*) ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ร่วมกับ NAA สามารถชักนำให้ไผ่เกิดยอดจำนวนมากได้ถึง 2.39 เท่า (Bisht et al., 2010) จากการทดลองทั้งหมดพบว่าการใช้สารควบคุมการเติบโต TDZ สามารถส่งเสริมการเกิดยอดจำนวนมากได้ดีในไผ่ดำ



รูปที่ 2 ยอดจากกลุ่มยอดของไผ่ดำที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต TDZ Kn BA IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สเกล = 1 เซนติเมตร)
a) ชุดควบคุม; b) TDZ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร; c) TDZ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร;
d) TDZ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร; e) TDZ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร; f) TDZ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

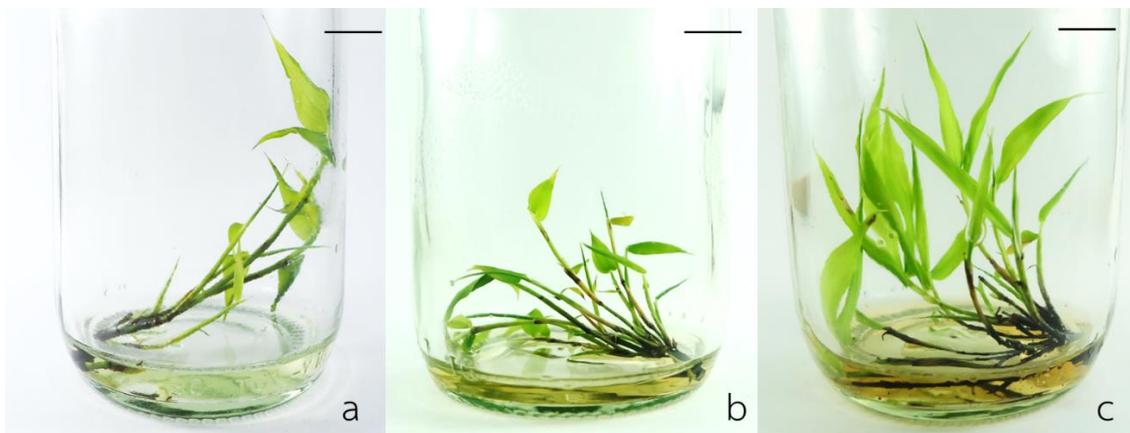
การขยายเพิ่มปริมาณยอดจำนวนมากของไผ่ดำ

นำกลุ่มยอด (4 ยอดต่อกลุ่ม) ของไผ่ดำที่ได้จากอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มาชักนำต่อให้เกิดยอดจำนวนมากในสูตรอาหารเหลวสูตรเดิมซึ่งเป็นสูตรที่ดีที่สุด เลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 4 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มยอดของไผ่ดำเกิดยอดจำนวนมากเพิ่มมากขึ้นเป็นเท่าตัว (ตารางที่ 3) เมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ กลุ่มยอดเฉลี่ยมีจำนวนเพิ่มขึ้นเป็น 7.6 ยอด และเมื่อเลี้ยงต่อไปที่ระยะเวลา 8 และ 12 สัปดาห์ พบว่ามีจำนวนยอดเพิ่มขึ้นเฉลี่ยเท่ากับ 12.6 และ 18.2 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 3, รูปที่ 3a, 3b, 3c) นอกจากนี้ยังพบว่าความยาวยอดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 3) และพบว่ากลุ่มยอดไผ่ดำมีสีเขียว และมีลักษณะสมบูรณ์ เหมาะสำหรับการนำไปชักนำให้เกิดรากต่อไป

ตารางที่ 3 ผลของการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากของไผ่ดำในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 8 และ 12 สัปดาห์

ระยะเวลา (สัปดาห์)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด)*	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซ.ม.)*
4	7.6±0.2 ^c	5.66±0.08 ^c
8	12.6±0.9 ^b	6.42±0.23 ^b
12	18.2±0.5 ^a	7.58±0.19 ^a

*ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ค่าเฉลี่ย ± SE ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p = 0.05$ วิเคราะห์โดย Duncan's multiple range tests (DMRT)



รูปที่ 3 ยอดจำนวนมากที่เกิดจากกลุ่มยอดของไผ่ดำในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา a) 4 สัปดาห์; b) 8 สัปดาห์; และ c) 12 สัปดาห์ (สเกล = 1 เซนติเมตร)

สรุป

การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อไผ่ดำ ให้ผลที่ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต TDZ เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ และอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากกลุ่มยอดคืออาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต TDZ เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ โดย TDZ ที่ในระดับความเข้มข้นต่ำสามารถชักนำยอดได้ดี และมีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากมากขึ้นเมื่อใช้ TDZ ร่วมกับสารควบคุมการเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินหรือกลุ่มออกซิน

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณวิสาหกิจชุมชนนวัตกรรมไผ่บ้านเกาะรัง จังหวัดสระแก้ว ที่เอื้อเฟื้อสถานที่เก็บตัวอย่างไผ่ดำในงานวิจัย และขอขอบคุณคุณประสาน สุขสุทธิ สำนักงานเกษตรจังหวัดสระแก้ว ที่ให้ความรู้ และให้คำปรึกษาเรื่องไผ่และสายพันธุ์ไผ่

References

- Ahirwar, R.K., & Bagchi, S. (2014). In Vitro Micropropagation of *Dendrocalamus Strictus*. *International Journal of Genetic Engineering and Biotechnology.*, 5, 7-13.
- Alexander, M., & Rao, T. R. (1968). In vitro culture of bamboo embryos. *Current science*, 37(14), 415-415.
- Anantachot, A.(1991). “phai nai prathet̄ Thai thī nā rūchak” [Bamboo in Thailand]. bangkok: Department of Forest Management, Faculty of Forestry, Kasetsart University.
- Ansari, S., Kumar, S., & Palanisamy, K. (1996). Peroxidase activity in relation to in vitro rhizogenesis and precocious flowering in *Bambusa arundinacea*. *Current science*, 71(5), 358-359.
- Arya, I., Kaur, B., & Arya, S. (2012). Rapid and mass propagation of economically important Bamboo *Dendrocalamus hamiltonii*. *Indian Journal of Energy*, 1(1), 11-16.
- Bamboos of Thailand. [https://sites.google.com/site/bamboos Thailand/home](https://sites.google.com/site/bamboos-Thailand/home) [Retrieved July 29, 2017]
- Benton, A. (2015). *Priority species of bamboo Bamboo*. (pp. 31-41): Springer.
- Bisht, P., Pant, M., & Kant, A. (2010). In vitro propagation of *Gigantochloa atroviolaceae* Widjaja through nodal explants. *Journal of American Science*, 6, 1019-1026.
- Bystriakova, N., Kapos, V., & Lysenko, I. (2004). *Bamboo biodiversity: Africa, Madagascar and the Americas*: UNEP/Earthprint.
- Chouychai, W. (2009). “botbat̄ khonḡ Thidiazuron nai kan̄ pho, lianḡ nuāyuā phut̄” [Role Thidiazuron in plant tissue culture]. *Journal of Yala Rajabhat University*, 4(2), 123-135.
- Das, P., & Rout, G. (1991). Mass multiplication and flowering of bamboo *in vitro*. *Orissa journal of horticulture*, 19(1/2), 118-121.
- Dransfield, S. (1980). *Bamboo taxonomy in the Indo-Malesian region*. Paper presented at the Bamboo research in Asia: proceedings of a workshop held in Singapore, 28-30 May 1980.
- Fu, S.-G., Yoon, Y., & Bazemore, R. (2002). Aroma-active components in fermented bamboo shoots. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(3), 549-554.
- Hu, C., Zhang, Y., & Kitts, D. D. (2000). Evaluation of antioxidant and prooxidant activities of bamboo *Phyllostachys nigra* var. Henonis leaf extract in vitro. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(8), 3170-3176.

- Joshi, M., & Nadgauda, R. S. (1997). Cytokinins and in vitro induction of flowering in bamboo: *Bambusa arundinacea* (Retz.) Willd. *Current science*, 523-526.
- Kapruwan, S., Bakshi, M., & Kaur, M. (2014). Rapid *in vitro* propagation of the solid bamboo, *Dendrocalamus strictus* nees, through axillary shoot proliferation. *Biotechnology International*, 7(3), 58-68.
- Kentri, Y., Sahawarin, O., Krisnaphut, K. & Tantiwiwat, S. (1999). “phon khōng benzyladenine læ nepthalene acetic acid tō kān phoēm parimān yoṭ læ chaknam hai koēt rak khōngphai tong nai saphāp ploṭ chūā” [Effect of benzyladenine and nepthalene acetic acid on shoot multiplication and root induction of pai tong bamboo (*Dendrocalamus asper* Backer)]. *Thai Science and Technology Journal*, 7(2), 34-40.
- Keys and Fact Sheets. (2011). *Phyllostachys nigra* (Black Bamboo). Retrieved July 29, 2017, from [http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/eafrinet/weeds/key/weeds/Media/Html/Phyllostachys_nigra_\(Black_Bamboo\).htm](http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/eafrinet/weeds/key/weeds/Media/Html/Phyllostachys_nigra_(Black_Bamboo).htm)
- Khamsing, A.(2013). “rāingān phiset thōng kasētdāēndin thin phai tong længmai phon muāng thawān Wadī - sīmahosot phai dam phūt hæng ‘anākhōt pho khāi tham ngoēn taloṭ pī” [Special report on agriculture land of bamboo forest, fruit trees Muang Dvaravati - Sri Mahosot, "Black Bamboo", the plant of the future cultivated for sale making money throughout the year]. Retrieved July 29, 2017, from <https://www.technologychaoban.com/inner.php?section=13&QueryString=value& Page =22>
- Kleinhenz, V., & Midmore, D. J. (2001). Aspects of bamboo agronomy *Advances in Agronomy* (Vol. 74, pp. 99-153): Academic Press.
- Laosakun, S. (2002). “phai sēthakit thī nāsonchāi nai prathēt Thai rāingān kānsammanā thāng won watthana witthayā khrang thī chēt” [Interesting economy bamboo in Thailand 7th Silvicultural Seminar]. Bangkok: forest research and development bureau.
- Lazarides, M., Cowley, K. and Hohnen, P. (1997). *CSIRO Handbook of Australian Weeds*. CSIRO Publishing, Collingwood, Victoria
- Lessard, G., & Chouinard, A. (1980). *Bamboo research in Asia: proceedings of a workshop held in Singapore, 28-30 May 1980*: IDRC, Ottawa, ON, CA.
- Lewis Bamboo, Inc. Copyright © 2002-2019 All rights reserved. U.S. Code TX-701-177, Dec. 3rd. 2002. Retrieved July 29, 2017, from <https://lewisbamboo.com/>
- Lin, C. S., & Chang, W. C. (1998). Micropropagation of *Bambusa edulis* through nodal explants of field-grown culms and flowering of regenerated plantlets. *Plant cell reports*, 17(8), 617-620.

- Maity, S., & Ghosh, A. (1997). Efficient plant regeneration from seeds and nodal segments of *Dendrocalamus strictus* using in-vitro technique. *Indian Forester*, 123(4), 313-318.
- Mascarenhas, A., Nadgir, A., Thengane, S., Phadke, C., Khuspe, S., Shirgurkar, M., Nadgouda, R. (1988). *Potential application of tissue culture for propagation of Dendrocalamus strictus*. Paper presented at the Bamboos, Current Research, Proc. Intl. Bamboo Workshop, Cochin, India.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.
- Nadgouda, R., Parasharami, V., & Mascarenhas, A. (1990). Precocious flowering and seeding behaviour in tissue-cultured bamboos. *Nature*, 344(6264), 335-336.
- Nadgir, A., Phadke, C., Gupta, P., Parsharami, V., Nair, S., & Mascarenhas, A. (1984). Rapid multiplication of bamboo by tissue culture. *Silvae Genetica*. 33(6), 219-223.
- Nishina, A., Hasegawa, K., Uchibori, T., Seino, H., & Osawa, T. (1991). 2, 6-Dimethoxy-p-benzoquinone as an antibacterial substance in the bark of *Phyllostachys heterocycla* var. Pubescens, a species of thick-stemmed bamboo. *Journal of agricultural and food chemistry*, 39(2), 266-269.
- Ogita, S. (2005). Callus and cell suspension culture of bamboo plant, *Phyllostachys nigra*. *Plant Biotechnology*, 22(2), 119-125.
- Phatthanawibun, R., Phuriyakorn, B. & Sathitwiboon, W. (2001). “phai nai prathet Thai” [Bamboos in Thailand]. bangkok: forest research and development bureau.
- Phruethaphong, P.(1995). “phai taikhui panha thi tong kaekhai”. Retrieved July 29, 2017, from <http://www.ku.ac.th/www/ED/book/001/pranom1.html>
- Ramyarangsi, S., Rao, A., Dhanarajan, G., & Sastry, C. (1985). *Bamboo research in Thailand*. Paper presented at the Recent Research on Bamboos, Proceedings of the International Bamboo Workshop, Hongzhou.
- Ravikumar, R., Ananthakrishnan, G., Kathiravan, K., & Ganapathi, A. (1998). *In vitro* shoot propagation of *Dendrocalamus strictus* Nees. *Plant cell tissue and organ culture*, 52(3), 189-192.
- Saxena, S. (1990). *In vitro* propagation of the bamboo (*Bambusa tulda* Roxb.) through shoot proliferation. *Plant cell reports*, 9(8), 431-434.
- Singh, M., Jaiswal, U., & Jaiswal, V., S. (2001). Thidiazuron-induced Shoot Multiplication and Plant Regeneration in Bamboo (*Dendrocalamus strictus* Nees). *journal of plant biochemistry and biotechnology*, 10, 133 – 137.

- Singh, S. R., Dalal, S., Singh, R., Dhawan, A., & Kalia, R., K. (2012). Seasonal influences on in vitro bud break in *Dendrocalamus hamiltonii* Arn. ex Munro nodal explants and effect of culture microenvironment on large scale shoot multiplication and plantlet regeneration. *Indian Journal of Plant Physiology*, 17, 9-21.
- Venkatachalam, P., Kalaiarasi, K., & Sreeramanan, S. (2015). Influence of plant growth regulators (PGRs) and various additives on in vitro plant propagation of *Bambusa arundinacea* (Retz.) Wild: A recalcitrant bamboo species. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 13(2), 193-200.
- Woods, S. H., Phillips, G. C., Woods, J. E., & Collins, G. B. (1992). Somatic embryogenesis and plant regeneration from zygotic embryo explants in Mexican weeping bamboo, *Otatea acuminata* aztecorum. *Plant cell reports*, 11(5-6), 257-261.
- Wuthamavej, W. (1997). “ruām lak phēsatchakam Thai sārānukrom samunphrai” [Including major pharmaceutical Thailand Encyclopedia of Herbs]. bangkok: Odeon Store Publisher.
- Yasodha, R., Sumathi, R., Malliga, P., & Gurumurthi, K. (1997). Genetic enhancement and mass production of quality propagules of *Bambusa nutans* and *Dendrocalamus membranaceous*. *Indian Forester*, 123(4), 303-306.