

การชักนำให้เกิดคัลลัสจากชิ้นส่วนข้อในไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’
(*Dendrocalamus sericeus* Munro)*

Callus induction from node explants in Sang Mon ‘Nuan Rajinee’
bamboo (*Dendrocalamus sericeus* Munro)

Received:	February	27, 2019
Revised:	October	25, 2019
Accepted:	October	28, 2019

ดวงฤทัย ปราสาททอง (Duangruethai Prasatthong)**

สุพรรณฤฎิภา เสงี่ยม (Supanyika Sengsai)***

โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธา (Chockpisit Thepsithar)****

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโตต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากชิ้นส่วนข้อของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ (*Dendrocalamus sericeus* Munro) โดยนำชิ้นส่วนข้อมาเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ให้จำนวนยอดและความยาวยอดสูงสุด 3.9 ยอด และมีความยาวยอด 3.40 เซนติเมตร นำชิ้นส่วนยอดมาชักนำให้เกิดคัลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ kinetin (KN) ความเข้มข้น 0.5 มก/ล และ indole butyric acid (IBA) ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตรให้เปอร์เซ็นต์การเกิดคัลลัส 100 เปอร์เซ็นต์ ขนาดคัลลัส 0.83 ซม. มีลักษณะคัลลัสแบบ compact จากนั้นนำคัลลัสมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3.0 หรือ 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ KN ความเข้มข้น 2.0 หรือ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าคัลลัส 70 เปอร์เซ็นต์ มีการขยายขนาดเพิ่มขึ้น 0.94 ซม. มีลักษณะคัลลัสแบบ compact จากนั้นกลุ่มนำคัลลัสมาชักนำให้เกิดยอดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากที่สุด 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ย 6.0 ยอดต่อกลุ่มคัลลัส

คำสำคัญ : ไผ่ซางหม่น การชักนำให้เกิดคัลลัส การชักนำให้เกิดยอด

* เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัย

** นักศึกษาปริญญาโท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร อ.เมือง จ.นครปฐม

Graduate Student, Department of Biology, Faculty of Science, Silpakorn University, Mueang, Nakhon Pathom, 73000, Thailand. E-mail: Duangruethai.pr@gmail.com

*** ผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร อ.เมือง จ.นครปฐม

Assistant Professor Dr., Department of Biology, Faculty of Science, Silpakorn University. Mueang, Nakhon Pathom, 73000, Thailand. E-mail: supan12hotmail@gmail.com

**** รองศาสตราจารย์.ดร. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร อ.เมือง จ.นครปฐม

Associate Professor Dr., Department of Biology, Faculty of Science, Silpakorn University. Mueang, Nakhon Pathom, 73000, Thailand. E-mail: tchockpis@gmail.com

Abstract

Effects of plant growth regulators on callus induction from node segments of Sang Mon ‘Nuan Rajinee’ bamboo (*Dendrocalamus sericeus* Munro) were investigated. Firstly, Nodal explants were cultured on Murashige and Skoog (MS) supplemented with 3.0 mg/l BA for 2 weeks. The results showed that MS medium supplemented with 3.0 mg/l BA gave the highest number of shoot and shoot length at 3.9 shoots with 3.40 cm. Secondly, shoots obtained from nodal explants were cultured on MS medium supplemented with 5.0 mg/l 2,4-D in combination with 0.5 mg/l KN and 0.4 mg/l BA provided 100 percent callus forming with highest callus size (0.83 cm.) and compact callus was obtained. Subsequently, callus clusters were proliferated on MS medium supplemented with 3.0 mg/l 2,4-D in combination with 2.0 mg/l KN giving 70 percent of callus clusters that proliferated with 0.94 cm. increase. Lastly, shoots were induced from callus clusters on MS medium supplemented 1.0 mg/l BA in combination with 0.3 mg/l KN and 0.3 mg/l NAA forming the highest shoot number at 6.0 shoots per callus cluster.

Keywords: *Dendrocalamus sericeus*, callus induction, shoot induction

บทนำ

ไผ่เป็นพืชเมืองร้อน ส่วนใหญ่พบในเขตร้อนทางใต้และตะวันออกเฉียงใต้ของเอเชียจาก อินเดีย ไทย จีน ญี่ปุ่น เกาหลี พบน้อยที่สุดในเขตอบอุ่น บางส่วนของทวีปอเมริกาและแถบอเมริกาใต้ เช่น เปอโตริโก ชิลี อาร์เจนตินา และมี 2-3 ชนิดที่พบในออสเตรเลีย ไผ่ทั่วโลกมีประมาณ 80-90 สกุล (Genera) 1,500 ชนิด (species) (Benton, 2015) สำหรับในประเทศไทยมี 17 สกุล 72 ชนิด และคาดว่าจะยังมีบางชนิดที่หลงเหลือจากการสำรวจ (รุ่งนภา และคณะ, 2544; สำนักงานพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ, 2554)

ไผ่จัดอยู่ใน Phylum Spermatophyta, Subphylum Angiosperms, Class Monocotyledons, Order Graminales, Family Poaceae และ Subfamily Bambusoideae ไผ่เศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญในปัจจุบันคือไผ่ขางหม่น (*Dendrocalamus sericeus* Munro) (The International Plant Name Index, 1868; Clayton et al., 2006) ไผ่ขางหม่น เป็นไผ่สายพันธุ์พื้นเมืองที่พบมากเฉพาะในพื้นที่ภาคเหนือ แถบจังหวัด เชียงใหม่ แพร่ ลำปาง และลำพูน แต่ด้วยลักษณะพิเศษที่ลำมีขนาดใหญ่ ลำตรง แข็งแรง เนื้อไม้หนา สวยงาม ทำให้ไผ่ขางหม่นกลายเป็นที่ต้องการของตลาด นิยมนำมาผลิตเป็นเฟอร์นิเจอร์ไม้ไผ่คุณภาพดี จนเป็นที่ขนานนามว่า เพชรแห่งล้านนา (ศูนย์ข้อมูลการเรียนรู้การเกษตรและวิถีธรรมชาติสำหรับชีวิตสมัยใหม่, 2011) ส่วนไผ่ขางหม่น ‘นวลราชินี’ เป็นโคลนของไผ่ขางหม่นที่ได้รับการคัดเลือกและปลูกในจังหวัดสระแก้ว

ไผ่ขางหม่นจัดเป็นไผ่ขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ มีขนาดลำใหญ่ เมื่อโตเต็มที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-7 นิ้ว ลำไม้ไผ่เรียวยาว มีความยาว 15-20 เมตร เนื้อไม้หนา 1.5 -3 เซนติเมตร ข้อค่อนข้างถี่ บริเวณลำมีสีเขียว มีคราบของแป้งสีขาวหรือขาวต่าง ๆ หรือสีขาวหม่น (สวนเกษตรน่าน, 2014) การขยายพันธุ์ไผ่ขางหม่นนิยมใช้การตอนกิ่งแขนงข้างดีที่สุด รองลงมาคือการชำลำแบบแนวนอน สามารถเก็บหน่อได้หลังจากปลูกไปได้ 1 ปี และตัดขายลำ

ได้เมื่ออายุ 4 ปี จากนั้นตัดลำแก่ได้ทุกปี (ศูนย์ข้อมูลการเรียนรู้การเกษตรและวิถีธรรมชาติสำหรับชีวิตสมัยใหม่, 2011) ขณะนี้ไผ่ขางหม่นเป็นไผ่ที่ได้รับความสนใจและมีต้องการของตลาดมากขึ้น ปัจจุบันการผลิตกล้าไผ่ขางหม่นยังไม่เพียงพอต่อความต้องการ และส่วนใหญ่เกษตรกรที่ปลูกก็มักเป็นการปลูกไผ่ตามบ้านในปริมาณน้อย ไม่ได้ทำในเชิงพาณิชย์อย่างจริงจัง ทำให้ไผ่ขางหม่นขาดตลาด

ประเทศไทยมีการนำไผ่มาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง เช่น นำหน่อมาประกอบอาหาร ใช้ลำต้นทำวัสดุก่อสร้าง เครื่องจักสาน เครื่องใช้ในครัวเรือน เฟอร์นิเจอร์ ยารักษาโรค และใช้ทางด้านการเกษตร เช่น ใช้เป็นไม้ค้ำยัน ปลูกเป็นแนวกันลมหรือปลูกเป็นแนวริมน้ำ เพื่อป้องกันการพังทลายของดิน ตลอดจนใช้เป็นวัตถุดิบให้กับโรงงานอุตสาหกรรมกระดาษ (สุทัศน์, 2537; รุ่งนา และคณะ, 2544) เมื่อมีการนำไผ่มาใช้ประโยชน์มากมาย ทำให้พื้นที่ป่าไผ่ถูกทำลายและลดปริมาณลง ด้วยเหตุนี้ความจำเป็นที่ต้องปลูกไผ่เพื่อใช้ประโยชน์จึงทวีความสำคัญมากขึ้น การสำรวจในอดีตพบว่าไผ่ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศอยู่มากมายหลายชนิด เช่น ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) ไผ่รวก (*Thysostachys siamensis*) ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) และไผ่เลี้ยง (*B. glaucescens*) (สุทัศน์, 2537) ซึ่งมีไผ่ที่อยู่ในภาวะขาดแคลน คือ ไผ่ขางหม่น (*D. sericeus*)

สำหรับการชักนำให้เกิดคลัสในไผ่ มีผู้ทำการศึกษาในไผ่หลายชนิด เมื่อได้คลัสจึงพัฒนาคลัสให้เป็นยอดและทำให้อยอดออกรากต่อไป โดยการใช้ชิ้นส่วนเริ่มต้นในการชักนำให้เกิดคลัสที่แตกต่างกันได้แก่ ชิ้นส่วนยอดจากข้อใน *D. hamiltonii* (ไผ่หก), *B. edulis* และ *D. farinosus* (Godbole et al., 2002; Bag et al., 2012; Lin et al., 2004; Hu et al., 2001) การชักนำให้เกิดคลัสจากเมล็ดในไผ่ *D. stictus*, *B. vulgaris*, *D. giganteus* และ *T. siamensis* (Rao et al., 1985; Saxena, 1990; Rout and Das, 1994; สุริดา, 2534) *B. blumeana*, *Schizostachyum brachyandum* (ไผ่ทอง) และ *B. ventricosa* (ไผ่น้ำเต้า) การชักนำให้เกิดคลัสจากชิ้นส่วนใบ (นิมมวล, 2528; ธิดา, 2534; Cheah and Chaille, 2011) นอกการชักนำให้เกิดคลัสจากละอองเรณูในไผ่ *Sinocalamus latiflora* และดอกช่อเทียม (pseudospikelets) ในไผ่ *B. edulis* (Tsay et al., 1990; Lin et al., 2003; Gielis et al., 2004; Lin et al., 2004) โดยการชักนำให้เกิดคลัสนั้นใช้สารควบคุมการเติบโตในกลุ่มออกซิน เช่น 2,4-D และ picloram (Chang, 1991)

อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการชักนำให้เกิดคลัสในไผ่ขางหม่น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นการรายงานครั้งแรกในการศึกษาการชักนำให้เกิดคลัสในไผ่ขางหม่น ‘นวลราชินี’ จากชิ้นส่วนข้อ ซึ่งจะเป็ประโยชน์ในการขยายพันธุ์ การเก็บรักษาสายพันธุ์ และการปรับปรุงพันธุ์ไผ่ขางหม่นในอนาคต

วิธีการศึกษา

พืชทดลอง

ไผ่ขางหม่น ‘นวลราชินี’ อายุ 6 ปี นับจากวันปลูก จากแปลงปลูกไผ่เพื่อการใช้ประโยชน์ของวิสาหกิจชุมชนนวัตกรรมไผ่บ้านเกาะรัง อำเภอลำลูกเกด จังหวัดสระแก้ว
สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลอง

อาหารกึ่งแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) (Murashige & Skoog, 1962) ที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-เบสที่ pH 5.6 เต็มวุ้น (gelrite) ความเข้มข้น 2.2 กรัมต่อลิตร นิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อของไม้ข้างหม่น ‘นวลราชินี’

นำชิ้นส่วนข้อมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.4 – 0.8 เซนติเมตร จากกิ่งแขนง นำมาทำการฟอกฆ่าเชื้อโดยทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจาน ล้างด้วยน้ำเปล่าให้สะอาด แล้วนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นย้ายชิ้นส่วนข้อลงฟอกฆ่าเชื้อในไฮเตอร์ (6% sodium Hypochlorite) 10 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 10 นาที แล้วย้ายลง mercuric chloride 0.1 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 15 นาที และล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที นำข้อที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาตัดให้มีขนาด 5 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 6-benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 15 ข้ว เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโตต่อการชักนำให้เกิดคลัสจากชิ้นส่วนข้อไม้ข้างหม่น ‘นวลราชินี’

นำยอดที่ได้จากส่วนข้อที่มีความสูง 4.0 – 5.0 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงข้อในอาหารกึ่งแข็งสูตรที่ชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด มาตัดตามขวางให้มีส่วนยอดติดมาด้วยขนาด 0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม glutamine 500 มิลลิกรัมต่อลิตร proline 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ casein hydrolysate 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติมสารควบคุมการเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และนำออกมาในที่ที่มีแสงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณคลัสของไม้ข้างหม่น ‘นวลราชินี’

นำคลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ชักนำให้เกิดคลัสได้ดีที่สุด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3.0 และ 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงชนิดเดียว หรือ 2,4-D ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 1.0, 5.0 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคลัสของไม้ข้างหม่น ‘นวลราชินี’

นำคลัสจากอาหารที่เพิ่มปริมาณคลัสได้ดีที่สุด ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงชนิดเดียวหรือร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ NAA ความเข้มข้น 0.3 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 0.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่เติม KN ความ

เข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

สภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง

ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายใต้ความเข้มแสงประมาณ $35-40 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomize Design) ทำการเก็บผลการทดลอง และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

ผลการทดลอง

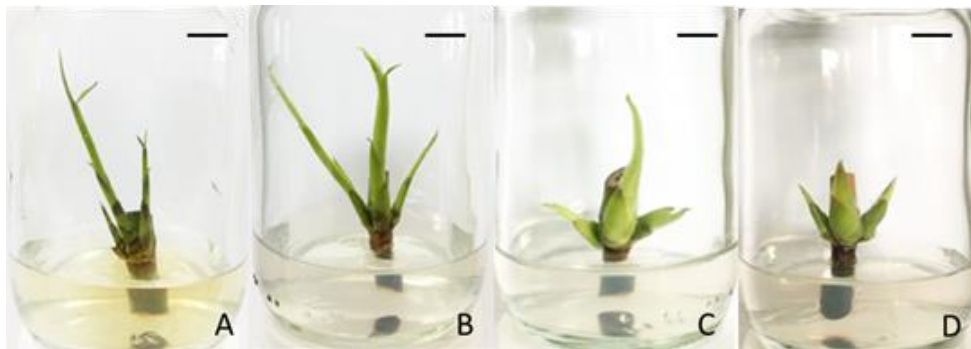
ผลของสารควบคุมการเติบโต BA ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อของไผ่ชางหม่น ‘นวลราชินี’

นำชิ้นส่วนข้อจากกิ่งแขนง ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นำไปเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ BA สูงขึ้น จำนวนยอดลดลง โดยจำนวนยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดและความยาวยอดสูงที่สุด และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญคือ 3.9 และ 3.1 ยอดต่อข้อ ตามลำดับ และให้ความยาวยอด 3.4 และ 2.5 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 1; รูปที่ 1B และ 1C) ซึ่งแตกต่างอาหารที่ปราศจาก BA และอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งให้จำนวนยอด 2.4-2.5 ยอดต่อข้อ มีความยาวยอด 1.68-1.93 เซนติเมตร (ตารางที่ 1; รูปที่ 1A และ 1D) อย่างไรก็ตาม อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ยอดที่มีลักษณะ ยาว เรียว สีเขียว (รูปที่ 1B) ส่วนยอดที่ได้จากอาหารที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ยอดสั้น ใบคล้ำออก ยอดมีสีเขียวเหลือง (รูปที่ 1C และ 1D) ส่วนอาหารที่ปราศจาก BA ให้จำนวนยอดและความสูงยอดน้อยที่สุด โดยลักษณะของยอดเรียว ใบหนาและมีสีเขียวเข้ม (รูปที่ 1A)

ตารางที่ 1 ผลของ BA ในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อของไผ่ชางหม่น ‘นวลราชินี’ ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนยอด*	ความสูงยอด* (เซนติเมตร)
0	2.4 ± 0.6^b	1.68 ± 1.30^b
3	3.9 ± 1.1^a	3.40 ± 0.95^a
4	3.1 ± 1.5^{ab}	2.50 ± 1.90^{ab}
5	2.5 ± 1.1^b	1.93 ± 0.85^b

*ทำการทดลอง 15 ซ้ำ; ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) วิเคราะห์โดย DMRT



รูปที่ 1 ผลของ BA ในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของไฟเชิงหม่น ‘นวลราชินี’ เพาะเลี้ยง

เป็นเวลา 2 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม A) ชุดควบคุมปราศจาก BA; B) BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัม

ต่อลิตร; C) BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร; D) BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (สเกล = 1 เซนติเมตร)

ผลของสารควบคุมการเติบโตต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากชิ้นส่วนยอดจากข้อของไฟเชิงหม่น ‘นวลราชินี’

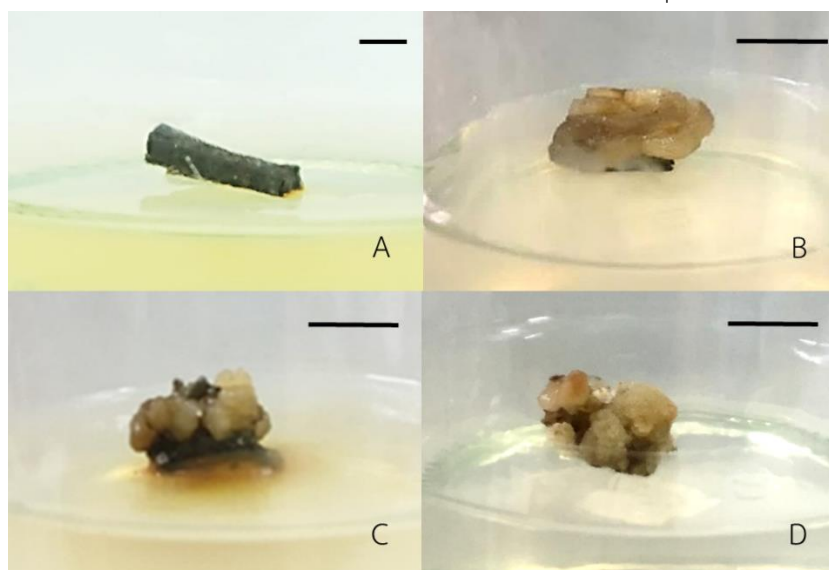
นำชิ้นส่วนยอดจากข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีความสูง 3.0 – 4.0 เซนติเมตร มาตัดตามขวางให้มีความยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ KN และ IBA หรือ 2,4-D ร่วมกับ BA และ NAA เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเติบโต ไม่พบการเกิดคัลลัส (ตารางที่ 2, รูปที่ 2A) ส่วนอาหารที่เติมสารควบคุมการเติบโตทุกสูตรชักนำให้เกิดคัลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และให้คัลลัสขนาด 0.51-0.83 เซนติเมตร มีสีขาวเหลือง (ตารางที่ 2) โดยคัลลัสเกิดที่บริเวณรอยตัดและที่ยอด อย่างไรก็ตามอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดคัลลัสได้มากที่สุด โดยร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยให้คัลลัสที่มีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์เกาะกันแน่น (compact callus) ขนาด 0.83 เซนติเมตร และคัลลัสลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์เกาะกันแบบหลวมๆ แยกออกจากกันได้ง่าย (friable callus) ขนาด 0.80 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2, รูปที่ 2B) การเกิดคัลลัสส่วนใหญ่เป็นคัลลัสแบบ compact ยกเว้นอาหารที่เติม 2,4-D (ความเข้มข้น 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้คัลลัสลักษณะที่เป็นกลุ่มเซลล์นุ่มใสและฉ่ำน้ำ (mucilaginous callus) (ตารางที่ 2; รูปที่ 2C) ส่วนอาหารที่เติม 2,4-D (ความเข้มข้น 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้คัลลัสแบบ friable (ตารางที่ 2; รูปที่ 2D)

ตารางที่ 2 ผลของ 2,4-D, KN, BA, IBA, NAA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากส่วนยอดของไผ่ชางหม่น ‘นวลราชินี’ ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์

สารควบคุมการเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)					การเกิดคัลลัส		
2,4-D	KN	BA	IBA	NAA	% การเกิดคัลลัส	ขนาดคัลลัส (เซนติเมตร)*	ลักษณะคัลลัส**
-	-	-	-	-	0	-	-
1.0	0.5	-	0.4	-	100	0.55±0.07 ^c	compact
1.0	2.0	-	0.4	-	100	0.51±0.21 ^c	compact
3.0	0.5	-	0.4	-	100	0.67±0.17 ^{ab}	compact
3.0	2.0	-	0.4	-	100	0.54±0.30 ^{bc}	mucilaginous
5.0	0.5	-	0.4	-	100	0.83±0.26 ^a	compact
5.0	2.0	-	0.4	-	100	0.67±0.22 ^{ab}	mucilaginous
2.0	-	2.0	-	0.5	100	0.52±0.06 ^c	compact
3.0	-	2.0	-	0.5	100	0.58±0.21b ^c	compact
4.0	-	1.0	-	0.5	100	0.55±0.21b ^c	friable
5.0	-	1.0	-	0.5	100	0.80±0.84 ^a	friable

*ทำการทดลอง 15 ซ้ำ; ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± SE) ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังนี้ไม่มี ความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) วิเคราะห์โดย DMRT

**compact callus = คัลลัสลักษณะเป็นกลุ่มก้อนเกาะกันแน่น; friable callus = คัลลัสลักษณะเป็นกลุ่มก้อนเกาะกันแบบหลวม ๆ แยกออกจากกันได้ง่าย; mucilaginous callus = คัลลัสลักษณะเป็นกลุ่มก้อนนิ่ม ใส และฉ่ำน้ำ



รูปที่ 2 ผลของ 2,4-D, KN, IBA, NAA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากส่วนยอดของไผ่ขางหม่น ‘นวลราชินี’ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ (สเกล = 16 เซนติเมตร) A) ปราศจากสารควบคุมการเติบโต; B) 2,4-D ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (compact callus) C) 2,4-D ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (mucilaginous callus); D) 2,4-D ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (friable callus)

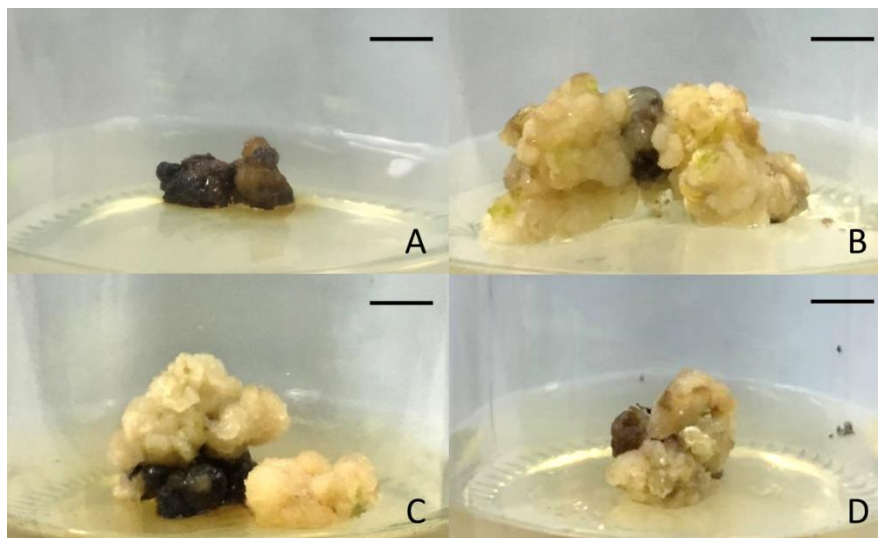
ผลของสารควบคุมการเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณคัลลัสของไผ่ขางหม่น ‘นวลราชินี’

นำกลุ่มคัลลัสแบบ compact ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1.0 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3.0 และ 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ KN ความเข้มข้น 1.0, 2.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่าอาหารทุกสูตรทำให้คัลลัสมีการเติบโต 30-70 เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มคัลลัส (ตารางที่ 3) โดยอาหารที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มคัลลัสที่มีการเติบโตสูงที่สุด 70 เปอร์เซ็นต์ แต่อาหารที่เติม 2,4-D และ KN ให้ขนาดของคัลลัสแบบ compact เพิ่มมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ 0.94 เซนติเมตร ขณะที่อาหารที่เติม 2,4-D และ BA ให้ขนาดของคัลลัสแบบ compact เพิ่มขึ้น 0.43 เซนติเมตร (ตารางที่ 3; รูปที่ 3B และ 3C) ส่วนสารควบคุมการเติบโตกลุ่มอื่นทำให้กลุ่มคัลลัสมีการเติบโตระหว่าง 30-60 เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มคัลลัส และให้ขนาดของคัลลัสที่เพิ่มขึ้น 0.10-0.44 เซนติเมตร และอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเติบโตให้การเพิ่มขนาดของคัลลัสน้อยที่สุด 0.09 เซนติเมตร และให้คัลลัสแบบ mucilaginous ที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำ (ตารางที่ 3; รูปที่ 3A) นอกจากนี้อาหารที่เติมสารควบคุมการเติบโตในความเข้มข้นที่สูง (2,4-D ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร) ให้คัลลัสแบบ mucilaginous ที่มีสีเหลืองออกน้ำตาล (ตารางที่ 3; รูปที่ 3D)

ตารางที่ 3 ผลของ 2,4-D, KN, IBA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการขยายคัลลัสของไผ่ชางหม่น ‘นวลราชินี’ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

สารควบคุมการเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)			การเติบโตของคัลลัส			
2,4-D	BA	KN	% กลุ่มคัลลัสที่มีการเติบโต	ขนาดคัลลัสที่เพิ่มขึ้น* (เซนติเมตร)	สีของคัลลัส	ลักษณะคัลลัส
0	0	0	40	0.09±0.07 ^c	น้ำตาลดำ	mucilaginous
3.0	0	2.0	70	0.94±0.54 ^a	ขาวเหลือง	compact
3.0	1.0	0	70	0.43±0.28 ^b	ขาวเหลือง	compact
6.0	0	1.0	60	0.44±0.15 ^b	ขาวเหลือง	compact
6.0	0	5.0	40	0.11±0.13 ^c	เหลืองน้ำตาล	compact
6.0	0	10.0	30	0.10±0.40 ^c	เหลืองน้ำตาล	mucilaginous

* ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± SE) ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P = 0.05$) วิเคราะห์โดย DMRT



รูปที่ 3 ผลของ 2,4-D, KN, BA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการขยายคัลลัสของไผ่ชางหม่น ‘นวลราชินี’ ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม A) ปราศจากสารควบคุมการเติบโต; B) 2,4-D 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร; C) MS ประกอบด้วย 2,4-D 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร; D) 2,4-D 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สเกล = 0.5 เซนติเมตร)

ผลของสารควบคุมการเติบโตต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัสของไผ่หางหม่น ‘นวลราชินี’

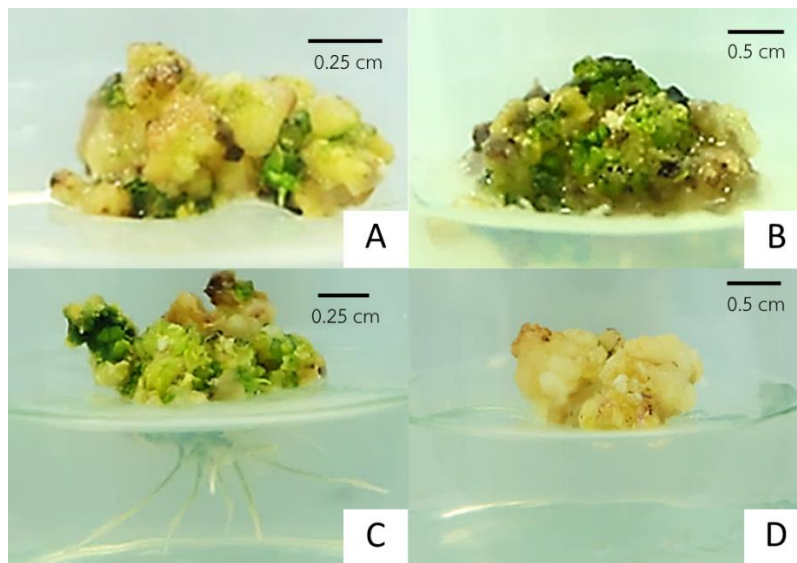
นำคัลลัสแบบ compact ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.0 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติมสารควบคุมการเติบโตในกลุ่มไซโทไคนิน (BA และ/หรือ KN) ร่วมกับสารควบคุมการเติบโตในกลุ่มออกซิน (2,4-D หรือ IBA หรือ NAA หรือ IAA) ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ คัลลัสเริ่มเปลี่ยนจากสีขาวเหลืองเป็นสีเขียว และในเวลา 12 สัปดาห์ คัลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BA เพียงอย่างเดียว, BA ร่วมกับ IBA, BA ร่วมกับ KN และ NAA, KN ร่วมกับ NAA หรือ IAA คัลลัสมีการพัฒนาไปเป็นยอดและ/หรือราก โดยในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มคัลลัสที่เจริญไปเป็นยอดมากที่สุด 50 เปอร์เซ็นต์ และให้จำนวนยอดขนาดเล็กสูงที่สุด 5.9 ยอด โดยมียอดขนาดน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 มิลลิเมตร จำนวน 5.3 ยอด และยอดขนาดมากกว่า 2 มิลลิเมตร จำนวน 0.3 ยอด (ตารางที่ 4, รูปที่ 4A)

ตารางที่ 4 ผลของ 2,4-D, BA, KN, IBA, NAA ในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

สารควบคุมการเติบโต						การเติบโตและการพัฒนาของคัลลัส					
(มิลลิกรัมต่อลิตร)						การเกิดยอด				การเกิดราก	
BA	KN	2,4-D	IBA	NAA	IAA	%กลุ่ม คัลลัส	จำนวนยอด			%กลุ่ม คัลลัส	จำนวน ราก
							ทั้งหมด	≤2.0 มม.	>2.0 มม.		
-	-	-	-	-	-	0	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a	10	0.7±2.2 ^b
2.0	-	-	-	-	-	20	1.2±2.5 ^{bc}	1.2±2.5 ^{ab}	0.0±0.0 ^a	0	0.0±0.0 ^c
2.0	-	-	0.5	-	-	40	3.2±4.4 ^{abc}	3.2±4.5 ^{ab}	0.4±1.3 ^a	0	0.0±0.0 ^c
1.0	0.3	-	-	0.3	-	50	5.9±7.1 ^a	5.6±7.2 ^a	0.3±0.9 ^a	10	0.2±0.6 ^c
1.0	0.3	-	-	0.5	-	20	2.3±4.9 ^{abc}	2.3±4.9 ^{ab}	0.0±0.0 ^a	10	0.0±0.3 ^c
-	0.5	-	-	1.0	-	10	0.6±1.9 ^c	0.6±1.9 ^c	0.0±0.0 ^a	40	2.8±6.8 ^{ab}
-	2.0	-	-	1.0	-	30	5.6±9.9 ^{ab}	5.6±9.9 ^a	0.0±0.0 ^a	40	3.8±5.0 ^a
-	2.0	-	-	-	1.0	20	1.4±3.3 ^{abc}	1.4±3.3 ^{ab}	0.0±0.0 ^a	10	0.1±0.3 ^c
-	2.0	2.0	-	-	-	0	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a	0	0.0±0.0 ^c
-	2.0	3.0	-	-	-	0	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^c	0.0±0.0 ^a	0	0.0±0.0 ^c

* ทำการทดลอง 10 ซ้ำ, ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± SE) ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P=0.05) วิเคราะห์โดย Duncan's Multiple Rang Test

อาหารสูตรอื่นสามารถชักนำให้กลุ่มคัลลัสเกิดยอดได้ 10-40 เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มคัลลัส และให้จำนวนยอดระหว่าง 0.6-5.6 ยอดต่อกลุ่มคัลลัส (ตารางที่ 4, รูปที่ 4B) นอกจากนี้พบว่ากลุ่มคัลลัสที่เกิดยอด ยังมีการพัฒนาเกิดรากด้วย 10-40 เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มคัลลัส ในเวลา 4 สัปดาห์ของการเพาะเลี้ยง โดยให้จำนวนรากระหว่าง 0.1-3.8 ราก (ตารางที่ 4; รูปที่ 4C) ยกเว้นในอาหารที่เติม BA เพียงอย่างเดียว และ BA ร่วมกับ IBA ที่ไม่เกิดรากเลย ส่วนอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 หรือ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีการเกิดทั้งยอดและราก (ตารางที่ 4; รูปที่ 4D) สำหรับอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเติบโต พบการเกิดรากเพียงอย่างเดียว 10 เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มคัลลัส และให้จำนวนราก 0.7 รากต่อกลุ่มคัลลัส



รูปที่ 4 ผลของ 2,4-D, BA, KN, IBA, NAA ในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัสเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม A) BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร KN ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร; B) BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร KN 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร; C) KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร; D) KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

อภิปรายผลการทดลอง

จากการศึกษาสารควบคุมการเติบโตในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากตาที่ข้อของไผ่ขางหม่น ‘นวลราชินี’ พบว่าเมื่อนำชิ้นส่วนข้อจากกิ่งแขนงมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ให้จำนวนยอดและความสูงของยอดมากที่สุด คือ 3.9 ยอด และ 3.92 เซนติเมตร ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการชักนำตาที่ข้อของไผ่ *D. asper* ให้เกิดยอดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดมากที่สุด 4.83 ยอดต่อข้อ (Singh et al., 2012) และการเพาะเลี้ยงตาที่ข้อของไผ่รวกบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 13.50 ยอดต่อข้อ และมีความยาวยอดมากที่สุด 2.53 เซนติเมตร

(อภิศักดิ์, 2549) เนื่องจาก BA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนิน ที่ทำหน้าที่ส่งเสริมการแบ่งเซลล์ ขยายขนาดของเซลล์ และกระตุ้นการแตกของตาข้าง (Werner et al., 2001) และจากการทดลองที่เพิ่มความเข้มข้นของ BA ให้สูงขึ้น (4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ทำให้ความสูงของยอดลดลง ยอดที่ได้มีลักษณะสั้น มีสีเหลืองเขียว ใบแผ่กางออกเร็ว และเกิดการตายของยอดเมื่อทำการเพาะเลี้ยงนานขึ้น ซึ่งคล้ายกับผลการทดลองของ Singh และคณะ (2012) ที่พบว่าการให้ BA ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น ทำให้ความยาวยอดสั้นลง ยอดมีสีเหลือง และยอดตายในเวลาต่อมา

สารควบคุมการเติบโตที่เหมาะสมในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดคลัสต์จากข้อเฝ้างหม่น ‘นวลราชินี’ ในการทดลองนี้คือ อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดคลัสต์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดเฉลี่ยมากที่สุด 0.83 เซนติเมตร ซึ่งการเติม 2,4-D ร่วมกับ BA ชักนำให้เกิดคลัสต์ได้น้อยกว่าเมื่อ 2,4-D ร่วมกับ KN เนื่องจาก 2,4-D เป็นสารควบคุมการเติบโตที่มีฤทธิ์เป็นออกซิน ชักนำให้เกิดคลัสต์และโซมาติกเอ็มบริโอ และปริมาณของ 2,4-D มีผลต่อการเกิดคลัสต์ ซึ่งความเข้มข้นที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของพืช (Zang 2016) โดยความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เหมาะสมในการทดลองนี้ คือ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร คล้ายกับในไม้ *D. hamiltonii* พบว่าความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดคลัสต์มากที่สุด คือ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อความเข้มข้นน้อยหรือมากเกินไปจะทำให้การเกิดคลัสต์น้อยลง และเมื่อเติม 2,4-D ร่วมกับ BA พบว่า เปอร์เซ็นต์การเกิดคลัสต์น้อยลงเมื่อเติม BA 1.0-4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ไม่เติม BA (Zang, 2016) คล้ายกับผลการทดลองของ Devi และคณะ 2012 เพาะเลี้ยงเมล็ดของไม้ *D. giganteus* เพื่อชักนำให้เกิดคลัสต์ พบว่า 2,4-D ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดคลัสต์ได้ดี 82.5 เปอร์เซ็นต์ และคลัสต์สามารถเกิดออกาโนเจนซิสได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 0.2-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และการชักนำให้เกิดคลัสต์ในไผ่รวก *Thyrsostachys siamensis* พบว่าอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดคลัสต์ได้ 90 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดเฉลี่ยมากที่สุด 0.54 เซนติเมตร (อภิศักดิ์, 2549) อย่างไรก็ตามในการทดลองของ Hu และคณะ (2011) ทำการชักนำให้เกิดคลัสต์ในไม้ *D. farinosus* บนอาหารที่เติม 2,4,5-T ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดคลัสต์ 96 และ 29.7 เปอร์เซ็นต์ ในเมล็ดและยอดตามลำดับ

สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณคลัสต์ของข้อเฝ้างหม่น ‘นวลราชินี’ คืออาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร คลัสต์ที่ขยายเพิ่มขึ้นมีสีขาวเหลือง เป็นแบบ compact คล้ายกับผลการทดลองของ Zang และคณะ (2016) ในไม้ *Mniocloa abersend* ที่ชักนำให้เกิดคลัสต์จากชิ้นส่วนยอดจากตาข้าง และขยายคลัสต์ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว และร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0.1-1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร คลัสต์มีการขยายเพิ่มมากที่สุด และเมื่อความเข้มข้นของ 2,4-D เพิ่มขึ้นทำให้การขยายคลัสต์ลดลงเนื่องจากคลัสต์มีสี

น้ำตาล แต่แตกต่างจากผลการทดลองที่ชักนำให้เกิดคัลลัสและขยายคัลลัสในไม้ *Drepanostachyum luodianense* คัลลัสที่นำมาขยายมีสีเหลือง และมีลักษณะแบบ compact พบว่ามีการขยายเพิ่มขึ้น 73.3 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร คัลลัสที่ได้ส่วนใหญ่เกิดโซมาติกเอ็มบริโอและเจริญพัฒนาต่อไปได้ดี (Lin et al., 2018)

สำหรับการชักนำให้เกิดยอดจากคัลลัสพบว่า คัลลัสเริ่มเปลี่ยนจากสีขาวเหลืองเป็นสีเขียวในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติมสารควบคุมการเติบโตในกลุ่มไซโทไคนิน (BA และ/หรือ KN) ร่วมกับสารควบคุมการเติบโตในกลุ่มออกซิน (2,4-D หรือ IBA หรือ NAA หรือ IAA) พบว่าคัลลัสมีการพัฒนาไปเป็นยอดและราก โดยในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าคัลลัสมีการเจริญพัฒนาไปเป็นยอดมากที่สุด 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ย 6.0 เซนติเมตร มียอดขนาดน้อยกว่า 2 มิลลิเมตร จำนวน 5.7 ยอด และยอดขนาดมากกว่า 2 มิลลิเมตร จำนวน 0.3 ยอด ซึ่งไม่แตกต่างจากสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเลี้ยงต่อไป พบว่ายอดไม่มีการพัฒนา คือ ยอดไม่ยืดยาว ซึ่งคล้ายกับผลการทดลองของ Zang et al. (2016) ที่นำคัลลัสของไม้ *D. hamiltonii* มาชักนำให้เกิดยอดในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากที่สุด 51.65 เปอร์เซ็นต์ คัลลัสมีสีเหลืองเขียว คัลลัสพัฒนาไปเป็นยอดและยอดยืดยาวขึ้น และการเพาะเลี้ยงไม้ *Mniochloa abersend* (Zang et al., 2016) โดยย้ายคัลลัสลงเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ KT และ NAA พบว่าคัลลัสสามารถพัฒนาเป็นยอดในอาหารทุกสูตร แต่ในอาหารสูตรที่เติม KT ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดจำนวนยอดเฉลี่ย 25 ยอด แตกต่างจากสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ แต่แตกต่างจากรายงานการเพาะเลี้ยงไม้ทอง (*Schizostachyum brachyandum*) และไม้สีสุก (*B. blumeana*) ทำการเพาะเลี้ยงคัลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดยอด (สุริดา, 2534) และสำหรับไม้ *D. farinosus* ชักนำคัลลัสให้เกิดยอดบนอาหารสูตร MS ที่เติม KN 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอด 91.2 เปอร์เซ็นต์ ได้จำนวนยอด 6.34 ยอดต่อกลุ่มคัลลัส ยอดมีความยาว 5.36 เซนติเมตร (Hu et al., 2011)

สรุป

จากการศึกษาการชักนำให้เกิดคัลลัสจากชิ้นส่วนยอดของไผ่หางหม่น ‘นวลราชินี’ โดยนำชิ้นส่วนยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด จากนั้นนำชิ้นส่วนยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดคัลลัส โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดคัลลัส 100 เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มคัลลัส ได้คัลลัสขนาด 0.83 เซนติเมตร ลักษณะคัลลัสเป็นแบบ compact และทำการเพิ่มปริมาณคัลลัสโดยการเพาะเลี้ยงกลุ่มคัลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ขนาดคัลลัสที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย 0.94 ซม. ลักษณะคัลลัสเป็นแบบ compact นำคัลลัสมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดคัลลัสมากที่สุด 50 เปอร์เซ็นต์ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 6.0 ยอด จากการศึกษานี้ผู้วิจัยจะทำการศึกษาการชักนำให้ยอดจากคัลลัสเจริญยืดยาวขึ้น เพื่อนำไปชักนำให้เกิดรากต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณประสาน สุขสุทธิ์ หัวหน้ากลุ่มงานอารักขาพืช สำนักงานเกษตรจังหวัดสระแก้ว วิสาหกิจชุมชนนวัตกรรมไผ่บ้านเกาะรัง อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว รศ.ดร.โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธิ อาจารย์ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร และงานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานบริหารการวิจัยนวัตกรรมและการสร้างสรรค์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562

References

- Bag, N., Palni, L. M. S., Chandra, S., & Nandi, S. K. (2012). Somatic embryogenesis in 'Maggar'bamboo (*Dendrocalamus hamiltonii*) and field performance of regenerated plants. *Curr Sci*, 102, 1279-1287.
- Benton A. 2015. Priority species of bamboo. *Bamboo The Plant and its Uses*, 31-42. Retrieved July 22, 2018, from <https://www.springer.com/cda/content/.../9783319141329-c2.pdf>.
- Biodiversity-based economy development office. (2001). yutthasāt kānchatkān mai phai choēng phānit [Strategic Bamboo Management], Retrieved July 22, 2019, from http://bantanthai.blogspot.com/2011/06/blog-post_17.html
- Chang, W.C. (1991). *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Springer. Berlin, Heidelberg, New York.
- Chanthanurak, S. (1991). kānliāng nūāyūā phai : phon khōng 2, sī - D , NAA , læ BAP toḥ kānkoēt khanlat læ yōḥ [Bamboo tissue culture: effect of 2,4-D, NAA and BAP on callus and shoot formation], Kasetsart University.
- Cheah K. T, & Chaille, L. C. (2011). Somatic embryogenesis from mature *Bambusa ventricosa*. *Honolulu (HI): University of Hawaii*, Biotechnology Series; BIO-11, 1-5.
- Clayton, W.D., Vorontsova, M.S., Harman, K.T. & Williamson, H. (2006). *The Online World Grass World Grass Flora*. Retrieved July 22, 2018, <http://www.kew.org/data/grasses-db.html>.
- Dejwisit, S. (1994). mai phai samrap khon rakphai [Bamboo for bamboo lovers], Bangkok: Agro Commune Publisher.
- Devi, W.S., Bengyella, L. and Sharma, G.J. (2012). *In vitro* seed germination and micropropagation of edible bamboo *Dendrocalamus giganteus* Munro using seed. *Biotechnology* 11(2): 74-80
- Dongmanee, A. (2006). kān khayāi phan phai rūāk (*Thyrostachys siamensis*) doī kān phoḥ liāng nūāyūā [Micropropagation of Pai Ruak (*Thyrsostachys siamensis*)], Silpakorn University.
- Gielis, J., Woods, J. E., Woods, S. H., & Oprins, J. (2002). Micropropagation, synthetic seeds and germplasm storage of bamboos. *United State Patent Application Publication*, 1-13.
- Godbole, S., Sood, A., Thakur, R., Sharma, M., & Ahuja, P. S. (2002). Somatic embryogenesis and its conversion into plantlets in a multipurpose bamboo, *Dendrocalamus hamiltonii* Nees et Arn. Ex Munro. *CURRENT SCIENCE*, 83(7), 855-899.

- Hu, S., Zhou, J., Cao, Y., Lu, X., Duan, N., Ren, P., & Chen, K. (2001). *In vitro* callus induction and plant regeneration from mature seed embryo and young shoots in a giant sympodial bamboo, *Dendrocalamus farinosus*. *African Journal of Biotechnology*, 10(16), 3210-3215.
- Hu, S., Zhou, J., Cao, Y., Lu, X., Duan, N., Ren, P., & Chen, K. (2011). *In vitro* callus induction and plant regeneration from mature seed embryo and young shoots in a giant sympodial bamboo, *Dendrocalamus farinosus* (Keng et Keng f.) Chia et H.L. *African Journal of Biotechnology*, 10(16), 3210-3215.
- Information Center for Learning Agriculture and Natural. (2011). phaisāng mon [Phai Sang Mon], Retrieved July 22, 2019, https://www.ifarm.in.th/index.php?option=com_mtree&task
- Lin, C. C., Lin, C. S., & Chang, W. C. (2003). *In vitro* flowering of *Bambusa edulis* and subsequent plantlet survival. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 72(1), 71-78.
- Lin, C. S., Lin, C. C., & Chang, W. C. (2004). Effect of thidiazuron on vegetative tissue-derived somatic embryogenesis and flowering of bamboo *Bambusa edulis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 76(1), 75-82.
- Lin. S., Liu. G., Guo. T., Zhang. Li., Wang. S. & Ding. Y. (2018). Shoot proliferation and callus regeneration from nodular buds of *Drepanostachyum luodianense*. *Journal of Forestry Research*, 30(2).
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.
- Nanbamboo. (2014). phaisāng mon [Phai Sang Mon], Retrieved July 22, 2019, from <https://kasetnan.wordpress.com/2014/05/28/ไผ่ซางหม่น-2/>
- Phatthanawibun, R., Phuriyakorn, B., Sathitwibun W. (2001). mai phai nai prathet Thai [Bamboos in Thailand], Bangkok: Silviculture Research Division, Forest Research Office.
- Rao, I. U., Rao, I. R., & Narang, V. (1985). Somatic embryogenesis and regeneration of plants in the bamboo *Dendrocalamus strictus*. *Plant cell reports*, 4(4), 191-194.
- Rout, G., & Das, P. (1994). Somatic embryogenesis and in vitro flowering of 3 species of bamboo. *Plant Cell Reports*, 13(12), 683-686.
- Saxena, S. (1990). In vitro propagation of the bamboo (*Bambusa tulda* Roxb.) through shoot proliferation. *Plant Cell Reports*, 9(8), 431-434.

- Singh, S. R., Dalal, S., Singh, R., Dhawan, A. K., & 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.
- The International Plant Names Index (1868) Poaceae *Dendrocalamus sericeus* Munro. *Trans. Linn. Soc London* 26(1), 148.
- Tsay, H.-S., Yeh, C., & Hsu, J. (1990). Embryogenesis and plant regeneration from anther culture of bamboo (*Sinocalamus latiflora* (Munro) McClure). *Plant cell reports*, 9(7), 349-351.
- Wasana, N. (1985). kǎnliǎng nǔyǎuǎ ‘ōk khōngphai sīsuk [Aseptic culture of a yong leaf segment of *Bambusa blumeana*], Kasetsart University.
- Werner, T., Motyka, V., Strnad, M., & Schmulling, T. (2001). Regulation of plant growth by cytokinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(18), 10487-10492.
- Zang, Q., Jiao, Y., Guo, X., Zhuge, F., Yeh, K & Lin, X. (2016). Callus induction and plant regeneration from lateral shoots of herbaceous bamboo *Mniochloa abersend*, *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 92(2), 168-174.
- Zang, Q., Zhou, L., Zhuge, F., Yang, H., Wang, X., & Lin, X. (2016). Callus induction and regeneration via shoot tips of *Dendrocalamus hamiltonii*. *SpringerPlus*, 5(1), 1799.