รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่หวานอ่างขาง เพื่อผลิตต้นกล้าแบบอุตสาหกรรม

Tissue culture technique improvement of Taiwan Giant Bamboo (*Dendrocalamus latiflorus* Munro) for industrial production.

ยุพา มงคลสุข	หัวหน้าโครงการ
วิลาสินี กวีกิจธรรมกุล	ผู้ร่วมโครงการ
รุ่งอรุณ สุ่มแก้ว	ผู้ร่วมโครงการ
ปฏิมา ลิขิตธรรมนิตย์	ผู้ร่วมโครงการ
มะลิวัลย์ ธนสมบัติ	ผู้ร่วมโครงการ
เจษฎา วงค์พรหม	ผู้ร่วมโครงการ
พนิดา วงษ์แหวน	ผู้ร่วมโครงการ

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประเภทโครงการวิจัยพื้นฐาน

ประจำปี 2547 – 2549 จากมูลนิธิโครงการหลวง

บทคัดย่อ

จากการสำรวจพื้นที่ปลูกและเก็บรวบรวมชิ้นส่วนตัวอย่างไผ่หวานอ่างขางในพื้นที่สถานีเกษตรหลวง มูลนิธิโครงการหลวง ได้ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ไผ่ หน่อ และตาจากกิ่งแขนงสำหรับใช้ในการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั้งหมด 4,120 เมล็ด 23 หน่อ และ 1,588 ตา ตามลำดับ การทดสอบการงอกของเมล็ดพบว่ามีการงอกโดยเฉลี่ย 56 เปอร์เซ็นต์ เจริญเป็นต้นกล้าปกติเฉลี่ย 13.1 เปอร์เซ็นต์ การพัฒนาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์บริเวณผิวของชิ้นส่วนไผ่หวานอ่างขาง โดยการนำเมล็ดมาทำการฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้คลอรอกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาทีในครั้งที่ 1 และคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาทีในครั้งที่ 2 ได้เมล็ดที่ปราศจากเชื้อ 95 เปอร์เซ็นต์ การฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวตาจากยอดอ่อนพบว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 40 นาทีทำให้ชิ้นส่วนพืชมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุด 53.3 เปอร์เซ็นต์แต่ตาข้างเหล่านี้ไม่สามารถพัฒนาเป็นยอดใหม่ได้ การฟอกฆ่าเชื้อตาจากแขนงแก่ที่เหมาะสมคือการแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 80 นาที ได้ชิ้นส่วนที่รอดชีวิต 93.8 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าชิ้นส่วนตาจากแขนงแก่สามารถเติบโตได้เร็วกว่าตาจากยอดอ่อน การเพิ่มปริมาณยอดไผ่ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าอาหาร MS ที่เติม BA, NAA, Kn เท่ากับ 4, 1และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ร่วมกับ CW 8 มิลลิลิตรต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 8.0 ยอด/กอ การเพาะเลี้ยงไผ่หวานอ่างขางโดยใช้เทคนิคระบบการจมชั่วคราว(Temporary Immersion System) มีผลให้อัตราการขยายจำนวนยอดเฉลี่ยของไผ่สูงกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง 6.5 เท่า ระยะเวลาการได้รับสารละลายอาหารมีผลต่อการเพิ่มปริมาณยอดโดยการให้ยอดไผ่ได้รับสารละลายอาหารนาน 5 นาที ทุกๆ 3 ชั่วโมงมีผลให้ได้อัตราการเพิ่มปริมาณยอดสูงสุด 7.75 เท่า จากการทดลองการชักนำการออกรากของไผ่ พบว่ามีอาหารสูตรเดียว คืออาหารสูตร MS ดัดแปลงที่ใช้ IBA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ชักนำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 40 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ย 1.3 รากต่อกอ ระยะเวลาเฉลี่ยที่เกิดรากคือ 37 วัน และพบว่าจำนวนต้นไผ่ 5 ต้น/กอ เป็นจำนวนต้นที่เหมาะสมในการแยกกอเนื่องจากมีการรอดตาย 100 เปอร์เซนต์ และแตกหน่อใหม่ได้ดีที่สุด คือ 4.5 หน่อต่อกอ ในระยะเวลา 3 เดือน

คำสำคัญ : ไผ่หวานอ่างขาง, การขยายพันธุ์, ระบบการจมชั่วคราว, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตรมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute, Kasetsart University

ABSTRACT

Survey and collection of Taiwan Giant Bamboo (*Dendrocalamus latiflorus* Munro) explant from the Royal Agricultural Station was studied by using 4,120 seeds, 23 young shoots and 1,588 nodal buds in tissue culture. The average percentage of seed germination was 56% and 13.1% of germinated seeds could develop to be the normal seedlings. The proper micropropagation was studied. In Vitro germination of the seeds were surface sterilized with 15 % of sodium hypochlorite in sonicator for 15 minutes and then sterilized the second time with 5% of sodium hypochlorite in sonicator for 20 minutes. The result was found 95% cleaned seeds. The nodal buds were surface sterilized with 20% of sodium hypochlorite in sonicator for 40 minutes which was the best method that gave 53.33 percents survival rate. But the buds could not grow up into the shoots. And buds from old shoot were surface sterilized with 20% of sodium hypochlorite in sonicator for 80 minutes that gave 93.75 percents survival rate and the nodal buds from old shoots were grown up better than the nodal buds from young shoot. The shoot multiplication of Taiwan giant bamboo were induced on MS medium supplemented BA, NAA, Kn 4, 1, 1 mg/l and CW 8 ml/l respectively. The result indicated that this medium gave 8.0 shoots/clump in average. The various conditions of culture were studied, liquid medium with temporary immersion system(TIS) for 5 mins. in every 3 hrs.(TIS_2) gave the highest of shoot multiplication number 7.75x and better than the shoot multiplication number from semi-solid medium 6.5x. It was found that the only MS medium supplemented with 3 mg/l IBA and 1 mg/l NAA gave the maximum root formation 40%, 1.3 roots per clump within 37 days in average. The result of clump separation of Taiwan Giant Bamboo for inducing shoot was found that the suitable amount of shoots was 5 shoots/clump that gave 100% survival rate and 4.5 young shoots per clump after 3 months.

Key Words : *Dendrocalamus latiflorus*, Micropropagation,, Temporary immersion system(TIS)

กิติกรรมประกาศ

ปรากฏการณ์ออกดอกและตายขุยของไผ่ตงเป็นพื้นที่กว้างในปี 2537 ทำให้เจ้าของสวนไผ่และผู้ประกอบการอุตสาหกรรมแปรรูปและใช้ประโยชน์ไผ่ได้รับผลกระทบรุนแรงจากรายได้และวัตถุดิบที่ลดลงและขาดความสม่ำเสมอ จึงมีความพยายามหาไม้ไผ่ชนิดอื่นที่มีศักยภาพ เพื่อเสริมความมั่นคงของอาชีพการปลูกสร้างสวนไม้ไผ่และทำรายได้ที่คุ้มค่ากับการลงทุนซึ่งไผ่หวานอ่างขางหรือหมาจู๋ถือเป็นไผ่เศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพสูงเนื่องจากผลผลิตสามารถตอบสนองความต้องการของตลาดเหมาะสำหรับการส่งเสริมการปลูกเชิงพาณิชย์ แต่การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการใช้ตอหรือเหง้า การปักชำลำหรือข้อ การตอนกิ่งแขนง และการแยกกอจากกล้าขนาดเล็กที่ได้จากการเพาะเมล็ดไม่เพียงพอต่อการปลูกเชิงพาณิชย์อีกทั้งการขยายพันธุ์โดยวิธีไม่อาศัยเพศตามวิธีที่ได้กล่าวข้างต้นเป็นการต่ออายุจากต้นพันธุ์เดิม ทำให้กล้าไผ่มีอายุการปลูกเหมือนต้นแม่พันธุ์ และเนื่องจากในสภาพธรรมชาติดอกไผ่หวานอ่างขางมีการผสมติดยากได้เมล็ดจำนวนน้อย ตลอดจนให้ต้นกล้าปกติในอัตราต่ำดังนั้นการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อช่วยผลิตต้นกล้าให้ได้ต้นกล้าจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้นจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะทำให้มีต้นกล้าคุณภาพดีที่เพียงพอต่อการขยายพื้นที่ปลูกในอนาคต ด้วยเหตุนี้มูลนิธิโครงการหลวงจึงได้ให้ทุนอุดหนุนวิจัยประเภทโครงการวิจัยพื้นฐาน ประจำปี 2547 – 2549 เพื่อทำการศึกษาเกี่ยวกับไผ่หวานอ่างขางโดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อผลิตต้นกล้าแบบอุตสาหกรรม เพื่อให้เกิดประโยชน์ในการพัฒนาเทคนิคการขยายพันธุ์ไผ่หวานอ่างขางด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และการศึกษาวิจัยในระดับสูงต่อไป

ขอขอบคุณมูลนิธิโครงการหลวงในการให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้ และขอบคุณสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ทำให้การวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ซึ่งผลการวิจัยนี้จะก่อให้เกิดประโยชน์เป็นอย่างยิ่ง ในการส่งเสริมการปลูกสร้างสวนไผ่เชิงเศรษฐกิจ และเป็นการส่งเสริมให้มีการปลูกสร้างสวนป่าไผ่มากขึ้นอันจะเป็นการเพิ่มพื้นที่สีเขียวให้แก่ประเทศไทยต่อไป

นางยุพา มงคลสุข

สถาบันผลิตผลเกษตรฯ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มีนาคม 2550

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญภาพ	(2)
สารบัญตาราง	(3-4)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	16
ผลและวิจารณ์	25
สรุป	45
เอกสารอ้างอิง	47
ภาคผนวก	51

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การทำความสะอาดชิ้นส่วนเมล็ดของไผ่หวานอ่างขางโดยใช้สารละลายคลอรอกซ์ ความเข้มข้น และเวลาแตกต่างกัน	18
2	เปอร์เซ็นต์เมล็ดที่ปราศจากเชื้อ จากการฟอกฆ่าเชื้อเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวภายนอกเมล็ดพันธุ์ ด้วยความเข้มข้นของคลอรอกซ์ ในความเข้มข้นและระยะเวลาในการฟอกแตกต่างกัน	30
3	เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดที่ปราศจากเชื้อและเปอร์เซ็นต์ของชนิดกล้าที่ได้จากเมล็ดไผ่หวานอ่างขางที่มีน้ำหนักต่างกัน	33
4	การฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวของตาจากยอดอ่อนของไผ่หวานอ่างขางด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความ เข้มข้นในระยะเวลาต่างๆกัน	34
5	การฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวของตาจากแขนงแก่ของไผ่หวานอ่างขางด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น และ สารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ ในระยะเวลาต่างๆกัน	35
6	การเพิ่มปริมาณยอดของไผ่หวานอ่างขางบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA ในระดับต่างๆ ร่วมกับ NAA, Kn และ CW 1, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ต่อลิตรตามลำดับ ทำการเลี้ยง เปลี่ยนอาหารทุก 1 เดือนเป็นเวลา 2 เดือน	38
7	จำนวนยอดเฉลี่ย และอัตราการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่หวานอ่างขางเมื่อเลี้ยงด้วยเทคนิคต่างกัน ในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA, Kn และ CW 1, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ต่อลิตรตามลำดับ	39
8	เปอร์เซ็นต์การเกิดรากของยอดไผ่หวานอ่างขาง หลังการย้ายเลี้ยงบนอาหาร MS และสูตร อาหารดัดแปลงที่เติม IBA หรือ NAA	43
9	อัตราการรอดตายของกล้าไผ่หวานอ่างขางหลังจากการแยกกอ โดยใช้จำนวนหน่อต่อกอต่างๆ กันเป็นเวลา 3 เดือน	45

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	หลักการและขั้นตอนการทำงานของภาชนะเพาะเลี้ยงระบบขวดแบบสองชั้น	15
2	ไผ่หวานอ่างขางบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต อายุ 30 วัน	21
3	ไผ่หวานอ่างขางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร	
4	ไผ่หวานอ่างขางบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงอาการใบขาว	21
5	การเพิ่มปริมาณยอดไผ่หวานอ่างขางในสภาพปลอดเชื้อ โดยการใช้เทคนิคต่างๆ กัน	22
6	การสำรวจพื้นที่แปลงปลูก และลักษณะกอไผ่หวานอ่างขาง อายุ 3 ปีที่สถานีเกษตรหลวงปางดะ	23
7	ลักษณะของหน่อไผ่หวานอ่างขางที่เก็บมาใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการฟอกฆ่าเชื้อ ที่สถานีเกษตรหลวงปางดะ	26
8	การสำรวจพื้นที่แปลงรวบรวมพันธุ์ไผ่ และลักษณะกอไผ่หวานอ่างขาง ที่สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง	26
9	การสำรวจพื้นที่แปลงปลูก ลักษณะการแตกกอ และขนาดลำต้นไผ่หวานอ่างขางอายุ 3 ปี ที่ไร่สาธิตแม่เหียะ	27
10	ต้นพันธุ์ไผ่หวานอ่างขาง อายุ 3 ปี ที่โรงเรือนอนุบาลกล้าไม้ของสถาบันผลิตผลเกษตรฯ	27
11	ลักษณะตัวอย่างของเมล็ดไผ่หวานอ่างขาง จากสถานีเกษตรหลวงอ่างขางและสวนรวมพันธุ์พันธุ์ไผ่แม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่	28
12	เมล็ดไผ่หวานอ่างขางที่ปราศจากเชื้อหลังเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 7 วัน	28
13	ลักษณะตาจากยอดอ่อนเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 30 วัน	29
14	การเจริญของตาจากแขนงแก่เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 30 วัน	
15	การเพิ่มปริมาณยอดไผ่หวานอ่างขางบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 มิลลิลิตรต่อลิตร	35
	ร่วมกับ NAA, Kn และ CW 1, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ต่อลิตรตาม	35
	ลำดับ	37

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
16	การเกิดรากของไผ่หวานอ่างขางที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ร่วมกับ NAA 3 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ	42
17	ต้นกล้าไผ่หวานอ่างขางหลังจากย้ายปลูกเป็นเวลา 30 วัน	44

โครงการหลวง

การพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่หวานอ่างขาง (*Dendrocalamus latiflorus* Munro) เพื่อผลิตต้นกล้าแบบอุตสาหกรรม

Tissue culture technique improvement of Taiwan Giant Bamboo (*Dendrocalamus latiflorus* Munro) for industrial production.

ยุพา มงคลสุข วิลาสินี กวีกิจธรรมกุล รุ่งอรุณ สุ่มแก้ว ปฏิมา ลิขิตธรรมนิตย์ มะลิวัลย์ ธนะสมบัติ เจษฎา วงค์พรหม และ พนิดา วงษ์แหวน

Yupa Mongkolsook, Wilasinee Kaweekijthummakul, Rungarun Sumkaew,Patima Likitthamanit Maliwan Tanasombat , Jetsada Wongprom, and Panida Wongwean

คำนำ

ทั้งอดีตและปัจจุบันไผ่ตงถือเป็นไม้ไผ่เศรษฐกิจหลักของประเทศไทย แต่จากการที่มีการออกดอกและตายขุยเป็นพื้นที่กว้างในปี 2537 ทำให้เจ้าของสวนไผ่ได้รับผลกระทบรุนแรงจากรายได้ที่ลดลงจึงได้มีความพยายามหาไม้ไผ่ชนิดอื่นที่มีศักยภาพเสริมความมั่นคงของอาชีพการปลูกสร้างสวนไม้ไผ่และทำรายได้ที่คุ้มค่ากับการลงทุนซึ่งไผ่หวานอ่างขางถือเป็นไผ่เศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพสูงเนื่องจากผลผลิตสามารถตอบสนองความต้องการของตลาดเหมาะสำหรับการส่งเสริมการปลูกเชิงพานิชย์เนื่องจากมีลักษณะเด่น คือหน่อมีรสหวานเนื้อละเอียดมีเสี้ยนน้อย และไม่มีขนเหมือนไผ่ตงทำให้สะดวกในการเก็บเกี่ยวนอกจากนี้เมื่อต้มแล้วไม่เปื่อยยุ่ย ปอกเปลือกง่ายสามารถบริโภคได้เกือบทั้งหน่อ เหมาะสำหรับเข้าโรงงานเพื่อบรรจุเป็นหน่อไม้กระป๋อง ปัจจุบันหน่อไผ่หวานอ่างขางเป็นที่ต้องการของตลาด ประเทศจีนมีการส่งออกหน่อไม้แห้งและหน่อไม้กระป๋องไปยังประเทศญี่ปุ่นใน จำนวน 140,000 ตัน ไต้หวันส่งออก 40,000 ตันเป็นมูลค่าถึง 40 ล้านเหรียญสหรัฐนอกจากนี้ยังเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในยุโรป อเมริกาและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (รุ่งนภา, 2545) นอกจากใช้หน่อเป็นอาหารแล้วลำยังสามารถใช้ในการก่อสร้างทำเฟอร์นิเจอร์หรืองานจักสานต่างๆ การนำไผ่หวานอ่างขางซึ่งเป็นไผ่พื้นเมืองในแถบจีนและไต้หวันเข้ามาปลูกในประเทศไทยนั้นได้มีการนำพันธุ์ไผ่ชนิดนี้จากสาธารณรัฐจีนไต้หวัน โดยความร่วมมือระหว่าง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โครงการหลวงบนพื้นที่สูง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และ ICDF (International Cooperative Development Fund) ของประเทศสาธารณรัฐจีนไต้หวัน

ทดลองปลูกอย่างเป็นทางการที่โครงการหลวงบนพื้นที่สูงดอยอ่างขางที่ความสูง 1,500 เมตรจากระดับน้ำทะเล แต่ภายหลังได้นำมาทดลองปลูกในพื้นที่ต่ำลงมาคือ 700 และ 300 เมตรจากระดับน้ำทะเลพบว่าไผ่ชนิดนี้สามารถให้การเจริญเติบโตและผลผลิตที่สูง (สุทัศน์, 2544) ปัจจุบันการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการใช้ตอหรือเหง้า การปักชำลำหรือข้อ การตอนกิ่งแขนง และการแยกกอจากกล้าขนาดเล็กที่ได้จากการเพาะเมล็ดไม่เพียงพอต่อการปลูกเชิงพานิชย์อีกทั้งการขยายพันธุ์โดยวิธีไม่อาศัยเพศตามวิธีที่ได้กล่าวข้างต้นเป็นการต่ออายุจากต้นพันธุ์เดิม ทำให้กล้าไผ่มีอายุการปลูกสั้นลง และเนื่องจากในสภาพธรรมชาติดอกไผ่หวานอ่างขางมีการผสมติดยากได้เมล็ดจำนวนน้อย และให้ต้นกล้าปกติในอัตราต่ำ ดังนั้นการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อช่วยผลิตต้นกล้าให้ได้ต้นกล้าจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้นจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะทำให้มีต้นกล้าที่เพียงพอต่อการขยายพื้นที่ปลูกในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. พัฒนาเทคนิคและสูตรอาหารในการเพิ่มปริมาณยอดในสภาพปลอดเชื้อ
2. พัฒนาเทคนิคและสูตรอาหารในการชักนำให้ยอดเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อ
3. พัฒนาเทคนิคการย้ายปลูกต้นกล้าจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การตรวจเอกสาร

ลักษณะทั่วไปของไผ่

ไผ่เป็นพืชยืนต้น นักพฤกษศาสตร์ส่วนใหญ่จัดไผ่เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยววงศ์เดียวกับหญ้าคือ วงศ์ Gramineae ลักษณะลำต้นกลม และกลวงตรงกลาง มีปริมาณ elastic fiber เป็นแบบ long fiber มากเป็นโครงสร้างหลักในการเพิ่มความแข็งแรงของลำไผ่มีขนาดตั้งแต่ต้นหญ้าจนถึงขนาดยักษ์สูง 36 เมตร และมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 30 เซนติเมตร ไผ่จัดอยู่ในอนุวงศ์ Bambusoideae ซึ่งจัดเป็นอนุวงศ์ที่มีกำเนิดก่อนอนุวงศ์อื่นๆ ในวงศ์เดียวกัน เนื่องจากไผ่มีลักษณะแตกต่างจากหญ้าหลายประการเช่น ลำต้นแข็งแรง ก้านและกาบใบใหญ่เห็นชัด ช่อดอกไม่มีกาบหุ้มเหมือนหญ้าอื่นๆ ส่วนของกลีบดอกจัดได้สัดส่วนกัน ผลมีลักษณะไม่เปลี่ยนแปลงมาก เป็น

ลักษณะที่แสดงให้เห็นว่าไผ่มีกำเนิดก่อนหญ้า (เต็ม และชุมศรี, 2513; สอาด, 2527) นักพฤกษศาสตร์บางท่านจึงแยกไผ่ออกจากวงศ์หญ้าเป็นวงศ์ Bambusaceae

ในการจำแนกชนิดไผ่ต้องอาศัยความรู้ในเรื่องการแตกเหง้า กอ ปล้อง ช้อ กาบใบ ดอกและผล (สอาด, 2527) เหง้าเป็นส่วนของลำต้นที่อยู่ใต้ดินมีหน้าที่เก็บสะสมอาหาร ตาซึ่งอยู่ข้างๆ เหง้ามีการพัฒนาเป็นหน่อและลำไผ่ต่อไปไม้ไผ่แต่ละชนิดจะมีลักษณะการแตกหน่อที่แตกต่างกันไป ซึ่งทำให้สามารถแยกประเภทของไม้ไผ่ตามลักษณะของการแตกหน่อได้เป็น 3 ประเภทใหญ่ คือ

1. ระบบเหง้ากอ (sympodial type หรือ pachymorph rhizome) ไผ่ประเภทนี้จะมีการเจริญออกทางราบในระยะสั้นๆ แล้วแตกหน่อทำให้มีกอแน่นเป็นกระจุกไผ่ในเขตร้อนส่วนใหญ่จัดอยู่ในประเภทนี้ และไผ่เกือบทุกชนิดในประเทศไทยจัดอยู่ในประเภทนี้เช่นกัน

2. ระบบเหง้าเดี่ยว (monopodial type หรือ leptomorph rhizome) กลุ่มนี้มีการแตกลำใหม่ออกเป็นลำเดี่ยวๆ แยกห่างจากลำอื่น มีระยะห่างระหว่างลำค่อนข้างคงที่ ไผ่ประเภทนี้ส่วนมากเป็นไผ่ในเขตอบอุ่น

3. ระบบเหง้าผสม (intermedial type) มีการเจริญเติบโตทั้งสองแบบโดยอาจขึ้นกับสภาพความผันแปรของสิ่งแวดล้อม

การเจริญเติบโตของไผ่จะเป็นไปอย่างรวดเร็ว ส่วนมากไผ่เขตอบอุ่นโตได้เร็วในช่วงกลางวัน ในขณะที่ไผ่ในเขตร้อนและกึ่งร้อนโตได้เร็วในช่วงกลางคืน มีการบันทึกการเจริญเติบโตของ *Phyllostachys bambusoides* ในประเทศญี่ปุ่นเจริญเติบโตได้ 90-120 เซนติเมตร และ *Phyllostachys edulis* เจริญได้ 119 เซนติเมตรภายในเวลา 24 ชั่วโมง (Liese, 1986) การเจริญจะแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของไผ่ ความสมบูรณ์ของดิน ดินฟ้าอากาศ ไผ่ประเภท sympodial type มักสิ้นสุดการเจริญในเวลา 80-120 วันส่วนพวก monopodial type ลำจะเจริญได้ร้อยละ 93 ของความสูงทั้งหมดภายใน 1 เดือนแรกเท่านั้น ส่วนอีกประมาณ 1 เดือนต่อมาจะโตช้าๆ จนสิ้นสุดการเติบโต ลำไผ่เมื่อโตเต็มที่มีขนาดคงที่ ไม่มีการเพิ่มความสูงหรือเส้นผ่าศูนย์กลางของลำ แม้จะมีการให้ปุ๋ยในปีถัดไป แต่จะมีการเจริญของกิ่งแขนงและใบเพื่อสะสมอาหาร ซึ่งในไผ่ที่ยังโตไม่เต็มที่ส่วนมากจะแตกกิ่งแขนงที่ตาทุกข้อ แต่ต้นที่โตมากแล้วตาล่างของลำจะพักตัวในส่วน ½ ถึง ¾ ของความสูงลำ ทำให้สามารถใช้ประโยชน์จากลำได้ดีขึ้น (Farrelly, 1984) หน่อใหม่ของไผ่มักมีขนปกคลุมเพื่อหลีกเลี่ยงแมลงและเชื้อรา ขนอาจมีสีดำ น้ำตาล ขาว เงิน ทอง ขึ้นกับชนิดของไผ่ หน่อใหม่จะมีกาบใบคอยป้องกัน เมื่อส่วนต่างๆ โตขึ้นมาเต็มที่แล้ว กาบใบก็จะหลุดร่วงไปเหลือเป็นรอยแผล

ไผ่ออกดอกเป็นช่อ (inflorescence) แต่ละช่อจะมีกลุ่มดอกย่อย คือ สไปค์เลท (spiklest) หลายกลุ่ม ซึ่งมีกลูม (glume) หุ้มอยู่ที่ส่วนโคนจำนวน 2 กลีบแต่ละสไปค์เลทอาจมีดอกย่อย (floret) ดอกเดียวหรือหลายดอกก็ได้ ดอกไผ่เกือบทุกสกุลมีส่วนต่างๆ เป็นจำนวน 3 (trimerous) แต่เนื่องจากส่วนต่างๆ ของดอกอยู่ใกล้ชิดกันมากจึงมีรูปลักษณะผิดแปลกไปจากดอกพันธุ์ไม้จำพวกกลุ่มหญ้าอื่นๆ ภายใน 1 สไปค์เลทจะมีช่วงระหว่างดอกเป็นแกนหรือก้านสั้นๆ เรียก ราคิลลา (rachilla) มีเลมมา (lemma) เป็นใบประดับลักษณะคล้ายกลีบขนาดใหญ่หุ้มส่วนต่างๆ ของดอกไว้เกือบรอบ และพาเลีย (palea) เป็นใบประดับคล้ายกลีบบางๆ อยู่ด้านบนมีจำนวน 2 ส่วนล็อคดิคูล (lodicule) เป็นกลีบดอกที่ลดรูป ส่วนมากมี 3 หรือบางทีมีเพียง 2 เท่านั้น อยู่ด้านล่างของรังไข่ (ovary) เกสรตัวผู้ (stamen) มีจำนวน 3 หรือ 6 ก้านเกสรอาจเชื่อมติดกันหรือแยกกันก็ได้ ส่วนของอัยเรณู (anther) ตรงยอดมักพองโตหรือมีขน เกสรตัวเมีย (pistill) มักมีขนปกคลุม และส่วนยอด (stigma) อาจเชื่อมกันหรือแยกกันเป็น 2 หรือ 3 แฉก ส่วนผลเป็นชนิดเนื้อนุ่มเปลือกอ่อน (berry) หรือเนื้อแข็งเปลือกล่อนแข็ง (nut) หรือเนื้อแข็งเปลือกไม่ล่อน (caryopsis) แตกต่างไปตามแต่ละชนิดพันธุ์ (สุภาวดี, 2527; Dransfield, 1980)

ตามปกติไผ่ออกดอกเพียงครั้งเดียวหลังจากนั้นจะตายทั้งกอภายในปีเดียวกัน หรืออย่างช้าประมาณ 1-2 ปี ภายหลังออกดอกที่เรียกว่า ตายขุย ประเภทการออกดอกจะมีทั้งแบบประปราย (sporadic flowering) คือกระจัดกระจายในพื้นที่เป็นกอหรือกลุ่มจำนวนน้อย และมักมีระยะเวลาที่ต่างกัน หรือออกดอกแบบเป็นกลุ่ม (gregarious flowering) ซึ่งเป็นการออกดอกของไผ่แต่ละชนิดที่ครอบคลุมพื้นที่กว้างๆ ในเวลาเดียวกันพร้อมๆ กัน ทั้งนี้ลักษณะการออกดอกยังแตกต่างกันไปอีก กล่าวคือ อาจมีการออกดอกทั้งกอ (clump flowering) คือการออกดอกทุกลำพร้อมกันในเวลาเดียวกัน หรือออกดอกเป็นลำ (culm flowering) เป็นการออกดอกครั้งละลำ หรือมากกว่าจนกระทั่งหมดทุกลำโดยใช้เวลาการออกดอกมากกว่า 1 ปีและตายทั้งกอในที่สุด ยกเว้นไผ่ทอง *(Shizostachyum brachycladum*) ซึ่งมีลักษณะการออกดอกอย่างต่อเนื่อง (continuous flowering) คือจะมีการออกดอก 1-2 ลำในกอในแต่ละปี แต่ไผ่ทั้งกอจะแตกหน่อขยายลำต่อไปได้ (อนันต์, 2532) วงจรชีวิตของไผ่แต่ละชนิดจะแตกต่างกันไปประมาณ 30-100 ปี การออกดอกเป็นผลสืบเนื่องมาจากอายุของกอและเหง้าเป็นหลัก ไม่ได้ขึ้นกับอายุของลำ และจะเกี่ยวข้องกับระยะเวลาหรือการเปลี่ยนแปลงของสรีระภายในต้น ซึ่งอาจมีผลมาจากสภาพแวดล้อมภายนอกที่ไปกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายใน เช่น สภาพภูมิอากาศ โรค แมลง หรือการกระทำของมนุษย์ เป็นต้น โดยทั่วไปไผ่ลำเดี่ยวมักมีวงจรชีวิตนานกว่าไผ่ประเภทกอ (คำนึง, 2530) ดอกไผ่แต่ละชนิดจะติด

เมล็ดมากน้อยต่างกันไผ่บางชนิดผสมติดไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดไม่มีช่วงพักตัว แม้จะทำการเพาะทันทีก็มีเปอร์เซนต์การงอกไม่มากกว่า ร้อยละ 50 ทำให้ไม่สามารถเก็บเมล็ดไว้ได้นาน (Cheung *et al*., 1985) ไผ่ที่มีขนาดเล็กจะผลิตเมล็ดที่มีขนาดใหญ่กว่าไผ่ที่มีขนาดใหญ่ และไผ่ที่ออกดอกเป็นกอจะมีคุณภาพเมล็ดดีกว่าไผ่ที่ออกดอกเป็นลำ โดยที่อัตราการงอกของเมล็ดไผ่แต่ละชนิดมีไม่แน่นอน คือประมาณ 10-80 เปอร์เซ็นต์ (อนันต์, 2532)

ไผ่หวานอ่างขาง

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ของไผ่หวานอ่างขาง

ไผ่หวานอ่างขางหรือไผ่หม่าจู๋ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dendrocalamus latiflorus* Munro มีชื่อเรียกพ้องกันว่า *Bamboosa latiflorus* (Munro) และ *Sinocalamus latiflorus* (Munro) มีชื่อสามัญหลายชื่อเช่น Taiwan giant bamboo, ma bamboo (En)., Indonesia: bamboo Taiwan, Philipinnes: botong (togalog), Burma (Myanmar) : wani, Thailand: phi-zangkum (northern), Vietnam: m[aj] nh t[oo] ng hoa to, tre ta [uf]. Japan : machiku หรือที่รู้จักกันในประเทศจีนว่า Ma Chu (หม่าจู๋ หรือ หมาจู๋) ไผ่หวานอ่างขางเป็นไผ่ที่อยู่ในสกุล *Dendrocalamus* ซึ่งมีลักษณะประจำตระกูลคือ เป็นไผ่ขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ไม่มีหนาม ลำตรงสวย กาบใหญ่และหลุดร่วงเร็ว ใบยอดกาบเป็นรูปสามเหลี่ยมเรียว บริเวณข้อมีลักษณะบวมนูน และมักมีรากอากาศออกรอบๆ ข้อ (รุ่งนภา และคณะ, 2544; สุทัศน์, 2544) เป็นไผ่ในกลุ่มที่มีระบบเหง้ากอ ลำตั้งตรงสูงสูง 14-25 เมตรขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8-20 เซนติเมตร เนื้อหนา 0.5-3.5 เซนติเมตร ปล้องยาว 20-70 เซนติเมตร เรียบและเกลี้ยงมีไขสีขาวปกคลุมเมื่อยังเล็ก โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อจะมีปุ่มที่เห็นได้อย่างชัดตามข้อที่อยู่ล่างๆ มักจะมีรากอากาศ และล้อมรอบด้วยวงสีน้ำตาลของขนทั้งด้านบนและด้านล่างของรอยแผลใบ มีการแตกกิ่งหลายกิ่งต่อ 1 ข้อมีลักษณะบวมชัดเจน กาบหุ้มลำยาวกว่าปล้องที่ต่ำกว่าและสั้นกว่าปล้องที่อยู่สูงขึ้นไป กาบมีขนาดใหญ่และมักหลุดร่วงเร็ว แข็งและเหนียว ปลายมน มีสีเหลืองส้มเมื่ออายุน้อยและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลซีดเมื่ออายุมากขึ้นเป็นขอบหรือหยักฟันเลื่อยเล็กน้อย ครีบกาบมั่นคงกว้าง 1-1.5 มิลลิเมตร ใบยอดกาบรูปรีหรือขอบขนานแกมรูปหอกขนาด 10-40 × 2.5-7.5 เซนติเมตรยอดแหลม กาบยาว 10-22 เซนติเมตรปกคลุมด้วยขนแข็งเรียบกระจายห่างๆ กระจังเด่นนูนออกมา กลมหรือรูปกรวย ยาว 1.5-2 เซนติเมตรไม่ปรากฏครีบกาบ ช่อดอกเกิดบนกิ่งที่ไม่มีใบซึ่งอยู่ระหว่างกิ่งที่มีใบของข้อ ยาว 80 เซนติเมตรขึ้นไปประกอบด้วยกลุ่มของดอก

เทียม 1-7 กลุ่ม กลุ่มดอกรูปไข่ออกตรงข้ามขนาด 1-2 × 0.8-1.2 เซนติเมตร สีแดงถึงสีม่วงเข้มเมล็ดรูปกรวยถึงรูปไข่ ขนาด 8-12 × 4-6 เซนติเมตร สีน้ำตาลอ่อนเปลือกบาง (Dransfield and Widjaja, 1995)

การกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติ การปลูกและลักษณะทางนิเวศวิทยา

ไผ่หวานอ่างขางมีแหล่งกำเนิดไม่เป็นที่แน่ชัด โดยธรรมชาติแล้วขึ้นกระจายพันธุ์ทั่วไปจากทางตอนเหนือของประเทศพม่าไปถึงทางตอนใต้ของประเทศสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนจีน และประเทศไต้หวัน ซึ่งมีการปลูกกันอย่างกว้างขวางทั่วเกาะไต้หวัน ไผ่หวานอ่างขางจึงถือเป็นไผ่เศรษฐกิจที่สำคัญของชาวไต้หวัน สำหรับประเทศไทยนำมาปลูกทางภาคเหนือ และมีบ้างที่นครนายกซึ่งนำพันธุ์มาจากไต้หวัน (สุภาวดี, 2527) สำหรับในโครงการของมูลนิธิโครงการหลวงเรียกชื่อไผ่นี้ตามถิ่นที่ปลูกคือดอยอ่างขาง เนื่องจากมีการทดลองปลูกครั้งแรกที่ดอยอ่างขาง จังหวัดเชียงใหม่โดยมูลนิธิโครงการหลวงเมื่อปี พ.ศ. 2529 ในโครงการปลูกป่าบนพื้นที่สูงซึ่งได้รับความร่วมมือจากรัฐบาลไต้หวันต่อมาได้ขยายมาปลูกที่สถานีเกษตรหลวงปางดะ และไร่สาธิตแม่เหียะ พบว่าที่ปางดะซึ่งอยู่สูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 750 เมตร ดินดี น้ำดี อากาศไม่ร้อนหรือหนาวนานเกินไปปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 1,600 มิลลิเมตรต่อปี ไผ่หวานอ่างขางมีการเจริญเติบโตได้ดี ดินที่ปลูกควรเป็นดินทราย มีการระบายน้ำดี pH ประมาณ 4.5-7.7 ควรปลูก 32-64 กอต่อไร่ โดยขุดหลุมขนาด 1×1 เมตร ลึกประมาณ 80 เซนติเมตร ควรใส่ปุ๋ยปีละ 4 ครั้ง โดยกอหนึ่งๆ ควรใส่ปุ๋ยยูเรีย 2.5 กิโลกรัม Ca_3PO_4 1.5 กิโลกรัม KCl 1 กิโลกรัม และ $CaSiO_2$ 2.5 กิโลกรัมจะเริ่มเก็บเกี่ยวหน่อได้ตั้งแต่ปีที่ 2 แต่การขุดหน่อในเชิงพาณิชย์จะทำการขุดในปีที่ 4 เป็นต้นไป โดยจะได้ผลผลิตหน่อสดประมาณ 3,200-6,400 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี (ซู และคณะ, 2532)

การใช้ประโยชน์ไผ่หวานอ่างขาง

เนื่องจากทั้งหน่อและลำของไผ่ชนิดนี้ใช้ประโยชน์ได้ทั้งสิ้น โดยหน่อเป็นที่ต้องการของตลาดจึงทำให้ขายได้ราคาดี เพราะหน่อมีเนื้อละเอียด ไม่มีเสี้ยน รสชาติหวานอร่อย ส่วนของหน่อและลำไม่มีขน ทำให้ไม่คันเมื่อเก็บหน่อหรือเข้าไปทำงานในสวนไผ่ เหมาะสำหรับเข้าโรงงาน สามารถต้มได้ทั้งหน่อโดยไม่ต้องเฉาะเปลือกออก เมื่อต้มแล้วสามารถใช้เครื่องปอกเปลือกได้ง่าย เพราะเปลือกนุ่ม ไม่มีขนติดเปื้อนหน่อ บริโภคได้เกือบทั้งหน่อ หน่อที่เหมาะสมสำหรับเข้าโรงงาน

ควรมีน้ำหนักไม่เกิน 3 กิโลกรัม ยาว 30-40 เซนติเมตร ส่วนหน่อที่ยาว 50-150 เซนติเมตร ใช้ทำหน่อไม้แห้งได้ดีเพราะมีเนื้อเยื่อเหนียวไม่เปื่อยยุ่ยง่ายเวลาต้มเหมือนหน่อไม้ไผ่ตง (สุภาวดี, 2527; นคร, 2533) ทำให้ไผ่ชนิดนี้มีการปลูกสร้างเป็นส่วนไผ่เพื่อการค้ากันมากในประเทศไต้หวัน โดยเฉพาะตอนกลางของประเทศจนถึงระดับความสูง 1,000 เมตรจากระดับน้ำทะเลปานกลาง เป็นไผ่ที่ปลูกเพื่อผลิตหน่อเป็นหลักในไต้หวัน ผลผลิตหน่อนอกจากนี้ลำยังใช้ในการก่อสร้าง ทำแพ ทำเฟอร์นิเจอร์ งานฝีมือ จักสานต่างๆ เครื่องมือการเกษตรและทำเยื่อกระดาษได้ดีอีกด้วย ใบใช้สำหรับหมักเหล้าที่เรียกว่า เหล้าไผ่เขียว หรือที่ชาวจีนเรียกว่า “เหล้าจู๋เย้าชิง”และยังใช้เป็นวัสดุสำหรับห่อของเช่น ใช้ห่อขนมบะจ่างเป็นต้น (ซู และคณะ, 2532; สมาน, 2542) และการที่ไผ่หวานอ่างขางมีกาบใหญ่หุ้มลำต้น กาบมีความเหนียวและนุ่ม ไม่มีขนที่ทำให้เกิดการระคายเคือง ชาวไต้หวันและชาวฮ่องกงจึงนำไปอบฆ่าเชื้อแล้วปั๊มขึ้นรูปเป็นกล่องใช้แทนกล่องโฟม ตลอดจนเหมาะสำหรับนำมาใช้เป็นไม้ประดับในการจัดสวน แต่มีข้อพึงระวังเกี่ยวกับสายพันธุ์และการออกดอก เนื่องจากเป็นไม้ไผ่ที่ประเทศไทยนำเข้ามาปลูกจากประเทศไต้หวัน จึงมีการเริ่มต้นปลูกจากสายพันธุ์ไม่กี่สายพันธุ์ หากการขยายพื้นที่ปลูกโดยใช้วิธีการปักชำหรือการตอนกิ่ง เกรงว่าจะเกิดการออกดอกและตายขุยเป็นพื้นที่กว้างใหญ่เหมือนเช่นที่เคยเกิดกับไผ่ตงในอดีต ซึ่งพบว่าขณะนี้มีข้อมูลว่าไผ่หวานอ่างขางหรือไผ่หม่าจู๋บางกอเริ่มทยอยออกดอกแบบประปรายในบางพื้นที่บ้างแล้ว (รุ่งนภา และคณะ, 2545)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การนำชิ้นส่วนพืชมาเลี้ยงให้มีการเจริญเติบโตตามต้องการในสภาพปลอดเชื้อหรือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นผลจากทฤษฎีของ Schleiden และ Schwan ในปี ค.ศ. 1893 ซึ่งกล่าวว่าสิ่งมีชีวิตทั้งหลายประกอบขึ้นด้วยเซลล์และผลิตภัณฑ์ของเซลล์ โดย Schwan ได้ให้ความเห็นไว้ว่าเซลล์ที่มีชีวิตแต่ละเซลล์ของสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ (multicellular organism) ควรจะพัฒนาเป็นสิ่งมีชีวิตใหม่ได้หากได้รับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ซึ่งความสามารถดังกล่าวของเซลล์นั้นถูกเรียกโดย T.H. Mogan ในปี ค.ศ. 1901 ว่า Totipotency แนวคิดนี้ได้รับความสนใจมาจากนักพฤกษศาสตร์เริ่มจากปี ค.ศ. 1902 Gottieb Haberlant นักพฤกษศาสตร์ชาวเยอรมันซึ่งต่อมาได้รับการยกย่องว่าเป็นบิดาของงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้รายงานถึงความพยายามครั้งแรกในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยทำการแยกเซลล์พืชมาเลี้ยงเพื่อศึกษาคุณสมบัติของเซลล์ แต่ก็ประสบความสำเร็จเพียงเล็กน้อยเท่านั้นจนกระทั่งปี ค.ศ. 1938 จึงสามารถเลี้ยงอวัยวะ (organ) และแคลลัส (callus) ของพืชได้

หลายชนิด และจากนั้นเป็นต้นมาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชก็มีการพัฒนาไปอย่างกว้างตลอดจนการค้นคว้าเพื่อประยุกต์ใช้กับศาสตร์ในด้านต่างๆ อีกมากมายจนถึงปัจจุบัน (ประศาสตร์, 2538) เช่นนำเอาหลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปประยุกต์ใช้ในด้านวิทยาศาสตร์พื้นฐาน เกษตรกรรม การแพทย์ และอุตสาหกรรม ซึ่งสามารถจำแนกได้กว้างๆ ดังนี้ (1) ด้านการเกษตร เน้นเพื่อการขยายพันธุ์ เพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ดี และผลิตพืชปลอดโรคไวรัส (2) ด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช ในงานด้านพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) (3) ด้านการศึกษาทางชีวเคมี พฤกษศาสตร์ โรคพืช และสรีรวิทยา (4) การผลิตยาและสารปฐมภูมิและทุติยภูมิจากพืช (5) การเก็บรักษาพันธุ์พืช (รังสฤษฎ์, 2540; คำนูญ, 2542)

Murashige (1974) แบ่งขั้นตอนของการขยายพันธุ์พืชโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไว้ 3 ขั้นตอนคือ

ขั้นตอนที่ 1 การเตรียมชิ้นส่วนพืชให้ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์

การทำให้เนื้อเยื่อสะอาด ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดอยู่ตามชิ้นส่วนพืชนั้น ถือว่าเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากในสภาพธรรมชาติเชื้อจุลินทรีย์จะติดอยู่ตามส่วนต่างๆ ของพืชไม่ว่าจะเป็นเชื้อราหรือแบคทีเรีย อันเป็นสาเหตุของความเสียหายต่อขั้นตอนการเพาะเลี้ยง เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารสังเคราะห์ อีกทั้งยังทำให้อาหารเน่าเสีย ส่งผลให้ชิ้นส่วนพืชตายในที่สุด โดยทั่วไปการขจัดสิ่งปนเปื้อนออกจากผิวทำได้ยากโดยเฉพาะชิ้นส่วนพืชที่มีขนาดเล็ก มีซอกมุมและผิวขรุขระ สารฟอกเพื่อกำจัดเชื้อที่นิยมใช้กันมากที่สุดคือ sodium hypochlorite หรือที่รู้จักกันดีในชื่อทางการค้าว่า Clorox มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ สามารถแพร่กระจายได้ดีในน้ำ มีประสิทธิภาพฆ่าเชื้อจุลินทรีย์เมื่ออยู่ในสภาพกรด โดยคลอรีนจะไปจับกับแอมโมเนียมหรือสารประกอบไนโตรเจนอื่น ในรูปของ chloraminate หรือ N-Chloro compounds เกิด irreversible oxidation ของ S-H group ของเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการดำรงชีพของจุลินทรีย์ แต่การใช้ sodium hypochlorite ไม่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ภายในเนื้อเยื่อได้ เพราะสารเคมีไม่สามารถแทรกซึมเข้าภายในได้ ดังนั้นการฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวของชิ้นส่วนพืชจึงควรพิจารณาถึงความเข้มข้นของ sodium hypochlorite ที่เหมาะสมทำให้เกิดความเสียหายกับพืชน้อยที่สุด สลายตัวง่าย และทำให้เนื้อเยื่อพืชปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ในปริมาณมากที่สุด

ขั้นตอนที่ 2 การเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อ

เมื่อได้เนื้อเยื่อที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งพร้อมที่จะเจริญต่อไปแล้ว การเลือกใช้อาหารที่เหมาะสมจะทำให้ชิ้นส่วนพืชมีการเจริญเพิ่มปริมาณขึ้นเป็นจำนวนมาก องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์เป็นปัจจัยสำคัญต่อความสำเร็จในการเพาะเลี้ยง สูตรอาหารที่ใช้จะแตกต่างกันตามชนิดหรือพันธุ์พืช ตลอดจนการพัฒนาของเนื้อเยื่อ ส่วนประกอบขั้นพื้นฐานของสูตรอาหารจะประกอบไปด้วยธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง วิตามินต่างๆ และสารอื่นๆที่จำเป็นได้แก่ กรดอะมิโน สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช สารเหล่านี้มีความสำคัญต่อการเพิ่มปริมาณและการพัฒนาของเซลล์พืช (Chen *et al*., 1983)

ขั้นตอนที่ 3 การชักนำให้เกิดรากและการย้ายออกปลูกสู่สภาพธรรมชาติ

การชักนำการออกราก เป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญต่อการมีชีวิตรอดของต้นพืชที่จะนำออกปลูกสู่สภาพธรรมชาติ เนื่องจากรากพืชทำหน้าที่ในการดูดน้ำและแร่ธาตุเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต มักใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตโดยเฉพาะในกลุ่มออกซินเพื่อชักนำให้เกิดราก ปกติรากต้องการออกซินปริมาณที่ต่ำมากในการเจริญเติบโต แต่ในกรณีจะก่อให้เกิดจุดกำเนิดรากนั้น พืชต้องการออกซินความเข้มข้นสูงมากระตุ้น ออกซินที่นิยมใช้ในการเร่งรากได้แก่ NAA (naphthaleneacetic acid) ความเข้มข้น 0.05-1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA (indole butyric acid) ความเข้มข้น 0.5-3 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมลงในอาหารเพื่อให้ชิ้นส่วนพืชสร้างรากขึ้น เพราะในช่วงที่การเปลี่ยนแปลงจากเนื้อเยื่อเจริญมาเป็นจุดกำเนิดรากนั้น ต้องอาศัยเวลาพอสมควร ซึ่งระหว่างนั้น IBA จะสลายตัวจนเหลือความเข้มข้นต่ำเหมาะสมต่อการกระตุ้นให้จุดกำเนิดรากเปลี่ยนเป็นราก การผสม NAA และ IBA เพื่อเร่งรากพบว่ามีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้สารชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงอย่างเดียว (นภดล, 2536)

ต้นพืชที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์ 90-100 เปอร์เซนต์ ความเข้มแสงต่ำจะมีลักษณะอวบน้ำ มีความบอบบางกว่ากล้าปกติทั่วไป ทำให้การย้ายออกปลูกสู่สภาพธรรมชาติทำได้ค่อนข้างยากซึ่งความล้มเหลวในการย้ายชำถือว่าเป็นความล้มเหลวของระบบการผลิตกล้าด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากความแตกต่างกันระหว่างสภาพแวดล้อมภายในห้องปฏิบัติการและโรงเรือนอนุบาล ทำให้กล้าไม้ต้องปรับตัวเพื่อความอยู่รอดและตั้งตัวเจริญเติบโตต่อไปได้ รายงานการศึกษาการย้ายปลูกกล้าไม้จากห้องปฏิบัติการพบว่ากล้าไม้มีการเปิด-ปิด

ของปากใบและการทำหน้าที่ของใบยังไม่สมบูรณ์ ทำให้อัตราการสูญเสียน้ำมากกว่ากล้าปกติ เพราะใบมีสารเคลือบใบ (epicuticular wax) น้อยเกินไป และจากการทำงานที่ยังไม่สมบูรณ์ทำให้ปากใบเปิดอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 2-3 วันหลังการย้ายปลูก ในขณะที่กล้าปกติมีการเปิดและปิดอย่างสม่ำเสมอขึ้นกับสภาพแวดล้อมภายนอก (Kyte, 1990; Macdonal, 1990) ประกอบกับการทำงานของระบบรากที่ยังไม่สมบูรณ์จะทำให้พืชประสบกับสภาวะการขาดน้ำ และการสูญเสียน้ำมากและรวดเร็วเป็นสาเหตุที่ทำให้ต้นกล้าแห้งตายในที่สุด นอกจากนี้แสงสว่างยังเป็นปัจจัยที่มีบทบาทต่อขบวนการคายน้ำ และการสังเคราะห์แสงของกล้าไม้ กล้าไม้ที่ทำการย้ายปลูกยังมีความสามารถในการสังเคราะห์ด้วยแสงไม่เต็มที่ ความเข้มแสงที่สูงเกินไปทำให้ต้นกล้ามีการอัตราการคายน้ำสูง และอุณหภูมิภายในโรงเรือนสูงจะกระตุ้นให้มีการคายน้ำเพิ่มตามไปด้วย อุณหภูมิ 18-21 องศาเซลเซียสมีความเหมาะสมต่อการพัฒนาของกล้าไม้ และยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรคได้เป็นอย่างดี การควบคุมสภาพความชื้น ความเข้มแสง และอุณหภูมิให้เหมาะสมในระยะ 2-3 สัปดาห์แรกของการย้ายปลูก แล้วจึงค่อยๆ ลดความชื้นและเพิ่มปริมาณแสงให้มากขึ้นจนเข้าสู่สภาพปกติในโรงเรือนอนุบาล นอกจากนี้ต้องป้องกันการระบาดของโรคโดยเฉพาะในสภาพร้อนชื้นภายในโรงเรือนอนุบาลซึ่งมักเป็นสาเหตุของการแพร่เชื้อที่สำคัญ (Macdonal, 1990)

การขยายพันธุ์ไผ่หวานอ่างขาง และไผ่ชนิดอื่น ๆ โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Gruezo และคณะ (1988) ศึกษาการเพาะเลี้ยงส่วนข้อของไผ่ *(Dendrocalamus latiflorus* cv. Machiku) โดยเลี้ยงตาข้างจากกิ่งแขนง บนอาหารสูตร Murashige และ Skoog (MS) และ ½MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 20 30 และ 40 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ Benzylaenin (BA) ที่ความเข้มข้น 1 2.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าตาข้างมีเปอร์เซ็นต์ การแตกกอสูงสุดเมื่อเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 และ 40 กรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 2.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

กัณยารัตน์ (2534) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาดอกอ่อน เมล็ด กาบใบอ่อน และตาข้างไผ่ 4 ชนิด คือ ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) ไผ่หวานอ่างขาง (*Dendrocalamus latiflorus*) ไผ่ลิ่วจู๋ (*Bambusa oldhamii*) และไผ่ม่งจงจู๋ (*Phyllostachys pubsecens*) พบว่าตาดอกอ่อนของไผ่ตง ไผ่หวานอ่างขาง และไผ่ลิ่วจู๋ พัฒนาเป็นยอดและดอกอ่อน เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 0 2.5 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ α-napthaleneacetic acid (NAA) 0 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมล็ดไผ่ตงเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) 1-3 มิลลิกรัมต่อลิตร

สามารถเจริญเป็นแคลลัส จากนั้นพัฒนาเป็นเอมบริออย และต้นอ่อน เมื่อเลี้ยงเมล็ดไผ่ตงและเมล็ดไผ่หวานอ่างขางบนอาหารที่มี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเกิดยอด และได้จำนวนยอดเฉลี่ย 7.14 และ 6.85 ยอดตามลำดับที่เวลา 45 วัน ส่วนการเลี้ยงกาบใบอ่อนของไผ่ทั้ง 4 ชนิดสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้บนอาหารที่มี 2,4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ แต่แคลลัสไม่สามารถพัฒนาเป็นเอมบริออยและต้น การเลี้ยงตาข้างไผ่ตง ไผ่หวานอ่างขาง และไผ่ลิ่วจู๋ มีการแตกกอให้ยอดใหม่ ได้ดีเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BA 10 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการขยายพันธุ์ไผ่ตง (*D. asper* Bacter) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนยอด พบว่า อาหารสูตร MS ที่มี BA 4 mg/l สามารถเพิ่มปริมาณยอดไผ่ตงได้ดีที่สุด และอาหารที่เติม NAA 2 mg/l จะทำให้ยอดไผ่ตงมีอัตราการออกรากได้ดีที่สุด และมีอัตราการรอดตายถึงร้อยละ 99.3 ภายหลังจากย้ายปลูก 30 วัน (ยุพิน, 2542)

สำหรับไผ่ชนิดอื่นๆ ที่ได้มีการศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ ไผ่ซาง ซึ่ง สุธิดา (2534) ได้รายงานว่า ต้นกล้าไผ่ซางสามารถแตกหน่อได้ 11 หน่อบนอาหารที่มี BAP 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนเมล็ดและต้นอ่อนของไผ่ซาง ไผ่ป่า และไผ่รวกเกิดแคลลัส และพัฒนาเป็นเอมบริออยได้ดีเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และยอดอ่อนไผ่ซาง และไผ่รวก เจริญเติบโตได้ดีเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร Chaturvedi *et al.* (1993) รายงานผลการเลี้ยงส่วนข้อของไผ่ซางจากต้นแม่อายุ 10 ปี พบว่าอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NH_4NO_3 1,500 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KNO_3 1,500 มิลลิกรัมต่อลิตร thiamine–HCl 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร IAA และ adenine sulphate (Ads) 15 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมต่อการชักนำให้ข้อเกิดยอดได้ดีที่สุด ส่วน Ravikumar *et al.* (1998) ได้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนของเมล็ดและข้อจากกิ่งแขนงอายุ 10 ปี ของไผ่ซาง โดยใช้อาหารแข็งที่เติมน้ำตาล 20 g/l ก่อนแล้วย้ายลงอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA 0.5 mg/l ร่วมกับ kinetin 0.5 mg/l และน้ำมะพร้าว 20 mg/l พบว่าต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดสามารถเพิ่มปริมาณยอดได้ 35-45 ยอด และส่วนข้อเกิดยอด 3-8 ยอด

นอกจากนี้ ได้มีการศึกษาการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้เมล็ดและข้อของไผ่หก(*D. hamitlonii* Munro) พบว่าอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 1 mg/l (Chambers และคณะ,

1991) และอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BAP 1 mg/l และ 2,4-D 1 mg/l (Sood *et al*., 1991) สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดี

ส่วนไผ่บงใหญ่ (*D. brandsii*) ได้มีการนำเอาเมล็ดมาเพาะโดย Nadgauda *et al* (1990) ซึ่งใช้อาหารสูตร White ร่วมกับน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร หลังจากเมล็ดงอกย้ายลงในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 50 มิลลิลิตร และน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด

ในการย้ายปลูกในโรงเรือนเพาะชำ วรรณาและคณะ (2534) พบว่า การเลือกหน่อไผ่ตง (*D. asper*) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งคัดเอาหน่อที่มีความสูงมากกว่า 5 เซนติเมตร มาชักนำให้เกิดรากในวัสดุเพาะ (vermiculite) สามารถเกิดรากได้ 100 % ในเวลา 3 สัปดาห์ และยังแตกยอดกระจุกเพิ่มขึ้นซึ่งสามารถทำการแยกกอเพื่อขยายปริมาณได้อีก 54.14 %

นอกจากนี้ ณัฏฐากรและบัณฑิต (2543) พบว่า วิธีการแยกกอออกจากต้นแม่พันธุ์ซึ่งผลิตจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณในเรือนเพาะชำ (macro proliferation) **เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพและลดต้นทุนในการผลิตต้นกล้า ซึ่งจากการศึกษาการแยกกอไผ่ตง พบว่า ขนาดของหน่อและกอแม้จะไม่มีผลต่ออัตราการรอดตายของกล้าไผ่ตงที่ย้ายชำในวัสดุเพาะชำที่มีส่วนผสมของดิน : ทราย : ขี้เถ้าแกลบ ในอัตราส่วน 1:1:1 แต่จะมีผลต่อการแตกหน่อใหม่อย่างมีนัยสำคัญ โดยกอที่มีขนาดเล็กจำนวน 5 หน่อ/กอ สามารถแตกหน่อใหม่ได้ดีกว่ากอขนาดอื่น จึงเหมาะที่จะเลือกกอขนาดนี้มาใช้ในการแยกกอเพื่อเพิ่มปริมาณต้นกล้า**

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนิยมนำมาใช้เพื่อการขยายพันธุ์พืชเศรษฐกิจชนิดต่างๆในปัจจุบันนั้น ปกติจะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชบนอาหารกึ่งแข็งที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตซึ่งมีผลกระตุ้นการเพิ่มปริมาณยอดจำนวนมากโดยไม่เกิดการกลายพันธุ์ แต่วิธีการดังกล่าวต้องใช้ต้นทุนในการผลิตค่อนข้างสูง เทคนิค Temporary immersion จึงได้รับการพัฒนาขึ้นมาเพื่อที่จะลดปัญหานี้ ผลดีของการใช้เทคนิคนี้ต่อการขยายพันธุ์พืชคือ การเกิดยอดจำนวนมาก การพัฒนาเป็นหัวขนาดเล็ก และการเกิดเป็นต้นอ่อนจากเซลล์ร่างกาย (somatic embryogenesis) สิ่งที่ควรให้ความสำคัญในการใช้เทคนิคนี้คือช่วงเวลาในการให้อาหาร (Immersion time) คือช่วงเวลาและ ความถี่ในการให้อาหาร (duration or flush /frequency or rest time : ช่วงเวลาที่ต้นพืชสัมผัสและไม่สัมผัสกับอาหาร)

เป็นตัวแปรที่มีความสำคัญที่ทำให้ระบบมีประสิทธิภาพ การใช้ปริมาณอาหารและขนาดของภาชนะที่เหมาะสมเป็นสิ่งช่วยเสริมให้ระบบมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับการเพิ่มปริมาณยอด การใช้เทคนิคนี้เป็นการพัฒนาคุณภาพของกล้าเนื่องจากช่วยเพิ่มความแข็งแรงของยอด ได้ต้นอ่อนจากเซลล์ร่างกายลักษณะปกติ และไม่เกิดปัญหาการฉ่ำน้ำของพืชในการผลิต เพราะสามารถควบคุมสภาวะของการเลี้ยงได้โดยการปรับช่วงเวลาในการให้อาหาร นอกจากนี้พืชที่ผลิตด้วยเทคนิคนี้ยังสามารถเจริญเติบโตและตั้งตัวได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งและในระบบอาหารเหลว ทั้งหมดนี้พอที่จะสรุปผลดีของการใช้เทคนิค Temporary immersion สำหรับการผลิตพืชได้ดังนี้คือ (1) ลดต้นทุนในการผลิต (2) ลดขั้นตอน ความยุ่งยากในการทำงาน (3) ลดพื้นที่ในการเพาะเลี้ยง (4) ลดจำนวนของภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยง (5) ให้จำนวนของการเกิดยอดหรือการเพิ่มปริมาณของผลผลิตมากกว่าเมื่อเทียบกับการเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งและเหลว

การเพาะเลี้ยงพืชด้วยเทคนิค Temporary Immersion

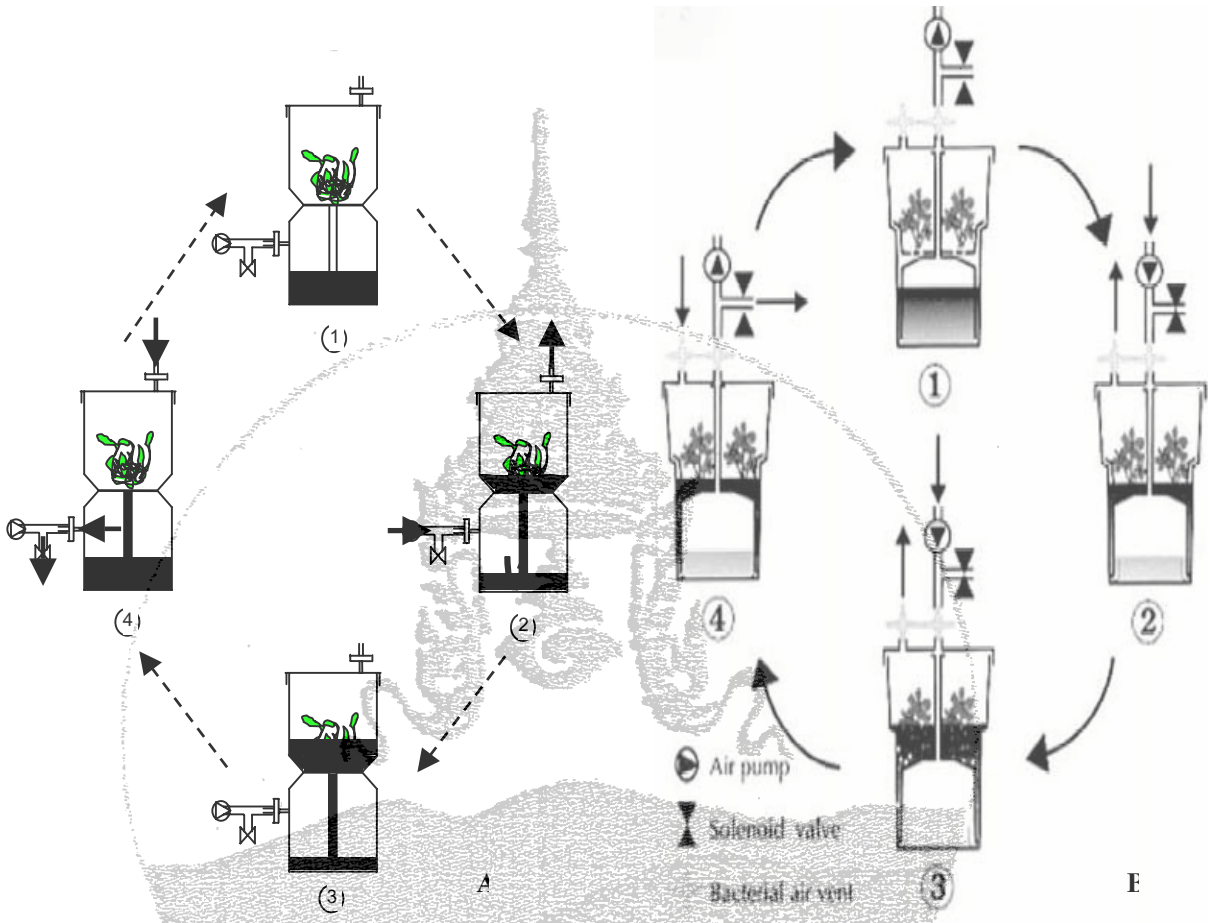
การเพาะเลี้ยงพืชด้วยเทคนิค Temporary immersion คือเทคนิคที่นำเอาข้อดีของการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวและอาหารกึ่งแข็งมาประยุกต์ให้เหมาะกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยการให้สารละลายอาหารโดยอาศัยระบบลม (Pneumatic system) ที่ผ่านการกรองเชื้อจุลินทรีย์ด้วยชุดกรองที่มีแผ่นกรองความละเอียด 0.2 ไมโครเมตรกับชิ้นส่วนพืชตามระยะเวลาและความถี่ที่สามารถกำหนดได้ด้วยเครื่องตั้งเวลา (Timer) ซึ่งมีการทำงานแบบกึ่งอัตโนมัติ

โดยการขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยเทคนิค Temporary Immersion เริ่มจากการศึกษาของ Harris and Mason (1983) ซึ่งได้บรรยายถึงชุดเพาะเลี้ยงที่ได้ออกแบบให้เอียงและได้รับอาหารเป็นช่วงเวลา สลับกับการเติมอากาศ โดยการศึกษานี้เกิดผลดีต่อระบบการเลี้ยงด้วยอาหารเหลว จุดเริ่มต้นเกิดจากการสังเกตุผลการศึกษาของ Stewart *et al*. (1952) ซึ่งได้กล่าวถึงการเลี้ยงแครอท (*Daucus carota*) โดยพบว่าชิ้นส่วนรากที่นำมาเลี้ยงหยุดเจริญเติบโตอย่างกะทันหัน เมื่อจมอยู่ในอาหารเหลวเนื่องจากชิ้นส่วนพืชขาดออกซิเจน พวกเขาจึงได้ออกแบบเครื่องมือที่รู้จักกันในนามของ “auxophyton” ซึ่งจะหมุนภาชนะเลี้ยงพืช ทำให้ต้นพืชได้รับออกซิเจนสลับกับจมลงในอาหาร หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 20 วันชิ้นส่วนเนื้อเยื่อของแครอทมีน้ำหนักมากกว่า 2.6 เท่าเมื่อเทียบกับเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง

จากแนวทางการศึกษาของ Harris and Mason (1983) หลักการนี้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลาย โดยนักวิจัยหลายๆ ท่าน ซึ่งระบบทั้งหมดได้ยึดถือและอ้างอิงถึงเงื่อนไขที่ Teisson *et al*. (1999) ได้รวบรวมไว้คือ

1. หลีกเลี่ยงการจมอย่างต่อเนื่อง ซึ่งจะทำให้การเจริญเติบโตและรูปร่างลักษณะผิดปกติ
2. จัดหาและเปลี่ยนถ่ายออกซิเจนให้เพียงพอ
3. จัดให้มีช่วงของการให้อาหาร (duration time or flush time : ช่วงเวลาที่ต้นพืชสัมผัสกับอาหาร) และความถี่ในการให้อาหาร (frequency time or rest time : ช่วงเวลาที่ต้นพืชไม่สัมผัสกับอาหาร) ที่เหมาะสม
4. ใช้แรงดันได้จำกัด
5. สามารถให้อาหารเป็นระยะแบบอัตโนมัติ
6. ลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์
7. ลดต้นทุนการผลิต

ระบบขวดแบบสองชั้น ใช้ภาชนะขนาดต่างๆกัน โดยแบ่งภาชนะออกเป็น 2 ส่วน ชั้นบนเป็นส่วนรองรับและเลี้ยงชิ้นส่วนพืช ชั้นล่างเป็นส่วนใส่สารละลายอาหารเหลว เมื่อให้แรงดันอากาศในภาชนะส่วนล่างซึ่งบรรจุสารละลายอาหารเหลวอยู่ อากาศจะเข้าไปแทนที่สารละลายอาหารเหลว ดันให้อาหารเหลวเคลื่อนที่ผ่านท่อยางซิลิโคนเข้าท่วมชิ้นส่วนพืชที่อยู่ในภาชนะด้านบนช่วงเวลาของการท่วม (flush time) ขึ้นกับการตั้งเวลาของการให้แรงดันอากาศ ระหว่างที่ชิ้นส่วนจมอยู่ในสารละลายอาหารนั้น จะได้รับออกซิเจนจากฟองอากาศที่ดันและจะกวนจากทางด้านข้างในแบบที่ 1 ส่วนแบบที่สองฟองอากาศจะขึ้นมาจากท่อเชื่อมที่อยู่กลางภาชนะและออกสู่บรรยากาศภายนอกโดยผ่านชุดกรองที่อยู่ด้านบน เมื่อหยุดให้แรงดันอากาศอาหารจะไหลลงสู่ภาชนะด้านล่างด้วยแรงโน้มถ่วงของโลก (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 หลักการและขั้นตอนการทำงานของภาชนะเพาะเลี้ยงระบบขวดแบบสองชั้น

(A) แบบที่ 1 ดัดแปลงจาก Alvard *et al.*(1993);

(B) แบบที่ 2 (RITA® CIRAT model) **จาก** Teisson and Alvard (1995)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืช ได้แก่ เมล็ด ตาจากยอดอ่อนและแขนงแก่ของไผ่หวานอ่างขาง

2. เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ประกอบด้วย เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบหยาบและแบบละเอียด เครื่องมือวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter) กระบอกตวง บีกเกอร์ขนาดต่างๆ ปิเปต ขวดแก้วพร้อมฝาปิด แท่งแก้วคนสาร หม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ และเตาแก๊สเป็นต้น

2.2 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) วุ้นและน้ำตาลซูโครส

2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ BA (6-benzylaminopurine), kinetin (6-furfuryminopurine), NAA (α-naphthaleneacetic acid) และสารเคมีที่ใช้ปรับค่าความเป็นกรด ด่าง ได้แก่ กรดเกลือ (HCL) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

2.4 สารสำหรับฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ โซเดียมไฮโปรคลอไรด์ (sodium hypochlorite) หรือที่รู้จักกันดีในชื่อทางการค้าว่า Clorox, เมอคิวริคคลอไรด์ (mercuric chloride), ทีโพล หรือน้ำยาซันไลด์, เอทธิลแอลกอฮอล์ 70 และ95 เปอร์เซ็นต์

2.5 เครื่องมือที่ใช้ในการย้ายชิ้นส่วนพืชได้แก่ ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ (laminar flow) มีดผ่าตัด ปากคีบ จานแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์ และขวดอาหารที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

3. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช พร้อมชั้นวางขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ใช้หลอดไฟเรืองแสงสีขาว (white light fluorescence) มีอุณหภูมิเฉลี่ย 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงเฉลี่ย 3,000 ลักซ์

4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยเทคนิค Temporary immersion สำหรับการทดลองนี้ใช้ระบบขวดแบบสองชั้น ใช้ภาชนะขนาด 1.0 ลิตรประกอบด้วย

4.1 ภาชนะซึ่งประกอบด้วย 2 ส่วนคือ ภาชนะส่วนบน (เป็นส่วนสำหรับใส่ชิ้นส่วนพืชที่จะทำการเลี้ยงโดยจะมีตะแกรงรองรับและยอมให้ของเหลวไหลผ่าน) และภาชนะส่วนล่าง (ส่วนสำหรับใส่สารละลายอาหาร)

4.2 ท่อซิลิโคนทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมระหว่างภาชนะส่วนบนและส่วนล่าง

4.3 ชุดกรองอากาศมีรูขนาด 0.2 μm

4.4 เครื่องอัดอากาศ

4.5 เครื่องจับเวลา

5. วัสดุที่ใช้ในการปลูกพืช ได้แก่ ถ้วยพลาสติก ยากันรา (ออโธ่ไซด์ 50) ถุงพลาสติก วัสดุปลูกชื่อการค้า ดินทอปเทน ทราย ขี้เถ้าแกลบ

6. วัสดุสำนักงานได้แก่ เครื่องเขียน คอมพิวเตอร์ และอุปกรณ์ถ่ายภาพ

วิธีการ

1. การสำรวจพื้นที่ปลูก

โดยเดินทางสำรวจพื้นที่ปลูกในพื้นที่โครงการหลวง จังหวัดเชียงใหม่ บริเวณสถานีเกษตรหลวงอ่างขาง สถานีเกษตรหลวงปางดะ และไร่สาธิตแม่เหียะ พร้อมทั้งเก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์ และหน่อของไผ่หวานอ่างขาง รวมทั้งหน่อและแขนงจากต้นพันธุ์ที่ได้จากต้นพันธุ์ที่ปลูกไว้ในพื้นที่โรงเรือนอนุบาลกล้าไม้ของสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ เพื่อนำมาใช้เป็นชิ้นส่วนของพืชที่จะนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อขยายพันธุ์ และผลิตต้นพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตภาคอุตสาหกรรม

2. การพัฒนาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์บริเวณผิวของชิ้นส่วนพืช

2.1 การฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวภายนอกเมล็ดพันธุ์ไผ่หวานอ่างขาง

นำเมล็ดพันธุ์ไผ่หวานอ่างขางมาแกะเปลือกหุ้มเมล็ดออกทำความสะอาดโดยฉีดแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอรอกซ์ (clorox) ความเข้มข้นแตกต่างกัน 10 วิธีดังแสดงในตารางที่ 1 ที่เติมทีโพล 1- 2 หยด เขย่าตามเวลาที่กำหนด ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 1 นาที นำเมล็ดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อตามขั้นตอนไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงไว้ในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มของแสงเฉลี่ย 3,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส โดยใช้เมล็ด 20 เมล็ดต่อ 1 วิธี บันทึกผลการปนเปื้อนจุลินทรีย์โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เมล็ดที่ปราศจากเชื้อหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 20 วัน

ตารางที่ 1 การทำความสะอาดชิ้นส่วนเมล็ดของไผ่หวานอ่างขางโดยใช้สารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น และเวลาแตกต่างกัน

วิธีการฟอก	การทำความสะอาด
1	เขย่าด้วยคลอรอกซ์ 10% นาน 10 นาที
2	เขย่าด้วยคลอรอกซ์ 10% นาน 20 นาที
3	เขย่าด้วยคลอรอกซ์ 10% นาน 10 นาที + เขย่าด้วยคลอรอกซ์ 5 % นาน 20 นาที
4	เขย่าด้วยคลอรอกซ์ 15% นาน 15 นาที
5	เขย่าด้วยคลอรอกซ์ 15% นาน 20 นาที
6	เขย่าด้วยคลอรอกซ์ 15% นาน 15 นาที + เขย่าด้วยคลอรอกซ์ 5 % นาน 20 นาที
7	เขย่าด้วยคลอรอกซ์ 20% นาน 10 นาที
8	เขย่าด้วยคลอรอกซ์ 20% นาน 15 นาที + เขย่าด้วยคลอรอกซ์ 5 % นาน 20 นาที
9	เขย่าด้วยคลอรอกซ์ 20% นาน 20 นาที
10	เขย่าด้วยคลอรอกซ์ 20% นาน 30 นาที

เมื่อทราบผลการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวภายนอกเมล็ดพันธุ์ไผ่หวานอ่างขางที่เหมาะสมแล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์ไผ่หวานอ่างขาง 859 เมล็ด ที่ทำการชั่งน้ำหนักและแบ่งเมล็ดออกเป็นกลุ่มต่างๆ ดังนี้ เมล็ดที่มีน้ำหนัก 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140 และ 150 มิลลิกรัมซึ่งมีจำนวน 150, 150, 150, 150, 100, 98, 39 และ 22 เมล็ดตามลำดับ มาดำเนินการฟอกฆ่าเชื้อจากนั้นนำเมล็ดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อตามขั้นตอนไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตรวางเลี้ยงไว้ในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มของแสงเฉลี่ย 3,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส บันทึกผลการงอกโดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เมล็ดงอกที่ปราศจากเชื้อและเปอร์เซ็นต์ของชนิดกล้าที่ได้หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 20 วัน

2.2 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาจากยอดอ่อนและแขนงแก่ของไผ่หวานอ่างขาง

นำแขนงไผ่หวานอ่างขางส่วนตาจากยอดอ่อน และตาจากกิ่งแก่ มาแกะกาบใบออก ตัดเฉพาะส่วนตาข้าง ล้างด้วยน้ำไหล 30 นาที ฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวด้วยวิธีต่อไปนี้

วิธีฟอกฆ่าเชื้อตาจากหน่อหรือยอดอ่อน

1. สารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10% ร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 นาที

2. สารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20% ร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที

3. สารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20% ร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 40 นาที

4. สารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20% ร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 50 นาที

5. สารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20% ร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 60 นาที

วิธีการฟอกฆ่าเชื้อตาจากแขนงแก่

1. สารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 % ร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตรเป็นเวลา 60 นาที

2. สารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 % ร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตรเป็นเวลา 70 นาที

3. สารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 % ร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตรเป็นเวลา 80 นาที

4. สารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 % ร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตรเป็นเวลา 90 นาที

5. สารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 % ร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตรเป็นเวลา 60 นาทีตามด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 % ร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตรเป็นเวลา 20 นาที

6. สารละลายเมอคิวริคคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 % นาน 60 นาทีร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร

7. สารละลายเมอคิวริคคลอไรด์ความเข้มข้น 0.2 % นาน 60 นาทีร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร

8. สารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 % ร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตรเป็นเวลา 60 นาทีตามด้วยสารละลายเมอคิวริคคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 % นาน 20 นาที จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 % ร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตรเป็นเวลา 20 นาทีตาม

ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที จากนั้นตัดส่วนที่ถูกคลอรอกซ์ทำลายออก นำชิ้นส่วนที่มีตาติดอยู่ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต บันทึกการติดเชื้อจุลินทรีย์ การรอดชีวิตภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน

3. พัฒนาสูตรอาหารและเทคนิคในการเพิ่มปริมาณยอดในสภาพปลอดเชื้อด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดังต่อไปนี้

จากผลการดำเนินโครงการในปี 48 พบว่าการเลี้ยงกล้าไผ่หวานอ่างขางบนอาหารสูตร MS ไม่สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน (ภาพที่ 2) และอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถเพิ่มปริมาณได้เพียงเล็กน้อยเฉลี่ย 2.14 ยอด (ภาพที่ 3) ส่วนอาหาร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตรชักนำให้เกิดยอดที่แสดงอาการผิดปกติคือใบขาว (ภาพที่ 4) ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงระยะแรกจึงใช้อาหาร MS ที่มีความเข้มข้นของ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเพื่อ

ให้ต้นมีความแข็งแรง ในระยะแรกของการเลี้ยงและการเปลี่ยนอาหารอาจพบการเกิดสีน้ำตาลของยอดและมีการปล่อยสารสีน้ำตาลลงในอาหาร ซึ่งเกิดได้รุนแรงในบางสายต้น เมื่อเวลาผ่านไประยะหนึ่ง (ประมาณ2-3 เดือน) ปัญหาการเป็นสีน้ำตาลของยอดจะลดลง จากนั้นจึงนำยอดที่เพิ่มปริมาณได้มาใช้ในการทดลองเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับเพิ่มปริมาณยอดเพื่อกระตุ้นให้เกิดยอดใหม่ต่อไป

ภาพที่ 2 ไผ่หวานอ่างขางบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต อายุ 30 วัน

ภาพที่ 3 ไผ่หวานอ่างขางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ภาพที่ 4 ไผ่หวานอ่างขางบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงอาการใบขาว

3.1 การเพิ่มปริมาณยอดบนสูตรอาหาร MS ที่ดัดแปลงต่างของไผ่หวานอ่างขาง

เลือกต้นกล้าไผ่หวานอ่างขางที่มีการเจริญเติบโตและมีการแตกกอดี นำมาทำการแบ่งกอและลอกกาบหุ้มตาออกเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA (6-benzyladenine), α-napthaleneacetic acid (NAA) Kinetin (Kn) และน้ำมะพร้าว (CW) ดังนี้

1) MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA, Kn และ CW 1, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ต่อลิตรตามลำดับ

2) MSที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA, Kn และ CW 1, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ต่อลิตรตามลำดับ

3) MSที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA, Kn และ CW 1, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ต่อลิตรตามลำดับ

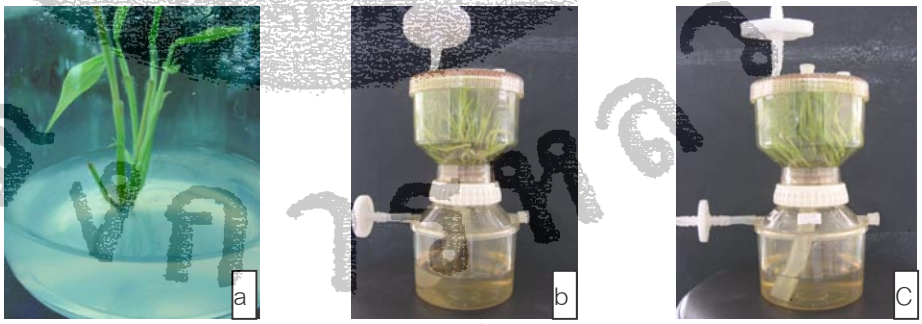
4) MSที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA, Kn และ CW 1, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ต่อลิตรตามลำดับ

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 สิ่งทดลอง สิ่งทดลองละ 5 ซ้ำ โดยตัดแยกกล้าไผ่ออกเป็นกอๆ ละ 3 ยอด ลงเลี้ยงในแต่ละขวด นำไปเลี้ยงในสภาพให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสงเฉลี่ย 3,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส และย้ายกล้าลงอาหารสูตรเดิม ทุก 1 เดือน บันทึกจำนวนยอดที่เพิ่มขึ้นและลักษณะของยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน

3.2 การเปรียบเทียบการเพิ่มปริมาณยอดด้วยการใช้เทคนิค อาหารกึ่งแข็ง และเทคนิค Temporary immersion

ใช้อาหารสูตรที่เหมาะสมจากการทดลอง 2.1 โดยนำยอดไผ่หวานอ่างขางมาเพาะเลี้ยงในสภาพของการเลี้ยงต่างกัน 3 วิธีดังแสดงใน ภาพที่ 5 คือ

1. นำยอดไผ่หวานอ่างขางจำนวน 3 ยอดต่อ 1 กอจำนวน 4 กอ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง เปลี่ยนอาหารทุกๆ 20 วันเป็นเวลา 60 วัน
2. นำยอดไผ่หวานอ่างขางจำนวน 12 ยอด มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวโดยให้สารละลายอาหาร 1 นาทีทุกๆ 1 ชั่วโมง และเปลี่ยนอาหารทุกๆ 20 วันเป็นเวลา 60 วัน (TIS1)
3. นำยอดไผ่หวานอ่างขางจำนวน 12 ยอด มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวโดยให้สารละลายอาหาร 5 นาทีทุกๆ 3 ชั่วโมง และเปลี่ยนอาหารทุกๆ 20 วันเป็นเวลา 60 วัน (TIS2)



ภาพที่ 5 การเพิ่มปริมาณยอดไผ่หวานอ่างขางในสภาพปลอดเชื้อ โดยการใช้เทคนิคต่างๆ กัน

a. เทคนิคอาหารกึ่งแข็ง b. เทคนิคTemporary immersion (TIS_1)

c. เทคนิคTemporary immersion (TIS_2)

4. การชักนำให้ยอดเกิดราก

นำยอดไผ่หวานอ่างขางที่มีการเจริญเติบโตดีจากขั้นตอนการเพิ่มปริมาณมาแบ่งกอและลอกกาบหุ้มตาออกเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และสูตรอาหารดัดแปลงที่เติม IBA, NAA ดังนี้

1) MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (R_1)
2) MS ที่เติม IBA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (R_2)
3) MSที่เติม IBA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (R_3)
4) MSที่เติม NAA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (R_4)

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 สิ่งทดลอง สิ่งทดลองละ 10 ซ้ำ โดยตัดแยกกล้าไผ่ออกเป็นกอๆ ละ 3 ยอดต่อ 1 ขวดเป็น 1 ซ้ำ นำไปเลี้ยงในสภาพให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสงเฉลี่ย 3,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส และย้ายลงอาหารสูตรเดิมทุก 1 เดือน บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดรากหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน

5. การย้ายต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกสู่สภาพธรรมชาติ

นำขวดที่มีต้นกล้าไผ่หวานอ่างขางที่สมบูรณ์แข็งแรงไปวางเลี้ยงในสภาพแวดล้อมปกติ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดนำต้นกล้าไผ่มาล้างวุ้นที่รากออกให้หมด แช่น้ำยากันเชื้อราออโธ่ไซด์ประมาณ 3 นาที แล้วนำไปปลูกในภาชนะที่มีเครื่องปลูกชื่อการค้า ดินทอปเทน รดน้ำจากนั้นครอบด้วยถุงพลาสติก ปิดปากถุง วางไว้ในที่ร่มเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกอัตราการรอดตายหลังการย้ายปลูกเป็นเวลา 30 วัน

6. การแยกกอปลูกเพื่อเพิ่มปริมาณกล้าไผ่หวานอ่างขาง

นำเมล็ดไผ่หวานอ่างขางที่ได้จากสวนรวมพันธุ์ไผ่แม่เหียะ โครงการหลวงที่ทำการเก็บเมื่อเดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2547 ซึ่งได้รับเพิ่มเติมจากโครงการหลวงในครั้งที่ 2 และ3 จำนวน 1,800 เมล็ดมาทำการเพาะเลี้ยง ณ โรงเรือนอนุบาลกล้าไม้ของหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพเพื่ออุตสาหกรรม สถาบันผลิตผลเกษตร จากนั้นทำการคัดเลือกกล้าไผ่หวานอ่างขางที่มีการเจริญเติบโตดี

มาทำการแยกกอโดยแบ่งตามจำนวนหน่อเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ 1 มีจำนวนหน่อ 3 หน่อ/กอ และกลุ่มที่ 2 มีจำนวนหน่อ 5 หน่อ/กอ การแยกกอในแต่ละลักษณะมีจำนวน 1 กอต่อ 1 ซ้ำๆ จำนวน 10 ซ้ำ ชำกอไผ่ที่แยกแล้วลงในถุงซึ่งบรรจุวัสดุเพาะชำ ซึ่งเป็นส่วนผสมของดิน:ทราย:ขี้เถ้าแกลบ ในอัตราส่วน 1:1:1 แล้วนำไปวางในเรือนเพาะชำ ซึ่งพรางแสงด้วยตาข่ายที่ระดับ 50% ให้น้ำทุก 2 ชั่วโมง ครั้งละ 5 นาที ในช่วงสัปดาห์แรก จากนั้นลดลงเหลือวันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น ทำการตรวจสอบการรอดตาย และจำนวนหน่อ/กอทุกเดือนเป็นเวลา 3 เดือน

ผลและวิจารณ์

1. การสำรวจพื้นที่ปลูก

เก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์ และหน่อของไผ่หวานอ่างขางจากสถานีเกษตรหลวงอ่างขาง สถานีเกษตรหลวงปางดะ และไร่สาธิตแม่เหียะ รวมทั้งหน่อและแขนงจากต้นพันธุ์ที่ได้จากต้นพันธุ์ที่ปลูกไว้ในพื้นที่โรงเรือนอนุบาลกล้าไม้ของสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ภาพที่ 6-11)ได้ผลดังนี้

- เก็บตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ไผ่ 620 เมล็ด และได้รับเมล็ดเพิ่มเติมจากสวนรวมพันธุ์พันธุ์ไผ่แม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 3,500 เมล็ด
- เก็บตัวอย่างหน่อไผ่ 23 หน่อ
- เก็บตัวอย่างตาจากกิ่งแขนง 1,088 ตา และทำการเก็บเพิ่มต้นปี 2548 จำนวน 500 ตา

ลักษณะลำต้น และการแตกกอของไผ่หวานอ่างขางที่มีอายุเท่ากัน จากสถานีเกษตรหลวงอ่างขาง และสถานีเกษตรหลวงปางดะ มีลักษณะคล้ายคลึงกัน คือมีขนาดลำต้นใหญ่ มีความสูงประมาณ 20 เมตร ส่วนไผ่หวานอ่างขางที่ไร่สาธิตแม่เหียะ มีการแตกกอน้อยกว่า ขนาดของลำต้นเตี้ย และเล็กกว่ามาก ทั้งนี้เนื่องจากสภาพภูมิอากาศ และอุณหภูมิของที่ปลูกต่างกัน และสภาพดินที่ไร่สาธิตแม่เหียะ ค่อนข้างแข็งและมีธาตุอาหารน้อยกว่า

ภาพที่ 6 การสำรวจพื้นที่แปลงปลูก และลักษณะกอไผ่หวานอ่างขาง อายุ 3 ปีที่สถานีเกษตรหลวงปางดะ

ภาพที่ 7 ลักษณะของหน่อไผ่หวานอ่างขางที่เก็บมาใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการฟอกฆ่าเชื้อ ที่สถานีเกษตรหลวงปางดะ

ภาพที่ 8 การสำรวจพื้นที่แปลงรวบรวมพันธุ์ไผ่ และลักษณะกอไผ่หวานอ่างขาง ที่สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง

ภาพที่ 9 การสำรวจพื้นที่แปลงปลูก ลักษณะการแตกกอ และขนาดลำต้นไผ่หวานอ่างขางอายุ 3 ปี ที่ไร่สาธิตแม่เหียะ

ภาพที่ 10 ต้นพันธุ์ไผ่หวานอ่างขางอายุ 3 ปี ที่โรงเรือนอนุบาลกล้าไม้ของสถาบันผลิตผลเกษตรฯ

ภาพที่ 11 ลักษณะตัวอย่างของเมล็ดไผ่หวานอ่างขาง จากสถานีเกษตรหลวงอ่างขางและสวนรวมพันธุ์ไผ่แม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

2. การพัฒนาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์บริเวณผิวของชิ้นส่วนพืช

2.1 การฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวภายนอกเมล็ดพันธุ์ไผ่หวานอ่างขาง

จากการทดลองฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวภายนอกเมล็ดพันธุ์ไผ่หวานอ่างขาง ด้วยความเข้มข้นของคลอรอกซ์ และเวลาในการฟอกแตกต่างกัน 10 วิธี แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน พบว่า วิธีการทำความสะอาดชิ้นส่วนเมล็ดที่ทำให้เมล็ดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์โดยรวมดีที่สุด คือการใช้ คลอรอกซ์ ที่ระดับความเข้มข้น 10-15 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้เมล็ดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ดีที่สุด โดยระยะเวลาที่ใช้มากขึ้นช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์เมล็ดที่ปราศจากเชื้อมากขึ้น แต่เปอร์เซ็นต์การตายของเมล็ดมีเพิ่มมากขึ้นด้วยและเป็นผลให้เปอร์เซ็นต์การงอกลดต่ำลง เนื่องจากความเข้มข้นของคลอรอกซ์ที่มีความเข้มข้นสูงและระยะเวลาฟอกนานจะทำลายเนื้อเยื่อของต้นอ่อน สำหรับวิธีการฟอกที่ทำให้เมล็ดปราศจากเชื้อมากที่สุดคือ วิธีที่ 6, 8, 9 และ 10 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดที่ปราศจากเชื้อ 95, 100, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาการมีชีวิตของเมล็ดที่ปราศจากเชื้อ พบว่าวิธีที่ 6 คือการฟอกเมล็ดโดยใช้คลอรอกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาทีในครั้งที่1 และคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาทีในครั้งที่ 2 จะให้เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเมล็ดมากที่สุดคือ 79 เปอร์เซ็นต์ ส่วนวิธีที่ 8, 9 และ 10 ถึงแม้จะให้ชิ้นส่วนที่ปราศจากเชื้อ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของชิ้นส่วนน้อย และมีการตายของชิ้นส่วนมากกว่า ดังนั้นวิธีการฟอกที่ 6 จึงเป็นวิธีการฟอกที่เหมาะสมที่สุดในการทำความสะอาดเมล็ดไผ่หวานอ่างขาง(ภาพที่ 12,ตารางที่ 2)

ภาพที่ 12 เมล็ดไผ่หวานอ่างขางที่ปราศจากเชื้อหลังเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 7 วัน

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์เมล็ดที่ปราศจากเชื้อ จากการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวภายนอกเมล็ดพันธุ์ ด้วยความเข้มข้นของคลอรอกซ์ ในความเข้มข้นและระยะเวลาในการฟอกแตกต่างกัน

วิธีการฟอกทำความสะอาดด้วยคลอรอกซ์	เมล็ดที่ปราศจากเชื้อ (%)	เมล็ดที่ปราศจากเชื้อ (%)	
		การมีชีวิต	การตาย
1) 10% นาน 10 นาที	5	100	0
2) 10% นาน 20 นาที	35	71	29
3) 10% นาน 10 นาที + 5 % นาน 20 นาที	80	75	25
4) 15% นาน 15 นาที	55	73	27
5) 15% นาน 20 นาที	80	63	38
6) 15% นาน 15 นาที + 5 % นาน 20 นาที	95	79	21
7) 20% นาน 10 นาที	85	41	59
8) 20% นาน 15 นาที + 5 % นาน 20 นาที	100	30	70
9) 20% นาน 20 นาที	100	25	75
10) 20% นาน 30 นาที	100	20	80

เนื่องจากเมล็ดที่ได้รับเพิ่มเติมจากโครงการหลวงในครั้งที่ 2 จำนวน 2,857 เมล็ดสามารถแยกกลุ่มของเมล็ดได้ดังนี้คือเมล็ดที่มีน้ำหนักตั้งแต่ 20-70 มิลลิกรัมต่อเมล็ดมีจำนวน 1,007 เมล็ด (35 เปอร์เซ็นต์) พบว่าเป็นเมล็ดมีการเจริญของส่วนที่เป็นต้นอ่อนหรือคัพภะไม่สมบูรณ์ ส่วนเมล็ดที่ถูกแมลงเจาะทำลายและมีเชื้อจุลินทรีย์เข้าทำลายมีจำนวน 63 เมล็ด (2 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเลือกใช้เมล็ดที่มีน้ำหนักตั้งแต่ 80-150 มิลลิกรัมต่อเมล็ดมีจำนวน 1,787 เมล็ด (63 เปอร์เซ็นต์) โดยแบ่งเมล็ดมาทำการศึกษาดังรายละเอียดจำนวนเมล็ดตามวิธีการที่ได้กล่าวไว้มาทำการฟอกด้วยวิธีการที่เหมาะสมจากการศึกษานี้ซึ่งสรุปได้ว่าวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดพันธุ์ไผ่หวานอ่างขางที่เหมาะสมคือการฟอกด้วยคลอรอกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาทีในครั้งที่ 1 และคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาทีในครั้งที่ 2 แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งจากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร วางไว้ในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าเมล็ดไผ่มีการงอกโดยเฉลี่ย 56 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มน้ำหนักที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดได้แก่เมล็ดที่มีน้ำหนัก 110 มิลลิกรัมรองลงมาได้แก่ 100, 90, 120, 140, 150, 130 และ 80 มิลลิกรัมตามลำดับโดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกคือ 65, 63, 59, 57, 56, 50, 50 และ 45 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 3) สามารถแบ่งชนิดของต้นอ่อนได้

เป็น 4 ชนิด (ตารางผนวกที่1) เมื่อพิจารณาถึงชนิดของต้นอ่อนพบว่าเมล็ดที่งอกโดยเฉลี่ยรวม 86.8 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้นกล้าชนิดผิดปกติ ส่วนต้นกล้าปกติเฉลี่ยมี 13.2 เปอร์เซ็นต์ของเมล็ดที่งอก และปราศจากเชื้อในแต่ละกลุ่มน้ำหนัก โดยเมล็ดที่มีน้ำหนัก 150 มิลลิกรัมมีเปอร์เซ็นต์การงอกเป็นชนิดกล้าที่สมบูรณ์สูงที่สุด รองลงมาได้แก่เมล็ดที่มีน้ำหนัก 100, 120, 110, 140, 90 และ130 มิลลิกรัมตามลำดับ ในขณะที่เมล็ดที่มีน้ำหนัก 80 มิลลิกรัมพบเฉพาะต้นกล้าที่ผิดปกติ ซึ่งมีอัตราการงอกเป็นต้นกล้าชนิดสมบูรณ์ดังนี้ 18, 17, 16, 15, 14, 13 และ 12 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษานี้พบว่าทุกกลุ่มน้ำหนักมีเปอร์เซ็นต์ต้นอ่อนผิดปกติโดยเฉลี่ยรวม 86.8 เปอร์เซ็นต์ซึ่งถือว่าสูงมาก สาเหตุที่ทำให้ต้นอ่อนผิดปกติอาจเกิดจากส่วนที่สำคัญของต้นอ่อนถูกทำลาย ทำให้ต้นอ่อนมีลักษณะผิดปกติไปรวมทั้งอาจเนื่องมาจากการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ และการเสื่อมความมีชีวิตของเมล็ดเองเพราะเมล็ดที่นำมาทดลองได้จากการเก็บมาจากสวนรวมพันธุ์ไผ่แม่เหียะเมื่อเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ.2547 เมล็ดจึงผ่านการเก็บรักษาในตู้เย็นธรรมดามานานถึง 1 ปี 8 เดือน (ทำการทดลองเดือนตุลาคม 2548) ทำให้เมล็ดมีคุณภาพต่ำ ส่วนต้นกล้าเผือกหรือมีสีขาว (albino seedling) พบเพียง 0.3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นอ่อนปกติที่มีการเจริญของยอดและรากสมบูรณ์เฉลี่ยมี 13.2 เปอร์เซ็นต์ โดยสรุปการศึกษานี้ได้ต้นกล้าปกติปลอดเชื้อที่มีความสมบูรณ์ 63 สายต้น (clone) ทั้งนี้จะพบว่าเมื่อทำการแยกกลุ่มของเมล็ดออกด้วยน้ำหนักของเมล็ดพบว่าเมล็ดที่มีน้ำหนักตั้งแต่ 90 มิลลิกรัมต่อเมล็ดขึ้นไปให้เปอร์เซ็นต์การงอกมากกว่าร้อยละ 50 โดยกลุ่มเมล็ดที่มีน้ำหนัก 110 มิลลิกรัมต่อเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุด คือ 65 เปอร์เซ็นต์ส่วนกลุ่มน้ำหนักอื่นให้เปอร์เซ็นต์การงอกรองลงไป (ตารางที่ 3) ซึ่งเปอร์เซ็นต์การงอกดังกล่าวนับว่าสูง เมล็ดที่ใช้เพาะเป็นเมล็ดที่มีการเก็บมาเกือบ 2 ปีแต่เมื่อนำมาเพาะบนอาหารสังเคราะห์ที่มีการเติม BA ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินอาจมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ ทำให้เมล็ดงอก แม้เมล็ดที่เก่าก็สามารถงอกได้ถ้าให้สารนี้เข้าไป (จวงจันทร์, 2529) จึงอาจเป็นไปได้ว่าการให้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินในอาหารสังเคราะห์มีผลช่วยให้เมล็ดงอกดีขึ้น ส่วนเมล็ดในแต่ละกลุ่มน้ำหนักซึ่งมีอัตราการงอกแตกต่างกันอาจเนื่องจากคุณสมบัติภายในของเมล็ดเอง หรือจะกล่าวอีกทางหนึ่งคือการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดทั้งทางด้านชีวภาพและกายภาพ นั่นคือ เมล็ดที่พ้นระยะการสุกแก่ทางสรีรวิทยาไปแล้วจะเริ่มเสื่อมคุณภาพ เนื่องจากไม่มีการอาหารสะสมมากขึ้น ในทางกลับกันเมล็ดยังคงมีการหายใจ จึงมีการเผาผลาญอาหารที่เก็บสะสมไว้ ซึ่งอัตราการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดแต่ละหน่วยหรือแต่ละเมล็ดย่อมแตกต่างกัน ทั้งนี้กลุ่มของเมล็ดที่มีน้ำหนักแตกต่างกันย่อมอยู่ในตำแหน่งของช่อดอกที่มีการเจริญเติบโตและมีระยะเวลาในการสุกแก่ทางสรีรวิทยาที่แตกต่างกันถึงแม้ว่าจะอยู่ในช่อดอกเดียวกันก็ตาม ดังนั้นจึงพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การ

งอกต่างกัน อีกทั้งเมล็ดที่เสื่อมคุณภาพเมื่อนำมาเพาะทำให้เมล็ดไม่งอก หรืองอกเป็นต้นกล้าผิดปกติได้ นอกจากนี้ปัจจัยที่ส่งเสริมการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดอีกประการหนึ่งคือความชื้นภายในเมล็ดเนื่องจากเมล็ดที่นำมาทดลองนี้เมล็ดมีความชื้นประมาณ 13 เปอร์เซ็นต์นั้นถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่สูง เนื่องจากการเก็บรักษาเมล็ดไว้ในห้องเย็นควรลดความชื้นของเมล็ดให้อยู่ในช่วง 8-10 เปอร์เซ็นต์ เพราะความชื้นภายในเมล็ดมีผลต่อคุณภาพของเมล็ดโดยตรงเนื่องจากกิจกรรมของเมล็ดสามารถเกิดได้ต่อไปแม้จะทำการเก็บในที่เย็น ดังนั้นคุณภาพของเมล็ดไผ่ที่จะนำมาใช้เพื่อการขยายพันธุ์จึงต้องคำนึงถึงช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเมล็ดที่แก่จัดไม่อ่อนเกินไป เพราะถึงแม้ว่าเมล็ดสามารถงอกได้สูงสุดก่อนที่เมล็ดจะสุกแก่ทางสรีรวิทยา หรือก่อนที่เมล็ดจะมีน้ำหนักแห้งสูงสุดก็ตาม แต่ความแข็งแรงของเมล็ดเพิ่มขึ้นช้ากว่าการงอกของเมล็ด โดยเกิดสูงสุดขณะที่เมล็ดสุกแก่ทางสรีรวิทยาเท่านั้น และลดลงในอัตราที่เร็วกว่าการลดลงของความงอก ดังนั้นอาจสรุปได้ว่าความแตกต่างทีเกิดขึ้นอาจเนื่องมาจากปัจจัยภายในของแต่ละเมล็ดนั่นเอง

จากการฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวเมล็ด ได้ต้นกล้าปลอดเชื้อจำนวน 63 สายต้น (clone) ต้นอ่อนจะงอกบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตรภายในเวลา 7 วันในลักษณะเป็นยอดเดียวและเกิดรากสีขาว 1-2 ราก (ภาพที่ 12) บางสายต้นมีลักษณะผิดปกติคือต้นผอมสีเหลืองซีด เมื่อทำการเลี้ยงกล้าปกติและกล้าผิดปกติที่มีการเจริญเฉพาะส่วนยอดที่มีความแข็งแรง พบว่ากล้าส่วนใหญ่มีการเจริญเติบโตน้อยมาก เมื่อทำการย้ายเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตรกล้าปล่อยสารสีน้ำตาลลงอาหารมาก ยอดมีขนาดเล็ก รากกุดสั้นเป็นสีน้ำตาลไม่มีการเจริญของยอดหรือรากเพิ่มขึ้นเลย ในระยะ 3-4 เดือน ยอดกลายเป็นสีน้ำตาลดำตายไปในที่สุด มีเพียง 13 สายต้นซึ่งพบว่าเป็นกล้าที่ได้จากเมล็ดที่มีน้ำหนักตั้งแต่ 100 มิลลิกรัมต่อเมล็ดขึ้นไปที่มีการเจริญเติบโตสามารถแตกหน่อขยายกอได้ดี ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเมล็ดมีความแข็งแรงไม่เท่ากัน อันเป็นสาเหตุจากความผันแปรด้านคุณภาพของเมล็ดขณะเก็บเมล็ด หรือขณะที่นำมาใช้ในการทดลอง รวมถึงการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดแต่ละเมล็ดที่แตกต่างกัน ดังที่ได้กล่าวแล้วข้างต้น ซึ่งส่งผลต่อความสามารถในการเจริญเติบโตและการตอบสนองของต้นกล้าในแต่ละสายต้นต่ออาหารสังเคราะห์ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต นอกจากนี้ปัจจัยที่สำคัญที่สุดคือแต่ละสายต้นที่ได้นั้นเกิดจากเมล็ดที่มีความแตกต่างกันเนื่องจากพันธุกรรมที่แตกต่างกันสอดคล้องกับการทดลองของกัณยารัตน์ (2534) ซึ่งรายงานว่าต้นกล้าไผ่หวานอ่างขางที่เกิดจากการเพาะเมล็ด มีการเจริญเติบโตแตกต่างกัน ซึ่งเกิดจากลักษณะพันธุกรรมของแต่ละเมล็ด ซึ่งอาจมีการกลายพันธุ์ไปจากต้นแม่หรือพันธุ์เดิมที่นำมา

ปลูก ทั้งนี้การกลายพันธุ์อาจทำให้ได้สายต้นที่ดีขึ้นหรือเลวลงก็ได้ การขยายพันธุ์ด้วยการใช้เมล็ดเป็นส่วนขยายพันธุ์จึงทำให้มีโอกาสในการคัดเลือกสายต้นที่ดีมีมากขึ้น

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดที่ปราศจากเชื้อและเปอร์เซ็นต์ของชนิดกล้าที่ได้จากเมล็ดไผ่หวานอ่างขางที่มีน้ำหนักต่างกัน

น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	จำนวน (เมล็ด)	การงอก (%)	ชนิดของต้นอ่อน[1] (%)			
			1	2	3	4
80	150	45	0	76	0	24
90	150	59	13	71	1	15
100	150	63	17	63	1	19
110	150	65	15	74	0	10
120	100	57	16	68	0	16
130	98	50	12	69	0	18
140	39	56	14	78	0	8
150	22	50	18	64	0	18
รวม	859	เฉลี่ย 56	13.1	70.5	0.3	16.0

หมายเหตุ [1] รายละเอียดการจำแนกชนิดของต้นอ่อนดังตารางผนวกที่ 1

2.2 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาจากยอดอ่อนและแขนงแก่ของไผ่หวานอ่างขาง

จากการฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวตาจากยอดอ่อนด้วยวิธีการต่างๆ พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 % ร่วมกับทีโพล 2-3 หยดเป็นเวลา 40 นาทีทำให้ชิ้นส่วนพืชมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุด 53.33 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4) เมื่อสังเกตการเจริญเติบโตของตาที่ปลอดเชื้อเป็นเวลา 30 วันปรากฏว่าตาข้างไม่สามารถพัฒนาเป็นยอดใหม่ได้ (ภาพที่ 13)

เมื่อฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาจากแขนงแก่ด้วยวิธีต่างๆ พบว่าเกิดการปนเปื้อนจุลินทรีย์มากกว่าตาจากยอดอ่อนแต่ตาข้างสามารถพัฒนาเป็นยอดใหม่ได้ตาภายใน 30 วันโดยวิธีที่สามารถทำให้ปลอดเชื้อได้และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด 93.75 เปอร์เซ็นต์ คือ การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสาร

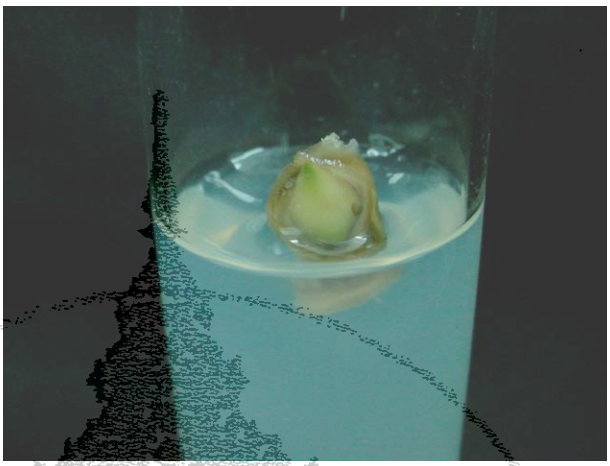
ละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 % ร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตรเป็นเวลา 80 นาที (ตารางที่ 5) ตาข้างสามารถเจริญเป็นยอดใหม่ที่มีความยาว 0.5-1 เซนติเมตรได้ภายใน 30 วัน (ภาพที่ 14)

ตารางที่ 4 การฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวของตาจากยอดอ่อนของไผ่หวานอ่างขางด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้นในระยะเวลาต่างๆกัน

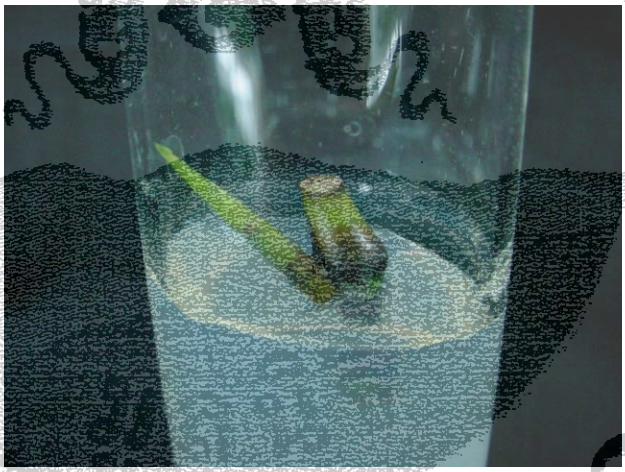
วิธีการ	การปนเปื้อน (เปอร์เซ็นต์)	การรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์)
1. คลอรอกซ์ 10% นาน 10 นาที	83	17.39
2. คลอรอกซ์ 10%นาน 30 นาที	0	37.50
3. คลอรอกซ์ 20%นาน 40 นาที	47	53.33
4. คลอรอกซ์ 20%นาน 50 นาที	42	31.57
5. คลอรอกซ์ 20%นาน 60 นาที	18	40.90

ตารางที่ 5 การฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวของตาจากแขนงแก่ของไผ่หวานอ่างขางด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น และ สารละลายเมอคิวริคคลอไรด์ ในระยะเวลาต่างๆกัน

วิธีการ	ปนเปื้อน (%)	ตาย (%)	รอดชีวิต (%)
1. คลอรอกซ์ 20% เวลา 60 นาที	51	-	48.57
2. คลอรอกซ์ 20% เวลา 70 นาที	42	-	58.33
3. คลอรอกซ์ 20%เวลา 80 นาที	18	-	93.75
4. คลอรอกซ์ 20%เวลา 90 นาที	13	-	87.50
5. คลอรอกซ์ 20%เวลา 60 นาที+คลอรอกซ์ 20% เวลา 20 นาที	96		1
6. เมอคิวริคคลอไรด์ 0.1 % นาน 60 นาที	74		2
7. เมอคิวริคคลอไรด์ 0.2 % นาน 60 นาที	100	0	
8. คลอรอกซ์ 20%เวลา 60 นาที+เมอคิวริคคลอไรด์ 0.1% นาน 20 นาที และคลอรอกซ์ 20% เป็นเวลา 20 นาที	43	12	



ภาพที่ 13 ลักษณะตาจากยอดอ่อนเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 30 วัน



ภาพที่ 14 การเจริญของตาจากแขนงแก่เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 30 วัน

3. การพัฒนาเทคนิคและสูตรอาหารในการเพิ่มปริมาณยอดในสภาพปลอดเชื้อ

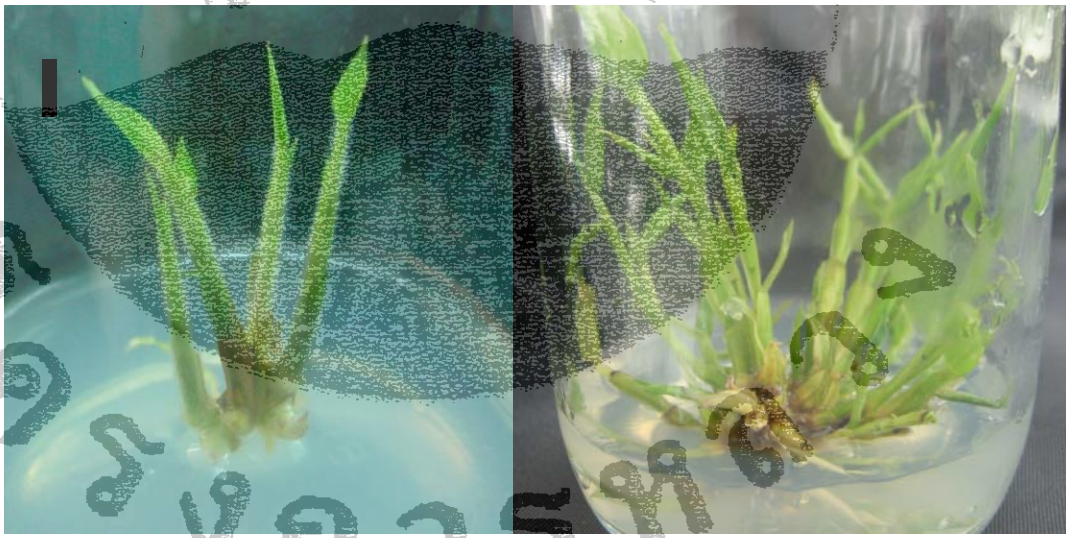
3.1 การเพิ่มปริมาณยอดบนสูตรอาหาร MS ที่ดัดแปลงต่างของไผ่หวานอ่างขาง

เมื่อนำกล้าไผ่หวานอ่างขางที่มีการเจริญเติบโตและมีการแตกกอดีมาเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ดัดแปลงเติม BA ในระดับต่างๆ ร่วมกับ NAA, Kn และ CW 1, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ต่อลิตรตามลำดับ เพื่อดูอัตราการเพิ่มปริมาณในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน (ตา

รางที่ 6) พบว่าอาหารสูตรที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 8.0 ยอด และคิดเป็นอัตราการเพิ่มปริมาณยอดได้ 1.43 เท่าต่อเดือน ยอดมีลักษณะอวบสีเขียวสดเกิดเป็นหน่อเล็กๆ มีใบเล็กๆ ที่ปลายยอด และเมื่อเลี้ยงบนอาหารนี้ต่อไปอีกยอดมีการเจริญและเกิดหน่อเป็นกระจุกบริเวณโคนของกอ ซึ่งที่โคนกอเป็นสีน้ำตาลเล็กน้อย ปล่อยสารสีน้ำตาลลงสู่อาหารในระดับปานกลาง (ภาพที่ 15) รองลงมาได้แก่อาหารที่มี BA 5, 3 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยมีปริมาณยอดเฉลี่ย 7.8, 5.3 และ 4.7 ยอด และคิดเป็นอัตราการเพิ่มปริมาณยอด 1.4, 1.0 และ 0.87 เท่าต่อเดือนตามลำดับ โดยพบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของ BA ลดลงยอดจะมีลักษณะสมบูรณ์ การเจริญของใบดีกว่าที่ BA ระดับที่สูงกว่า โดยการเลี้ยงอาหารที่มี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญของใบดี มีขนาดใหญ่ขึ้น ยอดมีความสูงมากกว่าทุกสูตรอาหาร ส่วนยอดไผ่หวานอ่างขางที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้น เมื่อเลี้ยงบนอาหารนี้เป็นเวลานานเกิดลักษณะเป็นกระจุกและก้อนแข็งสีเขียวของยอด เกิดสีน้ำตาลและปล่อยสารสีน้ำตาลลงสู่อาหารปริมาณมากยอดมีขนาดเล็กเรียว และยอดมีลักษณะไม่ค่อยสมบูรณ์

ดังนั้นจากการเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ดัดแปลงดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้นเป็นเวลา 60 วัน พบว่าอาหาร MS ที่เติม BA 4 1 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA, Kn และ CW 1, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ต่อลิตรตามลำดับ เหมาะสมต่อการชักนำให้ยอดของไผ่หวานอ่างขางเพิ่มปริมาณเนื่องจากสามารถแตกหน่อใหม่จากตาข้างที่อยู่บริเวณฐานของกอและตาบริเวณข้อเจริญเติบโตได้ดี แต่พบว่าปล่อยสารสีน้ำตาล (Browning) ลงบนอาหารทำให้โคนต้นกลายเป็นสีดำ มีอัตราการแตกกอต่ำลง สามารถแก้ไขด้วยการเปลี่ยนอาหารใหม่ให้เร็วขึ้น เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 2-3 เดือนการเป็นสีน้ำตาลของยอดและปล่อยสารสีน้ำตาลลงในอาหารจะลดลงจะลดลง นอกจากนี้การลอกกาบซึ่งหุ้มตาข้างบริเวณข้อออกช่วยให้การแตกหน่อใหม่สามารถเกิดได้ดียิ่งขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Gruezo และคณะ (1988) ศึกษาการเพาะเลี้ยง ส่วนข้อของไผ่ *(Dendrocalamus latiflorur* cv. Machiku) โดยเลี้ยงตาข้างจากกิ่งแขนง บนอาหารสูตร Murashige และ Skoog (MS) และ ½MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 20 30 และ 40 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ Benzylaenin (BA) ที่ความเข้มข้น 1 2.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าตาข้างมีเปอร์เซ็นต์ การแตกกอสูงสุด เมื่อเลี้ยงบนอาหาร ½MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 และ 40 กรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 2.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร Chambers และคณะ (1991) ได้ทำการ เพาะเมล็ดไผ่หก (*Dendrocalamus hamiltonii* Munro) บนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร เลี้ยงในที่มืด เมื่อต้นกล้ามีอายุ 2 สัปดาห์ นำมาตัดเป็นข้อๆ จากนั้นนำข้อเลี้ยง บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 12 สัปดาห์

พบว่า สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด กัณยารัตน์ (2534) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาดอกอ่อน เมล็ด กาบใบอ่อน และตาข้างไผ่ 4 ชนิด คือ ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) ไผ่หมาจู๋ (*Dendrocalamus latiflorus*) ไผ่ลิ่วจู๋ (*Bambusa oldhamii*) และไผ่ม่งจงจู๋ (*Phyllostachys pubsecens*) พบว่า ตาดอกอ่อนของไผ่ตง ไผ่หม่าจู๋ และไผ่ลิ่วจู๋ พัฒนาเป็นยอดและดอกอ่อน เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 0 2.5 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ α-napthaleneacetic acid (NAA) 0 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมล็ดไผ่ตงเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) 1-3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเจริญเป็นแคลลัส จากนั้นพัฒนาเป็นเอมบริออย และต้นอ่อน เมื่อเลี้ยงเมล็ดไผ่ตง และเมล็ดไผ่หมาจู๋บนอาหาร ที่มี BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเกิดยอด และได้จำนวนยอดเฉลี่ย 7.14 และ 6.85 ยอดตามลำดับที่เวลา 45 วัน ส่วนการเลี้ยงกาบใบอ่อนของไผ่ทั้ง 4 ชนิดสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้บนอาหารที่มี 2,4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ แต่แคลลัสไม่สามารถพัฒนาเป็นเอมบริออยและต้น การเลี้ยงตาข้างไผ่ตง ไผ่หม่าจู๋ และไผ่ลิ่วจู๋ มีการแตกกอให้ยอดใหม่ ได้ดีเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BA 10 5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ



ภาพที่ 15 การเพิ่มปริมาณยอดไผ่หวานอ่างขางบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ NAA, Kn และ CW 1, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ต่อลิตรตามลำดับ

ตารางที่ 6 การเพิ่มปริมาณยอดของไผ่หวานอ่างขางบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA ในระดับต่างๆ ร่วมกับ NAA, Kn และ CW 1, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ต่อลิตรตามลำดับ ทำการเลี้ยง เปลี่ยนอาหารทุก 1 เดือนเป็นเวลา 2 เดือน

สูตรอาหาร (มิลลิกรัม/ลิตร)	จำนวนยอดเฉลี่ย[1] (ยอด/กอ)	อัตราการเพิ่มปริมาณยอด[2] (เท่า/เดือน)	หมายเหตุ
2 BA + 1NAA + 1 Kn + 0.8% CW	4.7b	0.87	ยอดมีลักษณะสมบูรณ์ การพัฒนาของใบและความสูงมีมาก
3 BA + 1NAA + 1 Kn + 0.8% CW	5.3b	1.00	ยอดมีลักษณะสมบูรณ์ ต้นอวบขึ้น การเจริญของใบดีเกิดสีน้ำตาล
4 BA + 1NAA + 1 Kn + 0.8% CW	8.0a	1.43	ยอดอวบแข็งแรง ใบมีขนาดเล็ก ยอดมีการเจริญและเกิดหน่อเป็นกระจุกบริเวณโคนของกอ
5 BA + 1NAA + 1 Kn + 0.8% CW	7.8a	1.40	กระจุกและก้อนแข็งสีเขียวของยอด เกิดสีน้ำตาลและปล่อยสารสีน้ำตาลลงสู่อาหารปริมาณมาก

<u>หมายเหตุ</u> ค่าเฉลี่ยในแนวเดียวกันถ้าอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05

[1] ปริมาณยอดเฉลี่ย = จำนวนยอดเฉลี่ยต่อกอในแต่ละเดือนก่อนเปลี่ยนอาหาร

[2] อัตราการเพิ่มปริมาณยอด = $\frac{\text{จำนวนยอดที่ขยายได้ทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนตั้งต้นเมื่อเริ่มทดลอง} \times \text{จำนวนเดือน}}$

3.2 การเปรียบการเพิ่มปริมาณยอดในสภาพปลอดเชื้อระหว่างอาหารกึ่งแข็ง และเทคนิค Temporary immersion

จากการทดลองพบว่าการใช้เทคนิค Temporary immersionในการเพาะเลี้ยงยอดไผ่หวานอ่างขาง มีผลให้ได้จำนวนยอดเฉลี่ยมากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง โดยการให้ยอดไผ่ได้รับสารละลายอาหารนาน 1 และ 5 นาทีทุกๆ 1 และ 3 ชั่วโมงตามลำดับ เป็นเวลา 60 วัน มีผลให้อัตราการเพิ่มปริมาณยอด (multiplication rate) เฉลี่ย 5.92 และ 7.75 เท่า ในขณะที่การเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งมีผลให้ได้อัตราการเพิ่มปริมาณยอดเฉลี่ย 1.25 เท่า (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 จำนวนยอดเฉลี่ย และอัตราการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่หวานอ่างขางเมื่อเลี้ยงด้วยเทคนิคต่างกัน ในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA, Kn และ CW 1, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ต่อลิตรตามลำดับ

เทคนิคการเพาะเลี้ยง	จำนวนยอด	อัตรการเพิ่มปริมาณยอด (เท่า)
เทคนิคอาหารกึ่งแข็ง (semi-solid)	27	1.25a
เทคนิค Temporary Immersion (TIS1)	83	5.92b
เทคนิค Temporary Immersion (TIS2)	105	7.75b

หมายเหตุ : [a-d] หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแนวตั้งเดียวกันที่มีตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

นอกจากนี้ยังพบว่ายอดไผ่หวานอ่างขางที่เพาะเลี้ยงด้วยเทคนิค Temporary immersion ยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะที่สมบูรณ์ การเกิดยอดหรือหน่อใหม่สามารถเกิดได้ดีตามข้อ เพราะสัมผัสกับอาหารสามารถเกิดยอดใหม่ได้ ส่วนข้อที่สูงขึ้นไปซึ่งไม่สัมผัสกับอาหารพบว่ามีการเกิดยอดใหม่น้อยกว่า อีกทั้งมีการยืดยาวของหน่อที่เกิดใหม่ และใบมีการพัฒนาอย่างสมบูรณ์โดยไม่พบว่าเกิดอาการฉ่ำน้ำซึ่งมักจะเป็นอาการที่เกิดขึ้นกับชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารเหลว อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มช่วงเวลาของการให้อาหารและความถี่ของการให้อาหารจาก 1 นาทีเป็น 5 นาที และทุกๆ 1 ชั่วโมงเป็นทุกๆ 3 ชั่วโมงพบว่าสามารถเพิ่มอัตราการเพิ่มปริมาณยอดได้จาก 5.92 เป็น 7.75 เท่าซึ่งสาเหตุน่าจะ

เกิดจากความสัมพันธุ์ระหว่างช่วงความยาวหรือระยะเวลาที่ให้อาหารและความถี่ในการได้รับอาหารของชิ้นส่วนยอด ซึ่งการเพิ่มเวลาในการให้อาหารชิ้นส่วนพืชก็ได้รับสารละลายอาหารมากขึ้นในขณะเดียวกันยอดก็ต้องการช่วงเวลาหรือความถี่ในการได้รับอาหารที่ยาวขึ้น ทั้งนี้การให้อาหารเป็นเวลา 1 นาทีทุกๆ 1 ชั่วโมง และ 5 นาทีทุกๆ 3 ชั่วโมงก็ให้อัตราการเกิดยอดที่สูง (5.92 และ 7.75 เท่า) สำหรับในพืชอื่นๆ ความต้องการระยะเวลาในการให้อาหารและความถี่ของการให้อาหารมีความต้องการที่แตกต่างกันเพื่อให้เกิดความเหมาะสมต่อการเกิดยอด อีกทั้งรายงานการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าช่วงเวลาและความถี่ในการให้อาหารเป็นปัจจัยหลักที่มีผลกระทบต่ออัตราการเกิดยอดและการพัฒนาของพืชโดย Preil and Hempfling (2002) พบว่ากล้วยไม้ *Phalaenopsis* ได้รับผลกระทบจากช่วงเวลาและความถี่ในการให้อาหารที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตโดยพบว่าการให้อาหาร 8 ครั้งเป็นเวลา 10 นาทีต่อวันให้อัตราการเจริญเติบโตที่สูงที่สุด สอดคล้องกับการศึกษาของ Akula *et al*. (2000) ซึ่งพบว่าอัตราการเพิ่มปริมาณยอดและการพัฒนาของชา ได้ผลดีเมื่อให้อาหารเป็นเวลา 1 นาทีทุกๆ 6 ชั่วโมงสามารถให้อัตราการเพิ่มปริมาณยอดได้ 24 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารแข็ง โดยสรุปปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณและการพัฒนาก็คือปริมาณของธาตุอาหารและองค์ประกอบของอากาศภายในภาชนะเพาะเลี้ยงนั่นเอง (Jimennez *et al*., 1999)

ส่วนเหตุผลที่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยใช้อาหารเหลวมีผลให้ได้จำนวนยอดที่มากกว่าอาจเกิดจากการที่ส่วนของยอดมีโอกาสได้สัมผัสกับอาหารทั้งหมด และการที่ยอดของไผ่หวานอ่างขางได้รับสารละลายอาหารเป็นครั้งคราวโดยแรงดันของอากาศที่ผ่านการกรองเชื้อจุลินทรีย์ทำให้ยอดได้รับออกซิเจนมากขึ้น (Alvard *et a*l., 1993) สำหรับจะนำมาใช้ในกระบวนการเมเทบอลิซึมทำให้ได้จำนวนยอดที่มากกว่าการเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งซึ่งมีเพียงส่วนของฐานที่สัมผัสกับอาหารเท่านั้น และเมื่อพิจารณาจากระยะเวลาในการให้ยอดไผ่ได้รับสารละลายอาหารจะพบว่าการให้ได้รับสารละลายอาหารนาน 5 นาทีทุกๆ 3 ชั่วโมงมีผลให้อัตราการเพิ่มของปริมาณยอดมากกว่าการให้ได้รับสารละลายอาหารนาน 1 นาทีทุกๆ 1 ชั่วโมง Eteinne *et al*. (1997) ได้รายงานว่าระยะเวลาการได้รับสารละลายอาหารนาน 1 นาทีทุกๆ 12 ชั่วโมงก็เพียงพอต่อความต้องการของพืชแต่จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการให้ระยะเวลาอยู่ในสารละลายนานขึ้น โดยมีช่วงการให้อาหารที่บ่อยขึ้นแต่ไม่จำเป็นต้องให้ทุกชั่วโมงทำให้อัตราการเพิ่มปริมาณยอดมากขึ้น ซึ่งจากการทดลองของ Alvard *et a*l. (1993) พบว่าอัตราการเกิดยอดของกล้วยสูงที่สุดเมื่อได้รับสารละลายอาหารนาน 20 นาทีทุกๆ 2 ชั่วโมง แสดงว่าการให้ชิ้นส่วนของพืชได้รับสารละลายอาหารเป็นเวลานานและในช่วง

เวลาที่เหมาะสมสามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มปริมาณยอดได้มากกว่าการให้ได้รับสารละลายอาหารในระยะเวลาสั้นๆ

4. การชักนำการออกราก

จากการนำยอดไผ่หวานอ่างขางซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA, Kn และ CW 1, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ต่อลิตรตามลำดับ มาชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA หรือ NAA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ร่วมกับ NAA 3 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ย้ายลงอาหารสูตรเดิมทุก 1 เดือนเป็นเวลา 2 เดือน พบว่า ยอดไผ่ที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและยอดที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม IBA หรือ NAA เพียงอย่างเดียวไม่มีการเกิดราก สำหรับยอดที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่ใช้ IBA ร่วมกับ NAA พบว่ามีการเกิดรากเพียงสูตรอาหารเดียวในการทดลองนี้โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 40 เปอร์เซ็นต์ มีรากเฉลี่ย 1.3 รากต่อกอ และเกิดรากหลังจากการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 2 โดยจำนวนวันเฉลี่ยที่ใช้ในการเกิดรากคือ 37 วัน (ภาพที่ 17, ตารางที่ 8) แสดงว่า IBA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นระดับที่พอเหมาะกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีอยู่ในยอดไผ่หวานอ่างขางที่ได้จากการเพิ่มปริมาณในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA, Kn และ CW 1, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ต่อลิตรตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจาก IBA และ NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน โดยเฉพาะ IBA สลายตัวได้เร็วพอสมควรทำให้มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการเร่งราก เพราะในช่วงที่การเปลี่ยนแปลงจากเนื้อเยื่อเจริญมาเป็นจุดกำเนิดรากนั้น ต้องอาศัยเวลาพอสมควร ซึ่งระหว่างนั้น IBA จะค่อยสลายตัวแม้ว่าช่วงแรกจะใช้ความเข้มข้นสูง การสลายตัวทำให้ความเข้มข้นต่ำลงเหมาะต่อการกระตุ้นให้จุดกำเนิดรากเปลี่ยนเป็นราก อีกทั้งการผสม NAA ร่วมกับ IBA เพื่อเร่งรากพบว่ามีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงอย่างเดียวทำให้ประสิทธิภาพการสังเคราะห์ RNA และโปรตีนที่จำเป็นต่อการเกิดรากดีขึ้น (นภดล, 2536; Leopold and Kriedemann, 1975)

เมื่อเปรียบเทียบการเกิดรากพบความสามารถในการเกิดรากมีความแตกต่างกันนั้นนอกจากสูตรอาหารที่มีความเข้มข้นและชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันแล้วยังมีสาเหตุมาจากปัจจัยทางพันธุกรรมของยอดไผ่หวานอ่างขางในแต่ละสายต้นที่แตกต่างกัน สอดคล้องกับการศึกษา Brandt (1994) พบว่าปัจจัยทางพันธุ์กรรมทำให้ความสามารถความในการเกิด

รากของไผ่สายต้นต่างๆ มีความแตกต่างกัน ทั้งนี้การเจริญของรากมีอัตราการเกิดหรือมีเปอร์เซ็นต์ยอดไผ่หวานอ่างขางที่เกิดรากมีน้อยเนื่องจากใช้ยอดที่ได้จากการเพิ่มปริมาณในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดจึงยังมีผลของ BA ตกค้างอยู่ไปมีผลยับยั้งการเจริญของราก เพื่อให้ยอดมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากขึ้น การนำยอดมาเลี้ยงในอาหารที่ลดหรือไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินก่อนนำมาเลี้ยงในอาหารชักนำการเกิดราก จะเป็นการลดผลของสารในกลุ่มนี้ที่ยังสะสมอยู่ในชิ้นส่วนพืชตลอดจนคุณภาพของยอดไผ่ที่ได้จะมีการพัฒนาของใบ และการพัฒนาทางด้านความสูงมีมากขึ้นหรือมีความแกร่งของยอดดีขึ้นนั่นเอง อันจะส่งผลให้ยอดมีเปอร์เซ็นต์การออกรากมีมากขึ้น ส่งเสริมการย้ายปลูกให้ประสบความสำเร็จมากขึ้นด้วย

ภาพที่ 16 การเกิดรากของไผ่หวานอ่างขางที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ร่วมกับ NAA 3 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การเกิดรากของยอดไผ่หวานอ่างขาง หลังการย้ายเลี้ยงบนอาหาร MS และสูตร อาหารดัดแปลงที่เติม IBA หรือ NAA

อาหาร	การเกิดราก		
	เปอร์เซ็นต์	จำนวนรากเฉลี่ย	จำนวนวันเฉลี่ย
R_1	0 b	0	-
R_2	0 b	0	-
R_3	40 a	1.3	37
R_4	0 b	0	-

<u>หมายเหตุ</u> ค่าเฉลี่ยในแนวเดียวกันถ้าอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05

5. การย้ายต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกสู่สภาพธรรมชาติ

เมื่อนำขวดที่มีต้นกล้าไผ่หวานอ่างขางที่มีรากและมีความสมบูรณ์แข็งแรง มาทำการปรับลดความชื้น ในสภาพอากาศปกติที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน แล้วย้ายออกปลูกในภาชนะที่ใช้ดินผสมที่มีชื่อการค้าดินทอปเทน ในสภาพที่มีความชื้นโดยการคลุมด้วยถุงพลาสติก ทำการเปิดถุงเมื่อต้นกล้ามีการตั้งตัวได้โดยสังเกตุจากการแตกใบใหม่หรือมีหน่อใหม่เกิดขึ้นพบว่า ต้นกล้าไผ่หวานอ่างขางมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์เมื่อย้ายปลูกครบ 30 วัน (ภาพที่ 18) ทั้งนี้เนื่องจากต้นกล้าได้มีการปรับตัวก่อนการย้ายปลูกทำให้กล้าไผ่มีความแข็งแรงขึ้น นอกจากนี้การควบคุมความชื้นและการค่อยๆ ลดระดับความชื้นให้เข้าสู่สภาพปกติ เพื่อให้กล้าไม้สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมภายนอกได้ก็เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการตั้งตัวของกล้าหลังการย้ายออกปลูก ตลอดจนการเลือกใช้วัสดุปลูกที่เหมาะสมจะทำให้อัตราการรอดตายสูงขึ้น จากอัตราการรอดตายของกล้าไผ่ที่ทำการย้ายออกปลูกในครั้งนี้พบว่ายังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควรเนื่องจากการย้ายออกปลูกที่นับว่าประสบความสำเร็จนั้นควรมีอัตราการรอดตาย 90-95 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปดังเช่น Macdonal (1990) กล่าวไว้ว่าการย้ายชำหรือย้ายกล้าไม้ที่ได้จากการผลิตในห้องปฏิบัติการออกปลูกสู่สภาพแวดล้อมภายนอกกล้าไม้ควรมีอัตราการรอดตาย 90-95 เปอร์เซ็นต์จึงจะถือว่าประสบความสำเร็จ แต่หากมีอัตราการรอดตายต่ำกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ถือว่าการย้ายออกปลูกนั้นล้มเหลวเพราะทำให้ต้น

ทุนการผลิตจะสูงขึ้นอีกจากการตายของกล้าที่ผลิตได้ รวมกับค่าใช้จ่ายในห้องปฏิบัติการที่มีมากกว่าการผลิตกล้าจากเมล็ดเพราะต้องใช้แรงงานที่มีคุณภาพและต้นทุนอาหารสังเคราะห์เนื่องจากขั้นตอนการเตรียมและการเลี้ยงจำเป็นต้องใช้ต้นทุนในด้านพลังงานจำนวนมาก

ภาพที่ 17 ต้นกล้าไผ่หวานอ่างขางหลังจากย้ายปลูกเป็นเวลา 30 วัน

6. การแยกกอเพื่อเพิ่มขยายปริมาณกล้าไผ่หวานอ่างขาง

กล้าไผ่หวานอ่างขางที่แยกกอ โดยแบ่งตามจำนวนต้นเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ 1 มีจำนวนต้นไผ่ 3 ต้น/กอ และกลุ่มที่ 2 มีจำนวนต้นไผ่ 5 ต้น/กอ เมื่อแยกชำลงในวัสดุเพาะชำที่มีส่วนผสมของดิน:ทราย: ขี้เถ้าแกลบ ในอัตราส่วน 1:1:1 หลังจากอนุบาลอยู่ในเรือนเพาะชำเป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า กล้าไผ่หวานอ่างขางในแต่ละกลุ่มมีอัตราการรอดตายในแต่ละเดือนใกล้เคียงกันโดยเฉลี่ยค่อนข้างสูงถึง 90-100 เปอร์เซ็นต์หลังจากย้ายชำ (มิถุนายน-สิงหาคม พ.ศ.2548) โดยกล้าไผ่หวานอ่างขางหลังจากแยกขยายกอแล้วมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนหน่อ/กอโดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้น กอที่มีต้นจำนวน 5 ต้น/กอ สามารถผลิตหน่อได้มากกว่ากอที่มีจำนวนต้น 3 ต้น/กอ ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับปริมาณอาหารสะสมภายในกอที่เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโต ส่งผลให้การแตกหน่อใหม่ของกอขนาดเล็กมีปริมาณน้อยกว่ากอไผ่ขนาดใหญ่ ดังนั้นการแยกกอให้มีต้นจำนวน 5 ต้น/กอ จึงเหมาะสมที่จะเลือกใช้ในการแยกกอเพราะสามารถแตกหน่อใหม่ได้ดีกว่าการแยกกอโดยใช้จำนวน 3 ต้นต่อกอ (ตารางที่ 9) สอดคล้องกับวิธีการขยายพันธุ์ไผ่โดยการแยกกอให้ผลดี ให้หน่อได้เร็วและแข็ง

แรงมากกว่าการขยายพันธุ์โดยวิธีอื่น เพราะกอไผ่ที่แยกออกมาจากต้นแม่จะมีปริมาณอาหารสะสมมาก (สุภาวดี, 2527)

ตารางที่ 9 อัตราการรอดตายของกล้าไผ่หวานอ่างขางหลังจากการแยกกอ โดยใช้จำนวนหน่อต่อกอต่างๆ กันเป็นเวลา 3 เดือน

จำนวนหน่อต่อกอ	อัตราการรอดตาย (%)			จำนวนหน่อใหม่เฉลี่ยต่อกอ (หน่อ)		
	มิถุนายน	กรกฎาคม	สิงหาคม	มิถุนายน	กรกฎาคม	สิงหาคม
3 ต้น/กอ	100	90	90	2.3	2.4	3.2
5 ต้น/กอ	100	100	100	3.5	3.4	4.50

สรุป

1. การสำรวจพื้นที่ปลูกเก็บรวบรวมตัวอย่างไผ่ในพื้นที่มูลนิธิโครงการหลวง ได้ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ไผ่สำหรับใช้ในการทดลองทั้งหมด 4,120 เมล็ด หน่อ 23 หน่อ และตาจากกิ่งแขนงรวม 1,588 ตา พบว่าเมล็ดไผ่มีการงอกโดยเฉลี่ย 56 เปอร์เซ็นต์ เจริญเป็นต้นกล้าปกติเฉลี่ย 15 เปอร์เซ็นต์

2. การพัฒนาเทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์บริเวณผิวของชิ้นส่วนพืช

2.1 การนำเมล็ดไผ่หวานอ่างขางซึ่งได้รับจากสวนรวมพันธุ์ไผ่แม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ที่ทำการรวบรวมไว้เมื่อ วันที่ 9 เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2547 มาทำการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดโดยใช้คลอรอกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาทีในครั้งที่ 1 และคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาทีในครั้งที่ 2 ได้เมล็ดที่ปราศจากเชื้อ 95 เปอร์เซ็นต์

2.2 การฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวตาจากยอดอ่อนพบว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20 % ร่วมกับทีโพล 2-3 หยดเป็นเวลา 40 นาทีทำให้ชิ้นส่วนพืชมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุด 53.33 เปอร์เซ็นต์แต่ตาข้างเหล่านี้ไม่สามารถพัฒนาเป็นยอดใหม่ได้

2.3 วิธีการฟอกฆ่าเชื้อตาจากแขนงแก่ที่เหมาะสมคือการแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 20% ร่วมกับทีโพล 2-3 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 80 นาทีได้ชิ้นส่วนที่รอดชีวิต 93.75%

2.4 ชิ้นส่วนตาจากแขนงแก่ของไผ่หวานอ่างขางสามารถเติบโตได้เร็วกว่าตาจากยอดอ่อนเนื่องจากเป็นตากิ่งแขนงที่มีการเจริญเต็มที่

3. การพัฒนาเทคนิคและสูตรอาหารในการเพิ่มปริมาณยอดในสภาพปลอดเชื้อ

3.1 เมื่อย้ายชิ้นส่วนลงอาหาร MS ที่เติม BA, NAA, Kn เท่ากับ 4, 1 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับร่วมกับ CW 8 มิลลิลิตรต่อลิตรพบว่าเป็นสูตรที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดยอดได้ทั้งส่วนฐานและข้อที่ได้จากการตัดแบ่งได้ จากการศึกษาพบว่าต้นกล้าไผ่หวานอ่างขางต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มโซโตไคนินร่วมกับกลุ่มออกซินเพื่อชักนำให้เกิดความสมบูรณ์ของต้นและกระตุ้นการแตกกอ

3.2 การเพาะเลี้ยงไผ่หวานอ่างขางโดยใช้เทคนิค Temporary immersion มีผลให้จำนวนยอดเฉลี่ยของไผ่หวานอ่างขางสูงกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง 6.5 เท่า เมื่อพิจารณาจากสภาพอาหารที่ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด และระยะเวลาการได้รับสารละลายอาหารมีผลต่อการเพิ่มปริมาณยอดโดยการให้ยอดไผ่ได้รับสารละลายอาหารนาน 5 นาที ทุกๆ 3 ชั่วโมงมีผลให้ได้จำนวนยอดเฉลี่ยและอัตราการเพิ่มปริมาณยอดสูงสุด 7.75 เท่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่หวานอ่างขางด้วยเทคนิค Temporary immersion จึงน่าจะเป็นแนวทางในการขยายพันธุ์เพื่ออุตสาหกรรมหรือการผลิตต้นพันธุ์พืชในเชิงการค้าในอนาคต

4. การชักนำการออกรากพบว่าอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่ใช้ IBA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีการเกิดรากเพียงสูตรอาหารเดียวในการทดลองนี้โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 40 เปอร์เซ็นต์ มีรากเฉลี่ย 1.3 รากต่อกอ ระยะเวลาเฉลี่ยที่เกิดรากคือ 37 วัน

5. การย้ายต้นกล้าไผ่หวานอ่างขางที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกสู่สภาพธรรมชาติในภาชนะที่ใช้ดินผสมที่มีชื่อการค้าดินทอปเทน ในสภาพที่มีความชื้นโดยการคลุมด้วยถุงพลาสติกทำการเปิดถุงเมื่อต้นกล้ามีการตั้งตัวได้โดยสังเกตจากการแตกใบใหม่หรือมีหน่อใหม่เกิดขึ้นพบว่าต้นกล้าไผ่หวานอ่างขางมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์เมื่อย้ายปลูกครบ 30 วัน

6. การแยกกอเพื่อเพิ่มขยายปริมาณกล้าไผ่หวานอ่างขางโดยแบ่งตามจำนวนต้นเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีจำนวนต้นไผ่ 3 ต้น/กอ และ กลุ่มที่ 2 มีจำนวนต้นไผ่ 5 ต้น/กอ พบว่าจำนวนต้นที่เหมาะสมในการแยกกอคือ 5 ต้น/กอ เนื่องจากมีการรอดตาย 100 เปอร์เซนต์ และแตกหน่อใหม่ได้ดีกว่า คือ 4.5 หน่อต่อกอในระยะเวลา 3 เดือน

เอกสารอ้างอิง

กัณยารัตน์ สุไพบูลย์วัฒน. 2534. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจบางชนิด, วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 241 น.

คำนูญ กาญจนภูมิ. 2542. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค. คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์,. สงขลา. 162 หน้า.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2529. เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์. กลุ่มหนังสือการเกษตร, กรุงเทพฯ. 210 หน้า.

ซูเว หลิว, สมาน ณ ลำปาง และบุญวงศ์ ไทยอุตสาห์. 2532. การปลูกไผ่ต่างถิ่นที่ดอยอ่างขาง, น.211-299. *ใน* การสำมนาเรื่องไม้ไผ่ ครั้งที่ 2, 8-10 พฤศจิกายน 2532. คณวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

นคร เหลืองประเสริฐ. 2533. หม่าจู๋ อนาคตของอุตสาหกรรมหน่อไม้กระป๋องไทย. เคหการเกษตร 14 (4) : 29-32.

นภดล จรัสสัมฤธ์. 2536 ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช. โรงพิมพ์สหมิตรออฟเซท, กรุงเทพฯ.

ณัฏฐากร เสมสันทัด และบัณฑิต โพธิ์น้อย. 2534. การย้ายชำและอนุบาลต้นกล้าไผ่ตงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. รายงานวนวัฒนวิจัย ประจำปี 2534. น.137-156. ส่วนวนวัฒนวิจัย, กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

ยุพิน เคนตรี. 2542. การคัดพันธุ์ไผ่ตงในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 70 น.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค. ภาควิชาพืชไร่. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 219 หน้า.

รุ่งนภา พัฒนวิบูลย์ ประเสริฐ สอนสถาพรกุล ภูสิน เกตานนท์ และสุทัศน์ เล้าสกุล.2545. การปลูกสร้างและบำรุง รักษาสวนไผ่. เอกสารเผยแพร่ : ป่าต้นแบบงาว 8. 89 น.

วรรณา นิติวัฒนชัย สกลศักดิ์ รัมยะรังสิ รุ่งนภา วงศ์วิจิตร และ ณัฏฐากร เสมสันทัด. 2534. การขยายพันธุ์ไผ่ตงโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ใน การสัมมนาทางวนวัฒนวิทยา ครั้งที่ 5 27-29 มีนาคม 2534. น.71-81. กองบำรุง, กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

สุทัศน์ เล้าสกุล. 2544. ไผ่เศรษฐกิจที่น่าสนใจในประเทศไทย. รายงานการสัมมนาทางวนวัฒนวิทยา “วนวัฒนวิทยาเพื่อการพัฒนาสวนป่าเศรษฐกิจ”. ภาควิชาวนวัฒนวิทยา, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 383 หน้า.

สุธิดา ฉันทานุรักษ์. 2534. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ : ผลของ 2,4-D NAA และ BAP ต่อการเกิดแคลลัสและยอด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.128 หน้า.

สุภาวดี เลาหศิริ. 2527. ไผ่ตง. รายงานการศึกษา. งานพืชสวน, ฝ่ายฝึกและนิเทศ สำนักส่งเสริมการเกษตรภาคตะวันออก,จังหวัดระยอง. 44 หน้า.

อนันต์ อนันตโชติ. 2532. ลักษณะการออกดอกของไผ่บางชนิดในประเทศไทย, น.121-133. *ใน* การสัมมนาเรื่องไผ่ ครั้งที่ 2, 8-10 พฤศจิกายน 2532. คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Alvard, D., F. Cote and C. Teisson. 1993. **Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation. Effects of temporary immersion of explants.** Plant Cell, Tissue Organ Culture32 : 55-60.

Chaturvedi, H.C., M. Shama and A.K. Shama. 1993. *In vitro* regeneration of Dendrocalamus strictus Nees Through nodal segments taken from field-grow clumps. Plant science 91 :97-101.

Chen. Z., D. A. Evan, W.R. Sharp, P. V. Ammirato and M. R. Sondahl. 1983. Nutrition and metabolism, pp. 21-58. *In* Handbook of Plant Cell Culture. McGraw-Hill Publishing, New York.

Chambers, S.M., J.H.R. Heuch and A. Pirrie. 1991. Micropropagation and *in vitro* flowering of the bamboo *Dendrocalamus hamiltonii* Munro. Plant Cell,Tissue and Organ Culture 27 : 45-48

Dransfield, S. and Widjaja, E.A. 1995. Plant Resources of south-East- Asia No 7: Bamboo, Backhuys Publishers, Leiden. 189 pp.

Etienne, H., M. Lartaud, N. Michaux – Ferriere, M. P. Carron, M. Berthouly and C. Teisson. 1997. **Improvement of somatic embryogenesis in *Hevea Brasiliensis* (MÜLL. ARG.) using the temporary immersion technique.** In vitro Cell. Dev. Biol.-Plant. 33: 81-87.

Gruezo, S. S., O. P. Damasco and A. B. Zamora. 1998. Node culture of *bamboo (Dendrocalamus latiflorur* cv. Machiku). Philippine Journal of Crop Science, Philippines, Supplement no. 1. V. 13 p. 44

Jiménez, E., N. Pérez, M. de Feria, R. Barbón, A. Capote, M. Chávez, E. Quiala and C. Pérez. 1999. **Improved production of potato microtubers using a temporary immersion system**. Plant Cell, Tissue Organ Culture 59 : 19-23.

Kyte, L. 1990. Plant from Test Tube: An Introduction to Micropropagation. Timber Press. Portland Oregon. 160 p.

Macdonal, B. 1990. Practical Woody Plant Propagation for Nursery Growers. Vol I. Timber Press. Portland Oregon. 669 p.

Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue culture. Ann. Rev. Plant Physiol. 25 : 135-166.

Nadgauda, R.S., V.A. Parasharami and A.F. Mascarenhas. 1990. Precocious flowering and seedling behavior in tissue culture bamboo. Nature 344 : 335-336

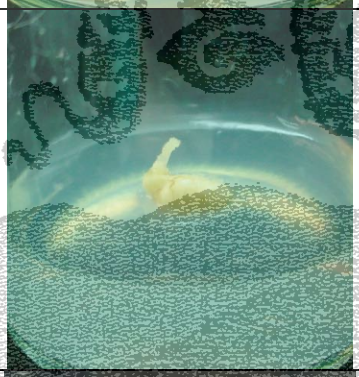
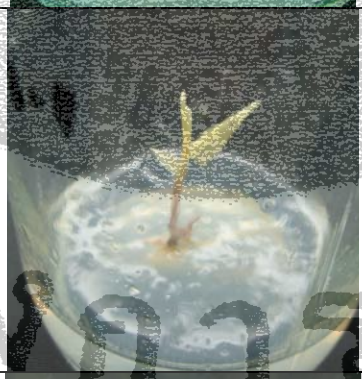
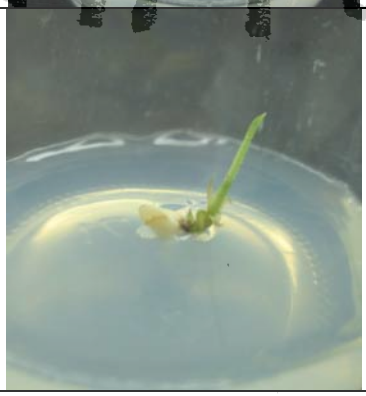
Ravikumar, R.,G. Ananthakrishman, K. Kathiravanand and A. Ganapathi. 0998. *In vitro* shoot propagation of *Dendrocalamus Strictus* Nees. Plant Cell, Tissue Tissue and Organ Culture 5: 189-192

Sood, A., L.M.S. Palni, M. Shama and B.P. Shama. 1991. Micropropagation of *Dendrocalamus hamiltonii* Munro using single node cutting taken from elite seedling plant, pp. 165-168. *In* Proceeding of the 4th International Bamboo workshop. Chiang Mai, Thailand.

ภาคผนวก

โครงการหลวง

<u>ตารางผนวกที่ 1</u> ต้นอ่อนปกติและผิดปกติของไผ่หวานอ่างขาง(*Dendrocalamus latiflorus* Munro) **ที่ได้จากการเพาะเมล็ด**

ชนิดของต้นอ่อน	ลักษณะของต้นกล้า	ลักษณะ
1) ต้นอ่อนปกติ		ยอดอ่อนของต้นอ่อนและรากเจริญดี
2) ต้นอ่อนผิดปกติ		ยอดอ่อนของต้นอ่อนและรากเจริญเติบโตไม่ดี
3) ต้นอ่อนผิดปกติ		ต้นกล้ามีลักษณะเผือก
4) ต้นอ่อนผิดปกติ		ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตเฉพาะยอด

โครงการหลวง