# การผลิตกล้าไผ่ตงจำนวนมากในหลอดทดลอง

# Mass Propagation of Pai-Tuo Bamboo (*Dendrocalamus asper* Dhen) in vitro

บุญยืน กิจวิจารณ์ (Boonyuen Kijwijan)*
กัลยา กองเงิน (Kalaya Kong-hgen)**

## บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงไผ่ตง *(Dendrocalamus asper* Dhen) ในอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS) สามารถเพิ่มจำนวนได้เมื่อแยกหน่อที่เกิดและย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่มี BAP (Benzylamino purine) เข้มข้น 2.0 ppm สามารถเกิดหน่อได้ดีที่สุด จำนวนเฉลี่ย 4.4 หน่อ/ต้น และความยาวเฉลี่ยของหน่อ 2.6 ซม. และพบว่าการเพิ่มความเข้มข้น BAP มีผลทำให้จำนวนหน่อลดลง ลักษณะของหน่อที่เกิดขนาดเล็กมีสีเขียวซีด ส่วน Kinetin มีผลที่ดีสำหรับการเจริญยืดยาวของหน่อ ใบมีสีเขียวเข้ม แต่จำนวนของการเกิดหน่อลดลง การเจริญของหน่อในอาหารที่มี kinetin เข้มข้น 1.0 ppm และ 2.0 ppm มีจำนวนหน่อเฉลี่ย 1.7 และ 1.8 หน่อ/ต้น และความยาวเฉลี่ย 4.8 และ 5.2 ซม. ตามลำดับ การกระตุ้นให้เกิดรากโดยการย้ายหน่อที่เกิดไปยังอาหารที่มี NAA การทดลองได้แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ NAA มากขึ้น มีผลต่อการส่งเสริมให้เกิดราก แต่ไปยับยั้งการเจริญของหน่อ การย้ายหน่อที่มีรากไปปลูกในทรายมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอด 94.5 และเจริญได้ดีในสภาพดินธรรมชาติ หลังจาก 2 เดือน ชุดต้นที่กำลังเจริญอยู่ในแปลงบรรจุใส่ในถุงพลาสติกดำสำหรับแจกจ่ายให้เกษตรกรต่อไป ซึ่งการใช้เทคนิคดังกล่าวข้างต้นทำให้ประสบความสำเร็จในการผลิตกล้าไผ่ตงได้เป็นจำนวนมาก

## Abstract

The shoot multiplication of Bamboo *(Dendrocalamus asper* Dhen) could be performed through seed culture on synthetic Murashige and Skoog media. Growing shoots were separated and then transferred to the media added with 2.0 ppm BAP (Benzylamino purine) for the best shoot regeneration. The average numbers of shoots were 4.4 shoots/explant and average shoot length was 2.6 cm. It was shown that the numbers of shoots were decreased when the concentration of BAP increased. They had small and pale green leaves in appearance. On the other hand, kinetin had good effect for shoot elongation with dark green leaves but the numbers of shoot initiation were less. The shoot growth in the media supplemented with 1.0 ppm and 2.0 ppm kinetin concentration was average 1.7 and 1.8 shoots/explant and average shoot length was 4.8 and 5.2 cm, respectively. Root induction was done by transferring shoots to the media containing NAA (Naphthalene acetic acid). The experiment showed that increasing NAA concentration had an effect to promote root initiation but suppress shoot growth. Rooted plantlets were transferred to sand container, which was 94.5% survival and grown well in natural soil. After two months, the growing plants from natural beds were dug and put them into black plastic bags distribution to the grower. These are the successful techniques for rapid mass propagation of bamboo.

**คำสำคัญ :** การขยายพันธุ์, ในหลอดทดลอง, ต้นพืชขนาดเล็ก
**Keywords :** Propagation, in vitro, Plantlets

* *รองศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
** *อาจารย์ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

## บทนำ

ในประเทศไทยมีไผ่จำนวนหลายชนิดและหลายสกุล ทั่วโลกมีประมาณมากกว่า 1000 ชนิด ประเทศไทยมีประมาณ 50 ชนิด แต่ละชนิดก็สามารถนำมาใช้เป็นประโยชน์ได้แตกต่างกัน ไผ่ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและทำรายได้ให้แก่เกษตรและนำไปใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมเป็นเงินจำนวนมาก คือ ไผ่ตง *(Dendrocalamus asper* Dhen) ไผ่ตงแบ่งออกเป็น 2 สายพันธุ์คือ ไผ่ตงดำและไผ่ตงเขียว ทั้ง 2 สายพันธุ์มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก เนื่องจากหน่ออ่อนใช้เป็นอาหาร ส่วนลำต้นก็นำไปใช้เป็นวัตถุดิบในโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อทำเยื่อกระดาษ สายพันธุ์ไผ่ตงได้นำมาปลูกในประเทศไทยเป็นเวลานาน เริ่มออกดอกตั้งแต่ปี พ.ศ. 2536-2538 และไผ่ตงที่ออกดอกแล้วก็จะตายไป จึงทำให้มีปัญหาเกี่ยวกับต้นพันธุ์ของไผ่ตงที่จะนำไปปลูกต่อไป การใช้หน่อหรือกิ่งพันธุ์จากต้นเดิมไปปลูกก็ไม่สามารถทำได้เพราะจะออกดอกเช่นเดียวกับต้นเดิม การออกดอกของไผ่บางชนิดโดยทั่วไปถ้ามีอายุเท่ากันก็จะออกดอกพร้อม ๆ กัน การออกดอกแล้วตายของไผ่ตงจึงทำให้ขาดแคลนพันธุ์หรือหน่อที่จะนำไปขยายพันธุ์ต่อไป เมื่อมีความต้องการต้นพันธุ์จำนวนมาก ๆ ในเวลาอันรวดเร็ว โครงการน้ำพระทัยจากในหลวง (อีสานเขียว) ได้เห็นความสำคัญจึงได้สนับสนุนการขยายพันธุ์ไผ่ตงโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนของเมล็ด การขยายพันธุ์จากส่วนของเมล็ดนี้จะทำให้ได้สายพันธุ์ใหม่ที่มีอายุยืนนาน การนำเมล็ดมาเพาะเพื่อขยายพันธุ์ตามธรรมชาติก็สามารถทำได้เช่นเดียวกัน แต่การขยายพันธุ์โดยเมล็ดตามธรรมชาตินี้ต้องอาศัยเมล็ดจำนวนมาก และสามารถขยายพันธุ์ได้ในขอบเขตที่จำกัด ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการที่สามารถแก้ปัญหาต่าง ๆ ได้อย่างรวดเร็วและทันต่อเหตุการณ์ที่เกิดสภาวะวิกฤตเช่นนี้ได้ การขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำได้ตลอดปี และเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ได้มีการศึกษาทดลองในห้องปฏิบัติการต่าง ๆ เช่น สิงคโปร์ (Rao, 1989), อินโดนีเซีย (Chatterjee, 1990) อินเดีย (Venketesh, 1992), ไทย (Prutpongse, 1992) และจีน (Huang, 1993)

Prutpongse และ Gavinlertvatana (1992) ได้ขยายพันธุ์ไผ่ในหลอดทดลอง จำนวน 54 สปีชี่ จาก 15 จีนัส พบว่าทุกสปีชีสามารถขยายพันธุ์ได้จากส่วนของตาข้าง (axillary bud) ในอาหารสูตรของ Murashige และ Shoog ที่มี BA การเกิดตาวิสามัญ (adventitive bud) จากแคลลัสมีจำนวนน้อย ซึ่งการขยายพันธุ์แบบนี้มีประสิทธิภาพต่ำ ในอาหารที่มี NAA เข้มข้น 2.7-5.4 $\mu$m สามารถทำให้เกิดรากได้ สำหรับการเก็บเนื้อเยื่อไผ่ในหลอดทดลองบนอาหารครึ่งสูตรที่อุณหภูมิห้องโดยไม่ต้องย้าย สามารถเก็บได้นานมากกว่า 15 เดือน จุดประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อขยายพันธุ์ไผ่ตงให้ได้จำนวนมากในเวลาอันรวดเร็วและนำไปแจกจ่ายให้แก่เกษตรกรต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

### 1. การเพาะเมล็ด

เก็บรวบรวมเมล็ดไผ่ตงที่แก่เต็มที่และเลือกเอาเฉพาะเมล็ดสมบูรณ์เท่านั้น ขนาดประมาณ 3-5 มม. นำเมล็ดที่คัดเลือกแล้ว ห่อด้วยผ้าขาวบาง ล้างให้สะอาดด้วยผงซักฟอกหลาย ๆ ครั้ง แช่ในแอลกอฮอล์ 70% ประมาณ 30 วินาที จากนั้นจึงนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาคลอรอกซ์

10% และ 5% เป็นเวลา 15 นาที และ 10 นาที ตามลำดับ (เติม Tween 20 จำนวน 2-3 หยด) เขย่าเบา ๆ ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละประมาณ 1 นาที จากนั้นจึงนำเมล็ดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ได้รับแสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มข้นของแสง 3000 ลักซ์ เป็นเวลา 9 ชม./วัน อุณหภูมิ 25-27° ซ.

**2. ศึกษาอิทธิพลของ Cytokinin ต่อการเกิดและการเจริญของหน่อ**

หน่อที่เกิดจากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ย้ายไปในอาหารใหม่ของสูตรเดิม เพื่อเพิ่มจำนวนและนำไปศึกษาอิทธิพลของฮอร์โมนดังนี้

**2.1 อิทธิพลของ BAP**

หน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารพื้นฐานสูตร MS ย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BAP ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้คือ 0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 ppm เป็นเวลา 28 วันจึงบันทึกผลการทดลอง

**2.2 อิทธิพลของ Kinetin**

หน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารพื้นฐานสูตร MS ย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้คือ 0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 ppm. เป็นเวลา 28 วัน จึงบันทึกผลการทดลอง

**3. ศึกษาอิทธิพลของ NAA ต่อการเกิดและการเจริญของราก**

หน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BAP เข้มข้น 2.0 ppm ที่เหมาะสมต่อการเกิดหน่อเป็นเวลา 28 วัน จึงย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี NAA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้คือ 0, 0.1, 0.5, 1.2 และ 4 ppm. เป็นระยะเวลา 21 วัน จึงบันทึกผลการทดลอง

**4. เปรียบเทียบการเจริญของหน่อไผ่ในเครื่องปลูกชนิดต่าง ๆ**

หน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 2.0 ppm เป็นเวลา 14 วัน หน่อที่เกิดรากจึงนำมาปลูกในเครื่องปลูกชนิดต่าง ๆ เพื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของหน่อที่ปลูก เครื่องปลูกที่ใช้ดังนี้คือ ทรายแกลบเผา ทรายผสมแกลบเผา (อัตราส่วน 1:1) และดิน เตรียมเครื่องปลูกในกระบะขนาด 30×40 ซม. หน่อกล้าไผ่ที่ออกจากขวดแล้วล้างน้ำเพื่อให้วุ้นหลุดออกจากรากและแช่ในน้ำยากันรา ปลูกหน่อกล้าไผ่ห่างกันประมาณ 5 ซม. รดน้ำให้ชุ่ม คลุมด้วยพลาสติกใสไว้เป็นเวลา 4 วัน เลี้ยงไว้ในเรือนทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จึงเก็บผลการทดลอง

**5. การย้ายปลูกในแปลงดิน**

กล้าไผ่ตงที่ปลูกในทรายเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จึงย้ายปลูกในแปลงดิน โดยเตรียมแปลงดังนี้ ขุดดินให้ซุยและยกร่องแปลงมีขนาดกว้างประมาณ 1 เมตร ปลูกกล้าไผ่ให้ห่างกันประมาณ 10 ซม. รดน้ำให้ชุ่มด้วยฝักบัว แล้วใช้พลาสติกใสคลุมแปลงให้สนิทเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นจึงค่อย ๆ เปิดออกทีละน้อย เมื่อเปิดพลาสติกใสแล้วต้องรดน้ำให้ชุ่มทุกวัน

## ผลการทดลอง

*การเพาะเมล็ด*

เมล็ดไผ่ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารพื้นฐานสูตร MS เมล็ดที่

เพาะเลี้ยงมีการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ 80% เมล็ดที่ปลอดจากเชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ภายใน 10-14 วัน ลักษณะการงอกของเมล็ดมีรากเจริญออกมาจากส่วนของเมล็ดก่อน แล้วจึงมีส่วนของยอดเจริญออกมาทีหลัง เมล็ดที่มีขนาดใหญ่เจริญได้ดีกว่าเมล็ดขนาดเล็ก เมล็ดขนาดเล็กงอกส่วนของรากและยอดออกมาเพียงเล็กน้อยแล้วก็ตายไป

***อิทธิพลของ Cytokinin ต่อการเกิดและการเจริญของหน่อ***

หน่อที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดสามารถเพิ่มจำนวนได้โดยการย้ายไปในอาหารใหม่ในสูตร MS หน่อที่ได้จึงนำไปใช้ศึกษาถึงอิทธิพลของ cytokinin เพื่อเพิ่มจำนวนหน่อและการเจริญดังนี้

1. อิทธิพลของ BAP

หน่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS นำไปใช้ศึกษาอิทธิพลของ BAP ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อหาความเข้มข้นของ BAP ที่เหมาะสมต่อการเกิดและการเจริญของหน่อ จากการทดลองพบว่า หน่อที่นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BAP นั้นมีหน่อใหม่เกิดขึ้นภายในสัปดาห์แรกที่เพาะเลี้ยง โดยเกิดหน่อเล็ก ๆ ขึ้นที่บริเวณตาด้านล่าง การเกิดหน่อที่ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BAP เข้มข้น 2.0 ppm คือ เกิดหน่อเฉลี่ย 4.4 หน่อ/ต้น ความยาวเฉลี่ยของหน่อ 2.4 ซม. ลักษณะการเจริญของหน่อไม่ดี ใบที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็กสีค่อนข้างเหลือง เมื่อมีความเข้มข้นของ BAP มากขึ้น การแตกหน่อลดลง อาหารที่มี BAP เข้มข้น 8 ppm ทำให้ไม่มีการแตกหน่อเลย (ตารางที่ 1) และเนื้อเยื่อเดิมเพาะเลี้ยงก็ค่อย ๆ ตายไป

2. อิทธิพลของ Kinetin

หน่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS นำไปใช้ศึกษาอิทธิพลของ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อหาความเข้มข้นของ kinetin ที่เหมาะสมต่อการเกิดและการเจริญของหน่อ จากการทดลองพบว่า หน่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin สามารถเจริญได้ดีลักษณะของหน่อที่เกิดขึ้นใหม่มีสีเขียวเข้ม ปล้องยาว เนื้อใบมีขนาดใหญ่ ลักษณะการเจริญของลำต้นดี แต่การแตกหน่อมีจำนวนน้อย การเจริญของหน่อดีเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี kinetin เข้มข้น 1.0 ppm และ 2.0 ppm คือแตกหน่อเฉลี่ย 1.7 และ 1.8 หน่อ/ต้น มีความยาวเฉลี่ย 4.8 และ 5.2 ซม. ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี kinetin น้อยหรือมากกว่า 1.0-2.0 ppm การเจริญของหน่อลดลง (ตารางที่ 2)

***การเพิ่มจำนวนหน่อ***

การเกิดหน่อได้ดีในอาหารสูตร MS ที่มี BAP เข้มข้น 2 ppm จึงย้ายหน่อไผ่ที่เกิดเป็นกอขนาดเล็ก ๆ กอละ 10 หน่อ ไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BAP เข้มข้น 1/2 ppm เป็นเวลา 2 สัปดาห์ การแยกเป็นกอไปเลี้ยงเนื้อเยื่อหน่อไผ่เกิดขึ้นได้รวดเร็วจำนวนหน่อเพิ่มขึ้น 1.3 เท่า (ตารางที่ 3) ถ้าเลี้ยงไว้เป็นเวลานานก็จะเพิ่มจำนวนได้มากขึ้นถึง 7-10 เท่า หน่อที่เกิดขึ้นมีการเจริญช้า ใบขนาดเล็ก สีเขียวปนเหลืองถ้าไม่ย้ายไปในอาหารใหม่เนื้อเยื่อเหล่านี้จะค่อยตายไป

***อิทธิพลของ NAA ต่อการเกิดและการเจริญของราก***

หน่อที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BAP เข้มข้น 2.0 ppm เป็นเวลา 14 วัน จึงย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี NAA ในระดับความ

เข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่าหน่อที่นำไปเพาะเลี้ยงจะมีหน่อใหม่เกิดขึ้นภายในระยะเวลา 5-7 วัน เมื่อหน่อใหม่เจริญได้ระยะหนึ่งจึงมีรากเกิดขึ้น หน่อที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มี NAA ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดรากได้ ส่วนหน่อที่เลี้ยงในอาหารที่มี NAA ทุกความเข้มข้นสามารถกระตุ้นให้เกิดรากได้ เมื่อความเข้มข้นของ NAA เพิ่มขึ้นทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากเพิ่มขึ้น การเกิดหน่อและการเจริญของรากดีขึ้นด้วย (ตารางที่ 4) แต่การเจริญของหน่อน้อยลง ความเข้มข้นของ NAA ที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของหน่อไผ่ตง คือ 1.0 และ 2.0 ppm และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 58.9 และ 60.0 ตามลำดับ สำหรับหน่อที่เลี้ยงในอาหารที่มี NAA เข้มข้น 4.0 ppm การเจริญของหน่อไม่ดีแม้ว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและการเจริญของรากดีก็ตาม

### *การย้ายปลูกในเครื่องปลูก*

หน่อที่เกิดรากในอาหารสูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 2.0 ppm เป็นระยะเวลา 14 วัน ใช้ปากคีบค่อย ๆ คีบเอาต้นที่เกิดรากแล้วออกจากขวดนำไปแช่ไว้ในน้ำก่อน แล้วล้างวุ้นที่ติดมากับรากออกไปให้หมด ต้นกล้าไผ่ที่ล้างเรียบร้อยแล้วเก็บไว้ในกล่องพลาสติกใสก่อนนำไปปลูกในเครื่องปลูก ปลูกหน่อกล้าไผ่ห่างกันประมาณ 5 ซม. คลุมด้วยพลาสติกใสไว้เป็นเวลา 4 วัน เลี้ยงไว้ในเรือนทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าหน่อกล้าไผ่ที่ปลูกในทรายมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายมากที่สุดคือ 94.5 รองลงมาคือ ทรายผสมแกลบเผา (1:1) คือ 76.8 กล้าไผ่ที่ปลูกในดินมีเปอร์เซ็นต์การรอดเพียง 35.5 (ตารางที่ 5)

### *การย้ายปลูกในแปลง*

หน่อกล้าไผ่ที่ปลูกในกระบะทรายเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ต้นไผ่มีความแข็งแรงพอที่จะย้ายปลูกในแปลง การเตรียมแปลง ขุดดินให้ซุยและยกร่องแปลงมีขนาดกว้าง 1 เมตร นำกล้าไผ่จากกระบะทรายออกปลูกในแปลงห่างกัน 10 ซม. รดน้ำให้ชุ่มด้วยฝักบัว ใช้พลาสติกในคลุมแปลงเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นจึงเปิดพลาสติกใสออกทีละน้อย เมื่อเปิดพลาสติกออกหมดแล้วจึงรดน้ำให้ชุ่มตลอดวัน เมื่อปลูกได้เป็นเวลา 1 เดือน จึงพรวนดินเมื่อปลูกได้ 2 เดือนจึงพรวนดินอีกครั้ง

### *การบรรจุในถุงพลาสติกดำ*

หน่อกล้าไผ่ที่ย้ายปลูกในแปลงมีอายุได้ 3-4 เดือน จะมีหน่อใหญ่เกิดขึ้นและเจริญเติบโตได้ดีจนมีความสูงประมาณ 30-40 ซม. ต้นกล้าไผ่เหล่านี้มีความแข็งแรงดีจึงพร้อมที่จะย้ายลงในถุงพลาสติกดำก่อนการย้ายลงในถุงพลาสติกดำต้องรดน้ำให้ชุ่มใช้พลั่วมือขุดดินรอบ ๆ กอก่อน (ไม่ควรให้ดินรอบกอหลุดออก) ค่อย ๆ วางลงในถุงพลาสติกดำ เมื่อบรรจุลงในถุงพลาสติกดำแล้วนำไปเก็บไว้ในโรงเรือนพลาสติกใสอยู่ภายในร่ม รดน้ำให้ชุ่มทุกวันเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ต้นกล้าตั้งตัวได้ดีแล้วจึงย้ายออกจากโรงเรียนพลาสติกใส เก็บไว้ในร่มไม่ได้รับแสงโดยตรงรดน้ำให้ชุ่มพร้อมที่จะนำไปปลูกในสภาพธรรมชาติต่อไป

## สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

เมล็ดส่วนใหญ่ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร พบว่ามีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย

สูง อาจเนื่องจากดอกไผ่เกิดเป็นกลุ่มตามข้อ และมีเกล็ดหุ้มจำนวนมาก ดอกแก่แล้วก็ยังติดกันอยู่ เมื่อมีความชื้นจึงทำให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญได้ดี การฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาคลอรอกซ์ 10% และ 5% จึงไม่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้หมด เมล็ดที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีนี้จึงปลอดเชื้อเพียง 20% เท่านั้น และเมล็ดจำนวนนี้ที่สามารถเจริญได้ภายใน 10-14 วัน ลักษณะการงอกของเมล็ดเกิดขึ้นโดยรากเจริญออกมาจากเมล็ดแล้วเจริญลงไปในอาหารส่วนของหน่อเจริญทีหลัง หน่อที่เกิดขึ้นนี้จะแตกหน่อเพิ่มมากขึ้น และสามารถแยกหน่อที่เกิดขึ้นนี้ไปยังอาหารใหม่ก็สามารถเพิ่มจำนวนได้ แต่การแตกหน่อยังให้จำนวนน้อยจึงทำให้การเพิ่มจำนวนได้ช้า เพื่อให้การเพิ่มจำนวนหน่อไผ่ได้จำนวนมากในเวลาอันรวดเร็ว จึงใช้สารเร่งการเจริญทั้งกลุ่มของออกซินและไซโตไคนิน เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสม

อิทธิพลของ BAP ต่อการเกิดและการเจริญของหน่อไผ่ตง หน่อที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS เมื่อย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BAP ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าการแตกหน่อเกิดขึ้นได้มากในระดับความเข้มข้นในช่วง 1.0-2.0 ppm คือเฉลี่ย 3.1-4.4 หน่อระยะเวลา 28 วัน แสดงให้เห็นว่า BAP เข้มข้น 1.0-2.0 ppm เป็นช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นให้เกิดหน่อได้ดี (ภาพที่ 1) ส่วนการเจริญของหน่อที่ดี เมื่อเพาะเลี้ยงใน BAP เข้มข้น 0.5 และ 1.0 ppm มีความยาวเฉลี่ย 3.37 และ 2.97 ซม. ตามลำดับ (ภาพที่ 3) อย่างไรก็ตาม สิ่งที่ต้องการคือการเพิ่มจำนวนหน่อ ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นของ BAP 2.0 ppm กระตุ้นให้เกิดหน่อเพื่อเพิ่มจำนวน แม้ว่าลักษณะของหน่อที่เกิดขึ้นจะมีใบค่อนข้างเหลือง ขนาดใบเล็กเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงหน่อในอาหารที่มี kinetin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า การเกิดหน่อได้น้อยแม้ว่ามีการเจริญของหน่อได้ดีกว่า ความเข้มข้นของ kinetin 2.0 ppm ทำให้การเจริญของหน่อได้ดีเฉลี่ยความยาว 4.8 ซม. จำนวนหน่อเฉลี่ย 1.8 หน่อ

จากการทดลองของ BAP และ kinetin ต่อการเกิดและการเจริญของหน่อ พบว่า BAP มีผลต่อการเกิดหน่อได้ดีกว่า kinetin (ภาพที่ 2) ส่วน kinetin มีผลต่อการเจริญเติบโตของหน่อได้ดีกว่า BAP (ภาพที่ 3) ดังนั้น ในการทดลองต่อไปจึงเลือก BAP เข้มข้น 2.0 ppm เพื่อเพิ่มจำนวนหน่อ เพื่อศึกษาการแยกเป็นกอว่าจะมีผลต่อการเกิดหน่อได้ดีกว่าหรือไม่ จากการทดลองแยกเป็นกอไปเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าสามารถแตกหน่อได้ 1.29 หน่อ/ต้น ซึ่งการแตกหน่อได้เร็วกว่าการแยกเป็นหน่อเดียว การแยกเป็นกออาจได้รับการกระทบกระเทือนน้อย จึงทำให้สามารถแตกหน่อได้เร็วขึ้น ดังนั้นในระยะเวลา 2 สัปดาห์ จึงสามารถแยกกอไปเลี้ยงในอาหารใหม่ได้

การเพาะเลี้ยงหน่อไผ่ตงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มี BAP ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ นั้นไม่สามารถเกิดรากได้เลย แม้ว่าจะย้ายเนื้อเยื่อไปในอาหารใหม่นาน 2 สัปดาห์ หรือเลี้ยงไว้ในอาหารเดิมเป็นเวลานานเนื้อเยื่อไผ่ตงก็จะค่อยตายไป ดังนั้นจึงทดลองใช้ NAA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อกระตุ้นให้เกิดราก จากการทดลองพบว่า เมื่อย้ายหน่อไผ่ตงที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BAP เข้มข้น 2.0 ppm ไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี NAA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ นั้น สามารถกระตุ้นให้เกิดรากได้ เมื่อความเข้มข้นของ NAA มากขึ้นสามารถกระตุ้นให้เกิดรากได้ดี (ภาพที่ 4) แต่ในทางตรงกันข้ามการเจริญ

ของหน่อลดลง การเกิดและการเจริญของรากได้ดีในอาหารที่มี NAA เข้มข้น 2.0 ppm และการเจริญของหน่อก็สามารถเจริญได้ดี เมื่อความเข้มข้นของ NAA เป็น 4.0 ppm แต่การเจริญของหน่อลดลง

ดังนั้นในการขยายพันธุ์ไผ่ตงในหลอดทดลองจึงใช้ฮอร์โมนของ BAP เข้มข้น 2.0 ppm กระตุ้นให้เกิดหน่อและ NAA เข้มข้น 2.0 ppm สำหรับกระตุ้นให้เกิดราก เมื่อได้ต้นที่มีรากสมบูรณ์แล้ว จึงย้ายปลูกในเครื่องปลูกชนิดต่าง ๆ คือ ทราย แกลบเผา ทรายผสมแกลบเผา (1:1) และดิน จากการทดลองพบว่า เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของกล้าไผ่ที่ปลูกในทรายได้ดีที่สุด อาจเนื่องมาจากทรายดูดซับความชื้นได้ดีและมีเชื้อจุลินทรีย์ปะปนน้อย ส่วนกล้าไผ่ตงที่ปลูกในดินมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตได้น้อย อาจเนื่องมาจากในดินมีเชื้อจุลินทรีย์มาก จึงทำให้รากเน่า กล้าไผ่ตงที่ปลูกในแกลบเผามีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตไม่ดีอาจเนื่องจากแกลบเผาสูญเสียความชื้นได้เร็วกว่าทราย ส่วนกล้าไผ่ตงที่ปลูกในทรายผสมแกลบเผามีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตได้ดีแต่น้อยกว่าที่ปลูกในทรายเพียงอย่างเดียว

การย้ายกล้าไผ่ตงจากกระบะทรายลงปลูกในแปลงดิน กล้าไผ่ตงที่ปลูกในกระบะควรได้รับการกระทบกระเทือนน้อยที่สุด ถ้าได้รับความกระทบกระเทือนมากต้นกล้าไผ่ตงจะฟื้นตัวยาก กล้าไผ่ตงที่ปลูกไว้ในกระบะทรายเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ จึงย้ายปลูกในแปลงดิน ถ้ากล้าไผ่ตงที่ปลูกไว้ในกระบะทรายเป็นเวลานานรากจะเจริญได้ยาว เมื่อย้ายออกจากกระบะทรายจะทำให้รากได้รับการกระทบกระเทือน ซึ่งทำให้รากขาดหรือหักได้ง่าย กล้าไผ่อาจตายและฟื้นตัวยาก กล้าไผ่ที่ปลูกในแปลงดินแล้ว การรดน้ำควรใช้ฝักบัว อย่าให้น้ำแรงเกินไป ใช้พลาสติกใสคลุมแปลงเพื่อควบคุมความชื้นในแปลง ในฤดูแล้งรดน้ำทุกวัน เนื่องจากสภาพดินเก็บน้ำได้ไม่ดี แต่ในฤดูฝนไม่ต้องรดน้ำ ถ้ามีน้ำขังในแปลงต้องระบายออกและงดการให้น้ำ เมื่อครบ 7 วัน จึงเปิดพลาสติกออกทีละน้อย ๆ ถ้าเปิดทันทีกล้าไผ่จะเหี่ยวหลังจากเปิดพลาสติกแล้วรดน้ำให้ชุ่มทุกวัน ต้นกล้าเริ่มแตกหน่อใหม่ เมื่อต้นกล้ามีอายุได้ 1 เดือน จึงพรวนดิน อายุของกล้าไผ่ตงประมาณ 3-4 เดือนก็สามารถย้ายบรรจุในถุงพลาสติกดำ

## เอกสารอ้างอิง


Rao, IUR; Aziah, Mohd Yussoff; Rao, AW and Sastry, CB. 1989. **Propagation of bamboo and Rattan through tissue culture.** IDRC (International Development Research Center) Bamboo and Rattan Research. 60 pp.

Chatterjee, G.; Singh, G.; Thangam, P; Parkash, S. 1990. Clonal propagation of Bamboo, coffee and minosa. **Horticulture-New Technologies and Applications.** Proceedings of the International Seminar on New Frontiers in Horticulture Organized by Indo-American Hybrid Seeds,Bangalore, India, November 2525, 1990. 1991, 231-264; Current plant Science andBiotechnology in Agriculture, vol 12;

Huang, LC and Huang, BL. 1993. **Bamboo Tissue Culture.** Institute of Botany, Academic Sinica Monoyraysh Series No. 13. 20-212.

Pratongse, P and Gavinlectvatana, P. 1992. In vitro micropropagation of 54 species from 15 genera of bamboo. ***Hort Science*** 27:5, 453-454.

Venkatesh. CS. 1992. Biotechnology in tree and bamboo improvement. ***Indian. Forester.*** 118:4, 249-255.

ตารางที่ 1 แสดงการเกิดและการเจริญของหน่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BAP ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 28 วัน

| BAP (ppm) | จำนวนต้นทั้งหมด | จำนวนหน่อที่เพิ่มขึ้น | จำนวนต้นเฉลี่ย | ความยาวเฉลี่ยของหน่อ (ซม.) |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 15 | 7 | 1.4 | 2.20 ± 0.81 |
| 0.5 | 12 | 18 | 2.5 | 3.37 ± 0.91 |
| 1.0 | 14 | 30 | 3.1 | 2.97 ± 1.08 |
| 2.0 | 15 | 62 | 4.4 | 2.41 ± 0.86 |
| 4.0 | 15 | 28 | 2.8 | 1.66 ± 0.77 |
| 8.0 | 15 | 3 | 1.2 | 0.33 ± 0.15 |

ตารางที่ 2 แสดงการเกิดและการเจริญของหน่อที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 28 วัน

| BAP (ppm) | จำนวนต้นทั้งหมด | จำนวนหน่อที่เพิ่มขึ้น | จำนวนต้นเฉลี่ย | ความยาวเฉลี่ยของหน่อ (ซม.) |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 15 | 5 | 1.3 | 2.46 ± 0.73 |
| 0.5 | 14 | 8 | 1.5 | 3.46 ± 0.78 |
| 1.0 | 15 | 11 | 1.7 | 4.52 ± 0.54 |
| 2.0 | 15 | 12 | 1.8 | 5.45 ± 1.12 |
| 4.0 | 14 | 10 | 1.7 | 2.56 ± 0.44 |
| 8.0 | 13 | 6 | 1.4 | 1.5 ±0.45 |

ตารางที่ 3 แสดงการเพิ่มจำนวนหน่อที่เกิดขึ้นเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BAP เข้มข้น 2 ppm เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์

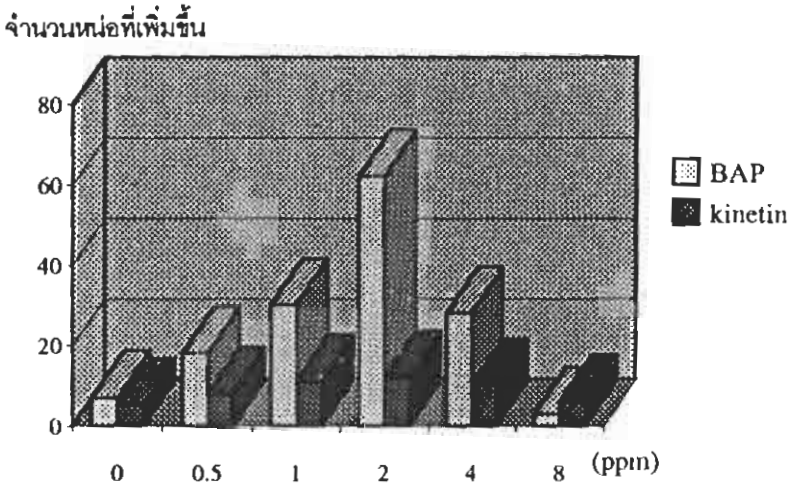
| ขวดที่ | จำนวนหน่อเริ่มต้น | จำนวนหน่อทั้งหมด | จำนวนหน่อที่เพิ่มขึ้น | จำนวนหน่อเพิ่มขึ้นเฉลี่ย/ต้น |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 10 | 24 | 14 | 1.4 |
| 2 | 10 | 30 | 20 | 2.0 |
| 3 | 10 | 19 | 9 | 0.9 |
| 4 | 10 | 22 | 12 | 1.2 |
| 5 | 10 | 20 | 10 | 1.0 |
| 6 | 10 | 24 | 14 | 1.4 |
| 7 | 10 | 23 | 13 | 1.3 |
| 8 | 10 | 17 | 7 | 0.7 |
| 9 | 10 | 23 | 13 | 1.3 |
| 10 | 10 | 27 | 17 | 1.7 |
| รวม | 100 | 229 | 129 | 1.29 |

ตารางที่ 4 แสดงการเกิดและการเจริญของรากที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี NAA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 21 วัน

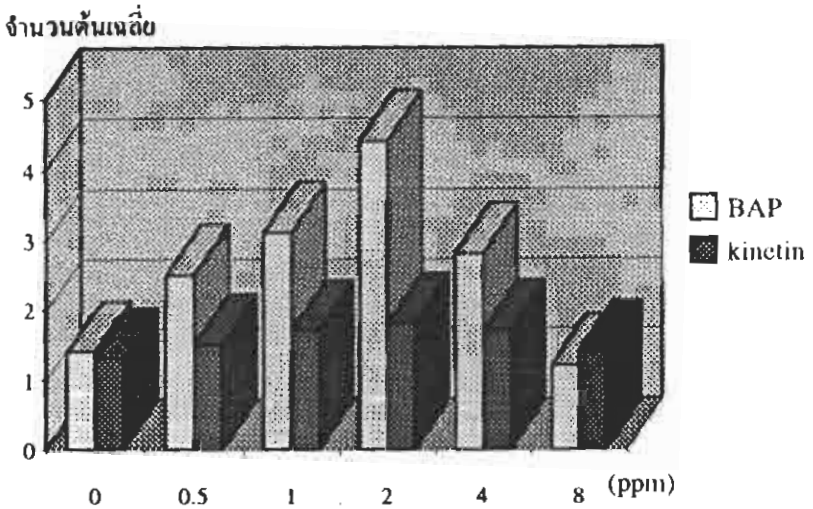
| NAA (ppm) | จำนวนทั้งหมด | จำนวนต้นที่เกิดราก | % การเกิดราก | จำนวนรากเฉลี่ย/ต้น | ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 60 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0.1 | 65 | 16 | 24.6 | 2 | 1.1 |
| 0.5 | 55 | 24 | 43.6 | 1.3 | 1.9 |
| 1.0 | 56 | 33 | 58.9 | 2.7 | 2.4 |
| 2.0 | 45 | 27 | 60 | 2.4 | 2.5 |
| 4.0 | 39 | 27 | 69.2 | 3.0 | 2.7 |

ตารางที่ 5 แสดงเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นกล้าไผ่ที่ปลูกในเครื่องปลูกเป็นระยะเวลา 14 วัน

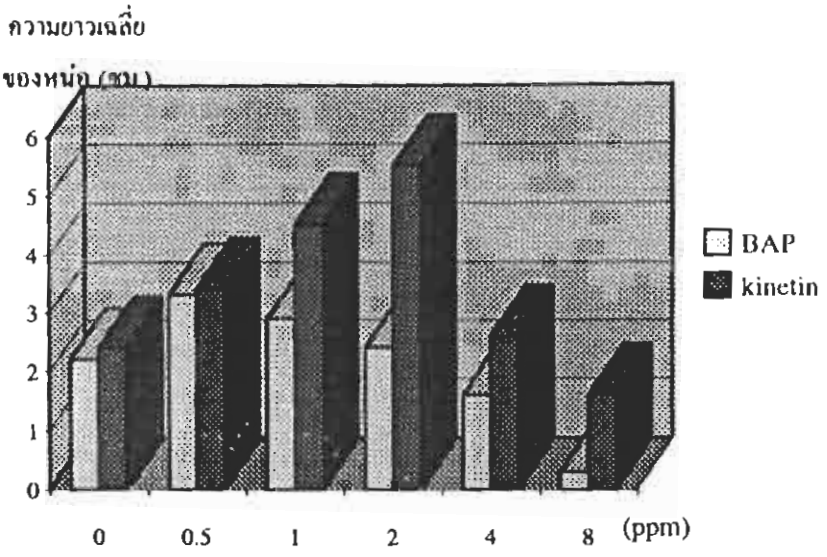
| ชนิดของเครื่องปลูก | จำนวนกล้าไผ่ที่ปลูก | จำนวนต้นที่เจริญ | % การรอดชีวิต |
|---|---|---|---|
| ทราย | 92 | 87 | 94.5 |
| แกลบเผา | 85 | 50 | 58 |
| ทราย + แกลบเผา | 82 | 63 | 76.8 |
| ดิน | 90 | 32 | 35.5 |



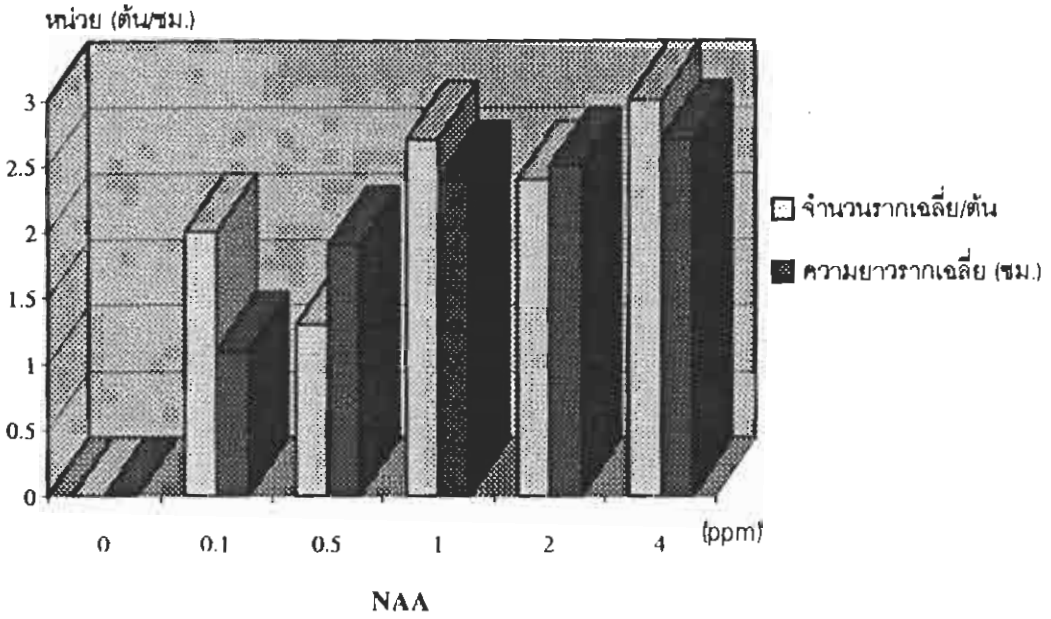

ภาพที่ 1 เปรียบเทียบอิทธิพลของ BAP และ kinetin ต่อจำนวนการเกิดหน่อในอาหารสูตร MS เป็นเวลา 28 วัน



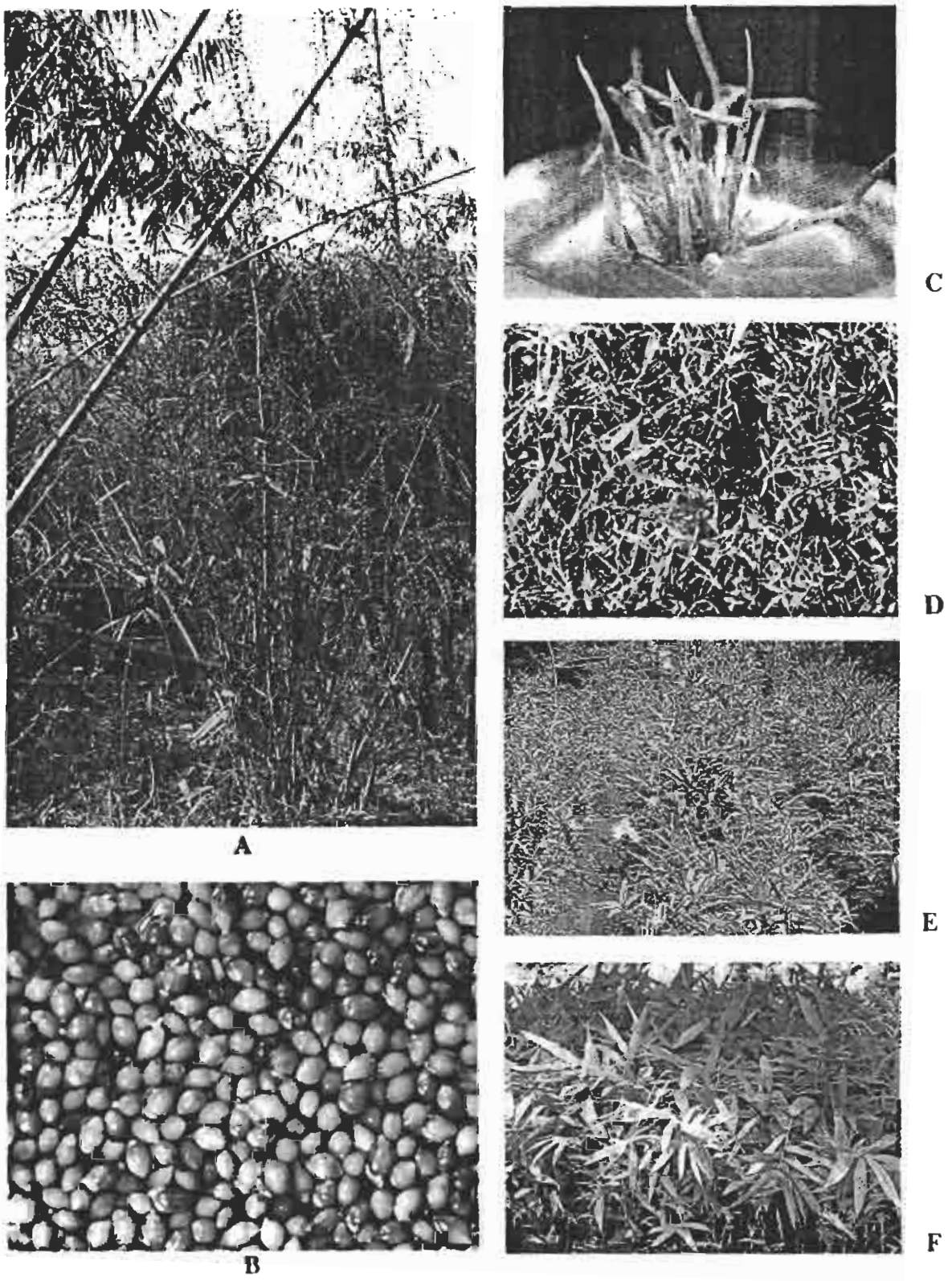

ภาพที่ 2 เปรียบเทียบอิทธิพลของ BAP และ kinetin ต่อการเกิดหน่อเฉลี่ยในอาหารสูตร MS เป็นเวลา 28 วัน




ภาพที่ 3 เปรียบเทียบอิทธิพลของ BAP และ kinetin ต่อการเจริญของหน่อในอาหารสูตร MS เป็นเวลา 28 วัน




ภาพที่ 4 เปรียบเทียบอิทธิพลของ NAA ต่อการเกิดและการเจริญของรากในอาหารสูตร MS เป็นเวลา 21 วัน




ภาพที่ 5 A) ต้นไผ่ตงที่กำลังออกดอก B) เมล็ดไผ่ตงที่สมบูรณ์
C) หน่อไผ่ตงที่สามารถเพิ่มจำนวนได้ในอาหารสังเคราะห์
D) หน่อไผ่ตงที่เกิดราก E) ลักษณะของไผ่ตงที่ปลูกในแปลง
F) ต้นกล้าไผ่ตงที่บรรจุในถุงพลาสติกดำเพื่อปลูกในสภาพธรรมชาติต่อไป