ผลของสารอินทรีย์ต่อการเติบโตและพัฒนาในหลอดทดลองของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’
(*Dendrocalamus sericeus* Munro.)

โดย
นางสาวชวิศารัตน์ กูลพฤกษี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยา
มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

ผลของสารอินทรีย์ต่อการเติบโตและพัฒนาในหลอดทดลองของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ (*Dendrocalamus sericeus* Munro.)

โดย
นางสาวชวิศารัตน์ กูลพฤกษี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยา
มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

EFFECT OF ORGANIC ADDITIVES ON *IN VITRO* GROWTH AND DEVELOPMENT OF SANGMON 'NUAN RAJINI' BAMBOO (*DENDROCALAMUS SERICEUS* MUNRO.)

By

MISS Chawisarat KOOLPRUEKSEE

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science (BIOLOGY)

Department of BIOLOGY

Silpakorn University

Academic Year 2022

Copyright of Silpakorn University

หัวข้อ	ผลของสารอินทรีย์ต่อการเติบโตและพัฒนาในหลอดทดลองของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ (*Dendrocalamus sericeus* Munro.)
โดย	นางสาวชวิศารัตน์ กูลพฤกษี
สาขาวิชา	ชีววิทยา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพรรณญิกา เส็งสาย

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นรงค์ ฉิมพาลี)

พิจารณาเห็นชอบโดย

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กุลนาถ อบสุวรรณ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพรรณญิกา เส็งสาย)

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(รองศาสตราจารย์ ดร. สนธิชัย จันทร์เปรม)

60303201 : ชีววิทยา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
คำสำคัญ : ไผ่, ไผ่ซางหม่น, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, สารอินทรีย์

นางสาว ชวิศารัตน์ กูลพฤกษี: ผลของสารอินทรีย์ต่อการเติบโตและพัฒนาในหลอดทดลองของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ (*Dendrocalamus sericeus* Munro.) อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพรรณญิกา เส็งสาย

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารอินทรีย์ต่อการชักนำยอด และการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ (*Dendrocalamus sericeus* Munro.) โดยนำชิ้นส่วนข้อไผ่มาฟอกฆ่าเชื้อ และเพาะเลี้ยงลงบนอาหารแข็ง Murashige and Skoog (MS) ที่ประกอบด้วย benzyl adenine (BA) 3.0 mg/L และ thidiazuron (TDZ) 0.1 mg/L ที่เติม tryptone 2.0 g/L หรือ biotin 0.5 mg/L หรือ folic acid 0.1 mg/L หรือ monosodium glutamate (MSG) 1.0 g/L เพื่อชักนำให้เกิดยอด เมื่อผ่านไป 3 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหารที่เติม MSG ให้ผลลัพธ์ที่ดีกว่าสูตรอื่น โดยชักนำยอดได้จำนวนมากที่สุด 3 ยอดต่อข้อ มีการแตกยอดเร็วและให้ยอดสีเขียวแข็งแรงเรียวยาว ในการศึกษาการเพิ่มปริมาณยอด โดยนำกลุ่มยอดที่ได้จากการชักนำในอาหารที่เติม MSG มาเพาะเลี้ยง 2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์ รวมระยะเวลา 4 สัปดาห์ ในอาหารเหลว MS สูตรดัดแปลง (ประกอบด้วย BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L) และเติมสารอินทรีย์ต่างชนิด ได้แก่ tryptone, biotin, folic acid, MSG หรือ l-glutamine (L-Glu) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในแต่ละการทดลอง (1.0-4.0 g/L, 0.1-2.0 mg/L, 0.1-2.0 mg/L, 0.5-3.0 g/L และ 0.1-0.4 g/L ตามลำดับ) เปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่เติม adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads) 40 mg/L ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม (positive control) พบว่า Ads ให้ผลลัพธ์ที่ดีกว่า tryptone ทุกความเข้มข้น โดยให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด คือ 4.5 เท่า อีกทั้งยังให้ลักษณะดี (กลุ่มยอดสีเขียว, ไม่มียอดตาย, ไม่เกิดสารประกอบฟีนอลิก) ขณะที่ tryptone เพิ่มอัตรายอดได้ 2.0-2.7 เท่า ส่วนการเติม biotin 0.1 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดได้มากที่สุด 4.2 เท่า ซึ่งมากกว่า Ads ที่เพิ่มยอดได้ 3.0 เท่า โดยที่ให้ยอดลักษณะดีเช่นเดียวกัน และสำหรับสูตรอาหารที่เติม folic acid พบว่าทุกความเข้มข้น ให้อัตราเพิ่มยอดได้มากกว่า Ads และให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด 3.8 เท่าในอาหารที่เติม folic acid 1.0 mg/L ซึ่งสูงกว่า Ads ที่เพิ่มยอดได้ 2.9 เท่า ยอดที่ได้มีลักษณะดีเช่นเดียวกัน ส่วนของการเติม MSG ลงในอาหารเพาะเลี้ยง พบว่าที่ความเข้มข้น 1.0 g/L ให้อัตราเพิ่มยอดได้มากที่สุด (3.7 เท่า) และให้ลักษณะยอดที่ดี ซึ่งมากกว่า Ads ที่เพิ่มยอดได้ 2.5 เท่า สำหรับการเปรียบเทียบกับ L-Glu พบว่า Ads สามารถเพิ่มอัตรายอดได้มากที่สุด 3.6 เท่า อย่างไรก็ตาม L-Glu 0.1 g/L ให้อัตราเพิ่มยอดได้ 3.4 เท่า ซึ่งใกล้เคียงกับ Ads โดยชักนำให้เกิดยอดที่มีลักษณะที่ดีเช่นเดียวกัน จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นผลของของสารอินทรีย์ biotin, folic acid, MSG และ L-Glu ที่มีประสิทธิภาพ

เทียบเคียงได้กับผลของ Ads ทั้งนี้ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารอินทรีย์สูงขึ้น ยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมีอาการฉ่ำน้ำ เกิดการตาย และมีระดับการเกิดสารประกอบฟีนอลิกสูง

60303201 : Major (BIOLOGY)
Keyword : Bamboo, Dendrocalamus, In vitro culture, Organic additives

MISS Chawisarat KOOLPRUEKSEE : Effect of organic additives on *in vitro* growth and development of Sangmon 'Nuan Rajini' bamboo (*Dendrocalamus sericeus* Munro.) Thesis advisor : Assistant Professor Dr. Supanyika Sengsai

This research aimed to investigate effect of organic additives on shoot initiation and shoot multiplication of Sangmon 'Nuan Rajini' bamboo (*Dendrocalamus sericeus* Munro). A surface-sterilized nodal segment was cultured for 3 weeks on Murashige and Skoog (MS) solid medium containing 3.0 mg/L benzyl adenine (BA) and 0.1 mg/L thidiazuron (TDZ), added with 2.0 g/L tryptone or 0.5 mg/L biotin or 0.1 mg/L folic acid or 1.0 g/L monosodium glutamate (MSG). MSG in the solid medium gave the best result in number of shoots (3.0 shoots per node) with rapid growth and and healthy slender green shoots. For shoot multiplication, shoot clump from shoot induction medium supplemented with MSG was cultured for 4 weeks (2 culture cycles, 2 weeks each cycle) on modified liquid MS medium (containing 1.0 mg/L BA, 0.1 mg/L TDZ and 0.5 g/L l-proline) supplemented with different types of organic additives (tryptone, biotin, folic acid, MSG, l-glutamine(L-Glu)) at different concentrations (1.0-4.0 g/L, 0.1-2.0 mg/L, 0.1-2.0 mg/L, 0.5-3.0 g/L and 0.1-0.4 g/L respectively) compared with positive control [40 mg/L adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads)]. It was found that Ads gave the better result than tryptone with the highest shoots multiplication rate of 4.5 folds and good characteristics of shoots (clump of small green shoots, no shoots death, no phenolic compound) while tryptone produced multiplication rate of 2.0-2.7 folds. Medium supplemented with 0.1 mg/l biotin gave the highest multiplication rate of 4.2 folds, superior to Ads (3.0 folds) with the same shoots characteristics. Folic acid showed the better rate of multiplication than Ads. The highest multiplication rate of 3.8 folds was obtained from 1.0 mg/L folic acid with same shoots characteristics as Ads (2.9 folds). MSG at the concentration of 1.0 g/L brought the best results with highest multiplication rate of 3.7 folds superior to Ads (2.5 folds) and good characteristics of shoots. The highest multiplication rate of 3.6 folds was obtained from Ads. However, 0.1 g/L L-Glu also produced high multiplication rate of 3.4 folds similar to Ads with good characteristics

of shoots. This study showed the effects of organic additives (biotin, folic acid, MSG, L-Glu) and performance that gave the similar effects as Ads. Medium supplemented with higher concentrations of organic additives lead to death and hyperhydric shoots with high level of phenolic compound.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาและความช่วยเหลือจาก ผู้ช่วยศาตราจารย์ ดร.สุพรรณญิกา เส็งสาย ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์และให้คำแนะนำ และรองศาสตราจารย์ ดร.โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธา ที่ได้มอบความช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดระยะเวลาการศึกษาวิจัย รวมถึง รองศาสตราจารย์ ดร.กุลนาถ อบสุวรรณ และ รองศาสตราจารย์ ดร.สนธิชัย จันทร์เปรม ที่ได้กรุณาสละเวลาเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณประสาน สุขสวัสดิ์ สำนักงานเกษตร จังหวัดสระแก้ว และวิสาหกิจชุมชนนวัตกรรมไผ่ บ้านเกาะรัง อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและอนุเคราะห์ตัวอย่างพืชเพื่อนำมาใช้ทำการวิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัว รวมถึงเพื่อนทุกคนที่ให้การสนับสนุนและคอยรับฟัง ตลอดจนอาจารย์และบุคลากรทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวถึงในข้างต้น ที่มีส่วนทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงได้

นางสาว ชวิศารัตน์ กูลพฤกษี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ฉ
กิตติกรรมประกาศ ..... ช
สารบัญ ..... ฌ
สารบัญตาราง ..... ฏ
สารบัญรูป ..... ฑ
บทที่ 1 1
บทนำ 1
ความเป็นมาของปัญหา 1
ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา 2
สมมติฐานของการศึกษา 2
ขอบเขตการศึกษา 2
บทที่ 2 4
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 4
1. ชีววิทยาและลักษณะของไผ่ 4
2. ความสำคัญ 5
3. การขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นโดยวิธีการดั้งเดิม 6
4. การขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 7
4.1) สารควบคุมการเจริญเติบโต 8
4.2) สารอินทรีย์ 8
4.3) งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับขยายพันธุ์ไผ่โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 14

บทที่ 3 17
วิธีการดำเนินงานวิจัย 17
วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง 17
พืชที่ใช้ในการทดลอง 17
อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 17
อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายเนื้อเยื่อ 17
สารเคมี 17
การเตรียมชิ้นส่วนพืชและการฟอกฆ่าเชื้อเพื่อเข้าสู่การทดลอง 18
การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของชนิดสารอินทรีย์ ต่อการชักนำยอดจากข้อของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 19
การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของ tryptone ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 20
การทดลองที่ 3 การศึกษาผลของ biotin ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 21
การทดลองที่ 4 การศึกษาผลของ folic acid ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 22
การทดลองที่ 5 การศึกษาผลของ MSG ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 23
การทดลองที่ 6 การศึกษาผลของ L-Glu ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 24
บทที่ 4 25
ผลการทดลอง 25
การทดลองที่ 1 ผลของสารอินทรีย์ชนิดต่างๆต่อการชักนำยอดจากข้อของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 25
การทดลองที่ 2 ผลของ tryptone ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 28
การทดลองที่ 3 ผลของ biotin ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 30
การทดลองที่ 4 ผลของ folic acid ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 32

การทดลองที่ 5 ผลของ monosodium glutamate (MSG) ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 34
การทดลองที่ 6 ผลของ l-glutamine (L-Glu) ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 36
บทที่ 5 39
อภิปรายผลและสรุปผล 39
1. การศึกษาผลของสารอินทรีย์ต่อการชักนำยอดจากข้อของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 39
2. การศึกษาผลของสารอินทรีย์ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 40
2.1) ผลของ tryptone ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 41
2.2) ผลของ biotin ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 43
2.3) ผลของ folic acid ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 44
2.4) ผลของ MSG ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 45
2.5) ผลของ L-Glu ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 46
3. แนวทางการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอด 47
4. สรุปผลการทดลอง 48
ภาคผนวก 49
รายการอ้างอิง 52
ประวัติผู้เขียน 64

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 จำนวนและความยาวยอดเฉลี่ย และลักษณะยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 3.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.1 mg/L และสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ 26

ตารางที่ 2 ผลของ tryptone ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ จากกลุ่มยอดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) 29

ตารางที่ 3 ผลของ tryptone ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อลักษณะของกลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) 30

ตารางที่ 4 ผลของ biotin ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ จากกลุ่มยอดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) 31

ตารางที่ 5 ผลของ biotin ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อลักษณะของกลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) 32

ตารางที่ 6 ผลของ folic acid ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ จากกลุ่มยอดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) 33

ตารางที่ 7 ผลของ folic acid ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อลักษณะของกลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) 34

ตารางที่ 8 ผลของ monosodium glutamate (MSG) ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ จากกลุ่มยอดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) 35

ตารางที่ 9 ผลของ monosodium glutamate (MSG) ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อลักษณะของกลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) 36

ตารางที่ 10 ผลของ l-glutamine (L-Glu) ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ จากกลุ่มยอดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) 37

ตารางที่ 11 ผลของ l-glutamine (L-Glu) ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อลักษณะของกลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) 38

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1 ลักษณะของไผ่ซางหม่น 5

รูปที่ 2 โครงสร้างของ Adenine sulphate (ที่มา : https://shorturl.at/nBEMS) 13

รูปที่ 3 ยอดที่ได้จากเพาะเลี้ยงข้อของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ บนอาหารแข็งสูตรชักนำยอดเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (สเกล = 1 เซนติเมตร) 27

รูปที่ 4 อาการฉ่ำน้ำที่เกิดขึ้นในการทดลอง 43

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาของปัญหา

ไผ่ เป็นพืชในวงศ์หญ้า (Poaceae) ที่มีความสูงที่สุดในโลก พบกระจายพันธุ์ทั่วไปอย่างกว้างขวางเกือบทุกพื้นที่ของโลก ทั้งในเขตสภาพอากาศหนาวเย็นจนถึงเขตร้อนชื้น (สมชัย, 2551) ในประเทศไทยพบไผ่ 85 ชนิด จากทั้งหมด 1,662 ชนิดทั่วโลก (Canavan et al., 2017; กมลทิพย์, 2560) ไผ่มีความทนแล้งได้ดี เป็นพืชสารพัดประโยชน์ที่มนุษย์นำมาใช้เป็นเวลาช้านาน โดยนำมาประกอบอาหาร สร้างที่อยู่อาศัย (สมชัย, 2550) ข้าวของเครื่องใช้ เฟอร์นิเจอร์ ตลอดจนมีการสกัดสารมาใช้ในด้านเภสัชกรรมและความงาม นอกจากนี้ไผ่ยังช่วยเพิ่มอินทรียวัตถุในดิน จึงนำมาใช้ในการฟื้นฟูดินได้ (ธัญพิสิษฐ์ et al., 2556)

ไผ่ซางหม่น (*Dendrocalamus sericeus* Munro.) เป็นไผ่ประเภทเหง้ากอในสกุล *Dendrocalamus* เจริญเติบโตได้ดีในที่ดอนในพื้นที่ดินมีการระบายน้ำดี ไม่ทนน้ำท่วมขัง ชอบอากาศชื้น พบมากทางภาคเหนือของประเทศไทย (ธัญพิสิษฐ์, 2558a) เมื่อพิจารณาลักษณะที่ปรากฏไผ่ซางหม่นจัดเป็นไผ่ขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ไม่ค่อยมีกิ่งแขนง ไม่มีหนาม มีพุ่มใบอยู่ที่ปลายยอด ลำสีเขียวมีนวลสีขาวปกคลุมอยู่ จึงเป็นที่มาของชื่อ “ไผ่ซางหม่น” (สมชัย, 2551) ส่วนข้อเรียบ เส้นผ่านศูนย์กลางลำประมาณ 7.5-10 เซนติเมตร ความสูงประมาณ 15-18 เมตร ใบเรียวเล็ก เนื้อไม้หนาแกร่ง สวยงาม หน่อนำมารับประทานได้ รสชาติอร่อย แต่ไม่ค่อยเป็นที่นิยมบริโภค โดยมีความต้องการนำลำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเฟอร์นิเจอร์มากกว่า (ธัญพิสิษฐ์ et al., 2556) เนื่องจากลำของไผ่ซางหม่นมีลักษณะตรงโดยธรรมชาติและสม่ำเสมอ จึงส่งผลต่อต้นทุนในการนำไปแปรรูปเพราะไม่ต้องตัดทิ้ง สามารถใช้ประโยชน์ได้ทั้งหมดตลอดลำ ด้วยเหตุนี้ไผ่ซางหม่นจึงมีราคาดีกว่าไผ่พันธุ์อื่น (ทะนุพงศ์, 2559a)

จากลักษณะและคุณประโยชน์ดังกล่าว ทำให้ปัจจุบันไผ่ซางหม่นเป็นที่สนใจและต้องการของตลาดมากขึ้น ด้วยประโยชน์ใช้สอยที่หลากหลายโดยเฉพาะการนำไปผลิตเป็นเฟอร์นิเจอร์ สร้างที่อยู่อาศัย มวลชีวภาพ และการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ ซึ่งสร้างมูลค่าได้มหาศาล แต่การผลิตกล้าไผ่ซางหม่นยังมีน้อย ทำให้กล้าไผ่ขาดตลาดทั้งที่เป็นไผ่คุณภาพดีกว่าไผ่อื่นๆ อีกหลายชนิดที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบันจึงมีหน่วยงานและนักวิชาการที่สนับสนุน และจัดอบรมการเพาะและขยายพันธุ์กล้าไผ่ซางหม่นให้กับเกษตรกรที่สนใจ (ทะนุพงศ์, 2559b; พิมลนาฎ, 2565; สวทช., 2565)

อย่างไรก็ตามการขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นด้วยวิธีการดั้งเดิมโดยการใช้ส่วนต่างๆ คือ เมล็ด เหง้า ลำ หรือกิ่งแขนง กล่าวได้ว่าต้องใช้เวลาและไม่มีประสิทธิภาพพอที่จะทำให้ได้ต้นพันธุ์จำนวนมากตามความต้องการ (Ahirwar & Bagchi, 2014) งานวิจัยนี้จึงใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาเป็นทางเลือกในการขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่น โดยเลือกใช้ส่วนข้อซึ่งมีตาอยู่ เนื่องจากเป็นส่วนที่มีประสิทธิภาพในการเจริญมากที่สุด (Ray & Ali, 2016) และให้ต้นจากการเพาะเลี้ยงที่มีความเสถียรทางพันธุกรรม (Singh et al., 2013) โดยนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับสารควบคุมเจริญเติบโตและสารอินทรีย์ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก และเป็นแนวทางหนึ่งสำหรับการแก้ไขปัญหาการขาดแคลนต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นในอนาคต

ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาชนิดของสารอินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดของไผ่ซางหม่น
2. เพื่อศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น
3. เพื่อศึกษาการขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นจากชิ้นส่วนข้อ ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อใช้เป็นแนวทางสำหรับการเพิ่มปริมาณและแก้ไขเรื่องการขาดแคลนกล้าไผ่ซางหม่นในอนาคต

สมมติฐานของการศึกษา

สารอินทรีย์สามารถส่งเสริมประสิทธิภาพการขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทั้งในขั้นตอนการชักนำยอดและการเพิ่มปริมาณยอด

ขอบเขตการศึกษา

1. ศึกษาผลของสารอินทรีย์ tryptone, biotin, folic acid และ monosodium glutamate (MSG) ความเข้มข้น 2.0 g/L, 0.5 mg/L, 0.1 mg/L และ 1.0 g/L ตามลำดับ ต่อการชักนำยอดจากส่วนข้อของไผ่ซางหม่น
2. ศึกษาผลของ tryptone ความเข้มข้น 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 g/L ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อการพัฒนาและเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น
3. ศึกษาผลของ biotin ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อการพัฒนาและเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น

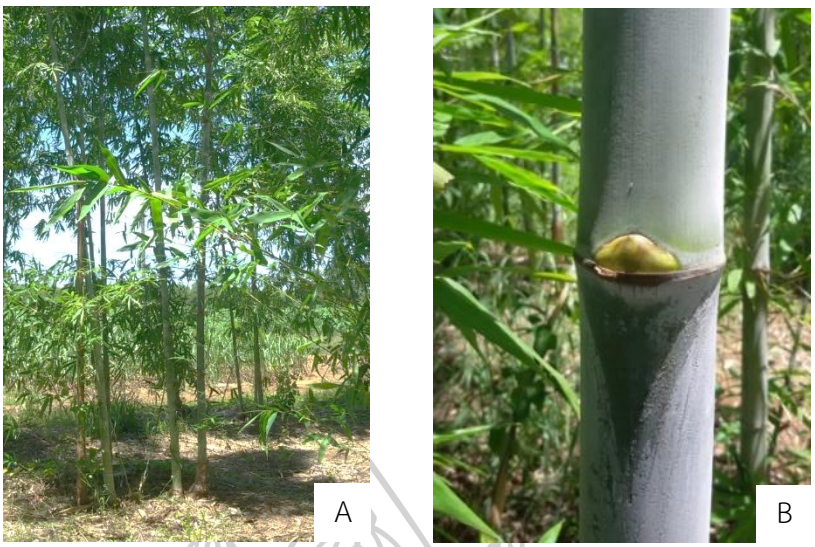
4. ศึกษาผลของ folic acid ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อการพัฒนาและเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น
5. ศึกษาผลของ MSG ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 g/L ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อการพัฒนาและเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น
6. ศึกษาผลของ l-glutamine (L-Glu) ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 g/L ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อการพัฒนาและเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น

บทที่ 2
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

1. ชีววิทยาและลักษณะของไผ่

ไผ่ เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวยืนต้นในวงศ์หญ้า (Poaceae) ที่มีความสูงที่สุดในโลก พบกระจายพันธุ์ทั่วไปอย่างกว้างขวางเกือบทุกพื้นที่ของโลก ในเขตสภาพอากาศหนาวเย็นจนถึงเขตร้อนชื้น สามารถทนแล้งได้ดี การกระจายพันธุ์ของไผ่ในพื้นที่ต่างๆ ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและขนาดของลำ การที่ไผ่แต่ละชนิดเจริญอยู่ในพื้นที่ต่างๆ ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ลักษณะภูมิประเทศ ลักษณะดิน องค์ประกอบภายในป่า และความลาดชันของพื้นที่ (สมชัย, 2550, 2551) สำหรับในประเทศไทยพบไผ่ 85 ชนิด จากทั้งหมด 1,662 ชนิดทั่วโลก (Canavan et al., 2017; กมลทิพย์, 2560) ทั้งนี้ไผ่บางชนิดอาจมีลักษณะที่คล้ายกันทำให้ยากต่อการจำแนก จึงมีเกณฑ์การจำแนกพันธุ์ไผ่ โดยดูจากหลายลักษณะประกอบกัน คือ ลักษณะการเจริญเติบโตของเหง้า ลักษณะของใบ ลักษณะและการหลุดร่วงของกาบหุ้มลำ (clump sheath) การแตกกิ่ง ความยาวของปล้อง ขนาดของลำ ลักษณะตาข้าง สีความนวลของลำ และส่วนต่างๆ ของดอก (จิราพร, 2551)

ไผ่ซางหม่นเป็นไผ่ประเภทเหง้ากอในสกุล *Dendrocalamus* มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Dendrocalamus sericeus* Munro. เจริญเติบโตได้ดีในที่ดอนในพื้นดินที่มีการระบายน้ำดี ไม่ทนน้ำท่วมขัง ชอบอากาศชื้น โดยพบมากทางภาคเหนือของประเทศไทย (ธัญพิสิษฐ์, 2558a) ลำต้นกลมกลวง มีผิวเรียบและมีข้อปล้อง เส้นใยของไผ่มีความแข็งแรง เหนียวและยืดหยุ่น มีส่วนเหง้า หรือ rhizome เป็นส่วนของลำต้นใต้ดินทำหน้าที่เก็บสะสมอาหาร ที่มีข้อเรียงตัวกันแน่นทำให้มีตาอยู่จำนวนมาก ส่วนตาข้างเหง้า (rhizome bud) บริเวณข้อนี้จะมีการเจริญขึ้นมาเป็นหน่อ (shoot) และลำไผ่ (clump) ต่อไป (จิราพร, 2551) เมื่อพิจารณาลักษณะ ไผ่ซางหม่นจัดเป็นไผ่ขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ไม่ค่อยมีกิ่งแขนง ไม่มีหนาม มีพุ่มใบอยู่ที่ปลายยอด (รูปที่ 1A) ลำสีเขียวมีนวลสีขาวปกคลุมอยู่ (รูปที่ 1B) จึงเป็นที่มาของชื่อ “ไผ่ซางหม่น” (สมชัย, 2551) ส่วนข้อเรียบ เส้นผ่านศูนย์กลางลำประมาณ 7.5-10 เซนติเมตร ความสูงประมาณ 15-18 เมตร ใบเรียวเล็ก เนื้อไม้หนาแกร่ง สวยงาม (ธัญพิสิษฐ์ et al., 2556)



รูปที่ 1 ลักษณะของไผ่ซางหม่น

A กอและต้นของไผ่ซางหม่น

B ส่วนลำและข้อของไผ่ซางหม่น

2. ความสำคัญ

ไผ่ มีความสำคัญอย่างมากต่อระบบนิเวศ เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม สามารถแก้ไขปัญหาภาวะโลกร้อนได้ โดยมีความสามารถในการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และเก็บไว้ในรูปเนื้อไม้ และผลิตก๊าซออกซิเจนได้ในอัตราที่สูง อีกทั้งยังมีการเจริญเติบโตที่รวดเร็วได้ถึง 75-400 มิลลิเมตรต่อวัน (Mudoi et al., 2013) จึงใช้ระยะเวลาการปลูกไม่นานเพียง 3-5 ปี ซึ่งรวดเร็วกว่าการปลูกต้นไม้ชนิดอื่นเพื่อลดโลกร้อนที่ใช้เวลานานนับสิบปี นอกจากนี้รากของไผ่ยังช่วยยึดเกาะป้องกันการพังทลายของดิน สามารถกักเก็บได้ถึง 3 เท่าของน้ำหนักต้น ให้ความชุ่มชื้นทำให้เป็นแหล่งต้นน้ำได้ดี ภายหลังการวัดอินทรียวัตถุในดินเมื่อระยะเวลาผ่านไป 7 เดือน พบว่ามีปริมาณอินทรียวัตถุในดินเพิ่มขึ้นจากการหลุดร่วงของใบและระบบรากฝอยที่ผุพัง เกิดการย่อยสลายปกคลุมที่หน้าดิน ทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์เพิ่มมากขึ้น (ธัญพิสิษฐ์ et al., 2556) นอกจากนี้ยังเป็นหนึ่งในพืชที่มีความสำคัญในเชิงมูลค่าเชิงพาณิชย์มากที่สุดที่มีการเพาะปลูกกันทั่วโลก มีการนำมาใช้ประโยชน์อย่างหลากหลายในชีวิตประจำวัน (Mudoi et al., 2013) เช่น นำมารับประทาน ซึ่งไผ่อุดมไปด้วยสารอาหารต่างๆ อย่างโปรตีน คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน ไฟโตสเตอรอล (phytosterol) สารต้านอนุมูลอิสระ ไฟเบอร์ และวิตามิน A, B1, B3, B6 ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย (Nongdam & Tikendra, 2014) มีการนำเส้นใยไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตกระดาษ อุตสาหกรรมสิ่งทอหรือจักสาน เนื่องจากเส้นใยมีความอ่อนนุ่มและยืดหยุ่น อีกทั้งยังมีความแข็งแรง สามารถนำมาสร้างเฟอร์นิเจอร์ เป็นที่อยู่อาศัย อุปกรณ์หรือเครื่องมือต่างๆได้เป็นอย่างดี (ธัญพิสิษฐ์, 2558b; พิมลนาฎ, 2565)

อย่างไรก็ตาม ไผ่แต่ละพันธุ์มีลักษณะและความหลากหลาย รวมถึงมีข้อเด่นที่แตกต่างกันไปตามธรรมชาติ จึงต้องคัดเลือกพันธุ์ไผ่ที่จะสามารถสร้างประโยชน์ทางเศรษฐกิจได้เหมาะสมและคุ้มค่ามากที่สุด ซึ่งหนึ่งในพันธุ์ไผ่ที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมนั้นคือ ไผ่ซางหม่น เพราะนอกจากหน่อจะนำมารับประทานได้ มีรสชาติดี และนิยมบริโภคและค้าขายหน่อทางภาคเหนือของประเทศไทยแล้ว (ธัญพิสิษฐ์ et al., 2556) ยังมีลักษณะเนื้อไม้หนาแกร่ง สวยงาม ข้อเรียบ และลำมีลักษณะตรงโดยธรรมชาติและสม่ำเสมอ จึงส่งผลต่อต้นทุนในการนำไปแปรรูป เพราะไม่ต้องตัดทิ้ง สามารถใช้ประโยชน์ได้ทั้งหมดตลอดลำ ด้วยเหตุนี้ไผ่ซางหม่นจึงมีราคาดีกว่าไผ่พันธุ์อื่น (ทะนุพงศ์, 2559a) และจากลักษณะและคุณประโยชน์ดังกล่าว ทำให้ไผ่ซางหม่นเป็นที่สนใจและต้องการของตลาดในเชิงอุตสาหกรรม รวมทั้งมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจ ด้วยประโยชน์ใช้สอยที่หลากหลาย โดยเฉพาะการนำไปผลิตเป็นเฟอร์นิเจอร์ และการใช้ประโยชน์อื่นๆจากเนื้อไม้ เช่นการนำไปผลิตพลังงานชีวมวลที่เป็นการผลิตไฟฟ้าทดแทนพลังงานจากฟอสซิลซึ่งมีอยู่อย่างจำกัด ทำให้สร้างมูลค่าได้มหาศาล แต่การผลิตกล้าไผ่ซางหม่นยังไม่เพียงพอต่อการตอบสนองความต้องการ ที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบันจึงมีหน่วยงานที่จัดอบรมการเพาะและขยายพันธุ์กล้าไผ่ซางหม่นให้กับเกษตรกรที่สนใจ และนักวิชาการที่สนับสนุนการปลูกไผ่ซางหม่นเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางเศรษฐกิจต่อไป (ทะนุพงศ์, 2559b; พิมลนาฎ, 2565; สวทช., 2565)

3. การขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นโดยวิธีการดั้งเดิม

การขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นแบบดั้งเดิม สามารถทำได้หลากหลายวิธีโดยใช้ส่วนต่างๆของไผ่ ซึ่งได้แก่ การเพาะเมล็ด การใช้ส่วนเหง้า การใช้ส่วนลำ หรือการใช้กิ่งแขนง

การเพาะเมล็ด

ไผ่ซางหม่นจะผลิตเมล็ดเป็นจำนวนมาก แต่ตามธรรมชาติแล้วไผ่จะหมดอายุขัยและตายภายหลังการออกดอกและติดเมล็ด (จิราพร, 2551) ซึ่งการเพาะเมล็ดสามารถทำได้โดยเก็บเมล็ดที่แก่และสมบูรณ์มานวดเอาเปลือกออกเพื่อให้เมล็ดงอกเร็วและเจริญเติบโตอย่างสม่ำเสมอ ก่อนปลูกให้นำเมล็ดแช่น้ำไว้ 2 คืน และควรเพาะเมล็ดที่เก็บมาภายใน 1 เดือนหลังการเก็บเมล็ด เพื่อให้มีอัตราการงอกที่สูง (สมชัย, 2551) อย่างไรก็ตามการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดจะถูกจำกัดด้วยรอบการออกดอก (flowering cycle) ความสามารถในการผลิตเมล็ดของต้นไผ่ (Singh et al., 2013) รวมถึงความแข็งแรงของเมล็ด ซึ่งพบว่าเมล็ดของไผ่ซางหม่นมักจะฝ่อ นอกจากนี้ต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ดอาจมีลักษณะที่ต่างไปจากเดิม เนื่องจากมีความแปรผันทางพันธุกรรมสูง ดังนั้นการขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นด้วยวิธีการเพาะเมล็ดจึงประสบผลสำเร็จต่ำ (Kumar & Banerjee, 2014; ทะนุพงศ์, 2559b)

การใช้ส่วนเหง้า

ใช้เหง้าของไผ่ที่มีอายุ 1-2 ปี ตัดให้มีความยาวประมาณ 50-80 เซนติเมตร โดยระวังส่วนตาที่ข้อไม่ให้เสียหายเพราะเป็นส่วนที่จะมีการเจริญต่อไป การขยายพันธุ์จากเหง้ามีข้อดีเนื่องจากเหง้าเป็นแหล่งที่มีการสะสมอาหาร จึงทำให้มีอัตรารอดสูง และได้หน่อเร็วกว่าการขยายพันธุ์โดยใช้แขนงหรือลำ (สมชัย, 2551)

การใช้ส่วนลำ

ตัดแบ่งลำเป็นท่อน ท่อนละ 1 ข้อ นำปลูกโดยให้ตาหงายขึ้นและส่วนข้ออยู่ระดับดิน หรือ ใช้ทั้งลำของไผ่ซางหม่น ทำการตัดกิ่งแขนงที่ลำออกจนเหลือ 10-15 เซนติเมตร โดยระวังการฉีกขาดเพราะโคนแขนงจะเป็นส่วนที่รากงอก จากนั้นตัดทำช่องที่กลางปล้องเพื่อใส่น้ำ นำไปฝังดินปลูก ก่อนฝังดินใส่น้ำให้เต็มช่อง ปิดด้วยฝาไผ่ที่ตัดออก หมั่นรดน้ำให้ชุ่ม ไผ่จะแตกแขนงหลังจากเวลาผ่านไปประมาณ 5-6 เดือน (สมชัย, 2551)

การใช้กิ่งแขนง

วิธีนี้ควรทำในช่วงปลายฤดูฝนในเดือน กันยายน-ตุลาคม ซึ่งเป็นช่วงที่ไผ่แตกแขนงมาก ให้ทำการตัดกิ่งแขนง หรือกิ่งที่แยกออกมาจากข้อ ที่กาบหุ้มข้อหลุดหมดแล้วและมีสีน้ำตาล ควรมีรากฝอยหรือรากแขนงเกิดที่โคนด้วย นำมาปลูกโดยกลบดินให้แน่นแล้วรดน้ำ (สมชัย, 2551)

อย่างไรก็ตามการขยายพันธุ์โดยใช้ส่วนท่อนพันธุ์จากส่วนต่างๆ ของต้นไผ่ ต้นไผ่ที่ได้จะมีอายุการออกดอกในระยะเดียวกับต้นแม่และตายภายหลังการออกดอก การเริ่มอายุรอบใหม่ของไผ่จึงต้องเริ่มปลูกด้วยการเพาะเมล็ดเท่านั้น (จิราพร, 2551) นอกจากนี้ยังถูกจำกัดด้วยความยากและการใช้อุปกรณ์ในการตัด รวมถึงฤดูกาล (Singh et al., 2013) และความสามารถในการออกรากที่ต่ำ (Bakshi et al., 2015)

4. การขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เนื่องจากการผลิตกล้าไผ่ซางหม่นด้วยวิธีการขยายพันธุ์แบบดั้งเดิมมีอุปสรรคและข้อจำกัดอีกทั้งยังต้องใช้เวลา และไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะทำให้ได้ต้นพันธุ์จำนวนมากตามความต้องการ ดังนั้นวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงถูกนำมาเป็นทางเลือกในการขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่น เพราะเป็นวิธีที่สามารถควบคุมมาตรฐานการผลิตพืชให้สม่ำเสมอและปลอดเชื้อ ทำให้ได้พืชปริมาณมาก ภายในระยะเวลาอันสั้น และยังสามารถใช้ในการอนุรักษ์พันธุ์ (Mudoi et al., 2013) เพื่อเป็นแนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหาการขาดแคลนต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นในอนาคต โดยมีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตและสารอินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อช่วยส่งเสริมการเจริญ

4.1) สารควบคุมการเจริญเติบโต

สารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นสิ่งสำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากมีความสามารถในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และส่งผลต่อการเจริญพัฒนาของเนื้อเยื่อที่นำมาเพาะเลี้ยง โดยจะไปชักนำให้เกิดยอด ราก หรือกลุ่มของเนื้อเยื่อ (callus) ตามต้องการ (Pidlisnyuk et al., 2022; Ray & Ali, 2016; Sehgal & Joshi, 2022)

6-benzyladenine (BA)

เป็นสารชนิดหนึ่งในกลุ่ม cytokinin ที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในฐานะของสารที่ช่วยชักนำยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช รวมถึงไผ่หลากหลายสายพันธุ์ เนื่องจากมีราคาถูก สามารถเติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงแล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยการนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ได้ โดยพบว่ามีประสิทธิภาพในการชักนำยอด และเพิ่มปริมาณยอดในไผ่หลายสายพันธุ์ได้ดีกว่าสารตัวอื่นในกลุ่ม cytokinin เนื่องจากมีผลกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว อีกทั้งยังกระตุ้นการแตกตาข้าง รวมถึงเพิ่มจำนวนตา (Mudoi et al., 2013; Ray & Ali, 2016; พิมลนาฎ, 2565)

Thidiazuron (TDZ)

เป็นสารที่มีฤทธิ์ที่ส่งผลต่อการการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนพืช มีคุณสมบัติคล้าย cytokinin และมีฤทธิ์ที่แรงมากกว่า BA นิยมใช้ที่ความเข้มข้นต่ำ หากความเข้มข้นที่ใช้สูงกว่า 1 mg/L ประสิทธิภาพจะลดลง ทั้งนี้ TDZ ได้ถูกใช้ในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอด แต่การใช้งานยังคงมีข้อจำกัด (Erland et al., 2020; Ray & Ali, 2016) โดยมีข้อสันนิษฐานว่า TDZ อาจมีผลต่อการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารพืช และกระตุ้นกิจกรรมของ cytokinin (พิมลนาฎ, 2565)

มีงานวิจัยที่ศึกษาผลกระทบร่วมของการใช้ BA ร่วมกับ TDZ และพบว่า การใช้ BA ร่วมกับ TDZ จะสามารถส่งเสริมการเจริญของพืชได้ดีกว่าการใช้ BA เพียงอย่างเดียว (Kapruwan et al., 2014) เนื่องจาก cytokinin-binding protein (CBP) ในพืช จะมี 2 binding site ที่แตกต่างกัน ตำแหน่งหนึ่งเหมาะสำหรับจับกับ adenine-type cytokinins อย่าง BA และอีกตำแหน่งหนึ่งสามารถจับกับ phenylurea-types อย่าง TDZ ทำให้ทั้ง BA และ TDZ สามารถมีผลในการทำงานร่วมกันได้ (synergistic effect) (Tefera & Wannakrairoj, 2006)

4.2) สารอินทรีย์

นอกจากการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้ว ยังพบว่าสารอินทรีย์มีคุณสมบัติที่ส่งผลต่อการเจริญพัฒนาของพืช (Hamdeni et al., 2022) จึงได้มีการนำสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น Tryptone, Biotin, Folic acid, Monosodium glutamate (MSG),

l-glutamine (L-Glu), Adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads) และ ส-proline มาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อช่วยเพิ่มความสามารถในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของไผ่ให้เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพแข็งแรง สมบูรณ์ และประสบผลสำเร็จตามที่ต้องการ

Tryptone

เป็นแหล่งไนโตรเจนที่พืชนำไปใช้ โดย tryptone คือ peptone ชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นโปรตีนที่ถูกย่อยด้วยเอ็นไซม์ หรือ acid hydrolysis กลายเป็นสายเปปไทด์สั้นๆ และกรดอะมิโนองค์ประกอบของ peptone ขึ้นอยู่กับแหล่งของโปรตีนและวิธีการย่อยโปรตีนนั้น (George et al., 2008) ซึ่ง tryptone เป็นโปรตีนชนิด milk protein casein ที่ถูกย่อยโดยเอ็นไซม์ trypsin โดย tryptone มีเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนมากและ amino acids หลายชนิด มีรายงานว่า peptone ช่วยส่งเสริมการเกิดยอดและรากของอโวคาโดโดยเติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (Nhut et al., 2008)

casein (เคซีน) เป็นโปรตีนจากนมที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบถึง 80 เปอร์เซ็นต์ มีการทำให้โปรตีนนี้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโดยกระบวนการ enzymatic hydrolysis หรือการย่อยสลายด้วยโดยเอ็นไซม์ trypsin เพื่อปรับปรุงโครงสร้างและสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน ทำให้เปลี่ยนจาก casein เป็น casein hydrolysate หรือโปรตีนที่ถูกย่อยเป็น peptone ในชื่อ tryptone (Corredig & Dalgleish, 1997) ซึ่งอุดมไปด้วย glutamic acid/glutamine, proline, and lysine (Wang et al., 2013) casein hydrolysates (CH) สามารถเป็นแหล่งของแคลเซี่ยม ฟอสเฟส ธาตุอาหารรอง วิตามิน และกรดอะมิโนหลายชนิด (Ageel & Elmeer, 2010) และพบว่าการใช้ casein hydrolysate ส่งเสริมการเติบโตของพืชได้ดีกว่าการใช้กรดอะมิโนหลัก อาจเนื่องจาก casein hydrolysate ประกอบด้วย growth promoting factor ที่ไม่ทราบชนิด (Amer et al., 2017; George et al., 2008)

มีรายงานการใช้ casein hydrolysate เป็นแหล่งในโตรเจนเพียงแหล่งเดียวในการส่งเสริมการเติบโตของแคลลัสยาสูบ (Heimer & Filner, 1970) และแคลลัสของ *Morinda citrifolia* ที่ระดับความเข้มข้น 4 กรัมต่อลิตรของอาหารเพาะเลี้ยง (Zenk et al., 1975) นอกจากนี้ยังมีการใช้ casein hydrolysate เป็นแหล่งในโตรเจนเพียงแหล่งเดียวในถั่ว (bean) (Crocomo et al., 1975), แครอท (Wetherell & Dougall, 1976) และ ลูกซัด (fenugreek) (Singh et al., 1981) โดยพบว่าการใช้ casein hydrolysate ที่ความเข้มข้น 2 กรัมต่อลิตร มีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของถั่วลันเตา (Cardi & Monti, 1990) การเติม casein hydrolysate ร่วมกับ 2,4-D ยังช่วยสนับสนุนการเกิดแคลลัสของข้าว (*Oryza sativa* L.) ได้มากกว่าการใช้ 2,4-D เพียงอย่างเดียว หรือการใช้ 2,4-D ร่วมกับ l-proline และ casein hydrolysate (Khaleda & Al-Forkan, 2006) อีกทั้งยังช่วยในการ

เพิ่มปริมาณ protocorm like bodies รวมทั้งส่งเสริมการพัฒนาและเพิ่มปริมาณยอดของกล้วยไม้ได้ (Yih et al., 2010)

Biotin

Biotin หรือวิตามิน H จัดอยู่ในกลุ่มวิตามิน B7 ซึ่งวิตามินช่วยส่งเสริมการทำงานของเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยา carboxylation, decarboxylation และ transcarboxylation ใน metabolism ของกรดไขมันและคาร์โบไฮเดรต (Picciocchi et al., 2003) และเกี่ยวข้องกับ Krebs cycle ทั้งนี้ biotin เป็น coenzyme ซึ่งจะทำงานร่วมกับ ATP ในปฏิกิริยา carboxylation โดยเป็นตัวกลางย้ายหมู่คาร์บอกซิล (carboxly) จากโมเลกุลผู้ให้ (donor) คือ CO_2 ไปยังโมเลกุลผู้รับ (acceptor) คือ acetyl co A carboxylase ทำให้ acetyl coA เปลี่ยนเป็น malonyl coA เป็นขั้นตอนหนึ่งในการสังเคราะห์ fatty acid ที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งใช้ในการสร้างต้น กล้า ใบ เนื้อเยื่อ (Arditti & Harrison, 1977) และยังเป็น coenzyme ในปฏิกิริยาการสังเคราะห์กลูโคส (Gluconeogenesis) (Waldrop et al., 2012) ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้หลายชนิดมี biotin เป็นองค์ประกอบ biotin มีผลในการเพิ่มการเติบโตและทำให้ส่วนต้นมีสีเขียวมากขึ้นในกล้วยไม้สกุล *Cattleya* สกุล *Paphiopedilum* และสกุล *Odontoglossum* บางชนิด และยังสนับสนุนการเติบโตของรากในกล้วยไม้สกุล *Cymbidium* บางชนิดด้วย (Arditti & Harrison, 1977)

มีการรายงานถึงการใช้ biotin ว่าสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของพืชได้ โดยพบว่ามีผลในการชักนำให้เกิดแคลลัส และมีผลในการเพิ่มน้ำหนักของ embryogenic callus จำนวนของ somatic embryo และขนาดของ somatic embryo ในอินทผลัม (*Phoenix dactylifera*) (Khayri & Jameel, 2001; Shiaty et al., 2004) นอกจากนี้ยังเพิ่มน้ำหนักแห้งของยอดถั่วลันเตา (pea) (Abrahamian & Kantharajah, 2011) ในทางตรงกันข้ามอาหารที่ปราศจากวิตามิน thiamine, pyridoxine, nicotinic acid, folic acid, และ biotin ไม่มีผลต่อการเกิดยอดและรากในพืชหลายชนิด ยกเว้นใน *Begonia × Hiemalis* (Welander, 1977) การเติมไบโอตินความเข้มข้น 1-3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลในการเพิ่มความยาวยอดและรากของเยอบิร่า (*Gerbera jamesonii*) เพิ่มความยาวรากของเบญจมาศ (*Chrysanthemum hybridum*) แต่มีผลยับยั้งความยาวยอดของหมากผู้หมากเมีย (*Cordyline fruticose*) (Samarina et al., 2016)

Folic acid

Folic acid หรือ วิตามิน M จัดอยู่ในกลุ่มของวิตามิน B9 พบได้ทั่วไปในพืช โดย folic acid จะถูกสร้างขึ้นมาในช่วงของการงอก แต่อาจไม่พบเช่นกัน เป็นวิตามินที่มีความโดดเด่นในกลุ่ม B-complex vitamins เนื่องจากมีหน้าที่ทางชีวเคมีที่สำคัญใน metabolism ของกรดอะมิโน และ

การสังเคราะห์กรดอะมิโน (Andrew et al., 2000) มีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางชีวเคมีและทางสรีระระหว่างการเติบโตและการพัฒนาของเมล็ดพืช และเป็นวิตามินที่มีความสำคัญต่อการเริ่มต้นการสังเคราะห์ glutamic acid (Esfandiari et al., 2012) ทำหน้าที่เป็นตัวพาโมเลกุลจากโมเลกุลหนึ่งไปอีกโมเลกุลหนึ่งในขั้นตอนการสังเคราะห์เบส purine, pyrimidine และกรดอะมิโน จึงมีความสำคัญกับการสังเคราะห์ DNA และ RNA (Arditti & Harrison, 1977) อีกทั้งยังมีความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยปกป้องเซลล์ และ DNA จากการถูกทำลาย (Rahman et al., 2016) มีรายงานว่า folic acid ช่วยส่งเสริมการเจริญของพืช โดยเพิ่มปริมาณโปรตีนของเมล็ดถั่วลูกไก่ (*Cicer arietinum*) ในระหว่างการงอก (Sibian et al., 2016) อีกทั้งยังช่วยเพิ่มการสังเคราะห์ proline ภายใต้สภาพความเครียดด้วย ทำให้พืชสามารถทนต่อความเครียดได้ (Burguieres et al., 2007) นอกจากนี้ folic acid ยังมีความสามารถในการรวมกับธาตุอาหารที่จำเป็นของพืช และเพิ่มการรับธาตุอาหาร (Michael, 2001)

จากรายงานที่มีการให้ folic acid ทางใบกับต้นลินิน (*Linum usitatissimum*) แสดงให้เห็นว่า folic acid มีผลในการเพิ่มการเติบโตและพัฒนาของพืชอย่างมีนัยสำคัญ (Emam et al., 2011) นอกจากนี้การให้ folic acid กับเมล็ดทานตะวัน พบว่าช่วยเพิ่มอัตราการมีชีวิตรอดและการงอกของเมล็ด รวมทั้งเพิ่มความแข็งแรงแก่พืชในด้านความยาวยอดและราก น้ำหนักแห้ง และอัตราส่วนของยอดและราก (Farouk & Saidy, 2013) การให้ folic acid กับต้นกล้าของถั่วลันเตา (*Pisum sativum*) และข้าวบาร์เล่ย์ (*Hordeum vulgare*) หลังการออกดอก มีผลในการเพิ่มผลผลิต น้ำหนักและคุณภาพของเมล็ด (Stakhova et al., 2000)

มีหลักฐานที่แสดงให้เห็นผลของวิตามินในการสนับสนุนการเติบโตและพัฒนาของพืช โดยในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยทั่วไปมักมีส่วนประกอบของวิตามินในกลุ่มวิตามิน B โดยเฉพาะ B1, B6, niacin และ B12 นอกจากนี้ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีการเพิ่มวิตามินต่างๆ คือวิตามิน A, C, D, B1, B2, B3, B5, B6, B7, B8, B9, B12 อีกด้วย โดยกลุ่มวิตามิน B (niacin, thiamin และ folic acid) และวิตามิน C ยังมีผลในการสนับสนุนการงอกของเมล็ดพืช (Lahlou, 2013)

L-glutamine (L-Glu) และ Monosodium glutamate (MSG)

เป็นแหล่งกรดอะมิโนที่ส่งเสริมการเติบโตของเซลล์พืชที่ต้องการพลังงานสูงและสังเคราะห์โปรตีนและกรดนิวคลีอิกในปริมาณมาก และเป็นแหล่งพลังงานทางเลือกสำหรับการแบ่งเซลล์ เนื่องจากเป็นแหล่งของไนโตรเจนสำหรับพืชที่นำไปใช้ในการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Ageel & Elmeer, 2010; Wetherell & Dougall, 1976) โดยเซลล์ต้องการไนโตรเจนในการสร้างนิวคลีโอไทด์ กรดอะมิโน อะมิโนซูการ์ และวิตามิน มีผลต่อการเร่ง metabolism ของพืชใน citric acid cycle (kreb's cycle) ช่วยในการดูดซึมของธาตุอาหาร N, P, K และเพิ่ม biomass (Zhang

et al., 2017) ทั้งนี้ MSG เป็นเกลือของ glutamic acid ซึ่งเป็นหนึ่งในกรดอะมิโนที่พบตามธรรมชาติทั้งในพืชและสัตว์ (Nguyen et al., 2020; Win, 2008) อาจพบอยู่ในรูปของ free glutamate หรือจับกับกรดอะมิโนตัวอื่น โดยสามารถพบได้ในหลายแหล่ง เช่น นม เนื้อ ปลา อาหารทะเล เห็ด มะเขือเทศ และผักหลายชนิด (Agrawal et al., 2021; Mukherjee et al., 2023; Uner & Durlu, 2022)

L-Glu เป็นแหล่งของไนโตรเจนอินทรีย์ที่เพิ่มเติมในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เกี่ยวข้องโดยตรงในวัฏจักรไนโตรเจน การเติม L-Glu ร่วมกับไนเตรท สามารถลดความต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่ม cytokinin ส่งเสริมการแบ่งเซลล์และโดยปราศจาก cytokinin (Meyer & Abel, 1975) และส่งเสริมการเติบโตและกระตุ้นการเกิด somatic embryos ใน แครอทป่า (Anderson, 1976) และเซลล์ของปาล์มน้ำมัน (Mariani et al., 2014) ส่งเสริมการเกิด organogenesis (การเปลี่ยนแปลงเป็นอวัยวะ) ในใบสับปะรด (Hamasaki et al., 2005) และเพิ่มการเกิดยอดในส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulata*) (Siwach et al., 2012) ในทางตรงกันข้ามการเติม L-Glu ลงในอาหารเพาะเลี้ยง *Zamia latifolia* มีผลให้เกิด organogenesis ลดลงอย่างมาก (Webb & Osborne, 1989) ทั้งนี้ L-Glu สามารถเป็นแหล่งไนโตรเจนเพียงอย่างเดียวได้ โดยเซลล์มีการนำไปใช้ได้เร็วกว่า inorganic nitrogen (Thom et al., 1981) อย่างไรก็ตามยังต้องมีการศึกษาเพิ่มถึงผลของ L-Glu เพียงชนิดเดียวในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและการเติบโตของพืชหลายๆ ชนิด โดยผลของ L-Glu ต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของพืชขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ความเข้มข้น และวิธีการนำไปใช้ ซึ่งให้ผลที่แตกต่างกัน จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเพื่อประเมินผลของ L-Glu ที่มีต่อพืชแต่ละชนิด (Han et al., 2022; Samarina et al., 2016)

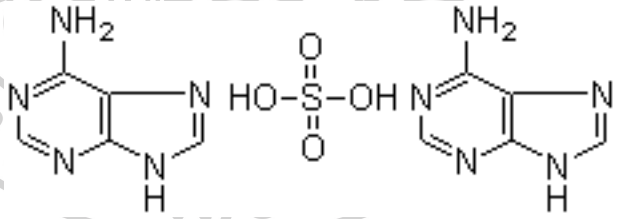
การศึกษาผลของ L-Glu ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ประดับบางชนิด พบว่าการเติม L-Glu ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีผลเพิ่มอัตราการเจริญอย่างมีนัยสำคัญใน หมากผู้หมากเมีย (*Cordyline fruticose*) และเยอบีร่า (*Gerbera jamesonii*) ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม L-Glu ไม่มีผลต่อความยาวยอด ความยาวรากและจำนวนราก (Samarina et al., 2016) การเติม NAA (1.0 มิลลิโมลาร์), PVP (25 มิลลิโมลาร์) ร่วมกับ L-Glu (15 มิลลิโมลาร์) ในอาหารสูตร MS ที่มี BA (1.5 มิลลิโมลาร์) ส่งเสริมการเกิดยอดได้สูงสุด 36.2 ยอดต่อชิ้นส่วนใบเลี้ยงของถั่วลิสง (*Arachis hypogaea* L.) โดยมีกรดอะมิโนจาก L-Glu ทำหน้าที่สำคัญในการส่งเสริมการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณ (multiple shoots) ส่วน PVP มีผลในการป้องกันการเกิดสารประกอบฟีนอลิก (Vasanth et al., 2005)

กรดอะมิโน (amino acids) มีความสำคัญในการส่งเสริมการเติบโตของพืช โดยควบคุมการเติบโตและการเปลี่ยนแปลง (differentiation) ของเซลล์ ซึ่งอาจมีผลในกระบวนการ metabolism และตามด้วยการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (morphogenesis) ของเซลล์พืช (Basu et al., 1989; Yamada et al., 1986) และการเปลี่ยนแปลงเป็นอวัยวะ (organogenesis) ของพืช (Hangarter et

al., 1980; Magnus et al., 1992) การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดอะมิโนเพียงเล็กน้อยอาจทำให้เกิดการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างพืชที่แตกต่างไป อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของกรดอะมิโนที่สูงขึ้นยับยั้งการเติบโตในถั่วลูกไก่หรือ chickpea (*Cicer arietinum*) (John & Mukherjee, 1997)

Adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads)

เป็นอนุพันธ์ของเบส purine (adenine) (รูปที่ 2) และเป็นสารที่มีรายงานถึงการเติมลงในอาหารเพาะเลี้ยง และมีความสามารถในการส่งเสริมการทำงานของสารควบคุมการเจริญเติบโตได้ยิ่งไปกว่านั้นยังเป็นแหล่งของ organic nitrogen ซึ่งทำให้มีการดูดซึมได้รวดเร็วกว่า inorganic nitrogen (Naaz et al., 2014) โดยมีงานวิจัยว่า Ads ช่วยให้ยอดและใบแข็งแรงสมบูรณ์ อีกทั้งยังช่วยเพิ่มจำนวนและความยาวยอดในหว้า (*Syzygium cumini* L.) (Naaz et al., 2014), หญ้าหวาน (*Stevia rebaudiana*) (Khan et al., 2014) และไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) (Singh et al., 2012a) มีการเติม Ads 15.0 mg/L ร่วมกับ BA 4.0 mg/L ในอาหารเพาะเลี้ยงยอดของไผ่ซาง (*D. strictus Nees*) ทำให้ได้อัตราเพิ่มยอด 3 เท่า (Pandey & Singh, 2012) และมีการเติม Ads 50 mg/L ลงในอาหารเพื่อเพาะเลี้ยงยอดไผ่ตง (*D. asper*) ก่อนจะนำไปชักนำให้เกิดราก (Kumar & Banerjee, 2014) การใช้ Ads 40 mg/L เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงกลุ่มยอดของไผ่ตง ซึ่งเป็นไผ่สกุลเดียวกับไผ่ซางหม่น และทำให้เกิดยอด 98% อีกทั้งยังให้จำนวนยอดมากที่สุด 14 ยอดในระยะเวลา 60 วัน (Banerjee et al., 2011)



รูปที่ 2 โครงสร้างของ Adenine sulphate (ที่มา : https://shorturl.at/nBEMS)

L-proline

เป็นกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีน โดยพบอยู่ทั่วไปทั้งในจุลินทรีย์ พืช และสัตว์ มีบทบาททั้งในสภาวะปกติและสภาวะเครียด โดย proline เกี่ยวข้องกับการเจริญและพัฒนาของพืช (Suekawa et al., 2019) มีรายงานว่าการเติม proline ลงในอาหารเพาะเลี้ยงสามารถส่งเสริมการเติบโต โดยช่วยเพิ่มจำนวนยอดของ chrysanthemum, gerbera และ palm lily รวมถึงส่งผลดีและช่วยลดการเกิดสีน้ำตาล (สารประกอบฟีนอลิก) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นข้าว โดยช่วยยับยั้ง

เอ็นไซม์ polyphenol oxidase (PPO) ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดการ oxidation ของสารประกอบฟีนอลิก (Samarina et al., 2016; Suekawa et al., 2019) และยังช่วยส่งเสริมการเจริญของแคลลัสข้าวที่เพาะเลี้ยงได้ (Pawar et al., 2015; Rattana et al., 2012) อีกทั้งยังมีบทบาทช่วยปกป้องความเสียหายแก่เซลล์อันเนื่องมาจากความเครียด โดยช่วยลด reactive oxygen species (ROS) (Pazuki et al., 2018) และยังช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส, น้ำหนัก รวมถึงการเกิดยอดใหม่จากแคลลัส เมื่อใช้ glutamine 0.5 g/L ร่วมกับ proline 0.5 g/L (Pawar et al., 2015)

4.3) งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับขยายพันธุ์ไผ่โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

มีรายงานถึงวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่เพื่อการขยายพันธุ์โดยการนำส่วนต่างๆ ของไผ่มาเพาะเลี้ยงเช่น เอ็มบริโอ เมล็ด ยอด ใบ ข้อ ช่อดอก อับเรณู และเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (Mudoi et al., 2013) ถึงแม้ว่ามีงานวิจัยมากมายที่รายงานถึงการขยายพันธุ์ไผ่ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่ส่วนมากเป็นการรายงานถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบ direct organogenesis โดยใช้ส่วนข้อ (Ray & Ali, 2016) เนื่องจากลดปัญหาเรื่องความแปรผันทางพันธุกรรมซึ่งเกิดจากการเพาะเลี้ยง (Singh et al., 2013) นอกจากนี้ยังพบว่าการเลือกใช้ส่วนข้อเป็นตัวเลือกที่มีประสิทธิภาพที่สุด เนื่องจากเนื้อเยื่อเจริญบริเวณข้อมีความสามารถในการพัฒนาไปเป็น axillary bud และต้น (plantlet) ตามลำดับ ซึ่งขึ้นอยู่กับช่วงเวลา (ฤดู) ที่เก็บ ต้นแม่ สรีรวิทยาของชิ้นส่วน และสายพันธุ์ของไผ่ด้วย โดยพบว่าเมื่อเก็บชิ้นส่วนข้อของ *Dendrocalamus asper* จากช่วงก่อนฤดูฝนมาเพาะเลี้ยงจะมีการตอบสนองมากที่สุด ส่วน *Bambusa tulda Gigantochloa atroviolaceae* และ *D. strictus* ให้การตอบสนองดีเมื่อเก็บชิ้นส่วนข้อในช่วงฤดูฝนมาเพาะเลี้ยง แต่ให้ผลตรงข้ามใน *B. nutans* (Ray & Ali, 2016)

การขยายพันธุ์ไผ่สกุลต่างๆ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

มีรายงานที่กล่าวถึงการเพาะเลี้ยงไผ่สกุลต่างๆ ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยทั่วไปเป็นการนำชิ้นส่วนข้อมาเพาะเลี้ยง โดยมีการใช้ mercuric chloride ($HgCl_2$) เป็นสารฟอกฆ่าเชื้อ และใช้ BA หรือ TDZ เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งอาจใช้ร่วมกันหรือใช้ร่วมกับสารชนิดอื่น ในการศึกษาไผ่ *Bambusa tulda และ Melocanaa baccifera* ได้นำชิ้นส่วนข้อมาฆ่าเชื้อด้วยด้วย ethanol 70% ต่อด้วย $HgCl_2$ 0.1% นาน 15 นาที และนำไปเพาะเลี้ยง พบว่า BA 3.0 mg/L สามารถชักนำยอดได้สูงสุดทั้งในไผ่ทั้งสองสายพันธุ์ ส่วนในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดพบว่าการใช้ BA 3.0 mg/L ร่วมกับ Kinetin (Kn) 2.0 mg/L ทำให้ไผ่ทั้งสองสายพันธุ์เพิ่มปริมาณยอดได้สูงที่สุด (Waikhom & Louis, 2014) การขยายพันธุ์ไผ่ *Bambusa nutans* โดยใช้ส่วนข้อ พบว่าการใช้ BA 3.0 mg/L ร่วมกับ NAA 0.1 mg/L สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 100% รวมทั้งให้จำนวนต่อยอดและ

ความยาวต่อยอดมากที่สุดด้วย ส่วนการใช้ BA 2.5 mg/L ร่วมกับ NAA 0.1 mg/L มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณยอดได้มากที่สุด (Choudhary et al., 2016) และอีกรายงานหนึ่งซึ่งเป็นการเพาะเลี้ยงส่วนข้อไผ่ *Bambusa nutans* เช่นเดียวกัน พบว่าอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA 1.0 mg/L ร่วมกับ Kn 0.5 mg/L มีประสิทธิภาพในการชักนำยอดและเพิ่มปริมาณยอดได้มากที่สุด (Maiya et al., 2021) สำหรับการขยายพันธุ์ไผ่ *Bambusa bambos* (L.) โดยใช้ส่วนข้อ พบว่าการฆ่าเชื้อด้วย $HgCl_2$ 0.2% เป็นเวลา 7 นาที เหมาะสมมากที่สุด เนื่องจากทำให้ปลอดเชื้อได้สูงที่สุดโดยไม่ทำให้เนื้อเยื่อตาย และภายหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA, TDZ, Kn หรือ NAA พบว่าการใช้ BA 2.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 1.0 mg/L จะชักนำให้มีเปอร์เซ็นต์สูงสุดในขั้นตอนการชักนำยอดและขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอด (Raju & Roy, 2017) รายงานการขยายพันธุ์ไผ่ Himalayan Weeping Bamboo (*Drepanostachyum falcatum*) โดยใช้ชิ้นส่วน axillary bud ไปฟอกฆ่าเชื้อด้วย $HgCl_2$ 0.1% เป็นเวลา 10 - 12 นาที และ ethanol 90% จากนั้นเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี BA หรือ Kn ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า BA ความเข้มข้น 4.5 mg/L สามารถชักนำยอดได้ดีที่สุด โดยที่ BA 3.5 mg/L มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณยอดได้มากที่สุดเมื่อระยะเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ (Saini et al., 2016) และมีรายงานถึงไผ่ Ornamental Bamboo (*Bambusa tuldoides* Munro) โดยนำชิ้นส่วนข้อมาล้าง ฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70% และ $HgCl_2$ 0.2% นาน 4 นาที เมื่อนำไปเพาะเลี้ยง พบว่าอาหารสูตรที่เติม BA 2.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 1.0 mg/L ให้เปอร์เซ็นต์การชักนำยอดได้มากที่สุด ซึ่งดีกว่าการใช้ BA 2.0 mg/L เพียงสารเดียว และอาหารที่เติม BA 3.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 1.5 mg/L สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้มากที่สุด (Sharothi et al., 2022)

การขยายพันธุ์ไผ่สกุล *Dendrocalamus* โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การขยายพันธุ์ไผ่สกุล *Dendrocalamus* ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มักเป็นการเพาะเลี้ยงส่วนข้อ ซึ่งมักมีการฟอกฆ่าเชื้อข้อด้วย mercuric chloride ($HgCl_2$) และใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA หรือ TDZ เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยง โดยที่อาจมีการใช้ร่วมกับสารชนิดอื่น รายงานการขยายพันธุ์ไผ่ *D. hamiltonii* โดยนำข้อมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ 3.0 μM ในอาหารสูตร MS, B5, NN และ SH เมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ให้ผลลัพธ์ที่ดีทั้งกว่าอาหารสูตรอื่นทั้งในเรื่องของ ระยะเวลาการแตกยอด เปอร์เซ็นต์การแตกยอด จำนวนและความยาวยอด (Singh et al., 2012b) และมีรายงานว่าการขยายพันธุ์ไผ่ *D. hamiltonii* จากชิ้นส่วนข้อ โดยฟอกฆ่าเชื้อด้วย ethanol 70 % ตามด้วย $HgCl_2$ 0.1 % และ Bavistin จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยง พบว่าอาหารที่ประกอบด้วย BA 2.0 mg/L สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้ดีที่สุด (Jha et al., 2013) อีกรายงานหนึ่งมีการเพาะเลี้ยงไผ่ *D. hamiltonii* จากชิ้นส่วนข้อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA 1.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.125 mg/L สามารถเพิ่มจำนวนและความยาวยอดได้มากที่สุด

(Bordoloi et al., 2018) และรายงานการเพาะเลี้ยงเมล็ดไผ่ *D. hamiltonii* โดยนำเมล็ดมาฟอกฆ่าเชื้อด้วย sodium hypochlorite (4%) 20 นาที และเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า BA 35 μM ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด แต่จำนวนยอดจะลดลงเมื่อใช้ BA 45 μM นอกจากนี้การใช้ BA ร่วมกับ Kn ไม่สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดได้ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ BA เพียงสารเดียว ส่วนการเพิ่มปริมาณยอดพบว่า BA 10 μM สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้มากที่สุด (Arya et al., 2012) สำหรับรายงานการเพาะเลี้ยงข้อไผ่ *D. strictus* ในอาหารที่มี BA 4.0 mg/L พบว่าชักนำจำนวนยอดได้มากที่สุด และอาหารที่มี BA 3.0 mg/L ร่วมกับ NAA 0.5 mg/L สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้มากที่สุด (Rajput et al., 2019) ขณะเดียวกัน การขยายพันธุ์ไผ่ *D. strictus* อีกรายงานหนึ่งโดยชักนำยอดจากส่วนข้อ ในอาหารสูตร MS ที่มี BA เพื่อเพิ่มปริมาณยอด พบว่ายอดจะไม่เพิ่มจำนวนมากขึ้นอีกเมื่อมี BA สูงกว่า 4.0 mg/L และการใช้ BA 4.0 mg/L ร่วมกับ Adenine Sulphate ($AdSO_4$; AdS) 15 mg/L ทำให้ไผ่เพิ่มจำนวนยอดได้มากที่สุด (Pandey & Singh, 2012) นอกจากนี้ในการศึกษาการขยายพันธุ์ไผ่ solid bamboo (*D. strictus*) จากชิ้นส่วนข้อ พบว่า $HgCl_2$ 0.2% มีประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวมากที่สุด และการใช้ BA 4.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.25 mg/L สามารถชักนำยอดและเพิ่มปริมาณยอดได้ดีที่สุด ซึ่งดีกว่าการใช้ BA 5.0 mg/L เพียงอย่างเดียว (Kapruwan et al., 2014) และรายงานการเพาะเลี้ยงไผ่ *D. stocksii* จากส่วนข้อ พบว่าการใช้ BA 1.5 mg/L ร่วมกับ TDZ 1.0 mg/L ชักนำยอดได้จำนวนมากที่สุด และการใช้ BA 1.0 mg/L ช่วยเพิ่มปริมาณยอดได้มากที่สุด (Chavhan et al., 2023) สำหรับรายงานการเพาะเลี้ยงไผ่ *D. Sericeus* ได้นำชิ้นส่วนข้อมาล้างและพ่นฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70% จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วย sodium hypochlorite 10% และนำมาเพาะเลี้ยง บนอาหารที่มี BA 0, 1, 2, 3 mg/L พบว่าทุกสูตรสามารถชักนำยอดได้ โดยการใช้ BA 2.0 mg/L ชักนำยอดได้จำนวนยอดมากที่สุด และการใช้ BA 2.0 mg/L ร่วมกับน้ำมะพร้าว 8% เหมาะสมสำหรับใช้เพิ่มปริมาณยอดมากที่สุด โดยพบว่าความยาวยอดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารสูตรอื่น (Jirakiattikul et al., 2022)

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

พืชที่ใช้ในการทดลอง

ไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ (*Dendrocalamus sericeus* Munro.)

เก็บพืชทดลองส่วนข้อ จากตำบลหนองหว้า อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว

อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)
2. เครื่องชั่งแบบหยาบและละเอียด
3. pH-meter
4. ช้อนตักสาร
5. แท่งแก้วคนสาร
6. ขวดเก็บสารละลายเข้มข้น
7. Pipette หรือ Micropipette ปริมาตรต่างๆ
8. Beaker ขนาดปริมาตรต่างๆ
9. กระบอกตวงขนาดปริมาตรต่างๆ
10. ขวดบรรจุอาหารพร้อมฝาปิด

อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายเนื้อเยื่อ

1. มีดผ่าตัด (ใบมีดและด้ามมีด)
2. กรรไกรตัดกิ่ง
3. ปากคีบ (forceps)
4. ตะเกียงแอลกอฮอล์ 95%
5. Petti dish

สารเคมี

1. สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในสูตรอาหาร MS (Murashige & Skoog, 1962)
2. สารควบคุมการเจริญเติบโต
    - BA (6-benzyladenine)

- TDZ (Thidiazuron)

3. สารอินทรีย์
   - Tryptone
   - Biotin
   - Folic acid
   - Monosodium glutamate (MSG) (Ajinomoto, Thailand)
   - L-glutamine (L-Glu)
   - L-proline
   - Adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads)
4. น้ำตาลทราย
5. ผงวุ้น
6. เบตาดีน (Betadine solution antiseptic microbicide)
7. ไฮเตอร์ (6.0% Sodium hypochlorite)
8. Mercuric chloride 0.1%
9. Tween 20
10. น้ำกลั่น
11. เอทิลแอลกอฮอล์ 70% และ 95%

การเตรียมชิ้นส่วนพืชและการฟอกฆ่าเชื้อเพื่อเข้าสู่การทดลอง

1. นำส่วนข้อจากกิ่งแขนงที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-0.8 เซนติเมตร ยาวประมาณ 3.0 เซนติเมตร มาล้างด้วยน้ำสบู่หรือน้ำยาล้างจาน โดยขัดทำความสะอาดชิ้นส่วนข้อให้รอบ และล้างน้ำเปล่าให้สะอาด
2. ใช้ปลายมีดแซะกาบที่หุ้มข้อออกให้หมด
3. ล้างด้วยน้ำสบู่หรือน้ำยาล้านจานอีกครั้ง ล้างออกด้วยน้ำเปล่า
4. หยดเบตาดีน (antibiotic) ลงไปประมาณ 2 หยด จากนั้นล้างด้วยน้ำเปล่าแบบไหลผ่าน ประมาณ 15-20 นาที
5. นำชิ้นส่วนข้อเข้าตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ จุ่มข้อฆ่าเชื้อในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ โดยเขย่าเบาๆ 30 วินาที
6. ย้ายมาฆ่าเชื้อต่อในไฮเตอร์ 15 เปอร์เซ็นต์ (6.0% Sodium hypochlorite) ที่เติม Tween 20 จำนวน 2 หยด และคอยเขย่าเบาๆทุก 1 นาที หรือใช้เครื่อง ultrasonic เป็นเวลา 10 นาที

7. ย้ายมาฆ่าเชื้อต่อใน Mercuric chloride 0.1% คอยเขย่าเบาๆทุก 1 นาทีหรือใช้เครื่อง ultrasonic เป็นเวลา 15 นาที
8. ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที
9. นำไปเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารต่างๆในการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของชนิดสารอินทรีย์ ต่อการชักนำยอดจากข้อของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'

วิธีการทดลอง

นำข้อไผ่ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาตัดส่วนหัวและท้ายออก ให้มีความยาว 1.5-2.0 เซนติเมตร ปักลงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA, TDZ ร่วมกับสารอินทรีย์ tryptone หรือ biotin หรือ folic acid หรือ MSG รวม 7 สูตรดังนี้

สูตรที่ 1. MS (ชุดควบคุม)
สูตรที่ 2. MS + BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
สูตรที่ 3. MS + BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
สูตรที่ 4. MS + BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + Tryptone 2.0 กรัมต่อลิตร
สูตรที่ 5. MS + BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + Biotin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
สูตรที่ 6. MS + BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + Folic acid 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
สูตรที่ 7. MS + BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + MSG 1.0 กรัมต่อลิตร

เพาะเลี้ยงในสภาพแสง 16 ชั่วโมง ภายใต้อุณหภูมิ 25±2°C โดยทำการทดลอง 15 ซ้ำๆละ 1 ชิ้นและเก็บผลเมื่อผ่านไป 3 สัปดาห์

บันทึกผลการทดลอง :

1. จำนวนยอดที่เกิด/ข้อ
2. ความยาวยอด
3. ลักษณะการเจริญเติบโตของยอด

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของ tryptone ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'

วิธีการทดลอง

นำกลุ่มยอดจากการชักนำยอดมาวางในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA, TDZ และ l-proline ร่วมกับ tryptone ความเข้มข้น 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 g/L หรือ adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads)

สูตรที่ 1. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + adenine sulphate 40 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + Tryptone 1.0 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + Tryptone 2.0 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + Tryptone 3.0 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + Tryptone 4.0 กรัมต่อลิตร

เพาะเลี้ยงในสภาพแสง 16 ชั่วโมง ภายใต้อุณหภูมิ 25±2°C โดยทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 1 กลุ่ม และเพาะเลี้ยงรอบละ 2 สัปดาห์ เป็นจำนวน 2 รอบ โดยเก็บผลทุก 2 สัปดาห์

บันทึกผลการทดลอง :

1. จำนวนและความยาวยอด
2. อัตราเพิ่มยอดโดยเทียบกับจำนวนยอดเริ่มต้น (คิดเป็นเท่า)
3. ลักษณะยอดที่ปรากฏ
4. การตายของยอดและระดับการเกิดฟีนอลิกโดยดูจากสีของอาหารเมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ - อาหารค่อนข้างใส; + อาหารเหลืองเล็กน้อย; ++ อาหารค่อนข้างเหลือง; +++ อาหารเหลืองมากหรือมีสีน้ำตาล

การทดลองที่ 3 การศึกษาผลของ biotin ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’

วิธีการทดลอง

นำกลุ่มยอดจากการชักนำยอดมาวางในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA, TDZ และ l-proline ร่วมกับ biotin ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 mg/L หรือ adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads)

สูตรที่ 1. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + adenine sulphate 40 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + Biotin 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + Biotin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + Biotin 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + Biotin 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

เพาะเลี้ยงในสภาพแสง 16 ชั่วโมง ภายใต้อุณหภูมิ 25±2°C โดยทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 1 กลุ่ม และเพาะเลี้ยงรอบละ 2 สัปดาห์ เป็นจำนวน 2 รอบ โดยเก็บผลทุก 2 สัปดาห์

บันทึกผลการทดลอง :

1. จำนวนและความยาวยอด
2. อัตราเพิ่มยอดโดยเทียบกับจำนวนยอดเริ่มต้น (คิดเป็นเท่า)
3. ลักษณะยอดที่ปรากฏ
4. การตายของยอดและระดับการเกิดฟีนอลิกโดยดูจากสีของอาหารเมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ - อาหารค่อนข้างใส; + อาหารเหลืองเล็กน้อย; ++ อาหารค่อนข้างเหลือง; +++ อาหารเหลืองมากหรือมีสีน้ำตาล

การทดลองที่ 4 การศึกษาผลของ folic acid ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'

วิธีการทดลอง

นำกลุ่มยอดจากการชักนำยอดมาวางในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA, TDZ และ l-proline ร่วมกับ folic acid ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 mg/L หรือ adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads)

สูตรที่ 1. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + adenine sulphate 40 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + Folic acid 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + Folic acid 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + Folic acid 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + Folic acid 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

เพาะเลี้ยงในสภาพแสง 16 ชั่วโมง ภายใต้อุณหภูมิ 25±2°C โดยทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 1 กลุ่ม และเพาะเลี้ยงรอบละ 2 สัปดาห์ เป็นจำนวน 2 รอบ โดยเก็บผลทุก 2 สัปดาห์

บันทึกผลการทดลอง :

1. จำนวนและความยาวยอด
2. อัตราเพิ่มยอดโดยเทียบกับจำนวนยอดเริ่มต้น (คิดเป็นเท่า)
3. ลักษณะยอดที่ปรากฏ
4. การตายของยอดและระดับการเกิดฟีนอลิกโดยดูจากสีของอาหารเมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ - อาหารค่อนข้างใส; + อาหารเหลืองเล็กน้อย; ++ อาหารค่อนข้างเหลือง; +++ อาหารเหลืองมากหรือมีสีน้ำตาล

การทดลองที่ 5 การศึกษาผลของ MSG ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’

วิธีการทดลอง

นำกลุ่มยอดจากการชักนำยอดมาวางในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA, TDZ และ l-proline ร่วมกับ monosodium glutamate (MSG) ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0 และ 3.0 g/L หรือ adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads)

สูตรที่ 1. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + adenine sulphate 40 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + MSG 0.5 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + MSG 1.0 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + MSG 2.0 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + MSG 3.0 กรัมต่อลิตร

เพาะเลี้ยงในสภาพแสง 16 ชั่วโมง ภายใต้อุณหภูมิ 25±2°C โดยทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 1 กลุ่ม และเพาะเลี้ยงรอบละ 2 สัปดาห์ เป็นจำนวน 2 รอบ โดยเก็บผลทุก 2 สัปดาห์

บันทึกผลการทดลอง :

1. จำนวนและความยอด
2. อัตราเพิ่มยอดโดยเทียบกับจำนวนยอดเริ่มต้น (คิดเป็นเท่า)
3. ลักษณะยอดที่ปรากฏ
4. การตายของยอดและระดับการเกิดฟีนอลิกโดยดูจากสีของอาหารเมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ - อาหารค่อนข้างใส; + อาหารเหลืองเล็กน้อย; ++ อาหารค่อนข้างเหลือง; +++ อาหารเหลืองมากหรือมีสีน้ำตาล

การทดลองที่ 6 การศึกษาผลของ L-Glu ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’

วิธีการทดลอง

นำกลุ่มยอดจากการชักนำยอดมาวางในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA, TDZ และ l-proline ร่วมกับ l-glutamine (L-Glu) ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 g/L หรือ adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads)

สูตรที่ 1. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + adenine sulphate 40 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + L-Glu 0.1 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + L-Glu 0.2 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + L-Glu 0.3 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5. MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + l-proline 0.5 กรัมต่อลิตร + L-Glu 0.4 กรัมต่อลิตร

เพาะเลี้ยงในสภาพแสง 16 ชั่วโมง ภายใต้อุณหภูมิ 25±2°C โดยทำการทดลอง 10 ซ้ำๆละ 1 กลุ่ม และเพาะเลี้ยงรอบละ 2 สัปดาห์ เป็นจำนวน 2 รอบ โดยเก็บผลทุก 2 สัปดาห์

บันทึกผลการทดลอง :

1. จำนวนและความยาวยอด
2. อัตราเพิ่มยอดโดยเทียบกับจำนวนยอดเริ่มต้น (คิดเป็นเท่า)
3. ลักษณะยอดที่ปรากฏ
4. การตายของยอดและระดับการเกิดฟีนอลิกโดยดูจากสีของอาหารเมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ - อาหารค่อนข้างใส; + อาหารเหลืองเล็กน้อย; ++ อาหารค่อนข้างเหลือง; +++ อาหารเหลืองมากหรือมีสีน้ำตาล

บทที่ 4
ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ผลของสารอินทรีย์ชนิดต่างๆต่อการชักนำยอดจากข้อของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'

จากการเพาะเลี้ยงข้อไผ่ยาวประมาณ 2 เซนติเมตรบนอาหารชักนำยอด โดยใช้อาหารแข็งสูตร MS หรือ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA 3.0 mg/L หรือ BA 3.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.1 mg/L) หรือ MS ที่เติมทั้งสารควบคุมการเจริญเติบโตและสารอินทรีย์ (tryptone 2.0 g/L, biotin 0.5 mg/L, folic acid 0.1 mg/L, monosodium glutamate (MSG) 1.0 g/L) ผ่านไป 3 สัปดาห์พบว่า อาหารสูตรที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 3.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.1 mg/L และอาหารสูตรที่เติมสารอินทรีย์แต่ละชนิดร่วมด้วย ต่างให้ทั้งจำนวนยอด (2.5-3.0 ยอด) และความยาวยอด (2.07-2.57 เซนติเมตร) ที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.1$) (ตารางที่1; รูปที่ 3C, 3D, 3E, 3F, 3G) แต่พบว่ายอดมีสีเขียวแข็งแรงและแตกยอดได้รวดเร็วกว่ายอดที่ได้จากอาหารสูตรที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และอาหารที่มี BA 3.0 mg/L เพียงอย่างเดียว ซึ่งให้ยอดจำนวน 2 ยอด และยาว 2.48-2.54 เซนติเมตรตามลำดับ อีกทั้งยังแตกยอดช้าและให้ยอดสีเขียวอมเหลือง (ตารางที่ 1; รูปที่ 3A, 3B) ทั้งนี้อาหารสูตรที่เติม MSG 1.0 g/L สามารถชักนำยอดได้จำนวนมากที่สุดจำนวน 3 ยอด โดยที่มีการแตกยอดเร็ว รวมถึงให้ยอดสีเขียวแข็งแรงเรียวยาว (ตารางที่ 1; รูปที่ 3G) จากการทดลองที่ 1 เมื่อพิจารณาจากจำนวนยอดที่มากที่สุด จึงเลือกใช้อาหารสูตรที่เติม MSG 1.0 g/L เป็นอาหารสูตรชักนำยอด เพื่อให้ได้ยอดสำหรับใช้ในการทดลองเพิ่มปริมาณต่อไป

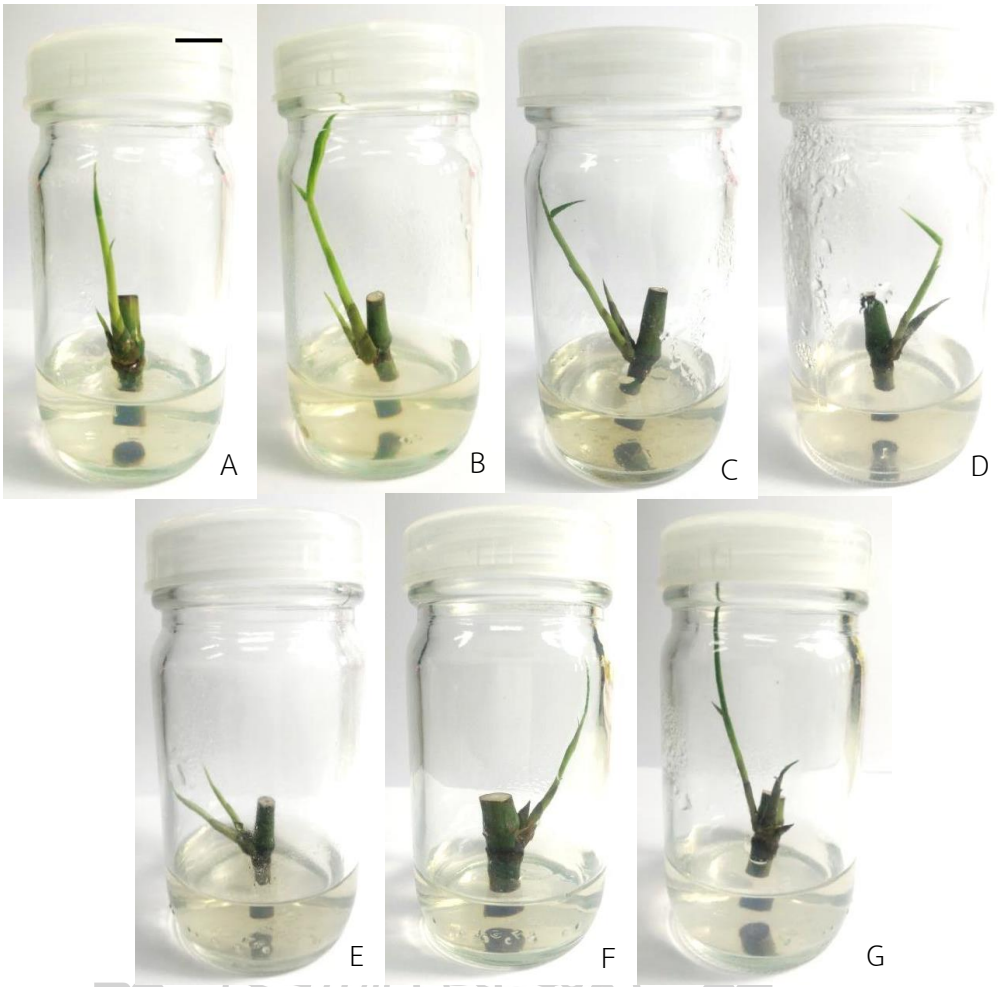
ตารางที่ 1 จำนวนและความยาวยอดเฉลี่ย และลักษณะยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 3.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.1 mg/L และสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 3 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโต	สารอินทรีย์	การเจริญของยอดจากข้อ[1/]		
		จำนวนเฉลี่ย (ยอด)	ความยาวเฉลี่ย (ซม.)	ลักษณะที่ปรากฏ[2/]
-	-	2.0±1.0 [b]	2.48±1.0	แตกยอดช้า, สีเขียวอมเหลือง
BA	-	2.0±1.0 [b]	2.54±1.4	แตกยอดช้า, สีเขียวอมเหลือง
BA + TDZ	-	2.7±1.4 [ab]	2.22±0.9	แตกยอดเร็ว, สีเขียวแข็งแรงเรียวยาว
BA + TDZ	tryptone 2.0 g/L	2.5±1.3 [ab]	2.08±1.4	แตกยอดเร็ว, สีเขียวแข็งแรงเรียวยาว
BA + TDZ	biotin 0.5 mg/L	2.6±1.2 [ab]	2.07±1.2	แตกยอดเร็ว, สีเขียวแข็งแรงเรียวยาว
BA + TDZ	folic acid 0.1 mg/L	2.9±0.7 [a]	2.57±1.3	แตกยอดเร็ว, สีเขียวแข็งแรงเรียวยาว
BA + TDZ	MSG 1.0 g/L	3.0±1.5 [a]	2.13±1.4	แตกยอดเร็ว, สีเขียวแข็งแรงเรียวยาว

[1/] ทำการทดลอง 15 ซ้ำ; แสดงค่า Mean±SE อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.1$ ด้วยวิธีการวิเคราะห์แบบ Duncan’s Multiple Range Tests (DMRT)

[2/] แตกยอดเร็ว = แตกยอดภายในสัปดาห์แรก; แตกยอดช้า = แตกยอดภายในสัปดาห์ที่สอง

มหาวิทยาลัยศิลปากร



รูปที่ 3 ยอดที่ได้จากเพาะเลี้ยงข้อของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ บนอาหารแข็งสูตรชักนำยอดเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (สเกล = 1 เซนติเมตร)

A MS (ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต)

B MS + BA 3.0 mg/L

C MS + BA 3.0 mg/L + TDZ 0.1 mg/L

D MS + BA 3.0 mg/L + TDZ 0.1 mg/L + tryptone 2.0 g/L

E MS + BA 3.0 mg/L + TDZ 0.1 mg/L + biotin 0.5 mg/L

F MS + BA 3.0 mg/L + TDZ 0.1 mg/L + folic acid 0.1 mg/L

G MS + BA 3.0 mg/L + TDZ 0.1 mg/L + MSG 1.0 g/L

การทดลองที่ 2 ผลของ tryptone ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'

เมื่อนำกลุ่มยอดที่ได้จากอาหารสูตรที่ดีที่สุดในการทดลองที่ 1 (BA 3.0 mg/L + TDZ 0.1 mg/L + MSG 1.0 g/L) มาเพาะเลี้ยงเป็นจำนวน 2 รอบ รอบละ 2 สัปดาห์ต่อรอบการเปลี่ยนอาหาร โดยใช้อาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA 1.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L โดยเติม adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads) 40 mg/L ลงไปและใช้เป็นสูตรควบคุม (ปราศจาก tryptone) เปรียบเทียบกับการใช้ tryptone ที่ความเข้มข้นต่างๆ (1.0, 1.0, 3.0, 4.0 g/L) ผ่านไป 2 สัปดาห์ (รอบเพาะเลี้ยงที่ 1) พบว่าอาหารที่เติม Ads 40 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดได้มากที่สุด 2.3 เท่า เมื่อเทียบกับอาหารทุกสูตร และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.1$) กับอาหารสูตรที่เติม tryptone ทุกความเข้มข้น โดยเมื่อพิจารณาเฉพาะสูตรที่เติม tryptone พบว่า tryptone 1.0 และ 2.0 g/L ให้อัตราเพิ่มยอดได้ใกล้เคียงกันคือ 1.5 และ 1.6 เท่า ขณะที่ tryptone 3.0 และ 4.0 g/L ให้อัตราเพิ่มยอดเท่ากันคือ 1.3 เท่า แต่ในสัปดาห์ที่ 4 (รอบเพาะเลี้ยงที่ 2) พบว่า tryptone 1.0 g/L ให้อัตราเพิ่มยอดได้มากที่สุด 2.7 เท่า ซึ่งสูงกว่า tryptone 2.0 g/L ที่ให้ตราเพิ่มยอด 2.4 เท่า ขณะที่ tryptone 3.0 และ 4.0 g/L ให้อัตราเพิ่มยอดแตกต่างกันคือ 2.0 และ 2.5 เท่า(ตารางที่ 2)

หลังผ่านไป 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) พบว่าอาหารสูตรที่เติม Ads 40 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด (4.5 เท่า) เมื่อเทียบกับอาหารทุกสูตร และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.1$) กับอาหารสูตรที่เติม tryptone ในทุกความเข้มข้น (2.0-2.7 เท่า) (ตารางที่ 2) เมื่อพิจารณาเฉพาะสูตรอาหารที่มีการเติม tryptone พบว่า tryptone 1.0 g/L สามารถให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด 2.7 เท่า ส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี tryptone 3.0 และ 4.0 g/L มีอาการฉ่ำน้ำ และมีการตายของยอด รวมถึงพบการเกิดสารประกอบฟีนอลิก (ตารางที่ 3) สำหรับความยาวยอด พบว่าค่าเฉลี่ยความยาวยอดที่ได้จากอาหารทุกสูตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลของ tryptone ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ จากกลุ่มยอดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์)

สารอินทรีย์	g/L	จำนวนยอดเริ่มต้น (ยอด)	รอบเพาะเลี้ยงที่ 1 (2 สัปดาห์)[1/]			รอบเพาะเลี้ยงที่ 2 (2 สัปดาห์)[1/]		
			จำนวนยอด	อัตราเพิ่มยอด (เท่า)	ความยาวยอด (ซม.)	จำนวนยอด	อัตราเพิ่มยอด[2/] (เท่า)	ความยาวยอด (ซม.)
$AdSO_4$	0.04	2.8	5.2	2.3±1.1 [a]	3.34±0.98	10.5	4.5±1.7 [a]	2.61±1.01
Tryptone	1.0	2.8	4.6	1.5±0.8 [b]	3.31±1.22	9.0	2.7±1.6 [b]	2.40±1.10
	2.0	2.2	3.9	1.6±1.0 [b]	3.07±1.52	6.2	2.4±1.6 [b]	2.51±1.22
	3.0	2.8	3.6	1.3±0.5 [b]	3.39±1.39	6.1	2.0±1.2 [b]	2.67±0.85
	4.0	2.2	2.5	1.3±0.8 [b]	3.40±1.46	4.9	2.5±1.2 [b]	2.44±0.94

[1/] ทำการทดลอง 10 ซ้ำ; แสดงค่า Mean±SE อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.1$ด้วยวิธีการวิเคราะห์แบบ Duncan’s Multiple Range Tests (DMRT)

[2/] เทียบกับจำนวนยอดเริ่มต้น

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 3 ผลของ tryptone ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อลักษณะของกลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์)

สารอินทรีย์	g/L	รอบเพาะเลี้ยงที่ 1 (2 สัปดาห์)	รอบเพาะเลี้ยงที่ 2 (2 สัปดาห์)		
		ลักษณะยอด	ลักษณะยอด	ระดับการตายของยอด [1/]	ระดับการเกิดสารประกอบฟีนอลิก [2/]
$AdSO_4$	0.04	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียว	-	-
tryptone	1.0	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียวอมเหลือง	-	-
	2.0	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียวอมเหลือง	-	-
	3.0	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียวอมเหลือง, มีอาการฉ่ำน้ำ	++	++
	4.0	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียวอมเหลือง, มีอาการฉ่ำน้ำ	++	++

[1/] - ไม่มียอดตาย; + ตาย 1/4 ของกลุ่มยอด; ++ ตาย 1/3 ของกลุ่มยอด; +++ ตาย 1/2 ของกลุ่มยอด

[2/] - อาหารค่อนข้างใส; + อาหารเหลืองเล็กน้อย; ++ อาหารค่อนข้างเหลือง; +++ อาหารเหลืองมากหรือมีสีน้ำตาล

การทดลองที่ 3 ผลของ biotin ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'

เมื่อนำกลุ่มยอดที่ได้จากอาหารสูตรที่ดีที่สุดในการทดลองที่ 1 (BA 3.0 mg/L + TDZ 0.1 mg/L + MSG 1.0 g/L) มาเพาะเลี้ยงกลุ่มยอดจำนวน 2 รอบ รอบละ 2 สัปดาห์ต่อรอบการเปลี่ยนอาหาร โดยใช้อาหารเหลวสูตร MS ที่มี BA 1.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L โดยเติม adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads) 40 mg/L ลงไปและใช้เป็นสูตรควบคุม (ปราศจาก biotin) เปรียบเทียบกับการใช้ biotin ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L) ผ่านไป 2 สัปดาห์ (รอบเพาะเลี้ยงที่ 1) พบว่าอัตราเพิ่มยอดที่ได้จากอาหารทุกสูตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.1$) โดยอาหารสูตรที่เติม Ads 40 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดได้ 1.7 เท่า ใกล้เคียงกับ biotin 0.1 mg/L ที่ให้อัตราเพิ่มยอดได้ 1.8 เท่า ขณะที่อาหารที่เติม biotin 0.5 และ 1.0 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุดและเท่ากันคือ 2.0 เท่า แต่ในสัปดาห์ที่ 4 (รอบเพาะเลี้ยงที่ 2) พบว่า biotin 0.1 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด 4.2 เท่า ขณะที่ biotin 0.5 และ 1.0 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดแตกต่างกันคือ 3.5 และ 3.7 เท่า ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

หลังผ่านไป 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) พบว่าอัตราเพิ่มยอดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.1$) ระหว่างยอดที่ได้จากอาหารสูตรที่เติม Ads 40 mg/L หรือ biotin 0.1, 0.5, 1.0 mg/L (ตารางที่ 4) แต่พบอาการฉ่ำน้ำ การตายของยอด และเกิดสารประกอบฟีนอลิกค่อนข้างมากในอาหารสูตรที่มี biotin 0.5 และ 1.0 mg/L (ตารางที่ 5) ทั้งนี้ biotin 0.1 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด (4.2 เท่า) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ biotin 2.0 mg/L ซึ่งให้อัตราเพิ่มยอดน้อยที่สุด (2.3 เท่า) (ตารางที่ 4) และมีอาการฉ่ำน้ำ การตายของยอด รวมถึงมีระดับการเกิดสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด (ตารางที่ 5) อย่างไรก็ตามค่าเฉลี่ยความยาวยอดจากทุกสูตรลดลงเมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลของ biotin ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ จากกลุ่มยอดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์)

สารอินทรีย์	mg/L	จำนวนยอดเริ่มต้น (ยอด)	รอบเพาะเลี้ยงที่ 1 (2 สัปดาห์)[1/]			รอบเพาะเลี้ยงที่ 2 (2 สัปดาห์)[1/]		
			จำนวนยอด	อัตราเพิ่มยอด (เท่า)	ความยาวยอด (ซม.)	จำนวนยอด	อัตราเพิ่มยอด[2/] (เท่า)	ความยาวยอด (ซม.)
$AdSO_4$	40	3.7	5.8	1.7±0.5	3.35±1.35	10.5	3.0±1.4 ^{ab}	2.29±1.24
Biotin	0.1	3.5	6.2	1.8±0.6	3.10±1.00	13.3	4.2±1.9 ^{a}	1.88±0.81
	0.5	3.7	6.1	2.0±1.2	3.63±1.35	11.0	3.5±2.7 ^{ab}	2.34±1.11
	1.0	3.7	6.1	2.0±0.7	3.45±1.15	11.7	3.7±2.0 ^{ab}	1.98±0.58
	2.0	3.9	4.9	1.4±0.4	3.70±1.30	9.5	2.3±1.0 ^{b}	2.60±1.38

[1/] ทำการทดลอง 10 ซ้ำ; แสดงค่า Mean±SE อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.1$ด้วยวิธีการวิเคราะห์แบบ Duncan’s Multiple Range Tests (DMRT)

[2/] เทียบกับจำนวนยอดเริ่มต้น

ตารางที่ 5 ผลของ biotin ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อลักษณะของกลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์)

สารอินทรีย์	mg/L	รอบเพาะเลี้ยงที่ 1 (2 สัปดาห์)	รอบเพาะเลี้ยงที่ 2 (2 สัปดาห์)		
		ลักษณะยอด	ลักษณะยอด	ระดับการตายของยอด [1/]	ระดับการเกิดสารประกอบฟีนอลิก [2/]
$AdSO_4$	40	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียว	-	-
Biotin	0.1	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียว	-	-
	0.5	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียวอมเหลือง, พบการฉ่ำน้ำ	++	++
	1.0	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียวอมเหลือง, พบการฉ่ำน้ำ	++	++
	2.0	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียวอมเหลืองจนถึงน้ำตาล, พบการฉ่ำน้ำ	+++	+++

[1/] - ไม่มียอดตาย; + ตาย 1/4 ของกลุ่มยอด; ++ ตาย 1/3 ของกลุ่มยอด; +++ ตาย 1/2 ของกลุ่มยอด

[2/] - อาหารค่อนข้างใส; + อาหารเหลืองเล็กน้อย; ++ อาหารค่อนข้างเหลือง; +++ อาหารเหลืองมากหรือมีสีน้ำตาล

การทดลองที่ 4 ผลของ folic acid ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'

ผลการเพาะเลี้ยงกลุ่มยอดได้จากอาหารสูตรที่ดีที่สุดในการทดลองที่ 1 (BA 3.0 mg/L + TDZ 0.1 mg/L + MSG 1.0 g/L) จำนวน 2 รอบ รอบละ 2 สัปดาห์ต่อรอบการเปลี่ยนอาหาร โดยใช้อาหารเหลวสูตร MS ที่มี BA 1.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L โดยเติม adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads) 40 mg/L ลงไปและใช้เป็นสูตรควบคุม (ปราศจาก folic acid) เปรียบเทียบกับการใช้ folic ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L) ผ่านไป 2 สัปดาห์ (รอบเพาะเลี้ยงที่ 1) พบว่าอาหารที่เติม folic acid 1.0 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด 2.2 เท่า และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.1$) กับอาหารที่เติม Ads 40 mg/L ที่ให้อัตราเพิ่มยอดน้อยที่สุด 1.7 เท่า และในสัปดาห์ที่ 4 (รอบเพาะเลี้ยงที่ 2) พบว่าอาหารสูตรที่เติม folic acid 1.0 mg/L ยังคงให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด 3.8 เท่า แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารที่เติม Ads 40 mg/L (ตารางที่ 6)

เมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) พบว่าอัตราเพิ่มยอด (2.9-3.8 เท่า) และความยาวยอด (1.80-2.22 เซนติเมตร) ที่ได้จากอาหารสูตรที่มี Ads 40 mg/L หรือ folic acid ทุกความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-2.0 mg/L ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.1$) แต่อัตราเพิ่มยอดของอาหารที่มี folic acid มีค่าสูงกว่าอาหารที่มี Ads และมีค่าสูงขึ้นตามความเข้มข้น (ตารางที่ 6) โดย folic acid 1.0 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดสูงที่สุด (3.8 เท่า) ในทางตรงกันข้าม folic acid ที่ความเข้มข้นสูงที่สุด 2.0 mg/L พบว่ามีอัตราเพิ่มยอดลดลง (3.3 เท่า) (ตารางที่ 6) โดยมีการตาย ของยอด ระดับการเกิดสารประกอบฟีนอลิก และมีอาการฉ่ำน้ำเล็กน้อย (ตารางที่ 7) สำหรับความยาวยอดพบว่ายอดจากทุกสูตรมีค่าเฉลี่ยความยาวลดลงเมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ผลของ folic acid ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ จากกลุ่มยอดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์)

สารอินทรีย์	mg/L	จำนวนยอดเริ่มต้น (ยอด)	รอบเพาะเลี้ยงที่ 1 (2 สัปดาห์) [1/]			รอบเพาะเลี้ยงที่ 2 (2 สัปดาห์) [1/]		
			จำนวนยอด	อัตราเพิ่มยอด (เท่า)	ความยาว (ซม.)	จำนวนยอด	อัตราเพิ่มยอด[2/] (เท่า)	ความยาว (ซม.)
$AdSO_4$	40	5.3	8.7	1.7±0.6 [b]	2.38±0.48	15.2	2.9±1.3	1.84±0.47
Folic acid	0.1	5.5	9.9	2.0±0.5 [ab]	2.60±0.40	15.5	3.4±1.0	1.98±0.51
	0.5	4.3	8.8	2.1±0.5 [ab]	2.84±0.86	14.6	3.6±1.1	2.22±0.94
	1.0	4.6	9.7	2.2±0.7 [a]	2.62±0.53	16.5	3.8±0.8	1.99±0.67
	2.0	4.6	8.0	1.8±0.5 [ab]	2.72±1.46	15.0	3.3±1.6	1.80±0.93

[1/] ทำการทดลอง 10 ซ้ำ; แสดงค่า Mean±SE อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.1$ด้วยวิธีการวิเคราะห์แบบ Duncan’s Multiple Range Tests (DMRT)

[2/] เทียบกับจำนวนยอดเริ่มต้น

ตารางที่ 7 ผลของ folic acid ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อลักษณะของกลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์)

สารอินทรีย์	mg/L	รอบเพาะเลี้ยงที่ 1 (2 สัปดาห์)	รอบเพาะเลี้ยงที่ 2 (2 สัปดาห์)		
		ลักษณะยอด	ลักษณะยอด	ระดับการตายของยอด [1/]	ระดับการเกิดสารประกอบฟีนอลิก [2/]
$AdSO_4$	40	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียว	-	-
Folic acid	0.1	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียว	-	-
	0.5	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียว	-	-
	1.0	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียว	-	-
	2.0	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียว, พบอาการฉ่ำน้ำ	+	+

[1/] - ไม่มียอดตาย; + ตาย 1/4 ของกลุ่มยอด; ++ ตาย 1/3 ของกลุ่มยอด; +++ ตาย 1/2 ของกลุ่มยอด

[2/] - อาหารค่อนข้างใส; + อาหารเหลืองเล็กน้อย; ++ อาหารค่อนข้างเหลือง; +++ อาหารเหลืองมากหรือมีสีน้ำตาล

การทดลองที่ 5 ผลของ monosodium glutamate (MSG) ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'

จากการเพาะเลี้ยงกลุ่มยอดได้จากอาหารสูตรที่ดีที่สุดในการทดลองที่ 1 (BA 3.0 mg/L + TDZ 0.1 mg/L + MSG 1.0 g/L) จำนวน 2 รอบ รอบละ 2 สัปดาห์ต่อรอบการเปลี่ยนอาหาร โดยใช้อาหารเหลวสูตร MS ที่มี BA 1.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L โดยเติม adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads) 40 mg/L ลงไปและใช้เป็นสูตรควบคุม (ปราศจาก MSG) เปรียบเทียบกับการใช้ MSG ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.5, 1.0, 2.0 และ 3.0 g/L) เมื่อผ่านไป 2 สัปดาห์ (รอบเพาะเลี้ยงที่ 1) พบว่าอัตราเพิ่มยอดที่ได้จากอาหารทุกสูตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.1$) โดยอาหารสูตรที่เติม Ads 40 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดได้ 1.5 เท่า และอาหารสูตรที่เติม MSG 1.0 g/L ให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด 2.1 เท่า และในสัปดาห์ที่ 4 (รอบเพาะเลี้ยงที่ 2) ยังคงพบว่า MSG 1.0 g/L ยังคงให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด 3.7 เท่า แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับ MSG 3.0 g/L ที่ให้อัตราเพิ่มยอดน้อยที่สุดและแตกต่างจากสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 8)

หลังการเพาะเลี้ยงผ่านไป 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) พบว่า อัตราเพิ่มยอดที่ได้จากอาหารสูตรที่มี Ads 40 mg/L หรือ MSG ความเข้มข้น 0.5, 1.0 2.0 g/L ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.1$) อย่างไรก็ตาม MSG 1.0 g/L ให้อัตราเพิ่มยอดได้มากที่สุด (3.7 เท่า) ซึ่งมากกว่า Ads (2.5 เท่า) (ตารางที่ 8) โดยให้กลุ่มยอดสีเขียวที่ไม่มีอาการฉ่ำน้ำ ไม่พบการตายหรือการเกิดสารประกอบฟีนอลิกเช่นเดียวกันกับ Ads (ตารางที่ 9) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ MSG 3.0 g/L ที่มีอัตราเพิ่มยอดน้อยที่สุด (1.1 เท่า) (ตารางที่ 8) นอกจากนี้ยังมีอาการน้ำ มียอดตายมาก และมีระดับการเกิดสารประกอบฟีนอลิกมาก (ตารางที่ 9) อย่างไรก็ตามพบการตายของยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม MSG 0.5 g/L โดยที่ไม่มีอาการฉ่ำน้ำหรือเกิดสารประกอบฟีนอลิก ต่างจากยอดยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่เติม MSG 2.0 g/L ซึ่งพบอาการฉ่ำน้ำ การตายของยอด และการเกิดสารประกอบฟีนอลิก (ตารางที่ 9) ทั้งนี้ค่าเฉลี่ยความยาวยอดที่ได้จากทุกสูตรมีค่าลดลงและไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ผลของ monosodium glutamate (MSG) ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ จากกลุ่มยอดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์)

สารอินทรีย์	g/L	จำนวนยอดเริ่มต้น (ยอด)	รอบเพาะเลี้ยงที่ 1 (2 สัปดาห์) [1/]			รอบเพาะเลี้ยงที่ 2 (2 สัปดาห์) [1/]		
			จำนวนยอด	อัตราเพิ่มยอด (เท่า)	ความยาว (ซม.)	จำนวนยอด	อัตราเพิ่มยอด[2/] (เท่า)	ความยาว (ซม.)
$AdSO_4$	0.04	5.4	8.2	1.5±0.2	2.96±0.68	12.7	2.5±1.2 ^{ab}	1.84±0.89
MSG	0.5	5.7	9.4	1.7±0.5	2.50±0.67	13.6	2.5±0.8 ^{ab}	1.95±0.58
	1.0	4.1	7.4	2.1±1.2	3.13±1.15	11.1	3.7±3.0 ^{a}	1.91±0.61
	2.0	5.5	8.9	1.9±1.0	2.53±0.85	10.1	2.1±1.6 ^{ab}	1.60±0.80
	3.0	5.3	8.8	1.6±0.6	2.15±0.51	5.8	1.1±1.1 ^{b}	1.25±0.98

[1/] ทำการทดลอง 10 ซ้ำ; แสดงค่า Mean±SE อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.1$ด้วยวิธีการวิเคราะห์แบบ Duncan’s Multiple Range Tests (DMRT)

[2/] เทียบกับจำนวนยอดเริ่มต้น

ตารางที่ 9 ผลของ monosodium glutamate (MSG) ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อลักษณะของกลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์)

สารอินทรีย์	g/L	รอบเพาะเลี้ยงที่ 1 (2 สัปดาห์)	รอบเพาะเลี้ยงที่ 2 (2 สัปดาห์)		
		ลักษณะยอด	ลักษณะยอด	ระดับการตายของยอด [1/]	ระดับการเกิดสารประกอบฟีนอลิก [2/]
$AdSO_4$	0.04	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียว	-	-
MSG	0.5	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียว	++	-
	1.0	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียว	-	-
	2.0	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียวอมเหลือง	++	++
	3.0	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเหลืองปนน้ำตาล, มีอาการฉ่ำน้ำ	+++	+++

[1/] - ไม่มียอดตาย; + ตาย 1/4 ของกลุ่มยอด; ++ ตาย 1/3 ของกลุ่มยอด; +++ ตาย 1/2 ของกลุ่มยอด

[2/] - อาหารค่อนข้างใส; + อาหารเหลืองเล็กน้อย; ++ อาหารค่อนข้างเหลือง; +++ อาหารเหลืองมากหรือมีสีน้ำตาล

การทดลองที่ 6 ผลของ l-glutamine (L-Glu) ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'

เมื่อเพาะเลี้ยงกลุ่มยอดได้จากอาหารสูตรที่ดีที่สุดในการทดลองที่ 1 (BA 3.0 mg/L + TDZ 0.1 mg/L + MSG 1.0 g/L) จำนวน 2 รอบ รอบละ 2 สัปดาห์ต่อรอบการเปลี่ยนอาหาร โดยใช้อาหารเหลวสูตร MS ที่มี BA 1.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L โดยเติม adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads) 40 mg/L ลงไปและใช้เป็นสูตรควบคุม (ปราศจาก L-Glu) เปรียบเทียบกับ L-Glu ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.1, 0.2, 0.3 ,0.4 g/L) หลังผ่านไป 2 สัปดาห์ (รอบเพาะเลี้ยงที่ 1) พบว่าอาหารสูตรที่เติม Ads 40 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด 2.2 เท่า และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.1$) กับอาหารที่เติม L-Glu 0.2 g/L ที่ให้อัตราเพิ่มยอด 2.1 เท่า ซึ่งมากที่สุดจาก L-Glu ทุกความเข้มข้น แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรอาหารที่เติม L-Glu 0.1 g/L ที่ให้อัตราเพิ่มยอดน้อยที่สุด 1.4 เท่า แต่ในสัปดาห์ที่ 4 (รอบ เพาะเลี้ยงที่ 2) พบว่า Ads 40 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด 3.6 เท่า และไม่แตกกันต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทั้งสูตรอาหารที่เติม L-Glu 0.1 และ 0.2 g/L ที่ให้อัตราเพิ่มยอด 3.4 เท่า (ตารางที่ 10)

หลังผ่านไป 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) พบว่าอัตราเพิ่มยอดที่ได้จากอาหารสูตรที่มี Ads 40 mg/L หรือ L-Glu 0.1, 0.2, 0.3 g/L ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.1$) โดยที่ Ads 40 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดได้มากกว่า L-Glu ทุกความเข้มข้น (3.6 เท่า) (ตารางที่ 10) และให้ยอดสีเขียวที่ไม่มีอาการฉ่ำน้ำ ไม่มีการตายของยอดและไม่พบการเกิดสารประกอบฟีนอลิก เช่นเดียวกันกับ L-Glu 0.1 g/L (ตารางที่ 11) แต่การเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม L-Glu 0.2 g/L พบว่าทำให้เกิดยอดสีเขียวอมเหลือง และ L-Glu 0.3 และ 0.4 g/L ทำให้เกิดยอดสีเหลืองอมน้ำตาลและฉ่ำน้ำ นอกจากนี้ยังพบการตายของยอดมากและมีระดับการสารประกอบฟีนอลิกสูงด้วย (ตารางที่ 11) โดย L-Glu 0.4 g/L ให้อัตราเพิ่มยอดน้อยที่สุด (2.4 เท่า) (ตารางที่ 10) อย่างไรก็ตามพบว่าค่าเฉลี่ยความยาวยอดจากทุกสูตรลดลงเมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (1.71-2.11 เซนติเมตร) (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ผลของ l-glutamine (L-Glu) ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ จากกลุ่มยอดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์)

สารอินทรีย์	g/L	จำนวนยอดเริ่มต้น (ยอด)	รอบเพาะเลี้ยงที่ 1 (2 สัปดาห์) [1/]			รอบเพาะเลี้ยงที่ 2 (2 สัปดาห์) [1/]		
			จำนวนยอด	อัตราเพิ่มยอด (เท่า)	ความยาว (ซม.)	จำนวนยอด	อัตราเพิ่มยอด [2/] (เท่า)	ความยาว (ซม.)
$AdSO_4$	0.04	4.6	9.9	2.2±0.4 ^{a}	2.90±1.03	15.7	3.6±1.1 ^{a}	2.11±0.36
L-Glu	0.1	3.5	5.2	1.4±0.3 ^{c}	3.74±1.81	10.8	3.4±1.3 ^{ab}	1.66±0.43
	0.2	3.9	7.9	2.1±0.8 ^{ab}	3.00±0.84	13.5	3.4±0.7 ^{ab}	2.11±0.52
	0.3	4.1	6.9	1.7±0.3 ^{bc}	2.80±0.85	12.0	3.1±1.2 ^{ab}	1.92±0.39
	0.4	4.2	6.3	1.5±0.4 ^{c}	2.49±1.67	8.7	2.4±1.4 ^{b}	1.71±0.72

[1/] ทำการทดลอง 10 ซ้ำ; แสดงค่า Mean±SE อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.1$ด้วยวิธีการวิเคราะห์แบบ Duncan’s Multiple Range Tests (DMRT)

[2/] เทียบกับจำนวนยอดเริ่มต้น

ตารางที่ 11 ผลของ l-glutamine (L-Glu) ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ BA 1.0 mg/L, TDZ 0.1 mg/L และ l-proline 0.5 g/L ต่อลักษณะของกลุ่มยอดที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์)

สารอินทรีย์	g/L	รอบเพาะเลี้ยงที่ 1 (2 สัปดาห์)	รอบเพาะเลี้ยงที่ 2 (2 สัปดาห์)		
		ลักษณะยอด	ลักษณะยอด	ระดับการตายของยอด [1/]	ระดับการเกิดสารประกอบฟีนอลิก [2/]
$AdSO_4$	0.04	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียว	-	-
L-Glu	0.1	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียว	-	-
	0.2	ยอดสีเขียวแข็งแรง	กลุ่มยอดสั้นสีเขียวอมเหลือง	-	-
	0.3	ยอดสีเขียวอมเหลือง	กลุ่มยอดสั้นสีเหลืองปนน้ำตาลและมีอาการฉ่ำน้ำ	+++	+++
	0.4	ยอดสีเขียวอมเหลือง	กลุ่มยอดสั้นสีเหลืองปนน้ำตาลและมีอาการฉ่ำน้ำ	+++	+++

[1/] - ไม่มียอดตาย; + ตาย 1/4 ของกลุ่มยอด; ++ ตาย 1/3 ของกลุ่มยอด; +++ ตาย 1/2 ของกลุ่มยอด

[2/] - อาหารค่อนข้างใส; + อาหารเหลืองเล็กน้อย; ++ อาหารค่อนข้างเหลือง; +++ อาหารเหลืองมากหรือมีสีน้ำตาล

บทที่ 5
อภิปรายผลและสรุปผล

1. การศึกษาผลของสารอินทรีย์ต่อการชักนำยอดจากข้อของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงข้อไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ บนอาหารแข็งที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หรืออาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เพียงอย่างเดียว พบว่าจำนวนยอดที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1) นอกจากนี้ยังแตกยอดช้า รวมทั้งมีลักษณะที่ด้อยกว่ายอดที่ได้จากอาหารที่มีทั้งสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ TDZ ชี้ให้เห็นว่าการทำงานร่วมกันของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA (3.0 mg/L) และ TDZ (0.1 mg/L) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพสูตรอาหารที่ใช้ชักนำยอดทั้งระยะเวลาการแตกยอด จำนวนยอด และลักษณะยอดให้ดีขึ้นได้ ซึ่งอาจเป็นผลมาจาก cytokinin-binding protein (CBP) ในพืช มี 2 binding site ที่แตกต่างกัน ตำแหน่งหนึ่งเหมาะสำหรับจับกับ adenine-type cytokinins เช่น BA และอีกตำแหน่งหนึ่งสามารถจับกับ phenylurea-types เช่น TDZ ทำให้ทั้ง BA และ TDZ สามารถมีผลสนับสนุนการทำงานร่วมกันได้ (Tefera & Wannakrairoj, 2006) สอดคล้องกับการทดลองชักนำยอดจากข้อของไผ่ซาง (*Dendrocalamus strictus*) โดยใช้ BA 4.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.25 mg/L พบว่าช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพการชักนำยอดได้มากกว่าการใช้ BA 5.0 mg/L เพียงอย่างเดียว (Kapruwan et al., 2014) และสอดคล้องกับรายงานการเพาะเลี้ยงไผ่สกุล *Dendrocalamus* ซึ่งเป็นสกุลของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ โดยรายงานว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิดจะเกิดยอดได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเพียงชนิดเดียว (Jimenez & Guevara, 2007) นอกจากนี้มีรายงานการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อไผ่หก (*D. hamiltonii*) โดยใช้ BA หรือ TDZ เพียงชนิดเดียวเพื่อเปรียบเทียบ พบว่า TDZ 0.65 mg/L มีประสิทธิภาพในการชักนำยอดสูงกว่า BA 3.38 mg/L เนื่องจากทำให้แตกยอดเร็วกว่า เปอร์เซ็นต์การแตกยอดสูงกว่า และให้จำนวนยอดมากกว่า (Singh et al., 2012b) อย่างไรก็ตาม TDZ เป็นสารที่มีคุณสมบัติคล้าย cytokinin มีฤทธิ์แรงกว่า BA นิยมใช้ที่ความเข้มข้นต่ำ และมักพบว่าการใช้ BA ร่วมกับ TDZ ให้ผลที่ดีกว่าการใช้ BA หรือ TDZ เพียงชนิดเดียว (Ray & Ali, 2016)

การทดลองนี้ (ตารางที่ 1) ได้เติมสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ ลงไปในอาหารสูตรที่มี BA 3.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.1 mg/L เพื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ไม่เติมสารอินทรีย์และหาสูตรอาหารในการชักนำยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ ที่ดีที่สุดโดยพิจารณาจากจำนวนยอด ความยาวยอด และลักษณะที่ยอดปรากฏ เนื่องจากมีรายงานถึงคุณสมบัติของสารอินทรีย์ที่ส่งผลต่อการเจริญพัฒนาของพืช (Hamdeni et al., 2022) โดยเมื่อเติมสารอินทรีย์ monosodium glutamate (MSG) 1.0 g/L ลง

ในอาหารชักนำยอดสูตร MS ที่มี BA และ TDZ พบว่าให้จำนวนยอดมากที่สุด (3 ยอด) โดยแตกยอดเร็ว และให้ยอดสีเขียวแข็งแรงเรียวยาว เมื่อพิจารณาจากจำนวนยอดที่มากที่สุดจึงได้เลือกสูตรอาหารดังกล่าวมาใช้ชักนำยอด เพื่อให้ได้ยอดสำหรับใช้ในการทดลองเพิ่มปริมาณยอดต่อไป อย่างไรก็ตาม อาหารสูตรที่มี BA ร่วมกับ TDZ และอาหารสูตรที่มี BA ร่วมกับ TDZ ที่มีการเติมสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ ร่วมด้วย ได้แก่ tryptone 2.0 g/L, biotin 0.5 mg/L, folic acid 0.1 mg/L หรือ MSG 1.0 g/L กลับให้จำนวนยอดและความยาวยอดที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ รวมถึงลักษณะยอดที่ปรากฏไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน จึงคาดว่าเป็นผลที่เกิดจากสาร TDZ ที่ช่วยส่งเสริมการเติบโตร่วมกับ BA โดยที่สารอินทรีย์ มีผลน้อย หรือไม่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อของไผ่ซางหม่น หรือชนิดและความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่ใช้ยังไม่เหมาะสมต่อความต้องการของไผ่ซางหม่นในระยะการชักนำยอด เนื่องจากพืชแต่ละชนิดมีความต้องการสารอาหารที่แตกต่างกันในการเติบโตและพัฒนาเนื้อเยื่อ (Hamdeni et al., 2022) นอกจากนี้การแตกยอดและการพัฒนาของไผ่ในระยะชักนำยอดยังขึ้นอยู่กับตำแหน่งของข้อ ช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่าง รวมถึงผลจากปริมาณฮอร์โมนภายในชิ้นส่วนข้อจากต้นแม่ตามธรรมชาติ (Ray & Ali, 2016) จึงเป็นตัวแปรที่ส่งผลต่อการชักนำยอดไผ่ซางหม่นที่นำมาเพาะเลี้ยงให้เกิดการแตกยอดได้ แม้เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตและสารอินทรีย์ใดๆ เช่นเดียวกับงานวิจัยที่มีการศึกษาไผ่ซางหม่นโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มี BA 0, 1, 2, 3 mg/L พบว่าอาหารทุกสูตรสามารถชักนำข้อให้เกิดยอดได้ทั้งหมด (Jirakiattikul et al., 2022)

2. การศึกษาผลของสารอินทรีย์ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’

adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads) เป็นสารที่มีรายงานถึงความสามารถในการส่งเสริมการทำงานของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชได้ เนื่องจากเป็นแหล่งของ organic nitrogen ซึ่งทำให้พืชดูดซึมไปใช้ได้รวดเร็วกว่า inorganic nitrogen (Naaz et al., 2014) โดยมีงานวิจัยว่า Ads ช่วยให้ยอดและใบแข็งแรงสมบูรณ์ อีกทั้งยังช่วยเพิ่มจำนวนและความยาวยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหว้า (*Syzygium cumini* L.) (Naaz et al., 2014) และมีการทดลองเพิ่มปริมาณยอดของหญ้าหวาน (*Stevia rebaudiana*) โดยใช้ Ads ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันพบว่า ที่ความเข้มข้น 40 mg/L สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้จำนวนมากที่สุด (Khan et al., 2014) นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้ Ads 40 mg/L เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงกลุ่มยอดของไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 98% อีกทั้งยังเพิ่มจำนวนยอดมากที่สุด 14 ยอดในระยะเวลา 60 วัน (Banerjee et al., 2011) การทดลองนี้จึงเลือกใช้ Ads ความเข้มข้น 40 mg/L เติมลงอาหารในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดและใช้เป็นชุดควบคุม (positive control) เพื่อเปรียบเทียบกับสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่

ความเข้มข้นแตกต่างกัน ซึ่งจากผลการศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ เมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) (ตารางที่ 2-11) พบว่าอาหารสูตรที่เติม Ads 40 mg/L มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณยอดและให้ยอดสีเขียวที่มีลักษณะแข็งแรง อีกทั้งยังไม่พบการตายของยอดหรือการเกิดสารประกอบฟีนอลิก อาจเนื่องมาจาก Ads ประกอบด้วยส่วนของ adenine และ ส่วนของ sulphate (รูปที่ 2) โดย adenine เป็นเบส purine ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของ cytokinin จึงมีส่วนช่วยในการสังเคราะห์ cytokinin ตามธรรมชาติ นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญในระดับเซลล์โดยเป็นองค์ประกอบของ DNA, RNA ตลอดจนตัวพาพลังงานอื่นๆ (energy carrying molecule) ในขณะที่ sulphate มีบทบาทใน sulphur assimilation ซึ่งเป็นกระบวนการที่พืชสามารถนำ sulphate ไปใช้ โดยได้ผลผลิตเป็นโปรตีนซึ่งมีความสำคัญต่อโครงสร้างหรือทำหน้าที่ต่างๆ ในพืช อีกทั้งยังได้ glutathione ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย (Naaz et al., 2014; Sharma & Vimala, 2010)

2.1) ผลของ tryptone ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’

จากการทดลองเพาะเลี้ยงกลุ่มยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ ในอาหารสูตรเพิ่มปริมาณยอดที่มี adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads) 40 mg/L หรือ tryptone ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลารวม 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) พบว่าเมื่อผ่านไป 2 สัปดาห์ สูตรอาหารที่เติม Ads 40 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับอาหารทุกสูตร และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารสูตรที่เติม tryptone ทุกความเข้มข้น โดยเมื่อพิจารณาเฉพาะสูตรที่เติม tryptone พบว่า tryptone 1.0 และ 2.0 g/L ให้อัตราเพิ่มยอดได้ใกล้เคียงกัน ขณะที่ tryptone 3.0 และ 4.0 g/L ให้อัตราเพิ่มยอดเท่ากัน แต่ในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า tryptone 1.0 g/L ให้อัตราเพิ่มยอดได้มากกว่า tryptone 2.0 g/L และให้อัตราเพิ่มยอดได้มากที่สุด ขณะที่ tryptone 3.0 และ 4.0 g/L ให้อัตราเพิ่มยอดที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2) คาดว่าผลที่เกิดขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 เป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนภายในยอดไผ่ ที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอดที่ยังคงตกค้างอยู่ เนื่องจากอาหารสูตรชักนำยอดมีการเติม MSG ซึ่งมีบทบาทต่อการพัฒนาของเซลล์พืช รวมถึงการเจริญของยอด โดยสามารถช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและใบ (Kamarulzaman & Mohamad, 2019; Tanasale & Maninggolang, 2022) จึงช่วยเสริมอาหารสูตรที่เติม tryptone 1.0 และ 2.0 g/L ให้มีอัตราเพิ่มยอดที่ใกล้เคียงกัน และอาหารที่เติม tryptone 3.0 และ 4.0 g/L มีอัตราเพิ่มยอดเท่ากันได้ แต่เมื่อผ่านการเปลี่ยนถ่ายอาหารอีกครั้ง การตกค้างของ MSG จึงหายไป ผลที่ได้จากสัปดาห์ที่ 4 จึงเป็นผลที่ได้จาก tryptone เพียงสารเดียว ทำให้อัตราเพิ่มยอดที่ได้เปลี่ยนแปลงไปและมีความแตกต่างกันมากขึ้น

เมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 2 และ 3) อาหารสูตรที่เติม Ads ให้อัตราเพิ่มยอดได้มากที่สุดอีกทั้งยังไม่มีอาการฉ่ำน้ำ ไม่มีการตายของยอดหรือมีสารประกอบฟีนอลิกเกิดขึ้น ซึ่งให้ผลลัพธ์ที่ดีกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารที่เติม tryptone ในทุกความเข้มข้น สำหรับ tryptone ความเข้มข้น 3.0 และ 4.0 g/L คาดว่าเป็นความเข้มข้นที่สูงเกินไป จึงทำให้ยอดเกิดการฉ่ำน้ำ มีการตายของยอด และมีสารประกอบฟีนอลิกเกิดขึ้น ส่วน tryptone ความเข้มข้น 1.0 และ 2.0 g/L แม้ว่าไม่พบอาการดังกล่าว แต่ก็ให้ผลลัพธ์ที่ด้อยกว่ายอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่เติม Ads กล่าวคือมีอัตราเพิ่มยอดน้อยกว่า และยอดมีสีเขียวอมเหลือง ทั้งนี้อาการฉ่ำน้ำ การตายของยอด และระดับสารประกอบฟีนอลิกที่เกิดขึ้นในการทดลองล้วนมีความเกี่ยวข้องกัน โดยอาการฉ่ำน้ำที่เกิดขึ้นในการทดลอง (รูปที่ 4) เป็นอาการของกลุ่มยอดไผ่ที่มีลักษณะโปร่งใส ฉ่ำน้ำ เปราะ แตกหักง่าย มีสีเขียวอมเหลืองหรือน้ำตาล และมักพบอาหารเพาะเลี้ยงมีสีเหลืองหรือน้ำตาลเช่นกัน อาจมีสาเหตุมาจากปัจจัยความเครียดที่เกิดขึ้นจากความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตและสารอินทรีย์ที่สูง ซึ่งชักนำให้เกิดการ oxidation ของสารประกอบฟีนอลิกและนำไปสู่การตายของยอด (Carimi et al., 2003; Ndakidemi et al., 2014) นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงยอดในอาหารเหลว ซึ่งมีสภาพความชื้นสัมพัทธ์สูงเป็นระยะเวลานาน อาจเป็นปัจจัยส่งเสริมให้เกิดอาการฉ่ำน้ำได้ โดยมีการศึกษาการเพาะเลี้ยงต้นคาร์เนชั่นด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลอง พบว่าอาหารที่มีปริมาณน้ำและความชื้นสัมพัทธ์สูง แม้ชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากกว่าการใช้อาหารแข็ง แต่ทำให้ใบมีลักษณะโปร่งแสง เนื่องจากมีปริมาณคลอโรฟิลล์และโปรตีนลดลง ปริมาณน้ำสูงและไม่พบชั้น cuticle wax ที่ใบ ซึ่งเป็นลักษณะของอาการฉ่ำน้ำเพิ่มขึ้นด้วย (Ziv et al., 1982) โดยความชื้นสัมพัทธ์ที่สูง ทำให้เกิดการจำกัดการถ่ายเทก๊าซระหว่างภายในและภายนอกหลอดทดลอง จึงทำให้ก๊าซเอทิลีนไม่สามารถถูกปลดปล่อยออกไปจากหลอดทดลองได้ และนำมาซึ่งอาการผิดปกติต่างๆ (Dewir et al., 2014)

เมื่อพิจารณาผลของ tryptone ต่อการเพิ่มปริมาณยอด พบว่าแม้ tryptone เป็นแหล่งของไนโตรเจนและกรดอะมิโนที่มีรายงานถึงผลที่ช่วยสนับสนุนการเจริญของพืชชนิดชนิดต่างๆ รวมถึงกล้วยไม้รองเท้านารี โดยการใช้ tryptone 1.0 g/L สามารถช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดได้ (Zeng et al., 2012) และ tryptone 2.0 g/L ช่วยชักนำถั่วลันเตาให้เกิดแคลลัส (Cardi & Monti, 1990) แต่อาจเป็นเพราะ tryptone ไม่ใช่สารอินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ หรือความเข้มข้นที่ใช้ยังไม่สอดคล้องความต้องการของไผ่ซางหม่นในการเพิ่มปริมาณยอด จึงไม่สามารถเทียบเคียงประสิทธิภาพได้กับ Ads และให้ผลลัพธ์ที่แตกต่างกัน เนื่องจาก tryptone (casein hydrolysate) ประกอบด้วย growth promoting factor ไม่ทราบชนิดที่สามารถส่งผลต่อการเจริญและพัฒนาของพืช (Amer et al., 2017; George et al., 2008) โดยที่พืชรวมถึงไผ่แต่ละชนิดมีความต้องการสารอาหารที่ต่างกัน ดังนั้นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่ม

จำนวนยอดและการพัฒนาของเนื้อเยื่อจึงมีความแตกต่างกัน (Hamdeni et al., 2022; กนกวรรณ et al., 2018)

รูปที่ 4 อาการฉ่ำน้ำที่เกิดขึ้นในการทดลอง

2.2) ผลของ biotin ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'

ภายหลังการเพาะเลี้ยงกลุ่มยอดในอาหารสูตรเพิ่มปริมาณยอดที่มี adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads) 40 mg/L หรือ biotin ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลารวม 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) พบว่าเมื่อผ่านไป 2 สัปดาห์ อัตราเพิ่มยอดที่ได้จากอาหารทุกสูตรไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่อาหารสูตรที่เติม Ads และ biotin 0.1 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดใกล้เคียงกัน ขณะที่อาหารสูตรที่เติม biotin 0.5 และ 1.0 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดได้เท่ากันและมากที่สุด แต่ในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า biotin 0.1 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุดและมีอัตราเพิ่มยอดที่แตกต่างจาก Ads ขณะที่อาหารสูตรที่เติม biotin 0.5 และ 1.0 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดที่แตกต่างกัน ทั้งนี้พบว่าอาหารสูตรที่เติม biotin 2.0 mg/L มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารสูตรอื่น (ตารางที่ 4) คาดว่าเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนภายในยอดไผ่ ที่ตกค้างอยู่จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอดที่มีการเติม MSG ลงไป โดยที่ MSG มีบทบาทต่อการพัฒนาของเซลล์พืช รวมถึงการเจริญของยอด โดยสามารถช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและใบ (Kamarulzaman & Mohamad, 2019; Tanasale & Maninggolang, 2022) จึงมีผลเพิ่มอัตราการเกิดยอดให้มีค่าใกล้เคียงหรือเท่ากัน และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 2 ในเวลาต่อมา เมื่อผ่านการเปลี่ยนถ่ายอาหารอีกครั้งและเพาะเลี้ยงต่อจึงทำให้ผลที่เกิดขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 มีการเปลี่ยนแปลงไป และเกิดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของอัตราเพิ่มยอดระหว่างสูตรอาหาร เนื่องจากไม่ได้รับผลจาก MSG แล้ว และเป็นผลมาจากความเข้มข้นของ biotin เพียงสารเดียว

เมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 4 และ 5) พบกว่า biotin ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/L สามารถเพิ่มอัตรายอดได้มากกว่า Ads แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้ biotin ความเข้มข้น 0.1 mg/L สามารถให้อัตราเพิ่มยอดได้มากที่สุด โดยให้กลุ่มยอดสีเขียว ไม่พบยอดตาย และไม่พบการเกิดสารประกอบฟีนอลิก เช่นเดียวกันกับยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี Ads ในส่วนของ biotin ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 mg/L แม้อัตราเพิ่มยอดจะมากกว่า Ads แต่ให้ลักษณะที่ด้อยกว่า กล่าวคือ พบอาการฉ่ำน้ำ มียอดตาย และเกิดสารประกอบฟีนอลิก แสดงให้เห็นว่า biotin 0.1 mg/L มีประสิทธิภาพเทียบเคียงได้กับ Ads สอดคล้องกับข้อมูลที่ว่า biotin หรือวิตามิน B7 ทำหน้าที่เป็น coenzyme ใน metabolism ต่างๆ และทำงานร่วมกับ ATP ในขั้นตอนการสังเคราะห์ fatty acid ที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งใช้ในการสร้างต้นกล้า ใบ เนื้อเยื่อ (Arditti & Harrison, 1977) และยังเป็น coenzyme ในปฏิกิริยาการสังเคราะห์กลูโคส (Gluconeogenesis) (Waldrop et al., 2012) biotin จึงมีผลต่อการเจริญพัฒนาของไผ่ซางหม่นในการทดลองนี้ได้ สำหรับ biotin ความเข้มข้นสูงสุด หรือ 2.0 mg/L ให้อัตราการเพิ่มยอดน้อยที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ biotin ที่ความเข้มข้นอื่นๆ รวมถึง Ads โดยพบว่ามีอาการฉ่ำน้ำ การตายของยอด และระดับสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด เห็นได้ว่าเมื่อความเข้มข้นของ biotin สูงขึ้น การเกิดลักษณะและอาการดังกล่าวก็มากขึ้นตามไปด้วย (ตารางที่ 5)

2.3) ผลของ folic acid ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'

หลังการเพาะเลี้ยงกลุ่มยอดในอาหารสูตรเพิ่มปริมาณยอดที่มี adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads) 40 mg/L หรือ folic acid ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลารวม 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) พบว่าเมื่อผ่านไป 2 สัปดาห์ อาหารสูตรที่เติม folic acid 1.0 mg/L ให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารที่เติม Ads ที่ให้อัตราเพิ่มยอดน้อยที่สุด และในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าอาหารสูตรที่เติม folic acid 1.0 mg/L ยังคงให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับอัตราเพิ่มยอดที่ได้จากอาหารสูตรที่เติม Ads (ตารางที่ 6) คาดว่าผลที่เกิดขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 เกิดจากความไม่สมบูรณ์แข็งแรงของกลุ่มยอดที่ถูกนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่เติม Ads จึงทำให้อาหารสูตรที่เติม Ads ให้อัตราเพิ่มยอดที่น้อยที่สุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรอาหารที่เติม folic acid 1.0 mg/L แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อจนถึงรอบที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง Ads สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญพัฒนาของยอดได้ (Banerjee et al., 2011; Khan et al., 2014; Naaz et al., 2014) จึงทำให้อัตราเพิ่มยอดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารสูตรที่เติม folic acid ทุกความเข้มข้นในสัปดาห์ที่ 4

เมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 6 และ 7) พบว่า folic acid ทุกความเข้มข้นที่เติมในอาหารสามารถเพิ่มอัตรายอดได้มากกว่า Ads แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้อัตราเพิ่มยอดที่ได้จากอาหารที่เติม folic acid มีค่าสูงขึ้นตามความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/L แต่มีค่าลดลงที่ความเข้มข้น 2.0 mg/ แสดงให้เห็นว่า folic acid ตั้งแต่ความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/L มีประสิทธิภาพเทียบเคียงได้กับ Ads โดยมีอัตราเพิ่มยอดสูงสุดเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติม folic acid 1.0 mg/ และไม่พบอาการฉ่ำน้ำ การตายของยอด หรือการเกิดสารประกอบฟีนอลิก เช่นเดียวกันกับยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี Ads สอดคล้องกับรายงานการใช้ folic acid ที่มีรายงานว่าช่วยส่งเสริมการเจริญของพืช เนื่องจาก folic acid หรือวิตามิน B9 สามารถรวมตัวกับธาตุอาหารและช่วยเพิ่มการดูดซึมอาหารได้ (Michael, 2001) และมีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางชีวเคมีและสรีระของพืชระหว่างการเติบโต สำคัญต่อการเริ่มต้นการสังเคราะห์ glutamic acid ซึ่งมีบทบาทต่อการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์และการเจริญเติบโต (Esfandiari et al., 2012) นอกจากนี้ยังมีบทบาทในการสังเคราะห์กรดอะมิโน รวมถึงเบส purine และ pyrimidine โดยทำหน้าที่เป็นตัวพาโมเลกุล (Andrew et al., 2000) จึงมีความสำคัญกับการสังเคราะห์ DNA และ RNA (Arditti & Harrison, 1977) อีกทั้งยังมีความสามารถเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยปกป้องเซลล์ และ DNA จากการถูกทำลาย (Rahman et al., 2016) และเพิ่มการสังเคราะห์ proline ภายใต้สภาพความเครียด ซึ่งช่วยให้พืชสามารถทนต่อความเครียดได้ (Burguieres et al., 2007) อย่างไรก็ตาม สำหรับ folic acid ความเข้มข้น 2.0 mg/L นอกจากจะพบว่ามีผลให้อัตราเพิ่มยอดลดลงแล้ว ยังทำให้เกิดอาการฉ่ำน้ำ มีการตายของยอดและมีสารประกอบฟีนอลิกเกิดขึ้น แสดงให้เห็นว่าเป็นความเข้มข้นที่สูงเกินไปสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ (ตารางที่ 7)

2.4) ผลของ MSG ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’

หลังการเพาะเลี้ยงกลุ่มยอดในอาหารสูตรเพิ่มปริมาณยอดในอาหารที่มี adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads) 40 mg/L หรือ monosodium glutamate (MSG) ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลารวม 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) พบว่าเมื่อผ่านไป 2 สัปดาห์ อัตราเพิ่มยอดที่ได้จากอาหารทุกสูตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยอาหารสูตรที่เติม MSG 1.0 g/L ให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด และในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า MSG 1.0 g/L ยังคงให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุดแต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารสูตรที่เติม MSG 3.0 g/L ที่ให้อัตราเพิ่มยอดน้อยที่สุดและแตกต่างจากสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อพิจารณาอัตราเพิ่มยอดจากอาหารทุกสูตรในสัปดาห์ที่ 4 พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 2 ยกเว้น MSG ความเข้มข้น 3.0 g/L ที่มีอัตราเพิ่มยอดลดลง (ตารางที่ 8) จึงคาดว่าเข้มข้นดังกล่าวสูงมากจนเกิดสภาวะเครียดถึงจุดที่ยับยั้งการเจริญของยอด และทำให้มีการตายของยอดมากกว่าการเกิดยอด (Carimi et al., 2003; Ndakidemi et al., 2014)

เมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 8 และ 9) พบว่า อัตราเพิ่มยอดที่ได้จากอาหารที่มี Ads หรือ MSG ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 2.0 g/L ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดย MSG 1.0 g/L ให้ยอดที่มีลักษณะเช่นเดียวกันกับ Ads กล่าวคือ ให้กลุ่มยอดสีเขียวที่ไม่มีอาการฉ่ำน้ำ ไม่มียอดตาย และไม่เกิดสารประกอบฟีนอลิก และสามารถให้อัตราเพิ่มยอดได้สูงที่สุด (3.7 เท่า) ซึ่งสูงกว่า Ads (2.5 เท่า) แสดงให้เห็นว่า MSG ความเข้มข้น 1.0 g/L สามารถเทียบเคียงประสิทธิภาพได้กับ Ads สอดคล้องกับรายงานผลของ MSG ว่าสามารถส่งเสริมการเจริญของพืชได้ โดยมีการเพาะเลี้ยงต้นเบญจมาศในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เติม MSG และพบว่า MSG สามารถช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและใบได้ (Tanasale & Maninggolang, 2022) เนื่องมาจาก MSG เป็นแหล่งของไนโตรเจนปริมาณสูง ซึ่งมีบทบาทต่อการสร้างคลอโรฟิลล์ และมีบทบาทต่อการพัฒนาของเซลล์พืช รวมถึงการเจริญของยอด (Kamarulzaman & Mohamad, 2019) อย่างไรก็ตามแม้ MSG ความเข้มข้น 0.5 g/L จะให้อัตราเพิ่มยอดไม่ต่างกับ Ads แต่พบการตายของยอดใน MSG ความเข้มข้น 0.5 g/L จึงคาดว่าความเข้มข้นนี้อาจไม่เพียงพอต่อสำหรับความต้องการ เนื่องจากไม่มีอาการฉ่ำน้ำหรือเกิดสารประกอบฟีนอลิก ทั้งนี้พบว่าอัตราเพิ่มยอดมีค่าลดลงใน MSG ความเข้มข้น 2.0 และ 3.0 g/L จึงคาดว่าเป็นเพราะความเข้มข้นดังกล่าวสูงเกินกว่าความต้องการของไผ่ซางหม่น เนื่องจากพบการตายของยอดและมีระดับการเกิดสารประกอบฟีนอลิกเกิดมากขึ้นด้วยตามลำดับ โดยที่ MSG 3.0 g/L ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุด ให้อัตราเพิ่มยอดน้อยที่สุด (1.1 เท่า) และแตกต่างจากอาหารทุกสูตรอย่างมีนัยสำคัญ

2.5) ผลของ L-Glu ต่อการเพิ่มปริมาณยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’

จากการทดลองเพิ่มปริมาณกลุ่มยอดไผ่ซางหม่นในอาหารเพาะเลี้ยงที่มี adenine sulphate ($AdSO_4$; Ads) 40 mg/L หรือ l-glutamine (L-Glu) ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลารวม 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) พบว่าเมื่อผ่านไป 2 สัปดาห์ อาหารสูตรที่เติม Ads ให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรอาหารที่เติม L-Glu 0.2 g/L ที่ให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุดจาก L-Glu ทุกความเข้มข้น แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารสูตรที่เติม L-Glu 0.1 g/L แต่ในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า Ads ให้อัตราเพิ่มยอดมากที่สุด และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับทั้งอาหารสูตรที่เติม L-Glu 0.1 และ 0.2 g/L (ตารางที่ 10) คาดว่าผลที่เกิดขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 เกิดจากความไม่สมบูรณ์แข็งแรงของกลุ่มยอดที่นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่เติม L-Glu 0.1 mg/L จึงทำให้อัตราเพิ่มยอดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารสูตรที่เติม Ads และ L-Glu 0.2 mg/L แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อจนถึงรอบที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง L-Glu ความเข้มข้น 0.1 mg/L สามารถส่งเสริมการเจริญของยอดได้ (Samarina et al., 2016) จึงทำให้อัตราเพิ่มยอดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารสูตรที่เติม Ads และ L-Glu ความเข้มข้น 0.2 mg/L ในสัปดาห์ที่ 4

เมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 10 และ 11) พบว่าอัตราเพิ่มยอดที่ได้จาก Ads กับ L-Glu ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3 g/L ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดย Ads ให้อัตราเพิ่มยอดได้มากกว่า L-Glu และมากที่สุด (3.6 เท่า) รวมถึงให้ยอดสีเขียวที่ไม่มีอาการฉ่ำน้ำ ไม่มีการตายของยอดหรือเกิดสารประกอบฟีนอลิก โดย L-Glu ความเข้มข้น 0.1 g/L ให้อัตราเพิ่มยอดรองลงมาจาก Ads (3.4 เท่า) และให้กลุ่มยอดสีเขียวที่ไม่มีอาการฉ่ำน้ำ ไม่มีการตายของยอดหรือการเกิดสารประกอบฟีนอลิกเช่นเดียวกัน เห็นได้ว่าแม้ให้อัตราเพิ่มยอดที่รองลงมา แต่ก็มีค่าใกล้เคียงและให้ลักษณะยอดที่ไม่ต่างกัน แสดงให้เห็นว่า L-Glu มีส่วนช่วยส่งเสริมการเจริญของไผ่ซางหม่นได้ สอดคล้องกับงานวิจัยที่มีการเติม L-Glu ความเข้มข้น 100 mg/L (0.1 g/L) ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และพบว่าสามารถเพิ่มอัตราการเจริญอย่างมีนัยสำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของหมากผู้หมากเมีย (*Cordyline fruticose*) และเยอบีร่า (*Gerbera jamesonii*) (Samarina et al., 2016) เนื่องจากเป็นแหล่งของกรดอะมิโนและไนโตรเจน ใช้เป็นแหล่งพลังงานทางเลือกสำหรับการเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Ageel & Elmeer, 2010; Wetherell & Dougall, 1976) โดยเซลล์ต้องการไนโตรเจนไปใช้กระบวนการ metabolism ของพืชใน citric acid cycle (kreb's cycle) อีกทั้งยังช่วยในการรับธาตุอาหาร และเพิ่ม biomass (Zhang et al., 2017) ทั้งนี้ L-Glu สามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนเพียงอย่างเดียวได้ และเซลล์พืชสามารถนำไปใช้ได้เร็วกว่า inorganic nitrogen (Thom et al., 1981) อย่างไรก็ตาม L-Glu ความเข้มข้นที่สูงขึ้นมาคือ 0.2 g/L แม้ให้อัตราเพิ่มยอดรองลงมาจาก Ads เช่นเดียวกัน (3.4 เท่า) แต่พบว่าให้ยอดสีเขียวอมเหลือง จึงคาดว่าเป็นสัญญาณบ่งบอกว่าความเข้มข้นนี้เริ่มสูงมากเกินไป และเมื่อพิจารณาที่ L-Glu ความเข้มข้น 0.3 และ 0.4 g/L พบว่าอัตราเพิ่มยอดมีค่าลดลงตามลำดับ อีกทั้งยังเกิดยอดเหลืองปนน้ำตาลที่มีอาการฉ่ำน้ำ มียอดตายมาก และเกิดสารประกอบฟีนอลิกมาก จึงสรุปได้ว่าความเข้มข้นดังกล่าวเป็นความเข้มข้นที่สูงมากเกินไปต่อความต้องการ โดย L-Glu ความเข้มข้นที่สูงสุด หรือ 0.4 g/L ให้อัตราเพิ่มยอดน้อยที่สุด (2.4 เท่า) และแตกต่างจากอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ

3. แนวทางการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอด

สูตรอาหารชักนำยอดที่เติม MSG ซึ่งเป็นสูตรที่ถูกเลือกและนำไปใช้ อาจมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนภายในกลุ่มยอดและเกิดการตกค้าง ซึ่งส่งผลต่อการนำมาเพาะเลี้ยงต่อในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอด นอกจากนี้ยังพบอาการฉ่ำน้ำเกิดขึ้นกับกลุ่มยอดหลังจากที่เพาะเลี้ยงไปเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์) โดยคาดว่าอาการฉ่ำน้ำที่เกิดขึ้นอาจมีปัจจัยมาจากความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่สูง ประกอบกับการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์สูงเป็นระยะเวลานาน ดังนั้นจึงอาจแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในข้างต้นด้วยการพักกลุ่มยอด

โดยเพาะเลี้ยงกลุ่มยอดในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นช่วงระยะเวลาหนึ่ง เพื่อลดการตกค้างหรือลดผลที่เกิดขึ้นจาก MSG ก่อนจะนำไปทดลองเพิ่มปริมาณยอด ซึ่งในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณยอดนี้ อาจมีแนวทางหลีกเลี่ยงปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดอาการฉ่ำน้ำโดยการปรับลดความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่สูงลง และลดระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่สัมผัสกับอาหารเหลว หรือมีการเว้นช่วงด้วยการย้ายกลุ่มยอดมาพักบนอาหารแข็งในระหว่างรอบเพาะเลี้ยง

4. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสารอินทรีย์ต่อการชักนำยอดจากข้อของไผ่ซางหม่น (การทดลองที่ 1) โดยเพาะเลี้ยงข้อเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 3.0 mg/L ร่วมกับ TDZ 0.1 mg/L และ MSG 1.0 g/L มีความเหมาะสมที่สุดต่อการชักนำยอด เนื่องจากสามารถชักนำยอดได้จำนวนมากที่สุด 3 ยอด/ข้อ อีกทั้งยังแตกยอดเร็วและให้ยอดสีเขียวแข็งแรงเรียวยาว จึงเลือกสูตรอาหารดังกล่าวไปใช้ชักนำยอด เพื่อให้ได้ยอดเริ่มต้นสำหรับการทดลองเพิ่มปริมาณยอดในการทดลองที่ 2-6

กลุ่มยอดเริ่มต้นถูกนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรเพิ่มปริมาณ 2 รอบเพาะเลี้ยง รอบละ 2 สัปดาห์ รวมระยะเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อศึกษาผลของสารอินทรีย์ต่อการเพิ่มปริมาณยอดของไผ่ซางหม่น พบว่าการใช้ tryptone ที่ความเข้มข้น 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 g/L (การทดลองที่ 2) ไม่สามารถเทียบเคียงประสิทธิภาพกับ Ads ได้ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาเฉพาะสูตรอาหารที่เติม tryptone พบว่า การเติม tryptone 1.0 g/L สามารถเพิ่มอัตรายอดได้มากที่สุดจากทุกความเข้มข้น โดยสารอินทรีย์ที่สามารถเทียบเคียงประสิทธิภาพได้กับ Ads และให้อัตราเพิ่มยอดได้มากที่สุดในแต่ละการทดลองคือ biotin 0.1 mg/L (การทดลองที่ 3), folic acid 1.0 mg/L (การทดลองที่ 4), MSG 1.0 g/L (การทดลองที่ 5) และ L-Glu 0.1 g/L (การทดลองที่ 6) โดยมีอัตราเพิ่มยอดเท่ากับ 4.2, 3.8, 3.7 และ 3.4 เท่า ตามลำดับ

ภาคผนวก

สารอาหารเข้มข้นของสูตรอาหาร MS แบ่งออกเป็น 7 กลุ่ม

สารอาหารเข้มข้นที่ 1 (stock solution1) ความเข้มข้น 10 เท่า ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร		
1. NH_4NO_3	16.5	กรัม
2. KNO_3	19.0	กรัม
3. $CaCl_2 \cdot 2H_2O$	4.4	กรัม
4. KH_2PO_4	1.7	กรัม
ปริมาตรที่นำไปใช้ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร = 100 มิลลิลิตร		

สารอาหารเข้มข้นที่ 2 (stock solution 2) ความเข้มข้น 100 เท่า ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร		
1. $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	37.0	กรัม
ปริมาตรที่นำไปใช้ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร = 10 มิลลิลิตร		

สารอาหารเข้มข้นที่ 3 (stock solution 3) ความเข้มข้น 1,000 เท่า ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร		
1. H_3BO_4	6.20	กรัม
2. KI	0.83	กรัม
3. $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25	กรัม
4. $CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025	กรัม
ปริมาตรที่นำไปใช้ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร = 1 มิลลิลิตร		

สารอาหารเข้มข้นที่ 4 (stock solution 4) ความเข้มข้น 1,000 เท่า ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร		
1. $CuSo_4 \cdot 5H_2O$	0.025	กรัม
2. $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8.6	กรัม
3. $MnSO_4 \cdot 4H_2O$	16.9	กรัม
ปริมาตรที่นำไปใช้ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร = 1 มิลลิลิตร		

สารอาหารเข้มข้นที่ 5 (stock solution 5) ความเข้มข้น 200 เท่า ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร		
1. Na_2EDTA	7.45	กรัม
2. $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	5.56	กรัม
ปริมาตรที่นำไปใช้ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร = 5 มิลลิลิตร		

สารอาหารเข้มข้นที่ 6 (stock solution 6) ความเข้มข้น 1,000 เท่า ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร		
1. Glycine	2.0	กรัม

2. Thiamine•HCl	0.5	กรัม
3. Pyridoxine•HCl	0.1	กรัม
4. Nicotinic acid	0.5	กรัม

ปริมาตรที่นำไปใช้ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร = 1 มิลลิลิตร

สารอาหารเข้มข้นที่ 7 (stock solution 7) ความเข้มข้น 500 เท่า ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

Myo-inositol	5	กรัม

ปริมาตรที่นำไปใช้ในการเตรียมอาหาร 1 ลิตร = 2 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียมสารละลายเข้มข้น (stock solution) ปริมาตร 1 ลิตร

1. เทน้ำกลั่นประมาณ 700 มิลลิลิตร ลงใน Beaker ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
2. ชั่งสารเคมีตามปริมาณที่กำหนดในแต่ละกลุ่ม
3. เติมสารเคมีลงไป โดยคนให้ละลายจนหมดก่อนเติมสารตัวต่อไป
4. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร
5. เทสารอาหารเข้มข้นที่ได้ลงในขวดสีชา
6. เขียนป้ายระบุชื่อสารอาหารเข้มข้น วันที่เตรียม และความเข้มข้น
7. เก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

วิธีการเตรียมอาหาร

1. เติมน้ำกลั่นลงใน Beaker
2. เติมสารละลายเข้มข้น MS 1-7 ของอาหารสูตร MS ตามปริมาณที่เทียบไว้ คนให้เข้ากัน
3. ชั่งน้ำตาลทรายนำไปผสมกับสารในข้อที่ 2 แล้วคนให้เข้ากัน
4. เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและสารอินทรีย์ (ตามสูตรอาหาร)
5. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรที่ต้องการ
6. วัดและปรับค่าความเป็นกรดด่างให้มีค่า 5.6-5.8 โดยใช้ 1 นอร์มอล HCl และ 1 นอร์มอล KOH
7. เติมวุ้นและนำไปหลอมละลายในไมโครเวฟ (กรณีอาหารแข็ง)
8. บรรจุอาหารลงขวดและปิดฝา
9. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ นาน 15 นาที
10. เอาออกจากเครื่อง autoclave แล้วปิดฝาให้แน่น จากนั้นนำไปพักให้เย็นในตู้เก็บอาหาร

รายการอ้างอิง

Abrahamian, P., & Kantharajah, A. (2011). Effect of vitamins on in vitro organogenesis of plant. *American journal of plant sciences*, 2(5), 669.

Ageel, S., & Elmeer, K. (2010). Effects of casein hydrolysates and glutamine on callus and somatic embryogenesis of date Palm (*Phoenix dactylifera* L.). *New York science journal*, 4, 121-125.

Agrawal, S. P., Tripathi, P., & Sinha, M. K. (2021). Analysis of monosodium glutamate (MSG) & Formaldehyde as food additives in swiss albino mice via experimental biology: New version of modified analysis. *Advances in clinical toxicology*, 6(4), 1-8.

Ahirwar, R., & Bagchi, S. (2014). *In Vitro* micropropagation of *Dendrocalamus strictus*: Review. *International journal of genetic engineering and biotechnology*, 5, 7-13.

Amer, A. M., Mohamed, G. M., Hussein, M. H., Sedik, M. Z., & Aly, U. I. (2017). Effect of some of the natural organic sources on rice tissue culture. *Egyptian pharmaceutical journal*, 16(3), 152.

Anderson, J. (1976). Effect of exogenous amino-acids on embryogenesis in wild carrot cells. *In vitro-journal of the tissue culture association*, 12(4), 332.

Andrew, W., Youngkoo, C., Chen, X., & Pandalai, S. (2000). Vicissitudes of a vitamin. *Recent research developments in phytochemistry*, 4, 89-98.

Arditti, J., & Harrison, C. R. (1977). Vitamin requirements and metabolism in orchids. In *Orchid Biology: Reviews and Perspectives (USA)* (pp. 159-175). New York.

Arya, I., Kaur, B., & Arya, S. (2012). Rapid and mass propagation of economically important Bamboo *Dendrocalamus hamiltonii*. *Indian journal of energy*, 1(1), 11-16.

Bakshi, M., Tiwari, C., & Razvi, S. (2015). Conservation of an important montane bamboo *Thamnocalamus falconeri*, Hook.f. ex Munro through axillary bud proliferation. *Journal of forestry research*, 26(1), 179-185. https://doi.org/10.1007/s11676-015-0022-3

Banerjee, M., Gantait, S., & Pramanik, B. R. (2011). A two step method for accelerated mass propagation of *Dendrocalamus asper* and their evaluation in field.

Physiology and molecular biology of plants, 17, 387-393.

Basu, A., Sethi, U., & Guha-Mukherjee, S. (1989). Regulation of cell proliferation and morphogenesis by amino acids in *Brassica* tissue cultures and its correlation with threonine deaminase. *Plant cell reports*, 8(6), 333-335. https://doi.org/10.1007/BF00716667

Bordoloi, S., Singha, B. L., Goswami, P., & Hazarika, I. (2018). Improved clona l propagation of superior *Dendrocalamus hamiltonii* nees germplas m through *in vitro* techniques. *Global journal of bio-science and biotechnology*, 7(4), 537-542.

Burguieres, E., McCue, P., Kwon, Y.-I., & Shetty, K. (2007). Effect of vitamin C and folic acid on seed vigour response and phenolic-linked antioxidant activity. *Bioresource technology*, 98(7), 1393-1404. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.05.046

Canavan, S., Richardson, D. M., Visser, V., Le Roux, J. J., Vorontsova, M. S., & Wilson, J. R. U. (2017). The global distribution of bamboos: assessing correlates of introduction and invasion. *Annals of botany* 9(1), plw078. https://doi.org/10.1093/aobpla/plw078

Cardi, T., & Monti, L. M. (1990). Optimization of callus culture in pea (*Pisum sativum* L.).

Carimi, F., Zottini, M., Formentin, E., Terzi, M., & Schiavo, L. F. (2003). Cytokinins: new apoptotic inducers in plants. *Planta*, 216, 413-421.

Chavhan, S. R., Sawardekar, S. V., Deshpande, R., Pethe, U. B., Sawant, H. S., Chouksey, M. K., Pawde, G. B., & Sherkar, S. H. (2023). Standardization of in vitro organogenesis technique in bamboo (*Dendrocalamus stocksii*). *The pharma innovation journal*.

Choudhary, A., Ranjan, A., & Kumari, P. (2016). *In vitro* shoot proliferation for rapid and mass production of quality planting materials of *Bambusa nutans* in the climatic conditions of Bihar, India. *Indian journal of energy*, 5(2), 1-11.

Corredig, M., & Dalgleish, D. G. (1997). Studies on the susceptibility of membrane-derived proteins to proteolysis as related to changes in their emulsifying properties. *Food research international*, 30(9), 689-697. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0963-9969(98)00018-0

Crocomo, O. J., Peters, J. E., & Sharp, W. R. (1975). The induction of root and shoot morphogenesis in *Phaseolus vulgaris* tissue cultures. *Anais da escola superior de agricultura luiz de queiroz*, 32, 326-334.

Dewir, Y. H., Indoliya, Y., Chakrabarty, D., & Paek, K.-Y. (2014). Biochemical and physiological aspects of hyperhydricity in liquid culture system. In *Production of biomass and bioactive compounds using bioreactor technology* (pp. 693-709).

Emam, M., El-Sweify, A., & Helal, N. (2011). Efficiencies of some vitamins in improving yield and quality of flax plant. *African journal of agricultural research*, 6(18), 4362-4369.

Erland, L. A., Giebelhaus, R. T., Victor, J. M., Murch, S. J., & Saxena, P. K. (2020). The morphoregulatory role of thidiazuron: Metabolomics-guided hypothesis generation for mechanisms of activity. *Biomolecules*, 10(9), 1253.

Esfandiari, E., Enayati, W., Sabaghnia, N., & Janmohammadi, M. (2012). Effects of folic acid on seed germination properties and seedling growth of wheat. *Albanian journal of agricultural sciences*, 11(3), 185.

Farouk, S., & Saidy, E. A. E. (2013). Seed invigoration techniques to improve germination and early growth of sunflower cultivars. *Journal of renewable agriculture*, 1(3), 33.

George, E., Hall, M., & De Klerk, G.-J. (2008). Plant Propagation by Tissue Culture. In (pp. 283-333). https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3_8

Hamasaki, R., Purgatto, E., & Mercier, H. (2005). Glutamine enhances competence for organogenesis in pineapple leaves cultivated *in vitro*. *Brazilian journal of plant physiology*, 17. https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000400006

Hamdeni, I., Louhaichi, M., Slim, S., Boulila, A., & Bettaieb, T. (2022). Incorporation of organic growth additives to enhance *in vitro* tissue culture for producing genetically stable plants. *Plants*, 11(22), 3087.

Han, M., Xu, M., Wang, S., Wu, L., Sun, S., & Su, T. (2022). Effects of exogenous L-Glutamine as a sole nitrogen source on physiological characteristics and nitrogen use efficiency of poplar. *Plant physiology and biochemistry*, 172, 1-13.

Hangarter, R. P., Peterson, M. D., & Good, N. E. (1980). Biological activities of indoleacetylamino acids and their use as auxins in tissue culture. *Plant physiol*,

65(5), 761-767. https://doi.org/10.1104/pp.65.5.761

Heimer, Y. M., & Filner, P. (1970). Regulation of the nitrate assimilation pathway of cultured tobacco cells II. Properties of a variant cell line. *Biochimica et biophysica acta* 215(1), 152-165. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0304-4165(70)90398-3

Jha, A., Das, S., & Kumar, B. (2013). Micropropagation of *Dendrocalamus hamiltonii* through nodal explants. *Global journal of bio-science and biotechonolgy*, 2(4), 580-582.

Jimenez, V., & Guevara, E. (2007). Micropropagation of bamboo species through axillary shoot proliferation. In *Protocols for micropropagation of woody trees and fruits. Amsterdam: Springer* (pp. 465-467).

Jirakiattikul, Y., Songsoem, K., Rithichai, P., & Phuangchik, T. (2022). การเพิ่มจำนวนยอดและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของยอดไผ่ซางหม่นที่พัฒนาในสภาพปลอดเชื้อ. *Thai science and technology journal*, 49-59.

John, S. J., & Mukherjee, G. S. (1997). Plant molecular biology and biotechnology (Tiwari K.K & Singhal G.S, Trans.). In (pp. 17-28). Narosa Publishing House.

Kamarulzaman, S. A., & Mohamad, M. (2019). The effects of monosodium glutamate as an alternative fertilizer towards the growth of *Zea mays*. *Gading journal for science and technology*, 2(2), 1-7.

Kapruwan, S., Bakshi, M., & Kaur, M. (2014). Rapid *in vitro* propagation of the solid bamboo, dendrocalamus strictus nees, through axillary shoot proliferation. *Biotechnology international*, 7, 58-68.

Khaleda, L., & Al-Forkan, M. (2006). Stimulatory effects of casein hydrolysate and proline in *in vitro* callus induction and plant regeneration from dive deepwater rice (*Oryza sativa* L.). *Biotechnology(Faisalabad)*, 5, 379-384. https://doi.org/10.3923/biotech.2006.379.384

Khan, M. K., Misra, P., Sharma, T., Shukla, P., & Ramteke, P. (2014). Effect of adenine sulphate on in vitro mass propagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Journal of medicinal plants research*, 8(13), 543-549.

Khayri, A., & Jameel, M. (2001). Optimization of biotin and thiamine requirements for somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *In vitro cellular &*

developmental biology - plant, 37(4), 453-456. https://doi.org/10.1007/s11627-001-0079-x

Kumar, V., & Banerjee, M. (2014). Albino regenerants proliferation of *Dendrocalamus asper in vitro*. *World journal of agricultural sciences*, 10(1), 09-13.

Lahlou, M. (2013). Current trends in plant vitamin biosynthesis. *Journal of plant biochemistry and physiology and molecular biology of plants*, 1(4), 1-1. https://doi.org/10.4172/2329-9029.1000e109

Magnus, V., Hangarter, R. P., & Good, N. E. (1992). Interaction of free indole-3-acetic acid and its amino acid conjugates in tomato hypocotyl cultures. *Journal of plant growth regulation*, 11(2), 67-75. https://doi.org/10.1007/BF00198017

Maiya, S. M., Janardan, L., & Gauchan, D. P. (2021). The impact of various factors of *in vitro* culture on shoot multiplication and plant production of the *Bambusa nutans* subsp. cupulata in in vitro propagation through nodal segments. *International journal of research and analytical reviews*.

Mariani, T. S., Purnaning, A. S., & Latif, D. S. (2014). Effect of glutamine addition in maturation stage on the germination and plantlet conversion of Oil Palm (*Elaeis Guineensis* Jacq.) somatic embryo. *Asian journal of applied sciences*, 2(5). https://www.ajouronline.com/index.php/AJAS/article/view/1696

Meyer, Y., & Abel, W. O. (1975). Budding and cleavage division of tobacco mesophyll protoplasts in relation to pseudo-wall and wall formation. *Planta*, 125(1), 1-13. https://doi.org/10.1007/bf00388868

Michael, K. (2001). Oxidized lignites and extracts from oxidizwd lignites in agriculture. *Journal Soil Science*, 1-23.

Mudoi, D., Saikia, S., Goswami, A., Gogoi, A., Bora, D., & Borthakur, M. (2013). Micropropagation of important bamboos: A review. *African journal of biotechnology* 12(20), 2770-2785. https://doi.org/10.5897/AJB12.2122

Mukherjee, I., Biswas, S., Singh, S., Talukdar, J., Alqahtani, M., Abbas, M., Nag, T., Mridha, A., Gupta, S., Sharma, J., Kumari, S., Dhar, R., & Karmakar, S. (2023). Monosodium glutamate perturbs human trophoblast invasion and differentiation through a reactive oxygen species-mediated pathway: An *in-vitro* assessment. *Antioxidants*, 12, 634. https://doi.org/10.3390/antiox12030634

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

Naaz, A., Shahzad, A., & Anis, M. (2014). Effect of adenine sulphate interaction on growth and development of shoot regeneration and inhibition of shoot tip necrosis under in vitro condition in adult *Syzygium cumini* L.—a multipurpose tree. *Applied biochemistry and biotechnology*, 173, 90-102.

Ndakidemi, C. F., Mneney, E., & Ndakidemi, P. A. (2014). Effects of ascorbic acid in controlling lethal browning in *in vitro* culture of *Brahylaena huillensis* using nodal segments. *American journal of plant sciences*, 5(1), 187-191.

Nguyen, L., Salanta, L., Socaci, S., Tofana, M., Farcas, A., & Pop, C. (2020). A Mini review about monosodium glutamate. *Bulletin of university of agricultural sciences and veterinary medicine cluj-napoca. food science and technology*, 77, 2020. https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:2019.0029

Nhut, D. T., Thi, N. N., Khiet, B. L. T., & Luan, V. Q. (2008). Peptone stimulates *in vitro* shoot and root regeneration of avocado (*Persea americana* Mill.). *Scientia horticulturae*, 115(2), 124-128. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.08.011

Nongdam, P., & Tikendra, L. (2014). The nutritional facts of bamboo shoots and their usage as important traditional foods of northeast india. *International scholarly research notices*, 2014, 1-17. https://doi.org/10.1155/2014/679073

Pandey, B. N., & Singh, N. B. (2012). Micropropagation of *Dendrocalamus strictus* nees from mature nodal explants. *Journal of applied and natural science*, 4, 5-9.

Pawar, B., Prashant, K., Bahurupe, J., Jadhav, A., Anil, K., & Pawar, S. (2015). Proline and glutamine improve *in vitro* callus induction and subsequent shooting in rice. *Rice science*, 22(6), 283-289.

Pazuki, A., Aflaki, F., Gürel, S., Ergül, A., & Gürel, E. (2018). The effects of proline on *in vitro* proliferation and propagationof doubled haploid sugar beet (*Beta vulgaris*). *Turkish journal of botany*, 42(3), 280-288.

Picciocchi, A., Douce, R., & Alban, C. (2003). The plant biotin synthase reaction: identification and characterization of essential mitochondrial accessory protein

components. *Journal of biological chemistry*, 278(27), 24966-24975. https://doi.org/https://doi.org/10.1074/jbc.M302154200

Pidlisnyuk, V., Mamirova, A., Newton, R. A., Stefanovska, T., Zhukov, O., Tsygankova, V., & Shapoval, P. (2022). The role of plant growth regulators in *Miscanthus giganteus* growth on trace elements-contaminated soils. *Agronomy*, 12(12), 2999.

Rahman, M., Khan, F., Das, R., & Hossain, M. (2016). Antioxidant activity and total phenolic content of some indigenous fruits of Bangladesh. *International food research journal*, 23, 2399-2404.

Rajput, B. S., Jani, M. D., Gujjar, M., & Shekhawat, M. (2019). Effective and large scale *in vitro* propagation of *Dendrocalamus strictus* (Roxb.) Nees using nodal segments as explants. *World scientific news*, 130(2019), 238-249.

Raju, l. M. R. I., & Roy, S. (2017). Mass propagation of *Bambusa bambos* (L.) Voss through *in vitro* culture. *Journal of biological sciences*, 5, 15. https://doi.org/10.3329/jujbs.v5i2.32514

Rattana, K., Theerakulpisut, P., & Bunnag, S. (2012). The effect of plant growth regulators and organic supplements on callus induction and plant regeneration in rice (*Oryza sativa* L.). *Asian journal of plant sciences*, 11(4), 182-189.

Ray, S., & Ali, M. N. (2016). Factors influencing micropropagation of bamboo species using nodal explants: A review. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*, 7, 2877-2889.

Saini, H., Arya, I., Arya, S., & Sharma, R. (2016). *In vitro* micropropagation of himalayan weeping bamboo, *Drepanostachyum falcatum*. *American journal of plant sciences*, 7, 1317-1324. https://doi.org/10.4236/ajps.2016.79126

Samarina, L., Kolomiets, T., Malyarovskaya, V., Gubaz, S., & Platonova, N. (2016). Effect of glutamine, biotin and ADP on micropropagation and growth of *Chrysanthemum hybridum*, *Gerbera jamesonii* and *Cordyline fruticosa In vitro*. *Plant tissue culture and biotechnology*, 26(1), 97-104.

Sehgal, H., & Joshi, M. (2022). The journey and new breakthroughs of plant growth regulators in tissue culture. In *Advances in plant tissue culture* (pp. 85-108). Elsevier.

Sharma, S., & Vimala, Y. (2010). Adenine sulphate enhanced *in vitro* shoot regeneration in *Centella Asiatic* A (L.) Urban. *The journal of indian botanical society*, 89(1-2), 30-33.

Sharothi, P., Raju, R. I., & Hossain, M. T. (2022). *In vitro* propagation of an Ornamental Bamboo (*Bambusa tuldoides* Munro). *Plant tissue culture and biotechnology*, 32(2), 157-166.

Shiaty, O. H. E.-., Sharabasy, S. E.-., & Kareim, A. H. E.-. (2004). Effect of some amino acids and biotin on callus and proliferation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) Sewy cultivar. *Arab journal of biotechnology*, 7, 265-272.

Sibian, M. S., Saxena, D. C., & Riar, C. S. (2016). Effect of pre and post germination parameters on the chemical characteristics of Bengal gram (*Cicer arietinum*). *Food science and technology*, 65, 783-790. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.012

Singh, N., Kokate, C., & Tipnis, H. (1981). A note on development of callus cultures of *Trigonella foenumgraecum* for diosgenin biproduction. *Indian drugs*, 19(1), 25.

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

Singh, S. R., Dalal, S., Singh, R., Dhawan, A., & Kalia, R. K. (2012b). Seasonal influences on *in vitro* bud break in *Dendrocalamus hamiltonii* Arn. ex Munro nodal explants and effect of culture microenvironment on large scale shoot multiplication and plantlet regeneration. *Indian journal of plant physiology*, 17(1), 9-21.

Singh, S. R., Singh, R., Kalia, S., Dalal, S., Dhawan, A. K., & Kalia, R. K. (2013). Limitations, progress and prospects of application of biotechnological tools in improvement of bamboo-a plant with extraordinary qualities. *Physiology and molecular biology of plants*, 19(1), 21-41. https://doi.org/10.1007/s12298-012-0147-1

Siwach, P., Swati, C., Anita, R., Poonam, D., Jyoti, R., Kavita, S., Hitesh, R., & Deepika, K. (2012). Effects of adenine sulphate, glutamine and casein hydrolysate on *in vitro* shoot multiplication and rooting of Kinnow mandarin (*Citrus reticulata* Blanco). *African journal of biotechnology*, 11, 15852-15862. https://doi.org/10.5897/AJB12.3244

Stakhova, L. N., Stakhov, L. F., & Ladygin, V. G. (2000). Effect of exogenic folic acid on the yield and amino acid composition of the seeds of *Pisum sativum* L. and *Hordeum vulgare* L. *Prikl biokhim mikrobiol*, 36(1), 98-103.

Suekawa, M., Fujikawa, Y., & Esaka, M. (2019). Exogenous proline has favorable effects on growth and browning suppression in rice but not in tobacco. *Plant physiology and biochemistry*, 142, 1-7.

Tanasale, A., & Maninggolang, A. (2022). Effect of coconut water and monosodium glutamate on chrysanthemum explant growth *in vitro*. *European journal of research development and sustainability*, 3(6), 1-5.

Tefera, W., & Wannakrairoj, S. (2006). Synergistic effects of some plant growth regulators on in vitro shoot proliferation of korarima (*Aframomum corrorima* (Braun) Jansen). *African journal of biotechnology*, 5, 1894-1901.

Thom, M., Maretzki, A., Komor, E., & Sakai, W. (1981). Nutrient uptake and accumulation by sugarcane cell cultures in relation to the growth cycle. *Plant cell, Tissue and organ culture*, 1, 3-14.

Uner, E. H., & Durlu, O. F. (2022). Natural monosodium glutamate in geographically indicated cheeses in Turkey. *Aydin gastronomy*, 6(2), 219-226.

Vasanth, K., Muthusamy, A., Prabha, L., & Narayanasamy, J. (2005). *Amino acids enhanced plant regeneration from cotyledon and embryonal axis of peanut (Arachis hypogaeai L.)* 4th International Food Legume Research Conference, New Delhi.

Waikhom, S. D., & Louis, B. (2014). An effective protocol for micropropagation of edible bamboo species (*Bambusa tulda* and *Melocanna baccifera*) through nodal culture. *Scientific world journal*, 2014, 345794. https://doi.org/10.1155/2014/345794

Waldrop, G. L., Holden, H. M., & St Maurice, M. (2012). The enzymes of biotin dependent CO_2 metabolism: what structures reveal about their reaction mechanisms. *Protein Science*, 21(11), 1597-1619. https://doi.org/10.1002/pro.2156

Wang, J., Su, Y., Jia, F., & Jin, H. (2013). Characterization of casein hydrolysates derived from enzymatic hydrolysis. *Chemistry central journal*, 7(1), 62.

https://doi.org/10.1186/1752-153x-7-62

Webb, D. T., & Osborne, R. (1989). Cycads. In Y. P. S. Bajaj (Ed.), *Trees II* (pp. 591-613). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-61535-1_31

Welander, T. (1977). *In vitro* organogenesis in explants from different cultivars of Begonia X Hiemalis. *Physiologia plantarum*, 41(2), 142-145. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1977.tb05546.x

Wetherell, D. F., & Dougall, D. K. (1976). Sources of nitrogen supporting growth and embryogenesis in cultured wild carrot tissue. *Physiologia plantarum*, 37(2), 97-103. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1976.tb03939.x

Win, D. (2008). MSG - Flavor enhancer or Deadly killer. *Assumption university journals*, 12(1), 43-49.

Yamada, Y., Kumpaisal, R., Hashimoto, T., Sugimoto, Y., & Suzuki, A. (1986). Growth and aspartate kinase activity in wheat cell suspension culture: Effects of lysine analogs and aspartate-derived amino acids. *Plant and cell physiology*, 27(4), 607-617. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a077140

Yih, N. C., Saleh, N. M., & Zaman, F. Q. (2010). *In vitro* multiplication of the rare and endangered slipper orchid, *Paphiopedilum rothschildianum* (*Orchidaceae*). *African journal of biotechnology*, 9(14), 2062-2068.

Zeng, S., Wu, K., da Silva, J. A. T., Zhang, J., Chen, Z., Xia, N., & Duan, J. (2012). Asymbiotic seed germination, seedling development and reintroduction of *Paphiopedilum wardii* Sumerh., an endangered terrestrial orchid. *Scientia horticulturae*, 138, 198-209.

Zenk, M. H., el-Shagi, H., & Schulte, U. (1975). Anthraquinone production by cell suspension cultures of *Morinda citrifolia*. *Planta med*, 28, 79-101. https://doi.org/10.1055/s-0028-1104768

Zhang, L., Yang, X., Gao, D., Wang, L., Li, J., Wei, Z., & Shi, Y. (2017). Effects of poly-**γ**-glutamic acid (**γ**-PGA) on plant growth and its distribution in a controlled plant-soil system. *Scientific reports*, 7(1), 6090. https://doi.org/10.1038/s41598-017-06248-2

Ziv, M., Meir, G., & Halevy, A. (1982). Factors influencing the production of hardened glaucous carnation plantlets *in vitro*. *Plant cell, Tissue and organ culture*, 2, 55-

65.

กนกวรรณ ส่งเสริม, เยาวพา จิระเกียรติกุล, & ภาณุมาศ ฤทธิไชย. (2018). การขยายพันธุ์และปริมาณสารทุติยภูมิของยอดไผ่ซางหม่นในสภาพปลอดเชื้อ.

กมลทิพย์ เรารัตน์. (2560). 'ไผ่' ความหลากหลายในวิถีชุมชน. สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (สวพส.). สืบค้นจาก https://www.hrdi.or.th/Articles/Detail/21

จิราพร แสนพรม. (2551). "หัตถกรรมจักสานไม้ไผ่" มหาวิทยาลัยราชภัฏ บ้านสมเด็จเจ้าพระยา].

ทะนุพงศ์ กุสุมา ณ อยุธยา. (2559a). "ธุรกิจขายลำไผ่ อาชีพที่ยังรุ่งโรจน์" แปรรูปสร้างมูลค่าได้ทุกส่วน. สืบค้นจาก https://www.matichon.co.th/news/399305

ทะนุพงศ์ กุสุมา ณ อยุธยา. (2559b). สุดยอดนวัตกรรมจากไผ่ของไทย จัดการอย่างถูกวิธี ใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด. สืบค้นจาก https://www.technologychaoban.com/news-slide/article_3931

ธัญพิสิษฐ์ พวงจิก. (2558a). การศึกษาการเจริญเติบโตและความต้องการน้ำของต้นไผ่ 10 พันธุ์. *Thai science and technology journal*, 23, 22-34.

ธัญพิสิษฐ์ พวงจิก. (2558b). ถ่านกัมมันต์จากไม้ไผ่ : ตลาดยังมีความต้องการสูง? *Thai science and technology journal*, 23, 945-954.

ธัญพิสิษฐ์ พวงจิก, ปภากานต์ พรหมคล้าย, & เยาวพา จิระเกียรติกุล. (2556). การศึกษาการเจริญเติบโตของไผ่บางพันธุ์. *Thai science and technology journal*, 21, 533-542.

พิมลนาฏ สิงหนุกุลกิจ. (2565). การพัฒนาระบบผลิตต้นพันธุ์ไผ่ซางหม่นระดับอุตสาหกรรมโดยการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว มหาวิทยาลัยแม่โจ้]. เชียงใหม่.

สมชัย เบญจชัย. (2550). ไผ่. กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช. สืบค้นจาก www.dnp.go.th/fca16/file/3v5lyr1lqz5py4o.doc.

สมชัย เบญจชัย. (2551). การปลูกไผ่ใช้สอย. กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช. สืบค้นจาก www.dnp.go.th/fca16/file/aro0qb1piz1pun9.doc.

สวทช. (2565). รายงานผลการดำเนินงานของ สวทช. สำนักพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวชวิศารัตน์ กูลพฤกษี
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)
ที่อยู่ปัจจุบัน	145/1 ถ.ขวาง ต.ตลาด อ.เมือง จ.จันทบุรี
ผลงานตีพิมพ์	C. Koolprueksee, S. Sengsai, K. Obsuwan and C. Thepsithar. (2020). Effects of some organic additives on shoot initiation and shoot multiplication of Sangmon ‘Nuan Rajinee’ bamboo (Dendrocalamus sericeus Munro). Acta Hortic. 1298, 315-322 DOI 10.17660/ActaHortic.2020.1298.43

มหาวิทยาลัยศิลปากร