



## ผลของสูตรอาหาร ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D และสภาพการเพาะเลี้ยงต่อการชักนำและเพิ่มปริมาณแคลลัสประในสภาพปลอดเชื้อ

### Effects of Culture Media, Different Concentrations of 2,4-D and Culture Conditions on Callus Induction and Proliferation of Pra (*Elateriospermum tapos* Blume) *In Vitro*

สุภาวดี รามสูตร์<sup>1\*</sup> ปรีดา บุญเวศน์<sup>1</sup> และ วรียา นวลนุช<sup>1</sup>  
Ramasoot, S.<sup>1\*</sup> Bunwest, P.<sup>1</sup> and Nuannut, W.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ต.ท่าม่วง อ.เมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช 80280

<sup>1</sup> Faculty of Science and Technology, Nakhon Si ThammaratRajabhat University, TumbonThayew, Mueang district, Nakhon Si Thammarat Province, 80280

\* Corresponding author: supawadee.rs@gmail.com

Received 3 September 2018; 14 February 2019; Accepted 2 March 2019

#### บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของสูตรอาหาร ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) และสภาพการเพาะเลี้ยง ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสของประ โดยนำเอ็มบริโอลูกประ อายุ 1-2 เดือน มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร 3 สูตรได้แก่ สูตร MS ½MS และ WPM อาหารทุกสูตรเติมน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมง ที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ หรือในที่มืด หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่า เอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ภายใต้การให้แสงและในที่มืด ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 100 และ 93.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ชิ้นส่วนเอ็มบริโอลูกประที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0 2 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาพมีแสง ให้การรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนลูกประที่วางเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพมืด ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในที่มืด สร้างแคลลัสมีขนาดเฉลี่ยสูงสุด 1.35 ± 0.14 เซนติเมตร แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยแคลลัสมีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนใหญ่และมีสีขาว การผ่าครึ่งแคลลัสแล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรด ascorbic ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงในที่มืด ให้ขนาดแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 1.32 ± 0.25 เซนติเมตร

คำสำคัญ: ประ, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, แคลลัส

#### Abstract

The present study was to investigate the effects of culture media different concentrations of 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) and culture conditions on proliferation of Pra (*Elateriospermum tapos* Blume). Embryo at 1-2 months was cultured on MS (Murashige and Skoog, 1962), ½ MS and WPM (Woody Plant Medium) medium. All medium were supplemented with 3% sucrose and 0.75% agar. The cultures were maintained at 25±2°C under light condition for 14-h with photosynthetic photon flux density of 3,000 lux or dark condition. After culturing for 2 months, the cultured embryo on MS medium under light and dark condition gave the highest percentage of survival rate at 100 and 93.33, respectively. Explants of embryo on MS medium supplemented with 0, 2 and 5 mg/L 2,4-D under light condition gave the highest

survival rate at 100%. The embryo cultured on MS medium supplemented with 0, 1, 3 and 5 mg/L 2,4-D under dark condition gave the highest survival rate at 100%. The biggest size of callus were found on MS medium supplemented with 2 mg/L 2,4-D under dark condition at  $1.35 \pm 0.14$  cm. with significantly difference ( $p < 0.05$ ). The characteristics of callus were compact with white color. The callus were cut into two pieces then cultured on MS supplemented with 5 mg/L 2,4-D and 150 mg/L ascorbic acid under dark condition shown the biggest size of callus at  $1.32 \pm 0.25$  cm.

**Keywords:** *Elateriospermum tapos* Blume, Tissue culture, Callus

## บทนำ

ประ (Elateriospermum tapos Blume) เป็นไม้ต้นพื้นเมืองขนาดใหญ่ในวงศ์ EUPHORBIACEAE ขึ้นตามธรรมชาติในเขตป่าดงดิบ หรือตามภูเขาที่มีความชื้นสูง ลำต้นตรงสูงประมาณ 20-40 เมตร เรือนยอดแผ่กิ่งก้านกว้าง เปลือกสีน้ำตาลเข้มมียางใสสีขาวๆที่เปลือก เปลือกหนาประมาณ 1.5-3 เซนติเมตร ใบเดี่ยวรูปใบมน ใบอ่อนออกสีชมพูเป็นมัน ใบแก่สีเหลืองอมเขียวหรือสีน้ำตาลเป็นไม้ที่ผลัดใบตลอดปี ก้านใบยาวประมาณ 6-8 เซนติเมตรหลังใบเรียบเป็นมัน สีเข้มกว่าด้านท้องใบเส้นแขนงใบมีประมาณ 12-14 คู่ ขนาดกว้างประมาณ 4-5.5 เซนติเมตร ยาว 18-20 เซนติเมตร เป็นผลในเดือนเมษายนถึงพฤษภาคม ขนาดประมาณ 4.5 - 6 เซนติเมตร (เต็ม, 2523) ประเทศไทยจะพบได้เฉพาะในบริเวณภาคใต้ โดยพบมากตามแนวเขตเทือกเขาบรรทัด จังหวัดนครศรีธรรมราช เมื่อต้นประแตกยอดอ่อนจะมีสีส้มสวยงาม ลูกประเป็นพืชท้องถิ่นที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจสร้างรายได้ให้แก่ชาวบ้าน ซึ่งเมื่อเมล็ดแก่จัดชาวบ้านจะถางใต้โคนจนโล่งเตียนเพื่อเก็บลูกประที่แตกหล่นลงมาจากต้นนำไปขายและบริโภคในครัวเรือน ส่วนที่นำมาบริโภคได้แก่เมล็ด ซึ่งนำมาประกอบอาหารได้หลายชนิด เช่น ลูกประคองน้ำพริกลูกประ เป็นต้น (วัชร, 2542) ปัจจุบันถึงแม้ลูกประมีราคาแพงมากขึ้น แต่จะพบเฉพาะตามป่าเขา ประกอบกับการให้ผลผลิตตามฤดูกาลเท่านั้น และการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเมล็ดมักเกิดโรคและแมลงมารบกวน ดังนั้นการนำเทคโนโลยีทางชีวภาพเข้ามาช่วยในการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุกรรมจึงเป็นเทคนิคที่น่าสนใจ ซึ่งเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นเทคนิคที่สามารถขยายพันธุ์พืชได้ในปริมาณมากโดยใช้ระยะเวลาอันสั้น อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประ ดังนั้นในการศึกษานี้เป็นการศึกษาผลของสูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโตและสภาพในการเพาะเลี้ยง เพื่อใช้เป็นประโยชน์ในการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุกรรมของประต่อไป

## วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. การเตรียมวัสดุพืช

ในการศึกษารังนี้ใช้เมล็ดลูกประอายุ 1-2 เดือน

จากอำเภอพรหมคีรี ตำบลพรหมโลก จังหวัดนครศรีธรรมราช หลังจากแตกออกจากผลโดยทำการรวบรวมลูกประมายังห้องปฏิบัติการ จากนั้นนำเปลือกหุ้มเมล็ดออกนำเมล็ดไปล้างทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจานจากนั้นล้างด้วยน้ำประปาเป็นเวลา 20 นาที ฟอกฆ่าเชื้อด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยคลอรีนความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (โดยมีสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์เป็นสารออกฤทธิ์) เติมน้ำ Tween 20 ปริมาตร 60 ไมโครลิตร จากนั้นเขย่าตัวอย่างพืชกับสารละลายให้เข้ากันเป็นเวลา 20 นาที แล้วนำเข้าตู้ย่ำเลี้ยง (Figure 1)



**Figure 1** Immature seeds of *Elateriospermum tapos* Blume at 1-2 months (A) and the sterilized immature seeds (B)

### 2. ศึกษาผลของสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการอัตราการรอดชีวิตของเอ็มบริโอลูกประ

นำชิ้นส่วนเอ็มบริโอลูกประที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร คือ อาหารสูตร MS ½ MS และ WPM ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมง ที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ หรือวางเลี้ยงในที่มืด ย้ายเลี้ยงทุกๆ 1 เดือน เป็นเวลา 2 เดือน บันทึกอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนเอ็มบริโอ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน ในแต่ละสูตรอาหาร ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้นส่วน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบ

ความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

### 3. ศึกษาความเข้มข้นของ 2,4-D ต่อการชักนำแคลลัส

นำเอ็มบริโอของลูกประมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เดิม 2,4-D ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมง ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ และในที่มืดย้ายเลี้ยงทุกๆ 1 เดือนเป็นระยะเวลา 2 เดือน บันทึกการเกิดแคลลัส ขนาดแคลลัส หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือนในแต่ละระดับความเข้มข้นการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้นส่วน วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

### 4. ศึกษาความเข้มข้นของ ascorbic acid ต่อการเจริญเติบโตของแคลลัสลูกประมาครั้ง

นำชิ้นส่วนแคลลัสลูกประมาครั้งลงบนอาหารสูตร MS เดิม 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติม ascorbic acid เข้มข้น 0 50 100 150 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงในที่มืด เป็นระยะเวลา 3 เดือน ย้ายชิ้นส่วนแคลลัสลูกประมาครั้งลงบนอาหารสูตร MS เดิม 2,4-D เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติม ascorbic acid เข้มข้น 0 50 100 150 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงในที่มืด เป็นเวลา 3 เดือน

### ผลการทดลองและวิจารณ์

สูตรอาหารเป็นปัจจัยสำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งแต่ละสูตรมีองค์ประกอบของธาตุอาหารที่ต่างกัน จากการศึกษาผลของสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของลูกประมา พบว่าอาหารสูตร MS วางเลี้ยงในที่มืดให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 100 และ 93.33 เปอร์เซ็นต์ (Figure2) และ (Figure3) เนื่องจากสูตรอาหาร MS มีธาตุโพแทสเซียมไนเตรต ( $KNO_3$ ) และโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) ซึ่งมีความจำเป็นในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน ช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์ สามารถรวมกับสารอินทรีย์ได้ดียิ่งขึ้น ช่วยในการควบคุมศักย์ออสโมซิสซึ่งมีผลต่อการแบ่งเซลล์ แมกนีเซียมซัลเฟตทำหน้าที่ช่วยเร่งหรือเพิ่มฤทธิ์ของ เอนไซม์ และทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ สำหรับเอนไซม์ที่มีบทบาทในการถ่ายโอนฟอสเฟส มีส่วนในการสังเคราะห์โปรตีน และการจัดแบ่งส่วนคาร์โบไฮเดรตจากแหล่งที่สร้างและส่วนที่รับ ทำให้มีการสะสมแป้งและน้ำตาลในตำแหน่งที่เหมาะสม แมกนีเซียมในแควคิวโอลจะเป็นไอออนบวก ที่ทำหน้าที่ประกบคู่กับไอออนลบของกรดอินทรีย์

และอนินทรีย์ จึงทำให้เกิดสมดุลระหว่างไอออน (มุกดา, 2544) ในขณะที่รายงานของธิดารัตน์ และคณะ (2558) รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำจากคัพพะอ่อนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสร้างเอ็มบริโอเจเนติกแคลลัส พบว่า สูตรอาหาร MS ที่วางเลี้ยงในที่มืด ให้เปอร์เซ็นต์การสร้างเอ็มบริโอเจเนติกแคลลัสสูงสุด และสามารถเพิ่มจำนวนได้ดีกว่าสูตรอาหาร OPMC และ WPM

จากการศึกษาผลของ 2,4-D และสภาวะการเพาะเลี้ยงต่อการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอลูกประมา พบว่า อาหารสูตร MS เดิม 2,4-D เข้มข้น 0 2 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ (Figure 4) เมื่อพิจารณาถึงการชักนำแคลลัส พบว่า 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงในที่มืด ให้ขนาดแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด  $1.35 \pm 0.14$  เซนติเมตร แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับระดับความเข้มข้นอื่นๆ (Table1) โดยแคลลัสมีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนขนาดใหญ่ มีสีขาว (Figure 5) 2,4-D จัดเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่เหมาะสมที่สุดต่อการชักนำให้เนื้อเยื่อพืชในวงศ์ Euphorbiaceae เจริญเป็นแคลลัส แต่ความเข้มข้นที่ใช้จะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชิ้นส่วน และชนิดของพืช (Sofiani et al., 1997) สอดคล้องกับ Ferreira และคณะ (1989) ในการเพาะเลี้ยงลำต้นของ *Euphorbia characias* บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ 2,4-D ระดับความเข้มข้น 0.0 – 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส แต่ขัดแย้งกับรายงานวิจัยของดุนพงค์ และคณะ (2557) พบว่า เมล็ดอ่อนยางพาราพันธุ์ RRIM 600 เกิดแคลลัสได้ดีในสภาพไม่มีแสงที่ 2,4-D เข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ในส่วนของการวางเลี้ยงในที่มืดสามารถชักนำเอ็มบริโอเจเนติกแคลลัสได้ดีกว่าในที่ที่มีแสง เนื่องจากการวางเลี้ยงในที่มืดพืชได้รับคาร์โบไฮเดรตจากน้ำตาลที่เติมลงไปในการเพาะเลี้ยงแล้วโดยในธรรมชาติพืชจะใช้พลังงานแสงเปลี่ยนเป็นพลังงานเคมีมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในการสร้างอาหารจากโมเลกุลของคาร์บอนไดออกไซด์ไปเป็นคาร์โบไฮเดรตซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโต แต่ในทางกลับกันในกระบวนการสร้างเอ็มบริโอเจเนติกแคลลัสแสงไม่มีความจำเป็นกับการพัฒนาของพืชในระยะนี้ เพราะพืชอาจไม่จำเป็นต้องใช้แสงในการสังเคราะห์น้ำตาล ส่งผลให้การสร้างเอ็มบริโอเจเนติกแคลลัสเป็นไปได้ดีกว่าในที่มืด (ธิดารัตน์ และคณะ, 2558)

สำหรับการศึกษาความเข้มข้นของ ascorbic acid ต่อการเจริญเติบโตของแคลลัสลูกประมาครั้ง พบว่าแคลลัสที่วางเลี้ยงในที่มืด เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เดิม 2,4-D เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ascorbic acid เข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด  $1.32 \pm 0.25$  เซนติเมตร ไม่แตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (Table2) โดย

แคลลัสมีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนใหญ่ มีสีขาว (Figure6) ขัดแย้งกับรายงานวิจัยของอภิขญา และคณะ (2559) พบว่ากรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตรให้การเกิดโซมาติกเอ็มบริโอ 32 เปอร์เซ็นต์ และให้จำนวนโซมาติกเอ็มบริโอ 1.76 เอ็มบริโอต่อหลอด และการทดลองของ Te-chato (1998) ที่รายงานว่าการใช้กรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถส่งเสริมให้เกิด SE ได้ดีกว่า

ความเข้มข้นอื่นๆ เนื่องจากกรดแอสคอร์บิกเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ที่สามารถยับยั้งการสร้างสารประกอบพินอล และยังช่วยส่งเสริมให้เกิดเป็นต้นอ่อนระยะเริ่มแรกอีกด้วย Wolucka และคณะ (2005) รายงานว่ากรดแอสคอร์บิก มีบทบาทในกระบวนการทางสรีรวิทยา เช่น การแบ่งเซลล์ และการเจริญเติบโตของพืช เป็นต้น

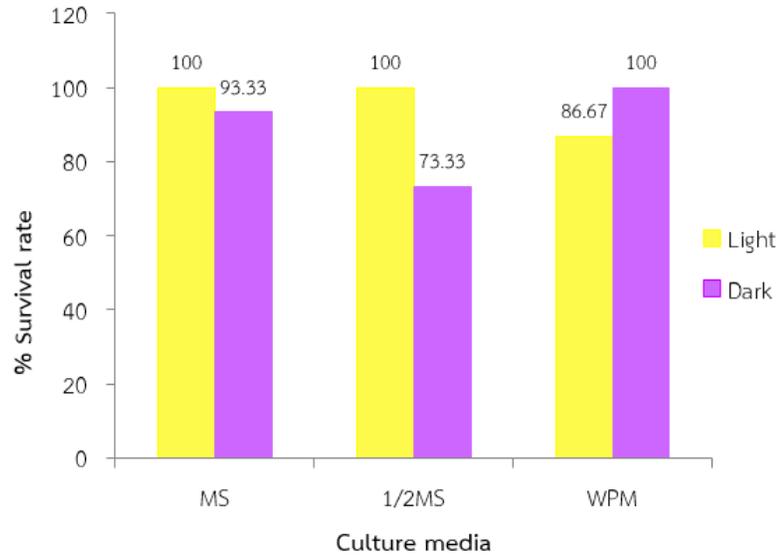


Figure 2 Survival rate of shoot induction of *Elateriospermum tapos* Blume cultured on MS, 1/2 MS and WPM under light and dark condition after culturing for 1 month

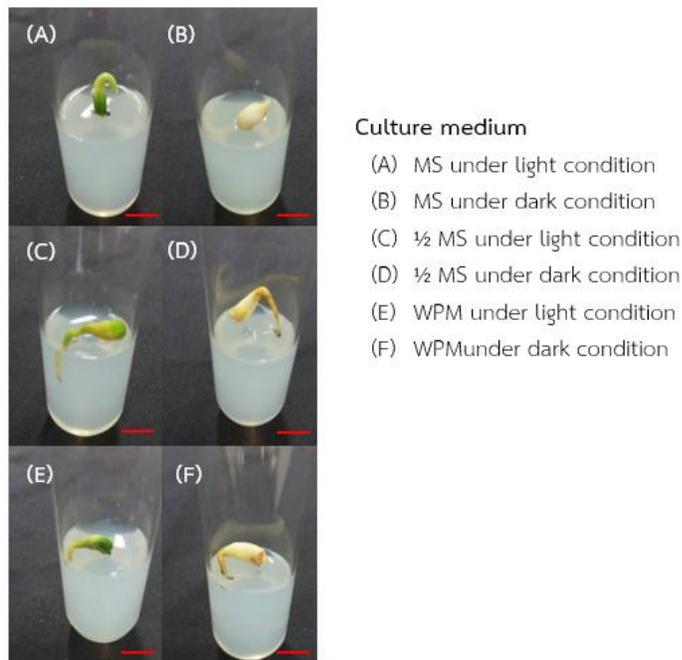
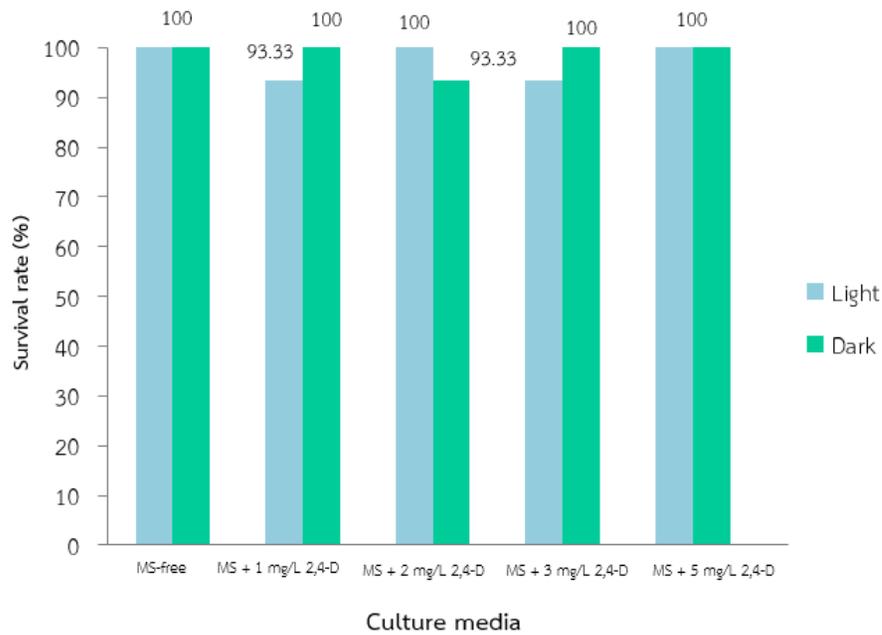


Figure 3 Characteristic of *Elateriospermum tapos* Blume embryogenesis cultured on MS, 1/2 MS and WPM under light and dark conditions after cultured for 3 months (bar = 0.5 cm.)

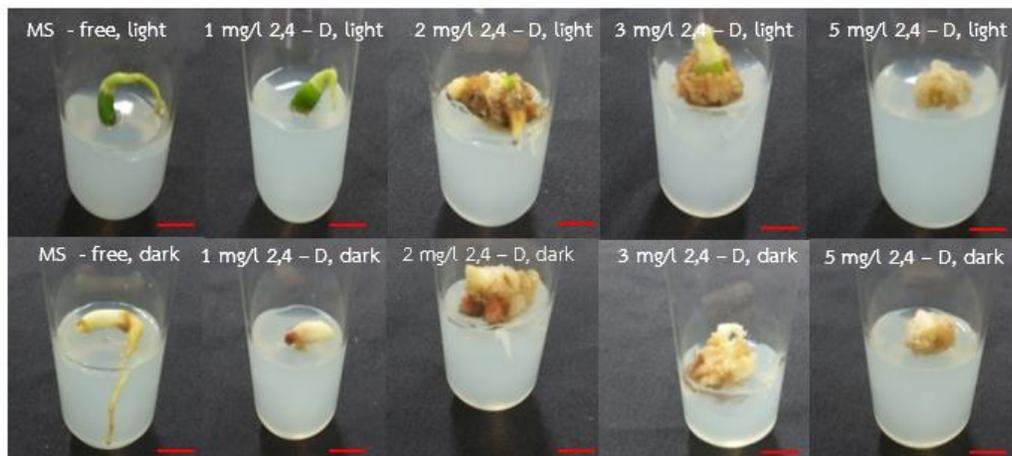


**Figure 4** Effect of various concentrations of 2,4 -D on survival rate of *Elateriospermum tapos* Blume callus under light and dark after culturing for 1 month

**Table1** Effect of various concentrations of 2,4 -D on callus induction of *Elateriospermum tapos* Blume and culture conditions after culturing for 3 months

Concentrations of 2,4 -D (mg/L)	Size of callus (cm.)	
	Light condition	Dark condition
0	0.17 ± 0.29	0
1	0.78 ± 0.18	0.76 ± 0.66
2	1.25 ± 0.04	1.35 ± 0.14
3	1.30 ± 0.19	1.34 ± 0.44
5	1.14 ± 0.15	1.15 ± 0.09
F-test	*	*
C.V. (%)	20.29	39.21

\* significantly difference at P ≤ 0.05

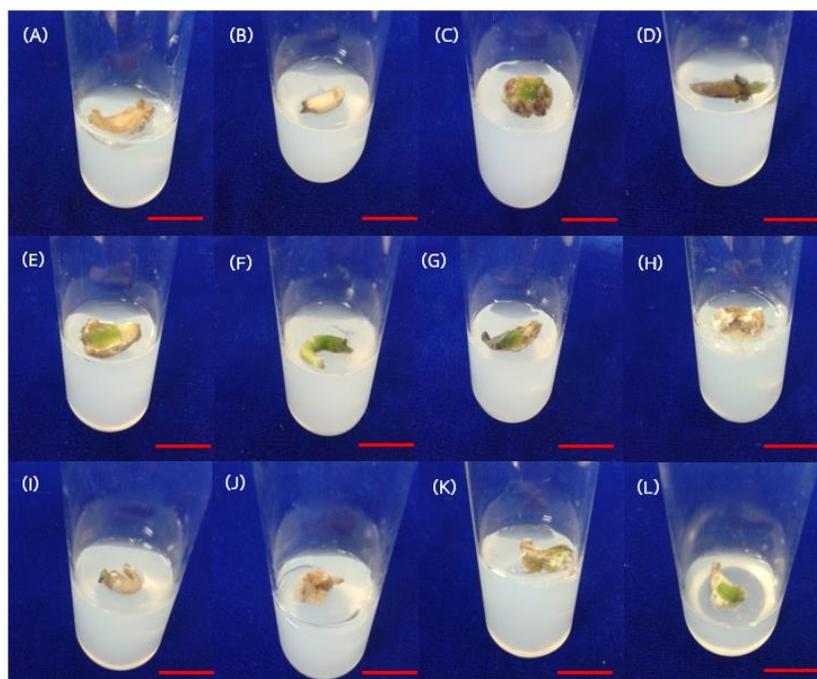


**Figure 5** Characteristic of callus induction derived from *Elateriospermum tapos* Blume on MS supplemented with various concentrations of 2,4-D after culturing for 3 months (bar = 0.5 cm.)

**Table 2** Effect of various concentrations of ascorbic acid and culture conditions on size of callus from half-mature embryo of *Elateriospermum tapos* after culturing for 3 months

Concentrations of ascorbic acid (mg/l)	Light condition	Dark condition
0	1.18 ± 0.29	1.00 ± 0.26
50	0.95 ± 0.13	1.28 ± 0.13
100	1.20 ± 0.19	1.21 ± 0.10
150	0.87 ± 0.29	1.32 ± 0.25
200	0.99 ± 0.41	1.23 ± 0.40
300	1.15 ± 0.13	1.05 ± 0.49
F-test	ns	ns
C.V. (%)	23.27	25.78

ns; not significantly difference at  $P \leq 0.05$



**Figure 6** Characteristic of half callus *Elateriospermum tapos* Blume on MS supplemented with 2 and 5 mg/l 2,4-D and various concentrations of Ascorbic acid under light and dark condition after culturing for 3 months (bar = 1 cm.)

- (A) MS + 2 mg/l 2,4 – D supplemented with ascorbic acid 0 mg/l under light condition
- (B) MS + 2 mg/l 2,4 – D supplemented with ascorbic acid 50 mg/l under light condition
- (C) MS + 2 mg/l 2,4 – D supplemented with ascorbic acid 100 mg/l under light condition
- (D) MS + 2 mg/l 2,4 – D supplemented with ascorbic acid 150 mg/l under light condition
- (E) MS + 2 mg/l 2,4 – D supplemented with ascorbic acid 200 mg/l under light condition
- (F) MS + 2 mg/l 2,4 – D supplemented with ascorbic acid 300 mg/l under light condition
- (G) MS + 5 mg/l 2,4 – D supplemented with ascorbic acid 0 mg/l under dark condition
- (H) MS + 5 mg/l 2,4 – D supplemented with ascorbic acid 50 mg/l under dark condition
- (I) MS + 5 mg/l 2,4 – D supplemented with ascorbic acid 100 mg/l under dark condition
- (J) MS + 5 mg/l 2,4 – D supplemented with Ascorbic acid 150 mg/l under dark condition
- (K) MS + 5 mg/l 2,4 – D supplemented with Ascorbic acid 200 mg/l under dark condition
- (L) MS + 5 mg/l 2,4 – D supplemented with Ascorbic acid 300 mg/l under dark condition

## สรุป

การนำเอ็มบริโอของประวงเลี้ยงในสภาพที่มีแสงและที่มืดให้การรอดชีวิตของชิ้นส่วนสูงสุด 100 และ 93.33 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาผลของระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสของลูกประพบว่าชิ้นส่วนแคลลัสลูกประที่เพาะเลี้ยงในที่สว่างเติม 2,4-D เข้มข้น 0.2 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนลูกประที่วางเลี้ยงในที่มืดเติม 2,4-D เข้มข้น 0.1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การรอดชีวิตสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ และแคลลัสที่วางเลี้ยงบนอาหารเติม 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพมืดมีขนาดแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด  $1.35 \pm 0.14$  เซนติเมตร โดยแคลลัสมีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนใหญ่ มีสีขาวเนื่องจากวางเลี้ยงในที่มืดไม่ได้รับแสง และการศึกษาความเข้มข้นของ ascorbic acid ต่อการเจริญเติบโตของแคลลัสลูกประผ่าครึ่ง พบว่าชิ้นส่วนแคลลัสลูกประผ่าครึ่งที่วางเลี้ยงในที่มืดเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ascorbic acid เข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด  $1.32 \pm 0.25$  เซนติเมตร จากการศึกษาครั้งนี้ควรมีเพิ่มการศึกษาเกี่ยวกับการชักนำให้เกิดยอดหรือการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ของประ ทั้งนี้เพื่อการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุ์ต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

## เอกสารอ้างอิง

- คณุงค์ สุนนา นิระ, และสุภัทร์ อิศรางกูร ณ อยุธยา. 2557. ผลของ 2,4-D ต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆ ของยางพาราในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารแก่นเกษตร 42: 391-396.
- เต็ม สมิตินันท์. 2523. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ: ฟินนี่พับลิชชิง.
- จิตรรัตน์ ทองแผ่, ทศนี ขาวเนียม และสมปอง เตชะโต. 2558. ผลของสูตรอาหารและสภาพวางเลี้ยงต่อการชักนำเอ็มบริโอเจเนติกแคลลัสจากคัพภะอ่อนของปาล์มน้ำมัน พิลิเฟอรา (*Elaeis guineensis* Jacq. var. *Pisifera*) ว. พืชศาสตร์สงขลานครินทร์. 2: 41-45.
- ภพแก้ว พุทธิรักษ์, วารุด อยู่คง, รัฐพร จันทร์เดช, พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์ และมณฑล สงวนเสริมศรี. 2556. การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดของข้าวหอมมะลิ 105

และข้าวเหนียว กข 6. ว. นเรศวรพะเยา. 6: 100-105.

- มุกดา สุขสวัสดิ์. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน. 2544. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์. ศูนย์พัฒนานิคมสร้างตนเองภาคใต้. 2534. ผลผลิตปาล์มน้ำมันสมาชิคนิคมสตูล. สตูล: ศูนย์พัฒนานิคมสร้างตนเองภาคใต้
- วัชรวิ ประชาศรัยสรเดช. 2542. การสำรวจไม้หอมในประเทศไทย. ว. วิชาการเกษตร. 17: 254-262.
- อภิญา นุกุลรัตน์, สุริรัตน์ เย็นช้อน และสมปอง เตชะโต. 2559. ผลของกรดแอสคอร์บิก ออกซิน และน้ำตาลต่อการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ว. พืชศาสตร์สงขลานครินทร์. 3: 1-7.
- Ferrcirra, M. F., Novais, J. M. and Pais, M. S. S. 1989. Calli and suspension cultures for biomass production of *Euphorbia characias* L. subsp. *Characias*. Biotech. Lett. 11: 259-264.
- Sofiari, E. Racmakers, C.J.J.M., Kanju, E., Denso, K., Lammeren, A.M.V., Jacobsen, E. and Visser, R.G.F. 1997. Comparison of NAA and 2,4-D induced somatic embryogenesis in cassava. Plant Cell Tiss. Org. Cult 50: 45-56.
- Te-chato, S. 1998. Fertile plant from young leaves-derived somatic embryo of oil palm. Songklanakarin Journal of Science and Technology 20: 7-13.
- Wolucka, B.A., Goossens, A. and Inze, D. 2005. Methyl jasmonate stimulates the de novo biosynthesis of vitamin C in plant cell suspensions. Journal of Experimental Botany 56: 2527-2538.