

บทความวิจัย

การเพาะเลี้ยงแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ (*Hopea thorelii* Pierre) พืชที่มีความเสี่ยงขั้นวิกฤติต่อการสูญพันธุ์

กฤษฎา บุราไกร¹ ภาณุพงศ์ กาสา¹ กิตติญา ขวัญเมือง² สิริยาภรณ์ อ่อนโยน²
ชาญณรงค์ ธนนาทณะชน² สุทธนา ปลอดสมบูรณ์¹ และ อรัญญา พิมพ์มงคล^{1*}

¹สาขาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

²สวนสัตว์อุบลราชธานี

*E-mail: arunya.p@ubu.ac.th

รับบทความ: 14 กันยายน 2564 แก้ไขบทความ: 23 พฤศจิกายน 2564 ยอมรับตีพิมพ์: 27 พฤศจิกายน 2564

บทคัดย่อ

ตะเคียนใบใหญ่ (*Hopea thorelii* Pierre) เป็นไม้ต้นในวงศ์ Dipterocarpaceae ปัจจุบันพบเขตการกระจายพันธุ์แคบ และจัดเป็นพืชที่มีความเสี่ยงขั้นวิกฤติต่อการสูญพันธุ์ตามธรรมชาติ โดยทั่วไปการขยายพันธุ์ได้จากการเพาะเมล็ดมีข้อจำกัดในด้านผลผลิตที่ต่ำ เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นทางเลือกที่สำคัญในการเพิ่มจำนวนพืชให้ได้ปริมาณมาก ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของ N6-benzyladenine (BA), naphthaleneacetic acid (NAA) และ indole-3-butyric acid (IBA) ต่อการเจริญเติบโตของแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ในหลอดทดลอง โดยนำส่วนแกนเอ็มบริโอจากผลอายุ 3 เดือน ที่เก็บจากสวนสัตว์อุบลราชธานี มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม BA 0 1 2 4 6 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA หรือ NAA 0 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้มีจำนวนยอดของแกนเอ็มบริโอมากที่สุดคือ 1.40 และ 1.20 ยอด ตามลำดับ ผลการวิจัยครั้งนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่อาจเป็นประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตะเคียนใบใหญ่ในอนาคตได้

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ตะเคียนใบใหญ่ การเพาะเลี้ยงแกนเอ็มบริโอ

อ้างอิงบทความนี้

กฤษฎา บุราไกร, ภาณุพงศ์ กาสา, กิตติญา ขวัญเมือง, สิริยาภรณ์ อ่อนโยน, ชาญณรงค์ ธนนาทณะชน, สุทธนา ปลอดสมบูรณ์ และอรัญญา พิมพ์มงคล. (2565). การเพาะเลี้ยงแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ (*Hopea thorelii* Pierre) พืชที่มีความเสี่ยงขั้นวิกฤติต่อการสูญพันธุ์. วารสารวิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ศึกษา, 5(1), 49-57.

<http://doi.org/10.14456/jsse.2022.5>

Research Article

Embryo Axis Culture of *Hopea thorelii* Pierre, a Critically Endangered Species

Kritsada Burakri¹, Phanupong Kasa¹, Kittiya Khwanmueang², Siriyaporn Onyone²,
Channarong Thananattathanachon², Sutthana Plodsomboon¹ and Aranya Pimmongkol^{1*}

¹ Major in Biology, Department of Biological Science, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University

²Ubon Ratchathani Zoo

*E-mail: arunya.p@ubu.ac.th

Received <14 September 2021>; Revised <23 November 2021>; Accepted <27 November 2021>

Abstract

Hopea thorelii Pierre is a tree plant in the family Dipterocarpaceae. It is narrow distribution and is classified as a critically endangered species. It is usually propagated from seeds; however, this method is limited by low productivity. Plant tissue culture is an important technique to provide rapid plant propagation. Hence, this research aimed to study the effects of N6-benzyladenine (BA), naphthaleneacetic acid (NAA), and indole-3-butyric acid (IBA) on the growth of the embryo axis of *Hopea thorelii* Pierre *in vitro*. Embryo axis of three-month-old fruits collected from Ubon Ratchathani Zoo were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium containing combinations of 0, 1, 2, 4, 6, and 8 mg/l BA with 0, 0.1, and 1 mg/l IBA or NAA for 8 weeks. The results showed that MS medium supplemented with 4 mg/l BA + 0.1 mg/l IBA and 1 mg/l BA led to the highest number of shoots (1.4 and 1.2 shoots/embryo, respectively). These results are essential information that might be useful for the subsequent research of *H. thorelii* Pierre tissue culture.

Keywords: Plant Tissue Culture, *Hopea thorelii* Pierre, Embryo Axis Culture

Cite this article:

Burakri, K., Kasa, P., Khwanmueang, K., Onyone, S., Thananattathanachon, C., Plodsomboon, S. and Pimmongkol, A. (2022). Embryo Axis Culture of *Hopea thorelii* Pierre, a Critically Endangered Species (in Thai). **Journal of Science and Science Education**, 5(1), 49-57. <http://doi.org/10.14456/jsse.2022.5>

บทนำ

พรรณไม้วงศ์ยาง เป็นพืชวงศ์ใหญ่ของโลกประมาณ 500 ชนิด จาก 700 ชนิดทั่วโลก เป็นพรรณไม้เอกลักษณ์ของภูมิภาคเอเชียเนื่องจากมีมากที่สุดในเอเชีย ไม้วงศ์ยางเป็นไม้ต้น บางชนิดมีขนาดเล็กบางชนิดมีขนาดใหญ่สูงถึง 60 เมตร ผลัดใบหรือไม่ผลัดใบ เนื้อไม้มียางใสเหนียวหรือชั้น (resin) ที่มีกลิ่นหอมฉุนเฉพาะ (Bupbanphot et al., 2013) ไม้วงศ์ยางตามธรรมชาติจะเจริญเติบโตในที่ร่มเงาและเติบโตภายใต้ความชื้นแสงต่ำ ไม่สามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงอย่างกะทันหันของสิ่งแวดล้อม ในการเพาะต้นกล้าจึงควรเพาะภายใต้ร่มเงาหรือในเรือนเพาะชำ ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงพันธุ์ไม้วงศ์ยางบางชนิดยังเป็นเรื่องที่ยากและมีความจำเพาะแตกต่างกันออกไปในแต่ละชนิด (Sasaki, 2006) ประเทศไทยพบไม้วงศ์ยางประมาณ 63 ชนิด และ 2 ชนิดย่อยใน 8 สกุล หนึ่งในนั้นคือพืชสกุลตะเคียน (*Hopea*) ไม้สกุลนี้มีมากกว่า 100 ชนิด กระจายพันธุ์จากประเทศศรีลังกา อินเดีย บังกลาเทศ พม่า จีนตอนใต้ทางมณฑลไห่หนาน อินโดจีน มาเลเซีย และไทย *Hopea* จัดอยู่ภายใต้เผ่า Shoreae ซึ่งในเผ่านี้ นอกจากสกุล *Hopea* ยังมีสกุล *Dryobalanops*, *Neobalanocarpus*, *Parashorea* และ *Shorea* ประเทศไทยพบไม้สกุลตะเคียน 18 ชนิด (Poopath et al., 2017)

ตะเคียนใบใหญ่ (*Hopea thorelii* Pierre) เป็นไม้ต้น สูง 10–15 เมตร พบเขตการกระจายพันธุ์ที่ ลาว กัมพูชา และไทย (Department of National Parks, 2016) ซึ่งกระจายพันธุ์ในป่าดิบแล้งและลานหินทรายทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่จังหวัดอุบลราชธานีและอำนาจเจริญ ที่ระดับความสูง 150–200 เมตร จากระดับน้ำทะเล (Department of National Parks, 2013) ตะเคียนใบใหญ่จัดเป็นชนิดพันธุ์พืชที่ถูกคุกคามระดับความเสี่ยงขั้นวิกฤตต่อการสูญพันธุ์ (critically endangered species) จากที่อาศัยตามธรรมชาติ (Newman and Pooma, 2017) และมีการกระจายพันธุ์แคบอาจเนื่องมาจากลักษณะทางสัณฐานของผลที่ไม่มีการพัฒนาของกลีบเลี้ยงไปเป็นปีก (samaroid) ซึ่งแตกต่างจากพืชชนิดอื่นที่อยู่ในวงศ์เดียวกัน ส่งผลต่อข้อจำกัดการแพร่กระจายพันธุ์ในธรรมชาติ (Department of National Parks, 2013)

ปัจจุบันเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีประโยชน์ต่อการผลิตพืชอย่างมาก ไม่ว่าจะเป็นในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช การผลิตพืชที่ปราศจากโรค และการรักษาพันธุ์พืช การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชยังมีบทบาทที่สำคัญอย่างมากต่อการเพิ่มจำนวนพืชปริมาณมากในระยะเวลาสั้น และได้ต้นพืชที่สมบูรณ์แข็งแรง (Phutalun, 2008; Kuamanee, 1995) อย่างไรก็ตามความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต้องอาศัยปัจจัยหลายอย่าง เช่น ปัจจัยสิ่งแวดล้อมภายนอก ชนิดและความเข้มข้นของธาตุอาหาร สารประกอบอินทรีย์ในอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช รวมถึงปัจจัยที่มาจากพืชเอง เช่น ชนิดของพืช อายุของพืช รวมไปถึงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง (Kuamanee, 1995; Bunnag, 2013; Kaweeta, 1998) งานวิจัยด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้วงศ์ยางที่มีการรายงานแล้ว เช่น การเพาะเลี้ยงแกนเอ็มบริโอของจันทน์กะพ้อ (*Vatica diospyroides* Symington) (Srisawad, 2007) ยางนา (*Dipterocarpus alatus*) และยางกราด (*D. intricatus*) (Linnington, 1991) พะยอม (*Shorea roxburghii* G. Don) (Scott et al., 1988; Nakamura, 2006) และยังมีการเพาะเลี้ยงโดยใช้ชิ้นอื่น เช่น การเพาะเลี้ยงส่วนตาข้างตะเคียนทอง (*H. odorata* Robx.) (Scott et al., 1995) ทั้งนี้ยังไม่พบรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของตะเคียนใบใหญ่ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาอิทธิพลของฮอร์โมนพืชชนิดออกซินและไซโทไคนินต่อการเจริญของแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาอิทธิพลของ BA ร่วมกับ IBA หรือ NAA ต่อการเจริญเติบโตของแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่

วิธีดำเนินการวิจัย

พืชทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือผลของตะเคียนใบใหญ่ (*H. thorelii* Pierre) อายุ 3 เดือน เก็บจากสวนสัตว์อุบลราชธานี ตำบลแจระแม อำเภอเมืองอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี (ภาพที่ 1)

การฟอกฆ่าเชื้อผลตะเคียนใบใหญ่

ล้างทำความสะอาดผลตะเคียนใบใหญ่ด้วยน้ำยาล้างจาน 1% แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดหรือน้ำไหล ฆ่าเชื้อด้วย 95% ethyl alcohol เป็นเวลา 1 นาที และ 20% Clorox 20 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกรองที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 3 ครั้ง



ภาพที่ 1 ตัวอย่างพืชทดลองผลตะเคียนใบใหญ่ (*Hopea therelli* Pierre)

อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่

การศึกษาอิทธิพลของ BA ร่วมกับ IBA หรือ NAA ต่อการเจริญเติบโตของแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ โดยนำส่วนแกนเอ็มบริโอจากผลตะเคียนใบใหญ่ที่ผ่าเชื้อแล้ว มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 1 2 4 6 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 0 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ทุกสูตรอาหารเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 7 กรัมต่อลิตร และปรับ pH อยู่ในช่วง 5.6-5.8 ด้วย 1N HCl หรือ 1N NaOH หนึ่งฆ่าเชื้ออาหารที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที โดยเพาะเลี้ยง 2 ชิ้นตัวอย่างต่อขวด ทำซ้ำจำนวน 5 ซ้ำต่อหนึ่งสูตรอาหาร

สภาวะการเพาะเลี้ยง การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส และให้แสงสว่างที่มีความเข้มแสงประมาณ 42 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที 16 ชั่วโมงต่อวัน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) บันทึกผลการเจริญเติบโต จำนวนยอด ความสูงยอด จำนวนใบ ความยาวใบ ความกว้างใบ จำนวนราก และความยาวราก นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way-ANOVA) (ตารางที่ 1) และวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (two-way-ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างข้อมูลด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

ผลการศึกษา

อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด BA ร่วมกับ IBA หรือ NAA ต่อแกนเอ็มบริโอของตะเคียนใบใหญ่ การเพาะเลี้ยงแกนเอ็มบริโอจากผลตะเคียนใบใหญ่ อายุ 3 เดือน บนสูตรอาหาร MS และสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโตไคนิน คือ 6-benzyladenine (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 1 2 4 6 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซิน ได้แก่ indole-butyric acid (IBA) หรือ naphthaleneacetic acid (NAA) ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way-ANOVA) (ตารางที่ 1) พบว่าทุกสูตรอาหารส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ คือ จำนวนยอดเฉลี่ยต่อเอ็มบริโอ ความสูงยอด จำนวนใบต่อยอด ความยาวใบ ความกว้างใบ และความยาวราก แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นจำนวนรากไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และการวิเคราะห์ผลวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (two-way-ANOVA) พบว่าสูตรอาหารที่เติม BA ร่วมกับ IBA หรือ NAA มีอิทธิพลร่วมกันต่อการเจริญเติบโตของแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ ส่วนของ จำนวนยอด จำนวนใบ และความยาวราก

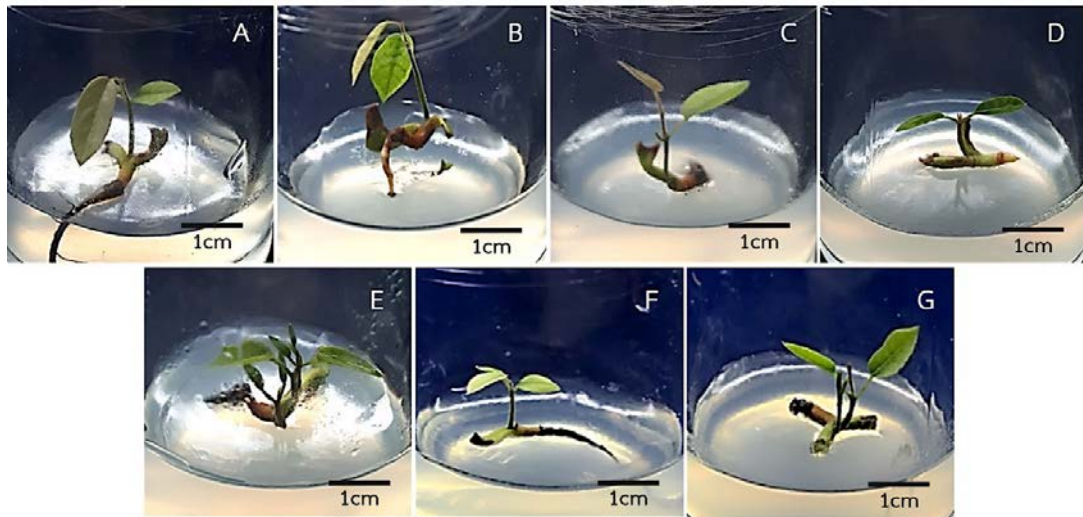
ตารางที่ 1 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด BA ร่วมกับ IBA หรือ NAA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อแกนเอ็มบริโอของตะเคียนใบใหญ่

คู่ที่	Treatments (มิลลิกรัมต่อลิตร)			จำนวนยอด/ เอ็มบริโอ	ความสูงยอด (เซนติเมตร)	จำนวนใบ/ ยอด	ความยาวใบ (เซนติเมตร)	ความกว้าง ใบ (เซนติเมตร)	จำนวน ราก/ เอ็มบริโอ	ความยาว ราก (เซนติเมตร)
	BA	IBA	NAA							
1	0	0	0	0.80±0.20 ^{bcd}	1.10±0.06 ^a	2.00±0.55 ^b	0.95±0.10 ^{ab}	0.47±0.05 ^a	1.00±0.00	4.00±0.56 ^a
2	0	0.1	-	1.00±0.00 ^{abc}	0.94±0.13 ^{ab}	2.00±0.58 ^b	0.94±0.10 ^{ab}	0.48±0.05 ^a	1.00±0.00	3.00±0.31 ^b
3	0	1	-	1.00±0.00 ^{abc}	0.98±0.19 ^{ab}	1.20±0.20 ^{bc}	1.05±0.14 ^a	0.47±0.08 ^a	1.00±0.00	1.10±0.17 ^c
4	0	-	0.1	0.00±0.00 ^e	-	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.50±0.25 ^c
5	0	-	1	1.00±0.00 ^{abc}	0.26±0.08 ^d	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.72±0.25 ^c
6	1	-	-	1.00±0.00 ^{abc}	0.70±0.12 ^{bc}	1.50±0.50 ^{bc}	0.95±0.17 ^{ab}	0.40±0.11 ^{ab}	1.00±0.00	0.66±0.20 ^c
7	1	0.1	-	1.00±0.00 ^{abc}	1.04±0.11 ^{ab}	2.00±0.45 ^b	0.78±0.11 ^{abc}	0.36±0.06 ^{ab}	1.00±0.00	3.60±0.32 ^{ab}
8	1	1	-	1.20±0.20 ^{ab}	0.88±0.13 ^{ab}	1.20±0.20 ^{bc}	0.70±0.08 ^{abc}	0.37±0.05 ^{ab}	1.00±0.00	0.62±0.15 ^c
9	1	-	0.1	1.00±0.32 ^{abc}	1.08±0.25 ^a	1.50±0.49 ^{bc}	0.62±0.07 ^{bc}	0.28±0.01 ^{abc}	1.00±0.00	0.93±0.45 ^c
10	1	-	1	0.40±0.24 ^{de}	-	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	1.04±0.18 ^c
11	2	-	-	0.60±0.24 ^{cd}	0.30±0.10 ^d	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.72±0.18 ^c
12	2	0.1	-	0.80±0.20 ^{bcd}	0.30±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	1.02±0.14 ^c
13	2	1	-	0.80±0.20 ^{abc}	0.30±0.00 ^{cd}	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.72±0.14 ^c
14	2	-	0.1	0.40±0.24 ^{de}	-	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.96±0.31 ^c
15	2	-	1	0.00±0.00 ^e	-	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.98±0.37 ^c
16	4	-	-	1.00±0.00 ^{abc}	0.44±0.10 ^{cd}	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.54±0.14 ^c
17	4	0.1	-	1.40±0.40 ^a	0.52±0.08 ^{cd}	4.33±0.88 ^a	0.75±0.10 ^{abc}	0.37±0.03 ^{ab}	1.00±0.00	0.68±0.12 ^c
18	4	1	-	1.00±0.00 ^{abc}	0.48±0.11 ^{cd}	0.80±0.37 ^{cd}	0.43±0.15 ^c	0.26±0.12 ^{bc}	1.00±0.00	0.50±0.13 ^c
19	4	-	0.1	0.00±0.00 ^e	-	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.94±0.13 ^c
20	4	-	1	0.00±0.00 ^e	-	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.48±0.15 ^c
21	6	-	-	1.00±0.00 ^{abc}	0.50±0.14 ^{cd}	0.50±0.28 ^d	-	-	1.00±0.00	0.90±0.12 ^c
22	6	0.1	-	1.00±0.00 ^{abc}	0.44±0.12 ^{cd}	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.76±0.16 ^c
23	6	1	-	1.00±0.00 ^{abc}	0.42±0.06 ^{cd}	1.75±0.62 ^b	0.43±0.07 ^c	0.20±0.03 ^c	1.00±0.00	0.30±0.08 ^c
24	6	-	0.1	0.00±0.00 ^e	-	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.82±0.20 ^c
25	6	-	1	0.00±0.00 ^e	-	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.30±0.10 ^c
26	8	-	-	0.80±0.20 ^{bcd}	0.30±0.04 ^d	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.74±0.15 ^c
27	8	0.1	-	1.00±0.00 ^{abc}	0.38±0.04 ^{cd}	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.58±0.12 ^c
28	8	1	-	0.40±0.24 ^{de}	-	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.30±0.05 ^c
29	8	-	0.1	0.00±0.00 ^e	-	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.84±0.15 ^c
30	8	-	1	0.80±0.20 ^{bcd}	0.25±0.09 ^d	0.00±0.00 ^d	-	-	1.00±0.00	0.30±0.11 ^c
F-test				*	*	*	*	*	ns	*

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ - = ไม่สามารถวัดได้

ผลการศึกษาน้ำยอดต่อเอ็มบริโอ พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 4 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลต่อแกนเอ็มบริโอให้พัฒนาเป็นยอดเฉลี่ย 1 ยอดต่อเอ็มบริโอ (ภาพที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0 2 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อเอ็มบริโอไม่น้อยกว่า 1 ยอด การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มออกซิน คือ IBA และ NAA พบว่าสูตรอาหารที่เติม IBA ส่งผลต่อแกนเอ็มบริโอให้พัฒนาเป็นยอดเฉลี่ยต่อเอ็มบริโอ 1 ยอด ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับสูตรอาหารที่เติม NAA โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่อเอ็มบริโอเท่ากับ 0 อย่างไรก็ตาม สำหรับสูตรอาหารที่ให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่อเอ็มบริโอมากที่สุดคือ สูตรอาหารที่เติม BA 1 และ BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยให้จำนวนยอด 1.2 และ 1.4 ยอด เห็นได้ว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มออกซินร่วมกับไซโตไคนินที่ระดับความเข้มข้นในอัตราส่วนที่เหมาะสมสามารถชักนำให้เกิดยอดมากขึ้น (ตารางที่ 1)



ภาพที่ 2 อิทธิพลสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อเอ็มบริโอของตะเคียนใบใหญ่: (A) ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต; (B) IBA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร; (C) IBA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร; (D) และ (G) BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร; (E) BA:IBA 4:0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร; (F) BA: 1:0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

การวัดการเจริญเติบโตโดยวัดความสูงยอด พบว่าสูตรอาหารที่ส่งผลต่อความสูงยอดดีที่สุดคือ สูตรอาหาร MS และสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งส่งผลให้ความสูงยอดเฉลี่ย 0.7-1.1 เซนติเมตร (ภาพที่ 2) โดยเมื่อเทียบกับสูตรอาหารที่ใช้ BA ที่ระดับความเข้มข้น 2 4 6 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อาจมีความเข้มข้นที่สูงเกินไป ส่งผลต่อความสูงยอดเฉลี่ยลดลงหรือเอ็มบริโอไม่มีการพัฒนาเป็นยอด สำหรับการใส่สารกลุ่มออกซินคือ IBA และ NAA พบว่าสูตรอาหารที่เติม IBA ส่งผลให้ความสูงยอดมากกว่าสูตรอาหารที่เติม NAA โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามการใช้ BA หรือ BA ร่วมกับ IBA ไม่ส่งผลต่อความสูงยอดแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1)

สำหรับการวัดการเจริญเติบโตโดยนับจำนวนใบต่อยอด (ตารางที่ 1) พบว่าสูตรอาหาร MS และสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 1 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 2) มีการเจริญเติบโตส่วนใบ เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่เติม BA 2 6 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีการเจริญส่วนของใบที่น้อยมากหรือใบมีขนาดเล็กมาก การหลุดร่วง และไม่สามารถวัดค่าได้ ในการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม IBA หรือ NAA เห็นได้ว่า IBA มีการส่งเสริมการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนใบมากกว่าสูตรอาหารที่เติม NAA แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามสูตรอาหารที่ส่งผลให้จำนวนใบต่อยอดมากที่สุดคือการใช้ BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยให้จำนวนใบมากที่สุด 4.3 ใบต่อยอด

จากการวิเคราะห์ผลพบว่า BA มีอิทธิพลต่อความกว้างใบและความยาวใบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสูตรอาหาร MS และสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 1 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตส่วนใบและส่งผลต่อความกว้างหรือความยาวของใบ (ภาพที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่เติม BA 2 6 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีการเจริญส่วนของใบที่น้อยมาก ไม่สามารถวัดค่าได้ สำหรับสูตรอาหารที่เติม IBA หรือ NAA พบว่าสูตรอาหารที่มี IBA มีส่วนส่งเสริมความยาวและความกว้างของใบ ตรงกันข้ามสูตรอาหารที่มี NAA ส่งผลการยับยั้งส่วนความยาวและความกว้างใบ แต่อย่างไรก็ตามการใช้ BA หรือ BA ร่วมกับ IBA ให้ค่าเฉลี่ยความกว้างใบและความยาวใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1)

ในการวัดการเจริญเติบโตของราก พบว่าทุกสูตรอาหารส่งผลให้มีจำนวนรากเฉลี่ย คือ 1 รากต่อเอ็มบริโอ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการใช้ BA ร่วมกับ IBA หรือ NAA มีอิทธิพลร่วมต่อความยาวรากแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่สูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชให้ความยาวรากสูงที่สุด

ทั้งนี้การเพาะเลี้ยงแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ พบว่าเมื่อเริ่มทำการเพาะเลี้ยงในสัปดาห์แรกชิ้นส่วนแกนเอ็มบริโอมีการปล่อยสารบางอย่างออกมาทำให้สีของอาหารมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน (ภาพที่ 2) ในการเพาะเลี้ยงแกนเอ็มบริโอ แม้ว่าทุกชุดการทดลองจะอยู่ภายใต้สภาวะการให้แสงที่ควบคุมชุดเดียวกัน อย่างไรก็ตามจากการสังเกต พบว่าปริมาณแสงที่ได้รับที่แตกต่างกันเพียงเล็กน้อยก็ส่งผลต่ออัตราการงอกหรือเจริญของแกนเอ็มบริโอในช่วงสัปดาห์แรกชัดเจน โดยชุดการทดลองที่อาจได้รับปริมาณแสงที่น้อยกว่าชุดการทดลองอื่น มีการเจริญเติบโตช่วงแรกเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่น

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

โดยทั่วไปแล้วการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีปัจจัยหลายอย่างที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของพืชที่เพาะเลี้ยง ซึ่งปัจจัยที่กล่าวถึงนั้น ได้แก่ ชนิด อายุ และชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม (Kuamane, 1995) รวมถึงลักษณะทางพันธุกรรมของพืชด้วย ชิ้นส่วนและอายุพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงจะมีความสามารถที่จะนำมาสักนำไปให้เกิดการเจริญเติบโตที่ต่างกัน ซึ่งอาจเกิดจากการสร้างและการสะสมการควบคุมการเจริญเติบโตในตัวอย่างพืชเอง หรือจากการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ผสมถึงอัตราส่วนความเข้มข้นระหว่างสารกลุ่มออกซินกับไซโตไคนินที่ได้รับยังส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชด้วย (Khamparat, 2005; Bunnag, 2013) ธาตุอาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงด้วยเช่นกัน (Bunnag, 2013) ในการเพาะเลี้ยงแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ บนสูตรอาหาร MS และสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มออกซินซึ่งเป็นสารที่มีบทบาทในการขยายขนาดของเซลล์พืช การเกิดราก และการเกิดแคลลัส (callus) (Thongampai, 1986) ได้แก่ indole-butyric acid (IBA) และ naphthaleneacetic acid (NAA) ควบคู่กับสารกลุ่มไซโตไคนินซึ่งมีผลต่อการกระตุ้นการแบ่งเซลล์พืช ควบคุมการสร้างอวัยวะ และกระตุ้นการแตกตาข้าง (Kaweeta, 1998) คือ 6-benzyladenine (BA) พบว่าทุกสูตรอาหารส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ คือ จำนวนยอดเฉลี่ยต่อเอ็มบริโอ ความสูงยอด จำนวนใบต่อยอด ความยาวใบ ความกว้างใบ และความยาวราก แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นจำนวนรากไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยสูตรอาหารที่เติม BA ร่วมกับ IBA หรือ NAA มีอิทธิพลร่วมกันต่อการเจริญเติบโตของแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ ส่วนของ จำนวนยอด จำนวนใบ และความยาวราก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเพาะเลี้ยงแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่เพื่อเพิ่มจำนวนยอด จะเห็นได้ว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 4 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลต่อแกนเอ็มบริโอให้พัฒนาเป็นยอดดีที่สุดเฉลี่ย 1 ยอดต่อเอ็มบริโอ ซึ่งมีความสอดคล้องและใกล้เคียงกับงานวิจัยที่มีการเติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสูตรอาหาร MS สามารถชักนำให้เกิดยอดดีที่สุด ในการเพาะเลี้ยงสาละ (*S. robusta*) (Singh et al., 2014) มะดังขาว (*Taminadia uliginosa* Retz.) (Puttharak and Yookong, 2011) และเพาะเลี้ยงซ้อ (*Gmelina arborea*) (Nakamura, 2006) ในขณะที่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแกนเอ็มบริโอพะยอม (*S. roxburghii* G. Don) (Scott et al., 1998) และซ้อของไม้สัก (*Tectona grandis*) (Chanprem et al., 2018) โดยพบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 5 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สามารถชักนำให้เกิดยอดดีที่สุด อย่างไรก็ตามผลการทดลองในงานวิจัยนี้ สูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0 2 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อเอ็มบริโอต่ำกว่า 1 ยอด ไม่สอดคล้องรายงานวิจัยบางรายงาน เช่น การเพาะเลี้ยงตายอดและตาข้างไม้กฤษณา (*Aquilaria crassna*) (Mongkhonsuk et al., 2007) และผักหวานบ้าน (*Sauropus androgynus* L. Merr.) ที่ใช้ BA ช่วง 2-3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด (Puttharak and Yookong, 2011) อย่างไรก็ตามมีรายงานวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ตะเคียนทอง (*H. odorata* Robx.) ซึ่งเป็นพืชสกุลเดียวกันกับตะเคียนใบใหญ่ (*H. therelli* Pierre) บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ที่ความเข้มข้น 8.9 ไมโครโมลาร์ ส่งผลต่อการเกิดยอดดีที่สุด (Scott et al., 1995)

จากผลการศึกษาอิทธิพลของ IBA และ NAA (ตารางที่ 1) และผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (two-way-ANOVA) พบว่าการใช้ BA ร่วมกับ IBA หรือ NAA มีอิทธิพลร่วมกันต่อการเจริญเติบโตส่วนของ จำนวนยอด จำนวนใบ และความยาวราก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสูตรอาหารที่เติม IBA มีอิทธิพลส่งเสริมการเจริญเติบโตของแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ จำนวนยอด ความสูงยอด จำนวนใบ และความยาวรากดีกว่าสูตรอาหารที่เติม NAA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งจากการพิจารณาจำนวนยอดเฉลี่ยต่อเอ็มบริโอ สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ คือ สูตรอาหารที่เติม BA 1 และ BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 2) โดยให้จำนวนยอด 1.2 และ 1.4 ยอด ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปตามหลักการของการกระตุ้นการพัฒนาและเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อพืชจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีอัตราส่วนของไซโตไคนินสูงกว่าออกซินสามารถชักนำให้เกิดยอดได้จำนวนมาก (Bunnag, 2013; Kaweeta, 1998)

ธาตุอาหารในแต่ละสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ยังมีความจำเป็นในการชักนำให้พืชมีการพัฒนาและเปลี่ยนแปลง อาจมีการชักนำให้เกิดแคลลัสหรือสามารถชักนำให้เกิดยอดหรือรากได้ (สุจารี ชัมภรัตน์, 2548) การวิจัยนี้ได้ใช้สูตรอาหาร MS เพียงอย่างเดียว ซึ่งไม่สามารถบอกได้ว่าสูตรอาหาร MS มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของแกนเอ็มบริโอที่เหมาะสมหรือไม่ ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าสูตรอาหาร MS นั้นยังไม่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตะเคียนใบใหญ่ซึ่งเป็นไม้ต้น มีรายงานการวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชกลุ่มไม้ต้นหลายชนิดได้มีการใช้อาหารสูตรที่มีความจำเพาะต่อไม้เนื้อแข็ง เช่น มีการใช้สูตรอาหาร woody plant medium (WPM) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตะเคียนทอง (*H. odorata* Robx.) (Scott et al., 1995) การ

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนของตายอดและตาข้างของไม้กฤษณา (*Aquilaria crassna*) (Mongkhonsuk *et al.*, 2007) การเพาะเลี้ยงส่วนข้อที่ติดใบเลี้ยงของยางนา (*D. alatus*) และยางกราด (*D. intricatus*) (Linington, 1991) การเพาะเลี้ยงส่วนปีกของผลอ่อนและใบเลี้ยงของหมากจอบ (*S. macropodium* Beum) (Khamparat, 2005) ดังนั้นในการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตะเคียนใบใหญ่ครั้งต่อไปควรศึกษาโดยการปรับใช้สูตรอาหาร WPM หรือสูตรอาหารอื่นด้วย อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าการใช้สูตรอาหาร WPM อาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตส่วนรากได้ไม่ดีเท่าที่ควร (Scott *et al.*, 1995) ปัจจุบันมีรายงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากสารอินทรีย์ธรรมชาติ เช่น การใช้กากกาแฟเป็นส่วนผสมในสูตรอาหารหรือปุ๋ยอินทรีย์สำหรับปลูกพืช เนื่องจากกากกาแฟมีธาตุอาหารบางชนิดที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ Maikami (2021) ได้รายงานผลการวิจัยการนำกากกาแฟผสมในดินปลูกผักบ่งจิ้น พบว่าดินปลูกที่ผสมกากกาแฟ 5 10 และ 15% มีผลส่งเสริมระยะเวลาเฉลี่ยการงอกและดัชนีการงอกของเมล็ดผักบ่งจิ้นได้ดี ฉะนั้นการใช้กากกาแฟหรือสารอินทรีย์ธรรมชาติอื่นอาจเป็นแนวทางในการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตะเคียนใบใหญ่ครั้งต่อไปได้

เนื้อเยื่อพืชบางชนิดอาจมีการปล่อยสารประกอบบางชนิดออกมา สังเกตได้จากอาหารที่เพาะเลี้ยงจะมีสีเหลืองหรือสีน้ำตาล สารเหล่านี้อาจเป็นสารกลุ่ม phenolics (Chirakiatkul *et al.*, 2018) ซึ่งพืชที่ใช้ในการศึกษารังนี้ เป็นพืชในวงศ์ Dipterocarpaceae ที่ลักษณะทั่วไปเนื้อไม้มีน้ำยางใสหรือขุ่น (resin) สารที่ปล่อยจากไม้สกุลตะเคียน (*Hopea*) คือ dammar resin (Bupbanphot *et al.*, 2013; Ridley, 1900) อาจเป็นไปได้ว่าสารนี้มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ โดยมีการรายงานวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น การขยายพันธุ์จันทน์กะพ้อ (*V. diospyroides* Symington) และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหมากจอบ (*S. macropodium* Beum) พบว่ามีการปล่อยสารสีเหลืองออกมา และได้มีการแก้ปัญหาโดยการเติมถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) หรือสาร polyvinylpyrrolidone (PVP) ในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตหรือการพัฒนาเป็นแคลลัสเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่ไม่ได้เติมสารเหล่านี้ (Srisawad, 2007; Khamparat, 2005) ดังนั้นในการศึกษารังต่อไปควรเติมถ่านกัมมันต์หรือสาร PVP ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ทั้งนี้ยังพบว่ามีการใช้เทคนิค bridge culture โดยมีกระดาศกรองดูดซับสารอาหารจากอาหารเหลวที่มีการเติมผงถ่านกัมมันต์เนื่องจากเนื้อเยื่อมีการปล่อยสารสีน้ำตาล (Linington, 1991)

การเพาะเลี้ยงแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ครั้งนี้ทำการย้ายเนื้อเยื่อแล้วเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ให้แสงสว่างที่มีความเข้มแสงประมาณ 42 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที 16 ชั่วโมงต่อวันทันที ดังนั้นการศึกษารังนี้ไม่สามารถบอกได้ชัดเจนว่าปัจจัยของแสงมีผลต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของแกนเอ็มบริโอช่วงแรกได้ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาข้อมูลเอกสาร พบว่าไม้วงศ์ยางแต่ละชนิดมีการเจริญเติบโตภายใต้สภาวะที่จำเพาะแตกต่างกันไป จึงอาจส่งผลต่อเทคนิคการเพาะเลี้ยงหรือการขยายพันธุ์ที่แตกต่างกันออกไป (Sasaki, 2006) สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชกลุ่มไม้ต้นบางชนิดต้องการความมืดในช่วงแรกของการเจริญระหว่างการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น การเพาะเลี้ยงแกนเอ็มบริโอไม้พะยอม (*S. roxburghii* G. Don.) โดยเพาะเลี้ยงไว้ที่มืด ในช่วงเริ่มการเพาะเลี้ยง 1 สัปดาห์ ก่อนย้ายมาเพาะเลี้ยงในที่ที่มีแสง (Scott *et al.*, 1995) ดังนั้นในการศึกษารังถัดไปควรศึกษาและปรับการให้แสงสว่างในการเพาะเลี้ยงแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ด้วย

ปัจจุบันรายงานการขยายพันธุ์พืชไม้ยืนต้นหรือไม้เนื้อแข็งด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังมีอยู่จำนวนไม่มากนัก เนื่องจากการตอบสนองของเนื้อเยื่อพืชต่อสภาวะการเพาะเลี้ยงยังไม่เหมาะสม ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น โดยการศึกษาอิทธิพลของ BA ร่วมกับ NAA หรือ IBA ต่อการเจริญเติบโตของแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ ในการศึกษาครั้งต่อไปอาจทำการศึกษาเพิ่มเติมโดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนอื่น ๆ ของตะเคียนใบใหญ่ เช่น ปลายยอด ข้อ ลำต้น และราก งานวิจัยเหล่านี้จะเป็นประโยชน์ต่อการขยายพันธุ์พืชกลุ่มไม้ต้นเพื่อการอนุรักษ์ของพืชใกล้สูญพันธุ์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Bunnag, S. (2013). *Plant tissue culture and gene transfer* (in Thai). Khon Kaen: Khon Kaen University Printing House.
- Bupbanphot, J., Phueknang, J., Phuphat, M., Rattanapracha, S. and Danchutham, A. (2013). *Conservation and Utilization of Dipterocarpaceae* (in Thai). Forest and Plant Conservation Research Office, Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation.
- Chanprem, S., Sonthikun, Y., Onwimol, P. and Chanprem, S. (2018). Shoots induction from in vitro node of teak (in Thai). *King Mongkut's Agricultural Journal*, 36(2), 126-134.

- Chirakiatkul, Y., Uthaichamsriphon, J. and Ritthichai, P. (2018). Effect of Culture Periods on Antioxidant Contents of In Vitro *Smilax corbularia* Shoots (in Thai). **Thai Science and Technology Journal**, 27(6), 1067-1077.
- Department of National Parks. (2013). **Handbook of Plant Selection and Reforestation for Flood Prevention in the Northeastern Thailand** (in Thai). Bangkok: The National Buddhism Office Printing House.
- Department of National Parks. (2016). Takhian Bai Yai (in Thai). Retrieved 26 October 2020, from **dnp**; <http://www.dnp>.
- Kaweeta, R. (1998). **Plant tissue culture: principles and techniques** (2nd edition) (in Thai). Bangkok: Kasetsart University.
- Khamparat, S. (2005). Tissue culture and genetic diversity study of Makjong (*Scaphium macropodium* Beaum) (in Thai). **Master's thesis**. Major in Biotechnology, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University.
- Kuamane, P. (1995). **Techniques in plant tissue culture** (2nd printing) (in Thai). Bangkok: Odeon Store Publishing House.
- Linington, I. M. (1991). *In vitro* propagation of *Dipterocarpus alatus* & *Dipterocarpus intricatus*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 27(1), 81-88.
- Maikami, M. (2021). Effect of soil containing coffee grounds on germination and growth of water convolvulus seedling (in Thai). **Journal of Science and Science Education**, 4(2), 155-163.
- Mongkhonsuk, Y., Sumkaew, D., Likitthumnit, P., Wongwaen, P. and Kaweevitthammakul, W. (2007). In vitro micropropagation of agarwood (*Aquilaria crassna*) (in Thai). In **Proceedings of 45th Kasetsart University Annual Conference: Plants** (pp. 532-538). Bangkok: Kasetsart University.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, 15(3), 473-497.
- Nakamura, K. (2006). Micropropagation of *Shorea roxburghii* and *Gmelina arborea* by Shoot-Apex Culture. **Plantation Technology in Tropical Forest Science**, 1(1), 137-150.
- Newman, M. F. and Pooma, R. (2017). *Hopea thorelii* Pierre. The IUCN Red List of Threatened Species 2017, Retrieved 18 April 2021, from **iucnredlist**; <https://www.iucnredlist.org/species>.
- Phutalun, W. (2008). **Medicinal plant tissue culture, guideline studies for pharmacologically secondary metabolite productions** (in Thai). Khon Kaen: Khon Kaen Print Pattana.
- Poopath, M., Sookchaloem, D., Duangjai, S. and Pooma, R. (2017). *Hopea macrocarpa* (Dipterocarpaceae), a new species from Peninsular Thailand. **Thai Forest Bulletin (Botany)**, 45(1), 94-98.
- Puttharak, P. and Yookong, W. (2011). Conservation and propagation *Taminadia uliginosa* Retz. and *Sauropus androgynus* (L.) Merr. by technique of in vitro culture (in Thai). **Naresuan University Journal**, 19(3), 1-7.
- Ridley, H. (1900). Dammar and Wood Oil. **Journal of the Straits Branch of the Royal Asiatic Society**, 34(1), 89-94.
- Sasaki, S. (2006). Ecology and physiology of Dipterocarpaceae. **Plantation Technology in Tropical Forest Science**, 1(1), 3-22.
- Scott, E. S., Rao, A. N. and Loh, C. S. (1988). Production of plantlets of *Shorea roxburghii* G. DON. from embryonic axes cultured in vitro. **Annals of Botany**, 61(2), 233-236.
- Scott, E. S., Rao, A. N. and Loh, C. S. (1995). Preliminary studies of micropropagation of *Hopea odorata*, a dipterocarp tree. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 41(2), 193-196.
- Singh, M., Sonkusale, S., Niratker, Ch. & Shukla, P. (2014). Micropropagation of *Shorea robusta*: an economically important woody plant. **Journal of Forest Science**, 60(2), 70-74.
- Srisawad, T. (2007). In vitro propagation of Chan Ka pho (*Vatica diospyroides* Symington) (in Thai). **Research Project**. Prince of Songkla University, Surat Thani.
- Thongampai, P. (1986). **Plant hormones and synthetic substances** (in Thai). Bangkok: Dynamic Printing.