

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส โชมาทิก เอ็มบริโอและการสร้างสาร dicentrine เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงของต้นบอระเพ็ดพุ่มช้างพบว่า เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ Murashige & Skoog (MS) โดยการเติมสาร α -naphthaleneacetic acid (NAA) 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 6-benzyladenine (BA) 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้จากชิ้นส่วนพืชต้นบอระเพ็ดพุ่มช้างทุกชนิดและให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเป็น 100% สูตรอาหารที่เหนี่ยวนำให้เกิดยอดอ่อนสูงสุด ได้แก่ สูตรอาหาร MS ที่เติมสาร thidiazuron (TDZ) 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (67%) ในขณะที่สูตรอาหาร MS ที่เติมสาร TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เกิดจำนวนยอดอ่อนต่อชิ้นมากที่สุด (2.9 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช) ปริมาณ dicentrine สูงสุดพบในแคลลัสที่ได้จากการเหนี่ยวนำของสูตรอาหารที่เติม TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยพบในปริมาณ 64.96 ± 2.74 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ซึ่งมีปริมาณมากกว่า dicentrine ที่พบในส่วนหัวจากธรรมชาติ (14.98 ± 0.42 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง) 4.3 เท่า แคลลัสที่ได้จากการสูตรอาหารที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรและ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นโชมาทิกเอ็มบริโอได้เมื่อทำการย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ปริมาณ dicentrine ที่พบในส่วน of โชมาทิกเอ็มบริโอที่ยังไม่ออก, โชมาทิกเอ็มบริโอที่ออกแล้ว และต้นอ่อนที่เกิดจากโชมาทิกเอ็มบริโอมีปริมาณเป็น 1.86 ± 0.12 มิลลิกรัมต่อกรัม, 3.87 ± 0.28 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 17.33 ± 0.74 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ การศึกษาวิจัยครั้งนี้สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดรากลอยของต้นบอระเพ็ดพุ่มช้างได้โดยใช้แบคทีเรีย *Agrobacterium rhizogenes*, ATCC 15834 และทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS โดยรากลอยที่ได้สามารถผลิตสาร dicentrine 8.92 ± 0.07 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง หลังจากทำการเพาะเลี้ยงได้ 35 วัน จากการศึกษาผลของน้ำตาล sucrose, tyrosine และ ความเข้มข้นของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสาร dicentrine พบว่า การเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีน้ำตาล 6% เหมาะสมในการเจริญเติบโตและการสร้างสาร dicentrine ในขณะที่การเติมสารตั้งต้น tyrosine ในอาหารเพาะเลี้ยงมีผลทำให้เพิ่มการสร้างสาร dicentrine ได้ โดยความเข้มข้นที่เหมาะสม ได้แก่ tyrosine 1.0 มิลลิโมลาร์ และทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 40 วัน (14.73 ± 0.47 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง) นอกจากนี้ยังพบว่า สูตรอาหาร $\frac{1}{4}$ MS เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตและสร้างสาร dicentrine ในรากลอยต้นบอระเพ็ดพุ่มช้าง

The effect of plant growth regulators on callus induction, somatic embryogenesis and dicentrine production from *Stephania suberosa* was investigated. Callus from all explants were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 0.5 mg/l α -naphthaleneacetic acid (NAA) and 1 mg/l 6-benzyladenine (BA) gave the maximum of callus induction (100 %). The maximum shoot induction was achieved from medium with 1.0 mg/l thidiazuron (TDZ, 67%) and maximum number of shoots per explant (2.9 shoots per explant) was observed from medium with 0.1 mg/l TDZ. The highest level of dicentrine (64.96 ± 2.74 mg/g dry wt) was observed from callus on MS medium supplemented with 0.1 mg/l TDZ, which was 4.3-fold higher than that of the native tuber (14.98 ± 0.42 mg/g dry wt). Somatic embryos were obtained by subculturing calli derived from stem explants on MS medium supplemented with 0.5 mg/l NAA and 1 mg/l BA into the same medium for 6 weeks. The dicentrine content in immature somatic embryos, mature somatic embryos and regenerated plantlets were 1.86 ± 0.12 mg/g, 3.87 ± 0.28 mg/g and 17.33 ± 0.74 mg/g dry wt, respectively. Hairy roots of *S. suberosa* transformed with *Agrobacterium rhizogenes*, strain ATCC 15834 were induced and grown in half-strength of MS medium. The production of dicentrine was found to be 8.92 ± 0.07 mg/g dry wt on day 35 of culture. Effects of sucrose content, tyrosine and medium strength on growth and dicentrine production were investigated. 6% (w/v) Sucrose was an optimum content for the growth and dicentrine accumulation in *S. suberosa* hairy roots. The utilization of precursor from tyrosine feeding enhanced dicentrine production. The medium with 1.0 mM of tyrosine had the highest effect on dicentrine accumulation in hairy roots at day 40 of culture (14.73 ± 0.47 mg/g dry wt). In addition, $\frac{1}{4}$ MS medium was suitable for biomass and dicentrine production in hairy roots of *S. suberosa*.