บทความที่เผยแพร่

การประชุมวิชาการ ม.อบ.วิจัย ครั้งที่ 1. 28 – 29 กรกฎาคม 2549, ณ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, จังหวัดอุบลราชธานี.

Tissue Culture Of Makjong (*Scaphium macropodum* Beaum.)

Aranya Pimmongkol, Sujaree Khamparat, Warinee Palasarn and Nicharat Swasdipan

Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Ubon Rajathanee University

Abstract

Makjong (*Scaphium macropodum* Beaum.) is a tree belonging to the family Sterculiaceae. It distributes in the tropical rain forest of Thailand and neighbouring counties. It is a large tree and gathered its twings and leaves at the end of trunk. Flowering and fruit setting take place irregularly once in every three to four years. Seed coats are swollen into jelly. The jelly can be used as ingredients in dishes, beverages and has cooling agent medicinal properties. Makjong seeds can be sold in a good price. Thus, people in Makjong growing areas collect them by cutting their trunks. This might be able to reduce numbers of Makjong causing its extinction. Therefore, the purposes of this research were to study the effects of auxins and cytokinins on tissue culture. These investigations would be useful for propagation and conservation of Makjong in the future. Green wings of immature fruits were cut and cultured on woody plant medium (WPM) supplemented with different concentrations of combinations of benzyladenine (BA; 0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg l^{-1}) and thidiazuron (TDZ; 0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg l^{-1}) in which every combinations contained 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) 0.1 mg l^{-1} named BTD media. Another set called DK media supplemented with 2,4-D (0.0, 0.1, 1.0, 2.0, 4.0 mg l^{-1}) and kinetin (0.0, 0.5, 1.0, 3.0, 6.0 mg l^{-1}).

Results showed that BTD media could induce competent higher callus formation and percentage of callus area per explant than DK media. Callus from all combinations were compact greenish-white.

Keywords *Scaphium macropodum* Beaum.,
Woody plant medium, Callus induction

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหมากจอง (*Scaphium macropodum* Beaum.)

อรัญญา พิมพ์มงคล สุจารี ขัมภรัตน์ วาริณี พละสาร และ ณิชารัตน์ สวาสดิพันธ์
ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

บทคัดย่อ

หมากจอง (*Scaphium macropodum* Beaum.) เป็นพืชในวงศ์ Sterculiaceae พบกระจายในป่าเขตร้อนชื้นของประเทศไทยและประเทศเพื่อนบ้าน หมากจองเป็นไม้ต้นสูง กิ่งก้านแตกออกรอบต้นที่เรือนยอด ลำต้นกลมตรง ออกดอกและให้ผลดก 1 ครั้งใน 3 - 4 ปี วุ้นจากเมล็ดใช้ประกอบเป็นอาหารและมีคุณสมบัติทางยา เมล็ดหมากจองแห้งราคาค่อนข้างสูงมีการเก็บส่งขายต่างประเทศปริมาณมาก โดยการโค่นต้นซึ่งมีโอกาสทำให้หมากจองสูญพันธุ์ได้ในอนาคต ผู้วิจัยจึงได้ศึกษาอิทธิพลของออกซินและไซโตไคนินต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของหมากจอง เพื่อเป็นข้อมูลในการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุ์ โดยได้เพาะเลี้ยงส่วนปีกของผลอ่อนหมากจองในสูตรอาหาร woody plant medium (WPM) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นคู่ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ อาหารชุดBTD media ที่เติม benzyladenine (BA; 0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg l^{-1}) กับ thidiazuron (TDZ; 0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg l^{-1}) ที่ทุกคู่เติม 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) 0.1 mg l^{-1} และอาหารชุด DK media ที่เติม 2,4-D (0.0, 0.1, 1.0, 2.0, 4.0 mg l^{-1}) กับ kinetin (0.0, 0.5, 1.0, 3.0, 6.0 mg l^{-1}) พบว่า BTD media ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสและพื้นที่การเกิดแคลลัสต่อชิ้นส่วนได้ดีกว่า DK media แคลลัสที่เกิดขึ้นจากทุกสูตรอาหารมีลักษณะเกาะกันแน่น (compact callus) และมีสีเขียวอ่อน

คำสำคัญ *Scaphium macropodum* Beaum., Woody plant medium, Callus induction

Growth Inhibition of *Scaphium Macropodum* Beaum. Against Some Pathogenic Microorganisms

Charida Pukahuta, Janpen Intaraprasert, Warinee Palasarn and Aranya Pimmongkol

Faculty of Science, Ubonrajathanee University

Abstract

In Thai traditional medicine, the water soluble gel obtained from the outer seed coat of *Scaphium macropodum* Beaum. is able to reduce fever, cough, sore throat, infection, including alimentary diseases. Therefore, this study was aimed to confirm the effect of the gel against some pathogenic microorganisms causing the mentioned symptoms. The tested microorganisms were *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Bacillus cereus, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans* and *C. tropicalis*. The results showed that the gel could inhibit Gram positive pathogenic bacteria, *S. aureus*, the strains obtained from Department of Medical Sciences, Ministry of Health, and Department of Biological Sciences, Ubonrajathanee University, and *B. cereus*, but could not inhibit Gram negative pathogenic bacteria, *E.coli, P. aeruginosa, S. enteritidis*, and pathogenic yeasts, *C. albicans* and *C. tropicalis*.

ผลของสารจากหมากจองต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด

ชริดา ปุกหุต จันทร์เพ็ญ อินทรประเสริฐ วาริณี พละสาร และ อรัญญา พิมพ์มงคล
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

บทคัดย่อ

ตำราแพทย์แผนไทยระบุว่าวุ้นจากเปลือกหุ้มเมล็ดหมากจองใช้แก้ไอ แก้ไข้ แก้เจ็บคอ แก้ท้องเดินและลดอาการอักเสบ งานวิจัยนี้จึงได้ทดสอบผลของวุ้นหมากจองต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิดที่เกี่ยวข้องกับอาการอักเสบและท้องเดิน คือ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* และ *C. tropicalis* พบว่าวุ้นจากหมากจองสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคที่เป็นแกรมบวก (Gram positive bacteria) คือ *Staphylococcus aureus* ทั้งที่เป็นสายพันธุ์จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์และจากภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี และ *Bacillus cereus* สายพันธุ์จากภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี แต่ไม่ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) คือ *E.coli*, *P. aeruginosa*, *S. enteritidis* รวมทั้งไม่ยับยั้งยีสต์ก่อโรค คือ *C. tropicalis* และ *C. albicans*

Genetic Diversity Study Of Makjong

(*Scaphium macropodum* Beaum.)

Sujaree Khamparat, Warinee Palasarn, Aranya Pimmongkol and Nicharat Swasdipan

Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Ubon Rajathanee University

Abstract

Makjong (*Scaphium macropodum* Beaum.) distributes in the tropical rain forest of Thailand and neighbouring countries. Gel from seed coat can be used for food and traditional medicinal purposes and thus has high economic value. Makjong seeds were collected for exporting in mass volume. It distributes in some parts of Thailand forest; therefore, the purpose of this research was to study genetic diversity of Makjong. This investigation would be used for breeding selection and conservation goals in the future. The genetic diversity of Makjong was studied by RAPD technique. DNA profiles using 8 RAPD primers (A02, A03, A05, A08, A09, A11, A12 and A15), produced 66 DNA fragments. Makjong from Ubon Ratchathani province had the lowrest polymorphism. The value of similarity index (S) and genetic distance (D) were calculated. The dendrogram constructed by UPGMA devided Makjong populations into two groups. The first group consisted of Makjong from Chantaburi province and Lao people's democratic republic. The second group divided Makjong from Ubon Ratchathani province.

Keywords *Scaphium macropodum* Beaum., Genetic diversity, Randomly amplified polymorphic DNA marker

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหมากจอง

(*Scaphium macropodum* Beaum.)

สุจารี ขันภรัตน์ วาริณี พละสาร อรัญญา พิมพ์มงคล และ ณิชารัตน์ สวาสดิพันธ์

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

บทคัดย่อ

หมากจอง (*Scaphium macropodum* Beaum.) พบกระจายในป่าเขตร้อนชื้นของประเทศไทยและประเทศเพื่อนบ้าน วุ้นจากเมล็ดใช้ประกอบเป็นอาหาร และเป็นพืชสมุนไพรที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ มีการเก็บเมล็ดเพื่อการค้าในปริมาณมาก และหมากจองการกระจายตัวเฉพาะในบางส่วนของประเทศไทย ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหมากจองในพื้นที่ทั่วประเทศ และประเทศข้างเคียง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของหมากจองในแต่ละท้องที่ เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น ในการคัดเลือกพันธุ์ ปรับปรุงพันธุ์ และการอนุรักษ์ โดยได้ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหมากจอง ด้วยเทคนิค Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) คัดเลือกใช้ไพรเมอร์ 8 ชนิด (A02, A03, A05, A08, A09, A11, A12 และ A15) พบว่าให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 66 ตำแหน่ง และหมากจองจาก จังหวัดอุบลราชธานี มีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำที่สุด จากนั้นเมื่อนำแถบดีเอ็นเอที่ได้มาหาค่าดัชนีความคล้ายคลึง (similarity index, S) และค่าระยะทางพันธุกรรม (genetic distance, D) แล้วนำมาสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ประชากรตามวิธี UPGMA พบว่าสามารถแบ่งหมากจองเป็น 2 กลุ่ม

B0132
การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 30 (วทท 30). 19 – 21 ตุลาคม 2547, ณ ศูนย์แสดงสินค้าและการประชุมอิมแพ็ค เมืองทองธานี, กทม.

การศึกษาโครงสร้าง Stomata, Guard Cells และ Trichomes ของหมากจอง (*Scaphium macropodum* Beaum.)

STOMATA, GUARD CELL AND TRICHOME STRUCTURES OF MAKJONG (*Scaphium macropodum* Beaum.)

สุจารี ขัมภรัตน์[1*] ณิชารัตน์ สวาสดิพันธ์[1] วาริณี พละสาร[1] และ อรัญญา พิมพ์มงคล[1]

Sujaree Khamparat[1*], Nicharat Swasdipan[1], Warinee Palasarn[1] and Aranya Pimmongkol[1]

[1]Department of Biological Science, Faculty of Science, Ubonratchathani University.
Warinchamrab, Ubon Ratchathani 34190, Thailand; e-mail address:
su_khamparat@yahoo.com

บทคัดย่อ: หมากจอง (*Scaphium macropodum* Beaum.) จัดอยู่ในวงศ์ Sterculiaceae ใบมี 4 รูปแบบขึ้นอยู่กับระยะของการเจริญ การศึกษากายวิภาควิทยาของเซลล์ปากใบและ trichomes ของใบทั้ง 4 แบบ โดยการลอกผิวใบและย้อมด้วยสี safranin และตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ในระดับการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ทำการตรึงสภาพตัวอย่างด้วย glutaraldehyde ดึงน้ำออกจากตัวอย่าง และทำให้แห้งด้วยเทคนิค CPD จากนั้นฉาบตัวอย่างด้วยทอง และศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าปากใบมีรูปร่างแบบ anisocytic จำนวนปากใบของใบรแบบ cordate, palmately three-lobed, palmately five-lobed และ ovate มีจำนวนปากใบเฉลี่ย 223, 226, 336 และ 226 เซลล์/พื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ trichomes มีลักษณะเป็นต่อม (glandular trichomes) มีรูปร่างกลม (globular shape) และพบกระจายทั่วไป

Abstracts: Makjong (*Scaphium macropodum* Beaum.) is a member of the family Sterculiaceae. There are four leaf shapes depending on developmental stages of this plant. Anatomical studies of stomata, guard cells and trichomes of Makjong were conducted by peeling, staining with safranin and viewing under light microscope. For the level of electron microscopy specimens were fixed with glutaraldehyde, dehydrated with ethyl alcohol series and dried with CPD. Before viewing, the specimens were coated with gold. Every type of leaves has the same stomatal complex type, anisocytic, i.e. comprising guard cells surrounded by three subsidiary cells. Cordate, palmately three-lobed, palmately five-lobed and ovate shaped leaves have 223, 226, 336 and 226 stomata/mm^2, respectively. Trichomes is glandular, simple globular shape containing multicellular cells and regularly distribute.

Introduction: Makjong or Samrong (*Scaphium macropodum* Beaum.) belongs to the family Sterculiaceae, distributed in lowland forests of Thailand and neighboring countries. It is a large tree, unbranched and gathered its leaves at the end of stem. The leaves are simple with different four shapes depending on developmental stages. One year old plant has cordate shaped leaves. After two years the leaves change to palmately three-lobed shape leaves. Three or four year old plant has palmately five-lobed shape leaves. The last stage, older than four to six year old plant has ovate shape leaves. This stage is a reproductive phase. The flowers are inflorescence and unisexual. The fruits are dry, follicle type and fleshy perianth parts with boat shaped wing. Seed coats are swollen like jelly when placed in water. The jelly can be used as a source of food, drinks and medicines. Therefore, the studies of stomata, guard cells and trichomes structures would be useful as basic knowledge of Makjong and these structures might connect to its developmental stages.

Methodology: Fresh, mature four shaped leaves of Makjong were collected in Ubon Ratchathani. Specimens were studies under light microscope by epidermal peeling and staining in safranin. For scanning electron microscopy, specimens were fixed with 1% glutaraldehyde in 0.1M phosphate buffer for overnight at 4° C, then rinsed twice with 0.1M phosphate buffer for 15 minutes each. The specimens were dehydrated by a series of ethanol alcohol solution and dried at a critical point dryer (CPD) with liquid CO_2, and coated with gold by ion sputter coater and observed under SEM (JEOL model JSM 5410LV) at 5 kV.

Results, Discussion and Conclusion: Anatomical studies of stomata, guard cells presented on every type of leaves has the same stomatal complex type, anisocytic, i.e. comprising guard cells surrounded by three subsidiary cells (Figure 1 and Figure 3). The numbers of stomata guard cells of cordate, palmately three-lobed, palmately five-lobed and ovate shaped leaves are 223, 226, 336 and 226 stomata/mm^2,respectively (Table 1and Figure 5). Trichome is glandular, simple globular shape containing multicellular cells and regularly distributes. There is no statically different of stomatal numbers between cordate, palmately three-lobed and ovate shaped leaves. The results shows some interesting information, especially palmately five-lobed shaped leaf of the juvenile phase, having the highest number of stomata. Therefore, the stomatal number might be related to phase change, the transition from one phase to another phase, of this plant.

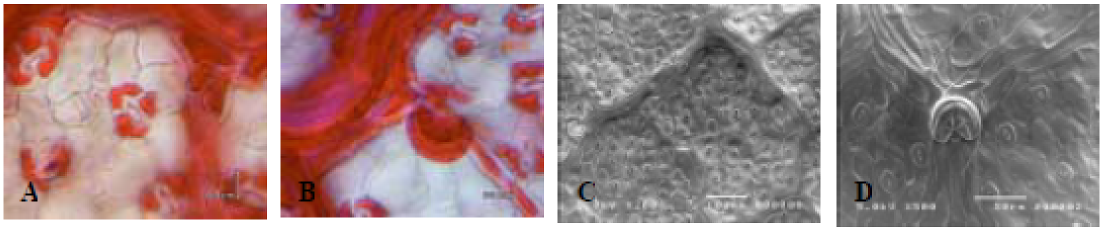

Figure 1. A: Surface view of *S. macropodum* epidermis showing anisocytic stomata cells under light microscope, B: Light microscope of trichomes in *S. macropodum*, C: Scanning electron micrograph of stomata guard cells in *S. macropodum,* D: Scanning electron micrograph of trichomes in *S. macropodum*.

Table 1. Number of stomata, guard cells of four shape leaves of *S. macropodum* (Stomata / 1mm^2).

Leave shapes	**Number of stomata guard cells (stomata / 1 mm^2)**
Cordate shape leaves	223 $\pm$ 4.72
Palmately three-lobed shape leaves	226 $\pm$ 3.20
Palmately five-lobed shape leaves	336 $\pm$ 2.82
Ovate shape leaves	226 $\pm$ 6.16

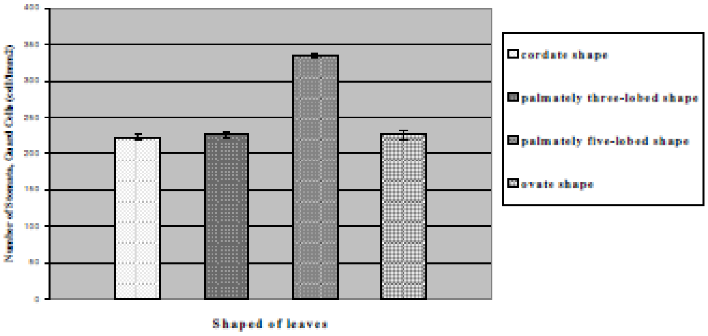

Figure 2. Number of stomata, guard cells of four shaped leaves of S. *macropodum*

Reference :

1. เทียมใจ คมกฤส . กายวิภาคของพฤกษ์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2542, น. 32-34.
2. Khatijah Haji Hussin and Zaharina Mohamat Sani. Comparative leaf anatomical studies of some *Sterculia* L.species. (Sterculiaceae). Botanical Journal of the Linnean Society **1998**, 127 : 159-174.
3. http://www.rbge.org.uk/rbge/web/science/research/systematics/stercul.jsp
4. http://django.harvard.edu/users/jjarvie/Itemscan/Scaphium.htm

Keyword: *Scaphium macropodum* Beaum., stomata, guard cells and trichomes.

B4_B0171
การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 33 (วทท. 33). 18 – 20 ตุลาคม 2550, ณ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จ.นครศรีธรรมราช.

อิทธิพลของออกซิน ไซโตไคนิน และ PVP ต่อการเกิดแคลลัสของหมากจอง (*Scaphium macropodum* Beuam.)

EFFECTS OF AUXIN, CYTOKININ AND PVP ON CALLUS FORMATION OF MAKJONG (*Scaphium macropodum* Beuam.)

สุจารี ขัมภรัตน์[1] ณิชารัตน์ สวาสดิพันธ์[1] วาริณี พละสาร[1] และ อรัญญา พิมพ์มงคล[1]
Sujaree Khamparat[1], Nicharat Swasdipan[1], Warinee Palasarn[1] and Aranya Pimmongkol[1]
[1]Department of Biological Science, Faculty of Science, Ubonratchathani University. Warinchamrab, Ubon Ratchathani 34190, Thailand.

บทคัดย่อ: การศึกษาปริมาณสาร 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 มก/ล ร่วมกับไซโทไคนิน (BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 มก/ล และ TDZ ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 มก/ล) และการเติม polyvinylpyrolidone (PVP) ความเข้มข้น 0 และ 500 มก/ล ลงในอาหาร woody plant medium (WPM) ของการเพาะเลี้ยงส่วนปีกของผลของหมากจอง (*Scaphium macropodum* Beaum.) จากการวัดพื้นที่การเกิดแคลลัสต่อชิ้นส่วนของพืช และเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส พบว่า อาหารส่วนใหญ่ที่มีการเติม PVP ปริมาณ 500 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเพิ่มขึ้น อาหารที่มี TDZ ปริมาณ 0.5 มก/ล และมี PVP ปริมาณ 500 มก/ล มีคะแนนพื้นที่การเกิดแคลลัสต่อชิ้นส่วนดีที่สุด คือ 3.5 คะแนน ซึ่งมากกว่าอาหารที่ไม่มีการเติม PVP 2 เท่า

Abstract: The experiment was conducted by culturing of green wings of Makjong (*Scaphium macropodum* Beaum.) on woody plant medium (WPM) supplemented with 0.1 mg l^{-1} 2,4-D, and different concentrations of cytokinins, BA (0, 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mg l^{-1}) and TDZ (0, 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mg l^{-1}) including 0 and 500 mg l^{-1} polyvinylpyrolidone (PVP). Results were reported in callus area per explant and percentage of callus formation. The results showed that the most combinations containing 500 mg l^{-1} PVP increased percentage of callus formation. The WPM supplemented with 0.5 mg l^{-1}TDZ, 0.1 mg l^{-1} 2, 4-D and 500 mg l^{-1} PVP could induce the highest percentage of callus area per explant, scoring in 3.5, which was 2 times higher than the same medium but did not add PVP.

Introduction: Makjong (*Scaphium macropodum* Beaum.) is a member of Sterculiaceae family and grows in the tropical rain forest of Thailand and neighbouring counties. It is a large tree and gathered its branches and leaves at the end of trunk. Flowering and fruiting take place irregularly once in every three to four years. The fruits are dry, Follicle type and flesh perianth parts with boat shaped wing (Fig 1A). Seed coats are swollen into jelly form when placed in water (Fig 1B). The jelly can be used as a source of local food and Thai medicines (Fig 1C). The most of organs of Makjong had a lot of gum. Makjong seeds can be sold in a good price. Therefore, people in Makjong growing areas collect them by cutting their trunks. This might be able to reduce numbers of Makjong causing its extinction. Hence, the purposes of this research were to study the effects of auxin, cytokinins and PVP on tissue culture. These investigations would be used for propagation and conservation goals in the future.

Fig1. A) Fresh, Green wing of immature fruits of Makjong. B) Seeds and Seed coats are swollen into jelly form when placed in water. C) Product of Makjong.

Methodology: Fresh-green wings of immature fruit of Makjong (*Scaphium macropodum* Beaum.) were washed under running tap water, dipped in 95% ethanol for 30 sec, and then surface sterilized in 10% Clorox for 10 min, and finally rinsed three times with sterile distilled water. Green wing explants were cut (each of 1 × 1 cm) and cultured on WPM (Lloyd G. and McCown B., 1980) contained 30 g l^{-1} sucrose, 0.1 mg l^{-1} 2, 4-D, 8 g l^{-1} agar, pH 5.2 and supplemented with different concentrations of combinations of BA (0, 0.5, 1, 2 and 4 mg l^{-1}) and TDZ (0, 0.5, 1, 2 and 4 mg l^{-1}). These combinations added and did not add PVP 500 mg l^{-1}. The cultures were maintained at 25°C under a 16 h photoperiod from cool-white fluorescent lamps. After five weeks, the results were scored in callus development area per explants, score 0 was explant that had no callus development, score 1, 2, 3 and 4 were areas of callus between 1–25%, 26–50%, 51–75% and 76–100% on each explant, respectively. We also counted explants that had callus development and reported in percentage. All treatments were of a completely randomized design (CRD) with four replicates which contained two pieces of explants. Data were subjected to analysis of variance and means separated by Duncan's New Multiple Range test, using SAS (Statistical Analysis System) at 0.05 significant levels.

Results, Discussion and Conclusion: After green wings of Makjong were cultured in WPM containing 50 different combinations of BA, TDZ, 2, 4-D 0.1 mg l^{-1} and PVP for five weeks, callus area per explants and percentage of callus formation were measured. The results were shown in Table 1.

WPM containing 0.5 mg l^{-1} BA, 0.5 mg l^{-1} TDZ and 0.1 mg l^{-1} 2,4-D had the highest callus area per explant ,scoring in 1.75, for the group of medium without PVP; and medium supplemented with combinations of 0.5 mg l^{-1} BA and 0, 1.0 and 2.0 mg l^{-1} TDZ induced callus for 100%. All WPM adding 500 mg l^{-1} PVP could initiate callus formation of Makjong green wing. WPM supplemented with 0.5 mg l^{-1} TDZ, 0.1 mg l^{-1} 2, 4-D and 500 mg l^{-1} PVP could induce the highest callus area per explant, scoring in 3.5 which was 2 times higher than all combinations which were not added PVP. There were ten combinations containing 500 mg l^{-1} PVP could induce callus as high as 100%. Callus from all combinations were compact and greenish-white.

PVP can absorb toxic substances such as phenolic compounds and gum from explants. This experiment showed that most combinations of WPM containing PVP showed greater performance in callus induction than medium without PVP. PVP could enhance callus production of Makjong by absorption gum producing from cut end of explants as well. There were some experiments studied on tissue culture of trees using medium adding PVP for decreasing the toxicity, for example in mangosteen (Te-chato et al., 2000).

This preliminary experiment showed that the most combinations could induce well development of callus from green wing of immature fruit of Makjong. The next studies, would be used these developed callus for propagation and conservation goals in the future.

Tabel 1. Effects of 2, 4-D, BA, TDZ and PVP on green wings of immature fruit of Makjong cultured for five weeks

Treatments	BA	TDZ	Callus area per explants* (Score)		Percentage of callus formation	
	2,4-D 0.1					
	(mg l^{-1})		PVP 0 mg l^{-1}	PVP 500 mg l^{-1}	PVP 0 mg l^{-1}	PVP 500 mg l^{-1}
BTD 1	0.0	0.0	0.38±0.52 de**	0.25±0.46 g	37.50±25.00 bc	25.00±28.87 c
BTD 2	0.0	0.5	1.50±1.07 abc	3.5±1.07 a	87.50±25.00 ab	100.00±0.00 a
BTD 3	0.0	1.0	1.13±0.64 abcd	2.50±1.51 abcde	87.50±25.00 ab	87.50±25.00 ab
BTD 4	0.0	2.0	1.50±1.31 abc	1.63±1.19 cdefg	87.50±25.00 ab	87.50±25.00 ab
BTD 5	0.0	4.0	0.50±0.53 cde	1.88±1.64 cdef	50.00±57.74 abc	75.00±28.87 ab
BTD 6	0.5	0.0	1.63±0.74 ab	1.00±1.31 efg	100.00±0.00 a	50.00±40.82 bc
BTD 7	0.5	0.5	1.75±1.58 a	1.38±1.41 cdefg	75.00±50.00 ab	75.0±28.87 ab
BTD 8	0.5	1.0	1.50±0.53 abc	2.88±1.13 abc	100.00±0.00 a	100.00±0.00 a
BTD 9	0.5	2.0	1.13±0.35 abcd	2.63±0.92 abcd	100.00±0.00 a	100.00±0.00 a
BTD 10	0.5	4.0	0.63±0.52 bcde	1.25±0.71 defg	62.50±47.87 ab	87.5±25.00 ab
BTD 11	1.0	0.0	1.38±0.52 abcd	2.88±1.46 abc	100.00±0.00 a	87.5±25.00 ab
BTD 12	1.0	0.5	1.38±0.74 abcd	3.38±1.06 ab	100.00±0.00 a	100.00±0.00 a
BTD 13	1.0	1.0	0.38±0.52 de	2.13±0.83 abcdef	37.50±25.00 bc	100.00±0.00 a
BTD 14	1.0	2.0	0.00±0.00 e	0.75±0.71 fg	0.00±0.00 c	62.50±25.00 ab
BTD 15	1.0	4.0	0.63±0.52 bcde	1.13±0.83 defg	62.50±47.87 ab	75.00±28.87 ab
BTD 16	2.0	0.0	0.88±0.64 abcde	2.25±1.04 abcde	75.00±50.00 ab	100.00±0.00 a
BTD 17	2.0	0.5	1.38±0.92 abcd	2.75±0.89 abc	87.50±25.00 ab	100.00±0.00 a
BTD 18	2.0	1.0	0.00±0.00 e	2.13±1.13 abcdef	0.00±0.00 c	100.00±0.00 a
BTD 19	2.0	2.0	0.00±0.00 e	1.13±0.83 defg	0.00±0.00 c	75.00±28.87 ab
BTD 20	2.0	4.0	0.00±0.00 e	1.38±0.74 cdefg	0.00±0.00 c	87.50±25.00 ab
BTD 21	4.0	0.0	0.50±0.76 cde	2.25±1.39 abcde	37.50±25.00 bc	100.00±0.00 a
BTD 22	4.0	0.5	0.75±1.04 abcde	1.75±1.39 cdef	37.50±25.00 bc	75.00±28.87 ab
BTD 23	4.0	1.0	0.38±0.52 de	2.00±0.93 bcdef	37.50±25.00 bc	100.00±0.00 a
BTD 24	4.0	2.0	0.38±0.52 de	1.38±0.74 cdefg	37.50±25.00 bc	87.50±25.00 ab
BTD 25	4.0	4.0	0.00±0.00 e	2.38±1.51 abcde	0.00±0.00 c	87.50±25.00 ab

* Scoring of callus development area per explant, 0 = no callus development, score 1, 2, 3 and 4 were callus area 1 – 25%, 26 – 50%, 51 – 75% and 76 – 100% on each explant, respectively

** Means of each combination of TDZ and BA concentrations ± standard deviation, followed by the same letter were not different at the 0.05 significant level according to Duncan's New Multiple Range test

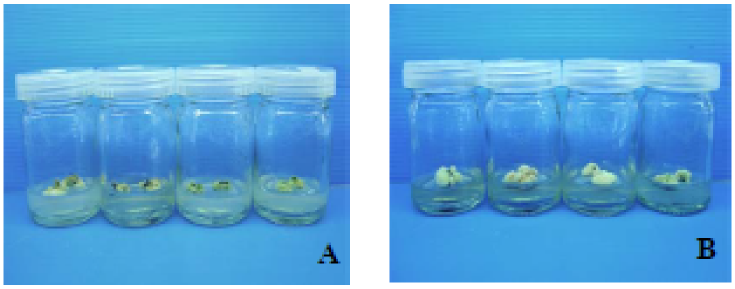

Fig 2. Callus developed from green wings of Makjong after five weeks. (A) WPM with 0.5 mg l^{-1} BA, 0.5 mg l^{-1} TDZ, 0.1 mg l^{-1} 2,4-D, and without PVP. (B) WPM with 0.5 mg l^{-1} TDZ, 0.1 mg l^{-1} 2, 4-D and 500 mg l^{-1} PVP.

Acknowledgements:

The authors gratefully acknowledge Department of Biological Science, Faculty of Science, Ubonratchathani University and this work was supported by TRF Master Research Grants.

References:

Lloyd, G. and B. McCown. 1980. Commercially feasible micropropagation of mount *Kalmia latifolia* by use of shoot-tip culture. Comb. Proc. Int. Plant Propagators Soc. 30 : 421-427.

Te-chato, S. and M. Lim. 2000. Improvement of mangosteen micropropagation though meristematic nodular callus formation from *in vitro*-derived leaf explants. Scientia Horticulturae. 86 : 291-298.

Keyword: *Scaphium macropodum* Beaum., Woody plant medium (WPM), Thidiazuron (TDZ), Polyvinylpyrolidone (PVP)

โปสเตอร์แสดงในงานเกษตรอิสานใต้ 2550 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี