บทความวิจัย

การเพาะเลี้ยงแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ (*Hopea thorelii* Pierre) พืชที่มีความเสี่ยงขั้นวิกฤติต่อการสูญพันธุ์

กฤษฎา บุราไกร[1] ภาณุพงศ์ กาสา[1] กิตติญา ขวัญเมือง[2] สิริยาภรณ์ อ่อนโยน[2]
ชาญณรงค์ ธนนาทธนะชน[2] สุทธนา ปลอดสมบูรณ์[1] และ อรัญญา พิมพ์มงคล[1*]
[1]สาขาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
[2]สวนสัตว์อุบลราชธานี
[*]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 ปัจจุบันพบเขตการกระจายพันธุ์แคบและจัดเป็นพืชที่มีความเสี่ยงขั้นวิกฤติต่อการสูญพันธุ์ตามธรรมชาติ 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 ธนนาทธนะชน, สุทธนา ปลอดสมบูรณ์ และอรัญญา พิมพ์มงคล. (2565). การเพาะเลี้ยงแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ (Hopea thorelii Pierre) พืชที่มีความเสี่ยงขั้นวิกฤติต่อการสูญพันธุ์. **วารสารวิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ศึกษา**, 5(1), 49-57.

Research Article

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

Kritsada Burakri[1], Phanupong Kasa[1], Kittiya Khwanmueang[2], Siriyaporn Onyone[2], Channarong Thananatthanachon[2], Sutthana Plodsomboon[1] and Aranya Pimmongkol[1*]

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

[2]Ubon 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., Thananatthanachon, 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.

Copyright by Faculty of Science, Ubon Ratchathani University

บทนำ

พรรณไม้วงศ์ยาง เป็นพืชวงศ์ใหญ่ของโลกประมาณ 500 ชนิด จาก 700 ชนิดทั่วโลก เป็นพรรณไม้เอกลักษณ์ของภูมิภาคเอเชียเนื่องจากมีมากที่สุดในเอเชีย ไม้วงศ์ยางเป็นไม้ต้น บางชนิดมีขนาดเล็กบางชนิดมีขนาดใหญ่สูงถึง 60 เมตร ผลัดใบหรือไม่ผลัดใบ เนื้อไม้มียางใสเหนียวหรือชัน (resin) ที่มีกลิ่นหอมฉุนเฉพาะ (Bupbanphot *et al*., 2013) ไม้วงศ์ยางตามธรรมชาติจะเจริญเติบโตในที่มีร่มเงาและเติบโตภายใต้ความเข้มแสงต่ำ 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 ซึ่งในเผ่านี้นอกจากสกุล *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) ตะเคียนใบใหญ่จัดเป็นชนิดพันธุ์พืชที่ถูกคุกคามระดับความเสี่ยงขั้นวิกฤติต่อการสูญพันธุ์ (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*) (Linington, 1991) พะยอม (*Shorea roxburghii* G.Don) (Scott *et al.,* 1988; Nakamura, 2006) และยังมีการเพาะเลี้ยงโดยใช้ชิ้นอื่น เช่น การเพาะเลี้ยงส่วนตาข้างตะเคียนทอง (*H. odorata* Robx.) (Scott *et al*., 1995) ทั้งนี้ยังไม่พบรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของตะเคียนใบใหญ่ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาอิทธิพลของฮอร์โมนพืชชนิดออกซินและ ไซโทไคนินต่อการเจริญของแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาอิทธิพลของ BA ร่วมกับ IBA หรือ NAA ต่อการเจริญเติบโตของแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่

วิธีดำเนินการวิจัย

พืชทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือผลของตะเคียนใบใหญ่ (*H. therelli* 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 จากนั้นล้างด้วยน้ำกรองที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 3 ครั้ง

ภาพที่ 1 ตัวอย่างพืชทดลองผลตะเคียนใบใหญ่ (*Hopea therelli* Pierre)

อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่

การศึกษาอิทธิพลของ BA ร่วมกับ IBA หรือ NAA ต่อการเจริญเติบโตของแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ โดยนำส่วนแกนเอ็มบริโอจากผลตะเคียนใบใหญ่ที่ฆ่าเชื้อแล้ว 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 นึ่งฆ่าเชื้ออาหารที่อุณหภูมิ 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 napthaleneacetic acid (NAA) ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way-ANOVA) (ตารางที่ 1) พบว่าทุกสูตรอาหารส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ คือ จำนวนยอดเฉลี่ยต่อเอ็มบริโอ ความสูงยอด จำนวนใบต่อยอด ความยาวใบ ความกว้างใบ และความยาวรากแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นจำนวนรากไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และการวิเคราะห์ผลวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (two-way-ANOVA) พบว่าสูตรอาหารที่เติม BA ร่วมกับ IBA หรือ NAA มีอิทธิพลร่วมกันต่อการเจริญเติบโตของแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ ส่วนของ จำนวนยอด จำนวนใบ และความยาวราก

Copyright by Faculty of Science, Ubon Ratchathani University

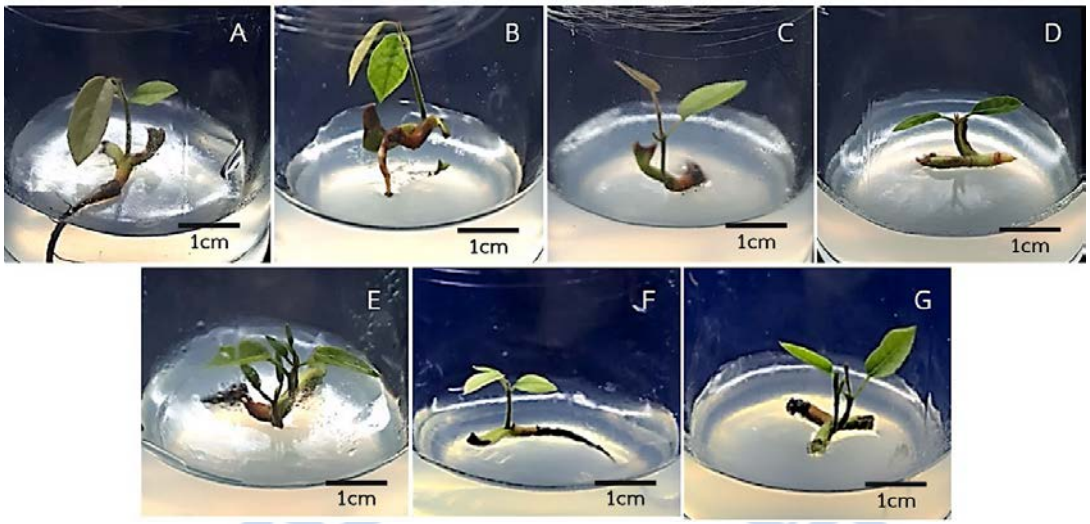
ตารางที่ 1 อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด BA ร่วมกับ IBA หรือ NAA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อแกนเอ็มบริโอของตะเคียนใบใหญ่

คู่ที่	Treatments (มิลลิกรัมต่อลิตร)			จำนวนยอด/เอ็มบริโอ	ความสูงยอด (เซนติเมตร)	จำนวนใบ/ยอด	ความยาวใบ (เซนติเมตร)	ความกว้างใบ (เซนติเมตร)	จำนวนราก/เอ็มบริโอ	ความยาวราก (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: ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p<0.05) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ - = ไม่สามารถวัดได้

ผลการศึกษาจำนวนยอดต่อเอ็มบริโอ พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 4 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลต่อแกนเอ็มบริโอให้พัฒนาเป็นยอดเฉลี่ย 1 ยอดต่อเอ็มบริโอ (ภาพที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0 2 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อเอ็มบริโอน้อยกว่า 1 ยอด การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มออกซิน คือ IBA และ NAA พบว่าสูตรอาหารที่เติม IBA ส่งผลต่อแกนเอ็มบริโอพัฒนาเป็นยอดเฉลี่ยต่อเอ็มบริโอ 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 พบว่าสูตรหารที่ส่งผลต่อความสูงยอดดีที่สุดคือ 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 สำหรับการใช้สารกลุ่มออกซินคือ IBA และ NAA พบว่าสูตรอาหารที่เติม IBA ส่งผลให้ความสูงยอดมากกว่าสูตรอาหารที่เติม NAA โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามการใช้ BA หรือ BA ร่วมกับ IBA ไม่ส่งผลต่อความสูงยอดแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1)

สำหรับการการวัดการเจริญเติบโตโดยนับจำนวนใบต่อยอด (ตารางที่ 1) พบว่าสูตรอาหาร MS และสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 1 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 2) มีการเจริญเติบโตส่วนใบ เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เติม BA 2 6 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีการเจริญส่วนของใบที่น้อยมากหรือใบมีขนาดเล็กมาก การหลุดร่วง และไม่สามารถวัดค่าได้ ในการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม IBA หรือ NAA เห็นได้ว่า IBA มีการส่งเสริมการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนใบมากว่าสูตรอาหารที่เติม 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) เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เติม 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 มีอิทธิพลร่วมต่อความยาวรากแตกต่างกันอย่างมีนัยยสำคัญ โดยที่สูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชให้ความยาวรากสูงที่สุด

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

Copyright by Faculty of Science, Ubon Ratchathani University

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

โดยทั่วไปแล้วการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีปัจจัยหลายอย่างที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของพืชที่เพาะเลี้ยง ซึ่งปัจจัยที่กล่าวถึงนั้น ได้แก่ ชนิด อายุ และชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม (Kuamanee, 1995) รวมถึงลักษณะทางพันธุกรรมของพืชด้วย ชิ้นส่วนและอายุพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงจะมีความสามารถที่จะนำมาชักนำให้เกิดการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจเกิดจากการสร้างและการสะสมสารควบคุมการเจริญเติบโตในตัวอย่างพืชเอง หรือจากการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชรวมถึงอัตราส่วนความเข้มข้นระหว่างสารกลุ่มออกซินกับไซโตไคนินที่ได้รับยังส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชด้วย (Khamparat, 2005; Bunnag, 2013) ธาตุอาหารก็ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงด้วยเช่นกัน (Bunnag, 2013) ในการเพาะเลี้ยงแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ บนสูตรอาหาร MS และสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มออกซินซึ่งเป็นสารที่มีบทบาทในการขยายขนาดของเซลล์พืช การเกิดราก และการเกิดแคลลัส (callus) (Thongampai, 1986) ได้แก่ indole-butyric acid (IBA) และ napthaleneacetic acid (NAA) ควบคู่กับสารกลุ่มไซโตไคนินซึ่งที่มีผลต่อการกระตุ้นการแบ่งเซลล์พืช 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) และข้อของไม้สัก (*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 ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อเอ็มบริโอน้อยกว่า 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 มีอิทธิพลส่งเสริมการเจริมเติบโตของแกนเอ็มบริโอตะเคียนใบใหญ่ 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 ซึ่งเป็นไปตามหลักการของการกระตุ้นการพัฒนาและเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อพืชจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีอัตราส่วนของไซโตไคนินสูงกว่าออกซินสามารถชักนำการเกิดยอดได้จำนวนมาก (Bunnag, 2013; Kaweeta, 1998)

ธาตุอาหารในแต่ละสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ยังมีความจำเป็นในการชักนำให้พืชมีการพัฒนาและเปลี่ยนแปลง อาจมีการชักนำให้เกิดแคลลัสหรือสามารถชักนำให้เกิดยอดหรือรากได้ (สุจารี ขัมภรัตน์, 2548) การวิจัยนี้ได้ใช้สูตรอาหาร MS เพียงอย่างเดียว ซึ่งไม่สามารถบอกได้ว่าสูตรอาหาร MS มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของแกนเอ็มบริโอที่เหมาะสมหรือไม่ ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าอาหารสูตร 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) การเพาะเลี้ยงส่วนปีกของผลอ่อนและใบเลี้ยงของหมากจอง (*S. macropodium* Beaum) (Khamparat, 2005) ดังนั้นในการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตะเคียนใบใหญ่ครั้งต่อไปควรศึกษาโดยการปรับใช้สูตรอาหาร WPM หรือสูตรอาหารอื่นด้วย อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าการใช้สูตรอาหาร WPM อาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตส่วนรากได้ไม่ดีเท่าที่ควร (Scott *et al*., 1995) ปัจจุบันมีรายงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากสารอินทรีย์ธรรมชาติ เช่น การใช้กากกาแฟเป็นส่วนผสมในสูตรอาหารหรือปุ๋ยอินทรีย์สำหรับปลูกพืช เนื่องจากกากกาแฟมีธาตุอาหารบางชนิดที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ Maikami (2021) ได้รายงานผลการวิจัยการนำกากกาแฟผสมในดินปลูกผักบุ้งจีน พบว่าดินปลูกที่ผสมกากกาแฟ 5 10 และ 15% มีผลส่งเสริมระยะเวลาเฉลี่ยการงอกและดัชนีการงอกของเมล็ดผักบุ้งจีนได้ดี ฉะนั้นการใช้กากกาแฟหรือสารอินทรีย์ธรรมชาติอื่นอาจเป็นแนวทางในการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตะเคียนใบใหญ่ครั้งต่อไปได้

เนื้อเยื่อพืชบางชนิดอาจมีการปล่อยสารประกอบบางชนิดออกมา สังเกตได้จากอาหารที่เพาะเลี้ยงจะมีสีเหลืองหรือสีน้ำตาล สารเหล่านี้อาจเป็นสารกลุ่ม phenolics (Chirakiatkul *et al*., 2018) ซึ่งพืชที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นพืชในวงศ์ Dipterocarpaceae ที่ลักษณะทั่วไปเนื้อไม้มีน้ำยางใสหรือชัน (resin) สารที่ปล่อยจากไม้สกุลตะเคียน (*Hopea*) คือ dammar resin (Bupbanphot *et al*., 2013; Ridley, 1900) อาจเป็นไปได้ว่าสารนี้มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ โดยมีการรายงานวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น การขยายพันธุ์จันทน์กะพ้อ (*V. diospyroides* Symington) และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหมากจอง (*S. macropodium* Beaum) พบว่ามีการปล่อยสารสีเหลืองออกมา และได้มีการแก้ปัญหาโดยการเติมถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) หรือสาร polyvinylpyrrolidone (PVP) ในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตหรือการพัฒนาเป็นแคลลัสเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่ไม่ได้เติมสารเหล่านี้ (Srisawad, 2007; Khamparat, 2005) ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปควรเติมถ่านกัมมันต์หรือสาร PVP ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ทั้งนี้ยังพบว่ามีการใช้เทคนิค bridge culture โดยมีกระดาษกรองดูดซับสารอาหารจากอาหารเหลวที่มีการเติมผงถ่านกัมมันต์เนื่องจากเนื้อเยื่อมีการปล่อยสารสีน้ำตาล (Linington, 1991)

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

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

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.

Copyright by Faculty of Science, Ubon Ratchathani University

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.

Kuamanee, 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 Kaweekitthammakul, 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.