ชนิดของน้ำตาลมีผลต่อการเกิดยอดใหม่จากโซมาติกเอ็มบริโอในปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์

Types of Sugar on New Shoot Formation from Somatic Embryo in *Curcuma alismatifolia* and *Curcuma* hybrid 'Laddawan'

อัญชลี จาละ*

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

ญาดา บุญสอน

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Anchalee Jala*

Department of Biotechnology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Rangsit Centre, Klong Nueng, Klong Luang, Pathum Thani 12120

Yada Boonsorn

BIOTEC, National Science and Technology Development Agency, Klong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

ช่อดอกอ่อนปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์สามารถชักนำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอได้เมื่อเพาะเลี้ยงในที่มืดบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และพบว่าปทุมมาทั้ง 2 พันธุ์ มีอัตราการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอดีที่สุด 90.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำโซมาติกเอ็มบริโอทั้ง 2 พันธุ์ ซึ่งเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 14 มิลลิกรัม/ลิตร มาชักนำให้เกิดการพัฒนาเป็นต้นอ่อนโดยเปรียบเทียบชนิดของน้ำตาลกลูโคส ซูโครส และมอลโตส ที่เติมลงในอาหารสูตร MS พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติมมอลโตส 25 กรัม/ลิตร มีผลทำให้โซมาติกเอ็มบริโอของปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดวัลย์พัฒนาเป็นยอดได้ดีที่สุด คือ 50.00 และ 46.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

คำสำคัญ : ปทุมมา, โซมาติกเอ็มบริโอ, กรด 2,4-ไดคลอโรฟีนอกซีแอซีติก

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** anchaleejala@yahoo.com

Abstract

Somatic embryo of *Curcuma alismatifolia* and *Curcuma hybrid* 'Laddawan' were formed from young inflorescences when cultured them on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with various concentration (2, 4, 6, 8, 10, 12 and 14 mg/L) 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) at dark period for 4 weeks. The highest percentage growth rate (90.00 %) of somatic embryo formed on MS medium supplemented with 14 mg/L 2,4-D. When induced these somatic embryo to form new shoot by culturing them on MS medium supplemented with various types (glucose, sucrose and maltose) of sugar. New shoot were formed from *Curcuma alismatifolia* and *Curcum*a hybrid 'Laddawan' with 25 g/L maltose which were 50.00 and 46.67 percentage, respectively.

Key words: *Curcuma* sp., somatic embryo, 2,4-D-dichlorophenoxyacetic acid

1. บทนำ

ปทุมมาเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae สกุล *Curcuma* ถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบประเทศไทย พม่า อินโดจีน [1] ปัจจุบันเป็นพืชพื้นเมืองไทยที่กำลังได้รับความนิยมในวงการไม้ดอกไม้ประดับ และเริ่มแพร่หลายไปทั่วโลก เช่น ปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่ [2] อย่างไรก็ตาม กระบวนการผลิตปทุมมามีอุปสรรคในด้านการพักตัวในช่วงวันสั้น จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ปทุมมาไม่สามารถผลิตได้อย่างต่อเนื่องตลอดปี แต่ในช่วงฤดูหนาวตลาดต่างประเทศต้องการไม้ดอกจำนวนมาก ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่ช่วยแก้ไขปัญหาในด้านการพักตัว โดยการเพาะเลี้ยงคัพภะหรือโซมาติกเอ็มบริโอ (somatic embryo) จากเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของปทุมมา โดยรายงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการเพาะเลี้ยงยอดอ่อนของต้นขมิ้นชัน [1] ตาของขมิ้นชัน [2] รากจากต้นปลอดเชื้อของขมิ้นอ้อย [3] ยอดของขิง [4] สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ได้เป็นจำนวนมากซึ่งในกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น แหล่งของคาร์บอนจะมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช ปกติในการเพาะเลี้ยงเนื่อเยื่อจะใช้น้ำตาลซูโครสเป็นส่วนใหญ่ [5] ส่วนการเพาะเลี้ยงโซมาติกเอ็มบริโอและชักนำให้เกิดเป็นต้นอ่อนจำนวนมากก็มีความสำคัญต่อการขยายพันธุ์พืชเพื่อให้ได้ต้นจำนวนมาก จากแนวคิดนี้จึงทำการศึกษาปัจจัยของนำตาลที่มีผลชักนำให้เกิดยอดอ่อนใหม่จากโซมาติกเอ็มบริโอของปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์ เพื่อให้สามารถนำไปใช้ในการขยายและเพิ่มปริมาณด้วยเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงโซมาติกเอ็มบริโอต่อไป

2. วัตถุประสงค์

2.1 ศึกษาความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เหมาะสมต่อการชักนำปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์ให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอ

2.2 ศึกษาชนิดของน้ำตาลกลูโครส ซูโครส และมอลโตส ที่มีผลต่อการเกิดยอดใหม่จากโซมาติกเอ็มบริโอของปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์

3. อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 การเพาะเลี้ยงช่อดอกอ่อนของปทุมมาในสภาพปลอดเชื้อ

นำช่อดอกอ่อนของปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์มาล้างด้วยสบู่เหลว และล้างสบู่ออกจากช่อดอกออกภายใต้น้ำไหลเป็นเวลานาน 2 นาที แช่ในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที แล้วฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ (sodium hypochlorite) 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที และฟอกครั้งที่ 2 ด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ล้างช่อดอกอ่อนด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ตัดกลีบดอกและส่วนปลายที่สัมผัสคลอรอกซ์ออก เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของช่อดอกอ่อนบนอาหารแข็งสูตร MS [6] ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/ลิตร ปรับความเป็นกรด-เบสที่ 5.7 เติม Phytagel® 2.5 กรัม/ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณภูมิ 121 °C เป็นเวลา 20 นาที และนำเนื้อเยื่อบ่มภายใต้อุณหภูมิ 25±2 °C ความเข้มแสง 60 ± 5 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที ด้วยแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350lm, Philips Thailand) เป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน ย้ายเนื้อเยื่อที่เจริญจากช่อดอกอ่อนลงอาหารเดิมทุก ๆ 4 สัปดาห์ เป็นเวลา 3 เดือน เพื่อเพิ่มจำนวน

3.2 การชักนำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอ

ย้ายนื้อเยื่อต้นอ่อนของปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนลงเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 มิลลิกรัม/ลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรด-เบสของอาหารเพาะเลี้ยงที่ 5.7 และเติม Phytagel® 2.5 กรัม/ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 20 นาที บ่มเนื้อเยื่อภายใต้อุณหภูมิ 25±2 °C ในที่มืดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ตรวจนับจำนวนและเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกเอ็มบริโอบนเนื้อเยื่อของปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์ในแต่ละสูตรอาหาร วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ที่ประกอบด้วย 8 สิ่งทดลอง สิ่งทดลองละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้น

3.3 การชักนำให้เกิดยอดใหม่จากโซมาติกเอ็มบริโอ

นำโซมาติกเอ็มบริโอของปทุมมาทั้ง2 พันธุ์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 14 มิลลิกรัม/ลิตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีน้ำตาลซูโคส 3 เปอร์เซ็นต์ อยู่แล้ว และเปรียบเทียบน้ำตาล 3 ชนิด ที่เพิ่มขึ้น คือ กลูโคส ซูโครส และมอลโตส ความเข้มข้น 0.25 กรัม/ลิตร ปรับความเป็นกรด-เบสของอาหารสูตร MS อยู่ที่ 5.7 และเติม Phytagel® 2.5 กรัม/ลิตร นึ่งฆ่าเชื้ออาหารที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 20 นาที เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชภายใต้อุณหภูมิ 25±2 °C เป็นเวลา 4 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ที่ประกอบด้วย 4 สิ่งทดลอง สิ่งทดลองละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ10 กลุ่ม จากนั้นบันทึกเปอร์เซ็นต์ของยอดที่เกิดขึ้น

4. ผลการวิจัย

4.1 ผลของ 2,4-D ที่มีผลต่อการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอ

การชักนำโซมาติกเอ็มบริโอในปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 มิลลิกรัม/ลิตร) ภายใต้อุณหภูมิ 25±2 °C ในที่มืด เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าระดับความเข้มข้นของ 2,4-D มีผลต่อการชักนำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอในปทุมมาทั้ง 2 พันธุ์ และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) โดย 2,4-D ความเข้มข้น 14 มิลลิกรัม/

ลิตร สามารถชักนำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอมากที่สุด เมื่อคิดเป็นเปอร์เซนต์พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 1) เนื้อเยื่อปทุมมาทั้ง 2 พันธุ์ ซึ่งเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 8 และ 14 มิลลิกรัม/ลิตร มีผลชักนำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอได้ทั้ง2 พันธุ์ เช่นกัน แต่อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 14 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่ามีการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอสูงสุดถึง 90.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถจะเพิ่มจำนวนของ โซมาติกเอ็มบริโอให้ได้มากตามที่ต้องการเพื่อนำมาใช้ในการศึกษาการเกิดยอดอ่อน (รูปที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลของ 2,4-D ที่มีผลต่อการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอในปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์หลังการเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์

ความเข้มข้น 2,4-D (มิลลิกรัม/ลิตร)	เปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกเอ็มบริโอจากเนื้อเยื่อก้านช่อดอกปทุมมา	
	พันธุ์เชียงใหม่*	พันธุ์ลัดดาวัลย์*
0	0.00 ^{e}	0.00^{d}
2	0.00^{e}	0.00^{d}
4	0.00^{e}	0.00^{d}
6	0.00^{e}	0.00^{d}
8	36.67^{d}	60.00^{c}
10	46.67^{c}	66.67^{bc}
12	80.00^{b}	76.67^{b}
14	90.00^{a}	90.00^{a}

*แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับ $p \leq 0.01$

abcในแถวเดียวกัน คือ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับ $p \leq 0.01$

4.2 การชักนำยอดอ่อนจากโซมาติกเอ็มบริโอ

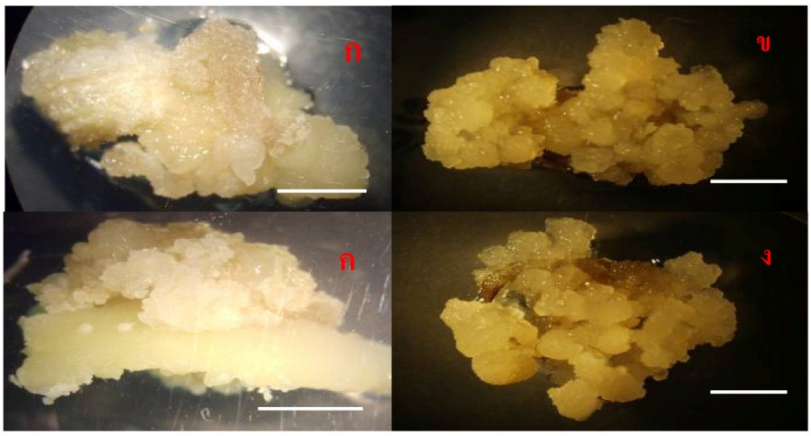
การชักนำโซมาติกเอ็มบริโอของปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์ที่เตรียมได้ (รูปที่ 1ค และ1ง) ให้เกิดการพัฒนาไปเป็นยอดอ่อนบนอาหารสูตร MS ที่มีการเปรียบเทียบชนิดของน้ำตาลนั้น พบว่ามอลโตสความเข้มข้น 25 กรัม/ลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงโซมาติคเอ็มบริโอเป็นเวลานาน 6 สัปดาห์ ปรากฏว่าชนิดของน้ำตาลมีส่วนทำให้เกิดการชักนำและพัฒนาเป็นต้นอ่อนในปทุมมาทั้ง 2 พันธุ์ มีปริมาณที่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (ตารางที่ 2) ซึ่งอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลกลูโคสและซูโครสจะชักนำให้เกิดเป็นต้นอ่อนในปริมาณที่น้อยกว่าน้ำตาลมอลโตส (ตารางที่ 2) และพบว่าน้ำตาลมอลโตสชักนำให้เกิดต้นอ่อนคิดเป็นเปอร์เซนต์ได้มากที่สุด (ตารางที่ 2) โดยปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์มีและพันธุ์ลัดดาวัลย์ 50.00 และ 46.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (รูปที่ 2)

ตารางที่ 2 ชนิดของน้ำตาลที่เติมลงในอาหารสูตร MS สามารถชักนำให้เกิดยอดอ่อนในปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์หลังการเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์

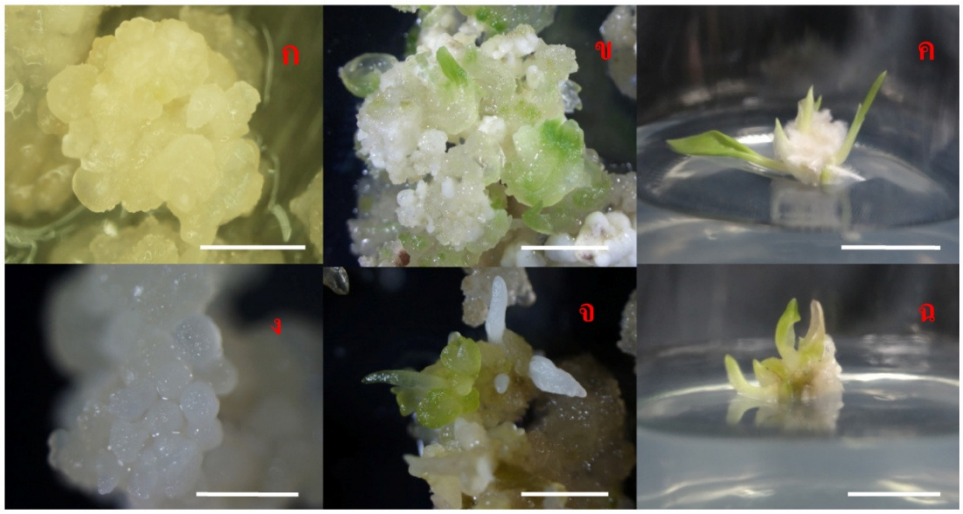
ชนิดของน้ำตาล (25 มิลลิกรัม/ลิตร)	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่ (%)	
	พันธุ์เชียงใหม่*	พันธุ์ลัดดาวัลย์*
ไม่มีน้ำตาล	0.00^{c}	0.00^{c}
กลูโคส	23.33^{b}	13.33^{c}
ซูโครส	23.33^{b}	30.00^{b}
มอลโตส	50.00^{a}	46.67^{a}

*แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับ $p \leq 0.01$

abcในแถวเดียวกัน คือ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับ $p \leq 0.01$



รูปที่ 1 ผลของ 2,4-D ที่มีผลต่อการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอในปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ (ก) ปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัม/ลิตร (ข) ปทุมมาพันธุ์ลัดดาวัลย์บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัม/ลิตร (ค) ปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 14 มิลิกรัม/ลิตร และ (ง) ปทุมมาพันธุ์ลัดดาวัลย์บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 14 มิลลิกรัม/ลิตร (bar = 1 cm)



รูปที่ 2 การชักนำโซมาติกเอ็มบริโอเกิดยอดใหม่บนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลมอลโตสในปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์ (ก) โซมาติกเอ็มบริโอในระยะรูปกลมของปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์ (ข) การพัฒนาเป็นยอดอ่อนของปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์ (ค) ต้นอ่อนของพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์ (ง) โซมาติกเอ็มบริโอในระยะรูปกลมของปทุมมาพันธุ์ลัดดาวัลย์ (จ) การพัฒนาเป็นยอดของปทุมมาพันธุ์ลัดดาวัลย์ และ (ฉ) ต้นอ่อนของปทุมมาพันธุ์ลัดดาวัลย์ (bar = 1 cm)

5. วิจารณ์

การชักนำโซมาติกเอ็มบริโอจากเนื้อเยื่อแคลลัสที่เจริญมาจากช่อดอกอ่อนของปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ในที่มืด เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าโซมาติกเอ็มบริโอของปทุมมาทั้ง 2 พันธุ์ สามารถเกิดได้ดีบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 8, 10, 12 และ 14 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่ง 2,4-D เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซินที่มีฤทธิ์ส่งเสริมให้ปทุมมาทั้ง 2 พันธุ์เกิดโซมาติกเอ็มบริโอได้ เมื่อพิจารณาถึงผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตพบว่า 2,4-D ความเข้มข้น 14 มิลลิกรัม/ลิตร ส่งเสริมต่อการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอมากที่สุด คือ 90.00 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับ Salvi และ คณะ [7] ได้ใช้ช่อดอกอ่อนของ *Curcuma* sp. สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ส่วนการทดลองของ Kou และคณะ [8] พบว่าสามารถชักนำ *Curcuma attenuate*ให้เกิดแคลลัสได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2.94 กรัม/ลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.49 กรัม/ลิตร และเพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 15 วัน แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงในที่มีความเข้มแสง 40 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที เป็นเวลา 30 วัน ซึ่งส่งเสริมต่อการเกิดแคลลัสได้ 33.3 เปอร์เซ็นต์ และจากรายงานของ Swedlund และ Locy [9] เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวโพดบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่ามีแคลลัสที่เกาะกันอย่างหลวม ๆ (friable callus) เกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ Tamil และคณะ [10] ได้เพาะเลี้ยง *Curcuma manga* บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร ปรากฏว่าเกิดแคลลัสที่เกาะกันอย่างหลวม ๆ เช่นกัน และเมื่อเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัม/ลิตร ปรากฏว่าแคลลัสนั้นเกิดเป็นยอดใหม่ได้ ซึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นแหล่งของคาร์บอนมีความสำคัญ ส่วนใหญ่นิยมใช้น้ำตาลซูโครสเพราะหาง่ายราคาถูกและเป็นพวก non-reducing sugar และยังทำหน้าที่ในการพาสารอื่น ๆ ด้วย ซึ่งเช่นเดียวกันกับมอลโตสก็เป็นน้ำตาลชนิด non-reducing sugarเหมือนกัน [5] และก่อให้เกิดการสังเคราะห์และสะสมโปรตีนด้วย [11] รวมทั้งกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์และสร้างเซลล์ใหม่ขึ้นมา [12] ในขณะที่เซลล์มีการสะสมโปรตีนเนื่องจากน้ำตาลที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การวิจัยนี้น้ำตาลมอลโตส 0.25กรัม/ลิตร ให้ผลในการพัฒนาจากแคลลัสที่เกาะกันอย่างหลวม ๆ เป็นยอดใหม่ได้มากที่สุด โดยเฉพาะปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิงค์ให้ยอดสูงถึง 50.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าปทุมมาพันธุ์ลัดดาวัลย์ที่ให้ยอด 46.67 เปอร์เซ็นต์ โดยต่างจากการรายงานของ Mohanty และคณะ [13] ที่ศึกษาใน *Curcuma aromatic* ซึ่งเติมน้ำตาลซูโครส 30กรัม/ลิตร ในอาหารสูตร MS พบว่า สามารถชักนำแคลลัสเกิดเป็นยอดใหม่ได้ ส่วน Wannakrairoj [14] และ Jala [1] ศึกษาใน *Curcuma longa* บนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัม/ลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำแคลลัสเกิดเป็นยอดใหม่จำนวนมาก เช่นเดียวกับ Zhang และคณะ [15] รายงานว่าแคลลัสของ *Curcuma kwangsiensis* สามารถชักนำให้เปลี่ยนแปลงเป็นยอดอ่อนได้เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 1.41 M TDZ, 4.4 M BA, 2.3 M 2,4-D และน้ำตาลซูโครส 30 กรัม/ลิตร แต่การทดลองของ Vu และคณะ [5] ทดลองเพาะเลี้ยง *Curcuma zedoaria*แสดงให้เห็นว่าซอบิทอล 30 กรัม/ลิตร ที่เติมในอาหารสูตร MS ให้ผลดีกว่าซูโครส ซึ่ง

ทำให้เกิดการพัฒนาการของเซลล์หลังจากเพาะเลี้ยงได้10 วัน เช่นเดียวกับการทดลองของ Tsukahara และคณะ [16] แสดงให้เห็นว่าซอบิทอล 60 กรัม/ลิตร ที่เติมในอาหารสูตร MS ซึ่งใช้เพาะเลี้ยงข้าวสามารถทำให้เกิดพัฒนาการของกลุ่มของเซลล์ได้มากกว่าซูโครส

6. สรุป

ช่อดอกอ่อนปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์สามารถชักนำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงในที่มืดบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2.4-D ความเข้มข้น 14 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดเท่ากัน คือ 90.00 เปอร์เซ็นต์และโซมาติคเอ็มบริโอทั้ง 2 พันธุ์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 14 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นอ่อนได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลมอลโตส 0.25กรัม/ลิตร และโซมาติกเอ็มบริโอของปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่พิ้งค์และพันธุ์ลัดดาวัลย์สามารถพัฒนาเป็นยอดได้ดีที่สุด คือ 50.00 และ 46.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

7. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ หน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพการเกษตร ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพอุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย จังหวัดปทุมธานี ที่อนุญาตให้ใช้เป็นสถานที่ในการทำงานวิจัย

8. เอกสารอ้างอิง

[1] Jala, A., 2011, Effects of NAA, BA and sucrose on shoot induction and rapid micro-propagation by trimming shoot of *Curcuma longa* L., Amer. Trans. Eng. Appl. Sci. 3(2): 101-109.

[2] Gayatri, M.C., Darshini, V.R. and Kavyashree, R., 2005, Selection of turmeric callus for tolerant to culture filtrate of *Pythium graminicolum* and regeneration of plants, Plant Cell Tissue Org. Cult. 83: 33-40.

[3] Mello, M.O., Melo, M. and Appezzato-da-Gloria, B., 2001, Histological analysis of the callogenesis and organogenesis from root segments of *Curcuma zedoaris* Roscoe, Braz. arch. Biol. Technol. 44: 197-203.

[4] Malamug, J.J.F., Inden, H. and Asahira, T., 1991, Plantlet regeneration and propagation from ginger callus, Sci. Hort.48: 89-97.

[5] Vu, J.C.V., Niedz, R.P. and Yelenosky, G., 1993, Glycerol stimulation of chlorophyll synthesis, embryogenesis andcarboxylation and sucrose metabolism enzymes in nucellar callus of "Hamlin" sweet orange, Plant Cell Tissue Org. Cult. 33: 75-80.

[6] Murashige, T. and Skoog, F., 1962, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, Physiol. Plant. 15: 473-479.

[7] Salvi, N.D., Geoge, L., Eapen, S., 2000,Direct regeneration of shoots from immature inflorescence cultures of turmeric, Plant Cell Tissue Org. Cult. 62: 235-238.

[8] Kou, Y., Ma, G., Jaime, A., da Silva, T. and Liu, N., 2013, Callus induction and shoot organogenesis from anther cultures of

Curcuma attenuata Wall., Plant Cell Tissue Org. Cult.112: 1-7.

[9] Swedlund, B. and Locy, R.D., 1993, Sorbitol as the primary carbon source for the growth of embryogenic callus of maize, Plant Physiol. 103: 1339-1346.

[10] Sundram, T.C.M., Suffian, M., Annuar, M. and Khali, N., 2012, Optimization of culture condition for callus induction from shoot buds for establishment of rapid growing cell suspension cultures of Mango ginger (*Curcuma mangga*), Aust. J. Crop Sci. 6:1139-1146.

[11] Leifert, C., Murphy, K.P. and Lumsden, P.J., 1995, Mineral and carbohydrate nutrition of plant cell and tissue cultures, Crit. Rev. Plant Sci.14: 83-109.

[12] Burns, J.A. and Watzstein, H.J., 1994, Storage reserves in pecan somatic embryos derives from suspension cultures, Plant Sci. 102: 213-219.

[13] Mohanty, S., Panda, M.K., Subudhi, E. and Nayak, S., 2008, Plant regeneration from callus culture of *Curcuma aromatica* and *in vitro* detection of somaclonal variation through cytophotometric analysis, Biol. Plant.52: 783-786.

[14] Wannakrairoj, S., 1997, Clonalmicropropagation of patumma (*Curcuma alismatifolia* Gagnep), Kasetsart J. (Nat.Sci.)31: 353-356.

[15] Zhang, S., Liu, N., Sheng, A., Ma, G. and Wu, G., 2011, *In vitro* plant regeneration from organogenic callus of *Curcuma kwangsiensis* Lindl. (Zingiberaceae), Plant Growth Regul. 64: 141-145.

[16] Tsukahara, M., Hirosawa, T. andkishine, S., 1996, Efficient plant regeneration from cell suspension cultures of rice (*Oryza sativa*), J. Plant Physiol. 149: 157-162.