

ผลของ BA และ IAA ต่อการชักนำแคลลัสจากใบ และการเกิดเอ็มบริโอของเท้ายายม่อม (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze)

Effects of BA and IAA on callus induction from leaves and embryogenesis of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze In Vitro conditions

เปรมจิต ร่องสวัสดิ์¹, จิตติกร พรหมบรรจง¹, วรวิฑู มีสุข¹, สุขใจ พรหมมาศ¹ และ คมสัน นันทสุนทร^{1*}
Premjit Rongsawat¹, Thitikorn Prombanchong¹, Worawitoo Meesook¹, Sukjai Prommas¹
and Komsun Nuntasontorn^{1*}

Received: 7 January 2025 ; Revised: 27 February 2025 ; Accepted: 26 March 2025

บทคัดย่อ

เท้ายายม่อม (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze) เป็นพืชหัวที่มีศักยภาพในด้านโภชนาการ การแพทย์ และอุตสาหกรรม มีความสำคัญทั้งในด้านอาหารและยา จึงได้ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ โดยเฉพาะการเพิ่มเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อใช้สกัดสารสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ดังกล่าว ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส และการพัฒนาของแคลลัสเป็น embryogenesis ในสภาพปลอดเชื้อ โดยเฉพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบอ่อนในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบการเกิดของแคลลัสจากบริเวณปลายขอบของรอยตัดชิ้นส่วนใบ ลักษณะแคลลัสเป็นแบบเกาะกันแน่นมีสีเขียว โดยแคลลัสที่พัฒนามาเป็นอาหาร สูตร MS ที่เติม BA ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิดแคลลัสเฉลี่ยสูงที่สุด (100%) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารสูตรอื่น สำหรับการชักนำแคลลัสให้พัฒนาเป็นยอดและรากบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสมีการพัฒนาเป็นยอดใหม่ได้มากที่สุด (5.67 ± 0.72 ยอด) และมีการสร้างรากเฉลี่ยมากที่สุด (3.07 ± 0.80 ราก)

คำสำคัญ: เท้ายายม่อม, แคลลัส, เบนซิลอะดีนีน, กรดอินโดล-3-แอซิดิก, เอ็มบริโอเจเนซิส

Abstract

Tacca leontopetaloides (L.) Kuntze, a tuberous plant species, holds significant potential in nutrition, medicine, and industrial applications. Its importance in the food and pharmaceutical industries necessitates the development of effective propagation methods, particularly tissue culture under sterile conditions, for the extraction of bioactive compounds and production of various products. This study investigated the effects of different concentrations of benzyladenine (BA) and indole-3-acetic acid (IAA) on callus induction and embryogenesis development. Leaf segments were cultured on MS medium supplemented with BA at concentrations of 0, 0.5, 1.0, and 1.5 mg/L, combined with IAA at concentrations of 0, 0.5, 1.0, and 1.5 mg/L. The experiment followed a completely randomized design (CRD) with three replications, and the differences in means were analyzed at a 95% confidence level. After four weeks of culture, callus formation was observed in the leaf segments, with the callus exhibiting a compact green appearance. The highest callus induction rate (100%) was achieved on MS medium containing 1.0 mg/L BA and 1.0 mg/L IAA,

¹ สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย จังหวัดนครศรีธรรมราช

¹ Program of Science, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat

* Corresponding author, e-mail: komsun.n@rmutsv.ac.th

which was significantly different from other treatments. For callus development into plantlets, MS medium supplemented with 1.0 mg/L BA and 1.0 mg/L IAA produced the highest number of shoots (5.67 ± 0.72 shoots) and the greatest average number of roots (3.07 ± 0.80 roots) after four weeks of culture. The results demonstrate that the combination of BA and IAA at optimal concentrations is effective in promoting callus induction and subsequent shoot and root development in *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze.

Keywords: *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze, callus, benzyladenine (BA), indole-3-acetic acid (IAA), embryogenesis

บทนำ

เท้ายายม่อม (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze) อยู่ในวงศ์ Dioscoreaceae (The Plant list, 2024) มีชื่ออื่นๆ เช่น บุกรอ ไม้เท้าฤษี Fiji Arrowroot, Polynesian Arrowroot เป็นต้น เป็นพืชล้มลุก มีลำต้นใต้ดินสะสมอาหาร และเป็นพืชฤดูเดียว โดยเมื่อเจริญเติบโตสะสมอาหารในหัวใต้ดิน (tuberous rhizome) เป็นพืชที่มีความสำคัญทั้งในด้านอาหารและยา หัวใต้ดินของพืชชนิดนี้มีแบ่งเป็นส่วนประกอบหลัก ซึ่งสามารถนำมาสกัดและใช้ในการทำอาหารและการแพทย์แผนโบราณ เช่น นำมาทำเป็นแป้งเท้ายายม่อม นิยมใช้ประกอบอาหารเป็นอาหารสำหรับผู้ป่วยพักฟื้น เด็กอ่อน หรือผู้สูงอายุ และถูกจัดเป็นพืชสมุนไพรในตำรับทั้งของไทยและต่างประเทศ ผู้ป่วยที่เป็นโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร (สุพินญา บุญมานพ, 2564) อาการท้องเสีย บิด โรคกระเพาะหรือลำไส้ โรคไวรัสตับอักเสบ (Aissatou *et al.*, 2017) หัวเท้ายายม่อมมีคาร์โบไฮเดรต 84.97-86.72% และแป้ง 91.82% (Susarti *et al.*, 2023) โปรตีน ไขมัน ไฟเบอร์ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และโซเดียม (Uachisso *et al.*, 2023) สารพฤกษเคมีในหัวของเท้ายายม่อมประกอบด้วย แอลคาลอยด์ ซาโปนิน ฟลาโวนอยด์ ฟีนอล แทนนิน ซึ่งมีคุณสมบัติสำคัญ เช่น แก้ปวด ต้านมะเร็ง ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านไวรัส และมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (Syafi *et al.*, 2023; ญาณิกา วัชรเทวินทร์กุล และอานนท์ เรียงหมู่, 2563) ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* (Vu *et al.*, 2017) จึงทำให้ต้นเท้ายายม่อมสามารถใช้เป็นวัสดุแนะนำในการเป็นส่วนผสมยาในทางการแพทย์ (Syafi *et al.*, 2023) แต่ปัญหาในการปลูกเท้ายายม่อม ซึ่งส่วนใหญ่นิยมใช้หัวในการขยายพันธุ์มากกว่าเมล็ด เนื่องจากให้ผลผลิตเร็วกว่า แต่ข้อจำกัดของการขยายพันธุ์โดยใช้หัว คือ ต้นเท้ายายม่อม 1 ต้น สามารถให้หัวได้จำนวนจำกัดเพียง 2-3 หัวต่อต้น ซึ่งมีจำนวนน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเมล็ด แต่การขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดภายหลังการเก็บเกี่ยว เมล็ดเกิดการพักตัวทำให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำและงอกช้า (ลัดดาวัลย์ คำมะปะนา และคณะ, 2562) วงจรชีวิตของพืชเท้ายายม่อมใช้เวลา 3 ปี นับจากเมล็ดงอกจนถึงออกดอกและติด

เมล็ดอีกครั้ง ทั้งนี้เนื่องจากเท้ายายม่อมเป็นพืชล้มลุกฤดูเดียว จึงมีการเจริญเติบโตของลำต้น ใบใหม่ และสะสมอาหารเพิ่มภายในลำต้นใต้ดินในทุกๆ ปี จนปริมาณอาหารมากพอในปีที่ 3 จึงแทงช่อดอกเพื่อสร้างเมล็ด (สุพินญา บุญมานพ, 2564)

ปัจจุบันเท้ายายม่อมมีจำนวนลดน้อยลงมากจากการนำออกมาใช้จากพื้นที่ธรรมชาติ และมีโอกาสเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ ดังนั้นการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุกรรมเท้ายายม่อมภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ ซึ่งเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองช่วยให้เกิดการเพิ่มจำนวนของพืชอย่างรวดเร็ว และสามารถผลิตต้นกล้าจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น (Engelmann, 2011) ช่วยในการขยายพันธุ์พืชที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจหรือเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ได้ โดยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเท้ายายม่อมสามารถใช้ชิ้นส่วนต่าง ๆ เช่น ใบและยอดอ่อน (Shilwant & Dhabe, 2021) คัพภะอ่อน (Borokini *et al.*, 2011) เมล็ด (Cepkova *et al.*, 2015) หัว (Hapsari *et al.*, 2019) เพื่อที่จะสามารถขยายพันธุ์ให้ได้ต้นจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น

นอกจากนี้ในการใช้ชิ้นส่วนใดๆ ของพืชสมุนไพรจากธรรมชาติมาเข้าสู่กระบวนการผลิตตำรับยา เครื่องสำอาง หรือผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ในปัจจุบันยังมีข้อกังวลอยู่ในเรื่องของสิ่งเจือปนที่ยังไม่ได้มาตรฐาน เช่น ธาตุโลหะหนักที่มักปนเปื้อนมากับวัสดุปลูก สารเคมีกำจัดแมลงในแปลงของเกษตรกร ทั้งนี้มีรายงานการปนเปื้อนโลหะหนักในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมาอย่างต่อเนื่อง (สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2564; จิตรา ชัยวัฒน์ และคณะ, 2557) การเพาะเลี้ยงพืชในสภาพปลอดเชื้อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะสามารถสร้างชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืชให้ปราศจากเชื้อและสารเคมีปนเปื้อนได้ เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหรือพืชทั้งต้นในระบบปิดที่สามารถควบคุมปัจจัยต่างๆ ได้ ปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยและพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเฉพาะส่วนพืชเพื่อใช้ในการผลิตสารที่มีฤทธิ์ทางยามากขึ้น ยาวพา จิระเกียรติกุล และคณะ (2564) ชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบรางจืด พบว่าแคลลัส และยอดที่พัฒนาในสภาพปลอดเชื้อนาน 4-6 สัปดาห์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าค่าของใบที่ได้จากพืชในสภาพธรรมชาติ

การศึกษาค้างนี้ จึงขยายพันธุ์ทำยายมอมภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ โดยใช้ชิ้นส่วนใบ ศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสและการชักนำให้เกิดต้นทำยายมอม เพื่อเป็นอีกวิธีการหนึ่งในการเพิ่มจำนวนต้นทำยายมอมซึ่งเป็นพืชหัวใต้ดินที่มีศักยภาพในด้านโภชนาการ การแพทย์ อุตสาหกรรม และการใช้ประโยชน์สู่ชุมชนต่อไป

วิธีการศึกษา

การศึกษาค้างนี้ใช้ชิ้นส่วนใบอ่อนที่เริ่มคลี่กางใบของต้นทำยายมอม โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design : CRD) โดยในการศึกษาการชักนำให้ชิ้นส่วนใบอ่อนทำยายมอมสร้างแคลลัส ทำการเปรียบเทียบสูตรอาหารทั้งหมด 10 สูตร แต่ละสูตรมี 3 ซ้ำๆ ละ 10 ตัวอย่าง และศึกษาผลของไซโทไคนินและออกซินต่อการเกิดยอดและสร้างรากโดยเปรียบเทียบความเข้มข้นของ BA ร่วมกับ IAA ทั้งหมด 5 สูตร แต่ละสูตรมี 3 ซ้ำๆ ละ 5 ตัวอย่าง เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง ได้แก่

ศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส

ตัดใบอ่อนต้นทำยายมอม ล้างด้วยน้ำสะอาด แล้วนำไปฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 70% ethanol นาน 30 วินาที ย้ายลงฟอกฆ่าเชื้อในสารละลายคลอริกซ์ ความเข้มข้น 20% นาน 15 นาที เติมหิวิน 20 (Tween 20) และจากนั้นย้ายลงสารละลายคลอริกซ์ความเข้มข้น 10% นาน 10 นาที เติมหิวิน 20 จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที แล้วจึงนำไปทำยายมอมมาตัดชิ้นส่วนของใบขนาดกว้าง 1 เซนติเมตร ยาว 1 เซนติเมตร วางเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige & Skoog, 1962) และ MS ที่เติมสาร Benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Indole-3-acetic acid (IAA) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาล 3% (w/v) และวุ้น 0.6% (w/v) วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในสภาพที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ หลังจากวางเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกการชักนำให้เกิดแคลลัส โดยใช้สูตร (ร้อยละการชักนำให้เกิดแคลลัส = จำนวนชิ้นส่วนใบที่มีการสร้างแคลลัส/จำนวนชิ้นส่วนใบที่เริ่มต้นเพาะเลี้ยง x 100) และลักษณะของแคลลัส วิเคราะห์ความ

แปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละสูตรอาหาร

ศึกษาผลของ BA และ IAA ต่อการเกิดยอดและสร้างราก

นำแคลลัสทำยายมอมที่ได้จากการทดลองที่ 1 โดยตัดแคลลัสเป็น 4 เหลี่ยมด้านเท่าขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร มาชักนำการเกิดยอดและรากบนสูตรอาหาร MS ที่เติมสาร BA + IAA ระดับความเข้มข้น 0.0+0.0, 0.5+0.5, 1.0+1.0, 1.5+1.5 และ 2.0+2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และวางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในสภาพที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อศึกษาการพัฒนาเป็นยอดและการเกิดราก วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละระดับความเข้มข้นด้วยวิธี DMRT

ผลการทดลองและอภิปรายผล

ผลของสูตรอาหารต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส

จากการนำชิ้นส่วนใบอ่อนทำยายมอมเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของทำยายมอมเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ชิ้นส่วนใบอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนใบอ่อนเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาได้ดี แผ่นใบเต่งผิวใบเป็นเม็ดพุ่มมีสีเขียวอ่อน (Figure 1a) และมีลักษณะผิวใบเป็นเม็ดหยาบพุ่มทั่วทั้งแผ่นขยายขนาดมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด บางตำแหน่งมีปุ่มปลายแหลมคล้ายจุดกำเนิดของยอด มีสีเขียว เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (Figure 1b) ซึ่งคล้ายคลึงกับชิ้นส่วนใบอ่อนที่วางเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 0.5 ร่วมกับ IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 0.5 ร่วมกับ IAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 1.0 ร่วมกับ IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1.0 ร่วมกับ IAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ชิ้นส่วนใบอ่อนที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่น ๆ ใบมีขนาดหนาขึ้นพองตัวหนาไม่ทั่วทั้งแผ่น บางตำแหน่งมีสีเหลืองไม่พุ่ม (Figure 1c) และพบว่าอัตราการเกิดแคลลัสเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ อาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IAA ทุกะดับความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหาร MS ที่ไม่มีการเติม BA ร่วมกับ IAA (ชุดควบคุม) ซึ่งชิ้นส่วนใบอ่อนทำยายมอมที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 100.00%

ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 86.67% ส่วนอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 76.67% ซึ่งไม่แตกต่างจากอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 73.33% และ 70.00% ตามลำดับ เช่นเดียวกับที่อาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 50.00% ซึ่งไม่แตกต่างจากอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 46.67% และ 43.33% ตามลำดับ ในขณะที่อาหารสูตร MS ที่เติมสาร BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสได้น้อยที่สุดคือ 16.67% (Table 1)

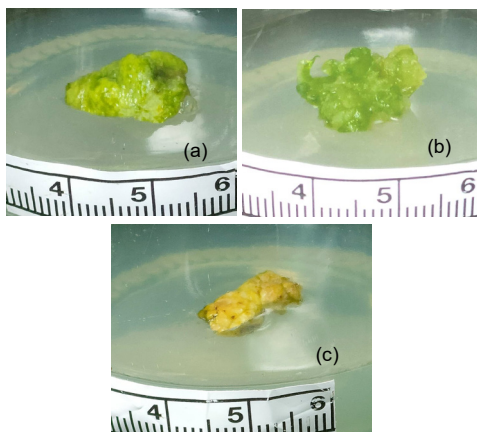


Figure 1 Characteristics of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze callus on MS medium supplemented with 1.0 mg/L BA + 1.0 mg/L IAA (a) after 2 weeks of culture and (b) after culturing for 4 weeks and (c) poorly developed callus.

Table 1 Percent of callus induction on MS and medium supplemented with various concentrations of BA and IAA cultured for 4 weeks.

		Treatments		Callus induction
media		BA (mg/L)	IAA (mg/L)	(%) $\pm$ SD
T1	MS	0	0	00.00 $\pm$ 0.00 ^f
T2	MS	0.5	0.5	86.67 $\pm$ 5.77 ^b
T3	MS	0.5	1.0	70.00 $\pm$ 0.00 ^c
T4	MS	0.5	1.5	43.33 $\pm$ 5.77 ^d
T5	MS	1.0	0.5	73.33 $\pm$ 5.77 ^c
T6	MS	1.0	1.0	100.00 $\pm$ 0.00 ^a
T7	MS	1.0	1.5	76.67 $\pm$ 5.77 ^c
T8	MS	1.5	0.5	50.00 $\pm$ 0.00 ^d
T9	MS	1.5	1.0	46.67 $\pm$ 5.77 ^d
T10	MS	1.5	1.5	16.67 $\pm$ 5.77 ^e

Note: MS = Murashige and Skoog (1962); Mean values followed by different letters indicate significant differences according to Duncan's Multiple Range Test ($P < 0.05$)

จากการชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่าแคลลัสเกิดได้ดีที่สุดบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IAA โดยมีอัตราการเกิดแคลลัสได้สูงสุด 100% ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาในพืชชนิดอื่นๆ ที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโทไคนินและออกซินในการชักนำให้เกิดแคลลัสโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น ศิราธิญากร บรรหาร และช่อทิพย์ เงินเต็ม (2564) พบว่าชิ้นส่วนใบของหยาดน้ำค้างนิวซีแลนด์ (*Drosera adelae* F.Muell.) ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร ½ MS ที่เติม kinetin 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 100% เช่นเดียวกับ ยาวพา จิระเกียรติกุล และคณะ (2564) พบว่าชิ้นส่วนใบรางจืดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D หรือ NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถพัฒนาเป็นแคลลัสได้ 100 % ส่วนชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (กลุ่มควบคุม) ไม่มีการพัฒนาของแคลลัสขวัญเดือน รัตนา และคณะ (2560) พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนใบอ่อนของบอนสีมีการเจริญเป็นแคลลัสได้ดีที่สุด 50%

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารควบคุม การเจริญเติบโตจำเป็นต่อการแบ่งเซลล์และพัฒนาไปเป็นแคลลัสของ

ชั้นส่วนใบห้ายายม่อม โดยชั้นส่วนใบพัฒนาเป็นแคลลัสได้ดีบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IAA ทั้งนี้เนื่องจาก BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนินที่มีสมบัติกระตุ้นการแบ่งเซลล์ ส่วน IAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่มีสมบัติต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสและเจริญเติบโตได้ดี เมื่อนำมาใช้ร่วมกันจึงส่งผลต่อการแบ่งเซลล์ของพืชโดยเฉพาะเมื่อใช้ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามความเข้มข้นที่ใช้ก็จะแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด ซึ่งผลการทดลองนี้ก็ได้นำไปศึกษาต่อในการพัฒนาของแคลลัสเพื่อการสร้างยอดและรากบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ IAA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อไป

ผลของ BA และ IAA ต่อการเกิดยอดและสร้างราก

จากการศึกษาผลของ BA ร่วมกับ IAA ต่อการพัฒนาของแคลลัสให้เกิดการสร้างยอดและราก ด้วยการย้ายแคลลัสที่ได้จากการทดลองที่ 1 มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าทุกสูตรอาหารสามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาต่อไปเป็นยอดและสร้างรากได้ ยกเว้นสูตรอาหาร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิด (ชุดควบคุม) โดยพบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IAA ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดการสร้างยอดต่อแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 5.67 ยอด ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดทดลองอื่นและชุดควบคุม และสูตรอาหารดังกล่าวยังสามารถชักนำการสร้างรากได้เฉลี่ย 3.07 ราก ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (Table 2, Figure 2 and Figure 3)

Table 2 Number of shoots cultured for 4 weeks and roots cultured for 8 weeks per callus cultured on MS medium supplemented with various concentrations of BA and IAA.

media	Treatments PGRs(mg/L)		No. of shoots/ callus	No. of roots/ callus
	BA	IAA		
T1 MS	0	0	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c
T2 MS	0.5	0.5	3.53±0.52 ^b	1.93±0.70 ^b
T3 MS	1.0	1.0	5.67±0.72 ^a	3.07±0.80 ^a
T4 MS	1.5	1.5	2.00±0.53 ^c	3.20±0.94 ^a
T5 MS	2.0	2.0	0.53±0.52 ^d	2.00±2.00 ^b

Note: MS = Murashige and Skoog (1962); Mean values followed by different letters indicate significant differences according to Duncan's Multiple Range Test ($P < 0.05$)

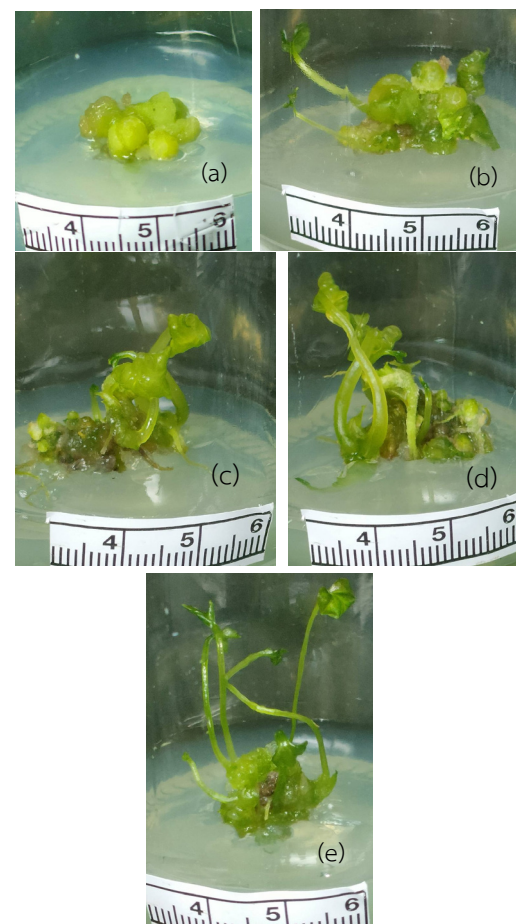


Figure 2 Shoot formation of *Tacca leontopetaloides* (L.)

Kuntze on MS medium (a) without plant growth regulators, (b) with 0.5 mg/L BA + 0.5 mg/L IAA, (c) with 1.0 mg/L BA + 1.0 mg/L IAA, (d) with 1.5 mg/L BA + 1.5 mg/L IAA and (e) with 2.0 mg/L BA + 2.0 mg/L IAA after culturing for 4 weeks.



Figure 3 Root formation of callus 8 weeks.

ซึ่งสอดคล้องกับ Shilwant and Dhabe (2021) พบว่าการใช้ชิ้นส่วนใบและยอดอ่อนทำยายม่อมเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ BAP และ IAA ที่เหมาะสมสามารถกระตุ้นการเกิดยอดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าได้ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Wiendi *et al.* (2022) ซึ่งศึกษาการออกของเมล็ดและการเพิ่มจำนวนยอดในหลอดทดลองของ *Tacca chantrieri* Andre พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1 หรือ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนยอดจากเมล็ดที่งอกในหลอดทดลอง โดยสามารถผลิตยอดได้ 7–10 ยอดหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ เช่นเดียวกับ Borokini and Ayodele (2012) พบว่าการเพาะเลี้ยงคัพภะอ่อน *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze ในอาหารสูตร MS ที่เติมออกซิน (NAA) ร่วมกับไซโตไคนิน (BAP) สามารถเพิ่มการเกิดยอดได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติมด้วย BAP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร เพิ่มจำนวนยอดได้ดีที่สุด ในขณะที่อาหารสูตร MS ที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถสร้างรากได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโทไคนิน เช่น BA มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์และช่วยในกระบวนการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ให้เกิดยอด และสารกลุ่มออกซิน เช่น NAA, IAA และ 2,4-D จะกระตุ้นการยึดตัวของเซลล์ทำให้เกิดราก ซึ่งเมื่อพืชได้รับไซโทไคนินและ ออกซินในอัตราส่วนที่เหมาะสมก็จะมีผลต่อการเกิดยอดและรากได้ (เยาพา จิระเกียรติกุล และคณะ, 2564) ซึ่ง เบญจมาศ หนูแป้น และคณะ (2561) พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิดต้นได้ดีที่สุดเฉลี่ย 20% ทั้งนี้จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าสามารถชักนำแคลลัสได้สูงสุด 100% บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA ความเข้มข้น 1.0

มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิดสูงขึ้นกลับพบว่าเกิดการยับยั้งการชักนำแคลลัส และการพัฒนาไปเป็นต้นใหม่

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ชิ้นส่วนใบของทำยายม่อมสามารถพัฒนาเป็นแคลลัสได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของแคลลัสทำยายม่อมไปเป็นต้นใหม่ได้ดีที่สุดคืออาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อการศึกษาในพืชชนิดอื่นๆ ต่อไปได้ โดยเฉพาะการผลิตพืชเพื่อใช้สกัดสารผลิตภัณฑ์ทางยาหรือผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้อง โดยแสดงให้เห็นถึงผลของการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 2 กลุ่มร่วมกัน ซึ่งควรปรับระดับความเข้มข้นและสัดส่วนของไซโทไคนินและออกซินในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิดเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ที่ดีที่สุดในการชักนำแคลลัส การพัฒนาของยอดรวมถึงการสร้างราก

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณรายได้ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

เอกสารอ้างอิง

- ขวัญเดือน รัตนา, สุภาวีร์ แสงจันทร์จิระเดช และพัชพล มุ่งลือ. (2560). อิทธิพลของ BA และ NAA ต่อการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของบอนสี. *Journal of Food Health and Bioenvironmental Science*, 10(3), 33–45.
- จิตรา ชัยวัฒน์, จิราณัฐ แจ่มทวีกุล, สันติพงศ์ วงศ์เพ็ญทักษ์ และปรีชญาพร อินทองแก้ว. (2557). ความปลอดภัยของยาจากสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*, 56(3), 123–134.
- ญาณิกา วัชรเทวินทร์กุล และอานนท์ เรียงหมู. (2563). การตรวจหาสารพิษตกค้าง และฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ของสารสกัดทำยายม่อม (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze.). *Journal of Science and Technology*, 12(24), 23–35.
- เบญจมาศ หนูแป้น, ไซนียะ สะมาลา, กนกรัตน์ ใจสะอาด, กิตติมา คงทน, กนกอร ทองใหญ่ และศิริพร ทวีโรจนการ.

- (2561). ผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวไร้พันธุ์ดอกพะยอม. *แก่นเกษตร*, 46(1), 73–80.
- เยาวพา จิระเกียรติกุล, ภาณุมาศ ฤทธิไชย, ขวัญข้าว เมืองเขียว และปิยะมาศ ไพโรจน์. (2564). การชักนำให้เกิดแคลลัส และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของแคลลัสรางจืด. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (วท.)*, 29(1), 101–110.
- ลัดดาวัลย์ คำมะปะนา, ศิริพร มุลาสิน และสุภาวดี ตั้งธีระวัฒน์. (2562). การแก้การพักตัวของเมล็ดท้ายยม่อม. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*, 37(3), 446–451.
- ศิริศานธิภากร บรรหาร และช่อทิพย์ เงินเต็ม. (2564). อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและโคโคซานต่อการขยายพันธุ์หยาดน้าค้างนิวซีแลนด์ (*Drosera adelae* F.Muell.) ในสภาพหลอดทดลอง. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 26(2), 753–769.
- สุพินญา บุญมานพ. (2564). การอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์ท้ายยม่อมในประเทศไทย (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรมส่งเสริมการเกษตร. <https://shorturl.asia/nmNfd>
- สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2564). ตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (*Thai Herbal Pharmacopoeia 2021*). <https://bdn.go.th/thp/home>
- Aïssatou, D. S., Metsagang, J. T. N., Sokeng, C. D., & Njintang, N. Y. (2017). Antihyperlipidemic and hypolipidemic properties of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze (Dioscoreales: Dioscoreaceae) tuber s aqueous extracts in the rats. *Brazilian Journal of Biological Sciences*, 4(7), 67–80. <https://doi.org/10.21472/bjbs.040708>
- Borokini, T. I., & Ayodele, A. E. (2012). Phytochemical screening of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze collected from four geographical locations in Nigeria. *International Journal of Modern Botany*, 2(4), 97–102. <https://doi.org/10.5923/j.ijmb.20120204.06>
- Borokini, T. I., Lawyer, E. F., & Ayodele, A. E. (2011). In vitro propagation of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze in Nigeria. *Egyptian Journal of Biology*, 13, 51–56. <https://doi.org/10.4314/ejb.v13i1.8>
- Cepkova, P. H., Vitamvas, J., Viehmannova, I., Kisilova, J., Cusimamani, E. F., & Milella, L. (2015). Simplified in vitro propagation protocol for *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze and assessment of genetic uniformity of regenerated plantlets. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 27(10), 736–743. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2015.06.350>
- Engelmann, F. (2011). Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 47, 5–16. <https://doi.org/10.1007/s11627-010-9327-2>
- Hapsari, B. W., Martin, A. F., Maulana, E., & Ermayanti, T. M. (2019). Growth, phytochemical properties, and antioxidant activity of in vitro-gamma irradiated *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze. In E. P. Sunarwidhi & N. R. M. Niwayan (Eds.), *AIP Conference Proceedings: Vol. 2199. International Conference on Bioscience, Biotechnology and Biometrics* (Article 050002). <https://doi.org/10.1063/1.5141300>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Susiarti, S., Oryzanti, P., Djarwaningsih, T., & Sulistiarini, D. (2023). The potential of Taka plants (*Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze) as food sources in Bangka Belitung Archipelago, Indonesia. *Journal of Namibian Studies: History Politics Culture*, 39, 102–122.
- Syafi, S., Pujiasmanto, B., Purwanto, E., & Suryanti, V. (2023). Phytochemical screening of *Tacca* plant (*Tacca leontopetaloides* L.) ethanol extract using spectrophotometry UV-VIS method. *International Journal on Advanced Science, Engineering & Information Technology*, 13(4), 1436–1442. <https://doi.org/10.18517/ijaseit.13.4.18844>
- Shilwant, B. S., & Dhabe, S. A. (2021). In vitro micropropagation of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze. *International Journal of Botany Studies*, 6(6), 1500–1502.
- The Plant List. (2024). A working list of all plant species: *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze. <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-267851>
- Uachisso, A., Silva, M. N. D., Agostinho, D., Pinho, O., Vasconcelos, M. W., & Carvalho, S. M. (2023). Nutritional evaluation of flour obtained from *Tacca*

- leontopetaloides* used as an alternative food in Muanza-Mozambique. *African Journal of Food Science*, 17(6), 122–129. <https://doi.org/10.5897/AJFS2022.2186>
- Vu, Q. T. H., Le, P. T. K., Vo, H. P. H., Nguyen, T. T., & Nguyen, T. K. M. (2017). Characteristics of *Tacca leontopetaloides* L. Kuntze collected from An Giang in Vietnam. In *AIP Conference Proceedings: Vol. 1878. Proceedings of the 3rd International Conference on Chemical Engineering, Food and Biotechnology* (Article 020022). <https://doi.org/10.1063/1.5000190>
- Wiendi, N. M. A., Sushanty, R. Y. N., & Krisantini, C. A. S. (2022). In vitro seed germination and shoot proliferation of bat flower (*Tacca chantrieri* Andre). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 21(2), 77–86. <https://doi.org/10.24326/asphc.2022.2.7>