

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะระขี้นก (*Momordica charantia* L.) ในสภาพปลอดเชื้อ
In vitro culture of *Momordica charantia* L.

วารุต อยู่คง^{1/} รัฐพร จันทรเดช^{2/} และ ภพเก้า พุทธรักษ์^{1/}
Warut U-Kong Ruttaporn Chundet Phopgao Buddharak

ABSTRACT

This study of *In vitro* young leaf and shoot tips of *Momordica charantia* were made at the Department of Biology, University of Phayao during September to December, 2011. *In vitro* young leaf and shoot tips of *Momordica charantia* were cultured on modified MS supplemented with BA at 1, 3, 5, 7 mg/l and with NAA at 0.1 mg/l for 6 weeks. The results showed that young leaf was cultured on modified MS medium with BA 1.0 mg/l combination with NAA 0.1 mg/l indicated callus size 2.9 ± 0.18 cm. *In vitro* shoot tips were cultured on modified MS medium with BA 3.0 mg/l combination with NAA 0.1 mg/l induced the highest number of shoot 10.4 ± 0.24 shoot per explants. *In vitro* rooting of regenerated shoot was cultured on modified MS medium with NAA 0.1 mg/l. The results revealed the highest root induction number 29.4 ± 0.40 root per shoot.

Key-words: tissue cultures, *Momordica charantia*, auxin, cytokinin

บทคัดย่อ

การศึกษากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อน และปลายยอดของมะระขี้นก ระหว่างเดือนกันยายน – ธันวาคม พ.ศ. 2554 ที่ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยพะเยา โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อน และปลายยอดของมะระขี้นก บนสูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 1, 3, 5 และ 7 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าใบอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสขนาด 2.9 ± 0.18 ซม. และปลายยอดที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม BA ความเข้มข้น 3.0 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอด 10.4 ± 0.24 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และการชักนำให้เกิดรากจากยอดใหม่พบว่ายอดที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดราก 29.4 ± 0.40 รากต่อยอด

คำหลัก: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มะระขี้นก ไซโตโคนิน ออกซิน

^{1/} สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา จ. พะเยา 56000

^{1/} Department of Biology, Faculty of Science, University of Phayao, Phayao province 56000

^{2/} สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ. เชียงใหม่ 50290

^{2/} Department of Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai province 50290

คำนำ

มะระขี้นก (*Momordica charantia* L.) จัดอยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae เป็นพืชพื้นเมืองที่พบได้ในประเทศไทย (อร่าม, 2543) มะระขี้นกเป็นหนึ่งในผักสดแช่เย็นแช่แข็งที่ส่งออกไปยังตลาดญี่ปุ่น อังกฤษ มาเลเซียและไต้หวัน มีมูลค่าการส่งออกในปี พ.ศ. 2553 เป็นจำนวน 6,142.32 ล้านบาท (สิรินาฏ, 2553) มะระขี้นกพบว่ามีสรรพคุณทางสมุนไพร เช่น รากช่วยรักษาอาการริดสีดวงทวาร อาการพิษตับร้อน บิด อุจจาระเป็นเลือด แผลฝีบวมอักเสบ ดอกช่วยรักษาอาการบิด ไบช่วยรักษาอาการปากเปื่อย ขับพยาธิ ขับระดู เมล็ดมีสรรพคุณช่วยกระตุ้นความรู้สึกทางเพศและบำรุงกำลัง ในผลมะระขี้นกมีสารที่มีองค์ประกอบทางเคมี โดยฤทธิ์สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ จากการศึกษาในสัตว์ทดลอง มะระขี้นกดิบในการช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด โดยจะมีผลยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสส่งผลให้สามารถชะลอการดูดซึมกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือด และชะลอการเพิ่มของระดับน้ำตาลในกระแสเลือด (วิมลพรรณและคณะ, 2553) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์การต้านเชื้อ HIV โปรตีน MRK 29 (หรือ TBGP 29) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 28.6 กิโลดัลตัน แยกได้จากผลและเมล็ดของมะระขี้นก MRK 29 มีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์รีเวิร์ทรานสคริปเทส (HIV-1 reverse transcriptase) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อินทิเกรส (HIV-integrase) นอกจากนี้สารกลัยโคโปรตีนที่ชื่อ มอมอร์ซาริน ซึ่งแยกได้จากเมล็ดของมะระขี้นกมีคุณสมบัติ

ทำให้ระดับ HIV antigen ในเซลล์ที่ติดเชื้อ HIV ต่ำลง และยังมีผลในการลดจำนวนเซลล์ที่ติดเชื้อ (Jiratchariyakul et al., 2001)

การปลูกมะระขี้นกสามารถทำได้โดยการเพาะเมล็ดในแปลงเพาะเพียงอย่างเดียว รวมทั้งการเพาะปลูกมะระขี้นกยังพบว่ามิโรคที่เป็นปัญหาสำคัญของมะระขี้นก เชื้อโรคที่เป็นตัวก่อให้เกิดความเสียหายพบเห็นกันอยู่ทั่วไปเช่น เชื้อราสามารถที่จะเข้าทำลายพืชได้เกือบทุกชนิดเมื่ออยู่ในภาวะที่เหมาะสม อาการของพืชที่ได้รับเชื้อราเข้าไปจะแสดงอาการให้เห็นเมื่อได้รับความชื้น โดยเฉพาะในพืชที่กำลังเจริญเติบโต อาการที่พบโดยทั่วไปคือ จะมีรอยฉ่ำน้ำ เน่าเหี่ยว ถ้ามีอาการมากก็จะถึงตายได้ และเชื้อไวรัสเป็นโรคที่รักษาได้ยากมากส่วนใหญ่มักจะตัดส่วนที่เป็นโรค หรืออาจทำลายทั้งต้น โดยการเผา อาการที่พบอยู่บ่อยๆ คืออาการที่ใบและลำต้น จะมีจุดเขี้ยวคล้ำ ใบหงิกงอหรือใบด่างมีผลทำให้เนื้อเยื่อในส่วนที่ถูกทำลาย ค่อยๆตายลง (นิรนาม, 2554) ดังนั้นจึงใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาช่วย เพราะสามารถเพิ่มจำนวนต้นพืชได้มากในระยะเวลาอันสั้นและปลอดโรค โดยอาศัยสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ในกลุ่มของไซโตไคนินชนิด BA เป็นสารกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ มีผลในการเพิ่มปริมาณยอด (รังสฤษฏ์, 2540) และกลุ่มของออกซินชนิด NAA มีคุณสมบัติกระตุ้นให้เกิดราก (Hopkins, 1999) วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดของมะระขี้นก

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อน และปลายยอดของมะระขึ้นก ระหว่างเดือน กันยายน - ธันวาคม พ.ศ.2554 ที่ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยพะเยา จ.พะเยา

การทดลองที่ 1. การเตรียมชิ้นส่วนเนื้อเยื่อจากการเพาะเมล็ดมะระขึ้นกในสภาพปลอดเชื้อ

นำเมล็ดของมะระขึ้นกมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง (พีระวุฒิ, 2534) นำเมล็ดมาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) เก็บที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ.ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชม./วัน ทำการเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์ เพื่อใช้เป็นตัวอย่างพืชในการทดลองที่ 2 และ 3

การทดลองที่ 2. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากปลายยอดของมะระขึ้นก

นำชิ้นส่วนปลายยอดของมะระขึ้นกจากการทดลองที่ 1 มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด benzylaminopurine (BA) ความเข้มข้น 0, 1, 3, 5, 7 มก./ล และ naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. แล้วนำมาเพาะเลี้ยงในสภาพได้รับความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชม./วัน อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ. วางแผนทดลองแบบ CRD ประกอบไปด้วย 10 ซ้ำ 9 กรรมวิธี ทดลองเป็นเวลา 6 สัปดาห์

บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด ความยาวยอด และจำนวนใบ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย Duncan's multiple range test

การทดลองที่ 3. ศึกษาสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสหรือยอดจากชิ้นส่วนใบอ่อนของมะระขึ้นก

นำชิ้นส่วนใบอ่อนมะระขึ้นกจากการทดลองที่ 1 มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด BA ความเข้มข้น 0, 1, 3, 5 และ 7 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. นำมาเพาะเลี้ยงในสภาพได้รับความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชม./วัน อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ. วางแผนทดลองแบบ CRD ประกอบไปด้วย 10 ซ้ำ 9 กรรมวิธี ทดลองเป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ขนาดแคลลัส ลักษณะแคลลัส วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย Duncan's multiple range test

การทดลองที่ 4. ศึกษาสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดใหม่ของมะระขึ้นก

ตัดยอดอ่อนโดยเลือกที่มีความยาว 2.2 ซม. มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินชนิด NAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3 และ 0.5 มก./ล. นำมาเพาะเลี้ยงในสภาพได้รับความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชม./วัน อุณหภูมิ 25 ± 2 °ซ. วางแผนทดลองแบบ CRD ประกอบไปด้วย 10 ซ้ำ 4 กรรมวิธีดำเนินการ

ทดลองเป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดราก และจำนวนราก วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย Duncan's multiple range test

หลังจากเกิดต้นและรากสมบูรณ์ นำต้นอ่อนมะระขึ้นกมาปรับสภาพในอุณหภูมิห้องนาน 1 สัปดาห์ ก่อนย้ายปลูก หลังจากนั้นนำมาปลูกในวัสดุปลูกที่ประกอบด้วยดินร่วน ทรายและขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1: 1 รดน้ำให้ชุ่มเพื่อรักษาความชื้น เป็นเวลานาน 2 ก่อนการบันทึกข้อมูล

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ 1. การเตรียมชั้นส่วนเนื้อเยื่อจากการเพาะเมล็ดมะระขึ้นกในสภาพปลอดเชื้อ

การเพาะเลี้ยงเมล็ดของมะระขึ้นกบนสูตรอาหาร MS พบว่าเมล็ดมะระขึ้นกสามารถงอก และเจริญเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ แข็งแรง โดยมีราก ลำต้น ใบอ่อน ทุกเมล็ด เช่นเดียวกับงานวิจัยของพีระวุฒิ (2534) ที่เพาะเมล็ดบนสูตรอาหาร MS สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนที่สมบูรณ์ได้เพื่อใช้เป็นตัวอย่างพืช

การทดลองที่ 2. การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากปลายยอดของมะระขึ้นก

การศึกษการเพิ่มปริมาณยอดโดยการเพาะเลี้ยงปลายยอดมะระขึ้นกบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 0 1 3 5 7 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีจำนวน 1 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ส่วนอาหาร MS ที่เติม BA

ความเข้มข้น 1, 3, 5 และ 7 มก./ล. อย่างเดียว มีจำนวนยอด 1.6±0.24, 5.2±0.48, 2.4±0.24 และ 2.2±0.20 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ตามลำดับ (Table1) เช่นเดียวกับงานวิจัยอภิชาติและคณะ (2543) ได้ทำการศึกษาผลของ BA เพียงอย่างเดียวต่อการเพิ่มจำนวนยอดของกระชายดำในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มก./ล. สามารถเกิดยอด 4.0±0.024 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ NAA พบว่ามีความเหมาะสมที่สุดต่อการชักนำให้เกิดยอดของมะระขึ้นก โดยสูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงที่สุดเฉลี่ย 10.4±0.24 ยอด/ชิ้นส่วนพืช (Figure 1 a, Table 1) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Ruot *et al.* (2008) ที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA สำหรับการชักนำให้เกิดยอดจากตาข้างของ *Nyctanthes arbor-tristis* Li. โดยใช้ BA ความเข้มข้น 1.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 4.78±0.20 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และงานวิจัยของ Bhattacharya และ Bhattacharya (1997) ใช้ BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. ชักนำการเกิดยอดจากตาข้างของ *Jasminum officinale* L. เฉลี่ย 2.5±0.12 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เนื่องจากการใช้ออกซินร่วมด้วยจะช่วยส่งเสริมการเกิดยอดเนื้อเยื่อได้เพิ่มขึ้น (Branca *et al.*,1991)

Table 1. Regeneration percentage number of shoot per explant, shoot per explant length from modified MS medium contains BA and NAA combination at 6 weeks

BA (mg/l)	NAA (mg/l)	Regeneration (%)	Mean number of shoot per explant
0	0	100	1.0±0.00 e
1	0	100	1.6±0.24 d
3	0	100	5.2±0.48 c
5	0	100	2.4±0.24 d
7	0	100	2.2±0.20 d
1	0.1	100	2.2±0.20 d
3	0.1	100	10.4±0.24 a
5	0.1	100	6.8±0.37 b
7	0.1	100	6.4±0.24 b

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

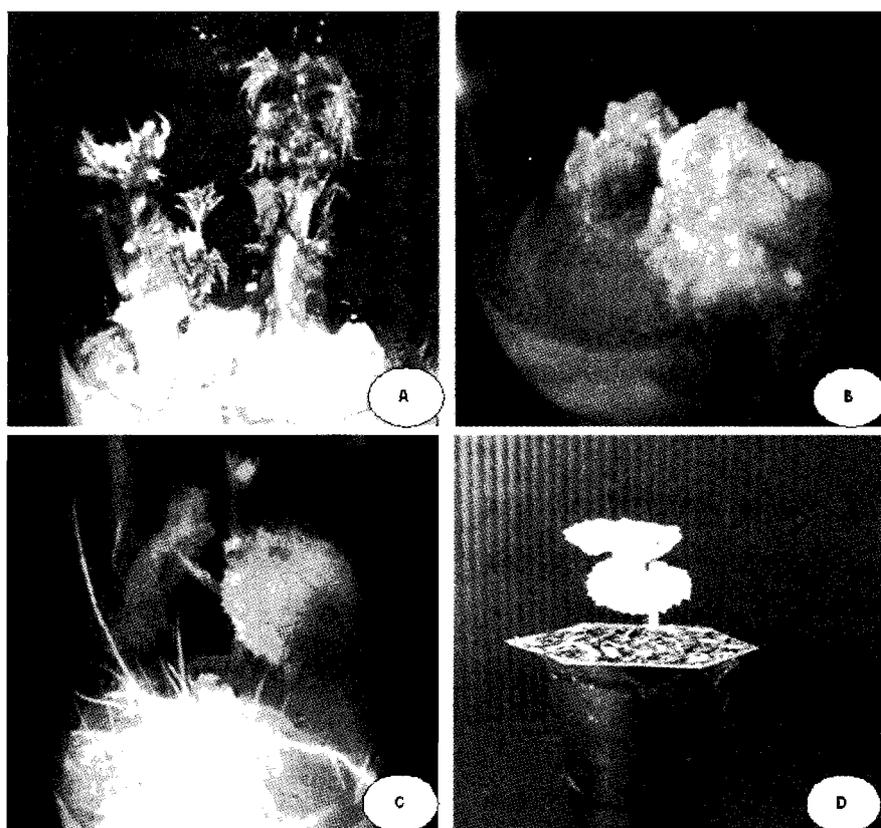


Figure 1. *In vitro* cultured of *Momordica charantia* on modified MS medium; (a) shoot regeneration from shoot tip on modified MS medium BA 3 mg/l combination with NAA 0.1 mg/l; (b) callus regeneration from young leaf on modified MS medium BA 1 mg/l combination with NAA 0.1 mg/l; (c) roots regeneration from shoot modified MS medium with NAA 0.1 mg/l and (d) plantlet transplanted into soil mixture *ex vitro*.

การทดลองที่ 3. การศึกษาสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสหรือยอดจากชิ้นส่วนใบอ่อนของมะระขี้นก

การนำชิ้นส่วนใบอ่อนของมะระขี้นกมาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 3, 5 และ 7 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหาร MS ทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ยกเว้นสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ไม่สามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้ โดยสูตร

อาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. พบว่ามีความเหมาะสมที่สุดต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส โดยมีขนาด 2.9 ± 0.18 ซม. และมีสีเขียว (Figure 1 b, Table 2) สอดคล้องกับงานวิจัยของปิยะพร และนุชมะณี (2547) ที่ศึกษาผลของ NAA และ BA ต่อการเกิดแคลลัสและยอดของผักชีฝรั่ง โดยพบว่าที่ความเข้มข้นของ BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. สามารถกระตุ้นแคลลัสให้เกิดขึ้นได้ 100%

Table 2. The format type of callus per explant and callus from modified MS medium contains BA and NAA combination at 6 weeks.

BA (mg/l)	NAA (mg/l)	Callus formation(%)	Mean of callus per explant	Callus colour	Type of callus
0	0	0	0.0±0.00 d	-	-
1	0	100	2.8±0.12 a	Green	Compact
3	0	100	2.1±0.18 b	Green	Compact
5	0	100	2.2± 0.25 b	Green	Compact
7	0	100	2.1±0.10 b	Yellow	Compact
1	0.1	100	2.9±0.18 a	Green	Compact
3	0.1	100	1.9±0.10 c	Green	Compact
5	0.1	100	2.24±0.11b	Yellow	Compact
7	0.1	100	2.7±0.12 a	Brown	Compact

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

การทดลองที่ 4. การศึกษาสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดใหม่ของมะระขี้นก

ในการศึกษาการชักนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนยอดใหม่ของมะระขี้นกบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1, 0.3 และ 0.5 มก./ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าในอาหารทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดรากใหม่ตรงบริเวณโคนชิ้นส่วนได้ ยกเว้นสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ ส่วนสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดี คือสูตรอาหาร MS

ดัดแปลงที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดรากได้สูงถึง 29.4±0.40 ราก/ยอด (Figure 1 c, Table 3) ส่วนในสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.3 และ 0.5 มก./ล. มีราก 22.8±0.86 และ 14.8±1.28 ราก/ยอด เนื่องจาก NAA มีผลต่อการชักนำให้เกิดการแตกรากใหม่ (Kongbangkerd *et al.*, 2005 ; Martin, 2002)

เมื่อนำต้นกล้าที่มีความสมบูรณ์มีราก ลำต้น และใบที่สมบูรณ์แข็งแรง ในสภาพปลอดเชื้อมาทำการออกปลูกในสภาพธรรมชาติพบว่า ต้นกล้าสามารถเจริญเติบโตได้ดี (Figure 1 d)

Table 3. Regeneration percentage number of root per explant length from modified MS medium contains NAA combination at 1 week.

NAA (mg/l)	Regeneration(%)	Mean number of root per explant
0.0	0	0
0.1	100	29.4±0.40a
0.2	100	22.8±0.86b
0.3	100	14.8±1.28c

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

สรุปผลการทดลอง

สูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจากปลายยอดของมะระขี้นก คือ สูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มก./ล.ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. ยอดเฉลี่ย 10.40±0.24 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ส่วนสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส

คือ สูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มก./ล.ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส ขนาดเฉลี่ย 2.9±0.18 ซม.และสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุดคือ สูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. เกิดรากเฉลี่ย 29.4±0.40 ราก/ยอด

เอกสารอ้างอิง

- นิรนาม. 2554. *เพลิงไฟศัตรูพืชอันตรายในอียู*.
http://it.doa.go.th/pibai/pibai/n14/v_6-july/borkor.html. 23/6/2555.
- ปิยะพร แสนสุข และนุชมะณี สุดดี. 2547. อิทธิพลของ NAA และ BA ต่อการเกิดแคลลัส และยอดของผักชีข้าง. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น* 9(2): 39-31.
- พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์. 2534. *การชักนำให้เกิดอวัยวะและต้นใหม่ของลำไย (Euphoria longana Lamk.) ในสภาพปลอดเชื้อ*. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิตภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 121 หน้า.
- รังสฤษดิ์ กาวีตะ. 2540. *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 15 หน้า.
- วิมลพรรณ รุ่งพรหม ศิริรัตน์ ศิริพรวิศาล สันญา เขียวไสว และมุกดา ทรงไตรย์. 2553. สารยับยั้งแอลฟาไกลโคซิเดสจากพืชสมุนไพรเพื่อใช้บำบัดโรคเบาหวาน. *ว.วิทย์. กษ.* 41(3): 301-304.
- สิรินาฏ พรศิริประทาน. 2553. การส่งออกผักและผลไม้สดไทยไปสหภาพยุโรป. หน้า 1-21. ใน : *ส่วนงานสารสนเทศและเผยแพร่วิชาการ*. สถาบันระหว่างประเทศเพื่อการค้าและการพัฒนา (องค์กรมหาชน).
- อร่าม คุ่มทรัพย์. 2543. *เกษตรแบบไทยไทย*. โรงพิมพ์อักษรไทย กรุงเทพฯ. 44 หน้า.
- อภิชาติ ชิดบุรี, พิทักษ์ พุทธวรชัย และพงศัญชวาลบุญเรือง. 2543. ผลของระดับความเข้มข้น BA ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนต้นกระชายดำในสภาพปลอดเชื้อ. *วารสารเกษตร* 17(2): 100-105.
- Bhattacharya, S. and S. Bhattacharya. 1997. Rapid multiplication of *Jasminum officinale* L. by *in vitro* culture of nodal explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 51(1): 57-60.
- Branca, C., G. Bucci, P. Domiano, A. Ricci, A. Torelli and M. Bassi. 1991. Auxin structure and activity on tomato morphogenesis. *Plant cell, Tissue and Organ Culture* 24(2): 105-114.
- Hopkins, G.W. 1999. *Introduction to Plant Physiology*. John Wiley and Sons, Inc., U.S.A. 242 p.
- Jiratchariyakul, W., C. Wiwat, M. Vongsakul, A. Somanabandhu, W. Leelamanit, I. Fujii, N. Suwannaroj and Y. Ebizuka. 2001. HIV inhibitor from Thai bitter gourd. *Planta Medica* 67: 350-353.
- Kongbangkerd, A., A. Koepf, P. Allacher, C. Wawrosch and B. Kopp. 2005.

- Micropropagation of squill (*Charybdis numidica*) through nodule culture. *Plant Cell Rep.* 23: 673-677.
- Martin, K.P. 2002. Rapid propagation of *Holostemma ada-kodion* Schult, a rare medicinal plant, through axillary bud multiplication and indirect organogenesis. *Plant Cell Rep.* 21: 112-117.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Rout, G.R., A., Mahato and S.K. Senapati. 2008. *In vitro* clonal propagation of *Nyctanthes arbur-tristis*. *Biologia Plantarum* 52(3): 521-524.