การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อน และปลายยอดโมกพวงในสภาพปลอดเชื้อ
In Vitro Culture Young Leafs and Shoot Tips of *Wrightia religiosa* Benth

ภพเก้า พุทธรักษ์ [1/] วารุต อยู่คง [1/]

Phopgao Buddharak [1/] Warut U-kong

ABSTRACT

Wrightia religiosa is endemic species found only in Thailand, which is a rare and endangered species. A study of tissue culture is another way to increase the number. The young leaf of *Wrightia religiosa*. was cultured on Murashige and Skoog (MS) supplemented with various concentrations of thidiazuron (TDZ) namely 0.0, 2.0, 3.0 an 4.0 mg/l and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), at 0.1 mg/l, and shoot tip was cultured on MS supplemented with various concentrations of benzyladenine (BA at the rate of 0.0, 1.0, 2.0 and 4.0 mg/l). The results showed that MS with 4.0 mg/l TDZ cooperate 0.1 mg/l 2,4-D induced the highest percentage callus of young leaf at 80, and MS with 4 mg/l BA induced the highest shoots of shoot tip (8,4 shoot per explants).

Key words: *in vitro* culture, *Wrightia religiosa*., plant growth regulators

บทคัดย่อ

โมกพวง (*Wrightia religiosa)* เป็นพรรณไม้ถิ่นเดียวที่พบเฉพาะในประเทศไทย ซึ่งก็เป็นพรรณไม้ที่หายาก และใกล้จะสูญพันธุ์ การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มปริมาณ และเพื่อการอนุรักษ์พันธ์โมกพวง โดยทำการศึกการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของโมกพวง บนสูตรอาหาร Murashige and Skoog (MS) ที่มีการเติม thidiazuron (TDZ) ความเข้มข้น 0.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มก./ล. และ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. และการเพาะเลี้ยงปลายยอดบนสูตรอาหาร MS ที่เติม benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 0.0, 1.0, 2.0 และ 4.0 มก./ล. พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 4 มก./ล. ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น

[1/] คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา อ.เมือง จ.พะเยา 56000

[1/] Faculty of Scienee, Department of Biology, University of Payao, Mueang districts, Payao province 56000

0.1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากใบอ่อนได้ดีที่สุดที่ 80% และสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนปลายยอดได้สูงสุด มีจำนวนยอด 8.4 ยอด/ชิ้นส่วนพืชเริ่มต้น

คำหลัก: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โมกพวง สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

คำนำ

โมกพวง (*Wrightia religiosa* Benth.) อยู่ในวงศ์ Apocpnaceae เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง ใบเดี่ยว ออกดอกเป็นช่อ ดอกสีขาวมีกลิ่นหอม ยังเป็นพรรณไม้ถิ่นเดียวที่พบเฉพาะในประเทศไทย ซึ่งก็เป็นพรรณไม้ที่หายาก และใกล้จะสูญพันธุ์ (Middleton and Santisuk, 2001) โมกยังมีสรรพคุณทางยาโดยยางใช้แก้โรคบิดที่มีอาการเลือดออก แก้พิษงูและแมลงกัดต่อย ราก รักษาโรคเรื้อนและแก้โรคผิวหนัง (วิฑูรย์และคณะ, 2545) การขยายพันธุ์ใช้วิธีปักชำและการเพาะเมล็ด ซึ่งทำได้ยาก เนื่องจากเมล็ดมีขนาดเล็กและลำต้นของโมกมียาง ดังนั้นการแก้ปัญหาของการขยายพันธุ์โมกแก้ไขได้โดยอาศัยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งสามารถเพิ่มจำนวนได้มากใช้ระยะเวลาสั้นและปลอดโรค โดยอาศัยสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพิ่มปริมาณยอด

สารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นองค์ประกอบของอาหารที่สำคัญอย่างหนึ่ง ซึ่งมีผลต่อการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะสารในกลุ่มไซโตไคนิน ซึ่งมีไธไดอาซูรอน (thidiazuron) และ เบนไซลาดีนีน (benzyladenine) ซึ่งจัดเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีบทบาทชักนำการแบ่งเซลล์และเกิดยอด แต่ยับยั้งการเกิดราก ส่วนออกซิน (2,4-Dichlorophenoxy acetic acid) สามารถชักนำการเกิดรากและแคคลัส (Pierik, 1989) มีงานวิจัยของเจริญและคณะ (2551) ที่ใช้ TDZ ความเข้มข้น 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยของหนอนตายยากได้ 3.1 ยอด/ชิ้น ส่วนพืชเริ่มต้น และใช้ BA ความเข้มข้น 5 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยของหนอนตายยากได้ 2.7 ยอดต่อชิ้นส่วนพืชเริ่มต้น และงานวิจัยของ Lang และ Hang (2006) ที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินร่วมกับออกซินในการศึกษาการเพาะเนื้อเยื่อใบอ่อนของ *Vanda coerulea* Griff สามารถชักนาให้เกิดแคลลัสได้ในเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.3 มก./ล. ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 10 มก./ล.

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบอ่อน และชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนปลายยอดของโมกบนสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจิญเติบโตในกลุ่มของไซโตไคนินและออกซิน

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1. การฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อใบอ่อนและปลายยอดของโมกพวง

นำชิ้นส่วนใบอ่อน และปลายยอดโมกพวงมาล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นนำไปแช่ใน

สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์หรือคลอร็อกซ์ (NaClO) ความเข้มข้น 15% ผสม Polysorbate 20 (tween 20) 1- 2 หยด เป็นเวลา 10 20 และ 25 นาที และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 5% เป็นเวลา 5 นาที พร้อมกับเขย่าเบา ๆ หลังจากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ตัดชิ้นส่วนใบอ่อนให้มีขนาดประมาณ 0.5 x 0.5 ซม. และปลายยอดตัดให้ได้ขนาดประมาณ 1 ซม. (วานิณี, 2552) แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร Murashige และ Skoog, MS (1962) ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต แล้วนำไปเก็บในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีอุณหภูมิ 25±2 °ซ. ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชม./วัน การทดลองวางแผนแบบ CRD ประกอบด้วย 10 ซ้ำ ทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ บันทึกการปนเปื้อนจุลินทรีย์ การปลอดเชื้อจุลินทรีย์ และการรอดชีวิต โดยคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์จากจำนวนซ้ำที่เกิดหารด้วยจำนวนซ้ำทั้งหมดคูณด้วยร้อย

การทดลองที่ 2. การชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบอ่อนโมกพวงในสภาพปลอดเชื้อ

นำชิ้นส่วนใบอ่อนโมกพวงที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด thidiazuron (TDZ) ความเข้มข้น 0.0 2.0 3.0 และ 4.0 มก./ล. และ 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. (สุภาพรและคณะ, 2551) แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ. ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชม./วัน การทดลองวางแผนแบบ CRD ประกอบด้วย 10 ซ้ำ ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ขนาดแคลลัสและชนิดของแคลลัส ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย Duncan's multiple range test (DMRT)

การทดลองที่ 3. การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนปลายยอดโมกพวงในสภาพปลอดเชื้อ

นำชิ้นส่วนปลายยอดโมกพวงที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้ว มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 4.0 มก./ล. (ต้องพงศ์, 2552) แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ. ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชม./วัน การทดลองวางแผนแบบ CRD ประกอบด้วย 10 ซ้ำ ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนพืชเริ่มต้น ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย DMRT

การศึกษาทั้งหมดทำการทอลองที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา จ. พะเยา ระว่างเดือนมีนาคม - เมษายน พ.ศ. 2554

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ 1. การฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อใบอ่อนและปลายยอดของโมกพวง

ระยะเวลาที่แตกต่างกันในการฟอกฆ่า

เชื้อชิ้นส่วนใบอ่อน และปลายยอดโมกพวงด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 15% พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อใบอ่อน และปลายยอดโมกพวงโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วยสารละลายเดียวกันที่ความเข้มข้น 5% เป็นเวลา 5 นาที สามารถลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีได้สูงสุดถึง 80% (Tables 1, 2) สอดคล้องกับงานวิจัยของอัศวิน (2553) ที่ใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 10 % เป็นเวลา 10 นาที และตามด้วยสารละลายเดียวกับความเข้ม 5 % เป็นเวลา 5 นาที ในการฟอกฆ่าเชื้อใบอ่อนของมะลิ สามารถลดการปนเปื้อนเชื้อจุลลินทรีย์ได้สูงสุดถึง 86 % และที่สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 15% เป็นเวลา 20 และ 25 นาทีสามารถลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ได้ แต่ความเข้มข้นที่สูงมีผลทำลายเนื้อเยื่อชิ้นส่วนใบอ่อน และปลายยอดโมกพวงมีลักษณะชีดและช้ำตาย (Figure 1 a) เช่นเดียวกับงานวิจัยของนฤพร (2541) ที่ใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 15 %ที่เวลา 20 นาทีขึ้นไป ทำให้ชิ้นเนื้อเยื่อออริกาโนช้ำตายเช่นกัน และที่สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 15% เป็นเวลา 10 นาที ชิ้นส่วนใบอ่อน และปลายยอดโมกพวงมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์สูงถึง 70 และ 80% เนื่องจากความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ไม่เพียงพอ (Figure 1 b) สอดคล้องกับงานวิจัยของดาธิกา (2554) ใช้สารละลายเดียวกันที่ความเข้มข้น 15 % เป็นเวลา 10 นาที ของการฟอกฆ่าเชื้อใบอ่อนบอนสีมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ 100%

การทดลองที่ 2. การชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบอ่อนโมกพวงในสภาพปลอดเชื้อ

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนโมกพวงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.0 2.0 3.0 และ 4.0 มก./ล. และ 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าเนื้อเยื่อของใบอ่อนที่นำมาเลี้ยงเพาะบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลงนั้น สามารถพัฒนาไปเป็นแคลลัสได้บางสูตรเท่านั้น โดยเนื้อเยื่อใบอ่อนชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดจากสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้น 4 .0 มก./ล. ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. มีขนาดแคลลัสเฉลี่ย 1.88 ซม. โดยแคลลัสมีลักษณะเกาะกันแน่น (compact callus) (Figure 1 c, Table 3) ส่วนสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ เพียงอย่างเดียวไม่สามารถชักนำใบอ่อนของโมกพวงเกิดแคลลัสได้ เนื่องจากความเข้มข้นของไซโตไคนิน (TDZ) สูงเกินไป จึงมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชได้ (Gianfagna, 1995) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าในเนื้อเยื่อมีไซโตไคนินอยู่แล้ว การเพิ่มจากภายนอกเข้าไปจะทำให้ปริมาณไซโตไคนินภายในสูงเกินไป ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์บางชนิดมากไปจนเกิดอันตรายต่อชิ้นส่วนพืช และส่งผลให้ความยาวของยอดและจำนวนข้อลดลง (Mok and Mok, 1994) มีงานวิจัยการใช้ TDZ ความเข้มข้นต่ำ

Table 1. Effect of sodiumhypochlorite to sterilization young leaf of *Wrightia religiosa*

Concentration (%)	Time (min)	Contaminant (%)	No contaminan (%)	Survival (%)
15	10	70	30	66.66
15	20	10	90	11.11
15	25	0	100	0
10 and 5	10 and 5	20	80	87.50

Table 2. Effect of sodiumhypochlorite to sterilization shoot tip of *Wrightia religiosa*

Concentration (%)	Time (min)	Contaminant (%)	No contaminan (%)	Survival (%)
15	10	80	20	50.00
15	20	20	80	12.50
15	25	0	100	0
10 and 5	10 and 5	20	80	75.00

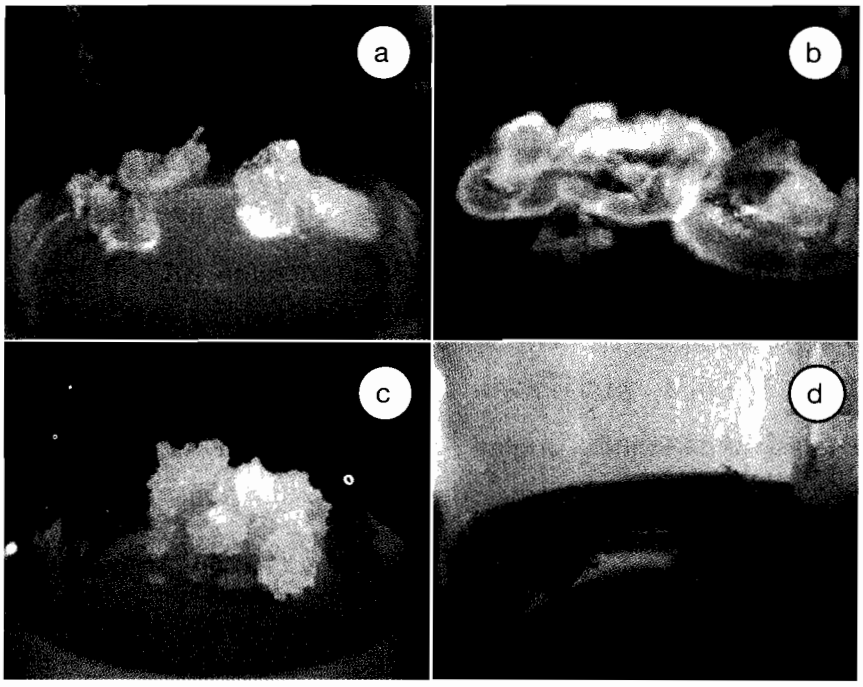

Figure 1. *In vitro* culture of *Wrightia religiosa* . on MS medium. (a) dead leaf tissue after culture for one week, (b) leaf tissue contaminated with fungus after culture for one week; (c) the MS medium with TDZ 4.0 mg/l combination with 2,4-D 0.1 mg/l could be the best for callus induction and at 6 weeks and (d) the MS medium with BA 4 mg/l could be the best for shoot induction at 6 weeks.

Table 3. Effects of different combinations of TDZ and 2,4-D on MS medium of *Wrightia religiosa* young leaf cultured at 6 weeks.

2,4-D (mg/l)	TDZ (mg/l)	Mean of callus per explant	Callus formation (%)	Type of callus	Callus colored
0.0	0.0	0	0	-	-
0.0	2.0	0	0	-	-
0.0	3.0	0	0	-	-
0.0	4.0	0	0	-	-
0.1	2.0	1.20±0.55 a	40	compact	green
0.1	3.0	1.802±0.37 a	50	compact	green
0.1	4.0	1.88±0.12 a	80	compact	green

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

0.01 -1.0 มก./ล. สามารถชักนำให้เนื้อเยื่อส่วนต่างๆเกิดเป็นแคลลัสได้ดี (Mok *et al.*, 1987) ดังงานวิจัยของ ศิริวรรณและรุ่งทิพย์ (2550) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนของสบู่ดำบนสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.01-1.0 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี และ Preece (1987) ใช้ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นช่วง 0.01-1.0 มก./ล. พบว่ามีความเหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสจากต้น Juglan มากที่สุด

การทดลองที่ 3. การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนปลายยอดโมกพวงในสภาพปลอดเชื้อ

การชักนำให้เกิดยอดจากปลายยอดโมกพวง เมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0, 2.0 และ 4.0 มก./ล. พบว่าสูตรอาหารทุกสูตรอาหารสามารชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนปลายยอดได้ โดยสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม BA ความเข้มข้น 4.0 มก./ล. เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดโดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 8.40 ยอด/ชิ้นส่วนพืชเริ่มต้น มีเปอร์เซ็นการเกิดยอด 100% (Figure 1 d, Table 4) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tanimoto และ Harada (1981) รายงานว่าเมื่อเติม BA ความเข้มข้น 4 มก./ล.ลงในอาหารที่เพาะเลี้ยงทอรีเนียสามารถกระตุ้นให้เกิดยอดได้ถึง 100 % เนื่องจาก BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่มีผลต่อการแบ่งเซลล์ และกระตุ้นการเกิดยอดจากตาข้าง และสามารถเพิ่มปริมาณยอดในพืชได้หลายชนิด เช่น ต้นประยงค์ (*Aglacia adorata* Lour.) (วินิจ, 2546) และจิบโซฟิลลา (*Gypsophiloa paniculata* L.)(Kusey *et al.*, 1980)

Table 4. Effect of BA on shoot induction from shoot tip of *Wrightia religiosa* cultured at 6 weeks.

BA (mg/l)	Mean of shoot per explant	Shoot formation (%)
0.0	1.40±0.24 d	100
1.0	3.40±0.24 b	100
2.0	4.60±0.24 c	100
4.0	8.40±0.67 a	100

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

สรุปผลการทดลอง

ในการศึกษาการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนปลายยอด พบว่าสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม BA ความเข้มข้น 4.0 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุดถึง 8.40 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และส่วนการเพาะเลี้ยงใบอ่อนสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้น 4.0 มก./ล. ร่วมกับ 2, 4-D ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. สามารถการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด

เอกสารอ้างอิง

เจริญ สิงห์ลอ อนุพันธ์ กงบังเกิด คงศักดิ์ พร้อมเทพ และปรียานันท์ แสนโภชน์. 2551. ผลของไซโตไคนินต่อการทวีจำนวนยอดของหนอนตายหยากในหลอดทอลอง. *ว.วิทยาศาสตร์นเรศวร* 5(2): 221-229.

ดาธิกา ไชยลังกา. 2554. *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนของบอนสี.* ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก. 38 หน้า.

ต้องพงศ์ กันทะ. 2552. *การชักนำให้เกิดยอดของมะไฟจีน (Clausena lansium) จากปลายยอดในสภาพปลอดเชื้อ.* ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 41 หน้า.

นฤพร หรรษคุณาฒัย. 2541. *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออริกาในสภาพปลอดเชื้อ.* ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 59 หน้า.

ศิริวรรณ บุรีคำ และรุ่งทิพย์ กาวิตา. 2550. *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.* นิทรรศการงานวิจัยบนเส้นทางงานวิจัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ปี 2550 ในงานเกษตรแฟร์ ประจำปี 2550 วันที่ 26 มกราคม-3 กุมภาพันธ์ 2550. ณ อาคารจักรพันธ์ เพ็ญศิริ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

วานิณี มังคะราช. 2552. *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบีโกเนีย (Begonia sp.) ในสภาพปลอดเชื้อ.* ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 32 หน้า.

วิฑูรย์ ปัญญากุล อารีรัตน์ กิตติศิริ ธนรัช ใกล้กลาง วารี ยินดีชาติ และวัชรีพร คงวิลาด.

2545. พันธุ์ไม้หอมคุณค่าความหอมของไม้ไทย. ว.*เกษตรกรรมธรรมชาติ* 7:60 .

วินิจ พลศักดิ์. 2546. *การเพาะเลี้ยงเนื้อประยงค์ (Aglacia adorata* Lour.*) และการเปรียบเทียบสารทุติยภูมิที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับต้นที่พบในสภาพธรรมชาติ.* วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 122 หน้า.

สุภาพร เจริญจิตต์ มาลี ณ นคร และสุรียา ตันติวิวัฒน์. 2551. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโมกราชินี. หน้า 638-645. *ใน : การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตร ศาสตร์ ครั้งที่ 46.* วันที่ 29 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2551.

อัศวิน ธะนะปัด. 2553. *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดและใบอ่อนของมะลิ* (*Jasminum* spp.). ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก. 77 หน้า.

Kusey, E.W.J., A.P. Hammer and T.C. Weiler. 1980. *In vitro* propagation of *Gypsophila paniculata* L. Bristol Fairy. *Hortscience* 15(5): 600-601.

Lang, N. and N. Hang. 2006. Using biotechnological approaches for vanda orchid improvement. *Omonrice* 14: 140-143.

Middleton D.J. and T. Santisuk. 2001. A new species of *Wrightia* (Apocynaceae: Apocynoideae) from Thailand. *Thai Forest Bulletin (Bot.)* 29 : 1-10.

Pierik, R. L. M. 1989. In: *Vitro Culture of Higher Plants*. Martinus Nijhoff Publishers, Netherland. 344 p.

Tanimoto, S., and H. Harada. 1981. Chemical factors controlling floral bud formation of *Torenia* stem segment cultured *in vitro* I. effects of mineral nutrients and sugrar. *Plant and Cell Physiol.* 22 (8): 1553-1560.

Gianfagna, T. 1995. *Natural and Synthetic Growth Regulators and Their Use in Horticultural and Agronomic Crops, Plant Hormones*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. 883 p.

Mok, D. W. S. and M.C. Mok. 1994. Cytokinins: Chemistry, Activity and Function. CRC Press, Inc., Florida. 338 p.

Mok, M., D. Mok, J. Turner and C. Mujer. 1987. Biological and biochemical effects of cytokinin-active phenylurea derivatives in tissue culture systems. *Hortscience*, 22(6): 1194 - 1197.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.

Preece,J.E. 1987. The influence of thidiazuron on In vitro culture of woody plants. *HortScience* 22: 1071.