



ผลของ 6-เบนซิลอะมิโนพิวรีนและสูตรอาหารที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
มะเมีน (Antidesma bunius (L.) Spreng. var. bunius)

The Effect of 6-Benzylaminopurine and Media on *in vitro* Culture
of Mamao Dong (*Antidesma bunius* (L.) Spreng. var. *bunius*)

พรทิพย์ เทิดบารมี¹

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงยอดมะเมีน (*Antidesma bunius* (L.) Spreng. var. *bunius*) ในสภาพปลอดเชื้อ มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิว การชักนำให้เพิ่มจำนวนและความยาวยอดที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร Murashige and Skoog (MS) และ Woody Plant Medium (WPM) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต คือ 6-เบนซิลอะมิโนพิวรีน (6-BAP) ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และศึกษาการชักนำให้ยอดเกิดรากในสูตรอาหาร WPM ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหาร 1 1/2 และ 1/4 เท่า พบว่าการนำยอดของมะเมีนฟอกฆ่าเชื้อโดยไม่ตัดยอดออกจากต้นด้วยการโน้มยอดอ่อนลงแช่เอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วจึงตัดยอดมะเมีนแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 2.4 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที และย้ายลงแช่สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 10 นาที มีประสิทธิภาพสูงสุดในการฟอกฆ่าเชื้อ ทำให้อยอดมะเมีนมีการปนเปื้อนและไม่รอดชีวิตต่ำสุด (16.67 เปอร์เซ็นต์) และมีการปลอดเชื้อและรอดชีวิตสูงสุด (83.33 เปอร์เซ็นต์) ทำการเพาะเลี้ยงยอดมะเมีนเป็นเวลา 8 สัปดาห์บนสูตรอาหาร MS ที่เติม 6-BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.7 ยอด มีความยาวเฉลี่ย 2.85 เซนติเมตร ส่วนการเพาะเลี้ยงยอดมะเมีนบนสูตรอาหาร WPM ที่เติม 6-BAP ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.9 ยอด (ความยาวยอดเฉลี่ย 2.76 เซนติเมตร) และ 2.3 ยอด (ความยาวยอดเฉลี่ย 2.52 เซนติเมตร) ตามลำดับ การนำยอดมะเมีนมาชักนำให้เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหาร WPM ที่ความเข้มข้นธาตุอาหาร 1 และ 1/4 เท่า สามารถชักนำให้เกิดรากสูงสุดเท่ากัน (10 เปอร์เซ็นต์)

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม กรุงเทพมหานคร 10900

E-mail: P_therdbamee@hotmail.com

ABSTRACT

The objectives of this study were to investigate the most effective methods for surface-sterilization of shoot explants and the most suitable media for *in vitro* induction of shoot multiplication and promotion of shoot growth of Mamao Dong (*Antidesma bunius* (L.) Spreng. var. *bunius*). The media used for shoot multiplication included Murashige and Skoog (MS) and Woody Plant Medium (WPM) supplemented with 0, 1, 3 and 5 mg/l 6-Benzylaminopurine (6-BAP). For induction of roots, full-, half- and quarter-strength WPM (WPM, ½ WPM and ¼ WPM) were tested. The most effective method for sterilizing the shoots was to soak the intact shoots for 1 minute in 70% (v/v) ethyl alcohol before cutting the shoots from the stem followed by soaking in 2.4% sodium hypochlorite for 10 minutes and finally in 1.2% (v/v) sodium hypochlorite for another 10 minutes. This sterilization process resulted in the highest percentage of shoot explants which were uncontaminated and survived (83.33%). Culture of shoots in MS containing 1 mg/l 6-BAP for 8 weeks produced maximum average number of shoots (2.7) which were 2.85 cm long on average. WPM supplemented with 1 and 3 mg/l were suitable for shoot induction and growth producing the maximum of 2.9 shoots (2.76 cm long) and 2.3 shoots (2.52 cm long), respectively. Culturing the shoots in full-strength and ¼ strength WPM for 8 weeks produced highest percentage of root induction (10%).

คำสำคัญ: มะเมาดง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 6-เบนซิลอะมิโนพิวรีน สูตรอาหาร MS สูตรอาหาร WPM

Keywords: *Antidesma bunius*, Plant tissue culture, 6-Benzylaminopurine, MS medium, WPM medium

บทนำ

มะเมาดงเป็นไม้ยืนต้นไม่ผลัดใบที่จัดอยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Antidesma bunius* (L.) Spreng. var. *bunius* (Chayamarit and Van Welzen, 2005) ผลมะเมาดงมีสารแอนโทไซยานิน ซึ่งจัดเป็นสารพลาโวนอยด์ มีบทบาทในการป้องกันโรคหลายชนิด ได้แก่ โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดและหัวใจ (Miguel, 2011) รวมทั้งเส้นเลือดในสมองอุดตัน (มนตรี, 2552) นิยมนำผลมะเมาดงมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ในระดับอุตสาหกรรม ได้แก่ ไวน์ แยม น้ำผลไม้เข้มข้น น้ำผลไม้

พร้อมดื่ม เยลลี่ มะเมาผง และมะเมากวาน สำหรับใบสามารถนำมารับประทานเป็นผักและทำเป็นยาสมุนไพรแผนโบราณ ส่วนสารสกัดจากรากมะเมาดงมีรายงานว่าสามารถใช้ในการยับยั้งมะเร็งที่ลำไส้ใหญ่ได้ (Pan et al., 2011) ดังนั้นมะเมาดงจึงเป็นพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการ ซึ่งนอกจากจะมีการนำผลมะเมาดงมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นที่นิยมบริโภคของคนภายในประเทศแล้ว ยังเป็นสินค้าไทยที่มีการส่งออกต่างประเทศ ด้วยเหตุนี้ผลของมะเมาดงจึงเป็นวัตถุดิบที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการทำให้มีราคาสูงขึ้น ดังนั้นการขยายพันธุ์มะเมาดงเพื่อให้มีปริมาณที่

เพียงพอต่อความต้องการจึงเป็นสิ่งที่มีความจำเป็นอย่างยิ่ง และจากการที่พืชสกุลมะเมาะมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง (กาญจนาและคณะ, 2548) รวมทั้งเป็นพืชที่มีดินแยกเพศ คือ ต้นเพศผู้และต้นเพศเมีย (Chayamarit and Van Welzen, 2005) ดังนั้นหากขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดทำให้เกิดความผันแปรทางพันธุกรรมสูง ผลผลิตที่เกิดขึ้นอาจไม่ดีเหมือนต้นดั้งเดิม และเกิดปัญหาเรื่องเพศของต้นที่ปลูกจากเมล็ดซึ่งหากปลูกแล้วได้เป็นต้นเพศเมียบก็สามารถให้ผลผลิตได้ แต่ถ้าได้ต้นเพศผู้จะไม่สามารถให้ผลผลิตได้ ทำให้เสียแรงงาน เวลา และค่าใช้จ่ายในการปลูก

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยอดมะเมาะของต้นเพศเมียสำหรับขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนต้นเพศเมียซึ่งสามารถให้ผลมะเมาะได้ โดยพืชต้นใหม่ที่เกิดขึ้นมีลักษณะพันธุกรรมเหมือนต้นแม่ทุกประการทำให้ได้ผลผลิตสม่ำเสมอทุกต้น และสามารถเพิ่มจำนวนต้นในระยะเวลาอันรวดเร็ว อีกทั้งมีความแข็งแรงปลอดโรคและแมลงต่าง ๆ หากมีการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ 6-BAP ที่เติมลงในสูตรอาหารต่าง ๆ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะเมาะ จึงไม่เพียงเป็นแนวทางในการขยายพันธุ์เพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการในการผลิตต้นมะเมาะเพื่อนำผลมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ทางอุตสาหกรรมเท่านั้น แต่ยังสามารถใช้เป็นแนวทางในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะเมาะเพื่อผลิตสารที่ใช้ประโยชน์เป็นสมุนไพรทางการแพทย์ที่สำคัญ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านมะเร็ง และสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และยังใช้เป็นแนวทางในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช หรือการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ร่วมกับวิธีการปรับปรุงพันธุ์พืชต่าง ๆ เพื่อพัฒนามะเมาะให้เป็นพืชที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่เหมาะสมต่อยอดมะเมาะ
2. เพื่อศึกษาสูตรอาหาร MS และ WPM ที่เติม 6-BAP ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยอดมะเมาะ
3. เพื่อศึกษาสูตรอาหาร WPM ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ยอดมะเมาะเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อ

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การตรวจสอบความถูกต้องของชนิดมะเมาะ

เก็บตัวอย่างมะเมาะดงบริเวณบ้านห้วยยาง ตำบลเหล่าโพนค้อ อำเภอโคกศรีสุพรรณ จังหวัดสกลนคร ซึ่งกำลังออกดอกและผลอ่อน โดยเก็บทั้งใบ ดอกและผลอ่อนมาจัดทำตัวอย่างอัดแห้ง นอกจากนี้ยังมีการเก็บดอกของมะเมาะดงมาดอง จากนั้นนำตัวอย่างพืชส่งไปให้ผู้เชี่ยวชาญตรวจสอบความถูกต้องชนิดพืช ณ สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

2. ศึกษาเปรียบเทียบการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่เหมาะสมต่อยอดมะเมาะ

นำยอดมะเมาะดงที่ประกอบด้วยตายอดและตาข้างซึ่งได้จากต้นเพศเมียโดยวิธีการทาบกิ่งมาฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวด้วยการโน้มยอดอ่อนมะเมาะดงลงในเอธิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 1 นาที แล้วจึงตัดยอดลงในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (%v/v) ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ที่เติมหีน 20 จำนวน 2-3 หยด ซึ่งเริ่มตั้งแต่ขั้นตอนนี้ทำในสภาพปลอดเชื้อภายในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ จากนั้นล้าง

ด้วยน้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ตัดโคนยอดและใบที่เกิดการชำเสียหายจากการฟอกทิ้งไป แล้วจึงนำยอดยาว 5 เซนติเมตรมาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เติมน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 5.6 และเติมน้ำ 7 กรัมต่อลิตร แล้วนำเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อหนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที โดยเพาะเลี้ยงในสตูปที่ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ศึกษาเปรียบเทียบการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวของยอดมะเฝ้าดง 4 วิธี ๆ ละ 20 ซ้ำ (ตารางที่ 1)

3. ศึกษาสูตรอาหาร MS และ WPM ที่เติม 6-BAP ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยอดมะเฝ้าดง

3.1 สูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962)

นำยอดมะเฝ้าดงที่ประกอบด้วยตายอดและตาข้างที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 8 สัปดาห์ แล้วเลือกยอดที่มีลักษณะแข็งแรง และขนาดใหญ่ ตัดให้มีความยาว 2 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยง

เปรียบเทียบสูตรอาหาร MS ที่เติม 6-BAP ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 5.6 และเติมน้ำ 7 กรัมต่อลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อหนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที โดยเพาะเลี้ยงในสตูปที่ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ การทดลองแบ่งออกเป็น 4 สิ่งทดลอง โดยแต่ละสิ่งทดลองทำการทดลอง 10 ซ้ำ ดังนี้ สิ่งทดลองที่ 1 สูตรอาหาร MS ที่เติม 6-BAP ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (กลุ่มควบคุม), สิ่งทดลองที่ 2 สูตรอาหาร MS ที่เติม 6-BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, สิ่งทดลองที่ 3 สูตรอาหาร MS ที่เติม 6-BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และสิ่งทดลองที่ 4 สูตรอาหาร MS ที่เติม 6-BAP ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดและความยาวยอด

ตารางที่ 1 วิธีการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวของยอดมะเฝ้าดง

วิธีการ	EtOH (%)	เวลา (นาที)	NaOCl (%)	เวลา (นาที)	NaOCl (%)	เวลา (นาที)
1	70	1	1.2	10	-	-
2	70	1	1.2	10	1.2	10
3	70	1	1.8	10	1.2	10
4	70	1	2.4	10	1.2	10

3.2 สูตรอาหาร WPM (Lloyd and McCown, 1980)

นำยอดมะแมแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยทำการคัดยอดที่มีความแข็งแรงและตัดให้มีความยาว 2 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงเปรียบเทียบสูตรอาหาร WPM ที่เติม 6-BAP ที่มีความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 5.6 และเติมน้ำ 6.5 กรัมต่อลิตร แล้วนำไปแช่เชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อหนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที โดยเพาะเลี้ยงสลับที่ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ การทดลองแบ่งออกเป็น 4 สิ่งทดลอง โดยแต่ละสิ่งทดลองทำการทดลอง 10 ซ้ำ ดังนี้ สิ่งทดลองที่ 1 สูตรอาหาร WPM ที่เติม 6-BAP ที่ระดับความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (กลุ่มควบคุม), สิ่งทดลองที่ 2 สูตรอาหาร WPM ที่เติม 6-BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, สิ่งทดลองที่ 3 สูตรอาหาร WPM ที่เติม 6-BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และสิ่งทดลองที่ 4 สูตรอาหาร WPM ที่เติม 6-BAP ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดและความยาวยอด

4. ศึกษาสูตรอาหาร WPM ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำยอดมะแมแดงเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อ

นำยอดมะแมแดงมาชักนำให้เกิดราก ผู้วิจัยได้เลือกศึกษาเฉพาะสูตรอาหาร WPM โดยนำยอดของมะแมแดงที่ได้จากการทดลองเพิ่มปริมาณยอดในสภาพ

ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร WPM เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วจึงนำมาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารระดับต่าง ๆ คือ WPM, $\frac{1}{2}$ WPM และ $\frac{1}{4}$ WPM ที่เติมน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 5.6 และเติมน้ำ 6.5 กรัมต่อลิตร แล้วนำไปแช่เชื้อโดยใช้หม้อหนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที โดยเพาะเลี้ยงในสลับที่ที่ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ แล้วเปรียบเทียบผลของสูตรอาหารที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารระดับต่าง ๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมะแมแดง

ผลการวิจัย

1. การตรวจสอบความถูกต้องของชนิดมะแมแดง

จากการตรวจสอบความถูกต้องของชนิดพืชโดยผู้เชี่ยวชาญ พบว่าตัวอย่างพืชที่ศึกษามีชื่อไทยว่า มะแมแดง และมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *A. bunius* (L.) Spreng. var. *bunius* (Chayamarit and Van Welzen, 2005) ซึ่งตรงกับตัวอย่างมะแมแดงอัดแห้งของสำนักงานหอพรรณไม้หมายเลข BKF No. 121721 และ SN 118049

2. ศึกษาเปรียบเทียบการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่เหมาะสมต่อยอดมะแมแดง

ทำการตัดยอดมะแมแดงทิ้งเพื่อให้เกิดการงอกยอดใหม่ขึ้น ซึ่งใช้เวลาประมาณ 2 สัปดาห์ จะได้ส่วนของยอดมะแมแดงที่เหมาะสมสำหรับนำมาฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ โดยคัดเลือกยอดที่มีความแข็งแรงปราศจากโรคและการกีดแทะของแมลงมาฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 1 นาที แล้วย้ายลงแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 2.4 และ 1.2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับ

ความเข้มข้นละ 10 นาที่ พบว่าเกิดการปลดเชื้อและรอดชีวิตสูงสุด คือ 83.33 เปอร์เซ็นต์ (การปนเปื้อนและไม่รอดชีวิตเท่ากับ 16.67 เปอร์เซ็นต์) สำหรับวิธีการแช่ยอดพืชในเอธิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 1 นาที่ แล้วย้ายลงแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นละ 10 นาที่ คือ 1.8 และ 1.2, 1.2 และ 1.2, และ 1.2 เปอร์เซ็นต์เพียงครั้งเดียว พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การปลดเชื้อและรอดชีวิตต่อการปนเปื้อนและไม่รอดชีวิตอัตราส่วนเท่ากับ 46.66:53.34 33.33:66.67 และ 0:100 ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 2)

3. ศึกษาสูตรอาหาร MS และ WPM ที่เติม 6-BAP ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยอดมะม่วง

3.1 สูตรอาหาร MS

จากการศึกษาสูตรอาหาร MS ที่เติม 6-BAP ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เพิ่มจำนวนยอดมะม่วงสูงสุด คือ สูตรอาหาร MS ที่เติม 6-BAP ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนยอดเฉลี่ย 2.7 ± 0.82 ยอด และมีความยาวยอดเฉลี่ย 2.85 ± 0.53 เซนติเมตร รองลงมาคือ สูตรอาหาร MS ที่เติม 6-BAP เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ย 1.9 ± 0.57 ยอด และมีความ

ยาวยอดเฉลี่ย 2.70 ± 0.42 เซนติเมตร สำหรับสูตรอาหาร MS ที่เติม 6-BAP ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าไม่สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนยอดขึ้นได้ คือ มีจำนวน 1 ยอดเท่าเดิม โดยมีความยาวยอดเฉลี่ย 3.32 ± 0.61 และ 3.25 ± 0.54 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ตารางที่ 3 และรูปที่ 1 A-E)

3.2 สูตรอาหาร WPM

จากการศึกษาสูตรอาหาร WPM ที่เติม 6-BAP ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เพิ่มจำนวนยอดของมะม่วงสูงสุด คือ เติม 6-BAP เข้มข้น 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนยอดเฉลี่ย 2.9 ± 0.99 (ความยาวยอดเฉลี่ย 2.76 ± 0.62 เซนติเมตร) และ 2.3 ± 0.82 ยอด (ความยาวยอดเฉลี่ย 2.52 ± 0.86 เซนติเมตร) ตามลำดับ ส่วนสูตรอาหาร WPM ที่เติม 6-BAP ความเข้มข้น 0 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดเพิ่มขึ้นได้ คือ มีจำนวน 1 ยอดเท่าเดิม โดยมีความยาวยอดเฉลี่ย 3.95 ± 0.55 และ 3.15 ± 0.71 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ตารางที่ 4 และรูปที่ 1 F-J)

ตารางที่ 2 การปนเปื้อนและไม่รอดชีวิต และการปลดเชื้อและรอดชีวิตของยอดมะม่วงที่ฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการต่าง ๆ

วิธีการ	สารเคมี	เปอร์เซ็นต์	
		ปนเปื้อนและไม่รอดชีวิต	ปลดเชื้อและรอดชีวิต
1	70 % EtOH + 1.2% NaOCl	100.00	0.00
2	70 % EtOH + 1.2% NaOCl + 1.2% NaOCl	66.67	33.33
3	70 % EtOH + 1.8% NaOCl + 1.2% NaOCl	53.34	46.66
4	70 % EtOH + 2.4% NaOCl + 1.2% NaOCl	16.67	83.33

ตารางที่ 3 สูตรอาหาร MS ที่เติม 6-BAP ระดับต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเกิดยอดมะเฝ้าแดงเมื่อเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

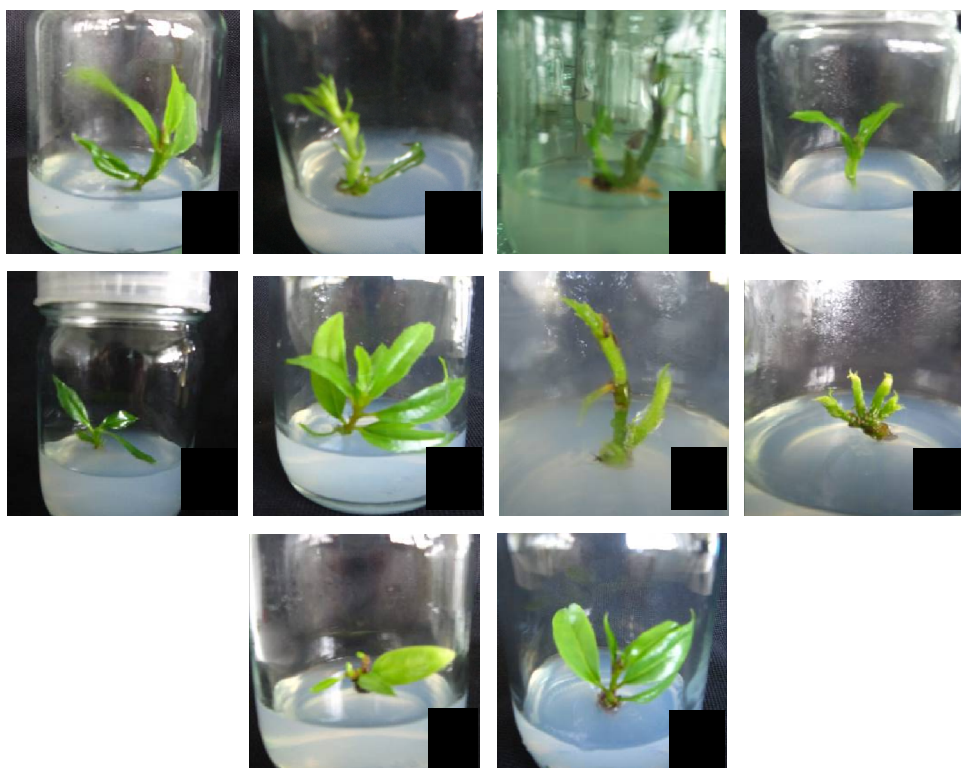
ความเข้มข้น 6-BAP (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด)	ความยาวยอดเฉลี่ย (เซนติเมตร)
0	1.0 ± 0.00^c	3.32 ± 0.61^a
1	2.7 ± 0.82^a	2.85 ± 0.53^{ab}
3	1.9 ± 0.57^b	2.70 ± 0.42^b
5	1.0 ± 0.00^c	3.25 ± 0.54^a

หมายเหตุ: ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD.) ที่ยกกำลังตัวอักษรต่างกันแนวดิ่ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4 สูตรอาหาร WPM ที่เติม 6-BAP ระดับต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเกิดยอดมะเฝ้าแดงเมื่อเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ความเข้มข้น 6-BAP (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด)	ความยาวยอดเฉลี่ย (เซนติเมตร)
0	1.0 ± 0.00^b	3.95 ± 0.55^a
1	2.9 ± 0.99^a	2.76 ± 0.62^b
3	2.3 ± 0.82^a	2.52 ± 0.86^b
5	1.0 ± 0.00^b	3.15 ± 0.71^{ab}

หมายเหตุ: ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD.) ที่ยกกำลังตัวอักษรต่างกันแนวดิ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

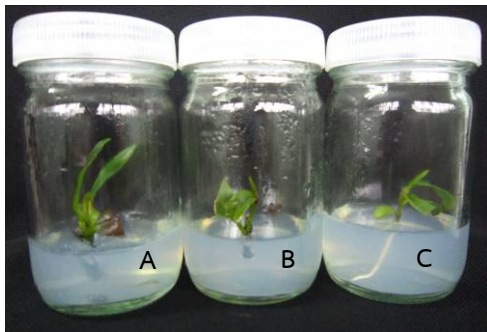


รูปที่ 1 จำนวนยอดมะเฝ้าแดงที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS และ WPM ที่เติม 6-BAP ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ; A-E สูตร MS เติม 6-BAP, 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (A), 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (B และ C), 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (D) และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (E) F-J สูตร WPM เติม 6-BAP, 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (F), 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (G และ H), 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (I) และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (J)

4. ศึกษาสูตรอาหาร WPM ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำยอดมะแมแดงเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อ

จากการศึกษาสูตรอาหารที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหาร คือ WPM, $\frac{1}{2}$ WPM, และ $\frac{1}{4}$ WPM เพื่อชักนำให้เกิดราก เป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยเพาะเลี้ยงยอด

มะแมแดงเพียง 1 ยอดต่อขวด พบว่าสูตรอาหาร WPM และ $\frac{1}{4}$ WPM สามารถชักนำให้เกิดราก 1 ราก และเกิดรากสูงสุด 10 เปอร์เซ็นต์ เท่ากัน ส่วนยอดมะแมแดงที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ WPM พบว่าเกิดแคลลัสตรงโคนยอดและไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 การเกิดรากของยอดมะแมแดงที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร WPM (A), $\frac{1}{2}$ WPM (B) และ $\frac{1}{4}$ WPM (C)

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การตรวจสอบความถูกต้องของชนิดมะแมแดง

การเรียกชื่อชนิดของพันธุ์พืชมีความแตกต่างกันไปแต่ละท้องถิ่น โดยพืชชนิดเดียวกันอาจมีชื่อเรียกที่แตกต่างกัน ดังนั้นการใช้ชื่อวิทยาศาสตร์ในการจำแนกชนิดจึงมีความสำคัญ เนื่องจากเป็นชื่อที่มีความเป็นสากลสำหรับใช้เรียกชื่อสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ อย่างเป็นทางการ (กนกอร, 2547) และมีการเก็บตัวอย่างกิ่งมะแมแดง มาอัดแห้งและดอง สำหรับการอัดแห้งจะเก็บกิ่งมะแมแดงที่มีความสมบูรณ์ โดยประกอบด้วยใบ ดอก และผล เนื่องจากเป็นส่วนที่สำคัญของพืชในการจำแนกความแตกต่างของพืชแต่ละชนิดได้อย่างถูกต้อง ซึ่งสอดคล้องกับ สุรางค์และคณะ (2553) รายงานการเก็บตัวอย่างพืชสมบูรณ์ที่สุดจะมีการเก็บทั้ง ใบ ดอก และผลให้ครบเพื่อสะดวกในการตรวจวิเคราะห์ชื่อวิทยาศาสตร์ และพบว่าตัวอย่างที่ศึกษา คือ มะแมแดงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *A. bunius* (L.) Spreng. var. *bunius* (Chayamarit and Van Welzen, 2005)

2. ศึกษาเปรียบเทียบการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่เหมาะสมต่อยอดมะแมแดง

การฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวของชิ้นส่วนพืชเป็นปัจจัยแรกที่มีความสำคัญต่อความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การแช่เอธิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีความเข้มข้น 1.2-2.4 เปอร์เซ็นต์ สามารถช่วยให้การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Kaewkla and Christopher (2010) รายงานว่ามีการนำเอธิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ มาฟอกฆ่าเชื้อกิ่งยูคาลิปตัส (*Eucalyptus microcarpa*) ร่วมกับสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีระดับความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้มีการใช้สารละลายโซเดียมไฮคาร์บอเนตเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ฆ่าเชื้อร่วมด้วยอย่างมีประสิทธิภาพ และพบว่าการนำชิ้นส่วนพืชมาแช่ในเอธิลแอลกอฮอล์เป็นเวลา 1-3 นาที แล้วจึงย้ายลงแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์มักใช้กับพืชที่มีใบ

(ศิริวรรณ, 2542) ซึ่งสังเกตพบว่าผิวใบมะเฝ้ามีความมัน เนื่องจากมีไขเคลือบที่ผิวใบ

3. ศึกษาสูตรอาหาร MS และ WPM ที่เติม 6-BAP ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยอดมะเฝ้า

จากการศึกษาเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงยอดมะเฝ้าในสูตรอาหาร MS และ WPM พบว่าเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยการทดลองแบบ factorial ที่วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยมีตัวแปรอิสระ 2 ตัว คือ สูตรอาหาร (MS และ WPM) และ 6-BAP ที่มีความเข้มข้นระดับต่าง ๆ (0 1 3 และ 5) เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าเกิดปฏิสัมพันธ์ (interaction) กัน จึงไม่สามารถนำสูตรอาหาร MS และ WPM มาเปรียบเทียบกันได้ ดังนั้นจึงแยกศึกษาสูตรอาหารแต่ละสูตรที่เติม 6-BAP แต่ละระดับความเข้มข้นต่อการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนยอดพืช และพบว่าเมื่อเติม 6-BAP ความเข้มข้น 1-3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเพิ่มขึ้นในสูตรอาหารทั้งสองสูตร โดยสูตรอาหาร MS เกิดยอด 1.9-2.7 ยอด ส่วนสูตรอาหาร WPM เกิดยอด 2.3-2.9 ยอด ในขณะที่ วราพรและคณะ (2549) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะเฝ้าหลวง (*Antidesma punctulatum* Miq.) ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม 6-BAP ความเข้มข้น 3-5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแต่ละตาให้เกิดยอด 4.6-5.6 ยอด เนื่องจาก 6-BAP เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินสามารถกระตุ้นให้พืชเกิดการแบ่งเซลล์ร่างกาย (รังสฤษดิ์, 2541) ทำให้มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อพืชไปเป็นตาจำนวนมาก ส่งผลให้เกิดการเพิ่มจำนวนยอดอย่างรวดเร็ว (มานี, 2550) และสอดคล้องกับ สุภาพรและคณะ (2551) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนของข้อโมกราชินี (*Wrightia sirikitiae* D.J. Middleton & Santisuk) พบว่าสูตรอาหาร WPM ที่เติม 6-BAP เข้มข้น 0-20 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนยอดได้ แต่แตกต่างกับ

Gadidasu et al. (2011) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข่อย (*Streblus asper* Lour.) พบว่าการเพาะเลี้ยงตาข้างที่เจริญเต็มที่แล้วในสูตรอาหาร MS ที่เติมไซโตไคนินเพียงชนิดเดียวไม่สามารถทำให้ตาข้างข่อยเจริญพัฒนาเป็นยอดได้ ส่วนสูตรอาหารที่เติมไซโตไคนินร่วมกัน 2 ชนิด คือ 6-BAP ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ และ KN (kinetin) ความเข้มข้น 4.60 ไมโครโมลาร์ เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนยอดของข่อย นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงยอดมะเฝ้าที่เติม 6-BAP เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ เนื่องจากความเข้มข้นสูงเกินไป รวมทั้งตามธรรมชาติก็มีไซโตไคนินอยู่ภายในพืช จึงทำให้เกิดการยับยั้งการเกิดยอดใหม่ได้ เพราะมีการกระตุ้นเอนไซม์บางชนิดให้มีการทำงานมากเกินไปจนทำให้เซลล์พืชเป็นอันตราย (Mok and Mok, 1994)

4. ศึกษาสูตรอาหาร WPM ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำยอดมะเฝ้าเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อ

เมื่อพิจารณาจากการชักนำให้เกิดยอดของมะเฝ้าทั้งในสูตรอาหาร WPM และ MS ที่เติม 6-BAP ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ มีผลต่อการเกิดยอดมะเฝ้าแตกต่างกัน แต่ก็พบว่าสูตรอาหาร MS และ WPM ที่เติม 6-BAP เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดยอดเฉลี่ยได้สูงที่สุดเช่นกัน ดังนั้น สูตรอาหาร WPM ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 2.9 ± 0.99 ยอด ส่วนสูตรอาหาร MS ชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 2.7 ± 0.82 ยอด แต่จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าสูตรอาหาร WPM ที่เติม 6-BAP ระดับต่าง ๆ ที่ชักนำให้เกิดยอดมีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์ ซึ่งสูงกว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม 6-BAP เพื่อชักนำให้เกิดยอดมีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ดังนั้นจึงเลือกสูตรอาหาร WPM ทำการชักนำให้เกิดรากต่อไปเพียงสูตรเดียว เนื่องจากเมื่อชักนำให้เกิดยอด

ด้วยสูตรอาหาร WPM ก็ควรชักนำให้เกิดรากในสูตรอาหาร WPM เช่นกัน เพราะไม่ให้เกิดการเจริญของยอดพืชจากการเปลี่ยนแปลงสูตรอาหารสูตรอื่นที่แตกต่างจากเดิม ดังนั้นจึงชักนำให้เกิดรากด้วยสูตรอาหาร WPM ที่มีความเข้มข้นธาตุอาหารระดับต่าง ๆ จากการศึกษาพบว่าสูตรอาหาร WPM และ $\frac{1}{4}$ WPM สามารถชักนำให้เกิดรากต่ำ อาจเป็นผลจากไซโตไคนินที่เติมลงในอาหารเพื่อชักนำให้เพิ่มจำนวนยอด และตามธรรมชาติมีไซโตไคนินที่บริเวณยอดและลำต้นพืชซึ่งเป็นสารที่มีผลยับยั้งการเกิดราก ถึงแม้ว่าลดระดับไซโตไคนินลงโดยย้ายยอดลงเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและลดธาตุอาหารแล้วก็ตาม ดังนั้นจึงควรมีการเติมสารออกซินให้ มีอิทธิพลเหนือไซโตไคนินก็จะสามารถชักนำให้เกิดรากได้ (Gaba, 2005) นอกจากนี้พบว่ายอดที่นำมาชักนำให้เกิดรากในสูตรอาหาร $\frac{1}{2}$ WPM เกิดแคลลัสตรงบริเวณโคนยอดทั้งหมดจึงไม่มียอดที่สามารถเกิดรากได้ ซึ่งสอดคล้องกับ รังสฤษดิ์ (2541) รายงานว่าไม้นต้นที่มีอายุยืนบางชนิดจะเกิดรากยาก เนื่องจากมักเกิดเป็นแคลลัสก่อน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องชักนำให้ขึ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงเกิดสภาพในระยะเยาว์วัย (juvenile) ก่อน โดยการกระตุ้นด้วยฮอร์โมน และการเปลี่ยนอาหารที่บ่อยครั้ง

สรุปผลการศึกษา

1. การตรวจสอบความถูกต้องของชนิดมะเมาดง

จากการตรวจสอบโดยผู้เชี่ยวชาญ พบว่าตัวอย่างที่ศึกษา คือ มะเมาดงโดยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า

A. bunius (L.) Spreng. var. *bunius*

2. ศึกษาเปรียบเทียบการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่เหมาะสมต่อยอดมะเมาดง

การฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของยอดมะเมาดงโดยไม่ตัดยอดออกจากต้นด้วยการแช่เอธิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วตัดยอดมะเมาดงแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีความเข้มข้น 2.4 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที แล้วย้ายแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ คือทำให้เกิดการปลอดเชื้อและรอดชีวิตสูงสุดเท่ากับ 83.33 เปอร์เซ็นต์

3. ศึกษาสูตรอาหาร MS และ WPM ที่เติม 6-BAP ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยอดมะเมาดง

การเพาะเลี้ยงยอดมะเมาดงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม 6-BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุดคือ 2.7 ยอด มีความยาวเฉลี่ย 2.85 เซนติเมตร ส่วนสูตรอาหาร WPM ที่สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุดคือ สูตรอาหารที่เติม 6-BAP ความเข้มข้น 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 2.9 ยอด (ความยาวยอด 2.76 เซนติเมตร) และ 2.3 ยอด (ความยาวยอด 2.52 เซนติเมตร) ตามลำดับ

4. ศึกษาสูตรอาหาร WPM ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำยอดมะเมาดงเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อ

สูตรอาหารที่สามารถชักนำให้ยอดมะเมาดงเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อ คือ สูตรอาหาร WPM และ $\frac{1}{4}$ WPM พบว่าเกิดราก 1 ราก ภายในเวลา 8 สัปดาห์ และชักนำให้ยอดเกิดรากสูงสุดเท่ากัน คือ 10 เปอร์เซ็นต์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษมที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย ขอขอบคุณ ดร.อนงคณ์ หัมพานนท์

รองศาสตราจารย์ ดร. อลงกลด แทนอมทอง
อาจารย์รัฐพล ศรีประเสริฐ คุณสุจิตต์ เรืองเรือ
อาจารย์กนิษฐา อ่อนศิริ และอาจารย์จันทร์วรรณ
สำรวจสำรวจกิจที่ช่วยเหลือด้านต่าง ๆ งานวิจัยนี้
สำเร็จด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- นกกร ร้วเหลือง. (2547). อนุกรมวิธานพรรณไม้ดอก. คณะ
วิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม. หน้า
27.
- กาญจนา รุจิพงษ์ พิเชษฐ์ เวชวิฐาน และ วินัย แสงแก้ว.
(2548). เม้าหลวงเพื่อบริโภค. การประชุมวิชาการ
ทรัพยากรไทย:สรรพสิ่งล้วนพันเกี่ยว. สถาบันวิจัย
และฝึกอบรมการเกษตรสกลนคร. มหาวิทยาลัย
เทคโนโลยีราชมงคลอีสาน. หน้า 411-419.
- มนตรี จินักกดี. (2552). การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารฟลาโ
นอยด์ในน้ำมะเมี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์
มหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ,
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. มหาสารคาม: 99 หน้า
- มานี เตื้อสกุล. (2550). เอกสารคำสอนสารควบคุมการ
เจริญเติบโตของพืช. คณะเทคโนโลยีการเกษตร.
มหาวิทยาลัยสงขล. หน้า 107-120.
- รังสฤษดิ์ กาวิตะ. (2541). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหลักการและ
เทคนิค. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.ภาควิชาไร่นา. คณะ
เกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 16-80.
- วราพร วีระพลการ มาลี ณ นคร และ ธนพร ขจรผล. (2549).
การเพาะเลี้ยงเม้าหลวง (*Antidesma
puncticulatum* Miq.) ในสภาพปลอดเชื้อ. สำนวนค
กรมพืชสวนไทยเพื่ออาหารปลอดภัยและเศรษฐกิจ
พอเพียง. ใน: การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ
ครั้งที่ 6. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 277.
- ศิริวรรณ บุรีคำ. (2542). การเตรียมห้องเครื่องมือและเนื้อเยื่อ
พืช. เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการ
เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขั้นพื้นฐาน.
นครปฐม: ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืช
ทดลอง. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. วิทยาเขตกำแพงแสน.
หน้า 21-26.
- สุภาพร เจริญจิตต์ มาลี ณ นคร และ สุริยา ดันติวัฒน์.
(2551). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโมกราชินี (*Wrightia
sirikitiae* D.J. Middleton & Santisuk).ใน: เรื่องดี
การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่
46: สาขาวิทยาศาสตร์. กรุงเทพฯ. 638-645.
- สุรางค์ เขียวหิรัญ ธาณี พันแสง นพพร ตั้งจิตต์งาม วีรณา สม
พิรวงศ์ สุทธิลักษณ์ รัตนานุกุล สิริกานต์ พันธุ์สาย
และ กรรณิการ์ เอียดรา. (2553). คู่มือการเรียนรู้
ด้วยตนเองของชุมชนด้านความหลากหลายทาง
ชีวภาพ “ด้านพืช”. กรุงเทพฯ:สำนักงานความ
หลากหลายทางชีวภาพด้านป่าไม้.กรมป่าไม้. หน้า
22.
- Chayamarit, K. , and Van Welzen, P. C. (2005).
Euphorbiaceae (Genera A-F). In T. Santisuk
and K. Larsen, eds. Flora of Thailand,
Volume 8, Part 1. Bangkok: Prachachon Co.
Ltd., pp. 51-63.
- Gaba, P.V. (2005). Plant Growth Regulators in Plant
Tissue Culture and Development. Plant
Development and Biotechnology. Edited
Trigiano, R. N. and Gray, D. J., Boca Raton,
Florida. pp. 87-99.
- Gadidasu, K., Umate, P., Aileni, M., Kota, S.R., Kokkiral,
V.R., Kasula, K., and Abbagani, S. (2011).
Micropropagation of a Valuable
Ethnomedicinal Plant *Streblus asper* Lour.
Journal of Phytology 3(2): 18-23.
- Kaewkla, O., and Christopher M. M. Franco. (2010).
Pseudonocardia adelaidensis sp. nov., an
endophytic actinobacterium isolated from
the surface-sterilized stem of a grey box
tree(*Eucalyptus microcarpa*). International
Journal of Systematic and Evolutionary
Microbiology 60: 2818–2822.
- Lloyd, G., and McCown, B. (1980). Commercially
feasible micropropagation of mountain

- laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. Proc. Int. Plant Prop. Soc. 30: 421-427 (Publ. 1981).
- Miguel, M. G. (2011). Anthocyanins: Antioxidant and/or anti-inflammatory Activities. Journal of Applied Pharmaceutical Science 1(6): 7-15.
- Mok, D. W. S. and Mok, M. C. (1994). Cytokinins: Chemistry, Activity and Fuction. Florida: CRC Press. Inc., pp. 129-137.
- Murashige, T., and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum 15(3): 473-479.
- Pan, L., Matthew, S., Hee-Byung, C., Tran, N. N., Soejarto, D. D., Carcache-Blanco, E. J. and Kinghorn, A. D. (2011). Bioactivity-guided Isolation of Aristolochic Acid and Other Compounds from the Roots of *Antidesma bunius* . Research Day 2011. The Ohio State University College of Pharmacy. The United States of America. 39.

