NU Science Journal 2008; 5(2): 221 - 229

ผลของไซโตไคนินต่อการทวีจำนวนยอดของต้นหนอนตายหยากในหลอดทดลอง

เจริญ สิงห์ลอ[1] อนุพันธ์ กงบังเกิด[2] คงศักดิ์ พร้อมเทพ[2] และ ปรียานันท์ แสนโภชน์[2]

Effect of cytokinins on *In vitro* shoot proliferation of *Stemona tuberosa* Lour.

Charoen Singlaw[1]* Anupan Kongbangkerd[2] Kongsak Promthep[2]
and Preeyanan Saenpote[2]

[1]วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีพิจิตร จังหวัดพิจิตร
[2]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก
*Corresponding author. E-mail: singlaw_chrn@hotmail.com

บทคัดย่อ

จากการเลี้ยงปลายยอดต้นหนอนตายหยากในอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) ที่เติมฮอร์โมน 2iP, BA, Kinetin, Zeatin และ TDZ ความเข้มข้น 1, 5, 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน พบว่าการเติม TDZ ความเข้มข้น 1 มก./ล สามารถชักนำให้ปลายยอดต้นหนอนตายหยากเกิดยอดใหม่ได้สูงสุด 3.1±0.52 ยอด รองลงมา คือการใช้ BA 5 และ 10 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ 2.62±0.12 และ 2.6±0.76 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ขณะเดียวกันการเพิ่มปริมาณความเข้มข้นมากขึ้นมีผลทำให้ยอดที่เกิดขึ้นใหม่มีความยาวลดลง การใช้ TDZ ความเข้มข้น 1 มก./ล สามารถชักนำให้ปลายยอดเกิด embryogenic callus มีเส้นผ่าศูนย์กลางสูงสุด 4.60±0.48 ซม.

คำสำคัญ : หนอนตายหยาก, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, ไซโตไคนิน, การเกิดเป็นต้นใหม่

ABSTRACT

In vitro shoot culture of *Stemona tuberosa* Lour was conducted on modified Murashige and Skoog (1962) medium with various types of cytokinins (2iP, BA, Kinetin, Zeatin and TDZ) at different concentrations for 30 days. The results indicated that the medium supplemented with 1.0 mg/l TDZ, 5 and 10 mg/l BA induced the better number of new shoots; 3.1±0.52, 2.62±0.12 and 2.6±0.76 shoots per explant, respectively. Furthermore, an increase cytokinin concentration resulted

in decreasing shoot number. The largest diameter of embryogenic callus (4.60±0.48 cm) could be induced on the medium supplemented with 1.0 mg/l TDZ.

Keyword: *Stemona tuberosa* Lour, *In vitro* culture, cytokinins, regeneration

บทนำ

หนอนตายหยาก (*Stemona tuberosa* Lour) เป็นพืชป่า (รูป 1 ก) ลักษณะเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ประเภทไม้เลื้อย มีอายุหลายปี มีรากเป็นกระจุกลักษณะคล้ายรากกระชาย (รูป 1 ข) พบมากตามป่าเชิงเขาเตี้ยๆ แถบภาคกลางและภาคเหนือ รากของต้นหนอนตายหยากเป็นรากสะสมสารในกลุ่ม alkaloids คือ โรตินอยด์ ออกฤทธิ์ฆ่าหนอนและแมลงต่างๆ (Chuenboonngarm *et al*., 2001; Montri *et al*., 2006) ซึ่งสามารถใช้ทดแทนสารเคมีได้ สำหรับหนอนตายหยากที่เกษตรกรนิยมนำรากมาสกัด มี 2 ชนิด คือหนอนตายหยากใหญ่ (*S. collinsae* Craib.) และหนอนตายหยากเล็ก (*S. tuberosa* Lour.) (สุทธาพันธ์ โพธิ์กำเนิด, 2544) การได้มาของสารดังกล่าวจะต้องขุดต้นหนอนตายหยากมาทั้งต้นแล้วนำรากมาสกัดเอาสารมาผสม หรือหมักร่วมกับเศษพืชหรือสัตว์ หรือใช้เดี่ยวๆ ฉีดพ่นให้กับพืชปลูกเมื่อได้ผลดีจึงเป็นที่ต้องการมากขึ้น การขยายพันธุ์ต้นหนอนตายหยากโดยทั่วไปใช้วิธีการแยกเหง้าและเพาะเมล็ด หนอนตายหยากต้นหนึ่งๆ จะมีผลประมาณ 2-5 ผล ภายในผลมี 2-7 เมล็ด ดังกล่าวจึงไม่เพียงพอแก่การขยายพันธุ์ปริมาณมากได้ ดังนั้นเพื่อให้ได้ต้นหนอนตายหยากจำนวนมากจึงต้องใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาชักนำให้ได้ต้นหนอนตายหยากจำนวนมากตามที่ต้องการ เจริญและยุทธศักดิ์ (2542) ได้ทำการขยายพันธุ์ *S. tuberosa* Lour. โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนปลายยอดและข้อ พบว่า สามารถชักนำปลายยอดต้นหนอนตายหยากให้เกิดยอดใหม่จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้นและมีความสม่ำเสมอดีกว่าข้อในอาหารสูตร Murashige และ Skoog (1962) (MS) ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 มก./ล. สามารถชักนำหนอนตายหยากเกิดยอดจำนวนมากได้สูงสุด 21 ยอด ชลธิชา (2543) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนโคนของใบ *S. tuberosa* Lour. ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 มก./ล ร่วมกับ kinetin 2 มก./ล ชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด 66.67% ยุพา และคณะ (2543) ได้ทำการขยายพันธุ์ *S. collinsae* Craib โดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนปลายยอด พบว่า

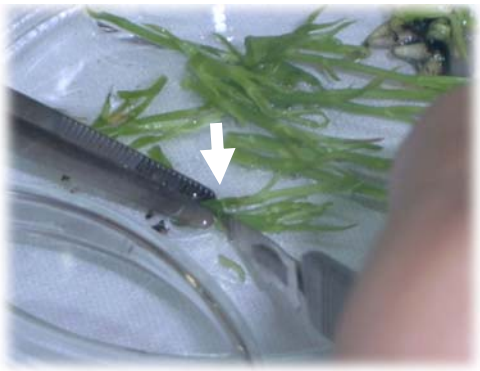
รูป 1 (ก-ข) แสดงใบต้นหนอนตายหยาก (1 ก) และรากหนอนตายหยาก (1 ข) *Stemona tuberosa* Lour

สามารถชักนำปลายยอดต้นหนอนตายหยากให้เกิดยอดใหม่จำนวนมาก 17.5 ยอด ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มก./ล ขณะที่ ศิริวรรณ และคณะ (2547) ได้ทำการเพิ่มปริมาณ *S. collinsae* Craib โดยนำปลายยอดมาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตรดัดแปลงของ MS เติม BA ความเข้มข้น 6 มก./ล ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.05 มก./ล หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน สามารถชักนำให้เกิดต้นได้มากที่สุด 4.3 - 4.7 ต้นต่อยอด จากผลสำเร็จดังกล่าวข้างต้นเป็นผลมาจากศักยภาพของสารไซโตไคนิน นอกจากจะสามารถที่กระตุ้นการเพิ่มยอดจำนวนมากแล้ว ยังสามารถชักนำให้เกิด embryogenic callus ได้อีกด้วย สารไซโตไคนินที่ใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีหลายชนิดหลายกลุ่ม ดังนั้นการทดลองนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลที่เกิดจากสารไซโตไคนินชนิดต่างๆ ต่อการเพาะเลี้ยงปลายยอดต้นหนอนตายหยาก โดยจะเป็นแนวทางการพัฒนาทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพของต้นหนอนตายหยากต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อาหารสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลองนี้ คือ อาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) ดัดแปลงโดยเติมสารไซโตไคนิน 5 ชนิด คือเติมสารประกอบกลุ่ม purine คือ BA, Kinetin, 2iP และ Zeatin และสารประกอบกลุ่ม phenyl ureas คือ TDZ (Sunnichan *et al.,*1998) ระดับความเข้มข้น 1, 5, 10 และ 15 มก./ล นำอาหารมาปรับความเป็นกรด–ด่างให้ได้ 5.8 เติมผงวุ้น 0.75% นำไปต้มให้วุ้นละลายเข้ากับอาหาร ต่อจากนั้นบรรจุอาหารลงในขวดปากกว้างขนาด 4 ออนซ์ ขวดละ 20 มิลลิลิตร แล้วนำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

การเตรียมพืชสำหรับทดลองและการเพาะเลี้ยง โดยตัดแต่งปลายยอดต้นหนอนตายหยาก ขนาด 1 มม. (รูป 2) เพาะเลี้ยงลงในขวดอาหารสังเคราะห์ นำไปเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25 – 28 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นแสง 3,000 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ ให้แสงตลอด 24 ชั่วโมง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 25-30 วัน จะได้ต้นกล้าที่มียอดยาวประมาณ 3-5 เซนติเมตร เหมาะสำหรับการทดลองต่อไป การทดลองทั้งหมดวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ทำ 4 ซ้ำๆ ละ 1 ขวด/10 ยอด ตรวจนับจำนวนการเกิดยอดใหม่ ความยาวยอดที่เกิดใหม่ และขนาด embryogenic callus และ วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยโปรแกรม SPSS



รูป 2 การตัดแต่งปลายยอดต้นหนอนตายหยาก ขนาด 1 มม. (ลูกศรชี้) ใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการทดลอง

ผลและวิจารณ์

ผลของไซโตไคนินที่มีต่อการเกิดยอดใหม่ของต้นหนอนตายหยาก

หลังจากเลี้ยงปลายยอดเป็นเวลา 30 วัน พบว่าไซโตไคนินสามารถกระตุ้นให้ปลายยอดต้นหนอนตายหยากเกิดยอดใหม่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดย TDZ ความเข้มข้น 1 มก./ล ชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้สูงสุด ให้จำนวน 3.1±0.52 ยอด รองลงมา คือ BA 5 และ 10 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ไม่แตกต่างทางสถิติ คือ 2.62±0.12 และ 2.6±0.76 ยอดต่อชิ้นส่วน สำหรับ 2iP, kinetin และ Zeatin สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้เช่นเดียวกัน โดยความเข้มข้นที่สูงขึ้นสามารถกระตุ้นให้เกิดยอดใหม่ได้เพิ่มขึ้น แต่การเพิ่มจำนวนยอดใหม่ดังกล่าว เพิ่มขึ้นในระดับน้อย (ตาราง 1)

ตาราง 1 ผลของไซโตไคนินต่อการเจริญและพัฒนาเป็นยอดใหม่ จากการเลี้ยงปลายยอดต้นหนอนตายหยาก (*Stemona tuberosa* Lour) ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 30 วัน

ความเข้มข้นของไซโตไคนิน (มก./ล)	จำนวน (ยอด) ที่เกิดใหม่ต่อชิ้นส่วน				
	2ip	BA	Kinetin	Zeatin	TDZ
ไม่เติม	0^{d}	0^{c}	0^{b}	0^{d}	0^{c}
1	0.98 ± 0.104^{c}	1.17 ± 0.28^{b}	1.26 ± 0.37^{a}	1.7 ± 0.66^{ab}	3.1 ± 0.52^{a}
5	1.32 ± 0.32^{b}	2.62 ± 0.12^{a}	1.38 ± 0.42^{a}	1.40 ± 0.16^{bc}	1.88 ± 0.38^{b}
10	1.54 ± 0.27^{ab}	2.6 ± 0.76^{a}	1.13 ± 0.29^{a}	2.00 ± 0.35^{a}	1.90 ± 0.54^{b}
15	1.70 ± 0.37^{a}	1.7 ± 0.14^{b}	1.40 ± 0.38^{a}	1.17 ± 0.12^{c}	1.82 ± 0.53^{b}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P< .05)

ผลของไซโตไคนินที่มีต่อความยาวของยอดที่เกิดใหม่

หลังจากเลี้ยงปลายยอดเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ทุกการทดลองรวมทั้งการไม่เติมไซโตไคนิน ปลายยอดต้นหนอนตายหยากสามารถเพิ่มความยาวยอดได้สูงสุด ขณะเดียวกันการเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของไซโตไคนินทุกความเข้มข้นมีผลทำให้ยอดที่เกิดขึ้นใหม่มีความยาวลดลง โดย TDZ ความเข้มข้น 5, 10 และ 15 มก./ล. จะกระตุ้นให้ยอดที่เกิดขึ้นใหม่สั้นที่สุด (ตาราง 2)

ตาราง 2 ผลของไซโตไคนินต่อความยาวของยอดใหม่ จากการเลี้ยงปลายยอด ต้นหนอนตายหยาก (*Stemona tuberosa* Lour) ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 30 วัน

ความเข้มข้นของไซโตไคนิน (มก./ล)	ความยาวของยอดใหม่ (ซม.)				
	2ip	BA	Kinetin^{ns}	Zeatin^{ns}	TDZ
ไม่เติม	3.47 ± 0.35^{a}	3.60 ± 0.23^{ab}	3.78 ± 0.66	3.34 ± 0.76	2.92 ± 0.25^{a}
1	3.45 ± 0.52^{a}	$3.92\pm.0.39^{a}$	3.40 ± 0.43	3.21 ± 0.48	2.26 ± 0.37^{b}
5	2.90 ± 0.11^{b}	3.15 ± 0.30^{b}	3.22 ± 0.61	3.49 ± 0.54	1.32 ± 0.42^{c}
10	2.65 ± 0.26^{b}	2.47 ± 0.51^{c}	3.17 ± 64	3.30 ± 0.38	1.12 ± 0.09^{c}
15	1.56 ± 0.23^{c}	1.56 ± 0.23^{d}	3.15 ± 0.34	2.78 ± 0.50	1.11 ± 0.08^{c}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P< .05)
ns ความเข้มข้นของไซโตไคนินในสดมภ์เดียวกันแสดงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลของไซโตไคนินที่มีต่อขนาดของ embryogenic callus ของต้นหนอนตายหยาก

หลังจากเลี้ยงปลายยอดเป็นเวลา 30 วัน พบว่าไซโตไคนินสามารถกระตุ้นให้ปลายยอดต้นหนอนตายหยากเกิด embryogenic callus ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดย TDZ ความเข้มข้น 1 มก./ล. ชักนำให้เกิด embryogenic callus สูงสุด มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.60±0.48 ซม.รองลงมา คือ BA 10 และ 5 มก./ล. ชักนำให้เกิด embryogenic callus ได้ไม่แตกต่างทางสถิติ คือ 2.77±0.26 และ 2.72±0.15 ซม.ขณะที่ 2ip kinetin และ Zeatin สามารถชักนำให้เกิด embryogenic callus (รูป 3) ได้เช่นเดียวกัน แต่ให้ปริมาณน้อย (ตาราง 3)

จากการทดลองทั้ง 3 พบความแตกต่างการออกฤทธิ์ของสารทั้ง 5 ชนิดได้อย่างชัดเจน โดยจะเห็นได้ว่า TDZ มีความสามารถกระตุ้นให้เกิดกิจกรรมต่างๆ ได้ดีที่สุดสอดคล้องกับ Lbanez และคณะ (2003) ที่ทำการทดลองเลี้ยง *Vitis vinifera* L. โดยพบว่าการใช้ TDZ มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดยอดใหม่และให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุด ดีกว่า BA ซึ่ง Li และคณะ (2002) ทำการทดลองเลี้ยง *Stachys sieboldii*. ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน ผลดังกล่าวนี้เพราะ TDZ เป็นไซโตไคนินในกลุ่ม phenyl ureas ที่มีสูตรโครงสร้างแตกต่างจากไซโตไคนินในกลุ่ม purine ที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายไซโตไคนินที่มีในพืช ทำให้ TDZ ถูกทำลายได้ช้าโดยเอนไซม์ cytokinin oxidases ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พืชสร้างขึ้นเพื่อกำจัดไซโตไคนินที่เกินความจำเป็น (Horgan, 1987) ทำให้ TDZ มีความเสถียร และออกฤทธิ์คล้าย adenine-type cytokinins. สาร TDZ ความเข้มข้นต่ำจึงมีประสิทธิภาพสูงเมื่อเทียบกับไซโตไคนินในกลุ่มสารประกอบ purine ที่ถูกทำลายได้ง่าย (Mok *et al.*, 1987) TDZ จึงมี activity ดีกว่า BA, kinetin, 2ip และ zeatin (Sujatha and Reddy, 1998) อย่างไรก็ตาม 2ip มีฤทธิ์กระตุ้นให้เกิด embryogenic callus และ เกิดหลายยอดได้ทุกระดับความเข้มข้น ตรงกันข้ามระดับความเข้มข้นของ Zeatin ที่สูงขึ้นกลับทำให้ความยาวยอดลดลง แสดงให้เห็นว่าปริมาณความเข้มข้นที่สูงขึ้นของ Zeatin ในระยะเวลาอันสั้นจะยับยั้งการยืดยาวของเซลล์ ทั้งนี้อาจเกิดจากสาร Zeatin อยู่ระหว่างการส่งเสริมกิจกรรมการแบ่งเซลล์หากเพาะเลี้ยงมากกว่า 45 วันโคนปลายยอดที่เพาะเลี้ยงจะขยายใหญ่ขึ้น

รูป 3 การเกิด embryogenic callus (ลูกศรชี้) ของปลายยอดต้นหนอนตายหยาก

ตาราง 3 ผลของไซโตไคนินต่อการเจริญและพัฒนาเป็น embryogenic callus จากการเลี้ยงปลายยอดต้นหนอนตายหยาก (*Stemona tuberosa* Lour) ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 30 วัน

ความเข้มข้นของไซโตไคนิน (มก./ล)	embryogenic callus (ซม.)				
	2ip	BA	Kinetin	Zeatin	TDZ
ไม่เติม	0^{b}	0^{d}	0^{b}	0^{b}	0^{c}
1	1.8 ± 0.24^{a}	0.86 ± 0.16^{c}	1.1 ± 0.22^{a}	1.55 ± 0.25^{a}	4.60 ± 0.48^{a}
5	1.62 ± 0.44^{a}	2.72 ± 0.15^{a}	1.26 ± 0.43^{a}	1.50 ± 0.08^{a}	1.42 ± 0.33^{b}
10	1.68 ± 0.41^{a}	2.77 ± 0.26^{a}	1.25 ± 0.34^{a}	1.50 ± 0.08^{a}	1.34 ± 0.35^{b}
15	1.74 ± 0.24^{a}	1.75 ± 0.5^{b}	1.21 ± 0.34^{a}	1.70 ± 0.11^{a}	1.44 ± 0.11^{b}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P< .05$)

สรุปผลการทดลอง

การเลี้ยงปลายยอดต้นหนอนตายหยากเป็นเวลา 30 วัน ในอาหารสูตร MS พบว่า

1. การใช้ TDZ ความเข้มข้น 1 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้สูงสุด 3.1±0.52 ยอด รองลงมา คือ BA 5 และ 10 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ 2.62±0.12 และ 2.6±0.76 ยอดต่อชิ้นส่วน

2. การเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของไซโตไคนินทุกความเข้มข้นมีผลทำให้ยอดที่เกิดขึ้นใหม่มีความยาวลดลง โดย TDZ ความเข้มข้น 5, 10 และ 15 มก./ล. จะกระตุ้นให้ยอดที่เกิดขึ้นใหม่สั้นที่สุด

3. การใช้ TDZ ความเข้มข้น 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิด embryogenic callus มีเส้นผ่าศูนย์กลาง สูงสุด 4.60±0.48 ซม.รองลงมา คือ BA 10 และ 5 มก./ล. ชักนำให้เกิด embryogenic callus มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.77±0.26 และ 2.72±0.15 ซม.

เอกสารอ้างอิง

เจริญ สิงห์ลอ และ ยุทธศักดิ์ ไชยธงรัตน์. (2542). ผลของฮอร์โมน BA ที่มีต่อการทวีจำนวนต้นหนอนตายหยากโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. รายงานความก้าวหน้างานวิจัยพืชสมุนไพร ครั้งที่ 1. พิจิตร: คณะวิชาพืชศาสตร์ วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีพิจิตร 32 หน้า.

ชลธิชา แสงดาว. (2543) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหนอนตายหยาก (*Stemona tuberose* Lours.) ในสภาพปลอดเชื้อ ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 38 หน้า.

ศิริวรรณ บุรีคำ มณฑา วงศ์มณีโรจน์ สุรัตน์วดี จิวะจินดา และ รงรอง หอมหวน. (2547). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นหนอนตายหยากและการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์. วารสารข่าวศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง ปีที่ 18 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม-ธันวาคม 2547 หน้า 8-11. :

ยุพา มงคลสุข พัชราวดี วัฒนวิกย์กิจ พนิดา วงษ์แหวน และวราพร วีระพลากร. (2543). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหนอนตายหยาก. ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 หน้าที่ 377-381 โดยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ร่วมกับกระทรวงศึกษาธิการ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม และทบวงมหาวิทยาลัย ระหว่างวันที่ 5-7 กุมภาพันธ์ 2544.

สุทธาพันธ์ โพธิ์กำเนิด. (2544). การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สมุนไพรหนอนตายหยากผสมอาหารไก่เพื่อควบคุมหนอนแมลงวันในมูลไก่. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีที่เหมาะสมเพื่อการพัฒนาทรัพยากร มหาวิทยาลัยมหิดล 139 หน้า.

Chuenboonngarm, NG., Charoonsote, S. and Bhamarapravati, S. (2001). Effect of BA and 2ip on shoot proliferation and somaclonal variation of *Gardenia jasminoides* ellis *in vitro* culture. ScienceAsia, 137-141.

Horgan, R. (1987). Plant growth regulators and the control of growth and differentiation in plant tissue culture. *In* Green *et al*. (eds.). 135-149.

Lbanez, A., Valero, M. and Morte, A. (2003). Influence of cytokinins and subculturing on proliferation capacity of single-axillary-bud microcuttings of *Vitis vinifera* L. cv. Napoleon. Anales de Biologia, *25*, 81-90.

Li, W., Gao, H.H., Lu, R., Guo, G.Q. and Zheng G.C. (2002) Direct plantlet regeneration from the tuber of *Stachys sieboldii*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, *71*, 259-262.

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

Montri, N., Wawrosch, C.H. and Kopp, B. (2006). Micropropagation of *Stemona curtisii* Hook f., a Thai medicinal plant. Acta Horticulturae, *725*, 341-345.

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

Sujatha, M. and Reddy, T.P. (1998). Differential cytokinin effects on the stimulation of *in vitro* shoot proliferation from meristematic explants of castor (*Ricinus communis* L.). Plant Cell Reports, *17*, 561-566.

Sunnichan, V.G., Shivanna, K.R. and Mohan Ram, H.Y. (1998). Micropropagation of gum karaya (*Sterculia urens*) by adventitious shoot formation and somatic embryogenesis. Plant Cell Reports, *17*, 951-956.