

ผลของฮอร์โมนพีชต่อการเจริญของว่านขันมาก (*Aglaonema tenuipes Engl.*) ในหลอดทดลอง

Effect of plant hormones on growth of Wan Khan Mak (*Aglaonema tenuipes Engl.*) in vitro

ปัตรมาภรณ์ ทิลารักษ์^{1*}, ออมรัตน์ สุวรรณโพธิ์ศรี¹, ศิริจันทร์ ตาใจ², พรพนิต ศศิวัฒน์ชุติกุล³, ยุพา บุญมี⁴
Patamaporn Tilarux^{1*}, Amornrat Suwanposri¹, Sirichan Tachai²,
Pronpanit Sasivatchutikool³, Yupha Boonmee⁴

Received: 5 April 2022; Revised: 2 May 2022; Accepted: 23 May 2022

บทคัดย่อ

ว่านขันมากหรือว่านขันมากเครษฐี (*Aglaonema tenuipes Engl.*) เป็นพืชสมุนไพรที่พบบริเวณชายป่าที่มีความชื้นในทั่วทุกภาคของประเทศไทย เป็นพืชที่กำลังได้รับความสนใจเนื่องจากมีสารต้านอนุมูลอิสระและช่วยลดการเกิดภูมิแพ้ รวมถึงมีชื่อที่เป็นมงคลทำให้นิยมนำมาปลูกเป็นไม้ประดับ การศึกษาในครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของฮอร์โมนพีชต่อการเจริญของว่านขันมาก โดยนำเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการเพาะเลี้ยงว่านขันมากบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Murashige and Skoog (MS) จากการทดลองการซักก้น้ำแคลลัสจากเมล็ดว่านขันมากพบว่าสามารถซักก้น้ำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดบนอาหารที่เติม naphthal acetic acid (NAA) 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีขนาดแคลลัส 0.68 ± 0.19 เซนติเมตร และเกิดแคลลัสร้อยละ 86.67 ± 5.77 การซักก้น้ำยอดใหม่จากส่วนยอดที่งอกจากเมล็ดพบว่าเมื่อเติม 6-benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถซักก้น้ำยอดใหม่ได้สูงจำนวน 2.77 ± 1.59 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งมีขนาดและลักษณะที่สมบูรณ์ที่สุด และการซักก้น้ำรากจากส่วนยอดของว่านขันมากพบว่า NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถซักก้น้ำรากได้มากที่สุดจำนวน 11.93 ± 1.65 รากต่อยอด และเมื่อต่อรากการซักก้น้ำรากร้อยละ 100.0 จากผลการศึกษาจึงได้ข้อมูลพื้นฐานด้านการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเข้ามาใช้ในการพัฒนาว่านขันมากทางด้านสมุนไพรไทยและการขยายพันธุ์เพื่อเป็นไม้ประดับต่อไป

คำสำคัญ: ว่านขันมาก การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ฮอร์โมนพีช

Abstract

Wan Khan Mak or Wan Khan Mak Setti (*Aglaonema tenuipes Engl.*) is a medicinal plant found at the forest edge in all parts of Thailand. It is gaining popularity due to high antioxidant and anti-allergenic properties. It also has an auspicious name that makes it popular as an ornamental plant. This study aimed to determine the effect of plant hormones on the growth of Wan Khan Mak on Murashige and Skoong (MS) medium using plant tissue culture technique. The best callus induction from seed was obtained when supplemented with 3.0 mg/L naphthal acetic acid (NAA) on MS medium with

¹ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี

² อาจารย์ สาขาวิชาพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี

³ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืชและภูมิทัศน์ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี

⁴ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี 22210 ประเทศไทย

¹ Assistant professor, Department of Applied Science and Biotechnology, Faculty of Agro-industrial Technology, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chanthaburi campus, Chanthaburi

² Lecturer, Department of Applied Science and Biotechnology, Faculty of Agro-industrial Technology, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chanthaburi campus, Chanthaburi

³ Assistant professor, Department of Plant Production and Landscape Technology, Faculty of Agro-industrial Technology, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chanthaburi campus, Chanthaburi

⁴ Assistant professor, Department of Fisheries Technology, Faculty of Agro-industrial Technology, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chanthaburi campus, Chanthaburi, 22210, Thailand

* Corresponding Author: patamaporn_ti@rmutto.ac.th

the callus size of 0.68 ± 0.19 cm and $86.67 \pm 5.77\%$ callus formation. The induction of new shoots from the germinated seed was observed when supplemented with 2.0 mg/L 6-benzylaminopurine (BAP) gave the highest amount of new shoots formation (2.77 ± 1.59 shoots per explant) with the most complete size and appearance. The maximum root induction from the shoot of Wan Khan Mak was achieved when supplemented with 2.0 mg/L NAA (11.93 ± 1.65 roots per explant) with 100% induction rate. Our results are useful for basic information on the use of plant tissue culture techniques in the development of Wan khan Mak in Thai herbs and propagation as an ornamental plant.

Keywords: *Aglaonema tenuipes* Engl, plant tissue culture, plant hormones

บทนำ

ว่านขันมาก ขั้นมากเครษฐี หรือพรอมตีนสูง (*Aglaonema tenuipes* Engl.) เป็นพืชในสกุลอะโกลนีมา (*Aglaonema*) อู่ ในวงศ์ Araceae พบทั่วทุกภาคของประเทศไทย บริเวณชายป่าที่มีความชื้น เช่น จังหวัดจันทบุรี ตราด ชัยภูมิ กาญจนบุรี อุบลราชธานี ระนองและชุมพร ว่านขันมากเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว รากเป็นรากฝอยอวบนกลม ลำต้นแห้ง จากเหง้าได้ดี มีสีเขียวอมน้ำตาล อบวและมีข้อปล้องชัดเจน ใบเป็นรูปหอกปลายใบแหลม มีสีเขียวสด ใบเดี่ยวออกเรียงสลับ ดอกเป็นดอกช่อเชิงลดมีขันขนาด $5-7$ เซนติเมตร ดอกย่อยขนาดเล็กสีขาว ดอกแยกเพศอยู่บนต้นเดียวกัน ผลเป็นผลสด รูปรี ผลอ่อนมีสีเขียว ผลสุกจะมีสีแดง มี 1 เมล็ด ว่านขันมากเป็นสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางด้านบำรุงกำลังเป็นยาอายุวัฒนะ สามารถนำมาต้มได้ทั้งต้น (สันติ วัฒราวนะ และคณะ, 2563) นอกจากนี้ยังนิยมนำผลสุกมารับประทานเพื่อเป็นยาอายุวัฒนะ ลดอาการภูมิแพ้ และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และในปัจจุบันมีการผลิตออกมากในรูปแบบต่างๆ เพื่อจำหน่ายเป็นจำนวนมากซึ่งมีราคาค่อนข้างสูง เช่น ผงแห้ง บดละเอียดพร้อมบรรจุแคปซูล ราคากิโลกรัมละ $6,000$ บาท และผลว่าวนสุกสายพันธุ์ลูกเล็กและลูกใหญ่ ราคากิโลกรัมละ $1,000$ และ 800 บาท ตามลำดับ (วิสาหกิจชุมชนกกลุ่มแปรรูปสมุนไพรพื้นบ้านถ้าเพชรโพธิ์ทอง, 2562) ว่านขันมากสามารถเป็นยาอายุวัฒนะได้นั้นเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ซึ่งมีรายงานการศึกษาสารสกัดจากผลของว่านขันมากโดยพบว่าเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถลดการสร้างอนุมูลอิสระภายในเซลล์เม็ดครอฟต์ RAW264.7 เมื่อถูกชักนำให้อยู่ในสภาวะเครียด และมีฤทธิ์ทางยาเนื่องจากสารสกัดที่ความเข้มข้น $125-500$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านภูมิแพ้ (เบญจมาศ จิตรมสมบูรณ์, 2560) ดังนั้น ว่านขันมากจึงถือได้ว่าเป็นสมุนไพรไทยที่มีอนาคตในการที่จะต่อยอดพัฒนาเพื่อผลิตเป็นยาต่อไปได้ นอกจากนี้ว่านขันมากยังมีชื่อเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าว่านขันมากเครษฐี ซึ่งเป็นชื่อมงคลจึงทำให้ว่านขันมากนอกจากเป็นยาแล้วยังมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นไม้ประดับได้อีกด้วย

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant tissue culture) เป็นเทคโนโลยีที่มีประโยชน์ทางด้านการเกษตรเป็นอย่างมาก โดยช่วยในการขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนพืชเป้าหมายได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น และยังมีประโยชน์ทางเภสัชวิทยาใช้ในการเพาะเลี้ยงพืชสมุนไพรและกระตุ้นให้เกิดการสร้างสารทุติยภูมิ (Secondary metabolite) ได้ในปริมาณมากและใช้ระยะเวลาสั้น รวมถึงยังช่วยในการลดปัจจัยรบกวนภายนอกต่างๆ จากธรรมชาติด้วย (วาระรณ ภูตะลุน, 2557) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อให้ประสบความสำเร็จไม่ว่าจะเป็นการซักก้นยอด ราก หรือแคลลัส เพื่อให้ได้ผลผลิตจากพืชตรงตามเป้าหมายที่เราต้องการนั้น มีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง ทั้งการเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสม สภาวะในการเพาะเลี้ยงรวมถึงฮอร์โมนพืช เช่น ออกซิน (Auxin) ไซโตไคนิน (Cytokinin) และจิบเบอร์ลิน (Gibberellin) ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยธรรมชาติพืชจะมีฮอร์โมนเหล่านี้สะสมอยู่ในส่วนเนื้อเยื่อเจริญเพื่อช่วยให้การเกิดการเจริญพัฒนาอย่างปกติ แต่ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชกลุ่มฮอร์โมนพืชที่เข้ามามีความสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดยอด ราก และแคลลัสนั้น คือออกซินและไซโตไคนิน โดยออกซินเป็นฮอร์โมนพืชที่สร้างจากส่วนเนื้อเยื่อเจริญของปลายยอด ปลายราก และลำต้น ออกซินเคลื่อนที่ได้ด้วยโฟลเอม (Phloem) และมีการเคลื่อนที่แบบโพลาริตี้ (Polarity movement) จากบันลงล่าง (คำนูน กาญจนภูมิ, 2542) จึงทำให้มีการขนส่ง ออกซินสู่รากผ่านโฟลเอม โดยออกซินมีผลช่วยส่งเสริมการแบ่งเซลล์ การยึดขยายขนาดของเซลล์ และส่งเสริมการเจริญของตัวยอด ฮอร์โมนพืชกลุ่มออกซินที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ Indole-3-acetic acid (IAA), naphthal acetic acid (NAA) และ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ส่วนฮอร์โมนพืชกลุ่มไซโตไคนินในพืชจะอยู่ในรูปของซีเอทิน (Zeatin) โดยจะสะสมอยู่ในปลายรากและเมล็ดที่กำลังพัฒนา การเคลื่อนที่ของไซโตไคนินจะเคลื่อนที่จากรากสู่ยอด มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการแบ่งเซลล์ การยึดขยายขนาดของเซลล์ และการแตกต�าข้า (Davies, 2010) ไซโตไคนินที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น 6-Benzylaminopurine (BAP) และ Thidiazuron (TDZ)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในกลุ่มอะโภกลนีมา ส่วนใหญ่จะเป็นการผลิตพันธุ์พืชที่เป็นกลุ่มไม้ประดับ เช่น การศึกษาการซักนำชินเนื้อเยื่อส่วนยอดของอะโภกลนีมาในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Murashige & Skoong (MS) ที่มีการเติมฮอร์โมนพืช 6-Benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว พบว่าสามารถซักนำให้ชิ้นเนื้อเยื่อเกิดตันอ่อนได้เร็วในปริมาณมาก (นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ และมัลลิกา มิตรน้อย, 2548)

ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงได้นำเทคโนโลยีทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการศึกษาการเจริญเป็นแคลลัส การซักนำยอด และการซักนำราก ว่ามีข้อดีข้อเสียใดบ้าง ที่จะนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงในอนาคต สำหรับการพัฒนาว่าวนขั้นมากๆ ให้เป็นยาสมุนไพรไทย และเป็นไม้ประดับที่มีมูลค่าต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา

การวางแผนการทดลอง

โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) ที่รีดเมนต์ละ 3 ชั้ๆ ละ 10 ชุด

ตัวอย่างพืชที่ใช้ในการศึกษา

ต้นพันธุ์ของว่าวนขั้นมากๆ ได้รับความอนุเคราะห์จากชาวบ้านใน จังหวัดจันทบุรี (Figure 1) นำมาเพาะเลี้ยงณ อาคารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี จนกระทั้งได้เมล็ดและนำเมล็ดที่ได้มาใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป



Figure 1 Characteristic of *Aglaonema tenuipes* Engl.

การศึกษาผลของฮอร์โมน BAP และ naphthal acetic acid (NAA) ต่อการซักนำให้เกิดแคลลัสจากเมล็ด ว่ามีข้อดีข้อเสียใดบ้าง

นำเมล็ดว่าวนขั้นมากๆ มาทำให้ปลดปล่อยด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 15 เป็นเวลา 10 นาที และความเข้มข้นร้อยละ 10 เป็นเวลา 5 นาที ตามลำดับ ล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA: BAP ความเข้มข้น 1.0:1.0 และ 2.0:2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ทำการบันทึกผลเป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดว่าวนขั้นมากๆ ที่เกิดขึ้น

การศึกษาผลของฮอร์โมน BAP และ TDZ ต่อการซักนำให้เกิดยอดใหม่จากส่วนยอดของว่าวนขั้นมากๆ

นำส่วนต้นยอดของว่าวนขั้นมากๆ ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อมารักษาอยู่ บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและ TDZ ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกผลเป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดว่าวนขั้นมากๆ และนับจำนวนรากที่เพิ่มขึ้น

การศึกษาผลของฮอร์โมน NAA ต่อการซักนำให้เกิดรากจากส่วนยอดของว่าวนขั้นมากๆ

นำส่วนยอดของว่าวนขั้นมากๆ ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อมารักษาอยู่ บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตรทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกผลเป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของยอดว่าวนขั้นมากๆ และนับจำนวนรากที่เพิ่มขึ้น

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ผลการทดลองที่ได้แสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี one-way Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

ผลของฮอร์โมน BAP และ NAA ต่อการซักนำให้เกิดแคลลัสจากเมล็ดว่าวนขั้นมากๆ

ผลการศึกษาการซักนำแคลลัสจากเมล็ด ว่า ณ ขันหมากบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA:BAP ความเข้มข้น 1.0:1.0 และ 2.0:2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อผ่านไป 12 สัปดาห์ พบร่วมกันของการพัฒนาจากเมล็ดเป็นแคลลัส และร้อยละการเกิดแคลลัสในแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แคลลัสมี

ขนาดอยู่ในช่วง 0.03 ± 0.05 - 0.68 ± 0.19 เซนติเมตร และร้อยละของการเกิดแคลลัสอยู่ระหว่าง 13.13 ± 11.54 - 86.67 ± 5.77 โดยเมล็ดที่เจริญบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติมน้ำ NAA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียวมีขนาดเฉลี่ยของแคลลัส และอัตราการเกิดแคลลัสสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (Table 1)

Table 1 Size and percentage of callus induction by cultivated seeds of *Aglaonema tenuipes* on MS medium with NAA and BAP at different concentrations

Treatment (mg/L)		Size of callus (cm)	Callus induction (%)
NAA	BAP		
1.0	-	$0.03\pm0.05^{\text{ad}}$	$23.33\pm5.77^{\circ}$
2.0	-	$0.08\pm0.07^{\text{bc}}$	$56.67\pm5.77^{\text{b}}$
3.0	-	$0.68\pm0.19^{\text{a}}$	$86.67\pm5.77^{\text{a}}$
1.0	1.0	$0.11\pm0.10^{\text{b}}$	$60.00\pm10.00^{\text{b}}$
2.0	2.0	$0.02\pm0.04^{\text{d}}$	$13.13\pm11.54^{\text{c}}$
C.V. (%)		96.78	17.01
F-test		*	*

^{a-d} The different letters in the same column are statistically significant different ($p<0.05$). Each value in table is represented as mean \pm SD

ลักษณะการเกิดแคลลัสในชุดการทดลองที่เติมน้ำ NAA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบร่วมกันของการเจริญของแคลลัสที่เป็นแบบเกาะกันแน่น (Compact) ผิวนุ่มนวลมีสีเขียวอ่อนอยู่ระหว่างการเจริญของยอด และราก ชุดการทดลองที่เติมน้ำ NAA:BAP ความเข้มข้น 1.0:1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบร่วมกันของการเจริญของเมล็ด ว่า ณ ขันหมากและสร้างแคลลัสขึ้นบริเวณรอยแยก ชุดการทดลองที่เติมน้ำ NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัม

ต่อลิตร พบร่วมกันของการเจริญของเมล็ดว่า ณ ขันหมาก เป็นแคลลัสเล็กน้อยและพบการเจริญของราก ชุดการทดลองที่เติมน้ำ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบร่วมกันเป็นแคลลัสหน่อยมากแต่มีการเจริญของส่วนรากชัดเจน ชุดการทดลองที่เติมน้ำ NAA:BAP ความเข้มข้น 2.0:2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะการเกิดแคลลัสมีน้อยที่สุดแต่เกิดการเจริญของรากดี (Figure 2)

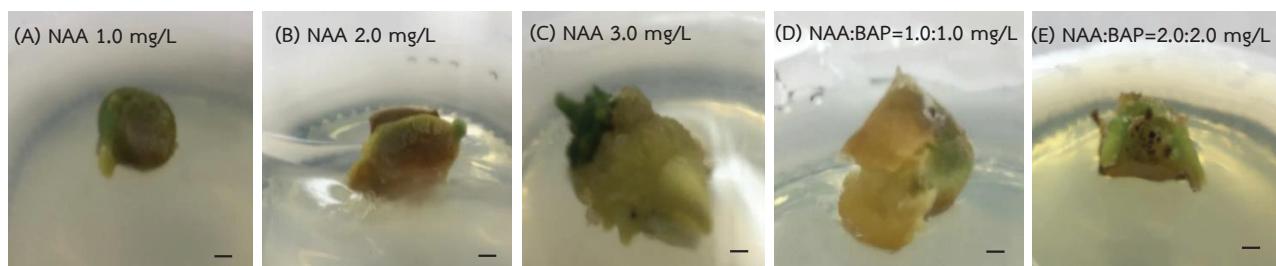


Figure 2 Effect of different concentrations of NAA and BAP on callus formation of seed of *Aglaonema tenuipes* Engl. (photo taken 12 weeks after cultivation and bar =1 mm).

โดยทั่วไปภายในเมล็ดจะมีฮอร์โมนพิชที่กระตุ้นการงอกและการเจริญโดยธรรมชาติ การเพิ่มฮอร์โมนพิชจากภายนอกอาจจะช่วยในการส่งเสริมหรือยับยั้งการเจริญได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าการเติมฮอร์โมนออก

ซิน คือ NAA ที่ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว ก็สามารถกระตุ้นการเจริญของเมล็ดให้เกิดแคลลัสได้ ออกซินที่ความเข้มข้นสูงมีประสิทธิภาพในการซักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี (สุริช วรรณไกรโรจน์ และคณะ, 2564) ในขณะที่ความเข้มข้น NAA

ที่ต่ำกว่าพบรการเจริญของแคลลัสน้อยลงแต่มีการเจริญของรากชั้นเจนมากยิ่งขึ้น แสดงให้เห็นว่าปริมาณออกซินที่ไม่สูงมากจากภายนอก ช่วยส่งเสริมการเกิดรากร่วมกับออกซินที่อยู่ภายในเมล็ดได้ดียิ่งขึ้น เมื่อนำ NAA และ BAP มาร่วมกันในการชักนำเมล็ดว่านขันหมาก พบร่วมกับความเข้มข้น 1.0:1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถพัฒนาเป็นแคลลัสได้แต่การเจริญน้อยกว่าการใช้ NAA เพียงอย่างเดียว โดยมีการแตกขยายขนาดของเมล็ดและเกิดแคลลัสสีเหลืองในตำแหน่งที่ปริแตกแต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 2.0:2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบรการเกิดแคลลัสน้อยแต่การเจริญของรากดีมาก แสดงว่าการใช้ BAP และ NAA ร่วมกันในความเข้มข้นสูงขึ้น สามารถช่วยส่งเสริมการทำงานของออกซินและไซโตโคนินที่อยู่ภายในเมล็ดทำให้เกิดการเจริญของรากได้มากยิ่งขึ้น เนื่องจาก NAA และ BAP เป็นฮอร์โมนพืชกลุ่มออกซินและไซโตโคนิน ซึ่งออกซินเป็นฮอร์โมนพืชที่พบสะสมในส่วนเนื้อเยื่อเจริญของ เอบบาร์บิโอ และมีบทบาทต่อการเจริญของต้นอ่อนหลังจากเมล็ดออก โดยออกซินนี้จะเคลื่อนที่ไปสะสมในบริเวณปลายรากได้มากกว่าส่วนอื่นๆ และยังสามารถสร้างที่ปลายรากได้ด้วย ส่วนไซโตโคนินเป็นฮอร์โมนพืชที่พบสะสมในเมล็ดพืช เช่นเดียวกับออกซิน โดยจะมีบทบาทในการควบคุมการออกของเมล็ด ทำให้เกิดการเจริญของเอบบาร์บิโอในการแบ่งเซลล์ และมีผลต่อการเจริญพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญในส่วนยอดและราก (Miransari & Smith, 2014) ซึ่งฮอร์โมนพืชที่ทั้งสองชนิดมีการทำงานที่ส่งเสริมการเจริญพัฒนาของเอบบาร์บิโอ เนื้อเยื่อเจริญส่วนยอดและราก เช่นเดียวกัน แต่ปริมาณที่สะสมในเมล็ดพืชแต่ละชนิดนั้นมีปริมาณที่ไม่เท่ากัน ดังนั้นในการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเมล็ดหากสามารถเลือกใช้ชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมนพืชจากภายนอกที่เหมาะสมร่วมกับปริมาณ

ออกซินและไซโตโคนินที่อยู่ภายในเมล็ดก็จะทำให้สามารถชักนำแคลลัสในพืชบางชนิดต้องการออกซินหรือไซโตโคนินเพียงชนิดเดียว หรือต้องใช้อร์โนนทั้งสองร่วมกันจึงจะสามารถพัฒนาเป็นแคลลัสได้ (Abbas et al., 2018; Mostafiz & Wagiran, 2018; Seyyedyousefi et al., 2013)

ผลของฮอร์โมน BAP และ TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากส่วนยอดของว่านขันหมาก

จากการนำส่วนตายอดของว่านขันหมากจากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อมาชักนำยอด บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ความเข้มข้น 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อผ่านไป 12 สัปดาห์ พบร่วมกับการทดลองสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ โดยจำนวนยอดใหม่และความยาวของยอดแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) พบรการเกิดยอดใหม่มากที่สุดบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดสูงสุด 3.06 ± 1.48 ยอด แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับ สูตรที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีจำนวนยอด 2.77 ± 1.59 ยอด (Table 2) ในส่วนของขนาดของยอดพบว่าการเติม BAP ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดยอดที่มีขนาดใหญ่ที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) สำหรับอัตราการเกิดรากนั้นเมื่อเติม BAP ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเกิดยอดสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Table 2 Effect of BAP and TDZ at the different concentrations on shoot induction

Treatment (mg/L)	Number of shoots	Size of shoot (cm)	Shoot induction (%)
BAP			
1.0	1.17 ± 0.36^c	0.41 ± 0.11^c	16.67 ± 5.77^c
2.0	2.77 ± 1.59^a	0.93 ± 0.18^a	60.00 ± 10.00^b
3.0	3.06 ± 1.48^a	0.71 ± 0.17^b	80.00 ± 10.00^a
TDZ			
1.0	2.13 ± 0.71^b	0.32 ± 0.08^d	63.33 ± 5.77^b
2.0	1.37 ± 0.66^c	0.95 ± 0.22^a	26.67 ± 5.77^c
3.0	2.10 ± 0.97^b	0.45 ± 0.13^c	80.00 ± 10.00^a
C.V. (%)	50.62	25.82	15.00
F-test	*	*	*

^{a-d} The different letters in the same column are statistically significant different ($p<0.05$). Each value in table is represented as mean \pm SD

จากการสังเกตลักษณะการเกิดยอดใหม่ในแต่ละชุด การทดลองพบว่า ชุดการทดลองที่เติม BAP ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีส่วนฐานของยอดขยายขนาดเพิ่มขึ้นและ มีการแตกยอดใหม่สีเขียวที่มีลักษณะปกติออกจากส่วนฐาน ชุดการทดลองที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการขยายขนาดในส่วนฐานของยอดเช่นกันและแตกยอดใหม่ สีเขียวลักษณะปกติ ชุดการทดลองที่เติม TDZ ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบรากขยายขนาดของส่วนฐานของยอดมีลักษณะเป็นพูและส่วนยอดที่แตกออกมามีขนาดเล็ก เจริญได้ไม่ดี ชุดการทดลองที่เติมที่เติม TDZ ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบรากขยายขนาดส่วนฐานยอดขนาดใหญ่เป็นแคลลัสชนิดแข็งผิวน้ำเงินสีเขียวและมีการเจริญของยอดใหม่อวบสันบนแคลลัส (Figure 3) เช่นเดียวกับ *A. commutatum* Schott “Red Valentine” สามารถเกิดแคลลัสได้เมื่อเจริญอยู่บนอาหารเพาะเลี้ยงนื้อเยื่อพืชสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (Zuopu et al., 2018) ชุดการทดลองที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญของส่วนยอดปกติส่วนฐานขยายเล็กน้อยทำให้การแตกยอดใหม่เกิดขึ้นได้น้อย แต่ขนาดของยอดมีการเจริญมากที่สุด (Figure 3) ฮอร์โมน BAP และ TDZ เป็นฮอร์โมนพีซที่อยู่ในกลุ่มไซโตไคโนนเช่นเดียวกัน โดยมีประสิทธิภาพในการส่งการเสริมการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดและการยึด牢牢ของเซลล์ โดยมีบทบาทมากในการซักนำให้เกิดต้นและการเกิดตัวข้าง (สมพร ประเสริฐส่งสาล, 2552) จากผลการศึกษาที่ได้

เมื่อพิจารณาจากจำนวนยอดที่เกิดขึ้นและขนาดของยอดพบว่า สูตรที่มีการเติม BAP ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรที่เหมาะสมที่สุดในการซักนำให้เกิดยอด เนื่องจาก มีจำนวนของยอดที่เกิดขึ้นในปริมาณสูง ยอดที่ได้มีขนาดใหญ่ และสมบูรณ์ รวมถึงมีอัตราการการเกิดยอดใหม่ที่สูง ในการศึกษาการซักนำไปด้วยโกลนนมานินดื่นๆ พบว่า *A. commutatum* Schott เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด 4.08 ยอด เมื่อซักนำด้วย BA ความเข้มข้น 8.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Abass et al., 2016) *Aglaonema* Schott “White Tip” พบรากยอดได้มากถึง 6 ยอด และยอดมีการเจริญปกติได้เมื่อซักนำด้วย BAP ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลาร์ ยอดเจริญปกติ แต่เมื่อซักนำไปด้วย TDZ ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ สามารถซักนำไปด้วย 6 ยอดเช่นกัน แต่การเจริญของยอดเป็นกระฉูกสั้น (Chen & Yeh, 2007) นอกจากนี้ *Aglaonema* บางชนิดในการซักนำไปด้วยต้องใช้อร์โมนพีซ 2 ชนิด ร่วมกัน เช่นใน *Aglaonema* “Lady Valentine” ต้องใช้ NAA: TDZ ที่ความเข้มข้น 0.5:2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถซักนำไปด้วยได้ถึง 10.9 ยอด แต่เมื่อเปรียบเทียบการเจริญแล้ว ยอดที่ซักนำไปด้วย BAP มีการเจริญดีกว่า (Fang et al., 2013) โดย Ahmed and Mohamed (2018) ได้นำส่วนข้อของ *A. commutatum* มาซักนำไปให้เกิดยอดพบว่า เมื่อซักนำไปด้วย BAP ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถซักนำไปด้วยมากที่สุดคือ 4.56 ยอด

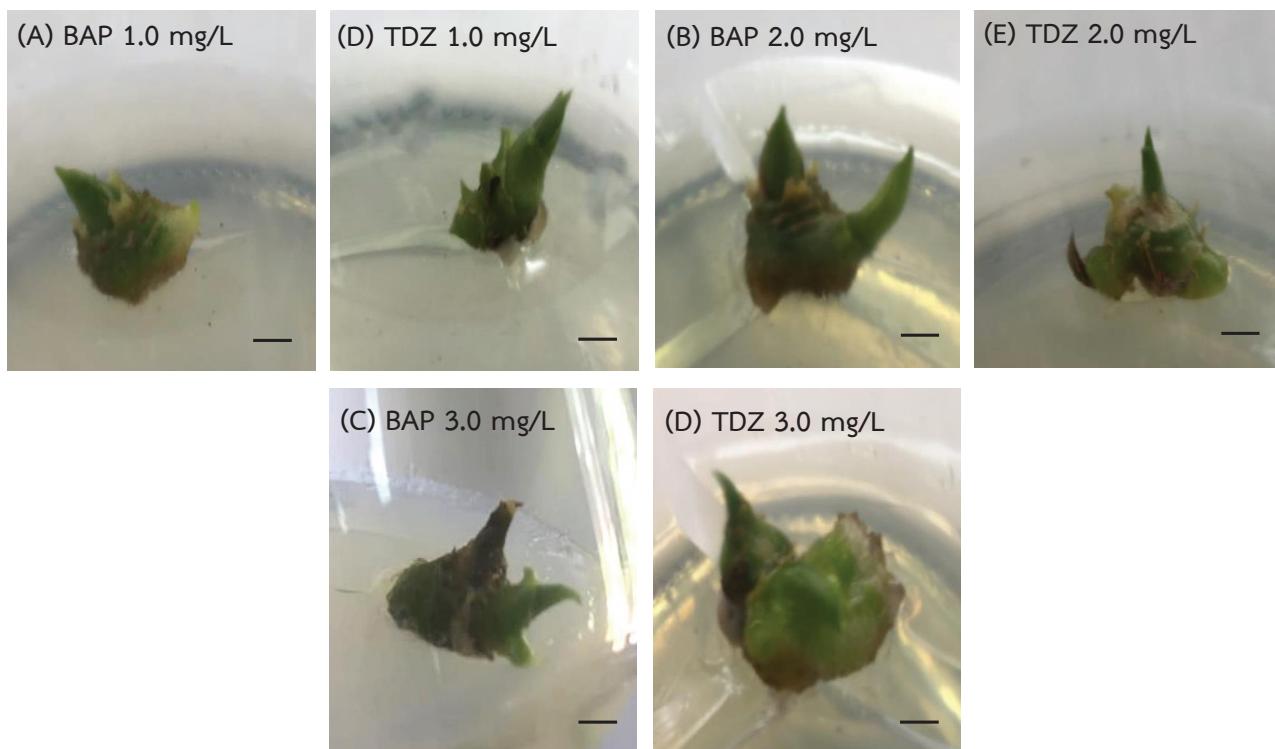


Figure 3 Effect of BAP and TDZ at different concentrations on shoot induction.
(photo taken 12 weeks after cultivation and bar =5 mm).

ผลของฮอร์โมน NAA ต่อการซักนำให้เกิดรากจากส่วนยอดว่าหนึ่งมาก

ผลของการนำส่วนยอดของว่านหางมากที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลูกด้วยมาซักนำไปดูบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อผ่านไป 12 สัปดาห์ พบร่วงจำนวนราก ความยาวราก และอัตราการเกิดรากในแต่ละชุดการทดลองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

โดยส่วนยอดว่านหางมากที่เจริญในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนของราก ความยาวของราก และอัตราการเกิดรากสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เท่ากับ 11.93 ± 1.65 ราก ความยาวราก 1.40 ± 0.21 เซนติเมตร และอัตราการเกิดรากร้อยละ 100 รองลงมาคือ สูตรที่เติมน้ำ NAA ความเข้มข้น 1.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Table 3)

Table 3 Effect of NAA at the different concentrations on root induction

NAA (mg/L)	Number of roots	Length of shoot (cm)	Root induction (%)
1.0	4.60 ± 0.96^b	0.53 ± 0.12^b	100.00 ± 0.00^a
2.0	11.93 ± 1.65^a	1.40 ± 0.21^a	100.00 ± 0.00^a
3.0	0.63 ± 0.61^c	0.06 ± 0.05^c	56.67 ± 15.27^b
C.V. (%)	20.36	22.09	10.31
F-test	*	*	*

^{a-c} The different letters in the same column are statistically significant different ($p<0.05$). Each value in table is represented as mean \pm SD

ลักษณะของรากในชุดการทดลองที่เติมน้ำ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบรากมีการเจริญของรากค่อนข้างดีรากมีสีเขียวขนาดของรากค่อนข้างสั้นจำนวนของรากมีไม่มาก ชุดการทดลองที่เติมน้ำ NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบรากมีการเจริญของรากดีมากพัฒนามาจากด้านล่างของรากยอดรากยาวมีสีเขียวเข้มปริมาณรากมีจำนวนมากที่สุด

เมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่นๆ และในชุดการทดลองที่เติมน้ำ NAA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบรากมีการเจริญของรากค่อนข้างดีเป็นแคลลัสสีน้ำตาลกระจุกตัวอยู่และมีรากถูกสร้างจากตำแหน่งแคลลัสโดยรากมีการเจริญเพียงเล็กน้อยและสั้นมาก (Figure 4)

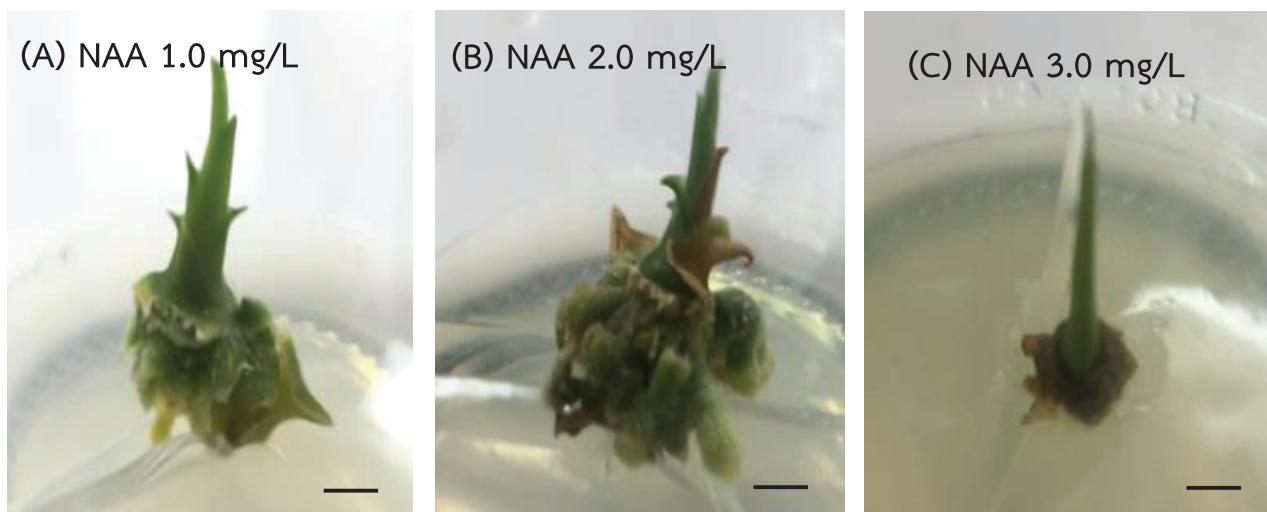


Figure 4 Effect of NAA at different concentrations on root induction.

(photo taken 12 weeks after cultivation and bar =5 mm).

NAA เป็นฮอร์โมนพีชอยู่ในกลุ่มออกซินซึ่งมีประสิทธิภาพต่อการซักนำให้เกิดการเจริญของพืชโดยทำให้เกิดการแบ่งเซลล์การขยายขนาดของเซลล์โดยเฉพาะในเซลล์ราคานៃءี่จากออกซินจะถูกสร้างในส่วนเนื้อเยื่อเจริญต่างๆ เช่น ปลายยอด และเคลื่อนที่ได้จากการบันลงล่างจึงทำให้มีผลต่อการเจริญของรากมากกว่าส่วนอื่นๆ ในการซักนำรากของว่านขันหมายเหตุว่าสามารถสร้างรากได้ดีที่สุดคือ NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับใน *Aglaonema* สายพันธุ์อื่นๆ เมื่อต้องทำการซักนำรากจะใช้ออกซิน ได้แก่ NAA หรือ IAA ที่ความเข้มที่ต่างๆ ที่เหมาะสมกับชนิดพันธุ์ของ *Aglaonema* เช่น ใน *A. commutatum* Schott สามารถใช้ NAA หรือ IAA ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการซักนำรากได้ดีที่สุด (Mohamed et al., 2016) ตัวอ่อนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ *Aglaonema* var. Cochin ซักนำรากได้ด้วย IAA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (Mariani et al., 2011) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ออร์โนนพีชร่วงกันระหว่างออกซินและไฮโดroxีโคนินก็สามารถซักนำให้เกิดรากได้ดีเช่นเดียวกัน โดยพบใน *A. widuri* เมื่อซักนำรากจากต้นอ่อนด้วย BA:NAA ความเข้มข้น 3.0:0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดจำนวนรากใหม่ได้มากที่สุด 14.25 ราก (Kaviani et al., 2019)

สรุปผลการศึกษา

การศึกษาในครั้งนี้ทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่าน้ำขันมากเพื่อเป็นแนวทางในการนำไปต่อยอดด้านการผลิตสมุนไพร หรือการขยายพันธุ์เพื่อเป็นแม่ประดับ โดยเมล็ดของว่าน้ำขันมากสามารถพัฒนาเป็นแคลลัสเกิดยอดและราก บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BAP ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และความมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงการพัฒนาให้เป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์และการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณรายได้ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาฯ ศาสตร์ประยุกต์และเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ในการปฏิบัติการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

คำนูน กาญจนภูมิ. (2542). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (พิมพ์ครั้งที่ 1). จพาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

งานนุช เลาหะวิสัย และมัลลิกา มิตรน้อย. (2548). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม่น้ำอะโกรนีม่า (*Aglaonema simplex*). ใน: เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43 (หน้า 267-274). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เบญจมาศ จิตรสมบูรณ์. (2560). การตรวจสอบความเป็นพิษและฤทธิ์ทางชีวภาพของว่านขันหมาก (*Aglaonema simplex BL.*). มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

วรรณรัตน์ ภูตะลุน. (2557). เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร: จากพื้นฐานสู่การประยุกต์ใช้ทางเภสัชศาสตร์. ขอนแก่นพิมพ์พัฒนา.

วิสาหกิจชุมชนก่อလุมแปรรูปสมุนไพรพื้นบ้านถ้าเพชรโพธิ์ทอง.
(2562). สินค้าของเราร่วมขันหมาก. <http://www.jajong.com/page/produck.html>.

สมพร ประเสริฐสั่งสกุล. (2552). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ กับการปรับปรุงพันธุ์พืช (พิมพ์ครั้งที่ 2). สำนักพิมพ์โฟร์เพช.

สันติ วัฒนานะ หนูเดือน เมืองแสนน ชูศรี ไตรสนธิ เกรียงศักดิ์
เอ็มเก็บ บุญช่วย บุญมี ปฐมภรณ์ ทิลารักษ์ ทศพร
ชนกคุณ และรุ่งเพชร ปัญญาวนิ. (2563). หนังสือบัญชี
รายการทรัพย์การซื้อวัวแพพีชสมุนไพรและกฎหมาย
การใช้สมุนไพรจังหวัดจันทบุรี ตราด (พิมพ์ครั้งที่ 1).
สำนักงานพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ (องค์การ
มหาชน).

สุริช วรรณไกรโจน์^{ยิโถ} ทักษะทัต เนลิมศรี นนทสวัสดิ์
ศรี เกวlin คุณศักดากุล รมณีย์ เจริญทรัพย์ พนมพร
วรรณประเสริฐ เพชรรัตน์ จันทรกิณ และ Ray, L.O.
(2564). บทฐานงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ศูนย์การ
พิมพ์แก่นจันทร์.

Abass, M.M., El-Shamy, H.A., Dawh, A.K. and Sayed, S.S. (2016). In vitro micropropagation of *Aglaonema commutatum* SCHOTT. *Zagazig Journal of Horticultural Science*, 43(2), 363-376.

Abbas, M.S., El-Shabrawi, H.M., Soliman, A.H. & Selim, M.A. (2018). Optimization of germination, callus induction, and cell suspension culture of African locust beans *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16, 191-201.

- Ahmed, A.B. & Mohamed, K.G. (2018). Micropropagation and *ex vitro* acclimatization of aglaonema plants. *Middle East Journal of Applied Sciences*, 8(4), 1425-1436.
- Chen, W.L. & Yeh, D.M. (2007). Elimination of in vitro contamination, shoot multiplication, and *ex vitro* rooting of *Aglaonema*. *HortScience*, 42(3), 629-632.
- Davies, P.J. (2010). The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. *Plant Hormones*. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2686-7_1.
- Fang, J.Y., Hsu, Y.R. and Chen, F.C. (2013). Development of an efficient micropropagation procedure for *Aglaonema* 'Lady Valentine' through adventitious shoot induction and proliferation. *Plant Biotechnology*, 30, 423-431.
- Kaviani, B., Sedaghathoor, S., Motlagh, M.R.S. and Rouhi, S. (2019). Influence of plant growth regulators (BA, TDZ, 2-iP and NAA) on micropropagation of *Aglaonema widuri*. *Plant Physiology*, 9(2), 2709-2718.
- Mariani, T.S., Fitriani, A., Jamie A., Silva, T.D., Wicaksono, A. & Chia, T.F. (2011). Micropropagation of *Aglaonema* using axillary shoot explants. *International Journal of Basic & Applied Sciences IJBAS-IJENS*, 11(1), 46-53.
- Miransari, M. & Smith, D.L. (2014). Plant hormones and seed germination. *Environment and Experiment Botany*, 99, 110-121.
- Mostafiz, S.B. & Wagiran, A. (2018). Efficient callus induction and regeneration in selected *Indica* Rice. *Agronomy*, 8, 77-94.
- Seyyedyousefi, S.R., Kaviani, B., Dehkaei, N.P. and Salehzadeh, A. (2013). Callus induction in *Alstroemeria* using NAA and BAP. *European Journal of Experimental Biology*, 3(5), 137-140.
- Zuopu, Z., SuLi, S., Ting, S., Jie, L., Chun, L. and Li, Z. (2018). Optimization of callus and Multiple shoots induction medium of *Aglaonema commutatum* Schott 'Red Valentine'. *Genomics and Applied Biology*, 12, 5429-5436.