ผลของฮอร์โมนพืชต่อการเจริญของว่านขันหมาก (*Aglaonema tenuipes* Engl.) ในหลอดทดลอง

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

ปฐมาภรณ์ ทิลารักษ์[1*], อมรรัตน์ สุวรรณโพธิ์ศรี[1], ศิริจันทร์ ตาใจ[2], พรพนิต ศศิวัฒน์ชุติกุล[3], ยุพา บุญมี[4]
Patamaporn Tilarux[1*], Amornrat Suwanposri[1], Sirichan Tachai[2],
Pronpanit Sasivatchutikool[3], Yupha Boonmee[4]

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

บทคัดย่อ

ว่านขันหมากหรือว่านขันหมากเศรษฐี (*Aglaonema tenuipes* Engl.) เป็นพืชสมุนไพรที่พบบริเวณชายป่าที่มีความชื้นในทั่วทุกภาคของประเทศไทย เป็นพืชที่กำลังได้รับความสนใจเนื่องจากมีสารต้านอนุมูลอิสระและช่วยลดการเกิดภูมิแพ้ รวมถึงมีชื่อที่เป็นมงคลทำให้นิยมนำมาปลูกเป็นไม้ประดับ การศึกษาในครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของฮอร์โมนพืชต่อการเจริญของว่านขันหมาก โดยนำเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการเพาะเลี้ยงว่านขันหมากบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Murashige and Skoog (MS) จากการทดลองการชักนำแคลลัสจากเมล็ดว่านขันหมากพบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดบนอาหารที่เติม naphthyl acetic acid (NAA) 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีขนาดแคลลัส 0.68±0.19 เซนติเมตร และเกิดแคลลัสร้อยละ 86.67±5.77 การชักนำยอดใหม่จากส่วนยอดที่งอกจากเมล็ดพบว่าเมื่อเติม 6-benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำยอดใหม่ได้สูงจำนวน 2.77 ±1.59 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งมีขนาดและลักษณะที่สมบูรณ์ที่สุด และการชักนำรากจากส่วนยอดของว่านขันหมากพบว่า NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถ ชักนำรากได้มากที่สุดจำนวน 11.93±1.65 รากต่อยอด และมีอัตราการชักนำรากร้อยละ 100.0 จากผลการศึกษาจึงได้ข้อมูลพื้นฐานด้านการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเข้ามาใช้ในการพัฒนาว่านขันหมากทางด้านสมุนไพรไทยและการขยายพันธุ์เพื่อเป็นไม้ประดับต่อไป

คำสำคัญ: ว่านขันหมาก การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ฮอร์โมนพืช

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 naphthyl acetic acid (NAA) on MS medium with

[1] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์และเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี
[2] อาจารย์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์และเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี
[3] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืชและภูมิทัศน์ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี
[4] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี 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±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

ว่านขันหมาก ขันหมากเศรษฐี หรือพรมตีนสูง (*Aglaonema tenuipes* Engl.) เป็นพืชในสกุลอะโกลนีมา (Aglaonema) อยู่ในวงศ์ Araceae พบทั่วทุกภาคของประเทศไทย บริเวณชายป่าที่มีความชื้น เช่น จังหวัดจันทบุรี ตราด ชัยภูมิ กาญจนบุรี อุบลราชธานี ระนองและชุมพร ว่านขันหมากเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว รากเป็นรากฝอยอวบกลม ลำต้นแทงจากเหง้าใต้ดิน มีสีเขียวอมน้ำตาล อวบและมีข้อปล้องชัดเจน ใบเป็นรูปหอกปลายใบแหลม มีสีเขียวสด ใบเดี่ยวออกเรียงสลับ ดอกเป็นดอกช่อเชิงลดมีขนาด 5-7 เซนติเมตร ดอกย่อยขนาดเล็กสีขาว ดอกแยกเพศอยู่บนต้นเดียวกัน ผลเป็นผลสด รูปรี ผลอ่อนมีสีเขียว ผลสุกจะมีสีแดง มี 1 เมล็ด ว่านขันหมากเป็นสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางด้านบำรุงกำลังเป็นยาอายุวัฒนะ สามารถนำมาต้มดื่มได้ทั้งต้น (สันติ วัฒฐานะและคณะ, 2563) นอกจากนี้ยังนิยมนำผลสุกมารับประทานเพื่อเป็นยาอายุวัฒนะ ลดอาการภูมิแพ้ และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และในปัจจุบันมีการผลิตออกมาในรูปแบบต่างๆ เพื่อจำหน่ายเป็นจำนวนมากซึ่งมีราคาค่อนข้างสูง เช่น ผงแห้งบดละเอียดพร้อมบรรจุแคปซูล ราคากิโลกรัมละ 6,000 บาท และผลว่านสุกสายพันธุ์ลูกเล็กและลูกใหญ่ ราคากิโลกรัมละ 1,000 และ 800 บาท ตามลำดับ (วิสาหกิจชุมชนกลุ่มแปรรูปสมุนไพรพื้นบ้านถ้ำเพชรโพธิ์ทอง, 2562) ว่านขันหมากสามารถเป็นยาอายุวัฒนะได้นั้นเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ซึ่งมีรายงานการศึกษาสารสกัดจากผลของว่านขันหมากโดยพบว่าเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถลดการสร้างอนุมูลอิสระภายในเซลล์แมคโครฟาจ RAW264.7 เมื่อถูกชักนำให้อยู่ในสภาวะเครียด และมีฤทธิ์ทางยาเนื่องจากสารสกัดที่ความเข้มข้น 125-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านภูมิแพ้ (เบ็ญจมาศ จิตรสมบูรณ์, 2560) ดังนั้น ว่านขันหมากจึงถือได้ว่าเป็นสมุนไพรไทยที่มีอนาคตในการที่จะต่อยอดพัฒนาเพื่อผลิตเป็นยาต่อไปได้ นอกจากนี้ว่านขันหมากยังมีชื่อเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าว่านขันหมากเศรษฐี ซึ่งเป็นชื่อมงคลจึงทำให้ว่านขันหมากนอกจากเป็นยาแล้วยังมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นไม้ประดับได้อีกด้วย

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant tissue culture) เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์ทางด้านการเกษตรเป็นอย่างมาก โดยช่วยในการขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนพืชเป้าหมายได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น และยังมีประโยชน์ทางเภสัชวิทยาใช้ในการเพาะเลี้ยงพืชสมุนไพรและกระตุ้นให้เกิดการสร้างสารทุติยภูมิ (Secondary metabolite) ได้ในปริมาณมากและใช้ระยะเวลาสั้น รวมถึงยังช่วยในการลดปัจจัยรบกวนภายนอกต่างๆ จากธรรมชาติได้อีกด้วย (วราภรณ์ ภูตะลุน, 2557) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อให้ประสบความสำเร็จไม่ว่าจะเป็นการชักนำยอด ราก หรือแคลลัส เพื่อให้ได้ผลผลิตจากพืชตรงตามเป้าหมายที่เราต้องการนั้นมีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง ทั้งการเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสม สภาวะในการเพาะเลี้ยงรวมถึงฮอร์โมนพืช เช่น ออกซิน (Auxin) ไซโตไคนิน (Cytokinin) และจิบเบอเรลลิน (Gibberellin) ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยธรรมชาติพืชจะมีฮอร์โมนเหล่านี้สะสมอยู่ในส่วนเนื้อเยื่อเจริญเพื่อช่วยให้การเกิดการเจริญพัฒนาอย่างปกติ แต่ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชกลุ่มฮอร์โมนพืชที่เข้ามามีความสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดยอด ราก และแคลลัสนั้นคือออกซินและไซโตไคนิน โดยออกซินเป็นฮอร์โมนพืชที่สร้างจากส่วนเนื้อเยื่อเจริญของปลายยอด ปลายราก และลำต้น ออกซินเคลื่อนที่ได้ดีในโฟลเอม (Phloem) และมีการเคลื่อนที่แบบโพลาริตี้ (Polarity movement) จากบนลงล่าง (คำนูณ กาญจนภูมิ, 2542) จึงทำให้มีการขนส่ง ออกซินสู่รากผ่านโฟลเอม โดยออกซินมีผลช่วยส่งเสริมการแบ่งเซลล์ การยืดขยายขนาดของเซลล์ และส่งเสริมการเจริญของตายอด ฮอร์โมนพืชกลุ่มออกซินที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ Indole-3-acetic acid (IAA), naphthyl acetic acid (NAA) และ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ส่วนฮอร์โมนพืชกลุ่มไซโตไคนินในพืชจะอยู่ในรูปของซีเอทิน (Zeatin) โดยจะสะสมอยู่ในปลายรากและเมล็ดที่กำลังพัฒนา การเคลื่อนที่ของไซโตไคนินจะเคลื่อนที่จากรากสู่ยอด มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการแบ่งเซลล์ การยืดขยายขนาดของเซลล์ และการแตกตาข้าง (Davies, 2010) ไซโตไคนินที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น 6-Benzylaminopurine (BAP) และ Thidiazuron (TDZ)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในกลุ่มอะโกลนีมา ส่วนใหญ่จะเป็นการผลิตพันธุ์พืชที่เป็นกลุ่มไม้ประดับ เช่น การศึกษาการชักนำชิ้นเนื้อเยื่อส่วนยอดของ อะโกลนีมาในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Murashige & Skoong (MS) ที่มีการเติมฮอร์โมนพืช 6-Benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว พบว่าสามารถชักนำให้ชิ้นเนื้อเยื่อเกิดต้นอ่อนได้เร็วในปริมาณมาก (นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ และมัลลิกา มิตรน้อย, 2548)

ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงได้นำเทคโนโลยีทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการศึกษาการเจริญเป็นแคลลัส การชักนำยอด และการชักนำราก ว่านขันหมาก เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการพัฒนาว่านขันหมากให้เป็นยาสมุนไพรไทย และเป็นไม้ประดับที่มีมูลค่าต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา

การวางแผนการทดลอง

โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) ทรีตเมนต์ละ 3 ซ้ำๆ ละ 10 ขวด

ตัวอย่างพืชที่ใช้ในการศึกษา

ต้นพันธุ์ของว่านขันหมากได้รับความอนุเคราะห์จากชาวบ้านใน จังหวัดจันทบุรี (Figure 1) นำมาเพาะเลี้ยง ณ อาคารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี จนกระทั่งได้เมล็ดและนำเมล็ดที่ได้มาใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

Figure 1 Characteristic of *Aglaonema tenuipes* Engl.

การศึกษาผลของฮอร์โมน BAP และ naphthyl acetic acid (NAA) ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเมล็ดว่านขันหมาก

นำเมล็ดว่านขันหมากมาทำให้ปลอดเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 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 โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดว่านขันหมากและวัดขนาดของแคลลัสที่เกิดขึ้น

การศึกษาผลของฮอร์โมน BAP และ TDZ ต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่จากส่วนยอดของว่านขันหมาก

นำส่วนตายอดของว่านขันหมากที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อมาชักนำยอด 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 โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดว่านขันหมากและนับจำนวนยอดที่เพิ่มขึ้น

การศึกษาผลของฮอร์โมน NAA ต่อการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอดว่านขันหมาก

นำส่วนยอดของว่านขันหมากที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อมาชักนำราก บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตรทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกผลเป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของยอดว่านขันหมาก 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 ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเมล็ดว่านขันหมาก

ผลการศึกษาการชักนำแคลลัสจากเมล็ด ว่านขันหมากบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร 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 พบว่าการพัฒนาจากเมล็ดเป็นแคลลัสและร้อยละการเกิดแคลลัสในแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แคลลัสมีขนาดอยู่ในช่วง 0.03±0.05-0.68±0.19 เซนติเมตร และร้อยละของการเกิดแคลลัสอยู่ระหว่าง 13.13±11.54-86.67±5.77 โดยเมล็ดที่เจริญบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม 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 ±0.05^{cd}	23.33±5.77^{c}
2.0	-	0.08 ±0.07^{bc}	56.67±5.77^{b}
3.0	-	0.68±0.19^{a}	86.67±5.77^{a}
1.0	1.0	0.11±0.10^{b}	60.00±10.00^{b}
2.0	2.0	0.02 ±0.04^{d}	13.13±11.54^{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 ± SD

ลักษณะการเกิดแคลลัสในชุดการทดลองที่เติม NAA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการเจริญของแคลลัสที่เป็นแบบเกาะกันแน่น (Compact) ผิวขรุขระมีสีเขียวอ่อนอยู่ระหว่างการเจริญของยอด และราก ชุดการทดลองที่เติม NAA:BAP ความเข้มข้น 1.0: 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบมีการปริแยกของเมล็ด ว่านขันหมากและสร้างแคลลัสขึ้นบริเวณรอยแยก ชุดการทดลองที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบเกิดการขยายตัวแบ่งเซลล์ของเมล็ดว่านขันหมากเป็นแคลลัสเล็กน้อยและพบการเจริญของราก ชุดการทดลองที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการเจริญเป็นแคลลัสน้อยมากแต่มีการเจริญของส่วนรากชัดเจน ชุดการทดลองที่เติม NAA:BAP ความเข้มข้น 2.0:2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะการเกิดแคลลัสมีน้อยที่สุดแต่เกิดการเจริญของรากดี (Figure 2)

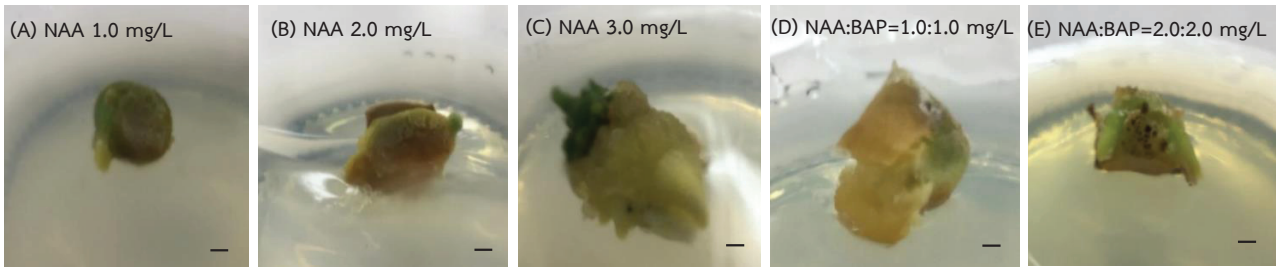

Figure 2 Effect of different concentrations of NAA and BAP on callus formation of seed of *Aglaonema tenuipes* Engl. (photo taken 12 weeks after cultivation and bar =1 mm).

โดยทั่วไปภายในเมล็ดจะมีฮอร์โมนพืชที่กระตุ้นการงอกและการเจริญโดยธรรมชาติ การเพิ่มฮอร์โมนพืชจากภายนอกอาจจะช่วยในการส่งเสริมหรือยับยั้งการเจริญได้ จากผลการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าการเติมฮอร์โมนออกซิน คือ NAA ที่ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียวก็สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ออกซินที่ความเข้มข้นสูงมีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี (สุรวิช วรรณไกรโรจน์ และคณะ, 2564) ในขณะที่ความเข้มข้น NAA

ที่ต่ำกว่าพบการเจริญของแคลลัสน้อยลงแต่มีการเจริญของรากชัดเจนมากยิ่งขึ้น แสดงให้เห็นว่าปริมาณออกซินที่ไม่สูงมากจากภายนอก ช่วยส่งเสริมการเกิดรากร่วมกับออกซินที่อยู่ภายในเมล็ดได้ดียิ่งขึ้น เมื่อนำ NAA และ BAP มาร่วมกันในการชักนำเมล็ดว่านขันหมาก พบว่าที่ความเข้มข้น 1.0:1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถพัฒนาเป็นแคลลัสได้แต่การเจริญน้อยกว่าการใช้ NAA เพียงอย่างเดียว โดยมีการแตกขยายขนาดของเมล็ดและเกิดแคลลัสสีเหลืองในตำแหน่งที่ปริแตก แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 2.0:2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการเกิดแคลลัสน้อยแต่การเจริญของรากดีมาก แสดงว่าการใช้ BAP และ NAA ร่วมกันในความเข้มข้นสูงขึ้น สามารถช่วยส่งเสริมการทำงานของออกซินและไซโตไคนินที่อยู่ภายในเมล็ด ทำให้เกิดการเจริญของรากได้มากยิ่งขึ้น เนื่องจาก NAA และ BAP เป็นฮอร์โมนพืชกลุ่มออกซินและไซโตไคนิน ซึ่งออกซินเป็นฮอร์โมนพืชที่พบสะสมในส่วนเนื้อเยื่อเจริญของ เอมบริโอ และมีบทบาทต่อการเจริญของต้นอ่อนหลังจากเมล็ดงอก โดยออกซินนั้นจะเคลื่อนที่ไปสะสมในบริเวณปลายรากได้มากกว่าส่วนอื่นๆ และยังสามารถสร้างที่ปลายรากได้ด้วย ส่วนไซโตไคนินเป็นฮอร์โมนพืชที่พบสะสมในเมล็ดพืชเช่นเดียวกันออกซิน โดยจะมีบทบาทในการควบคุมการงอกของเมล็ด ทำให้เกิดการเจริญของเอมบริโอในการแบ่งเซลล์ และมีผลต่อการเจริญพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญในส่วนยอดและราก (Miransari & Smith, 2014) ซึ่งฮอร์โมนพืชทั้งสองชนิดมีการทำงานที่ส่งเสริมการเจริญพัฒนาของเอมบริโอ เนื้อเยื่อเจริญส่วนยอดและรากเช่นเดียวกัน แต่ปริมาณที่สะสมในเมล็ดพืชแต่ละชนิดนั้นมีปริมาณที่ไม่เท่ากัน ดังนั้นในการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเมล็ดหากสามารถเลือกใช้ชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมนพืชจากภายนอกที่เหมาะสมร่วมกับปริมาณออกซินและไซโทไคนินที่อยู่ภายในเมล็ดก็จะทำให้สามารถชักนำแคลลัสได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังจะเห็นในการชักนำแคลลัสในพืชบางชนิดต้องการออกซินหรือไซโตโคนินเพียงชนิดเดียว หรือต้องใช้ฮอร์โมนทั้งสองร่วมกันจึงจะสามารถพัฒนาเป็นแคลลัสได้ (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 พบว่าทุกชุดการทดลองสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ โดยจำนวนยอดใหม่และความยาวของยอดแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) พบการเกิดยอดใหม่มากที่สุดบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร 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±5.7^{7}c
2.0	2.77±1.59^{a}	0.93±0.18^{a}	60.00±10.00^{b}
3.0	3.06±1.4^{8}a	0.71±0.1^{7}b	80.00±10.0^{0}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±5.7^{7}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 ± SD

จากการสังเกตลักษณะการเกิดยอดใหม่ในแต่ละชุดการทดลองพบว่าชุดการทดลองที่เติม BAP ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีส่วนฐานของยอดขยายขนาดเพิ่มขึ้นและมีการแตกยอดใหม่สีเขียวที่มีลักษณะปกติออกจากส่วนฐาน ชุดการทดลองที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการขยายขนาดในส่วนฐานของยอดเช่นกันและแตกยอดใหม่สีเขียวลักษณะปกติ ชุดการทดลองที่เติม TDZ ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการขยายขนาดของส่วนฐานของยอดมีลักษณะเป็นพูและส่วนยอดที่แตกออกมามีขนาดเล็กเจริญได้ไม่ดี ชุดการทดลองที่เติมที่เติม TDZ ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบมีการขยายขนาดส่วนฐานยอดขนาดใหญ่เป็นแคลลัสชนิดแข็งผิวเรียบสีเขียวและมีการเจริญของยอดใหม่อวบสั้นบนแคลลัส (Figure 3) เช่นเดียวกับ A. commutatum Schott “Red Valentine” สามารถเกิดแคลลัสได้เมื่อเจริญอยู่บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร 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 เป็นฮอร์โมนพืชที่อยู่ในกลุ่มไซโตไคนินเช่นเดียวกัน โดยมีประสิทธิภาพในการส่งการเสริมการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดและการยืดยาวของเซลล์ โดยมีบทบาทมากในการชักนำให้เกิดต้นและการเกิดตาข้าง (สมพร ประเสริฐส่งสกุล, 2552) จากผลการศึกษาที่ได้เมื่อพิจารณาจากจำนวนยอดที่เกิดขึ้นและขนาดของยอด พบว่า สูตรที่มีการเติม BAP ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดยอด เนื่องจากมีจำนวนของยอดที่เกิดขึ้นในปริมาณสูง ยอดที่ได้มีขนาดใหญ่และสมบูรณ์ รวมถึงมีอัตราการการเกิดยอดใหม่ที่สูง ในการศึกษาการชักนำยอดอะโกลนีมาชนิดอื่นๆ พบว่า A. commutatum Schott เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด 4.08 ยอด เมื่อชักนำด้วย BA ความเข้มข้น 8.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Abass *et al*., 2016) Aglaonema Schott “White Tip” พบเกิดยอดได้มากถึง 6 ยอด และยอดมีการเจริญปกติดีเมื่อชักนำด้วย BAP ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลาร์ ยอดเจริญปกติ แต่เมื่อชักนำด้วย TDZ ความเข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำยอดได้ 6 ยอดเช่นกัน แต่การเจริญของยอดเป็นกระจุกสั้น (Chen & Yeh, 2007) นอกจากนี้ Aglaonema บางชนิดในการชักนำยอดต้องใช้ฮอร์โมนพืช 2 ชนิด ร่วมกัน เช่นใน Aglaonema “Lady Valentine” ต้องใช้ NAA: TDZ ที่ความเข้มข้น 0.5:2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำยอดใหม่ได้ถึง 10.9 ยอด แต่เมื่อเปรียบเทียบการเจริญแล้ว ยอดที่ชักนำด้วย BAP มีการเจริญยืดยาวที่ดีกว่า (Fang *et al*., 2013) โดย Ahmed and Mohamed (2018) ได้นำส่วนข้อของ A. commutatum มาชักนำให้เกิดยอดพบว่าเมื่อชักนำด้วย BAP ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำยอดได้มากที่สุดคือ 4.56 ยอด

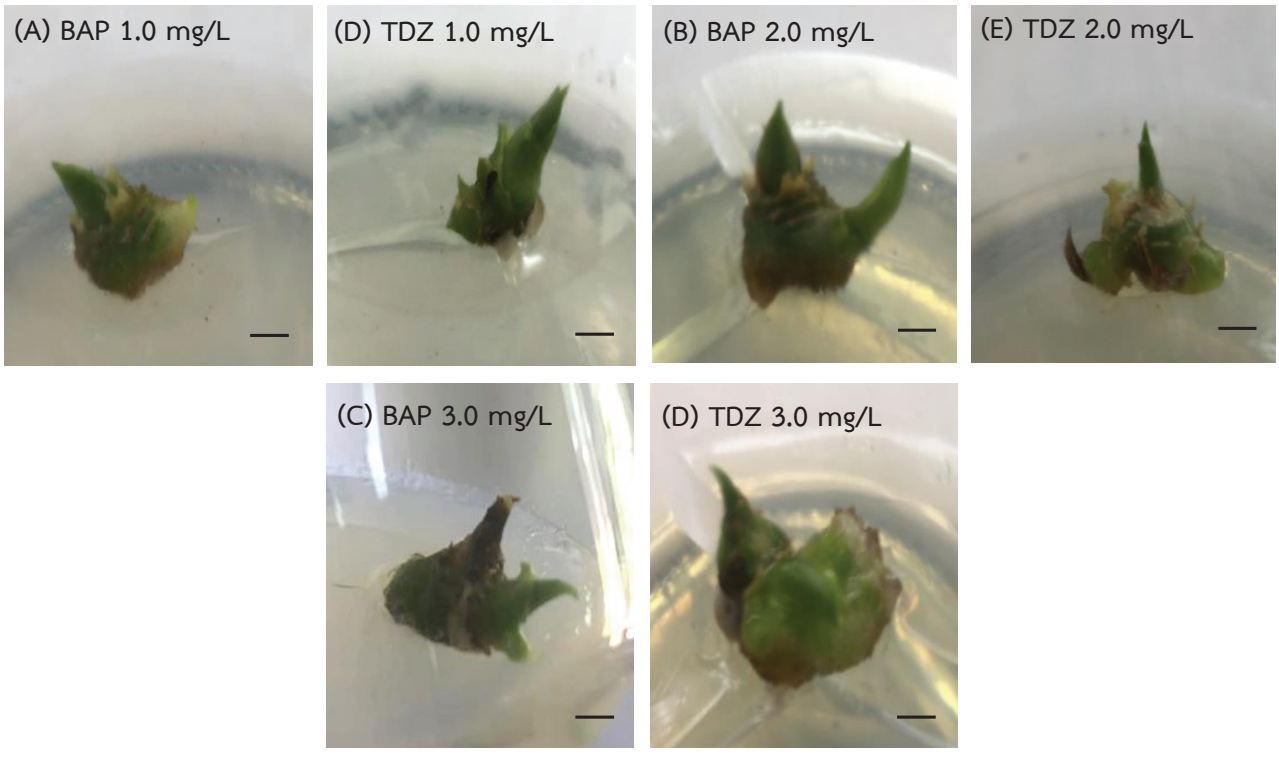

Figure 3 Effect of BAP and TDZ at different concentrations on shoot induction. (photo taken 12 weeks after cultivation and bar =5 mm).

ผลของฮอร์โมน NAA ต่อการชักนำให้เกิดรากจากส่วนยอดว่านขันหมาก

ผลของการนำส่วนยอดของว่านขันหมากที่ได้จากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อมาชักนำยอดบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อผ่านไป 12 สัปดาห์ พบว่าจำนวนราก ความยาวราก และอัตราการเกิดรากในแต่ละชุดการทดลองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยส่วนยอดว่านขันหมากที่เจริญในอาหารสูตร MS ที่เติม 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 สูตรที่เติม 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 ± SD

ลักษณะของรากในชุดการทดลองที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบมีการเจริญของรากค่อนข้างดีรากมีสีเขียวขนาดของรากค่อนข้างสั้นจำนวนของรากมีไม่มาก ชุดการทดลองที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการเจริญของรากดีมากพัฒนามาจากด้านล่างของฐานยอดรากยาวมีสีเขียวเข้มปริมาณรากมีจำนวนมากที่สุดเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่นๆ และในชุดการทดลองที่เติม NAA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการสร้างแคลลัสบริเวณส่วนโคนของยอดเกิดเป็นแคลลัสสีน้ำตาลกระจุกตัวอยู่และมีรากถูกสร้างจากตำแหน่งแคลลัสโดยรากมีการเจริญเพียงเล็กน้อยและสั้นมาก (Figure 4)

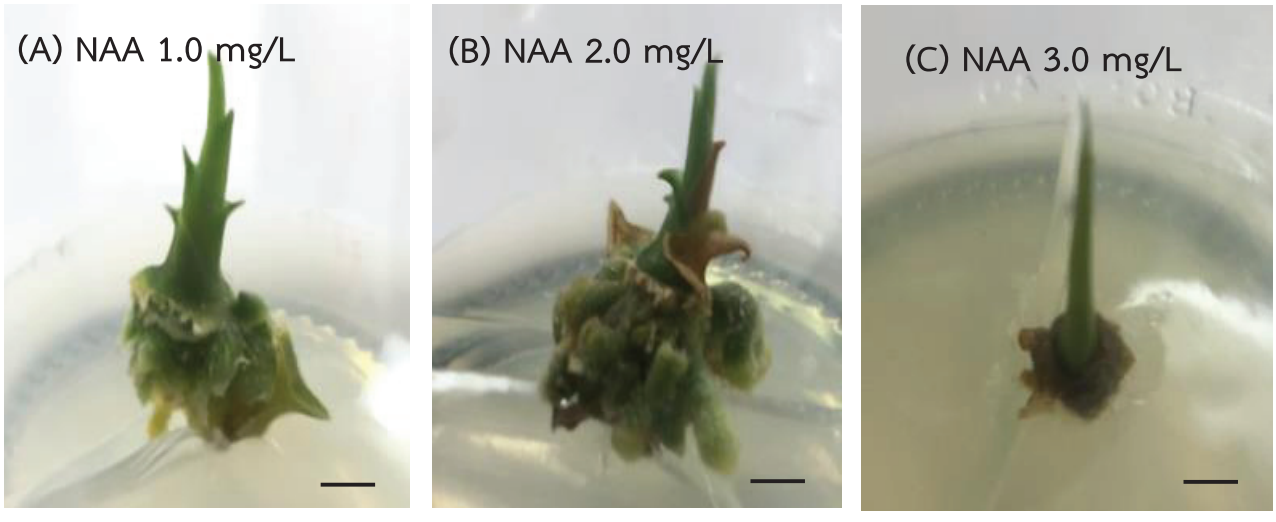

Figure 4 Effect of NAA at different concentrations on root induction.
(photo taken 12 weeks after cultivation and bar =5 mm).

NAA เป็นฮอร์โมนพืชอยู่ในกลุ่มออกซินซึ่งมีประสิทธิภาพต่อการชักนำให้เกิดการเจริญของพืชโดยทำให้เกิดการแบ่งเซลล์การขยายขนาดของเซลล์โดยเฉพาะในเซลล์รากเนื่องจากออกซินจะถูกสร้างในส่วนเนื้อเยื่อเจริญต่าง ๆ เช่น ปลายยอด และเคลื่อนที่ได้ดีจากบนลงล่างจึงทำให้มีผลต่อการเจริญของรากมากกว่าส่วนอื่น ๆ ในการชักนำรากของว่านขันหมากพบว่าสามารถสร้างรากได้ดีที่สุดคือ NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับใน *Aglaonema* สายพันธุ์อื่น ๆ เมื่อต้องทำการชักนำรากจะใช้ออกซิน ได้แก่ NAA หรือ IAA ที่ความเข้มที่ต่าง ๆ ที่เหมาะสมกับชนิดพันธุ์ของ *Aglaonema* เช่น ใน *A. commutatum* Schott สามารถใช้ NAA หรือ IAA ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการชักนำรากได้ดีที่สุด (Mohamed *et al.*, 2016) ต้นอ่อนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ *Aglaonema* var. Cochin ชักนำรากได้ดีด้วย IAA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (Mariani *et al.,* 2011) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ฮอร์โมนพืชร่วมกันระหว่างออกซินและไซโตไคนินก็สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีเช่นเดียวกัน โดยพบใน *A. widuri* เมื่อชักนำรากจากต้นอ่อนด้วย BA:NAA ความเข้มข้น 3.0:0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดจำนวนรากใหม่ได้มากที่สุด 14.25 ราก (Kaviani *et al.,* 2019)

สรุปผลการศึกษา

การศึกษาในครั้งนี้ทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านขันหมากเพื่อเป็นแนวทางในการนำไปต่อยอดด้านการผลิตสมุนไพร หรือการขยายพันธุ์เพื่อเป็นไม้ประดับ โดยเมล็ดของว่านขันหมากสามารถพัฒนาเป็นแคลลัสเกิดยอดและราก บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BAP ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงการพัฒนาให้เป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์และการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณรายได้ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์และเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ในการปฏิบัติการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

คำนูณ กาญจนภูมิ. (2542). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช* (พิมพ์ครั้งที่ 1). จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ และมัลลิกา มิตรน้อย. (2548). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำอะโกลนีม่า (*Aglaonema simplex*). ใน: เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43 (หน้า 267-274). มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์.

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

วราภรณ์ ภูตะลุน. (2557). *เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร: จากพื้นฐานสู่การประยุกต์ใช้ทางเภสัชศาสตร์.* ขอนแก่นพิมพ์พัฒนา.

วิสาหกิจชุมชนกลุ่มแปรรูปสมุนไพรพื้นบ้านถ้ำเพชรโพธิ์ทอง. (2562). *สินค้าของเราว่านขันหมาก*. http://www.jajong.com/page/produck.html.

สมพร ประเสริฐส่งสกุล. (2552). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับการปรับปรุงพันธุ์พืช* (พิมพ์ครั้งที่ 2). สำนักพิมพ์โฟร์เพซ.

สันติ วัฒฐานะ หนูเดือน เมืองแสน ชูศรี ไตรสนธิ เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ บุญช่วย บุญมี ปฐมาภรณ์ ทิลารักษ์ ทศพร ชนกคุณ และรุ่งเพชร ปัญญาวุฒิ. (2563). *หนังสือบัญชีรายการทรัพยากรชีวภาพพืชสมุนไพรและภูมิปัญญาการใช้สมุนไพรจังหวัดจันทบุรี ตราด* (พิมพ์ครั้งที่ 1). สำนักงานพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ (องค์การมหาชน).

สุรวิช วรรณไกรโรจน์ ยี่โถ ทัพภะทัต เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี เกวลิน คุณาศักดากุล รมณีย์ เจริญทรัพย์ พนมพร วรรณประเสริฐ เพชรรัตน์ จันทรทิณ และ Ray, L.O. (2564). *บาทฐานงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช*. ศูนย์การพิมพ์แก่นจันทร์.

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.