



รายงานการวิจัย

เรื่อง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเห็ดหอมมหาหงส์ (*Hedychium coronarium* J. Koenig)

(Tissue Culture of *Hedychium coronarium* J. Koenig)

ผศ. ดร. อรัญญา พิมพ์มงคล

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ประจำปี 2546

บทคัดย่อ

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหอมหางส์ (*Hedychium coronarium* J. Koenig) โดยนำส่วนของเมล็ดมาแช่ด้วย 95% เอทานอล เป็นเวลา 1 นาที และฆ่าเชื้อด้วย 10% Clorox เป็นเวลา 15 นาที ล้างน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง แล้วผ่าเมล็ดออกเป็น 2 ส่วน นำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) เพื่อศึกษาอิทธิพลของฮอร์โมนสองคู่ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ NAA : 0, 0.5 และ 2.0 mg/l ร่วมกับ BA : 0, 1.0 และ 5.0 mg/l และ 2,4-D : 0, 0.1, และ 2 mg/l ร่วมกับ kinetin : 0, 1 และ 3 mg/l เมื่อเลี้ยงได้ 6 สัปดาห์ สูตรอาหารที่เติม NAA และ BA (NB) ความเข้มข้นต่างๆ นั้น NB4 (NAA : BA = 0.0 : 1.0 mg/l) สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด คือ 18.75% และเกิด multiple shoot ได้ อาหารสูตร NB8 (NAA : BA = 0.5 : 5.0 mg/l) ชักนำให้เมล็ดเจริญเป็นแคลลัสได้ดีที่สุด คือ 29.17% ลักษณะแคลลัสเป็น compact callus สำหรับอาหารที่เติม 2,4-D และ kinetin (DK) พบว่า DK4 (2,4-D : kinetin = 0.0 : 1.0 mg/l) สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด คือ 8.33% อาหารสูตร DK8 (2,4-D : kinetin = 0.1 : 3.0 mg/l) สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด คือ 21.87% ลักษณะแคลลัสส่วนใหญ่เป็น friable callus

ABSTRACT

The effects of different concentrations of NAA:BA (NB) and 2,4-D:kinetin (DK) on seed culture of *Hedychium coronarium* J. Koenig were studied. Seeds were surface disinfested for one min in 95% ethanol, followed by 15 min in 10% clorox. Seeds were washed three times in sterile distilled water. Then each seed was cut into two pieces and they were placed in MS medium containing different combinations of NB (NAA : 0, 0.5 and 2.0 mg/l; BA : 0, 1.0 and 5.0 mg/l) and DK (2,4-D : 0, 0.1, and 2 mg/l; kinetin : 0, 1 and 3 mg/l). After 6 weeks the results showed that the highest percentage of shoots, 18.75%, was from NB4 medium (NAA : BA = 0.0 : 1.0 mg/l); the highest percentage of callus, 29.17%, was from NB8 medium (NAA : BA = 0.5 : 5.0 mg/l). These callus were compact callus. On the other hand, seeds cultured in DK media could be differentiated to shoot for the highest percentage, 8.33%, in DK4 medium (2,4-D : kinetin = 0.0 : 1.0 mg/l); the highest percentage of callus, 21.87%, was from DK8 (2,4-D : kinetin = 0.1 : 3.0 mg/l). Most of these callus were friable callus.

กิตติกรรมประกาศ

ดิฉันขอขอบคุณ นางสาวนภาพร กล้าเมืองกลาง และ นางสาวศิรินาจ ศรีสว่าง นักศึกษาภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ได้ทุ่มเทกำลังกาย กำลังใจ และความสามารถ เพื่อช่วยเหลือในการทำวิจัยเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่อนุญาตให้ใช้สถานที่ อุปกรณ์ และครุภัณฑ์ ในการทำวิจัย พร้อมทั้งสนับสนุนวัสดุ และสารเคมีบางส่วนในการทำวิจัย

สุดท้ายนี้ดิฉันขอขอบคุณมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่สนับสนุนเงินวิจัย สำหรับการทำวิจัยครั้งนี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
สารบัญแผนภาพ	ช
คำอธิบายสัญลักษณ์	ฌ
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	5
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	9
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	18
เอกสารอ้างอิง	20
ภาคผนวก	22
ประวัตินักวิจัย	26

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	คู่ความเข้มข้นของ NAA และ BA 7
2	คู่ความเข้มข้นของ 2,4-D และ kinetin 8
3	แสดงเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นแคลลัส และ ยอด ของเมล็ดมหาหงส์ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้นต่างๆ 11
4	แสดงเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นแคลลัส และ ยอด ของเมล็ดมหาหงส์ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D และ kinetin ความเข้มข้นต่างๆ 14

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1	ลักษณะของส่วนที่อยู่เหนือดินของมหาหงส์ 3
2	ลักษณะของดอกและช่อดอกมหาหงส์ 4
3	ลักษณะของผลแก่และเมล็ดมหาหงส์ 4
4	ลักษณะของเมล็ดมหาหงส์ที่เจริญใน NB1 NB2 และ NB3 11
5	ลักษณะของเมล็ดมหาหงส์ที่เจริญในอาหาร NB4 NB5 และ NB6 12
6	ลักษณะของเมล็ดมหาหงส์ที่เจริญในอาหาร NB7 NB8 และ NB9 12
7	ลักษณะการเจริญของเมล็ดที่เจริญเป็น multiple shoots ในอาหาร NB4 13
8	ลักษณะการเจริญของเมล็ดที่เจริญเป็น compact callus ในอาหาร NB9 13
9	ลักษณะของเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์ที่เจริญในอาหาร DK1 DK2 และ DK3 15
10	ลักษณะของเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์ที่เจริญในอาหาร DK4 DK5 และ DK6 15
11	ลักษณะของเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์ที่เจริญในอาหาร DK7 DK8 และ DK9 16
12	ลักษณะของเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์ที่เจริญในอาหาร DK1 และ DK4 16
13	ลักษณะของเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์ที่เจริญในอาหาร DK5 และ DK6 17
14	ลักษณะของเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์ที่เจริญในอาหาร DK7 และ DK8 17
15	ลักษณะการเกิด friable callus ในอาหาร DK6 18

สารบัญแผนภาพ

แผนภาพที่	หน้า
1 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเมล็ดมหาหงส์	9
2 ขั้นตอนการเตรียมอาหาร	25

คำอธิบายสัญลักษณ์

BA

N₆-benzyladenine

2,4-D

2,4-dichlorophenoxyacetic acid

DK

2,4-dichlorophenoxyacetic acid and kinetin

MS

Murashige and Skoog

NAA

naphthalenecetic acid

NB

naphthalenecetic acid and N₆-benzyladenine

การตรวจเอกสาร

มหาหงส์ (*Hedychium coronarium* J. Koenig.) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae มีชื่อภาษาอังกฤษคือ White Ginger, Butterfly lily, Garland Flower, Ginger Lily และมีชื่อเรียกที่แตกต่างกันออกไปในแต่ละท้องถิ่น เช่น ภาคกลางเรียกว่า กระจายเหิน ทางหงส์ แม่ฮ่องสอนเรียกว่า ผาห่าน เหินแก้ว เหินคำ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เรียกว่า สะเลเต เป็นต้น มีถิ่นกำเนิด แถบเทือกเขาหิมาลัย ชอบขึ้นในที่ชื้น ออกดอก ตลอดปี (มรคต, 2539)

ลักษณะของมหาหงส์

มหาหงส์เป็นไม้ล้มลุก ลำต้นอยู่ใต้ดิน ใบขึ้นเหนือพื้นดินเป็นกอ สูงได้ถึง 2 เมตร ใบเดี่ยวรูปขอบขนาน หรือรูปใบหอกแกมรูปขอบขนาน กว้าง 4 - 9 เซนติเมตร ยาว 35 - 60 เซนติเมตร ปลายเรียวแหลม โคนสอบแคบ (ภาพที่ 1)

ดอก สีขาวนวล หรือสีเหลืองแซม ออกเป็นช่อ ใบประดับหนา ยาว 2 - 3 เซนติเมตร ภายในมี 3 - 4 ดอก กลีบเลี้ยงโคนเชื่อมกันเป็นหลอด ปลายจัก 3 ซี่ กลีบดอก 3 ดอก ยาวประมาณ 5 เซนติเมตร โคนเชื่อมกันเป็นหลอด เมื่อบานเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10 เซนติเมตร เกสรตัวผู้ที่เป็นหมัน 3 อัน ลักษณะคล้ายกลีบดอก รูปขอบขนานหรือรูปใบหอก ยาวเท่ากับกลีบดอก แบนและมีก้านสีเหลืองอ่อนหรือสีขาว เกสรตัวผู้สมบูรณ์ 1 อัน อับเรณูสีแสด ดอกมีกลิ่นหอม ดอกที่ใกล้โรยเป็นสีฟางข้าว ออกดอกตลอดปี (ภาพที่ 2)

ผล รูปทรงกระบอก เมื่ออ่อนสีเขียว เมื่อแก่จะมีสีแดงอมส้ม เมล็ดสีแดง (ภาพที่ 3)

สรรพคุณของมหาหงส์

โดยส่วนใหญ่แล้วจะนิยมนำมาทำเป็นสมุนไพร โดยใช้ส่วนของเหง้า ต้มน้ำ ใช้เป็นยาแก้ไอ แก้
 ต่อมทอนซิลอักเสบ น้ำคั้นใช้ทาแผลบวม หรือใช้เหง้าตากแห้งบดผสมน้ำผึ้งทำเป็นยาลูกกลอนกินแก้กษัย
 บำรุงกำลัง บำรุงไต น้ำมันจากเหง้า ใช้ฆ่าแมลง ชาวจีนจะใช้เป็นส่วนผสมของยาจีน รักษาอาการปวดศีรษะ
 รักษาแผลที่ฟกช้ำ และมีการอักเสบ รักษาโรค Rheumatic และใช้เป็นยาลดไข้
 เหง้ามีสารสำคัญ คือ

- volatile oil ได้แก่ sesquiterpene, phenols, ketones
- Diterpene กลุ่ม Labdane ; coronarin A, coronarin B, coronarin D, (E)- labdane- 8(17),
 12-diene-15, 16-dial ซึ่งมีคุณสมบัติต้านมะเร็ง (ถนอมศรี, 2533)

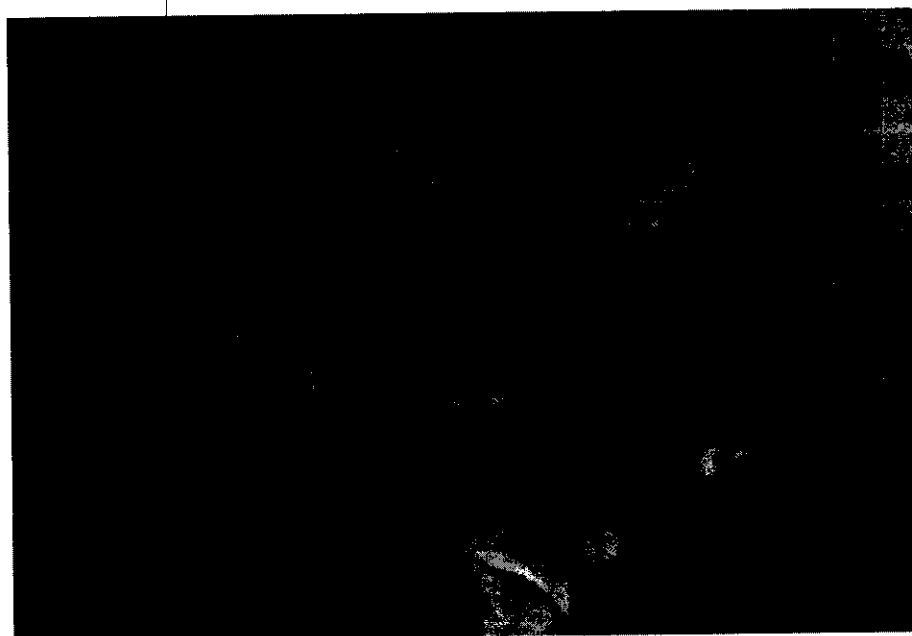
นอกจากนั้นยังนิยมปลูกมหาหงส์เป็นไม้ประดับ เพราะมีดอกสวยงามและมีกลิ่นหอม น้ำมันหอม
 ระเหยจากเหง้าใช้เป็นยาขับลมและบำรุงกำลัง น้ำมันหอมระเหยจากดอกใช้ทำหัวน้ำหอม



ภาพที่ 1 ลักษณะของส่วนที่อยู่เหนือดินของมหาหงส์



ภาพที่ 2 ลักษณะของดอกและช่อดอกของมหาหงส์



ภาพที่ 3 ลักษณะของผลแก่และเมล็ดมหาหงส์

ด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ปัจจุบันมีรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขิง (*Zingiber officinale* Rosc.) โดย จูติภาส (2530) สามารถเพิ่มปริมาณต้นขิงได้ประมาณ 4 เท่า โดยการเลี้ยงตาบนอาหาร MS (1962) ที่เติม BA 10.0 mg/l ซูเม (2537) ใช้ส่วนตาดอกของเหง้า หรือหน่อที่แตกใหม่ เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5.0 mg/l เพิ่มจำนวนยอด และ MS ที่เติม BA 1.0 mg/l และ NAA 1.5 mg/l ชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุดและมีการแตกหน่อเพิ่มขึ้น

สิรินทร์ (2536) ศึกษาการเพิ่มปริมาณขิง โดยเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสาร BA 5.0 mg/l ทำให้ขิงที่เลี้ยงในหลอดทดลองแตกหน่อได้มากที่สุด คือ 5.6 หน่อ ภายในเวลา 3 สัปดาห์

วัชรินทร์ (2544) นำหน่อจากเหง้าของขมิ้นชันและขมิ้นอ้อยมาฟอกฆ่าเชื้อด้วย โซเดียมไฮโปคลอไรด์ 0.6% เป็นเวลา 15 -30 นาที และโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 0.3% เป็นเวลา 10 นาที แล้วใช้เทคนิคปลอดเชื้อตัดตาขนาด 0.5 cm. นำมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3.0 mg/l เป็นเวลา 1 เดือน สามารถได้ต้นขมิ้นชันและขมิ้นอ้อยที่ปลอดเชื้อ 100% แล้วเพิ่มปริมาณยอดให้มาก เพื่อทดสอบหาสูตรอาหารที่เหมาะสมโดยใช้ยอดเพาะเลี้ยง พบว่า อาหาร MS ที่เติม BA 3 mg/l ทำให้ขมิ้นชันและขมิ้นอ้อยมีจำนวนต้นและรากสูงสุด

ปาริชาติ (2537) ใช้ก้านช่อดอกอ่อนของว่านนางคุ่มไปเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม NAA 1.0 mg/l ร่วมกับ Kinetin 1.25 mg/l พบว่า ให้จำนวนต้นต่อชิ้นส่วนที่เลี้ยงมากที่สุด สภาพอาหารร่วน เมื่อเทียบกับอาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อบนกระดาษกรอง และใช้อาหารกึ่งเหลวมีผลต่อจำนวนต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของต้นที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และพบว่า NAA 1.0 mg/l ร่วมกับ Kinetin 1.0 mg/l ทำให้มีจำนวนรากมากที่สุด และการใช้ NAA 1.0 mg/l จะให้น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสมากที่สุด

วรรณช (2537) ศึกษาอัตราส่วนของสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านสีทิสลูกผสมพันธุ์ Scarlet Leader โดยใช้ส่วนหัวตัดแบ่งเพาะเลี้ยงในความเข้มข้นของ NAA 3 ระดับ คือ 0, 0.1 และ 0.5 mg/l ปรากฏว่า สามารถเกิดต้นอ่อนได้ในทุกสูตรอาหาร แต่สูตรอาหารที่เกิดต้นอ่อนมากที่สุด คือ NAA 1.0 mg/l ร่วมกับ Kinetin 0.1 mg/l เมื่อเลี้ยงได้ 90 วัน

Sharma and Singh (1997) ใช้หน่อของขิงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม kinetin 2.0 mg/l และน้ำตาล sucrose 20 g/l ทำให้เกิดยอดเฉลี่ย 7.7 ยอด/หน่อ เมื่อเลี้ยงได้ 4 สัปดาห์ และสามารถพัฒนาไปเป็นต้น ที่มีรากและยอดได้ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม kinetin 2.0 mg/l และ NAA 2.0 mg/l

Malamug et al. (1991) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (shoot tips) ของขิงเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D 0.5 mg/l และ BA 1.0 mg/l ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุดและแยกแคลลัสที่ได้มาเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BA 1.0 และ 3.0 mg/l ชักนำให้แคลลัสเกิดยอดได้

Ricardo et al. (1992) เพิ่มปริมาณตาข้างของ *Zingiber spectabile* โดยใช้หน่อที่เกิดจากเหง้าเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA 10.0 μm และ IAA 5.0 μm ชักนำให้เพิ่มตาข้างเมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน และนำตาข้างที่ได้มาเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนยอดโดยเลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 5.0 μm NAA หรือ IAA

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

1. Flask
2. Spatula
3. Beaker
4. pH meter
5. Autoclave
6. Hot plate และ Magnetic stirrer
7. บีเปด
8. ลูกยางคูด
9. เต้าอบไมโครวฟ
10. ขวดเก็บ stock solution
11. ขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาดต่างๆ
12. เครื่องชั่ง (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

อุปกรณ์เครื่องมือที่ใช้ในการย้ายเนื้อเยื่อ

1. Forceps
2. Petri dish
3. Larminar air flow
4. มีดผ่าตัด
5. ตะเกียงแอลกอฮอล์
6. กระบอกฉีดแอลกอฮอล์

อุปกรณ์เครื่องมือที่ใช้ในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1. ชั้นเลี้ยงเนื้อเยื่อ
2. ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ
3. เครื่องควบคุมอุณหภูมิ ให้มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส
4. เครื่องควบคุมเวลาให้แสง ใช้แสงที่มีความเข้มประมาณ 2,000-3,000 ลักซ์ วันละ 16 ชั่วโมง

สารเคมี (ดูในภาคผนวก ข)

วิธีการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างเมล็ดมหาหงส์

เก็บเมล็ดมหาหงส์จาก จังหวัดอุบลราชธานี ในช่วงเดือน พฤศจิกายน ถึงมกราคม โดยใช้เมล็ดจาก ผลแก่ ที่เปลือกภายนอกยังมีสีเขียวอยู่ แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น จนกว่าจะนำมาทดลอง

2. การศึกษาผลของฮอร์โมนออกซิน และไซโตไคนินต่อการเจริญของมหาหงส์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมหาหงส์จากเมล็ดแก่ โดยเฉพาะในอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) pH 5.6 ที่มีน้ำตาล 30 mg/l และเติมฮอร์โมนออกซิน ได้แก่ NAA (1-Naphthaleneacetic acid) หรือ 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) และฮอร์โมนไซโตไคนิน ได้แก่ BA (N_6 - Benzyladenine) หรือ kinetin ความเข้มข้นต่างๆ โดยมีคู่ความเข้มข้นของฮอร์โมนดังตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 คู่ความเข้มข้นของ NAA และ BA

BA (mg/l)	0.0	1.0	5.0
NAA (mg/l)			
0.0	NB1	NB4	NB7
0.5	NB2	NB5	NB8
2.0	NB3	NB6	NB9

ตารางที่ 2 คู่ความเข้มข้นของ 2, 4-D และ kinetin

Kinetin (mg/l) \ 2, 4-D (mg/l)	0.0	1.0	3.0
0.0	DK1	DK4	DK7
0.1	DK2	DK5	DK8
2.0	DK3	DK6	DK9

3. ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมหาหงส์ ดังแสดงในแผนภาพที่ 1

3.1 ตีงผลของมหาหงส์โดยน้ำเปล่า

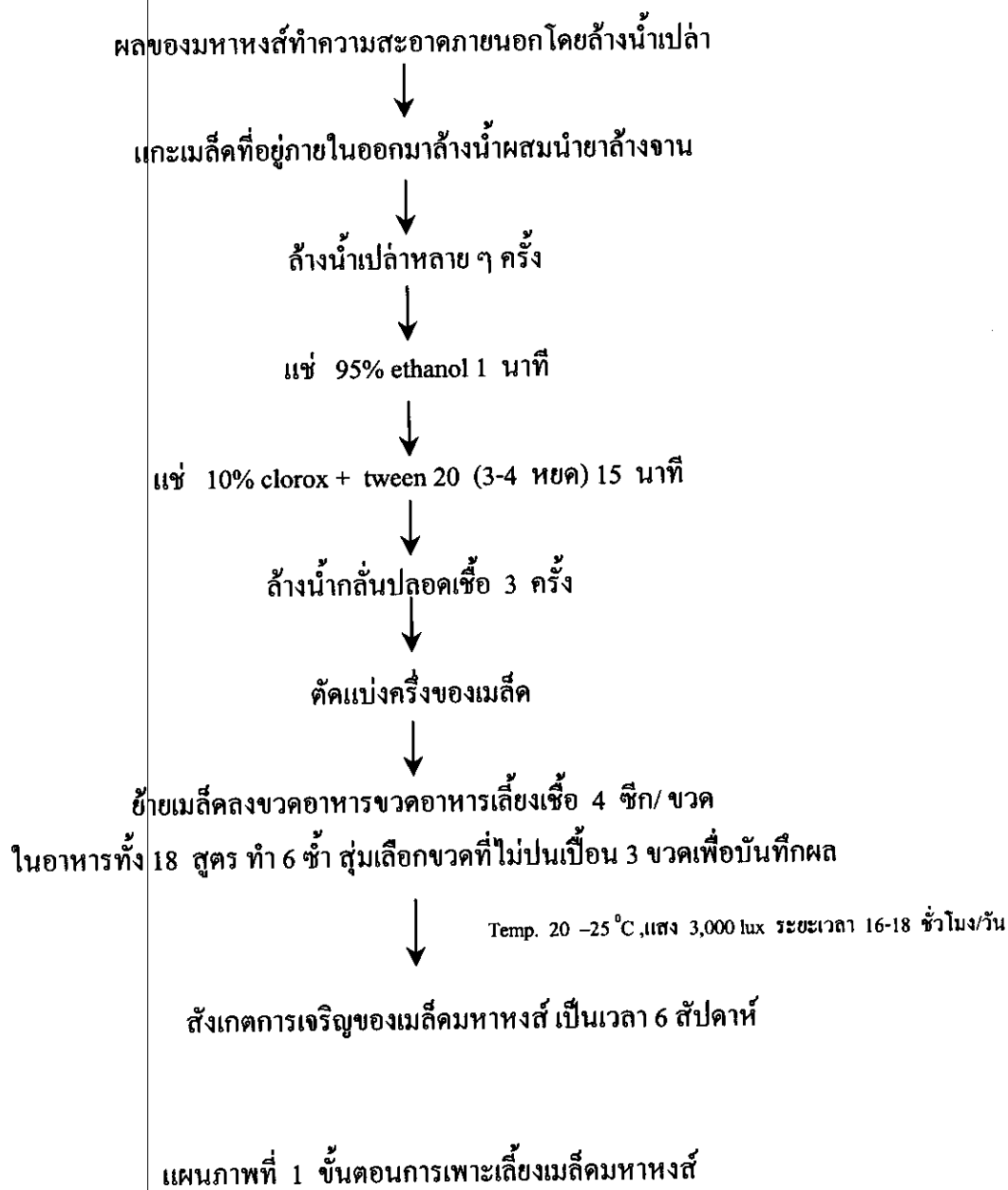
3.2 แกะเมล็ดมหาหงส์ออกจากฝัก ตีงด้วยน้ำผสมน้ำยาล้างจาน แล้วตีงออกด้วยน้ำเปล่าหลายๆ ครั้ง

3.3 นำมาแช่ใน 95% ethanol นาน 1 นาที

3.4 แช่เมล็ดมหาหงส์ใน 10% clorox ที่เติม tween 20 3-4 หยด นาน 15 นาที โดยทำการเขย่าตลอด เวลา หลังจากนั้นตีงด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง

3.5 นำเมล็ดมาผ่าครึ่งและเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ทั้ง 18 สูตร (ตามตารางที่ 1 และ 2) ที่ความเข้มข้น 2,000-3,000 ลักซ์ โดยเลี้ยง 4 ชั้ว/ขวด แล้วสังเกตการเจริญของเมล็ดมหาหงส์เป็นเวลา 6 สัปดาห์

3.6 ทำการทดสอบสูตรอาหารละ 6 ชั้ว กลุ่มเลือกขวดที่ไม่ปนเปื้อน 3 ขวดเพื่อบันทึกผล ประเมินผล การเจริญ/การเปลี่ยนแปลงของเมล็ดมหาหงส์โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์



ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาอิทธิพลของ NAA และ BA ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์

การศึกษาผลของ NAA และ BA ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์ ในอาหารสูตร NB1-NB9 ตามตารางที่ 1 เป็นเวลา 6 สัปดาห์ แสดงดังตารางที่ 3

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์ในอาหาร MS ที่มีความเข้มข้นของ NAA และ BA แตกต่างกัน ทั้ง 9 สูตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบการเจริญของมหาหงส์ดังภาพที่ 4 โดยเมล็ดสามารถเจริญได้ในทุกสูตร อาหาร ยกเว้น อาหารสูตร NB2 (เมล็ดไม่สามารถงอกได้) สำหรับสูตรอาหาร NB4 ซึ่งมีความเข้มข้นของ NAA : BA เท่ากับ 0.0 : 1.0 mg/l ทำให้เมล็ดเกิด ราก ต้น และยอดได้ดีที่สุด คือ 18.75 % ลักษณะของยอด เป็น multiple shoots (ภาพที่ 7) รองลงมาคือสูตรอาหาร NB8 NB9 และ NB7 ซึ่งมีอัตราส่วนของ NAA : BA เท่ากับ 0.5 : 5.0 2.0 : 5.0 และ 0 : 5.0 mg/l ตามลำดับ ต้นที่ได้มีลักษณะไม่แตกต่างกันมากนัก และ สูตรอาหาร NB8 เหมาะสมในการชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสได้ดีที่สุด คือ 29.17 % รองลงมาคือสูตรอาหาร NB3 (NAA : BA = 2.0 : 0 mg/l) สูตรอาหาร NB4 NB9 NB5 NB7 และ NB1 ตามลำดับ โดยลักษณะของ แคลลัสเป็น compact callus (ภาพที่ 8) ส่วนในสูตรอาหาร NB2 (NAA : BA = 0.5 : 0 mg/l) ไม่พบการเจริญ

จากผลการทดลองเมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์ ในอาหารสูตร NB4 คือ MS ที่มีเพียง BA เข้มข้น 1.0 mg/l มีเปอร์เซ็นต์ในการชักนำให้เมล็ดเกิดยอดได้ดี เปรียบเทียบกับงานวิจัยของ สิริินทร์ (2532) มีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน โดยสิริินทร์จะใช้ตาชั่งเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 5.0 mg/l ทำให้ตาชั่ง เกิดยอดจำนวนมาก และสอดคล้องกับงานวิจัยของ วัชรินทร์ (2544) นำหน่อจากเหง้าของขมิ้นชันและขมิ้น อ้อย นำมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3.0 mg/l เป็นเวลา 1 เดือน ชักนำให้เกิดต้นขมิ้นชันและขมิ้น อ้อยที่ปลอดเชื้อ 100% แล้วเพิ่มปริมาณยอดให้มาก เพื่อทดสอบหาสูตรอาหารที่เหมาะสม โดยใช้ยอดเพาะ เลี้ยง พบว่า อาหาร MS ที่เติม BA 3.0 mg/l ทำให้ขมิ้นชันและขมิ้นอ้อยมีจำนวนต้นและรากสูงสุด แสดงให้เห็นว่าปริมาณของ BA มีผลต่อการชักนำให้เนื้อเยื่อเจริญเป็นยอดและราก

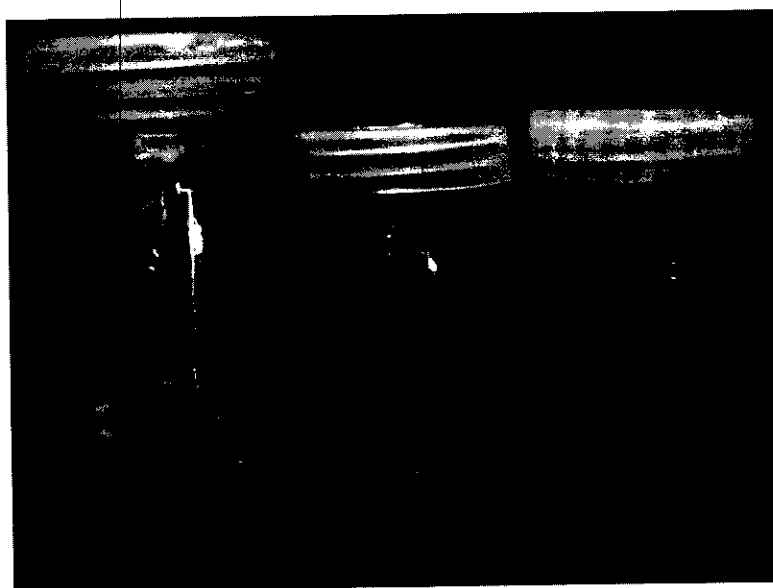
เมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์ในอาหารสูตร NB8 (NAA : BA = 0.5 : 5.0 mg/l) สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Malamug et al. (1991) ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (shoot tips) ของขิงเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D 0.5 mg/l และ BA 1.0 mg/l

ตารางที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นแคลลัส และ ยอด ของเมล็ดมหาหงส์ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้นต่างๆ

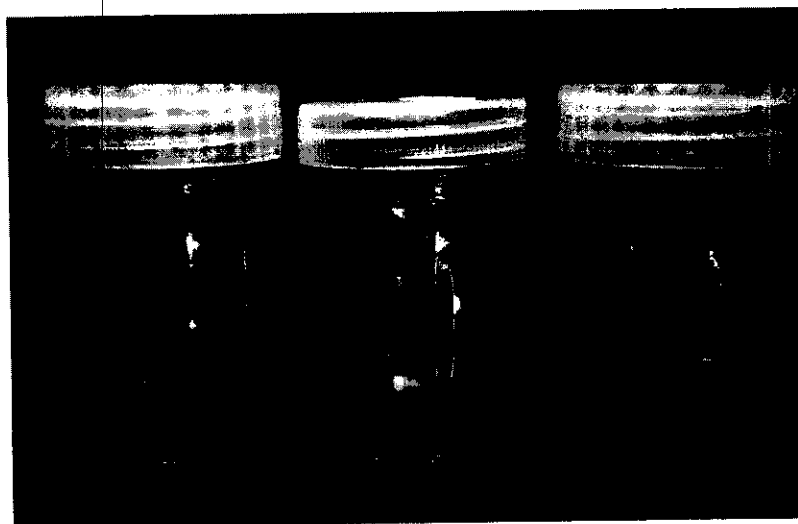
สูตรอาหาร	อัตราส่วน NAA : BA (mg/l)	%การเปลี่ยนแปลงต่อจำนวนซีกของเมล็ดมหาหงส์ในการเจริญไปเป็น แคลลัส และ ยอด	
		แคลลัส	ยอด
NB 1	0.0 : 0.0	6.25	0
NB 2	0.5 : 0.0	0	0
NB 3	2.0 : 0.0	18.75	0
NB 4	0.0 : 1.0	16.67	18.75 ²
NB 5	0.5 : 1.0	12.50	0
NB 6	2.0 : 1.0	2.08	0
NB 7	0.0 : 5.0	12.50	2.08
NB 8	0.5 : 5.0	29.17 ¹	8.33
NB 9	2.0 : 5.0	14.58	4.17

¹% เจริญเป็นแคลลัสสูงที่สุด

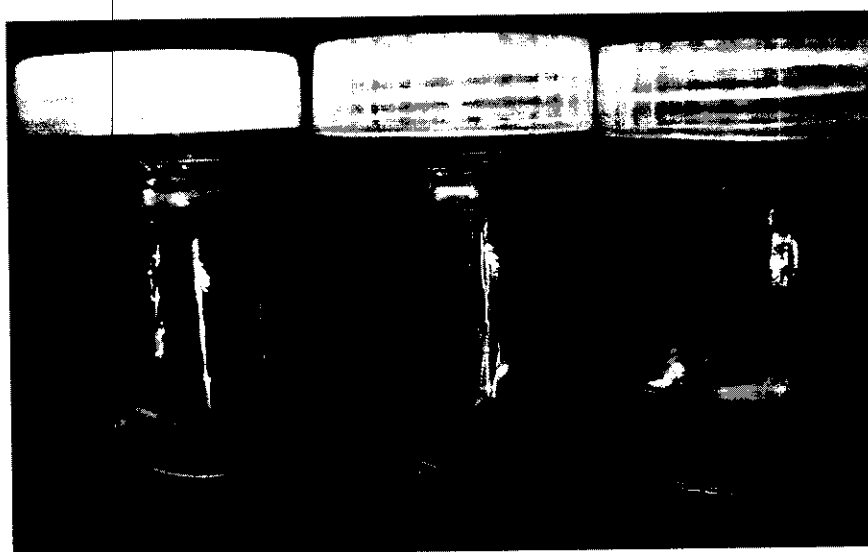
²% เจริญเป็นยอดสูงที่สุด



ภาพที่ 4 ลักษณะของเมล็ดมหาหงส์ที่เจริญใน NB1 NB2 และ NB3



ภาพที่ 5 ลักษณะของเม็ล็ดมหาหงส์ที่เจริญในอาหาร NB4 NB5 และ NB6



ภาพที่ 6 ลักษณะของเม็ล็ดมหาหงส์ที่เจริญในอาหาร NB7 NB8 และ NB9



ภาพที่ 7 ลักษณะการเจริญของเมสคิมที่เจริญเป็น multiple shoots ในอาหาร NB4



ภาพที่ 8 ลักษณะการเจริญของเมสคิมที่เจริญเป็น compact callus ในอาหาร NB9

การศึกษาอิทธิพลของ 2,4-D และ kinetin ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์

ภาพที่ 9-15 แสดงการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์ ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่คู่ความเข้มข้นของ 2,4-D และ kinetin ในระดับต่างๆ (สูตรอาหาร DK1-DK9)

จากตารางที่ 4 พบว่า ในสูตรอาหาร DK8 (ภาพที่ 11 และ 14) ที่มีอัตราส่วนของ 2,4-D : kinetin เท่ากับ 0.1 : 3 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด คือ 21.87% สูตรอาหาร DK2 DK7 และ DK9 ที่มีอัตราส่วนของ 2,4-D : kinetin เท่ากับ 0.1 : 0, 0 : 3 และ 2 : 3 mg/l ตามลำดับ มีเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นแคลลัสได้ใกล้เคียงกัน ซึ่งลักษณะของแคลลัสจะเป็นแบบ friable callus (ภาพที่ 15) ส่วนเปอร์เซ็นต์การเจริญไปเป็นยอดพบว่าในอาหารสูตร DK4 (ภาพที่ 12) ที่มีอัตราส่วนของ 2,4-D : kinetin เท่ากับ 0 : 1 mg/l มีเปอร์เซ็นต์การเกิดได้ดีที่สุด คือ 8.33% รองลงมาคือสูตรอาหาร DK1 DK5 และ DK7 ซึ่งมีอัตราส่วนของ 2,4-D : kinetin เท่ากับ 0 : 0, 0 : 1, และ 0 : 3 mg/l ตามลำดับ

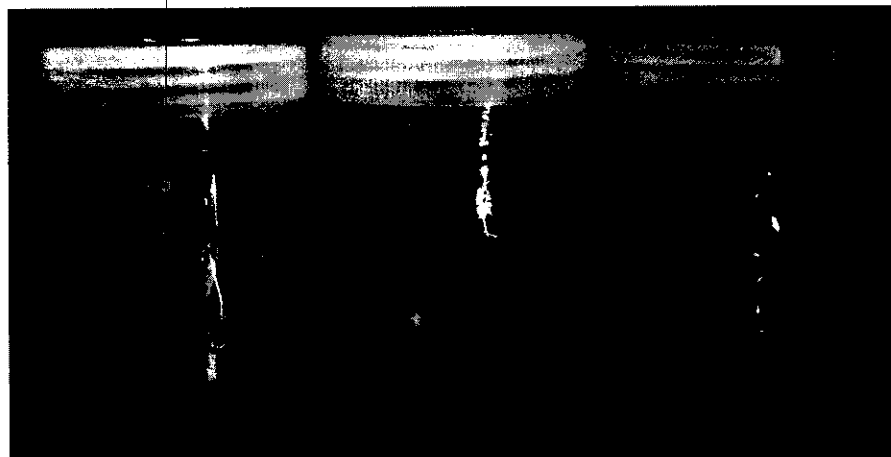
จากการทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์ของการเจริญเป็นแคลลัสได้ดี และเปอร์เซ็นต์ของการเจริญเป็นยอดได้นั้นต้องมีสัดส่วนของ 2,4-D ต่ำ kinetin สูง จากตารางที่ 4 พบว่าสูตรอาหารที่ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสได้ดีได้แก่สูตรอาหาร DK8 รองลงมาได้แก่ สูตร DK2 DK7 และ DK9 ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่มี kinetin สูง

ตารางที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นแคลลัส และ ยอด ของเมล็ดมหาหงส์ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เดิม 2,4-D และ kinetin ความเข้มข้นต่างๆ

สูตรอาหาร	อัตราส่วน 2,4-D : kinetin (mg/l)	%การเปลี่ยนแปลงต่อจำนวนซีกของเมล็ดมหาหงส์ในการเจริญไปเป็น แคลลัส และ ยอด	
		แคลลัส	ยอด
DK1	0.0 : 0.0	0.00	4.16
DK2	0.1 : 0.0	16.67	0.00
DK3	2.0 : 0.0	12.50	0.00
DK4	0.0 : 1.0	0.00	8.33 ²
DK5	0.1 : 1.0	9.37	3.12
DK6	2.0 : 1.0	12.50	0.00
DK7	0.0 : 3.0	15.62	3.12
DK8	0.1 : 3.0	21.81 ¹	0.00
DK9	2.0 : 3.0	14.58	0.00

¹% เจริญเป็นแคลลัสสูงที่สุด

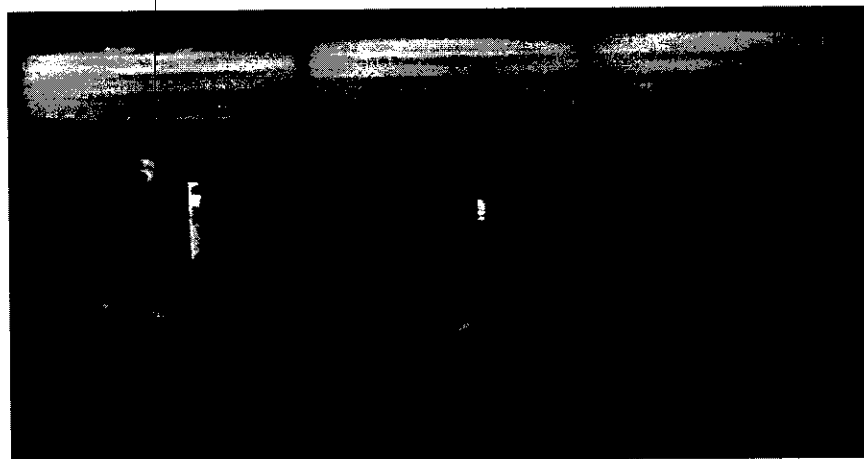
²% เจริญเป็นยอดสูงที่สุด



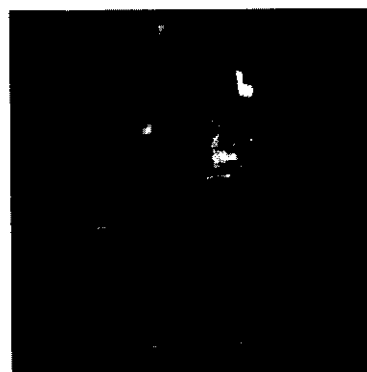
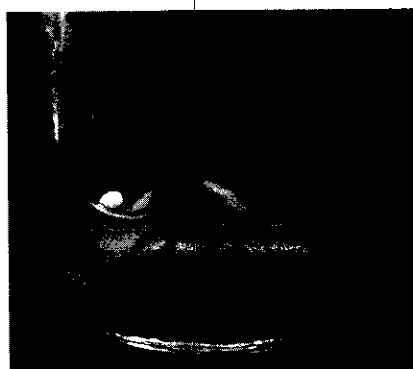
ภาพที่ 9 ลักษณะของเนื้อเยื่อเมสันโทมาทาส์ที่เจริญในอาหาร DK1 DK2 และ DK3



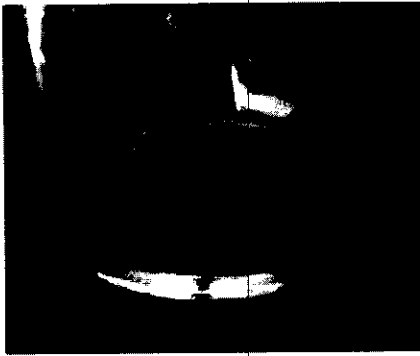
ภาพที่ 10 ลักษณะของเนื้อเยื่อเมสันโทมาทาส์ที่เจริญในอาหาร DK4 DK5 และ DK6



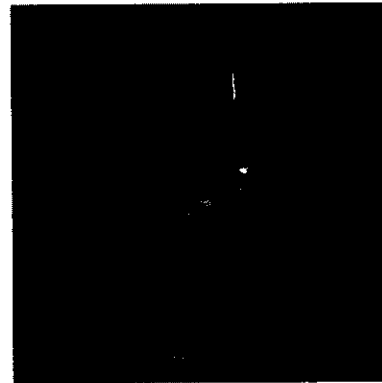
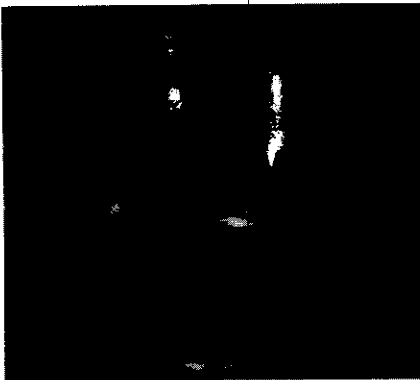
ภาพที่ 11 ลักษณะของเนื้อเยื่อเมลิคมาหางส์ที่เจริญในอาหาร DK7 DK8 และ DK9



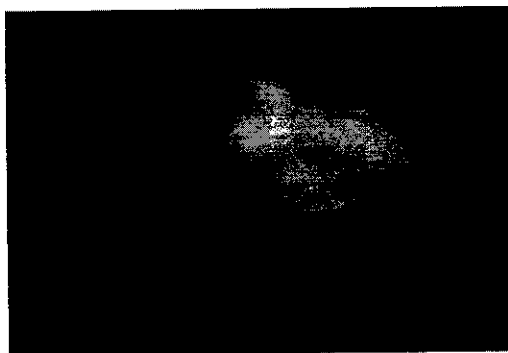
ภาพที่ 12 ลักษณะของเนื้อเยื่อเมลิคมาหางส์ที่เจริญในอาหาร DK1 และ DK4



ภาพที่ 13 ลักษณะของเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์ที่เจริญในอาหาร DK5 และ DK6



ภาพที่ 14 ลักษณะของเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์ที่เจริญในอาหาร DK7 และ DK8



ภาพที่ 15 ลักษณะการเกิด friable callus ในอาหาร DK6

เมื่อเปรียบเทียบกับผลการเจริญของเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์ ที่เลี้ยงในอาหาร NB (NAA : BA) กับ DK (2,4-D : kinetin) โดยที่ NAA เป็นฮอร์โมนกลุ่มออกซินเช่นเดียวกับ 2,4-D และ BA เป็นฮอร์โมนกลุ่มไซโตไคนินเช่นเดียวกับ kinetin พบว่าอัตราส่วนของ NAA ต่ำ BA สูง สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดได้ดี สูตรอาหาร NB สามารถชักนำให้เกิด multiple shoot ได้ ลักษณะแคลลัสจะแตกต่างกัน โดยฮอร์โมน 2,4-D และ kinetin จะชักนำให้เกิด friable callus ส่วนฮอร์โมน NAA และ BA ชักนำให้เกิด compact callus และจากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่าปริมาณ kinetin สูง สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี ซึ่งคล้ายกับผลการทดลองการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข็มสามสีในสภาพปลอดเชื้อ (กิริติ, 2536)

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาอิทธิพลของ NAA และ BA ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์ โดยเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีฮอร์โมน NAA (1-naphthaleneacetic acid) และ BA (N_6 -benzyladenine) แตกต่างกันทั้ง 9 สูตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า สูตรอาหารที่ 4 (NAA : BA = 0 : 1.0 mg/l) เหมาะสมในการชักนำให้เมล็ดเกิดเป็นยอด (multiple shoots) ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ สูตรอาหารที่ 8 9 และ 7 (NAA : BA = 0.5 : 5.0, 2.0 : 5.0 และ 0 : 5.0 mg/l ตามลำดับ) และ พบว่า สูตรอาหารที่ 8 มีเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นแคลลัสและเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด รองลงมา คือ สูตรอาหารที่ 3 4 9 7 5 และ 6 (NAA : BA = 2.0 : 0, 0 : 1.0, 2.0 : 5.0, 0 : 5.0, 0.5 : 1.0 และ 2.0 : 1.0 mg/l ตามลำดับ) ซึ่งเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นแคลลัสและการงอกของเมล็ดมีความใกล้เคียงกัน

สำหรับการศึกษาอิทธิพลของฮอร์โมน 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) และ kinetin ต่อการเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์บนอาหารสูตร MS ที่มีอัตราส่วนของ 2,4-D และ kinetin แตกต่างกัน 9 สูตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดคือ สูตรอาหารที่ 8 (2,4-D : kinetin = 0.1 : 3 mg/l) รองลงมาคือสูตรอาหารที่ 2, 7 และ 9 (2,4-D : kinetin = 0.1 : 0, 0 : 3 และ 2 : 3 mg/l ตามลำดับ) โดยอาหารทั้ง 3 สูตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสใกล้เคียงกัน ลักษณะของแคลลัสเป็นแบบ friable callus สูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดยอดได้ดีคือ สูตรอาหารที่ 4 (2,4-D : kinetin = 0 : 1 mg/l)

ข้อเสนอแนะสำหรับการทดลองในครั้งต่อไป คือเพิ่มอัตราส่วนของ NAA : BA และ 2,4-D : kinetin เพื่อทดลองว่าความเข้มข้นของฮอร์โมนที่มากขึ้นจะสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดได้ดีกว่าผลการทดลองนี้หรือไม่ ทั้งนี้เนื่องจากผลการทดลองเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสยังอยู่ในระดับปานกลาง ส่วนเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดต่ำ หรืออาจจะสลับคู่ของฮอร์โมนดังกล่าว หรืออาจจะใช้สารควบคุมการเจริญของพืชชนิดอื่นสำหรับการศึกษาการเจริญของเนื้อเยื่อมหาหงส์ หรืออาจจะปรับปรุงสูตรอาหารใหม่ โดยเติมสารอาหารอื่นๆ เช่น น้ำมะพร้าว น้ำมะเขือเทศ เป็นต้น เพื่อทดลองหาสูตรอาหารเหมาะสมต่อการเจริญของเนื้อเยื่อต่อไป

อย่างไรก็ตามการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชวงศ์ขิงได้เป็นอย่างดี เพราะมีรายงานน้อยมากที่นำเมล็ดของพืชวงศ์นี้มาเลี้ยง ทั้งนี้เนื่องจากโอกาสการติดเมล็ดของพืชวงศ์นี้ในธรรมชาติมีค่อนข้างน้อย ทำให้หาเมล็ดได้ลำบาก การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากเมล็ดเป็นทางออกของการแก้ปัญหาการปนเปื้อนได้อย่างดี เพราะมีโอกาสปนเปื้อนน้อยเมื่อเทียบกับหัวหรือหน่อที่เกิดจากหัว และยังสามารถใช้สารฟอกฆ่าเชื้อความเข้มข้นสูงได้ เพราะเมล็ดมีเปลือกหุ้มเมล็ดคอยป้องกันอันตรายอีกชั้นหนึ่ง

การทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดมหาหงส์ครั้งนี้ พบการเปลี่ยนแปลงทั้งการเกิดหน่อ แบบ multiple shoot และมีแคลลัสทั้งแบบ friable callus และ compact callus จึงเป็น โอกาสอย่างดียิ่งที่จะนำผลการศึกษา

ครั้งนี้ไปพัฒนาต่อ เพื่อการขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ของมหาหงส์ และพืชวงศ์จิงชนิดอื่น อีกทั้งน่าจะทำการศึกษาสารสำคัญทางยา (secondary metabolites) ในหน่อใหม่และแคลลัสทั้งสองแบบ เปรียบเทียบกับพืชในสภาพธรรมชาติ หากมีสารสมุนไพรมากกว่าธรรมชาติก็ทำให้มีโอกาในการพัฒนาหรือผลิตสารในระดับห้องทดลองได้

เอกสารอ้างอิง

- กิริติ กระระณา. 2536. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข็มสามสี. บทคัดย่องานวิจัยของนักศึกษาปริญญาตรี ปีการศึกษา 2536. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- ฐิติภาส ชิด โชติ. 2530. การผลิตพันธุ์ขิงปลอดโรคโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- วัชรินทร์ รัตนพันธ์. 2544. การเพิ่มจำนวนโครโมโซมของขมิ้นชันและขมิ้นฮ้อยด้วยโคลชิซินในสภาพปลอดเชื้อ. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะเกษตร สาขาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุเม อรัญนารถ. 2537. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขิงแดง. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง กรุงเทพฯ.
- สิรินทร์ ไทยธวัช. 2531. ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณขิงในหลอดทดลอง. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะเกษตร สาขาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Malamug,O.J.F ;H. Inden and T.Asahira. 1991. **Plantlet regeneration and propagation from ginger callus**. Scientia Horticulturae. 48 : 89-97.
- Sharma,T.R. and B.M. Singh. 1997. **High-frequency in vitro multiplication of disease –free *Zingiber officinale* Rosc.** Plant Cell Reports. 17 : 68-72.
- Wannakrairoj, S. 1997. **Clonal micropropagation of patumma (*Curcuma alismatifolia* Gagnep).** J. Natur. Sci. 31 : 353-356.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สารเคมี และการเตรียม

<u>อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ</u>	
Murashige and Skoog (1962) (MS)	ปริมาณที่ใช้ (mg/l)
สารเคมี	
NH ₄ NO ₃	1,650
KNO ₃	1,900
CaCl ₂ .2H ₂ O	440
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
H ₃ BO ₃	6.2
MnSO ₄ .H ₂ O	6.9
ZnSO ₄ .H ₂ O	6.14
KI	0.83
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
Na ₂ EDTA	37.25
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.85
Glycine	2.0
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine – HCL	0.5
Thiamine- HCL	0.1
Sucrose	3,000
pH	5.6

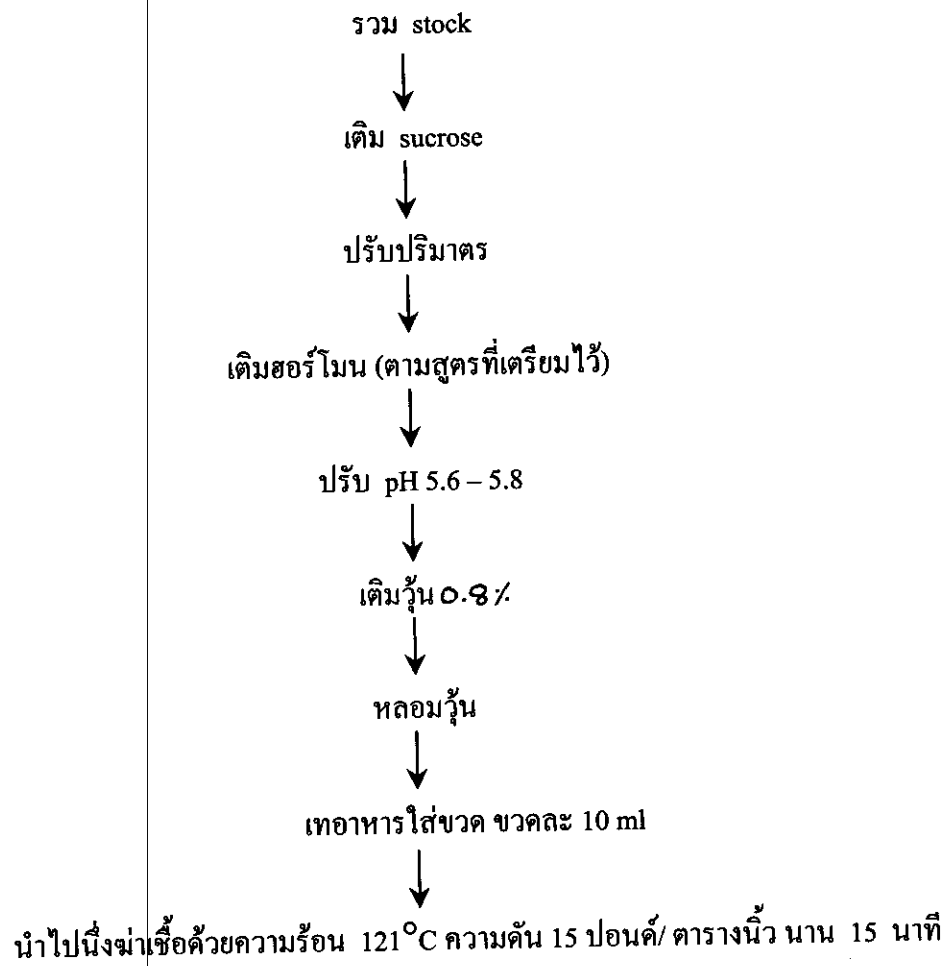
ก่อนที่จะนำสารเคมีเหล่านี้มาเตรียมอาหาร จะเตรียมสารเคมีในรูปสารละลายเข้มข้น โดยแบ่งออกเป็น 6 stock

Stock I ความเข้มข้น 50 เท่า 2000 ml	
ประกอบด้วย	ปริมาณที่ใช้ (g/l)
NH_4NO_3	165
KNO_3	190
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37
KH_2PO_4	17
Stock II ความเข้มข้น 100 เท่า 1,000 ml	
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	44
Stock III ความเข้มข้น 1,000 เท่า 500 ml	
H_3BO_3	3.1
KI	0.415
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.125
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.0125
Stock IV ความเข้มข้น 100 เท่า 1,000 ml	
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.69
$\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.614
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.0025
Stock V ความเข้มข้น 100 เท่า 1,000 ml	
Na_2EDTA	3.73
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2.78
Stock VI ความเข้มข้น 100 เท่า 500 ml	
Inosital	5
Nicotinic acid	0.025
Pyridoxine – HCL	0.025
Thiamine- HCL	0.005
Glycine	0.1

การเตรียมฮอร์โมน

เตรียม stock ฮอร์โมนที่ความเข้มข้น 1 mg/ml

การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ดังแสดงในแผนภาพที่ 2



แผนภาพที่ 2 ขั้นตอนการเตรียมอาหาร

ประวัตินักวิจัย

ชื่อ (ภาษาไทย) นางอรัญญา พิมพ์มงคล
(ภาษาอังกฤษ) Mrs. ARANYA PIMMONGKOL

คุณวุฒิ ปริญญาเอก

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8

หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์และโทรสาร

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี

โทร. 045-288380 โทรสาร 045-288380 โทรภายใน 4202

E-mail : atantip@sci.ubu.ac.th

ประวัติการศึกษา

ปีที่สำเร็จการศึกษา	ระดับปริญญา (ตรี โท เอก)	ชื่อย่อปริญญา	สาขาวิชา	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2543	เอก	Ph.D.	Plant Physiology	Clemson University	USA
2532	โท	วท.ม.	พฤกษศาสตร์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2528	ตรี	วท.บ.	ชีววิทยา	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	ไทย

ประสบการณ์ในงานวิจัย หรือสาขาวิชาที่มีความชำนาญพิเศษ

Plant Physiology

Plant Tissue Culture

Electron Microscopy

งานวิจัยที่สนใจ

1. Plant tissue culture of medicinal plants and ornamental plants
2. Plant stress physiology

ผลงานทางวิชาการที่พิมพ์ออกเผยแพร่

- Tantipanjaporn, A., T. Vajrabhaya and M. Vajrabhaya.** 1988. "Shoot Formation from Rice Callus" Proceeding of the 4th Asia-Pacific Conference and Workshop on Electron Microscopy. Bangkok, Thailand.
- Tantipanjaporn, A., R. Thavarorite, T. Va Vajrabhaya and M. Vajrabhaya.** 1988. "Studies on Callus and Shoot Formation from Rice Tussue Culture." 1st Annual Seminar on Research and Development on Plant Tissue Culture. Bangkok, Thailand.
- Tantipanjaporn, A.** Anatomy and Morphology of Rice (*Oryza sativa* L.) Tissue Culture. Thesis, Chulongkorn University, Thailand. 1989.
- Pimmongkol, A., and N.D. Camper.** 1999. MSMA Resistance and Mode of Action in Common Cocklebur (*Xanthium strumarium* L.) Annual Meeting: South Carolina Academy of Science (SCAS), Lander University Greenwood, SC, USA.
- Pimmongkol, A., and N.D. Camper.** 2000. Photosynthetic Activity of Common Cocklebur and MSMA Resistant Mechanism. Annual Meeting South Carolina Academy of Science (SCAS), Presbyterian College, Clinton, SC, USA.
- Pimmongkol, A.** MSMA-Mode of Action and Resistant Mechanism in Cocklebur (*Xanthiu strumarium* L.). Dissertation, Clemson University, USA. 2000.
- Pimmongkol, A., S. Terapongtanakhon and K. Udomsirichakhon.** 2002. Anatomy of Salt- and Non-salt-Tolerant Rice Treated with NaCl. 28th Congress on Science and Technology of Thailand. Bangkok, Thailand.
- Pimmongkol, A., S. Terapongtanakhon and K. Udomsirichakhon.** 2002. Leaf Anatomy of Salt- and Non-salt-Tolerant Rice Treated with NaCl. Journal of Electron Microscopy Society of Thailand 2003, 17(1):65.

- Pimmongkol, A.T.** and N. D. Camper. 2002. MSMA resistance studies with common cocklebur. Weed Science Society of America, Abstracts. 42:27.
- Camper, N. D. and **A. T. Pimmongkol.** 2003. Interaction between glutathione and MSMA in MSMA-susceptible cocklebur. Weed Science Society of America, Abstracts. 43:30.
- Pimmongkol, A.T.** and N. D. Camper. 2003. Photosynthetic activity of MSMA-resistant and – susceptible common cocklebur. Pesticide Biochemistry and Physiology. 76:46-54.
- Swasdipan N., Palasarn W., **Pimmongkol A.** 2003. Expression and immunohistochemical localization of a pheromone binding protein (ASP1) of *Apis mellifera*. 29th Congress on Science and Technology of Thailand. Khonkhan, Thailand.
- Daungchan, K. and **Pimmongkol A.** 2003. Tissue Culture of Bitter Melon (*Momordica charantia* Linn.). 29th Congress on Science and Technology of Thailand. Khonkhan, Thailand.
- Lathulee N., Swasdipan N., **Pimmongkol A.**, Wongsena P., Boothramat D., Wisuwan S., Singhanuwat W., Sutthiphongpracha N. 2003. Human cytomegalovirus of cervical lesion : A first case experience and review literature. The 2nd meeting of Cytological society on CA cervix and CA breast in the era of National cancer prevention policy. Bangkok, Thailand
- Lathulee N., Swasdipan N., **Pimmongkol A.**, Wongsena P., Chouwsrikul W., Phongthipphon A. 2003. Embryonal rhabdomyosarcoma of the nasal cavity. The 2nd meeting of Cytological society on CA cervix and CA breast in the era of National cancer prevention policy. Bangkok, Thailand.
- Khamparat S., Swasdipan N. and **Pimmongkok A.** 2004. Light and Scanning Electron Microscopy Studies of Stomata, Guard Cells and Trichomes in Mokjong (*Scaphium macropodum*). Journal of Electron Microscopy Society of Thailand 2004, 18(1):89-90.

Pukahuta C., Chaipakdee W., Luemlum N., Punyaappa-path P. **Pimmongkol A.** and Suwanarit P.,
Spore Micrographs of Some Mushrooms in Ubon Ratchathani. *Journal of Electron Microscopy*
Society of Thailand 2004, 18(1):68-69.