การชักนำแคลลัสในหนอนตายหยาก เพื่อการผลิตสารอัลคาลอยด์

(Callus induction of *Stemona curtisii* Hook. f. for alkaloids production)

โดย

นางสาวนาตยา มนตรี

นายเฉลิมพล สุวรรณภักดี

RCH
QK
769
ท46371

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 116960
วัน,เดือน,ปี 21 มี.ย. 2554

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2551
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร

b.12330929
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

จากการใช้สารเคมีการเกษตรของเกษตรกรเพื่อการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ทำให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ใช้และผู้บริโภค ตลอดจนผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งในปัจจุบันการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูให้ความสนใจและมุ่งเน้นที่จะใช้สารที่มีพิษต่ำต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ตลอดจนการบริหารจัดการที่ถูกต้องและเหมาะสมกับสถานการณ์ เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ปลอดภัยต่อการบริโภคซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาด การใช้สารจากพืชที่มีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดแมลงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาพัฒนาใช้ทดแทนสารเคมีที่มีพิษสูง และหนอนตายหยาก ชนิด *Stemona curtisii* Hook. f. เป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีการนำมาใช้ในการควบคุมศัตรูพืชแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ เพื่อให้ได้ผลผลิตทางการเกษตรที่มีความปลอดภัยจากสารเคมีตกค้าง ได้คุณภาพมาตรฐานเป็นที่ยอมรับของตลาดทั้งในและต่างประเทศ แม้ว่าในธรรมชาติจะพบต้นหนอนตายหยากขึ้นกระจายอยู่ทั่วไปในป่าตามภาคต่างๆ ทั่วประเทศ แต่มีการขุดต้นหนอนตายหยากเพื่อนำรากมาขายกันคราวละมากๆ สำหรับใช้ในการกำจัดศัตรูพืชทางการเกษตร ทำให้น่าเป็นห่วงว่า การนำพืชจากป่ามาใช้มากๆ โดยไม่ระมัดระวังและไม่มีมาตรการควบคุมนั้น จะก่อให้เกิดปัญหาการสูญเสียทรัพยากรธรรมชาติของประเทศได้ในอนาคตผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาการชักนำแคลลัสหนอนตายหยาก และตรวจสอบสารอัลคาลอยด์รวม เพื่อเป็นแนวทางในการนำแคลลัสไปใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีการผลิตสารได้สูง ตลอดจนขยายพันธุ์เพื่อให้ได้พืชปลอดเชื้อต่อไปได้ ซึ่งจ ากการศึกษานี้สามารถนำไปเพิ่มการผลิตหนอนตายหยากที่จะนำไปใช้ประโยชน์ต่าง ๆ ได้โดยไม่ต้องไปรบกวนหรือทำลายนิเวศน์ที่หนอนตายหยากอยู่ตามธรรมชาติ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2551 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ รศ.ดร.สรัญญา วัชโรทัย ที่กรุณาให้คำปรึกษาด้านการสกัดสารจากพืชสมุนไพร คุณจินดา สุดวัดแก้ว คุณพงศ์พล ลือจันทึก คุณสุรชาติ ไชยศรีหา และคุณผัสโสภาคย์ รัตนบันดาล ที่ได้ช่วยในการเก็บข้อมูลการวิจัย

คณะผู้วิจัย
มีนาคม 2552

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	ก
สารบัญ	ข
สารบัญตาราง	ค
สารบัญภาพ	จ
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	8
ผลการวิจัย	10
วิจารณ์	28
สรุป	32
เอกสารอ้างอิง	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดหนอนตายหยากที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน	11
2	เปอร์เซ็นต์การเกิดราก ความยาวราก และจำนวนรากของต้นอ่อนของเมล็ดหนอนตายหยากที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน	12
3	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด ความยาวยอด และจำนวนยอดของต้นอ่อนของเมล็ดหนอนตายหยากที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน	13
4	ลักษณะของแคลลัส สีของแคลลัส และการเกิดแคลลัส ของต้นอ่อนหนอนตายหยากที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน	14
5	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด ของยอดหนอนตายหยากที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน	16
6	ความยาวยอด ของยอดหนอนตายหยากที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน	17
7	จำนวนยอด ของยอดหนอนตายหยากที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน	18
8	เปอร์เซ็นต์การเกิดราก ของยอดหนอนตายหยากที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D และ BA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน	20
9	ความยาวราก ของยอดหนอนตายหยากที่ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D และ BA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน	21
10	จำนวนราก ของยอดหนอนตายหยากที่ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D และ BA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน	21
11	ความยาวยอด ของยอดหนอนตายหยากที่ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D และ BA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน	22
12	จำนวนยอด ของยอดหนอนตายหยากที่ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D และ BA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน	22
13	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ของยอดหนอนตายหยากที่ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D และ BA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน	23
14	ผลของการให้แสงและความเข้มข้นของ 2, 4-D ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสของหนอนตายหยาก	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
15	ผลของการให้แสงและความเข้มข้นของ BA ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสของหนอนตายหยาก	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การงอกของหนอนตายยาก	10
2	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของเมล็ดหนอนตายหยากที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน	14
3	ความเข้มข้นของ 2,4-D ต่อการพัฒนาของเมล็ดหนอนตายหยากในอาหารสูตร MS ที่เติม2,4-D ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	15
4	การพัฒนาของยอดหนอนตายหยากในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพที่มีมืด	19
5	การพัฒนาของยอดหนอนตายหยากในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพที่มีแสง	19
6	การเกิดแคลลัสของยอดหนอนตายหยากที่ได้จากการเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากการเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน	24
7	ลักษณะของแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพมีแสง	27
8	ลักษณะของแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพมืด	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การชักนำแคลลัสในหนอนตายหยากเพื่อการผลิตสารอัลคาลอยด์

บทคัดย่อ

การศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสของหนอนตายหยาก (*Stemona curtisii* Hook. F.) โดยนำเมล็ดและยอดมาเลี้ยงในอาหารสูตร Murashige and skoog (MS, 1964) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4- dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ความเข้มข้น 0-10 มิลลิกรัมต่อลิตร การเติม 2,4-D ความเข้มข้น 0-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสภาพแสงและที่มืด การเติม 2,4-D ร่วมกับ 6-benzyladenine (BA) ที่ความเข้มข้น 0-2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า เมล็ดหนอนตายหยากมีการเกิดแคลลัสมากที่สุด ในอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว ส่วนการเลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพที่มืด มีการเกิดแคลลัสมากที่สุด 62.50 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ที่ 2 มิลิกรัมต่อลิตร

ส่วนการเพิ่มปริมาณแคลลัสในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D หรือ BA ความเข้มข้น 0-2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพมีแสงและที่มืด พบว่า ในสูตรอาหารที่มี 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรในที่มีแสงมีการเพิ่มปริมาณแคลลัสมากที่สุด และเมื่อนำแคลลัสของหนอนตายหยากมาทดสอบการสะสมสารอัลคาลอยด์ พบว่าไม่มีการสะสมสารอัลคาลอยด์ในแคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Callus induction of *Stemona curtisii* Hook. f. for alkaloid production

Abstract

The study on callus induction of *Stemona curtis ii* Hook. F. was done. Seeds and shoots were cultured on Murashige and skoog (MS, 1964) supplemented with 0-10 mg L^{-1} 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), 0-5 mg L^{-1} 2,4-D in dark and light condition, 0-2 mg L^{-1} of 2,4-D and 6-benzyladenine (BA) or thidiazuron (TDZ). The results found that 0.2 mg L^{-1} 2,4-D alone had the highest percentage of callus formation, the treatment of 0.4 mg L^{-1} 2,4-D in the dark condition had highest percentage of callus formation at 62.50. The highest percentage of callus induction for seed and shoot culture were also achieved in MS medium supplemented with 2 mg L^{-1} BA and 2 mg L^{-1} 2,4-D.

The callus proliferation rate was study in liquid MS medium supplemented with 0-2 mg L^{-1} 2,4-D or BA in dark and light conditions. The results found that the highest callus proliferation were achieved in MS medium supplemented with 1.0 mg L^{-1} 2,4-D in the light condition. The accumulation of alkaloids was not found in callus of *S. cutisii* Hook.f. .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทนำ

สารเคมีการเกษตรที่ถูกนำมาใช้เพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ส่วนใหญ่เป็นสารสังเคราะห์ซึ่งมีความเป็นพิษต่อสัตว์เลือดอุ่นสูง สารฆ่าแมลงยังเป็นที่นิยมใช้ในหมู่เกษตรกร เพราะสามารถใช้แก้ปัญหาการระบาดทำลายของแมลงศัตรูได้อย่างรวดเร็ว มีประสิทธิภาพ ใช้ได้ง่ายและหาซื้อได้ทั่วไป การใช้สารฆ่าแมลงของเกษตรกรจึงเป็นไปในลักษณะที่ไม่มีการคำนึงถึงต้นทุนการผลิตที่เพิ่มขึ้นไม่ คำนึงถึงผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ใช้และผู้บริโภค ตลอดจนผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งในปัจจุบันการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูให้ความสนใจและมุ่งเน้นที่จะใช้สารที่มีพิษต่ำต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ตลอดจนการบริหารจัดการที่ถูกต้องและเหมาะสมกับสถานการณ์ เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ปลอดภัยต่อการบริโภคซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาด การใช้สารจากพืชที่มีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดแมลงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาพัฒนาใช้ทดแทนสารเคมีที่มีพิษสูง จากภูมิปัญญาท้องถิ่นมีการนำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์อย่างมากมายหลายด้าน ทั้งทางด้านการดูแลสุขภาพ การรักษาโรคของมนุษย์ ตลอดจนการป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูที่เกี่ยวข้องกับการผลิตทางการเกษตร

หนอนตายหยากเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีการนำมาใช้ประโยชน์โดยหมอพื้นบ้านเพื่อรักษาอาการแก้ไอ ขับเสมหะ ขับลม ฆ่าพยาธิ โดยเฉพาะการรักษาโรคพยาธิตัวจี๊ด นอกจากนี้ยังมีการใช้น้ำคั้นจากรากหนอนตายหยากในการกำจัดศัตรูพืช (เลาจนา และประคอง, 2520) และมีการฉีดพ่นใช้ในการกำจัดเห็บ หมัด และไร ในฟาร์มปศุสัตว์ (ทวีศักดิ์, 2542) ในปัจจุบันนี้มีการนำสารสกัดจากรากของสมุนไพรชนิดนี้มาใช้ในการเกษตรแพร่หลายมากขึ้น โดยเฉพาะเป็นทางเลือกของวิธีการควบคุมศัตรูพืชแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์เพื่อให้ได้ผลผลิตทางการเกษตรที่มีความปลอดภัยจากสารเคมีตกค้าง ได้คุณภาพมาตรฐานเป็นที่ยอมรับของตลาดทั้งในและต่างประเทศ แม้ว่าในธรรมชาติจะพบต้นหนอนตายหยากขึ้นกระจายอยู่ทั่วไปในป่าตามภาคต่างๆ ทั่วประเทศ แต่มีการขุดต้นหนอนตายหยากเพื่อนำรากมาขายกันคราวละมากๆ สำหรับใช้ในการกำจัดศัตรูพืชทางการเกษตร ทำให้น่าเป็นห่วงว่า การนำพืชจากป่ามาใช้มากๆ โดยไม่ระมัดระวังและไม่มีมาตรการควบคุมนั้น จะก่อให้เกิดปัญหาการสูญเสียทรัพยากรธรรมชาติของประเทศได้ในอนาคต

สำหรับหนอนตายหยากชนิด *Stemona curtisii* Hook. f. พบว่ามีแหล่งกำเนิดที่ ต.ชุมโค อ.ปะทิว จ.ชุมพร ในปัจจุบันมีปริมาณลดลง เนื่องจากการใช้พื้นที่เพื่อการเกษตรและมีการขุดรากจากธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ในการทำสารสกัด ซึ่งเป็นการทำลายต้นและไม่มีการปลูกทดแทน สำหรับวิทยาเขตชุมพรได้ทำการศึกษาการปลูกและดูแลรักษา พบว่า การขยายพันธุ์โดยเมล็ดทำได้ช้า ส่วนการขยายพันธุ์โดยการแยกกอมักเกิดการติดเชื้อทำให้ประสบปัญหาเรื่องต้นพันธุ์ที่นำมาใช้ในการปลูก และเนื่องจากไม่มีการพัฒนาการปลูกเพื่อนำมาใช้อย่างเป็นระบบ รวมทั้งยังไม่มีการศึกษาเพื่อการเพิ่มปริมาณต้นให้ได้เพียงพอสำหรับการพัฒนาการสกัดสาร ด้วยเหตุนี้จึงได้ทำการศึกษาการชักนำแคลลัสหนอนตายหยาก และตรวจสอบสารอัลคาลอยด์ เพื่อเป็นแนวทางในการนำแคลลัสไปใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีการผลิตสารได้สูง ตลอดจนขยายพันธุ์เพื่อให้ได้พืชปลอดเชื้อต่อไปได้ ซึ่งจากการศึกษานี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถนำไปเพิ่มการผลิตหนอนตายหยากที่จะนำไปใช้ประโยชน์ต่าง ๆ ได้โดยไม่ต้องไปรบกวนหรือทำลายนิเวศน์ที่หนอนตายหยากอยู่ตามธรรมชาติ

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1 เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของหนอนตายหยาก
2 เพื่อตรวจสอบสารอัลคาลอยด์จากแคลัสหนอนตายหยาก
3 เพื่อนำไปสู่การวิจัยเพื่อการผลิตต้นกล้าหนอนตายหยากเชิงอุตสาหกรรม การคัดเลือก และปรับปรุงพันธุ์และการผลิตสารทุติยภูมิโดยใช้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

หนอนตายหยาก (*Stemona* sp.) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Stemonaceae (Craib, 1920; Gagnepain, 1934) มีลักษณะเป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี มีเหง้าหรือหัวอยู่ใต้ดิน ลำต้นเหนือดินตั้งตรงหรือเลื้อย ใบเลี้ยงเดี่ยว เรียงสลับหรืออยู่ตรงข้ามกันเป็นคู่หรือเป็นวงรอบข้อ เส้นใบหลายเส้น ออกจากโคนใบขนานกันไปตามความยาวของแผ่นใบ ดอกออกเป็นดอกเดี่ยวหรือออกเป็นช่อสั้น ๆ ตามซอกใบ มีกลีบ 4 กลีบ เรียงกัน 2 วง เกสรตัวผู้ 4 อัน ก้านเกสรตัวผู้สั้นมาก เกสรตัวเมีย 1 อัน รังไข่อยู่เหนือชั้นต่าง ๆ ของดอก ผลเป็นแบบผลแห้งแก่แล้วแตก (ภาควิชาพฤกษศาสตร์, 2535) Gagnepain (1934) รายงานว่า พืชสกุล *Stemona* มีอยู่ประมาณ 30 ชนิด โดยพบกระจายอยู่ตามประเทศต่าง ๆ เช่น ญี่ปุ่น จีน ฮอลแลนด์ ฟิลิปปินส์ ฯ สำหรับประเทศไทยพบพืชสกุลนี้ในภาค ต่าง ๆ ของประเทศ โดยพบมากบริเวณป่าดิบชื้น ป่าผลัดใบ และป่าไผ่ และได้มีผู้รวบรวมพืชสกุลนี้พบว่ามีทั้งหมด 8 ชนิด โดยมีชื่อเรียกต่าง ๆ กัน (ณุฉัตรา, 2528) คือ

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อท้องถิ่น
Stemona aphylla Craib	เครือปุง (ลำปาง)
Stemona burkillii Prain	ปงมดง่าม โป่งมดง่าม (เชียงใหม่)
Stemona collinsae Craib	หนอนตายหยาก (ภาคกลาง) ปงช้าง (ภาคเหนือ)
Stemona curtisii Hook. f.	รากลิง (พัทลุง) หนอนตายหยาก
Stemona griffithiana Kurz	- (พบที่จังหวัดแพร่)
Stemona kerrii Craib	- (พบที่จังหวัดเชียงใหม่)
Stemona phyllantha Gangep.	- (พบที่จังหวัดเพชรบุรี และภูเก็ต)
Stemona tuberosa Lour.	หนอนตายหยาก (แม่ฮ่องสอน นครสวรรค์) กะเพียด (ประจวบคีรีขันธ์)

1. ลักษณะทางพฤกศาสตร์ของ *Stemona curtisii* Hook. f.

ลำต้น (Stem) ต้นที่เกิดใหม่เหนือพื้นดิน จะมีข้อปล้องเถากลมเล็กเรียวสีเขียวพาดพันต้นไม้อื่นเห็นได้ชัดเป็นไม้พุ่มลำต้นเดี่ยวเลื้อยยาวได้สูงถึงประมาณ 4 เมตร บริเวณลำต้นมีการแตกแขนงประมาณ 2-3 แขนง บริเวณแขนงจะเกิดดอกยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร

หัว (Rhizome) มีลักษณะเป็นพวงคล้ายกระชายเป็นช่อยาว เมื่อเจริญเต็มที่จะมีความยาว 20-25 เซนติเมตร

ดอก (Flower) ดอกคล้ายช่อออกที่ซอกใบ ดอกย่อย 2-6 ดอก ก้านช่อดอกยาว 2-8 เซนติเมตร ใบประดับยาว 5-15 มิลลิเมตร กลีบดอกรวม 4 กลีบ เรียงเป็น 2 วง ๆ ละ 2 กลีบ กลีบดอกสีเขียวแกม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหลืองมีแถบสีม่วงปลายสีเขียว ด้านในสีม่วงปลายสีเขียว มีแถบสีแดงเข้ม กว้าง 4-41 มิลลิเมตร ยาว 25-50 มิลลิเมตร เกสรตัวผู้สีม่วง ยาว 25-40 มิลลิเมตร

ใบ (Leaves) ใบเดี่ยวเรียวตรงข้ามบริเวณปลายยอดมักเรียวสลับ ผิวใบขอบเรียบสีเขียวเข้ม รูปไข่หรือกว้าง 3-14 เซนติเมตร ยาว 9-19.5 เซนติเมตร โคนใบรูปหัวใจ ปลายใบเรียวแหลมเส้นใบ 9-13 เส้น ก้านใบยาว 1.5-7 เซนติเมตร

ฝักและเมล็ด (Fruit and Seeds) ผลแตกได้รูปกระสวย สีเขียวห้อยลงกว้าง 15-20 มิลลิเมตร มีเมล็ด 10-20 เมล็ด สีน้ำตาลยาว 9-17 มิลลิเมตร ที่ขั้วมีเยื่อสีขาวคล้ายนิ้วมือ ฝักเล็กปลายแหลม (วิชัย , 2546)

ทวีศักดิ์ (2542) ได้รายงานว่า เกษตรกรสามารถพัฒนาการปลูกหนอนตายหยากให้เป็นพืชเศรษฐกิจเหมือนพืชเศรษฐกิจทั่ว ๆ ไปได้ โดยใช้หัวพันธุ์ที่มีตามาปลูก (ซึ่งต้องใช้หัวพันธุ์จำนวนมาก) และได้พัฒนาการใช้เทคนิคด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการผลิตต้นพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนหัวพันธุ์ ตลอดจนการปลูกในสภาพแปลงที่มีการพรางแสงทั่ว ๆ ไป ได้ผลผลิตไร่ละประมาณ 3,000 กิโลกรัม และปัจจุบันประเทศสวิตเซอร์แลนด์ได้สั่งซื้อผลิตภัณฑ์หนอนตายหยากจากประเทศไทยเดือนละประมาณ 3,000-4,000 ลิตร เพื่อนำไปฉีดพ่นฆ่าเห็บ หมัด ไรและแมลงศัตรูอื่น ๆ ในฟาร์มปศุสัตว์

2. ประโยชน์ของหนอนตายหยาก

ประโยชน์ของหนอนตายหยากเป็นที่รู้จักทั่วไป โดยจะนำรากมาใช้เป็นยาทางการแพทย์แผนโบราณ และการสาธารณะสุข ตลอดทั้งทางด้านการเกษตร สำหรับทางด้านการแพทย์แผนโบราณและการสาธารณะสุข กองวิจัยทางแพทย์ (2527) รายงานว่า ในประเทศจีนนำพืช *Stemona tuberosa* Lour. มาใช้เป็นยาแก้ไอและขับเสมหะ ยาขับลม ยาถ่ายพยาธิ และใช้เป็นสารกำจัดแมลง Vidal (1958) รายงานว่า ในประเทศลาวนำพืช *Stemona collinsae* Craib มาใช้ในการกำจัดปาราสิตภายนอกร่างกาย เช่น หมัดและเหา ส่วนประเทศไทยใช้พืชนี้ในการกำจัดแมลง ใช้เป็นยาทาภายนอกสำหรับแผลที่เกิดจากหนอนหรือตัวอ่อนของแมลงบางชนิด เป็นยาต้มเพื่อรับประทานแก้โรคผื่นคัน ใช้รากสดทุบใส่ไหปลาร้าเพื่อกำจัดหนอน (Burkill, 1935) Perry (1980) รายงานว่า ประเทศในแถบเอเชียตะวันออกและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ใช้ *Stemona collinsae* Craib *Stemona japonica* (Bl.) Miq. *Stemona moluccana* (Bl.) Wright *Stemona tuberosa* Lour. และ *Stemona sessilifolia* (Miq.) Franch. ในการกำจัดแมลง ส่วนการนำหนอนตายหยากมาใช้ทางด้านการเกษตรนั้น ได้มีการนำเอารากของหนอนตายหยากมาตำให้ละเอียด ละลายน้ำและนำมา กรอง แล้วนำน้ำที่กรองได้มาใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืช (เสงี่ยม, 2508) นำมาใส่แผลของโค-กระบือที่มีหนอนไชอยู่ (สมจิตร และ สุภาพ, 2515) หรือทาตามแผลเพื่อป้องกันแมลงตอมหรือวางไข่ (เลาจนาและประคอง, 2520)

3. สารออกฤทธิ์ และสารอื่น ๆ ในรากหนอนตายหยาก

นักวิทยาศาสตร์ในหลายประเทศได้มีการศึกษาสารออกฤทธิ์ (active ingredient) และสารอื่นในรากของหนอนตายหยากชนิดต่าง ๆ โดยในช่วงปี ค.ศ. 1934-1958 มีนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นทำการ

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แยกสารอัลคาลอยด์ (alkaloid) จาก *Stemona tuberosa* Lour. พบว่ามีสารอัลคาลอยด์ คือ stemonidine ($C_{19}H_{30}O_5N$) และ tuberstemonine ($C_{22}H_{23}O_4N$) isotuberstemonine hypotuberstemonine และ oxatuberstemonine และต่อมาได้มีการศึกษาโครงสร้างของ tuberstemonine อีกด้วย

สำหรับประเทศไทยมีรายงานการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหนอนตายหยากต่อสัตว์ทดลอง และ จุลินทรีย์หลายชนิด เช่น บุณย์ธนิสร์ (2494) รายงานว่า ยาชงสกัดหนอนตายหยากด้วยอีเทอร์ จะได้ปริมาณ อัลคาลอยด์สูง มีฤทธิ์ฆ่าพยาธิไส้เดือนได้มากกว่ายาชงสกัดด้วยแอลกอฮอล์ และยาชงสกัดด้วยแอลกอฮอล์สามารถฆ่าหนอนได้ดีเมื่อหนอนกินเข้าไป เพราะยานี้ทำให้หนอนมึนเมาและเข้าไปมีผลต่อระบบประสาท แล้วทำให้หนอนตายในที่สุด

ประคอง (2520) รายงานว่า สารสกัดหนอนตายหยากจะไม่มีฤทธิ์แบบสัมผัสตาย (contact poisoning) ต่อยุงลาย แต่มีผลต่อลูกน้ำยุงลาย โดยจะมีผลทำให้การปิดเปิดของปากท่อหายใจ (abdominal spiracles) และปลายสุดของท่อหายใจ (siphon) ไม่เป็นจังหวะ จึงทำให้ลูกน้ำยุงลายหายใจไม่ได้และตายในที่สุด

ประคอง และ คณะ (2523) รายงานว่า สารสกัดหนอนตายหยากที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ที่อยู่ในรูปของยาครีมจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดเหาได้ดีกว่าในรูปของยาน้ำ และมีพิษตกค้างเพียงหนึ่งสัปดาห์เท่านั้น

ขจรศักดิ์ (2538) ได้ศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืช อันได้แก่ *Fusarium* sp. *Colletotrichum* sp. *Alternaria* sp. *Aspergillus niger* และเชื้อราสาเหตุโรคผิวหนัง อันได้แก่ *Epidermophyton floccosum Microsporum gypseum Trichophyton mentagrophytes* และ *T. rubrum* โดยนำผงสมุนไพรบดแห้งมาผสมในอาหาร potato dextrose agar ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่าหนอนตายหยากมีประสิทธิภาพต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชและโรคผิวหนังรองลงมาจากการใช้สารสกัดจากกานพลูและว่านน้ำ

กวินหาญ (2539) ได้ศึกษาผลของสารสกัดจากหนอนตายหยากต่อหนอนกระทู้หอม พบว่า สารสกัดจากรากหนอนตายหยากที่ระดับความเข้มข้น 4% (w/v) มีประสิทธิภาพต่อการกำจัดหนอนกระทู้หอมในวัยที่ 2 3 และ 4 ได้ดี

วาสนา (2544) ทำการศึกษาสารสกัดจากหนอนตายหยากที่มีฤทธิ์ต่อการฆ่าแมลง พบว่าสารสกัดจากรากของหนอนตายหยากที่สกัดด้วยเฮกเซน ไดคลอโลมีเทน และ 70 % เมทานอล เมื่อนำมาทดสอบความเป็นพิษโดยวิธี feeding leaf disc กับหนอนกระทู้ผักวัย 2 ใช้วิธี residual film กับด้วงงวงข้าวโพดตัวเต็มวัยอายุ 5 วัน และใช้วิธี test with aqueous dispersion กับลูกน้ำยุงลายวัย 3 พบว่า สารสกัดหยาบด้วยไดคลอโรมีเทนจากรากของ หนอนตายหยากแสดงความเป็นพิษสูงต่อหนอนกระทู้ผัก โดยมีอัตราการตายที่ระดับความเข้มข้น 40,000 ppm เป็น 44 % ส่วนสารสกัดหยาบด้วย 70 % เมทานอล แสดงความเป็นพิษสูงสุดที่ระดับความเข้มข้น 50,000 ppm กับด้วงงวงข้าวโพดมีอัตราการตาย 48 %

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สมุนไพรหนอนตายหยากเพื่อควบคุมปริมาณการเกิดหนอนแมลงวันในมูลไก่ โดยใช้รากหนอนตายหยากอบแห้งบดละเอียดผสมเพิ่มในสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารไก่ที่ระดับต่าง ๆ พบว่า จำนวน ขนาด และน้ำหนักของหนอนแมลงวันที่เพาะจากมูลไก่ที่กินอาหารสูตรดังกล่าวนี้มีแนวโน้มลดลงอย่างเห็นได้ชัด (สุทธาพันธ์, 2544)

สำหรับสารออกฤทธิ์ใน *Stemona curtisii* Hook. f. พบสารกลุ่มอัลคาลอยด์ มีสารที่สำคัญได้แก่ stemofoline, stemocurtisin และ stemocurtisinol ซึ่งมีประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera littoralis*) (Kaltenegger *et al.*, 2003)

เลาจนา และ ประคอง (2520) ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัด *Stemona curtisii* Hook. f. ต่อหนอนแมลงวัน พบว่า สารสกัดมีผลทำให้ตัวหนอนตายหรือทำให้ตัวหนอนมีสีเขียวคล้ำจนถึงน้ำตาลดำ ตัวหนอนที่รอดตายจะเจริญเป็นดักแด้ได้ แต่ดักแด้จะมีลักษณะผิดปกติ คือ ผนังปล้องของดักแด้จะโป่งนูนออก ดักแด้มีขนาดเรียวเล็ก หงิกงอจนผิดรูปร่าง ดักแด้ดังกล่าวนี้จะไม่สามารถเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้

4. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพรและการชักนำให้เกิดแคลลัสของพืชสมุนไพร ในสภาพปลอดเชื้อ

ปัจจุบันสภาพป่าไม้และสภาวะแวดล้อมทางธรรมชาติถูกทำลายไปมาก ทำให้พืชซึ่งเป็นแหล่งผลิตสารประกอบหลายชนิดที่มีประโยชน์ทางยาลดจำนวนลง หรือมีคุณภาพไม่คงที่เนื่องจากความแปรปรวนของสภาวะแวดล้อมทางธรรมชาติ เทคโนโลยีชีวภาพจึงเข้ามามีบทบาทในการพัฒนาวัตถุดิบสมุนไพรมากขึ้น โดยมีการนำเทคนิคทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร มีวัตถุประสงค์ในการนำมาใช้เป็นเป็นแหล่งทดแทนพืชสมุนไพรที่ได้จากธรรมชาติ และยังสามารถควบคุมคุณภาพของสมุนไพรให้คงที่ไม่เปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะแวดล้อมทางธรรมชาติ เนื่องจากสามารถควบคุมสภาวะในการเพาะเลี้ยงได้ตามต้องการตลอดระยะเวลาของการเพาะเลี้ยง จากการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้พบว่าสามารถสร้างเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงของพืชได้หลายชนิด โดยที่เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงของพืชเหล่านี้สามารถสร้างและเก็บสะสมสารประกอบทุติยภูมิได้เช่นเดียวกับในพืชธรรมชาติ ระบบของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชยังสามารถเพิ่มขนาดของการเพาะเลี้ยงให้ใหญ่ขึ้นในระดับอุตสาหกรรมได้ ตัวอย่างเช่น เซลล์เพาะเลี้ยงของยาสูบสามารถเพาะเลี้ยงในระบบของ fermentor ขนาด 20,000 ลิตร ซึ่งทำให้ได้เซลล์ของยาสูบที่มีคุณภาพดีเหมือนกันหมด โดยไม่มีอิทธิพลของสภาวะแวดล้อมทางธรรมชาติเข้ามาเกี่ยวข้อง

ในปัจจุบันมีรายงานเกี่ยวกับการขยายพันธุ์พืชป่าและพืชสมุนไพรด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งการขยายพันธุ์ดังกล่าวอาจชักนำยอดโดยตรงจากชิ้นส่วนของพืชที่ทำการเพาะเลี้ยง เช่น จากส่วนของยอด ข้อ และตาข้าง หรือผ่านการสร้างแคลลัสในช่วงเวลาหนึ่งแล้วพัฒนาเป็นยอดต่อไป สำหรับอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงจะมีสูตร ต่าง ๆ กัน เช่น การใช้อาหารสูตร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 2 ระดับ คือ 1.0 และ 4.0 ppm กับเนื้อเยื่อของดองดึง พบว่า เนื้อเยื่อสวนปลายของไรโซมสามารถเจริญเป็นแคลลัสได้ดี และหากนำไปเลี้ยงต่อในอาหารที่มีน้ำมะพร้าว 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าแคลลัสที่เกิดจากอาหารที่มี NAA เข้มข้น 4.0 ppm ไม่สามารถพัฒนาต่อไปได้ และตายในที่สุด แต่หากเลี้ยงเนื้อเยื่อของดองดึงในอาหารที่มี NAA 1.0 ppm BA 1.0 ppm และ น้ำมะพร้าว 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อเยื่อสามารถพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ การใช้อาหารสูตร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 2.0 ppm กับเฟิรน์ข้าหลวงหลังลาย สามารถชักนำการเกิดยอดได้ แต่ไม่สามารถนำต้นอ่อนย้ายปลูกได้ เนื่องจากบริเวณยอดของต้นอ่อนยังคงมีแคลลัสเกิดอยู่ และการเลี้ยงในอาหาร MS ที่มี NAA 0.5 ppm และ BA 0.5 ppm สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีมากและสามารถพัฒนาเป็นยอดต่อไปได้ (จรรยา, 2539) และ Quraishi *et al.* (1996) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อของ *Cliestanthus collinus* ในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ในระดับต่าง ๆ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA < 1.1 μM สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดี และอาหารสูตรที่เติม IAA 22.8 μM สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดี หลังจากเลี้ยงในอาหารได้ 7 วัน โดยเลี้ยงในที่มืดก่อนเป็นเวลา 2 วัน แล้วนำมาเลี้ยงในที่มีแสงสว่างปกติ การนำชิ้นส่วนใบอ่อนของต้นหนอนตายหยาก (*Stemona collinsae*) มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4.0 ppm ร่วมกับ NAA 1.0 ppm ชิ้นส่วนใบอ่อนมีการตอบสนองสูตรอาหารโดยขอบใบจะม้วนขึ้นบริเวณกลางใบมีการเจริญเป็นตุ่มของแคลลัสแต่ไม่สามารถพัฒนาเป็นแคลลัสที่สมบูรณ์ได้ ซึ่งเมื่อเลี้ยงไว้เป็นเวลานาน 90 วัน จะพบว่า ชิ้นส่วนเหล่านี้ได้ตายลงในที่สุด (ประทุมวัน, 2542) และในการนำชิ้นส่วนใบอ่อนของต้นหนอนตายหยาก (*Stemona tuberosa*) มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร B_5 ที่เติม 2,4-D 1.0 ppm ร่วมกับ BA 3.0 ppm สามารถชักนำให้ใบอ่อนเกิดแคลลัสได้ดีในสภาพมืด (สุมนา และคณะ, 2538)

5. อัลคาลอยด์ (Alkaloid)

อัลคาลอยด์ เป็นสารอินทรีย์ ที่มีไนโตรเจน เป็นส่วนประกอบ (Organic Nitrogen Compound) มักพบในพืชชั้นสูง มีสูตรโครงสร้างซับซ้อน และแตกต่างกัน มากมาย ปัจจุบันพบแอลคาลอยด์มากกว่า 5,000 ชนิด คุณสมบัติของแอลคาลอยด์ คือ ส่วนใหญ่ มีรสขม ไม่ละลายน้ำ ละลายได้ ในสารละลายอินทรีย์ (Organic Solvent) มีฤทธิ์เป็นด่าง แอลคาลอยด์ มีประโยชน์ ในการรักษาโรค อย่างกว้างขวาง เช่น ใช้เป็นยาระงับปวด ยาชาเฉพาะที่ ยาแก้ไอ ยาแก้หอบหืด ยารักษาแผล ในกระเพาะและลำไส้ ยาลดความดัน ยาควบคุม การเต้นของหัวใจ นอกจากประโยชน์ทางด้านการแพทย์ยังมีการนำมาใช้ประโยชน์ด้านการเกษตรอื่น ๆ เช่น ใช้เป็นยาป้องกันกำจัดแมลงและเชื้อราศัตรูพืช (สมพร, 2542)

6. การตรวจสอบสารอัลคาลอยด์

โดยอาศัยหลักการตกตะกอนของอัลคาลอยด์กับน้ำยาตกตะกอนชนิดต่าง ๆ ถ้ามี Alkaloid จะได้ผลดังนี้

- Wagner's reagent ได้ตะกอนสีน้ำตาล
- Mayer's reagent ได้ตะกอนสีขาว
- Tannic acid reagent ได้ตะกอนสีขาว
- Dragendorff's reagent ได้ตะกอนสีส้ม (ศิริรัตน์, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย

การทดลองที่ 1 การศึกษาการชักนำแคลลัสจากเมล็ดหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อ

นำเมล็ดหนอนตายหยากมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ที่ระดับความเข้มข้น 5% นาน 5 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง วางแผนการทดลองแบบ completely randomize design (CRD) โดยนำเมล็ดที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น เข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 เดือน บันทึกผลการพัฒนาของเมล็ดและการเกิดแคลลัส

การทดลองที่ 2 การศึกษาการชักนำแคลลัสจากส่วนยอดหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อ

นำยอดอ่อนจากต้นกล้าอายุสองเดือนมาเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อเพิ่มปริมาณให้ได้ยอดจำนวนมาก จากนั้นนำยอดที่ได้มาเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ เพื่อศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัส ดังนี้

การทดลองที่ 2.1 ผลของ 2,4-D ร่วมกับการให้แสงต่อการเกิดแคลลัสต่อการเกิดแคลลัส

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD แบ่งออกเป็น ปัจจัยได้แก่

1. ความเข้มข้นของ 2,4-D ได้แก่ 2,4-D ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มก./ล.
2. สภาพของแสง ได้แก่ สภาพมืดและการได้รับแสง

บันทึกการเกิดแคลลัส ขนาดแคลลัส การเกิดยอด และถ่ายภาพ หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน

การทดลองที่ 2.3 ผลของ BA และ2,4-D ต่อการเกิดแคลลัส

วางแผนการทดลองแบบ completely randomize design (CRD) แบ่งออกเป็น 4 treatments แต่ละ treatment มีจำนวน 10 ซ้ำและทำการทดลอง 2 ครั้งโดยการนำยอดมาเลี้ยงในอาหารต่าง ๆ ดังนี้

Treatment ที่ 1 BA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มก./ล.

Treatment ที่ 2 BA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 มก./ล.

Treatment ที่ 3 BA ความเข้มข้น 2.0 มก./ล. ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มก./ล.

Treatment ที่ 4 BA ความเข้มข้น 2.0 มก./ล. ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 มก./ล.

บันทึกการเกิดแคลลัส ขนาดแคลลัส การเกิดยอด และถ่ายภาพ หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 3 การเพิ่มปริมาณแคลลัสในอาหารเหลว

การทดลองที่ 3.1 ผลของ 2,4-D ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัส

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ปัจจัยที่ 1 ผลของความเข้มข้นของ 2,4-D ได้แก่ 0, 0.5, 1.0 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ปัจจัยที่ 2 สภาพการเลี้ยง ได้แก่ แสง และที่มืด โดยการย้ายแคลลัสมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เขย่า 100 รอบต่อนาที เลี้ยงในสภาพมีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน และที่มืด บันทึกการการเพิ่มปริมาณแคลลัส และเปลี่ยนแปลงอื่น ๆ ของแคลลัส

การทดลองที่ 3.2 ผลของ BA ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัส

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยการย้ายแคลลัสที่มีน้ำหนัก 1 กรัม มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เขย่า 100 รอบต่อนาที เลี้ยงในสภาพมีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน และที่มืด บันทึกการการเพิ่มปริมาณแคลลัส และเปลี่ยนแปลงอื่น ๆ ของแคลลัส

การทดลองที่ 4 การตรวจสอบสารอัลคาลอยด์จากแคลลัสของหนอนตายหยาก

ทำการตรวจสอบอัลคาลอยด์ในหนอนตายหยาก โดยใช้วิธี Thin Layer Chromatography (TLC) finger print ซึ่งทำโดยใช้ silica gel GF 250 TLC plate (Merck) เป็น stationary phase และใช้ dichloromethane : methanol : NH_4OH (94:4:1) เป็น mobile phase และนำไปตรวจหาสารอัลคาลอยด์โดยใช้ dragendroff reagent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

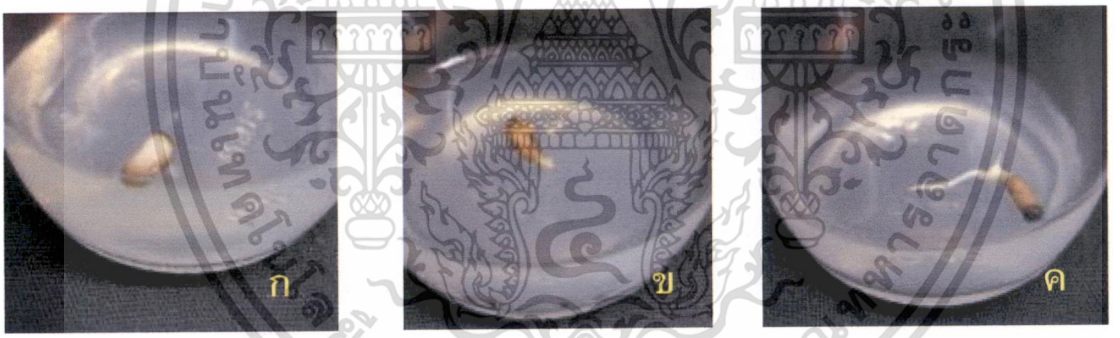
ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 การศึกษาการชักนำแคลลัสจากเมล็ดหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อ

จากการศึกษาผลของ 2, 4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการงอกและการพัฒนาของเมล็ดหนอนตายหยาก โดยการนำเมล็ดมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 เดือน พบว่า

1.1 การงอกของเมล็ดหนอนตายหยาก

เปอร์เซ็นต์การงอกในแต่ละทรีทเมนท์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ที่ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์ การงอกมากที่สุด 90.00 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่1) และเมล็ดหนอนตายหยากมีการงอกแบบใบเลี้ยงอยู่เหนือดินแบ่งออกเป็น 3 ระยะ ได้แก่ ระยะที่ 1 เมล็ดพองโต ใช้เวลา 3 วัน ระยะที่ 2 การเจริญของราก ใช้เวลา 7 วัน และระยะที่ 3 มีการเจริญในส่วนของใบเลี้ยงและยอดอ่อน ใช้เวลา 10 วัน (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 การงอกของเมล็ดหนอนตายหยาก ระยะที่1 เมล็ดพองโต (ก) ระยะที่ 2 การเจริญของราก (ข) และ ระยะที่ 3 การเจริญในส่วนของใบเลี้ยงและยอดอ่อน (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดหนอนตายหยากที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน

ความเข้มข้นของสาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)	เปอร์เซ็นต์การงอก[1/]
0	75.69
0.2	62.50
0.4	87.50
0.6	75.00
0.8	79.46
1.0	63.89
2.0	85.00
4	90.00
6	82.86
8	77.86
10	66.25
F-test	ns
CV (%)	18.86

[1/] ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

1.2 การเกิดรากและการพัฒนาของรากหนอนตายหยาก

เปอร์เซ็นต์การเกิดรากและจำนวนรากในแต่ละทรีทเมนท์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้นของสาร 2,4-D ที่ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุดคือ 87.50 เปอร์เซ็นต์ และ ความเข้มข้นของสาร 2,4-D ที่ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากมากที่สุด 3.33 ราก ส่วนความยาวราก พบว่า สูตรอาหารที่ไม่เติม 2,4-D มีความยาวรากมากที่สุด 2.44 ราก ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับทรีทเมนท์อื่นๆ (ตารางที่ 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การเกิดราก ความยาวราก และจำนวนรากของต้นอ่อนหนอนตายหยาก ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

ความเข้มข้นของสาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การเกิดราก (เปอร์เซ็นต์) [1/]	ความยาวราก (เซนติเมตร) [1/]	จำนวนราก [1/]
0	63.89	2.44a	1.65ab
0.2	50.00	0.49b	0.65b
0.4	87.50	0.61b	1.89ab
0.6	68.75	0.56b	3.33a
0.8	40.18	0.55b	0.60b
1	53.89	0.39b	2.30ab
2	46.43	0.45b	0.55b
4	62.50	0.41b	0.50b
6	47.50	0.41b	0.60b
8	70.71	0.38b	0.60b
10	46.25	0.29b	0.50b
F-test	ns	**	ns
CV (%)	33.41	127.67	196.23

[1/] ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ * มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และ ** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ DMRTที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

1.3 การเกิดยอดและการพัฒนาของยอดหนอนตายหยาก

เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดในแต่ละทรีทเมนท์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้นของสาร 2,4-D 0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากที่สุดคือ 52.09 เปอร์เซ็นต์ ส่วนความยาวยอดมีความแตกต่างในแต่ละทรีทเมนท์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D 0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดมากที่สุด 6.88 เซนติเมตร และ จำนวนยอดมีความแตกต่างในแต่ละทรีทเมนท์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ที่ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดมากที่สุดคือ 3.00 ยอด รองลงมาคือ 0 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีจำนวนยอดดังนี้ 1.83 และ 1.75 ยอด ส่วนที่ความเข้มข้น 0.6 0.8 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดยอด 1 ยอด ในขณะที่ความเข้มข้นของ 2,4-D ที่ 4 6 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีการเกิดราก (ตารางที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด ความยาวยอดและจำนวนยอดของต้นอ่อนหนอนตายหยาก ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นของ ต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

ความเข้มข้นของสาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การเกิดยอด (เปอร์เซ็นต์) [1/]	ความยาวยอด (เซนติเมตร) [1/]	จำนวนยอด [1/]
0	52.09	6.88a	1.83a
0.2	25.00	0.53b	3.00b
0.4	25.00	4.45a	1.75b
0.6	12.50	0.03b	1.00c
0.8	13.40	0.60b	1.00c
1	38.89	0.90b	1.00c
2	5.89	0.40b	1.00c
4	0.00	0.00b	0.00c
6	0.00	0.00b	0.00c
8	0.00	0.00b	0.00c
10	0.00	0.00b	0.00c
F-test	ns	**	**
CV (%)	131.71	269.34	210.73

[1/] ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ * มีความแตกต่างกันทางสถิติ และ ** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

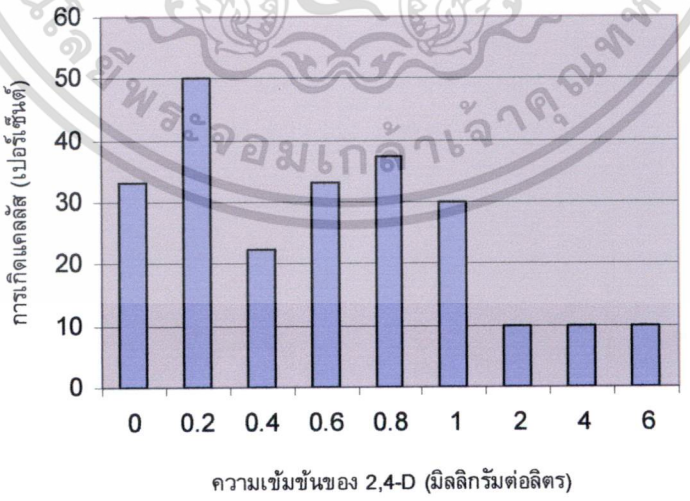
1.4 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสในแต่ละทรีทเมนท์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยที่ความเข้มข้นของ 2,4-D 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด 50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนระดับความเข้มข้นที่ 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เมล็ดไม่มีการเกิดแคลลัส ที่ความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสมีสีเขียวเป็นแคลลัสแบบแน่น ส่วนความเข้มข้นที่ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตรแคลลัสมีสีเขียวเหลือง เป็นแคลลัสแบบแน่น ในขณะที่ความเข้มข้นที่ความเข้มข้นอื่น ๆ แคลลัสมีสีเหลืองและเป็นแคลลัสแบบแน่น (ตารางที่ 4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ลักษณะของแคลลัส สีของแคลลัส และการเกิดแคลลัสของต้นอ่อนหนอนตายหยาก ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นของ ต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

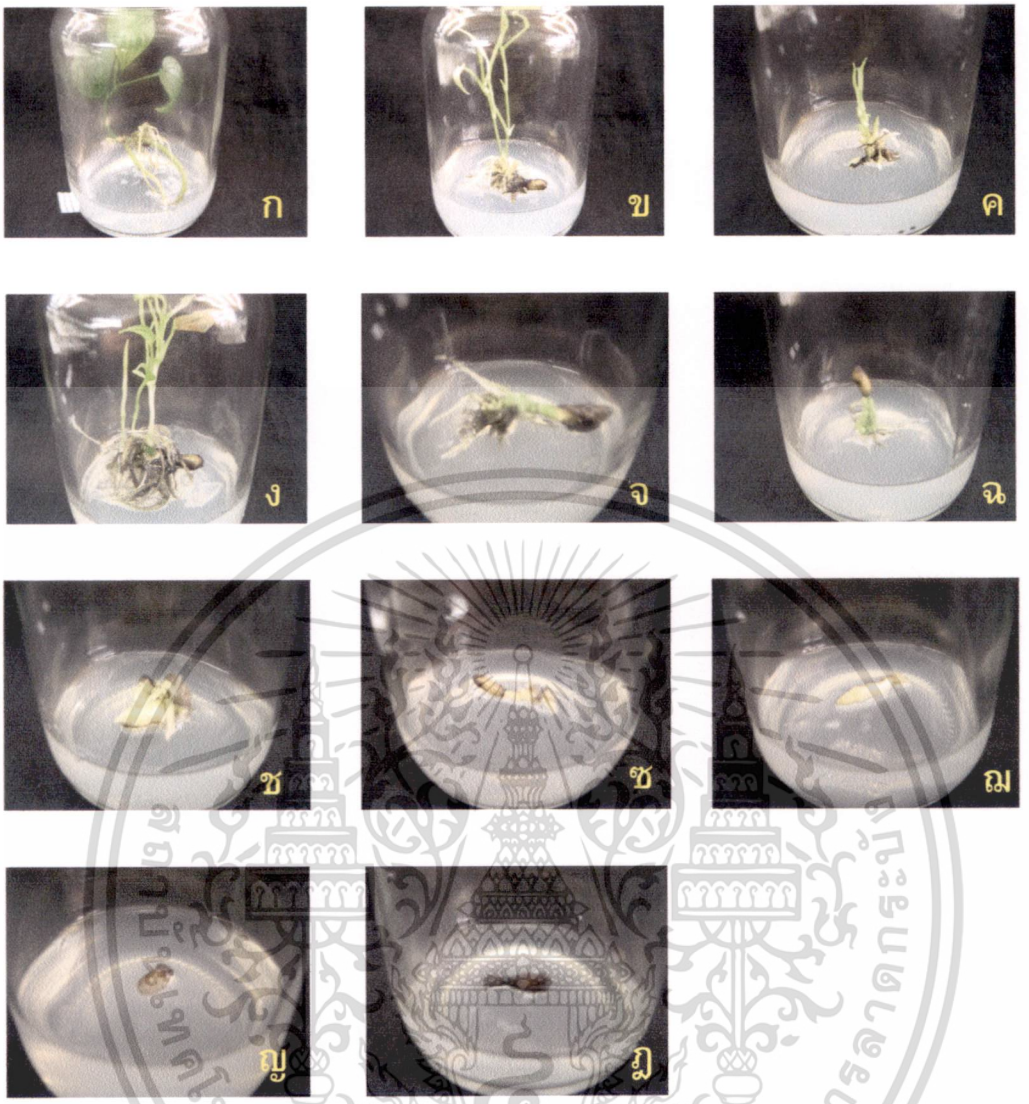
ความเข้มข้นของสาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ลักษณะของแคลลัส	สีของแคลลัส	การเกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์) [1/]
0	แน่น	เขียว	33.33
0.2	แน่น	เหลือง	50.00
0.4	แน่น	เขียวเหลือง	22.22
0.6	แน่น	เหลือง	33.35
0.8	แน่น	เหลือง	37.50
1	แน่น	เหลือง	30.00
2	แน่น	เหลือง	10.00
4	แน่น	เหลือง	10.00
6	แน่น	เหลือง	10.00
8	-	-	0.00
10	-	-	0.00
F-test			ns
CV (%)			118.58

[1/]ตัวเลขในแนวตั้งที่มีตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 2 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของเมล็ดหนอนตายหยากที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 ความเข้มข้นของ 2, 4-D ต่อการพัฒนาของเมล็ดหน่อนตายหยากในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 0 (ก) 0.2 (ข) 0.4 (ค) 0.6 (ง) 0.8 (จ) 1.0 (ฉ) 2.0 (ช) 4.0 (ซ) 6.0 (ฌ) 8.0 (ญ) และ 10.0 (ฎ) มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2 การศึกษาการชักนำแคลลัสจากส่วนยอดหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อ

นำยอดอ่อนจากต้นกล้าอายุสองเดือนมาเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อเพิ่มปริมาณให้ได้ยอดจำนวนมาก จากนั้นนำยอดที่ได้มาเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ เพื่อศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัส ดังนี้

การทดลองที่ 2.1 ผลของ 2,4-D และสภาพของแสงต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส

จากการศึกษาผลของ 2, 4-D ต่อการพัฒนาของยอดหนอนตายหยาก โดยการนำยอดมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพที่มีแสงและในสภาพที่มืด เป็นเวลา 2 เดือน ผลการทดลองพบว่า

2.1.1 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของยอดหนอนตายหยาก

เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดในแต่ละทรีทเมนท์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้นของ 2, 4-D ที่ 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพที่มีแสง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของยอดหนอนตายหยากที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ ในสภาพแสงที่ต่างกัน เป็นเวลา 2 เดือน

ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การเกิดยอด(เปอร์เซ็นต์)		
	ที่มีแสง	ที่มืด	เฉลี่ย[1/]
0	100.00	93.75	96.88
0.1	55.56	92.86	74.21
0.2	94.45	60.00	77.22
0.3	93.75	54.47	74.11
0.4	78.57	53.57	66.07
0.5	100.00	92.86	96.43
เฉลี่ย[2/]	87.05	74.58	

CV (%) = 34.06

[1/] และ [2/] ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.1.2 ความยาวยอดของยอดหนอนตายหยาก

ที่ระดับทุก ๆ ความเข้มข้นของ 2, 4-D ร่วมกับการเลี้ยงในสภาพแสงที่ต่างกันความยาวยอดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้นของ 2, 4-D ที่ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดมากที่สุด 4.18 เซนติเมตร (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ความยาวยอดของยอดหนอนตายหยากที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ ในสภาพแสงที่ต่างกัน เป็นเวลา 2 เดือน

ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความยาวยอด(เซนติเมตร)		
	ที่มีแสง	ที่มืด	เฉลี่ย[1/]
0	1.29	4.07	2.68
0.1	2.40	4.18	3.29
0.2	1.95	3.07	2.51
0.3	2.48	2.68	2.58
0.4	2.29	2.24	2.26
0.5	2.13	2.31	2.22
เฉลี่ย[2/]	2.09	3.09	

CV (%) = 27.54

[1/] และ [2/] ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

2.1.3 จำนวนยอดของยอดหนอนตายหยาก

ที่ระดับทุก ๆ ความเข้มข้นของ 2, 4-D ร่วมกับการเลี้ยงในสภาพแสงที่ต่างกันจำนวนยอดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้นของ 2, 4-D ที่ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพที่มีแสงมีจำนวนยอดมากที่สุด 4.18 ยอด (ตารางที่ 7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

116960

ตารางที่ 7 จำนวนยอดของยอดหนอนตายหยากที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ ในสภาพแสงที่ต่างกัน เป็นเวลา 2 เดือน

ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนยอด		
	ที่มีแสง	ที่มืด	เฉลี่ย[1/]
0	2.00	1.67	1.83
0.1	2.54	1.77	2.15
0.2	1.53	1.50	1.51
0.3	1.73	1.50	1.62
0.4	1.81	1.88	1.84
0.5	2.43	2.00	2.22
เฉลี่ย[2/]	2.00	1.72	

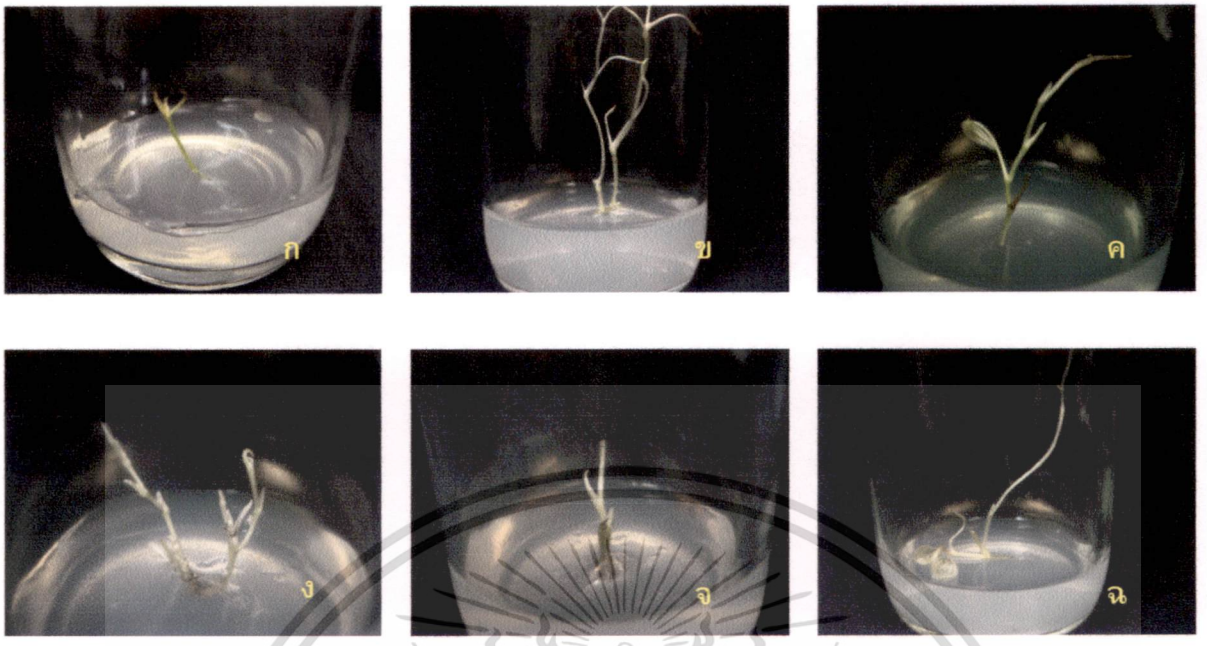
CV (%) = 29.83

[1/] และ [2/] ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

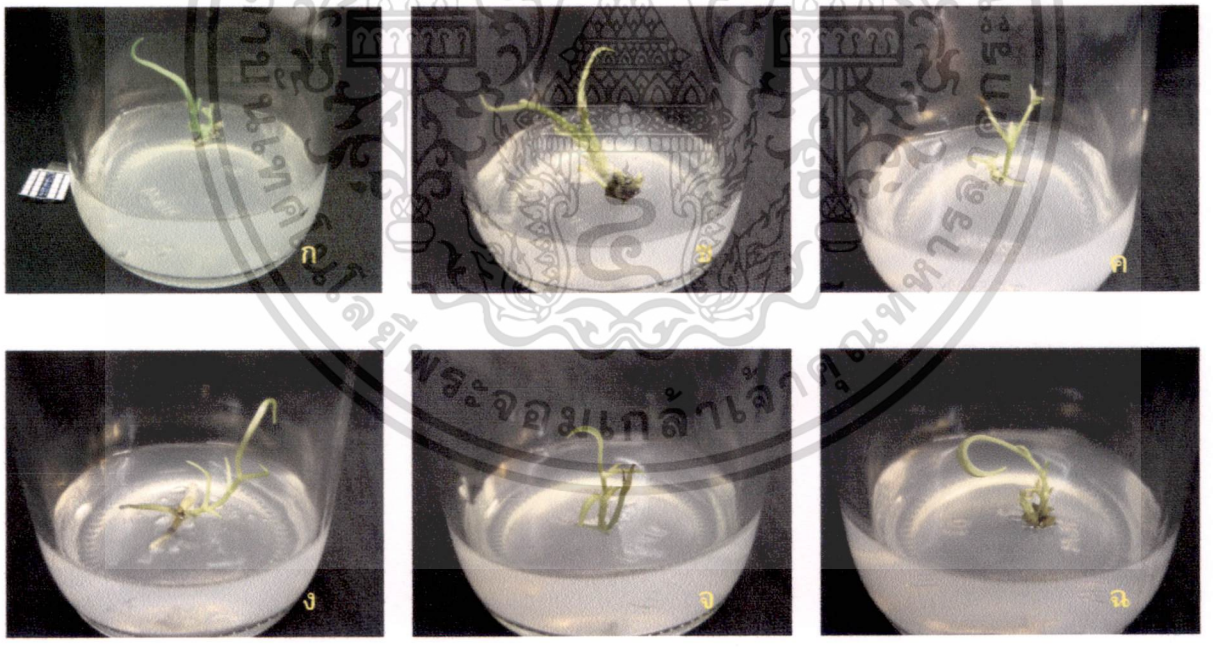
2.1.4 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของยอดหนอนตายหยาก

ยอดหนอนตายหยากที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ ในสภาพแสงที่ต่างกัน เป็นเวลา 2 เดือน จากการทดลองผลของ 2,4-D ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าการเลี้ยงยอดในอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0 – 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสภาพแสงต่างกัน ไม่มีการเกิดแคลลัส (ภาพที่ 4 และ 5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 การพัฒนาของยอดหนอนตายหยากในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 0 (ก) 0.1 (ข) 0.2 (ค) 0.3 (ง) 0.4 (จ) และ 0.5 (ฉ) มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพที่มืด



ภาพที่ 5 การพัฒนาของยอดหนอนตายหยากในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 0 (ก) 0.1 (ข) 0.2 (ค) 0.3 (ง) 0.4 (จ) และ 0.5 (ฉ) มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพที่มีแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2.2 ผลของ BA และ2,4-D ต่อการเกิดแคลลัส

ทำการทดลองโดยนำ ยอดมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ที่ 0, 1, และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ที่ 0, 1, 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เวลา 2 เดือน บันทึกการพัฒนาของชิ้นส่วน การเกิดแคลลัส พบว่า

2.2.1 เปอร์เซ็นต์การเกิดรากของยอดหนอนตายหยาก

ทุกระดับ ความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ BA เปอร์เซ็นต์การเกิดรากมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุด 20.00 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8)

2.2.2 ความยาวรากของยอดหนอนตายหยาก

ทุกระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ BA ความยาวรากไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวรากมากที่สุด 0.23 เซนติเมตร (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การเกิดรากของยอดหนอนตายหยากที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

ความเข้มข้นของ BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การเกิดราก (เปอร์เซ็นต์)			
	ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	0	1	2	เฉลี่ย[1/]
0	20.00	0.00	0.00	6.67a
1	0.00	5.00	0.00	1.67b
2	0.00	0.00	0.00	0.00b
เฉลี่ย[2/]	6.67a	1.67b	0.00b	

CV (%) = 84.85

[1/] และ[2/] ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2.2.3 จำนวนรากของยอดหนอนตายหยาก

ทุกระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ BA จำนวนรากไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากมากที่สุด 0.20 ราก (ตารางที่ 10)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 ความยาวรากของยอดหนอนตายหยากที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

ความเข้มข้นของ BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความยาวราก (เซนติเมตร)			
	ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	0	1	2	เฉลี่ย[1/]
0	0.23	0.00	0	0.07
1	0.00	0.20	0	0.07
2	0.00	0.00	0	0.00
เฉลี่ย[2/]	0.07	0.07	0.00	

CV (%) = 668.29, [1/] และ [2/] ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 10 จำนวนรากของยอดหนอนตายหยากที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

ความเข้มข้นของ BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนราก			
	ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	0	1	2	เฉลี่ย[1/]
0	0.20	0.00	0.00	0.07
1	0.00	0.50	0.00	0.17
2	0.00	0.00	0.00	0.00
เฉลี่ย[2/]	0.07	0.17	0.00	

CV (%) = 303.05

[1/] และ [2/] ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

2.2.4 ความยาวยอดของยอดหนอนตายหยาก

ทุกระดับความเข้มข้นของ 2,4-D หรือ BA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ในขณะที่การเติม 2,4-D ร่วมกับ BA ความยาวยอดมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้นของ BA ที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ที่ 0 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดมากที่สุด 1.30 1.35 และ 1.40 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 ความยาวยอดของยอดหนอนตายหยากที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

ความเข้มข้นของ BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความยาวยอด(เซนติเมตร)			
	ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	0	1	2	เฉลี่ย[1/]
0	1.30	1.35	1.40	1.99a
1	1.74	1.40	1.40	1.51b
2	2.68	1.67	1.62	1.35b
เฉลี่ย[2/]	1.91a	1.47b	1.47b	

CV (%) = 13.30

[1/] และ [2/] ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2.2.5 จำนวนยอดของยอดหนอนตายหยาก

ทุกระดับความเข้มข้นของ 2,4-D จำนวนยอดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และ จำนวนยอดในอาหารที่เติม BA มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนการเติม 2,4-D ร่วมกับ BA จำนวนยอดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ที่ 0 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดมากที่สุด 1.89 2.25 และ 2.65 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 จำนวนยอดของยอดหนอนตายหยากที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

ความเข้มข้นของ BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนยอด			
	ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	0	1	2	เฉลี่ย[1/]
0	1.89	1.25	0.50	1.21b
1	2.25	1.78	1.17	1.73a
2	2.65	1.50	1.44	1.86a
เฉลี่ย[2/]	2.26a	1.51b	1.04c	

CV (%) = 18.69

[1/] และ [2/] ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.6 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของยอดหนอนตายหยาก

ทุกระดับ ความเข้มข้นของ 2,4-D ร่วมกับ BA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้นของ BA ที่ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ที่ 0 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 6) มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด 15.00 30.56 และ 36.46 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 13)

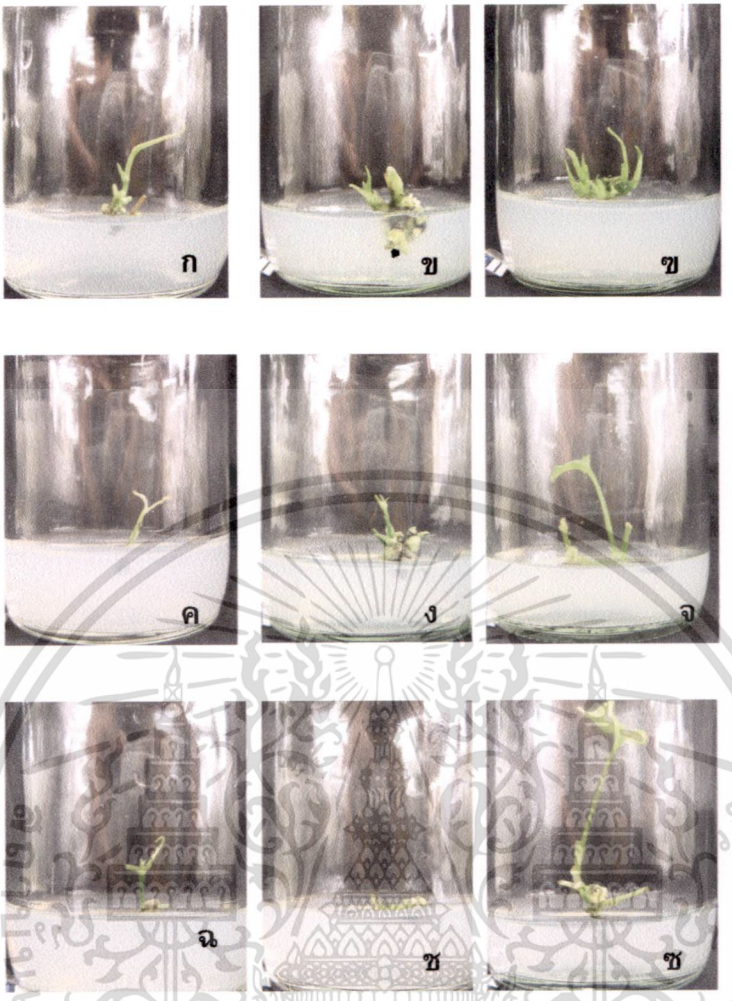
ตารางที่ 13 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของยอดหนอนตายหยากที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

ความเข้มข้นของ BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การเกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์)			
	ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	0	1	2	เฉลี่ย[1/]
0	7.50	0.00	21.88	9.79b
1	0.00	17.78	11.11	9.63b
2	15.00	30.56	36.46	27.34a
เฉลี่ย[2/]	7.50c	16.11b	23.15a	

CV (%) = 22.37

[1/] และ [2/] ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 การเกิดแคลลัสของยอดหน่อนตายหยากในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ร่วมกับ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน

ก สูตรอาหาร MS + BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร +2,4-D 0 มิลิกรัมต่อลิตร

ข สูตรอาหาร MS + BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร + 2,4-D 1 มิลิกรัมต่อลิตร

ฃ สูตรอาหาร MS + BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร + 2,4-D 2 มิลิกรัมต่อลิตร

ค สูตรอาหาร MS + BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร + 2,4-D 0 มิลิกรัมต่อลิตร

ง สูตรอาหาร MS + BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร + 2,4-D 1 มิลิกรัมต่อลิตร

จ สูตรอาหาร MS + BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร + 2,4-D 2 มิลิกรัมต่อลิตร

ฉ สูตรอาหาร MS + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร + 2,4-D 0 มิลิกรัมต่อลิตร

ช สูตรอาหาร MS + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร + 2,4-D 1 มิลิกรัมต่อลิตร

ซ สูตรอาหาร MS + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร + 2,4-D 2 มิลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 3 การเพิ่มปริมาณแคลลัสในอาหารเหลว

การทดลองที่ 3.1 ผลของ 2,4-D ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัส

จากการทดลองเลี้ยงแคลลัส ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และเก็บไว้ในสภาพที่มืดและมีแสง ทำการเขย่าด้วยความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที บันทึกการการเพิ่มปริมาณแคลลัส หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน จากตารางที่ 1 พบว่า การเลี้ยงในสภาพที่มีแสงมีผลต่อการเกิดแคลลัสดีกว่าการเลี้ยงในที่มืด และแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงในที่สว่างมีสีเขียวอ่อนและเกาะตัวกันแบบแน่น และที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสมีเหลืองและมีการเพิ่มขนาดมากที่สุด (ภาพที่ 7) ส่วนการเลี้ยงในที่มืดพบว่าเฉพาะที่ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเท่านั้นมีการเกิดแคลลัส โดยแคลลัสมีสีเหลืองอ่อน

ตารางที่ 14 ผลของการให้แสงและความเข้มข้นของ 2,4-D ต่อการเพิ่มปริมาณของแคลลัสหนอนตายหยาก

สภาพการให้แสง	2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การเพิ่มปริมาณของแคลลัส[1]	สีของแคลลัส
แสง	0	+	เขียว
	0.1	+	เขียว
	0.5	+	เขียว
	1.0	+++	เขียวเหลือง
	2.0	++	เขียว
ที่มืด	0	-	น้ำตาล
	0.1	-	น้ำตาล
	0.5	-	น้ำตาล
	1.0	-	น้ำตาล
	2.0	+	เหลืองอ่อน

[1] การเพิ่มปริมาณแคลลัส : - = ไม่มีการเพิ่มปริมาณ, + = เพิ่มปริมาณเล็กน้อย, ++ = เพิ่มปริมาณปานกลาง, +++ = เพิ่มปริมาณมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 3.2 ผลของ BA ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัส

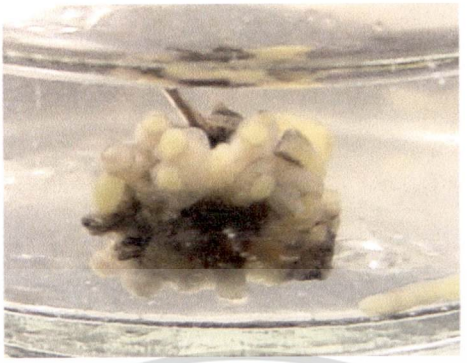
จากการทดลองเลี้ยงแคลลัส ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และเก็บไว้ในสภาพที่มืดและมีแสง ทำการเขย่าด้วยความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที บันทึกการการเพิ่มปริมาณแคลลัส หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน จากตารางที่ 15 พบว่า แคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงในสภาพมีแสงมีการขยายขนาดของแคลลัสร่วมกับการเกิดยอด ยกเว้นที่ความเข้มข้นของ BA สูง ที่ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสไม่มีการขยายขนาดและพบว่ามีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ส่วนการเลี้ยงในที่มืดพบว่าเฉพาะที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรมีการขยายขนาด และแคลลัสที่ได้มีการเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองอ่อน (ภาพที่ 8)

ตารางที่ 15 ผลของการให้แสงและความเข้มข้นของ BA ต่อการเพิ่มปริมาณของแคลลัสของหนอนตายหยาก

สภาพการให้แสง	BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การเพิ่มปริมาณของแคลลัส[1]	สีของแคลลัส
แสง	0	+	เขียว
	0.1	+	เขียวอ่อน
	0.5	+	เขียว
	1.0	+	เขียว
	2.0	-	น้ำตาล
ที่มืด	0	-	น้ำตาล
	0.1	++	เหลืองอ่อน
	0.5	-	น้ำตาล
	1.0	-	น้ำตาล
	2.0	-	น้ำตาล

[1] การเพิ่มปริมาณแคลลัส : - = ไม่มีการเพิ่มปริมาณ, + = เพิ่มปริมาณเล็กน้อย, ++ = เพิ่มปริมาณปานกลาง, +++ = เพิ่มปริมาณมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 ลักษณะของแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรในที่มีแสง

ภาพที่ 8 ลักษณะของแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพมืด

การทดลองที่ 4 การตรวจสอบสารอัลคาลอยด์จากแคลลัสของหนอนตายหยาก

จากการศึกษาการสะสมสารอัลคาลอยด์ของแคลลัสหนอนตายหยาก โดยนำแคลลัสที่ได้มาสกัดด้วยเมธานอลและเอธานอล โดยใช้วิธี Thin Layer Chromatography (TLC) finger print ซึ่งทำโดยใช้ silica gel GF 250 TLC plate (Merck) เป็น stationary phase และใช้ dichloromethane : methanol : NH_4OH (94:4:1) เป็น mobile phase และนำไปตรวจหาอัลคาลอยด์โดยใช้ dragendroff's reagent พบว่าแคลลัสที่ได้ไม่เกิดปฏิกิริยากับสารละลาย dragendroff's reagent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์

การทดลองที่ 1 การศึกษาการชักนำแคลลัสจากเมล็ดหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อ

จากการทดลองนำเมล็ดของหนอนตายหยากมาเลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0 – 10 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 2 เดือน พบว่า การเกิดแคลลัสมีแนวโน้มที่ต่ำลง เมื่อ 2,4-D มีความเข้มข้นสูงขึ้น ความเข้มข้นของ 2,4-D 0.2 มิลิกรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส ซึ่งสอดคล้องกับ พีรเดช (2537) ที่ได้กล่าวว่า 2,4-D เป็นออกซินที่มีประสิทธิภาพต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ที่ใช้เหมาะสมนั้นจะแตกต่างกันไปตามส่วนต่าง ๆ ที่นำมาใช้เพาะเลี้ยง และพืชบางชนิดตอบสนองต่อการใช้ 2,4-D ในการชักนำให้เกิดราก และงานทดลองของสุมนา และคณะ (2548) ที่ได้ทำการชักนำให้ใบอ่อนของหนอนตายหยากเกิดรากในอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และจากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่า ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสำหรับกระตุ้นการงอกของเมล็ด และส่งเสริมการเกิดราก ส่วนความเข้มข้นที่ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร รากมีความยาวที่สุด และที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสำหรับกระตุ้นการเกิดราก ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของลิลลี่ และคณะ (2549) ออกซินที่ในปริมาณที่ต่ำ สามารถกระตุ้นการยืดยาวของรากได้ถ้าความเข้มข้นที่สูงจะยับยั้งการยืดยาวของราก และกระตุ้นการยืดของลำต้น

การทดลองที่ 2 การศึกษาการชักนำแคลลัสจากส่วนยอดหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อ

การเลี้ยงยอดในสภาพแสงต่างกัน ร่วมกับการเติม 2,4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของหนอนตายหาก สภาพการเลี้ยงยอดในที่แสงต่างกัน ร่วมกับการเติม 2,4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า ไม่มีการเกิดแคลลัส อย่างไรก็ตามพบว่าในเงื่อนไขนี้มีการเกิดยอดเพิ่มขึ้นและยอดมีการยืดยาว โดย เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด และจำนวนยอดสูงสุดในที่มีแสงสว่าง โดยการให้ 2,4-D ความเข้มข้น 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ และ จำนวนยอดสูงสุด 2.45 ยอด ที่ 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ความยาวยอดในสภาพมืดสูงกว่าการเลี้ยงในที่มีแสง และความยาวยอดสูงสุด 4.18 ยอด ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สอดคล้องกับงานทดลองของ สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง ที่ได้รายงานว่าปัจจัยสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตโดยเฉพาะ 2,4-D ที่เติมลงไปมีผลต่อการชักนำให้ชิ้นส่วนพืชมีการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว (http://www.lartc.rmutl.ac.thl) และสมบุญ (2536) กล่าวว่า การได้รับออกซิน โดยเฉพาะบริเวณปลายยอด ตาที่กำลังเจริญ ใบอ่อน และเอ็มบริโอที่กำลังเจริญ พืชจะมีการขยายขนาดทำให้ยอดยืดยาว และมีขนาดใหญ่ขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองนำเมล็ดของหนอนตายหยากมาเลี้ยงในอาหารที่มี BA ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0 – 10 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 2 เดือน พบว่า การเลี้ยงเมล็ดหนอนตายหยากในอาหารที่มี BA ร่วมกับ 2,4-D มีผลต่อการส่งเสริมการเกิดแคลลัส โดยหนอนตายหยากมีการเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด ในอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ สอดคล้องกับงานทดลองของสุมนาและคณะ (2538) ได้นำชิ้นส่วนของหนอนตายหยากมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร B5 ที่เติม 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ใบอ่อนเกิดแคลลัสได้ดี ส่วนการเกิดรากและพัฒนาของรากหนอนตายหยากนั้น พบว่าในความเข้มข้นของ BA ร่วมกับ 2,4-D ในความเข้มข้นต่ำมีการเกิดการยืดยาวของรากและการพัฒนาของรากหนอนตายหยากได้ดี สอดคล้องกับลิลลี่ และคณะ (2549) ได้รายงานว่าออกซินในความเข้มข้นที่ต่ำจะกระตุ้นการยืดยาวของราก และในความเข้มข้นที่สูงจะยับยั้งการยืดของราก และกระตุ้นการยืดของลำต้น

การทดลองที่ 3 การเพิ่มปริมาณแคลลัสในอาหารเหลว

จากการศึกษาผลของ 2,4-D ต่อการเพิ่มปริมาณของแคลลัส โดยการนำเอาแคลลัสที่มีขนาด 0.5 กรัม มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นนำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าในสภาพมีแสดงและที่มืด พบว่า การเลี้ยงในสภาพที่มีแสงมีแนวโน้มในการชักนำให้เกิดแคลลัสมากกว่าการเลี้ยงในสภาพที่มืด และในอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรในที่มีแสงมีการขยายตัวของแคลลัสและมีปริมาณการเพิ่มมากที่สุด ส่วนจากการศึกษาผลของ BA ต่อการเพิ่มปริมาณของแคลลัส โดยการนำเอาแคลลัสที่มีขนาด 0.5 กรัม มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นนำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าในสภาพมีแสดงและที่มืด พบว่า การเลี้ยงในสภาพที่มีแสงมีแนวโน้มในการชักนำให้เกิดแคลลัสมากกว่าการเลี้ยงในสภาพที่มืด อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองพบว่าในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่มืดมีการขยายตัวของแคลลัสและมีปริมาณการเพิ่มมากที่สุด ซึ่งหนอนตายหยากแต่ละชนิดตอบสนองได้แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามพบว่าการนำ BA และ 2,4-D มาใช้นั้นให้ผลสอดคล้องกับงานทดลองของสุมนาและคณะ (2538) ที่ได้ทดลองเลี้ยงใบอ่อนของหนอนตายหยากพบว่ามีการเกิดแคลลัสได้ดีในอาหารที่เติม 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดลองที่ 4 การตรวจสอบสารอัลคาลอยด์จากแคลลัสของหนอนตายหยาก

จากการศึกษาการสะสมสารอัลคาลอยด์ของแคลลัสหนอนตายหยาก โดยนำแคลลัสที่ได้มาสกัดด้วยเมธานอลและเอธานอล โดยใช้วิธี Thin Layer Chromatography (TLC) finger print และนำไปตรวจหาอัลคาลอยด์โดยใช้ dragendroff's reagent พบว่าแคลลัสที่ได้ไม่เกิดปฏิกิริยากับสารละลาย dragendroff's reagent ทั้งนี้อาจเนื่องจากว่าส่วนที่ทำหน้าที่สะสมสารสำคัญของหนอนตายหยากคือส่วนของราก (Kaltenegger et al., 2003) จึงไม่พบการสะสมของอัลคาลอยด์ในแคลลัสของ *S. curtisii* อีก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งในเงื่อนไขของการเลี้ยงนี้อาจมีความไม่เหมาะสมต่อการสะสมของสาร จึงควรมีการทดลองต่อไปในการศึกษาปัจจัยที่มีความเหมาะสมต่อการสะสมสารอัลคาลอยด์ของแคลลัสหรือการผลิตรากในระบบปลอดเชื้อต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากการศึกษาผลของสูตรอาหารต่าง ๆ ต่อชักนำให้เกิดแคลลัสในหนอนตายหยาก และการพัฒนาของเมล็ดและยอดหนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อ โดยการเติม 2,4-D เพียงอย่างเดียว การเติม 2,4-D ร่วมกับสภาพแสงที่ต่างกัน การเติม BA ร่วมกับ 2,4-D การเพิ่มปริมาณแคลลัสในอาหารเหลวที่เติม BA ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ ในที่มืดและการตรวจสอบสารอัลคาลอยด์ในแคลลัสหนอนตายหยาก สรุปผลได้ดังนี้

1. ความเข้มข้นของ 2,4-D ที่ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลในการกระตุ้นการเกิดรากของเมล็ดหนอนตายหยาก และในความเข้มข้นต่ำ 0–1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการเจริญของยอดและรากได้ดี และการเลี้ยงเมล็ดในสภาพที่มืด ร่วมกับการเติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.4 มิลิกรัมต่อลิตร สามารถกระตุ้นการเกิดแคลลัสได้ดี

2. การเลี้ยงเมล็ดและยอดในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0,1, และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้พืชมีการพัฒนาส่วนต่าง ๆ ได้ดีที่สุด

3. การเติม 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลิกรัมต่อลิตร ในอาหารเหลว ร่วมกับการให้แสงมีปริมาณการขยายตัวของแคลลัสดีที่สุด

4. แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตรต่างๆ แล้วนำมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ก่อนการตรวจสอบการทำปฏิกิริยาตกตะกอนกับสารละลาย Dragendroff's reagent ไม่มีการสะสมของสารอัลคาลอยด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กวินหาญ พลหาญ. 2539. ผลของสารสกัดจากพืชต่อหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* Hubner). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขากีฏวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 71 หน้า.

กองวิจัยทางแพทย์. 2527. สมุนไพรพื้นบ้านตอนที่ 1. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, กรุงเทพ ฯ 131 หน้า.

ขจรศักดิ์ ตระกูลพัว. 2538. ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 8 ชนิดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชและโรคผิวหนังที่กำหนด. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จรรยา ตันประดับสิงห์. 2539. อิทธิพลของ NAA และ BA ต่อการเพาะเลี้ยงใบอ่อนเฟิร์นข้าหลวงหลังลายในสภาพปลอดเชื้อ. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

ณุฉัตรา วีระฉัตร. 2528. ผลของสารสกัดหนอนตายหยาก (*Stemona collinsae* Craib) ต่อสัตว์น้ำบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 41 หน้า.

ทวีศักดิ์ ชัยเรืองยศ. 2542. พัฒนาหนอนตายหยากเป็นสมุนไพรฆ่าแมลง. หนังสือพิมพ์เดลินิวส์ ฉบับวันพุธที่ 17 พฤศจิกายน พ.ศ. 2542. หน้า 27.

บุณย์ธนิสร์ โอทกานนท์. 2494. การศึกษาทางเภสัชวิทยาของหนอนตายหยาก. ในรายงานการวิจัยเพื่อปริญญาเภสัชศาสตร์บัณฑิต. คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยแพทย์ศาสตร์. 8 หน้า.

ประคอง พันธุ์อุไร. 2520. รายงานการศึกษาชีววิเคราะห์ของรากหนอนตายหยาก. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 19(3): 145-154.

ประคอง พันธุ์อุไร อุษาวดี ธำรง ผลชีวัน บุญล้วน พันธุมจินดา ทวีผล เดชาติวงศ์ ณ อยุธยา และสุวรรณา จารุนุช. 2523. สารสกัดจากรากหนอนตายหยากเพื่อใช้ฆ่าเหา. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, กรุงเทพฯ. 16 หน้า.

ประทุมวัน เสาร์ประโคน. 2542. ผลของ BA และ NAA ที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบ ราก และตาข้อของต้นหนอนตายหยาก (*Stemona.collonsae* Craib) ในสภาพปลอดเชื้อ. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พีรเดช ทองอำไพ. 2537. ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ ฯ. 195 น.

ภาควิชาพฤกษศาสตร์. 2535. พรรณพฤกษชาติประเทศไทย. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งกรุ๊ฟ จำกัด. กรุงเทพ ฯ . 118 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยุพา มงคลสุข วรรณา นิ่มละออ พัชรวดี วัฒนวิกย์กิจ และ วราพร วีระพลากร. 2544. การเพิ่มปริมาณรากสะสมอาหารของหนอนตายหยากเพื่อใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. หน้า 378-382.

ลิลลี่ กาวีต๊ะ. 2549. สรีรวิทยาพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ ฯ. 261 หน้า

เลาจนา ธีรภัทรสกุล และ ประคอง พันธุ์อุไร. 2520. การศึกษาพิษของหนอนตายหยากที่มีต่อหนอนแมลงวันบ้าน. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 19(3): 217-226.

วาสนา ไชยคำ. 2544. ฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดจากหนอนตายหยาก (*Stemona* sp.) และเถาวัลย์เปรียง (*Derris scandens* Benth.). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขากีฏวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วิชัย หญ้าปรัง. 2546. การเจริญเติบโตและลักษณะทางพฤษศาสตร์ของหนอนตายหยาก. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร.

ศิริรัตน์ พูลศรีกาญจน์. 2543. การพัฒนาผลและระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวมะแว้งเครือเพื่อให้ได้ปริมาณสารอัลคาลอยด์สูง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาพืชไร่นา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 152 หน้า

สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง. มปป. ข้อมูลออนไลน์ http://www.lartc.rmutl.ac.thl วันที่ 10 มกราคม 2552

สมจิตร พงษ์พงัน และ สุภาพ ภู่ประเสริฐ. 2515. พืชกินได้และพืชมีพิษในป่าเมืองไทย. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว, กรุงเทพ ฯ. 176 หน้า.

สมบูรณ์ เตชะภิญญาวัฒน์. 2536. สีรรสิทยาของพืช. สำนักพิมพ์ ธรรมบัณฑิต, กรุงเทพฯ.

สมพร ภูติยานันต์. 2542. การตรวจเอกลักษณ์พืชสมุนไพร : ภาคพิเศษ. โครงการพัฒนาตำรา สถาบันแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. กรุงเทพฯ. 991 หน้า

สุธาพันธ์ โพธิ์กำเนิด. 2544. การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สมุนไพรหนอนตายหยากผสมอาหารไก่เพื่อควบคุมปริมาณหนอนแมลงวันบ้านในมูลไก่. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ (เทคโนโลยีที่เหมาะสมเพื่อการพัฒนาทรัพยากร) บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล. 156 หน้า.

สุมนา นีระ ปรีชา นีระ และรวมชาติ แต่พงษ์โสรัถ. 2538. การศึกษาการขยายพันธุ์และการปลูกเลี้ยงต้นหนอนตายหยาก. เอกสารรวบรวมผลงานโครงการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติครบรอบ 10 ปี. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 196-197.

เสงี่ยม พงษ์บุญรอด. 2508. ไม้เทศเมืองไทย. โรงพิมพ์ไทยเทอดธรรม, กรุงเทพ ฯ. 596 หน้า.

Burkill I.H. 1935. Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula. 2 vols., Oxford University Press, London. 2402 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Craib W.G. 1920. Contribution to the Flora of Siam Additamenta 11. Bulletin of Miscellaneous Informations, Royal Botanic Garden, Kew, London. 305 p.

Gagnepain F. 1934. Stemonaceae (Roxburghiaceae). Flore Cenerale de L Indo-Chine. T. VI. Massin Etc ie, Editeurs, Paris. 8 p.

Kaltenegger, E., Brem, B., Mereiter, K., Kalchhauser, H., Kahlig, H., Hofer, O., Vajrodaya, S. and Greger H. 2003. Insecticidal pyrido (1,2-a)azepine alkaloids and related derivatives from *Stemona* species. Phytochem. 63: 803-816

Murashige T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant 15:473-497.

Perry M. 1980. Medicinal Plants of East and Southeast Asia. The MIT Press, London. 620 p.

Quraishi A., V. Koche and S.K. Mishra. 1996. *In vitro* micropropagation from nodal segment of *Cleistanthus collinus*. Plant Cell Tissue Organ Cult. 45: 87-91.

Vidal J. 1958. La therapeutique par les Plantes au Laos. Argricult Trop Botan Appl 5: 601-616.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดหนอนตายหยากที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

source	DF	SS	MS	F-Value	Pr>F
Treatment	10	1775.27	177.53	0.85	0.5996ns
Error	11	2306.03	209.64		
Total	21	4081.31			

CV = 18.86

ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความยาวรากของเมล็ดหนอนตายหยากที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

source	DF	SS	MS	F-Value	Pr>F
Treatment	10	12.96	1.30	5.46	0.0001**
Error	99	23.51	0.24		
Total	109	36.48			

CV = 127.67

** คือ มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนรากของเมล็ดหนอนตายหยาก ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

source	DF	SS	MS	F-Value	Pr>F
Treatment	10	92.10	9.21	1.67	0.0988ns
Error	99	545.45	5.52		
Total	109	638.55			

CV = 196.23

ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์การเกิดรากของเมล็ดหนอนตายหยาก ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความ เข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

source	DF	SS	MS	F-Value	Pr>F
Treatment	10	3966.04	396.60	1.06	0.4607ns
Error	11	4124.51	374.96		
Total	21	8090.55			

CV = 33.41

ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของการเกิดยอดของเมล็ดหนอนตายหยาก ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

source	DF	SS	MS	F-Value	Pr>F
Treatment	10	4.37	0.44	4.12	0.0001**
Error	99	10.50	0.11		
Total	109	70.00			

CV = 210.73

** คือ มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความยาวยอดของต้นอ่อนหนอนตายหยาก ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

source	DF	SS	MS	F-Value	Pr>F
Treatment	10	23.13	2.31	4.89	0.0001**
Error	99	46.87	0.47		
Total	109	70.00			

CV = 269.34

** คือ มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดของต้นอ่อนหนอนตายหยาก ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

source	DF	SS	MS	F-Value	Pr>F
Treatment	10	4451.97	445.20	0.41	0.9165ns
Error	11	12057.88	1096.17		
Total	21	16509.85			

CV = 131.71

ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของต้นอ่อนหนอนตายหยาก ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้น ต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

source	DF	SS	MS	F-Value	Pr>F
Treatment	10	3373.98	337.40	1.24	0.3654ns
Error	11	3004.68	273.15		
Total	21	6378.67			

CV = 118.58

ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้