วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 8 ฉบับที่ 1 (มกราคม - มิถุนายน): 20-27, 2564
Songklanakarin Journal of Plant Science, Vol. 8, No. 1 (January - June): 20-27, 2021

Research article-ISSN: 2351-0846

การเพิ่มประสิทธิภาพการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ของกระบองเพชร 3 สายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ
Enhance Efficiency Plant Regeneration of 3 Genotypes Cactus *In Vitro*

สุภาวดี รามสูตร[1,3*] ผการัตน์ โรจน์ดวง[2,3] มัณฑกา วีระพงศ์[1,3] หรินทิพย์ สีสุก[2] และ ณัฐธิดา ขลิบตรีแก้ว[2]
Ramsoot, S. [1,3*], Rotduang, P. [2,3], Weeraphong, M. [1,3], Seesuk, H. [2] and Khlibtreekaew, N. [2]

[1] สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภฏันครศรีธรรมราช ต.ท่างิ้ว อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช 80280
[1] Department of biology Faculty of Science and Technology, Nakhon Si ThammaratRajabhat University, Tumbon Thayew, Mueang district, Nakhon Si Thammarat Province, 80280
[2] สาขาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภฏันครศรีธรรมราช ต.ท่างิ้ว อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช 80280
[2] Department of general science Faculty of education, Nakhon Si ThammaratRajabhat University, Tumbon Thayew, Mueang district, Nakhon Si Thammarat Province, 80280
[3] หน่วยวิจัยความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร
[3] Agricultural Diversity and Biotechnology Research Unit

* *Corresponding author: supawadee.rs@gmail.com*
Received 25 April 2020; Revised 03 May 2021; Accepted 21 June 2021

บทคัดย่อ

การเพิ่มประสิทธิภาพการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ของกระบองเพชร 3 สายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ ได้แก่ *Gymnocalycium damsii*, *Echinocereus rigidissimus* และ *Echinocactus grusonii* โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของน้ำตาลซูโครส ชนิดของชิ้นส่วนพืช และสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณและการเจริญเติบโตของกระบองเพชร 3 สายพันธุ์ โดยนำยอดกระบองเพชรขนาด 0.5 เซนติเมตร มาผ่าแบ่งครึ่งและไม่ผ่าแบ่งครึ่งมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog) เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 0 15 30 และ 45 กรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า กระบองเพชรแต่ละสายพันธุ์ให้การตอบสนองต่อน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยชิ้นส่วนยอดกระบองเพชรสายพันธุ์ *G. damsii* แบบไม่ผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร ให้การชักนำยอดสูงสุด 35.05 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.28 ยอดต่อชิ้นส่วน และจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 1.60 รากต่อชิ้นส่วน สำหรับสายพันธุ์ *Echinocereus rigidissimus* พบว่าชิ้นส่วนยอดแบบผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร ให้การชักนำยอดสูงสุด 60.25 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 7.53 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ชิ้นส่วนยอดกระบองเพชรสายพันธุ์ *Echinocereus rigidissimus* แบบไม่ผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ให้การชักนำรากสูงสุด 25.15 เปอร์เซ็นต์ และให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 10 มิลลิเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร ส่วนชิ้นส่วนยอดกระบองเพชรสายพันธุ์ *Echinocactus grusonii* แบบผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร ให้การชักนำยอดสูงสุด 36.18 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.69 ยอดต่อชิ้นส่วน ในขณะที่ชิ้นส่วนยอดกระบองเพชรสายพันธุ์ *Echinocactus grusonii* แบบไม่ผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร ให้ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 8.60 มิลลิเมตร การชักนำราก 16.35 เปอร์เซ็นต์ จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 11.50 รากต่อชิ้นส่วน และความรากเฉลี่ยสูงสุด 2.40 มิลลิเมตร แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ การศึกษาผลของ BA ต่อพัฒนาการและการเจริญเติบโตของกระบองเพชร 3 สายพันธุ์ พบว่าชิ้นส่วนยอดของกระบองเพชรสายพันธุ์ *G. damsii* และ สายพันธุ์ *Echinocereus rigidissimus* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำยอดสูงสุด 60.25 และ 75.25 เปอร์เซ็นต์ และให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 10.40 และ 3.53 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ในขณะที่ชิ้นส่วนยอดของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Echinocactus grusonii* ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS เติม BA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำยอดสูงสุด 67.25 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.27 ยอดต่อชิ้นส่วน

คำสำคัญ: กระบองเพชร น้ำตาลซูโครส ชนิดของชิ้นส่วนพืช สารควบคุมการเจริญเติบโต การพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่

Abstract

Enhance efficiency plant regeneration of three cactus species including *Gymnocalycium damsii*, *Echinocereus rigidissimus* and *Echinocactus grusonii* were studied. The objective was to investigate the effects of sucrose, explant types and BA on proliferation, growth and development of cactus. The shoot at size of 0.5 cm of three genotypes cactus were uncut halves and longitudinally cut pieces and cultured on MS (Murashige and Skoog) medium supplemented with 0, 15, 30 and 45 g/l sucrose. After 8 weeks of culture, the results found that each

Published by Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University. All rights reserved.
For Permissions, please e-mail: nr-sjps@group.psu.ac.th.

species gave various responses to different concentrations of sucrose. The explant uncut longingly of *G. damsii* cultured on MS medium supplemented with 15 g/L sucrose gave the highest shoot induction at 35.05%, number of shoot (1.28 shoots/explant) and number of root (1.60 roots/explant). For *Echinocereus rigidissimus,* the explant cut longingly and cultured on MS medium supplemented with 45 g/L sucrose gave the highest shoot induction at 60.25% and number of shoot (7.53 shoots/explant). The explants cut longingly of *Echinocactus grusonii* and cultured on MS medium supplemented with 45 g/l sucrose gave the highest shoot induction at 36.18% and number of shoot (3.69 shoots/explant). On the other hand, the explant uncut longingly of *Echinocactus grusonii* and cultured on MS medium supplemented with 15 g/L sucrose gave the highest shoot length (8.60 mm.), root induction (16.35%), number of root (11.50 roots/explant) and root length (2.40 mm). For effect of BA on growth and development of 3 genotypes cactus, the results showed that shoot of *G. damsii* and *Echinocereus rigidissimus* cultured on MS medium supplemented with 1 mg/l BA gave the highest shoot induction (60.25 and 75.25%) and number of shoot (10.40 and 3.53 shoots/explant), respectively, after 4 weeks of culture. On the other hand, shoot of *E. grusonii* cultured on MS medium supplemented with 2 mg/l BA gave the highest shoot induction at 67.25% and number of shoots at 2.27 shoots/explant.

Keywords: Cactus, sucrose, type of explant, plant growth regulator, plant regeneration

บทนำ

กระบองเพชร 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ *Gymnocalycium damsii*, *Echinocereus rigidissimus* และ *Echinocactus grusonii* เป็นไม้ประดับที่มีความสวยงาม ได้รับความนิยมและเป็นที่ต้องการทางตลาดสูง โดย *G. damsii* มีถิ่นกำเนิดในทวีปแถบอเมริกาใต้แถบอาร์เจนตินา อุรุกวัย ปารากวัย และโบลิเวีย นักปลูกเลี้ยงชาวไทย มักเรียกว่า ยิมโน มีมากกว่า 120 ชนิด และหลายสายพันธุ์ โดยมีผู้นำมาปลูกเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์เป็นเวลานาน เพราะมีหลากหลายรูปทรง ดอกมีสีสันสวยงาม บานได้เกือบตลอดปีถ้ามีสภาพแวดล้อมที่ดี (Supanantananon, 2019) ลักษณะเด่นของกระบองเพชรสกุล *Gymnocalycium* จะอยู่ตรงตุ่มหนาม ที่นูนชัดเจน หนามยื่นยาวแหลม แต่ในบางสายพันธุ์หนามจะสั้น โค้งกดแนบกับตุ่มหนามที่เป็นทรงกลมหรือรูปไข่ หนามกลางจะชี้ตรงและยาวกว่าหนามข้าง สีลำต้นมีตั้งแต่เขียว ไปจนเกือบเทา แดง เหลือง หรือชมพู (Supanantananon, 2019) สายพันธุ์ *Echinocereus rigidissimus* ต้นมีสีเขียวลักษณะกลมไปจนถึงทรงกระบอก และมีกระจุกหนามสีชมพู-ขาว เรียงอัดแน่นอยู่รอบต้น (Wanbutta, 2016)

ส่วนสายพันธุ์ *Echinocactus grusonii* หรือถังทองเป็นพืชในกลุ่มกระบองเพชร มีถิ่นกำเนิดในแถบเม็กซิโก เป็นกระบองเพชรชนิดที่นิยมปลูกกันมากแต่เป็นพันธุ์พืชที่มีความเสี่ยงสูงต่อการสูญพันธุ์จากพื้นที่ธรรมชาติ ลักษณะรูปร่างเป็นทรงกลม อาจมีความสูงกว่าหนึ่งเมตรเมื่อ เวลาผ่านไปหลายปี เมื่อโตเต็มที่จะมีริ้วมากถึง 35 ริ้ว แต่ในต้นที่ยังเล็กอยู่จะมองไม่เห็นริ้วนี้ แต่เห็นเป็นปุ่มๆ แทนหนามแหลมยาวตรงหรือโค้งเล็กน้อย มีสีเหลืองหรือบางครั้งมีสีขาวด้วย ออกดอกเป็นสีเหลืองเล็กๆ ในฤดูร้อน (Wanbutta, 2016) เนื่องจากกระบองเพชรสายพันธุ์ ดังกล่าวได้รับความนิยมและเป็นที่ต้องการทางตลาดสูง แต่มีการขยายพันธุ์ล่าช้าและเสี่ยงต่อการเป็นโรคพืชการขยายพันธุ์กระบองเพชรมีหลายวิธี เช่น การเพาะเมล็ด และการปักชำหรือแยกหน่อ ซึ่งต้องใช้เวลานานและเสี่ยงต่อการทำลายของศัตรูพืชพวกแมลง (Imraporn, 2016) ปัจจุบันได้มีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาช่วยขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนต้นให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น จากรายงานของ Rittirong และคณะ (2019) นำชิ้นส่วนยอด กระบองเพชรยิมโนแม่ลูกดกขนาด 0.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม NAA เข้มข้น 0.0 1.0 2.0 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA เข้มข้น 0.0 1.0 2.0 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าชิ้นส่วนยอดของกระบองเพชรที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS เติม BA เข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ และอาหารสูตร MS เติม NAA เข้มข้น 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำแคลลัสสูงสุด 20 เปอร์เซ็นต์ Lema-Ruminska (2014) พบว่าอาหารสูตร MS เติม ABA เข้มข้น 0.1 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำหนักสดแคลลัสเพิ่มขึ้นสูงสุด 10.76 กรัม และให้การชักนำโซมาติกเอ็มบริโอ 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่อาหารสูตร MS เติม ABA เข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนโซมาติกเอ็มบริโอทั้งหมด 258 โซมาติกเอ็มบริโอ และให้จำนวนโซมาติกเอ็มบริโอ 23.5 โซมาติกเอ็มบริโอต่อแคลลัส

ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจจะศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กระบองเพชร 3 สายพันธุ์ดังกล่าวข้างต้น ให้มีจำนวนมากด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อเพิ่มจำนวนต้นให้ได้มากในระยะเวลาอันสั้น โดยในการวิจัยครั้งนี้ศึกษาผลของน้ำตาลซูโครส ชนิดของชิ้นส่วนพืช และสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณกระบองเพชร 3 สายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมวัสดุพืช

การศึกษานี้ใช้เมล็ดกระบองเพชรสายพันธุ์ *G. damsii*, *Echinocereus rigidissimus* และ *Echinocactus grusonii* โดยนำชิ้นส่วนเมล็ดมาล้างออกด้วยน้ำประปา และนำไปฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยการจุ่มแช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 1 นาที แล้วแช่ต่อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ 20 เปอร์เซ็นต์ (โดยมีสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.2 เปอร์เซ็นต์) เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ก่อนนำชิ้นส่วนเมล็ดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต วางเลี้ยงในสภาพความเข้มแสง 3000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25± 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน

1. การศึกษาผลของน้ำตาลซูโครสและชนิดของชิ้นส่วนพืชต่อการเพิ่มปริมาณกระบองเพชร 3 สายพันธุ์

นำชิ้นส่วนยอดของกระบองเพชรทั้ง 3 สายพันธุ์ขนาด 0.5 เซนติเมตร แบบไม่ผ่าและผ่าครึ่งตามแนวยาว มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 0 15 30 และ 45 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 5.7 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที วางเลี้ยงในสภาพความเข้มแสง 3000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25± 2 องศาเซลเซียส ทำการทดลองสูตรอาหารละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 20 ขวดๆ ละ 1 ชิ้นส่วน สังเกตและบันทึกผลการทดลอง ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์การเกิดราก ความยาวรากเฉลี่ย และจำนวนรากเฉลี่ย เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

2. การศึกษาผลของ BA ต่อพัฒนาการและการเจริญเติบโตของกระบองเพชร 3 สายพันธุ์

นำชิ้นส่วนยอดของกระบองเพชรทั้ง 3 สายพันธุ์ขนาด 0.5 เซนติเมตร ที่ชักนำได้จากการทดลองที่ 1 มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 5.7 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที วางเลี้ยงในสภาพความเข้มแสง 3000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ทำการทดลองสูตรอาหารละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 20 ขวดๆ ละ 1 ชิ้นส่วน สังเกตและบันทึกผลการทดลอง ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด และจำนวนยอดเฉลี่ย เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของน้ำตาลซูโครสและชนิดของชิ้นส่วนพืชต่อการเพิ่มปริมาณกระบองเพชร 3 สายพันธุ์

หลังจากนำชิ้นส่วนยอดของกระบองเพชรทั้ง 3 สายพันธุ์ขนาด 0.5 เซนติเมตร แบบไม่ผ่าและผ่าครึ่งตามแนวยาว มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เดือน พบว่าชิ้นส่วนยอดกระบองเพชรสายพันธุ์ *G. damsii* แบบไม่ผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร ให้การชักนำยอดสูงสุด 35.05 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.28 ยอดต่อชิ้นส่วน และจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 1.60 รากต่อชิ้นส่วน และชิ้นส่วนยอดกระบองเพชรสายพันธุ์ *G. damsii* แบบไม่ผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ให้การชักนำรากสูงสุด 65.25 เปอร์เซ็นต์ ความยาวรากยอดเฉลี่ยสูงสุด 14.70 เซนติเมตร แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับการทดลองของ Ramasoot (2017) ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนโปรโตคอร์มแบบไม่ผ่าและผ่าครึ่งตามแนวยาวพบว่าชิ้นส่วนโปรโตคอร์มแบบไม่ผ่าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.66±0.09 ยอดต่อโปรโตคอร์ม ในขณะที่ชิ้นส่วนยอดกระบองเพชรสายพันธุ์ *G. damsii* แบบผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร ให้ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 9.50 มิลลิเมตร (Table 1)

Table 1 Effect of different concentrations of sucrose and explant types on proliferation of *G. damsii* after 8 weeks of culture

Explant types	Concentrations of sucrose (g/L)	Shoot induction (%)	Number of shoot (shoots/explant)	Length of shoot (mm)	Root induction (%)	Root Length (mm)	Number of root (roots/explant)
Full	0	10.25^{d}	0.70	7.10	15.25^{d}	3.40^{b}	1.20
	15	35.05^{a}	1.28	6.80	45.75^{b}	13.00^{a}	1.60
	30	32.55^{a}	1.11	7.70	65.25^{a}	14.00^{a}	1.50
	45	30.65^{a}	1.08	5.90	62.85^{a}	14.70^{a}	1.10
Half	0	15.35^{d}	0.67	6.40	12.35^{d}	4.90^{b}	1.00
	15	23.65^{c}	1.15	9.50	42.55^{b}	12.90^{ab}	1.10
	30	29.85^{ab}	1.09	8.60	31.85^{c}	11.30^{ab}	1.10
	45	27.65^{ab}	0.89	7.00	28.45^{c}	9.50^{ab}	0.80
F-test		*	ns	ns	*	*	ns
C.V. (%)		25.12	32.25	28.09	21.66	19.35	26.65

ns = not significantly difference, * = significantly difference at $p \leq 0.05$

Values followed by the same letters within each column are not significantly different according to DMRT ($p \leq 0.05$)

สำหรับสายพันธุ์ *Echinocereus rigidissimus* พบว่าชิ้นส่วนยอดแบบผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร ให้การชักนำยอดสูงสุด 60.25 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 7.53 ยอดต่อชิ้นส่วน แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) Israeli และคณะ (1995) รายงานว่า ขนาดของชิ้นส่วนพืชเป็นปัจจัยสำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยชิ้นส่วนที่มีขนาดเล็กมีผลต่อความสามารถในการพัฒนาให้เกิดแคลลัสและยอดกว่าชิ้นส่วนที่มีขนาดใหญ่ จากการทดลองจะเห็นได้จากชิ้นส่วนที่ไม่ผ่าแบ่งมีจำนวนยอดใหม่ที่เกิดขึ้นได้น้อยกว่าการผ่าครึ่งตามแนวยาว เนื่องจากโดยปกติตา

ข้าง (lateral bud) จะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตโดยออกซินที่ถูกสร้างขึ้นจากส่วนปลายยอด (apical bud) ซึ่งเรียกว่าการข่มของตายอด (apical dominant) โดยตายอดสร้างออกซินขึ้นมาในปริมาณที่สูงแล้วลำเลียงลงสู่ด้านล่าง ความเข้มข้นสูงจะยับยั้งการเจริญเติบโตของตาและใบด้านข้างไม่ให้เจริญเติบโต แต่เมื่อผ่าชิ้นส่วนออกความเข้มข้นของออกซินจะลดลง ทำให้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของตาด้านข้างและใบ พืชจึงแตกตาด้านข้างได้และทำให้ต้นพืชมีลักษณะเป็นพุ่ม (Jarassamrit, 1994; Tongumpai, 1986) ดังนั้น เมื่อผ่าครึ่งชิ้นส่วนทำให้ออกซินจากปลายยอดมีปริมาณลดลง ตาข้างที่ถูกข่มไว้จึงสามารถพัฒนาเป็นยอดใหม่และมีจำนวนมากขึ้น สอดคล้องกับการผ่าหน่อกล้วยพันธุ์ปลูก ‘Yangambi’ ตามยาวออกเป็น 4 ส่วน แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ส่งเสริมให้เกิดยอดรวมใหม่ได้เฉลี่ย 8.37 หน่อต่อชิ้นส่วน มากกว่าหน่อที่ไม่ได้ผ่าแบ่ง 2 เท่า (Ngomuo *et al*., 2014) ชิ้นส่วนยอดกระบองเพชรสายพันธุ์ *Echinocereus rigidissimus* แบบผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากการเติมน้ำตาลซูโครส ให้ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 12 มิลลิเมตร ในขณะที่ชิ้นส่วนยอดกระบองเพชรสายพันธุ์ *Echinocereus rigidissimus* แบบไม่ผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ให้การชักนำรากสูงสุด 25.15 เปอร์เซ็นต์ และชิ้นส่วนยอดกระบองเพชรสายพันธุ์ *Echinocereus rigidissimus* แบบไม่ผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร ให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 10 มิลลิเมตร (Table 2) ทั้งนี้น้ำตาลเป็นส่วนประกอบที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เนื่องจากเป็นปัจจัยสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสงซึ่งมีผลการเจริญเติบโตของพืช เพราะในสภาพปลอดเชื้อภายในขวดเพาะเลี้ยงจะมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จำกัด และการเจริญเติบโตของกระบองเพชรจำเป็นต้องใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน โดยน้ำตาลจะถูกย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์ที่พืชปลดปล่อยออกมาสู่อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Pierik, 1987)

Table 2 Effect of different concentrations of sucrose and explant types on proliferation of *E. rigidissimus* after 8 weeks of culture

Explant types	Concentrations of sucrose (g/L)	Shoot induction (%)	Number of shoot (shoots/ explant)	Length of shoot (mm)	Root induction (%)	Length of root (mm)	Number of root (roots/explant)
Full	0	8.15^{e}	0.81^{d}	11.80^{a}	10.22^{c}	5.80^{a}	1.10
	15	15.24^{d}	1.17^{c}	6.80^{b}	19.36^{b}	10.00^{a}	1.70
	30	25.22^{c}	1.07^{c}	9.60^{ab}	25.15^{a}	8.50^{a}	1.70
	45	27.95^{c}	1.23^{c}	8.80^{ab}	22.11^{ab}	6.40^{a}	1.60
Half	0	9.25^{e}	0.92^{d}	12.00^{a}	9.25^{c}	4.80^{a}	0.60
	15	16.45^{d}	1.16^{c}	5.60^{b}	13.65^{bc}	1.20^{b}	0.20
	30	45.25^{b}	3.26^{b}	7.30^{ab}	19.22^{b}	0.30^{b}	0.30
	45	60.25^{a}	7.53^{a}	5.20^{b}	16.65^{bc}	0.30^{b}	1.70
F-test		*	*	*	*	*	ns
C.V. (%)		14.88	18.26	16.92	14.27	17.48	13.29

ns = not significantly difference, * = significantly difference at $p \leq 0.05$

Values followed by the same letters within each column are not significantly different according to DMRT ($p \leq 0.05$)

Table 3 Effect of different concentrations of sucrose and explant types on proliferation of *E. grusonii* after 8 weeks of culture

Explant types	Concentrations of sucrose (g/L)	Shoot induction (%)	Number of shoot (shoots/ explant)	Length of shoot (mm)	Root induction (%)	Length of root (mm)	Number of root (roots/explant)
Full	0	13.27^{c}	0.54^{c}	8.50	10.33^{b}	8.15^{ab}	1.40^{a}
	15	15.25^{c}	0.88^{c}	8.60	16.35^{a}	11.50^{a}	2.40^{a}
	30	16.25^{c}	0.84^{c}	5.40	15.25^{a}	5.10^{c}	1.30^{a}
	45	16.97^{c}	0.86^{c}	4.30	12.45^{b}	3.70^{d}	1.30^{a}
Half	0	10.46^{c}	0.79^{c}	6.10	0.00^{d}	0.00^{e}	0.00^{b}
	15	13.69^{c}	0.87^{c}	6.90	6.25^{c}	5.40^{c}	1.00^{ab}
	30	27.56^{b}	1.35^{b}	3.90	10.24^{b}	5.10^{c}	1.30^{a}
	45	36.18^{a}	3.69^{a}	5.40	13.66^{b}	4.20^{cd}	1.60^{a}
F-test		*	*	ns	*	*	*
C.V. (%)		16.25	17.89	15.29	18.33	19.25	18.25

ns = not significantly difference, * = significantly difference at $p \leq 0.05$

Values followed by the same letters within each column are not significantly different according to DMRT ($p \leq 0.05$)

สำหรับชิ้นส่วนยอดกระบองเพชรสายพันธุ์ *Echinocactus grusonii* แบบผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร ให้การชักนำยอดสูงสุด 36.18 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.69 ยอดต่อชิ้นส่วน แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่สำหรับชิ้นส่วนยอดกระบองเพชรสายพันธุ์ *Echinocactus grusonii* แบบไม่ผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร ให้ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 8.60 มิลลิเมตร การชักนำราก 16.35 เปอร์เซ็นต์ จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 11.50 รากต่อชิ้นส่วน และความรากเฉลี่ยสูงสุด 2.40 มิลลิเมตร แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (Table 3) ทั้งนี้เนื่องจากการเติมน้ำตาลลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน จากการทดลองในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าอาหารสูตรที่ไม่เติมน้ำตาลให้การชักนำยอด จำนวนยอดเฉลี่ย การชักนำราก และจำนวนรากเฉลี่ยได้น้อยกว่าอาหารสูตรที่เติมน้ำตาล ดังนั้นการเติมน้ำตาลลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงนับว่ามีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืชทั้งส่วนยอดและราก โดยลักษณะยอดแต่ละสายพันธุ์จะแตกยอดออกเป็นจำนวนมาก รูปร่างกลม เกาะกันแน่น อวบน้ำ มีสีเขียวเข้มและสีเขียวอ่อน (Figure 1)

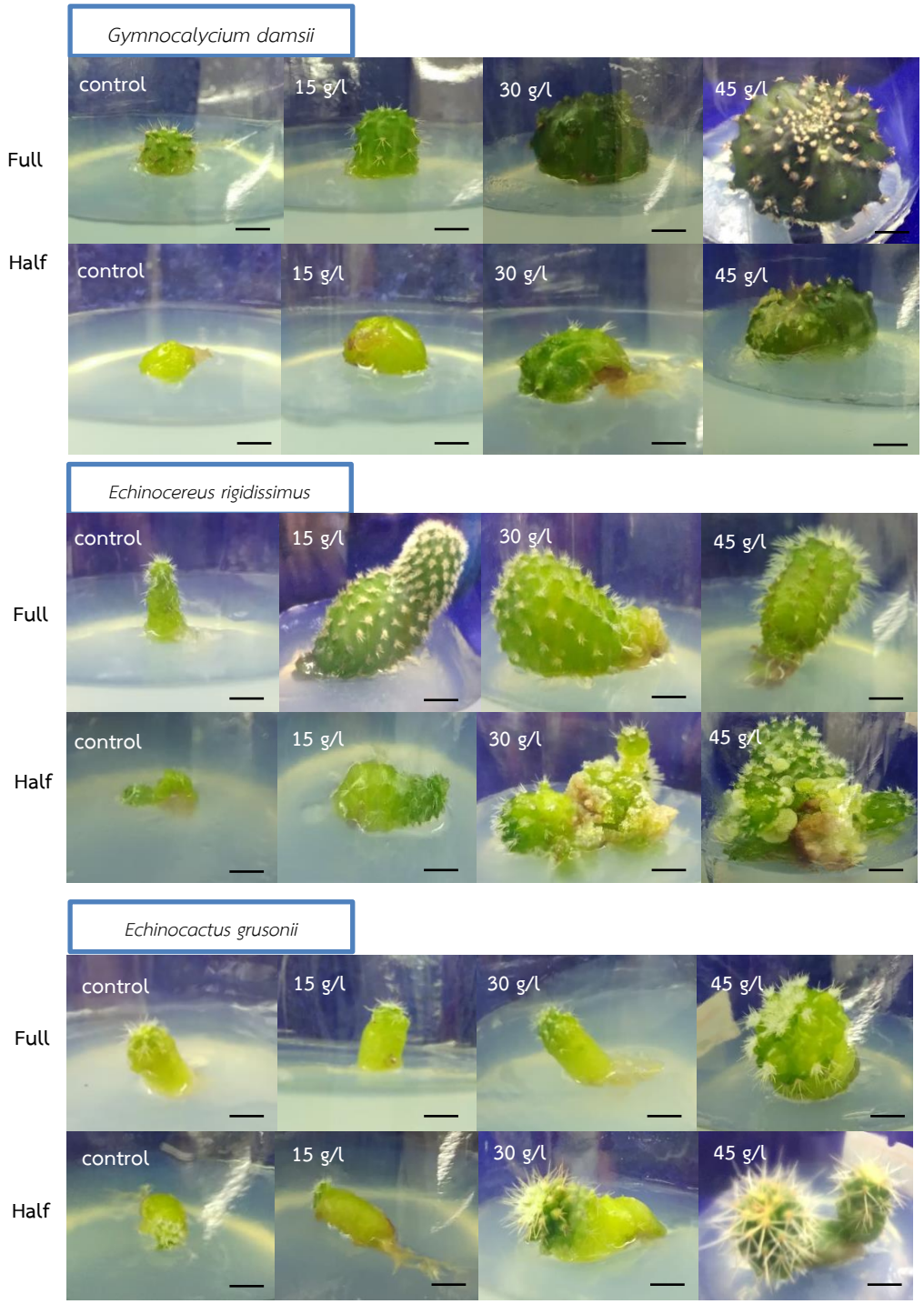

Figure 1 Characteristic of shoot and root formation of 3 genotypes cactus were cultured on MS medium supplemented with difference concentration of sucrose after culturing for 8 weeks. (bars = 0.5 cm)

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของกระบองเพชร 3 สายพันธุ์ บนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดกระบองเพชรแบบไม่ผ่าครึ่งและแบบผ่าครึ่งทั้ง 3 สายพันธุ์บนอาหารสูตร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครสระหว่างช่วงความเข้มข้น 0 - 15 กรัมต่อลิตร ให้ดีผลที่สุดต่อการเจริญเติบโตทั้งความยาวต้นและราก สอดคล้องกับงานวิจัยของ Cortés-Olmos C และคณะ (2018) ได้ศึกษา *Lophophora williamsii* ไม้ประดับจำพวกกระบองเพชร พบว่าอัตราการเจริญเติบโตในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครส 15 กรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุดสำหรับการเพิ่มขนาดต้นอ่อนสูงสุด 4-5 มิลลิเมตร ในขณะที่การเพิ่มขนาดของตุ่มหนามได้ดีที่สุด 2-3 มิลลิเมตร Neto และคณะ (2003) รายงานว่าน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลที่เหมาะสมที่สุดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทั่วไป เพราะน้ำตาลดังกล่าวมีค่าออสโมติกโพเทนเชียลที่ต่ำกว่าน้ำตาลชนิดอื่น ๆ เมื่อเปรียบเทียบในระดับความเข้มข้นที่เท่ากัน นอกจากนี้น้ำตาลซูโครสยังสามารถรักษาระดับความเป็นกรดด่างของอาหารเพาะเลี้ยงได้ใกล้เคียงกันไม่ว่าจะเป็นก่อนหรือหลังการนึ่งฆ่าเชื้อช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งยอดและราก (Mamiya and Sakamoto, 2000; Calamar and Klerk, 2002) การเพิ่มจำนวนคลอโรพลาสต์และองค์ประกอบของเม็ดแป้ง (Dimassi and Bosabalidis, 1997) การชักนำโซมาติกเอ็มบริโอ (Wilson *et al*., 1996) และการเจริญเติบโตและชักนำพืชต้นใหม่

2. ผลของ BA ต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของกระบองเพชร 3 สายพันธุ์

นำชิ้นส่วนยอดของกระบองเพชรทั้ง 3 สายพันธุ์ ขนาด 0.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า กระบองเพชรสายพันธุ์ทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถชักนำยอดได้ทุกสายพันธุ์ โดยพบว่าชิ้นส่วนยอดของกระบองเพชรสายพันธุ์ *G. damsii* และ สายพันธุ์ *Echinocereus rigidissimus* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำยอดสูงสุด 60.25 และ 75.25 เปอร์เซ็นต์ และให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.53 ยอดต่อชิ้นส่วน และ 10.40 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ในขณะที่ชิ้นส่วนยอดของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Echinocactu. grusonii* ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS เติม BA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำยอดสูงสุด 67.25 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.27 ยอดต่อชิ้นส่วน แตกอย่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (Table 4) โดยแต่ละสายพันธุ์จะแตกยอดออกเป็นจำนวนมาก รูปร่างกลมเกาะกันแน่น อวบน้ำ มีสีเขียวเข้มและสีเขียวอ่อน (Figure 2) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pérez-Molphe-Balch และคณะ (1998) ได้ทำการศึกษาผลของ BA ต่อการชักนำให้เกิดยอดของกระบองเพชรสายพันธุ์ *Mammillaria candida* และ *M. craigii* ผลการทดลองพบว่ากระบองเพชรสายพันธุ์ *M. candida* และ *M. craigii* วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 13.25±2.37 และ 4.65±0.35 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ตามลำดับ Masakee และคณะ (2016) เพาะเลี้ยงแคลลัสฮาโวเทียบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การเกิดจุดสีเขียว 75.00 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนการเกิดจุดสีเขียว 48.75 จุด เช่นเดียวกับ Rittirong และคณะ (2019) ได้ศึกษาผลของ BA ต่อการชักนำยอดของกระบองเพชรสายพันธุ์ *G. damsii* จากการศึกษา พบว่า อาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดมากที่สุด 0.70 ยอดต่อชิ้นส่วน Bhattacharya และคณะ (1997) พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาข้างของ *Jasminum officinale* L. บนอาหารสูตรที่เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอด 2.5 ยอดต่อชิ้นส่วน ทั้งนี้เนื่องจาก BA เป็นสารที่ใช้กระตุ้นการเจริญเติบโตประเภท cytokinin ซึ่งสามารถกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ การแตกยอดใหม่ได้ และจากการทดลองนี้พบว่า จำนวนยอดลดลงเมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Kachonpadungkitti และ Jala (2015) ซึ่งเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนโคนใบของแก้วมังกรบนอาหาร เติม BA และ kinetin ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า ความยาวรากและความสูงของลำต้นลดลงเมื่อความเข้มข้นของ BA และเพิ่ม kinetin มากขึ้น แต่ที่ความเข้มข้น BA และ kinetin เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ผลดีที่สุด โดยให้ค่าเฉลี่ยสูงสุดทั้งความยาวรากและลำต้น (ต้นอ่อนสูง 1.32 เซนติเมตร และ 1.28 เซนติเมตร ตามลำดับ)

สรุป

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดแบบไม่ผ่าและผ่าครึ่งตามแนวยาวของกระบองเพชรแต่ละสายพันธุ์ให้การตอบสนองต่อน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แตกต่างกัน คือ ชิ้นส่วนต้นอ่อนของกระบองเพชรสายพันธุ์ *G. damsii* แบบผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร ให้ความยาวต้นเฉลี่ยสูงสุด 9.50 มิลลิเมตร และแบบไม่ผ่าครึ่งที่น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร ให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 14.70 มิลลิเมตร และที่น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 1.60 รากต่อชิ้นส่วน ส่วนสายพันธุ์ *Echinocereus rigidissimus* แบบผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากการเติมน้ำตาลซูโครสให้ความยาวต้นเฉลี่ยสูงสุด 12.00 มิลลิเมตร และแบบไม่ผ่าครึ่งที่ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 15 กรัมต่อลิตร ให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 10.00 มิลลิเมตร จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 1.70 รากต่อชิ้นส่วน สำหรับสายพันธุ์ *Echinocactus grusonii* แบบไม่ผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร ให้ความยาวต้นเฉลี่ยสูงสุด 8.60 มิลลิเมตร ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 11.50 มิลลิเมตร และจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 2.40 รากต่อชิ้นส่วน การศึกษาผลของ BA ต่อพัฒนาการและการเจริญเติบโตของกระบองเพชร 3 สายพันธุ์ พบว่าชิ้นส่วนยอดกระบองเพชรสายพันธุ์ *G. damsii* และสายพันธุ์ *Echinocereus rigidissimus* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.53 ยอดต่อชิ้นส่วน และ 10.40 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ และสายพันธุ์ *Echinocactus grusonii* ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.27 ยอดต่อชิ้นส่วน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ที่เอื้อเฟื้อในการทำวิจัย

Table 4 Effect of difference concentrations of BA on shoot proliferation of 3 genotypes cactus after 4 weeks of culture

Concentrations of BA (mg/L)	Shoot induction (%)			Number of shoot (shoots/explant)		
	G. damsii	*E. rigidissimus*	*E. grusonii*	*G. damsii*	*E. rigidissimus*	*E. grusonii*
0	36.33^{b}	25.75^{b}	13.33^{b}	2.60^{b}	2.20^{b}	0.40^{b}
1	60.25^{a}	75.25^{a}	64.85^{a}	3.53^{a}	10.40^{a}	2.13^{a}
2	26.75^{b}	28.05^{b}	67.25^{a}	0.27^{c}	4.47^{b}	2.27^{a}
3	24.25^{b}	70.15^{a}	48.25^{ab}	0.87^{c}	9.53^{a}	1.40^{ab}
F-test	*	*	*	*	*	*
C.V. (%)	13.24	15.21	15.78	13.11	14.26	12.33

* = significantly difference at $p \leq 0.05$

Values followed by the same letters within each column are not significantly different according to DMRT ($p \leq 0.05$)

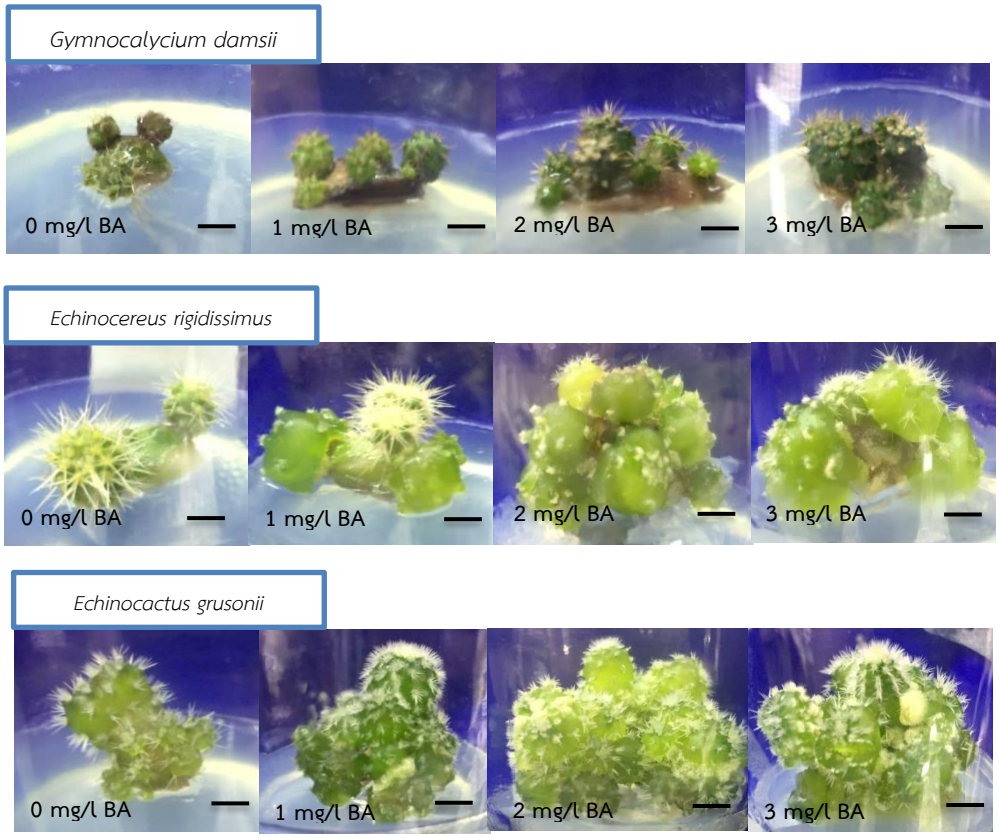

Figure 2 Characteristic of shoot proliferation of 3 genotypes cactus were cultured on MS medium supplemented with difference concentrations of BA after 4 weeks culture (bars = 0.5 cm)

เอกสารอ้างอิง

Bhattacharya, S. 1997. Rapid multiplication of *Jasminum officinaie* L. by *in vitro* culture of nodal explants. Plant Cell, Tissue and Organ culture 51: 57-60.

Calamar, A. and Klerk, G. J. 2000. Effect of sucrose on adventitious root regeneration in apple. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 70: 207-212.

Cortés-Olmos, C., Gurrea-Ysasi, G., Prohens, J., Rodríguez – Burruezo, A. and Fita, A. 2018. *In vitro* germination and growth protocols of the ornamental *Lophophora williamsii* (Lem.) Coult. as a tool for protecting endangered wild populations. Scientia Horticulturae 237: 120-127.

Dimassi, T.K. and Bosabalidis, A.M. 1997. Effect of light, magnesium and sucrose on leaf anatomy, photosynthesis, starch and total sugar accumulation, in kiwifruit cultured *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 47: 127-134.

Imraporn, S. 2016. Carry out a garden with a new hybrid cactus makeover to please customers. WKhaenket 40(9): 191-194.

Israeli, Y., Lahav, E. and Reuveni, O. 1995. *In vitro* culture of bananas, pp. 147-178. Bananas and Plantains, World Crop Series. Dordrecht: Springer.

Jarassamrit, N. 1994. Plant hormones and plant growth regulators, Bangkok: Sahamit Off Set. (in Thai)

Kachonpadungkitti, Y. and Jala, A. 2015. Influence of BA, IAA, 2,4-D and kinetin on micropropagation of *Hylocereus undatus* from segments of hypocotyl and true Leaf. Thai Journal of Science and Technology 4: 147-154. (in Thai)

Lema-Ruminska, J. 2014. Micropropagation of cacti - a review. Haseltonia 19: 46–63.

Mamiya, M. and Sakamoto, Y. 2000. Effect of sugar concentration and strength of basal medium on conversion of somatic embryos in *Asparagus officinalis* L. Scientia Horticulturae. 84: 15-26.

Masakee, N., Yenchon, S. and Te-chato, S. 2016. Effect of plant growth regulators on *in vitro* Callus and shoot induction of haworthia. Songklanakarin Journal of Plant Science 3: 76-82.

Neto, V.B.P. and Otoni, W.C. 2003. Carbon sources and their osmotic potential in plant tissue culture: does it matter?. Scientia Horticulturae 97: 193-202.

Ngomuo, M., Mneney, E. and Ndakidemi, P. 2014. The effect of bud splitting on suppression of apical dominance and inducing multiple buds development in banana shoots tip cultures of cv. 'Yangambi' (AAA) in Tanzania, American journal of experimental agriculture 4: 1853-1860.

Pérez-Molphe-Balch, E., Pérez-Reyes, M.E., Villalobos, A.E., Meza, R.E, del Rocío Morones, R.L. and Lizalde Viramontes, H.J. 1998. Micropropagation of 21 species of Mexican cacti by axillary proliferation. *In Vitro* Cellular and Developmental Biology–Plant 34: 131–135.

Rittirong, C., Kiriphet, S., Rodduang, P. and Ramasoot, S. 2019. Propagation of *Gymnocalycium damsii* by tissue culture techniques. Journal of Physics and General Science 3: 9-17. (in Thai)

Ramasoot, S. 2017. Micropropagation of *Rhynchostylis gigantean* (Lindl.) Ridl. 'Chang Phueak' through protocorm like-bodies: Effect of plant growth regulators, characteristics of protocorm and strength culture media. Acta Horticulturae (ISHS) 1167: 81-86.

Supanantananon, P. 2019. Cactus. Bangkok: Amarin printing and publishing.

Tongumpai, P. 1986. Plant Hormones. Kasetsart University. (in Thai)

Wilson, D.P.M., Sullivan, J.A., Marsolasis, A.A., Tsujita, M.J. and Senaratna, T. 1996. Improvement of somatic embryogenesis in *Zonal geranium*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 47: 27-32.

Wanbutta, W. 2016. Flowering cactus plants. Bangkok: Amarin printing and publishing. (in Thai)

SJPS-O-M-02-208