



ผลของ 2,4-D ต่อการชักนำแคลลัสกระบองเพชรยิมโนต่าง (*Gymnocalycium mihanovichii*) ในสภาพปลอดเชื้อ

นพรัตน์ อินตา^{1,2,*} นุชนาฏ ภัคดี^{1,2} มงคล ศิริจันทร์^{1,2} และพีระศักดิ์ ฉายประสาท^{1,2}

¹ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก 65000

²สถานวิจัยเพื่อความเป็นเลิศทางวิชาการด้านเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยนเรศวร จ. พิษณุโลก 65000

*Corresponding author: noppharati@nu.ac.th

(Received May 18, 2022; Revised June 20, 2022; Accepted September 6, 2022)

บทคัดย่อ

การขยายพันธุ์กระบองเพชรยิมโนต่าง (*Gymnocalycium mihanovichii*) ด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นำเมล็ดกระบองเพชรมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 70% เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วย Clorox® ความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 10 นาที จากนั้น ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำเมล็ดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วไปเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ จนกระทั่งเมล็ดงอกเป็นต้นอ่อน จากนั้นย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อชักนำแคลลัสเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายใต้สภาวะที่ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน (2,500 ลักซ์) ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส เท่ากับ 40.6, 73.6, 75.8, 77.2 และ 78.4% ตามลำดับ และมีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ย 0.26, 0.49, 0.82, 1.43 และ 1.85 กรัม ตามลำดับ การชักนำแคลลัสด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม/ลิตร ส่งผลให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงที่สุด 78.4% และมีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยสูงที่สุด 1.85 กรัม และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

คำสำคัญ: กระบองเพชร, *Gymnocalycium mihanovichii*, การขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, แคลลัส

Effect of 2,4-D on Callus Induction of *Gymnocalycium mihanovichii* *In vitro*

Noppharat Intha^{1,2,*}, Nuchanat Phakdee^{1,2}, Mongkon Sirijan^{1,2} and Peerasak Chaiprasart^{1,2}

¹Department of Agricultural Sciences, Faculty of Agriculture Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

²Center of Excellence in Postharvest Technology, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

*Corresponding author: noppharati@nu.ac.th

(Received May 18, 2022; Revised June 20, 2022; Accepted September 6, 2022)

Abstract

Seeds of *Gymnocalycium mihanovichii* were surface sterilized by 70% ethanol for 1 minutes followed by 10% Clorox® for 10 minutes and three rinses. The sterilized seeds were culture on Murashige and Skoog (MS) medium for 10 weeks until the seeds germinated into the micro shoots. Then the micro shoots were cultured on MS medium modified by supplementation with 0, 1, 2, 3 and 4 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). For callus induction incubated at 25±2°C under a 16 hours photoperiod (2,500 Lux) for 15 weeks. The results showed that, the percentage of callus formation of 40.6, 73.6, 75.8, 77.2 and 78.4%, and average callus weights of 0.26, 0.49, 0.82, 1.43 and 1.85 g, respectively. Callus induction on MS medium supplemented with 4 mg/L 2,4-D could induce the highest percentage of callus formation (78.4%) and the highest average of callus weight (1.85 g) and statistically significant difference at the 95%.

Keywords: Cactus, *Gymnocalycium mihanovichii*, *In vitro* propagation, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, Callus



บทนำ

กระบองเพชรสกุลยิมโนคาไลเซียม (*Gymnocalycium*) มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้ ได้แก่ อาเจนตินา อูรุกวัย ปารากวัย โบลิเวีย และบราซิล มีอยู่ประมาณ 70 ชนิด ส่วนใหญ่มีหัวขนาดเล็กเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 4 – 15 เซนติเมตร หัวและดอกมีสีส้มสวยงาม และมีนิสัยออกดอกง่าย (Brickell and Cathey, 2008) สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมของประเทศไทยและประเทศแถบเส้นศูนย์สูตรได้เป็นอย่างดีเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายในประเทศไทย (บ้านและสวน, 2563) การผลิตกระบองเพชรพันธุ์ลูกผสมนั้นใช้เวลาหลายปีมีขั้นตอนตั้งแต่คัดเลือกพ่อ-แม่พันธุ์ จากนั้นผสมเกสร เพาะเมล็ด และคัดเลือกต้นลูกผสมหรือหัวที่มีลักษณะตามที่ต้องการ (แปลกและสีส้มสวยงาม) แล้วจึงนำไปขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศต่อไป แต่การขยายพันธุ์กระบองเพชรสกุลยิมโนคาไลเซียมตามธรรมชาติมีอัตราการขยายพันธุ์ต่ำ (บ้านและสวน, 2563) ดังนั้น เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงเป็นเทคนิคการขยายพันธุ์ทางเลือกที่น่าสนใจสำหรับการขยายพันธุ์กระบองเพชรยิมโนคาไลเซียมให้สามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างทวีคูณ และไม่จำกัดจำนวนซึ่งจำเป็นต้องชักนำผ่านระยะแคลลัสก่อนแล้วจึงนำไปชักนำให้เกิดต้นใหม่ต่อไป (Lema-Rumińska and Fijalkowska, 2006; Lema-Rumińska and Kulus, 2014)

การขยายพันธุ์กระบองเพชรด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีอัตราการขยายพันธุ์เร็วกว่าการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งโดยเฉพาะกับกระบองเพชรซึ่งเป็นพืชที่เจริญเติบโตช้า (Santos-Diaz et al., 2003) การขยายพันธุ์กระบองเพชรด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีข้อดีหลายประการ เช่น สามารถควบคุมความชื้น ความเข้มข้นของน้ำตาลและปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช (PGRs) เป็นต้น ส่งผลให้มีการเจริญเติบโตเร็วกว่าตามธรรมชาติหลายเท่า (Pérez-Molphe-Balch and Dávila-Figueroa, 2002) ประกอบกับเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถขยายพันธุ์ได้ตลอดทั้งปีโดยไม่ขึ้นกับฤดูกาล (Lema-Rumińska and Kulus, 2014)

การชักนำแคลลัสในกระบองเพชรนิยมใช้ 2,4-D เช่น *Gymnocalycium mihanovichii* (Lema-Rumińska and Fijalkowska, 2006; Lema-Rumińska and Kulus, 2014) *Parodia magnifica* syn. *Notocactus magnificus* (Medeiros et al., 2006) และ *Opuntia ficus-indica* (Angulo-Bejarano and Paredes-Lopez, 2011) เป็นต้น 2,4-D เป็นสารที่สำคัญต่อการเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน มีผลทำให้เกิดการแบ่งเซลล์และการขยายขนาดของเซลล์ เมื่อใช้ออกซินร่วมกับไซโตไคนินในแคลลัส (Ludwig-Müller, 2011)

ดังนั้น การศึกษาผลของ 2,4-D ต่อการชักนำแคลลัสของกระบองเพชรยิมโนต่าง (*Gymnocalycium mihanovichii*) ในสภาพปลอดเชื้อจึงเป็นขั้นตอนที่มีความจำเป็นสำหรับการขยายพันธุ์กระบองเพชรให้ได้ปริมาณมากเนื่องจากแคลลัสสามารถชักนำ และเพิ่มปริมาณได้อย่างไม่จำกัดเมื่อได้ปริมาณมากเท่าที่ต้องการแล้วจึงนำไปชักนำต้นใหม่ในสภาพปลอดเชื้อต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การฟอกฆ่าเชื้อและชักนำการงอกของเมล็ด

นำเมล็ดกระบองเพชร *G. mihanovichii* ที่เกิดการผสมระหว่างต้นต่างสีแดง (แม่) x ต่างสีแดง (พ่อ) มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยเอทานอลความเข้มข้น 70% เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วย Clorox® ความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 3 ครั้ง ๆ ละ 2 นาที นำเมล็ดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เพื่อชักนำการงอกภายใต้สภาวะมืด เป็นเวลา 10 สัปดาห์ หลังจากนั้นให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน (2,500 ลักซ์) ที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ จนกระทั่งเกิดเป็นต้นอ่อนขนาดเล็ก เพื่อเตรียมต้นอ่อนที่มีความสม่ำเสมอสำหรับการใช้ในการทดลองการชักนำแคลลัสต่อไป

ศึกษาผลของ 2,4-D ต่อการการชักนำแคลลัส

คัดเลือกต้นอ่อนกระบองเพชร *G. mihanovichii* ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 – 5 มิลลิเมตร อายุ 10 สัปดาห์ นำมาตัดรากและเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิกรัม/ลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน (2,500 ลักซ์) ที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 15 สัปดาห์ เพื่อชักนำแคลลัสในสภาพปลอดเชื้อ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) จำนวน 5 กรรมวิธี ๆ ละ 15 ซ้ำ ๆ ละ 1 ขวด ๆ ละ 1 ต้น

การบันทึกผลการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติ

บันทึกผลการทดลองทุก ๆ 1 สัปดาห์ ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสและน้ำหนักแคลลัส เป็นระยะเวลา 15 สัปดาห์ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการทดลองและอภิปรายผล

การฟอกฆ่าเชื้อและชักนำการงอกของเมล็ด

ภายหลังการเพาะเลี้ยงเมล็ดกระบองเพชรชนิดต่างในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าเกิดต้นอ่อนขนาดเล็กมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 มิลลิเมตร (Figure 1) ปรากฏลักษณะที่แตกต่างกัน เช่น สีเขียว (88%) และสีแดง (12%) เนื่องจากเป็นเมล็ดที่เกิดการผสมข้ามระหว่างกระบองเพชรต่างสีแดง (แม่) x ต่างสีแดง (พ่อ) จากนั้น จึงคัดเลือกต้นอ่อนที่มีสีเขียวและมีขนาดสม่ำเสมอมาทำการทดลองต่อไป เพื่อลดความแปรปรวนที่เกิดจากตัวอย่างพืชที่ไม่สม่ำเสมอ

G. mihanovichii เป็นกระบองเพชรชนิดที่มีลักษณะต่าง เช่น ต่างสีแดง ต่างสีเหลือง และต่างสีม่วง เป็นต้น การเกิดลักษณะต่างตั้งแต่ต้นที่มีขนาดเล็กนับว่าเป็นข้อดีสำหรับการคัดเลือกพันธุ์ทำให้สามารถคัดเลือกลักษณะที่ต้องการแล้วนำไปชักนำแคลลัสเพื่อเพิ่มปริมาณให้ได้มากเท่าที่ต้องการจากนั้นจึงนำไปชักนำโซมาติกเอ็มบริโอ ชักนำต้น และชักนำรากต่อไป (Lema-Rumińska and Fijalkowska, 2006; Lema-Rumińska and Kulus, 2014)

งานวิจัยนี้ได้นำเสนอวิธีการขยายพันธุ์กระบองเพชรแบบผสมผสาน การขยายพันธุ์กระบองเพชรด้วยเมล็ดที่ได้จากการผสมข้ามทำให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรม เหมาะสำหรับการคัดเลือกและการพัฒนาสายพันธุ์กระบองเพชรให้มีลักษณะแปลกใหม่ในขณะที่การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ) เป็นการขยายพันธุ์ที่โดดเด่นในด้านอัตราการเพิ่มปริมาณต่อตัวอย่างพืช จึงถือเป็นแนวทางในการขยายพันธุ์กระบองเพชรในเชิงพาณิชย์ได้

ผลของ 2,4-D ต่อการชักนำแคลลัส

ผลการชักนำแคลลัสของกระบองเพชรในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่า เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส เท่ากับ 40.6, 73.6, 75.8, 77.2 และ 78.4% ตามลำดับ และแคลลัสมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.26, 0.49, 0.82, 1.43 และ 1.85 กรัมตามลำดับ (Table 1, Figure 2) กรรมวิธีที่ให้ผลดีที่สุด คือ 2,4-D ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสสูงที่สุด 78.4% และชักนำให้เกิดแคลลัส 1.85 กรัม และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% นอกจากนี้ยังพบว่าในกรรมวิธีเดียวกันนี้ สามารถชักนำให้เกิดกระบองเพชรต้นใหม่ที่พัฒนาจากแคลลัส จำนวน 2.5 ต้น/ตัวอย่าง (Figure 2)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระบองเพชรผ่านระยะแคลลัสและชักนำต้นใหม่โดยใช้ PGRs เกิดขึ้นเป็นครั้งแรกโดย Johnson and Emino (1979) และยังได้รับความนิยมจนถึงปัจจุบันในกระบองเพชรหลากหลายชนิด (Lema-Rumińska and Kulus, 2014) เช่น *Turbinicarpus laui* (Rosas et al., 2001) *Ariocarpus kotschoubeyanus* (Moebius-Goldammer et al., 2003) *Melocactus matanzanus* (Wyka, 2008) *Epithelantha micromeris* (Villavicencio et al., 2012) และ *Echinocactus platycanthus* (Cruz-Mora et al., 2013) เป็นต้น

การชักนำแคลลัสจากต้นอ่อนด้วย 2,4-D เป็นเทคนิคการขยายพันธุ์โดยการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ร่างกาย (somatic cells) เกิดเป็นกลุ่มของเซลล์ parenchyma จับตัวอย่างหลวม ๆ โดยแคลลัสสามารถชักนำและพัฒนาไปเป็นต้นใหม่และรากได้ภายหลังซึ่งเป็นกระบวนการการขยายพันธุ์กระบองเพชรให้ได้ต้นใหม่จำนวนมากขึ้นตอนการชักนำแคลลัสเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญเนื่องจากแคลลัสสามารถเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็ว และเป็นเซลล์ตั้งต้นสำหรับชักนำต้นใหม่ต่อไป (Lema-Rumińska and Kulus, 2014)

การชักนำแคลลัสในกระบองเพชรนิยมใช้ 2,4-D เช่น *Schlumbergera truncata* สามารถชักนำแคลลัสด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 13.57 μM (Amir et al., 2001) *Aylosteria (rebutia) heliosa* สามารถชักนำแคลลัสด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 11.31 μM (Vidican and Urdea, 2011) หรือใช้ 2,4-D ร่วมกับ Benzyl adenine (BA) เช่น *Parodia magnifica* syn. *Notocactus magnificus* สามารถชักนำแคลลัสด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 μM ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 4.4 μM (Medeiros et al., 2006) *Opuntia ficus-indica* สามารถชักนำแคลลัสด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2.45 μM ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.21 μM และยังสามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้อีกด้วย (Angulo-Bejarano and Paredes-Lopez, 2011)

การขยายพันธุ์กระบองเพชรในสภาพปลอดเชื้อเป็นที่นิยมในต่างประเทศ แต่สำหรับประเทศไทยมีการเผยแพร่ผลงานวิจัยไม่มากนักโดยเฉพาะกระบองเพชรนิมโนต่าง *G. mihanovichii* ยังไม่พบการเผยแพร่ผลงานวิจัยในประเทศไทยมาก่อน ดังนั้น ผลงานวิจัยนี้จึงสามารถใช้เป็นแนวทางในการศึกษาต่อยอดองค์ความรู้การขยายพันธุ์กระบองเพชรในสภาพปลอดเชื้อต่อไป ซึ่งการขยายพันธุ์กระบองเพชร

ในสภาพปลอดเชื้อมีข้อดีหลายประการ คือ สามารถควบคุมความชื้น ปริมาณน้ำตาล หรือสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชให้อยู่ในระดับที่ต้องการได้ส่งผลต่อการชักนำหรือเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ เช่น ชักนำแคลลัสต้นใหม่ และราก เป็นต้น ปัจจัยที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตเหล่านี้ส่งผลให้กระบองเพชรที่ขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ มีอัตราการเพิ่มจำนวนสูงกว่าวิธีดั้งเดิมหรือวิธีปกติตามธรรมชาติ (Balch and Dávila-Figueroa, 2002) โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับพืชที่จะเจริญเติบโตได้ช้าอย่างเช่นกระบองเพชร (Santos-Díaz et al., 2003)

Table 1. Effect of 2,4-D on callus induction of *G. mihanovichii* in vitro.

Treatment	Medium	Concentration of 2,4-D (mg/L)	Percentage of callus formation (%)	Fresh weight of callus (g)
1	MS	-	40.6	0.26±0.06 e
2	MS	1	73.6	0.49±0.09 d
3	MS	2	75.8	0.82±0.09 c
4	MS	3	77.2	1.43±0.15 b
5	MS	4	78.4	1.85±0.11 a

Different letters within a column indicate differences determined by Duncan's new multiple range test (DMRT) at the 95 percent level of significance.

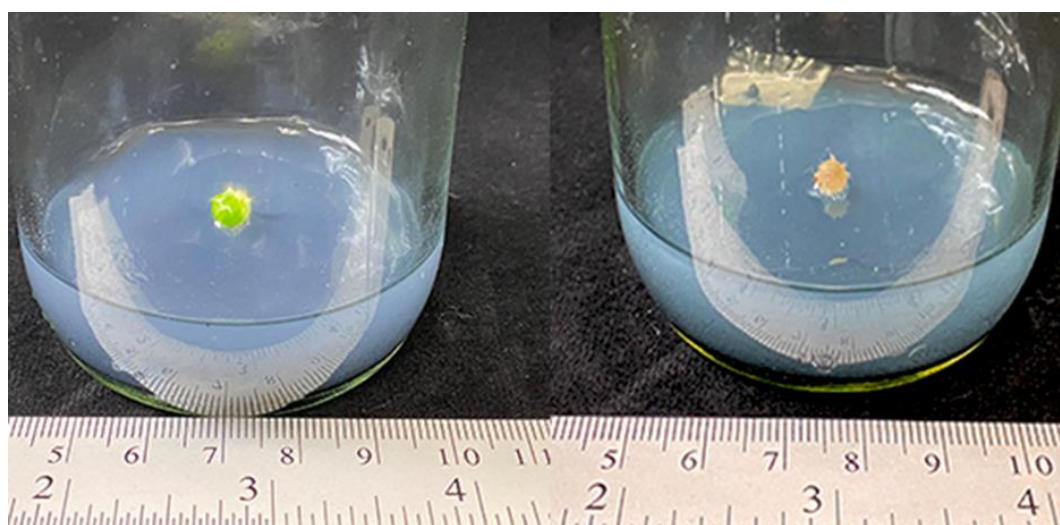


Figure 1. The seedling of *G. mihanovichii* approximately 3 mm in diameter after of culture on MS medium for 10 weeks.

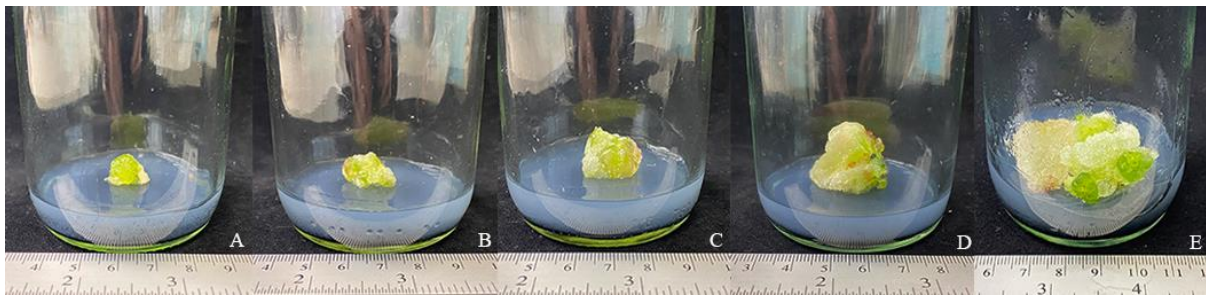


Figure 2. Callus induction of *G. mihanovichii* after cultured on modified MS medium supplemented with 2,4-D at: (A) 0 mg/L; (B) 1 mg/L; (C) 2 mg/L, (D) 3 mg/L and (E) 4 mg/L for 15 weeks

สรุป

การขยายพันธุ์กระบองเพชร *G. mihanovichii* ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เริ่มจากเพาะเมล็ดบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 10 สัปดาห์ และนำต้นอ่อนที่ได้มาชักนำแคลลัสบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม/ลิตร จะสามารถชักนำแคลลัสได้ดีที่สุดหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 สัปดาห์ และยังสามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่จากแคลลัส จำนวน 2.5 ต้น/ตัวอย่าง แต่ยังมีจำนวนไม่มากเท่าที่ควร จึงจำเป็นที่จะต้องนำไปชักนำให้เกิดต้นใหม่บนอาหารที่เติมสารควบคุมเจริญเติบโตพืชในกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinins) ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัย จากงบประมาณรายได้มหาวิทยาลัยนเรศวร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 (R2564C023) และขอขอบคุณศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนเครื่องมือวิทยาศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

- บ้านและสวน. (2563). ยิมโน 5 กระบองเพชร สายพันธุ์ใหม่จาก ‘กระท่อมลุงจรณ์’. สืบค้น 30 มีนาคม 2565, จาก <https://www.baanlaesuan.com/153674/garden-farm/cactus-5>
- Amir, A., Shagufta, N., Fayyaz, A. S., & Javed, I. (2001). Callogenesis, embryogenesis and organogenesis in christmas cactus (*Schlumbergera bridgesii*). *Pakistan Journal of Botany*, 33, 569-574.
- Angulo-Bejarano, P. I., & Paredes-Lopez, O. (2011). Development of a regeneration protocol through indirect organogenesis in prickly pear cactus (*Opuntia ficusindica* (L.) Mill.). *Scientia Horticulturae*, 128, 283-288.
- Balch, E. P. M., & Dávila-Figueroa, C. (2002). *In vitro* propagation of *Pelecypora aselliformis* Ehrenberg and *P. strobiliformis* Werdermann (Cactaceae). *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 38, 73-78.

- Brickell, C., & Cathey, H. M. (2008). *RHS A-Z Encyclopedia of Garden Plants*. London, UK: Dorling Kindersley.
- Cruz-Mora, L., Pedraza-Santos, M. E., Gutiérrez-Rangel, N., & Lárraga-Sánchez, N. (2013). Callus induction and plant regeneration in *Echinocactus platycanthus*. *Acta Horticulturae*, 1083, 173-179.
- Johnson, J. L., & Emino, E. R. (1979). *In vitro* propagation of *Mammillaria elongata*. *HortScience*, 14, 605-606.
- Lema-Rumińska, J., & Fijalkowska, A. (2006). The rate of callus growth and regeneration of embryogenic structures in cactus of *Gymnocalycium* genus depending on the light conditions. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 510, 325-331.
- Lema-Rumińska, J., & Kulus, D. (2014). Micropropagation of Cacti—a review. *Haseltonia*, 19, 46-63.
- Ludwig-Müller, J. (2011). Auxin conjugates: their role for plant development and in the evolution of land plants. *Journal of Experimental Botany*, 62(6), 1757-1773.
- Medeiros, L. A., Ribeiro, R. C. S., Gallo, L. A., Oliveira, E., & Dematte, M. (2006). *In vitro* propagation of *Notocactus magnificus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 84, 165-169.
- Moebius-Goldammer, K. G., Mata-Rosas, M., & ChavezAvila, V. M. (2003). Organogenesis and somatic embryogenesis in *Ariocarpus kotschoubeyanus* (Lem.) K. Schum. (Cactaceae), an endemic and endangered Mexican species. *In vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 39, 388-393.
- Pérez-Molphe-Balch, E., & Dávila-Figueroa, C. (2002). *In vitro* propagation of *Pelecypophora aselliformis* Ehrenberg and *P. strobiliformis* Werdermann (Cactaceae). *In vitro Cellular and Development Biology – Plant*, 38, 73-78.
- Rosas, M. M., Rosa, M. A., Goldammer, M., & Avila, M. (2001). Micropropagation of *Turbinicarpus laui* Glass et Foster, an endemic and endangered species. *In vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 37, 400-404.
- Santos-Diaz, M. S., Mendez-Ontiveros, R., & Arredondo-Gomez, A. (2003). *In vitro* organogenesis of *Pelecypophora aselliformis* Erhenberg (Cactaceae). *In vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 39, 480-484.
- Vidican, I. T., & Urdea, O. (2011). Study on the regenerative capacity and organogenesis of *Aylosteria heliosa* (Speg.) explants, in the presence of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in culture medium. *Analele Universitatii din Oradea - Fascicula Protectia Mediului*, 17, 305-312.

- Villavicencio, G. E. E., Cortés, A. G., & Carranza, P. M. A. (2012). Micropropagation of *Epithelantha micromeris* (Engelm.) F. A. C. Weber ex Britt. & Rose, ornamental cactus and photogenetic resource of the Chihuahuan Desert. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 3, 83-99.
- Wyka, T. P. (2008). *In vitro* reversion of cephalial tissue to vegetative growth in *Melocactus matanzanus*. *Haseltonia*, 14, 185-188.