

ผลของความเข้มข้นของเกลือและน้ำตาลที่มีต่อ
การเจริญของยอดจาก Thin Cell Layers ของน้อยหน่า
(*Annona squamosa* L.) ในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of macronutrient and sugar concentration
on *in vitro* shootlet growth of
(*Annona squamosa* L.) Thin Cell Layers

ธีรนนท์ ชูวีระ^{1/} และ พิมพใจ อาภาวัชรุตม์^{1/}

Theeranun chuweera^{1/} and Pimjai apavatrut^{1/}

Abstract : Shootlet growth from Thin Cell Layers (TCLs) were promoted after culturing for 10 weeks onto three kinds of macronutrients (1/2SH (1972), SH (1972) และ VW (1949)) + MS (1962) micro elements and organic additives + 2% sucrose and 0.8 % agar supplements with 8 mg/l BAP. VW macronutrients with 1% sucrose promoted growth of the especially to increase the length of their internode.

บทคัดย่อ : การศึกษาผลของความเข้มข้นของเกลือ และน้ำตาลต่อการเจริญของยอดที่ได้จาก Thin Cell Layer (TCLs) ของน้อยหน่า เมื่อเลี้ยงยอดบนอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือ 3 ชนิด คือ 1/2SH, SH และ VW โดยใช้ธาตุอาหารรอง สารประกอบอินทรีย์ และ เกลือสูตร MS ร่วมกับน้ำตาล 3 ระดับ คือ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ และใช้ BAP 8.0 มก/ล พบว่ายอดสามารถเจริญได้ดีบนอาหารสูตร VW ที่ใช้ร่วมกับ น้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะความยาวข้อ

Index words : น้อยหน่า สภาพปลอดเชื้อ

Annona squamosa L., Thin Cell Layers (TCLs), macronutrient, sugar, shootlet growth

^{1/} ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

^{1/} Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

บทนำ

น้อยหน้าเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กที่มีการเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อนและแห้งแล้ง เช่น ไทย นอกจากนั้นยังเป็นผลไม้ส่งออกของไทย ถึงแม้ว่ามูลค่าการส่งออกจะไม่มากนักแต่การส่งออกในหลายปีที่ผ่านมาทำให้มองเห็นว่าน้อยหน้ายังสามารถขยายการตลาดออกไปได้อีกพอสมควร (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2531) น้อยหน้าเป็นผลไม้ที่มีรสหวาน มีกลิ่นหอม แต่มีเมล็ดมาก การขยายพันธุ์น้อยหน้าวิธีเดิมใช้การเพาะเมล็ด แต่การเพิ่มปริมาณ ต้นพันธุ์จากเมล็ดตามธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การออกต่างออกยาก (ประศาสตร์, 2538) หากมีการปรับปรุงพันธุ์ให้มีเมล็ดลีบหรือไม่มีเมล็ด และคุณภาพการเก็บรักษาดีขึ้น น่าจะทำให้ศักยภาพการเก็บรักษาในการจำหน่ายทั้งในและต่างประเทศเพิ่ม การปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพช่วยทำให้ได้พันธุ์ใหม่ๆ ในระยะเวลาอันรวดเร็ว แต่วิธีการนี้ต้องใช้วัสดุทดลองปริมาณมาก จึงควรมีการศึกษาเรื่องการขยายพันธุ์น้อยหน้าเพื่อให้ได้ยอดพันธุ์ที่สม่ำเสมอในปริมาณมากอย่างเพียงพอเพื่อใช้ในการทดลอง นอกจากนี้หลังจากปรับปรุงพันธุ์แล้วยังสามารถนำวิธีการที่เหมาะสมใช้ในการขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณต้นที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป การขยายพันธุ์จากส่วนต่างๆ ของต้นกล้าพันธุ์น้อยหน้าโดยใช้เนื้อเยื่อขนาดเล็กลงน่าจะทำได้ต้นพันธุ์จำนวนมากขึ้นจากต้นกล้าต้นเดียว (Ahn et al., 1996) นอกจากนั้นการใช้เนื้อเยื่อขนาดใหญ่มาปรับปรุงพันธุ์ในทางชีวภาพจะได้ผลน้อยกว่าการใช้เนื้อเยื่อขนาดเล็ก เพราะสามารถควบคุมสภาพแวดล้อมที่ใช้เลี้ยงได้ง่ายกว่าการใช้เนื้อเยื่อขนาดใหญ่ (Tran Thanh Van, 1973) ด้วยเหตุนี้จึงวางแผนการทดลองเพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานในการนำไปใช้

ผลของความเข้มข้นของเกลือและน้ำตาลที่มีต่อการเจริญของยอดจาก Thin Cell Layers ของน้อยหน้า

ประโยชน์ในด้านการปรับปรุงพันธุ์น้อยหน้าและเพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์น้อยหน้าเพื่อเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์โดยวิธี Thin cell layers (TCLs)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1 พืชทดลอง

1.1 การเตรียมต้นกล้าพันธุ์น้อยหน้า

เตรียมเมล็ดพันธุ์น้อยหน้าพันธุ์ฝ้าย โดยแกะเมล็ดจากผลน้อยหน้าสด ล้างเมล็ดให้สะอาด แกะเยื่อหุ้มเมล็ดออก แล้วทำการฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดโดยการนำมาแช่ในน้ำยา Clorox ที่มีความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เดิม Tween 20 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นจึงนำเมล็ดด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง โดยทำในตู้ปลอดเชื้อ หลังจากนั้นนำไปเพาะบนอาหารสูตร White (1963) โดยเพาะ 1 เมล็ดต่อ 1 หลอดทดลอง นำไปเลี้ยงไว้ในที่มีอุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จนเกิดต้นกล้าที่มีความยาว 7 ซม.

1.2 การเตรียมยอดอ่อนน้อยหน้า เพื่อนำไปทดลองใช้เนื้อเยื่อของลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง (จาก 1.1) โดยใช้ส่วนปลายขนาด 1 มม. ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร SH (1972) ที่มี BAP 8.0 มก/ล ในหลอดทดลองขนาด 25 x 150 มม. โดยสภาพ การเลี้ยงเริ่มแรกนี้มีความเข้มแสงประมาณ 1,500 ลักซ์ (lux) ให้แสง 24 ชม/วัน อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เลี้ยงจนเกิดยอดอ่อนอายุ 2 สัปดาห์ จึงนำไปทำการทดลองต่อไป

2. สารเคมีที่ใช้

- 2.1 ธาตุอาหารหลักสูตร SH (1972)
- 2.2 ธาตุอาหารหลักสูตร SH (1972)
- 2.3 ธาตุอาหารหลักสูตร VW (1949)

2.4 ธาตุอาหารรองสารประกอบอินทรีย์ และ
เหล็กสูตร MS (1962)

2.5 BAP 8.0 มก/ล

2.6 วัช 8 ก/ล

2.7 น้ำตาล 20 ก/ล

วิธีการ

การทดลองประกอบด้วยอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือ 3 ระดับ คือ 1/2SH, SH และ VW ร่วมกับน้ำตาล 3 ระดับ คือ 3, 2 และ 1 เปอร์เซ็นต์ โดยวางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์รวมเป็น 9 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ

ผลการทดลอง

เมื่อนำชิ้นส่วนจากลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยงตัดหนา 1.00 มม. ไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นนาน 10 สัปดาห์แล้วนำผลเมื่อสิ้นสุดการทดลองไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติพบว่า

1. ผลร่วม (interaction) ระหว่างความเข้มข้นของเกลือและน้ำตาล ที่มีต่อความสูงเฉลี่ยของต้น ความยาวข้อเฉลี่ย ความกว้างและความยาวเฉลี่ยของใบ รวมทั้งจำนวนใบเฉลี่ยได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 ความเข้มข้นของเกลือและน้ำตาลที่ใช้ในอาหารมีอิทธิพลร่วมกัน ส่งผลให้ความสูงเฉลี่ยของยอด ความยาวข้อเฉลี่ย ความกว้างและความยาวเฉลี่ยของใบ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีผลต่อจำนวนใบเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญ

สำหรับความสูงเฉลี่ยของยอด พบว่าอาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำตาลความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์และ 1 เปอร์เซ็นต์มีผลทำให้ยอดมีความสูงเฉลี่ยมากที่สุด คือ 5.51 มม. และ 4.99 มม. ตาม

ลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น (ตารางที่ 1) แต่พบว่าอาหารสูตร SH ที่ทุกระดับความเข้มข้นของน้ำตาลให้ความสูงเฉลี่ยน้อยกว่าจากที่ได้จากสูตร VW และผลของความเข้มข้นน้ำตาลก็ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในอาหารสูตร SH อาหารสูตร 1/2SH ก็ให้ผลในทำนองเดียวกัน ส่วนความยาวใบเฉลี่ย พบว่าเมื่อใช้อาหารสูตร SH หรือ 1/2SH และใช้น้ำตาล 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ให้ความยาวใบเฉลี่ยอยู่ในกลุ่มน้อยที่สุด และความยาวเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มน้ำตาลเป็น 3 เปอร์เซ็นต์ แต่ในสูตร VW น้ำตาล 1 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ให้ความยาวใบมากที่สุด ความกว้างใบ ก็แสดงผลในทำนองเดียวกัน

ส่วนความยาวข้อเฉลี่ย พบว่าอาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำตาลที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ความยาวข้อเฉลี่ยของต้นมากที่สุดคือ 1.61 มม. ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2. ผลของความเข้มข้นของเกลือ เมื่อใช้เกลือของอาหารสูตรต่างๆ กัน ทำให้ยอดมีความสูงเฉลี่ยความยาวข้อเฉลี่ย ความกว้างความยาวเฉลี่ยของใบ และจำนวนใบเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยอาหารสูตร VW ทำให้มีความสูงเฉลี่ยของยอดมากที่สุดคือ 4.41 มม. ต่างจากอาหารสูตร 1/2SH และ SH อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งผลการทดลองเป็นเช่นเดียวกับความยาวข้อเฉลี่ย ความกว้างความยาวเฉลี่ยของใบ และจำนวนใบเฉลี่ย โดยอาหารสูตร VW ให้ยอดที่มีความยาวข้อเฉลี่ยสูงสุดคือ 1.07 มม. ให้ความกว้างความยาวเฉลี่ยของใบมากที่สุดคือ 3.09 มม. และ 4.86 มม. ตามลำดับ และมีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุดคือ 5.07 ใบต่อต้น (ตารางที่ 2)

3. ผลของความเข้มข้นของน้ำตาล เมื่อใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในอาหาร ที่เติม BAP 8 มก/ล

ผลของความเข้มข้นของเกลือและน้ำตาลที่มีต่อการเจริญของยอด
จาก Thin Cell Layers ของเนื้อเยื่อ

ทำให้ยอดมีความสูงเฉลี่ยความกว้าง ความยาวเฉลี่ย
ของใบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
แต่ไม่มีผลต่อความยาวข้อเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ย
ดังแสดงไว้ใน ตารางที่ 3

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าความสูง
เฉลี่ยของต้นเพิ่มขึ้นเมื่อใช้น้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์เช่น

เดียวกันกับความกว้างและความยาวเฉลี่ยของใบ
ที่น้ำตาลความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ทำให้ใบมีความ
กว้างและยาวเฉลี่ยสูงสุดคือ 4.68 และ 2.78 มม ตาม
ลำดับ

Table 1 Shootlet height, node length, leaf size and number of leaves/shoot after 10 weeks on medium with varying macronutrients and sucrose concentration.

Macronutrients	Sucrose (%)	Shootlet height (mm)	Node length (mm)	Leaf size (mm)		Number of leaves/shoot
				length	width	
1/2 SH	1	0.82c	0.00d	1.18e	1.22c	2.00
	2	1.78bc	0.13 d	2.47cde	1.68bc	2.60
	3	1.90bc	0.24cd	3.63c	2.44b	3.40
SH	1	0.78c	0.00d	1.18e	0.89c	2.00
	2	0.76c	0.00d	2.07de	1.37c	2.20
	3	3.16c	0.16d	5.08b	2.45b	3.00
VW	1	4.99a	1.61 a	6.41a	4.11a	5.80
	2	2.72b	0.54c	2.85cd	1.70bc	4.40
	3	5.51a	1.06b	5.33ab	3.45a	5.00
LSD _{0.05}		1.38	0.35	1.30	0.89	NS

Mean within the same column with different superscript differ significantly at 95% confidence by LSD.

NS = non-significance

Table 2 Shootlet height, Node length, Leaf size and Number of leaves/shoot after 10 weeks on medium with varying micronutrients concentration.

Macronutrients	Shootlet height	Node length	Leaf size		Number of leaves/shoot
	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	
			length	width	
1/2 SH	1.50b	0.12b	2.42b	1.78b	2.67b
SH	1.57b	0.05b	2.78b	1.57b	2.40b
VW	4.41a	1.07a	4.86a	3.09a	5.07a
LSD _{0.05}	1.61	0.41	1.79	1.10	1.51

Mean within the same column with different superscript differ significantly at 95% confidence by LSD.

NS = non-significance

Table 3 Shootlet height, Node length, Leaf size and Number of leaves/shoot after 10 weeks on medium with varying sucrose concentration.

Sucrose (%)	Shootlet height	Node length	Leaf size		Number of leaves/shoot
	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	
			length	width	
1	2.20b	0.54	2.92b	2.07b	3.27
2	1.75b	0.22	2.46b	1.58b	3.07
3	3.52a	0.49	4.68a	2.78a	3.80
LSD _{0.05}	1.91	NS	1.72	1.17	NS

Mean within the same column with different superscript differ significantly at 95% confidence by LSD.

NS = non-significance

4. คุณภาพของยอดน้ำตาลความเข้มข้น 1-3 เปอร์เซ็นต์ทำให้ยอดส่วนใหญ่มีความปกติในอาหารสูตร VW ซึ่งมีเพียงบางส่วนที่ใบมีอาการนํ้า และมีลักษณะหงิกงอ แต่ในอาหารสูตร 1/2SH และ SH มีอาการที่ผิดปกติคือ ใบหงิกงอนํ้าและมีปุ่มเล็กๆ จำนวนมากขึ้นบนใบและบางส่วนของลำต้น (ภาพที่ 1)

โดยสรุปอาหารสูตร VW ที่ใช้น้ำตาลความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ต้นมีความสูง

เฉลี่ยสูงสุดรวมถึงความกว้างและความยาวเฉลี่ยของใบมากที่สุด ส่วนความยาวข้อเฉลี่ย มีเพียงอาหารสูตร VW ที่มีน้ำตาลความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นที่ทำให้ข้อมีความยาวสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ

ความเข้มข้นของเกลือ และน้ำตาลไม่มีผลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญต่อจำนวนใบและความเข้มข้นที่แตกต่างกันของน้ำตาลตั้งแต่ 1-3 เปอร์เซ็นต์ ไม่ทำให้จำนวนใบเฉลี่ยและความยาวข้อแตกต่างกัน

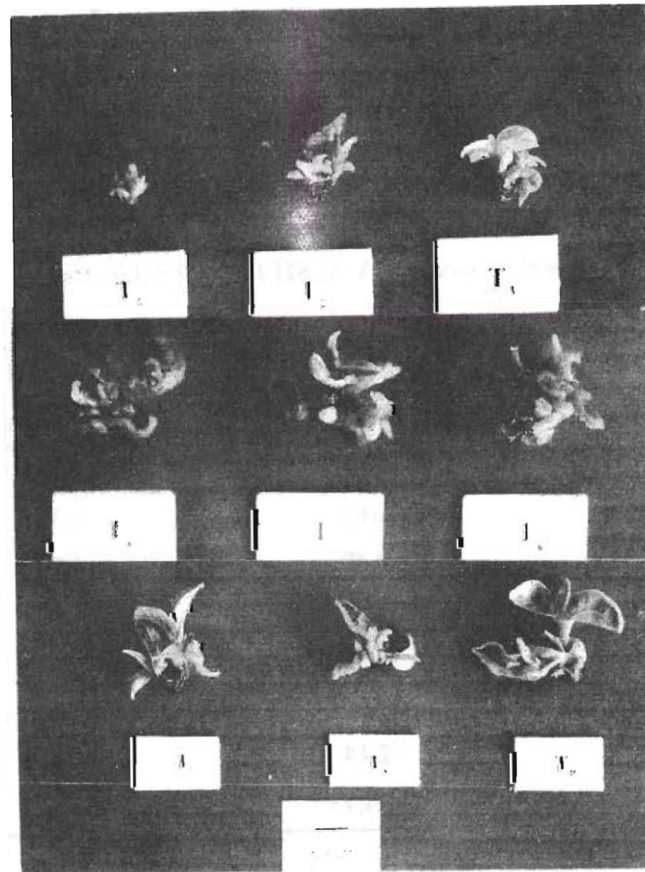


Figure 1 Shoots were cultured on varying macronutrient and sucrose concentration

T_1, T_2, T_3 = 1/2SH macronutrient + 1, 2 และ 3 % sucrose

T_4, T_5, T_6 = SH macronutrient + 1, 2 และ 3 % sucrose

T_7, T_8, T_9 = VW macronutrient + 1, 2 และ 3 % sucrose

สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

ส่วนประกอบของอาหารที่เป็นส่วนประกอบหลักคือ ชนิดของธาตุอาหารหลักและปริมาณของน้ำตาล ซึ่งจากการทดลองนี้จะเห็นว่า ชนิดของธาตุอาหารหลัก และความเข้มข้นของน้ำตาลมีผลร่วมกันต่อการเจริญของยอดเมื่อใช้ธาตุอาหารหลักสูตร VW ร่วมกับน้ำตาล 1 และ 3 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ยอดมีการเจริญมากที่สุด แต่สูตรอาหารและน้ำตาลไม่มีผลทำให้จำนวนใบเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่การใช้อาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำตาล 1 เปอร์เซ็นต์ทำให้การเจริญในทุกด้านทั้งความสูงต้นเฉลี่ยความยาวข้อ

และขนาดใบเฉลี่ยมากที่สุด ถ้าใช้อาหารสูตร VW ร่วมกัน น้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ได้เพียงความสูงต้น และขนาดของใบเท่านั้นที่มากที่สุดแต่ความยาวข้อเฉลี่ยลดลง จากผลการทดลองพบว่าความสูงต้นและขนาด ใบเฉลี่ยเมื่อใช้อาหารสูตร VW ร่วมกับน้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดน้อยกว่าเมื่อใช้น้ำตาล 1 และ 3 เปอร์เซ็นต์เนื่องจากยอดที่เลี้ยงแม้ว่ามีขนาดใกล้เคียงกันแต่อายุอาจต่างกัน ดังนั้นค่าเฉลี่ยที่ได้จึงมีความแปรปรวนมาก

จากการศึกษาผลของปัจจัยหลักแต่ละชนิดเมื่อพิจารณาถึงธาตุอาหารหลักแต่ละสูตร โดยพิจารณาปริมาณไอออนที่สำคัญของธาตุอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 4

Table 4 Elements provided (milimol) in modified VW, SH และ 1/2 SH macronutrients.

Macroelements	Modified VW (milimol)	SH (milimol)	1/2 SH (milimol)
Nitrate	6.47	24.73	12.37
Ammonium	7.56	2.61	1.31
NO ₃ ⁻ : NH ₄ ⁺	0.86	9.48	4.74
Total Nitrogen	14.03	27.34	13.67
Phosphate	1.84	2.61	1.31
Magnesium	1.01	1.62	0.81
Calcium	0.64	2.14	1.07
Potassium	7.03	24.73	12.37

ซึ่งจะเห็นว่าอาหารสูตร VW เป็นอาหารที่ทำให้ยอดมีการเจริญมากที่สุดในทุกลักษณะเนื่องจากธาตุอาหารหลักสูตร VW มีปริมาณของไอออน Nitrate น้อยกว่าในอาหารสูตร SH และ 1/2 SH แต่ปริมาณ Ammonium มากกว่าในสูตรอาหารทั้งสอง ทำให้อัตราส่วนของ Nitrate และ Ammonium

น้อยกว่าสูตร SH และ 1/2 SH มาก แสดงว่าการที่ยอดมีการเจริญของข้อและใบในอาหารสูตร VW ได้ดีกว่าอาหารสูตร SH และ 1/2 SH นอกจากเป็นสาเหตุเนื่องจากในอาหารสูตร VW มีอัตราส่วนของ nitrate และ ammonium เหมาะสมกับการเจริญของยอดแล้วยังเป็นเพราะโปแตสเซียมในอาหาร

สูตร SH และ 1/2 SH สูงเกินไป

นอกจากนั้นเมื่อพิจารณาถึงส่วนประกอบอื่นที่ประกอบในอาหาร เช่น น้ำตาล เมื่อพิจารณาเพียงอย่างเดียว จะเห็นว่าน้ำตาลมีผลต่อการเจริญของยอดโดยยอดที่เลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์จะทำให้ยอดมีการเจริญได้ดีกว่าน้ำตาล 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ โดยที่น้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์จะทำให้ยอดมีความสูงเฉลี่ย ขนาดใบเฉลี่ยมากที่สุด ส่วนความยาวข้อเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ย ไม่มีผลตอบสนองต่อปริมาณน้ำตาลที่เปลี่ยนแปลงไปอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับการทดลองของ Navarro *et al.* (1975) ที่พบว่าเมื่อน้ำตาลเพิ่มมากขึ้นจะทำให้ขนาดของใบสัณฐานยิ่งขึ้น ปริมาณน้ำตาลที่ใช้อาจสูงถึงร้อยละ 10 ทั้งนี้เนื่องจากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนที่จำเป็นและช่วยให้การเจริญเติบโตของพืชมีเมตาบอลิซึมต่างๆ เกิดขึ้นได้ตามปกติ แต่ถ้าปริมาณน้ำตาลที่มากเกินไปจะทำให้เนื้อเยื่อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในเวลาต่อมาทั้งนี้เนื่องมาจากระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นมีผลให้ค่าแรงดันออสโมติก (osmotic pressure) ในอาหารสูงขึ้นส่งผลให้ชิ้นส่วนพืชมี

ผลของความเข้มข้นของเกลือและน้ำตาลที่มีต่อการเจริญของยอดจาก Thin Cell Layers ของน้อยหน่า

ลักษณะลำต้นและใบ นอกจากนี้ยังพบว่าระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นมีผลยับยั้งการทำงานของสารกลุ่มไซโตไคนินด้วย

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มเกษตรสัญจร. 2531. น้อยหน่า. สหมิตร ออฟเซท. กรุงเทพฯ. 62 น.
- Ahm, I.O., C. B. V. Le and K. Tran Thanh Van. 1996. Direct somatic embryogenesis through thin cell layer culture in *Panax rinseng*. Plant Cell, Tiss. and Org. Cult. 45: 237-243.
- ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2538. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 158 น.
- Tran Thanh Van, K. 1973. *In vitro* Control of *de novo* Flower, Bud, Root, and Callus Differentiation from Excised Epidermal Tissues. Nature 246 : 44-45.
- Navarro, L., C.N. Roistacher and T. Murashige. 1975. Improve of shoot-tip grafting *in vitro* for virus-free citrus. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 100 : 471-479.