

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของขมิ้นชันในจังหวัดสุราษฎร์ธานี
โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR

Genetic Diversity of *Curcuma longa* Linn in Surat Thani Province Using SSR Markers

รดา วาสแดง¹ เยาวพรรณ สนธิกุล^{1*} สุรพล ฐิติธนากุล¹ และ วิกันดา รัตนพันธ์¹
Wasdang, R.¹, Sonthikun, Y.^{1*}, Thitithanakul, S.¹ and Rattanapun, W.¹

¹ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร โครงการจัดตั้งคณะนวัตกรรมการเกษตรและประมง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี สุราษฎร์ธานี 84000

¹ Agricultural Science and Technology, Faculty of Innovative Agriculture and Fishery Establishment Project,
Prince of Songkla University, Surat Thani Campus, Surat Thani 84000

*Corresponding author: yaowaphan.s@psu.ac.th

บทคัดย่อ

ขมิ้นชันจัดเป็นพืชวงศ์ขิงที่มีประโยชน์หลากหลายด้าน ปัจจุบันเหง้าของขมิ้นชันมีความต้องการของตลาดเพิ่มมากขึ้นและพบความหลากหลายของสายพันธุ์ที่ใช้ปลูกจึงมีการเพิ่มพันธุ์ปลูก แต่ทั้งนี้ยังขาดองค์ความรู้เรื่องสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงคุณภาพดียังมีอยู่น้อย ดังนั้นงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของขมิ้นชันในจังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุลเทคนิคเอสเอสอาร์ (SSR) ทั้งหมด 8 คู่ไพรเมอร์ ผลการทดลองพบว่า ทุกไพรเมอร์สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ โดยพบจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นทั้งหมด 497 แถบ มีขนาดประมาณ 100-700 คู่เบสและมีไพรเมอร์ SSR 1 ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอสูงสุด อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ยังไม่มีไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่สามารถแยกความจำเพาะได้อย่างชัดเจนจึงจำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมในขั้นต่อไป

คำสำคัญ: สายพันธุ์ขมิ้นชัน ความหลากหลายทางพันธุกรรม เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์

Abstract

Curcuma or Turmeric is a plant of the ginger family that have many benefits and at present there is a high demand in the market. the genetic diversity of Curcuma has very little information. Therefore, this study was to study the genetic diversity of Curcuma in Surat Thani Province using a total of 8 pairs of primer SSR molecular markers. The results showed that all primers could increase DNA content and a total of 497 DNA bands could be detected with sizes approximately 100-700 base pair and there was primer SSR 1 that yielded the highest DNA band differentiation. However, this study did not have a primer that provided a DNA band that could clearly distinguish specificity so further studies were needed.

Keywords: Turmeric species, genetic diversity, SSR molecular marker

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่เฉียงรุน (*Dendrocalamus spp.*)

Effect of Plant Growth Regulators on *In Vitro* Culture of Cheng-roon Bamboo (*Dendrocalamus spp.*)

สุภลักษณ์ สุดสอาด¹ เยาวพรรณ สนธิกุล^{2*} สุรพล ฐิติธนากุล² และ วิกันดา รัตนพันธ์²
Sutsaart, S.¹, Sontikun, Y.^{2*}, Thithanakun, S.² and Ruttanapun, W.²

¹ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี สุราษฎร์ธานี 84000

¹ Faculty of Science and Industrial Technology, Prince of Songkla University, SuratThani Campus, SuratThani, 84000

² สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร โครงการจัดตั้งคณะนวัตกรรมเกษตรและประมง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี สุราษฎร์ธานี 84000

² Faculty of Innovative Agriculture and Fisheries Establishment Prince of Songkla University, SuratThani Campus, SuratThani, 84000

*Corresponding author: yaowaphan.s@psu.ac.th

บทคัดย่อ

ไผ่เฉียงรุนเป็นไม้เฉพาะถิ่นที่พบได้ในเขตพื้นที่อุทยานแห่งชาติเขาค้อ จังหวัดสุราษฎร์ธานี มีลักษณะลำต้นขนาดใหญ่ จึงเหมาะแก่การทำให้เป็นโครงสร้างและเฟอร์นิเจอร์ และยังเป็นที่น่าสนใจของกลุ่มเกษตรกร แต่ในการเพาะขยายพันธุ์ไผ่เฉียงรุนตามธรรมชาติยังมีข้อจำกัดทางสภาพแวดล้อมอยู่มาก เนื่องจากต้องนำกิ่งพันธุ์ของไผ่เฉียงรุนลงมาจากบนภูเขา ซึ่งต้องใช้เวลาในการเดินทาง ทำให้ต้นกล้ามีราคาสูง และได้ต้นกล้าในปริมาณน้อย งานวิจัยนี้จึงศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่เฉียงรุนเพื่อผลิตกล้าที่มีคุณภาพ โดยศึกษาประสิทธิภาพของสารฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วน การเพิ่มปริมาณยอตรวม และการชักนำราก จากการศึกษาพบว่า การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อไผ่จากธรรมชาติด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลา 10 นาที ทำให้ชิ้นส่วนปลอดเชื้อได้สูงสุด 87 เปอร์เซ็นต์ มีการรอดชีวิตสูงสุด 90 เปอร์เซ็นต์ หลังจากทำการวางเลี้ยงบนอาหารระยะเวลา 4 สัปดาห์ และเมื่อนำไปชักนำยอดบนอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ TDZ ความเข้มข้น 0.1 0.3 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการสร้างยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.4 ยอดต่อชิ้นส่วน หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารระยะเวลา 4 สัปดาห์ ส่วนการชักนำรากโดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ในทุกความเข้มข้นที่ทดสอบพบว่าไม่สามารถชักนำรากได้

คำสำคัญ: สารควบคุมการเจริญเติบโต เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การฟอกฆ่าเชื้อ ไผ่เฉียงรุน

Abstract

“Cheng-roon” bamboo is an endemic plant found in Khao Phanom National Park mountain in Surat Thani Province. It has a large and straight trunk that is suitable for making structures and furniture. But in the natural breeding of bamboo, there are still many environmental limitations. Because the bamboo shoots had to be brought down from the mountain, which takes time to travel causing the seedlings to have a high price and small amounts of seedlings. This research was to study the tissue culture technique of bamboo in order to produce high quality seedlings. The efficiency of surface sterilization technique for explants, multiple shoot induction, and root. Results showed that explants surface sterilized with 0.1% Mercuric chloride gave the highest clean explant at 87% and explant viability at 90%. When shoots were induced on MS medium added with BA growth regulator at concentrations of 2.0, 3.0, 4.0, and 5.0 mg/l or TDZ at concentrations of 0.1, 0.3, and 0.6 mg/l. The highest number of shoots was obtained on the MS medium containing 5.0 mg/l BA. After 4 weeks of placement on medium. Root induction on the MS medium supplemented with NAA in an experiment cannot induce roots in Cheng-roon bamboo shoots.

Keywords: plant growth regulators, Plant tissue culture, Sterilization, *Dendrocalamus spp.*

ผลของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการปลอดเชื้อของอาหารเพาะเลี้ยงและขึ้นส่วนพืช และการชักนำยอดของ
ยางพาราจากสายต้นที่แตกต่างกันในหลอดทดลอง

Effects of Chlorine Dioxide on Culture Medium Sterilization, Explant Disinfection and
Shoot Induction from Different Clones of Rubber Tree under *In Vitro* Condition

ชาคริยา นิหะ¹ วราภรณ์ ทิถิม¹ สุริรัตน์ เย็นชอน¹ และ สมปอง เตชะโต^{1*}

Niha, C.¹, Heedchim, W.¹, Yenchon, S.¹ and Te-chato, S.^{1*}

¹ สาขาวิชานวัตกรรมและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110

¹ Agricultural Innovation and Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90110

*Corresponding author: stechato@yahoo.com

บทคัดย่อ

การทำให้อาหารเพาะเลี้ยงและขึ้นส่วนพืชปลอดเชื้อเป็นอีกขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญต่อผลสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยทั่วไปการฆ่าเชื้อนิยมใช้เครื่องมือร่วมกับสารฟอกฆ่าเชื้อ แต่ฤทธิ์ของสารฟอกฆ่าเชื้อบางชนิดอาจส่งผลให้ขึ้นส่วนพืชมีการตายของเนื้อเยื่อที่ค่อนข้างมากและตอบสนองต่ออาหารที่เพาะเลี้ยงน้อยลง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นคลอรีนไดออกไซด์ (chlorine dioxide: ClO₂) ต่อการปลอดเชื้อของอาหารเพาะเลี้ยงและขึ้นส่วนพืช และการชักนำยอดของยางพาราพันธุ์ RRIM600 แต่ละสายต้นในหลอดทดลอง โดยวางเลี้ยงขึ้นส่วนข้อและตาเขียวบนอาหารสูตร oil palm culture medium (OPCM) เติม N⁶-benzyladeninepurine (BAP) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติม ClO₂ ความเข้มข้นต่าง ๆ (0 90 100 110 120 130 140 ppm) หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ขึ้นส่วนข้อ ให้การตอบสนองดีกว่าขึ้นส่วนตาเขียว โดยให้อัตราการปลอดเชื้อ 55.00 เปอร์เซ็นต์ และให้อัตราการสร้างยอด 49.07 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่เติม ClO₂ ความเข้มข้น 110 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการปลอดเชื้อสูงสุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ ส่วน ClO₂ ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการสร้างยอดสูงสุด 100.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาสายต้นของยางพารา พบว่า ขึ้นส่วนข้อจากต้นยางพาราสายต้นที่ 3 ให้อัตราการปลอดเชื้อและสร้างยอดสูงสุด 90.00 และ 80.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้น ClO₂ ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพในการทำให้ขึ้นส่วนพืชปลอดเชื้อและสามารถชักนำยอดยางพาราได้ อีกทั้งสามารถลดขั้นตอนและต้นทุนในการขยายพันธุ์ยางพาราในหลอดทดลองได้

คำสำคัญ: ยางพารา คลอรีนไดออกไซด์ การทำให้ปลอดเชื้อ ขึ้นส่วนพืช สายต้น

Abstract

Sterilization of culture media and disinfection of explants initially important steps for plant tissue culture technic. Normally, instruments and disinfectants are used in the disinfection process. But, the effect of some chemicals may result in relatively high necrosis of plant tissue and less response to culture media. Therefore, the objectives of this study were to investigate the effects of chlorine dioxide (ClO₂) concentrations on sterilization of culture medium and disinfection of explant and shoot induction from different clones of rubber tree (RRIM600 cultivar), under *in vitro* condition. Nodal segments and green buds were cultured on oil palm culture medium (OPCM) with 1 mg/L N⁶-benzyladeninepurine (BAP) and different concentrations of ClO₂ for both culture media and explant disinfection. After culture for 4 weeks, the results revealed that nodal explants have a disinfection rate of 55.00% with shoot induction rate of 49.07%, higher than those obtained from green bud explants. For ClO₂ concentrations, the result showed that 110 mg/L gave the highest sterilization rate at 66.67 %. However, 100 mg/L ClO₂ gave the highest shoot induction rate at 100%. When comparing the effect of clones on sterilization and shoot induction, the results showed that clone no. 3 gave the highest sterilization rate at 90.00% and shoot induction rate at 80.35% after culture for 4 weeks. So, 100 mg/L ClO₂ will be optimum for micropropagation of rubber tree to reduce steps and cost under *in vitro* condition.

Keywords: Rubber tree, chlorine dioxide, sterilization, explants, clones

การพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ผ่านการสร้างโซมาติกเอ็มบริโอของกะพ้อจากการเพาะเลี้ยงคัพพะอ่อน

Plant Regeneration through Somatic Embryogenesis of Mangrove Fan Palm from Culturing Immature Zygotic Embryo

วารกรณ์ หิดฉิม¹ สุรรัตน์ เย็นช้อน¹ และ สมปอง เตชะโต^{1*}
Heedchim, W.¹, Yenchon, S.¹ and Te-chato, S.^{1*}

¹ สาขาวิชานวัตกรรมเกษตรและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110

¹ Agricultural Innovation and Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Songkhla, 90110

*Corresponding author: stechato@yahoo.com

บทคัดย่อ

กะพ้อ จัดเป็นพืชท้องถิ่นตระกูลปาล์มหายาก เนื่องจากการพัฒนาของอุตสาหกรรม การสร้างที่อยู่อาศัย และการปลูกพืชเศรษฐกิจทดแทน การขยายพันธุ์โดยวิธีการดั้งเดิม ทำได้ช้าและได้จำนวนต้นน้อย การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถช่วยขยายพันธุ์ให้มีจำนวนมากขึ้น ไม่สูญหายไปจากธรรมชาติ และสามารถอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมไว้ในหลอดทดลองได้ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของ 2-isopentenyladenine (2-iP) และธาตุอาหารต่อการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ผ่านการสร้างโซมาติกเอ็มบริโอ โดยนำแคลลัสที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงคัพพะอ่อนมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตรเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน (oil palm culture medium; OPCM) เติม 2-iP ความเข้มข้นแตกต่างกันร่วมกับไดแคมบาเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 4 สัปดาห์ พบว่า 2-iP เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ดัชนีการเจริญเติบโตสูงสุด 1.87 และขนาดแคลลัส 121.2 ตารางมิลลิเมตร หลังวางเลี้ยงต่อมาเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสมีการพัฒนาเป็นโซมาติกเอ็มบริโอ (somatic embryo; SE) จากนั้นย้าย SE ไปยังอาหารที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอลเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พบว่า มีการพัฒนาเป็นโซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สอง (secondary somatic embryo; SSE) ภายใน 4 สัปดาห์ เมื่อย้าย SSE ลงบนอาหารสูตร Murashige และ Skoog (MS) ที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารแตกต่างกันพบว่า การลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลง 1 ใน 4 (¼MS) ให้ผลดีที่สุด โดยให้อัตราการงอก 54.25 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนยอด 1.75 ยอดต่อหลอด หลังวางเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าความเข้มข้นของ 2-iP และธาตุอาหารมีผลต่อการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ของกะพ้อซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุกรรมของกะพ้อต่อไป

คำสำคัญ: กะพ้อ คัพพะอ่อน โซมาติกเอ็มบริโอ 2-isopentenyladenine (2-iP) โซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สอง

Abstract

Mangrove fan palm is an endangered plant due to industrial development, house construction and replacement of economic crops. Mass propagation by conventional technique is limited due to low germination of seeds and slow growth rate. Plant tissue culture can produce a large number of plants without extinction from natural habitats and can conserve *in vitro* for genetic conservation. The objectives of this research were to study effects of concentrations of 2-iP and strengths of medium on plant regeneration through somatic embryogenesis. Callus induced from immature zygotic embryo was cultured on oil palm culture medium (OPCM) supplemented with different concentrations of 2-isopentenyladenine (2-iP) with 0.1 mg/L dicamba for 4 weeks. The results showed that 0.1 mg/L 2-iP gave the highest growth index at 1.87 and callus size at 121 mm². After culture for further 6 weeks, callus can develop into somatic embryo (SE). Upon transferring SE to 0.2M sorbitol containing medium, secondary somatic embryo (SSE) was obtained within 4 weeks. When SSE was transferred to various strengths of Murashige and Skoog (MS), the results found that ¼ MS gave the best results in germination rate at 54.25% and number of shoots at 1.75 shoots/tube after 2 weeks of culture. It is concluded that concentration of 2-iP and strength of medium affect on plant regeneration of mangrove fan palm that is useful for propagation and genetic conservation.

Keywords: Mangrove fan palm, immature zygotic embryo, somatic embryo, 2-isopentenyladenine (2-iP), secondary somatic embryo

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นกล้วยไม้ทางช้างหลังจากได้รับสารพาโคลบิวทราโซลในสภาพปลอดเชื้อ

Morphology of *Grammatophyllum specinocum* BL. after Paclobutrazol Treatment in Sterile Conditions

ยุพาภรณ์ วิริยะนานนท์^{1*} และ พรนภา นิลประภา¹
Wiriyananont, Y.^{1*} and Nilprapa, P.¹

¹ สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา อ. พระนครศรีอยุธยา จ. พระนครศรีอยุธยา 13000

¹ Department of Agriculture, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Si Ayutthaya Rajabhat University, Phra Nakhon Si Ayutthaya, 13000

* Corresponding author: sirisomy@gmail.com

บทคัดย่อ

สารพาโคลบิวทราโซล (PBZ) เป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มชะลอการเจริญเติบโต ซึ่งได้มีการนำมาประยุกต์ใช้กับต้นพืชในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อกระตุ้นให้ต้นพืชมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างไปจากเดิม ในการศึกษาครั้งนี้ จึงได้มีการใช้สาร PBZ กับโปรโตคอร์มไลค์บอดี (PLBs) ของกล้วยไม้ทางช้าง โดยเติมสารละลาย PBZ ที่ความเข้มข้น 0 20 40 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในอาหารสูตร MS ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3% และผงวุ้น 0.75% หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์พบว่า ความเข้มข้นของ PBZ ที่สูงขึ้นส่งผลให้การรอดชีวิต และการสร้างยอดรวมของชิ้นส่วนพืชลดลง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.01$) โดยที่ความเข้มข้นของ PBZ 49.22 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดการตายของชิ้นส่วนพืช 50% (LD_{50}) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ทางช้างที่เพาะเลี้ยงในอาหารไม่เติม PBZ พบว่ามีการเจริญเติบโตตามปกติ ยอดยืดยาวมีสีเขียว ความยาวลำต้นเฉลี่ยสูงสุด 10.30 เซนติเมตร ส่วนต้นกล้าที่อยู่ในอาหารเติม PBZ มีลำต้นสั้นกว่าชุดควบคุม โดยที่ความเข้มข้นของ PBZ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ลำต้นกล้วยไม้สั้นที่สุดเฉลี่ย 3.78 เซนติเมตรและมีเปอร์เซ็นต์การสร้างรากน้อยสุด 57.14 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจำนวนรากในแต่ละชุดทดลองไม่มีความแตกต่างกัน เมื่ออนุบาลต้นกล้างลงในวัสดุปลูก พบว่า ต้นกล้วยไม้ทางช้างมีอัตราการรอดชีวิต 100% ต้นที่มาจากอาหารที่ไม่ได้เติม PBZ มีลักษณะยืดยาว ใบเรียวยาว ส่วนต้นกล้าที่ได้จากอาหารที่เติม PBZ มีลำต้นสั้น หนา ใบมีขนาดใหญ่ สีเขียวเข้ม และสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ

คำสำคัญ: สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืช กล้วยไม้ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

Abstract

Paclobutrazol (PBZ) is a plant hormone in the group of plant growth retardants that has been applied to plants in sterile conditions. The purpose is to encourage plants to have different morphological characteristics. Therefore, in this study, PBZ was applied to the protocorm-like bodies (PLBs) of the Tiger orchid. PBZ solution at concentrations of 0, 20, 40 and 60 mg/l were added to MS medium with 1 mg/l BA, 3% sucrose and 0.75% agar and the explants were cultured for 4 weeks. It was found that higher PBZ concentrations resulted in survival and shoot formation decreased statistically significant difference ($P \geq 0.01$). The PBZ concentration of 49.22 mg/l caused the death of 50% of PLBs. The morphology of orchids grown in a PBZ-free medium showed normal growth. Elongated shoots are green with an average height of 10.30 cm. The seedlings in the PBZ medium had shorter stems than the control. At the concentration of 60 mg/l PBZ, the shortest orchid stem was 3.78 cm, and the lowest root formation of 57.14%. However, there was no difference in a number of roots in each experiment. The seedling had a 100% survival rate after acclimatization. After hardening, plants derived from PBZ-free medium had elongated, slender leaves, while seedlings grown on PBZ medium had short, thick stems, large leaves, and dark green color. The orchid plants can continue to grow normally after transplanting into the soil.

Keywords: Plant growth regulator, plant morphology, orchids, plant tissue culture

ผลของชนิดและความเข้มข้นของไซโตไคนินต่อการสร้างยอดและรากจากการเพาะเลี้ยง
ข้อของมันจาวมะพร้าวในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of Types and Concentrations of Cytokinins on Shoot and Root Formation from *In Vitro*
Culturing Nodal Explants of *Dioscorea alata* L.

ศศิษา พิทักษ์^{1*} ลิทธิพงศ์ ศรีสว่างวงศ์¹ สุขสำราญ สืบสำราญ¹ วีระวัฒน์ โสมจุมจัง¹ และ ศศิธร ประพรม²
Pituk, S.^{1*}, Srisawangwong, S.¹, Suksumran, S.¹, Homjumjung, W.¹ and Praporm, S.²

¹ ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชขอนแก่น 343 หมู่ 15 ตำบลท่าพระ อำเภอเมืองขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40260

¹ Khonkaen Seed Research and Development Center, 343 Moo.15, Thaphra, Mueang Khonkaen, khonkaen, 40260

² ศูนย์วิจัยและการเกษตรชัยภูมิ 144 หมู่ 17 ตำบลนาฝาย อำเภอเมือง จังหวัดชัยภูมิ 36000

² Chalyaphum Agricultural Research and Development Center, 144 Moo.17, Nafal, Mueang, Chalyaphum, 36000

*Corresponding author: salisapituk@gmail.com

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตของการเพิ่มจำนวนยอดของมันจาวมะพร้าวในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการขยายพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) 12 กรรมวิธี 4 ซ้ำ โดยนำชิ้นส่วนข้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง 12 สูตร ได้แก่ 1) อาหารสังเคราะห์สูตร MS เติมไซโตไคนินชนิด BA ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับผงถ่าน 0.3 % w/v ตามลำดับ 2) อาหารสังเคราะห์สูตร MS เติมไซโตไคนินชนิด Kinetin ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับผงถ่าน 0.3 % w/v ตามลำดับ 3) อาหารสังเคราะห์สูตร MS เติมผงถ่าน 0.3 % w/v และ 4) อาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์เพื่อชักนำให้เกิดยอด พบว่า 70-90 % ของข้อที่เพาะเลี้ยงสามารถพัฒนาเป็นยอดได้โดยจำนวนยอดที่พัฒนาบนอาหารแต่ละสูตรมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งภายหลังเพาะเลี้ยงสัปดาห์ที่ 2 อาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับผงถ่าน 0.3 % w/v ชักนำให้เกิดยอดสูงสุด (1.31 ยอด) และอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับผงถ่าน 0.3 % w/v ให้อากสูงสุด (1.13 ราก) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยภายหลังเพาะเลี้ยง 5 สัปดาห์ข้อที่เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับผงถ่าน 0.3 % w/v มีความสูงของต้นและจำนวนรากสูงสุด (3.22 เซนติเมตร และ 3.67 รากตามลำดับ) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีอื่นๆ ดังนั้นการขยายพันธุ์ต้นมันจาวมะพร้าวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงควรเพิ่มจำนวนยอดและจำนวนรากบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับผงถ่าน 0.3 % w/v โดยหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ สามารถย้ายออกปลูกในสภาพโรงเรือนซึ่งมีอัตราการรอด 100 % และมีแนวโน้มให้จำนวนยอดเพิ่มขึ้นกว่า 10 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับการปลูกโดยใช้หัวพันธุ์

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มันจาวมะพร้าว อาหารสังเคราะห์ ไซโตไคนิน สภาพปลอดเชื้อ

Abstract

Study on the effects of culture media and plant growth regulators (PGRs) on shoot multiplication of coconut cassava under sterile conditions for its propagation. A completely randomized design (CRD) experiment was designed with 12 procedures different kinds and concentrations of cytokinins containing MS medium in the presence of 0.3% w/v activated charcoal (AC) in comparison with PGR-free medium with and without AC. Each treatment consisted of four replicates It was found that 70-90% of the cultured nodes were able to develop into shoots, with the number of shoots developing on each medium significantly different after culture for 2 weeks. MS medium containing 0.1 mg/l BA and 0.3 % w/v activated charcoal gave the highest number of shoots at 1.31 shoots per node and MS medium with 1.0 mg/l BA and 0.3 % w/v activated charcoal gave significant highest number of root at 1.13 roots per shoot. After 5 weeks of culture, MS medium with 1.0 mg/l BA and 0.3

% w/v activated charcoal gave the highest plant height and number of roots (3.22 cm and 3.67 roots, respectively), significantly different with another treatments. Therefore, MS medium with 1.0 mg/l BA and 0.3 % w/v activated charcoal is suitable for propagation of *Dioscorea alata* L. by tissue culture technique. Complete plantlets could survive at 100% after transplanting to greenhouse conditions. It is expected that this protocol can increase the number of shoots more than 10 times compared to conventional technique.

Keywords: Plant tissue culture, *Dioscorea alata* L., culture media, cytokinin, aseptic technique

อิทธิพลของ IBA ต่อการเกิดรากและการอนุบาลออกปลูกของต้นฟีโลเดนดรอน White Wizard Influence of IBA on Rooting and Acclimatization of *Philodendron sp.* "White Wizard"

บุปผาชน สุจเสน¹ แพรวพรรณ พิมพ์กุล¹ สุภาวดี งามสูตร² และ ผการัตน์ โรจน์ดวง^{1*}
Sutjasen, B. , Pimpakul, P. , Ramasoot, S. and Rotduang, P.

¹ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ต.ท่าจี้ อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช 80280

² Department of General Science, Faculty of education, Nakhon Si Thammarat Rajabhat University, Tumbon Thayew, Mueang district, Nakhon Si Thammarat Province 80280

² สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ต.ท่าจี้ อ.เมือง จ. นครศรีธรรมราช 80280

² Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Nakhon Si Thammarat Rajabhat University, Tumbon Thayew, Mueang district, Nakhon Si Thammarat Province 80280

*Corresponding author: phakarat.r@gmail.com

บทคัดย่อ

ฟีโลเดนดรอน White Wizard เป็นไม้ประดับที่มีความโดดเด่น ลำต้นและก้านมีสีเขียวเป็นหลักแต่มีสีขาวแซมเล็กน้อย มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วปานกลางและขยายพันธุ์ได้ช้า ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาผลของสูตรอาหาร Murashige and Skoog (MS) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Indole-3-butyric acid (IBA) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเกิดราก และผลของสูตรวัสดุปลูกที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นฟีโลเดนดรอน White Wizard โดยนำปลายยอดอ่อนของต้นฟีโลเดนดรอนมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ที่ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือนพบว่า ต้นฟีโลเดนดรอน White Wizard ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS เติม IBA 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการชักนำราก อาหาร MS เติม IBA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำรากสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย 9.5 รากต่อต้น และ 26.91 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีหมื่นต์อื่น ๆ หลังจากอนุบาลออกปลูกรานาน 2 เดือน พบว่า วัสดุปลูก สูตรที่ 1 (เพอร์ไลท์ : พีทมอส : สแฟกนัมมอส อัตราส่วน 1:1:1) สูตรที่ 2 (เพอร์ไลท์ : พีทมอส : กากมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1) และสูตรที่ 3 (เพอร์ไลท์ : พีทมอส อัตราส่วน 1:1) พบว่า ทั้ง 3 สูตร ให้อัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ และให้ความสูงเฉลี่ยของต้นฟีโลเดนดรอน White Wizard สูงสุดคือ 7.5 เซนติเมตร

คำสำคัญ : ฟีโลเดนดรอน White Wizard การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อาหารสูตร MS กรดอินโดล-3-บิวทีริก

Abstract

Philodendron White Wizard is an ornamental plant. The stems are mainly green with some white accents. It is a plant with a moderate growth rate and slow propagation. Therefore, the objective of this study was to study the effects of MS medium containing various concentrations of IBA on root formation of Philodendrons White Wizard and to study the effect of plant material formula on the growth of Philodendron White Wizard. Philodendron White Wizard shoots were cultured on MS medium supplemented with 0, 0.5, 1, 1.5 and 2 mg/l IBA. After 3 months of culture, the result found that MS medium supplemented with 1 and 1.5 mg/l IBA gave the highest survival rate at 100%. For root induction, Philodendron White Wizard cultured on MS medium supplemented with 1 mg/l IBA gave the highest root induction at 100%, average number of root at 9.5 roots/explant and average root length at 26.91 cm., significant different with other treatments. After 2 months of acclimatization, the result found that treatment 1 (perlite : peat moss : sphagnum moss (ratio 1:1:1)) treatment 2 (perlite : peat moss : coconut meal (ratio 1:1:1)) and treatment 3 (perlite : peat moss (ratio 1:1)) gave the highest survival rate at 100% and average of plant height at 7.5 cm.

Keywords: Philodendron White Wizard, plant tissue culture, MS medium, IBA

ผลของสารฟอกฆ่าเชื้อ สูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส
และการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ของข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

Effects of Disinfectants, Culture Media and Plant Growth Regulators on Callus Induction
and Plantlet Regeneration of Sangyod Phatthalung Rice

ไชนีย๊ะ สะมาลา¹ จาตุรนต์ ทิพย์วงศ์¹ และ สุรรัตน์ เย็นซ้อน^{2*}

Samala, S.¹, Thipwong, J.¹ and Yenchon, S.^{2*}

¹ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี จ. สุราษฎร์ธานี 84100

¹ Program in Biology, Faculty of Science and Technology, Suratthani Rajabhat University, Suratthani, 84100

² สาขาวิชานวัตกรรมเกษตรและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110

² Agricultural Innovation and Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90112

* Corresponding author: sureerat.y@psu.ac.th

บทคัดย่อ

ข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ โดยได้มีการรับรองให้เป็นสินค้าที่บ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ (GI) ในปี 2549 โดยใช้ชื่อว่าข้าวสังข์หยดพัทลุง ปัจจุบันจัดเป็นสินค้าที่ได้รับความนิยมอย่างมาก จึงต้องมีการศึกษาเพื่อเพิ่มผลผลิตให้เพียงพอกับความต้องการของตลาด การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นวิธีการที่จะสามารถนำมาปรับใช้เพื่อการพัฒนาข้าวสังข์หยดพัทลุงด้วยวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพ ดังนั้นในการศึกษานี้ได้ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเมล็ด และชักนำพืชต้นใหม่ผ่านการสร้างแคลลัส โดยนำเมล็ดมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรีนความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที พบว่าให้อัตรการปนเปื้อนน้อยที่สุด คือ 26.66 เปอร์เซ็นต์ และมีอัตราการงอก 87.27 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการชักนำแคลลัส พบว่าเมล็ดข้าวเกิดแคลลัสได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร ½ MS (Murashige and Skoog) ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยให้ขนาดแคลลัส 0.81 เซนติเมตร และแคลลัสเพิ่มปริมาณได้ดีที่สุดบนอาหารแข็งสูตร ½ MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแคลลัสมีการเพิ่มปริมาณน้ำหนักเฉลี่ย 0.75 กรัม หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ สำหรับการชักนำแคลลัสให้พัฒนาเป็นต้น พบว่าข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงที่วางเลี้ยงบนทุกสูตรอาหารยังไม่มีการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ สำหรับการอนุบาลต้นกล้าที่พัฒนาจากเมล็ด พบว่าการย้ายปลูกในดินแดง ในสภาพโรงเรือน ที่ใช้ตาข่ายกรองแสง 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ มีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดเส้นรอบวงของลำต้นเฉลี่ย 1.07 เซนติเมตร และความสูงเฉลี่ย 47.51 เซนติเมตร

คำสำคัญ : ข้าวสังข์หยดพัทลุง สารฟอกฆ่าเชื้อ แคลลัส สูตรอาหาร การอนุบาลต้นกล้า

Abstract

Sangyod Phatthalung rice is a local rice variety that has economic value. It was certified as a geographically indicative (GI) product in 2006 under the name of Sangyod Phatthalung rice. Currently, it is classified as a very popular product for health loving consumers. Therefore, this study aims to increase its productivity to meet the market demand. Tissue culture is a method that can be used for the improvement of Sangyod Phatthalung rice by the biotechnology method. In this study, the method of disinfection of seeds and plantlet regeneration through callus formation were investigated. The seeds were bleached and disinfested with 40 % Clorox solution for 20 minutes. The results showed that less contamination rate was obtained at 26.66% and the germination rate was 87.27%. For callus induction, PGR-free ½ MS (Murashige and Skoog) gave the highest size of callus at 0.81 cm. For callus proliferation the same culture medium containing 1 mg/L 2,4-D, 1 mg/L NAA and 1 mg/L BA gave the highest callus at 0.75 g after culture for 4 weeks. For shoot induction, it was found in all culture media tested. Acclimatization of seedlings developed from vitro growing seeds in red soil (Din Daeng) and kept under greenhouse with 50% shading for 4 weeks gave a survival rate of 100%. At this period, culm diameter and height were obtained at 1.07 and 47.51 cm, respectively.

Keywords: Sangyod Phatthalung rice, disinfectant, callus, culture media, acclimatization

ผลของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ต่อการฆ่าเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงและการชักนำยอดของฮาโวเทียในสภาพปลอดเชื้อ
Effect of Sodium Hypochlorite on Disinfection of Culture Medium
and Shoot Induction of Haworthia *In Vitro*

หัตถยา มีสุขศรี¹ นูรมา มาซากี้¹ ไชนีย๊ะ สะมาลา² สมปอง เตชะโต¹ และ สุรรัตน์ เย็นซ้อน^{1*}
Meesuksri, H. , Masakee, N. Samala, S., Te-chato, S. and Yenchon, S.

¹ สาขาวิชาวนวัฒนกรรมและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110

¹Agricultural Innovation and Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90112

² สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี จ. สุราษฎร์ธานี 84100

² Program in Biology, Faculty of Science and Technology, Suratthani Rajabhat University, Suratthani, 84100

*Corresponding author: sureerat.y@psu.ac.th

บทคัดย่อ

ฮาโวเทียจัดอยู่ในกลุ่มไม้อวบน้ำ ขนาดเล็ก ปัจจุบันเป็นที่นิยมอย่างมากในการนำมาประดับตกแต่งหรือจัดสวนขนาดเล็ก การขยายพันธุ์ตามธรรมชาติของฮาโวเทียใช้เวลาค่อนข้างนานและได้จำนวนน้อย จึงได้มีการนำเอาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาช่วยในการเพิ่มจำนวน แต่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยการฆ่าเชื้ออาหารด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำมีต้นทุนค่อนข้างสูง จึงได้มีการนำเทคนิคการเติมสารกำจัดเชื้อ มาใช้ทดแทนเพื่อลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสารเคมีที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงแคลลัสฮาโวเทีย โดยการใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (ไฮเตอร์) ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าการเติมไฮเตอร์ทุกระดับความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ซึ่งการเติมไฮเตอร์ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การอัตราการรอดชีวิตและอัตราการเพิ่มปริมาณของแคลลัสดีที่สุดเมื่อเทียบกับไฮเตอร์ความเข้มข้นอื่นๆ และจากการศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำยอดของฮาโวเทีย โดยเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมไฮเตอร์ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า แคลลัสมีการเพิ่มปริมาณมากที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียวมีการเกิดจุดเขียวที่พร้อมพัฒนาไปเป็นยอดได้ดีที่สุด

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หม้อนึ่งความดันไอน้ำ ไฮเตอร์ ฮาโวเทีย

Abstract

Haworthia is a large genus of small succulent plants. Nowadays, it is a very popular ornamental plant that decorates a small garden. The natural propagation of Haworthia takes quite a long time and yields are small, so tissue culture techniques have been used for mass propagation. However, the cost of tissue culture by using autoclave is relatively high. So, disinfectants are used to reduce the cost of culturing. This research aimed to determine the concentration of disinfectant that can sterilize culture media and suitable for Haworthia callus culture. Autoclave was used as a control and Haiter at concentrations of 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 ml/l added in the culture medium. After 4 weeks, it was found that adding Haiter at all concentrations could inhibit the growth of microorganisms in the MS medium. Haworthia callus was able to grow well on the sterile medium by adding 0.5 ml/l of Haiter. This concentration gave the best survival rate and callus proliferation rate compared to other concentrations. The optimal concentration of plant growth regulators for shoot induction of Haworthia was studied. Callus was culture on MS medium containing BA at concentrations of 1.0 and 2.0 mg/l with NAA at concentrations of 0, 0.5 and 1.0 mg/l and 0.5 ml/l Haiter. After 5 weeks of culture, the result found that MS medium with 2.0 mg/l BA and 1.0 mg/l NAA gave the best result for callus proliferation. MS medium containing 2.0 mg/l BA gave the best green spot formation.

Keywords: Plant tissue culture, autoclave, Haiter, Haworthia