วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 11 ฉบับที่ 2 (กรกฎาคม-ธันวาคม): 63-73, 2567
Songklanakarin Journal of Plant Science, Vol. 11, No. 2 (July-December): 63-73, 2024
Research article-ISSN: 2351-0846

ผลของสารแอนติออกซิแดนซ์และไซโทคินินต่อการขยายพันธุ์ทุเรียนในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of Antioxidant and Cytokinin on Propagation of Monthong Durian *In Vitro*

สุภาวดี รามสูตร[1,4*] มัณฑกา วีระพงศ์[1,4] เยาวมาลย์ เขียวสอาด[2,4] สาวิตรี ฤทธิ์ช่วย[2,4] และ ผการัตน์ โรจน์ดวง[3,4]

Supawadee Ramasoot[1,4*], Muntaka Weerapong [1,4], Yaowamarn Keawsaard [2,4], Savitee Ritchuay [2,4] and Phakarat Rotduang [3,4]

[1] หลักสูตรชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ต. ท่างิ้ว อ. เมือง จ. นครศรีธรรมราช

[1] Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Nakhon Si Thammarat Rajabhat University, Tumbon Thayew, Mueang District, Nakhon Si Thammarat Province 80280

[2] หลักสูตรเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ต. ท่างิ้ว อ. เมือง จ. นครศรีธรรมราช

[2] Department of Agricultural, Faculty of Science and Technology, Nakhon Si Thammarat Rajabhat University, Tumbon Thayew, Mueang District, Nakhon Si Thammarat Province 80280

[3] หลักสูตรวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ต. ท่างิ้ว อ. เมือง จ. นครศรีธรรมราช

[3] Department of General Science, Faculty of Education, Nakhon Si Thammarat Rajabhat University, Tumbon Thayew, Mueang District, Nakhon Si Thammarat Province 80280

[4] หน่วยวิจัยความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพการเกษตร

[4] Agricultural Diversity and Biotechnology Research Unit

* *Corresponding author: supawadee.rs@gmail.com*

Received 24 December 2023; Revised 24 April 2024; Accepted 28 May 2024

บทคัดย่อ

ทุเรียนหมอนทองเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย ปัจจุบันการผลิตผลทุเรียนสดไม่เพียงพอต่อความต้องการ สาเหตุหนึ่งมาจากโรครากเน่าโคนเน่าและหนอนด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นทุเรียน ทำให้ต้นทุเรียนตายเป็นจำนวนมาก วิธีหนึ่งที่จะทำได้คือการใช้พันธุ์ที่คงทนหรือต้านทานมาเป็นต้นตอ ซึ่งการเพิ่มปริมาณต้นดังกล่าว สามารถใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเข้ามาในกระบวนการผลิตต้นพืชได้ วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอทุเรียนพันธุ์หมอนทอง โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเอ็มบริโอบนอาหารแข็งสูตร MS เติมสารแอนติออกซิแดนซ์ชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ ascorbic acid (AS) citric acid (CA) และ polyvinylpyrrolidone (PVP) เข้มข้น 0 100 200 300 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Benzyladenine (BA) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ผลการศึกษาพบว่า ชิ้นส่วนเอ็มบริโอทุเรียนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม ascorbic acid เข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุด 50 เปอร์เซ็นต์ การชักนำยอดรวม พบว่า ชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม ascorbic acid เข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ เข้มข้น BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำยอดสูงสุด 13.33 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 0.4 ยอดต่อชิ้นส่วน และความยาวยอดเฉลี่ย 0.72 เซนติเมตร มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ ($p \leq 0.05$) ผลของซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) ต่อการชักนำยอดรวม โดยนำชิ้นส่วนยอดที่ชักนำได้ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม $AgNO_3$ เข้มข้น 0-250 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทุกสูตรอาหารเติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าวเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสูตรอาหารที่ไม่เติมซิลเวอร์ไนเตรทให้อัตราการเกิดยอดรวม จำนวนยอดเฉลี่ย และความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 10.00 0.67 ยอดต่อชิ้นส่วน และ 0.47 เซนติเมตร ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สำหรับผลของ IBA เข้มข้น 0-3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารสูตร MS เติม IBA

Published by Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University. All rights reserved.
For Permissions, please e-mail: sjps.psu@gmail.com

เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการสร้างรากสูงสุดเท่ากับ 1.00 เปอร์เซ็นต์ จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 1.67 รากต่อชิ้นส่วน และความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 0.53 เซนติเมตร มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ ($p \leq 0.05$)
คำสำคัญ: ทุเรียน, สารแอนติออกซิแดนซ์, ไซโตไคนิน, เอ็มบริโอ

Abstract

Monthong durian is one of Thailand's most economically important fruit crops and is widely grown in every region, particularly in southern Thailand where it is a traditional local crop. Currently, durian production is found to be a factor that causes the amount of durian production to be insufficient to meet demand. It is still caused by root rot and stem rot and long-horned beetle worms that penetrate durian stems. causing the death of many durian trees. One solution way is to use durable or resistant varieties as rootstock. Increasing the efficiency of Monthong durian tissue culture though plant tissue culture techniques is one option. The study examined the effects of antioxidants and cytokinin on shoot induction using seed embryo parts. The cultures were grown in MS solid medium with various types and concentrations of antioxidants: ascorbic acid (AS), citric acid (CA), and polyvinylpyrrolidone (PVP) at concentrations of 0, 100, 200, 300, and 400 mg/L with Full (BA) at concentrations of 0, 1, 3, and 5 mg/L. Results showed that durian embryos parts grown in medium containing 400 mg/L ascorbic acid combined with 3 and 5 mg/L BA gave a maximum survival rate of 50 percent. Total induction has been found in Embryo parts grown on MS medium were added with the antioxidant ascorbic acid at a concentration of 400 mg/L along with BA at a concentration of 1 mg/L. The maximum shoot induction was 13.33 percent, with the highest average number of shoots 0.4 shoots/piece and an average shoot length of 0.72 cm significant difference ($p \leq 0.05$) with another treatment. Regarding the effect of silver nitrate ($AgNO_3$) on shoot induction, induced shoots were cultured on MS medium supplemented with 1 mg/L BA and 10% coconut water with $AgNO_3$ at concentrations of 0, 50, 100, 150, 200 and 250 mg/L. The control treatment (without $AgNO_3$) showed the highest rate of shoot formation (10 percent), with an average of 0.67 shoots/explant and maximum shoot length of 0.47 cm. These differences were not statistically significant at $p \leq 0.05$. For root induction, IBA (indole-3-butyric acid. 3-indolebutyric acid indolebutyric acid). was tested at concentrations of 0, 1, 2, and 3 mg/L. The medium containing 2 mg/L IBA produced the highest root formation rate of 1.00%, with a maximum average number of roots at 1.67 roots/explant and maximum root length of 0.53 cm. There was a significant statistical difference at $p \leq 0.05$.
Keywords: Durian, Antioxidant, Cytokinin, Embryo

บทนำ

ทุเรียน (*Durio zibethinus*) เป็นไม้ผลในวงศ์ *Malvaceae* มีการปลูกทั่วไปในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบมากในอินโดนีเซีย มาเลเซีย ไทย และเวียดนาม สำหรับประเทศไทย ทุเรียนจัดไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศ มีการปลูกอย่างแพร่หลายในทุกภูมิภาค โดยภาคใต้มีปริมาณการปลูกทุเรียนสูงที่สุดเนื่องจากเป็นพืชท้องถิ่น ซึ่งในปี พ.ศ.2562 มูลค่าการส่งออกทุเรียนไทยคิดเป็นร้อยละ 40 ของมูลค่าการส่งออกผลไม้ทั้งหมด และยังมีแนวโน้มการส่งออกที่สูงขึ้นเรื่อย ๆ ปัจจุบันพบว่าไทยเป็นผู้ผลิตทุเรียนอันดับหนึ่งของโลก ในขณะที่จีนเป็นตลาดการนำเข้าทุเรียนที่ใหญ่ที่สุดของไทย โดยพบว่าภาคใต้เป็นแหล่งผลิตทุเรียนหลักของประเทศไทย ผลผลิตส่วนใหญ่มาจากจังหวัดชุมพรและรองลงมาคือจังหวัดนครศรีธรรมราช ผลผลิตตามฤดูกาลของภาคใต้จะเริ่มตั้งแต่เดือนมิถุนายน ไปจนถึงกันยายน และผลผลิตจะออกมากในช่วงเดือนสิงหาคม ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 34 ของผลผลิตทั้งผลในภาคใต้ โดยสายพันธุ์ที่นิยมปลูกและเป็นที่ต้องการของตลาดคือสายพันธุ์หมอนทอง (Office of Agricultural Economics, 2021) ข้อมูลจากสำนักวิจัยเศรษฐกิจ (2018) ระบุว่า ผลผลิตทุเรียนเพิ่มขึ้นมาจากในช่วง 3-4 ปีที่ผ่านมา โดยมาจากราคาทุเรียนปรับขึ้นต่อเนื่อง ทำให้เกษตรกรหันมาปลูกทุเรียนกันมากขึ้น มีการปรับเปลี่ยนพื้นที่จากปลูกพืชอื่น ทั้งไม้ผลและยางพารามาปลูกทุเรียน อีกทั้ง

จำนวนทุเรียนที่เริ่มปลูกในปี 2556 เริ่มทยอยให้ผลผลิตทำให้ประมาณการว่าปี 2561 เนื่องจากความต้องการของตลาดต่างประเทศยังมีอยู่อย่างต่อเนื่องโดยเฉพาะตลาดสาธารณรัฐประชาชนจีน ซึ่งเป็นตลาดหลักสำหรับทุเรียนสดของไทยปรับตัวสูงขึ้น ส่งผลให้ปริมาณการผลิตเพื่อการส่งออกไม่เพียงพอ การผลิตทุเรียนในปัจจุบันพบว่าปัจจัยที่ทำให้ปริมาณการผลิตทุเรียนไม่เพียงพอต่อความต้องการยังคงมีสาเหตุมาจากโรครากเน่าโคนเน่าและหนอนด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นทุเรียน ทำให้ต้นทุเรียนตายเป็นจำนวนมาก เกษตรกรต้องโค่นต้นทุเรียนทิ้ง อีกทั้งความแปรปรวนของสภาพอากาศทำให้ทุเรียนออกดอกหลายรุ่น และผลทุเรียนร่วงหล่นก่อนเก็บเกี่ยว (Department of Agriculture, 2018) ประกอบกับเกษตรกรรายย่อยหรือเกษตรกรรายใหม่ ส่วนใหญ่ยังขาดความรู้ ความเข้าใจในการนำเอาเทคโนโลยีมาใช้เพิ่มปริมาณและปรับปรุงคุณภาพของผลผลิต ส่งผลให้ได้ผลผลิตน้อยและผลผลิตส่วนมากด้อยคุณภาพ แม้ปัจจุบันจะมียาป้องกันและรักษาโรครากเน่าโคนเน่า แต่ก็ยังไม่เป็นการป้องกันอย่างถาวร เพราะเชื้อโรคสามารถปรับตัวและเข้าทำลายกับพืชที่ใช้ยาป้องกันหรือรักษาได้ง่ายกว่าการปรับตัวเข้าทำลายกับพืชที่เป็นพันธุ์ต้านทาน ประกอบกับค่าใช้จ่ายต อ้นค่อนข้างสูง ฉะนั้นในการป้องกันโรคระบบรากและโคนต้น วิธีหนึ่งที่จะทำได้คือการใช้พันธุ์ที่คงทนหรือต้านทานมาเป็นต้นตอ การติดตาหรือเสียบยอดทุเรียนพันธุ์ดีบนต้นตอพันธุ์พื้นบ้านยังคงเป็นที่นิยมใช้ในการขยายพันธุ์ แต่ปัจจุบันการพัฒนาสวนทุเรียนด้วยการส่งเสริมการปลูกทุเรียนพันธุ์การค้า มีการขยายตัวเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ต้นทุเรียนพันธุ์พื้นบ้านถูกโค่นทิ้งไปเกือบหมด ซึ่งทุเรียนพันธุ์พื้นบ้านบางพันธุ์มีลักษณะและรสชาติใกล้เคียงกับพันธุ์การค้า (Kaewsrisom *et al*., 2014)

ดังนั้นในเบื้องต้นจะต้องทำการคัดเลือกทุเรียนหมอนทอง โดยพิจารณาลักษณะพันธุ์ที่สามารถทนทานต่อโรคและทนน้ำท่วมขังได้ ซึ่งเหมาะที่จะใช้เป็นพันธุ์ต้นตอ และทำการรักษาสายพันธุ์ไว้ไม่ให้สูญหาย รวมไปถึงขยายพันธุ์ให้มีปริมาณเพียงพอต่อความต้องการจึงเป็นสิ่งจำเป็นยิ่ง อีกทั้งยังช่วยเพิ่มศักยภาพการผลิตทุเรียนให้มีความยั่งยืน อย่างไรก็ตามการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพได้ก้าวหน้าจนสามารถสร้างพืชแปลงพันธุ์ได้โดยการถ่ายยีนเข้าสู่พืช หรือการคัดเลือกพันธุ์ในระดับเซลล์ การปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพนั้นต้องอาศัยเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นพื้นฐาน การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมต่อการปรับปรุงพันธุ์ไม้ผลคือ กระบวนการพัฒนาเซลล์พืชให้เจริญเป็นคัพภะ (somatic embryogenesis) ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงสุดที่สามารถใช้ประโยชน์หลายด้าน (Chartisathian *et al*., 2001)

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมวัสดุพืช

นำเมล็ดทุเรียนหมอนทองจากต้นทุเรียนหมอนทองอายุ 10 ปี ที่มีลักษณะลักษณะพันธุ์ที่สามารถทนทานต่อโรคและทนน้ำท่วมขัง อ.นบพิตำ จ.นครศรีธรรมราช ตัดชิ้นส่วนเมล็ดให้ได้ขนาด 0.5×0.5 เซนติเมตร ล้างน้ำประปาไหลผ่านนาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 70% พร้อมเขย่าเป็นเวลา 1 นาที ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอร๊อกเข้มข้น 20% ร่วมกับ tween-20 1-2 มิลลิลิตรต่อสารฟอกฆ่าเชื้อ 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ (ระบุสูตรอาหารได้หรือไม่)

2. ผลของสารแอนติออกซิแดนซ์และไซโตไคนินต่อการชักนำยอด

นำชิ้นส่วนที่เตรียมได้จากการศึกษาที่ 1 มาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS เติมสารแอนติออกซิแดนซ์ชนิดและความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ ascorbic acid (AS) citric acid (CA) และ polyvinylpyrrolidone (PVP) เข้มข้น 0, 100, 200, 300 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทุกสูตรอาหารเติมน้ำมะพร้าวเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 7.5 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นนำอาหารไปปรับค่าความเป็นกรดด่างให้ได้ 5.7 วางเลี้ยงในสภาพมีแสงที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส สังเกตและบันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เปอร์เซ็นต์การชักนำยอด จำนวนยอดเฉลี่ย และความยาวยอดเฉลี่ยทุกเดือนเป็นระยะเวลา 3 เดือน วางแผนการทดลองแบบวางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล 2 ปัจจัยในแผนแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomize design : CRD) แต่ละสูตรอาหารทำ 3 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวดๆ ละ 1 ชิ้นส่วน เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan’s multiple range test (DMRT)

3. ผลของซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) ต่อการชักนำยอดรวม

นำชิ้นส่วนยอดที่ชักนำได้จากการศึกษาที่ 2 มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม $AgNO_3$ เข้มข้น 0 50 100 150 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทุกสูตรอาหารเติม BA ความเข้มข้นที่ดีที่สุดจากการศึกษาที่ 2 ร่วมกับน้ำมะพร้าวเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 7.5 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นนำอาหารไปปรับค่าความเป็นกรดด่างให้ได้ 5.7 วางเลี้ยงในสภาพมีแสงที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส สังเกตและบันทึกการเกิดยอดรวม จำนวนยอดเฉลี่ย และความยาวยอดเฉลี่ย ทุกเดือนเป็นระยะเวลา 3 เดือน วางแผนการทดลองแบบ CRD แต่ละสูตรอาหารทำ 3 ซ้ำๆ ละ 5 ขวดๆ ละ 1 ชิ้นส่วน เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

4. การชักนำราก

นำชิ้นส่วนยอดที่ชักนำได้จากการศึกษาที่ 3 มาเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารสูตร MS เติม IBA (indole-3-butyric acid. 3-indolebutyric acid indolebutyric acid) เข้มข้น 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 7.5 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นนำอาหารไปปรับค่าความเป็นกรดด่างให้ได้ 5.7 วางเลี้ยงในสภาพมีแสงที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส สังเกตและบันทึกอัตราการสร้างราก จำนวนราก และความยาวรากเฉลี่ย ทุกเดือนเป็นระยะเวลา 3 เดือน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ แต่ละสูตรอาหารทำ 3 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด ๆ ละ 1 ชิ้นส่วน เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ผลการทดลอง

1. ผลของสารแอนติออกซิแดนซ์และไซโตไคนินต่อการรอดชีวิตและการพัฒนาของชิ้นส่วนเอ็มบริโอทุเรียนหมอนทอง

จากการนำชิ้นส่วนเอ็มบริโอมาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS เติมสารแอนติออกซิแดนซ์ชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่า ชิ้นส่วนเอ็มบริโอทุเรียนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม ascorbic acid (AS) เข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุด 50 เปอร์เซ็นต์ (Figure 1) โดยชิ้นส่วนเอ็มบริโอทุเรียนมีการตอบสนองต่อสูตรอาหารซึ่งเนื้อเยื่อบริเวณเซลล์ผิวของเอ็มบริโอเกิดการบวมพอง และให้การชักนำยอดสูงสุด 13.33 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 0.4 ยอดต่อชิ้นส่วน และความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 0.72 เซนติเมตร รองลงมาคืออาหารสูตร MS เติม ascorbic acid เข้มข้น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ เข้มข้น BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำยอดเท่ากัน 6.67 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากัน 0.20 ยอดต่อชิ้นส่วน และความยาวยอดเฉลี่ย 0.30 และ 0.34 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนชิ้นส่วนพืชในอาหารที่เติม CA และ PVP ร่วมกับ BA ความเข้มข้นอื่น ๆ ไม่มีการงอกของเมล็ด (Table 1) โดยพบการสร้างยอดและลักษณะของยอดมีสีเขียว เป็นยอดแหลม 1-2 ยอด (Figure 2)

2. ผลของ $AgNO_3$ ต่อการชักนำยอดรวม

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอด บนอาหารสูตร MS เติม $AgNO_3$ ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับ BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า สูตรอาหารที่ไม่เติมซิลเวอร์ไนเตรทให้อัตราการเกิดยอดรวมสูงสุด 10 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ย 0.67 ยอดต่อชิ้นส่วน และความยาว 0.47 เซนติเมตร ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของ $AgNO_3$ อื่น ๆ (Table 2) ลักษณะของชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงในสูตรอาหารที่เติมซิลเวอร์ไนเตรท ชิ้นส่วนพืชมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลทั้งต้น ไม่มีการพัฒนา โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นของ $AgNO_3$ สูงขึ้น ลำต้นจะค่อย ๆ เหี่ยวและใบเริ่มร่วง (Figure 3)

3. การชักนำให้เกิดราก

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดบนอาหารสูตร MS เติม IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าสูตรอาหารที่เติม IBA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการสร้างรากสูงสุดเท่ากับ 1.00 จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 1.67 รากต่อชิ้นส่วน และความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 0.53 เซนติเมตร รองลงมาคือเติม IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการสร้างราก 0.67 จำนวนรากเฉลี่ย

1.00 รากต่อชิ้นส่วน และความยาวรากเฉลี่ย 0.37 เซนติเมตร มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$ (Table 3) โดยพบลักษณะรากสมบูรณ์ มีขนาดสั้นและเล็ก (Figure 4)

วิจารณ์ผล

1. ผลของสารแอนติออกซิแดนซ์และไซโตไคนินต่ออัตราการรอดชีวิตทุเรียนหมอนทอง

ชิ้นส่วนเอ็มบริโอทุเรียนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ascorbic acid (AS) เข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุด 50 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการทดลองของ Disthabanjong และคณะ (2006) รายงานว่าการใช้สารยับยั้งการเกิดออกซิเดชั่น (antioxidant) คือ ascorbic acid เข้มข้น 250-500 มิลลิกรัมต่อลิตร ช่วยลดการเกิดอาการ browning และช่วยส่งผลให้มีอัตราการรอดชีวิตสูงขึ้น อีกทั้งยังช่วยส่งเสริมการเกิดแคลลัสของปาล์มน้ำมันได้ Ramasoot และคณะ (2017) พบว่า ชิ้นส่วนแคลลัสว่านค้างคาวเขียวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตรารอดชีวิตสูงสุดเท่ากัน 91.67 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคืออาหารสูตร MS ที่ปราศจากการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต กับอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตรารอดชีวิตเท่ากัน 75 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องจากอาจเป็นเพราะตอนตัดแยกชิ้นส่วนเอ็มบริโอมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร ทำให้เอ็มบริโอเกิดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียทั้งในส่วนของชิ้นส่วนพืชเองและในส่วนของอาหาร อีกทั้งชิ้นส่วนเอ็มบริโอยังมีการปล่อยสาร phenolic compound ซึ่งถูกปล่อยออกมาจากรอยตัดของเนื้อเยื่อ ทำให้อาหารมีสีน้ำตาลเข้มและเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อพืชได้ (Chamrasphan, 2003) สารฟีนอลิกส่งผลต่อพัฒนาการชิ้นส่วนพืช คือจะส่งผลให้เกิดอาการ browning โดยเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารฟีนอลิกในเซลล์ทำให้ชิ้นส่วนพืชเป็นสีน้ำตาลและจะตายลงในที่สุด หรือไปขัดขวางการเกิดแคลลัสและการเจริญเติบโตของแคลลัสได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Disthabanjong และคณะ (2006) พบว่า การเติม ascorbic acid เข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การเกิดแคลลัสสูงสุด 79.47% และให้น้ำหนักสดเฉลี่ยสูงสุด 0.059 กรัม ดังนั้น การเติมสารยับยั้งการเกิดออกซิเดชั่น (ได้แก่ ascorbic acid หรือ polyvinylpyrrolidone (PVP)) ช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนพืชได้ (Disthabanjong *et al*., 2006)

2. ผลของสารแอนติออกซิแดนซ์และไซโตไคนินต่อการชักนำยอดทุเรียนหมอนทอง

สำหรับการศึกษาการชักนำยอด หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม ascorbic acid เข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ เข้มข้น BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำยอด และความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด (Table 1) เช่นเดียวการทดลองของ Habibi และคณะ (2009) รายงานว่า ascorbic acid สามารถชักนำให้เกิดกระบวนการโซมาติกเอ็มบริโอของ *Themeda quadrivalvis* ได้เนื่องจาก ascorbic acid มีบทบาทในการยับยั้งสารประกอบฟีนอลที่พืชปลดปล่อยออกมา และช่วยการกระตุ้นกิจกรรมของเซลล์ รวมทั้งการแบ่งเซลล์ของพืช ทั้งนี้ยังสอดคล้องกับการทดลองของ Namhomchan (1998) พบว่าอาหารสูตรที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตาข้างทุเรียนพัฒนาต่อไปเป็นยอดได้ แต่ไม่พัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ เนื่องจาก BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของไซโตไคนิน ซึ่งมีผลทำให้พืชมีการแบ่งเซลล์ การเจริญเติบโตทางลำต้น และเนื้อเยื่อเจริญตาข้าง พร้อมชักนำการเพิ่มจำนวนยอดและใบของพืชได้ดี (Gaspar *et al*., 1996) ในขณะที่ชิ้นส่วนตาข้างที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม citric acid เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสได้สูงสุด 20.00 เปอร์เซ็นต์ และให้น้ำหนักสดแคลลัสสูงสุด 324 มิลลิกรัม ทั้งนี้เนื่องจาก citric acid เป็นกรดอินทรีย์ที่ช่วยลดการเกิดและสะสมสารประกอบสีน้ำตาล (phenolic compound) ที่พืชปลดปล่อยออกมาได้ดี (Homhual *et al*., 2017) เช่นเดียวกับการทดลองของ Homhual และคณะ (2017) ที่เติมสาร citric acid เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งสารสีน้ำตาลบริเวณรอยตัดของชิ้นส่วนของมันพื้นบ้านสกุล Dioscorea

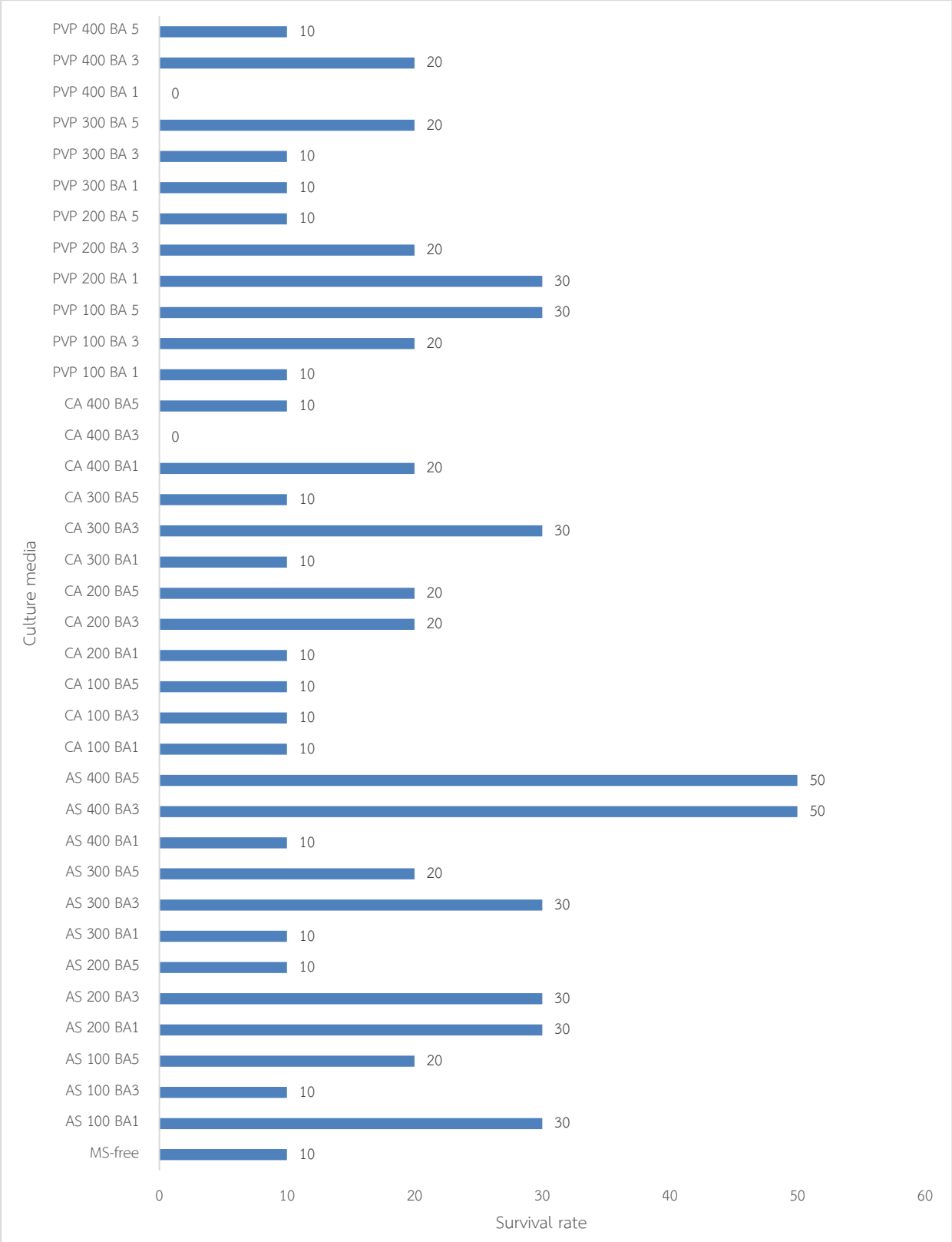

Figure 1 Effect of ascorbic acid (AS), citric acid (CA) and polyvinylpyrrolidone (PVP) supplemented with various the concentration of BA on survival rate of Monthong durian after culture for 1 month

Table 1 Effect of ascorbic acid (AS), citric acid (CA) and polyvinylpyrrolidone (PVP) supplemented with various the concentration of BA on shoot induction of Monthong durian after culturing for 3 months

Culture media	Shoot formation (%)	Average number of shoots (shoots/explant)	Average length of shoot (cm)
MS – free	0.00c	0.00b	0.00c
MS + AC 100 mg/l + BA 1 mg/l	6.67b	0.20b	0.30bc
MS + AC 100 mg/l + BA 3 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + AC 100 mg/l + BA 5 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + AC 200 mg/l + BA 1 mg/l	6.67b	0.20b	0.34bc
MS + AC 200 mg/l + BA 3 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + AC 200 mg/l + BA 5 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + AC 300 mg/l + BA 1 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + AC 300 mg/l + BA 3 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + AC 300 mg/l + BA 5 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + AC 400 mg/l + BA 1 mg/l	13.33a	0.40a	0.72a
MS + AC 400 mg/l + BA 3 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + AC 400 mg/l + BA 5 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + CA 100 mg/l + BA 1 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + CA 100 mg/l + BA 3 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + CA 100 mg/l + BA 5 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + CA 200 mg/l + BA 1 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + CA 200 mg/l + BA 3 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + CA 200 mg/l + BA 5 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + CA 300 mg/l + BA 1 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + CA 300 mg/l + BA 3 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + CA 300 mg/l + BA 5 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + CA 400 mg/l + BA 1 mg/l	6.67b	0.20b	0.20bc
MS + CA 400 mg/l + BA 3 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + CA 400 mg/l + BA 5 mg/l	6.67b	0.20b	0.50ab
MS + PVP 100 mg/l + BA 1 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + PVP 100 mg/l + BA 3 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + PVP 100 mg/l + BA 5 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + PVP 200 mg/l + BA 1 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + PVP 200 mg/l + BA 3 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + PVP 200 mg/l + BA 5 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + PVP 300 mg/l + BA 1 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + PVP 300 mg/l + BA 3 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + PVP 300 mg/l + BA 5 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + PVP 400 mg/l + BA 1 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + PVP 400 mg/l + BA 3 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
MS + PVP 400 mg/l + BA 5 mg/l	0.00c	0.00b	0.00c
F-test	*	*	*
C.V. (%)	37.45	31.26	38.65

Different letters were significantly different by DMRT; * = significant at P≤0.05

Figure 2 Characteristics of shoot of Monthong durian after culture on MS –free (A) various concentration of BA and ascorbic acid (B) citric acid (C) polyvinylpyrrolidone (D) for 3 months

Table 2 Effect of concentrations of silver nitrate ($AgNO_3$) on multiple shoot induction of Monthong durian after culture for 3 months

Concentration of $AgNO_3$ (mg/l)	Multiple shoot induction (%)	Average number of shoots (shoots/explant)	Average length of shoot (cm)
0	10.00	0.67 ± 0.58	0.47 ± 0.42
50	8.33	0.50 ± 0.50	0.43 ± 0.38
100	8.89	0.67 ± 0.58	0.40 ± 0.36
150	5.00	0.50 ± 0.50	0.30 ± 0.30
200	6.67	0.33 ± 0.29	0.33 ± 0.30
250	3.33	0.33 ± 0.29	0.30 ± 0.26
F-test	ns	ns	ns
C.V. (%)	93.53	94.23	91.90

ns = not significantly different by DMRT

Figure 3 Characteristics of multiple shoot formation of Monthong durian cultured on MS medium supplemented with various concentrations of silver nitrate ($AgNO_3$) for 3 months (bar = 0.5 cm)

A. MS – free
B. MS + 50 mg/l $AgNO_3$ + BA 1 mg/l
C. MS + 100 mg/l $AgNO_3$ + BA 1 mg/l
D. MS + 150 mg/l $AgNO_3$ + BA 1 mg/l
E. MS + 200 mg/l $AgNO_3$ + BA 1 mg/l
F. MS + 250 mg/l $AgNO_3$ + BA 1 mg/l

Table 3 Effect of concentrations of IBA on root induction of Monthong durian after culture for 3 months

Concentrations of IBA (mg/l)	Root induction (%)	Average number of roots (roots/explant)	Average length of root (cm)
0	0.00b	0.00 ± 0.00b	0.00 ± 0.00b
1	0.67a	1.00 ± 1.00ab	0.37 ± 0.32a
2	1.00a	1.67 ± 0.58a	0.53 ± 0.11a
3	0.00b	0.00 ± 0.00b	0.00 ± 0.00b
F-test	*	*	*
C.V. (%)	69.14	86.55	75.69

Different letters were significantly different by DMRT; * = significant at P≤0.05

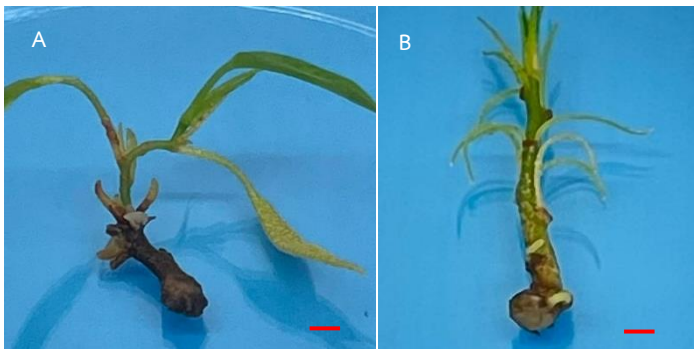

Figure 4 Characteristics of root formation of Monthong durian cultured on MS medium supplemented with various concentrations of IBA for 3 months (bar = 0.5 cm)
A. MS + 1 mg/l IBA
B. MS + 2 mg/l IBA

3. ผลของซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) ต่อการชักนำยอดรวม

จากการศึกษาผลของ $AgNO_3$ ต่อการชักนำยอดรวม พบว่า สูตรอาหารที่ไม่เติมซิลเวอร์ไนเตรทให้อัตราการเกิดยอดรวม จำนวนยอดเฉลี่ย และความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด (Table 2) ทั้งนี้เนื่องจากการเติม $AgNO_3$ มีการศึกษาในพืชหลายชนิดว่าสามารถยับยั้งการทำงานของเอทิลีนและส่งเสริมการสร้างหรือเพิ่มปริมาณยอดได้ จากรายงานของ Fuentes และคณะ (2000) พบว่าการเติม $AgNO_3$ ลงในอาหารเพาะเลี้ยงสามารถกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความสมดุลของไอออนต่าง ๆ ซึ่งจากการทดลองครั้งนี้พบว่า การเติม $AgNO_3$เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การสร้างยอด 8.89 เปอร์เซ็นต์ และยังช่วยลดการหลุดร่วงของใบได้ ซึ่งในระหว่างการทดลองนี้มักพบว่าชิ้นส่วนยอดทุเรียนเกิดอาการใบร่วง เช่นเดียวกับการรายงานของ Tamimi (2015) พบว่า อาหารที่เติม $AgNO_3$ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้สูงสุด 6.68 ยอดต่อชิ้นส่วน และ Naik และ Chand (2003) พบว่า อาหารที่เติม $AgNO_3$ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การชักนำยอดได้สูงสุดถึง 57 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องจาก $AgNO_3$ มีผลยับยั้งการทำงานของเอทิลีน โดยเอทิลีนมีบทบาทเกี่ยวข้องกับกระบวนการสารสำคัญต่างๆ ของพืช รวมทั้งการหลุดร่วงใบ ซึ่งพืชแต่ละชนิดตอบสนองต่อเอทิลีนในระดับความไวที่แตกต่างกัน (Kumar *et al*., 2009) ดังนั้นเมื่อมีการเติม $AgNO_3$ ลงในอาหารเพาะเลี้ยงทำให้พืชอาจมีการสังเคราะห์เอทิลีนลดลงและโดยรวมการทำงานของเอทิลีนอาจลดลงด้วย จึงส่งผลให้การเสื่อมสภาพต่างๆ โดยเฉพาะการหลุดร่วงของใบลดลงได้ด้วย

4. การชักนำให้เกิดราก

สำหรับการศึกษาระดับความเข้มข้นของ IBA ต่อการชักนำราก พบว่า สูตรอาหารที่เติม IBA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การพัฒนาของรากดีที่สุด (Table 3) ทั้งนี้เนื่องจาก IBA เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินมีผลกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์และการยืดตัวของเซลล์ การเกิดแคลลัส และมีผลกระตุ้นการเกิดราก (Thongampai, 1994) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีการใช้ IBA ถ้าใช้ในความเข้มข้นต่ำจะชักนำให้เกิดราก ความเข้มเข้มข้นสูงจะชักนำให้เกิดแคลลัส โดยความเข้มข้นที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช (Zaer and Mapes, 1982) อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ยังไม่ประสบความสำเร็จในการชักนำให้เกิดราก ทั้งนี้เป็นเพราะการชักนำยอดในการทดลองก่อนนี้ยังเป็นต้นที่ไม่สมบูรณ์ และมีปริมาณน้อยอยู่ ทั้งนี้อาจใช้สารกลุ่มออกซินชนิดอื่นๆ ได้แก่ IAA NAA เป็นต้น หรืออาจใช้สารกลุ่มคาร์บอน เช่น ผงถ่าน ช่วยในการชักนำราก

สรุป

สารแอนติออกซิแดนซ์และไซโตไคนินต่อการชักนำยอดจากชิ้นส่วนเอ็มบริโอของทุเรียนหมอนทอง คือ จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม ascorbic acid (AS) เข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนะชสูงสุด 50 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการศึกษาการชักนำยอดพบว่าชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม ascorbic acid เข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ เข้มข้น BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำยอดสูงสุด 13.33เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 0.40 ยอดต่อชิ้นส่วน และความยาวยอดเฉลี่ย 0.72 เซนติเมตร สำหรับการชักนำยอดรวม พบว่า สูตรอาหารที่ไม่เติมซิลเวอร์ไนเตรทให้อัตราการเกิดยอดรวม จำนวนยอดเฉลี่ย และความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 10.00 0.67 ยอดต่อชิ้นส่วน และ 0.47 เซนติเมตร ตามลำดับ และการชักนำราก พบว่าสูตรอาหารที่เติม IBA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการสร้างรากสูงสุดเท่ากับ 1.00 จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 1.67 รากต่อชิ้นส่วน และความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 0.53 เซนติเมตร มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (อว.) ที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย และขอขอบคุณคณะกรรมการกองทุนสนับสนุนการวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

เอกสารอ้างอิง

Aboshama, H.M.S. 2011. Direct somatic embryogenesis of pepper (*Capsicum annuum* L.). World Journal of Agricultural Sciences. 7: 755-762.

Chartisathian, J., Sunthranon, S. and Hirunpradit, H. 2001. Induction of Embryogenic Callus in Durian via Tissue Culture. Thai Agricultural Research Journal 19: 32-43.

Chamrasphan, S. 2003. Plant tissue culture. Udon Thani: Udon Thani Rajabhat Institute.

Department of Agriculture. 2018. Durian: https://www.doa.go.th/hort/wp-content/uploads. [accessed on 22 June 2022].

Disthabanjong, C., Disthabanjong, K., Wongsri, O. and Jaiteng, A. 2006. Oil palm tissue culture. Agricultural Biotechnology Research and Development Group. Biotechnology Research and Development Office.

Fuentes, S.R.L., Calheiros, M.B.P., Manetti-Filho, J. and Vieira, L.G.E. 2000. The effects of silver nitrate and different carbohydrate sources on somatic embryogenesis in *Coffea canephora*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 60: 5-13.

Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D. M. and Thorpe, T. A. 1996. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology-plant 32: 272-289.

Habibi, N., Suthar, R.K. and Purohit, S.D. 2009. Role of PGRs and inhibitors in induction and control of somatic embryogenesis in *Themeda quadrivalvis*. Indian Journal of Experimental Biology 47: 198-203.

Homhual, R., Wongmaneeroj, M., Jamjumras, S., Promdany, S and Thongdonae, W. 2017. Propagation of *Dioscorea* spp. for alternative food resource. Journal of Science and Technology 6: 1-13.

Kaewsrisom, H., Nakkanong, K. and Nuansri, J. 2014. Genetic analysis of indigenous durian in the south using microsatellite markers. Kasetsart Journal 42: 271-276.

Naik, S.K. and Chand, P.K. 2003. Silver nitrate and aminoethoxyvinylglycine promote *in vitro* adventitious shoot regeneration of pomegranate (*Punica granatum* L.). Journal of Plant physiology 160: 423-430.

Namhomchan, S. 1998. Durian cultivation in sterile conditions. Bangkok: Kasetsart University Graduate school.

Office of Agricultural Economics. 2021. Durian: https://www.oae.go.th. [accessed on 20 June 2022].

Office of Agricultural Economics. 2018. Durian: https://mis-app.oae.go.th/product/Durian. [accessed on 20 June 2022].

Ramasoot, S., Kongchamnan, K. and Somboon, B. 2017. Micropropagation of Green Bat Flower by Organogenesis. Princess of Naradhiwes University Journal 9: 140-148.

Tamimi, S.M. 2015. Effects of ethylene inhibitors, silver nitrate ($AgNO_3$), cobalt chloride (CoCl2) and aminooxyacetic acid (AOA), on in vitro Shoot induction and rooting of banana (*Musa acuminate* L.). African Journal of Biotechnology 15: 2510-2516.

Thongampai, P. 1994. Plant hormones and synthetic substances: controlling their occurrence in Thailand. Bangkok: Faculty of Agriculture, Kasetsart University.

Zaer, J.B. and Mapes, M.O. 1982. Action of growth regeneration. Martinus Nijhoff: London. p. 231-235.

SJPS-11-02-M97-O02-001