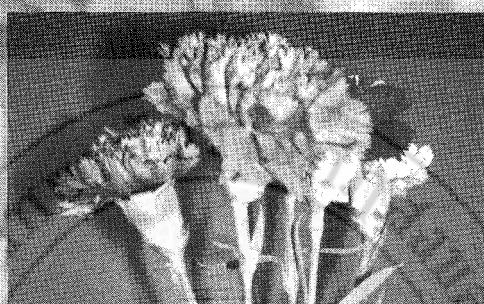


การขยายพันธุ์кар์เนชั่นโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Propagation of Carnation (*Dianthus caryophyllus L.*) by Tissue Culture.

มานี เตือสกุล*



บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงตัวข้างของกิ่งการเน้นที่คิดมากับก้านดอกโดยนำมาเดี่ยงให้อาหารในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อซักนำให้เกิดต้นรวม (Multiple Shoots) โดยใช้สูตรอาหาร MS. (Murashige and Skoog, 1962) ที่มี Indolebutyric acid เข้มข้น 0.00, 0.01 และ 0.10 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ Benzyladenine เข้มข้น 0.10, 0.50, 1.00 และ 1.50 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับที่อุณหภูมิ 25+1 เชิงเซียส ได้รับแสง 1,500-2,000 ลักซ์นาน 8 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ หลังจากนั้น นำต้นที่ได้มาเดี่ยงในสูตรอาหาร MS. ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วตัดรากส่วนของต้นให้มีความยาว 3 เซนติเมตร กระตุ้นให้เกิดรากโดยเดี่ยงในสูตรอาหาร MS ที่ใช้ Indoleacetic acid Indolebutyric acid α -Naphthalene acid และ 2,4 - Dichlorophenoxy acetic acid ความเข้มข้น 0.10, 0.05 และ 1.00 มิลลิกรัม/ลิตรเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ผลปรากฏในสูตรอาหาร MS. ที่มี BA. 1.50 และ 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร ให้ผลผลิตจำนวนต้นมากที่สุด และรองลงมาตามลำดับ เมื่อเทียบกับสูตรอาหารทั้งหมดที่ทำการทดลอง IAA เข้มข้น 0.10 มิลลิกรัม/ลิตร ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนรากและความยาวของรากสูงสุด แตกต่างจากสูตรอาหารทุกสูตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\alpha = 0.01$) อาหารที่มี NAA, 0.05, 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร และ 2,4-D ทุกระดับความเข้มข้น ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดรากจากโคนต้นแต่ทำให้เนื้อเยื่อเกิดแผลลัส

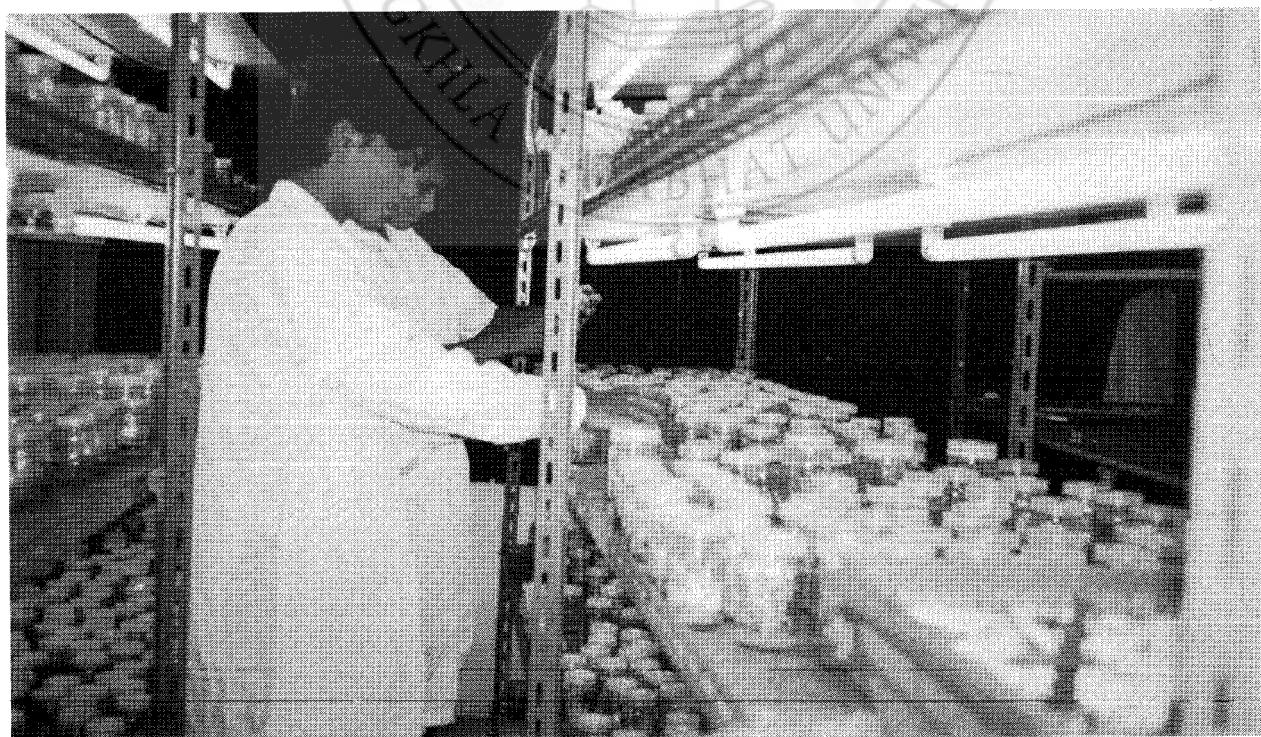
*ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรและอุตสาหกรรม สถาบันราชภัฏสงขลา

ค า น า

การเร้นชั้นเป็นไม้ตัดดอกที่เป็นสินค้าออกสำคัญหลายประเทศได้แก่ อเมริกาอิสราเอล เนเธอร์แลนด์ เป็นที่นิยมของผู้บริโภคทั่วไป เคยนำมาปลูกและได้ผลดีในแคนนาเกะเนื้อของประเทศไทย สำหรับในเขตภาคใต้ยังไม่นิยมปลูก ที่วางแผนอยู่ในตลาด จำกัดหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา เป็นพันธุ์ที่ได้มาจากการเพาะชำนาญและเผยแพร่ล่วงอื่นๆ ปกติประเทศไทยเป็นประเทศที่อยู่ในแคนนาสูนย์สูตร สภาพแวดล้อมใกล้เคียงกับประเทศไทย แต่สามารถปลูกเป็นสินค้าออกได้โดยใช้วิธีคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมที่นร่อน ดอกโต ก้านแข็งแรงใบหนา ดังนั้นถ้านำพันธุ์จากมาเลเซียมารีกษา อาจนำมาปลูกในประเทศไทยได้ จะทำให้ราคา

ไม้ตัดในประเทศไทยลดลง สั่งมากับประเทศไทยเดเชียหรือประเทศไทยต่างๆ อันเป็นการช่วยลดดุลการค้าได้อีกทางหนึ่ง แต่การนำพันธุ์จากมาเลเซียมารีกษาเป็นเรื่องยาก เนื่องจากไม่มีเมล็ดพันธุ์จำหน่าย ที่มีขายอยู่เป็นเพียงดอก และมีกิ่งติดมากับก้านดอก ดังนั้นจึงนำตัวห้างของกิ่งที่ติดมากับก้านดอกมาเลี้ยงในอาหารวุ้นในสภาพปอดดื้อ ใช้สูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) โดยมีสัดส่วนความเข้มข้นของไนโตรجينและออกซินแตกต่างกัน ดังรายงานการทดลองใช้ adenine 40 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ IAA 0.001 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ปลายยอดของยาสูบเกิดตาจำนวนมาก แต่ถ้าใช้ IAA 0.02 มิลลิกรัม/ลิตร เนื้อเยื่อจะเจริญแต่ไม่เกิดตา (Skoog and Tsui 1948) การใช้ NAA 1.0

มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับไนโตรเจน 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้การเร้นชั้นเกิดตามได้ และเมื่อใช้ไนโตรเจนและ IAA กับเซลล์ pit ของยาสูบเซลล์จะแบ่งและพัฒนาเป็นอวัยวะแต่ถ้ามีไนโตรเจนตินอย่างเดียวไม่มีออกซินก็จะไม่มีการแบ่งเซลล์ (Das et al., 1956) ดังนั้นสัดส่วนของไนโตรเจนกับออกซิน (C/A) จึงมีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืช ถ้ามี C/A ต่ำทำให้เกิดรากจำนวนมาก C/A สูง เนื้อเยื่อแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว แต่ไม่เกิดอวัยวะ C/A สูงขึ้นอีก เนื้อเยื่อจะสร้างตาจำนวนมากเกิดต้นรวม C/A สูงขึ้นมากเนื่อเยื่อเป็นแคลลัสแข็ง และไม่พัฒนาเป็นอวัยวะ (Skoog and Miller, 1957) ในการเพาะเลี้ยงการเร้นชั้น ได้มีผู้ทดลองโดยนำปลายยอดมาซักนำไปเกิดต้นรวมในอาหาร MS. มี



ไคเนดิน 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร (Earle and Langhans, 1975) BA. 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ IAA 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร (Roest and Bokelmann, 1981) BA 4.4 ไมโครโมลาร์ (Tisserat, 1985)

อุปกรณ์และวิธีการ

ชิ้นส่วนพืชได้มาจากกิ่งที่ติดมากับก้านดอกของการเนชันที่วางขายในตลาดหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา นำมาล้างด้วยผงซักฟอกล้างออกด้วยน้ำประปา 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษ ตัดใบออกให้เหลือแต่กาบใบหุ้มตา ตัดกิ่งออกเป็นท่อนแต่ละท่อนมีตา 1 ตา ตั้งแต่ตาที่ 1 ถึง ตาที่ 4 นำชิ้นส่วนพืชที่ได้ จุ่มในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ 15 วินาที ฟอกด้วยคลอรอฟอฟ 10 เปอร์เซ็นต์ ที่มีทวีน 20 จำนวน 1-2 หยด เป็นเวลา 15 นาทีเมื่อครบกำหนดใช้ปากคีบดึงเอากาบใบออกให้เหลือตาข้างไว้ นำชิ้นส่วนพืชลงฟอกในคลอรอฟอฟ 5 เปอร์เซ็นต์ เวลา 10นาที ครบกำหนดนำมาล้างในน้ำกลั่นปลดเชือ 3 ครั้ง จากนั้นตัดชิ้นส่วนพืชให้ได้ขนาด 3/4 ซม. วางเลี้ยงในอาหาร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตแตกต่างกัน ทั้ง 12 สูตร

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบ่งออกเป็น 2 ช่วง คือ

ช่วงแรกเป็นการซักนำให้เกิดต้นรวม ใช้สูตรอาหาร MS มีความเข้มข้น IBA+BA คือ $0.00+0.10, 0.00+0.50, 0.00+1.00,$



ตาน้ำเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่ BA. 0.50 มิลลิกรัม/ลิตร เวลา 8 สัปดาห์ ได้ต้นรวมเป็นกระๆ เก็บ 13.34 ต้น/ตา



ตาน้ำเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่ IBA. 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร ต้นแยกเป็นกระๆ ก็แคลลัสรอบๆ โคนต้นเดียว

$0.00+1.50, 0.01+0.10, 0.01+0.50,$
 $0.01+1.00, 0.01+1.50, 0.10+0.10,$
 $0.10+0.50, 0.10+1.00$ และ
 $0.10+1.50$ มิลลิกรัม/ลิตร โดยกำหนดให้เป็นสูตรที่ 1-12 ตามลำดับ

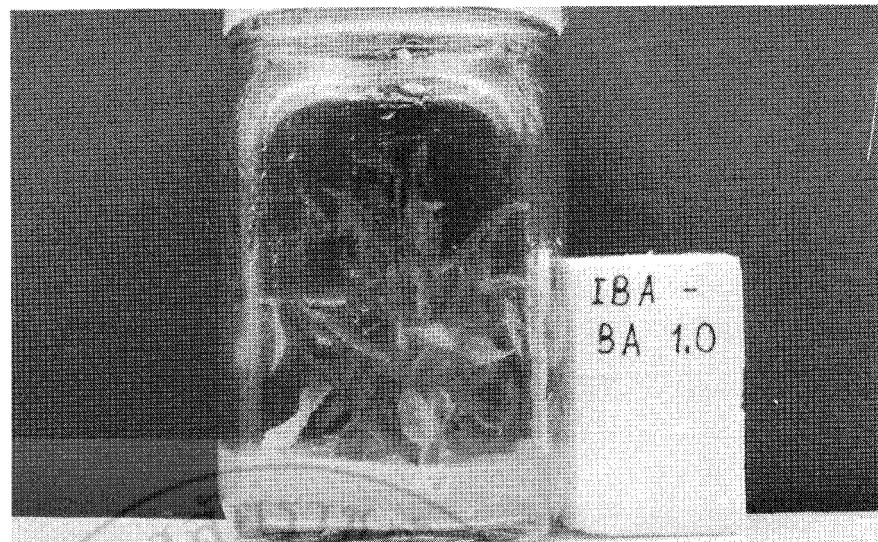
ช่วงที่สอง เตรียมอาหารซักนำให้เกิดรากโดยใช้สูตรอาหาร MS ที่มี IAA, IBA, NAA และ 2,4-D ความเข้มข้น 0.10, 0.50 และ 1.00 มิลลิลิตร/ลิตร ตามลำดับ

ผลการทดลอง

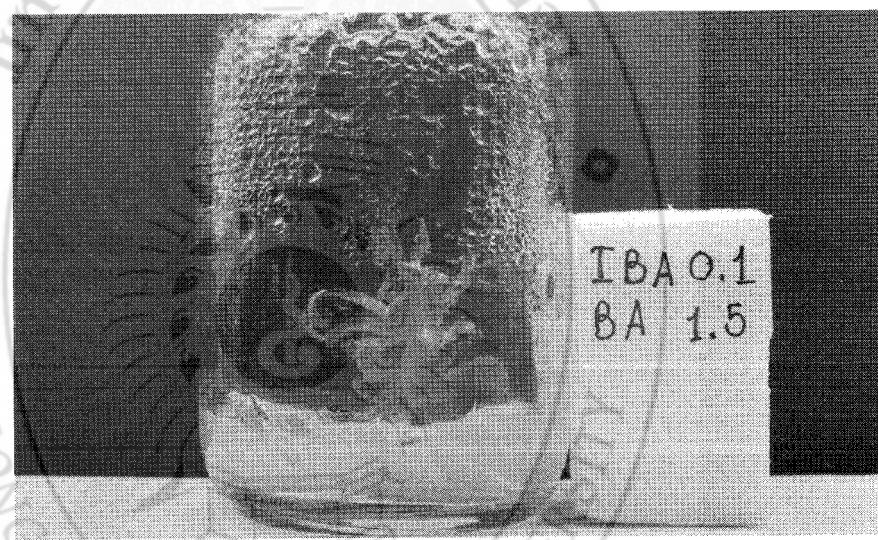
การซักนำให้เกิดต้นรวมเมื่อเลี้ยงได้ 8 สัปดาห์ปรากฏว่าในสูตรที่ 4 ได้ค่าเฉลี่ยของต้นรวมสูงสุด คือ 21.38 ต้น/ตา รองลงมาคือสูตรที่ 3 ต่ำสุดคือ สูตรที่ 5 ได้ 4.56 ต้น/ตา (ดังตารางที่ 1) เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าระดับความเข้มข้นของ IBA และ BA ได้ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นรวม แตกต่างอย่าง

มีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($\alpha = 0.01$) และมีปฏิกริยาสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\alpha = 0.05$) ระหว่างระดับสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งสอง (ดังตารางที่ 2-3) โดยที่เมื่อไม่ใส่ IBA จะให้จำนวนต้นรวมโดยเฉลี่ยสูงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับที่ใส่ IBA แต่ IBA ที่ใส่ทั้งสองระดับให้ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติ สำหรับกรณี BA ปรากฏว่าระดับ BA ยิ่งสูงขึ้นทำให้ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นรวมสูงขึ้นตามลำดับ

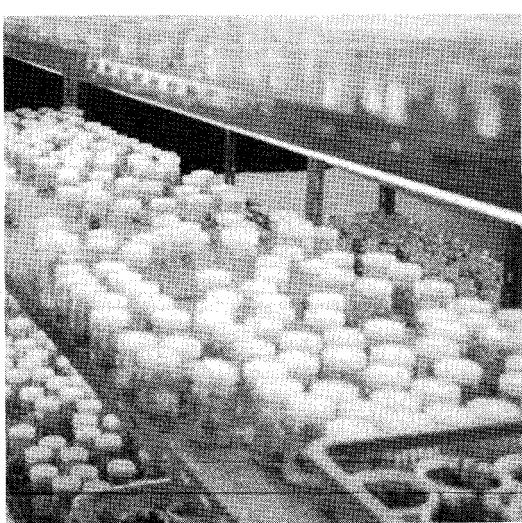
การซักนำไปเกิดราก เมื่อใช้รินส่วนพืชที่ได้จากการทดลองครั้งแรกมาเลี้ยงในสูตรอาหาร MS มี IAA, IBA, NAA และ 2, 4 - D ทั้ง 3 ระดับ ปรากฏว่าค่าเฉลี่ยจำนวนรากและความยาวของราก ที่มี IAA ทุกระดับมีค่าสูงกว่า IBA และ NAA อาหารที่มี IAA 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร ได้ค่าเฉลี่ย



ตัวข้างลี้บงในสูตรอาหาร MS BA. 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร เวลา 8 สัปดาห์ ได้ต้นรวมจำนวนมาก เฉลี่ย 18.80 ต้น/ตา ต้นเดียว



ตัวข้างลี้บงในสูตรอาหาร MS. มี IBA. 0.10 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ BA. 1.50 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ต้นเดียว แตกเป็นกระจุกที่โคนต้น ก็เดิมเป็นแคลลัสที่ข้อและรอบข้อต้น



จำนวนรากและความยาวรากสูงสุดคือ 4.67 ราก 1.67 เซนติเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือ IAA 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร ได้ค่าเฉลี่ย 3.96 ราก และ 1.33 เซนติเมตร ต่ำสุดคือ IBA 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร (ดังตารางที่ 4) เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติก็พบว่าชนิดและความเข้มของสารมีผลต่อค่าเฉลี่ยจำนวนรากและความยาวของรากแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($\alpha = 0.01$) (ดังตารางที่ 5) อาหารที่มี IAA และ IBA เมื่อมีความเข้มข้นสูงขึ้น ค่าเฉลี่ยจำนวนรากและความยาวรากลดลงตามลำดับ อาหารที่มี NAA ต่ำ ชิ้นส่วนพืชจะเกิดราก เมื่อมีระดับความเข้มข้นสูงขึ้น ชิ้นส่วนจะเกิดแคลลัส

ตารางที่ 1

ค่าเฉลี่ยจำนวนต้น/ตา เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS. ที่มี IBA, ร่วมกับ BA. ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์

IBA. มิลลิกรัม/ลิตร	BA มิลลิกรัม/ลิตร	จำนวนต้น/ตา			เฉลี่ย จำนวนต้น/ตา
		ช้า 1	ช้า 2	ช้า 3	
0.00	0.10	6.84	6.75	5.68	6.42
	0.50	10.60	14.78	14.64	13.34
	1.00	17.55	23.07	15.78	18.80
	1.50	20.40	25.45	18.28	21.38
0.01	0.10	4.81	4.81	4.05	4.56
	0.50	7.58	8.92	7.54	8.01
	1.00	9.77	6.42	8.80	8.33
	1.50	18.40	14.60	12.77	15.25
0.10	0.10	7.61	6.12	8.50	7.41
	0.50	5.38	8.00	7.36	6.91
	1.00	16.06	10.00	9.00	11.68
	1.50	16.16	12.50	11.87	13.51

ตารางที่ 2

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยจำนวนต้น/ตา ที่เลี้ยงในอาหาร MS. ที่มี IBA. ร่วมกับ BA. ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน

แหล่งความแปรปรวน

F – test

ระดับของ IBA.	**
ระดับของ BA.	**
ปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่าง IBA. กับ BA.	*

CV. = 21.27%

* = มีปฏิกริยาสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\alpha = 0.05$)

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($\alpha = 0.01$)

ตารางที่ 3

ค่าเฉลี่ยจำนวนต้น/ตา ที่เลี้ยงในสูตรอาหาร MS. นี IBA. ความเข้มข้น 3 ระดับ ร่วมกับ BA. ความเข้มข้น 4 ระดับ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

IBA. มิลลิกรัม/ลิตร	BA. มิลลิกรัม/ลิตร				เฉลี่ย
	0.01	0.50	1.00	1.50	
0.00	6.42	13.34	18.80	21.38	14.99
0.01	4.56	8.01	8.33	15.25	9.04
1.10	7.41	6.91	11.68	13.51	9.88
เฉลี่ย	6.13	9.42	12.94	16.71	11.30

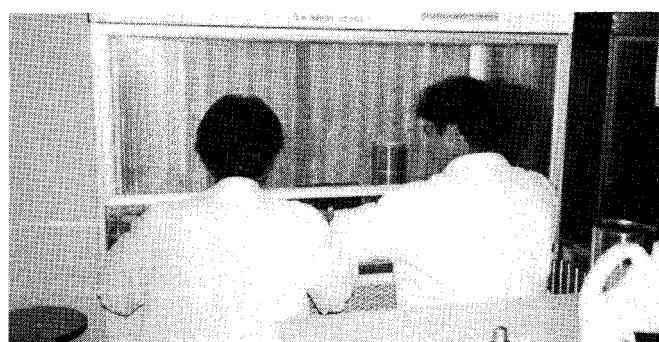
$$\begin{array}{lcl}
 LSD_{0.05} & \text{ตัวรับการทดสอบ} & = 4.05 \text{ ต้น/ตา} \\
 LSD_{0.01} & \text{ตัวรับการทดสอบ} & = 5.85 \text{ ต้น/ตา} \\
 LSD_{0.01} & IBA. & = 2.92 \text{ ต้น/ตา} \\
 LSD_{0.05} & BA. & = 2.34 \text{ ต้น/ตา} \\
 LSD_{0.01} & BA. & = 3.38 \text{ ต้น/ตา}
 \end{array}$$



ตารางที่ 4

ค่าเฉลี่ยจำนวนรากรและความยาวของรากที่เจริญจากโคนต้นเมื่อเลี้ยงในสูตรอาหาร MS. ที่มีชนิดและปริมาณสารออกซินต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ชนิดของสาร	ความเข้มข้นของสาร (มิลลิกรัม/ลิตร)	ค่าเฉลี่ยจำนวนรากร ที่เจริญจากโคนต้น (ราก)	ค่าเฉลี่ยความยาวของรากที่เจริญ จากโคนต้น (เซนติเมตร)
IAA.	1.10	4.67	1.65
	0.50	3.95	1.33
	1.00	2.21	0.96
IBA.	0.10	2.95	0.90
	0.50	1.94	0.54
	1.00	1.36	0.42
NAA.	0.10	2.56	0.47
	0.50	-	-
	1.00	-	-
2, 4 - D	0.10	-	-
	0.50	-	-
	1.00	-	-
LSD _{0.05}	จำนวนราก	= 0.282	ราก
LSD _{0.01}	จำนวนราก	= 0.391	ราก
LSD _{0.05}	ความยาวราก	= 0.115	เซนติเมตร
LSD _{0.01}	ความยาวราก	= 0.160	เซนติเมตร



ตารางที่ 5

วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยจำนวนรากและความยาวของรากที่เจริญจากโคนต้น เมื่อเลี้ยงในสูตรอาหาร MS. ที่มีชนิดและปริมาณสารออกซิน แตกต่างกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์

แหล่งความแปรปรวน	F - test
ตัวรับการทดลอง จำนวนราก	* *
ตัวรับการทดลอง ความยาวของราก	* *
CV จำนวนราก = 5.72 %	
CV ความยาวราก = 7.35 %	
* * แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ = 0.01	

การวิจารณ์ผล

สูตรอาหารที่มี BA 1.00 และ 1.50 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถให้ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นได้สูง 18.80, และ 21.38 ต้น/ตา ตามลำดับทั้ง 2 สูตรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงว่าระดับความเข้มข้นของ BA เป็นระดับที่พอเหมาะสม กับการชักนำให้เนื้อเยื่อเจริญบริเวณด้ามข้างของค่าวณ์เนชั่น เกิดการแบ่งเซลล์และทำให้เกิดตาจำนวนมาก (Skoog and Tsui, 1948, Wickson and Thimann, 1988) ตรงกับรายงานทดลองการชักนำให้ด้ามข้างของค่าวณ์เนชั่น เกิดต้นรวมของ Roest and Bokelmann (1981) ซึ่งใช้ BA 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร สูตรอาหารที่มี BA ร่วมกับ IBA ทุกสูตร มีการเกิดแคลลัส แคลลัสที่ได้มีลักษณะเป็นแบบหลวม ๆ สอดคล้องกับงานทดลองของ Skoog and Miller (1957) และ Llibbenga and Mennes (1987) การเพิ่มความเข้มข้นของ IBA สูงขึ้น ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นไม่เพิ่มขึ้น แสดงว่าการเพิ่ม IBA ในอาหารไม่มีผลต่อการชักนำให้เกิดต้นรวม ดังนั้นการชักนำให้เกิดต้นรวมของค่าวณ์เนชั่น ไม่จำเป็นต้องใส่ IBA แต่ถ้าต้องการให้เกิดแคลลัสก็ควรใส่ IBA 0.10 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ BA 0.10 มิลลิกรัม/ลิตร การชักนำให้เกิดรากของค่าวณ์เนชั่นพบว่าใช้ฮอร์โมน IAA ที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิลิตร/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้จำนวนรากมากและเนื้อเยื่อไม่เกิดแคลลัส

แสดงว่าค่าวณ์เนชั่นเป็นพืชที่ต้องการฤทธิ์ออกซินต่ำในการชักนำให้เกิดราก ตรงกับรายงานการทดลองของ Roest and Bokelmann (1981) และยังสามารถชักนำให้เกิดรากได้โดยไม่ใช้ออกวิน (Miller et. al, 1991)

ข้อเสนอแนะ

1. ในการขยายพันธุ์ค่าวณ์เนชั่นควรใช้อาหารสูตร MS และใส่ BA 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดต้นรวม ใช้เวลา 6–8 สัปดาห์ ย้ายเปลี่ยนอาหารทุก 3–4 สัปดาห์ และย้ายสูตรอาหาร MS ไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตอย่างน้อย 4 สัปดาห์ แล้วนำต้นมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS มี IAA 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร โดยเลี้ยงในหลอดทดลองปิดด้วยสำลี เป็นเวลา 3 สัปดาห์ เมื่อรากงอกจึงย้ายลงเลี้ยงในขี้เก้าแลกบับกับทราย 1:1 ไม่ต้องฝ่าเชื้อวัสดุปลูก ต้นค่าวณ์เนชั่นสามารถมีชีวิตrootได้

2. ควรนำต้นค่าวณ์เนชั่นที่ได้มาปลูกในสภาพแวดล้อมทางภาคใต้ เช่น สงขลา ตรัง สตูล ศึกษาการออกดอกและเป็นการค้าต่อไป

ເອກສານອ້າງອິນ

- Das, N.K., K. Patau and F. Skoog. 1956. Initiation of mitoses and cell division by kinetin and indoleacetic acid in excised tobacco pith tissue.' *Physiol. Plant.* 9 : 640 - 651.
- Earle, E.D. and R.W. Langhans. 1975. 'Carnation Propagation from shoot tips cultured in liquid medium.' *Hort. Sci* 10 : 608 - 610.
- Llibbenga, K.R. and A.M. Mennes. 1987. 'Hormone Binding and Its Role in Hormone Action.' In **Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development**, pp. 199 - 211. P.J. Davies (ed) Martinus Nijhoff Publishers Netherlands.
- Miller, R.M., V. Kaul, J.F. Hutchinson and D. Richards. 1991. 'Adventitious shoot regeneration in carnation (*Dianthus caryophylius*) from axillary bud explant'. *Ann. Bot.* 67 : 35 - 42.
- Murashige, T. and F. Skoog 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture', *Physiol. Plant.* 15 : 473 - 479.
- Roest, S. and G.S. Bokelmann. 1981. 'Vegetative propagation of carnation *in vitro* through multiple shoot development', *Sci. Hort.* 14 : 357 - 366.
- Skoog, F. and C. Tsui. 1948. 'Chemical control of growth and bud formation in tobacco stem segments and callus cultured *in vitro*'. *Amer. J. Bot.* 35 : 782 - 787.
- Skoog, F. and C. O. Miller. 1957. 'Chemical regulation of growth and Organ formation in plant tissue cultured *in vitro*', *Symp. Soc. Exp. Biol. Med.* 11 : 118 - 131.
- Tisserat, B. 1985. 'Embryogenesis Organogenesis and Plant Regeneration'. in **Plant Cell Culture ; A Practical Approach**. pp. 79 - 93. R.A. Dixon (ed). Information Printing, Oxford, England.
- Wickson, M. and K.V. Thimann. 1958. 'The antagonism of auxin and kinetin in apical dominance'. *Physiol. Plant.* 11 : 62 - 72.