



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาผลกระทบของการเติมสารอินทรีย์และโลหะอนุภาคนาโนต่อการชักนำให้
เกิดต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 เพื่อประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีน

Study effects of organic additives and metal nanoparticles on plant
regeneration in KDML105 variety (*Oryza sativa* L. cv. Khao Dawk Mali
105) for efficient transformation

นายสุธี ชุตีไพจิตร
นางสาวกนกพร สมพรไพสิน

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2556
วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาผลกระทบของการเติมสารอินทรีย์และโลหะอนุภาคนาโนต่อการชักนำให้
เกิดต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 เพื่อประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีน

Study effects of organic additives and metal nanoparticles on plant
regeneration in KDML105 variety (*Oryza sativa* L. cv. Khao Dawk Mali
105) for efficient transformation

นายสุธี ชูติไพจิตร
นางสาวกนกพร สมพรไพฑิณ

12๗23162

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2556
วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่สามารถนำ
ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การศึกษาผลกระทบของการเติมสารอินทรีย์และโลหะอนุภาคนาโนต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 เพื่อประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีน

แหล่งเงิน งบประมาณแผ่นดิน
 ประจำปีงบประมาณ 2556 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 230,000.00 บาท
 ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2555 ถึง 30 กันยายน 2556
 ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ และผู้ร่วมโครงการวิจัย พร้อมระบุ หน่วยงานต้นสังกัด
 นายสุธี ขุติไพจิตร และ นางสาวกนกพร สมพรไพสิน วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทคัดย่อ

ในการทดลองนี้ได้ดำเนินการศึกษาถึงผลของความแตกต่างของสภาวะในการเพาะเลี้ยง การเติมสารอินทรีย์ และโลหะอนุภาคนาโนต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ในข้าวไทย (สายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105) แคลลัสที่อายุ 3 และ 4 สัปดาห์ถูกทำให้แห้งและเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่มีการเติมสารอินทรีย์แตกต่างกัน (ซิลเวอร์ไนเตรต กรดแอสคอบิก และ/หรือ ซิสเตอีน) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเปอร์เซ็นต์ความถี่ของการเกิดเป็นต้นใหม่นั้นเพิ่มขึ้นในแคลลัส (ไม่ได้ทำการย้ายอาหารที่เวลา 1 สัปดาห์) ที่วางไว้ในสภาวะมืด หลังจากนั้นทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่มีการเติมซิลเวอร์ไนเตรต กรดแอสคอบิก และซิสเตอีน นอกจากนี้ในการทดลองนี้ยังศึกษาถึงโลหะอนุภาคนาโน (ซิงค์ออกไซด์ และไทเทเนียมไดออกไซด์) ในอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่ แคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่มีไทเทเนียมไดออกไซด์ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรแสดงให้เห็นถึงการเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความถี่ของการเกิดเป็นต้นใหม่ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความแตกต่างของสภาวะในการเพาะเลี้ยง การเติมสารอินทรีย์ และโลหะอนุภาคนาโนนั้นเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญในการปรับปรุงการเกิดเป็นต้นใหม่ในข้าว การประยุกต์ใช้ปัจจัยดังกล่าวนี้จะนำไปปรับปรุงขั้นตอนการถ่ายโอนยีน หรือความถี่ของการเกิดเป็นต้นใหม่ในพืชสายพันธุ์อื่นในอนาคตได้

คำสำคัญ : ข้าว การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การชักนำให้เกิดต้น โลหะอนุภาคนาโน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Study Effects of Organic Additives and Metal Nanoparticles on Plant Regeneration in KDML105 Variety (*Oryza sativa* L. cv. Khao Dawk Mali 105) for Efficient Transformation.....

Researcher: Mr. Sutee Chutipajit and Miss Kanokporn Sompornpailin.....

Faculty: College of Nanotechnology.....

ABSTRACT

This experiment was conducted to study the effects of different culture conditions, organic additives and metal nanoparticles on callus induction and plant regeneration in Thai rice (Khao Dawk Mali 105 variety). Three- and four-week-old calli were desiccated and cultured on regeneration medium supplemented with different organic additives (silver nitrate, ascorbic acid and/or cysteine). The results showed that the percentages of regeneration frequency increased in calli (non-subcultured at one-week-old calli) which placed in dark condition and cultured on regeneration medium supplemented with silver nitrate, ascorbic acid and cysteine. Moreover, this experiment was studied the implication of metal nanoparticles (ZnO and TiO₂) in regeneration medium. Calli were cultured on 25 mgL⁻¹ of TiO₂ nanoparticle treatment presented the high enhancement on the percentages of regeneration frequency. The results indicated that different culture conditions, organic additives and metal nanoparticles were significantly factors that rice regeneration improvement. Application of these factors may be improve the transformation process or regeneration frequency of the other plant species in the future.

Keywords : Rice, Tissue culture, Plant regeneration, Metal nanoparticle

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ต้องขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่สนับสนุนเงินทุนในการทำงานวิจัย รวมทั้งขอขอบคุณศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี และศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าว ร้อยเอ็ดที่เอื้อเฟื้อเมล็ดพันธุ์ข้าวที่นำมาใช้ในโครงการวิจัยนี้ วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้า-ลาดกระบัง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ใช้สถานที่ในการทำงานวิจัยนี้ และขอขอบคุณ ผศ.ดร.กนกพร สมพรไพสิน อาจารย์ประจำวิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้า-ลาดกระบัง ที่ให้คำแนะนำ และเป็นທີ່ปรึกษาให้โครงการวิจัยนี้ตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งรายงานการวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์



นายสุธี ชุตีไพจิตร

วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย.....	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	8
3.1 การชักนำให้เกิดแคลลัส.....	8
3.2 ผลของการเติมสารอินทรีย์ (organic additives) ต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่.....	8
3.3 ผลของการย้ายอาหารต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่.....	9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4 ผลของการเติมโลหะอนุภาคนาโน (metal oxide nanoparticles) ต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่.....	9
3.5 การออกแบบทางสถิติ.....	9
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	11
4.1 ผลของการเติมสารอินทรีย์ (organic additives) ต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่.....	11
4.2 ผลของการย้ายอาหารต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่.....	13
4.3 ผลของการเติมโลหะอนุภาคนาโน (metal oxide nanoparticles) ต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่.....	18
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	21
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	21
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	21
เอกสารอ้างอิง.....	22
ข้อมูลประวัติผู้วิจัย.....	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ตัวอย่างชิ้นส่วนของข้าวที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	6
4.1 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขี้ยว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่ 5 สูตร (สูตร A ไม่มีการเติมสารอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด สูตร B เติมซิลเวอร์ไนเตรต 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตร C เติมกรดแอสคอบิก 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตร D เติมซิสเตอีน 10 มิลลิกรัมต่อลิตรและสูตร E เติมซิลเวอร์ไนเตรต 5 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอบิก 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและซิสเตอีน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นเวลา 3 สัปดาห์.....	12
4.2 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขี้ยว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่ 5 สูตร (สูตร A ไม่มีการเติมสารอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด สูตร B เติมซิลเวอร์ไนเตรต 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตร C เติมกรดแอสคอบิก 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตร D เติมซิสเตอีน 10 มิลลิกรัมต่อลิตรและสูตร E เติมซิลเวอร์ไนเตรต 5 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอบิก 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและซิสเตอีน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	13
4.3 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขี้ยว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสและอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่ ในสภาวะที่แตกต่างกันทั้งหมด 8 สภาวะ จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นเวลา 3 สัปดาห์.....	16
4.4 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขี้ยว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสและอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่ ในสภาวะที่แตกต่างกันทั้งหมด 8 สภาวะ จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	18
4.5 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขี้ยว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่สูตร E ที่มีการเติมซิงค์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นเวลา 3 สัปดาห์.....	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.6	
แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิด เป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่สูตร E ที่มีการเติม ไทเทเนียมไดออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้ เกิดแคลลัส เป็นเวลา 3 สัปดาห์.....	20



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
3.1 แสดงขั้นตอนในการทดลองผลของการย้ายอาหารต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่.....	10
4.1 ลักษณะแคลลัสที่เพาะเลี้ยงไว้ในสภาวะที่มีแสง (ซ้าย) และแคลลัสที่เพาะเลี้ยงไว้ในสภาวะมืด (ขวา) ที่ระยะเวลา 3 สัปดาห์ (ก) และ 4 สัปดาห์ (ข).....	15
4.2 ลักษณะแคลลัสที่เพาะเลี้ยงไว้ในสภาวะที่มีแสงและมีการย้ายแคลลัสลงในอาหารใหม่ที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์ (ซ้าย) และแคลลัสที่เพาะเลี้ยงไว้ในสภาวะที่มีแสง แต่ไม่มีการย้ายแคลลัสลงในอาหารใหม่ที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์ (ขวา) (ก) ลักษณะแคลลัสที่เพาะเลี้ยงไว้ในสภาวะที่มีมืด และมีการย้ายแคลลัสลงในอาหารใหม่ที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์ (ซ้าย) และแคลลัสที่เพาะเลี้ยงไว้ในสภาวะที่มีมืด แต่ไม่มีการย้ายแคลลัสลงในอาหารใหม่ที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์ (ขวา) (ข).....	15



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

จากการที่ข้าวนั้นเป็นธัญพืชที่เป็นอาหารหลักสำหรับประชากรทั่วโลก รวมทั้งเป็นธัญพืชที่ส่งผลต่อเศรษฐกิจและการส่งออกในหลายประเทศ รวมทั้งประเทศไทยและเพื่อรองรับความต้องการในการบริโภคข้าวที่สูงขึ้น เนื่องมาจากประชากรที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งคาดว่าจะมีผู้ที่ต้องการบริโภคข้าวถึงประมาณ 1 หมื่นล้านคนภายในปี ค.ศ. 2050 (Ilahi et al., 2005) ประกอบกับพื้นที่ที่ใช้ในการเพาะปลูกนั้นลดน้อยลง จากสภาพแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นในหลายประเทศจึงมีความพยายามในการเพิ่มปริมาณของผลผลิตข้าวและการปรับปรุงสายพันธุ์ข้าว ให้มีปริมาณและคุณภาพที่เพียงพอและตรงกับความต้องการของผู้บริโภคที่มีความหลากหลายและมีปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น (Biswas and Mandal, 2007)

การเพิ่มปริมาณของผลผลิตข้าวและการปรับปรุงสายพันธุ์ข้าวโดยเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่นั้น จำเป็นต้องใช้เทคนิคในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นพื้นฐานของการทำงานเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์ที่รวดเร็ว ในปริมาณมาก เพื่อเป็นแนวทางการสร้างพืชดัดแปลงพันธุ์ที่มีคุณสมบัติที่หลากหลาย ให้เหมาะสมต่อสภาพแวดล้อมหรือแก้ไขข้อจำกัดในการเพาะปลูก พบว่ามีการรายงานถึงความสำเร็จในการดัดแปลงพันธุ์ข้าวสายพันธุ์จาปอนิกา (japonica) ที่ประโยชน์หลากหลาย (Evangelista et al., 2009; Ozawa, 2009) แต่กลับพบว่าการศึกษาในข้าวสายพันธุ์อินดิกา (indica) ซึ่งเป็นสายพันธุ์เดียวกันกับข้าวสายพันธุ์ไทย ยังมีการศึกษากันในวงจำกัด อาจเนื่องมาจากความหลากหลายของสายพันธุ์ข้าวที่แตกต่างกันหรือประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ต่ำ ส่งผลให้ไม่ประสบความสำเร็จในการถ่ายโอนยีนในข้าวหลายสายพันธุ์หรือได้ประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนที่ได้นั้นต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวสายพันธุ์จาปอนิกา (Lin and Zhang, 2005; Sridevi et al., 2005) จึงมีความจำเป็นที่ต้องมีการปรับปรุงและพัฒนาเทคนิคและองค์ประกอบต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นใหม่ อันจะส่งผลให้เกิดการเพิ่มปริมาณและประสิทธิภาพการถ่ายโอนยีนในการสร้างพืชดัดแปลงพันธุ์กรรม หรือการศึกษาทางพันธุวิศวกรรมในข้าวสายพันธุ์อินดิกาในอนาคตได้

ดังนั้นในการศึกษาถึงขั้นตอนและส่วนประกอบในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว จึงน่าจะนำไปสู่การเพิ่มปริมาณการชักนำในเกิดต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อนำองค์ความรู้ที่ได้ในการนำไปประยุกต์ใช้ในการขยายพันธุ์หรือการศึกษาการถ่ายโอนยีนในการสร้างพืชดัดแปลงพันธุ์กรรมในข้าวหรือนำไปใช้ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวสายพันธุ์อื่นในอนาคตได้และยังเป็นการเพิ่มปริมาณผลผลิตข้าวให้เพียงพอต่อความต้องการที่สูงขึ้นอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาถึงองค์ประกอบต่างๆ รวมถึงโลหะอนุภาคนาโน ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105

1.2.2 เพื่อศึกษาถึงสภาวะในการเพาะเลี้ยง ต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105

1.2.3 เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพการพัฒนาเป็นต้นใหม่ของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 โดยใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.2.4 เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาการถ่ายโอนยีน และสร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรมในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในอนาคต

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ในการทดลองนี้จะทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวขาวดอกมะลิ105 โดยใช้เมล็ดทำการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และชักนำให้เซลล์แคลลัสเกิดเป็นต้นใหม่ โดยการเติมองค์ประกอบต่างๆ ในอาหารเพาะเลี้ยงที่หลากหลาย รวมทั้งโลหะอนุภาคนาโน การเปลี่ยนแปลงสภาวะและขั้นตอนในการเพาะเลี้ยง ทั้งในช่วงที่ชักนำให้เกิดแคลลัสและช่วงที่ชักนำให้เกิดต้นใหม่ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการชักนำให้เกิดต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

ในการดำเนินงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาในขั้นแรกถึงอายุของเซลล์แคลลัสที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ และศึกษาผลของการเติมสารอินทรีย์สามชนิด ได้แก่ ซิลเวอร์ไนเตรด (silver nitrate) กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) และซิสเตอีน (cysteine) ที่มีต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่เหมาะสมที่สุด จากนั้นจึงทำการศึกษาถึงสภาวะในการเพาะเลี้ยงเซลล์แคลลัสทั้งในสภาวะที่มีแสงและไม่มีแสง รวมทั้งอายุและสภาวะในการย้ายอาหาร ทั้งในระยะชักนำให้เกิดแคลลัสและระยะที่ชักนำให้เซลล์แคลลัสเกิดเป็นต้นใหม่ และเมื่อได้สภาวะและอายุที่เหมาะสมในการพัฒนาของเซลล์แคลลัสให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่แล้ว จึงจะศึกษาถึงผลของการเติมอนุภาคนาโนสองชนิด ได้แก่ ซิงค์ออกไซด์ (ZnO nanoparticle) และไทเทเนียมไดออกไซด์ (TiO₂ nanoparticle) ในอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่ เพื่อจะได้หาสภาวะและองค์ประกอบที่เหมาะสมของอาหารเพาะเลี้ยงในการที่จะชักนำให้เซลล์แคลลัสเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ได้อย่างเหมาะสมที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการชักนำให้เกิดต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105

1.5.2 สามารถนำองค์ประกอบต่างๆ และสภาวะในการเพาะเลี้ยง ในการนำไปประยุกต์ใช้กับข้าวสายพันธุ์อื่น

1.5.3 สามารถใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มปริมาณผลผลิตข้าว รวมทั้งสร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรมให้มีคุณสมบัติตามที่ต้องการในอนาคตได้

1.5.4 สามารถนำความรู้และความเข้าใจที่ได้มาเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้กับพืชใบเลี้ยงเดี่ยวชนิดอื่นได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม

2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

จากความหลากหลายและความแตกต่างของสายพันธุ์ข้าวอินดิคาที่มีอยู่อย่างมากมายนั้น ทำให้การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อใช้ในการเพิ่มปริมาณผลผลิตหรือการศึกษาการถ่ายโอนยีนในข้าวนั้น เป็นไปได้ค่อนข้างยากในข้าวสายพันธุ์ไทย จึงต้องมีการศึกษาถึงผลขององค์ประกอบต่างๆ ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการชักนำให้เกิดต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 เพื่อการนำไปประยุกต์ใช้ทั้งในด้านการเพิ่มปริมาณผลผลิตและการศึกษาการถ่ายโอนยีนในทางพันธุวิศวกรรมในอนาคตได้

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ข้าวเป็นหนึ่งในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของโลก โดยเป็นพืชอาหารหลักของประชากรทั่วโลกถึงประมาณ 80% และส่วนใหญ่เป็นประชากรในแถบทวีปเอเชีย (Zhu and Wu, 2008) รวมถึงการแปรรูปข้าว เพื่อให้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อาหารสัตว์ เครื่องสำอางและสิ่งทอ เป็นต้น (Bano et al., 2005) นอกจากนี้ข้าวยังเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย ซึ่งจากข้อมูลของกรมส่งเสริมการส่งออกและสมาคมผู้ส่งออกข้าวไทย พบว่าในปี พ.ศ. 2553 นั้นประเทศไทยส่งออกข้าวประมาณ 105,000 ล้านบาท เป็นอันดับที่ 10 ของสินค้าส่งออกทั้งหมด (www.depthai.go.th) ของประเทศและสามารถส่งออกข้าวได้เป็นอันดับที่ 1 ของโลก โดยอยู่ที่ประมาณ 9 ล้านล้านตัน รองมาเป็นประเทศเวียดนามมีการส่งออกอยู่ประมาณ 6 ล้านล้านตัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 ที่เป็นสายพันธุ์ที่มีความโดดเด่นในด้านคุณภาพ ทำให้เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคและยังสร้างชื่อเสียงให้กับข้าวไทย ซึ่งประเทศไทยมีการส่งออกข้าวสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 ถึงประมาณ 2,300,000 ตัน (www.thai-hommalirice.com; www.thairiceexporters.or.th) ทำให้ข้าวสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 มีความสำคัญทั้งต่อผู้บริโภคภายในประเทศและตลาดการค้าภายนอกประเทศและจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมบนโลกทั้งทางด้านกายภาพและชีวภาพ ทำให้พื้นที่ที่สามารถใช้ในการเพาะปลูกหรือทำการเกษตรนั้นลดลงถึงประมาณ 20% ของพื้นที่เพาะปลูกเดิม และน่าจะส่งผลกระทบต่อผลผลิตของข้าวด้วย จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการเพิ่มปริมาณผลผลิตหรือปรับปรุงสายพันธุ์ของข้าว เพื่อให้มีปริมาณผลผลิตที่เพียงพอกับปริมาณประชากรที่เพิ่มขึ้น ส่วนทางกลับกันพื้นที่ที่ใช้ในการเพาะปลูกที่ลดลงกับปัญหาในการเพาะปลูกที่มากขึ้น อีกทั้งเพื่อเป็นการรักษาตลาดการส่งออกข้าวของประเทศไทยให้สามารถแข่งขันทางการค้ากับคู่แข่งทางการค้าได้ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างเช่นประเทศเวียดนามที่พัฒนาปริมาณผลผลิตข้าวให้สามารถส่งออกได้ใกล้เคียงกับประเทศไทย ซึ่งส่งผลกระทบต่อสภาพเศรษฐกิจโดยรวมของประเทศด้วย โดยที่เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นเป็นหนึ่งในเทคนิคหรือเครื่องมือที่สำคัญ ในการแก้ไขปัญหาทางการเพิ่มผลผลิต การปรับปรุงสายพันธุ์ รวมทั้งการศึกษาทางด้านพันธุวิศวกรรมในพืชหลากหลายชนิด รวมทั้งในข้าว (Wani et al., 2011) เพื่อเป็นการพัฒนาทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพของข้าวให้สูงขึ้น

ข้าวเป็นพืชวงศ์หญ้า (family Gramineae) สกุลโอไรซี (genus *Oryzae*) มีอยู่สอง สปีชีส์ที่เป็นสายพันธุ์ที่ใช้ในการเพาะปลูกเพื่อใช้เป็นอาหาร คือ *Oryza sativa* ที่ปลูกกันอยู่ทั่วโลกและ *O. glaberrima* ที่ปลูกในทวีปแอฟริกา ส่วนสปีชีส์อื่นๆ จัดเป็นสายพันธุ์ข้าวป่า ข้าวปลูกยังสามารถแบ่งได้อีกเป็น 3 กลุ่ม คือ ข้าวอินดิกา (*indica*) จาปอนิกา (*japonica*) และจาวานิกา (*javanica*) โดยแบ่งตามลักษณะภายนอกของต้น เมล็ดและพื้นที่ที่พบการเพาะปลูก ซึ่งข้าวสายพันธุ์ที่พบส่วนใหญ่ในทวีปเอเชียจะจัดอยู่ในข้าวอินดิกา รวมทั้งข้าวสายพันธุ์ไทยด้วย

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวนั้น พบว่ามีซับซ้อนและยุ่งยากมากกว่าในพืชใบเลี้ยงคู่ (Bano et al., 2005) รวมทั้งในข้าว นอกจากนี้ภายในสายพันธุ์ข้าวยังมีความแตกต่างทางด้านสายพันธุ์ ซึ่งพบในข้าวสายพันธุ์จาปอนิกานั้นมีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่สูงกว่าในข้าวสายพันธุ์อินดิกา ทำให้ข้าวสายพันธุ์จาปอนิกานั้นประสบความสำเร็จในการพัฒนาทางการปรับปรุงสายพันธุ์หรือการศึกษาการถ่ายโอนยีนในทางพันธุวิศวกรรมได้อย่างสูงและรวดเร็วกว่าในข้าวสายพันธุ์อินดิกา (Saharan et al., 2004) นอกจากนี้ยังมีผลจากชิ้นส่วนหรืออวัยวะต่างๆ (*explants*) ที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงที่หลากหลาย (ตารางที่ 1) ที่มีต่อประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นใหม่ โดยพบว่าการนำส่วนของเมล็ดมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นจะมีความสะดวกและให้ผลของการชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่สูงกว่าการใช้ชิ้นส่วนอื่น ทำให้การเพาะเลี้ยงโดยใช้เมล็ดนั้นมีความเหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณหรือขยายต้นพันธุ์และการศึกษาการถ่ายโอนยีนในทางพันธุวิศวกรรมได้อย่างเหมาะสม (Hoque et al., 2005)

ยังรวมถึงองค์ประกอบต่างๆ ภายในอาหารเพาะเลี้ยงและสภาวะในการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน ซึ่งมีผลต่อประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นใหม่ด้วยเช่นกันเช่นการเติมกรดอะมิโนชนิดต่างๆ (Saharan et al., 2004; Wani et al., 2011) การเติมสารต้านการเกิดฟีนอลิก (*antiphenolic*) (Grewal et al., 2006; Sah, 2008) การใช้ฮอร์โมนที่แตกต่างกัน (Islam et al., 2004; Biswas and Mandal, 2007) หรือการใช้แสงทั้งในระยะชักนำแคลลัสและชักนำในเกิดต้นใหม่ (Sikder et al., 2006; Rahman et al., 2010) เป็นต้น ซึ่งแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ของข้าว นอกจากนี้ในปัจจุบันยังพบงานวิจัยที่มีการนำโลหะอนุภาคนาโน เช่น ซิงค์ เงิน หรือ ไททานเนียม มาประยุกต์ใช้ในการศึกษาการเจริญเติบโต และการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ รวมถึงขนาดความเป็นพิษภายในพืช (Lee et al., 2010; Mahajan et al., 2011) แต่ยังไม่พบงานวิจัยที่นำโลหะอนุภาคนาโนมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นใหม่ โดยเฉพาะในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างชิ้นส่วนของข้าวที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ชิ้นส่วนที่ใช้	สายพันธุ์ข้าว	ที่มา
เกสรตัวผู้ (anther)	Yerua P.A.	Marassi et al., 2006
	Kurulu Thuda, BG250	Silva and Ratnayake, 2009
	Bindeshwari, Hardinath-1, Prabhat	Sah, 2008
ใบ	Rasi	Ramesh et al., 2009
ช่อดอก (inflorescences)	Tai-Nung62	Chen et al., 1985
ราก	Quing Livan1, IET13856	Mandal et al., 2003
	Hamaran, Sori, Kulbadam	Akter and Al-Forkan, 2010
เยื่อหุ้มยอดแรกเกิด (coleoptile)	CH1039	Oinam and Kothari, 1995
	Kasturi	Sahrawat and Chand, 2001
	Hamaran, Sori, Kulbadam	Akter and Al-Forkan, 2010
ลำต้นเหนือใบเลี้ยง (epicotyl)	LX297, IR64, V19	Khatun and Desamero, 2005
เมล็ด	MR232	Rahman et al., 2010
	Swat-II	Bano et al., 2005
	HKR-46, HKR-126	Saharan et al., 2004
	Chiniguri	Sikder et al., 2006
	Nonabokra, PNR381, Taipei309	Mohiuddin et al., 2006

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาถึง การเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นใหม่ในข้าวอินดิกา ที่มีความแปรปรวนทางด้านสายพันธุ์ที่ค่อนข้างสูง ทำให้ต้องมีการศึกษาถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่อย่างจำเพาะเจาะจงในแต่ละสายพันธุ์ รวมถึงโลหะอนุภาคนาโนที่ คาดว่ายังไม่มีการศึกษามาก่อนหน้านี้ในข้าวสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 เพื่อจะได้เพิ่มประสิทธิภาพการชักนำให้เกิดต้นใหม่และนำไปสู่การศึกษารายละเอียดของไอออนอินทรีย์ที่ประสบความสำเร็จในอนาคตได้ เป็นผลให้สามารถพัฒนาข้าวสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 ทั้งในด้านคุณภาพและปริมาณ ให้สามารถเพียงพอต่อการบริโภคภายในประเทศและแข่งขันทางการค้ากับตลาดในต่างประเทศได้ต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การชักนำให้เกิดแคลลัส

นำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (*Oryza sativa* L. cv Khao Dawk Mali 105) นำมาแกะเปลือกออกด้วยมือ แล้วนำมาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของเมล็ดด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2-3 นาทีและย้ายมาฟอกฆ่าเชื้อในสารละลายไฮเตอร์ (โซเดียมไฮโปคลอไรต์ 6 เปอร์เซ็นต์) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นย้ายลงในสารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นทำการล้างสารละลายไฮเตอร์ออกโดยใช้น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 5-6 ครั้งและนำการชักนำให้เกิดแคลลัส โดยการเพาะเลี้ยงในอาหาร NB (Li et al., 1993) ที่มี 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร กลูตามีน (glutamine) 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โพรลีน (proline) 500 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร วัน 8 กรัมต่อลิตร pH 5.6-5.8 (NBC medium) นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ในสภาวะมืดเป็นเวลา 3 และ 4 สัปดาห์

3.2 ผลของการเติมสารอินทรีย์ (organic additives) ต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่

นำแคลลัสอายุ 3 และ 4 สัปดาห์ มาพักบนกระดาษกรองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ในสภาวะมืด เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นทำการย้ายแคลลัสลงอาหารในการชักนำให้เกิดต้นใหม่ โดยการเพาะเลี้ยงในอาหาร NB ที่มี BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร IAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โพรลีน (proline) 500 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ไฟต้าเจล (Phytigel[®]) 5 กรัมต่อลิตรและมีการเติมสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ แบ่งเป็น สูตร A ไม่มีการเติม สูตร B เติมซิลเวอร์ไนเตรด (silver nitrate) 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตร C เติมกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตร D เติมซิสเตอีน (cysteine) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ สูตร E เติมซิลเวอร์ไนเตรด 5 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิก 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและซิสเตอีน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ (luxs) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำการบันทึกการเกิดจุดสีเขียว (green spots) และการเกิดยอด (shoot regeneration)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 ผลของการย้ายอาหารต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่

ทำการชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร NBC เช่นเดียวกับการทดลองตอนที่ 1 แบ่งการชักนำให้เกิดแคลลัสออกเป็น 2 สภาวะคือ ในสภาวะมืด และสภาวะที่มีแสงที่ความเข้มแสง 1000 ลักซ์และในแต่ละสภาวะแบ่งการทดลองออกเป็น 3 แบบ คือ ทิ้งไว้เป็นเวลา 1, 3 และ 4 สัปดาห์ ในการทดลองที่ทำการทิ้งไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จะทำการย้ายแคลลัสลงในอาหารเดิมและทิ้งไว้ในสภาวะเดิมอีกเป็นเวลา 2 และ 3 สัปดาห์ จากนั้นนำแคลลัสที่ได้จากการทดลอง มาพักบนกระดาษกรองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วในสภาวะมืดเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นทำการย้ายแคลลัสลงในอาหารที่ชักนำให้เกิดต้นใหม่สูตรที่ดีที่สุดที่ได้จากการทดลองในตอนต้นที่ 2 และแบ่งการทดลองเป็น 2 ชุดการทดลองคือ นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์และอีกชุดการทดลองจะทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะเดียวกัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นย้ายแคลลัสลงในอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่สูตรเดิม ทิ้งไว้ในสภาวะเดิมอีกเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ทำการบันทึกการเกิดจุดสีเขียวและการเกิดยอด (รูปที่ 3.1)

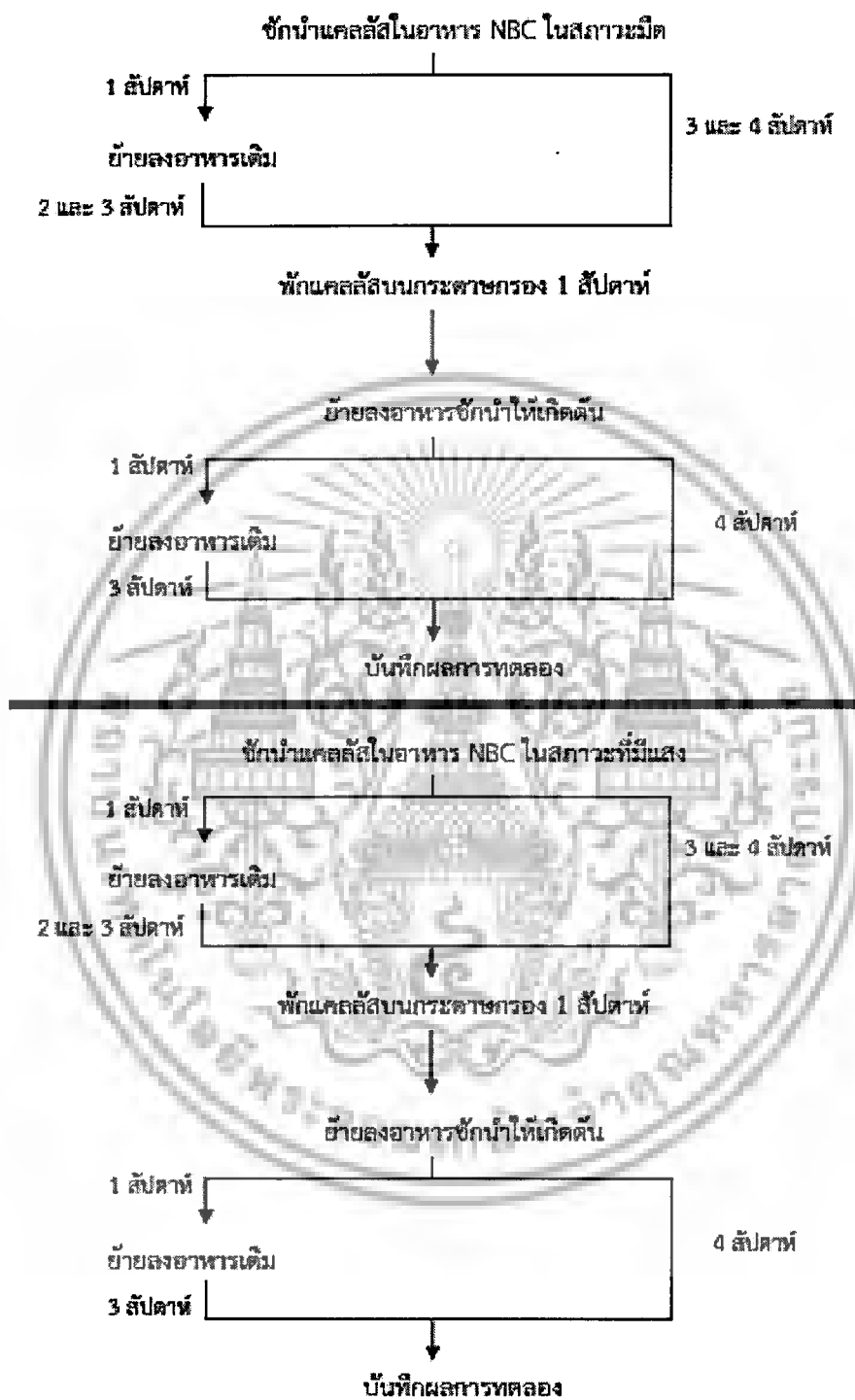
3.4 ผลของการเติมโลหะอนุภาคนาโน (metal oxide nanoparticles) ต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่

ทำการชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร NBC เช่นเดียวกับการทดลองตอนที่ 1 นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่ดีที่สุดที่ได้จากการทดลองในตอนต้นที่ 3 จากนั้นทำการย้ายแคลลัสลงในอาหารที่ชักนำให้เกิดต้นใหม่สูตรที่ดีที่สุดที่ได้จากการทดลองในตอนต้นที่ 2 ที่มีการเติมโลหะอนุภาคนาโน 2 ชนิดได้แก่ ซิงค์ออกไซด์ (ZnO nanoparticle) หรือ ไทเทเนียมไดออกไซด์ (TiO_2 nanoparticle) ที่ความเข้มข้น 0-50 มิลลิกรัมต่อลิตร นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำการบันทึกการเกิดจุดสีเขียวและการเกิดยอด

3.5 การออกแบบทางสถิติ

ใช้การทดลอง 3 ซ้ำในแต่ละชุดการทดลอง ($n=3$) ออกแบบการทดลองโดยใช้ CRD ผลที่ได้นำไปวิเคราะห์ทางสถิติด้วย ANOVA และ Duncan's multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 15.0 (SPSS for Windows, SPSS Inc., USA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.1 แสดงขั้นตอนในการทดลองผลของการย้ายอาหารต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ผลของการเติมสารอินทรีย์ (organic additives) ต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่

ในการทดลองตอนที่ 4.1 นี้ได้ทำการศึกษาถึงผลของการเติมสารอินทรีย์ 3 ชนิดต่อการเกิดจุดสีเขียวและการชักนำให้เกิดต้นใหม่ของแคลลัสที่ได้จากการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส โดยใช้เมล็ด และทำการเพาะเลี้ยงไว้ในสภาวะมืด เป็นระยะเวลา 3 และ 4 สัปดาห์ จากการทดลองในแคลลัสที่มีอายุ 3 สัปดาห์ จะพบว่าอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่สูตร E ที่มีการเติมสารอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดได้แก่ ซิลเวอร์ไนเตรตที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอบิกที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและซิสเตอีนที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้เปอร์เซ็นต์จากเกิดจุดสีเขียว (95.22%) เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ (55.51%) และอัตราส่วนการเกิดต้นต่อแคลลัสสูงที่สุด (2.57) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรอื่น โดยที่อาหารสูตร A B C และ D นั้นมีเปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่อยู่ที่ 51.67 54.84 54.84 และ 53.33% และอัตราส่วนการเกิดต้นต่อแคลลัสอยู่ที่ 2.03 2.44 2.38 และ 2.28 ตามลำดับ ขณะที่เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียวนั้นไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติจากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้ง 5 สูตร (ตารางที่ 4.1)

ในขณะที่แคลลัสที่ทำการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสจากเมล็ดที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์นั้น จะให้ผลการทดลองที่คล้ายคลึงกับผลการทดลองของแคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ โดยพบว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่สูตร E นั้นให้เปอร์เซ็นต์จากเกิดจุดสีเขียว (94.86%) เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ (55.91%) และอัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ต่อแคลลัสสูงที่สุด (2.56) เมื่อเปรียบเทียบกับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่น ขณะที่อาหารสูตร A B C และ D นั้นชักนำให้แคลลัสอายุ 4 สัปดาห์เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นจุดสีเขียว 91.67 93.06 94.32 และ 92.87% เปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ 51.39 54.17 54.29 และ 52.90% และอัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ต่อแคลลัสอยู่ที่ 2.05 2.38 2.39 และ 2.27 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2)

จากผลการทดลองที่ได้นั้นสอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ซึ่งมีการเติมสารอินทรีย์ดังกล่าวในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน โดยที่สารอินทรีย์ทั้งสามชนิดนั้นมีคุณสมบัติในการต้านการเกิดสารฟีนอลิก (antiphenolic compound) และต้านการตายของเซลล์แบบเฉพาะส่วน (antinecrotic compound) ทำให้ช่วยลดความเป็นพิษที่จะเกิดขึ้นกับเซลล์พืชในระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ (Enríquez-Obregón et al., 1998; Abdelwahd et al., 2008; Tao et al., 2011; Yin et al., 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่ 5 สูตร (สูตร A ไม่มีการเติมสารอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด สูตร B เติมซิลเวอร์ไนเตรต 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตร C เติมกรดแอสคอบิก 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตร D เติมซิสเตอีน 10 มิลลิกรัมต่อลิตรและสูตร E เติมซิลเวอร์ไนเตรต 5 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอบิก 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและซิสเตอีน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นเวลา 3 สัปดาห์

สูตรอาหาร	จำนวนแคลลัสทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนแคลลัสที่เกิดจุดสีเขียว (ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว (%)	จำนวนแคลลัสที่เกิดเป็นต้นใหม่ (ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ (%)	อัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ต่อแคลลัส
A	60	56	93.33 ^a	31	51.67 ^a	2.03 ^a
B	62	58	93.49 ^a	34	54.84 ^{ab}	2.44 ^b
C	62	58	93.49 ^a	34	54.84 ^{ab}	2.38 ^b
D	60	56	93.33 ^a	33	53.33 ^a	2.28 ^b
E	63	60	95.22 ^b	35	55.51 ^c	2.57 ^c

*หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันในทางสถิติที่ $P \leq 0.05$ โดยใช้การทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ (n=3) และวิเคราะห์ทางสถิติด้วย ANOVA และ Duncan's multiple range test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขี้ยว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่ 5 สูตร (สูตร A ไม่มีการเติมสารอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด สูตร B เติมซิลเวอร์ไนเตรต 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตร C เติมกรดแอสคอบิก 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตร D เติมซิสเตอีน 10 มิลลิกรัมต่อลิตรและสูตร E เติมซิลเวอร์ไนเตรต 5 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอบิก 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและซิสเตอีน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	จำนวนแคลลัสทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนแคลลัสที่เกิดจุดสีเขี้ยว (ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขี้ยว (%)	จำนวนแคลลัสที่เกิดเป็นต้นใหม่ (ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ (%)	อัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ต่อแคลลัส
A	72	66	91.67 ^a	37	51.39 ^a	2.05 ^a
B	72	67	93.06 ^b	39	54.17 ^{ab}	2.38 ^b
C	70	66	94.32 ^{bc}	38	54.29 ^{bc}	2.39 ^b
D	70	65	92.87 ^{ab}	37	52.90 ^{ab}	2.27 ^{ab}
E	77	73	94.86 ^c	43	55.91 ^c	2.56 ^c

*หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันในทางสถิติที่ $P \leq 0.05$ โดยใช้การทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ (n=3) และวิเคราะห์ทางสถิติด้วย ANOVA และ Duncan's multiple range test (DMRT)

4.2 ผลของการย้ายอาหารต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่

จากผลการทดลองในตอนๆ 4.1 จะพบว่าอาหารชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ที่มีการเติมสารอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดนั้น ให้เปอร์เซ็นต์จากเกิดจุดสีเขี้ยว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ต่อแคลลัสที่ดีที่สุด ทั้งแคลลัสที่มีอายุ 3 หรือ 4 สัปดาห์ ดังนั้นจึงนำอาหารสูตรดังกล่าวมาใช้ในการทดลองในตอนๆ 4.2 ต่อไป โดยในการทดลองตอนนี้จะทำการศึกษถึงสภาวะที่แตกต่างกันในด้านอายุของแคลลัสในอาหารชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส (3 หรือ 4 สัปดาห์) สภาวะในการชักนำให้เกิดแคลลัส (ในที่มีมืด หรือที่มีแสง) และการเปลี่ยนอาหารทั้งในระยะชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสและระยะที่ชักนำให้เกิดต้นใหม่

ในขั้นแรกทำการแบ่งการทดลองโดยใช้แคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ แบ่งเป็นการทดลองชุดที่ 1-4 จะทำการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสจากเมล็ดในสภาวะที่มีมืดและการทดลองชุดที่ 5-8 จะทำการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสจากเมล็ดในสภาวะที่มีแสง ขณะที่การทดลองชุดที่ 1 และ 5 จะชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสในอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัส ที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์ก่อน จากนั้นจะย้ายแคลลัสที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในอาหารใหม่สูตรเดิมเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ จึงนำมาพักบนกระดาษกรองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ในสภาวะที่ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มืด เป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วจึงย้ายลงอาหารสูตรชกนําให้เกิดเป็นต้นใหม่สูตร E ที่ได้จากการทดลองตอนที่ 4.1 ทั้งไว้ในสภาวะที่มีแสงเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ แล้วจึงย้ายลงในอาหารใหม่ที่เป็นสูตรเดิม (สูตร E) และทำการบันทึกผลการทดลองที่ได้ (มีการย้ายอาหารทั้งในระยะชกนําให้เกิดเซลล์แคลลัสและระยะชกนําให้เกิดต้นใหม่)

การทดลองชุดที่ 2 และ 6 นั้นจะทำการชกนําให้เกิดเซลล์แคลลัสโดยใช้สภาวะเดียวกันกับการทดลองในชุดที่ 1 และ 5 แต่ในขั้นตอนการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชกนําให้เกิดเป็นต้นใหม่นั้นจะไม่มี การย้ายเซลล์แคลลัสที่เพาะเลี้ยงไว้ลงในอาหารใหม่ (มีการย้ายอาหารในระยะชกนําให้เกิดเซลล์แคลลัส แต่ไม่มี การย้ายอาหารในระยะชกนําให้เกิดต้นใหม่)

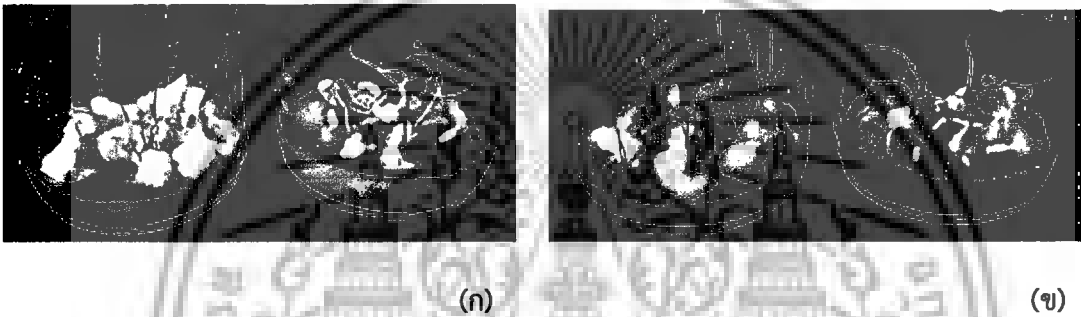
การทดลองชุดที่ 3 และ 7 นั้นจะไม่มี การย้ายแคลลัสที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์ลงในอาหารใหม่ แต่ ในขั้นตอนของการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชกนําให้เกิดเป็นต้นใหม่จะทำเช่นเดียวกับการทดลองในชุดที่ 1 และ 5 (ไม่มี การย้ายอาหารในระยะชกนําให้เกิดเซลล์แคลลัส แต่มีการย้ายอาหารในระยะชกนําให้เกิดต้น ใหม่)

ส่วนการทดลองในชุดที่ 4 และ 8 นั้นจะไม่มี การย้ายอาหารของเซลล์แคลลัสทั้งในระยะชกนําให้ เกิดเซลล์แคลลัส และระยะชกนําให้เกิดต้นใหม่)

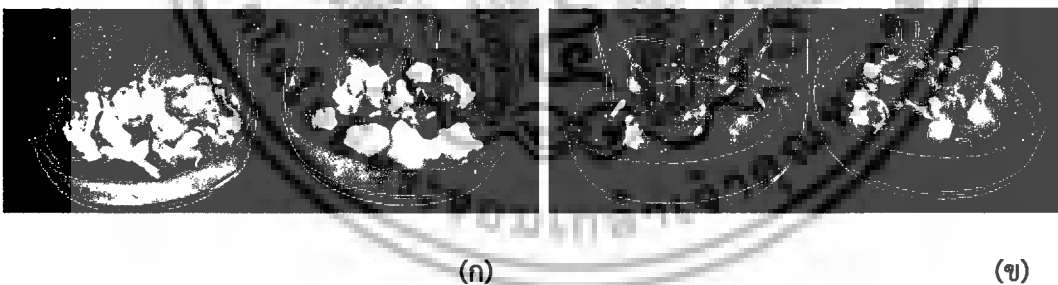
จากการทดลองในทั้ง 8 ชุดการทดลองนั้น พบว่าเซลล์แคลลัสจากเมล็ด ที่ถูกชกนําในสภาวะที่มี แสงนั้นจะให้ขนาดของแคลลัสที่ใหญ่กว่าแคลลัสที่ชกนําในสภาวะที่มืด (รูปที่ 4.1) และเซลล์แคลลัสที่มีการ ย้ายอาหารที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์นั้นจะให้ลักษณะที่มีสีน้ำตาลเข้มมากกว่าเซลล์แคลลัสที่ไม่มี การย้ายอาหารในระยะที่มีการชกนําให้เกิดเซลล์แคลลัส (รูปที่ 4.2) ขณะที่เปอร์เซ็นต์จากเกิดจุดสีเขียว เปอร์เซ็นต์ การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ต่อแคลลัสนั้น พบสูงที่สุดที่ชุดการทดลองที่ 4 โดยอยู่ที่ 95.83% 56.25% และ 2.57 ตามลำดับ ซึ่งในการทดลองชุดที่ 4 นั้นจะเป็นการทดลองที่ชกนําให้เกิดเซลล์ แคลลัสในที่มืดและไม่มี การย้ายอาหารขณะที่อยู่ในระยะชกนําให้เกิดแคลลัส และระยะชกนําให้เกิดเป็นต้น ใหม่ ขณะที่ชุดการทดลองที่ 8 ซึ่งไม่มี การย้ายอาหารขณะที่อยู่ในระยะชกนําให้เกิดแคลลัส และระยะชกนํา ให้เกิดเป็นต้นใหม่ แต่มีการชกนําให้เกิดเซลล์แคลลัสในที่มืด ให้เปอร์เซ็นต์จากเกิดจุดสีเขียว เปอร์เซ็นต์ การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ต่อแคลลัสลดลงจากชุดการทดลองที่ 4 เล็กน้อย โดยอยู่ที่ 94.62% 55.91% และ 2.42 ตามลำดับ การชกนําให้เกิดเซลล์แคลลัสในสภาวะที่มีแสงนั้น ถึงแม้จะเพิ่ม ปริมาณน้ำหนักรากหรือมวลชีวภาพที่ได้มากกว่าเซลล์แคลลัสที่ชกนําในสภาวะที่มืด แต่ลักษณะเซลล์แคลลัสที่ ได้นั้นสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่ได้น้อย อาจเนื่องมาจากการชกนําเซลล์แคลลัสโดยใช้แสงนั้น มี ส่วนในการเพิ่มการสะสมสารจำพวกโพลีฟีนอลิก (polyphenolic compounds) จากการทำงานของ เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenoloxidase) ในเซลล์พืชที่ได้รับแสง ทำให้เซลล์บางส่วนไม่ สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่ได้ (George et al., 2008; Chawla, 2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และจากการทดลองในชุดการทดลองอื่นนั้นจะแสดงให้เห็นว่า ถ้ามีการย้ายอาหารทั้งในระยะชัก นำให้เกิดแคลลัสและระยะชักทำให้เกิดเป็นต้นใหม่จะทำให้เปอร์เซ็นต์จากเกิดจุดสีเขียว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ต่อแคลลัสลดลง ทั้งแคลลัสที่ชักนำในสภาวะมืดหรือสภาวะที่มีแสงก็ตาม (ชุดการทดลองที่ 1 และ 5) ในขณะที่ชุดการทดลองที่มีการย้ายเซลล์แคลลัสในระยะชักนำให้เกิดแคลลัส หรือระยะชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่นั้นจะให้เปอร์เซ็นต์จากเกิดจุดสีเขียว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ต่อแคลลัสเพิ่มขึ้น (ชุดการทดลองที่ 2, 3, 6 และ 7) แต่ยังคงน้อยกว่าชุดการทดลองที่ไม่มีการย้ายเซลล์แคลลัสในทั้งสองระยะ (ตารางที่ 4.3)



ภาพที่ 4.1 ลักษณะแคลลัสที่เพาะเลี้ยงไว้ในสภาวะที่มีแสง (ซ้าย) และแคลลัสที่เพาะเลี้ยงไว้ในสภาวะมืด (ขวา) ที่ระยะเวลา 3 สัปดาห์ (ก) และ 4 สัปดาห์ (ข)



ภาพที่ 4.2 ลักษณะแคลลัสที่เพาะเลี้ยงไว้ในสภาวะที่มีแสงและมีการย้ายแคลลัสลงในอาหารใหม่ ที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์ (ซ้าย) และแคลลัสที่เพาะเลี้ยงไว้ในสภาวะที่มีแสง แต่ไม่มีการย้ายแคลลัสลงในอาหารใหม่ ที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์ (ขวา) (ก) ลักษณะแคลลัสที่เพาะเลี้ยงไว้ในสภาวะที่มืดและมีการย้ายแคลลัสลงในอาหารใหม่ ที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์ (ซ้าย) และแคลลัสที่เพาะเลี้ยงไว้ในสภาวะที่มีมืด แต่ไม่มีการย้ายแคลลัสลงในอาหารใหม่ ที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์ (ขวา) (ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขี้ยว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสและอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่ ในสภาวะที่แตกต่างกันทั้งหมด 8 สภาวะ จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นเวลา 3 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	จำนวนแคลลัสทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนแคลลัสที่เกิดจุดสีเขี้ยว (ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขี้ยว (%)	จำนวนแคลลัสที่เกิดเป็นต้นใหม่ (ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ (%)	อัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ต่อแคลลัส
1	99	68	68.69 ^a	25	25.25 ^a	1.48 ^a
2	96	76	79.17 ^c	37	38.54 ^c	1.73 ^b
3	96	70	72.92 ^b	28	29.17 ^b	1.64 ^b
4	96	92	95.83 ^d	54	56.25 ^d	2.57 ^d
5	93	63	67.74 ^a	23	24.73 ^a	1.52 ^a
6	93	73	78.49 ^c	36	38.71 ^c	1.67 ^b
7	93	68	73.12 ^b	25	26.88 ^{ab}	1.76 ^b
8	93	88	94.62 ^d	52	55.91 ^d	2.42 ^c

*หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันในทางสถิติที่ $P \leq 0.05$ โดยใช้การทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ (n=3) และวิเคราะห์ทางสถิติด้วย ANOVA และ Duncan's multiple range test (DMRT)

ในส่วนของการทดลองโดยใช้แคลลัสอายุ 4 สัปดาห์นั้น จะแบ่งชุดการทดลองคล้ายคลึงกับการทดลองที่ใช้แคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ โดยทำการแบ่งเป็นการทดลองชุดที่ 1-4 จะทำการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสจากเมล็ดในสภาวะที่มีด และการทดลองชุดที่ 5-8 จะทำการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสจากเมล็ดในสภาวะที่มีแสงเช่นเดียวกัน ขณะที่การทดลองชุดที่ 1 และ 5 จะชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสในอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัส ที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์ก่อนและจากนั้นจะย้ายแคลลัสที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในอาหารใหม่สูตรเดิมเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ จึงนำมาพักบนกระดาษกรองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ในสภาวะมืด เป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วจึงย้ายลงอาหารสูตรชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่สูตร E ที่ไว้ในสภาวะที่มีแสงเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ แล้วจึงย้ายลงในอาหารใหม่ที่เป็นสูตรเดิมและทำการบันทึกผลการทดลองที่ได้ (มีการย้ายอาหารทั้งในระยะชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสและระยะชักนำให้เกิดต้นใหม่)

การทดลองชุดที่ 2 และ 6 นั้นจะทำการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสโดยใช้สภาวะเดียวกันกับการทดลองในชุดที่ 1 และ 5 แต่ในขั้นตอนการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่นั้นจะไม่มีการเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ย้ายเซลล์แคลล์สที่เพาะเลี้ยงไว้ลงในอาหารใหม่ (มีการย้ายอาหารในระยะชักนำให้เกิดเซลล์แคลล์ส แต่ไม่มีการย้ายอาหารในระยะชักนำให้เกิดต้นใหม่)

การทดลองชุดที่ 3 และ 7 นั้นจะไม่มีมีการย้ายแคลล์สที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์ลงในอาหารใหม่ แต่ในขั้นตอนของการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่จะทำเช่นเดียวกับการทดลองในชุดที่ 1 และ 5 (ไม่มีการย้ายอาหารในระยะชักนำให้เกิดเซลล์แคลล์ส แต่มีการย้ายอาหารในระยะชักนำให้เกิดต้นใหม่)

ส่วนการทดลองในชุดที่ 4 และ 8 นั้นจะไม่มีมีการย้ายอาหารของเซลล์แคลล์สทั้งในระยะชักนำให้เกิดเซลล์แคลล์ส และระยะชักนำให้เกิดต้นใหม่)

ผลการทดลองที่ได้มีลักษณะการเกิดแคลล์ส และเปอร์เซ็นต์จากเกิดจุดสีเขียว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ต่อแคลล์สเป็นแนวโน้มที่คล้ายคลึงกับผลการทดลองที่ได้จากแคลล์สอายุ 3 สัปดาห์

โดยที่ชุดการทดลองที่ 4 จะให้เปอร์เซ็นต์จากเกิดจุดสีเขียว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ต่อแคลล์สอยู่ที่ 95.51% 56.18% และ 2.48 ตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองที่ 8 นั้นให้เปอร์เซ็นต์จากเกิดจุดสีเขียว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ลดลงจากชุดการทดลองที่ 4 เล็กน้อย โดยอยู่ที่ 95.05% 55.45% และ 2.43 ตามลำดับและจากการทดลองในชุดการทดลองอื่นนั้นจะแสดงให้เห็นเช่นเดียวกับชุดการทดลองที่ได้จากเซลล์แคลล์สที่มีอายุ 3 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขี้ยว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสและอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่ ในสภาวะที่แตกต่างกันทั้งหมด 8 สภาวะ จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	จำนวนแคลลัสทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนแคลลัสที่เกิดจุดสีเขี้ยว (ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขี้ยว (%)	จำนวนแคลลัสที่เกิดเป็นต้นใหม่ (ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ (%)	อัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ต่อแคลลัส
1	99	67	67.68 ^a	24	24.24 ^a	1.42 ^a
2	97	76	78.35 ^b	37	38.14 ^c	1.68 ^b
3	84	59	70.24 ^{ab}	24	28.57 ^b	1.63 ^b
4	89	85	95.51 ^c	50	56.18 ^d	2.48 ^c
5	88	60	68.18 ^a	21	23.86 ^a	1.43 ^a
6	89	71	79.78 ^b	34	38.20 ^c	1.62 ^b
7	93	64	68.82 ^a	26	27.96 ^b	1.58 ^a
8	101	96	95.05 ^c	56	55.45 ^d	2.43 ^c

*หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในทางสถิติที่ $P \leq 0.05$ โดยใช้การทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ (n=3) และวิเคราะห์ทางสถิติด้วย ANOVA และ Duncan's multiple range test (DMRT)

4.3 ผลของการเติมโลหะอนุภาคนาโน (metal oxide nanoparticles) ต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่

จากการทดลองในตอนที่ 4.1 และ 4.2 นั้นจะพบว่า การชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสในสภาวะมีดเป็นเวลา 3 สัปดาห์และไม่มีการย้ายแคลลัสลงในอาหารใหม่ทั้งในระยะที่ชักนำให้เกิดแคลลัส และระยะที่ชักนำให้เกิดต้น รวมทั้งอาหารชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่มีการเติมสารอินทรีย์ทั้งสามชนิด เป็นสภาวะและขั้นตอนที่เหมาะสมในการเพิ่มประสิทธิภาพการเกิดเป็นต้นใหม่ได้ดีที่สุด จึงนำสภาวะและขั้นตอนดังกล่าวมาทดลองในตอนที่ 4.3 ต่อไป โดยได้มีการเติมโลหะอนุภาคนาโน 2 ชนิด ได้แก่ ซิงค์ออกไซด์ หรือไทเทเนียมไดออกไซด์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน

ผลการทดลองในตารางที่ 4.5 พบว่าการเติมซิงค์ออกไซด์อนุภาคนาโนลงในอาหารชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่นั้นไม่ได้เพิ่มเปอร์เซ็นต์จากเกิดจุดสีเขี้ยว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ต่อแคลลัส เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่ไม่มีการเติมซิงค์ออกไซด์อนุภาคนาโน แสดงให้เห็นว่าซิงค์ออกไซด์อนุภาคนาโนในความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองนี้ น่าจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์แคลลัส ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ ที่พบว่าการเติมซิงค์ออกไซด์อนุภาคนาโนในปริมาณที่ไม่เหมาะสมนั้นจะยับยั้งการออก การเจริญเติบโตและปริมาณมวลชีวภาพในพืชหลายชนิด ถึงแม้ว่าซิงค์ออกไซด์เป็นอีกสารที่สังเคราะห์ขึ้นเพื่อใช้ประโยชน์ แต่เมื่ออยู่ใต้ดินไปใช้ประโยชน์ในการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอออน (Zn^{+}) นั้น จะเป็น cofactor ที่ช่วยการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยามีด ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชก็ตาม แต่ถ้าใช้ในปริมาณที่ไม่เหมาะสมจะทำให้เกิดผลเสียกับเซลล์พืชได้ (Franklin et al., 2007; Lin and Xing. 2008; Lee et al., 2010; Prasad et al., 2012)

ตารางที่ 4.5 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่สูตร E ที่มีการเติมซิงค์ออกไซด์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นเวลา 3 สัปดาห์

ความเข้มข้นของซิงค์ออกไซด์ (mgL^{-1})	จำนวนแคลลัสทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนแคลลัสที่เกิดจุดสีเขียว (ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว (%)	จำนวนแคลลัสที่เกิดเป็นต้นใหม่ (ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ (%)	อัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ต่อแคลลัส
0	72	68	94.44 ^b	40	55.56 ^b	2.55 ^a
5	72	64	91.67 ^a	35	48.61 ^a	2.54 ^a
25	75	69	92.00 ^a	39	52.00 ^a	2.56 ^a
50	75	68	90.67 ^a	38	50.67 ^a	2.55 ^a

*หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันในทางสถิติที่ $P \leq 0.05$ โดยใช้การทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ($n=3$) และวิเคราะห์ทางสถิติด้วย ANOVA และ Duncan's multiple range test (DMRT)

ในขณะที่อาหารชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ที่มีการเติมไทเทเนียมไดออกไซด์อนุภาคนาโน ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้นสามารถช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสมากขึ้น โดยอยู่ที่ 56.41% และ 2.80 แต่เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียวนั้นไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ในอาหารสูตรที่ไม่เติมและเติมไทเทเนียมไดออกไซด์อนุภาคนาโนที่ความเข้มข้นต่างๆ แสดงให้เห็นว่าไทเทเนียมไดออกไซด์อนุภาคนาโนน่าจะมีส่วนช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพการเกิดเป็นต้นใหม่ของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ได้โดยที่ทีมงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้กล่าวไว้ว่าไทเทเนียมไดออกไซด์อนุภาคนาโน อาจจะช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับระบบการสังเคราะห์ด้วยแสง (Ma et al., 2008) และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระ (Gao et al., 2006; Li et al., 2012) ทำให้เพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกของพืช เมื่อใช้ในปริมาณที่เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิดและสายพันธุ์ ถ้าใช้ในความเข้มข้นที่มากเกินไปจะไปกระตุ้นให้เกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งเป็นผลให้เชื้อหุ้มเซลล์ถูกทำลายและส่งผลให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์พืชได้ (Wang et al., 2010) (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่สูตร E ที่มีการเติมโทเทเนียมไดออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส เป็นเวลา 3 สัปดาห์

ความเข้มข้นของโทเทเนียมไดออกไซด์ (mgL^{-1})	จำนวนแคลลัสทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนแคลลัสที่เกิดจุดสีเขียว (ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว (%)	จำนวนแคลลัสที่เกิดเป็นต้นใหม่ (ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ (%)	อัตราส่วนการเกิดต้นใหม่ต่อแคลลัส
0	72	68	94.44 ^a	40	55.56 ^a	2.55 ^a
5	75	71	94.67 ^a	42	56.00 ^b	2.55 ^a
25	78	74	94.87 ^a	44	56.41 ^b	2.80 ^b
50	75	70	93.33 ^a	41	54.67 ^a	2.54 ^a

*หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันในทางสถิติที่ $P < 0.05$ โดยใช้การทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ($n=3$) และวิเคราะห์ทางสถิติด้วย ANOVA และ Duncan's multiple range test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการเกิดเป็นต้นใหม่ ในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 โดยใช้เมล็ดในการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสและใช้เซลล์แคลลัสที่ได้ชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า การชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสในสภาวะมืด เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ โดยที่ไม่มีการย้ายแคลลัสที่ไต่ลงในอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสใหม่ จากนั้นนำไปพักไว้ให้แห้งในสภาวะมืด เป็นเวลา 1 สัปดาห์และนำไปเซลล์แคลลัสที่ได้ย้ายลงอาหารชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ที่มีการเติมซิลเวอร์ไนเตรต 5 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอบิก 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชีสเตอีน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และไทเทเนียมไดออกไซด์อนุภาคนาโน 25 มิลลิกรัมต่อลิตร จะช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสได้สูงที่สุด โดยที่ไม่มีการย้ายแคลลัสที่ไต่ลงในอาหารชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ ทำให้สภาวะ ขั้นตอนและสูตรอาหารดังกล่าวนั้นเหมาะสมที่จะใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพการเกิดเป็นต้นใหม่ เพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนการถ่ายโอนยีนต่อไปได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการทดลองนี้ในขั้นตอนที่มีการเติมสารอินทรีย์ 3 ชนิดนั้น ในการทำการทดลองในอนาคตควร จะทำการเพิ่มความแตกต่างของความเข้มข้นจากสารอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดและเพิ่มความเข้มข้นของไทเทเนียมไดออกไซด์อนุภาคนาโน ในช่วง 25-50 มิลลิกรัมต่อลิตร น่าจะช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่และอัตราส่วนการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัส รวมทั้งลดปริมาณความเข้มข้นของซิงค์ออกไซด์อนุภาคนาโน เพื่อลดความเป็นพิษและหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะช่วยส่งเสริมการเกิดเป็นต้นใหม่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- Abdelwahd, R., Hakam, N., Labhilili, M. and Udupa, S.M. 2008. Use of an adsorbent and antioxidants to reduce the effects of leached phenolics in in vitro plantlet regeneration of faba bean. *Afri. J. Biotech.*, 7: 997-1002.
- Akter, P. and Al-Forkan, A. 2010. Assessment of somatic embryogenesis and plant regeneration potentiality from coleoptile and root tissues of *Jhum* rice (*Oryza sativa* L.). *Indian J. Agric. Res.*, 44: 88-95.
- Bano, S., Jabeen, M., Rahim, F. and Ilahi, I. 2005. Callus induction and regeneration in seed explants of rice (*Oryza sativa* cv. Swat-II). *Pak. J. Bot.*, 37: 829-836.
- Biswas, A. and Mandal, A.B. 2007. Plant regeneration in different genotypes of *indica* rice. *Ind. J. Biotech.*, 6: 532-540.
- Blumwald, E. and Grover, A. 2006. Salt tolerance. In: *In Plant Biotechnology: Current and Future Uses of Genetically Modified Crops*, John Wiley and Sons Ltd., UK, pp. 206-224.
- Chawla, H.S. 2002. *Introduction to plant biotechnology*, 2nd Edition, Science Publishers INC, New Hampshire, United States of America. 528 p.
- Chen, T.H., Lam, L. and Chen, S.C. 1985. Somatic embryogenesis and plant regeneration from cultured young inflorescences of *Oryza sativa* L. (rice). *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 4: 51-54.
- Enríquez-Obregón, G.A., Vázquez-Padrón, R.I., Prieto-Samsonov, D.L., De la Riva, G.A. and Selman-Housein, G. 1998. Herbicide-resistant sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plants by *Agrobacterium*-mediated transformation. *Planta*, 206: 20-27.
- Evangelista, F.C., Aldemita, R.R. and Ungson, L.B. 2009. Callusing and regeneration potential of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes towards the development for salt tolerance. *Philip. J. Sci.*, 138: 169-176.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Franklin, N.M., Rogers, N.J., Apte, S.C., Batley, G.E., Gadd, G.E. and Casey, P.S. 2007. Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl₂ to a freshwater microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): The importance of particle solubility. *Environ. Sci. Technol.*, 41: 8484–8490.
- Gao, F., Hong, F., Liu, C., Zheng, L., Su, M., Wu, X., Yang, F., Wu, C. and Yang, P. 2006. Mechanism of nano-anatase TiO₂ on promoting photosynthetic carbon reaction of spinach: inducing complex of rubisco-rubisco activase. *Biological Trace Element Research*, 111: 239-253.
- George, E.F., Hall, M.A. and De Klerk, G.J. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture* 3rd Edition, Vol. 1. Springer, Dordrecht, The Netherlands. 501 p.
- Grewal, D., Gill, R. and Gosal, S.S. 2006. Role of cysteine in enhancing androgenesis and regeneration of indica rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Growth Regul.*, 49: 43-47.
- Hoque, M.E., Mansfield, J.W. and Bennett, M.H. 2005. *Agrobacterium*-mediated transformation of Indica rice genotypes: an assessment of factors affecting the transformation efficiency. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 82: 45-55.
- Ilahi, I., Bano, S., Jabeen, M. And Rahim, F. 2005. Micropropagation of rice (*Oryza sativa* L. cv Swat-II) through somatic embryogenesis. *Pak. J. Bot.*, 37: 237-242.
- Islam, M.M., Wahed, S.A. and Khan, S.A.K.U. 2004. Studies on callus induction and regeneration from dehusked rice (*Oryza sativa* L.) seeds. *Plant Tiss. Cult.*, 14: 155-160.
- Khatun, M.M. and Desamero, N.V. 2005. Callus induction and plant regeneration from rice epicotyl. *Plant Tiss. Cult.*, 15: 51-56.
- Lee, C.W., Mahendra, S., Zodrow, K., Li, D., Tsai, Y.C., Braam, J. and Alvarez, P.J.J. 2010. Developmental phytotoxicity of metal oxide nanoparticles to *Arabidopsis thaliana*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 29: 669-675.
- Li, L., R. Qu, A. De Kochko, C. Frauquet and R.N. Beachy. 1993. An improved rice transformation method using the biolistic method. *Plant Cell Rep.*, 12: 250-255.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Li, F.M., Zhao, W., Li, Y.Y., Tian, Z.J. and Wang, Z.Y. 2012. Toxic effects of nano-TiO₂ on *Gymnodinium breve*. *Environmental Science*, 33: 233-238.
- Lin, D. and Xing, B. 2008. Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles. *Environ. Sci. Tech.*, 42: 5580-5585.
- Lin, Y.J. and Zhang, Q.F. 2005. Optimising the tissue culture conditions for high efficiency transformation of indica rice. *Plant Cell Rep.*, 23: 540-547.
- Ma, L.L., Liu, C., Qu, C.X., Yin, S.T., Liu, J., Gao, F.Q. and Hong, F.S. 2008. Rubisco activase mRNA expression in spinach: modulation by nanoanatase treatment. *Biological Trace Element Research*, 122: 168-178.
- Mahajan, P., Dhoke, S.K. and Khanna, A.S. 2011. Effect of nano-ZnO particle suspension on growth of mung (*Vigna radiate*) and gram (*Cicer arietium*) seedlings using plant agar method. *J. Nano.*, 2011: 1-7.
- Mandal, A.B., Maiti, A. and Biswas, A. 2003. Somatic embryogenesis in root derived callus of *Indica rice*. *Plant Tiss. Cult.*, 13: 125-133.
- Marassi, M., Scocchi, A. and Gonzalez, A.M. 2006. Plant regeneration from rice anthers cryopreserved by an encapsulation/dehydration technique. *In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant*, 42: 31-36.
- Mohiuddin, A.K.M., Sultana, S. and Ferdous, J. 2006. Increased regeneration efficiency in seed derived callus of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Tiss. Cult. Biotech.*, 16: 45-52.
- Oinam, G.S. and Kothari, S.K. 1995. Totipotency of coleoptile tissue in *indica rice* (*Oryza sativa* L. cv CH 1039). *Plant Cell Rep.*, 4: 245-248.
- Ozawa, K. 2009. Establishment of a high efficiency *Agrobacterium*-mediated transformation system of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Sci.*, 176: 522-527.
- Prasad, T.N.V.K.V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Raja Reddy, K., Sreepasad, T.S., Sajanlal, P.R. and Pradeep, T. 2012. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination and yield of peanut. *J. Plant Nutri.*, 35: 905-927.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Rahman, Z.A., Roowi, S., Zaliha, W. and Subramaniam, S. 2010. Regeneration of Malaysian indica rice (*Oryza sativa*) variety MR232 via optimized somatic embryogenesis system. *J. Phytol.*, 2: 30-38.
- Ramesh, M., Murugiah, V. and Gupta, A.K. 2009. Efficient *in vitro* plant regeneration via leaf base segments of indica rice (*Oryza sativa* L.). *Indian J. Exp. Biol.*, 47: 68-74.
- Sah, B.P. 2008. Response of genotypes to culture media for callus induction and regeneration of plants from rice anthers. *Sci. World*, 6: 37-43.
- Saharan, V., Yadav, R.C., Yadav, N.R., Chapagain, B.P. 2004. High frequency plant regeneration from desiccated calli of indica rice (*Oryza sativa* L.). *Afri. J. Biotechnol.*, 3: 256-259.
- Sahrawat, A.K. and Chand, S. 2001. High-frequency plant regeneration from coleoptile tissue of indica rice (*Oryza sativa* L.). *In vitro Cell Dev. Biol.-Plant*, 37: 55-61.
- Sikder, M.B.H., Sen, P.K., Mamun, M.A., Ali, M.R. and Rahman, M. 2006. *In vitro* regeneration of aromatic rice (*Oryza sativa* L.). *Int. J. Agri. Biol.*, 8: 759-762.
- Silva, T.D. and Ratnayake, W.J. 2009. Anther culture potential of indica rice varieties, Kurulu Thuda and BG250. *Trop. Agri. Res. Exten.*, 12: 53-56.
- Sridevi, G., Dhandapani, M. and Veluthambi, K. 2005. *Agrobacterium*-mediated transformation of White Ponni, a non-basmati variety of indica rice (*Oryza sativa* L.) *Curr. Sci.*, 88: 128-132.
- Tao, L.L., Yin, G.X., Du, L.P., Shi Z.Y., She, M.Y., Xu, H.J. and Ye, X.G. 2011. Improvement of plant regeneration from immature embryos of wheat infected by *Agrobacterium tumefaciens*. *Agri. Sci. China*, 10: 317-326.
- Wang, Z.Y., Yu, X.L., Gao, D.M., Feng, W.Q., Xing, B.S. and Li, F.M. 2010. Effect of nanorutile TiO₂ and multiwalled carbon nanotubes on the growth of Maize (*Zea mays* L.) seedlings and the relevant antioxidant response. *Environmental Science*, 31: 480-487.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wani, S.H., Sanghera, G.S. and Gosal, S.S. 2011. An efficient and reproducible method for regeneration of whole plants from mature seeds of a high yielding Indica rice (*Oryza sativa* L.) variety PAU 201. *New Biotechnol.*, 28: 418-422.

Yin, G.X., Wang, Y.L., She, M.Y., Du, L.P., Xu, H.J., Ma, J.X. and Ye, X.G. 2011. Establishment of a highly efficient regeneration system for the mature embryo culture of wheat. *Agri. Sci. China*, 10: 9-17.

Zhu, Z. and Wu, R. 2008. Regeneration of transgenic rice plants using high salt for selection without the need for antibiotics or herbicides. *Plant Sci.*, 174: 519-523.

www.dephtai.go.th

www.thai-hommalirice.com

www.thairiceexporters.or.th



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อมูลประวัติผู้วิจัย

ผู้วิจัยหลัก

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นายสุธี ชุตติไพจิตร
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Sutee Chutipaijit
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-1008-00658-52-7
3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)
ห้องปฏิบัติการวิจัยเทคโนโลยีดีเอ็นเอ วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ถ. ฉลองกรุง ลาดกระบัง กทม. 10520
โทรศัพท์ 02-326-8000 ต่อ 3139, 08-6667-7036 โทรสาร 0-2329-8265
E-mail: natadee24@hotmail.com, kchsuthe@kmitl.ac.th
5. ประวัติการศึกษา
 - Bachelor of Science (Biotechnology; First class Honors), King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Thailand
 - Doctor of Philosophy (Biotechnology), King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Thailand
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิมการศึกษ) ระบุสาขาวิชาการ
Extraction and analysis plant metabolites

Plant tissue culture

Phytochemistry

Nanobiotechnology

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย

7.1 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว :

- Sompornpailin, K., and Chutipaijit, S. 2005. Effect of abiotic stresses on adaptive response in cereal. *Journal Science-Ladkrabang*, 14(2): 64-71.
- Sompornpailin, K., Chutipaijit, S. and Cha-um, S. 2007. Effects of salt and mannitol on physiological alteration and flavonoids production in Thai rice (*Oryza sativa* L. spp. *indica*). *Journal Science-Ladkrabang*, 16(2): 41-55.
- Chutipaijit, S., Cha-um, S. and Sompornpailin, K. 2008. Alteration of proline and anthocyanin levels affects salinity tolerance in *indica* rice seedlings. *KMITL Science Journal*, 8(2): 6-11.
- Chutipaijit, S., Cha-um, S. and Sompornpailin, K. 2008. Influence of drought stress on proline and anthocyanin accumulations in *indica* rice cultivars. *KMITL Science Journal*, 8(2): 78-85.
- Sompornpailin, K., Chutipaijit, S. and Cha-um, S. 2008. Influence of salinity and drought stresses on physiological characteristic and proline synthesis of Thai rice cultivars (*Oryza sativa* L. spp. *indica*). *Journal Science-Ladkrabang*, 17(2): 64-79.
- Chutipaijit, S., Cha-um, S. and Sompornpailin, K. 2008. Modulation of proline and anthocyanin levels improves salt tolerant in *indica* rice seedlings. *Journal of Biotechnology*, 136s: s152.
- Chutipaijit, S., Cha-um, S. and Sompornpailin, K. 2009. Differential accumulations of proline and flavonoids in *indica* rice varieties against salinity. *Pakistan Journal of Botany*, 41(5): 2497-2506.
- Chutipaijit, S., Cha-um, S. and Sompornpailin, K. 2009. Proline accumulation and physiological responses of *indica* rice genotypes differ in tolerance

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

to salt and drought stresses. *The Philippine Agricultural Scientist*, 93(2): 165-169.

- Chutipaijit, S. and Sompornpailin, K. 2011. Polyamines in plant response to various abiotic stress. *Srinakharinwirot Science Journal*, 27(1): 215-229.
- Sompornpailin, K., and Chutipaijit, S. 2011. Relation of the flavonoid contents to antioxidant activity in Thai rice seeds. *Journal of Srinakharinwirot University*, 3: 95-101.

7.2 งานวิจัยที่กำลังทำ :

- รูปแบบการสะสมเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระและการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในการตอบสนองต่อสภาวะเกลือและความแห้งแล้งในข้าวสายพันธุ์ไทย
กองทุนวิจัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
(คืบหน้าแล้ว 40%)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้วิจัยร่วม

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวกนกพร สมพรไพลิน
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Kanokporn Sompornpailin
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-3299-00238-50-0
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ระดับ 8
4. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)
ห้องปฏิบัติการวิจัยเทคโนโลยีดีเอ็นเอ วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ถ. ฉลองกรุง ลาดกระบัง กทม. 10520
โทรศัพท์ 02-326-8000 ต่อ 2168 โทรสาร 0-2329-8265
E-mail: kskanokp@kmitl.ac.th
5. ประวัติการศึกษา
 - Doctor of Pharmaceutical Sciences (Molecular Biology and Biotechnology), Chiba University, Japan
 - Master of Science (Biotechnology), Chulalongkorn University, Thailand
 - Bachelor of Science (Agriculture Technology; Second class Honors), King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Thailand
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
Metabolic Engineering and Functional Genomics
Molecular Biology
Cell culture
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย
7.1 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว :

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- K. Sompornpailin and R. Maneepresert: Abiotic stresses Responses of Anthocyanin Biosynthesis in Red *Ocimum sanctum* Linn. BioThailand 2003 P-PLANT-03 (2003).
- K. Sompornpailin and R. Maneeprasert. Identification of Cytochrome P450 Protein Controlling Anthocyanin Expression in Salinity Response of Red *Ocimum sanctum* Linn. The 1st KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development. August, 2004
- R. Maneeprasert and K. Sompornpailin. Expression of Anthocyanin Pigments in Plant Tissue during Metabolic Stress . AgBiotech Graduate Conference I. Bangkok. March, 2004
- K. Sompornpailin. T. Prakobpol and N.Taedangpet. Construction of an Economic Gel Electrophoresis Apparatus for the Analysis of DNA Molecule.1st KMITL Research Abstract B-2/6 2003.
- K. Sompornpailin and R. Maneeprasert. Studies on Stress Conditions Affecting Flavonoid Biosynthesis in Plant Tissue via Tissue Culture Technique. J. Science-Ladkrabang vol 13 No.1 2004. 15-24
- Sukomon, N and K. Sompornpailin. Flavonoid and chlorophyll levels of Thai rice in response to cold temperature. AgBiotech Graduate Conference II. Bangkok. May, 2005
- Ronruangrit, A., W. Phuwiwat and K. Sompornpailin. Comparative effects of leaf water extract from various soybean cultivars on germination and growth of some tested plants. AgBiotech Graduate Conference II. Bangkok. May, 2005
- K. Sompornpailin and S. Chutipajit. Effect of Abiotic Stresses on Adaptive Response in Cereal. J. Science-Ladkrabang vol 14 No.2 2005.
- S. Chutipajit, B. Intawong and K. Sompornpailin. Factors of Callus and Combination of Plant Growth Regulators Effect on the Plant

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ Regeneration from Scutellum of Indica Rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML ไม่่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 105). KMITL International Conference on Science and Applied Science. Bangkok. Thailand. 2006.
- Chutipaijit, S., Sompornpailin, K. and Cha-um, S. An effective procedure of flavonoid antioxydant accumulation in indica rice (*Oryza sativa* L. spp. *indica*) varieties using sodium chloride elicitor. The 8th Annual Meeting BIOTEC Research Unit. 1-3 Jun 2006.
 - K. Sompornpailin and N. Sukomon. Expression Profile of Protective Metabolites in Various Varieties of Thai Rice Response to Low Temperature. Asia Pacific Conference on Plant Tissue Culture and Agribiotechnology (APaCPA) Kuala Lumpur. Malaysia. June 2007.
 - Chutipaijit, S., Cha-um, S. and Sompornpailin, K. The Impact of Flavonoid Compounds on Salinity and Drought Tolerances in Indica Rice Varieties (*Oryza sativa* L. spp. *indica*). ASIA PACIFIC CONFERENCE ON PLANT TISSUE CULTURE AND AGRIBIOTECHNOLOGY (APaCPA). 17 – 21 June 2007. Kuala Lumpur, Malaysia. (poster)
 - K. Sompornpailin, S. Chutipaijit and S. Cha-um. Effect of Salt and Mannitol on Physiological Alteration and Flavonoids Production in Thai rice (*Oryza sativa* L. spp. *indica*) J. Science-Ladkrabang vol 16 No. 2 2007.41-53
 - K. Sompornpailin, O. Pakdee and P. Pumpuk. High Antioxidant Flavonoids Accumulated in Transgenic Tobacco Overexpressing Flavonoid Biosynthetic cDNA Response to Light Sources. The Second International Conference on Science and Technology for Sustainable Development of the Great Mekong Sub-region, Hanoi, Vietnam, 2008 O-39. oral presentation.
 - S. Chutipaijit, S. Cha-um and K. Sompornpailin. Osmoprotectant and Antioxidant Accumulation of in Indica Rice (*Oryza sativa* L. cv. Indica) Elevated Salt Stress Tolerance. The Second International Conference on Science and Technology for Sustainable Development of the Great Mekong Sub-region, Hanoi, Vietnam, 2008 P-56.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- K. Sompornpailin and S. Kanthang. Identification of High Flavonoid Expression in Transgenic Tobacco Overexpressing TT8 Gene Using Black Light. 34th Congress on Science and Technology of Thailand. Bangkok Thailand, 2008. B4_B0075
- S. Chutipaijit, S. Cha-um and K. Sompornpailin. Alteration of Proline and Anthocyanin Levels Affects Salinity Tolerance in Indica Rice Seedlings. 34th Congress on Science and Technology of Thailand. Bangkok Thailand, 2008. G_G0006
- C. Khunchuay, W. Phuwiwat and K. Sompornpailin. Additional Supplementation of Proline and Glutamine Effects on Callus Induction and Plant Regeneration in Vetiveria Grass. 34th Congress on Science and Technology of Thailand. Bangkok Thailand, 2008. G_G0013
- K. Sompornpailin, O. Pakdee and S. Kanthang. Metabolic Engineering of Transgenic Tobacco with TT8 cDNA Accumulated High Flavonoid Contents. International Conference on Life Sciences; BioAsia 2008, Bangkok Thailand. 2008
- S. Chutipaijit, S. Cha-um and K. Sompornpailin. Impact of proline accumulation on physiological response in indica rice genotypes (*Oryza sativa* L.) exposed to salt and drought stresses. . International Conference on Life Sciences; BioAsia 2008, Bangkok Thailand. 2008
- K. Sompornpailin, S. Chutipaijit and S. Cha-um. Influence of Salinity and Drought Stresses on Physiological Characteristic and Proline Synthesis of Thai Rice Cultivars (*Oryza sativa* L. spp. indica) J. Science-Ladkrabang. July – December, 2008.
- S. Chutipaijit, S. Cha-um and K. Sompornpailin. Alteration of Proline and Anthocyanin Levels Affects Salinity Tolerance in Indica Rice Seedling. KMITL Sci. J. Vol.8 No.2 (Section A) July – December, 2008. 1-7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- S. Chutipaijit, S. Cha-um and K. Sompornpailin. Influence of Drought Stress on Proline and Anthocyanin Accumulation in Indica Rice Cultivars. *KMITL Sci. J.* Vol.8 No.2 (Section B) July – December, 2008. 78-85
- S. Chutipaijit, S. Cha-um and K. Sompornpailin. Modulation of proline and anthocyanin levels improves salt tolerant in indica rice seedlings. *J of Biotech*, Volume 136, Supplement 1, October 2008, Page S152
- S. Chutipaijit, S. Cha-um and K. Sompornpailin. Differential Accumulation of Proline and Flavonoids in Indica Rice Varieties against Salinity. *Pak. J. Bot.*, 2009. 41(5) 2497-2506
- O. Ketchart, S. Pomtheeraphat, B. Saekow, W. Sripumkhai and K. Sompornpailin. Titanium Dioxide Thin Films on PCR tube deposited by Electron Beam Evaporation Technique. *Proceeding of the 27th MST Annual Conference*, 20-22 January 2010 Samui, Thailand. 209
- S. Chutipaijit, S. Cha-um and K. Sompornpailin. Differential responses of Flavonoids to abiotic stress in rice seedling cultivars. *Pure and applied chemistry international conference.*, 2010 Bangkok, Thailand. 102-104.
- S. Chutipaijit, S. Cha-um and K. Sompornpailin. Proline Accumulation and Physiological Responses of Indica Rice Genotypes Differing in Tolerance to Salt and Drought Stresses. *Philipp. Agric. Scientist.*, 2010. 2: 165-169

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้