



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาการใช้แหล่งคาร์บอนชนิดนาโนในการเพิ่มประสิทธิภาพ  
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับข้าวสายพันธุ์ไทย (*Oryza sativa* L.)

A study of the nanocarbon sources utilizations in enhancing  
efficiency of plant tissue culture for  
Thai rice cultivar (*Oryza sativa* L.)



T137632

นายสุริ ขุติไพจิตร  
นางสาวกนกพร สมพรไพสิน

รช  
ท 4467  
ร 557

เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน..... 137632  
ปี เดือน ปี..... 13 ก.ค. 2558

12696651  
b.....  
i.....

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2557  
วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การศึกษาการใช้แหล่งคาร์บอนชนิดนาโนในการเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยง  
เนื้อเยื่อสำหรับข้าวสายพันธุ์ไทย (*Oryza sativa* L.)

แหล่งเงิน งบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ 2557 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 260,000.00 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2556 ถึง 30 กันยายน 2557

ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ และผู้ร่วมโครงการวิจัย พร้อมระบุ หน่วยงานต้นสังกัด

นายสุธี ชูดีไพจิตร และ นางสาวกนกพร สมพรไพสิน วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

### บทคัดย่อ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นแหล่งอาหารที่สำคัญและเป็นธัญพืชที่เป็นการค้าสำคัญของประเทศไทย การชักนำให้เกิดแคลลัสและต่อจากนั้นชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่เป็นเทคนิคการขยายพันธุ์ในระดับไมโครและเป็นขั้นตอนเริ่มต้นสำหรับการถ่ายโอนยีน ได้มีการพัฒนาการประยุกต์ใช้นาโนคาร์บอนในระบบการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ในหลอดทดลองสำหรับข้าวสายพันธุ์อินดิกา และในวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบแหล่งคาร์บอนและนาโนคาร์บอนที่ช่วยชักนำการเกิดแคลลัส และการเกิดเป็นต้นใหม่ที่สูงสำหรับข้าวสายพันธุ์อินดิกา การใช้น้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอนจะพบการชักนำให้เกิดแคลลัส (93.66%) และการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ (59.52%) ที่สูง นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลของผงถ่านกัมมันต์และนาโนคาร์บอน ในความเข้มข้นของผงถ่านกัมมันต์และนาโนคาร์บอนที่แตกต่างกันนั้น พบว่านาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัส และเมื่อนำความเข้มข้นในการชักนำให้เกิดแคลลัสนี้ไปใช้ในการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ต่อไป จะพบว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่มีการเติมนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตรจะให้ผลการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ที่สูง (62.75%) และนำยอดที่ได้ย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหาร NB สำหรับให้ต้นกล้าเกิดรากขึ้นต่อไป

คำสำคัญ : ข้าว แหล่งคาร์บอน การชักนำให้เกิดต้น นาโนคาร์บอน

**Research Title:** A study of the nanocarbon sources utilizations in enhancing efficiency of plant tissue culture for Thai rice cultivar (*Oryza sativa* L.)

**Researcher:** Mr. Sutee Chutipaijit and Miss Kanokporn Sompornpailin

**Faculty:** College of Nanotechnology

## ABSTRACT

Rice (*Oryza sativa* L.) is an important food source and commercial crop of Thailand. Callus induction and subsequent plant regeneration are a micropropagation technique and a prerequisite protocol for genetic transformation. A nanocarbon application in *in vitro* regeneration system was developed for *indica* rice culture. The purpose of this research was investigated carbon sources and nanocarbon that induced a high frequency of callus and plant regeneration for *indica* rice culture. High frequency of callus induction (93.66%) and plant regeneration (59.52%) were obtained from maltose as a carbon source. Moreover, the effect of activated carbon and nanocarbon on callus induction and plant regeneration were studied. Among the activated carbon and nanocarbon concentrations were investigated, 5 mg.L<sup>-1</sup> nanocarbon was found to be the suitable concentration for callus induction. This treatment of callus production continued to plant regeneration. The high regeneration frequency (62.75%) was obtained when callus were cultured on regeneration medium supplemented with 20 mg.L<sup>-1</sup> nanocarbon. The shoot buds were transferred to NB medium for the rooted plantlets.

**Keywords :** Rice, Carbon source, Plant regeneration, Nanocarbon

## กิตติกรรมประกาศ

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

นายสุธี ชูดีไพจิตร

วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# 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.....	9
3.1 การเตรียมตัวอย่างพืช.....	9
3.2 การเติมแหล่งคาร์บอนต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสและการชักนำให้เกิดต้นใหม่.....	9
3.3 การเติมผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่.....	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4 การเติมนาโนคาร์บอนต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส.....	10
3.5 การเติมนาโนคาร์บอนต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่.....	10
3.6 การออกแบบทางสถิติ.....	11
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	12
4.1 ผลของการเติมแหล่งคาร์บอนต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสและการชักนำ ให้เกิดต้นใหม่.....	12
4.2 ผลของการเติมผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่.....	17
4.3 ผลของการเติมนาโนคาร์บอนต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส.....	19
4.4 ผลของการเติมนาโนคาร์บอนต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่.....	23
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	25
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	25
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	25
เอกสารอ้างอิง.....	26
ข้อมูลประวัติผู้วิจัย.....	31

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ตัวอย่างชนิดของพืชและแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	5
2.1 (ต่อ) ตัวอย่างชนิดของพืชและแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	6
2.2 ตัวอย่างงานวิจัยที่มีการนำนาโนคาร์บอนไปประยุกต์ใช้กับพืช.....	7
2.2 (ต่อ) ตัวอย่างงานวิจัยที่มีการนำนาโนคาร์บอนไปประยุกต์ใช้กับพืช.....	8
4.1 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดแคลลัส น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และขนาดของแคลลัสของ แคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสและ น้ำตาลมอลโตส.....	12
4.2 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดแคลลัส น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และขนาดของแคลลัสของ แคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีการเติมนาโนคาร์บอนที่ความ เข้มข้น 0, 5, 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	20

## สารบัญญภาพ

ภาพที่	หน้า
4.1 ลักษณะของแคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส (ซ้าย) และน้ำตาลมอลโตส (ขวา).....	13
4.2 เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว (สีดำ) และเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นใหม่ (สีเขียว) (ก) และอัตราส่วนการเกิดต้นต่อแคลลัส (ข) ของแคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีน้ำตาลมอลโตส (maltose) และน้ำตาลซูโครส (sucrose) เป็นแหล่งคาร์บอน ในอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่สูตรเดียวกัน ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 3 ซ้ำ (n =3) ±S.D.....	14
4.3 เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว (สีดำ) และเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นใหม่ (สีเขียว) (ก) และอัตราส่วนการเกิดต้นต่อแคลลัส (ข) ของแคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีน้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอน และนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่มี 1) น้ำตาลซูโครส (NSR medium) 2) น้ำตาลมอลโตส (NMR medium) 3) น้ำตาลซูโครส และแมนนิทอล (mannitol) (NSMR medium) และ 4) น้ำตาลมอลโตส และแมนนิทอล (NMMR medium) เป็นแหล่งคาร์บอน ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 3 ซ้ำ (n =3) ±S.D.....	16
4.4 เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว (สีดำ) และเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นใหม่ (สีเขียว) (ก) และอัตราส่วนการเกิดต้นต่อแคลลัส (ข) ของแคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีน้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอน และนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่มีการเติมผงถ่านกัมมันต์ (activated carbon; AC) ที่ความเข้มข้น 0.1 (AC0.1), 0.2 (AC0.2), 0.3 (AC0.3), 0.4 (AC0.4) และ 0.5 (AC0.5) กรัมต่อลิตร และมีน้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอน ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 3 ซ้ำ (n =3) ±S.D.....	18
4.5 ลักษณะของแคลลัสของแคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีการเติมนานคาร์บอนที่ความเข้มข้น 0, 5, 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	20

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.6	
<p>เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว (สีดำ) และเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นใหม่ (สีขาว) (ก) และอัตราส่วนการเกิดต้นต่อแคลลัส (ข) ของแคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีน้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอน และนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีการเติมนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้น 0, 5, 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีน้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอน ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 3 ซ้ำ (<math>n = 3</math>) <math>\pm</math>S.D.....</p>	
	22
4.7	
<p>เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว (สีดำ) และเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นใหม่ (สีขาว) (ก) และอัตราส่วนการเกิดต้นต่อแคลลัส (ข) ของแคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีน้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอน และนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่มีการเติมนาโนคาร์บอนในอาหารสูตรชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ที่ความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีน้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอน ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 3 ซ้ำ (<math>n = 3</math>) <math>\pm</math>S.D.....</p>	
	24

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

จากการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมที่รวดเร็ว และการเกิดอุทกภัยในปีที่ผ่านมา ส่งผลต่อทั้ง ปริมาณ และคุณภาพของผลผลิตทางการเกษตรในประเทศเป็นอย่างยิ่ง ซึ่งผลผลิตเหล่านี้จำเป็นต้องพึ่งพา สภาพแวดล้อมทางธรรมชาติในการเพาะปลูกเป็นหลัก รวมถึงข้าวที่เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ที่มีความสำคัญทั้งในด้านการบริโภคในประเทศและการส่งออกไปยังต่างประเทศ เพื่อนำรายได้เข้า ประเทศ จึงมีความพยายามของนักวิจัยมากมายในการปรับปรุงพันธุ์พืช เพื่อการเพิ่มปริมาณ และ/หรือ คุณภาพที่มากขึ้น โดยการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในการลดขั้นตอนทางด้านเวลา สถานที่ และ ข้อจำกัดของสภาพแวดล้อมที่เกิดขึ้น อีกทั้งเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังเป็นเทคนิคพื้นฐานในการศึกษา และพัฒนาสายพันธุ์พืชด้วยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมอีกด้วย (Hoque et al., 2007; Dabul et al., 2009) จึงมีความจำเป็นที่ต้องพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณ และ/หรือ คุณภาพที่มากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวสายพันธุ์อินดิกา (indica) ที่พบว่ามีประสิทธิภาพในการชักนำให้ เกิดต้นใหม่ รวมทั้งประสิทธิภาพในการถ่ายโอนยีนที่ยังคงต่ำอยู่ เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวสายพันธุ์จาปอนิกา (japonica) ทำให้ยังคงมีข้อจำกัดในด้านการปรับปรุงพันธุ์ข้าวสายพันธุ์อินดิกาที่เป็นสายพันธุ์เดียวกัน กับข้าวสายพันธุ์ไทยนั้น โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และเทคนิคทางพันธุวิศวกรรม (Bajaj and Mohanty, 2005; Kumar et al., 2008)

เมื่อศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในพืชนั้น จะพบความหลากหลายขององค์ประกอบต่างๆ ในการเพาะเลี้ยง เช่น สายพันธุ์พืช ขั้นตอนและวิธีการ สภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง รวมถึง ส่วนประกอบต่างๆ ภายในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง (Hoque and Mansfield, 2004) จึงมีงานวิจัย มากมายที่ศึกษาองค์ประกอบที่หลายหลากในอาหารเพาะเลี้ยง เพื่อให้เหมาะสมกับสายพันธุ์ของพืชที่เป็นที่ สนใจ รวมทั้งหาองค์ประกอบใหม่ๆ ที่คาดว่าจะมีผลต่อการเพิ่มปริมาณ และ/หรือคุณภาพของผลผลิตที่ได้ จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แหล่งคาร์บอนเป็นหนึ่งในองค์ประกอบที่มีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงและ พัฒนาของเซลล์พืช ภายในระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Ge et al., 2006; Shahsavari et al., 2010) และยัง พบงานวิจัยที่นำแหล่งคาร์บอนที่เป็นนาโนคาร์บอน (carbon nanotubes) ที่ส่วนมากนำมาใช้ในงานวิจัย ทางด้านวัสดุศาสตร์ อิเล็กทรอนิกส์ หรือทางด้านฟิสิกส์ นำมาประยุกต์ใช้ทางด้านชีววิทยา ทั้งทางด้านพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ (Wong et al., 2005; Zhu et al., 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในด้านการศึกษาดังส่วนประกอบต่างๆ ภายในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะแหล่งคาร์บอนทั้งชนิดที่มีการใช้ในพืชสายพันธุ์อื่นที่หลากหลาย เช่น น้ำตาลชนิดต่างๆ ผงถ่านกัมมันต์ และนาโนคาร์บอนที่เป็นคาร์บอนที่ยังมีการศึกษาการนำคาร์บอนชนิดนี้มาประยุกต์ใช้กับพืชอยู่อย่างจำกัด เพื่อนำไปสู่การเพิ่มปริมาณ และ/หรือคุณภาพของการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสและการชักนำให้เกิดต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 ที่เป็นข้าวสายพันธุ์ไทยที่มีความสำคัญ และเพื่อเพิ่มคุณค่าและการประยุกต์ใช้แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ให้มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น อีกทั้งยังสามารถนำองค์ความรู้ที่ได้ขึ้นไปใช้ทั้งทางด้านปรับปรุงพันธุ์ การขยายพันธุ์ หรือการสร้างพืชตัดแปลงพันธุกรรมทั้งในข้าวหลากหลายสายพันธุ์หรือในพืชสายพันธุ์อื่นในอนาคต

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาดังองค์ประกอบของแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และชักนำให้เกิดต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105

1.2.2 เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มปริมาณและประสิทธิภาพการพัฒนาของเซลล์แคลลัสและต้นใหม่ของข้าวสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 โดยใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

## 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ในการทดลองนี้จะศึกษาการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส จากเมล็ดข้าวสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว ทำการชักนำโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภายใต้การควบคุมสภาวะต่างๆ ให้เหมาะสม โดยทำการเติมแหล่งคาร์บอนที่หลากหลาย รวมถึงแหล่งคาร์บอนที่แตกต่าง เช่น นาโนคาร์บอน เพื่อให้เกิดการชักนำเซลล์แคลลัสที่เหมาะสมที่สุด รวมทั้งการเติมแหล่งคาร์บอนที่หลากหลายในอาหารที่ชักนำให้เกิดต้นใหม่จากเซลล์แคลลัส เพื่อการเพิ่มปริมาณและประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และชักนำให้เกิดต้นใหม่จากข้าวสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105

## 1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

ในการดำเนินงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาดังชนิดของแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ โดยการศึกษาการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสนั้นจะทดสอบโดยใช้แหล่งคาร์บอนสองชนิด ได้แก่ น้ำตาลซูโครสและน้ำตาลมอลโตส ในขณะที่การชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ จะทดสอบโดยใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน 4 สูตร ได้แก่ 1) น้ำตาลซูโครส 2) น้ำตาลมอลโตส 3) น้ำตาลซูโครสและแมนนิทอล 4) น้ำตาลมอลโตสและแมนนิทอล และจากนั้นนำอาหารสูตรที่ให้ผลการชักนำให้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดเป็นต้นใหม่ที่ดีที่สุดที่สุด นำมาทดสอบเพิ่มเติมโดยการเติมผงถ่านกัมมันต์ที่ความเข้มข้น 0.1-0.5 กรัมต่อลิตร และยังศึกษาเติมนานาโนคาร์บอนต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสและการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ เพื่อเปรียบเทียบกับ การเติมผงถ่านกัมมันต์

### 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 สามารถหาค่าองค์ประกอบที่หลากหลายในการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และการชักนำให้เกิดต้นใหม่ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้กับข้าวหรือพืชสายพันธุ์อื่น

1.5.2 สามารถเพิ่มปริมาณและประสิทธิภาพการชักนำให้เกิดต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

1.5.3 สามารถใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มปริมาณผลผลิตข้าว รวมทั้งปรับปรุงพันธุ์ข้าว โดยการสร้างพืชตัดแปลงพันธุกรรมให้มีคุณสมบัติตามที่ต้องการได้

1.5.4 สามารถใช้เป็นแนวทางในการนำนาโนคาร์บอนไปประยุกต์ใช้กับศาสตร์ทางด้านชีววิทยาที่หลากหลายได้

1.5.5 สามารถนำองค์ความรู้ที่ได้ใช้เป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้กับพืชชนิดอื่นได้

## บทที่ 2

### แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม

#### 2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

จากปัจจัยทั้งทางด้านสภาพแวดล้อม และ/หรือ องค์ประกอบภายในทั้งจากสายพันธุ์ข้าวและ ส่วนประกอบของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงที่มีความหลากหลาย ทำให้การเพิ่มปริมาณและประสิทธิภาพ ในการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และชักนำให้เกิดต้นใหม่ในข้าว นั้น จำเป็นต้องมีการศึกษาถึงองค์ประกอบ ต่างๆ ที่หลากหลาย เพื่อสร้างความจำเพาะขององค์ประกอบต่างๆ ต่อการเพิ่มปริมาณและประสิทธิภาพใน การชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสและการชักนำให้เกิดต้นใหม่ในข้าว จากแนวทางในการดำเนินการวิจัยที่ได้ นั้น สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ทั้งในด้านการขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณ หรือการปรับปรุงพันธุ์ทั้งจากการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หรือจากการถ่ายโอนยีนโดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมได้

#### 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นหนึ่งในศาสตร์พื้นฐาน ที่นำมาใช้ในการขยายพันธุ์พืชมากมาย รวมทั้ง การนำเทคนิคนี้ไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์อย่างหลากหลาย เช่น การอนุรักษ์และการเก็บรักษาพันธุ์พืช การคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์พืช การผลิตสารที่มีประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรม หรือการสร้างพืชดัดแปลง พันธุ์กรรม ทำให้ศาสตร์ทางด้านนี้มีการใช้อย่างแพร่หลายเป็นระยะเวลานาน ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช นั้นจะต้องนำชิ้นส่วนของพืชที่สนใจจะศึกษามาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ และมีการควบคุมสภาพแวดล้อม ทางกายภาพให้เหมาะสม ซึ่งในอาหารสังเคราะห์นั้นจะประกอบด้วยแร่ธาตุต่างๆ ที่มีความสำคัญต่อการ เจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช องค์ประกอบต่างๆ ที่จำเป็นต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมในเซลล์พืช สาร ควบคุมการเจริญเติบโตหรือฮอร์โมน เพื่อจะทำให้เนื้อเยื่อเจริญได้ดี ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ ขยายขนาด ของเซลล์ และเปลี่ยนรูปร่างของเซลล์ไปทำหน้าที่เฉพาะ นอกจากนี้หนึ่งในองค์ประกอบที่มีความสำคัญใน อาหารสังเคราะห์ คือ จะต้องมีส่วนที่ให้พลังงานแก่เซลล์พืช เช่น แหล่งคาร์บอนจำพวกน้ำตาลชนิดต่างๆ ซึ่งแหล่งคาร์บอนนั้นมีความหลากหลาย และมีความเหมาะสมต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อที่แตกต่างกันไป ตามชนิด สายพันธุ์ หรือผลผลิตที่ต้องการจากการเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ตัวอย่างชนิดของพืชและแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ชนิดของพืช	แหล่งคาร์บอน	ที่มา
<i>Solanum nigrum</i>	ซูโครส กลูโคส ฟรุตโตส (มอลโตส)	Sridhar and Naldu, 2011
โกโก้	ซูโครส กลูโคส ฟรุตโตส มอลโตส ซอบิทอล	Traore, 2006
มะเขือเทศ	ซูโครส มอลโตส	El-Bakry, 2002
ฝ้าย (cotton)	ซูโครส กลูโคส ฟรุตโตส มอลโตส	Ganesan and Jayabalan, 2005
ข้าวโพด	ซูโครส ฟรุตโตส มอลโตส	Gauchan, 2012
แอปเปิ้ล	ซูโครส กลูโคส ฟรุตโตส มอลโตส ซอบิทอล	Bahmani et al., 2009
<i>Dendrobium</i>	ซูโครส กลูโคส ฟรุตโตส	Nambiar et al., 2012
<i>Stevia rebaudiana</i>	ซูโครส กลูโคส ฟรุตโตส มอลโตส	Preethi et al., 2011
ปาล์ม	ซูโครส กลูโคส ฟรุตโตส ซอ บิทอล แมนนิทอล	Hilae and Te-chato, 2005
<i>Grammatophyllum speciosum</i>	ซูโครส กลูโคส ซอบิทอล แมนนิทอล	Pimsen and Kanchanapoom, 2011
บาร์เลย์	ซูโครส มอลโตส	Hussein et al., 2004
ข้าว	ซูโครส มอลโตส ซูโครส มอลโตส เดรีกโตส	Ikram-ul-Haq et al., 2009 Thapa et al., 2007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ) ตัวอย่างชนิดของพืชและแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ชนิดของพืช	แหล่งคาร์บอน	ที่มา
อ้อย	ซูโครส มอลโตส	Manchanda and Gosal, 2012
<i>Mentha piperita</i>	ซูโครส กลูโคส ฟรุคโตส มอลโตส	Sujana and Naidu, 2011

จากตัวอย่างงานวิจัยในตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น มีความแตกต่าง และเหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมกับพืชที่สนใจ แหล่งคาร์บอนนั้นนอกจากจะทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้ว ยังพบว่ามีการใช้แหล่งคาร์บอนในการทำหน้าที่ควบคุมแรงดันออสโมติกระหว่างสภาพแวดล้อมภายนอก และภายในเซลล์พืชด้วย เช่น น้ำตาลซอร์บิทอล (sorbitol) น้ำตาลแมนนิทอล (mannitol) หรือผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) ในการดูดซับสารที่เป็นพิษต่อเซลล์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของผลผลิตที่ต้องการในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Huang et al., 1999; De Parva Neto and Otoni, 2003; Geng et al., 2008; Saika and Toki, 2010; Manchanda and Gosal, 2012) ทำให้มีความต้องการในการประยุกต์ใช้แหล่งคาร์บอนที่หลากหลาย ในการทำหน้าที่ต่างๆ เพื่อให้ตรงตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัยที่แตกต่างกันออกไป หนึ่งในแหล่งคาร์บอนที่มีความน่าสนใจอีกชนิดหนึ่ง คือ นาโนคาร์บอน ที่เป็นวัสดุที่ใช้กับงานทางด้านนาโนเทคโนโลยี ซึ่งศาสตร์ทางด้านนาโนเทคโนโลยีนั้นกำลังเป็นที่สนใจ และมีการทำวิจัยกันอย่างกว้างขวาง ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นการประยุกต์ใช้นาโนคาร์บอนในด้าน อิเล็กทรอนิกส์ ไฟฟ้า วัสดุ พลังงาน หรือทางด้านแสง โดยที่นาโนคาร์บอนนั้นสามารถสังเคราะห์ได้เป็น 2 ลักษณะ คือ แบบมีผนังชั้นเดียว (single wall carbon nanotube: SWCNT) และแบบที่เป็นผนังหลายชั้น (multi-wall carbon nanotube: MWCNT) ทำให้คุณสมบัติของนาโนคาร์บอนนั้นจะมีความหลากหลายมากขึ้น และยังพบว่ามีการศึกษาในวงจำกัดในด้านการประยุกต์ใช้นาโนคาร์บอนในเซลล์สิ่งมีชีวิต ทั้งในเซลล์พืช สัตว์ หรือจุลินทรีย์ (Tripathi et al., 2011) โดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาในการประยุกต์ใช้กับระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชนั้น ยังมีการศึกษากันค่อนข้างน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น และยังให้แนวโน้มของผลการทดลองที่ได้หลากหลายทั้งด้านที่ส่งเสริมหรือด้านที่ให้โทษอีกด้วย (Liu et al., 2009; Serag et al., 2011) (ตารางที่ 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตัวอย่างงานวิจัยในตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่าการประยุกต์ใช้นาโนคาร์บอนในพืชนั้นที่ หลากหลายทั้งในด้านชนิดและสายพันธุ์ของพืช ร่วมกับชนิดและความเข้มข้นของนาโนคาร์บอนที่ใช้ ทำให้ ได้ผลที่แตกต่างกันทั้งด้านการส่งเสริม หรือยับยั้งการเจริญเติบโต และการเพิ่มจำนวนเซลล์ในพืช จึงน่าจะมี ความเป็นไปได้ที่จะนำนาโนคาร์บอนในความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนำมาประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มปริมาณ และ/หรือคุณภาพในการชักนำเซลล์แคลลัส และการชักนำให้เกิดต้นใหม่ในพืช ภายใต้ระบบการเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในข้าวสายพันธุ์ไทยได้

ตารางที่ 2 ตัวอย่างงานวิจัยที่มีการนำนาโนคาร์บอนไปประยุกต์ใช้กับพืช

ชนิดของพืช	ผลที่ได้	ที่มา
มะเขือเทศ	เพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอก ความยาวต้นและราก ชีวมวล	Khodakovskaya et al., 2009
	เพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอก ความยาวต้น	Morla et al., 2011
ต้นมัสตาร์ด (mustard)	เพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอก ความยาวต้นและราก ความชื้นในเมล็ด	Mondal et al., 2011
<i>Brassica juncea</i>	เพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอก ความยาวต้นและราก ชีวมวล	Ghodake et al., 2010
<i>Phaseolus mungo</i>	ลดความยาวต้นและราก	Ghodake et al., 2010
<i>Onobrychis arenaria</i>	เพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอก ความยาวต้นและราก	Smirnova et al., 2012
ข้าวสาลี	เพิ่มความยาวต้นและชีวมวล	Wang et al., 2012

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 (ต่อ) ตัวอย่างงานวิจัยที่มีการนำนาโนคาร์บอนไปประยุกต์ใช้กับพืช

ชนิดของพืช	ผลที่ได้	ที่มา
ข้าว	ลด cell density	Tan and Fugetsu, 2007
ยาสูบ	เพิ่มชีวมวลในเซลล์แคลลัส	Khodakovskaya et al., 2012
Arabidopsis	เพิ่ม ROS ใบเหลือง	Yuan et al., 2011
Radish	ลดเปอร์เซ็นต์การงอก	Lin and Xing, 2007
ผักกาดหอม (lettuce)	และความยาวราก	
Rape	ลดเปอร์เซ็นต์การงอก	Lin and Xing, 2007
Ryegrass	เพิ่มความยาวราก	
ข้าวโพด		
แตงกวา		

ข้าวสายพันธุ์ไทยนั้น จัดอยู่ในข้าวสายพันธุ์อินดิกา (*Oryza sativa* L. spp. *Indica*) ซึ่งเป็นข้าวสายพันธุ์เดียวกับข้าวที่ปลูกกันในแถบประเทศในเอเชียใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น อินเดีย บังกลาเทศ เวียดนาม พม่า เป็นต้น และข้าวยังเป็นพืชอาหารหลักที่ประชากรมากกว่า 50% นิยมบริโภค และข้าวสายพันธุ์อินดิกันั้นจัดเป็นสายพันธุ์ที่มีผู้บริโภคมากที่สุด (Mohan et al., 2010) แต่พบว่าประสิทธิภาพของผลผลิตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในข้าวสายพันธุ์นี้ รวมทั้งในข้าวสายพันธุ์ไทยนั้น ยังคงมีการศึกษาที่น้อยและให้ผลผลิตที่ต่ำอยู่ เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวสายพันธุ์จาปอนิกา และจากความหลากหลายในสายพันธุ์ของข้าวทั้งสองกลุ่ม ทำให้การนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาข้าวสายพันธุ์จาปอนิกามาใช้กับข้าวสายพันธุ์อินดิกันั้นยังมีข้อจำกัด และผลที่ได้นั้นแตกต่างกันมากพอสมควร (Vaughan et al., 2008; Lu et al., 2009) จึงต้องมีการศึกษาและวิจัยอย่างจำเพาะเจาะจงในข้าวแต่ละกลุ่มและแต่ละสายพันธุ์ เพื่อให้ได้องค์ความรู้ที่ถูกต้องและเหมาะสมกับข้าวสายพันธุ์นั้นๆ ที่ต้องการศึกษามากที่สุด

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

นำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (*Oryza sativa* L. cv. Khao Dawk Mali 105) นำมาแกะเปลือกออกด้วยมือ แล้วนำมาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของเมล็ดด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2-3 นาที และย้ายมาฟอกฆ่าเชื้อในสารละลายไฮเตอร์ (โซเดียมไฮโปคลอไรต์ 5.25 เปอร์เซ็นต์) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นย้ายลงในสารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นทำการล้างสารละลายไฮเตอร์ออกโดยใช้น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 5-6 ครั้ง นำเมล็ดข้าวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาวางบนกระดาษชำระที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อซับน้ำส่วนเกินออกจากเมล็ด

#### 3.2 การเติมแหล่งคาร์บอนต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสและการชักนำให้เกิดต้นใหม่

นำเมล็ดข้าวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร NB (Li et al., 1993) ที่มี 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร กลูตามีน (glutamine) 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โพรลีน (proline) 500 มิลลิกรัมต่อ ลิตร วัน 8 กรัมต่อลิตร และมีการเติมแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน 2 ชนิด คือ น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร (NSI medium) หรือน้ำตาลมอลโตส 30 กรัมต่อลิตร (NMI medium) ปรับ pH ให้ได้ 5.6-5.8 นำเมล็ดข้าวไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ในสภาวะมืด เป็นเวลา 3 สัปดาห์ จากนั้นทำการบันทึก เปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดแคลลัส (% callus induction) น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และขนาดของแคลลัส ที่ได้

จากนั้นนำแคลลัสที่ได้จากอาหารทั้ง 2 สูตรอีกส่วนหนึ่ง นำไปพักบนกระดาษกรองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ในสภาวะมืด เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นทำการย้ายแคลลัสที่ผ่านการพักแล้ว เพาะเลี้ยงในอาหารที่ชักนำให้เกิดต้นใหม่ ในอาหาร NB ที่มี BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร IAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โพรลีน (proline) 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟต้าเจล (Phytigel<sup>®</sup>) 5 กรัมต่อลิตร ซิลเวอร์ไนเตรต (silver nitrate) 5 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซิสเทอีน (cysteine) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีการเติมแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน 4 สูตร คือ น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร (NSR medium) น้ำตาลมอลโตส 30 กรัมต่อลิตร (NMR medium) น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และแมนนิทอล (mannitol) 1 กรัมต่อลิตร (NSMR medium) หรือน้ำตาลมอลโตส 30 กรัมต่อลิตร และแมนนิทอล 1 กรัมต่อลิตร (NMMR medium) ปรับ pH ให้ได้ 5.6-5.8 นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ (luxs) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำการบันทึกการเกิดจุดสีเขียว (green spots) และการเกิดยอด (shoot regeneration)

### 3.3 การเติมผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่

ทำการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดข้าวตามวิธีการในตอนที่ 1 จากนั้นนำเมล็ดข้าวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว มาเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสสูตรที่ดีที่สุด ที่ได้จากการทดลองในตอนที่ 2 นำเมล็ดข้าวไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ในสภาวะมืด เป็นเวลา 3 สัปดาห์ จากนั้นนำแคลลัสไปพักบนกระดาษกรองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ในสภาวะมืด เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นทำการย้ายแคลลัสที่ผ่านการพักแล้ว เพาะเลี้ยงในอาหารที่ชักนำให้เกิดต้นใหม่สูตรที่ดีที่สุดที่ได้จากการทดลองในตอนที่ 2 และมีการเติมผงถ่านกัมมันต์ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 กรัมต่อลิตร นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ (luxs) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำการบันทึกการเกิดจุดสีเขียว (green spots) และการเกิดยอด (shoot regeneration)

### 3.4 การเติมนาโนคาร์บอนต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส

ทำการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดข้าวตามวิธีการในตอนที่ 1 จากนั้นนำเมล็ดข้าวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว มาเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสสูตรที่ดีที่สุด ที่ได้จากการทดลองในตอนที่ 2 ที่มีการเติมนาโนคาร์บอนความเข้มข้น 0-100 มิลลิกรัมต่อลิตร เพิ่มในอาหาร นำเมล็ดข้าวไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ในสภาวะมืด เป็นเวลา 3 สัปดาห์ จากนั้นทำการบันทึกเปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดแคลลัส (% callus induction) น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และขนาดของแคลลัสที่ได้ จากนั้นนำแคลลัสที่ได้อีกส่วนหนึ่งไปพักบนกระดาษกรองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ในสภาวะมืด เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นทำการย้ายแคลลัสที่ผ่านการพักแล้ว เพาะเลี้ยงในอาหารที่ชักนำให้เกิดต้นใหม่สูตรที่ดีที่สุดที่ได้จากการทดลองในตอนที่ 2 นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ (luxs) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำการบันทึกการเกิดจุดสีเขียว (green spots) และการเกิดยอด (shoot regeneration)

### 3.5 การเติมนาโนคาร์บอนต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่

ทำการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดข้าวตามวิธีการในตอนที่ 1 จากนั้นนำเมล็ดข้าวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว มาเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสสูตรที่ดีที่สุด ที่มีการเติม นาโนคาร์บอนในสูตรที่ได้จากการทดลองในตอนที่ 4 นำเมล็ดข้าวไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ในสภาวะมืด เป็นเวลา 3 สัปดาห์ จากนั้นทำการย้ายแคลลัสที่ผ่านการพักแล้ว เพาะเลี้ยงในอาหารที่ชักนำให้เกิดต้นใหม่สูตรที่ดีที่สุดที่ได้จากการทดลองในตอนที่ 2 นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ (luxs) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำการบันทึกการเกิดจุดสีเขียว (green spots) และการเกิดยอด (shoot regeneration)

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัปดาห์ จากนั้นนำแคลลัสที่ได้ไปปักบนกระดาษกรองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ในสภาวะมืด เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นทำการย้ายแคลลัสที่ผ่านการปักแล้ว เพาะเลี้ยงในอาหารที่ชักนำให้เกิดต้นใหม่สูตรที่ดีที่สุดที่ได้จากการทดลองในตอนที่ 2 ที่มีการเติมนาโนคาร์บอนความเข้มข้น 0-100 มิลลิกรัมต่อลิตรเพิ่มในอาหาร นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ (luxs) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำการบันทึกการเกิดจุดสีเขียว (green spots) และการเกิดยอด (shoot regeneration)

### 3.6 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 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### 4.1 ผลของการเติมแหล่งคาร์บอนต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสและการชักนำให้เกิดต้นใหม่

ในการทดลองที่ 4.1 นั้นในขั้นต้นได้ทำการศึกษาถึงผลของการเติมแหล่งคาร์บอน 2 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลซูโครส (sucrose) และน้ำตาลมอลโตส (maltose) ต่อประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดแคลลัสและการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ในข้าวสาลีพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 โดยให้ช่วงแรกได้ศึกษาผลของน้ำตาลทั้งสองชนิดที่มีการเติมลงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัส และศึกษาถึงเปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดแคลลัส น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และขนาดของแคลลัสของแคลลัสที่ได้ จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรดังกล่าว ในสภาวะมืด เป็นเวลา 3 สัปดาห์ จากผลการทดลองที่ได้พบพบว่า แคลลัสที่ได้จากการชักนำในอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีการเติมน้ำตาลมอลโตสนั้น ให้เปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดแคลลัส (93.66%) น้ำหนักสด (90.60 มิลลิกรัม) น้ำหนักแห้ง (10.19 มิลลิกรัม) และขนาดของแคลลัส (0.92 เซนติเมตร) ที่สูงกว่า แคลลัสที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งให้เปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดแคลลัสอยู่ที่ 91.12% น้ำหนักสดอยู่ที่ 49.70 มิลลิกรัม น้ำหนักแห้งอยู่ที่ 7.98 มิลลิกรัม และขนาดของแคลลัสอยู่ที่ 0.56 เซนติเมตร (ตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดแคลลัส น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และขนาดของแคลลัสของแคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสและน้ำตาลมอลโตส

Treatments (carbon source)	เปอร์เซ็นต์การชักนำ ให้เกิดแคลลัส (%)	น้ำหนักสด (mg)	น้ำหนักแห้ง (mg)	ขนาดของ แคลลัส (cm)
น้ำตาลมอลโตส	93.66 ±0.89	90.60 ±7.08	10.19 ±1.27	0.92 ±0.09
น้ำตาลซูโครส	91.12 ±2.43	49.70 ±5.56	7.98 ±0.97	0.56 ±0.05

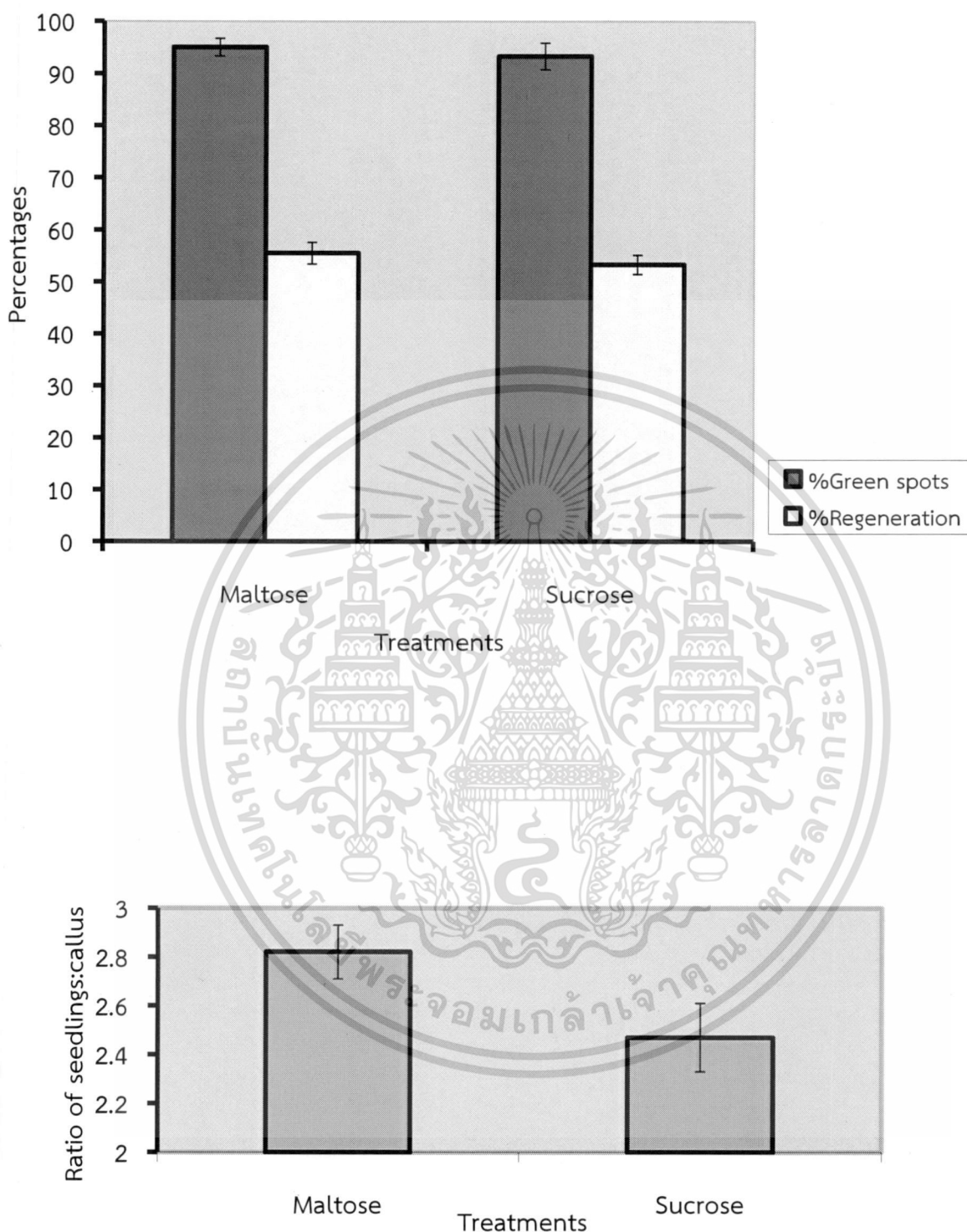
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ลักษณะของแคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส (ซ้าย) และน้ำตาลมอลโตส (ขวา)

และจากนั้นได้นำแคลลัสที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสทั้งสองสูตร นำไปพักบนกระดาษกรองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ในสภาวะมืด เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นจึงนำแคลลัสที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสทั้งสองสูตร ย้ายลงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่สูตรเดียวกัน นำไปเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ (luxs) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่าแคลลัสที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีน้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอนนั้น ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว (% green spot; 95.06%) เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ (% regeneration; 55.56%) และอัตราส่วนการเกิดต้นต่อแคลลัส (ratio of seedlings:callus; 2.82) ที่สูงกว่าแคลลัสที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน (ภาพที่ 4.2ก และข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

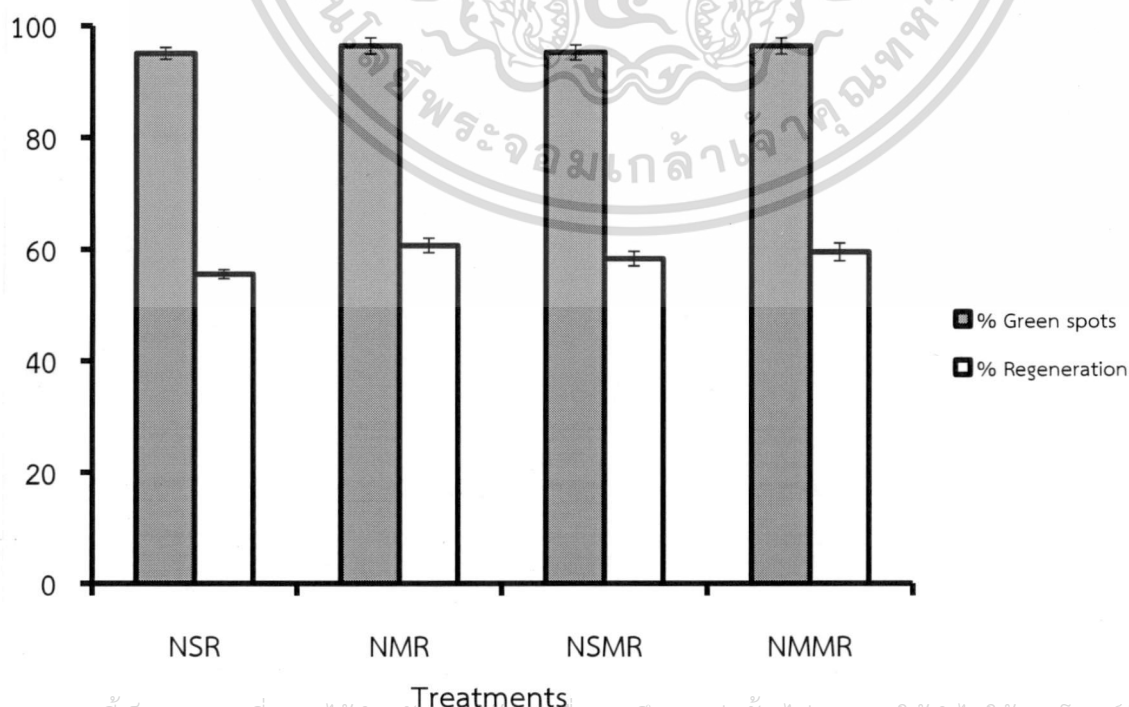


ภาพที่ 4.2 เปอร์เซนต์การเกิดจุดสีเขียว (สีดำ) และเปอร์เซนต์การเกิดต้นใหม่ (สีขาว) (ก) และอัตราส่วนการเกิดต้นต่อแคลลัส (ข) ของแคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีน้ำตาลมอลโตส (maltose) และน้ำตาลซูโครส (sucrose) เป็นแหล่งคาร์บอน ในอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่สูตรเดียวกัน ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 3 ซ้ำ ( $n = 3$ )  $\pm$  S.D.

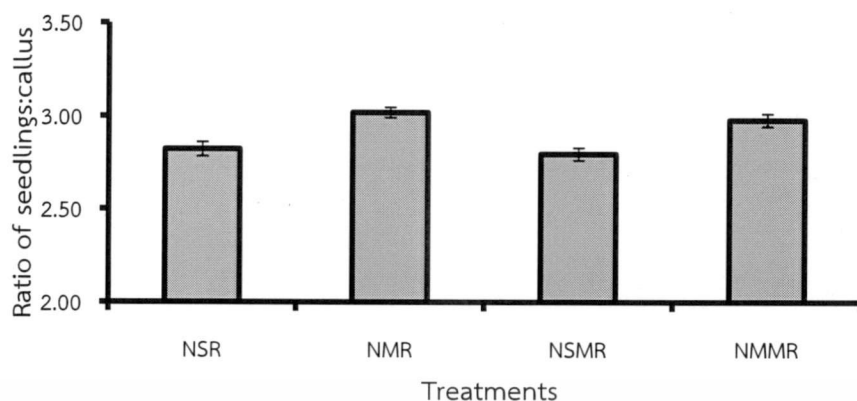
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสในสูตรที่มีการเติมน้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอนนั้นให้เปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดแคลลัส น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และขนาดของแคลลัส รวมไปถึง เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ และอัตราส่วนการเกิดต้นต่อแคลลัสที่ดีกว่าแคลลัสที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน

จากนั้นจึงนำอาหารสูตรดังกล่าวมาใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัส เพื่อศึกษาผลแหล่งคาร์บอนที่ต่างกันต่อการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ต่อไป โดยแบ่งชนิดของแหล่งคาร์บอนเป็น 1) น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร (NSR medium) 2) น้ำตาลมอลโตส 30 กรัมต่อลิตร (NMR medium) 3) น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และแมนนิทอล (mannitol) 1 กรัมต่อลิตร (NSMR medium) 4) น้ำตาลมอลโตส 30 กรัมต่อลิตร และแมนนิทอล 1 กรัมต่อลิตร (NMMR medium) และจากผลการทดลองพบว่าในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่มีการเติมน้ำตาลมอลโตสนั้นให้เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ (60.71%) และอัตราส่วนของการเกิดต้นต่อแคลลัส (3.02) สูงที่สุด ขณะที่อาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่มีการเติมน้ำตาลมอลโตสและแมนนิทอลนั้นให้เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่อยู่ที่ 59.52% และอัตราส่วนของการเกิดต้นต่อแคลลัสอยู่ที่ 2.98 อาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส และแมนนิทอลนั้นให้เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่อยู่ที่ 58.33% และอัตราส่วนของการเกิดต้นต่อแคลลัสอยู่ที่ 2.82 และอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสอย่างเดียวนั้นให้เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่อยู่ที่ 55.56% และอัตราส่วนของการเกิดต้นต่อแคลลัสอยู่ที่ 2.80 และเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียวนั้นไม่แตกต่างกันในทางสถิติในแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ทั้งสี่สูตรดังกล่าว (ภาพที่ 4.3ก และข)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



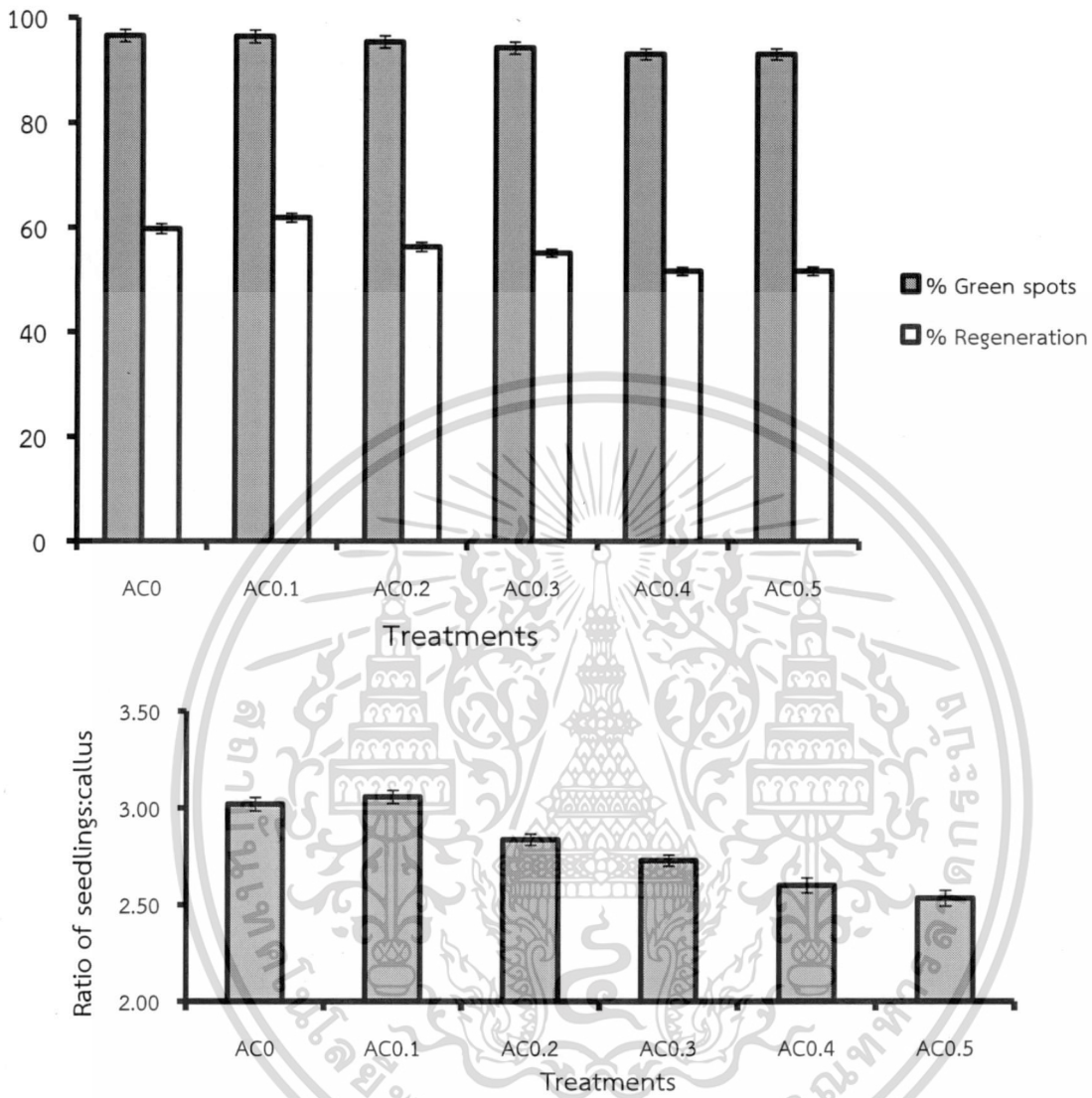
ภาพที่ 4.3 เเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว (สีดำ) และเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นใหม่ (สีขาว) (ก) และอัตราส่วนการเกิดต้นต่อแคลลัส (ข) ของแคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีน้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอน และนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่มี 1) น้ำตาลซูโครส (NSR medium) 2) น้ำตาลมอลโตส (NMR medium) 3) น้ำตาลซูโครส และแมนนิทอล (mannitol) (NSMR medium) และ 4) น้ำตาลมอลโตส และแมนนิทอล (NMMR medium) เป็นแหล่งคาร์บอน ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 3 ซ้ำ ( $n = 3$ )  $\pm$ S.D.

และจากผลการทดลองที่ได้นั้นสอดคล้องกับงานวิจัยอื่น ซึ่งมีการเติมน้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอน และนอกจากจะทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์บอนแล้ว น้ำตาลยังสามารถควบคุมแรงดันออสโมติกระหว่างสภาพแวดล้อมภายนอก และภายในเซลล์พืชด้วย (Ikram-ul-Haq et al., 2009; Sridhar and Naldu, 2011; Gauchan, 2012; Manchanda and Gosal, 2012) จึงนำอาหารสูตรดังกล่าวไปใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป

#### 4.2 ผลของการเติมผงถ่านกัมมันต์ต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่

จากผลการทดลองในตอนที่ 4.1 จึงนำอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัส และอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่มีน้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอนมาใช้ในการทดลองต่อไป โดยทำการเติมผงถ่านกัมมันต์ (activated carbon; AC) ที่ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 กรัมต่อลิตร ลงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นใหม่เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเกิดเป็นต้นใหม่ในเซลล์แคลลัส และจากผลการทดลองจะพบว่าการเติมผงถ่านกัมมันต์ที่ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อลิตรนั้นให้เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ (61.90%) และอัตราส่วนของการเกิดต้นต่อแคลลัส (3.06) ดีที่สุด ในขณะที่อาหารสูตรที่เติมผงถ่านกัมมันต์ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 กรัมต่อลิตรจะให้เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่อยู่ที่ 56.32, 55.17, 51.72 และ 51.72% ตามลำดับ และอัตราส่วนของการเกิดต้นต่อแคลลัสอยู่ที่ 2.84, 2.73, 2.60 และ 2.53 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.4ก และข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 เปอร์เซนต์การเกิดจุดสีเขียว (สีดำ) และเปอร์เซนต์การเกิดต้นใหม่ (สีขาว) (ก) และอัตราส่วนการเกิดต้นต่อแคลลัส (ข) ของแคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีน้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอน และนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่มีการเติมผงถ่านกัมมันต์ (activated carbon; AC) ที่ความเข้มข้น 0.1 (AC0.1), 0.2 (AC0.2), 0.3 (AC0.3), 0.4 (AC0.4) และ 0.5 (AC0.5) กรัมต่อลิตร และมีน้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอน ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจำนวน 3 ซ้ำ (n =3) ±S.D.

จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัส และอาหารสูตรชักนำให้  
เกิดต้นใหม่ที่มีการเติมน้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอนนั้น ให้เปอร์เซนต์การชักนำให้เกิดแคลลัส  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ และอัตราส่วนการเกิดต้นต่อแคลลัสที่ติดกว่าอาหารสูตรอื่น และการเติมผงถ่านกัมมันต์ที่ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อลิตร จะช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ของแคลลัสได้ ซึ่งการเติมผงถ่านกัมมันต์จะช่วยดูดซับสารประกอบฟีนอลิกชนิดต่างๆ ที่ส่งผลต่อการทำลายเซลล์แคลลัส ซึ่งจะช่วยให้ยับยั้งการพัฒนาเซลล์แคลลัสให้ชักนำกลายเป็นต้นใหม่ได้ (Saika and Toki, 2010; Manchanda and Gosal, 2012)

#### 4.3 ผลของการเติมนาโนคาร์บอนต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส

จากการทดลองที่ 4.1 และ 4.2 นั้นได้ศึกษาถึงการเติมน้ำตาลมอลโตส และผงถ่านกัมมันต์ที่มีต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ ในงานวิจัยนี้จึงทดลองนำนาโนคาร์บอนมาประยุกต์ให้กับงานทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยได้ทดสอบในขั้นต้นโดยการเติมนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้น 0, 5, 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ในแคลลัสที่ได้ จากการทดลองจะพบว่าการเติมนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้เปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดแคลลัสที่ 94.70% น้ำหนักสดที่ 116.44 มิลลิกรัม น้ำหนักแห้งที่ 16.26 มิลลิกรัม และมีขนาดอยู่ที่ 1.10 เซนติเมตร ซึ่งให้เปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดแคลลัสสูงกว่าแคลลัสที่ชักนำในอาหารที่มีการเติมนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้เปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดแคลลัสที่ 90.91, 88.19 และ 86.51% ขณะที่น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และขนาดมีค่าต่ำกว่าแคลลัสที่ชักนำในอาหารที่มีการเติมนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้น้ำหนักสดที่ 135.86, 165.73, 198.59 มิลลิกรัม น้ำหนักแห้งที่ 16.86, 20.23, 22.09 มิลลิกรัม และมีขนาดอยู่ที่ 1.17, 1.21, 1.34 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.5)

ตารางที่ 4.2 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดแคลลัส น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และขนาดของแคลลัสของ แคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีการเติมนาโนคาร์บอนที่ ความเข้มข้น 0, 5, 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้นของนาโนคาร์บอน (mg.L <sup>-1</sup> )	เปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดแคลลัส (%)	น้ำหนักสด (mg)	น้ำหนักแห้ง (mg)	ขนาดของ แคลลัส (cm)
0	93.75 ±0.57	92.51 ±7.10	10.89 ±1.89	0.93 ±0.07
5	94.70 ±0.86	116.44 ±9.51	16.26 ±2.59	1.10 ±0.10
25	90.91 ±0.69	135.86 ±10.48	16.86 ±4.31	1.17 ±0.08
50	88.19 ±0.60	165.73 ±10.66	20.23 ±2.10	1.21 ±0.07
100	86.51 ±0.69	198.59 ±10.32	22.09 ±4.30	1.34 ±0.13



ภาพที่ 4.5 ลักษณะของแคลลัสของแคลลัสอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้จากอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีการเติมนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้น 0, 5, 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

แต่เมื่อนำแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีการเติมนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้น 0, 5, 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร นำมาย้ายลงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่สูตรเดียวกัน แคลลัสที่ชักนำในอาหารที่มีการเติมนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียวที่ 95.83% เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ที่ 60.42% และอัตราส่วนการเกิดเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้นต่อแคลลัสที่ 3.12 ซึ่งสูงกว่าแคลลัสที่ชักนำในอาหารที่มีการเติมนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียวที่ 93.55, 91.67, 91.67% เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ที่ 55.91, 50.00, 39.58% และอัตราส่วนการเกิดต้นต่อแคลลัสที่ 2.88, 2.54, 2.34 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6ก และข)

จากผลการทดลองดังกล่าวจึงสามารถสรุปได้ว่า แคลลัสที่ได้จากการชักนำในอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีการเติมนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะชักนำให้เกิดเป็นเอ็มบริโอจินิก แคลลัส (embryogenic callus) ได้สูงกว่าแคลลัสที่ได้จากการชักนำในอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสสูตรอื่น โดยวัดได้จากเปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ที่สูงสุด แต่พบว่าการเติมนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้นสูงนั้นจะให้ขนาดและน้ำหนักมวลชีวภาพ (biomass) ที่สูง สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้า (Khodakovskaya et al., 2009; Khodakovskaya et al., 2012)

#### 4.4 ผลของการเติมนาโนคาร์บอนต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่

จากผลการทดลองตอนที่ 4.3 นั้น เมื่อทำการศึกษาเพิ่มเติมโดยการเติมนาโนคาร์บอนในอาหารสูตรชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ที่ความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยนำแคลลัสที่ได้จากการชักนำในอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีการเติมนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ที่มีนาโนคาร์บอนความเข้มข้นต่างๆ ข้างต้น จากผลการทดลองจะพบว่าการเติมนาโนคาร์บอนในอาหารสูตรชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียวที่ 96.08% เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ที่ 62.75% และอัตราส่วนการเกิดต้นต่อแคลลัสที่ 3.16 ซึ่งสูงกว่าแคลลัสที่ชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ในอาหารที่มีการเติมนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้น 10, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียวที่ 95.10, 95.83, 94.79, 93.33% เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ที่ 61.76, 59.38, 58.33, 52.22% และอัตราส่วนการเกิดต้นต่อแคลลัสที่ 3.11, 3.11, 3.07, 3.02 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7ก และข)

จากผลการทดลองดังกล่าวจึงคาดว่า การนำนาโนคาร์บอนมาใช้ในความเข้มข้นที่เหมาะสม น่าจะช่วยให้เพิ่มการส่งผ่านน้ำ และ/หรือสารอาหารระหว่างสภาพแวดล้อมภายนอกกับเซลล์พืชได้ (Ghodake et al., 2010; Khodakovskaya et al., 2012; Wang et al., 2012) จึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในข้าวได้ ซึ่งการใช้นาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้นสูงจะก่อให้เกิดความเป็นพิษกับเซลล์พืช (Lin and Xing, 2007; Yuan et al., 2011)

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาถึงผลของแหล่งคาร์บอนที่มีต่ออัตราการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ในข้าวอินดิกาสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 นั้นจากผลการทดลองพบว่าน้ำตาลมอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ได้ดีที่สุด และเมื่อศึกษาเพิ่มเติมโดยการเติมผงถ่านกัมมันต์และนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันนั้น จะพบว่านาโนคาร์บอนนั้นช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ ได้ดีกว่าผงถ่านกัมมันต์ และจากการทดลองจะพบนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ในข้าวอินดิกาสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ตามลำดับ จากการเติมแหล่งคาร์บอน และนาโนคาร์บอนลงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ จะพบความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และการเกิดเป็นต้นใหม่ เพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนการขยายพันธุ์ และการถ่ายโอนยีนต่อไปได้

#### 5.2 ข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้ในขั้นต้นที่มีการทดสอบแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่นั้น ในอนาคตควรจะมีการทดลองชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนเพิ่มเติม เพื่อหาชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมที่สุดต่อไป และในการทดสอบโดยการเติมนาโนคาร์บอนนั้น ถ้ามีการศึกษาที่ความแตกต่างของขนาดและรูปร่างของนาโนคาร์บอนแต่ละชนิดที่นำมาทดสอบ น่าจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และการเกิดเป็นต้นใหม่ และยังสามารถหารูปร่างและชนิดของนาโนคาร์บอนที่เหมาะสมต่อไปได้

## เอกสารอ้างอิง

- Bahmani, R., Karami, O. and Gholami, M. 2009. Influence of carbon sources and their concentrations on rooting and hyperhydricity of apple rootstock MM.106. World Appl. Sci. J., 6: 1513-1517.
- Bajaj, S. and Mohanty, A. 2005. Recent advances in rice biotechnology-towards genetically superior transgenic rice. Plant Biotechnol. J., 3: 275-307.
- Dabul, A.N.G., Belefant-Miller, H., RoyChowdhury, M., Hubstenberger, J.F., Lorence, A. and Phillips, G.C. 2009. Screening of a broad range of rice (*Oryza sativa* L.) germplasm for *in vitro* rapid plant regeneration and development of an early prediction system. In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant, 45: 414-420.
- De Paiva Neto, V.B. and Otoni, W.C. 2003. Carbon sources and their osmotic potential in plant tissue culture: does it matter?. Sci. Hortic., 97: 193-202.
- El-Bakry, A. 2002. Effect of genotype, growth regulators, carbon source, and pH on shoot induction and plant regeneration in tomato. In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant, 38: 501-507.
- Ganesan, M. and Jayabalan, N. 2005. Carbon source dependent somatic embryogenesis and plant regeneration in cotton, *Gossypium hirsutum* L. cv. SVPR2 through suspension cultures. Indian J. Exp. Biol., 43: 921-925.
- Gauchan, D.P. 2012. Effect of different sugars on shoot regeneration of maize (*Zea mays* L.). Kathmandu Uni. J. Sci. Eng. Tech., 8: 119-124.
- Ge, X.J., Chu, Z.H., Lin, Y.J. and Wang, S.P. 2006. A tissue culture system for different germplasms of indica rice. Plant Cell Rep., 25: 392-402.
- Geng, P., La, H., Wang, H. and Stevens, E.J.C. 2008. Effect of sorbitol concentration on regeneration of embryogenic calli in upland rice varieties (*Oryza sativa* L.). Plant Cell Tiss. Organ Cult., 92: 303-313.

- Ghodake, G., Seo, Y.D., Park, D. and Lee, D.S. 2010. Phytotoxicity of carbon nanotubes assessed by *Brassica juncea* and *Phaseolus mungo*. *J. Nanoelectron. Optoelectron.*, 5: 157-160.
- Hilae, A. and Te-chato, S. 2005. Effects of carbon sources and strength of MS medium on germination of somatic embryos of oil palm (*Elaeis quineensis* Jacq.). *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 27: 629-635.
- Hoque, H.E. and Mansfield, J.W. 2004. Effect of genotype and explant age on callus induction and subsequent plant regeneration from root-derived callus of Indica rice genotypes. *Plant Cell Tissu. Org. Cult.*, 78: 217-223.
- Hoque, M.E., Ali, M.S. and Karim, N.H. 2007. Embryogenic callus induction and regeneration of elite bangladeshi Indica rice cultivars. *Plant Tissue Cult. Biotech.*, 17: 65-70.
- Huang, H., Huang, D. and Chen, W. 1999. Effect of carbohydrate source: sorbitol and mannitol to somatic cell culture in rice. *Guangdong Agric. Sci.*, 3: 2-3.
- Hussein, E.H.A., Madkour, M.A., Assem, S.K. and Radwan, A.M.A. 2004. Embryogenic callus formation and plant regeneration from immature embryos of some barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.). *Arab J. Biotech.*, 7: 111-122.
- Ikram-ul-Haq, Chang-Xing, Z., Mukhtar, Z., Jaleel, C.A. and Azooz, M.M. 2009. Effect of physical desiccation on plant regeneration efficiency in rice (*Oryza sativa* L.) variety super basmati. *J. Plant Physiol.*, 166: 1568-1575.
- Khodakovskaya, M.V., Dervishi, E., Mahmood, M., Xu, Y., Li, Z., Watanabe, F. and Biris, A.S. 2009. Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. *ACS Nano*, 3: 3221-3227.
- Khodakovskaya, M.V., de Silva, K., Biris, A.S., Dervishi, E. and Villagarcia, H. 2012. Carbon nanotubes induce growth enhancement of tobacco cells. *ACS Nano*, 6: 2128-2135.
- Kumar, V., Shriram, V., Nikam, T.D., Kavi Kishor, P.B., Jawali, N., Shitole, M.G. 2008. Assessment of tissue culture and antibiotic selection parameters useful for
- เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- transformation of an important Indica rice genotype Karjat-3. *Asian Australas. J. Plant Sci. Biotechnol.*, 2: 84–87
- Li, L., Qu, R., De Kochko, A., Frauquet, C. and Beachy, R.N. 1993. An improved rice transformation method using the biolistic method. *Plant Cell Rep.*, 12: 250-255.
- Lin, D. and Xing, B. 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth. *Environ. Pollut.*, 150: 243-250.
- Liu, Q., Chen, B., Wang, Q., Shi, X., Xiao, Z., Lin, J. and Fang, X. 2009. Carbon nanotubes as molecular transporters for walled plant cells. *Nano Lett.*, 9: 1007–1010.
- Lu, B.R., Cai, X. and Jin, X. 2009. Efficient *indica* and *japonica* rice identification based on the InDel molecular method: Its implication in rice breeding and evolutionary research. *Prog. Nat. Sci.*, 19: 1241-1252.
- Nambiar, N., Tee, C.S. and Maziah, M. 2012. Effects of organic additives and different carbohydrate sources on proliferation of protocormlike bodies in *Dendrobium* Alya Pink. *Plant Omics J.*, 5: 10-18.
- Manchanda, P. and Gosal, S.S. 2012. Effect of activated charcoal, carbon sources and gelling agents on direct somatic embryogenesis and regeneration in sugarcane via leaf roll segments. *Sugar Tech.*, 14: 168–173.
- Mohan, B.H., Malleshi, N.G. and Koseki, T. 2010. Physico-chemical characteristics and non-starch polysaccharide contents of *Indica* and *Japonica* brown rice and their malts. *LWT Food Sci. Tech.*, 43: 784–791.
- Mondal, A., Basu, R., Das, S. and Nandy, P. 2011. Beneficial role of carbon nanotubes on mustard plant growth: an agricultural prospect. *J. Nanopart. Res.*, 13: 4519–4528.
- Morla, S., Ramachandra Rao, C.S.V. and Chakrapani, R. 2011. Factors affecting seed germination and seedling growth of tomato plants cultured *in vitro* conditions. *J. Chem. Bio. Phy. Sci.*, 1: 328-334.
- Pimsen, M. and Kanchanapoom, K. 2011. Effect of basal media and sugar types on *in vitro* regeneration of *Grammatophyllum speciosum* Blume. *Not. Sci. Biol.*, 3: 101-104.

- Preethi, D., Sridhar, T.M. and Naidu, C.V. 2011. Carbohydrate concentration influences on *in vitro* plant regeneration in *Stevia rebaudiana*. *J. Phyto.*, 3: 61-64.
- 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.
- Saika, H. and Toki, S. 2010. Mature seed-derived callus of the model *indica* rice variety Kasalath is highly competent in *Agrobacterium*-mediated transformation. *Plant Cell Rep.*, 29: 1351-1364.
- Serag, M.F., Kaji, N., Gaillard, C., Okamoto, Y., Terasaka, K., Jabasini, M., Tokeshi, M., Mizukami, H., Bianco, A. and Baba, Y. 2011. Trafficking and subcellular localization of multi-walled carbon nanotubes in plant cells. *ACS Nano*, 5: 493-499.
- Shahsavari, E., Maheran, A.A., Siti Nor Akmar, A. and Hanafi, M.M. 2010. The effect of plant growth regulators on optimization of tissue culture system in Malaysian upland rice. *African. J. Biotechnol.*, 9: 2088-2094.
- Smirnova, E., Gusev, A., Zaytseva, O., Sheina, O., Tkachev, A., Kuznetsova, E., Lazareva, E., Onishchenko, G., Feofanov, A. and Kirpichnikov, M. 2012. Uptake and accumulation of multiwalled carbon nanotubes change the morphometric and biochemical characteristics of *Onobrychis arenaria* seedlings. *Front. Chem. Sci. Eng.*, 6: 132-138.
- Sridhar, T.M. and Naidu, C.V. 2011. Effect of different carbon sources on *in vitro* shoot regeneration of *Solanum nigrum* (Linn.) - An important antiulcer medicinal plant. *J. Phyto.*, 3: 78-82.
- Sujana, P. and Naidu, C.V. 2011. Impact of different carbohydrates on high frequency plant regeneration from axillary buds of *Mentha piperita* (L.) - an important multipurpose medicinal plant. *J. Phyto.*, 3: 14-18.
- Tan, X.M. and Fugetsu, B. 2007. Multi-walled carbon nanotubes interact with cultured rice cells: evidence of a self-defense response. *J. Biomed. Nanotechnol.*, 3: 285-288.
- Thapa, R., Dhakal, D. and Gauchan, D.P. 2007. Effect of different sugars on shoot induction in cv. Basmati. *Kathmandu Uni. J. Sci. Eng. Tech.*, 1: 1-4.

- Traore, A. 2006. Effects of carbon source and explants type on somatic embryogenesis of four cacao genotypes. *Hortscience*, 41: 753-758.
- Tripathi, S., Sonkar, S.K. and Sarkar, S. 2011. Growth stimulation of gram (*Cicer arietinum*) plant by water soluble carbon nanotubes. *Nanoscale*, 3: 1176-1181.
- Vaughan, D.A., Lu, B.R. and Tomooka, N. 2008. The evolving story of rice evolution. *Plant Sci.*, 174: 394-408.
- Wang, X., Han, H., Liu, X., Gu, X., Chen, K. and Lu, D. 2012. Multi-walled carbon nanotubes can enhance root elongation of wheat (*Triticum aestivum*) plants. *J. Nanopart. Res.*, 14: 841.
- Wong, N., Kam, S. and Dai, H.J. 2005. Carbon nanotubes as intracellular protein transporters: generality and biological functionality. *J. Am. Chem. Soc.*, 127: 6021-6026.
- Yuan, H., Hu, S., Huang, P., Song, H., Wang, K., Ruan, J., He, R. and Cui, D. 2011. Single walled carbon nanotubes exhibit dual-phase regulation to exposed Arabidopsis mesophyll cells. *Nanoscale Res. Lett.*, 6: 44.
- Zhu, L., Chang, D.W., Dai, I.M. and Hang, H.I. 2007. DNA damaged induced by multiwalled carbon nanotubes in mouse embryonic stem cells. *Nano Lett.*, 7: 3592-3597.

## ข้อมูลประวัติผู้วิจัย

### ผู้วิจัยหลัก

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นายสุธี ชูตีไพจิตร  
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 (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ  
Extraction and analysis plant metabolites  
  
Plant tissue culture  
  
Phytochemistry  
  
Nanobiotechnology

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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  
(ตีพิมพ์แล้ว 40%)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 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. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก 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 (แตกต่างจากวุฒิมการศึกษ) ระบุสาขาวิชาการ  
Metabolic Engineering and Functional Genomics  
Molecular Biology  
Cell culture
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย
  - 7.1 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว :

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 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 1<sup>st</sup> 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.1<sup>st</sup> 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. Chutipaijit. Effect of Abiotic Stresses on Adaptive Response in Cereal. J. Science-Ladkrabang vol 14 No.2 2005.
- S. Chutipaijit, B. Intawong and K. Sompornpailin. Factors of Callus and Combination of Plant Growth Regulators Effect on the Plant Regeneration from Scutellum of Indica Rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML

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 antioxidant accumulation in indica rice (*Oryza sativa* L. ssp. *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. ssp. *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. ssp. *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 ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- K. Sompornpailin and S. Kanthang. Identification of High Flavonoid Expression in Transgenic Tobacco Overexpressing TT8 Gene Using Black Light. 34<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand. Bangkok Thailand, 2008. B4\_B0075
- S. Chutipajit, S. Cha-um and K. Sompornpailin. Alteration of Proline and Anthocyanin Levels Affects Salinity Tolerance in Indica Rice Seedlings. 34<sup>th</sup> 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. 34<sup>th</sup> 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. Chutipajit, 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. Chutipajit 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. Chutipajit, 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

- 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. Porntheeraphat, 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  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้