666
13755

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การชักนำให้เกิดแคลลัสจากเมล็ดในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ กข.7

Callus Induction from Seeds of Rice var. KDML 105 and RD.7

โดย

นายธานินทร์ กาญจนลักษณ์

อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา

นางสาวสมคิด วิริกูล กรรมการที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

T100331
28 พ.ย. 254..

(ผศ.ดร. อารมณ์ ศรีพิจิตต์)
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วัน../๑..เดือน...........พ.ศ.2532

เลขหมู่.......................
เลขทะเบียน....100331
วัน,เดือน,ปี......18 JUN 2009

ฝพ.
ธ515ก
2532

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

การชักนำให้เกิดแคลลัสจากเมล็ดในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ กข.7

Callus Induction from Seeds of Rice var. KDML 105 and RD.7

บทคัดย่อ

การศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวจากเมล็ดพบว่า การฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ ถ้ามีการเขย่าอย่างรุนแรงอย่างต่อเนื่องจะมีผลต่อการสูญเสียความงอกมาก ฤดูการเก็บเกี่ยวของเมล็ดที่นำมาเพาะเลี้ยงก็มีผลต่อการฟอกฆ่าเชื้อ กล่าวคือเมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวมาในฤดูฝน จะมีเปอร์เซนต์การปนเปื้อนจากเชื้อราค่อนข้างสูง ส่วนฮอร์โมน 2,4-D จะมีผลในการชักนำให้เกิดแคลลัสในทุกระดับความเข้มข้นจาก 0.5 ถึง 4 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4-D ที่สูงขึ้นจะทำให้ขนาดและน้ำหนักสดของแคลลัสเพิ่มขึ้น แต่ในพันธุ์ข้าวที่ต่างกันระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4-D ที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสจะแตกต่างกัน พันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 จะตอบสนองต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าพันธุ์ข้าว กข.7 ส่วนในการศึกษาผลของฮอร์โมน NAA ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในครั้งนี้ไม่ได้ผล เนื่องจากฮอร์โมนที่เตรียมไว้เสื่อมสภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณอาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ์ (ประธานกรรมการที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ) ที่ได้กรุณา ให้คำปรึกษา แนะนำ ช่วยเหลือทั้งทางด้านการเรียนและการทำปัญหาพิเศษมาโดยตลอด รวมทั้งแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ และขอขอบคุณคุณสมคิด วิริกูล (กรรมการที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ) ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ซึ่งทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์ปฏิบัติการและเก็บเมล็ดเชื้อพันธุ์ข้าวแห่งชาติ ที่ได้เอื้อเฟื้อเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง และเพื่อน ๆ ทุกคนที่ให้กำลังใจและความช่วยเหลือ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และพี่ ๆ ของข้าพเจ้าทุกคน ที่ให้คำแนะนำและกำลังใจ ทำให้ข้าพเจ้าได้มีวันนี้

ธานินทร์ กาญจนลักษณ์

มีนาคม 2532

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญ

	หน้า
สารบาญตาราง	(1)
สารบาญภาพ	(2)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ตรวจเอกสาร	3
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	3
ลักษณะทั่วไป	7
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	9
อุปกรณ์และวิธีการ	13
ผลการศึกษาและวิจารณ์	18
ผลการทดสอบเปอร์เซนต์ความงอก	18
ผลจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	20
สรุปผลการศึกษา	31
เอกสารอ้างอิง	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญตาราง

ตารางที่ หน้า

ตารางที่		หน้า
1	แสดงเปอร์เซนต์ความงอกของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข.7 หลังจากผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ เมื่ออายุ 2 สัปดาห์	19
2	แสดงการเกิดแคลลัสของเอมบริโอข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จากการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4- D ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน หลังจากการเลี้ยง 45 วัน	24
3	แสดงการเกิดแคลลัสของเอมบริโอข้าวพันธุ์ กข.7 จากการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4- D ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน หลังจากการเลี้ยง 45 วัน	25
4	แสดงการเกิดแคลลัสของเอมบริโอข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จากการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4- D ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน หลังจากการเลี้ยง 45 วัน	26

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในอาหารสูตร MS ที่มีสารเร่งการเจริญเติบโต 2,4-D ในความเข้มข้นต่าง ๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร) จากการทดลองครั้งที่ 1	27
2	การเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวพันธุ์ กข.7 ในอาหารสูตร MS ที่มีสารเร่งการเจริญเติบโต 2,4- D ในความเข้มข้นต่าง ๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร) จากการทดลองครั้งที่ 1	28
3	การเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในอาหารสูตร MS ที่มีสารเร่งการเจริญเติบโต 2,4-D ในความเข้มข้นต่าง ๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร) จากการทดลองที่ 1	29
4	การเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวพันธุ์ กข.7 ในอาหารสูตร MS ที่มีสารเร่งการเจริญเติบโต2,4-Dในความเข้มข้นต่าง ๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร) จากการทดลองครั้งที่ 1	30

มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ข้าวเป็นพืชตระกูลหญ้าที่มีความสำคัญมาก เพราะประชากรมากกว่า 2 ใน 3 ของโลก บริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก รวมทั้งประชากรในประเทศไทย นอกจากนี้-ข้าวยังมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เนื่องจากเป็นสินค้าส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศในมูลค่าปีละหลายพันล้านบาท แต่ทั้งนี้ผลผลิตข้าวก็ยังมีปริมาณไม่เพียง-พอต่อความต้องการของประชากร สาเหตุเนื่องมาจากปัจจัยต่าง ๆ หลายประการ อาทิ ศัตรูพืช ความอุดมสมบูรณ์และความเป็นกรด - ด่างของดิน อุณหภูมิ ภูมิอากาศ ปริมาณน้ำ ฯลฯ แต่ปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ สามารถแก้ไขได้โดยการเลือกใช้พันธุ์ข้าวที่ดี และเหมาะสมกับสภาพท้องถิ่น รวมทั้งต้องเป็นพันธุ์ข้าวที่มีความต้านทานโรคและแมลงที่เป็น-ปัญหา การปรับปรุงพันธุ์ข้าวซึ่งจะทำให้ได้มาซึ่งพันธุ์ที่มีคุณสมบัติตามที่ต้องการนั้น จะต้องอาศัยความรู้ ความสามารถ เวลา และปัจจัยอื่น ๆ อีกมากมาย

การปรับปรุงพันธุ์ข้าว สามารถกระทำได้หลายวิธี เช่น การผสมพันธุ์ การคัดเลือก การทำให้เกิดการกลายพันธุ์ เป็นต้น นอกจากนี้การนำเทคนิคการเพาะเลี้ยง-เนื้อเยื่อมาใช้ร่วมในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าว เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ประหยัดเวลา แรงงาน ค่าใช้จ่าย และพื้นที่ในการทดลองมากกว่าการใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์โดยทั่วไป ความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวและประสิทธิภาพของวิธีการนี้ จะเป็นหนทางนำไปสู่ความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต่อไปในอนาคต

ในการศึกษาครั้งนี้จึงศึกษาถึงประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 และ กข.7 เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับโครงการวิจัยทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาเปอร์เซนต์ความงอกของเมล็ดข้าว หลังจากผ่านขบวนการ-ฟอกฆ่าเชื้อ

2. เพื่อศึกษาถึงความแตกต่างของพันธุ์ ต่อสารเร่งการเจริญเติบโตใน-การชักนำให้เกิดแคลลัสจากเมล็ดของข้าว

3. เพื่อศึกษาอิทธิพลของฮอร์โมน 2,4-D และ NAA ต่อการพัฒนาของ-แคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ข้าว (rice) เป็นพืชใน gennus Oryza , sub - tribe Oryzineae ในตระกูล (family) Gramineae พืชใน genus Oryza นี้จะประกอบด้วย specy ต่าง ๆ ประมาณ 25 species ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 3 พวก คือ Oryza sativa ที่ปลูกกันทั่วไป Oryza glaberrima ที่ปลูกเฉพาะในอาฟริกาเท่านั้น และข้าวป่า (wild rice) ซึ่งเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ มีอยู่ 22 species แต่ที่สำคัญและที่ควรทราบได้แก่ Oryza perennis ที่ยอมรับกันว่าข้าวป่าพวกนี้เป็นต้นตระกูลของข้าวที่เราบริโภคกันทุกวันนี้

ข้าวเป็นพืชผสมตัวเอง (self-fertilized crop) เกือบ 100 - เปอร์เซนต์ ดังนั้นพันธุ์ต่าง ๆ ของข้าวที่ปลูกอยู่ทั่วไปนั้น จึงมีลักษณะเป็น homozygous gene ที่ควบคุมลักษณะต่าง ๆ ในข้าวมีมากกว่า 300 ตัว ดังนั้นความแตกต่างที่แสดงออกในแต่ละพันธุ์นั้นเป็นความแตกต่างทาง morphology เป็นส่วนใหญ่ ส่วนลักษณะแตกต่างทาง physiology นั้น ส่วนใหญ่เป็นลักษณะที่มีความสำคัญในทางเศรษฐกิจ ซึ่งหมายถึงความแตกต่างของประสิทธิภาพการให้ผลผลิต (วาสนา , 2523)

ข้าวมีส่วนที่สำคัญ 2 ส่วน คือ

1. ส่วนที่เกี่ยวกับการเจริญเติบโต ได้แก่ ราก ลำต้น และใบ

<u>ราก</u> รากของข้าวเป็นส่วนที่อยู่ใต้ผิวดิน ใช้ยึดลำต้นไม่ให้ต้นล้ม แต่ในบางครั้งก็มีรากพิเศษเกิดขึ้นที่ข้อเหนือพื้นดินด้วย ต้นข้าวไม่มีรากแก้วแต่มีรากฝอยแตกแขนงกระจายอยู่ใต้ผิวดิน แต่ละแขนงของรากฝอยก็มีรากขนอ่อน รากของต้นข้าวนอกจากจะเกิดที่โคนต้นแล้ว รากก็จะเกิดขึ้นที่ข้อซึ่งอยู่ใต้ดินและใต้น้ำด้วย

<u>ลำต้น</u> ลำต้นของข้าวมีลักษณะเป็นโพลงตรงกลางและแบ่งเป็นปล้อง ๆ โดยมีข้อกั้นอยู่ระหว่างปล้อง จำนวนปล้องจะเท่ากับจำนวนใบของต้นข้าว ปกติมีประมาณ 25 ถึง 30 ปล้อง แต่จะมีใบติดอยู่ที่ต้นให้เห็นเพียง 5 - 7 ใบ ปล้องที่โคนต้นจะสั้นและหนากว่าปล้องที่อยู่ปลายลำต้น ที่ข้อซึ่งเป็นส่วนที่แบ่งลำต้นออกเป็นปล้อง ๆ นั้น มีตา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับเจริญเติบโตออกเป็นหน่อข้อละหนึ่งตา และอยู่สลับกันไปจากข้อหนึ่งไปอีกข้อหนึ่ง สีของข้อก็แตกต่างกันไปตามชนิดของพันธุ์ข้าวซึ่งอาจจะเป็นสีเหลืองหรือสีม่วงก็ได้ ส่วนความยาวของปล้องนั้นก็แตกต่างกันไปตามชนิดของพันธุ์ข้าว ต้นข้าวจะถูกห่อหุ้มด้วยกาบใบ จึงทำให้ไม่สามารถมองเห็นลำต้นหรือปล้องของต้นข้าวในระยะแตกกอ แต่ต้นข้าวจะมีการยืดตัวสูงขึ้นในระยะออกรวงจนสามารถมองเห็นลำต้นได้

ใบ ใบประกอบด้วยกาบใบและแผ่นใบที่เชื่อมติดกันด้วยข้อต่อของใบ โดยกาบใบคือส่วนที่ติดอยู่กับข้อของลำต้นและห่อหุ้มต้นข้าวไว้ แต่ละข้อมีเพียงหนึ่งกาบใบและสำหรับแผ่นใบคือส่วนที่อยู่เหนือข้อต่อของใบ มีลักษณะเป็นแผ่นแบนบาง ๆ พันธุ์ข้าวแต่ละพันธุ์จะมีความยาว ความกว้าง รูปร่าง สี ตลอดจนการทำมุมของใบกับลำต้นจะไม่เหมือนกัน นอกจากนี้แผ่นใบข้าวบางพันธุ์ก็มีขนหรือไม่มีขนด้วย เส้นใบของข้าวมองเห็นได้ชัดจากด้านบนของแผ่นใบ โดยมีลักษณะขนานกันเนื่องจากข้าวเป็นพืชพวกใบเลี้ยงเดี่ยว ใบข้าวใบสุดท้าย ซึ่งหมายถึงใบที่อยู่ติดกับรวงข้าวเรียกว่า "ใบธง" ปกติมีลักษณะสั้นและทำมุมกับลำต้นแตกต่างจากใบอื่น ๆ ที่อยู่ด้านล่าง

ที่ข้อต่อของใบซึ่งเป็นส่วนที่ต่อเชื่อมระหว่างกาบใบและแผ่นใบ มีลักษณะคล้าย ๆ กับข้อที่กั้นแบ่งต้นข้าวออกเป็นปล้อง ๆ จะมีเยื่อกันน้ำฝนและเขี้ยวกันแมลงติดอยู่ด้วย เขี้ยวกันแมลงมีสองอันลักษณะเป็นภูคล้ายหางกระรอก ติดอยู่ข้างละอันของข้อต่อของใบ ส่วนเยื่อกันน้ำฝนมีอันเดียวลักษณะเป็นแผ่นบาง ๆ อยู่ด้านในของข้อต่อ ประกบติดอยู่กับลำต้น เยื่อกันน้ำฝนมีขนาดและสีแตกต่างกันไปตามชนิดของพันธุ์ข้าว

ต้นข้าวต้นเดียวอาจแตกออกเป็นหน่อใหม่ ประมาณ 5 - 15 หน่อ หน่อใหม่ที่แตกออกมาจะมีจำนวนใบน้อยกว่าต้นแรกของมัน และบางหน่ออาจไม่มีรวง

2. ส่วนที่เกี่ยวกับการขยายพันธุ์ ต้นข้าวมีการขยายพันธุ์โดยเมล็ด ดังนั้นส่วนที่เกี่ยวกับการขยายพันธุ์ได้แก่ รวง ดอก และเมล็ดข้าว

รวง หมายถึง ช่อดอกของข้าว (inflorescence) เกิดขึ้นที่ข้อของปล้องอันสุดท้าย ระยะระหว่างข้ออันบนของปล้องอันสุดท้ายกับข้อต่อของใบธง เรียกว่า "คอรวง" และข้อของปล้องอันสุดท้ายอาจเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า "ฐานของคอรวง" หรือ panicle base

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รวงข้าวประกอบด้วยก้านอันใหญ่ที่แตกแขนงแบบ racemose mode branching ออกไปมากมาย ก้านที่แตกแขนงนี้เรียกว่า primary branches และจะแตกแขนงออกไปอีกเป็น secondary branches ดอกข้าว (spikelets) มีก้านดอกเรียกว่า pedicel ติดอยู่ที่ secondary branches ลักษณะของรวงข้าวแตกต่างกันไปตามชนิดของพันธุ์ข้าว การมีข้อของ primary และ secondary branches ถี่นั้น เรียกว่า "ระแงถี่" ทำให้มีจำนวนดอก (spikelets) ต่อรวงมาก ซึ่งเป็นลักษณะของพันธุ์ข้าวที่จะให้ผลผลิตสูง

<u>ดอกข้าว</u> ดอกข้าวหมายถึงส่วนที่มีเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียสำหรับผสมพันธุ์ ซึ่งประกอบด้วยเปลือกนอกสองแผ่นประสานกัน เพื่อห่อหุ้มส่วนที่อยู่ภายในไว้ เปลือกนอกแผ่นใหญ่เรียกว่า lemma ที่ปลายสุดของ lemma จะมีปลายแหลมยื่นออกมาเรียกว่าหาง หรือ awn ส่วนเปลือกแผ่นเล็กเรียกว่า palea ที่ปลายด้านล่างของ lemma และ palea เท่านั้นที่ติดกันอยู่บนก้านสั้น ๆ ที่เรียกว่า rachilla และที่ด้านบนของ rachilla นี้จะมีแผ่นบาง ๆ สองแผ่นเรียกว่า lodicules ทำหน้าที่บังคับการเปิดปิดของ lemma และ palea ที่ฐานของ rachilla จะมีเปลือกบาง ๆ ขนาดเล็กสองแผ่น มีรูปร่างค่อนข้างยาวประกบอยู่ที่ฐานของ lemma และ palea เรียกว่า sterile lemmas ซึ่งส่วนปลายล่างจะประสานติดอยู่รอบ ๆ ข้อที่เรียกว่า redimentary glumes ต่อลงมาคือ ก้านดอก หรือ pedicel ติดอยู่ที่ secondary branches ของรวงข้าวดังกล่าว

ส่วนที่อยู่ภายในซึ่ง lemma และ palea ห่อหุ้มไว้นั้นได้แก่ เกสรตัวผู้ (stamen) และเกสรตัวเมีย (pistil) เกสรตัวผู้ประกอบด้วยกะเปาะสีเหลือง (anther) 6 อัน อยู่บนก้านยาวที่เรียกว่า filament และเชื่อมติดอยู่กับฐานของดอก ภายใน anther มีละอองเกสร (pollen grains) ขนาดเล็กจำนวนมาก ส่วนเกสรตัวเมียนั้นประกอบด้วยที่รับละอองเกสรตัวผู้ (stigma) มีลักษณะคล้ายหางกระรอกขนาดเล็กจำนวนสองอัน แต่ละอันมีก้าน (style) เชื่อมติดอยู่กับรังไข่ (ovary) ในรังไข่จะมีไข่เมื่อถูกผสมเกสรแล้วจะกลายเป็นเมล็ด

ปกติ การผสมเกสรเกิดขึ้นภายในดอกเดียวกันในเวลาเช้า ก่อนที่ lemma และ palea จะบานออกเล็กน้อย ดอกข้าวจะเริ่มบานจากปลายรวงลงมาสู่โคนรวงและ

ชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รวงหนึ่ง ๆ จะใช้เวลาประมาณ 7 วัน เพื่อให้ดอกทุกดอกได้บานและมีการผสมเกสร

<u>เมล็ดข้าว</u> หมายถึงส่วนรวมที่เป็นแป้งที่เรียกว่า endosperm และส่วนที่เป็น embryo ซึ่งถูกห่อหุ้มด้วย lemma และ palea endosperm คือแป้งที่เราบริโภค สำหรับ embryo เป็นส่วนที่มีชีวิตและงอกออกมาเป็นต้นข้าวเมื่อนำไปเพาะ

การที่ละอองเกสรตัวผู้ตกลงบนที่รองรับละอองเกสรของตัวเมียหรือ stigma นั้นเรียกว่า การผสมเกสร หรือ pollination หลังจากผสมเกสรประมาณ 30 วัน เมล็ดข้าวก็จะแก่ พร้อมที่จะเก็บเกี่ยว

เมื่อแกะ lemma และ palea ของเมล็ดข้าวเปลือกที่เก็บเกี่ยวมา จะได้เมล็ดข้าวที่เรียกว่าข้าวกล้อง หรือ brown rice ที่เป็นสีน้ำตาลอ่อน ๆ เมื่อผ่าตัดศึกษาเมล็ดข้าวกล้องออกตามความยาว จะพบว่าเมล็ดข้าวกล้องประกอบด้วยเยื่อชั้นนอกบาง ๆ เรียกว่า pericarp layers จำนวน 2 ชั้น เยื่อชั้นกลางเรียกว่า tegmen และเยื่อชั้นในเรียกว่า aleurone layer ส่วนภายในที่เป็น endosperm จะมีลักษณะเป็นแป้งสีขาวหรือใส โดยที่ endosperm ของเมล็ดข้าวเจ้าอาจมีสีขาวขุ่นเกิดขึ้นที่ด้านข้างหรือตรงกลางของเมล็ด ซึ่งเรียกว่าท้องไข่ หรือ ท้องปลาซิว (ประพาส , 2521)

นักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับชนิดต่าง ๆ ของข้าว และสรุปได้ว่าข้าวพวก <u>Oryza</u> <u>sativa</u> ซึ่งปลูกกันแพร่หลายในประเทศที่ปลูกข้าวต่าง ๆ นั้น ยังแบ่งออกได้เป็น 3 พวก (sub-species) คือ Japonica , Indica และ Javanica โดยยึดถือเอาลักษณะภายนอกของต้น เมล็ด เปอร์เซนต์เมล็ดลีบของข้าวลูกผสมระหว่างข้าวทั้ง 3 ชนิด รวมทั้งการปรับตัวในการเจริญเติบโตในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน และช่วงแสงที่เหมาะสมในการออกดอก แต่ทั้งนี้ข้าวทั้ง 3 พวกนี้ก็ยังไม่สามารถแบ่งแยกออกจากกันได้อย่างเด็ดขาด เนื่องจากข้าวบางพันธุ์มีลักษณะก้ำกึ่งอยู่ระหว่าง sub-species

ลักษณะที่สำคัญของข้าว Indica , Japonica และ Javanica พอสรุปได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนของพืช	Indica	Japonica	Javanica
ใบ	กว้าง,สีเขียวอ่อน	แคบ,สีเขียวแก่	กว้าง,แข็ง,สีเขียวอ่อน
เมล็ด	ยาว,ค่อนข้างแบน	สั้น,กลม	กว้าง,หนา
กอ	แตกกอมาก	แตกกอปานกลาง	แตกกอน้อย
ต้น	สูง,อ่อน	เตี้ย,แข็ง	สูง,แข็ง
หางของเมล็ด	สั้นมาก	สั้นมาก-ยาว	สั้นมาก-ยาว
ขนของข้าวเปลือก	สั้น	ขนมากและยาว	ขนยาว
การร่วง	เมล็ดร่วงง่าย	เมล็ดร่วงยาก	เมล็ดร่วงยาก

พันธุ์ข้าวที่ปลูกในประเทศไทย จึงเป็นพวก Indica ยกเว้นข้าวไร่ทางภาคเหนือ ซึ่งมีลักษณะบางอย่างของข้าว Japonica รวมอยู่ด้วย (วัชรินทร์,2525)

ลักษณะทั่วไป

ข้าวเป็นพืชที่ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี สามารถเจริญเติบโตได้ตั้งแต่เส้นรุ้งที่ 50 องศาเหนือถึง 35 องศาใต้ (สงกรานต์,2526) ข้าวพวก-Japonica เป็นข้าวที่ปลูกในประเทศจีนตอนเหนือและตะวันออก ญี่ปุ่น เกาหลี และในประเทศอื่น ๆ ที่อยู่ในเขตอบอุ่น Indica เป็นข้าวที่ปลูกในประเทศต่าง ๆ ในเขตร้อน เช่น ศรีลังกา จีนตอนใต้และตอนกลาง อินเดีย อินโดนีเซีย บังคลาเทศ ฟิลิปปินส์ ไทย เป็นต้น ส่วน Javanica เป็นข้าวที่พบในประเทศอินโดนีเซียเท่านั้น (ประพาส, 2521) ข้าวขึ้นได้ในพื้นที่ที่อยู่ระดับน้ำทะเลจนถึงพื้นที่ที่อยู่สูงจากระดับน้ำทะเลถึง 2500 เมตร เป็นพืชที่ต้องการน้ำมาก แสงอาทิตย์เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ผลผลิตข้าวสูงหรือต่ำ และเป็นที่ต้องการเวลากลางวันสั้น หรือที่เรียกว่า "พืชวันสั้น" (Short day plant) มีความไวต่อช่วงแสง อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 25° - 30° - เซลเซียส (อรรควุฒิ,2526) ข้าวเป็นพืชชนิดเดียวเท่านั้นที่สามารถเจริญได้ในระดับน้ำสูงกว่า 4 เมตรหรือไม่ต้องมีน้ำขัง นอกจากนี้ข้าวยังสามารถปลูกได้ดีในดินที่เป็นกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับ pH 3-10 หรือดินเค็ม 0-1 เปอร์เซนต์ (สงกรานต์,2526)

จากสภาพเปลี่ยนแปลงทางภูมิศาสตร์และดินฟ้าอากาศ ประกอบกับการคัด-เลือกพันธุ์ของมนุษย์ ทำให้มีพันธุ์ข้าวทั่วโลกประมาณ 120,000 พันธุ์ (IRRI ,1980) โดยเฉพาะประเทศไทยมีพันธุ์ข้าวประมาณ 3,500 พันธุ์ (Perez และ Chang ,1974) ข้าวพันธุ์ไทยที่เป็นที่นิยมของเกษตรกรคือ พันธุ์ กข. ต่าง ๆ และพันธุ์พื้นเมืองได้แก่พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ข้าวพันธุ์ กข.7 เป็นพันธุ์ข้าวลูกผสมระหว่างข้าวพันธุ์ดี 3 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์ไทย ชื่อ พันธุ์เก้ารวง 88 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวเจ้า กับพันธุ์ข้าวอินโดนีเซีย ชื่อ ซิกกา-ดิส และพันธุ์ข้าวเจ้าของฟิลิปปินส์ชื่อ ซี 4-63 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวต้านทานโรคและลักษณะลำต้นดี ส่วนพันธุ์ซิกกาดิสเป็นข้าวต้นสูง มีความต้านทานโรคหลายชนิด ลักษณะลำต้นดี (กรมวิชาการเกษตร,2528) ข้าวพันธุ์ กข.7 เป็นพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูกมากเพราะเป็นพันธุ์ที่ไม่ไวแสง อายุเก็บเกี่ยว 120-130 วัน ต้านทานโรคขอบใบแห้งได้ดี ค่อนข้างต้านทานโรคไหม้และโรคใบสีส้ม แต่ค่อนข้างไม่ต้านทานโรคใบจุดสีน้ำตาลและเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ปลูกได้ตลอดปี น้ำหนักข้าวต่อถังดี เมล็ดข้าวใส แข็งแกร่ง คุณภาพการขัดสีดี ตอบสนองต่อปุ๋ยสูง คุณภาพการหุงต้มดี ได้ข้าวหุงอ่อนนุ่ม (กองการข้าว , 2520)

ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เป็นพันธุ์ข้าวหอมที่มีชื่อเสียงที่สุดในประเทศไทย เป็นข้าวต้นสูง นาปี ความสูงประมาณ 1.40-1.50 เมตร มีการแตกกออยู่ในเกณฑ์ดี มีต้นและใบค่อนข้างเล็ก ใบยาวสีเขียวอ่อน ออกดอกประมาณวันที่ 20 ตุลาคม ต้าน-ทานโรคกาบใบแห้งปานกลาง แต่ค่อนข้างไม่ต้านทานโรคขอบใบแห้ง ใบจุดสีน้ำตาล ไม่ต้านทานโรคไหม้ โรคใบสีส้ม แมลงบั่วและหนอนกอ มีความทนทานต่อสภาพดินเค็ม ดิน-เปรี้ยว และทนแล้งได้ดีกว่าพันธุ์ข้าวนาสวนโดยทั่วไป เมล็ดข้าวมีเปลือกสีขาว (สีฟาง) เรียวยาว เมล็ดข้าวกล้องใส เลื่อมมัน จมูกเล็ก คุณภาพการขัดสีดี คุณภาพการหุงต้มดี-มาก ได้ข้าวนิ่มนวลมีกลิ่นหอม (วรวิทย์,2530)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือการนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช ไม่ว่าจะเป็นอวัยวะของพืช เนื้อเยื่อ เซล หรือเซลที่ไม่มีผนังเซล (protoplasm) มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งประกอบด้วย เกลือ แร่ธาตุ น้ำตาล ไวตามินและฮอร์โมนพืชในสภาพปลอดเชื้อรา แบคทีเรีย และสาหร่าย โดยควบคุมสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นและแสงสว่าง ชิ้นส่วนพืชเหล่านี้จะเจริญได้ 3 แบบคือ

1. เจริญเป็นต้นที่มีรากโดยตรง หรือบางทีก็มีดอก เรียกว่า Organogenesis

2. เจริญเป็นแคลลัส หรือกลุ่มเซล ส่วนใหญ่จะเป็น parenchyma cell ที่ยังไม่ differentiate ไปเป็นต้นหรือราก แต่ก็สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นได้

3. เจริญเป็น Embryoid ซึ่งมีลักษณะเหมือน Embryo ที่ได้จาก Zygote (Zygotic embryo) แต่ Embryiod ได้มาจาก Somatic cell จึงเรียกว่า Somatic embryo ซึ่งจะเจริญเป็นต้นและมีรากต่อไป

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนี้ ได้ทำกันมานานแล้ว ตั้งแต่ ค.ศ.1902 โดย Haberlandt เป็นคนแรกที่พยายามเอาเซลจากใบพืชมาเลี้ยง โดยหวังว่าเซลเพียงเซลเดียวนี้จะสามารถแบ่งตัวและเจริญเติบโตเป็นพืชต้นใหม่ได้ทั้งต้นคือมี Totipotency นั่นเอง แต่ก็ไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจากใช้เซลพืชใบเลี้ยงเดี่ยวซึ่งเพาะเลี้ยงยาก ในปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์ทั่วโลกได้นำเอาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้กับพืชเศรษฐกิจมากมาย ทั้งพืชไร่และพืชสวน ตลอดจนไม้ใหญ่ได้เป็นผลสำเร็จ (อรดี,2522)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว

Oono (1981) ได้กล่าวถึงประวัติในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวว่าเริ่มจากการทดลองของ Fujiwara และ Ojima ที่ใช้รากของข้าวนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และความสำเร็จครั้งแรกในการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวเกิดจากการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากข้อของต้นอ่อนในอาหารสูตร Heller ที่เติมวิตามินและ 2,4-D (2 ppm) โดย Furuhashi และ Yatazawa ในปี ค.ศ.1964 แคลลัสของ-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้าวที่เกิดจากส่วนต่าง ๆ สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นได้ เช่น Tamura , Nishi และคณะ รวมทั้ง Maeda (สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นได้จาก seed callus) หรือ Kawata และ Ishihara (ได้ใช้ส่วนของ root callus) และ Niizaki และ Oono (ทำการทดลองโดยใช้ pollen) ในปี ค.ศ.1968

นอกจากนี้ยังมีผู้ทำการศึกษาเกี่ยวกับ metabolism ของแคลลัสข้าวหลายคน อาทิ Furuhashi และ Yatazawa (1970) พบว่าในอาหารสูตรที่มี amino acid ครบถ้วน ถ้าขาด methionine จะทำให้การเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวลดลง สำหรับ Nishi (1970) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณฟอสฟอรัสและแคลเซียมใน-ระหว่างการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าว พบว่าในระหว่างนั้นปริมาณฟอสฟอรัสจะลดลง และปริมาณแคลเซียมจะเพิ่มขึ้น ส่วน Ohira และคณะ (1973) ได้ทำการศึกษาถึงสารอาหารที่ข้าวต้องการในสูตรอาหารเหลว พบว่าสารอาหารหลักที่ข้าวต้องการคือ NO_3-N (40 mM), NH_4-N (5.0 mM), P(2.0mM) และ K(40 mM)โดยที่ cobalt,iodine, pyridoxine , nicotinic acid และ M-inositol เป็นสารที่ไม่จำเป็น(Oono, 1981)

Chanprame (1985) ศึกษาการคัดเลือกพันธุ์ข้าวทนเค็มจากการเพาะ - เลี้ยงเนื้อเยื่ออับละอองเกสร พบว่า การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรในระยะพัฒนาช่วง - uninucleate microspore จากข้าว 3 พันธุ์ คือ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 , เหลืองใหญ่ 148 และ ขาวตาแห้ง 17 ในอาหารสูตร N_6 ที่เติม 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และเก็บไว้ในที่มืด อุณหภูมิ 25° เซลเซียส นาน 5 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิด - แคลลัส ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า genotype เป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรของข้าว เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 , เหลืองใหญ่ 148 และขาวตาแห้ง 17 คือ 4.79 , 2.92 และ 2.83 เปอร์เซนต์ ตาม-ลำดับ

Zhange (1982) ได้กล่าวไว้ว่าพันธุ์ข้าวที่มี genotype ต่างกันจะตอบ-สนองต่อ growth hormones ต่างกัน เช่น 2,4-D จะสนับสนุนการชักนำให้เกิด - แคลลัสได้ดีในข้าวบางพันธุ์ ในขณะที่ NAA จะใช้ได้ดีในพันธุ์อื่น ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chaleff และ Stolarz (1981) แสดงให้เห็นว่า NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (10.7 μM) หรือสูงกว่านี้จะมีผลอย่างมากต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส แต่ IAA จะเป็นสารยับยั้ง การชักนำให้เกิดแคลลัสในปริมาณที่สูงขึ้นนั้นต้องเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในปี 1982 Takagi และคณะ ทำการทดลองการชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร-Miller พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในปริมาณที่สูงมากจากอาหารสูตร Miller ที่มี 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งก่อนหน้านั้น Cornejo-martin และ Primo-Millo (1981) สรุปว่าการเพิ่ม 2,4-D หรือ NAA ในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง - เนื้อเยื่อพืชมีความจำเป็นต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส

Raghavan (1977) ได้กล่าวถึงสิ่งสำคัญในการเพาะเลี้ยง embryo ว่า สิ่งสำคัญในการเพาะเลี้ยงคือ การเลือกสูตรอาหารที่จะนำมาใช้เลี้ยงส่งเสริมการเจริญ-เติบโตของ embryo อย่างต่อเนื่อง ซึ่งมีสูตรอาหารต่าง ๆ มากมายพอสมควร สำหรับสูตรอาหารที่เหมาะสมจะต้องทำให้มีการพัฒนาของ embryo และมีการเจริญเติบโตได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งเป็นผลของธาตุอาหาร แหล่งคาร์บอน คือ ซูโครส วิตามิน กรด-อะมิโนและฮอร์โมนที่ใช้ในการเจริญเติบโตของ embryo บางครั้งก็มีการใช้ส่วนของเอนโดสเปิร์มที่สกัดขึ้นเองตามธรรมชาติ เช่น น้ำมะพร้าว

Suenaga และคณะ (1982) กล่าวว่าเมล็ดเป็นส่วนที่ดีที่สุดสำหรับการ-เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพราะเมล็ดทนต่อการฟอกฆ่าเชื้อได้สูง จึงมีการปนเปื้อนน้อย Ogawa และคณะ (1982) กล่าวถึงการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวว่า ในการเพาะเลี้ยง-เนื้อเยื่อข้าวมักใช้ส่วนของเมล็ด เพราะทำงานได้สะดวก ชักนำให้เกิดกลุ่มเซลได้มาก และกลุ่มเซลนั้นสามารถชักนำให้เกิดต้นได้ดี

วิชัย (2526) กล่าวว่าประสิทธิภาพและความสำเร็จในการเพาะเลี้ยง - เนื้อเยื่อของเมล็ดข้าว ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น พันธุ์ อายุของเมล็ด ชนิดและ-ความเข้มข้นของ auxin ที่ใช้ รวมทั้งระยะเวลาที่ใช้เพาะเลี้ยง เป็นต้น นอกจากนี้ วิชัยและคณะ (2527) ได้ศึกษาถึงความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เหมาะสมในการชัก-นำให้เกิดแคลลัส พบว่า 2,4-D ที่มีความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ขนาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัสสูงที่สุด คือ เฉลี่ย 7.5 มิลลิเมตร ในการเพาะเลี้ยงนาน 3 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าว
   - พันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 (KDML 105)
   - พันธุ์ข้าว กข.7 (RD.7)

2. เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

   2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ประกอบด้วย
   - เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด
   - กระบวกตวงขนาดต่าง ๆ
   - บีกเกอร์ขนาดต่าง ๆ
   - หม้อสำหรับเตรียมอาหาร
   - เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง
   - ขวดแก้วพร้อมฝาปิด
   - หม้อนึ่งความดัน
   - นาฬิกาตั้งเวลา
   - แท่งแก้วคน
   - ปิเปต
   - เตาให้ความร้อน

   2.2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ได้แก่
   - stock solution สูตร Murashige and Skoog (1962)
   - สารเร่งการเจริญเติบโต 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxy acetic acid) และ NAA (Naphthalene acetic acid)
   - น้ำตาลทราย
   - ผงวุ้น
   - น้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโรค ได้แก่

- คลอรอกซ์ (clorox)
- สารจับใบ (teepol)
- แอลกอฮอล์ 70%
- แอลกอฮอล์ 90%

4. เครื่องมือสำหรับการย้ายชิ้นส่วนพืช ประกอบด้วย

- ตู้ปลอดเชื้อ
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- มีดผ่าตัด
- ปากคีบ
- จานแก้ว
- ขวดน้ำและขวดอาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

5. อุปกรณ์การถ่ายภาพ

- กล้องถ่ายภาพ
- เลนซ์
- โคมไฟ

ทำการทดลองในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมแสง 3,000 ลักซ์ และอุณหภูมิ 25 ± 2 ° เซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

การเตรียมอาหาร

1. ชั่งสารเคมีต่าง ๆ ตามสูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog , 1962) ทำเป็น stock solution เมื่อต้องการใช้จึงตวงออกมาตามปริมาตรที่ - กำหนด ผสมเข้าด้วยกันในบีกเกอร์ที่มีน้ำเล็กน้อยเป็นตัวกลาง เพื่อไม่ให้สารเคมีต่างๆ ผสมกันโดยตรง เพราะจะทำให้สารเคมีตกตะกอนได้

2. เติมสารเร่งการเจริญเติบโต คือ 2,4-D และ NAA ลงในอาหาร แต่ละสูตรคือ 0 , 0.5 , 1,, 2 , 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

3. ละลายน้ำตาลซูโครสด้วยน้ำ เติมลงในสารละลายที่เตรียมไว้

4. เติมน้ำกลั่นลงในสารละลายอาหารจนได้ปริมาตรตามต้องการ

5. ปรับความเป็นกรด-ด่างของอาหารให้ได้ pH 5.6 โดยใช้ HCl และ NaOH

6. เติมวุ้นผง 6.0 กรัม สำหรับสารละลายอาหารปริมาตร 1 ลิตร นำไปต้มจนวุ้นละลายหมด

7. บรรจุอาหารใส่ลงในขวดและปิดฝาให้เรียบร้อย

8. นำขวดอาหารที่ได้จากข้อ 7. ไปนึ่งฆ่าเชื้อ โดยใช้หม้อนึ่งความดัน- (Auto Clave) ที่อุณหภูมิ 121 ° เซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 20 นาที หลังจากนั้นรอให้ความดันลดลงเป็น 0 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว จึงนำขวดอาหารออกจากหม้อนึ่ง ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น

การฆ่าเชื้อเมล็ดพันธุ์ข้าว

1. นำเมล็ดข้าวทั้งเปลือกมาแช่ในแอลกอฮอล์เข้มข้น 70 % นานประมาณ 1 นาที

2. แกะเปลือกหุ้มเมล็ดออก

3. ฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาคลอรอกซ์เข้มข้น 10 % ที่เติมสารจับใบ 2-3 หยด นาน 15 นาที เขย่าขวดพอประมาณ

4. นำเข้าตู้ปลอดเชื้อ ล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบเปอร์เซนต์ความงอก

1. วางกระดาษเพาะลงในจานแก้ว (petri dish) ที่มีฝาปิด จำนวน 2 ชั้น

2. นำเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 400 เมล็ด แบ่งออกเป็น 4 ซ้ำ ซ้ำละ 100 เมล็ด มาวางเรียงกันบนกระดาษเพาะ

3. ให้ความชื้นอย่างเพียงพอ แต่ไม่ให้เปียกมากเกินไป

4. นำจานแก้วที่ใช้เพาะเมล็ดไปวางไว้ในที่ที่มีแสง

5. นับต้นกล้าที่งอกปกติ แล้วคัดออกจากวัสดุเพาะ โดยกระทำทุกสัปดาห์ และสรุปผลในสัปดาห์ที่ 2

การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS

1. นำเมล็ดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ คือ

- MS + 2,4-D 0 มิลลิกรัมต่อลิตร
- MS + 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
- MS + 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
- MS + 2,4-D 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
- MS + 2,4-D 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
- MS + 2,4-D 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
- MS + NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร
- MS + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
- MS + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
- MS + NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
- MS + NAA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
- MS + NAA 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

แต่ละสูตรอาหารทำซ้ำจำนวน 35 ขวด ขวดละ 2 เมล็ด

2. ทำการประเมินผลและบันทึกการเปลี่ยนแปลงหลังจาก 45 วัน โดย - คัดเลือกจากขวดที่แคลลัสมีการเจริญเติบโตดี และไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อ จำนวน- 10 ขวด โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส โดยประมาณ
2. ดูสภาพของแคลลัส (สีและสภาพการเกาะตัว)
3. ชั่งน้ำหนักสดของแคลลัส โดยตัดเอาเมล็ดข้าวเดิมออก

ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มทำการทดลองเดือน พฤศจิกายน พ.ศ.2531 สิ้นสุดการทดลองเดือน มีนาคม พ.ศ.2532

สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

100331

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลการทดสอบเปอร์เซนต์ความงอก

จากการทดสอบเปอร์เซนต์ความงอกของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข.7 หลังจากผ่านขบวนการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว พบว่า เมล็ดมีเปอร์เซนต์ความงอกต่ำมากในการทดสอบครั้งที่ 1 ดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีเปอร์เซนต์ความงอกเฉลี่ยเพียง 20 เปอร์เซนต์ และ 14.5 เปอร์เซนต์ในข้าวพันธุ์ กข.7 และเมื่อสอบถามไปยังงานเก็บรวบรวมเชื้อพันธุ์ข้าว ศูนย์วิจัยข้าว รังสิต ได้รับการตรวจสอบและยืนยันผลการตรวจสอบว่า เมล็ดพันธุ์ข้าวที่นำมาใช้ในการทดลอง-ครั้งนี้มีเปอร์เซนต์ความงอกสูงกว่า 95 เปอร์เซนต์ จึงได้วิเคราะห์ดูขั้นตอนการฟอก-ฆ่าเชื้อ พบว่าขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อเป็นขั้นตอนที่ปกติ ไม่น่าจะมีผลต่อการสูญเสียความ-งอกของเมล็ดมากมายเช่นนี้ แต่ในช่วงการฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์เข้มข้น 10 เปอร์-เซนต์ นาน 15 นาทีนั้น มีผู้ช่วยในการเขย่าขวดฟอกด้วยความรุนแรงและต่อเนื่องโดยไม่หยุด สาเหตุนี้เองที่น่าจะมีผลที่ทำให้เมล็ดสูญเสียความงอกมาก และเมื่อได้ทำการทดลองซ้ำ โดยนำเมล็ดพันธุ์รุ่นใหม่มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยขั้นตอนเดิม แต่การเขย่าขวดฟอกไม่รุนแรงและต่อเนื่องกันตลอด พบว่ามีเปอร์เซนต์ความงอกดีขึ้นมาก โดยในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 นั้น มีเปอร์เซนต์ความงอกเฉลี่ยถึง 57.5 เปอร์เซนต์ แต่ค่า-เปอร์เซนต์ความงอกนี้ยังจัดว่ามีค่าที่ต่ำอยู่ เพราะเกิดเชื้อราขึ้นบนเมล็ดเป็นจำนวนมาก ซึ่งอาจเป็นผลจากเมล็ดพันธุ์ที่ใช้เป็นเมล็ดพันธุ์ที่เพิ่งจะเก็บเกี่ยวใหม่ในปลายฤดูฝน ซึ่งเมล็ดพันธุ์มีความชื้นสูง จึงมีการสะสมของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดมาก ทำให้การทดสอบมีค่าเปอร์เซนต์ความงอกไม่เท่ากับค่าที่ควรจะเป็น ส่วนข้าวพันธุ์ กข.7 ในการทดลองครั้งที่ 2 พบว่าเปอร์เซนต์ความงอกเฉลี่ยเป็นศูนย์ ซึ่งจะส่งผลต่อเนื่องไปยังการชักนำให้เกิดแคลลัสด้วย สาเหตุอาจเนื่องมาจากเมล็ดเกิดการพักตัวของเมล็ดก็เป็นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซนต์ความงอกของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข.7 หลังจากผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ เมื่ออายุ 2 สัปดาห์

ซ้ำที่	ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105		ข้าวพันธุ์ กข.7	
	ครั้งที่ 1 (%)	ครั้งที่ 2 (%)	ครั้งที่ 1 (%)	ครั้งที่ 2 (%)
1	24	56	18	0
2	16	56	12	0
3	14	62	18	0
4	26	56	10	0
เฉลี่ย	20.0	57.5	14.5	0

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ผลจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ</u>

จากการทดลองเพื่อศึกษาผลของฮอร์โมน 2,4-D และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของแคลลัส โดยใช้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและน้ำหนักสดเป็นเกณฑ์ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีสารเร่งการเจริญเติบโตระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เมื่ออายุได้ 45 วัน ทำการคัดเลือกขวดที่แคลลัสมีการเจริญเติบโตดีและไม่มีการปนเปื้อน-ของเชื้อ มาชั่งน้ำหนักสดและวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัสจำนวน 10 ขวด พบว่า ความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4-D ในระดับที่สูงขึ้นจะชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่ขึ้น จากการทดลองที่เพิ่มระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4-D ตั้งแต่ 0 - 4 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จะเกิดแคลลัสที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่ขึ้นเรื่อย ๆ และไม่มีแนวโน้มที่จะลดลง (ตารางที่ 2) กล่าวคือ ในอาหารสูตร MS ที่มีฮอร์โมน 2,4-D ระดับความ-เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการทดลองครั้งที่ 1 ได้แคลลัสที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์-กลางเฉลี่ย 2.76 มิลลิเมตร และน้ำหนักสด 0.049 กรัม แคลลัสจะมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนให้สูงขึ้น โดยเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ -ฮอร์โมนเป็น 1 , 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร จะได้แคลลัสที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 3.86 , 4.54 และ 6.77 มิลลิเมตร ตามลำดับ และเมื่อใช้ระดับความเข้ม-ข้นของฮอร์โมนสูงที่สุด คือ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ก็ได้แคลลัสที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง-ใหญ่ที่สุดด้วย คือ เฉลี่ย 8.47 มิลลิเมตร

ในการทดลองครั้งที่ 2 ก็มีแนวโน้มเช่นเดียวกับการทดลองครั้งแรก คือ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4-D ขึ้นเป็น 0.5 , 1 , 2 , 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร จะได้แคลลัสที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 3.80 , 6.30 , 7.80 8.62 และ 8.64 มิลลิเมตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าในการทดลองครั้งที่ 2 นี้แคลลัสมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่กว่าแคลลัสที่ได้จากการทดลองครั้งแรกในสูตรอาหารเดียวกัน

ส่วนในด้านน้ำหนักสดของแคลลัส พบว่า น้ำหนักสดไม่ได้เพิ่มขึ้นตามขนาด-เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัส กล่าวคือ จากการทดลองในครั้งแรก น้ำหนกสดของแคลลัส-จะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนสูงที่สุดที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนเท่ากับ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

...โยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือเฉลี่ย 0.108 กรัม หลังจากนั้นน้ำหนักสดจะลดลง คือเฉลี่ย 0.093 กรัม ที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนเท่ากับ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้ง ๆ ที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ - แคลลัสใหญ่ขึ้น

ในการทดลองครั้งที่ 2 ผลการทดลองก็ออกมาในลักษณะเดียวกัน น้ำหนักสดของแคลลัสจะสูงที่สุด เมื่อระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนเท่ากับ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร- คือเฉลี่ย 0.232 กรัม และลดลงเป็น 0.189 กรัม (ค่าเฉลี่ย) ที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนเท่ากับ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งนี้เนื่องจากแคลลัสที่มีขนาดเล็ก จะมีการ - เกาะตัวแน่นมากกว่าแคลลัสที่มีขนาดใหญ่ ดังนั้นเมื่อแคลลัสมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง - ใหญ่มากขึ้นการเกาะตัวก็จะเป็นไปอย่างหลวม ๆ ทำให้แคลลัสที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่ที่สุดกลับมีน้ำหนักสดน้อยกว่าแคลลัสที่มีขนาดรองลงมา

เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาการเจริญเติบโตของแคลลัสในข้าวพันธุ์ กข.7 (ตารางที่ 3) พบว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์ของแคลลัสมีแนวโน้มที่จะเพิ่มมากขึ้น เมื่อระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4-D สูงขึ้นจนถึงระดับหนึ่ง หลังจากนั้นเมื่อ พิ่มความ- เข้มข้นของฮอร์โมนให้สูงขึ้นอีก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัสมีแนวโน้มที่จะลดลง กล่าวคือ ในการทดลองครั้งแรก แคลลัสมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยสูงขึ้นเรื่อย ๆ - คือ 3.33 , 4.20 , 4.22 และ 5.30 มิลลิเมตร ที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4-D 0.5 , 1 , 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนเป็น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยลดลง คือ 4.14 มิลลิเมตร

ส่วนน้ำหนักสดของแคลลัสก็มีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกับขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส โดยน้ำหนักสดของแคลลัสจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึง- ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4-D เท่ากับ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นน้ำหนักสดจะลดลง และจะเห็นได้ว่าทั้งขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและน้ำหนักสดของแคลลัสที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 4 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีค่าใกล้เคียงกับน้ำหนักสดเฉลี่ยและ - ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของแคลลัสที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนเท่ากับ 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นถ้าเพิ่มระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4-D ให้สูงขึ้นไป- อีก แคลลัสก็น่าจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยและน้ำหนักสดเฉลี่ยที่น้อยลงไปอีก ทั้งนี้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

เนื่องจากระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4- D ที่สูงขึ้นไม่ได้ช่วยกระตุ้นให้เกิดแคลลัส แตกลับมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแคลลัสแทน

ทั้งนี้จะเห็นได้ว่า ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ ข้าวพันธุ์ กข.7 มีการตอบสนองต่อระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4- D ต่างกัน ซึ่งเป็นไปตามคำกล่าวของ Zhange (1982) ที่ว่า พันธุ์ข้าวที่มี genotype ต่างกันจะตอบสนองต่อ growth hormones ต่างกัน เช่น 2,4-D จะสนับสนุนการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีในข้าว-บางพันธุ์ โดยจากการทดลองข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จะตอบสนองต่อฮอร์โมน 2,4-D ในปริมาณที่สูงขึ้นเรื่อย ๆ ในขณะที่ข้าวพันธุ์ กข.7 จะตอบสนองต่อฮอร์โมน 2,4-D ได้สูงสุดที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4-D เพียง 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

สำหรับการศึกษาการเจริญเติบโตของแคลลัส เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีฮอร์โมน NAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่า ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 -(ตารางที่ 4) จากการทดลองครั้งที่ 1 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในอาหาร-สูตร MS ที่มีฮอร์โมน NAA ระดับความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตรเท่านั้น โดยแคลลัสที่ได้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 5.33 มิลลิเมตรและน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.064 กรัม-ส่วนอาหารสูตร MS ที่มีระดับฮอร์โมน NAA 0.5 , 1 , 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เลย รวมทั้งการทดลองในครั้งที่ 2 ที่มีผลการทดลอง-ในลักษณะเดียวกัน เอมบริโอจะพัฒนากลายเป็นต้นอ่อนทั้งหมดในทุก ๆ สูตรอาหาร MS ที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA 0.5 , 1 , 2 , 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

แต่เมื่อศึกษาถึงการเจริญเติบโตของต้นอ่อนในอาหารสูตรดังกล่าว พบว่าต้นอ่อนจะมีการเจริญเติบโตลดลงในสูตรอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA สูงขึ้น คือในอาหารสูตรที่มีฮอร์โมน NAA ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อ-ลิตรนั้น จะพบว่ารากและใบมีขนาดใหญ่ รวมทั้งมีความยาวมากกว่าต้นอ่อนในอาหาร-สูตรที่มีฮอร์โมน NAA ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น

เมื่อศึกษาถึงการเจริญเติบโตของแคลลัสในอาหารสูตร MS ที่มีระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA ต่าง ๆ กันในข้าวพันธุ์ กข.7 พบว่าผลการศึกษาก็จะมีลักษณะเช่นเดียวกับผลการศึกษาในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ดังกล่าวข้างต้น แต่ในข้าว -

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ กข.7 ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เลย ทั้งในการทดลองครั้งแรกและครั้งที่ 2 ทั้ง ๆ ที่ฮอร์โมน NAA จะมีคุณสมบัติในการชักนำให้เกิดแคลลัสได้เช่นเดียวกันกับฮอร์โมน 2,4-D แต่จากผลการทดลอง ฮอร์โมนNAA ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เลย อาจจะมีสาเหตุเนื่องมาจากฮอร์โมนNAA ที่ใช้เสื่อมสภาพลง เนื่องจากได้เตรียมไว้-เป็นเวลานานแล้ว แต่อาจมีฤทธิ์ตกค้างอยู่บ้างเล็กน้อย เพราะเมื่อใช้ในปริมาณที่มากขึ้น จึงสามารถยับยั้งการเจริญของต้นอ่อนและชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในการทดลองครั้งแรกของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในอาหารสูตรที่มีระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่แคลลัสที่ได้ก็มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและน้ำหนักสดเฉลี่ยน้อยมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงการเกิดแคลลัสของเอมบริโอข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จากการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน หลังจากการเลี้ยง 45 วัน

สูตรอาหาร	เส้นผ่านศูนย์กลาง (มม.)		น้ำหนักสด (กรัม)		การเกาะตัว	สี
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2		
MS + 2,4-D 0 mg./l.	-	-	-	-	-	-
MS + 2,4-D 0.5 mg./l.	2.76	3.80	0.049	0.063	+ + +	เหลืองเข้ม
MS + 2,4-D 1.0 mg./l.	3.86	6.30	0.062	0.115	+ + +	เหลืองเข้ม
MS + 2,4-D 2.0 mg./l.	4.54	7.80	0.089	0.188	+ +	เหลือง
MS + 2,4-D 3.0 mg./l.	6.77	8.62	0.108	0.232	+ +	เหลือง
MS + 2,4-D 4.0 mg./l.	8.47	8.64	0.093	0.189	+ +	เหลืองอ่อน

+ + + การเกาะตัวของแคลลัสแน่น

+ + การเกาะตัวของแคลลัสปานกลาง

+ การเกาะตัวของแคลลัสหลวม

ตารางที่ 3 แสดงการเกิดแคลลัสของเอมบริโอข้าวพันธุ์ กข.7 จากการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน หลังจากการเลี้ยง 45 วัน

สูตรอาหาร	เส้นผ่านศูนย์กลาง (มม.)		น้ำหนักสด (กรัม)		การเกาะตัว	สี
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2		
MS + 2,4-D 0 mg./1.	-	-	-	-	-	-
MS + 2,4-D 0.5 mg./1.	3.33	-	0.042	-	+ +	เหลืองอ่อน
MS + 2,4-D 1.0 mg./1.	4.20	-	0.052	-	+ + +	น้ำตาล
MS + 2,4-D 2.0 mg./1.	4.22	-	0.055	-	+ + +	น้ำตาล
MS + 2,4-D 3.0 mg./1.	5.30	-	0.062	-	+	เหลือง
MS + 2,4-D 4.0 mg./1.	4.14	-	0.051	-	+	เหลืองเข้ม

+ + + การเกาะตัวของแคลลัสแน่น

+ + การเกาะตัวของแคลลัสปานกลาง

\+ การเกาะตัวของแคลลัสหลวม

หมายเหตุ : ในการทดลองครั้งที่ 2 เอมบริโอไม่มีการเปลี่ยนแปลง (เปอร์เซนต์ความงอกเป็นศูนย์)

ตารางที่ 4 แสดงการเกิดแคลลัสของเอมบริโอข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จากการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี NAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน หลังจากการเลี้ยง 45 วัน

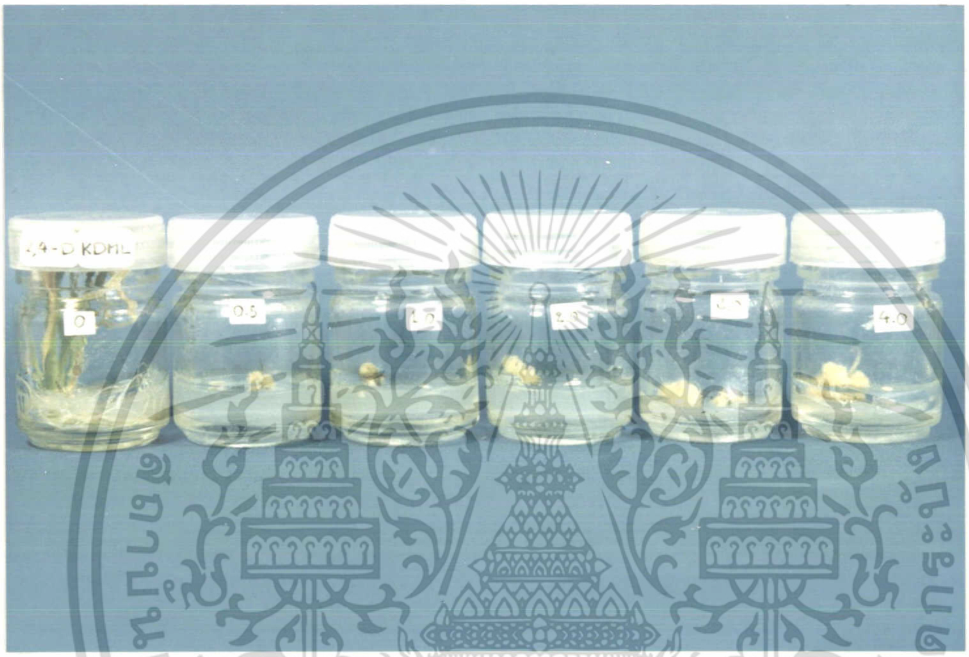
สูตรอาหาร	เส้นผ่านศูนย์กลาง (มม.)		น้ำหนักสด (กรัม)		การเกาะตัว	สี
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2		
MS + NAA 0 mg./l.	-	-	-	-	-	-
MS + NAA 0.5 mg./l.	-	-	-	-	-	-
MS + NAA 1.0 mg./l.	-	-	-	-	-	-
MS + NAA 2.0 mg./l.	-	-	-	-	-	-
MS + NAA 3.0 mg./l.	-	-	-	-	-	-
MS + NAA 4.0 mg./l.	5.33	-	0.064	-	+	เหลืองอ่อน

+ + + การเกาะตัวของแคลลัสแน่น

+ + การเกาะตัวของแคลลัสปานกลาง

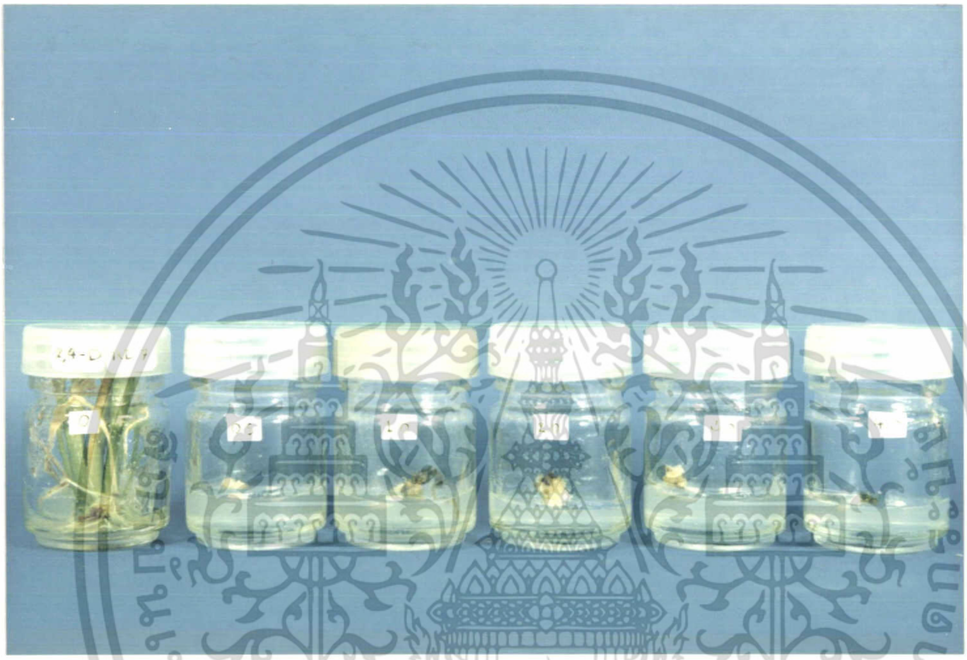
+ การเกาะตัวของแคลลัสหลวม

หมายเหตุ : เอมบริโอทั้งหมดมีการเปลี่ยนแปลงเกิดเป็นต้นอ่อน



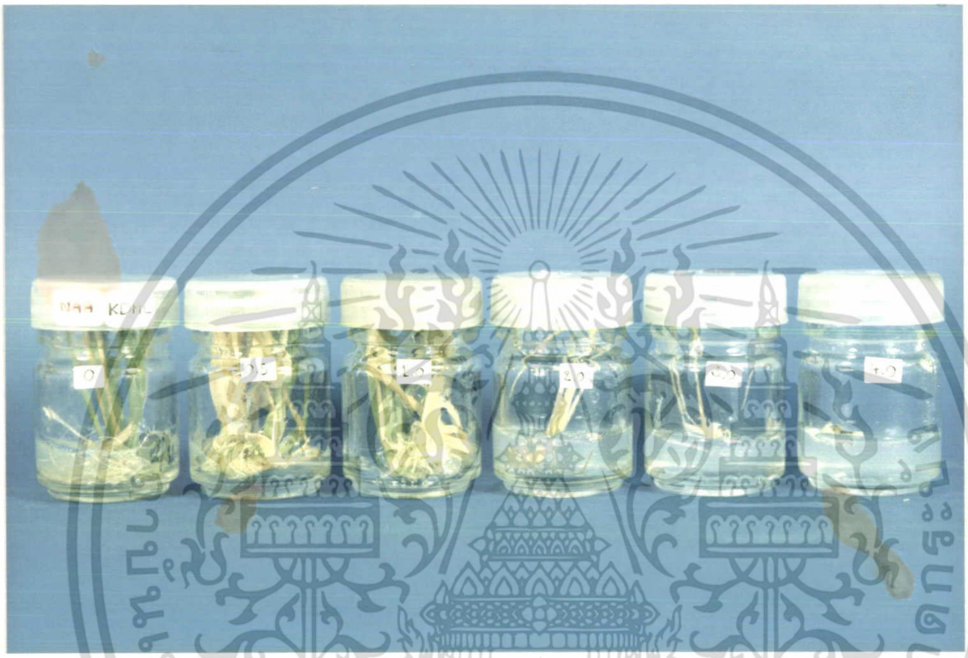
ภาพที่ 1 การเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในอาหารสูตร MS ที่มีสารเร่งการเจริญเติบโต 2,4-D ในความเข้มข้นต่าง ๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร) จากการทดลองครั้งที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 การเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวพันธุ์ กข.7 ในอาหารสูตร MS ที่มีสารเร่งการเจริญเติบโต 2,4-D ในความเข้มข้นต่าง ๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร) จากการทดลองครั้งที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 การเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในอาหารสูตร MS ที่มีสารเร่งการเจริญเติบโต NAA ในความเข้มข้นต่าง ๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร) จากการทดลองครั้งที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4 การเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวพันธุ์ กข.7 ในอาหารสูตร MS ที่มีสารเร่งการเจริญเติบโต NAA ในความเข้มข้นต่าง ๆ (มิลลิกรัมต่อลิตร) จากการทดลองครั้งที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการศึกษา

การศึกษาเปอร์เซนต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์หลังจากผ่านขบวนการฟอกฆ่าเชื้อ เมล็ดพันธุ์จะสูญเสียความงอกลงมาก ถ้ามีการเขย่าขวดอย่างรุนแรงและต่อเนื่องในช่วง-การฟอกฆ่าเชื้อ ด้วยน้ำยาคลอรอกซ์ เข้มข้น 10 เปอร์เซนต์ นาน 15 นาที นอกจากนี้เมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวในช่วงฤดูต่างกันก็จะมีความชื้นในเมล็ดแตกต่างกัน ซึ่งเป็นสาเหตุ-ของการสะสมเชื้อราที่ไม่เท่ากัน เมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวในช่วงปลายฤดูฝนจะมีความชื้นสูง-จึงทำให้มีการสะสมของเชื้อรามาก ส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อราหลังจากการฟอกฆ่าเชื้อสูงตามไปด้วย

สำหรับผลของฮอร์โมน 2,4-D และฮอร์โมน NAA นั้น ฮอร์โมน 2,4-D สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในทุก ๆ ความเข้มข้น โดยข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด ที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4-D 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัสที่ได้เฉลี่ย 8.47 มิลลิเมตร ในการทดลองครั้งที่ 1 และ 8.64 มิลลิเมตร ในการทดลองครั้งที่ 2 หลังจากการเพาะเลี้ยง-นาน 45 วัน แต่ในด้านน้ำหนักสดของแคลลัส ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จะได้แคลลัสที่มีน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงที่สุด ณ ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4- D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 0.108 กรัม ในการทดลองครั้งที่ 1 และ 0.232 กรัม ในการทดลองครั้งที่ 2

ส่วนในข้าวพันธุ์ กข.7 นั้น สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดที่ระดับ -ความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 5.30 มิลลิเมตร และน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงสุดด้วยคือ 0.062 กรัม ในการทดลอง -ครั้งที่ 1 หลังจากการเพาะเลี้ยงนาน 45 วัน ซึ่งชี้ให้เห็นว่าพันธุ์ข้าวที่แตกต่างกันจะ-ตอบสนองต่อฮอร์โมนได้ต่างกัน. โดยที่ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จะตอบสนองต่อฮอร์โมน 2,4- D ในการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าข้าวพันธุ์ กข.7

สำหรับฮอร์โมน NAA จากการทดลองได้ข้อมูลที่ไม่สมบูรณ์ ทั้งนี้เนื่องมาจากการใช้ฮอร์โมนที่เสื่อมสภาพ ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อ ๆ ไป จึงควรให้ความสำคัญต่อ-ฮอร์โมนมากขึ้น โดยใช้ฮอร์โมนที่มีคุณภาพดีและเตรียมขึ้นใหม่ทุกครั้งก่อนการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร . 2528 . ข้าวพันธุ์ กข. ของไทย . กรุงเทพมหานคร : ฝ่ายประชาสัมพันธ์และเผยแพร่ , กองแผนงานและวิชาการ .

กองการข้าว . 2520 . การขยายพันธุ์ข้าว . กรมวิชาการเกษตร , กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ .

ประพาส วีระแพทย์ . 2521 . ความรู้เรื่องข้าว สาขาคัดพันธุ์ต้านทานศัตรูข้าว . กองการข้าว , กรมวิชาการเกษตร , กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ .

วรวิทย์ พานิชพัฒน์ . 2530 . ข้าวหอมขาวดอกมะลิ105 บัสมาตี และอื่น ๆ . โครงการตำราชาวบ้าน , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .

วาสนา ผลารักษ์ . 2523 . ข้าว . ภาควิชาพืชศาสตร์ , คณะเกษตรศาสตร์ , มหาวิทยาลัยขอนแก่น .

วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ์ . 2526.การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากเมล็ดข้าว : เรื่องย่อสัมมนาปริญญาโท , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . (อัดสำเนา) .

วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ์ , อรดี สหวัชรินทร์ และชัยฤทธิ์ มณีพงษ์ . 2527 . รายงานการประชุมวิชาการ ภาคโปสเตอร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 23 เรื่องการชักนำให้เกิดแคลลัสและต้นข้าวจากคัพภะที่เลี้ยงในอาหารวิทยาศาสตร์ .

วัชรินทร์ บุญวัฒน์ . 2525 . พฤกษศาสตร์พืชเศรษฐกิจ เล่ม 1 . ภาควิชาพืชไร่นา , คณะเกษตร , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .

สงกรานต์ จิตรากร . 2526 . ความสำคัญและการวิวัฒนาการของข้าว : สถาบันวิจัยข้าว , กรมวิชาการเกษตร , กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ . (อัดสำเนา) .

อรดี สหวัชรินทร์ . 2522 . " ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ " . วารสารพืชสวน . 14(4) : น. 35 - 43 .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อรรถวุฒิ ทัศน์สองชั้น . 2526 . เรื่องของข้าว . ภาควิชาพืชไร่นา , คณะเกษตร-ศาสตร์ , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .

Chaleff,R.S and A.Stolarz. 1981 . Factors influencing the frequency of callus formation among cultured rice (Oryza sativa L.) anthers. Physiol. Plant. 51 : 201-206. (Cited by Chanprame, 1985)

Chanprame, S. 1985 . Selection of NaCl-tolerant rice (Oryza sativa L.) Through anther culture : Thesis for the Degree of Master of Science (Agriculture), Kasetsart University.

Cornejo-Martin,M.J. and E.Primo-Millo . 1981 . Anther and pollen grain culture of rice (Oryza sativa L.). Euphytica. 30 : 541-546. (Cited by Chanprame, 1985)

Furuhashi,K. and M.Yatazawa. 1964 . Kagaku (Japan). 34 : 623. (Cited by Oono, 1981)

Furuhashi,K. and M.Yatazawa. 1970 . Plant Cell Physiol. 11 : 569. (Cited by Oono, 1981)

IRRI. 1980 . The IRRI Report 3/80. International Rice Reserch Institute. P.O. Box 933, Manila. Philippine S.

Kawata,S. and A.Ishihara. 1968 . Proc. Japan Acad. 44 : 549. (Cited by Oono, 1981)

Maeda,E. 1968 . Proc. Crop Sci. Soc. Japan. 37 :51. (Cited by Oono, 1981)

Niizeki,H. and K.Oono. 1968 . Proc. Japan Acad. 44 : 554. (Cited by Oono. 1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nishi,T. 1970 . Physiol. Plant. 23: 561 (Cited by Oono, 1981)

Nishi,T. ,Y.Yamada and E.Takahashi. 1968 . Nature. 219: 508. (Cited by Oono, 1981)

Ogawa,M. ,S.Yoshida ,G.S.Cabuslay ,Y.H.Chun and K.Suenaga. 1982 . Induction and selection of salt tolerant mutant rice by plant tissue culture. IRRI Satuday Seminar. December 4, 1982

Ohira,K. ,K.Ojima and A.fujiwara. 1973 . Plant Cell Physiol.14: 1113. (Cited by Oono, 1981)

Oono,K. 1981 . In vitro methods applied to rice, pp. 273-298. In T.A. Thorpe (ed.) Plant Tissue Culture Methods and Application in Agriculture. Academic Press, New York.

Raghavan,V. 1977 . Experimental Embryogenesis in Vascular Plant . Academic Press, New York .

Suenaga,K. ,E.M.Abiryo and S.Yoshida. 1982 . Seed-derived callus culture for selecting salt-tolerant rice. Part I. Callus induction, plant regeneration and variations in visible traits . IRRI Research Paper Serie 79. Los banos, Philippines. 11 p.

Takaki,Y. ,H.Kishikawa and M.Egashira. 1982 . Anther Culture of tetraploid rice (in Japanese, English summary). Bull. Pac. Agr. Saga Univ. 52 : 41-47 (Cited by Chanprame, 1985)

Tamura,S. 1968 . Proc. Japan. Acad. 44 :544. (Cited by Oono, 1981)

Zhange,J.Y. 1982 . Effect of cleansed agar on callus induction and green shoot differentiation in rice anther culture. Rice Abstr . 6(8) : No 1971. (Cited by Chanprame, 1985)

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอก