ประสิทธิภาพในการชักนำแคลลัสของข้าว (*Oryza sativa* L.) ให้เจริญเป็นต้นใหม่เพื่อทนแล้ง

EFFICIENCY IMPROVEMENT OF RICE CALLUS REGENERATION (*Oryza sativa* L.) FOR DROUGHT TOLERANCE

กฤตยาภรณ์ มีสุข

KRITTAYAPORN MEESOOK

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2564

KMITL-2021-SC-M-020-039

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFICIENCY IMPROVEMENT OF RICE CALLUS REGENERATION (*Oryza sativa* L.) FOR DROUGHT TOLERANCE

KRITTAYAPORN MEESOOK

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY

DEPARTMENT OF BIOLOGY SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2021

KMITL-2021-SC-M-020-039

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2021
SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ประสิทธิภาพในการชักนำแคลลัสของข้าว (*Oryza sativa* L.) ให้เจริญเป็นต้นใหม่เพื่อทนแล้ง
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกฤตยาภรณ์ มีสุข
รหัสประจำตัว	60605042
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
พ.ศ.	2564
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตรจารย์ ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำเมล็ดให้เกิดแคลลัสในข้าว 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ ทับทิมชุมแพ และสังข์หยดพัทลุง บนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยแอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ สังข์หยดพัทลุงและไรซ์เบอร์รี่สามารถเกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสได้ดีที่สุดในอาหาร NB ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเซลล์แขวนลอยมีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยสูงสุด 4.98 กรัมต่อลิตร อัตราการเจริญจำเพาะ 0.0558 ต่อวัน เวลาที่เซลล์ใช้เพิ่มจำนวนจากเดิมเป็น 2 เท่า 12.4211 ต่อวัน ประสิทธิภาพในการผลิตเซลล์ 0.1747 กรัมเซลล์ต่อลิตรต่อวัน และค่าผลได้ของเซลล์จากสับสเทรต 0.0724 กรัมเซลล์ต่อกรัมสับสเทรต เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 วัน สำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพในอาหารเหลวสูตร NB ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเซลล์แขวนลอยมีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยสูงสุด 2.20 กรัมต่อลิตร อัตราการเจริญจำเพาะ 0.0299 ต่อวัน เวลาที่เซลล์ใช้เพิ่มจำนวนจากเดิมเป็น 2 เท่า 23.1821 ต่อวัน และประสิทธิภาพในการผลิตเซลล์ 0.0764 กรัมเซลล์ต่อลิตรต่อวัน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน

ศึกษาผลของปริมาณรังสีแกมมาในข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ สังข์หยดพัทลุง และไรซ์เบอร์รี่เพื่อก่อให้เกิดการกลายในแคลลัส โดยใช้ปริมาณรังสี 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด พบว่ามีร้อยละการรอดชีวิต 50 เท่ากับ 7.62 9.29 และ 7.65 กิโลแรด ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นนำแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ไม่ผ่านการฉายรังสีมาคัดเลือกความสามารถในการทนแล้งบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 และน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณของโพรลีนสูงสุดในอาหารที่มีสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 10 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีความสามารถในการทนแล้งได้น้อยกว่าแคลลัสที่ผ่านการฉายรังสี 6 และ 8 กิโลแรด ที่ถูกเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 30 40 50 60 และ 70 และน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณของโพรลีนสูงสุดในแคลลัสที่ผ่านการฉายรังสี 6 กิโลแรด ในอาหารที่มีสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 30 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ศึกษาผลของปริมาณรังสีแกมมาในข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ สังข์หยดพัทลุงและไรซ์เบอร์รี่ เพื่อก่อให้เกิดการกลายในเมล็ด โดยใช้ปริมาณรังสี 0 20 25 30 35 และ 40 กิโลแรด แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่ามีร้อยละการรอดชีวิต 50 เท่ากับ 64.32 33.38 และ 27.58 กิโลแรด ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นนำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสี 60 กิโลแรด และไม่ผ่านการฉายรังสีมาคัดเลือกความสามารถในการทนแล้งบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 พบว่าสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 10 ให้ความยาวยอด ความยาวราก น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดลดลง ในขณะที่ปริมาณโพรลีนสูงสุดในต้นข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ สำหรับข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่พบว่าสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้ความยาวยอด ความยาวราก น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดลดลง ในขณะที่ปริมาณโพรลีนสูงสุดในต้นข้าวที่ผ่านการฉายรังสี 28 กิโลแรด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน

ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BAP ความเข้มข้น 0.5 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร พบว่าอาหารสูตร NB ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุดร้อยละ 100 และให้จำนวนยอดเฉลี่ย 3 ยอดต่อแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นนำยอดมาชักนำให้เกิดรากในอาหาร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าในอาหาร NB ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตสามารถชักนำยอดให้เกิดรากได้สูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นนำต้นข้าวที่ได้มาปรับสภาพก่อนนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

คำสำคัญ : การฉายรังสีแกมมา การชักนำให้เกิดแคลลัส การชักนำให้เกิดต้นใหม่ การทนแล้ง การเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย ข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Efficiency Improvement of Rice Callus Regeneration (*Oryza sativa* L.) for Drought Tolerance
Student Name	Miss Krittayaporn Meesook
Student ID	60605042
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Year	2021
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Anurug Poeaim

Abstract

The purpose of this study was to investigated the growth regulator suitable for callus induction from the embryo of rice seed was studied by culturing three rice cultivar Riceberry, Tubtim Chumphae and Sangyod Phatthalung on MS and NB solid medium containing 1 gL^{-1} L-proline, 30 gL^{-1} sucrose, 1 mgL^{-1} of NAA and 0.5 1, 2, 3 and 5 mgL^{-1} of 2,4-D, it was found that rice cultivars, Tubtim Chumphae, Sangyod Phatthalung and Riceberry were induced for high embryogenic callus in NB medium containing 1 mgL^{-1} of NAA in combination with growth regulator 2,4-D at concentrations 1, 2 and 3 mgL^{-1}, respectively, for 4 weeks.

Calli of rice cultivar Sangyod Phatthalung were propagated in the NB liquid medium containing 1 gL^{-1} L-proline, 2 mgL^{-1} 2,4-D, 1 mgL^{-1} NAA and 30 gL^{-1} sucrose for 27 days. Day 12 was the best time for callus propagation, indicated by dry mass (D.M.) doubling time (t_d) 12.4211 day^{-1} and the highest dry cell density up to 4.98 gL^{-1}. The productivity was 0.1747 $gL^{-1}day^{-1}$ D.W. and yields of cell mass ($Y_{x/s}$) was 0.0724 $g_{cell}g^{-1}_{glucose}$ D.W. The specific growth rate (μ) was 0.0558 day^{-1} D.W. In addition, Calli of Tubtim Chumpae were propagated in the NB liquid medium containing 1 gL^{-1} L-proline, 1 mgL^{-1} 2,4-D, 1 mgL^{-1} NAA and 30 gL^{-1} sucrose for 27 days. Day 21 was found to be best time for callus propagation, indicated by doubling time 23.1821 day^{-1} D.W. and the highest dry cell density up to 2.20 gL^{-1}. The productivity was 0.0764 $gL^{-1}day^{-1}$ D.W., and the specific growth rate (μ) was 0.0299 day^{-1} D.W.

Calli of rice cultivar Tubtim Chumphae, Sangyod Phatthalung and Riceberry were exposed to a dose at 0, 2, 4, 6, 8 and 10 krad for induced mutations on the best callus induction medium. It was found that the lethal dose 50 (LD_{50}) was 7.62, 9.29 and 7.65 krad, respectively, after cultured for 4 weeks. The nonirradiated Tubtim Chumphae callus were selected for drought resistant on NB medium containing 0, 5, 10, 15 and 20% PEG and 30 gL^{-1} of sucrose found that the nonirradiation can withstand at 10% PEG, but the irradiation callus of 6 krad at 30% PEG gave the most proline content

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

when compared with nonirradiated callus and the irradiation callus of 8 krad, which is indicated that it may be able to drought tolerance.

The effect of gamma radiation doses 0, 20, 25, 30, 35 and 40 krad to induce mutagenicity in Tubtim Chumphae, Sangyod Phatthalung and Riceberry on NB medium without growth regulators, it was found that the LD_{50} was 64.32, 33.38 and 27.58 krad, respectively after cultured for 4 weeks. Tubtim Chumphae that had been irradiated 60 krad and nonirradiation was screened drought tolerant on NB medium containing 30 gL^{-1} of sucrose and 0, 5, 10, 15 and 20% PEG showed that the nonirradiated seeds of Tubtim Chumpae in 10% PEG gave the mean of root length, dry weight, and chlorophyll decreased. Opposite to maximum proline content increased compared to the irradiation seed at 60 krad, indicating maximum drought resistance. Opposite the irradiated seeds of Riceberry rice at 28 krad showed that the mean of root length, dry weight, chlorophyll decreased. Opposite to maximum proline content increased in the concentration of 15% PEG when compared with the nonirradiated seed. These results showed a positive signal explicit on these characteristics in drought tolerance for against drought stress.

For plant regeneration, Tubtim Chumphae was studied on NB medium containing 0.5, 1, and 3 mgL^{-1} of TDZ and BAP and 30 gL^{-1} sucrose, it was found that Tubtim Chumpae calli were regenerated on the NB medium containing with 2 mgL^{-1} TDZ could be induced 100% of shoot frequency and gave 3 plantlets/callus. Regenerated plants were facilitated root production on NB medium containing 0, 0.5, and 1 mgL^{-1} IBA were found in NB media without growth regulators capable of inducing the highest root shoots after 2 weeks of cultivation, transplant into the soil on pot for acclimatization and maintained till maturity before plantlets were grown in natural conditions.

Keywords : Gamma irradiation, Callus induction, Regeneration, Drought tolerance, Suspension culture, Rice

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่อง “ประสิทธิภาพในการชักนำแคลลัสของข้าว (*Oryza sativa* L.) ให้เจริญเป็นต้นใหม่เพื่อทนแล้ง” ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้สนับสนุนด้านต่าง ๆ ให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางในการแก้ปัญหา และช่วยตรวจสอบความถูกต้องในการจัดทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้เพื่อให้รายงานผลได้ถูกต้องและสมบูรณ์ที่สุด

ขอขอบคุณศาสตราจารย์ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ ประธานกรรมการ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้มอบความรู้ พร้อมทั้งคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการทำงาน เพื่อช่วยในการปรับปรุงข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นในการทำการทดลอง และเพื่อให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณอาจารย์สาขาวิชาชีววิทยาทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำสั่งสอน ตลอดจนเป็นที่ปรึกษาที่ดีมาโดยตลอด และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกเกี่ยวกับอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่คอยเป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุน ส่งเสริมการศึกษาในทุกด้านเป็นอย่างดีตลอดมา รวมทั้งพี่ เพื่อน และน้อง ๆ ที่คอยช่วยเหลือ และให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์เรื่องนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์เล่มนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจศึกษาหาความรู้ในงานด้านนี้ หากมีข้อผิดพลาดประการใดผู้จัดทำขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

นางสาว กฤตยาภรณ์ มีสุข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ฌ
สารบัญรูปภาพ	ฎ
คำย่อ/สัญลักษณ์	ด
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ข้าว	3
2.2 ความสำคัญของพันธุ์ข้าว	3
2.3 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษา	3
2.3.1 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง (Sangyod Phatthalung)	3
2.3.2 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ (Riceberry)	4
2.3.3 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ (Tubtim Chumpae)	4
2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช	4
2.4.1 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	4
2.5 การชักนำให้เกิดเนื้อเยื่อ	5
2.5.1 แคลลัส	6
2.5.2 เซลล์แขวนลอย	6
2.6 ความผันแปรทางพันธุกรรมของเซลล์	7
2.6.1 การชักนำให้เกิดการกลายในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	7
2.6.2 การกลายพันธุ์	8
2.6.3 การกำหนดปริมาณรังสีที่ใช้	8
2.7 ความแล้ง	8
2.7.1 สาเหตุของการเกิดภัยแล้ง	9
2.7.2 ฤดูกาลเกิดภัยแล้ง	9
2.7.3 สภาวะขาดน้ำ	9
2.8 พืชทนแล้ง	10
2.8.1 การทนแล้งของพืช	10
2.8.2 กลไกการทนแล้งของพืช	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.9 ความสัมพันธ์ของสภาพแล้งกับการสะสมปริมาณโพรลีน	11
2.9.1 การสะสมโพรลีน	11
2.9.2 กระบวนการสะสมโพรลีน	11
2.9.3 กระบวนการสลายตัวสะสมโพรลีน	11
2.9.4 สาเหตุของการสะสมโพรลีน	12
2.10 การชักนำให้เกิดต้นพืช	12
2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	13
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	17
3.1 ตัวอย่าง สารเคมีและอุปกรณ์	17
3.1.1 เมล็ดข้าวที่ใช้ในการศึกษา	17
3.1.2 สารเคมี	17
3.1.3 อุปกรณ์ และเครื่องมือต่าง ๆ	17
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน	18
3.2.1 การฟอกฆ่าเชื้อและการชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสจากเอ็มบริโอของเมล็ดข้าว	18
3.2.2 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัสและระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย	19
3.2.3 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดในอาหารเหลว	20
3.2.4 การเหนี่ยวนำแคลลัสข้าวให้กลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา	21
3.2.5 การเหนี่ยวนำเมล็ดข้าวให้กลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา	21
3.2.6 ศึกษาความสามารถในการทนแล้งของแคลลัสข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาภายใต้ความเครียดของสารพอลีเอทิลีนไกลคอล 6000	21
3.2.7 ศึกษาความสามารถในการทนแล้งของเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาภายใต้ความเครียดของสารพอลีเอทิลีนไกลคอล 6000	22
3.2.8 การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของใบข้าวในสภาพแล้ง	22
3.2.9 การวิเคราะห์หาปริมาณโพรลีนของข้าวในสภาพแล้ง	23
3.2.10 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดให้เกิดรากเพื่อนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ	23
3.2.11 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากเพื่อนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ	24
3.2.12 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ	24
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	25
4.1 ผลการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำเอ็มบริโอข้าวให้เกิดเป็นแคลลัส	25
4.1.1 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.1.2 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง	30
4.1.3 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่	34
4.2 ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัสและระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย	38
4.2.1 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ	38
4.2.2 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง	41
4.3 ผลการเหนี่ยวนำแคลลัสข้าวให้กลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา	45
4.3.1 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ	45
4.3.2 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่	47
4.3.3 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง	48
4.4 ผลการเหนี่ยวนำเมล็ดข้าวให้กลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา	51
4.4.1 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ	51
4.4.2 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง	52
4.4.3 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่	54
4.5 ผลการศึกษาความสามารถในการทนแล้งของเมล็ดข้าวภายใต้ความเครียดของสารพอลีเอทิลีนไกลคอล 6000	55
4.5.1 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ	55
4.5.2 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่	62
4.6 ผลการศึกษาความสามารถในการทนแล้งของแคลลัสข้าวภายใต้ความเครียดของสารพอลีเอทิลีนไกลคอล 6000	69
4.6.1 แคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ไม่ผ่านการฉายรังสี	69
4.6.2 แคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสี	72
4.7 ผลการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นใหม่	75
4.7.1 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ	75
4.8 การชักนำรากและการนำต้นกล้าข้าวออกปลูกในสภาพธรรมชาติ	78
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	81
5.1 สรุปผลการวิจัย	81
5.2 ข้อเสนอแนะ	83
เอกสารอ้างอิง	84
ภาคผนวก	91
ภาคผนวก ก	92
ภาคผนวก ข	94
ประวัติผู้เขียน	99

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 การชักนำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพให้เกิดแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ 27

4.2 การชักนำเมล็ดข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงให้เกิดแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ 31

4.3 การชักนำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ให้เกิดแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 35

4.4 ค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 27 วัน 39

4.5 ค่าจลนพลศาสตร์ต่าง ๆ ของเซลล์แขวนลอยข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 27 วัน 39

4.6 ค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 27 วัน 42

4.7 ค่าจลนพลศาสตร์ต่าง ๆ ของเซลล์แขวนลอยข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 27 วัน 43

4.8 ผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการรอดชีวิตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ บนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 46

4.9 ผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการรอดชีวิตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ บนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.10 ผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการรอดชีวิตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง บนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 49

4.11 ผลของรังสีแกมมาที่มีต่อความมีชีวิตรอดของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพบนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 51

4.12 ผลของรังสีแกมมาที่มีต่อความมีชีวิตรอดของเมล็ดข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงบนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 53

4.13 ผลของรังสีแกมมาที่มีต่อความมีชีวิตรอดของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ บนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 54

4.14 ร้อยละของแคลลัสที่เกิดจุดเขียว ราก และน้ำหนักสดเฉลี่ย จากแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG 6000 ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 70

4.15 แสดงร้อยละของแคลลัสที่เกิดจุดเขียว ราก และน้ำหนักสดเฉลี่ย จากแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 6 และ 8 กิโลแรด เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG 6000 ความเข้มข้นร้อยละ 0 30 40 50 60 และ 70 เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 73

4.16 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ ที่ชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพให้เกิดต้นใหม่ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 76

4.17 แสดงจำนวนยอด ความยาวยอด ความยาวรากและพื้นที่ใบเฉลี่ย ก่อนออกปลูกและหลังจากออกปลูกในสภาพธรรมชาติ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน 79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

4.1 ร้อยละการเกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ 28

4.2 น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ 28

4.3 ร้อยละการเกิดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ 29

4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (ก-จ) และ NB (ช-ฏ) ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ 29

4.5 ร้อยละการเกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ 32

4.6 น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ 32

4.7 ร้อยละการเกิดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ 33

4.8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (ก-จ) และ NB (ช-ฏ) ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ 33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.9 ร้อยละการเกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 36

4.10 น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 36

4.11 ร้อยละการเกิดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 37

4.12 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (ก-จ) และ NB (ช-ฏ) ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 37

4.13 แนวโน้มการเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ โดยการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 27 วัน 40

4.14 ลักษณะการเกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) แคลลัสที่เกิดจากเมล็ดข้าวหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเป็นเวลา 6 สัปดาห์ (ข) วันแรกของการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยในอาหารเหลว (ค) เซลล์แขวนลอยที่มีขนาดใหญ่ขึ้นหลังเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว 21 วัน 40

4.15 แนวโน้มการเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงโดยการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 27 วัน 43

4.16 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลกลูโคสกับเวลาของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง โดยการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 27 วัน 44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.17 ลักษณะการเกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) แคลลัสที่เกิดจากเมล็ดข้าวหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเป็นเวลา 6 สัปดาห์ (ข) วันแรกของการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยในอาหารเหลว (ค) เซลล์แขวนลอยที่มีขนาดใหญ่ขึ้นหลังเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว 12 วัน 44

4.18 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพกับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) หลังแคลลัสผ่านการฉายรังสีเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 46

4.19 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่กับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) หลังแคลลัสผ่านการฉายรังสีเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 48

4.20 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงกับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) หลังแคลลัสผ่านการฉายรังสีเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 50

4.21 ลักษณะของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงที่ได้รับปริมาณรังสีแกมมาต่าง ๆ หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเสตอริโอ (ก) ไม่ผ่านการฉายรังสี (ข) 2 กิโลแรด (ค) 4 กิโลแรด (ง) 6 กิโลแรด (จ) 6 กิโลแรด และ (ฉ) 10 กิโลแรด ตามลำดับ 50

4.22 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพกับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) หลังแคลลัสผ่านการฉายรังสีเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 52

4.23 ลักษณะของต้นข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพบนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) ชุดควบคุมหรือเมล็ดข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสี และ (ข-ฉ) เมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20 25 30 35 และ 40 กิโลแรด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 52

4.24 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของเมล็ดข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงกับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) หลังแคลลัสผ่านการฉายรังสีเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 53

4.25 ลักษณะของต้นข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงบนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) ชุดควบคุมหรือเมล็ดข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสี และ (ข-ฉ) เมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20 25 30 35 และ 40 กิโลแรด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 54

4.26 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของเมล็ดของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่กับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) หลังเมล็ดผ่านการฉายรังสีเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.27 ลักษณะของต้นข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่บนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) ชุดควบคุมหรือเมล็ดข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสี และ (ข-ฉ) เมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20 25 30 35 และ 40 กิโลแรด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 55

4.28 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสี (ก) และต้นกล้าข้าวผ่านการฉายรังสี (ข) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 56

4.29 ค่าความยาวยอดเฉลี่ยของเมล็ดข้าวทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 60 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 57

4.30 ค่าความยาวรากเฉลี่ยของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 60 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 58

4.31 ค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 60 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 59

4.32 ค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 60 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 60

4.33 ค่าคลอโรฟิลล์รวมเฉลี่ยของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 60 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 61

4.34 ค่าความเข้มข้นของโพรลีนเฉลี่ยของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 60 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 62

4.35 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นกล้าข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านการฉายรังสี (ก) และต้นกล้าข้าวผ่านการฉายรังสี (ข) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.36 ค่าความยาวยอดเฉลี่ยของเมล็ดข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 28 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน 64

4.37 ค่าความยาวรากเฉลี่ยของเมล็ดข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 28 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน 65

4.38 ค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของเมล็ดข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 28 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน 66

4.39 ค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเมล็ดข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 28 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน 67

4.40 ค่าคลอโรฟิลล์รวมเฉลี่ยของเมล็ดข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 28 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน 68

4.41 ค่าความเข้มข้นของโพรลีนเฉลี่ยของเมล็ดข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 28 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน 69

4.42 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ไม่ผ่านการฉายรังสีหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ (ก-จ) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 70

4.43 ค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมาหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 71

4.44 ค่าความเข้มข้นของโพรลีนเฉลี่ยของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.45 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 6 และ 8 กิโลแรด หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 30 40 50 60 และ 70 เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 72

4.46 ค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสข้าวทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 6 และ 8 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 30 40 50 60 และ 70 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 74

4.47 ค่าความเข้มข้นของโพรลีนเฉลี่ยของแคลลัสข้าวทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 6 และ 8 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 30 40 50 60 และ 70 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 74

4.48 จำนวนยอดต่อแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 77

4.49 ร้อยละการเกิดยอดของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 77

4.50 ลักษณะการพัฒนาเป็นยอดของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพเมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (ก) 6 สัปดาห์ (ข) 8 สัปดาห์ (ค) ลักษณะการพัฒนาเป็นยอดจำนวนมาก 78

4.51 ลักษณะการพัฒนารากในต้นอ่อนของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ 79

4.52 ลักษณะของต้นข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ (ก) ต้นอ่อนที่นำออกปลูก (ข) ปรับสภาพในถุงพลาสติกเพื่อลดการคายน้ำก่อนออกปลูก 2 สัปดาห์ (ค) เพาะปลูกตามธรรมชาติ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	ชื่อเต็ม
BAP	Benzylaminopurine
DMSO	Dimethyl Sulfoxide
IBA	Indole-3-butyric acid
KIN	Kinetin
LD_{50}	50% Lethal Dose
MS	Murashige and Skoog
NB	Modified Chu/Gamborg Basal Medium
NAA	1-Naphthalene Acetic Acid
PEG	Polyethylene Glycol
TDZ	Thidiazuron
2,4-D	2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญ เนื่องจากประชากรโลกนิยมบริโภคข้าวเป็นอาหารหลักและข้าวเป็นธัญพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ในประเทศไทยมีประเพณีการปลูกข้าวมาช้านาน มีที่ดินปลูกข้าวมากที่สุดเป็นอันดับที่ห้าของโลกและเป็นผู้ส่งออกข้าวอันดับหนึ่งของโลก พื้นที่ปลูกข้าวมีมากกว่าครึ่งหนึ่งของพื้นที่เพาะปลูกทั้งประเทศและใช้แรงงานมากกว่าครึ่งของแรงงานทั้งประเทศ ข้าวมีบทบาทสำคัญหลายอย่างต่อสังคมไทยตั้งแต่เป็นอาหารจนไปถึงเป็นแหล่งที่มาของเงินตราต่างประเทศ อย่างไรก็ตามบทบาทสำคัญทั้งสองอย่างนี้มีการเปลี่ยนแปลงตามเวลาด้วยเหตุและปัจจัยหลายประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งบทบาทของข้าวในการค้าระหว่างประเทศของไทย ทั้งนี้เพราะการเปลี่ยนแปลงของสภาพการผลิต การค้าทั้งในประเทศผู้นำเข้าและประเทศผู้ส่งออกอื่น ๆ เนื่องมาจากความต้องการบริโภคข้าวของประชากรโลกมีสูงขึ้นในทุกปีแต่พื้นที่ในการผลิตข้าวกลับมีจำนวนจำกัด กล่าวคือ ถ้าประเทศไทยผลิตข้าวได้เป็นจำนวนมากก็จะทำให้มีข้าวเหลือเพื่อการส่งออกจำหน่าย ทำรายได้เข้าประเทศเป็นอย่างมาก (ประพาส, 2555)

ในปัจจุบันสภาพภูมิอากาศของโลกมีแนวโน้มสูงขึ้นและเปลี่ยนแปลงไปอย่างรวดเร็ว ส่งผลกระทบทั้งทางตรงและทางอ้อม อาจก่อให้เกิดปัญหาต่าง ๆ ตามมา เช่น ภัยธรรมชาติ โรคระบาด ปัญหาเศรษฐกิจและสังคม ซึ่งส่งผลให้ความหลากหลายของพันธุ์ข้าว และผลผลิตทางการเกษตรของข้าวลดลงไปอย่างมาก แต่ความต้องการบริโภคข้าวของโลกยังคงมีแนวโน้มขยายตัวเพิ่มขึ้น ดังนั้นอนาคตของข้าวไทยจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะมุ่งเน้นการผลิตข้าวให้มีคุณภาพสูงเพื่อการส่งออก เนื่องจากในปัจจุบันเทคโนโลยีชีวภาพ เทคนิคด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พันธุวิศวกรรม และชีววิทยาระดับโมเลกุล ได้มีการพัฒนาและมีบทบาทกับการดัดแปลงหรือปรับปรุงพันธุ์พืช รวมทั้งเพิ่มผลผลิตและมูลค่าของพืชทำให้มีผลต่อการค้า และเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาหาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำเมล็ดข้าวให้เกิดแคลลัสและชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่ โดยคาดหวังว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมาใหม่นี้จะสามารถขยายพันธุ์ข้าวได้เป็นจำนวนมากภายในระยะเวลาสั้น และยังสามารถพัฒนาพันธุ์ข้าวสังข์หยดพัทลุงทับทิมชุมแพ และไรซ์เบอร์รี่ให้ทนต่อสภาวะแล้งได้ ข้าวทั้งสามสายพันธุ์นี้ล้วนเป็นพันธุ์ข้าวของประเทศไทยที่มีความสำคัญและกำลังเป็นที่นิยมในปัจจุบัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มคนรักสุขภาพ ผู้ป่วยโรคอ้วนและโรคเบาหวาน เนื่องจากเป็นข้าวที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำ มีสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูงทำให้ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่าง ๆ ได้อย่างมากมาย โดยเฉพาะโรคมะเร็งและโรคหัวใจ จึงเหมาะต่อการบริโภคเพื่อส่งเสริมสุขภาพที่ยั่งยืนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำเมล็ดข้าวให้เกิดแคลลัส
2) ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตและระยะเวลาที่เหมาะสมเพื่อขยายพันธุ์แคลลัสในการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย
3) ศึกษาปริมาณรังสีที่มีแนวโน้มในการเหนี่ยวนำให้เมล็ดและแคลลัสของข้าวเกิดการกลายสูงสุด
4) ศึกษาความสามารถในการทนแล้งของเมล็ดและแคลลัสของข้าวภายใต้ความเครียดของสารพอลิเอทิลีนไกลคอล มวลโมเลกุล 6000
5) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เจริญเป็นต้นใหม่
6) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดให้เกิดรากเพื่อนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1) ชักนำเมล็ดข้าวให้เกิดแคลลัสในข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ทับทิมชุมแพ และไรซ์เบอร์รี่
2) ศึกษาหาปริมาณรังสีแกมมาที่เหมาะสมต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายสูงสุดในเมล็ดข้าวและแคลลัสข้าวสามสายพันธุ์
3) ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตและเวลาที่เหมาะสมเพื่อการขยายพันธุ์แคลลัสข้าวสามสายพันธุ์ในการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย
4) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสข้าวให้เกิดเป็นต้นใหม่
5) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดให้เกิดรากเพื่อนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ทับทิมชุมแพ และไรซ์เบอร์รี่ ให้เกิดเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์และแข็งแรงเป็นจำนวนมากในระยะเวลาสั้นได้ เพื่อตอบสนองต่อความต้องการผลผลิตข้าวที่เพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน
2) พัฒนาพันธุ์ข้าวสังข์หยดพัทลุง ทับทิมชุมแพ และไรซ์เบอร์รี่ ให้สามารถทนต่อสภาวะแล้งได้
3) นำผลจากการศึกษาครั้งนี้ไปต่อยอดพัฒนาทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพ เพื่อปรับปรุงพันธุ์ข้าวทั้งในด้านการเพิ่มปริมาณผลผลิต และทนต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรมการเกษตรต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้าว

ข้าว เป็นพืชอาหารหลักของชาวโลก จัดเป็นพืชสายพันธุ์เดียวกับหญ้าซึ่งนับได้ว่าเป็นหญ้าที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในโลกและมีความหลากหลายทางชีวภาพ สามารถปลูกขึ้นได้ง่ายมีความทนทานต่อทุกสภาพภูมิประเทศในโลก สายพันธุ์ของพืชตระกูลข้าวที่รู้จักและนำมาปลูกแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ *Oryza savita* นิยมเพาะปลูกในทวีปเอเชีย และ *Oryza glaberrima* นิยมเพาะปลูกในทวีปแอฟริกา โดยข้าวจากทวีปเอเชียสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ตามลักษณะและพื้นที่ปลูกได้ ดังนี้

1) ข้าวอินดิกา (Indica) เป็นข้าวเจ้าที่มีลักษณะเม็ดเรียวยาวรี ลำต้นสูง ตั้งชื่อมาจากแหล่งที่ค้นพบครั้งแรกในประเทศอินเดีย เป็นข้าวที่นิยมเพาะปลูกในประเทศจีน เวียดนาม ฟิลิปปินส์ ไทย อินโดนีเซีย อินเดียและศรีลังกา

2) ข้าวจาปอนิกา (Japonica) เป็นข้าวเหนียวเมล็ดป้อม กลมรี มีแหล่งกำเนิดจากทางภาคเหนือของประเทศไทย แพร่หลายในประเทศญี่ปุ่น เกาหลี รัสเซีย ยุโรป และอเมริกา

3) ข้าวจาวานิกา (Javanica) เป็นข้าวลักษณะเมล็ดป้อมใหญ่ นิยมเพาะปลูกในอินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ไต้หวันและญี่ปุ่น แต่ไม่ค่อยได้รับความนิยมนักเพราะให้ผลผลิตต่ำ ประเทศต่าง ๆ ในโลกต่างมีการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวใหม่ เพิ่มพื้นที่การเพาะปลูกข้าวและวิธีการปลูกข้าวให้ได้ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้น (ประพาส, 2531)

2.2 ความสำคัญของพันธุ์ข้าว

พันธุ์ข้าว เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญอันดับแรกในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าว โดยไม่ต้องเพิ่มต้นทุนการผลิต ถ้าหากว่ามีพันธุ์ข้าวที่ให้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพดีที่ตรงกับความต้องการของตลาดและเพื่อทำผลิตภัณฑ์ มีความต้านทานต่อโรคแมลง และมีความเหมาะสมกับสภาพแวดล้อมในแต่ละท้องถิ่นแล้วจะเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการผลิตข้าวหรือเป็นการลดต้นทุนการผลิตข้าวได้เป็นอย่างดี ดังนั้นงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวยังคงต้องดำเนินการต่อไปอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลง จึงต้องหาพันธุ์ที่มีคุณภาพดีตามความต้องการของตลาดโลก และมีศักยภาพในการแข่งขันกับตลาดโลกได้ จึงต้องดำเนินงานปรับปรุงพันธุ์โดยไม่มีที่สิ้นสุด (กรมการข้าว, 2562)

2.3 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษา

2.3.1 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง (Sangyod Phatthalung)

เป็นพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่ปลูกดั้งเดิมในจังหวัดพัทลุง ได้รับการประกาศขึ้นทะเบียนสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ (Geographical Indications; GI) พันธุ์แรกของประเทศไทย มีลักษณะประจำพันธุ์ ดังนี้ ทรงกอตั้ง ต้นสูงเฉลี่ย 140 เซนติเมตร ลำต้นมีความแข็ง ใบเขียว มุมใบธงตั้งตรง รวงแน่น ระแง้ถี่ เมล็ดเล็กรูปร่างเรียวยาว เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง ข้าวกล้องเมื่อหุงสุกนุ่มเล็กน้อย ส่วนข้าวซ้อมมือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อหุงสุกนุ่ม มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ข้อควรระวังคือ ไม่ต้านทานโรคไหม้ ไม่ควรปลูกใกล้เคียงกับแปลงปลูกข้าวขาวและควรแยกเก็บ เมล็ดพันธุ์ไว้โดยเฉพาะ (กรมการข้าว, 2562)

2.3.2 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ (Tubtim Chumpae)

เป็นข้าวที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์กลายจากรังสี (Semi-dwarf KDML105) ทรงต้นเตี้ยที่มีลักษณะต้านทานต่อโรคไหม้ ไม่ไวต่อช่วงแสงเป็นพันธุ์แม่ กับข้าวเจ้าพันธุ์สังข์หยดพัทลุงที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง ไวต่อช่วงแสง ต้นสูงเป็นพันธุ์พ่อ ผ่านการรับรองพันธุ์ เมื่อวันที่ 12 กรกฎาคม 2559 มีลักษณะเด่นเป็นข้าวเจ้าเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง ไม่ไวต่อช่วงแสง ทรงต้นเตี้ย ผลผลิตสูง คุณภาพเมล็ด และคุณภาพการหุงต้มรับประทานดี ข้าวกล้อง หุงสุกนุ่มและมีรสชาติดี มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระฟีโนลิกและฟลาโวนอยด์สูง (กรมการข้าว, 2562)

2.3.3 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ (Riceberry)

เป็นข้าวเจ้า ได้จากการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าวเจ้าหอมนิลกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 ลักษณะเด่นเป็นข้าวเจ้าสีม่วงเข้ม รูปร่างเมล็ดเรียวยาว ผิวมันวาว ข้าวกล้องมีความนุ่มมาก ปลูกได้ตลอดทั้งปี ให้ผลผลิตต่อไร่ปานกลาง ต้านทานต่อโรคไหม้แต่ไม่ต้านทานโรคหลาว นอกจากนี้ยังเป็นข้าวสายพันธุ์ที่มีสารต้านอนุมูลอิสระสูง จึงมีสรรพคุณในการช่วยบำรุงร่างกาย ทำให้เกิดการสร้างคอลลาเจน ลดการอักเสบที่ผิวหนัง ช่วยลดริ้วรอยและชะลอความแก่ ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคร้ายแรง เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน และโรคความดันโลหิตสูง (ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว, 2562)

2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หมายถึง การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช (explant) หรืออาจหมายถึง การเพาะเลี้ยงเซลล์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หรือการเพาะเลี้ยงอวัยวะ ในอาหารสังเคราะห์สูตรต่าง ๆ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมและปลอดเชื้อ เซลล์ของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีความสามารถที่จะเติบโตเป็นต้นพืชสมบูรณ์ได้ โดยที่เซลล์จะมีรูปร่างคล้ายไซโกต (zygote) และทำหน้าที่เป็นไซโกตได้ โดยมีการแสดงของยีน (gene) เหมือนเดิม ความสามารถของเซลล์นี้เรียกว่า โททิโปเทนซี (totipotency) ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวนี้เองทำให้มีเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการขยายพันธุ์พืช และสามารถนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ประโยชน์ได้โดยการคัดเลือกสายพันธุ์กลาย (mutant selection) เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกพันธุ์พืชที่มีลักษณะที่ดีเนื่องจากเกิดการกลายทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ซึ่งการคัดเลือกทำได้โดยจัดอาหารเพาะเลี้ยงและสภาพแวดล้อมตามที่ต้องการ เช่น การคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่ทนเค็ม โดยการใส่เกลือลงไปในอาหารที่คัดเลือก เพื่อคัดเลือกพันธุ์ข้าวทนเค็ม

2.4.1 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

อนุรักษ์ (2550) อธิบายชนิดของสูตรอาหารทั่วไปที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขึ้นอยู่กับชนิดของพืช พืชบางชนิดว่องไวต่อสารหรือต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตต่าง ๆ อายุของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงก็มีผลต่อการเจริญบนอาหาร การพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย อาหารสูตร Murashige and Skoog หรือ MS (Murashige and Skoog, 1962) เป็นสูตรอาหารพื้นฐานที่นำมาใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และชักนำให้เกิดต้นพืช (plant regeneration) นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารสูตร NB หรือ Modified Chu/Gamborg Basal Medium ที่ดัดแปลงสูตรอาหารมาจากวิธีของ Chu. *et al*. (1975) และ Gamborg. *et al*. (1968) เหมาะต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจากส่วนต่าง ๆ โดยการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชในหลอดทดลองเป็นผลมาจากองค์ประกอบของอาหารและพันธุกรรมของพืช พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีองค์ประกอบต่าง ๆ ดังนี้

1) น้ำ เป็นองค์ประกอบหลักของธาตุอาหาร ควรใช้น้ำกลั่นหรือน้ำปราศจากไอออน

2) สารประกอบอนินทรีย์ ประกอบด้วยสารอาหารหลัก เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต้องใช้ในปริมาณมาก ได้แก่ คาร์บอน (C) ออกซิเจน (O) ไนโตรเจน (N) โพแทสเซียม (P) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) และกำมะถัน (S) สารอาหารรอง เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต้องใช้ในปริมาณน้อย ได้แก่ เหล็ก (Fe) คลอรีน (Cl) แมงกานีส (Mn) สังกะสี (Zn) โบรอน (B) และโมลิบดีนัม (Mo)

3) สารประกอบอินทรีย์ (organic compound) น้ำตาลเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ เนื่องจาก เป็นสารที่ให้พลังงาน น้ำตาลส่วนใหญ่ที่ใช้ คือ น้ำตาลซูโครส (sucrose) ความเข้มข้นที่ใช้ คือ 20-60 กรัมต่อลิตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช

4) วิตามิน (vitamin) เป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) ของเอนไซม์ที่จำเป็นสำหรับกระบวนการ เมแทบอลิซึม (metabolism) และมีความสำคัญในกระบวนการหายใจของเซลล์ โดยวิตามินที่นิยมใส่ลงในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น ไบโอติน (biotin) กรดโฟลิก (folic acid) เป็นต้น

5) กรดอะมิโน (amino acid) เติมลงไปในอาหารเพื่อช่วยให้การเจริญเติบโตดีขึ้น ได้แก่ แอสพาราจีน (asparagine) กลูตามีน (glutamine) และโพรลีน (proline) ช่วยลดสารประกอบไนโตรเจน และชักนำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิส (somatic embryogenesis) เป็นต้น

6) วุ้น เป็นสารจำพวกพอลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) เติมลงไปในอาหารเพื่อให้อาหารแข็ง เป็นตัวช่วยให้ต้นพืชยึดเกาะอยู่ได้ ความเข้มข้นที่ใช้อยู่ในช่วง 0.5-1.0 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร สารที่ช่วยทำให้อาหารแข็งตัวได้ชนิดอื่น ๆ มีอีกหลายชนิด เช่น เจลาติน (gelatin) อะกาโรส (agarose) การเลือกใช้ขึ้นอยู่กับชนิดงานและความเหมาะสม

7) ความเป็นกรด-ด่าง (pH) มีผลต่อการดูดใช้แร่ธาตุอาหารของเนื้อเยื่อหรือชิ้นส่วนของพืช ส่วนใหญ่นิยมใช้อยู่ในช่วง 5.0-6.0

8) สารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulators) การเติมสารช่วยเร่งการเจริญของพืชลงไปในอาหารมีความสำคัญซึ่งจะช่วยให้เนื้อเยื่อเหล่านี้เจริญดีขึ้น แบ่งได้ดังนี้

ออกซิน (auxin) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้นำเอาออกซินไปใช้ในการกระตุ้นการแบ่ง เซลล์และการเกิดราก โดยออกซินที่นิยมใช้ เช่น 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) IAA (indole-3-acetic acid) และ NAA (1-naphthylacetic acid) เป็นต้น

ไซโตไคนิน (cytokine) เติมลงไปเพื่อช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเปลี่ยนแปลงไปเป็นหน่อเล็กจากส่วนของแคลลัสหรืออวัยวะที่เพาะเลี้ยง ไซโตไคนินที่นิยมใช้ เช่น 2iP (2-isopentenyl adenine) และ BAP (2-isopentenyl adenine) เป็นต้น

2.5 การชักนำให้เกิดเนื้อเยื่อ

อารีย์ (2541) กล่าวว่า การนำชิ้นส่วนใด ๆ ของพืช (explant) มาเลี้ยงในอาหารจะเกิดเนื้อเยื่อ (tissue) ขึ้นหลายแบบจากเนื้อเยื่อปกติของพืชที่เป็น organized tissue เช่น ราก ลำต้น ใบ หรืออวัยวะอื่น ๆ สามารถถูกชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็น unorganized tissue เช่น แคลลัส (ซึ่งเป็น undifferentiated mass) ด้วยการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นสารกระตุ้นการเกิดชนิดของเนื้อเยื่อ อาจแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ตามความต้องการสารเร้า คือ 1) กลุ่มต้องการออกซิน 2) กลุ่มต้องการไซโตไคนิน 3) กลุ่มออกซินและไซโตไคนิน และ 4) กลุ่มต้องการสารสกัดจากธรรมชาติ

2.5.1 แคลลัส

แคลลัส เป็นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่มีการแบ่งตัวแบบไม่หยุดยั้ง ความต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อกระตุ้นให้เกิดแคลลัสของพืชขึ้นกับแหล่งหรือชนิดของเนื้อเยื่อ เนื้อเยื่อบางอย่างหรือพืชบางชนิดที่มีชั้นเซลล์เป็นแคมเบียม (cambium) สามารถเกิดแคลลัสได้โดยไม่ต้องใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตใด ๆ ในอาหาร แต่ส่วนใหญ่ต้องการหนึ่งชนิดหรือมากกว่า เมื่อนำชิ้นส่วนพืชมาเพาะเลี้ยงในอาหารจะเกิดกระบวนหลัก 3 ขั้นตอน 1) Induction คือ เซลล์จะถูกกระตุ้นด้วยสารเคมีให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระบบเมแทบอลิซึมก่อนที่จะเกิดการแบ่งเซลล์ 2) ระยะแบ่งเซลล์ เป็นการเพิ่มปริมาณเซลล์ เช่น ไซโตไคนินสามารถกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ เพราะมีส่วนควบคุมวัฏจักรของเซลล์ และ 3) ระยะ differentiation ซึ่งบางเซลล์จะกลายเป็นเอ็มบริโอเจนิค (embryogenic) ในที่สุดแล้วพัฒนาต่อไปเป็นต้น (plantlet) ชิ้นส่วนที่เหมาะกับการนำมาเลี้ยงคือส่วนที่ยังอ่อน เพราะว่าเซลล์ยังอยู่ในระยะกำลังเจริญมีธาตุอาหารบริบูรณ์และมีสารควบคุมการเจริญเติบโตมาก เช่น ใบอ่อน ยอดเนื้อเยื่อเจริญ และใบเลี้ยงในเมล็ด พืชที่เกิดจากแคลลัสมักจะมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมโดยเฉพาะเมื่อเลี้ยงแคลลัสไปนาน ๆ แล้วเปลี่ยนแปลงเป็นการถาวร ซึ่งเป็นลักษณะทางพันธุกรรมที่ถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้ ลักษณะอาจเป็นลักษณะทางกายภาพ (physical) และทางสัณฐาน (morphological) เช่น อาจเกิดสายพันธุ์กลายที่ไม่ต้องการสารเร่งการเจริญเติบโต เรียกว่า habituation มีความอ่อนแอหรือต้องการสารเคมีบางอย่าง การเติบโตเปลี่ยนไปและมีองค์ประกอบภายในเซลล์ผิดไป ดังนั้นการขยายพันธุ์เพื่อต้องการสายพันธุ์แท้ จึงไม่ควรให้กระบวนการเกิดต้นพืชผ่านขั้นตอนของแคลลัส แต่แคลลัสมีประโยชน์ในแง่การปรับปรุงพันธุ์ เพราะสามารถได้พันธุ์ใหม่ที่ดี เช่น การคัดเลือกสายพันธุ์แคลลัสให้ต้านทานต่อโรคบางชนิดหรือทนทานต่อสภาพแวดล้อม

2.5.2 เซลล์แขวนลอย

เซลล์แขวนลอย หมายถึง เนื้อเยื่อที่นำมาเลี้ยงในอาหารเหลว ซึ่งปกติจะเป็นการเลี้ยงแคลลัส ซึ่งในสภาวะการเลี้ยงในอาหารเหลวนี้ สายพันธุ์เซลล์ (cell line) จะเกิดการเปลี่ยนแปลงบางประการตามที่ Withers and King (1980) อ้างโดย Dodds and Roberts (1995) ได้กำหนดไว้ คือ มักเป็นกลุ่มเล็ก ๆ ของเซลล์ รูปร่างของเซลล์เหมือนเดิม มีนิวเคลียสและไซโทพลาสซึมเด่นชัด มีเม็ดแป้ง และผนังเซลล์บาง มีอัตราการเติบโตรวดเร็ว ภายในเวลา 24-72 ชั่วโมง มักสูญเสียศักยภาพในการเกิดต้น ไม่ต้องการสารควบคุมการเจริญณติบโตในอาหาร ปกติจะมีการเพิ่มชุดโครโมโซม อย่างไรก็ตาม เซลล์แขวนลอยของพืชต่างชนิดอาจมีความแปรปรวนในลักษณะดังกล่าว การเลี้ยงโซมาติกเอ็มบริโอในอาหารเหลวก็เป็นเซลล์แขวนลอยอย่างหนึ่ง ซึ่งไม่เหมือนกับเซลล์แขวนลอยของพืชชนิดอื่น เช่น ข้าวโพดหรือแครอท การนำแคลลัสมาเลี้ยงในอาหารเหลว และวางภาชนะบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็วรอบ 100-200 รอบต่อนาที เพื่อให้เซลล์ได้รับอากาศ จะทำให้เนื้อเยื่อแยกตัวออกเป็นกลุ่มเซลล์ขนาดเล็ก พืชบางชนิดให้แคลลัสที่เกาะกันหลวม ๆ (friable) จะให้เซลล์แขวนลอยที่ดี เพราะเซลล์มักจะแยกอิสระหรือเป็นกลุ่มเซลล์ขนาดเล็ก แต่อาจจะสูญเสียความสามารถพัฒนาเป็นต้นพืช การทำเซลล์แขวนลอยไม่มีหลักเกณฑ์จำเพาะ ถ้าหากไม่มีข้อมูลมาก่อนว่าพืชชนิดใดจะใช้เลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเซลล์แขวนลอยได้ดี การลองทำคือวิธีที่ดีที่สุด แม้แต่พืชชนิดเดียวกัน แต่ต่างพันธุ์ก็ให้ลักษณะของเซลล์แขวนลอยต่างกัน

ปริมาณของแคลลัสที่ใช้เริ่มต้นควรมีมากพอ เช่น ประมาณ 2-3 กรัมต่ออาหารเหลว 100 มิลลิลิตร การเปลี่ยนอาหารใหม่ก็ต้องทำเมื่อเซลล์เติบโตถึงระยะ deceleration หรือ stationary phase ช่วงเวลาดังกล่าวนี้ ก็ต่างกันตามชนิดของพืช ปกติจะอยู่ระหว่าง 1-2 สัปดาห์ การเลี้ยงเซลล์แขวนลอยต้องวางภาชนะบนเครื่องเขย่าตลอดเวลา เพื่อให้เซลล์ได้รับอากาศความเร็วของการเขย่าอยู่ระหว่าง 100-200 รอบต่อนาที ปริมาตรของอาหารเหลวต้องสัมพันธ์กับขนาดของภาชนะ ซึ่งตามปกติจะให้มีอาหารประมาณร้อยละ 20 ของปริมาตรภาชนะ

ชนิดของพืช ชนิดของชิ้นส่วน หรือชนิดของอาหารจะให้กำเนิดของชนิดของเนื้อเยื่อต่างกัน เนื้อเยื่อที่เป็นแคลลัสมี 2 ลักษณะ ที่แตกต่างกันอย่างเด่นชัด คือแคลลัสที่แข็งและชนิดอ่อน การที่แคลลัสเป็นแบบอ่อนเนื่องจากแต่ละเอ็มบริโอเจนิคจะเกิดเดี่ยว ๆ แยกอิสระกันยื่นยาวขึ้นจากส่วนที่เป็นฐานเพื่อรักษาคุณสมบัตินี้ไว้ จำเป็นต้องทำการคัดเลือกทุกครั้งที่ทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ (subculture)

การเลี้ยงเซลล์แขวนลอยไปสักระยะหนึ่ง จะเป็นกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น ดังนั้นจะต้องคอยคัดเลือกไว้เฉพาะพวกที่เป็นกลุ่มเซลล์เล็ก ๆ โดยการกรองด้วยตาข่าย เนื่องจากเซลล์ขนาดใหญ่จะมีช่องว่างภายในเซลล์ (vacuole) ใหญ่ และเจริญเติบโตไม่ดี ควรตรวจสอบอัตราการเกิดต้นของตัวอย่างเป็นระยะโดยเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดเป็นต้น ถ้าไม่ดีก็ต้องคัดทิ้ง เพื่อไม่ให้เสียเวลาต่อไป จำนวนประชากรเซลล์ที่ย้ายใหม่ต้องเหมาะสม จึงจะทำให้เจริญเติบโตได้ดี มีพืชหลายชนิดที่ให้แคลลัสชนิดอ่อน สามารถนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวและสามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นได้ เช่น ข้าว อ้อย และมันสำปะหลัง เป็นต้น (Schöpke *et al*., 1996)

2.6 ความผันแปรทางพันธุกรรมของเซลล์

การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีลักษณะตามต้องการนับเป็นทางเลือกหนึ่งโดยใช้ประโยชน์จากความแปรปรวนที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในสภาพเพาะเลี้ยงในอาหารลักษณะอื่น ๆ ที่อาจทำได้ เช่น ทนทานความร้อน ความหนาว ความแห้งแล้ง ทนต่อสภาพน้ำขัง เป็นต้น จากการที่เกิดความผันแปรในเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหาร จึงมีการใช้ประโยชน์นี้ในการคัดเลือกสายพันธุ์กลายจากเซลล์จำนวนมาก ข้อดีคือสามารถทำได้ตลอดเวลา ใช้พื้นที่น้อยมีเซลล์ให้คัดเลือกมาก สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมได้ดี และสามารถทำการศึกษาได้ถึงระดับเซลล์ แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือ ลักษณะที่ได้ในสายพันธุ์หรือแคลลัส อาจไม่สามารถแสดงออกในต้นพืชที่ได้ นอกจากนี้อาจเกิดปัญหาในการชักนำให้สายพันธุ์ที่คัดเลือกได้เกิดเป็นต้น แต่ถึงอย่างไรการคัดลือกสายพันธุ์กลายโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก็ได้รับผลสำเร็จหลายประการ เช่น การคัดเลือกเพื่อทนต่อสภาพแวดล้อม การคัดเลือกเนื้อเยื่อให้มีปริมาณโพรลีนมาก นอกจากเป็นการเพิ่มโพรลีนแล้ว ยังมีผลการทดลองยืนยันว่าพืชนั้น ทนต่อสภาพแวดล้อม เช่น ทนเค็ม ทนอุณหภูมิร้อนและเย็นได้ด้วย (อารีย์, 2541)

2.6.1 การชักนำให้เกิดการกลายในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การชักนำให้เกิดการผันแปรทางพันธุกรรมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำได้โดยนำเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่จะนำมาเพาะเลี้ยงไปกระตุ้นด้วยสารก่อการกลาย เช่น สารเคมี และรังสี โดยรังสีเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการกลายที่มีประสิทธิภาพมาก เพราะทำให้อะตอมและโมเลกุลที่ได้รับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รังสีแตกตัวได้ ในพืชชั้นสูงจะได้รับอิทธิพลจากรังสีเหล่านี้มากน้อยเพียงใด ขึ้นอยู่กับชนิดของรังสี และปริมาณของรังสีที่พืชได้รับ และยังขึ้นอยู่กับสภาวะของพืชและเนื้อเยื่อของพืชอีกด้วย ถ้าเซลล์พืชที่กำลังแบ่งเซลล์หรือเนื้อเยื่อกำลังเจริญจะได้รับผลมาก นอกจากนี้สภาวะแวดล้อมต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ ออกซิเจน และแสงก็มีส่วนร่วมในการเปลี่ยนสภาพที่เกิดขึ้นด้วยเช่นกัน (ศิวพงศ์, 2546)

2.6.2 การกลายพันธุ์

การกลายพันธุ์ เป็นลักษณะของสิ่งมีชีวิตที่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น อันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรม ซึ่งสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นถัดไปได้ การกลายพันธุ์ช่วยทำให้เกิดความผันแปรในพืช จึงช่วยให้คัดเลือกพืชให้ได้ลักษณะตามที่ต้องการ การกลายพันธุ์สามารถชักนำให้เกิดขึ้นได้โดยการใช้ตัวนำให้เกิดการกลาย เช่น การใช้รังสีแบบต่าง ๆ ได้แก่ รังสีอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet; UV) รังสีนี้มีความยาวช่วงคลื่นสั้น เป็นช่วงแสงที่สามารถมองเห็นเป็นสีม่วง มีอำนาจะลุทะลวงต่ำและทำให้กรดนิวคลีอิกแตกตัว รังสีเอ็กซ์ (x-ray) นิยมนำมาใช้เพราะสามารถก่อให้เกิดการแตกตัวของไอออนเมื่อโมเลกุลได้รับการฉายรังสี รังสีเอ็กซ์เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ไม่มีแสง ส่วนรังสีแกมมา (gamma rays) เป็นรังสีที่มีความถี่สูงมาก ประกอบด้วยโฟตอนพลังงานสูงหลายตัว มีการแผ่รังสีแบบ ionization ซึ่งเป็นอันตรายต่อชีวภาพ รังสีแกมมาถือเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีพลังงานสูงที่สุดในบรรดาคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า การบอกปริมาณรังสีจะบอกในหน่วยของปริมาณรังสีที่ได้รับ (absorbed dose) หน่วยเป็น แรด (rad) หน่วยที่ใหญ่ขึ้นไปได้แก่ หน่วยเกรย์ (gray) หน่วยที่ใหญ่ที่สุดคือ กิโลแรด (kilorad) โดยกำหนดให้สิ่งใดที่ถูกรังสีแล้วรังสีนั้นถ่ายเทพลังงานให้ 100 เอิร์กต่อกรัม ของสิ่งนั้นถือว่าได้รับรังสี 1 แรด ส่วนเกรย์มีค่าเท่ากับ 100 แรด สำหรับกิโลแรดมีค่า 1,000 แรด หรือ 10 เกรย์ (สมพร, 2552)

2.6.3 การกำหนดปริมาณรังสีที่ใช้

พืชแต่ละชนิดมีความไวหรือต้านทานต่อรังสีขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ลักษณะการต้านทานหรือไวต่อรังสีส่วนหนึ่งควบคุมโดยยีน สามารถถ่ายถอดทางพันธุกรรมได้ การพิจารณาใช้รังสีในปริมาณเท่าใดจึงจะเหมาะสม วิธีการคือ นำเมล็ดพืชมาฉายรังสีในปริมาณต่าง ๆ ตั้งแต่ปริมาณต่ำถึงปริมาณสูงที่ทำให้เกิดการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ เช่น ปลูกลงในกระบะเพาะชำเป็นแถว จำนวนแถวตามปริมาณรังสีที่ใช้ เมื่ออายุประมาณ 30 วัน หาร้อยละของการรอดชีวิตของต้นกล้าที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ กัน คิดเทียบเป็นร้อยละของชุดควบคุม (ชุดที่ไม่ได้ฉายรังสี) ปรับให้จำนวนต้นที่อยู่รอดของชุดควบคุมเป็นร้อยละ 100 หาความสัมพันธ์ของปริมาณรังสีกับร้อยละของการรอดชีวิตของต้นกล้า โดยให้ปริมาณรังสีอยู่บนแกน x ร้อยละการรอดชีวิตอยู่บนแกน y จากจุดการรอดชีวิตร้อยละ 50 ของแกน y ลากเส้นออกมาตัดกับร้อยละของการรอดชีวิต และลากลงมาตัดค่าปริมาณรังสีในแกน x ณ จุดตัดบนแกน x เป็นปริมาณรังสีที่ทำให้พืชอยู่รอดร้อยละ 50 หรือตายร้อยละ 50 เรียกปริมาณรังสีนี้ว่า ค่า LD_{50} (สิรินุช, 2540)

2.7 ความแล้ง

ตุลาพร และวัฒนา (2549) ได้ให้ความหมายของความแล้งเป็นภัยธรรมชาติหรือปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นในช่วงเวลาอากาศแห้งผิดปกติหรือขาดฝนส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตตลอดจนพืชผลทางการเกษตร ความรุนแรงของภัยแล้งขึ้นกับความชื้นในอากาศความชื้นในดินและระยะเวลาที่เกิดความแห้งแล้ง เนื่องจากน้ำเป็นปัจจัยที่สำคัญมากในการเพาะปลูกพืช ถ้าพืชขาดน้ำเป็นระยะเวลานานอันเนื่องมาจากขาดแคลนน้ำหรือฝนทิ้งช่วงจะทำให้พืชเกิดอาการเหี่ยวเฉาถาวรและตายได้ในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หากฝนไม่ตกต้องตามฤดูกาลเป็นระยะเวลานานและครอบคลุมพื้นที่ในบริเวณกว้างทำให้พืชไม่เจริญเติบโตตามปกติเกิดความเสียหายได้ ความแล้งเป็นปัญหาหนึ่งที่เกิดขึ้นเป็นประจำทุกปี โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนกลางของประเทศไทยเพราะเป็นบริเวณที่อิทธิพลของลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้เข้าไปไม่ถึงซึ่งหากปีใดที่ไม่มีพายุเคลื่อนผ่านเลยก็จะก่อให้เกอดความแห้งแล้งรุนแรงมากขึ้นอันเนื่องมาจากฝนทิ้งช่วงยาวนาน โดยภัยแล้งที่เกิดขึ้นทุกปีจะอยู่ระหว่างเดือนมิถุนายนต่อเนื่องจนถึงเดือนกรกฎาคมในช่วงดังกล่าวทพืชไร่ที่เพาะปลูกจะขาดน้ำได้รับความเสียหาย

2.7.1 สาเหตุของการเกิดภัยแล้ง

ปัจจัยที่ก่อให้เกิดภัยแล้งสำหรับประเทศไทยนอกจากฝนแล้วยังมีปัจจัยอื่นที่เป็นองค์ประกอบอีกหลายอย่าง เช่น ระบบการหมุนเวียนของบรรยากาศ การเปลี่ยนแปลงส่วนผสมของบรรยากาศ การเปลี่ยนแปลงความสัมพันธ์ระหว่างบรรยากาศกับน้ำทะเลหรือมหาสมุทร ดังนั้นการเกิดภัยแล้งจึงมิใช่เกิดจากสาเหตุใดสาเหตุหนึ่งเพียงอย่างเดียวซึ่งพอจะประมวลสาเหตุของการเกิดภัยแล้งได้ดังนี้

1) เนื่องจากสภาวะอากาศในฤดูร้อนที่ร้อนมากกว่าปกติ

2) เนื่องจากการพัดพาของลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้

3) ความผิดปกติของตำแหน่งร่องมรสุมทำให้ฝนตกในพื้นที่ไม่ต่อเนื่อง

4) ความผิดปกติเนื่องจากพายุหมุนเขตร้อนเคลื่อนที่ผ่านประเทศไทยน้อยกว่าปกติ

5) การเปลี่ยนแปลงความสมดุลของพลังงานที่ได้รับจากดวงอาทิตย์

6) ผลกระทบจากปรากฏการณ์ภาวะเรือนกระจกเนื่องจากส่วนผสมของบรรยากาศ เช่นคาร์บอนไดออกไซด์ ไอน้ำ ลอยขึ้นไปเคลือบชั้นล่างของชั้นโอโซนทำให้ความร้อนสะสมอยู่ใกล้ผิวโลกมากขึ้นทำให้อากาศร้อนกว่าปกติ

7) การพัฒนาด้านอุตสาหกรรมต่าง ๆ

8) การตัดไม้ทำลายป่าทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมอันเป็นสาเหตุหนึ่งที่มีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของภูมิอากาศ เช่น ฝน อุณหภูมิและความชื้น

2.7.2 ฤดูกาลเกิดภัยแล้ง

การเกิดภัยแล้งโดยทั่วไปจะเกิดขึ้นได้ 2 ช่วงดังนี้

1) ฤดูหนาวระหว่างเดือนตุลาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์และต่อเนื่องมาถึงฤดูร้อนระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนพฤษภาคม คือ ช่วงสิ้นสุดของฤดูฝนซึ่งเริ่มจากครึ่งหลังของเดือนตุลาคมเป็นต้นไป บริเวณประเทศไทยตอนบนจะไม่มีฝนตกหรือถ้ามีก็จะมีเพียงจำนวนเล็กน้อย ส่วนมากจะเป็นฝนจากพายุฝนฟ้าคะนองจึงทำให้เกิดความแห้งแล้งขึ้นเป็นประจำทุกปี

2) ฤดูฝนระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนตุลาคมในช่วงของกลางฤดูฝนตั้งแต่ปลายเดือนมิถุนายนถึงเดือนกรกฎาคม ในบริเวณประเทศไทยตอนบนจะเกิดความแห้งแล้งเนื่องจากมีฝนทิ้งช่วงเกิดขึ้นประมาณ 1-2 สัปดาห์หรืออาจถึง 1 เดือน ปริมาณฝนในช่วงนี้จะลดลงมีผลกระทบต่อการเกษตรมากทำให้พืชขาดน้ำ

2.7.3 สภาวะขาดน้ำ

สภาวะขาดน้ำ (water deficit) เป็นความเครียดซึ่งเกิดขึ้นในพืชเกือบตลอดเวลาและเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของพืชโดยสภาวะขาดน้ำอาจเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น ความแล้ง สภาพดินเค็ม หรือแม้กระทั่งอุณหภูมิต่ำ สภาพเหล่านี้ทำให้พืชไม่สามารถดูดน้ำที่อยู่ภายนอกเข้าสู่เซลล์ได้ สภาวะขาดน้ำทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรีรวิทยา กระบวนการทางชีวเคมี รวมถึงรูปแบบการแสดงออกของยีนหลายประการ (Nakashima *et al*., 1997) การเปลี่ยนแปลงบางอย่างจัดเป็นผลกระทบที่เกิดขึ้นจากสภาวะขาดน้ำ เช่น อัตราการเจริญเติบโตต่ำลง อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงต่ำลง การสังเคราะห์น้ำตาลและแป้งในพืชน้อยลง การเกิดสารประกอบออกซิเจนที่ไวต่อการทำปฏิกิริยา (reactive oxygen species, ROS) เป็นต้น ในขณะเดียวกันการเปลี่ยนแปลงบางอย่างอาจเกิดขึ้นเนื่องจากการปรับตัวของพืช เช่น การปิดปากใบของพืชเพื่อลดการคายน้ำ การสังเคราะห์ฮอร์โมน เช่น กรดแอบไซซิก (abscisic acid, ABA) เพิ่มมากขึ้นหรือแม้กระทั่งการสะสมตัวถูกละลายบางชนิด เช่น โพรลีน น้ำตาลแอลกอฮอลล์ หรือน้ำตาลในปริมาณที่สูงขึ้นเพื่อรักษาสมดุลของน้ำในเซลล์

2.8 พืชทนแล้ง

2.8.1 การทนแล้งของพืช

พืชจะอยู่ในสภาวะขาดน้ำก็ต่อเมื่ออัตราการคายน้ำของพืชมากกว่าอัตราการดูดน้ำของพืชจนทำให้ปริมาณน้ำในต้นพืชลดลงอย่างไรก็ตามพืชมีความสามารถในการปรับตัวให้ทนทานต่อสภาพแล้งได้มีกลไกการปรับตัวหลายรูปแบบจำแนกได้เป็น 4 แบบใหญ่ คือ

1) การหนีแล้ง (drought escape) เป็นความสามารถของพืชที่จะมีชีวิตอยู่จนครบวงจรชีวิต (life cycle) ก่อนที่จะพบกับสภาพแล้ง เช่น การมีอายุสั้น การออกดอกได้เร็วขึ้น การยืดระยะเวลาในการออกดอก เป็นต้น

2) การเลี่ยงแล้ง (drought avoidance) เป็นความสามารถของพืชที่จะมีชีวิตรอดอยู่ได้โดยการลดการสูญเสียน้ำภายในต้นพืชเมื่อประสบกับสภาพแล้ง เช่น การม้วนของใบ ใบมีไขเคลือบหนา ปากใบเปิดปิดได้รวดเร็วขึ้น มีระบบรากหนาแน่นและหยั่งลึก เป็นต้น

3) การทนแล้ง (drought tolerance) เป็นความสามารถของพืชที่จะมีชีวิตรอดอยู่ได้เมื่อประสบกับสภาพแล้งโดยการลดศักย์ของน้ำ (water potential) เช่น การปรับระดับของ solute ในเซลล์โดยวิธีการปรับแรงดันออสโมซิส (osmotic pressure) เพื่อทำให้เซลล์เต่ง การยืดหยุ่นของผนังเซลล์ (cell wall elasticity) การลดขนาดของเซลล์หรือลดสภาวะระดับน้ำวิกฤตที่จะทำให้พืชตาย

4) การฟื้นตัวจากแล้ง (drought recovery) เป็นความสามารถของพืชที่จะฟื้นตัวได้ใหม่หลังจากประสบกับสภาพแล้งซึ่งอาจทำให้ส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชเหี่ยวแห้งไปและเมื่อได้รับน้ำใหม่ก็สามารถฟื้นตัวแตกกิ่งแตกหน่อใหม่เจริญเติบโตต่อไปได้

2.8.2 กลไกการทนแล้งของพืช

1) พืชทนแล้งมักจะมีระบบรากที่ลึกมีระบบการคายน้ำที่พิเศษโดยจะปิดปากใบในช่วงเวลากลางวันเพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำจากการคายน้ำโดยทำการรักษาระดับน้ำไว้ในเนื้อเยื่อที่พิเศษ

2) เมื่อปากใบปิดทำให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากบรรยากาศภายนอกไม่สามารถแพร่เข้าสู่ใบทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงลดลงและการสร้างอาหารของพืชก็ต่ำลง (Liu *et al*., 2004)

3) เมื่อพืชอยู่ในสภาวะขาดน้ำความดันเต่งในพืชมีค่าต่ำลงทำให้อัตราการขยายตัวของเซลล์ลดลง

4) พืชหลายชนิดเมื่ออยู่ในสภาวะแล้งจะมีการสะสมตัวถูกละลาย เช่น โพรลีน น้ำตาลแอลกอฮอลล์น้ำตาลและอนุพันธ์ของน้ำตาล เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5) มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาลและแป้งในใบทั้งนี้เพื่อเป็นกลไกการช่วยรักษาสมดุลของน้ำทำให้ (Cabuslay *et al*., 2002) โดยปริมาณแป้งในใบที่สูงมากขึ้นมาจากสภาวะแล้งมีผลยับยั้งกระบวนการสลายตัวของแป้งเพื่อนำไปใช้งานทำให้แป้งสะสมในปริมาณที่สูงมากขึ้น (Bouaziz and Hicks, 1990)

6) พืชที่ขาดน้ำจะมีปริมาณโพรลีนสะสมในใบมากกว่าพืชปกติอาจเป็นเพราะว่าระหว่างที่พืชมีการสูญเสียน้ำออกจากเซลล์พืชจะมีการปรับค่าออสโมติกภายในเซลล์ทำให้พืชมีปริมาณการสะสมโพรลีนเพิ่มมากขึ้น (Rahman, 2008) หรือมีการเสนอว่าโพรลีนที่สะสมมากขึ้นนั้นอาจทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานและไนโตรเจนแก่พืชหลังจากที่พืชพ้นจากสภาพแห้งแล้งแล้ว (Barnett and Naylor, 1966 ; Blum and Ebercon, 1976)

2.9 ความสัมพันธ์ของสภาพแล้งกับการสะสมปริมาณโพรลีน

2.9.1 การสะสมโพรลีน

พัฒนศักดิ์ (2550) ได้ให้ความหมายของโพรลีนคือกรดอะมิโนชนิดหนึ่งถูกสร้างขึ้นจากกรดกลูตามิก (glutamate) การสังเคราะห์โพรลีนถูกควบคุมโดย เอนไซม์ pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS) ซึ่งเอนไซม์นี้จะถูกควบคุมด้วยกระบวนการ feedback inhibition เมื่อขาดน้ำพืชสูญเสีย feedback inhibition พืชจึงกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์โพรลีน (Delauney and Verma, 1993) เมื่อพืชได้รับสภาพขาดน้ำจะส่งผลให้น้ำในพืชลดลง พืชจะมีการลดศักย์ของน้ำเพื่อช่วยให้เกิดความต่างศักย์ของน้ำระหว่างดินกับพืช เมื่อน้ำในดินลดลงจนถึงจุดที่พืชดึงไปใช้ได้น้อยมาก พืชจะปิดปากใบเพื่อลดการคายน้ำ (สายัณห์, 2537) ในการรักษาศักย์ของน้ำพืชจะมีกระบวนการปรับแรงดันออสโมติกภายในเซลล์ จะมีการสะสมสารบางชนิดในรูปของสารละลาย เช่น โพรลีน กรดอินทรีย์ และน้ำตาลในไซโตพลาสซึม Chiang and Dandeker (1995) รายงานว่าภายใต้สภาพที่เซลล์ถูกทำลายหรือได้รับอันตรายมีการสะสมปริมาณโพรลีนที่สูงขึ้นซึ่งเป็นการสะสมสารประกอบไนโตรเจน (Barnett and Naylor, 1966) และคาร์บอนไว้ภายในเซลล์ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตหลังจากพ้นสภาพขาดน้ำและพบว่าโพรลีนยังมีส่วนช่วยป้องกันการถูกทำลายของเยื่อหุ้มเซลล์และรักษาไม่ให้โปรตีนเสียสภาพในระหว่างที่พืชอยู่ในสภาพแห้งแล้ง (Ain-Lhout *et al*., 2000)

2.9.2 กระบวนการสะสมโพรลีน

Boggess. *et al*. (1976) รายงานว่า กระบวนการสร้างโพรลีนเริ่มต้นจากสารกลูตาเมตโดยมีเอนไซม์ Y-gultamyl semialdehyde dehydrogenase ซึ่งเป็นเอนไซม์คู่แรกของกระบวนการปฏิกิริยาในช่วงนี้จะได้สาร gultamyl-Y-semialdehyde ต่อจากนั้น จะเกิดกระบวนการดีไฮเดรชั่น (dehydration) โดยไม่มีเอนไซม์มาเกี่ยวข้องผลของปฏิกิริยานี้จะได้ pyrroline-5-carboxylate จากนั้นก็เกิดปฏิกิริยารีดักชั่น (reduction) โดย pyroline-5-carboxylatereductase จากปฏิกิริยานี้จะได้สารโพรลีนโดยที่บางส่วนจะถูกนำไปใช้ในกระบวนการสร้างโปรตีน บางส่วนเคลื่อนย้ายเข้าสู่ท่อลำเลียงอาหาร (Hanson and Hitz, 1982)

2.9.3 กระบวนการสลายตัวสะสมโพรลีน

Boggess. *et al*. (1976) รายงานว่า การสลายตัวของโพรลีนเกิดจากกระบวนการออกซิเดชันของโพรลีน (proline oxidation) ด้วยเอนไซม์ proline oxidase ผลจากปฏิกริยานี้จะได้ pyrroline-5-carboxylate จากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาต่ออีกหนึ่งขั้นตอนโดยเอนไซม์ pyrroline-5-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

carboxylatedehydrogenase เปลี่ยนเป็นกลูตาเมต กระบวนการสลายตัวของโพรลีนจะเกิดขึ้นเมื่อพืชอยู่ในสภาพปกติ แต่ถ้าอยู่ในสภาวะขาดน้ำกระบวนการออกซิเดชั่นของโพรลีนถูกยับยั้ง

2.9.4 สาเหตุของการสะสมโพรลีน

เมื่อพืชอยู่ในสภาวะขาดน้ำมี 3 ประการ ดังนี้

1) เมื่อพืชขาดน้ำทำให้กระบวนการสร้าง gultamyl-Y-semialdehyde เกิดขึ้นได้ดีแต่มีผลยับยั้งกระบวนการเปลี่ยนกลูตาเมตไปเป็น 2-oxoglutamate จึงเป็นการส่งเสริมกระบวนการสร้าง pyrroline-5-carboxylate (P5C) เพิ่มขึ้น เมื่อพืชมีปริมาณ P5C สูงจึงทำให้พืชสร้างโพรลีนเพิ่มมากขึ้น

2) เมื่อพืชอยู่ในสภาพขาดน้ำกระบวนการออกซิเดชั่นของโพรลีนถูกยับยั้งโพรลีนถูกเปลี่ยนไปเป็นกลูตาเมตได้ช้าลง

3) สภาวะขาดน้ำทำให้กระบวนการสร้างโปรตีนช้าลงจึงเป็นสาเหตุทำให้เกิดการสะสมโพรลีนเพิ่มมากขึ้น

2.10 การชักนำให้เกิดต้นพืช

อารีย์ (2541) กล่าวว่าการชักนำเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากเนื้อเยื่อที่ผ่านขั้นตอนของแคลลัส และโซมาติกเอ็มบริโอ (somatic embryo) มีความสำคัญยิ่ง เพราะเนื้อเยื่อดังกล่าวนี้มักยากต่อการชักนำให้เกิดต้นพืช และต้นพืชคือเป้าหมายสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง ปัจจัยที่เกี่ยวข้องโดยตรงต่อกระบวนการเกิดต้นพืชนอกจากจะขึ้นกับชนิด อายุหรือชิ้นส่วนของพืชที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงแล้วยังขึ้นกับปัจจัยภายนอกอื่น ๆ อีกเช่น ชนิดของอาหาร สภาวะสิ่งแวดล้อม เช่น แสงและอุณหภูมิ เป็นต้น ส่วนเนื้อเยื่อ เช่น ตายอด ตาข้างหรือชิ้นส่วนอื่นที่ผ่านกระบวนการออร์แกโนเจเนซิส (organogenesis) มักจะชักนำให้เกิดต้นพืชได้ง่าย อาหารและองค์ประกอบที่เหมาะสมสำหรับพืชและชนิดของเนื้อเยื่อ จะมีความแตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งความเหมาะสมระหว่างอัตราส่วนของออกซินและไซโตไคนิน มีผลต่อการพัฒนาเนื้อเยื่อ ถ้ามีปริมาณไซโตไคนินมากกว่าออกซินจะกระตุ้นให้เกิดยอด ในทางกลับกันจะชักนำให้เกิดราก สารพวกไซโตไคนินมีความสำคัญต่อพืชเพื่อการเจริญเติบโตและสร้างส่วนต่าง ๆ เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในอาหาร สารกลุ่มนี้นิยมนำมาใช้เพราะมีคุณสมบัติคล้ายไคเนติน เช่น zeatin 2iP และ adenine นอกจากนี้ยังมีสารที่มีคุณสมบัติคล้ายไซโตไคนินหรือออกซิน เช่น BA thidiazuron picloram และ benomyl เป็นต้น พบว่าไซโตไคนินจำเป็นสำหรับการพัฒนาตายอดจากเนื้อเยื่อของพืชหลายชนิด โดยผ่านกระบวนการออร์แกโนเจเนซิส พืชบางชนิดต้องการไซโตไคนินค่อนข้างสูงจึงกระตุ้นให้เกิดยอด ดังนั้นบางครั้งอาจต้องใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์รุนแรง เช่น thidiazuron หรือ pyridylphenylurea ซึ่งทั้งสองชนิดเป็น urea cytokinin องค์ประกอบของอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อที่เป็นแคลลัสหรือโซมาติกเอ็มบริโอ มักจะซับซ้อนกว่าอาหารที่ใช้เลี้ยงตายอดหรือชิ้นส่วนอื่นที่ทำให้เกิดยอดโดยตรง นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงแคลลัสสามารถจะเพิ่มปริมาณได้มากและสม่ำเสมอ จึงนิยมชักนำให้เกิดแคลลัสซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์อย่างอื่นได้ด้วย การชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นยอดจะต้องใช้อาหารที่เหมาะสมกับชนิดของพืช สิ่งที่สำคัญที่สุดอย่างหนึ่งคือการใช้อัตราส่วนระหว่างออกซินและไซโตไคนินเพื่อกระตุ้นให้เกิดตายอด เนื้อเยื่อพืชส่วนใหญ่ต้องการไซโตไคนินในอัตราที่สูงกว่าออกซิน เช่น พืชตระกูลหญ้าต้องการ ออกซินปริมาณที่สูงกว่าไซโตไคนิน เมื่อเปรียบเทียบกับพืชใบกว้าง ซึ่งต้องใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราส่วนของไซโตไคนินสูงกว่าออกซิน แต่การชักนำให้เกิดแคลลัสของพืชทั่วไปมักใช้ออกซิน เช่น 2,4-D NAA และ IBA เป็นต้น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชบางชนิด จำเป็นต้องใส่ผงถ่าน (activated charcoal) จะช่วยให้อัตราเกิดต้นได้ดีขึ้น เพราะว่าช่วยดูดซับสารเคมีบางชนิด เช่น ออกซิน หรือสารฟีนอล (phenols) ที่มีในอาหาร ซึ่งจะช่วยเพิ่มอัตราการเกิดต้น เนื้อเยื่อที่อายุมากจะสูญเสียอัตราการเกิดยอดการใส่สเปอร์มีน (spermine) ลงในอาหารเลี้ยงแคลลัส มีศักยภาพที่จะเกิดยอดได้ดีเหมือนแคลลัสอายุยังน้อย (Bajaj and Rajam, 1995) การปรับสภาพของเนื้อเยื่อก่อนการชักนำให้เกิดยอด เช่น การทำแห้งก่อนที่จะนำไปเลี้ยงบนอาหารสามารถเพิ่มอัตราการเกิดต้นได้ โดยเฉพาะโซมาติกเอ็มบริโอ

2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Cao. *et al*. (1992) ชักนำให้เกิดต้นพืชจากเซลล์แขวนลอยของข้าว (*Oryza sativa* L.) เพื่อถ่ายทอดยีนต้านทาน สารปราบวัชพืช แล้วชักนำให้เกิดต้นบนอาหาร MS ดัดแปลงจาก Zhang and Wu (1988) ซึ่งมี NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร KIN ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร หลังจากเกิดต้นแล้วย้ายลงอาหารชนิดเดียวกัน ที่มีเพียง NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3-4 สัปดาห์ จากนั้นสามารถย้ายออกปลูกได้

อนุรักษ์ และนิตย์ศรี (2544) ชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่จากเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี 60 โดยชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โพรลีน 1 กรัมต่อลิตร ซีเอติน (zeatin) ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เคซีนไฮโดรไลเซท (casein hydrolysate) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ไฟทาเจล (phytagel) ความเข้มข้น 2.6 และ 5.2 กรัมต่อลิตร พบว่าในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นที่ประกอบด้วยซีเอติน ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไฟทาเจล ความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่ได้สูงสุดร้อยละ 60

อนุรักษ์ และคณะ (2549) ศึกษาการเพาะเลี้ยงข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร โพรลีน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เคซีนไฮโดรไลเซต 1 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีแสง ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์ที่ 2 และ 4 สูตรอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดของแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ยใหญ่ที่สุดในสัปดาห์ที่ 4 คือ 22.3965 ตารางมิลลิเมตร

สมฤทัย (2558) ศึกษาการชักนำเมล็ดข้าวให้เกิดแคลลัส และการชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่ในข้าวเหนียวดำสายพันธุ์ลืมผัว และข้าวเจ้าหอมพิษณุโลก 1 โดยนำเมล็ดพันธุ์ข้าวมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำเมล็ดข้าวทั้งสองสายพันธุ์ให้เกิดเป็นแคลลัสได้ดีที่สุด คืออาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับสูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ดีที่สุดของข้าวเหนียวดำสายพันธุ์ลืมผัว คืออาหารสูตร MS ที่เติม KIN ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และการชักนำให้เกิดต้นใหม่ของข้าวเจ้าหอมพิษณุโลก 1 ได้ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คืออาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

กนกวรรณ และคณะ (2559) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าที่ 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละการเกิดแคลลัสสูงสุดเท่ากับ 37.50

รัญญิการ์ (2559) ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 น้ำรู ขาวโป่ง ไคร้ และเจ้าฮ่อ เป็นเวลา 24 วัน ในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ พบว่าเซลล์แขวนลอยมีอัตราการเจริญสูงสุดในวันที่ 15-18 วัน ซึ่งอยู่ในระยะ log phase

รัญญิการ์ (2559) ได้ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 น้ำรู ขาวโป่งไคร้ และเจ้าฮ่อ โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าขนาดพื้นที่เฉลี่ยใหญ่ที่สุดเท่ากับ 391.49 305.34 181.76 และ 103.50 ลูกบาศก์มิลลิเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และทำการศึกษาสูตรอาหารที่ใช้ในการชักนำให้แคลลัสเกิดเป็นต้นใหม่ในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจล 2.6 และ 5.2 กรัมต่อลิตร พบว่าสูตรอาหารที่เติมไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร และ BAP ร่วมกับ NAA สามารถเพิ่มอัตราการเกิดให้เกิดยอดได้ดี

ภพเก้า และคณะ (2556) ทำการศึกษาการชักนำเมล็ดให้เกิดแคลลัส โดยเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวเหนียวสายพันธุ์ กข 6 บนสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในทุกสูตรอาหาร โดยสูตรอาหาร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้แคลลัสมีขนาดใหญ่ที่สุด ลักษณะแข็ง เกาะตัวกันแน่น และมีสีเหลือง จากงานวิจัยที่กล่าวข้างต้น จะพบว่าชนิดอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโตและสายพันธุ์ข้าวมีความสำคัญต่อการชักนำเมล็ดข้าวให้เกิดเป็นแคลลัสได้แตกต่างกัน

Din. *et al*. (2016) ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสและการชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่ในข้าวไร่มาเลเซียสายพันธุ์ Panderas พบว่าอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำเมล็ดข้าวให้เกิดแคลลัสสูงสุดร้อยละ 90 จากนั้นได้ทำการชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่ด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต KIN BAP และ NAA ความเข้มข้น 0.5-1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แคลลัสสามารถเกิดเป็นต้นใหม่ได้สูงสุดร้อยละ 100 ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร KIN ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และในการศึกษาครั้งนี้ยังชักนำรากได้สำเร็จในอาหารสูตร half strength MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต และย้ายต้นอ่อนใหม่นี้ไปยังกระถางที่มีดินเพื่อปรับสภาพให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อม พบว่าต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตได้ดีสามารถสร้างยอดใหม่ได้เป็นจำนวนมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Linh (2017) ศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสและการชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เคซีนไฮโดรไลเซต ความเข้มข้น 750 มิลลิกรัมต่อลิตร และโพรลีน ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ร้อยละ 73.08 ± 2.65 และแคลลัสมีน้ำหนักสดเฉลี่ย 67.5 ± 7.4 มิลลิกรัม เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร KIN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าแคลลัสมีน้ำหนักสดเฉลี่ย 938.90 ± 44.00 มิลลิกรัม และมีการเกิดจุดเขียวร้อยละ 64.17 ± 7.08 ให้จำนวนการเกิดยอดสูงสุดร้อยละ 66.25 ± 6.80 มีจำนวนการเกิดยอดต่อแคลลัสเฉลี่ย 6.12 ± 0.36 ยอด เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่ประกอบด้วย NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีค่าเฉลี่ยของจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนพืช 14.93 ± 0.97 ยอด และมีร้อยละของการเกิดราก 82.71 ± 3.03 เมื่อทำการศึกษาอิทธิพลของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าในอาหารสูตร Agricultural Research Development Agency (ARDA) ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เคซีนไฮโดรไลเซต ความเข้มข้น 750 มิลลิกรัมต่อลิตร และโพรลีน ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ให้ร้อยละการชักนำให้เกิดแคลลัส 75.63 ± 5.28 และน้ำหนักสดของแคลลัส 68.05 ± 20.04 มิลลิกรัม ในวันที่ 35 ของการเปลี่ยนย้ายอาหาร ซึ่งอาหารที่ใช้มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ KIN ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ดัชนีการเติบโตของแคลลัสสูงสุด 11.73 เท่า ร้อยละของการเกิดจุดเขียวสูงสุด 72.34 ± 8.75 ร้อยละของการเกิดเป็นต้นใหม่ 67.25 ± 6.14 ต้น และจำนวนเฉลี่ยของต้นต่อแคลลัส 6.63 ± 0.47 ต้น

Wani. *et al*. (2010) คัดเลือกแคลลัสทนแล้งโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในข้าวสายพันธุ์ PAU 201 และ PR 116 พบว่าข้าวทั้งสองสายพันธุ์มีความสามารถในการชักนำให้เกิดแคลลัสและการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ลดลง ภายใต้สภาวะความเครียดของสาร PEG การชักนำให้เกิดแคลลัสสามารถทำได้ในอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร KIN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โพรลีน ความเข้มข้น 560 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร และวุ้น ความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้เอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสามารถเกิดเป็นต้นใหม่ได้ในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร KIN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และวุ้น 8 กรัมต่อลิตร เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของสาร PEG ร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 2.0 จะทำให้เกิดสภาวะแล้งภายในหลอดทดลอง ซึ่งมีผลทำให้ความสามารถในการเกิดแคลลัสและการเกิดเป็นต้นใหม่ลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของสาร PEG เพิ่มขึ้น ในข้าวสายพันธุ์ PR 116 มีความทนทานต่อสภาวะแล้งได้เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวสายพันธุ์ PAU 201

กมลชนก และคณะ (2558) ศึกษาความสามารถในการทนแล้งของข้าวสายพันธุ์เล็บนกปัตตานีภายใต้ความเครียดจากสภาวะแล้ง โดยปลูกต้นกล้าข้าวอายุ 30 วัน ในสารละลายธาตุอาหาร Woody Plant ที่มีสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เก็บตัวอย่างพืชทุก 5 วัน เป็นเวลา 25 วัน พบว่าข้าวสายพันธุ์เล็บนกปัตตานีสามารถทนต่อความเครียดจากสภาวะแล้งได้สูงสุดที่ความเข้มข้นของสาร PEG ร้อยละ 15 และสามารถเจริญเติบโตภายใต้สภาวะแล้งได้เป็นระยะเวลา 25 วัน โดยมีการปรับตัวทางสรีรวิทยาด้วยการสะสมปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพรลีนในส่วนของต้นและรากสูงขึ้น และมีการยืดยาวของรากมากกว่าต้นข้าวที่เจริญเติบโตภายใต้สภาวะปกติ ในขณะที่การสะสมปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี และปริมาณคลอโรฟิลล์รวมในเนื้อเยื่อใบลดลง ซึ่งส่งผลให้กระบวนการสังเคราะห์แสงและการเจริญเติบโตลดลง

Kadhimi. *et al*. (2016) ศึกษาความสามารถในการทนแล้งของข้าวสายพันธุ์ MR269 โดยนำเมล็ดข้าวมาฉายรังสีแกมมา 350 เกรย์ จากนั้นเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร half-strength standard MS ที่เติมสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 10 และ 20 โดยมวลต่อปริมาตร พบว่าเมล็ดที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมามีค่าเฉลี่ยความยาวยอดและน้ำหนักสดของต้นกล้าข้าวสูงสุด ตรงข้ามกับเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีมีค่าความยาวรากและความเข้มข้นของโพรลีนสูงสุด ซึ่งสรุปได้ว่าข้าวสายพันธุ์ MR269 สามารถทนสภาวะแล้งได้ที่ PEG ความเข้มข้นร้อยละ 20 เพราะให้ความยาวราก น้ำหนักแห้ง ปริมาณคลอโรฟิลล์ โพรลีนและคาร์โบไฮเดรตสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสี

Sari. *et al*. (2013) ศึกษาปริมาณการตายร้อยละ 20 (LD_{20}) และร้อยละ 50 (LD_{50}) ของแคลลัสข้าวสาลีที่ผ่านการฉายรังสี ปริมาณรังสีที่ใช้ 0 7.5 15 22.5 และ 30 เกรย์ พบว่าปริมาณรังสีมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแคลลัส และร้อยละของการรอดชีวิตของยอดลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณรังสี 30 เกรย์ ซึ่งมีการตายเพิ่มขึ้น และมีร้อยละของการรอดชีวิตของยอดสูงสุดที่ปริมาณรังสี 15 เกรย์ และมีการเจริญเติบโตของแคลลัสสูงสุดที่ 7.5 เกรย์ และมีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากขึ้นในแคลลัสของข้าวสาลีที่ผ่านการฉายรังสีในช่วง LD_{20} และ LD_{50} ที่ปริมาณรังสี 15-22.5 เกรย์

Kumar. *et al*. (2013) ศึกษาอิทธิพลของรังสีแกมมาที่มีต่อข้าว 9 สายพันธุ์ ดังนี้ BPT 5204 JGL 384 Surekha Vijetha JGL 1798 NLR 34449 Swarna MTU 1010 และ WGL 20471 โดยนำเมล็ดข้าวไปฉายรังแกมมาที่ 0.20-2 กิโลเกรย์ ผลการศึกษาพบว่าปริมาณรังสีแกมมาที่เพิ่มขึ้นมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการงอกในช่วงเจ็ดวันแรก เมื่อเพิ่มปริมาณรังสีที่สูงกว่า 0.8 กิโลเกรย์ ร้อยละของการงอกเมล็ดที่ฉายรังสีลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพิ่มปริมาณรังสีแกมมาจาก 0.2-0.6 กิโลเกรย์ จะส่งผลต่อร้อยละการงอกเล็กน้อยหรือไม่มีเลย เนื่องจากไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญต่อร้อยละของการงอกเมล็ดที่ฉายรังสีและไม่ผ่านการฉายรังสี เมื่อหาค่า LD_{50} จากการวิเคราะห์การถดถอย (Polynomial โดยใช้โปรแกรม Origin Pro 8) ตามร้อยละของการงอกอยู่ในช่วง 0.89 กิโลเกรย์ (JGL 1798) ถึง 1.88 กิโลเกรย์ (Vijetha) ข้าวสายพันธุ์ JGL 1798 และ BPT 5204 มีความไวต่อรังสีแกมมาสูงสุดในขณะที่ข้าวสายพันธุ์ Vijetha และ Surekha ค่อนข้างทนได้ ส่วนข้าวสายพันธุ์ MTU 1010 (1.66 กิโลเกรย์) Erramallelu (1.57 กิโลเกรย์) Swarna (1.56 กิโลเกรย์) JGL 384 (1.38 กิโลเกรย์) และ NLR 34449 (1.32 กิโลเกรย์) สามารถทนอยู่ได้ในระดับปานกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่าง สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 เมล็ดข้าวที่ใช้ในการศึกษา

3.1.1.1 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

3.1.1.2 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ

3.1.1.3 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่

3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS)

3.1.2.2 อาหารสังเคราะห์สูตร Modified Chu/Gamborg Basal Medium (NB)

3.1.2.3 โพรลีน (proline)

3.1.2.4 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D)

3.1.2.5 1-Naphthalene acetic acid (NAA)

3.1.2.6 6-Benzylaminopurine (BAP)

3.1.2.7 Polyethylene glycol มวลโมเลกุล 6000 (PEG 6000)

3.1.2.8 Thidiazuron (TDZ)

3.1.2.9 Indole-3-butyric acid (IBA)

3.1.2.10 ไคเนติน (Kinetin; KIN)

3.1.2.11 6-Benzylaminopurine (BAP)

3.1.2.12 เจลแลนกัม (gellangum); Phytotech

3.1.2.13 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

3.1.2.14 ไฮโดรคลอริก (HCl)

3.1.2.15 น้ำตาลซูโครส (sucrose)

3.1.2.16 โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (sodium hypochlorite)

3.1.2.17 น้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (double distilled water)

3.1.2.18 แอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70 และ 95 (70% and 90% alcohol)

3.1.2.19 Dimethyl sulfoxide (DMSO)

3.1.2.20 Sulfosalicylic acid ($C_7H_6O_6S$)

3.1.2.21 กรดแกลเซียลแอซีติก (glacial acetic acid)

3.1.2.22 นินไฮดริน (ninhydrin)

3.1.2.23 โทลูอีน (toluene)

3.1.3 อุปกรณ์ และเครื่องมือต่าง ๆ

3.1.3.1 เครื่องชั่ง (balance)

3.1.3.2 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3.3 หม้อนึ่งความดัน (autoclave)
3.1.3.4 เตาอบไมโครเวฟ (microwave)
3.1.3.5 เครื่องเขย่า (shaker)
3.1.3.6 เครื่องฉายรังสีแกมมา (รุ่น Mark I Cesium-137)
3.1.3.7 เครื่องวัดเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ (vernier calipers)
3.1.3.8 กระบอกตวง (graduate)
3.1.3.9 กรวยกรอง (funnel)
3.1.3.10 จานแก้ว (petri dish)
3.1.3.11 ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture bottle)
3.1.3.12 ช้อนตักสาร (spatula)
3.1.3.13 แท่งแก้วคนสาร (stirring rod)
3.1.3.14 อลูมิเนียมฟอยด์ (aluminium foil)
3.1.3.15 ไมโครปิเปต (micropipette)
3.1.3.16 ไมโครปิเปตทิป (micropipette tips)
3.1.3.17 ปากคีบ (forcep)
3.1.3.18 มีดผ่าตัด (scalpel)
3.1.3.19 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (burner)
3.1.3.20 ไฟแช็ค (lighter)
3.1.3.21 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
3.1.3.22 พาราฟิล์ม (parafilm)
3.1.3.23 คัตเตอร์ (cutter)
3.1.3.24 ปากกาเคมี (permanent Marker)
3.1.3.25 แผ่นยางรองตัด (cutting mat)
3.1.3.26 เทปกาว (sticky tape)
3.1.3.27 สำลีก้อน (cotton ball)
3.1.3.28 กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (stereo microscope)
3.1.3.29 ตะแกรงสแตนเลส (stainless steel mesh sieve)
3.1.3.30 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 (filter paper no.1 Whatman)
3.1.3.31 กระดาษกรองใยแก้ว GF/C (glass microfibre filter paper grade 50c)

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

3.2.1 การฟอกฆ่าเชื้อและการชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสจากเอ็มบริโอของเมล็ดข้าว

นำเมล็ดข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ทับทิมชุมแพ และไรซ์เบอร์รี่ที่สมบูรณ์มาแกะเปลือกออกล้างด้วยน้ำสะอาดเพื่อกำจัดฝุ่นผง นำเมล็ดที่ล้างสะอาดแล้วแช่ในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยปริมาตร เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดข้าวด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยปริมาตร เขย่าต่อเนื่องด้วยเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 230 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว โดยนำไปเขย่าด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องเขย่ารอบละ 10 นาที ทำซ้ำจนครบ 3 รอบ แล้วนำเมล็ดข้าวมาผึ่งให้แห้งบนกระดาษฆ่าเชื้อ จากนั้นชักนำเมล็ดข้าวให้เกิดเป็นแคลลัสโดยการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวบนจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหารแข็งสูตร NB และอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร ทำการศึกษาทั้งหมด 5 สูตร สูตรละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 เมล็ด อาหารทุกสูตรปรับค่าความเป็นกรดด่าง (pH) 5.6-5.8 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะไม่มีแสง ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 และ 6 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลองด้วยการบันทึกภาพผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัสข้าวที่เกิดขึ้น ทำการนับจำนวนเมล็ดข้าวที่งอกทั้งหมด จำนวนเมล็ดข้าวที่เกิดแคลลัส จำนวนแคลลัสที่มีกลุ่มเซลล์เกาะกันแน่น จำนวนแคลลัสที่มีกลุ่มเซลล์เกาะกันอย่างหลวม ๆ เพื่อคำนวณหาร้อยละการงอกของเมล็ดข้าว (3.1) การเกิดแคลลัส (3.2) การเกิด compact callus (3.3) การเกิด friable callus (3.4) และทำการวัดน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัส (3.5) โดยสามารถคำนวณได้ ดังนี้

$$\text{ร้อยละการงอกของเมล็ดข้าว} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดข้าวที่งอกทั้งหมด}}{\text{จำนวนเมล็ดข้าวที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.1)$$

$$\text{ร้อยละการเกิดแคลลัส} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดข้าวที่เกิดแคลลัสทั้งหมด}}{\text{จำนวนเมล็ดข้าวที่งอกทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.2)$$

$$\text{ร้อยละการเกิด compact callus} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดข้าวที่เกิด compact callus}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เกิดแคลลัสทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.3)$$

$$\text{ร้อยละการเกิด friable callus} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดข้าวที่เกิด friable callus}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เกิดแคลลัสทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.4)$$

$$\text{น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัส} = \frac{\text{ค่าน้ำหนักสดของแคลลัสทั้งหมด}}{\text{จำนวนแคลลัสทั้งหมด}} \quad (3.5)$$

3.2.2 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัสและระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย

นำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพและสังข์หยดพัทลุงที่ได้จากการทดลองที่ 3.2.1 มาแบ่งชั่งให้มีน้ำหนักสด 0.35 กรัม แล้วใช้ช้อนโลหะกดแคลลัสให้กระจายตัวออกจากกันบนตะแกรงสแตนเลสที่มีขนาดรู 1 ตารางมิลลิเมตร จากนั้นนำแคลลัสที่กรองได้มาเพาะเลี้ยงต่อในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหารเหลวสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด โดยใช้ปริมาตรอาหารเริ่มต้น 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงต่อบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที ในสภาวะที่มีแสง ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส บันทึกผลทุก ๆ 3 วัน ในวันที่ 0 3 6 9 12 15 18 21 24 และ 27 ตามลำดับ ในแต่ละครั้งที่บันทึกผลจะทำการเก็บผลครั้งละ 3 ซ้ำ โดยกรองเซลล์แขวนลอยด้วยเครื่องสุญญากาศ ผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เป็นเวลา 1 นาที นำเซลล์แขวนลอยที่กรองได้ไปชั่งเพื่อหาน้ำหนักสด (3.6) จากนั้นนำเซลล์แขวนลอยที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาให้นำมาพักไว้ในโถดูดความชื้น แล้วนำไปชั่งเพื่อหาน้ำหนักแห้ง (3.7) โดยวิธีของอนุรักษ์ (2550) โดยค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสด (3.8) และน้ำหนักแห้ง (3.9) คำนวณได้ดังนี้

น้ำหนักสด = น้ำหนักสดที่ชั่งได้ – น้ำหนักกระดาษกรอง (3.6)

น้ำหนักแห้ง = น้ำหนักแห้งที่ชั่งได้ – น้ำหนักกระดาษกรอง (3.7)

$$\text{ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด} = \frac{\text{ผลรวมของน้ำหนักสด}}{\text{จำนวนซ้ำ}} \quad (3.8)$$

$$\text{ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้ง} = \frac{\text{ผลรวมของน้ำหนักแห้ง}}{\text{จำนวนซ้ำ}} \quad (3.9)$$

คำนวณค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) (3.10) เวลาที่เซลล์ใช้เพิ่มจำนวนจากเดิมเป็น 2 เท่า (t_d) (3.11) ประสิทธิภาพในการผลิต (Productivity) (3.12) (Godoy-Hernández and Vázquez-Flota 2006 ; Farjaminezhad *et al*., 2013) คำนวณได้ดังนี้

$$\mu = \frac{lnXt - lnX0}{t} \quad (3.10)$$

$$t_d = \frac{ln2}{\mu} \quad (3.11)$$

$$\text{Productivity} = \frac{Xmax - X0}{t} \quad (3.12)$$

$X0$ คือ ความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้น

Xt คือ ความหนาแน่นของเซลล์ ณ เวลานั้น

$Xmax$ คือ ความหนาแน่นของเซลล์สูงสุด

t คือ เวลา

3.2.3 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดในอาหารเหลว

นำของเหลวที่กรองแยกได้จากอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยในวันที่ 0 3 6 9 12 15 18 21 24 และ 27 ตามลำดับ มาหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยใช้วิธีวิเคราะห์ด้วยวิธี phenol sulfuric acid (Dubois *et al*., 1956) โดยมีน้ำกลั่นเป็นสารละลายแบลงค์ นำสารตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองแล้วเติมสารฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 98 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วตั้งส่วนผสมไว้ 10 นาที จากนั้นเขย่าแรง ๆ ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าผสมสารแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำสารตัวอย่างในแต่ละหลอดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร เทียบกับความเข้มข้นในกราฟสมการเส้นตรงของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดแสดงในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของน้ำตาลกลูโคสกับเวลา โดยค่าผลได้ของเซลล์จากสับสเทรต ($Y_{x/s}$) (3.13) สามารถคำนวณได้จากวิธีของ Antimanon (2015) ดังสมการต่อไปนี้

$$Y_{x/s} = \frac{Xmax - X0}{S0 - S} \quad (3.13)$$

$S0$ คือ ความเข้มข้นของสับเสทรต ณ เวลาเริ่มต้น

S คือ ความเข้มข้นของสับเสทรต ณ เวลาที่เซลล์มีความหนาแน่นสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4 การเหนี่ยวนำแคลลัสข้าวให้กลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา

นำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ทับทิมชุมแพ และไรซ์เบอร์รี่ ที่มีลักษณะเกาะกลุ่มกันแน่นและมีสีเหลือง อายุ 6 สัปดาห์ จากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้นที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุด มาตัดแบ่งให้มีขนาดเท่ากัน วางเรียงลงในจานแก้วที่มีอาหารแข็งสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด จำนวนจานแก้วละ 40 ชิ้น นำแคลลัสที่เตรียมได้ไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ด้วยเครื่องฉายรังสีแกมมารุ่น Mark I Cesium-137 โดยใช้ปริมาณรังสี 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ที่ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร จากนั้น นำแคลลัสที่ผ่านการฉายรังสีแล้วมาเปลี่ยนย้ายลงในอาหารแข็งใหม่ที่มีอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด เพื่อเพิ่มปริมาณแคลลัสที่ผ่านการฉายรังสี นำไปเพาะเลี้ยงต่อในสภาวะที่ไม่มีแสง ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยบันทึกภาพผลการทดลองผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ พร้อมทั้งสังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะของแคลลัสที่เกิดขึ้น จากนั้นหาค่าการรอดชีวิตร้อยละ 50 หรือ LD_{50} จากสมการเส้นตรงที่สร้างจากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัสที่ผ่านการฉายรังสีกับปริมาณรังสี เพื่อหาปริมาณรังสีที่เหมาะสมต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายสูงสุด

3.2.5 การเหนี่ยวนำเมล็ดข้าวให้กลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา

นำเมล็ดข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ทับทิมชุมแพ และไรซ์เบอร์รี่ฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ด้วยเครื่องฉายรังสีแกมมารุ่น Mark I Cesium-137 โดยใช้ปริมาณรังสี 0 20 25 30 35 และ 40 กิโลแรด จากนั้นนำมาฟอกฆ่าเชื้อตามวิธีการทดลองที่ 3.3.1 แล้วเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวต่อบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร NB ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.6-5.8 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีความเข้มแสง 2000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วบันทึกผลการทดลองโดยนับจำนวนของต้นข้าวที่เจริญเติบโต พร้อมทั้งสังเกตการเปลี่ยนแปลงของต้นข้าวที่เกิดขึ้น และหาค่า LD_{50} จากกราฟสมการเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนการรอดชีวิตของเมล็ดกับปริมาณรังสีแกมมา เพื่อหาปริมาณรังสีที่เหมาะสมต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายสูงสุด

3.2.6 ศึกษาความสามารถในการทนแล้งของแคลลัสข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาภายใต้ความเครียดของสารพอลีเอทิลีนไกลคอล 6000

นำแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร NB ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และสาร PEG 6000 ร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 และนำแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพไปฉายรังสีแกมมาโดยใช้ปริมาณรังสีที่มีแนวโน้มเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายสูงสุด แล้วเพาะเลี้ยงต่อบนอาหาร NB ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และสาร PEG 6000 ร้อยละ 0 30 40 50 60 และ 70 เพื่อสร้างสภาวะเครียดจากความแล้งอาหารทุกสูตรปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.6-5.8 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะไม่มีแสง ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส หลังการเพาะเลี้ยงแคลลัสข้าวมาวิเคราะห์หาค่าน้ำหนักสดเฉลี่ย (3.8) ความเข้มข้นของปริมาณโพรลีน และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัสข้าวที่เกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.7 ศึกษาความสามารถในการทนแล้งของเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาภายใต้ความเครียดของสารพอลีเอทิลีนไกลคอล 6000

นำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพและไรซ์เบอร์รี่ไปฉายรังสีแกมมาโดยใช้ปริมาณรังสีที่มีแนวโน้มเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายสูงสุดเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวต่อบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร NB ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และสาร PEG 6000 ร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 เพื่อสร้างสภาวะเครียดจากความแล้ง อาหารทุกสูตรปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.6-5.8 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะไม่มีแสง ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส หลังการเพาะเลี้ยงนำต้นกล้าข้าวมาวิเคราะห์หาค่าน้ำหนักสดเฉลี่ย (3.8) และน้ำหนักแห้งเฉลี่ย (3.9) ความยาวยอดเฉลี่ย (3.15) และรากเฉลี่ย (3.14) ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (3.18) และการสะสมปริมาณโพรลีน ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของข้าวที่เกิดขึ้น

$$\text{ความยาวรากเฉลี่ย} = \frac{\text{ความยาวรากทั้งหมด}}{\text{จำนวนรากทั้งหมด}} \quad (3.14)$$

$$\text{ความยาวยอดเฉลี่ย} = \frac{\text{ความยาวยอดทั้งหมด}}{\text{จำนวนยอดทั้งหมด}} \quad (3.15)$$

3.2.8 การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของใบข้าวในสภาพแล้ง

การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดจากวิธีของ Hiscox and Israelstam (1979) โดยทำการตัดใบข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพและไรซ์เบอร์รี่ให้เป็นชิ้นเล็ก หลีกเลี่ยงการใช้เนื้อเยื่อบริเวณเส้นใบและขอบใบ ชั่งให้ได้น้ำหนักรวม 100 มิลลิกรัม ทำการบดใบข้าวที่ชั่งได้ด้วยไนโตรเจนเหลวในโกร่ง จากนั้นเติมสารละลาย dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 7 มิลลิลิตร ละลายในโกร่งจากนั้นดูดสารละลายลงในหลอดทดลองแล้วทำการบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จนเนื้อเยื่อของใบข้าวเปลี่ยนเป็นสีขาวใส กรองกากออกด้วยกระดาษกรองใยแก้ว GF/C ทำการปรับปริมาตรของตัวอย่างให้ได้เป็น 10 มิลลิลิตร โดยใช้ DMSO จากนั้นหุ้มหลอดทดลองที่บรรจุสารละลายคลอโรฟิลล์ด้วยฟรอยด์ เพื่อป้องกันการสูญเสียคลอโรฟิลล์จากการโดนแสง นำสารละลายคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น (absorbance) 645 นาโนเมตร และ 663 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer และนำค่า OD ที่วัดได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (3.16) คลอโรฟิลล์ บี (3.17) และคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (3.18) ในหน่วยไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสด ได้จากสูตรของ Arnon (1949) ดังนี้

$$\text{คลอโรฟิลล์ เอ} = [12.72A_{663}\text{-}2.59A_{645}] \times V/W \quad (3.16)$$

$$\text{คลอโรฟิลล์ บี} = [22.9A_{645}\text{-}4.67A_{663}] \times V/W \quad (3.17)$$

$$\text{คลอโรฟิลล์ทั้งหมด} = [20.31A_{645}+8.05A_{663}] \times V/W \quad (3.18)$$

V คือ ปริมาตรของสารที่สกัดได้จากใบข้าว (มิลลิลิตร)
W คือ น้ำหนักสดของใบข้าว (กรัม)
A_{645} คือ ค่า OD ที่ความยาวคลื่น 645 นาโนเมตร
A_{663} คือ ค่า OD ที่ความยาวคลื่น 663 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.9 การวิเคราะห์หาปริมาณโพรลีนของข้าวในสภาพแล้ง

การวิเคราะห์หาปริมาณโพรลีนจากตัวอย่างนั้นดำเนินการวิจัยตามวิธีของ Bates. *et al.* (1973) โดยนำใบข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพและไรซ์เบอร์รี่ และแคลลัสของข้าวทับทิมชุมแพ อย่างละ 500 มิลลิกรัม โฮโมจิไนส์ให้ละเอียดด้วยสารละลาย sulfosalicylic acid ร้อยละ 3 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เพื่อสกัดโพรลีน กรองด้วยกระดาษ Whatman เบอร์ 1 นำส่วนที่กรองได้ 2 มิลลิลิตร บรรจุลงในหลอดทดลองที่เติมสารละลายกรดแกลเซียลแอซีติก 2 มิลลิลิตร และสารละลายนินไฮดริน 2 มิลลิลิตร นำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาในอ่างน้ำแข็งจากนั้นทำการเติมสารละลายโทลูอีน 4 มิลลิลิตร เขย่า 15-20 วินาที สารละลายจะเกิดการแยกตัวออกจากกัน แยกสารละลายส่วนบน (ส่วนที่เป็นน้ำ) ออกจากหลอดทดลอง ทิ้งไว้ที่อุณภูมิห้องหลังจากนั้นนำไปวัดปริมาณโพรลีนด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร โดยใช้โทลูอีนเป็นตัวอย่าง (blank) สำหรับการเปรียบเทียบความเข้มข้นของโพรลีนจากกราฟโพรลีนมาตรฐาน (รติกร, 2551 ; Kumar, 2011 ; พิมพ์ชนก และคณะ, 2559) มีหน่วยเป็นไมโครโมลต่อกรัมของน้ำหนักสด

3.2.10 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดให้เกิดรากเพื่อนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

นำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสในอาหารชักนำแคลลัสได้ดีที่สุดของสายพันธุ์ทับทิมชุมแพมาตัดแบ่งให้มีขนาดเท่ากัน แล้วนำมาชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ตามวิธีของ Din. *et al.* (2016) โดยวางแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร NB ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BAP ความเข้มข้น 0.5 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์ แล้วทำการเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 2 สัปดาห์ จากนั้นทำการบันทึกผลการทดลองด้วยการสังเกตและนับจำนวนแคลลัสที่เกิดยอด เกิดยอดจำนวนมาก และเกิดราก มาคำนวณหาร้อยละการเกิดจุดเขียว (3.19) การเกิดยอด (3.20) การเกิดราก (3.21) จำนวนจุดเขียวเฉลี่ยต่อแคลลัส (3.22) จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส (3.23) ความยาวยอดเฉลี่ย (3.15) โดยสามารถคำนวณได้ดังนี้

$$\text{ร้อยละการเกิดจุดเขียว} = \frac{\text{จำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวทั้งหมด}}{\text{จำนวนแคลลัสที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.19)$$

$$\text{ร้อยละการเกิดยอด} = \frac{\text{จำนวนแคลลัสที่เกิดยอดทั้งหมด}}{\text{จำนวนแคลลัสที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.20)$$

$$\text{ร้อยละการเกิดราก} = \frac{\text{จำนวนแคลลัสที่เกิดรากทั้งหมด}}{\text{จำนวนแคลลัสที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด}} \times 100 \quad (3.21)$$

$$\text{จำนวนจุดเขียวเฉลี่ยต่อแคลลัส} = \frac{\text{จำนวนจุดเขียวทั้งหมด}}{\text{จำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวทั้งหมด}} \quad (3.22)$$

$$\text{จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส} = \frac{\text{จำนวนยอดที่เกิดทั้งหมด}}{\text{จำนวนแคลลัสที่เกิดยอดทั้งหมด}} \quad (3.23)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.11 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากเพื่อนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

นำยอดของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ได้จากสูตรอาหารชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่ดีที่สุดมาตัดรากออกจนถึงโคนราก จากนั้นย้ายลงอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร อาหารทุกสูตรปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.6-5.8 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะมีแสง ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ สังเกตและบันทึกผลการเจริญเติบโตของราก ทำการเปรียบเทียบลักษณะรากที่เกิดจากภาพถ่าย จากนั้นนำต้นข้าวที่มีรากแข็งแรงปลูกลงดินเพื่อปรับสภาพให้เข้ากับสภาพธรรมชาติ และสังเกตการเปลี่ยนแปลงของต้นข้าวหลังการเพาะปลูกเป็นเวลา 2 สัปดาห์ บันทึกค่าพื้นที่ใบเฉลี่ย (3.24) ความยาวยอดเฉลี่ย (3.15) และความยาวรากเฉลี่ย (3.14) โดยสามารถคำนวณได้ดังนี้

$$\text{พื้นที่ใบเฉลี่ย} = \frac{\text{พื้นที่ใบทั้งหมด}}{\text{จำนวนใบทั้งหมด}} \qquad (3.24)$$

3.2.12 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

วิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่ม Completely Randomized Design (CRD) และนำข้อมูลจากทุกทรีทเมนต์มาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 23.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำเอ็มบริโอข้าวให้เกิดเป็นแคลลัส

4.1.1 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ

จากการทดลองเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดข้าวสามารถเกิดกลุ่มก้อนแคลลัสได้ (รูปที่ 4.4 ข-ฉ และ ซ-ฏ) เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่พบเพียงยอดและรากเท่านั้น (รูปที่ 4.4 ก และ ข) ลักษณะของแคลลัสที่พบนั้นมีสีเหลืองอ่อน กลุ่มเซลล์เกาะกันแน่น (compact callus) แต่ใน 2,4-D บางความเข้มข้นสามารถพบแคลลัสที่มีลักษณะเกาะตัวกันแบบหลวม ๆ (friable callus) ได้เช่นกัน ในอาหาร MS และ NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมล็ดข้าวส่วนใหญ่ถูกชักนำให้เกิดแคลลัสพร้อมกับการเกิดยอดและรากภายในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งตรงข้ามกับความเข้มข้นของ 2,4-D ที่สูงขึ้น นั่นคือพบเมล็ดที่เกิดรากน้อยลง แต่จะพบเมล็ดที่เกิดแคลลัสพร้อมกับยอดมากขึ้น เช่นเดียวกับ Jiménez (2000) กล่าวว่า ออกซินเป็นฮอร์โมนพืชที่มีผลชักนำให้เกิด somatic embryogenesis ของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวในทางอ้อมได้ โดย 2,4-D มีผลทำให้เกิดการเกาะของหมู่เมทิลของดีเอ็นเอมากขึ้น เป็นผลให้ระยะไมโทติกสูงขึ้น เซลล์จึงมีการพัฒนาเป็นแคลลัสได้สูงขึ้นเช่นกัน

เมื่อนับจำนวนการเกิดแคลลัส และคำนวณร้อยละการเกิดแคลลัส ดังตารางที่ 4.1 พบว่า ในอาหารทุกสูตรที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตจะให้จำนวนการเกิดแคลลัสได้ถึงร้อยละ 56.7 ถึง 100.0 จากตารางดังกล่าวจะเห็นได้ว่าในอาหารสูตร NB ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เมล็ดเกิดแคลลัสน้ำหนักเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 150.00 $\pm$ 11.07 มิลลิกรัม ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับทุกสูตรอาหาร และยังพบว่าลักษณะแคลลัสที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่เป็นแบบ compact ร้อยละ 88.0 ซึ่งเป็นคุณลักษณะที่ดีต่อการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ต่อไป อย่างไรก็ตาม แม้ว่าสูตรอาหาร NB ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีลักษณะแคลลัสแบบ compact มาก แต่ยังน้อยกว่าสูตรอาหาร NB ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีลักษณะการเกิดแคลลัสแบบ compact มากถึงร้อยละ 100.0 แต่เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติแล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อทำการพิจารณาอาหาร NB และ MS จะเห็นได้ว่าร้อยละการเกิดแคลลัส (รูปที่ 4.1) และค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัส (รูปที่ 4.2) ในอาหารสูตร NB มีแนวโน้มสูงกว่าในอาหาร MS ซึ่งให้ผลตรงข้ามกับร้อยละการเกิดแคลลัส (รูปที่ 4.3) แบบ compact อาจเนื่องมาจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสโดยใช้สูตรอาหาร MS มักเกิดปัญหา แคลลัสที่ได้มีคุณภาพดีแต่มีปริมาณต่ำและแคลลัสมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหลังจากทำการแบ่งย้ายเปลี่ยนอาหาร (จุฑาทิพย์ และคณะ, 2556) นอกจากนี้ Hiei and Komari (2006) กล่าวว่า อาหารและปัจจัยของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่าง ๆ เป็นปัจจัยที่สำคัญ พบว่าในระหว่างการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของข้าวโดยใช้อาหาร NB มีผลทำให้กิจกรรมของ GUS ในเซลล์ข้าวสูงมาก ซึ่งสอดคล้องกับ Rance´. *et al*. (1994) อธิบายว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

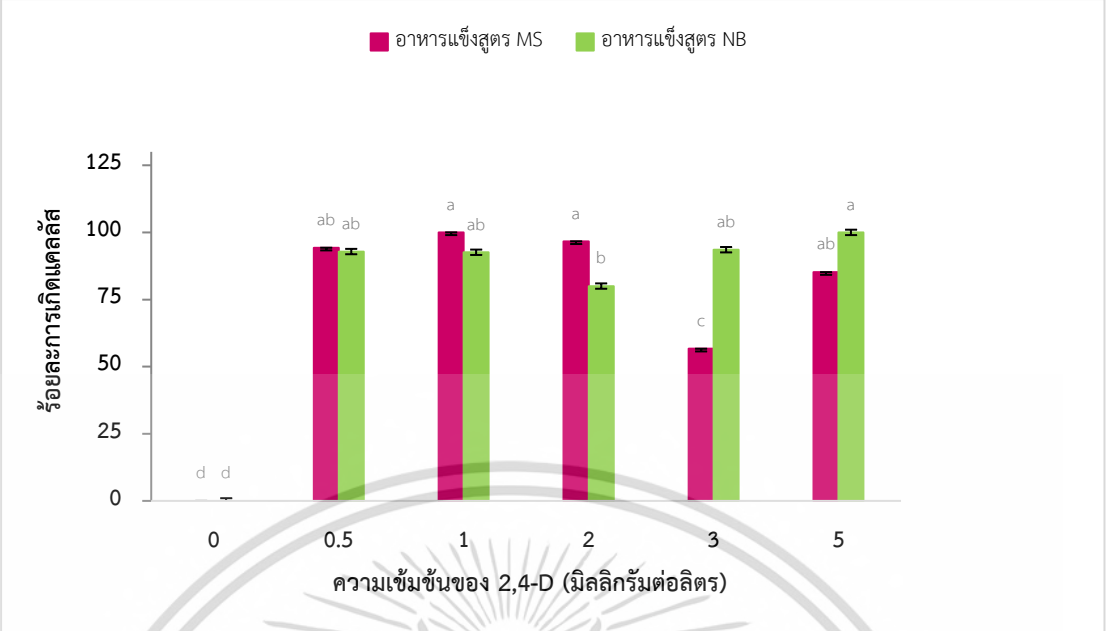
NB เป็นอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการชักนำให้แคลลัสเกิดเป็นต้นใหม่เนื่องจากอาหาร NB มีองค์ประกอบเกลืออนินทรีย์ของอาหาร N6 ไมโครอิลิเมนต์ และวิตามินของอาหาร B5 ซึ่งเหมาะสมกับข้าวโพดและข้าวมากที่สุด การใช้อาหาร NB จะทำให้กิจกรรมของ GUS ในเซลล์ข้าวสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับอาหาร MS ที่ให้ค่าลดลง เช่นเดียวกับ Rani and Reddy (1996) ได้กล่าวไว้ว่าการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น พันธุกรรมของข้าวแต่ละสายพันธุ์ สภาวะที่เพาะเลี้ยง และสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

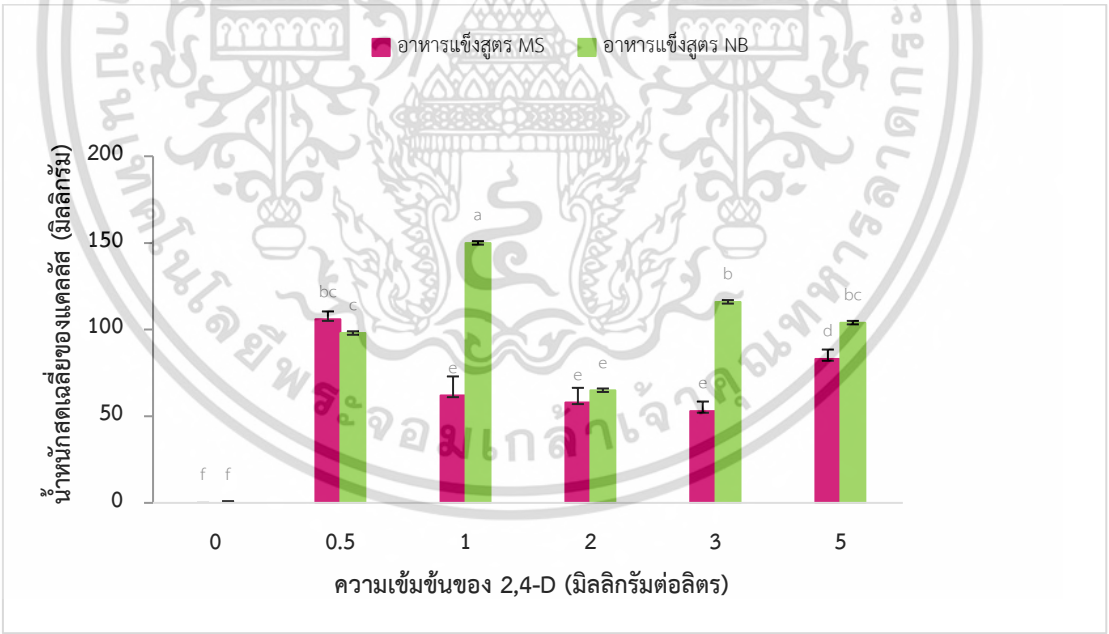
ตารางที่ 4.1 การชักนำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพให้เกิดแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนเมล็ดที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด (เมล็ด)	ร้อยละการงอกของเมล็ดข้าว	ร้อยละการเกิดแคลลัส	น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัส (มิลลิกรัม)	ร้อยละการเกิดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัส	
	NAA	2,4-D					compact	friable
MS	0.0	0.0	50	60.0^{a}	0.0^{d}	0.00 ± 0.00^{f}	0.0^{d}	0.0^{c}
	1.0	0.5	50	58.3^{a}	94.3^{ab}	106.00 ± 10.84^{bc}	100.0^{a}	0.0^{c}
	1.0	1.0	50	58.3^{a}	100.0^{a}	62.00 ± 7.58^{e}	97.1^{a}	2.9^{c}
	1.0	2.0	50	50.0^{a}	96.7^{a}	58.00 ± 4.47^{e}	65.5^{b}	34.5^{b}
	1.0	3.0	50	50.0^{a}	56.7^{c}	53.00 ± 10.37^{e}	58.8^{bc}	41.2^{ab}
	1.0	5.0	50	45.0^{a}	85.2^{ab}	83.00 ± 7.58^{d}	60.9^{bc}	39.1^{ab}
NB	0.0	0.0	50	51.7^{a}	0.0^{d}	0.00 ± 0.00^{f}	0.0^{d}	0.0^{c}
	1.0	0.5	50	46.7^{a}	92.7^{ab}	98.00 ± 10.37^{c}	100.0^{a}	0.0^{c}
	1.0	1.0	50	45.0^{a}	92.6^{ab}	150.00 ± 11.07^{a}	88.0^{a}	12.0^{c}
	1.0	2.0	50	50.0^{a}	80.0^{b}	65.00 ± 3.54^{e}	66.7^{b}	33.3^{b}
	1.0	3.0	50	51.7^{a}	93.6^{ab}	116.00 ± 13.87^{b}	41.4^{c}	58.6^{a}
	1.0	5.0	50	45.0^{a}	100.0^{a}	104.00 ± 12.94^{bc}	44.4^{c}	55.6^{a}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ระหว่างค่าเฉลี่ย (Mean) $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

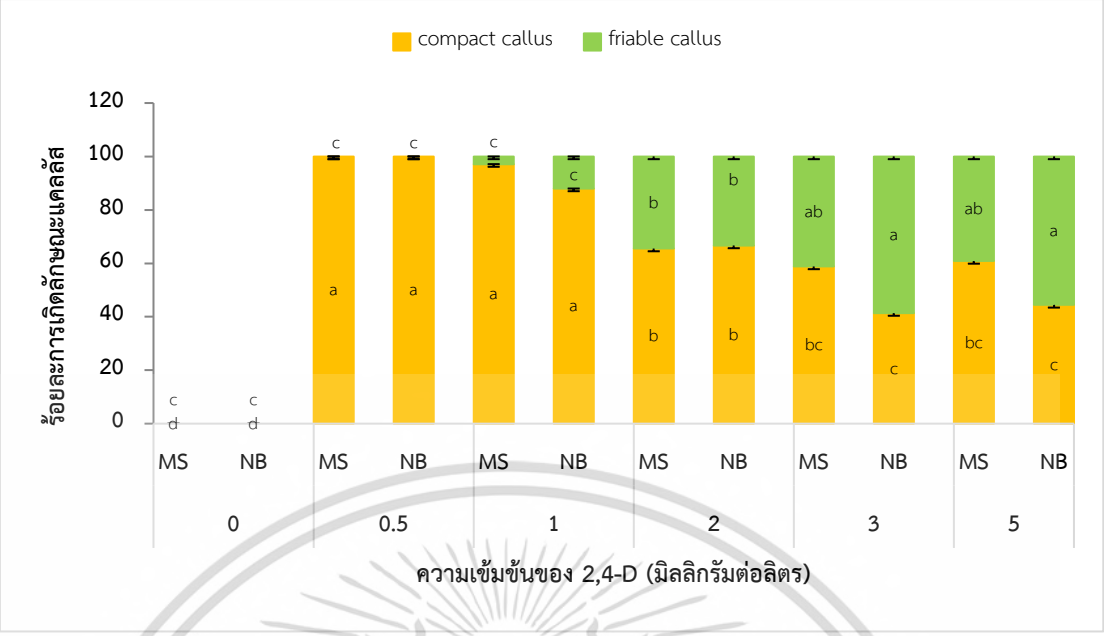


รูปที่ 4.1 ร้อยละการเกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

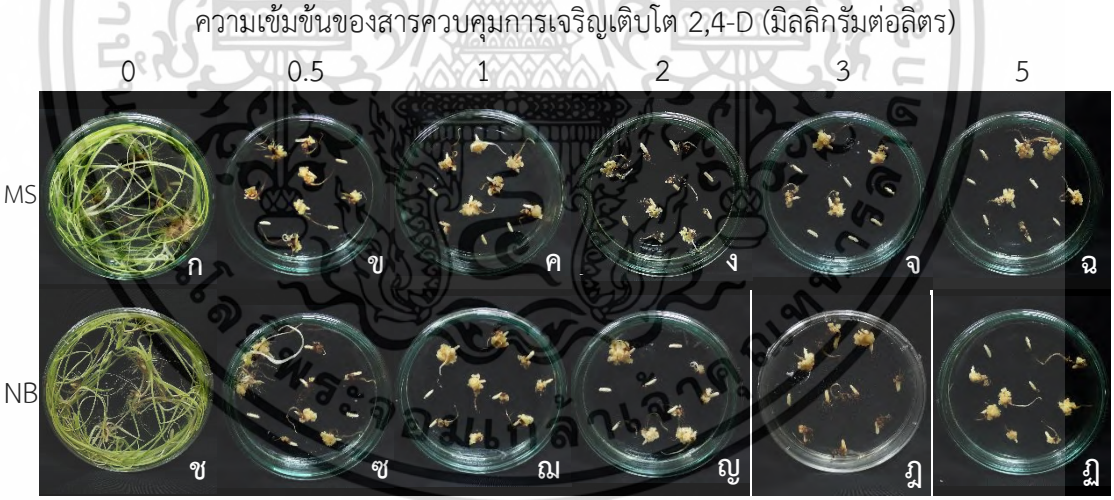


รูปที่ 4.2 น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ร้อยละการเกิดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์



รูปที่ 4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (ก-จ) และ NB (ช-ฏ) ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

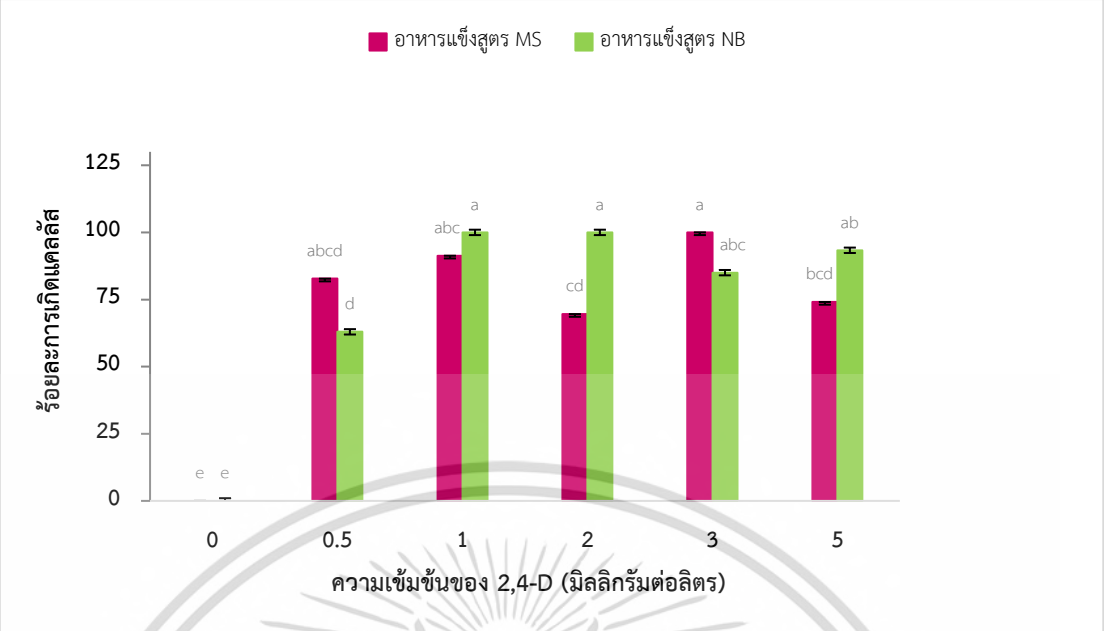
การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุง ในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าทุกระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D เริ่มมีการเจริญเติบโตเป็นก้อนแคลลัสบริเวณเอ็มบริโอของเมล็ดข้าว แต่แคลลัสที่เจริญได้นั้นมีขนาดเล็ก ทำให้ไม่สามารถวัดขนาดแคลลัสได้ จึงเพาะเลี้ยงแคลลัสต่อเป็นเวลา 6 สัปดาห์ แล้วสังเกตลักษณะของแคลลัสผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ พบว่าแคลลัสมีลักษณะแบบเกาะกลุ่มกันแน่น และมีสีเหลืองอ่อน ซึ่งลักษณะดังกล่าวสามารถพบได้ในอาหารสูตร MS (รูปที่ 4.8 ข-ฉ) และ NB (รูปที่ 4.8 ช-ฏ) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ NAA ในทุกระดับความเข้มข้น เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (รูปที่ 4.8 ก และ ช) พบว่า เมล็ดข้าวที่เพาะเลี้ยงไม่มีการเกิดแคลลัส แต่มีการเกิดรากและยอดเป็นจำนวนมาก หลังจากสังเกตลักษณะการเกิดของแคลลัสภายใต้กล้องจุลทรรศน์แล้ว จึงทำการนับจำนวนเมล็ดข้าวที่เกิดแคลลัส เพื่อนำมาคำนวณหาร้อยละของการเกิดแคลลัส ปรากฏดังตารางที่ 4.2 พบว่า ในทุกระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D มีการเกิดแคลลัสร้อยละ 62.7 ถึง 100.0 ของจำนวนเมล็ดข้าวที่งอกทั้งหมด (รูปที่ 4.5) โดยในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า มีน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสใหญ่ที่สุดเท่ากับ 91.00 $\pm$ 27.25 มิลลิกรัม ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกสูตรอาหาร (รูปที่ 4.6) แต่ถึงอย่างไรก็ตามน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสมากที่สุดแต่มีลักษณะแคลลัสแบบ compact น้อย เมื่อเทียบกับสูตรอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีน้ำหนักสดของแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 70.00 $\pm$ 23.45 มิลลิกรัม แต่พบว่ามีลักษณะแคลลัสแบบ compact ถึงร้อยละ 100.0 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกสูตรอาหาร (รูปที่ 4.7) ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jabair. *et al*. (2008) พบว่าในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ Topa ให้เกิดแคลลัสสูงสุดร้อยละ 100.0 และมีอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัสสูงสุด 0.0791 $\pm$ 0.0170 กรัมต่อสัปดาห์ ทั้งนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยบางส่วนของ Din. *et al*. (2016) ที่ได้ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเจริญเป็นพืชต้นใหม่ของข้าวไร่พันธุ์ Panderas โดยชักนำเมล็ดข้าวให้เกิดแคลลัสในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ NAA ในความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าแคลลัสมีลักษณะแบบเอ็มบริโอเจนิค เซลล์มีรูปทรงกลม เกาะกลุ่มกันแน่นและมีสีเหลือง นอกจากนี้ยังสามารถชักนำเมล็ดข้าวให้เกิดแคลลัสได้ร้อยละ 90.0 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ในอาหารแข็งที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

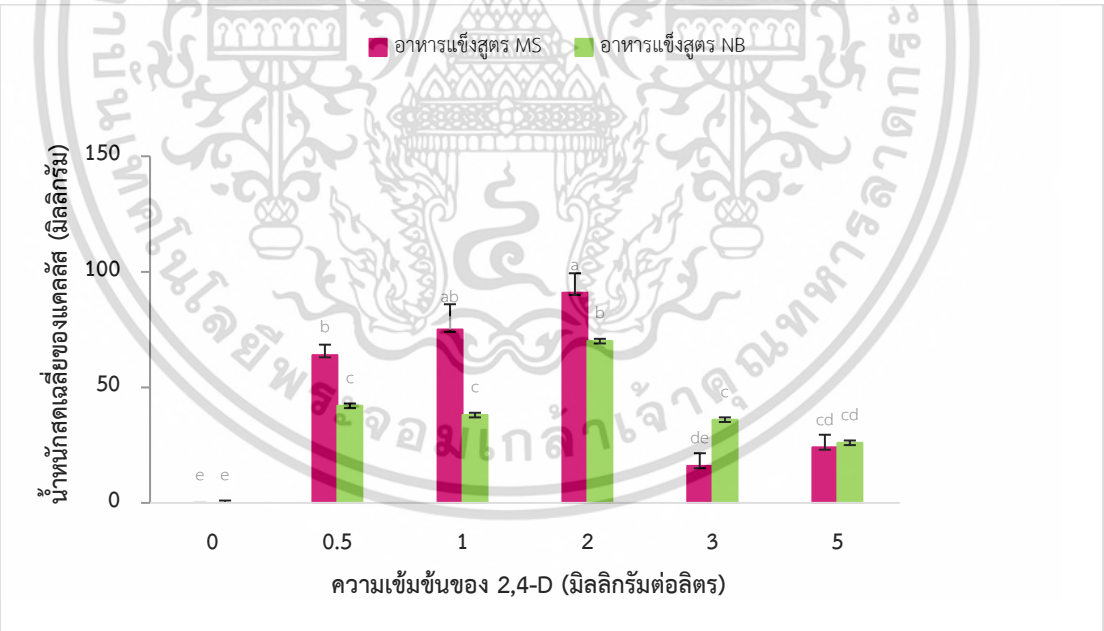
ตารางที่ 4.2 การชักนำเมล็ดข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงให้เกิดแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนเมล็ดที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด (เมล็ด)	ร้อยละการงอกของเมล็ดข้าว	ร้อยละการเกิดแคลลัส	น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัส (มิลลิกรัม)	ร้อยละการเกิดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัส	
	NAA	2,4-D					compact	friable
MS	0.0	0.0	50	62.0^{a}	0.0^{e}	0.00 ± 0.00^{e}	0.0^{d}	0.0^{d}
	1.0	0.5	50	58.0^{ab}	82.8^{abcd}	64.00 ± 11.94^{b}	70.8^{b}	29.2^{cd}
	1.0	1.0	50	46.0^{abcd}	91.3^{abc}	75.00 ± 3.54^{ab}	66.7^{bc}	33.3^{bc}
	1.0	2.0	50	46.0^{abcd}	69.6^{cd}	91.00 ± 27.25^{a}	37.5^{c}	62.5^{a}
	1.0	3.0	50	16.0^{e}	100.0^{a}	16.00 ± 4.18^{de}	62.5^{bc}	37.5^{bc}
	1.0	5.0	50	54.0^{abc}	74.1^{bcd}	24.00 ± 6.52^{cd}	55.0^{bc}	45.0^{bc}
NB	0.0	0.0	50	58.0^{ab}	0.0^{e}	0.00 ± 0.00^{e}	0.0^{d}	0.0^{d}
	1.0	0.5	50	44.0^{bcd}	62.7^{d}	42.00 ± 4.47^{c}	54.6^{bc}	45.5^{bc}
	1.0	1.0	50	36.0^{d}	100.0^{a}	38.00 ± 24.90^{c}	66.7^{bc}	33.3^{bc}
	1.0	2.0	50	54.0^{abc}	100.0^{a}	70.00 ± 23.45^{b}	100.0^{a}	0.0^{d}
	1.0	3.0	50	40.0^{cd}	85.0^{abc}	36.00 ± 5.48^{c}	35.3^{c}	64.7^{b}
	1.0	5.0	50	30.0^{de}	93.3^{ab}	26.00 ± 5.48^{cd}	7.1^{d}	92.9^{a}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ระหว่างค่าเฉลี่ย (Mean) $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

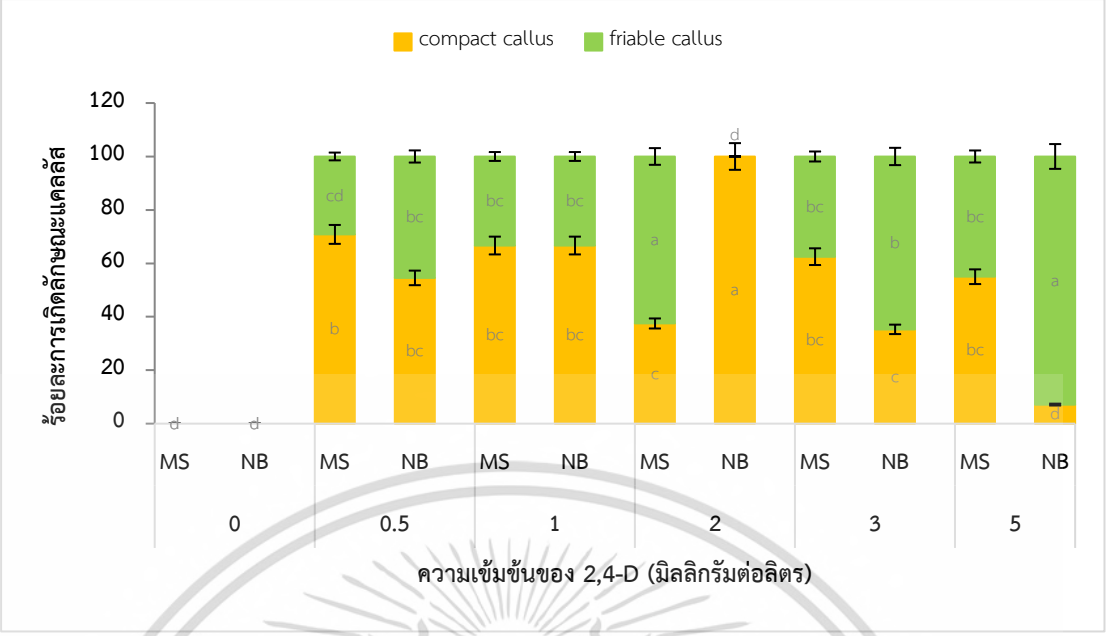


รูปที่ 4.5 ร้อยละการเกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์



รูปที่ 4.6 น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 ร้อยละการเกิดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

รูปที่ 4.8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (ก-ฉ) และ NB (ช-ฏ) ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่

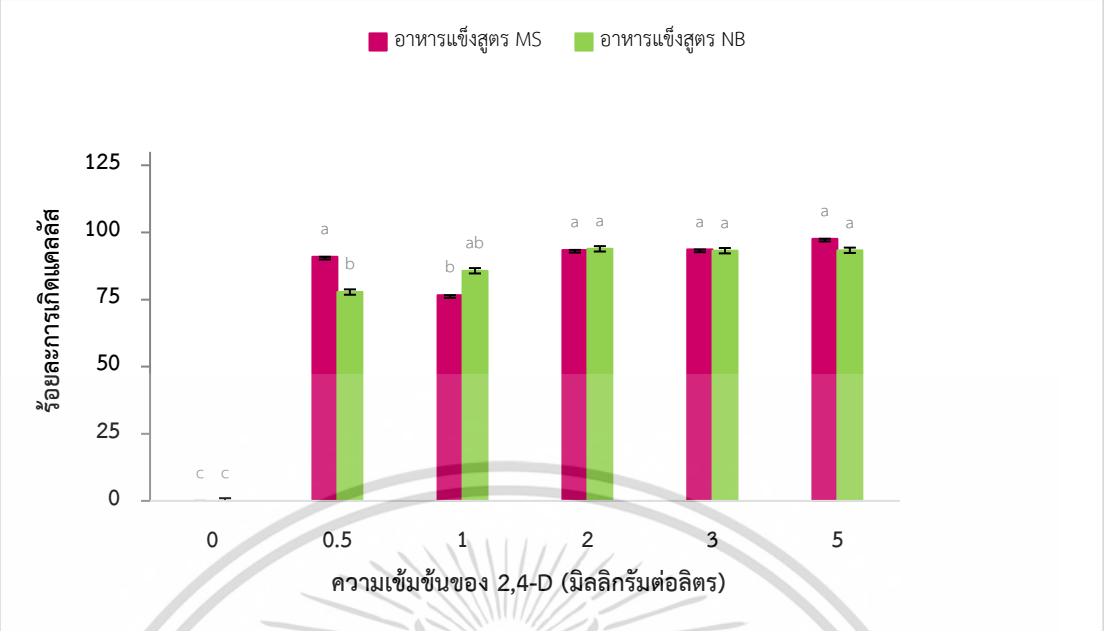
จากผลการทดลองเมื่อนำเมล็ดแก่ของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะไม่มีแสง ควบคุมอุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ สังเกตเห็นได้ว่า ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง เมล็ดข้าวบางเมล็ดมีเส้นใยสีขาวขนาดเล็กงอกออกมาตรงบริเวณจมูกข้าว ลักษณะคล้ายขนรากหรือยอด นั่นกล่าวได้ว่าเมล็ดข้าวเริ่มมีการงอก นอกจากนี้ยังสังเกตเห็นว่าในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง เมล็ดข้าวบางเมล็ดมียอดและรากยืดยาวจากเดิม ในขณะที่บางเมล็ดมีการเกิดแคลลัสขนาดเล็กตรงบริเวณจมูกข้าวร่วมด้วย แต่แคลลัสดังกล่าวยังไม่สามารถนำมาชั่งน้ำหนักได้ จึงทำการเพาะเลี้ยงต่อจนครบเวลา 4 สัปดาห์ แล้วทำการบันทึกผลการทดลอง พบว่าอาหารแข็งสูตร MS (รูปที่ 4.12 ข-ฉ) และ NB (ดังรูปที่ 4.12 ซ-ฏ) ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำเมล็ดข้าวให้เกิดแคลลัสได้ในทุกสูตรอาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารแข็งสูตร MS (รูปที่ 4.12 ก) และ NB (รูปที่ 4.12 ช) ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งเกิดเพียงลำต้น หรือลำต้นกับรากเท่านั้น โดยลักษณะของแคลลัสที่เกิดขึ้นพบว่ามีสีเหลืองอ่อน เกาะกันเป็นก้อนแข็ง และเมื่อสังเกตผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอจะพบว่าบนพื้นผิวของแคลลัสบางก้อนมีกลุ่มสารสีม่วงหรือสีเขียวกระจายกันเป็นกลุ่มเล็ก ๆ อีกด้วย จากตารางที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าร้อยละการงอกของเมล็ดข้าวในทุกสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เช่นเดียวกับค่าร้อยละการเกิดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัส (รูปที่ 4.11) ที่มีลักษณะแบบ compact สามารถเกิดได้ถึงร้อยละ 100.0 ในทุกสูตรอาหาร ซึ่งในสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ สามารถเกิดแคลลัสได้ร้อยละ 76.6 ถึง 93.9 (รูปที่ 4.9) โดยในอาหารสูตร NB ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเมล็ดข้าวสามารถถูกชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสและรากแขนงภายในเมล็ดเดียวกันได้ และแคลลัสที่ได้มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 150.00 $\pm$ 10.00 มิลลิกรัม ซึ่งมีความแตกต่างทางนัยสำคัญทางสถิติกับทุกสูตรอาหาร (รูปที่ 4.10)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

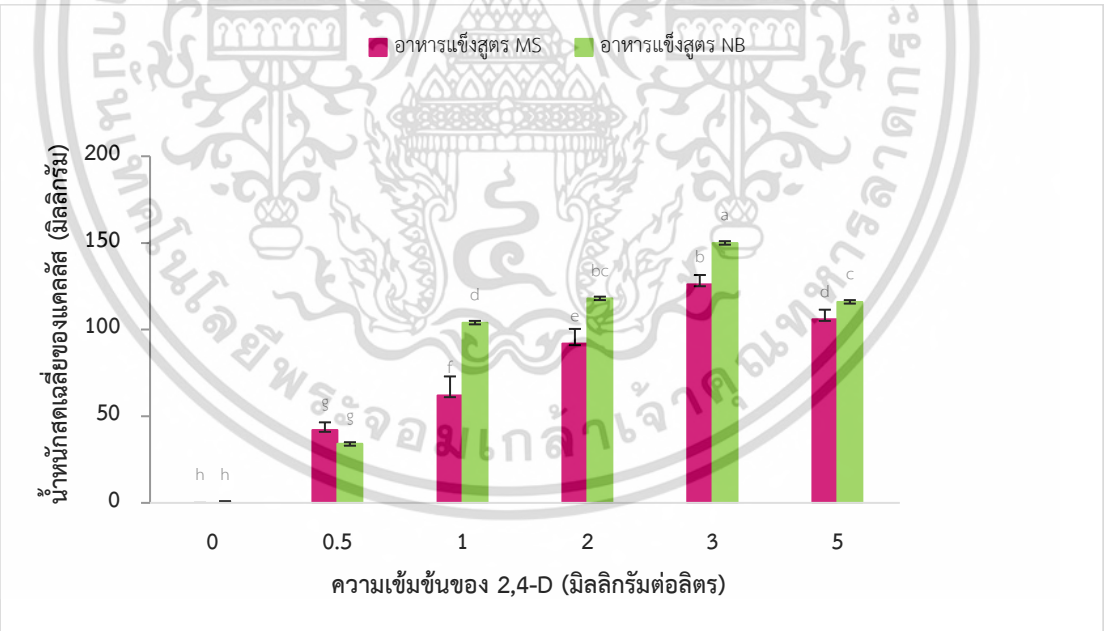
ตารางที่ 4.3 การชักนำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ให้เกิดแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนเมล็ดที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด (เมล็ด)	ร้อยละการงอกของเมล็ดข้าว	ร้อยละการเกิดแคลลัส	น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัส (มิลลิกรัม)	ร้อยละการเกิดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัส	
	NAA	2,4-D					compact	friable
MS	0.0	0.0	50	88.0^{ab}	0.0^{c}	0.00 ± 0.00^{h}	0.0^{b}	0.0^{a}
	1.0	0.5	50	88.0^{ab}	90.9^{a}	42.00 ± 4.47^{g}	100.0^{a}	0.0^{a}
	1.0	1.0	50	94.0^{ab}	76.6^{b}	62.00 ± 10.95^{f}	100.0^{a}	0.0^{a}
	1.0	2.0	50	92.0^{ab}	93.5^{a}	92.00 ± 8.37^{e}	100.0^{a}	0.0^{a}
	1.0	3.0	50	94.0^{ab}	93.6^{a}	126.00 ± 5.48^{b}	100.0^{a}	0.0^{a}
	1.0	5.0	50	84.0^{ab}	97.6^{a}	106.00 ± 5.48^{d}	100.0^{a}	0.0^{a}
NB	0.0	0.0	50	82.0^{b}	0.0^{c}	0.00 ± 0.00^{h}	0.0^{b}	0.0^{a}
	1.0	0.5	50	90.0^{ab}	77.8^{b}	34.00 ± 5.48^{g}	100.0^{a}	0.0^{a}
	1.0	1.0	50	84.0^{ab}	85.7^{ab}	104.00 ± 11.40^{d}	100.0^{a}	0.0^{a}
	1.0	2.0	50	98.0^{a}	93.9^{a}	118.00 ± 4.47^{bc}	100.0^{a}	0.0^{a}
	1.0	3.0	50	88.0^{ab}	93.2^{a}	150.00 ± 10.00^{a}	100.0^{a}	0.0^{a}
	1.0	5.0	50	90.0^{ab}	93.3^{a}	116.00 ± 5.48^{c}	100.0^{a}	0.0^{a}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ระหว่างค่าเฉลี่ย (Mean) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

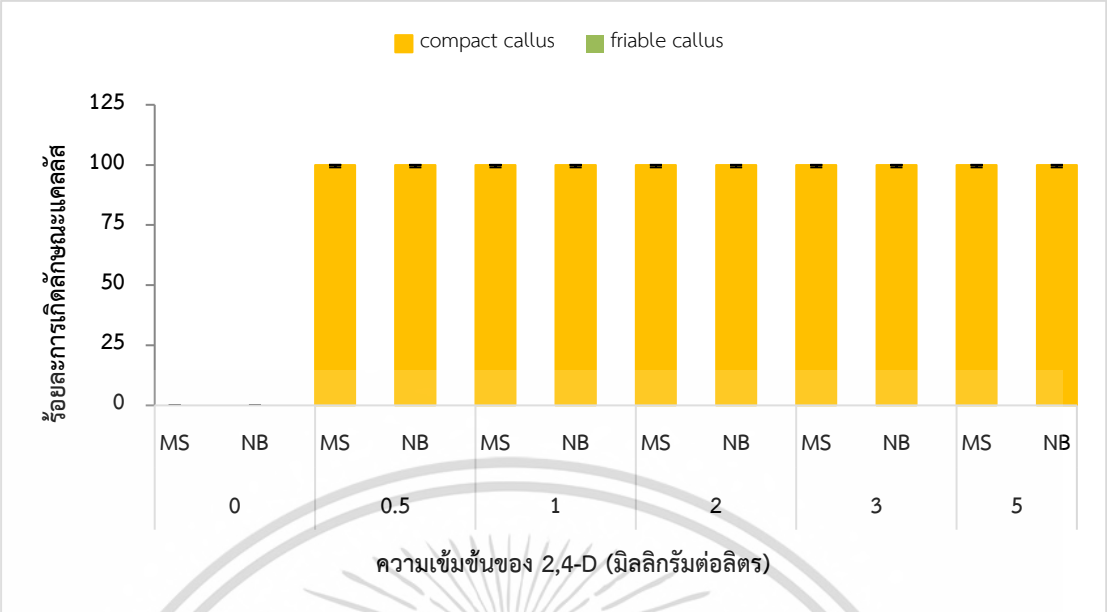


รูปที่ 4.9 ร้อยละการเกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

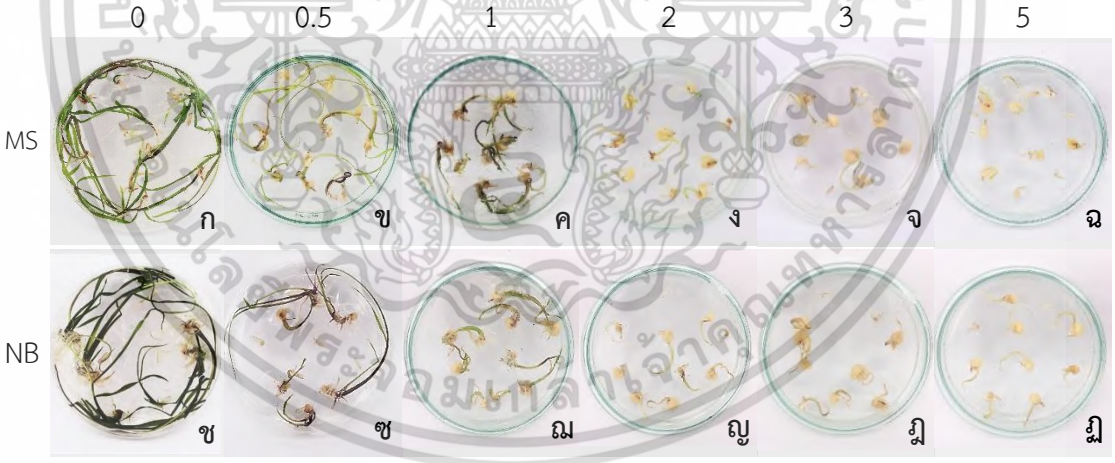


รูปที่ 4.10 น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 ร้อยละการเกิดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.12 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (ก-ฉ) และ NB (ช-ฏ) ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัสและระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย

4.2.1 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ

การเพาะเลี้ยงแคลลัสข้าว (รูปที่ 4.14 ก) ในอาหารเหลว NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 27 วัน พบว่าลักษณะของเซลล์แขวนลอยมีรูปร่างเป็นก้อนกลมสีเหลืองอ่อนขนาดใหญ่กระจายอยู่ภายในอาหารเหลวเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยต่อไปอีกระยะหนึ่ง เซลล์บางกลุ่มก้อนจะเปลี่ยนจากสีเหลืองอ่อนกลายเป็นสีน้ำตาล และยังเห็นได้ว่าเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในวันแรก (รูปที่ 4.14 ข) โดยสามารถสังเกตลักษณะของแคลลัสได้ชัดเจนขึ้นในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยง (รูปที่ 4.14 ค) พบว่าเซลล์แขวนลอยมีค่าน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด โดยมีค่าน้ำหนักสดเฉลี่ย 57.13 $\pm$ 2.585 กรัมต่อลิตร และมีค่าน้ำหนักแห้ง 2.20 $\pm$ 2.10 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยทางสถิติเปรียบเทียบค่าน้ำหนักสดระหว่างวันที่ 3 ถึงวันที่ 18 เปรียบเทียบกับวันที่ 27 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4.4)

จากนั้น นำค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยและค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเซลล์แขวนลอย มาใส่ค่าลอการิทึมธรรมชาติ (ln) สร้างกราฟเพื่อให้มองเห็นผลที่ชัดเจนมากขึ้น (รูป 4.13) จะเห็นได้ว่าในช่วงวันที่ 0 ถึงวันที่ 21 เซลล์แขวนลอยมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วซึ่งคาดว่าเป็นระยะ log phase และเซลล์มีการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 21 หลังจากนั้นในวันที่ 24 เป็นต้นไปน้ำหนักเซลล์จะค่อย ๆ คงที่ ถึงวันที่ 27 ซึ่งเกิดจากการเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอยเริ่มเข้าสู่ระยะ stationary phase ซึ่งจากกราฟจะสังเกตได้ว่าไม่พบระยะ lag phase อาจเนื่องมาจากแคลลัสที่นำมาจากอาหารแข็งสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสมีสูตรเดียวกับอาหารเหลวที่ใช้เพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยและแคลลัสที่นำมาอยู่ในระยะพร้อมเจริญเติบโต ดังนั้นเซลล์ไม่จำเป็นต้องปรับตัวในอาหารใหม่จึงเห็นระยะเริ่มต้นเป็นระยะ log phase และจากกราฟจะสังเกตได้ว่าไม่มีระยะ death phase อาจเนื่องมาจากพืชมีการเจริญเติบโตที่ช้าและคาดว่าอาจจะเห็นระยะนี้ได้หากเพาะเลี้ยงต่อไปเรื่อย ๆ โดยผลดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Sundram. *et al*. (2012) กล่าวว่าการเจริญเติบโตของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว หรือช้าก็ขึ้นอยู่กับลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันของพืช จากนั้นทำการเลือกส่วนที่คาดว่าเป็นเส้นตรงมากสุด นั่นคือวันที่ 15 ถึง 21 มาหาสมการเส้นตรงเพื่อหาค่า slope หรือค่า μ คืออัตราการเจริญจำเพาะของเซลล์แขวนลอยของน้ำหนักสดเฉลี่ย และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยคือ 0.0321 และ 0.0299 ต่อวัน ตามลำดับ ค่าเวลาที่เซลล์ใช้เพิ่มจำนวนจากเดิมเป็นสองเท่า (t_d) ของน้ำหนักสดเฉลี่ย และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยคือ 21.5934 และ 23.1821 ต่อวัน ตามลำดับ และวันที่ 21 ทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเป็นเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวผลผลิตเซลล์มากที่สุด และยังสามารถหาค่าประสิทธิภาพการผลิตเซลล์ (productivity) ได้จากค่าผลต่างของเซลล์สูงสุดต่อเวลาที่เกิดเซลล์สูงสุด ดังนั้นจะได้ค่าประสิทธิภาพการผลิตเซลล์ของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเท่ากับ 1.1128 และ 0.0764 กรัมต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 27 วัน

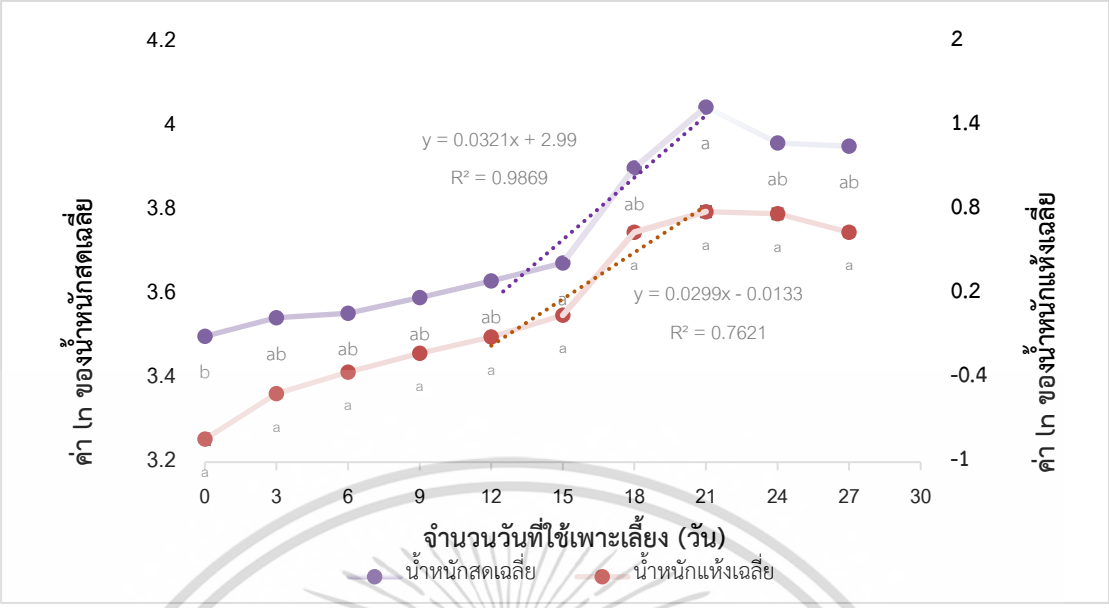
วันเพาะเลี้ยง	น้ำหนักสดเฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
0	33.10 ± 1.31^{b}	0.43 ± 0.15^{a}
3	34.60 ± 1.35^{ab}	0.60 ± 0.17^{a}
6	34.97 ± 0.59^{ab}	0.70 ± 0.45^{a}
9	36.30 ± 0.20^{ab}	0.80 ± 0.10^{a}
12	37.75 ± 5.05^{ab}	0.90 ± 0.30^{a}
15	39.40 ± 2.28^{ab}	1.05 ± 0.95^{a}
18	49.4 ± 1.51^{ab}	1.90 ± 0.10^{a}
21	57.13 ± 2.59^{a}	2.20 ± 2.10^{a}
24	52.45 ± 1.55^{ab}	2.17 ± 1.65^{a}
27	52.05 ± 4.15^{ab}	1.90 ± 0.80^{a}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ระหว่างค่าเฉลี่ย (Mean) $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

ตารางที่ 4.5 ค่าจลนพลศาสตร์ต่าง ๆ ของเซลล์แขวนลอยข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 27 วัน

ค่าจลนพลศาสตร์	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง
μ	0.0321 ต่อวัน	0.0299 ต่อวัน
t_d	21.5934 ต่อวัน	23.1821 ต่อวัน
productivity	1.1128 กรัมต่อลิตรต่อวัน	0.0764 กรัมต่อลิตรต่อวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 แนวโน้มการเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ โดยการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 27 วัน

รูปที่ 4.14 ลักษณะการเกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ก) แคลลัสที่เกิดจากเมล็ดข้าวหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเป็นเวลา 6 สัปดาห์

(ข) วันแรกของการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยในอาหารเหลว

(ค) เซลล์แขวนลอยที่มีขนาดใหญ่ขึ้นหลังเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว 21 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

หลังการเพาะเลี้ยงแคลลัส (รูปที่ 4.17 ก) ในอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 27 วัน พบว่าลักษณะของเซลล์แขวนลอยมีรูปร่างเป็นก้อนกลมสีเหลืองอ่อนขนาดใหญ่กระจายอยู่ภายในอาหารเหลว เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยต่อไปอีก ระยะหนึ่ง เซลล์บางกลุ่มก้อนจะเปลี่ยนจากสีเหลืองอ่อนกลายเป็นสีน้ำตาล และยังเห็นได้ว่าเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในวันแรก ดังรูปที่ 4.17 ข โดยสามารถสังเกตลักษณะของแคลลัสได้ชัดเจนขึ้นในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยง ดังรูปที่ 4.17 ค พบว่าเซลล์แขวนลอยมีค่าน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด โดยมีค่าน้ำหนักสดเฉลี่ย 66.8300 กรัมต่อลิตร และมีค่าน้ำหนักแห้ง 4.9767 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อทำการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยทางสถิติเปรียบเทียบค่าน้ำหนักสดระหว่างวันที่ 12 ถึงวันที่ 27 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีแนวโน้มเช่นเดียวกับค่าน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 4.6)

จากนั้น นำค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยและค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเซลล์แขวนลอย มาใส่ค่าลอการิทึมธรรมชาติสร้างกราฟ เพื่อให้มองเห็นผลที่ชัดเจนมากขึ้น (รูปที่ 4.15) จะเห็นได้ว่าในช่วงวันที่ 0 ถึงวันที่ 12 เซลล์แขวนลอยมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วซึ่งคาดว่าเป็นระยะ log phase และเซลล์มีการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 12 หลังจากนั้นในวันที่ 15 เป็นต้นไปน้ำหนักเซลล์จะค่อย ๆ คงที่ ถึงวันที่ 27 ซึ่งเกิดจากการเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอยเริ่มเข้าสู่ระยะ stationary phase คล้ายกับงานวิจัยของรัญญิการ์ (2559) ที่ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเซลล์แขวนลอยมีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง ในช่วง 0 ถึง 15 วัน โดยมีระยะ lag phase ในช่วงระยะวันที่ 0 ถึง 12 และเข้าสู่ระยะ log phase ช่วงระยะวันที่ 12 ถึง 15 โดยมีอัตราการเจริญสูงสุดในวันที่ 15 จากนั้นค่อย ๆ เข้าสู่ระยะ death phase ส่วนในวันที่ 15 เป็นต้นไปน้ำหนักเซลล์ค่อย ๆ คงที่จึงคาดว่า เป็นระยะ stationary phase และจากกราฟจะสังเกตได้ว่าไม่พบระยะ lag phase อาจเนื่องมาจากแคลลัสที่นำมาจากอาหารแข็งสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสมีสูตรเดียวกับอาหารเหลวที่ใช้เพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย ดังนั้นเซลล์ไม่จำเป็นต้องปรับตัวในอาหารใหม่จึงเห็นระยะเริ่มต้นเป็นระยะ log phase และจากกราฟจะสังเกตได้ว่าไม่มีระยะ death phase อาจเนื่องมาจากพืชมีการเจริญเติบโตที่ช้าและคาดว่าอาจจะเห็นระยะนี้ได้หากเพาะเลี้ยงต่อไปเรื่อย ๆ ซึ่งจากผลการทดลองให้ผลไปในทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Lima. *et al*. (2018) ที่ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยในต้น *Croton urucurana* Bail. เป็นต้นไม้ที่พบในประเทศบราซิล มีสรรพคุณในการใช้รักษาโรค รายงานว่าการเจริญเติบโตของเซลล์ที่มีการชะลอตัว หรืออยู่ในระยะ stationary phase เข้าระยะ death phase เกิดขึ้นเป็นผลมาจากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยเริ่มไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ที่เพิ่มมากขึ้น และยังมีการสะสมสารพิษในอาหารที่เกิดจากเซลล์ปล่อยออกมา

จากนั้นทำการเลือกส่วนที่คาดว่าเป็นเส้นตรงมากสุด นั่นคือวันที่ 0 ถึง 9 มาหาสมการเส้นตรงเพื่อหาค่าความชัน หรือค่า μ คืออัตราการเจริญจำเพาะของเซลล์แขวนลอยของน้ำหนักสดเฉลี่ย และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยคือ คือ 0.0591 และ 0.0558 ต่อวัน ตามลำดับ และค่าเวลาที่เซลล์ใช้เพิ่มจำนวนจากเดิมเป็นสองเท่า (t_d) ของน้ำหนักสดเฉลี่ยและน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 11.7276 และ 12.4211 ต่อวัน ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7) จากค่าดังกล่าวมีการเจริญเติบโตค่อนข้างน้อย อาจเพราะเซลล์เริ่มต้นที่มีน้อย เซลล์จึงมีการสื่อสารกันน้อย และวันที่ 12 ทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเป็นเวลาที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวผลผลิตเซลล์มากที่สุดจากค่าน้ำหนักสดและค่าน้ำหนักแห้งดังกล่าวยังมีความสัมพันธ์กับค่าอัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น หมายความว่าเมื่อเซลล์เพิ่มจำนวนมากขึ้น พบว่ามีอัตราการใช้น้ำตาลมากขึ้นด้วย (รูปที่ 4.16) ดังกราฟจะเห็นว่าตั้งแต่วันที่ 0 น้ำตาลลดลงเรื่อย ๆ จนเกือบเข้าใกล้ศูนย์ตั้งแต่วันที่ 15 เป็นต้นไป สังเกตได้จากลักษณะของเซลล์แขวนลอยเริ่มมีสีน้ำตาลและดำเนื่องจากอาหารหมดจึงเริ่มมีเซลล์ตายเกิดขึ้น จากความสัมพันธ์ดังกล่าวสามารถนำมาหาค่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือต่อเวลา มาคำนวณหาค่าผลได้ของเซลล์จากสับสเทรต ($Y_{x/s}$) ของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งได้ดังนี้ 1.0822 และ 0.0724 กรัมเซลล์ต่อกลูโคส ตามลำดับ และยังสามารถหาค่าประสิทธิภาพการผลิตเซลล์ได้จากค่าผลต่างของเซลล์สูงสุดต่อเวลาที่เกิดเซลล์สูงสุด นั่นคือวันที่ 12 น้ำหนักสดเฉลี่ยและน้ำหนักแห้งเฉลี่ย ดังนั้นจะได้ค่า productivity เท่ากับ 2.613 และ 0.1747 กรัมต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ จากผลการทดลองเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงและทับทิมชุมแพในสภาวะการทดลองที่มีสับเสตรทและเวลาเพาะเลี้ยงเดียวกัน จะเห็นได้ชัดว่าในข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงให้ประสิทธิภาพในการผลิตเซลล์แขวนลอยได้มากกว่าในข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพทั้งในน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง ถึงแม้ว่าข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงจะมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะที่สูงหมายความว่า เซลล์ใช้เวลานานกว่าจะเจริญเติบโต แต่ค่าเวลาที่เซลล์ใช้เพิ่มจำนวนจากเดิมเป็นสองเท่ามากกว่า ซึ่งใช้เวลาเพียงไม่กี่วันก็สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตเซลล์ได้แล้ว

ตารางที่ 4.6 ค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 27 วัน

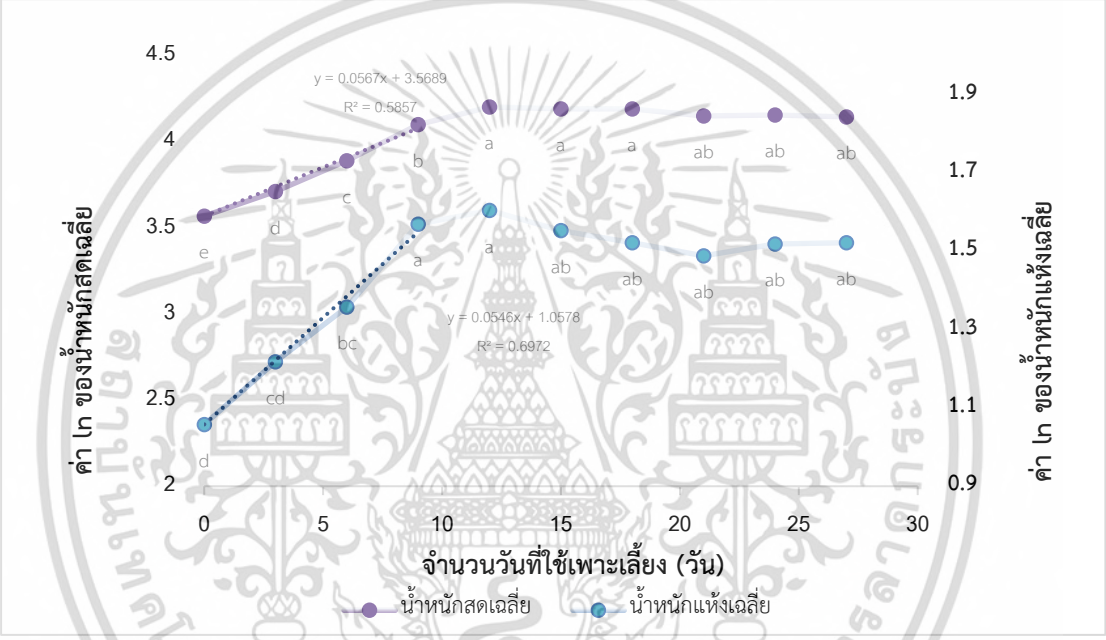
วันเพาะเลี้ยง	น้ำหนักสดเฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	35.48 ± 0.02^{e}	2.88 ± 0.28^{d}	31.46 ± 10.36^{a}
3	40.93 ± 0.04^{d}	3.38 ± 0.03^{cd}	20.28 ± 1.18^{b}
6	48.89 ± 0.29^{c}	3.89 ± 0.02^{bc}	11.30 ± 1.64^{c}
9	60.37 ± 0.06^{b}	4.80 ± 0.77^{a}	6.58 ± 5.62^{cd}
12	66.83 ± 0.02^{a}	4.98 ± 0.64^{a}	2.49 ± 0.00^{d}
15	66.10 ± 0.02^{a}	4.73 ± 0.56^{ab}	1.90 ± 0.18^{d}
18	66.12 ± 0.16^{a}	4.58 ± 0.03^{ab}	1.80 ± 1.34^{d}
21	63.44 ± 0.08^{ab}	4.43 ± 0.66^{ab}	1.10 ± 0.10^{d}
24	63.76 ± 7.52^{ab}	4.57 ± 0.09^{ab}	0.84 ± 0.06^{d}
27	63.04 ± 2.21^{ab}	4.58 ± 0.52^{ab}	0.27 ± 0.04^{d}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ระหว่างค่าเฉลี่ย (Mean) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

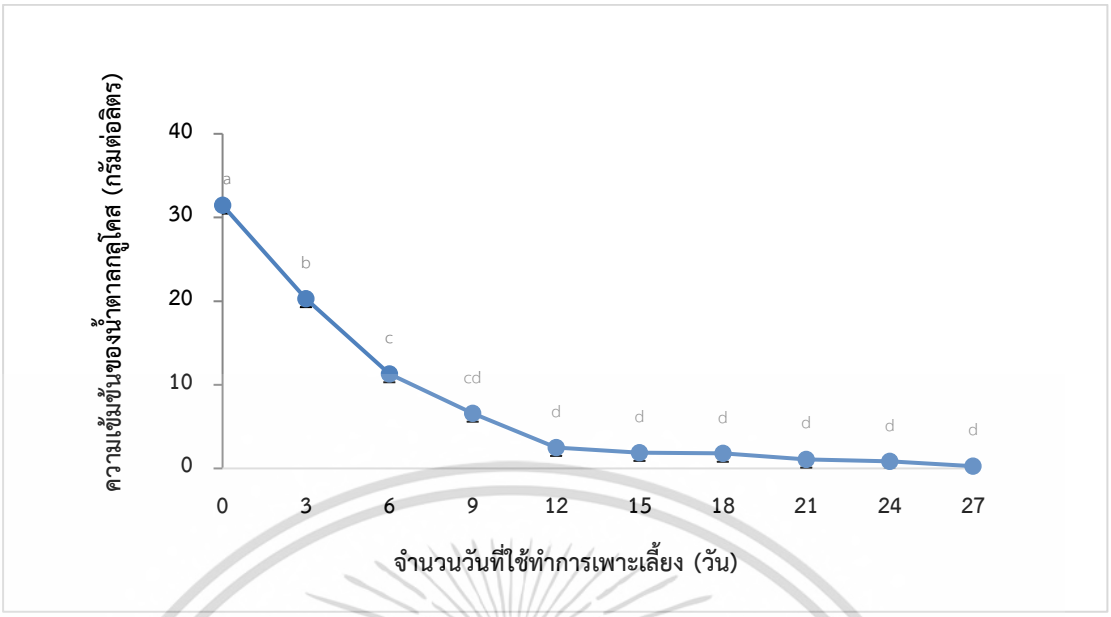
ตารางที่ 4.7 ค่าจลนพลศาสตร์ต่าง ๆ ของเซลล์แขวนลอยข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 27 วัน

ค่าจลนพลศาสตร์	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง
μ	0.0591 ต่อวัน	0.0558 ต่อวัน
t_d	11.7276 ต่อวัน	12.4211 ต่อวัน
productivity	2.6130 กรัมต่อลิตรต่อวัน	0.1747 กรัมต่อลิตรต่อวัน
$Y_{x/s}$	1.0822 กรัมเซลล์ต่อกรัมกลูโคส	0.0724 กรัมเซลล์ต่อกรัมกลูโคส



รูปที่ 4.15 แนวโน้มการเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงโดยการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 27 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลกลูโคสกับเวลาของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง โดยการเพาะเลี้ยง แบบเซลล์แขวนลอยในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 27 วัน

รูปที่ 4.17 ลักษณะการเกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

(ก) แคลลัสที่เกิดจากเมล็ดข้าวหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเป็นเวลา 6 สัปดาห์

(ข) วันแรกของการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยในอาหารเหลว

(ค) เซลล์แขวนลอยที่มีขนาดใหญ่ขึ้นหลังเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว 12 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการเหนี่ยวนำแคลลัสข้าวให้กลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา

4.3.1 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ

หลังจากเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ทำให้สามารถคัดเลือกเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสมาฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด เพื่อศึกษาหาปริมาณรังสีแกมมาที่เหมาะสม หรือปริมาณรังสีที่มีแนวโน้มในการเหนี่ยวนำให้แคลลัสของข้าวเกิดการกลายได้สูงสุด ภายหลังจากฉายรังสีไปแล้วระยะเวลาหนึ่ง เมื่อทำการฉายรังสีแกมมาลงบนเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสที่ปริมาณต่าง ๆ แล้ว จึงทำการย้ายแคลลัสลงในอาหารใหม่ที่มีสูตรอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด หลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.8) พบว่ามีร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัสเท่ากับ 40.0 ที่ปริมาณรังสี 10 กิโลแรด และพบว่าแคลลัสที่ไม่ผ่านการฉายรังสีมีการรอดชีวิตร้อยละ 100.0 เมื่อพิจารณา นอกจากนี้พบว่าลักษณะของแคลลัสหลังได้รับรังสีเป็นระยะเวลาดังกล่าวแคลลัสที่ไม่ผ่านการฉายรังสีจะมีลักษณะเป็นก้อนเกาะกันแน่น มีสีเหลืองอ่อน ตรงข้ามกับระดับปริมาณรังสีแกมมาที่สูงขึ้นจะทำให้สีของแคลลัสเปลี่ยนแปลงจากเดิมแคลลัสมีสีเหลืองอ่อนจะกลายเป็นแคลลัสที่มีสีน้ำตาลเข้มและเปลี่ยนเป็นสีดำในที่สุด ซึ่งมีแนวโน้มเดียวกับปริมาณรังสีแกมมาที่สูงขึ้นมีผลทำให้ร้อยละการรอดชีวิตต่ำลง ซึ่งผลดังกล่าวสามารถพิจารณาได้จากรายงานของอรุณี (2550) กล่าวว่า การกลายจะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณรังสีสูงขึ้น แต่ความอยู่รอดและความสามารถในการซ่อมแซมความเสียหายจะลดลง ซึ่งปริมาณรังสีที่จะให้กับตัวอย่างพืช จะขึ้นอยู่กับความไวของรังสีของพืชแต่ละชนิด และยังขึ้นกับส่วนของพืชที่นำมาฉายรังสีด้วย ท่อนพันธุ์ที่ไม่มีราก จะมีความไวต่อรังสีสูงกว่าส่วนของพืชที่มีราก นอกจากนี้ ถ้าชิ้นส่วนของท่อนพืชมีสิ่งกำบัง ปริมาณรังสีที่ใช้ก็จะสูงขึ้นตามไปด้วย แต่การให้ปริมาณรังสีสูง อาจเกิดการกลายหลายชนิดภายในเซลล์เดียวกัน ซึ่งมีโอกาสได้ลักษณะที่ไม่ดีหลายลักษณะร่วมกับลักษณะที่พึงประสงค์ จึงควรพิจารณาปัจจัยอื่น ๆ ร่วมด้วย

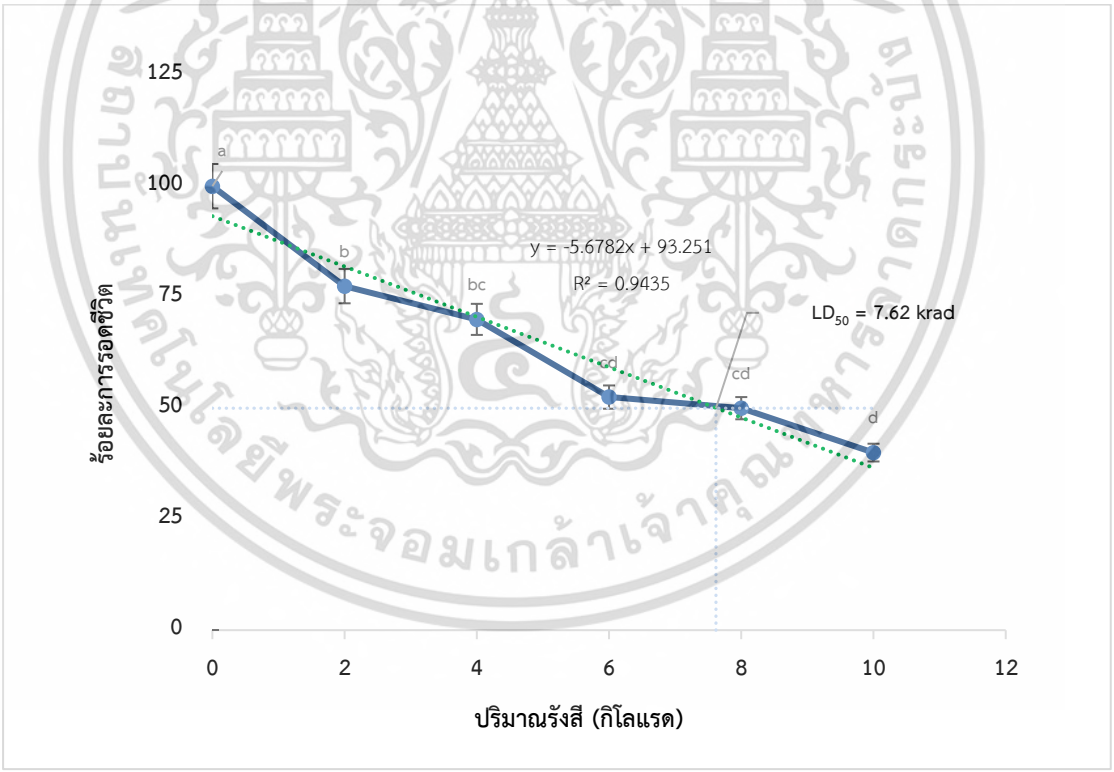
จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัสกับปริมาณรังสีแกมมา จากรูปที่ 4.18 พบว่าปริมาณรังสีแกมมาที่มีแนวโน้มให้แคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพเกิดกลายสูงสุดหรือทำให้เกิดการรอดชีวิตร้อยละ 50 (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 7.62 กิโลแรด ซึ่งการหาค่าการรอดชีวิตร้อยละ 50 (LD_{50}) ของแคลลัสสามารถคำนวณได้จากสมการเส้นตรง $Y = AX + B$ เมื่อกำหนดให้ Y คือ ค่าร้อยละของจำนวนการรอดชีวิตแคลลัส A คือ ค่าความชัน (slope) B คือ ค่าจุดตัดแกน Y (intercept) และ X คือ ค่าปริมาณรังสีแกมมา เมื่อแทนค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่ได้จากกราฟดังกล่าวลงในสมการเส้นตรง จะได้เป็น $Y = (-5.6782)X + 93.2251$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการรอดชีวิตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ บนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ปริมาณรังสี (กิโลแรด)	จำนวนแคลลัสที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนแคลลัสที่รอดชีวิต (ชิ้น)	ร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัส
0	40	40	100.0^{a}
2	40	31	77.5^{b}
4	40	28	70.0^{bc}
6	40	21	52.5^{cd}
8	40	20	50.0^{cd}
10	40	16	40.0^{d}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ระหว่างค่าเฉลี่ย (Mean) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)



รูปที่ 4.18 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพกับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) หลังแคลลัสผ่านการฉายรังสีเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่

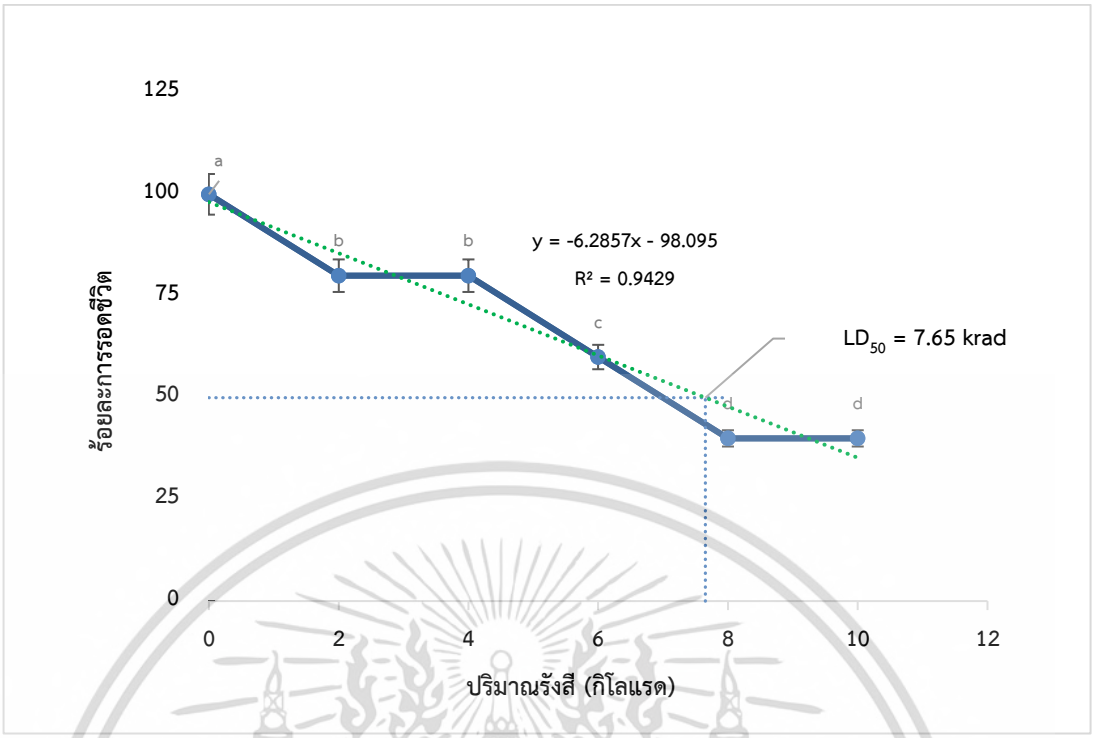
หลังการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นคัดเลือกเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสมาฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด เมื่อทำการฉายรังสีแกมมาลงบนเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสที่ปริมาณต่าง ๆ แล้วจึงทำการย้ายแคลลัสลงในอาหารใหม่ที่มีสูตรอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.9) พบว่าการรอดชีวิตต่ำสุดเท่ากับร้อยละ 40.0 ที่ปริมาณรังสี 10 กิโลแรด และพบว่าแคลลัสที่ไม่ผ่านการฉายรังสีการรอดชีวิตร้อยละ 100.0 นอกจากนี้ยังพบว่าลักษณะแคลลัสที่ไม่ผ่านการฉายรังสีมีลักษณะเป็นก้อนเกาะกันแน่น มีสีเหลืองอ่อน ตรงข้ามกับระดับปริมาณรังสีแกมมาที่สูงขึ้นจะทำให้สีของแคลลัสเปลี่ยนแปลงจากเดิมแคลลัสมีสีเหลืองอ่อนเป็นสีน้ำตาลเข้มและสีดำ ดังรูปที่ 4.21 ซึ่งมีแนวโน้มเดียวกับปริมาณรังสีแกมมาที่สูงขึ้นมีผลทำให้ร้อยละการรอดชีวิตต่ำลง จากรูปที่ 4.19 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัสกับปริมาณรังสีแกมมา ทำให้ทราบว่าปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่มีการรอดชีวิตร้อยละ 50 คือ 7.65 กิโลแรด โดยการหาค่า LD_{50} ได้จากสมการเส้นตรง Y = (-6.2857)X + 98.095

ตารางที่ 4.9 ผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการรอดชีวิตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ บนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ปริมาณรังสี (กิโลแรด)	จำนวนแคลลัสที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนแคลลัสที่รอดชีวิต (ชิ้น)	ร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัส
0	40	40	100.0[a]
2	40	32	80.0[b]
4	40	32	80.0[b]
6	40	24	60.0[c]
8	40	16	40.0[d]
10	40	16	40.0[d]

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ระหว่างค่าเฉลี่ย (Mean) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.19 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่กับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) หลังแคลลัสผ่านการฉายรังสีเป็นเวลา 4 สัปดาห์

4.3.3 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

การเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ สามารถทำให้คัดเลือกแคลลัสที่มีลักษณะแบบเอ็มบริโอเจนิคสูงที่สุดจึงนำมาศึกษาหาปริมาณรังสีที่มีแนวโน้มทำให้เกิดการกลายพันธุ์ต่อไปได้ เนื่องจากเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสามารถชักนำให้เกิด somatic embryogenesis และยังสามารถชักนำให้เกิดกระบวนการ organogenesis กล่าวคือ ทุกเซลล์มีโอกาสเจริญเป็นพืชต้นใหม่ได้ง่ายกว่าแคลลัสที่ไม่มีโครงสร้างแบบเอ็มบริโอเจนิค ซึ่งการเลือกชิ้นส่วนพืชไปฉายรังสีเป็นขั้นตอนแรกของการปรับปรุงพันธุ์ที่สำคัญและปัญหาที่ต้องคำนึงถึงภายหลังการฉายรังสี คือการทำให้เซลล์ที่ได้รับรังสีเจริญไปเป็นยอดหรือต้นได้จำนวนมากและรวดเร็ว

จากข้อมูลที่ได้ศึกษาหาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำเมล็ดข้าวให้เกิดแคลลัส ทำให้สามารถคัดเลือกเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสมาฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด เพื่อศึกษาหาปริมาณรังสีแกมมาที่เหมาะสม หรือปริมาณรังสีที่มีแนวโน้มในการเหนี่ยวนำให้แคลลัสของข้าวเกิดการกลายได้สูงสุด ภายหลังจากฉายรังสีไปแล้วระยะเวลาหนึ่ง เมื่อทำการฉายรังสีแกมมาลงบนเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสที่ปริมาณต่าง ๆ แล้ว จึงทำการย้ายแคลลัสลงในอาหารใหม่ที่มีสูตรอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด เนื่องจากอาหารเดิมอาจมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นระหว่างการฉายรังสี หลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.10) พบว่า การรอดชีวิตต่ำสุดเท่ากับร้อยละ 30.0 ที่ปริมาณรังสี 10 กิโลแรด และพบว่าแคลลัสที่ไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

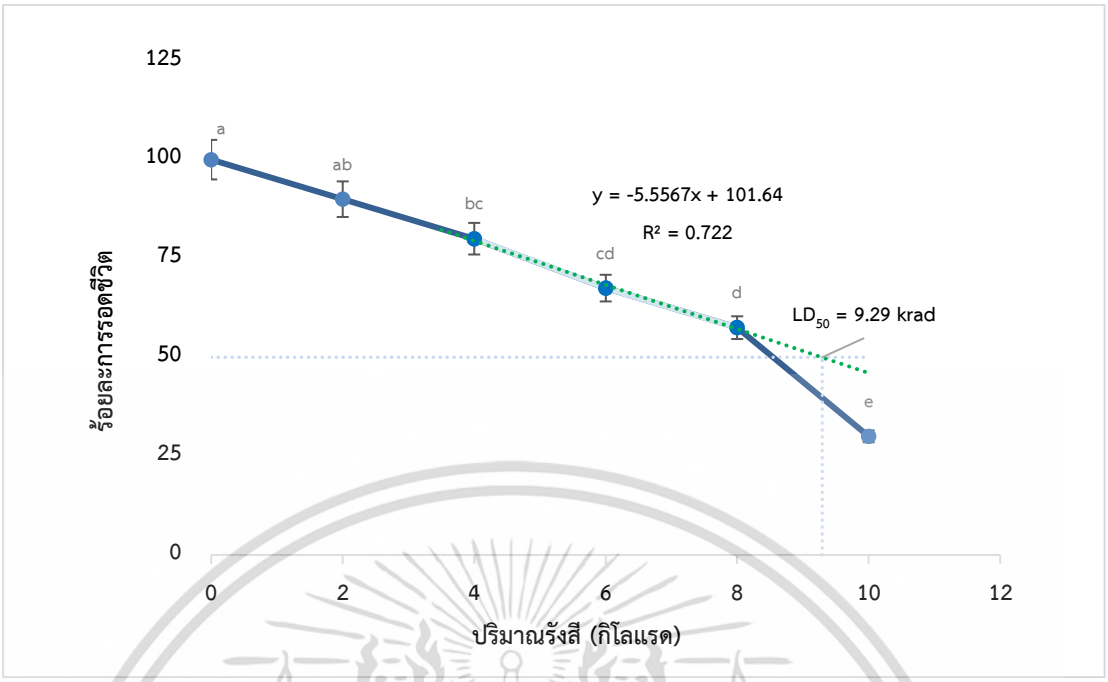
ผ่านการฉายรังสีมีการรอดชีวิตร้อยละ 100.0 และเมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4.21 แสดงลักษณะแคลลัสที่ไม่ผ่านการฉายรังสีมีลักษณะเป็นก้อนเกาะกันแน่น มีสีเหลืองอ่อน (รูปที่ 4.21 ก) ตรงข้ามกับระดับปริมาณรังสีแกมมาที่สูงขึ้นจะทำให้สีของแคลลัสเปลี่ยนแปลงจากเดิมแคลลัสมีสีเหลืองอ่อนจะกลายเป็นแคลลัสที่มีสีน้ำตาลเข้มและเปลี่ยนเป็นสีดำในที่สุด (ดังรูปที่ 4.21 ข-ฉ) ซึ่งมีแนวโน้มเดียวกับปริมาณรังสีแกมมาที่สูงขึ้นมีผลทำให้ร้อยละการรอดชีวิตต่ำลง จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัสกับปริมาณรังสีแกมมา (รูปที่ 4.20) ทำให้ทราบว่าปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงมีการรอดชีวิตร้อยละ 50 คือ 9.29 กิโลแรด โดยคาดว่าปริมาณรังสีดังกล่าวเป็นปริมาณรังสีที่เหมาะสมต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายมากที่สุด ซึ่งการหาค่า LD_{50} ของแคลลัสสามารถคำนวณได้จากสมการเส้นตรง $Y = AX + B$ เมื่อกำหนดให้ Y คือ ค่าร้อยละของจำนวนการรอดชีวิตแคลลัส A คือ ค่าความชัน (slope) B คือ ค่าจุดตัดแกน Y (intercept) และ X คือ ค่าปริมาณรังสีแกมมา เมื่อแทนค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่ได้จากกราฟดังกล่าวลงในสมการเส้นตรง จะได้เป็น $Y = (-5.5567)X + 101.64$

ตารางที่ 4.10 ผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการรอดชีวิตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

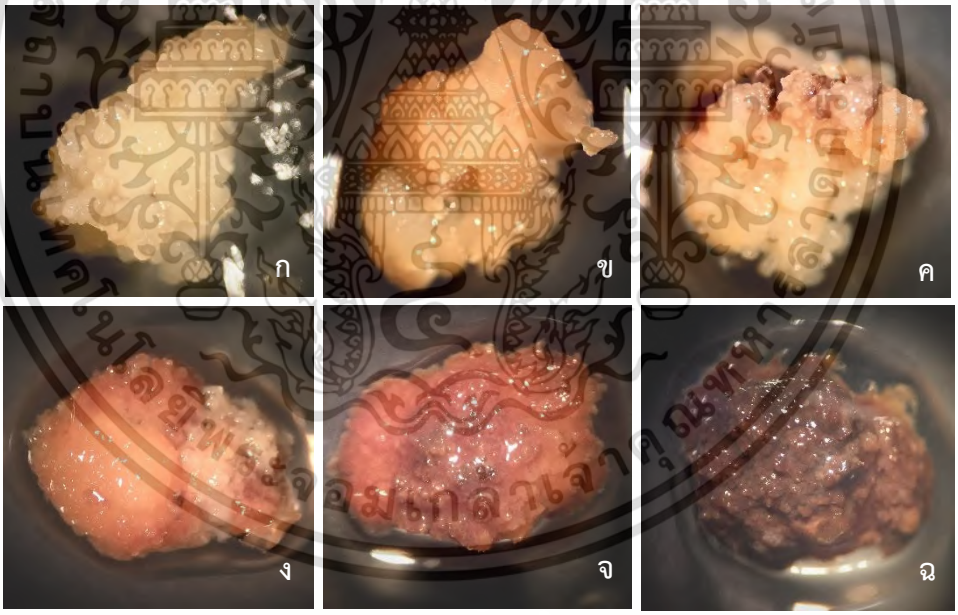
ปริมาณรังสี (กิโลแรด)	จำนวนแคลลัสที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนแคลลัสที่รอดชีวิต (ชิ้น)	ร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัส
0	40	40	100.0^{a}
2	40	36	90.0^{ab}
4	40	32	80.0^{bc}
6	40	27	67.5^{cd}
8	40	23	57.5^{d}
10	40	12	30.0^{e}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ระหว่างค่าเฉลี่ย (Mean) $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.20 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงกับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) หลังแคลลัสผ่านการฉายรังสีเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.21 ลักษณะของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงที่ได้รับปริมาณรังสีแกมมาต่าง ๆ หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเสตอริโอ (ก) ไม่ผ่านการฉายรังสี (ข) 2 กิโลแรด (ค) 4 กิโลแรด (ง) 6 กิโลแรด (จ) 6 กิโลแรด และ (ฉ) 10 กิโลแรด ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการเหนี่ยวนำเมล็ดข้าวให้กลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา

4.4.1 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ

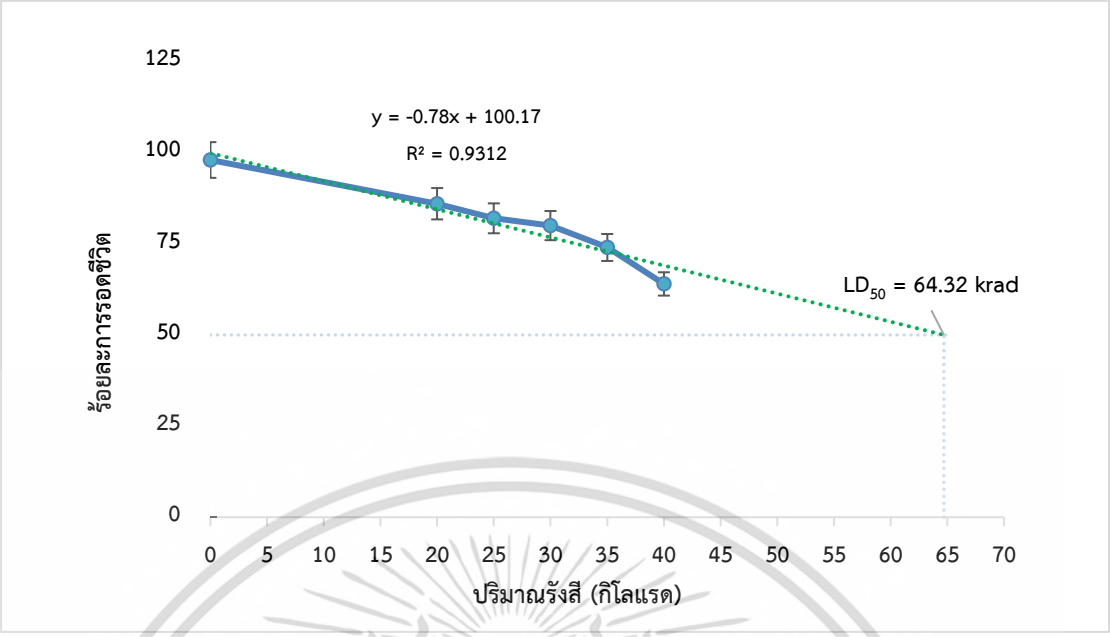
หลังจากนำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพมาฉายรังสีแกมมาในปริมาณรังสี 0 20 25 30 35 และ 40 กิโลแรด แล้วทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.11) พบว่าเมล็ดที่ไม่ผ่านการฉายรังสี มีร้อยละการรอดชีวิตมากที่สุดเท่ากับ 98.33 ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับทุก ๆ ปริมาณรังสี โดยเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสีที่ 20 ถึง 40 กิโลแรด ให้ร้อยละการรอดชีวิตต่ำลงตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้นซึ่งผลดังกล่าวมีทิศทางเดียวกับงานวิจัยของ Kumar. *et al*. (2013) ได้ศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าว 9 สายพันธุ์ ได้แก่ Erramallelu BPT5204 JGL384 Surekha Vijetha JGL1798 NLR34449 Swarna และ MTU1010 โดยทำการศึกษาที่ปริมาณรังสี 20 ถึง 200 กิโลแรด พบว่าทุกปริมาณรังสีแกมมาสามารถยับยั้งการเจริญเติบโต หรือทำลายเซลล์พืชได้อย่างสมบูรณ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระดับปริมาณรังสีแกมมาสูง จะส่งผลต่อการงอกของเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญ ในปริมาณรังสีที่สูงกว่า 80 กิโลแรด มีผลให้การงอกของเมล็ดข้าวลดลง และปริมาณรังสีที่ 20 ถึง 60 กิโลแรด ส่งผลต่อการงอกของเมล็ดเพียงเล็กน้อยหรือไม่ส่งผลเลย เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสี นอกจากนี้ยังพบว่าข้าวทั้ง 9 สายพันธุ์ มีค่า LD50 อยู่ในช่วง 89.00 ถึง 188.00 กิโลแรด นอกจากนี้ยังพบว่าลักษณะของต้นข้าวที่เกิดขึ้นจะมีความยาวยอดและความยาวรากลดลงเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.23) เมื่อพิจารณากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัสกับปริมาณรังสีแกมมา (รูปที่ 4.22) ทำให้ทราบว่าปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้เมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพมีการรอดชีวิตร้อยละ 50 คือ 64.32 กิโลแรด โดยคาดว่าปริมาณรังสีดังกล่าวเป็นปริมาณรังสีที่เหมาะสมต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายมากที่สุด ซึ่งการหาค่า LD_{50} ของเมล็ดสามารถคำนวณได้จากสมการ $Y = (-0.78)X + 100.17$

ตารางที่ 4.11 ผลของรังสีแกมมาที่มีต่อความมีชีวิตรอดของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพบนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ปริมาณรังสี (กิโลแรด)	จำนวนเมล็ด (เมล็ด)	ร้อยละการรอดชีวิตของเมล็ด
0	60	98.33[a]
20	60	86.00[b]
25	60	82.00[bc]
30	60	80.00[c]
35	60	74.00[d]
40	60	64.00[e]

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ระหว่างค่าเฉลี่ย (Mean) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.22 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพกับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) หลังแคลลัสผ่านการฉายรังสีเป็นเวลา 4 สัปดาห์

รูปที่ 4.23 ลักษณะของต้นข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพบนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) ชุดควบคุมหรือเมล็ดข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสี และ (ข-ฉ) เมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20 25 30 35 และ 40 กิโลแรด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

4.4.2 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

การนำเมล็ดข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงมาฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันในปริมาณรังสี 0 20 25 30 35 และ 40 กิโลแรด แล้วทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.12) พบว่าเมล็ดที่ไม่ผ่านการฉายรังสี มีร้อยละการรอดชีวิตมากที่สุดเท่ากับ 98.3 ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับทุก ๆ ปริมาณรังสีที่สูงขึ้นจะให้ร้อยละการรอดชีวิตต่ำลง นอกจากนี้ยังพบว่าลักษณะของต้นข้าวที่เกิดขึ้นจะมีความยาวยอดและความยาวรากลดลงเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.25) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Borzouei. *et al*. (2010) ที่ได้ศึกษาผลของรังสีแกมมาแกมมาที่มีผลต่อการงอกและลักษณะทางสรีรวิทยาของต้นข้าวสาลี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ Roshan และ T-65-58-8 ที่ปริมาณรังสี 10 ถึง 40 กิโลแรด พบว่าความยาวของราก ความยาวของยอด และน้ำหนักแห้งของต้นกล้าลดลงเมื่อปริมาณรังสีแกมมาเพิ่มมากขึ้น จากงานวิจัยดังกล่าวได้นำมา

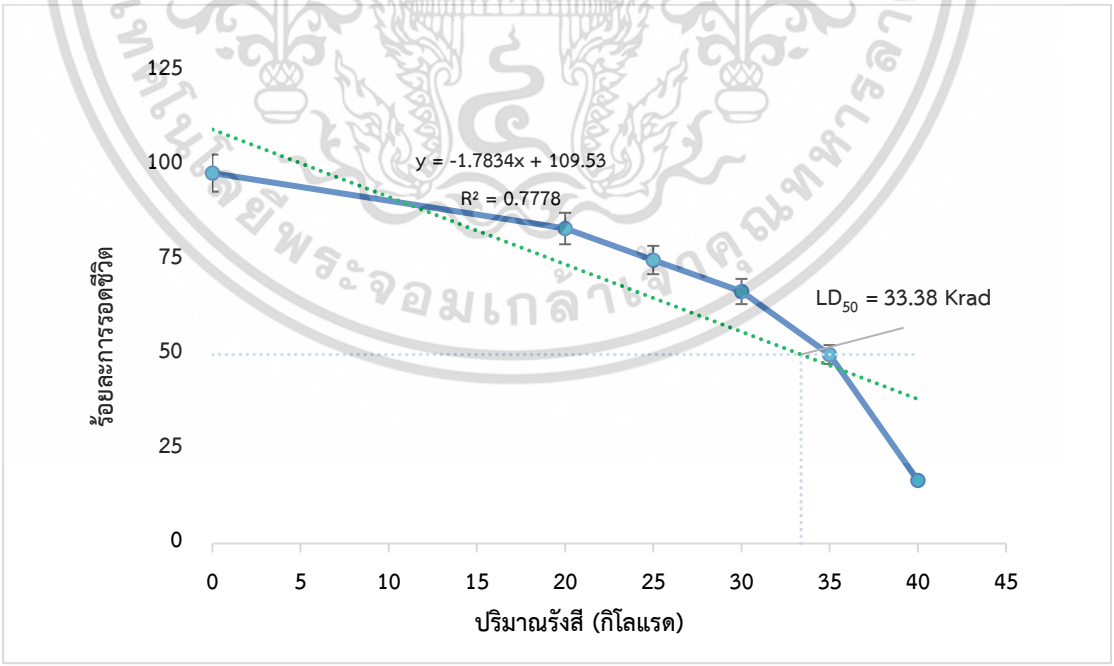
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประยุกต์ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาปริมาณรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าวหลังฉายรังสีแกมมา ซึ่งพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงลักษณะ ทั้งความยาวยอดของรากที่ลดลง เมื่อพิจารณากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัสกับปริมาณรังสีแกมมา (รูปที่ 4.24) ทำให้ทราบว่าปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้เมล็ดข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงมีการรอดชีวิตร้อยละ 50 คือ 33.38 กิโลแรด โดยคาดว่าปริมาณรังสีดังกล่าวเป็นปริมาณรังสีที่เหมาะสมต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายมากที่สุด ซึ่งสามารถหาค่า LD_{50} ได้จากสมการ Y = -1.7834X + 109.53

ตารางที่ 4.12 ผลของรังสีแกมมาที่มีต่อความมีชีวิตรอดของเมล็ดข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงบนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

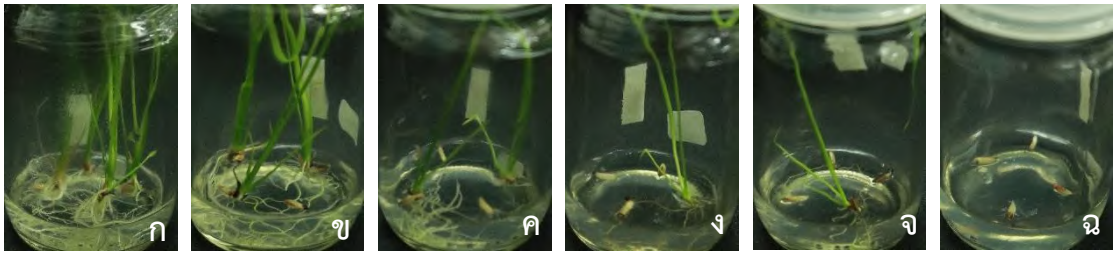
ปริมาณรังสี (กิโลแรด)	จำนวนเมล็ด (เมล็ด)	ร้อยละการรอดชีวิตของเมล็ด
0	60	98.3^{a}
20	60	83.3^{b}
25	60	75.0^{bc}
30	60	66.7^{c}
35	60	50.0^{d}
40	60	16.7^{e}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ระหว่างค่าเฉลี่ย (Mean) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)



รูปที่ 4.24 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของเมล็ดข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงกับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) หลังแคลลัสผ่านการฉายรังสีเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.25 ลักษณะของต้นข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงบนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) ชุดควบคุมหรือเมล็ดข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสี และ (ข-ฉ) เมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20 25 30 35 และ 40 กิโลแรด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

4.4.3 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่

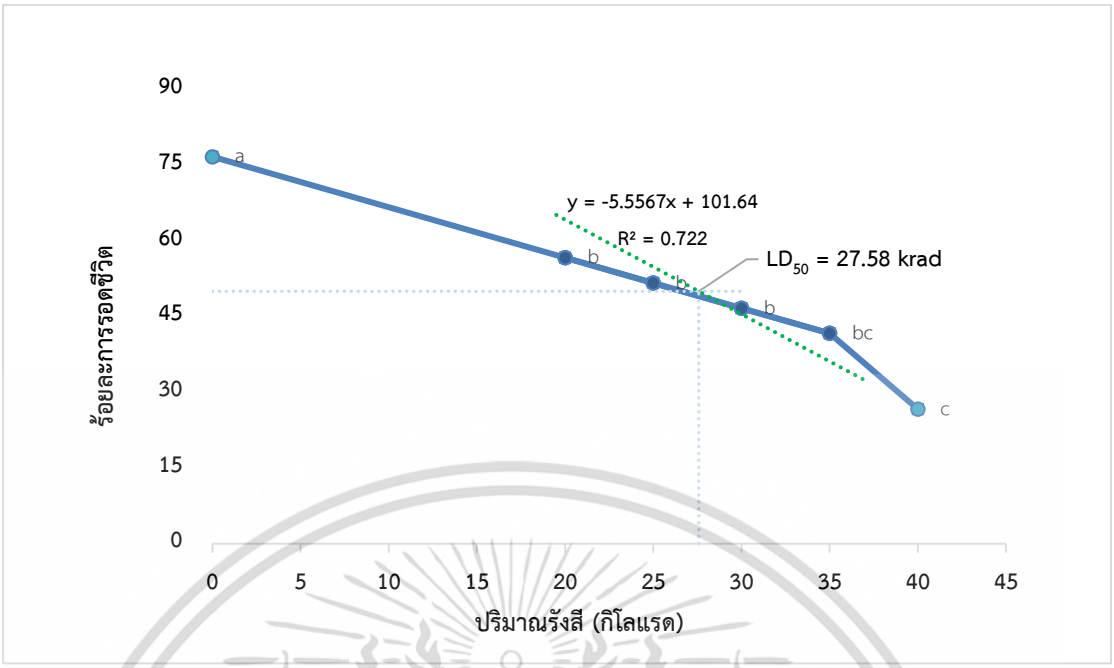
เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 4.13 พบว่าที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ มีร้อยละการรอดชีวิต 26.7 ถึง 76.7 โดยจะสังเกตเห็นได้ว่าร้อยละการรอดชีวิตต่ำลงเมื่อมีปริมาณรังสีสูงขึ้น จากกราฟสมการเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตของเมล็ดกับปริมาณรังสีแกมมา (ดังรูปที่ 4.26) พบว่าการรอดชีวิตของเมล็ดร้อยละ 50 มีค่าเท่ากับ 27.58 กิโลแรด ซึ่งสามารถหาค่า LD_{50} ได้จากสมการ Y = -5.5567X + 101.64 และเมื่อพิจารณาลักษณะของต้นข้าวหลังได้รับการฉายรังสี พบว่าที่ปริมาณรังสีสูงขึ้นลักษณะของต้นข้าวบางต้นเปลี่ยนแปลงเป็นสีดำ ลำต้นและยอดมีสีเขียว เส้นรากหลักขาวใหญ่ พบว่าความยาวของยอด และความยาวของรากลดลง มีร้อยละการรอดชีวิตน้อยที่สุดเท่ากับ 26.67 นอกจากนี้ยังพบว่าลักษณะของต้นข้าวที่เกิดขึ้นจะมีความยาวยอดและความยาวรากลดลงเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.27)

ตารางที่ 4.13 ผลของรังสีแกมมาที่มีต่อความมีชีวิตรอดของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ บนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ปริมาณรังสี (กิโลแรด)	จำนวนเมล็ด (เมล็ด)	ร้อยละการรอดชีวิตของเมล็ด
0	60	76.67^{a}
20	60	56.67^{b}
25	60	51.67^{b}
30	60	46.67^{b}
35	60	41.67^{bc}
40	60	26.67^{c}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ระหว่างค่าเฉลี่ย (Mean) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.26 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดชีวิตเมล็ดของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่กับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) หลังเมล็ดผ่านการฉายรังสีเป็นเวลา 4 สัปดาห์

รูปที่ 4.27 ลักษณะของต้นข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่บนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต (ก) ชุดควบคุมหรือเมล็ดข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสี และ (ข-ฉ) เมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20 25 30 35 และ 40 กิโลแรด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

4.5 ผลการศึกษาความสามารถในการทนแล้งของเมล็ดข้าวภายใต้ความเครียดของสารพอลีเอทิลีนไกลคอล 6000

4.5.1 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ

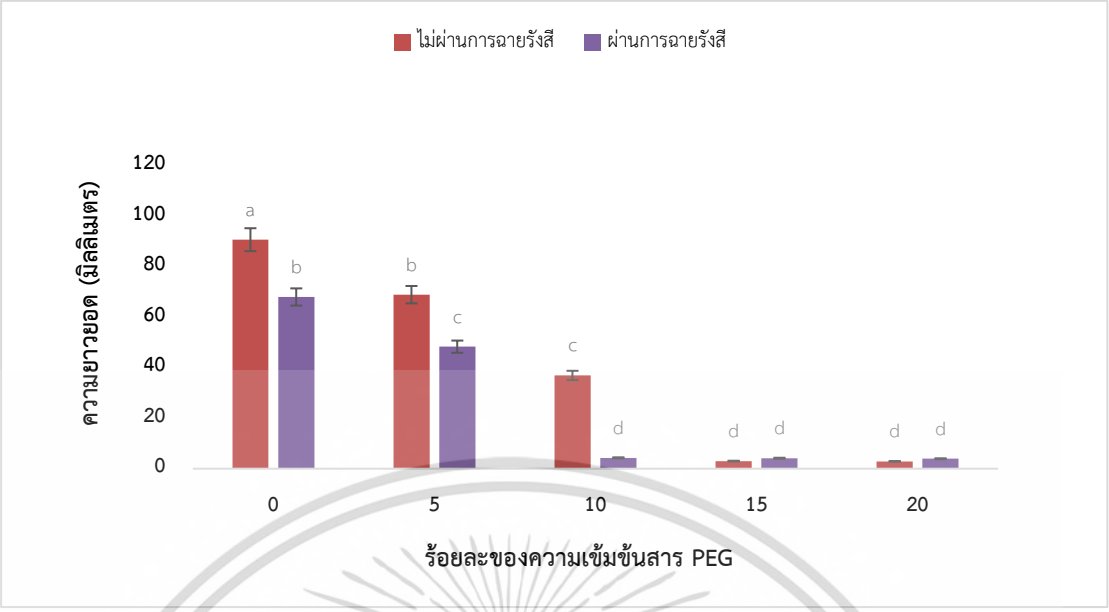
การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ พบว่าปริมาณรังสีที่เหมาะสมต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายสูงสุดมีค่าเท่ากับ 64.32 กิโลแรด ปรากฏดังผลในหัวข้อที่ 4.4.1 เพื่อคัดเลือกต้นกล้าที่สามารถทนต่อความแล้งได้ จึงนำเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสี (60 กิโลแรด) และเมล็ดที่ไม่ผ่านฉายรังสี มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และเติมสาร PEG 6000 เพื่อสร้างสภาวะเครียดจากความแล้ง ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 โดยพบว่าหลังการเพาะเลี้ยง 1 สัปดาห์ เมล็ดข้าวยังมีการงอกน้อย ยอดมีขนาดเล็กมากจึงไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ได้ จึงทำการเพาะเลี้ยงต่อจนครบ 4 สัปดาห์ พบว่าความยาวของต้นกล้าข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีมีค่าความยาวยอดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับต้นกล้า

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยขอนแก่น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือเผยแพร่ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ผ่านการฉายรังสี จากความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเข้มข้นของสาร PEG กับการฉายรังสีแกมมา ดังรูปที่ 4.29 พบว่าในต้นกล้าข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีในอาหารที่ไม่มีสาร PEG ให้ค่าความยาวยอดสูงสุดเท่ากับ 90.71 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีในอาหารที่ไม่มีสาร PEG จะมีความยาวยอดเฉลี่ยเท่ากับ 68.02 มิลลิเมตร นอกจากนี้ต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสีในอาหารที่ไม่มีสาร PEG ยังให้ความยาวยอดสูงสุดในทุก ๆ ร้อยละความเข้มข้นของสาร PEG เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน เห็นได้ชัดว่าที่ระดับความเข้มข้นของสาร PEG มากขึ้น จะส่งผลให้ทั้งต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสีและผ่านการฉายรังสีมีความยาวยอดลดลง ซึ่งผลดังกล่าวสามารถสังเกตได้ชัดเจนขึ้นดังรูปที่ 4.28

รูปที่ 4.28 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นกล้าข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสี (ก) และต้นกล้าข้าวผ่านการฉายรังสี (ข) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

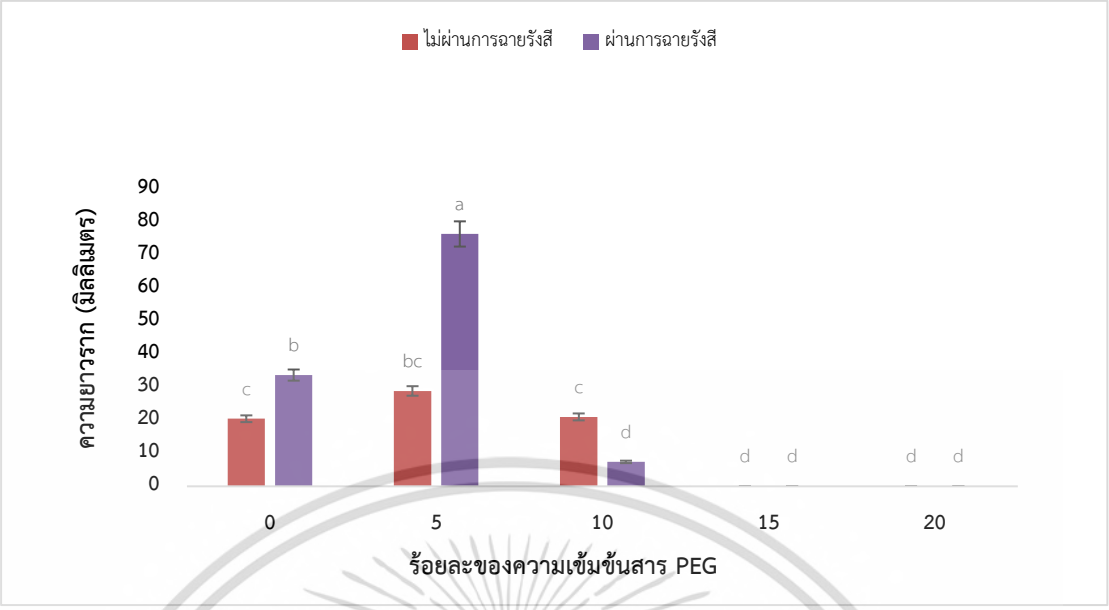
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.29 ค่าความยาวยอดเฉลี่ยของเมล็ดข้าวทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 60 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ผลการทดลองพบว่าความยาวรากเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีเมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสี (รูปที่ 4.30) ซึ่งต้นกล้าข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีมีค่าความยาวรากเฉลี่ยเพิ่มขึ้นที่ PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 และ 10 เช่นเดียวกับกับต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ในส่วนของความสัมพันธ์ระหว่างการฉายรังสีและความเข้มข้นของสาร PEG แสดงให้เห็นว่าต้นกล้าที่มีผ่านการฉายรังสีในอาหารที่มี PEG ความเข้มข้นร้อยละ 5 มีค่าความยาวรากเฉลี่ยสูงกว่าต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสีที่ความเข้มข้นของสาร PEG เท่ากัน พบว่าต้นกล้าข้าวที่ผ่านการฉายรังสีและไม่ผ่านการฉายรังสี ในทุกความเข้มข้นจากสาร PEG ทั้งหมดนั้นได้รับความเครียดจากสภาวะแล้ง ส่งผลให้ค่าความยาวเฉลี่ยของรากลดลงเมื่อร้อยละความเข้มข้นของ PEG เพิ่มขึ้น ซึ่งจะเห็นได้จาก PEG ความเข้มข้นร้อยละ 15 และ 20 ไม่เกิดราก ซึ่งตรงข้ามกับงานวิจัยของ ตุลาพร และวัฒนา (2549) พบว่าความยาวของรากข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแล้งนั้นเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับรากที่สภาวะปกติ

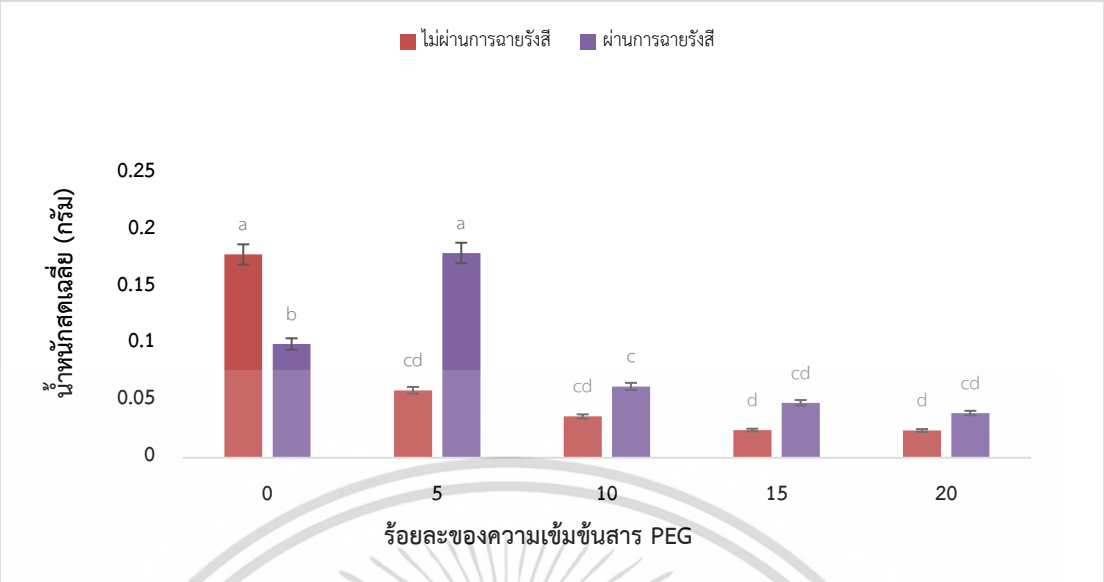
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.30 ค่าความยาวรากเฉลี่ยของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 60 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

การทดลองพบว่าค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยลดลงในต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสีเมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสี (รูปที่ 4.31) จากข้อมูลชี้ให้เห็นว่าต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีและไม่ผ่านการฉายรังสีมีการตอบสนองที่คล้ายกันภายใต้ความเครียดของสาร PEG โดยน้ำหนักสดเฉลี่ยจะลดลงเมื่อร้อยละความเข้มข้นของสาร PEG เพิ่มขึ้น ดังจะเห็นได้จากความสัมพันธ์ระหว่างต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสีที่ถูกเพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสาร PEG พบว่าน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงกว่าถึง 0.1787 กรัม เมื่อเทียบกับต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีที่ร้อยละของความเข้มข้นสาร PEG เท่ากันให้น้ำหนักสดเฉลี่ย 0.1000 กรัม ซึ่งมีค่าที่น้อยกว่า

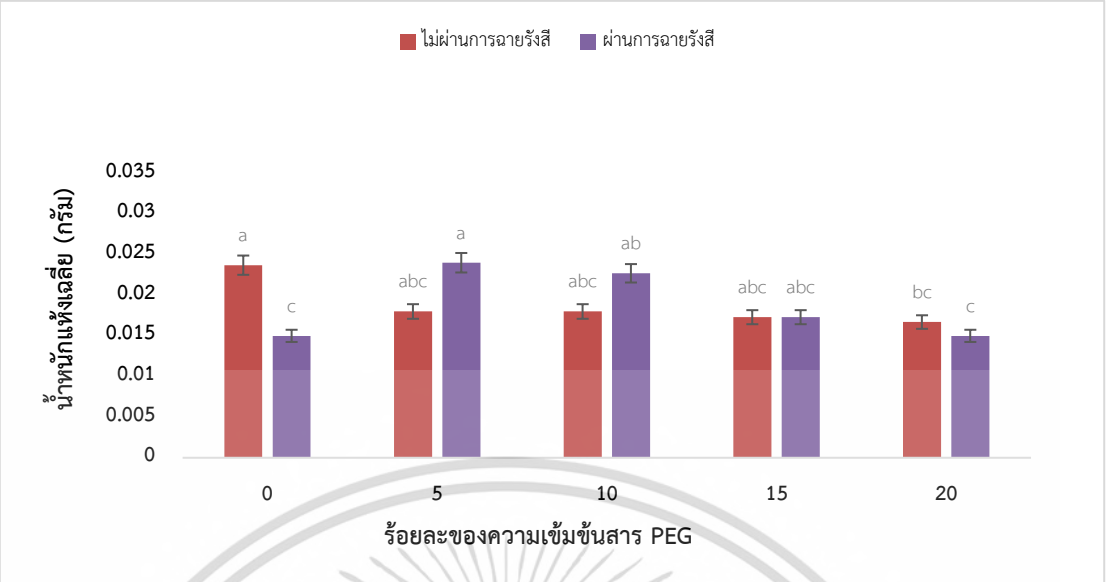
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.31 ค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 60 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

จากรูปที่ 4.32 แสดงให้เห็นว่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของ PEG สูงขึ้นเมื่อสังเกตในต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีและไม่ผ่านการฉายรังสี ความเข้มข้นของ PEG ร้อยละ 5 10 15 และ 20 จะให้ค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสาร PEG ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีกับไม่ผ่านการฉายรังสีที่เพาะเลี้ยงในอาหาร PEG ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่าในต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 5 ให้ค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยสูง 0.0240 กรัม มากกว่าต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับความเข้มข้นของสาร PEG เดียวกัน

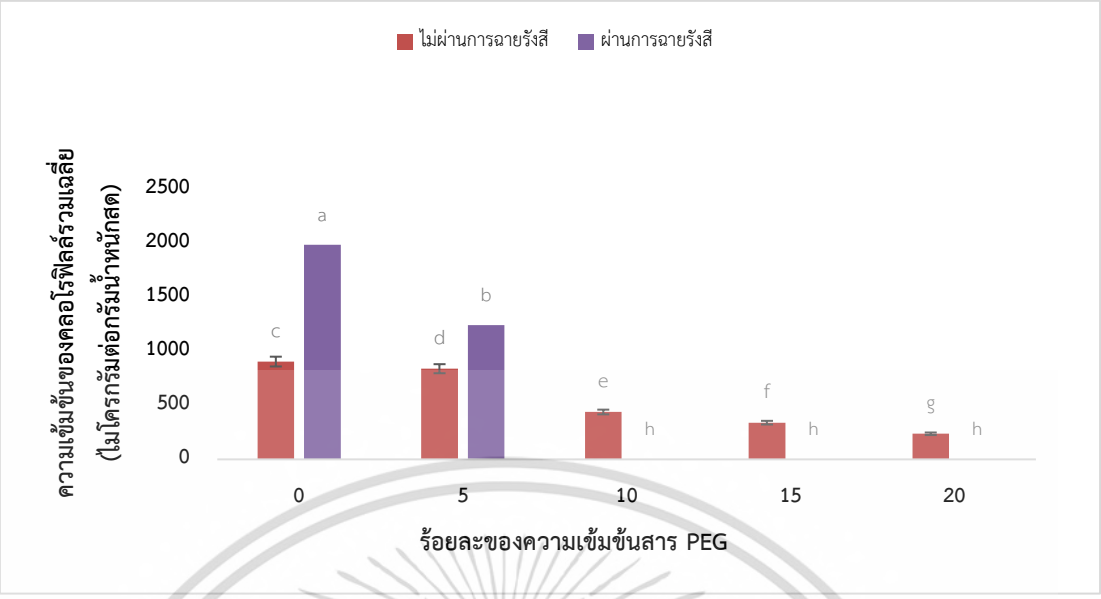
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.32 ค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 60 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์รวมเฉลี่ยของต้นกล้าข้าว พบว่าความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์รวมเฉลี่ยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีและต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสี ดังรูปที่ 4.33 ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีและไม่ผ่านการฉายรังสี พบว่าต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีที่ร้อยละความเข้มข้นของสาร PEG ร้อยละ 0 และ 5 จะมีความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์รวมเฉลี่ยสูงกว่าต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสีที่ความเข้มข้นของ PEG เดียวกันแต่ เมื่อความเข้มข้นของ PEG สูงขึ้นมากกว่าร้อยละ 5 จะไม่สามารถวัดค่าคลอโรฟิลล์ได้ เนื่องจากการเจริญเติบโตของเมล็ดถูกยับยั้งด้วยรังสีและไม่สามารถทนต่อสภาวะแล้งได้

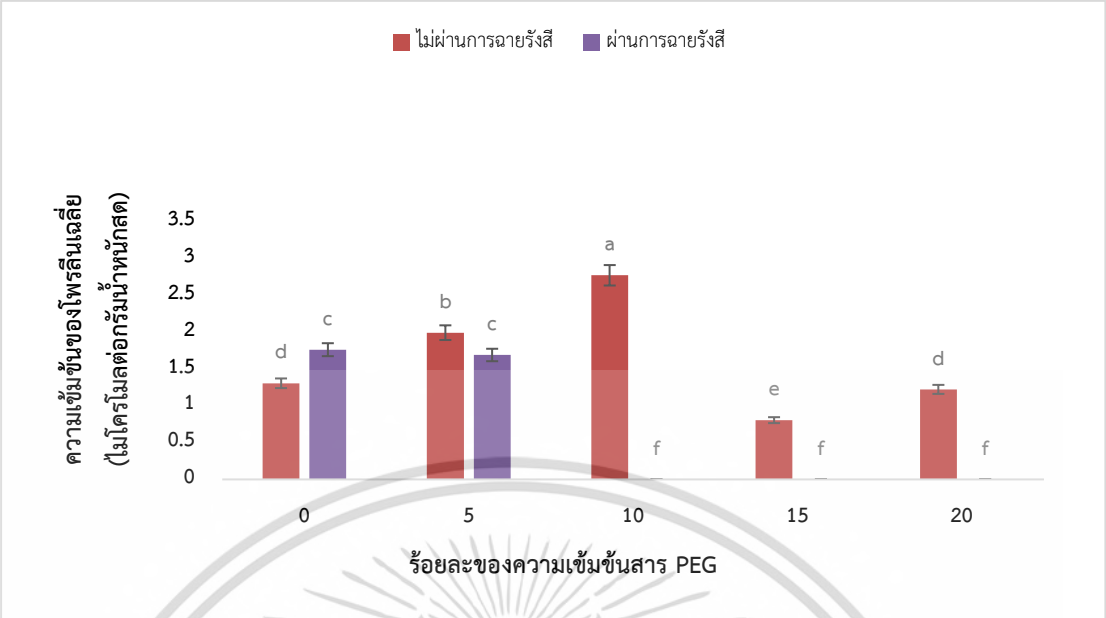
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.33 ค่าคลอโรฟิลล์รวมเฉลี่ยของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 60 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

การวิเคราะห์หาปริมาณโพรลีนเฉลี่ยของต้นกล้าข้าว พบว่าความเข้มข้นของโพรลีนเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสีเมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสี (รูปที่ 4.34) ความเข้มข้นของโพรลีนเฉลี่ยเพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้นของสาร PEG ร้อยละ 5 และ 10 เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าข้าวที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสาร PEG ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างต้นที่ผ่านการฉายรังสีที่ทุกระดับความเข้มข้นของสาร PEG พบว่ามีความเข้มข้นของโพรลีนลดลง โดยที่ความเข้มข้นของสาร PEG ร้อยละ 10 ให้ค่าโพรลีนสูงที่สุดเมื่อเทียบกับต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีที่ความเข้มข้นของสาร PEG เดียวกัน ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสีสามารถทนสภาวะแล้งได้ดีกว่าต้นที่ผ่านการฉายรังสี เนื่องจากปริมาณรังสีอาจสูงเกินไปส่งผลกระทบให้ต้นกล้าข้าวเจริญได้น้อยแม้ในสภาวะทั่วไป และไม่สามารถเจริญได้เลยในสภาวะแล้งที่ทำการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

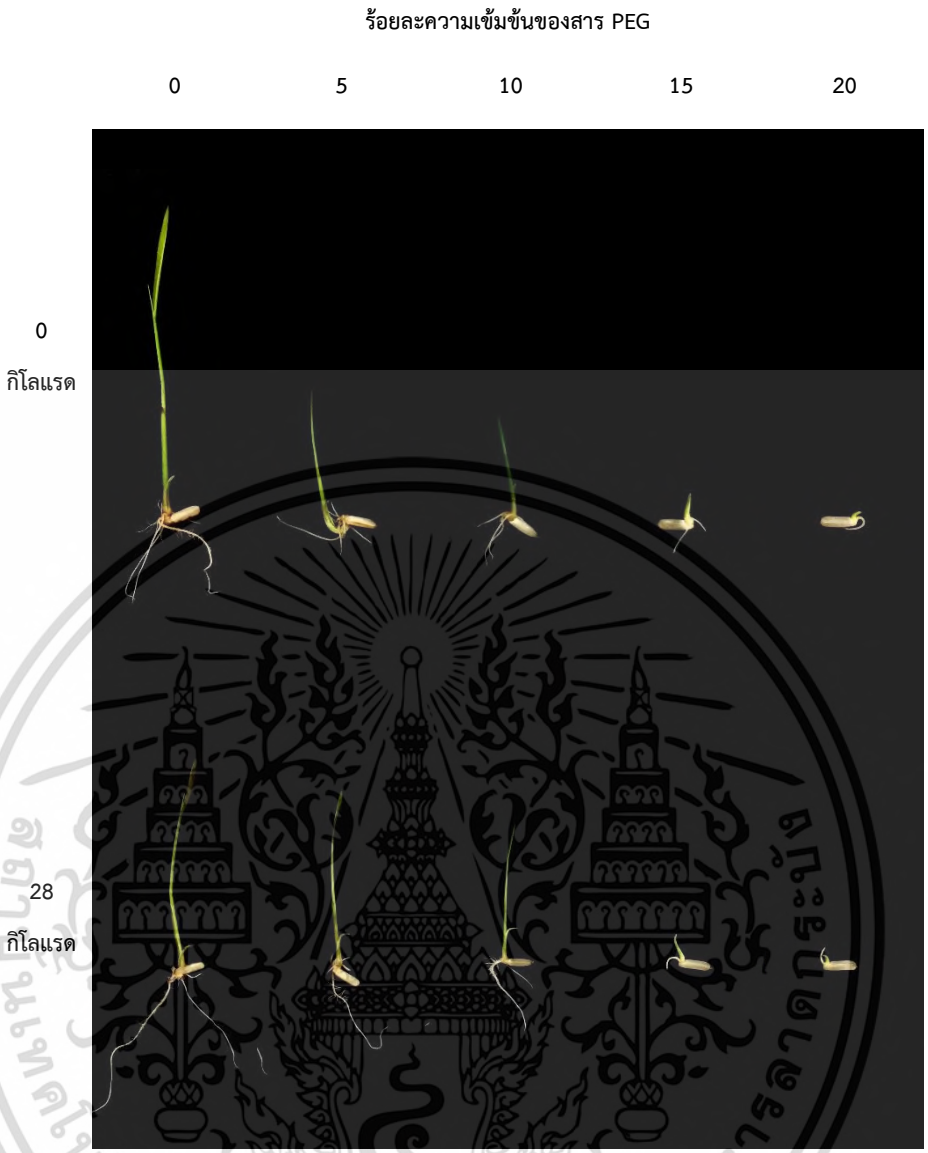


รูปที่ 4.34 ค่าความเข้มข้นของโพรลีนเฉลี่ยของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 60 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

4.5.2 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่

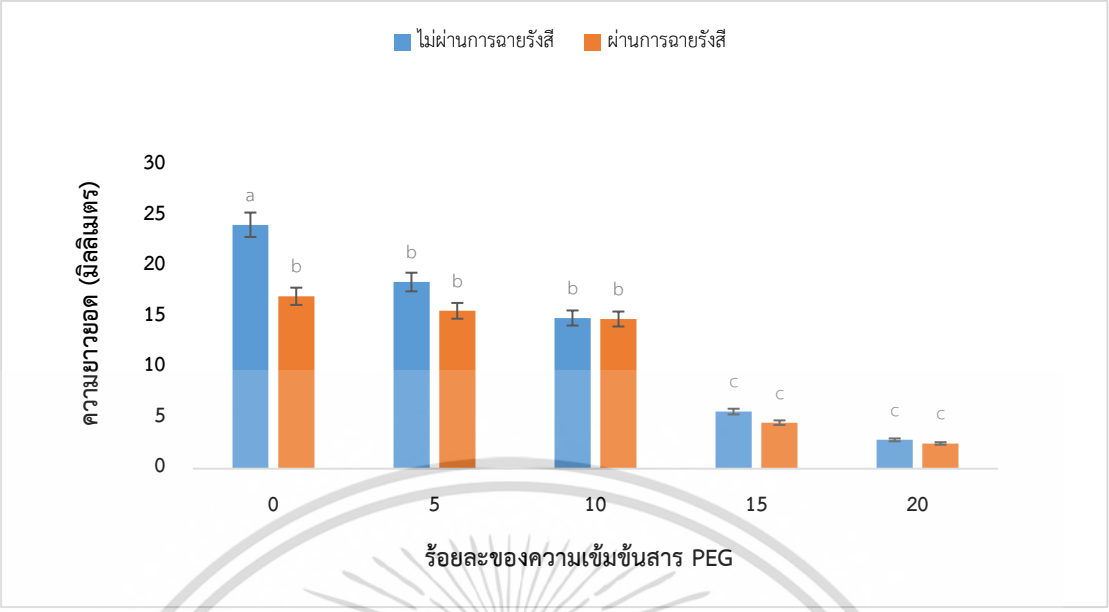
การฉายรังสีแกมมาในเมล็ดข้าวสายพันธุ์ข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ พบว่าปริมาณรังสีที่เหมาะสมต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายสูงสุดมีค่าเท่ากับ 27.58 กิโลแรด หรือ 28 กิโลแรด ปรากฏดังผลในหัวข้อที่ 4.4.3 จึงได้นำเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีที่ 28 กิโลแรด มาเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารแข็งสูตร NB ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และเติมสาร PEG 6000 เพื่อสร้างสภาวะเครียดจากความแล้ง ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 พบว่าหลังการเพาะเลี้ยง 7 วัน ความยาวของต้นกล้าข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีมีค่าความยาวยอดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสี จากความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเข้มข้นของสาร PEG กับการฉายรังสีแกมมา ดังรูปที่ 4.36 พบว่าในต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสีและไม่มีสาร PEG ให้ค่าความยาวยอดสูงสุดเท่ากับ 24.15 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีและไม่มีสาร PEG จะมีความยาวยอดเฉลี่ยเท่ากับ 17.07 มิลลิเมตร นอกจากนี้ต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสีและไม่มีสาร PEG ยังให้ความยาวยอดสูงสุดที่ PEG 15.00 ถึง 5.66 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ฉายรังสีที่ความเข้มข้นของสาร PEG เดียวกัน ซึ่งมีความยาวยอดเฉลี่ยเท่ากับ 4.56 มิลลิเมตร ซึ่งผลดังกล่าวสามารถสังเกตได้ชัดเจนขึ้นดังรูปที่ 4.35 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นกล้าที่ไม่ฉายรังสีและต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.35 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นกล้าข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านการฉายรังสี (ก) และต้นกล้าข้าวผ่านการฉายรังสี (ข) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

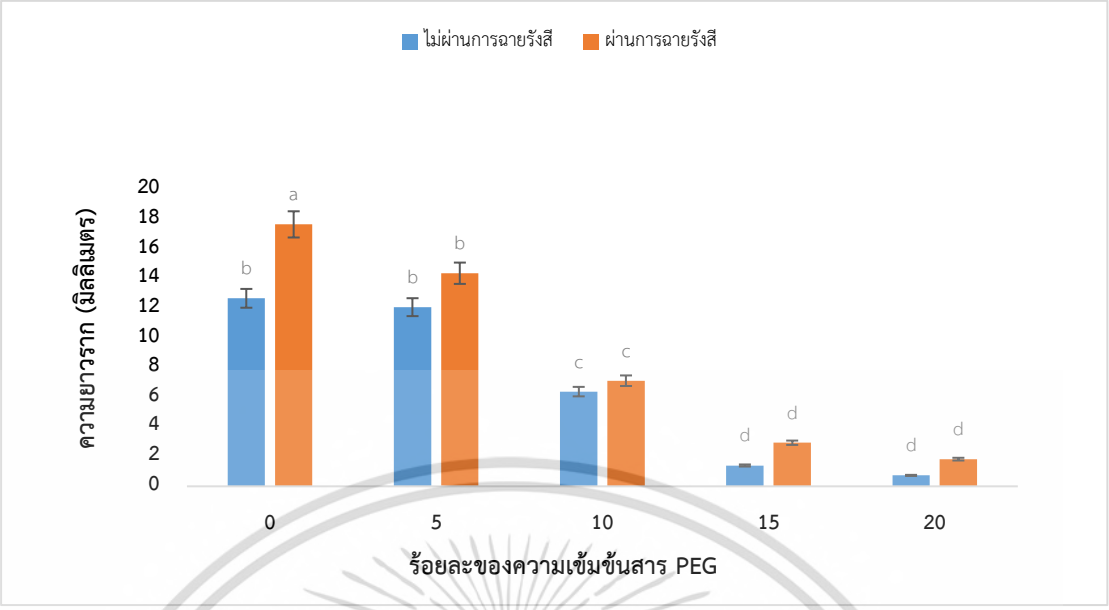


รูปที่ 4.36 ค่าความยาวยอดเฉลี่ยของเมล็ดข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 28 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน

จากผลการทดลองพบว่าความยาวรากเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในต้นกล้าที่ฉายรังสีเมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสี (รูปที่ 4.35) ต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสีมีค่าความยาวรากเฉลี่ยลดลงที่ PEG ความเข้มข้นร้อยละ 5 10 15 และ 20 เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสี ในส่วนของความสัมพันธ์ระหว่างการฉายรังสีและร้อยละความเข้มข้นของสาร PEG แสดงให้เห็นว่าต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีที่ถูกเพาะเลี้ยงใน PEG ความเข้มข้นร้อยละ 15 มีค่าความยาวรากเฉลี่ยสูงกว่าต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสีที่ความเข้มข้นของสาร PEG เท่ากัน จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ชัดเจนขึ้นเมื่อแสดงกราฟดังรูปที่ 4.37 พบว่าต้นกล้าข้าวที่ผ่านการฉายรังสีและไม่ผ่านการฉายรังสี ในทุกความเข้มข้นจากสาร PEG ทั้งหมดนั้นได้รับความเครียดจากสภาวะแล้งส่งผลให้ค่าความยาวเฉลี่ยของรากลดลงเมื่อร้อยละความเข้มข้นของ PEG เพิ่มขึ้น

การพัฒนาการเจริญเติบโตของเซลล์ถือเป็นหนึ่งในการเปลี่ยนแปลงที่มีความไวต่อความแห้งแล้งมากที่สุด การลดลงของความยาวยอดมาจากการที่น้ำจากไซเลมหยุดไหลไปยังบริเวณต่าง ๆ ได้ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hagen. *et al*. (1961) ในการศึกษานี้พบว่าลักษณะสัณฐานวิทยาของข้าวเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล ความยาวยอดและรากลดลง เนื่องจากผลกระทบของรังสีแกมมาที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการโดยการกระตุ้นเซลล์พันธุกรรม ชีวเคมี และสรีรวิทยาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์และเนื้อเยื่อ

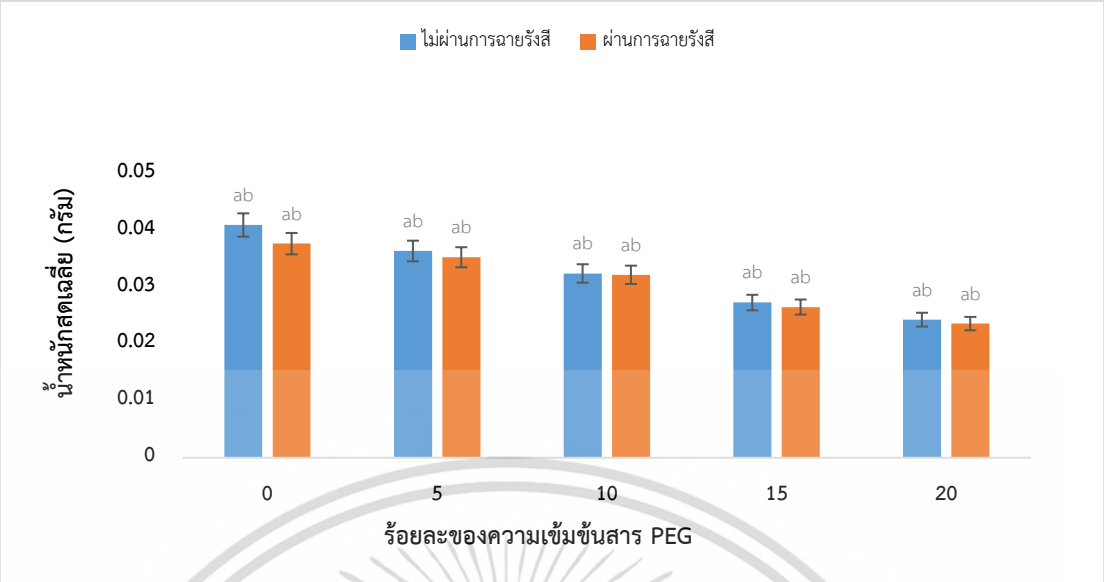
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.37 ค่าความยาวรากเฉลี่ยของเมล็ดข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 28 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน

จากการทดลองพบว่าค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสีเมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสี (รูปที่ 4.38) จากข้อมูลชี้ให้เห็นว่าต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีและไม่ผ่านการฉายรังสีมีการตอบสนองที่คล้ายกันภายใต้ความเครียดของสาร PEG โดยน้ำหนักสดเฉลี่ยจะลดลงเมื่อร้อยละความเข้มข้นของสาร PEG เพิ่มสูงขึ้น ดังจะเห็นได้จากความสัมพันธ์ระหว่างต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสีที่ถูกเพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสาร PEG พบว่าน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงกว่าถึง 0.0409 กรัม เมื่อเทียบกับต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีที่ร้อยละของความเข้มข้นสาร PEG เท่ากัน ให้น้ำหนักสดเฉลี่ย 0.0376 กรัม ซึ่งมีค่าที่น้อยกว่า จากผลการทดลอง พบว่าต้นที่ผ่านการฉายรังสีจะมีความยาวรากสูงเมื่อมีความเข้มข้นของสาร PEG เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pattanagul and Thitisaksakul (2008) กล่าวว่าการพัฒนารากเป็นตัวบ่งชี้ถึงการตอบสนองภายใต้สภาวะเครียด แม้ในขณะที่ใบไม่เจริญเติบโตแต่ยังคงสังเคราะห์แสงได้ Jaleel. *et al*. (2009) ได้กล่าวว่าระบบรากแขนงมีความเกี่ยวข้องกับการทนแล้ง ส่วนใหญ่เป็นเพราะความสามารถในการดึงน้ำจากดินและการขนย้ายน้ำไปยังส่วนเหนือพื้นดินมากขึ้นเพื่อใช้ในการสังเคราะห์แสง

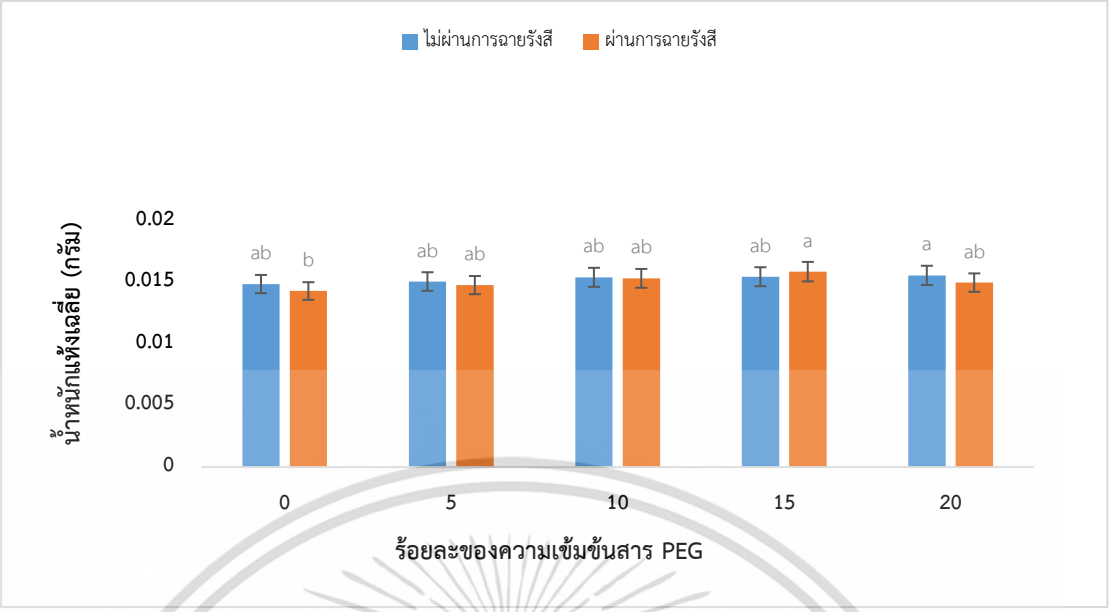
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.38 ค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของเมล็ดข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 28 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน

จากรูปที่ 4.39 แสดงให้เห็นว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของน้ำหนักแห้งเฉลี่ยเมื่อสังเกตในต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีและไม่ผ่านการฉายรังสี นอกจากนี้ที่ร้อยละความเข้มข้นของ PEG ทั้งหมดให้ค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ถูกเพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสาร PEG ความสัมพันธ์ระหว่างต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีกับไม่ผ่านการฉายรังสีที่ถูกเพาะเลี้ยงในร้อยละความเข้มข้นของ PEG ที่แตกต่างกัน พบว่าในต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีที่ถูกเพาะเลี้ยงในสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้ค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยสูงกว่าต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสีที่ความเข้มข้นของสาร PEG เท่ากัน การเพิ่มสาร PEG ในอาหารเพาะเลี้ยงทำให้น้ำในอาหารเพาะเลี้ยงลดลง ทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งจะลดลง เนื่องจากแรงดันออสโมติกมีผลต่อการสะสมของธาตุที่ละลายน้ำได้ในเซลล์

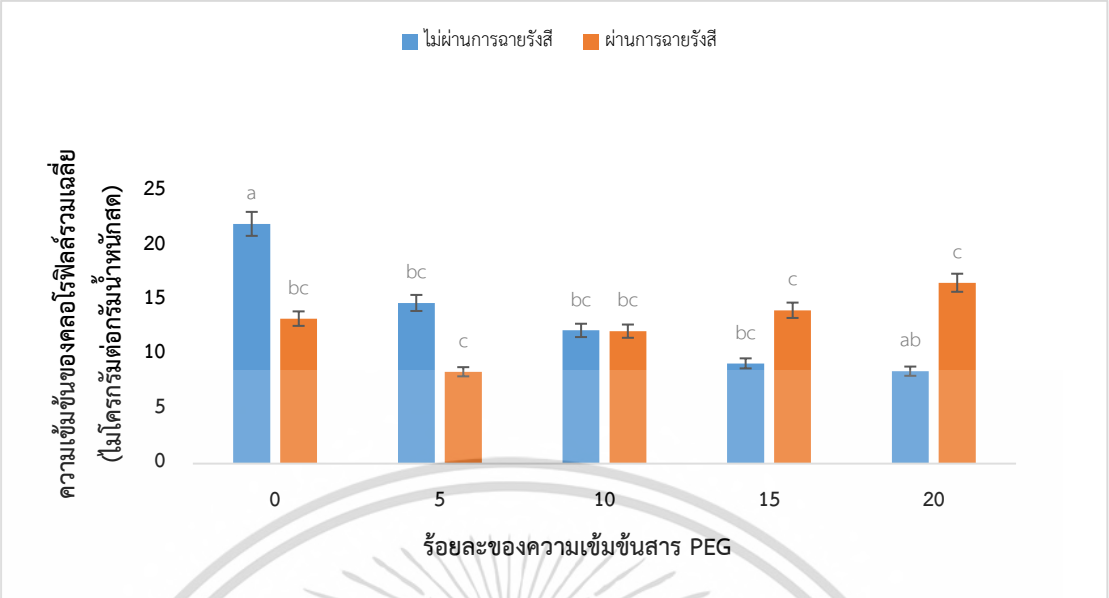
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.39 ค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเมล็ดข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 28 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์รวมทั้งหมดของต้นกล้าข้าว พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีและต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสีของความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์รวมเฉลี่ย แต่ทั้งสองเมื่อเปรียบกับต้นกล้าที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสาร PEG ปริมาณคลอโรฟิลล์จะลดลง ดังรูปที่ 4.40 ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีและไม่ผ่านการฉายรังสี พบว่าต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีที่ร้อยละความเข้มข้นของสาร PEG ต่าง ๆ จะมีความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์รวมสูงกว่าต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสีที่ความเข้มข้นของ PEG ร้อยละ 15 และ 20 ความแล้งทำให้คลอโรฟิลล์เกิดความเสียหายโดยไปลดการสังเคราะห์แสง เนื่องจากปากใบและเมโซฟิลล์ลดลง จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าคลอโรฟิลล์รวมลดลงเมื่อมีความเข้มข้นของสารพอลิเอทิลีนไกลคอลเพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลสอดคล้องกับ Almeselmani. *et al*. (2012) พบว่าสาร PEG ลดอัตราการสังเคราะห์แสง โดยไปลดปริมาณคลอโรฟิลล์ของฝ้าย อนุภาคของรังสีสามารถสร้างความเสียหายหรือเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบที่สำคัญของเซลล์พืชได้ เช่นเดียวกับรายงานของ Ashraf. *et al*. (2003) กล่าวว่าปริมาณรังสีจะส่งผลต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมี และสรีรวิทยาของพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

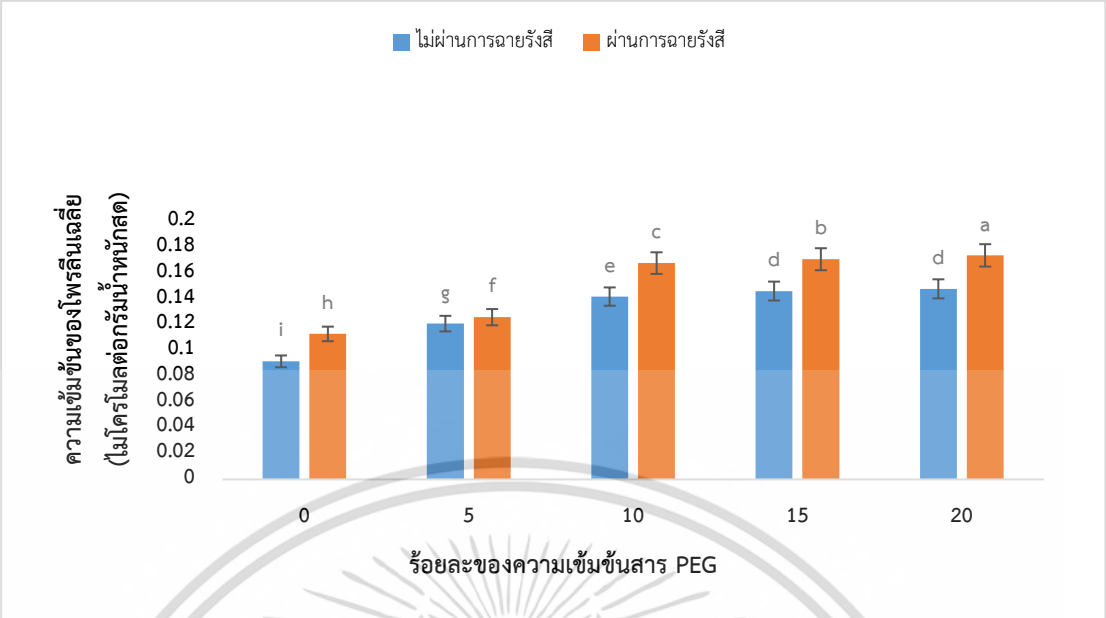


รูปที่ 4.40 ค่าคลอโรฟิลล์รวมเฉลี่ยของเมล็ดข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 28 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณโพรลีนของต้นกล้าข้าว พบว่าความเข้มข้นของโพรลีนเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในต้นกล้าที่ผ่านการการฉายรังสีเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสี (รูปที่ 4.41) ความเข้มข้นของโพรลีนเฉลี่ยเพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้นของสาร PEG ร้อยละ 5 10 15 และ 20 เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าข้าวที่ถูกเพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสาร PEG ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างต้นที่ผ่านการฉายรังสีที่ทุกระดับความเข้มข้นของสาร PEG พบว่ามีความเข้มข้นของโพรลีนสูงขึ้นด้วย เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสีที่ PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 ดังเช่นในต้นกล้าที่ผ่านการฉายรังสีที่ความเข้มข้นของสาร PEG ร้อยละ 20 ที่มีค่าโพรลีนสูงที่สุดเมื่อเทียบกับต้นกล้าที่ไม่ผ่านการฉายรังสีที่ความเข้มข้นของ PEG เดียวกัน

โพรลีนเป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งถูกสร้างขึ้นมาจากกรดกลูตามิกโดยทั่วไปพืชจะมีการสะสมโพรลีนอยู่แล้วแต่อยู่ในระดับต่ำ จากผลการทดลองพบว่าปริมาณโพรลีนจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อ PEG สูงขึ้น เช่นเดียวกับ Gzik (1996) ที่ได้ศึกษาว่าการสะสมของโพรลีนเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ PEG สูงขึ้นข้าวที่ผ่านการฉายรังสีมีปริมาณโพรลีนสูงสุดเมื่อเทียบกับการไม่ฉายรังสี เช่นเดียวกับการวิจัยของ Waranya (1998) พบว่าใบของข้าวสายพันธุ์ กข 23 ที่ทนแล้งได้นั้น มีปริมาณโพรลีนสูงกว่าในสายพันธุ์ปกติจึงสามารถนำปริมาณโพรลีนเป็นดัชนีในการคัดเลือกข้าวทนแล้งได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.41 ค่าความเข้มข้นของโพรลีนเฉลี่ยของเมล็ดข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 28 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) และ 0 กิโลแรด (ไม่ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน

4.6 ผลการศึกษาความสามารถในการทนแล้งของแคลลัสข้าวภายใต้ความเครียดของสารพอลีเอทิลีนไกลคอล 6000

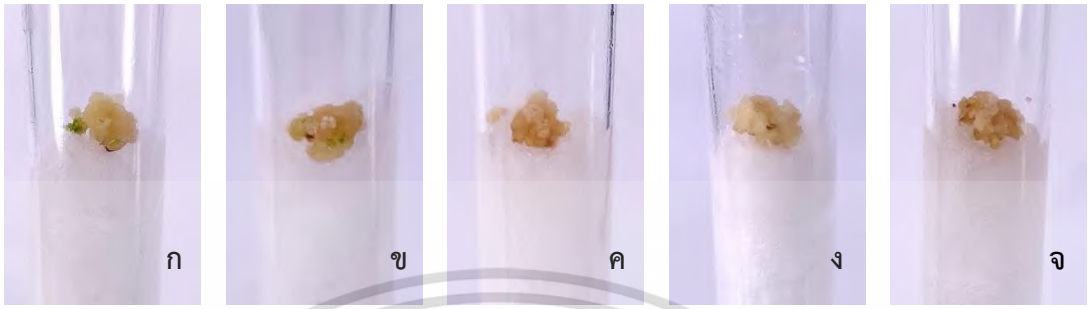
4.6.1 แคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ไม่ผ่านการฉายรังสี

ผลจากการศึกษาความสามารถในการทนแล้งของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ได้จากสูตรอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดคืออาหาร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร จากนั้นนำแคลลัสมาเพาะเลี้ยงต่อภายใต้สภาวะแล้งจำลองจากสาร PEG มวลโมเลกุล 6000 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าในทุก ๆ ความเข้มข้นของ PEG แคลลัสมีขนาดใหญ่ขึ้น บางก้อนมีสีเหลืองอ่อน บางก้อนมีสีน้ำตาล และบางก้อนแคลลัสเกิดจุดเขียวและราก นอกจากนี้ยังสังเกตเห็นได้ว่าจำนวนแคลลัสมีสีน้ำตาลมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสาร PEG มากขึ้น (ดังรูปที่ 4.42) และจากตารางที่ 4.14 พบว่าร้อยละของแคลลัสที่เกิดจุดเขียว ราก และน้ำหนักสดเฉลี่ยจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสาร PEG สูงขึ้น ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับ Reddy. *et al*. (1994) ที่กล่าวว่า สาร PEG มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณของแคลลัสในพืชหลายชนิดรวมถึงข้าวด้วย และลักษณะทางพันธุกรรมของข้าวหลายพันธุ์ที่แตกต่างกันนั้นมีผลชักนำและการเพิ่มจำนวนแคลลัสด้วยเช่นกัน หากปริมาณน้ำภายในเซลล์ลดลงจะทำให้เซลล์เกิดการบวมน้ำเป็นผลให้แคลลัสเจริญลดลง (Al-Khayri, 2002)

ในสภาวะอาหารแล้งพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสาร PEG เพิ่มขึ้น แคลลัสของข้าวจะมีปริมาณความเข้มข้นของโพรลีนที่เพิ่มขึ้นทีละเล็กน้อย โดยที่ระดับ PEG ความเข้มข้นร้อยละ 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะมีปริมาณโพรลีนเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน 58.47 ไมโครโมลต่อกรัมน้ำหนักสด และจะลดลงหลังจากนั้น จากเหตุการณ์นี้อาจกล่าวได้ว่าแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ไม่ผ่านการฉายรังสีสามารถทนสภาวะแล้งภายใต้สาร PEG ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 (ดังรูปที่ 4.44)



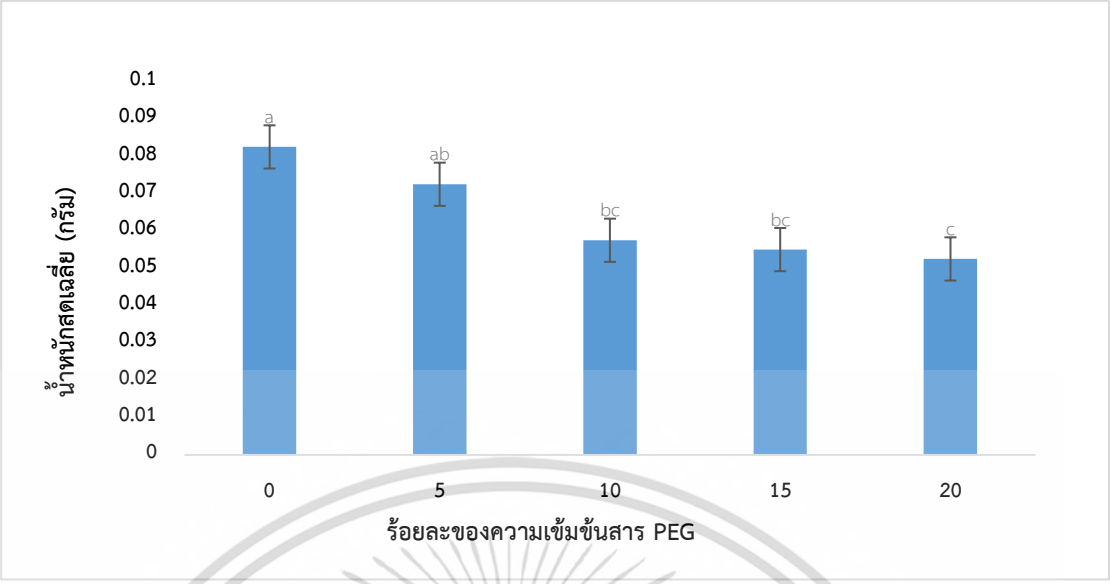
รูปที่ 4.42 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ไม่ผ่านการฉายรังสีหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ (ก-จ) เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ตารางที่ 4.14 ร้อยละของแคลลัสที่เกิดจุดเขียว ราก และน้ำหนักสดเฉลี่ย จากแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG 6000 ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 เป็นเวลา 4 สัปดาห์

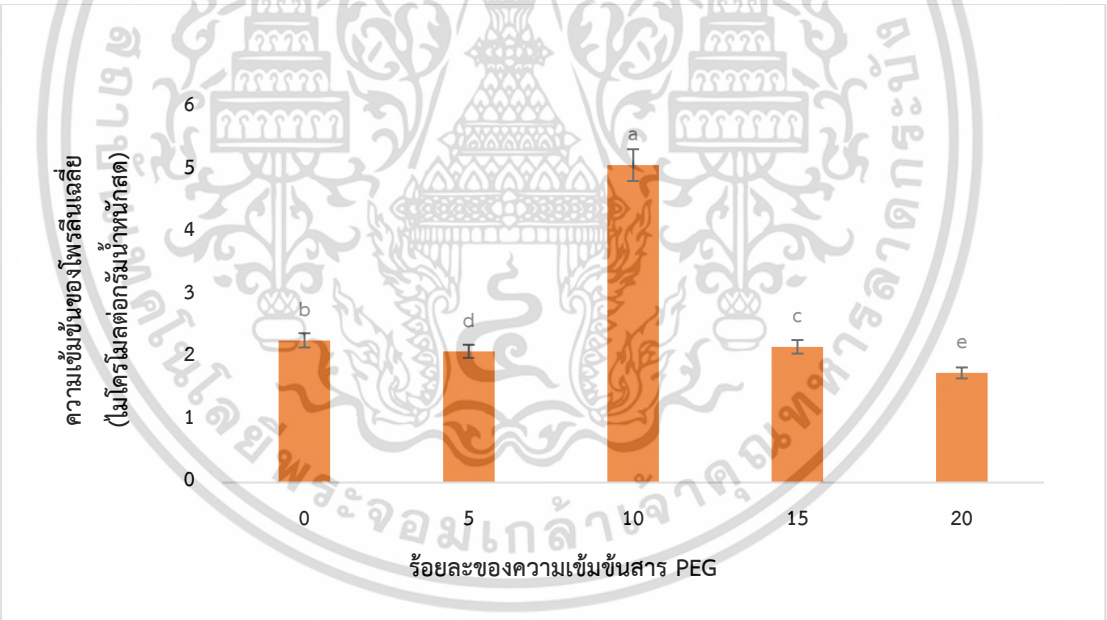
ร้อยละของความเข้มข้นสาร PEG	จำนวนแคลลัสที่เพาะเลี้ยง (ชิ้น)	ร้อยละของแคลลัสที่เกิดจุดเขียว	ร้อยละของแคลลัสที่เกิดราก	น้ำหนักสดเฉลี่ย (กรัม)	ความเข้มข้นของโพรลีน (ไมโครโมลต่อกรัมน้ำหนักสด)
0	10	40	40	0.0825 ± 0.0050^{a}	26.19^{b}
5	10	60	50	0.0725 ± 0.0096^{ab}	24.17^{d}
10	10	70	30	0.5750 ± 0.1258^{bc}	58.47^{a}
15	10	40	20	0.0550 ± 0.0126^{bc}	25.00^{c}
20	10	20	10	0.0525 ± 0.0050^{c}	20.19

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ระหว่างค่าเฉลี่ย (Mean) $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.43 ค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

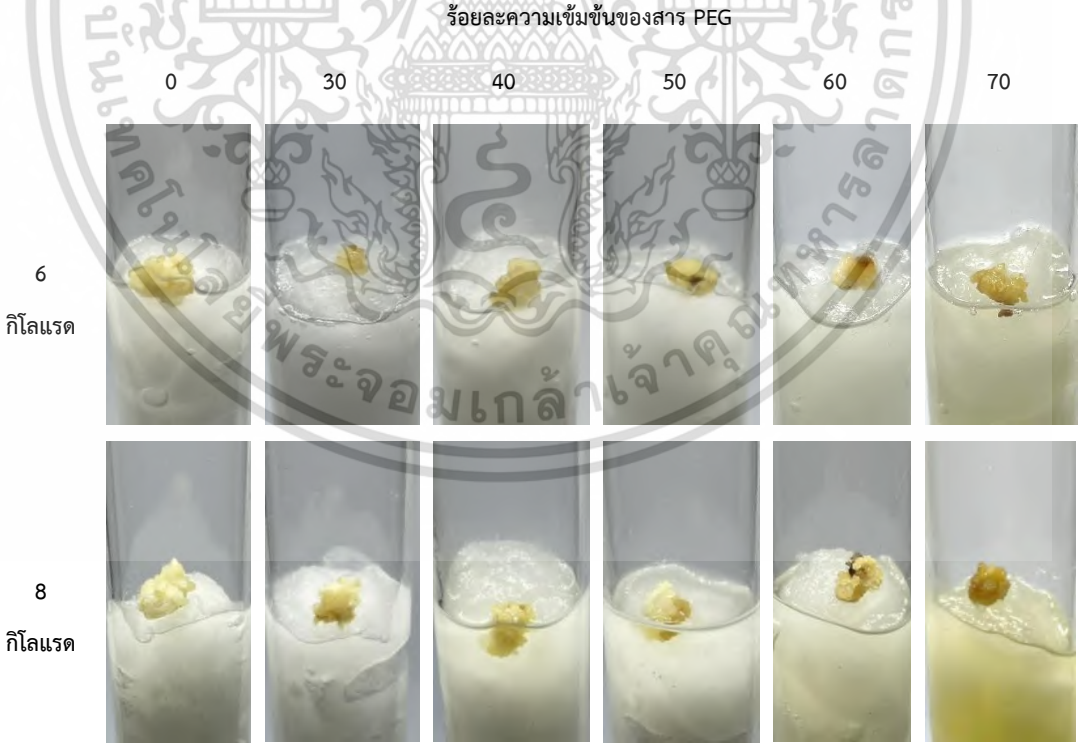


รูปที่ 4.44 ค่าความเข้มข้นของโพรลีนเฉลี่ยของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6.2 แคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสี

ผลจากการศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ พบว่าปริมาณรังสีที่เหมาะสมต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายสูงสุดมีค่าเท่ากับ 7.62 กิโลแรด หรือ 8 กิโลแรด ปรากฏดังผลในหัวข้อที่ 4.3.1 เพื่อคัดเลือกแคลลัสที่สามารถทนต่อความแล้งได้ จึงนำเมล็ดไปฉายรังสีที่ 6 และ 8 กิโลแรด จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และเติมสาร PEG 6000 ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 เพาะเลี้ยง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยพบว่าจำนวนแคลลัสที่มีสีน้ำตาลจะมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสาร PEG มากขึ้น (ดังรูปที่ 4.45) และจากตารางที่ 4.15 พบว่าแคลลัสของข้าวมีน้ำหนักสดเฉลี่ยลดลง (รูปที่ 4.46) และไม่พบร้อยละของแคลลัสที่เกิดจุดเขียว และราก ในทุกระดับความเข้มข้น แต่ในทางกลับกันพบว่าทั้งปริมาณรังสีที่ 6 และ 8 กิโลแรด มีปริมาณความเข้มข้นของโพรลีนเพิ่มขึ้นทีละเล็กน้อย โดยที่ระดับ PEG ความเข้มข้นร้อยละ 30 ในแคลลัสที่ผ่านการฉายรังสี 6 กิโลแรด จะมีปริมาณโพรลีนเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน 21.27 ไมโครโมลต่อกรัมน้ำหนัก จากเหตุการณ์นี้อาจกล่าวได้ว่าแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณ 6 กิโลแรด สามารถทนสภาวะแล้งภายใต้สาร PEG ที่ความเข้มข้นร้อยละ 30 ซึ่งมีค่ามากกว่าในทุกระดับความเข้มข้นของ PEG (รูปที่ 4.47) และยังมีค่ามากกว่าแคลลัสที่ไม่ผ่านการฉายรังสี ซึ่งอาจมีแนวโน้มที่จะได้แคลลัสทนแล้งจากการกลายที่มาจากการฉายรังสีแกมมาซึ่งการวิเคราะห์โพรลีนนี้สามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชให้ทนต่อสภาวะแล้งได้ Handa. *et al*. (1986) รายงานว่าการสะสมของโพรลีนของเซลล์และแคลลัสนั้นแสดงถึงการที่เซลล์อยู่ในสภาวะแล้ง



รูปที่ 4.45 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 6 และ 8 กิโลแรด หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 30 40 50 60 และ 70 เป็นเวลา 4 สัปดาห์

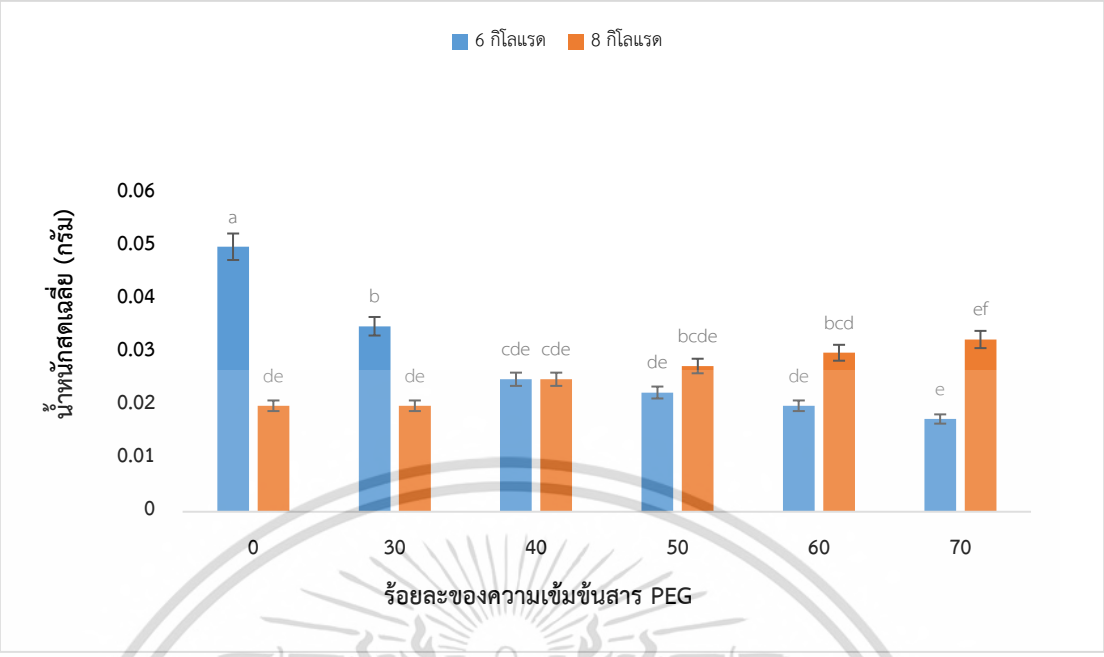
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.15 แสดงร้อยละของแคลลัสที่เกิดจุดเขียว ราก และน้ำหนักสดเฉลี่ย จากแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 6 และ 8 กิโลแรด เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG 6000 ความเข้มข้นร้อยละ 0 30 40 50 60 และ 70 เป็นเวลา 4 สัปดาห์

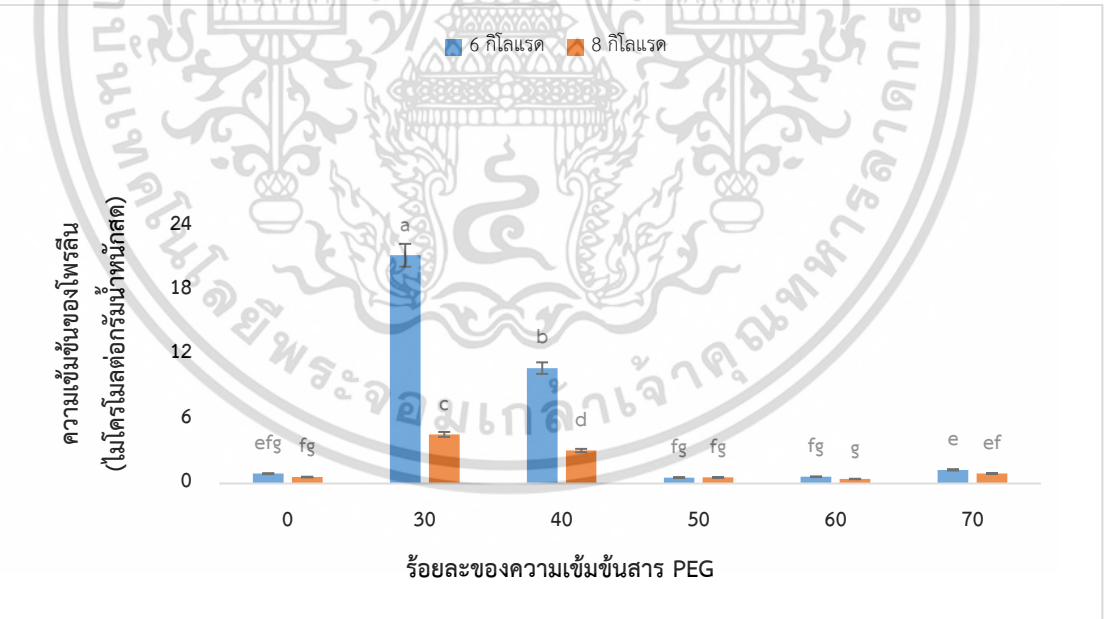
ปริมาณรังสี (กิโลแรด)	ร้อยละของความเข้มข้นสาร PEG	จำนวนแคลลัสที่เพาะเลี้ยง (ชิ้น)	ร้อยละของแคลลัสที่เกิดจุดเขียว	ร้อยละของแคลลัสที่เกิดราก	น้ำหนักสดเฉลี่ย (กรัม)	ความเข้มข้นของโพรลีน (ไมโครโมลต่อกรัมน้ำหนักสด)
6	0	10	0	0	0.0500 ± 0.0082^{a}	0.92^{a}
	30	10	0	0	0.0350 ± 0.0058^{b}	21.27^{b}
	40	10	0	0	0.2500 ± 0.0123^{cde}	10.76^{cde}
	50	10	0	0	0.0225 ± 0.0050^{de}	0.56^{de}
	60	10	0	0	0.0200 ± 0.0000^{de}	0.64^{de}
	70	10	0	0	0.0175 ± 0.0050^{e}	1.28^{e}
8	0	10	0	0	0.0325 ± 0.0050^{de}	0.60^{de}
	30	10	0	0	0.0300 ± 0.0082^{de}	4.58^{de}
	40	10	0	0	0.0275 ± 0.0050^{cde}	3.08^{cde}
	50	10	0	0	0.0250 ± 0.0058^{bcde}	0.56^{bcde}
	60	10	0	0	0.0200 ± 0.0000^{bcd}	0.42^{bcd}
	70	10	0	0	0.0200 ± 0.0000^{bc}	0.94^{ef}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ระหว่างค่าเฉลี่ย (Mean) $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.46 ค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสข้าวทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 6 และ 8 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 30 40 50 60 และ 70 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.47 ค่าความเข้มข้นของโพรลีนเฉลี่ยของแคลลัสข้าวทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ 6 และ 8 กิโลแรด (ผ่านการฉายรังสี) หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 0 30 40 50 60 และ 70 ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7 ผลการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นใหม่

4.7.1 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ

นำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่ดีสุด นั่นคืออาหารแข็งสูตร NB ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ นำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสที่มีลักษณะเป็นแบบเกาะกันแน่นเป็นก้อน สีเหลืองอ่อน นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ ความเข้มข้น 0.5 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ไฟทาเจล 5.2 กรัมต่อลิตร นำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสงควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ หลังการเพาะเลี้ยงพบว่าแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพมีการเปลี่ยนแปลงโดยปรากฏจุดเขียวบนแคลลัสตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง (รูปที่ 4.50 ก) แต่การชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่ยังไม่สมบูรณ์ จึงทำการเลี้ยงต่ออีกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสบางก้อนสามารถเจริญไปเป็นเป็นยอดได้ ดังรูปที่ 4.50 ข จากค่าแนวโน้มในตารางที่ 4.16 จะเห็นได้ว่าในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ทุกความเข้มข้นเกิดจุดเขียวร้อยละ 100.0 ซึ่งมากกว่าในสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP เมื่อพิจารณา TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดจุดเขียวร้อยละ 100.0 และมีจำนวนจุดเขียวเฉลี่ยมากถึง 25 จุด นอกจากนี้ยังมีการเกิดยอดร้อยละ 100.0 (ดังรูปที่ 4.49) โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยถึง 3 ยอดต่อแคลลัส เมื่อวิเคราะห์ทางค่าสถิติแล้วพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารแข็งสูตรที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ในทุกความเข้มข้น

จากผลการทดลองมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Wenzhong (1994) ที่รายงานว่า TDZ มีสมบัติในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ กระตุ้นให้เกิดยอด กระบวนการเอ็มบริโอเจเนซิส (embryogenesis) และกระบวนการออร์แกโนเจเนซิส (organogenesis) ได้มากในพืชผลหลายชนิด รวมทั้งข้าวอินดิก้า (indica) ซึ่งจะแสดงให้เห็นในรูปแบบของการชักนำให้เกิดต้นใหม่ของพืช เช่นเดียวกับรายงานของ Huetteman and Preece (1993) กล่าวว่า thidiazuron หรือ TDZ มีชื่อทางเคมีว่า N-phenyl-N-1,2,3-thiadiazol-5-ylurea เป็นอนุพันธ์ของฟีนิวยูเรีย (phenyl urea) มีหมู่ phenyl urea มาแทนที่หมู่ adenine ในไซโตไคนินและเป็น non-purine cytokinin ที่มีประสิทธิภาพสูงมาก เช่นเดียวกับไซโตไคนินในกลุ่มพิวรีน (purine) สาร TDZ ยังสามารถใช้ได้ตั้งแต่ความเข้มข้น 1-100 ไมโครโมลาร์ ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หรือใช้เป็นสารที่ทำให้ใบร่วง

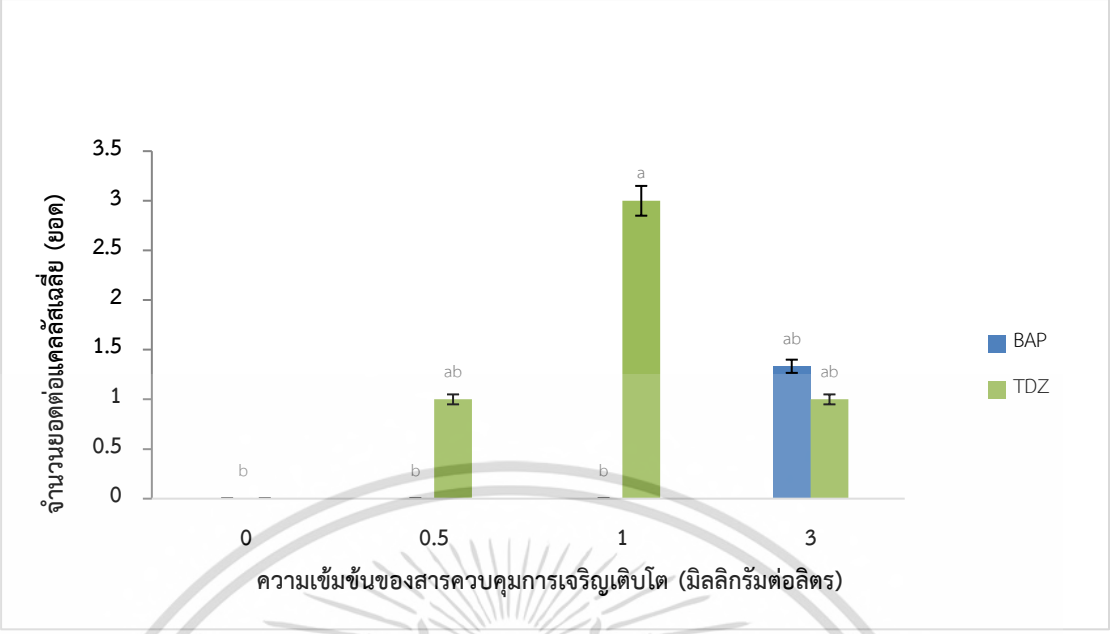
เมื่อพิจารณาในส่วนของความยาวยอดพบว่าอาหาร NB ที่ประกอบด้วย TDZ ทุกระดับความเข้มข้นให้ความยาวยอดสั้นกว่าในอาหารที่มี BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีร้อยละการเกิดรากน้อยกว่าใน BAP เพื่อมองให้เห็นชัดเจนขึ้นจึงนำข้อมูลจากตารางที่ได้ไปแสดงกราฟการเปรียบเทียบระหว่างร้อยละการเกิดยอดเฉลี่ยและจำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัสกับชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต ดังรูปที่ 4.48 และ 4.49 ตามลำดับ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อไปแคลลัสยังสามารถเพิ่มการเกิดยอดและยอดยังสามารถยืดยาวจากเดิมได้มากขึ้นในทุกสูตรอาหาร (รูปที่ 4.50)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

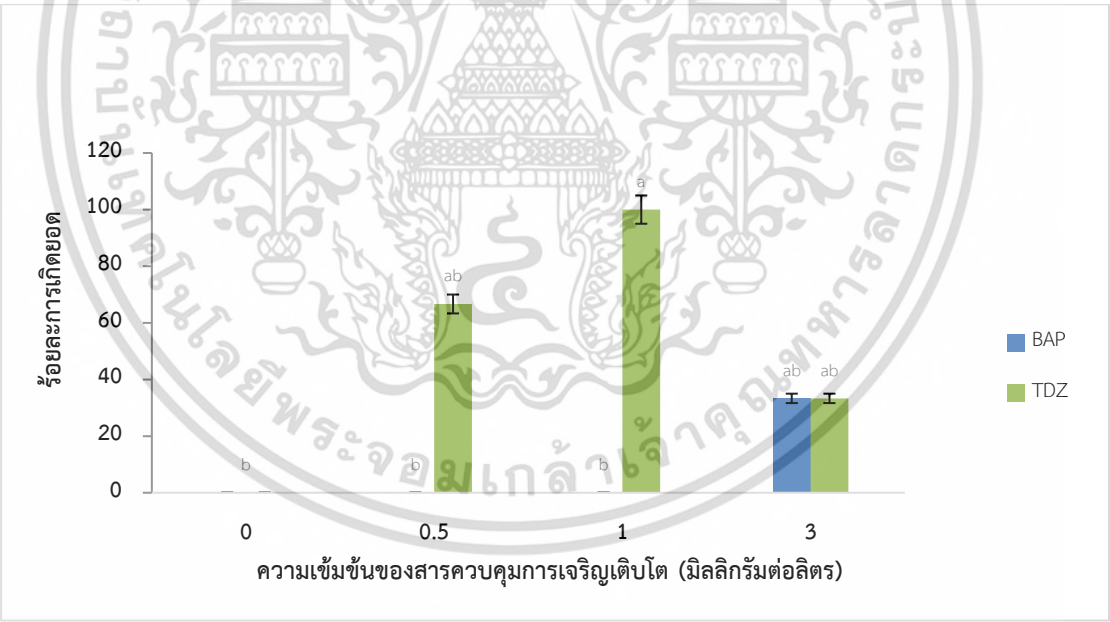
ตารางที่ 4.16 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ ที่ชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพให้เกิดต้นใหม่ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/ลิตร)	จำนวนแคลลัสที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด (ชิ้น)	ร้อยละการเกิดจุดเขียว	จำนวนจุดเขียวเฉลี่ยต่อแคลลัส (จุด)	ร้อยละการเกิดยอด	จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส (ยอด)	ความยาวยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	ร้อยละการเกิดราก
BAP	0.0	24	0.0^{b}	0.00 ± 0.00^{b}	0.0^{b}	0.00 ± 0.00^{b}	0.00 ± 0.00^{c}	0.00^{a}
	0.5	24	100.0^{a}	4.33 ± 0.58^{b}	0.0^{b}	0.00 ± 0.00^{b}	0.00 ± 0.00^{c}	33.3^{a}
	1.0	24	100.0^{a}	19.33 ± 9.81^{a}	0.0^{b}	0.00 ± 0.00^{b}	0.00 ± 0.00^{c}	66.7^{a}
	3.0	24	66.7^{a}	3.33 ± 1.53^{b}	33.3^{ab}	1.33 ± 0.58^{ab}	2.43 ± 0.00^{a}	0.00^{a}
TDZ	0.5	24	100.0^{a}	20.00 ± 8.66^{a}	66.7^{ab}	1.00 ± 0.00^{ab}	1.39 ± 0.38^{b}	33.3^{a}
	1.0	24	100.0^{a}	25.00 ± 0.00^{a}	100.0^{a}	3.00 ± 1.00^{a}	1.95 ± 0.68^{a}	0.00^{a}
	3.0	24	100.0^{a}	18.00 ± 12.12^{a}	33.3^{ab}	1.00 ± 0.00^{ab}	1.35 ± 0.00^{b}	0.00^{a}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT ข้อมูลส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ระหว่างค่าเฉลี่ย (Mean) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

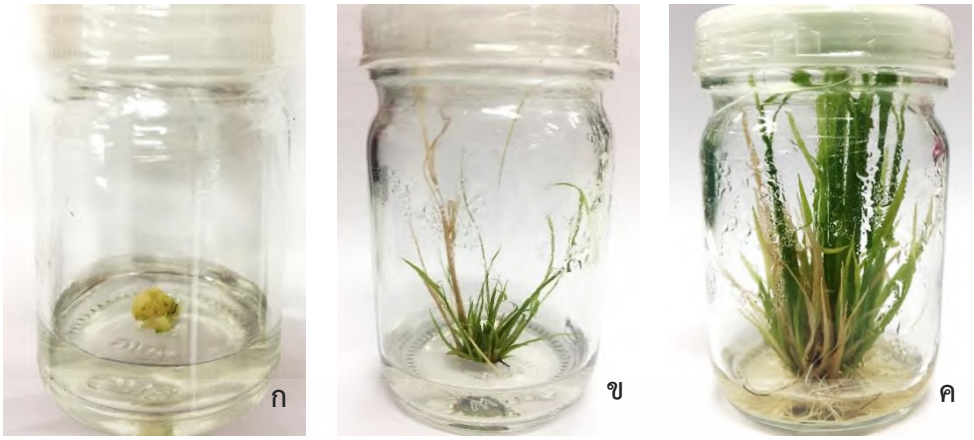


รูปที่ 4.48 จำนวนยอดต่อแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.49 ร้อยละการเกิดยอดของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และ TDZ ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.50 ลักษณะการพัฒนาเป็นยอดของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพเมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (ก) 6 สัปดาห์ (ข) 8 สัปดาห์ (ค) ลักษณะการพัฒนาเป็นยอดจำนวนมาก

4.8 การชักนำรากและการนำต้นกล้าข้าวออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

การศึกษาการพัฒนารากของยอดหลายยอดในข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ โดยการนำยอดของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ได้จากการชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่ในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ย้ายลงอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าจำนวนรากและความยาวรากที่เกิดจะมีมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA น้อยลง โดยจะสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนว่าในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตสามารถเกิดรากได้มากที่สุด ดังรูปที่ 4.51 โดยผลการทดลองดังกล่าวให้ผลในทำนองเดียวกันกับงานวิจัยของ Verma. *et al*. (2011) ที่รายงานว่าในอาหาร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตจะให้จำนวนยอดและรากเป็นจำนวนมากในข้าวสายพันธุ์ Govind เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Din. *et al*. (2016) ที่รายงานว่าสามารถพัฒนารากจากยอดของข้าวสายพันธุ์ Panderas ได้สำเร็จ เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารครึ่ง MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต และต้นข้าวที่ได้ยังสามารถพัฒนาต่อได้หลังจากเพาะเลี้ยงในสภาพธรรมชาติโดยมีจำนวนยอดเกิดขึ้นใหม่เป็นจำนวนมาก

จากนั้นทำการย้ายต้นกล้าจากอาหารเพาะเลี้ยงโดยแช่คาร์เบนดาซิมเพื่อป้องกันการปนเปื้อนเชื้อราในดินที่ใช้เป็นวัสดุปลูก จากนั้นนำต้นข้าวไปเพาะเลี้ยงในภาชนะปลูกเป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยสัปดาห์แรกห่อหุ้มด้วยถุงพลาสติกที่เจาะรู ดังรูปที่ 4.52 ข จากนั้นอีกหนึ่งสัปดาห์เปิดปากถุงออกเพื่อให้ต้นข้าวปรับสภาพให้ชินกับสภาพแวดล้อมมากขึ้น จากนั้นเพาะเลี้ยงต้นข้าวในสภาพแวดล้อมธรรมชาติเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้าข้าวสามารถเจริญเติบโตต่อได้สูงขึ้น จากเดิมโดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 10 ยอด ความยาวยอดเฉลี่ย 93.23 มิลลิเมตร ความยาวรากเฉลี่ย 47.10 มิลลิเมตร และพื้นที่ใบเฉลี่ย 439.47 ตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 4.17)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.17 แสดงจำนวนยอด ความยาวยอด ความยาวรากและพื้นที่ใบเฉลี่ย ก่อนออกปลูกและหลังจากออกปลูกในสภาพธรรมชาติ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน

วันที่เพาะเลี้ยง (วัน)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด)	ความยาวยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	ความยาวรากเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	พื้นที่ใบเฉลี่ย (ตารางมิลลิเมตร)
0	3	43.9 ± 3.86	37.84 ± 0.53	287.75 ± 22.82
15	10	93.23 ± 4.74	47.10 ± 4.21	439.47 ± 119.80

รูปที่ 4.51 ลักษณะการพัฒนารากในต้นอ่อนของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.52 ลักษณะของต้นข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ (ก) ต้นอ่อนที่นำออกปลูก (ข) ปรับสภาพในถุงพลาสติกเพื่อลดการคายน้ำก่อนออกปลูก 2 สัปดาห์ (ค) เพาะปลูกตามธรรมชาติเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเอ็มบริโอโดยเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของเมล็ดข้าว 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ ทับทิมชุมแพ และสังข์หยดพัทลุง บนอาหารแข็งสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเอ็มบริโอของเมล็ดข้าวทุกสายพันธุ์สามารถพัฒนาเจริญเติบโตไปเป็นแคลลัสได้ในทุกระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D เมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ในอาหาร NB ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสได้ดีที่สุด สำหรับข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ และสังข์หยดพัทลุงสามารถเกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสได้ดีที่สุดในอาหาร NB ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่งจากการศึกษาสรุปได้ว่า สูตรอาหารดังกล่าวข้างต้นสามารถนำมาใช้ในการขยายพันธุ์แคลลัสของข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ ให้มีปริมาณมากได้และยังช่วยลดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงได้อีกทางหนึ่ง

การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอยจากการชักนำเมล็ดข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงให้กลายเป็นแคลลัสแล้วนำมาเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยต่อในอาหารเหลวสูตร NB ที่ ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 27 วัน พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดในวันที่ 12 มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 66.83 กรัมต่อลิตร และน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 4.98 กรัมต่อลิตร มีค่าอัตราการเจริญจำเพาะของน้ำหนักสดเฉลี่ยและน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0591 และ 0.0558 ต่อวัน ตามลำดับ และค่าเวลาที่เซลล์ใช้เพิ่มจำนวนจากเดิมเป็นสองเท่าของน้ำหนักสดเฉลี่ยและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยคือ 11.7276 และ 12.4211 ต่อวัน ตามลำดับ ทำให้ทราบว่าวันที่ 12 เป็นเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวผลผลิตเซลล์มากที่สุด เหมาะสำหรับเปลี่ยนย้ายอาหารและนำไปชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ ในส่วนของค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยในวันที่ 12 ถึงวันที่ 27 พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสามารถใช้วันที่ 12 หาค่า productivity ของน้ำหนักสดเฉลี่ยและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยได้เท่ากับ 2.613 และ 0.1747 กรัมต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ ดังนั้นวันที่ 12 จึงเป็นวันที่ให้ประสิทธิภาพต่อการผลิตเซลล์สูงสุด ซึ่งจะช่วยประหยัดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงและใช้ระยะเวลาเพาะเลี้ยงสั้นที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเวลาทั้งหมด สุดท้ายค่าผลได้ของเซลล์จากสับสเทรตของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมีค่าเท่ากับ 1.0822 และ 0.0724 กรัมเซลล์ต่อกรัมกลูโคส ตามลำดับ

การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอยจากการชักนำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพให้กลายเป็นแคลลัสแล้วนำมาเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยต่อในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 27 วัน พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดในวันที่ 21 มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 57.13 กรัมต่อลิตร และน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 2.20 กรัมต่อลิตร มีค่าอัตราการเจริญจำเพาะของน้ำหนักสดเฉลี่ยและน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0321 และ 0.0299 ต่อวัน ตามลำดับ และค่าเวลาที่เซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้เพิ่มจำนวนจากเดิมเป็นสองเท่าของน้ำหนักสดเฉลี่ยและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยคือ 21.5934 และ 23.1821 ต่อวัน ตามลำดับ ทำให้ทราบว่าวันที่ 21 เป็นเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวผลผลิตเซลล์มากที่สุด ค่า productivity ของน้ำหนักสดเฉลี่ยและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยได้เท่ากับ 1.1128 และ 0.0764 กรัมต่อลิตรต่อวัน ตามลำดับ

การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ สังข์หยดพัทลุง และไรซ์เบอร์รี่ที่ปริมาณรังสี 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด พบว่าที่ปริมาณรังสี 10 กิโลแรด แคลลัสมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเข้ม บางชิ้นมีการเปลี่ยนแปลงเป็นสีดำ ในขณะที่ปริมาณรังสีแกมมาที่ต่ำกว่า 2 กิโลแรด นั้นไม่ก่อให้เกิดการตายของแคลลัสข้าว และค่าปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้แคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ สังข์หยดพัทลุง และไรซ์เบอร์รี่มีการรอดชีวิตร้อยละ 50 (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 7.62 9.29 และ 7.65 กิโลแรด ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

การศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันเพื่อก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ในเมล็ดข้าวที่ปริมาณรังสีแกมมา 20 25 30 35 และ 40 กิโลแรด ในข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ สังข์หยดพัทลุง และไรซ์เบอร์รี่ เมื่อนำเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณต่าง ๆ มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB พบว่าในข้าวทุกสายพันธุ์ที่ผ่านการฉายรังสีในปริมาณรังสีแกมมาที่ 40 กิโลแรด มีร้อยละการรอดชีวิตต่ำที่สุด โดยค่าปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ สังข์หยดพัทลุงและไรซ์เบอร์รี่มีการรอดชีวิตร้อยละ 50 (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 64.32 33.38 และ 27.58 กิโลแรด ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

การศึกษาคัดเลือกความสามารถในการทนแล้งภายใต้ความเครียดจากสภาวะแล้งของ PEG พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ผ่านการฉายรังสี 60 กิโลแรด ในอาหารสูตร NB ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และสาร PEG 6000 ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 เพื่อสร้างสภาวะเครียดจากความแล้ง พบว่าค่าความยาวยอด ความยาวราก น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดลดลง ในขณะที่ปริมาณโพรลีนสูงทั้งในต้นที่ผ่านการฉายรังสีและไม่ผ่านการฉายรังสี ซึ่งเป็นสัญญาณบ่งบอกว่าต้นกล้าข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีสามารถทนแล้งได้เมื่อเพาะเลี้ยงในสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 10 หลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

การศึกษาคัดเลือกความสามารถในการทนแล้งภายใต้ความเครียดจากสภาวะแล้งของ PEG พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฉายรังสี 28 กิโลแรด ในอาหารสูตร NB ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และสาร PEG 6000 ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 เพื่อสร้างสภาวะเครียดจากความแล้ง พบว่าต้นกล้าข้าวที่มีสารพอลีเอทิลีนไกลคอลความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้ค่าความยาวยอด ความยาวราก น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด และปริมาณโพรลีนสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสี ซึ่งเป็นสัญญาณบ่งบอกว่าสามารถทนแล้งได้สูงสุด หลังการเพาะเลี้ยง 7 วัน

การศึกษาคัดเลือกความสามารถในการทนแล้งภายใต้ความเครียดจากสภาวะแล้งของ PEG พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ไม่ผ่านการฉายรังสีในอาหารสูตร NB ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และสาร PEG 6000 ความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 เพื่อสร้างสภาวะเครียดจากความแล้ง ซึ่งแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ไม่ผ่านการฉายรังสีสามารถทนแล้งได้ในสาร PEG ความเข้มข้นร้อยละ 10 จากนั้นเพาะเลี้ยงแคลลัสที่ผ่านการฉายรังสี 6 และ 8 กิโลแรด ในอาหาร NB ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และสาร PEG 6000 ความเข้มข้นร้อยละ 0 30 40 50 60 และ 70 พบว่าแคลลัสที่ผ่านการฉายรังสี 6 กิโลแรด ในอาหารที่มีสาร PEG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นร้อยละ 30 ให้ปริมาณโพรลีนสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ผ่านการฉายและต้นที่ผ่านการฉายรังสี 8 กิโลแรด ซึ่งเป็นสัญญาณบ่งบอกว่าอาจได้แคลลัสที่สามารถทนแล้งได้ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

สำหรับการศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ โดยนำแคลลัสจากข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BAP ความเข้มข้น 0.5 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดจุดเขียวได้ โดยเฉพาะอาหารสูตร NB ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพให้เกิดยอดได้สูงสุดร้อยละ 100 และให้จำนวนยอดเฉลี่ย 3 ยอดต่อแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นนำยอดชักนำให้เกิดรากในอาหารสูตร NB ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต แล้วนำต้นกล้าข้าวที่ได้มาปรับสภาพก่อนนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรนำผลการทดลองที่ได้ไปปรับปรุงเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่ให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น จากผลการทดลองอิทธิพลของรังสีแกมมาที่มีต่อชิ้นส่วนต่าง ๆ ของข้าว ถึงแม้ว่าจะทราบว่าชิ้นส่วนของข้าวมีปริมาณรังสีที่เหมาะสมต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายสูงสุด แต่ผลการทดลองนี้ยังไม่สามารถบอกได้แน่ชัดว่าแคลลัสที่ได้รับรังสีในปริมาณที่เหมาะสมนั้นจะสามารถเกิดการกลายได้หรือไม่ จึงจำเป็นต้องนำข้อมูลดังกล่าวมาใช้ในการศึกษาตรวจสอบยืนยันการกลายพันธุ์ของแคลลัสที่ได้รับรังสีต่อไป เช่น การชักนำแคลลัสให้เจริญเป็นต้นใหม่แล้วทำการตรวจสอบสารพันธุกรรมที่เปลี่ยนแปลงไปจากสายพันธุ์ปกติ การนับจำนวนโครโมโซม หรือนำต้นใหม่ที่ชักนำได้จากแคลลัสไปศึกษาลักษณะทางกายวิภาค เช่น จำนวนปากใบ ความกว้างปากใบ เป็นต้น และการวิเคราะห์แคลลัสทางด้านสรีรวิทยาที่เกี่ยวข้องกับความทนต่อภาวะเครียดต่าง ๆ เช่น ทนต่อสภาวะความเป็นกรดด่าง ทนต่ออุณหภูมิต่ำ เป็นต้น แต่เมื่อคัดเลือกแคลลัสจากสารออสโมติคัมที่สร้างสภาวะแล้งแล้วควรเพิ่มการทดสอบชิ้นส่วนนั้นด้วยการทดลองปลูกในสภาพแวดล้อมที่แล้งจริงเพื่อเป็นการยืนยันอีกทางหนึ่ง และเพื่อให้ได้ผลที่นำไปสู่การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ได้พันธุ์ที่ดียิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ รัตนวงศ์ กฤตยาภรณ์ มีสุข และวรรณิศา ทองมี. 2559. “อิทธิพลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเจริญเติบโตของข้าว (*Oryza sativa* L.) การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อ.” โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

กมลชนก จั่นสกุล จิตรา ถนอมใช้ ฐิติมา เลิศกิจถาวร และทิพาพร นึกกระโทก. 2558. “ความสามารถในการทนแล้งของข้าวพันธุ์เล็บนกปัตตานีภายใต้ความเครียดจากสภาวะแล้ง.” โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

จุฑาทิพย ทนันไชย สงวนศักดิ์ ธนาพร พูนพงษ และสุชาดา เวียรศิลป. 2556. “ผลของ 2,4-D และไคเนตินตอการเกิดเอ็มบริโอเจนิกแคลลัสในข้าวพันธุขาวดอกมะลิ 105.” *วารสารเกษตร.* 29(2) : 177-185.

ตุลาพร แก้วแก่น และวัฒนา พัฒนากูล. 2549. “ผลของสภาวะขาดน้ำจากความแห้งแล้งและความเครียดเกลือต่อลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการและเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในข้าวระยะต้นกล้า.” *วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.* 11(4) : 260-268.

ประพาส วีระแพทย์. 2531. **ความรู้เรื่องข้าว**. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช

ประพาส วีระแพทย์. 2555. **ความรู้เบื้องต้นเรื่องข้าว.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช.

พิมพ์ชนก เจริญสุข พิมลักษม์ พลอยศรีมงคล และศิริรัตน์ ศรีแก้ว. 2559. “การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของราก และการเจริญเติบโตของแคลลัสข้าว (*Oryza sativa* L.) ภายใต้สภาพแล้งโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.” โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พัฒนศักดิ์ รุจิหาญ. 2550. “กิจกรรมแอนติออกซิแดนซ์และการสะสมโพรลีนต่อการทนแล้งในอ้อย.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภพเก้า พุทธรักษ์ วารุต อยู่คง รัฐพร จันทร์เดช พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์ และมณฑล สงวนเสริมศรี. 2556. “การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวหอมมะลิ 105 และข้าวเหนียว กข 6.” *วารสารนเรศวรพะเยา.* 6(2) : 100-105.

รัญญิกา โปราหา. 2559. “การเจริญของแคลลัส เซลล์แขวนลอย และการเจริญเป็นต้นใหม่ของข้าว (*Oryza sativa* L.) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

รติกร วรรรบวร. 2551. “การคัดเลือกและการทดสอบพันธุ์อ้อยลูกผสมชุดปี 2001 ในพื้นที่ปลูกอ้อยภาคตะวันตก.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชไร่ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2562. **พันธุ์ข้าวไรซ์เบอร์รี่**. [Online]. Available : http://dna.kps.ku.ac.th/v2016/index.php/news-articles-rice-rsc-rgdu-knowledge/rice-breeding-lab/riceberry-variety.

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรธานี.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมพร ประเสริฐส่งสกุล. 2552. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชกับการปรับปรุงพันธุ์.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์โฟร์เพซ.

สมฤทัย ภูสระ. 2558. “การชักนำให้เกิดแคลลัสและต้นใหม่ในข้าวเหนียวพันธุ์ลืมผัวและข้าวเจ้าหอมพิษณุโลก 1.” *การประชุมนำเสนอผลงานวิจัยบัณฑิตศึกษาระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี*. 9 : 843-853.

สิรินุช ลามศรีจันทร์. 2540. **การกลายพันธุ์ของพืช.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : ภาควิชารังสีประยุกต์ และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2562. **องค์ความรู้เรื่องข้าว: พันธุ์ข้าวทับทิมชุมแพ** [Online]. Available : http://brrd.in.th/rkb/contents/view/category:17/index.php-file=content.php&id=163.htm.

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2562. **องค์ความรู้เรื่องข้าว: พันธุ์ข้าวสังข์หยดพัทลุง.** [Online]. Available : http://brrd.in.th/rkb/contents/view/category:17/index.php-file=content.php&id=93.htm.

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2562. **ความสำคัญของพันธุ์ข้าว.** [Online]. Available : http://www.ricethailand.go.th/Rkb/varieties/index.php-file=content.php&id.=htm.

สายัณห์ สดุดี. 2537. “สภาวะขาดน้ำในการผลิตพืช.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต ภาควิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อารีย์ วรัญญูวัฒก์. 2541. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช.** กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์อัสรรค์.

อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์. 2550. **การกลายพันธุ์:เพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช.** กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม และนิตย์ศรี แสงเดือน. 2544. “การเจริญเป็นต้นใหม่ของเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี 60.” การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 39 : 174-180.

อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ปราการ กระถินทอง และนิตย์ศรี แสงเดือน. 2549. “ชนิดของอะโกรแบคทีเรียมมีประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี 1.” การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 44 : 1-8.

อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม. 2550. **เทคโนโลยีชีวภาพของพืช.** กรุงเทพฯ : โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม. 2550. **ปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพของพืช.** กรุงเทพฯ : โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Ain-Lhout, F. Zunzunegui, M. Barradas, M.D. Tirado, R. Clavijo, A. and Novo, F.G. 2001. “Comparison of Proline Accumulation in Two Mediterranean Shrubs Subjected to Natural and Experimental Water Deficit.” *Plant and Soil*. 230(2) : 175-183.

Almeselmani, M. Deshmukh, P.S. and Chinnusamy, V. 2012. “Effects of Prolonged High Temperature Stress on Respiration, Photosynthesis and Gene Expression in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Varieties Differing in Their Thermotolerance.” *Plant Stress*. 6(1) : 25-32.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Al-Khayri, J.M. and Al-Bahrany, A.M. 2002. "Callus Growth and Proline Accumulation in Response to Sorbitol and Sucrose-Induced Osmotic Stress in Rice." *Biologia Plantarum*. 45(4) : 609-611.

Arnon, D.L. 1949. "A Copper Enzyme is Isolated Chloroplast Polyphenol Oxidase in *Beta vulgaries*." *Plant Physiology*. 24(1) : 1-15.

Ashraf, M. Cheema, A.A. Rashid, M. and Qamar, Z. 2003. "Effect of γ-rays on M1 Generation in Basmati Rice." *Pakistan Journal of Botany*. 35(5) : 791-796.

Bajaj, S. and Rajam, M.V. 1995. "Efficient Plant Regeneration from Long-Term Callus Cultures of Rice by Spermidine." *Plant Cell Reports*. 14(11) : 717-720.

Barnett, N.M. and Naylor, A.W. 1966. "Amino Acid and Protein Metabolism in Bermuda Grass during Water Stress." *Plant Physiology*. 41(7) : 1222-1230.

Bates, L.S. Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. "Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies." *Plant and Soil*. 39(1) : 205-207.

Blum, A., and Ebercon, A. 1976. "Genotypic Responses in Sorghum to Drought Stress. III. Free Proline Accumulation and Drought Resistance 1." *Crop Science*. 16(3) : 428-431.

Boggess, S.F. Stewart, C.R., Aspinall, D. and Paleg, L.G. 1976. "Effect of Water Stress on Proline Synthesis from Radioactive Precursors." *Plant Physiology*. 58(3) : 398-401.

Borzouei, A. Kafi, M. Khazaei, H. Naseriyan, B. and Majdabadi, A. 2010. "Effects of Radiation on Germination and Physiological Aspects of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seedlings." *Pakistan Journal of Botany*. 42(4) : 2281-2290.

Bouaziz, A. and Hicks, D.R. 1990. "Consumption of Wheat Seed Reserves during Germination and Early Growth as Affected by Soil Water Potential." *Plant and Soil*. 128(2) : 161-165.

Cabuslay, G.S. Ito, O. and Alejar, A.A. 2002. "Physiological Evaluation of Responses of Rice (*Oryza sativa* L.) to Water Deficit." *Plant Science*. 163(4) : 815-827.

Cao, J. Duan, X. McElroy, D. and Wu, R. 1992. "Regeneration of Herbicide Resistant Transgenic Rice Plants Following Microprojectile-Mediated Transformation of Suspension Culture Cells." *Plant Cell Reports*. 11(11) : 586-591.

Chiang, H.H. and Dandekar, A.M. 1995. "Regulation of Proline Accumulation in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh during Development and in Response to Desiccation." *Plant, Cell & Environment*. 18(11) : 1280-1290.

Chu, C.C. Wang, C.S. Sun, C.C. Hsu, C. Yin, K.C. and Chu, C.Y. 1975. "Establishment of an Efficient Medium for Anther Culture of Rice Through Comparative Experiments on the Nitrogen Sources." *Science*. 18 : 659-668.

Delauney, A.J. and Verma, D.P.S. 1993. "Proline Biosynthesis and Osmoregulation in Plants." *The Plant Journal*. 4(2) : 215-223.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Din, A.R.J.M. Ahmad, F.I. Wagiran, A. Samad, A.A. Rahmat, Z. and Sarmidi, M.R. 2016. "Improvement of Efficient *In Vitro* Regeneration Potential of Mature Callus Induced from Malaysian Upland Rice Seed (*Oryza sativa* cv. Panderas)." *Saudi Journal of Biological Sciences*. 23(1) : 69–77.

Dodds, J.H. and Roberts, L.W. 1995. **Experiments in Plant Tissue Culture**. 3rd ed. New York : Cambridge University Press.

Dubois, M. Gilles, K.A. Hamilton, J.K. Rebers, P.T. and Smith, F. 1956. "Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances." *Analytical Chemistry*. 28(3) : 350-356.

Farjaminezhad, R. Zare, N. ZAKARIA, R. A. and Farjaminezhad, M. 2013. "Establishment and Optimization of Cell Growth in Suspension Culture of *Papaver bracteatum*: A Biotechnology Approach for the Baine Production." *Turkish Journal of Biology*. 37(6) : 689-697.

Gamborg, O.L. Miller, R.A. and Ojima, K. 1968. "Nutrient Requirements of Suspension Culture of Soybean Root Cells." *Experimental Cell Research*. 50 : 151-158.

Godoy-Hernández, G. and Vázquez-Flota, F. A. 2012. **Growth measurements: estimation of cell division and cell expansion.** Totowa : Humana Press.

Gzik, A. 1996. "Accumulation of Proline and Pattern of α-amino Acids in Sugar Beet Plants in Response to Osmotic, Water and Salt Stress." *Environmental and Experimental Botany*. 36(1) : 29-38.

Hagen, G.L. Gunckel, J.E. and Sparrow, A.H. 1961. "Morphology and Histology of Tumor Types Induced By X, Gamma, and Beta Irradiation of a Tobacco Hybrid." *American Journal of Botany*. 48(8) : 691-699.

Handa, S. Handa, A.K. Hasegawa, P.M. and Bressan, R.A. 1986. "Proline Accumulation and the Adaptation of Cultured Plant Cells to Water Stress." *Plant physiology*. 80(4) : 938-945.

Hanson, A.D. and Hitz, W.D. 1982. "Metabolic Responses of Mesophytes to Plant Water Deficits." *Annual Review of Plant Physiology*. 33(1) : 163-203.

Hiei, Y. and Komari, T. 2006. "Improved Protocols for Transformation of Indica Rice Mediated by *Agrobacterium tumefaciens*." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 85(3) : 271-283.

Hiscox, J.D. and Israelstam, G.F. 1979. "A Method for the Extraction of Chlorophyll from Leaf Tissue Without Maceration." *Canadian Journal of Botany*. 57(12) : 1332-1334.

Huetteman, C.A. and Preece, J.E. 1993. "Thidiazuron: A Potent Cytokinin for Woody Plant Tissue Culture." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 33(2) : 105-119.

Jaleel, C.A. Manivannan, P. Wahid, A. Farooq, M. Al-Juburi, H.J. Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. 2009. "Drought Stress in Plants: A Review on Morphological

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Characteristics and Pigments Composition." *International Journal of Agriculture & Biology*. 11(1) : 100-105.

Jiménez, V. M. 2000. **Endogenous Hormone Levels in Wheat, Maize, Barley, Carrot, Grapevine, and Citrus Tissues, and The Relationship to Their *In Vitro* Somatic Embryogenesis**. Germany : Stuttgart.

Joshi, R. Shukla, A. and Sairam, R.K. 2011. "*In Vitro* Screening of Rice Genotypes for Drought Tolerance Using Polyethylene Glycol." *Acta Physiologiae Plantarum*. 33(6) : 2209-2217.

Jubair, T.A. Salma, U. Haque, N. Akter, F. Mukti, I.J. Haque, A.K.M.F. and Ali, M.R. 2008. "Callus Induction and Regeneration of Local Rice (*Oryza Sativa* L.) Variety Topa." *Asian Journal of Plant Sciences*. 7(5) : 514–517.

Kadhimi, A.A. Zain, C.R. Alhasnawi, A.N. Isahak, A. Ashraf, M.F. Mohamad, A. Doni, F. and Yusoff, W.M. 2016. "Effect of Irradiation and Polyethylene Glycol on Drought Tolerance of MR269 Genotype Rice (*Oryza sativa* L.)." *Asian Journal of Crop Science*. 8 : 52-59.

Kumar, D.P. Chaturvedi, A. Sreedhar, M. Aparna, M. Venu-Babu, P. and Singhal, R.K. 2013. "Gamma Radiosensitivity Study on Rice (*Oryza sativa* L.)." *Asian Journal of Plant Science and Research*. 3(1) : 54-68.

Kumar, R.R. Karajol, K. and Naik, G.R. 2011. "Effect of Polyethylene Glycol Induced Water Stress on Physiological and Biochemical Responses in Pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp.)." *Recent Research in Science and Technology*. 3(1) : 148-152.

Lima, E.C. Paiva, R. Nogueira, R.C. Soares, F.P. Emrich, E.B. and Silva, Á.A.N. 2008. "Callus Induction in Leaf Segments of *Croton urucurana* Baill." *Science and Agrotechnology*. 32 : 17-22.

Linh, H.T. 2017. "*In Vitro* Regeneration of Indica Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivar Sangyod and Its Transformation by *Agrobacterium tumefaciens*." Ph.D. dissertation, Prince of Songkla University.

Liu, F. Jensen, C.R. and Andersen, M.N. 2004. "Drought Stress Effect on Carbohydrate Concentration in Soybean Leaves and Pods during Early Reproductive Development: Its Implication in Altering Pod Set." *Field Crops Research*. 86(1) : 1-13.

Murashige, T and Skoog, F. 1962. "A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures." *Physiologia Plantarum*. 15(3) : 473-497.

Muthuramu, S. Jebaraj, S. Nadarajan, N. Gunasekaran, M. and Gnanasekaran, M. 2008. "*In Vitro* Selection for Drought Tolerance in Rice (*Oryza sativa* L.)." *Plant Archives*. 8 : 215-218.

Nakashima, K. Kiyosue, T. Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. 1997. "A Nuclear Gene, *erd1*, Encoding a Chloroplast-Targeted Clp Protease Regulatory Subunit

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Homolog is not only Induced by Water Stress but also Developmentally Up-regulated during Senescence in *Arabidopsis thaliana*." *The Plant Journal*. 12(4) : 851-861.

Pattanagul, W. and Thitisaksakul, M. 2008. "Effect of Salinity Stress on Growth and Carbohydrate Metabolism in Three Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars Differing in Salinity Tolerance." *Indian Journal of Experimental Biology*. 46(10) : 36-742

Rancé, I.M. Tian, W. Mathews, H. de Kochko, A. Beachy, R.N. and Fauquet, C. 1994. "Partial Desiccation of Mature Embryo-Derived Calli, A Simple Treatment That Dramatically Enhances The Regeneration Ability of Indica Rice." *Plant Cell Reports*. 13(11) : 647-651.

Rahman, M. Ullah, I. Ahsraf, M. Stewart, J.M. and Zafar, Y. 2008. "Genotypic Variation for Drought Tolerance in Cotton." *Agronomy for Sustainable Development*. 28(3) : 439-447.

Rani, T.U. and Reddy, G.M. 1996. "Regeneration of *Indica* Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars from Embryogenic Suspension Cultures." *Indian Journal of Experimental Biology*. 34(3) : 239-242.

Sari, L. Purwito, A. Sopandie, D. Purnamaningsih, R. and Sudarmonowati, E. 2013. "Pengaruh Irradiasl Sinar Gamma Pada Pertumbuhan Kalus dan Tunas Tanaman Gandum (*Triticum aestivum*)." *Prosiding Seminar Nasional Peripi.* 18 : 397-405.

Schöpke, C. Taylor, N. Cárcamo, R. Marmey, P. Henshaw, G.G. Beachy, R.N. and Fauquet, C. 1996. "Regeneration of Transgenic Cassava Plants (*Manihot esculenta* Crantz) from Microbombarded Embryogenic Suspension Cultures." *Nature Biotechnology*. 14(6) : 731.

Sundram, T.C.M Annuar, M.S. and Khalid, N. 2012. "Optimization of Culture Condition for Callus Induction from Shoot Buds for Establishment of Rapid Growing Cell Suspension Cultures of Mango Ginger (*Curcuma mangga*). *Australian Journal of Crop Science*. 6(7) : 1139-1146.

Verma, D. Joshi, R. Shukla, A. and Kumar, P. 2011. "Protocol for *In Vitro* Somatic Embryogenesis and Regeneration of Rice (*Oryza sativa* L.)." *Indian Journal of Experimental Biology*. 49(12) : 958-963.

Wani, S.H. Sofi, P.A. Gosal, S.S. and Singh, N.B. 2010. "*In Vitro* Screening of Rice (*Oryza sativa* L.) Callus for Drought Tolerance." *Communications in Biochemistry and Crop Science*. 5(2) : 108-115.

Waranya, K. 1998. "The Selection of Drought Tolerance Rice (*Oryza sativa* L. Cultivar RD23) Line from Somaclonal Variation in Tissue Culture." M.S. Thesis of Chulalongkorn University, Thailand.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wenzhong, T. Rance, I. Sivamani, E. Fauquet, C. and Beachy, R.N. 1994. "Improvement of Plant Regeneration Frequency *In Vitro* in Indica Rice." *Chinese Journal of Genetics*. 21(3) : 15-99.

Withers, L.A. and King, P.J. 1980. "A Simple Freezing Unit and Cryopreservation Method for Plant Cell Suspensions." *CryoLetters* 1 : 213-220.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางผนวกที่ 1 สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช MS (Murashige and Skoog, 1962)

องค์ประกอบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)
Ammonium Nitrate	1650
Boric Acid	6.2
Calcium chloride, Anhydrous	332.2
Cobalt Chloride Hexahydrate	0.025
EDTA, Disodium Salt	37.26
Ferrous Sulfate, Heptahydrate	27.8
Magnesium Sulfate, Anhydrous	180.7
Maganese Sulfate	16.9
Potassium Iodide	0.83
Potassium Nitrate	1900
Potassium Phosphate, Monobasic, Anhydrous	170
Sodium Molybdate (VI), Dihydrate	0.25
Zinc Sulfate, Heptahydrate	8.6
Glycine	2.0
Myo-Inosital	100
Nicotinic Acid	0.5
Pyridoxine HCl	0.5
Thaimine HCl	0.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช NB basal medium (macronutrients as described by Chu (1975) and the micronutrients & vitamins as described by Gamborg. *et al.* (1968)); Phytotech

องค์ประกอบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)
Ammonium Nitrate	463
Boric Acid	3.0
Calcium chloride, Anhydrous	125.33
Cobalt Chloride Hexahydrate	0.025
Cupric Sulfate, Pentahydrate	0.025
EDTA, Disodium Salt	37.26
Ferrous Sulfate, Heptahydrate	27.8
Magnesium Sulfate, Anhydrous	90.37
Maganese Sulfate	10
Potassium Iodide	0.75
Potassium Nitrate	2830
Potassium Phosphate, Monobasic, Anhydrous	400
Sodium Molybdate (VI), Dihydrate	0.25
Zinc Sulfate, Heptahydrate	2.0
Myo-Inosital	100
Nicotinic Acid	1.0
Pyridoxine HCl	1.0
Thaimine HCl	1.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

1. การคำนวณค่าจลนพลศาสตร์สำหรับการศึกษาการเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอย

1.1 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) แสดงในหน่วยต่อวัน คำนวณได้ดังสมการต่อไปนี้

$$\mu = \frac{lnX - lnX0}{t}$$

จากสมการเส้นตรงของน้ำหนักสด y = 0.0591x + 3.5518

จะได้ μ = 0.0591 ต่อวัน

จากสมการเส้นตรงของน้ำหนักแห้ง y = 0.0558x + 1.0495

จะได้ μ = 0.0558 ต่อวัน

1.2 เวลาที่เซลล์ใช้เพิ่มจำนวนจากเดิมเป็น 2 เท่า (t_d) แสดงในหน่วยต่อวัน คำนวณได้ดังสมการ

$$t_d = \frac{ln2}{\mu}$$

เวลาที่เซลล์ใช้เพิ่มจำนวนจากเดิมเป็น 2 เท่าของน้ำหนักสด

$$t_d = \frac{ln2}{\mu}$$

$$t_d = \frac{ln2}{0.0591}$$

t_d = 11.17276 วัน

เวลาที่เซลล์ใช้เพิ่มจำนวนจากเดิมเป็น 2 เท่าของน้ำหนักแห้ง

$$t_d = \frac{ln2}{\mu}$$

$$t_d = \frac{ln2}{0.0558}$$

t_d = 12.4211 วัน

1.3 ประสิทธิภาพในการผลิต (Productivity) แสดงในหน่วยต่อกรัมเซลล์ต่อลิตรต่อวัน คำนวณ

$$\text{Productivity} = \frac{Xmax - X0}{t}$$

ประสิทธิภาพในการผลิตของน้ำหนักสด

$$\text{Productivity} = \frac{Xmax - X0}{t}$$

$$\text{Productivity} = \frac{66.83 - 35.4767}{12}$$

Productivity = 2.6128 กรัมเซลล์ต่อลิตรต่อวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสิทธิภาพในการผลิตของน้ำหนักแห้ง

$$\text{Productivity} = \frac{Xmax-X0}{t}$$

$$\text{Productivity} = \frac{4.9767-2.88}{12}$$

Productivity = 0.1747 กรัมเซลล์ต่อลิตรต่อวัน

1.4 ค่าผลได้ของเซลล์จากสับสเทรต ($Y_{x/s}$) แสดงในหน่วยกรัมเซลล์ต่อกรัมสับสเทรต สามารถคำนวณได้จากสมการต่อไปนี้

$$Y_{x/s} = \frac{Xmax-X0}{S0-S}$$

ค่าผลได้ของเซลล์จากสับสเทรตของน้ำหนักสด

$$Y_{x/s} = \frac{Xmax-X0}{S0-S}$$

$$Y_{x/s} = \frac{66.83-35.4767}{31.4646-2.4929}$$

$Y_{x/s}$ = 1.0822 กรัมเซลล์ต่อกรัมสับสเทรต

ค่าผลได้ของเซลล์จากสับสเทรตของน้ำหนักแห้ง

$$Y_{x/s} = \frac{Xmax-X0}{S0-S}$$

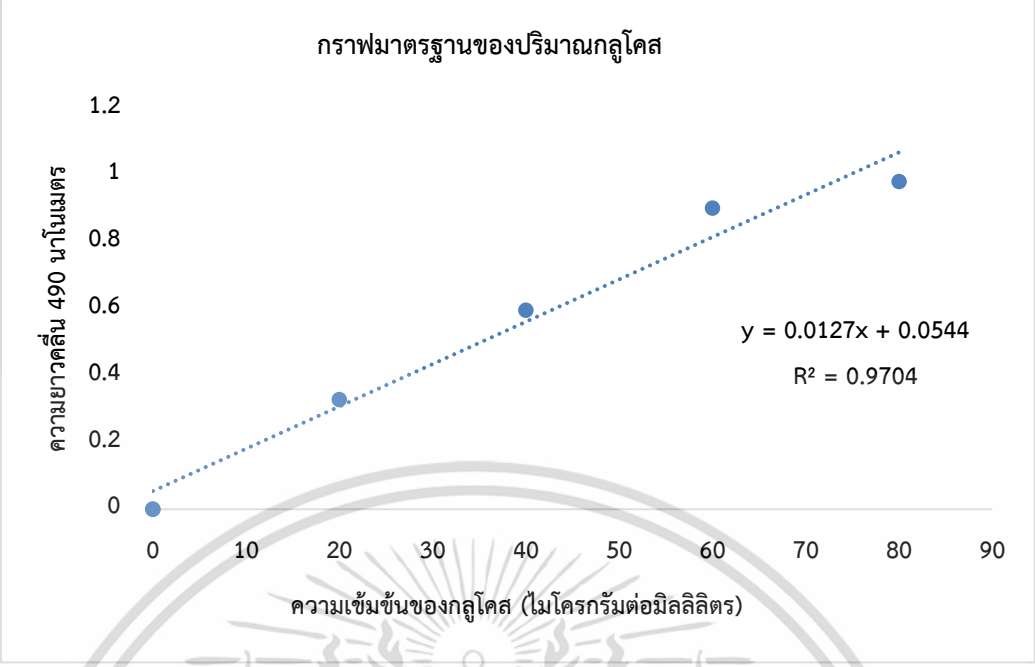
$$Y_{x/s} = \frac{4.9767-2.88}{31.4646-2.4929}$$

$Y_{x/s}$ = 0.0724 กรัมเซลล์ต่อกรัมสับสเทรต

ตารางผนวกที่ 1 ตารางแสดงค่า Absorption spectrum ที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค spectrophotometric ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่าง	สารละลายกลูโคสมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร
1	0	0.000
2	20	0.329
3	40	0.596
4	60	0.902
5	50	0.982

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐาน (standard proline) ของปริมาณกลูโคส

2. การเตรียมสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโพรลีนตามวิธีของ Bates. *et al.* (1973)

การเตรียมสารเคมี (รติกร, 2551)

1. 6M phosphoric acid

สารเคมีที่ใช้ H_3PO_4 (Phosphoric acid) มวลโมเลกุล (Molecular Weight ; MW) 98 กรัมต่อโมล ความหนาแน่น (density) 1.7 เนื้อกรดละลายในสารละลายร้อยละ 85

การเตรียมสารละลายนั้นทำการตวงสารละลายกรดร้อยละ 85 ปริมาตร 407 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่น 593 มิลลิลิตร จะได้ phosphoric acid ความเข้มข้น 6 โมลาร์ ปริมาตร 1 ลิตร

2. acid ninhydrin

ชั่ง ninhydrin 1.25 กรัม ผสมกับ gracial acetic acid ปริมาตร 30 มิลลิลิตร และ phosphoric acid ความเข้มข้น 6 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำสารที่ผสมแล้วอุ่นบนเครื่องผสมสารแบบให้ความร้อน (hot plate) จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน โดย acid ninhydrin ควรเตรียมก่อนทุกครั้งที่ทำการวิเคราะห์ (เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้เพียง 24 ชั่วโมง)

3. 3%sulfosalicylic acid (โดยต่อปริมาตร; w/v)

เตรียมโดยชั่งสาร sulfosalicylic acid 3 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

4. การเตรียมสารละลายมาตรฐานโพรลีน (standard proline)

เพื่อใช้สำหรับการสร้างกราฟมาตรฐานโพรลีน (proline standard graph) เปรียบเทียบหาค่าปริมาณโพรลีนที่ได้จากการวิเคราะห์ สารเคมีที่ใช้คือ โพรลีน (proline) มวลโมเลกุล (Molecular Weight ; MW) 115.1 กรัมต่อโมล

4.1 เตรียม stock solution proline ความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ ทำการชั่งโพรลีน 0.0115 กรัม เติมน้ำกลั่นปรับให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 นำสารละลายที่ได้จากข้อ 4.1 มา 1 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำกลั่น 99 มิลลิลิตร จะได้สารละลายปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้นของโพรลีน 10^{-5} โมลาร์

4.3 นำสารละลายจากข้อ 2.4 มาเตรียม standard proline ที่มีความเข้มข้น 0.0×10^{-6} 2.0×10^{-6} 4.0×10^{-6} 6.0×10^{-6} 8.0×10^{-6} 10.0×10^{-6} 10.0×10^{-6} 15.0×10^{-6} 25.0×10^{-6} 50.0×10^{-6} 75.0×10^{-6} และ 100.0×10^{-6} โมลาร์ (ตารางผนวกที่ 3)

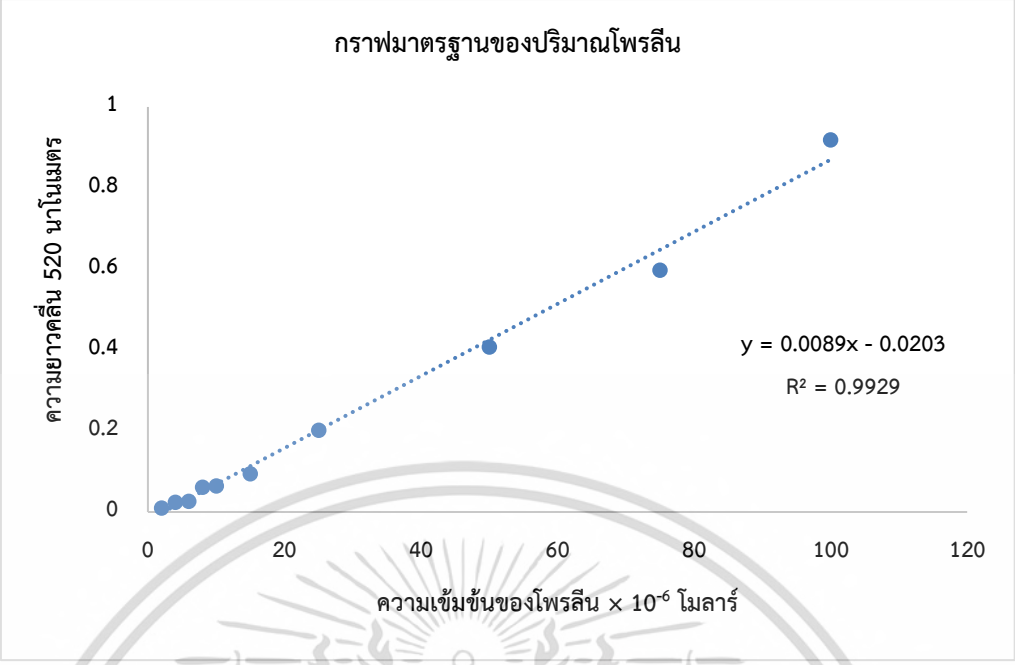
ตารางผนวกที่ 2 ตารางแสดงค่าการเตรียมสารละลายโพรลีนมาตรฐานที่ความเข้มข้น 10^{-6} โมลาร์ จาก stock solution ความเข้มข้น 0.0×10^{-6}

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของโพรลีน $\times10^{-6}$ โมลาร์	ปริมาณสารที่ใช้เตรียม	
		ความเข้มข้นของโพรลีน $\times10^{-4}$ โมลาร์ (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)
1	0	0.00	5.00
2	2	0.10	4.90
3	4	0.20	4.80
4	6	0.30	4.70
5	8	0.40	4.60
6	10	0.50	4.50
7	15	0.75	4.25
8	25	1.25	3.75
9	50	2.50	2.50
10	75	3.75	1.25
11	100	5.00	0.00

ตารางผนวกที่ 3 ตารางแสดงค่า Absorption spectrum ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค spectrophotometric ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของโพรลีน $\times10^{-6}$ โมลาร์	ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร
1	0	-0.001
2	2	0.010
3	4	0.024
4	6	0.026
5	8	0.061
6	10	0.064
7	15	0.094
8	25	0.202
9	50	0.407

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐาน (standard proline) ของปริมาณโพรลีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวกฤตยาภรณ์ มีสุข
วัน เดือน ปีเกิด	3 ตุลาคม 2537
ที่อยู่ปัจจุบัน	28/3 หมู่ 3 ตำบลหนองไม้แดง อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20000
ประวัติการศึกษา	(2559) วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ เกรดเฉลี่ย 2.86 (สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง)
	(2564) วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ (สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง)
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-

ผลงานทางวิชาการ

Meesook, K., Pongtongkam, P. and Poeaim, A. 2018. "Influences of Gamma Ray and Polyethylene Glycol to Identified the Drought-Resistant in the Rice (*Oryza sativa* L. cv. Riceberry) by Plant Tissue Culture." *International Journal of Agricultural Technology*. 14(7) : 1433-1444.

Meesook, K., Pongtongkam, P., Pongjaroenkit, S. and Poeaim, A. 2020. "Duration for Callus Propagation of Indica Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivar Sangyod in Suspension Culture." *International Journal of Agricultural Technology*. 16(1) : 77-86.

กฤตยาภรณ์ มีสุข และคณะ. 2562. "การชักนำให้เกิดแคลลัส และอิทธิพลของรังสีแกมมาต่อแคลลัสข้าว (*Oryza sativa* L.) สายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง." หน้า 137-145. ใน **การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 21.** ชลบุรี : มหาวิทยาลัยบูรพา.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้