อิทธิพลของรังสีแกมมาที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของข้าว (*Oryza sativa* L.)

EFFECT OF GAMMA IRRADIATION ON RICE (*Oryza sativa* L.)

กนกวรรณ รัตนวงศ์
กฤตยาภรณ์ มีสุข
วรรณิศา ทองมี

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFECT OF GAMMA IRRADIATION ON RICE (*Oryza sativa* L.)

KANOKWAN RATTANAWONG
KRITTAYAPORN MEESOOK
VANNISA THONGMEE

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	อิทธิพลของรังสีแกมมาที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของข้าว (*Oryza sativa* L.) Effect of Gamma Irradiation on Rice (*Oryza sativa* L.)
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกนกวรรณ รัตนวงศ์ รหัสนักศึกษา 56050796 นางสาวกฤตยาภรณ์ มีสุข รหัสนักศึกษา 56050798 นางสาววรรณิศา ทองมี รหัสนักศึกษา 56050904
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	**ลายมือชื่อ**
ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี กรรมการ	
ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	อิทธิพลของรังสีแกมมาที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของข้าว (*Oryza sativa* L.)
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกนกวรรณ รัตนวงศ์ รหัสนักศึกษา 56050796
	นางสาวกฤตยาภรณ์ มีสุข รหัสนักศึกษา 56050798
	นางสาววรรณิศา ทองมี รหัสนักศึกษา 56050904
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

บทคัดย่อ

การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าว 5 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวสายพันธุ์ กข49 ทับทิมชุมแพ ไรซ์เบอร์รี่ สังข์หยดพัทลุง และข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจล ความเข้มข้น 2.6 กรัมต่อลิตร ข้าวสายพันธุ์ กข49 ทับทิมชุมแพ สังข์หยดพัทลุง ให้ผลสูงสุดที่ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ และข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว ให้ผลสูงสุดที่ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ต่อมาได้ทำการชักนำให้เกิดต้นใหม่จากแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ ไรซ์เบอร์รี่ สังข์หยดพัทลุง และข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจล ความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวมากที่สุดในข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนในข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ สังข์หยดพัทลุง และข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว พบว่าจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวมากที่สุดบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และได้ศึกษาปริมาณรังสีแกมมาที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ และสังข์หยดพัทลุง ที่ปริมาณรังสีแกมมา 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 กิโลแรด พบว่าข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ และสังข์หยดพัทลุง มีค่า LD_{50} (lethal dose) เท่ากับ 8.00 และ 8.54 กิโลแรด ตามลำดับ และศึกษาปริมาณรังสีแกมมาที่มีผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ กข29 ขาวดอกมะลิ105 ปทุมธานี1 และไรซ์เบอร์รี่ ที่ปริมาณรังสีแกมมา 0, 20, 25, 30, 35 และ 40 กิโลแรด พบว่าข้าวสายพันธุ์ กข29 ขาวดอกมะลิ105 ปทุมธานี1 และไรซ์เบอร์รี่ มีค่า LD_{50} เท่ากับ 32.50, 35.77, 26.00 และ 27.50 กิโลแรด ตามลำดับ

คำสำคัญ : การชักนำให้เกิดแคลลัส การชักนำให้เกิดต้นใหม่ ข้าว รังสีแกมมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Effect of Gamma Irradiation on Rice (*Oryza sativa* L.)
Students	Miss Kanokwan Rattanawong Student ID 56050796
	Miss Krittayaporn Meesook Student ID 56050798
	Miss Vannisa Thongmee Student ID 56050904
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2016
Advisor	Asst. Prof. Dr. Anurug Poeaim

Abstract

This study were found optimum plant growth regulators to callus induction in 5 varieties of rice; RD49, Tubtim Chumpae, Riceberry, Sang Yod Phatthalung and Leum Pua. NB media supplemented with 0.5, 1, 2, 3 and 5 mg/l 2,4-D, 1 mg/l NAA and 2.6 g/l phytagel were uses for callus induction. The maximum callus average volume of RD49, Tubtim Chumpae and Sang Yod Phatthalung were found on NB media containing 2 mg/l 2,4-D. In contrast, Riceberry and Leum Pua gave a result the maximum volume of callus on 0.5 and 3 mg/l 2,4-D, respectively. Plant regeneration of callus ; Tubtim Chumpae, Riceberry, Sang Yod Phatthalung and Leum Pua were culture on MS and NB media supplement with 1, 2 and 3 mg/l BAP, 0.5 mg/l NAA and 5.2 g/l phytagel for 4 weeks. Green bud on callus of Tubtim Chumpae maximum number on NB media containing 1 mg/l BAP, while Sang Yod Phatthalung, Leum Pua and Riceberry showed at 2 mg/l BAP. For effect of gamma irradiation on callus of rice; Tubtim Chumpae and Sang Yod Phatthalung to exposed gamma irradiation dose at 0, 2, 4, 6, 8 and 10 kR. The result found that Tubtim Chumpae and Sang Yod Phatthalung have LD_{50} values 8.00 and 8.54 kR, respectively. We studied effect of gamma irradiation on dry seeds of rice; RD29, Khao Dawk Mali105, Pathum thani1 and Riceberry to exposed gamma irradiation dose at 0, 20, 25, 30, 35 and 40 kR. The result showed that RD29, Khao Dawk Mali105, Pathum thani1 and Riceberry have LD_{50} values 32.50, 35.77, 26.00 and 27.50 kR, respectively.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Keywords : Callus induction, Plant regeneration, Rice, Gamma rays

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการศึกษาโครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจาก ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำเกี่ยวกับการทำงาน ตลอดจนให้การสนับสนุนด้านต่างๆ เพื่อช่วยในการปรับปรุงข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นในการทำการทดลอง

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ประธานสอบโครงงานพิเศษ และ ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี ที่ได้เสียสละเวลาชี้แนะแนวทางในการแก้ปัญหา และตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เพื่อให้โครงงานพิเศษฉบับนี้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาชีววิทยาทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำสั่งสอน ตลอดจนเป็นที่ปรึกษาที่ดีมาโดยตลอด และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกเกี่ยวกับอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ขอขอบพระคุณบิดา มารดาของผู้จัดทำที่คอยเป็นกำลังใจ และสนับสนุนส่งเสริมการศึกษาในทุกด้านของข้าพเจ้าด้วยดีตลอดมา รวมทั้งพี่ เพื่อน และน้องๆที่คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจในการทำโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่ารายงานฉบับนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจหรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้ในงานด้านนี้ หากมีข้อผิดพลาดประการใดผู้จัดทำขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

กนกวรรณ รัตนวงศ์
กฤตยาภรณ์ มีสุข
วรรณิศา ทองมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค
กิตติกรรมประกาศ ..... จ
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ฌ
สารบัญรูป ..... ญ
คำย่อ/สัญลักษณ์ ..... ฐ
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
2.1.1 โครงสร้างของเมล็ดข้าว 3
2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าว 4
2.2 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษา 5
2.2.1 ข้าวสายพันธุ์ กข29 หรือชัยนาท80 5
2.2.2 ข้าวสายพันธุ์ กข49 5
2.2.3 ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 6
2.2.4 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ 6
2.2.5 ข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1 6
2.2.6 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง 6
2.2.7 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ 6
2.2.8 ข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว 7
2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 7
2.4 การเพาะเลี้ยงแคลลัส 8
2.4.1 แคลลัส 8
2.4.2 การเตรียมชิ้นส่วนพืชที่ใช้เพาะเลี้ยง 9
2.4.3 การชักนำให้เกิดแคลลัส 9
2.5 การชักนำให้เกิดต้นพืช 9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6 ความผันแปรทางพันธุกรรมของพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 10
2.6.1 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ..... 10
2.6.2 การกลายพันธุ์..... 10
2.6.3 การกำหนดปริมาณรังสีที่ใช้ 10
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 11
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย..... 15
3.1 เมล็ดข้าวที่ใช้ในการศึกษา..... 15
3.2 สารเคมีและอุปกรณ์..... 15
3.2.1 สารเคมี..... 15
3.2.2 อุปกรณ์ 15
3.3 ขั้นตอนการดำเนินงาน..... 16
3.3.1 การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสจากเอ็มบริโอของเมล็ดข้าว..... 16
3.3.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นใหม่ 17
3.3.3 การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสข้าว 17
3.3.4 การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าว..... 18
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล..... 19
4.1 การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเมล็ดข้าว 5 สายพันธุ์..... 19
4.1.1 ข้าวสายพันธุ์ กข49..... 20
4.1.2 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ..... 22
4.1.3 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่..... 24
4.1.4 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง..... 26
4.1.5 ข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว..... 28
4.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นใหม่..... 30
4.2.1 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ..... 31
4.2.2 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่..... 33
4.2.3 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง..... 35
4.2.4 ข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว..... 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3 การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสข้าว 39
4.3.1 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ 39
4.3.2 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง 41
4.4 การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าว 43
4.4.1 ข้าวสายพันธุ์ กข29 44
4.4.2 ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 46
4.4.3 ข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1 48
4.4.4 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ 50
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 52
5.1 สรุปผลการวิจัย 52
5.2 ข้อเสนอแนะ 53
เอกสารอ้างอิง 54
ภาคผนวก 58
ภาคผนวก ก 59
ภาคผนวก ข 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

รูปที่		หน้า
4.1	ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ กข49 บนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ	20
4.2	ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ บนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ	22
4.3	ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่บนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ	24
4.4	ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ	26
4.5	ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัวบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ	28
4.6	ผลการชักนำให้เกิดต้นใหม่ของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่างๆ	31
4.7	ผลการชักนำให้เกิดต้นใหม่ของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รีบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่างๆ	33
4.8	ผลการชักนำให้เกิดต้นใหม่ของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่างๆ	35
4.9	ผลการชักนำให้เกิดต้นใหม่ของข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัวบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่างๆ	37
4.10	การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ	39
4.11	การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง	41
4.12	การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ กข29	44
4.13	การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105	46
4.14	การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1	48
4.15	การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 โครงสร้างของเมล็ดข้าว..... 4

4.1 กราฟแสดงการเปรียบเทียบปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ กข49 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 21

4.2 แสดงลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ กข49 บนอาหารสูตร NB (ก) ชุดควบคุม (ข-ฉ) ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 21

4.3 กราฟแสดงการเปรียบเทียบปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 23

4.4 แสดงลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพบนอาหารสูตร NB (ก) ชุดควบคุม (ข-ฉ) ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 23

4.5 กราฟแสดงการเปรียบเทียบปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 25

4.6 แสดงลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่บนอาหารสูตร NB (ก) ชุดควบคุม (ข-ฉ) ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 25

4.7 กราฟแสดงการเปรียบเทียบปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์..... 27

4.8 แสดงลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงบนอาหารสูตร NB (ก) ชุดควบคุม (ข-ฉ) ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 6 สัปดาห์..... 27

4.9 กราฟแสดงการเปรียบเทียบปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยของข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์..... 29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.10 แสดงลักษณะแคลลัสของข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัวบนอาหารสูตร NB (ก) ชุดควบคุม (ข-ฉ) ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์..... 29

4.11 กราฟแสดงผลการเปรียบเทียบจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 32

4.12 แสดงลักษณะแคลลัสที่เกิดจุดเขียวของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เพาะเลี้ยงบน (ก) ชุดควบคุม MS (ข-ง) อาหารสูตร MS (จ) ชุดควบคุม NB (ฉ-ซ) สูตรอาหาร NB ที่ประกอบด้วย BAP 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 32

4.13 กราฟแสดงผลการเปรียบเทียบจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 34

4.14 แสดงลักษณะแคลลัสที่เกิดจุดเขียวของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ เพาะเลี้ยงบน (ก) ชุดควบคุม MS (ข-ง) อาหารสูตร MS (จ) ชุดควบคุม NB (ฉ-ซ) สูตรอาหาร NB ที่ประกอบด้วย BAP 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 34

4.15 กราฟแสดงผลการเปรียบเทียบจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 36

4.16 แสดงลักษณะแคลลัสที่เกิดจุดเขียวของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เพาะเลี้ยงบน (ก) ชุดควบคุม MS (ข-ง) อาหารสูตร MS (จ) ชุดควบคุม NB (ฉ-ซ) สูตรอาหาร NB ที่ประกอบด้วย BAP 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 36

4.17 กราฟแสดงผลการเปรียบเทียบจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวของข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 38

4.18 แสดงลักษณะแคลลัสที่เกิดจุดเขียวของข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว เพาะเลี้ยงบน (ก) ชุดควบคุม MS (ข-ง) อาหารสูตร MS (จ) ชุดควบคุม NB (ฉ-ซ) สูตรอาหาร NB ที่ประกอบด้วย BAP 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพกับปริมาณรังสีต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 40
4.20 แสดงลักษณะแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ได้รับรังสีปริมาณต่างๆ (ก) ชุดควบคุม (ข-ฉ) 2, 4, 6, 8 และ 10 กิโลแรด ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 40
4.21 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงกับปริมาณรังสีต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 42
4.22 แสดงลักษณะแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงที่ได้รับรังสีปริมาณต่างๆ (ก) ชุดควบคุม (ข-ฉ) 2, 4, 6, 8 และ 10 กิโลแรด ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 42
4.23 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของข้าวสายพันธุ์ กข 29 กับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 45
4.24 แสดงลักษณะของต้นข้าวสายพันธุ์ กข29 บนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ชุดควบคุม (ก) และเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20, 25, 30, 35 และ 40 (ข-ฉ) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 45
4.25 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 กับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 47
4.26 แสดงลักษณะของต้นข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 บนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ชุดควบคุม (ก) และเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20, 25, 30, 35 และ 40 (ข-ฉ) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 47
4.27 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1 กับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 49
4.28 แสดงลักษณะของต้นข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1 บนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ชุดควบคุม (ก) และเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20, 25, 30, 35 และ 40 (ข-ฉ) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 49
4.29 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ กับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 51
4.30 แสดงลักษณะของต้นข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ บนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ชุดควบคุม (ก) และเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20, 25, 30, 35 และ 40 (ข-ฉ) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ	คำอธิบาย
2,4-D	2,4-Dichlorophenoxy acetic acid
BAP	6-Benzylaminopurine
LD_{50}	lethal dose 50%
MS	Murashige and Skoog
NB	Modified Chu/Gamborg Basal Medium
NAA	1-Naphthalene acetic acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ข้าวมีความผูกพันกับคนไทยมาแต่โบราณ การปลูกข้าวก่อให้เกิดขนบธรรมเนียมประเพณีและวัฒนธรรมคู่กับชาติไทย สืบสานต่อกันมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โดยอาชีพทำนาเป็นอาชีพที่ถูกถ่ายทอดมาจากบรรพบุรุษสู่ลูกหลานชาวนา ปัจจุบันถือได้ว่าชาวนาเป็นกระดูกสันหลังของชาติ สามารถใช้ทักษะและประสบการณ์ เพื่อให้ได้มาซึ่งอาหารไว้บริโภคทั้งภายในประเทศและต่างประเทศที่สำคัญชาวนาถือได้ว่าเป็นชนกลุ่มใหญ่ มีจำนวนมากถึง 3.7 ล้านครัวเรือน เป็นกลุ่มคนที่ยากจนที่สุดในบรรดาเกษตรกรทั้งหลายอยู่กระจายกันทั่วประเทศ แต่มีบทบาทต่อภาวะทางการเมือง การปกครองและความมั่นคงของประเทศ รัฐบาลทุกรัฐบาลจะให้ความสนใจในปัญหาเรื่องข้าวของชาวนามากที่สุด เพราะถือว่าเป็นปัญหาของคนส่วนใหญ่ของประเทศ (กรมการข้าว, 2555) โดยประเทศไทยมีการส่งออกข้าวไปต่างประเทศมากเป็นที่หนึ่งของโลก ข้าวเป็นพืชอาหารของคนไทยและเอเชีย ประเทศต่างๆ ในโลกต่างก็รู้จักข้าวแม้ว่าบางประเทศจะไม่ได้บริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก ข้าวจึงเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของคนไทยมาก และเป็นพืชที่เกี่ยวกับความมั่นคงของประเทศมาตลอดจนถึงปัจจุบัน คนไทยบริโภคข้าววันละ 2-3 มื้อ เฉลี่ยแล้วประมาณ 109-120 กิโลกรัมต่อคนต่อปี หรือ 320 กรัมต่อคนต่อวัน และเป็น 100 กรัมต่อคนต่อมื้อ ในปีพุทธศักราช 2550 ประเทศไทยใช้ข้าวสำหรับบริโภคภายในประเทศประมาณ 10.73 ล้านตัน และส่งออกไปขายต่างประเทศประมาณ 9.20 ล้านตัน ซึ่งคิดเป็นมูลค่าได้ประมาณ 119,215 ล้านบาท นับว่าเป็นรายได้หลักอย่างหนึ่งของประเทศ (ประพาส, 2555)

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าข้าวมีบทบาทสำคัญกับชีวิตความเป็นอยู่ของคนไทยในฐานะที่เป็นทั้งอาหารหลักและเป็นแหล่งที่มาของเงินตราต่างประเทศ อย่างไรก็ตามบทบาทที่สำคัญสองอย่างนี้มีการเปลี่ยนแปลงไปตามกาลเวลาด้วยเหตุและปัจจัยหลายประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งบทบาทของข้าวในการค้าระหว่างประเทศของไทย ทั้งนี้เพราะการเปลี่ยนแปลงของสภาพการผลิต การค้าทั้งในประเทศผู้นำเข้าและประเทศผู้ส่งออกอื่นๆ เนื่องมาจากความต้องการบริโภคข้าวของประชากรโลกมีสูงขึ้นในทุกปี แต่พื้นที่ในการผลิตข้าวกลับมีจำนวนจำกัด ทำให้ข้าวกลายเป็นพืชที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศและของโลกด้วย กล่าวคือ ถ้าประเทศไทยผลิตข้าวได้เป็นจำนวนมากก็จะทำให้มีข้าวเหลือเพื่อการส่งออกจำหน่าย ทำรายได้เข้าประเทศเป็นอย่างมาก เพราะคนต้องบริโภคข้าวทุกวัน และจำนวนผู้บริโภคข้าวก็เพิ่มจำนวนอยู่เรื่อยๆ (สมชาย, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในปัจจุบันสภาพภูมิอากาศของโลกมีแนวโน้มที่จะเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตทั้งทางตรงและทางอ้อมอาจก่อให้เกิดปัญหาต่างๆ ตามมาเช่น การสูญพันธุ์ของพืช และสัตว์ต่างๆ ผลผลิตทางการเกษตรลดลง ภัยธรรมชาติ และโรคระบาด ทั้งปัญหาเศรษฐกิจ และสังคมทำให้ความหลากหลายของพันธุ์ข้าวลดลงไปอย่างมาก แต่ความต้องการบริโภคข้าวของโลกยังมีแนวโน้มขยายตัวเพิ่มขึ้น เนื่องจากการขยายตัวของประชากรเพิ่มมากขึ้น และความต้องการบริโภคข้าวยังมีปริมาณสูงกว่าผลผลิตข้าว ผู้วิจัยจึงพยายามที่จะปรับปรุงสายพันธุ์ข้าวขึ้นมาใหม่โดยอาศัยเทคโนโลยีการปรับปรุงพันธุ์พืช การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งจะทำให้ได้สายพันธุ์ข้าวใหม่ ที่สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ และจะเป็นการช่วยเกษตรกรที่ได้รับความเดือดร้อนจากปัญหาข้าวได้อีกทางหนึ่งด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ในอาหารสูตร NB
2) เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ให้เกิดเป็นต้นใหม่
3) เพื่อศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าวและแคลลัสข้าวสายพันธุ์ต่างๆ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวเพื่อศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสข้าว
2) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสข้าวให้พัฒนาเป็นต้นใหม่
3) การฉายรังสีแกมมาบนแคลลัสข้าวเพื่อศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสข้าว
4) การฉายรังสีแกมมาบนเมล็ดข้าวเพื่อศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงของต้นข้าว

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ทราบสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสข้าวสายพันธุ์ต่างๆ บนสูตรอาหาร NB
2) ทราบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ให้เกิดเป็นต้นใหม่
3) ทราบผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสข้าวและเมล็ดข้าวสายพันธุ์ต่างๆ
4) สามารถขยายพันธุ์ข้าวที่ต้องการได้ปริมาณมากภายในเวลาอันรวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้าว

ข้าวเป็นพืชอาหารสำคัญมากที่สุดในโลกและครึ่งหนึ่งของประชากรโลกมีข้าวเป็นแหล่งโภชนาการหลัก ปัจจุบันจึงมีการศึกษาเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเป็นจำนวนมาก ดังเช่น รายงานของพิมพ์ชนก และคณะ (2556) ได้ทำการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของรากและการเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวภายใต้สภาพแล้งโดยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการฉายรังสีแกมมา เพื่อต้องการศึกษาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับความสามารถในการทนแล้งของข้าวแต่ละสายพันธุ์ กลไกการตอบสนองของข้าวแต่ละสายพันธุ์ในสภาพแห้งแล้ง และความสามารถในการทนแล้งของข้าวหลังจากการฉายรังสี ซึ่งรังสีแกมมาอาจมีผลเหนี่ยวนำให้เกิดความสามารถของข้าวทนแล้งได้มากขึ้นหรือลดน้อยลงได้ และงานวิจัยของ Kadhimi และคณะ (2016) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของการฉายรังสีและสารพอลิเอทิลีนไกลคอลในการทนแล้งของข้าวสายพันธุ์ MR269 (*Oryza sativa* L.) เพื่อศึกษาอิทธิผลของการฉายรังสีและสารพอลิเอทิลีนไกลคอลที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีในข้าวสายพันธุ์ MR269 และระบุเกณฑ์มาตรฐานต่อการทนแล้ง เนื่องจากยังมีข้อมูลเกี่ยวกับกลไกทางสรีรวิทยาต่อการตอบสนองของข้าวในการทนแล้งไม่เพียงพอ และเพื่อช่วยผู้ผลิตข้าวในพื้นที่มีปริมาณน้ำฝนต่ำหรือไม่มีโครงการชลประทานโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และเทคนิคการกลายพันธุ์มาเป็นเครื่องมือในการปรับปรุงพันธุ์

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับอิทธิพลของรังสีแกมมาต่อการเจริญเติบโตของแคลลัสของข้าว ศึกษาปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้แคลลัสตายลงครึ่งหนึ่ง ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงแคลลัสของข้าวแต่ละสายพันธุ์ เพื่อลดปริมาณตัวอย่างในการทดลอง ลดค่าใช้จ่าย การใช้แรงงานและเวลา เพื่อขยายพันธุ์ข้าวหายากหรือเป็นพันธุ์ข้าวที่ใกล้สูญพันธุ์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและเพื่อทราบข้อมูลอันเป็นพื้นฐานนำไปสู่การปรับปรุงพันธุ์ข้าวต่อไป เช่น สังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของแคลลัสข้าวและศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของต้นข้าวก่อนและหลังได้รับการฉายรังสี เป็นต้น

2.1.1 โครงสร้างของเมล็ดข้าว (ชาญ, 2536)

เมล็ดข้าวประกอบด้วยส่วนประกอบที่สำคัญ 4 อย่าง คือ

1. เปลือกนอก (hull, husk) คือส่วนที่เรียกว่าแกลบ ซึ่งแกลบคือใบประดับ (bract) ที่เกิดการเปลี่ยนรูปมา โดยแกลบจะมี 2 แผ่น แผ่นหนึ่งใหญ่และอีกแผ่นหนึ่งเล็ก

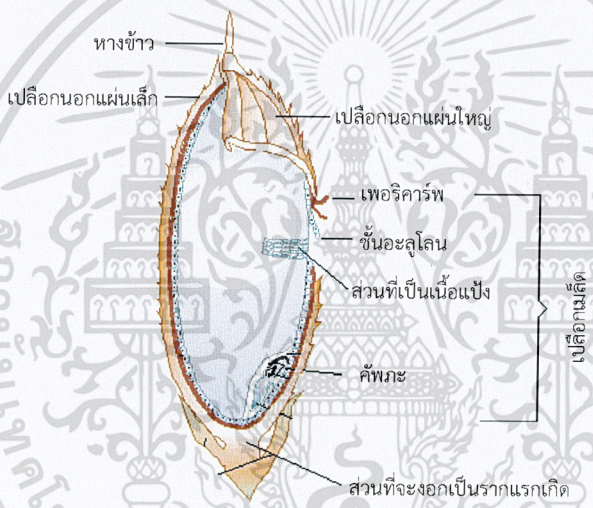
2. เปลือกเมล็ด (caryopsis) เป็นส่วนห่อหุ้มแป้งแต่อยู่ภายในแกลบประกอบด้วย 3 ส่วน คือ เพอริคาร์พ (pericarp) เยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) และชั้นของนูเซลลัส (nucellu)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อแกะเปลือกนอกของเมล็ดออก จะได้เมล็ดข้าวที่เรียกว่า ข้าวกล้อง (brown rice) ซึ่งจะมีสีต่างกันตั้งแต่สีขาว น้ำตาลอ่อน จนถึงแดง

3. ส่วนที่เป็นแป้ง (endosperm) แบ่งออกได้เป็น 2 ส่วน คือ ส่วนแรก เรียกว่า อะลูโลน (aleurone layer) เป็นเนื้อเยื่อชั้นนอกสุดของส่วนที่เป็นแป้ง ชั้นอะลูโลนจะมีธาตุฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และโปแตสเซียมอยู่มาก ส่วนที่สองคือส่วนที่เป็นเนื้อแป้ง (starchy endosperm) จะเป็นแป้งส่วนที่เราบริโภคเป็นอาหาร โดยเนื้อแป้งจะประกอบด้วยเซลล์เม็ดแป้งและโปรตีน

4. คัพภะ (embryo) เป็นส่วนที่เรียกว่าจมูกข้าว เป็นตำแหน่งรวมของส่วนที่จะงอกเป็นต้นข้าวต้นใหม่ คัพภะประกอบด้วยส่วนที่งอกเป็นยอดอ่อน (prumule) ซึ่งถูกห่อหุ้มด้วยเยื่อหุ้มยอดอ่อน (coleoptiles) และส่วนที่จะงอกเป็นรากแรกเกิด (radicle) โดยทั้ง 2 ส่วนนี้จะยึดติดกันด้วยปล้องที่สั้นมากๆเรียกว่า มีโซคอททิล (mesocotyl)



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของเมล็ดข้าว

(**ที่มา** : http://agron.agri.kps.ku.ac.th/images/Economic_crops/3-6.gif)

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าว

1. ราก (root) จัดอยู่ในประเภทรากฝอย (fibrous root system) ทำหน้าที่ยึดลำต้นให้ตั้งตรงและหาอาหารไปเลี้ยงลำต้น รากที่งอกออกมาครั้งแรกนั้นจะเป็นรากอ่อนหรือรากแรกเกิด (radicle) เมื่อข้าวเจริญเติบโตขึ้นเรื่อยๆ รากฝอยจะเริ่มเกิดขึ้นโดยงอกมาจากข้อถี่ล่างๆ และเรียกรากฝอยชุดที่สองว่า adventitious root ส่วนรากแรกเกิดจะค่อยๆ หมดอายุและสลายตัวเมื่อข้าวมีอายุ 25-30 วัน

2. ลำต้น (stem) ประกอบด้วยข้อ (node) และปล้อง (internode) ข้อจะเป็นที่เกิดของใบ ที่ข้อจะมีตาซึ่งจะเจริญขึ้นเป็นหน่อใหม่ ทำให้ข้าวหนึ่งต้นแตกกอขึ้นเป็นหลายต้นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปล้องข้าว จะกลวงและมีแถบปุ่มเล็กอยู่เหนือตำแหน่งของตา ก่อนที่ข้าวจะสร้างช่อดอก ข้าวจะไม่ยืดปล้องขึ้นมา ทำให้เห็นรูปร่างลำต้นไม่ชัดเจน เนื่องจากเป็นส่วนของใบและกาบใบหุ้มเอาไว้

3. ใบ (leaf) จัดเป็นใบเลี้ยงเดี่ยว มีลักษณะเป็นแผ่นบาง แคบ และยาว ใบประกอบด้วย 2 ส่วน คือกาบใบ (leaf sheath) และตัวใบ (leaf blade) ใบสุดท้ายของข้าว เรียกว่า ใบธง (flag leaf) มีหน้าที่สำคัญในการสังเคราะห์แสงสร้างอาหารไปสะสมที่เมล็ด

4. รวงข้าว (panicle) หรือช่อดอก (inflorescence) จะเกิดขึ้นที่ปล้องสุดท้าย ระยะตั้งแต่ข้อของปล้องสุดท้ายลงมาจนถึงกาบของใบธง เรียกว่า คอรวง

5. ดอกข้าว (spikelet) จะเป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) ลักษณะดอกประกอบด้วยเปลือกนอก (glume) 2 แผ่น เปลือกนอกแผ่นใหญ่ เรียกว่า เลมมา (lemma) โดยที่ปลายสุดของเลมมาจะมีลักษณะยื่นออกไปเรียกว่า หางข้าว (awn) ส่วนเปลือกนอกแผ่นเล็กเรียกว่า พาเลีย (palea)

6. เมล็ดข้าว (seed) หมายถึง แหล่งรวมแป้ง เรียกว่า เอนโดสเปิร์ม (endosperm) และส่วนที่เป็นคัพภะ (embryo) ถูกห่อหุ้มไว้โดยเปลือกนอกแผ่นใหญ่สองแผ่น ซึ่งส่วนเอนโดสเปิร์มจะเป็นแป้งที่เราบริโภค และคัพภะจะเป็นส่วนที่มีชีวิตและงอกออกมาเป็นต้นข้าว

2.2 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษา

ประกอบด้วย 8 สายพันธุ์ ดังต่อไปนี้

2.2.1 ข้าวสายพันธุ์ กข29 (RD29) หรือ ชัยนาท80 (Chainat80)

เป็นข้าวเจ้า ได้จากการผสม 3 ทาง ระหว่าง ลูกผสมชั่วที่ 1 ของพันธุ์สุพรรณบุรี60 และสายพันธุ์ IR29692-99-3-2-1 กับสายพันธุ์ IR11418-19-2-3 ที่ศูนย์วิจัยข้าวชัยนาท เมื่อ พ.ศ. 2532 คัดเลือกจนได้สายพันธุ์ CNT89098-281-2-1-2-1 ผ่านการรับรองพันธุ์ เมื่อวันที่ 6 มีนาคม 2550 ลักษณะประจำพันธุ์เป็นข้าวเจ้าไม่ไวต่อช่วงแสง ลักษณะเด่นมีอายุสั้น มีอายุวันเก็บเกี่ยวในฤดูนาปรัง 99 วัน และในฤดูนาปี 103 วัน เมื่อปลูกโดยวิธีหว่านน้ำตม ค่อนข้างต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและโรคขอบใบแห้ง ข้อควรระวังคือไม่ควรปลูกในช่วงกลางเดือนกันยายนถึงปลายเดือนพฤศจิกายน ซึ่งมีอากาศเย็น เพราะจะทำให้เมล็ดลีบมากและผลผลิตต่ำ

(ที่มา : http://brrd.in.th/rkb/contents/view/index.phpfile=content.php&id=60.htm)

2.2.2 ข้าวสายพันธุ์ กข49 (RD49)

เป็นข้าวเจ้า ได้จากการผสม 3 ทาง ระหว่าง PSL00508-3-1-1-4 กับ IR66738-118-1-2 และ IR68544-29-2-1-3-1-2 ได้สายพันธุ์ PSL05102-19-1-5-4 (ผสมพันธุ์ในปี 2548) ผ่านการรับรองพันธุ์ เมื่อวันที่ 7 กุมภาพันธ์ 2556 ลักษณะประจำพันธุ์เป็นข้าวเจ้านาสวน ไม่ไวต่อช่วงแสง มีลักษณะเด่นให้ผลผลิตสูง ค่อนข้างต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิดใหม่และต้านทานโรคไหม้

(ที่มา : http://brrd.in.th/rkb/contents/view/index.phpfile=content.php&id=138.htm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 (Khao Dawk Mali 105)

เป็นข้าวเจ้าหอม ได้มาจากรวบรวมข้าวจากอำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา เมื่อ พ.ศ. 2493-2494 จำนวน 199 รวง แล้วนำไปคัดเลือกแบบคัดพันธุ์บริสุทธิ์ (pure line selection) จนได้สายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 4-2-105 ผ่านการรับรองพันธุ์ เมื่อวันที่ 25 พฤษภาคม 2502 ลักษณะเด่น ทนแล้งได้ดีพอสมควร เมล็ดข้าวสารใส แกร่ง คุณภาพการสีดี แต่จะไม่ต้านทานโรคใบสีส้ม โรคขอบใบแห้ง โรคไหม้ และโรคใบหงิก ไม่ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นสีเขียว และหนอนกอ (ที่มา : http://brrd.in.th/rkb/contents/view/index.php-file=content.php&id=19.htm)

2.2.4 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ (Tubtim Chumphae) หรือ กข69 (RD69)

เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สายพันธุ์กลายจากรังสี ทรงต้นเตี้ย (Semi-dwarf KDML105) ที่มีลักษณะต้านทานต่อโรคไหม้ ไม่ไวต่อช่วงแสงเป็นพันธุ์แม่ กับข้าวเจ้าพันธุ์สังข์หยดพัทลุงที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง ไวต่อช่วงแสง อายุหนัก ต้นสูงเป็นพันธุ์พ่อ ผ่านการรับรองพันธุ์ เมื่อวันที่ 12 กรกฎาคม 2559 มีลักษณะเด่นเป็นข้าวเจ้าเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง ไม่ไวต่อช่วงแสง ทรงต้นเตี้ย ผลผลิตสูง คุณภาพเมล็ด และคุณภาพการหุงต้มรับประทานดี ข้าวกล้องหุงสุกนุ่มและมีรสชาติดี มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระฟีโนลิกและฟลาโวนอยด์สูง
(ที่มา : http://brrd.in.th/rkb/contents/view /index.php-file=content.php&id=163.htm)

2.2.5 ข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1 (Pathum Thani 1)

ข้าวเจ้าหอมพันธุ์ปทุมธานี1 ได้จากคู่ผสมเดี่ยวระหว่างสายพันธุ์ข้าวหอม BKNA6-18-3-2 และ PTT85061-86-3-2-1 ในปี พ.ศ.2533 ที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานีปลูกคัดเลือกจนได้สายพันธุ์ PTT90071-93-8-1-1 ผ่านการรับรองพันธุ์ เมื่อวันที่ 30 พฤษภาคม 2543 ลักษณะประจำพันธุ์เป็นข้าวเจ้า ไม่ไวต่อช่วงแสง ลักษณะเด่นให้ผลผลิตสูง คุณภาพเมล็ดคล้ายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ยกระโดดหลังขาว แต่จะค่อนข้างอ่อนแอเพลี้ยจักจั่นสีเขียว โรคใบหงิก และโรคใบสีส้ม
(ที่มา : http://brrd.in.th/rkb/contents/view /index.php-file=content.php&id=67.htm)

2.2.6 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง (Sang Yod Phatthalung)

เป็นพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่ปลูกดั้งเดิมในจังหวัดพัทลุง ผ่านการรับรองพันธุ์ เมื่อวันที่ 23 เมษายน 2550 ลักษณะประจำพันธุ์เป็นข้าวเจ้าไวต่อช่วงแสงอ่อน ลักษณะเด่นมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง ข้าวกล้องเมื่อหุงสุกนุ่มเล็กน้อย ส่วนข้าวซ้อมมือเมื่อหุงสุกนุ่ม มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ข้อควรระวังจะไม่ต้านทานโรคไหม้ ไม่ควรปลูกใกล้เคียงกับแปลงปลูกข้าวขาวและควรแยกเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้โดยเฉพาะ
(ที่มา : http://brrd.in.th/rkb/contents/view/index.php-file=content.php&id=93.htm)

2.2.7 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ (Riceberry)

เป็นข้าวเจ้า ได้จากการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าวเจ้าหอมนิลกับข้าวขาวดอกมะลิ105 ลักษณะเด่นเป็นข้าวเจ้าสีม่วงเข้ม รูปร่างเมล็ดเรียวยาว ผิวมันวาว ข้าวกล้องมีความนุ่มนวลมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลูกได้ตลอดทั้งปี ให้ผลผลิตต่อไร่ปานกลาง ต้านทานต่อโรคไหม้แต่ไม่ต้านทานโรคหลาว นอกจากนี้ยังเป็นข้าวสายพันธุ์ที่มีสารต้านอนุมูลอิสระสูง จึงมีสรรพคุณในการช่วยบำรุงร่างกาย ทำให้เกิดการสร้างคอลลาเจน ลดการอักเสบที่ผิวหนัง ช่วยลดริ้วรอยและชะลอความแก่ ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคร้ายแรงต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง และโรคสมองเสื่อม (ที่มา: http://dna.kps.ku.ac.th/v2016/index.php/news-articles-rice-rsc-rgdu-knowledge /rice-breeding-lab/riceberry-variety)

2.2.8 ข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว (Leum Pua)

เป็นข้าวเหนียว ซึ่งศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลกเก็บรวบรวมพันธุ์ข้าวเหนียวนาปีของกลุ่มชาติพันธุ์ชาวม้ง จากจังหวัดตาก ปลูกเปรียบเทียบกับข้าวที่ปลูกจากแหล่งเดิม (อำเภอพบพระ) และคัดเลือกพันธุ์ให้บริสุทธิ์ ระหว่างปี 2534-2538 ผ่านการรับรองพันธุ์ เมื่อวันที่ 9 มีนาคม 2555 มีลักษณะเด่นเป็นข้าวกล้อง เมื่อหุงสุกจะมีกลิ่นหอม ลักษณะสัมผัสแรกเคี้ยวจะกรุบ หนึบภายในนุ่มเหนียว มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะสารต้านอนุมูลอิสระรวม แต่ค่อนข้างอ่อนแอต่อโรคไหม้และโรคขอบใบแห้ง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
(ที่มา : http://brrd.in.th/rkb/contents/view /index.php-file=content.php&id=132.htm)

2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (plant tissue culture)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หมายถึงการเลี้ยงชิ้นส่วนใดๆ ของพืชรวมทั้งเซลล์เดี่ยวๆ ในอาหารสังเคราะห์สภาพปลอดเชื้อ ในปัจจุบันเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเครื่องมือสำคัญของการขยายพันธุ์ การพัฒนาพันธุ์พืชชนิดใหม่ การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบบางอย่างทางเคมี ความทนทานต่อสภาวะแวดล้อม ตลอดจนการเพิ่มผลผลิตของพืช (อารีย์, 2541) ในการศึกษานี้จึงนำเมล็ดพันธุ์ข้าวที่สนใจมาเพาะเลี้ยงด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อให้เกิดแคลลัสข้าวเป็นจำนวนมากในระยะเวลาสั้น และสามารถสร้างพันธุ์ข้าวที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่อไปได้

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (สมพร, 2552) โดยทั่วไปจะขึ้นอยู่กับชนิดของพืช พืชบางชนิดว่องไวต่อสารหรือต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ อายุของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงก็มีผลต่อการเจริญบนอาหาร การพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog (1962) Medium) เป็นสูตรอาหารพื้นฐานที่นำมาใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และชักนำให้เกิดต้นพืช (plant regeneration) ยังพบว่าอาหารสูตร NB (Modified Chu/Gamborg Basal Medium) เหมาะสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจากส่วนต่างๆ โดยการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชในหลอดทดลองเป็นผลมาจากองค์ประกอบของอาหารและพันธุกรรมของพืช พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีองค์ประกอบต่างๆ ดังนี้

1. น้ำ เป็นองค์ประกอบหลักของธาตุอาหาร น้ำที่ใช้ควรเป็นน้ำกลั่นหรือน้ำปราศจากไอออน

2. สารประกอบอนินทรีย์ (inorganic compound) ประกอบด้วยสารอาหารหลัก (macro nutrient) เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต้องใช้ในปริมาณมาก ได้แก่ คาร์บอน (C) ออกซิเจน (O)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไนโตรเจน (N) โพแทสเซียม (P) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) และกำมะถัน (S) สารอาหารรอง (micro nutrient) เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต้องใช้ในปริมาณน้อย ได้แก่ เหล็ก (Fe) คลอรีน (Cl) แมงกานีส (Mn) สังกะสี (Zn) โบรอน (B) และโมลิบดีนัม (Mo)

3. สารประกอบอินทรีย์ (organic compound) น้ำตาลเป็นองค์ประกอบที่สำคัญเนื่องจากเป็นสารที่ให้พลังงาน น้ำตาลส่วนใหญ่ที่ใช้ คือ น้ำตาลซูโครส (sucrose) ความเข้มข้นที่ใช้คือ 20-60 กรัมต่อลิตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช

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

5. กรดอะมิโน เติมลงไปในอาหารเพื่อช่วยให้การเจริญเติบโตของพืชดีขึ้น ได้แก่ ซีรีน (serine) แอสพาราจีน (asparagine) กลูตามีน (glutamine) และโพรลีน (proline) ช่วยลดสารประกอบไนโตรเจน และชักนำให้เกิด somatic embryogenesis เป็นต้น

6. วุ้น เป็นสารจำพวกพอลีแซคคาไรด์ (ploysaccharide) เติมลงไปในอาหารเพื่อให้อาหารแข็งตัวช่วยให้ต้นพืชยึดเกาะอยู่ได้ ความเข้มข้นที่ใช้อยู่ในช่วง 0.5-1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) สารที่ช่วยทำให้อาหารแข็งตัวได้ชนิดอื่นๆ มีอีกหลายชนิด เช่น เจลาติน (gelatin) อะกาโรส (agarose) การเลือกใช้ขึ้นอยู่กับชนิดงานและความเหมาะสม

7. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) มีผลต่อการดูดใช้แร่ธาตุอาหารของเนื้อเยื่อหรือชิ้นส่วนของพืช ส่วนใหญ่นิยมใช้อยู่ในช่วง 5.0-6.0 กรณีถ้าใช้พีเอชต่ำกว่า 5.0 ซึ่งเป็นกรดอาจทำให้อาหารไม่แข็งได้ ทำให้ไม่เหมาะกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

8. สารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulators) การเติมสารช่วยเร่งการเจริญของพืชลงไปในอาหารมีความสำคัญซึ่งจะช่วยให้เนื้อเยื่อเหล่านี้เจริญดีขึ้น แบ่งได้ดังนี้

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

ไซโตไคนิน (cytokine) เติมลงไปเพื่อช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเปลี่ยนแปลงไปเป็นหน่อเล็กจากส่วนของแคลลัสหรืออวัยวะที่เพาะเลี้ยง ไซโตไคนินที่นิยมใช้ เช่น 2iP (2-isopentenyl adenine) และ BAP (6-Benzylaminopurine) เป็นต้น (อนุรักษ์, 2550)

2.4 การเพาะเลี้ยงแคลลัส (รังสฤษดิ์, 2541)

2.4.1 แคลลัส (callus)

แคลลัส หมายถึงเซลล์ที่อยู่รวมเป็นกลุ่ม และยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงพัฒนาไปเป็นเนื้อเยื่อหรืออวัยวะชนิดต่างๆ ประกอบด้วยเซลล์พาเรนไคมา (parenchyma) เพียงอย่างเดียว มีขนาดไม่แน่นอน ภายในเซลล์มีแวคิวโอลจำนวนมาก ส่วนใหญ่ไม่มีรงควัตถุ แต่อาจมีสีเขียวเนื่องจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีคลอโรฟิลล์ (chlorophylls) ปริมาณและชนิดของรงควัตถุขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ธาตุอาหาร และปัจจัยสภาพแวดล้อมของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยเฉพาะอย่างยิ่งแสง แคลลัสที่มีกลุ่มเซลล์เกาะแน่นเรียกว่า compact callus แต่ถ้าเกาะกันอย่างหลวมๆ เรียกว่า friable callus

2.4.2 การเตรียมชิ้นส่วนพืชที่ใช้เพาะเลี้ยง

ชิ้นส่วนพืชจากอวัยวะต่างๆ ของพืชสามารถนำมาชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ชิ้นส่วนพืชที่ใช้ควรเป็นเนื้อเยื่อเจริญที่มาจากเนื้อเยื่ออายุน้อย เนื่องจากมีสภาพเหมาะต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส โดยทั่วไปแล้วเมล็ดเป็นแหล่งที่ดีที่สุดในการให้ชิ้นส่วนพืชเพื่อเลี้ยงเป็นแคลลัส เพราะสามารถชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสได้โดยตรง ในทางปฏิบัตินิยมเพาะเมล็ดให้งอกในอาหารวุ้นที่ปราศจากหรือมีสารกระตุ้นการเจริญเติบโตเพียงเล็กน้อย จะชักนำให้เกิดส่วนของราก ยอด และใบที่ปลอดเชื้อใช้เป็นชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงแคลลัสต่อไป

วิธีการทั่วไปในการเพาะเลี้ยงแคลลัส ต้องคำนึงถึงเนื้อเยื่อพืชที่นำมาใช้ ชนิด พันธุ์ สภาพที่มา ขนาด ตลอดจนวัตถุประสงค์และระบบของการเพาะเลี้ยง ชิ้นส่วนเหล่านี้อาจได้มาจากอวัยวะต่างๆ เช่น ราก ลำต้น ใบ และ ดอก หรือจากเซลล์เฉพาะ เช่น เอ็นโดสเปิร์ม ไข่ และละอองเกสร เป็นต้น ขนาดของเนื้อเยื่อที่ใช้ควรมีขนาดเล็กเพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์และเชื้อโรคต่างๆ แต่หากใช้เนื้อเยื่อเจริญที่มีขนาดเล็กเกินไปอาจโตช้า ไม่ตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยง และกระบวนการที่มีความสำคัญ คือการขจัดสิ่งปนเปื้อนออกจากผิวของเนื้อเยื่อเพื่อไม่ทำให้เกิดความเสียหายแก่เนื้อเยื่อพืชที่เพาะเลี้ยง และเพื่อลดผลของเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจไปเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม ความเป็นกรดด่าง (pH) โดยทั่วไปการขจัดสิ่งปนเปื้อนออกจากผิว (surface sterilization) ทำได้ยากในชิ้นส่วนพืชที่มีผิวขรุขระไม่เรียบ จึงควรใช้สารฟอกกำจัดเชื้อ (sterilizing agents หรือ disinfectants) เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (sodium hypochloride) และเมอร์คิวริกคลอไรด์ (mercuric chloride) เป็นต้น สารฟอกกำจัดเชื้อแต่ละชนิดจะใช้ความเข้มข้น และระยะเวลาแตกต่างกันขึ้นกับชิ้นส่วนพืชและความสกปรกของชิ้นส่วนนั้นเพื่อประสิทธิภาพในการฟอกกำจัดเชื้อที่ดี

2.4.3 การชักนำให้เกิดแคลลัส

อาหารที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงแคลลัสรวมทั้งวิธีการเตรียมอาหารได้กล่าวไปแล้วในหัวข้อ 2.3.1 ส่วนอาหารชักนำการเกิดแคลลัสสำหรับชิ้นส่วนพิเศษ อาจจำเป็นต้องดัดแปลงสูตรอาหารให้เหมาะสม ส่วนใหญ่แล้วนิยมใช้สูตรอาหารที่มีธาตุอาหารหลักของ MS แต่ความต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตอาจแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของพืชและชิ้นส่วนที่ใช้เลี้ยง

2.5 การชักนำให้เกิดต้นพืช (plant regeneration)

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องโดยตรงต่อกระบวนการเกิดต้นพืชจะขึ้นกับชนิด อายุหรือชิ้นส่วนของพืชที่นำมาใช้เพาะเลี้ยง และขึ้นกับปัจจัยภายนอกอื่นๆ อีก เช่น ชนิดของอาหาร แสงและอุณหภูมิ เป็นต้น ส่วนเนื้อเยื่อ เช่น ตายอด ตาข้าง หรือชิ้นส่วนอื่นที่ผ่านกระบวนการออร์แกโนเจเนซิส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(organogenesis) สามารถชักนำให้เกิดต้นพืชได้ง่าย การชักนำเนื้อเยื่อที่ผ่านขั้นตอนของการเกิดเอ็มบริโอเจเนซิส (embryogenesis) มีความสำคัญยิ่ง เพราะเนื้อเยื่อดังกล่าวนี้มักจะยากต่อการชักนำให้เกิดต้นในต้นพืชบางชนิด (อารีย์, 2541)

2.6 ความผันแปรทางพันธุกรรมของพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.6.1 การชักนำให้เกิดการกลายในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การชักนำให้เกิดการผันแปรทางพันธุกรรมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำได้โดยนำเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่จะนำมาเพาะเลี้ยงไปกระตุ้นด้วยสารก่อการกลาย (mutagen) เช่น สารเคมีและรังสี โดยรังสีเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการกลายที่มีประสิทธิภาพมาก เพราะทำให้อะตอมและโมเลกุลที่ได้รับรังสีหรืออนุภาคเหล่านี้แตกตัวได้ (Thorpe, 1981 : 158) ในพืชชั้นสูงจะได้รับอิทธิพลจากรังสีเหล่านี้มากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับชนิดของรังสีและปริมาณของรังสีที่พืชได้รับและยังขึ้นอยู่กับสภาวะของพืชและเนื้อเยื่อของพืชอีกด้วย ถ้าเซลล์พืชที่กำลังแบ่งเซลล์หรือเนื้อเยื่อกำลังเจริญจะได้รับผลมาก นอกจากนี้สภาวะแวดล้อมต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ออกซิเจน และแสงก็มีส่วนร่วมในการเปลี่ยนสภาพที่เกิดขึ้นด้วยเช่นกัน (ศิวพงศ์, 2546)

2.6.2 การกลายพันธุ์ (สมพร, 2552)

การกลายพันธุ์เป็นลักษณะของสิ่งมีชีวิตที่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น อันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรม ซึ่งสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นถัดไปได้ การกลายพันธุ์ช่วยทำให้เกิดความผันแปรในพืช จึงช่วยในการคัดเลือกพืชให้ได้ลักษณะตามที่ต้องการ การกลายพันธุ์สามารถชักนำให้เกิดขึ้นได้ โดยการใช้ตัวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ เช่น การใช้รังสีแบบต่างๆ ได้แก่ รังสีอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet, UV) รังสีนี้มีความยาวช่วงคลื่นสั้น เป็นช่วงแสงที่สามารถมองเห็นเป็นสีม่วง มีอำนาจทะลุทะลวงต่ำและทำให้กรดนิวคลีอิกแตกตัว รังสีเอ็กซ์ (x-ray) นิยมนำมาใช้เพราะสามารถก่อให้เกิดการแตกตัวของไอออนเมื่อโมเลกุลได้รับการฉายรังสี รังสีเอ็กซ์เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ไม่มีแสง และรังสีแกมมา (gamma rays) เป็นรังสีที่มีความถี่สูงมาก ดังนั้นจึงประกอบด้วยโฟตอนพลังงานสูงหลายตัว รังสีแกมมาเป็นการแผ่รังสีแบบ ionization มีอันตรายต่อชีวภาพ รังสีแกมมาถือเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีพลังงานสูงที่สุดในบรรดาคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าชนิดต่างๆ การบอกปริมาณรังสีจะบอกในหน่วยของปริมาณรังสีที่ได้รับ (absorbed dose) หน่วยเป็นแรด (rad) หน่วยที่ใหญ่ขึ้นไปได้แก่ หน่วยเกรย์ (gray) หน่วยที่ใหญ่ที่สุดคือ กิโลแรด (kilorad) โดยกำหนดให้สิ่งใดที่ถูกรังสีแล้วรังสีนั้นถ่ายเทพลังงานให้ 100 เอิร์ก/กรัม ของสิ่งนั้น ถือว่าได้รับรังสี 1 แรด ส่วนเกรย์มีค่าเท่ากับ 100 แรด สำหรับกิโลแรดมีค่า 1,000 แรด หรือ 10 เกรย์

2.6.3 การกำหนดปริมาณรังสีที่ใช้ (สิรินุช,2554)

พืชแต่ละชนิดมีความไวหรือต้านทานต่อรังสีขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ลักษณะการต้านทานหรือไวต่อรังสีส่วนหนึ่งควบคุมโดยยีน สามารถถ่ายถอดทางพันธุกรรมได้ การพิจารณาใช้รังสีในปริมาณเท่าใดจึงจะเหมาะสม วิธีการเริ่มด้วยการนำเมล็ดพืชมาฉายรังสีในปริมาณที่ต่างๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตั้งแต่ปริมาณต่ำ (low dose) ปริมาณที่สูงมากๆ ทำให้เกิดการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ เช่น ปลูกลงในกระบะเพาะชำเป็นแถว จำนวนแถวตามปริมาณรังสีที่ใช้ เมื่ออายุประมาณ 30 วัน หาเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของต้นกล้าที่ปริมาณรังสีต่างๆ กัน คิดเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ของชุดควบคุม (ชุดที่ไม่ได้ฉายรังสี) ปรับให้จำนวนต้นที่อยู่รอดของชุดควบคุมเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ หาความสัมพันธ์ของปริมาณรังสีกับเปอร์เซ็นต์ของการอยู่รอดของต้นกล้า โดยให้ปริมาณรังสีอยู่บนแกน x เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดอยู่บนแกน y จากจุด 50 เปอร์เซ็นต์ของแกน y ลากเส้นออกมาตัดเปอร์เซ็นต์การอยู่รอด และลากลงมาตัดค่าปริมาณรังสีในแกน x ณ จุดตัดบนแกน x เป็นปริมาณรังสีที่ทำให้พืชอยู่รอด 50 เปอร์เซ็นต์ หรือตาย 50 เปอร์เซ็นต์ เรียกปริมาณรังสีนี้ว่า ค่า LD_{50}

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Cao และคณะ (1992) การชักนำให้เกิดต้นพืชจากเซลล์แขวนลอยของข้าวเพื่อถ่ายทอดยีนต้านทานสารปราบวัชพืช แล้วชักนำให้เกิดต้นบนอาหาร MS ดัดแปลงของ Zhang and Wu (1988) ซึ่งมีซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ไคเนติน ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเกิดต้นแล้วย้ายลงอาหารชนิดเดียวกัน มีเพียง NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ไม่มีไคเนติน เป็นเวลา 3-4 สัปดาห์ สามารถย้ายออกปลูกได้

เผดิม และคณะ (2536) จากการทดลองเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ พบว่า สูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 Basmati370 และ กข15 คือ อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคเนติน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ข้าวสายพันธุ์นางมล S4 และประดู่แดง คือ อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคเนติน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี60 สูตรอาหารที่เหมาะสม คือ อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคเนติน ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

จันทร์ประภา (2543) จากการทดลองชักนำเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ105 ให้เกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสบนอาหาร 2 สูตร คือ MS และ NB พบว่าอาหารสูตร NB สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 3.4 เปอร์เซ็นต์ และในอาหารสูตร MS สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 2.5 เปอร์เซ็นต์

ขวัญเดือน (2544) เพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสายพันธุ์ กข15 แดงดอกกก เหลืองตาโม สุพรรณบุรี2 ขาวหมากแขก ขาวหลวง ลูกแดง และ Pokkali ในอาหารสังเคราะห์สูตร N6 ที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 8.5 กรัมต่อลิตร และเติม 2,4-D ความเข้มข้น 7, 22, 17, 22, 12, 24.5 7 และ 24.5 มิลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ต่างๆ เท่ากับ 93.33, 75, 100, 100, 100, 83.33, 83.33 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้แคลลัสของข้าวทุกพันธุ์เจริญเป็นต้นใหม่ได้ดีที่สุด คือ อาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร เคซีนไฮโดรไลเสท 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ผงวุ้น 8.5 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15 เปอร์เซ็นต์ และเติม BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นต่างๆ พบเปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดต้นใหม่เท่ากับ 83.33, 66.67, 83.33, 66.67, 66.67, 83.33, 66.67 และ 66.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

อนุรักษ์ และนิตย์ศรี (2544) ทำการชักนำให้เกิดต้นใหม่จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 โดยการทำการชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร zeatin ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เคซีนไฮโดรไลเซท 100 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ไฟทาเจล 2.6 และ 5.2 กรัมต่อลิตร พบว่าในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้น ประกอบด้วย zeatin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไฟทาเจล ความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยการเป็นต้นใหม่ได้สูงสุดถึง 60 เปอร์เซ็นต์

อนุรักษ์ และคณะ (2549) การเพาะเลี้ยงของข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1 ในอาหารแข็งสูตร NB ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เคซีนไฮโดรไลเซต 1 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีแสง ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์ที่ 2 และสัปดาห์ที่ 4 การเพาะเลี้ยงที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดของแคลลัสเฉลี่ยสูงที่สุด และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ยใหญ่ที่สุดในสัปดาห์ที่ 4 คือ 22.3965 ตารางมิลลิเมตร

Karthikeyan และคณะ (2009) ทำการชักนำให้เกิดต้นผ่านเอ็มบริโอนิกแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ร่วมกับ NAA ความเข้นข้นแตกต่างกันช่วยให้มีผลในการเพิ่มประสิทธภาพในการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นสารควบคุมการเจริญเติบโตจะไม่พบเปอร์เซ็นต์การเกิดต้น ที่ความเข้นข้นสูงๆ จะช่วยชักนำให้เกิดรากเท่านั้น จึงทำให้พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ร่วมกับ NAA นอกจากจะสามารถชักนำแคลลัสให้พัฒนาเกิดเป็นต้นใหม่ได้แล้ว ยังสามารถชักนำให้เกิดรากได้อีกด้วย

Lee และคณะ (2009) ได้มีการชักนำให้เกิดต้นใหม่ของหญ้าสายพันธุ์ Hwasan101 ในอาหารสูตร MS ที่มีการเติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร BAP ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร เคซีนไฮโรไลเซต 1 กรัมต่อลิตร ไทอะมินกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ซิลเวอร์ไนเตรท 7 มิลลิกรัมต่อลิตร คอปเปอร์ซัลเฟต 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงวุ้นเจลไลท์ 3 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เป็นต้นสูงสุด 47.6 เปอร์เซ็นต์

Zahid และคณะ (2010) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของการชักนำให้เกิดแคลลัสและการชักนำให้พัฒนาเป็นต้นของข้าวปากีสถาน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ GNY53 Basmati370 และ JP5 อาหารสูตร MS และ N6 ถูกนำมาใช้ชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่าอาหารสูตร MS สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับอาหารสูตร N6 โดยใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดแคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูงสุดในข้าวพันธุ์ GNY53 83 เปอร์เซ็นต์ และ JP5 96.66 เปอร์เซ็นต์ ข้าวพันธุ์ Basmati370 มีการชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด 99 เปอร์เซ็นต์ ที่ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

Revathi และคณะ (2011) ทำการเพาะเลี้ยงข้าว 5 สายพันธุ์ ได้แก่ ASD16 ADT43 Basmati370 Pusa Basmati และ Pokkali ด้วยอาหารสูตร MS ที่ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าข้าวทั้ง 5 สายพันธุ์ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ตั้งแต่ 58.33 จนถึง 96.67 เปอร์เซ็นต์ โดยข้าวสายพันธุ์ ASD16 ให้ผลดีที่สุดในอาหารทุกสูตร และที่ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลการเกิดแคลลัสสูงที่สุด คิดเป็น 96.67 เปอร์เซ็นต์

Shabir และคณะ (2011) ได้ทำการเพาะเลี้ยงแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ PAU21 ในอาหารสูตร MS ที่มี BAP ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ไคเนติน ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าในการชักนำให้เกิดยอด สูตรอาหารที่เหมาะสม คืออาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคเนติน ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งให้ผลในการเจริญของยอดสูงถึง 42.5 เปอร์เซ็นต์

อนุรักษ์ และคณะ (2555) การเพาะเลี้ยงของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ในอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร นำไปวางเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีแสง ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าที่ 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีแคลลัสเฉลี่ยใหญ่ที่สุดคือ 69.4742 ตารางมิลลิเมตร แคลลัสที่เกิดขึ้นมีทั้งลักษณะเกาะกันแน่นเป็นก้อนและแบบที่เกาะกันอย่างหลวมๆ มีสีเหลืองอ่อน เกิดยอดจำนวนน้อยและไม่มีรากเกิดขึ้น

จุฑาทิพย์ และคณะ (2556) ทำการเลี้ยงเมล็ดข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 บนอาหารสูตร LS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0, 2, 4, 6 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน พบว่าอาหารสูตร LS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 67.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นชนิด friable callus 90.73 เปอร์เซ็นต์ และเกิดแคลลัสสีเหลืองปนเขียว 85.79 เปอร์เซ็นต์ ได้มากเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

ภพเก้า และคณะ (2556) ได้ทำการชักนำให้เกิดแคลลัส โดยเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และข้าวเหนียวสายพันธุ์ กข6 บนสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส โดยสูตรอาหาร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้แคลลัสมีขนาดใหญ่ที่สุด ลักษณะแข็ง เกาะตัวกันแน่น และสีเหลือง

Kumar และคณะ (2013) ทำการศึกษาปริมาณรังสีแกมมาที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของข้าว 9 สายพันธุ์ ได้แก่ BPT5204 JGL384 Surekha Vijetha JGL1798 NLR34449 Swarna MTU1010 และ Erramallelu นำไปฉายรังสีแกมมาที่ 20-200 กิโลแรด เมื่อเพิ่มปริมาณรังสีแกมมาจาก 20-60 กิโลแรด จะส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกเพียงเล็กน้อยหรือไม่ส่งผลเลยเมื่อเปรียบเทียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับชุดควบคุม และตรวจสอบผลจากค่า LD_{50} การงอกของเมล็ดในเจ็ดวันแรก พบว่าที่ปริมาณรังสี 80-200 กิโลแรด จะมีเปอร์เซ็นต์การงอกลดลง สำหรับข้าวพันธุ์ JG1798 และ BPT5204 มีความไวต่อรังสีสูงที่สุด ส่วน Vijetha และ Surekha ค่อนข้างทนต่อรังสีได้ และ MTU1010 (1.66 kGy) Erramallelu (1.57 kGy) Swarna (1.56 kGy) JGL384 (1.38 kGy) และ NLR34449 (1.32 kGy) ทนต่อรังสีได้พอสมควร

Sari และคณะ (2013) ทำการศึกษาปริมาณการตายลงร้อยละ 20 (LD_{20}) และร้อยละ 50 (LD_{50}) ของแคลลัสข้าวสาลีที่ผ่านการฉายรังสี ปริมาณรังสีที่ใช้ 0, 7.5, 15, 22.5 และ 30 Gy พบว่าปริมาณรังสีมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแคลลัส และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของยอดลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณรังสี ที่ปริมาณ 30 Gy มีการตายเพิ่มขึ้น และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของยอดสูงสุดที่ปริมาณรังสี 15 Gy และมีการเจริญเติบโตของแคลลัสสูงสุดที่ 7.5 Gy และมีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากขึ้นในแคลลัสของข้าวสาลีที่ผ่านการฉายรังสีในช่วง LD_{20} และ LD_{50} ที่ปริมาณรังสี 15-22.5 Gy

รัญญิการ์ (2559) ได้ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 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 1, 2, 3 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และได้ทำการศึกษาสูตรอาหารที่ใช้ในการชักนำให้แคลลัสเกิดเป็นต้นบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 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

Ahsan และคณะ (2016) การศึกษาความยาวรากและยอด น้ำหนักเปียกและน้ำหนักแห้งของต้นกล้า ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและการสะสมโพรลีน ของต้นกล้าข้าวที่ผ่านการฉายรังสีและไม่ฉายรังสีแกมมา พบว่าคุณลักษณะดังกล่าวลดลงอย่างมีนัยสำคัญยกเว้นความเข้มข้นของโพรลีนในต้นกล้าเพิ่มขึ้น เมื่อเปอร์เซ็นต์สารพอลิเอทิลีนไกลคอลเพิ่มขึ้น สายพันธุ์ข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสีมีคุณลักษณะสูงสุดเมื่อไม่เติมสารพอลิเอทิลีนไกลคอล ส่วนสายพันธุ์ที่ผ่านการฉายรังสีมีค่าความยาวราก น้ำหนักแห้ง คลอโรฟิลล์ โพรลีนและคาร์โบไฮเดรตมากที่สุดเมื่อเติมสารพอลิเอทิลีนไกลคอล ความเข้มข้นร้อยละ 20 เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการฉายรังสี สรุปได้ว่าต้นข้าวสามารถทนทานต่อสภาพแห้งแล้งจากผลของการฉายรังสีได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เมล็ดข้าวที่ใช้ในการศึกษา

เมล็ดพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาประกอบด้วย 8 สายพันธุ์ ได้แก่

3.1.1 ข้าวสายพันธุ์ กข29

3.1.2 ข้าวสายพันธุ์ กข49

3.1.3 ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105

3.1.4 ข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1

3.1.5 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ

3.1.6 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่

3.1.7 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

3.1.8 ข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว

3.2 สารเคมีและอุปกรณ์

3.2.1 สารเคมี

- อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS); Phytotech
- อาหารสังเคราะห์สูตร Modified Chu/Gamborg Basal Medium (NB); Phytotech
- แอลโพรลีน (L-proline)
- 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D); Phytotech
- 1-Naphthalene acetic acid (NAA); Phytotech
- 6-Benzylaminopurine (BAP); Phytotech
- ไฟทาเจล (phytagel); Phytotech
- กรด-ด่าง (HCl-NaOH)
- น้ำตาลซูโครส (sucose)
- โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (sodium hypochlorite)
- น้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (double distilled water)
- แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ (70% alcohol) และ 95 เปอร์เซ็นต์ (95% alcohol)

3.2.2 อุปกรณ์

- เครื่องชั่ง (balance)
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)
- หม้อนึ่งความดัน (autoclave)
- เตาอบไมโครเวฟ (microwave)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เครื่องเขย่า (shaker)
- เครื่องฉายรังสีแกมมา (รุ่น Mark I Cesium-137)
- เครื่องวัดเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ (vernier calipers)
- กระบอกตวง (graduate)
- กรวยกรอง (funnel)
- จานแก้ว (petri dish)
- ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture bottle)
- ช้อนตักสาร (spatula)
- แท่งแก้วคนสาร (stirring rod)
- อลูมิเนียมฟอยด์ (aluminium foil)
- ไมโครปิเปต (micropipette)
- ไมโครปิเปตทิป (micropipette tips)
- ปากคีบ (forcep)
- มีดผ่าตัด (scalpel)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์ (burner)
- ไฟแช็ค (lighter)
- กระดาษทิชชู (tissue)
- พาราฟิล์ม (parafilm)
- คัตเตอร์ (cutter)
- ปากกาเคมี (permanent Marker)
- แผ่นยางรองตัด (cutting mat)
- เทปกาว (sticky tape)

3.3 ขั้นตอนการดำเนินงาน

3.3.1 การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสจากเมล็ดข้าว

นำเมล็ดข้าวที่สมบูรณ์ทั้ง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวสายพันธุ์ กข49 ทับทิมชุมแพ ไรซ์เบอร์รี่ สังข์หยดพัทลุง และข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว มาแกะเปลือกออก ล้างด้วยน้ำสะอาดเพื่อขจัดสิ่งสกปรก และล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เพื่อกำจัดเชื้อราที่อาจติดมากับเมล็ดข้าว เป็นเวลา 1 นาที นำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เขย่าต่อเนื่องบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที และนำมาผึ่งให้แห้งบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อ นำเมล็ดข้าวที่ได้วางบนอาหารสูตร NB ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร นำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะไม่มีแสงควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส โดยข้าวสายพันธุ์ กข49 ทับทิมชุมแพ ไรซ์เบอร์รี่ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ มีจำนวนหน่วยการทดลอง 20 ซ้ำ ซ้ำละ 4 ชิ้น ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ และข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัวเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีจำนวนหน่วยการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 4 ชิ้น บันทึกภาพและวัดปริมาตรแคลลัสด้วยเครื่องวัดเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ทำการวัดในหน่วยลูกบาศก์มิลลิเมตร พร้อมทั้งสังเกตการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่เกิดขึ้น วิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Ducan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 23.0

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คำนวณได้จาก : } \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่เกิดแคลลัส}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด}} \times 100$$

$$\text{ปริมาตรเฉลี่ยของแคลลัส คำนวณได้จาก : } \frac{\text{กว้าง} \times \text{ยาว} \times \text{สูง ของแคลลัสที่เกิด}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด}}$$

3.3.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นใหม่

นำแคลลัสของข้าว 4 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ ไรซ์เบอร์รี่ สังข์หยดพัทลุง และข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว จากการทดลองที่ 3.3.1 มาตัดแบ่งให้มีขนาดเท่ากัน วางบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ไฟทาเจล 5.2 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสงควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ มีหน่วยการทดลอง 15 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ชิ้น สังเกตและนับจำนวนแคลลัสที่เกิดการเปลี่ยนแปลง

3.3.3 การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสข้าว

นำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพและสังข์หยดพัทลุง ฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณต่างๆ คือ 2, 4, 6, 8 และ 10 กิโลแรด โดยใช้เครื่องฉายรังสีแกมมา (รุ่น Mark I Cesium-137 เป็นต้นกำเนิดแสงของศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร) จากนั้นนำแคลลัสมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร มีจำนวนหน่วยการทดลอง 2 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ชิ้น นำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีแสงควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลองโดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่เกิดขึ้น และหาค่า LD_{50} จากเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแคลลัสข้าวที่ผ่านการฉายรังสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.4 การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าว

นำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ กข29 ขาวดอกมะลิ105 ปทุมธานี1 และไรซ์เบอร์รี่ ฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณต่างๆ คือ 20, 25, 30, 35 และ 40 กิโลแรด โดยใช้เครื่องฉายรังสีแกมมา (รุ่น Mark I Cesium-137 เป็นต้นกำเนิดแสงของศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร) จากนั้นแกะเปลือกเมล็ดข้าวออก ล้างด้วยน้ำสะอาดเพื่อขจัดสิ่งสกปรก ล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที นำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ และเขย่าต่อเนื่องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที นำมาผึ่งให้แห้งบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นนำเมล็ดข้าววางบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร มีจำนวนหน่วยการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 4 เมล็ด นำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสงควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลองโดยนับจำนวนของต้นข้าวที่เจริญเติบโต พร้อมทั้งสังเกตการเปลี่ยนแปลงของต้นข้าวที่เกิดขึ้น และหาค่า LD_{50} จากเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเอ็มบริโอของเมล็ดข้าว 5 สายพันธุ์

หลังจากเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของข้าวสายพันธุ์ กข49 ทับทิมชุมแพ ไรซ์เบอร์รี่ สังข์หยดพัทลุง และข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว บนอาหารสูตร NB ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในสภาวะที่ไม่มีแสง พบว่าอาหารสูตร NB ที่เติม 2,4-D ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของรัญญิการ์ (2559) ได้ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยใหญ่ที่สุดเท่ากับ 391.49, 305.34, 181.76 และ 103.50 ลูกบาศก์มิลลิเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และงานวิจัยของจุฑาทิพย์และคณะ (2556) ได้ศึกษาเพื่อเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสโดยใช้ 2,4-D และไคเนติน เพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวบนอาหารสูตร LS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0, 2, 4, 6 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร LS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสสีเหลืองปนเขียวได้เท่ากับ 89.75 เปอร์เซ็นต์ ได้มากเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และยังให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของภพเก้าและคณะ (2556) ได้ทำการชักนำให้เกิดแคลลัส โดยเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และข้าวเหนียวสายพันธุ์ กข6 บนสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส โดยสูตรอาหาร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้แคลลัสมีขนาดใหญ่ที่สุด ลักษณะแข็ง เกาะตัวกันแน่น และสีเหลือง

จากงานวิจัยที่กล่าวข้างต้น พบว่าสูตรอาหารและส่วนประกอบมีความคล้ายกับการศึกษาครั้งนี้ เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเอ็มบริโอของข้าว 5 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวสายพันธุ์ กข49 ทับทิมชุมแพ ไรซ์เบอร์รี่ สังข์หยดพัทลุง และข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.1 ข้าวสายพันธุ์ กข49

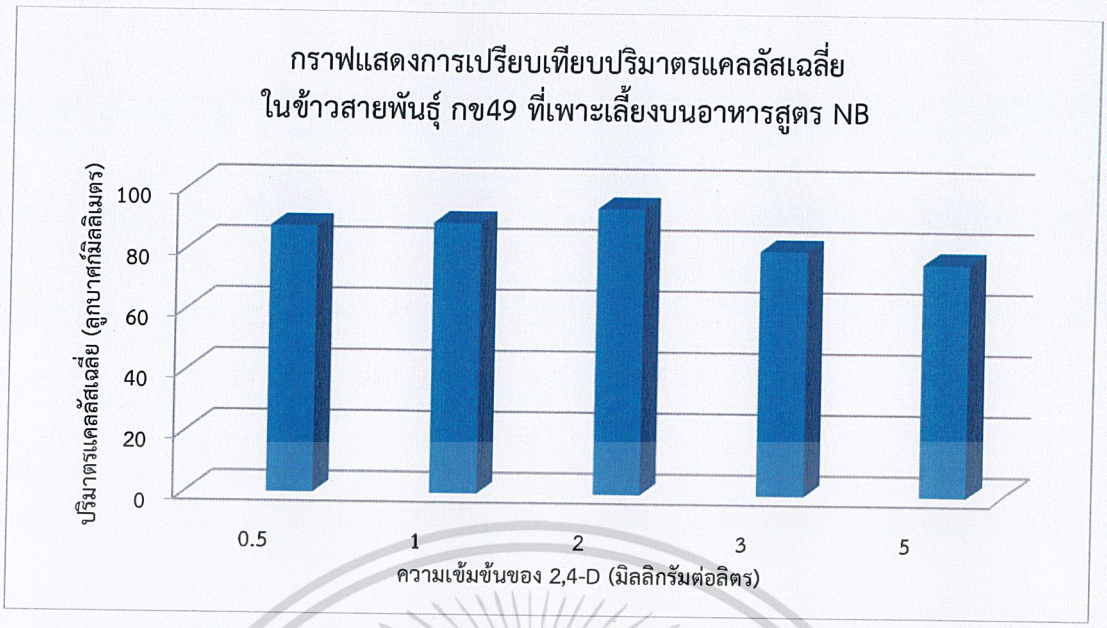
พบว่าข้าวสายพันธุ์ กข49 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในอาหารสูตร NB ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แคลลัสที่ได้มีลักษณะเกาะกันแน่นเป็นก้อน compact callus สีเหลืองอ่อน โดยในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเกิดแคลลัส และรากได้ในเมล็ดเดียวกัน ส่วนที่ 2,4-D ความเข้มข้น 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสเพียงลักษณะเดียว เมื่อนับจำนวนการเกิดแคลลัส และคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ดังตารางที่ 4.1 พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ สามารถเกิดแคลลัสได้ 51.30 ถึง 78.80 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีความแตกต่างทางนัยสำคัญทางสถิติทั้งหมด โดยอาหารสูตร NB ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยใหญ่ที่สุดเท่ากับ 93.54 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ดังรูปที่ 4.2 (ง) และพบว่าอาหารสูตร NB ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยน้อยที่สุดเท่ากับ 76.41 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ดังรูปที่ 4.2 (ฉ) เมื่อเปรียบเทียบอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตหรือชุดควบคุม พบว่าเกิดรากและยอดจำนวนมาก

ตารางที่ 4.1 ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ กข49 บนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ

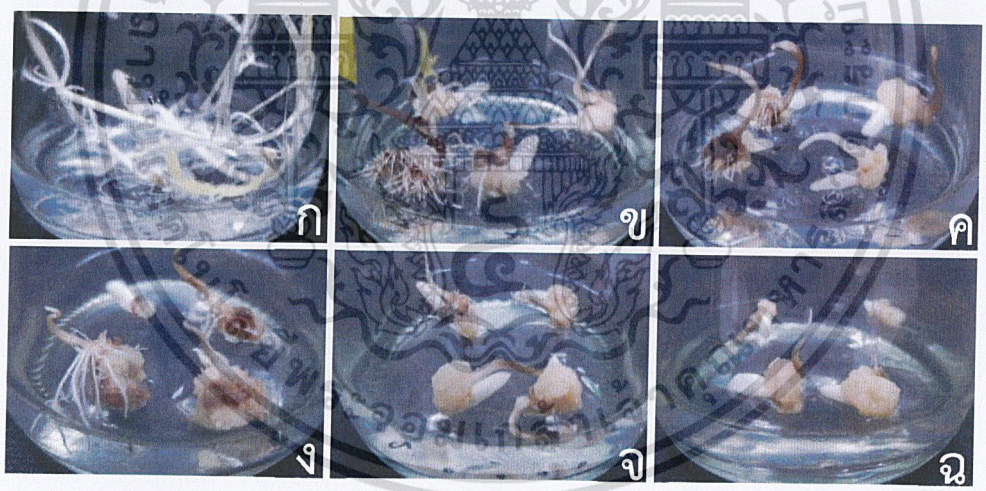
ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนเมล็ด	จำนวนการเกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
0.5	80	63 (78.80)	87.35[a]
1	80	59 (73.80)	88.75[a]
2	80	41 (51.30)	93.84[a]
3	80	50 (62.50)	80.26[a]
5	80	45 (56.25)	76.41[a]

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงการเปรียบเทียบปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ กข49 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ กข49 บนอาหารสูตร NB (ก) ชุดควบคุม (ข-ฉ) ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ

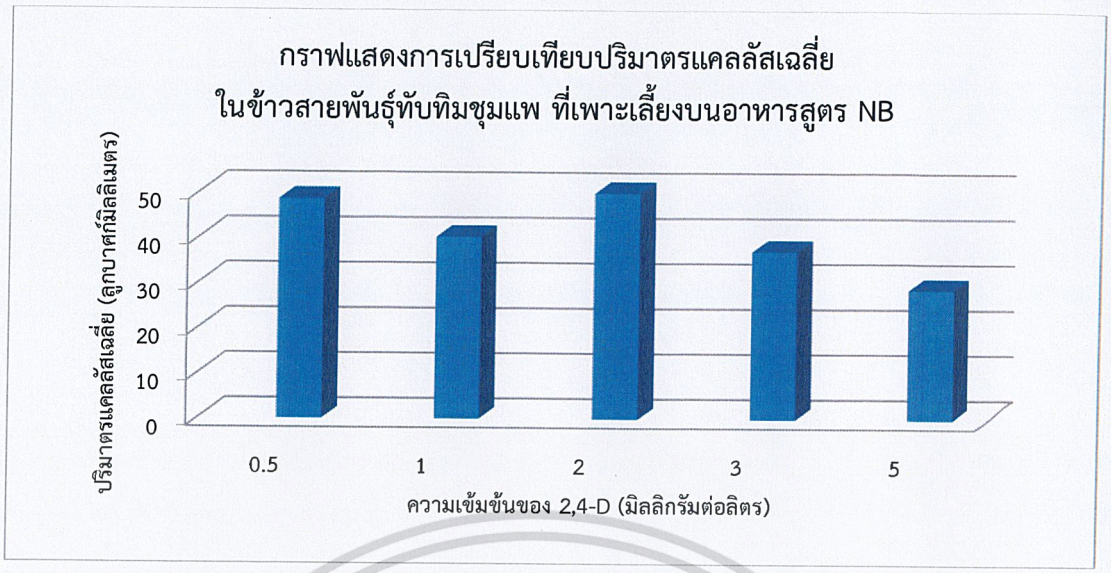
พบว่าข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในอาหารสูตร NB ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แคลลัสที่ได้มีลักษณะ compact callus สีเหลืองอ่อน โดยที่ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสและรากในเมล็ดข้าวเดียวกัน ดังรูปที่ 4.4 (ก) เมื่อนับจำนวนการเกิดแคลลัส และคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ดังตารางที่ 4.2 พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ สามารถเกิดแคลลัสได้ 56.30 ถึง 75.00 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสูตร NB ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยใหญ่ที่สุดเท่ากับ 51.80 ลูกบาศก์มิลลิเมตร และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 45.58 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ส่วนอาหารสูตร NB ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยน้อยที่สุดเท่ากับ 28.82 ลูกบาศก์มิลลิเมตร

ตารางที่ 4.2 ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ

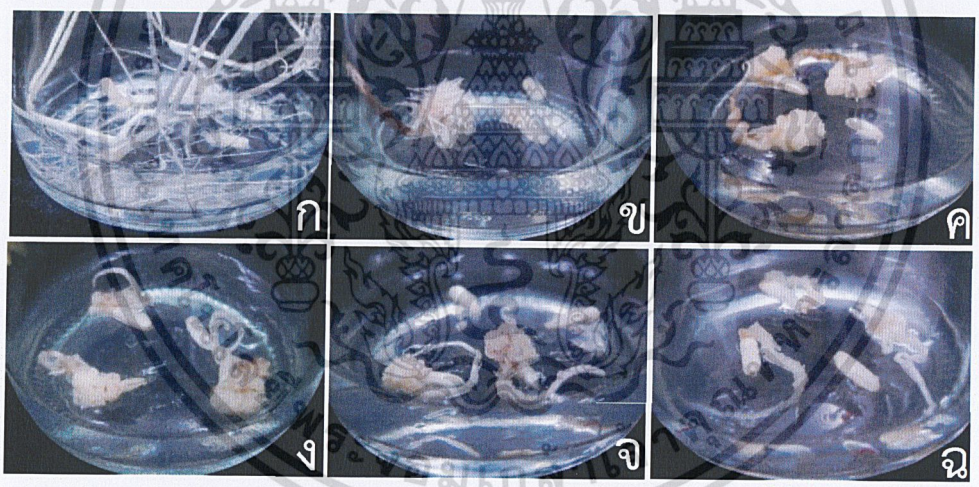
ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนเมล็ด	จำนวนการเกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
0.5	80	45 (56.30)	48.58^{a}
1	80	53 (66.30)	40.19^{b}
2	80	60 (75.00)	51.80^{a}
3	80	57 (71.30)	37.16^{bc}
5	80	49 (61.25)	28.82^{c}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติจากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงการเปรียบเทียบปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ บนอาหารสูตร NB (ก) ชุดควบคุม (ข-ฉ) ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่

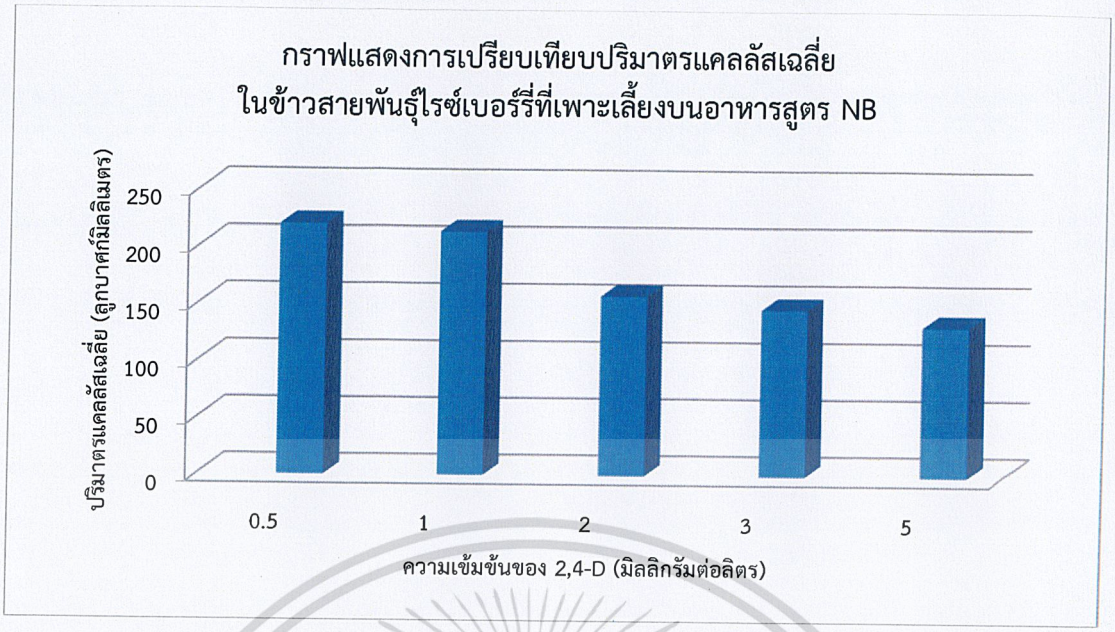
พบว่าข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่สามารถเกิดแคลลัสได้ในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ลักษณะของแคลลัสที่ได้มีลักษณะ compact callus สีเหลืองอ่อน โดยจะเริ่มเกิดแคลลัสเมื่อเพาะเลี้ยงได้ประมาณ 2 สัปดาห์ นับจำนวนการเกิดแคลลัสและคำนวณเปอร์เซ็นต์ดังตารางที่ 4.3 ที่สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ สามารถเกิดแคลลัสได้ 57.50 ถึง 83.50 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสูตร NB ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีอัตราการเกิดแคลลัส 80.00 เปอร์เซ็นต์ และปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยใหญ่ที่สุดเท่ากับ 220.18 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางนัยสำคัญทางสถิติกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และที่สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย 157.62, 146.55 และ 132.16 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่บนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ

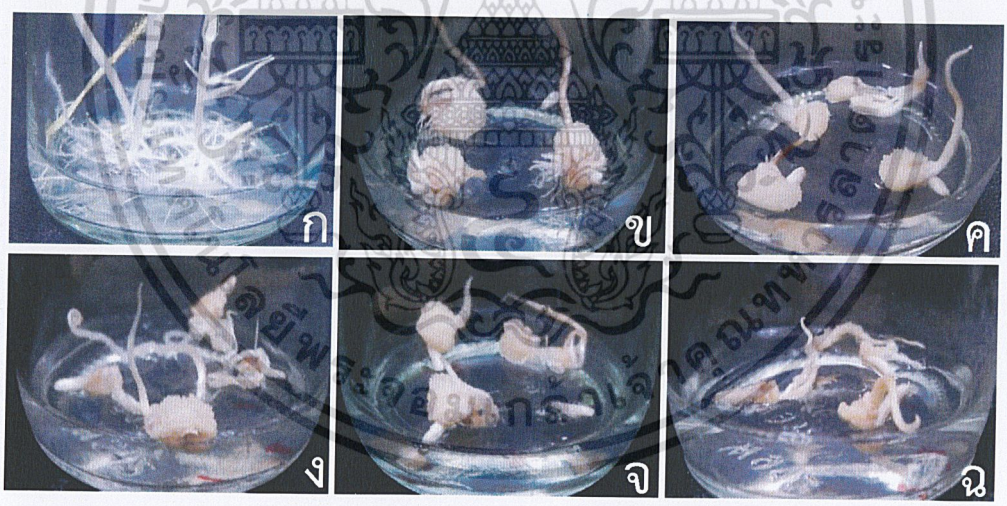
ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนเมล็ด	จำนวนการเกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
0.5	80	64 (80.00)	220.18[a]
1	80	67 (83.50)	213.57[a]
2	80	60 (75.00)	157.62[b]
3	80	46 (57.50)	146.55[b]
5	80	58 (72.50)	132.16[b]

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติจากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงการเปรียบเทียบปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ บนอาหารสูตร NB (ก) ชุดควบคุม (ข-ฉ) ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.4 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

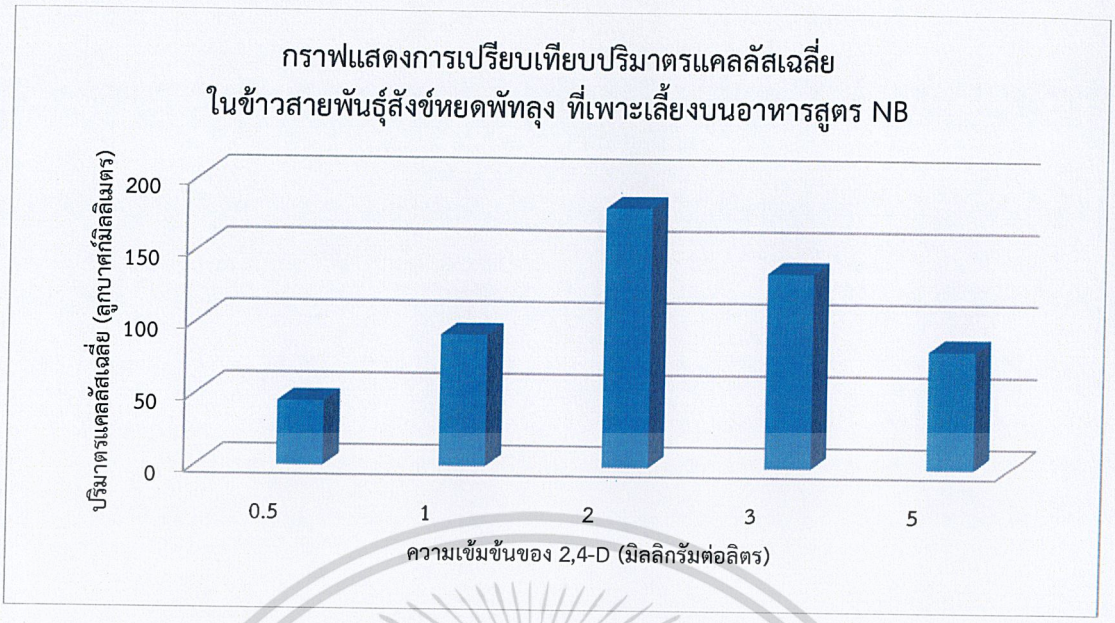
พบว่าข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเริ่มมีแคลลัสเกิดขึ้นแต่ไม่สามารถวัดปริมาตรได้ จึงทำการเพาะเลี้ยงต่อเป็นเวลา 6 สัปดาห์ สังเกตได้ว่าแคลลัสที่ได้มีลักษณะ compact callus สีเหลืองอ่อน ดังรูปที่ 4.8 นับจำนวนการเกิดแคลลัสและคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ดังตารางที่ 4.4 พบว่ามีอัตราการเกิดแคลลัส 15.00 ถึง 37.50 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยใหญ่ที่สุดเท่ากับ 180.43 ลูกบาศก์มิลลิเมตร พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 135.56 ลูกบาศก์มิลลิเมตร และพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยน้อยที่สุดเท่ากับ 44.89 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ดังรูปที่ 4.8 (ข) เมื่อเปรียบเทียบอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตหรือชุดควบคุม พบว่าเกิดรากและยอดจำนวนมาก

ตารางที่ 4.4 ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ

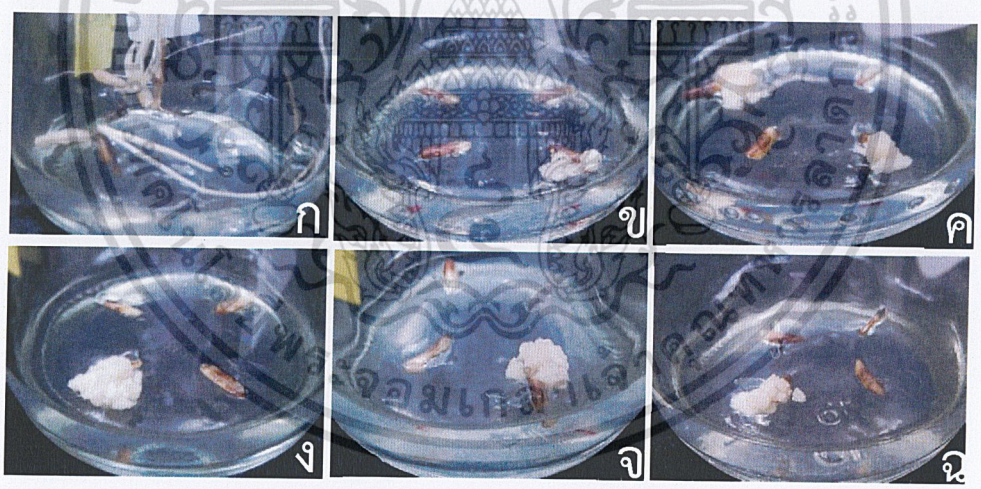
ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนเมล็ด	จำนวนการเกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
0.5	40	6 (15.00)	44.89^{d}
1	40	14 (35.00)	91.53^{bc}
2	40	14 (35.00)	180.43^{a}
3	40	15 (37.50)	135.56^{ab}
5	40	9 (22.50)	82.56^{cd}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติจากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงการเปรียบเทียบปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์



รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงบนอาหารสูตร NB (ก) ชุดควบคุม (ข-ฉ) ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.5 ข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว

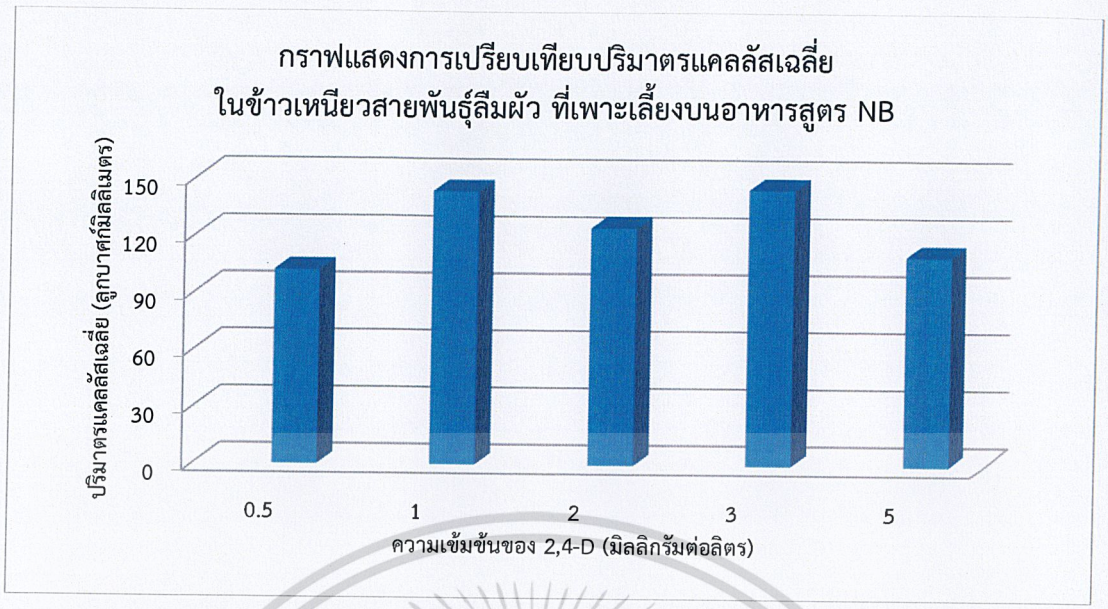
พบว่าข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัวสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้บนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ สังเกตได้ว่าเมล็ดข้าวมีการเปลี่ยนแปลงเป็นแคลลัส แต่ไม่สามารถวัดปริมาตรได้ จึงทำการเพาะเลี้ยงต่อเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าลักษณะของแคลลัสที่ได้มีลักษณะ compact callus สีเหลืองอ่อน ดังรูป 4.10 โดยจะเริ่มปรากฏเห็นแคลลัสเมื่อเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์ นับจำนวนการเกิดแคลลัส และคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ดังตารางที่ 4.5 พบว่ามีอัตราการเกิดแคลลัส 30.00 ถึง 47.50 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยใหญ่ที่สุด เท่ากับ 145.18 ลูกบาศก์มิลลิเมตร และที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดทั้งแคลลัสและรากแขนง ดังรูป 4.10 (ข) มีปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยน้อยที่สุดเท่ากับ 102.13 ลูกบาศก์มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตหรือชุดควบคุม พบว่าเกิดรากและยอดจำนวนมาก

ตารางที่ 4.5 ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัวบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D

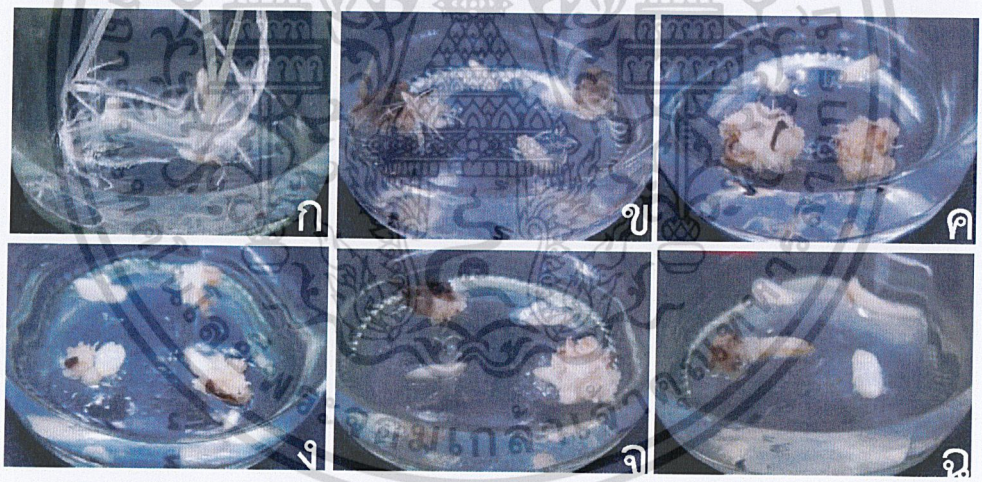
ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนเมล็ด	จำนวนการเกิดแคลลัส (เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
0.5	40	16 (40.00)	102.13^{b}
1	40	19 (47.50)	143.65^{a}
2	40	12 (30.00)	124.78^{ab}
3	40	17 (42.50)	145.18^{a}
5	40	12 (30.00)	110.27^{ab}

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติจากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 กราฟแสดงการเปรียบเทียบปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยของข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์



รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะแคลลัสของข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัวบนอาหารสูตร NB (ก) ชุดควบคุม (ข-ฉ) ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นใหม่

นำแคลลัสที่มีลักษณะ compact callus ของข้าว 4 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ สังข์หยดพัทลุง ไรซ์เบอร์รี่ และข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว จากการทดลองที่ 3.3.1 นำแคลลัสของข้าว 4 สายพันธุ์ มาตัดแบ่งให้มีขนาดเท่ากันวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ไฟทาเจล 5.2 กรัมต่อลิตร นำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสงควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ร่วมกับ NAA สามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ จากการศึกษายังพบหลายงานวิจัยที่มีความสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ในบทบาทของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน เช่น สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และกลุ่มออกซิน เช่น สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA พบได้ในงานวิจัยที่ใช้ในการทำให้เกิดต้น แต่ผลกระตุ้นที่ได้จาก BAP ร่วมกับ NAA ช่วยส่งเสริมในการชักนำให้เกิดต้นได้ดี เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Karthikeyan และคณะ (2009) ทดลองการชักนาให้เกิดต้นใหม่ผ่านเอ็มบริโอนิกแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่าสามารถชักนำแคลลัสให้พัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ แต่อย่างไรก็ตามจะไม่พบเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นใหม่เมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นของ BAP และ NAA ให้มีความเข้มข้นสูงขึ้น จะช่วยชักนำให้เกิดรากเท่านั้น คล้ายกับงานวิจัยของรัญญิการ์ (2016) ที่ได้ศึกษาสูตรอาหารที่ใช้ในการชักนำให้แคลลัสเกิดเป็นต้นใหม่ของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 บนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจล ความเข้มข้น 2.6 และ 5.2 กรัมต่อลิตร พบว่าสูตรอาหารที่เติมไฟทาเจล ความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ร่วมกับ NAA สามารถเพิ่มอัตราการเกิดยอดได้ดี

จากพื้นฐานแนวคิดและรายงานวิจัยดังกล่าวมีการสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ที่ทำการศึกษาหาสูตรอาหาร และปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดต้นใหม่ ซึ่งหลังจากทำการเพาะเลี้ยงพบการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสได้หลายลักษณะ ทั้งลักษณะคงเดิมไม่มีการเปลี่ยนแปลง แคลลัสมีการเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาล แคลลัสมีการเกิดจุดเขียวจำนวนมาก และผลที่ได้ของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ สังข์หยดพัทลุง ไรซ์เบอร์รี่ และข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

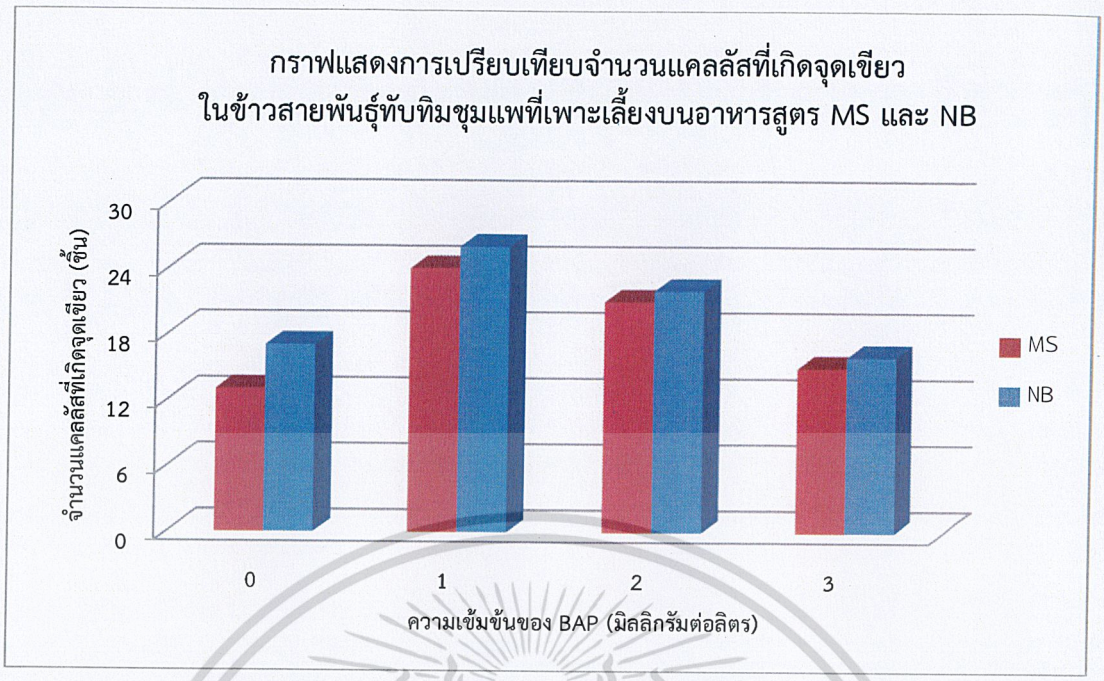
4.2.1 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ

การชักนำให้เกิดต้นใหม่ของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ นำแคลลัสที่มีลักษณะ compact callus สีเหลืองอ่อน จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากตารางที่ 4.6 จะสังเกตได้ว่าอาหารสูตร NB สามารถชักนำให้แคลลัสเกิดจุดเขียวได้มากกว่าอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตร NB มีผลชักนำแคลลัสให้เกิดจุดเขียวได้สูงสุดเท่ากับ 26 ชิ้น และมีอัตราการเกิด 53.33 ถึง 86.67 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอาหารสูตร MS มีจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวสูงสุดเท่ากับ 24 ชิ้น และมีอัตราการเกิด 50.00 ถึง 80.00 เปอร์เซ็นต์ ในการศึกษาเพื่อให้เข้าใจมากยิ่งขึ้นสามารถพิจารณาได้ จากรูปที่ 4.12 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสโดยเกิดจุดเขียวบนผิวแคลลัส ในทุกความเข้มข้นของ BAP แต่ผลที่ได้ถือเป็นค่าที่ไม่สมบูรณ์ จึงคาดว่าต้องใช้เวลาเพาะเลี้ยงมากกว่านี้ ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ จึงจะสามารถพัฒนาแคลลัสให้เป็นต้นใหม่ได้อย่างสมบูรณ์

ตารางที่ 4.6 ผลการชักนำให้เกิดต้นใหม่ของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่างๆ

สูตรอาหารแข็งสังเคราะห์	BAP (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนแคลลัสทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียว(ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์แคลลัสที่เกิดจุดเขียว
MS	0	30	13	43.33
	1	30	24	80.00
	2	30	21	70.00
	3	30	15	50.00
NB	0	30	17	56.67
	1	30	26	86.67
	2	30	22	73.33
	3	30	16	53.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 กราฟแสดงผลการเปรียบเทียบจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

รูปที่ 4.12 แสดงลักษณะแคลลัสที่เกิดจุดเขียวของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ เพาะเลี้ยงบน (ก) ชุดควบคุม MS (ข-ง) อาหารสูตร MS (จ) ชุดควบคุม NB (ฉ-ซ) สูตรอาหาร NB ที่ประกอบด้วย BAP 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

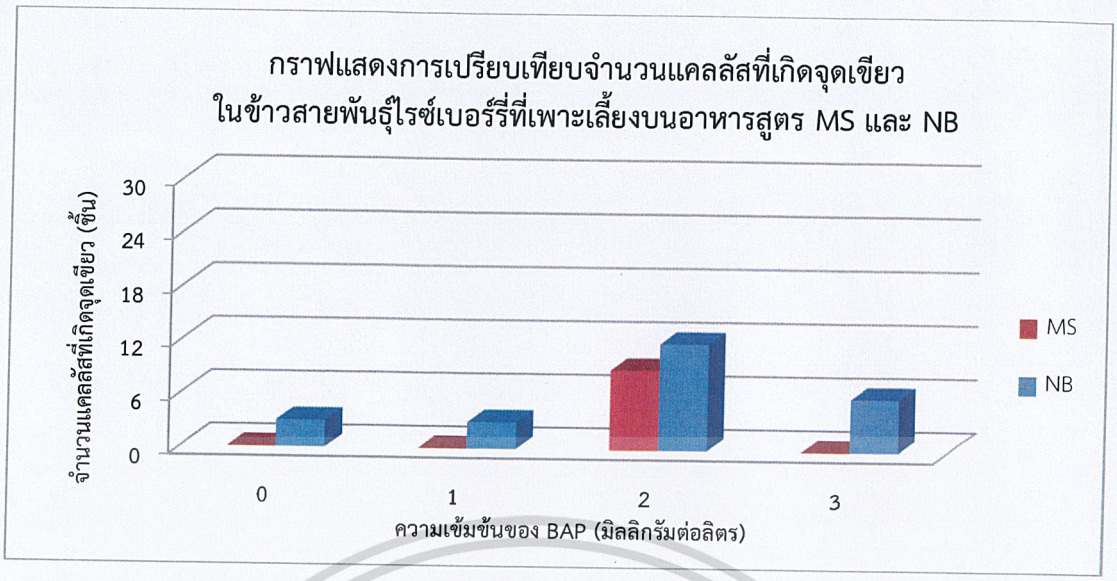
4.2.2 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่

พบว่าแคลลัสมีลักษณะเป็น compact callus มีการเพิ่มจำนวนขยายใหญ่ขึ้น และเกิดจุดเขียวบนผิวแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ดังรูปที่ 4.14 จากการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่ใช้ในการชักนำให้เกิดต้นใหม่ของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากตารางที่ 4.7 สังเกตได้ว่าจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวมากที่สุดบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวเท่ากับ 12 ชิ้น และมีอัตราการเกิดจุดเขียวสูดสุดเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอาหารสูตร MS มีจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียว 9 ชิ้น และมีอัตราการเกิดจุดเขียว 30 เปอร์เซ็นต์ ที่สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ผลที่ได้ถือเป็นค่าที่ไม่สมบูรณ์ จึงคาดว่าต้องใช้เวลาเพาะเลี้ยงมากกว่านี้ ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ จึงจะสามารถพัฒนาแคลลัสให้เป็นต้นใหม่ได้อย่างสมบูรณ์

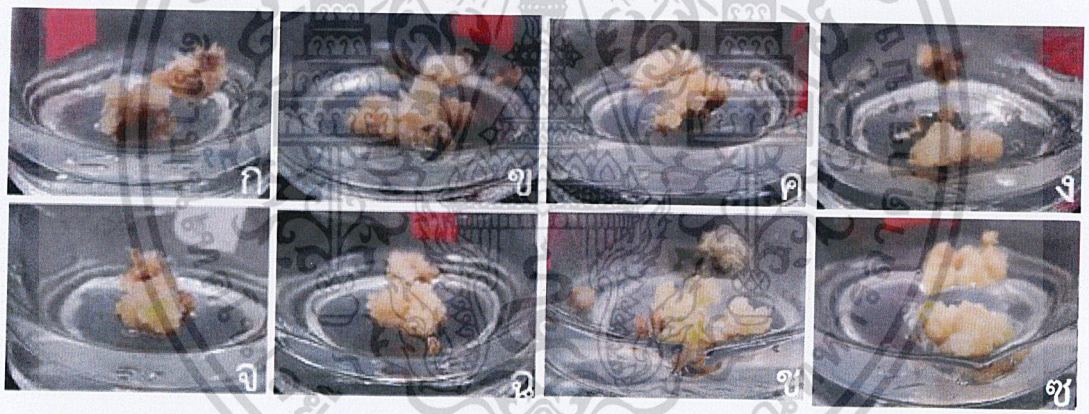
ตารางที่ 4.7 ผลการชักนำให้เกิดต้นใหม่ของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่บนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่างๆ

สูตรอาหารแข็ง สังเคราะห์	BAP (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนแคลลัสทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียว(ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์แคลลัสที่เกิดจุดเขียว
MS	0	30	0	0
	1	30	0	0
	2	30	9	30.00
	3	30	0	0
NB	0	30	3	10.00
	1	30	3	10.00
	2	30	12	40.00
	3	30	6	20.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 กราฟแสดงผลการเปรียบเทียบจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะแคลลัสที่เกิดจุดเขียวของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ เพาะเลี้ยงบน (ก) ชุดควบคุม MS (ข-ง) อาหารสูตร MS (จ) ชุดควบคุม NB (ฉ-ซ) สูตรอาหาร NB ที่ประกอบด้วย BAP 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

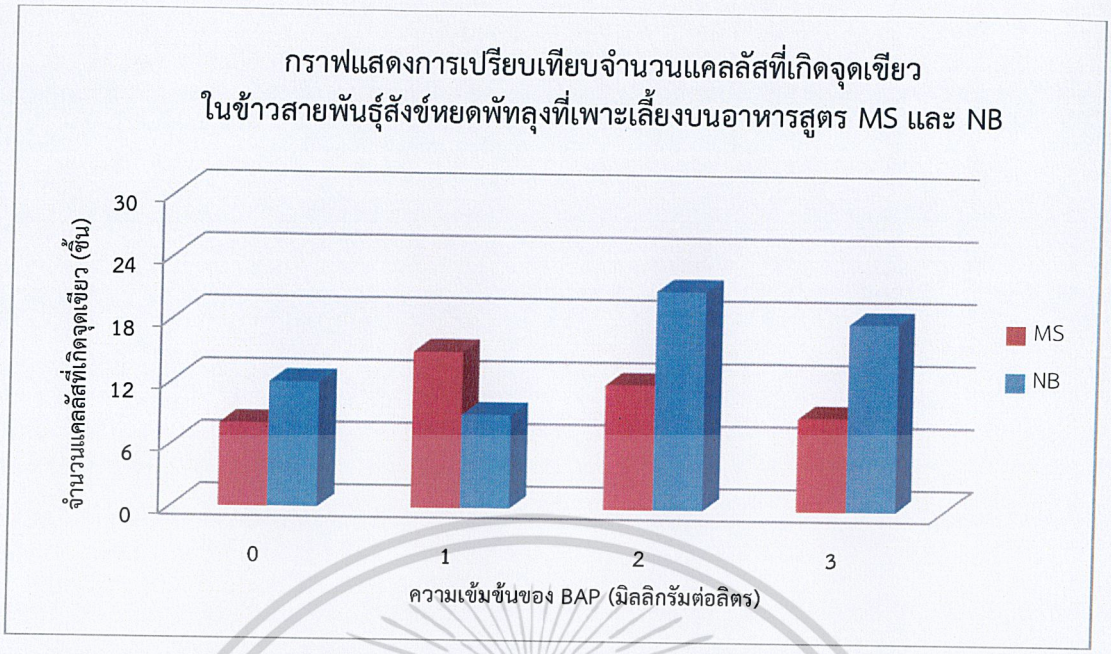
4.2.3 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

การชักนำให้เกิดต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง จากนั้นนำแคลลัสที่มีลักษณะ compact callus สีเหลืองอ่อน เลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร นำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสงควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อพิจารณาจากแนวโน้มค่าในตาราง 4.8 พบว่าอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง มีจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวมากกว่าเท่ากับ 21 ชิ้น และมีอัตราการเกิดจุดเขียว 30.00 ถึง 70.00 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอาหารสูตร MS มีอัตราแคลลัสที่เกิดจุดเขียวเท่ากับ 30.00 ถึง 50.00 เปอร์เซ็นต์ และพบว่ามีจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวในทุกความเข้มข้น BAP ดังรูปที่ 4.16 แต่ผลที่ได้ถือเป็นค่าที่ไม่สมบูรณ์ จึงคาดว่าต้องใช้เวลาเพาะเลี้ยงมากกว่านี้ ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงจึงจะสามารถพัฒนาแคลลัสให้เป็นต้นใหม่ได้อย่างสมบูรณ์

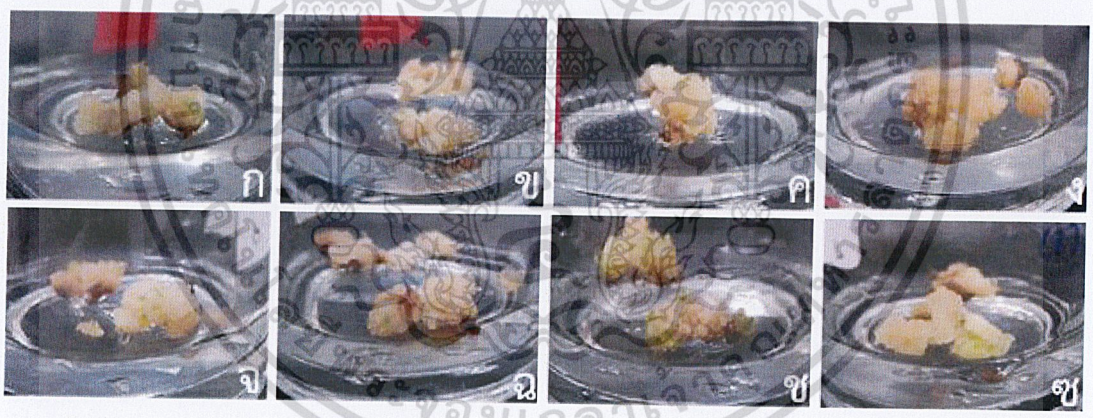
ตารางที่ 4.8 ผลการชักนำให้เกิดต้นใหม่ของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่างๆ

สูตรอาหารแข็งสังเคราะห์	BAP (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนแคลลัสทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียว (ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์แคลลัสที่เกิดจุดเขียว
MS	0	30	8	26.67
	1	30	15	50.00
	2	30	12	40.00
	3	30	9	30.00
NB	0	30	12	40.00
	1	30	9	30.00
	2	30	21	70.00
	3	30	18	60.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.15 กราฟแสดงผลการเปรียบเทียบจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.16 แสดงลักษณะแคลลัสที่เกิดจุดเขียวของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เพาะเลี้ยงบน (ก) ชุดควบคุม MS (ข-ง) อาหารสูตร MS (จ) ชุดควบคุม NB (ฉ-ซ) สูตรอาหาร NB ที่ประกอบด้วย BAP 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

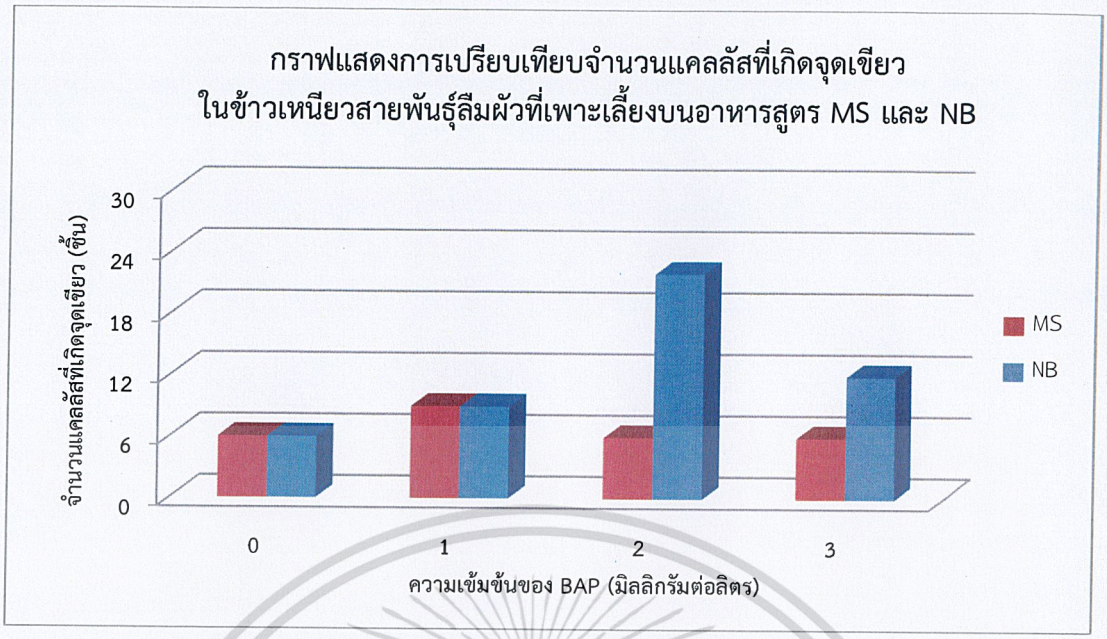
4.2.4 ข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว

นำแคลลัสของข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ชักนำให้เกิดแคลลัส นำแคลลัสที่มีลักษณะ compact callus มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร นำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสงควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากค่าแนวโน้มในตารางที่ 4.9 พบว่ามีจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวในทุกความเข้มข้นของ BAP และอาหารสูตร NB ของข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว มีจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวมากกว่าอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เท่ากับ 22 ชิ้น และมีอัตราการเกิด 30.00 ถึง 73.33 เปอร์เซ็นต์ และอาหารสูตร MS มีอัตราการเกิด 20.00 ถึง 30.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4.18 แสดงลักษณะของแคลลัสมีการเพิ่มจำนวนขยายใหญ่ขึ้นและเกิดจุดเขียวบนผิวแคลลัส แต่ผลที่ได้ถือเป็นค่าที่ไม่สมบูรณ์ จึงคาดว่าต้องใช้เวลามากกว่านี้ข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัวจึงจะสามารถพัฒนาแคลลัสให้เป็นต้นใหม่ได้อย่างสมบูรณ์

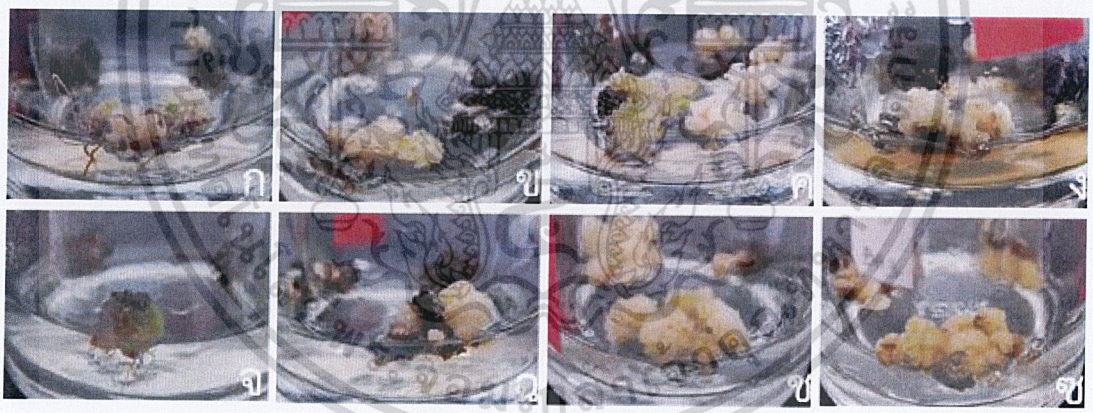
ตารางที่ 4.9 ผลการชักนำให้เกิดต้นใหม่ของข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัวบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่างๆ

สูตรอาหารแข็งสังเคราะห์	BAP (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนแคลลัสทั้งหมด (ชิ้น)	จำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียว (ชิ้น)	เปอร์เซ็นต์แคลลัสที่เกิดจุดเขียว
MS	0	30	6	20.00
	1	30	9	30.00
	2	30	6	20.00
	3	30	6	20.00
NB	0	30	6	20.00
	1	30	9	30.00
	2	30	22	73.33
	3	30	12	40.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.17 กราฟแสดงผลการเปรียบเทียบจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวของข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.18 แสดงลักษณะแคลลัสที่เกิดจุดเขียวของข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว เพาะเลี้ยงบน (ก) ชุดควบคุม MS (ข-ง) อาหารสูตร MS (จ) ชุดควบคุม NB (ฉ-ซ) สูตรอาหาร NB ที่ประกอบด้วย BAP 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสข้าว

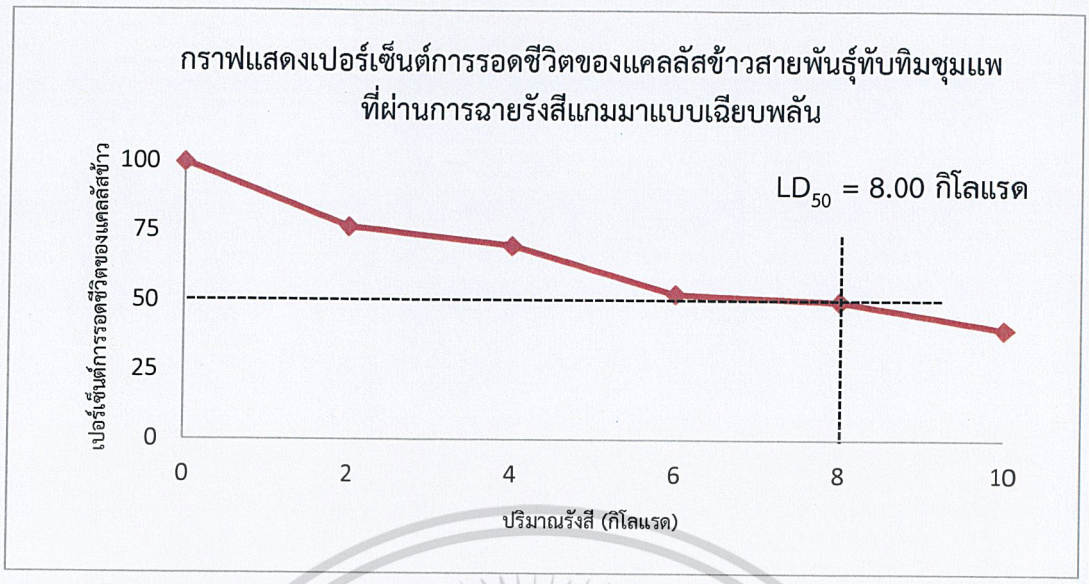
4.3.1 ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ

นำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ จากการชักนำให้เกิดแคลลัสบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร จำนวน 40 ชิ้น ไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันปริมาณรังสีที่ใช้ คือ 2, 4, 6, 8 และ 10 กิโลแรด นำแคลลัสที่ผ่ายการฉายรังสีมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ทำให้เกิดแคลลัสสูงสุดที่ได้กล่าวมาข้างต้น มีหน่วยการทดลอง 2 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ชิ้น เพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีแสงควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากตารางที่ 4.10 พบว่าปริมาณรังสีที่ต่ำกว่า 20 กิโลแรด มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และที่ปริมาณรังสี 10 กิโลแรด มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตน้อยสุดเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4.19 พบว่ามีค่า LD_{50} เท่ากับ 8.00 กิโลแรด และจากรูปที่ 4.20 (ฉ) แคลลัสไม่สามารถเจริญอยู่รอดได้ มีการเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาลเข้มและตายในที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

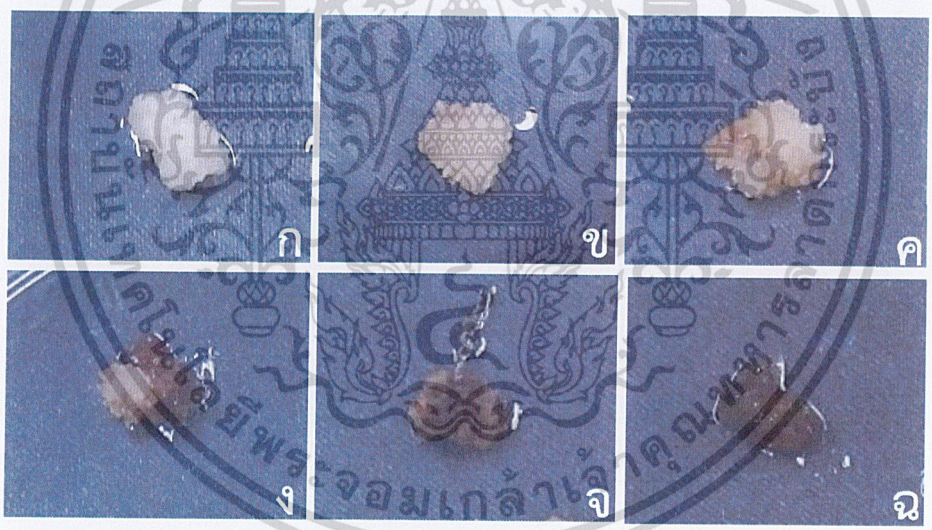
ตารางที่ 4.10 การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ปริมาณรังสี (กิโลแรด)	จำนวนแคลลัส (ชิ้น)	จำนวนแคลลัสที่รอดชีวิต (%)
0	40	40 (100.00)
2	40	31 (76.66)
4	40	28 (70.00)
6	40	21 (52.50)
8	40	20 (50.00)
10	40	16 (40.00)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพกับปริมาณรังสีต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.20 แสดงลักษณะแคลลัสข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพที่ได้รับรังสีปริมาณต่างๆ (ก) ชุดควบคุม (ข-ฉ) 2, 4, 6, 8 และ 10 กิโลแรด ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

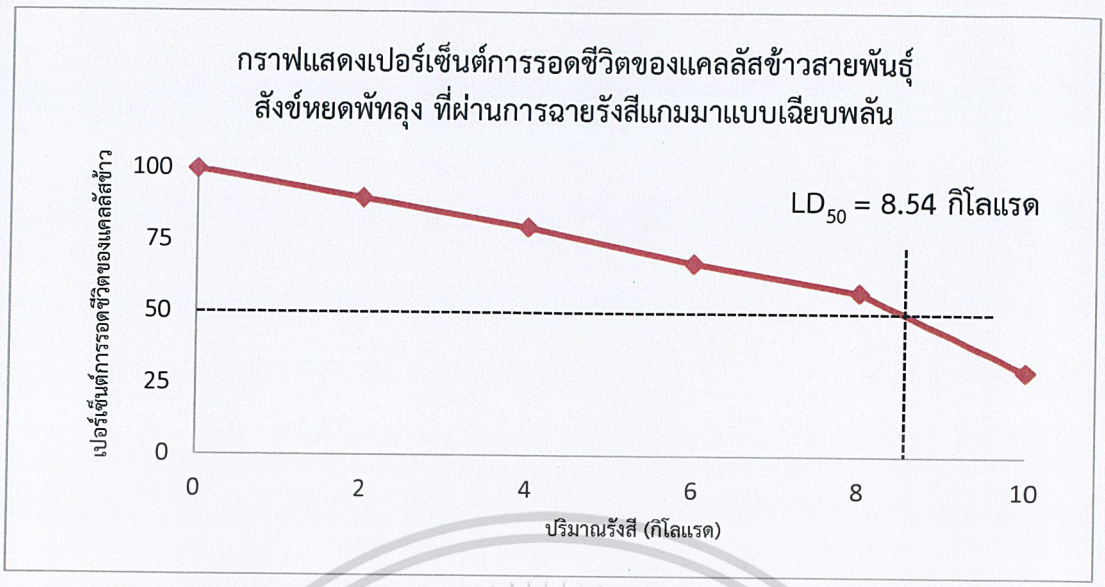
4.3.2 ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

จากการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง บนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร จำนวน 40 ชิ้น ไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันปริมาณรังสีที่ใช้คือ 2, 4, 6, 8 และ 10 กิโลแรด จากนั้นนำแคลลัสที่ผ่านการฉายรังสีมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ทำให้เกิดแคลลัสสูงสุด ที่ได้กล่าวมาข้างต้น มีหน่วยการทดลอง 2 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ชิ้น เพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีแสงควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 4.11 พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำสุดเท่ากับ 30.43 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณรังสี 10 กิโลแรด ส่วนแคลลัสที่ไม่ผ่านการฉายรังสีมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ จากรูปที่ 4.21 พบว่าปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้ข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง มีค่า LD_{50} เท่ากับ 8.54 กิโลแรด และจากรูปที่ 4.22 (ก-ฉ) แสดงลักษณะแคลลัสที่ไม่ผ่านการฉายรังสีมีลักษณะเป็นก้อนเกาะกันแน่น มีสีเหลืองอ่อน ส่วนแคลลัสที่ผ่านการฉายรังสีมีสีน้ำตาลเข้ม บางชิ้นมีการเปลี่ยนแปลงเป็นสีดำ และมีอัตราการรอดชีวิตแคลลัสลดลงที่ปริมาณรังสีแกมมาเพิ่มมากขึ้น

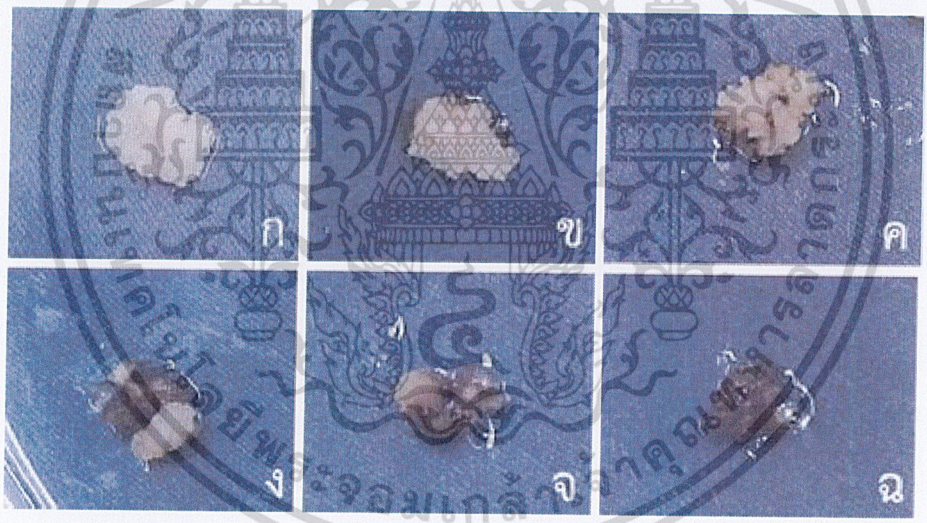
ตารางที่ 4.11 การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุง เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ปริมาณรังสี (กิโลแรด)	จำนวนแคลลัส (ชิ้น)	จำนวนแคลลัสที่รอดชีวิต (%)
0	40	40 (100.00)
2	40	36 (90.00)
4	40	32 (80.00)
6	40	27 (67.50)
8	40	23 (57.50)
10	40	12 (30.00)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.21 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงกับปริมาณรังสีต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.22 แสดงลักษณะแคลลัสข้าวสายพันธุ์สังข์หยดพัทลุงที่ได้รับรังสีปริมาณต่างๆ (ก) ชุดควบคุม (ข-ฉ) 2, 4, 6, 8 และ 10 กิโลแรด ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าว

จากการนำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ กข29 ขาวดอกมะลิ105 ปทุมธานี1 และไรซ์เบอร์รี่ ฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันปริมาณรังสีที่ใช้คือ 20, 25, 30, 35 และ 40 กิโลแรด บนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร มีจำนวนหน่วยการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 4 เมล็ด นำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสงควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าปริมาณรังสีแกมมาที่สูง มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การงอกลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kumar และคณะ (2013) ศึกษาปริมาณรังสีแกมมาต่อการเจริญเติบโตของข้าว 9 สายพันธุ์ ได้แก่ BPT5204 JGL384 Surekha Vijetha JGL1798 NLR34449 Swarna MTU1010 และ Erramallelu ปริมาณรังสีที่ใช้คือ 20-200 กิโลแรด ตรวจสอบผลจากค่า LD_{50} การงอกเมล็ด พบว่าที่ปริมาณรังสี 20–60 กิโลแรด จะส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกเพียงเล็กน้อยหรือไม่ส่งผลเมื่อเทียบกับตัวควบคุม แต่ที่ปริมาณรังสี 80– 200 กิโลแรด มีเปอร์เซ็นต์การงอกลดลง ปริมาณรังสีที่สูงนั้นมีผลต่อการเจริญของต้นข้าว งานวิจัยดังกล่าวให้ผลเช่นเดียวกับงานวิจัยของ Borzouei และคณะ (2010) ศึกษาผลของรังสีแกมมาแกมมาต่อการงอกและลักษณะทางสรีรวิทยาของต้นข้าวสาลี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ Roshan และ T-65-58-8 ที่ปริมาณรังสี 10-40 กิโลแรด พบว่าความยาวของราก ความยาวของยอด และน้ำหนักแห้งของต้นกล้าลดลด เมื่อปริมาณรังสีแกมมาเพิ่มมากขึ้น

จากงานวิจัยที่กล่าวมาจึงนำมาซึ่งการศึกษานี้เพื่อศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าวหลังการฉายรังสีแกมมา พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของข้าวหลายลักษณะ ทั้งลักษณะความยาวของยอดและความยาวของรากลดลง โดยผลที่ได้ของข้าวสายพันธุ์ กข29 ขาวดอกมะลิ105 ปทุมธานี1 และไรซ์เบอร์รี่ พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

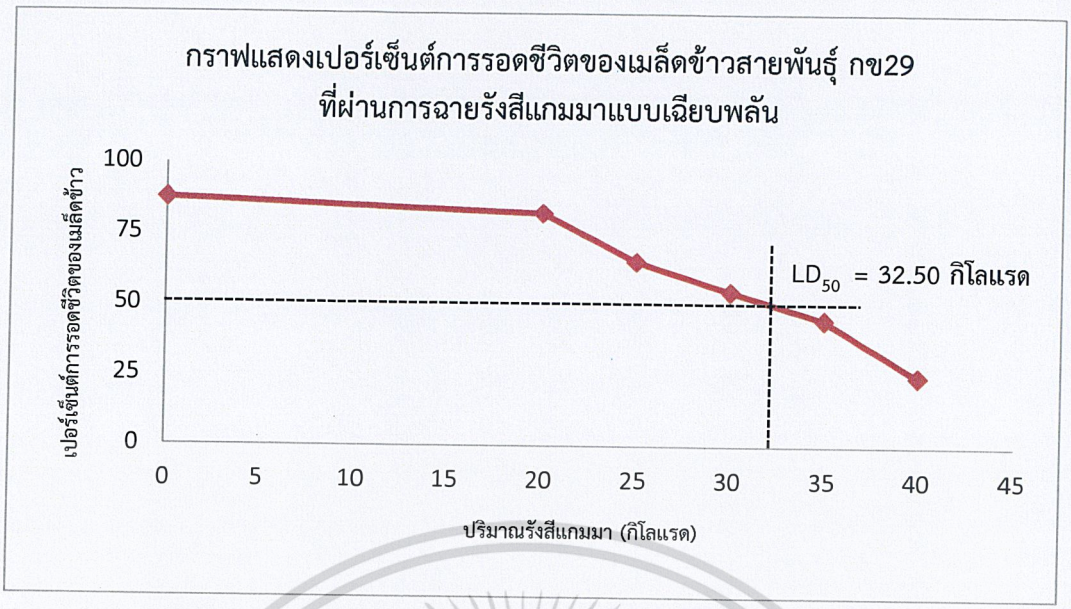
4.4.1 ข้าวสายพันธุ์ กข29

จากตารางที่ 4.12 พบว่าปริมาณรังสีที่ 0 และ 20 กิโลแรด มีอัตราการรอดชีวิตใกล้เคียงกันเท่ากับ 87.50 และ 82.50 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปริมาณรังสี 25 ถึง 40 กิโลแรด อัตราการรอดชีวิตลดลงเป็น 65.00 ถึง 25.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4.23 พบว่าค่าปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้ข้าวสายพันธุ์ กข29 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 32.50 กิโลแรด และจากรูปที่ 4.24 (ง-จ) แสดงลักษณะต้นข้าวมีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน ไม่มีการแตกของรากแขนง ที่ปริมาณรังสี 30 และ 35 กิโลแรด และที่ปริมาณรังสี 40 กิโลแรด มีอัตราการรอดชีวิตเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะต้นข้าวมีความยาวของยอด ความยาวของรากลดลง และไม่มีการแตกของรากแขนง ในขณะที่ชุดควบคุมและที่ปริมาณรังสี 20 กิโลแรด พบว่าเส้นรากหลักอวบ สีขาวขุ่น และรากแตกแขนงออกจากเส้นหลักเป็นจำนวนมาก ดังรูปที่ 4.24 (ก-ข)

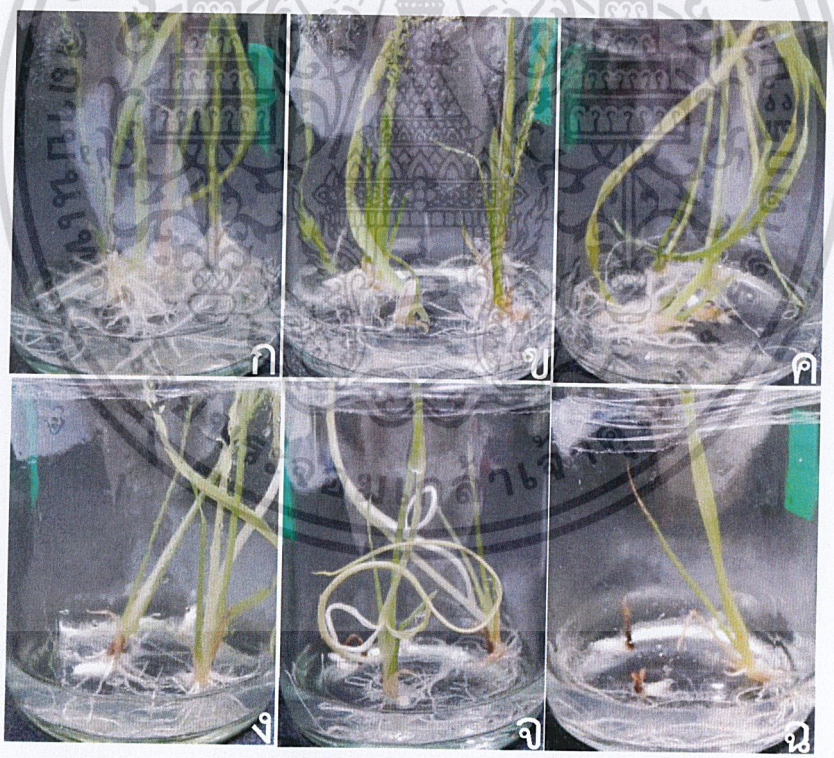
ตารางที่ 4.12 การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ กข29

ปริมาณรังสี (กิโลแรด)	จำนวนเมล็ด	จำนวนเมล็ดที่รอดชีวิต (%)
0	40	35 (87.50)
20	40	33 (82.50)
25	40	26 (65.00)
30	40	22 (55.00)
35	40	18 (45.00)
40	40	10 (25.00)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.23 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของข้าวสายพันธุ์ กข29 กับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.24 แสดงลักษณะของต้นข้าวสายพันธุ์ กข29 บนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ชุดควบคุม (ก) และเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20, 25, 30, 35 และ 40 (ข-ฉ) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

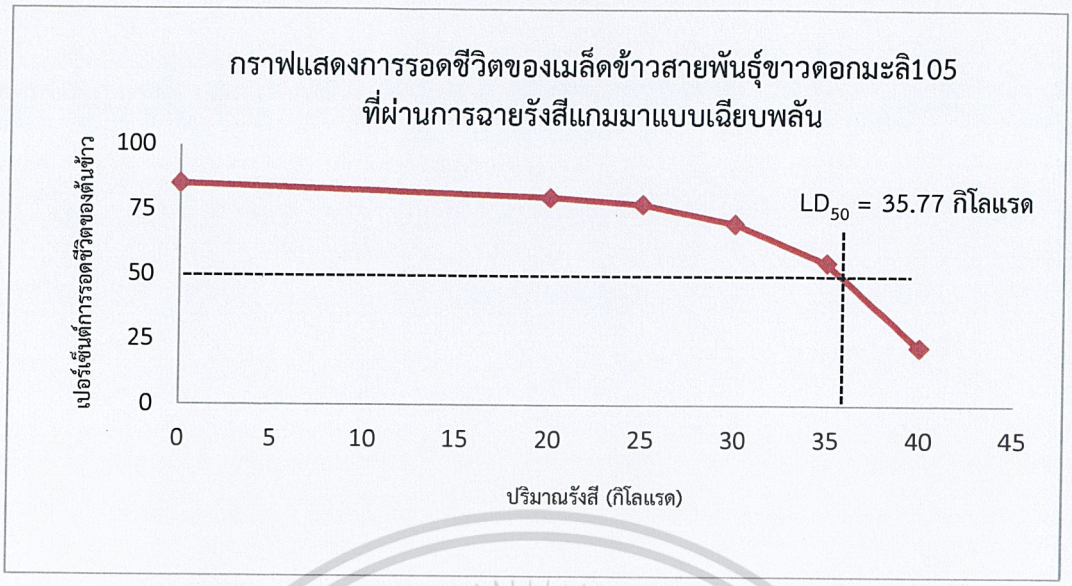
4.4.2 ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105

เมื่อพิจารณจากตารางที่ 4.13 พบว่าอัตราการรอดชีวิตลดลงที่ปริมาณรังสี 35 กิโลแรดเป็นต้นไป และที่ปริมาณรังสี 40 กิโลแรด มีอัตราการรอดชีวิตลดลงอย่างเห็นได้ชัดเท่ากับ 22.50 เปอร์เซ็นต์ จากรูปที่ 4.25 พบว่าค่าปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 35.77 กิโลแรด เมื่อพิจารณาลักษณะของต้นข้าวดังรูป 4.26 (ฉ) ลักษณะของต้นข้าวมีความยาวของยอดและความยาวของรากลดลง ในขณะที่รูป 4.26 (ก-ค) ลักษณะของต้นข้าวมีการเจริญเติบโต และมีสีเขียว รากมีการแตกแขนงออกมาจากเส้นรากหลักจำนวนมากกระจายไปทั่วอาหารเพาะเลี้ยง และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูง

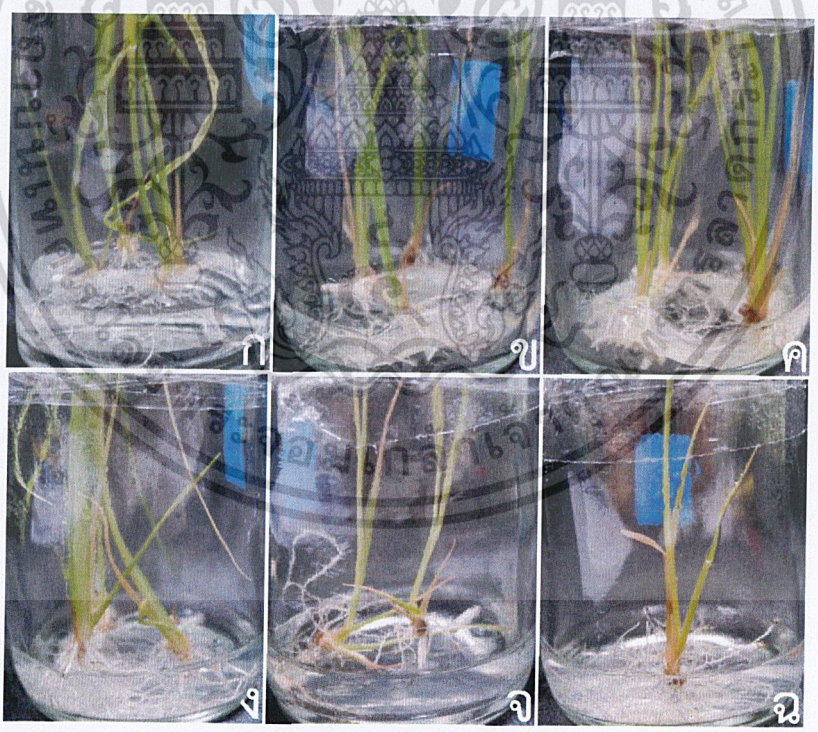
ตารางที่ 4.13 การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105

ปริมาณรังสี (กิโลแรด)	จำนวนเมล็ด	จำนวนเมล็ดที่รอดชีวิต (%)
0	40	34 (85.00)
20	40	32 (80.50)
25	40	31 (77.50)
30	40	28 (70.00)
35	40	22 (55.00)
40	40	9 (22.50)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.25 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 กับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.26 แสดงลักษณะของต้นข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 บนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ชุดควบคุม (ก) และเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20, 25, 30, 35 และ 40 (ข-ฉ) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

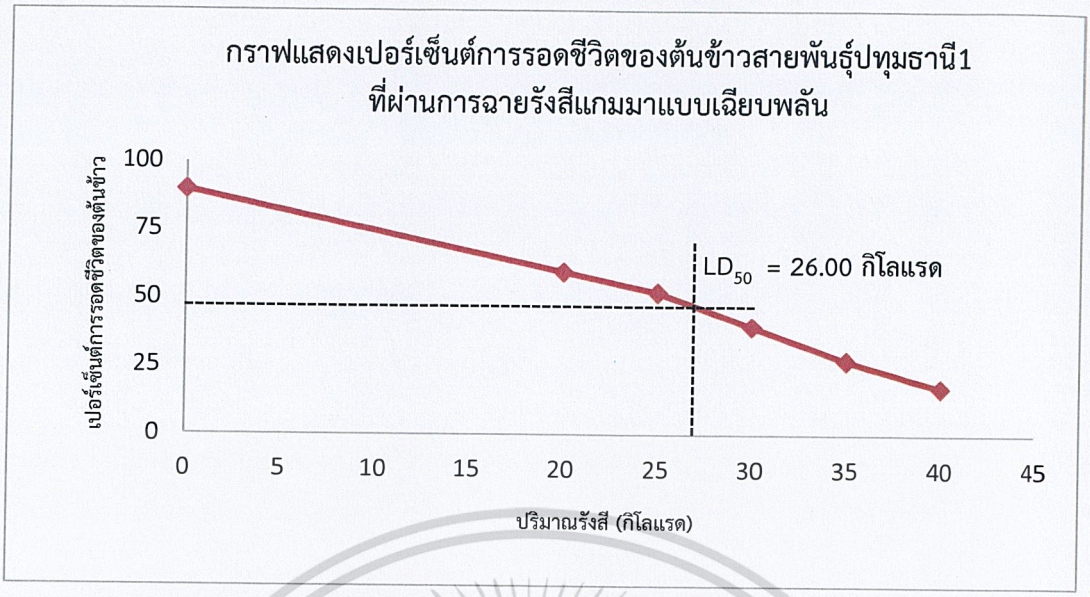
4.4.3 ข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1

จากแนวโน้มตารางที่ 4.14 พบว่าปริมาณรังสีแกมมาที่ต่ำกว่า 20 กิโลแรด หรือชุดควบคุมมีอัตราการรอดชีวิตเป็น 90 เปอร์เซ็นต์ จากรูปที่ 4.27 พบว่าปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้ข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 26.00 กิโลแรด เมื่อพิจารณารูปที่ 4.28 (ก) ลักษณะของเส้นรากหลักอวบ มีเส้นรากขาวขุ่นสั้นๆ และลำต้นเป็นสีเขียว และพบว่ามีอัตราการรอดชีวิตลดลงที่ปริมาณรังสีแกมมา 25 ถึง 40 กิโลแรด ดังรูปที่ 4.28 (ค-ฉ) ลักษณะต้นข้าวเริ่มเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาล เส้นรากหลักสีน้ำตาล และไม่มีการแตกของรากแขนง โดยที่ปริมาณรังสี 40 กิโลแรด มีอัตราการรอดชีวิตต่ำสุดเท่ากับ 17.50 เปอร์เซ็นต์ ความยาวของรากและความยาวของยอดลดลง เมื่อปริมาณรังสีแกมมาเพิ่มมากขึ้น

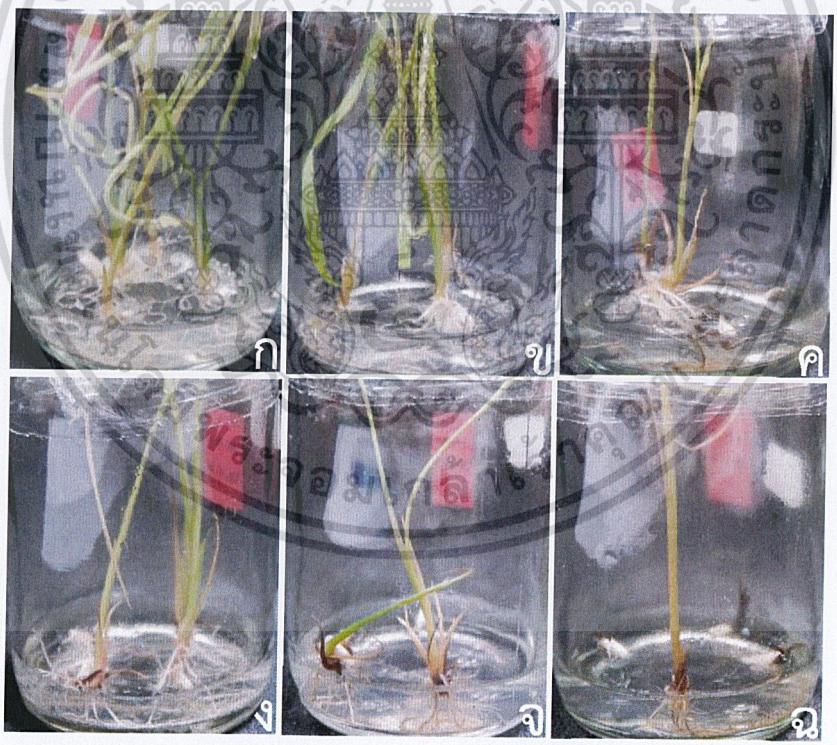
ตารางที่ 4.14 การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1

ปริมาณรังสี (กิโลแรด)	จำนวนเมล็ด	จำนวนเมล็ดที่รอดชีวิต (%)
0	40	36 (90.00)
20	40	24 (60.00)
25	40	21 (52.50)
30	40	16 (40.00)
35	40	11 (27.50)
40	40	7 (17.50)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.27 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1 กับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.28 แสดงลักษณะของต้นข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1 บนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ชุดควบคุม (ก) และเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20, 25, 30, 35 และ 40 (ข-ฉ) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

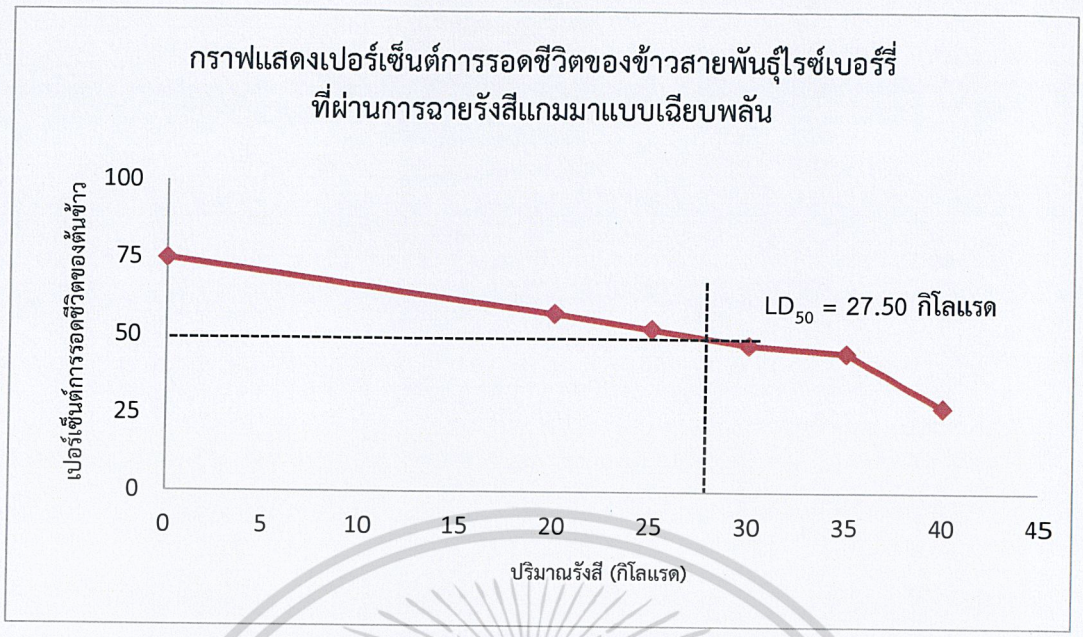
4.4.4 ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่

เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 4.15 พบว่าที่ปริมาณรังสีต่างๆ มีอัตราการรอดชีวิต 57.50 ถึง 27.50 เปอร์เซ็นต์ และพบค่าปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 27.50 กิโลแรด ดังรูปที่ 4.29 และเมื่อพิจารณาลักษณะของต้นข้าวดังรูปที่ 4.30 (ก-จ) มีลักษณะเป็นสีเขียว เส้นรากหลักขาวอวบ และมีการแตกแขนงออกจากเส้นหลักจำนวนมาก และที่ปริมาณรังสี 40 กิโลแรด ลักษณะของต้นข้าวบางต้นเปลี่ยนแปลงเป็นสีดำ ความยาวของยอดและความยาวของรากลดลง มีอัตราการรอดชีวิตน้อยที่สุดเท่ากับ 27.50 เปอร์เซ็นต์ดังรูป 4.30 (ฉ)

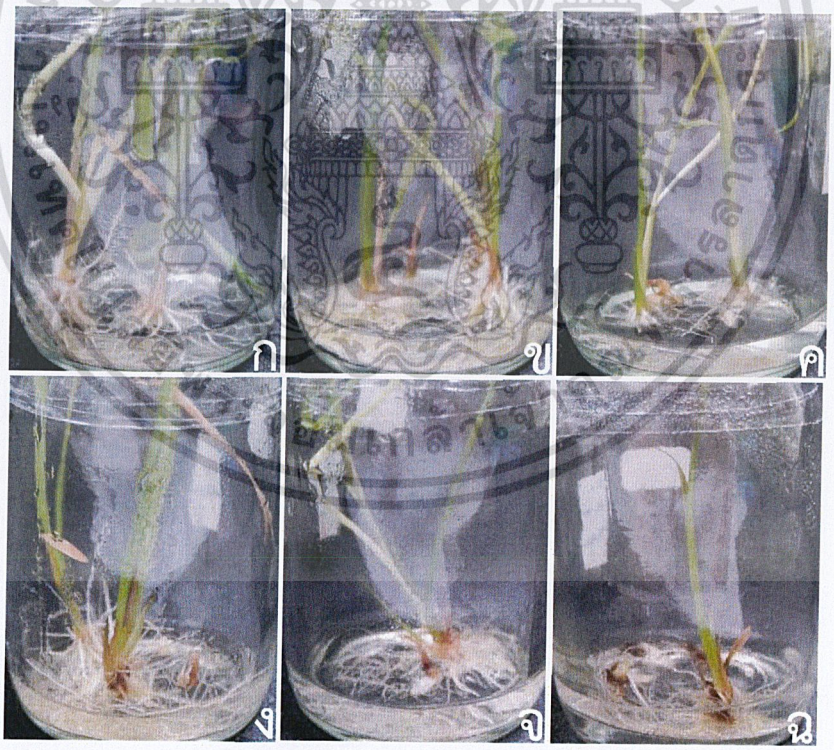
ตารางที่ 4.15 การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่

ปริมาณรังสี (กิโลแรด)	จำนวนเมล็ด	จำนวนเมล็ดที่รอดชีวิต (%)
0	40	30 (75.00)
20	40	23 (57.50)
25	40	21 (52.50)
30	40	19 (47.50)
35	40	18 (45.00)
40	40	11 (27.50)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.29 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่กับปริมาณรังสีแกมมา (กิโลแรด) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB เป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4.30 แสดงลักษณะต้นข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่บนอาหารสูตร NB ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ชุดควบคุม (ก) และเมล็ดข้าวที่ผ่านการฉายรังสีแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20, 25, 30, 35 และ 40 (ข-ฉ) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเอ็มบริโอโดยเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของเมล็ดข้าว 5 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวสายพันธุ์ กข49 ทับทิมชุมแพ และไรซ์เบอร์รี่ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ สังข์หยดพัทลุง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ และข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเอ็มบริโอของเมล็ดข้าวสามารถพัฒนาเจริญเติบโตไปเป็นแคลลัสได้ในทุกระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D โดยข้าวสายพันธุ์ กข49 ทับทิมชุมแพ และสังข์หยดพัทลุง มีปริมาตรแคลลัสเฉลี่ยใหญ่ที่สุด ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่เหมาะสมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัวเหมาะสมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นใหม่ นำแคลลัสจากข้าว 4 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ สังหยดพัทลุง ไรซ์เบอร์รี่ และข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ไฟทาเจล 5.2 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ มีจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวเป็นจำนวนมากที่สุดบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ข้าวสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ สังข์หยดพัทลุง และข้าวเหนียวสายพันธุ์ลืมผัว มีจำนวนแคลลัสที่เกิดจุดเขียวเป็นจำนวนมากที่สุดบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองพบว่าแคลลัสของข้าวแต่ละสายพันธุ์พัฒนาเป็นจุดเขียว แต่ยังไม่พัฒนาเป็นต้นใหม่ ผลที่ได้ถือเป็นค่าที่ไม่สมบูรณ์ เนื่องจากผู้ทดลองมีเวลาอันจำกัด ดังนั้นจึงต้องใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงมากกว่านี้จึงจะได้แคลลัสที่พัฒนาไปเป็นต้นใหม่ได้อย่างสมบูรณ์

การศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสข้าว 2 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ และสังข์หยดพัทลุง ที่ปริมาณรังสี 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 กิโลแรด เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าที่ปริมาณรังสี 10 กิโลแรด แคลลัสมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเข้มบางชิ้นมีการเปลี่ยนแปลงเป็นสีดำ ในขณะที่ปริมาณรังสีแกมมาที่ต่ำกว่า 2 กิโลแรด หรือชุดควบคุมไม่ก่อให้เกิดการตายของแคลลัสข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ และค่าปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้แคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้าวสายพันธุ์ทับทิมชุมแพ และสังข์หยดพัทลุง มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเป็นจำนวน 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 8.00 และ 8.54 กิโลแรด ตามลำดับ

การศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันเพื่อก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ในเมล็ดข้าวที่ปริมาณรังสีแกมมา 0, 20, 25, 30, 35 และ 40 กิโลแรด จากข้าว 4 สายพันธุ์ ได้แก่ข้าวสายพันธุ์ กข29 ปทุมธานี1 ขาวดอกมะลิ105 และไรซ์เบอร์รี่ นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของข้าวสายพันธุ์ กข29 ปทุมธานี1 ขาวดอกมะลิ105 และไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการฉายรังสีนั้นโดยปริมาณรังสีแกมมาที่ 40 กิโลแรด มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตน้อยที่สุด โดยค่าปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้ข้าวสายพันธุ์ กข29 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 32.50 กิโลแรด และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 เป็นจำนวน 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 35.77 กิโลแรด ในขณะที่ข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1 และไรซ์เบอร์รี่ ปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 26.00 และ 27.50 กิโลแรด ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรนำผลการทดลองที่ได้ไปปรับปรุงเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสม และเพิ่มระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงแคลลัสให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์นานยิ่งขึ้น ควรนำต้นใหม่ที่ได้ทำการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เพื่อเปรียบเทียบลักษณะทางพันธุกรรมของต้นข้าว หรือนำไปออกปลูกในสภาพธรรมชาติ และควรเพิ่มจำนวนซ้ำตัวอย่างในการทดลองเพื่อให้ผลที่ได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ขวัญเดือน รัตนา. 2544. **การเพิ่มประสิทธิภาพการชักนำให้เกิดต้นใหม่และการส่งถ่ายยีนสู่ข้าว (*Oryza sativa* L.)** วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต ชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

จุฑาทิพย์ ทันไชย, สงวนศักดิ์ ธนาพรพูนพงษ์ และสุชาดา เวียรศิลป์. 2556. "ผลของ 2,4-D และไคเนตินต่อการเกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105." *วารสารเกษตร* 29(2) : 177-185.

ชาญ มงคล. 2536. **เรื่องข้าว.** กรุงเทพฯ. โรงพิมพ์การศาสนา. หน้า150.

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

เผดิม ระติสุนทร, ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ, เสาวนีย์ พุทธิธาดา, สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล และเลิศลักษณ เงินศิริ. 2536. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวสายพันธุ์ต่างๆ.** ว.เกษตรศาสตร์ (วิทย์) 28 : 27-37.

พิมพ์ชนก เจริญสุข, พิมพ์ลักษม์ พลอยศรีมงคล และศิริรัตน์ ศรีแก้ว. 2556. **การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของแคลลัสข้าว (*Oryza sativa* L.) ภายใต้สภาพแล้งด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** โครงงานพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ภพเก้า พุทธรักษ์, วารุต อยู่คง, รัฐพร จันทร์เดช, พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์ และมณฑล สงวนเสริมศรี. "การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวหอมมะลิ105 และข้าวเหนียว กข6." *วารสารนเรศวรพะเยา*. หน้า 100-105.

รัญญิกา โปราหา, ราริ ช้อนทอง และอรสา จันทิมา. 2555. **การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของแคลลัสและเซลล์แขวนลอยข้าว (*Oryza sativa* L.) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.**โครงงานพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

รัญญิกา โปราหา. 2559. **การเจริญของแคลลัส เซลล์แขวนลอย และการเจริญเป็นต้นใหม่ของข้าว (*Oryza sativa* L.) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ. 2541. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ : หลักการและเทคนิค.** พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2546. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.** ม.ป.ท.

ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2560. **พันธุ์ข้าวไรซ์เบอร์รี่.** [Online]. Available : http://dna.kps.ku.ac.th/v2016/index.php/news-articles-rice-rsc-rgdu-knowledge/rice-breeding-lab/riceberry-variety

สมพร ประเสริฐส่งสกุล. 2552. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชกับการปรับปรุงพันธุ์พืช.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ. โรงพิมพ์โฟร์เพซ.

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

สิรินุช ลามศรีจันทร์. 2540. **การกลายพันธุ์ของพืช.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 205.

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2560. **องค์ความรู้เรื่องข้าว: พันธุ์ข้าวกข 29.** [Online]. Available : http://brrd.in.th/rkb/contents/view/category:17/index.php-file=content.php&id=60.htm

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2560. **องค์ความรู้เรื่องข้าว: พันธุ์ข้าว กข 49.** [Online]. Available : http://brrd.in.th/rkb/contents/view/category:17/index.php-file=content.php&id=138.htm

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2560. **องค์ความรู้เรื่องข้าว: พันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ105.** [Online]. Available : http://brrd.in.th/rkb/contents/view/category:17/index.php-file=content.php&id=19.htm

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2560. **องค์ความรู้เรื่องข้าว: พันธุ์ข้าวทับทิมชุมแพ.** [Online]. Available : http://brrd.in.th/rkb/contents/view/category:17/index.php-file=content.php&id=163.htm

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2560. **องค์ความรู้เรื่องข้าว: พันธุ์ข้าวปทุมธานี1.** [Online]. Available : http://brrd.in.th/rkb/contents/view/category:17/index.php-file=content.php&id=67.htm

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2560. **องค์ความรู้เรื่องข้าว: พันธุ์ข้าวสังข์หยดพัทลุง.** [Online]. Available : http://brrd.in.th/rkb/contents/view/category:17/index.php-file=content.php&id=93.htm

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2560. **องค์ความรู้เรื่องข้าว: พันธุ์ข้าวลืมผัว.** [Online]. Available : http://brrd.in.th/rkb/contents/view/category:17/index.php-file=content.php&id=132.htm

อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม และนิตย์ศรี แสงเดือน. 2544. **การเจริญเป็นต้นใหม่ของเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60.** ในการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 39 สาขาวิทยาศาสตร์. กรุงเทพฯ.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 174-180.

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม, ปราการ กระถินทอง และนิตย์ศรี แสงเดือน. 2549. **ชนิดของอะโกรแบคทีเรียมมีประสิทธิภาพในการถ่ายยีนในแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1**. ในการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 44 สาขาวิทยาศาสตร์. กรุงเทพฯ.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อารี วรัญญูวัฒก์. 2541. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช.** กรุงเทพฯ. โรงพิมพ์อติสรรค์

Borzouei, A. Kafi, M. Khazaei, H. Naseriyan B. and Majdabadi, A. 2010. "Effect of gamma radiation on germination and physiological aspects of wheat." *Triticum aestivum* L. *seedlings*. 42(4) : 2281-2290.

Cao, J. Duan, X. McElroy, D. and Wu, R. 1992. "Regeneration of herbicide-resistant transgenic Rice plants following microprojectile-mediated transformation of suspension culture cell. *Plant Cell Report*. 11 : 586-591.

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.

Gamborg, O.L. Miller, R.A. and Ojima, K. 1968. "Nutrient Requirements of suspension cultures of soybean root cells." *Experimental Cell Research*. 50 : 151-158.

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 Glycon on Drought Tolerance of MR269 Genotype Rice (*Oryza sativa* L.)." *Asian Journal of Crop Science*. 8 : 52-59.

Karthikeyan, A. Pandian, S.T.K. and Ramesh, M. 2009."High frequency plant regeneration from embryogenic callus of a popular indica rice (*Oryza sativa* L.)." *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 15(4) : 371-375.

Murashike,T. and Skoog, F. 1962. "A revised medium for rapid growth and bioassays With tobacco tissue cultures." *Journal of Plant Physiology*. 15 : 473-497.

Pavan, K.D. Chaturvedi, A. Sreedhar, M. Aparna, 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.

Revathi, S. and Pillai, M.A. 2011. "In vitro callus induction in rice (*Oryza sativa* L.)." *Research in Plant Biology*. 1 : 13-15.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

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*. 18 : 44-50.

Shabir, H.W. Sanghera, G.S. and Gosal, S.S. 2011. "An efficient and reproducible method for Regeneration of whole plants from mature seeds of a high yielding Indica rice (*Oryza sativa* L.) variety PAU 201. ELSEVIER." *New Biotechnology*. 28 : Number 4 – July.

Zahid, H. Mohammad, H.K. Raisa, B. Hamid, R.R. and Zubeda, C. 2010. "Protocal optimization for efficient callus induction and regeneration in three Pakistani rice cultivars." *Pakistan Journal Botany*. 42 : 879-887.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช MS ; Murashige and skoog (1962); Phytotech

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 อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ตารางสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช NB ; Basal Medium (macronutrients as described by Chu (1975) and the micronutrients & vitamins as described by Gamborg และคณะ (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 อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้