# การเจริญของแคลลัส เซลล์แขวนลอย และการเจริญเป็นต้นใหม่ของข้าว (*Oryza sativa* L.) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

# CALLUS AND CELL SUSPENSION INDUCTION AND REGENERATION OF RICE (*Oryza sativa* L.) BY TISSUE CULTURE

รัญญิการ์ โปราหา

RANYIKAR PORAHA


วิทยานิพนธ์นี้สำหรับการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2559


KMITL-2016-SC-M-020-016

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

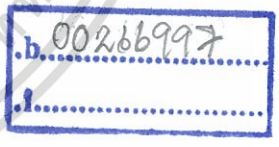
# การเจริญของแคลลัส เซลล์แขวนลอย และการเจริญเป็นต้นใหม่ของข้าว (*Oryza sativa* L.) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

# CALLUS AND CELL SUSPENSION INDUCTION AND REGENERATION OF RICE (*Oryza sativa* L.) BY TISSUE CULTURE

รัญญิการ์ โปราหา

RANYIKAR PORAHA

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง




วิทยานิพนธ์นี้สำหรับการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2559
KMITL-2016-SC-M-020-016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# CALLUS AND CELL SUSPENSION INDUCTION AND REGENERATION OF RICE (*Oryza sativa* L.) BY TISSUE CULTURE

RANYIKAR PORAHA

A THESIS SUBMITTED IN FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
YEAR 2016

KMITL-2016-SC-M-020-016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2016

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**คณะวิทยาศาสตร์**
**สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง**
**ใบรับรองวิทยานิพนธ์**

---

**หัวข้อวิทยานิพนธ์** "การเจริญของแคลลัส เซลล์แขวนลอย และการเจริญเป็นต้นใหม่ของข้าว (*Oryza sativa* L.) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช"
(CALLUS AND CELL SUSPENSION INDUCTION AND REGENERATION OF RICE (*Oryza sativa* L.) BY TISSUE CULTURE)

**ชื่อนักศึกษา** นางสาวรัญญิการ์ โปราหา
**รหัสประจำตัว** 56605020
**ปริญญา** วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)
**ภาควิชา** ชีววิทยา
**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์** ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม
**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม (ถ้ามี)** -----

| คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ | ลายมือชื่อ |
|---|---|
| ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี<br>ประธานกรรมการ | |
| ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม<br>อาจารย์บัณฑิตประจำ (ในสาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง) | |
| ศ.ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ<br>ผู้ทรงคุณวุฒิจากภายนอกสถาบันฯ | |
| ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม<br>อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ | |

**วัน/ เดือน/ ปี ที่สอบ** 27 มิถุนายน พ.ศ. 2559 เวลา 09.00 - 12.00 น.
**สถานที่สอบ** ณ ห้อง 303 อาคารพระจอมเกล้า

**คณะวิทยาศาสตร์รับรองแล้ว**

**(รองศาสตราจารย์ ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์)**
**คณบดีคณะวิทยาศาสตร์**
**วันที่** 4 **เดือน** กค. **พ.ศ.** 59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **หัวข้อวิทยานิพนธ์** | การเจริญของแคลลัส เซลล์แขวนลอย และการเจริญเป็นต้นใหม่ของข้าว (*Oryza sativa* L.) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ |
| **ชื่อนักศึกษา** | นางสาวรัญญิการ์ โปราหา |
| **รหัสประจำตัว** | 56605020 |
| **ปริญญา** | วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ) |
| **ภาควิชา** | ชีววิทยา |
| **คณะ** | วิทยาศาสตร์ |
| **มหาวิทยาลัย** | สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) |
| **พ.ศ.** | 2559 |
| **อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์** | ผศ.ดร. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม |

## บทคัดย่อ

การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าว 4 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าขนาดพื้นที่เฉลี่ย และค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัส ของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 ให้ผลสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 1 2 3 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ นำสูตรอาหารเดียวกันนี้มาทำเป็นอาหารเหลวเพื่อนำไปศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอยในข้าว 4 สายพันธุ์ พบว่าข้าวสายพันธุ์น้ำรู และเจ้าฮ่อ มีอัตราการเจริญสูงสุดในวันที่ 18 มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.3499, 0.3594 กรัมต่ออาหาร 10 มิลลิลิตร และน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0141, 0.0144 กรัมต่ออาหาร 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ ข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ และขาวดอกมะลิ105 มีอัตราการเจริญสูงสุดในวันที่ 15 มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.3620, 0.3394 กรัมต่ออาหาร 10 มิลลิลิตร และน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0131, 0.0219 กรัมต่ออาหาร 10 มิลลิลิตร

การชักนำให้เกิดต้นใหม่จากการนำแคลลัสแบบสด และแบบแห้ง มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS และ NB ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 2.6 และ 5.2 กรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรู และขาวโป่งไคร้ ที่นำไปผ่านการทำให้แห้งมีอัตราการพัฒนาไปเป็นยอดและเกิดยอดจำนวนมากในอาหารสูตร MS ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.80 และ 5.73 ยอดต่อแคลลัส ตามลำดับ แคลลัสของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อแบบสด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีอัตราการเกิดยอดเฉลี่ย 4.12 ยอดต่อแคลลัส ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร แคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ที่ผ่านการทำให้แห้งมีอัตราการเกิดยอดเฉลี่ย 5.58 ยอดต่อแคลลัส ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบไปด้วย BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร และแคลลัสของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยเมื่อผ่านการทำให้แห้งมีอัตราการเกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร

การชักนำให้เกิดรากทำได้โดยการย้ายยอดที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS และสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ผลที่ได้พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA สามารถชักนำการเกิดรากได้ดีที่สุดในข้าวทั้งสี่สายพันธุ์ โดยข้าวสายพันธุ์น้ำรูถูกชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 43.33 รากต่อต้น สายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ถูกชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 20.75 รากต่อต้น ข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อถูกชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร MS ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 26.67 และข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ถูกชักนำให้เกิดรากได้ดีบนอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 57.50 รากต่อต้น จากนั้นย้ายต้นข้าวที่ได้ไปปลูกในกระถางซึ่งผลลัพธ์แสดงให้เห็นว่าต้นข้าวเหล่านั้นสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ

การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเอสอาร์เอพีเพื่อตรวจสอบลักษณะทางพันธุกรรมของต้นข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้มีความเหมือนกันในทุกตัวอย่างที่นำมาทำการศึกษา

**คำสำคัญ:** การชักนำให้เกิดแคลลัส การชักนำให้เกิดต้นใหม่ การชักนำให้เกิดราก การเพาะเลี้ยง-เซลล์แขวนลอย ข้าว เทคนิคเอสอาร์เอพี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **Thesis Title** | Callus and Cell Suspension Induction and Regeneration of Rice (*Oryza sativa* L.) by Tissue Culture |
| **Student Name** | Miss Ranyikar Poraha |
| **Student ID** | 56605020 |
| **Degree** | Master of Science (Biotechnology) |
| **Department** | Biology |
| **Faculty** | Science |
| **University** | King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL) |
| **Year** | 2016 |
| **Thesis Advisor** | Asst. Prof. Dr. Anurug Poeaim |

## Abstract

This study was found optimum media to callus induction in 4 varieties of rice; Nam Roo, Khao Pong Krai, Jow Haw and Khao Dawk Mali 105. MS and NB media supplemented with 0.5, 1, 2, 3 and 5 mg/l 2,4-D and 1 mg/l NAA were used for callus induction. The maximum mean size and mean fresh weight of callus for Nam Roo, Khao Pong Krai, Jow Haw and Khao Dawk Mali 105 were found on NB medium containing 1, 2, 3 and 0.5 mg/l 2,4-D, respectively. Cell suspension culture that culture in liquid media that same composition of callus induction. Study growth rate of cell suspension culture in 4 varieties of rice. The result show that, the maximum growth rate of cell suspension of Nam Roo and Jow Haw were found on 18 days, the fresh weight 0.3499, 0.3594 gram per 10 ml and dry weight 0.0141, 0.0144 gram per 10 ml, respectively. Khao Pong Krai and Khao Dawk Mali 105 were found on 15 days, the fresh weight 0.3620, 0.3394 gram per 10 ml and the dry weight 0.0131, 0.0219 gram per 10 ml, respectively.

Plant regeneration, non-desiccated and desiccated callus were cultured on MS and NB media supplemented with 1, 2 and 3 mg/l BAP with 2.6, 5.2 g/l phytagel for 6 weeks. Callus from desiccation of Nam Roo and Khao Pong Krai were cultured on MS medium supplemented with 2 mg/l BAP and 5.2 g/l phytagel. The numbers of shoots per callus were 3.80 and 5.73 shoots. Callus from non-desiccation of Jow Haw was cultured on MS medium supplemented with 2 mg/l BAP and 2.6 g/l phytagel. The

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

numbers of shoots per callus was 4.12 shoots. Callus from desiccation of Khao Dawk Mali 105 was cultured on MS medium supplemented with 1 mg/l BAP and 5.2 g/l phytagel. The numbers of shoots per callus was 5.58 shoots. Cell suspension of Jow Haw from desiccation was cultured on MS medium supplemented with 2 mg/l BAP and 5.2 g/l phytagel. The results show the highest of the number of shoots per callus.

Root induction was performed by transfer shoots into MS and NB media supplemented with 0.5, 1 and 3 mg/l IBA and NAA for 4 weeks. The optimal rooting for Nam Roo was cultured on NB medium supplemented with 0.5 mg/l IBA, the numbers of roots per shoot was 43.33 roots. Khao Pong Krai was found on MS medium supplemented with 1 mg/l IBA, the numbers of roots per shoot was 20.75 roots. Jow Haw was found on MS medium supplemented with 3 mg/l IBA, the numbers of roots per shoot were 26.67 roots, and Khao Dawk Mali 105 was found on NB medium supplemented with 3 mg/l IBA, the numbers of roots per shoot were 57.50 roots. The plantlets were transferred into pots that the results show they can grow normally.

Molecular SRAP marker was used for assess genetic characterization of Khao Pong Krai plantlets from tissue culture for 10 weeks. The results show that the DNA fingerprints were similar in all samples.

**Keywords** : callus induction, plant regeneration, root induction, suspension culture, rice, SRAP technique

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่อง “การเจริญของแคลลัส เซลล์แขวนลอย และการเจริญเป็นต้นใหม่ของข้าว (*Oryza sativa* L.) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ” ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ ตลอดจนสนับสนุนในด้านต่างๆ และให้ประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้าจึงขอกราบขอบพระคุณมา ณ โอกาส นี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พนา โลหะทรัพทวีย์ ประธานสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม อาจารย์บัณฑิตประจำสาขาชีววิทยา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้ให้คำปรึกษาชี้แนะแนวทางในการแก้ปัญหา และช่วยตรวจสอบความถูกต้องเพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ และขอกราบขอบพระคุณศาสตราจารย์ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาเสียสละเวลาในการตรวจสอบ แก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ พร้อมทั้งให้คำแนะนำในการแก้ไขที่เป็นประโยชน์ เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยพันธุ์ข้าวสะเมิง อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ สำหรับเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษา และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความร่วมมือและอำนวยความสะดวก ในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำ ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่คอยเป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนส่งเสริมการศึกษาในทุกด้านเป็นอย่างดีตลอดมา รวมทั้งพี่ เพื่อน และน้องๆที่คอยช่วยเหลือ และให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์เรื่องนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

รัญญิการ์ โปราหา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ


หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค

กิตติกรรมประกาศ ..... จ

สารบัญ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญรูป ..... ฏ

**บทที่ 1 บทนำ** ..... 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย ..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย ..... 4

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย ..... 4

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ ..... 4

**บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** ..... 5

2.1 ข้าว ..... 5

2.2 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษา ..... 5

2.2.1 ข้าวสายพันธุ์น้ำรู ..... 5

2.2.2 ข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ ..... 6

2.2.3 ข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ ..... 6

2.2.4 ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ..... 6

2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ..... 7

2.3.1 สภาวะแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ..... 7

2.3.2 อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ..... 8

2.3.3 สารควบคุมการเจริญเติบโต ..... 9

2.4 เครื่องหมายทางโมเลกุล ..... 11

2.5 การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยเทคนิคเอสอาร์เอพี ..... 12

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ..... 13

2.6.1 การศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัส ..... 13

2.6.2 การศึกษาการชักนำแคลลัสให้เกิดต้นใหม่ ..... 16

2.6.3 การศึกษาการชักนำเซลล์แขวนลอยให้เกิดต้นใหม่ ..... 18

2.6.4 การศึกษาการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย ..... 19

2.6.5 การศึกษาการชักนำให้เกิดราก ..... 20


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)


หน้า

2.6.6 การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ..... 21

**บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย** ..... 23

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี ..... 23

3.1.1 เมล็ดข้าวที่ใช้ในการศึกษา ..... 23

3.1.2 สารเคมี ..... 23

3.1.3 อุปกรณ์ และเครื่องมือต่างๆ ..... 24

3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย ..... 26

3.2.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัส ..... 26

3.2.2 การศึกษาสูตรอาหาร ปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดต้น ..... 26

3.2.3 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัส และระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย ..... 27

3.2.4 การศึกษาสูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยให้เกิดต้น ..... 27

3.2.5 การศึกษาสูตรอาหารเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำรากให้เหมาะสมต่อการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ ..... 28

3.2.6 การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยเทคนิคเอสอาร์เอพี ..... 29

3.2.6.1 การสกัดดีเอ็นเอ ..... 29

3.2.6.2 การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยเทคนิคเอสอาร์เอพี (SRAP) ..... 30

3.2.6.3 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟริซิส ..... 31

**บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล** ..... 32

4.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัส ..... 32

4.1.1 ข้าวสายพันธุ์น้ำรู ..... 33

4.1.2 ข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ ..... 36

4.1.3 ข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ ..... 39

4.1.4 ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ..... 42

4.2 การศึกษาสูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดต้น ..... 45

4.2.1 ข้าวสายพันธุ์น้ำรู ..... 47

4.2.2 ข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ ..... 54

4.2.3 ข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ ..... 60

4.2.4 ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ..... 67


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัส และระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย ..... 74
4.3.1 ข้าวสายพันธุ์น้ำรู ..... 74
4.3.2 ข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ ..... 76
4.3.3 ข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ ..... 78
4.2.4 ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ..... 80
4.4 การศึกษาสูตรอาหาร และปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยให้เกิดต้น ..... 83
4.5 การศึกษาสูตรอาหารเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำรากให้เหมาะสมต่อการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ ..... 91
4.5.1 ข้าวสายพันธุ์น้ำรู ..... 92
4.5.2 ข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ ..... 96
4.5.3 ข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ ..... 100
4.5.4 ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ..... 104
4.6 การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยเทคนิคเอสอาร์เอพี ..... 108
**บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ** ..... 112
5.1 สรุปผลการวิจัย ..... 112
5.2 ข้อเสนอแนะ ..... 114
เอกสารอ้างอิง ..... 115
ภาคผนวก ..... 125
ภาคผนวก ก ..... 126
ประวัติผู้เขียน ..... 128

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 3.1 | ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์เอสอาร์เอพีที่ใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์ | 30 |
| 3.2 | ความเข้มข้นและปริมาณของสารที่ใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์ | 30 |
| 3.3 | ขั้นตอนและอุณหภูมิที่ใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์ | 31 |
| 4.1 | ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรูบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบ ด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ | 34 |
| 4.2 | ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้บนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ | 37 |
| 4.3 | ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ | 40 |
| 4.4 | ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 บนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ | 43 |
| 4.5 | ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรูให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ | 49 |
| 4.6 | ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรูให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ | 50 |
| 4.7 | ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรูให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ | 51 |
| 4.8 | ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ | 55 |
| 4.9 | ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ | 56 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง (ต่อ)


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 4.10 | ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ | 57 |
| 4.11 | ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ | 62 |
| 4.12 | ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ | 63 |
| 4.13 | ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ | 64 |
| 4.14 | ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ | 69 |
| 4.15 | ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ | 70 |
| 4.16 | ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ | 71 |
| 4.17 | ค่าน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์น้ำรูที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน | 75 |
| 4.18 | ค่าน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน | 77 |
| 4.19 | ค่าน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน | 79 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง (ต่อ)


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 4.20 | ค่าน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน..... | 81 |
| 4.21 | ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อให้เกิดต้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์..... | 86 |
| 4.22 | ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อให้เกิดต้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... | 87 |
| 4.23 | ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อให้เกิดต้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์..... | 88 |
| 4.24 | ผลการชักนำรากของข้าวสายพันธุ์น้ำรูเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์..... | 93 |
| 4.25 | ผลการชักนำรากของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์..... | 97 |
| 4.26 | ผลการชักนำรากของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์..... | 101 |
| 4.27 | ผลการชักนำรากของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์..... | 105 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป


| รูปที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 4.1 | กราฟขนาดพื้นที่แคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์น้ำรูที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ | 35 |
| 4.2 | กราฟน้ำหนักสดแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์น้ำรูที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ | 35 |
| 4.3 | ลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ | 36 |
| 4.4 | กราฟขนาดพื้นที่แคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ | 38 |
| 4.5 | กราฟน้ำหนักสดแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ | 38 |
| 4.6 | ลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ | 39 |
| 4.7 | กราฟขนาดพื้นที่แคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ | 41 |
| 4.8 | กราฟน้ำหนักสดแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ | 41 |
| 4.9 | ลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ | 42 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป (ต่อ)


| รูปที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 4.10 | กราฟขนาดพื้นที่แคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ | 44 |
| 4.11 | กราฟน้ำหนักสดแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ | 44 |
| 4.12 | ลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ | 45 |
| 4.13 | กราฟแสดงจำนวนแคลลัสที่เกิดยอดระหว่างแคลลัสสดและแคลลัสแห้งของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์ | 52 |
| 4.14 | กราฟแสดงความเข้มข้นของไฟทาเจลในการชักนำแคลลัสสดและแคลลัสแห้งให้เกิดยอดของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์ | 52 |
| 4.15 | ลักษณะการพัฒนาเป็นยอดของข้าวสายพันธุ์น้ำรู เมื่อเพาะเลี้ยงที่เวลา 2 สัปดาห์ (ก) 4 สัปดาห์ (ข) 6 สัปดาห์ (ค) และลักษณะการพัฒนาเป็นยอดจำนวนมาก (ง,จ) | 53 |
| 4.16 | กราฟแสดงจำนวนแคลลัสที่เกิดยอดระหว่างแคลลัสสดและแคลลัสแห้ง ของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์ | 58 |
| 4.17 | กราฟแสดงความเข้มข้นของไฟทาเจลในการชักนำแคลลัสสดและแคลลัสแห้งให้เกิดยอดของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์ | 58 |
| 4.18 | ลักษณะการพัฒนาเป็นยอดของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ เมื่อเพาะเลี้ยงที่เวลา 2 สัปดาห์ (ก) 4 สัปดาห์ (ข) 6 สัปดาห์ (ค) และลักษณะการพัฒนาเป็นยอดจำนวนมาก (ง,จ) | 59 |
| 4.19 | กราฟแสดงจำนวนแคลลัสที่เกิดยอดระหว่างแคลลัสสดและแคลลัสแห้งของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์ | 65 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป (ต่อ)


| รูปที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 4.20 | กราฟแสดงความเข้มข้นของไฟทาเจลในการชักนำแคลลัสสดและแคลลัสแห้งให้เกิดยอดของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์ | 65 |
| 4.21 | ลักษณะการพัฒนาเป็นยอดของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ เมื่อเพาะเลี้ยงที่เวลา 2 สัปดาห์ (ก) 4 สัปดาห์ (ข) 6 สัปดาห์ (ค) และลักษณะการพัฒนาเป็นยอดจำนวนมาก (ง,จ) | 66 |
| 4.22 | กราฟแสดงจำนวนแคลลัสที่เกิดยอดระหว่างแคลลัสสดและแคลลัสแห้งของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์ | 72 |
| 4.23 | กราฟแสดงความเข้มข้นของไฟทาเจลในการชักนำแคลลัสสดและแคลลัสแห้งให้เกิดยอดของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์ | 72 |
| 4.24 | ลักษณะการพัฒนาเป็นยอดของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 เมื่อเพาะเลี้ยงที่เวลา 2 สัปดาห์ (ก) 4 สัปดาห์ (ข) 6 สัปดาห์ (ค) และลักษณะการพัฒนาเป็นยอดจำนวนมาก (ง,จ) | 73 |
| 4.25 | กราฟแสดงค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์น้ำรูที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน | 76 |
| 4.26 | กราฟแสดงค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน | 78 |
| 4.27 | กราฟแสดงค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน | 80 |
| 4.28 | กราฟแสดงค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว สูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน | 82 |
| 4.29 | กราฟแสดงจำนวนแคลลัสที่เกิดยอดระหว่างแคลลัสสดและแคลลัสแห้งของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อจากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์ | 89 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป (ต่อ)


| รูปที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 4.30 | กราฟแสดงความเข้มข้นของไฟทาเจลในการชักนำแคลลัสสดและแคลลัสแห้งให้เกิดยอดของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อจากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์ | 89 |
| 4.31 | ลักษณะการพัฒนาเป็นยอดของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ จากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย เมื่อเพาะเลี้ยงที่เวลา 2 สัปดาห์ (ก) 4 สัปดาห์ (ข) 6 สัปดาห์ (ค) และลักษณะการพัฒนาเป็นยอดจำนวนมาก (ง,จ) | 90 |
| 4.32 | กราฟแสดงจำนวนการเกิดรากเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์น้ำรู เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ | 94 |
| 4.33 | กราฟแสดงความยาวรากเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์น้ำรู เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ | 94 |
| 4.34 | การเกิดรากของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ | 95 |
| 4.35 | กราฟแสดงจำนวนการเกิดรากเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ | 98 |
| 4.36 | กราฟแสดงความยาวรากเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ | 98 |
| 4.37 | การเกิดรากของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ ในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ | 99 |
| 4.38 | กราฟแสดงจำนวนการเกิดรากเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ | 102 |
| 4.39 | กราฟแสดงความยาวรากเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ | 102 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป (ต่อ)


| รูปที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 4.40 | การเกิดรากของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ ในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ | 103 |
| 4.41 | กราฟแสดงจำนวนการเกิดรากเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ | 106 |
| 4.42 | กราฟแสดงความยาวรากเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ | 106 |
| 4.43 | การเกิดรากของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบ ด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ | 107 |
| 4.44 | ลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอของคู่ไพรเมอร์เอสอาร์เอพี 15 คู่ไพรเมอร์ S1-S15; ME1 EM1 ME1 EM2 ME1 EM3 ME1 EM4 ME1 EM5 ME1 EM6 ME2 EM1 ME2 EM2 ME2 EM3 ME2 EM4 ME2 EM5 ME2 EM6 ME3 EM1 ME3 EM2 ME3EM3 ตามลำดับ | 110 |
| 4.45 | ลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอของคู่ไพรเมอร์เอสอาร์เอพี 15 คู่ไพรเมอร์ S16-S30; ME3EM4 ME3EM5 ME3EM6 ME4EM1 ME4EM2 ME4EM3 ME4EM4 ME4EM5 ME4EM6 ME5EM1 ME5EM2 ME5EM3 ME5EM4 ME5EM5 ME5EM6 ตามลำดับ | 110 |
| 4.46 | แสดงลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ของต้นควบคุม ต้นข้าวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS จำนวน 7 ต้น และต้นข้าวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB จำนวน 7 ต้น ในข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ที่ได้จากคู่ไพรเมอร์ ME1EM4 | 111 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ข้าวเป็นธัญพืชที่มีความสำคัญมากเนื่องจากเป็นอาหารหลักที่ใช้ในการบริโภคของประชากรพบในหลายประเทศของทวีปเอเชียที่มีพื้นที่เหมาะสมสำหรับการเพาะปลูกพืชที่ใช้ดินเพื่อการเกษตร รวมทั้งในประเทศไทยที่มีการเพาะปลูกข้าวอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศ นอกจากประเทศไทยแล้ว ประเทศเพื่อนบ้านที่มีลักษณะทางด้านภูมิศาสตร์ และสภาพอากาศคล้ายประเทศไทยก็ทำการเพาะปลูกข้าว เช่น พม่า ลาว กัมพูชา เวียดนาม อินเดีย แอฟริกา และอเมริกาใต้ ส่วนประเทศที่มีสภาพอากาศที่หนาวเย็นมากในฤดูหนาว เช่น สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น จะเลือกเพาะปลูกข้าวเฉพาะในฤดูร้อนเท่านั้น แม้หลายประเทศทั่วโลกทำการเพาะปลูกข้าวแต่เนื่องจากจำนวนประชากรที่มากทำให้ปริมาณข้าวที่เพาะปลูกไม่เพียงพอต่อการบริโภคภายในประเทศจึงจำเป็นต้องมีการนำเข้าข้าวจากประเทศอื่นๆ (ประพาส, 2531)

ในอดีตประเทศไทยมีความสมบูรณ์มากฝนตกตามฤดูกาล มีพื้นที่เพาะปลูกมาก จำนวนปริมาณผลผลิตทางการเกษตรมากเพียงพอต่อความต้องการบริโภคของประชากรทั้งยังสามารถส่งออกข้าวไปขายต่างประเทศได้ผลกำไรดีและนำรายได้เข้าประเทศปีละหลายล้านบาทถือว่ามีบทบาทและความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจของประเทศในทางหนึ่ง แต่ปัจจุบันต้องประสบปัญหาทางด้านสภาพอากาศและสภาพแวดล้อมที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งปัญหาความแห้งแล้ง การลดลงของพื้นที่ทางการเกษตรเพราะถูกเปลี่ยนเป็นสิ่งปลูกสร้าง อาคารบ้านเรือน ทำให้มีปัญหาในการเพาะปลูกเกษตรกรจึงต้องไปทำอาชีพอื่นแทน นอกจากนี้ยังพบปัญหาเกี่ยวกับการเพาะปลูกข้าวบนที่สูงที่ถึงแม้จะไม่มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจของประเทศ แต่เกษตรกรกลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ ที่อาศัยอยู่บนที่สูงยังคงมีความจำเป็นในการปลูกข้าวไว้บริโภคทั้งข้าวไร่และข้าวนา เพราะข้าวเป็นพืชอาหารหลักที่สำคัญของกลุ่มชาติพันธุ์ต่างๆ และในปัจจุบันยังคงมีการขาดแคลนข้าวบริโภคในครัวเรือนแทบทุกชุมชน ทำให้พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวฯ และสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถทรงมีพระราชดำริให้จัดตั้งโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริในพื้นที่สูงต่างๆ เพื่อช่วยบรรเทาทุกข์แก่ราษฎรอยู่เสมอ (สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว)

ปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าวิจัยทางด้านเทคโนโลยีการปรับปรุงพันธุ์พืช และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมากขึ้น เพราะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายทาง เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อถือเป็นองค์ประกอบสำคัญที่มีศักยภาพทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพที่ไม่เพียงแต่จะใช้ในการปรับปรุงสายพันธุ์ของพืชที่มีอยู่ แต่ยังสามารถปรับปรุงให้ได้พืชสายพันธุ์ใหม่ที่ให้ผลผลิตสูง ทนต่อโรค แมลง สภาวะเครียด และอุณหภูมิ (Tariq *et al.*, 2008) และข้าวถือเป็นพืชที่มีการศึกษาทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออย่างกว้างขวาง ทุกส่วนของต้นข้าวสามารถนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ เช่น ช่อดอก (Chou

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*et al.*, 1983) อับละอองเรณู (Rout and Sarna, 1986) และเมล็ด (Nishi *et al.*, 1968) เป็นต้น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในข้าวประกอบไปด้วยการชักนำให้เกิดแคลลัส และการชักนำให้เกิดต้นถือเป็นรากฐานที่สำคัญในการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของพืชให้ประสบความสำเร็จ (Li *et al.*, 2007) การชักนำให้เกิดแคลลัส และการชักนำให้เกิดต้นจะประสบผลสำเร็จได้ขึ้นอยู่กับปัจจัยจากหลายด้านทั้งชิ้นส่วนของพืช แหล่งคาร์โบไฮเดรต สารควบคุมการเจริญเติบโต อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง สภาวะในการเพาะเลี้ยง ปัจจัยทางชีวภาพและทางเคมีอื่นๆ เช่น กรดอะมิโนที่มีผลต่อการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอ และการเกิดออร์แกโนเจเนซิส (Deo *et al.*, 2010) รวมถึงพันธุ์ข้าวก็เป็นหนึ่งในปัจจัยที่มีความสำคัญอันดับแรกในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตข้าวโดยไม่ต้องเพิ่มต้นทุนการผลิต หากมีพันธุ์ข้าวที่ให้ผลผลิตสูง มีคุณภาพตรงกับความต้องการของตลาด มีความต้านทานต่อโรค แมลง และมีความเหมาะสมกับสภาพแวดล้อมในแต่ละท้องถิ่น จะถือเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการผลิตข้าว หรือเป็นการลดต้นทุนการผลิตข้าวได้เป็นอย่างดี (สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว)

ตามรายงานการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ทำในข้าวทั้งการชักนำให้เกิดแคลลัส การชักนำให้เกิดต้น การเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย หรือแม้กระทั่งการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบต่างๆ มีรายงานมากมายในข้าวหลากหลายสายพันธุ์ Wani *et al.* (2011) ศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ PAU201 โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร โพรลีน 560 มิลลิกรัมต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ความเข้มข้น 1.5 2.0 2.5 3.0 และ 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kin ความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์ในการชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด 44.4 เปอร์เซ็นต์ ต่อมาได้ทำการศึกษาการชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่โดยเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1.0 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร Kin ความเข้มข้น 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เกิดเป็นต้นใหม่โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่สูงสุด 42.5 เปอร์เซ็นต์ Yinxia and Te-chato (2013) ศึกษาการชักนำให้เกิดต้นในข้าวพันธุ์พื้นเมืองทางภาคใต้สายพันธุ์หอมกระดังงาจากเอ็มบริโอเจนิกแคลลัส โดยเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน คือ MS N6 ARDA ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA Kin และ BA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน แหล่งคาร์โบไฮเดรต แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน อีกทั้งทำการทดสอบความเข้มข้นของไฟทาเจลที่แตกต่างกันในอาหาร ผลที่ได้พบว่าอาหารสูตร ARDA ที่ประกอบด้วย NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร Kin ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ซอร์บิทอล 82 มิลลิโมลาร์ เคซีนไฮโดรไลเซต 1 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจลความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิดต้นได้สูงสุดถึง 75 เปอร์เซ็นต์ Kumar *et al.* (2014) ศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัส และการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสในข้าวสายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kitaake โดยการชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โพรลีน 0.6 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 3 กรัมต่อลิตร จากนั้นนำเอ็มบริโอเจนิกแคลลัสไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่ช่วยในการชักนำให้เกิดต้นสูตรอาหาร MS ประกอบไปด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และวุ้น 8 กรัมต่อลิตร ร่วมกับไฟทาเจล 2 กรัมต่อลิตร พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ในการเกิดต้นสูงถึง 82.66 เปอร์เซ็นต์ และ Ghobeishavi *et al.* (2015) ศึกษาผลของปัจจัยต่างๆ ประกอบไปด้วย Polyethylene glycol (PEG) ซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) และน้ำตาลซูโครส ในข้าวสายพันธุ์ Dom siah และ Nemat ทำการชักนำให้เกิดแคลลัสโดยเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบไปด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และวุ้นความเข้มข้น 7 กรัมต่อลิตร ผลที่ได้พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างข้าวสองสายพันธุ์ในการชักนำให้เกิดแคลลัส จากนั้นนำแคลลัสที่ได้ย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่ทำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิส และสูตรอาหารที่สามารถทำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิสได้มากที่สุดคือ อาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร วุ้น 9 กรัมต่อลิตร และ PEG 20 กรัมต่อลิตร ซึ่งการชักนำให้เกิดต้นของข้าวทั้งสองสายพันธุ์ให้ผลสูงสุดจากการเพาะเลี้ยงแคลลัสในอาหารสูตร MS ที่ประกอบไปด้วยวุ้น 9 และ 11 กรัมต่อลิตร และ $AgNO_3$ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากงานวิจัยดังกล่าวจึงมีความสนใจนำขั้นตอนการศึกษาจากตัวอย่างงานวิจัยข้างต้นมาประยุกต์ใช้ในการศึกษาครั้งนี้โดยทำการหาสูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเมล็ดข้าว และพัฒนาแคลลัสที่ได้ให้เป็นต้นข้าวใหม่ที่สมบูรณ์ ทำการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นข้าวที่ได้จากการชักนำให้เป็นต้นใหม่โดยเทคนิคเอสอาร์เอพี เพื่อตรวจสอบลักษณะทางพันธุกรรมของต้นข้าวที่ผ่านกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของข้าวสายพันธุ์นั้นๆ เพื่อเป็นประโยชน์และแนวทางในการนำไปศึกษาต่อยอดด้านการปรับปรุงพันธุ์ข้าวแต่ละสายพันธุ์โดยวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเมล็ด

2) ศึกษาสูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดต้น

3) ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัส และระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย

4) ศึกษาสูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยให้เกิดต้น

5) ศึกษาสูตรอาหารเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำรากให้เหมาะสมต่อการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

6) การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยเทคนิค Sequence Related Amplified Polymorphism (SRAP)

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเมล็ดในข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ 105 การเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอย สูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เจริญเป็นต้นใหม่ ศึกษาการเกิดรากที่สมบูรณ์เพื่อให้เหมาะสมต่อการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ และการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นข้าวที่ได้จากการชักนำให้เจริญเป็นต้นใหม่โดยเทคนิคเอสอาร์เอพี

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ได้ข้อมูลพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั้งการชักนำให้เกิดแคลลัส การเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย และการชักนำแคลลัสให้เจริญเป็นต้นใหม่ ของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105

2) ผลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปศึกษาต่อยอดในการพัฒนาทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ของข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ทั้งในด้านการเพิ่มปริมาณผลผลิต ต้านทานต่อโรคและแมลง หรือทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรมการเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2
# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 ข้าว (ประภาส, 2531)

ตามพื้นที่ต่างๆ ทั่วโลก มีการจำแนกข้าวออกได้เป็นหลายพวก และในแต่ละประเทศที่มีการเพาะปลูกข้าวสามารถพบข้าวป่าซึ่งเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติหลายสปีชีส์ เช่น *Oryza spontanea* *Oryza perennis* *Oryza officinalis* และ *Oryza nivara* และเป็นที่ยอมรับกันว่าข้าวป่า *Oryza perennis* นั้นเป็นต้นตระกูลของข้าวที่เพาะปลูกกันในปัจจุบัน ได้แก่ *Oryza sativa* และ *Oryza glaberrima* ดังนั้น *Oryza perennis* อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในธรรมชาติ และได้ผ่านการคัดเลือกโดยธรรมชาติและมนุษย์จนได้เป็นพันธุ์ข้าวที่เพาะปลูกกันในปัจจุบัน

นักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นทำการศึกษาเกี่ยวกับข้าวชนิดต่างๆ พบว่าข้าว *Oryza sativa* ที่ปลูกกันในประเทศที่มีการเพาะปลูกข้าวนั้นยังสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 พวก คือ Japonica Javanica และ Indica โดยยึดตามลักษณะภายนอกของต้น เมล็ด และเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบของข้าวลูกผสมระหว่างข้าวทั้ง 3 ชนิดดังกล่าว (hybrid sterility) เป็นหลัก Japonica เป็นข้าวที่ปลูกมากในเขตอบอุ่น Javanica เป็นข้าวที่พบในประเทศอินโดนีเซียเท่านั้น และ Indica พบเป็นข้าวที่ปลูกในประเทศต่างๆ ในเขตร้อน ซึ่งส่วนใหญ่ข้าวที่ปลูกในประเทศไทยเป็นพวก Indica แบ่งออกเป็นข้าวเจ้าและข้าวเหนียว มีความแตกต่างกันในชนิดของแป้งที่รวมกันเป็นเอนโดสเปิร์ม หรือเนื้อเยื่อที่มีอาหารสะสมไว้สำหรับการเจริญเติบโตของเอ็มบริโอ เมล็ดข้าวเหนียวประกอบด้วยแป้งชนิด amylopectin เป็นส่วนใหญ่ ส่วนเมล็ดข้าวเจ้าประกอบด้วยแป้งชนิด amylose ประมาณ 15-30 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เมื่อมีการหุงสุกแล้วคุณภาพของข้าวเหนียวจึงเหนียวกว่าข้าวเจ้าในขณะที่ข้าวเจ้ามีความอ่อนนุ่ม

## 2.2 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษา

### 2.2.1 ข้าวสายพันธุ์น้ำรู

เป็นข้าวเจ้าพันธุ์ข้าวไร่ ได้จากการรวบรวมพันธุ์จากชาวไทยภูเขาเผ่าลีซอ บ้านน้ำรู ดอยสามหมื่น อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ มีความไวต่อช่วงแสงอย่างอ่อน ลักษณะลำต้นตรง สีเขียว ค่อนข้างแข็งไม่ล้มง่าย ทรงกอค่อนข้างแน่น แตกกอดี ใบยาว แผ่นใบกว้างปานกลาง กาบใบสีเขียว ระแง้ถี่ คอรวงยาว เมล็ดร่วงปานกลาง ส่วนใหญ่ไม่มีหาง แต่เมล็ดปลายระแง้อาจจะมีหางสั้นๆ เมล็ดข้าวเปลือกสีฟาง คุณภาพในการหุงต้มและรับประทานเมื่อสุก มีลักษณะร่วน นุ่ม สามารถปรับตัวได้ดีในที่ที่มีอากาศหนาวและบนที่สูงมากๆ มีความต้านทานต่อโรคเมล็ดด่างได้ดีในสภาพธรรมชาติ และค่อนข้างต้านทานต่อโรคไหม้ คณะกรรมการวิจัยและพัฒนากรมวิชาการเกษตร มีมติรับรองพันธุ์เมื่อวันที่ 20 กรกฎาคม 2530

(ที่มา: http://www.brrd.in.th/rkb/varieties/index.php-file=content.php&id=100.htm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.2.2 ข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้**

เป็นข้าวเหนียวพันธุ์ข้าวไร่ ได้รับการรวบรวมจากแปลงเกษตรกรบ้านโป่งไคร้ ตำบลโป่งแยง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ (SPTC80334) มีความไวต่อช่วงแสงอย่างอ่อน ลักษณะลำต้นตรงค่อนข้างแข็ง ไม่ล้มง่าย ลำต้นและข้อมีสีเขียว ทรงกอค่อนข้างแน่น แตกกอพอใช้ ใบสีเขียว ยาวเรียว มีขนเล็กน้อย รวงยาว ระแง้ถี่ปานกลาง เมล็ดมีรูปร่างป้อม และร่วงปานกลาง ไม่มีหาง เมล็ดข้าวเปลือกสีฟาง คุณภาพในการหุงต้มและรับประทานเมื่อสุก มีลักษณะค่อนข้างแข็ง แต่มีกลิ่นหอมเล็กน้อย เป็นพันธุ์ข้าวเหนียวที่ปรับตัวเข้ากับการปลูกบนที่สูงถึง 1,250 เมตร จากระดับน้ำทะเล มีความต้านทานต่อโรคไหม้ และโรคขอบใบแห้งปานกลาง คณะกรรมการวิจัยและพัฒนากรมวิชาการเกษตร มีมติรับรองพันธุ์เมื่อวันที่ 20 กรกฎาคม 2530

(ที่มา: http://www.brrd.in.th/rkb/varieties/index.php-file=content.php&id=96.htm)

**2.2.3 ข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ**

เป็นข้าวเจ้าพื้นเมืองพันธุ์ข้าวไร่ ที่คัดเลือกจากพันธุ์ข้าวไร่พื้นเมืองของชาวไทยภูเขาเผ่าลีซอ จังหวัดเชียงราย มีความไวต่อช่วงแสงอย่างอ่อน ลักษณะทรงกอตั้งตรง ลำต้นใหญ่ค่อนข้างแข็ง ลำต้นและข้อใบสีเขียว ใบค่อนข้างกว้างและยาว ข้อต่อระหว่างใบและกาบใบสีฟาง รวงยาว ระแง้ถี่ คอรวงโผล่พ้นใบธงพอดี เมล็ดร่างปานกลาง เมล็ดข้าวเปลือกสีฟาง คุณภาพในการหุงต้มและรับประทานเมื่อสุก มีลักษณะนุ่ม เหนียว สามารถปรับตัวได้ดีในสภาพไร่ทั่วไป โดยเฉพาะไร่ทางภาคเหนือตอนบน มีความต้านทานต่อโรคไหม้ และโรคหูด คณะกรรมการวิจัยและพัฒนากรมวิชาการเกษตร มีมติรับรองพันธุ์เมื่อวันที่ 20 กรกฎาคม 2530

(ที่มา: http://www.brrd.in.th/rkb/varieties/index.php-file=content.php&id=97.htm)

**2.2.4 ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105**

เป็นข้าวเจ้า ได้มาโดยนายสุนทร สีหะเนิน เจ้าพนักงานข้าว รวบรวมจากอำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา เมื่อ พ.ศ.2493-2494 จำนวน 199 รวง แล้วนำไปคัดเลือกแบบคัดพันธุ์บริสุทธิ์ (pure line selection) และนำมาปลูกเปรียบเทียบพันธุ์ที่สถานีทดลองข้าวโคกสำโรง แล้วปลูกเปรียบเทียบพันธุ์ในท้องถิ่น ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จนได้สายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 4-2-105 ซึ่งเลข 4 หมายถึง สถานที่เก็บรวงข้าว คืออำเภอบางคล้า เลข 2 หมายถึงพันธุ์ทดสอบที่ 2 คือ ขาวดอกมะลิ และเลข 105 หมายถึง แถวหรือรวงที่ 105 จากจำนวน 199 รวง ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 เป็นข้าวที่มีความไวต่อช่วงแสง ลำต้นสีเขียวจาง ใบสีเขียวยาวค่อนข้างแคบ ฟางอ่อน เมล็ดข้าวรูปร่างเรียวยาว ข้าวเปลือกสีฟาง คุณภาพในการหุงต้มและรับประทานเมื่อสุก มีลักษณะอ่อนนุ่ม มีกลิ่นหอม ลักษณะเด่นสามารถทนแล้งได้ดีพอสมควร เมล็ดข้าวสารใส แกร่ง คุณภาพการสีดี ทนต่อสภาพดินเปรี้ยว และดินเค็ม สามารถปลูกได้ดีในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือตอนบน คณะกรรมการการพิจารณาพันธุ์ ให้ใช้ขยายพันธุ์เป็นพันธุ์รับรอง เมื่อวันที่ 25 พฤษภาคม 2502

(ที่มา: http://www.brrd.in.th/rkb/varieties/index.php-file=content.php&id=19.htm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเริ่มมาจากการแยกเซลล์พืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์เพื่อต้องการศึกษาคุณสมบัติของเซลล์โดยนักพฤกษศาสตร์ชาวเยอรมัน Gottieb Haberlandt และต่อมาได้มีการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ได้มาจากการแยกเซลล์ของรากในพืชหลายชนิดในสภาพที่ปลอดเชื้อจนสามารถเพาะเลี้ยงอวัยวะของพืชได้หลายชนิดมากขึ้น ทำให้นับตั้งแต่นั้นเป็นต้นมาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงได้มีการพัฒนาต่อไปอย่างกว้างขวาง (รังสฤษดิ์, 2541) และในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมักประกอบไปด้วยปัจจัยในหลายด้านดังนี้

### 2.3.1 สภาวะแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงพืชในหลอดทดลอง มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกันทั้งปัจจัยทางด้านเคมี และปัจจัยทางด้านกายภาพ เช่น ในการเพาะเลี้ยงแคลลัสพบว่าเกือบทุกชิ้นส่วนของพืชจากอวัยวะต่างๆ สามารถนำมาชักนำให้เกิดแคลลัสได้ โดยทั่วๆ ไปนิยมใช้เนื้อเยื่อจากการเพาะเมล็ดให้เกิดส่วนของยอด ใบอ่อน และราก ในสภาพที่ปลอดเชื้อ เพราะเมล็ดถือเป็นแหล่งที่ดีที่สุดในการนำมาเป็นชิ้นส่วนของพืชเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงเป็นแคลลัส เนื่องจากเมล็ดสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้โดยตรง (รังสฤษดิ์, 2541) และยังพบปัจจัยที่ส่งผลต่อการเพาะเลี้ยงด้วยเช่นกัน ทั้งปัจจัยทางด้านขนาดและรูปร่าง สารควบคุมการเจริญเติบโตโดยส่วนใหญ่จะนิยมใช้ออกซิน Raina (1989) รายงานว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซินที่มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในข้าว แต่อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของ 2,4-D ที่มีความเหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสต้องขึ้นอยู่กับชิ้นส่วน และจีโนไทป์ที่แตกต่างกันของพืชด้วย ซึ่งจีโนไทป์และองค์ประกอบของสารอาหารถือเป็นแหล่งที่สำคัญเกี่ยวกับการกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง (Khunna and Raina, 1998) เช่นเดียวกับ Chen *et al.* (1974) กล่าวว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D มีบทบาทสำคัญในการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าว บางงานวิจัยพบว่าเมื่อใช้ไซโตไคนินร่วมด้วยในความเข้มข้นที่มีอัตราส่วนเท่ากันจะช่วยพัฒนาให้เกิดแคลลัสได้ดี นอกจากนี้ยังมีปัจจัยเกี่ยวกับธาตุอาหารซึ่งอาจต้องมีการเพิ่มอาหารเสริมและแหล่งคาร์บอนเพื่อกระตุ้นการเกิดแคลลัส รวมถึงปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะแสงในการเพาะเลี้ยงแคลลัสจะต้องการแสงปริมาณน้อยหรือไม่ใช้เลย (เลี้ยงในที่มืด) และลักษณะของอาหารแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารแข็งมักจะเจริญเติบโตได้ช้าและน้อยกว่าที่เลี้ยงในอาหารเหลว เพราะพื้นที่ผิวสัมผัสกับอาหารได้น้อยทำให้มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ (รังสฤษดิ์, 2541)

การเพาะเลี้ยงแคลลัสในอาหารเหลว หรือการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยโดยนำแคลลัสที่มีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ มาเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีการเขย่าอยู่ตลอดเวลา อาหารที่ใช้มีองค์ประกอบเหมือนกับอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแคลลัส และแคลลัสที่นำมาใช้ควรมีความหนาแน่นของกลุ่มเซลล์มากพอที่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ดี เพราะถ้าขนาดเล็กมากเกินไปทำให้มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต โดยปกติถ้าต้องการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยให้มีการเจริญเติบโตที่ดีต้องทำการเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่ในการเพาะเลี้ยงบ่อยกว่าการเพาะเลี้ยงแคลลัส ในขณะเดียวกันก็มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีวัดการเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอยที่ทำการเพาะเลี้ยงเพื่อตรวจดูประสิทธิภาพของสูตรอาหารและเทคนิคที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง สามารถตรวจสอบได้หลายวิธี เช่น การวัดปริมาตรของเซลล์ที่ผ่านการตกตะกอน การนับจำนวนเซลล์ การหาน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของเซลล์ การตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ การใช้สีย้อม หรือการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนต์ เป็นต้น และในการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยโดยทั่วๆ ไปไม่ควรทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลานานเพราะอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมของพืชได้ง่าย (อนุรักษ์, 2550)

การชักนำให้เกิดต้นใหม่จากแคลลัส คือการนำแคลลัสที่ได้จากการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนต่างๆของพืช หรือแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย มาเพาะเลี้ยงในอาหารที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ช่วยในการชักนำให้เกิดต้น จากหลายงานวิจัยส่วนใหญ่พบเลือกใช้สารกลุ่มไซโทไคนิน เช่น BAP Zeatin 2iP และ Kinetin นอกจากนี้ยังพบปัจจัยอื่นที่ส่งผลต่อการชักนำให้เกิดต้น Yinxia and Te-chato (2013) กล่าวว่าสารที่ทำให้อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแข็งตัว หรือสารก่อเจล (gelling agent) มีบทบาทที่ช่วยในการชักนำแคลลัสตามด้วยการชักนำให้เกิดต้น และความเข้มข้นของไฟทาเจลที่เพิ่มขึ้นก็มีผลต่อการเพิ่มความถี่ในการเกิดต้นอีกด้วย Sahoo *et al.* (2011) กล่าวว่าความเข้มข้นของวุ้นที่เพิ่มมากขึ้นมีผลทำให้เกิดความเครียดในแคลลัสและทำให้แคลลัสมีการระเหยน้ำออกจากตัวแคลลัส ซึ่ง Wagiran *et al.* (2008) รายงานว่าแคลลัสที่ผ่านการทำให้แห้งหรือทำให้น้ำระเหยออกจากแคลลัสมีผลต่อการเกิดเอ็มบริโอเจเนซิส และการชักนำให้เกิดต้นใหม่ในข้าว ในขณะเดียวกัน Lai and Liu (1988) เคยรายงานว่าการลดปริมาณของน้ำที่อยู่ในแคลลัส และการเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นถือเป็นหนึ่งในปัจจัยที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นในแคลลัสของข้าวเช่นกัน อย่างไรก็ตาม Makerly *et al.* (2012) กล่าวว่าระดับการสูญเสียน้ำ และระยะเวลาที่ใช้ในการทำให้แคลลัสแห้งมีความแตกต่างกันในข้าวแต่ละสายพันธุ์ และเมื่อทราบระดับที่เหมาะสมในการระเหยน้ำออกจากแคลลัสหรือการทำให้แคลลัสแห้งจะส่งผลดีและเป็นประโยชน์ต่อการชักนำให้เกิดต้นในข้าวแต่ละสายพันธุ์ได้

**2.3.2 อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช** (Dharamvir, 2007)

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์พืชในหลอดทดลองจะต้องมีการเสริมแร่ธาตุที่จำเป็นต้องใช้ในการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช ประกอบไปด้วยองค์ประกอบพื้นฐานทั้งหมด 2 อย่าง คือ

1) ธาตุอาหารจำเป็น (essential elements) เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพืชซึ่งหากขาดธาตุนั้นไปพืชก็ไม่สามารถเจริญเติบโตจนครบวงจรชีวิตได้ ประกอบไปด้วย ธาตุอาหารหลัก (macroelements) เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณมาก คือ N P K Ca Mg S และธาตุอาหารรอง (microelements) เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณน้อย คือ Fe Mn Zn Cu B Mo และ Cl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) อาหารเสริมอินทรีย์ (organic supplement) ซึ่งประกอบไปด้วยวิตามิน กรดอะมิโน สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช สารที่เป็นแหล่งคาร์บอนส่วนใหญ่เป็นสารประกอบพวกน้ำตาลต่างๆ และสารประกอบอินทรีย์อื่นๆ

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์พืชมักเตรียมโดยการรวมองค์ประกอบหลายๆ อย่างที่แตกต่างกันเข้าด้วยกัน เพราะคุณสมบัติของธาตุอาหารแต่ละชนิดมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืชแตกต่างกัน

**2.3.3 สารควบคุมการเจริญเติบโต**

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชถือเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในอาหารเพาะเลี้ยงพืชที่กำหนดกระบวนการในการพัฒนาของเซลล์พืช สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่นิยมใช้กันมากที่สุดคือฮอร์โมนของพืชที่พืชสามารถผลิตได้เองและสารสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติในการทำหน้าที่ได้คล้ายกันกับฮอร์โมนที่พืชผลิตขึ้น สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสามารถแบ่งได้ดังนี้ ออกซิน (auxin) ไซโตไคนิน (cytokinins) จิบเบอเรลลิน (gibberellins) กรดแอบไซซิก (abscisic acid) และเอทิลีน (ethylene)

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน ไซโตไคนิน และจิบเบอเรลลิน เป็นกลุ่มที่ส่งผลต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโต ทำให้มีการแบ่งเซลล์และการยืดตัวของเซลล์ ส่วนกรดแอบไซซิก เป็นตัวที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช ทำให้พืชทนต่อสภาวะเครียดต่างๆได้ดี และเอทิลีน เป็นฮอร์โมนพืชที่มีสภาพเป็นก๊าซที่อุณหภูมิห้อง มีผลต่อการควบคุมกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืช (Dharamvir, 2007) ซึ่งสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชส่วนใหญ่ คือ

2.3.3.1 ออกซิน (auxin)

ออกซิน มีหน้าที่ในการส่งเสริมทั้งด้านการแบ่งเซลล์และการเจริญเติบโตของเซลล์ ออกซินที่เกิดขึ้นในธรรมชาติคือ IAA (indole-3-acetic acid) แต่มีการใช้ในปริมาณที่จำกัดเมื่อนำมาใช้ในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์พืชเพราะเกิดจากความไม่เสถียรทั้งจากความร้อนและแสง

ดังนั้นจึงมีการใช้สารสังเคราะห์ที่มีความเสถียรและมีคุณสมบัติคล้ายกับ IAA ในอาหารเพาะเลี้ยง ได้แก่ 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) เป็นสารกลุ่มออกซินที่มีประสิทธิภาพและนิยมใช้กันมาก นอกจากนี้ยังมีสารตัวอื่นๆ ในกลุ่มออกซิน เช่น 2,4,5-T (2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid) Dicamba (2-methoxy-3,6-dichlorobenzoic acid) IBA (indole-3-butyric acid) NAA (1-naphthylacetic acid) และ Picloram (4-amino-2,4,6-trichloropicolinic acid) เป็นต้น ซึ่งสารบางตัวอาจมีประสิทธิภาพหรือศักยภาพที่มากกว่า 2,4-D ในบางกรณี จากการศึกษาของ Terjo-Tapia *et al.* (2002) พบว่าการเลือกใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินร่วมกัน (NAA และ 2,4-D) มีผลทำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าการเลือกใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินเพียงชนิดเดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3.2 ไซโทไคนิน (cytokinins)

ไซโทไคนิน มีหน้าที่ในการส่งเสริมด้านการแบ่งเซลล์ ไซโตไคนินที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติเป็นสารประกอบกลุ่มใหญ่ที่เกี่ยวข้องกับระบบโครงสร้าง (เป็นอนุพันธุ์พิวรีน) ไซโตไคนินที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติบางชนิดถูกใช้ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น Zeatin (4-hydroxy-3-methyl-trans-2-butenylaminopurine) นอกจากนี้ยังมีสารที่สังเคราะห์ขึ้นมา เช่น Kinetin (6-furfurylaminopurine) BAP (6-benzylaminopurine) และ 2iP (2-isopentyl adenine) ซึ่งการใช้งานของ Zeatin และ 2iP ยังไม่เป็นที่แพร่หลายเนื่องจากสารทั้งสองชนิดนี้มีราคาค่อนข้างแพง โดยเฉพาะ Zeatin และยังค่อนข้างไม่มีความเสถียรในการใช้งาน

สารสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติคล้ายกันอย่าง Kinetin และ BAP จึงถูกนำมาใช้อยู่บ่อยครั้ง กลุ่มสารเคมีที่ไม่มีเบสนิวรีน เช่น phenylureas ถูกใช้เป็นสารในกลุ่มไซโตไคนินในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์พืช ซึ่ง phenylureas ยังสามารถใช้แทนสารในกลุ่มออกซินในกระบวนการเพาะเลี้ยงบางอย่างได้ด้วย

โดยทั่วไปเมื่อพูดถึงเกี่ยวกับสารควบคุมการเจริญเติบโตและการนำมาใช้ในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์พืช ได้มีการเริ่มต้นในปี 1950 และพัฒนามาเรื่อยๆ แต่ก็ยังมีการคาดคะเนถึงผลบางประการที่ได้รับจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช อาจเป็นเพราะมีความแตกต่างกันมากในการตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงระหว่างชนิด สายพันธุ์ และแม้กระทั่งพืชพันธุ์เดียวกันที่ปลูกภายใต้เงื่อนไขที่แตกต่างกัน

และก็มีอีกหนึ่งหลักการที่ได้กลายมาเป็นตัวอย่างซึ่งยึดเป็นหลักในระบอบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ว่า ออกซินและไซโตไคนินเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชส่วนใหญ่ที่ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และมักถูกนำมาใช้ร่วมกัน อัตราส่วนที่แตกต่างกันระหว่างออกซินต่อไซโตไคนิน ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของแคลลัส ถ้าอัตราส่วนมีความเท่ากันมีผลทำให้เกิดการพัฒนาไปเป็นแคลลัส แต่หากอัตราส่วนของออกซินต่ำกว่าไซโตไคนินมีผลให้เกิดการเจริญไปเป็นยอด และถ้าอัตราส่วนของออกซินสูงกว่าไซโตไคนินมีผลทำให้เกิดการเจริญไปเป็นราก ซึ่งอัตราส่วนที่แตกต่างกันระหว่างออกซินต่อไซโตไคนิน จึงถูกใช้เพื่อเป็นตัวกำหนดประเภทและลักษณะของการเพาะเลี้ยงที่เกิดขึ้น เช่นเดียวกับ Ramesh *et al.* (2009) พบว่าบทบาทของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน เช่น BAP ในการชักนำให้เกิดต้นพบได้ในหลายงานวิจัย แต่ผลกระตุ้นที่ได้จาก BAP ร่วมกับ NAA มีการรายงานว่าช่วยส่งเสริมในการชักนำให้เกิดต้นได้ดีในการเพาะเลี้ยงจากแคลลัสของข้าว คล้ายกับ Karthikeyan *et al.* (2009) ได้กล่าวถึงการประสบความสำเร็จในการชักนำให้เกิดต้นผ่านเอ็มบริโอเจนิกแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันช่วยให้มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส แต่อย่างไรก็ตามไม่พบเปอร์เซ็นต์ในการเกิดต้นที่สูงขึ้นเมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นของ BAP และ NAA ให้มีความเข้มข้นสูงขึ้น แต่พบว่าที่ความเข้มข้นสูงๆ ช่วยในการชักนำให้เกิดเพียงแค่รากเท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.4 เครื่องหมายทางโมเลกุล

การนำเครื่องหมายทางโมเลกุลมาใช้ในการศึกษาด้านความหลากหลายในระดับพันธุกรรมและวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตถือเป็นเครื่องมือที่มีความสำคัญ (ธีระชัย, 2553) และยังพบว่ามีบทบาทสำคัญทางการเกษตรในปัจจุบันโดยเฉพาะในงานปรับปรุงพันธุ์เพื่อสร้างพืชพันธุ์ใหม่ให้ได้ลักษณะที่ตรงตามความต้องการ และมีผลผลิตสูงเป็นที่ต้องการของผู้ปลูก งานปรับปรุงพันธุ์พืชจึงมีความจำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่มีความแม่นยำในการคัดเลือกและแยกความแตกต่างของลักษณะที่แสดงออกของแต่ละสายพันธุ์ ก่อนหน้านี้งานปรับปรุงพันธุ์พืชได้มีการนำเครื่องหมายทางพันธุกรรมมาใช้ในการแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยอาศัยลักษณะรูปพรรณสัณฐานพืชที่มีความแตกต่างกันมาใช้เป็นเครื่องหมาย เช่น ความสูง ลักษณะทรงพุ่ม สีของลำต้น ขนาดรูปร่างและสีของเมล็ด เป็นต้น กิตติยา (2554) กล่าวว่าแม้ว่าลักษณะทางสัณฐานเป็นวิธีที่ใช้แยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์พืชได้ง่ายและสะดวกในการศึกษาแต่มีข้อจำกัดในด้านผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการแสดงออกโดยพบว่าลักษณะดังกล่าวมักเกิดการเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม ส่งผลให้เกิดความผิดพลาดในการแยกความแตกต่างของสายพันธุ์ได้ นอกจากนี้การเปรียบเทียบลักษณะภายนอกนี้ยังไม่สามารถแยกความแตกต่างของสายพันธุ์พืชบางชนิดที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้ ดังนั้นจึงมีการใช้เครื่องหมายด้านโมเลกุลมาช่วยในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมเนื่องจากเป็นการศึกษาการแสดงออกของยีนโดยตรงไม่มีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง ในพืชแต่ละชนิดแต่ละสายพันธุ์ มีการจัดเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอที่เป็นเอกลักษณ์ และความแตกต่างกันของลำดับเบสในโมเลกุลจึงทำให้เกิดความแตกต่างหรือโพลีมอร์ฟิซึม (polymorphisms) ของสิ่งมีชีวิต ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลได้ โดยการใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายในการบ่งบอกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตทำได้โดยการเปรียบเทียบลักษณะของดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ โดยเทคนิคทางอณูวิทยาซึ่งเป็นที่รู้จักกันโดยทั่วไปว่า “ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ” (DNA fingerprinting) ความแตกต่างที่เกิดขึ้น หมายถึงแบบแผนดีเอ็นเอที่จำเพาะของสิ่งมีชีวิตหนึ่งๆ สามารถนำมาตรวจสอบความแตกต่างหรือโพลีมอร์ฟิซึมของสิ่งมีชีวิตหรือสายพันธุ์พืชที่ต้องการตรวจสอบได้ (สุรีพร, 2546)

เครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA; RAPD) พบนิยมใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าว เนื่องจากไพรเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์ไม่เฉพาะเจาะจงกับดีเอ็นเอบริเวณใดบริเวณหนึ่งบนโครโมโซมของพืชที่ต้องการตรวจสอบ และความแตกต่างหรือโพลีมอร์ฟิซึมของอาร์เอพีดี มักเกิดในลักษณะมีและไม่มีแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่งๆ โดยแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจะแสดงการข่มต่อการไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ เครื่องหมายอาร์เอพีดีจึงจัดเป็น “dominant marker” จึงไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างพวกที่เป็นโฮโมไซโกต และเฮเทอโรไซโกตได้ (Waugh and Powell, 1992; Staub and Serquen, 1996) และข้อดีของเทคนิคอาร์เอพีดีสามารถทำได้ง่าย รวดเร็ว และให้ข้อมูลได้มาก แต่มีข้อจำกัดในเรื่องการทำซ้ำ เนื่องจากบางครั้งให้ผลที่ต่างจากเดิม และปฏิกิริยาพีซีอาร์สำหรับอาร์เอพีดี มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงได้ง่าย ดังนั้นจึงต้องระมัดระวังและควบคุมสภาพการทดลองให้คงที่ (สุรินทร์, 2545) นอกจากนี้ยังพบมีการนิยมใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์ (Simple Sequence Repeats; SSRs หรือ Microsatellites) ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวเหนียว (Park *et al.*, 2008; Sa *et al.*, 2010) เนื่องจากมีความคงตัวมีแถบดีเอ็นเอจำนวนมาก และมีโพลีมอร์ฟิกสูง แต่ต้องการไพรเมอร์ที่เหมาะสม ซึ่งทำให้ต้องใช้เวลาและค่าใช้จ่ายสูง (Xiao *et al.*, 2008) ในขณะที่เทคนิคเอสอาร์เอพี (Sequence-related amplified polymorphism; SRAP) เป็นเครื่องหมายโมเลกุลชนิดใหม่ที่ใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้ดีกว่าเทคนิค SSR ISSR หรือ RAPD (Budak *et al.*, 2004) สามารถทำได้ง่าย ใช้ระยะเวลาและค่าใช้จ่ายน้อยกว่า ไม่ต้องทราบข้อมูลลำดับเบสของพืชที่ต้องการศึกษา ตรวจสอบดีเอ็นเอได้ครั้งละหลายตำแหน่งพร้อมกัน สร้างแถบดีเอ็นเอได้มาก และมีความคงตัวสูงกว่าเทคนิคอื่นๆ (สุดารัตน์, 2554)

ดังนั้นจากคุณสมบัติดังกล่าวจึงเลือกใช้เครื่องหมายโมเลกุลเอสอาร์เอพีมาใช้ในการศึกษาลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นข้าวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในครั้งนี้

## 2.5 การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยเทคนิคเอสอาร์เอพี (SRAP)

เทคนิคเอสอาร์เอพีถูกใช้ครั้งแรกในการสร้างแผนที่ทางพันธุกรรมและเพื่อการบ่งชี้ยีนของ *Brassica oleracea* ในปี 2001 โดย Li และ Quiros เพื่อต้องการพัฒนาเทคนิคเครื่องหมายทางโมเลกุลอย่างง่ายขึ้น ใช้ในการเพิ่มขยายปริมาณชิ้นส่วนในส่วน open reading frames (ORFs) พิจารณาจากการเพิ่มขยายปริมาณชิ้นส่วนของไพรเมอร์ 2 ชนิด คือ ไพรเมอร์ฟอร์เวิร์ดที่มีขนาด 17 นิวคลีโอไทด์ และไพรเมอร์รีเวิร์สที่มีขนาด 18 นิวคลีโอไทด์ แต่ละไพรเมอร์ประกอบไปด้วยส่วนที่เป็นลำดับเบสหลัก (core sequence) มีขนาด 13 ถึง 14 เบส โดย 10 หรือ 11 เบสแรกที่เริ่มต้นทางด้านปลาย 5' เป็นลำดับของเบสที่ไม่มีความจำเพาะเรียกว่าลำดับเบสส่วนเติม (filler sequence) ตามด้วยลำดับเบส CCGG สำหรับไพรเมอร์ฟอร์เวิร์ด และ AATT สำหรับไพรเมอร์รีเวิร์ส และส่วนแกนมีลักษณะพิเศษ คือมีนิวคลีโอไทด์แบบคัดเลือกสามเบสอยู่ที่ปลาย 3' ลำดับของเบสส่วนเติมของไพรเมอร์ฟอร์เวิร์ดและรีเวิร์สจะต้องมีความแตกต่างกัน และในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอมี 2 ขั้นตอน คือรอบแรกใช้อุณหภูมิ annealing ต่ำที่ 35 องศาเซลเซียส เพื่อให้ไพรเมอร์จับกับดีเอ็นเอได้ดีแล้วเพิ่มอุณหภูมิ annealing ในรอบที่สองให้สูงขึ้นตามปกติอีก 30-35 รอบ และจากการทดลองของ Li and Quiros (2001) ที่ใช้เทคนิคเอสอาร์เอพีในการตรวจหาลำดับเบสในลูกผสมของ *Brassica oleracea* L. ระหว่างสายพันธุ์ดั้งเดิมและสายพันธุ์ที่เป็น double haploid พบว่าลำดับเบสที่หาได้มีความคล้ายกับลำดับเบสของยีนที่มีรายงานใน Genbank ถึง 45 เปอร์เซ็นต์

อีกทั้งเทคนิคเอสอาร์เอพี ให้แถบที่มีความแตกต่างกันสูงหรือที่เรียกว่า polymorphic band ไม่จำเป็นต้องทราบลำดับเบสของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการนำมาศึกษา และสามารถตรวจสอบดีเอ็นเอได้หลายตำแหน่งพร้อมกันในแต่ละครั้ง ทั้งยังสามารถทำได้ง่าย รวดเร็ว ค่าใช้จ่ายไม่สูง จากประสิทธิภาพของเทคนิคเอสอาร์เอพีดังที่กล่าวนี้ จึงได้มีการนำมาปรับใช้เพื่อศึกษาความหลากหลายของพืชหลากหลายชนิด (อภิชา และสิริพร, 2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.6.1 การศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัส

Isam *et al.* (2004) พบว่าพืชที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเพียงชนิดเดียว และที่ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA อัตราการเจริญเติบโตของแคลลัสสูงขึ้นตามความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และตามการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตร่วมกัน

Muhammad *et al.* (2008) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสและการชักนำให้เกิดต้น ในข้าวสายพันธุ์ Super-Basmati Basmati-370 Basmati-371 และ Fakhre-Malakand โดยในการชักนำให้เกิดแคลลัสทำการเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร MS และ N6 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งผลที่ได้ข้าวสายพันธุ์ Fakhre-Malakand เกิดแคลลัสสูงสุดในอาหารสูตร N6 ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และข้าวสายพันธุ์ที่เหลือเกิดแคลลัสสูงสุดในอาหารสูตร N6 ที่ 2,4-D ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากผลการทดลองที่ได้พบว่าอาหารสูตร N6 มีผลที่ช่วยในการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าอาหารสูตร MS ส่วนการชักนำให้เกิดต้นได้นำแคลลัสจากข้าวสายพันธุ์ Basmati-370 และ Basmati-371 ไปเพาะเลี้ยงต่อในอาหารสูตร N6 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ BAP ในอัตราส่วน 1: 2 1: 2.5 และ 1: 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์ในการชักนำให้เกิดต้นมากที่สุด 61 และ 69 เปอร์เซ็นต์ ในข้าวทั้งสองสายพันธุ์ตามลำดับ

Tariq *et al.* (2008) ทำการชักนำให้เกิดแคลลัสโดยเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสายพันธุ์ Super Basmati Basmati-370 Basmati-371 และ Fakhre Malakand ในอาหารสูตร MS และ N6 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าข้าวสายพันธุ์ Fakhre Malakand สามารถเกิดแคลลัสได้ดีที่สุดในอาหารสูตร N6 ที่ 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสูงสุดถึง 0.26 กรัม ในขณะที่ข้าวอีกสามสายพันธุ์สามารถเกิดแคลลัสได้ดีที่สุดในอาหารสูตร N6 ที่ 2,4-D ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำการศึกษาการชักนำให้เกิดต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ Basmati-370 และ Basmati-371 ในอาหารสูตร N6 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ BAP ผลที่ได้สามารถเกิดทั้งยอดและรากได้พร้อมกันซึ่งให้ผลดีเนื่องจากช่วยประหยัดทั้งเวลาและแรงงาน

Aadarsh *et al.* (2010) ทำการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวสายพันธุ์ Swarna masoori โดยเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 4 8 และ 16 มิลลิกรัมต่อลิตร สังเกตการเกิดแคลลัสสัปดาห์ที่ 2 ถึง 7 ผลที่ได้พบว่าที่สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากกว่า 2,4-D ความเข้มข้น 8 และ 16 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งส่งผลทำให้เกิดสีน้ำตาลในแคลลัสหลังจากสัปดาห์ที่ 3 และถึงแม้ว่าที่ 2,4-D ความเข้มข้น 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร จะชักนำให้เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคลลัสได้ดี แต่เมื่อนำแคลลัสไปเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารชักนำให้เกิดต้นสูตร MS ที่ประกอบด้วย Kin ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดเคซามิโน (casamino acid) 300 มิลลิกรัมต่อลิตร cefotaxime 50 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ซอร์บิทอล 10 กรัมต่อลิตร gelrite 2.5 กรัมต่อลิตร และในอาหารที่ชักนำให้เกิดรากประกอบไปด้วยอาหารสูตร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ gelrite 2.5 กรัมต่อลิตร แคลลัสที่สามารถนำมาชักนำให้เกิดต้นได้ดีได้จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนแคลลัสที่ได้จาก 2,4-D ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนใหญ่จะเกิดรากได้ดี

Rahman *et al.* (2010) ทำการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวสายพันธุ์ MR232 ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ NAA ร่วมกันในความเข้มข้นที่แตกต่าง พบว่าที่ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถนำมาใช้เป็นสูตรอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสได้เป็นอย่างดี ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงถึง 95 เปอร์เซ็นต์ และจากสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่มีการใช้ 2,4-D และ NAA ร่วมกันยังช่วยให้อัตราการเจริญเป็นแคลลัสสูงกว่าการใช้ 2,4-D เพียงอย่างเดียว

Shahsavari *et al.* (2010) ทำการชักนำแคลลัส และชักนำให้เกิดต้นในข้าวไร่มาเลเซีย ได้แก่ สายพันธุ์ Kusan Lamsan Selasi และ Siam บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตแตกต่างกัน ความถี่ในการชักนำให้เกิดแคลลัสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างสายพันธุ์เช่นเดียวกับการทดสอบความเข้มข้นที่แตกต่างกันของ 2,4-D ผลที่ได้ทุกสายพันธุ์แสดงความถี่ในการเกิดแคลลัสได้สูงสุดที่ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และหลังจากทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ในช่วงระยะเวลา 24 วัน พบว่าข้าวสายพันธุ์ Selasi มีการตอบสนองในการชักนำแคลลัสมากที่สุด แต่ในขณะเดียวกันในข้าวสายพันธุ์ Kusan และสายพันธุ์ Siam พบว่าแคลลัสเริ่มกลายเป็นสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด จากนั้นทำการย้ายแคลลัสที่ได้ไปเลี้ยงในอาหารที่ชักนำให้เกิดต้นในสูตรที่แตกต่างกัน ซึ่งความถี่ในการชักนำให้เกิดต้นพบมากที่สุดในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kin 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ความถี่ในการเกิดต้นพบมากที่สุดในข้าวสายพันธุ์ Selasi ตามด้วยข้าวสายพันธุ์ Lamsan ขณะที่ข้าวสายพันธุ์ Siam และ Kusan มีการตอบสนองต่อการชักนำให้เกิดต้นน้อยที่สุด จากการศึกษาในข้าวไร่ทั้งสี่สายพันธุ์พบว่า ข้าวสายพันธุ์ Selasi และ Lamsan เป็นสองสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการชักนำให้เกิดแคลลัส และในการชักนำให้เกิดต้นดีที่สุด

Zuraida *et al.* (2010) ศึกษาข้าวอินดิกาสายพันธุ์ MR232 ผ่านกระบวนการโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิสที่ได้จากเมล็ด โดยศึกษาสูตรอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ สูตรอาหารที่เหมาะสมประกอบไปด้วย อาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสูตรอาหารนี้ทำให้ปราศจากการเกิดสีน้ำตาลในแคลลัส และแสดงค่าเปอร์เซ็นต์ความถี่สูงในการชักนำให้เกิดแคลลัส 91 ถึง 97 เปอร์เซ็นต์ ความถี่ในการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอสูงสุด 87 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งได้โดยการเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอ็มบริโอเจนิกแคลลัสในอาหารที่มีกรดแอบไซซิก (abscisic Acid; ABA) ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ gelrite ที่ความเข้มข้น 9 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นทำการเลือกแคลลัสที่มีขนาดประมาณ 3 กรัม มาเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี ABA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร gelrite ความเข้มข้น 9 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ถึง 10 ยอดต่อโซมาติกเอ็มบริโอขนาด 3 กรัม

Rattana *et al.* (2012) ศึกษาผลของ 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 1.5 2 2.5 3 และ 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวสี่สายพันธุ์ ในอาหารสูตร NN (Nitsch and Nitsch, 1969) ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์ และ gelrite 4 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1 ให้ผลในการเกิดแคลลัสได้สูงที่สุดในอาหาร NN ที่ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดแคลลัสเฉลี่ย 1.06 เซนติเมตร น้ำหนักสดเฉลี่ย 0.35 กรัม และน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.07 กรัม

Sompornpailin and Chutipaijit (2012) ทำการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในอาหารสูตร NB พบว่าความเข้มข้นของ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีที่สุดในการชักนำให้เกิดแคลลัสถึง 92 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาด น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยมากสุด 7.55 มิลลิเมตร, 65 มิลลิกรัม และ 14 มิลลิกรัม ตามลำดับ และทำการศึกษาการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 โดยนำแคลลัสที่ไม่ผ่านการทำแห้ง และแคลลัสที่นำไปผ่านการทำแห้งเป็นเวลา 7 วัน มาทำการชักนำให้เกิดต้นในอาหารสูตร NB ที่ประกอบไปด้วย yeast extract 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร IAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ความเข้มข้น 3 4 5 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ BAP ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลในการชักนำให้เกิดต้นมากที่สุด และพบว่าแคลลัสที่ผ่านการทำให้แห้งให้ผลในการชักนำให้เกิดต้นเท่ากับ 13.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าแคลลัสที่ไม่ผ่านการทำให้แห้งที่ชักนำได้เพียง 6.67 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำสูตรอาหารนี้มาเติมวุ้นที่ความเข้มข้น 8 12 16 และ 18 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจลความเข้มข้น 4 5 6 และ 7 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบความเข้มข้นวุ้นและไฟทาเจล พบว่าไฟทาเจลความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจุดเขียวบนแคลลัสได้มากที่สุด 73.33 เปอร์เซ็นต์ และเกิดยอดได้สูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์

Bhuiyan *et al.* (2014) ชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ BRRI-dhan 52 และ FR13A ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดในข้าวทั้งสองสายพันธุ์ที่ 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ BRRI52 ได้มากที่สุดถึง 52 เปอร์เซ็นต์ และ 83 เปอร์เซ็นต์ ในข้าวสายพันธุ์ FR13A ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kin ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Roly *et al.* (2014) รายงานผลในการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวสายพันธุ์ Kalijira ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงถึง 97.22 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าที่ใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียวที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 90.22 เปอร์เซ็นต์

Mulherjee *et al.* (2015) ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวสายพันธุ์ BRRIdhan-29 BR-14 และ BINAdhan-8 ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 1.5 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีในข้าวทั้งสามสายพันธุ์ โดยให้ผลดีที่สุดในข้าวสายพันธุ์ BR-14 พบว่ามีน้ำหนักแคลลัสสูงสุด 87.50 มิลลิกรัม

Din *et al.* (2016) ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ Panderas ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดที่ 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยลักษณะแคลลัสที่ได้มีลักษณะเกาะกันแน่น (compact) ทรงกลม และมีสีเหลืองอ่อน

**2.6.2 การศึกษาการชักนำแคลลัสให้เกิดต้นใหม่**

Chand and Sahrawat (2001) รายงานว่าการทำให้แคลลัสแห้งในข้าวสายพันธุ์ Safari-17 และ Kasturi ที่เวลา 0 12 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง ก่อนย้ายแคลลัสไปเพาะเลี้ยงต่อในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้น พบว่าแคลลัสที่นำไปผ่านการทำแห้งช่วยเพิ่มความถี่ในการเกิดยอดและค่าเฉลี่ยของจำนวนยอดต่อแคลลัส และยังพบว่าแคลลัสที่ผ่านการทำแห้งจะช่วยเพิ่มให้เกิดยอดจำนวนมากได้อีกด้วย จากผลการทดลอง พบว่าข้าวสายพันธุ์ Kasturi มีความถี่ในการเกิดยอดสูงที่สุดจากแคลลัสที่ระเหยน้ำออกไป 51.4 เปอร์เซ็นต์ ใช้ระยะเวลา 48 ชั่วโมง ส่วนข้าวสายพันธุ์ Safari-17 ให้ผลในการเกิดยอดสูงสุดจากแคลลัสที่ระเหยน้ำออกไป 51.7 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และพบว่าที่เวลา 72 และ 96 ชั่วโมง ทำให้ความสามารถในการเกิดต้นลดลง จากผลทำให้ทราบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการทำให้แคลลัสแห้งต้องขึ้นอยู่กับข้าวแต่ละสายพันธุ์ด้วย

Lee *et al.* (2002) ศึกษาผลที่ช่วยในการชักนำให้เกิดต้นในข้าวสายพันธุ์ Dong-Jin, Hwa-Chung และ Nak-Dong เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kin ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการศึกษาร่วมกับความเข้มข้นของวุ้น พบว่าในสูตรอาหารที่มีวุ้นความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ พบการเกิดยอดเพียงเล็กน้อยแต่เมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นเป็น 1.3 และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ พบจำนวนการเกิดยอดเพิ่มมากขึ้นตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



Saharan *et al.* (2004) ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสในข้าวสายพันธุ์ HKR-126 และ HKR-46 โดยใช้เวลา 0 48 และ 72 ชั่วโมง ในการทำให้แคลลัสแห้ง และเปรียบเทียบจากอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง 6 สูตร พบว่าในระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีผลทำให้เกิดการชักนำให้เกิดต้นได้มากที่สุดในข้าวทั้งสองสายพันธุ์จากอาหารทั้งหมด 6 สูตร

Karthikeyan *et al* (2009) ได้กล่าวถึงความประสบความสำเร็จในการชักนำให้เกิดต้นผ่านเอ็มบริโอเจนิกแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันช่วยให้มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส แต่อย่างไรก็ตามจะไม่พบเปอร์เซ็นต์ในการเกิดต้นที่สูงขึ้นเมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นของ BAP และ NAA ให้มีความเข้มข้นสูงขึ้น แต่จะพบว่าที่ความเข้มข้นสูงๆ จะช่วยในการชักนำให้เกิดเพียงแค่รากเท่านั้นหลังจากทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน จึงทำให้พบว่าผลจากการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ร่วมกับ NAA นอกจากสามารถชักนำแคลลัสให้พัฒนาเป็นต้นใหม่ได้แล้วนั้นยังสามารถชักนำให้เกิดรากพร้อมกันอีกด้วย

Wani *et al.* (2011) ทำการศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ PR116 โดยเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kin ความเข้มข้น 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดต้นซึ่งพบเปอร์เซ็นต์ในการชักนำให้เกิดต้นได้สูงสุด 42.5 เปอร์เซ็นต์

Tiwari *et al.* (2012) ทำการชักนำให้เกิดต้นในข้าวสายพันธุ์ Pusa Basmati1 และ Kalanamak ในอาหารสูตร MS และ DI ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kin ความเข้มข้น 0.2 0.5 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร IAA ความเข้มข้น 0 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าข้าวสายพันธุ์ Pusa Basmati1 ให้เปอร์เซ็นต์ในการเกิดยอดสูงที่สุดในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA และ Kin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ข้าวสายพันธุ์ Kalanamak ให้เปอร์เซ็นต์ในการเกิดยอดสูงที่สุดในอาหารสูตร DI ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA, Kin และ IAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามพบว่าข้าวทั้งสองสายพันธุ์ให้เปอร์เซ็นต์ในการเกิดยอดสูงที่สุดในอาหารที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
143986

Toppo *et al.* (2014) ทำการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ IR64 โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ซึ่งพบว่าการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ในอาหารชักนำให้เกิดต้นมีความสำคัญในการชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสโดยพบเปอร์เซ็นต์การเกิดชักนำให้เกิดต้น 17.5 ถึง 67.5 เปอร์เซ็นต์ และทำการศึกษาการชักนำให้เกิดรากในข้าวสายพันธุ์ IR64 หลังจากทำการชักนำให้เกิดต้นโดยนำต้นข้าวที่ได้มาทำการเพาะเลี้ยงต่อในอาหารสูตร MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ารากที่ได้มีลักษณะเป็นเส้นหนาสีขาว มีความยาวเฉลี่ยสูง 11.7 เซนติเมตร และมีจำนวนรากโดยเฉลี่ยมากถึง 18.7 ราก

Rahman *et al.* (2015) ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดต้นในข้าวสายพันธุ์ MRQ74 MRQ80 และ MRQ50 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ได้รับความนิยมในมาเลเซียศึกษาในสองปัจจัยร่วมกัน โดยใช้วิธีการทางเคมีจากความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส และน้ำตาลมอลโตสความเข้มข้น 10 และ 30 กรัมต่อลิตร ในการทำให้แคลลัสแห้ง และทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นของ gelrite ที่ 6 และ 9 กรัมต่อลิตร ในการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส พบว่าน้ำตาลมอลโตส 30 กรัมต่อลิตร ช่วยทำให้แคลลัสแห้งมีการระเหยน้ำออกจากแคลลัสได้ดี และการใช้ gelrite ความเข้มข้น 9 กรัมต่อลิตร สามารถพัฒนาให้เกิดจุดเขียวบนแคลลัส และพัฒนาไปเป็นต้นได้

**2.6.3 การศึกษาการชักนำเซลล์แขวนลอยให้เกิดต้นใหม่**

Jain *et al.* (1996) ศึกษาปัจจัยในการเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นใหม่จากแคลลัสที่ได้จากเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์ Taipei309 Basmati385 IR43 และ Pasu-Basmati1 พบว่าเมื่อนำแคลลัสไปผ่านการทำให้แห้งก่อนนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นช่วยเพิ่มอัตราการชักนำให้เกิดต้นถึงสามเท่า และพบความถี่ในการชักนำให้เกิดต้นสูงสุดถึง 63 เปอร์เซ็นต์ ในข้าวสายพันธุ์ Pusa-Basmati1 หลังจากการนำไปผ่านการทำให้แห้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ทำการศึกษาปัจจัยในการเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นจากเดิม 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็น 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความถี่ในการเกิดต้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในข้าวทุกสายพันธุ์

อนุรักษ์ และนิตย์ศรี (2544) ทำการชักนำให้เกิดต้นใหม่จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 โดยทำการชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร เคซีนไฮโดรไลเซต 100 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร พบว่าในสูตรอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด จึงได้นำอาหารสูตรเดียวกันนี้มาใช้ในการเพาะเลี้ยงแคลลัสแบบเซลล์แขวนลอยโดยไม่เติมไฟทาเจลเพื่อให้เป็นอาหารเหลวโดยทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3-4 เดือน และทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 10-15 วัน เมื่อได้เซลล์แขวนลอยที่เหมาะสมจึงย้ายไปเลี้ยงในอาหารแข็งที่ชักนำให้เกิดต้นสูตร NB ที่ประกอบด้วยสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร Zeatin ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เคซีนไฮโดรไลเซต 100 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ไฟทาเจล ความเข้มข้น 2.6 และ 5.2 กรัมต่อลิตร พบว่าในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นที่ประกอบด้วย Zeatin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยกลายเป็นต้นใหม่ได้สูงสุดถึง 60 เปอร์เซ็นต์

Wagiran *et al.* (2008) ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยโดยนำแคลลัสที่เพาะเลี้ยงมาผ่านการทำให้แห้งเป็นเวลา 0 24 และ 48 ชั่วโมง ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารชักนำให้เกิดต้นในข้าว Japonica พบการเพิ่มขึ้นของยอดในการชักนำให้เกิดต้น สังเกตจากแคลลัสที่นำไปผึ่งแห้งในข้าวทุกสายพันธุ์ที่ทำการทดลอง ได้แก่ ข้าวสายพันธุ์ Nipponbare Hayahishiki และ Fujisaka5 โดยมีความถี่ในการชักนำให้เกิดต้นสูงถึง 76 70 และ 33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในแคลลัสที่ทำให้แห้งที่เวลา 48 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับที่เวลา 0 ชั่วโมง พบว่ามีความถี่ในการเกิดยอดต่ำเพียง 10 ถึง 16 เปอร์เซ็นต์

Khaleda and Al-forkan (2010) ทำการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์ HAJA-1 และ HAJA-8 ซึ่งไม่พบการเกิดต้นใหม่เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวุ้นความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ในข้าวทั้งสองสายพันธุ์ แต่เมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นจาก 0.4 เป็น 1 เปอร์เซ็นต์ พบความถี่ในการเกิดเป็นต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ HAJA-1 มากถึง 48 เปอร์เซ็นต์ และในข้าวสายพันธุ์ HAJA-8 สูงถึง 42 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทำให้พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นมากขึ้นมีผลต่อการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสได้

**2.6.4 การศึกษาการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย**

Kermanee (2004) ทำการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และสุพรรณบุรี1 ในอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำแคลลัสที่ได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวโดยทำการเปรียบเทียบสูตรอาหารทั้งหมดแปดสูตรเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย พบว่าอาหารสูตรที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยคืออาหารเหลวสูตร N6 ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำเซลล์แขวนลอยที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดต้น พบว่าในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สามารถเกิดต้นได้ 83.33 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี1 ที่สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ 68.71 เปอร์เซ็นต์

Wai-Leng and Lai-Keng (2004) ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของหญ้าหนวดแมวในอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร MS ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบระยะการเจริญเติบโตของแคลลัสช่วง lag phase ในช่วง 6 วันแรกจากการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพาะเลี้ยง และพบระยะ log phase ที่แคลลัสมีการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 18 จากค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดคือ 0.503 กรัม หลังจากนั้นการเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอยเริ่มเข้าสู่ระยะ stationary phase

ศรัณย์ และอนุรักษ์ (2551) เพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของหญ้าไนล์ในอาหารเหลวสูตร LS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลฟา-คีโตกลูตาริก 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร พบอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอยจากค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง พบว่ามีการเจริญเติบโตสูงสุดหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15-18 วัน

รัตนาภรณ์ และอนุรักษ์ (2554) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของถั่วท่าพระสไตโล (Stylosanthes guianesis CIAT 184) โดยการนำแคลลัสที่ได้จากใบเลี้ยงมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าเซลล์แขวนลอยมีการเจริญเติบโตสูงที่สุดในวันที่ 15 หลังการเพาะเลี้ยงเช่นกัน โดยมีน้ำหนักสด 0.6304 กรัมต่อ 25 มิลลิลิตร น้ำหนักแห้ง 0.0360 กรัมต่อ 25 มิลลิลิตรของอาหารเพาะเลี้ยง หลังการเพาะเลี้ยงมีช่วงระยะ log phase อยู่ระหว่างวันที่ 3-15 หลังการเพาะเลี้ยง

รัตนาภรณ์ (2556) นำแคลลัสที่ได้มาจากใบเลี้ยงของถั่วคาวาลเคด และเมล็ดของถั่วฮามาต้า เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 วัน พบว่าเซลล์แขวนลอยของถั่วคาวาลเคดมีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งสูงสุด 1.1674 และ 0.0220 กรัมต่อ 25 มิลลิลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 15 และพบว่าเซลล์แขวนลอยของถั่วฮามาต้าในวันที่ 21 มีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมากที่สุด 3.0256 และ 0.2713 กรัมต่อ 25 มิลลิลิตร

**2.6.5 การศึกษาการชักนำให้เกิดราก**

Alam *et al.* (2012) พบว่าใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในการชักนำให้เกิดรากในข้าวสี่สายพันธุ์ ผลที่ได้พบว่าข้าวแต่ละสายพันธุ์สามารถเกิดรากได้ดีที่ความเข้มข้นของ IBA แตกต่างกัน

Mahajan *et al.* (2013) สามารถชักนำให้เกิดรากในข้าวสายพันธุ์ Ranbir Basmati และ Basmati370 ได้ดีในอาหารสูตร MS ที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ในการชักนำให้เกิดราก และพบว่าสามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุด 93.48 และ 90.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Barpete *et al.* (2014) ทำการเปรียบเทียบสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการชักนำให้เกิดรากในถั่วกลาส (Lathyrus sativus L.) ระหว่าง IBA IAA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งสามชนิดสามารถชักนำให้เกิดรากได้แต่พบว่า IBA ให้ความถี่ในการเกิดรากได้มากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Anand *et al.* (2015) ศึกษาหาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากจากต้นข้าวที่ผ่านการชักนำให้เกิดต้นใหม่สายพันธุ์ APMS-6B และ BPT-5204 โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นแตกต่างกันในอาหารสูตร MS ผลที่ได้คือสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งสามชนิดที่ความเข้มข้นแตกต่างกันสามารถชักนำให้เกิดรากได้ทั้งหมด แต่พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ให้เปอร์เซ็นต์ในการเกิดรากได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับ IBA และ NAA ในทุกความเข้มข้น

Hossain *et al.* (2015) ทำการชักนำให้เกิดรากในข้าวสายพันธุ์ BRRI-dhan29 BRRI-dhan28 และ BINA-dhan6 ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.4 0.5 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุดถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ในข้าวสายพันธุ์ BRRI-dhan29 และ BRRI-dhan28 ตามด้วยข้าวสายพันธุ์ BINA-dhan6 เกิดรากได้มากที่สุด 80 เปอร์เซ็นต์ และให้จำนวนการเกิดราก 23 20 และ 17 รากต่อต้น ตามลำดับ

Vennapusa *et al.* (2015) ทำการชักนำให้เกิดรากในข้าวสายพันธุ์ AC39020 ในอาหารสูตรครึ่ง MS ที่ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดรากได้และรากที่ได้มีความแข็งแรงเหมาะต่อการย้ายออกปลูกภายนอกได้ดี

**2.6.6 การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ**

ชลนที (2546) ใช้เครื่องหมายโมเลกุลเอสอาร์เอพี ในการทดสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของหญ้ารูซี่ร่วมกับ marker ที่พัฒนาขึ้นเพื่อใช้เป็นข้อมูลเพิ่มเติมในการตรวจสอบความหลากหลายของหญ้ารูซี่ จากการใช้คู่ไพรเมอร์ของเอสอาร์เอพีจำนวน 26 คู่ พบว่ามี 4 คู่ไพรเมอร์ ที่ให้ผลการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของหญ้ารูซี่ที่สมบูรณ์ทั้ง 25 ตัวอย่าง โดยรูปแบบของลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคเอสอาร์เอพี ให้แถบดีเอ็นเอจำนวนมากกว่า marker ที่พัฒนาขึ้นแต่ให้ผลการทดลองเช่นเดียวกัน ที่พบว่าหญ้ารูซี่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงมากและไม่สามารถจัดกลุ่มได้อย่างชัดเจน

Zhao *et al.* (2009) ได้มีการนำเทคนิคเอสอาร์เอพีมาใช้ในการระบุสายพันธุ์ของหม่อน 23 ตัวอย่าง โดยใช้คู่ไพรเมอร์จำนวน 12 คู่ ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ พบแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน 59 แถบ จากทั้งหมด 83 แถบ มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนกันทางพันธุกรรมโดยเฉลี่ย 0.8330 และสามารถจัดกลุ่มของหม่อนได้ออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 คือ Yaosang กลุ่มที่ 2 คือ Lijiangshansang โดยทั้งสองกลุ่มนี้จัดเป็นกลุ่มอิสระ และหม่อนพันธุ์อื่นๆ จัดเป็นกลุ่มที่ 3

กิตติยา (2554) ทำการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของข้าวโพดข้าวเหนียวและข้าวโพดเทียนจำนวน 18 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลเอสอาร์เอพี โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 13 คู่ไพรเมอร์ ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 57 แถบ จากแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 102 แถบ มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 0.61-0.89 และสามารถแบ่งกลุ่มของข้าวโพดได้ 4 กลุ่ม ที่ค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัมประสิทธิ์ความเหมือนเฉลี่ยเท่ากับ 0.79 และแสดงให้เห็นว่าข้าวโพดข้าวเหนียวและข้าวโพดเทียนมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง

สุดารัตน์ (2554) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมะรุมทั้ง 25 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคเอสอาร์เอพี โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 25 คู่ไพรเมอร์ พบว่ามี 13 คู่ไพรเมอร์ ที่สามารถแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างตัวอย่างได้ และสามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างมะรุมออกเป็น 4 กลุ่ม ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 0.82 นอกจากนี้ยังพบว่าตัวอย่างมะรุมในแถบจังหวัดนครปฐมมีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำ และแยกออกจากกลุ่มตัวอย่างมะรุมจากอินเดียและอินโดนีเซียได้

อภิชา และสิริพร (2558) นำเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลเอสอาร์เอพี มาทำการสร้างลายพิมพ์เพื่อยืนยันชนิดและตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของตัวอย่างหนอนตายหยากที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการที่แตกต่างกัน จากการสกัดดีเอ็นเอใบพืชสกุลหนอนตายหยากจำนวน 160 ตัวอย่าง นำมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเอสอาร์เอพีโดยใช้ไพรเมอร์ 10 คู่ พบแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจำนวน 225 แถบ โดยเป็นแถบลายพิมพ์ที่มีความแตกต่างกันจำนวน 222 แถบ และพบมีค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงอยู่ระหว่าง 0.923 ถึง 0.998 เมื่อนำข้อมูลไปสร้างภาพแผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่าสามารถจัดกลุ่มตัวอย่างได้เป็น 5 กลุ่ม ซึ่งจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากเทคนิคเอสอาร์เอพี สามารถจัดกลุ่มตัวอย่างตามชนิดและแต่ละชนิดยังพบมีความหลากหลายทางพันธุกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3
# วิธีการดำเนินงานวิจัย

## 3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

### 3.1.1 เมล็ดข้าวที่ใช้ในการศึกษา

ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยพันธุ์ข้าวสะเมิง อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ ประกอบไปด้วย

3.1.1.1 ข้าวสายพันธุ์น้ำรู

3.1.1.2 ข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้

3.1.1.3 ข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ

3.1.1.4 ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105

### 3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 สารเคมีฟอกฆ่าเชื้อ

- โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (Sodium hypochlorite)

3.1.2.2 สารที่ใช้ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

- อาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog); Phytotech
- อาหารสังเคราะห์สูตร NB (Modified Chu/ Gamborg Basal Medium); Phytotech
- แอล-โพรลีน (L-proline)
- น้ำตาลซูโครส (Sucrose)

3.1.2.3 ผงเจลแลนกัม; Phytotech

3.1.2.4 สารเคมีที่ใช้สำหรับปรับความเป็นกรด-ด่าง

- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
- ไฮโดรคลอริก (HCl)

3.1.2.5 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

- 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D); Phytotech
- α-Naphthaleneacetic acid (NAA); Phytotech
- 3-Indolebutyric acid (IBA); Phytotech
- 6-Benzylaminopurine (BAP); Phytotech

3.1.2.6 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ โดยวิธี CTAB

- สารละลาย CTAB ความเข้มข้น 2X
- สารละลาย CTAB ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- β-mercaptoethanol
- Chloroform : Isoamyl alcohol
- RNase A; Vivantis
- Isopropanol
- Absolute ethanol
- เอทานอล 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์
- สารละลายบัฟเฟอร์ TE
- สารละลาย ethylene diamine tetraacetate (EDTA)
- น้ำปราศจากไอออน (Deionized $H_2O$)

3.1.2.7 สารเคมีที่ใช้ในเทคนิคเอสอาร์เอพี (SRAP)

- 10X PCR buffer; Biolabs
- Mix dNTPs; Vivantis
- Primer; FBCO
- $MgCl_2$; Vivantis
- *Taq* DNA polymerase; Biolabs

3.1.2.8 สารเคมีที่ใช้ในเทคนิคการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟริซิส

- อะกาโรสเจล (Agarose gel); Vivantis
- สารละลายบัฟเฟอร์ TBE (TBE buffer)
- สีย้อม (Loading dye); Biolabs
- ดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA ladder) ขนาด 1 กิโลเบส; Biolabs
- ดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA ladder) ขนาด 100 คู่เบส; Vivantis
- สารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ (Ethidium bromide); Vivantis

**3.1.3 อุปกรณ์ และเครื่องมือต่างๆ**

- บีกเกอร์ (beaker)
- กระบอกตวง (cylinder)
- จานแก้ว (petri disk)
- ฟลาสก์ (erlenmeyer flask)
- ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture bottle)
- หลอดทดลอง (test tube)
- ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (test tube rack)
- ช้อนตักสาร (spatula)
- แท่งแก้วคนสาร (stirring rod)
- ปากคีบ (forceps)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- มีดผ่าตัด (scalpel)
- กรรไกร (scissors)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์ (burner)
- ไฟแช็ค (lighter)
- กระดาษทิชชู่ (tissue)
- กระดาษกรอง Whatman No. 1 (filter paper)
- กรวยกรองบุชเนอร์ (buchner funnel)
- ขวดลดความดัน (suction flask)
- เครื่องทำสุญญากาศ (vacuum pump)
- เตาอบความร้อน (hot air oven)
- โถดูดความชื้น (desiccator)
- เครื่องเขย่า (shaker)
- โกร่งบดสาร (mortar and pestle)
- กระบอกเก็บไนโตรเจนเหลว (vacuum flask)
- หลอดทดลอง (microcentrifuge tube) ขนาด 0.2 และ 1.5 มิลลิลิตร
- ไมโครปิเปต (micropipette)
- ไมโครปิเปตทิปขนาดต่างๆ (micropipette tips)
- อลูมิเนียมฟอยล์ (aluminium foil)
- เครื่องวัดเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ (vernier calipers)
- เตาอบไมโครเวฟ (microwave)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียดและหยาบ (balance); AG204, Metler Toledo
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter); Eutech Instruments Pa510
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง (autoclave); SX-500, Tomy kogyo Co.Ltd
- เครื่องเขย่าผสมสารละลาย (vortex mixer); Scientific Industries
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge); Hettich Mikro 22R
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath); Heto CBN 28-30
- เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer); Eppendorf
- เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (DNA thermal cycler); Eppendorf
- เครื่องแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า (Agarose gel electrophoresis)
- กระดาษปริ้นท์ รุ่น UPP-110HG; Sony
- เครื่องวิเคราะห์เจลอิเล็กโทรโฟริซิส (Gel documentation); Genesnap
- ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 และ -20 องศาเซลเซียส (refrigerator)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย

### 3.2.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าว 4 สายพันธุ์

นำเมล็ดข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 มาแกะเปลือก ล้างน้ำสะอาดเพื่อกำจัดฝุ่นผง และล้างเชื้อราที่อาจติดมากับเมล็ดข้าวด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 20 เปอร์เซ็นต์ โดยนำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที ผึ่งเมล็ดข้าวให้แห้งแล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS และ NB ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร และสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมทั้งหมด 10 สูตร ศึกษาสูตรละ 10 ซ้ำ ซ้ำละ 4 เมล็ด อาหารทุกสูตรปรับ pH เท่ากับ 5.8 เก็บเพาะเลี้ยงในที่มืด ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกผลจำนวนเมล็ดที่เกิดแคลลัสเพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส จากนั้นวัดความกว้าง ความยาว ความสูงของแคลลัสโดยใช้เวอร์เนียร์คาลิปเปอร์เพื่อนำมาคำนวณหาพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส ต่อมานำส่วนที่เป็นยอดอ่อนและเมล็ดที่ติดกับแคลลัสออกก่อนแล้วนำเฉพาะส่วนที่เป็นแคลลัสไปชั่งน้ำหนักเพื่อหาค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัส นำค่าที่คำนวณได้มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Ducan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยสามารถคำนวณได้ดังนี้

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

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

น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัส คำนวณได้จาก : $\frac{\text{น้ำหนักแคลลัสที่เกิด}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด}}$

### 3.2.2 การศึกษาสูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดต้น

นำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 จากการทดลองที่ 3.2.1 มาปรับสภาพในอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS และ NB ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นแบ่งแคลลัสให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร แล้วแบ่งแคลลัสออกเป็นสองกลุ่มคือแบบสด และแบบแห้ง (แบบแห้งทำได้โดยนำแคลลัสมาวางบนกระดาษกรองที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ไม่มีอาหารในจานแก้วเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำการพันจานแก้วเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยพาราฟิล์มก่อนนำไปเก็บในสภาวะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มืดเป็นเวลา 7 วัน) แล้วนำแคลลัสทั้งสองกลุ่มไปเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้น บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS และ NB ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซูโครส 30 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในแต่ละความเข้มข้นของ BAP จะแบ่งความเข้มข้นของไฟทาเจลเป็น 2.6 และ 5.2 กรัมต่อลิตร รวมทั้งหมด 12 สูตร นำแคลลัสทั้งสองกลุ่มมาศึกษาในอาหารสูตรละ 20 ชิ้น ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เปลี่ยนอาหารและเก็บผลในสัปดาห์ที่ 2 4 และ 6 โดยบันทึกลักษณะแคลลัสหลังการเพาะเลี้ยง นับจำนวนแคลลัสที่เกิดยอด เกิดยอดจำนวนมาก และเกิดราก

**3.2.3 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัสและระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย**

นำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 จากการทดลองที่ 3.2.1 แบ่งชั่งให้มีน้ำหนักสดประมาณ 0.15 กรัม นำมาเลี้ยงในสูตรอาหารเหลวสังเคราะห์และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ตามผลที่ได้จากการทดลองที่ 3.2.1 ของข้าวแต่ละสายพันธุ์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร โดยใช้ปริมาตรอาหารเริ่มต้น 10 มิลลิลิตร ใช้ช้อนโลหะกดให้แคลลัสกระจายตัวออกจากกันเบาๆ นำมาวางเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที ในสภาวะที่มีแสง ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เก็บผลทุกๆ 3 วันในวันที่ 0 3 6 9 12 15 18 21 และ 24 ตามลำดับ ในแต่ละครั้งที่เก็บผลจะทำการเก็บผลครั้งละ 3 ซ้ำ โดยการกรองเซลล์แขวนลอยด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ ผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 (ที่ผ่านการหาน้ำหนักของกระดาษที่แท้จริงโดยการอบ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณหาน้ำหนักเซลล์ที่แท้จริง) เป็นเวลา 1 นาที นำเซลล์แขวนลอยที่กรองได้ไปชั่งเพื่อหาน้ำหนักสด (คำนวณได้จาก : น้ำหนักสดที่ชั่งได้ – น้ำหนักกระดาษกรอง) จากนั้นนำเซลล์แขวนลอยที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาให้นำมาไว้ในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปชั่งเพื่อหาน้ำหนักแห้ง (คำนวณได้จาก : น้ำหนักแห้งที่ชั่งได้ – น้ำหนักกระดาษกรอง) โดยวิธีของอนุรักษ์ (2550) คำนวณหาค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง แล้วนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Ducan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟ โดยค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งคำนวณได้ดังนี้

$$\text{ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสด} \quad \text{คำนวณได้จาก :} \quad \frac{\text{ค่าน้ำหนักสดบวกกันตามจำนวนซ้ำ}}{\text{จำนวนซ้ำ}}$$

$$\text{ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้ง} \quad \text{คำนวณได้จาก :} \quad \frac{\text{ค่าน้ำหนักแห้งบวกกันตามจำนวนซ้ำ}}{\text{จำนวนซ้ำ}}$$

**3.2.4 การศึกษาสูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยให้เกิดต้น**

นำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 จากการทดลองที่ 3.2.1 มาเลี้ยงในสูตรอาหารเหลวสังเคราะห์ และความเข้มข้นของสารควบคุมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญเติบโต 2,4-D ตามผลที่ได้จากการทดลองที่ 3.2.1 ของข้าวแต่ละสายพันธุ์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงและเปลี่ยนอาหารตามระยะเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองที่ 3.2.3 จนครบ 1 เดือน จากนั้นเลือกแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร แบ่งออกเป็นสองกลุ่มคือแบบสด และแบบแห้ง (แบบแห้งทำได้โดยนำแคลลัสมาวางบนกระดาษกรองที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ไม่มีอาหารในจานแก้วเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำการพันจานแก้วเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยพาราฟิล์มก่อนนำไปเก็บในสภาวะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มืดเป็นเวลา 7 วัน) แล้วนำแคลลัสทั้งสองกลุ่มไปเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้น บนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS และ NB ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซูโครส 30 กรัมต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในแต่ละความเข้มข้นของ BAP จะแบ่งความเข้มข้นของไฟทาเจลเป็น 2.6 และ 5.2 กรัมต่อลิตร รวมทั้งหมด 12 สูตร นำแคลลัสทั้งสองกลุ่มมาศึกษาในอาหารสูตรละ 20 ชิ้น ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เปลี่ยนอาหารและเก็บผลในสัปดาห์ที่ 2 4 และ 6 โดยบันทึกลักษณะแคลลัสหลังการเพาะเลี้ยง นับจำนวนแคลลัสที่เกิดยอด เกิดยอดจำนวนมาก และเกิดราก

**3.2.5 การศึกษาสูตรอาหารเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำรากให้เหมาะสมต่อการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ**

นำต้นข้าวที่ได้จากการชักนำให้เกิดต้นจากข้อ 3.2.2 อายุ 6 สัปดาห์ มาตัดให้มีความสูง 2 เซนติเมตร ส่วนในต้นที่มีรากให้ทำการตัดรากออกจนถึงโคนราก จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS และ NB ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อปรับสภาพต้นข้าวเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ทำการตัดยอดและรากออกอีกครั้ง แล้วย้ายมาเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร รวมทั้งหมด 12 สูตร โดยข้าวสายพันธุ์น้ำรูศึกษาสูตรละ 3 ต้น ข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้และขาวดอกมะลิ105 ศึกษาสูตรละ 8 ต้น และข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อศึกษาสูตรละ 9 ต้น ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีแสง ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส สังเกตและบันทึกผลการเจริญเติบโตของรากที่เวลา 2 และ 4 สัปดาห์ คำนวณความยาวเฉลี่ย จำนวนเฉลี่ยของรากที่เกิด ทำการเปรียบเทียบลักษณะรากที่เกิดจากภาพถ่าย และนำผลที่ได้ไปสร้างกราฟ จากนั้นวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Ducan's ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2.6 การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยเทคนิคเอสอาร์เอพี

#### 3.2.6.1 การสกัดดีเอ็นเอ

ทำการสุ่มเลือกตัวอย่างต้นข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ที่ได้จากการชักนำให้เกิดต้นใหม่ที่สมบูรณ์ จำนวน 14 ต้น ประกอบด้วยต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS จำนวน 7 ต้น ต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร NB จำนวน 7 ต้น และเปรียบเทียบกับต้นควบคุม จำนวน 1 ต้น ซึ่งต้นควบคุมได้มาจากการปลูกในสภาพภายนอก มาทำการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB ประยุกต์จากวิธีของ Doyle and Doyle (1987) ตัดส่วนของลำต้นและใบอ่อนของต้นข้าวเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ในโกร่งที่แช่เย็น เติมไนโตรเจนเหลว บดตัวอย่างให้ละเอียดจนเป็นผง ย้ายตัวอย่างที่บดละเอียดใส่ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 2X ปริมาตร 700 ไมโครลิตร และ β-mercaptoethanol ปริมาตร 2 ไมโครลิตร นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที (กลับหลอดไปมาทุกๆ 15 นาที) นำมาวางให้เย็นที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2 นาที แล้วเติมสารละลาย chloroform:isoamylalcohol อัตราส่วน 24:1 ปริมาตร 700 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบาๆ เพื่อผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใสด้านบนใส่หลอดใหม่ที่มีขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม RNase A ปริมาตร 2 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมสารละลาย CTAB ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน และทำซ้ำในขั้นตอนการเติมสารละลาย chloroform:isoamylalcohol อัตราส่วน 24:1 ปริมาตร 700 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบาๆ เพื่อผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใสด้านบนใส่หลอดใหม่ที่มีขนาด 1.5 มิลลิลิตร ให้ได้อย่างน้อย 400 ไมโครลิตร เติม isopropanal ที่แช่เย็น ปริมาตร 1 เท่าของปริมาณส่วนใสที่ได้ กลับหลอดไปมาเบาๆ แล้วนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนด้วยความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้ง ตากตะกอนให้แห้ง และเติมเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ที่แช่เย็น ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เทส่วนใสทิ้ง แล้วเติม absolute ethanol ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เทส่วนใสทิ้ง แล้วตากตะกอนจนแห้ง จากนั้นละลายตะกอนด้วยบัฟเฟอร์ TE ที่บ่ม 65 องศาเซลเซียส ปริมาตร 50 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเก็บดีเอ็นเอที่ได้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.2.6.2 การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเอสอาร์เอพี (SRAP)**

ทำการคัดเลือกคู่ไพรเมอร์ที่เหมาะสมในการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเอสอาร์เอพีโดยจับคู่ไพรเมอร์ฟอร์เวิร์ดจำนวน 5 ไพรเมอร์ และไพรเมอร์รีเวิร์สจำนวน 6 ไพรเมอร์ ได้คู่ไพรเมอร์ทั้งหมด 30 คู่ (Li and Quiros, 2001)(ตารางที่ 3.1) และคัดเลือกคู่ไพรเมอร์ที่เหมาะสมไว้ศึกษาต่อไป นำตัวอย่างดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวที่สกัดได้ทั้ง 15 ตัวอย่าง มาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเอสอาร์เอพี ซึ่งมีความเข้มข้นและปริมาณของสารที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในปฏิกิริยาพีซีอาร์ดังตารางที่ 3.2 (ดัดแปลงจาก Jing *et al.*, 2013) โดยมีขั้นตอนและอุณหภูมิที่ใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์ดังตารางที่ 3.3 (ดัดแปลงจาก Li and Quiros, 2001) ดังนี้

**ตารางที่ 3.1** ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์เอสอาร์เอพีที่ใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์(Li and Quiros, 2001)

| ชื่อ | ไพรเมอร์ฟอร์เวิร์ด (5'-3') | ชื่อ | ไพรเมอร์รีเวิร์ส (5'-3') |
|---|---|---|---|
| ME1 | TGAGTCCAAACCGGATA | EM1 | GACTGCGTACGAATTAAT |
| ME2 | TGAGTCCAAACCGGAGC | EM2 | GACTGCGTACGAATTTGC |
| ME3 | TGAGTCCAAACCGGAAT | EM3 | GACTGCGTACGAATTGAC |
| ME4 | TGAGTCCAAACCGGACC | EM4 | GACTGCGTACGAATTTGA |
| ME5 | TGAGTCCAAACCGGAAG | EM5 | GACTGCGTACGAATTAAC |
| | | EM6 | GACTGCGTACGAATTGCA |

**ตารางที่ 3.2** ความเข้มข้นและปริมาณของสารที่ใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์ (ดัดแปลงจาก Jing *et al.*, 2013)

| สารที่ใช้ | ความเข้มข้นเริ่มต้น | ความเข้มข้นสุดท้าย | ปริมาณสารที่ใช้ (µl) |
|---|---|---|---|
| PCR buffer | 10X | 1X | 2 |
| dNTPs | 1.25 mM | 200 µM | 3.3 |
| Forward Primer | 20 uM | 1 uM | 1 |
| Reverse Primer | 20 uM | 1 uM | 1 |
| $MgCl_2$ | 50 mM | 2.5 mM | 1 |
| *Taq* DNA polymerase | 5000 unit/ml | 1 unit/20 µl | 0.2 |
| DNA template | 50 ng/ul | 100 ng/ul | 2 |
| DI water | | 9.5 µl | |
| **ปริมาตรรวม** | | 20 µl | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 3.3** ขั้นตอนและอุณหภูมิที่ใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์ (ดัดแปลงจาก Li and Quiros, 2001)

| ขั้นตอน | อุณหภูมิ | เวลา (นาที) | จำนวนรอบ |
|---|---|---|---|
| Initial denaturation | 94 | 3 | |
| Denaturation | 94 | 1 | 5 |
| Annealing | 35 | 1 | |
| Extension | 72 | 1 | |
| Denaturation | 94 | 1 | 35 |
| Annealing | 50 | 1 | |
| Extension | 72 | 1 | |
| Final Extension | 72 | 10 | |

**3.2.6.3 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟริซิส**

การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์จะทำการเตรียมเจลโดยใช้อะกาโรสเจลความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ แล้วเติมบัฟเฟอร์ TBE ความเข้มข้น 1X ทำให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันโดยความร้อนจากไมโครเวฟ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องรอจนอุ่น เทลงในถาดใส่เจลที่มีหวีเสียบอยู่ รอให้เจลแข็งตัว แล้วดึงหวีออก จากนั้นย้ายถาดเจลลงในเครื่องอิเล็กโทรโฟริซิสในทิศทางจากลบไปบวก เติมบัฟเฟอร์ TBE ความเข้มข้น 1X ให้ท่วมเหนือเจลเล็กน้อย ผสมตัวอย่างผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ปริมาตร 5 ไมโครลิตร กับสีย้อมปริมาตร 2 ไมโครลิตร ดูดขึ้นลงด้วยไมโครปิเปตเพื่อให้ดีเอ็นเอและสีผสมกัน หยอดลงในหลุมเจล โดยทำการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 100 คู่เบส ปริมาตร 2 ไมโครลิตร จากนั้นประกอบเครื่องอิเล็กโทรโฟริซิสแล้วต่อเข้ากับแหล่งกระแสไฟฟ้า ปล่อยให้ดีเอ็นเอเคลื่อนที่ 35 นาที ที่กระแสไฟฟ้าความต่างศักย์ 100 โวลต์ เมื่อครบเวลาแล้วนำเจลมาย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์เพื่อดูการเรืองแสงของดีเอ็นเอ โดยนำเจลไปแช่ในสารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 5 นาที แล้วตักเจลแช่ในน้ำกลั่นนาน 5 นาที เพื่อล้างเอธิเดียมโบรไมด์ส่วนเกินออก จากนั้นนำเจลไปตรวจสอบการเรืองแสงของดีเอ็นเอด้วยเครื่องวิเคราะห์เจลอิเล็กโทรโฟริซิส และถ่ายบันทึกภาพเก็บไว้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4
# ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

## 4.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าว 4 สายพันธุ์

หลังจากเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ 105 ในอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในสภาวะที่ไม่มีแสง พบว่าอาหารทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ อาหารสูตร NB เป็นสูตรอาหารที่ประกอบไปด้วยธาตุอาหารหลักจากอาหารสูตร N6 (Chu *et al.*, 1975) และธาตุอาหารรองจากอาหารสูตร B5 (Gamborg *et al.*, 1968) และงานวิจัยของ Muhammad *et al.* (2008) ทำการชักนำให้เกิดแคลลัส โดยเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสายพันธุ์ Super-Basmati Basmati-370 Basmati-371 และ Fakhre-Malakand ในอาหารสูตร MS และ N6 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ผลที่ได้พบว่าข้าวทุกสายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร N6 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าอาหารสูตร MS เช่นเดียวกันกับ Rashid *et al.* (2004) ที่กล่าวว่าบางทีผลที่ทำให้อาหารสูตร N6 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่านั้นอาจเนื่องมาจากส่วนประกอบในอาหารสูตร N6 มีไนโตรเจนมากกว่าอาหารสูตร MS จึงถือเป็นเหตุผลหนึ่งในการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าอาหารสูตร NB มีความสามารถในการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) จากรายงานการวิจัยต่างๆ ที่ผ่านมาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชส่วนใหญ่ได้เลือกใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ในการชักนำให้เกิดแคลลัส Chen *et al.* (1974) กล่าวว่า 2,4-D มีบทบาทสำคัญในการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าว เช่นเดียวกับ Raina (1989) รายงานว่า 2,4-D เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซินที่มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในข้าว แต่อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของ 2,4-D ที่มีความเหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสต้องขึ้นอยู่กับชิ้นส่วน และจีโนไทป์ที่แตกต่างกันของพืชด้วย Bhuiyan *et al.* (2014) ชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ BRRI-dhan52 และ FR13A ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดในข้าวทั้งสองสายพันธุ์ที่ 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร Din *et al.* (2016) ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ Panderas ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดที่ 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยลักษณะแคลลัสที่ได้มีลักษณะเกาะกันแน่น (compact)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทรงกลม และมีสีเหลืองอ่อน จากงานวิจัยดังกล่าว Terjo-Tapia *et al.* (2002) พบว่าการเลือกใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินร่วมกัน (NAA และ 2,4-D) มีผลทำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าการเลือกใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินเพียงชนิดเดียว เช่นเดียวกับ Isam *et al.* (2014) รายงานว่าชิ้นส่วนของพืชที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันเพียงชนิดเดียว และที่ใช้ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA พบอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัสสูงขึ้นตามความเข้มข้นที่แตกต่างกัน และตามการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตร่วมกัน Roly *et al.* (2014) รายงานผลในการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวสายพันธุ์ Kalijira ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงถึง 97.22 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าที่ใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียวที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 90.22 เปอร์เซ็นต์ จากงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้นพบว่าสูตรอาหารและส่วนประกอบในอาหารมีส่วนคล้ายกับการศึกษาในครั้งนี้เพื่อศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวจากเมล็ดในข้าว 4 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 พบว่า

**4.1.1 ข้าวสายพันธุ์น้ำรู**

สามารถเกิดแคลลัสได้ทั้งในอาหารสูตร MS และอาหารสูตร NB เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ลักษณะของแคลลัสที่ได้มีลักษณะที่เป็นแบบเกาะกันแน่นเป็นก้อน และแบบเกาะกันหลวมๆ สีเหลืองอ่อน ที่สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งในอาหารสูตร MS และ NB พบว่าเกิดทั้งแคลลัส ยอด และราก ซึ่งอาจส่งผลในการแย่งการเจริญเติบโตเป็นแคลลัส ส่วนใน 2,4-D ความเข้มข้น 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอดและแคลลัส (รูปที่ 4.3) เมื่อเก็บผล และนำจำนวนการเกิดแคลลัสมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส พบการเกิดแคลลัสได้ 97.5 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ในทุกสูตรอาหาร และในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดพื้นที่เฉลี่ยใหญ่ที่สุดเท่ากับ 391.49 ลูกบาศก์มิลลิเมตร พบไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีขนาดพื้นที่เฉลี่ยเท่ากับ 352.70 และ 345.23 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่ลักษณะของแคลลัสที่เกิดในสูตรอาหารที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดทั้งแคลลัส ยอด และรากจำนวนมาก (รูปที่ 4.3 ก, ฉ) และในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสสูงสุด 0.3413 กรัมต่อเมล็ด ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับค่าขนาดพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ตารางที่ 4.1) จากผลสังเกตได้ว่าทั้งขนาดพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส และน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสให้ผลไปในทางเดียวกัน ซึ่งพบว่าในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Rahman *et al.* (2010) ทำการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวสายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

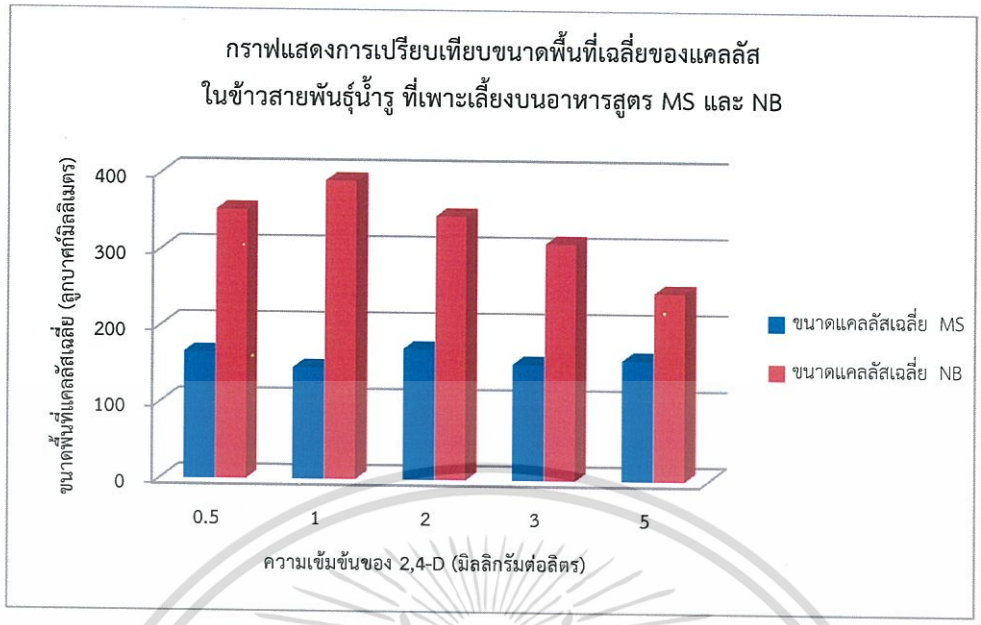
MR232 ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ร่วมกับ NAA ในความเข้มข้นที่แตกต่าง พบว่าที่ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เป็นอย่างดี เกิดแคลลัสสูงถึง 95 เปอร์เซ็นต์ และจากสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่มีการใช้ 2,4-D และ NAA ร่วมกันยังช่วยให้อัตราการเจริญเป็นแคลลัสสูงกว่าการใช้ 2,4-D เพียงอย่างเดียว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่ใช้ 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกันร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร Rattana *et al.* (2012) ศึกษาผลของ 2,4-D ความเข้มข้น 0 0.5 1 1.5 2 2.5 3 และ 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวสี่สายพันธุ์ ในอาหาร NN (Nitsch and Nitsch, 1969) ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์ และ gelrite 4 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1 เกิดแคลลัสได้สูงที่สุดในอาหาร NN ที่ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดแคลลัสเฉลี่ย 1.06 เซนติเมตร น้ำหนักสดเฉลี่ย 0.35 กรัม และน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.07 กรัม เพื่อให้มองเห็นผลที่ชัดเจนยิ่งขึ้นจึงได้นำผลของข้าวสายพันธุ์น้ำรูที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกันมาสร้างกราฟเพื่อแสดงการเปรียบเทียบขนาดพื้นที่เฉลี่ย และน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสในรูปที่ 4.1 และ 4.2

**ตารางที่ 4.1** ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรูบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

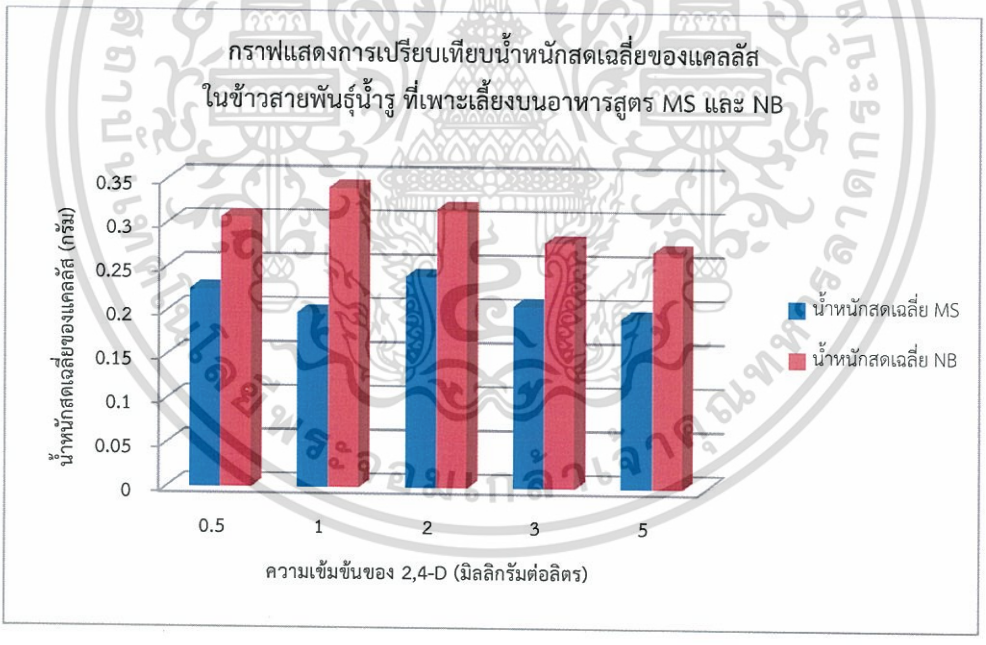
| อาหาร | 2,4-D (มก./ล.) | จำนวนเมล็ด | เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส | ขนาดพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ลบ.มม.) | น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัส (ก./เมล็ด) |
|---|---|---|---|---|---|
| MS | 0.5 | 40 | 100 | $165.70^{d}$ | $0.2253^{de}$ |
| | 1 | 40 | 100 | $145.95^{d}$ | $0.1988^{e}$ |
| | 2 | 40 | 100 | $170.92^{d}$ | $0.2405^{cde}$ |
| | 3 | 40 | 100 | $152.25^{d}$ | $0.2076^{e}$ |
| | 5 | 40 | 100 | $157.93^{d}$ | $0.1940^{e}$ |
| NB | 0.5 | 40 | 100 | $352.70^{ab}$ | $0.3070^{ab}$ |
| | 1 | 40 | 100 | $391.49^{a}$ | $0.3413^{a}$ |
| | 2 | 40 | 100 | $345.23^{ab}$ | $0.3173^{ab}$ |
| | 3 | 40 | 100 | $310.12^{b}$ | $0.2798^{bc}$ |
| | 5 | 40 | 97.5 | $246.65^{c}$ | $0.2695^{bcd}$ |

ตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

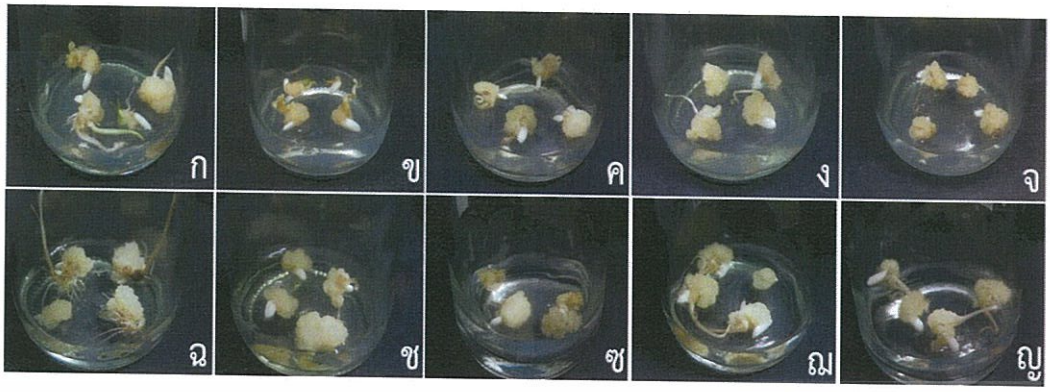



**รูปที่ 4.1** กราฟขนาดพื้นที่แคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์น้ำรูที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์




**รูปที่ 4.2** กราฟน้ำหนักสดแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์น้ำรูที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.3** ลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรูที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (ก-จ) และ NB (ฉ-ญ) ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

**4.1.2 ข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้**

พบจำนวนการเกิดแคลลัส 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งในอาหารสูตร MS และ NB (ตารางที่ 4.2) ลักษณะของแคลลัสที่ได้มีทั้งลักษณะแบบเกาะกันแน่นเป็นก้อน และลักษณะที่เกาะกันหลวมๆ มีสีเหลืองอ่อน ทั้งในอาหารสูตร MS และ NB ที่สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเกิดทั้งแคลลัส ยอด และรากเล็กน้อยส่วนใน 2,4-D ความเข้มข้น 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอดและแคลลัส (รูปที่ 4.6) จากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดพื้นที่เฉลี่ยใหญ่ที่สุด 305.34 ลูกบาศก์มิลลิเมตร และมีน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสมากที่สุด 0.3478 กรัมต่อเมล็ด ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงในอาหารดังกล่าวในตารางที่ 4.2 สังเกตได้ว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ 2,4-D ความเข้มข้นอื่นๆ แต่แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดรากจำนวนมาก ซึ่งรากเหล่านี้อาจทำให้เกิดความยุ่งยากในการนำแคลลัสไปใช้ในการศึกษาต่อ (รูปที่ 4.6ก) และจากผลเมื่อเปรียบเทียบค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นผลการศึกษานี้จึงแสดงให้เห็นว่าในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมในการนำมาชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดและให้ผลไปในทางเดียวกันทั้งขนาด และน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัส Mulherjee *et al.* (2015) ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวสายพันธุ์ BRRI-dhan29 BR-14 และ BINA-dhan8 ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0 1.5 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีในข้าวทั้งสามสายพันธุ์ โดยให้ผลดีที่สุดในข้าวสายพันธุ์ BR-14 พบว่ามีน้ำหนักแคลลัสสูงสุด 87.50 มิลลิกรัม ในขณะที่งานวิจัยของ Shahsavari *et al.* (2010) ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวสายพันธุ์ Kusan Lamsan

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

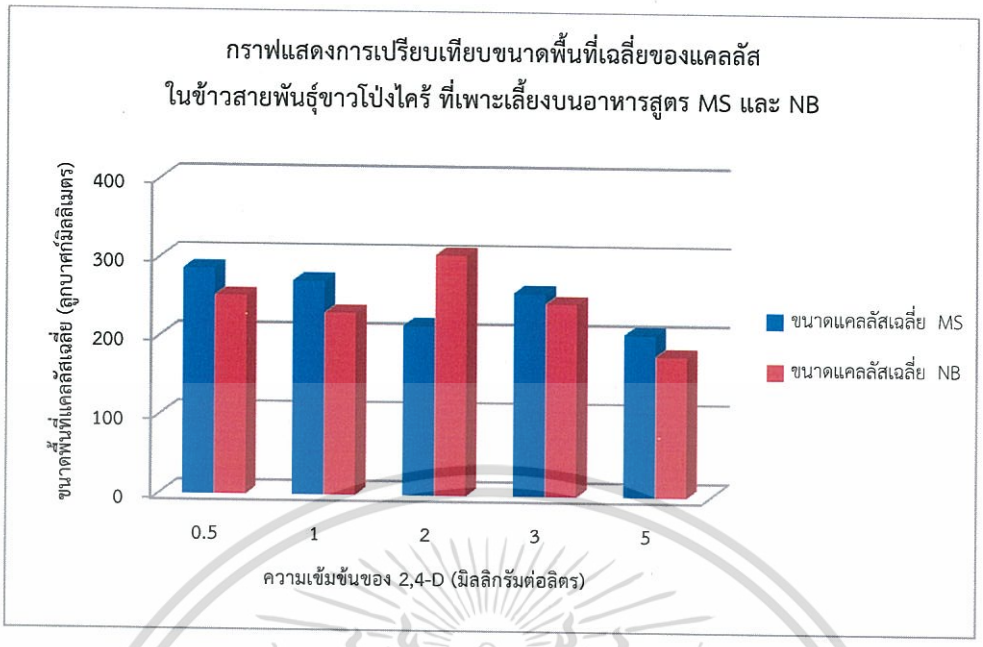
Selasi และ Siam ในอาหารสูตร MS โดยทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ข้าวทั้งสี่สายพันธุ์ส่วนใหญ่สามารถเกิดแคลลัสได้มากที่สุดในอาหารที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนั้นยังได้เปรียบเทียบสูตรอาหารที่มีเพียง 2,4-D สูตรอาหารที่เติม 2,4-D ร่วมกับ NAA สูตรอาหารที่เติม 2,4-D ร่วมกับ Kin และสูตรอาหารที่มีทั้ง 2,4-D ร่วมกับ NAA และ Kin พบว่าข้าวสายพันธุ์ Lamsan และ Siam สามารถเกิดแคลลัสได้ดีในอาหารที่ประกอบด้วย 2,4-D เพียงอย่างเดียว ในขณะที่ข้าวสายพันธุ์ Kusan และ Selasi การเกิดแคลลัสได้ดีในอาหารที่มี 2,4-D ร่วมกับ NAA ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ด้วยเช่นกัน เพื่อให้มองเห็นผลที่ชัดเจนมากขึ้นจึงนำผลที่ได้ของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกันมาสร้างกราฟเพื่อแสดงการเปรียบเทียบขนาดพื้นที่เฉลี่ย และน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสในรูปที่ 4.4 และ 4.5

**ตารางที่ 4.2** ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้บนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

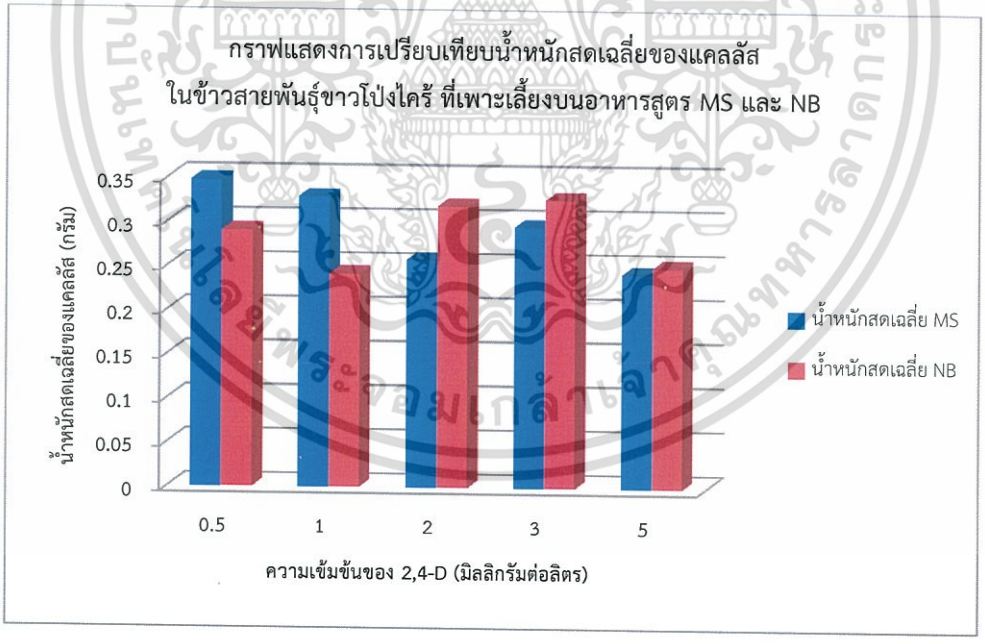
| อาหาร | 2,4-D (มก./ล.) | จำนวนเมล็ด | เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส | ขนาดพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ลบ.มม.) | น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัส (ก./เมล็ด) |
|---|---|---|---|---|---|
| MS | 0.5 | 40 | 100 | $286.14^{ab}$ | $0.3478^{a}$ |
| | 1 | 40 | 100 | $271.09^{abc}$ | $0.3293^{a}$ |
| | 2 | 40 | 100 | $214.87^{cd}$ | $0.2580^{b}$ |
| | 3 | 40 | 100 | $257.60^{abc}$ | $0.2960^{ab}$ |
| | 5 | 40 | 100 | $205.85^{cd}$ | $0.2430^{b}$ |
| NB | 0.5 | 40 | 100 | $252.12^{abc}$ | $0.2908^{ab}$ |
| | 1 | 40 | 100 | $231.09^{bcd}$ | $0.2420^{b}$ |
| | 2 | 40 | 100 | $305.34^{a}$ | $0.3193^{a}$ |
| | 3 | 40 | 100 | $244.74^{abcd}$ | $0.3270^{a}$ |
| | 5 | 40 | 100 | $179.19^{d}$ | $0.2505^{b}$ |

ตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

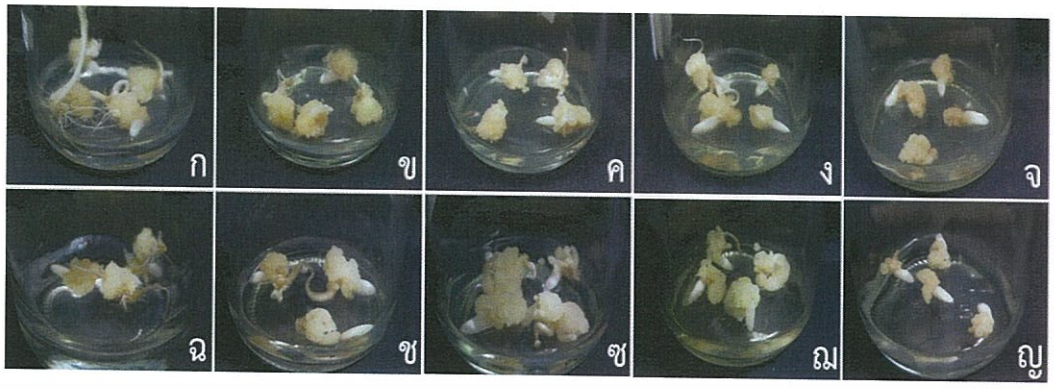



**รูปที่ 4.4** กราฟขนาดพื้นที่แคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์




**รูปที่ 4.5** กราฟน้ำหนักสดแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.6** ลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (ก-จ) และ NB (ฉ-ญ) ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

**4.1.3 ข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ**

พบว่าทั้งในอาหารสูตร MS และอาหารสูตร NB สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้โดยมีจำนวนการเกิดแคลลัสมากสุด 90 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.3) และจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่าอาหารสูตร NB ที่ ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ช่วยให้แคลลัสมีการเจริญเติบโตได้ดีและมีขนาดพื้นที่เฉลี่ยมากที่สุด 181.76 ลูกบาศก์มิลลิเมตร แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 2 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีขนาดพื้นที่เฉลี่ยเท่ากับ 157.07 และ 156.69 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ตามลำดับ และอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสมากถึง 0.2790 กรัมต่อเมล็ด แต่พบว่าผลที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.2553 กรัมต่อเมล็ด และเมื่อนำผลที่ได้มาสร้างกราฟเพื่อแสดงการเปรียบเทียบขนาดพื้นที่เฉลี่ย และน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสเพื่อให้มองเห็นผลที่ชัดเจนมากขึ้นในข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่าหากเลือกผลจากขนาดพื้นที่เฉลี่ยพบว่าที่ 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสให้มีขนาดพื้นที่ได้ดีที่สุดในรูปที่ 4.7 และหากเลือกผลจากน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสในรูปที่ 4.8 จะพบว่าที่ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารสูตร NB สามารถชักนำแคลลัสให้มีน้ำหนักได้มากที่สุด แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากลักษณะของแคลลัสที่มีลักษณะเกาะกันเป็นก้อนแน่น หรือเป็นลักษณะแบบเอ็มบริโอเจนิกแคลลัสที่มีความสามารถในการนำไปชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ดีในรูปที่ 4.9 จึงคาดว่าสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีในข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อคืออาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อเพิ่มพื้นที่แคลลัสให้มีลักษณะที่เป็นเอ็มบริโอเจนิกมากขึ้น ในงานวิจัยของ Tariq *et al.* (2008) ศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสโดยการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสายพันธุ์ Super-Basmati Basmati-370 Basmati-371 และ Fakhre-Malakand ในอาหารสูตร MS และ N6 ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

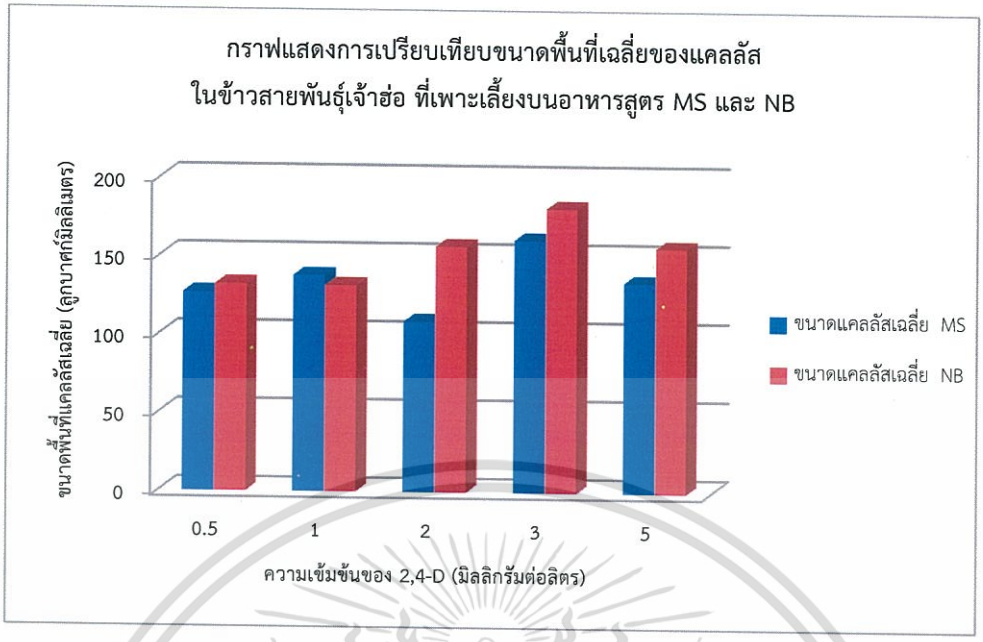
ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าข้าวสายพันธุ์ Fakhre-Malakand เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดในอาหารสูตร N6 ที่ 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสูงสุดถึง 0.26 กรัม ในขณะที่ข้าวอีกสามสายพันธุ์สามารถเกิดแคลลัสได้ดีที่สุดในอาหารสูตร N6 ที่ 2,4-D ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

**ตารางที่ 4.3** ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

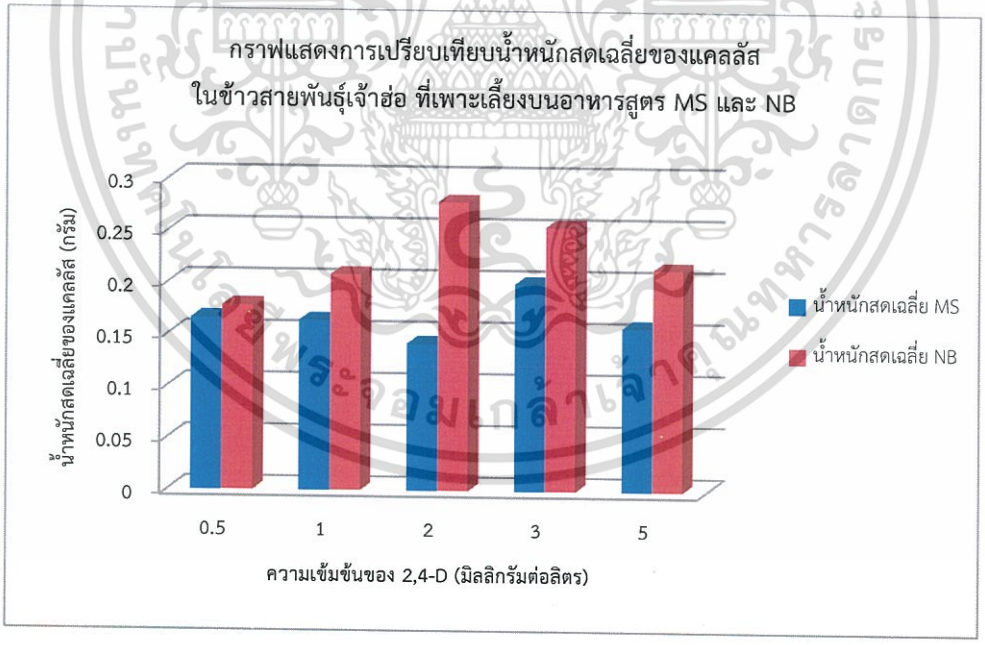
| อาหาร | 2,4-D (มก./ล.) | จำนวนเมล็ด | เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส | ขนาดพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ลบ.มม.) | น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัส (ก./เมล็ด) |
|---|---|---|---|---|---|
| MS | 0.5 | 40 | 100 | $126.84^{bc}$ | $0.1660^{def}$ |
| | 1 | 40 | 95 | $137.97^{bc}$ | $0.1639^{def}$ |
| | 2 | 40 | 100 | $108.82^{c}$ | $0.1419^{f}$ |
| | 3 | 40 | 100 | $161.22^{ab}$ | $0.2000^{cde}$ |
| | 5 | 40 | 100 | $134.38^{bc}$ | $0.1578^{ef}$ |
| NB | 0.5 | 40 | 90 | $132.14^{bc}$ | $0.1785^{cdef}$ |
| | 1 | 40 | 92.5 | $131.84^{bc}$ | $0.2085^{cd}$ |
| | 2 | 40 | 100 | $157.07^{ab}$ | $0.2790^{a}$ |
| | 3 | 40 | 100 | $181.76^{a}$ | $0.2553^{ab}$ |
| | 5 | 40 | 100 | $156.69^{ab}$ | $0.2145^{bc}$ |

ตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

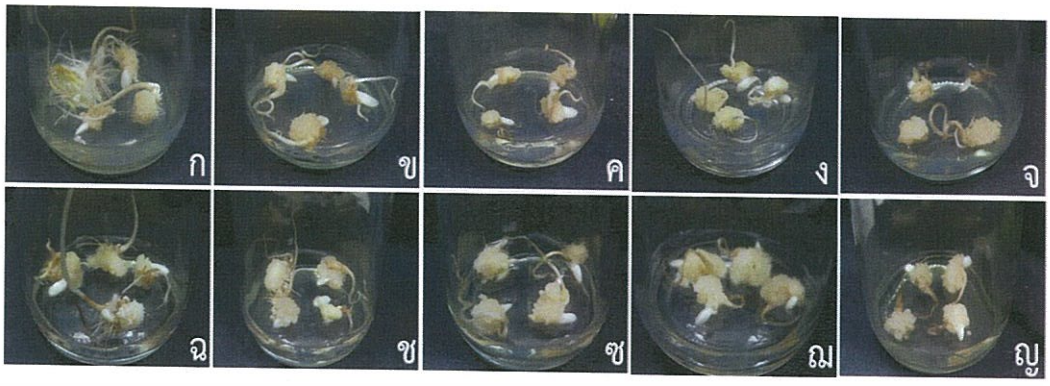



**รูปที่ 4.7** ลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์




**รูปที่ 4.8** กราฟขนาดพื้นที่แคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.9** ลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (ก-จ) และ NB (ฉ-ญ) ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

### 4.1.4 ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105

พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ทั้งในอาหารสูตร MS และ NB คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสได้ 27.5 ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ พบขนาดพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่ใหญ่ที่สุดเท่ากับ 103.5 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และยังพบว่าผลที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับขนาดพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีขนาดพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัสเท่ากับ 81.68 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.4 และ รูปที่ 4.10) ส่วนน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสูงสุด คือ 0.1383 กรัมต่อเมล็ด ซึ่งพบว่าผลที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีน้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัส 0.1337 กรัมต่อเมล็ด (ตารางที่ 4.4 และ รูปที่ 4.11) ซึ่งจากผลที่กล่าวมาพบว่าความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 คือ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งในอาหารสูตร MS และ NB แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าในอาหารสูตร NB มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าอาหารสูตร MS โดยพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสในตารางที่ 4.4 จะเห็นได้ว่าที่ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารสูตร NB สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่อาหารสูตร MS สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เพียง 60 เปอร์เซ็นต์ แต่งานวิจัยของ Sompornpailin and Chutipaijit (2012) ทำการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในอาหารสูตร NB พบว่า 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ผลดีที่สุดในการชักนำให้เกิดแคลลัสถึง 92 เปอร์เซ็นต์ มีขนาด น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยมากสุด คือ 7.55 มิลลิเมตร 65 มิลลิกรัม และ 14 มิลลิกรัม ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Rattana *et al.* (2012) สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ได้มากที่สุดที่ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหาร NN ซึ่งแตกต่างกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

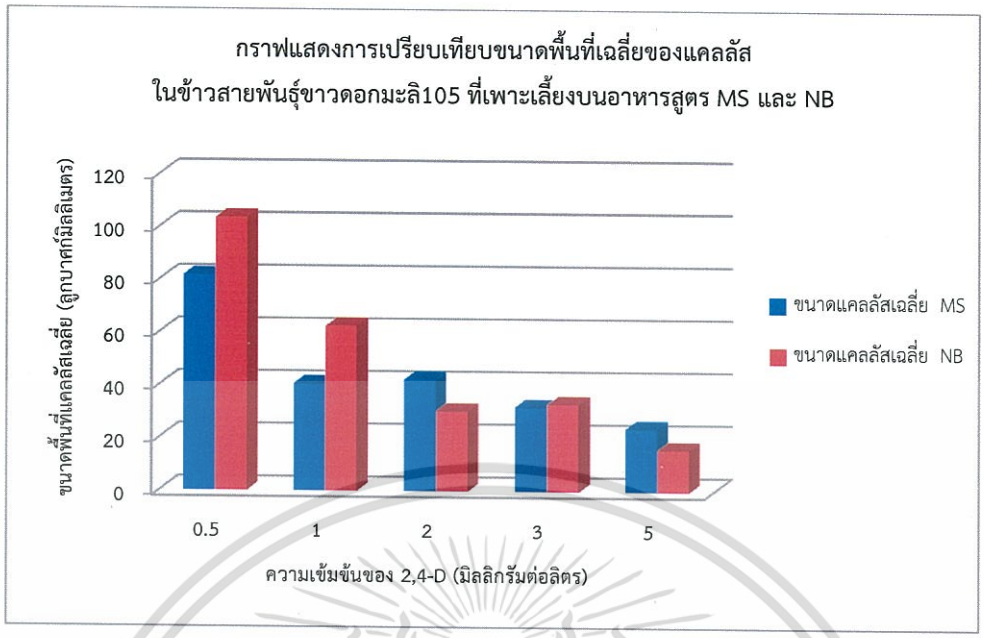
สูตร NB ที่ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 จากผลที่ได้ในการศึกษาครั้งนี้ต่างกับงานวิจัยดังกล่าวอาจเนื่องมาจากส่วนประกอบในอาหารที่ใช้มีความแตกต่างกันจึงมีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสที่ 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกัน และจากรูปที่ 4.12 ลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบไปด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกัน จะสังเกตได้ว่าที่ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเกิดทั้งแคลลัส ยอด และราก ส่วนความเข้มข้น 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ของ 2,4-D จะเกิดแคลลัส และยอด ลักษณะของแคลลัสมีทั้งลักษณะที่เกาะกันแน่นเป็นก้อน และลักษณะที่เกาะกันหลวมๆ มีสีเหลืองอ่อน

**ตารางที่ 4.4** ผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 บนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

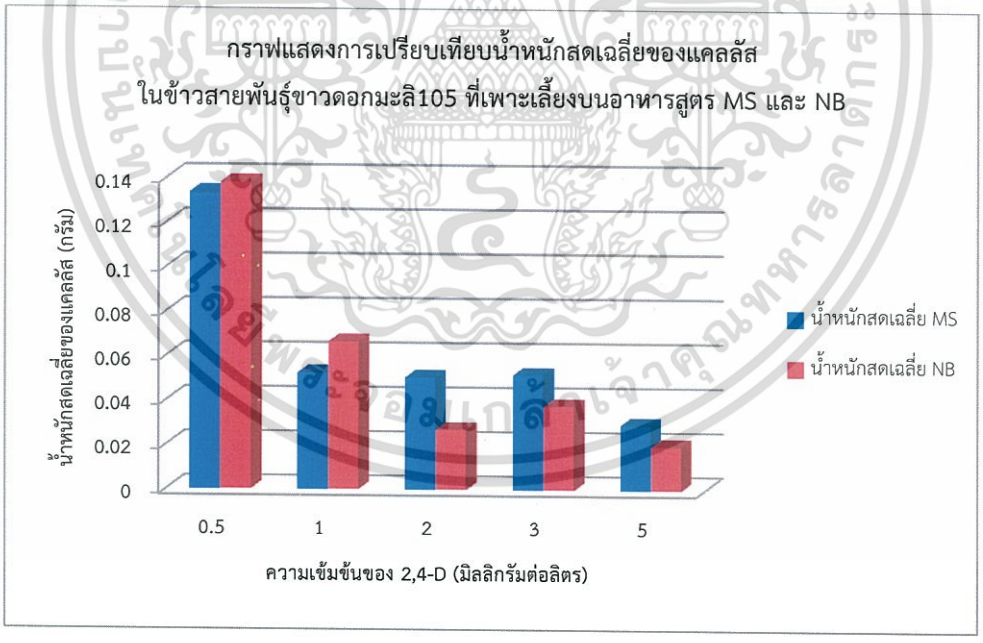
| อาหาร | 2,4-D (มก./ล.) | จำนวนเมล็ด | เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส | ขนาดพื้นที่เฉลี่ยของแคลลัส (ลบ.มม.) | น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัส (ก./เมล็ด) |
|---|---|---|---|---|---|
| MS | 0.5 | 40 | 60.0 | $81.68^{ab}$ | $0.1337^{a}$ |
| | 1 | 40 | 42.5 | $40.56^{cd}$ | $0.0525^{bc}$ |
| | 2 | 40 | 47.5 | $42.17^{cd}$ | $0.0505^{bc}$ |
| | 3 | 40 | 62.5 | $31.95^{cd}$ | $0.0518^{bc}$ |
| | 5 | 40 | 47.5 | $23.94^{d}$ | $0.0293^{bc}$ |
| NB | 0.5 | 40 | 80.0 | $103.50^{a}$ | $0.1383^{a}$ |
| | 1 | 40 | 52.5 | $62.56^{bc}$ | $0.0665^{b}$ |
| | 2 | 40 | 52.5 | $30.49^{d}$ | $0.0269^{bc}$ |
| | 3 | 40 | 60.0 | $33.21^{cd}$ | $0.0377^{bc}$ |
| | 5 | 40 | 27.5 | $16.09^{d}$ | $0.0197^{c}$ |

ตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

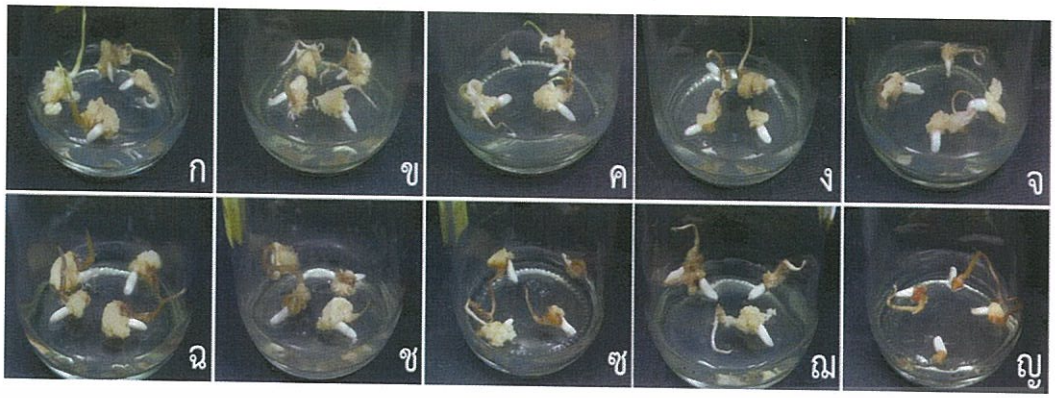



**รูปที่ 4.10** กราฟขนาดพื้นที่แคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์




**รูปที่ 4.11** กราฟน้ำหนักสดแคลลัสเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.12** ลักษณะแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (ก-จ) และ NB (ฉ-ญ) ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

## 4.2 การศึกษาสูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดต้น

เพื่อทำการหาสูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 จึงได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล ลักษณะของแคลลัสที่นำมาเพาะเลี้ยงให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้น จากการศึกษายังพบหลายงานวิจัยที่มีความสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ในบทบาทของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน เช่น สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP พบได้ในหลายงานวิจัยที่ใช้ในการชักนำให้เกิดต้น และผลกระตุ้นที่ได้จากใช้ BAP ร่วมกับ NAA มีการรายงานว่าช่วยส่งเสริมในการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสของข้าวได้ดี (Ramesh *et al.*, 2009) และงานวิจัยของ Toppo *et al.* (2014) ศึกษาการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ IR64 โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ซึ่งพบว่าการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ในอาหารชักนำให้เกิดต้นมีความสำคัญในการชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสโดยพบเปอร์เซ็นต์การชักนำให้เกิดต้น 17.5-67.5 เปอร์เซ็นต์ Karthikeyan *et al.* (2009) กล่าวถึงการประสบความสำเร็จในการชักนำให้เกิดต้นผ่านเอ็มบริโอเจนิกแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันซึ่งพบว่าช่วยให้มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส แต่อย่างไรก็ตามจะไม่พบเปอร์เซ็นต์ในการเกิดต้นที่สูงขึ้นเมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นของ BAP และ NAA ให้มีความเข้มข้นสูงขึ้น แต่กลับพบว่าที่ความเข้มข้นสูงๆ จะช่วยในการชักนำให้เกิดเพียงแค่รากเท่านั้นหลังจากทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน จึงทำให้ทราบว่าผลจากการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ร่วมกับ NAA นอกจากสามารถชักนำแคลลัสให้พัฒนาเป็นต้นใหม่ได้แล้วยังสามารถชักนำให้เกิดรากพร้อมกันได้อีกด้วย คล้ายกับงานวิจัยของ Tariq *et al.* (2008) โดยทำการศึกษาการชักนำให้เกิดต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ Super-Basmati Basmati-370 Basmati-371 และ Fakre-Malakand ในอาหารสูตร N6 ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ผลที่ได้สามารถเกิดทั้งยอดและรากได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พร้อมกันซึ่งให้ผลดีเนื่องจากช่วยประหยัดทั้งเวลาและแรงงาน นอกจากนี้ยังพบว่าสารที่ช่วยให้อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแข็งตัว หรือสารก่อเจล (gelling agent) ยังช่วยในการชักนำแคลลัสตามด้วยการชักนำให้เกิดต้นได้อีกด้วย และความเข้มข้นของไฟทาเจลที่เพิ่มขึ้นก็มีผลต่อการเพิ่มความถี่ในการเกิดต้น (Yinxia and Te-chato, 2013) เนื่องจากน้ำที่เกิดจากความเข้มข้นต่ำของสารก่อเจล และสภาวะที่มีความชื้นสูงในหลอดทดลองมีผลทำให้ลดความถี่ในการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสได้ (Bhojani *et al.*, 1996) Lee *et al.* (2002) ศึกษาการชักนำให้เกิดต้นในข้าวสายพันธุ์ Dong-Jin Hwa-Chung และ Nak-Dong เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kin ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการศึกษาร่วมกับความเข้มข้นของวุ้น พบว่าในสูตรอาหารที่มีวุ้นความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ พบการเกิดยอดเพียงเล็กน้อยแต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นเป็น 1.3 และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ก็พบจำนวนการเกิดยอดเพิ่มมากขึ้นตามลำดับ Sahoo *et al.* (2011) กล่าวว่าความเข้มข้นของวุ้นที่เพิ่มมากขึ้นมีผลทำให้เกิดความเครียดในแคลลัสและทำให้แคลลัสมีการระเหยน้ำออกจากตัวแคลลัส และเมื่อทำการค้นคว้าจากหลายงานวิจัย พบว่าแคลลัสที่ผ่านการทำให้แห้งหรือทำให้น้ำระเหยออกจากแคลลัสมีผลต่อการเกิดเอ็มบริโอเจเนซิส และการชักนำให้เกิดต้นใหม่ในข้าว (Wagiran *et al.*, 2008) จากงานของ Chand and Sahrawat (2001) รายงานว่าการทำให้แคลลัสแห้งในข้าวสายพันธุ์ Safari-17 และ Kasturi ที่เวลา 0 12 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง ก่อนย้ายแคลลัสไปเพาะเลี้ยงต่อในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้น พบว่าแคลลัสที่นำไปผ่านการทำแห้งช่วยเพิ่มความถี่ในการเกิดยอดและค่าเฉลี่ยของจำนวนยอดต่อแคลลัส และยังพบว่าแคลลัสที่ผ่านการทำแห้งจะช่วยเพิ่มให้เกิดยอดจำนวนมากได้อีกด้วยจากผลการทดลอง พบว่าข้าวสายพันธุ์ Kasturi มีความถี่ในการเกิดยอดสูงที่สุดจากแคลลัสที่ระเหยน้ำออกไป 51.4 เปอร์เซ็นต์ ใช้ระยะเวลา 48 ชั่วโมง ส่วนข้าวสายพันธุ์ Safari-17 พบว่ามีจำนวนในการเกิดยอดสูงสุดจากแคลลัสที่ระเหยน้ำออกไป 51.7 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และพบว่าที่เวลา 72 และ 96 ชั่วโมง ทำให้ความสามารถในการเกิดต้นลดลง จากผลทำให้ทราบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมที่ทำให้แคลลัสแห้งต้องขึ้นอยู่กับข้าวแต่ละสายพันธุ์ด้วย เช่นเดียวกับ Makerly *et al.* (2012) กล่าวว่าระดับการสูญเสียน้ำ และระยะเวลาที่ใช้ในการทำให้แคลลัสแห้งมีความแตกต่างกันในข้าวแต่ละสายพันธุ์ และเมื่อทราบระดับที่เหมาะสมในการระเหยน้ำออกจากแคลลัสหรือการทำให้แคลลัสแห้งช่วยส่งผลดีและเป็นประโยชน์ต่อการชักนำให้เกิดต้นในข้าวแต่ละสายพันธุ์ได้ Saharan *et al.* (2004) ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสในข้าวสายพันธุ์ HKR-126 และ HKR-46 โดยใช้เวลา 0 48 และ 72 ชั่วโมง ในการทำให้แคลลัสแห้งและเปรียบเทียบจากอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง 6 สูตร พบว่าแคลลัสที่ทำให้แห้งในระยะเวลา 48 ชั่วโมง สามารถชักนำให้เกิดต้นได้มากที่สุดในข้าวทั้งสองสายพันธุ์จากอาหารทั้งหมด 6 สูตร

จากพื้นฐานของแนวคิดและรายงานการวิจัยดังกล่าวมีความสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่ทำการศึกษาหาสูตรอาหาร และปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดต้น ซึ่งหลังจากทำการเพาะเลี้ยงพบการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสได้หลายลักษณะ ทั้งลักษณะคงเดิมไม่มีการเปลี่ยนแปลง แคลลัสเกิดสีน้ำตาล แคลลัสมีการเพิ่มจำนวน มีการเพิ่มจำนวนและเกิดราก แคลลัสมีการเพิ่มจำนวน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดตุ่มเขียวและราก เกิดยอด และเกิดยอดจำนวนมาก และผลที่ได้ของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 ให้ผลดังนี้

**4.2.1 ข้าวสายพันธุ์น้ำรู**

จากหลายปัจจัยในการชักนำให้เกิดต้นใหม่ของข้าวสายพันธุ์น้ำรู เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.5) ทำการเปรียบเทียบระหว่างแคลลัสแบบสด และแบบแห้ง พบว่าแคลลัสแบบแห้งสามารถเกิดยอดได้ตั้งแต่ในช่วง 2 สัปดาห์แรกหลังจากการเพาะเลี้ยง ในขณะที่แคลลัสแบบสด พบเพียงการเกิดจุดเขียว และราก ตารางที่ 4.6 และ 4.7 ที่ระยะเวลา 4 และ 6 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสแบบแห้งมีอัตราการชักนำให้เกิดยอดได้มากกว่าเมื่อเทียบกับแคลลัสแบบสด (รูปที่ 4.13) ต่อมาเมื่อทำการพิจารณาความเข้มข้นของไฟทาเจลที่ใช้ในอาหารเพาะเลี้ยงสังเกตได้ว่าตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ในการเพาะเลี้ยงพบว่าที่ไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้แคลลัสมีการพัฒนาไปเป็นยอดได้มากกว่าไฟทาเจลความเข้มข้น 2.6 กรัมต่อลิตร ในแคลลัสแบบสดและแบบแห้ง (รูปที่ 4.14) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Rahman *et al.* (2015) ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดต้นในข้าวสายพันธุ์ MRQ74 MRQ80 และ MRQ50 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ได้รับความนิยมในประเทศมาเลเซีย โดยศึกษาในสองปัจจัยร่วมกัน คือใช้วิธีการทางเคมีจากความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส และน้ำตาลมอลโตสความเข้มข้น 10 และ 30 กรัมต่อลิตร ในการทำให้แคลลัสแห้ง และทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นของ gelrite ที่ความเข้มข้น 6 และ 9 กรัมต่อลิตร ในการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส พบว่าน้ำตาลมอลโตส 30 กรัมต่อลิตร ช่วยทำให้แคลลัสแห้งมีการระเหยน้ำออกจากแคลลัสได้ดี และการใช้ gelrite ความเข้มข้น 9 กรัมต่อลิตร สามารถพัฒนาให้เกิดจุดเขียวและพัฒนาไปเป็นต้นได้ ต่อมาเมื่อพิจารณาจากแคลลัสที่ผ่านการทำให้แห้งของข้าวสายพันธุ์น้ำรูที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจล 2.6 และ 5.2 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4.7) พบว่าในอาหารสูตร MS สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่าอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย BAP ทั้งสามความเข้มข้น และเมื่อทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และความเข้มข้นของไฟทาเจล จากจำนวนแคลลัสที่เกิดยอด พบว่าที่ BAP ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร มีผลสามารถชักนำแคลลัสให้เกิดยอดได้ทั้งหมด 20 ชิ้น และแคลลัสที่เกิดยอดทุกชิ้นยังเกิดรากด้วย แต่เมื่อสังเกตจากความสามารถในการชักนำแคลลัสให้เกิดยอดจำนวนมาก (multiple shoots) พบว่าที่ BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจล 5.2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดยอดจำนวนมากได้ถึง 16 ชิ้น จากจำนวนแคลลัสเริ่มต้นซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.80 ยอดต่อแคลลัส มากกว่า BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดยอดจำนวนมากได้ 15 ชิ้น คิดเป็นจำนวนยอดเฉลี่ย 3.45 ยอดต่อแคลลัส คล้ายกับงานวิจัยของ Bhuiyan *et al.* (2014) สามารถชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ BRRI52 ได้มากที่สุดถึง 52 เปอร์เซ็นต์ และ 83 เปอร์เซ็นต์ ในข้าวสายพันธุ์ FR13A ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kin ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และในรูปที่ 4.15 แสดงลักษณะแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงสังเกตได้ว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ แคลลัสมีลักษณะใหญ่ขึ้น เกิดจุดเขียวบนผิวแคลลัสเล็กน้อย เกิดตุ่มยอดเล็กๆ และเริ่มเกิดรากขึ้นพร้อมๆ กัน และยังพบแคลลัสบางชิ้นเกิดสีน้ำตาล เมื่อเพาะเลี้ยงต่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แคลลัสเริ่มมีการพัฒนาเกิดเป็นตุ่มยอดเล็กๆ มากขึ้น เกิดยอด และรากเพิ่มขึ้น จนเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่ามียอดสูง เกิดยอดจำนวนมาก และเกิดรากร่วมด้วย

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าสูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดยอดของข้าวสายพันธุ์น้ำรู พบว่าในอาหารสูตร MS ที่ประกอบไปด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด และเมื่อนำแคลลัสไปผ่านการทำให้แห้งมาเพาะเลี้ยงสามารถเพิ่มอัตราเกิดยอดและจำนวนยอดได้มากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.5** ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรูให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

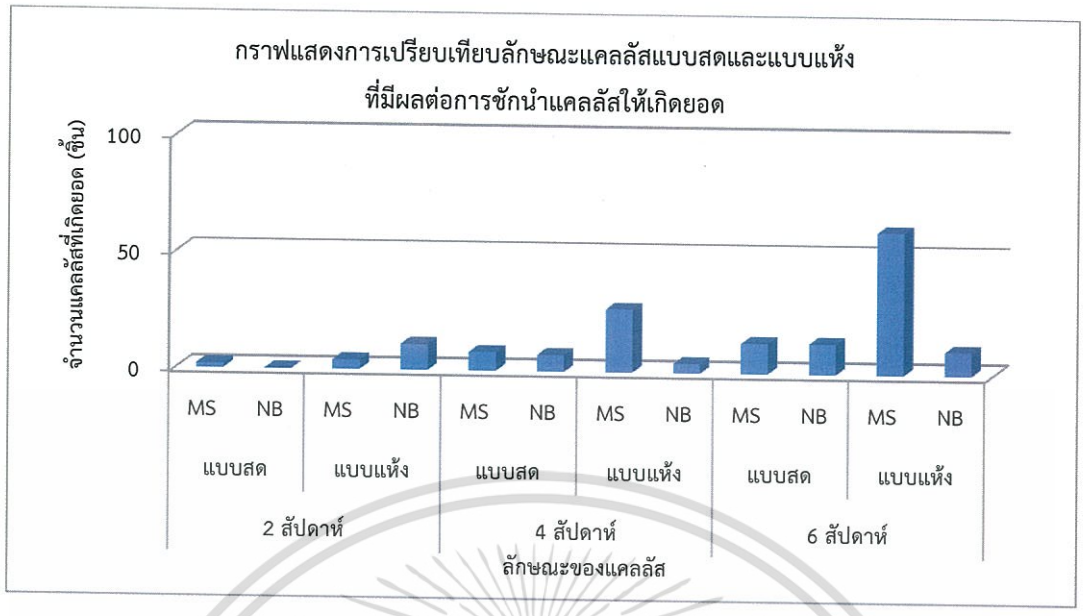
| อาหาร | BAP (มก./ล.) | ไฟทาเจล (ก./ล.) | จำนวนแคลลัส (ชิ้น) | แคลลัสแบบสด | | | | แคลลัสแบบแห้ง | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) |
| MS | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 5 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 15 | 2 | 0 | 0 | 8 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| | | 5.2 | 20 | 2 | 0 | 0 | 13 | 0 | 0 | 0 | 8 |
| NB | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 8 | 2 | 0 | 0 | 11 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 11 | 2 | 0 | 0 | 20 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 | 0 | 0 | 11 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 10 | 5 | 3 | 0.92 | 16 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 8 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 10 | 2 | 0 | 0 | 13 |

**ตารางที่ 4.6** ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรูให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

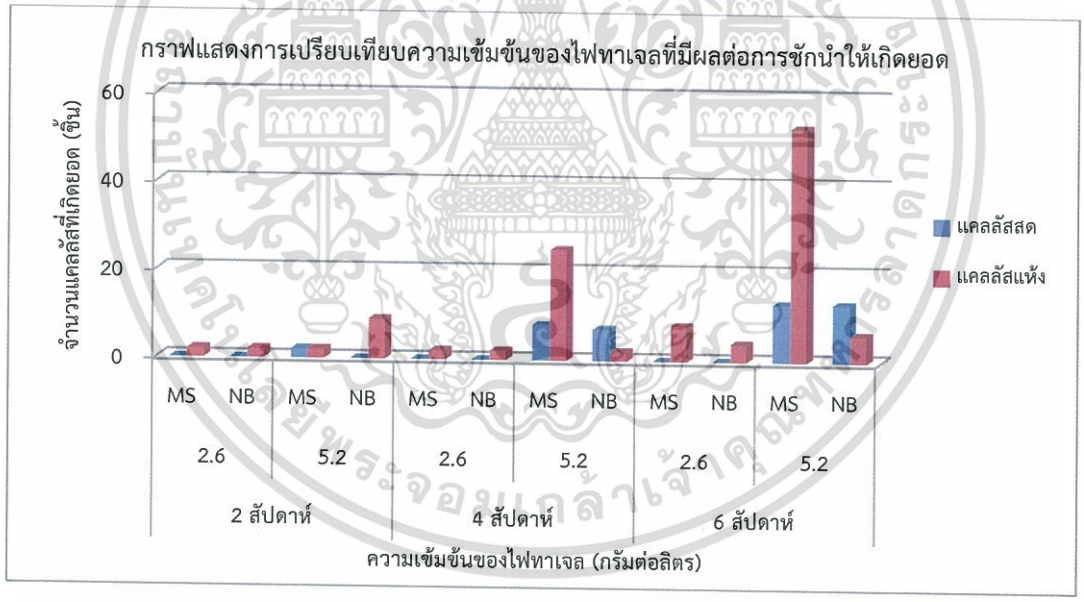
| อาหาร | BAP (มก./ล.) | ไฟทาเจล (ก./ล.) | จำนวนแคลลัส (ชิ้น) | แคลลัสแบบสด | | | | แคลลัสแบบแห้ง | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) |
| MS | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 5 | 2 | 0.33 | 3 | 6 | 3 | 0.58 | 16 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0.42 | 3 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 3 | 0.50 | 10 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 3 | 3 | 0.91 | 5 | 11 | 10 | 1.60 | 3 |
| NB | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 5 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | | 5.2 | 20 | 2 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 13 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 5 | 0 | 0 | 6 | 2 | 0 | 0 | 5 |

**ตารางที่ 4.7** ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล และลักษณะแคลลัส ในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรูให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

| อาหาร | BAP (มก./ล.) | ไฟทาเจล (ก./ล.) | จำนวนแคลลัส (ชิ้น) | แคลลัสแบบสด | | | | แคลลัสแบบแห้ง | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) |
| MS | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0.67 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 3 | 0 | 0 | 3 | 20 | 15 | 3.45 | 20 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 0.50 | 3 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20 | 16 | 3.80 | 20 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 0.45 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 10 | 8 | 1.75 | 6 | 13 | 10 | 1.72 | 11 |
| NB | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0.2 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 3 | 3 | 1.08 | 8 | 6 | 0 | 0 | 3 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 10 | 8 | 1.35 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 |

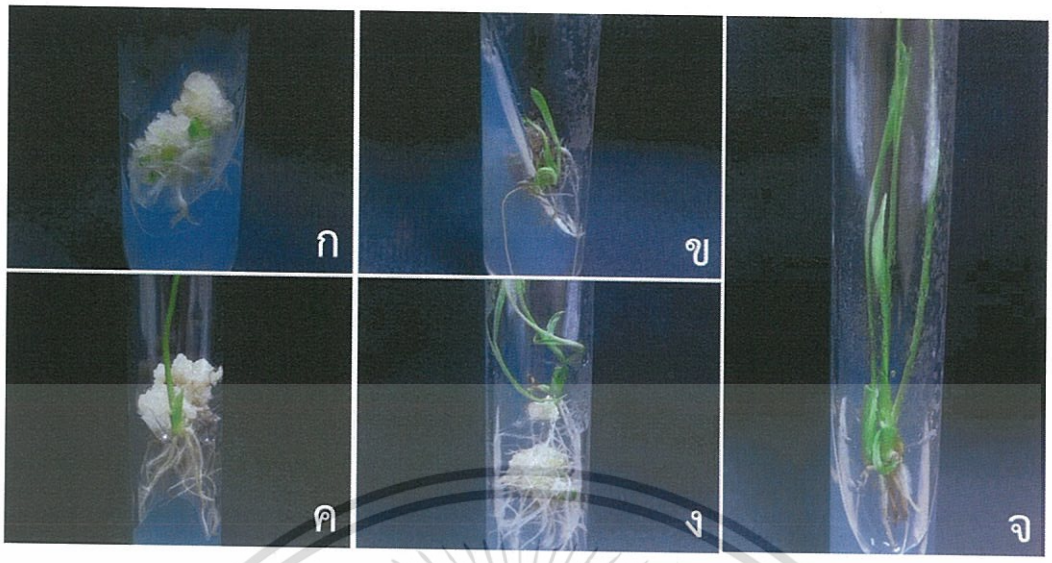



**รูปที่ 4.13** กราฟแสดงจำนวนแคลลัสที่เกิดยอดระหว่างแคลลัสสดและแคลลัสแห้งของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์




**รูปที่ 4.14** กราฟแสดงความเข้มข้นของไฟทาเจลในการชักนำแคลลัสสดและแคลลัสแห้งให้เกิดยอดของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.15** ลักษณะการพัฒนาเป็นยอดของข้าวสายพันธุ์น้ำรู เมื่อเพาะเลี้ยงที่เวลา 2 สัปดาห์ (ก) 4 สัปดาห์ (ข) 6 สัปดาห์ (ค) และลักษณะการพัฒนาเป็นยอดจำนวนมาก (ง,จ)

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.2.2 ข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้**

ลักษณะของแคลลัสหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ แคลลัสมีขนาดใหญ่ขึ้น เกิดจุดเขียว และตุ่มยอดเล็กๆ บนผิวแคลลัส และเกิดราก เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากผิวแคลลัสที่เป็นจุดเขียวเริ่มมีการพัฒนาเกิดเป็นตุ่มยอดเล็กๆและตุ่มยอดเล็กๆ ก็พัฒนาเป็นยอด จนครบ 6 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสเกิดยอดสูงให้ยอดจำนวนมาก และเกิดราก (รูปที่ 4.18) จากตารางที่ 4.8 สังเกตได้ว่าแคลลัสที่ผ่านการทำให้แห้ง สามารถเกิดยอดได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่สองเมื่อเทียบกับแคลลัสแบบสด ซึ่งพบเพียงการเกิดจุดเขียวและราก เมื่อเพาะเลี้ยงถึงระยะเวลา 4 และ 6 สัปดาห์ในตารางที่ 4.9 และ 4.10 พบว่าแคลลัสที่ผ่านการทำให้แห้ง มีอัตราการชักนำให้เกิดยอดได้มากกว่าเมื่อเทียบกับแคลลัสแบบสด (รูปที่ 4.16) ต่อมาเมื่อทำการพิจารณาความเข้มข้นของไฟทาเจลในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสังเกตได้ว่าตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 สัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 6 ที่ไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นยอดได้มากกว่าไฟทาเจลความเข้มข้น 2.6 กรัมต่อลิตร ในการเพาะเลี้ยงทั้งหมดสังเกตจากจำนวนแคลลัสที่เกิดยอด (รูปที่ 4.17) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.10) พิจารณาจากส่วนของแคลลัสที่ผ่านการทำให้แห้งที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 2.6 และ 5.2 กรัมต่อลิตร พบว่าในอาหารสูตร MS สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดยอดได้ดีกว่าอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย BAP ทั้งสามความเข้มข้น และเมื่อทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP และความเข้มข้นของไฟทาเจล พบว่า BAP ความเข้มข้น 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร มีผลในการชักนำแคลลัสเริ่มต้นทั้ง 20 ชิ้นให้เกิดยอดจำนวนมากได้ มีจำนวนยอดเฉลี่ย 5.27 และ 5.18 ยอดต่อแคลลัส ตามลำดับ ส่วน BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสามารถในการชักนำแคลลัสเริ่มต้นให้เกิดยอดจำนวนมากได้ทั้ง 20 ชิ้น เช่นกัน แต่มีจำนวนยอดเฉลี่ยถึง 5.73 ยอดต่อแคลลัส ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wani *et al.* (2011) ทำการศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ PR116 โดยเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kin ความเข้มข้น 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดซึ่งพบเปอร์เซ็นต์ในการชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุด 42.5 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าสูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้พบว่าสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นไฟทาเจล 5.2 กรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด และเมื่อนำแคลลัสไปผ่านการทำให้แห้งมาเพาะเลี้ยงสามารถเพิ่มอัตราการเกิดยอดและจำนวนยอดได้มากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.8** ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล และลักษณะแคลลัสในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

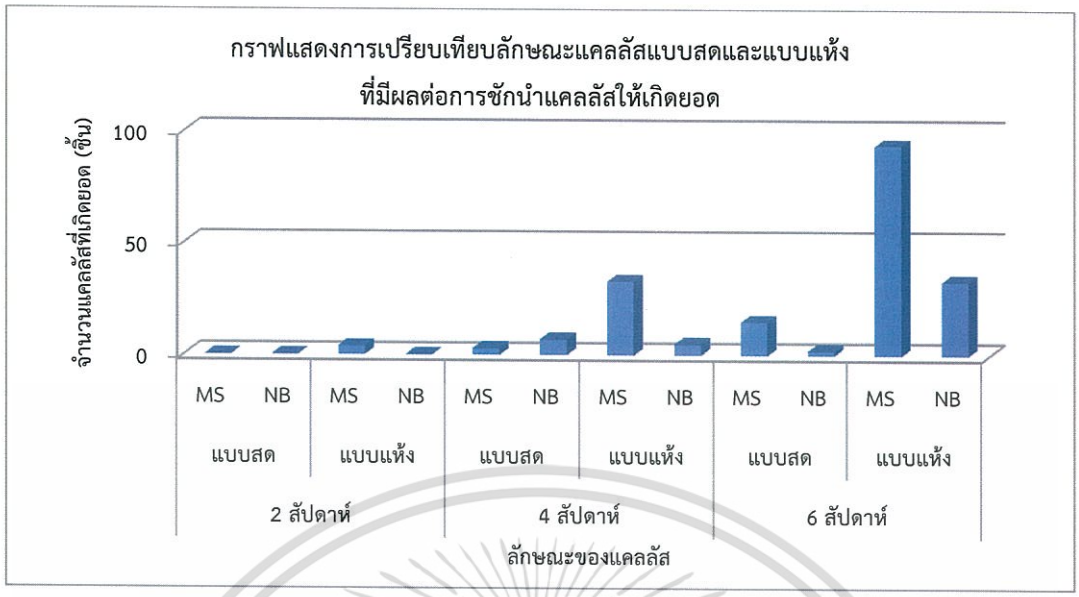
| อาหาร | BAP (มก./ล.) | ไฟทาเจล (ก./ล.) | จำนวนแคลลัส (ชิ้น) | แคลลัสแบบสด | | | | แคลลัสแบบแห้ง | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) |
| MS | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 5 | 2 | 0 | 0 | 2 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 2 |
| NB | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 11 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 5 |

**ตารางที่ 4.9** ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล และลักษณะแคลลัสในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

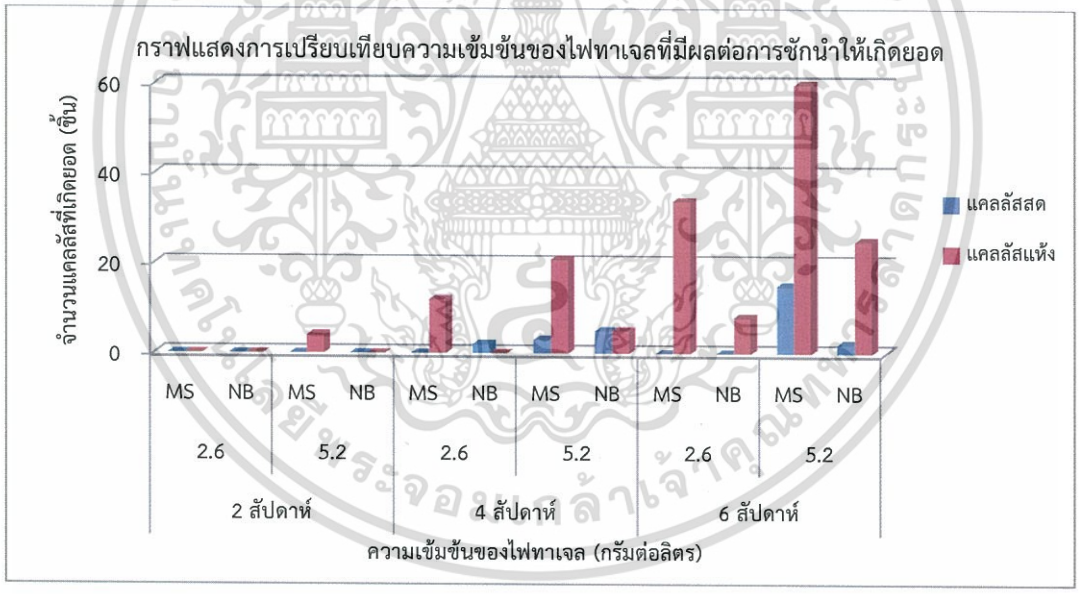
| อาหาร | BAP (มก./ล.) | ไฟทาเจล (ก./ล.) | จำนวนแคลลัส (ชิ้น) | แคลลัสแบบสด | | | | แคลลัสแบบแห้ง | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) |
| MS | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 10 | 4.75 | 8 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11 | 5 | 1.70 | 16 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 3 | 0.85 | 5 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 5 |
| | | 5.2 | 20 | 3 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| NB | 1 | 2.6 | 20 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 2 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 8 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 2 | 0.30 | 3 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| | | 5.2 | 20 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 |

**ตารางที่ 4.10** ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล และลักษณะแคลลัสในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

| อาหาร | BAP (มก./ล.) | ไฟทาเจล (ก./ล.) | จำนวนแคลลัส (ชิ้น) | แคลลัสแบบสด | | | | แคลลัสแบบแห้ง | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) |
| MS | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 18 | 18 | 5.14 | 20 |
| | | 5.2 | 20 | 2 | 0 | 0 | 2 | 20 | 20 | 5.27 | 20 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 5 | 5 | 1.58 | 5 | 20 | 20 | 5.73 | 15 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16 | 15 | 3.20 | 20 |
| | | 5.2 | 20 | 8 | 6 | 1.92 | 8 | 20 | 20 | 5.18 | 20 |
| NB | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11 | 6 | 2.30 | 11 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 5 | 1.87 | 5 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 3 | 0.56 | 6 |
| | | 5.2 | 20 | 2 | 2 | 0.27 | 2 | 8 | 5 | 2.24 | 6 |

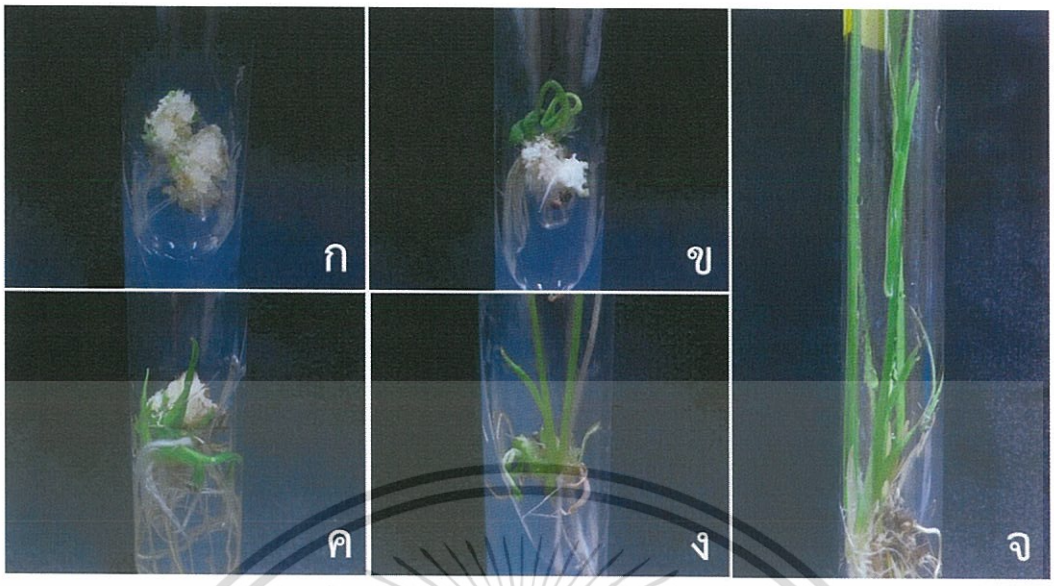



**รูปที่ 4.16** กราฟแสดงจำนวนแคลลัสที่เกิดยอดระหว่างแคลลัสสดและแคลลัสแห้งของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์




**รูปที่ 4.17** กราฟแสดงความเข้มข้นของไฟทาเจลในการชักนำแคลลัสสดและแคลลัสแห้งให้เกิดยอดของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.18** ลักษณะการพัฒนาเป็นยอดของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ เมื่อเพาะเลี้ยงที่เวลา 2 สัปดาห์ (ก) 4 สัปดาห์ (ข) 6 สัปดาห์ (ค) และลักษณะการพัฒนาเป็นยอดจำนวนมาก (ง,จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.2.3 ข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ**

การชักนำให้เกิดต้นใหม่ของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ จากรูปที่ 4.21 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสโดยมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ และเริ่มพบลักษณะที่สามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้โดยเกิดจุดเขียวบนผิวแคลลัสเล็กน้อย เริ่มเกิดรากขึ้นพร้อมๆ กัน แต่แคลลัสบางชิ้นเกิดสีน้ำตาล และเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แคลลัสเริ่มมีการพัฒนาเกิดเป็นตุ่มยอดเล็กๆ ขึ้น จนเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า แคลลัสเกิดยอดสูง เกิดยอดหลายยอด และเกิดรากเพิ่มขึ้น จากปัจจัยต่างๆที่ใช้ในการศึกษาเพื่อให้เข้าใจมากยิ่งขึ้นสามารถพิจารณาได้จากตารางที่ 4.11 จะสังเกตได้ว่าแคลลัสแบบแห้ง สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่สองเมื่อเทียบกับแคลลัสแบบสด แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในตารางที่ 4.12 พบว่าแคลลัสแบบสด สามารถถูกชักนำให้เกิดยอดได้มากกว่าแคลลัสแบบแห้ง ต่อเนื่องไปจนถึงสัปดาห์ที่ 6 ที่ให้ผลไปในทางเดียวกัน (รูปที่ 4.19) ต่อมาเมื่อทำการพิจารณาความเข้มข้นของไฟทาเจลที่ใช้ในอาหารสังเกตได้ว่าในการเพาะเลี้ยงตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนถึงสัปดาห์ที่ 6 พบว่าไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นยอดได้มากกว่าไฟทาเจลความเข้มข้น 2.6 กรัมต่อลิตร ทั้งในแคลลัสที่แบบสด และแบบแห้ง (รูปที่ 4.20) จากผลข้างต้นในการชักนำให้เกิดยอดของแคลลัสแบบสด ได้ทำการเปรียบเทียบอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของ ไฟทาเจล 2.6 และ 5.2 กรัมต่อลิตร พบว่าในอาหารสูตร MS สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดยอดได้ดีกว่าอาหารสูตร NB พิจารณาจากการชักนำแคลลัสให้เกิดยอด และพบว่าในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร มีผลในการชักนำแคลลัสเริ่มต้นให้เกิดยอดได้สูงสุดทั้งหมด 20 ชิ้น และเกิดราก 18 ชิ้น จากแคลลัสเริ่มต้นและจากแคลลัสแบบแห้ง ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสเริ่มต้นให้เกิดยอดได้สูงสุด 20 ชิ้น และเกิดราก 20 ชิ้น จากแคลลัสเริ่มต้น แต่เมื่อเปรียบเทียบจากจำนวนแคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมากพบว่าแคลลัสแบบสดสามารถถูกชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากได้ 13 ชิ้น จากแคลลัสเริ่มต้น มีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.87 ยอดต่อแคลลัส ซึ่งมากกว่า BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร จากแคลลัสแบบแห้งที่สามารถถูกชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากได้เพียง 8 ชิ้น จากแคลลัสเริ่มต้น มีจำนวนยอดเฉลี่ย 2.38 ยอดต่อแคลลัส แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากความสามารถในการชักนำแคลลัสให้เกิดยอดจำนวนมาก พบว่าแคลลัสแบบสดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นไฟทาเจลเท่ากับ 2.6 กรัมต่อลิตร ที่สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดยอดได้เพียง 18 ชิ้น จากแคลลัสเริ่มต้น แต่มีจำนวนการเกิดยอดเฉลี่ยสูงถึง 4.12 ยอดต่อต้น (ตารางที่ 4.13) ซึ่งพบว่าคล้ายกับงานวิจัยของ Tiwari *et al.* (2012) ทำการชักนำให้เกิดต้นในข้าวสายพันธุ์ Pusa-Basmati1 และ Kalanamak ในอาหารสูตร MS และ DI ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 0 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kin ความเข้มข้น 0.2 0.5 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร IAA ความเข้มข้น 0 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าข้าวสายพันธุ์ Pusa-Basmati1 ให้เปอร์เซ็นต์ในการเกิดยอดสูงที่สุดในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA และ Kin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ข้าวสายพันธุ์ Kalanamak ให้เบ่อร์เซ็นต์ในการเกิดยอดสูงที่สุดในอาหารสูตร DI ที่มี BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA Kin และ IAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามพบว่าข้าวทั้งสองสายพันธุ์ให้เบ่อร์เซ็นต์ในการเกิดยอดสูงที่สุดในอาหารที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเหมือนกัน

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าสูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ พบว่าในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีไฟทาเจลความเข้มข้น 2.6 กรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด และเมื่อนำแคลลัสแบบสด หรือไม่ผ่านการทำให้แห้งมาเพาะเลี้ยงสามารถเพิ่มอัตราการเกิดยอดและจำนวนยอดได้มากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.11** ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล และลักษณะแคลลัสในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

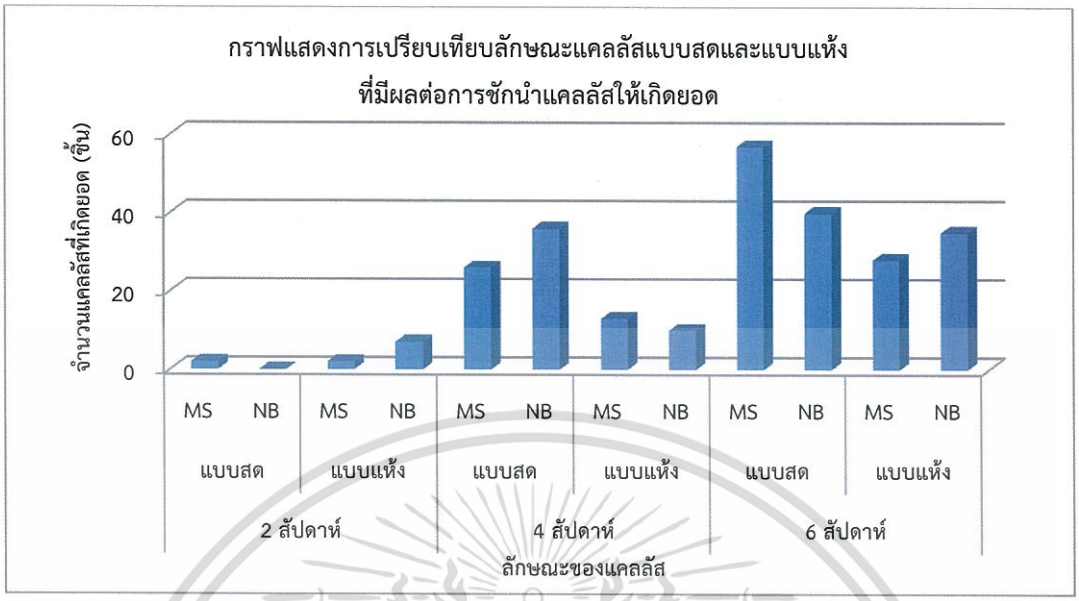
| อาหาร | BAP (มก./ล.) | ไฟทาเจล (ก./ล.) | จำนวนแคลลัส (ชิ้น) | แคลลัสแบบสด | | | | แคลลัสแบบแห้ง | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) |
| MS | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 2 | 0 | 0 | 5 | 2 | 0 | 0 | 6 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 8 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 8 |
| NB | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 10 | 2 | 0 | 0 | 5 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 13 | 2 | 0 | 0 | 8 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 10 | 3 | 0 | 0 | 5 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 6 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 | 0 | 0 | 2 |

**ตารางที่ 4.12** ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล และลักษณะแคลลัสในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

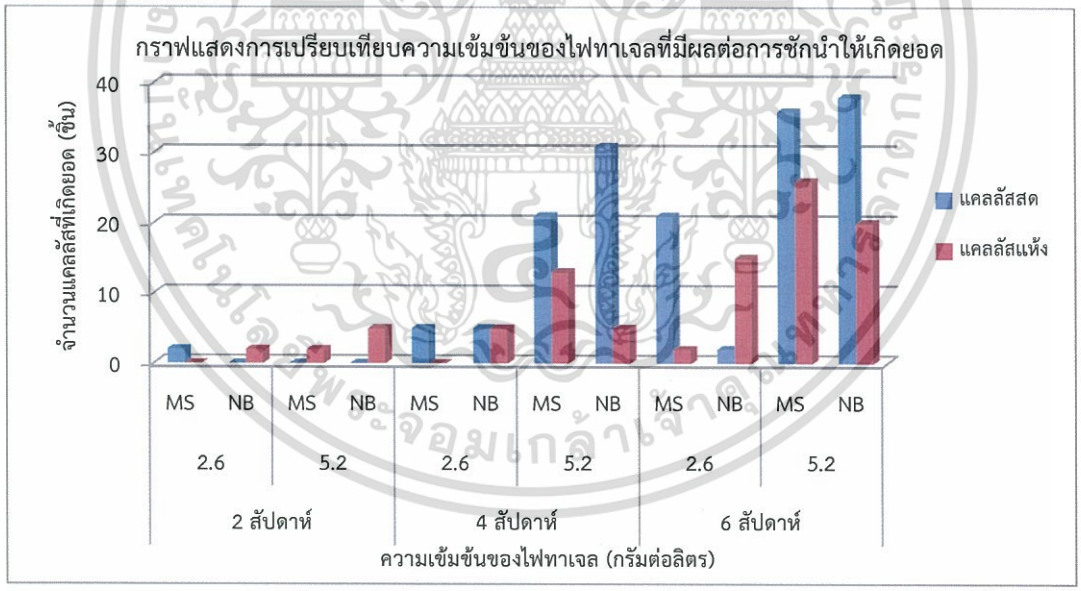
| อาหาร | BAP (มก./ล.) | ไฟทาเจล (ก./ล.) | จำนวนแคลลัส (ชิ้น) | แคลลัสแบบสด | | | | แคลลัสแบบแห้ง | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) |
| MS | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 3 | 2 | 0.35 | 8 | 8 | 6 | 1.00 | 11 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | | 5.2 | 20 | 10 | 8 | 1.75 | 11 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 2 | 2 | 0.67 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 8 | 3 | 0.50 | 10 | 5 | 3 | 0.55 | 6 |
| NB | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 |
| | | 5.2 | 20 | 10 | 0 | 0 | 13 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 0.60 | 13 |
| | | 5.2 | 20 | 5 | 0 | 0 | 0 | 5 | 3 | 0.30 | 8 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 3 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 16 | 5 | 0.50 | 16 | 0 | 0 | 0 | 0 |

**ตารางที่ 4.13** ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล และลักษณะแคลลัสในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

| อาหาร | BAP (มก./ล.) | ไฟทาเจล (ก./ล.) | จำนวนแคลลัส (ชิ้น) | แคลลัสแบบสด | | | | แคลลัสแบบแห้ง | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) |
| MS | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 5 | 3 | 0.68 | 5 | 20 | 8 | 2.38 | 20 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 18 | 18 | 4.12 | 18 | 2 | 0 | 0 | 2 |
| | | 5.2 | 20 | 20 | 13 | 3.87 | 18 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 3 | 3 | 0.74 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 11 | 0 | 0 | 11 | 6 | 5 | 0.60 | 6 |
| NB | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 3 |
| | | 5.2 | 20 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13 | 11 | 3.42 | 10 |
| | | 5.2 | 20 | 10 | 0 | 0 | 11 | 18 | 10 | 3.20 | 15 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 2 | 2 | 0.43 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 18 | 8 | 1.87 | 18 | 2 | 2 | 0.45 | 2 |

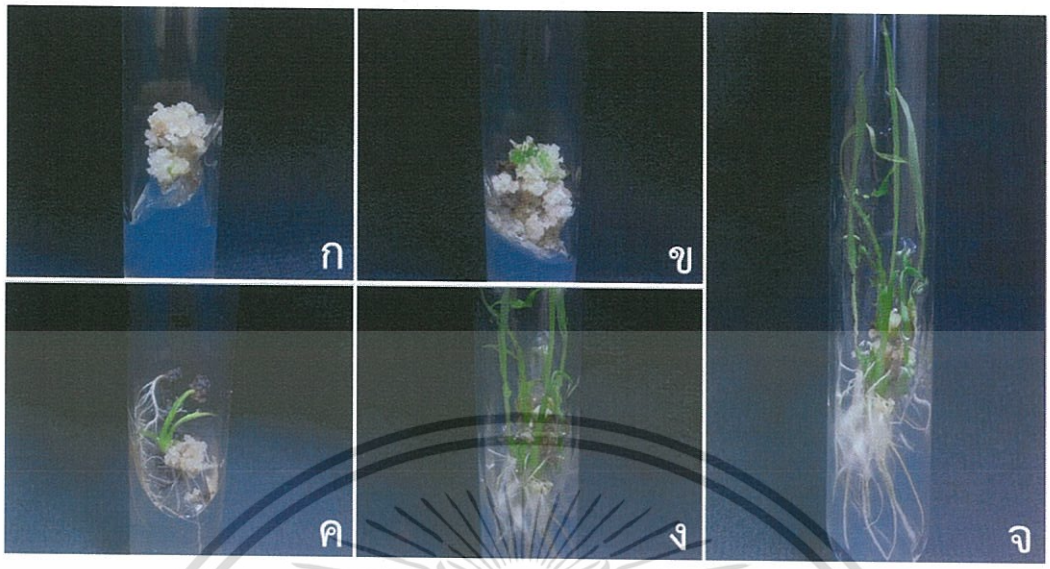



**รูปที่ 4.19** กราฟแสดงจำนวนแคลลัสที่เกิดยอดระหว่างแคลลัสสดและแคลลัสแห้งของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์




**รูปที่ 4.20** กราฟแสดงความเข้มข้นของไฟทาเจลในการชักนำแคลลัสสดและแคลลัสแห้งให้เกิดยอดของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.21** ลักษณะการพัฒนาเป็นยอดของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ เมื่อเพาะเลี้ยงที่เวลา 2 สัปดาห์ (ก) 4 สัปดาห์ (ข) 6 สัปดาห์ (ค) และลักษณะการพัฒนาเป็นยอดจำนวนมาก (ง,จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.2.4 ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105**

พบลักษณะของแคลลัสมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ขยายใหญ่ขึ้น เกิดจุดเขียวเล็กๆ บนผิวแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์เริ่มเกิดตุ่มยอดเล็กๆ และเกิดยอดพร้อมกับรากในเวลาเดียวกัน และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงจนครบ 6 สัปดาห์ พบว่ายอดสูงขึ้นและเกิดยอดจำนวนมาก ตุ่มยอดเล็กๆ ก็พัฒนาเป็นยอดสูงเพิ่มมากขึ้น และมีรากเกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ (รูปที่ 4.24) จากการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่ใช้ในการชักนำให้เกิดต้นใหม่ของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 จากตารางที่ 4.14 สังเกตได้ว่าแคลลัสแบบแห้ง ถูกชักนำให้เกิดยอดได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่สองเมื่อเทียบกับแคลลัสแบบสด ต่อมาเมื่อเพาะเลี้ยงต่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จนครบ 6 สัปดาห์ ในตารางที่ 4.15 และ ตารางที่ 4.16 พบจำนวนแคลลัสที่เกิดยอดเพิ่มมากขึ้นในส่วนของแคลลัสแบบแห้ง (รูปที่ 4.22) ต่อมาทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นของไฟทาเจลที่ความเข้มข้น 2.6 และ 5.2 กรัมต่อลิตร ในอาหารพิจารณาจากแคลลัสแบบแห้ง ในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร มีอัตราการชักนำแคลลัสให้เกิดยอดได้ดีกว่าไฟทาเจลความเข้มข้น 2.6 กรัมต่อลิตร ทั้งในอาหารสูตร MS และ NB (รูปที่ 4.23) แต่เมื่อพิจารณาจำนวนแคลลัสที่เกิดยอด พบว่าในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดยอดและรากได้ทั้งหมด 20 ชิ้น จากจำนวนแคลลัสเริ่มต้นทั้งหมด และในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 2.6 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดยอดและรากได้ทั้งหมด 20 ชิ้น จากแคลลัสเริ่มต้นเช่นเดียวกัน ทำให้ทราบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสให้เกิดยอดในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 แต่หากพิจารณาจากความสามารถในการชักนำแคลลัสให้เกิดยอดจำนวนมาก พบว่าในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดยอดได้ดีที่สุดในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 เพราะสามารถชักนำแคลลัสให้เกิดยอดจำนวนมากได้ถึง 20 ชิ้นจากจำนวนแคลลัสเริ่มต้น มีจำนวนยอดเฉลี่ย 5.80 ยอดต่อแคลลัส ซึ่งจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าได้ทำการศึกษาในวิธีที่คล้ายกับ Sompornpailin and Chutipaijit (2012) ในการศึกษาการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 โดยทำการนำแคลลัสที่ไม่ผ่านการผึ่งแห้ง และแคลลัสที่นำไปผ่านการผึ่งแห้งเป็นเวลา 7 วัน มาทำการชักนำให้เกิดต้นในอาหารสูตร NB ที่ประกอบไปด้วย yeast extract 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร IAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 3 4 5 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ BAP ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลในการชักนำให้เกิดต้นมากที่สุด และพบว่าแคลลัสที่ผ่านการทำให้แห้งให้ผลในการชักนำให้เกิดต้นเท่ากับ 13.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าแคลลัสที่ไม่ผ่านการทำให้แห้งที่ชักนำได้เพียง 6.67 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำสูตรอาหารนี้มาเติมวุ้นที่ความเข้มข้น 8 12 16 และ 18 กรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 4 5 6 และ 7 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบความเข้มข้นของวุ้นและไฟทาเจล พบว่าไฟทาเจลความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจุดเขียวบนแคลลัสได้มากที่สุด 73.33 เปอร์เซ็นต์ และเกิดยอดได้สูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์

อย่างไรก็ตามจากการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าสูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 พบว่าในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด และเมื่อนำแคลลัสไปผ่านการทำให้แห้งมาเพาะเลี้ยงสามารถเพิ่มอัตราการเกิดยอดและจำนวนยอดได้มากที่สุด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.14** ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล และลักษณะแคลลัสในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

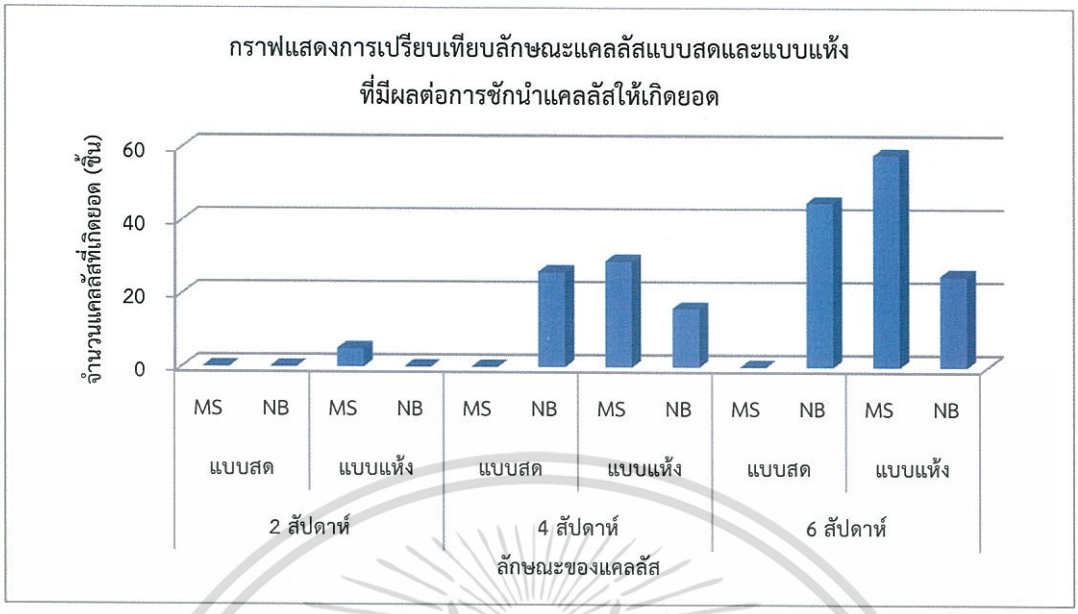
| อาหาร | BAP (มก./ล.) | ไฟทาเจล (ก./ล.) | จำนวนแคลลัส (ชิ้น) | แคลลัสแบบสด | | | | แคลลัสแบบแห้ง | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) |
| MS | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 2 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 2 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| NB | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 11 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |

**ตารางที่ 4.15** ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล และลักษณะแคลลัสในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

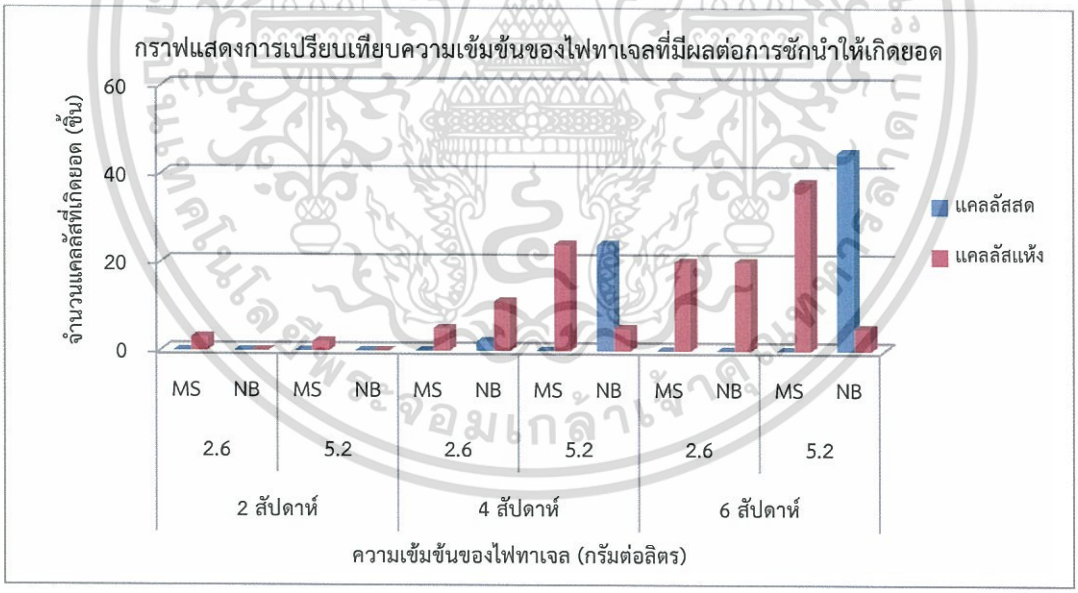
| อาหาร | BAP (มก./ล.) | ไฟทาเจล (ก./ล.) | จำนวนแคลลัส (ชิ้น) | แคลลัสแบบสด | | | | แคลลัสแบบแห้ง | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) |
| MS | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 2 | 8 | 8 | 3.15 | 6 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 5 | 0.65 | 2 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 0.30 | 2 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13 | 8 | 2.65 | 6 |
| NB | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11 | 11 | 3.25 | 6 |
| | | 5.2 | 20 | 3 | 2 | 0.30 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 8 | 3 | 0.55 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 13 | 0 | 0 | 8 | 5 | 0 | 0 | 0 |

**ตารางที่ 4.16** ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล และลักษณะแคลลัสในการชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ให้เกิดต้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

| อาหาร | BAP (มก./ล.) | ไฟทาเจล (ก./ล.) | จำนวนแคลลัส (ชิ้น) | แคลลัสแบบสด | | | | แคลลัสแบบแห้ง | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) |
| MS | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20 | 20 | 5.80 | 20 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20 | 15 | 3.45 | 6 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 6 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16 | 13 | 3.29 | 6 |
| NB | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20 | 18 | 4.35 | 20 |
| | | 5.2 | 20 | 10 | 2 | 0.30 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 16 | 5 | 1.80 | 11 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 19 | 8 | 2.15 | 15 | 5 | 5 | 2.04 | 2 |

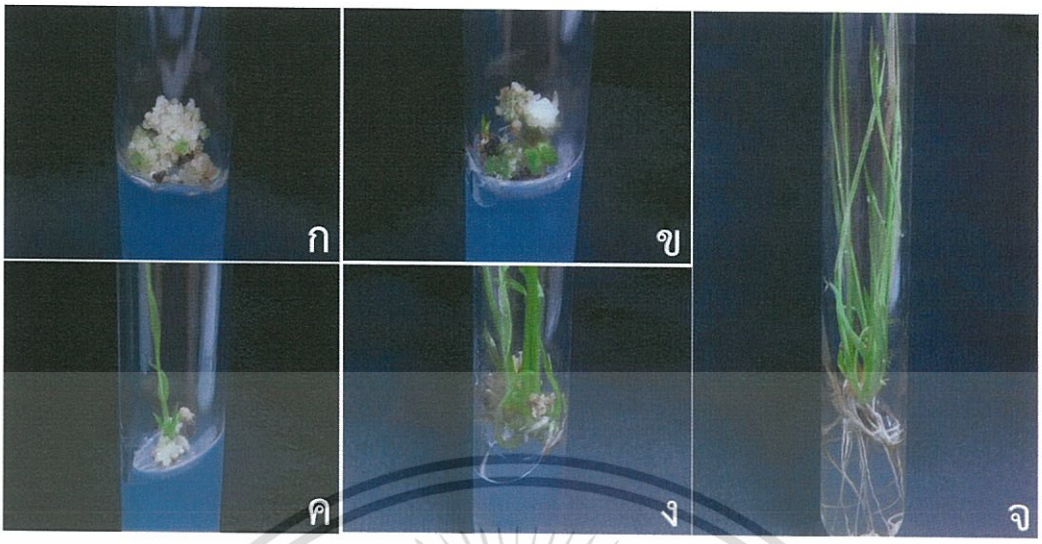



**รูปที่ 4.22** กราฟแสดงจำนวนแคลลัสที่เกิดยอดระหว่างแคลลัสสดและแคลลัสแห้งของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์




**รูปที่ 4.23** กราฟแสดงความเข้มข้นของไฟทาเจลในการชักนำแคลลัสสดและแคลลัสแห้งให้เกิดยอดของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.24** ลักษณะการพัฒนาเป็นยอดของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 เมื่อเพาะเลี้ยงที่เวลา 2 สัปดาห์ (ก) 4 สัปดาห์ (ข) 6 สัปดาห์ (ค) และลักษณะการพัฒนาเป็นยอดจำนวนมาก (ง,จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.3 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัส และระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย

จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอยโดยทำการหาน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งโดยเฉลี่ยของเซลล์แขวนลอย จะทำให้ทราบอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยง เพื่อทราบถึงช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแคลลัส ซึ่งมีความสำคัญต่อการนำแคลลัสไปชักนำให้เกิดต้นใหม่ ทั้งนี้การเจริญเติบโตของแคลลัสจะทำการศึกษาจากเส้นโค้งของการเติบโต โดยจะแบ่งออกได้ 4 ระยะ คือ ระยะการปรับตัว (lag phase) ระยะเติบโตอย่างรวดเร็ว (log phase) ระยะคงที่ (stationary phase) และระยะสิ้นสุด (death phase) เซลล์แขวนลอยที่อยู่ในระยะ log phase เป็นเซลล์ที่มีการเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วเหมาะจะนำไปใช้ในกิจกรรมต่างๆ เช่น เปลี่ยนอาหารใหม่ หรือนำไปชักนำให้พัฒนาเกิดเป็นต้น (อนุรักษ์, 2550) แต่อย่างไรก็ตามการเจริญเติบโตของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงจะเติบโตอย่างรวดเร็ว หรือช้าก็ขึ้นอยู่กับลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันของพืชด้วยเช่นกัน (Sundram *et al.*, 2012) ซึ่งในระยะ stationary phase เข้าระยะ death phase Lima *et al.* (2008) ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยในต้น *Croton urucurana* Baill. เป็นต้นไม้ที่พบในบราซิล มีสรรพคุณในการใช้รักษาโรค รายงานว่าการเจริญเติบโตของเซลล์ที่มีการชะลอตัว หรืออยู่ในระยะ stationary phase เข้าระยะ death phase เกิดขึ้นเป็นผลมาจากอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยเริ่มไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ที่เพิ่มขึ้น และยังมีการสะสมสารพิษในอาหารที่เกิดจากเซลล์ปล่อยออกมา จากการศึกษาครั้งนี้ที่ศึกษาอัตราการเจริญเติบโต และระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแคลลัสแบบเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 พบว่า

### 4.3.1 ข้าวสายพันธุ์น้ำรู

หลังการเพาะเลี้ยงแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบไปด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน แคลลัสมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ และมีสีเหลืองกระจายอยู่ภายในอาหาร มีค่าน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดในวันที่ 18 โดยมีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.3499 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตรของอาหารเพาะเลี้ยง และน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0141 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตรของอาหารเพาะเลี้ยง และจากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติจะเห็นได้ว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งในค่าน้ำหนักสดเฉลี่ย และน้ำหนักแห้งเฉลี่ย แต่ให้แนวโน้มในการเจริญเติบโตไปในทางเดียวกันจากจำนวนวันทั้งหมดที่ทำการเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 4.17) จากนั้นนำค่าน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเซลล์แขวนลอยมาสร้างกราฟเพื่อให้มองเห็นผลที่ชัดเจนมากขึ้นในรูปที่ 4.25 จะเห็นได้ว่าจากลักษณะในช่วงวันที่ 3 ถึงวันที่ 18 เซลล์แขวนลอยมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในระยะ log phase และเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 18 หลังจากนั้นกราฟก็ค่อยๆ ตกลงในวันที่ 21 ถึงวันที่ 24 ที่ทำการเพาะเลี้ยง ซึ่งเกิดจากการเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอยเริ่มเข้าสู่ระยะ death phase นั่นเอง เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Wai-Leng and Lai-Keng (2004) ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของหญ้าหนวดแมวในอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร MS ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

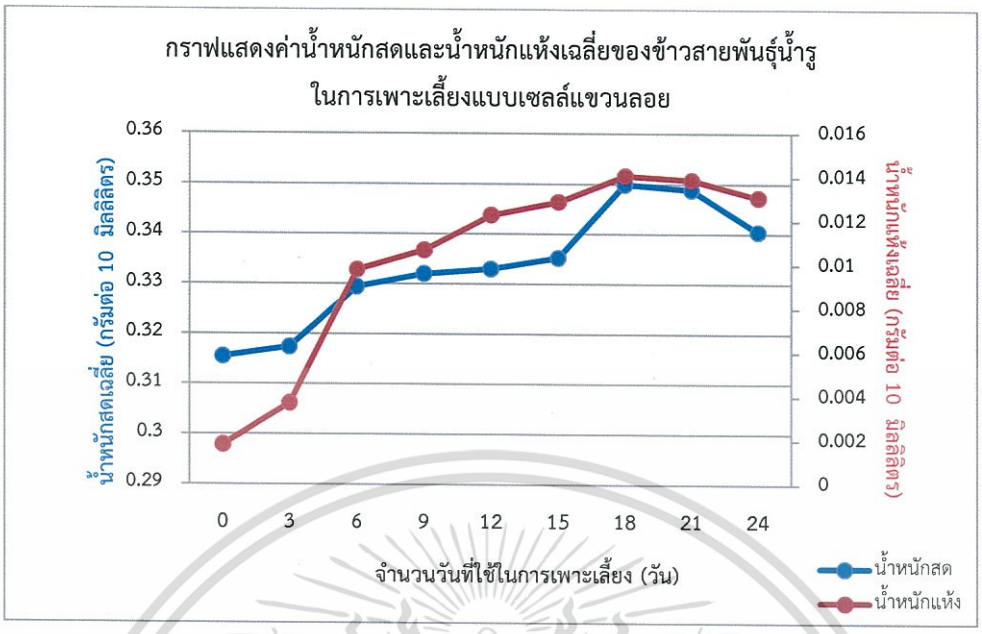
ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบระยะการเจริญเติบโตของแคลลัสระยะ lag phase ในช่วง 6 วันแรกจากการเพาะเลี้ยง และพบระยะ log phase ที่แคลลัสมีการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 18 จากค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดคือ 0.503 กรัม หลังจากนั้นการเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอยเริ่มเข้าสู่ระยะ stationary phase และระยะ death phase ตามลำดับ

**ตารางที่ 4.17** ค่าน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์น้ำรูที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน

| วัน | น้ำหนักสดเฉลี่ย (กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร) | น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร) |
|---|---|---|
| 0 | 0.3155[a] | 0.0018[b] |
| 3 | 0.3174[a] | 0.0037[b] |
| 6 | 0.3294[a] | 0.0098[a] |
| 9 | 0.3320[a] | 0.0107[a] |
| 12 | 0.3330[a] | 0.0123[a] |
| 15 | 0.3352[a] | 0.0129[a] |
| 18 | 0.3499[a] | 0.0141[a] |
| 21 | 0.3488[a] | 0.0139[a] |
| 24 | 0.3404[a] | 0.0131[a] |

ตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.25** กราฟแสดงค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์น้ำรูที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน

### 4.3.2 ข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้

เพาะเลี้ยงแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ ในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน จากค่าน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเฉลี่ย ในช่วงวันที่ 3 ถึงวันที่ 15 ที่เป็นช่วงระยะ log phase มีอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอยเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นจะมีปริมาณเซลล์ลดลงซึ่งเข้าสู่ระยะ death phase ในรูปที่ 4.26 เป็นกราฟแสดงค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ จากรูปทำให้เห็นแนวโน้มของอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอยได้ชัดเจนมากขึ้น พบว่าวันที่แคลลัสเจริญเติบโตสูงสุดคือวันที่ 15 แม้ว่าในตารางที่ 4.18 จะแสดงว่าค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างวันที่ 12 ถึงวันที่ 24 และค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยที่ได้ก็ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างวันที่ 15 และวันที่ 18 อย่างไรก็ตามเมื่อนำทั้งค่าน้ำหนักสด และค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ย มาพิจารณาร่วมกันพบว่าในวันที่ 15 มีอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์สูงที่สุด คือ 0.3620 และ 0.0131 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตรของอาหารเพาะเลี้ยง ตามลำดับ รัตนาภรณ์ และอนุรักษ์ (2554) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของถั่วท่าพระสไตโล (*Stylosanthes guianesis* CIAT 184) โดยการนำแคลลัสที่ได้จากใบเลี้ยงมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 30 วัน หลังการเพาะเลี้ยงพบช่วงระยะ log phase อยู่ระหว่างวันที่ 3 ถึงวันที่ 15 และพบว่าเซลล์แขวนลอยมีการเจริญเติบโตสูงที่สุดในวันที่ 15 หลังการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

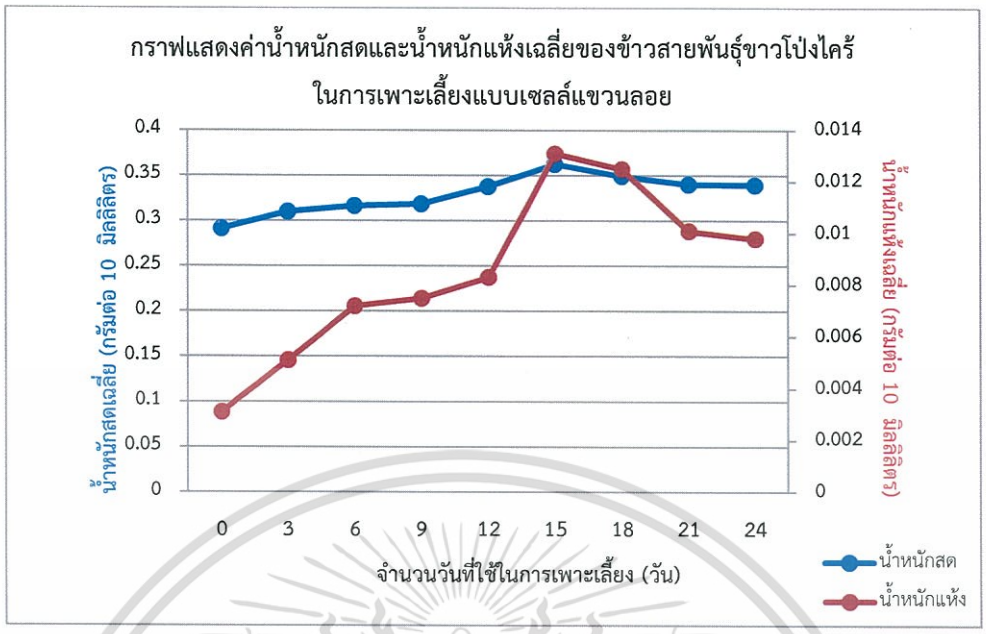
เพาะเลี้ยงโดยมีน้ำหนักสด 0.6304 กรัมต่อ 25 มิลลิลิตร น้ำหนักแห้ง 0.0360 กรัมต่อ 25 มิลลิลิตร ของอาหารเพาะเลี้ยง

**ตารางที่ 4.18** ค่าน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน

| วัน | น้ำหนักสดเฉลี่ย (กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร) | น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร) |
|---|---|---|
| 0 | $0.2910^{c}$ | $0.0031^{d}$ |
| 3 | $0.3097^{bc}$ | $0.0051^{cd}$ |
| 6 | $0.3162^{bc}$ | $0.0072^{bc}$ |
| 9 | $0.3183^{bc}$ | $0.0075^{bc}$ |
| 12 | $0.3373^{ab}$ | $0.0083^{bc}$ |
| 15 | $0.3620^{a}$ | $0.0131^{a}$ |
| 18 | $0.3490^{ab}$ | $0.0125^{a}$ |
| 21 | $0.3396^{ab}$ | $0.0101^{ab}$ |
| 24 | $0.3390^{ab}$ | $0.0098^{ab}$ |

ตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.26** กราฟแสดงค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน

### 4.3.3 ข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ

ทำการเลี้ยงแคลลัสของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ ในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน เซลล์มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตามวันที่ทำการเพาะเลี้ยง ในช่วงระยะ log phase วันที่ 3-18 และมีปริมาณเซลล์สูงสุดในวันที่ 18 หลังจากนั้นปริมาณเซลล์จะลดลงเข้าสู่ระยะที่เรียกว่า death phase ซึ่งการชะลอตัว และลดลงของปริมาณเซลล์แขวนลอยนั้นอาจเป็นผลมาจากการที่เซลล์มีการใช้สารอาหารจนหมด และมีการสะสมสารพิษที่เซลล์ได้ปล่อยออกมาภายในอาหารเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน (Lima *et al.*, 2008) (รูปที่ 4.27) จากตารางที่ 4.19 ค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยมีค่าสูงสุดในวันที่ 18 เท่ากับ 0.3594 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร และค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยมีค่ามากที่สุดคือ 0.0144 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร ในวันที่ 18 เช่นเดียวกัน ถึงแม้ว่าค่าที่ได้จากตารางเมื่อนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติแล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทั้งค่าน้ำหนักสดเฉลี่ย และค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยที่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในวันที่ 18 21 และ 24 เช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำค่าจากในตารางมาพิจารณาร่วมกับรูปกราฟที่แสดงค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ ซึ่งช่วยให้มองเห็นภาพชัดเจนมากขึ้นว่าในวันที่ 18 เป็นวันที่เซลล์แขวนลอยสามารถเจริญเติบโตได้มากที่สุดจากการเพาะเลี้ยง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wang *et al.* (2001) ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของต้นอ้อ เพื่อต้องการศึกษาการเจริญเติบโต โดยเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D พบว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์มีระยะ log phase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

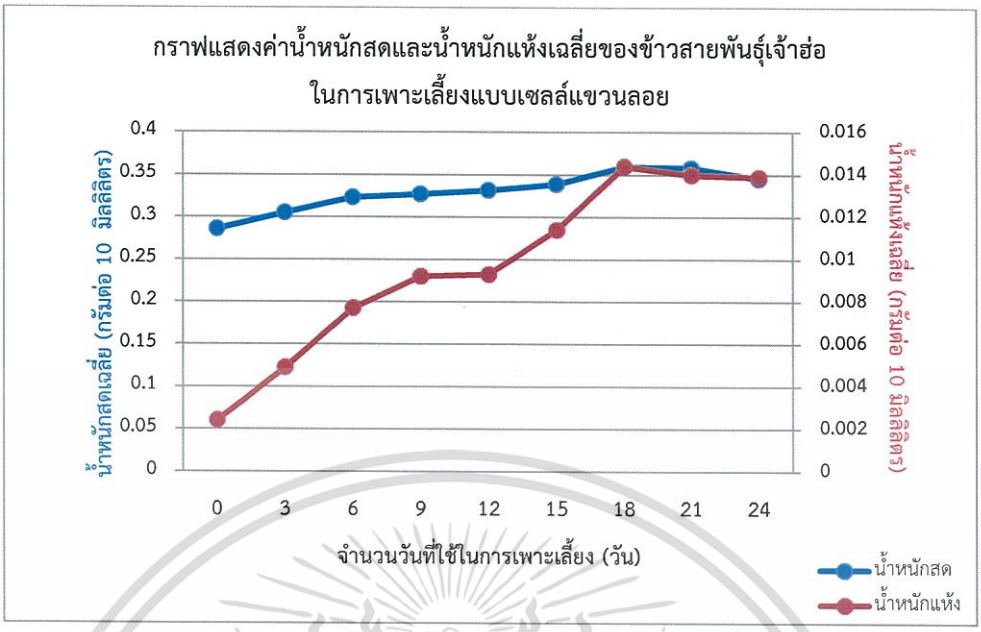
อยู่ในช่วง 0 ถึง 4 วัน เข้าสู่ระยะ log phase ช่วงวันที่ 6 ถึง 16 พบว่าเซลล์มีอัตราการเจริญสูงสุดในวันที่ 18 ของการเพาะเลี้ยง และหลังจากวันที่ 18 การเจริญเติบโตของเซลล์ลดลงเข้าสู่ระยะ death phase

**ตารางที่ 4.19** ค่าน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน

| วัน | น้ำหนักสดเฉลี่ย (กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร) | น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร) |
|---|---|---|
| 0 | $0.2859^{d}$ | $0.0024^{d}$ |
| 3 | $0.3051^{cd}$ | $0.0049^{cd}$ |
| 6 | $0.3231^{bc}$ | $0.0077^{bc}$ |
| 9 | $0.3267^{abc}$ | $0.0092^{b}$ |
| 12 | $0.3314^{abc}$ | $0.0093^{b}$ |
| 15 | $0.3384^{abc}$ | $0.0114^{ab}$ |
| 18 | $0.3594^{a}$ | $0.0144^{a}$ |
| 21 | $0.3581^{ab}$ | $0.0140^{a}$ |
| 24 | $0.3451^{ab}$ | $0.0139^{a}$ |

ตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.27** กราฟแสดงค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน

### 4.3.4 ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105

หลังจากทำการเลี้ยงแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน พบลักษณะของเซลล์แขวนลอยมีสีเหลืองอ่อนขนาดใหญ่ขึ้นกระจายตัวอยู่ในอาหารเหลวเมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปเรื่อยๆเซลล์แขวนลอยจะเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล มีค่าน้ำหนักสดเฉลี่ย และค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยในวันที่ 15 มีค่าสูงสุดคือ 0.3394 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร และ 0.0219 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร ของอาหารเพาะเลี้ยงตามลำดับ (ตารางที่ 4.20) จากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติในตารางพิจารณาร่วมกับรูปกราฟที่แสดงค่าน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเฉลี่ย (รูปที่ 4.28) ซึ่งพบว่าเซลล์แขวนลอยมีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง ในช่วง 0 ถึง15 วัน โดยมีระยะ lag phase ในช่วงระยะวันที่ 0-12 และเข้าสู่ระยะ log phase ช่วงระยะวันที่ 12-15 มีอัตราการเจริญสูงที่สุดในวันที่ 15 จากนั้นก็จะค่อยๆ เข้าสู่ระยะ death phase หลังจากวันที่ 15 สังเกตได้จากกราฟที่ค่อยๆ ดิ่งลง และในส่วนงานวิจัยของรัตนาภรณ์ (2556) ทำได้วิธีการเช่นเดียวกันนี้ในถั่วอาหารสัตว์ โดยนำแคลลัสที่ได้มาจากใบเลี้ยงของถั่วคาวาลเคด และเมล็ดของถั่วฮามาต้า เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 วัน พบว่าเซลล์แขวนลอยของถั่วคาวาลเคดมีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง สูงสุด 1.1674 และ 0.0220 กรัมต่อ 25 มิลลิลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 15 และพบว่าเซลล์แขวนลอยของถั่วฮามาต้าในวันที่ 21 มีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมากที่สุด 3.0256 และ 0.2713 กรัมต่อ 25 มิลลิลิตร

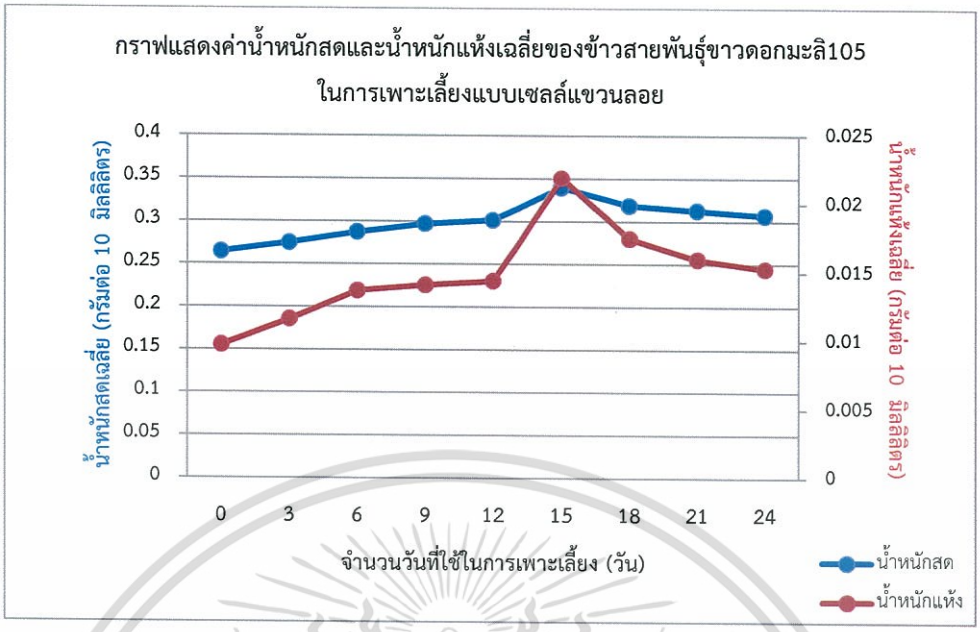
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.20** ค่าน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน

| วัน | น้ำหนักสดเฉลี่ย (กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร) | น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร) |
|---|---|---|
| 0 | $0.2643^{b}$ | $0.0097^{d}$ |
| 3 | $0.2748^{b}$ | $0.0116^{cd}$ |
| 6 | $0.2872^{ab}$ | $0.0137^{bcd}$ |
| 9 | $0.2969^{ab}$ | $0.0141^{bcd}$ |
| 12 | $0.3013^{ab}$ | $0.0144^{bcd}$ |
| 15 | $0.3394^{a}$ | $0.0219^{a}$ |
| 18 | $0.3186^{ab}$ | $0.0175^{ab}$ |
| 21 | $0.3126^{ab}$ | $0.0160^{bc}$ |
| 24 | $0.3071^{ab}$ | $0.0153^{bc}$ |

ตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.28** กราฟแสดงค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว สูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.4 การศึกษาสูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยให้เกิดต้น

การศึกษานี้มีหลักการเหมือนกับข้อ 4.2 ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล และลักษณะของแคลลัสที่นำมาเพาะเลี้ยงให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้น จากแคลลัสที่ได้เพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 พบงานวิจัยเกี่ยวกับการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย เช่นงานวิจัยของ Kermanee (2004) นำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และสุพรรณบุรี1 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวโดยทำการเปรียบเทียบสูตรอาหารทั้งหมดแปดสูตรเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยคืออาหารเหลวสูตร N6 ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำเซลล์แขวนลอยที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดต้น พบว่าในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สามารถเกิดต้นได้ 83.33 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี1 ที่สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ 68.71 เปอร์เซ็นต์ ต่อมาอนุรักษ์ และนิตย์ศรี (2544) ทำการชักนำให้เกิดต้นใหม่จากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี60 โดยทำการชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารแข็งสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 กรัมต่อลิตร เคซีนไฮโดรไลเซต 100 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจลความเข้มข้น 2.6 กรัมต่อลิตร พบว่าในสูตรอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด จึงได้นำอาหารสูตรเดียวกันนี้มาใช้ในการเพาะเลี้ยงแคลลัสแบบเซลล์แขวนลอยโดยไม่เติมไฟทาเจลเพื่อให้เป็นอาหารเหลว ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3-4 เดือน และทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 10-15 วัน เมื่อได้เซลล์แขวนลอยที่เหมาะสมจึงย้ายไปเลี้ยงในอาหารแข็งที่ชักนำให้เกิดต้นสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร Zeatin ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แอลโพรลีน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เคซีนไฮโดรไลเซต 100 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 2.6 และ 5.2 กรัมต่อลิตร พบว่าในอาหารที่มี Zeatin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยกลายเป็นต้นใหม่ได้สูงสุดถึง 60 เปอร์เซ็นต์ และในงานวิจัยของ Wagiran *et al.* (2008) ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยโดยนำแคลลัสที่เพาะเลี้ยงมาผ่านการทำให้แห้งเป็นเวลา 0 24 และ 48 ชั่วโมง ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารชักนำให้เกิดต้นในข้าว Japonica พบการเพิ่มขึ้นของยอดในการชักนำให้เกิดต้น สังเกตจากแคลลัสที่นำไปผึ่งแห้งในข้าวทุกสายพันธุ์ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการทดลอง ได้แก่ ข้าวสายพันธุ์ Nipponbare, Hayahishiki และ Fujisaka5 โดยมีความถี่ในการชักนำให้เกิดต้นสูงถึง 76, 70 และ 33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในการทำแคลลัสให้แห้งที่เวลา 48 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับที่เวลา 0 ชั่วโมง มีความถี่ในการเกิดยอดต่ำเพียง 10 ถึง 16 เปอร์เซ็นต์ จากงานวิจัยดังกล่าวพบว่ามีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lai and Liu (1988) เคยรายงานว่าการลดปริมาณของน้ำที่อยู่ในแคลลัส และการเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นถือเป็นหนึ่งในปัจจัยที่จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นในแคลลัสของข้าว จากที่กล่าวมาก็ยังสามารถพบได้ในงานวิจัยของ Tsukahara and Hirosawa (1992) ทำการชักนำแคลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยในข้าว Japonica สายพันธุ์ Sasanishiki ให้เกิดต้นใหม่ โดยนำแคลลัสไปผ่านการทำให้แห้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าสามารถช่วยเพิ่มความถี่ในการชักนำให้เกิดต้นได้มากที่สุด 47 เปอร์เซ็นต์ Jain *et al.* (1996) ศึกษาปัจจัยในการเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นใหม่จากแคลลัสที่ได้จากเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์ Taipei309 Basmati385 IR43 และ Pasu-Basmati1 พบว่าเมื่อนำแคลลัสไปผ่านการทำให้แห้งก่อนนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นช่วยเพิ่มอัตราการชักนำให้เกิดต้นถึงสามเท่า และพบความถี่ในการชักนำให้เกิดต้นสูงสุดถึง 63 เปอร์เซ็นต์ ในข้าวสายพันธุ์ Pusa-Basmati1 หลังจากการนำไปผ่านการทำให้แห้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ทำการศึกษาปัจจัยในการเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นจากเดิม 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็น 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความถี่ในการเกิดต้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในข้าวทุกสายพันธุ์

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาในข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ 105 ผลที่ได้พบว่ามีเพียงข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ ที่สามารถพัฒนาไปเป็นต้นได้ ส่วนสายพันธุ์ที่เหลืออาจเกิดจากหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องที่ทำให้แคลลัสยังไม่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดต้นได้ดังที่ Torbet *et al.* (1998) กล่าวว่าความถี่ในการชักนำให้เกิดแคลลัส และการชักนำให้เกิดต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวเกิดได้จากปัจจัยหลายอย่าง เช่น องค์ประกอบของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง แหล่งที่มาของชิ้นส่วนของพืช และจีโนไทป์ ซึ่งจีโนไทป์ และองค์ประกอบของสารอาหารก็ยังถือเป็นแหล่งที่สำคัญเกี่ยวกับการกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง (Khunna and Raina, 1998) และปัญหาที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในหลอดทดลองของข้าว *Oryza sativa* พันธุ์ indica คือ มีอัตราการเกิดแคลลัส การเกิดโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิส และการพัฒนาไปเป็นต้นใหม่ต่ำ (Chu and Croughan, 1990)

แต่อย่างไรก็ตามผลจากการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยให้พัฒนาเป็นต้นในข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ จากปัจจัยที่ใช้ในการชักนำให้เกิดต้นใหม่ สามารถพิจารณาได้จากตารางที่ 4.21 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบแคลลัสแบบสด และแบบแห้งมีแนวโน้มในการพัฒนาไปเป็นยอดได้ใกล้เคียงกัน และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อจนถึงสัปดาห์ที่ 4 จากตารางที่ 4.22 พบว่าแคลลัสที่ผ่านการทำให้แห้งสามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้มากกว่าแคลลัสแบบสด และยังพบว่าไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดยอดได้มากกว่าไฟทาเจลความเข้มข้น 2.6 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.30) และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัปดาห์ จากตารางที่ 4.23 พบว่าทั้งแคลลัสแบบสด และแบบแห้ง สามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้ใกล้เคียงกันทั้งในอาหารสูตร MS และ NB (รูปที่ 4.29) ต่อมาจึงทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ที่ใช้ในการชักนำให้เกิดยอดความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 2.6 กรัมต่อลิตร ในอาหารสูตร MS สามารถชักนำแคลลัสแบบสด และแบบแห้งให้เกิดยอดได้มากที่สุดทั้ง 20 ชิ้น จากแคลลัสเริ่มต้น และสามารถชักนำแคลลัสให้เกิดยอดจำนวนมากได้ทั้ง 20 ชิ้น จากแคลลัสเริ่มต้นเช่นกัน แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบจากจำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส พบว่าแคลลัสแบบสดมีจำนวนการเกิดยอดเฉลี่ย 0.75 ยอดต่อแคลลัส ซึ่งแคลลัสที่ผ่านการทำให้แห้งมีจำนวนการเกิดยอดเฉลี่ย 0.86 ยอดต่อแคลลัส จากตารางที่ 4.23 พบว่าที่ BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดยอดได้ดีที่สุดทั้งจากแคลลัสแบบสด และแบบแห้ง ที่ความเข้มข้นของไฟทาเจล 2.6 และ 5.2 กรัม แต่หากเลือกสูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดต้นโดยพิจารณาจากจำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิด พบว่าแคลลัสที่นำไปผ่านการทำให้แห้ง เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 5.2 กรัม มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.95 ยอด ถึงแม้สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดยอดจำนวนมากได้ 16 ชิ้น จากแคลลัสเริ่มต้น เช่นเดียวกับ Khaleda and Al-forkan (2010) ทำการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยในข้าวสายพันธุ์ HAJA-1 และ HAJA-8 ซึ่งไม่พบการเกิดต้นใหม่เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีวุ้นความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ในข้าวทั้งสองสายพันธุ์ แต่เมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นจาก 0.4 เป็น 1 เปอร์เซ็นต์ พบความถี่ในการเกิดเป็นต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ HAJA-1 มากถึง 48 เปอร์เซ็นต์ และในข้าวสายพันธุ์ HAJA-8 สูงถึง 42 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทำให้พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นมากขึ้นมีผลต่อการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสได้ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ และในรูปที่ 4.31 แสดงลักษณะของแคลลัสที่ทำการเพาะเลี้ยงพบว่าแคลลัสมีการเพิ่มขนาดมากขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เริ่มเกิดจุดเขียว และตุ่มยอดเล็กๆ บนผิวแคลลัส อีกทั้งเกิดรากขึ้นพร้อมๆ กัน และเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แคลลัสที่เกิดจุดเขียวมีการพัฒนาเป็นตุ่มยอดเล็กๆ เพิ่มมากขึ้น เกิดยอดและเกิดยอดจำนวนมาก จนเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสเกิดเป็นต้นสูงให้ยอดจำนวนมาก และมีราก ซึ่งพบในอาหารทุกสูตรทั้ง MS และ NB

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าสูตรอาหารและปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดมากที่สุดคืออาหารสูตร MS ที่ประกอบไปด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร และเมื่อนำแคลลัสไปผ่านการทำให้แห้งมาเพาะเลี้ยงสามารถเพิ่มอัตราการเกิดยอดและจำนวนยอดได้มากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.21** ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล และลักษณะแคลลัสในการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อให้เกิดต้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

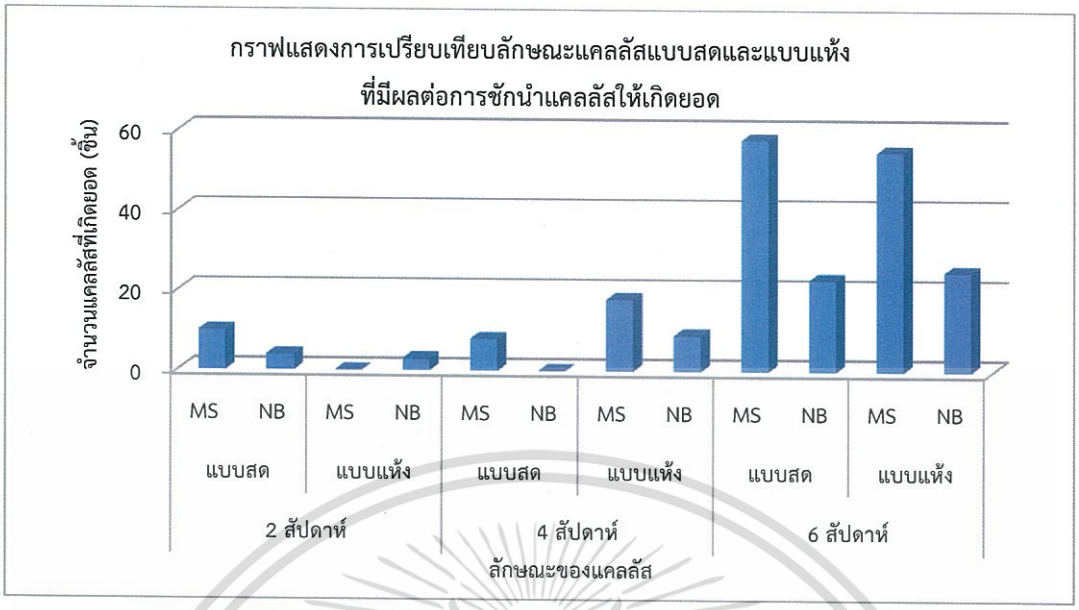
| อาหาร | BAP (มก./ล.) | ไฟทาเจล (ก./ล.) | จำนวนแคลลัส (ชิ้น) | แคลลัสแบบสด | | | | แคลลัสแบบแห้ง | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) |
| MS | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 2 | 2 | 0.70 | 2 | 0 | 0 | 0 | 8 |
| | | 5.2 | 20 | 2 | 2 | 0.50 | 6 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 6 | 0 | 0 | 8 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| NB | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 4 | 2 | 0 | 0 | 5 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 4 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 |

**ตารางที่ 4.22** ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล และลักษณะแคลลัสในการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อให้เกิดต้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

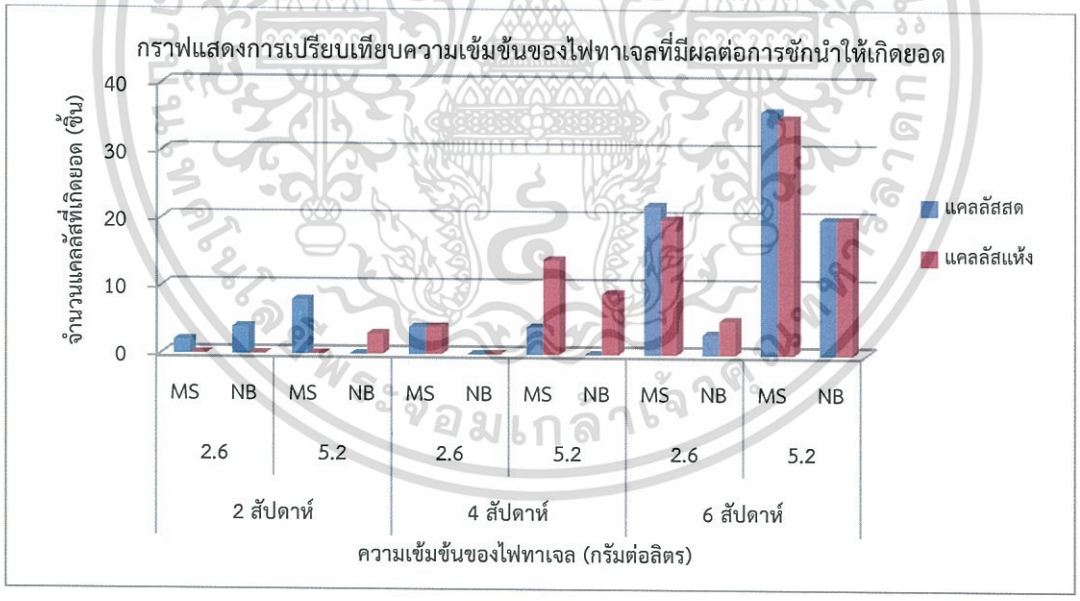
| อาหาร | BAP (มก./ล.) | ไฟทาเจล (ก./ล.) | จำนวนแคลลัส (ชิ้น) | แคลลัสแบบสด | | | | แคลลัสแบบแห้ง | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) |
| MS | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 4 | 2 | 0.70 | 6 | 4 | 0 | 0 | 13 |
| | | 5.2 | 20 | 4 | 2 | 0.50 | 13 | 8 | 0 | 0 | 13 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 10 |
| NB | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 4 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 5 | 4 | 0 | 0 | 5 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 6 | 3 | 0 | 0 | 4 |

**ตารางที่ 4.23** ผลการศึกษาปัจจัยของสูตรอาหาร ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้นของไฟทาเจล และลักษณะแคลลัสในการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อให้เกิดต้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

| อาหาร | BAP (มก./ล.) | ไฟทาเจล (ก./ล.) | จำนวนแคลลัส (ชิ้น) | แคลลัสแบบสด | | | | แคลลัสแบบแห้ง | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอด (ชิ้น) | แคลลัสที่เกิดยอดจำนวนมาก (ชิ้น) | จำนวนยอดเฉลี่ยต่อแคลลัส | แคลลัสที่เกิดราก (ชิ้น) |
| MS | 1 | 2.6 | 20 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 20 | 2 | 0.75 | 20 | 20 | 2 | 0.86 | 18 |
| | | 5.2 | 20 | 18 | 5 | 1.45 | 13 | 17 | 16 | 3.95 | 17 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 18 | 0 | 0 | 18 | 18 | 0 | 0 | 18 |
| NB | 1 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 2 | 0 | 0 | 2 | 4 | 0 | 0 | 11 |
| | 2 | 2.6 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 5 | 0 | 0 | 6 | 9 | 0 | 0 | 9 |
| | 3 | 2.6 | 20 | 3 | 0 | 0 | 4 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| | | 5.2 | 20 | 13 | 2 | 0.65 | 14 | 7 | 1 | 0.30 | 5 |

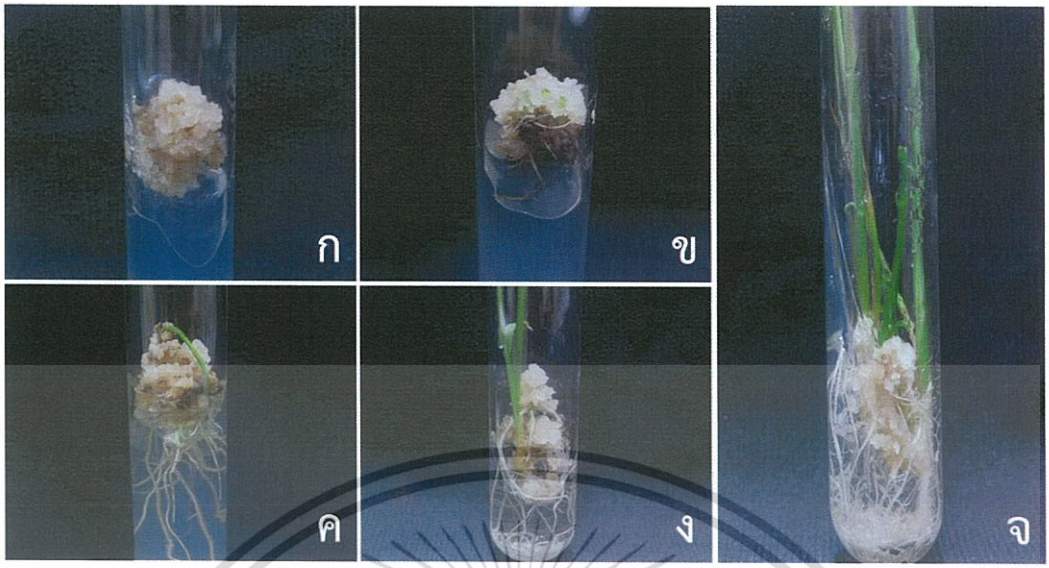



**รูปที่ 4.29** กราฟแสดงจำนวนแคลลัสที่เกิดยอดระหว่างแคลลัสสดและแคลลัสแห้งของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อจากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์




**รูปที่ 4.30** กราฟแสดงความเข้มข้นของไฟทาเจลในการชักนำแคลลัสสดและแคลลัสแห้งให้เกิดยอดของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อจากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย ในอาหารสูตร MS และ NB เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.31** ลักษณะการพัฒนาเป็นยอดของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อจากการเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอย เมื่อเพาะเลี้ยงที่เวลา 2 สัปดาห์ (ก) 4 สัปดาห์ (ข) 6 สัปดาห์ (ค) และลักษณะการพัฒนาเป็นยอดจำนวนมาก (ง,จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.5 การศึกษาสูตรอาหารเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำรากให้เหมาะสมต่อการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

จากการศึกษาในข้อ 4.2 ที่ทำการชักนำแคลลัสให้พัฒนาเป็นต้นนั้นสามารถเกิดได้ทั้งยอดและรากพร้อมกัน แต่อย่างไรก็ตามรากที่ได้ยังมีสภาพอ่อนแอไม่สมบูรณ์ อาจส่งผลต่อการรอดชีวิตเมื่อนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ ดังนั้นจึงได้นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่ช่วยชักนำให้เกิดรากได้ดียิ่งขึ้น อาหารที่ใช้ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ซึ่งเป็นสารกลุ่มออกซินที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อกระตุ้นให้เกิดราก (บุญยืน, 2544) จากหลายงานวิจัยยังพบว่าการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารจะช่วยในการชักนำให้เกิดรากได้ดียิ่งขึ้น จากงานของ Anand *et al.* (2015) ศึกษาหาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากจากต้นข้าวที่ผ่านการชักนำให้เกิดต้นใหม่สายพันธุ์ APMS-6B และ BPT-5204 โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA IBA และ NAA ความเข้มข้นแตกต่างกันในอาหารสูตร MS ผลที่ได้คือสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งสามชนิดที่ความเข้มข้นแตกต่างกันสามารถชักนำให้เกิดรากได้ทั้งหมด แต่พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ให้เปอร์เซ็นต์ในการเกิดรากได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับ IBA และ NAA ในทุกความเข้มข้น Vennapusa *et al.* (2015) ทำการชักนำให้เกิดรากในข้าวสายพันธุ์ AC39020 ในอาหารสูตรครึ่ง MS ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดรากได้และรากที่ได้มีความแข็งแรงเหมาะต่อการย้ายออกปลูกภายนอกได้ดี Toppo *et al.* (2014) ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดรากในข้าวสายพันธุ์ IR64 หลังจากทำการชักนำให้เกิดต้นโดยนำต้นข้าวที่ได้มาทำการเพาะเลี้ยงต่อในอาหารสูตร MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ารากที่ได้มีลักษณะเป็นเส้นหนาสีขาว มีความยาวเฉลี่ย 11.7 เซนติเมตร และมีจำนวนรากโดยเฉลี่ยมากถึง 18.7 ราก

จากงานวิจัยที่กล่าวมาจึงนำมาซึ่งการศึกษาครั้งนี้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของรากให้มีความแข็งแรงสมบูรณ์ยิ่งขึ้นเหมาะต่อการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ จึงนำต้นข้าวที่ผ่านการชักนำให้เกิดต้นจากข้อ 4.2 ของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 มาทำการศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดราก ซึ่งพบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการชักนำรากของข้าวทั้งสี่สายพันธุ์ พบทั้งอาหารสูตร MS และ NB แต่สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุดในข้าวทั้งสี่สายพันธุ์ คือสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ดังที่พีรเดช (2537) กล่าวว่าเนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA เป็นสารกลุ่มออกซินที่มีการแสดงผลของออกซินน้อย เคลื่อนที่ช้า แต่สามารถสลายตัวได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นลักษณะที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการชักนำให้เกิดราก ส่วน NAA เป็นสารกลุ่มออกซินที่มีการแสดงผลของออกซินสูง สลายตัวได้ช้า แต่สามารถเคลื่อนที่ได้ดีกว่า ทำให้มีโอกาสเกิดความเป็นพิษต่อพืชได้มากกว่า IBA โดยผลของข้าวแต่ละสายพันธุ์มีผลดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.5.1 ข้าวสายพันธุ์น้ำรู**

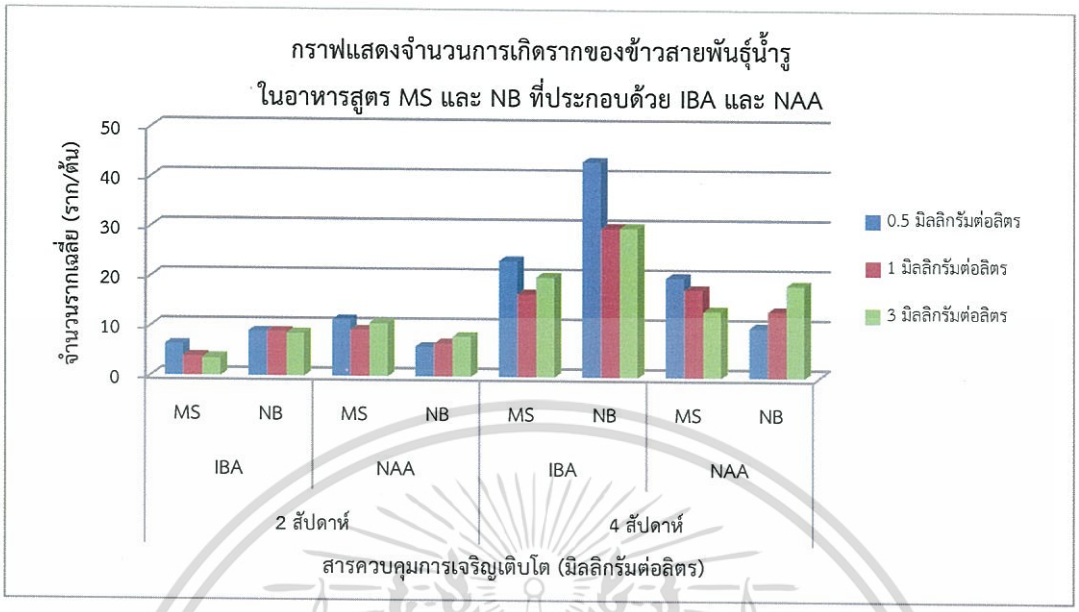
สังเกตได้ว่าในระยะเวลา 2 สัปดาห์รากมีความยาวเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็วในอาหารทุกสูตร และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงจนครบ 4 สัปดาห์ พบว่ารากมีจำนวน และความยาวเพิ่มมากขึ้น (รูปที่ 4.34) ซึ่งเมื่อนำผลไปทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ ดังตารางที่ 4.24 พบว่าอาหารสูตร MS และอาหารสูตร NB สามารถชักนำให้เกิดรากได้ทั้งหมด แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA มีแนวโน้มในการชักนำให้เกิดรากได้ดีกว่าทั้งในอาหารสูตร MS และ NB จากตาราง พบว่าอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุดโดยให้จำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 43.33 รากต่อต้น แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ IBA ความเข้มข้น 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารสูตรเดียวกัน และเมื่อพิจารณาจากความยาวรากอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้รากมีความยาวเฉลี่ยมากที่สุดโดยมีความยาวรากเฉลี่ย 9.00 เซนติเมตร แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในความเข้มข้นของ IBA และ NAA ที่แตกต่างกันทั้งหมด อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากจำนวนรากและความยาวรากที่เกิดร่วมกัน จะเห็นได้ว่าอาหารสูตรที่สามารถชักนำให้เกิดรากได้จำนวนมากจะให้ความยาวรากค่อนข้างยาวเช่นเดียวกันเมื่อเทียบกับสูตรอาหารอื่น (รูปที่ 4.32) ในขณะที่อาหารสูตรที่สามารถชักนำให้รากมีความยาวได้มากมักมีจำนวนรากที่ค่อนข้างน้อย (รูปที่ 4.33) ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากของข้าวสายพันธุ์น้ำรูมากที่สุดคือ อาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากที่เกิดเฉลี่ย 43.33 รากต่อต้น และความยาวรากเฉลี่ย 5.33 เซนติเมตร และจากรูปที่ 4.34 พบว่าลักษณะรากที่ได้มีเส้นหนา ยาว สภาพแข็งแรงเหมาะต่อการนำออกปลูกและมีอัตราการรอดชีวิตสูง ซึ่งคล้ายกับงานวิจัยของ Hossain *et al.* (2015) ที่ทำการชักนำให้เกิดรากในข้าวสายพันธุ์ BRRI-dhan29 BRRI-dhan28 และ BINA-dhan6 ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.4 0.5 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุดถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ในข้าวสายพันธุ์ BRRI-dhan29 และ BRRI-dhan28 ตามด้วยข้าวสายพันธุ์ BINA-dhan6 เกิดรากได้มากที่สุด 80 เปอร์เซ็นต์ และให้จำนวนการเกิดราก 23 20 และ 17 รากต่อต้น ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

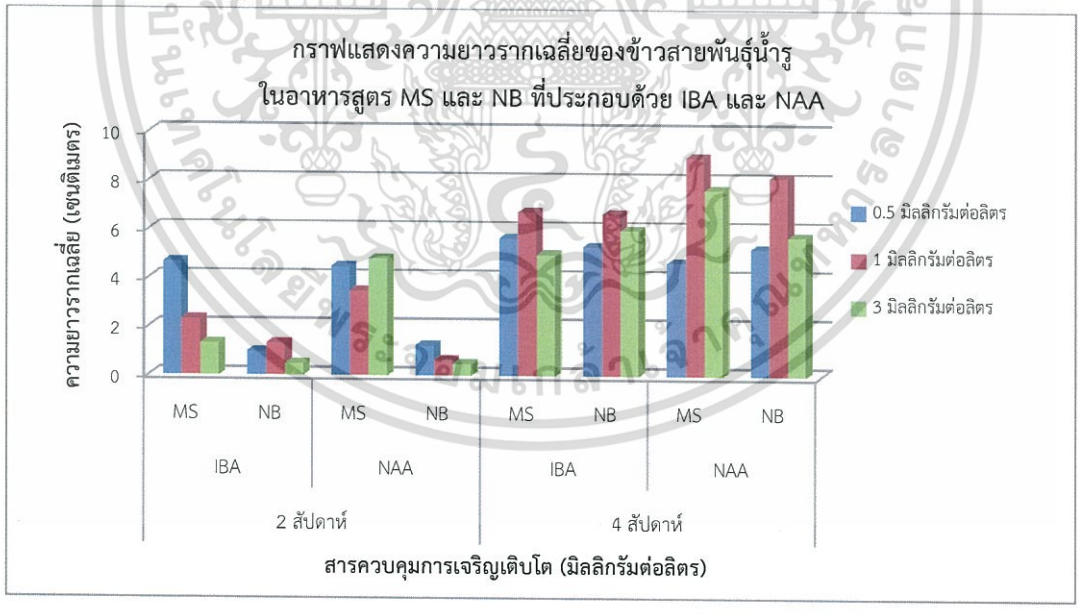
**ตารางที่ 4.24** ผลการชักนำรากของข้าวสายพันธุ์น้ำรูเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

| อาหาร | สารควบคุมการเจริญเติบโต | | จำนวนต้นที่เพาะเลี้ยง | 2 สัปดาห์ | | 4 สัปดาห์ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | IBA (มิลลิกรัม/ลิตร) | NAA (มิลลิกรัม/ลิตร) | | จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น | ความยาวรากเฉลี่ย (เซนติเมตร) | จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น | ความยาวรากเฉลี่ย (เซนติเมตร) |
| MS | 0.5 | 0 | 3 | $6.33^{cde}$ | $4.67^{a}$ | $23.33^{bc}$ | $5.67^{a}$ |
| | 1 | 0 | 3 | $4.00^{de}$ | $2.33^{bc}$ | $16.67^{bc}$ | $6.75^{a}$ |
| | 3 | 0 | 3 | $3.67^{e}$ | $1.33^{c}$ | $20.00^{bc}$ | $5.00^{a}$ |
| | 0 | 0.5 | 3 | $11.33^{a}$ | $1.00^{c}$ | $20.00^{bc}$ | $4.67^{a}$ |
| | 0 | 1 | 3 | $9.33^{abc}$ | $1.33^{c}$ | $17.67^{bc}$ | $9.00^{a}$ |
| | 0 | 3 | 3 | $10.67^{ab}$ | $0.50^{c}$ | $13.33^{bc}$ | $7.67^{a}$ |
| NB | 0.5 | 0 | 3 | $9.00^{abc}$ | $4.50^{a}$ | $43.33^{a}$ | $5.33^{a}$ |
| | 1 | 0 | 3 | $9.00^{abc}$ | $3.50^{ab}$ | $30.00^{ab}$ | $6.67^{a}$ |
| | 3 | 0 | 3 | $8.67^{abc}$ | $1.83^{bc}$ | $30.00^{ab}$ | $6.00^{a}$ |
| | 0 | 0.5 | 3 | $6.00^{cde}$ | $1.25^{c}$ | $10.00^{c}$ | $5.25^{a}$ |
| | 0 | 1 | 3 | $6.67^{bcde}$ | $0.67^{c}$ | $13.33^{bc}$ | $8.17^{a}$ |
| | 0 | 3 | 3 | $8.00^{abcd}$ | $0.50^{c}$ | $18.50^{bc}$ | $5.75^{a}$ |

ตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's

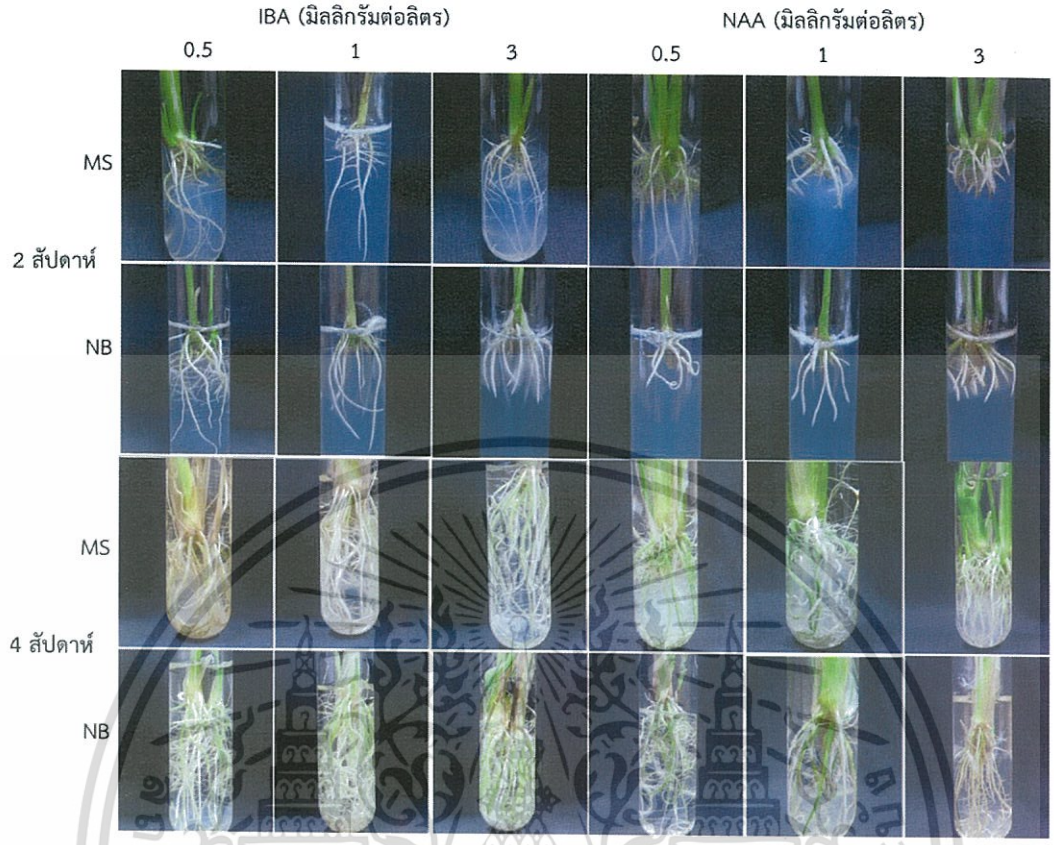



**รูปที่ 4.32** กราฟแสดงจำนวนการเกิดรากเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์น้ำรู เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์




**รูปที่ 4.33** กราฟแสดงความยาวรากเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์น้ำรู เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.34** การเกิดรากของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.5.2 ข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้**

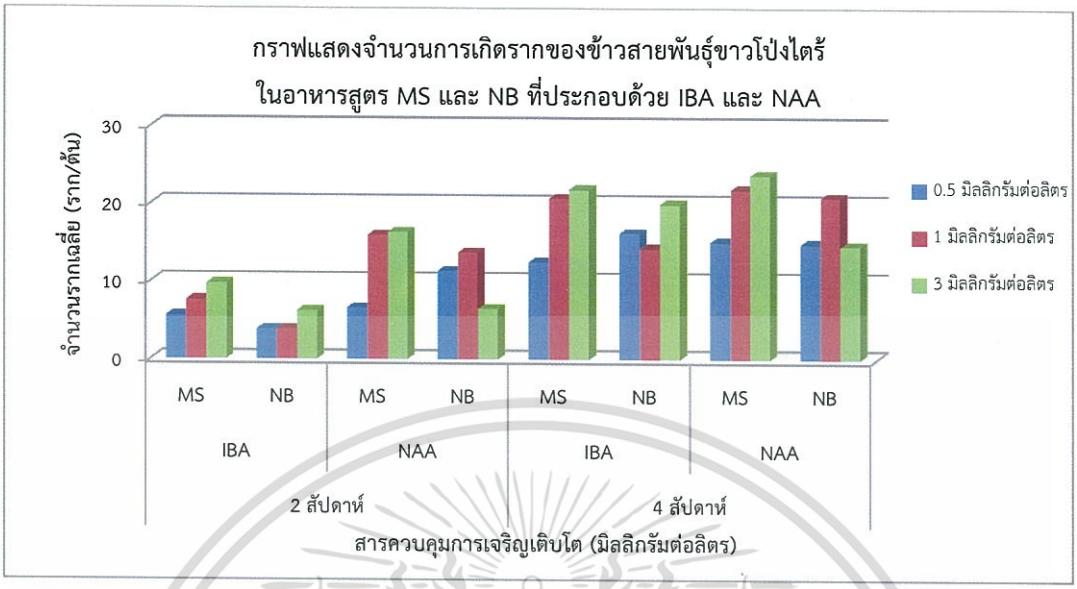
พบว่ายอดและรากมีความยาวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดราก ทุกสูตร ในสัปดาห์ที่ 2 มีจำนวน และความยาวเพิ่มมากขึ้นเมื่อทำการเพาะเลี้ยงจนครบ 4 สัปดาห์ (รูปที่ 4.37) และพบว่าสามารถเกิดรากได้ทั้งในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน จากตารางที่ 4.25 นำผลที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติเพื่อทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากระหว่าง IBA และ NAA เมื่อครบ 4 สัปดาห์ ผลจากจำนวนรากที่เกิดโดยเฉลี่ยพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกสูตรอาหาร แต่พบว่าอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนการเกิดรากเฉลี่ยมากที่สุด 23.75 รากต่อต้น และพบว่าต้นที่นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำรากให้มีความยาวเฉลี่ยมากที่สุดถึง 6.38 เซนติเมตร เช่นเดียวกับอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากจำนวนรากที่เกิด ความยาวรากเฉลี่ย จะเห็นได้ว่าสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดรากได้จำนวนมาก (รูปที่ 4.35) จะให้ความยาวรากที่ค่อนข้างสั้น (รูปที่ 4.36) ในทำนองเดียวกันสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้รากมีความยาวมากให้จำนวนการเกิดรากที่ค่อนข้างน้อยเช่นเดียวกัน ดังนั้นเมื่อสังเกตจากแนวโน้มในการชักนำให้เกิดรากในรูปที่ 4.35 และ 4.36 ร่วมกัน พบว่าอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเหมาะสมในการนำมาใช้เพื่อชักนำให้เกิดรากในข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้มากที่สุด เนื่องจากได้รากที่มีจำนวนและความยาวมาก อีกทั้งลักษณะของราก มีความหนา แข็งแรงเหมาะต่อการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ดีและคาดว่ามีอัตราการรอดชีวิตสูง จากรูปที่ 4.37 จากงานวิจัยของ Mukherjee *et al.* (2015) พบว่ามีการเลือกใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้นต่างๆ มาใช้ในการชักนำรากของต้นข้าวสายพันธุ์ BRRIdhan-29 BR-14 และ BINAdhan-8 ที่ได้จากการชักนำให้เกิดต้นใหม่จากแคลลัสโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

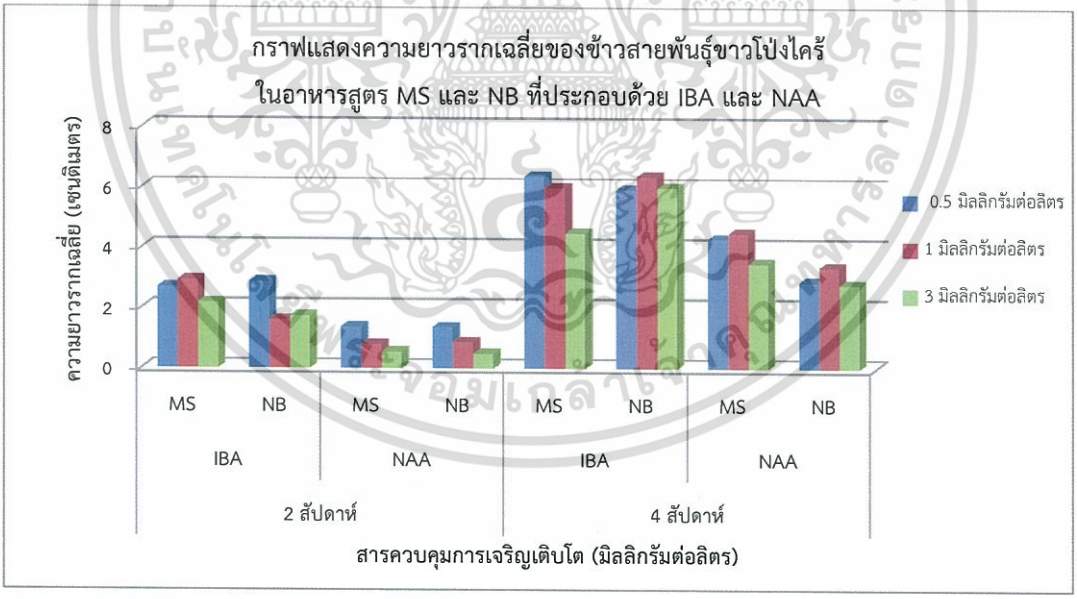
**ตารางที่ 4.25** ผลการชักนำรากของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

| อาหาร | สารควบคุมการเจริญเติบโต | | จำนวนต้นที่ | 2 สัปดาห์ | | 4 สัปดาห์ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | IBA (มิลลิกรัม/ลิตร) | NAA (มิลลิกรัม/ลิตร) | เพาะเลี้ยง | จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น | ความยาวรากเฉลี่ย (เซนติเมตร) | จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น | ความยาวรากเฉลี่ย (เซนติเมตร) |
| MS | 0.5 | 0 | 8 | $5.63^{c}$ | $2.69^{ab}$ | $12.50^{b}$ | $6.38^{a}$ |
| | 1 | 0 | 8 | $7.65^{bc}$ | $2.94^{a}$ | $20.75^{ab}$ | $6.00^{ab}$ |
| | 3 | 0 | 8 | $9.75^{abc}$ | $2.19^{c}$ | $21.88^{ab}$ | $4.50^{abc}$ |
| | 0 | 0.5 | 8 | $6.63^{bc}$ | $1.38^{de}$ | $15.13^{ab}$ | $4.31^{bc}$ |
| | 0 | 1 | 8 | $16.00^{a}$ | $0.81^{ef}$ | $21.88^{ab}$ | $4.50^{abc}$ |
| | 0 | 3 | 8 | $16.38^{a}$ | $0.56^{f}$ | $23.75^{a}$ | $3.50^{c}$ |
| NB | 0.5 | 0 | 8 | $3.88^{c}$ | $2.88^{a}$ | $16.25^{ab}$ | $5.94^{ab}$ |
| | 1 | 0 | 8 | $3.88^{c}$ | $1.63^{cd}$ | $14.29^{ab}$ | $6.38^{a}$ |
| | 3 | 0 | 8 | $6.25^{c}$ | $1.75^{cd}$ | $20.00^{ab}$ | $6.00^{ab}$ |
| | 0 | 0.5 | 8 | $11.38^{abc}$ | $1.37^{de}$ | $14.86^{ab}$ | $2.88^{c}$ |
| | 0 | 1 | 8 | $13.75^{ab}$ | $0.88^{ef}$ | $20.88^{ab}$ | $3.38^{c}$ |
| | 0 | 3 | 8 | $6.50b^{c}$ | $0.50^{f}$ | $14.60^{ab}$ | $2.80^{c}$ |

ตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's

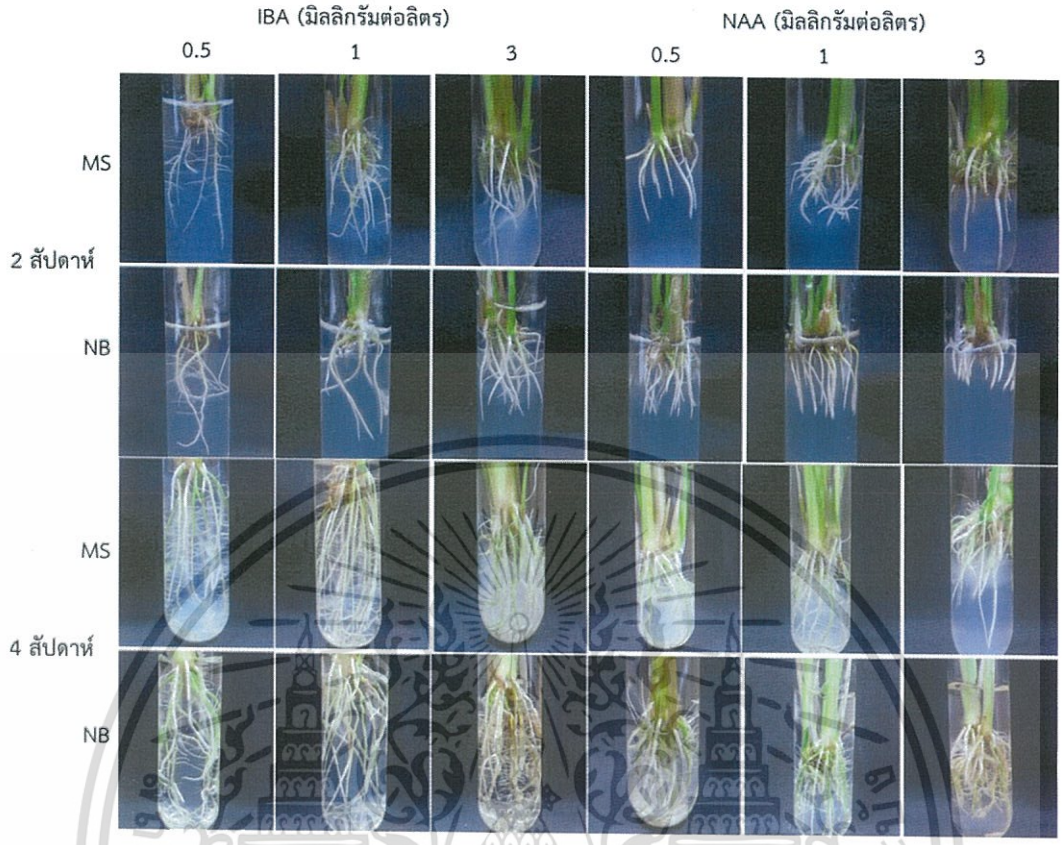



**รูปที่ 4.35** กราฟแสดงจำนวนการเกิดรากเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์




**รูปที่ 4.36** กราฟแสดงความยาวรากเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.37** การเกิดรากของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ ในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.5.3 ข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ**

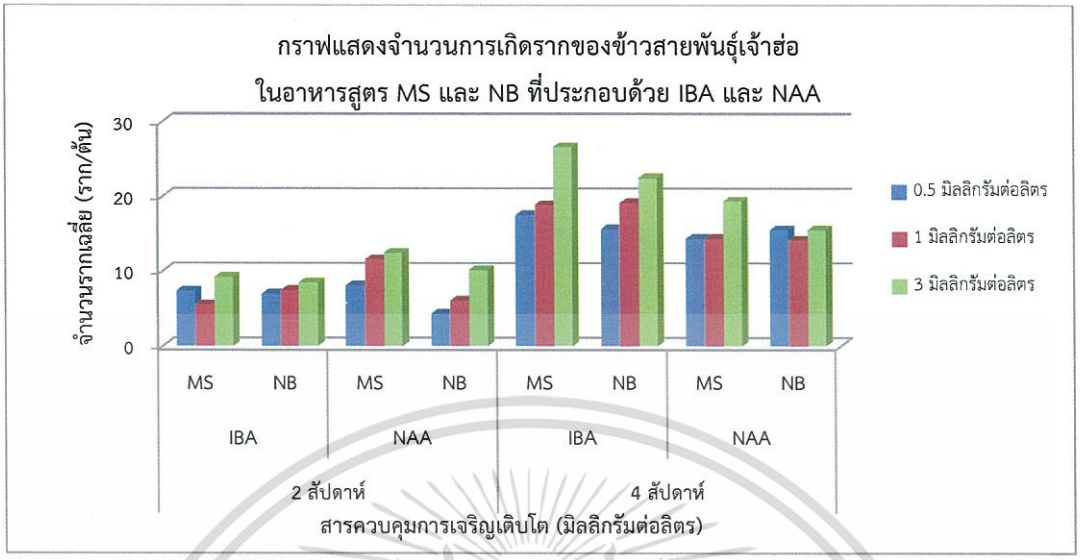
ในระยะเวลา 2 สัปดาห์หลังจากการเพาะเลี้ยงรากมีความยาวมากขึ้นในอาหารทุกสูตร และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงต่อจนครบ 4 สัปดาห์ พบว่ารากมีจำนวน และความยาวเพิ่มมากขึ้น (รูปที่ 4.40) และจากตารางที่ 4.26 แสดงผลในการชักนำให้เกิดรากในข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อโดยนำผลที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ เมื่อครบ 4 สัปดาห์พบว่าในอาหารสูตร MS และ NB สามารถชักนำให้เกิดรากได้ในทุกความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต จากนั้นเมื่อทำการเปรียบเทียบสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากโดยทำการพิจารณาจากจำนวนการเกิดรากพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารสูตร MS ให้ผลในการชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด มีจำนวนการเกิดรากเฉลี่ยมากที่สุด 26.67 รากต่อต้น และพบว่าในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากที่มีความยาวมากที่สุด 7.00 เซนติเมตร อย่างไรก็ตามเมื่อทำการพิจารณาจากจำนวนการเกิดราก ความยาวรากที่เกิด จากกราฟสังเกตได้ว่าสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดรากได้จำนวนมาก (รูปที่ 4.38) มีความยาวรากที่ค่อนข้างยาวเช่นเดียวกันเมื่อเทียบกับอาหารสูตรอื่น (รูปที่ 4.39) ในขณะที่สูตรอาหารที่สามารถชักนำให้รากมีความยาวมักให้จำนวนการเกิดรากที่ค่อนข้างน้อย ดังนั้นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อมากที่สุดคือ อาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และยังพบว่ารากมีลักษณะที่หนาและความยาวเหมาะสมสำหรับการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้จากรูปที่ 4.40 เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Alam *et al.* (2012) พบว่าใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในการชักนำให้เกิดรากในข้าวสี่สายพันธุ์ ผลที่ได้พบว่าข้าวแต่ละสายพันธุ์สามารถเกิดรากได้ดีที่ความเข้มข้นของ IBA แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

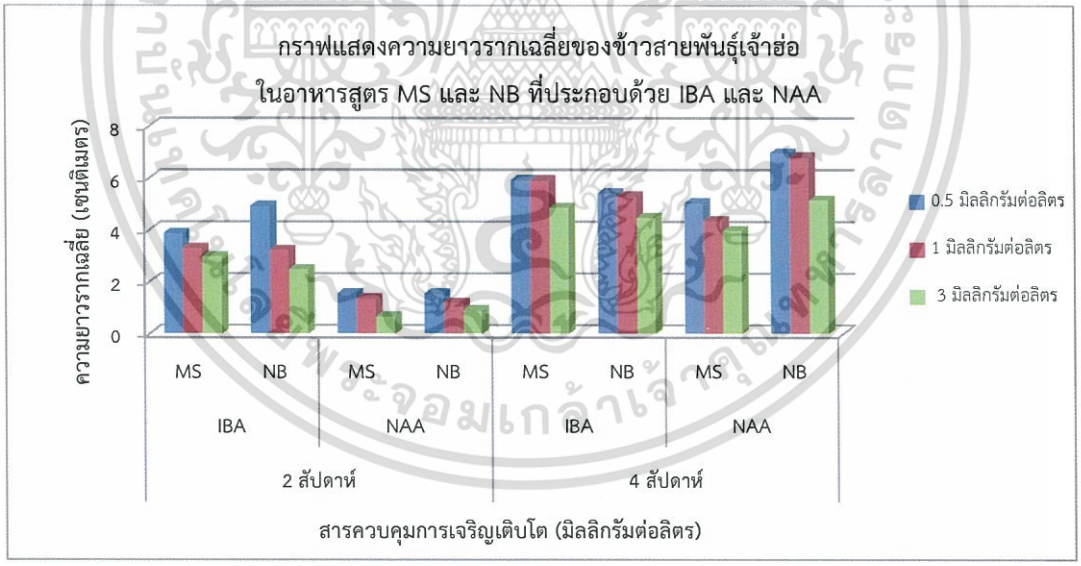
**ตารางที่ 4.26** ผลการชักนำรากของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

| อาหาร | สารควบคุมการเจริญเติบโต | | จำนวนต้นที่เพาะเลี้ยง | 2 สัปดาห์ | | 4 สัปดาห์ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | IBA (มิลลิกรัม/ลิตร) | NAA (มิลลิกรัม/ลิตร) | | จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น | ความยาวรากเฉลี่ย (เซนติเมตร) | จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น | ความยาวรากเฉลี่ย (เซนติเมตร) |
| MS | 0.5 | 0 | 9 | $7.44^{bcde}$ | $3.89^{b}$ | $17.56^{b}$ | $5.94^{abc}$ |
| | 1 | 0 | 9 | $5.56^{de}$ | $3.33^{bc}$ | $18.89^{ab}$ | $5.94^{abc}$ |
| | 3 | 0 | 9 | $9.22^{abcd}$ | $3.00^{bc}$ | $26.67^{a}$ | $4.89^{cd}$ |
| | 0 | 0.5 | 9 | $8.13^{bcde}$ | $1.56^{d}$ | $14.38^{b}$ | $5.06^{cd}$ |
| | 0 | 1 | 9 | $11.63^{ab}$ | $1.38^{d}$ | $14.38^{b}$ | $4.38^{cd}$ |
| | 0 | 3 | 9 | $12.50^{a}$ | $0.69^{d}$ | $19.38^{ab}$ | $4.00^{d}$ |
| NB | 0.5 | 0 | 9 | $7.00^{cde}$ | $4.94^{a}$ | $15.67^{b}$ | $5.44^{abcd}$ |
| | 1 | 0 | 9 | $7.50^{bcde}$ | $3.25^{bc}$ | $19.17^{ab}$ | $5.33^{bcd}$ |
| | 3 | 0 | 9 | $8.50^{abcde}$ | $2.50^{c}$ | $22.50^{ab}$ | $4.50^{cd}$ |
| | 0 | 0.5 | 9 | $4.33^{e}$ | $1.56^{d}$ | $15.56^{b}$ | $7.00^{a}$ |
| | 0 | 1 | 9 | $6.11^{cde}$ | $1.22^{d}$ | $14.22^{b}$ | $6.83^{ab}$ |
| | 0 | 3 | 9 | $10.17^{abc}$ | $0.92^{d}$ | $15.50^{b}$ | $5.17^{cd}$ |

ตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's

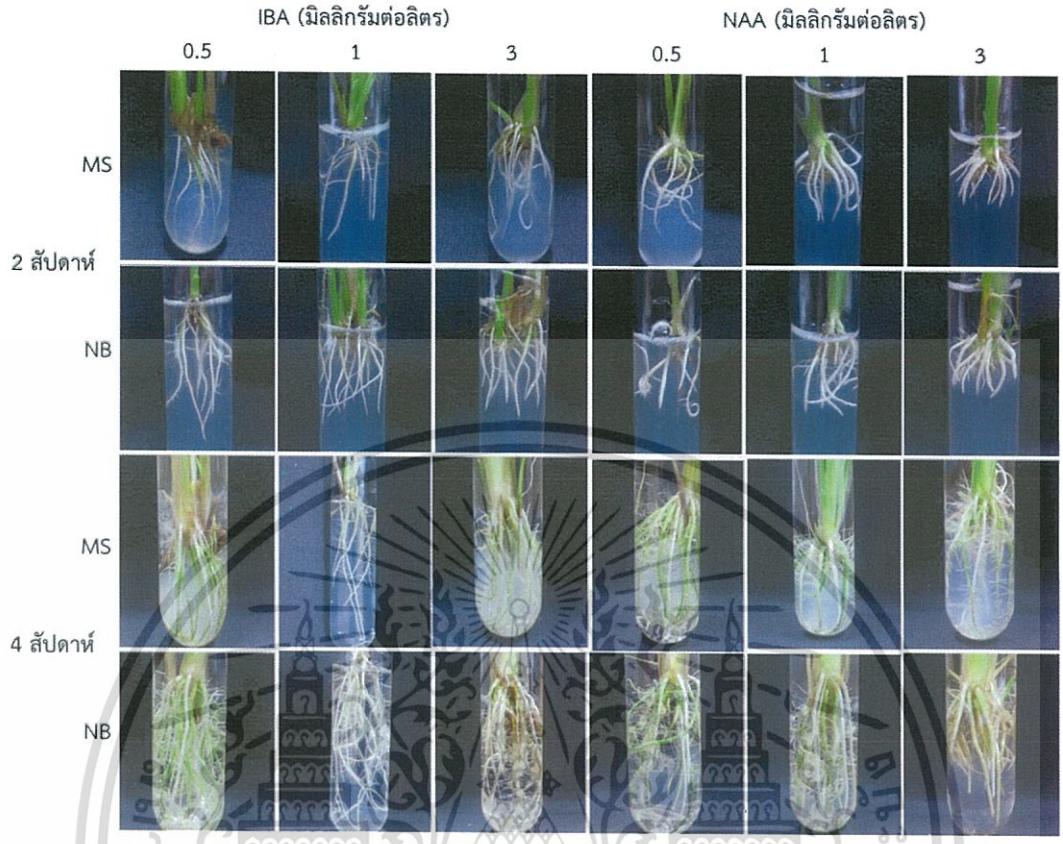



**รูปที่ 4.38** กราฟแสดงจำนวนการเกิดรากเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์




**รูปที่ 4.39** กราฟแสดงความยาวรากเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.40** การเกิดรากของข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อ ในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.5.4 ข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105**

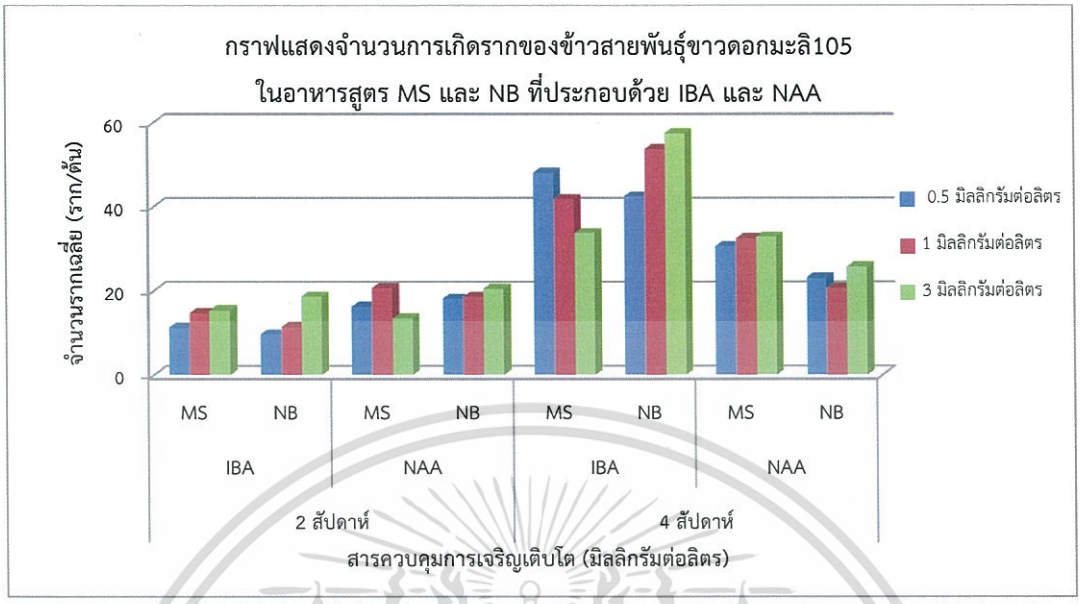
พบว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ รากมีความยาวมากขึ้นในอาหารทุกสูตร และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อจนครบ 4 สัปดาห์ พบว่ารากมีจำนวน และความยาวเพิ่มมากขึ้นสังเกตจากรากที่เกิดได้ในอาหารทุกสูตรทั้งในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตความเข้มข้นต่างๆ และเมื่อทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารควบคุมคุมการเจริญเติบโตระหว่าง IBA และ NAA จากตารางที่ 4.27 นำผลมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพิจารณาจากจำนวนการเกิดรากเมื่อครบ 4 สัปดาห์ พบว่าที่ในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนการเกิดรากมากที่สุด 57.50 รากต่อต้น พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารสูตรเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากความยาวของรากที่เกิด IBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวรากเฉลี่ย 3.94 เซนติเมตร และ IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวรากเฉลี่ยเท่ากับ 3.00 เซนติเมตร พบว่าความยาวของรากที่ได้จาก IBA ความเข้มข้น 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ก็ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จากจำนวนรากที่เกิด และความยาวรากโดยเฉลี่ย (รูปที่ 4.41 และ 4.42) พบว่าในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลที่มากที่สุดและเป็นไปในทางเดียวกัน จึงสามารถสรุปได้ว่าสูตรอาหารนี้เป็นสูตรอาหารที่มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากในข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 มากที่สุด พิจารณาจากรูปที่ 4.43 ร่วมด้วยพบว่ารากมีลักษณะที่แข็งแรง เส้นหนา ยาว ซึ่งเหมาะสมต่อการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติและให้อัตราการรอดชีวิตสูง ให้ผลไปในทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Barpete *et al.* (2014) ทำการเปรียบเทียบสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการชักนำให้เกิดรากในถั่วกลาส (*Lathyrus sativus* L.) ระหว่าง IBA IAA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งสามชนิดสามารถชักนำให้เกิดรากได้แต่พบว่า IBA มีความถี่ในการเกิดรากได้มากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

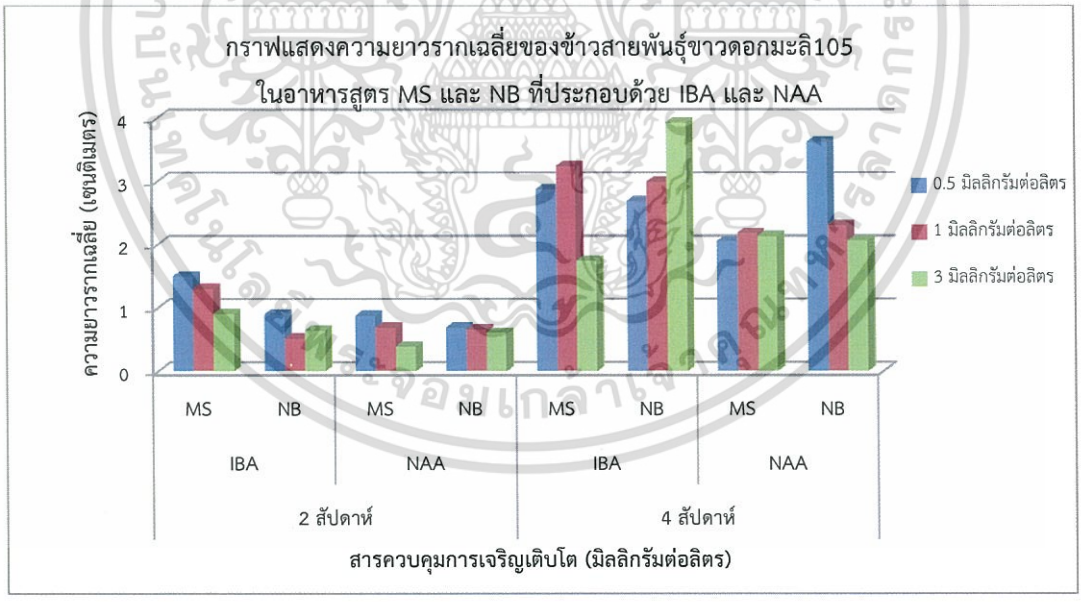
**ตารางที่ 4.27** ผลการชักนำรากของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

| อาหาร | สารควบคุมการเจริญเติบโต | | จำนวนต้นที่เพาะเลี้ยง | 2 สัปดาห์ | | 4 สัปดาห์ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | IBA (มิลลิกรัม/ลิตร) | NAA (มิลลิกรัม/ลิตร) | | จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น | ความยาวรากเฉลี่ย (เซนติเมตร) | จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้น | ความยาวรากเฉลี่ย (เซนติเมตร) |
| MS | 0.5 | 0 | 8 | $11.25^{bc}$ | $1.50^{a}$ | $48.13^{ab}$ | $2.88^{abc}$ |
| | 1 | 0 | 8 | $14.75^{abc}$ | $1.31^{ab}$ | $41.88^{bc}$ | $3.25^{ab}$ |
| | 3 | 0 | 8 | $15.38^{abc}$ | $0.91^{bc}$ | $33.75^{cd}$ | $1.75^{c}$ |
| | 0 | 0.5 | 8 | $16.25^{abc}$ | $0.88^{bc}$ | $30.63^{cd}$ | $2.06^{bc}$ |
| | 0 | 1 | 8 | $20.75^{a}$ | $0.69^{c}$ | $32.50^{cd}$ | $2.19^{bc}$ |
| | 0 | 3 | 8 | $13.50^{abc}$ | $0.39^{c}$ | $32.86^{cd}$ | $2.14^{bc}$ |
| NB | 0.5 | 0 | 8 | $9.63^{c}$ | $0.90^{bc}$ | $42.50^{bc}$ | $2.69^{abc}$ |
| | 1 | 0 | 8 | $11.50^{bc}$ | $0.52^{c}$ | $53.75^{ab}$ | $3.00^{abc}$ |
| | 3 | 0 | 8 | $18.63^{ab}$ | $0.65^{c}$ | $57.50^{a}$ | $3.94^{a}$ |
| | 0 | 0.5 | 8 | $18.13^{ab}$ | $0.69^{c}$ | $23.13^{d}$ | $3.63^{a}$ |
| | 0 | 1 | 8 | $18.63^{ab}$ | $0.66^{c}$ | $20.63^{d}$ | $2.31^{bc}$ |
| | 0 | 3 | 8 | $20.50^{a}$ | $0.61^{c}$ | $25.71^{d}$ | $2.07^{bc}$ |

ตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Ducan's

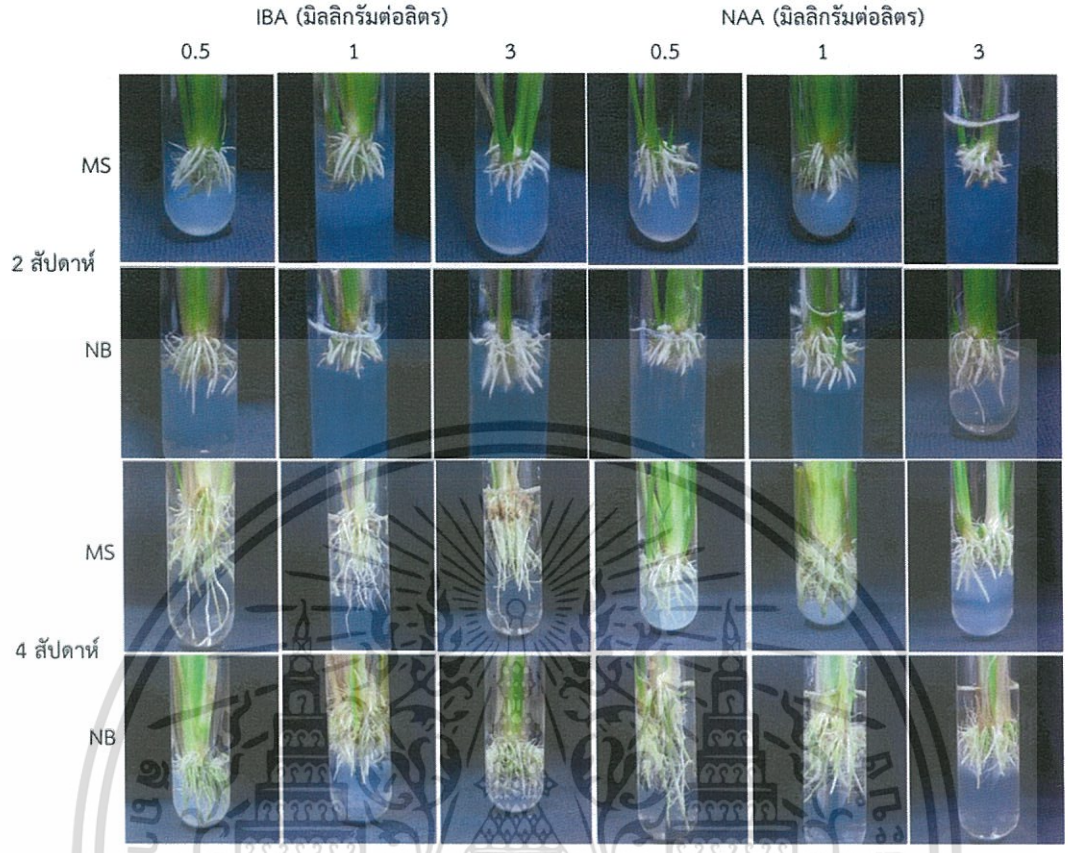



**รูปที่ 4.41** กราฟแสดงจำนวนการเกิดรากเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์




**รูปที่ 4.42** กราฟแสดงความยาวรากเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.43** การเกิดรากของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในอาหารสูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.6 การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยเทคนิคเอสอาร์เอพี

จากการศึกษาในครั้งนี้ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ในข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 โดยการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเมล็ด แล้วนำแคลลัสที่ได้ไปทำการชักนำให้เกิดยอด แคลลัสบางส่วนนำมาเพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยก่อนนำมาทำการชักนำให้เกิดยอด และเมื่อได้ยอดแล้วก็นำมาชักนำให้เกิดรากเพื่อเป็นต้นที่สมบูรณ์ จากวิธีดังกล่าวข้างต้นพบว่าเนื้อเยื่อที่พัฒนาจากกลุ่มเซลล์มาเป็นต้นได้นั้นต้องผ่านการกระตุ้นจากหลายปัจจัย ทั้งอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง สารควบคุมการเจริญเติบโต สภาวะในการเพาะเลี้ยง รวมทั้งระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง จากบทความเรื่องความรู้ทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยงานปฏิบัติการวิทยาศาสตร์กลาง สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง กล่าวว่าปัจจัยจากสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงที่สำคัญที่สุดคือ สารควบคุมการเจริญเติบโตโดยเฉพาะ 2,4-D ที่เติมในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำพืชใหม่ สารดังกล่าวจะไปชักนำให้ชิ้นส่วนพืชมีการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว วงจรการแบ่งเซลล์ (cell cycle) จะถูกเร่งให้สั้นกว่าปกติ จึงทำให้สารที่จำเป็นต่อกระบวนการแบ่งเซลล์ได้แก่ เอนไซม์ และโปรตีนถูกสร้างอย่างรวดเร็วเช่นกันในบางครั้งอาจส่งผลทำให้เกิดความบกพร่องในการสร้างสารที่จำเป็นบางตัว เซลล์ลูกที่ได้หลังจากกระบวนการแบ่งเซลล์จึงผิดปกติ นอกจากนี้สารที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงไปมีผลแย่งที่กับเอ็นไซม์ที่จำเป็นต่อกระบวนการแบ่งเซลล์ ผลที่ตามมาคือความผิดปกติของเซลล์ลูก

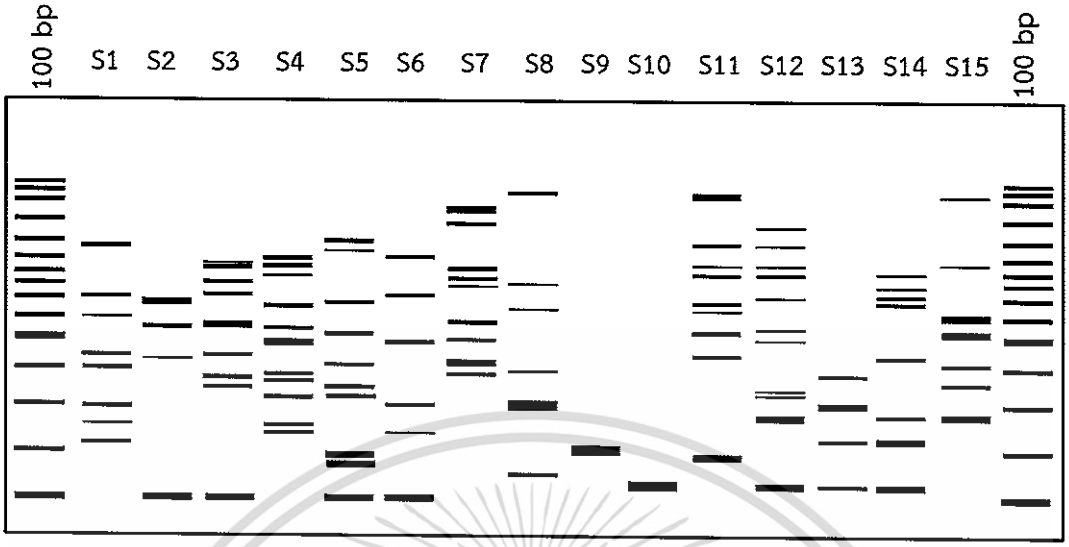
จากที่กล่าวข้างต้นพบว่างานปรับปรุงพันธุ์พืชได้มีการนำเครื่องหมายทางพันธุกรรมมาใช้ในการแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยอาศัยลักษณะรูปพรรณสัณฐานพืชที่มีความแตกต่างกันมาใช้เป็นเครื่องหมาย เช่น ความสูง ลักษณะทรงพุ่ม สีของลำต้น ขนาดรูปร่างและสีของเมล็ด เป็นต้น กิตติยา (2554) กล่าวว่าแม้ว่าลักษณะทางสัณฐานเป็นวิธีที่ใช้แยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์พืชได้ง่ายและสะดวกในการศึกษาแต่มีข้อจำกัดในด้านผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการแสดงออกโดยพบว่าลักษณะดังกล่าวมักเกิดการเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม ส่งผลให้เกิดความผิดพลาดในการแยกความแตกต่างของสายพันธุ์ได้ นอกจากนี้การเปรียบเทียบลักษณะภายนอกนี้ยังไม่สามารถแยกความแตกต่างของสายพันธุ์พืชบางชนิดที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้ และจากการศึกษาในครั้งนี้ก็ไม่สามารถแยกความแตกต่างจากการอาศัยลักษณะรูปพรรณสัณฐาน เช่น ความสูงของต้นข้าว ขนาดของใบข้าว รูปร่างของต้นข้าวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในครั้งนี้ได้ และจากที่ Bairu *et al.* (2011) ได้กล่าวว่าความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นปัญหาสำคัญสำหรับกระบวนการผลิตต้นพืชที่ต้องการพืชที่ตรงตามสายพันธุ์ จึงนำมาซึ่งการศึกษาในครั้งนี้โดยทำการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นข้าวที่ได้จากการชักนำให้เกิดต้นสมบูรณ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อหาความเปลี่ยนแปลงของดีเอ็นเอที่อาจขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของข้าวด้วยเครื่องหมายโมเลกุลซึ่งข้อมูลจากเครื่องหมายโมเลกุลที่ได้สามารถบ่งชี้ลักษณะทางจีโนไทป์โดยไม่มีสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง จากงานวิจัยพบว่าได้มีการนำเทคนิคเอสอาร์เอพีมาใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับพืชเป็นจำนวนมาก เช่น มันฝรั่ง ข้าว ผักกาดหอม กะหล่ำปลี (*Brassica rapa* L.) ผักกาดก้านขาว (*Brassica napus* L.) กระเทียม แอปเปิ้ล ส้ม และผักชีฝรั่ง เป็นต้น (Li and Quiros,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

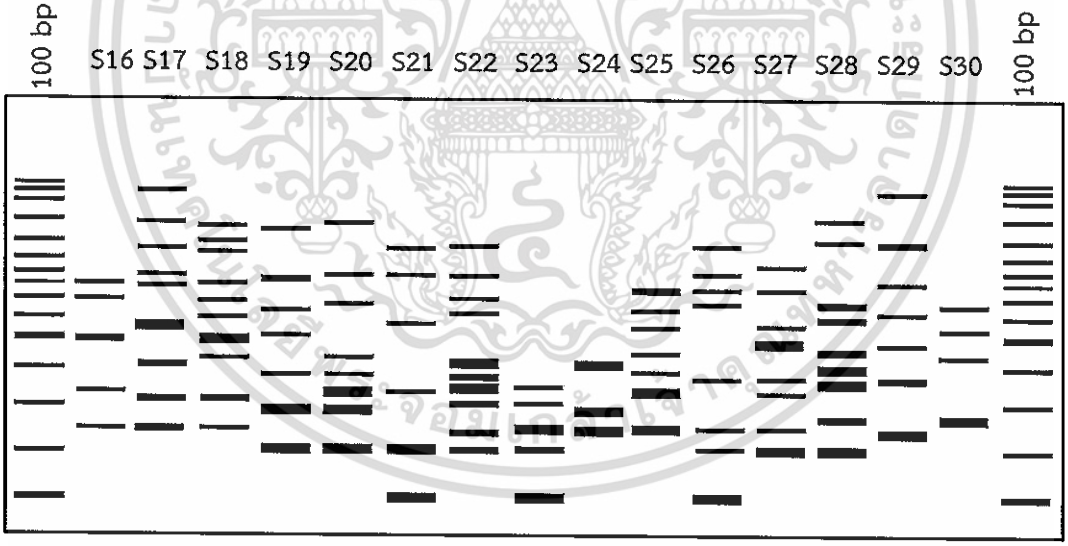
2001) และเนื่องจากเทคนิคเอสอาร์เอพีเป็นเครื่องหมายโมเลกุลชนิดใหม่ที่ใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้ดีกว่าเครื่องหมายโมเลกุล SSR ISSR หรือ RAPD (Budak *et al.*, 2004) และยังสามารถทำได้ง่าย ใช้ระยะเวลาและค่าใช้จ่ายน้อยกว่า ไม่ต้องทราบข้อมูลลำดับเบสของพืชที่ต้องการศึกษา ตรวจสอบดีเอ็นเอได้ครั้งละหลายตำแหน่งพร้อมกัน สร้างแถบดีเอ็นเอได้มาก และมีความคงตัวสูงกว่าเทคนิคอื่นๆ (สุดารัตน์, 2554)

ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงนำเทคนิคเอสอาร์เอพีมาทำการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยทำการเลือกตัวอย่างต้นข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ที่สมบูรณ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ทำการสุ่มต้นข้าวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS จำนวน 7 ต้น และต้นข้าวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB อีกจำนวน 7 ต้น มาเปรียบเทียบกับต้นควบคุม 1 ต้น ซึ่งต้นควบคุมได้มาจากการปลูกในสภาพภายนอก นำตัวอย่างต้นข้าวทั้งหมดมาทำการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB หลังทำการสกัดดีเอ็นเอจึงนำตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้มาทำการศึกษา โดยความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่เหมาะสมและนำมาใช้คือ 100 นาโนกรัม นำตัวอย่างดีเอ็นเอของต้นควบคุมที่สกัดได้มาใช้ในการคัดเลือกคู่ไพรเมอร์ที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ และจากการจับคู่ไพรเมอร์ฟอร์เวิร์ดจำนวน 5 ไพรเมอร์ และไพรเมอร์รีเวิร์สจำนวน 6 ไพรเมอร์ จึงได้ลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอของคู่ไพรเมอร์จำนวน 30 คู่ดังรูปที่ 4.44 และ 4.45 สามารถคัดเลือกคู่ไพรเมอร์ที่จับกันระหว่างไพรเมอร์ฟอร์เวิร์ด และไพรเมอร์รีเวิร์สที่เหมาะสมได้ทั้งหมด 10 คู่ไพรเมอร์ และสามารถคัดเลือกคู่ไพรเมอร์ที่สามารถสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างทั้งหมดที่ดีที่สุดได้ทั้งหมด 4 คู่ไพรเมอร์ ได้แก่ ME1EM1 ME1EM3 ME1EM4 และ ME2EM5 และจากการนำคู่ไพรเมอร์ทั้ง 4 คู่นี้มาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างทั้งหมด เทียบกับต้นควบคุมของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ ทำการศึกษาลักษณะลายพิมพ์ของดีเอ็นเอที่แตกต่างไปจากต้นควบคุม จากการตรวจสอบพบว่าแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างต้นข้าวที่ถูกชักนำให้เกิดต้นทั้ง 14 ตัวอย่างไม่มีความแตกต่างเมื่อเทียบกับแถบดีเอ็นเอของต้นควบคุมที่ให้ผลเหมือนกันทั้งหมดจากไพรเมอร์ทั้งหมด 4 คู่ไพรเมอร์ ดังรูปที่ 4.46 แสดงลักษณะตัวอย่างลายพิมพ์ของดีเอ็นเอที่พบว่าลักษณะของลายพิมพ์ดีเอ็นเอทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเทียบกับต้นควบคุม ซึ่งมีการรายงานว่ากระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีโอกาสที่จะกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ได้เนื่องจากมีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต และระยะเวลาในการย้ายเลี้ยง (Sun *et al.*, 2013) แต่จากการศึกษาในครั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าปัจจัยต่างๆ รวมทั้งระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยการชักนำแคลลัสให้เกิดต้นเป็นระยะเวลาที่สั้น จึงอาจยังไม่ส่งผลหรือมีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

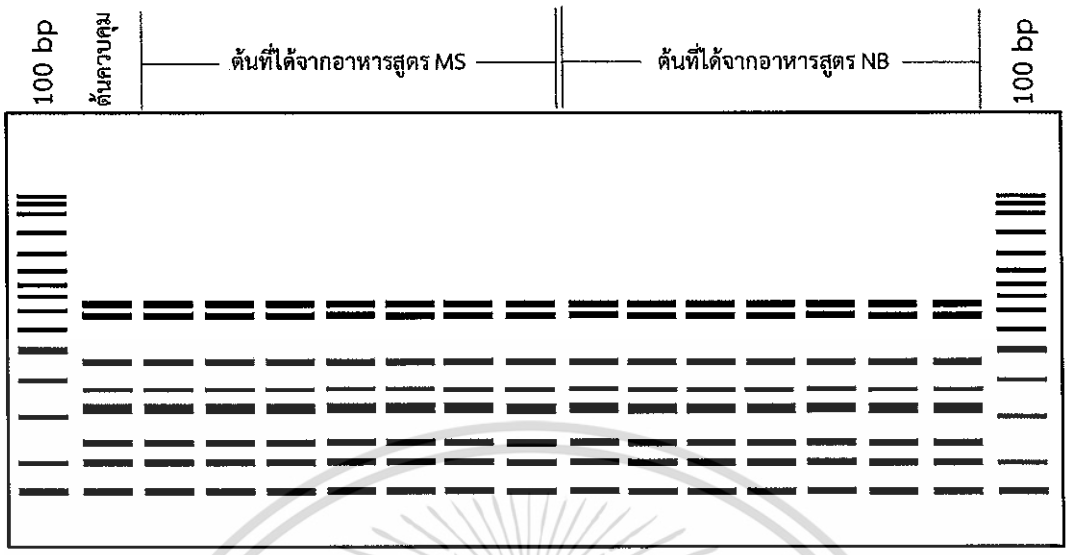



**รูปที่ 4.44** ลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอของคู่ไพรเมอร์เอสอาร์เอพี 15 คู่ไพรเมอร์ S1-S15; ME1EM1 ME1EM2 ME1EM3 ME1EM4 ME1EM5 ME1EM6 ME2EM1 ME2EM2 ME2EM3 ME2EM4 ME2EM5 ME2EM6 ME3EM1 ME3EM2 ME3EM3 ตามลำดับ




**รูปที่ 4.45** ลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอของคู่ไพรเมอร์เอสอาร์เอพี 15 คู่ไพรเมอร์ S16-S30; ME3EM4 ME3EM5 ME3EM6 ME4EM1 ME4EM2 ME4EM3 ME4EM4 ME4EM5 ME4EM6 ME5EM1 ME5EM2 ME5EM3 ME5EM4 ME5EM5 ME5EM6 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.46** แสดงลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ของต้นควบคุม ต้นข้าวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS จำนวน 7 ต้น และต้นข้าวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NB จำนวน 7 ต้น ในข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้ที่ได้จากคู่ไพรเมอร์ ME1EM4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5
# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

## 5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาสูตรอาหาร และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส โดยการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ 105 ในอาหารแข็งสังเคราะห์สูตร MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดข้าวสามารถพัฒนาไปเป็นแคลลัสได้ในอาหารทุกสูตร โดยข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ 105 พบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสดีที่สุด ในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 1 2 3 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เกิดต้นใหม่โดยนำแคลลัสที่ได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้น MS และ NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของไฟทาเจลที่แตกต่างกัน 2.6 และ 5.2 กรัมต่อลิตร รวมทั้งลักษณะของแคลลัสแบบสด และแบบแห้ง เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสของข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้สามารถเจริญไปเป็นยอดได้ดีในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของไฟทาเจลที่ 5.2 กรัมต่อลิตร และเมื่อนำแคลลัสไปผ่านการทำให้แห้งมาเพาะเลี้ยงสามารถเพิ่มอัตราการเกิดยอดและจำนวนยอดได้มากที่สุด ข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อพบว่าเมื่อนำแคลลัสแบบสดมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 2.6 กรัมต่อลิตร ให้ผลในการเกิดยอดจำนวนมากได้มากที่สุด และยังพบว่าเมื่อนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ไปผ่านการทำให้แห้ง แล้วนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสให้เป็นยอดและเกิดยอดจำนวนมากได้ดีที่สุด

ในการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์แขวนลอยจากการนำแคลลัสที่ได้ในข้าวทั้งสี่สายพันธุ์มาศึกษาโดยข้าวสายพันธุ์น้ำรูเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบค่าน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดในวันที่ 18 ซึ่งมีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.3499 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร และน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0141 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร ข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าในวันที่ 15 มีอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์สูงที่สุด ให้ค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยคือ 0.3620 และ 0.0131 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ ข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงสุดในวันที่ 18 เท่ากับ 0.3594 กรัมต่อ 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตร และค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยมีค่ามากที่สุดคือ 0.0144 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร ในวันที่ 18 เช่นเดียวกัน และข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว NB ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบค่าน้ำหนักสดเฉลี่ย และค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยในวันที่ 15 มีค่าสูงสุดคือ 0.3394 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร และ 0.0219 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ

ส่วนการชักนำแคลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยให้เกิดต้นสามารถชักนำแคลลัสให้เกิดต้นได้ในข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อเพียงสายพันธุ์เดียว สามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารที่มีความเข้มข้นของไฟทาเจลสูง พบว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ แคลลัสมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ขยายใหญ่ขึ้น เกิดจุดเขียวเล็กๆ บนผิวแคลลัส เมื่อเพาะลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์เริ่มเกิดตุ่มยอดเล็กๆ และเกิดยอดพร้อมกับรากในเวลาเดียวกัน และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงจนครบ 6 สัปดาห์ พบว่ายอดสูงขึ้นและเกิดยอดหลายยอด ตุ่มยอดเล็กๆ พัฒนาเป็นยอดเพิ่มมากขึ้น รวมทั้งเกิดรากกลายเป็นต้นที่สมบูรณ์ และสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุดคือ อาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟทาเจลความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก และเมื่อนำแคลลัสไปผ่านการทำให้แห้งมาเพาะเลี้ยงสามารถเพิ่มอัตราการเกิดยอดและจำนวนยอดได้มากที่สุด

ในการชักนำต้นข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 ให้เกิดรากสามารถสังเกตได้ว่าหลังจากตัดรากของต้นข้าวจนสั้นถึงโคนราก แล้วย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดรากเพียงระยะหนึ่งสัปดาห์รากก็ค่อยๆ งอกยาวเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็ว และจากการเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA พบว่าที่ความเข้มข้นแตกต่างกันของสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS และ NB มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากในข้าวแต่ละสายพันธุ์ต่างกัน ข้าวสายพันธุ์น้ำรู พบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนการเกิดรากเฉลี่ย 43.33 รากต่อต้น ข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้เกิดรากได้ดีในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนรากเฉลี่ย 20.75 รากต่อต้น ข้าวสายพันธุ์เจ้าฮ่อเกิดจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 26.67 รากต่อต้น ในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 57.50 รากต่อต้นในอาหารสูตร NB ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA และ NAA ช่วยให้รากยาวและมีความแข็งแรงมากขึ้น พร้อมและเหมาะสมต่อการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ เมื่อนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติพบว่าข้าวสายพันธุ์น้ำรู ขาวโป่งไคร้ เจ้าฮ่อ และขาวดอกมะลิ105 มีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์

การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของต้นข้าวที่ชักนำให้เกิดต้นสมบูรณ์ โดยเทคนิคเอสอาร์เอพี เพื่อหาความเปลี่ยนแปลงของดีเอ็นเอที่อาจขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชของข้าว ในขั้นตอนการศึกษานี้ได้ทำการสุ่มเลือกตัวอย่างต้นข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้มาใช้ในการศึกษา โดยทำการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คัดเลือกคู่ไพรเมอร์ที่เหมาะสมนำมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างทั้งหมดเทียบกับต้นควบคุมของข้าวสายพันธุ์ขาวโป่งไคร้โดยใช้เทคนิคเดียวกัน ผลที่ได้พบว่าตัวอย่างข้าวที่ถูกชักนำให้เกิดต้นทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกับต้นควบคุม ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าปัจจัยต่างๆ ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสในข้าวยังไม่มีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของพืชในการศึกษาครั้งนี้

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรนำผลการทดลองที่ไปปรับปรุงเพื่อหาสูตรที่เหมาะสม สำหรับการชักนำแคลลัสให้เกิดต้นให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น หาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงแบบเซลล์แขวนลอยให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นในการนำไปชักนำให้เกิดแคลลัสต่อไป และควรเพิ่มจำนวนซ้ำตัวอย่างในการทดลองแต่ละขั้นตอนให้มากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง


กิตติยา โพบำรุง. 2554. "การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวโพดข้าวเหนียวและข้าวโพดเทียนโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SRAP." ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

งานปฏิบัติการวิทยาศาสตร์กลาง สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. 2559. **ความรู้ทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.** [Online]. Available : http://www.lartc.rmutl.ac.th/ptclab/Tissue%20Culture/factor%20tissue%20cutlure.html.

ชลนที รอดสว่าง. 2546. การพัฒนา Marker สำหรับศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหญ้าเนเปียร์ (*Pennisetum purpureum*) และหญ้ารูซี่ (*Brachiaria ruziziensis*). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธีระชัย ธนานันต์. 2553. **พันธุศาสตร์โมเลกุล.** ปทุมธานี. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต.

บุญยืน กิจวิจารณ์. 2544. **เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

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

พีรเดช ทองอำไพ. 2537. **ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์: แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย.** กรุงเทพฯ. วิชัยการพิมพ์.

สุดารัตน์ ทิมอรรถ. 2554. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะรุมที่รวบรวมจากจังหวัดนครปฐมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SRAP. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. **จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ: ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี.** กรุงเทพฯ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรีพร เกตุงาม. 2546. "เครื่องหมายดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์พืช." *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.* 5(2) : 37-58.

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2559. **องค์ความรู้เรื่องข้าว: พันธุ์ข้าว.** [Online]. Available : http://www.brrd.in.th/rkb/varieties/index.php-file=content.php&id=5.htm.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2559. **องค์ความรู้เรื่องข้าว: พันธุ์ข้าว.** [Online]. Available : http://www.brrd.in.th/rkb/varieties/index.php-file=content.php&id=1.htm.

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2559. **องค์ความรู้เรื่องข้าว: พันธุ์ข้าว ขาวดอกมะลิ105.** [Online]. Available : http://www.brrd.in.th/rkb/varieties/index.php-file=content.php&id=19.htm

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2559. **องค์ความรู้เรื่องข้าว: พันธุ์ข้าว ขาวโป่งไคร้.** [Online]. Available : http://www.brrd.in.th/rkb/varieties/index.php-file=content.php&id=96.htm.

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2559. **องค์ความรู้เรื่องข้าว: พันธุ์ข้าว เจ้าฮ่อ.** [Online]. Available : http://www.brrd.in.th/rkb/varieties/index.php-file=content.php&id=97.htm.

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2559. **องค์ความรู้เรื่องข้าว: พันธุ์ข้าว น้ำรู.** [Online]. Available : http://www.brrd.in.th/rkb/varieties/index.php-file=content.php&id=100.htm.

รังสฤษดิ์ กาวีตัะ. 2541. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รัตนาภรณ์ บุญเรือง. 2556. “การปรับปรุงพันธุ์ถั่วอาหารสัตว์ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการฉายรังสีแกมมา” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

รัตนาภรณ์ บุญเรือง และอนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม. 2554. “การศึกษาการเจริญของเซลล์แขวนลอยจากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงจากส่วนของใบเลี้ยงของถั่วพระสไตโล.” 529-535. **ในการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49 สาขาพืช**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม และนิตย์ศรี แสงเดือน. 2544. "การเจริญเป็นต้นใหม่ของเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี 60." หน้า 174-180. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 สาขาวิทยาศาสตร์. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อภิชา ไชยเหล็ก และสิริพร โรจน์อารยานนท์. 2558. "การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของหนอนตายหยาก." *วารสารวิทยาศาสตร์ มช.* 43(3) : 403-412.

Alam, M.J. Imran, M. Hassan, L. Rubel, M.H. and Shamsuddoha, M. 2012. "In Vitro Regeneration of High Yielding Indica Rice (*Oryza sativa* L.) Varieties." *Journal of environmental science and natural resources.* 5(1) : 173-177.

Anand, P. Tiwari, A. and Mishra, R.M. 2015. "Studies on Production of *Oryza sativa* Varieties APMS-6B and BPT-5204 with Callus Induction via Micropropagation." *International Journal of Biopharmaceutics.* 6(1) : 43-47.

Bairu, M.W. Aremu, A.O. and Staden, J.V. 2011. "Somaclonal Variation in Plants: Causes and Detection Methods." *Plant Growth Regulation.* 63 : 147–173.

Barpete, S. and Khawar, K.M. 2014. "Differential Competence for *In Vitro* Adventitious Rooting of Grass Pea (*Lathyrus sativus* L.)." *Plant Cell, Tissue and organ culture.* 119 (1) : 12 p.

Bhojani, S.S. and Razdan, M.K. 1996. "Plant Tissue Culture, Theory and Practices. A revised edition. Amsterdum : Elsveir Publishers.

Bhuiyan, R. Miah, M.A. Shakil, S.K. Ikbal, M.F. Masnaz, A.T.M.J. Hoque, M.H. Biswas, G.C.V. and Prodhan, S.H. 2014. "Comparison of Callus Initiation and Regeneration Frequency for Two Submerge Tolerant Rice (*Oryza sativa* L.)." *Journal of Pharmacy and Biological Science.* 9(1) : 74-78.

Budak, H. Shearman, R.C. Parmaksiz, I. Gaussoin, R.E. Riordan, T.P. and Dweikat, I. 2004. "Molecular Characterization of Buffalograss Germplasm Using Sequence-Related Amplified Polymorphism Markers." *Theoretical and Applied Genetics.* 108 : 328-334.

Chand, S. and Sahrawat, A.K. 2001. "Stimulatory Effect of Desication on Plant Regeneration in *Indica* Rice (*Oryza sativa* L.)." *Plant Biotechnology and Biotechnology.* 10 : 43-47.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Chen, Y. Liang, L.T. Zhu, J. Wang, R.F. Li, S.Y. Tian, W.Z. and Zheng, S.W. 1974. "Studies on Introduction Conditions and Genetic Expression of Pollen Plants in Rice." *Scientia Sinica*. 1 : 40-51.

Chou, K.T. Ge, K.L. Tsai, I.S. Yang, C.S. and Yang, H.W. 1983. "Callus Induction and Redifferentiation of Differentiation of Different Hybrid Rice Plant Parts." 207-213. in Proceeding of Workshop Cosponsored by the Institute of Genetic, Academia Sinica and IRRL. **Cell and Tissue Culture Technique for Cereal Crop Improvement.** China : Science Press Beijing,. And IRRL.

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.

Chu, Q.R. and Croughan, T.P. 1990. "Genetics of Plant Regeneration in Immature Panicle Culture of Rice." *Crop Science.* 30 : 1194-1197.

Deo, P.C. Tyagi, A.P. Taylor, M. Harding, R. and Becker, D. 2010. "Factors Affecting Somatic Embryogenesis and Transformation in Modern Plant Breeding." *The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences.* 28 : 27-40.

Dharamvir Hota. 2007. **Modern Biotechnology in Plant Breeding**. India: Genetic/Daya Publishing House.

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

Doyle, J. and Doyle, J. 1987. "A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue." *Phytochemical Bulletin*. 19 : 11–15.

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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Ghobeishavi, H. Uliaie, E.D. Alavikia, S.S. and Valizadeh, M. 2015. "Study of Factors Influencing Somatic Embryogenesis in Rice (*Oryza Sativa* L.)." *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research.* 3(1) : 43-50.

Hossain, M.R. Akter, N. Mondal, U. Dey, R.C. and Hassan, L. 2015. "Investigation the *In Vitro* Regeneration Potentiality of Three High Yielding *Indica* Rice (*Oryza sativa* L.) Varieties." *British Biotechnology Journal.* 9(3) : 1-13.

Isam, M.M. Haque, M.E. Isam, M.A. Sikdar, B. and Khalekuzzaman, M. 2014. "Establishment of an Efficient Protocol for *In vitro* Callus Induction and Regeneration System Using Mature Embryo in Elite Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars." *Research in Plant Biology.* 4(4) : 9-20.

Jain R.K. Jain, S. and Wu, R. 1996. "Stimulatory Effect of Water Stress on Plant Regeneration in Aromatic *Indica* Rice Varieties." *Plant Cell Reports.* 15 : 449-454.

Jing, Z. Cheng, J. Gou, C. and Wang, X. 2013. "Seeding Traits, Nutrient Elements and Assessment of Genetic Diversity for Almond (*Amygdalus* spp.) Endangered to China as Revealed Using SRAP Marker." *Biochemical Systematics and Ecology.* 49 : 51-57.

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.

Kermanee, P. 2004. "Plant Regeneration from Cell Suspension Culture of Rice Varieties Khao Dawk Mali 105 and Suphanburi 1." *Kasetsart Journal (National Science).* 38 : 90-96.

Khaleda, L. and Al-forkan, M. 2010. "Efficient Plant Regeneration from Embryogenic Cell Suspension Culture of Two Deepwater Rice (*Oryza sativa* L.) Varieties." Chittagong University Journal of Biological Sciences. 5(1&2) : 91-103.

Khunna, H.K. and Raina, S.K. 1998. "Genotype x Culture Media Induction Effects on Regeneration Response of Three Indica Rice Cultivars." *Plant Cell Tissue Organ Culture.* 52 : 145-153.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Li, G. and Ouiros, C.F. 2001. "Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP), A New Marker System Based on a Simple PCR Reaction: Its Application to Mapping and Gene Tagging in *Brassica.*" *Theoretical and Applied Genetics.* 103 : 455-461.

Li, L. Duan, S. Kong, J. Li, S. Li, Y. and Zhu, Y. 2007. "A Single Genetic Locus in Chromosome 1 Controls Conditional Browning During the Induction of Calli from Mature Seeds of *Oryza sativa* ssp." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 89 : 237-245.

Lai, K.L. and Liu, L.F. 1988. "Increased Plant Regeneration Frequency in Water-Stressed Rice Tissue Cultures." *Japanese Journal of Crop Science.* 57 : 553-557.

Lee, K. Joen, H. and Kim, M. 2002. "Optimization of A Mature Embryo Base In Vitro Culture System for High Frequency Somatic Embryogenetic Callus Induction and Plant Regeneration from *Japonica* Rice Cultivars." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 71 : 237-244.

Lima, E.C. Paiva, R. Nogueira, C. Soares, F.P. Emrich, E.B. and Silva, A.A.N. 2008. "Callus Induction in Leaf Segment of *Croton uracurana* Baill." *Ciencia Agrotecnologia.* 32 : 17-22.

Mahajan, R. Aslam, L. and Kousar, H. 2013. "Effect of Growth Regulators on *In vitro* Cultures of Basmati Rice Genotype: RANBIR BASMATI and BASMATI370." *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences.* 3(4) : 1131-1138.

Makerly, H. Rahmat, Z. and Wagiran, A. 2012. "Potential Use of Partial Desiccation Treatment for Regeneration System of Malaysian Indica Rice (*O. Sativa* L.)." *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering).* 59(1) : 97-100.

Mulherjee, A. Nasiruddin, K.M. and Banerjee, P. 2015. "Study on Callus Initiation and Plantlet Regeneration Ability of Some Rice Genotypes." *International Journal of Scientific and Technology Research.* 4(10) : 354-361.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

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

Nishi, T. Yamada, Y. and Takahashi, E. 1968. "Organ Redifferentiation and Plant Restoration in Rice Callus." *Nature*. 219: 508-509.

Nitch, J.P. and Nitch, C. 1969. "Haploid plants from pollen grains." *Science*. 163(3862) : 85-87.

Park, J.S. Park, J.Y. Park, K.J. and Lee, J.K. 2008. "Genetic Diversity Among Waxy Corn Accessions in Korea Revealed by Microsatellite Markers." *Korean Journal of Breeding Science*. 40(3) : 250-257.

Rahman, Z.A. Ramli, A. Hosni, H. Kamaruzaman, R. Seman, Z.A. Othman, A.N. Zainai, Z. Uddain, J. and Subramaniam, S. 2015. "Efficient Plant Regenertation of Malaysian Aromatic Rice (*Oryza sativa* L.) Through Somatic Embryogenesis." *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 27(11) : 857-863.

Rahman, Z.A. Roowi, S. Zaliha, W.W.S. and Subramaniam, S. 2010. "Regeneration of Malaysian Indica Rice (*Oryza sativa* L.) Variety MR232 via Optimised Somatic Embryogenesis System." *Journal of Phytology*. 2(3) : 30-38.

Ramesh, M. Murugiah, V. and Gupta, A.K. 2009. "Efficient *In vitro* Plant Regeneration via Leaf Base Segments of Indica Rice (*Oryza sativa* L.)." *Indian Journal of Experimental Biology*. 47 : 68-74.

Rashid, H. Saleem, M. Chaudhry, Z. Gilani, S.T. and Qureshi, A.S. 2004. "Studies on Developing a High Regeneration from Seed Derived Calli of Rice (*Oryza sativa* L.) C.V. Super Basmati." *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 7(2) : 273-276.

Rattana, K. Theerakulpisut, P. and Bunnag, S. 2012. "The Effect of Plant Growth Regulators and Organic Supplements on Callus Induction and Plant Regeneration in Rice (*Oryza sativa* L.)." *Asian Journal of Plant Sciences*. 11(4) : 182-189.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Roly, Z.Y. Islam, M.M. Shaekh, M.P.E. Arman, M.S.I. Shahik, S.M. Das, D. Haamem, M.M.E. and Khalekuzzaman, M. "In vitro Callus Induction and Regeneration Potentiality of Aromatic Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars in Differential Growth Regulators." *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology.* 2(2) : 160-167.

Rout, J.R. and Sarna, N.P. 1986. "Hight Frequency Plantlet Regeneration in Rice Anther Callus Culture." *Rice Genetics Newsletter.* (3): 105.

Raina, S.K. 1989. Tissue Culture in Rice Improvement: Status and Potential. *Advances in Agronomy Journal.* 42 : 339-398.

Sa, K.J. Park, J.Y. Park, K.J. and Lee, J.K. 2010. "Analysis of Genetic Diversity and Relationships Among Waxy Maize Inbreed Lines in Korea Using SSR Markers." *Genes and Genomics.* 32(4) : 375-384.

Sah, S.K. Kaur, A. and Sandhu J.S. 2014. "High Frequency Embryogenic Callus Induction and Whole Plant Regeneration in *Japonica* Rice cv. Kitaake." *Rice Research.* 2 : 2.

Saharan,V. Yadav, R.C. Yadav, N.R. and Chapagain B.P. 2004. "High Frequency Plant Regeneration from Desiccated Calli of *Indica* Rice (*Oryza sativa* L.)." *African Journal of Biotechnology.* 3(5) : 256-259.

Sahoo, K.K. Tripathi, A.K. Pareek, A. Sopory, S.K. and Singla-Pareek, S.L. 2011. "An Improved Protocol for Efficient Transformation and Regeneration of Diverse Indica Rice Cultivars." *Plant Methods.* 7:49-59.

Shahsavari, E. Maheran, A.A. Akmar, A.S.N. and Hanafi, M.M. 2010. "The Effect of Growth Regulators on Optimization of Tissue Culture System in Malaysian Upland Rice." *African Journal of Biotechnology.* 9(14) : 2089-2094.

Sompornpailin, K. and Chutipaijit, S. 2012. "Enhancement of Plant Regeneration Efficiency from Mature Grains of Thai Indica Rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML105)." *Pakistan Journal of Botany.* 44(4) : 1385-1390.

Staub, J.E. and Serquen, F.C. 1996. "Genetic Markers, Map Construction, and Their Applications in Plant Breeding." *HortScience.* 31(5) : 729-741.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Sun, S.J. Gao, W. Lin, S.Q. Zhu, J. Xie, B.G. and Lin, Z.B. 2006. "Analysis of Genetic Diversity in Ganoderma Population with a Novel Molecular Marker SRAP." *Applied Genetic and Molecular Biotechnology*. 72 : 537-543.

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

Tariq, M. Ali, G. Hadi, F. Ahmad, S. Ali, N. and Shah, A.A. 2008. "Callus Induction and *In vitro* Plant Regeneration of Rice (*Oryza sativa* L.) Under Various Conditions." *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 11(2 ) : 255-259.

Terjo-Tapia, G. Amaya, U.M. Morales, G.S. Sanchez, A.J. Bonfil, B.M. Rondriguez-Monoroy, M. and Jimenez-Aparicio, A. 2002. "The Effect of Cold Pretreatment, Auxins and Carbon Source on Anther Culture of Rice." *Plant Cell Tissue Organ Culture*." 71 : 41-46.

Tiwari, A.K. Shamim, M. Saxena, R.P. and Singh, K.D.N. 2012. "Plant Regeneration Efficiency of Two Scented Indica Rice Varieties Pusa Basmati 1 and Kalanamak." *Plant Tissue Culture and Biotechnology*. 22(2) : 163-169.

Toppo, E. Ramakrishnan, M. Ceaser, S.A. Sivasankaran, K. Premkumar, A. and Ignacimuthu, S. 2014. "Regeneration from Mature Scutellum Explants of Rice Variety IR64 (*Oryza sativa* L.) Through Direct and Indirect Organogenesis." *Journal of Global Agriculture and Ecology*. 1(1) : 1-9.

Torbet, K.A. Rinse, H.W. and Somers, D.A. 1998. "Transformation of Oat Using Mature Embryo-Derived Tissue Cultures." *Crop Science*. 38 : 226-231.

Tsukahara, M. and Hirosawa, T. 1992. "Simple Dehydration Treatment Promotes Plantlet Regeneration of Rice (*Oryza sativa* L.)." *Plant Cell Reports*. 11 : 550-553.

Vennapusa, A.R. Vemanna, R.S. Reddy, R.B.H. Babitha, K.C. Kiranmai, K. Nareshkumar, A. and Sudhakar, C. 2015. "An Efficient Callus Induction and Regeneration Protocol for a Drought Tolerant Rice *Indica* Genotype AC39020." *Journal of Plant Sciences*. 3(5) : 248-254.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Wang, W. Cui, S.X. and Zhang, C.L. 2001. "Plant Regeneration from Embryogenic Suspension Cultures of Dune Reed." *Plant Cell Tissue and Organ Culture.* 67 :11-17.

Wagiran, A. Ismail, I. Zain, C.R.C.M. and Abdullah, R. 2008. "Improvement of Plant Regeneration from Embryogenic Suspension Cell Culture of Japonica Rice." *Journal of Biological Science.* 8(3) : 570-576.

Wani, S.H. Teixeira da Silva, J.A. Sanghera, G.S. Haribhushan, A. Singh, N.B. and Gosal, S.S. 2011. "Regeneration Protocol for Whole Plants from Embryogenic Callus of Commercial Rice (*Oryza sativa* L.) Variety PR 116." *International Journal of Plant Developmental Biology.* 5(1) : 63-66.

Wai-leng, L. and Lai-Keng, C. 2004. "Establishment of *Osthosiphon stamineus* Cell Suspension Culture for Cell Growth." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 78 : 101-106.

Waugh, R. and Powell, W. 1992. "Using RAPD Markers for Crop Improvement." *Trends in Biotechnology.* 10 : 186-191.

Xiao, H.Y. Wang, L.S. Liu, Z.A. Jan, D.R. and Shu, Q.Y. 2008. "Characterization of Sequence-Related Amplified Polymorphism Marker Analysis of Tree Peony Bud Sports." *Scientia Horticulturae.* 115 : 261-267.

Yinxia, Z. and Te-chato, S. 2013. "Improved Plantlet Regeneration Systems in Indica Rice (*Oryza sativa* L.) Landrace Hom Kra Dang Ngah." Journal of Agricultural Technology. 9(6) : 1641-1654.

Zhao, W. Fang, R. Pan, Y. Yang, Y. Chung, J.W. Chung, I.M. and Park, Y.J. 2009. "Analysis of Genetic Relationship of Mulberry (*Morus* L.) Germplasm Using Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP) Markers." *African Journal of Biotechnology.* 8(11) : 2604-2610.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# 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 |
| Manganese Sulfate | 16.9 |
| Potassium Iodide | 0.83 |
| Potassium Nitrate | 1900 |
| Potasium Phosphate, Monobasic, Anhydrous | 170 |
| Sodium Molybdate (VI), Dihydrate | 0.25 |
| Zinc Sulfate, Heptahydrate | 8.6 |
| Glycine | 2.0 |
| Myo-Inositol | 100 |
| Nicotinic Acid | 0.5 |
| Pyridoxine HCl | 0.5 |
| Thiamine HCl | 0.1 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช NB Basal Medium (macronutrients as described by Chu (1975) and the micronutrients & vitamins as described by Gamborg *et al.* (1968)); Phytotech

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ประวัติผู้เขียน

| | |
|---|---|
| ชื่อ | นางสาวรัญญิการ์ โปราหา |
| วัน เดือน ปีเกิด | 21 เมษายน พ.ศ. 2534 |
| ที่อยู่ปัจจุบัน | 439 บ้านป่ายาง หมู่ 6 ต.แม่สาย อ.แม่สาย จ.เชียงราย 57130 |
| ประวัติการศึกษา | 2555 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ เกรดเฉลี่ย 3.03 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ<br>2559 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ เกรดเฉลี่ย 3.50 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ |
| ทุนการศึกษาที่ได้รับ | ทุนอุดหนุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาของคณะวิทยาศาสตร์ |
| ผลงานทางวิชาการ | 1.เรื่อง Growth Curve and Cell Viability of Growing Cell suspension Culture in RD6 and Khao Pong Krai Rice (*Oryza sativa* L.) การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 19 ระหว่างวันที่ 15-17 เดือนกรกฎาคม 2558 ณ โรงแรมเซ็นทาราแอนคอนเวชันเซนเตอร์ขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น<br>2.เรื่อง Callus Induction and Plant Regeneration on Optimization of the Culture Conditions in Jow Haw rice (*Oryza sativa* L.) International Journal of Agricultural Technology 2016 Volume 12 No. 2 March |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้