20730

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี

เรื่อง

ผลของฮอร์โมนต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในชิ้นส่วนของข้าวแดงหอมและกุหลาบแดง

Effect of Hormone on Induction of Rice Varieties Red Hawn Rice and Red Rose Rice

โดย

T099970

นางสาวญาณพัทธ์ เอื้อสุขเจริญชัย

อาจารย์ที่ปรึกษา

อ. วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ

เสนอ

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต(เกษตรศาสตร์)

พ.ศ.2547

ปพ.
ญ ส ๑๘ ผ
๒๕๔๗

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 99970
วัน.เดือน.ปี 17 JUN 2004

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

ผลของฮอร์โมนต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในชิ้นส่วนของข้าวแดงหอมและกุหลาบแดง

Effect of Hormone on Induction of Rice Varieties Red Hawn Rice and Red Rose Rice

โดย

นางสาวญาณพัทธ์ เอื้อสุขเจริญชัย

ได้รับพิจารณาเห็นชอบโดย

.....

(อ. วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ)

อาจารย์ที่ปรึกษา

วันที่ 5 เดือน ม.ค. พ.ศ. 2548

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รศ.ดร.สมยศ เดชภิรัตนมงคล)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ 13 เดือน ม.ค. พ.ศ. 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

การทำปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรีนับว่ามีความสำคัญอย่างยิ่ง เป็นการเรียนรู้ ฝึกฝนสติปัญญา ปรับปรุงกระบวนการทางด้านความคิด และแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นได้ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ได้ในอนาคต

การศึกษาครั้งนี้ ผู้ทำการวิจัยใคร่ขอขอบพระคุณ อ. วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ อาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา พร้อมทั้งให้คำแนะนำและถ่ายทอดความรู้ต่างๆ ตลอดทั้งตรวจทานแก้ไขปัญหาพิเศษฉบับนี้จนกระทั่งสำเร็จลุล่วงอย่างสมบูรณ์ด้วยดี

ขอขอบคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ทดลอง เครื่องมือและอุปกรณ์ที่จำเป็นต่างๆ

ขอขอบพระคุณบิดา มารดาที่ให้การสนับสนุนในทุก ๆ ด้านไม่ว่าจะเป็นเรื่องค่าใช้จ่ายหรือความสะดวกในการเดินทางไปศึกษาหาข้อมูลหรือวัสดุนอกสถานที่

นางสาวญาณพัทธ์ เอื้อสุขเจริญชัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง	ผลของฮอร์โมนต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในชิ้นส่วนของข้าวแดงหอม และกุหลาบแดง Effect of Hormone on Induction of Rice Varieties Red Hawn Rice and Red Rose Rice
โดย	นางสาวญาณพัทธ์ เอื้อสุขเจริญชัย สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษา	อ. วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ

บทคัดย่อ

การศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ข้าวแดง เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสม โดยการนำเมล็ดข้าวพันธุ์หอมแดง และกุหลาบแดงมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS + 2,4-D ในปริมาณความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ผลการทดลองหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรการชักนำและเพิ่มปริมาณ ให้เกิดแคลลัสเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า การตอบสนองสูงสุดของการเกิดแคลลัสได้มาจากอาหารที่เติม 2,4-D 2.0 mg/l รองลงมาคือ สูตรอาหารที่เติม 2,4-D 3.0 mg/l และพักแคลลัสในกระดาษกรองเป็นเวลา 3 วัน แล้วนำแคลลัสที่ได้มาพัฒนาให้เกิดเป็นรากและยอดเพื่อพัฒนาไปเป็นต้น โดยการนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS + Kinetin ในปริมาณความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ผลการทดลองพบว่า ในสูตรอาหารที่เติม Kinetin ที่ 0,1.0 mg/l ความสามารถพัฒนาไปเป็นรากได้ดีมาก และ ในระดับความเข้มข้นที่ 2.0,3.0 mg/l ซึ่งจะพบว่าการพัฒนาไปเป็นยอดและต้นได้ดีกว่าในสูตรอาหารที่เติม Kinetin 0,1.0 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	: Effect of Hormone on Induction of Rice Varieties Red Hawn Rice and Red Rose Rice
Anthor	: Miss Yahnapat Uarsukcharoenchai
Major	: Agronomy
Department	: Plant Production of Technology
Faculty	: Agricultural of Technology
Advisor	: Mr. Vichai Limkarchanaphong

Abstract

The method of red rice medium induction was studied to search for suitable mediums. First, Red Hawn and Red Rose rice varieties seeds were conducted on MS agar medium supplemented with 2,4-D in different concentrations. After 8 weeks,callus induction mediums that contain 2.0 and 3.0 mg/l (2,4-D) made two best responses. Then the calluses were dehydrated by placing on filter papers and covered by petridishes for 3 days before changed medium from MS agar to Kinetin. Kinetin 0 and 1.0 mg/l induced the highest roots while Kinetin 2.0 and 3.0 mg/l were the most efficient mediums in inducing shoots.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

สารบัญตาราง	ก
สารบัญภาพ	ข
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	19
ผลการทดลอง	23
วิจารณ์ผลการทดลอง	34
สรุปผลการทดลอง	36
เอกสารอ้างอิง	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงการพัฒนาของแคลลัสของข้าวพันธุ์กุหลาบแดง และ หอมแดง บนอาหารแข็ง MS ที่ เติม 2,4-D ในความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นระดับคะแนน ดังนี้เวลา 4 สัปดาห์	23
2	แสดงการพัฒนาของแคลลัสของข้าวพันธุ์กุหลาบแดง และ หอมแดง บนอาหารแข็ง MS ที่ เติม 2,4-D ในความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นระดับคะแนน ดังนี้ เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์	27
3	แสดงลักษณะการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสเปอร์เซ็นต์การพัฒนาของแคลลัสบนอาหารแข็ง MS + 2,4-D ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์	28
4	แสดงการเปรียบเทียบการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นยอด และราก ของข้าวพันธุ์กุหลาบแดง ที่มีการพักบนกระดาษกรอง และ ข้าวพันธุ์หอมแดงที่ไม่มีการพักตัวบนกระดาษกรอง ในอาหารแข็ง MS+Kinetin ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงลักษณะการให้คะแนนการเกิดของแคลลัส	24
2	แสดงการพัฒนาแคลลัสของข้าวพันธุ์กุหลาบแดง บนอาหารแข็งที่มีฮอร์โมนออกซินในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันเวลา 4 สัปดาห์	24
3	แสดงการพัฒนาแคลลัสของข้าวพันธุ์หอมแดงบนอาหารแข็งที่มีฮอร์โมนออกซินในระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ กันเวลา 4 สัปดาห์	25
4	แสดงการเพิ่มปริมาณแคลลัสข้าวพันธุ์กุหลาบแดง บนอาหารแข็งที่มีฮอร์โมนออกซินในระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ กันเวลา 8 สัปดาห์	28
5	แสดงการเพิ่มปริมาณแคลลัสข้าวพันธุ์หอมแดง บนอาหารแข็งที่มีฮอร์โมนออกซิน ในระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ กันเวลา 8 สัปดาห์	28
6	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสบนอาหารแข็ง MS + 2,4-D ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	29
7	แสดงลักษณะการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นราก และ ยอด ตาลำดับ	30
8	การพัฒนาของแคลลัสไปเป็นยอดและรากของข้าวพันธุ์กุหลาบแดงบนกระดาษกรอง ในอาหารแข็ง MS+Kinetin ระยะเวลา 6 สัปดาห์	31
9	การพัฒนาของแคลลัสไปเป็นรากของข้าวพันธุ์หอมแดง บนอาหารแข็ง MS + Kinetin ระยะเวลา 6 สัปดาห์	32
10	กราฟแสดงระยะเวลาในการพัฒนาเป็นยอดและรากของแคลลัสบนอาหารแข็ง MS + Kinetin ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

จากปัญหาการขาดธาตุเหล็กในกลุ่มประชากรไทย ส่งผลให้มีความพยายามปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีธาตุเหล็กมากขึ้น เนื่องจากข้าวเป็นอาหารหลักที่คนไทยทุกคนต้องบริโภค(มหาวิทยาลัยมหิดล,2545) พบว่าข้าวในข้าวแดงมีคุณค่าทาง โภชนาการสูง เป็นแหล่งรวมของสารอาหาร ที่ร่างกายต้องการหลายชนิด เช่น วิตามินเอ,เบตาแคโรทีน,ไฟเบอร์ และธาตุเหล็ก เป็นต้น รวมทั้งยังช่วยบำรุงระบบขับถ่ายได้ เป็นอย่างดี นอกจากนี้ยังมีโปรตีน สังกะสี และสารต้านอนุมูลอิสระ ที่สามารถลดความเสี่ยงของโรคเรื้อรังที่ไม่ติดต่อ เช่น โรคหัวใจ เบาหวาน และมะเร็งได้ ลักษณะของข้าวแดงที่นิยมปลูก จะมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงเข้ม ขนาด และรูปร่างของเมล็ดเรียวยาว ปัจจุบันเป็นที่นิยมของกลุ่มคนที่รักสุขภาพ ในปัจจุบันได้มีผู้ให้ความสนใจทั้งภาครัฐบาล และเอกชน พยายามส่งเสริมให้มีการปลูกมากขึ้น ดั้งนั้นงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งเป็นพื้นฐานของงานทางเทคโนโลยีชีวภาพชั้นสูง เพื่อที่จะพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ข้าวที่ดีในอนาคต การศึกษาครั้งนี้เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัส การเพิ่มปริมาณแคลลัส และการชักนำให้เกิดต้นข้าวจากแคลลัสในข้าวแดง เพื่อที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวในอนาคตต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาอิทธิพลฮอร์โมน 2,4-D ในระดับต่าง ๆ กัน ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวแดง
2. เพื่อศึกษาการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากแคลลัสของข้าวแดง ที่ระดับฮอร์โมนต่าง ๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

ลักษณะทั่วไปทางพฤกษศาสตร์ (De Datta,1981)

ข้าว *(Oryza sativa L.)* นอกจากนี้ข้าวชนิด *O.sativa* ซึ่งปลูกกันทั่วไปแล้ว ยังมีข้าว *O. glaberrima* ซึ่งปลูกกันในบางประเทศในทวีปแอฟริกา ในปัจจุบันเนื้อที่เพาะปลูกข้าวชนิดหลังนี้ลดน้อยลงทุกปี และชาวนาใช้ข้าวชนิด *O.sative* ปลูกแทนมากขึ้นเรื่อย ๆ

ราก (root) (ประสูติ,2524 : จำรัส,2534)

ราก (root) รากข้าวจัดเป็นระบบรากฝอย (fibrous root system) ประกอบด้วยรากย่อย (rootlets) และรากขนอ่อน (root hairs) การเจริญเติบโตของรากเป็นระยะ คือ รากชุดแรก (seminal roots) จะแตกแขนงไม่มาก มีอายุอยู่ไม่นานหลังการงอก รากชุดเสริมที่2 (secondary root หรือ adventitious roots) จะเป็นรากที่เกิดจากข้อใต้ระดับดินของต้นข้าวที่อ่อนแตกแขนงอย่างอิสระ ต่อมาเมื่อต้นข้าวเจริญเติบโตมากขึ้น เรียกว่ารากเสริมค้ำจุน หรือ รากฝังดิน (mat roots) ซึ่งเกิดจากข้อเหนือระดับผิวดิน บางส่วนจะงอกลงดิน แต่บางส่วนจะกระจายไปในแนวระดับ ราก จะทำหน้าที่ยึดลำต้น และดูดน้ำแร่ธาตุที่ละลายในดิน ลำเลียงไปยังส่วนต่าง ๆ ของลำต้นข้าว ผ่านลำต้นและกิ่ง

ลำต้น (stem) (เอกสงวน, 2544)

ลำต้นของข้าวมีลักษณะเป็นโพรงตรงกลางและแบ่งออกเป็นปล้อง ๆ โดยมีข้อกั้นระหว่างปล้อง ความยาวของปล้องนั้นแตกต่างกัน จำนวนปล้องจะเท่ากับจำนวนใบของต้นข้าว ปกติจะมีประมาณ 25-30 ปล้อง แต่จะมีใบติดอยู่ที่ต้นให้เห็นเพียง 5-7 ใบ ปล้องซึ่งเป็นอยู่ที่โคนต้นจะสั้นกว่าและหนากว่าปล้องซึ่งอยู่ที่ปลายของลำต้น นอกจากนี้ปล้องซึ่งอยู่ที่โคนจะมีขนาดโตกว่าปล้องที่อยู่ส่วนปลาย ยกเว้น ข้าวขึ้นน้ำที่ต้องยืดต้นให้สูงเมื่อมีน้ำลึก ปล้องของข้าวขึ้นน้ำยาวมาก และปล้องที่อยู่ใกล้ผิวน้ำจะโตกว่าที่อยู่ลึกลงไปในน้ำ ที่ข้อซึ่งเป็นส่วนที่แบ่งลำต้นออกเป็นปล้อง ๆ นั้นมีตาสำหรับเติบโตออกมาเป็นหน่อข้อละหนึ่งตา และอยู่สลับกันไปจากข้อหนึ่งไปอีกข้อหนึ่ง สีของข้อก็แตกต่างกันไปตามชนิดของพันธุ์ข้าวซึ่งอาจจะเป็นสีเหลืองหรือ สีม่วงก็ได้

ใบ (leaf) (De Datta,1981)

ใบข้าว มีลักษณะเป็นแผ่น บาง แคบ และยาว มีกำเนิดในทิศทางสลับกันตรงกันข้ามใบ ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ กาบใบ และตัวใบ

กาบใบ (leaf sheath) คือก้านใบ (peduncle) ที่เปลี่ยนรูปมา มีกำเนิดจากข้อมูลและหุ้มห่อปล้องที่อยู่เหนือขึ้นไป แต่ละข้อมีเพียงกาบใบเดียวเท่านั้น ตัวใบ (leaf blade) จะต่อเชื่อมอยู่บนกาบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบตรงที่เรียกว่า ข้อต่อใบ (collar) ตัวใบ มีเส้นใบ (vein) เป็นเส้นขนานตามลักษณะของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว มีท่อน้ำท่ออาหารใหญ่อยู่กลางใบ เรียกว่า เส้นกลางใบ (midrib) ใบของข้าวแต่ละพันธุ์จะมีความยาว ความกว้าง สี และการหักมุมของใบกับลำต้นต่างกันไป ที่ข้อต่อใบ จะมีอวัยวะที่สังเกตเห็นได้ชัดอยู่ 2 ชนิด คือ เขี้ยวกันแมลง (auricle) มีลักษณะคล้ายหางกระรอกอยู่ข้างละอัน และที่ด้านในของข้อต่อใบ มีอวัยวะที่มีลักษณะเป็นแผ่นบางใสแผ่นเดียว แต่ส่วนใหญ่จะแยกเป็นสองแฉก เรียกว่า เยื่อกั้นฝน (ligule) พืชตระกูลหญ้าส่วนใหญ่จะไม่มีอวัยวะทั้งสองดังกล่าว

ใบสุดท้าย เรียกว่า ใบธง (flag leaf) ใบธงจะทำมุมกับต้นข้าวต่างกันไปแล้วแต่พันธุ์ข้าวใบธงมีหน้าที่สำคัญที่สุดคือ ทำหน้าที่สังเคราะห์แสงสร้างอาหารไปสะสมที่เมล็ด ใบธงที่ทำมุมแคบกับต้นจะมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงมากกว่าพันธุ์ที่ทำมุมกว้างกับต้นจะเกิดการบังแสงซึ่งกันและกัน

ดอกข้าว (spikelet) (De Datta,1981)

ดอกข้าวเป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) ลักษณะดอกประกอบด้วยเปลือกนอก (glume) 2 แผ่น ที่เรียกว่าแกลบ คือ ใบประดับ หรือ bract ที่เปลี่ยนรูปมาเปลือกนอกแผ่นใหญ่ เรียกว่า (lemma) ที่ปลายสุดมีลักษณะยื่นออกมาเรียกว่า หางข้าว (awn) เปลือกแผ่นเล็ก เรียกว่า (palea)

เมล็ด (caryopsis) (วัชรินทร์,2527)

เมล็ดประกอบด้วยเยื่อหุ้มผล (pericarp) ติดอยู่กับส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat หรือ testa) มีเปลือกหุ้มเรียกว่า hull ซึ่งประกอบด้วยส่วนของกลีบดอกย่อยด้านนอกและกลีบดอกย่อยด้านใน ผลของข้าวที่เก็บเกี่ยวมาเรียกว่า เมล็ดข้าวเปลือก (hulled grain) ซึ่งยังมีส่วนของเปลือกหุ้มติดอยู่ เมื่อแกะส่วนของเปลือกหุ้มออก เห็นเยื่อหุ้มผล และเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีน้ำตาล เรียกเมล็ดที่มีเยื้อหุ้มสีน้ำตาลนี้ว่า เมล็ดข้าวกล้อง (brown rice grain) หลังจากขัดเอาส่วนของเยื่อหุ้มสีน้ำตาลนี้ออกไปจะเป็น เมล็ดข้าวสาร (kernel) ส่วนหัวของเมล็ดข้าวสารมีสีขาวขุ่น ซึ่งเป็นส่วนที่เป็นคัพภะ (embryo) เรียกว่า จมูกข้าว ส่วนที่เหลือเป็นเอนโดสเปิร์ม (endosperm) คัพภะประกอบด้วยแรดิเคิล (radicle) พลูมูล (plumule) ใบเลี้ยงที่ไม่มีการพัฒนา (epiblast) และเนื้อเยื่อที่กั้นระหว่างคัพภะกับเอนโดสเปิร์ม (scutellum)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้าวหอมแดง (Red Hawn Rice)

สายพันธุ์เดิม KDML105R-PSL-E-14

(บริบูรณ์,2542)

ลักษณะประจำพันธุ์

ทางพฤกษศาสตร์

ข้าวแดงหอมชนิดที่เป็นข้าวต้นสูง ไวต่อช่วงแสง ที่สถาบันข้าวได้ขอขึ้นทะเบียนเป็นพันธุ์ข้าวทั่วไปแล้ว ยังได้พัฒนาต่อโดยนายสมเดช อิ่มมาก นักวิชาการเกษตรศูนย์วิจัยข้าวแพร่ ได้นำสายพันธุ์ข้าวแดงหอม KDML105-PRE-5 เป็นพันธุ์แม่ผสมกับ IR64 ในปี 2531 และผสมย้อนกลับ (back cross) ไปหาพันธุ์แม่รวม 3 ครั้ง

(กรมวิชาการเกษตร,2542)

สายพันธุ์ดีเด่น	KDML105R-PSL-E-14
ชนิด	ข้าวเจ้านาสวน ไวต่อช่วงแสง
อายุ	วันเก็บเกี่ยว 20 พฤศจิกายน
ความสูง	120-130 ซม. ต้นแข็งปานกลาง
ลักษณะกอ	กอตั้งให้รวง 12 รวงต่อกอ
ลักษณะใบ	ใบโน้มสีเขียวอ่อน ใบธงลู่ลง
ลักษณะรวง	รวงยาว 27 ซม. ระแง้ถี่
ลักษณะเมล็ด	เปลือกและยอดเมล็ดสีฟาง
ขนาดข้าวเปลือก	ยาว 10.10 มม. กว้าง 2.67 มม. หนา 2.00 มม.
น้ำหนักข้าวเปลือก 1,000 เมล็ด	26.6 กรัม
ขนาดข้าวกล้อง	ยาว 7.15 มม.กว้าง 2.15 มม. หนา 1.75 มม.
รูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง	ยาวเรียว
ปริมาณอมิโลสในเมล็ด	16.9%
การเป็นท้องไข่	น้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะเด่นของข้าวหอมแดง

1. เป็นข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงเข้ม เป็นที่ต้องการของตลาดผู้นิยมบริโภคข้าวกล้อง
2. มีกลิ่นหอมเหมือนข้าวขาวดอกมะลิ 105
3. ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพธรรมชาติได้ดี
4. ต้านทานโรคไหม้ปานกลาง
5. ให้ผลผลิตสูงกว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105 ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 643 กิโลกรัมต่อไร่

ข้อจำกัด

1. ปลูกได้ดีเฉพาะฤดูนาปี
2. ไม่ต้านทานโรคใบสีส้ม โรคขอบใบแห้ง และโรคใบขีดโปร่งแสง
3. การปลูกข้าวสายพันธุ์นี้ ควรกำหนดพื้นที่ปลูกไว้เฉพาะเพราะเป็นข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง การนำไปใช้ในแปลงข้าวขาว อาจทำให้ปะปนกัน และทำให้ทั้งข้าวแดงและข้าวขาวถูกตัดราคา โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวขาว ส่วนใหญ่จะได้รับความเสียหาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้าวหอมกุหลาบแดง (Red Rose Rice)

สายพันธุ์เดิม PRE90020-R36-PSL-8-3-14-3

(บริบูรณ์,2542)

ลักษณะประจำพันธุ์

ทางพฤกษศาสตร์

ข้าวหอมกุหลาบแดง (Red Rose Rice) โดยมีลักษณะเป็นข้าวต้นเตี้ย ไม่ไวแสง เมล็ดยาวเรียว มีเยื่อหุ้มข้าวกล้องสีแดง มีคุณภาพในการหุงต้มดี มีกลิ่นหอม เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่าง หอมแดง กับ IR 64 (KDML105 R/*3IR64)

(กรมวิชาการเกษตร,2542)

พันธุ์ดีเด่น	PRE90020-R36-PSL-8-3-14-3
ชนิด	ข้าวเจ้านาสวน ไม่ไวต่อช่วงแสง
อายุ	วันเก็บเกี่ยวประมาณ123วัน
ความสูง	90-100ซม. ต้นแข็งมาก ไม่ล้มง่าย
ลักษณะกอ	กอตั้งตรงให้รวง 22 รวงต่อกอ
ลักษณะใบ	ใบโน้มสีเขียว แก่ช้า ใบธงตั้งตรง
ลักษณะรวง	ระแง้ถี่บ่านกลาง คอรวงโผล่เล็กน้อย
ลักษณะเมล็ด	เปลือกและยอดเมล็ดสีฟาง
ขนาดข้าวเปลือก	ยาว 10.30 มม. กว้าง 2.41 มม. หนา 1.81 มม.
น้ำหนักข้าวเปลือก 1,000 เมล็ด	23.5 กรัม
ขนาดข้าวกล้อง	ยาว 7.31 มม.กว้าง 2.04 มม. หนา 1.66 มม.
รูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง	ยาวเรียว
ปริมาณอมิโลสในเมล็ด	13.9%
การเป็นท้องไข่	น้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะดีเด่นของข้าวหอมกุหลาบแดง

1. เป็นข้าวที่ให้ข้าวกล้องมีเยื่อหุ้มสีแดงเข้ม
2. มีกลิ่นหอมเหมือนข้าวขาวดอกมะลิ105
3. ให้ผลผลิตสูงใกล้เคียงกับพันธ์ข้าวชัยนาท 1 ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 750 กิโลกรัมต่อไร่
4. ไม่ไวต่อช่วงแสง ปลูกได้ตลอดปี มีอายุสุกเก็บเกี่ยวประมาณ 123 วัน

ข้อจำกัด

1. ข้าวแดงหอมพันธุ์หอมกุหลาบแดงไม่ต้านทานโรคไหม้โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เกษตรกร ผู้ปลูกควรระวังการปลูกข้าวพันธุ์นี้ในแหล่งที่มีการระบาด โรคและแมลงศัตรูข้าวดังกล่าวเป็นประจำ

2. คุณภาพข้าวอาจจะเสียเมื่อปะปนกับข้าวขาวดังนั้นจึงควรกำหนดพื้นที่ปลูกโดยเฉพาะ และส่งเสริมให้ทำธุรกิจการผลิตแบบครบวงจร โดยมีนักวิชาการเกษตรด้านพันธุ์ข้าว ควบคุมการผลิตทุกขั้นตอน

ความหมายของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หมายถึง การนำชิ้นส่วนพืชชนิดใดก็ได้ เช่น อวัยวะต่าง ๆ ข้อ ตา ปลายยอด ราก เนื้อเยื่อ parenchyma หรือโปรโตพลาสมาเลี้ยงในอาหารวิทยาศาสตร์ ที่สังเคราะห์ขึ้น ซึ่งประกอบด้วยเกลือแร่ ธาตุอาหารต่าง ๆ วิตามิน น้ำตาล และสารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulater) ในกลุ่มของ auxin หรือ cytokinin เนื้อเยื่อจะถูกเก็บไว้ในสภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์ และควบคุมสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิประมาณ 28-25 องศาเซลเซียส ได้รับแสงประมาณ 2,000-1,000 ลักซ์ ชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืชจะสามารถพัฒนาไปเป็นต้นโดยตรง หรือเจริญเป็นแคลลัส หลังจากนั้นพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ต่อไป (รงรอง,2542)

ในปัจจุบันเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้แพร่หลายไปทั่วโลก (ศิวพงศ์,2541) ได้รับความสนใจมากในกิจการไม้ดอก ไม้ประดับอื่น ๆ ผลไม้ ผัก พืชไร่ทั่วไป และแม้กระทั่งในวงการป่าไม้ ซึ่งนับวันเทคนิคนี้จะขยายความสำคัญยิ่งขึ้นทุกที ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งทางด้านการเกษตรอันเป็นอาชีพหลักของคนไทย (ไพบูลย์,2524)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถจำแนกเป็นกลุ่มใหญ่ได้ ดังนี้ (รงรอง,2542)

1. การเพาะเลี้ยงอวัยวะ (organ culture) เช่นการเพาะเลี้ยงปลายยอด (shoot tip culture) การเพาะเลี้ยงปลายราก (root tip culture) การเพาะเลี้ยงตาข้าง (axillary bud culture) การเพาะเลี้ยงใบ (leaf culture)
2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหรือแคลลัส (tissue or callus culture) เช่น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพาเรนไคมา (จากstoring organ)
3. การเพาะเลี้ยงเซลล์ (cell culture) เช่น การเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย (suspension culture) การเพาะเลี้ยงเซลล์เดี่ยว (single cell culture)
4. การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์ (protoplast culture) เช่น การรวมโปรโตพลาสต์ (protoplast fusion) หรือการทำพันธุ์วิศวกรรม (genetic engineering)

การเลือกชิ้นส่วนพืชชนิดต่าง ๆ สามารถเลือกใช้ตามวัตถุประสงค์ ยกตัวอย่างเช่น การขยายพันธุ์พืชเศรษฐกิจโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถนำชิ้นส่วนต่าง ๆ เช่น ตายอด ตาข้าง มาขยายพันธุ์เพื่อให้ได้ในปริมาณมาก ต้นที่มีความสม่ำเสมอ (uniform) อายุไล่เลี่ยกัน และปลอดจากเชื้อโรคนอกจากนี้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังสามารถใช้ได้กับพืชหลาย ๆ ชนิด (บุญยืน,2540)

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้กลายเป็นสิ่งสำคัญและใช้กันกว้างขวางในการแก้ปัญหา ค้นคว้าและพัฒนาการปลูกพืชบนอาหารวุ้นหรืออาหารเหลว ได้นำมาใช้ทดลองเพื่อศึกษาในทางชีววิทยาและการเจริญของพืช (ภัญชนา,2527) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้ประสบความสำเร็จต้องมีเทคนิคต่าง ๆ หลายประการ ตั้งแต่การเลือกชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง การเลือกสูตรอาหารของพืชให้เหมาะสมการดูแลขวดเพาะเลี้ยง การเพิ่มจำนวน และการเก็บเกี่ยวผล (ศิวพงศ์,2541) เพื่อให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำเร็จจึงต้องฝึกเทคนิคต่าง ๆ พยายามวิเคราะห์หาจุดบกพร่อง เรียนรู้ และเข้าใจถึงสาเหตุและอาการของโรคต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น จะต้องระลึกอยู่เสมอว่าอากาศเต็มไปด้วยสิ่งปนเปื้อนและเพิ่มความระมัดระวังให้มากที่สุดที่จะทำได้

สิ่งสำคัญที่สุดในเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก็คือ การทำให้ปลอดเชื้อ เทคนิคต่าง ๆ ล้วนเป็นวิธีการทำให้ปลอดเชื้อทั้งสิ้น ไม่ว่าจะเป็นการทำให้อาหารปลอดเชื้อหรือชิ้นส่วนเนื้อเยื่อปลอดเชื้อเทคนิคนี้มีความสำคัญยิ่งที่นำไปสู่ความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนอกเหนือไป จากสูตรอาหารที่เหมาะสม เนื่องจากว่าจุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าเนื้อเยื่อ ดังนั้นการมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนลงในขวดเพาะเลี้ยงเพียงขวดเดียวก็ทำให้ต้นพืชตายได้ การปนเปื้อนที่เกิดขึ้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออาจจะมีที่มาหลายทาง เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. จากชิ้นส่วนพืชเอง (ทั้งภายนอกและภายใน)
2. จากอาหารเพาะเลี้ยง
3. จากวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้
4. จากอากาศ
5. จากผู้ปฏิบัติการ

อากาศที่ผ่านเครื่องกรองเข้าไปในลามิมาร์โฟลว์จะสะอาด จนทำให้บริเวณทำงานภายในตู้เนื้อเยื่อไม่มีสิ่งปนเปื้อนในขณะทำงาน นอกจากนี้ภายในตู้จะต้องมีการเช็ดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อทุกวันอุปกรณ์ทั้งหลาย ที่จะนำเข้าไปทำงานในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อด้วยยาฆ่าเชื้อ (แอลกอฮอล์70 %) ก่อนทุกครั้ง ก่อนทำงานควรเปิด UV ก่อนประมาณ 30 นาที และควรเปิดเครื่องระบายอากาศก่อนประมาณ 10 นาที และทำความสะอาดตู้ทุกครั้งด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อหลังทำงานเสร็จแล้ว

ถึงแม้อากาศและพื้นที่ในตู้เนื้อเยื่อจะสะอาดปราศจากจุลินทรีย์ แต่อุปกรณ์เครื่องมืออาจมีจุลินทรีย์อยู่ด้วย ดังนั้น ก่อนจะนำอุปกรณ์เครื่องมือมาใช้ควรทำความสะอาดโดยจุ่มแอลกอฮอล์ 95 % ตามด้วยการลนไฟเผาเครื่องมือ (ศิวพงศ์,2541) ปัจจุบันมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ประโยชน์ทางด้านการเกษตรอย่างกว้างขวาง โดยมีวัตถุประสงค์ต่างกันออกไป ผลสำเร็จจะมากหรือน้อย นอกจากจะเกี่ยวข้องกับสูตรอาหาร ปัจจัยภายในชิ้นส่วนพืชและปัจจัยภายนอกแล้ว ความสมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 กลุ่ม คือ ออกซิน และ ไซโตไคนิน (Skoog และ Miller,1957) รายงานว่ามีผลอย่างมากต่อการพัฒนาของแคลลัสถ้าไซโตไคนินต่ำ เนื้อเยื่อจะพัฒนาเป็นแคลลัสและราก ในทางตรงกันข้ามถ้าความเข้มข้นของไซโตไคนินสูงกว่าออกซินเนื้อเยื่อจะพัฒนาเป็นยอด เมื่อความเข้มข้นของทั้งสองนี้สมดุลกันเนื้อเยื่อจะพัฒนาเป็นยอดและราก สารควบคุมทั้งสองมีคุณสมบัติดังนี้

ฮอร์โมนพืชหรือสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (รังสฤษดิ์,2540)

การเจริญเติบโตและการพัฒนาการของพืชเป็นกระบวนการที่สลับซับซ้อน เพราะได้รับผลกระทบมาจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น แสง อุณหภูมิ ลม ความชื้น แรงดึงดูดของโลก อากาศ ซึ่งสิ่งต่าง ๆ เหล่านี้เป็นปัจจัยภายนอก และจากสารเคมีที่มีอยู่ภายในพืชซึ่งจัดว่าเป็นปัจจัยภายใน ในบรรดาสารเคมีซึ่งควบคุมการเจริญเติบโตของพืชนั้นฮอร์โมนนับว่ามีบทบาทสำคัญมากในการควบคุมกิจกรรมหลายชนิด เป็นต้น (สัมพันธ์,2526)

ฮอร์โมนพืช (plant hormones) หมายถึง "อินทรีย์สาร" (ชวนพิศ,2544) เป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้นในปริมาณน้อย (พีรเดช,2529) ในบริเวณหนึ่งบริเวณใด แล้วส่งไปออกฤทธิ์อีกบริเวณหนึ่ง ซึ่งจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชหรืออาจยับยั้งการเจริญเติบโตแล้วแต่ชนิดของฮอร์โมนนั้น ฮอร์โมนในปัจจุบันมีการใช้หลากหลาย ซึ่งส่วนหนึ่งเป็นสารสังเคราะห์ และส่วนหนึ่งพืชจะสร้างขึ้นมาเอง (ชวนพิศ,2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพื่อให้เข้าใจง่ายขึ้นอาจกล่าวได้ว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช มีความหมายรวมถึงฮอร์โมนพืชโดยตรงและสารที่มนุษย์ขึ้นมาใช้ประโยชน์ในทางการเกษตรเราไม่อาจใช้ฮอร์โมนพืชได้โดยตรง เนื่องจากการสกัดสารดังกล่าวทำได้ยากและใช้ต้นทุนสูง ดังนั้นสารที่ใช้กันอยู่ทุกวันนี้จึงเป็นสารสังเคราะห์แทบทั้งสิ้น ถ้ากล่าวถูกต้องจึงควรเรียกรวมว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (พีรเดช,2529)

จากนิยามอาจสรุปได้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชมีคุณสมบัติ ดังนี้คือ (นภดล,2537)

1. ต้องเป็นสารอินทรีย์ซึ่งเป็นประกอบด้วย คาร์บอน (C) ไฮโดเจน (H) ออกซิเจน (O) เป็นหลัก
2. ฮอร์โมนพืชโดยทั่วไปจะมีประสิทธิภาพที่ก่อให้เกิดการตอบสนองจากพืชในความเข้มข้นภายในต้นพืชต่ำมาก ๆ คือ µM (ไมโครโมล) หรือ ppm. (ล้านในล้านส่วน)
3. ไม่ใช่อาหาร หรือธาตุอาหารพืช เช่น น้ำตาล sucrose ไม่ถือว่าเป็นฮอร์โมนแม้ว่าจะมีการลำเลียง มีการสังเคราะห์จากพืช และก่อให้เกิดการเจริญเติบโตได้ แต่จะมีผลต่อเมื่อมีความเข้มข้นค่อนข้างสูง ในระดับ 1-5 mM เช่นเดียวกับ amino acid ต่างๆกรดอินทรีย์ เช่น ฟอสฟอรัส เป็นวัตถุดิบในการสร้างอาหารและไม่เป็นสารอินทรีย์จึงไม่จัดเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชตามธรรมชาติจำแนก ได้ 5 ประเภท โดยอาศัย คุณสมบัติการตอบสนองของฮอร์โมนในการสร้างกิจกรรมในทางสรีรวิทยา ฮอร์โมนพืชเหล่านี้ได้แก่ ออกซิน (Auxin) จิบเบอเรลลิน (Gibberellins) ไซโตไคนิน (Cytokinins) อินฮิบิเตอร์หรือสารยับยั้ง (Inhibitors) และเอธิลิน (Ethylene) (สัมฤทธิ์,2537) ในที่นี้จะขอกล่าวถึงเพียง 2 กลุ่มดังนี้

1. **ออกซิน** (Auxin) (ยงยุทธ,2521)

ออกซินเป็นสารเคมีชื่อกรดอินโดลแอซีติก (indoleacetic acid) เรียกย่อว่า IAA เป็นฮอร์โมน ที่สร้างจากกลุ่มเซลล์บริเวณยอดอ่อนแล้วมีการลำเลียงไปทางอื่น โดยมีทิศทางแน่นอนโดยมีการลำเลียงลงมาข้างล่างเสมอโดยการลำเลียงในทิศทางเดียว แต่ในรากมีการลำเลียงออกซินทั้งสองทางคือ ขึ้นและลงได้ ออกซินมีความไวต่อแสงมากโดยที่เมื่อได้รับแสงแล้วจะมีการลำเลียงออกซินหนีแสงไป นอกจากนี้ออกซินยังเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารอื่นที่ไม่มีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตคือ อินโดลอัลดีไฮด์ กรดอินโดลแอซิติก (IAA) เป็นออกซินที่พืชสังเคราะห์ได้จากกรดอะมิโน ชื่อทริพโทเฟน (Tryptophane) บทบาทที่สำคัญของ IAA ต่อการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ กระตุ้นการแบ่งเซลล์ เร่งการขยายขนาดเซลล์ ควบคุมการแตกราก ยับยั้งการเจริญของตาข้าง ป้องกันการร่วงของใบ กิ่งและผลกลุ่มของสารที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขยายขนาดของเซลล์ (cell enlargement) การแบ่งตัวของเซลล์ในแคมเบี่ยม การขยายขนาดของใบ การเกิดราก การขยายขนาดของผล ป้องกันการหลุดร่วงของใบ ดอก ผล ยับยั้งการแตกตาข้าง ฮอร์โมนที่พืชสร้างขึ้นก็คือ ไอเอเอ (IAA) โดยสร้างมากที่บริเวณปลายยอด ปลายราก ผลอ่อน และบริเวณที่มีเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากน้อยแตกต่างกันไป โดยจะมีอยู่มากในส่วนที่กำลังเจริญเติบโต การรักษาระดับปริมาณภายในเนื้อเยื่อพืชถูกควบคุมโดยระบบการสร้างและการทำลายพร้อม ๆ กันไป ถ้าเป็นเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญเติบโตจะมีการสร้างมากกว่าการทำลาย และในทางตรงกันข้าม ในเนื้อเยื่อที่มีอายุมากขึ้น จะมีการทำลายมากกว่าการสร้างสารสังเคราะห์ที่จัดอยู่ในกลุ่มออกซิน ที่ใช้กันมาก ได้แก่ เอ็นเอเอ (NAA),ไอบีเอ (IBA),4-ซีพีเอ (4-CPA),2,4-ดี (2,4-D)

(http://www.sripatum.ac.th/online/preeya/stimulus.htm)

ผลของออกซินต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1. กระตุ้นการแบ่งเซลล์ให้ขยายขนาดแทบทุกส่วน พืชจึงเจริญเติบโต เซลล์ขยายตัวออกทั้งความยาวและความกว้าง

2. ควบคุมการเจริญของตาด้านข้าง โดยตายอดสร้างออกซินในปริมาณสูง แล้วลำเลียงลงสู่ด้านล่าง ออกซินจะยับยั้ง การเจริญเติบโตของตาและใบด้านข้าง พืชจึงสูงขึ้นแต่ไม่เป็นพุ่ม แต่เมื่อตัดยอดออกความเข้มข้นของออกซินจะลดลง ทำให้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของตาด้านข้างและใบได้พืชจึงแตกตาด้านข้างได้ทำให้ต้นพืชมีลักษณะเป็นพุ่มขึ้น

3. ออกซินในปริมาณที่พอเหมาะสามารถใช้กระตุ้นกิ่งตอนและกิ่งปักชำให้งอกรากได้

4. ควบคุมการเคลื่อนไหวของพืชแบบที่มีแสงเป็นสิ่งเร้าหรือมีแรงโน้มถ่วงของโลกเป็นสิ่งเร้า

5. ควบคุมการออกดอกของพืชบางชนิด เช่น สับปะรด มะม่วง ลิ้นจี่ ทำให้ออกดอกเร็วขึ้นและออกดอกพร้อมกัน ชักนำให้ ดอกตัวผู้เป็นดอกตัวเมียเพิ่มขึ้น

6. ช่วยชะลอการหลุดร่วงของใบดอกและผล

7. ควบคุมการเจริญเติบโตของผล เช่น แตงโม องุ่น มะเขือเทศ บวบ เมื่อพ่นด้วยออกซินในปริมาณที่พอเหมาะ จะทำให้รังไข่เจริญ เป็นผลได้ โดยไม่มีเมล็ด

8. ออกซินบางชนิดใช้เป็นยาปราบวัชพืชได้ จากการพบว่าออกซินนั้นหากมีปริมาณพอเหมาะจะมีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโต ของพืช แต่ถ้ามีปริมาณมากเกินไปกลับยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช จึงนำไปเป็นยาปราบวัชพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ไซโตไคนิน (Cytokinin)

ไซโตไคนินเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ประโยชน์ทางการเกษตรค่อนข้างน้อยกว่าสารกลุ่มอื่นๆ สารกลุ่มนี้มีผลต่อการแบ่งเซลล์ และกระตุ้นการเจริญทางด้านข้างของพืช กระตุ้นการเจริญของตาข้าง ชะลอการแก่ของพืช นอกจากนั้นยังมีผลเล็กน้อยต่อการพัฒนาของผล ใช้กันมากในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สารกลุ่มนี้ราคาสูงมาก จึงใช้ประโยชน์ค่อนข้างจำกัด ในประเทศไทยยังไม่มีการสั่งสารกลุ่มนี้เข้ามาใช้ในรูปสารเคมีเกษตรแต่มีจำหน่ายในรูปสารเคมี บริสุทธิ์ซึ่งราคาจะค่อนข้างสูง ไซโตไคนินที่พืชสังเคราะห์ได้เองตามธรรมชาติคือ ซีอาติน (zeatin) ส่วนสารสังเคราะห์ในกลุ่มนี้ได้แก่ ไคเนติน (kinetin), และ BAP (6-benzyl-laminopurine) (Letham,1946) ได้สกัดสารจากผลอ่อนข้าวโพด และพบว่าเป็นอนุพันธุ์ของเพียว- รีน คือ 6-4-ไฮดรอกซี-3-เมทิล-2-อีนิล)อะมิโนเพียวรี)6-(4-hydroxy-3-methyl-2-enyl)amino purine)โดยใช้ชื่อสารนี้ว่า ซีอะที (zeatin) ซึ่งต่อมา Skoog และคณะได้เสนอใช้ชื่อ ไซโทไคนินแทนซีอะทินและไคเนทิน เพื่อเรียกชื่อสารที่มีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์ของพืช

(http://www.sripatum.ac.th/online/preeya/stimulus.htm)

ผลของไซโทไคนินต่อพืช

1. กระต้นการแบ่งเซลล์และการเจริญเปลี่ยนแปลงของเซลล์
2. กระตุ้นให้เกิดหน่อใหม่และตาใหม่ จึงใช้มากในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
3. กระตุ้นการเจริญของกิ่งแขนง
4. ช่วยให้พืชรักษาความสดไว้ได้นาน
5. ช่วยให้ปากใบเปิดในที่มืดได้
6. ยืดอายุไม้ตัดดอกบางชนิดไม่ให้ไม่เหี่ยวเร็ว
7. ชะลอการแก่ของใบ และผลไม้ให้ช้าลง
8. ช่วยในการสร้างโปรตีน RNA และ DNA เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณลักษณะของเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Pierik,1987)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแตกต่างจากการขยายพันธุ์พืชที่ไม่อาศัยเพศทั่ว ๆ ไปพอสรุปได้ดังนี้

1. เป็นการแยกชิ้นส่วนของพืชออกจากต้นแม่ ดังนั้นพัฒนาการ (development) ตามธรรมชาติจะสูญไป ชิ้นส่วนของพืชที่แยกมาเพาะเลี้ยงอาจจะเจริญเติบโตเป็นกลุ่มเซลล์ (callus) หรือพัฒนาไปในรูปแบบอื่นที่ไม่เหมือนเดิม อาจจะกลายเป็นอวัยวะ (organ) ต่าง ๆ หรือกลายเป็น เอมบริโอ (embryo)

2. สภาพแวดล้อมต้องเหมาะสมในการเจริญเติบโต ทั้งสภาวะทางกายภาพ อาหารและฮอร์โมน สิ่งแวดล้อมทางกายภาพ เช่น แสง อากาศ อุณหภูมิ และสภาวะความเป็นกรด ความเป็นด่าง (pH) ของอาหารจะต้องเหมาะสม นอกจากนี้สารอาหารที่พืชต้องการจะต้องครบถ้วน เช่น แร่ธาตุ วิตามิน น้ำตาล และฮอร์โมน เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสมชิ้นส่วนของพืชสามารถเจริญขึ้นมาได้เต็มที่

3. การทำงานทุกอย่างอยู่ในสภาวะปลอดเชื้อ ต้องปลอดจากเชื้อทุกชนิด เช่น แบคทีเรีย เห็ด รา และสาหร่าย เนื่องจากจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถเจริญเติบโตในอาหารสังเคราะห์ได้รวดเร็ว กว่าการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ

4. เนื่องจากพัฒนาการโดยปกติของพืชถูกรบกวน ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงสามารถจัดการให้เนื้อเยื่อเกิดการพัฒนาในรูปแบบต่าง ๆ ได้ เช่น บังคับให้เนื้อเยื่อเจริญเป็นราก เป็นยอด เป็นแคลลัส หรือเป็นเอมบริโอ เป็นต้น

5. สามารถเพาะเลี้ยงเซลล์เดี่ยว ๆ และโพรโตพลาสได้จากสารพันธุกรรมที่มีอยู่ครบครันในเซลล์แต่ละเซลล์ ดังนั้น จากเซลล์เดี่ยวสามารถเจริญขึ้นมาเป็นต้นใหม่ได้

แม้พืชทุกชนิดโดยปกติต้องการธาตุอาหารหลักที่เหมือนกันก็จริงแต่จะต้องการในปริมาณหรือความเข้มข้นที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ที่มีความต้องการแตกต่างกันมาก ดังนั้นการเลือกอาหารเพื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นต้องคำนึงถึง

1. ชนิดและสายพันธุ์ (species and cultivars) พืชต่างชนิดและสายพันธุ์ ส่วนใหญ่มักต้องการธาตุอาหารไม่เหมือนกัน

2. อายุและระยะการพัฒนา (age and stage of development) แม้เป็นพืชชนิดและสายพันธุ์เดียวกัน ถ้าอายุและระยะการพัฒนาต่างกันก็อาจต้องการสารอาหารที่แตกต่างกัน

3. ชนิดและชิ้นส่วนของพืช (explant materials) พืชชนิดเดียวกัน หรืออาจแม้กระทั่งต้นเดียวกัน แต่ใช้ชิ้นส่วนของพืชจากชิ้นส่วนต่าง ๆ เช่น ใช้ส่วนยอดมาเลี้ยงจะต้องใช้สูตรอาหารหนึ่งที่แตกต่างไปจากสูตรที่ใช้เลี้ยงส่วนของรากหรือใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. เป้าหมายของการเพาะเลี้ยง (target of culture) พืชชนิดเดียวกัน และชิ้นส่วนเดียวกัน แต่มีเป้าหมายของการเลี้ยงต่างกัน จำเป็นต้องใช้สูตรอาหารร่วมกัน

5. สถานะของอาหาร (state of medium) ชิ้นส่วนของพืชเดียวกันที่เลี้ยงในสภาพอาหารแข็ง (solid medium) อาจได้ผลแตกต่างไปจากที่เลี้ยงในอาหารเหลว (liquid medium) (http://webnet.lartc.rit.ac.th/ptclab/filepdf/Assistant%20professor/caption%206.pd)

อธิบายการเจริญของแคลลัส

แคลลัส (callus) หมายถึง เซลล์ที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่มและยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงพัฒนาไปเป็นเนื้อเยื่อหรืออวัยวะชนิดต่าง ๆ ประกอบด้วยเซลล์พาเรนไคมาแต่เพียงอย่างเดียวมีขนาดไม่แน่นอน ภายในเซลล์มีแวคิวโอจำนวนมาก ส่วนใหญ่ไม่มีรงควัตถุ แต่อาจมีสีเขียวเนื่องจากมีคลอโรฟิลล์ (chlorophylls) สีเหลืองจากแคโรทีนอยด์ (carotenoids) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) หรือสีม่วงจากแอนโทไซยานิน (anthocyanins) ปริมาณชนิดของรงควัตถุเหล่านี้ขึ้นอยู่กับ ชนิดของพืช ธาตุอาหาร และปัจจัยสภาพ แวดล้อมของการเพาะเลี้ยงโดยเฉพาะอย่างยิ่ง แคลลัสที่ได้จะมีรูปร่าง สี แตกต่างออกไป ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและอาหารที่เลี้ยง เช่น แคลลัสของมันสำปะหลังจะเป็นแคลลัสที่ประกอบ ด้วยเซลล์ที่เกาะตัวกันหลวม ๆ สามารถหลุดได้ง่าย เรียกว่า soft & friable callus บางชนิดแคลลัสจะประกอบด้วยเซลล์ที่เกาะ ตัวกันแน่นหลุดได้ยาก เรียกว่า compact & hard callus โดยทั่วไปไม่ว่าแคลลัสจะอยู่ในที่มืดหรือมีแสง จะมีสีครีมหรือสีเหลืองอ่อน แต่บางชนิดก็อาจจะมีสีเขียว เนื่องจากมีคลอโรฟิลล์ บางชนิดมีสีส้มเนื่องจากมีแคโรทีนอย์ และบางชนิดมีสีม่วงแดงเนื่องจากมีแอนโทไซยานิน ชิ้นส่วนพืชเกือบทุกชนิดจากอวัยวะต่าง ๆ สามารถนำมาชักนำให้เกิดแคลลัสได้ แต่โดยทั่วไปแล้วเปอร์เซ็นต์ ความสำเร็จสูงในพืชใบเลี้ยงคู่ได้จากส่วนของคัพภะ ใบเลี้ยง ส่วนที่อยู่เหนือใบเลี้ยง ปลายยอด ส่วนที่อยู่ใต้ใบเลี้ยง และราก ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ได้จากส่วนของคัพภะ ใบอ่อน ปลายยอด ดอกอ่อน และส่วนของเมล็ดที่เริ่มงอกจะให้ผลดีที่สุด เนื้อเยื่อพิเศษอื่น ๆ ของพืชที่สามารถนำมาชักนำให้เกิดแคลลัสได้ เช่นกันคือ แคมเบียม คอร์เทค ไส้ หรือแกนลำต้น ท่อลำเลียงอาหาร ไซเลนพาเรนไคมา และเอ็นโดสเปิร์ม

ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงแคลลัส (รังสฤษดิ์,2540)

1. ขนาดและรูปร่าง (size and shape)

ของชิ้นส่วนพืชเริ่มต้นที่ใช้เลี้ยงแม้ไม่มีข้อจำกัด หรือข้อวิกฤตแต่ในพืชทั่วไปมักจำเป็นต้องใช้ชิ้น ส่วนที่มีขนาดค่อนข้างเล็กแต่ ไม่ถึงกับเล็กจนเกินไป ซึ่งถ้าชิ้นส่วนมีขนาดเล็ก ว่านี้แล้วจะไม่สามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้ ตัวอย่าง ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อท่อลำเลียงอาหารของ รากแครอท (*Daucus carota*) ที่มีน้ำหนักเพียง 3.8 มก. สามารเกิดแคลลัสได้ แต่ถ้าเป็นเนื้อเยื่อจากหัว (tuberous meristematic tissues) แล้วอาจมีขนาดเล็กเกินไปทั้งนี้เพราะเซลล์ของแครอทมีขนาดเล็กกว่า จึงมีเปอร์เซ็นต์ถูกทำลายหรือถูกกระทบกระเทือนขณะแยกเนื้อเยื่อน้อยกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. สารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulators)

โดยเฉพาะออกซินและไซโตไคนินซึ่งสัดส่วนของฮอร์โมนทั้ง 2 กลุ่มนี้มีผลโดยตรงต่อการเปลี่ยน แปลงพัฒนาของเซลล์ โดยทั่ว ๆ ไปแล้วถ้าสัดส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินสูง (ออกซิน > ไซโตไคนิน) แคลลัสจะพัฒนาไปเป็นราก ถ้าสัดส่วนนี้ต่ำ (ออกซิน < ไซโตไคนิน) จะพัฒนาไปเป็นยอดหรือต้น และหากสัดส่วนนี้สมดุล (ออกซิน = ไซโตไคนิน) จะพัฒนาไปเป็นแคลลัสต่อไป ความเข้มข้นที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต่าง ๆ นั้นพบว่า ออกซินจะอยู่ในช่วง 0.01 – 10.0 มก/ล. และไคเนตินซึ่งเป็นไซโตไคนินสังเคราะห์ จะอยู่ในช่วง 0.1 – 10.0 มก/ล. ทั้งนี้ปริมาณและสัดส่วนของฮอร์โมนที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสจะขึ้นอยู่กับชนิดพืช ชนิดชิ้นส่วน และระยะการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชที่นำมาใช้

3. ธาตุอาหาร (nutrients)

นอกจากจะต้องการธาตุอาหารที่เป็นส่วนประกอบหลักทั่ว ๆ ไปของสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ พืชแล้ว อาหารเสริมพวกกรดอะมิโน เช่น กลูตามีน แอสปาติน อาร์จินีน พิวรีน และไพริมิดีน สารพวก เคซินไฮโดรไลเซท สารสกัดจากมอล์ ยีสต์ และน้ำมะพร้าว มีส่วนสำคัญในการกระตุ้น การเกิดแคลลัสในพืชบางชนิดด้วยเช่นกัน

4. แห่งคาร์บอน (carbon sources)

ที่สำคัญได้แก่ น้ำตาลซูโครส และ/หรือ แซคคาโรส ความเข้มข้น 2 – 4 %

5. ปัจจัยสิ่งแวดล้อม (environmental factors)

โดยเฉพาะแสง ซึ่งต้องการความเข้มต่ำหรือไม่ใช้แสงเลย (เลี้ยงในที่มืด) อุณหภูมิที่เหมาะสม ประมาณ 25± 3 เซลเซียส นอกจากนี้ยังต้องการออกซิเจนเพื่อการหายใจของเซลล์ด้วย

6. สภาพอาหาร (media status)

แคลลัสที่เลี้ยงในอาหารแข็งหรือกึ่งแข็งมักเจริญเติบโตได้ น้อยและช้ากว่าในอาหารเหลวเนื่อง จากมีพื้นที่ผิวสัมผัสกับอาหารได้น้อยกว่า และตำแหน่งที่ชิ้นส่วนแคลลัสสัมผัสกับอาหารจะมี สารที่เป็นของเสียจากเมตาโบลิซึม (metabolic wastes) ปลดปล่อยออกมาจากเซลล์ และมีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าว

เนื้อเยื่อและเซลล์ส่วนที่มีชีวิตสามารถนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อในห้องทดลอง การที่สามารถเลี้ยงเนื้อเยื่อให้เจริญได้ โดยการชักนำให้เนื้อเยื่อสร้างกลุ่มเซลล์ เรียกว่า แคลลัสจากนั้นจึงชักนำให้แคลลัสเจริญเติบโตเป็นต้นข้าวต่อไป จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของรากข้าว และคัพภะที่ยังไม่เจริญเต็มที่ ต่อมาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ ของต้นข้าว เช่น ราก ข้อต่อของลำต้น ช่อดอกอ่อน อับละอองเกสร คัพภะ และเมล็ด ได้มีการพัฒนาเป็นลำดับ kawata และ Ishihara (1968) รายงานผลการเพาะเลี้ยงรากข้าวจนเกิดแคลลัสได้เกิดต้น เช่นเดียวกับ Haploid จากการเลี้ยงอับละอองเกสรและสามารถนำให้คัพภะเจริญเติบโต จนแตกหน่อบนแคลลัสได้

สุริยันตร์ และคณะ (2540) ทำการทดสอบความสามารถในการเกิดแคลลัสของเมล็ดข้าวจะแตกต่างกันออกไป โดยการนำเมล็ดข้าวมาแกะเปลือกหุ้มเมล็ด จะพิจารณาบนอาหาร MS ที่เติมออกซินต่าง ๆ กัน เช่น 2,4-D และไคเนติน จากการทำงานร่วมกัน นำแคลลัสที่ได้มาเพิ่มบนปริมาณอาหารแข็งสูตร MS ที่มี Kinetin 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และนำไปเลี้ยงในสภาพที่ได้รับแสง 16 ชั่วโมงสลับกับชั่วมืด 8 ชั่วโมง เปลี่ยนอาหารทุก 2 สัปดาห์ เมื่อได้ปริมาณแคลลัสเพียงพอ ทำการชักนำให้เกิดต้นโดยการ dehydrate แคลลัส ในงานแก้วที่มีกระดาษรอง 1 ชั้น นาน 3 วัน แล้วเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมและในสภาพเดียวกัน

งานทดลองของ Wu และ Li (1979) ,Henke และคณะ (1978) ,Chou และคณะ (1983) และ Brar และคณะ (1985) รายงานการชักนำให้เกิดคัพภะของเมล็ดข้าวเกิดแคลลัส พบในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรในสภาพมืดมีการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด

Siriwardana และ Narbos (1983) พบว่ามีแคลลัสที่เกิดขึ้นมีสีเหลืองและเกาะกลุ่มแน่น (YC) มีการเจริญเติบโตดีเป็นต้นใหม่ได้ นอกจากนี้ 2,4-D ยังมีผลต่อองค์ประกอบของผนังเซลล์ โดยการทำลาย cross-link ของ cellylose microfibril ทำให้น้ำผ่านไปในเซลล์มากขึ้น และผนังเซลล์จะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างถาวรทำให้เซลล์มีการเจริญเติบโตขยายขนาด และมีน้ำหนักเพิ่ม ขึ้น

Leshem (1973) รายงานผลการทดลองว่า ในคัพภะที่มีความผิดปกติจะไม่เกิดแคลลัสหรือถ้าเกิดแคลลัสจะมีขนาดเล็ก สีเหลือง เซลล์เกาะกันอย่างหลวม ๆ ฉ่ำน้ำ ซึ่งเป็นลักษณะของ non-embryogenic callus (NE) เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงจะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว แต่ไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้

Wang และคณะ (1987) รายงานว่า ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม สารควบคุมการเจริญเติบโตที่พืชสร้างขึ้นหรือสาร ประกอบอื่น ๆ ลักษณะทางพันธุกรรมของพืช อายุของพืช และองค์ประกอบของสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

99970

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Brar และคณะ (1985),Rout และ Sarna (1986) และ Zakim และ Raghavan (1988) ได้ทำการทดลองในลักษณะเดียวกัน คือ การเพิ่มปริมาณแคลลัสในสูตรอาหาร MS ที่ลดความเข้มข้นของ 2,4-D และเติม Kinetin พบว่าทำให้แคลลัสข้าวเพิ่มปริมาณได้

เช่นเดียวกับงานทดลองของ Brock และ Kaufman (1991) ได้ทำการเติม BA, Kinetin และ น้ำมะพร้าวซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโต กลุ่มไซโตไคนินสามารถชักนำให้เกิดแคลลัส มีการเจริญเติบโต เพราะไซโตไคนินมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการแบ่งเซลล์ในระยะ S-G_2 ของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส

Yoshida และคณะ (1983) ได้ทำการศึกษาสารในกลุ่มไซโตไคนิน tryptophan IAA และสารสกัดจากยีสต์ยังมีผลต่อการเกิดแคลลัสชนิด embryogenic ส่วนในการเพาะเลี้ยงในสภาพแสงสามารถเกิดแคลลัสได้ดีกว่าในสภาพมืด โดยแสงที่ให้ในระหว่างการเพาะเลี้ยงไม่ได้มีจุดมุ่งหมายเพื่อให้เนื้อเยื่อสังเคราะห์แสงช่วยในการพัฒนาไปเป็นรากหรือต้น (morphogenesis)

Jenet และ Seabrook (1980) รายงานว่า หลังจากเพาะเลี้ยงแคลลัสไปนาน ๆ จะทำให้แคลลัสมีลักษณะเกาะกันอย่างหลวม ๆ มีสีเหลืองอมน้ำตาล (YB) ไม่เหมาะสมที่จะชักนำให้เกิดต้นและราก

รัชนี และคณะ (2537) ทำการทดลอง โดยการเลี้ยงแคลลัสของข้าวไทย 2 พันธุ์ คือ น้ำสะกุย 19 (NSG19) และขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) ในอาหารเหลวสูตร R-2 ซึ่งมีส่วนผสมของ polyethylene glycol 100 g l^{-1} อยู่ด้วย เพื่อเลียนแบบการขาดน้ำของเซลล์พืชเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า NSG 19 สามารถเจริญได้ดีจนสิ้นสุดการทดลอง ส่วน KDML105 เจริญได้เพียง 3 สัปดาห์ จำนวนต้นข้าวจะถูกชักนำจากอาหารที่มี PEG มากกว่าจากอาหารที่มีมี PEG 2 เท่าใน NSG19 ส่วนใน KDML105 จำนวนต้นข้าวที่ผลิตได้จากอาหารเหลวที่ใส่หรือไม่ใส่ PEG ไม่มีความแตกต่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. เมล็ดข้าวพันธุ์หอมแดง และ พันธุ์กุหลาบแดง
2. สารเคมีต่าง ๆ
   - 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร(Murashige and Skoog ,1962)
   - 2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ 2,4-D (2,4- dichlorophenoxyacetic acid) ,Kinetin
   - 2.3 น้ำตาล ได้แก่ sucrose
   - 2.4 ผงวุ้น
   - 2.5 น้ำกลั่น
3. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
   - 3.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด (analytical balance)
   - 3.2 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)
   - 3.3 กระบอกตวง (cylinder)
   - 3.4 บีกเกอร์ (beaker)
   - 3.5 ปิเปต (pipette)
   - 3.6 ขวดแก้ว (bottle) พร้อมฝาปิด
   - 3.7 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)
   - 3.8 เครื่องชั่ง (balance)
   - 3.9 เตาอุ่นความร้อนและเครื่องคน (hot plate and magnetic stirrer)
4. สารที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ
   - 4.1 คลอรอกซ์ (clorox)
   - 4.2 แอลกอฮอล์ 95 % (alcohol)
   - 4.3 Teepol
5. เครื่องมือและสารที่ใช้ในการตัดแยกย้ายชิ้นส่วน
   - 5.1 ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow)
   - 5.2 มีดผ่าตัด (knives and scalpels)
   - 5.3 ปากคีบ (forceps)
   - 5.4 ตะเกียง (turnel)
   - 5.5 จานแก้ว (peter dish)
   - 5.6 ขวดอาหาร (bottle)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีอุณหภูมิประมาณ 25±3 องศาเซลเซียส พร้อมชั้นวางมีหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์แสงสีขาว (white light fluorescence) ที่มีแสง 16 ชั่วโมง มืด 8 ชั่วโมง
7. ชั้นวางขวดเนื้อเยื่อ
8. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการถ่ายรูป กล้อง กระดาษสี

วิธีการ

การเตรียมอาหาร

1. ชั่งสารเคมีต่าง ๆ ตามสูตร (Murashige and Skoog,1962) โดยเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น (stock solution) เพื่อสะดวกในการใช้เตรียมอาหารแต่ละครั้ง
2. ดูดสารละลายจาก stock solution ต่าง ๆ มารวมกัน โดยมีสูตรอาหารดังต่อไปนี้

Stock ที่ 1	20 ml/l
Stock ที่ 2	10 ml/l
Stock ที่ 3	10 ml/l
Stock ที่ 4	10 ml/l
Stock ที่ 5	10 ml/l

3. ปรับปริมาตรสารละลายอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในแต่ละสูตรด้วยการเติมน้ำกลั่นให้ได้ครบ 1,000 ml
4. ปรับความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารโดยใช้ ด้วยกรดเกลือ (HCl) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ของอาหารเป็น 5.8
5. ชั่งน้ำตาล 30 กรัม ใส่ในบีกเกอร์
6. ชั่งผงวุ้นปริมาตร 11 กรัมต่อลิตรใส่ในบีกเกอร์ นำน้ำที่ได้จากข้อ 3 ใส่ลงในบีกเกอร์เพื่อละลายผงวุ้นก่อนนำไปต้ม
7. นำไปต้มเพื่อละลายวุ้นและน้ำตาล
8. เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชโดยใช้ 2,4-D ที่มีระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ได้แก่ ความเข้มข้น 0.25,0.5,1.0,2.0,3.0 และ 4.0 mg/l หรือ Kinetin ความเข้มข้น 1.0,2.0,3.0 และ 4.0 mg/l
9. บรรจุอาหารลงในขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อประมาณ 6 ml ปิดฝาให้สนิท แล้วนำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว แล้วทิ้งไว้ให้เย็นเพื่อนำมาเลี้ยงพืชทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20730

การฟอกฆ่าเชื้อ

1. นำเมล็ดข้าวพันธุ์หอมแดง และ กุหลาบแดงแกะเปลือก จำนวนพันธุ์ละ 90 เมล็ด

2. แช่ในสารละลายเอธิทแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 1-2 นาที

3. ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที ที่เติม Teepol 2-3 หยด

4. ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ที่เติม Teepol 2-3 หยด

5. นำเข้าตู้ปลอดเชื้อ ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3-4 ครั้ง

การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS

1. นำเมล็ดข้าวมาที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเลี้ยงในสูตรอาหารสูตรต่าง ๆ ดังนี้

อาหารสูตรที่ 1	MS + 2,4-D	0.25	มิลลิกรัมต่อลิตร
อาหารสูตรที่ 2	MS + 2,4-D	0.50	มิลลิกรัมต่อลิตร
อาหารสูตรที่ 3	MS + 2,4-D	1	มิลลิกรัมต่อลิตร
อาหารสูตรที่ 4	MS + 2,4-D	2	มิลลิกรัมต่อลิตร
อาหารสูตรที่ 5	MS + 2,4-D	3	มิลลิกรัมต่อลิตร
อาหารสูตรที่ 6	MS + 2,4-D	4	มิลลิกรัมต่อลิตร

2. จากนั้นคัดเลือกขวดที่ปราศจาก การปนเปื้อน (contaminate) และแคลลัสที่มีการเจริญเติบโตดี โดยไม่มีการปนเปื้อนจำนวน 15 ขวดเข้าสู่ขบวนการทดลอง

3. ทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 4 สัปดาห์

การเพิ่มปริมาณแคลลัส

1. นำแคลลัสที่มีลักษณะเกาะกลุ่มกันแน่นสีเหลือง จากสูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดแคลลัส

2. เปลี่ยนอาหาร (sub-culture) ให้กับแคลลัส โดยการตัดเมล็ดส่วนยอดและรากที่ติดมากับแคลลัสออกนำมาเลี้ยง ในสูตรเดิม คืออาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 1,2,3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อเพิ่ม จำนวนแคลลัส ไว้เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ในสภาพที่ไม่มีแสง

3. บันทึกผลการเจริญเติบโต เป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสและระดับคะแนนการเกิดแคลลัส ลักษณะและสีของแคลลัส เมื่ออายุได้ 8 สัปดาห์

การพักแคลลัสในกระดาษกรอง

นำแคลลัสที่มีลักษณะเกาะกลุ่มกันแน่นสีเหลืองมาพักไว้ในกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 3 วัน ในที่มืด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
วิทยาเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

<u>การชักนำแคลลัสให้เกิดต้น</u>

1. นำแคลลัสที่พักตัวบนกระดาษกรองเปลี่ยนอาหารในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ ดังนี้

อาหารสูตรที่ 1	MS+Kinetin	0	มิลลิกรัมต่อลิตร
อาหารสูตรที่ 2	MS+Kinetin	1	มิลลิกรัมต่อลิตร
อาหารสูตรที่ 3	MS+Kinetin	2	มิลลิกรัมต่อลิตร
อาหารสูตรที่ 4	MS+Kinetin	3	มิลลิกรัมต่อลิตร

2. เก็บไว้ในที่มีแสง บันทึกเปอร์เซ็นต์การเจริญและพัฒนาของแคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

<u>ตอนที่ 1</u> การชักนำให้เกิดแคลลัส

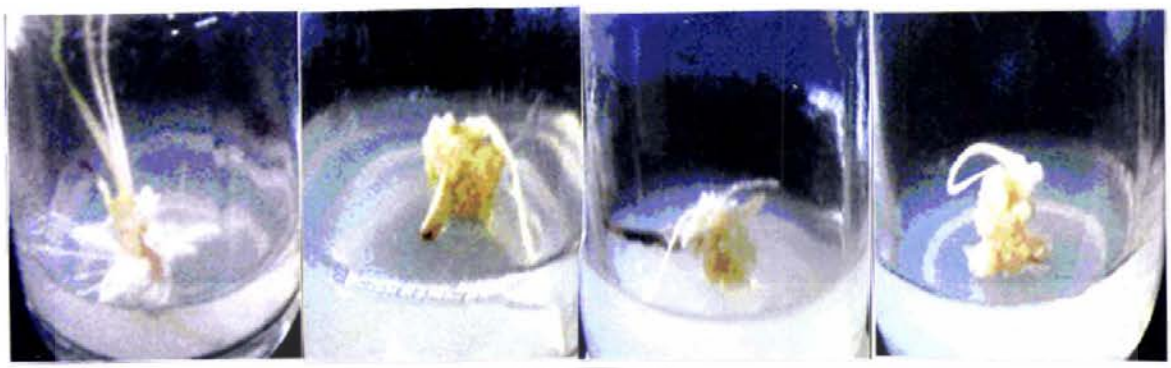
การชักนำเมล็ดข้าวให้เกิดแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร MS+2,4-D ความเข้มข้น 0,0.25,0.5,1.0, 2.0,3.0,4.0 mg/l ในที่มืด เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าในอาหารทุกสูตรที่ใช้เพาะเลี้ยงแคลลัส โดยลักษณะของแคลลัสที่เกิดขึ้นมีสีเหลืองอ่อน (แสดงในภาพที่ 2) มีการเปลี่ยนแปลง โดยอาหารสูตร MS+2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นที่ 0 mg/l ไม่สามารถพัฒนาเป็นแคลลัสได้ในข้าว พันธุ์กุหลาบแดง และข้าวพันธุ์หอมแดง โดยจะมีการเกิดเป็นปุ่มปมขนาดเล็กๆ บริเวณส่วนใหญ่เกิดราก ส่วนในระดับอาหารที่มีความเข้มข้นของ 2,4-D ที่ 0.25,0.5,1.0,2.0,3.0,4.0 mg/l เมล็ดข้าวสามารถพัฒนาเกิดเป็นแคลลัสได้ (ภาพที่ 2) โดยระดับความเข้มข้นที่เกิดปริมาณแคลลัสที่มาก คือ สูตรอาหารที่มี 2,4-D ระดับความเข้มข้นที่ 2.0 และ 3.0 mg/l ซึ่งมีลักษณะของกลุ่มแคลลัสเกาะกันแน่นสีเหลือง (compact) ส่วนในระดับความเข้มข้นที่ระดับ 0.25,0.5 mg/l มีปริมาณการเกิดแคลลัสน้อยเกาะกันอย่างหลวม ๆ (friable) ส่วนมากจะมีการเกิดของรากมากกว่าการพัฒนาเป็นแคลลัส (ดังตารางที่ 1) ที่แสดงถึงระดับคะแนนการเกิดของแคลลัส บนอาหารสูตร MS+2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน และ (ภาพที่ 1) เป็นการแสดงภาพในการให้ระดับคะแนนของการพัฒนาของแคลลัส ในข้าวพันธุ์กุหลาบแดง และหอมแดง

<u>ตารางที่ 1</u> แสดงการพัฒนาของแคลลัสของข้าวพันธุ์กุหลาบแดง และ หอมแดง บนอาหารแข็ง MS ที่เติม 2,4-D ในความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นระดับคะแนน ดังนี้ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ระดับความเข้มข้น2,4-D (mg/l)	ข้าวพันธุ์กุหลาบแดง (ระดับคะแนน)	ข้าวพันธุ์หอมแดง (ระดับคะแนน)
0	0	0
0.25	0.5	0.75
0.5	1	1
1	2	2
2	2	2.5
3	2	2
4	2	2

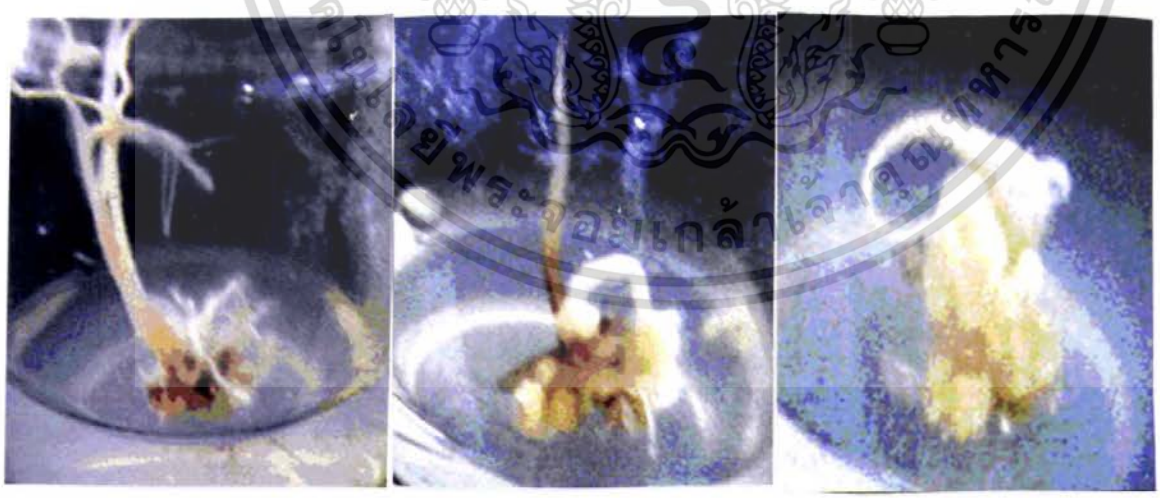
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 1 ภาพแสดงลักษณะการให้คะแนนการเกิดของแคลลัส



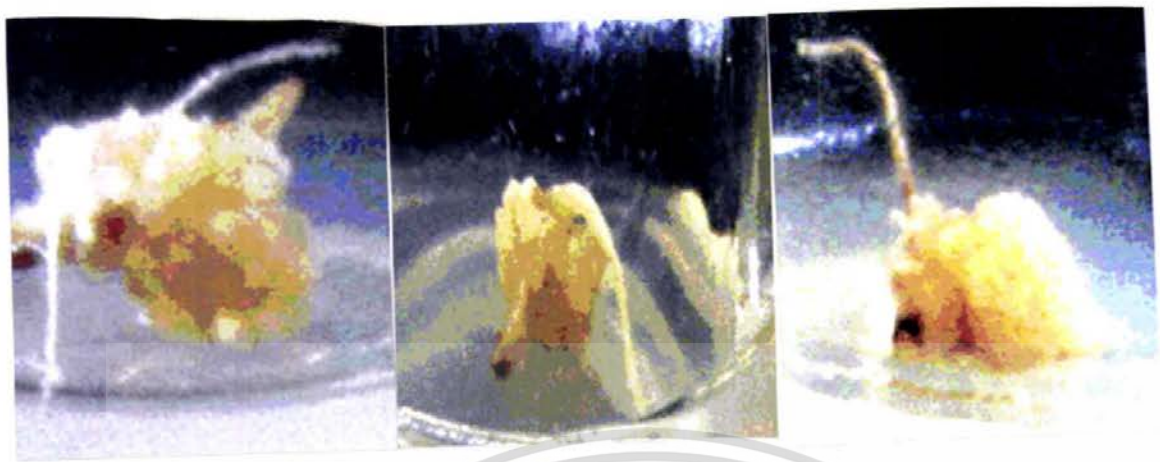
0	หมายถึง	ไม่เกิดแคลลัส
1	หมายถึง	เกิดแคลลัสน้อย
2	หมายถึง	เกิดแคลลัสดี
3	หมายถึง	เกิดแคลลัสดีมาก

ภาพที่ 2 แสดงการพัฒนาแคลลัสข้าวพันธุ์กุหลาบแดง บนอาหารแข็งที่มีฮอร์โมนออกซิน ในระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ กันเวลา 4 สัปดาห์



ความเข้มข้น 2,4-D ที่ระดับ 0.25, 0.5, 1.0 mg/l ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

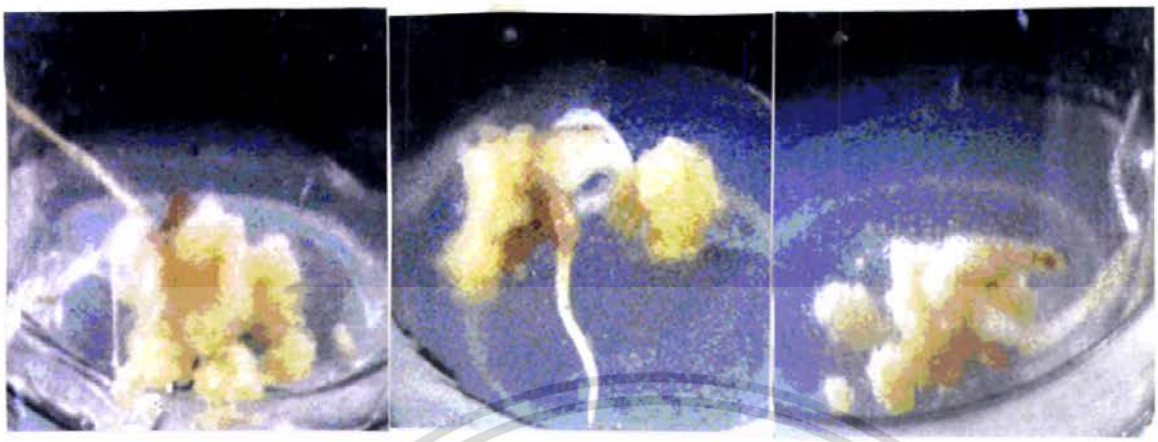


ความเข้มข้น 2,4-D ที่ 2.0, 3.0, 4.0 mg/l ตามลำดับ

ภาพที่ 3 แสดงการพัฒนาแคลลัสข้าวพันธุ์หอมแดง บนอาหารแข็งที่มีฮอร์โมนออกซิน ในระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ กันเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้น 2,4-D ที่ระดับ 0.25, 0.5, 1.0 mg/l ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ความเข้มข้น 2,4-D ที่ระดับ 2.0, 3.0, 4.0 mg/l ตามลำดับ

ตอนที่ 2 การเพิ่มปริมาณแคลลัส

การเพิ่มแคลลัสในข้าวหลังจาก 4 สัปดาห์เพื่อเพิ่มจำนวนแคลลัสให้เพียงพอในการเกิดต้นและราก ในสูตรอาหาร MS+2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นที่ 1.0,2.0,3.0 และ 4.0 mg/l โดยการ subculture ทุก ๆ 2 สัปดาห์ไว้ในที่มืด เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ดังตารางที่ 2) ที่แสดงถึงระดับคะแนนการเกิดของแคลลัส บนอาหารสูตร MS+2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน และ (ภาพที่ 1) เป็นการแสดงภาพในการให้ระดับคะแนนของการพัฒนาของแคลลัส ในข้าวพันธุ์กุหลาบแดง และหอมแดง พบว่าแคลลัสที่อยู่บนอาหารแข็ง MS+2,4-D ทุกระดับความเข้มข้น แคลลัสสามารถเจริญเติบโตได้ โดยมีกลุ่มเซลล์ที่เกาะกันอย่างแน่น ๆ ฟู สีเหลืองขาวใส หลังจาก 2 สัปดาห์จะพบว่าในความเข้มข้นที่ระดับที่ 3.0 และ 4.0 mg/l ลักษณะของก้อนแคลลัสจะเปลี่ยนจาก 2 สัปดาห์แรก คือ ก้อนแคลลัสจะมีสีเหลืองเข้ม และมีบริเวณบางส่วนมีสีน้ำตาลดำ ในภาพที่ 4 และ 5 โดยแสดงลักษณะการเจริญเติบโต และการเปลี่ยน แปลงของแคลลัส ในตารางที่ 3 ซึ่งมีการแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และลักษณะการเจริญ เติบโตในข้าวพันธุ์กุหลาบแดงและข้าวพันธุ์หอมแดง (ภาพกราฟที่ 6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 การพัฒนาของแคลลัสของข้าวพันธุ์กุหลาบแดง และ หอมแดง บนอาหารแข็ง MS ที่ เติม 2,4-D ในความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นระดับคะแนน เป็นเวลา 6 และ 8 สัปดาห์

ระดับความเข้มข้น 2,4-D (mg/l)	ข้าวพันธุ์กุหลาบแดง (ระดับคะแนน)		ข้าวพันธุ์หอมแดง (ระดับคะแนน)	
	สัปดาห์ที่6	สัปดาห์ที่8	สัปดาห์ที่6	สัปดาห์ที่8
0	0.2	0	0.2	0.25
0.25	0.75	1	1	1.2
0.5	1.5	1.5	1.2	1.5
1	2	2.5	2	2.75
2	3	3	2.5	3
3	2.75	3	3	2.75
4	2	2.5	2.75	3

หมายเหตุ

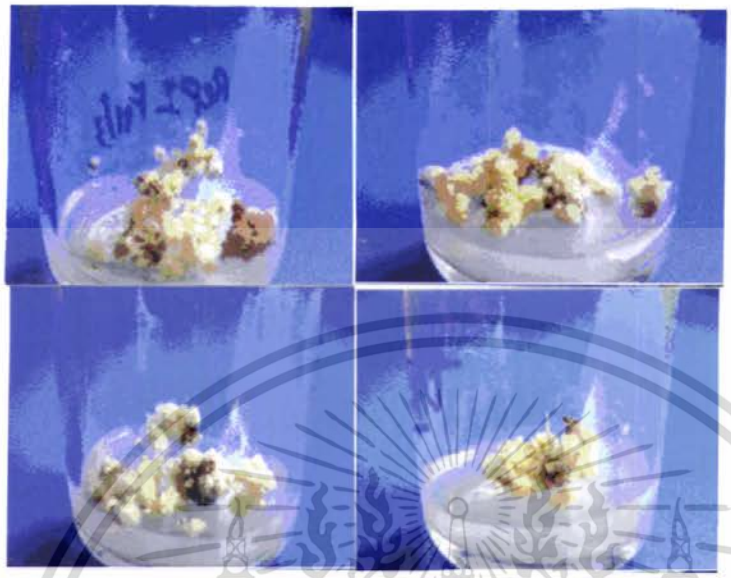
0 หมายถึง ไม่เกิดแคลลัส
1 หมายถึง เกิดแคลลัสน้อย
2 หมายถึง เกิดแคลลัสดี
3 หมายถึง เกิดแคลลัสดีมาก

ภาพที่ 4 แสดงการเพิ่มปริมาณแคลลัสข้าวพันธุ์กุหลาบแดง บนอาหารแข็งที่มีฮอร์โมนออกซิน ในระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ กันเวลา 8 สัปดาห์

ความเข้มข้น 2,4-D ที่ระดับ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mg/l ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 5 แสดงการเพิ่มปริมาณแคลลัสข้าวพันธุ์หอมแดง บนอาหารแข็งที่มีฮอร์โมนออกซิน ในระดับความเข้มข้น ต่าง ๆ กันเวลา 8 สัปดาห์



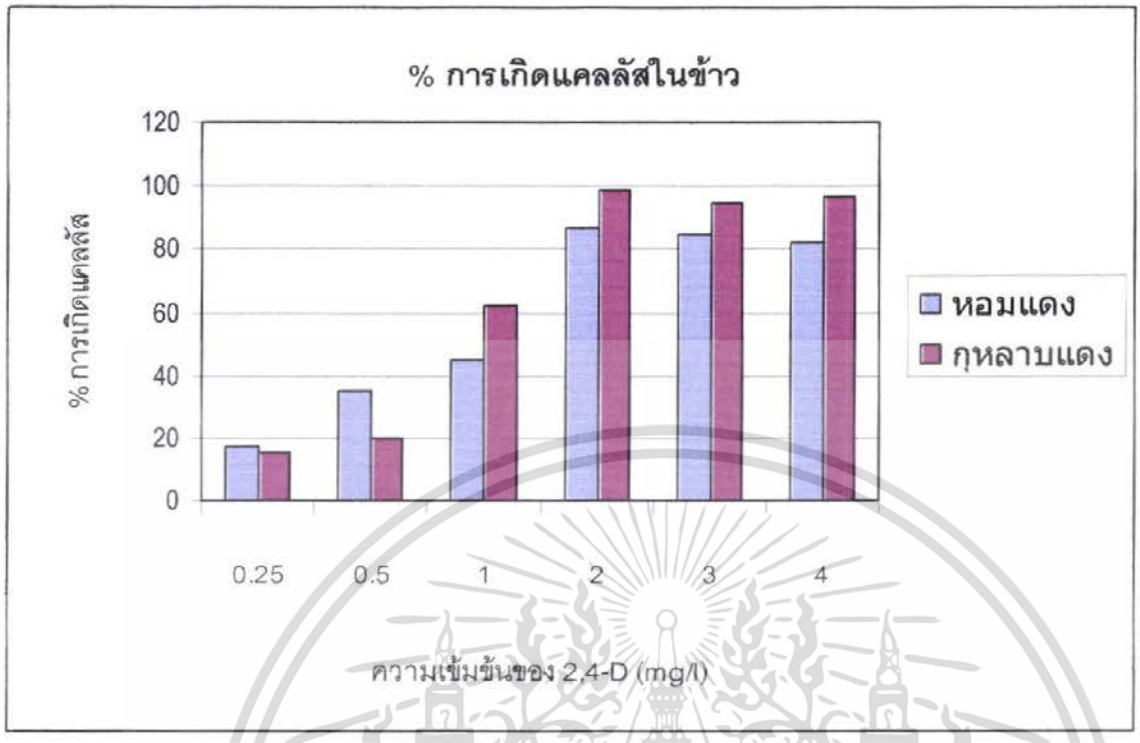
ความเข้มข้น 2,4-D ที่ระดับ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mg/l ตามลำดับ

ตารางที่ 3 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของแคลลัส เปอร์เซ็นต์การพัฒนาของแคลลัสบนอาหารแข็ง MS ที่เติม 2,4-D ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ 2,4-D (mg/l)	กุหลาบแดง		หอมแดง	
	ลักษณะการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลง	%การเกิดแคลลัส	ลักษณะการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลง	%การเกิดแคลลัส
0.25	เกิดยอดและราก	15	เกิดยอดและราก	17
0.5	เกิดยอดและราก	20	เกิดยอด,รากและแคลลัส	35
1	เกิดยอด,รากและแคลลัส	62	เกิดยอด,รากและแคลลัส	55
2	เกิดแคลลัส	99	เกิดแคลลัส	87
3	เกิดแคลลัส	95	เกิดแคลลัส	85
4	เกิดแคลลัส	97	เกิดแคลลัส	82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 6 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสบนอาหารแข็ง MS ที่เติม 2,4-D ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน



ตอนที่ 3 การชักนำให้เกิดต้นและราก

แสดงการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นยอดและรากของข้าวพันธุ์กุหลาบแดง และ หอมแดง ซึ่งมีการเปรียบเทียบกันระหว่างข้าวทั้ง 2 พันธุ์ โดยการเปรียบเทียบระยะเวลาความสามารถในการพัฒนาไปเป็นรากและยอดระหว่างพันธุ์กุหลาบแดงที่มีการพักตัวบนกระดาษกรองและหอมแดงที่ไม่ได้พักตัวบนกระดาษกรอง ผลการทดลองเป็นไปใน (ตารางที่ 4) จะพบว่า ในข้าวพันธุ์กุหลาบแดงใช้ระยะเวลาในการพัฒนาไปเป็นราก และยอดได้เร็วกว่าในข้าวพันธุ์หอมแดง (ภาพที่ 7) ข้าวกุหลาบแดงที่ได้จากการพักแคลลัสแล้ว 3 วัน และหอมแดงที่ไม่มีการพักแคลลัส เมื่อนำมาใส่ในอาหารสูตร MS+ Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 1.0,2.0 และ 3.0 mg/l ไว้ในที่มีแสงเพื่อให้การพัฒนาไปเป็นต้นเกิดได้ดี พบว่าในข้าวพันธุ์กุหลาบแดงที่สูตรอาหาร MS ทำให้แคลลัสสามารถพัฒนาเป็นราก ภายใน 2 สัปดาห์ ในข้าวพันธุ์หอมแดง จะมีการพัฒนาของรากช้ากว่าพันธุ์กุหลาบแดง โดยใช้เวลา 4 และ 5 สัปดาห์ ระดับความเข้มข้น MS + Kinetin ที่มีระดับความเข้มข้นที่ 1 และ 2 mg/l ในพันธุ์กุหลาบแดง การเกิดรากและยอดสามารถเกิดได้ดี ส่วนในหอมแดงการเกิดรากช้าและยอดไม่เกิด โดยแคลลัสจะมีสีเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม และดำ ดังตัวอย่างใน (ตารางที่ 4 ภาพที่ 8 และ 9) ส่วนการเกิดในระดับความเข้มข้นที่ 3 mg/l ไม่สามารถเกิดรากและยอดได้ในข้าวทั้ง 2 พันธุ์ แคลลัสจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มและดำ โดยในข้าวพันธุ์หอมแดง จะใช้เวลาในพัฒนาของแคลลัสมากกว่าพันธุ์กุหลาบแดง (ภาพกราฟที่ 10)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นยอดและรากของข้าวพันธุ์กุหลาบแดง ที่มีการพักบนกระดาษกรอง และ ข้าวพันธุ์หอมแดงที่ไม่มีการพักตัวบนกระดาษกรอง ในอาหารแข็ง MS + Kinetin ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

Kinetin (mg/l)	ข้าวพันธุ์กุหลาบแดง		ข้าวพันธุ์หอมแดง	
	ลักษณะการพัฒนาของแคลลัส	ระยะเวลาการเกิด (สัปดาห์)	ลักษณะการพัฒนาของแคลลัส	ระยะเวลาการเกิด (สัปดาห์)
0	R	3	R	4
1	G	2	R	5
2	G	2	B	6
3	B	2	B	6

R = แคลลัสพัฒนาไปเป็นราก

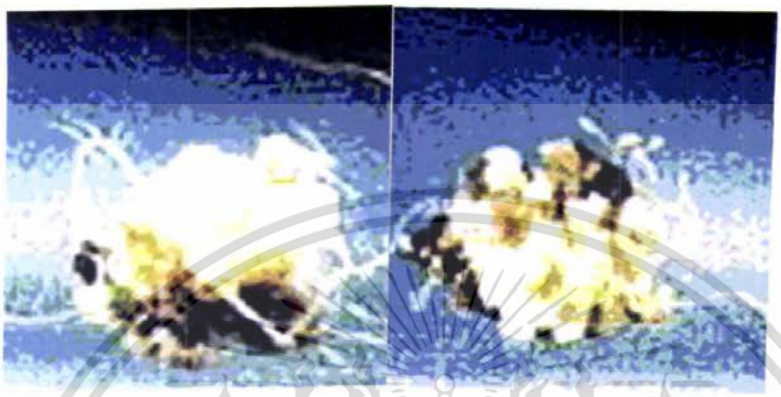
G = แคลลัสพัฒนาไปเป็นยอดและรากเกิดขึ้น

B = แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีดำ

ภาพที่ 7 แสดงลักษณะการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นราก ยอด และสีดำตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 8 การพัฒนาของแคลลัสไปเป็นยอดและรากของข้าวพันธุ์กุหลาบแดง บนกระดาษกรอง ในอาหารแข็ง MS + Kinetin ระยะเวลา 6 สัปดาห์



อาหารแข็ง MS + Kinetin ความเข้มข้น ที่ระดับ 0 และ 1 mg/l

อาหารแข็ง MS + Kinetin ความเข้มข้น ที่ระดับ 2 และ 3 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

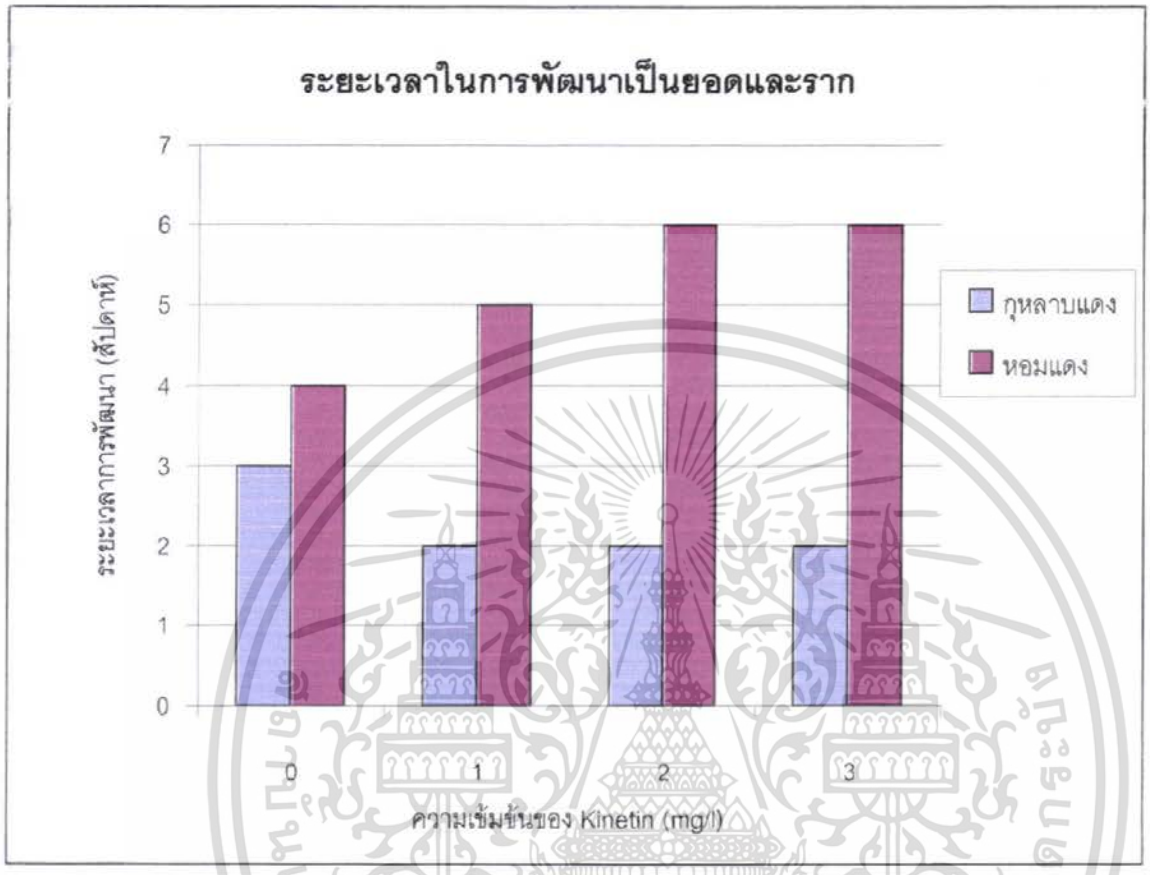
ภาพที่ 9 การพัฒนาของแคลลัสไปเป็นรากของข้าวพันธุ์หอมแดง ในอาหารแข็ง MS + Kinetin ระยะเวลา 6 สัปดาห์

อาหารแข็ง MS + Kinetin ความเข้มข้น ที่ระดับ 0 และ 1 mg/l

อาหารแข็ง MS + Kinetin ความเข้มข้น ที่ระดับ 2 และ 3 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่10 กราฟแสดงระยะเวลาในการพัฒนาเป็นยอดและรากของแคลลัสบนอาหารแข็ง MS+ Kinetin ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

การชักนำให้เกิดแคลลัส

หลังจากเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวบนอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส ในฮอร์โมนออกซิน (2,4-D) ในที่มืดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ สามารถพัฒนาเป็นแคลลัสได้ เช่นเดียวกับการทดลองของ Ketchum et al. (1987) พบว่าคัพภะสามารถสร้างแคลลัสได้ในอัตราและปริมาณที่สูงกว่าเมล็ดที่เพาะเลี้ยงในสภาพที่มีแสง ในระดับความเข้มข้นที่มีฮอร์โมนออกซิน 0,0.25 mg/l จะไม่มีการพัฒนาของแคลลัสเกิดขึ้น เนื่องจากฮอร์โมนที่มีน้อยเกิดไปไม่เพียงพอสามารถพัฒนาเป็นแคลลัส ส่วนในระดับความเข้มข้น ที่ 2.0 และ 3.0 mg/l จะพบว่ามีการพัฒนาของแคลลัสได้ดีที่สุด โดยมีลักษณะสีเหลืองเกาะกันแน่น Siriwardana และ Narbos (1983) พบว่ามีแคลลัสที่เกิดขึ้นมีสีเหลืองและเกาะกลุ่มแน่น (YC) มีการเจริญเติบโตดีเป็นต้นใหม่ได้ ซึ่งการตอบสนองของข้าวพันธุ์กุหลาบแดง และ หอมแดง จะตอบสนองต่อฮอร์โมน 2,4-D ได้ดีเหมือนกัน จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า ฮอร์โมนออกซิน (2,4-D) มีความสำคัญมากในการพัฒนาของแคลลัส โดยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ให้ขยายขนาดแทบทุกส่วน พืชจึงเจริญเติบโต เซลล์ขยาย ตัวออกทั้งความยาวและความกว้าง ซึ่งจะสอด คล้องกับการทดลองของ สุรินทร์ และคณะ (2537) ที่ใช้พันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 นำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งที่มี 2,4-D ระดับความเข้มข้นที่ 2.0 และ 3.0 mg/l สามารถพัฒนาเป็นแคลลัสได้ดี และผลการทดลองคล้ายคลึงกับสุริยันต์ และคณะ (2540) รายงานว่า ข้าวพันธุ์นางมลเอส-4 เกิดแคลลัสได้ดีในที่มืด ซึ่งผลการทดลองนี้ ก็พบว่าพันธุ์หอมคลองหลวง 1 เกิดแคลลัสได้ดีในที่มืด

การเพิ่มปริมาณแคลลัส

จากการทดลองจะมีผลต่อการพัฒนาเป็นต้นและราก เนื่องจากอายุของแคลลัสที่มากขึ้นจะมีผลต่อการพัฒนา ยิ่งอายุของแคลลัสยิ่งมากเท่าไร เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสยิ่งน้อยมาก ซึ่งจะสอดคล้องกับการทดลองของ อนุรักษ์ (2542) แคลลัสที่ทำการแบ่งขยายเพิ่มปริมาณ มักเกิดปัญหาการกลายเป็นสีน้ำตาล เช่นเดียวกับการทดลองของ Jenet และ Seabrook (1980) รายงานว่า หลังจากเพาะเลี้ยงแคลลัสไปนาน ๆ จะทำให้แคลลัสมีลักษณะเกาะกันอย่างหลวม ๆ มีสีเหลืองอมน้ำตาล (YB) ไม่เหมาะสมที่จะชักนำให้เกิดต้นและราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นและราก

พบว่าแคลลัสสามารถพัฒนาเป็นแคลลัสและปรับตัวในอาหารสูตรใหม่แตกต่างกัน ซึ่งมาจากการดูดสารอาหารของแคลลัส จะพบว่าในข้าวพันธุ์กุหลาบแดงใช้ระยะเวลาในการพัฒนาไปเป็นราก และยอดได้เร็วกว่าในข้าวพันธุ์หอมแดง เนื่องจากการทำให้แคลัสแห้งโดยการย้ายแคลลัสของข้าวมาพักในจานแก้ว (petridish) ซึ่งแคลลัสของข้าวพันธุ์กุหลาบแดงแห้ง เหี่ยว ขาดน้ำ พอนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตรใหม่ จะสามารถดูดสารอาหารได้ดีกว่าพันธุ์หอมแดงที่ไม่มีการพักตัวบนกระดาษกรอง เพราะแคลลัสมีน้ำอยู่ภายใน ดังนั้นแคลลัสจึงไม่สามารถดูดน้ำเข้าไปได้ จึงทำให้แคลลัสพันธุ์กุหลาบแดงสามารถพัฒนาเป็นต้นได้ดีกว่าพันธุ์หอมแดง ซึ่งจะสอดคล้องกับการทดลองของ ประภา และคณะ (2537) ได้ทดลองแคลลัสที่ไม่ผ่านการชักนำให้แห้ง (nondehydration) จะพัฒนาไปเป็นยอดในอัตราที่ต่ำมาก เช่นเดียวกับการทดลองของ สุริยันต์ และคณะ (2540) การพักตัวแคลลัสไว้ในจานแก้วระยะ เวลาหนึ่งเพื่อให้แคลลัสขาดน้ำ ก่อนการย้ายลงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้น จะช่วยให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นต้นได้ดีขึ้น Yoshida และคณะ (1983) ได้ทำการศึกษาสารในกลุ่มไซโตไคนิน (IAA) มีผลต่อการเกิดแคลลัสชนิด embryogenic ส่วนในการเพาะเลี้ยง ในสภาพแสงสามารถเกิดแคลลัสได้ดีกว่าในสภาพมืด โดยแสงที่ให้ในระหว่างการเพาะเลี้ยงไม่ได้มีจุดมุ่งหมายเพื่อ ให้เนื้อเยื่อสังเคราะห์แสง ช่วยในการพัฒนาไปเป็นรากหรือต้น (morphogenesis)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองจะเห็นว่า 2,4-D เป็นออกซิน (auxin) ที่เหมาะสมที่สุดต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในเนื้อเยื่อข้าว แต่ระดับความเข้มข้นที่ใช้จะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อ และพันธุ์ สำหรับการเพาะเลี้ยงเมล็ดจะพบว่า 2,4-D ความเข้มข้นที่ 2.0 และ 3.0 mg/l เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในอัตราที่สูง และมีขนาดของแคลลัสใหญ่ที่สุด พบว่ามีแคลลัสที่เกิดขึ้นมีสีเหลืองและเกาะกลุ่มแน่น (YC) มีการเจริญเติบโตดีเป็นต้นใหม่ได้ แสงก็เป็นปัจจัยที่สำคัญ คือ ในที่มีแสงสามารถมีการพัฒนาของแคลลัสได้ดีกว่าที่มืด การเพิ่มปริมาณแคลลัสให้เพียงพอมีผลต่อการพัฒนาเป็นต้น พบว่าอายุของแคลลัสมีผลต่อการเกิดต้น เนื่องจากอายุของแคลลัสที่มากจะมีผลทำให้การพัฒนาไปเป็นต้นต่ำ

การทำให้แคลลัสแห้งก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้น จะทำให้อัตราการพัฒนาไปเป็นต้นของแคลลัสสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับแคลลัสที่ไม่ได้ผ่านการทำให้แห้ง ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากความชื้นสัมพัทธ์ต่ำกว่าความชื้นภายในเซลล์ของแคลลัส จะทำให้เซลล์มีการคายน้ำ ปริมาณน้ำภายในเซลล์จึงลดลง และพร้อมที่จะรับน้ำหรือสารอื่น ๆ จากภายนอกเข้าไปในเซลล์ได้อีกครั้งหนึ่ง เมื่อย้ายแคลลัสไปเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้น แคลลัสจึงพัฒนาไปเป็นต้นได้มากขึ้น โดยพันธุ์กุหลาบแดงจะใช้เวลาน้อยในการพัฒนาเป็นต้นดีกว่าพันธุ์หอมแดง ซึ่งอาหารที่เติม Kinetin ที่สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ดีที่สุด คือระดับความเข้มข้นที่ 1.0 mg/l ส่วนในระดับความเข้มข้นที่ 3 mg/l ไม่สามารถเกิดรากและยอดได้ในข้าวทั้ง 2 พันธุ์ แคลลัสจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มและดำ

จะเห็นได้ว่าการเกิด รากและยอดในข้าวทั้ง 2 พันธุ์ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม สารควบคุมการเจริญเติบที่พืชสร้างขึ้น หรือสารประกอบอื่น ๆ ลักษณะทางพันธุกรรมของพืช และองค์ประกอบของสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2530. อาหารจากข้าว.กลุ่มงานเคหกิจการเกษตร.กองพัฒนาการบริหารงานการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร.15 หน้า.

เครือวัลย์ อัตะวิริยะสุข.2536.คุณภาพเมล็ดข้าวทางกายภาพและการแปรสภาพเมล็ด.ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง.ฝ่ายฝึกอบรมสถาบันวิจัยข้าว.กรมวิชาการเกษตร.55 หน้า.

ชาญ มงคล.2536.เรื่องข้าว.ตำราเอกสารวิชาการ ฉบับที่63.ภาคพัฒนาตำราและเอกสารวิชาการ. หน่วยศึกษานิเทศก์กรมการฝึกหัดครู.149 หน้า.

ธิติรัชต์ สืบเนียม และ สุวิมล แป้มแหลม.2542.ผลของฮอร์โมนต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในชิ้นส่วนของปล้อง ใบอ่อนและใบแก่ของหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์60.ปัญหาพิเศษ ภาควิชาพืชไร่ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.43 หน้า.

นพพร สายัมพล.2543.เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืช.ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.109 หน้า.

นิพรรณศร คดีโลก และณหทัย ร่มแก้ว.2547.สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนต้นชมิ้น.ปัญหาพิเศษ ภาควิชาพืชไร่ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.35 หน้า.

บริบูรณ์ สมฤทธิ์.2542.ข้าวแดงหอมและมาตรฐานการปลูก.กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.30 หน้า.

บุญโฮม ชำนาญกุล.2535. ข้าวแดงหอม.ข่าวสารชมรมปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์พืชแห่งประเทศไทย. ปีที่ 5 ฉบับที่ 4 เดือนพฤศจิกายน 2535 หน้า 21.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประภา ศรีพิจิตต์ และพรทิพย์ ชีวเศรษฐธรรม.(2537).การพัฒนาไปเป็นต้นของแคลลัสที่เจริญมาจากคัพภะของข้าวหอม *(Oryza saztiva L.)* พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105.ว.เกษตรศาสตร์(วิทย). 28:27-37.

เผดิม ระติสุนทร,ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ,เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา,สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล และ เลิศ ลักษณ์เงินศิริ.(2536). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ .ว.เกษตรศาสตร์(วิทย.).27: 278 -285.

พรทิพย์ ธนูทอง.2528.วิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อ.มหาวิทยาลัยขอนแก่น.ขอนแก่น.112 หน้า.

ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา.2524.หลักและวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์. 109 หน้า.

มหาวิทยาลัยมหิดล.2541. รายงานผลการตรวจสอบวิเคราะห์ ตัวอย่างอาหาร. สถาบันวิจัยโภชนาการ. มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา.

รังสฤษฏ์ กาวีต๊ะ.2540.การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ : หลักและเทคนิค.(พิมพ์ครั้งที่ 2).สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ.219 หน้า.

ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก.2542. ข้าวแดงหอม สายพันธุ์ KDML105R-PSL-E14. แบบการเสนอพันธุ์พืชเพื่อพิจารณารับรองขึ้นทะเบียนพันธุ์พืช ของกรมวิชาการเกษตร ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก สถาบันวิจัยข้าว.5 หน้า.

สมปอง เตชะโต.2536.เทคโนโลยีชีวภาพพืชปลูก.(พิมพ์ครั้งที่ 2).สงขลา ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.201 หน้า.

สมเดช อิ่มมาก.ประวัติข้าวหอมแดงสายพันธุ์ KDML105R-PSL-E-6-1.เอกสารเผยแพร่ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก สถาบันวิจัยข้าว. 4 หน้า.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล,ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ,เผดิม ระติสุนทร,เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา,เลิศลักษณ์เงินศิริ และพรรณี รอดแรงบุญ.(2537).การเพาะเลี้ยงข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพปลอดเชื้อ.ว.เกษตรศษสตร์(วิทย.).28:92-98.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุริยันต์ ฉะอุ่ม,ศรีสม สุรวัฒนานนท์,กมลพรรณ นามวงศ์พรหม และเฉลิมชัย วงศ์วัฒนะ. (2540). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวพันธุ์นางมลเอส-4.ว.เกษตรศาสตร์(วิทย.).31:166-174.

อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม.2542.การตอบสนองของยีนในแคลลัสและเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์เหลืองประทิว 123 โดยอโกรแบคทีเรียม. ในรายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 37.ม.เกษตรศาสตร์

เอกสงวน ชูวิสิฐกุล.2544.เทคโนโลยีผลิตข้าวพันธุ์ดี.สถาบันวิจัยข้าว.กรมวิชาการเกษตร.123 หน้า.

De Datta,S.K. 1981.Principle and practices of rice production. John Wiley & Sons,Inc.618 p.

Jenet,R.A.Seabrook.1980.Transformation of indica rice (*Oryza sativa L.*).Plant Cell Physiol.33:577-583.

Ketchum,H.R.,R.R.,Patel and T.A. Thorpe.1987. Regeneration of mulberry plantets througt tissue culture.Bot.GRAZ.,146,355-340.

Murashige,T. and F.Skoog.1962.A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture.Physiologia Pl.15:473-497.

Siriwardana,N.B. and Narbos.1983. A glyphosate tolerance plant tissue culture.pp 145-159.

Skoog,F.and C.D.Miller.1957.Chemical regeneration of growth and organ formation *in vitro*.Symp.Soc.Exp.Biol.11:118-131.

Yoshida,C.H., J.M.A. Inhram and R.L.,Wain.1952. B-oxidation of phenoxyallyl carboxylic acid in plant tissue.Nature.181:1387-1389.

Weaver,R.J.1972.Plant Growth Substances in Agriculture.Freeman,San Francisco.594 p.

WWW.sripatum.ac.th/online/preeya/stimulus.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้