21153

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง
ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

ผลของฮอร์โมนต่อการพัฒนาแคลลัสในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวปทุมธานี 1

Effect of Hormone on Induction of Rice Varieties Khao Dawk Mali and Patumthani 1

T099894

โดย

นางสาวนฤมล อาจอา

สาขาวิชาพืชไร่

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปพ.
ผ076ผ
ว547

เลขหมู่.....99894.....
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

ผลของฮอร์โมนต่อการพัฒนาแคลลัสในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ
ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวปทุมธานี 1
Effect of Hormone on Induction of Rice Varieties Khao Dawk Mali and Patumthani 1

โดย

นางสาวนฤมล อาจลา

ได้รับความเห็นชอบโดย

.....

(อาจารย์วิชัย ฉิ้มกาญจนพงศ)
อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รศ.ดร.สมยศ เดชภิรัตนมงคล)
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีผลิตพืช

วันที่ 13 **เดือน** ธ.ค. **พ.ศ.2548**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ผู้ทำการวิจัยขอกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ อาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาให้คำแนะนำช่วยเหลือทั้งในด้านความรู้ หนังสือค้นคว้า อุปกรณ์ต่างๆ รวมทั้งสถานที่ทำการศึกษาทดลองและยังช่วยแก้ปัญหาต่างๆที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลองตลอดเวลา

ขอขอบคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ทดลอง เครื่องมือและอุปกรณ์ที่จำเป็นต่างๆ

กราบขอบพระคุณบิดา มารดาที่ให้การสนับสนุนในทุกๆ ด้าน ไม่ว่าจะเป็นค่าใช้จ่ายหรือความสะดวกในการเดินทางไปศึกษาหาข้อมูลหรือวัสดุนอกสถานที่

นางสาวนฤมล อาจลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง : ผลของฮอร์โมนต่อการพัฒนาแคลลัสในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวปทุมธานี 1

Effect of Hormone on Induction of Rice Varieties Khao Dawk Mali 105 and Patumthani 1

โดย : นางสาวนฤมล อาจลา

สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืชฯฯ

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

อาจารย์ที่ปรึกษา: อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ

บทคัดย่อ

การศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ข้าว เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสม โดยการนำเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และปทุมธานี 1 มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS+2,4-D ในปริมาณความเข้มข้นต่างๆ กัน ผลการทดลองหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรการชักนำและเพิ่มปริมาณให้เกิดแคลลัสเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า การตอบสนองสูงสุดของการเกิดแคลลัสได้มาจากอาหารที่เติม 2,4-D 2 mg/l รองลงมาคือ สูตรอาหารที่เติม 2,4-D 4 mg/l แล้วนำแคลลัสที่ได้มาพัฒนาให้เกิดเป็นรากและยอดเพื่อพัฒนาไปเป็นต้น โดยการนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS+Kinetin ในปริมาณความเข้มข้นต่างๆ กัน ผลการทดลองพบว่า ในสูตรอาหารที่ไม่เติม Kinetin แคลลัสสามารถพัฒนาไปเป็นรากได้ดีมากและในระดับความเข้มข้นที่ 1และ 2 mg/l จะพบว่า แคลลัสเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title :Effect of Hormone on Induction of Rice Varieties Khao Dawk Mali 105 and Patumthani 1

Anthor : Miss Narumol Ad-La

Major : Agronomy

Department : Plant Production of Technology

Faculty : Agricultural of Technology

Advisor : Mr. Vichai Limkarchanaphong

Abstract

To study method induction medium of rice. For search the suitable medium, which conduct the seeds of rice varieties Khao Dawk Mali 105 and Patumthani 1. There were cultured on MS agar medium supplemented with 2,4-D concentrated. Effect of growth regulators was found that the seeds culture for callus induction growth in 8 weeks. It was found that the best respond of suitable callus induction medium containing 4.0 mg/l (2,4-D). Next medium was 2.0 mg/l (2,4-D). Which conduct medium 0 (Kinetin) was able to development induce the highest roots. In concentrated medium 1.0 and 2.0 mg/l (Kinetin) was able to green group cell on callus.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ก
สารบัญภาพ	ข
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	15
ผลการทดลอง	19
วิจารณ์ผลการทดลอง	27
สรุปผลการทดลอง	29
เอกสารอ้างอิง	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงเปอร์เซ็นต์การรอดของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ปทุมธานี หลังจากผ่านการฟอกฆ่าเชื้อได้ 5 วัน	19
2	แสดงผลของการชักนำเมล็ดให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์	20
3	แสดงผลของการเพิ่มปริมาณแคลลัส หลังจากการนำแคลลัสจากผลการทดลองตอนที่ 2 ย้ายลงมาเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมอีกครั้ง เป็นเวลา 4 สัปดาห์	24
4	แสดงผลของการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นต้นของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และปทุมธานี1 ในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ที่มีความเข้มข้นต่างๆ กัน	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ภาพแสดงลักษณะการพัฒนาของเมล็ดข้าวในอาหารสูตรที่เติม 2,4-D	21
1.1	- เมล็ดพัฒนาเป็นยอดและราก	
1.2	- เมล็ดพัฒนาเป็นยอดและแคลลัส	
2	ภาพแสดงระดับคะแนนตามขนาดของแคลลัสที่ได้จากการพัฒนาของเมล็ดข้าวหลังจากเพาะเลี้ยงไปแล้ว 4 สัปดาห์	21
3	ภาพแสดงการเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในอาหารสูตร MS ที่มีสารเร่งการเจริญเติบโต 2,4-D ในความเข้มข้น ต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	22
4	ภาพแสดงการเจริญเติบโตของแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร MS ที่มีสารเร่งการเจริญเติบโต 2,4-D ในความเข้มข้น ต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	22
5	ภาพแสดงระดับคะแนนการเพิ่มปริมาณแคลลัสหลังจากเพาะเลี้ยงต่ออีก 4 สัปดาห์	23
6	ภาพแสดงการเจริญเติบโตและพัฒนาของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ข้าวปทุมธานี1 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี Kinetin	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ข้าว *(Oryza sativa* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญที่สุดของประเทศไทย นอกจากจะใช้บริโภคแล้ว ยังเป็นสินค้าส่งออกทำรายได้ให้แก่ประเทศ แต่ปัจจุบันยังประสบปัญหาด้านคุณภาพและปริมาณของผลผลิต ซึ่งมีสาเหตุจากโรคและแมลง รวมไปถึงความแปรปรวนด้านพันธุกรรมและปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมต่างๆที่ทำให้ผลผลิตตกต่ำ จึงมีการส่งเสริมให้มีการวิจัยด้านต่างๆ เพื่อปรับปรุงพันธุ์ข้าว

ปัจจุบันเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้เข้ามามีบทบาทต่อการปรับปรุงพันธุ์พืชมากขึ้น เช่น ย่นระยะเวลาในการผลิตสายพันธุ์แท้หรือสร้างสายพันธุ์ที่ปลอดจากเชื้อไวรัส หรือสร้างสายพันธุ์ที่มีลักษณะพึงประสงค์ เช่น สายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคหรือแมลงบางชนิด อย่างไรก็ตามการจะใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้เกิดผลดังกล่าว จำเป็นจะต้องศึกษาข้อมูลพื้นฐานเสียก่อน ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวเพื่อจะนำไปใช้ประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ จำเป็นต้องศึกษาข้อมูลพื้นฐานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวได้รับการพัฒนาอย่างรวดเร็ว ชิ้นส่วนของต้นเกือบทุกส่วนสามารถจะนำมาเพาะเลี้ยงสร้างแคลลัสได้ เมื่อย้ายแคลลัสที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสม สามารถพัฒนาไปเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์ได้

การศึกษาครั้งนี้ เพื่อเป็นเทคนิคขั้นพื้นฐานในการทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัส การเพิ่มปริมาณแคลลัส การชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวต่อไป

ผู้จัดทำ

นฤมล อาจลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาอิทธิพลฮอร์โมน 2,4-D ในระดับต่างๆกันที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวขาว
2. เพื่อศึกษาการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากแคลลัสของข้าวขาวที่ระดับฮอร์โมนต่างๆกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

นพพรและคณะ (2542) กล่าวว่าข้าวเป็นพืชล้มลุกที่มีใบเลี้ยงเดี่ยว ข้าวที่ปลูกเป็นอาหารของมนุษย์มีอยู่ด้วยกัน 2 ชนิด คือ *Oryza sativa* ปลูกมากในเอเชียและ *Oryza glaberrima* ปลูกมากในแอฟริกาตะวันตก ข้าวทั้งสองชนิดนี้แตกต่างกันที่ข้าวแอฟริกาไม่มีการแตกระแง้ที่สองจากระแง้แรกของรวงข้าว ในปัจจุบันเอเชียได้รับความนิยม และมีผู้นำไปปลูกแทนข้าวแอฟริกามากขึ้น ข้าวเอเชียที่ปลูกกันในปัจจุบันแบ่งเป็น 3 พวกดังนี้

1. อินดิคา (indica) เมล็ดยาวเรียว ผลผลิตค่อนข้างต่ำ ตอบสนองต่อปุ๋ยน้อย แต่ปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดี ปลูกมากในเขตร้อนของทวีปเอเชีย เช่น ไทย ฟิลิปปินส์ กัมพูชา และอินเดีย

2. จาปอนิคา (japonica) เมล็ดป้อมสั้น ผลผลิตสูง ตอบสนองต่อปุ๋ยสูง ปลูกมากใน เขตกึ่งร้อน หรืออบอุ่น เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี และจีนตอนเหนือ

3. จาวานิคา (javanica) เมล็ดค่อนข้างป้อมอ้วน ผลผลิตต่ำ ปลูกมากในอินโดนีเซียและพม่า

นอกจากกลุ่มย่อยทั้งสามกลุ่มอาจมีการแบ่งกลุ่มย่อยของข้าวเพิ่มขึ้นอีกเป็น กลุ่มจาปอนิกาเขตมรสุม ข้าวเหนียว และ ข้าวหอม

การจำแนกชนิดข้าว

นพพรและคณะ (2542) กล่าวว่าพันธุ์ข้าวที่กรมส่งเสริมการเกษตรแนะนำให้ชาวนาใช้ปลูกจำแนกตามปัจจัยแวดล้อมและคุณลักษณะบางประการได้ดังนี้

1. จำแนกตามคุณสมบัติทางเคมีภายในเมล็ด

1.1 ข้าวเจ้า (non-glutinous rice) ประกอบด้วยแป้ง (starch) ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแป้งนี้มีส่วนประกอบใหญ่ๆ 2 ส่วนด้วยกันคือ amylopectin 60 - 90 เปอร์เซ็นต์และ amylose 10 - 30 เปอร์เซ็นต์

1.2 ข้าวเหนียว (glutinous rice) ประกอบด้วย amylopectin ถึง 95 เปอร์เซ็นต์ มี amylose น้อยมาก บางครั้งพบว่าไม่มีเลย

2. จำแนกตามสภาพพื้นที่ปลูก

2.1 ข้าวไร่ (upland rice) คือข้าวที่ปลูกได้ทั้งบนที่ราบและลาดชัน ไม่ต้องทำคันนากักเก็บน้ำ การเตรียมดินปลูกกระทำในขณะที่ดินแห้งพอประมาณ ปลูกโดยการหว่าน หยอดเป็นหลุมหรือโรยเป็นแถว แต่ต้องปลูกในฤดูการทำนาปี นิยมปลูกกันมากในบริเวณที่ราบสูง ตามไหล่เขาทั้งทางภาคเหนือ ใต้ ตะวันออก และตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย คิดเป็นเนื้อที่เพาะปลูกประมาณร้อยละ 10 ของเนื้อที่ปลูกข้าวทั่วประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ข้าวนาสวน (lowland rice) คือข้าวที่ปลูกในที่ราบลุ่มทั่วๆไป ในสภาพที่สามารถจะรักษาระดับน้ำหล่อเลี้ยงสูงไม่เกิน 1 เมตร นิยมปลูกมากแทบทุกภาคของประเทศไทย คิดเป็นเนื้อที่ปลูกประมาณร้อยละ 80 ของเนื้อที่ปลูกข้าวทั่วประเทศ

2.3 ข้าวขึ้นน้ำหรือข้าวนาเมือง (floating rice) คือข้าวที่ปลูกกันในแหล่งที่ไม่สามารถรักษาระดับน้ำได้ เนื่องจากข้าวพวกนี้มีลักษณะพิเศษในการยืดตัวหนีน้ำได้ ส่วนมากปลูกกันแถบจังหวัดอยุธยา สุพรรณบุรี ลพบุรี พิจิตร อ่างทอง ชัยนาท และสิงห์บุรี คิดเป็นเนื้อที่ปลูกประมาณร้อยละ 10 ของเนื้อที่ปลูกข้าวทั่วประเทศ

3. จำแนกตามอายุการเก็บเกี่ยว

3.1 ข้าวเบา (early variety) คือข้าวที่มีอายุการเก็บเกี่ยว 90 - 100 วัน

3.2 ข้าวกลาง (medium variety) คือข้าวที่มีอายุการเก็บเกี่ยว 100 - 120 วัน

3.3 ข้าวหนัก (late variety) คือข้าวที่มีอายุการเก็บเกี่ยว 120 วันขึ้นไป

4. จำแนกตามลักษณะความไวต่อช่วงแสง

4.1 ข้าวที่ไวต่อช่วงแสง (photoperiod sensitive variety) ข้าวพวกนี้มีอายุการเก็บเกี่ยวไม่แน่นอนเพราะจะออกดอกในช่วงเดือนที่มีความยาวของกลางวันสั้นกว่ากลางคืน ในประเทศไทยช่วงดังกล่าวเริ่มเดือนตุลาคม ฉะนั้นข้าวพวกนี้จะต้องปลูกในฤดูนาปีเท่านั้น

4.2 ข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง (non-photoperiod sensitive variety) ข้าวพวกนี้มีอายุการเก็บเกี่ยวที่แน่นอน ออกดอกและเก็บเกี่ยวได้เมื่อครบอายุการเจริญเติบโตโดยที่ช่วงแสงจะไม่มีอิทธิพลในการบังคับให้ออกดอกจึงสามารถปลูกได้ทุกฤดูกาล แต่ไม่ควรปลูกให้ช่วงเก็บเกี่ยวอยู่ในระยะที่มีฝนตกชุก เพราะจะทำให้ข้าวเปลือกมีความชื้นสูง

5. จำแนกตามรูปร่างของเมล็ดข้าวสาร

5.1 ข้าวเมล็ดสั้น (short grain) ความยาวไม่เกิน 5.50 มิลลิเมตร

5.2 ข้าวเมล็ดยาวปานกลาง (medium-long grain) ความยาว 5.51 - 6.60 มิลลิเมตร

5.3 ข้าวเมล็ดยาว (long grain) ความยาว 6.61 - 7.50 มิลลิเมตร

5.4 ข้าวเมล็ดยาวมาก (extra-long grain) ความยาวมากกว่า 7.50 มิลลิเมตรขึ้นไป

6. จำแนกตามฤดูปลูก

6.1 ข้าวนาปี หรือข้าวนาน้ำฝน (rainfed rice) คือข้าวที่ปลูกในฤดูการทำนา

6.2 ข้าวนาปรัง (off-season rice) คือข้าวที่ปลูกนอกฤดูการทำนาปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมล็ดข้าว (นิรนาม, 2547)

ข้าวสารที่เราบริโภคนั้น มีเมล็ดสีขาว ค่อนข้างใส ส่วนข้าวเปลือกก็มีสีเหลือง เมื่อรวงข้าวสุกก็จะมีการเก็บเกี่ยวผ่านกระบวนการนวดข้าว เพื่อให้เมล็ดข้าวหลุดออกจากรวง และมาถึงกระบวนการสีเพื่อกะเทาะเปลือกด้านนอกออก และขัดชั้นเยื่อหุ้มต่างๆ จนได้เมล็ดข้าวสารขาวๆ เชื่อหรือไม่ว่าจากเปลือกนอกสีเหลืองถึงเนื้อข้าวสารขาวที่อยู่ด้านในสุด มีด่านเยื่อหุ้มที่ต้องถูกกำจัดออกไปถึงเจ็ดชั้น

ชั้นนอกสุดหรือเปลือกนอก เรียกว่า แกลบ ที่จริงแล้วแกลบคือใบประดับที่เปลี่ยนรูปมา แกลบมี 2 แผ่น แผ่นหนึ่งใหญ่และอีกแผ่นหนึ่งเล็ก เปลือกเมล็ดข้าวทั้งสองแบบจะซ้อนกันหลวมๆและจะหลุดออกอย่างง่ายดายเมื่อมีการกะเทาะ และที่ด้านนอกของเปลือกจะมีขนแหลมปกคลุมด้วย นอกจากเปลือกแล้ว ที่ส่วนนอกยังมี ขั้วเมล็ดและกลีบรองเมล็ด เมื่อเปลือกนอกหลุดออกไป จะได้ข้าวที่เรียกว่า ข้าวกล้อง เมื่อชั้นแกลบหลุดออก ก็ยังมีชั้นต่างๆปกคลุมอีกหกชั้นกว่าจะถึงตัวแป้งด้านใน โดยสามชั้นแรกเป็นส่วนเยื่อหุ้มผล (pericarp) เยื่อเหล่านี้จะทำหน้าที่ป้องกันการซึมของออกซิเจนคาร์บอนไดออกไซด์ หรือไอน้ำ และยังป้องกันการทำลายของเชื้อราอีกสองชั้นถัดมาเป็นชั้นของ เยื่อหุ้มเมล็ด จะมีเนื้อเยื่อสองชั้นเรียงกันเป็นแถวและชั้นในสุดก็เป็นชั้นเยื่อหุ้มเมล็ดคือ เยื่ออะลูโรน (aleurone) ชั้นทั้งหกที่ถูกขัดสีออกมานี้รวมกัน เรียกว่า รำข้าว และส่วนที่อยู่ในสุดคือ ส่วนที่เป็นแป้ง

นอกจากกำแพงเจ็ดชั้นที่กล่าวมาแล้ว ยังมีอีกองค์ประกอบหนึ่งที่สำคัญเรียกว่า คัพภะ (embryo) หรือจมูกข้าว อันเป็นที่อยู่ของต้นอ่อน รากอ่อน เยื่อหุ้มต้นอ่อน เยื่อหุ้มรากอ่อน ท่อน้ำ ท่ออาหาร และใบเลี้ยง เป็นส่วนที่มีโปรตีนและไขมันสูง

ข้าวต่างพันธุ์กันจะมีสีของเมล็ดที่แตกต่างกันไป ตั้งแต่สีของเปลือกนอกไปจนถึงชั้นเยื่อหุ้มด้านใน ส่วนที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนที่สุดคือ ชั้นที่เป็นข้าวกล้อง ซึ่งอาจจะเป็นสีขาว แดง น้ำตาลเข้ม น้ำตาลเทาและม่วงเกือบดำ แต่ไม่ว่าสีของข้าวกล้องจะเป็นสีอะไร ส่วนที่เป็นแป้งจะมีสีขาวเสมอ

เมื่อสีข้าวจนเหลือแต่เมล็ดข้าวสารขาว เราอาจสังเกตเห็นว่า ข้าวบางเมล็ดจะมีสีขาวขุ่นอยู่ภายใน จุดขาวขุ่นนี้เรียกว่า ท้องไข่ หรือ ท้องปลาชิว ซึ่งเป็นลักษณะที่เกิดจากการจับตัวของเมล็ดแป้งกับโปรตีน ในส่วนที่เป็นแป้งข้าวสาร และถูกควบคุมโดยกรรมพันธุ์และสิ่งแวดล้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้าวหอม (นิรนาม, 2547)

เราคงคุ้นหูกับคำว่า "ข้าวหอมมะลิ" กันเป็นอย่างดี ข้าวหอมมะลิเป็นข้าวคุณภาพสูง ลักษณะข้าวเปลือกเรียวยาว เมื่อสีเป็นข้าวสารจะได้ข้าวเมล็ดเรียว ยาว ขาวใสเป็นเงา แกร่งและมีท้องไข่น้อย ถ้าเป็นข้าวสารที่มีกลิ่นหอม (คล้ายใบเตย) ขณะที่ข้าวกำลังเดือดอยู่ในหม้อ ก็จะส่งกลิ่นหอมออกมากับไอน้ำ เมื่อหุงเป็นข้าวสุกจะมีรสชาติดี ข้าวหอมมะลิเป็นข้าวที่มีอมัยโลสต่ำ ทำให้ข้าวสุกมีความอ่อนนุ่ม ชื่ออย่างเป็นทางการคือ ขาวดอกมะลิ 105

ปัจจุบันพันธุ์ข้าวหอมของไทยมิได้มีแค่ข้าวขาวดอกมะลิ 105 เพียงอย่างเดียวเท่านั้น แต่ยังมีข้าวพันธุ์อื่นๆ ที่จัดเป็นข้าวหอม ได้แก่ พันธุ์ กข. 5 พันธุ์พิษณุโลก 1 พันธุ์คลองหลวง 1 พันธุ์หอมสุพรรณ และ พันธุ์ปทุมธานี 1 โดยข้าวแต่ละพันธุ์ จะเหมาะสมกับสภาพพื้นที่ที่แตกต่างกันไปในแต่ละภาคของประเทศไทย

การวิจัยข้าว (นิรนาม, 2547)

การวิจัยข้าวมีเป้าหมายเพื่อพัฒนาข้าวให้ดีขึ้น คำว่า "ดี" ในที่นี้รวมลักษณะหลายๆประการไว้ด้วยกัน เป็นต้นว่า ให้ผลผลิตสูง เหมาะสมกับพื้นที่ปลูก มีความต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูข้าว มีความต้านทานต่อสภาพแวดล้อมที่ผิดปกติ และยังคงคุณภาพไว้ดีเหมือนเดิมหรือดีกว่าเดิม

การวิจัยเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวมีหลายวิธี เช่น การนำพันธุ์ข้าวจากท้องที่ต่างๆ เข้ามาปลูก เช่น นำข้าวหอมจากบางคล้า ฉะเชิงเทราไปปลูกที่สุรินทร์ ทำให้เกิดการแพร่หลาย การคัดเลือกพันธุ์ การนำพันธุ์มาปลูกทดสอบและเปรียบเทียบเพื่อคัดเลือก การผสมพันธุ์โดยนำพันธุ์ที่มีลักษณะดีคนละอย่างมาผสมกันเพื่อได้ลักษณะดีต่างๆ เอาไว้ในต้นพันธุ์เดียวกัน โดยจะคัดที่ชั่วรุ่นที่ 5 - 6 และการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมโดยใช้สารเคมีหรือรังสี เช่นรังสีเอกซ์ รังสีแกมมา

แต่การปรับปรุงพันธุ์ การคัดเลือกแบบเดิมนั้นใช้เวลานานกว่าสิบปี ถึงจะทำให้ประเทศไทยมีพันธุ์ข้าวใหม่เพิ่มขึ้นมา แต่ปริมาณผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ก็ยังคงต่ำกว่าประเทศคู่แข่ง จึงยังคงต้องมีการเร่งวิจัยพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ให้ได้ผลผลิตสูง และต้านทานสภาวะต่างๆได้ดี และเครื่องมือที่จะช่วยพัฒนาข้าวไทยให้มีคุณลักษณะดีๆหลายอย่างได้ ก็คือเทคโนโลยีชีวภาพ โดยเน้นไปที่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและอณูชีววิทยา ซึ่งจะช่วยเร่งกระบวนการต่างๆให้เร็วขึ้นและสามารถพัฒนาพันธุ์ข้าวที่มีหลายลักษณะรวมอยู่ในพันธุ์เดียวกันได้

วิฑูรย์และนิรมล (2545) กล่าวว่า **ข้าวขาวดอกมะลิ** หรือที่คนไทยเรียกกันสั้นๆ ว่า **ข้าวหอมมะลิ** ถูกรวบรวมมา 199 รวง โดยรวบรวมมาจาก อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา แต่ไม่ได้บันทึกไว้ว่า ข้าวพันธุ์นี้มีที่มาจากบ้านแหลมประดู่ ชุมชนซึ่งตั้งอยู่บริเวณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รอยต่อระหว่าง อำเภอบ้านโพธิ์ จังหวัดฉะเชิงเทรา และ อำเภอพนัสนิคม จังหวัด ชลบุรี ไปปลูกที่บางคล้าเมื่อปี 2488

ข้าวแต่ละรวงต้องนำเอามาปลูกเป็นแถวๆ โดยสลับกับ **พันธุ์ข้าวนางมน** ซึ่งเป็นข้าวพันธุ์ดีที่รู้จักในขณะนั้น ปรากฏว่าข้าวขาวดอกมะลิแถวที่ 105 เป็นพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะดีที่สุดและให้ผลผลิตดีที่สุด นี่คือที่มาของ **ขาวดอกมะลิ 105** พันธุ์ข้าวที่มีชื่อเสียงมากที่สุดของโลกในปัจจุบัน (วิฑูรย์และนิรมล , 2545)

ลักษณะประจำพันธุ์ของพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 (วิฑูรย์และนิรมล,2545)

เป็นข้าวต้นสูงนาปี หรือที่เรียกว่า ข้าวไวแสงหรือไวต่อช่วงแสง ลักษณะลำต้นและใบค่อนข้างเล็ก สีเขียวอ่อน ความสูงลำต้น 140 – 150 ซม. ทนความแห้งแล้ง ทนดินเปรี้ยว ดินเค็มได้ดี ผลผลิตสุกแก่และเก็บเกี่ยวได้ประมาณวันที่ 25 พ.ย. ลักษณะข้าวเปลือกยาวรี น้ำหนักเบา ส่วนข้าวสารจะขาวใสเลื่อมมัน แข็งแกร่ง เมล็ดเรียวยาวบิดเล็กน้อย ความยาวเฉลี่ยไม่น้อยกว่า 7 มม. ความกว้างเฉลี่ยไม่เกิน 2.2 มม. และมีส่วนประกอบของอมัยโลส 13 – 18 %

ข้าวปทุมธานี 1 (ธีรพร,2543)

ปทุมธานี 1 หรือสายพันธุ์ PTT90071-93-8-1-1 เป็นข้าวที่คัดเลือกได้จากการผสมข้าวพันธุ์ข้าวระหว่างสายพันธุ์ข้าวหอม BKNA6-18-3-2 และ PTT85061-86-3-2-1 ที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ในฤดูนาปรัง ปี พ.ศ.2533 สายพันธุ์แม่และพ่อมีลักษณะความหอมที่ได้มาจากข้าวพันธุ์ กข 15 หรือขาวดอกมะลิ 105 กลายพันธุ์ อายุเบาและข้าวหอมมะลิที่ชนะการประกวด เมื่อปี พ.ศ.2525 ได้ปลูกคัดเลือกพันธุ์แบบสืบตระกูลหรือจดประวัติ (pedigree method) จนถึงชั่วรุ่น (gemeration) ที่ 6 แล้วจึงปลูกศึกษาลักษณะความดีเด่นของพันธุ์ในปี พ.ศ.2536 ปลูกเพื่อประเมินผลผลิตในงานเปรียบเทียบผลผลิตภายในสถานีและระหว่างสถานี ระหว่างปี พ.ศ.2537 ถึง 2539 ที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี และสถานีทดลองในเครือข่ายรวม 5 แห่ง ได้รับการพิจารณาคัดเลือกให้เป็นข้าวสายพันธุ์ดีเพื่อนำไปทดสอบผลผลิตในนาราษฎร์ของภาคกลาง รวม 8 จังหวัด ตั้งแต่ปี 2540 และได้รับการพิจารณาเป็นหนึ่งในสายพันธุ์ดีเด่นของศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ปลูกขยายพันธุ์เป็นข้าวพันธุ์ดัก (anticipated breeder seed) ตั้งแต่พ.ศ. 2541 และเสนอให้กรมวิชาการเกษตร พิจารณาให้เป็นพันธุ์รับรองในปี พ.ศ.2543 ให้ชื่อพันธุ์ว่า "ปทุมธานี 1 "

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะเด่น (ธีรพร,2543)

1. เป็นพันธุ์ข้าวเจ้าหอมไม่ไวต่อช่วงแสง ต้นเตี้ย ปลูกได้ทั้งในฤดูนาปีและฤดูนาปรัง
2. เมล็ดเรียวยาว คล้ายพันธุ์ข้าวหอมขาวดอกมะลิ 105 เป็นข้าวหุงสุกง่าย มีลักษณะนุ่มเหนียวเช่นเดียวกับข้าวหอมมะลิ
3. ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ค่อนข้างต้านทานเพลี่ยกระโดดหลังขาว โรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง
4. ให้ผลผลิตค่อนข้างสูง

ข้าวปทุมธานี 1 มีอายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 104 - 126 วัน ต้นสูง 104 - 133 ซม. ใบธงยาว ค่อนข้างแก่ช้า คอรวงสั้น เมื่อรวงข้าวสุกใกล้เก็บเกี่ยว รวงจะอยู่ใต้ใบธง ข้าวเปลือก 1,000 เมล็ด มีน้ำหนักเฉลี่ย 27 กรัม น้ำหนักข้าวเปลือกต่อถัง 10.52 กิโลกรัม ค่าดัชนีเก็บเกี่ยว 0.46 ระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 3 - 4 สัปดาห์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชวิธีหนึ่ง แต่มีการปฏิบัติภายใต้สภาพที่ควบคุมเรื่องความสะอาดแบบปลอดเชื้อ อุณหภูมิและแสง ด้วยการนำชิ้นส่วนของพืช ที่ยังมีชีวิต เช่น ลำต้น ยอด ตาข้าง ก้านช่อดอก ใบ ก้านใบ อับละอองเกสร เป็นต้น มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์และชิ้นส่วนนั้นสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ มีทั้งส่วนใบ ลำต้น และรากที่สามารถนำออกปลูก ในสภาพธรรมชาติได้ (ยุพา,2527)

การเพาะเลี้ยงแคลลัส (รังสฤษฏ์,2540)

แคลลัส หมายถึง เซลล์ที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม โดยที่ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นอวัยวะหรือเนื้อเยื่อชนิดต่างๆ แคลลัสประกอบด้วยเซลล์พาเรนไคมา (parenchyma) เพียงอย่างเดียว มีขนาดต่างๆกัน มีรูปร่างไม่แน่นอน ภายในเซลล์มีเปอร์เซ็นต์ของแวคคิวโอลจำนวนมาก ส่วนใหญ่ไม่มีรงควัตถุ แต่อาจมีสีเขียวเนื่องจาก มีคลอโรฟิลล์ สีเหลืองเพราะมีแคโรทีนอยด์ และฟราโวนอยด์ หรือสีม่วงจากแอนโทไซยานิน แคลลัสที่เซลล์เกาะตัวกันแน่น เราเรียกว่า **compact callus** ถ้าเซลล์เกาะกันอย่างหลวมๆ เรียกว่า **friable callus**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยง (รังสฤษฎ์,2540)

ชิ้นส่วนพืชที่ใช้ควรมีสภาพที่เหมาะต่อการชักนำการเกิดแคลลัส กล่าวคือเป็นชิ้นส่วนที่มีเนื้อเยื่อเจริญจากเนื้อเยื่อที่มีอายุน้อย ในทางปฏิบัตินิยมใช้เนื้อเยื่อจากเมล็ดที่เพาะให้งอกในสภาพปลอดเชื้อให้เกิดส่วนของราก ยอด และใบอ่อน ซึ่งเมล็ดเป็นแหล่งที่ดีที่สุดในการให้ชิ้นส่วนพืชเพื่อเลี้ยงเป็นแคลลัส เพราะ

1. สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้โดยตรง โดยเพาะเมล็ดบนอาหารวุ้นที่เติมสารกระตุ้นการการเจริญเติบโต
2. เมื่อเพาะเมล็ดให้งอกในอาหารวุ้นที่ปราศจากหรือมีสารกระตุ้นการเจริญเติบโตเพียงเล็กน้อย จะชักนำให้เกิดส่วนของราก ยอด และใบที่ปลอดเชื้อ ใช้เป็นชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงแคลลัสต่อไป
3. ขณะเดียวกันสามารถแยกเอาเนื้อเยื่อส่วนของรากและปลายยอด ออกมาจากเมล็ดได้โดยตรง

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั่น หมายถึง สามารถขยายพันธุ์พันธุ์พืชได้จำนวนมากมาย หรือสามารถเพิ่มผลผลิตได้ตามที่ต้องการ สิ่งที่สำคัญที่นำไปสู่ความสำเร็จนั้นคืออาหารที่ใช้ไปสำหรับการเพาะเลี้ยง (บุญยืน,2540) อาหารที่นิยมใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมากที่สุดคืออาหารที่ดัดแปลงมาจากอาหารที่ใช้ได้ดีในการเลี้ยงกลุ่มเซลล์หรือแคลลัส ทั้งนี้เนื่องจากการเลี้ยงแคลลัสของพืชส่วนใหญ่เกือบทุกชนิดทำได้ง่ายกว่าการเลี้ยงจากส่วนอื่นๆ แคลลัสเหล่านี้ได้จากการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหารกึ่งแข็ง (semi-solid medium) ที่อย่างน้อยที่สุดประกอบด้วยเกลือของธาตุอาหารที่ต้องการครบคือ สารประกอบอนินทรีย์ (inorganic substances หรือ inorganic salts) และสารประกอบอินทรีย์ (organic substances) ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง (รังสฤษฎ์,2540)

โดยทั่วไปอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะประกอบด้วยองค์ประกอบต่างๆดังนี้

1. สารอนินทรีย์ : ธาตุอาหารที่จำเป็น

ได้แก่ N P K Ca Mg Fe S Mn Co Zn Cu Mo B C H O

2. สารอินทรีย์ : น้ำตาล วิตามิน
3. สารเร่งการเจริญเติบโต (growth regulators)

คำนูญ (2542) ได้กล่าวไว้ว่าการเติมสารที่ช่วยการเจริญลงไปในอาหารนับว่ามีความสำคัญที่จะช่วยให้เนื้อเยื่อเจริญได้ดีขึ้น เช่น ออกซิน (auxin) ไซโตไคนิน (cytokinin) และจิบเบอเรลลิน (gibberellin) อย่างไรก็ตามความต้องการของเนื้อเยื่อต่อสารเหล่านี้ก็แตกต่างกันไป และเชื่อว่ามันยังเกี่ยวข้องกับระดับของฮอร์โมนที่มีอยู่ภายในด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนูญ (2542) กล่าวว่าออกซิน (auxin) มีหน้าที่ช่วยในการยืดตัวของเซลล์, ส่งเสริมหรือชักนำการแบ่งเซลล์, ช่วยในเรื่องการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์, เพิ่มอัตราการสังเคราะห์แสงโดยเพิ่มการสังเคราะห์ mRNA ในนิวเคลียส, ออกซินบริเวณปลายยอดควบคุมการแตกออกของตาข้าง และบุญยืน (2540) ได้กล่าวถึงว่าในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีการนำเอาออกซินไปใช้ในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเกิดราก ออกซินที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีดังต่อไปนี้

IAA (Indoleacetic acid) IBA (Indole-3-butyric acid) NAA (Naphthalene acetic acid) NOA (Naphthoxyacetic acid) p-CPA (para-Chlorophenoxyacetic acid) 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxy acetic acid) 2,4,5-T (2,4,5-Trichlorophenoxy acetic acid)

ไซโทไคนิน (cytokinin) มีหน้าที่ช่วยในการเร่งการแบ่งเซลล์, ช่วยในกระบวนการเปลี่ยนสภาพของเซลล์, ช่วยชะลอการแก่ในใบ, ช่วยการขยายตัวของเซลล์, ชักนำการสังเคราะห์รงควัตถุ (คำนูญ,2542) การเติมไซโตไคนินลงไปในอาหารที่เพาะเลี้ยงก็เพื่อช่วยให้กระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเปลี่ยนแปลงไปเป็นหน่อเล็กๆ (adventitious shoo) จากส่วนของแคลลัสหรืออวัยวะที่เพาะเลี้ยง ไซโตไคนินที่นิยมใช้มีดังต่อไปนี้ BAP (Benzylamino purine) 2,iP (Isopentonyl-adenine) Kinetin (6-Furfurylamino purine) (บุญยืน,2540)

นพดล (2537) บอกว่าหน้าที่หลักของ ไซโตไคนิน คือ การส่งเสริมการแบ่งเซลล์จากงานทดลองของ Skoog และเพื่อนร่วมงาน ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยมีการใช้ ออกซินร่วมด้วย จะพบเซลที่เป็น polyploid ที่เรียกว่าแคลลัส (callus) Skoog ยังพบอีกว่า อัตราส่วน (ratio) ของไซโตไคนินต่อออกซิสูง เซลล์ต่างๆที่ถูกสร้างขึ้นในแคลลัส จะมีการแบ่งเซลล์และเริ่มพัฒนา (develop) ไปเป็นตา ลำต้นและใบ หากอัตราส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินต่ำจะมีการเกิดรากได้ดีกว่า

วิถีทางของแคลลัส ที่จะพัฒนาไปเป็นต้นใหม่นั้นมีความแตกต่างกัน โดยทั่วไปมักต้องการอัตราส่วนไซโตไคนินต่อออกซินสูง และระบบลำต้นจะพัฒนาขึ้นมาก่อน จากนั้น adventitious roots ก็จะพัฒนาจากลำต้น ในขณะที่ยังอยู่ในแคลลัส การสร้างลำต้นหรือลำต้นพร้อมกับ adventitious roots จากแคลลัสนี้ เรียกว่า organogenesis บางครั้งแคลลัส ยังสามารถจะมีสภาพเป็น embryogenic และสร้าง embryo ขึ้นมาโดยมีการพัฒนาเป็นรากและลำต้นพร้อมกัน ลักษณะนี้เรียกว่า embryogenesis ทั้งไซโตไคนินและออกซินจำเป็นต้องมีอยู่ในอาหารเพาะเลี้ยง (medium) เพื่อก่อให้เกิด embryogenesis อย่างไรก็ตาม ยังไม่ทราบแน่ชัดถึงกลไกการเกิดปรากฏการณ์นี้ (นพดล,2537)

4. อาหารเสริม เช่น น้ำมะพร้าว
5. วุ้น
6 ความเป็นกรด – ด่างของอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรอาหาร (ศิวพงศ์ , 2546)

สูตรอาหารพื้นฐานเป็นสูตรที่มีเกลือแร่และสารต่างๆ ในสัดส่วนที่พอเหมาะเป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญของพืชแต่ละชนิด พืชสามารถเจริญได้ในอาหารของพืชชนิดอื่นแต่จะไม่ดีที่สุด

อาหารสูตร MS เป็นสูตรอาหารที่นิยมใช้เป็นมาตรฐานกันอย่างกว้างขวางเป็นสูตรของมูราชิเก (Murashige) และสคูก (Skoog) ในปี ค.ศ. 1962 นิยมเรียกว่าอาหารสูตร MS อาหารสูตรนี้พัฒนามาเพื่อเพาะเลี้ยงพืชล้มลุกเป็นอันดับแรกคือ ยาสูบ (Nicotiana) เยอบีรา เฟิร์น บีโกเนีย ลิลี ฯลฯ มูราชิเกอธิบายการเพาะเลี้ยงไว้ในเป็น 3 ระยะ แต่ละระยะมีอาหารพิเศษแตกต่างกัน โดยระยะที่ 1 เป็นระยะแรกในการนำชิ้นเนื้อเยื่อใส่ในอาหารเรียกว่า เอกซ์แพลนต์เอสตาบลิชเมนต์ (explant establishment) ระยะที่ 2 เป็นระยะที่ทำให้เพิ่มจำนวนมากขึ้นเรียกว่า ระยะมัลติพลิเคชั่น (multiplication stage) และระยะที่ 3 ทำให้งอกราก เรียกว่าระยะงอกราก (rooting stage) ส่วนหลังจากนี้มีหลายคนนิยมเรียกต่อว่าระยะที่ 4 เป็นการนำเอาต้นอ่อนออกจากขวดโดยนำลงปลูกในดินและถ้าพืชบางชนิดที่สามารถงอกรากในดินได้ก็อาจจะไม่ต้องมีระยะที่ 3

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแคลลัส นิยมใช้สูตรของมูราชิเกและสคูก หรือดัดแปลงจากสูตรนี้ แล้วเติมน้ำตาลทรายหรือกลูโคส 2 - 4 % ในบางครั้งอาจเติมแคเซอีน ไฮโดรไลเสต สารสกัดจากมอลต์ สารสกัดจากยีสต์ หรือน้ำมะพร้าวลงไปด้วย ส่วนประกอบสำคัญคือ ออกซินและไซโทไคนินที่เติมลงในอาหาร ออกซินที่นิยมใช้ เช่น IAA ความเข้มข้น 10^{-5} - 10^{-10} M และ NAA ความเข้มข้น 10^{-5} - 10^{-10} M เนื้อเยื่อบางชนิดต้องการไซโทไคนินด้วย ไซโทไคนินที่ใช้คือ ไคเนทินความเข้มข้น 10^{-7} - 10^{-6} M ช่วยให้มีประสิทธิภาพในการเกิดแคลลัสได้ดีขึ้น

การเพาะเลี้ยงแคลลัสนิยมเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง สารที่นิยมใช้ทำให้อาหารแข็งคือ วุ้น โดยใช้ความเข้มข้น 6 -10 กรัมต่อลิตร พืชบางชนิดต้องการแสงแต่บางกรณีก็อาจจะต้องการความมืด อุณหภูมิที่ใช้เพาะเลี้ยงที่เหมาะสมในการเจริญของแคลลัสอยู่ในช่วง 22 - 28 องศาเซลเซียส

การถ่ายเนื้อเยื่อและเพิ่มจำนวนแคลลัส (ศิวพงศ์ , 2546)

เมื่อกระตุ้นให้เกิดแคลลัสขึ้นมาแล้ว จะนำมาเพาะเลี้ยงต่อไปต้องถ่ายแคลลัสไปใส่ในอาหารขวดใหม่ การย้ายแคลลัสไปใส่ในอาหารใหม่ควรจะทำเป็นระยะๆ การเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของแคลลัสจะใช้อาหารไปจำนวนมาก และมีการปล่อยของเสียออกมาด้วย และทำให้อาหารแห้งลงด้วยจึงต้องมีกาย้ายเนื้อเยื่อไปใส่ในอาหารใหม่บ่อยๆเพื่อไม่ให้แคลลัสหยุดเติบโต ถ้าเพาะเลี้ยงในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่านี้ควรจะเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 4 - 6 สัปดาห์ ถ้าแคลลัสมีขนาดใหญ่ จำเป็นต้องตัดแบ่งเป็นก้อนเล็กๆ ก่อนที่จะย้ายไปลงอาหารใหม่ แต่ละชิ้นไม่ควรจะมีขนาดเล็กมากนัก ถ้าชิ้นเล็กเกินไป อาจจะไม่สามารถเติบโตต่อไปได้ โดยชิ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคลลัสจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายไปในที่สุด ชิ้นแคลลัสที่ตัดแยกมาจากก้อนแคลลัสที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแล้วมักจะไม่ค่อยเติบโตไม่เหมือนก้อนแคลลัสที่กำลังมีการเติบโต ซึ่งจะเติบโตได้ดีกว่าในการถ่ายเนื้อเยื่อ ครั้งแรกควรจะใช้อาหารแข็งแต่ในบางกรณีอาจจะถ่ายเนื้อเยื่อลงในอาหารเหลวเลยก็ได้ถ้าหากว่าในการเปลี่ยนถ่ายอาหารครั้งแรกแคลลัสไม่ค่อยเติบโตควรจะให้ชิ้นของเนื้อเยื่อเดิมติดไปด้วย อาหารและสภาวะแวดล้อมทางกายภาพ ในการเพาะเลี้ยงแคลลัสจะเหมือนกันกับอาหารและสภาวะขณะที่กระตุ้นให้เกิดแคลลัส ยกเว้นปริมาณ ของออกซินกับไซโทไคนินซึ่งอาจจะลดน้อยลงกว่าเดิม แต่ถ้าหากว่าเมื่อถ่ายแคลลัสใส่อาหารใหม่แล้วมันเน่าหรือไม่เติบโต แสดงว่าอาหารใหม่ไม่เหมาะกับการเติบโตของมัน บางครั้งต้องเติมกรดอะมิโนลงไปในอาหารด้วยเช่น ไกลซีน อาร์จินินหรือบางครั้งต้องเติมน้ำมะพร้าวหรือแคเซอีนไฮโดรไลเสต หรือสารสกัดจากมอลต์ ฯลฯ ลงในอาหารเพื่อให้แคลลัสเติบโตต่อไป

คาร์โบไฮเดรตก็จำเป็นต่อการเติบโตของแคลลัสเช่นเดียวกัน คาร์โบไฮเดรตที่ใช้ในอาหารเพาะเลี้ยงแคลลัสคือ น้ำตาลซูโครส การใช้น้ำตาลความเข้มข้นระหว่าง 20 - 60 กรัมต่อลิตร ช่วยให้แคลลัสเติบโตได้ดี ความเข้มข้นที่พอเหมาะของน้ำตาลซูโครสต่อการเติบโตของแคลลัสคือ 3% แต่ถ้าใช้น้ำตาลฟรุกโตสจะยังยั้งการเติบโตของแคลลัส

แคลลัสที่เกิดขึ้นจากเนื้อเยื่อต่างชนิดกัน จะมีโครงการสร้างและการเติบโตแตกต่างกัน แคลลัสอาจจะเป็นก้อนมีเซลล์เกาะแน่น (compact) หรืออยู่กันหลวมๆ (friable) อาจจะอ่อนนุ่มหรือแข็ง อาจจะมีสีขาวหรือเหลืองหรือเขียวก็ได้ แคลลัสเป็นเนื้อเยื่อที่เจริญรวดเร็วมากและเมื่อเปลี่ยนถ่ายอาหารไปนานๆ อาจจะไม่ต้องการฮอร์โมนเลยมันก็สามารถเติบโตต่อไปได้เรื่อยๆ และความสามารถในการที่จะเจริญเป็นต้นพืชใหม่ก็อาจจะหายไปด้วย มันจะเติบโตเป็นแคลลัสต่อไปเรื่อยๆ แคลลัสจะเติบโตในอาหารและอาหารได้ดีกว่า และถ้าแคลลัสเติบโตบนอาหารแข็งมักจะมีโพลาริตีซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนสภาพของเซลล์เป็นเนื้อเยื่อและอวัยวะต่อไป การเติบโตเป็นแคลลัสจึงหยุดลง

ข้อควรพิจารณาในการเลี้ยงแคลลัส (รังสฤษฎ์,2540)

ในการชักนำกำเนิดแคลลัส ชิ้นส่วนพืชที่ปลอดเชื้อจะถูกนำไปเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งและต้องการเทคนิคการกดเพียงเบาๆ ให้ชิ้นส่วนดังกล่าวจมลงไปในวุ้นเล็กน้อย เพื่อให้เนื้อเยื่อพืชสัมผัสกับอาหารได้ดีขึ้น ถ้าเป็นส่วนปลายรากจะเกิดแคลลัสได้ดีขึ้นถ้าวางราบลงบนอาหาร ขณะที่ชิ้นส่วนที่ตัดมาจากลำต้นควรวางในแนวตั้งให้ปลายที่ถูกตัดจมอยู่ในวุ้น ปิดฝาจานด้วยแผ่นฟิล์ม Parafilm หรือ Clingfilm หรือ กระดาษกาวพลาสติกที่ยืดหยุ่นเพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำขณะเดียวกันให้อากาศที่มีออกซิเจนผ่านเข้าไปได้ ปกติควรเพาะไว้ในที่มืดที่ 25 องศาเซลเซียส แม้ว่าในบางพืชอาจจำเป็นต้องใช้แสงความเข้มต่ำ ในสภาพอาหารที่เหมาะสมแล้ว ชิ้นส่วนพืชจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สร้างแคลลัสมากพอที่จะแบ่งและเปลี่ยนอาหารใหม่ (subculture) ภายใน 3 - 8 สัปดาห์ แยกเอาแคลลัสที่เกิดขึ้นใหม่ออกจากชิ้นส่วนพืชเดิม (ที่คงเหลืออยู่) โดยใช้ใบมีดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ชิ้นส่วนแคลลัสที่แยกต้องมีขนาดที่ไม่เล็กจนเกินไปเพื่อไม่ให้การเจริญเติบโตหยุดชะงัก โดยปกติแล้วการเปลี่ยนอาหารจะกระทำทุกๆ 4 สัปดาห์ และแคลลัสจากพื้นที่ประมาณ 4 ตารางเซนติเมตร ควรแยกออกได้ 8 - 10 ชิ้น อย่างไรก็ตาม ขนาดที่เล็กที่สุดที่ใช้ได้ดีนั้นขึ้นกับขนาดของชิ้นส่วนที่เลี้ยงตอนแรก และผันแปรขึ้นกับชนิดพืช ชนิดและอายุของชิ้นส่วนพืชเช่นเดียวกัน

นอกจากนี้ยังมีผู้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวหลายคนอาทิ

ประภา และ พรทิพย์ (2537) ได้ศึกษาการพัฒนาไปเป็นต้นของแคลลัสที่เจริญมากจากคัพภะของข้าวหอม พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พบว่าอาหารวุ้นสูตร Murashige และ Skoog (MS) ที่เติม 2,4-D 2 มก./ล. ร่วมกับ casein hybrolysate 300 มก./ล.ในสภาพที่มีแสง สามารถสร้างแคลลัสได้ในอัตราที่สูง (96.3%) และแคลลัสมีขนาดใหญ่ที่สุด (9.4 มม.)

แคลลัสเมื่อถูกทำให้แห้งโดยการพักไว้ในจานแก้วที่มีฝาปิดเป็นเวลา 7 วัน จึงย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้น พบว่า แคลลัสสามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้ในอัตราที่สูงกว่าแคลลัสที่ย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นโดยทันที โดยไม่ได้ทำให้แคลลัสแห้งก่อน

สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นต้นมี 2 สูตร คือ อาหารสูตร MS ที่เติม IAA 1 มก./ล. และ BA 4 มก./ล. ซึ่งสามารถชักนำให้ได้จำนวนแคลลัสที่พัฒนาไปเป็นยอดสูงสุด และสูตรอาหาร MS ที่เติม IAA 1 มก./ล. , BA 4 มก./ล. และ yeast extract 1 ก./ล. ซึ่งสามารถชักนำให้ได้จำนวนแคลลัสที่พัฒนาไปเป็นยอดและมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด

สุรินทร์ และคณะ (2537) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวมะลิ 105 ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติมน้ำมะพร้าว 15% เคซีนไฮโดรไลเซท 1 ก./ล. เติม 2,4-D 1 มก./ล. NAA 1 มก./ล. Kinetin 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุดและแคลลัสที่ได้มีการเจริญพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ได้มากที่สุด

เผดิม และคณะ (2536) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในข้าวพันธุ์ต่างๆ พบว่า เมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เจริญเป็นแคลลัสได้ดีในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA 5 มก./ล. และ Kinetin 1 มก./ล.และแคลลัสสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดีในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติม Kinetin หรือที่เติม Kinetin 3 มก./ล. และข้าวปทุมธานี 60 เจริญเป็นแคลลัสได้ดีในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA 5 มก./ล. และ Kinetin 0.5 มก./ล.และแคลลัสสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดีในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติม Kinetin หรือที่เติม Kinetin 1 มก./ล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุริยันตร์ และคณะ (2540) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวพันธุ์นางมลเอส-4 โดยการชักนำให้คัพภะสร้างแคลลัส ในอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม 2,4-D 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพมืด ทำการเพิ่มปริมาณแคลลัสในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรในสภาพมืด และชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นข้าวบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ casein hydrolysate 1.0 กรัมต่อลิตรในสภาพแสง 16 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. เมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML 105) และเมล็ดข้าวพันธุ์ปทุมธานี
2. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
    2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS,1962)
    2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช
    ได้แก่ 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxy acetic acid) , Kinetin
    2.3 น้ำตาลทราย
    2.4 ผงวุ้น
    2.5 น้ำกลั่น
3. เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
    - บีกเกอร์ (beaker)
    - ช้อนตักสาร (spatule)
    - เครื่องชั่ง (balance)
    - กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 1,000 ml
    - ปิเปต (pipette)
    - ขวดแก้ว (bottle) สำหรับใส่อาหารพร้อมฝาปิด
    - หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)
    - เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)
    - เตาอุ่นความร้อนและเครื่องคน (hot plate and magnetic stirrer)
4. สารที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ
    - คลอรอกซ์ (clorox)
    - Teepol
    - แอลกอฮอล์ 70%
5. เครื่องมือที่ใช้ย้ายชิ้นส่วนของพืช
    - ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow)
    - มีดผ่าตัด (knives and scalpels)
    - ปากคีบ (forceps)
    - ตะเกียง (turnel)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- จานแก้ว (Petri dish)
- ขวดใส่แอลกอฮอล์ 95%

6. ชั้นวางขวดเนื้อเยื่อ
7. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 $\pm$ 3 องศาเซลเซียส
8. อุปกรณ์ถ่ายภาพ กล้อง กระดาษสี

1. วิธีการการเตรียมอาหารสูตร MS

1.ชั่งสารเคมีต่างๆ ตามสูตร Murashige and Skoog (1962) โดยเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น (stock solution) เพื่อสะดวกในการเตรียมอาหารแต่ละครั้ง

2.ดูดสารละลายจาก stock solution ต่างๆมารวมกัน โดยใช้ปริมาตรในแต่ละ stock ดังนี้

stock ที่ 1	20 mg/l
stock ที่ 2	10 mg/l
stock ที่ 3	10 mg/l
stock ที่ 4	10 mg/l
stock ที่ 5	10 mg/l

3.ปรับปริมาตรสารละลายอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในแต่ละสูตรด้วยการเติมน้ำกลั่นให้ได้ครบ 1,000 ml

4.ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ด้วยกรดเกลือ (HCl) และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)ให้อยู่ในช่วง 5.8

5.ชั่งน้ำตาล 30 กรัม ใส่ในบีกเกอร์

6.ชั่งผงวุ้นปริมาตร 11 กรัมต่อลิตรใส่ในบีกเกอร์ เอาน้ำที่ได้จากข้อ 3 ใส่ลงไปในบีกเกอร์เพื่อละลายผงวุ้นก่อนนำไปต้ม

7.นำไปต้มเพื่อละลายวุ้นและน้ำตาล

8.เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชโดยใช้ 2.4-D ที่มีระดับความเข้มข้นต่างๆกัน ได้แก่ ความเข้มข้น 0.25,0.5,1,2,3 และ 4 mg/l หรือ Kinetin ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4 mg/l

9.บรรจุอาหารลงในขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อประมาณ 6 ml ปิดฝาให้สนิท แล้วนำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว แล้วทิ้งไว้ให้เย็นเพื่อนำมาเลี้ยงพืชทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วิธีดำเนินการทดลอง

ตอนที่ 1 การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดข้าว

1. นำเมล็ดข้าวที่แกะเปลือกแล้ว มาแช่ในแอลกอฮอล์ 70 % ประมาณ 1 นาที
2. ฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาคลอรอกซ์เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 20 นาที ที่เติม Teepol 2 - 3 หยด
3. ฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาคลอรอกซ์เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 10 นาที ที่เติม Teepol 2 - 3 หยด
4. นำเข้าตู้ปลอดเชื้อ ล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3-4 ครั้ง

ตอนที่ 2 การชักนำให้เกิดแคลลัส

1. นำเมล็ดข้าวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ 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

แต่ละสูตรทำจำนวน 20 ซ้ำ หรือ 20 ขวด ขวดละ 1 เมล็ด นำไปเก็บไว้ในที่ที่ไม่มีแสง

2. หาเปอร์เซ็นต์การ contaminant หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 3 วัน จากนั้น คัดเลือกขวดที่แคลลัสมีการเจริญเติบโตดีและไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อจำนวน 15 ขวด เข้าสู่ขบวนการทดลอง
3. ทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงและการพัฒนาแคลลัส หลังจาก 4 สัปดาห์ ดังนี้
    a. คัดตัวอย่างแคลลัสตามขนาดที่เหมาะสมของแต่ละสูตรมาถ่ายรูปและเปรียบเทียบแคลลัส ให้คะแนนตามขนาดของแคลลัสที่ได้
    b. สร้างตารางบันทึกผลการทดลอง

ตอนที่ 3 การเพิ่มปริมาณแคลลัส

นำแคลลัสที่ได้จากตอนที่ 2 มาเพิ่มปริมาณบนอาหารสูตรเดิม ที่ใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 1,2,3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เก็บไว้ในสภาพที่ไม่มีแสง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในตอนนี้มีการ subculture 2 ครั้ง จากนั้นบันทึกอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัส โดยให้ระดับคะแนนตามขนาดและปริมาณของแคลลัสที่เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

99894

ตอนที่ 4 การเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่เติมไซโตไคนิน

1. นำแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมไซโตไคนินความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้

อาหารสูตรที่ 1(k1)	MS + Kinetin	0	มิลลิกรัมต่อลิตร
อาหารสูตรที่ 3(k2)	MS + Kinetin	1	มิลลิกรัมต่อลิตร
อาหารสูตรที่ 4(k3)	MS + Kinetin	2	มิลลิกรัมต่อลิตร
อาหารสูตรที่ 5(k4)	MS + Kinetin	3	มิลลิกรัมต่อลิตร
อาหารสูตรที่ 6(k5)	MS + Kinetin	4	มิลลิกรัมต่อลิตร

2. เก็บไว้ในที่มีแสง

3. สร้างตารางบันทึกผลการพัฒนาและการเปลี่ยนแปลงของแคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์การรอดของเมล็ดข้าวที่ผ่านขบวนการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว

จากการทดสอบเปอร์เซ็นต์การรอดของพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ปทุมธานี 1 หลังจากผ่านขบวนการฟอกฆ่าเชื้อได้ 3 วันผลปรากฏว่าไม่มีการติดเชื้อ แต่ตรวจพบการติดเชื้อหลังจากการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว 5 วัน พบว่าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิมีเปอร์เซ็นต์การรอดโดยเฉลี่ย 91% ข้าวปทุมธานี 1 มีเปอร์เซ็นต์การรอด 90% แสดงในตารางที่ 1 ดังนี้

ตารางที่1 แสดงเปอร์เซ็นต์การรอดของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ปทุมธานี 1 หลังจากผ่านการฟอกฆ่าเชื้อได้ 5 วัน

อาหารสูตรที่	จำนวนซ้ำ (ขวด)	จำนวนที่เหลือ			
		ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (ขวด)	เปอร์เซ็นต์การรอด (%)	ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 (ขวด)	เปอร์เซ็นต์การรอด (%)
1	20	20	100 %	19	95 %
2	20	19	95 %	19	95 %
3	20	16	80 %	17	85 %
5	20	18	90 %	18	90 %
6	20	18	90 %	17	85 %
เฉลี่ย		15.16	91%	15	90%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตอนที่ 2 การชักนำให้เกิดแคลลัส

การนำเมล็ดข้าวขาวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นแตกต่างกัน ในที่มืด เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า เมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 พัฒนาเป็นยอดอ่อน ดังภาพหมายเลข 1.1 อาหารสูตรที่ 2 เมล็ดข้าวบางส่วนพัฒนาเป็นแคลลัสขนาดเล็ก (1 คะแนน) บางส่วนพัฒนาเป็นยอดอ่อน ดังภาพหมายเลข 1.2 ในอาหารสูตรที่ 3 เมล็ดพัฒนาเป็นแคลลัสที่มีขนาดเล็ก (1 คะแนน) อาหารสูตรที่5 เมล็ดข้าวพัฒนาเป็นแคลลัสขนาดปานกลาง (2 คะแนน) ลักษณะของแคลลัสที่เกิดขึ้นมีสีเหลืองอ่อน บริเวณตรงกลางเซลล์เกาะตัวกันแน่น (compact) ส่วนบริเวณผิวเซลล์เกาะกันอย่างหลวมๆ (friable) ดังรูปภาพที่ 3 อาหารที่สามารถชักนำให้ข้าวขาวพันธุ์ดอกมะลิได้แคลลัสขนาดใหญ่ที่สุด คือ อาหารสูตรที่ 4 และ 6 (3 คะแนน) ส่วนเมล็ดข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 พัฒนาไปเป็นยอดอ่อนในอาหารสูตรที่ 1,2,3 ดังรูปภาพที่ 4 และอาหารที่สามารถชักนำให้เมล็ดข้าวได้ขนาดใหญ่ที่สุด คืออาหารสูตรที่ 5 ส่วนอาหารสูตรที่ 4 และ 6 แคลลัสมีขนาดเล็ก แสดงผลในตารางที่ 2 ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 2 แสดงผลของการชักนำเมล็ดให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยแสดงเป็นระดับคะแนนตามขนาดของแคลลัสดังนี้

\- หมายถึง ไม่เกิดแคลลัส
1 คะแนน หมายถึง แคลลัสมีขนาดเล็ก
2 คะแนน หมายถึง แคลลัสมีขนาดปานกลาง
3 คะแนน หมายถึง แคลลัสมีขนาดใหญ่

อาหารสูตรที่	ความเข้มข้นของ 2,4-D (mg/l)	ลักษณะการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลง	การเจริญเติบโตและการพัฒนาของแคลลัส KDML 105 (ระดับคะแนน)	การเจริญเติบโตและการพัฒนาของแคลลัส PTT 1 (ระดับคะแนน)
1	0.25	เกิดยอด	-	-
2	0.5	เกิดยอด,แคลลัส	1	-
3	1	เกิดแคลลัส	1	-
4	2	เกิดยอด,แคลลัส	3	1
5	3	เกิดแคลลัส	2	2
6	4	เกิดแคลลัส	3	1

หมายเหตุ ดูรูปภาพที่ 2 ประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

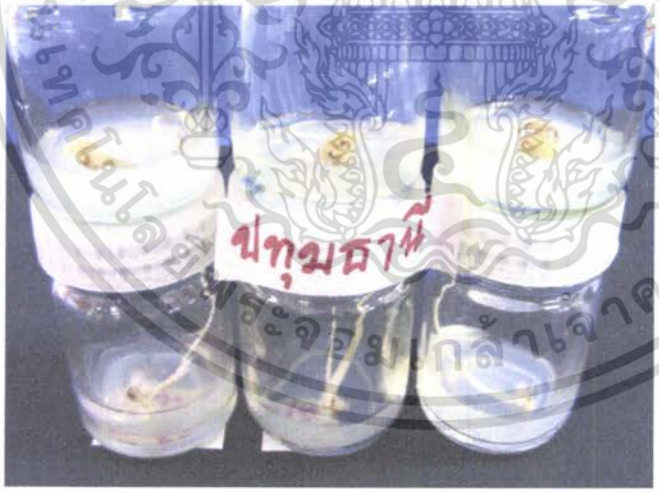
21153

ภาพที่ 1 แสดงลักษณะการพัฒนาของเมล็ดข้าวในอาหาร
สูตรที่เติม 2,4-D
ภาพหมายเลข 1.1 เมล็ดพัฒนาเป็นยอดและราก
ภาพหมายเลข 1.2 เมล็ดพัฒนาเป็นยอดและแคลลัส

ภาพที่ 2 แสดงระดับคะแนนตามขนาดของแคลลัสที่ได้จากการพัฒนาของเมล็ดข้าวหลังจากเพาะเลี้ยงไปแล้ว 4 สัปดาห์

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
วิทยาเขตเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ธนบุรี
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3 แสดงการเจริญเติบโตของแคลลัสของข้าวพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในอาหารสูตร MS ที่มีสารเร่งการเจริญเติบโต 2,4-D ในความเข้มข้น 0.25, 0.5, 1, 2, 3 และ 4 mg/l เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยขวดด้านล่างเรียงจากซ้ายไปขวา คือ ระดับความเข้มข้น 0.25, 0.5, 1 mgl/ และภาพขวดด้านบนเรียงจากซ้ายไปขวา คือ 1 , 2 , 3 mg/l



ภาพที่ 4 แสดงการเจริญเติบโตของแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร MS ที่มีสารเร่งการเจริญเติบโต 2,4-D ในความเข้มข้น 0.25, 0.5, 1, 2, 3 และ 4 mg/l เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยขวดด้านล่างเรียงจากซ้ายไปขวา คือ 0.25, 0.5, 1 mgl/ ภาพขวดด้านบนเรียงจากซ้ายไปขวา คือ 1 , 2 , 3 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตอนที่ 3 การเพิ่มปริมาณแคลลัส

หลังจากเกิดแคลลัสได้ 4 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลองโดยการแบ่งเป็นระดับคะแนนตามปริมาณแคลลัสที่เกิดขึ้นในอาหารสูตรที่มี 2,4-D ความเข้มข้นต่างกัน โดยการนำแคลลัสที่ได้จากตอนที่ 1 มาเพาะเลี้ยงต่อในอาหารสูตรเดิมแต่ใช้ 2,4-D ระดับความเข้มข้น 1 ,2 ,3 และ 4 mg/l เพื่อเพิ่มปริมาณแคลลัส โดยมีการ subculture 2 ครั้ง โดยครั้งแรกเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 และ 2 mg/l แคลลัสมีการพัฒนาเพิ่มปริมาณได้มากกว่าระดับความเข้มข้นอื่นๆ และอีก 2 สัปดาห์ต่อมา พบว่า อาหารที่สามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้มากที่สุดคือ อาหารสูตรที่3 (4 คะแนน) แต่แคลลัสที่ได้ส่วนใหญ่จะเป็นเซลล์ที่เกาะรวมกันหลวมๆ และแยกออกจากกันได้ง่ายดังรูปภาพที่ 4.1 สูตรอาหารที่สามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสรองลงมาคืออาหารสูตรที่ 4 (3 คะแนน) และอาหารสูตรที่ 6 (2 คะแนน) ตามลำดับ ส่วนอาหารสูตรที่ 5 (1 คะแนน) มีการเพิ่มปริมาณน้อย แต่แคลลัสที่ได้บางส่วนบริเวณตรงกลางเซลล์เกาะตัวกันแน่น (compact) ส่วนบริเวณผิวเซลล์เกาะกันอย่างหลวมๆ ซึ่งแสดงเป็นระดับคะแนนตามรูปภาพที่ 5 และแสดงผลโดยรวมตามตารางที่ 3

ภาพที่ 5 แสดงระดับคะแนนการเพิ่มปริมาณแคลลัสหลังจากเพาะเลี้ยงต่ออีก 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงผลของการเพิ่มปริมาณแคลลัส หลังจากการนำแคลลัสจากผลการทดลองตอนที่ 2 ย้ายลงมาเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมอีกครั้งเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แสดงผลเป็นระดับคะแนนตามปริมาณที่เพิ่มขึ้นของแคลลัส ดังนี้

1 คะแนน หมายถึง แคลลัสมีการเพิ่มปริมาณน้อย

2 คะแนน หมายถึง แคลลัสมีการเพิ่มปริมาณปานกลาง

3 คะแนน หมายถึง แคลลัสมีการเพิ่มปริมาณมาก

4 คะแนน หมายถึง แคลลัสมีการเพิ่มปริมาณมากที่สุด

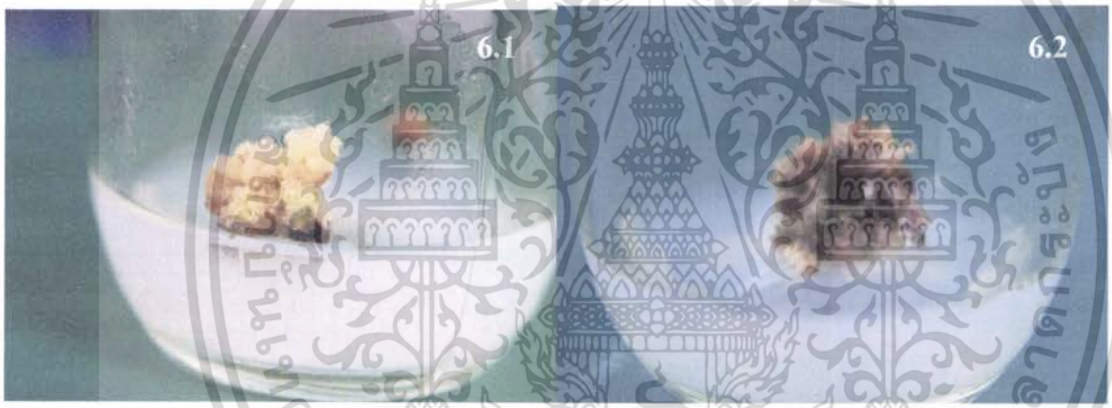
ความเข้มข้นของ 2,4-D (mg/l)	ลักษณะการเจริญ เติบ โตและการเปลี่ยน แปลงของแคลลัส	การเพิ่มปริมาณของแคลลัส KDML 105 (ระดับคะแนน)	การเพิ่มปริมาณของแคลลัส PTT1 (ระดับคะแนน)
1	มีสีเหลืองขาว ไม่เกาะกันเป็นกลุ่มก้อน	4	4
2	มีสีเหลืองขาว ไม่เกาะกันเป็นกลุ่มก้อน	3	3
3	เซลล์เกาะตัวกันหลวมๆ	1	1
4	บริเวณตรงกลางเซลล์เกาะตัวกันแน่น (compact) ส่วนบริเวณผิวเซลล์เกาะกันอย่างหลวมๆ	2	2

หมายเหตุ ดูภาพที่ 5 ประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตอนที่ 4 การชักนำแคลลัสให้พัฒนาเป็นต้น

เมื่อนำแคลลัสที่ได้จากผลการทดลองตอนที่ 3 ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า แคลลัสที่มีลักษณะเกาะรวมกันหลวมๆ จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด และแคลลัสของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่เลี้ยงอยู่ในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม Kinetin ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แคลลัสบางส่วนสามารถพัฒนาไปเป็นราก อาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 1 mg/l แคลลัสบางส่วนสามารถพัฒนาเป็นราก บางส่วนเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวขึ้น ดังภาพที่ 6.1 อาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 2 mg/l แคลลัสของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 สามารถพัฒนาเป็นทั้งรากและเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวขึ้น ส่วนแคลลัสที่เหลือของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่เลี้ยงอยู่ในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 2 mg/l เมื่อเวลาผ่านไป 2 สัปดาห์เกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวขึ้นที่ผิวแคลลัสและแคลลัสมีสีน้ำตาลปนดำ ดังแสดงในภาพที่ 6.2 และในตารางที่ 4



ภาพที่ 6 แสดงการเจริญเติบโตและพัฒนาของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ข้าวปทุมธานี 1 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี Kinetin

ภาพหมายเลขที่ 6.1 แคลลัสของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ภาพหมายเลขที่ 6.2 แคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงผลของการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นต้นของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ที่มีความเข้มข้นต่างๆกัน โดยบันทึกการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสดังนี้ R = แคลลัสบางส่วนพัฒนาไปเป็นราก

G = แคลลัสบางส่วนมีพื้นที่สีเขียวเกิดขึ้น

P = แคลลัสบางส่วนมีพื้นที่สีเขียวและรากเกิดขึ้น

อาหารสูตรที่	ความเข้มข้นของ Kinetin (mg/l)	KDML 105 และ PTT 1	จำนวนแคลลัสที่เหลือ (ขวด)	การเปลี่ยนแปลงและพัฒนาของแคลลัส (ขวด)		
				R	G	P
k1	0	KDML 105	7	5	-	-
		PTT 1	-	-	-	-
k2	1	KDML 105	13	2	4	1
		PTT 1	-	-	-	-
k3	2	KDML 105	9	3	1	1
		PTT 1	4	-	2	-
k4	3	KDML 105	-	-	-	-
		PTT 1	-	-	-	-
k5	4	KDML 105	-	-	-	-
		PTT 1	-	-	-	-

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างข้าว 2 พันธุ์แล้ว พบว่า ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ตอบสนองต่อออกซินได้ดีกว่าข้าวปทุมธานี เนื่องจากแคลลัสเจริญเติบโตได้ในอาหารทุกสูตรยกเว้นอาหารสูตรที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ขนาดของแคลลัสที่ได้พันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 จะมีขนาดใหญ่กว่าแคลลัสของพันธุ์ปทุมธานี และเมื่อย้ายไปเลี้ยงในสูตรอาหารที่เติม Kinetin พบว่า แคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี ในสูตรอาหารที่มี Kinetin ความเข้มข้น 2,3 และ 4 mg/l ไม่สามารถเติบโตต่อไปได้ โดยส่วนใหญ่ชิ้นแคลลัสจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด ส่วนแคลลัสของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 นั้นสังเกตเห็นว่า เกิดบริเวณสีเขียวขึ้นที่ผิวแคลลัสบางส่วนเกิดทั้งบริเวณสีเขียวและราก และบางส่วนเกิดเฉพาะรากเพียงอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ตอบสนองต่อ 2,4-D ได้ดีกว่าข้าวปทุมธานี เนื่องจากโดยทั่วไป 2,4-D เป็นออกซินที่เหมาะสมที่สุดต่อการชักนำให้เนื้อเยื่อข้าวเป็นแคลลัส แต่ความเข้มข้นที่ใช้จะแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อและพันธุ์ (Raina, 1989) และอีกในกรณีหนึ่งคือ เดิมปริมาณออกซินที่มีอยู่ภายในขาวของแต่ละพันธุ์ไม่เท่ากัน ดังนั้นเราจึงสังเกตุเห็นว่า ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ไม่ต้องใช้ความเข้มข้นของ 2,4-D มาก ก็สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ แต่ข้าวปทุมธานี 1 จะพัฒนาเป็นแคลลัสได้ต้องใช้ความเข้มข้นของ 2,4-D ตั้งแต่ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรขึ้นไป ดังภาพที่ 3 และ 4 การทดลองนี้พบว่า 2,4-D 4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดเพราะแคลลัสมีขนาดใหญ่สุด ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตรของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และเมื่อย้ายไปเลี้ยงในสูตรอาหารที่เติม Kinetin พบว่าเกิดกลุ่มเซลล์สีเขียวขึ้นบนก้อนแคลลัส แต่ไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ เนื่องจากเวลาที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสและการเพิ่มปริมาณแคลลัสนานเกินไป ซึ่งการเพาะเลี้ยงแคลลัสไปนาน ๆ จะทำให้แคลลัสมีลักษณะเกาะกันหลวมๆ มีสีเหลืองอมน้ำตาล ไม่สามารถที่จะชักนำให้เกิดต้นและราก และในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อผ่านขั้นตอนการชักนำใหเกิดแคลลัสจะประสบปัญหาการชักนำให้เกิดต้นใหม่ (Nishi และคณะ 1978) การชักนำให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นต้นมีหลายปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น อายุของแคลลัส แคลลัสที่มีอายุมากมีความสามารถในการเจริญและพัฒนาให้เป็นยอดได้ต่ำ (Henke และคณะ ,1978) การเปลี่ยนอาหารและการตัดแบ่งชิ้นเนื้อเยื่อก็จะลดเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นได้ (Nishi และคณะ 1987) การพักแคลลัสไว้ในจานแก้วระยะหนึ่งเพื่อให้แคลลัสขาดน้ำ ก่อนการย้ายลงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้น จะช่วยให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นต้นได้ดีขึ้น (ประภาและพรทิพย์, 2537) รวมทั้งการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซินความเข้มข้นต่ำๆ ร่วมกับไซโทไคนินก็สามารถชักนำให้เกิดต้นข้าวจากแคลลัสได้ (Ketchum,1978; 1983;Raina และคณะ ,1978)

ไซโทไคนินจะกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาของ etioplasts ไปเป็น chlorophyll ซึ่ง chlorophyll จะไปจับกับโปรตีนนี้และมีความคงตัว (stable) เพิ่มขึ้น (นพดล,2537) แคลลัสมีความสามารถตอบสนองต่อการชักนำของออกซินและไซโทไคนิน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงและกำเนิดเป็นรากหรือลำต้นนั้น ขึ้นอยู่กับสัดส่วนของออกซินและไซโตไคนินที่ได้รับมาก่อน ถ้าได้รับสัดส่วนที่มีค่าสูง (ออกซิน >ไซโตไคนิน) มักเกิดเป็นยอด แต่ถ้ามีค่าต่ำ (ออกซิน <ไซโตไคนิน) มักเกิดราก (รังสฤษฎ์,2540) ในการทดลองครั้งนี้คล้ายคลึงกับผลงานวิจัยของ สุริยันตร์และคณะ (2540) ที่ชักนำคัพภะของเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 เช่นเดียวกัน และใช้สูตรอาหารใกล้เคียงกัน แต่ต่างกันที่วิธีการ โดยสุริยันตร์และคณะ (2540) ได้ทำการเพิ่มแคลลัสโดยใช้ Kinetin ในสภาพที่มีแสง จากที่ชักนำให้คัพภะข้าวให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตรที่เติม 2,4-D เป็นเวลา 2 สัปดาห์ และแคลลัสที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปชักนำให้เกิดต้นในอาหารสูตร MS ที่มี Kinetin ร่วมกับ casein hydrolysate โดยแคลลัสพัฒนาไปเป็นต้นได้ดีในอาหารสูตร MS ที่มี casein hydrolysate ความเข้มข้น 0 และ 1 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin 0.2 ,0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้เทคนิคทำแคลลัสให้แห้ง (dehydrate) ในสภาพมืด เป็นเวลา 3 วัน ก่อนการชักนำให้เกิดต้น ซึ่งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการเกิดต้นจากแคลลัสได้

นอกจากนี้การเติมสารอินทรีบางชนิดเช่น yeat extract ,casein hydrolysate และ tryptophan อาจช่วยทำให้อัตราการพัฒนาไปเป็นต้นของแคลลัสสูงขึ้นได้ (Ling et al., 1983; Raina et al., 1987) Skoog พบว่า การเลือกสัดส่วนไซโตไคนินและออกซินที่เหมาะสมจะสามารถทำให้แคลลัสของพืชหลายๆชนิดเกิดการพัฒนาไปเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ต้นใหม่ได้ (นพดล,2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

ตอนที่ 1 การชักนำให้เกิดแคลลัส

2,4-D เป็นออกซินที่สามารถชักนำให้เมล็ดข้าวเกิดแคลลัสได้ดี โดยระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 2,4-D ที่สามารถชักนำให้เมล็ดข้าวสร้างแคลลัสได้มากที่สุดคือ 4 มิลลิกรัมต่อลิตรของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตรของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

ตอนที่ 2 การเพิ่มปริมาณแคลลัส

เมล็ดข้าวหลังจากชักนำให้เกิดแคลลัสอายุ 4 สัปดาห์ ย้ายลงเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมเพื่อเพิ่มปริมาณแคลลัส แคลลัสสามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารทุกๆ สูตร ในสภาพมืด และมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงได้ 4 สัปดาห์

ตอนที่ 3 การชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส

ในผลการทดครั้งนี้ แคลลัสไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ เนื่องจากเวลาที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสและเพิ่มปริมาณแคลลัสใช้เวลานานเกินไป ซึ่งแคลลัสที่มีอายุมากจะมีความสามารถในการเจริญและพัฒนาเป็นต้นได้ต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

นพพร สายัมพล.2542.พืชเศรษฐกิจ.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ. 471หน้า.

คำนูญ กาญจนภูมิ.2542.การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.กรุงเทพฯ.162 หน้า.

ธีรพร บุศยอังกูร.2543.ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 .เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์พืช ครั้งที่ 13 เทคโนโลยีใหม่ – พันธุ์พืชใหม่.ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ.149 หน้า .

นพดล จรัสสัมฤทธิ์.2537.ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช.สำนักพิมพ์รั้วเขียว. กรุงเทพฯ.128 หน้า

นิรนาม.2547.ข้าว.วารสาร Update ประจำเดือนพฤศจิกายน .206:38-42

บุญยืน กิจวิจารณ์.2540.เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ .มหาวิทยาลัยขอนแก่น.ขอนแก่น.207 หน้า.

ประภา ศรีพิจิตต์และพรทิพย์ ชีวะเศรษฐธรรม.(2537). การพัฒนาไปเป็นต้นของแคลลัสที่เจริญมาจากคัพภะของข้าวหอม (*Oryza sativa* L.) พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105.ว.เกษตรศาสตร์ (วิทย.). 28:27-37.

เผดิม ระติสุนทร, ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ, เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา, สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล และเลิศลักษณ์ เงินศิริ. (2536). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในข้าวพันธุ์ต่างๆ. ว. เกษตรศาสตร์(วิทย.). 27:278-285.

ยุพา มงคลสุข.2527.เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.กรุงเทพฯ.สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 22 หน้า .

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ .2540.การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค.ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 219 หน้า .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิฑูรย์ เลี่ยนจำรูญ และนิรมล ยุวนบุณย์.2545.หอมกลิ่นข้าวมะลิหอม.องค์กรความหลากหลายทางชีวภาพและภูมิปัญญาไทย(Biothai)มูลนิธิเกษตรกรรมยั่งยืน(ประเทศไทย).นนทบุรี. 195 หน้า.

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์ . 2546.การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. สถาบันราชภัฏอุดรธานี.187 หน้า.

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

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ, เผดิม ระติสุนทร, เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา,เลิศลักษณ์ เงินศิริ และพรรณณี รอดแรงบุญ.(2537).การเพาะเลี้ยงข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพปลอดเชื้อ.ว.เกษตรศาสตร์(วิทย.). 28:92-98.

Henke,R.R,M.A. Mansar and M.J. Constantin.1978.Organogenesis and plantlet Formation from organ and seedling-deried calli of rice (*Oryza sativa* L.). Physiol.plant.44:11-13.

Ketchum,J.L.F.,O.L.Gamborg, G.E.Hanning and M.W. Nabors.1987.Tissue Culture for Crop Project Progress Report 1987.Cororado State University,Colorado.87 p.

Raina,S.K., P. Sathish and K.S. Sarma.1987.Plat regeneration from *in vitro* cultures of anthers and mature seeds of rice (*Oryza sativa* L.) cv.Basmati-370.Plat Cell Rep. 6:43-45.

Raina, S.K.1989.Tissue culture in rice improvement status and potential. Adv. Agron. 42:339-398.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้