21150

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี

เรื่อง

ผลของฮอร์โมนต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในชิ้นส่วนของข้าวหอมนิลและข้าวหอมกุหลาบดำ

Effect of Hormone on Induction of Rice Varieties Hom Nin Rice and Hom Ku Larb Dum Rice

T100452

โดย

นางสาวศิรินทร์ สาธุสินประเสริฐ

อาจารย์ที่ปรึกษา

อ. วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ

เสนอ

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (พืชไร่)
พ.ศ.2547

ฟพ. ศA56ง 2547
เลขหมู่ T100452
เลขทะเบียน
วัน.เดือน.ปี 18 มิ.ย. 2009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

ผลของฮอร์โมนต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในชิ้นส่วนของข้าวหอมนิลและข้าวหอมกุหลาบดำ

Effect of Hormone on Induction of Rice Varieties Hom Nin Rice

and Hom Ku Larb Dum Rice

โดย

นางสาวศิรินทร์ สาธุสินประเสริฐ

พิจารณาเห็นชอบโดย

.....

(อ. วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ)

อาจารย์ที่ปรึกษา

วันที่ 6 **เดือน** ม.ค. **พ.ศ.** 48

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รศ.ดร.สมยศ เดชภิรัตนมงคล)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ 13 **เดือน** พ.ค. **พ.ศ.** 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

การทำปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรีนับว่ามีความสำคัญอย่างยิ่งเปรียบเสมือนบันไดขั้นแรกแห่งการเรียนรู้ ฝึกฝนสติปัญญา ปรับปรุงกระบวนการทางด้านความคิด และแก้ไขปัญหาต่างๆที่เกิดขึ้นได้ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ได้ในอนาคต

การศึกษาครั้งนี้ ผู้ทำการวิจัยใคร่ขอขอบพระคุณ อ. วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ อาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา พร้อมทั้งให้คำแนะนำและถ่ายทอดความรู้ต่างๆ ตลอดทั้งตรวจทานแก้ไขปัญหาพิเศษฉบับนี้ จนกระทั่งสำเร็จลุล่วงอย่างสมบูรณ์ด้วยดี ขอขอบคุณคณาจารย์ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ทดลอง เครื่องมือและอุปกรณ์ที่จำเป็นต่างๆ

ขอขอบพระคุณบิดามารดาและญาติพี่น้องในครอบครัวของข้าพเจ้าและเพื่อนของข้าพเจ้าที่ให้การสนับสนุนในทุกๆด้านพร้อมเป็นกำลังใจมาโดยตลอดในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้

นางสาวศิรินทร์ สาธุสินประเสริฐ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง ผลของฮอร์โมนต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในชิ้นส่วนของข้าวหอมนิลและหอมกุหลาบดำ

Effect of Hormone on Induction of Rice Varieties Hom Nin Rice and Hom Ku Larb Dum Rice

โดย นางสาวศิรินทร์ สาธุสินประเสริฐ

สาขาวิชา พืชไร่ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

อาจารย์ที่ปรึกษา อ. วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ

บทคัดย่อ

การศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ข้าวหอมนิลและข้าวหอมกุหลาบดำ เพื่อหาอาหารสูตรที่เหมาะสม โดยการนำเมล็ดข้าวพันธุ์หอมนิลและข้าวหอมกุหลาบดำมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS + 2,4-D ในปริมาณความเข้มข้นต่างๆกัน คือ 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัม/ลิตร ผลการทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบการตอบสนองสูงสุดของการเกิดแคลลัสได้มาจากอาหารที่เติม 2,4-D 2.0 และ3.0 มิลลิกรัม/ลิตร ต่อมาได้ทำการทดลองเลี้ยงในอาหารสูตร MS + Kinetin ที่ระดับความเข้มข้นระดับต่างๆกันคือ 0, 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัม/ลิตร ผลการทดลองพบว่าในอาหารสูตรที่เติม Kinetic ที่ 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร แคลลัส ที่พบมีการพัฒนาเป็นรากและยอดได้ดีกว่าสูตรอื่น แต่เมื่อเลี้ยงไปเป็นเวลานานแคลลัสจะเปลี่ยนเป็นสีดำและหยุดการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title : Effect of Hormone on Induction of Rice Varieties Hom Nin Rice and Hom Ku Larb Dum Rice

Anthor : Miss Sirin Sathusinprasirt

Major : Agronomy

Dapartment : Plant Production of Technology

Faculty : Agriculture of Technology

Advisor : Mr. Vichai Limkarchanaphong

ABSTRACT

The method of induction of rice varieties Hom Nin rice and Hom Ku Larb Dum rice medium was studied to search for suitable mediums. First, Hom Nin rice and Hom Ku Larb Dum varieties seeds were conducted on 2,4-D MS medium in different concentrations 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 and 4.0 mg/l. After 8 weeks callus induction mediums that contain 2.0 and 3.0 mg/l (2,4-D) made the best response. After that the medium was changed from MS agar to Kinetin.(0, 1.0, 2.0 and 4.0 mg/l) With 1.0 and 2.0 mg/l show calluses were regenerated into root and plant than other medium. But these calluses were become to black color and have no effect on their growth.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ก
สารบัญภาพ	ข
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	19
ผลการทดลอง	23
วิจารณ์การทดลอง	34
สรุปการทดลอง	35
เอกสารอ้างอิง	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงผลหลังการฟอกฆ่าเชื้อในเมล็ดข้าวเจ้าสายพันธุ์หอมนิลโดยแสดงผลเป็นระดับเปอร์เซ็นต์การรอด	23
2	แสดงผลหลังการฟอกฆ่าเชื้อในเมล็ดข้าวเจ้าสายพันธุ์หอมกุหลาบดำโดยแสดงผลเป็นระดับเปอร์เซ็นต์การรอด	24
3	แสดงผลการเกิดและพัฒนาของแคลลัสในอาหารสูตร MS ซึ่งประกอบด้วย 2,4 – D ที่มีความเข้มข้นในระดับแตกต่างกันในข้าวพันธุ์หอมนิลและหอมกุหลาบดำโดยแสดงผลเป็นระดับคะแนน	27
4	แสดงผลการเกิดและพัฒนาของแคลลัสหลังการ subculture ครั้งแรก ในอาหารสูตร MS ซึ่งประกอบด้วย 2,4 – D ที่มีความเข้มข้นในระดับแตกต่างกัน ในข้าวเจ้าพันธุ์หอมนิล และหอมกุหลาบดำ โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนน	29
5	แสดงผลการเกิดและพัฒนาของแคลลัสในอาหารสูตร MS ซึ่งประกอบด้วย Kinetin ที่มีความเข้มข้นในระดับแตกต่างกัน ในเมล็ดข้าวเจ้าพันธุ์หอมนิลและหอมกุหลาบดำ	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงภาพกราฟเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การรอดหลังการฟอกฆ่าเชื้อ ระหว่างข้าวพันธุ์หอมนิลและพันธุ์หอมกุหลาบดำ	25
2	แสดงภาพกราฟการเปรียบเทียบผลการเกิดและพัฒนาของแคลลัส หลังการเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในข้าวหอมนิลและหอมกุหลาบดำ	28
3	แสดงภาพกราฟเปรียบเทียบผลการเกิดและพัฒนาของแคลลัสหลังการ subculture ครั้งแรก ในข้าวหอมนิลและหอมกุหลาบดำ	30
4	แสดงการให้ระดับคะแนนการเกิดและพัฒนาของแคลลัส ในอาหารสูตร MS ซึ่งประกอบด้วย 2,4 – D ที่มีความเข้มข้น ในระดับแตกต่างกัน ภาพที่ 1 ระดับคะแนน 2 ภาพที่ 2 ระดับคะแนน 3 ภาพที่ 3 ระดับคะแนน 4	32
5	แสดงการให้คะแนนการเกิด และพัฒนาของแคลลัสหลังการ subculture ครั้งแรก ในอาหารสูตร MS ซึ่งประกอบด้วย 2,4 – D มีความเข้มข้นในระดับแตกต่างกันในข้าวพันธุ์หอมนิลและหอมกุหลาบดำ	32
6	แสดงการเพาะเลี้ยงแคลลัสของข้าวพันธุ์หอมนิลและหอมกุหลาบดำ ที่ไม่พบการเจริญเติบโตของแคลลัส แต่พบการพัฒนาของยอดและรากขึ้น	33
7	แสดงผลการเกิดและพัฒนาของแคลลัสในอาหารสูตร MS ซึ่งประกอบด้วย Kinetin ที่มีความเข้มข้นในระดับแตกต่างกัน ในเมล็ดข้าวพันธุ์หอมนิลและหอมกุหลาบดำ	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตและส่งออกข้าวที่สำคัญของโลก แต่ผลผลิตเฉลี่ยต่อพื้นที่ของประเทศอยู่ในเกณฑ์ต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับประเทศผู้ผลิตอื่น ปัจจุบันเกษตรกรส่วนใหญ่มีความเข้าใจเล็งเห็นประโยชน์และความสำคัญของการใช้เมล็ดพันธุ์ดี ในการผลิตพืชเป็นการค้ากันอย่างแพร่หลายทั้งนี้ เพราะการผลิตโดยใช้เมล็ดพันธุ์ดีมีคุณภาพ จะทำให้มีประสิทธิภาพในการผลิตสูงขึ้น ผลผลิตเพิ่มขึ้น ต้นทุนการผลิตลดลง คุณภาพของผลผลิตดีขึ้น เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้นจากการขยายผลผลิต (เอกสงวน,2544)

ปัจจุบันเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เข้ามาช่วยการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ได้ตามลักษณะตามต้องการ เช่น ผลิตพันธุ์ข้าวผลผลิตสูง มีกลิ่นหอม ต้านทานต่อโรคพืช – แมลงศัตรูพืช และทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม นอกจากนี้ยังช่วยลดระยะเวลาค่าใช้จ่ายทำให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมได้สูง ความก้าวหน้าทางเทคนิคทางการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชยังทำให้เข้าใจพืชได้ลึกซึ้งมากยิ่งขึ้นทั้งทางด้านสรีระ กายภาพ และพฤติกรรมของพืช สามารถที่จะนำความรู้นี้ไปใช้ควบคุมการทำงานของพฤติกรรมบางอย่างได้ เทคนิคนี้ยังสามารถนำมาใช้ในเชิงการค้าได้อย่างกว้างขวางขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาอิทธิพลของฮอร์โมนในระดับต่างๆที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในเมล็ดข้าวสีดำ
2. เพื่อศึกษาการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ จากการเลี้ยงแคลลัสในเมล็ดข้าวสีดำที่ระดับฮอร์โมนต่างๆกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

ลักษณะทั่วไปทางพฤกษศาสตร์

ข้าว *(Oryza sativa L.)* นอกจากนี้ข้าวชนิด *O.sativa* ซึ่งปลูกกันทั่วไปแล้ว ยังมีข้าว *O. glaberrima* ซึ่งปลูกกันในบางประเทศในทวีปแอฟริกา ในปัจจุบันเนื้อที่เพาะปลูกข้าวชนิดหลังนี้ลดน้อยลงทุกปี และชาวนาใช้ข้าวชนิด *O.sative* ปลูกแทนมากขึ้นเรื่อย ๆ (De Datta,1981)

1. ราก (root) รากข้าวจัดเป็นระบบรากฝอย (fibrous root system) ประกอบด้วยรากย่อย (rootlet) และรากขนอ่อน (root hair) การเจริญเติบโตของรากเป็นระยะ คือรากชุดแรก (seminal root) จะแตกแขนงไม่มาก มีอายุอยู่ไม่นานหลังการงอก รากชุดเสริมที่ 2 (secondary root หรือ adventitious root) จะเป็นรากที่เกิดจากข้อใต้ระดับดินของต้นข้าวที่อ่อน แตกแขนงอย่างอิสระ ต่อมาเมื่อต้นข้าวเจริญเติบโตมากขึ้น เรียกว่า รากเสริมค้ำจุน หรือรากฝังดิน (mat root) ซึ่งเกิดจากข้อเหนือระดับผิวดิน บางส่วนจะงอกลงดิน แต่บางส่วนจะกระจายไปในแนวระดับ รากจะทำหน้าที่ยึดลำต้น และดูดน้ำ แร่ธาตุที่ละลายในดิน ลำเลียงไปยังส่วนต่างๆของลำต้นข้าว ผ่านลำต้นและกิ่ง (อรอนงค์,2547)

2. ลำต้น (clum) ต้นข้าวเกิดจากชุดของข้อ (node) และปล้อง (internode) ที่ต่อเรียงสลับกัน โดยมีผนังกั้นข้อ (node septum)กั้น มีนวมโคนกาบใบ (sheath pulvinus) หุ้มอยู่จึงมีลักษณะบวมใหญ่ขึ้น บริเวณข้อจะเป็นที่เกิดของใบและตา (bud) ตาบนต้นข้าวโดยเฉพาะที่ข้อถี่ๆโคนต้นจะเจริญเติบโตแตกกอ (tiller) เป็นต้นใหม่ที่มีต้น ใบ ราก และมีรวงอยู่ด้วยพันธุ์ข้าวแต่ละพันธุ์จะมีความสามารถในการแตกกอไม่เท่ากัน ข้าวที่ปลูกกันในดินที่ดีและปลูกห่างจะแตกกอมาก ลำต้นทำหน้าที่พยุง ใบ ดอกและรวง โดยเฉพาะให้ใบชูออกรับแสงแดด เพื่อสร้างอาหารจากการสังเคราะห์และลำเลียงน้ำ อาหาร และแร่ธาตุไปยังส่วนต่างๆ ของข้าว (อรอนงค์,2547)

3. ใบ (leaf) ใบข้าวเป็นใบแท้ (foliage leaf) ชนิดใบเดี่ยว (single leaf) เพราะข้าวเป็นธัญพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (monocotyledon) มีลักษณะเป็นแผ่นแบนบางและยาวคล้ายหอกเกิดจากข้อของลำต้นเรียงสลับกันเป็นสองแนว ประกอบด้วย ตัวใบ (leaf blade) กาบใบหรือก้านใบ (leaf sheath) ข้อต่อใบ (collar) หูใบ (stipule) หรือเยื่อกั้นฝน (ligule) และเขี้ยวกันแมลง (auricle) ใบข้าวใบแรกที่เกิดจากต้นแม่ (main clum) จะเป็นใบที่ไม่สมบูรณ์ มีลักษณะคล้ายกาบใบ ส่วนใบธงจะเป็นใบแรกที่อยู่บนสุดจากต้นข้าว ใต้ช่อดอกข้าวหรือรวงข้าวในระยะที่ข้าวออกดอกผสมเกสรสร้างรวง และเมล็ดนั้นจะได้รับอาหารจากใบธงและใบล่างถัดลงมาอีก 2 – 3 ใบ เป็นส่วนใหญ่ เพราะใบอื่นๆจะแก่และปรุงอาหารไม่ได้เกือบหมดแล้ว หน้าที่หลักของใบคือการปรุงอาหารจากกระบวนการสังเคราะห์แสงการคายน้ำและการหายใจ (อรอนงค์,2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ดอกข้าว (spikelet) ประกอบด้วย กลีบฝอ ซึ่งมี 2 ปุ่ม ติดอยู่ที่ดอรวงและส่วนปลายที่ต่อจากก้านดอกย่อย ชั้วดอก (rachilla) อยู่ถัดจากกลีบฝอขึ้นมา มีลักษณะเป็นก้านสั้นอยู่ระหว่างกลีบรองดอก (sterile lemmas) และเปลือกดอกใหญ่ (lemma) จะเป็นส่วนที่อยู่ติดกับเมล็ดของข้าว กลีบรองดอกเป็นกลีบเทียม 1 คู่ อยู่ติดกับชั้วดอก และอยู่ระหว่างกลีบฝอและดอกข้าว เปลือกดอกซึ่งมี 2 เปลือก คือ เปลือกดอกใหญ่ (lemma) และเปลือกดอกเล็ก (palea) บนส่วนยอดของเปลือกดอกใหญ่ในข้าวบางพันธุ์ จะมีปลายแหลมยื่นออกมาเรียกว่า หาง (awn) เปลือกดอกเป็นอวัยวะที่ใหญ่ที่สุดของดอกข้าว ทำหน้าที่ป้องกันและห่อหุ้มดอก (flower) ไว้ข้างใน ดอกข้าวมีความกว้างประมาณ 2 – 3 มิลลิเมตร และมีความยาวประมาณ 5 – 10 มิลลิเมตร เป็นดอกสมบูรณ์ (perfect flower) ที่มีอวัยวะเพศครบทั้ง 2 เพศ คือเกสรตัวเมีย (pistel) และเกสรตัวผู้ (stamen) อยู่ภายในดอกเดียวกัน แต่เป็นดอกชนิดที่มีอวัยวะสำคัญของดอกไม่ครบ (incomplete flower) คือ ไม่มีกลีบเลี้ยง (sepal) และไม่มีกลีบดอก (petal) ห่อหุ้มดอกไว้ ดอกข้าวสามารถผสมพันธุ์ได้ด้วยตนเอง (self-pollinated plant) เพศผู้มีอับเกสรเพศผู้ (anther) 6 อัน อยู่บนก้านอับเกสร (filament) ภายในอับเกสรเพศผู้จะเต็มไปด้วยละอองเกสร (pollen grain) ขนาดเล็ก เพศเมียมีพู่รับละอองเกสร (stigma) 2 อัน และรังไข่ (ovary) 1 รัง ซึ่งเชื่อมกันด้วยก้านพู่รับละอองเกสร (style) ก้านนี้มีขนาดสั้น เมื่อดอกข้าวบานปลายของพู่จะรับละอองเกสรอยู่ประมาณกึ่งกลางของดอกข้าว (อรอนงค์,2547)

5. เมล็ดข้าว (seed) (ชาญ,2536)

เมล็ดข้าวเกิดจากการผสมพันธุ์ กล่าวคือ เมื่อเรณูกระจายออกมาในช่วงอับเรณูแตกและตกลงยอดเกสรตัวเมียแล้ว ท่อนำนิวเคลียสเพศผู้ (germ tube) จะงอกเข้าไปในก้านชูเกสรตัวเมียเข้าสู่รังไข่ (ovary) นิวเคลียสหนึ่งจะเข้าผสมรังไข่ (egg) ในรังไข่แล้ว จะเจริญขึ้นเป็น คัพภะ (embryo) อีกนิวเคลียสหนึ่งจะเข้าผสมกับไข่อื่นที่เหลืออีก 2 ชุด (polarnuclei) แล้วเจริญขึ้นเป็น เอ็นโดสเปิร์ม (endosperm) ซึ่งมีโครโมโซม 3 ชุด เอ็นโดสเปิร์มเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงต้นอ่อนในขณะที่เมล็ดข้าวเริ่มงอก เอ็นโดสเปิร์มดังกล่าวคือส่วนที่เรานำมาบริโภคนั่นเองเมล็ดข้าวประกอบด้วยส่วนที่สำคัญ คือ

1. เปลือกนอก (hull,husk) คือส่วนที่เรียกว่า แกลบ คือใบประดับ (bract) ที่เปลี่ยนรูปมา แกลบมี 2 แผ่น แผ่นหนึ่งใหญ่อีกแผ่นเล็ก เซลล์แกลบส่วนใหญ่ประกอบด้วยสารซิลิกา
2. เปลือกเมล็ด (caryopsis) เป็นส่วนที่ห่อหุ้มแป้ง แต่อยู่ภายในแกลบประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ส่วน คือ เพอริคาร์พ (pericarp) เยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) และชั้นของนูเซลลัส (nucellus) เมื่อแกะเปลือกนอกของเมล็ดออกจะได้เมล็ดข้าวที่เราเรียกว่า "ข้าวกล้อง" ซึ่งมีสีแตกต่างกันตั้งแต่ขาว น้ำตาลอ่อนจนถึงแดง สีเหล่านี้คือสีของเนื้อเยื่อชั้นเพอริคาร์พนั่นเอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. แป้ง (endosperm) แบ่งได้เป็น 2 ส่วนดังนี้
   3.1 ชั้นอะลูโลน (aleurone layer) เป็นเนื้อเยื่อชั้นนอกสุดของส่วนที่เป็นแป้งจำนวนชั้นของเนื้อเยื่ออะลูโลนขึ้นกันกับพันธุ์ข้าวและสิ่งแวดล้อม อาจมี 3 ชั้น ชั้นของอะลูโลนมีธาตุฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และโปรแตสเซียม อยู่มาก
   3.2 ส่วนที่เป็นเนื้อแป้ง (starchy endosperm) เป็นส่วนที่เป็นแป้งที่เราใช้บริโภคเป็นอาหาร เนื้อแป้งนี้ประกอบด้วยเซลล์เม็ดแป้งและโปรตีน
4. คัพภะ (embryo) คือส่วนที่เรียกว่าจมูกข้าว เป็นตำแหน่งรวมของส่วนที่งอกเป็นต้นข้าวต้นใหม่ คัพภะประกอบด้วยส่วนที่จะงอกเป็นยอดอ่อน (plumule) ส่วนที่งอกเป็นรากแรกกำเนิด (radicle) ทั้งสองส่วนนี้ยึดติดกันด้วยปล้องที่สั้นมาก เรียกว่า "มีโซคอททิล" (mesocotyl) ยอดอ่อนจะห่อหุ้มด้วยลักษณะที่คล้ายใบที่ เรียกว่า เยื่อหุ้มยอดอ่อน (coleoptile) ส่วนของคัพภะทั้งหมดจะอยู่ในชั้นเนื้อเยื่ออะลูโลน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัดส่วนของโครงสร้างข้าว (เครือวัลย์,2536 และ Juliano,1993)

จากโครงสร้างของเมล็ดข้าวซึ่งประกอบด้วย 2 ส่วนหลักคือ แกลบ และ ข้าวกล้อง เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนต่างๆของเมล็ดข้าวจากน้ำหนักเมล็ดข้าว (ข้าวเปลือก) 100 % มีสัดส่วนดังนี้

ตารางแสดงสัดส่วนของโครงสร้างของเมล็ดข้าว

โครงสร้างเมล็ด	% สัดส่วน	
	ค่าเฉลี่ย	ช่วงของสัดส่วน
ข้าวเปลือก	100	-
แกลบ	20	16 - 28
ข้าวกล้อง	80	72 - 84
ข้าวกล้อง		
เยื่อหุ้มผล	1.5	1 - 2
เยื่อหุ้มเมล็ด	5.0	4 - 6
คัพภะ	3.0	2 - 3
เนื้อหุ้มเมล็ด	90.5	89 - 94
คัพภะ	3.0	-
รากอ่อน	0.18	-
ต้นอ่อน	0.34	-
เยื่อหุ้มรากอ่อน	0.18	-
ใบเลี้ยง	1.29	1.18 - 1.14
ท่อน้ำท่ออาหาร	0.26	-
อื่นๆ	0.75	-

ที่มา : เครือวัลย์ (2536) และ Juliano (1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้าวเจ้าพันธุ์หอมนิล

(http:/www.organicthailand.com/product.detail.php?lang=th&id=154511)

ข้าวเจ้าหอมนิลเป็นข้าวที่กลายพันธุ์จากข้าวเหนียวดำต้นเตี้ยของจีน โดยมีความสูงประมาณ 60 – 70 เซนติเมตร อายุการเก็บเกี่ยว 95 – 105 วัน แตกกอดี ลำต้นและใบมีสีเขียวปนม่วง เมล็ดยาวมีสีม่วงเข้ม กลิ่นหอม ผลผลิตประมาณ 400 – 700 กิโลกรัม/ไร่ จากการศึกษาเอกลักษณ์พันธุกรรมโดยใช้ Microsatellte จำนวน 48 ตำแหน่ง พบว่า ข้าวเจ้าหอมนิลมีความแตกต่างจากข้าวพันธุ์ Hei bao และข้าวพันธุ์ Xue bue huq ซึ่งมาจากจีน

ข้าวเจ้าหอมนิลนับเป็นข้าวที่มีโภชนาการสูง โดยมีโปรตีนประมาณ 10 – 25 % มีแคลเซียมประมาณ 4.2 มิลลิกรัม/ 100 กรัม ธาตุเหล็กประมาณ 2.25 – 3.25 มิลลิกรัม/ 100 กรัม ธาตุสังกะสี 2.9 มิลลิกรัม มีปริมาณ antioxidation สูงประมาณ 293 ไมโครโมล/กรัม จากข้อมูลทางโภชนาการนับได้ว่า ข้าวเจ้าหอมนิลเป็นข้าวที่มีศักยภาพในการแปรรูปทางอุตสาหกรรมอาหารสูง เช่น cracker หรือ cooky

ข้าวเจ้าหอมนิลเป็นข้าวที่ได้รับการคัดเลือกและพัฒนาจนได้ข้าวที่มีเมล็ดข้าวกล้องเรียวยาวสีม่วงเข้ม ข้าวกล้องเมื่อหุงจนสุกจะนุ่มเหนียว และมีกลิ่นหอม น่ารับประทาน ที่สำคัญคือข้าวกล้องมีโปรตีนสูงถึงประมาณ 12.5 % มีคาร์โบไฮเดรตประมาณ 70 % amylose 16 % และประกอบด้วยธาตุเหล็ก สังกะสี ทองแดง แคลเซียม และโพแทสเซียม ซึ่งสูงกว่าข้าวขาวดอกมะลิ (Chrispeels and David ,1994)

คุณค่าทางโภชนาการของข้าวเจ้าหอมนิล

คุณค่าทางโภชนาการ	ข้าวเจ้าหอมนิล
โปรตีน (%)	12.56
คาร์โบไฮเดรต (%)	70.00
ธาตุสังกะสี (มก./100กรัม)	2.90
ธาตุเหล็ก (มก./100กรัม)	3.26
แคลเซียม (มก./100กรัม)	4.20
โพแทสเซียม (มก./100กรัม)	339.40
ทองแดง (มก./100กรัม)	0.10

ที่มา : Chrispeels,M.L. and E.S.David. 1994.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้าวเจ้าหอมนิลมีเมล็ดข้าวกล้องสีดำ แต่ที่จริงคือสีม่วงเข้มที่สะสมอยู่ในส่วนของรำ (pericarp) ซึ่งประกอบไปด้วยทั้งหมดสามสี คือ สีน้ำตาลอ่อน (procyanidin),สีแดง (peonidin) และสีม่วง (cyaniding) สีทั้งหมดของข้าวเป็นรงควัตถุ (pigments) ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ flavonoid ในต้นข้าว ซึ่งอาศัย 2 ปัจจัยหลักคือ

1. ปัจจัยของพันธุกรรม (genetic factor) เช่น ระบบการทำงานของยีนควบคุม และมีโครงสร้าง

2. ปัจจัยของสภาพแวดล้อม (environment factor) เช่น สภาพของดิน แสง แร่ธาตุ สารอาหาร อุณหภูมิ และความเป็นกรด-ด่าง

ลักษณะประจำพันธุ์ ข้าวเจ้าหอมนิลเป็นข้าวเจ้านาสวน ไม่ไวแสง เมล็ดข้าวกล้องมีสีดำ เป็นข้าวมาจากประเทศจีน ที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์นำมาพัฒนาพันธุ์จนได้พันธุ์หอมนิล สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี การแตกกอดี ไม่ต้านทานโรคใบขอบแห้ง และแมลงโดยทั่วไป

ความสูงของต้น	75 เซนติเมตร
สีของใบ/ลำต้น	เขียวเข้มอมม่วง
เมล็ดข้าวกล้องยาวประมาณ	6.5 มิลลิเมตร มีสีม่วงดำ
เปลือกหุ้มเมล็ดข้าว	มีสีม่วงเข้ม
อายุการเก็บเกี่ยว	95-100 วัน
ผลผลิตเฉลี่ย	400-700กิโลกรัม/ไร่

ต้านทานต่อโรคไหม้ (blast) ทนทานต่อ สภาพแล้ง (drought) และดินเค็ม (salinity) ข้าวมีเมล็ดเรียวยาว ข้าวกล้องมีสีม่วงเข้ม มีกลิ่นหอม

ข้าวพันธุ์หอมกุหลาบดำ (PLS 94052 – P47 – 6R – 2 -1) (เล็ก,2546)

เป็นข้าวเจ้าที่ไม่ไวต่อช่วงแสง เมล็ดข้าวกล้องมีสีดำเกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวเหนียวดำกับข้าวแดงต้นเตี้ย ซึ่งเป็นพี่น้องกับ พันธุ์หอมกุหลาบแดง (Kho'Glum /pre90020 – R36 – PSL – 3 – 2 – 1) และมีอายุการเก็บเกี่ยว 125 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความหมายการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชวิธีหนึ่ง แต่มีการปฏิบัติภายใต้สภาพที่ควบคุม เรื่องความสะอาดแบบปลอดเชื้อ อุณหภูมิ และแสง ด้วยการนำชิ้นส่วนของพืชที่ยังมีชีวิต เช่น ลำต้น ยอด ตาข้าง ก้านช่อดอก ใบ ก้านใบ อับละอองเกสร เป็นต้น มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ และชิ้นส่วนนั้นสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ มีทั้งส่วนใบ ลำต้น และรากที่สามารถนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ (ยุพา,2527)

ประโยชน์

คุณสมบัติที่ถูกนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ของวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีหลายข้อพอสรุปได้ดังนี้

1. ประโยชน์ในการเก็บเชื้อพันธุ์พืช ในกรณีที่เราต้องการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จำนวนมากก็สามารถนำเซลล์ หรือเนื้อเยื่อของพืชมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่ทำให้การพัฒนาไปเป็นต้นพืชเป็นไปได้ช้าที่สุด ซึ่งเรียกว่า minimum หรือจะใช้วิธีที่เรียกว่า freeze preservation โดยการเก็บรักษาไว้ในสารที่มีอุณหภูมิต่ำ เช่น ไนโตรเจนเหลวที่มีอุณหภูมิต่ำถึง -19 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการนำเชื้อพันธุ์พืชนั้นมาใช้ก็นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีธาตุอาหารบริบูรณ์ ก็จะได้ต้นพืชที่ต้องการ หรือนำแคลลัส หรือนำเซลล์ที่เพาะเลี้ยงไปเก็บที่อุณหภูมิถึง -196 องศาเซลเซียส ซึ่งเรียกว่า cryogenic preservation ณ อุณหภูมิดังกล่าวเซลล์พืชหยุดการแบ่งตัว เชื้อพันธุ์ที่เก็บจึงคงไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงที่อาจเกิดจากการแบ่งเซลล์ (นพพร,2543)

2. ช่วยในการสร้างสายพันธุ์แท้ (inbred line) ในเวลาอันรวดเร็วกว่าการทำการผสมตัวเองซึ่งต้องใช้เวลา 2 – 3 ชั่วโมง โดยการนำละอองเกสรตัวผู้หรืออับละอองเกสรตัวผู้ซึ่งอยู่ในระยะที่ละอองเกสรตัวผู้ยังไม่พร้อมผสม (immature pollen grain) หรืออยู่ในระยะที่เป็นไมโครสปอร์ (microspore) หรือนำไข่ที่ยังไม่ ได้รับการผสมมาเพาะเลี้ยง เมื่อได้ต้นพืชแฮพพลอยด์แล้วจึงนำมาเพิ่มชุดโครโมโซมอีก 1 เท่า โดยใช้สารเคมี เช่น โคลชิซีน จะได้พืชที่เป็นดับเบิ้ลแฮพพลอยด์ ซึ่งยีนทุก loci จะอยู่ในสภาพโฮโมไซกัส และยีนด้อยสามารถแสดงออกมาให้เลือกใช้ได้ทันที (นพพร,2543)

3. ใช้ในการผสมพันธุ์พืชที่ไม่สามารถผสมกันโดยวิธีธรรมดาได้ โดยการนำเซลล์พืชมาขจัดผนังเซลล์ออก เหลือแต่ส่วนที่เรียกว่าโปรโตพลาส จากนั้นนำโปรโตพลาสของพืชที่ต้องการผสมกันมารวมเพาะเลี้ยงไว้ในที่เดียวกัน โปรโตพลาสทั้งสองจะรวมกันได้เป็นพันธุ์พืชใหม่ ซึ่งวิธีนี้เรียกว่า somatic cell hybridization (นพพร,2543)

4. ช่วยในการคัดเลือกพืชให้มีลักษณะที่ต้องการ เช่น การคัดเลือกพืชเพื่อต้านทานโรคบางชนิด ทำโดยการนำสารพิษที่เชื้อโรคสร้างขึ้นมาผสมลงในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงพืชนั้นเซลล์ที่อ่อนแอจะตายไป นำเซลล์ต้านทานที่เหลืออยู่มาเพาะเลี้ยงเจริญเป็นต้นพืชต่อไป พืชที่ประสบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสำเร็จในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรค เช่น ข้าวโพด มันฝรั่ง อ้อย และยาสูบ การคัดเลือกพันธุ์เพื่อให้ต้านทานดินเค็มทำได้โดยใส่เกลือแกงลงไป ในทำนองเดียวกันมีรายงานความสำเร็จใน ข้าว พริกไทย และยาสูบ บางครั้งพบว่าความต้านทานในระดับเซลล์อาจหายไปเมื่อเพาะเลี้ยงให้เป็นต้น ทั้งอาจเกิดจากการกลายพันธุ์ในลักษณะอื่นๆเพิ่มขึ้น เช่น ในการคัดเลือกอ้อยที่ต้านทานโรคสูง พบว่าพืชที่เจริญจากเซลล์ที่เลี้ยงในอาหารที่มีเกลือ (NaCl) 6 – 9 กรัมต่อลิตร จะทนเกลือในสภาพการเลี้ยงแบบ hydroponic ในเรือนปลูกพืชได้สูงกว่าพืชที่เจริญจากเซลล์ที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีเกลือ (นพพร,2543)

5. ใช้ในการเพาะเลี้ยงต้นอ่อน หรือไข่ ที่ได้จากการผสมระหว่างพืชที่มีความเกี่ยวข้องกันน้อย เช่น การผสมต่างสปีชี่ส์ หรือต่างจีนัส ซึ่งบ่อยครั้งที่พบว่า ไข่ที่ได้รับการผสมหรือต้นอ่อนไม่สามารถเจริญเติบโตจนได้เมล็ดพืชที่สมบูรณ์นำไปเพาะได้ ก็สามารถนำต้นอ่อนหรือไข่ดังกล่าวไปเพาะเลี้ยงให้ได้ต้นพืชซึ่งเรียกว่า embryo culture หรือ ovule culture ในบางพืชที่เมล็ดมีการพักตัว การนำต้นอ่อนที่เจริญอยู่ในระยะก่อนการพักตัวมาเพาะเลี้ยง ก็จะให้ต้นอ่อนงอกได้เร็วขึ้น (นพพร,2543)

6. ใช้ในการหาการกลายพันธุ์จากเซลล์ที่ร่างกายที่นำมาเพาะเลี้ยง เนื่องจากสามารถเพาะเลี้ยงเซลล์ได้ครั้งละมากๆ จึงมีโอกาสพบเซลล์ที่เกิดจากการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ หรือเกิดจากสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง ซึ่งเรียกว่า somaclonal variation ได้ลักษณะใหม่ที่อาจนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไปได้ (นพพร,2543)

7. ในปัจจุบันมีผู้คิดค้นเทคนิคทางพันธุวิศวกรรม มาช่วยในงานปรับปรุงพันธุ์พืช โดยการย้ายพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะที่ต้องการเข้าสู่เซลล์พืช โดยใช้พลาสมิดของแบคทีเรีย ไวรัส หรือพาหะอื่น เซลล์ที่ได้จะต้องนำไปเพาะเลี้ยงจนได้เป็นต้นที่เรียกว่า จึงสามารถใช้ประโยชน์จากเทคนิคดังกล่าวได้ (นพพร,2543)

8. แยกพืชที่มีพันธุกรรมที่ต้องการให้ปราศจากโรค ในบางครั้งพบว่าพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส มีลักษณะอื่นๆที่พึงประสงค์ ถึงแม้เชื้อไวรัสจะเคลื่อนย้ายสู่ทุกส่วนของพืชแต่พบว่าในเซลล์ที่เกิดใหม่บริเวณปลายยอดเชื้อยังเคลื่อนไปไม่ถึง จึงนำส่วนนั้นมาเพาะเลี้ยงให้ได้พืชที่ปราศจากโรคเพื่อนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป (นพพร,2543)

ธาตุอาหารและอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (รังสฤษดิ์,2540)

อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายชนิด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมต่อชนิดของพืชพันธุ์ตลอดจนชนิดและสภาพของชิ้นส่วนพืช (explant) ที่จะนำมาเลี้ยง อย่างไรก็ตามอาหารที่นิยมใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมากที่สุด คือ อาหารที่ดัดแปลงมาจากอาหารที่ใช้ได้ดีในการเลี้ยงกลุ่มเซลล์หรือแคลลัสทั้งนี้เนื่องจากการเลี้ยงแคลลัส (callus culture) และเซลล์แขวนลอย (cell-suspension

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

culture) ของพืชส่วนใหญ่เกือบทุกชนิดทำได้ง่ายกว่าการเลี้ยงจากส่วนอื่น ๆ แคลลัสเหล่านี้ได้จากการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหารกึ่งแข็งที่อย่างน้อยที่สุดประกอบด้วย เกลือของธาตุอาหารที่ต้องการครบ คือ สารประกอบอนินทรีย์ (inorganic substances) และสารปะรกอบอินทรีย์ (organic substances) ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง

แม้พืชทั้งต้นจะมีความต้องการขั้นพื้นฐานในการเจริญเติบโตไม่ซับซ้อนมากนักก็ตาม แต่การนำชิ้นส่วนของพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์นั้นมีความต้องการธาตุอาหารและสารบางอย่างที่จำเป็นที่มีความซับซ้อนมากกว่า และมีลักษณะเป็น seldom autotropic กล่าวคือต้องการทั้งมหาธาตุ (macro nutrients) และจุลธาตุ (micro nutrients) ที่ใช้ตามปกติในการเลี้ยงพืชในสารละลาย (hydropronic culture) นอกจากนั้นยังต้องการธาตุอาหารอื่น ๆ เช่น แหล่งของธาตุคาร์บอนและวิตามินอย่างมาก ปกติแล้วเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชที่แยกมาเลี้ยงจะต้องการวิตามินและสารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulators) ต่างๆซึ่งปกติสังเคราะห์ได้เองจากส่วนหนึ่งของต้นเพื่อไปสะสมไว้ยังอีกส่วนหนึ่งของต้นพืช แล้วเคลื่อนย้ายไปยังส่วนอื่นๆ เพื่อใช้ในกระบวนการเมตาโบลิซึม อย่างไรก็ตามผลของแต่ละสารประกอบที่จำเป็นนี้ยังไม่ทราบชัดสมบูรณ์โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของสารที่ได้จากกระบวนการเมตาโบลิซึม (Secondary metabolites) เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหารที่ใช้มักถูกดัดแปลงไปตามความมุ่งหมาย เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงพัฒนาเพื่อกำเนิดอวัยวะ (organogenesis) หรือ การกำเนิดคัพภะ (embryogenesis) จึงทำให้ยากต่อการหาข้อสรุปพื้นฐานที่สอดคล้องไปในทางเดียว กันได้โดยง่าย อย่างไรก็ตามโดยทั่วไปแล้วสามารถจำแนกสารเหล่านี้เป็นกลุ่ม ๆ ได้ดังนี้

1. ธาตุอาหารพวกอนินทรีย์ (inorganic substances) ประกอบด้วย
   1.1 ธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณมาก (macro nutrients) ได้แก่
   C,H,O,N,P,K,Ca,Mg และ S
   1.2 ธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณน้อย (micro nutrients) ได้แก่
   Fe,Mn,Cu,Zn,B,Cl และ Mo
2. ธาตุอาหารพวกอินทรีย์ (organic substances) ประกอบด้วย
   2.1 วิตามิน (Vitamin) ที่ใช้กันมากได้แก่ thiamine, nicrotinic acid, pyridoxine, inositol,biotin, panthothenic acid, folic acid, choline, chloride, riboflavin และ ascorbic acid
   2.2 ฮอร์โมน และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant hormones and plant growth regulators) ได้แก่
   2.2.1 สารในกลุ่มออกซิน (auxin) เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

indole-3-acetic acid (IAA)

indole butyric acid (IBA)

napthaleneacetic acid (NAA)

2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)

2,4-5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T)

2.2.2 สารในกลุ่มไซโตไคนิน (cytokinins) เช่น

N_6-Benzyladenine purine (BA)

Kinetin

Zeatin

N_6- isopentenyl adenine (2iP)

2.2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตอื่นๆ เช่น

gibeberellic acid (GA)

paclobutrazol

abscissic acid (ABA)

daminozide

picloram

2.3 สารที่เป็นแหล่งคาร์บอน (carbon sources) ได้แก่ สารประกอบพวกน้ำตาลต่างๆ เช่น glucose, sucrose, fructose, succharose และ mannitol

2.4 กรดอะมิโน (amino acid) ได้แก่ glutamine, asparagine, adenine, glycine และ casein hydrolysate

2.5 สารประกอบอินทรีย์อื่นๆ ส่วนใหญ่ได้จากธรรมชาติ เช่น น้ำมะพร้าว (coconut milk) สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) มันฝรั่ง (potato) น้ำคั้นมะเขือเทศ (tomato luice) กล้วยหอมบดและจากมอลท์สกัด (malt extract)

แม้พืชทุกชนิดโดยปกติต้องการธาตุอาหารหลักที่เหมือนกันก็จริง แต่จะต้องการในปริมาณหรือความเข้มข้นที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีความต้องการที่แตกต่างกันมาก ดังนั้นการเลือกอาหารเพื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นควรคำนึงถึง

1. ชนิดและสายพันธุ์ (species and cultivar) พืชต่างชนิดและต่างสายพันธุ์ ส่วนใหญ่มักต้องการธาตุอาหารที่ไม่เหมือนกัน

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ชนิดของชิ้นส่วนพืช (explant material) พืชชนิดเดียวกัน หรืออาจแม้กระทั่งต้นเดียวกันแต่ใช้ชิ้นส่วนของพืชจากส่วนต่างๆ เช่น ใช้ส่วนยอดมาเลี้ยงจะต้องใช้สูตรอาหารหนึ่งที่แตกต่างกันไปจากสูตรที่ใช้เลี้ยงชิ้นส่วนของรากหรือใบ

4. เป้าหมายของการเพาะเลี้ยง (target of culture) พืชชนิดเดียวกัน และชิ้นส่วนเดียวกันแต่มีเป้าหมายของการเลี้ยงที่ต่างกัน จำเป็นต้องใช้สูตรอาหารที่ต่างกันไปด้วย

5. สถานะของอาหาร (state of medium) ชิ้นส่วนของพืชเดียวกันที่เลี้ยงในสภาพอาหารแข็ง (solid medium) อาจได้ผลแตกต่างไปจากที่เลี้ยงในอาหารเหลว (liquid medium) หรืออาหารกึ่งแข็ง (semi-solid medium)

ส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง (นพพร, 2543)

เซลล์ที่นำมาเพาะเลี้ยงโดยทั่วไป เป็นชิ้นส่วนจากพืชที่ยังมีชีวิต ซึ่งประกอบด้วยหลายเซลล์เรียกว่า explant วิธีการเพาะเลี้ยงส่วนของ explant และจุดประสงค์ของการเพาะเลี้ยงแบ่งเป็น 5 ประเภท คือ

1. การเพาะเลี้ยงอวัยวะ (organ culture) ชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยงอาจเป็นต้นอ่อน อับละอองเกสรตัวผู้ รังไข่ ตา ราก ดอก หรือส่วนอื่นๆเพื่อศึกษา morphogenesis หรือเพาะเลี้ยงให้เป็นต้นพืชที่สมบูรณ์

2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญและเนื้อเยื่ออื่นๆ (mersitem and tissue culture) ชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยงอาจเป็น ปลายยอด ใบ ลำต้น หรือเนื้อเยื่อส่วนอื่นๆเพื่อเพาะเลี้ยงให้ได้ต้นพืชที่สมบูรณ์จำนวนมาก

3. การเพาะเลี้ยงแคลลัส (callus culture) ส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยง คือกลุ่มเซลล์ที่ยังไม่ได้เปลี่ยนแปลงหน้าที่ ซึ่งได้มาจากการนำเนื้อเยื่อมาเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้น ส่วนของ ราก ก้านใบ ไฮโปคอททิล ใบเลี้ยง หรือเนื้อเยื่อเจริญเพื่อเพาะเลี้ยงให้ได้ต้นพืชที่สมบูรณ์จำนวนมาก

4. การเพาะเลี้ยงเซลล์ เป็นการเพาะเลี้ยงเซลล์ในหลอดแก้วโดยใช้อาหารเหลวและวางบนเครื่องเขย่า เพื่อเพาะเลี้ยงให้ได้เซลล์จำนวนมากสำหรับเตรียมโปรโตพลาส

5. การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาส (protoplast culture) เป็นการเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสที่เตรียม จากเซลล์เนื่อเยื่อ หรือเซลล์ที่เพาะเลี้ยงไว้ เพื่อนำยีนจากพืชที่ผสมกันไม่ได้ด้วยวิธีทางธรรมชาติมารวมกันโดยวิธีที่เรียกว่า protoplast fusion จากนั้นชักนำให้เจริญเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ต่อไป

การเพาะเลี้ยงจะได้รับความสำเร็จเพียงใดขึ้นกับส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงด้วย ในพืชส่วนใหญ่การพัฒนาของเซลล์จะแตกต่างกันไปตามอาหารที่ใช้ แต่โดยทั่วไปหลังการเพาะเลี้ยงประมาณ 4 – 8 สัปดาห์เซลล์ของ explant จะแบ่งตัวให้เซลล์จำนวนมาก เรียกว่าแคลลัสซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้เพาะเลี้ยงอาจต้องแยกและเปลี่ยนอาหาร ซึ่งเรียกว่า subculture การตัดแยกและเปลี่ยนอาหารหลายครั้งถึงแม้จะทำให้แคลลัสมีการขยายขนาดใหญ่เร็วขึ้น แต่ในบางครั้งอาจเป็นการลดโอกาสในการชักนำให้พัฒนาไปเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์และพันธุกรรมอาจไม่คงที่ สภาพการเลี้ยงแคลลัสที่เหมาะสมคือสภาพปลอดเชื้อที่มีแสงสว่างน้อยและอุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส

อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

(http://plantpro.doae.go.th/tissue/tissue-3.html)

อุปกรณ์ที่ใช้กับงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อค่อนข้างมีมากชนิด การจัดวางเครื่องมือต้องคำนึงถึงความสะดวกในการใช้ต่อพื้นที่ให้เกิดประโยชน์มากที่สุด ถ้ากำหนดชนิดของเครื่องมือตามตำแหน่งของการใช้งานภายในห้องปฏิบัติการจะแบ่งออกเป็น 3 ห้องใหญ่ๆคือ

1. ห้องเตรียมอาหาร
2. ห้องตัดเนื้อเยื่อ
3. ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ภายในแต่ละห้องจะมีอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้งานเป็นประจำ แตกต่างกันไปตามลักษณะงานดังนี้

1. ห้องเตรียมอาหาร เป็นห้องที่ใช้เก็บสารเคมีและวัสดุอุปกรณ์เพื่อการชั่งสารหรือผสมอาหาร หม้อนึ่งความดันไอ ตู้อบความร้อนแห้ง ดังนี้

1.1 สารเคมี จัดวางในตู้หรือบนชั้นวางของอย่างเป็นระเบียบเป็นหมวดหมู่ หรือตามอักษรที่สำคัญควรอยู่บริเวณเดียวกับที่วางเครื่องชั่ง

1.2 เครื่องชั่ง เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ควรวางอยู่บนโต๊ะที่มั่นคงไม่สั่นสะเทือนง่าย

1.3 เครื่องแก้วและเครื่องมืออื่นๆ ควรมีที่เก็บมิดชิด และไม่ห่างจากอ่างน้ำมากนัก

1.4 อ่างน้ำ ใช้สำหรับล้างทำความสะอาดเครื่องมือต่างๆเพื่อความสะดวกต่อการปฏิบัติงาน อาจอยู่มุมหนึ่งของบริเวณห้อง

1.5 บริเวณเตรียมอาหาร ควรเป็นโต๊ะหรือพื้นที่ที่มีความสูงพอที่จะปฏิบัติงานในลักษณะยืนหรือนั่งก็ได้

1.6 เครื่องกรองน้ำ อาจใช้เครื่องกรองน้ำดื่มตามบ้านได้

1.7 เครื่องชั่ง มี 2 แบบ คือ เครื่องชั่งอย่างละเอียด และเครื่องชั่งอย่างหยาบ

1.7.1 เครื่องชั่งอย่างละเอียด สามารถชั่งได้เป็นมิลลิกรัมหรือทศนิยม 4 ตำแหน่ง ใช้สำหรับชั่งสารเคมี วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งใช้ปริมาณน้อยมาก

1.7.2 เครื่องชั่งอย่างหยาบ ชั่งได้เป็นกรัม หรือทศนิยม 2 ตำแหน่ง ใช้สำหรับชั่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมีที่ใช้ปริมาณมาก เช่น วุ้น และน้ำตาล

1.8 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter) ใช้วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารสังเคราะห์ ควรอยู่ที่ระดับ 5.6

1.9 เครื่องคนสารละลายใช้สำหรับคนสารละลายเมื่อใส่แท่งคนไฟฟ้า (magnetic stirrer) ขณะเตรียมอาหาร

1.10 เตาต้มอาหาร อาจเป็นเตาไฟฟ้าหรือเตาแก๊ส ใช้สำหรับต้มอาหารเพื่อให้วุ้นละลาย

1.11 ตู้อบความร้อนแห้ง (hot air oven) ใช้ในการอบฆ่าเชื้อเครื่องแก้วและอุปกรณ์ในการตัดย้ายเนื้อเยื่อ โดยใช้อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง

1.12 เครื่องแก้ว ปัจจุบันนิยมใช้เป็นพลาสติกเพราะลดความเสียหายจากการแตกร้าวได้ค่อนข้างมาก

1.12.1 ฟลาสค์หรือขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 - 1,000 มิลลิลิตร

วิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (นพพร,2543)

1. นำชิ้นส่วนพืชที่ต้องการมาล้างน้ำให้สะอาด
2. ตกแต่งชิ้นส่วนพืช ตัดส่วนที่ไม่ต้องการออก
3. นำชิ้นส่วนพืชจุ่มในแอลกอฮอล์ 95% เพื่อลดแรงตึงผิวบริเวณนอกชิ้นส่วนพืช
4. นำชิ้นส่วนพืชมาเขย่าในสารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้นาน 10-15 นาที
5. ใช้ปากคีบ คีบชิ้นส่วนพืช ล้างในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง
6. ตัดชิ้นส่วนพืชตามขนาดที่ต้องการแล้ววางบนอาหารสังเคราะห์
7. ลงรายละเอียด เช่น ชนิดพืช วันเดือนปี หรือรหัส

*ในการทำการฆ่าเชื้อที่ติดมากับผิวพืชและการนำไปเลี้ยงบนอาหาร ทำในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อโดยตลอด

การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (ยุพา,2527)

1. การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร นำขวดที่บรรจุอาหารแล้วไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15-20 นาที

2. การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์บริเวณภายนอกชิ้นส่วนพืช เป็นสิ่งจำเป็นและสำคัญที่จะต้องฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับบริเวณผิวนอกของชิ้นส่วนพืช เนื่องจากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีธาตุอาหารและไวตามิน ที่จุลินทรีย์ต่าง ๆ เจริญได้ดีและรวดเร็วกว่าเนื้อเยื่อพืชการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำได้สะดวกและได้ผลดี โดยการใช้สารเคมีชนิดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้หมดทุกชนิด และล้างออกได้ง่าย เพราะถ้าล้างออกได้ยาก สารเคมีเหล่านี้จะมีผลทำให้เนื้อเยื่อพืชตาย หรือมีการเจริญเติบโตไม่ดีเท่าที่ควร การเติมน้ำยาซักฟอกลงไปในสารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ จะทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสิทธิภาพสารเคมีเหล่านั้นดีขึ้น เนื่องจากจะทำให้ลดแรงตึงผิวบริเวณผิวนอกของชิ้นส่วนพืช สารเคมีจะแทรกซึมเข้าไปทำลายจุลินทรีย์ตามซอกต่าง ๆ ได้ดีขึ้น การเตรียมสารเคมีฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทำโดยตวงสารให้ได้ปริมาตรตามที่ต้องการ แล้วเติมน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อและน้ำยาซักฟอกลงไปเขย่าให้เข้ากัน การเตรียมนี้ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้

คุณลักษณะของเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Pierik,1987)

1. เป็นการแยกชิ้นส่วนของพืชออกจากต้นแม่ ดังนั้นพัฒนาการตามธรรมชาติจะสูญไป ชิ้นส่วนของพืชที่แยกมาเพาะเลี้ยงอาจจะเจริญเติบโตเป็นกลุ่มเซลล์ หรือพัฒนาไปในรูปแบบอื่นที่ไม่เหมือนเดิม อาจกลายเป็นอวัยวะต่างๆ หรือกลายเป็น เอมบริโอ ก็ได้

2. สภาพแวดล้อมต้องเหมาะสมในการเจริญเติบโต ทั้งสภาวะทางกายภาพ อาหาร ฮอร์โมน สิ่งแวดล้อมทางกายภาพ เช่น แสง อากาศ อุณหภูมิ และสภาวะความเป็นกรดความเป็นด่าง (pH) ของอาหารต้องเหมาะสม นอกจากนี้สารอาหารที่พืชต้องการจะต้องมีครบถ้วนเช่น แร่ธาตุ วิตามิน น้ำตาล และฮอร์โมน เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสมชิ้นส่วนของพืชสามารถเจริญขึ้นได้เต็มที่

3. การทำงานทุกอย่างอยู่ใต้สภาวะปลอดเชื้อ ต้องปลอดจากเชื้อทุกชนิด เช่น แบคทีเรีย เห็ด รา และสาหร่าย เนื่องจากจุลินทรีย์เหล่านี้เจริญเติบโตในอาหารสังเคราะห์ได้เร็วกว่าการเจริญ เติบโตของเนื้อเยื่อพืช

4. เนื่องจากพัฒนาการโดยปกติของพืชถูกรบกวน ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงสามารถจัดการให้เนื้อเยื่อเกิดการพัฒนาในรูปแบบต่างๆได้ เช่น การบังคับให้เนื้อเยื่อพืชเจริญเป็นราก เป็นยอด เป็นแคลลัส หรือเป็นเอมบริโอ เป็นต้น

5. สามารถเพาะเลี้ยงเซลล์เดี่ยวๆและโปรโตพลาสได้ จากสารพันธุกรรมที่มีครบครันในเซลล์แต่ละเซลล์ ดังนั้น จากเซลล์เดี่ยวสามารถเจริญขึ้นมาเป็นพืชต้นใหม่ได้

การเพาะเลี้ยงแคลลัส (สมปอง,2536)

แคลลัส คือ กลุ่มเซลล์ที่พัฒนามาจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆของพืช ในอาหารสังเคราะห์ภายใต้สภาวะการเลี้ยงในหลอดทดลองซึ่งปลอดเชื้อ ดังนั้นไม่ว่าชิ้นส่วนลำต้น ใบ ราก มาตัดวางบนอาหารแข็งจะถูกชักนำให้มีการแบ่งเซลล์บริเวณรอยตัด หรือบริเวณที่มีบาดแผลเพื่อซ่อมตัวเอง กระบวนการดังกล่าวเกิดหลังจากทำการเพาะเลี้ยง 3 – 5 วัน เมื่อได้แคลลัสจำนวนมากหลังการเพาะเลี้ยง 3 – 4 สัปดาห์ แล้วตัดแยกเฉพาะก้อนแคลลัสไปเลี้ยงในอาหารสูตรใหม่ หรือสูตรเดิม เพื่อพัฒนาการเป็นต้นพืชใหม่ต่อไป ในการเพาะเลี้ยงแคลลัสนั้นควรมีการเลือก ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดและความเข้มข้นให้เหมาะสม หากมีการใช้สารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับความ เข้มข้นสูงจะเกิดการกลายพันธุ์ ต้นพืชที่ได้ไม่ตรงตามพันธุ์ หากหลีกเลี่ยงไม่ได้ ความทำการเลี้ยงเป็นระยะสั้นๆ เพื่อให้แคลลัสได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโตเพียงช่วงสั้น หลังจากนั้นให้รีบย้ายแคลลัสไปเลี้ยงในอาหารชักนำยอดหรือต้นอ่อนต่อไป สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ชักนำแคลลัส ได้ดีในช่วงแรกคือ 2,4-D อย่างไรก็ตามพืชบางชนิดต้องการ NAA ดังนั้นควรเลือกใช้ให้ตรงตามความต้องการของพืชแคลลัสที่ชักนำจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆ ในอาหารเติมสารควบคุมต่างๆแบ่งเป็น 2 ประเภทคือ แคลลัสที่มีโครงสร้างร่วนเปราะ ประกอบด้วยเนื้อเยื่อพาเร็งไคมา มีสีเหลืองหรือสีครีมมีลักษณะโปร่งมีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว มองดูแล้วคล้ายฟองน้ำ กับแคลลัสทีมีโครงสร้างแน่นทึบประกอบด้วยเนื้อเยื่อที่มีรูปร่างกลม แข็งอาจมีการสร้างคลอโรฟิลล์ทำให้เห็นสีเขียวเข้มเมื่อตัดดูทางกายวิภาคพบว่ามีการเปลี่ยนแปลง รูปร่างของเซลล์ไปเป็นรูปร่าง เช่น ยอด

การชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าว

การเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืชเป็นกระบวนการที่สลับซับซ้อน เพราะได้รับผล กระทบมาจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น แสง อุณหภูมิ ความชื้น ลม แรงดึงดูดของโลก อากาศ ซึ่ง สิ่งเหล่านี้ เป็นปัจจัยภายนอก และจากสารเคมีที่มีอยู่ในพืชเองซึ่งจัดเป็นปัจจัยภายใน ในบรรดา สารเคมีซึ่งควบคุมการเจริญเติบโตของพืชนั้นฮอร์โมนนับว่ามีความสำคัญมาก ในการควบคุม กิจกรรมหลายชนิดภายในพืช เช่น การเกิดราก การพักตัวของเมล็ด การติดดอกและผล การร่วง และการเสื่อม เป็นต้น (สัมพันธ์,2526)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นสิ่งสำคัญและเป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลาย และการที่จะ ประสบความสำเร็จต้องมีเทคนิคต่างๆหลายอย่าง ตั้งแต่การเลือกชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง การเลือกสูตรอาหารพืชให้เหมาะสม การดูแลขวดเพาะเลี้ยง และการเพิ่มจำนวนต้น (ศิวพงศ์, 2541) เนื้อเยื่อและเซลล์ส่วนที่มีชีวิตสามารถนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ ในสภาพ ปลอดเชื้อในห้องทดลอง การที่สามารถเลี้ยงเนื้อเยื่อให้เจริญได้ โดยการชักนำให้เนื้อเยื่อสร้าง กลุ่มเซลล์ ที่เรียกว่า แคลลัส จากนั้นจึงชักนำให้แคลลัสเจริญเติบโตเป็นต้นข้าวต่อไป

สุริยันต์และคณะ (2539) ทดสอบความสามารถในการเกิดแคลลัสของเมล็ดข้าวจะแตก ต่างกันออกไป โดยการนำเมล็ดข้าวมาแกะเปลือกหุ้มเมล็ดและจะพิจารณาบนอาหาร MS ที่ เติมออกซินต่างกัน เช่น 2,4-D และ Kinetin จากการทำงานร่วมกัน นำแคลลัสที่ได้มาเพิ่ม บนปริมาณอาหารแข็งสูตร MS ที่มี Kinetin 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และนำไปเลี้ยงในสภาพที่ ได้รับแสง 16 ชั่วโมง สลับกับช่วงมืด 8 ชั่วโมง เปลี่ยนอาหารทุก 2 สัปดาห์ เมื่อได้ปริมาณ แคลลัสที่เพียงพอ ทำการชักนำให้เกิดต้นโดยการ dehydrate แคลลัส ในแก้วที่มีกระดาษรอง 1 ชั้น นาน 3 วัน แล้วเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมและในสภาพเดียวกัน สุริยันต์และคณะ (2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

100452

ได้ทำการทดลองนำแคลลัสข้าวลักษณะเกาะกันแน่นสีเหลืองขาว จากสูตรอาหารเพิ่มปริมาณแคลลัสที่มีการเจริญเติบโตของแคลลัสสูงสุดมาทำให้แห้ง โดยใช้จานแก้วที่มีกระดาษรอง 2 ชั้น ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ นำแคลลัสใส่ในจานปิดด้วยพาราฟิล์ม เก็บไว้ในสภาพมืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

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

Ketchum (1978), Yoshida และคณะ (1983) ได้ทำการศึกษาสารในกลุ่มไซโตไคนิน tryptophan IAA และสารสกัดจากยีสต์ยังมีผลต่อการเกิดแคลลัสชนิด embryogenic ส่วนในการเพาะเลี้ยงในสภาพแสงสามารถเกิดแคลลัสได้ดีในสภาพมืด โดยแสงที่ให้ในระหว่างการเพาะเลี้ยงไม่ได้มีจุดมุ่งหมายเพื่อให้เนื้อเยื่อสังเคราะห์แสง แต่เพื่อช่วยให้การพัฒนาไปเป็นรากหรือต้น (morphogenesis)

Jenet และ Seabrook (1980) รายงานว่า หลังจากการเพาะเลี้ยงแคลลัสไปนานๆ จะทำให้แคลลัสมีลักษณะเกาะกันหลวมๆ มีสีเหลืองอมน้ำตาล ไม่เหมาะสมที่จะชักนำให้เกิดต้นและราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์

1.1 เมล็ดข้าวเจ้าพันธุ์หอมนิล

1.2 เมล็ดข้าวเจ้าพันธุ์หอมกุหลาบดำ

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (1962)

2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชได้แก่ 2,4-D (2,4- dichlorophenoxyacetic acid) และ Kinetin

2.3 สารที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่

- แอลกอฮอล์ 70% และ 95% (alcohol)
- คลอรอกซ์ (clorox)
- สารจับใบ (teepol)

2.4 น้ำตาล ได้แก่ sucrose

2.5 ผงวุ้น

2.6 น้ำกลั่น

3. เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ได้แก่

3.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด (analytical balance)

3.2 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

3.3 บีกเกอร์ (beaker)

3.4 ปิเปต (pipette)

3.5 ขวดแก้วพร้อมฝาปิด (bottle)

3.6 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)

3.7 เตาอุ่นความร้อนและเครื่องคน (hot plate and magnetic stirrer)

4. เครื่องมือและสารที่ใช้ในการตัดแยกชิ้นส่วน ได้แก่

4.1 ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow)

4.2 มีดผ่าตัด (knives and scalpels)

4.3 ปากคีบ (forceps)

4.4 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (tunel)

4.5 ขวดอาหารที่เตรียมและนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีอุณหภูมิประมาณ 25 ±3 องศาเซลเซียส พร้อมชั้นวางมีหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์แสงสีขาว (white light fluorescence)
6. กล้องถ่ายรูปพร้อมอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการถ่ายรูป และกระดาษสี

วิธีการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1: การเตรียมอาหาร

1.1 ชั่งสารเคมีต่างๆตามสูตร Murashige and Skoog (1962) โดยเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น (stock solution) เพื่อสะดวกในการเตรียมแต่ละครั้ง

1.2 เติมน้ำตาลในอาหารสูตร MS ในอัตรา 30 กรัมต่อลิตร

1.3 เติมน้ำกลั่นประมาณ 500 mg/l คนน้ำตาลให้ละลาย

1.4 ดูดสารละลายจาก stock solution ต่างๆมารวมกันโดยใช้ปริมาตรในแต่ละ 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

1.5 เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

- ใช้ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0.25, 0.50,1.00 ,2.00 ,3.00 และ 4.00 mg/l

1.6 ปรับปริมาตรสารละลายอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในแต่ละสูตร ด้วยการเติมน้ำกลั่นให้ได้ครบ 1,000 ml

1.7 ปรับค่าความเป็นกรด- ด่าง (pH) ด้วยกรดเกลือ (HCl) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ให้อยู่ในช่วงประมาณ 5.8

1.8 เติมผงวุ้นปริมาตร 11 กรัมต่อลิตร นำไปต้มจนผงวุ้นละลาย

1.9 บรรจุอาหารลงในขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อปิดฝาให้สนิท แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลาประมาณ 20 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่ 2 : การฟอกฆ่าเชื้อ

1. แกะเปลือกเมล็ดข้าวเจ้าสายพันธุ์หอมนิลและข้าวเจ้าสายพันธุ์หอมกุหลาบดำจำนวนพันธุ์ละ 90 เมล็ด
2. แช่ในสารละลายเอธิทแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ โดยแช่เมล็ดไว้นานประมาณ 1 – 2 นาที
3. ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับ สารจับใบ Teepol ประมาณ 2 – 3 หยด แล้วปิดฝาขวดเขย่าให้สม่ำเสมอเป็นเวลา 15 นาที
4. ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับ สารจับใบ Teepol ประมาณ 2 – 3 หยด แล้วปิดฝาขวดเขย่าให้สม่ำเสมอเป็นเวลา 10 นาที
5. นำเมล็ดข้าวเข้าตู้ปลอดเชื้อ ล้างด้วยน้ำกลั่นที่อบฆ่าเชื้อแล้ว 3 – 4 ครั้ง จนสะอาด

ขั้นตอนที่ 3 : วิธีการเพาะเลี้ยงและชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส

1. นำเมล็ดพันธุ์ข้าวพันธุ์หอมนิลและพันธุ์หอมกุหลาบดำที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ซึ่งมีระดับความเข้มข้นของ 2,4 – D ที่มีความเข้มข้น 6 ระดับ ดังนี้
   - ความเข้มข้นของ 2,4 – D เป็น 0.25 มิลลิกรัม/ลิตร
   - ความเข้มข้นของ 2,4 – D เป็น 0.50 มิลลิกรัม/ลิตร
   - ความเข้มข้นของ 2,4 – D เป็น 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร
   - ความเข้มข้นของ 2,4 – D เป็น 2.00 มิลลิกรัม/ลิตร
   - ความเข้มข้นของ 2,4 – D เป็น 3.00 มิลลิกรัม/ลิตร
   - ความเข้มข้นของ 2,4 – D เป็น 4.00 มิลลิกรัม/ลิตร
2. ทำการคัดเลือกขวดที่ปราศจากการปนเปื้อน (contaminate) และแคลลัสที่มีการเจริญเติบโตที่ดี จำนวน 15 ขวด นำไปเก็บไว้ในที่มืดที่มี อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์
2. ทำการบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงและการพัฒนาของแคลลัส

ขั้นตอนที่ 4 : การเพิ่มปริมาณแคลลัส

1. นำแคลลัสที่มีลักษณะเกาะกลุ่มกันแน่นสีเหลืองจากสูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดแคลลัส
2. เปลี่ยนอาหาร (sub-culture) ให้กับแคลลัส โดยการตัดเมล็ดส่วนยอดและรากที่ติดมากับแคลลัสออก นำมาเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2,4 – D ความเข้มข้นเป็น1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อเพิ่มจำนวนแคลลัสไว้เป็นเวลา 2 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3. ทำการบันทึกผลการเจริญเติบโต เป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และแสดงผลเป็นระดับคะแนนการเกิดแคลลัส ลักษณะและสีของแคลลัส

ขั้นตอนที่ 5 : การชักนำแคลลัสให้เกิดต้น

1. นำแคลลัสที่เจริญเติบโตดีมาเปลี่ยนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม Kinetin ที่มีระดับความเข้มข้น 4 ระดับดังนี้
   - ความเข้มข้นของ Kinetin เป็น 0.00 มิลลิกรัม/ลิตร
   - ความเข้มข้นของ Kinetin เป็น 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร
   - ความเข้มข้นของ Kinetin เป็น 2.00 มิลลิกรัม/ลิตร
   - ความเข้มข้นของ Kinetin เป็น 3.00 มิลลิกรัม/ลิตร
2. แล้วนำไปเก็บไว้ในที่มีแสงสว่าง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อชักนำแคลลัสให้เป็นต้น
3. บันทึกผลการทดลอง แล้วจัดแสดงผลการเจริญเติบโตและการพัฒนาของแคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1

จากการทดลองการฟอกฆ่าเชื้อในข้าวเจ้าพันธุ์หอมนิล และข้าวเจ้าพันธุ์หอมกุหลาบดำ ซึ่งการฟอกฆ่าเชื้อได้ทำในอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบ ด้วย 2,4 – D ในสูตรต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน (ปรากฏผลดังภาพที่ 1) พบเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดหลังการฟอกฆ่าเชื้อสำหรับข้าวหอมนิล ในวันแรกพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อต่ำมากและเมื่อครบ 7 วัน พบเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเฉลี่ย 83 % ดังแสดงผลในตารางที่ 1 และภาพที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลหลังการฟอกฆ่าเชื้อในเมล็ดข้าวเจ้าสายพันธุ์หอมนิล โดยแสดงผลเป็นระดับเปอร์เซ็นต์การรอดดังนี้

จำนวนวัน	สูตรอาหารที่ *						
(วัน)	1	2	3	4	5	6	เฉลี่ย
1	100%	100%	100%	100%	93.75%	93.75%	98.00%
3	93.75%	93.75%	93.75%	87.00%	87.00%	93.75%	91.50%
5	93.75%	93.75%	93.75%	87.00%	87.00%	93.75%	91.50%
7	81.25%	87.00%	87.00%	87.00%	75.00%	81.25%	83.08%

หมายเหตุ * สูตรที่ 1 คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2,4 – D เป็น 0.25 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 2 คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2,4 – D เป็น 0.50 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 3 คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2,4 – D เป็น 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 4 คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2,4 – D เป็น 2.00 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 5 คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2,4 – D เป็น 3.00 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 6 คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2,4 – D เป็น 4.00 มิลลิกรัม/ลิตร
** จำนวนซ้ำที่ทดลองเป็น 16 ขวด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการทดลองการฟอกฆ่าเชื้อในข้าวเจ้าพันธุ์หอมกุหลาบดำ เช่นเดียวกับพันธุ์หอมนิล โดยเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบ ด้วย 2,4 – D ในสูตรต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน จากการทดลองพบเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดหลังการฟอกฆ่าเชื้อสำหรับข้าวหอมกุหลาบดำ ในวันแรกพบเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อต่ำมากไม่แตกต่างกับพันธุ์หอมนิล เมื่อครบ 7 วัน พบเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดหลังการฟอกฆ่าเชื้อเฉลี่ย 85 % ดังแสดงผลในตารางที่ 2 และภาพที่ 1

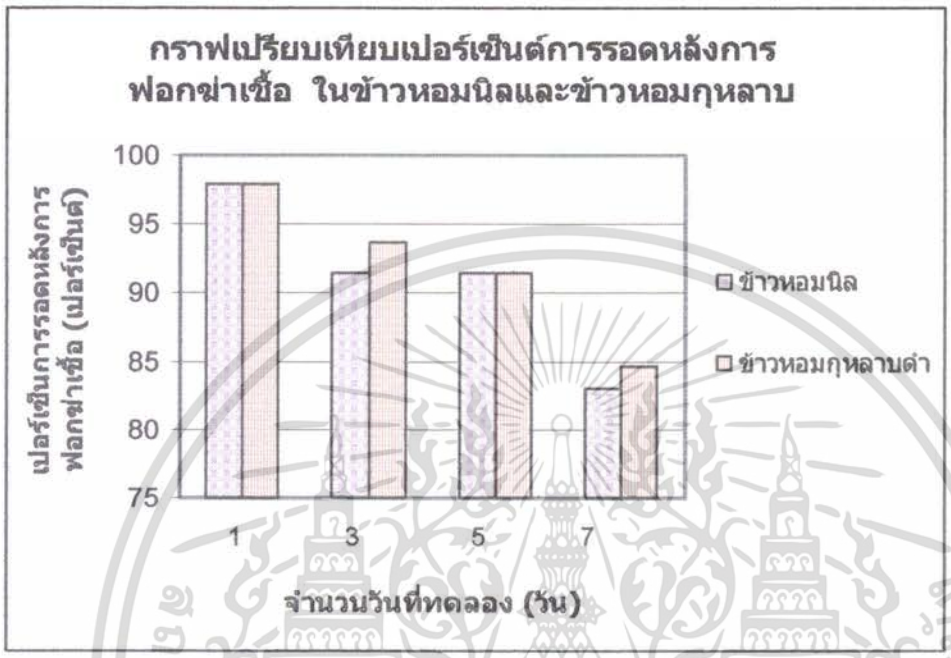
ตารางที่ 2 แสดงผลหลังการฟอกฆ่าเชื้อในเมล็ดข้าวเจ้าสายพันธุ์หอมกุหลาบดำ โดยแสดงผลเป็นระดับเปอร์เซ็นต์การรอดดังนี้

จำนวนวัน	สูตรอาหารที่ *						
(วัน)	1	2	3	4	5	6	เฉลี่ย
1	93.75%	93.75%	100%	100%	100%	100%	98.00%
3	87.00%	93.75%	93.75%	93.75%	93.75%	100%	93.67%
5	87.00%	87.00%	93.75%	93.75%	93.75%	93.75%	91.50%
7	75.00%	75.00%	87.00%	95.75%	93.75%	81.25%	84.63%

หมายเหตุ * สูตรที่ 1 คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2,4 – D เป็น 0.25 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 2 คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2,4 – D เป็น 0.50 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 3 คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2,4 – D เป็น 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 4 คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2,4 – D เป็น 2.00 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 5 คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2,4 – D เป็น 3.00 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 6 คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2,4 – D เป็น 4.00 มิลลิกรัม/ลิตร
** จำนวนซ้ำที่ทดลองเป็น 16 ขวด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 1 กราฟแสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การรอดหลังการฟอกฆ่าเชื้อ ระหว่างข้าวพันธุ์หอมนิลและพันธุ์หอมกุหลาบดำ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่ 2

จากการศึกษาผลของฮอร์โมนต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส ในชิ้นส่วนของข้าวเจ้าพันธุ์หอมนิลและข้าวเจ้าพันธุ์หอมกุหลาบดำ โดยใช้ 2,4 – D เป็นตัวชักนำให้เกิดแคลลัส การเพาะเลี้ยงแคลลัสข้าวในอาหารแข็งสูตร MS ซึ่งประกอบด้วย 2,4 – D ที่ มีความเข้มข้นในระดับแตกต่างกัน ปรากฏผลดังตารางที่ 3 และภาพที่ 2

หลังการเพาะเลี้ยงแคลลัสในข้าวหอมนิล เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เก็บไว้ในที่มืด เพื่อชักนำให้เกิดต้นข้าว เมื่อครบ 4 สัปดาห์ ปรากฏผลว่า สูตรอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของ 2,4 – D เป็น 0.25 และ0.50 มิลลิกรัม/ลิตร ไม่พบแคลลัสแต่พบการเกิดยอดและรากขึ้น (1 คะแนน หมายถึง ไม่พบแคลลัส) ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของ 2,4 – D เป็น 1.00 และ 3.00 มิลลิกรัม /ลิตร พบแคลลัสขนาดกลางเกาะกลุ่มกันเป็นก้อนและมีสีเหลืองอ่อนแต่ไม่พบว่าเกิดยอดหรือราก ดังภาพที่ 4 (3 คะแนน) ในระดับความเข้มข้นที่มีการพัฒนาของแคลลัสได้ดีที่สุดคือ 2.00 มิลลิกรัม/ลิตร พบแคลลัสขนาดใหญ่เกาะกลุ่มกันเป็นก้อนและมีสีเหลืองอ่อน แต่ไม่พบว่าเกิดยอดหรือราก ดังภาพที่ 4 (4 คะแนน) ส่วนระดับความเข้มข้น 2,4 – D เป็น 4.00มิลลิกรัม/ลิตร พบแคลลัสขนาดเล็ก เกาะกลุ่มกันเป็นก้อนและมีสีเหลืองอ่อน แต่ไม่พบว่าเกิดยอดหรือราก ดังภาพที่ 4 (2 คะแนน)

ส่วนในข้าวหอมกุหลาบดำหลังการเพาะเลี้ยงแคลลัส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เก็บไว้ในที่มืดเพื่อชักนำให้เกิดต้นข้าว เมื่อครบ 4 สัปดาห์ ปรากฏผลว่าสูตรอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของ 2,4 – D เป็น 0.25 และ0.50 มิลลิกรัม/ลิตร ไม่พบแคลลัสแต่พบการเกิดยอดและรากขึ้น (1 คะแนน หมายถึงไม่พบแคลลัส) ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของ 2,4 – D เป็น 1.00 มิลลิกรัม /ลิตร พบแคลลัสขนาดกลางเกาะกลุ่มกันเป็นก้อนและมีสีเหลืองอ่อน แต่ไม่พบว่าเกิดยอดหรือราก ดังภาพที่ 4 (3 คะแนน) ในระดับความเข้มข้นที่มีการพัฒนาของแคลลัสได้ดีที่สุดคือ 3.00 และ 2.00 มิลลิกรัม /ลิตร พบแคลลัสขนาดใหญ่เกาะกลุ่มกันเป็นก้อนและมีสีเหลืองอ่อนแต่ไม่พบว่าเกิดยอดหรือราก ดังภาพที่ 4 (4 คะแนน) ส่วนระดับความเข้มข้นของ 2,4 – D เป็น 4.00 มิลลิกรัม/ลิตร พบแคลลัสขนาดเล็กเกาะกลุ่มกันเป็นก้อนและมีสีเหลืองอ่อน แต่ไม่พบว่าเกิดยอดหรือราก ดังภาพที่ 4 (2 คะแนน) ผลเป็นดังตารางที่ 3 และภาพที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงผลการเกิดและพัฒนาของแคลลัสในอาหารสูตร MS ซึ่งประกอบด้วย 2,4 – D ที่มีความเข้มข้นในระดับแตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในเมล็ดข้าวเจ้าพันธุ์หอมนิลและหอมกุหลาบดำ โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนดังนี้

ระดับคะแนน 1 หมายถึง ไม่เกิดแคลลัส

ระดับคะแนน 2 หมายถึง เกิดแคลลัสขนาดเล็ก

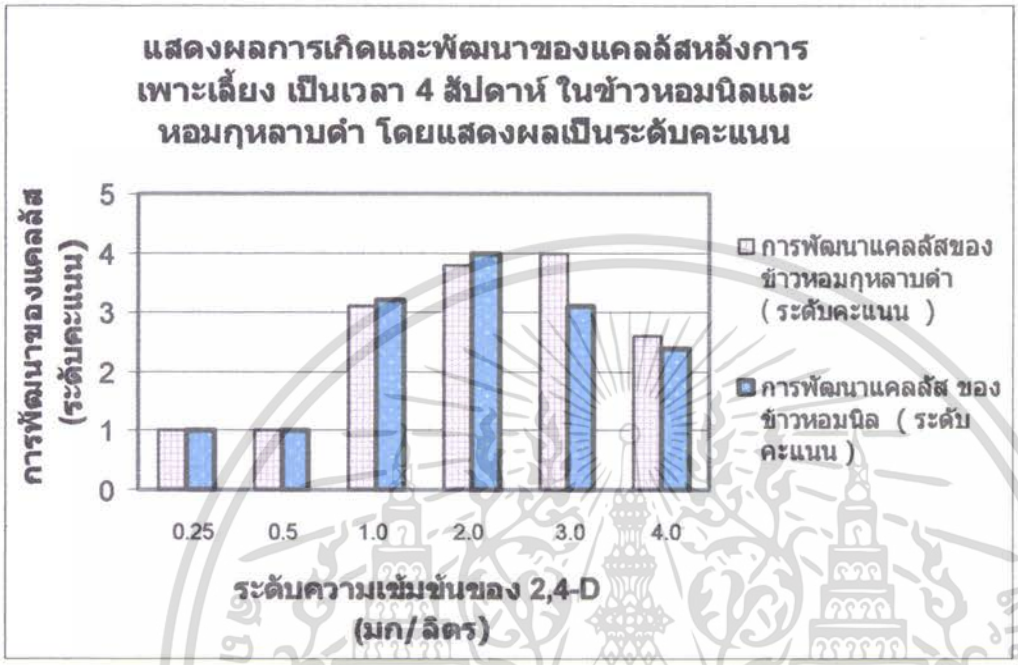
ระดับคะแนน 3 หมายถึง เกิดแคลลัสขนาดกลาง

ระดับคะแนน 4 หมายถึง เกิดแคลลัสขนาดใหญ่และสมบูรณ์

ระดับความเข้มข้นของสาร 2,4-D (มก./ลิตร)	ลักษณะการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลง	การพัฒนาแคลลัสของข้าวหอมกุหลาบดำ (ระดับคะแนน)	การพัฒนาแคลลัสของข้าวหอมนิล (ระดับคะแนน)
0.25	เกิดยอดและราก	1.0	1.0
0.5	เกิดยอดและราก	1.0	1.0
1.0	ไม่เกิดยอดและไม่เกิดราก	3.1	3.2
2.0	ไม่เกิดยอดและไม่เกิดราก	3.8	4.0
3.0	ไม่เกิดยอดและไม่เกิดราก	4.0	3.1
4.0	ไม่เกิดยอดและไม่เกิดราก	2.6	2.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2 กราฟแสดงการเปรียบเทียบผลการเกิดและพัฒนาของแคลลัส หลังการเพาะเลี้ยง เป็น เวลา 4 สัปดาห์ ในข้าวพันธุ์หอมนิลและพันธุ์หอมกุหลาบดำ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่ 3

ทำการทดลองโดยเปลี่ยนอาหาร (subculture) ครั้งแรก หลังจากมีการเพาะเลี้ยงแคลลัสเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่งยังคงใช้อาหารสูตรเดิม คือ สูตร MS ที่มี 2,4-D ในระดับ ต่างๆเหมือนเดิม และเก็บไว้อีก เป็นเวลา 2 สัปดาห์ (ปรากฏผลดังตารางที่ 4 และภาพที่ 3)

ในข้าวหอมกุหลาบดำพบว่าสูตรที่มี 2,4 – D 0.25, 0.50, 1.0 และ 4.0 มิลลิกรัม/ลิตร พบแคลลัสไม่มีการเพิ่มขนาด ดังภาพที่ 5 (1 คะแนน) ในขณะที่สูตร 2,4 – D 3.00 มิลลิกรัม/ลิตร พบแคลลัสมีการเพิ่มขนาดเล็กน้อย ดังภาพที่ 5 (2 คะแนน) ส่วนสูตรที่มี 2,4 – D 2.00 มิลลิกรัม /ลิตร พบแคลลัสขยายขนาดใหญ่ขึ้นเกาะกลุ่มกันเป็นก้อนและมีสีเหลือง แต่ไม่พบว่าเกิดยอดหรือราก ดังภาพที่ 5 (4 คะแนน) ส่วนข้าวหอมนิลพบสูตรที่มี 2,4 – D 0.25, 0.50 และ 4.00มิลลิกรัม /ลิตร พบแคลลัสไม่มีการเพิ่มขนาด ดังภาพที่ 5 (1 คะแนน) ส่วนสูตรที่มี 2,4 – D 1.00 มิลลิกรัม/ ลิตร พบแคลลัสได้มีการเพิ่มขนาดเล็กน้อย ดังภาพที่ 5 (2 คะแนน) ในขณะสูตรที่มี 2,4 – D 3.00 มิลลิกรัม/ลิตร พบแคลลัสได้มีการเพิ่มขนาดปานกลาง ดังภาพที่ 5 (3 คะแนน) พบสูตรที่มี 2,4 – D 2.00 มิลลิกรัม/ลิตร พบแคลลัสมีการเพิ่มขนาดมากที่สุด ดังภาพที่ 5 (4 คะแนน)

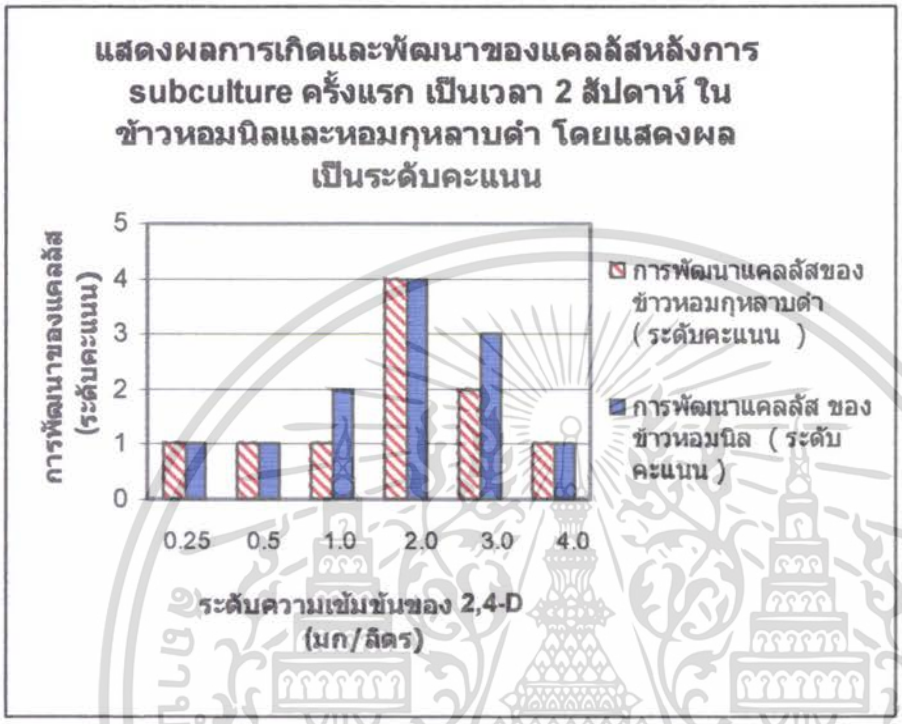
ตารางที่ 4 แสดงผลการเกิดและพัฒนาของแคลลัสหลังการ subculture ครั้งแรก ในอาหารสูตร MS ซึ่งประกอบด้วย 2,4 – D มีความเข้มข้นในระดับแตกต่างกัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ในข้าวหอมนิลและหอมกุหลาบดำ โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนดังนี้

ระดับคะแนน 1 หมายถึง แคลลัสไม่มีการเพิ่มขนาด
ระดับคะแนน 2 หมายถึง แคลลัสมีการเพิ่มขนาดเล็กน้อย
ระดับคะแนน 3 หมายถึง แคลลัสมีการเพิ่มขนาดปานกลาง
ระดับคะแนน 4 หมายถึง แคลลัสมีการเพิ่มขนาดมากที่สุด

ระดับความเข้มข้นของสาร 2,4-D (มก./ลิตร)	ลักษณะการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลง	การพัฒนาแคลลัสของข้าวหอมกุหลาบดำ (ระดับคะแนน)	การพัฒนาแคลลัสของข้าวหอมนิล (ระดับคะแนน)
0.25	เกิดยอดและรากยาวขึ้น	1.0	1.0
0.5	เกิดยอดและรากยาวขึ้น	1.0	1.0
1.0	ไม่เกิดยอดและไม่เกิดราก	1.0	2.0
2.0	ไม่เกิดยอดและไม่เกิดราก	4.0	4.0
3.0	ไม่เกิดยอดและไม่เกิดราก	2.0	3.0
4.0	ไม่เกิดยอดและไม่เกิดราก	1.0	1.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3 กราฟแสดงการเปรียบเทียบผลการเกิดและพัฒนาของแคลลัสหลังการ subculture ครั้งแรกเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ในข้าวพันธุ์หอมนิลและพันธุ์หอมกุหลาบดำ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่ 4

ทำการทดลอง โดยการเปลี่ยนอาหาร (subculture) **ครั้งสองหลังจากได้มีการเพาะเลี้ยง แคลลัสเป็นเวลา 6 สัปดาห์** ซึ่งเปลี่ยนอาหารเป็นสูตร MS ที่มี Kinetin ในระดับต่างๆและเก็บไว้ **ในที่มีแสงสว่างเป็นเวลา 5 สัปดาห์ ปรากฏผลดังตารางที่ 5 พบว่าสูตรอาหารที่มี** Kinetin **เป็น 0 มิลลิกรัม/ลิตร พบแคลลัสเปลี่ยนเป็นสีดำ ดังภาพที่ 7 (ภาพ 7.1) ส่วนสูตรที่มี** Kinetin **เป็น** 1.0 **และ** 2.0 **มิลลิกรัม/ลิตร เกิดแคลลัสที่พัฒนาไปเป็นราก ดังตารางที่ 5 และ ภาพที่ 7 (ภาพ 7.2)** Kinetin **เป็น** 3.0 **มิลลิกรัม/ ลิตร จะเกิดแคลลัสที่พัฒนาไปเป็นรากในระยะเวลาที่ 1 สัปดาห์ แต่ในเวลาต่อมาอีก 3 สัปดาห์ พบแคลลัสเปลี่ยนเป็นสีดำ สำหรับข้าวหอมนิล**

ส่วนในข้าวหอมกุหลาบดำพบผลเช่นเดียวกับข้าวหอมนิล กล่าวคือ เมื่อเวลาผ่านมา 5 สัปดาห์ พบแคลลัสเปลี่ยนเป็นสีดำ ดังภาพที่ 7 (ภาพ 7.1) ยกเว้น ในสูตร Kinetin **เป็น** 1.0 **มิลลิกรัม/ลิตร พบแคลลัสที่พัฒนาไปเป็นยอดและรากเกิดขึ้น ดังภาพที่ 7 (ภาพ 7.3)**

ตารางที่ 5 แสดงผลการเกิดและพัฒนาของแคลลัสในอาหารสูตร MS ซึ่งประกอบด้วย Kinetin ที่มีความเข้มข้นในระดับแตกต่างกัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์ ในเมล็ดข้าวเจ้าพันธุ์หอมนิลและหอมกุหลาบดำ โดยแสดงผลบันทึกดังนี้

R = แคลลัสที่พัฒนาไปเป็นราก

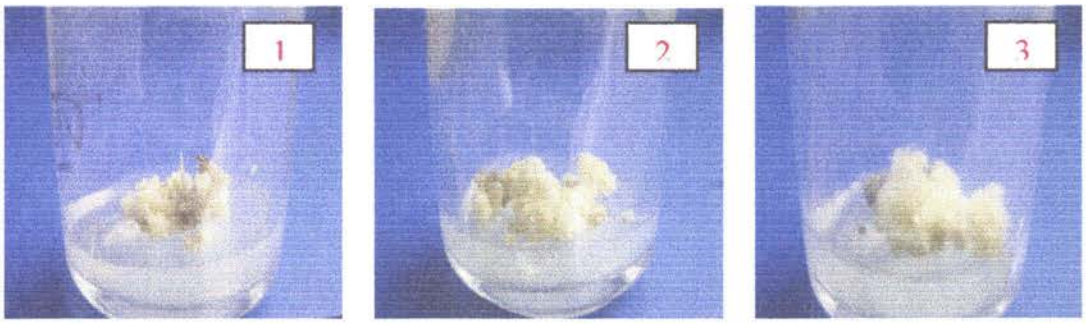
G = แคลลัสที่พัฒนาไปเป็นรากและยอดเกิดขึ้น

B = แคลลัสที่เปลี่ยนเป็นสีดำ

ระยะเวลา (สัปดาห์)	การเปลี่ยนแปลงและการพัฒนาของแคลลัส							
	หอมนิล (สูตรที่)*				หอมกุหลาบดำ (สูตรที่)*			
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	B	R	R	R	B	R	R	R
3	B	R	R	B	B	R	R	B
5	B	R	R	B	B	G	B	B

หมายเหตุ * สูตรที่ 1 คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี Kinetin เป็น 0.00 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 2 คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี Kinetin เป็น 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 3 คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี Kinetin เป็น 2.00 มิลลิกรัม/ลิตร
สูตรที่ 4 คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี Kinetin เป็น 3.00 มิลลิกรัม/ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 แสดงการให้ระดับคะแนนการเกิดและพัฒนาของแคลลัส ในอาหารสูตร MS ซึ่ง ประกอบด้วย 2,4 – D ที่มีความเข้มข้น ในระดับแตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ภาพที่ 1 ระดับคะแนน 2 หมายถึง เกิดแคลลัสขนาดเล็ก

ภาพที่ 2 ระดับคะแนน 3 หมายถึง เกิดแคลลัสขนาดกลาง

ภาพที่ 3 ระดับคะแนน 4 หมายถึง เกิดแคลลัสขนาดใหญ่และสมบูรณ์

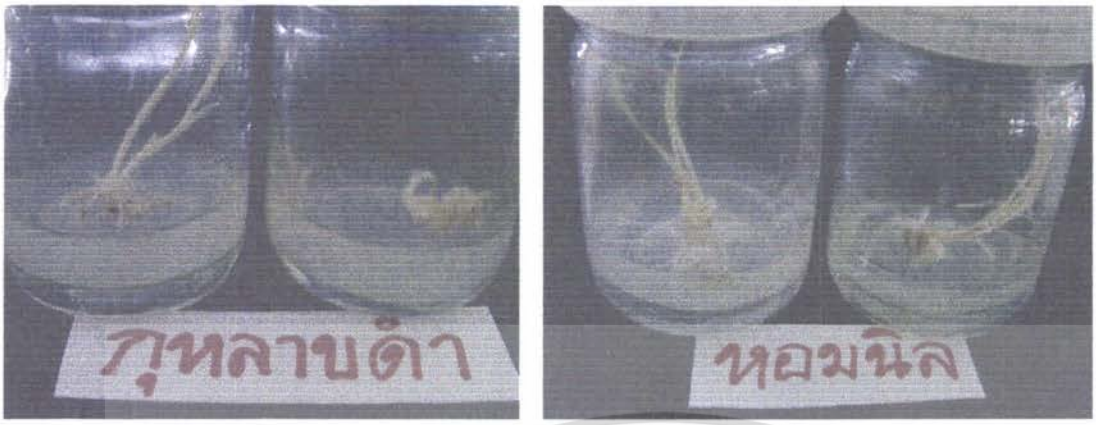
ภาพที่ 5 แสดงการให้คะแนนการเกิด และพัฒนาของแคลลัสหลังการ subculture ครั้งแรก ในอาหารสูตร MS ซึ่งประกอบด้วย 2,4 – D มีความเข้มข้นในระดับแตกต่างกัน ในข้าวพันธุ์หอมนิลและหอมกุหลาบดำ

ภาพที่ 1 ระดับคะแนน 2 หมายถึง แคลลัสมีการเพิ่มขนาดเล็กน้อย

ภาพที่ 2 ระดับคะแนน 3 หมายถึง แคลลัสมีการเพิ่มขนาดปานกลาง

ภาพที่ 3 ระดับคะแนน 4 หมายถึง แคลลัสมีการเพิ่มขนาดมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 แสดงการเพาะเลี้ยงแคลลัสของข้าวพันธุ์หอมนิลและหอมกุหลาบดำ ที่ไม่พบการเจริญเติบโตของแคลลัส แต่พบการพัฒนาของยอดและรากขึ้น

ภาพที่ 7 แสดงผลการเกิดและพัฒนาของแคลลัสในอาหารสูตร MS ซึ่งประกอบด้วย Kinetin ที่มีความเข้มข้นในระดับแตกต่างกัน ในเมล็ดข้าวพันธุ์หอมนิลและหอมกุหลาบดำ

ภาพ 7.1 แสดงถึงผล B หมายถึง แคลลัสที่เปลี่ยนเป็นสีดำ

ภาพ 7.2 แสดงถึงผล R หมายถึง แคลลัสที่พัฒนาไปเป็นราก

ภาพ 7.3 แสดงถึงผล G หมายถึง แคลลัสที่พัฒนาไปเป็นรากและยอดเกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์การทดลอง

จากการฟอกฆ่าเชื้อ พบผลหลังการฟอกฆ่าเชื้อข้าวทั้งสองพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดโดยเฉลี่ย 83 – 84 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันมากนัก ทั้งนี้ขึ้นกับหลายปัจจัย ทั้งในด้านสรีวิทยาของเมล็ดข้าว ความสมบูรณ์ของเมล็ดข้าว อายุการเก็บรักษาข้าว และรวมถึงการปลอดเชื้อในระหว่างการฟอกฆ่าเชื้อด้วย

จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสในชิ้นส่วนข้าว โดยใช้อาหารสูตร MS ที่มี 2,4 – D ที่มีในระดับแตกต่างกัน นาน 4 สัปดาห์ พบการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีในสูตรที่มี 2,4-D 2.00 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งสูตรที่มี 2,4-D 2.00 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นปริมาณที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัส เพราะ 2,4-D จะช่วยยับยั้งการเกิดยอดทำให้เซลล์ขยายขนาด และเกิดการแบ่งเซลล์จำนวนมากกลายเป็นก้อนแคลลัส (Pierik 1987) ในขณะที่สูตรที่มี 2,4-D ระดับต่ำจะมีการพัฒนาของแคลลัสได้น้อยใน เนื่องจากฮอร์โมนที่มีปริมาณน้อยเกินไปจะไม่เพียงพอต่อการพัฒนาของแคลลัส

หลังการเพาะเลี้ยงแคลลัส นาน 4 สัปดาห์ ทำการ subculture โดยการย้ายแคลลัสไว้ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ในความเข้มข้นแตกต่างกัน พบแคลลัสมีการเพิ่มปริมาณมากที่สุดในสูตรที่มี 2,4-D 2.00 มิลลิกรัม/ลิตร ขณะที่สูตรที่มี 2,4-D ระดับสูงขึ้นไปมีการเพิ่มปริมาณได้น้อย เนื่องจากแคลลัสที่มีอายุมากขึ้น มีผลต่อการพัฒนาของแคลลัสทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสน้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของอนุรักษ์ (2542) ส่วนสูตรที่มี 2,4-D เป็น 0.25 และ 0.50 มิลลิกรัม/ลิตร ไม่พบการเพิ่มปริมาณแคลลัสแต่มีการเกิดรากและยอดมากขึ้น เนื่องจากมีปริมาณ 2,4-D ไม่เพียงพอต่อการเร่งการเจริญเติบโตของแคลลัสจึงทำให้เกิดยอดและรากขึ้น และในสูตรที่มี 2,4-D 1.0, 3.0 และ 4.0 มิลลิกรัม/ลิตร พบปริมาณแคลลัสเพิ่มได้น้อยซึ่งการตัดแบ่งแคลลัสนั้นมีผลต่อการพัฒนาของแคลลัสด้วย โดยแคลลัสไม่ควรมีขนาดเล็กเกินไป ถ้าเล็กเกินไปอาจไม่สามารถเจริญเติบโตได้และจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายได้ในที่สุด (ศิวพงศ์,2546)

การทดลองเพาะเลี้ยงแคลลัสในอาหารสูตรที่มี Kinetin 0,1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าสูตรที่มี Kinetin1.0 เกิดแคลลัสที่พัฒนาไปเป็นรากและยอดได้ดีที่สุดมากกว่าในสูตรอื่น ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของพรทิพย์ (2528) ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในอาหารที่มีฮอร์โมนออกซินอยู่ด้วยเมื่อใส่ฮอร์โมนไซโตไคนินเข้าไปจะช่วยให้การแบ่งเซลล์ เกิดได้เร็วขึ้น เพราะไซโตไคนินทำหน้าที่ช่วยในการกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ ควบคุมการสร้างอวัยวะ (พรทิพย์,2528) และการที่แคลลัสมีการเจริญเติบโตได้ก็เพราะ Kinetin มีคุณสมบัติส่งเสริมการแบ่งเซลล์ในระยะ S- G_2 ของการแบ่งเซลล์แบบไมโตซิสในสภาพที่มีแสงจะเกิดแคลลัสได้ดีกว่าสภาพมืด โดยแสงที่ให้เพื่อช่วยในการพัฒนารากหรือต้น (Jenet และ Seabrook ,1980)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปการทดลอง

จากการทดลองการเพาะเลี้ยงแคลลัสข้าว ในอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ในระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบอาหารสูตรที่มี 2,4 – D เป็น 0.25 และ 0.50 มิลลิกรัม/ลิตร ไม่เกิดแคลลัสแต่พบการเกิดยอดและรากขึ้น ส่วนสูตรอาหารที่มี 2,4 – D ตั้งแต่ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ขึ้นไปพบการเจริญเติบโตของแคลลัสดีและเกาะกลุ่มกันเป็นก้อนและมีสีเหลืองอ่อน แต่ไม่พบว่าเกิดยอดหรือราก และพบการตอบสนองของของแคลลัสในการพัฒนาไปเป็นต้นได้ดี ในอาหารสูตร 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งมีการตอบสนองได้ดีกว่าสูตรอื่น

ส่วนการเพาะเลี้ยงข้าวในอาหารสูตร MS ที่มี Kinetin ในระดับแตกต่างกันและเก็บไว้ในที่มีแสงสว่าง เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบ Kinetin 0 มิลลิกรัม/ลิตร มีแคลลัสเปลี่ยนเป็นสีดำ และ Kinetin ตั้งแต่ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ขึ้นไป จะเกิดแคลลัสที่พัฒนาไปเป็นราก และพบ Kinetin 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร เหมาะสมต่อการตอบสนองในการพัฒนาของแคลลัสได้ดีที่สุด แต่ในเวลาต่อมาอีก 3 สัปดาห์พบแคลลัสเปลี่ยนเป็นสีดำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

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

ชาญ มงคล. 2536. เรื่องข้าว. ตำราเอกสารวิชาการ ฉบับที่ 63. ภาคพัฒนาตำราและเอกสารวิชาการ. หน่วยศึกษานิเทศก์กรมการฝึกหัดครู. 149 หน้า.

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

นิพรรณศร คดีโลก และ ณหทัย ร่มแก้ว.2547. สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนต้นขมิ้น. ปัญหาพิเศษ ภาควิชาพืชไร่ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 35 หน้า.

นพพร สายัมพล. 2543. เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืช. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 261หน้า.

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

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

รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช:หลักการและเทคนิค. กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.219 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 158 หน้า.

สัมพันธ์ คัมภิรานนท์. 2526. ฮอร์โมนพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 128 หน้า.

เล็ก จันทร์เกษม. 2546. ส่งเมล็ดพันธุ์ข้าวเพื่อใช้ในการศึกษา. ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก .พิษณุโลก.

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

สุริยันต์ ฉะอุ่ม และคณะ. 2539. เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 34 สาขาประมง. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และกระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 9 - 18.

สุริยันต์ ฉะอุ่ม และคณะ. 2540. เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่35.สาขาพืชส่งเสริม.และนิเทศศาสตร์เกษตร.คณะอุตสาหกรรมการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และ กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม . สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 219 - 226.

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

อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม. 2542. การตอบสนองของยีนในแคลลัสและเซลล์แขวนลอยของข้าวสายพันธุ์เหลืองประทิว 123 โดยอโกรแบคทีเรียม. ในรายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 37 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 242 หน้า.

อรอนงค์ นัยวิกล. 2547. ข้าว:วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 366หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Brer,D.S.,D.H. Ling and S.Yoshida.1985. Plant regeneration from somatic cell cultures of some IR varieties of rice. 169-177 p.

Chrispeels,M.L. and E.S.David. 1994. Plants,Genes and Agriculture.Jones and Bartlett Publishers. London. England. 478 p.

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

http:// www.Organicthailand.com/product.detail.php?lang=th&id=154511

http:// www.Plantpro.doae.go.th/tissue/tissue-3.html

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

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

Pierik,R.L.M.,1987. *In Vitro* Culture of Higher Plants, Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht.185 p.

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้