สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของฮอร์โมนต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ โดยใช้ส่วนของเมล็ด

นางสาวกรัณฑรัตน์ ครุฑแก้ว
นางสาวเยาวลักษณ์ คชภูติ

ปพ.
ก241ผ
2535

6125477 12

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2535

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Effect of Hormones on Inducing Callus Formation in Rice (*Oryza sativa*) variety Kao Dokmali 105 and Glutinous Rice variety Gum, by Using Seeds.

Miss Karantharat Kroothkeo
Miss Yaowaluk Kochaputi

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology
Faculty of Science
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1993

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ผลของฮอร์โมนต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวเหนียวพันธุ์กำ่า โดยใช้ส่วนของเมล็ด

โดย นางสาวกรัณฑรัตน์ ครุฑแก้ว
นางสาวเยาวลักษณ์ คชภูติ

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. พรรณี ฐิตาภิชิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

(ผศ. เนาวรัตน์ ปานแย้ม) หัวหน้าภาค

คณะกรรมการโครงงานพิเศษ

(ผศ. มาลินี ตันติยาภรณ์) ประธานกรรมการ

(อาจารย์อุ่นเรือน ศิริวานิชกุล) กรรมการ

(ผศ.ดร. พรรณี ฐิตาภิชิต) กรรมการ

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ผลของฮอร์โมนต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ โดยใช้ส่วนของเมล็ด
นักศึกษา	นางสาวกรัณฑรัตน์ ครุฑแก้ว
	นางสาวเยาวลักษณ์ คชภูติ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พรรณี ฐิตาภิชิต
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา	2536

บทคัดย่อ

แคลลัสข้าวที่ใช้ในการทดลองนี้ ได้จากการเลี้ยงเอมบริโอของเมล็ดแก่ของข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ ในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซนต์(ปริมาตรต่อปริมาตร) และเติมน้ำตาล 3 เปอร์เซนต์(น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยการวิจัยได้เน้นศึกษาถึง ชนิด ความเข้มข้น และอัตราส่วนของฮอร์โมนที่มีผลต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส การวิจัยได้แบ่งออกเป็น 3 ส่วน ส่วนแรก ศึกษาชนิดของฮอร์โมน 5 ชนิด ได้แก่ 2,4-D, NAA, IBA, BA และ KN และวัดผลตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1-5 พบว่าได้เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสสูงมากในอาหารที่มีฮอร์โมนชนิด 2,4-D และ NAA ส่วนสัปดาห์ที่ให้ผลสูงสุดในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 คือ สัปดาห์ที่ 5 และสัปดาห์ที่ให้ผลสูงสุดในข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ คือ สัปดาห์ที่ 4 ส่วนที่ 2 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ 2,4-D และ NAA โดยใช้ 2,4-D และ NAA ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 มก./ล. พบว่า 2,4-D ให้ผลดีที่ระดับความเข้มข้น 0.5-1.0 มก./ล. ส่วน NAA ให้ผลดีที่ระดับความเข้มข้น 0.5-4.0 มก./ล. ส่วนที่ 3 ศึกษาอัตราส่วนผสมระหว่าง 2,4-D กับ NAA โดยใช้ 2,4-D 0.5-1.0 มก./ล. และ NAA 0.5-4.0 มก./ล. พบว่าอัตราส่วนผสมทั้ง 8 สูตร ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Effect of Hormones on Inducing Callus Formation in Rice (Oryza sativa) variety Kao Dokmali 105 and Glutinous Rice variety Gum, by Using Seeds.
Name	Miss Karantharat Kroothkeo.
	Miss Yaowaluk Kochaputi
Special Project Advisor	Assis.Professor Dr.Pannee Dhitaphichit
Department	Applied Biology
Academic Year	1993

Abstract

The calli in this study were obtained by culturing mature seeds of rice variety Kao Dokmali 105 and glutinous rice variety Gum in MS medium supplemented with 10 % (v/v) coconut milk plus 3 % (w/v) sucrose. The experiments empha - sized on types, concentrations and combinations of hormones on callus induction. The project was divided into 3 parts. From the first part, it was found that 2,4-D and NAA were the better hormones among the other three (IBA, BA and KN) in callus induction, from which Kao Dokmali 105 gave maximum amount of callus in the 5th week of incubation while that of glutinous rice (variety Gum) was the 4th week. The second part of the experiment was to find out the optimal ranges of concentrations of 2,4-D and of NAA. The concentrations

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

performed of both hormones were 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 and 8.0 mg/l. The results showed that the optimal range of 2,4-D for callus induction in rice for both varieties was 0.5 to 1.0 mg/l, while that of NAA was 0.5 - 4.0 mg/l. The last part of the project was to find out the best combinations of 2,4-D and NAA in callus induction by using the concentrations of 2,4-D at 0.5 and 1.0 mg/l, and of NAA at 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mg/l. The results showed that among the 8 combinations, they were not significantly different at 95 % level in callus induction in the two varieties of rice.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พรรณี ฐิตาภิชิต อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา ให้ความรู้ และข้อเสนอแนะอันเป็นประโยชน์ต่อการทำโครงงานพิเศษ อีกทั้งยังได้ช่วยกรุณาแนะนำ และจัดหาเอกสารประกอบโครงงานพิเศษ กรุณาให้ยืมอุปกรณ์ที่จำเป็น ได้แก่ กล้องถ่ายรูป และแว่นขยาย เป็นต้น นอกจากนี้ยังได้กรุณาสละเวลาเพื่อช่วยตรวจแก้ไขโครงงานพิเศษด้วย

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ มาลินี ตันติยาภรณ์ ผู้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วมโครงงานพิเศษ

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เนาวรัตน์ ปานแย้ม หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ ที่ได้กรุณาอนุญาตให้ใช้ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ตลอดจน สารเคมี และอุปกรณ์ต่าง ๆ

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์วีรศักดิ์ สุรพัฒน์ ที่ได้กรุณาตรวจความถูกต้องในการวิเคราะห์ทางด้านสถิติ ตลอดจนการวางแผนการทดลอง ในการทำโครงงานพิเศษในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณพยอม เกียรติกำจร นักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการชีววิทยา ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกอุปกรณ์ และสารเคมี ช่วยสั่งซื้ออุปกรณ์และสารเคมีบางอย่าง ได้แก่ ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ฮอร์โมน แอลกอฮอล์ เป็นต้น รวมทั้งได้ช่วยเหลือ และให้ความสะดวกในการทำโครงงานพิเศษตลอดมา

นอกจากนี้แล้วยังขอบคุณเพื่อน ๆ และ น้อง ๆ ทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจในการทำโครงงานพิเศษ จนกระทั่งโครงงานพิเศษฉบับนี้ ได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ผู้จัดทำ

11 มีนาคม 2536

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อปัญหาพิเศษภาษาไทย	ก
บทคัดย่อปัญหาพิเศษภาษาอังกฤษ	ข-ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
สารบัญแผนภาพ	ซ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักเกณฑ์ที่เกี่ยวข้อง	6
บทที่ 3 การวิจัยและการดำเนินการ	14
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	21
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	42
เอกสารอ้างอิง	47
ภาคผนวก	
ประวัติผู้จัดทำ	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	สูตร Murashige and Skooge (MS)	18
ตารางที่ 2	แสดงเปอร์เซนต์การงอก/การเกิดแคลลัส/การปนเปื้อนของข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105	22
ตารางที่ 3	แสดงเปอร์เซนต์การงอก/การเกิดแคลลัส/การปนเปื้อนของข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ	25
ตารางที่ 4	ผลของความเข้มข้นของ 2,4-D และ NAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัส จำนวนเมล็ดที่งอก และจำนวนเมล็ดที่เกิดการปนเปื้อนคิดเป็นเปอร์เซนต์ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสัปดาห์ที่ 5	28
ตารางที่ 5	ผลของความเข้มข้นของ 2,4-D และ NAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัส จำนวนเมล็ดที่งอก และจำนวนเมล็ดที่เกิดการปนเปื้อนคิดเป็นเปอร์เซนต์ในข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ ในสัปดาห์ที่ 4	30
ตารางที่ 6	แสดงเปอร์เซนต์การงอก และการเกิดแคลลัสจากการ combination ระหว่าง 2,4-D และ NAA ของข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสัปดาห์ที่ 5	32
ตารางที่ 7	แสดงเปอร์เซนต์การงอก และการเกิดแคลลัสจากการ combination ระหว่าง 2,4-D และ NAA ของข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ ในสัปดาห์ที่ 4	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 1	ลักษณะของ E callus และ NE callus จากเอมบริโอข้าว	36
รูปที่ 2	ลักษณะของ E callus จากเอมบริโอข้าวเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศ์	37
รูปที่ 3	ลักษณะของ NE callus จากเอมบริโอข้าวเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศ์	37
รูปที่ 4	ตัวอย่างต้นที่ได้จากสูตรอาหารควบคุม เปรียบเทียบกับต้นที่ได้จากสูตรอาหารทดลอง	38
รูปที่ 5	ตัวอย่างแคลลัสที่ได้จากสูตรอาหารทดลอง	39
รูปที่ 6	ตัวอย่างแคลลัสที่ได้จากสูตรอาหารทดลอง ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105	40
รูปที่ 7	ตัวอย่างแคลลัสที่ได้จากสูตรอาหารทดลอง ในข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ	40
รูปที่ 8	ตู้ปลอดเชื้อสำหรับถ่ายเนื้อเยื่อ	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญแผนภาพ

			หน้า
แผนภาพที่	1	แสดงวิธีดำเนินการโดยสังเขป	4
แผนภาพที่	2	แผนดำเนินงานวิจัยโดยสังเขปตลอดโครงการ	16
แผนภาพที่	3	ชนิด และความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ใช้ในสูตรอาหารทดลองในการดำเนินงานวิจัยส่วนที่ 1	19
แผนภาพที่	4	ชนิด และความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ใช้ในสูตรอาหารทดลองในการดำเนินงานวิจัยส่วนที่ 2	19
แผนภาพที่	5	ชนิด ความเข้มข้น และอัตรส่วนของฮอร์โมนที่ใช้ในสูตรอาหารทดลองในการดำเนินงานวิจัยส่วนที่ 3	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

E callus	embryogenic callus
NE callus	non-embryogenic callus
2,4-D	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
NAA	α-Naphthaleneacetic acid
IAA	Indoleacetic acid
IBA	Indolebutyric acid
BA	6-Benzyladinine
KN	6-Furfurylamino purine, Kinetin
C	สูตรควบคุม
MS	สูตรอาหารของ Murashige และ Skoog
ppm.	ส่วนในล้านส่วน
มก./ล.	มิลลิกรัมต่อลิตร
ส	สัปดาห์
v/v	ปริมาตรต่อปริมาตร
w/v	น้ำหนักต่อปริมาตร
RCB	Randomized Complete Block Design
CRD	Complete Randomized Design
DMRT	Duncan's Multiple Range Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

ข้าวเป็นอาหารหลักของประชากรเกือบทั่วโลก โดยเฉพาะประชากรในทวีปเอเชียกว่า 80 เปอร์เซนต์บริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก รวมทั้งประชากรของประเทศไทยด้วย นอกจากเป็นอาหารหลักแล้วข้าวยังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ทำรายได้เข้าประเทศเป็นจำนวนมากชนิดหนึ่งด้วย " ในระยะหลังนี้ผลผลิตข้าวของโลกสูงขึ้น เนื่องมาจากความคาดหมายว่า ความสามารถในการผลิตข้าวของประเทศสหรัฐอเมริกา ออส-เตรเลีย และสาธารณรัฐประชาชนจีนจะเพิ่มขึ้น " สำหรับในประเทศไทยผลผลิตต่อไร่ยังคงอยู่ในเกณฑ์ต่ำเมื่อเทียบกับประเทศอื่น ๆ เช่น ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา จึงจำเป็นต้องที่จะต้องศึกษาวิจัยเพื่อทำให้ผลผลิตต่อไร่สูงขึ้นเพื่อต้นทุนจะได้ต่ำลง และทำให้สามารถแข่งขันกับราคาในตลาดโลกได้ นักวิทยาศาสตร์จึงสนใจที่จะปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ได้ผลผลิตที่สูงขึ้น มีความต้านทานต่อโรคและแมลง รวมทั้งมีลักษณะที่ดีสำหรับการปลูกในพื้นที่ที่ดินมีปัญหา เช่น การชักนำและคัดเลือกมิวเตชันของข้าวที่ทนต่อดินเค็ม หรือทนต่อดินเปรี้ยว ไม่ไวต่อแสง และมีลักษณะทรงต้นที่ดี

ในการเพิ่มผลผลิตต่อไร่ของข้าวทำได้หลายวิธี อาทิการปรับปรุงพันธุ์ การขยายเขตชลประทาน การคัดเลือกพันธุ์ การชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ตลอดจนหาวิธีในการบำรุงรักษาที่ดี ตามธรรมชาตินั้นสามารถเกิดมิวเตชันได้ตลอดเวลา แม้ว่าจะมีอัตราที่ค่อนข้างต่ำ แต่ก็มีผลทำให้ได้พันธุ์ใหม่ ๆเกิดขึ้น ปัจจุบันนอกจากจะปรับปรุงพันธุ์โดยการคัดเลือกพันธุ์จากการผสมพันธุ์ หรือจากการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติแล้ว ยังมีวิธีการปรับปรุงพันธุ์ที่ดีนั่นคือ ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งจะเป็นการขยายพันธุ์ข้าวให้ได้จำนวนมากด้วย โดยใช้เซลล์เริ่มต้นเพียงเล็กน้อย เทคนิคนี้จึงมีความสำคัญมาก เราอาจจะนำพันธุ์ข้าวที่ดีมาปรับปรุงพันธุ์ให้ดียิ่งขึ้น แล้วเพิ่มปริมาณให้ได้เป็นจำนวนมาก เพื่อให้เกษตรกรได้พันธุ์ข้าวที่ดีมีความต้านทานโรคได้สูงและให้ผลผลิตสูง ซึ่งเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ศึกษานี้ เป็นการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าว โดยใช้สูตรอาหารวิทยาศาสตร์ของ Murashige และ Skoog (MS) เมื่อเติมฮอร์โมนชนิดต่าง ๆที่มีความเข้มข้น และสัดส่วนที่แตกต่างกัน เพื่อกระตุ้นให้เกิดแคลลัส จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสจากเมล็ดข้าวเพียง 1 เมล็ด หรือจากแคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพียงก้อนเดียว ก็สามารถเจริญต่อไปเป็นต้นใหม่ได้จำนวนมากมาย

อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวนั้น ยังประสพปัญหาหลายประการ ซึ่งอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับสาเหตุต่าง ๆเหล่านี้ได้แก่

1.อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งขึ้นอยู่กับ

ก.องค์ประกอบ ชนิด ความเข้มข้น และสัดส่วนของธาตุอาหารอนินทรีย์ ซึ่งได้แก่ ธาตุอาหารหลัก และธาตุอาหารรอง

ข.องค์ประกอบ ชนิด ความเข้มข้น และสัดส่วนของธาตุอาหารอินทรีย์ ซึ่งได้แก่ วิตามิน กรดอมิโนต่าง ๆ สารควบคุมการเจริญเติบโต คือสารกลุ่มออกซิน และไซโตไคนิน รวมทั้งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากข้าวที่ยังไม่ทราบองค์ประกอบที่แน่นอน

ค.แรงดันออสโมซิส และความสมดุลย์ของอิออนในอาหาร

2.สิ่งแวดล้อม ได้แก่

ก.แสง ขึ้นอยู่กับความเข้ม ความยาวคลื่น และช่วงแสง

ข.อุณหภูมิ

ค.ความชื้น

ง.แก๊ส เช่น ออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ เอทีลีน เป็นต้น

3.ชนิดของเซลล์ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ

4.ลักษณะเฉพาะทางพันธุกรรมของพืช

5.อายุและส่วนต่าง ๆของพืชที่นำมาเลี้ยง

6.ระยะเวลาที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

7.เทคนิคของการทำให้ปลอดเชื้อ

สำหรับงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาถึง ชนิด ความเข้มข้น และสัดส่วนของฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน และไซโตไคนินที่เหมาะสม เพื่อที่จะดูว่าอาหารที่มีฮอร์โมนที่แตกต่างกันในชนิด, ความเข้มข้น และสัดส่วนนั้นมีชนิดและระดับใดที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสของข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาถึงชนิด ความเข้มข้น และสัดส่วนของฮอร์โมนที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสของข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ และข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ
2. เพื่อศึกษาถึงเทคนิคการทำให้ปราศจากเชื้อที่ผิวของเมล็ด
3. เพื่อฝึกฝนความชำนาญในเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

โครงงานพิเศษนี้เป็นการศึกษาถึงชนิด ความเข้มข้น และสัดส่วนที่เหมาะสมของฮอร์โมนในการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ โดยได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ขั้นตอนดังนี้

1. ศึกษาชนิดของฮอร์โมนที่ให้ผลส่งเสริมให้เกิดแคลลัสจำนวนมาก โดยศึกษาจากฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน และไซโตไคนิน รวม 5 ชนิดคือ 2,4-dichlorophenoxy acetic acid [2,4-D], napthalene acetic acid [NAA], indole butyric acid [IBA], benzyl adenine [BA] และ kinetin [KN]
2. ศึกษาถึงความเข้มข้นของฮอร์โมน ที่ให้ผลดีต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสจากฮอร์โมนที่เลือกมาแล้วจากขั้นตอนที่ 1
3. ศึกษาถึงผลของส่วนผสม (combination) ระหว่างชนิด และความเข้มข้นของฮอร์โมนจากที่เลือกมาแล้วจากขั้นตอนที่ 2 ว่าส่วนผสมใดที่ให้ผลดีที่สุดต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีดำเนินการโดยสังเขป

โครงงานพิเศษในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาจากข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวเหนียวพันธุ์กำ โดยสามารถแสดงแผนภาพของวิธีดำเนินการวิจัยโดยสังเขปได้ดังนี้

แผนภาพที่ 1

แสดงวิธีดำเนินการวิจัยโดยสังเขป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ</u>

จากการศึกษาคาดว่าจะสามารถทราบถึงชนิด ความเข้มข้น และสัดส่วนที่เหมาะสมของฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน และไซโตไคนิน ในการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสจากการเลี้ยงเอมบริโอของเมล็ดข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานต่อการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ทั้งในด้านการขยายพันธุ์ และการปรับปรุงพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักเกณฑ์ที่เกี่ยวข้อง

สภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืชทั่วไป มีส่วนสัมพันธ์กันทั้งภายในและภายนอกของพืช สภาพภายในนั้นเกี่ยวข้องโดยตรงกับยีน หรือ DNA ซึ่งเป็นตัวกำหนดลักษณะทางพันธุกรรม และอายุของเซลล์ หรือของเนื้อเยื่อที่ประกอบกันเป็นอวัยวะ สำหรับสภาพแวดล้อมภายนอกได้แก่ อุณหภูมิ แสงสว่าง คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และแร่ธาตุต่าง ๆ ซึ่งจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช

<u>สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช</u>

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เรารู้จักกันทั่วไปในชื่อของ " ฮอร์โมน " ในพืชนั้นอวัยวะต่าง ๆ มีการแบ่งสัดส่วนการทำงานของเนื้อเยื่อไม่แน่นอนเหมือนในสัตว์ ในพืชมีการสร้างฮอร์โมนมากในส่วน apical meristem วิธีการเคลื่อนของฮอร์โมนจากเซลล์หนึ่ง ไปสู่อีกเซลล์หนึ่งในปัจจุบันยังไม่ทราบทุกฮอร์โมน ดังนั้นคำจำกัดความของฮอร์โมนในพืชก็คือ " เป็นสารที่มีผลกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชในระดับความเข้มข้นต่ำ " สำหรับคุณสมบัติทั่วไปนั้นจะกระตุ้นการเจริญเติบโตของราก และของต้น การออกดอก การพักตัว เป็นต้น

คุณสมบัติโดยทั่ว ๆไปของฮอร์โมนมีดังต่อไปนี้

<u>กลุ่มออกซิน</u> มีคุณสมบัติทางสรีระวิทยาต่อพืชดังนี้

1. กระตุ้นการยืดตัวของเซลล์
2. กระตุ้นการยืดตัวของราก
3. กระตุ้นให้เกิดแคลลัสในเนื้อเยื่อ
4. กระตุ้นให้เกิด apical dominance ในพืช
5. ช่วยในการเกิด parthenocarpic ในผลไม้
6. ช่วยในการเปลี่ยนเพศดอก จากเพศผู้ให้เป็นเพศเมียในพืชตระกูลแตง
7. ช่วยในการสังเคราะห์เอทีลีนซึ่งเป็นก๊าซในผลไม้สุก
8. ยับยั้งการเจริญของตาข้างเมื่อความเข้มข้นสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับฮอร์โมนในกลุ่มออกซินที่ศึกษามี 3 ตัว และมีหน้าที่เฉพาะดังต่อไปนี้

1. 2,4-D มักใช้เป็นยาปราบศัตรูพืชเมื่อความเข้มข้นสูง

2. NAA ใช้ในการติดผลของผลไม้ที่เกิดจาก parthenocarpic เปลี่ยนเพศพืชบางชนิด การปักชำ และเร่งให้ออกราก
เมื่อความเข้มข้นสูง

3. IBA มีชื่อทางการค้าที่แตกต่างกัน เช่น indole butyric, hydrazine, hormodin, jiffy grow เป็นต้น และมีประโยชน์ในการกระตุ้นให้เกิดรากของกิ่งปักชำ

<u>กลุ่มไซโตไคนิน</u> มีคุณสมบัติทางสรีระวิทยาต่อพืชดังต่อไปนี้

1.กระตุ้นการแบ่งเซลล์

2.ชลอการแก่ของใบและผล

3.ช่วยในการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารของพืช

4.กระตุ้นการเจริญเติบโตของตาข้าง

5.ช่วยในการเปลี่ยนสภาพของเซลล์

ฮอร์โมนที่ศึกษาในกลุ่มไซโตไคนินมี 2 ตัวและมีประโยชน์การใช้ดังต่อไปนี้คือ

1. BA เป็นสารสังเคราะห์ในกลุ่มไซโตไคนิน ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยใส่ลงในสูตรอาหาร

2. KN เป็นสารใช้กระตุ้นการเจริญเติบโต มักใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนปลายยอด ทำให้ได้ต้นที่มีความสมบูรณ์ และช่วยให้แตกยอดได้ดี (เนาวรัตน์ ปานแย้ม, 2525)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ

อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายสูตรด้วยกัน สูตรอาหารต่าง ๆ มักเรียกชื่อตามผู้ที่คิดค้น เช่น สูตรอาหารของ Murashige และ Skoog (MS) ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่ Murashige และ Skoog ได้คิดค้นเพื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อยาสูบ สูตรอาหารของ White ก็เป็นสูตรอาหารที่ White ได้คิดค้นขึ้นเพื่อเลี้ยงปลายรากของมะเขือเทศ สูตรอาหารของ Knudson ก็เป็นสูตรอาหารที่ Knudson ได้คิดค้นขึ้นเพื่อใช้ในการเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ อย่างไรก็ดีสูตรอาหารต่าง ๆ ที่ปรากฏในปัจจุบันเมื่อนำมาวิเคราะห์แล้วพบว่า ประกอบด้วยสารต่าง ๆดังต่อไปนี้

1.สารพวกอนินทรีย์ (inorganic salts) ซึ่งธาตุที่จำเป็นได้แก่ ไนโตรเจน, ฟอสฟอรัส, โปตัสเซียม, คัลเซียม, มักนีเซียม, กำมะถัน, เหล็ก, มังกานีส, โคบอลท์, สังกะสี, ทองแดง, โมลิบดินัม, โบรอน, ออกซิเจน, คาร์บอน และไฮโดรเจน แต่ในบางสูตรอาหารไม่ได้ประกอบด้วยธาตุทั้ง 16 ธาตุ กล่าวคือใช้เพียงบางธาตุเท่านั้น ส่วนการใช้ธาตุเหล่านี้อาจจะใช้ในรูปของสารประกอบต่าง ๆ เช่น การใช้โปตัสเซียม อาจใช้ในรูปของไนเตรทคือ KNO_3 หรือใช้ในรูปของซัลเฟตคือ K_2SO_4 นอกจากนี้ความเข้มข้นของสารประกอบที่ใช้ อาจแตกต่างกันไปตามสูตรอาหาร

2.สารอินทรีย์ (organic salts) ได้แก่สารที่มีองค์ประกอบของคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน แบ่งออกได้เป็นหลายพวกคือ

ก.น้ำตาล (sugar) เป็นสารที่ให้พลังงาน น้ำตาลที่ใช้ส่วนใหญ่ได้แก่ น้ำตาลซูโครส, กลูโคส และฟรุคโตส ปกติใช้น้ำตาลในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อประมาณ 20-40 กรัม/ลิตร (2-4 %)

ข.วิตามิน (vitamin) โดยมากมักใช้วิตามินบี, ไทอามีน, ไนอาซีน และกรดนิโคตินิค นอกจากนี้ยังอาจใช้ไบโอติน และกรดแพนโทธินิคด้วย

ค.สารเร่งการเจริญเติบโต (growth regulators) เป็นสารอินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพทางด้านเร่งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ การแบ่งเซลล์ และการขยายเซลล์ กลุ่มสารเร่งการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้แก่

สารกลุ่มออกซิน เช่น IAA 2,4-D NAA

สารกลุ่มไซโตไคนิน เช่น BA KN

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับสารกลุ่มเอทีลีน (ethylene) คือ จิบเบอเรลลิน (giberellin) และอินฮิบิเตอร์ (inhibitor) มักไม่ค่อยนิยมใช้

ง.กรดอะมิโน (amino acid) ตัวที่นิยมใช้กันมากคือ ไกลซีน ซึ่งมีประมาณ 2 มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนตัวอื่น ๆนั้นก็มีใช้บ้าง เช่น กรดกลูตามิค กรดแอสปาติค เป็นต้น

จ.สารอินทรีย์อื่น ๆ สารเหล่านี้ส่วนใหญ่ได้จากผลิตภัณฑ์ของพืช เช่น น้ำมะพร้าวอ่อน (coconut water) น้ำมะเขือเทศ (tomato juice) มันฝรั่ง (potato) กล้วย (banana) ส่วนสกัดจากยีสต์ (yeast extract) และอื่น ๆ ส่วนบทบาทของสารอินทรีย์เหล่านี้ที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และการพัฒนาของเนื้อเยื่อยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด (ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา,2524)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

การศึกษาเทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อได้เกิดขึ้นมากกว่า 50 ปีแล้ว แต่การประยุกต์เอาเทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในทางเกษตร ได้เริ่มขึ้นเมื่อสองทศวรรษที่ผ่านมานี้เอง (Vajrabhaya et al., 1983) เทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชยังใช้เป็นระบบของการศึกษาขั้นพื้นฐาน หรืองานวิจัยประยุกต์ได้เป็นอย่างดี การศึกษาเรื่องการเจริญ กลไกการทำงานและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อและเซลล์ของพืชใบเลี้ยงคู่ ได้มีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย ส่วนในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวโดยเฉพาะธัญพืชยังมีการศึกษาทางด้านการเลี้ยงเนื้อเยื่อน้อยอยู่ จึงทำให้ความก้าวหน้าทางวิชาการด้านนี้เป็นไปได้ช้ากว่าพืชใบเลี้ยงคู่ (Lai and Liu, 1982) สำหรับข้าว (Oryza sativa L.) ยิ่งมีประวัติของการศึกษาในเรื่องการเลี้ยงเนื้อเยื่อน้อยมาก อันเนื่องมาจากความยากลำบากทั้งในการชักนำให้เกิดแคลลัสและการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จากแคลลัส จึงเป็นอุปสรรคอย่างยิ่งในการที่จะใช้ประโยชน์ในการศึกษาการเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว (Lai and Liu, 1982) อย่างไรก็ดีได้มีรายงานการชักนำให้เกิดแคลลัสได้สำเร็จเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ.1964 โดย Furahashi และ Yatagawa โดยชักนำจากข้อของต้นกล้าข้าวโดยเลี้ยงในสูตรอาหารของ Heller ที่มี 2,4-D (2ppm.) และมีวิตามินด้วย (Chou et al., 1983; Oono, 1983) ต่อมาก็มีนักวิทยาศาสตร์สนใจในการศึกษาการเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวมากขึ้น และสามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้จากส่วนต่างๆ ของข้าว เช่น ราก ปล้อง ข้อ กาบใบ (Inoue and Maeda, 1986) และเมล็ดซึ่งก็คือเอมบริโอที่แก่เต็มที่ (Vajrabhaya et al., 1983; 1984; 1985; 1986) แต่ในงานวิจัยจะนิยมใช้เมล็ดของข้าว เพราะหาวัตถุดิบได้ง่าย สามารถเก็บเป็น stock ไว้ใช้นานๆ ได้สะดวกและการทำความสะอาดพื้นผิวทำได้อย่างทั่วถึง ทำให้มีการปนเปื้อนน้อย (Yoshida et al., 1983; Vajrabhaya et al., 1983; 1984a)

ปัจจุบันในการเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวพบว่า การชักนำให้เกิดแคลลัสไม่เป็นปัญหาเลย เพราะสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงถึง 93.3 เปอร์เซนต์ ในข้าวไทย (Vajrabhaya, 1986) แต่ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จากแคลลัสข้าวยังต่ำอยู่มาก (Yamada, 1982; Nabors, 1983; Vajrabhaya et al., 1984a) ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่ของข้าวจากแคลลัสพบว่า แคลลัสที่ได้จากการชักนำเอมบริโอข้าวให้เกิดแคลลัสมีอยู่ 2 ชนิด คือ embryogenic (E) callus ซึ่งมีลักษณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่เกาะกันแน่น ผิวหยักโค้ง มีสีเหลือง ประกอบด้วยเซลล์รูปร่างค่อนข้างกลม มีไซโตปลาสซึมเข้มข้น มีโอกาสเจริญเป็นต้นใหม่ได้ อีกชนิดหนึ่งคือ non embryogenic (NE) callus ซึ่งเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ รูปร่างยาว เกาะกันหลวมๆ ไซโตปลาสซึมขาวใส มีโอกาสเจริญเป็นต้นใหม่ได้ยาก หรือไม่ได้เลย (Nabors, 1983; มนทกานติ วัชราภัย และ พวงเพชร พูนทรัพย์, 2527; Vajrabhaya et al., 1984b)

สำหรับการเปลี่ยนเป็นต้นใหม่นั้น Murashige (1977) ยืนยันว่าขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย แต่ความสัมพันธ์ของสารควบคุมการเจริญของพืชระหว่างออกซินและไซโตไคนินทั้งในเรื่องชนิดและความเข้มข้นของสารทั้งสองจะมีบทบาทสำคัญอย่างเห็นได้ชัด นอกจากออกซินและไซโตไคนินจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่ องค์ประกอบของอาหารอื่นๆ ได้แก่ น้ำตาล แหล่งไนโตรเจน โปแตสเซียม ฟอสฟอรัส pH บัฟเฟอร์ในอาหารที่เลี้ยงเนื้อเยื่อ (Dougall, 1981) รวมทั้งชนิดและสายพันธุ์ของพืช (Abe and Futsuhara, 1984) ก็มีบทบาทต่อการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่เช่นกัน

บทบาทของธาตุอาหารทั้งธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองต่อการเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นมีความสำคัญมาก นักวิทยาศาสตร์ได้คิดค้นสูตรอาหารต่างๆ มากมาย ซึ่งสูตรอาหารเหล่านั้นก็มีความเหมาะสมกับพืชไม่เหมือนกัน (White, 1954; Murashige and Skoog, 1962) สำหรับการศึกษาแหล่งธาตุอาหารต่างๆ พบว่าแหล่งธาตุไนโตรเจน และโปแตสเซียมมีบทบาทมากในการเพิ่มผลผลิตที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Murashige and Skoog, 1962)

การศึกษาบทบาทของน้ำตาลนั้น Ling และคณะ (1984) รายงานว่า ซูโครส 6 เปอร์เซนต์เหมาะในการชักนำให้เกิด embryogenic callus และการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นของข้าว ในขณะที่ Vajrabhaya และคณะ (1984a) พบว่า embryogenic callus ที่มี green spot ซึ่งเป็นเครื่องหมายที่แสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นข้าวได้ในอาหารที่มีน้ำมะพร้าว ไม่ต้องเติมซูโครส และการเติมซูโครสทำให้ green spot ลดลง นอกจากนี้ก็ยังมีสารอินทรีย์ที่สำคัญในการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่ออีกประเภทหนึ่งคือ วิตามิน ที่จำเป็นในการส่งเสริมการเจริญคือ ไทอามีน (Ohira et al., 1976; Huang and Murashige, 1976; Gamborg et al., 1976; Shannon and Lin, 1977) ซึ่งจะขาดไม่ได้ ไทอามีนจะใช้ในรูปไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้นระหว่าง 0.1-30 มก./ล. (Digby and Skoog, 1966) สำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่า ไทอามีน มีความสำคัญต่อการเจริญ และการ subculture ของแคลลัสข้าว แต่ไม่จำเป็นสำหรับการชักนำแคลลัสจากเมล็ดข้าว (Inoue and Maeda, 1976; Maeda, 1980a; Maeda, Chen and Inoue, 1986)

สารที่มีบทบาทสำคัญมากต่อการเลี้ยงเนื้อเยื่ออีกกลุ่มหนึ่ง คือ สารควบคุมการเจริญซึ่ง Schenk and Hildebrandt (1972) พบว่า ในอาหารที่มีออกซินระดับสูงและมีไซโตไคนินต่ำจะเหมาะสำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ซึ่ง Maeda (1968) พบว่าไซโตไคนินไม่มีความจำเป็นสำหรับการเจริญของแคลลัสเลย นอกจากนี้สำหรับข้าวจะต้องใช้ 2,4-D อย่างน้อยที่สุด 0.5 มก./ล. ในการชักนำให้เกิดแคลลัส (Maeda, 1985; Lai and Liu, 1982) ชนิดและส่วนต่างๆ ของพืช จะตอบสนองต่อชนิดและความเข้มข้นของออกซินในการชักนำให้เกิดแคลลัสแตกต่างกัน ส่วนไซโตไคนินจะไม่จำเป็นต่อการชักนำแคลลัส บางครั้งยังไปยับยั้งการเกิดแคลลัส และไม่มีความสำคัญในการ subculture ด้วย (Inoue and Maeda, 1976a; Maeda, 1980; Vajrabhaya et al., 1983; Maeda, Chen and Inoue, 1986) ถ้าเพิ่มความเข้มข้นของออกซินในอาหาร จะลด lag period ในการชักนำแคลลัสจากเมล็ดข้าวและส่วนต่างๆ ของต้นกล้า (Inoue and Maeda, 1976b) ยิ่งไปกว่านั้น Lai and Liu (1982) พบว่า ถ้าไม่มีสารควบคุมการเจริญในอาหารจะไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เลย การใช้ NAA ในการชักนำแคลลัสจะเกิดน้อยกว่า 2,4-D ซึ่งมีความเหมาะสมมากกว่า แต 2,4-D ที่สะสมในแคลลัสขณะที่เลี้ยงในอาหาร จะทำให้การชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ต่อมาทำได้ยากยิ่งขึ้น เช่นเดียวกับ Siriwadana and Nabors (1983) และ Zapata et al (1983) ที่ได้แนะนำให้ใช้ NAA หรือ IAA แทน 2,4-D ซึ่งต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงกว่า โดยเฉพาะ IAA ที่อยู่ในอาหารมักจะเปลี่ยนรูปไปเป็น IAA-aspartic acid หรือลดจำนวนคาร์บอนลงกลายเป็นกาซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งจะไม่เกิดขึ้นเมื่อใช้ 2,4-D (Inoue and Maeda, 1979) จึงทำให้ 2,4-D ส่งเสริมการยืดตัวของเซลล์และการเจริญของแคลลัสได้ดีกว่า (Zapata et al., 1983) ถึงแม้ว่าจะไม่ใส่ไซโตไคนินในอาหารเลี้ยงแคลลัสเลย Inoue, Maeda, Yoshida และ Oritani (1979) ก็ยังพบไซโตไคนินในเนื้อเยื่อแคลลัส จึงสรุปได้ว่าในเนื้อเยื่อของแคลลัสข้าวนั้นสามารถผลิตไซโตไคนินได้เอง (endogenous cytokinin) จึงเป็นเหตุให้อธิบายถึงความไม่จำเป็นของไซโตไคนินต่อการชักนำแคลลัส (Inoue and Maeda, 1976a) และการเจริญ (Maeda,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1968) เพราะภายในเนื้อเยื่อข้าวมีไซโตไคนินเพียงพออยู่แล้ว ส่วน Nabors (1983) และ Siriwadana and Nabors (1983) อ้างว่าไซโตไคนินจะช่วยเพิ่มการสร้าง embryogenic callus ในข้าว และถ้าเติมกรดอะมิโนบางตัว เช่น tryptophan จะช่วยให้แคลลัสเจริญเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ได้มากขึ้น

ตั้งแต่ปี 1957 Skoog และ Miller เป็นคนแรกที่แสดงให้เห็นว่า สารควบคุมการเจริญชนิดที่เป็นออกซิน และไซโตไคนินมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ในแคลลัสของยาสูบ ถ้าอัตราส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินสูงก็จะชักนำให้เกิดต้น แต่ถ้าไซโตไคนินต่อออกซินต่ำจะชักนำให้เกิดราก ซึ่งในพืชอื่นก็พบในทำนองเดียวกัน สำหรับข้าวมีการรายงานความสำเร็จในการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ครั้งแรกในปี 1968 โดย Kawata และ Ishihara จากการเลี้ยงรากของข้าว และพบว่า 2,4-D จะไปลดความสามารถของการเกิดราก แต่ IAA จะส่งเสริมการสร้างหน่อในการเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว

สำหรับข้าวไทยสายพันธุ์ กข 23 Vajrabhaya และคณะ (1984b) พบว่าการใช้สูตรดัดแปลงของ White ที่เติมน้ำมะพร้าวและไม่ใส่น้ำตาลจะดีกว่าการใช้สูตรอาหารของ MS (1962) การเติมไคเนตินสูงและลด IAA จะทำให้การชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นเกิดได้ดีขึ้น อัตราส่วนที่ใช้ได้ผลดีคือ ใช้ IAA 1.0 ppm. และ K 3.0 ppm. การเกิดรากในข้าวจะไม่ขึ้นกับไซโตไคนิน แต่ขึ้นกับออกซิน นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำตาลซูโครสในอาหารจะทำให้แคลลัสดำ จึงได้ใช้สารอินทรีย์อื่นๆ แทน และที่ได้ผลดีคือ น้ำมะพร้าวที่มีปริมาณ 10% (v/v) แต่ถ้ามีน้ำมะพร้าวปริมาณมากคือ 20-40% (v/v) จะเป็นพิษต่อแคลลัสข้าว โดยจะทำให้แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด (Vajrabhaya et al., 1985a; 1985b)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

การวิจัยและการดำเนินการ

วัสดุและอุปกรณ์

1.พืชทดลอง

เมล็ดข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จากสถานีทดลองข้าวจังหวัดขอนแก่น

เมล็ดข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ จากชาวนาในจังหวัดขอนแก่น

2.สารเคมี

2.1 สูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ใช้สูตร MS ดังตารางที่ 1

2.2 สารควบคุมการเจริญ (Hormone)

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

IBA (Indole-3-butyric acid)

NAA (α-naphthaleneacetic acid)

BA (6-benzyladinine)

KN (6-furfurylaminopurine)

2.3 สารฆ่าเชื้อที่ผิว

clorox

ethyl alcohol 95% และ 70%

tween-20

2.4 สารอินทรีย์

วุ้นผง(ใช้เกรดที่ใช้ทำยา)

น้ำตาลซูโครส

น้ำมะพร้าว

3.อุปกรณ์

3.1 เครื่องแก้วต่างๆ เช่น บีกเกอร์ กระบอกตวง ปิเปต ฟลาสค์ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดสีชาใส่ stock เป็นต้น

3.2 ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นขวดแก้วใส่อาหารพร้อมฝาพลาสติกทนความร้อนขนาด 2 ออนซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 เครื่องมือผ่าตัด เช่น มีดผ่าตัด ปากคีบ

3.4 ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ laminar flow hood

3.5 อุปกรณ์อื่นๆ ที่จำเป็น เช่น tong ตะเกียงอัลกอฮอล์ ขวดน้ำกลั่น กระป๋องโลหะใส่ปิเปต aluminium foil ตะกร้าพลาสติก แว่นขยาย ไม้ขีดไฟ ผ้าเช็ดโต๊ะ เป็นต้น

3.6 อุปกรณ์ขนาดใหญ่ เช่น หม้อนึ่งอัดความดัน เครื่องชั่ง เครื่องวัด pH ตู้อบเครื่องแก้ว เป็นต้น

4.ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เป็นห้องมืดที่ติดตั้งถาวรโดยปรับให้มีอุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส

ขั้นตอนดำเนินการทดลอง

การดำเนินการทดลอง ได้แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

ส่วนที่ 1 ศึกษาฮอร์โมน 5 ชนิดๆ ละ 5 ความเข้มข้น ศึกษาว่าฮอร์โมนชนิดใด และความเข้มข้นที่เท่าใดมีความเหมาะสมในการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสข้าวได้มากที่สุด จากสูตรทดลอง 26 สูตร วัดผลตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1-5 สังเกตว่าสัปดาห์ใดให้ผลสูงสุด

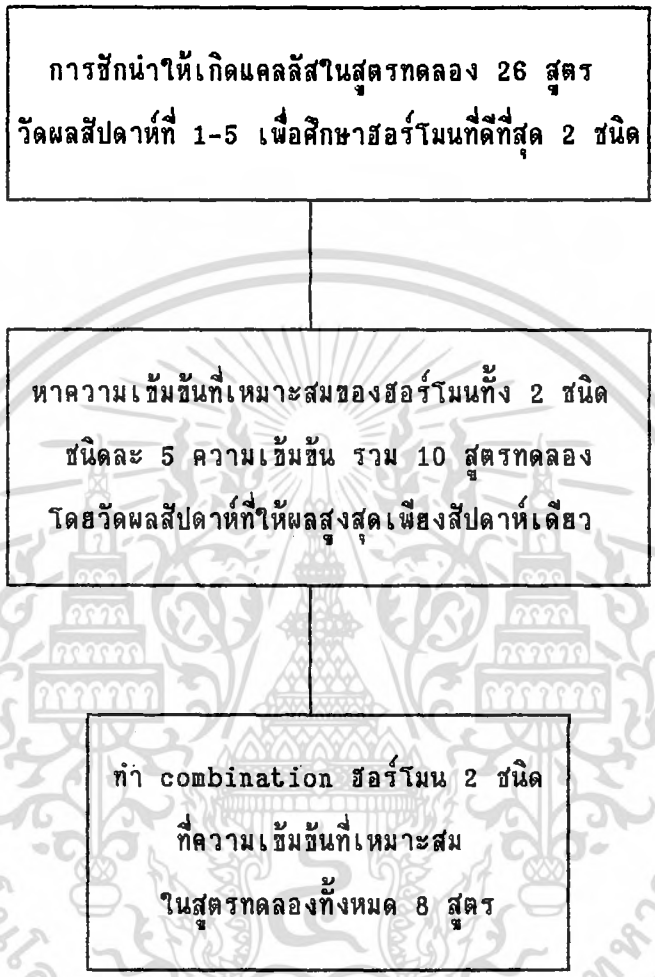
ส่วนที่ 2 นำฮอร์โมนที่ให้ผลดีที่สุด 2 ชนิดที่ได้จากการวิจัยในส่วนที่ 1 มาทำการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมซ้ำอีกครั้งหนึ่ง โดยวัดผลเฉพาะในสัปดาห์ที่ให้ผลสูงสุดเพียงสัปดาห์เดียว

ส่วนที่ 3 นำฮอร์โมนที่ดีที่สุด 2 ชนิดและความเข้มข้นในช่วงที่ดีที่สุดที่ได้จากการวิจัยในส่วนที่ 2 มาทำ combination เพื่อหาอัตราส่วนผสมฮอร์โมนและความเข้มข้นที่ดีที่สุดในกระตุ้นให้เกิดแคลลัสของข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผนภาพที่ 2

แผนดำเนินงานวิจัยโดยสังเขปตลอดโครงการ



สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การทำความสะอาดเมล็ดข้าวเบื้องต้น

1.1 แช่เมล็ดที่แกะเปลือกออกแล้วประมาณ 250 เมล็ดใน beaker บรรจุน้ำ 100 ml. เติม Tween 20 ลงไป 6 หยด เพื่อลดแรงตึงผิวของเมล็ด ทำให้สารฆ่าเชื้อที่ผิวชิมซับเข้าไปที่ผิวของเมล็ดได้ดี จึงมีประสิทธิภาพสูงขึ้น แช่ทิ้งไว้ 3 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำ

1.2 นำเมล็ดจากข้อ 1.1 มาแช่ใน 95% ethanol เป็นเวลา 1 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ย้ายเมล็ดใส่ใน 20% clorox solution เขย่าอย่างแรง เป็นเวลา 20 นาที

1.4 ทำซ้ำข้อ 1.3 โดยใช้ clorox 15% และ 10% ตามลำดับ

1.5 ล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง

1.6 เก็บเมล็ดที่ฆ่าเชื้อแล้วในจานเพาะเชื้อที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยเก็บไว้ในตู้เย็นจนกว่าจะนำมาใช้

2.<u>การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อ</u>

ใช้สูตร MS ทำเป็น stock solution (สารละลายที่มีความเข้มข้นสูงเป็นหลายเท่าของความเข้มข้นที่จะใช้จริงในสูตรอาหาร) ก่อน แล้วจึงนำมาเตรียมอาหารตามต้องการอีกทีหนึ่ง โดยมีวิธีเตรียม ดังนี้

2.1 ชั่งสารเคมีสูตร MS ตามตารางที่ 1 โดยแบ่งออกเป็น 4 stock

2.2 เมื่อชั่งครบจำนวนแล้ว นำสารเคมีแต่ละตัวมาละลาย เมื่อละลายหมดแล้ว เทผสมรวมกันตามลำดับก่อนหลัง เติมน้ำกลั่นให้ครบปริมาตรที่ต้องการ

2.3 จะได้ stock solution 1,2,3,4 ตามลำดับ

จากนั้นนำมาใช้เมื่อเตรียมอาหาร โดยมีวิธีเตรียมอาหาร 1 ลิตร ดังนี้

1.เติม stock solution 1 100 ml.

2.เติม stock solution 2 10 ml.

3.เติม stock solution 3 5 ml.

4.เติม stock solution 4 1 ml.

5.ใส่รวมกันในภาชนะที่เตรียมไว้ เติมน้ำตาล 30 g/l (3%) คนต่อไปจนละลาย

6.เติมน้ำมะพร้าว 100 ml/l (10%)

7.เติม stock hormone โดยให้มีความเข้มข้นตามต้องการใช้ แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 1 ลิตร

8.นำมาวัด pH ให้มีค่าประมาณ 5.6-5.8

9.นำไปต้ม เมื่อเริ่มร้อน ใส่วุ้นประมาณ 7 g/l คนต่อไปจนละลาย

10.นำอาหารมากรอกใส่ขวด ปิดฝา แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อโรคด้วยความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1

สูตร Murashige and Skooge (MS)

Stock Solution 1 Inorganic salts (100 X)	10 liters
Ammonium nitrate	165.0000 g.
Potassium nitrate	190.0000 g.
Calcium chloride	44.0000 g.
Potassium dihydrogen phosphate	17.0000 g.
Boric acid	0.6200 g.
Manganese sulphate	0.6900 g.
Zinc sulphate	0.6140 g.
Potassium iodide	0.0830 g.
Sodium molybdate	0.0250 g.
Copper sulphate	0.0025 g.
Cobalt chloride	0.0025 g.
Stock Solution 2 (100 X)	1 liter
Magnesium sulphate	37.0000 g.
Stock Solution 3 Chelated (200 X)	1 liter
Sodium EDTA	7.4500 g.
Ferrous sulphate	5.7500 g.
Stock Solution 4 Vitamins (1,000 X)	100 ml.
Inosital	10.0000 g.
Glycine	0.2000 g.
Nicotinic acid	0.0500 g.
Pyridoxine HCl	0.0500 g.
Thiamine HCl	0.0100 g.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผนภาพที่ 3

ชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ใช้ในสูตรอาหารทดลอง

ในการดำเนินงานวิจัยส่วนที่ 1

ฮอร์โมน	ความเข้มข้น (มก./ล.)				
	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0
2,4-D	1	2	3	4	5
NAA	6	7	8	9	10
IBA	11	12	13	14	15
KN	16	17	18	19	20
BA	21	22	23	24	25

นอกจากนี้ยังมีสูตรควบคุมซึ่งไม่ใส่ฮอร์โมนชนิดใดเลย จึงมีสูตรทดลองทั้งหมด 26 สูตร

แผนภาพที่ 4

ชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ใช้ในสูตรอาหารทดลอง

ในการดำเนินงานวิจัยส่วนที่ 2

ฮอร์โมน	ความเข้มข้น (มก./ล.)				
	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0
2,4-D	1	2	3	4	5
NAA	6	7	8	9	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผนภาพที่ 5

ชนิด ความเข้มข้น และอัตราส่วนของฮอร์โมนที่ใช้ใน

สูตรอาหารทดลองในการดำเนินงานวิจัยส่วนที่ 3

2,4-D (มก./ล.)	NAA (มก./ล.)			
	0.5	1.0	2.0	4.0
0.5	1	2	3	4
1.0	5	6	7	8

3. การชักนำให้เกิด callus

นำเมล็ดข้าวที่ทำความสะอาดแล้ว ไปใส่ในอาหารวุ้นที่เตรียมไว้ โดยทำในตู้ปลอดเชื้อ และบ่มไว้ในที่มืด ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แล้วศึกษาว่า ชนิด ความเข้มข้น และอัตราส่วนใดของ hormone ที่กระตุ้นให้เกิด callus ได้มากที่สุด พร้อมทั้งศึกษาชนิดของ callus ที่เกิดขึ้น ว่าเป็นแบบ embryogenic callus หรือ non-embryogenic callus

4. การเก็บรวบรวมข้อมูลการทดลอง

ในการวิจัยนี้ได้ศึกษาถึง ชนิด ความเข้มข้น และอัตราส่วนของฮอร์โมนที่กระตุ้นให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด โดยการเก็บรวบรวมข้อมูลจะบันทึกเป็นจำนวนแคลลัสที่เกิดขึ้นในแต่ละสูตรทดลองเทียบเป็นเปอร์เซนต์ นอกจากนี้ยังมีการรายงานเปอร์เซนต์การงอก และเปอร์เซนต์การปนเปื้อนด้วย

การวางแผนการทดลอง ส่วนที่ 1 เป็นการทดลองขั้นเริ่มต้น ยังไม่ใช้แผนการทดลอง และยังไม่คำนวณค่าทางสถิติ ส่วนที่ 2 ใช้แผนการทดลองแบบ Factorial Experiment in RCB (Randomized Complete Block Design) และคิดคำนวณค่าสถิติแบบ DMRT (Duncan's Multiple Range Test) ส่วนที่ 3 ใช้แผนการทดลองแบบ CRD (Complete Randomized Design) และคิดคำนวณค่าสถิติแบบ DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

ผลการวิจัยแบ่งเป็น 6 ตาราง ดังนี้

1.ผลของ 2,4-D, NAA, IBA, BA และ KN ที่มีต่อจำนวนแคลลัส จำนวนเมล็ดที่งอก และจำนวนเมล็ดที่เกิดการปนเปื้อนคิดเป็นเปอร์เซนต์ ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสัปดาห์ที่ 1-5

2.ผลของ 2,4-D, NAA, IBA, BA และ KN ที่มีต่อจำนวนแคลลัส จำนวนเมล็ดที่งอก และจำนวนเมล็ดที่เกิดการปนเปื้อนคิดเป็นเปอร์เซนต์ ในข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ ในสัปดาห์ที่ 1-5

3.ผลของความเข้มข้นของ 2,4-D และ NAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัส จำนวนเมล็ดที่งอก และจำนวนเมล็ดที่เกิดการปนเปื้อนคิดเป็นเปอร์เซนต์ ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสัปดาห์ที่ 5

4.ผลของความเข้มข้นของ 2,4-D และ NAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัส จำนวนเมล็ดที่งอก และจำนวนเมล็ดที่เกิดการปนเปื้อนคิดเป็นเปอร์เซนต์ ในข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ ในสัปดาห์ที่ 4

5.ผลของอัตราส่วนระหว่าง 2,4-D กับ NAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัส และจำนวนเมล็ดที่งอกคิดเป็นเปอร์เซนต์ ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสัปดาห์ที่ 5

6.ผลของอัตราส่วนระหว่าง 2,4-D กับ NAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัส และจำนวนเมล็ดที่งอกคิดเป็นเปอร์เซนต์ ในข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ ในสัปดาห์ที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2

แสดงเปอร์เซนต์การงอก/การเกิดแคลลัส/การปนเปื้อนของข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ฮอร์โมน	ความเข้มข้น (มก./ล.)	% การงอก					% การเกิดแคลลัส					% การปนเปื้อน				
		ส1	ส2	ส3	ส4	ส5	ส1	ส2	ส3	ส4	ส5	ส1	ส2	ส3	ส4	ส5
2,4-D	0.5	24	34	45	62	62	7	10	10	41	48	7	10	10	10	10
	1.0	24	34	45	62	66	7	7	10	38	41	4	10	14	14	24
	2.0	21	32	50	54	54	7	4	4	21	32	7	18	21	21	21
	4.0	23	57	67	73	73	0	0	0	20	53	0	0	0	0	0
	8.0	10	10	53	63	67	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NAA	0.5	23	47	57	63	63	0	0	3	30	37	0	0	0	0	0
	1.0	10	33	57	67	67	0	0	0	7	30	0	0	0	0	0
	2.0	11	29	46	54	54	0	0	0	7	14	0	0	0	0	0
	4.0	11	32	39	64	64	0	0	0	7	29	0	0	0	0	0
	8.0	7	22	44	44	48	0	0	0	11	15	0	0	4	4	7
IBA	0.5	14	32	50	54	57	0	0	0	4	4	0	0	0	0	0
	1.0	27	39	60	70	73	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
	2.0	17	48	52	52	58	0	7	7	10	10	3	3	10	10	10
	4.0	25	36	39	43	46	0	4	4	4	4	7	7	14	14	14
	8.0	9	13	39	57	57	0	0	0	0	0	0	13	13	13	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 (ต่อ)

แสดงเปอร์เซนต์การงอก/การเกิดแคลลัส/การปนเปื้อนของข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ฮอร์โมน	ความเข้มข้น (มก./ล.)	% การงอก					% การเกิดแคลลัส					% การปนเปื้อน				
		ส1	ส2	ส3	ส4	ส5	ส1	ส2	ส3	ส4	ส5	ส1	ส2	ส3	ส4	ส5
BA	0.5	39	55	68	71	71	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1.0	35	52	72	72	72	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2.0	20	50	63	67	67	0	0	0	0	0	3	10	10	10	10
	4.0	31	66	79	86	86	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8.0	13	33	60	63	67	0	0	0	0	0	13	20	20	23	27
KN	0.5	37	50	57	73	77	0	0	3	7	17	0	0	0	0	0
	1.0	33	43	57	57	63	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2.0	33	47	67	73	77	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4.0	24	55	59	59	59	0	0	0	0	0	3	10	10	10	21
	8.0	24	52	66	66	69	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C	0.0	29	44	62	65	68	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและการวิจารณ์ของ 2,4-D, NAA, IBA, BA และ KN ที่มีต่อการงอก การเกิดแคลลัส และการปนเปื้อน (คิดเป็นเปอร์เซนต์) ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสัปดาห์ที่ 1-5

จากการทดลอง (ตารางที่ 2)พบว่าเปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จะพบสูงสุดในสัปดาห์ที่ 5 หลังจากนั้นแล้วจำนวนแคลลัสคงเดิมหรือลดลง การที่แคลลัสลดลงไป อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสไปเป็นราก และส่วนของยอด ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงจะเก็บผลการเกิดแคลลัสเพียงในสัปดาห์ที่ 5 เพียงสัปดาห์เดียวเท่านั้น

สำหรับชนิดของฮอร์โมนที่ให้ผลดีต่อการกระตุ้นการเกิดแคลลัสคือ 2,4-D และ NAA ซึ่งเป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน ส่วน IBA แม้จะเป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซินก็ตาม แต่กลับให้ผลไม่ดี ทั้งนี้อาจสืบเนื่องมาจากความไม่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการเกิดแคลลัส หรือการสลายตัว การเปลี่ยนรูปไปเป็นสารอื่นของฮอร์โมน หรืออาจเกิดความผิดพลาดจากการเตรียม stock ของฮอร์โมน ซึ่งอาจจะใช้แอลกอฮอร์มากเกินไปในการละลายฮอร์โมน และแอลกอฮอร์อาจก่อให้เกิดผลเสียต่อเนื้อเยื่อ

ส่วนฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินได้แก่ BA และ KN ไม่ส่งเสริมการเกิดแคลลัสเลย แต่จะไปส่งเสริมการงอกอย่างมาก พบว่าในสูตรอาหารที่เติมไซโตไคนินนั้น เมล็ดข้าวจะงอกเจริญเป็นต้นอย่างรวดเร็ว ลำต้นแข็งแรง ใบมีสีเขียวสด แต่ไม่มีแคลลัสเกิดขึ้น หรืออาจพบแคลลัสบ้างแต่น้อยมาก

เป็นที่น่าสังเกตว่าเมล็ดที่งอกเป็นต้นอย่างสมบูรณ์ มีใบสีเขียวสด รากแตกออกเป็นกอ จะไม่พบการเกิดแคลลัส ส่วนเมล็ดที่ไม่มีการงอกเลยก็จะไม่พบแคลลัสเช่นกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเมล็ดตาย หรืออยู่ในระยะพักตัว ส่วนเมล็ดที่มีแคลลัสเกิดขึ้นนั้น จะมีการงอกของรากเพียงเล็กน้อยไม่สมบูรณ์เท่าใดนัก ทั้งนี้เพราะฮอร์โมนที่กระตุ้นให้เกิดแคลลัสเป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน ซึ่งสามารถกระตุ้นการเกิดรากได้ดีกว่าการเกิดยอด

สำหรับเปอร์เซนต์การปนเปื้อน ในสัปดาห์แรก ๆมีการปนเปื้อนน้อยมาก แต่การปนเปื้อนจะสูงขึ้นเรื่อย ๆตามสัปดาห์ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นไปตามความคาดหมาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3

แสดงเปอร์เซนต์การงอก/การเกิดแคลลัส/การปนเปื้อนของข้าวเหนียวพันธุ์กำ่า

ฮอร์โมน	ความเข้มข้น (มก./ล.)	% การงอก					% การเกิดแคลลัส					% การปนเปื้อน				
		ส1	ส2	ส3	ส4	ส5	ส1	ส2	ส3	ส4	ส5	ส1	ส2	ส3	ส4	ส5
2,4-D	0.5	80	80	80	80	80	0	0	20	53	60	0	0	0	0	0
	1.0	77	87	87	87	90	0	0	0	33	40	0	0	0	0	0
	2.0	80	87	90	90	93	0	3	3	7	7	0	0	0	0	0
	4.0	83	87	90	90	97	0	0	0	0	0	3	3	3	10	10
	8.0	77	87	87	87	87	0	0	0	3	3	0	0	0	0	0
NAA	0.5	83	90	90	90	93	0	0	3	3	7	0	0	0	0	0
	1.0	87	87	87	87	87	0	0	10	17	17	3	10	10	10	10
	2.0	76	83	86	86	86	0	0	7	21	21	0	0	0	3	10
	4.0	79	90	90	90	90	0	0	3	28	28	3	3	3	3	3
	8.0	73	77	77	77	77	0	0	0	7	7	0	0	0	0	0
IBA	0.5	87	90	90	90	93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1.0	98	100	100	100	100	0	0	0	0	0	4	4	15	19	19
	2.0	93	93	93	93	93	0	0	0	10	10	0	0	0	0	0
	4.0	90	97	97	97	100	0	0	0	7	7	0	0	0	0	0
	8.0	88	94	94	94	94	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 (ต่อ)

แสดงเปอร์เซนต์การงอก/การเกิดแคลลัส/การปนเปื้อนของข้าวเหนียวพันธุ์กำ

ฮอร์โมน	ความเข้มข้น (มก./ล.)	% การงอก					% การเกิดแคลลัส					% การปนเปื้อน				
		ส1	ส2	ส3	ส4	ส5	ส1	ส2	ส3	ส4	ส5	ส1	ส2	ส3	ส4	ส5
BA	0.5	94	94	94	94	94	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
	1.0	90	90	90	90	90	0	0	0	0	0	4	4	10	10	10
	2.0	84	84	84	84	84	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4.0	93	93	93	93	93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8.0	93	93	93	93	93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
KN	0.5	100	100	100	100	100	0	0	0	0	13	0	4	4	4	11
	1.0	93	93	93	93	93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2.0	97	97	97	97	97	0	0	0	7	7	0	0	0	0	0
	4.0	90	90	93	93	93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8.0	90	90	90	90	93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C	0.0	85	85	85	85	85	0	0	0	0	0	4	12	12	12	12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาและการวิจารณ์ของ 2,4-D, NAA, IBA, BA และ KN ที่มีต่อการงอก การเกิดแคลลัส และการปนเปื้อน (คิดเป็นเปอร์เซนต์) ในข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำในสัปดาห์ที่ 1-5

จากการศึกษาพบว่า การเกิดแคลลัสในข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำจะให้ผลการเกิดแคลลัสได้สูงสุดในสัปดาห์ที่ 4 สำหรับในสัปดาห์ถัดไปนั้น เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสจะคงเดิมไม่มีการเพิ่ม หรืออาจเพิ่มขึ้นบ้างแต่เพียงเล็กน้อยเท่านั้น นอกจากนี้แล้วแคลลัสยังเปลี่ยนแปลง โดยพบว่าจะเปลี่ยนไปเป็นรากคือมีลักษณะเป็นปุยหรือขนสีขาว และบางส่วนจะเริ่มตาย สังเกตจากสีของแคลลัสที่เปลี่ยนไปคือ จากเดิมแคลลัสมีสีเหลืองอ่อน ๆ ได้เริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และเมื่อเวลาถัดมาก็จะมีสีน้ำตาลที่เข้มขึ้นจนเกือบดำในที่สุด จึงถือได้ว่าในข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำนั้น อายุการเกิดแคลลัสที่เหมาะสมจึงควรเป็นในสัปดาห์ที่ 4 ซึ่งจะใช้ในการวัดผลในการทดลองขั้นต่อไป

ชนิดของฮอร์โมนที่ให้ผลในการเกิดแคลลัสจำนวนมากได้แก่ 2,4-D และ NAA ซึ่งเป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลการเกิดแคลลัสสูง NAA ก็ส่งเสริมการเกิดแคลลัสเช่นกันแต่ให้ผลที่ดีน้อยกว่าการใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ IBA ให้ผลในการเกิดแคลลัสน้อยมาก โดยให้ผลเล็กน้อยที่ความเข้มข้น 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนิน ไม่ส่งเสริมการเกิดแคลลัส แต่จะให้ผลในการงอกที่ดี การเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ ให้เปอร์เซนต์การงอกที่สูงดีมากจนถึงร้อยเปอร์เซนต์ก็มี จึงอาจกล่าวได้ว่าในต้นข้าวที่เจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์ จะไม่พบการเกิดแคลลัสหรืออาจพบบ้างแต่น้อยมาก

ดังนั้นฮอร์โมนที่เหมาะสม ที่จะเลือกใช้ในการดำเนินการทดลองขั้นต่อไปคือ 2,4-D และ NAA

การสังเกตจากการทดลองพบว่า การงอก การเจริญเติบโตเป็นต้นของข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำจะเป็นไปได้ดี และรวดเร็วกว่าในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 นอกจากนี้แล้วเปอร์เซนต์การงอกยังสูงกว่าอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4

ผลของความเข้มข้นของ 2,4-D และ NAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัส
จำนวนเมล็ดที่งอก และจำนวนเมล็ดที่เกิดการปนเปื้อนคิดเป็นเปอร์เซนต์
ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสัปดาห์ที่ 5

ฮอร์โมน	ความเข้มข้น(มก./ล.)	% การงอก	% การเกิดแคลลัส	% การปนเปื้อน
2,4-D	0.5	95.92	73.47	12.24
	1.0	94.00	54.00	36.00
	2.0	97.96	28.57	34.69
	4.0	97.96	20.41	40.82
	8.0	89.58	10.42	29.17
NAA	0.5	95.83	37.50	22.92
	1.0	93.75	54.16	0.00
	2.0	97.96	55.10	16.33
	4.0	91.49	55.32	0.00
	8.0	94.00	48.00	16.00
สูตรควบคุม	0.0	100.00	0.00	36.73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของความเข้มข้นของ 2,4-D และ NAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัส จำนวนเมล็ดที่งอก และจำนวนเมล็ดที่เกิดการปนเปื้อนคิดเป็นเปอร์เซนต์ ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสัปดาห์ที่ 5

จากผลการทดลอง(ตารางที่ 4) สำหรับความเข้มข้นของฮอร์โมน พบว่าออกซินที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆ จะส่งเสริมการเกิดแคลลัสได้ดี แต่เมื่อความเข้มข้นสูง จะยับยั้งการเกิดแคลลัส ทำให้ปริมาณแคลลัสลดลง เช่น 2,4-D 0.5 และ 1.0 มก./ล. สามารถกระตุ้นให้เกิดแคลลัสได้สูงถึง 73.47 และ 54.00 เปอร์เซนต์ตามลำดับ และเมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน แต่เมื่อ 2,4-D มีความเข้มข้นสูงกว่า 1.0 มก./ล. จะยับยั้งการเกิดแคลลัส โดยมีเปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสลดลง และเมื่อทดสอบทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างจาก 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-1.0 มก./ล.

สำหรับ NAA เมื่อศึกษาถึงผลของ NAA ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 มก./ล. ในการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส พบว่า NAA ที่ระดับความเข้มข้น 4.0 มก./ล. สามารถกระตุ้นให้เกิดแคลลัสได้สูงที่สุดถึง 55.32 เปอร์เซนต์ แต่ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มก./ล. NAA สามารถกระตุ้นให้เกิดแคลลัสได้เพียง 37.50 เปอร์เซนต์ อย่างไรก็ตามเมื่อทดสอบทางสถิติพบว่า NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 มก./ล. ให้ผลในการชักนำให้เกิดแคลลัส ไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ แต่ก็มีแนวโน้มว่าการใช้ NAA ต้องใช้ความเข้มข้นที่ค่อนข้างสูง คือควรจะสูงกว่า 0.5 มก./ล. ในการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส อย่างไรก็ตามออกซินถ้ามีความเข้มข้นสูงเกินไป ก็จะยับยั้งการเกิดแคลลัสได้

นอกจากนี้ยังพบว่า ในสูตรควบคุม คือสูตรอาหารที่ไม่ใส่ฮอร์โมนเลย เมล็ดจะเกิดการงอกได้ 100 เปอร์เซนต์ แต่ไม่มีแคลลัสเกิดขึ้นเลย แสดงว่าฮอร์โมนมีความสำคัญต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสจริงๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5

ผลของความเข้มข้นของ 2,4-D และ NAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัส
จำนวนเมล็ดที่งอก และจำนวนเมล็ดที่เกิดการปนเปื้อนคิดเป็นเปอร์เซนต์
ในข้าวเหนียวพันธุ์กำ ในสัปดาห์ที่ 4

ฮอร์โมน	ความเข้มข้น(มก./ล.)	% การงอก	% การเกิดแคลลัส	% การปนเปื้อน
2,4-D	0.5	98.33	68.33	15.00
	1.0	96.67	63.33	6.66
	2.0	96.67	8.33	30.00
	4.0	98.33	0.00	5.00
	8.0	100.00	3.33	0.00
NAA	0.5	98.33	63.33	15.00
	1.0	98.33	58.33	25.00
	2.0	98.33	70.00	11.67
	4.0	98.33	33.33	5.00
	8.0	100.00	30.00	0.00
สูตรควบคุม	0.0	95.00	0.00	10.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของความเข้มข้นของ 2,4-D และ NAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัส จำนวนเมล็ดที่งอก และจำนวนเมล็ดที่เกิดการปนเปื้อนคิดเป็นเปอร์เซนต์ ในข้าวเหนียวพันธุ์กำ ในสัปดาห์ที่ 4

จากผลการทดลอง(ตารางที่ 5) สำหรับความเข้มข้นของฮอร์โมน พบว่าออกซินที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆ จะส่งเสริมการเกิดแคลลัสได้ดี แต่เมื่อความเข้มข้นสูง จะยับยั้งการเกิดแคลลัส ทำให้ปริมาณแคลลัสลดลง เช่น 2,4-D 0.5 และ 1.0 มก./ล. สามารถกระตุ้นให้เกิดแคลลัสได้สูงถึง 68.33 และ 63.33 เปอร์เซนต์ตามลำดับ และเมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน แต่เมื่อ 2,4-D มีความเข้มข้นสูงกว่า 1.0 มก./ล. จะยับยั้งการเกิดแคลลัส โดยมีเปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสลดลง และเมื่อทดสอบทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างจาก 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-1.0 มก./ล.

สำหรับ NAA เมื่อศึกษาถึงผลของ NAA ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 มก./ล. ในการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส พบว่า NAA ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 มก./ล. สามารถกระตุ้นให้เกิดแคลลัสได้สูงที่สุดถึง 70.00 เปอร์เซนต์ แต่ที่ระดับความเข้มข้น 8.0 มก./ล. NAA สามารถกระตุ้นให้เกิดแคลลัสได้เพียง 30.00 เปอร์เซนต์ อย่างไรก็ตามเมื่อทดสอบทางสถิติพบว่า NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 มก./ล. ให้ผลในการชักนำให้เกิดแคลลัส ไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ แต่ก็มีแนวโน้มว่าเปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสจะลดลงเมื่อ NAA มีความเข้มข้นเกิน 2.0 มก./ล. ซึ่งก็สอดคล้องกับทฤษฎีที่ว่า ออกซินถ้ามีความเข้มข้นสูงเกินไป ก็จะยับยั้งการเกิดแคลลัสได้

นอกจากนี้ยังพบว่า ในสูตรควบคุม คือสูตรอาหารที่ไม่ใส่ฮอร์โมน จะไม่มีแคลลัสเกิดขึ้นเลย แสดงว่าฮอร์โมนมีความสำคัญต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสจริงๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6

แสดงเปอร์เซนต์การงอก และการเกิดแคลลัสจากการ combination ระหว่าง 2,4-D และ NAA ของข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสัปดาห์ที่ 5

ความเข้มข้นของฮอร์โมน(มก./ล.)		% การงอก	% การเกิดแคลลัส
2,4-D	NAA		
0.5	0.5	85	70
0.5	1.0	89	67
0.5	2.0	84	62
0.5	4.0	94	63
1.0	0.5	93	77
1.0	1.0	93	87
1.0	2.0	87	84
1.0	4.0	90	82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของอัตราส่วนระหว่าง 2,4-D กับ NAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัส และจำนวนเมล็ดที่งอกคิดเป็นเปอร์เซนต์ ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสัปดาห์ที่ 5

จากการทดลองหาอัตราส่วนที่เหมาะสมจากการทำ combination ฮอร์โมนระหว่าง 2,4-D กับ NAA ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พบว่า สูตรอาหารที่ให้เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสสูงที่สุด คือ 87 เปอร์เซนต์ มีอัตราส่วนฮอร์โมน 2,4-D 1.0 มก./ล. + NAA 1.0 มก./ล. สูตรอาหารที่ให้เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสต่ำสุดคือ 62 เปอร์เซนต์ มีอัตราส่วนฮอร์โมน 2,4-D 0.5 มก./ล. + NAA 2.0 มก./ล.

รายละเอียดจากการสังเกตผล ขณะเก็บข้อมูลและบันทึกผลการทดลอง พบว่า สูตรอาหารที่ให้แคลลัสขนาดใหญ่ (มากกว่า 4.0 มม.) ได้แก่ สูตรอาหารที่มีอัตราส่วนฮอร์โมนต่าง ๆ ดังนี้ 2,4-D 0.5 มก./ล. + NAA 0.5 มก./ล., 2,4-D 0.5 มก./ล. + NAA 1.0 มก./ล. และ 2,4-D 1.0 มก./ล. + NAA 0.5 มก./ล. ซึ่งแคลลัสที่ได้เป็น embryogenic callus

สำหรับสูตรอาหารที่มีอัตราส่วนฮอร์โมน 2,4-D 1.0 มก./ล. + NAA 2.0 มก./ล. และ 2,4-D 1.0 มก./ล. + NAA 4.0 มก./ล. นั้น ให้เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสสูง แต่แคลลัสที่ได้เป็น non-embryogenic callus ที่มีขนาดเล็ก (ต่ำกว่า 2.0 มม.)

สูตรอาหารที่เหลือ ได้แก่ สูตรอาหารที่มีอัตรส่วนฮอร์โมน 2,4-D 0.5 มก./ล. + NAA 2.0 มก./ล., 2,4-D 0.5 มก./ล. + NAA 4.0 มก./ล. และสูตรอาหารที่ให้เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสสูงสุด คือ สูตรที่มีอัตราส่วนฮอร์โมน 2,4-D 1.0 มก./ล. + NAA 1.0 มก./ล. นั้น ให้แคลลัสทั้ง 2 ชนิด และแคลลัสมีขนาดกลาง (2.0-4.0 มม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7

แสดงเปอร์เซนต์การงอก และการเกิดแคลลัสจากการทำ combination ระหว่าง 2,4-D กับ NAA ของข้าวเหนียวพันธุ์กำ ในสัปดาห์ที่ 4

ความเข้มข้นของฮอร์โมน(มก./ล.)		% การงอก	% การเกิดแคลลัส
2,4-D	NAA		
0.5	0.5	98	93
0.5	1.0	100	94
0.5	2.0	89	64
0.5	4.0	94	67
1.0	0.5	96	76
1.0	1.0	98	73
1.0	2.0	96	78
1.0	4.0	84	60

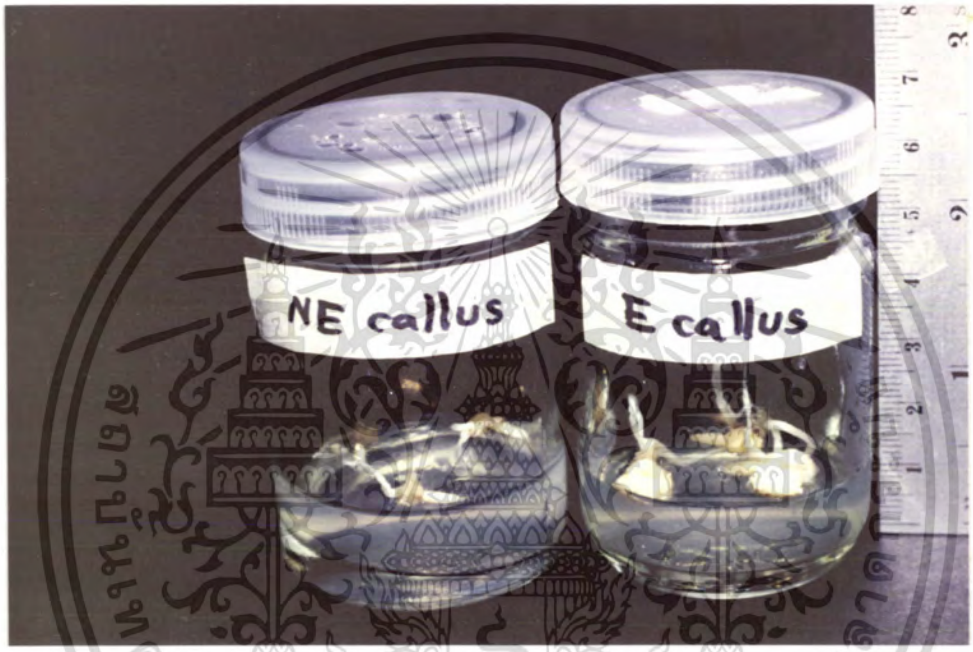
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของอัตราส่วนระหว่าง 2,4-D กับ NAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัส และจำนวนเมล็ดที่งอกคิดเป็นเปอร์เซนต์ ในข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ ในสัปดาห์ที่ 4

จากการทดลองเมื่อตรวจผลในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าการเติมฮอร์โมน 2 ชนิดลงในอาหาร MS ผลการเกิดแคลลัสมีสูงมากกว่าเมื่อมีฮอร์โมนชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงชนิดเดียว เช่น กรณีเติม 2,4-D (0.5 มก./ล.) และ NAA (1.0 มก./ล.) ให้ผลเปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสสูงถึง 94 เปอร์เซนต์ ในขณะที่ 2,4-D (0.5 มก./ล.) ให้เปอร์เซนต์แคลลัสเท่ากับ 68 และ NAA (1.0 มก./ล.) ให้เปอร์เซนต์แคลลัสเท่ากับ 58 และผลเฉลี่ยของเปอร์เซนต์การเกิดแคลลัส ในข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำเท่ากับ 75.52 เปอร์เซนต์ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่สูง

จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การเติมฮอร์โมน 2,4-D และ NAA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆกันจะให้ผลในการเกิดแคลลัสได้ไม่แตกต่างกัน นั่นคือสามารถเลือกใช้ฮอร์โมน 2 ชนิดนี้ที่ความเข้มข้น 0.5 - 4.0 มก./ล. ก็ได้ผลการเกิดแคลลัสที่มากพอ ๆกัน เพื่อการวิจัย การพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ในอนาคตต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 ลักษณะ E callus และ NE callus ที่ได้จากเอมบริโอข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2 ลักษณะของ E callus จากเอมบริโอข้าวเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศ์

รูปที่ 3 ลักษณะของ NE callus จากเอมบริโอข้าวเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศ์

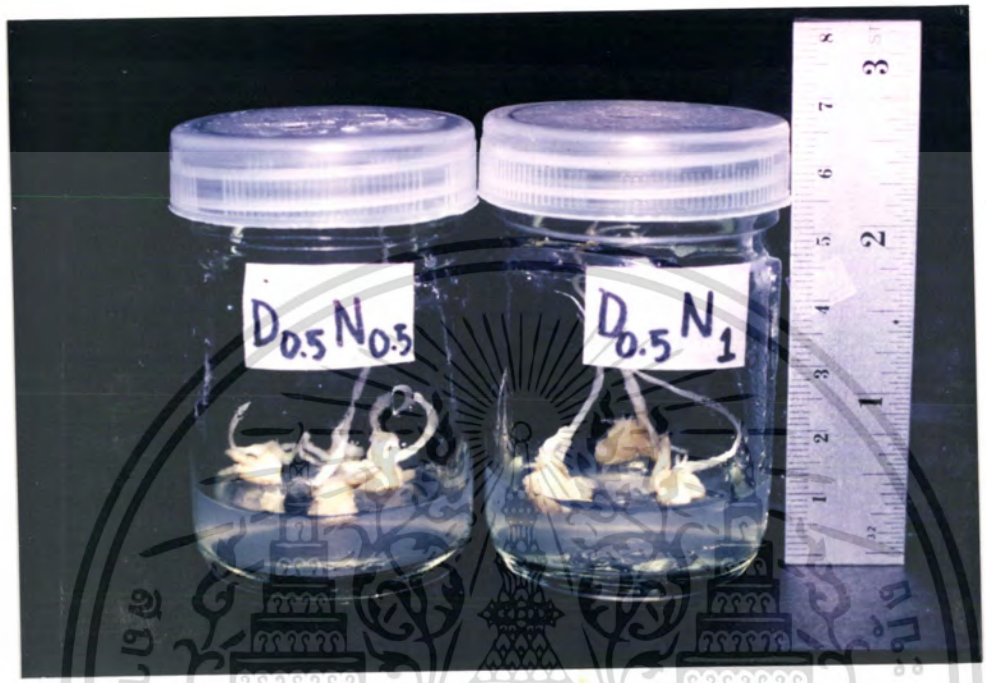
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

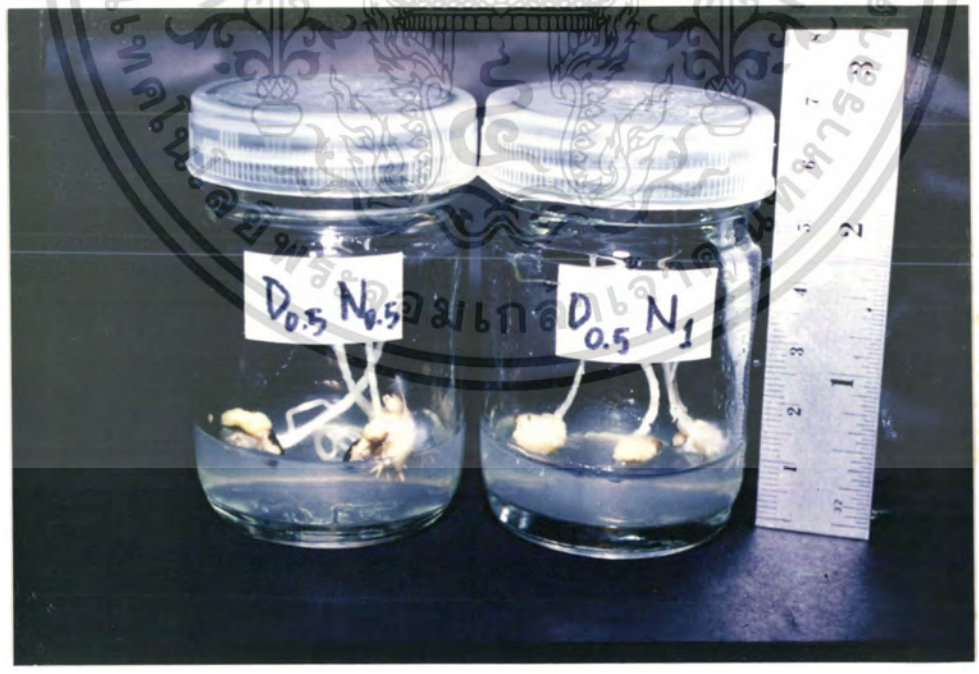
รูปที่ 4 ตัวอย่างต้นที่ได้จากสูตรอาหารควบคุม เปรียบเทียบกับตัวอย่างต้นที่ได้จากสูตรอาหารทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 5 ตัวอย่างแคลลัสที่ได้จากสูตรอาหารทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้





รูปที่ 6 ตัวอย่างแคลลัสที่ได้จากสูตรอาหารทดลอง ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

รูปที่ 7 ตัวอย่างแคลลัสที่ได้จากสูตรอาหารทดลอง ในข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 8 ตู้ปลอดเชื้อสำหรับถ่ายเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาผลของออกซินและไซโตไคนิน ต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสจากเอมบริโอข้าวนี้ ใช้ข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ แคลลัสนี้ได้จากการเลี้ยงเอมบริโอของเมล็ดแก่ ในสูตรอาหารซึ่งมีส่วนประกอบของธาตุอาหารหลัก และธาตุอาหารรอง ตามสูตรของ Murashige และ Skoog (MS) ที่เติมซูโครส 3 เปอร์เซนต์น้ำหนักต่อปริมาตร และเติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซนต์ปริมาตรต่อปริมาตร

ในการวิจัยได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกเป็นการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญกลุ่มออกซินและไซโตไคนิน ที่มีต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส แล้วนำชนิดของฮอร์โมนจากขั้นตอนแรกซึ่งให้ผลดีที่สุด มาทำการทดลองซ้ำในขั้นตอนที่ 2 เพื่อหาความเข้มข้นของฮอร์โมนนั้น ที่เหมาะสม ต่อการกระตุ้น ให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด แล้วทำการทดลองขั้นตอนที่ 3 ต่อ คือ ทำ combination หาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่าง ชนิด และความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ดีที่สุด 2 ชนิดนั้น

<u>ผลของ 2,4-D, NAA, IBA, BA และ KN ที่มีต่อจำนวนแคลลัส จำนวนเมล็ดที่งอก และจำนวนเมล็ดที่เกิดการปนเปื้อนคิดเป็นเปอร์เซนต์ ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสัปดาห์ที่ 1-5</u>

กลุ่มของฮอร์โมนที่มีผลต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสในข้าว คือ ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน โดยออกซินที่ให้ผลดีมากมี 2 ชนิด ได้แก่ 2,4-D และ NAA ซึ่งจะนำไปทดลองในขั้นตอนที่ 2 ต่อไป แต่ IBA ซึ่งเป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซินอีกชนิดหนึ่งนั้น ไม่ให้ผลในการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส

2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-1.0 มก./ล. จะให้ผลดีมาก คือให้แคลลัสปริมาณมาก และแคลลัสมีขนาดใหญ่ (4 มม.ขึ้นไป) แต่เมื่อความเข้มข้นสูงกว่า 1.0 มก./ล. ปริมาณแคลลัสจะลดลง และได้แคลลัสที่มีขนาดเล็ก (ต่ำกว่า 2 มม.)

NAA ให้ผลดีทุกระดับความเข้มข้นที่ทำการวิจัย ตั้งแต่ 0.5-8.0 มก./ล. คือให้แคลลัสปริมาณมาก แต่แคลลัสมีขนาดกลาง (2-4 มม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินนั้น ไม่ให้ผลต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส แต่จะไปส่งเสริมการเจริญของยอด และพบว่า เมื่อเนื้อเยื่อของเมล็ดพัฒนาไปเป็นต้นจนสมบูรณ์แล้ว จะไม่พัฒนาขึ้นเป็นแคลลัส

ในสูตรควบคุม คือสูตรอาหารที่ไม่เติมฮอร์โมนนั้น เมล็ดจะงอกเป็นต้น โดยไม่มีแคลลัสเกิดขึ้น

สำหรับสัปดาห์ที่ให้ผลการเกิดแคลลัสสูงสุด ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 คือ สัปดาห์ที่ 5 หลังจากสัปดาห์ที่ 5 ไปแล้ว จำนวนแคลลัสจะลดลง

ผลของ 2,4-D, NAA, IBA, BA และ KN ที่มีต่อจำนวนแคลลัส จำนวนเมล็ดที่งอก และจำนวนเมล็ดที่เกิดการปนเปื้อนคิดเป็นเปอร์เซนต์ ในข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ ในสัปดาห์ที่ 1-5

กลุ่มของฮอร์โมนที่มีผลต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสในข้าว คือ ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน โดยออกซินที่ให้ผลดีมากมี 2 ชนิด ได้แก่ 2,4-D และ NAA ซึ่งจะนำไปทดลองในขั้นตอนที่ 2 ต่อไป แต่ IBA ซึ่งเป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซินอีกชนิดหนึ่งนั้น ไม่ให้ผลในการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส เช่นเดียวกันกับข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-1.0 มก./ล. จะให้ผลดีมาก ก่อให้แคลลัสปริมาณมาก และแคลลัสมีขนาดใหญ่ (4 มม.ขึ้นไป) แต่เมื่อความเข้มข้นสูงกว่า 1.0 มก./ล. ปริมาณแคลลัสจะลดลง และได้แคลลัสที่มีขนาดเล็ก (ต่ำกว่า 2 มม.)

NAA ให้ผลดีทุกระดับความเข้มข้นที่ทำการวิจัย ตั้งแต่ 0.5-8.0 มก./ล. คือให้แคลลัสปริมาณมาก แต่แคลลัสมีขนาดกลาง (2-4 มม.)

ส่วนฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินนั้น ไม่ให้ผลต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส แต่จะไปส่งเสริมการเจริญของยอด และพบว่า เมื่อเนื้อเยื่อของเมล็ดพัฒนาไปเป็นต้นจนสมบูรณ์แล้ว จะไม่พัฒนาขึ้นเป็นแคลลัส

ในสูตรควบคุม คือสูตรอาหารที่ไม่เติมฮอร์โมนนั้น เมล็ดจะงอกเป็นต้น โดยไม่มีแคลลัสเกิดขึ้น

สำหรับสัปดาห์ที่ให้ผลการเกิดแคลลัสสูงสุด ในข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ คือ สัปดาห์ที่ 4 หลังจากสัปดาห์ที่ 4 ไปแล้ว จำนวนแคลลัสจะลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของความเข้มข้นของ 2,4-D และ NAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัส จำนวนเมล็ดที่งอก และจำนวนเมล็ดที่เกิดการปนเปื้อนคิดเป็นเปอร์เซนต์ ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสัปดาห์ที่ 5

สำหรับการทดลอง ในขั้นตอนที่ 2 เพื่อศึกษา หาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ 2,4-D และ NAA พบว่า 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆ (0.5-1.0 มก./ล.) จะกระตุ้นให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าที่ระดับความเข้มข้นสูงๆ (2.0-8.0 มก./ล.) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วน NAA มีช่วงของระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสกว้างกว่า 2,4-D คือ เมื่อทดสอบทางสถิติ พบว่า NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-8.0 มก./ล. จะให้ผลในการชักนำให้เกิดแคลลัสไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

นอกจากนี้ เมื่อทำการทดสอบ interaction ทางสถิติ ระหว่างชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมน พบว่า ชนิดของฮอร์โมน และความเข้มข้นของฮอร์โมน นั้นมี interaction ต่อกัน โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.5-1.0 มก./ล. ออกซินทั้ง 2 ชนิด คือ 2,4-D และ NAA จะให้ผลไม่แตกต่างกัน แต่ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 มก./ล. NAA จะให้ผลดีกว่า 2,4-D อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์ และที่ระดับความเข้มข้น 4.0-8.0 มก./ล. NAA จะให้ผลดีกว่า 2,4-D อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ผลของความเข้มข้นของ 2,4-D และ NAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัส จำนวนเมล็ดที่งอก และจำนวนเมล็ดที่เกิดการปนเปื้อนคิดเป็นเปอร์เซนต์ ในข้าวเหนียวพันธุ์กำ่า ในสัปดาห์ที่ 4

สำหรับการทดลอง ในขั้นตอนที่ 2 เพื่อศึกษา หาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ 2,4-D และ NAA พบว่า 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆ (0.5-1.0 มก./ล.) จะกระตุ้นให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าที่ระดับความเข้มข้นสูงๆ (2.0-8.0 มก./ล.) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วน NAA มีช่วงของระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสกว้างกว่า 2,4-D คือ เมื่อทดสอบทางสถิติ พบว่า NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-8.0 มก./ล. จะให้ผลในการชักนำให้เกิดแคลลัสไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

นอกจากนี้ เมื่อทำการทดสอบ interaction ทางสถิติ ระหว่างชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมน พบว่า ชนิดของฮอร์โมน และความเข้มข้นของฮอร์โมน นั้นมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

interaction ต่อกัน โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.5-1.0 มก./ล. ออกซินทั้ง 2 ชนิด คือ 2,4-D และ NAA จะให้ผลไม่แตกต่างกัน แต่ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 มก./ล. NAA จะให้ผลดีกว่า 2,4-D อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์ และที่ระดับความเข้มข้น 4.0-8.0 มก./ล. NAA จะให้ผลดีกว่า 2,4-D อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ผลของอัตราส่วนระหว่าง 2,4-D กับ NAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัส และจำนวนเมล็ดที่งอกคิดเป็นเปอร์เซนต์ ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสัปดาห์ที่ 5

สำหรับการทดลอง ในขั้นตอนที่ 3 เพื่อศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่าง 2,4-D กับ NAA ในการกระตุ้นให้เกิดแคลลัส เมื่อทำการทดสอบทางสถิติ พบว่า สูตรอาหารทดลองทั้ง 8 สูตรให้ผลไม่แตกต่างกัน

แม้ว่าบางสูตรจะให้เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสสูงกว่าสูตรอื่น ๆ แต่ก็อาจจะไม่ใช่สูตรอาหารที่ให้ผลดีที่สุดต่อการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสก็ได้ เพราะอาจจะให้แคลลัสที่มีขนาดเล็ก หรือให้แคลลัสชนิด non-embryogenic callus ซึ่งไม่สามารถพัฒนาขึ้นเป็นต้นใหม่ได้

ผลของอัตราส่วนระหว่าง 2,4-D กับ NAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัส และจำนวนเมล็ดที่งอกคิดเป็นเปอร์เซนต์ ในข้าวเหนียวพันธุ์กำ ในสัปดาห์ที่ 4

การทดลองในขั้นตอนที่ 3 พบว่าสูตรอาหารทั้ง 8 สูตร ให้ผลในการเกิดแคลลัสที่ดีคือ เปอร์เซนต์แคลลัสสูง และเมื่อทำการทดสอบทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละสูตรอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1.ควรมีเทคนิคการปราศจากเชื้อที่ดี เพราะการปนเปื้อนอาจทำให้การสังเกตจำนวน และลักษณะแคลลัสไม่ชัดเจน

2.ถ้าเป็นไปได้ควรเพาะเลี้ยงเอมบริโอข้าวเพียง 1 เมล็ดเท่านั้นในขวด เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเมล็ดข้าวในขวดอาหารเดียวกัน

3.ควรทำการทดลองซ้ำให้มาก ๆ หรือเพิ่มจำนวนเมล็ดให้มากเพื่อผลการทดลองที่น่าเชื่อถือ

4.ในการเพาะเลี้ยงควรวางเมล็ด ให้ส่วนที่เป็นเอมบริโอหันออกด้านผนังขวด เพื่อที่จะได้สังเกตแคลลัสได้ชัดเจน และนับผลการเกิดแคลลัสได้สะดวก

5.ควรหมั่นตรวจ และคัดเลือกขวดอาหารที่เกิดการปนเปื้อนออก เพื่อป้องกันการปนเปื้อนไปสู่ขวดอาหารขวดอื่น ๆ

6.กรณีที่เห็นลักษณะของแคลลัสไม่ชัดเจน ควรใช้แว่นขยายช่วยในการตรวจผล

7.ควรปรับปรุงเทคนิคการทำให้ปราศจากเชื้อที่ผิวเมล็ดให้ดีขึ้น เพื่อป้องกันการปนเปื้อนในระหว่างการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

เนาวรัตน์ ปานแย้ม, สรีระวิทยาของพืช เล่ม 1, คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหาร ลาดกระบัง, หน้า 43-81, กรุงเทพ, 2525.

ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา, หลักการและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, หน้า 37-39, กรุงเทพ, 2524.

มนทกานติ วัชราภัย และ พวงเพชร พูนทรัพย์, "การเกิดแคลลัสของข้าวและการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้น" กำหนดการและบทคัดย่อการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 10 (การประชุม ว.ท.ท.ครั้งที่ 10) B70, หน้า 366-367, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่ 2527.

สิริพร ชาตะปัทมะ, "ผลของธาตุอาหารหลักที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่จากแคลลัสข้าว", วิทยานิพนธ์ ปริญญามหาบัณฑิต, ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพ, 2529.

สุภาพร วัฒนวีรเดช, "ผลของ auxin และ cytokinin ต่อการเปลี่ยนแปลงจากแคลลัสข้าวไปเป็นต้นใหม่", วิทยานิพนธ์ ปริญญามหาบัณฑิต, ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพ. 2531.

อรดี สหวัชรินทร์, "การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช", วารสาร สสท. ฉบับเทคโนโลยี. เมษา ปีที่ 16 ฉบับที่ 90: หน้า 38-45

Abe, T. and Y. Futsuhara, "Varietal Difference of Plant Regeneration from Root Callus Tissue in Rice," Japan J. Breed., 34, 147-155, 1984.

Abe, T. and Y. Futsuhara, "Efficient Plant Regeneration by Somatic Embryogenesis from Root Callus Tissue of Rice (Oryza sativa L.)," J. Plant Physiol., 121, 111-118, 1985.

Chou, K.L., K.L., Ge, I.S, Tsai, E.S. Yang and H.W. Yang "Callus Induction and Redifferentiation Different Hybrid Rice Plant Parts," Cell and Tissue Culture Technique for Cereal Crop

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Improvement, pp. 207-213, Science Press, Beijing, China, 1983.

Digby, J. and F. Skoog, "Cytokinin Activation of Thiamine Biosynthesis in Tobacco Callus Culture, "Plant Physiol, 41, 647-652, 1966.

Dougall, D.K., "Media Factors Affecting Growth", Environmental and Experimental Botany, 20 (3/4), 277-280, 1981.

Gamborg, O.L., T. Murashige, T.A. Thorpe, and I.K. Vasil, "Plant Tissue Culture Media," In Vitro, 12, 473-478,1976.

Inoue, M. and E. Maeda. "Effect of Auxin Concentrations on the Callus Induction from Various Organs of Rice Seedling," Proc. Crop Sci. Soc. Japan, 45, 545-557, 1976(a)

_____, " Thiamine as a Factor of Organ Formation in Rice Callus Cultures, " Japan. Jour. Crop Sci., 49 (2), 167-174, 1980.

_____,R. Yoshida, and T. Oritane, "On the Occurrence of A High Content of Cytokinins in Rice Callus Tissue," Plant and Cell Physiol, 20(5), 917-924, 1979.

Kawata, S. and A. Ishihara,"The Regeneration of Rice Plant, Oryza sativa L., in the Callus Derived from the Seminal Root," Proc. Japan acad., 44, 549-553, 1968.

Lai, Kwan-Long and Liu, Li-Fei, "Induction and Plant Regeneration of Callus from Immature Embryoes of Rice Plant(Oryza sativa L.)," Japan. Jour. Crop Sci., 51(1), 70-74, 1982.

Ling, D.H., W.Y. Chen, M.F. Chen, and Z.R. Ma, "Rice Plantlets Obtained from a Somatic Embryogenic Cluster from Immature Panicle Culture in Vitro, "International Research Newsletter 8(6), 9, 1983.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

M. Vajrabhaya and T. Vajrabhaya, Initiation and Growth of Rice Callus Derived from Embryo, Department of Botany, Facalty of Science, Chulalongkorn University, 1984.

Maeda, E., "Callus Formation and Isolation of Single Cells from Rice Seedling," Proc, Crop. Sci. Soc. Japan, 34, 139-147, 1965.

_____,"Subculture and Organ Formation in the Callus Derived from Rice Embryoes in Vitro," Proc. Crop. Sci. Soc. Japan, 37, 51-58, 1968.

_____, M.H. Chen, and M. Inoue, "I.G. Rice : Regeneration of Plant from Callus Cultures," Biotechnology in Agriculture and Forestry, : Crop 1 (Y.F.S. Bajaj ed.), 2,pp. 105-122, 1986.

Murashige, T., "Clonal Crops through Tissue Culture," Plant Tissue Culture and Its Bio-technological Application (Barz, W., E. Reinhard, and M.H. Zenk, eds.), pp. 392-403, Berlin, Germany,1977.

Nabors, M.W., "Producing Tissue Culture Techniques for Use by Plant Breeding and Agriculture," Progress report. Tissue Culture for Crops Project Agency for International Development., Department of State, Washington,D.C., 1982.

Ohira, K., M. Saigusa, "Studies on the Nutrition of Rice Cell Culture 2 Microelement Requirement and the Effects of Deficiency," Plant and Cell Physiol., 16, 73-81, 1976.

Oono, K., "Genetic Variability in Rice Plant Regenerated from Cell Culture," Cell and Tissue Culture Technique for Cereal Crop Improvement, pp. 95-104, Science Press, Beijing, China, 1983.

Schenk, R.U. and A.C. Hildebrandt., "Medium and Techniques for

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Induction and Growth of Monocotyledonous and Dicotyledonous Plant Cell Cultures," Can. J. Bot., 50, 199-204, 1972.

Siriwadana, S. and M.W. Nabors., "Tryptophan Enchancement of Somatic Embryogenesis in Rice," Plant Physiol, 73, 142-146, 1983.

Skoog, F. and C.O. Miller., "Chemical Regulation of Growth and Organ Formation in Plant Tissue Cultured in vitro," Symp. Soc. Exp. Biol., 11, 118-131, 1957.

Vajrabhaya, M. and Vajrabhaya, T. "Initiation and Growth of Rice Callus Derived from Embryo," Thai J. Agric. Sci., 19, 89-102, 1986.

Yamada, Y., "The Significance for Rice Improvement of Studying Regeneration in Plant Tissue Culture," IRRI Rice Tissue Culture Planning Conference, pp. 41046, Los Banos, Phillippines, 1982.

Zapata, F.J., G.S. Hkush, J.P. Crill, M.H. Neu, R.O. Romero, L.B. Torrizo and M. Alejar., "Rice Anther Culture at IRRI," Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement,pp. 27-46, Science Press, Beijing, China,1983.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ทางสถิติของการทดลองขั้นตอนที่ 2

เป็นการศึกษาผลของความเข้มข้นของฮอร์โมน 2 ชนิด ได้แก่ 2,4-D และ NAA ชนิดละ 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 มก./ล. ที่มีต่อเปอร์เซนต์การเกิดแคลลัส ในข้าว 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวเหนียวพันธุ์กำ่า

เป็นการทดลอง 2 ปัจจัย ทำการทดลองแบบ Factorial Experiment in RCB (Randomized Complete Block Design)

ปัจจัยที่ 1 ชนิดของฮอร์โมน มี 2 ชนิด

- 2,4-D (a_1)
- NAA (a_2)

ปัจจัยที่ 2 ความเข้มข้นของฮอร์โมน มี 5 ความเข้มข้น

- 0.5 มก./ล. (b_1)
- 1.0 มก./ล. (b_2)
- 2.0 มก./ล. (b_3)
- 4.0 มก./ล. (b_4)
- 8.0 มก./ล. (b_5)

REPLICATION คือ จำนวน BLOCK มี 2 BLOCK

- ข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (r_1)
- ข้าวเหนียวพันธุ์กำ่า (r_2)

เพราะฉะนั้น TREATMENT = 2 x 5 x 2 = 20

TREATMENT COMBINATION ได้แก่ a_1b_1 a_1b_2 a_1b_3 a_1b_4 a_1b_5 a_2b_1 a_2b_2 a_2b_3 a_2b_4 a_2b_5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงเปอร์เซนต์การเกิดแคลลัส

ในข้าว 2 สายพันธุ์ใน treatment combination ต่าง ๆ กัน

treatment	r_1	r_2	TOTAL
a_1b_1	73.47	68.33	141.80
a_1b_2	54.00	63.33	117.33
a_1b_3	28.57	8.33	36.90
a_1b_4	20.41	0.00	20.41
a_1b_5	10.42	3.33	13.75
a_2b_1	37.50	63.33	100.83
a_2b_2	54.16	58.33	112.49
a_2b_3	55.10	70.00	125.10
a_2b_4	55.32	33.33	88.65
a_2b_5	48.00	30.00	78.00
REP. TOTAL	436.95	398.31	835.26

ตารางแสดงเปอร์เซนต์การเกิดแคลลัส

เมื่อรวมข้าว 2 สายพันธุ์เข้าด้วยกัน

a,b	b_1	b_2	b_3	b_4	b_5	TOTAL
a_1	141.80	117.33	36.90	20.41	13.75	330.19
a_2	100.83	112.49	125.10	88.65	78.00	505.07
TOTAL	242.63	229.82	162.00	109.06	91.75	835.26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>การคำนวณ</u>

หา SS

$CF = (835.26)^2/20$

$SS\ (r) = (436.95)^2/10 + (398.31)^2/10 - CF = 74.65$

$SS\ (a) = (330.19)^2/10 + (505.07)^2/10 - CF = 1529.15$

$SS\ (b) = (242.63)^2/4 + (229.82)^2/4 + (162)^2/4 + (109.06)^2/4 + (91.75)^2/4 - CF = 4677.71$

$SS\ (b \times a) = (141.8)^2/2 + (117.33)^2/2 + \ldots + (78)^2/2 - CF - SS\ (a) - SS\ (b) = 3037.34$

$SS\ (TOTAL) = (73.47)^2 + (68.33)^2 + (54)^2 + \ldots + (30)^2 - CF = 10596.26$

$SS\ (ERROR) = SS\ (TOTAL) - SS\ (b \times a) - SS\ (b) - SS\ (a) - SS\ (r) = 1277.40$

หา MS

$MS = SS/DF$

$MS\ (r) = 74.65/1 = 74.65$

$MS\ (b) = 4677.71/4 = 1169.43$

$MS\ (a) = 1529.15/1 = 1529.15$

$MS\ (b \times a) = 3037.34/4 = 759.34$

$MS\ (TREATMENT) = 9244.20/9 = 1027.13$

$MS\ (ERROR) = 1277.40/9 = 141.93$

หา F value

$F = MS/MS\ (ERROR)$

$F\ (r) = 74.65/141.93 = < 1$

$F\ (b) = 1169.43/141.93 = 8.24$

$F\ (a) = 1529.15/141.93 = 10.77$

$F\ (b \times a) = 759.34/141.93 = 5.35$

$F\ (TREATMENT) = 1027.20/141.93 = 7.24$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงการวิเคราะห์ ANALYSIS OF VARIENCE FOR ok (no. callus)

SV	DF	SS	MS	F	$F_{.01}$	$F_{.05}$
r (r)	1	74.65	74.65	< 1	10.56	5.12
TREATMENT	9	9244.20	1027.13	7.24 **	5.35	3.18
b (b)	4	4677.71	1169.43	8.24 **	6.42	3.63
a (a)	1	1529.15	1529.15	10.77 **	10.56	5.12
b x a	4	3037.34	759.34	5.35 *	6.42	3.63
ERROR	9	1277.40	141.93			
TOTAL	19	10596.26				

CV = 28.5 %

** = แตกต่างกันที่ระดับ 1 % , * = แตกต่างกันที่ระดับ 5 %

สรุป 1.ข้าว 2 พันธุ์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

2.treatment มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

3.ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

4.ชนิดของฮอร์โมน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

5.ความสัมพันธ์ระหว่าง ชนิด และความเข้มข้นของฮอร์โมน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบโดยใช้ DMRT

$SSR = r_p (S\bar{x})$

$Sx = \sqrt{MSe/r} = \sqrt{141.9372} = 8.42$

r_p อ่านค่าได้จากตารางโดยกำหนด ERROR DF ที่ α ที่กำหนด

ERROR DF = 9, α = 0.05

ตารางแสดงค่า SSR จากการคำนวณเมื่อกำหนดค่า P ต่าง ๆกัน

P(range)	2	3	4	5	6	7	8	9	10
rp	3.20	3.34	3.41	3.47	3.50	3.52	3.52	3.52	3.52
SSR	26.96	28.14	28.73	29.23	29.48	29.65	29.65	29.65	29.65

ตาราง DMRT แสดงผลต่างของค่าเฉลี่ยเทียบกับค่า SSR

70.90 62.55 58.67 56.25 50.42 44.33 39.00 18.45 10.21 6.88

									70.90	A B
8.35	12.23	14.65	20.48	26.57	31.90	52.45	60.69	64.02		
								62.55		
3.88	6.30	12.13	18.22	23.55	44.10	52.34	55.67			
								58.67		
2.42	8.25	14.34	19.67	40.22	48.46	51.79				
								56.25		
5.83	11.92	17.25	37.80	46.04	49.37					
								50.42	C	
6.09	11.42	31.97	40.21	43.54						
								44.33		
5.33	25.88	34.12	37.45							
								39.00	D	
20.55	28.79	32.12								
								18.45		
8.24	11.57									
								10.21		
3.33										
								6.88		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงผลของค่าเฉลี่ยแต่ละ TREATMEAT และ ค่า DMRT

b,a	a_1	a_2	b-MEAN	DIFF
b_1	70.90 a	50.42 ab	60.66	20.49 ns
b_2	58.67 ab	56.25 ab	57.46	2.42 ns
b_3	18.45 cd	62.55 ab	40.50	-44.10 **
b_4	10.20 d	44.33 abc	27.26	-34.12 *
b_5	6.88 d	39.00 bc	22.94	-32.13 *
a-MEAN	33.02	50.51	41.76	-17.49

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่ต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

** = แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ 1 %

* = แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ 5 %

comparision	S.E.D.	LSD (5 %)	LSD (1%)
2-b*a means	11.91	26.95	38.71

สรุป

1. 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.5-1.0 มก./ล.) กับ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นสูง (2.0-8.0 มก../ล.) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
2. NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-8.0 มก./ล. ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ
3. เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง ชนิด และความเข้มข้นของฮอร์โมน พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-1.0 มก./ล. 2,4-D และ NAA ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 มก./ล. ฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์ โดยที่ NAA ให้ผลดีกว่า 2,4-D และที่ระดับความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.0-8.0 มก./ล. ฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยที่ NAA ให้ผลดีกว่าอีกเช่นกัน

5. ฮอร์โมนและความเข้มข้นที่ให้ผลดีต่อการกระตุ้นการเกิดแคลลัสก็คือ 2,4-D 0.5-1.0 มก./ล. และ NAA 0.5-8.0 มก./ล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางสถิติของการทดลองขั้นตอนที่ 3

ให้ x1 = เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

x2 = เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสในข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ

A = 2,4-D [0.5] NAA [0.5]

B = 2,4-D [0.5] NAA [1.0]

C = 2,4-D [0.5] NAA [2.0]

D = 2,4-D [0.5] NAA [4.0]

E = 2,4-D [1.0] NAA [0.5]

F = 2,4-D [1.0] NAA [1.0]

G = 2,4-D [1.0] NAA [2.0]

H = 2,4-D [1.0] NAA [4.0]

ตารางแสดงผลการเกิดแคลลัส จำนวนแคลลัสรวม และค่าเฉลี่ยจำนวนแคลลัส ในข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวเหนียวพันธุ์ก่ำ

TREATMENT	x1	x2	TOTAL	MEAN
A	70	93	163	81.5
B	67	94	161	80.5
C	62	64	126	63
D	63	67	130	65
E	77	76	153	76.5
F	87	73	160	80
G	84	78	162	81
H	82	60	142	71
TOTAL	592	605	1197	74.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าการคำนวณทางสถิติของการทดลองขั้นตอนที่ 3

SV	DF	SS	MS	F
r	1	10.57	10.57	< 1 ns
TREATMEAT	7	790.94	112.99	< 1 ns
ERROR	7	986.93	140.99	
TOTAL	15	1788.44		

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

r = จำนวนซ้ำของการทดลองคือข้าว 2 พันธุ์ = 2

t = จำนวนสิ่งทดลอง = 8

หา DF

DF (r) = r-1 = 2-1 = 1

DF (TREATMENT) = t-1 = 8-1 = 7

DF (TOTAL) = t x r -1 = 8 x 2 - 1 = 15

DF (ERROR) = (t-1)(r-1) = 7

หา SS

$CF = TOTAL^2/(txr) = 1197^2/16 = 89550.56$

$SS\ (r) = 592^2/8 + 605^2/8 - CF = 10.57$

$SS\ (TREATMENT) = 163^2/2 + 161^2/2 + \ldots + 142^2/2 - CF = 790.94$

$SS\ (TOTAL) = 70^2 + 67^2 + 62^2 + \ldots + 60^2 - CF = 1788.44$

SS (ERROR) = SS (TOTAL) - SS (TREATMENT) - SS (r)

= 1788.44 - 790.94 - 10.57 = 986.93

หา MS

MS = SS/DF

MS (r) = 10.57/1 = 10.57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

MS (TREATMENT) = 790.94/7 = 112.99

MS (ERROR) = 986.93/7 = 140.99

หา F value

F (r) = MS (r) / MS (ERROR) = 10.57/140.99 < 1

F (TREATMENT) = MS(TREATMENT)/MS(ERROR) = 112.99/140.99 < 1

เปิดค่า F (7,7DF) จากตาราง

$F_{0.05}$ (7,7DF) = 3.80

$F_{0.01}$ (7,7DF) = 7.02

สรุปผล

1. ข้าว 2 พันธุ์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %
2. สัดส่วนที่ต่างกันของฮอร์โมนทั้ง 8 สูตรไม่ให้ผลแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวกรัณฑรัตน์ ครุฑแก้ว รหัสประจำตัว 321001 เกิดเมื่อวันที่ 5 กันยายน พ.ศ.2514 จังหวัด ชลบุรี สำเร็จการศึกษาจากชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลายจากโรงเรียนชลกันยานุกูล ในปีพ.ศ.2532 ต่อมาได้เข้าศึกษาในระดับอุดมศึกษา สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จนจบการศึกษาระดับปริญญาตรีในปีพ.ศ. 2536 ในระหว่างการศึกษาได้เข้าร่วมกิจกรรมคือ เป็นสมาชิกชมรมดนตรีไทย สมาชิกชมรมพัฒนศึกษาและมนุษย์สัมพันธ์ สมาชิกชมรมยูโด สมาชิกชมรมซอฟท์บอล และสมาชิกชุมนุมสหการและสมาชิกฝ่าย Q.C.ของ Biocompany ซึ่งเป็นบริษัทจำลองของภาควิชา

นางสาวเยาวลักษณ์ คชภูติ รหัสประจำตัว 321028 เกิดเมื่อวันที่ 14 พฤษภาคม พ.ศ.2513 จังหวัดฉะเชิงเทรา สำเร็จการศึกษาจากชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลายจากโรงเรียนตัดดรุณี ในปีพ.ศ.2532 ต่อมาได้เข้าศึกษาในระดับอุดมศึกษา สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จนจบการศึกษาระดับปริญญาตรีในปีพ.ศ.2536 ในระหว่างการศึกษาได้เข้าร่วมกิจกรรมคือ เป็นสมาชิกชมรมอนุรักษ์ธรรมชาติและสภาพแวดล้อม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้