13822

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

ผลของน้ำตาลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและผลของสูตรอาหารต่อการพัฒนาการเกิดต้นในการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงของข้าวขาวดอกมะลิ 105

Effect of Sucrose on Callus Induction Efficiency and Effect of Media Formulas on Plant Regeneration under Scutellum Culture of KDML 105

โดย

นายโอภาส วรวาท

อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ์ ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(ผศ.ดร.อารมณ์ ศรีพิจิตต์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

T100351

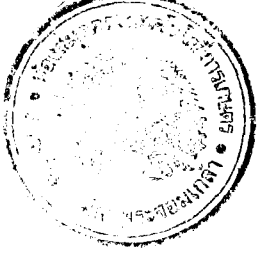
เลขหมู่ 100351

เลขทะเบียน 18 JUN 2009

วัน.เดือน.ปี

ปพ.
ต๑๗๘ง
2533

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



คำนิยม

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา และ คุณสมคิด วิริกูล ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือแก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่าง ๆ ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ขอขอบคุณ คุณสมหมาย ศรีวิสุทธิ์ และ คุณรัชนี ทองอยู่ที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำปัญหาพิเศษเรื่องนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี รวมทั้งผู้ร่วมงานที่ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ได้ให้กำลังใจและการสนับสนุนในการศึกษาเป็นอย่างดียิ่งมาตลอด

โอภาส วุรวาท

มีนาคม 2533

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของน้ำตาลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและผลของสูตรอาหารต่อการพัฒนาการเกิดต้นในการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงของข้าวขาวดอกมะลิ 105

Effect of Sucrose on Callus Induction Efficiency and Effect of Media Formulas on Plant Regeneration under Scutellum Culture of KDML 105

บทคัดย่อ

การปรับปรุงการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยง (scutellum) ของข้าวขาวดอกมะลิ 105 เพื่อให้เกิดต้นเป็นจำนวนมากที่สุด จะต้องมีสูตรอาหารชักนำและเพิ่มปริมาณแคลลัสรวมทั้งสูตรอาหารพัฒนาเป็นต้นที่มีระดับน้ำตาลที่เหมาะสมและสารเร่งการเจริญเติบโตที่สมดุลย์ ได้ทำการทดลองอาหารสูตรชักนำและเพิ่มปริมาณแคลลัส ประกอบด้วยธาตุอาหารหลักและรองสารประกอบอินทรีย์ของ Murashige และ Skoog (1962) สารเร่งการเจริญเติบโต 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ใส่น้ำตาลซูโครสแตกต่างกัน 3 ระดับคือ 10,30 และ 50 กรัมต่อลิตร ผลการทดลองหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำและเพิ่มปริมาณแคลลัสเป็นเวลา 10 สัปดาห์ สูตรที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครสระดับ 30 กรัมต่อลิตรให้ปริมาณแคลลัสชนิด embryogenic มากที่สุดและมีผลถึงการพัฒนาเป็นต้น อาหารสูตรพัฒนาเป็นต้นซึ่งมีน้ำตาลและสารเร่งการเจริญเติบโตแตกต่างกันซึ่งแล้วแต่การดัดแปลงของแต่ละสถาบันวิจัย ซึ่งการทดลองนี้ได้ใช้อาหาร 4 สูตร ได้แก่ N19 N19 A, R1 และ SV ผลการทดลองอาหารสูตรที่ได้จำนวนต้นมากที่สุดจากการใช้แคลลัสที่มาจากระดับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ได้แก่ อาหารสูตร R1 ซึ่งดัดแปลงจากการใช้สูตรของ Murashige และ Skoog (1962) สารเร่งการเจริญเติบโตได้แก่ NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร Kinetin 2 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร น้ำตาล sorbital 25 กรัมต่อลิตร และการเลือกเมล็ดพันธุ์ที่มีความสามารถในการตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงได้ดีซึ่งขึ้นอยู่กับอายุและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	14
ผลและวิจารณ์ผล	18
สรุปผลการทดลอง	31
เอกสารอ้างอิง	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เปอร์เซนต์การชักนำให้เกิดแคลลัส จากสูตรอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีน้ำตาลซูโครสระดับต่าง ๆ และน้ำหนักสดหลังจากเพาะเลี้ยง 6 สัปดาห์ จากการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 1 และที่ 2	21
2	ผลของการเปลี่ยนแปลงแคลลัสที่ได้จากความเข้มข้นของซูโครสระดับต่าง ๆ เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรพัฒนาเป็นต้นอ่อน 4 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 1	22
3	ผลของการเปลี่ยนแปลงแคลลัสที่ได้จากความเข้มข้นของซูโครสระดับต่าง ๆ เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรพัฒนาเป็นต้นอ่อน 4 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 2	23
4	จำนวนต้นอ่อนที่ได้จากแคลลัสพัฒนาหลังจากอยู่บนอาหารพัฒนาเป็นต้นอ่อน 4 สูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ จากการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 1	24
5	จำนวนต้นอ่อนที่ได้จากแคลลัสพัฒนาหลังจากอยู่บนอาหารพัฒนาเป็นต้นอ่อน 4 สูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ จากการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 2	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่มาจากสูตรซักนำระดับซูโครส 10,30 และ 50 กรัมต่อลิตร ซึ่งมาเพาะเลี้ยงบนสูตรพัฒนาเป็นต้น 4 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เป็นการทดลองครั้งที่ 1	26
2	แสดงการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่มาจากสูตรซักนำระดับซูโครส 10,30 และ 50 กรัมต่อลิตร ซึ่งมาเพาะเลี้ยงบนสูตรพัฒนาเป็นต้น 4 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เป็นการทดลองครั้งที่ 2	27
3	แสดงการเกิดต้นอ่อนของแคลลัสที่ได้จากสูตรซักนำระดับซูโครส 10,30 และ 50 กรัมต่อลิตร นำมาเลี้ยงบนสูตรอาหารพัฒนาเป็นต้น N19A เปลี่ยนอาหาร (Subculture) ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 6 สัปดาห์	28
4	แสดงการเกิดต้นอ่อนของแคลลัสที่ได้จากสูตรซักนำระดับซูโครส 10,30 และ 50 กรัมต่อลิตร นำมาเลี้ยงบนสูตรอาหารพัฒนาเป็นต้น R1 เปลี่ยนอาหาร (Subculture) ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 6 สัปดาห์	29
5	แสดงการเกิดต้นอ่อนของแคลลัสที่ได้จากสูตรซักนำระดับซูโครส 10,30 และ 50 กรัมต่อลิตร นำมาเลี้ยงบนสูตรอาหารพัฒนาเป็นต้น SV 1 เปลี่ยนอาหาร (Subculture) ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 6 สัปดาห์	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ข้าว (Oryza sativa) เป็นธัญพืชที่เป็นพืชอาหารหลักของคนไทยที่ให้คาร์โบไฮเดรทและให้คุณค่าทางอาหารประมาณ 60% ของอาหารที่บริโภคประจำวัน การปลูกข้าวจึงได้เริ่มมาพร้อมกับประวัติศาสตร์ของประเทศไทย โดยมีเป้าหมายเพื่อผลิตข้าวไว้บริโภคภายในประเทศ ส่วนที่เหลือก็ส่งไปขายในต่างประเทศ

ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกข้าวนาปีประมาณ 57 ล้านไร่ ได้ผลผลิตข้าวเปลือก 16.8 ล้านตัน (ผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่ประมาณ 313 กิโลกรัมต่อไร่) และมีพื้นที่เพาะปลูกข้าวนาปรังประมาณ 4 ล้านไร่ ปลูกได้ผลผลิตประมาณ 2.3 ล้านตัน ข้าวเปลือก (ผลผลิตประมาณ 563 กิโลกรัมต่อไร่) (ประพาส, 2532)

ดังนั้นจึงได้มีการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ดีขึ้นเป็นลำดับ การปรับปรุงพันธุ์ข้าวนาสวนในประเทศไทยเท่าที่ปรากฏเป็นหลักฐาน เริ่มขึ้นในปลายรัชสมัยพระบาทพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัว มีการประกวดพันธุ์ข้าวเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2450 ที่เมืองธัญบุรี ครั้งที่สองได้จัดขึ้นในปีต่อมาที่วัดสุทัศน์เทพวราราม กรุงเทพฯ และต่อมามีการประกวดพันธุ์ข้าวทั่วราชอาณาจักรในปี พ.ศ. 2453 วัตถุประสงค์ก็เพื่อให้เกษตรกรเลือกใช้พันธุ์ข้าวที่มีคุณภาพเมล็ดดีตามความต้องการของตลาดต่าง ๆ ประเทศ (สุวิตร, 2525) การปรับปรุงพันธุ์ข้าวได้พัฒนามาตามลำดับ มีการนำวิธีการและเทคโนโลยีต่าง ๆ เข้ามาร่วมใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าว นอกเหนือจากการผสมพันธุ์โดยวิธีปกติ (Conventional breeding) เช่น การฉายรังสีทำให้สามารถได้ข้าวพันธุ์ใหม่ขึ้นมาถึง 3 พันธุ์ ได้แก่ กข 6 กข 10 และ กข 15

นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก็จัดได้ว่าเป็นเทคโนโลยีทางชีวภาพแขนงหนึ่ง ที่สามารถนำมาช่วยในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น ตัววิธีการในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้องมีประสิทธิภาพสูงสุด เพื่อนำเทคนิคนี้ไปใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวได้ดี เนื่องจากพันธุ์ข้าวไทยเป็นพวก Indica type ซึ่งจัดเป็นข้าวกลุ่มที่ตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อน้อยที่สุด การศึกษานี้จึงมุ่งพัฒนาเพื่อเพิ่มความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของข้าวไทย ขั้นตอนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว ต้องชักนำให้เกิดแคลลัสและเลี้ยงแคลลัสให้พัฒนาเป็นต้น ซึ่งต้นที่ได้จะเป็นแหล่งของความผันแปรของพันธุกรรม จึงได้ศึกษาถึงผลของน้ำตาลและสูตรอาหารเพื่อเพิ่มความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาอิทธิพลของระดับน้ำตาลที่มีต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส
2. ศึกษาอิทธิพลของสูตรอาหารต่าง ๆ ที่ใช้ในการเลี้ยงแคลลัสให้พัฒนาเป็นต้น
3. เปรียบเทียบผลของเมล็ดพันธุ์ที่นำมาจากแหล่งที่ต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเทคนิคที่นำเอาส่วนหนึ่งส่วนใดของพืช ได้แก่ เซลล์-เนื่อเยื่อ อวัยวะ หรือโปรโตพลาสต์ ซึ่งเป็นส่วนที่มีชีวิต เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่ประกอบด้วย แร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารเร่งการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์และอยู่ในสภาวะควบคุมอุณหภูมิ แสง และความชื้น (อรดี, 2522)

ปัจจุบันมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ประโยชน์ทางด้านการเกษตรอย่างกว้างขวาง โดยมีวัตถุประสงค์แตกต่างกันออกไป เทคนิคดังกล่าวถูกนำมาใช้ในข้าวด้วย การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวได้รับการพัฒนาอย่างรวดเร็ว ชิ้นส่วนของต้นเกือบทุกส่วนสามารถนำมาใช้เพาะเลี้ยงให้สร้างแคลลัสได้ เมื่อย้ายแคลลัสที่ได้ไปเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสมสามารถพัฒนาไปเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์ได้ ผลสำเร็จมากหรือน้อยนอกจากจะเกี่ยวข้องกับสูตรอาหาร ปัจจัยภายในชิ้นส่วนพืชและปัจจัยภายนอกแล้ว ความสมดุลย์ของการควบคุมการเจริญเติบโต 2 กลุ่มคือ ไซโตไคนินต่ำ เนื้อเยื่อจะพัฒนาเป็นแคลลัสและราก ในทางตรงข้ามถ้าความเข้มข้นของไซโตไคนินสูงกว่าออกซินเนื้อเยื่อจะพัฒนาเป็นยอด เมื่อความเข้มข้นของสารทั้งสองนี้สมดุลย์กัน เนื่อเยื่อจะพัฒนาเป็นยอดและราก (Skoog และ Miller, 1957) สารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 กลุ่มมีคุณสมบัติดังนี้

1. <u>ออกซิน</u> (auxin)

ออกซินเป็นกลุ่มของสารประกอบอินทรีย์ที่มีอัตราส่วนของไฮโดรเจนและออกซิเจนแตกต่างกันตามชนิดของออกซิน บางชนิดอาจมีไนโตรเจนหรือคลอรีนเป็นองค์ประกอบ (Weaver, 1972) ในต้นพืชมีการสังเคราะห์ออร์โมนชนิดนี้ที่ส่วนยอดและส่วนที่ไม่มีสีเขียว เช่น ใบอ่อน ตลอดจนเอมบริโอที่กำลังเจริญ (Linser และคณะ, 1954) สารที่แสดงคุณสมบัติเป็นออกซินมีดังนี้ indoleacetic acid (IAA), indolepropionic acid (IPA), indolebutyric acid (IBA), naphthaleneacetic acid (NAA), naphthoxyacetic acid (NOA), 4-chlorophenoxyacetic acid (4-CPA), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T),2,4,6-trichlorabenzoic acid, (2,4,6-TBA), 2,3,6-trichlorobenzoic acid (2,3,6-TBA) และ 4-amino-3,5,6 trichloropicolinic acid (Fawcett และคณะ 1952)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกซินในพืชสามารถทำปฏิกริยาทางเคมีได้สารใหม่ที่คล้ายคลึงกับออกซิน Thimann และ Skoog (1940) พบว่า IAA สามารถทำปฏิกริยากับโปรตีนบางชนิด ต่อมาได้มีรายงานถึงการทำปฏิกริยาระหว่าง IAA กับน้ำตาลกลูโคส (Zenk, 1961)

ในสภาพที่มีแสง IAA ในต้นพืชจะถูกออกซิไดส์มากทำให้ IAA เสียคุณสมบัติเนื่องจากสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้ง (inhibitors) ของกระบวนการออกซิไดส์ IAA เกิดขึ้นมากในสภาพมืด ดังนั้น การออกซิไดส์ IAA จึงเกิดได้น้อย มีผลทำให้ IAA ในต้นพืชมีปริมาณสูงกว่าเมื่อได้รับแสง ดังนั้นแสงจึงมีผลทางอ้อมต่อการทำลายสารนี้ (มนตรี, 2530)

ผลของออกซินในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1. เร่งการขยายตัวของเซลล์ โดยช่วยเร่งการขยายตัวของเซลล์ที่มีเซลลูโลสขององค์ประกอบ แต่ไม่มีผลต่อการขยายตัวของเซลล์ที่ไม่มีเซลลูโลส (มนตรี, 2530)

2. ส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์ เร่งการแบ่งตัวของเซลล์โดยกระตุ้นการสร้างโปรตีน และกรดนิวคลีอิก

3. กระตุ้นการเกิดรากของยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การชักนำให้เกิดรากและขั้นตอนที่ทำให้พืชเป็นต้นที่สมบูรณ์ก่อนนำออกปลูก การเกิดรากความสัมพันธ์กับระดับออกซินภายในต้นกับสภาพแวดล้อมถ้าออกซินภายในต้นมีระดับต่ำก็สามารถเพิ่มออกซินให้แก่พืชเพื่อการเกิดรากที่สมบูรณ์ (Fonnesbench และ Fonnesbench, 1980)

2. ไซโตไคนิน (Cytokinin)

ไซโตไคนิน เป็นฮอร์โมนพืชอีกกลุ่มหนึ่งซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวกับการกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ การควบคุมการสร้างอวัยวะ สารไซโตไคนินในธรรมชาติส่วนใหญ่เป็นพวกอนุพันธุ์ของ 6-amino-purine สารสังเคราะห์ที่เป็นอนุพันธ์ของ 6-amino-purine ก็สามารถทำหน้าที่เป็นไซโตไคนินได้อย่างดีเช่นกัน เช่น Kinetin, 6-benzyl-amino-purine (6 BAP) แต่สารสังเคราะห์บางตัวก็ไม่แสดงคุณสมบัติการเป็นไซโตไคนินเลย เช่น 6-dimethyl-amino-purine และ 2-dimethyl-amino-6 hydroxy-purine ปกติเนื้อเยื่อที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีฮอร์โมนออกซินอยู่ด้วย เมื่อใส่ฮอร์โมนไซโตไคนินเข้าไปจะช่วยให้มีการแบ่งเซลล์เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว (พรทิพย์, 2528)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nishi และคณะ (1968) รายงานว่าการชักนำให้เกิดแคลลัสได้โดยการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์ Kyoto Asahi บนอาหารสังเคราะห์ LS (Linsmaier and Skoog, 1965) ที่เติม 2-4-D ความเข้มข้น 10^{-5} M และเพาะเลี้ยงในที่มีแสงสว่าง อุณหภูมิ 20 ° ซ. หลังจากนั้น 2 เดือนแคลลัสถูกย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีฮอร์โมนออกซิน ในที่มีแสงสว่าง อุณหภูมิ 25 ° ซ. เป็นเวลา 1-2 เดือน พบว่าเซลล์บางเซลล์พัฒนาไปเป็นยอดและรากได้สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแคลลัสที่ผ่านการเปลี่ยนอาหารใหม่ 1 และ 2 ครั้งตามความสามารถในการเกิดต้นใหม่ลดลงเหลือ 91 และ 64 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับเมื่อย้ายต้นใหม่ออกปลูกในสภาพแวดล้อมทั่วไป โดยเลี้ยงในที่มีแสงสว่าง อุณหภูมิ 20 ° ซ. เป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นย้ายมาไว้ที่อุณหภูมิสูงขึ้นประมาณ 30 ° ซ. เมื่อพืชปรับตัวได้ก็จะมีการเจริญเติบโตอย่างปกติ จนกระทั่งออกรวงพบว่าต้นข้าวบางต้นมีลักษณะผิดปกติ เมื่อนำรากมาตรวจนับจำนวนโครโมโซมพบว่าจำนวนเท่าเดิมคือ 2n=24 แม้ว่าจำนวนโครโมโซมจะเท่าเดิมแต่คาดว่าต้องมีความผิดปกติเกิดขึ้นบนโครโมโซมแน่นอน

Wu และ Li (1970) ได้ศึกษาผลของ 2,4-D ต่อการเกิดแคลลัสของส่วนต่าง ๆ ในข้าวพันธุ์ Taichung No.65 แล้วนำแคลลัสที่ได้มาศึกษาโครงสร้างโดยใช้เทคนิคการทำเซคชั่นแบบฝังในพาราฟินพบว่า แคลลัสที่พัฒนามาจากใบและ Coleoptile เปลี่ยนแปลงมาจากเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ (Meristematic Cell) ส่วนแคลลัสที่พัฒนามาจากราก และ Stem node เปลี่ยนแปลงมาจากส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อลำเรียงหรือ procambium ส่วนต่าง ๆ ของข้าวสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีนั้นขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของ 2,4-D

Henke และคณะ (1978) ได้ศึกษาการเกิดต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ ของข้าวพันธุ์ C.I 8970-S ในสูตรอาหาร MS เติม 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันพบว่า ส่วนต่าง ๆ ของข้าวสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของ 2,4-D ความสามารถในการพัฒนาเป็นต้นใหม่ขึ้นอยู่กับชนิดของชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยง ระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงและสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งพบว่าอาหารที่ปราศจากฮอร์โมนใด ๆ เหมาะสมต่อการพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ แคลลัสที่มีอายุน้อยกว่าจะพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ดีกว่า แคลลัสที่มีอายุมากและแคลลัสที่เจริญมาจากส่วนของรากสามารถพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ดีกว่าส่วนของใบและลำต้น นอกจากนั้นได้นำต้นใหม่ (ชั่วที่ 1) ที่พัฒนามาจากแคลลัสของชิ้นส่วนพืชทั้ง 3 ชนิด อย่างละ 1 ต้น เปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของกลุ่มควบคุมจำนวน 5 ต้น พบว่ามีบาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน คือ จำนวนต้นต่อกอ จำนวนต้นที่ติดเมล็ดต่อกอ และจำนวนเมล็ดลีบต่อรวง

วิชัย และคณะ (2527) ได้ศึกษาถึงความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสพบว่า 2,4-D ที่มีความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ขนาดเส้นผ่าศูนย์-กลางของแคลลัสสูงที่สุด คือ เฉลี่ย 7.5 มิลลิเมตร ในการเพาะเลี้ยงนาน 3 สัปดาห์

Maeda (1980) สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์ Aichiasahi และ Kinmaze ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 10^{-5} M น้ำตาลทราย 3 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้น 15 วัน เกิดแคลลัสขึ้นที่ Scutellum หลังจากนั้นอีก 50 วัน แคลลัสมีขนาดใหญ่ขึ้น นอกจากนี้เนื้อเยื่อจากส่วนของใบ ราก ลำต้น Coleoptile ก็สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้

Raghavan (1977) ได้กล่าวถึงสิ่งสำคัญในการเพาะเลี้ยง embryo ว่าสิ่งสำคัญในการเพาะเลี้ยงคือ การเลือกสูตรอาหารที่จะนำมาใช้เลี้ยงส่งเสริมการเจริญเติบโตของ embryo อย่างต่อเนื่อง ซึ่งมีสูตรอาหารต่าง ๆ มากมายพอสมควรสำหรับสูตรอาหารที่เหมาะสมจะต้องทำให้มีการพัฒนาของ embryo และมีการเจริญเติบโตได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งเป็นผลของธาตุอาหาร แหล่งคาร์บอนคือ ซูโครส วิตามิน กรดอะมิโน และฮอร์โมนที่ใช้ในการเจริญเติบโตของ embryo บางครั้งก็มีการใช้ส่วนของเอนโดสเปิร์มที่สกัดขึ้นเองตามธรรมชาติ เช่น น้ำมะพร้าว

Suenage และคณะ (1982) กล่าวว่าเมล็ดเป็นส่วนที่ดีที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพราะเมล็ดทนต่อการฟอกฆ่าเชื้อได้สูง จึงมีการปนเปื้อนน้อย

Ogawa และคณะ (1982) กล่าวถึงการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวว่าในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวมักใช้ส่วนของเมล็ดเพราะทำงานได้สะดวก ชักนำให้เกิดกลุ่มเซลล์ได้มาก และกลุ่มเซลล์นั้นสามารถชักนำให้เกิดต้นได้ดี

วิชัย (2526) กล่าวว่าประสิทธิภาพและความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ-เมล็ดข้าวขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น พันธุ์ อายุของเมล็ด ชนิด และความเข้มข้นของออกซิน ที่ใช้รวมทั้งระยะเวลาที่ใช้เพาะเลี้ยง เป็นต้น

Hendre และคณะ (1975) ได้ศึกษาองค์ประกอบของอาหารต่อการเจริญของแคลลัสโดยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวโพด, ข้าวสาลี, ข้าว และข้าวฟ่าง พบว่าอาหารที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อการเจริญของแคลลัสข้าว คือ อาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog,1962) แคลลัสที่ได้มีขนาดไม่ต่างกันนัก มีน้ำหนักอยู่ระหว่าง 50-250 มก. มีอัตราการเจริญเติบโตช้าในระยะ 10-15 วันแรก หลังจากนั้นอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ความเข้มข้นของวุ้นที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของพืช โดยทั่ว ๆ ไปเท่ากับ 0.8 เปอร์เซ็นต์ pH ของอาหารที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 4.0-8.0 ถ้าสูงหรือต่ำกว่านี้อัตราการเจริญเติบโตลดลง นอกจากนี้ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนก็มีผลต่อการเจริญของแคลลัส คือ แคลลัสจะเจริญได้ดีถ้าใช้ ammonium nitrate 100 มก./ล. หรือ edamin 50-100 มก./ล. แต่ถ้าใช้ ammonium nitrate สูงถึง 1,500 มก./ล. จะเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อข้าวและจากการทดสอบผลของกรดอะมิโนแต่ละชนิด (tyrosine, cysteine, glutamine, glycine) หรือใช้ร่วมกัน พบว่า ให้ผลไม่แตกต่างกัน ชนิด และปริมาณของน้ำตาลที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของพืช เช่น ในข้าวเท่ากับ 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้น สำหรับสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินและไซโตไคนินนั้นเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิดมีความต้องการในระดับที่ต่างกัน เช่น เนื้อเยื่อข้าวเจริญได้ดีในอาหารที่เติม 2,4-D indolebutyric acid α-NAA หรือ β-NAA ส่วน kinetin ไม่มีผลต่อการเจริญของเนื้อเยื่อข้าว ถ้าใช้ 0.1 มก./ล. จะไปยับยั้งการเจริญของเนื้อเยื่อได้ เป็นต้น

ต่อมาในปี 1975 Mascarenhas และคณะได้ศึกษาการเกิดต้นอ่อนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าว และข้าวโอ๊ต โดยผ่านแคลลัสพบว่า หากใช้ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 5.0 มก./ล. แคลลัสพัฒนาไปเป็นต้นที่สมบูรณ์

Maeda (1980) รายงานว่าแคลลัสในข้าวมี 2 ชนิด แคลลัสชนิดแรกเรียกว่า non-embryogenic (NE) แคลลัสประกอบด้วยเซลล์รูปร่างยาวขนาดใหญ่เกาะกันอยู่อย่างหลวม ๆ ไม่มีคุณลักษณะเป็น Somatic embryo แคลลัสอีกชนิดหนึ่งคือ embryogenic(E) แคลลัสประกอบด้วยเซลล์ขนาดเล็ก เกาะกันแน่น มีสีขาวหรือฟางอ่อน ผิวแห้งมีปุ่มเล็ก ๆ จำนวนมาก เจริญเติบโตช้ากว่าแคลลัสชนิด NE สามารถพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ง่าย แม้จะผ่านการเพาะเลี้ยงชั่วระยะเวลาหนึ่ง

Inoui และ Maeda (1980) รายงานว่าไซโตไคนินที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสและพื้นที่สีเขียวในข้าว คือ Kinetin, Zeatin และ isopentenyladenosine ซึ่ง Zeatin มีผลต่อการเกิดแคลลัสในข้าวสูงสุด การเกิดพื้นที่สีเขียวบนผิวแคลลัสขึ้นอยู่กับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัดส่วนของออกซินและไซโตไคนิน ความสามารถในการเกิดพื้นที่สีเขียวและพัฒนาไปเป็นยอดได้ดีนั้น พบในแคลลัสชนิด E มากกว่าชนิด NE

Nabors และคณะ (1983) รายงานว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในธัญพืชต่าง ๆ กลุ่มเซลล์ที่จะพัฒนาไปเป็นพืชต้นใหม่ได้ต้องเป็นแคลลัสชนิด E ซึ่งประกอบด้วยเซลล์ขนาดเล็ก มีเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 31 ไมครอน ส่วนแคลลัสชนิด NE ประกอบด้วยเซลล์รูปร่างยาวกว้าง 52 ไมครอน ยาว 355 ไมครอน สำหรับแคลลัสที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวมีสีขาวหรือสีนวล ผิวแห้ง มีปุ่มปมเล็ก ๆ และแคลลัสชนิดที่มีสีเหลืองค่อนข้างนิ่ม โดยทั่วไปพบว่ามีแคลลัสมากกว่า 1 ชนิดอยู่รวมกัน ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงไปเป็นพืชต้นใหม่ของแคลลัสทั้ง 2 ชนิดแตกต่างกัน (Ling และคณะ, 1983) อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงทั่วไปมักส่งเสริมการเจริญของแคลลัสชนิด NE แต่ยับยั้งการเจริญของแคลลัสชนิด E (รัชนี และคณะ, 2529)

Dykes และ Nabors (1986) รายงานว่าปัจจัยสำคัญต่อการสร้างแคลลัสชนิด E และสามารถกระตุ้นให้เกิดต้นใหม่ได้มีดังนี้

1. ชนิด (genotype) ของพืช
2. อายุและชนิดของชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง
3. องค์ประกอบของอาหารที่ใช้ในแต่ละขั้นตอนของการเพาะเลี้ยง
4. สภาพแวดล้อมของการเพาะเลี้ยง
5. สภาพของอาหารสังเคราะห์

นอกจากนี้ ได้รายงานว่าจากการนำเมล็ดข้าว Indica 2 พันธุ์คือ IR8 และ Pokkali ข้าว Japonica 2 พันธุ์คือ Calrose 76 และ G-159 และข้าวลูกผสมระหว่าง Indica กับ Japonica คือ Mahsuri มาเพาะเลี้ยงพบว่า แคลลัสชนิด E ของข้าวทุกพันธุ์มีอัตราการเกิดต้นใหม่สูงแม้ว่าการเกิดต้นใหม่ของข้าวแต่ละพันธุ์จะมีความแตกต่างกันบางประการ ปัจจัยภายนอก เช่น ความเข้มแสงเป็นปัจจัยสำคัญต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส ข้าวพันธุ์ Calrose 76, G-159 และ Pokkali สามารถเกิดแคลลัสชนิด E ได้สูงเมื่อเลี้ยงในที่มืด ตรงข้ามกับข้าวพันธุ์ Mahsuri และ IR36 ต้องเลี้ยงในที่มีแสงสว่างจึงจะชักนำให้เกิดแคลลัสชนิด E ได้มาก (Ketchum และคณะ, 1987) ปัจจัยสำคัญต่อการเกิดต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพวกธัญพืชคือ ชนิดของพืชนั้น (Ammirato, 1983) มีรายงานว่าเป็นการยากที่จะอธิบายเกี่ยวกับความแตกต่างของชนิดของพืชซึ่งแต่ละชนิดก็มีความเหมาะสมและต้องการสภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แวดล้อมแตกต่างกัน ในธัญพืชพบว่า ชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงแล้วมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสชนิด E สูงสุดคือ Scutellum ในข้าวบางพันธุ์ ทริปโทเฟนมีส่วนช่วยในการชักนำให้เกิดแคลลัสชนิด E คือพันธุ์ Calrose 76, IR8 และ Pokkali แต่ไม่มีผลต่อข้าวพันธุ์ G-159 หรือ Mahsuri (Siriwardana และ Nabors, 1983)

Wang และคณะ (1987) ได้ศึกษาการเกิดต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวป่าโดยชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร MS เติม 2,4-D 2 มก./ล. และ BAP 0.2 มก./ล. พบว่าแคลลัสที่ได้เป็นแคลลัสชนิด E และ NE เช่นเดียวกับข้าวปลูกทั่ว ๆ ไป เมื่อย้ายแคลลัสมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม Casein hydrolysate 500 มก./ล. เติม IAA, NAA และ BAP เท่ากับ 0.5, 0.5 และ 4.0 มก./ล. ตามลำดับ เพื่อชักนำให้เกิดต้นใหม่ ปรากฏว่าแคลลัสที่มีอายุน้อยสามารถพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้มากกว่าแคลลัสที่มีอายุมาก

อรัญญา และคณะ (2531) ได้รายงานการเกิดแคลลัสและการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ของข้าวจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการชักนำเซลล์ชั้นแบบผังในพาราฟินและศึกษาด้วยกล้องจุลทัศน์สเตอริโอและกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนแบบสแกน ช่วงการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเอมบริโอในข้าวพบว่า แคลลัสมี 2 ชนิด คือ แคลลัสชนิด E เกิดจากเซลล์ในชั้นผิวของ Scutellum ประมาณแถวที่ 6-8 ลงไปจากผิวแคลลัสจะมี tracheary element แทรกอยู่จำนวนมาก แคลลัสอีกชนิดหนึ่งคือ NE callus เกิดจาก mesocotyl และบางครั้งอาจเกิดจากส่วนฐานของ Coleoptile ได้ด้วย นอกจากนี้ยังพบการเจริญแบบผิดปกติของ Mesocotyl คือ จะเกิด primordium ของรากแขนงจำนวนมาก เมื่อย้ายแคลลัสชนิด E มาเลี้ยงในอาหารสำหรับชักนำให้เกิดต้นใหม่ประมาณ 1 สัปดาห์ พบว่า แคลลัสเริ่มสร้างคลอโรฟิล และ trichome เซลล์ในชั้นที่ 2-3 จะแบ่งตัวเป็นกลุ่มเนื้อเยื่อเจริญมีลักษณะคล้ายกับ primordium ของราก ในสัปดาห์ที่ 2 จะเกิด Shoot apex โดยมีจุดกำเนิดจากเซลล์ใน peripheral zone ของแคลลัส โดยส่วนมากจะเกิดบริเวณขอบรอบ ๆ แคลลัส ระยะนี้ primordium ของรากบางส่วนสามารถยืดตัวงอกเป็นรากได้ในสัปดาห์ที่ 4 ต้นข้าวเจริญและแข็งแรง อาจจะเกิด adventitious ที่โคนลำต้นได้ด้วย

Inoue และ Maeda (1981) กล่าวว่าการพัฒนาเป็นต้นใหม่ของแคลลัสในข้าวต้องใช้ Kinetin เป็นตัวกระตุ้นในขั้นสุดท้าย ตรงกันข้ามถ้าใช้ abscisic acid (ABA) จะเป็นตัวยับยั้งไม่ให้มีการสร้างยอด ถ้าเติม ABA ในอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส แล้วจึงเติม Kinetin แคลลัสสามารถพัฒนาไปเป็นต้นใหม่ได้มาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในปี ค.ศ. 1981 Reddy พบว่า เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ ของข้าวในอาหารสังเคราะห์สูตร LS ที่เติม 2,4-D 2 มก./ล. สามารถเจริญเติบโตไปเป็นแคลลัสได้และเมื่อนำแคลลัสไปเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร LS ที่เติม NAA 2 มก./ล. และ Kinetin 4 มก./ล. สามารถจะพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนได้เมื่อต้นใหม่ได้สูงประมาณ 8-10 ซม.

Oono (1983) ได้ศึกษาลักษณะบางลักษณะของต้นข้าวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์ Norin 8 ในอาหารสังเคราะห์ เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสและพัฒนาเป็นต้นใหม่ตามลำดับ พบว่าต้นใหม่ที่ได้ (D_1) มีความแปรปรวนของลักษณะต่าง ๆ สูง เช่น ความสูง, การติดเมล็ด เป็นต้น ต้นใหม่เพียง 28.1 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นมีลักษณะปกติ ซึ่งอาจเนื่องจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ไม่คงที่ อาหารสังเคราะห์หรือสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงไม่เหมาะสม หรือออกซินและสารประกอบอื่น ๆ ในอาหารสังเคราะห์แสดงคุณสมบัติเหมือนสารก่อกลายพันธุ์

Furuhashi และ Yatazawa (1970) พบว่าในอาหารสูตรที่มี amino acid ครบถ้วน ถ้าขาด methionine จะทำให้การเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวลดลง

Vajrabhaya และคณะ (1986) ได้ศึกษาผลของการชักนำการเกิดและการเจริญของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยง embryo ของข้าวพันธุ์ RD 23, RD 25, ขาวดอกมะลิ 105 ขาวตาแห้ง 17, RD 8 และเหนียวสันป่าตอง พบว่าอาหารสังเคราะห์ที่ดีที่สุดต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสคือ สูตร LS เติม 2,4-D 2-4 ppm และ Kinetin 0.3 ppm เลี้ยงในที่มีอุณหภูมิ 23-26 ° ซ.

ในปีเดียวกัน Vajrabhaya และคณะ (1986) ได้ศึกษาผลของออกซินและไซโตไคนินต่อการเกิดต้นใหม่จากแคลลัส พบว่าการตอบสนองต่อออกซินและไซโตไคนินมีความแตกต่างกันเนื่องจากความแตกต่างของสายพันธุ์ แคลลัสของข้าวขาวดอกมะลิ 105 สามารถเจริญไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ถึง 17.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเติม IAA 0.5 ppm และ Kinetin 0.4 ppm ในอาหารมาตราฐาน ส่วนกข 23 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่เจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ยากนั้นจะให้ผลดีที่สุด (12.5%) เมื่อใช้ IAA 0.5 ppm และ BAP 0.1 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Raina และคณะ (1987) ได้ศึกษาการเกิดต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์บาสมาตี 370 พบว่าสามารถเจริญไปเป็นแคลลัส และแคลลัสพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ อาหารที่ชักนำให้เกิดแคลลัส คือ อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D หรือ 2,4,5-T 1 หรือ 2 มก./ล. และเมื่อเลี้ยงแคลลัสเหล่านี้ในอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เติมทริปโทเฟน 50-100 มก./ล. แคลลัสสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้

Kishor (1987) ได้ศึกษาความต้องการพลังงานและแรงดันออสโมติคสำหรับการเกิดต้นใหม่ของข้าวจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าแคลลัสข้าวเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารที่มีค่าแรงดันออสโมติคเท่ากับ 300 osmol แต่จำนวนการเกิดต้นใหม่สูงสุดในอาหารที่มีค่าแรงดันออสโมติคเท่ากับ 200 osmol ปริมาณน้ำตาลซูโครสต่ำสุดที่ใช้ในการเกิดรากคือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการเกิดยอดจะเท่ากับ 1 เปอร์เซ็นต์ เนื้อเยื่อที่เจริญบนอาหารที่มีปริมาณซูโครสต่ำจะทำให้เกิดยอดในเปอร์เซ็นต์ที่สูง และถ้าอาหารที่ใช้เลี้ยงเติมสารที่ทำให้เกิดแรงดันออสโมติค เช่น Sorbitol หรือ mannitol จะทำให้ได้ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเท่ากับ 2 หรือ 3 เปอร์เซ็นต์ ปกติความสามารถในการเกิดยอดจะหมดไปเมื่อแคลลัสมีอายุได้ 100 วัน แต่เมื่อเติม sorbitol หรือ mannitol แคลลัสที่เลี้ยง 1,500 วัน ยังคงพัฒนาไปเป็นยอดได้

นริสา (2527) ได้รายงานในการศึกษาเทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อจาก anther ของยางพาราว่าความเข้มข้นของซูโครสในอาหารมีผลต่อการเกิดและเพิ่มจำนวนแคลลัส นอกจากนี้ยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสไปเป็น embryoid ในการทดลองใช้ซูโครส ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน 3 ระดับคือ 5,7 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารระยะแรกหลังจากที่แคลลัสขึ้นในแต่ละวิธีการแล้ว ทำการถ่ายแคลลัสไปยังอาหารระยะที่สอง ซึ่งใช้ซูโครสความเข้มข้น 5,7 และ 10 เปอร์เซ็นต์ กับความเข้มข้น 7,10 และ 12 เปอร์เซ็นต์เพื่อทำให้เกิด embryoid ต่อไป ผลจากการทดลองปรากฏว่า ความเข้มข้นของซูโครสทั้ง 3 ระดับในอาหารระยะแรกทำให้แคลลัสมีอัตราเกิดสูงมาก แต่ความแตกต่างของความเข้มข้นของซูโครสมีผลเพียงเล็กน้อยต่ออัตราการเกิดของแคลลัส เมื่อทำการถ่ายแคลลัสไปยังอาหารระยะที่สอง ความแตกต่างของความเข้มข้นของซูโครสมีผลต่ออัตราการเกิดของ embryoid อย่างมีนัยสำคัญปริมาณซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์ในอาหารระยะแรก และปริมาณซูโครส 7 เปอร์เซ็นต์ในอาหารระยะที่สองจะให้ปริมาณ embryoid สูงสุด การทดลองในข้าวระดับน้ำตาลซูโครสมีความสำคัญในการชักนำให้เกิดแคลลัส (Brar และคณะ 1985) ถ้าซูโครสเข้มข้นจะชักนำแคลลัสได้น้อยลง ซึ่งตรงกันข้ามถ้าพัฒนาเป็นต้นจะได้เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดของ Picea abics ในอาหารแข็งซึ่งในวุ้นที่มีคุณภาพต่างกัน ปรากฏว่าอาหารที่ใช้วุ้น Difco "puri fied" agar มีการเจริญของชิ้นส่วนเริ่มต้นดีที่สุด รองลงไปคือ Difco "Difco" agar และพบว่าวุ้นที่ทำให้เนื้อเยื่อมีการเจริญน้อยที่สุดคืออาหารที่ใช้วุ้น Difco "Nobel" agar (Murashige, 1974) การเจริญของเนื้อเยื่อนอกจากจะขึ้นอยู่กับคุณภาพของวุ้นแล้วยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของวุ้นในอาหาร ปกติแล้วการใช้ Difco "Bacto" agar ความเข้มข้น 0.6-1.0 % จะให้ผลดีที่สุด ถ้าหากความเข้มข้นมากกว่านี้จะทำให้อาหารแข็งมาก ซึ่งจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช แต่ถ้าอาหารมี pH ต่ำจะทำให้วุ้นอ่อนตัวลง (Murashige, 1974; Romberger and Tobor, 1971)

วิฑูรย์ และเสาวนีย์ (2532) พบว่าเมื่อมีปริมาณวุ้นเพิ่มขึ้นจะทำให้ความยาวของรากเฉลี่ยมีแนวโน้มลดลง และจะมีค่ามากที่สุดที่ระดับของวุ้น 6.0 g/l ทั้งนี้เนื่องจากอาหารวุ้นที่แข็งจะทำให้การดูดซึมน้ำและธาตุอาหารของรากเป็นไปได้ยาก ส่วนอาหารที่มีปริมาณวุ้นน้อยรากสามารถดูดซึมน้ำและธาตุอาหารได้ง่ายกว่าทำให้มีอัตราการเจริญเติบโตมากกว่าในสูตรอาหารที่มีปริมาณวุ้นสูง

สภาพแวดล้อมในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ไพบูลย์, 2524)

1. แสง (Light)

1.1 คุณภาพของแสง (light quality) แสงสีแดง (red light) และแสงสีน้ำเงิน (blue light) มีความสำคัญในการชักนำให้เกิดยอดจากเนื้อเยื่อพืชหลายชนิด Murashige (1974) ได้กล่าวว่า แสงสีแดงกระตุ้นให้เกิดราก (root initiation) และแสงสีน้ำเงินช่วยกระตุ้นให้เกิดยอดในพืชบางชนิด ส่วนยอดของพวก pohlia nutaus จะเกิดดีเมื่อสัดส่วนของแสงสีแดงต่อแสงสีน้ำเงินเท่ากับ 11 ต่อ 6 ชั่วโมงต่อวัน และใช้ Gro Lux Lamps หรือ Fluorescent lamps ไม่ควรใช้ incandescent lamps

1.2 ความเข้มข้นของแสง (light intensity) ในพืชหลายชนิดความเข้มของแสงระดับ 1,000 จะเหมาะสมกับช่วงการเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อ และ 3,000-10,000 Lux จะเหมาะสมในช่วงก่อนการย้ายปลูก

1.3 ระยะเวลาให้แสง (light duration) โดยทั่วไปมักให้แสงแก่พืชประมาณ 16 ชั่วโมงต่อวัน เช่น การเลี้ยงเนื้อเยื่อกระหล่ำดอกต้องได้รับแสง 9 ชั่วโมงจึงจะเกิดตายอด ส่วนเนื้อเยื่อซ่อนกลิ่นไทย พบว่าต้องได้รับแสง 12 ชั่วโมงจึงจะเกิดรากได้เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อุณหภูมิ (Temperature) การเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยทั่วไปมักใช้อุณหภูมิ 25 ° ซ. แต่พืชแต่ละชนิดย่อมมีอุณหภูมิที่เหมาะสมแตกต่างกันไปที่ระดับอุณหภูมิ 25-27 ° ซ. เหมาะสมกับการเลี้ยงเนื้อเยื่อพวกพืชล้มลุก (annuals) และพืชกึ่งเมืองร้อน (tropical species)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์ และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 (KDML 105) การทดลองครั้งที่ 1 เมล็ดพันธุ์ข้าวสถานีทดลองข้าวสุรินทร์ การทดลองครั้งที่ 2 เมล็ดพันธุ์จากศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี

2. สารเคมีต่าง ๆ

2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสังเคราะห์ สูตรของ Murashige และ Skoog (1962)

2.2 สารเคมีที่ใช้ทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรค ได้แก่ คลอร็อกซ, สารจับใบทวีน 20 และเอทธิลแอลกอฮอล์ 70 และ 90 เปอร์เซ็นต์

2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid), NAA (Naphthaleneacetic acid) และ Kinetin

2.4 น้ำตาล ได้แก่ Sucrose และ Sorbitol

2.5 วุ้นผง ได้แก่ Agar Difco

2.6 น้ำกลั่น

3. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้เตรียมอาหาร ได้แก่ เครื่องชั่งแบบละเอียด ขวดใส่สารละลายเข้มข้นของอาหารสูตรต่าง ๆ เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) เตาให้ความร้อน หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) เครื่องแก้วต่าง ๆ นาฬิกาจับเวลา เครื่องกวน (Magnitic Stirrer) และขวดแก้วพร้อมฝาสำหรับบรรจุอาหารสังเคราะห์

4. เครื่องมือที่ใช้สำหรับตัดแยก และย้ายชิ้นส่วน ได้แก่ มีดผ่าตัด ปากคีบ ตะเกียง แอลกอฮอล์ เครื่องแก้ว และขวดอาหาร

5. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow)

6. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิ 25$\pm$2 ° ซ. ชั้นวางขวดอาหารติดหลอดไฟ Philips-84 ความเข้มแสงประมาณ 2,000 lux เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน

7. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการถ่ายภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. อุปกรณ์ที่ใช้ในการย้ายปลูก เช่น กระถาง

องค์ประกอบของสูตรอาหาร

1. สูตรชักนำให้เกิดแคลลัส ได้แก่ สูตรอาหาร MS (Murashige และ Skoog 1962) เติม 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร แบ่งออกเป็นซูโครส 3 ระดับคือ 10, 30 และ 50 กรัมต่อลิตร

2. สูตรอาหารพัฒนาให้เกิดต้น 4 สูตร คือ N19, N19A, R1 และ SV

2.1 สูตร N19 (คำแนะนำของ F.J Zapata สถาบันข้าวนานาชาติ IRRI) ได้แก่ สูตรอาหาร MS มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร Kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.2 สูตร N19A ดัดแปลงจากสูตร N19 โดยเปลี่ยนน้ำตาลซูโครส 30 กรัม เป็นซูโครส 20 กรัม และน้ำตาล sorbital 25 กรัมต่อลิตร

2.3 สูตร R1 (คำแนะนำของ K. Oono จาก NIAR ประเทศญี่ปุ่น) ได้แก่ สูตรอาหาร MS น้ำตาลซูโครส 20 กรัม น้ำตาล sorbital 25 กรัมต่อลิตร NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร Kinetin 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.4 สูตร SV (คำแนะนำของสมคิด วิริกุล จากศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี) ได้แก่ สูตรอาหาร MS น้ำตาลซูโครส 20 กรัม น้ำตาล sorbital 25 กรัมต่อลิตร Kinetin 2 มิลลิกรัมต่อกรัม

อาหารทุกสูตรมีความเป็นกรดด่าง (pH) 5.8 วุ้นของ Difco 8.5 กรัมต่อลิตร

วิธีการ

นำเมล็ดพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 มาแกะเปลือกหุ้มเมล็ดออกแล้วนำไปแช่ในเอทธิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง แล้วจึงย้ายลงฟอกในสารละลายคลอร็อกซ 15 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเติมสารจับใบทวีน 20 จำนวน 2 ถึง 3 หยด ใช้เครื่องกวนความเร็วรอบต่ำนาน 15 และ 10 นาทีตามลำดับ นำไปล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วในตู้ปลอดเชื้อ 3 ครั้ง หลังจากนั้นนำเมล็ดที่ได้ไปศึกษาดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ศึกษาถึงผลของความเข้มข้นของน้ำตาลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากใบเลี้ยง (scutellum) ของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

โดยการนำเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลงใส่ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 3 ระดับคือ 10,30 และ 50 กรัมต่อลิตร pH 5.8 ระดับละ 50 เมล็ด แล้วนำไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิ 25±2° ซ. ในที่มืดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ แล้วตัดแยกส่วนใบเลี้ยง (scutellum)ที่เริ่มพัฒนามาเลี้ยงบนสูตรอาหารเดิมเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วย้ายลงบนอาหารสูตรเดิม (subculture) เพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณแคลลัส (proliferation) เป็นเวลาอีก 4 สัปดาห์

บันทึกการทดลอง

1. จำนวนเมล็ดที่ใบเลี้ยง (scutellum) ชักนำให้เกิดแคลลัส และคิดเป็นเปอร์เซ็นต์

2. น้ำหนักสด (กรัม) ของแคลลัสชนิด embryogenic หลังจากเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมเพื่อเพิ่มปริมาณ (Proliferation) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ก่อนที่จะเปลี่ยนอาหารสูตรพัฒนาเป็นต้น

การจำแนกแคลลัสชนิด embryogenic หรือ nonembryogenic ตามรายงานของ Nabors และ Dykes (1985)

2. ศึกษาถึงผลของสูตรอาหาร (Regeneration media) ต่อการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นต้นอ่อน

นำแคลลัสที่ได้จากอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสระดับต่าง ๆ คือ 10, 30 และ 50 กรัมต่อลิตร ย้ายลงในอาหารสูตรพัฒนาเป็นต้นอ่อน สูตร N19 ซึ่งอยู่ใน petri-dish เดียวกัน (แสดงดังภาพที่ 1 และ 2) ทำ 3 ซ้ำ หลังจากเลี้ยงนานเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำการย้ายลงบนอาหารใหม่ (subculture) แต่ได้เปลี่ยนภาชนะ petri-dish เป็นขวดขนาดกลาง โดย 1 petri-dish ใช้ขวด 3 ขวดแทนเพื่อเพิ่มพื้นที่ให้กับต้นอ่อน

ในทำนองเดียวกันก็ทำการเลี้ยงบนสูตรอาหาร N19A R1 และ SV เช่นเดียวกับทุกขั้นตอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บันทึกการทดลอง

1. การให้คะแนนแคลลัสชนิด embryogenic หรือแคลลัสที่จะพัฒนาเป็นต้น-อ่อนหลังจากอยู่บนอาหารสูตรพัฒนา (regeneration media) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ อยู่ใน petri-dish ก่อนย้ายลงในขวด ดังนี้

+	หมายถึง	เกิดแคลลัสน้อยมาก
++	"	เกิดแคลลัสน้อย
+++	"	เกิดแคลลัสปานกลาง
++++	"	เกิดแคลลัสมาก
+++++	"	เกิดแคลลัสมากที่สุด

2. นับจำนวนต้นอ่อนที่ได้หลังจากอยู่บนอาหารพัฒนาเป็นต้นอ่อนเป็นเวลา 10 สัปดาห์ หรือหลังจากเปลี่ยนอาหาร (subculture) ครั้งที่ 2 (อยู่ในขวด) เป็นเวลา 6 สัปดาห์

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร

ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง วันที่ 1 เมษายน 2532 และสิ้นสุดการทดลองวันที่ 1 พฤศจิกายน 2533

การทดลองครั้งที่ 1 วันที่ 1 เมษายน 2532

การทดลองครั้งที่ 2 วันที่ 1 มิถุนายน 2532

100351

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากใบเลี้ยงของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

การงอกของเมล็ดข้าวจะเริ่มภายใน 3-5 วัน โดยสังเกตการงอกของต้นกล้าที่บริเวณตัวอ่อน (embryo) ของการเพาะเลี้ยง สังเกตเห็นการพองตัวของใบเลี้ยงที่จะเจริญเติบโตเป็นแคลลัสในสัปดาห์ที่ 2 ซึ่งมีการแบ่งตัวเพิ่มขนาดขึ้นพร้อมกับการงอกของต้นกล้า เราจึงต้องตัดแยกส่วนใบเลี้ยงออกมาเลี้ยงเพื่อให้ได้แคลลัสที่เกิดจากส่วนใบเลี้ยงโดยเฉพาะ แล้วเลี้ยงบนสูตรอาหารเดิมอีกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าที่ระดับน้ำตาลซูโครส 10 กรัม/ลิตร แคลลัสมีสีเหลืองอ่อน เซลล์มีขนาดเล็กเกาะกันหลวม ๆ ที่ระดับน้ำตาลซูโครส 30 กรัม/ลิตร แคลลัสมีสีเหลือง เซลล์มีขนาดเล็กเกาะกันแน่น และที่ระดับน้ำตาลซูโครส 50 กรัม/ลิตร แคลลัสที่ได้มีสีน้ำตาลเข้มซึ่งไม่สามารถจะพัฒนาเพิ่มขนาด และบางส่วนจะตายในที่สุด และได้ทำการบันทึกจำนวนการเกิดแคลลัสของความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส ทั้ง 3 ระดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 การชักนำให้เกิดแคลลัสการทดลองครั้งที่ 1 อาหารมีซูโครส 10 กรัมต่อลิตร เกิดสูงสุดคือ 86 เปอร์เซ็นต์ แต่การทดลองครั้งที่ 2 อาหารมีซูโครส 10 และ 30 กรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสสูงมากคือ 97 และ 98 เปอร์เซ็นต์ การทดลองครั้งที่ 1 และ 2 มีความแตกต่างกัน ซึ่งการทดลองครั้งที่ 1 ชักนำให้เกิดแคลลัสเฉลี่ย 61 เปอร์เซ็นต์ ครั้งที่ 2 ได้ถึง 79 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นไปตามคำกล่าวของ Brar และคณะ 1985 ระดับน้ำตาลซูโครสมีความสำคัญต่อการเกิดแคลลัส ถ้าซูโครสเพิ่มขึ้นการชักนำแคลลัสจะน้อยลง ซึ่งตรงกันข้ามถ้าพัฒนาเป็นต้นจะได้เพิ่มขึ้น และจากการทดลอง 2 ครั้ง มีความแตกต่างกัน ครั้งที่ 2 มีประสิทธิภาพและการตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงมากกว่าครั้งที่ 1 ซึ่งเป็นไปตามคำกล่าวของ Dykes และ Nabors(1986) หรือ ธานินทร์ (2532) แม้ว่าการทดลองทั้งสองครั้งใช้ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งคาดว่ามี genotype เหมือนกัน แต่ยังมีความแตกต่างในเรื่องอายุของชิ้นส่วน (ข้าวมาจากคนละแหล่ง) รวมทั้งปัจจัยภายนอกซึ่งการทดลอง 2 ครั้ง ได้ทำการทดลองไม่พร้อมกัน

การเพิ่มปริมาณแคลลัส (proliferation)

เมื่อแยกแคลลัสที่ได้มาเลี้ยงในอาหารใหม่สูตรเดิมแล้วนำมาเลี้ยงในที่มีความเข้มแสงประมาณ 2,000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2° ซ. เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสเพิ่มปริมาณขึ้น ซึ่งมองด้วยตาเปล่าในแต่ละตัวอย่างไม่แตกต่างกันจึงได้ชั่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักสดของแคลลัสก่อนที่จะย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรพัฒนาเป็นต้นอ่อน ดังนั้นแคลลัสอายุ 10 สัปดาห์ ผลการทดลองน้ำหนักสดแคลลัสชนิด embryogenic เฉลี่ยในอาหารมีซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดเฉลี่ยสูงสุด คือ 0.134 กรัมต่อแคลลัส การทดลองครั้งที่ 1 และ 0.139 กรัมต่อแคลลัสของการทดลองครั้งที่ 2 (แสดงในตารางที่ 1)

2. ผลของสูตรอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลลัส และการพัฒนาให้เกิดต้นอ่อน (regeneration)

เมื่อย้ายแคลลัสจากอาหารที่มีซูโครสระดับต่าง ๆ คือ 10, 30 และ 50 กรัมต่อลิตร ลงบนอาหารสูตรพัฒนาเป็นต้น จำนวน 4 สูตร คือ N19, N19A, R1 และ SV ซึ่งอยู่ในจานเพาะเลี้ยง (petri-dish) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แคลลัสก็จะเจริญเติบโตและเริ่มมีการเปลี่ยนแปลง (ดังแสดงภาพที่ 1 และภาพที่ 2) ซึ่งได้ให้เป็นเครื่องหมายบวกดังตารางที่ 2 และ 3 หลังจากเลี้ยงได้เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จำเป็นต้องเปลี่ยนอาหารใหม่จึงย้ายลงบนอาหารสูตรเดิมแต่เปลี่ยนภาชนะจาก petri-dish เป็นขวด (ดังภาพที่ 3,4 และ 5) เพื่อเหมาะสมกับต้นอ่อน หลังจากเปลี่ยนอาหารเป็นเวลา 6 สัปดาห์นับจำนวนต้นอ่อนในแต่ละขวดแล้วนำมาเฉลี่ยผลการทดลอง (ดังตารางที่ 4 และ 5) การพัฒนาเป็นต้นอ่อนอาหารที่ได้ต้นมากที่สุดได้แก่ สูตร R1 และจากแคลลัสก็ได้จากอาหารสูตรซักนำที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ได้เฉลี่ยจำนวนถึง 24 ต้น และแคลลัสที่ได้จากอาหารสูตรซักนำที่มีน้ำตาลซูโครส 50 กรัมต่อลิตร ได้เฉลี่ยจำนวนต้น 19 ต้น (ดังตารางที่ 4) และจากการทดลองครั้งที่ 2 ก็เป็นไปในทำนองเดียวกัน กล่าวคือ แคลลัสที่ได้จากสูตรอาหารซักนำที่มีซูโครส 30 กรัมต่อลิตร จะให้จำนวนเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 23 ต้น แต่ในสูตรที่มีน้ำตาลซูโครส 50 กรัมต่อลิตรกลับให้ผลน้อยมากเพียง 2 ต้นเท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจากในช่วงเพิ่มจำนวนแคลลัส การเกิดแคลลัสประเภท Embryogenic มีจำนวนน้อยมาก

สำหรับสูตรอาหารที่มีแนวโน้มรองลงจากสูตรอาหาร R1 คือ สูตร N19A ซึ่งพบว่าในการทดลองครั้งที่ 2 จากอาหารสูตรซักนำที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร จะให้จำนวนเฉลี่ยถึง 20 ต้น ในขณะที่สูตร N19 ไม่ตอบสนองต่อการพัฒนาการเกิดต้น ซึ่งสูตรอาหาร N19A แตกต่างจากสูตรอาหาร N19 โดยใช้น้ำตาลซูโครส 20 กรัม และน้ำตาล sarbital 25 กรัมต่อลิตรแทนน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นไปตามคำกล่าวของ Kishar 1987 น้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานและแรงดันออสโมติคซึ่งน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร น้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

sorbital 25 กรัมต่อลิตรให้แรงดันออสโมติคที่เหมาะสมกว่าน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร

สำหรับสูตรอาหาร SV พบว่ามีการตอบสนองต่อการพัฒนา การเกิดต้นของแคลลัสที่เลี้ยงในทุกระดับของน้ำตาล แต่จำนวนต้นที่เกิดอยู่ในระดับค่อนข้างน้อย ซึ่งแสดงว่าฮอร์โมนที่ใช้ในการชักนำให้เกิดต้นยังไม่เหมาะสมเท่ากับของสูตร R1 ซึ่งมี Kinetin 2 มิลลิกรัม/ลิตรเท่ากันแต่เพิ่ม NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13822

ตารางที่ 1 เปอร์เซนต์การชักนำให้เกิดแคลลัสจากสูตรอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีน้ำตาลซูโครสระดับต่าง ๆ และน้ำหนักแคลลัสสดหลังจากเพาะเลี้ยง 6 สัปดาห์ จากการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 1 และที่ 2

การเพาะเลี้ยงครั้งที่	การชักนำให้เกิดแคลลัส		น้ำหนักแคลลัสสด 1/
	ซูโครส	เปอร์เซนต์	กรัมต่อแคลลัส
1	10	86	0.119 (12)
	30	65	0.134 (12)
	50	31	0.104 (9)
เฉลี่ย	-	61	0.119
2	10	97	0.115 (10)
	30	98	0.139 (10)
	50	43	0.117 (10)
เฉลี่ย	-	79	0.124

หมายเหตุ การเพาะเลี้ยงครั้งที่ 1 เมื่อเดือนเมษายน ปี พ.ศ.2532 เป็นข้าวขาวดอกมะลิ 105 จากสถานีทดลองข้าวสุรินทร์

การเพาะเลี้ยงครั้งที่ 2 เมื่อเดือนมิถุนายน ปี พ.ศ.2532 เป็นข้าวขาวดอกมะลิ 105 จากศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี

1/ ตัวเลขภายในวงเล็บ คือ จำนวนก้อนของแคลลัสที่นำมาเฉลี่ย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

ตารางที่ 2 ผลของการเปลี่ยนแปลงแคลลัสที่ได้จากความเข้มข้นของซูโครสระดับต่าง ๆ เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรพัฒนาเป็นต้นอ่อน 4 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 1 ผลแสดงเป็นเครื่องหมายบวกตามสภาพของแคลลัสชนิด embryogenic

สูตรอาหาร	แคลลัสที่เกิดจากซูโครสระดับ		
	10	30	50
N19	+	+	+
N19A	+++	++++	+
R1	++++	++++	+++++
SV	+++	+++	++

หมายเหตุ เครื่องหมายแสดงแคลลัสชนิด embryogenic

+	หมายถึง	แคลลัสน้อยมาก
++	หมายถึง	แคลลัสน้อย
+++	หมายถึง	แคลลัสปานกลาง
++++	หมายถึง	แคลลัสมาก
+++++	หมายถึง	แคลลัสมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ผลของการเปลี่ยนแปลงแคลลัสที่ได้จากความเข้มข้นของซูโครสระดับต่าง ๆ เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรพัฒนาเป็นต้นอ่อน 4 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 2 แสดงเป็นเครื่องหมายบวกตามสภาพแคลลัสชนิด embryogenic

สูตรอาหาร	แคลลัสที่เกิดจากซูโครสระดับ		
	10	30	50
N19	+++	+++	+
N19A	++++	+++++	+
R1	++++	++++	++
SV	+++	+++	++

หมายเหตุ เครื่องหมายแสดงแคลลัสชนิด embryogenic

+	หมายถึง	แคลลัสน้อยมาก
++	หมายถึง	แคลลัสน้อย
+++	หมายถึง	แคลลัสปานกลาง
++++	หมายถึง	แคลลัสมาก
+++++	หมายถึง	แคลลัสมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 จำนวนต้นอ่อนที่ได้จากแคลลัสพัฒนาหลังจากอยู่ในอาหารพัฒนาเป็นต้นอ่อน 4 สูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ ของการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 1

สูตรอาหาร	แคลลัสที่ได้จากซูโครส (กรัมต่อลิตร)		
	10	30	50
N19	-	-	-
N19A	-	-	5
R1	5	24	19
SV	2	1	5

หมายเหตุ การเพาะเลี้ยงครั้งที่ 1 เมล็ดพันธุ์ได้จากสถานีทดลองข้าวสุรินทร์

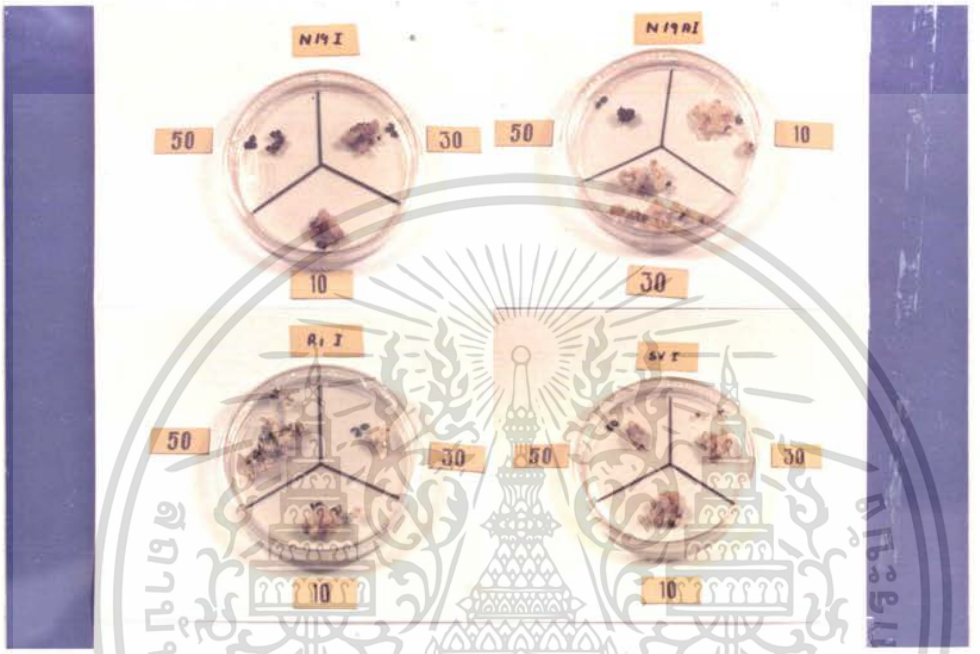
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 จำนวนต้นอ่อนที่ได้จากแคลลัสพัฒนาหลังจากอยู่บนอาหารพัฒนาเป็นต้นอ่อน 4 สูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ จากการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 2

สูตรอาหาร	แคลลัสที่ได้จากซูโครส (กรัมต่อลิตร)		
	10	30	50
N19	-	-	-
N19A	9	20	-
R1	9	23	2
SV	1	3	1

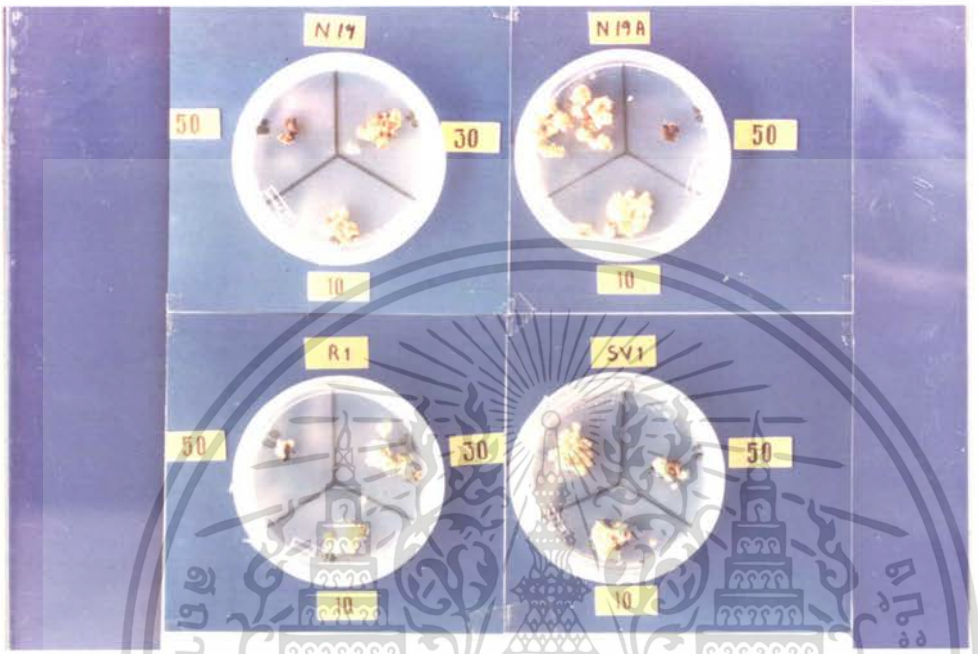
หมายเหตุ การเพาะเลี้ยงครั้งที่ 2 เมล็ดพันธุ์ได้จากศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



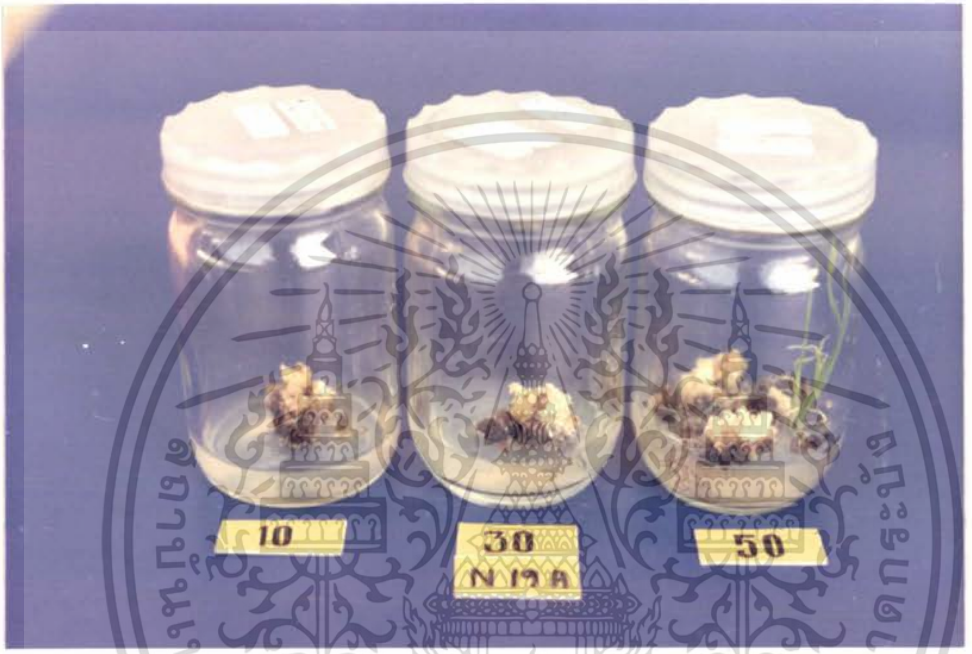
ภาพที่ 1 แสดงการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่มาจากสูตรซักน้ำระดับซูโครส 10,30 และ 50 กรัมต่อลิตร ซึ่งมาเพาะเลี้ยงบนสูตรพัฒนาเป็นต้น 4 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เป็นการทดลองครั้งที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่มาจากสูตรยักนำระดับซูโครส 10, 30 และ 50 กรัมต่อลิตร ซึ่งมาเพาะเลี้ยงบนสูตรพัฒนาเป็นต้น 4 สูตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เป็นการทดลองครั้งที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 แสดงการเกิดต้นอ่อนของแคลลัสที่ได้จากสูตรซักนำระดับซูโครส 10,30 และ 50 กรัมต่อลิตร นำมาเลี้ยงบนสูตรอาหารพัฒนาเป็นต้น N19A เปลี่ยนอาหาร (subculture) ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4 แสดงการเกิดต้นอ่อนของแคลลัสที่ได้จากสูตรซักนำระดับซูโครส 10, 30 และ 50 กรัมต่อลิตร นำมาเลี้ยงบนสูตรอาหารพัฒนาเป็นต้น R1 เปลี่ยนอาหาร (subculture) ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 5 แสดงการเกิดต้นอ่อนของแคลลัสที่ได้จากสูตรซักนำระดับซูโครส 10,30 และ 50 กรัมต่อลิตร นำมาเลี้ยงบนสูตรอาหารพัฒนาเป็นต้น SV 1 เปลี่ยนอาหาร (subculture) ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

อิทธิพลของระดับน้ำตาลซูโครสชักนำให้เกิดแคลลัสและเพิ่มปริมาณแคลลัสระดับน้ำตาลซูโครส 10 และ 30 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสของใบเลี้ยงข้าวพันธุ์-ขาวดอกมะลิ 105 ได้มาก แต่หลังจากเพิ่มปริมาณแคลลัสระดับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ให้ปริมาณแคลลัสชนิด embryogenic มากที่สุด แต่ระดับน้ำตาลซูโครส 50 กรัมต่อลิตร การชักนำให้เกิดแคลลัสลดลง

จำนวนต้นที่เกิดจากแคลลัสที่ได้จากสูตรชักนำและเพิ่มปริมาณแคลลัสที่มีระดับน้ำตาลซูโครสแตกต่างกันและเลี้ยงบนสูตรพัฒนาเป็นต้น 4 สูตร ซึ่งสูตรอาหาร R1 ได้จำนวนต้นมากที่สุดจากแคลลัสที่ได้จากระดับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ซึ่งประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรองและสารประกอบอินทรีย์ของ murashige และ skoog 1962 เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร น้ำตาล sorbital 25 กรัมต่อลิตร NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดลองใช้ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ทั้งสองการทดลอง แต่การทดลองครั้งที่ 2 ตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงมากกว่าการทดลองครั้งที่ 1 ซึ่งเมล็ดพันธุ์การทดลองครั้งที่ 1 จากสถานีทดลองข้าวสุรินทร์ และเมล็ดพันธุ์การทดลองครั้งที่ 2 จากศูนย์วิจัยข้าว-ปทุมธานี และอาจเป็นเพราะว่าอายุการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์แต่ละแห่งไม่เท่ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ธานินทร์ กาญจนลักษณ์. 2532. การชักนำให้เกิดแคลลัสจากเมล็ดในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ กข 7 ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

นริสา จิโรจน์วณิชชากร. 2527. เทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อจาก anther ของยางพาราในประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน. น. 57-64. ใน รายงานการสัมมนาทางวิชาการเทคโนโลยีทางชีวภาพ : ปัจจุบันและอนาคต, 5-6 พฤศจิกายน 2527 กรมวิชาการเกษตร.

ประพาส วีระแพทย์. 2532. การประชุมทางวิชาการ. ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร.

พรทิพย์ ธนูทอง. 2528. วิธีเพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อพืช. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 112 น.

ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา. 2524. หลักการและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. เอกสารวิชาการ. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

มนตรี เพชรทองคำ. 2530. สรีรวิทยาของพืช. มหาวิทยาลัยรามคำแหง. กรุงเทพฯ. 557 น.

รัชนี จำปาเทศ, ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ และ อธิ เจริญทรัพย์. 2529. อิทธิพลของน้ำมะพร้าวระยะต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของยอด, ราก และแคลลัสในข้าว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 11 (6) : 379-387.

วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ์. 2526. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากเมล็ดข้าว. เรื่องย่อสัมมนาปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (โรเนียว)

วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ์, อรดี สหวัชรินทร์ และ ชัยฤทธิ์ มณีพงษ์, 2527. การชักนำให้เกิดแคลลัสและต้นข้าวจากพืชภะที่เลี้ยงในอาหารวิทยาศาสตร์. รายงานการประชุมวิชาการ ภาคโปสเตอร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 3.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิฑูรย์ บุษกรเรืองรัตน์ และ เสาวณีย์ ศุภนิมิตวาสนา. 2532. การขยายพันธุ์เยอบีราโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

สมศักดิ์ อภิสิทธิวาณิช. 2531. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุวิตร บุษประเวศ. 2525. การปรับปรุงพันธุ์ข้าวนาสวนในประเทศไทย. น. 11-38. In เอกสารวิชาการเล่มที่ 8, 2525. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

อรดี สหวัชรินทร์. 2522. ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทางด้านการเกษตร. วารสารพืชสวน 14 (4) : 35-43.

อรัญญา ตันติปัญจพร. เรณู ถาวรโรฤทธิ์, ถาวร วัชราภัย และ มนทกานนต์ วัชราภัย. 2531. ศึกษาการเกิดแคลลัสและการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ของข้าวจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, น. 56-75. In รายงานการสัมมนาทางวิชาการด้านเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, 20-22 เมษายน 2531. คณะวนศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Ammirato, P.V. 1983. Embryogenesis, pp. 82-133. In D.A. Evans, W.R. Sharp, P.V. Ammirato and Y. Yamada (eds). Handbook of Plant Cell Culture. Macmillan Publishing Company, New York.

Brar, D.S., D.H. Ling and S. Yoshida. 1985. Plant regeneration from somatic cell cultures of some IR varieties of rice pp. 169-177. In Biotechnology in International Agricultural Research. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dykes, T.A. and M.W. Nabors. 1986. Tissue culture in rice and its application in selecting for stress tolerance, pp. 799-810. In Rice Genetics. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.

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

Fonnesbench, A and M. Fonnesbench. 1980. In vitro propagation of Monsters diliciosa. Hort. Sci. 15 (6) : 740-741.

Furuhashi, K. and M. Yatazawa. 1970. Plant Cell Physiol. 11:569. (Cited by Oono, 1981).

Hendre, R.R., A.F. Mascarenhas, M. Pathak and V. Jagannathan. 1975. Tissue cultures of maize, wheat, rice and sorghum : Part II Growth and nutrition of callus cultures. Indain J. Exp. Biol. 13 : 108-111.

Henke, R.R., M.A. Mansur and M.J. Constantin. 1978. Organogenesis and plantlet formation from organ and seedling-derived calli of rice (Oryza sativa). Physiol. Plant. 44 : 11-14.

Inoue, M. and E. Maeda. 1980. Effects of auxins and cytokinins on the occurence of green regions in rice callus cultures. Japan J. Crop Sci. 49 (2) : 167-174.

_____. 1981. Stimulation of shoot bud and plantlet formation in rice callus by two-step culture method using abscisic acid and kinetin. Japan J. Crop Sci. 50 (3) : 318-322.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ketchum, J.L.F., 1987. Tissue Culture for Crops Project Progress Report. Department of Botany, Colorado State University. 87 p.

Kishor, P.B.K. 1987. Energy and osmotic requirement for high frequency regeneration of rice plants from long-term cultures. Plant Sci. 48 : 189-194.

Ling, D.H., W.Y. Chen, M.F. Chen and Z.R. Ma. 1983. Somatic embryogenesis and plant regeneration in an interspecific hybrid of oryza. Plant Cell Rep. 2 : 169-171.

Linser, H., H. Mayr and F. Maschek. 1954. Papierchromatographie von zellstrechend wirksamen. Indolkorpern aus Brassica-Arten. Planta 44 : 103-120.

Linsmaiser, E.M. and F. Skoog. 1965. Organic growth factor requirments of tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 18 : 100-127.

Maeda, E. 1980. Organogenesis and cell culture in rice plants under sterile condition (part). JARQ. 14 (1) : 4-8.

Mascarenhas, A.F., M. Pathak, R.R. Hendre and V. Jagannathan. 1975. Tissue culture of maize, wheat, rice and sorghum : Part IV Initiation of viable callus and root cultures. Indian J. Exp. Biol. 13 : 116-119.

Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. Ann. Rev. Plant Physiol. 25 : 135-166.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

Nabors, M.W., Heyser, T.A. Dykes and L.J. De Mo TT. 1983. Long duration, hight frequency plant regeneration from cereal tissue cultures. Planta 157 : 385-391.

Nabors, M.W., and T.A. Dykes. 1985. Tissue culture of ceareal cultivars with increased salt, drought, and acid tolerance. pp. 121-138. In Biotechnology in Internation Agricultural Research, International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.

Nishi, T.,Y. Yamada and E. Takanashi. 1968. Organ redifferentiation and plant restoration in rice callus. Natur. 219 : 508-509.

Ogawa, M.,S. Yoshida, G.S. Cabuslay, Y.H. Chun and K. Suenaga. 1982. Induction and selection of salt tolerant mutant rice by plant tissue culture. IRRI Saturday Seminar. December 4. 1982.

Oono, K. 1983. Genetic variability in rice plants regenerated from cell culture, pp. 95-104. In D.A. Evans, W.R. Sharp, P.V. Ammirato and Y. Yamada (eds.). Handbook of Plant Cell Culture. Macmillan Publishing Company, New York.

Raghavan, V. 1977. Experimental Embryogenesis in Vascular Plant. Academic Press, New York.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

Reddy, G.M. 1981. Tissue culture studies in rice improvement. pp. 7-10. In Proc. CDSTED Symp. on Tissue Culture of Economically Important Plants. Singapore.

Siriwardana, S. and M.W. Nabors. 1983. Trytophan initiated somatic embryogenesis and plant regeneration in rice. Plant Physiol. 73 : 142-146.

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

Suenage, K., E.M. Abiryo and S. Yoshida. 1982. Seed-derived callus culture for selecting salt-tolerant rice. Part I. Callus induction, plant regeneration and variations in visible traits. IRRI Research Papper Serie 79. Los Banos, Philippines. 11 p.

Thimann, K.V. and F. Skoog. 1940. The extraction of auxin from plant tissue. Amer. J. Bot. 27 : 951-960.

Vajrabhaya, M. and T. Vajrabhaya. 1986. Initiation and growth of rice callus derived from embryo. Thai J. Agric. Sci. 19 : 89-102.

Vajrabhaya, M., O. Tunvachkul and T. Vajrabhaya. 1986. Effects of auxin and cytokinin on plant regeneration from rice callus. J. Sci. Res. Chula. Univ. 11 (2) : 113-115.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wang, M.S., F.J. Zapata and D.C. De Castro. 1987. Plant regeneration through somatic embryogenesis from mature seed and young inflorescence of wild rice (Oryza perennis Moench). Plant Cell Rep. 6 : 249-296.

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

Wu, L and H.W. Li. 1970. Induction of callus tissue initiation from different somatic organs of rice plant by various concentration of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid. Cytologia 36 : 411-416.

Yamada, Y. and W.H. Loh. 1983. Rice, pp. 151-167. In D.A. Evans, W.R. Sharp, P.V. Ammirato and Y. Yamada (eds.). Handbook of Plant Cell Culture. Macmillan Publishing Company, New York.

Zenk, M.H. 1961. Indoleacetyl glucose, a new compound in the metabolism of indoleacetic acid in plants Nature 191:493-494.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้