



สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช



T099900

เรื่อง

การเกิดยอดหลายยอดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวเหนียว 6 พันธุ์ ในอาหารสังเคราะห์
(The in vitro Multiple Shoot Formation of 6 Glutinous Rice Variety Seeds)

โดย

นายประกิจ

เลิศบรรณนางค์

นางสาวดารณี

แสงเพชร

นางสาวนวลปรารงค์

พนมณธรรม

(อาจารย์วิษัย ชุลโคกร์)

ประธานกรรมการที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

๑พ.

๑/195 ก

25๖3

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 99900

วัน,เดือน,ปี.....

(ผศ.ดร. อารัม ศรีวิจิตร)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ 16 เดือน 12 ค.ศ. 2573

๑. 1.

๑/195 ก

25๖๓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวเหนียว 6 พันธุ์ คือ กข.2, กข.6, กข.10, ข้าวแม่จัน, หางยี่71และเหนียวสันป่าตอง ในอาหารสูตรของ Hisajimaและคณะ(1986) ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่สารกระตุ้นการเจริญเติบโตใน 3 ลักษณะ คือ ไม้ใส่BAP และ GA₃, ใส่BAP ความเข้มข้น 10 มก./ล.ร่วมกับ GA₃ ความเข้มข้น 5 มก./ล. และใส่BAP ความเข้มข้น 15 มก./ล.ร่วมกับ GA₃ ความเข้มข้น 5 มก./ล. ที่ระยะ 75 วัน พบว่าในอาหารสูตรที่ไม่ได้ใส่BAP และ GA₃ จำนวนยอดเฉลี่ยมีค่าน้อย พันธุ์เหนียวสันป่าตองและ กข.2 มีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 3.8 และ 3.4 ยอดตามลำดับ มีแนวโน้มที่จะให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากกว่าพันธุ์ข้าวแม่จัน, หางยี่71, กข.6 และกข.10 ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 1.6, 1.4, 1.5 และ1.3 ยอดตามลำดับ ในอาหารสูตรที่ใส่BAP ความเข้มข้น 10 มก./ล.ร่วมกับ GA₃ ความเข้มข้น 5 มก./ล. พันธุ์เหนียวสันป่าตอง มีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 22.7 ยอด มีค่ามากกว่าพันธุ์ข้าวแม่จันซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 17.8 ยอด และมากกว่าพันธุ์ กข.2, กข.6, หางยี่71 และกข.10 ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 7.2, 9.3, 4.6และ 2.2 ยอดลำดับ โดยมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับในอาหารสูตรที่ใส่BAP ความเข้มข้น 15 มก./ล.ร่วมกับ GA₃ ความเข้มข้น 5 มก./ล. พันธุ์ กข.6 มีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 26.2 ยอด มีแนวโน้มที่จะมากกว่าพันธุ์เหนียวสันป่าตอง ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 24.4 ยอด แต่มากกว่าพันธุ์ข้าวแม่จัน ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 16.3 ยอด และมากกว่าพันธุ์กข.2, หางยี่71 และกข.10 ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 10.3, 8.3 และ 5.6 ยอดตามลำดับ โดยมากกว่ากันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสูตรอาหารพบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BAP จาก 10 มก./ล. เป็น 15 มก./ล. จำนวนยอดเฉลี่ยมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้น ยกเว้นพันธุ์ข้าวแม่จันที่มีแนวโน้มที่จะลดลง แต่พันธุ์กข.6 จะเพิ่มขึ้นมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อันเป็นผลจากปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์และสูตรอาหาร

เมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ ดังกล่าวข้างต้นในอาหารสูตรของ Hisajimaและคณะที่ใส่BAP ความเข้มข้น 5 มก./ล. (ไม้ใส่ GA₃ และน้ำมะพร้าว) ที่ระยะ 90 วัน พบว่าพันธุ์ กข.2 และเหนียวสันป่าตอง มีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 18.9 และ 18.4 ยอดตามลำดับ มีแนวโน้มที่จะมาก



กว่าพันธุ์ หางยี่71 ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 11.3 ยอด และมากกว่าพันธุ์ กข.6, ชิวแม่จัน และ กข.10 ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 10.2 และ 7.0 และ 6.0 ยอดตามลำดับ โดยมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การเกิดยอดหลายยอด (multiple shoots) เริ่มที่ระยะ 30 วัน หลังย้ายเมล็ดลงเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดหลายยอดเฉลี่ยจากทุกพันธุ์ มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะ 75 วัน ในอาหารสูตรที่ใส่น้ำมะพร้าวและ BAP ทั้งสองระดับความเข้มข้นร่วมกับ GA₃ และที่ระยะ 90 วัน ในอาหารสูตรที่ใส่น้ำมะพร้าว BAP ความเข้มข้น 5 มก./ล. โดยยอดหลายยอดที่เกิดขึ้นในอาหารสูตรที่ใส่น้ำมะพร้าวและ BAP ร่วมกับ GA₃ สมบูรณ์กว่าในอาหารสูตรที่ใส่น้ำมะพร้าว BAP ความเข้มข้น 5 มก./ล. และยอดหลายยอดดังกล่าวจะไม่มีรากเกิดขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



คำนิยม

ขอกราบขอพระคุณ อาจารย์ธวัชชัย อุบลเกิด ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่กรุณาให้
คำแนะนำและตรวจแก้ไขปัญหาพิเศษ

ขอกราบขอพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ และ
อาจารย์สมศักดิ์ อภิลิทธิวาณิช อาจารย์ประจำภาควิชาพันธุศาสตร์ ที่ได้ให้คำปรึกษาทางด้านวิชาการ
เกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว ขอกราบขอพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อารมย์ ศรีนิจิตต์
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ที่กรุณาอุปการะ จนปฏิบัติการทดลองลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอ
กราบขอพระคุณ ดร. กฤติกา สุขเสวีทวีชัย อดีตอาจารย์ประจำภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ที่
ได้กรุณาสอนเทคนิคทางด้าน การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ขอกราบขอพระคุณ
อาจารย์สมยศ เดชภีรตมมงคล ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือเกี่ยวกับขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

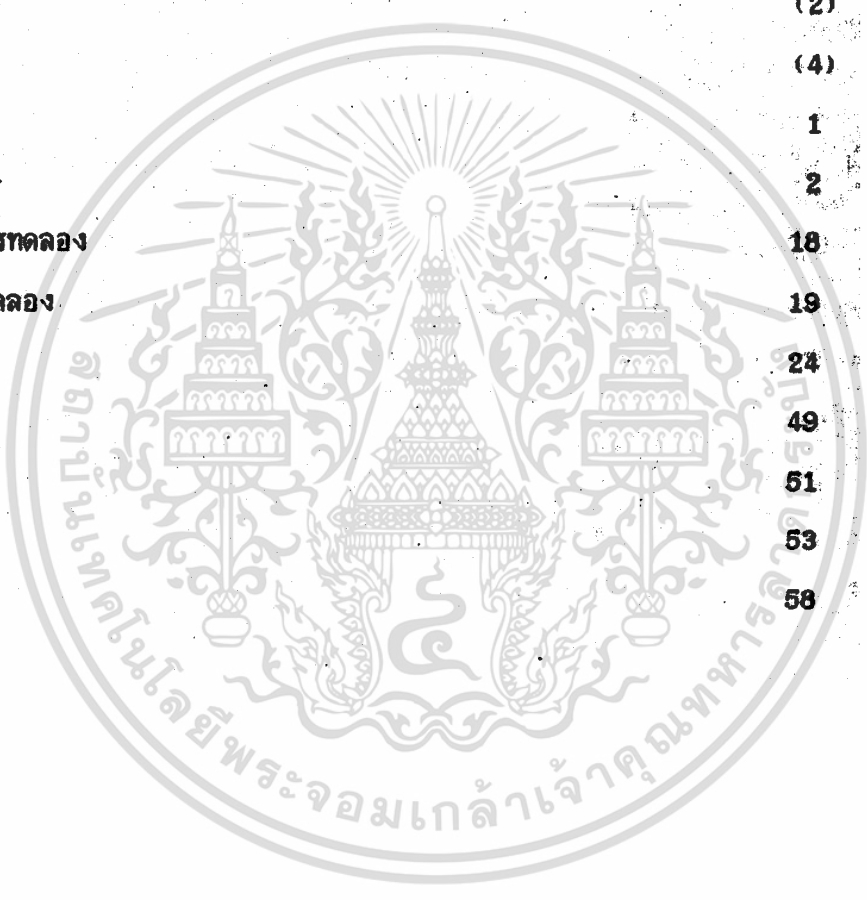
สุดท้ายนี้ ขอกราบขอพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ผู้มอบการอุปการะอย่างซื่อสัตย์ และขอขอบคุณน้องๆ
และทุกคนที่ช่วยเหลือและสนับสนุนทางการศึกษาตลอดมา

นายประกิจ เลิศบรรณนาวงศ์
นางสาวดารณี แสงเพชร
นางสาวนวลปรารค์ พนมมธรรม

เมษายน 2533

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
วัตถุประสงค์ของการทดลอง	18
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	19
ผลการทดลอง	24
วิจารณ์	49
สรุป	51
เอกสารอ้างอิง	53
ภาคผนวก	58



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP ร่วมกับ GA ₃ ใน 3 ลักษณะ	
	ก) บันทึกที่ระยะ 7 วัน หลังย้ายลงในอาหารสังเคราะห์	25
	ข) บันทึกที่ระยะ 15 วัน หลังย้ายลงในอาหารสังเคราะห์	26
2	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดหลายยอดของข้าว 6 พันธุ์ เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP ร่วมกับ GA ₃ ใน 3 ลักษณะ บันทึกที่ระยะเวลาดังๆ	28
3	แสดงจำนวนยอดเฉลี่ย และการวิเคราะห์ความแปรปรวนในการทดลองตอนที่ 1	
	ก) แสดงจำนวนยอดเฉลี่ย ที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP ร่วมกับ GA ₃ ใน 3 ลักษณะ บันทึกที่ระยะเวลา 75 วัน	33
	ข) ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของจำนวนยอดใน 18 ทรีทเมนต์	34
4	แสดงเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร ของ Hisajima และคณะ ที่เติม BAP 5 มก./ล. (ไม่ใส่น้ำมะพร้าวและ GA ₃)	38

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่		หน้า
5	แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดหลายยอดของข้าว 6 พันธุ์ เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติม BAP 5 มก./ล. (ไม่ใส่น้ำมะพร้าวและ GA ₃) บันทึกที่ ระยะเวลาต่างๆ	39
6	แสดงจำนวนยอดเฉลี่ย และการวิเคราะห์ความแปรปรวนในการทดลองตอนที่ 2	
	ก) แสดงจำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะ เลี้ยงในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติม BAP 5 มก./ล. (ไม่ใส่น้ำมะพร้าวและ GA ₃) บันทึกที่ระยะ 90 วัน	40
	ข) ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) ของจำนวนยอดใน 6 ทรีทเมนต์	41

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงการแตกหน่อ (tillering) ในธัญพืช	3
2	แสดงสูตรโครงสร้างของ BAP (6-benzylaminopurine)	9
3	แสดงสูตรโครงสร้างของ GA ₃ (gibberellic acid) และวิถีทางสังเคราะห์จิบเบอเรลลินบางชนิดในสิ่งมีชีวิต	12
4	แผนภูมิแท่งแสดงจำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP ร่วมกับ GA ₃ ใน 3 ลักษณะ บันทึกที่ระยะ 75 วัน	35
5	แสดงต้นข้าวที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ไม่ใส่ BAP และ GA ₃ (ภาพถ่ายที่ระยะ 75 วัน)	42
6	แสดงต้นข้าวที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP 10 มก./ล. ร่วมกับ GA ₃ 5 มก./ล. (ภาพถ่ายที่ระยะ 75 วัน)	43
7	แสดงต้นข้าวที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP 15 มก./ล. และ GA ₃ 5 มก./ล. (ภาพถ่ายที่ระยะ 75 วัน)	44

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่		หน้า
8	แสดงต้นข้าวที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะเลี้ยง ในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ไม่ใส่ BAP และ GA ₃ (นำออกจากขวดที่ระยะ 75 วัน)	45
9	แสดงต้นข้าวที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะเลี้ยง ในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP 10 มก./ล. ร่วมกับ GA ₃ 5 มก./ล. (นำออกจากขวดที่ระยะ 75 วัน)	46
10	แสดงต้นข้าวที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะเลี้ยง ในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP 15 มก./ล. และ GA ₃ 5 มก./ล. (นำออกจากขวดที่ระยะ 75 วัน)	47
11	แสดงต้นข้าวที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะเลี้ยง ในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติม BAP 5 มก./ล. (ไม่ใส่น้ำมะพร้าว และ GA ₃) (ภาพถ่ายที่ระยะ 90 วัน)	48

คำนำ

ข้าวเป็นพืชที่มีความสำคัญเป็นอย่างมาก เนื่องจากประชากรของโลกส่วนใหญ่บริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก โดยเฉพาะในแถบเอเชีย รวมทั้งประชากรในประเทศไทยด้วย และข้าวยังมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เนื่องจากเป็นสินค้าส่งออก ไปจำหน่ายยังต่างประเทศ จากหนังสือสถิติการเกษตรของประเทศไทย ปีเพาะปลูก2530/31 พบว่าเนื้อที่เพาะปลูกทั้งหมด (รวมนาปีและนาปรัง) ในปี 2530/31 มีเท่ากับ 58,478,000 ไร่ คิดเป็นผลผลิต 18,042,000 ตัน เป็นผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่เท่ากับ 318 กิโลกรัม โดยแบ่งเป็นพื้นที่เพาะปลูกข้าวนาปีในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีค่าเท่ากับ 38,541,283 ไร่ และพื้นที่เพาะปลูกข้าวนาปรังในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีค่าเท่ากับ 1,215,886 ไร่ ซึ่งทั้ง 2 ภาคนี้เป็นแหล่งผลิตข้าวเหนียวที่สำคัญของประเทศไทย จึงควรมีการปรับปรุงพันธุ์ เพื่อให้ได้พันธุ์ข้าวที่ดี มีผลผลิตสูง คุณภาพเมล็ดเป็นที่ต้องการของตลาด การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเทคนิคหนึ่งซึ่งสามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ได้ ได้แก่ การชักนำให้เกิดยอดหลายยอด (multiple shoots) จากเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสี แล้วทำการคัดเลือกโดยไม่ผ่านการเกิดแคลลัส อันเป็นขั้นตอนหนึ่งในการทำ Mutation breeding ซึ่งประหยัดเวลา และแรงงาน มากกว่าการคัดเลือกในสภาพไร่ นา จึงสามารถทำการทดลองได้หลายครั้งในหนึ่งปี

การตรวจเอกสาร

ข้าว (Oryza savita L.indica) จัดเป็นพืชตระกูลหญ้าชนิดหนึ่ง อยู่ใน family Grammineae และอยู่ใน sub-tribe Oryzineae พืชในตระกูลนี้ประกอบด้วย species ต่างๆ ประมาณ 25 species ซึ่งแบ่งออกได้เป็นข้าวปลูก (Cultivated rice) และข้าวป่า (Wild rice)

ข้าวปลูก ได้แก่ - Oryza sativa เป็นข้าวที่ปลูกทั่วไป

- Oryza glaberrima เป็นข้าวที่ปลูกเฉพาะในทวีปแอฟริกา

ข้าวป่าชนิดที่สำคัญ ได้แก่ Oryza perrennis เป็นข้าวที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ และจากหลักฐานทางวิชาการ คาดว่า ข้าวชนิดนี้ เป็นต้นตระกูลของข้าวปลูกในปัจจุบัน ดังนั้นข้าวป่าจึงต้องมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรม และได้ผ่านการคัดเลือกโดยธรรมชาติและมนุษย์ จนกลายมาเป็นข้าวที่ปลูกกันอยู่ในปัจจุบันนี้ (ประพาส , 2517)

การจำแนกข้าวตามคุณสมบัติของแป้งในเมล็ด

สามารถจำแนกชนิดของข้าวตามคุณสมบัติดังกล่าวออกไปเป็น 2 พวก ดังนี้คือ

1. ข้าวเจ้า (non-glutinous rice) เป็นพวกที่เมล็ดข้าวสารมีแป้ง (starch) ธรรมดา 90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนของ endosperm ในเมล็ดจะใส แต่บางพันธุ์จะมีลักษณะคล้ายข้าวเหนียว ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก เกิดการผสมข้ามพันธุ์ในธรรมชาติ หรือเป็นเพราะถูกถ่ายทอดลักษณะดังกล่าวมาจากข้าวก่อนๆ ก็เป็นได้

ปริมาณขององค์ประกอบประเภท amylopectin ในแป้งข้าวเจ้ามีประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ และเป็น amylose อีกประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ ทำให้คุณสมบัติในการหุงต้มเมล็ดจะร่วนและไม่เกาะกัน

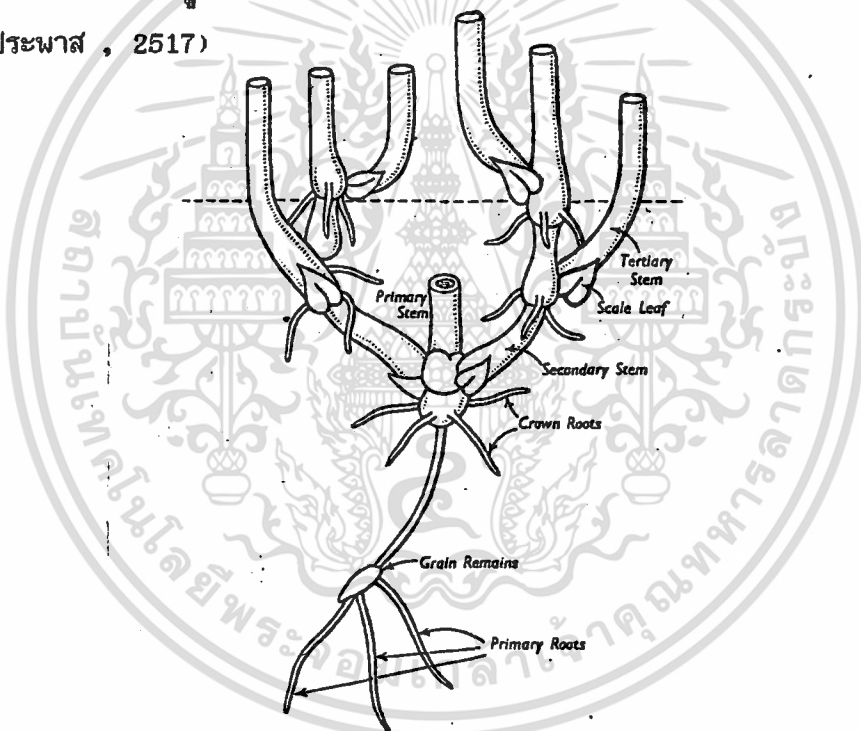
2. ข้าวเหนียว (glutinous rice หรือ waxy rice) เป็นพวกที่เมล็ดข้าวสารมีสารประเภท dextrin ในเมล็ดแป้งและสารนี้เป็น soluble starch ทำให้ endosperm มีสีขาวขุ่น ปริมาณขององค์ประกอบประเภท amylopectin ในแป้งข้าวเหนียวมีประมาณ 90 ถึง 95 เปอร์เซ็นต์ และเป็น amylose เพียง 7 ถึง 10 เปอร์เซ็นต์ ทำให้คุณสมบัติในการหุงต้ม

เมล็ดจะเหนียวและเกาะกัน

ระหว่างข้าวเจ้าและข้าวเหนียวนี้ ยังมีข้อที่น่าสังเกตอีกประการหนึ่ง คือ ถ้าความชื้นในเมล็ดมากกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ จะสังเกตพบว่า เมล็ดข้าวทั้งสองพวกมี endosperm ใสเหมือนกัน (วิชรินทร์ , 2525)

การเจริญเติบโตของข้าว

เมื่อนำเมล็ดข้าวไปเพาะจะได้ต้นกล้า ซึ่งใช้เวลาในการงอกประมาณ 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นต้นกล้าจะเจริญเติบโต และมีการแตกหน่อ เมื่ออายุประมาณ 40 วัน หน่อที่เกิดขึ้นนี้ เกิดขึ้นโดยเจริญเติบโตออกมาจากตาซึ่งอยู่ใกล้โคนต้น ต้นข้าวแต่ละต้นสามารถแตกกอได้หน่อใหม่ประมาณ 5 ถึง 15 หน่อ (ประพาส , 2517)



ภาพที่ 1 แสดงการแตกหน่อ (tillering) ในข้าว (Grist , 1975)

การแตกหน่อ (tillering) ของต้นข้าว ภาษาชาวบ้านโดยทั่วไปเรียกว่า การแตกกอ ซึ่งกอข้าวประกอบด้วย ลำต้นหลัก (main culm) และหน่อ (tiller) ดังภาพที่ 1 โดยที่ลำต้นหลักจะเจริญมาจากจุดเจริญ (growing point) ของต้นอ่อน หรือ คัมพะ (embryo) ซึ่งห่อหุ้มด้วย coleoptile บริเวณข้อของลำต้นจะมีกาบใบและไขข้อกาบใบของกาบใบ หรือเรียกว่า มุมใบ จะมีตา

(bud) ซึ่งโดยทั่วไปตาที่อยู่บริเวณส่วนล่างจึงจะเจริญเป็นหน่อ หน่อที่เกิดออกมาชุดแรก เรียกว่า primary tiller หน่อที่เกิดจากหน่อชุดแรก เรียกว่า secondary tiller และหน่อที่เกิดจากหน่อชุดที่สอง เรียกว่า tertiary tiller

ความสามารถในการแตกหน่อของข้าว (tillering capacity) ขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว , สภาพแวดล้อมที่ต้นข้าวเจริญเติบโตอยู่ และการจัดการต่างๆในการปลูกข้าว

พันธุ์ข้าวพวก japonica มีความสามารถในการแตกหน่อสูงกว่าข้าวพวก indica และข้าวพันธุ์ปรับปรุง (improved variety) มีความสามารถในการแตกหน่อดีกว่าพันธุ์พื้นเมือง (local variety) (ทรงเชาว์ , 2531)

การแตกหน่อมากจะให้รวงมากด้วย โดยต้นข้าวที่แตกหน่อมาก และตอบสนองต่อปุ๋ยได้ดี จะมีจำนวนรวงต่อกอมาก จึงทำให้มีจำนวนรวงต่อเนื้อที่ปลูกมาก ซึ่งเป็นองค์ประกอบอย่างหนึ่งของการให้ผลผลิตสูง (ประवास , 2517)

หน่อข้าวหนึ่งหน่อ ประกอบด้วย ราก ลำต้น และใบ อาจจะมีรวง หรือ ไม่มีรวงก็ได้ หน่อแรกปกติเกิดจากโคนต้นระหว่างต้นแม่และใบที่สอง โดยเริ่มเกิดขึ้นหลังปักดำแล้ว 10 วัน และจะเกิดมากที่สุดหลังปักดำแล้ว 50 ถึง 60 วัน หลังจากระยะนี้ไปจำนวนหน่อจะลดลงเนื่องจาก หน่อที่อ่อนแอจะตายไป ทั้งนี้พันธุ์ข้าวใหม่ๆ จะมีจำนวนหน่อมาก ระยะออกรวง และจำนวนหน่อที่ตายน้อย (อภิชาติ , 2526)

ข้าวจะแตกหน่อไม่ดี เมื่อได้รับปัจจัยดังต่อไปนี้ คือ

1. อุดหนุมิต่ำ หรือ สูงมากเกินไป
2. ความเข้มของแสงน้อย
3. ดินขาดความอุดมสมบูรณ์ หรือเป็นพิษ
4. ขาดน้ำ หรือมีน้ำลึกมากเกินไป
5. โรคและแมลงรบกวน

(กองส่งเสริมพืชพันธุ์ , 2524)

ลักษณะโดยทั่วไปของข้าวเหนียว 6 สายพันธุ์ที่ใช้ทำการศึกษา

1. ข้าวพันธุ์ กข.2

เป็นข้าวเหนียวลูกผสมระหว่างข้าวเหนียวพันธุ์กำผาบ 15 กับข้าวเจ้าพันธุ์ไทยงาเนก

วัน จากเกาะไต้หวัน มีอายุการเก็บเกี่ยว 120 ถึง 135 วัน ผลผลิต 765 ถึง 766 กิโลกรัมต่อไร่ ระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 4 สัปดาห์ เมล็ดข้าวกล้อง ยาว 7.2 มิลลิเมตร กว้าง 2.6 มิลลิเมตร หนา 1.9 มิลลิเมตร ไม่ต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และแมลงบั่ว ต้านทานโรคใบจุดสีน้ำตาล และค่อนข้างต้านทานโรคใบสีส้ม (กองการข้าว, 2520) นอกจากนี้ ยังต้านทานต่อเพลี้ยจักจั่นสีเขียวปานกลาง (กองการข้าว, 2532) ความสูงประมาณ 115 เซนติเมตร เป็นข้าวต้นเตี้ยปลูกได้ตลอดปี เหมาะสมกับเขตที่สามารถบังคับน้ำได้ เมล็ดข้าวเปลือกสีขาวหรือสีฟาง เมล็ดค่อนข้างอ้วน (กองการข้าว, 2520) ลักษณะดีเด่น คือ ผลผลิตสูงและไม่ไวแสง (กองส่งเสริมพืชพันธุ์, 2524)

2. ข้าวพันธุ์ กข.6

เป็นพันธุ์ข้าวเหนียวต้นสูงที่ไวต่อช่วงแสง ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ โดยวิธีชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม (mutation) โดยใช้รังสีแกมมาอาบเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ข้าวพันธุ์นี้เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง คือ ให้ผลผลิตเฉลี่ย 666 กิโลกรัมต่อไร่ ผลผลิตโดยเฉลี่ยสูงกว่าพันธุ์เหนียวสันป่าตอง ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ มีระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 7 สัปดาห์ ลักษณะลำต้นเตี้ยกว่าพันธุ์เหนียวสันป่าตองเล็กน้อย ทนแล้งได้ดี ค่อนข้างต้านทานโรคใบจุดสีน้ำตาล และโรคไหม้ แต่ไม่ต้านทานโรคขอบใบแห้ง (กองการข้าว, 2520) ไม่ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและแมลงบั่ว (กองการข้าว, 2532) ความสูงประมาณ 150 เซนติเมตร วันเก็บเกี่ยว 21 พฤศจิกายน โดยประมาณ เมล็ดข้าวเปลือกสีเหลืองขาว เมล็ดข้าวกล้องยาว 7.23 มิลลิเมตร กว้าง 2.28 มิลลิเมตร หนา 1.77 มิลลิเมตร คุณภาพการหุงต้ม ได้ข้าวเหนียวที่อ่อนนุ่ม มีกลิ่นหอม (กองการข้าว, 2520) ปลูกได้เฉพาะฤดูนาปี ลักษณะดีเด่น คือ ปรับตัวได้ดี คุณภาพดี (กองส่งเสริมพืชพันธุ์, 2524)

3. ข้าวพันธุ์ กข.10

เป็นข้าวเหนียวที่ได้มาโดยการนำเมล็ดพันธุ์ข้าว กข.1 ไปอาบรังสีนิวตรอนเร็ว ข้าวพันธุ์ กข.10 ให้ผลผลิตใกล้เคียงกับพันธุ์ กข.2 และ กข.4 ปลูกในเขตพื้นที่ที่บังคับน้ำได้ เป็นข้าวเหนียวไม่ไวแสง มีอายุการเก็บเกี่ยว 130 วัน ความสูงประมาณ 120 ถึง 130 เซนติเมตร ลำต้นสีเขียวเข้ม ใบค่อนข้างกว้าง เมล็ดข้าวเปลือกสีฟาง เมล็ดข้าวกล้องยาว 7.6 มิลลิเมตร กว้าง 2.3 มิลลิเมตร หนา 1.8 มิลลิเมตร ข้าวที่นึ่งสุกแล้ว มีลักษณะอ่อนนุ่ม เมล็ดเรียวยาว

ไม่ร่วงง่าย ด้านทานโรคขอบใบแห้ง ไม่ด้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และแมลงบั่ว (กองเกษตร
สัมพันธ์, 2528) ระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 4 สัปดาห์ ผลผลิต 660 กิโลกรัมต่อไร่ (กอง
การข้าว, 2532)

4. ข้าวพันธุ์ข้าวแม่จัน

เป็นข้าวเหนียวที่ได้ชื่อพันธุ์มาจาก อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย เป็นพันธุ์ที่ไวต่อช่วง
แสง ออกดอกประมาณกลางเดือนกันยายน และเก็บเกี่ยวได้ประมาณกลางเดือนตุลาคม ต้นข้าวมี
ความสูงประมาณ 110 ถึง 150 เซนติเมตร ทนแล้งปานกลาง ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมต่างๆ
ได้ดี แตกกอดี โตเร็ว แข่งขันกับวัชพืชได้ดี เมล็ดเรียวยาว ข้าวเปลือกสีฟางกันจุด ขนาดเมล็ด
ข้าวกล้องยาว 7.31 มิลลิเมตร กว้าง 2.21 มิลลิเมตร หนา 1.84 มิลลิเมตร ผลผลิตประ
มาณ 465 กิโลกรัมต่อไร่ คุณภาพการหุงต้ม เมื่อนึ่งแล้ว จะอ่อนนุ่ม คล้าย กข.10 และเหนียวสันปา
ตอง ปลูกได้ทั้งในสภาพน้ำขัง และในที่ดอน นอกจากนี้ยังปลูกบนที่สูงได้ประมาณ 1000 เมตร จากระดับ
น้ำทะเล เป็นโรคไหม้และใบสีส้มปานกลาง ไม่ด้านทานโรคเน่าคอรวงและแมลงบั่ว (กรมส่งเสริมการ
เกษตร, 2527) วันเก็บเกี่ยว 15 ตุลาคม เหมาะสำหรับปลูกเป็นข้าวไร่ ทางภาคเหนือ
(วัชรินทร์, 2525) โดยปลูกได้เฉพาะฤดูนาปี (กองส่งเสริมพันธุ์, 2524)

5. ข้าวพันธุ์หางสี 71

เป็นพันธุ์ข้าวเหนียวที่พนักงานข้าว อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร เป็นผู้รวบรวม วัน
เก็บเกี่ยว 4 พฤศจิกายน ผลผลิตประมาณ 506 กิโลกรัมต่อไร่ ระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ
1 สัปดาห์ เมล็ดข้าวกล้องยาว 7.1 มิลลิเมตร กว้าง 2.1 มิลลิเมตร หนา 1.8 มิลลิเมตร
ด้านทานโรคไหม้ ไม่ค่อยด้านทานโรคใบจุดสีน้ำตาล ไม่ด้านทานโรคขอบใบแห้ง โรคใบสีส้ม เพลี้ย
กระโดดสีน้ำตาลและแมลงบั่ว (กองการข้าว, 2532) ความสูงประมาณ 150 เซนติเมตร ทน
แล้ง สามารถใช้ปลูกเป็นข้าวไร่ได้ อายุเก็บเกี่ยวสั้นจึงเหมาะสมกับพื้นที่นาที่หมดฝนเร็ว (กอง
การข้าว, 2532) สีข้าวเปลือก สีน้ำตาลเข้ม เมล็ดรูปร่างเรียวยาว ข้าวสุกนุ่ม (วัชรินทร์, 2525)

6. ข้าวพันธุ์เหนียวสันป่าตอง

เป็นพันธุ์ข้าวที่ นายมนตรี เชื้อวีโรจน์ เจ้าหน้าที่วิชาการ สถานีทดลองข้าวสันป่าตอง

เป็นผู้คัดเลือกได้ จากข้าวเจ้าสายพันธุ์เหลืองใหญ่ ผลผลิตเฉลี่ย 526 กิโลกรัมต่อไร่ ระยะพักตัว ประมาณ 5 สัปดาห์ เมล็ดข้าวกล้องยาว 7.2 มิลลิเมตร กว้าง 2.6 มิลลิเมตร หนา 1.8 มิลลิเมตร ค่อนข้างต้านทานโรคใบจุดสีน้ำตาล ค่อนข้างจะไม่ต้านทานโรคไหม้และโรคขอบใบแห้ง ไม่ต้านทานโรคใบสีส้ม เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและแมลงบั่ว ความสูงประมาณ 150 เซนติเมตร เมล็ดข้าวเปลือกสีเหลือง คุณภาพหุงต้มได้ข้าวเหนียวนุ่มนวล (กองการข้าว, 2520)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเทคนิคที่นำเอาส่วนหนึ่งส่วนใดของพืช ได้แก่ เซลล์ เนื้อเยื่อ อวัยวะ หรือโปรโตพลาสต์ ซึ่งเป็นส่วนที่มีชีวิต มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่ประกอบด้วย แร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารเร่งการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์ และอยู่ในสภาพควบคุม อุณหภูมิ แสง และความชื้น (อรดี, 2522) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีประวัติความเป็นมาโดยสังเขป ดังนี้ คือ

ในปี 1902 Haberlandt เป็นนักวิทยาศาสตร์ท่านแรกที่นำใบพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ เพราะคิดว่าเนื้อเยื่อพืชประกอบด้วยเซลล์ที่มีชีวิต เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์จะสามารถดำรงชีวิตต่อไปได้ และสามารถแบ่งเซลล์เพื่อเกิดเป็นต้นให้ได้ แต่ไม่ประสบผลสำเร็จ เนื่องจากไม่มีสารเร่งการเจริญเติบโตเหมือนในปัจจุบัน ประกอบกับพืชที่นำมาเลี้ยงเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ซึ่งเพาะเลี้ยงยาก ต่อมาในปี 1904 Hannig ประสบผลสำเร็จในการเพาะเลี้ยง คัมพะ (embryo culture) จากผลที่ยังอ่อนอยู่ของพืชพวก Crucifer จนได้ต้นกล้า (อรดี, 2523)

Robbins (1922) สามารถเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนปลายรากของพืชตระกูลถั่ว และข้าวหลายชนิด ให้มีชีวิตรอดได้ แต่ไม่มีการเจริญเติบโต จนกระทั่งในปี 1934 White สามารถเลี้ยงรากมะเขือเทศให้มีชีวิตรอดได้ โดยรากมีการเจริญเติบโตขึ้นไปเรื่อยๆ ไม่มีที่สิ้นสุดในอาหารสังเคราะห์ที่เขาคิดขึ้นมา ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่สมบูรณ์ที่สุดในสมัยนั้น คือ ประกอบด้วย เกลือแร่ น้ำตาลที่สกัดจากอ้อย (sucrose) และน้ำสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)

นอกจากสูตรอาหารจะเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้ว การพัฒนาของเนื้อเยื่อไปเป็นต้นพืช ยังขึ้นกับปัจจัยอื่นอีก จากรายงานของ Skoog และ Miller (1957) พบว่าการพัฒนาของเนื้อเยื่อไปเป็นต้น หรือ ราก ขึ้นอยู่กับความสมดุลของสารเร่งการเจริญเติบโต 2 กลุ่ม คือ ออกซิน (Auxins) และไซโตไคนิน (Cytokinins) ถ้าอัตราส่วนของออกซินต่อไซโตไคนิน

สูงกว่าจุดสมดุลง่าย เนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็นแคลลัส (Callus) และราก แต่ถ้าอัตราส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินต่ำกว่าจุดสมดุลง่าย เนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็นยอด และถ้าอัตราส่วนของของสารทั้งสองกลุ่มสมดุลกัน เนื้อเยื่อจะพัฒนาไปเป็นทั้งยอดและราก

ในปี ค.ศ.1962 Murashige และ Skoog ได้ปรับปรุงองค์ประกอบของอาหารให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้นเพื่อให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช และเนื้อเยื่อพืชหลายชนิด การเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้ประสบความสำเร็จเรื่อยมา และงานทางด้านนี้ ได้ก้าวหน้าขึ้นอย่างรวดเร็ว จนสามารถเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้มีชีวิตตลอด มีการเจริญเติบโตและสามารถพัฒนาไปเป็นต้นและรากใหม่ได้ งานในระยะหลังๆ จึงมุ่งเน้นในการนำประโยชน์ของเทคนิคนี้ ไปใช้ในด้านต่างๆ มากมาย

ประโยชน์ของการใช้เทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ประโยชน์ที่ได้รับจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีอยู่มากมาย กล่าวคือ

1. เลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อขยายพันธุ์ จะได้ต้นใหม่จำนวนมากในเวลาอันรวดเร็ว
2. เลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อปรับปรุงพันธุ์
3. เพื่อผลิตต้นพืชที่ปราศจากโรค เนื่องจากต้นพืชที่ได้รับจากการเพาะเลี้ยงจะเป็นต้นที่ปราศจากโรค

ปราศจากโรค

4. เพื่อเก็บรักษาพันธุ์ และรวบรวมพันธุ์ โดยเก็บในที่เย็นจัด เพื่อให้พืชหยุดการเจริญเติบโตชั่วคราวหนึ่ง นอกจากนี้การเก็บรักษาพันธุ์พืชในลักษณะเป็นต้นเล็กๆ ในหลอดทดลองนี้ จะช่วยประหยัดเนื้อที่ในการเก็บ และสามารถควบคุมสภาพแวดล้อมได้สะดวกกว่าธรรมชาติ (ไบบูลส์, 2524)

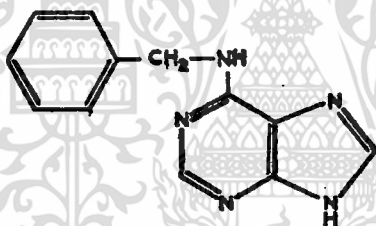
สารกระตุ้นการเจริญเติบโตที่ใช้ในการทดลอง

1. ไซโตไคนิน (Cytokinin)

เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตหรือฮอร์โมนที่มีความสำคัญ และเกี่ยวข้องกับกระบวนการแบ่งเซลล์ มีชื่อว่า ไคนิน (Skoog และ Miller, 1957 ; Miller, 1961) ซึ่งพบได้ทั้งในพืชและสัตว์ เรียก ไคนิน ที่พบในพืชนี้ว่า Phytokinin หรือ ไซโตไคนิน (Helgeson, 1986) การค้นพบสารไซโตไคนินเริ่มขึ้น หลังจากที่มีผู้พยายามเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ ในปี ค.ศ. 1940 Van Over Beek ได้เลี้ยงเอมบริโอของต้นลำโพง (Datura) ในอาหารซึ่งมีน้ำมะพร้าว

เป็นหลัก พบว่า เอมบริโอสามารถมีชีวิตอยู่ได้ในอาหารนั้น และมีการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว เขาสรุปว่า ต้องมีสารสำคัญบางชนิดอยู่ในน้ำมะพร้าว ซึ่งสามารถกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ได้ (สัมพันธ์, 2526)

สารไซโตไคนินชนิดแรกที่สังเคราะห์ได้จากห้องปฏิบัติการ คือ adenine sulfate ซึ่งมีคุณสมบัติทำให้ชิ้นส่วนพืชที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ สร้างกลุ่มเซลล์และอวัยวะต่างๆ ของต้นพืช ต่อมาค้นพบสารนี้อีก 1 ชนิด คือ ไคเนติน (kinetin) หรือ 6-(furfurylamino) purine (มนตรี , 2530) ซึ่งปัจจุบันนี้ได้ถูกสังเคราะห์ขึ้น เพื่อใช้ทดลองการควบคุมการเจริญเติบโตในพืช และประยุกต์ใช้ในแง่อื่นๆ เช่น การควบคุมการสุกของผลไม้ การยืดอายุของพืชผักหลังเก็บเกี่ยว สารสังเคราะห์กลุ่มไซโตไคนิน ยังมีอีกหลายชนิด เช่น 6-benzylaminopurine (BAP) และ Adinine sulfate ซึ่งใช้ในการควบคุมการเกิดยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (สุรพล, 2531) ซึ่งสูตรโครงสร้างของ BAP แสดงไว้ในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แสดงสูตรโครงสร้างของ BAP (6-benzylamino purine) (Helgeson, 1966)

ส่วนสารพวกไซโตไคนินที่พืชสร้างขึ้นเองตามธรรมชาติ จะพบอยู่มากบริเวณปลายราก (Phillips , 1971 ; Bidwell , 1979) ซึ่งสารที่เราสกัดออกมาได้นี้มักอยู่ในรูปของ derivative ของ adinine ในรูปต่างๆกัน เช่น Zeatin ซึ่งเป็นสารพวก hydroxy dimethyl alyl adenine ซึ่งสกัดออกมาจากเมล็ดข้าวโพดอ่อน (Letham และคณะ , 1964 ; สัมพันธ์ , 2526) นอกจาก Zeatine แล้วยังมี Zeatine riboside ซึ่งได้มาจากข้าวโพดหวาน Letham ยังพบอีกว่า สารเคมีที่อยู่ในน้ำมะพร้าว ซึ่งสามารถเร่งการแบ่งตัวของเซลล์นั้น ก็เป็นสารประเภท Zeatine riboside (สัมพันธ์ , 2526)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของไซโตไคนินในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1. กระตุ้นให้เนื้อเยื่อพืชที่นำมาเลี้ยงเกิดยอดจำนวนหลายยอด (multiple shoots) ซึ่งเรียกว่า organogenesis (Bhojwani และ Razdan, 1983) นอกจากนี้ B.M. Johri ได้แสดงให้เห็นถึง Endosperm ที่ทำการเลี้ยงในอาหารจะสามารถเจริญเป็นยอดได้ ถ้าใส่ Cytokinin 8 ppm ลงในอาหาร (Bidwell, 1979)
2. ยับยั้งการเจริญของราก เมื่อใส่ไซโตไคนินลงในอาหารที่ใช้สำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Phillips, 1971 ; Hussey, 1976)
3. ส่งเสริมการเจริญของใบโดยทำให้เนื้อเยื่อของใบขยายตัว (Miller, 1956) นอกจากนี้ Hussey (1976) ได้ทำการทดลองและพบว่า ความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ ของ Benzyladenine (BA) ส่งเสริมการเจริญเติบโตของใบเลี้ยง
4. ส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์ ไซโตไคนินสามารถเร่งการแบ่งตัวของเซลล์ เนื่องจากมีผลต่อ RNA ซึ่งเกี่ยวข้องกับสารสังเคราะห์โปรตีน อันเป็นองค์ประกอบสำคัญของเซลล์ และไซโตพลาสซึม (มนตรี, 2530) โดยพบว่า ตำแหน่งของไซโตไคนินใน TRNA นั้น จะอยู่ติดกับบริเวณ Anticodon ซึ่งไซโตไคนินใน TRNA นี้มีอยู่จำนวนน้อย โดยเฉลี่ยแล้วมีไซโตไคนิน 1 โมเลกุล ต่อ TRNA 20 โมเลกุล (Bidwell, 1979)

นอกจากไซโตไคนินจะมีประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแล้ว ยังมีประโยชน์ต่อการปลูกพืชโดยทั่วไปคือ ทำให้

1. กระตุ้นการเจริญของกิ่งแขนง

ในต่างประเทศได้มีการใช้สาร BAP ผสมกับ GA_4 และ GA_7 เพื่อเพิ่มการแตกแขนงของแอปเปิ้ล ส่วนประเทศไทยได้มีการทดลองใช้สาร BAP เพียงอย่างเดียว เพื่อเร่งการแตกตาของกุหลาบและมะม่วงที่ติดตาอยู่บนต้นตอ ปรากฏว่าใช้ได้ผลดี

2. ชะลอการแก่ (พีรเดซ, 2529)

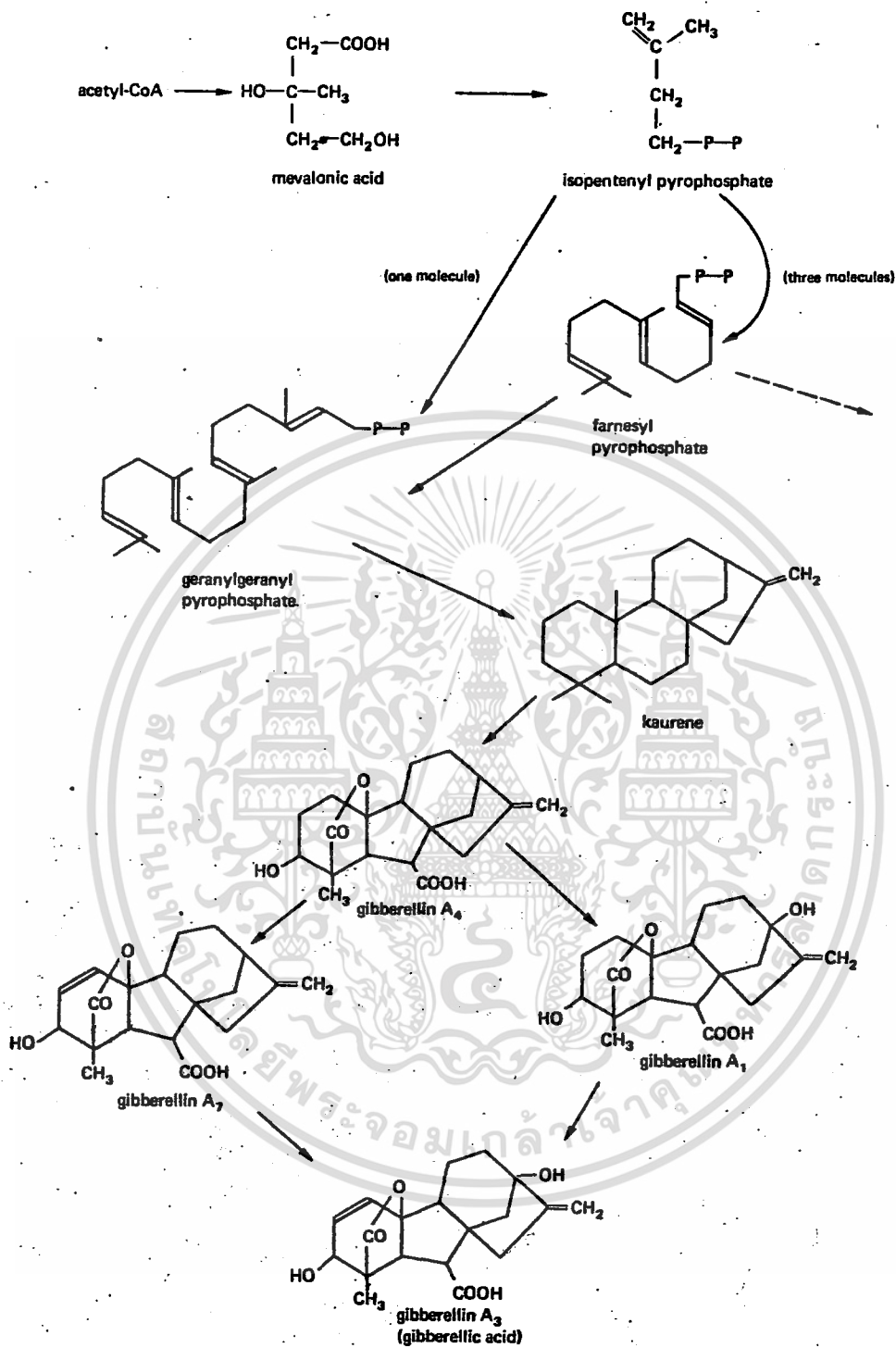
2. จิบเบอเรลลิน (Gibberellin)

จิบเบอเรลลินจัดเป็นสารพวก Isoprenoid ซึ่งนิยมเรียกอีกอย่างหนึ่งได้แก่ Gibberellic acid (GA) ซึ่งมีอยู่ประมาณ 40 ชนิด แบ่งออกได้เป็น 2 พวก ได้แก่ พวกที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ 19 อะตอม และพวกที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ 20 อะตอม แต่ละชนิด

แตกต่างกันเพียงเล็กน้อยที่ตำแหน่งของ Double bond และหมู่ของ OH แต่ละชนิดมีหมายเลขเป็นสัญลักษณ์ เช่น GA_1 , GA_2 และ GA_3 เป็นต้น (สุรนนท์, ไม่ปรากฏปีที่ตีพิมพ์ ; มนตรี, 2530) ซึ่งสูตรโครงสร้างของ GA แสดงไว้ในภาพที่ 3

สารจิบเบอเรลลินพบได้ทั้งในเชื้อราและพืชชั้นสูง จิบเบอเรลลินที่พบในเชื้อราจะมีหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอน ตำแหน่งที่ 3 แต่ที่พบในพืชชั้นสูงจะมีหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอน ตำแหน่งที่ 13 ในพืชชั้นสูง ใบอ่อน, ยอดอ่อน, ปลายราก และเมล็ดที่กำลังงอก จะมีจิบเบอเรลลินในปริมาณที่สูงมาก นอกจากนี้ ยังอาจพบสารชนิดนี้ ในใบแก่ ดอกและผลอ่อนได้ แต่มีปริมาณน้อย (จินดา, 2524 ; มนตรี, 2530)

กระบวนการสร้างจิบเบอเรลลิน ประกอบด้วย 2 กระบวนการใหญ่ๆ คือ การสร้าง kaurene จาก mevalonate และการสร้างจิบเบอเรลลินจาก kaurene กระบวนการแรก mevalonate ทำปฏิกิริยากับ acetyl-CoA ได้สารต่างๆ ออกมารวมทั้ง diterpene diterpene นี้เองจะเปลี่ยนเป็น kaurene โดยมี ATP เอนไซม์ และไอออนของแมกนีเซียมเข้าร่วมในปฏิกิริยา หลังจากนั้น kaurene จะเปลี่ยนไปเป็น kaurenoid acid และสารจิบเบอเรลลินในที่สุด (Leopold, Kriedemann, 1975)



ภาพที่ 3 แสดงสูตรโครงสร้างของ GA₃ (gibberellic acid) และ
วิถีทางสังเคราะห์เบอเวลลินบางชนิดในสิ่งมีชีวิต (Bidwell, 1979)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของจิบเบอเรลลิน

1. กระตุ้นการงอกของเมล็ดหรือตาที่พักตัว (Jones, 1973) โดยทำลายการพักตัวของเมล็ดหรือตา พบว่า เมล็ดที่ต้องการความเย็นเพื่อทำลายการพักตัว เมื่อได้รับ GA เมล็ดจะสามารถงอกได้ตามปกติ แม้ว่า เมล็ดเหล่านี้จะไม่ได้ได้รับความเย็นเลยก็ตาม (สัมพันธ์, 2526) จิบเบอเรลลิน ยังมีส่วนเกี่ยวข้องกับพัฒนาของเมล็ดและเมล็ดในผลที่กำลังเจริญเติบโต (สุรพันธ์, ไม่ปรากฏปีที่ตีพิมพ์)

2. ส่งเสริมการออกดอก พืชวันยาวมักจะผลิตจิบเบอเรลลิน มากกว่าวันสั้น (Phillips, 1971) เมื่อให้พืชวันยาวได้รับจิบเบอเรลลิน พบว่าพืชเหล่านี้ สามารถออกดอกได้ไม่ว่าช่วงวันจะยาวหรือสั้นกว่าช่วงวิกฤต (สัมพันธ์, 2526) โดยกระตุ้นการสร้างตาออก เฉพาะพืชวันยาว แต่ไม่มีผลในพืชวันสั้น (Jones, 1973) นอกจากนี้ ยังช่วยเพิ่มขนาดของดอกไม้ (สุรพันธ์, ไม่ปรากฏปีที่ตีพิมพ์)

3. ช่วยให้มีผลบางชนิดติดผลเพิ่มขึ้น เช่น องุ่น ส้ม มะนาว ฝรั่ง (Jones, 1973) ส่วนในองุ่นนั้นสามารถกระตุ้นการเกิดผลที่ไม่มีเมล็ดได้ และเพิ่มขนาดของผลองุ่นด้วย นอกจากนี้ยังช่วยให้ผลไม่มีคุณภาพสูง (สุรพันธ์, ไม่ปรากฏปีที่ตีพิมพ์)

4. กระตุ้นการแบ่งเซลล์ของใบ ก้านใบ และรากพืช ช่วยให้เซลล์พืช เช่น เซลล์ของ Epicotyl ขยายตัวมากขึ้น (Jones, 1973) ซึ่งตำแหน่งเนื้อเยื่อที่ฮอร์โมนมีผลต่อการแบ่งเซลล์ คือ บริเวณ Sub apical meristem (จินดา, 2524)

5. ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดนี้ ใช้กันน้อยมาก พืชที่ใช้ ได้แก่ พืชตระกูลส้ม ข้าว ข้าวโพด และถั่วบางชนิด โดยที่จิบเบอเรลลินนี้ ชักนำไปให้เกิดเอมบริโอ (Adventive embryos) ใหม่ขึ้นมา (Bhojwani และ Razdan, 1983)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่น่าสนใจ

Onofeghara (1973) ทำการเลี้ยงเอมบริโออ่อนของ Tapinanthus bangwensis ในน้ำมะพร้าว พบว่า การเจริญเติบโตของเอมบริโออ่อนจะช้าที่สุด เมื่ออยู่ในน้ำมะพร้าวที่มีความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะของต้นที่พบ คือ ไมมีใบและราก และต้นเตี้ย ส่วนระดับความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 10 ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่า ความเข้มข้นในช่วงนี้จะทำให้ต้นกล้าสูง ใบกว้างและยาว ส่วนระดับน้ำมะพร้าวที่ดีที่สุดคือ 10 เปอร์เซ็นต์

Alvin และคณะ (1973) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของสาหร่ายในอาหาร MS สาร

เร่งการเจริญเติบโตที่เพิ่มลงไม่มี GA_3 และ BAP โดย GA_3 ที่ใช้ต้องทำการกรองแบบปลอดเชื้อ (filter sterilization) แล้วจึงใส่ลงในอาหารสังเคราะห์ที่นิ่งมาเชื้อแล้ว ผลการทดลองพบว่า ความยาวของยอดจะเพิ่มขึ้นถ้าไม่มีการเติม GA_3 ในระดับของ BAP ตั้งแต่ 1 ถึง 25 M

Alvin และคณะ (1973) อ้างถึงการทดลองของ Tronchet ในปี ค.ศ. 1967 ซึ่งได้ทำการศึกษาใน *Polygonum* sp. โดยใส่สารเร่งการเจริญเติบโต 2 ชนิด คือ ไซโตโคนิน และ จิบเบอเรลลิน พบว่า จิบเบอเรลลินทำหน้าที่ในการส่งเสริมให้ใบยาวและแคบ ส่วนไซโตโคนินช่วยทำให้ใบกว้าง และสีเขียวสด

Oswald และคณะ (1977) รายงานผลของออกซินและ ไซโตโคนิน ในแก้วเหลืองพันธุ์ Bragg ถ้าอัตราส่วนของออกซินต่อ ไซโตโคนิน เท่ากับ 50:1 จะเกิดแคลลัส ถ้าอัตราส่วนเท่ากับ 5:1 จะชักนำให้เกิดราก และถ้าอัตราส่วนเท่ากับ 1:2 จะชักนำให้เกิดต้น

Rao และ Bapat (1978) ทำการตัดส่วนของ Hypocotyl จากต้นกล้าของไม้จันทร์ (*Santalum album* L. ภายใต้อุณหภูมิที่ปลอดเชื้อโดยทำการเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่เติม BA 1 มก./ล. พบว่า มีศักยภาพสูงในการทำให้เกิด ตายอดหลายตา (Multiple shoot buds)

Bapat และ Rao (1979) เลี้ยงเอ็มบริโออ่อนในอาหารสูตร BM (Basal medium) และเติม BA 1 มก./ล. พบว่าทำให้ยอดที่เกิดขึ้นแข็งแรง แต่การเจริญเติบโตของรากจะชะงัก ทำการบันทึกผลการทดลองเมื่อสัปดาห์ที่ 4 หลังจากทำการเลี้ยงเอ็มบริโออ่อน ความเข้มข้นของ BAP สูงกว่า 10^{-5} M การชักนำให้เกิดตาจะเร็วกว่าที่ระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่านี้

Cheng และคณะ (1980) เพาะเมล็ดแก้วเหลืองพันธุ์ Amsoy ในอาหารสูตรที่มี BAP ความเข้มข้น 10 ถึง 50 M เพื่อกระตุ้นให้เกิดตาจำนวนมากที่บริเวณ Cotyledonary node

Saka และคณะ (1980) ได้ทำการทดลองเพาะเมล็ดแก้วเหลืองพันธุ์ Amsoy และ Wayne ในส่วนผสมของ peat moss : perlite อัตราเท่ากับ 1:1 เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ตัดส่วนของ leaf axil ออกมาเลี้ยงในอาหารสูตรดัดแปลงของ B5 และ MS โดยมี IBA และ BAP เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งมี BAP ที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากอยู่ในช่วง 1 ถึง 50 M ในอาหารสูตรดัดแปลงของ B5 และ 5 ถึง 25 M ในอาหารสูตรดัดแปลงของ MS พบว่า IBA เมื่อใช้ร่วมกับ BAP ในอาหารสูตรดัดแปลงของ MS จะเกิดยอดที่จำเป็น และ

Friable แต่ในอาหารสูตรดัดแปลงของ B5 จะเกิดยอดที่สมบูรณ์ โดยเฉพาะความเข้มข้น 1 M และเมื่อลดความเข้มข้นของ BAP แต่เพิ่มความเข้มข้นของ น้ำตาลกลูโคส ซูโครส และฟรุกโตส จะทำให้เกิดยอดเพิ่มขึ้นและมากที่สุดเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลฟรุกโตส

Sara และ Tage (1980) เลี้ยงเอ็มบริโอของ Pinus cortorta ในอาหารสังเคราะห์เติม BAP 10^{-7} ถึง 10^{-4} M พบว่า BAP สามารถชักนำให้เกิด Adventitious buds ภายในเวลา 4 สัปดาห์ ปริมาณของ Adventitious buds มากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ BAP พบว่าถ้าระดับความเข้มข้นของ BAP สูงกว่า 10^{-5} M การชักนำให้เกิดตาจะเร็วกว่าที่ระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่านี้

เสียงไส และคณะ (1983) เลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญของต้นอ่อนจากเมล็ดส้ม ซึ่งปลูกในสภาพปลอดเชื้อ ส่วนของลำต้นอ่อน (Hypocotyl) และยอดอ่อน (Plumule) จะได้ผลดีที่สุด โดยเกิดเป็นแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่มี 2, 4-D อัตรา 0.25 มก./ล. น้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ และเจริญเป็นยอดอ่อนได้ดีเมื่อใช้ BAP อัตรา 0.5 มก./ล. น้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ ยอดอ่อนพร้อมแคลลัสเหล่านี้ นำไปทดลองเร่งให้เกิดจากบนอาหารที่มี NAA : Kinetin อัตรา 10:1 น้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ จะได้ต้นอ่อนที่มีรากจำนวนหนึ่ง ซึ่งต้องเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้ออีกครั้งหนึ่ง เพื่อให้ได้ต้นอ่อนที่แข็งแรงและปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมธรรมชาติได้

อรดี และปาริชาติ (2526) ได้ทำการเพาะเลี้ยงส่วนปลายยอด และตาข้างของหน่อกล้วยหอมทอง กล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และกล้วยน้ำว้าค่อม ในสภาพปลอดเชื้อในอาหารสูตรดัดแปลงของ Murashige และ Skoog ที่เติม Benzyladenine (BA) 5 ppm และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้เกิดยอดได้เป็นจำนวนมาก หลังจากทำการตัดแบ่งและเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกเดือน จนได้ยอดจำนวนมาก ก็เปลี่ยนลงอาหารสูตร Murashige และ Skoog ธรรมดา จะเกิดรากซึ่งสามารถนำออกปลูกลงดินได้ นับว่าเป็นเทคนิคในการขยายพันธุ์กล้วยให้ได้ต้นเป็นจำนวนมากในเวลาอันรวดเร็ว กล่าวคือในเวลา 6 เดือน สามารถผลิตต้นกล้วยได้ประมาณ 500 ตาจากหนึ่งตา

Hisajima และคณะ (1986) ได้ดัดแปลงสูตรอาหารของ MS และใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน เลี้ยงเมล็ด เอ็มบริโอ ยอด และรากของแก้วเหลือง พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่หลายยอดได้ โดยที่จำนวนยอดหรือจำนวนตายอดที่เกิดใหม่ ขึ้นแปรตามความเข้มข้นของไซโตไคนินที่ใช้

Kern และคณะ (1986) เลี้ยง Cotyledonary node ของถั่วเหลืองในอาหารที่มีธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองสูตร L2 วิตามินของสูตร B5 และเติม BAP 1 ถึง 5 M ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด และการเกิดจำนวนยอดกับประสิทธิภาพการฝังเป็น Embryoid ในอาหารเหลวที่มีสเต็มมันซ์ แบบบวก

Wright และคณะ (1986) ศึกษาองค์ประกอบของอาหารที่มีผลต่อการเกิดยอดในอาหารสูตรของ MS โดยลดความเข้มข้นของธาตุอาหาร น้ำตาล และ BA พบว่า ธาตุอาหารและน้ำตาลมีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดน้อยมาก แต่ถ้าลดความเข้มข้นของ BA จะมีผลยับยั้งการเกิดยอด ซึ่งไม่สามารถทดแทนด้วยการเพิ่มธาตุอาหาร หรือน้ำตาล

สุภาพร (2530) ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอที่เจริญเต็มที่ของข้าวสาลีพันธุ์ กข.23 พบว่า แคลลัสจะเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่ได้ เมื่ออยู่ในอาหารที่มีออกซินต่ำหรือไม่มีเลย และมีไซโตไคนินค่อนข้างสูง คือ มี 1.5 ถึง 6.0 ppm หรือ BAP 0.5 ถึง 1.6 ppm นอกจากนี้ การเติมน้ำตาล หรือน้ำมะพร้าวอย่างใดอย่างหนึ่ง ในอาหารจะชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่

สมศักดิ์ (2531) ได้ทำการทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อยอดอ่อน ช่อ และเมล็ดของถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์ 1 บนอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ มี BAP ที่ความเข้มข้น 0.2 , 2.0 , 5.0 และ 10.0 มก./ล. ร่วมกับ Gibberellic acid (GA_3) ความเข้มข้น 0.2 , 2.0 และ 10.0 มก./ล. พบว่าอาหารที่เติม BAP 5.0 มก./ล. ร่วมกับ GA_3 0.2 มก./ล. สามารถชักนำให้เมล็ดที่เพาะเลี้ยงเกิดยอดได้ เมื่อทดลองเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่มี BAP ความเข้มข้น 0 , 1.0 , 3.0 , 5.0 และ 7.0 มก./ล. ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 0 , 0.1 , 0.2 , 0.4 และ 0.8 มก./ล. พบว่า สามารถชักนำเมล็ดให้เกิดยอด 2 ถึง 9 ยอด บนอาหารสูตรเติมที่มี BAP 5.0 มก./ล. และ GA_3 0.2 มก./ล.

สุพพล (2531) เลี้ยงเนื้อเยื่อละหุ่งพันธุ์ S30 ได้แก่ ยอดอ่อน ใบเลี้ยง ราก Hypocotyl embryo plumule และ endosperm เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS และอาหารสูตรดัดแปลงของ MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ Auxin (2 , 4-D , NAA) หรือ Cytokinin (BAP, kinetin) หรือ Auxin ร่วมกับ Cytokinin พบว่าเนื้อเยื่อต่างๆ สามารถเกิดแคลลัสได้ ยกเว้น Endosperm แคลลัสที่ได้ แบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ Friable callus,

Soft callus และ Compact callus (Compact collus I ,II และ III) แคลลัสทุกชนิดไม่สามารถพัฒนาเป็นยอดได้ การพัฒนาของยอดได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในอาหารที่เติม BAP เพียงอย่างเดียว การเกิดยอดเกิดจากขบวนการ Organogenesis โดยตรงจากเอ็มบริโอที่เติบโตขึ้น ยอดที่ได้นี้สามารถเกิดรากในอาหารสูตรเดิมได้แต่อยู่ในอัตราที่ต่ำมาก

Harris และคณะ (1989) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนของตา ราก และลำต้นของ *Symphytum x uplandicum* Nyman เพื่อทำการขยายพันธุ์ พบว่าจะเกิดยอดมากที่สุดเมื่อใช้ส่วนของรากที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 4 มิลลิเมตร และอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเกิดยอด คือ อาหารสูตรของ Murashige และ Skoog ซึ่งใส่ BAP 0.3 มก./ล. ยอดที่เกิดขึ้นจะสร้างรากบนอาหารสูตร MS ซึ่งปราศจากสารกระตุ้นการเจริญเติบโต และสามารถย้ายปลูกลงกระถางได้สำเร็จ



99900

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์การทดลอง

การทดลองนี้เป็นการศึกษาทั่วไป ดังนี้

ตอนที่ 1 จะศึกษาลักษณะการงอก และการเจริญเติบโตของข้าวเหนียว 6 พันธุ์ ในอาหารสังเคราะห์ที่ใส่สารกระตุ้นการเจริญเติบโต และน้ำมะพร้าว ศึกษาการเกิดยอดหลายยอด และจำนวนยอดที่เกิดขึ้นจากเมล็ดข้าวเหนียวพันธุ์ต่างๆ ในอาหารแต่ละสูตร เพื่อใช้เป็นข้อมูลเปรียบเทียบในขั้นต้น สำหรับการทดลองในระดับต่อไป

ตอนที่ 2 จะศึกษาลักษณะการงอก และการเจริญเติบโตของข้าวเหนียว 6 พันธุ์ ในอาหารสังเคราะห์ที่ใส่ไซโตไคนินระดับความเข้มข้นที่กำหนด ศึกษาการเกิดยอดหลายยอด และจำนวนยอดที่เกิดขึ้นจากเมล็ดข้าวเหนียวพันธุ์ต่างๆ ในอาหารสูตรที่ใส่ไซโตไคนินเพียงชนิดเดียว เพื่อลดปัจจัยแปรผันอื่นๆ จึงไม่ใส่น้ำมะพร้าว และจิบเบอเรลลิน ทำให้ทราบการตอบสนองของข้าวเหนียว 6 พันธุ์ ต่อไซโตไคนิน และใช้เป็นข้อมูลขั้นต้น สำหรับศึกษาอิทธิพลของน้ำมะพร้าวและจิบเบอเรลลินต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองได้แก่

1. พืชที่ใช้ในการทดลองคือ เมล็ดพันธุ์ข้าวเหนียว (Oryza sativa L. indica)

6 พันธุ์ ดังนี้

- พันธุ์ กข.2 (RD2)
- พันธุ์ กข.6 (RD6)
- พันธุ์ กข.10 (RD10)
- พันธุ์ ข้าวแม่จัน (SMC)
- พันธุ์ หาง ยี่ 71 (HY)
- พันธุ์ เหนียวสันป่าตอง (NSPT)

2. เครื่อง และสารเคมี ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ประกอบด้วย

- เครื่องชั่งน้ำหนักแบบหยาบ
- เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด
- กระจกตวง (Cylinder) ขนาดต่างๆ
- หม้อสำหรับเตรียมอาหาร
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- ขวดแก้วพร้อมฝาปิด ซึ่งใช้เลี้ยงเนื้อเชื้อพืช
- หม้อนึ่งความดัน (Autocave)
- นาฬิกาตั้งเวลา
- ช้อนตักอาหาร
- แถงแก้วคน
- บีกเกอร์ (Beaker) ขนาดต่างๆ
- ปิเปต (Pipet)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เตาให้ความร้อน

2.2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ได้แก่

- Stock solution สูตรของ Hisajima และคณะ (1986)
- สารกระตุ้นการเจริญเติบโต ได้แก่ BAP (6-Benzylaminopurine)
GA₃ (Gibberellic acid)
- น้ำตาลทราย (Sucrose)
- น้ํามะพร้าว (Coconut milk)
- น้ำกลั่น
- สารละลาย NaOH และ HCl ความเข้มข้น 1 Normality

3. สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่

- คลอโรกซ์ (Clorox) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
- เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ และ 95 เปอร์เซ็นต์
- สารจับใบทวัน 20

4. เครื่องมือสำหรับการย้ายชิ้นส่วนพืช ประกอบด้วย

- ตู้ย้ายเนื้อเชื้อ แบบ Laminar flow
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- มีดผ่าตัด
- ปากคีบ (Forsep)
- จานแก้ว (Petri dish)
- ขวดน้ำและขวดอาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

5. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีชั้นวางขวดอาหารติดหลอดฟลูออเรสเซนต์ แบบ GroLux ความเข้มแสงประมาณ 1000 lux. โดยมีระยะเวลาที่เนื้อเยื่อพืชได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน

6. อุปกรณ์การถ่ายภาพ

13823

วิธีการ

การเตรียมอาหาร

1. ชั่งสารเคมีต่างๆ ตามสูตรอาหาร Hisajima และคณะ (1986) ทำเป็น Stock solution เมื่อต้องการใช้จึงตวงออกมาตามปริมาตรที่กำหนด ผสมเข้าด้วยกันในกระบอกตวงขนาด 2000 มล. ที่มีน้ำเล็กน้อยเป็นตัวกลาง เพื่อไม่ให้สารเคมีต่างๆ ผสมกัน โดยตรง
2. เติมสารกระตุ้นการเจริญเติบโต คือ BAP และ GA₃ ลงในอาหารแต่ละสูตร โดยสารเร่งการเจริญเติบโต จะต้องทำเป็น Stock Solution
3. เตรียมสารละลายน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำกลั่น
4. ละลายน้ำตาลซูโครส 30 กรัม ด้วยน้ำกลั่น เติมลงไปในสารละลายที่เตรียมไว้ข้างต้น หลังจากนั้นจึงเติมสารละลายน้ำมะพร้าวที่เตรียมไว้แล้วลงในสารละลายอาหารแต่ละสูตร
5. เติมน้ำกลั่นลงไปในสารละลายอาหารจนได้ปริมาตรตามต้องการ
6. ปรับความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหารให้ได้ pH 5.6 โดยใช้ สารละลาย HCl และ NaOH
7. ชั่งวันผง 6.8 กรัม สำหรับสารละลายอาหารปริมาตร 1 ลิตร นำสารละลายอาหารไปต้มจนเดือดเล็กน้อย ใส่วันลงไปต้มจนละลายหมด
8. ตั้งทิ้งไว้จนสารละลายอาหารมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส บรรจุอาหารใส่ลงในขวด และทำการปิดฝาให้เรียบร้อย
9. นำขวดอาหารที่ได้จากข้อ 8 ไปนึ่งฆ่าเชื้อ โดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autocave) ที่อุณหภูมิ 121.5 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 30 นาที หลังจากนั้นรอให้ความดันลดลงเป็น 0 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว จึงนำขวดอาหารออกจากหม้อนึ่ง ปลอยทิ้งไว้ให้เย็นจะได้ขวดอาหารที่มีอาหารแข็ง นำไปเก็บไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

การพอกฆ่าเชื้อเมล็ดพันธุ์ข้าว

1. แกะเปลือกหุ้มเมล็ดออก แล้วนำไปเข้าตู้ปลอดเชื้อ

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาและวิจัยเท่านั้นนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. นำเมล็ดที่แกะเปลือกหุ้มเมล็ดออกมาแช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที แล้วจึงเทแอลกอฮอล์ทิ้ง
3. ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (Clorox) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเติมสารจับใบไทวัน 20 จำนวน 3 ถึง 4 หยด เป็นเวลานาน 30 นาที
4. เทสารคลอโรกซ์ (Clorox) ทิ้ง แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ทิ้งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง

การเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ (1986)

1. นำเมล็ดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว มาเลี้ยงในอาหาร โดยให้ส่วนของเมล็ด อยู่ในอาหาร ประมาณครึ่งหนึ่งของความยาวเมล็ด

2. เลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ ดังนี้

การทดลองตอนที่ 1

- (1) สูตรอาหารของ Hisajima + น้ามะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์
- (2) สูตรอาหารของ Hisajima + น้ามะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ + BAP 10 มก./ล. + GA₃ 5 มก./ล.
- (3) สูตรอาหารของ Hisajima + น้ามะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ + BAP 15 มก./ล. + GA₃ 5 มก./ล.

การทดลองตอนที่ 2

- สูตรอาหารของ Hisajima + BAP 5 มก./ล.

แต่ละสูตรอาหารทำซ้ำจำนวน 50 ชุด ชุดละ 1 เมล็ด

3. การทดลองทั้ง 2 ตอน บันทึกผลดังนี้

- สังเกตลักษณะการงอก และบันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดข้าวในอาหารสังเคราะห์ ที่ ระยะ 7 วัน และ 15 วัน

- สังเกตลักษณะการเจริญเติบโต และการเกิดยอดหลายยอด ทำการบันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิด ยอดหลายยอด ที่ 30 วัน และบันทึกต่อไปทุก 15 วัน

- เมื่อข้าวมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดหลายยอดเฉลี่ยทุกทรีทเมนต์ 60 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จึงทำการสุ่มตัวอย่างขึ้นมาทรีทเมนต์ละ 10 ชุด บันทึกจำนวนยอดในแต่ละทรีทเมนต์ซ้ำ

การทดลองตอนที่ 1 วางแผนการทดลองแบบ Factorial Completely Randomized

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Design มี 18 ทรีทเมนต์

การทดลองตอนที่ 2 วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 6 ทรีทเมนต์

การตรวจนับจำนวนยอดจะตรวจนับจาก จำนวนยอดทั้งหมดที่คาดว่าจะ แยกออกมาเลี้ยงให้ เจริญเติบโต ในอาหารสูตรที่เหมาะสมได้

ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มทำการทดลองเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2532 สิ้นสุดการทดลองเดือนมีนาคม พ.ศ. 2533

สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

การทดลอง ตอนที่ 1 การศึกษาการเกิดยอดหลายยอดของข้าวเหนียว 6 พันธุ์ ในอาหารสังเคราะห์ที่ใส่สารกระตุ้นการเจริญเติบโต และน้ำมะพร้าว

การงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า

เมื่อนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ ได้แก่ กข. 2 , กข. 6, กข. 10, ชิวแมจัน, ทางยี 71 และ เหนียวสันป่าตอง มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ (1986) ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP ร่วมกับ GA_3 ใน 3 ลักษณะ คือ ไม่ใส่ BAP และ GA_3 , ใส่ BAP ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 5 มก./ล. และใส่ BAP ความเข้มข้น 15 มก./ล. ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 5 มก./ล. พบว่า ในระยะ 7 วันแรก หลังย้ายลงในอาหารสังเคราะห์ เมล็ดงอกส่วนของยอด และราก จากส่วนของเอมบริโอทริกเมนด์ ในอาหารสูตรที่ไม่ใส่ BAP และ GA_3 เมล็ดข้าวทุกพันธุ์งอกส่วนของยอดและราก แล้วเจริญเติบโตเป็นต้นกล้าที่มีลักษณะเป็นปกติ แต่ในอาหารสูตรที่ใส่ BAP ทั้งสองระดับความเข้มข้นร่วมกับ GA_3 เมล็ดข้าวทุกพันธุ์งอกส่วนของยอดและรากที่มีลักษณะแตกต่างจากในอาหารสูตรที่ไม่ใส่ BAP และ GA_3 กล่าวคือ ยอดที่เกิดขึ้นคล้ำใบน้อยกว่าปกติ ลำต้นมีขนาดเล็กและพอม ส่วนของรากแรก (Primary root) ที่เกิดขึ้นจะค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และตายไปในที่สุด ต้นข้าวที่เจริญเติบโตในอาหารสูตรที่ใส่ BAP และ GA_3 ไม่พบรากที่เจริญเติบโตตามปกติ คือ ไม่พบ Seminar root และ Adventitious root

ในระยะ 7 วันแรกนี้ เมล็ดข้าวมีเปอร์เซ็นต์ความงอกมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ใน 5 พันธุ์ คือ กข. 2 , กข. 6 , กข. 10 , ทางยี 71 และ เหนียวสันป่าตองในทุกสูตรอาหาร (ตารางที่ 1ก) โดยพบว่าพันธุ์ชิวแมจันมีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำ มีค่าน้อยกว่า 40 เปอร์เซ็นต์

เมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวเป็นเวลา 15 วัน พบว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยจากทุกสูตรอาหารในพันธุ์เดียวกัน เพิ่มขึ้น จากระยะ 7 วัน เล็กน้อยในทุกพันธุ์ (ตารางที่ 1 ข) และพบว่าในแต่ละสูตรอาหารเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยจากทุกพันธุ์มีค่าใกล้เคียงกันมาก

ในช่วงเวลา 7-30 วัน โดยประมาณ ในอาหารสูตรที่ใส่ BAP ร่วมกับ GA_3 ในทุกพันธุ์ พบว่า ใบและกาบใบ ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ จะค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลือง แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในที่สุด แต่บริเวณโคนต้นพบเนื้อเยื่อสีเขียวอ่อนเป็นปมอยู่ภายใน

การเกิดยอดหลายยอดของข้าวทั้ง 6 พันธุ์ พบได้เมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวเป็นเวลานาน 30 วันขึ้นไป

ตารางที่ 1 เปอร์เซนต์ความงอก* ของเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซนต์ และใส่ BAP ร่วมกับ GA₃ ใน 3 ลักษณะ

ตารางที่ 1ก) บันทึกที่ระยะ 7 วัน หลังจากย้ายลงในอาหารสังเคราะห์

สูตรอาหาร	พันธุ์						เฉลี่ย
	กข.2	กข.6	กข.10	ข้าวแม่จัน	หางฮี 71	เหนียวสันป่าตอง	
1	98	100	96	36	94	98	87
2	98	98	100	32	94	96	86.33
3	100	98	96	32	96	98	86.67
เฉลี่ย	98.67	98.67	97.33	33.33	94.67	97.33	

- 1 = สูตรอาหารของ Hisajima และคณะ + น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซนต์
- 2 = สูตรอาหารของ Hisajima และคณะ + น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซนต์ + BAP 10 มก./ล.
+ GA₃ 5 มก./ล.
- 3 = สูตรอาหารของ Hisajima และคณะ + น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซนต์ + BAP 15 มก./ล.
+ GA₃ 5 มก./ล.

* ความงอก ในที่นี้ หมายถึง การที่เมล็ดสามารถงอกส่วนของยอดได้ในอาหารสังเคราะห์

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ตารางที่ 1ข) บันทึกที่ระยะ 15 วัน หลังจากย้ายลงในอาหารสังเคราะห์

สูตรอาหาร	บันทึก						เฉลี่ย
	กข.2	กข.6	กข.10	ชีวแม่จัน	หางยี่ 71	เหนียวสันปาดอง	
1	98	100	98	40	96	98	88.33
2	100	98	100	38	94	100	88.33
3	100	100	96	40	98	98	88.67
เฉลี่ย	99.33	99.33	98	39.33	96	98.67	

- 1 = สูตรอาหารของ Hisajima และคณะ + น้ํามะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์
- 2 = สูตรอาหารของ Hisajima และคณะ + น้ํามะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ + BAP 10 มก./ล.
+ GA₃ 5 มก./ล.
- 3 = สูตรอาหารของ Hisajima และคณะ + น้ํามะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ + BAP 15 มก./ล.
+ GA₃ 5 มก./ล.

* ความมอก ในที่นี้ หมายถึง การที่เมล็ดสามารถงอกส่วนของยอดได้ในอาหารสังเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเกิดยอดหลายยอด และจำนวนยอดเฉลี่ยในแต่ละทริกเมนท์

ที่ระยะ 30 วัน หลังการย้ายลงในอาหารสังเคราะห์ พบว่ามียอดหลายยอดเจริญออกมาจากบริเวณโคนต้น ในอาหารสูตรที่ใส่ BAP ร่วมกับ GA_3 ของข้าวพันธุ์ กข.6, หางยี่และเหนียวสันป่าตอง แต่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดหลายยอดน้อยมาก เฉลี่ยจากทุกทริกเมนท์ มีค่าเท่ากับ 1.34 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

เมื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 45 วัน พบว่ามียอดหลายยอดเกิดขึ้นเกือบทุกทริกเมนท์ ยกเว้น พันธุ์ กข.10 ในอาหารสูตรที่ไม่ใส่ BAP และ GA_3 และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดหลายยอดเฉลี่ยจากทุกทริกเมนท์ เท่ากับ 18.05 เปอร์เซ็นต์

การเกิดยอดหลายยอดพบในทุกทริกเมนท์ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดหลายยอด เฉลี่ยจากทุกทริกเมนท์ เท่ากับ 38.47 เปอร์เซ็นต์

และ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 75 วัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดหลายยอด เฉลี่ยจากทุกทริกเมนท์ เท่ากับ 82.12 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการบันทึกจำนวนยอดที่ระยะเวลานี้ โดยทำการสุ่มตัวอย่างมาด้ารับการทดลองละ 10 ซ้ำ

ที่ระยะ 75 วันนี้ เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดหลายยอด เฉลี่ยจากทุกพันธุ์ในแต่ละสูตรอาหารที่ใส่ BAP ความเข้มข้น 15 มก./ล. ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 5 มก./ล. มีค่าเฉลี่ยสูงสุด คือ เท่ากับ 96.10 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็นสูตรอาหารที่ใส่ BAP ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับ GA_3 ความเข้มข้น 5 มก./ล. ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 92.49 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสูตรอาหารที่ไม่ใส่ BAP และ GA_3 มีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ เท่ากับ 57.90 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนี้ ยังพบว่า ในทุกสูตรอาหาร ข้าวเหนียวพันธุ์สันป่าตอง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดหลายยอดสูงสุด คือ ในอาหารสูตรที่ไม่ใส่ BAP และ GA_3 มีค่าเท่ากับ 90.91 เปอร์เซ็นต์ และ ในอาหารสูตรที่ใส่ BAP ทั้งสองระดับความเข้มข้น ร่วมกับ GA_3 มีค่าเท่ากับ 100.0 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดหลายยอดของข้าวทั้ง 6 พันธุ์ เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP ร่วมกับ GA₃ ใน 3 ลักษณะ บันทึกที่ระยะเวลาต่างๆ

สูตรอาหาร	พันธุ์	อายุ			
		30 วัน	45 วัน	60 วัน	75 วัน
1	กข.2	0	7.14	48.78	77.50
	กข.6	0	4.44	25.58	51.16
	กข.10	0	0	13.95	29.27
	ชีวาแม่จัน	0	5.0	15.79	61.11
	หางยี 71	0	7.50	20.00	36.84
	เหนียวสันป่าตอง	0	10.87	61.36	90.91
				เฉลี่ย	57.80

1 = สูตรอาหารของ Hisajima และคณะ + น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2 (ต่อ)

	สูตรอาหาร พันธุ์	อายุ			
		30 วัน	45 วัน	60 วัน	75 วัน
2	กข.2	0	21.43	38.10	95.00
	กข.6	4.65	26.83	44.74	100.00
	กข.10	0	13.95	35.71	73.17
	ชีวมัจฉิน	0	35.71	53.85	92.31
	ทางสี 71	2.33	24.39	47.50	94.44
	เทียนวลันป่าคอง	6.12	42.55	48.94	100.00
				<u>เฉลี่ย</u>	<u>92.49</u>

2 = สูตรอาหารของ Hisajima และคณะ + น้ํามะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ + BAP 10 มก./ล.
+ GA₃ 5 มก./ล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 (ต่อ)

สูตรอาหาร	พื้ช้	อายุ			
		30 วัน	45 วัน	60 วัน	75 วัน
3	กข.2	0	16.67	35.00	100.00
	กข.6	2.13	22.22	36.36	97.73
	กข.10	0	7.32	30.00	92.11
	ชีาแม่จัน	0	20.00	52.63	94.12
	หางสี 71	4.55	21.95	37.50	92.12
	เหนียวสันป่าคอง	4.26	36.96	46.67	100.00
				<u>เฉลี่ย</u>	<u>96.10</u>
<u>เฉลี่ย</u>		1.34	18.05	38.47	82.12

3 = สูตรอาหารของ Hisajima และคณะ + น้้ามะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ + BAP 15 มก./ล.
+ GA₃ 5 มก./ล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ระยะ 75 วัน จำนวนยอดเฉลี่ยในแต่ละทรีทเมนต์ ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 3ก เมื่อเลี้ยงเมล็ดข้าวในอาหารสูตรที่ไม่ใส่ BAP และ GA₃ พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ยในแต่ละพันธุ์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่พันธุ์เหี่ยวสันปาดอง ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ย เท่ากับ 3.8 ยอด มีแนวโน้มที่จะให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาเป็นพันธุ์ กข.2 , ชิวแม่จัน , กข.6 , ทางยี่ 71 และ กข.10 คือ มีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 3.4 , 1.6 , 1.5 , 1.4 และ 1.3 ยอด ตามลำดับ

ในอาหารสูตรที่ใส่ BAP ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับ GA₃ ความเข้มข้น 5 มก./ล. พบว่า พันธุ์เหี่ยวสันปาดอง มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด และรองลงมาเป็นพันธุ์ ชิวแม่จัน คือ มีจำนวนยอดเฉลี่ย เท่ากับ 22.7 และ 17.8 ยอด ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับ 4 พันธุ์ คือ กข.6 , กข.2 , ทางยี่ และ กข.10 มีจำนวนยอดเฉลี่ย เท่ากับ 9.3, 7.2, 4.6 และ 2.2 ยอด ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าพันธุ์เหี่ยวสันปาดอง และ ชิวแม่จันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3ก, ภาพที่ 4, 5, 6, 7)

ในอาหารสูตรที่ใส่ BAP ความเข้มข้น 15 มก./ล. ร่วมกับ GA₃ ความเข้มข้น 5 มก./ล. พบว่า พันธุ์ที่ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุดสองพันธุ์ คือ กข.6 และ เหี่ยวสันปาดอง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 26.2 และ 24.4 ยอด ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และมากกว่าพันธุ์ชิวแม่จัน ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 16.3 ยอด โดยมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับ 3 พันธุ์ คือ กข.2 , ทางยี่ 71 และ กข.10 มีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 10.3 , 8.3 และ 5.6 ยอด ตามลำดับ โดยมีค่าน้อยกว่าพันธุ์ กข.6 , เหี่ยวสันปาดอง และชิวแม่จัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ข้าวพันธุ์เหี่ยวสันปาดอง จะให้จำนวนยอดเฉลี่ยจากทุกสูตรอาหารเท่ากับ 16.97 ยอด มีแนวโน้มว่าจะมากกว่าพันธุ์ กข.6 และชิวแม่จัน ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยจากทุกสูตรอาหารเท่ากับ 12.33 และ 11.90 ยอด ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ สำหรับ 3 พันธุ์ คือ กข.2 , ทางยี่ 71 และ กข.10 มีจำนวนยอดเฉลี่ยจากทุกสูตรอาหารเท่ากับ 6.97 , 4.77 และ 3.03 ยอด โดยมีค่าน้อยกว่าพันธุ์เหี่ยวสันปาดอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสูตรอาหาร พบว่า จำนวนยอดเฉลี่ยจากทุกพันธุ์ของสูตรอาหารที่ใส่ BAP ความเข้มข้น 15 มก./ล. ร่วมกับ GA₃ ความเข้มข้น 5 มก./ล. และสูตรอาหารที่ใส่ BAP ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับ GA₃ ความเข้มข้น 5 มก./ล. มีค่าเท่ากับ 15.18 และ 10.63 ยอด ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มากกว่าสูตรอาหารที่ไม่ใส่ BAP และ GA₃ ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยจากทุกพันธุ์เท่ากับ 2.17 ยอด และมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อเปรียบเทียบทั้งในระหว่างพันธุ์และสูตรอาหาร พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ยของพันธุ์ กข.2 , กข.10 และ ทางยี่ 71 มีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BAP ร่วมกับ GA₃ โดยเพิ่มขึ้นในอัตราที่ไม่มาก เมื่อเทียบกับพันธุ์ กข.6 ซึ่งเพิ่มขึ้นในอัตราที่สูงมาก (ภาพที่ 4) สำหรับพันธุ์ เทนิวสันปาดองจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในขณะที่พันธุ์ข้าวแม่จันลดลงเล็กน้อย เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BAP จาก 10 มก./ล. เป็น 15 มก./ล. ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเกิดปฏิริยาสัมพันธ์(interaction) ระหว่างพันธุ์และสูตรอาหาร (ตารางที่ 3ข)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนยอดเฉลี่ยและการวิเคราะห์ความแปรปรวนในการทดลองตอนที่ 1

ตารางที่ 3ก) แสดงจำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดจากการนำเอาเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะเลี้ยงในอาหาร
สูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP ร่วม
กับ GA₃ ใน 3 ลักษณะ บันทึกที่ระยะ 75 วัน

สูตรอาหาร	พันธุ์						เฉลี่ย
	กข.2	กข.6	กข.10	ข้าวแม่จัน	หางยี่ 71	เหนียวสันปาดอง	
1	3.4cd	1.5d	1.3d	1.6d	1.4d	3.8cd	2.17
2	7.2cd	9.3c	2.2cd	17.8b	4.6cd	22.7a	10.63
3	10.3c	26.2a	5.6cd	16.3b	8.3c	24.4a	15.18
เฉลี่ย	6.97	12.33	3.03	11.90	4.77	16.97	

อักษรที่แตกต่างในตาราง หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Duncan's New Multiple Range Test) ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05

- 1 = สูตรอาหารของ Hisajima และคณะ + น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์
- 2 = สูตรอาหารของ Hisajima และคณะ + น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ + BAP 10 มก./ล.
+ GA₃ 5 มก./ล.
- 3 = สูตรอาหารของ Hisajima และคณะ + น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ + BAP 15 มก./ล.
+ GA₃ 5 มก./ล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

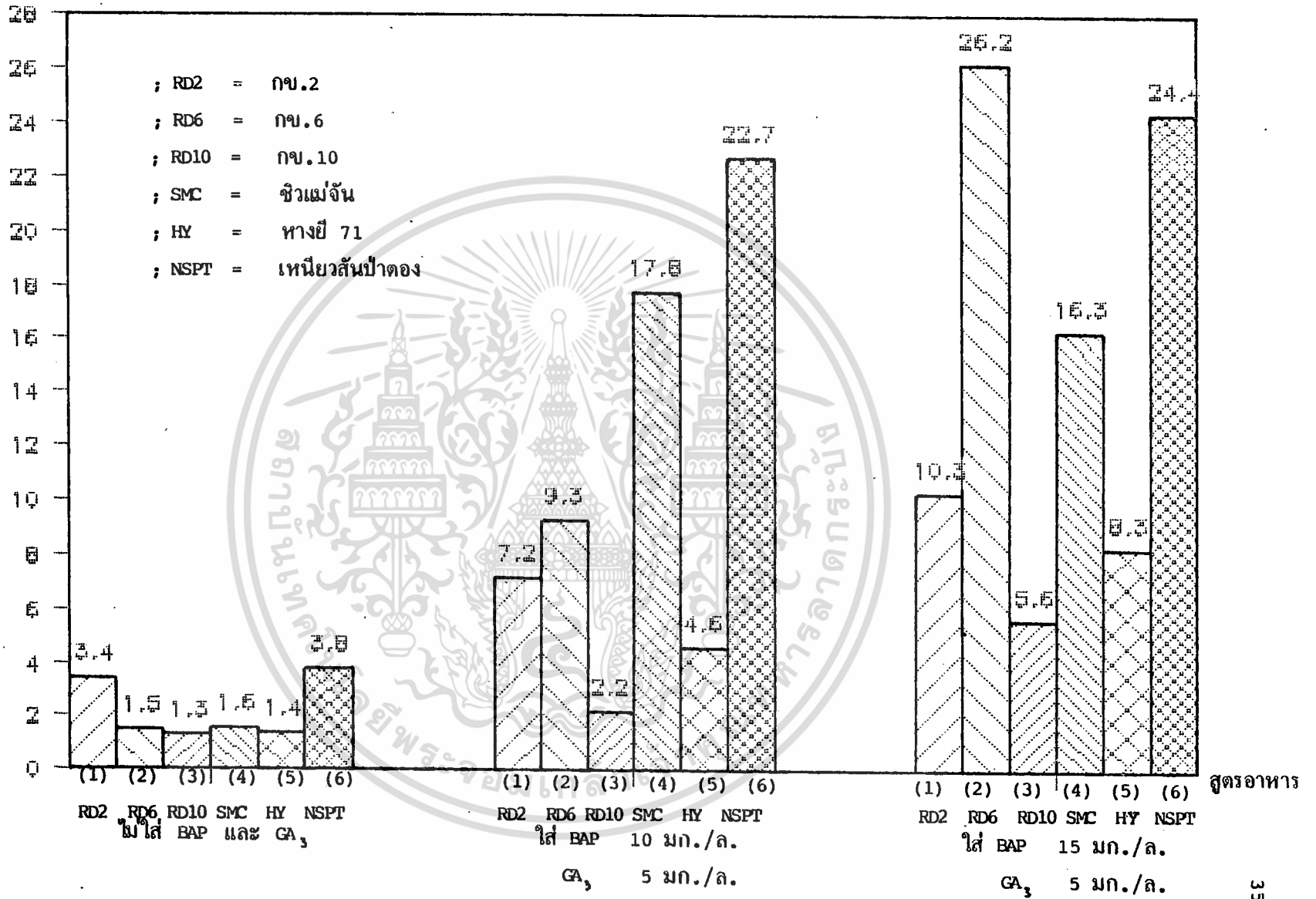
ตารางที่ 3 (ต่อ)

ตารางที่ 3ข) ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของจำนวนยอดใน 18 ทริกเมนต์

แหล่งของความแปรปรวน	degree of freedom	Sum of Squares	Mean Squares	F ratios
Treatment	17	12186.16		
พันธุ์	5	4200.03	840.006	16.39**
สูตรอาหาร	2	5236.41	2618.205	51.06**
พันธุ์×สูตรอาหาร	10	2749.72	274.972	5.36**
Error	162	8303.50	51.256	
Total	179	20489.66		

เครื่องหมาย ** หมายถึง มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01

จำนวนยอดโดยเฉลี่ยในแต่ละทริทเมนต์ (ยอด)



ภาพที่ 4 แผนภูมิแท่ง แสดงจำนวนยอดเฉลี่ยในแต่ละทริทเมนต์ บันทึกที่ 75 วัน

การทดลองตอนที่ 2 การศึกษาการเกิดยอดหลายยอดของข้าว 6 พันธุ์ ในอาหารสังเคราะห์ที่ใส่ BAP ความเข้มข้น 5 มก./ล.

การงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า

เมื่อนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ ได้แก่ กข.2 , กข.6 , กข.10 , ชิวแม่จัน , ทางยี 71 และเหนียวสันป่าตอง มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Hisajima และคณะ (1986) ที่ใส่ BAP ความเข้มข้น 5 มก./ล. พบว่า เมล็ดงอกส่วนของยอดและรากจากส่วนของเอมบริโอ โดยที่ยอดที่เกิดขึ้นคลี่ใบน้อยกว่าปกติ ลำต้นมีขนาดเล็กและพอม ส่วนของรากแรก (primary root) ที่เกิดขึ้นจะค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายไปในที่สุด ไม่พบรากที่มีลักษณะการเจริญเติบโตเป็นปกติในทุกพันธุ์

ที่ระยะ 7 วันแรก หลังย้ายลงในอาหารสังเคราะห์ เมล็ดข้าวมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงทุกพันธุ์ กล่าวคือ มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ใน 5 พันธุ์ คือ กข.2 , กข.6 , กข.10 , ทางยี 71 และเหนียวสันป่าตอง (ตารางที่ 4) สำหรับพันธุ์ชิวแม่จัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวเป็นเวลา 15 วัน พบว่าเปอร์เซ็นต์การงอกสูงขึ้นเล็กน้อยในบางพันธุ์ ได้แก่ กข.6 , ชิวแม่จัน และเหนียวสันป่าตอง

ข้าวที่เลี้ยงในอาหารสูตรนี้จะเติบโตช้า และพบว่าที่ระยะ 15 วัน ใบและกาบใบเริ่มเหลือง แต่ไม่พบลักษณะการตายของใบและกาบใบดังเช่นในการทดลองที่ 1 การเกิดยอดหลายยอดพบได้หลังจากเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวเป็นนานประมาณ 30 วัน ขึ้นไป โดยพบว่ายอดหลายยอดเจริญมาจากโคนต้นเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การเกิดยอดหลายยอดและจำนวนยอดเฉลี่ยในแต่ละพันธุ์

ที่ระยะ 30 วัน หลังย้ายลงในอาหารสังเคราะห์ พบว่า มียอดหลายยอดเจริญออกมาจากบริเวณโคนต้นของพันธุ์ กข.6 , ชิวแม่จัน , ทางยี 71 และเหนียวสันป่าตอง โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดหลายยอดเฉลี่ยจากทุกพันธุ์เท่ากับ 2.26 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6)

เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไป พบว่า ที่ระยะ 45 , 60 และ 75 วัน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดหลายยอดน้อย คือ เท่ากับ 6.90 , 14.03 และ 23.93 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ จึงต้องเลื่อนเวลาการบันทึกจำนวนยอดเป็นที่ระยะ 90 วัน ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดหลายยอดสูงมาก คือ เฉลี่ยจากทุกพันธุ์มีค่าเท่ากับ 97.09 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการสุ่มตัวอย่างที่ระยะเวลานี้ โดยสุ่มตัวอย่างมาพันธุ์ละ 10 ช้ำ

ที่ระยะ 90 วัน มีจำนวนยอดเฉลี่ยจากทุกพันธุ์เท่ากับ 11.97 ยอด พันธุ์ที่ให้จำนวนยอดสูง คือ กข.2 และเหินวสันป่าตอง ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 18.9 และ 18.4 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 6ก , ภาพที่ 11) และมีแนวโน้มที่จะให้จำนวนยอดมากกว่าพันธุ์ หางยี่ 71 ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 11.3 ยอด แต่ทั้งสามพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติสำหรับ 3 พันธุ์ คือ กข.6 , ชิวแม่จัน และ กข.10 มีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 10.2 , 7.0 และ 6.0 ยอดตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีจำนวนยอดเฉลี่ยน้อยกว่าพันธุ์ กข.2 และเหินวสันป่าตอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ เเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวของ Hisajima และคณะที่เติม BAP 5 มก./ล. (ไม่ได้ใช้น้ำมะพร้าวและ GA₃)

บันทึกที่ระยะ	พันธุ์						เฉลี่ย
	กข.2	กข.6	กข.10	ข้าวแม่จัน	ทางอี 71	เหนียวสันป่าตอง	
7 วัน	96	98	98	80	92	96	93.33
15 วัน	96	100	98	82	96	98	96

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 แสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดหลายยอดของข้าว 6 พันธุ์ เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะที่เติม BAP 5 มก./ล. (ไม่ใส่น้ำมะพร้าวและ GA₃) บันทึกที่ระยะเวลาต่างๆ

พันธุ์	อายุ				
	30 วัน	45 วัน	60 วัน	75 วัน	90 วัน
กข.2	0	5.0	10.26	28.95	100
กข.6	6.67	11.11	16.28	21.43	97.62
กข.10	0	0	4.76	19.51	94.87
ข้าวแม่จัน	2.50	5.0	13.16	18.92	94.59
ทางสี 71	2.13	6.67	15.91	18.18	95.45
เหนียวล้นปากทอง	4.44	13.64	23.81	36.58	100
เฉลี่ย	2.62	6.90	14.03	23.93	97.09

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 แสดงจำนวนยอดเฉลี่ย และการวิเคราะห์ความแปรปรวนในการทดลองตอนที่ 2

ตารางที่ 6ก) แสดงจำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะที่เติม BAP 5 มก./ล. (ไม่ใส่น้ำมะพร้าวและ GA₃) บันทึกที่ 90 วัน

พันธุ์						เฉลี่ย
กข.2	กข.6	กข.10	ข้าวแม่จัน	หางสี 71	เหนียวสันป่าตอง	
18.9a	10.2b	6.0b	7.0b	11.3ab	18.4a	11.97

อักษรที่แตกต่างกันในตาราง หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Duncan's New Multiple Range Test) ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05

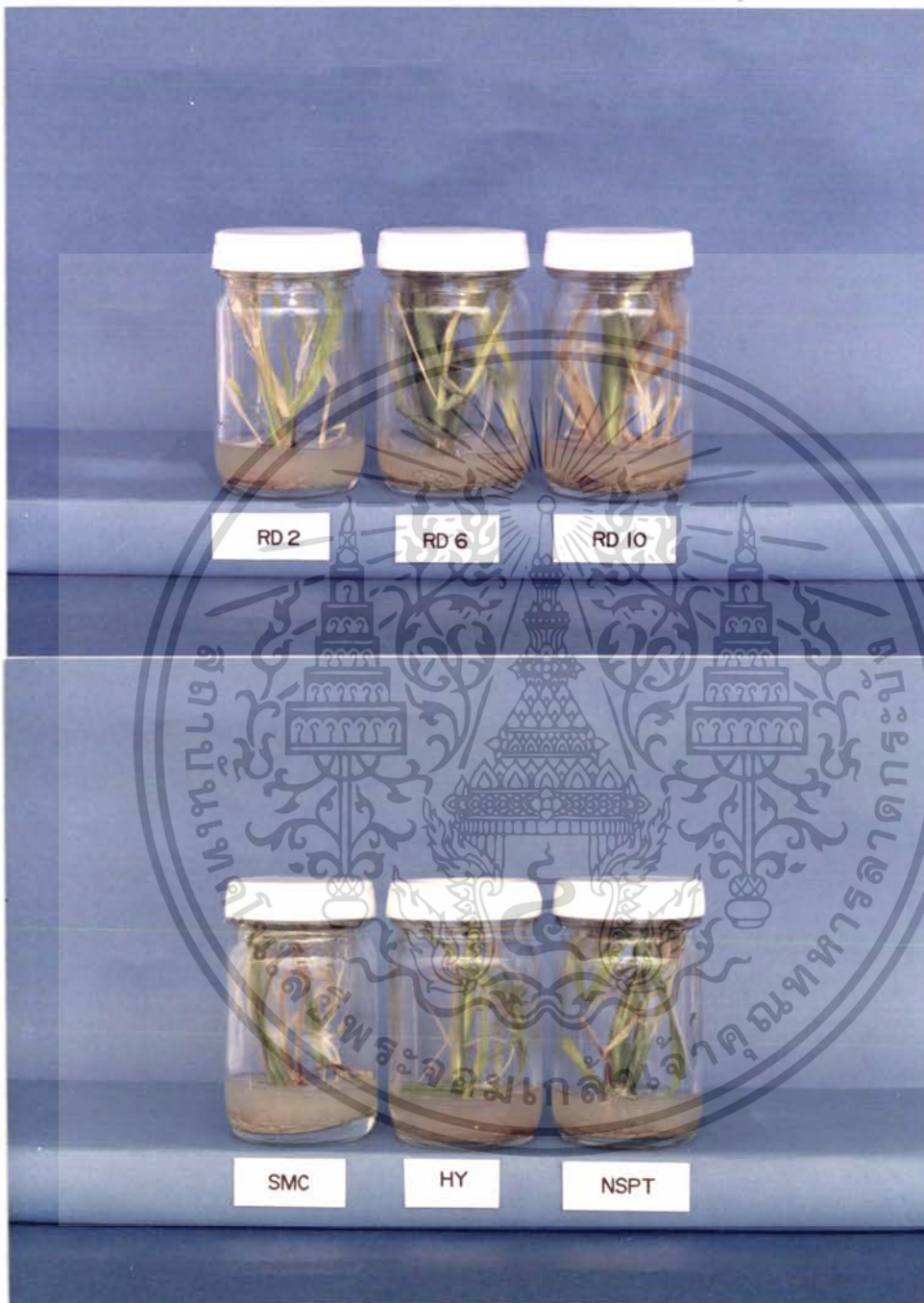
ตารางที่ 6 (ต่อ)

ตารางที่ 6ข) ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของจำนวนยอดใน 6 ทรีเมนต์

แหล่งของความแปรปรวน	degree of freedom	Sum of Squares	Mean Squares	Fratios
Treatment (พันธุ์)	5	1532.93	306.586	4.14**
Error	54	3999.00	74.056	
Total	59	5531.93		

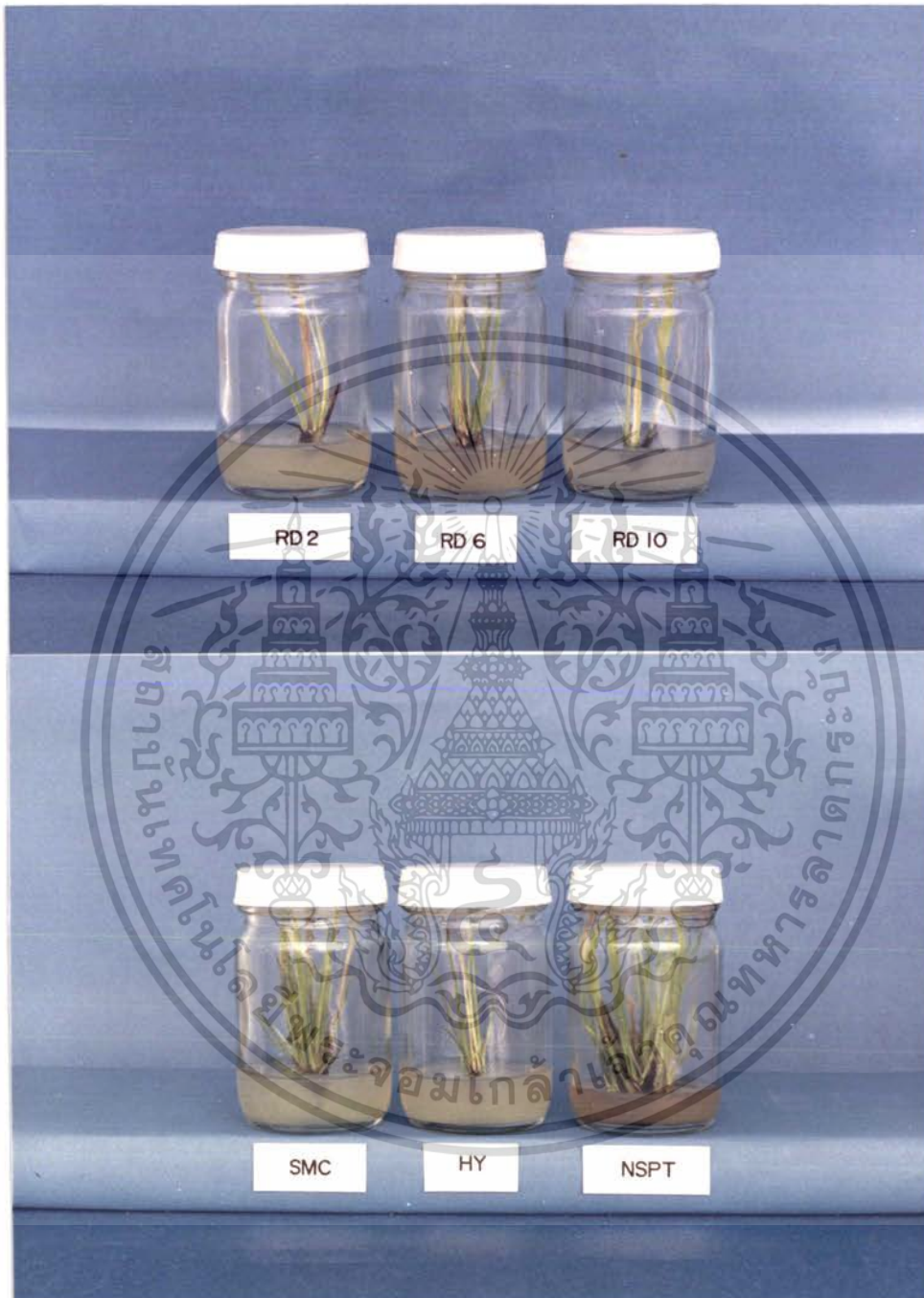
เครื่องหมาย ** หมายถึง มีนัยสำคัญระดับ 0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 แสดงต้นข้าวที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และไมใส่ BAP และ GA₃ (ภาพถ่ายที่ระยะ 75 วัน)

RD 2 = กช. 2 RD 6 = กช. 6 RD 10 = กช. 10
 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 SMC = ข้าแม่จัน HY = หางยี่ 71 NSPT = เหนียวสันป่าตอง
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 แสดงยอดหลายยอด ที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP 10 มก./ล. ร่วมกับ GA_3 5 มก./ล. (ภาพถ่ายที่ระยะ 75 วัน)

RD 2 = กช. 2

RD 6 = กช. 6

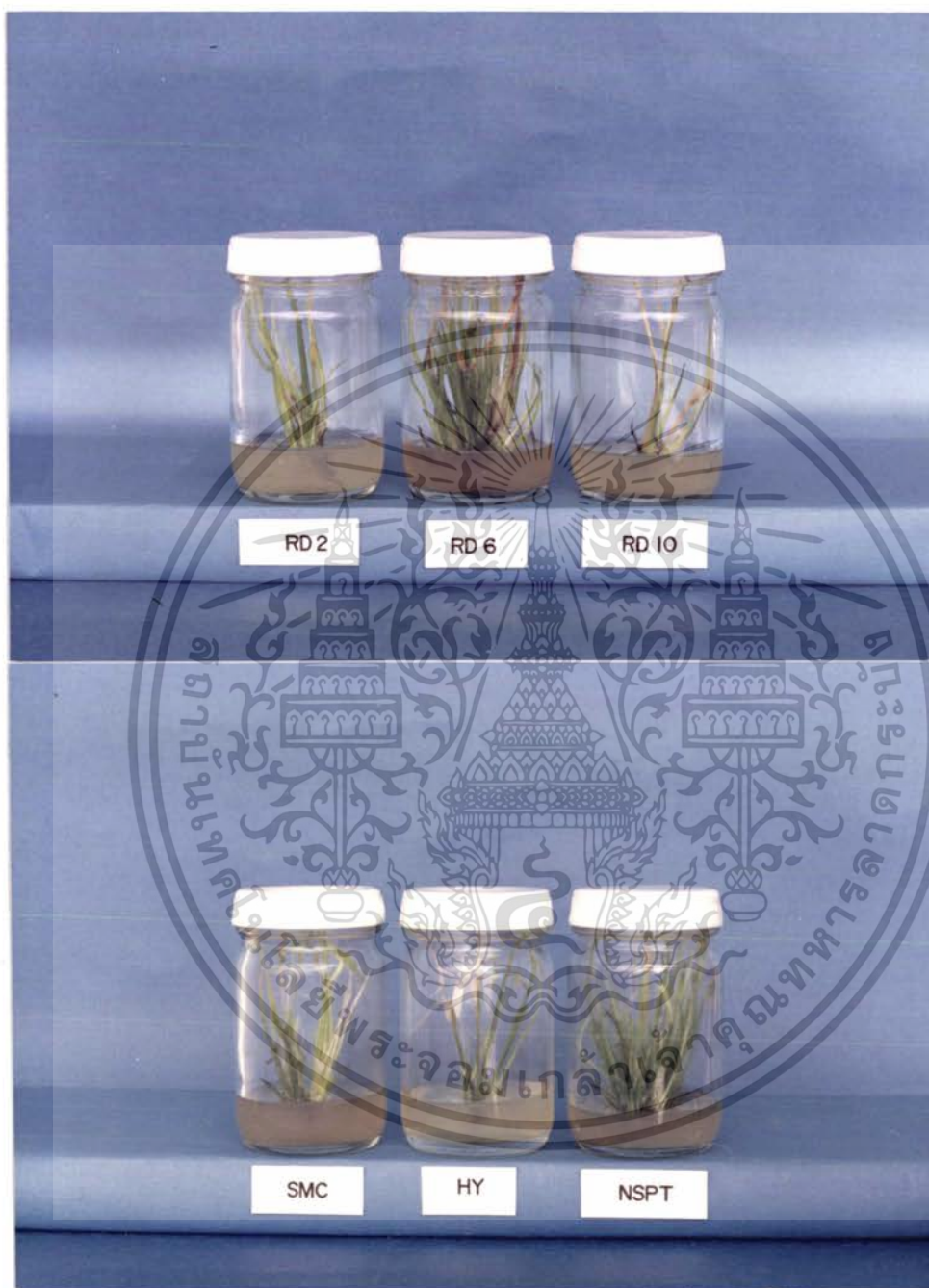
RD 10 = กช. 10

SMC = ข้าวแม่จัน

HY = ทางยี่ 71

NSPT = เหนียวสันป่าตอง

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 แสดงยอดหลายยอด ที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP 15 มก./ล. ร่วมกับ GA_3 5 มก./ล. (ภาพถ่ายที่ระยะ 75 วัน)

RD 2 = กช. 2

RD 6 = กช. 6

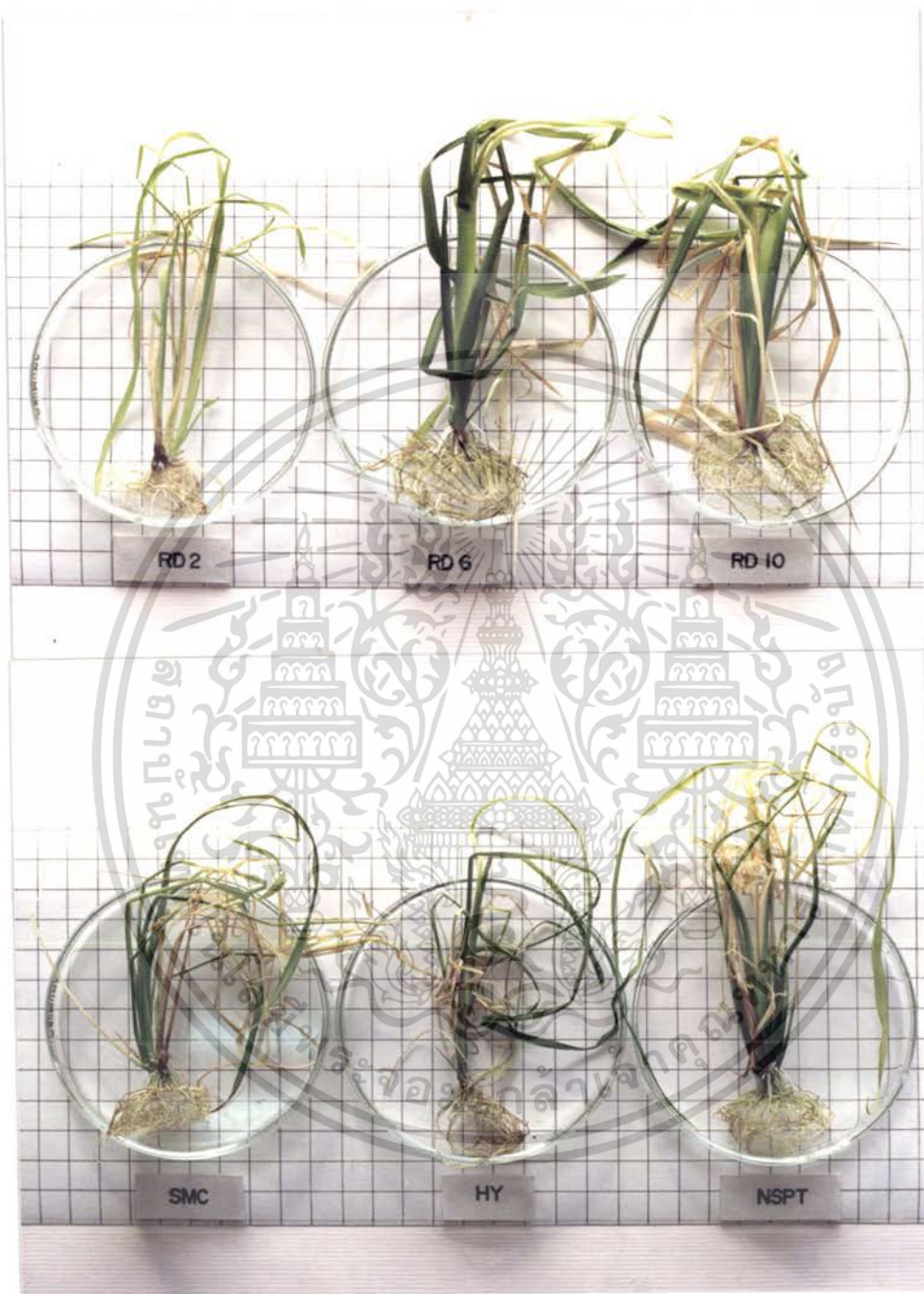
RD 10 = กช. 10

SMC = ข้าวแม่จัน

HY = หางย 71

NSPT = เหนียวสันป่าตอง

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ช่องสี่เหลี่ยมที่แสดงในภาพมีขนาด 1x1 เซนติเมตร

ภาพที่ 8 แสดงต้นข้าวที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และไมโส BAP และ GA_3 (นำออกจากขวดที่ระยะ 75 วัน)

RD 2 = กช. 2

RD 6 = กช. 6

RD 10 = กช. 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

SMC = ซีนแมจัน

HY = หางย 71

NSPT = เหนียวสีน้ำตาล

ไมวากรณ์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ช่องสี่เหลี่ยมที่แสดงในภาพมีขนาด 1x1 เซนติเมตร

ภาพที่ 9 แสดงยอดหลายยอด ที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP 10 มก./ล. ร่วมกับ GA_3 5 มก./ล. (นำออกจากขวดที่ระยะ 75 วัน)

RD 2 = กช. 2

RD 6 = กช. 6

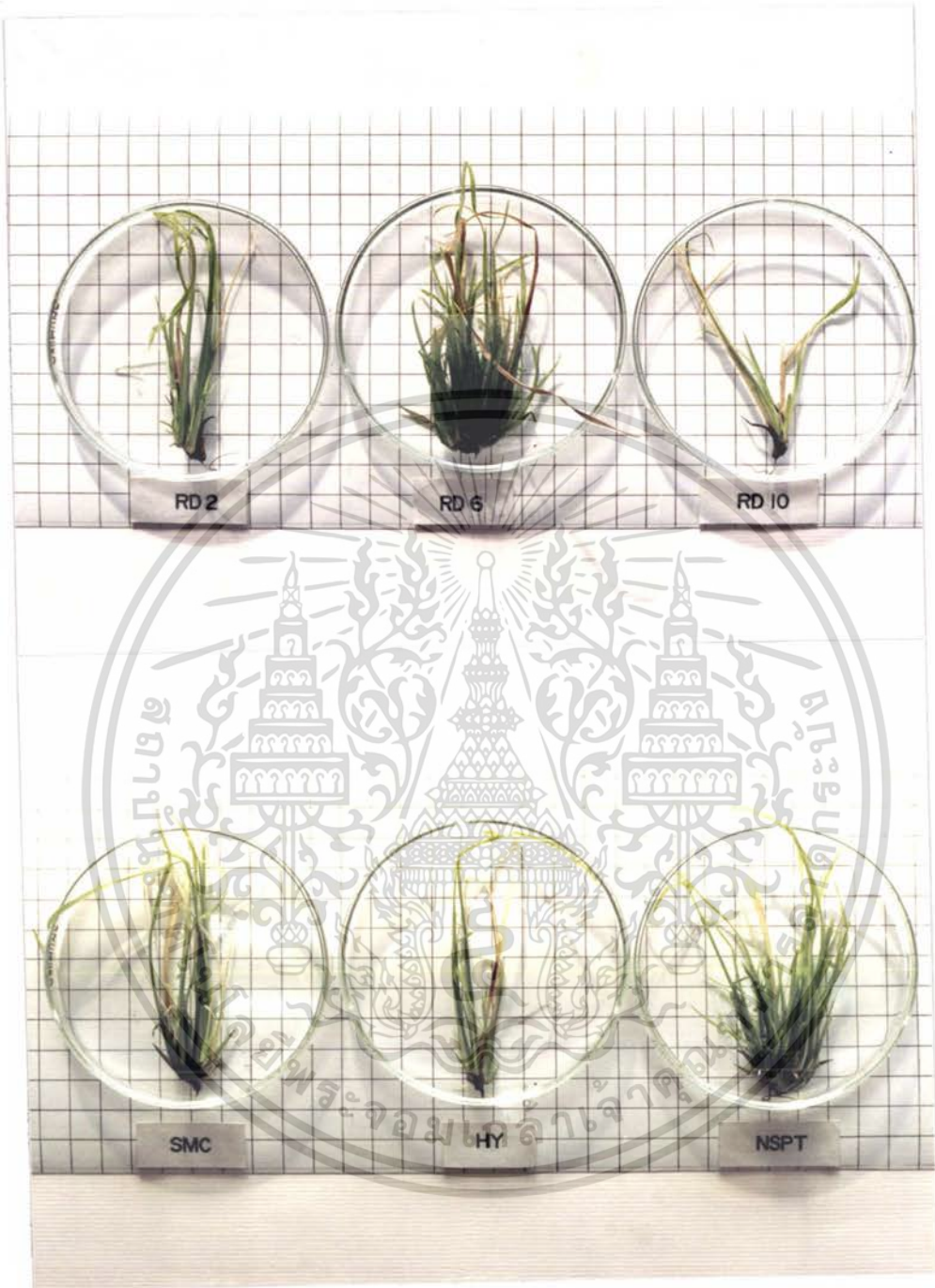
RD 10 = กช. 10

SMC = ชิวแม่จัน

HY = หางยี่ 71

NSPT = เพ็ญวสันป่าตอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ห้องสี่เหลี่ยมที่แสดงในภาพมีขนาด 1×1 เซนติเมตร

ภาพที่ 10 แสดงยอดหลายยอด ที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP 15 มก./ล. ร่วมกับ GA_3 5 มก./ล. (นำออกจากขวดที่ระยะ 75 วัน)

RD 2 = กช. 2

RD 6 = กช. 6

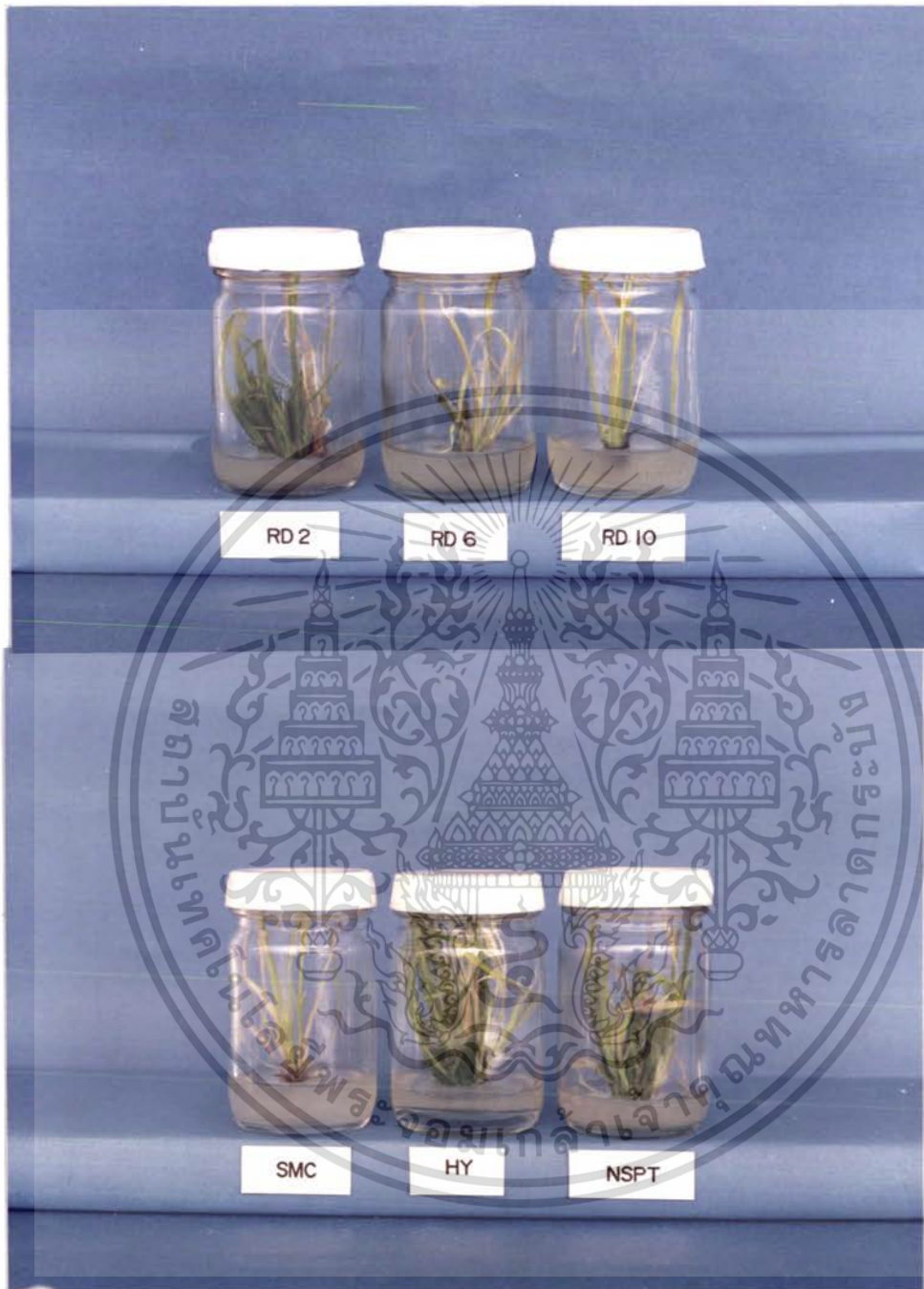
RD 10 = กช. 10

SMC = ข้าวแม่จัน

HY = ทางยี่ 71

NSPT = เหนียวสันป่าตอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 11 แสดงยอดหลายยอด ที่เกิดจากการนำเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ มาเพาะในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ ที่เติม BAP 5 มก./ล. (ไม่ใส่น้ำมะพร้าวและ GA_3) (ภาพถ่ายที่ระยะ 90 วัน)

RD 2 = กช. 2

RD 6 = กช. 6

RD 10 = กช. 10

SMC = ข้าวแม่จัน

HY = หางยี่ 71

NSPT = เจริญสันป่าดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์

การทดลองนี้เป็นการนำส่วนของเมล็ด ซึ่งมีเอมบริโอที่เจริญเต็มที่แล้ว (mature embryo) มาเลี้ยงในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ (1986) ซึ่งใส่สารกระตุ้นการเจริญเติบโต ในลักษณะต่างๆ สารที่ใส่ในการทดลองทั้ง 2 ตอน คือ BAP เป็นสารในกลุ่มไซโตไคนิน จึงทำให้สมดุข์ของออกซิน : ไซโตไคนิน ในเนื้อเยื่อข้าวเปลี่ยนไปจากเดิม คือ ทำให้ ออกซิน : ไซโตไคนิน มีค่าต่ำลง เนื้อเยื่อของข้าวจึงพัฒนาเกิดเป็นยอด และลดการเจริญของราก (Skoog และ Miller, 1975 ; สัมพันธ์ , 2526) ซึ่งถ้าใช้ความเข้มข้นสูงจะยับยั้งการเกิดราก (Hussey, 1976 ; Murashige, 1974) ดังนั้นรากแรก (primary root) ที่งอกออกมาจึงสลายไป (ภาพที่ 8, 9, 10) นอกจากนี้ยังอาจเป็นปฏิกริยาร่วมของ GA₃ ซึ่งจับเบอเรียลลินสามารถยับยั้งการเกิดรากในพืชบางชนิดได้ เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีแสง (Murashige, 1974)

สำหรับเปอร์เซ็นต์การงอกของพันธุ์ข้าวแม่จัน ในการทดลองที่ 1 มีค่าน้อยมาก อาจเกิดจากสาเหตุของการพอกฆ่าเชื้อ คือ ใช้ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ และ/หรือ เวลาที่ใช้มากเกินไป เอ็มบริโอจึงถูกทำลายไปเสียส่วนใหญ่

ยอดแรกที่งอกขึ้นมาในอาหารที่ใส่สารกระตุ้นการเจริญเติบโต ลำต้นมีขนาดเล็กและพอมไม้ค่อขลิบ ใบและกาบใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ซึ่งเกิดปรากฏการณ์ดังกล่าวในการทดลองทั้งสองตอน จึงควรเกิดจากอิทธิพลของ BAP ซึ่งมีผลต่อสรีระของพืช ในระหว่างที่พืชกำลังปรับสมดุข์ของฮอร์โมนในเนื้อเยื่อ แต่ทั้งนี้ยังไม่พบหลักฐานทางวิชาการอย่างแน่ชัด สำหรับปมที่พบบริเวณโคนต้นเป็นส่วนที่มีเนื้อเยื่อเจริญ (meristematic tissue) ที่มตาใหม่ (adventitious buds) เกิดขึ้น และเป็นจุดกำเนิดของยอดใหม่ (adventitious shoots) คล้ายกับการเกิดยอดหลายยอดในพืชอื่น (Oka และคณะ, 1981 ; Hisajima และคณะ, 1986) ซึ่งจากการทดลองควรเกิดตาใหม่จำนวนมากในระยะ 30 วันขึ้นไป และเจริญเป็นยอดใหม่ขึ้นมา โดยเกิดมากที่ระยะ 60 ถึง 70 วัน ในการทดลองตอนที่ 1 และที่ระยะ 75 ถึง 90 วัน ในการทดลองตอนที่ 2 สาเหตุที่การเกิดยอดหลายยอดในการทดลองตอนที่ 1 เร็วกว่า การทดลองตอนที่ 2 อาจเป็นเพราะ ในตอนที่ 1 ใช้ BAP ความเข้มข้นสูงกว่า นอกจากนี้ยังใส่ GA₃ และน้ำมะพร้าวซึ่ง Bhojwani และ Razdan (1983) รายงานว่า ไม่มี BAP ความเข้มข้นเท่าใดก็ตาม ถ้ามี GA₃ ความเข้มข้น เหมาะจะเกิดยอดหลายยอดขึ้นได้

นอกจากนี้ในน้ำมะพร้าว ยังมีสารประเภทไซโตไคนิน (Bidwell ,1979) และธาตุอาหารอีกหลายอย่าง จึงช่วยในการเจริญเติบโตของเนื้อเชื้อ (สัมพันธ ,2526)

พันธุ์ข้าวแต่ละพันธุ์จะตอบสนองต่อสูตรอาหารสูตรเดียวกันได้ไม่เท่ากัน (ตารางที่ 3ก , 6ก , ภาพที่ 5 , 6 , 7 , 11) และในพันธุ์เดียวกันยังพบว่า การเพิ่มขึ้นของสารกระตุ้นการเจริญเติบโต อาจไม่ทำให้จำนวนยอดเฉลี่ยเพิ่มขึ้น หรือเพิ่มขึ้นในปริมาณน้อย (ตารางที่ 3ก , ภาพที่ 4 , 5 , 6 , 7) ซึ่งเป็นลักษณะทางพันธุกรรมของแต่ละพันธุ์ อันทำให้เกิดปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์และสูตรอาหาร (ตารางที่ 3ข) นอกจากนี้ในข้าวพันธุ์เดียวกัน แต่ต่างเมล็ดกันยังมีความแปรปรวนในการตอบสนองต่อสูตรอาหารสูตรเดียวกัน ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแปรปรวนทางพันธุกรรมในข้าวพันธุ์เดียวกัน จึงมีความคลาดเคลื่อน (error) เกิดขึ้นอย่างมาก ดังปรากฏในตาราง 3ข และ 6ข

จากภาพที่ 8 , 9 และ 10 จะเห็นได้ว่า ในสูตรอาหารที่ไม่ใส่ BAP และ GA₃ ต้นข้าวที่ระยะ 75 วัน มีลักษณะเหมือนกับการแตกหน่อ (tillering) ทั่วไป ซึ่งจะเริ่มแตกหน่อ เมื่อข้าวมีอายุ 40 วัน (ประवास ,2517) แต่ในอาหารสูตรที่ใส่ BAP ร่วมกับ GA₃ ลักษณะของยอดที่เกิดขึ้น ไม่เหมือนกับการแตกหน่อ กล่าวคือ เกิดยอดขึ้นจำนวนมากในเวลาสั้น ในขณะที่การแตกหน่อหน่อชุดที่สองจะเกิดขึ้นเมื่อหน่อชุดแรกเจริญเติบโตเต็มที่ และหน่อชุดต่อไปจะเกิดขึ้นเมื่อหน่อชุดที่สองเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว

ในการทดลองตอนที่ 1 ขวดอาหารที่มียอดเกิดขึ้นจำนวนมาก พบว่า อาหารมีสีเข้มกว่าขวดที่มีจำนวนยอดน้อย สันนิษฐานว่าเกิดจากการที่ข้าวปลดปล่อยสารอินทรีย์ออกมา แต่ยังไม่พบหลักฐานทางวิชาการที่แน่ชัด เกี่ยวกับกลไกที่ทำให้เกิดสารอินทรีย์ดังกล่าว แต่ทั้งนี้ไม่พบปรากฏการณ์ดังกล่าวในการทดลองตอนที่ 2 ซึ่งไม่ใส่ GA₃ และน้ำมะพร้าว ดังนั้นในการทดลองตอนที่ 1 จึงควรเป็นปฏิกริยาร่วมของทั้ง BAP , GA₃ และน้ำมะพร้าว ซึ่งน่าจะมีการศึกษาความสัมพันธ์ของสารทั้ง 3 ชนิด ในการชักนำให้เกิดยอดหลายยอด

สรุป

จากการนำเมล็ดข้าวเหนียว 6 พันธุ์ มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรของ Hisajima และ คณะ (1986) ที่ใส่สารกระตุ้นการเจริญเติบโต พบว่ารากแรก (Primary root) ที่งอกออกมาจะตายไป ใบและกาบใบจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง การเกิดยอดหลายยอดจะมากที่ระยะ 75 วัน ในอาหารสูตรที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP ความเข้มข้น 10 , 15 มก./ล. ร่วมกับ GA₃ ความเข้มข้น 5 มก./ล. ;ที่ระยะ 90 วัน ในอาหารสูตรที่ใส่ BAP ความเข้มข้น 5 มก./ล. (ไม่ใส่ GA₃ และน้ำมะพร้าว)

การทดลองตอนที่ 1 พบว่า

ในอาหารสูตรที่ใส่น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เกิดยอดจำนวนน้อย พันธุ์ที่มีแนวโน้มจะให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูง คือ เทียนวสันปาดอง และ กข.2 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.6 และ 3.4 ยอดตามลำดับ

ในอาหารสูตรที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP ความเข้มข้น 10 มก./ล. ร่วมกับ GA₃ ความเข้มข้น 5 มก./ล. เกิดยอดจำนวนมาก พันธุ์ที่มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด คือ เทียนวสันปาดอง รองลงมาเป็นข้าวแม่จัน และ กข.6 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 22.7 , 17.8 และ 9.3 ยอด โดยทั้งสามพันธุ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมากกว่าพันธุ์ กข.2 , หางยี่ 71 และ กข.10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในอาหารสูตรที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และใส่ BAP ความเข้มข้น 15 มก./ล. ร่วมกับ GA₃ ความเข้มข้น 5 มก./ล. พันธุ์ที่มีจำนวนยอดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นจากสูตรอาหารอื่นทุกพันธุ์ ยกเว้นพันธุ์ข้าวแม่จัน พันธุ์ที่มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด คือ กข.6 และเทียนวสันปาดอง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 26.2 และ 24.4 ยอดตามลำดับ มากกว่าพันธุ์ข้าวแม่จัน ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 16.3 ยอดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พันธุ์ กข.6 จะตอบสนองต่ออาหารสูตรนี้ได้ดีมาก

การทดลองตอนที่ 2 พบว่า

ในอาหารสูตรที่ใส่เฉพาะ BAP ความเข้มข้น 5 มก./ล. (ไม่ใส่ GA₃ และน้ำมะพร้าว) พันธุ์ที่มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูง คือ กข.2 และ เทียนวสันปาดอง ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 18.9 และ

18.4 ตามลำดับ มีแนวโน้มที่จะมากกว่า พันธุ์ทางอี 71 ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 11.3 ยอด มากกว่าพันธุ์ กข.6 , ชิวแม่จัน และ กข.10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ยอดที่เกิดจากอาหารสูตรที่ใส่น้ำมะพร้าว และ BAP ร่วมกับ GA_3 จะสมบูรณ์กว่า ที่เกิดจากอาหารสูตรที่ใส่เฉพาะ BAP



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- กองการข้าว. 2520. การขยายพันธุ์ข้าว. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 75 น.
- กองการข้าว. 2532. ข้าวพันธุ์ดีที่ทางราชการแนะนำให้ใช้ทำพันธุ์. กรมวิชาการเกษตร (เอกสารโรเนียว), กรุงเทพฯ. 16 น.
- กองเกษตรสัมพันธ์. 2528. ข้าวพันธุ์ กข.10. เอกสารคำแนะนำ, กรมส่งเสริมการเกษตร, กรุงเทพฯ. 4 น.
- ทรงเช่าวี อินสัมพันธุ์. 2531. พันธุ์ไร่ว้าคัญทางเศรษฐกิจ เล่ม 1. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 281 น.
- ประภาส วีระแพทย์. 2517. ความรู้เรื่องข้าว. สาขาคัดพันธุ์ด้านทานศัตรูข้าว กองการข้าว กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 71 น.
- พีรเดช ทองอำไพ. 2529. ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. หจก. ไดนามิคการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 196 น.
- ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา. 2524. หลักและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. กรุงเทพฯ. 109 น.
- มนตรี เพ็ชรทองคำ. 2530. สรีรวิทยาของพืช. มหาวิทยาลัยรามคำแหง, กรุงเทพฯ. 557 น.
- วัชรินทร์ บุญวัฒน์. 2525. พันธุ์เศรษฐกิจ เล่ม 1. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 287 น.
- สมศักดิ์ อภิสถิธาวิเศษ. 2531. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุภาพร วัฒนวีระเดช. 2530. ผลของออกซิเจนและโซเดียมต่อการเปลี่ยนแปลงจากแคลลัสข้าวไปเป็นต้นใหม่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- สุรพันธ์ สุภัทรพันธุ์. ไม่ปรากฏปีตีพิมพ์. โครงการตำราชาวบ้าน ฮอร์โมน การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในทางการเกษตร. สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 129 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

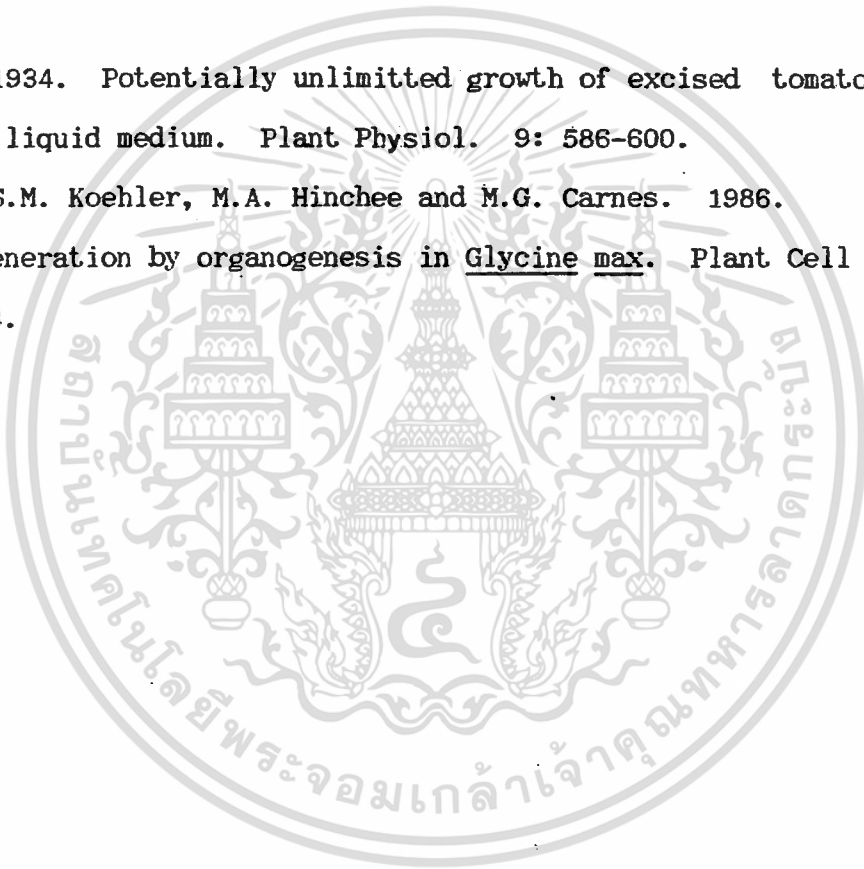
- สุรพล ชุมภักดิ์. 2531. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อละหุ่ง. รายงานผลงานวิจัยในการประชุมทางวิชาการ, สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สัมพันธ์ คัมภีรานนท์. 2526. ฮอร์โมนพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 147 น.
- เสียงใส นิธิพนท, เขาวนุช หงษ์รานนท์และปราโมทย์ เกิดศิริ. 2525. ศึกษาการเจริญและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเนื้อเยื่อของพืชตระกูลส้ม. รายงานผลการค้นคว้าวิจัยปี 2525. กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. น.117.
- อรดี สหวัชรินทร์. 2522. ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทางด้านการเกษตร. วารสารพืชสวน 14(4):35-43.
- อรดี สหวัชรินทร์. 2523. การเพาะเลี้ยงอวัยวะของพืช 1. การเพาะเลี้ยงราก. วารสารพืชสวน 15(3):31-37.
- อรดี สหวัชรินทร์และปาริชาติ นกุลการ. 2526. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย. รายงานประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 21 สาขาพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 704 น.
- อภิชาติ เถาว์โทและ เสริมศักดิ์ อวระกุล. 2526. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการปลูกข้าว. ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพฯ. 321 น. แปลจาก เวททารา, เบนโต เอส. 1979. A farmer's primer on growing rice. IRRI, Philippines.
- Bapot, V.A. and P.S.Rao. 1979. Somatic embryogenesis and plantlet formation in tissue cultures of sandalwood (Santalum album L.). Ann.Bot. 44 : 629-630.
- Bidwell, R.G.S. 1979. Plant Physiology. Macmillan Pub. New York. 726 p.
- Bhojwani, S.S and M.K.Razdan. 1983. Plant Tissue Culture Theory and Practice. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam. 502 p.
- Cheng, T.Y., H.Saka and T.H. Voqui-dinh. 1980. Plant regeneration from soybean cotyledonary node segments in culture. Plant Sci. Lett. 19: 91-99.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Engelke, A.L., H.Q-Hamzi and F.Skoog. 1973. Cytokinin-gibberellin regulation of shoot development and leaf form in tobacco plantlets. *Amer. J. Bot.* 60(6): 491-495.
- Grist, D.H. 1975. Longman Inc. New York. 601 p.
- Harris, P.J.C., Grove, C.G. and Havard, A.J. 1989. In vitro propagation of *Symphytum* Species. *Scientia Hortic.* 40: 275-281.
- Helgeson, J.P. 1968. The cytokinins. *Science* 161: 974-981.
- Hisajima, S., Y. Arai and K. Ishizuka. 1986. Microplant propagation through multiple shoot formation from seeds, embryos and excised single shoots, pp. 123-126. In B. Napom peth and S. Suphadrabandhu (eds.). *New Frontiers in Breeding Research*. Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok.
- Hussey, G. 1976. In vitro release of axillary shoots from apical dominance in monocotyledonous plantlets. *Ann. Bot.* 40: 1323-1325
- Jones, R.L. 1973. Gibberellins : Their physiological role. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 24: 571-598.
- Kerns, H.R., U.B. Barwale, M.M. Meyer, Ir. and J.M. Widholm. 1986. Correlation of cotyledonary node shoot proliferation and somatic embryoid development in suspension cultures of soybean (Glycine max.L. Merr.). *Plant Cell Rep.* 5: 140-143.
- Leopold, A.C. and P.E. Kriedemann. 1975. *Plant Growth and Development*. McGraw-Hill, Inc., New York .545 p.
- Letham, D.S., J.S. Shannon and I.R. McDonald. 1964. The Sturcture of zeatin, a factor inducing cell division. *Proc. Chem. Soc.* 1964: 230.
- Miller, C.O. 1961. Kinetin and related compounds in plant growth. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 12: 395-408.

- Miller, C.O. 1968. Naturally-occurring cytokinins, pp 33-45.
 In F. Wightman and G. Setterfield (eds.) Biochemistry and Physiology of Plant Growth Substances. Runge Press, Ottawa.
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue culture. Annu. Rev. Plant Physiol. 25: 135-166.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assay with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- Oka, S. and K. Ohyama. 1981. In vitro initiation of adventitious buds and its modification by high concentration of benzyladenine in leaf tissue of mulberry (Morus alba). Can. J. Bot. 59: 68-74.
- Onofeghara, F.A. 1973. The effect of photoperiod and coconut milk on the growth of embryos of Tapinanthus bangwensis in culture Ann. Bot. 37: 77-84.
- Oswald, T.H., A.E. Smith and D.V. Phillips. 1977. Callus and plantlet regeneration from cell cultures of ladino clover and soybean. Physiol. Plant. 39: 129-134.
- Phillips, I.D.J. 1971. Introduction to Biochemistry and Physiology of Plant growth hormones. by Mc.Graw-Hill book company, U.S.A. 173 p.
- Rao, P.S. and bapat, V.A. 1978. Vegetative propagation of sadalwood plants through tissue culture. Can. J. Bot. 56: 1153-1156.
- Robbins, W.J. 1922. Cultivation of excised root tips and stem tips under sterile conditions. Bot. Gaz.
- Saka, H., T.H. Voqui-dinh and T.Y. Cheng. 1980. Stimulation of multiple shoot formation on soybean stem nodes in culture. Plant Sci. Lett. 19: 193-201.

- Sara, V.A. and T. Eriksson. 1981. In vitro studies of adventitious shoot formation in Pinus cortorta Can. J. Bot. 59: 870-874.
- Skoog, F. and C.D. Miller 1957. Chemical regeneration of growth and organ formation in plant tissue culture in vitro. Symp. Soc. Exp. Biol. 11: 118-131.
- Watson, M.L. and Robert, E.C. 1967. Papers on Plant Growth and Development, by Little Brown and company (INC.), U.S.A (Boston). 479 p.
- White, P.R. 1934. Potentially unlimited growth of excised tomato root tips in a liquid medium. Plant Physiol. 9: 586-600.
- Wright, M.S., S.M. Koehler, M.A. Hinchee and M.G. Carnes. 1986. Plant regeneration by organogenesis in Glycine max. Plant Cell Rep. 5: 150-154.



ตารางผนวกที่ 1 องค์ประกอบสูตรอาหารของ Hisajima และคณะ (1986)

องค์ประกอบ **มก./ล.**

ธาตุอาหารหลัก

$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440.0
KH_2PO_4	170.0
KNO_3	1,900.0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370.0
NH_4NO_3	1,600.0

ธาตุอาหารรอง

$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.05
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.05
H_3BO_3	12.4
KI	1.7
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	33.8
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.5
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	21.0
$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	18.0
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	15.0

สารประกอบอินทรีย์

Myo-inositol	500.0
thiamin.HCL	5.0
Sucrose	30,000.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบ

pH

6.8



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2

จำนวนยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ ในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ (1986) ที่เติมน้ำมะพร้าวและใส่สารกระตุ้นการเจริญเติบโต ใน 3 ลักษณะ

สูตรอาหาร - (ซ้ำที่)	พันธุ์								
	กข.2			กข.6			กข.10		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	3	8	4	1	13	47	1	1	5
2	1	2	14	1	7	15	2	3	15
3	4	5	8	1	10	13	1	1	12
4	3	10	7	2	18	16	1	4	3
5	1	25	5	1	5	17	1	3	9
6	3	7	8	2	3	15	2	2	2
7	3	5	8	2	12	26	2	1	4
8	6	2	10	1	6	72	1	2	3
9	6	5	12	2	8	10	1	3	1
10	4	3	27	2	11	31	1	2	2

1 = สูตรอาหารของ Hisajima + น้ำมะพร้าว 15 %

2 = สูตรอาหารของ Hisajima + น้ำมะพร้าว 15 % + BAP 10 มก./ล. + GA₃ 5 มก./ล.

3 = สูตรอาหารของ Hisajima + น้ำมะพร้าว 15 % + BAP 15 มก./ล. + GA₃ 5 มก./ล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2(ต่อ) จำนวนยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ ในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ (1986) ที่เติมน้ำมะพร้าวและใส่สารกระตุ้นการเจริญเติบโต ใน 3 ลักษณะ

สูตรอาหาร (ซ้ำที่)	พันธุ์								
	ชีวแม่จัน			หางยี 71			เทียวสันป่าตอง		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	3	28	21	1	5	3	2	27	22
2	2	13	6	2	2	9	1	47	40
3	2	16	29	2	6	7	5	23	16
4	1	25	13	1	2	9	7	14	49
5	1	21	14	1	5	17	4	8	18
6	1	12	17	1	4	6	3	22	16
7	1	6	15	1	5	12	6	8	12
8	2	25	22	2	6	5	3	27	15
9	2	18	14	2	2	8	2	34	24
10	1	14	12	1	9	7	5	17	32

1 = สูตรอาหารของ Hisajima + น้ำมะพร้าว 15 %

2 = สูตรอาหารของ Hisajima + น้ำมะพร้าว 15 % + BAP 10 มก./ล. + GA₃ 5 มก./ล.

3 = สูตรอาหารของ Hisajima + น้ำมะพร้าว 15 % + BAP 15 มก./ล. + GA₃ 5 มก./ล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 จำนวนยอดที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ ในอาหารสูตรของ Hisajima และคณะ (1986) ที่เติม BAP 5 มก./ล.

ซ้ำที่	พันธุ์					
	กข.2	กข.6	กข.10	ชีวแม่จัน	หางยี 71	เหนียวสันป่าตอง
1	18	30	2	7	4	39
2	6	14	12	6	46	6
3	25	10	6	2	6	22
4	11	8	7	3	12	26
5	33	4	8	11	6	17
6	25	4	2	5	12	21
7	24	2	10	9	2	31
8	15	7	6	12	7	6
9	13	13	5	5	8	11
10	19	10	2	10	10	5



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้