ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและกรดอะมิโนต่อการชักนำแคลลัส และการสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงปลายยอด ของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง

Effects of Plant Growth Regulators and Amino Acids on Callus Induction and Multiple Shoot Formation from Shoot Apex of *Sang Yod Muang Phatthalung* Rice

ปรมาภรณ์ น้อยมุสิก

Paramaporn Noimusik

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Plant Science
Prince of Songkla University
2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและกรดอะมิโนต่อการชักนำแคลลัส และการสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงปลายยอด ของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง

Effects of Plant Growth Regulators and Amino Acids on Callus Induction and Multiple Shoot Formation from Shoot Apex of *Sang Yod Muang Phatthalung* Rice

ปรมาภรณ์ น้อยมุสิก

Paramaporn Noimusik

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Plant Science
Prince of Songkla University
2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและกรดอะมิโนต่อการชักนำแคลลัสและการสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงปลายยอดของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง

ผู้เขียน นางสาวปรมาภรณ์ น้อยมุสิก

สาขาวิชา พืชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(ศาสตราจารย์ ดร. สมปอง เตชะโต)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(ดร. สุรีรัตน์ เย็นช้อน)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรุณี ม่วงแก้วงาม)

.....กรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร. สมปอง เตชะโต)

.....กรรมการ

(ดร. สุรีรัตน์ เย็นช้อน)

.....กรรมการ

(ดร. ทัศนี ขาวเนียม)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

.....

(ศาสตราจารย์ ดร. ดำรงศักดิ์ ฟ้ารุ่งสาง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษา และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....
(ศาสตราจารย์ ดร. สมปอง เตชะโต)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....
(นางสาวปรมาภรณ์ น้อยมุสิก)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อนและไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....
(นางสาวปรมาภรณ์ น้อยมุสิก)
นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและกรดอะมิโนต่อการชักนำแคลลัสและการสร้างยอดรวมจากการเพาะเลี้ยงปลายยอดของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง

ผู้เขียน นางสาวปรมาภรณ์ น้อยมุสิก

สาขาวิชา พืชศาสตร์

ปีการศึกษา 2561

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต กรดอะมิโน ชิ้นส่วนเมล็ด และชิ้นส่วนใบต่อการงอก การสร้างแคลลัส การพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ ตลอดจนการอนุบาลออกปลูกของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร oil palm culture medium (OPCM) ไม่เติมหรือเติม dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) หรือ 3,6-dichloro-2-methoxybenzoic-acid (dicamba) ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า ชิ้นส่วนของคัพภะแก่ ประกอบด้วย เอ็นโดสเปิร์มร่วมกับเอ็มบริโอบนอาหารเติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน ให้อัตราการงอกสูงสุด 84-96 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ในการงอกน้อยสุด 4.59-4.72 วัน หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน ให้อัตราการเกิดแคลลัสสูงสุด 88.00-90.00 เปอร์เซ็นต์ และขนาดของแคลลัสสูงสุด 24.65-28.80 ตารางมิลลิเมตร แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) กับสิ่งทดลองอื่น ๆ แคลลัสที่ได้มีสีเหลืองอ่อน เกาะกันหลวมๆ นอกจากนี้ พบว่า ชิ้นส่วน โคนใบ บนอาหารเติม Dicamba เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน ให้อัตราการเกิดแคลลัสสูงสุด 20 เปอร์เซ็นต์ และเกิดสีน้ำตาลน้อยสุด 93.30 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นมีการย้ายแคลลัสที่ได้จากคัพภะแก่มาเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมเติม Glycine เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ขนาดแคลลัสเพิ่มขึ้นดีสุด 13.68 ตารางมิลลิเมตร และแคลลัสไม่เกิดสีน้ำตาล เมื่อย้ายยอดหรือกลุ่มยอดที่เกิดร่วมกับแคลลัสมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรเดิมเติม 6-Benzyladenine (BA) เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 16.25 ยอด ความยาวใบเฉลี่ยสูงสุด 17.10 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 92.50 ราก ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 8.18 เซนติเมตร แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) กับ BA และ NAA ความเข้มข้นอื่น เมื่ออนุบาลพืชต้นใหม่ที่ได้จาก BA เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพแปลงทดลองที่ระยะเวลา 150 วัน ให้ความสูงต้นเฉลี่ย 167.40 เซนติเมตร จำนวนต้นเฉลี่ย 16.50 ต้นต่อกอ จำนวนรวงเฉลี่ย 16.50 รวง ความยาวรวงเฉลี่ย 23.50 เซนติเมตร ความยาวข้าวเปลือกเฉลี่ย 9.76 มิลลิเมตร ความกว้าง

ข้าวเปลือกเฉลี่ย 2.25 มิลลิเมตร ความยาวข้าวกล้อง เฉลี่ย 7.20 มิลลิเมตร ความกว้างข้าวกล้องเฉลี่ย 2.00 มิลลิเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 100 เมล็ด 1.64 กรัม จำนวนเมล็ดต่อกอเฉลี่ย 1128.00 เมล็ด เมล็ดลีบเฉลี่ย 67.93 เปอร์เซ็นต์

Thesis Title Effects of Plant Growth Regulators and Amino Acids on Callus Induction and Multiple Shoot Formation from Shoot Apex of *Sang Yod Muang Phatthalung* Rice

Author Miss Paramaporn Noimusik

Major Program Plant Science

Academic Year 2018

Abstract

To study the effects of PGRs, amino acid, various explant types of seeds and leaves on seed germination, callus formation, plant regeneration and acclimatization of *Sang Yod Muang Phatthalung* rice. Mature seeds were culture on PGRs-free oil palm culture medium (OPCM) or OPCM medium with different concentrations of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) or 3,6-dichloro-2-methoxybenzoic-acid (dicamba). The results showed that mature seeds comprised of endosperm and embryo cultured on OPCM medium with 4 mg/L 2,4-D for 7 days gave the best results in seed germination at 84.00-96.00 percent, mean germination time (MGT) at 4.59-4.72 days and after culture for 30 days the most callus induction rate at 88.00-90.00 percent and average size of callus at 24.65-28.80 mm^2 were obtained significant different ($p \leq 0.01$) with the other treatments. The characteristics of callus were pale yellow in color and friable. Moreover, the results showed that basal part of leaf explant cultured on the same medium with 3 mg/L dicamba for 30 days gave the highest of callus induction at 20.00 percent and the lowest of browning at 93.30 percent. Whereas callus obtained from mature seeds transferred to the same medium with 2 mg/L glycine gave the best result of size of callus at 13.68 mm^2 and browning of callus was not found. Upon transferring shoot or shoot clump from callus to culture in OPCM liquid with 1 mg/L 6-Benzyladenine (BA) and 0.5 mg/L 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) for 30 days average number of shoots at 16.25 shoots, leaf length at 17.10 cm, number of roots at 92.50 roots and root length at 8.18 cm were obtained, significantly different ($p \leq 0.01$) with the another concentrations of BA and NAA. After acclimatization in field conditions for 150 days, the complete plantlets obtained from 1.5 mg/L BA gave the suitable results in average plant height at 167.40 cm, number of plants/pot at 16.50 plants, number of panicles at 16.50 panicles, panicle length at 23.50 cm, paddy length at

9.76 mm, paddy width at 2.50 mm, husked rice length at 7.20 mm, husked rice width at 2.00 mm, 100 grains weight at 1.64 g, number of seeds/hill at 1128.00 seeds and aborted or empty seeds at 67.93 percent.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. สมปอง เตชะโต อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์และ ดร. สุรีรัตน์ เย็นช้อน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมเป็นอย่างสูง ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำในการดำเนินชีวิต คอยให้คำปรึกษาการทำวิจัย การปฏิบัติงานทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การเก็บรวบรวมข้อมูล การตรวจสอบเนื้อหาและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรุณี ม่วงแก้วงาม ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ ดร. ทัศนี ขาวเนียม กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ด้วยความเอาใจใส่เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ นายสวัสดิ์ น้อยมุสิก บิดา นางวรรณี น้อยมุสิก มารดา และญาติพี่น้องทุกคน ที่คอยให้กำลังใจ คำปรึกษา และความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน คอยอบรมสั่งสอนตลอดจนช่วยเหลือในทุนการศึกษา และให้การสนับสนุนเป็นอย่างดีมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทั้งในภาควิชาพืชศาสตร์ และภาควิชาอื่น ๆ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ทุกท่าน ที่ได้กรุณาอบรมสั่งสอน ให้ความรู้ ทั้งทางด้านวิชาการและคุณธรรม ตลอดจนเจ้าหน้าที่ของภาควิชาพืชศาสตร์ทุกท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือทางด้านต่าง ๆ จนข้าพเจ้าสำเร็จการศึกษา

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ทุนสนับสนุนจากสถานวิจัยความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 2 คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์ ที่ให้การสนับสนุนทุนการศึกษาในการทำวิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพของพืชปลูก ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์ทุกคน ที่คอยให้ความช่วยเหลือ คอยตักเตือนเมื่อทำผิดพลาด และเป็นที่ปรึกษาทั้งด้านการทำวิจัยและดำเนินชีวิต จนข้าพเจ้าทำวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ปรมาภรณ์ น้อยมุสิก

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(7)
สารบัญ	(10)
รายการตาราง	(11)
รายการภาพประกอบ	(12)
สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ	(15)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	8
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	9
วัสดุ อุปกรณ์	9
วิธีการศึกษา	9
3. ผล	15
4. วิจารณ์	39
5. สรุป	46
เอกสารอ้างอิง	47
ภาคผนวก	52
ประวัติผู้เขียน	53

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ชนิดและความเข้มข้นของกรดอะมิโน	12
2	ผลของออกซิน ชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เติมในอาหารสูตร OPCM ต่อลักษณะของแคลลัส หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	18
3	ผลของชิ้นส่วนเมล็ดต่อลักษณะของแคลลัสบนสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	22
4	ผลของชิ้นส่วนใบ ชนิดและความเข้มข้นของออกซิน ต่อการสร้างแคลลัสและเกิดสีน้ำตาล บนสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	24
5	ผลของ BA และ NAA ความเข้มข้นที่ต่างกันต่อการเพิ่มปริมาณยอดและการสร้างราก หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	30
6	ผลของ BA และ NAA ความเข้มข้นที่ต่างกันต่อการความสูงต้น หลังจากย้ายปลูกเป็นเวลา 60 90 120 และ 150 วัน	34
7	ผลของ BA และ NAA ความเข้มข้นที่ต่างกันต่อจำนวนต้นต่อกอ หลังจากย้ายปลูกเป็นเวลา 60 90 120 และ 150 วัน	35
8	ผลของ BA และ NAA ความเข้มข้นที่ต่างกันต่อความยาวรวง ความยาวกว้างข้าวเปลือก และข้าวกล้อง น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนเมล็ดต่อกอ อัตราการเกิดเมล็ดลีบ และจำนวนรวง หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 150 วัน	38

สารบัญภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1	เมล็ดแก่ข้าวสังข์หยดพัทลุงอายุหลังจากเก็บเกี่ยว 3 ปี	9
2	เมล็ดข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง	10
3	การตัดแยกชิ้นส่วนใบ (ปลาย, กลาง และโคน) จากต้นกล้าที่เลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร OPCM ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน	11
4	ปลายยอดที่เกิดร่วมกับแคลลัสของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงที่ได้จากอาหารสูตร OPCM เติม Dicamba เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	13
5	ต้นกล้าย้ายปลูกจากผลของ BA และ NAA ที่ต่างกันบนอาหารสูตร OPCM	14
6	ตัวอย่างการครอบถุงเพื่อรักษาความชื้น จากอาหารสูตร OPCM เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร กับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากออกจากหลอดทดลอง เป็นเวลา 7 วัน	14
7	ผลของออกซินที่ต่างกันในอาหารสูตร OPCM ต่ออัตราการงอกของเมล็ดหลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	15
8	ผลของของออกซินที่ต่างกันบนอาหารสูตร OPCM ต่ออัตราการงอกของเมล็ด หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	16
9	ผลของของออกซินที่ต่างกันบนอาหารสูตร OPCM ต่อเวลาที่ใช้ในการงอกของเมล็ด หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	16
10	ผลของออกซินที่ต่างกันบนอาหารสูตร OPCM ต่อการชักนำแคลลัสหลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	17
11	ผลของออกซินที่ต่างกันบนอาหารสูตร OPCM ต่อขนาดแคลลัส หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	18
12	เมล็ดข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงที่วางเลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกันหลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	19

ภาพที่ หน้า

13	ผลของชิ้นส่วนเมล็ดบนสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่ออัตราการงอกของเมล็ด หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	20
14	ผลของชิ้นส่วนเมล็ดบนสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อเวลาที่ใช้ในการงอก หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	21
15	ผลของชิ้นส่วนเมล็ดต่อการสร้างแคลลัสหลังจากวางเลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	21
16	ชิ้นส่วนเมล็ดของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงที่วางเลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	22
17	ลักษณะของชิ้นส่วนโคนใบที่เกิดสีน้ำตาลซึ่งวางเลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	25
18	ลักษณะของชิ้นส่วนกลางใบที่เกิดสีน้ำตาลซึ่งวางเลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	26
19	ลักษณะของชิ้นส่วนปลายใบที่เกิดสีน้ำตาลซึ่งวางเลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	27
20	ผลของความเข้มข้นของกรดอะมิโนที่ต่างกันบนอาหารสูตร OPCM หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	28
21	ลักษณะแคลลัสที่วางเลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM ที่เติมกรดอะมิโนต่างกัน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	29
22	ต้นกล้าของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงที่วางเลี้ยงปลายยอดในอาหารเหลวสูตร OPCM เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	31
23	ต้นข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงหลังจากครอบถุงเป็นเวลา 7 วัน	33
24	การพัฒนาของต้นข้าวหลังจากย้ายปลูก	36

ภาพที่

25	การพัฒนาของต้นข้าวหลังจากย้ายปลูก	37
26	ข้าวเปลือกของสังข์หยดเมืองพัทลุงหลังจากย้ายปลูกเป็นเวลา 150 วัน	38
27	ข้าวกล้องของสังข์หยดเมืองพัทลุงหลังจากย้ายปลูกเป็นเวลา 150 วัน	38

สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

2,4-D	=	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
Dicamba	=	3,6-Dichloro-2-methoxybenzoic acid
BA	=	6-Benzyladenine
NAA	=	1-Naphthaleneacetic acid
CH	=	Casein hydrolysate
TDZ	=	Thidiazuron
KN	=	Kinetin
OPCM	=	Oil palm culture medium
MS	=	Murashige and Skoog (Medium)
CRD	=	Completely randomized design
DMRT	=	Duncan’s multiple range test

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ข้าวเป็นธัญพืชซึ่งประชากรโลกบริโภคเป็นอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งในทวีปเอเชีย จากข้อมูลเมื่อปี พ.ศ. 2553 ข้าวเป็นธัญพืชซึ่งมีการปลูกมากที่สุดเป็นอันดับ 2 ทั่วโลก รองจากข้าวโพด (ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าวและหน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว, 2560) ข้าวอยู่ในวงศ์หญ้า (Poaceae หรือ Gramineae) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว แบ่งออกเป็น 2 สปีชีส์ใหญ่ ๆ คือ *Oryza glaberrima* (ปลูกเฉพาะในเขตร้อนของแอฟริกา) และ *Oryza sativa* (ปลูกกันทั่วโลก) สำหรับชนิด *Oryza sativa* ยังแบ่งแยกย่อยออกไปได้อีกคือ *Javanica*, *Japonica* (ปลูกมากในเขตอบอุ่น) และ *Indica* (ปลูกมากในเขตร้อน) สำหรับประเทศไทยข้าวที่ปลูกเป็นชนิด *Indica* โดยแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ข้าวเจ้าและข้าวเหนียว ภาคใต้เป็นภูมิภาคหนึ่งของประเทศไทยที่ประชากรส่วนใหญ่นิยมบริโภคข้าวเจ้า

สำหรับข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงเป็นข้าวเจ้าซึ่งได้รับการขึ้นทะเบียนสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ (Geographical Indications; GI) พันธุ์แรกของไทย (สำเริง, 2550) เป็นพันธุ์ข้าวที่ปลูกในจังหวัดพัทลุงมานานกว่า 100 ปี (กรมการข้าว, 2553) เมล็ดข้าวเปลือกโดยเฉลี่ยมี ความยาว 9.26 มิลลิเมตร และความกว้าง 1.84 มิลลิเมตร (นันทิยา, 2559) มีปริมาณอะมัยโลส 15 เปอร์เซ็นต์ (กรมการข้าว, 2553) มีลักษณะพิเศษ คือ เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง มี Gamma Amino Butyric Acid (GABA) ช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเป็นมะเร็ง มีรงควัตถุประเภทฟลาโวนอยด์ชนิดมีสารแอนโทไซยานิน 15.14 มิลลิกรัมของ Cyanidin-3-glucoside: Cy-3-glc (Yodmanee *et al*., 2011) มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ชะลอความชรา ลดความเสี่ยงการเป็นโรคต่าง ๆ เช่น ป้องกันโรคหัวใจ โรคเบาหวาน มะเร็ง และหลอดเลือด (Ho *et al*., 2018) มีไตรกลีเซอไรด์ มีฤทธิ์ในการลดระดับคอเลสเตอรอลชนิด Low Density Lipoprotein (LDL) และการเพิ่มปริมาณคอเลสเตอรอลชนิด High Density Lipoprotein (HDL) ซึ่ง LDL เป็นลิโพโปรตีนที่มีความหนาแน่นต่ำ เพราะมีสัดส่วนของไขมันมากกว่าโปรตีน มีคอเลสเตอรอล 50.00 เปอร์เซ็นต์ หากมี LDL ในเลือดสูง แสดงว่ามีคอเลสเตอรอลในเลือดสูง จะเพิ่มความเสี่ยงของการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ (Coronary Heart Disease) และ HDL เป็นลิโพโปรตีนที่มีความหนาแน่นสูง เพราะมีสัดส่วนของโปรตีนมากกว่าไขมัน มีโปรตีนประมาณ 50.00 เปอร์เซ็นต์ จึงไม่ก่อให้เกิดโทษต่อสุขภาพ ดังนั้นการรับประทานข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงทำให้ลดการตีบตันของหลอดเลือด เพิ่มการไหลเวียนของโลหิต นอกจากนี้มีสาร

ไนอาซินสูง 6.45 มิลลิกรัม ช่วยในเรื่องของระบบประสาท ผิวหนัง มีสารแคลเซียมและฟอสฟอรัส 165.00 มิลลิกรัม โดยมีปริมาณสูงเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวพันธุ์อื่น (กรมการข้าว, 2553) ซึ่งช่วยในการป้องกันโรคกระดูกเสื่อม มีฤทธิ์ในการลดความเครียด (กรมการข้าว, 2560) ซึ่งธาตุฟอสฟอรัสและไนอาซินยังมีความเป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น ช่วยลดระดับคอเรสเตอรอลในเลือด ช่วยรักษาโรคปวดศีรษะไมเกรน มีส่วนสำคัญในกระบวนการเผาผลาญพลังงานของร่างกาย เป็นต้น (Maestu, 2004 อ้างโดย ริยาภรณ์, 2558)

ปัจจุบันผู้บริโภคนิยมบริโภคข้าวเพื่อสุขภาพมากขึ้นทั่วโลก ซึ่งข้าวพันธุ์สังข์หยดเมืองพัทลุงนับว่าเป็นพันธุ์ที่ผู้บริโภคนิยมมากพันธุ์หนึ่งเนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการหลากหลายชนิดที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น เมื่อข้าวเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคมาก ดังนั้นการขายข้าวในตลาดจะทำให้เกิดผลกำไรทางเศรษฐกิจแก่เกษตรกรและผลประโยชน์ทางโภชนาการแก่ผู้บริโภคโดยงานวิจัยนี้จะเน้นการวิจัยและพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากอย่างมีประสิทธิภาพสำหรับความต้องการข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงในอนาคต ซึ่งการปรับปรุงโดยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพเป็นกระบวนการที่เป็นไปได้ สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวโดยปกติจะประสบความสำเร็จขึ้นอยู่กับจีโนไทป์ สูตรอาหาร ชนิดของชิ้นส่วนพืช สารควบคุมการเจริญเติบโต และ สภาพการวางเลี้ยง (Hoque and Mansfield, 2004; Saharan *et al*., 2004; Lin and Zhang, 2005; Ge *et al*., 2006; Wani *et al*., 2011; Feng *et al*., 2011) ส่วนใหญ่การชักนำแคลลัสและการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ในหลอดทดลองของข้าวได้มาจากชิ้นส่วนหลายชนิด เช่น คัพภะอ่อน (Hiei and Komari, 2008), คัพภะแก่ (Zuraida *et al*., 2011; Zinnah *et al*., 2013), อับละอองเรณู (Raina *et al.*, 1987; Xa and Lang, 2011), ไมโครสปอร์ (Datta *et al*., 1990) ใบ (Karthikeyan *et al*., 2011; Abiri *et al.*, 2017) และราก (Abiri *et al*., 2017) แต่ชิ้นส่วนที่นิยมนำมาเพาะเลี้ยงคือ คัพภะแก่ และใบ

2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงข้าวโดยการใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับพันธุ์ เช่น ข้าวพันธุ์ MR 219 ใช้ 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (Abiri *et al*., 2017) ข้าวพันธุ์หอมนิล ใช้ 2,4-D เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร(พันทิวา และ ขวัญเดือน , 2560) ข้าวพันธุ์ Super Basmati Basmati 370 Basmati 371 และ Fakhre Malakand (Tariq *et al*., 2008) และ ข้าวพันธุ์หอมกระดังงา (Yinxia and Te-chato, 2013) ข้าวพันธุ์กาบดำ (กมลทิพย์ และคณะ, 2560) ใช้ 2,4-D เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D เป็นออกซินสังเคราะห์ช่วยเพิ่มการสร้างแคลลัส และมีออกซินสังเคราะห์อีกตัวหนึ่งที่ใช้ชักนำแคลลัสในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวแต่ในข้าวมีการใช้กันไม่แพร่หลาย คือ 3,6-Dichloro-2-methoxybenzoic acid (Dicamba) โดยมีการนำมาประยุกต์ใช้ในข้าวพันธุ์หอมกระดังงา (อรุณี, 2557) และข้าวพันธุ์ MR 219 ของมาเลเซีย (Abiri *et al*., 2017) Dicamba เป็นออกซินที่ช่วยพัฒนาเนื้อเยื่อเทรคีด (Tracheid) ในแคลลัส

และเซลล์ของพืช (Abiri *et al*., 2017) ส่งผลให้พืชสร้างแคลลัสได้เพิ่มขึ้น นอกจากสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ได้กล่าวมาข้างต้นแล้ว กรดอะมิโนยังเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยในการเจริญเติบโตของแคลลัสโดยชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับพันธุ์ เช่น ข้าวพันธุ์ Lx 297 ใช้ L-glutamin เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร Glycine เข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Casein hydrolysate (CH) เข้มข้น 3 กรัมต่อลิตร (Khatun *et al*., 2003) ข้าวพันธุ์ Calrose 76 ใช้ tryptophan เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (Siriwardana and Nabors, 1983) ข้าวพันธุ์ Ambemohar Indrayani Jaya และ Pawana ใช้ L-proline เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ L-glutamine เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของคัพภะของข้าวพบว่ามี 2 ส่วนที่สำคัญคือเอนโดสเปิร์ม และจมูกข้าวหรือคัพภะ ปัจจุบันยังไม่มีนักวิจัยรายใดศึกษาการเพาะเลี้ยงทั้ง 2 ส่วนของคัพภะแยกกัน ในการศึกษานี้จึงสนใจเกี่ยวกับ ผลของการวางเลี้ยงชิ้นส่วนทั้งที่แยกและไม่แยก สำหรับการแยกชิ้นส่วนเมล็ดแยกเป็นส่วนของเอ็นโดสเปิร์ม และคัพภะ ต่อชักนำแคลลัส และการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ และรวมไปถึงการใช้ชิ้นส่วนใบที่แยกออกเป็นส่วนของ ปลายใบ กลางใบ และโคนใบ และปัจจัยอื่น ๆ เช่น ผลของออกซิน กรดอะมิโนตลอดจนการอนุบาลออกปลูกนอกหลอดทดลอง ต่อการงอกและการสร้างแคลลัสของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงซึ่งเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์ข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงในหลอดทดลองและสามารถนำมาปรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง ด้วยวิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพต่อไป

การตรวจเอกสาร

1. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ กระบวนการตัดแยกชิ้นส่วนพืชมาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อ ภายในห้องที่มีการควบคุมแสง อุณหภูมิ และความชื้นที่เหมาะสม เพื่อให้ชิ้นส่วนพืชมีการพัฒนาต่อไป (สมปอง, 2539) การขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีนี้ สามารถผลิตพันธุ์พืชปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว ต้นพืชที่ผลิตได้จะปลอดโรค และลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนต้นแม่ คือมีลักษณะตรงตามพันธุ์ (อรุณี, 2557) การขยายพันธุ์ข้าวด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีรายงานการใช้ชิ้นส่วนต่าง ๆ สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวได้สำเร็จ เช่น การชักนำให้เกิดแคลลัสจากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ เช่น คัพภะอ่อน (Hiei and Komari, 2008) คัพภะแก่ (Zuraida *et al*., 2010; Zinnah *et al*., 2013) อับละอองเรณู (Raina *et al*., 1987; Xa and Lang, 2011) ไมโครสปอร์ (Datta *et al*., 1990) ใบ (Karthikeyan *et al*., 2011; Abiri *et al*., 2017) และราก (Abiri *et al*., 2017) แต่ชิ้นส่วนที่นิยมนำมาเพาะเลี้ยงคือ คัพภะแก่ และใบ

1.1 การชักนำแคลลัสจากคัพภะแก่

การชักนำแคลลัสเป็นเทคนิคหนึ่งของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสำหรับเร่งการผลิต และปรับปรุงพันธุ์พืช หรือแก้ปัญหาในกระบวนการทางชีวภาพของพืช แคลลัสเป็นกลุ่มเซลล์ที่พัฒนามาจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืชในอาหารสังเคราะห์ภายใต้สภาพการเลี้ยงในหลอดทดลองซึ่งปลอดเชื้อ (สมปอง, 2539) โดยสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน เช่น การขยายพันธุ์เพื่อให้เกิดต้นพืชปริมาณมาก การผลิตสารชีวเคมีจากเซลล์พืช ใช้ในกระบวนการผลิตเซลล์ไร้ผนังหรือโปรโตพลาสต์ใช้เป็นเนื้อเยื่อเป้าหมายในการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรม และทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม รวมทั้งการผลิตพืชให้ต้านทานต่อโรค แมลง และศัตรูพืช

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในการชักนำแคลลัสในข้าว คือ 2,4-D โดยการใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับพันธุ์ Abiri และคณะ (2017) รายงานการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวที่สุกแก่พันธุ์ MR 219 บนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 0.5 1 1.5 2 2.5 3 5 10 15 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุด 75.00 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสมีลักษณะเกาะกันแน่น เป็นรูปกลมสีครีม Tariq และคณะ (2008) รายงานการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวที่สุกแก่ 4 สายพันธุ์ คือ Basmati 370 Basmati 371 Super Basmati และ Fakhre Malakand บนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นตั้งแต่ 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า 2,4-D เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุด 75.00 73.00 60.00 และ 40.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Yinxia และ Te-chato (2013) รายงานการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวที่สุกแก่พันธุ์หอมกระดังงา บนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า 2,4-D เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุด 33.90 เปอร์เซ็นต์ พันทิวา และ ขวัญเดือน (2560) รายงานการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวที่สุกแก่พันธุ์หอมนิล บนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 0.5 1 1.5 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า 2,4-D เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุด 100.00 เปอร์เซ็นต์ กมลทิพย์ และคณะ (2560) รายงานการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวที่สุกแก่พันธุ์กาบดำ บนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า 2,4-D เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุด 87.00 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสมีลักษณะร่วน สำหรับสารควบคุมการเจริญเติบโตอีกตัวที่ใช้ชักนำแคลลัสในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวแต่ในข้าวมีการใช้กันไม่แพร่หลาย คือ Dicamba อรุณี (2557) รายงานการเพาะเลี้ยงใบอ่อนต้นข้าวพันธุ์หอมกระดังงา บนอาหารสูตร MS

เติม Dicamba ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า 2,4-D เข้มข้น 0.5 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัสสูงสุด 13.30 เปอร์เซ็นต์ โดยใบอ่อนที่วางเลี้ยงบน 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสมีลักษณะร่วน แต่เมื่อวางเลี้ยงบน 2,4-D เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสมีลักษณะเกาะกันแน่น Abiri และคณะ (2017) รายงานการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวที่สุกแก่พันธุ์ MR 219 บนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) Indole-3-butyric acid (IBA) Picloram Dicamba และ 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T) ความเข้มข้นตั้งแต่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า 2,4-D ให้เปอร์เซ็นต์การชักนำแคลลัสสูงสุด 64.00 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม Ho และคณะ (2019) ศึกษาสูตรอาหารต่อสร้างแคลลัสในข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง พบว่า สูตรอาหาร OPCM ให้การสร้างแคลลัสดีกว่า สูตรอาหาร MS OPCM และ NN (Nitsch and Nitsch, 1969) จากข้อมูลที่กล่าวมาก่อนหน้านี้ จึงทำให้การศึกษานี้ต้องการตรวจสอบอาหารสูตร OPCM ร่วมกับ 2,4-D หรือ Dicamba ต่อการชักนำแคลลัสในข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง

1.2 กรดอะมิโนต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

กรดอะมิโนเป็นสารตั้งต้นของฮอร์โมนที่ช่วยในการเจริญเติบโตของพืชที่จำเป็นสำหรับการแบ่งเซลล์ โดยพืชจะมีการดูดซึมกรดอะมิโนที่รวดเร็วและใช้ได้ทันที ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้สังเคราะห์เป็นโปรตีนได้ทันที (Asthana *et al*., 2017) และเป็นปัจจัยที่ช่วยในการเจริญเติบโตของแคลลัส Ho และคณะ (2018) เป็นนักวิจัยรายแรกที่ประสบความสำเร็จในการชักนำแคลลัสจากเมล็ดข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง โดยศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตและกรดอะมิโนตลอดจนสูตรอาหาร โดยในขั้นต้นได้ศึกษาผลของ 2,4-D ความเข้มข้นต่างกันบนอาหารสูตร MS ต่อเปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัส พบว่า อาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร CH เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร L-proline เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรดด่าง 5.7 ให้อัตราการสร้างแคลลัสสูงสุด 64.38 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อลดความเข้มข้นของ CH เป็น 750 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้อัตราการสร้างแคลลัสเพิ่มขึ้นเป็น 68.56 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้น Ho และคณะ (2018) นำแคลลัสที่ได้ มาศึกษาผลของ L-proline ที่มีความเข้มข้นต่างกันในอาหารสูตร MS ต่ออัตราการสร้างแคลลัส พบว่า อาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร CH เข้มข้น 750 มิลลิกรัมต่อลิตร L-proline เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ วุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรดด่าง 5.7 ให้อัตราการสร้างแคลลัสสูงสุด 73.08 เปอร์เซ็นต์ และค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของแคลลัสสูงสุด 67.50 มิลลิกรัม หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อ Ho และคณะ (2018) ได้สูตรอาหารที่สร้างแคลลัสสูงสุด ต่อมา

Ho และคณะ (2019) จึงได้ศึกษาสูตรอาหาร 3 สูตร คือ อาหารสูตร MS OPCM และ NN ต่ออัตราการชักนำแคลลัส ผลการศึกษาพบว่า อาหารสูตร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร CH เข้มข้น 750 มิลลิกรัมต่อลิตร L-proline เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ วุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรดด่าง 5.7 ให้อัตราการชักนำแคลลัสสูงสุด 75.63 เปอร์เซ็นต์ และค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดแคลลัส 68.05 มิลลิกรัม หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ นอกจากนี้ Khatun และคณะ (2003) ศึกษาการชักนำแคลลัสในข้าวพันธุ์ Lx 297 บนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร KN เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร CH เข้มข้น 3 กรัมต่อลิตร L-glutamine เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร Glycine เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร Myo-inositol เข้มข้น 100มิลลิกรัมต่อลิตร Nicotinic acid เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร Pyridoxine HCl เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร Thiamine HCl เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 50 กรัมต่อลิตร วุ้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรดด่าง 5.8 สามารถชักนำแคลลัสสูงสุด 80.43 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และการทดลองของ Siriwardana และ Nabors (1983) ศึกษาการชักนำแคลลัสในข้าวพันธุ์ Calrose 76 บนอาหารสูตร LS (Linsmaier and Skoog, 1965) เติม 2,4-D เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Tryptophan เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถสร้างเอ็มบริโอจินิคแคลลัสสูงสุด 64 เปอร์เซ็นต์ และ Pawar และคณะ (2015) ที่มีการศึกษาน้ำหนักสดของแคลลัสในข้าวพันธุ์ Ambemohar Indrayani Jaya และ Pawana บนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร L-proline เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ L-glutamine เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อสร้างแคลลัสสูงสุด 68.70 86.20 89.20 97.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากข้อมูลที่กล่าวมาก่อนหน้านี้ จึงทำให้การศึกษานี้ต้องการตรวจสอบอาหารสูตร OPCM และกรดอะมิโนที่จำเป็น เช่น Glycine Tryptophan และ L-proline ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสในข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง

1.3 การพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากปลายยอด

การเพาะเลี้ยงยอดอ่อนข้าวเป็นการพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวอีกวิธีหนึ่ง ซึ่งใช้อาหารเหลว ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน และไซโตไคนิน เพื่อชักนำให้เกิดการสร้างยอดรวม และพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ และเกิดความแปรปรวนน้อย อรุณี (2557) รายงานการเพาะเลี้ยงยอดอ่อนในข้าวหอมกระดังงาในสภาพเขย่าเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ให้ยอดรวมสูงสุด 21.50 ยอด จำนวนใบ 20.45 ใบต่อฟลาสก์ อัตราการรอดชีวิต 87.50 เปอร์เซ็นต์ และ อรุณี (2557) รายงานการเพิ่มปริมาณยอดข้าวหอมกระดังงาโดยการ

เพาะเลี้ยงปลายยอดภายใต้ระบบไบโอรีแอคเตอร์โดยนำปลายยอดย้ายเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรและคลอรีนไดออกไซด์ เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดรวมสูงสุด 11.00 ยอด จำนวนใบสูงสุด 2.20 ใบ และความสูงของยอดเฉลี่ยสูงสุด 9.35 เซนติเมตร นอกจากนี้ Ho และคณะ (2018) รายงานการเพาะเลี้ยงปลายยอดข้าวพันธุ์สังข์หยด ในอาหารเหลวสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุด 14.93 ยอด การชักนำรากสูงสุด 82.71 เปอร์เซ็นต์

2. การอนุบาลออกปลูก

การอนุบาลออกปลูกเป็นการนำพืชในหลอดทดลองออกไปปลูกในโรงเรือนหรือแปลงปลูก ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญมากเพราะระหว่างสภาพในหลอดทดลองและสภาพแปลงปลูกมีความแตกต่างกัน โดยต้นกล้าที่เลี้ยงในหลอดทดลองจะอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เครียดน้อยและเหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งมีการนำชิ้นส่วนพืชวางเลี้ยงบนอาหารที่มีน้ำตาล สารอาหารที่เพียงพอสำหรับการเจริญเติบโต ภายใต้สภาพแสงน้อย ปลอดเชื้อ และมีความชื้นสูง ดังนั้นเมื่อมีการย้ายต้นกล้าจากหลอดทดลองออกสู่แปลงปลูก อาจทำให้ต้นกล้าเหี่ยวและตายอย่างรวดเร็ว เนื่องจากมีสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน (Hazarika *et al*., 2006) ดังนั้นขั้นตอนการออกปลูกเป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญ อรุณี (2557) รายงานการอนุบาลออกปลูกต้นกล้าที่ได้จากการเพิ่มปริมาณยอดข้าวหอมกระดังงาโดยการเพาะเลี้ยงปลายยอดในสภาพเขย่าเลี้ยงโดยนำปลายยอดย้ายเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และภายใต้ระบบไบโอรีแอคเตอร์ ในอาหารเหลวสูตรเดียวกันเติมคลอรีนไดออกไซด์ เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยต้นกล้าที่ได้มีการสร้างรากด้วย ดังนั้นสามารถอนุบาลออกปลูกได้โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการชักนำรากก่อน ทำให้ประหยัดเวลาโดยตัดแยกต้นกล้าเป็นต้นเดี่ยว พบว่าอัตรารอดชีวิตของต้นกล้าหลังย้ายปลูกลงดิน 100.00 เปอร์เซ็นต์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการงอกของยอดและการสร้างแคลลัสของเมล็ดข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง
2. เพื่อศึกษาผลของชิ้นส่วนเมล็ดต่อการงอกของยอด และการสร้างแคลลัสของเมล็ดข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง
3. เพื่อศึกษาผลของชิ้นส่วนใบต่อการสร้างแคลลัสของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง
4. เพื่อศึกษาผลของกรดอะมิโนต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง
5. เพื่อศึกษาผลสารควบคุมการเจริญเติบโต ต่อการสร้างยอดรวมจากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

2.1 วัสดุ อุปกรณ์

2.1.1 พันธุ์ข้าว

ข้าวพันธุ์สังข์หยดเมืองพัทลุง หมายถึง ข้าวเจ้าที่มีลักษณะของข้าวสารหรือ ข้าวกล้องที่เยื่อหุ้มเมล็ดมีสีแดงจนถึงแดงเข้มในเมล็ดเดียวกัน ซึ่งข้าวพันธุ์สังข์หยดเมืองพัทลุงได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวพัทลุงโดยข้าวที่นำมาศึกษาถูกเก็บรักษาเป็นเวลา 3 ปี ลักษณะทั่วไปเป็นพันธุ์ข้าวนาสวน ไวต่อช่วงแสง เหมาะสำหรับปลูกเป็นนาปีในภาคใต้ วันออกดอกประมาณกลางเดือนมกราคม และเก็บเกี่ยวในเดือนกุมภาพันธ์

2.1.2 การเตรียมวัสดุพืช

ใช้เมล็ดแก่ข้าวสังข์หยดพัทลุงที่มีลักษณะสมบูรณ์และปราศจากโรค และแมลง นำเมล็ด (ภาพที่ 1ก) ที่ได้มาแกะเปลือกหุ้มเมล็ดออก (ภาพที่ 1ข) เปิดน้ำไหลผ่านเป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 2 นาที แช่เมล็ดในคลอร็อกซ์เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ และเติมทวีน 20 ปริมาตร 0.05-0.10 มิลลิลิตรต่อคลอร็อกซ์ 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 6 นาที ล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ในสภาพปลอดเชื้อ

ภาพที่ 1 เมล็ดแก่ข้าวสังข์หยดพัทลุงอายุหลังจากเก็บเกี่ยว 3 ปี

ก. เมล็ดข้าวเปลือก

ข. เมล็ดที่ผ่านการแกะเปลือกหุ้มเมล็ดออก

2.2 วิธีการศึกษา

2.2.1 ผลของชนิดและความเข้มข้นของออกซินต่อการงอกของยอดและการสร้างแคลลัสของเมล็ด

นำเมล็ดแก่ของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ววางเลี้ยงบนอาหารสูตร OPCM ไม่เติมหรือเติม 2,4-D หรือ Dicamba ความเข้มข้นแตกต่างกัน (1 2 3 4 5 หรือ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร) ภายใต้การให้แสง 15 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 10 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส แต่ละชนิดและความเข้มข้นของออกซินทำ 5 ซ้ำ ๆ ละ 1 จานเพาะเลี้ยง (แต่ละจานเพาะเลี้ยง วางเลี้ยง 25 ชิ้นส่วน) บันทึกการงอกของเมล็ดเป็นเวลา 30 วัน และหลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน บันทึกอัตราการชักนำแคลลัส ขนาดแคลลัส ลักษณะและสีของแคลลัส เปรียบเทียบกันในแต่ละชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

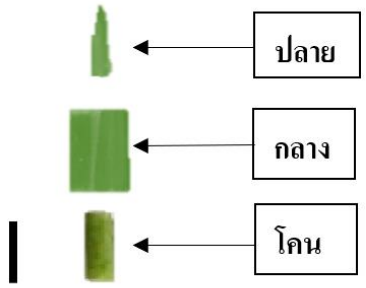
2.2.2 ผลของชิ้นส่วนเมล็ดต่อการงอกของยอดและการสร้างแคลลัสของเมล็ด

นำชิ้นส่วนเมล็ดข้าว 3 ชนิด (ภาพที่ 2) คือ 1) ชิ้นส่วนทั้งเมล็ด (ประกอบด้วยเอนโดสเปิร์มร่วมกับเอ็มบริโอ) 2) ชิ้นส่วนเอนโดสเปิร์ม และ 3) ชิ้นส่วนเอ็มบริโอ มาใช้ในการทดลองที่ 2 หลังจากผ่านการฟอกฆ่าเชื้อทำให้ชิ้นส่วนเกิดกระบวนการดูดน้ำ โดยการแช่น้ำเป็นเวลา 30 นาที เพื่อ ง่ายต่อการตัดแยกชิ้นส่วนและนำชิ้นส่วน วางเลี้ยงบนอาหารสูตร ที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 วางเลี้ยงภายใต้แสง 15 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 10 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส แต่ละชิ้นส่วนเมล็ด ทำ 5 ซ้ำ ๆ ละ 1 จานเพาะเลี้ยง (แต่ละจานเพาะเลี้ยง วางเลี้ยง 5 ชิ้นส่วน) บันทึกการงอกของเมล็ดทุกวันเป็นเวลา 30 วัน และหลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน บันทึกอัตราการชักนำแคลลัส ขนาดแคลลัส ลักษณะและสีของแคลลัส เปรียบเทียบกันในแต่ละชิ้นส่วนที่ใช้ทดสอบ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ภาพที่ 2 เมล็ดข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง
ก. เอ็นโดเสปิร์มร่วมกับเอ็มบริโอ ข. เอ็นโดเสปิร์ม ค. เอ็มบริโอ

2.2.3 ผลของชิ้นส่วนใบ ชนิดและความเข้มข้นของออกซิน ต่อการสร้างแคลลัสและการเกิดสีน้ำตาล

นำชิ้นส่วนใบ 3 ตำแหน่ง คือ ปลาย กลาง และโคน (ภาพที่ 3) ที่ได้จากต้นกล้า อายุ 14 วัน หลังจากการวางเลี้ยงเมล็ดให้งอกบนอาหารสูตร OPCM ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังจากนั้นตัดให้มีขนาด 5 มิลลิเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิม ไม่เติมหรือเติม 2,4-D และ Dicamba ความเข้มข้นแตกต่างกัน (1 2 3 4 5 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร) วางเลี้ยงภายใต้แสง 15 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 10 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส แต่ละชิ้นส่วนใบ ชนิดและความเข้มข้นของออกซินทำ 5 ซ้ำ ๆ ละ 1 จานเพาะเลี้ยง (แต่ละจานเพาะเลี้ยงวางเลี้ยง 5 ชิ้นส่วน) หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน บันทึกการเกิดแคลลัสและสีน้ำตาลของใบเปรียบเทียบกันในแต่ละความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT



ภาพที่ 3 การตัดแยกชิ้นส่วนใบ (ปลาย, กลาง และโคน) จากต้นกล้าที่เลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร OPCM ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน (บาร์ = 5 มม.)

2.2.4 ผลของชนิดและความเข้มข้นของกรดอะมิโน ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสและการเกิดสีน้ำตาล

นำกลุ่มแคลลัสขนาด 5 x 5 ตารางมิลลิเมตร ที่ได้จากการวางเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 2.2.2 วางเลี้ยงบนอาหารสูตร OPCM ไม่เติม หรือเติม Glycine เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร Tryptophan เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และ L-proline เข้มข้น 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 1) วางเลี้ยงภายใต้แสง 15 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 10 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส แต่ละชนิดและความเข้มข้นของกรดอะมิโน ทำ 5 ซ้ำ (แต่ละจานเพาะเลี้ยง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่เพาะเลี้ยงกลุ่มของแคลลัส 5 กลุ่ม)

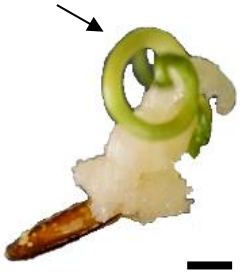
หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน บันทึกการเพิ่มปริมาณแคลลัสโดยนำขนาดแคลลัสทั้งหมด (กว้าง x ยาว) ลบกับ ขนาดแคลลัสเดิม (5 x 5) และการเกิดสีน้ำตาลของแคลลัสเปรียบเทียบกันในแต่ละชิ้นส่วนโดยวางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ตารางที่ 1 ชนิดและความเข้มข้นของกรดอะมิโน

Glycine (มก./ล.)	Tryptophan (มก./ล.)	L-proline (มก./ล.)
0	0	0
0	0	200
0	0	400
0	100	0
0	100	200
0	100	400
2	0	0
2	0	200
2	0	400
2	100	0
2	100	200
2	100	400

2.2.5 ผลของ BA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเพิ่มปริมาณยอดและการสร้างรากจากชิ้นส่วนปลายยอด

นำปลายยอด (ภาพที่ 4) ที่ได้จากการวางเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร OPCM เติม Dicamba เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นำมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร OPCM ไม่เติมหรือเติม BA เข้มข้น 0.5 1 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเติม NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงภายใต้แสง 10 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 10 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส แต่ละชิ้นส่วนยอด ทำ 5 ซ้ำ (แต่ละขวดรูปชมพู่มีชิ้นส่วนปลายยอด 2 ชิ้นส่วน แต่ละชิ้นส่วนขนาด 5 มิลลิเมตร) และหลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน บันทึกผลจำนวนยอด ความยาวของใบ จำนวนราก และความยาวราก เปรียบเทียบกันในแต่ละความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

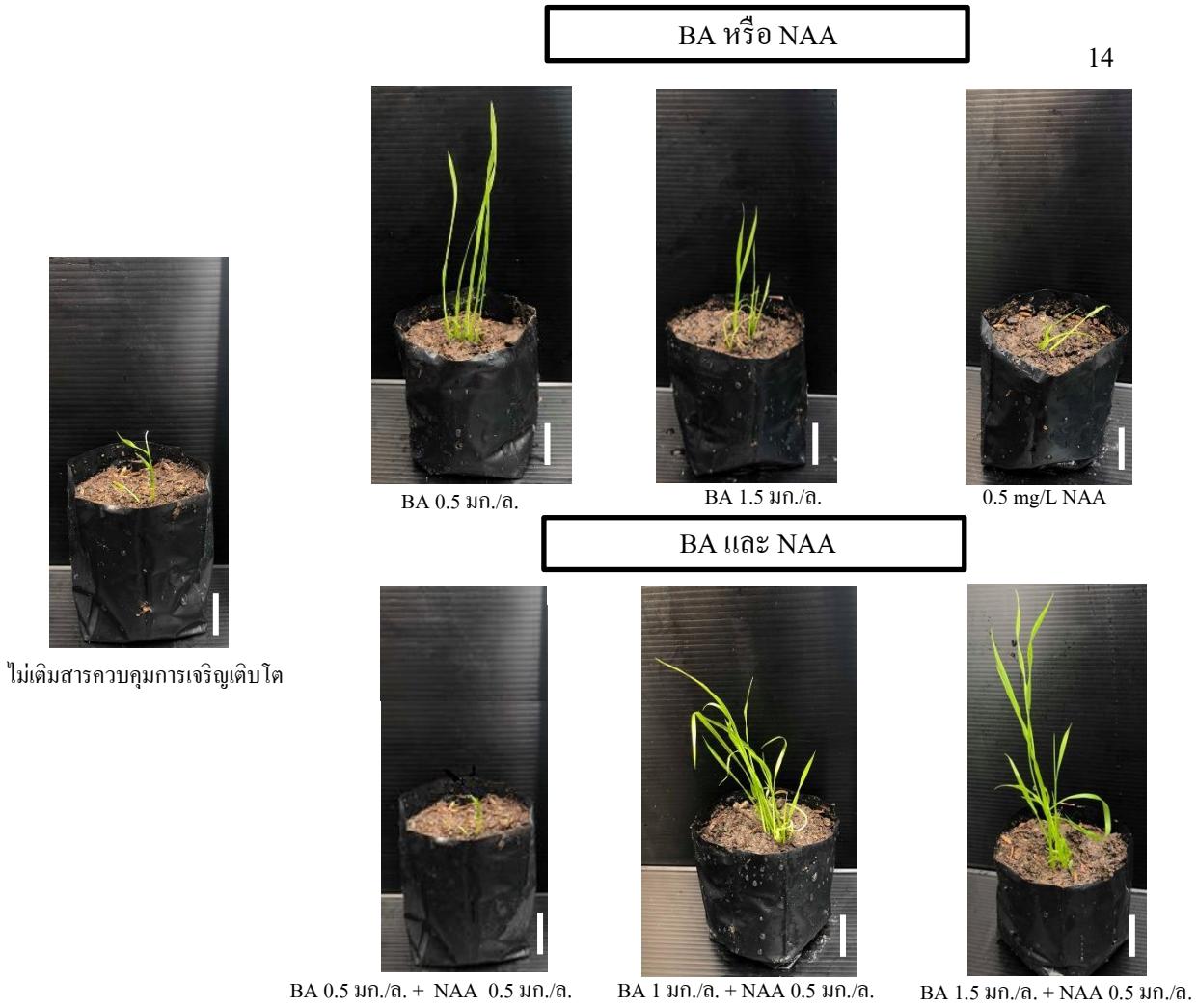


ภาพที่ 4 ปลายยอดที่เกิดร่วมกับแคลลัสของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงที่ได้จากการวางเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร OPCM เติม Dicamba เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน (บาร์= 5 มม.)

2.2.6 ผลของ BA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการอนุบาลออกปลูก

นำต้นกล้าที่ได้จากการทดลองที่ 3.5 มาอนุบาลออกปลูกในถุงพลาสติกที่มี ดินผสมและเวอร์มิคูไลท์ อัตราส่วน 2 ต่อ 1 (ภาพที่ 5) เพื่อให้ต้นกล้ามีการปรับตัวก่อนที่จะลงปลูกในดินเหนียวที่มีน้ำขัง และครอบถุงเพื่อรักษาความชื้น (ภาพที่ 6) เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นย้ายต้นกล้าไปยังกระถางพลาสติกที่มี น้ำ ดินเหนียว มูลวัว และปุ๋ยเคมี 16-20-0 อัตราส่วน 3 ต่อ 2 ต่อ 1 ต่อ 1 โดยแต่ละความเข้มข้นของ BA และ NAA ทำ 3 ซ้ำ หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 60 90 120 และ 150 วัน บันทึกความสูงต้น อัตราการเจริญเติบโตของต้น (แสดงดังสูตร) จำนวนต้นต่อกอและรวง และหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 150 วัน บันทึกความยาวรวง ความยาว ความกว้างของเมล็ดข้าวเปลือกและข้าวกล้อง น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนเมล็ดต่อกอ และเมล็ดลีบ เปรียบเทียบกันในแต่ละความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

$$\text{อัตราการเจริญเติบโต} = \frac{(\text{ความสูงต้นหลังย้ายปลูก} - \text{ความสูงต้นเริ่มต้น})}{\text{ความสูงต้นเริ่มต้น}}$$



ภาพที่ 5 ต้นกล้าย้ายปลูกจากผลของ BA และ NAA ที่ต่างกันบนอาหารสูตร OPCM (บาร์= 3 ซม.)

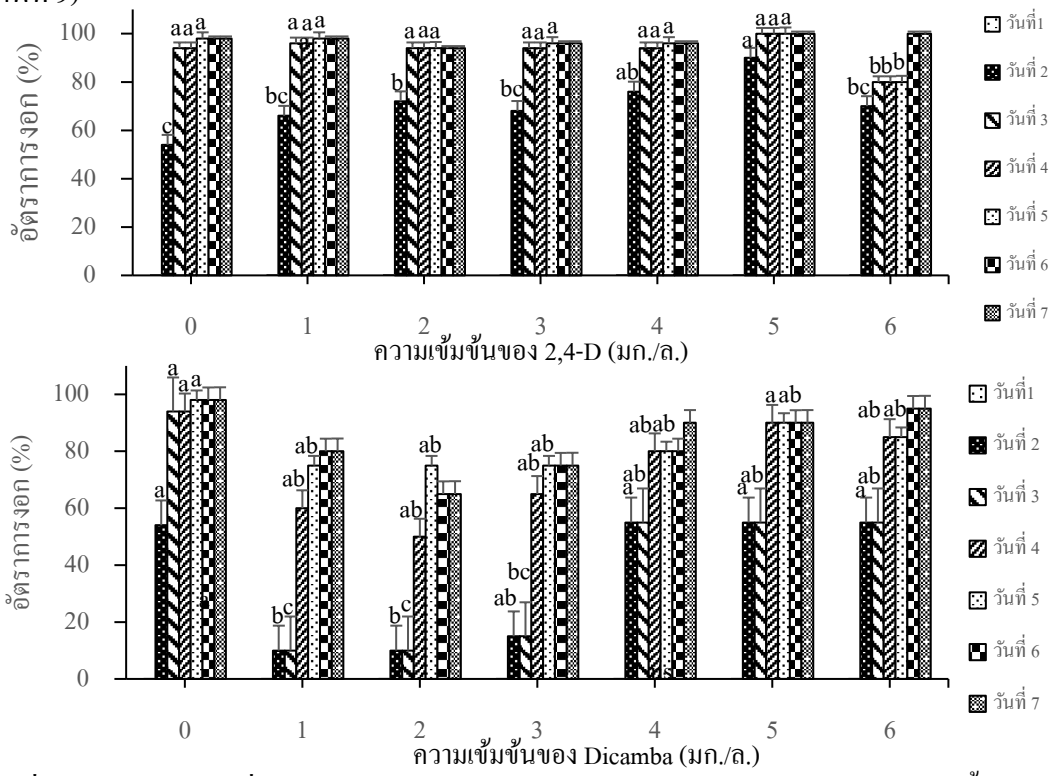
ภาพที่ 6 ตัวอย่างการครอบถุงเพื่อรักษาความชื้น จากอาหารสูตร OPCM เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร กับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากออกจากหลอดทดลองเป็นเวลา 7 วัน (บาร์= 5 ซม.)

บทที่ 3

ผล

3.1 ผลของชนิดและความเข้มข้นของออกซิน ต่อการงอกและการสร้างแคลลัสของเมล็ด

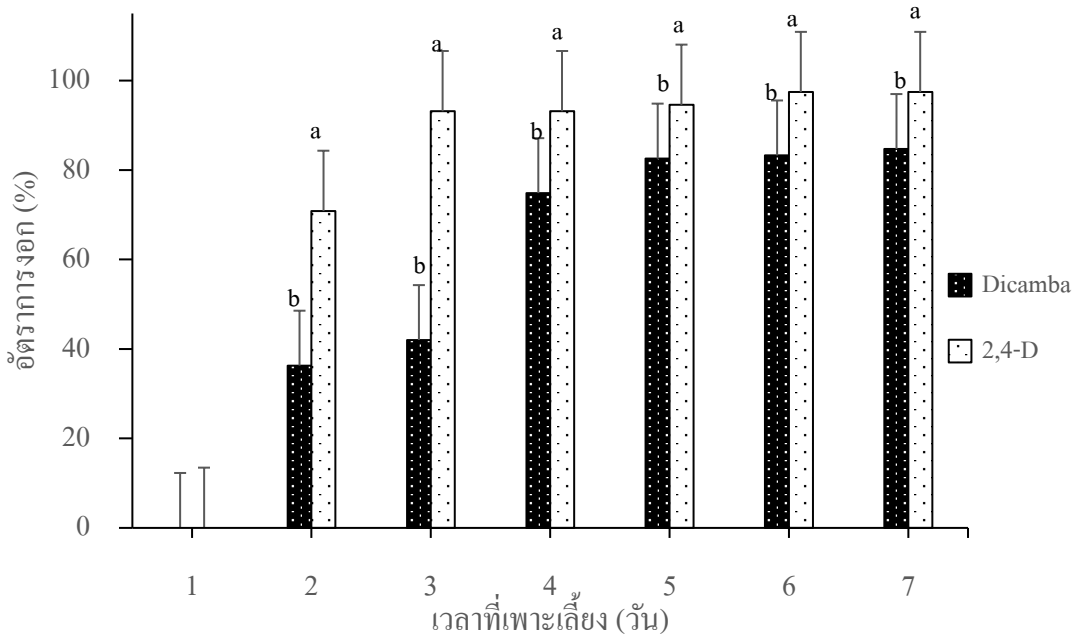
จากการทดลองเปรียบเทียบความเข้มข้นของ 2,4-D และ Dicamba ต่อการงอกของยอดและการสร้างแคลลัสจากเมล็ดแก่ เมื่อพิจารณาการงอกพบว่า ทุกชุดการทดลองเมล็ดเริ่มงอกปลายยอดออกมา หลังวางเลี้ยงนาน 2 วัน โดย 2,4-D เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการงอกของเมล็ดสูงสุด 90.00 เปอร์เซ็นต์ และหลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน พบว่า 2,4-D เข้มข้น 5 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการงอกของเมล็ดสูงสุด 100.00 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 7) โดย 2,4-D เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ 2,4-D และ Dicamba ต่ออัตราการงอก พบว่า 2,4-D ให้อัตราการงอกดีกว่า Dicamba (ภาพที่ 8) พบว่า ใช้เวลาในการงอกของเมล็ดน้อยสุด 4.54 วัน (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 7 ผลของออกซินที่ต่างกันในอาหารสูตร OPCM ต่อการงอกของเมล็ดหลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน (บาร์= ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน)

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

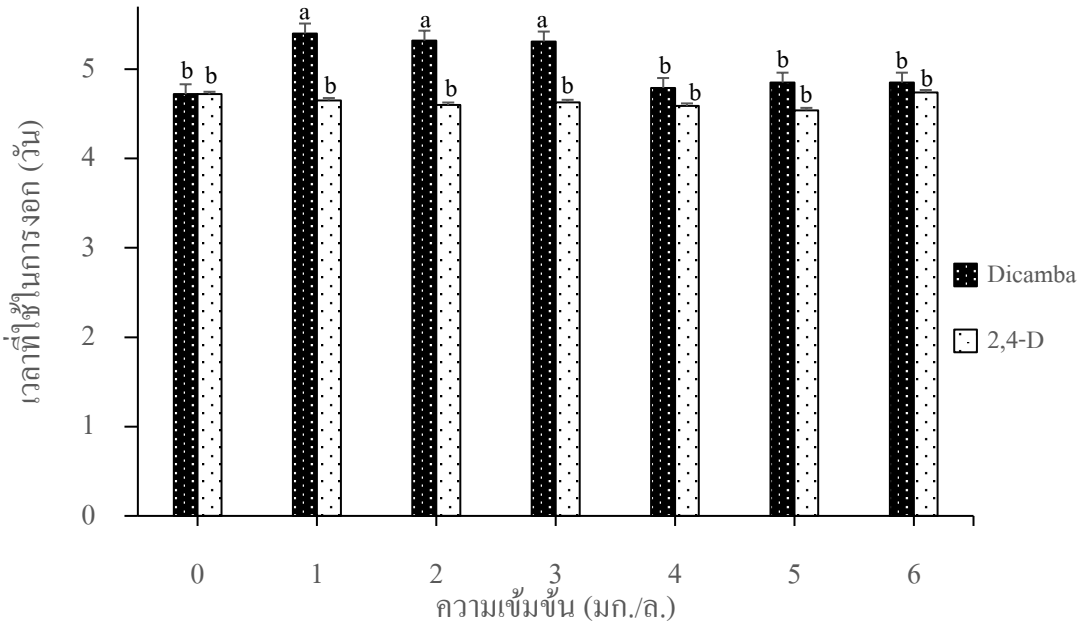
แท่งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.01$) เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 8 ผลของออกซินที่ต่างกันในอาหารสูตร OPCM ต่ออัตราการงอกของเมล็ดหลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน (บาร์= ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน)

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

แท่งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.01$) เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี DMRT

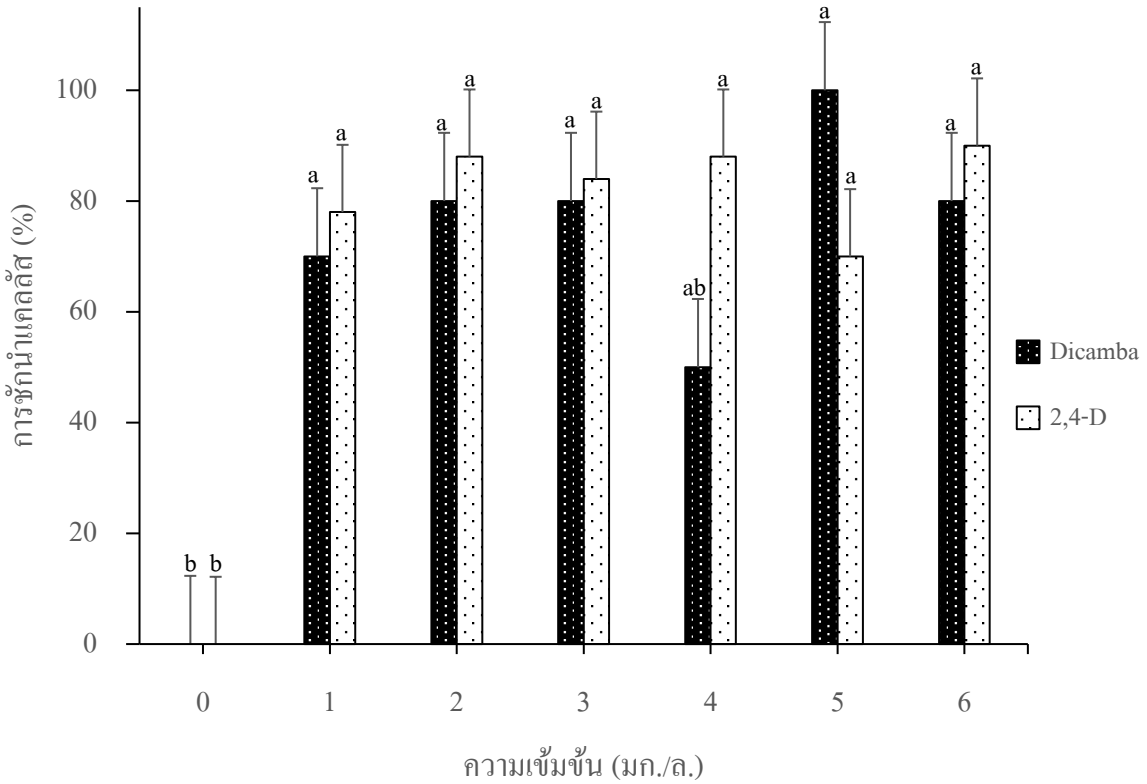


ภาพที่ 9 ผลของออกซินที่ต่างกันในอาหารสูตร OPCM ต่อเวลาที่ใช้ในการงอกของเมล็ดหลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน (บาร์= ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน)

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

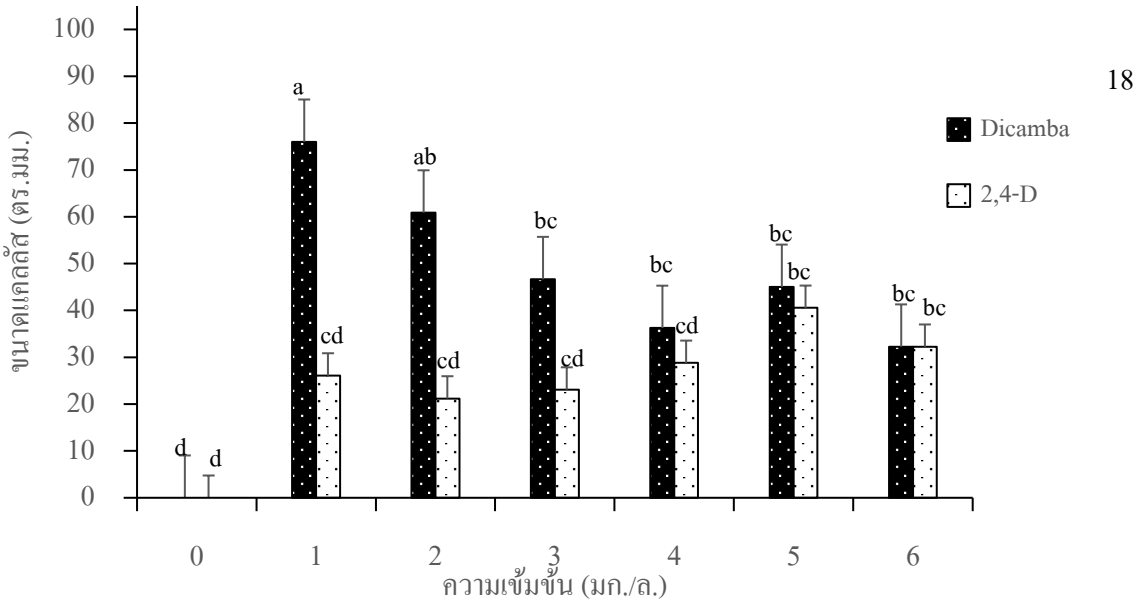
แท่งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.01$) เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี DMRT

เมื่อพิจารณาการสร้างแคลลัส พบว่า Dicamba ให้ผลดีกว่า 2,4-D ในด้านการชักนำและเพิ่มขนาดแคลลัส อาหารสูตร OPCM เติม Dicamba เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำแคลลัสสูงสุด 100.00 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน ในขณะที่ Dicamba เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ขนาดแคลลัสสูงสุด 76 ตารางมิลลิเมตร(ภาพที่ 10) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับการเติม Dicamba ที่ความเข้มข้นอื่น ๆ ยิ่งไปกว่านั้นแคลลัสที่ได้จากอาหารข้างต้นพัฒนามีลักษณะคล้ายราก (ตารางที่ 2, ภาพที่ 11) ซึ่งเป็นแคลลัสที่ไม่เหมาะสมต่อการย้ายเลี้ยงเพื่อการเพิ่มปริมาณแคลลัส การสร้างยอดและราก ดังนั้นจึงมาพิจารณา แคลลัสที่ได้จากการวางเลี้ยงเมล็ดบนอาหารเติม 2,4-D พบว่า แคลลัสมีลักษณะเป็นรูปกลม โดยเป็นแคลลัสที่เหมาะสม อย่างไรก็ตาม แคลลัสที่ได้จากอาหารเติม 2,4-D เข้มข้น 5 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดรากร่วมกับแคลลัส ดังนั้น 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงเหมาะสมที่สุด



ภาพที่ 10 ผลของออกซินที่ต่างกันบนอาหารสูตร OPCM ต่อการชักนำแคลลัส หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน (บาร์= ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน)

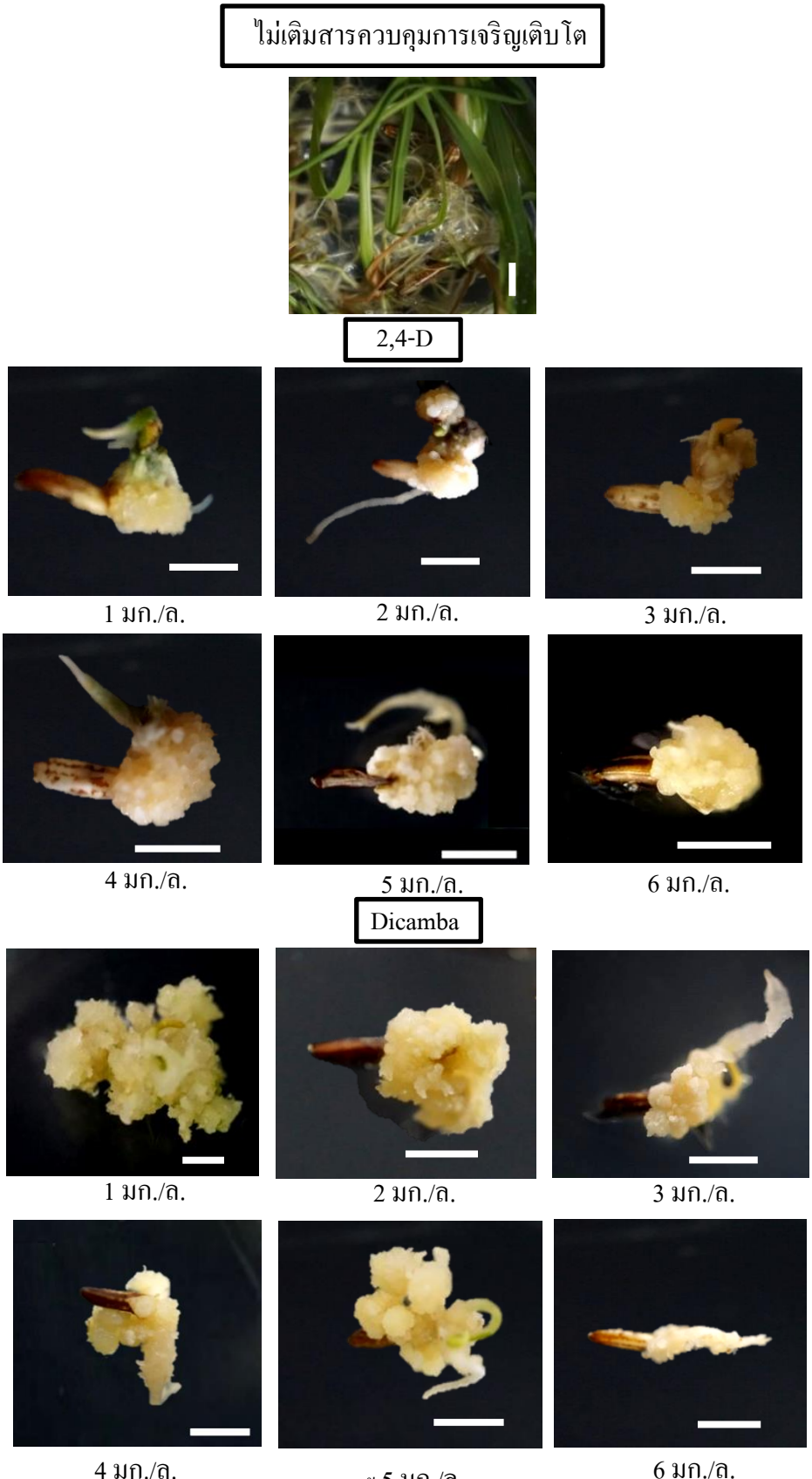
แท่งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.01$) เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 11 ผลของออกซินที่ต่างกันบนอาหารสูตร OPCM ต่อขนาดแคลลัส หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน (บาร์= ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน)
แท่งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.01$) เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี DMRT

ตารางที่ 2 ผลของออกซิน ชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เติมในอาหารสูตร OPCM ต่อลักษณะของแคลลัส หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน

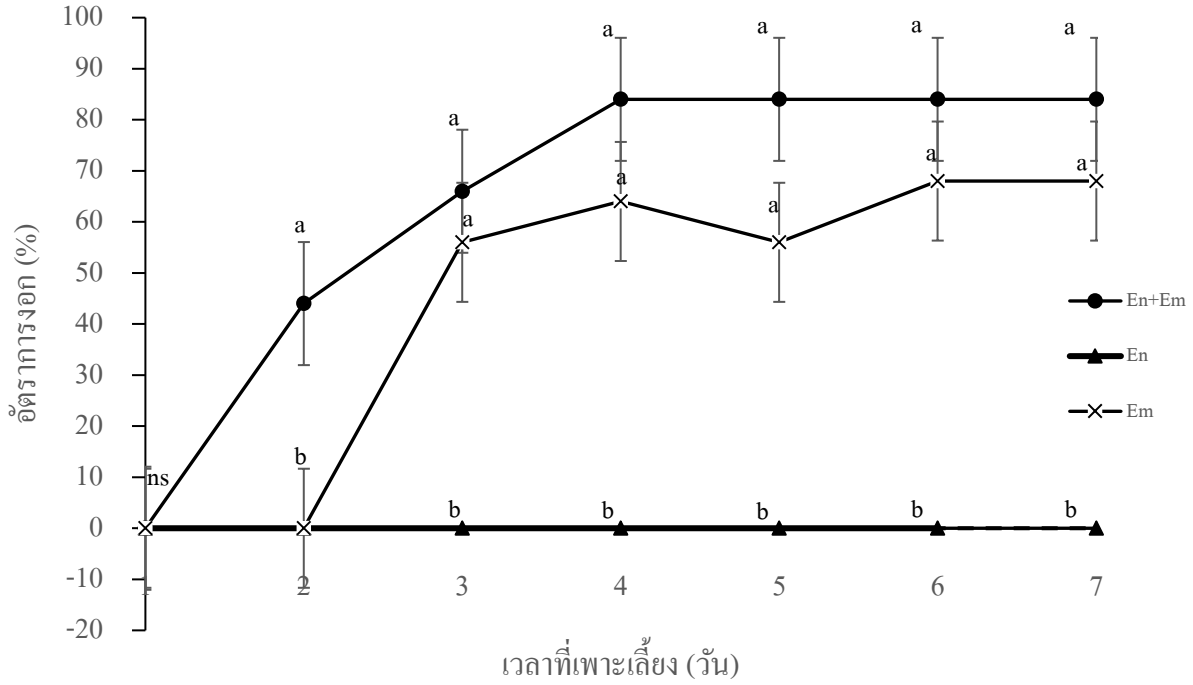
2,4-D (มก./ล.)	Dicamba (มก./ล.)	ลักษณะของแคลลัส
0	0	ไม่มีการสร้างแคลลัส
1	0	สีเหลืองอ่อน, รูปกลม, เกาะกันหลวมๆ
2	0	สีเหลืองอ่อน, รูปกลม, เกาะกันหลวมๆ
3	0	สีเหลืองอ่อน, รูปกลม, เกาะกันหลวมๆ
4	0	สีเหลืองอ่อน, รูปกลม, เกาะกันหลวมๆ
5	0	สีเหลืองอ่อน, รูปกลม, เกาะกันหลวมๆ
6	0	สีเหลืองอ่อน, รูปกลม, เกาะกันหลวมๆ
0	1	สีเหลืองอ่อน, โครงสร้างมีลักษณะคล้ายรากและรูปกลม, เกาะกันหลวมๆ
0	2	สีเหลืองอ่อน, โครงสร้างมีลักษณะคล้ายรากและรูปกลม, เกาะกันหลวมๆ
0	3	สีเหลืองอ่อน, โครงสร้างมีลักษณะคล้ายรากและรูปกลม, เกาะกันหลวมๆ
0	4	สีเหลืองอ่อน, โครงสร้างมีลักษณะคล้ายรากและรูปกลม, เกาะกันหลวมๆ
0	5	สีเหลืองอ่อน, โครงสร้างมีลักษณะคล้ายรากและรูปกลม, เกาะกันหลวมๆ
0	6	สีเหลืองอ่อน, โครงสร้างมีลักษณะคล้ายรากและรูปกลม, เกาะกันหลวมๆ



ภาพที่ 12 เมล็ดข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงที่วางเลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกันหลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน (บาร์=5 มม.)

3.2 ผลของชิ้นส่วนเมล็ดต่อการงอกและการสร้างแคลลัส

ชิ้นส่วนเมล็ดที่ต่างกันเมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นอาหารสูตรดีที่สุดในการทดลองก่อนหน้า พบว่า ให้อัตราการงอกแตกต่างกัน วันที่ 1 ทุกชิ้นส่วนยังไม่มีการงอก วันที่ 2 ชิ้นส่วนของเอนโดสเปิร์มร่วมกับเอ็มบริโอเริ่มงอกปลายยอดออกมาโดยมีอัตราการงอกสูงสุด 44.00 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชิ้นส่วนอื่นยังไม่มีการงอก วันที่ 3 ชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงเริ่มมีการงอก และเมื่อวางเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน ชิ้นส่วนของเอนโดสเปิร์มร่วมกับเอ็มบริโอให้อัตราการงอกของเมล็ดสูงสุด 84.00 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 13) แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ในขณะที่ชิ้นส่วนของเอนโดสเปิร์มไม่มีการงอก อย่างไรก็ตามเวลาที่ใช้ในการงอกของเมล็ดน้อยสุด 4.72 วัน (ภาพที่ 14)



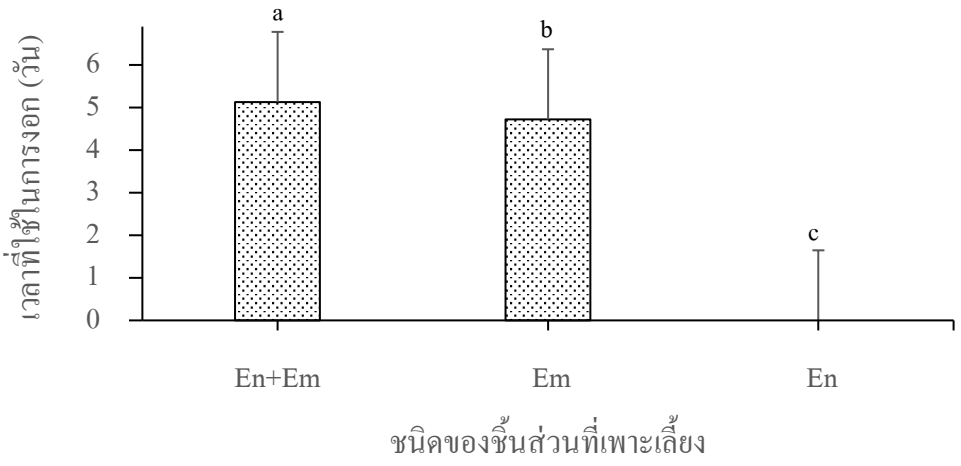
ภาพที่ 13 ผลของชิ้นส่วนเมล็ดบนสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่ออัตราการงอกของเมล็ด หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน

(บาร์= ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน)

En+Em: Endosperm+Embryo En: Endosperm Em: Embryo

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

เส้นที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.01$) เมื่อตรวจสอบด้วยด้วย วิธี DMRT

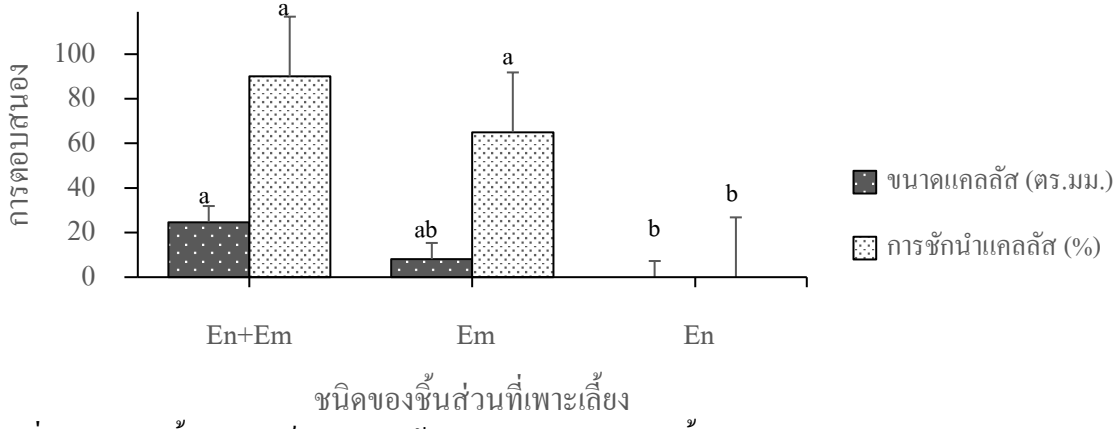


ภาพที่ 14 ผลของชิ้นส่วนเมล็ดบนสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อเวลาที่ใช้ในการงอก หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน (บาร์= ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน)

En+Em: Endosperm+Embryo En: Endosperm Em: Embryo

แท่งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.01$) เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี DMRT

เมื่อพิจารณาการสร้างแคลลัส พบว่า การวางเลี้ยงชิ้นส่วนของเอนโดสเปิร์มร่วมกับเอ็มบริโอบนสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน ให้การชักนำแคลลัสสูงสุด 90.00 เปอร์เซ็นต์ ขนาดแคลลัสสูงสุด 24.65 ตารางมิลลิเมตร แคลลัสมีลักษณะเป็นปมสีเหลืองอ่อนเกาะกันหลวมๆ (ตารางที่ 3, ภาพที่ 15) อย่างไรก็ตามไม่พบการสร้างแคลลัสจากชิ้นส่วนของเอนโดสเปิร์ม (ภาพที่ 15 และ ภาพที่ 16)



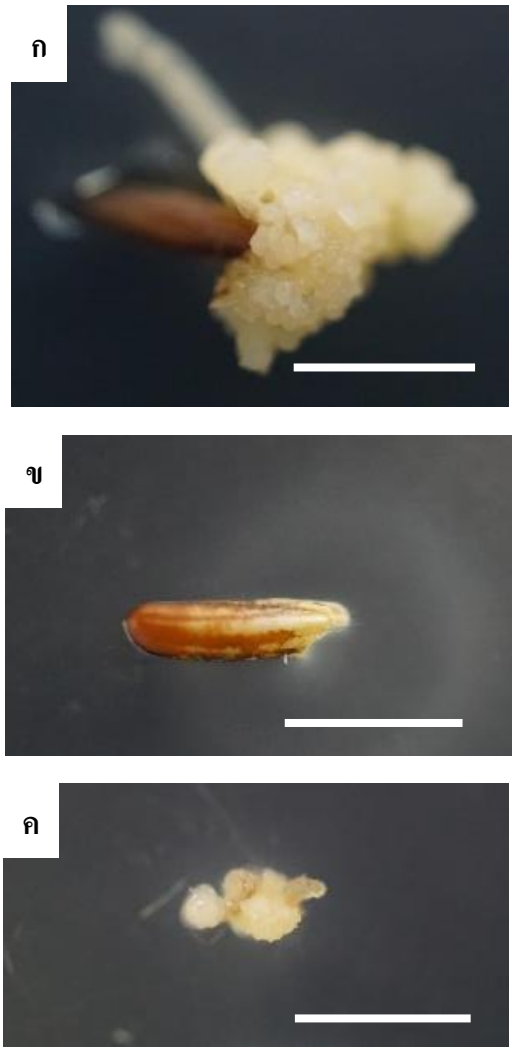
ภาพที่ 15 ผลของชิ้นส่วนเมล็ดต่อการสร้างแคลลัสหลังจากวางเลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน (บาร์= ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน)

En+Em: Endosperm+Embryo En: Endosperm Em: Embryo

แท่งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.01$) เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี DMRT

ตารางที่ 3 ผลของชิ้นส่วนเมล็ดต่อลักษณะของแคลลัสบนสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน

ชิ้นส่วนเมล็ด	ลักษณะของแคลลัส
เอ็นโดเสปิร์มร่วมกับเอ็มบริโอ	สีเหลืองอ่อน, รูปกลม, เกาะกันหลวมๆ
เอ็นโดเสปิร์ม	ไม่มีการสร้างแคลลัส
เอ็มบริโอ	สีเหลืองอ่อน, รูปกลม, เกาะกันหลวมๆ



ภาพที่ 16 ชิ้นส่วนเมล็ดของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงที่วางเลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน (บาร์=5 มม.)
ก. เอ็นโดเสปิร์มร่วมกับเอ็มบริโอ ข. เอ็นโดเสปิร์ม ค. เอ็มบริโอ

3.3 ผลของชิ้นส่วนใบ ชนิดและความเข้มข้นของออกซิน ต่อการสร้างแคลลัสและการเกิดสีน้ำตาล

3.3.1 ชิ้นส่วนโคนใบ

จากการทดลองเปรียบเทียบความเข้มข้นของ 2,4-D และ Dicamba ต่อการชักนำแคลลัสและการเกิดสีน้ำตาล จากชิ้นส่วนโคนใบ เป็นเวลา 30 วัน พบว่า บนสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Dicamba เข้มข้น 2 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสมากสุด 20.00 เปอร์เซ็นต์และเกิดสีน้ำตาลน้อยสุด 93.33 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4 และ ภาพที่ 17) อย่างไรก็ตาม Dicamba เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ลักษณะของแคลลัสดีสุด คือ สีเหลืองอ่อน ๆ รูปกลม และเกาะกันหลวมๆ

3.3.2 ชิ้นส่วนกลางใบ

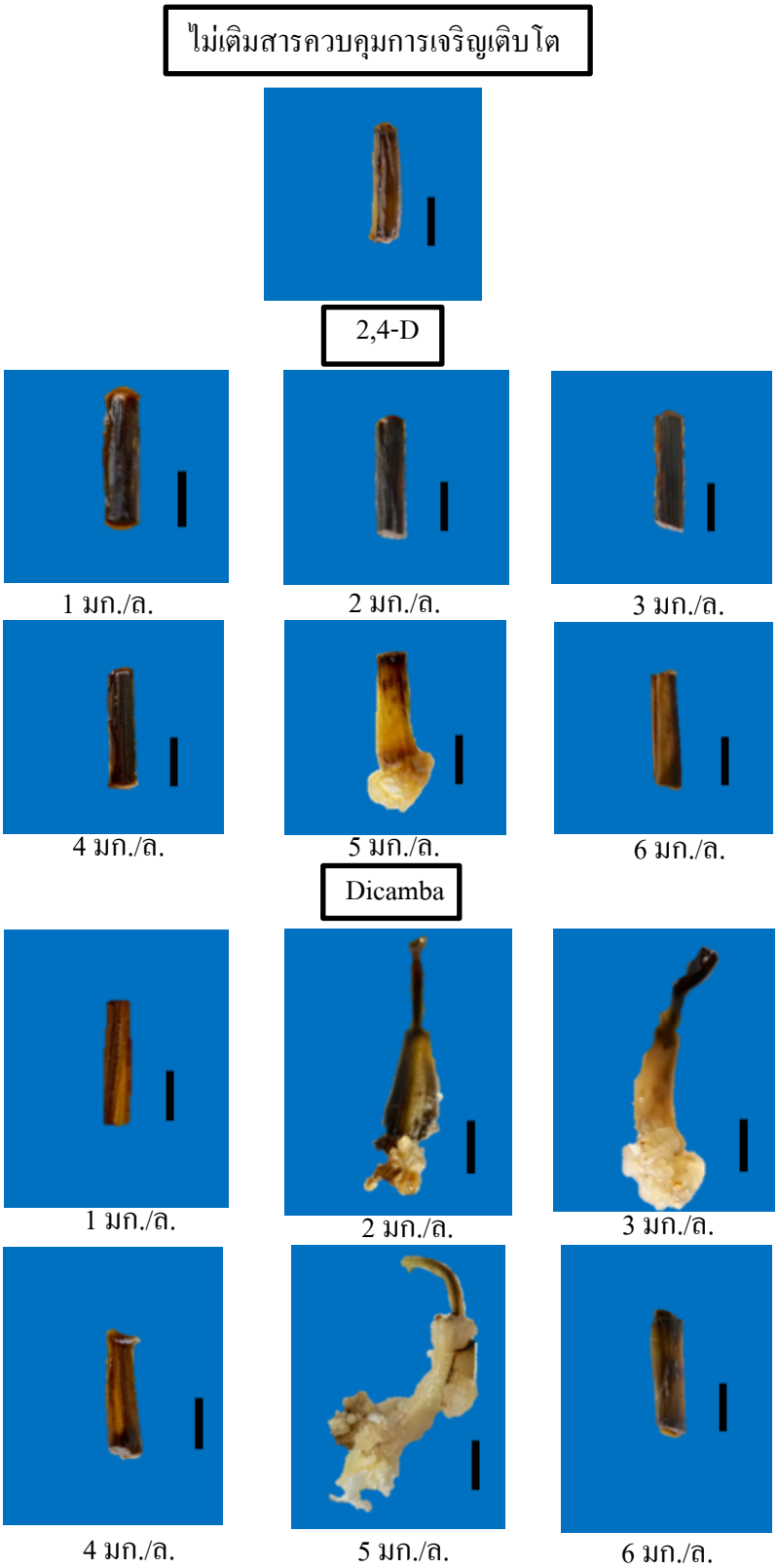
จากการทดลองเปรียบเทียบความเข้มข้นของ 2,4-D และ Dicamba การชักนำแคลลัสและการเกิดสีน้ำตาลจากชิ้นส่วนกลางใบ เป็นเวลา 30 วัน พบว่า ทุกชุดการทดลองไม่สร้างแคลลัสและเกิดสีน้ำตาล 100.00 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4 และ ภาพที่ 18)

3.3.3 ชิ้นส่วนปลายใบ

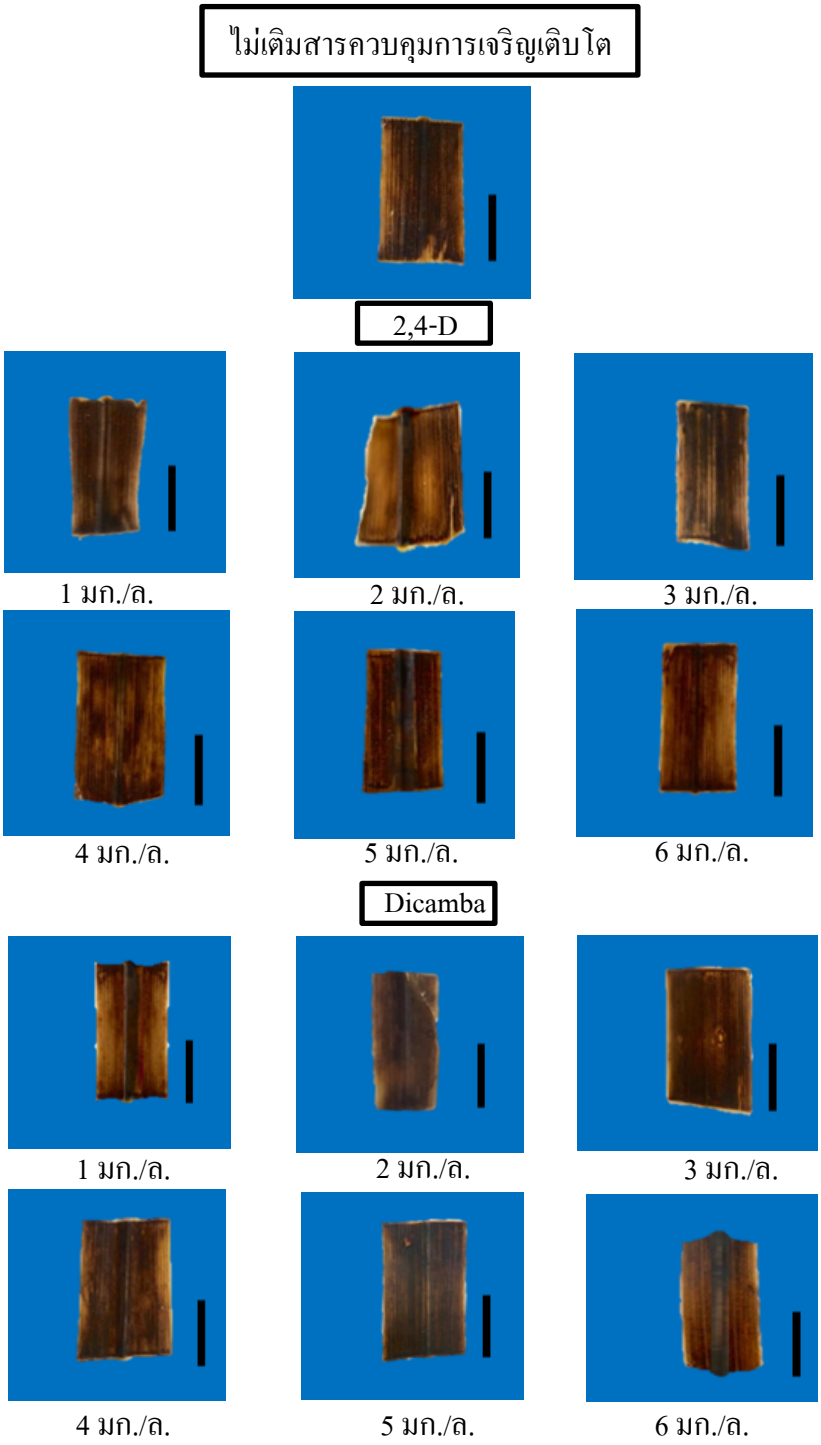
จากการทดลองเปรียบเทียบความเข้มข้นของ 2,4-D และ Dicamba ต่อการเกิดแคลลัสและสีน้ำตาลจากชิ้นส่วนปลายใบ เป็นเวลา 30 วัน พบว่า ทุกชุดการทดลองไม่สร้างแคลลัส และเมื่อวางเลี้ยงปลายยอดบนสูตรอาหาร OPCM ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ให้การเกิดสีน้ำตาลน้อยสุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4 และ ภาพที่ 19)

ตารางที่ 4 ผลของชิ้นส่วนใบ ชนิดและความเข้มข้นของออกซิน ต่อการสร้างแคลลัสและเกิดสีน้ำตาลบนสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน

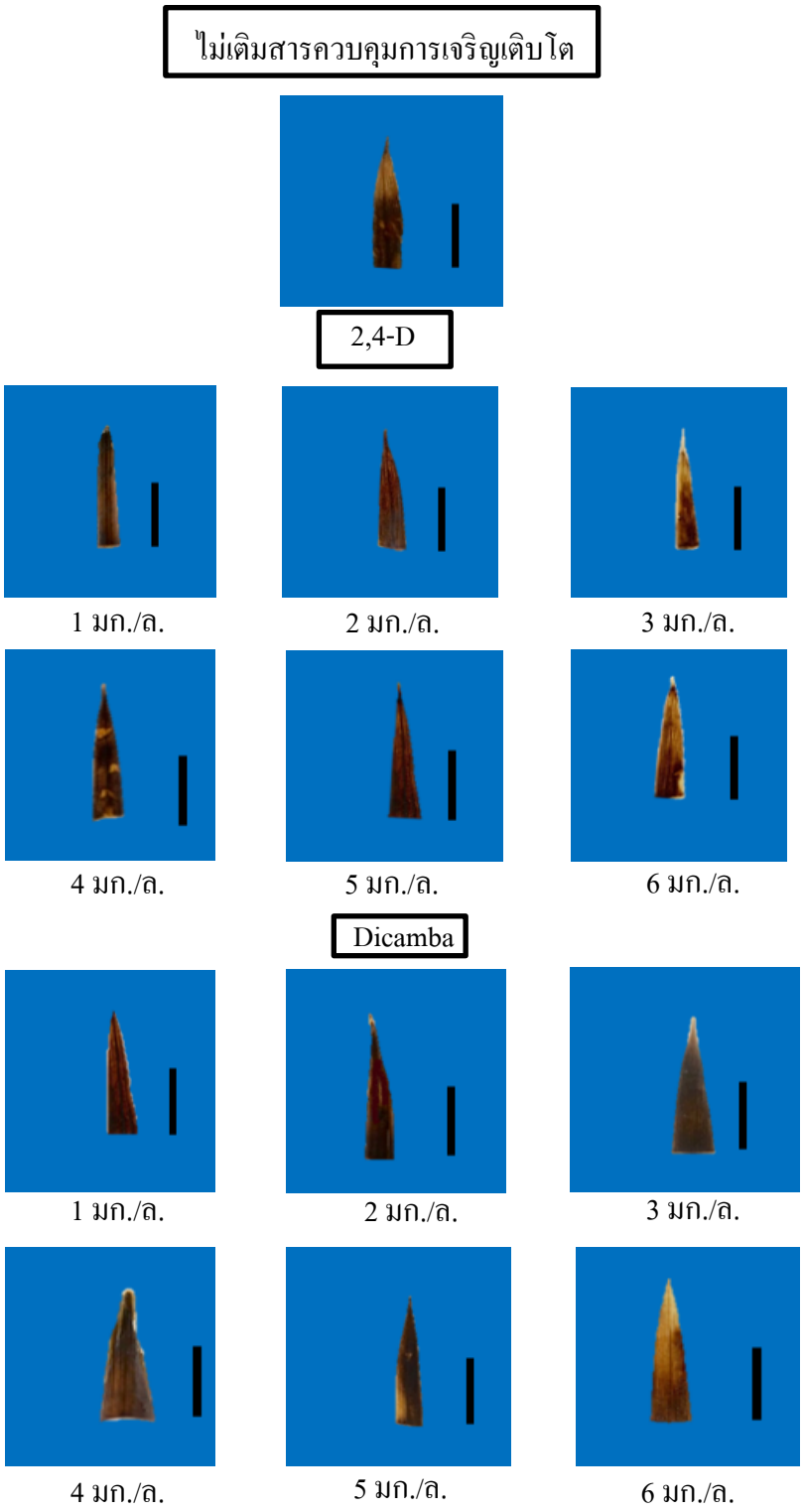
2,4-D (มก./ล.)	Dicamba (มก./ล.)	โคนใบ		กลางใบ		ปลายใบ	
		การชักนำแคลลัส (%)	อัตราการเกิดสีน้ำตาลของใบ (%)	การชักนำแคลลัส (%)	อัตราการเกิดสีน้ำตาลของใบ (%)	การชักนำแคลลัส (%)	อัตราการเกิดสีน้ำตาลของใบ (%)
0	0	0.00±0.00^{b}	100.00±0.00	0.00±0.00	100.00±0.00	0.00±0.00	66.67±11.55^{b}
1	0	0.00±0.00^{b}	100.00±0.00	0.00±0.00	100.00±0.00	0.00±0.00	80.00±20.00^{ab}
2	0	0.00±0.00^{b}	100.00±0.00	0.00±0.00	100.00±0.00	0.00±0.00	100.00±0.00^{a}
3	0	0.00±0.00^{b}	100.00±0.00	0.00±0.00	100.00±0.00	0.00±0.00	100.00±0.00^{a}
4	0	0.00±0.00^{b}	100.00±0.00	0.00±0.00	100.00±0.00	0.00±0.00	93.33±11.55^{ab}
5	0	20.00±0.00^{a}	93.33±11.55	0.00±0.00	100.00±0.00	0.00±0.00	100.00±0.00^{a}
6	0	0.00±0.00^{b}	100.00±0.00	0.00±0.00	100.00±0.00	0.00±0.00	80.00±20.00^{ab}
0	1	0.00±0.00^{b}	100.00±0.00	0.00±0.00	100.00±0.00	0.00±0.00	86.67±23.09^{ab}
0	2	20.00±0.00^{a}	93.33±11.55	0.00±0.00	100.00±0.00	0.00±0.00	100.00±0.00^{a}
0	3	20.00±0.00^{a}	93.33±11.55	0.00±0.00	100.00±0.00	0.00±0.00	93.33±11.55^{ab}
0	4	0.00±0.00^{b}	100.00±0.00	0.00±0.00	100.00±0.00	0.00±0.00	100.00±0.00^{a}
0	5	20.00±0.00^{a}	93.33±11.55	0.00±0.00	100.00±0.00	0.00±0.00	100.00±0.00^{a}
0	6	0.00±0.00^{b}	100.00±0.00	0.00±0.00	100.00±0.00	0.00±0.00	100.00±0.00^{a}
F-test		**	ns	ns	ns	ns	**
C.V. (%)		1.13	0	0	0	0	12.51



ภาพที่ 17 ลักษณะของชิ้นส่วนโคนใบที่เกิดสีน้ำตาลซึ่งวางเลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน (บาร์ = 2.5 มม.)



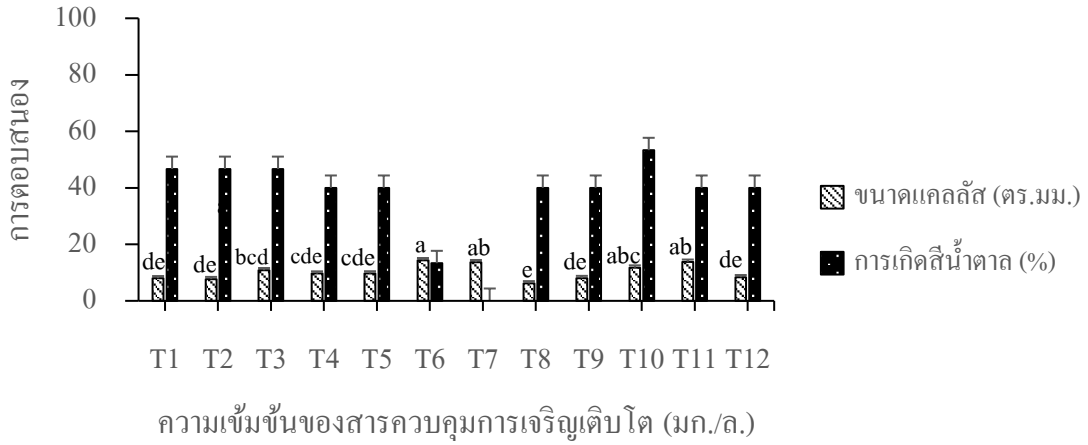
ภาพที่ 18 ลักษณะของชิ้นส่วนกลางใบที่เกิดสีน้ำตาลซึ่งวางเลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน (บาร์ = 2.5 มม.)



ภาพที่ 19 ลักษณะของชิ้นส่วนปลายใบที่เกิดสีน้ำตาลซึ่งวางเลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน (บาร์ = 2.5 มม.)

3.4 ผลของชนิดและความเข้มข้นของกรดอะมิโน ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสและการเกิดสีน้ำตาล

จากการทดลองเปรียบเทียบความเข้มข้นของกรดอะมิโน ต่อการการเกิดแคลลัสและสีน้ำตาล เป็นเวลา 30 วัน พบว่า บนสูตรอาหาร OPCM เติม Tryptophan เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ L-proline เข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ขนาดแคลลัสที่เพิ่มขึ้นมากสุด 14.38 ตารางมิลลิเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับ Glycine เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Glycine เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Tryptophan เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Glycine เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Tryptophan เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร L-proline เข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตรและแคลลัสเกิดสีน้ำตาล 40.00 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 20) อย่างไรก็ตาม สูตรอาหารเติม Glycine เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ขนาดแคลลัสรองลงมา 13.68 ตารางมิลลิเมตร แต่แคลลัสไม่เกิดสีน้ำตาล (ภาพที่ 20 และ ภาพที่ 21) ดังนั้น การเติม Glycine เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหาร ให้ผลดีสุด



ภาพที่ 20 ผลของความเข้มข้นของกรดอะมิโนที่ต่างกันบนอาหารสูตร OPCM หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน (บาร์= ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน)

T1: ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต T2: Pro 200 มก./ล.

T3: Pro 400 มก./ล. T4: Trp 100 มก./ล.

T5: Trp 100 มก./ล. กับ Pro 200 มก./ล. T6: Trp 100 มก./ล. กับ Pro 400 มก./ล.

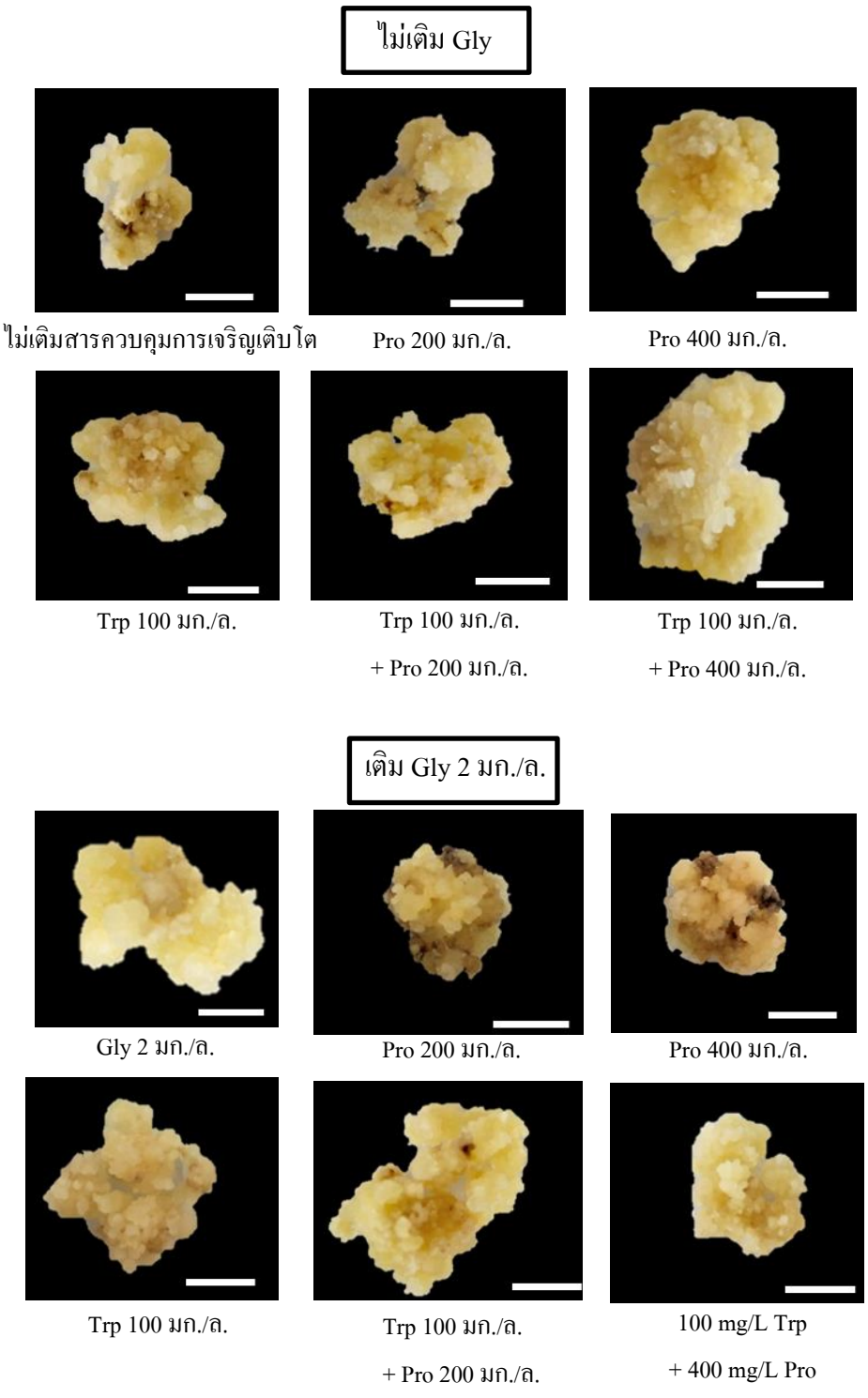
T7: Gly 2 มก./ล. T8: Gly 2 มก./ล. กับ Pro 200 มก./ล.

T9: Gly 2 มก./ล. กับ Pro 400 มก./ล. T10: Gly 2 มก./ล. กับ Trp 100 มก./ล.

T11: Gly 2 มก./ล. กับ Trp 100 มก./ล. กับ Pro 200 มก./ล.

T12: Gly 2 มก./ล. กับ Trp 100 มก./ล. กับ Pro 400 มก./ล.

แท่งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.01$) เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 21 ลักษณะแคลลัสที่วางเลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM ที่เติมกรดอะมิโนต่างกัน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน (บาร์ = 2.5 มม.)

Glycine: Gly Tryptophan: Trp L-proline: Pro

3.5 ผลของ BA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเพิ่มปริมาณยอดและการสร้างรากจากชิ้นส่วนปลายยอด

จากการทดลองเปรียบเทียบความเข้มข้นของ BA และ NAA ต่อการเพิ่มปริมาณยอดและการสร้าง รากจากปลายยอด พบว่า เมื่อเลี้ยงปลายยอดในอาหารเหลว OPCM เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน ให้ความยาวยอดเพิ่มขึ้นสูงสุด 16.25 ยอด ความยาวของใบสูงสุด 17.10 เซนติเมตร จำนวนรากสูงสุด 92.50 ราก และความยาวรากสูงสุด 8.18 เซนติเมตร (ตารางที่ 5, ภาพที่ 22)

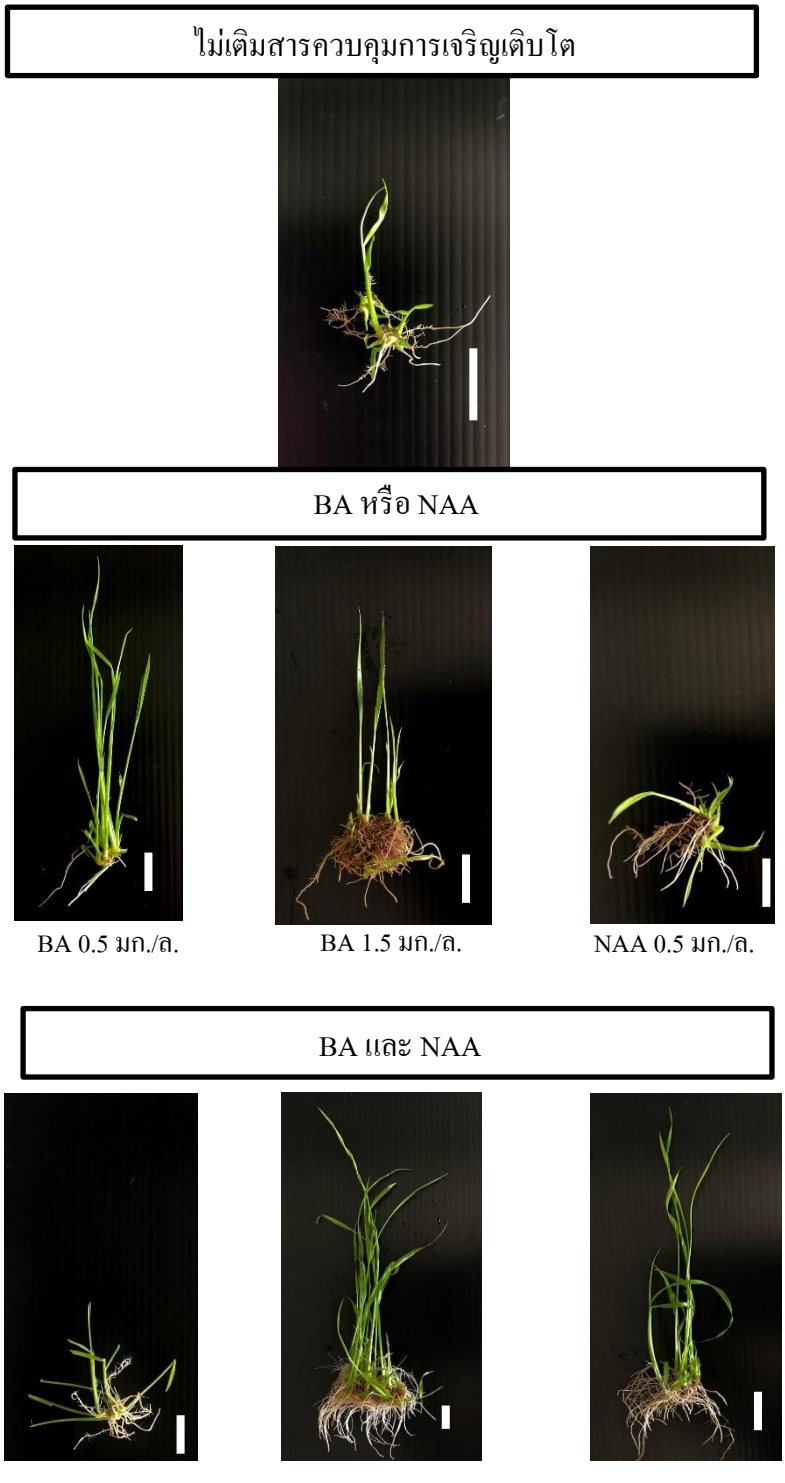
ตารางที่ 5 ผลของ BA และ NAA ความเข้มข้นที่ต่างกันต่อการเพิ่มปริมาณยอดและการสร้างราก หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน

BA (มก./ล.)	NAA (มก./ล.)	จำนวนยอด (ยอด)	ความยาวของใบ (ซม.)	จำนวนราก (ราก)	ความยาวราก (ซม.)
0	0	4.50±0.57^{d}	5.45±0.05^{d}	17.75±0.50^{e}	2.92±0.09^{d}
0.5	0	9.00±1.82^{b}	14.88±0.25^{b}	24.50±21.94^{d}	4.45±0.31^{c}
1	0	0.00±0.00^{e}	0.00±0.00^{f}	0.00±0.00^{g}	0.00±0.00^{e}
1.5	0	7.00±2.94^{c}	13.50±5.48^{c}	88.25±47.06^{b}	5.22±0.48^{bc}
0	0.5	5.75±0.50^{cd}	5.02±0.09^{e}	13.75±0.50^{f}	5.45±0.05^{bc}
0.5	0.5	6.75±0.50^{cd}	5.40±0.08^{d}	14.50±1.00^{f}	5.52±0.09^{bc}
1	0.5	16.25±2.87^{a}	17.10±1.34^{a}	92.50±20.79^{a}	8.17±1.91^{a}
1.5	0.5	9.75±0.50^{b}	16.92±0.09^{a}	58.75±0.50^{c}	6.52±0.09^{b}
F-test		**	**	**	**
C.V. (%)		16.25	1.72	1.82	15.20

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

** แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรร่วมกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 22 ต้นกล้าของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงที่วางเลี้ยงปลายยอดในอาหารเหลวสูตร OPCM เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน (บาร์= 1 ซม.)

3.6 ผลของ BA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการอนุบาลออกปลูก

จากการทดลองเปรียบเทียบความเข้มข้นของ BA และ NAA ต่อการอนุบาลออกปลูก (ภาพที่ 23) พบว่า ต้นกล้าจากสูตรอาหารที่เติม NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และต้นกล้าจากสูตรอาหารที่เติม NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรไม่สามารถรอดชีวิตได้จนให้ผลผลิตหลังจากย้ายลงดินปลูกเป็นเวลา 7 วัน ส่วนต้นกล้าจากสูตรอาหารที่เติม NAA และ/หรือ BA ความเข้มข้นอื่น ๆ รอดชีวิตและเจริญเติบโตได้ตามปกติ เมื่อปลูกและดูแลรักษาในกระถางต่ออีกเป็นเวลา 150 วัน ต้นกล้าที่ได้จากอาหารสูตร OPCM ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ให้ความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด 219.50 เซนติเมตร (ตารางที่ 6) สูตรอาหารเติม BA เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนต้นต่อกอเฉลี่ยสูงสุด 28.50 ต้นต่อกอ (ตารางที่ 7) จำนวนรวงเฉลี่ยสูงสุด 28.50 รวง จำนวนเมล็ดต่อกอ 1455.00 เมล็ด สูตรอาหารเติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เมล็ดลีบน้อยสุด 14.14 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8) สูตรอาหารเติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความกว้างข้าวกล้องสูงสุด 2.10 มิลลิเมตร (ตารางที่ 8)

เมื่อพิจารณาน้ำหนัก 100 เมล็ด พบว่า สูตรอาหารเติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลเฉลี่ยสูงสุด 1.74 กรัม สูตรอาหารเติม BA เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวข้าวเปลือกสูงสุด 9.76 มิลลิเมตร ความกว้างข้าวเปลือกสูงสุด 2.25 มิลลิเมตร ความยาวข้าวกล้องสูงสุด 7.20 มิลลิเมตร และอาหารสูตร OPCM ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ให้ความยาวรวงสูงสุด 29.25 เซนติเมตร (ตารางที่ 8 ภาพที่ 26 และ 27)

สำหรับการเจริญเติบโตของข้าวจากอาหารแต่ละสูตร หลังจากปลูกเป็นเวลา 120 วัน พบว่าต้นข้าวมีการสร้างรวง และหลังจาก 150 วัน มีการสุกแก่ของรวงแสดงดังภาพที่ 24-25 นอกจากนี้ลักษณะของข้าวเปลือกมีลักษณะคล้ายกัน และข้าวกล้องของข้าวจากอาหารแต่ละสูตรมีลักษณะกลมคล้ายกัน อย่างไรก็ตาม ข้าวกล้องจาก BA เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ลักษณะเรียวยาวและสีแดงเข้มกว่าชุดการทดลองอื่นแสดงดังภาพที่ 26-27 ดังนั้น BA เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงเหมาะสมที่สุด

ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

BA

BA 0.5 มก./ล.

BA 1.5 มก./ล.

BA หรือ NAA

NAA 0.5 มก./ล.

BA 1 มก./ล. + NAA 0.5 มก./ล.

BA 1.5 มก./ล. + NAA 0.5 มก./ล.

ภาพที่ 23 ต้นข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงหลังจากครอบถุงเป็นเวลา 7 วัน

ตารางที่ 6 ผลของ BA และ NAA ความเข้มข้นที่ต่างกันต่อการความสูงต้น หลังจากย้ายปลูก เป็นเวลา 60 90 120 และ 150 วัน

BA (มก./ล.)	NAA (มก./ล.)	ความสูงต้น (ซม.)			
		60 วัน	90 วัน	120 วัน	150 วัน
0	0	119.00±1.41	177.20±0.35[a] (0.49)	219.50±0.70[a] (0.84)	219.50±0.71[a] (0.84)
0.5	0	146.80±1.06	159.50±2.12[ab] (0.09)	187.80±1.76[b] (0.28)	190.50±2.12[b] (0.30)
1.5	0	104.20±61.11	148.00±26.87[ab] (0.42)	167.40±13.22[bc] (0.61)	167.40±13.22[bc] (0.61)
1	0.5	63.50±0.71	112.00±12.72[b] (0.76)	152.10±11.17[c] (1.40)	162.00±2.82[c] (1.55)
1.5	0.5	125.20±0.35	155.20±0.35[ab] (0.24)	179.50±0.70[bc] (0.43)	181.00±1.41[bc] (0.45)
F-test		ns	**	**	**
C.V. (%)		24.49	8.86	4.30	3.35

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

** แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรร่วมกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

ตัวเลขในวงเล็บ: อัตราการเจริญเติบโต

ตารางที่ 7 ผลของ BA และ NAA ความเข้มข้นที่ต่างกันต่อจำนวนต้นต่อกอ หลังจากย้ายปลูกเป็นเวลา 60 90 120 และ 150 วัน

BA (มก./ล.)	NAA (มก./ล.)	จำนวนต้นต่อกอ (ต้น)			
		60 วัน	90 วัน	120 วัน	150 วัน
0	0	2.50±0.71	3.00±0.00	3.00±0.00	8.50±0.71[b]
0.5	0	3.50±0.71	4.50±0.71	5.50±3.54	17.00±5.66[ab]
1.5	0	3.00±0.00	4.00±1.41	4.50±2.12	16.50±2.12[ab]
1	0.5	2.00±0.00	2.00±0.71	2.00±0.00	12.00±4.24[b]
1.5	0.5	3.00±1.41	5.00±0.00	8.00±0.00	28.50±0.71[a]
F-test		ns	ns	ns	**
C.V. (%)		27.66	19.11	40.08	20.19

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

** แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรร่วมกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

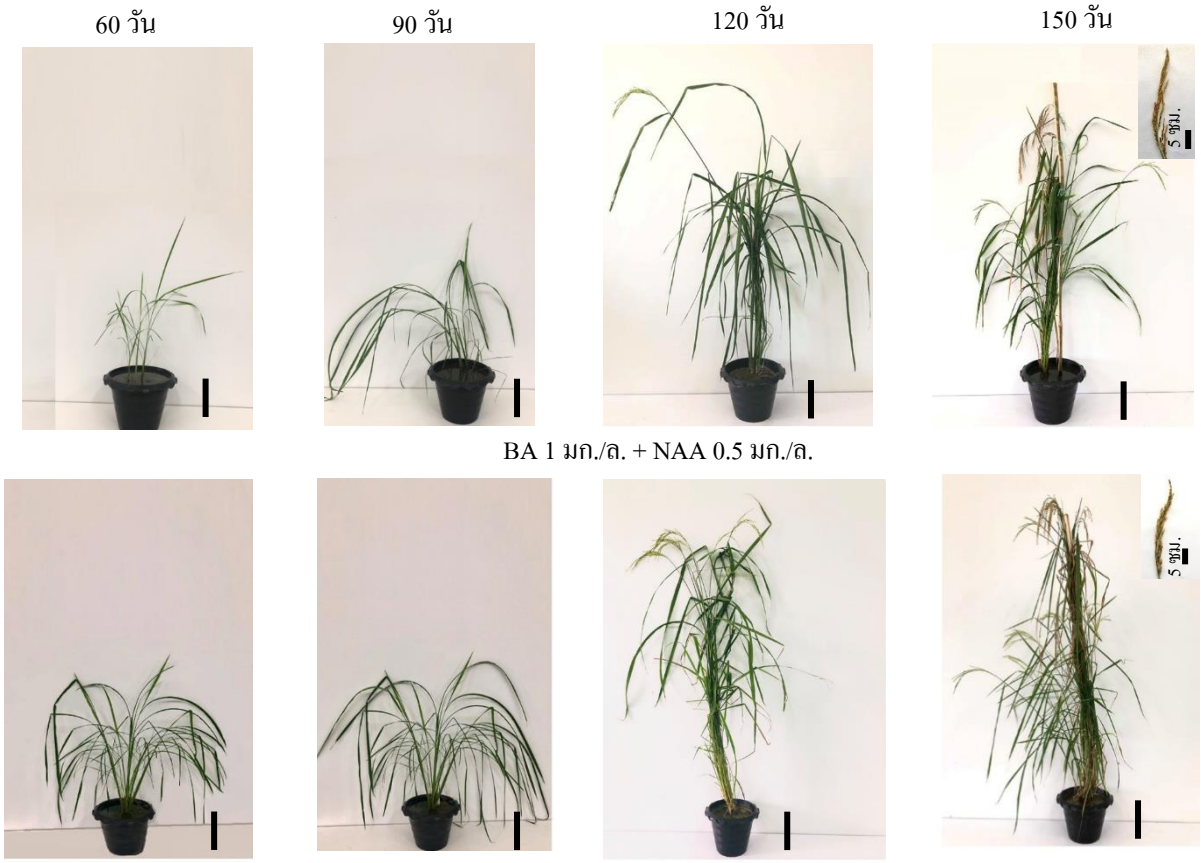
60 วัน 90 วัน 120 วัน 150 วัน

ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

BA 0.5 มก./ล.

BA 1.5 มก./ล.

ภาพที่ 24 การพัฒนาของต้นข้าวหลังจากย้ายปลูก (บาร์= 15 ซม.)



ภาพที่ 25 การพัฒนาของต้นข้าวหลังจากย้ายปลูก (บาร์= 15 ซม.)

ตารางที่ 8 ผลของ BA และ NAA ความเข้มข้นที่ต่างกันต่อความยาวรวง ความยาว กว้างข้าวเปลือก และข้าวกล้อง น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนเมล็ดต่อกอ อัตราการเกิดเมล็ดลีบ และจำนวนรวง หลังจากย้ายปลูกเป็นเวลา 150 วัน

BA (มก./ล.)	NAA (มก./ล.)	ความยาวรวง (ซม.)	ความยาวข้าวเปลือก (มม.)	ความกว้างข้าวเปลือก (มม.)	ความยาวข้าวกล้อง (มม.)	ความกว้างข้าวกล้อง (มม.)	น้ำหนัก 100 เมล็ด (ก.)	จำนวนเมล็ดต่อกอ (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (%)	จำนวนรวง (รวงต่อกระถาง)
0	0	29.25±0.35	9.30±0.00	2.00±0.00	6.70±0.00	2.00±0.00	1.39±0.00^{b}	441±1.41^{d}	23.49±0.05^{d}	8.50±0.71^{b}
0.5	0	25.04±2.64	9.10±0.28	2.00±0.00	6.45±0.07	2.00±0.00	1.44±0.01^{b}	916.5±2.12^{c}	14.14±0.02^{e}	17.00±5.66^{ab}
1.5	0	23.50±1.65	9.76±0.62	2.25±0.35	7.20±0.42	2.00±0.00	1.64±0.05^{a}	1128±3.53^{b}	67.93±0.04^{a}	16.50±2.12^{ab}
1	0.5	27.20±1.60	9.15±0.21	2.20±0.00	7.05±0.07	2.10±0.14	1.74±0.00^{a}	1124±6.36^{b}	37.22±0.01^{c}	12.00±4.24^{b}
1.5	0.5	24.34±0.47	9.30±0.00	2.20±0.00	6.80±0.00	1.90±0.00	1.37±0.04^{b}	1455±1.41^{a}	59.92±0.04^{b}	28.50±0.71^{a}
F-test		ns	ns	ns	ns	ns	**	**	**	**
C.V. (%)		6.13	3.43	7.42	2.85	7.42	1.90	0.34	0.34	20.19

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

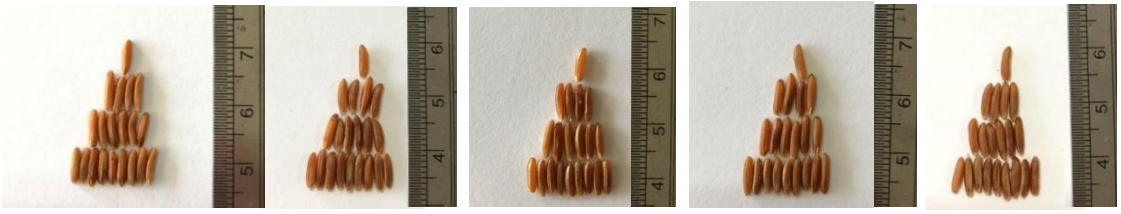
ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

** แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรร่วมกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 0.5 มก./ล. BA 1.5 มก./ล. BA 1 มก./ล. + NAA 0.5 มก./ล. BA 1.5 มก./ล. + NAA 0.5 มก./ล.

ภาพที่ 26 ข้าวเปลือกของสังข์หยดเมืองพัทลุงหลังจากย้ายปลูกเป็นเวลา 150 วัน



ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 0.5 มก./ล. BA 1.5 มก./ล. BA 1 มก./ล. + NAA 0.5 มก./ล. BA 1.5 มก./ล. + NAA 0.5 มก./ล.

ภาพที่ 27 ข้าวกล้องของสังข์หยดเมืองพัทลุงหลังจากย้ายปลูกเป็นเวลา 150 วัน

บทที่ 4
วิจารณ์

4.1 ผลของชนิดและความเข้มข้นของออกซิน ต่อการงอกของยอดและการสร้างแคลลัสของเมล็ด

สารควบคุมการเจริญเติบโตมีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นอย่างมาก โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จะให้ผลต่างกันในพืชที่ต่างกัน ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว หากเลือกใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตและความเข้มข้นที่เหมาะสมจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำแคลลัสได้มากยิ่งขึ้น สำหรับการงอกของเมล็ดสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D ให้อัตราการงอกของเมล็ดสูงกว่าการเติม Dicamba และใช้เวลาในการงอกของเมล็ดน้อยกว่าการเติม Dicamba แต่สำหรับการสร้างแคลลัส พบว่าการใช้ Dicamba ให้ขนาดแคลลัสเพิ่มขึ้นและการชักนำแคลลัสสูงสูงกว่าการเติม 2,4-D อย่างไรก็ตามการเติม Dicamba ในอาหารให้แคลลัสมีลักษณะคล้ายรากมากกว่าลักษณะกลม โดยแคลลัสที่มีลักษณะคล้ายรากเป็นลักษณะที่ไม่ต้องการ ดังนั้นจึงพิจารณา 2,4-D ซึ่งมีแคลลัสลักษณะกลมเพียงอย่างเดียว และขนาดแคลลัสรองลงมาจาก Dicamba

การเติม 2,4-D ที่เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมที่สุดเพราะมีลักษณะของแคลลัสที่ต้องการ ในขณะที่ Abiri และคณะ (2017) และ Jubair และคณะ (2008) รายงานว่าการชักนำแคลลัสในข้าวพันธุ์ MR 219 และข้าวพันธุ์ Topa โดยวางเลี้ยงเมล็ดแก่บนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำแคลลัสได้สูงสุด 75 เปอร์เซ็นต์ และ มีอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัสครั้งแรกสูงสุด 0.085 กรัมต่อสัปดาห์ Yinxia และ Te-chato (2013) รายงานการชักนำแคลลัสในข้าวพันธุ์หอมกระดังงา พบว่า 2,4-D เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารสูตร MS เติมสามารถชักนำแคลลัสได้สูงสุด 33.90 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Yinxia (2013) ยังรายงานอีกว่าการใช้ 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA และ BA เข้มข้นเท่ากัน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kinetin (KN) เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสในข้าวหอมกระดังงาได้ดี แต่ในการศึกษานี้ได้ทดลองทำแล้วปรากฏว่าแคลลัสที่ได้ลักษณะคล้ายรากซึ่งไม่เหมาะสมต่อการย้ายเลี้ยง การเพิ่มปริมาณแคลลัส และการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ (ไม่แสดงข้อมูล) ทั้งนี้ความแตกต่างอาจเนื่องจากสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง และพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา ซึ่งพันธุ์ที่แตกต่างกันตอบสนองต่อสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต่างกัน Abiri และคณะ (2017) รายงานว่าออกซินสามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ แบ่งเซลล์และใช้เป็นตัวเริ่มต้นในการสร้างแคลลัส โดย 2,4-D และ Dicamba เป็นออกซินที่มนุษย์สังเคราะห์ โดยจากการเปรียบเทียบผลของชนิดออกซินในการชักนำแคลลัส พบว่า 2,4-D สามารถชักนำแคลลัสสูงกว่า Dicamba

สอดคล้องกับการศึกษานี้ซึ่งพบว่า Dicamba ให้การสร้างแคลลัสน้อยกว่า 2,4-D และยังส่งเสริมให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นโครงสร้างที่คล้ายรากซึ่งไม่เหมาะในการย้ายเลี้ยงและชักนำพืชต้นใหม่ต่อไป

4.2 ผลของชิ้นส่วนเมล็ดต่อการงอกของยอดและการสร้างแคลลัสของเมล็ด

เมื่อเปรียบเทียบชิ้นส่วนที่แตกต่างกัน พบว่า ชิ้นส่วนเมล็ดข้าว และชิ้นส่วนเอ็มบริโอเท่านั้นที่สามารถงอกและสร้างแคลลัสได้ เนื่องจากว่าชิ้นส่วนเอ็นโดเสปิร์มไม่มีต้นอ่อนและเป็นเนื้อเยื่อถาวรดังนั้นจึงไม่สามารถงอกและไม่สามารถสร้างแคลลัสได้ ทั้งนี้เห็นได้ว่าเมล็ดข้าวทั้งเมล็ดงอกและสร้างแคลลัสได้เร็วที่สุดเพราะมีอาหารจากทั้ง 2 แหล่ง คือ เอ็นโดเสปิร์มและอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง ซึ่งสองวันแรกชิ้นส่วนเมล็ดข้าวทั้งเมล็ด มีการงอกของราก โดยรากมีการดูดน้ำและสารอาหารจากอาหารเพาะเลี้ยงที่มีการเติม 2,4-D ส่งผลทำให้รากไม่มีการพัฒนา แต่มาสร้างแคลลัสแทน การศึกษาชิ้นส่วนของเมล็ดข้าวต่อการงอกและการสร้างแคลลัสยังไม่มีใครรายงานมาก่อน ดังนั้นในการศึกษานี้จึงสรุปได้ว่าการวางเลี้ยงชิ้นส่วนทั้งเมล็ด ส่งผลให้การงอกและการสร้างแคลลัสดีที่สุด แม้ว่าการเพาะเลี้ยงเอ็นโดเสปิร์มข้าวในการศึกษานี้ไม่ตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยง แต่ยังไม่มีการศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม ดังนั้นหากมีการศึกษาปัจจัยอื่นๆ ร่วมด้วยเช่น สูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตเช่น Thidiazuron (TDZ) NAA หรือ BA เป็นต้น เพื่อสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้จะได้ต้นข้าวที่มีโครโมโซมที่มี 3 ชุด เป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวในอนาคตซึ่ง Antoniazzi และคณะ (2018) รายงานการนำเอ็นโดเสปิร์ม ของเสาวรส (*Passiflora edulis* Sims) มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม TDZ เข้มข้น 9 มิลลิกรัมต่อลิตร ว่าให้การชักนำยอดดีสุด 32 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดสูงสุด 59.20 ยอด นอกจากนี้ Thang และคณะ (2018) รายงานการนำเอ็นโดเสปิร์มของเลี่ยน (*Melia azedazach*) มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม NAA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ว่าให้การชักนำแคลลัสสูงสุด 55.90 เปอร์เซ็นต์ ชักนำยอดสูงสุด 98.00 เปอร์เซ็นต์

การเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวทั้งเมล็ดบนสูตรอาหารที่ดีที่สุดคือ อาหารสูตร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่การเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวทั้งเมล็ดมีรายงานในข้าวหลายพันธุ์ โดย Yinxia (2013) รายงานการนำเมล็ดข้าว *indica* พันธุ์หอมกระดังงา ทั้งเมล็ด วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำแคลลัสสูงสุด 33.90 เปอร์เซ็นต์ Abiri และคณะ (2017) รายงานการนำเมล็ดแก่ของข้าว *indica* พันธุ์ MR 219 วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำแคลลัสสูงสุด 61 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าแต่ละพันธุ์มีการตอบสนองต่อสูตรอาหาร ชนิดและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต่างกัน อย่างไรก็ตาม He และ Yang (2013) รายงานว่าเมล็ดมีเอ็นโดเสปิร์มสำหรับการสะสมเก็บอาหารเพื่อเลี้ยงเอ็มบริโอ

การงอกของเมล็ดมีระยะที่สำคัญคือระยะที่ 1 เป็นการดูดน้ำเพื่อทำให้เปลือกเมล็ดอ่อนนุ่มให้น้ำและอากาศผ่านเข้าไปได้ ใช้เวลา 1 วัน ระยะที่ 2 เป็นการย่อยสลายอาหารโมเลกุลใหญ่โดยเฉพาะโพลีแซคคาไรด์ให้เป็นโมเลกุลเล็กของโมโนแซคคาไรด์ใช้เวลา 2 วัน ระยะที่ 3 มีการงอกของรากแรกเกิด ใช้เวลาอย่างน้อย 3 วัน ซึ่ง วัลลภ (2540) รายงานไว้ด้วยว่า กระบวนการงอกของเมล็ดประกอบไปด้วย การดูดน้ำ การกระตุ้นเอนไซม์ การเจริญของเอ็มบริโอ โดยการงอกของเมล็ดข้าวในหลอดช้ากว่านอกหลอด เพราะการทำให้เมล็ดข้าวงอกในหลอด ต้องมีการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดข้าว ซึ่งอาจมีผลต่อการงอก

4.3 ผลของชิ้นส่วนใบ ชนิดและความเข้มข้นของออกซิน ต่อการสร้างแคลลัสและการเกิดสีน้ำตาล

เมื่อพิจารณาชิ้นส่วนใบต่อการชักนำแคลลัสและเกิดสีน้ำตาลมีเพียงชิ้นส่วนโคนใบอย่างเดียวที่ให้การตอบสนองต่อการสร้างแคลลัสเนื่องจากโคนใบเกิดหลังสุดทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นมีอายุน้อยสุดและมีเนื้อเยื่อเจริญมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลางใบและปลายใบ ส่งผลให้มีการสร้างแคลลัสดีสุด อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาชนิดและความเข้มข้นของออกซิน พบว่า Dicamba ชักนำแคลลัสได้ดีกว่า 2,4-D การศึกษาชิ้นส่วนใบข้าว ชนิดและความเข้มข้นของออกซิน ต่อการชักนำแคลลัสและเกิดสีน้ำตาลยังไม่มีใครรายงานมาก่อน ดังนั้นในการศึกษานี้จึงแนะนำว่าการวางเลี้ยงโคนใบบนสูตรอาหารเติม Dicamba ดีสุด เนื่องจากโคนใบมีปริมาณออกซินสูงกว่ากลางใบและปลายใบ เพราะปลายใบเป็นตำแหน่งที่มีการสร้างออกซินและลำเลียงออกซินมายังกลางใบและโคนใบ ทำให้ปริมาณออกซินที่บริเวณโคนใบมีมากสุดทำให้สร้างแคลลัสดีสุด อย่างไรก็ตาม Mareira และคณะ (2016) รายงานการศึกษาอายุและชิ้นส่วนใบต่อการสร้างแคลลัส พบว่า อายุใบไม่มีผลต่อการสร้างแคลลัส และชิ้นส่วนโคนใบอย่างเดียวที่ให้การตอบสนองต่อการสร้างแคลลัส ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษานี้ นอกจากนี้ Mariane รายงานว่า การที่ชิ้นส่วนโคนใบให้ผลดีกว่าชิ้นส่วนกลางและปลายใบเนื่องฮอร์โมนภายในเนื้อเยื่อพืช คือ ชิ้นส่วนโคนใบมีเนื้อเยื่อเจริญมากกว่าชิ้นส่วนกลางและปลายใบทำให้มีการสร้างแคลลัสดีกว่า ทั้งนี้จากการรายงานของ Thawaro และ Te-chato (2009) พบว่า Dicamba จะช่วยส่งเสริมกิจกรรมการแบ่งเซลล์ในชั้นอิพิเดอร์มิส พาเรนไคมา และชั้นเนื้อเยื่อเจริญมัดท่อน้ำและอาหาร แต่เมื่อพิจารณากับชิ้นส่วนเมล็ดในการทดลองที่ 1 จะเห็นว่าชิ้นส่วนเมล็ดสามารถชักนำแคลลัสได้ดีกว่าโคนใบ อาจเนื่องมาจากเมื่อมีการตัดชิ้นส่วนใบทำให้เกิดบาดแผลแล้วชิ้นส่วนใบจะมีการปล่อยสารจำพวกฟีนอลซึ่งเป็นสารพิษออกมาทำให้เกิดสีน้ำตาลขึ้น (นูรมา, 2561) มีผลทำให้ชิ้นส่วนใบสร้างแคลลัสได้น้อย หรือ ไม่สร้างแคลลัส แม้ว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบในการศึกษานี้มีการตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงน้อยซึ่งหากมีการเติมสารต้าน

อนุมูลอิสระ เช่น กรดแอสคอร์บิค มาใช้ร่วมด้วยอาจจะช่วยลดการเกิดสีน้ำตาลแก่ชิ้นส่วนพืชและส่งผลให้ชักนำแคลลัสได้ดีขึ้น

เมื่อพิจารณาการสร้างแคลลัส พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนโคนใบบนอาหารสูตร OPCM เติม Dicamba เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำแคลลัสดีสุด 20.00 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ อรุณี และ สมปอง (2557) รายงานการชักนำแคลลัสจากใบอ่อนข้าวหอมกระดังงาโดยใช้ Dicamba เข้มข้น 0.5 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิดแคลลัสสูงสุด 13.33 เปอร์เซ็นต์ จากรายงานของ อรุณี และ สมปอง (2557) พบว่าการชักนำแคลลัสในพืชเดียวกัน คือ ข้าว แม้ว่าพันธุ์ต่างกัน แต่ให้การชักนำแคลลัสไม่ต่างกัน อย่างไรก็ตาม มีรายงานการเพาะเลี้ยงในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวชนิดอื่น ๆ เช่น ปาล์มน้ำมัน และขมิ้นชัน นูรมา (2561) รายงานการนำใบอ่อนปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. โคลน 6 วางเลี้ยงบนอาหารสูตร OPCM เติม Dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำแคลลัสมากสุด 15.00 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นว่า การใช้ความเข้มข้นของ Dicamba ใกล้เคียงกัน ให้การชักนำแคลลัสไม่ต่างกัน ในขณะที่ ปริญาและคณะ (2558) รายงานการเพาะเลี้ยงกาบใบของขมิ้นชันบนอาหารสูตร MS เติม Dicamba เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การเกิดแคลลัสดีสุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Abiri (2017) รายงานการนำชิ้นส่วนใบข้าวพันธุ์ MR219 วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ว่าไม่สามารถชักนำแคลลัสได้ ความแตกต่างของการตอบสนองของชิ้นส่วนใบต่อออกซินชนิด และความเข้มข้นที่แตกต่างกันอาจเนื่องมาจากพันธุกรรมที่ต่างกัน นอกจากนี้อายุใบที่นำมาเพาะเลี้ยงอาจมีผลต่อการชักนำและเพิ่มปริมาณแคลลัส อย่างไรก็ตามในรายงานที่ผ่านมาไม่ได้กล่าวถึงอายุของใบ ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปเพื่อที่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำแคลลัสควรจะมีการศึกษาอายุของต้นกล้าที่เป็นแหล่งของชิ้นส่วนใบด้วย

เมื่อพิจารณาการเกิดสีน้ำตาลแคลลัส พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายใบบนอาหารสูตร OPCM เติม สูตรอาหาร OPCM ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ให้การเกิดสีน้ำตาลน้อยสุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่สร้างแคลลัส ดังนั้น จึงพิจารณาชิ้นส่วนที่เกิดสีน้ำตาลน้อยสุดและสามารถสร้างแคลลัสได้ พบว่า ชิ้นส่วนโคนใบบนอาหารสูตร OPCM เติม Dicamba เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การเกิดสีน้ำตาลน้อยสุด 93.33 เปอร์เซ็นต์ และสามารถสร้างแคลลัสได้ ในขณะที่ นูรมา (2561) รายงานการนำใบอ่อนปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. โคลน 6 วางเลี้ยงบนอาหารสูตร OPCM เติม Dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การเกิดสีน้ำตาลน้อยสุด 13.33 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม ผลการเกิดสีน้ำตาลที่ต่างกันอาจเนื่องมาจาก นูรมา เติมกรดแอสคอร์บิกร่วมกับการเติม Dicamba ทำให้ชิ้นส่วนพืชเกิดสีน้ำตาลน้อยมากและชนิดพืชต่างกันมีผลต่อการเกิดสีน้ำตาล

4.4 ผลของชนิดและความเข้มข้นของกรดอะมิโน ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสและการเกิดสีน้ำตาล

เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของกรดอะมิโน ต่อขนาดแคลลัสที่เพิ่มขึ้นและการเกิดสีน้ำตาล พบว่าแคลลัสที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร OPCM เติม Glycine เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้มีขนาดแคลลัสที่เพิ่มขึ้นมากสุด 14.38 ตารางมิลลิเมตร และไม่เกิดสีน้ำตาล เนื่องจาก Asthana และคณะ (2017) รายงานว่า กรดอะมิโนบางตัวเป็นสารตั้งต้นของฮอร์โมนที่ช่วยในการเจริญเติบโตของพืชที่จำเป็นสำหรับการแบ่งเซลล์ โดยพืชจะมีการดูดซึมกรดอะมิโนที่รวดเร็วและใช้ได้ทันที ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้สังเคราะห์เป็นโปรตีนได้ทันที ดังนั้นในการศึกษานี้จึงแนะนำว่าการใช้ Glycine เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสในข้าว อย่างไรก็ตาม ในข้าวพันธุ์เดียวกัน มีรายงานการใช้ชนิดของกรดอะมิโนต่างกัน Ho และคณะ (2018) รายงานการชักนำแคลลัสของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง โดยใช้ L-proline เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ CH เข้มข้น 750 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สร้างแคลลัสสูงสุด 73.08 เปอร์เซ็นต์ ผลที่ต่างกันอาจเนื่องมาจากการได้รับแสงของพืช ซึ่งวางเลี้ยงพืชภายใต้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ในขณะที่การศึกษานี้วางเลี้ยงภายใต้แสง 10 ชั่วโมงต่อวัน สูตรอาหารที่ต่างกันมีผลต่อการตอบสนองที่ต่างกัน โดยวางเลี้ยงพืชบนสูตรอาหาร MS แต่การศึกษานี้ใช้สูตรอาหาร OPCM นอกจากนี้มีการนำ 2,4-D ใช้ร่วมกับ กรดอะมิโนเพื่อสร้างแคลลัสเพราะว่าสร้างแคลลัสจากชิ้นส่วนเมล็ดทำให้มีการนำสารควบคุมการเจริญเติบโต คือ 2,4-D มาใช้ร่วมด้วย ในขณะที่การศึกษานี้ใช้กรดอะมิโนเท่านั้นเพราะต้องการเพิ่มแคลลัสจากชิ้นส่วนแคลลัส จึงไม่จำเป็นต้องมีการใช้ 2,4-D อย่างไรก็ตามมีการรายงานการใช้กรดอะมิโนในข้าวพันธุ์อื่นๆ Pawar และคณะ (2015) รายงานการชักนำแคลลัสของข้าวพันธุ์ Ambemohar Indrayani Jaya และ Pawana โดยใช้ L-proline เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ L-Glutamine เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สร้างแคลลัสสูงสุด 68.70 86.20 89.20 97.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Khatun และคณะ (2003) รายงานการชักนำแคลลัสของข้าวพันธุ์ Lx297 โดยใช้ L-Glutamine เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร glycine เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร CH เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ KN เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรให้การชักนำแคลลัสสูงสุด 80.43 เปอร์เซ็นต์ Siriwardana และ Nabors (1983) รายงานการชักนำแคลลัสของข้าวพันธุ์ Calrose 76 โดยใช้ tryptophan เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สร้างโซมาติกเอ็มบริโอ 64 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามการสร้างแคลลัสจากพันธุ์ต่างกันและชิ้นส่วนเริ่มต้นทำให้ใช้กรดอะมิโนชนิดต่างกัน

4.5 ผลของ BA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเพิ่มปริมาณยอดและการสร้างรากจากชิ้นส่วนปลายยอด

ปัจจัยที่มีผลต่อการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ในข้าว ปัจจัยที่หนึ่งคือ ชิ้นส่วนพืชโดยเฉพาะปลายยอดเป็นชิ้นส่วนที่สำคัญเพราะเป็นเซลล์ที่มีเนื้อเยื่อเจริญซึ่งง่ายต่อการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ในหลอดทดลอง (Ho *et al*., 2018) ปัจจัยที่สองคือ สารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งอัตราส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินมีความสำคัญเนื่องจากเป็นตัวควบคุมกระบวนการการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ เช่น การเพิ่มจำนวนยอดรวม และสร้างราก สำหรับการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากปลายยอดในอาหารเหลวสูตร OPCM เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมที่สุดสำหรับการเพิ่มจำนวนยอด ความยาวของใบ จำนวนราก และความยาวรากสูงสุด อย่างไรก็ตาม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำยอดและรากเพราะปลายยอดเกิดสีน้ำตาล ในขณะที่ อรุณี และ สมปอง (2557) รายงานว่า การพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ของข้าวหอมกระดังงาโดยเลี้ยงปลายยอดในอาหารเหลวสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สร้างยอดรวม และจำนวนใบสูงสุด ในขณะที่ Ho และคณะ (2018) รายงานการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง พบว่าการเติม KN เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA และ NAA ในอาหารเหลวสูตร MS ให้จำนวนยอดสูงสุด 14.93 ยอด ในขณะที่การศึกษานี้ ใช้เพียง BA และ NAA เท่านั้น สามารถสร้างยอดได้ 16.25 ยอด ซึ่งมีจำนวนยอดสูงกว่า Ho อย่างไรก็ตามผลที่ต่างกันอาจเนื่องมาระยะการให้แสง โดย Ho วางเลี้ยงพืชภายใต้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน แต่ การทดลองนี้การศึกษานี้วางเลี้ยงพืชภายใต้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน สูตรอาหารที่ต่างกัน โดย Ho ใช้สูตรอาหาร MS ในขณะที่การทดลองนี้ใช้สูตรอาหาร OPCM โดยจะเห็นได้ว่าการใช้สูตรอาหาร OPCM ซึ่งเป็นอาหารที่ประกอบด้วย NH_4NO_3 ความเข้มข้นต่ำกว่า สูตรอาหาร MS แต่สามารถสร้างจำนวนยอดได้สูงกว่า ผลที่ต่างกันอาจเนื่องมาพันธุ์ ความเข้มข้นและชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต่างกัน

4.6 ผลของ BA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการอนุบาลออกปลูก

เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของ BA และ NAA ต่อการอนุบาลออกปลูก พบว่าต้นกล้าที่ได้จากอาหารสูตร OPCM เติม BA เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการรอดชีวิต 100.00 เปอร์เซ็นต์ และการตอบสนองดีสุดเกี่ยวกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา ข้าวกล้องมีความยาวเมล็ดและสีแดงเข้มกว่าชุดการทดลองอื่น เนื่องจาก BA ความเข้มข้นสูง มีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอด กอต่อต้น และความยาวเมล็ด เพราะ BA มีผลต่อการแตกตาข้างและการลำเลียงสารอาหาร นอกจากนี้สีของเมล็ดเพิ่มขึ้นเนื่องจาก BA มีผลต่อการสร้างเอนโทไซยานิน ในขณะที่ อรุณี (2557) รายงานว่า

การอนุบาลออกปลูกของข้าวหอมกระดังงาโดยเลี้ยงยอดด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ในอาหารเหลวสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมคลอรีนไดออกไซด์ เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อย้ายต้นกล้าออกสู่สภาพแปลงปลูก ให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุด 100.00 เปอร์เซ็นต์ Yinxia (2013) รายงานว่า การอนุบาลออกปลูกของข้าวหอมกระดังงา พบว่าการเติม BA NAA และ KN ในอาหารเพาะเลี้ยงให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุด 100.00 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม โดยในการศึกษานี้ใช้ BA และ NAA เท่านั้น ซึ่งน่าจะเกิดจากความแตกต่างของพันธุ์ ดังนั้น ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในหลอดทดลองมีผลต่อการอนุบาลออกปลูก โดยหลังจากออกปลูกเป็นเวลา 14 วัน ต้นกล้าที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารสูตร OPCM เติม NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างเดียวและ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้มีการเหี่ยวและตายทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการเจริญในหลอดทดลองก่อนย้ายลงดินปลูกก็ต่ำมากเมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งทดลองอื่น ๆ ซึ่งผลดังกล่าวเป็นไปได้ว่าการเติมออกซินอย่างเดียวหรือไซโตไคนินความเข้มข้นต่ำทำให้การเจริญเติบโตน้อยอาจไม่เหมาะสมสำหรับการอนุบาลออกปลูก

บทที่ 5

สรุป

การศึกษาผลของออกซินต่อการงอกและการสร้างแคลลัสของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง พบว่า เมล็ดที่เลี้ยงบนอาหารสูตร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน ให้อัตราการงอกของเมล็ดสูงสุด 100.00 เปอร์เซ็นต์ และใช้เวลาในการงอกของเมล็ดน้อยสุด 4.54 วัน แต่หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน ชิ้นส่วนของเอ็นโดเสปิร์มร่วมกับเอ็มบริโอที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM เติม 2,4-D เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำแคลลัสดีสุด 88.00-90.00 เปอร์เซ็นต์ และให้ขนาดของแคลลัสสูงสุด 24.65-28.80 ตารางเซนติเมตร แคลลัสมีสีเหลืองอ่อน รูปกลม และเกาะกันหลวมๆ ชิ้นส่วนโคนใบที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร OPCM เติม Dicamba เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำแคลลัสดีสุด 20.00 เปอร์เซ็นต์ และเกิดสีน้ำตาลน้อยสุด 93.30 เปอร์เซ็นต์ การเติม Glycine เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหาร OPCM ให้ขนาดแคลลัสเพิ่มขึ้น 13.68 ตารางมิลลิเมตร และแคลลัสไม่เกิดสีน้ำตาล การเพาะเลี้ยงปลายยอดในอาหารเหลว เติม BA เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน ให้จำนวนยอด ความยาวของใบ การสร้างราก และความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด เมื่อนำต้นกล้ามาอนุบาลออกปลูกเป็นเวลา 150 วัน ต้นกล้าที่ได้จากอาหารสูตร OPCM เติม BA เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงต้น จำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวง ความยาวรวง ความยาวและความกว้างข้าวเปลือก ความยาวและความกว้างข้าวกล้อง น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนเมล็ดต่อกอ อย่างไรก็ตามต้นกล้าที่ได้จากอาหารสูตร OPCM เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราเมล็ดลีบน้อยสุด

เอกสารอ้างอิง

กมลทิพย์ สำลีแก้ว, อรพิมล แท่นทอง, ผการัตน์ โรจน์ดวง และ สุภาวดี รามสูตร. 2560. การขยายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองพันธุ์กาบดำด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วารสารวิชชา 36: 25-35.

กรมการข้าว. 2553. ข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง ข้าวจีไอ พันธุ์แรกของประเทศไทย. กรุงเทพฯ: สำนักพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าว กรมการข้าว.

กรมการข้าว. 2560. ข้าวสังข์หยด เมืองพัทลุง พันธุ์ข้าวและคุณค่าทางโภชนาการ (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก https://www.thairicedb.com/rice-detail.php?id=1 (เข้าถึงเมื่อ 1 มีนาคม 2562).

นันทิยา พนมจันทร์, ศันสนีย์ จำจด, เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม, Dell, B. และ ชนากานต์ พรมอุทัย. 2559. ความแปรปรวนของลักษณะสัณฐานวิทยาในเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยด จากภาคใต้ของประเทศไทย. แก่นเกษตร 44: 83-94.

นูรมา มาสากี. 2561. การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ที่ให้ผลผลิตสูงด้วยการเพาะเลี้ยงใบอ่อนจากต้นกล้า. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ปริญา สุคนธรัตน์, ทัศนี ขาวเนียม และสมปอง เตชะโต. 2558. การทำให้ชิ้นส่วนปลอดเชื้อและการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนกาบใบของขมิ้นชันในหลอดทดลอง. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 2: 36-40.

พันทิวา ทีรวม และ ขวัญเดือน รัตนา. 2560. การชักนำให้เกิดแคลลัสและต้นใหม่ของข้าวเจ้าหอมนิล. แก่นเกษตร 45: 1052-1059.

ริยาภรณ์ รุ่งตำนาน. 2558. การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีคุณภาพเมล็ดเหมือนข้าวสังข์หยด และต้นเตี้ย. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 3-6 กุมภาพันธ์ 2558 หน้า 367-372.

วัลลภ สันติประชา. 2540. เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์. สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าวและหน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว. 2560. ข้าวคือชีวิต (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก http://dna.kps.ku.ac.th/index.php/rsc-news/new-rsc-rgd/news/205-rice-for-life (เข้าถึงเมื่อ 1 มีนาคม 2562).

สำเริง แซ่ตัน. 2550. ข้าวพันธุ์แรก : สิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ (GI) สังข์หยดเมืองพัทลุง. พัทลุง: ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง.

สมปอง เตชะโต. 2539. เทคโนโลยีชีวภาพของพืชปลูก. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อรุณี ยูโซ๊ะ. 2557. การขยายพันธุ์ข้าวหอมกระดังงาโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และการอนุรักษ์พันธุกรรมในหลอดทดลอง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อรุณี ยูโซ๊ะ และสมปอง เตชะโต. 2557. ผลของซูโครสและไดแคมบาต่อการชักนำแคลลัสจากคัพภะแก่และใบอ่อนของข้าวหอมกระดังงา. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 1: 28-31.

Abiri, R., Maziah, M., Shaharuddin, N.A., Yusof, Z. N. B., Atabaki, N., Hanafi, M.M., Sahebi, M. Azizi, P., Kalhori, N. and Valdiani, A. 2017. Enhancing somatic embryogenesis of Malaysian rice cultivar MR219 using adjuvant materials in a high-efficiency protocol. International Journal of Environmental Science and Technology 14: 1091-1108.

Antoniazzi, C.A., Faria, R.B.D., Carvalho, P.P.D., Mikovski, A.I., Carvalho, I.F.D., Matos, E.M.D., Reis, A.C., Viccini, L.F., Pinto, D.L.P., Rocha, D.I., Otoni, W.C. and Silva, M.L.D. 2018. *In vitro* regeneration of triploid plants from mature endosperm culture of commercial passionfruit (*Passiflora edulis* Sims). Scientia Horticulturae 238: 408-415.

Asthana, P., Rai, M.K. and Jaiswal, U. 2017. Somatic embryogenesis from sepal explants in *Sapindus trifoliatus*, a plant valuable in herbal soap industry. Industrial Crops and Products 100: 228-235.

Datta, S.K., Peterhans, A., Datta, K. and Potrykus, I. 1990. Genetically engineered fertile *indica*-rice recovered from protoplasts. Biotechnology 8: 736-740.

Feng, X., Zhao, P., Hao, J., Hu, J., Kang, D. and Wang, H. 2011. Effects of sorbitol on expression of genes involved in regeneration of upland rice (*Oryza sativa* L.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 106: 455–463.

Ge, X., Chu, Z., Lin, Y. and Wang, S. 2006. A tissue culture system for different germplasms of *indica* rice. Plant Cell Reports 25: 392-402.

He, D. and Yang, P. 2013. Proteomics of rice seed germination. Frontiers in Plant Science 246: 1-9.

Hazarika, B.N., Silva, J.A.T.D. and Talukdar, A. 2006. Effective acclimatization of *in vitro* cultured plants: methods, physiology and genetics. Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology 2: 426-438.

Hiei, Y. and Komari, T. 2008. Agrobacterium-mediated transformation of rice using immature embryos or calli induced from mature seed. Nature Protocol 3: 824-834.

Ho, T. L., Te-Chato S and Yenchon S. 2018. Callus induction and plantlet regeneration systems in *Indica* rice (*Oryza sativa* L.) cultivar Sangyod. Walailak Journal of Science and Technology 15: 753-763.

Ho, T. L., Te-Chato, S. and Yenchon, S. 2019. Effect of culture media and plant growth regulators on callus induction and regeneration of *Indica* rice (*Oryza sativa* L.) cultivar Sangyod. Songklanakarin Journal of Plant Science 6: 48-58

Hoque, M.E. and Mansfield, J.W. 2004. Effect of genotype and explant age on callus induction and subsequent plant regeneration from root-derived callus of *Indica* rice genotypes. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 78: 217–223.

Karthikeyan, A., Pandian, S.K. and Ramesh, M. 2011. Agrobacterium-mediated transformation of leaf base derived callus tissues of popular *indica* rice (*Oryza sativa* L. sub sp. *indica* cv. ADT 43). Plant Science 181: 258-268.

Jubair, T.A., Salma, U., Haque, N., Akter, F., Mukti, I.J., Haque, A.K.M.F. and Ali, M.R. 2008. Callus induction and regeneration of local rice (*Oryza sativa* L.) variety Topa. Asian Journal of Plant Sciences 7: 513-516.

Khatun, M.M., Ali, M.H. and Desamera, V. 2003. Effect of genotype and culture media on callus formation and plant regeneration from mature seed scutella culture in rice. Plant Tissue Culture and Biotechnology 13: 99-107.

Lin, Y.J. and Zhang, Q. 2005. Optimizing the tissue culture conditions for high efficiency transformation of *indica* rice. Plant Cell Reports 23: 540–547.

Linsmaier, E.M. and Skoog, F. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum 18: 100-127.

Moreira, C.M., T., Andrade, H.B.D., Bertolucci, S.K.V., Lameira, O.A., Mohammed, A. and Pinto, J.E.B.P.2016. Plantlet regeneration from young leaf segments of curaua (*Ananas erectifolius*), an amazon species. Turkish Journal of Biology 40: 1227-1234.

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

Nitsch, J. P. and Nitsch, C. 1969. Haploid plants from pollen grains. Science 163: 85-87.

Pawar, B., Kale, P., Bahurupe, J., Jadhav, A., Kale, A. and Pawar, S. 2015. Proline and glutamine improve *in vitro* callus induction and subsequent shooting in rice. Rice Science 22: 283-289.

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

Saharan, V., Yadav, R.C., Yadav, N.R. and Chapagain, B.P. 2004. High frequency plant regeneration from desiccated calli of *indica* rice (*Oryza sativa* L.). African Journal of Biotechnology 3: 256–259.

Siriwardana, S. and Nabors, M.W. 1983. Tryptophan enhancement of somatic embryogenesis in rice. Plant Physiology 73: 142-146.

Tariq, M., Ali, G., Hadi, F., Ahmad, S., Ali, N. and Shah, A.A. 2008. Callus induction and *in vitro* plant regeneration of rice (*Oryza sativa* L.) under various condition. Pakistan Journal of Biological Sciences 11: 255-259.

Thang, B.V., Viet, N.V., Nam, V.Q. Tung, H.T. and Nhut, D.T. 2018. Triploid plant regeneration from immature endosperms of *Melia azedazach.* Plant Cell, Tissue and Organ Culture 133: 351–357.

Thawaro, S. and Te-chato, S. 2009. Effect of genotypes and auxins on callus formation from mature zygotic embryos of hybrid oil palms. Journal of Agricultural Technology 5: 167-177.

Wani, S.H., Sanghera, G.S. and Gosal, S.S. 2011. An efficient and reproducible method for regeneration of whole plants from mature seeds of a high yielding *Indica* rice (*Oryza sativa* L.) variety PAU 201. New Biotechnology 28: 418–422.

Xa, T. T. T. and Lang, N. T. 2011. Rice breeding for high grain quality through anther culture. *OmonRice*, 18: 68-72.

Yinxia Zhang. 2013. Establishment of *in vitro* regeneration systems and gene transformation into *Indica* rice (*Oryza sativa* L.) Landrace Hom Kra Dang Ngah. Songkhla: Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University.

Yinxia, Z. and Te-chato, S. 2013. Improved plantlet regeneration systems in *Indica* rice (*Oryza sativa* L.) landrace Hom Kra Dang Ngah. Journal of Agricultural Technology 9: 1641–1654.

Yodmanee, S., Karrila, T.T. and Pakdeechanuan, P. 2011. Physical, chemical and antioxidant properties of pigmented rice grown in Southern Thailand. International Food Research Journal 18: 901-906.

Zinnah, K.M.A., Zobayer, N., Sikdar, S.U., Liza, L.N., Chowdhury, M.A.N. and Ashrafuzzaman, M. 2013. *In vitro* regeneration and screening for salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). International Research Journal of Biological Sciences 2: 29-36.

Zuraida, A. R., Naziah, B., Zamri, Z. and Sreeramanan, S. 2011. Efficient plant regeneration of Malaysian *indica* rice MR 219 and 232 *via* somatic embryogenesis system. Acta Physiologiae Plantarum 33: 1913-1921.

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวก ก องค์ประกอบของสูตรอาหาร Oil palm culture medium (OPCM)

องค์ประกอบ	ปริมาณสาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)
NH_4NO_3	1,025.00
KNO_3	950.00
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	268.00
$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	278.00
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	185.00
K_2SO_4	495.00
KH_2PO_4	170.00
H_3BO_3	6.20
$MnSO_4 \cdot H_2O$	16.90
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	9.60
KI	0.415
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	3.138
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.013
Na2EDTA	37.30
FeSO4·7H2O	27.80
Myoinositol	100.00
Glycine	2.00
Nicotinic acid	0.50
Pyridoxine·HCl	0.50
Thiamine·HCl	0.55
Sucrose (กรัม)	30
วุ้น (กรัม)	7
pH	5.7

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวปรมาภรณ์ น้อยมุสิก

รหัสประจำตัวนักศึกษา 6010620044

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จ
การศึกษา		
วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2560

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

1. ทุนสนับสนุนสถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ
2. ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

1. Noimusik, P., Te-chato, S. and Yenchon, S. 2018. Effect of plant growth regulators on shoot multiplication and root induction from culturing shoot tips of *Sang Yod Muang Phatthalung* rice. The 11th IMT-GT UNINET Conference, Penang, Malaysia, 11-12 December 2018, pp. 130-136.
2. ปรมาภรณ์ น้อยมุสิก, สมปอง เตชะโต และ สุรีรัตน์ เย็นช้อน.ผลของออกซินและชิ้นส่วนเมล็ดต่อการงอกของยอดและการชักนำแคลลัสของข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง. แก่นเกษตร (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์)