

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการขยายพันธุ์ข้าวพันธุ์เล้าแตกและข้าวพันธุ์
เหนียวแดงในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of Growth Regulators on *In Vitro* Propagation of Rice (*Oryza sativa* L.)

cv. Lao Tak and Neaw Daeng

จตุพร หงษ์ทองคำ^{1*}, อภิญา สีลาโส¹, รัชนิกร ทองเฟื่อง¹ และ รชยา พรมงคล¹

¹ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด

* Email: jatuporn_h@hotmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและเกิดต้นของข้าวพันธุ์เล้าแตกและข้าวพันธุ์เหนียวแดง โดยการเพาะเมล็ดข้าวบนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เมล็ดข้าวพันธุ์เล้าแตกและข้าวพันธุ์เหนียวแดงเกิดแคลลัสเท่ากับ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยเมล็ดข้าวพันธุ์เหนียวแดงมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุดเท่ากับ 100% และข้าวพันธุ์เล้าแตกมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุดคือ 96% เมื่อนำแคลลัสมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่เติม α -naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0-2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ N⁶-benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 0-4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดต้น พบว่า อาหารสังเคราะห์ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้แคลลัสของข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์เกิดต้นได้มากที่สุด โดยในแคลลัสข้าวพันธุ์เล้าแตกมีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นมากที่สุดเท่ากับ 96% มีจำนวนต้นเฉลี่ยเท่ากับ 5.60 ต้น/แคลลัส และจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 5.30 ราก/ต้น และแคลลัสข้าวพันธุ์เหนียวแดงพบเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นมากที่สุด 92% มีจำนวนต้นและจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 3.30 ต้น/แคลลัส และ 5.80 ราก/ต้น ตามลำดับ การขยายพันธุ์ข้าวพันธุ์เล้าแตกและข้าวพันธุ์เหนียวแดงสามารถทำได้ในสภาพปลอดเชื้อ โดยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสและเกิดต้น ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของ 2,4-D และสัดส่วนของ NAA และ BA ที่เหมาะสม

คำสำคัญ: สารควบคุมการเจริญเติบโต การชักนำให้เกิดแคลลัส การเกิดต้น

Abstract

The effects of growth regulators on callus induction and regeneration of Lao Tak and Neaw Daeng rice (*Oryza sativa* L.) were investigated. Seeds of two rice cultivar were cultured on solid Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with various concentrations of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) for 4 weeks. The result revealed that the optimal concentration of 2,4-D for callus induction of Lao Tak and Neaw Daeng rice was 3 mg/l and 1 mg/l, respectively. These concentrations showed the highest callus induction percentage, 100 percent in Neaw Daeng and 96 percent in Lao Tak rice. The calli were then transferred to MS medium supplemented with 0-2 mg/l α -naphthaleneacetic acid (NAA) and 0-4 mg/l N⁶-benzyladenine (BA) for regeneration at 8 weeks. The result showed that MS medium supplemented with 1.5 mg/l NAA combination of 2 mg/l BA was the most suitable medium for shoot regeneration in both rice. In Lao Tak rice, the highest percentage of shoot regeneration, the average number of shoots per callus and average number of roots per shoot were 96 percent, 5.60 shoots and 5.30 roots, respectively. For Neaw Daeng rice, the highest percentage of shoot regeneration, the average number of shoots per callus and average number of roots per shoot were 92 percent, 3.30 shoots and 5.80 roots, respectively. Therefore the *in vitro* propagation of Lao Tak and Neaw Daeng rice was achieved depend on suitable concentration of 2,4-D and suitable ratio between NAA and BA.

Keywords: Growth regulators, callus induction, regeneration

บทนำ

ข้าวพันธุ์พื้นเมืองในประเทศไทยนับว่ามีความหลากหลายทางด้านพันธุกรรม (Genetic diversity) เป็นจำนวนมาก ซึ่งเชื้อพันธุ์ข้าวพื้นเมืองเหล่านี้มีคุณค่าและมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการปรับปรุงพันธุ์และผสมพันธุ์ เพื่อให้ได้พันธุ์ข้าวที่ดี ให้ผลผลิตสูง เหมาะสมกับสภาพดินฟ้าอากาศ ด้านทานโรคและแมลงศัตรูพืช ตลอดจนมีคุณภาพดีเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและนอกประเทศ โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่นิยมปลูกกันมากที่สุดคือ ข้าวพันธุ์เล่าแตก ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่เจริญเติบโตง่าย ให้ผลผลิตสูงมาก เมื่อหุงจะมีกลิ่นหอม เนื้อข้าวอ่อนนุ่มและเหนียวมาก ชาวอีสานจึงนิยมนำมาแปรรูปเป็นขนมต่างๆ เช่น ข้าวโป่ง ข้าวหลาม ขนมข้าวพอง เป็นต้น และข้าวพันธุ์เหนียวแดงเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองของทุ่งกุลาร้องไห้ที่เพาะปลูกกันมานาน (เมธาพร ผลวา, อังคณา จันทรพลพันธ์ และทัดดาว ภาชีผล, 2561) ด้วยคุณสมบัติทางกายภาพของเมล็ดข้าวที่มีสีแดง เมื่อหุงสุกจะอ่อนนุ่มและมีกลิ่นหอม ทำให้ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคและนิยมนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร (เมธาพร ผลวา, อังคณา จันทรพลพันธ์ และทัดดาว ภาชีผล, 2560) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่ไม่ผลิตข้าวมีสี เช่น สีแดง สีดำ มักประกอบด้วยสารพฤกษเคมีในปริมาณสูงซึ่งเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคอย่างมาก แต่ในปัจจุบันพบว่า การเพาะปลูกข้าวพื้นเมืองในสภาพธรรมชาติซึ่งเป็นการอนุรักษ์พันธุ์ให้คงอยู่ในสภาพเดิม (*In situ* conservation) มีจำนวนน้อยลง เนื่องจากไม่สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมให้มีความเหมาะสมได้

ต้องรอดูกาล และใช้ระยะเวลาเพาะปลูกนาน ทำให้การเพาะปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องและอาจสูญพันธุ์ได้ในที่สุด (ฉวีวรรณ วุฒินาโน, 2543) ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องเร่งรณรงค์ให้มีการอนุรักษ์พันธุ์พืชตามธรรมชาติให้คงอยู่สภาพเดิม และส่งเสริมให้มีการรวบรวมและอนุรักษ์เชื้อพันธุ์ข้าวพื้นเมืองไว้เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ และผสมพันธุ์ให้ได้พันธุ์ที่ดีผลผลิตสูงและคุณภาพดีต่อไป ดังนั้น การนำเอาเทคโนโลยีใหม่ๆ เข้ามาใช้ในการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จึงเป็นวิธีการอนุรักษ์พันธุ์ข้าวพื้นเมืองได้อีกแนวทางหนึ่ง

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนับว่าเป็นวิธีการหนึ่งที่ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งนอกจากจะช่วยแก้ปัญหาการเพาะปลูกในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมแล้ว ยังสามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวที่ใช้ระยะเวลาสั้นกว่าการปรับปรุงพันธุ์พืชแบบดั้งเดิม (Conventional plant breeding) ได้อีกด้วย (พันทิwa ที่รวม และขวัญเดือน รัตนา, 2560) ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวได้รับการพัฒนาไปอย่างรวดเร็ว ชั้นส่วนต่างๆ ของต้นข้าวเกือบทุกส่วนสามารถนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเพื่อสร้างแคลลัสได้ (ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ และคณะ, 2537) เช่น ราก ใบ และเมล็ด เมื่อย้ายแคลลัสที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่เหมาะสมสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์ได้ (เผด็จ ระติสุนทร และคณะ, 2536) ปัจจัยที่ทำให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวในหลอดทดลองประสบผลสำเร็จนั้น นอกจากจะขึ้นอยู่กับสูตรอาหารพื้นฐานที่เหมาะสมแล้ว ยังขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตอีกด้วย

ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญของข้าวพันธุ์เจ้าตากและข้าวพันธุ์เหนียวแดง ข้าวพันธุ์พื้นเมืองของภาคตะวันออกเฉียงเหนือในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นข้อมูลในการปรับปรุงพันธุ์อันจะนำไปสู่การเพิ่มผลผลิตของข้าว และเพื่อเป็นการอนุรักษ์สายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองอย่างยั่งยืนต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและชักนำให้เกิดต้นของข้าวพันธุ์เจ้าตากและข้าวพันธุ์เหนียวแดงในสภาพปลอดเชื้อ

วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

ผลของ 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสข้าวพันธุ์เจ้าตากและข้าวพันธุ์เหนียวแดง

นำเมล็ดข้าวเปลือกพันธุ์เจ้าตากและข้าวพันธุ์เหนียวแดงที่ได้จากศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี จ.อุบลราชธานีมาแกะเปลือกออก และล้างให้สะอาดด้วยน้ำผสมน้ำยาจิบไบ จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาดหลายๆ ครั้ง และนำไปฟอกฆ่าเชื้อโดยแช่เมล็ดข้าวในสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 20% (v/v) เขย่าเป็นเวลานาน 30 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นานครั้งละ 5 นาที แล้วใช้ปากคีบๆ เมล็ดข้าวมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige & Skoog, 1962) ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร วางไว้ในที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ แต่ละหน่วยทดลองทำ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ขวดๆ ละ 5 เมล็ด

บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส วัดขนาดและน้ำหนักสดของแคลลัส และสังเกตลักษณะของแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไปเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ผลของ α -naphthaleneacetic acid (NAA) และ N⁶-benzyladenine (BA) ต่อการชักนำให้แคลลัสข้าวพันธุ์เล้าแตกและข้าวพันธุ์เหนียวแดงเกิดขึ้น

นำแคลลัสของข้าวพันธุ์เล้าแตกและข้าวพันธุ์เหนียวแดงที่ถูกชักนำได้บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0, 1, 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้แคลลัสเกิดขึ้น เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารทุก ๆ 3 สัปดาห์ แต่ละหน่วยทดลองทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 15 แคลลัส บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดต้น จำนวนต้นต่อแคลลัส และจำนวนรากต่อต้น เมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไปเป็นเวลา 8 สัปดาห์

สถิติที่ใช้ในการทดลอง

การศึกษาในครั้งนี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) ข้อมูลที่บันทึกได้ทั้งหมดนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนจำแนกทางเดียว (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 22

ผลการวิจัย

ผลของ 2,4-D ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เล้าแตกและข้าวพันธุ์เหนียวแดง

จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์เล้าแตกและเหนียวแดงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นระดับต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า เมล็ดข้าวทั้ง 2 พันธุ์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม 2,4-D ทุกความเข้มข้น มีแคลลัสเกิดขึ้น ซึ่งแตกต่างจากเมล็ดข้าวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม 2,4-D ที่ไม่สามารถสร้างแคลลัสได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเมล็ดข้าวพันธุ์เล้าแตกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสสูงสุดคือ 96 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดและน้ำหนักสดแคลลัสเท่ากับ 5.48 มิลลิเมตร และ 0.94 กรัม ตามลำดับ จากการสังเกตลักษณะของแคลลัส พบว่า แคลลัสมีสีเหลืองและมีลักษณะเกาะตัวกันอย่างหลวมๆ

ส่วนเมล็ดข้าวพันธุ์เหนียวแดงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุดคือ 100 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสที่ได้มีสีขาวและมีลักษณะเกาะตัวกันอย่างหลวมๆ มีขนาดและน้ำหนักสดสูงสุดเท่ากับ 5.06 มิลลิเมตร และ 0.73 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลของ 2,4-D ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เล้าแตกและข้าวพันธุ์เหนียวแดง เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์

2,4-D (มก./ล.)	ข้าวพันธุ์เล้าแตก			ข้าวพันธุ์เหนียวแดง		
	เปอร์เซ็นต์การ ชักนำให้เกิด	ขนาดของ แคลลัส (มม.)	น้ำหนักของ แคลลัส (ก.)	เปอร์เซ็นต์การ ชักนำให้เกิด	ขนาดของ แคลลัส (มม.)	น้ำหนักของ แคลลัส (ก.)
	แคลลัส $\pm$ SD	$\pm$ SD	$\pm$ SD	แคลลัส $\pm$ SD	$\pm$ SD	$\pm$ SD
0	0.00 $\pm$ 0.00 ^c	0.00 $\pm$ 0.00 ^e	0.00 $\pm$ 0.00 ^e	0.00 $\pm$ 0.00 ^b	0.00 $\pm$ 0.00 ^e	0.00 $\pm$ 0.00 ^e
1	72.00 $\pm$ 4.89 ^b	3.33 $\pm$ 0.03 ^d	0.61 $\pm$ 0.01 ^d	100.00 $\pm$ 0.00 ^a	5.06 $\pm$ 0.01 ^a	0.73 $\pm$ 0.02 ^a
2	76.00 $\pm$ 4.00 ^b	3.66 $\pm$ 0.01 ^c	0.73 $\pm$ 0.01 ^c	96.00 $\pm$ 4.00 ^a	4.18 $\pm$ 0.01 ^b	0.64 $\pm$ 0.01 ^b
3	96.00 $\pm$ 4.00 ^a	5.48 $\pm$ 0.01 ^a	0.94 $\pm$ 0.02 ^a	92.00 $\pm$ 4.89 ^a	3.74 $\pm$ 0.01 ^c	0.60 $\pm$ 0.01 ^c
4	88.00 $\pm$ 4.89 ^a	4.73 $\pm$ 0.01 ^b	0.81 $\pm$ 0.01 ^b	92.00 $\pm$ 4.89 ^a	3.13 $\pm$ 0.02 ^d	0.51 $\pm$ 0.01 ^d

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's multiple range test (DMRT)

ผลของ NAA และ BA ต่อการชักนำให้แคลลัสข้าวพันธุ์เล้าแตกและข้าวพันธุ์เหนียวแดงเกิดขึ้น

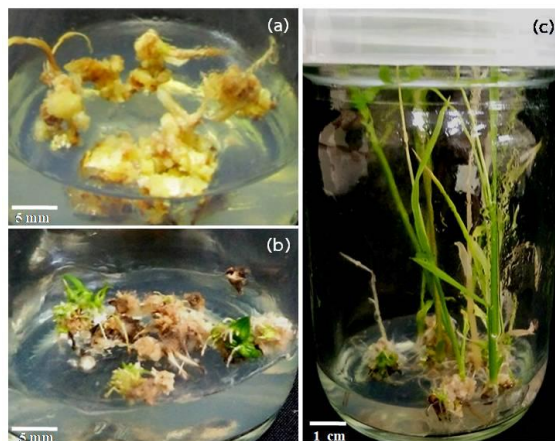
จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสข้าวพันธุ์เล้าแตกและเหนียวแดงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดต้น พบว่า อาหารที่เติม NAA และ BA สามารถชักนำให้แคลลัสของข้าวทั้งสองพันธุ์สร้างจุดกำเนิดยอดสีเขียวขึ้นที่บริเวณผิวด้านบนของแคลลัส และต่อมาเกิดการเจริญเป็นต้นได้โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นที่แตกต่างกันไป (ตารางที่ 2) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม NAA และ BA ที่ไม่มีการสร้างจุดกำเนิดยอดสีเขียวและไม่มีการพัฒนาไปเป็นต้นได้ โดยในข้าวพันธุ์เล้าแตก พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้แคลลัสเจริญไปเป็นต้นได้ดีที่สุด (ภาพที่ 1) โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นเท่ากับ 96 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนต้นเฉลี่ย 5.60 ต้นต่อแคลลัส และมีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 5.30 รากต่อต้น (ตารางที่ 2)

เช่นเดียวกับแคลลัสของข้าวพันธุ์เหนียวแดงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเจริญไปเป็นต้นได้ดีที่สุด (ภาพที่ 2) โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นสูงสุดเท่ากับ 92 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนต้นเฉลี่ย 3.30 ต้นต่อแคลลัส และมีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 5.80 รากต่อต้น (ตารางที่ 2)

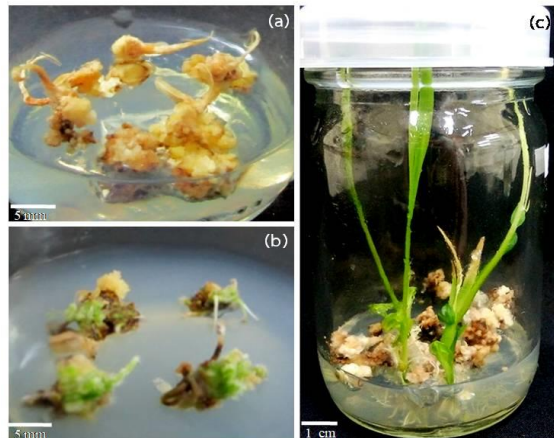
ตารางที่ 2 ผลของ NAA และ BA ต่อการชักนำแคลลัสข้าวพันธุ์เจ้าตากและเหนียวแดงเจริญเป็นต้นเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

NAA (มก./ล.)	BA (มก./ล.)	ข้าวพันธุ์เจ้าตาก			ข้าวพันธุ์เหนียวแดง		
		เปอร์เซ็นต์การ เกิดยอด $\pm$ SD	จำนวนยอด เฉลี่ยต่อ แคลลัส $\pm$ SD	จำนวนราก เฉลี่ยต่อต้น $\pm$ SD	เปอร์เซ็นต์การ เกิดยอด $\pm$ SD	จำนวนยอด เฉลี่ยต่อ แคลลัส $\pm$ SD	จำนวนราก เฉลี่ยต่อต้น $\pm$ SD
0	0	0.00 $\pm$ 0.00 ^d	0.00 $\pm$ 0.00 ^f	0.00 $\pm$ 0.00 ^f	0.00 $\pm$ 0.00 ^g	0.00 $\pm$ 0.00 ^f	0.00 $\pm$ 0.00 ^f
1	1	44.00 $\pm$ 7.49 ^c	2.80 $\pm$ 0.20 ^c	4.80 $\pm$ 0.20 ^a	56.00 $\pm$ 4.00 ^c	1.90 $\pm$ 0.27 ^c	3.60 $\pm$ 0.16 ^b
1.5	1	48.00 $\pm$ 8.00 ^{bc}	2.80 $\pm$ 0.13 ^c	3.00 $\pm$ 0.25 ^b	60.00 $\pm$ 0.00 ^{bc}	1.50 $\pm$ 0.16 ^{cd}	4.20 $\pm$ 0.13 ^b
2	1	56.00 $\pm$ 9.79 ^{bc}	4.30 $\pm$ 0.21 ^b	3.30 $\pm$ 0.21 ^b	32.00 $\pm$ 4.89 ^d	1.20 $\pm$ 0.13 ^{de}	2.40 $\pm$ 0.22 ^{cd}
1	2	88.00 $\pm$ 4.89 ^a	4.60 $\pm$ 0.16 ^b	5.10 $\pm$ 0.18 ^a	72.00 $\pm$ 4.89 ^b	2.50 $\pm$ 0.16 ^b	2.70 $\pm$ 0.30 ^c
1.5	2	96.00 $\pm$ 4.00 ^a	5.60 $\pm$ 0.16 ^a	5.30 $\pm$ 0.15 ^a	92.00 $\pm$ 4.89 ^a	3.30 $\pm$ 0.15 ^a	5.80 $\pm$ 0.13 ^a
2	2	40.00 $\pm$ 6.32 ^c	2.70 $\pm$ 0.26 ^c	1.40 $\pm$ 0.45 ^d	28.00 $\pm$ 4.89 ^{de}	1.20 $\pm$ 0.24 ^{de}	1.20 $\pm$ 0.41 ^e
1	3	48.00 $\pm$ 8.00 ^{bc}	1.60 $\pm$ 0.22 ^d	1.30 $\pm$ 0.30 ^d	16.00 $\pm$ 4.00 ^{ef}	1.00 $\pm$ 0.25 ^{de}	1.00 $\pm$ 0.25 ^e
1.5	3	64.00 $\pm$ 4.00 ^b	1.60 $\pm$ 0.22 ^d	2.20 $\pm$ 0.20 ^c	12.00 $\pm$ 4.89 ^g	0.60 $\pm$ 0.16 ^e	0.90 $\pm$ 0.27 ^e
2	3	44.00 $\pm$ 7.48 ^c	1.70 $\pm$ 0.21 ^d	3.20 $\pm$ 0.20 ^b	8.00 $\pm$ 4.89 ^g	1.10 $\pm$ 0.23 ^{de}	1.00 $\pm$ 0.21 ^e
1	4	12.00 $\pm$ 4.89 ^d	0.80 $\pm$ 0.20 ^e	0.90 $\pm$ 0.31 ^{de}	8.00 $\pm$ 4.89 ^g	1.40 $\pm$ 0.22 ^{cd}	2.20 $\pm$ 0.13 ^{cd}
1.5	4	8.00 $\pm$ 4.89 ^d	0.80 $\pm$ 0.13 ^e	1.20 $\pm$ 0.29 ^{de}	12.00 $\pm$ 4.89 ^g	1.30 $\pm$ 0.21 ^{cd}	1.90 $\pm$ 0.10 ^d
2	4	8.00 $\pm$ 4.89 ^d	0.70 $\pm$ 0.21 ^e	0.50 $\pm$ 0.22 ^{ef}	8.00 $\pm$ 4.89 ^g	1.20 $\pm$ 0.24 ^{de}	0.60 $\pm$ 0.22 ^{ef}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's multiple range test (DMRT)



ภาพที่ 1 ข้าวพันธุ์เจ้าตาก; (a) การชักนำให้เกิดแคลลัสบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (b) การเกิดจุดกำเนิดยอดสีเขียวบนแคลลัสภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (c) การเกิดเป็นต้นเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 2 ข้าวพันธุ์เหนียวแดง; (a) การชักนำให้เกิดแคลลัสบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (b) การเกิดจุดกำเนิดยอดสีเขียวบนแคลลัส หลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (c) การเกิดเป็นต้นเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์

อภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาผลของ 2,4-D ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าตากและข้าวพันธุ์เหนียวแดง พบว่า ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส ขนาด และน้ำหนักสดของข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยในเมล็ดข้าวพันธุ์เจ้าตากที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุดเท่ากับ 96 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสมีขนาดและน้ำหนักสดเท่ากับ 5.48 มิลลิเมตร และ 0.94 กรัม ตามลำดับ ส่วนในเมล็ดข้าวพันธุ์เหนียวแดง พบว่าอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุด 92 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสมีขนาด 3.74 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีน้ำหนักสดเท่ากับ 0.51 กรัม ขณะที่อาหารสูตร MS ที่ไม่เติม 2,4-D ไม่สามารถชักนำให้เมล็ดข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ เกิดแคลลัสได้ เนื่องจาก 2,4-D เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่ม ออกซินที่มีคุณสมบัติเป็นสารเร่งการเจริญเติบโต มีผลกระตุ้นให้เกิดการสร้างโปรตีนและกรดนิวคลีอิกเพื่อใช้ในแบ่งเซลล์และขยายของเซลล์ นอกจากนี้ยังมีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการชักนำให้เนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวเจริญเป็นแคลลัส (รัตนา ขามฤทธิ์, 2558; Bhaskaran & Smith, 1990) เนื่องจากมีคุณสมบัติในการปิดกั้นกระบวนการกำเนิดอวัยวะ ทำให้สามารถรักษาสภาพการเลี้ยงเป็นแคลลัสได้ (Buddharaksa et al., 2013) มีรายงานความสำเร็จของการใช้ 2,4-D ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของเมล็ดข้าวหลายชนิด เช่น ในการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวหอมมะลิ 105 และข้าวเหนียว กข 6 บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เมล็ดข้าวทั้ง 2 พันธุ์เกิดแคลลัสของที่มีขนาดใหญ่ ลักษณะแข็งและเกาะตัวกันแน่น (Buddharaksa et al., 2013) ขณะที่ในข้าวพันธุ์ข้าวเกลี้ยงและ

พันธุ์พญาลิ้มแกง พบว่า เมล็ดข้าวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สามารถชักนำให้เมล็ดข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์เกิดแคลลัสได้สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ (รัตน ขามฤทธิ์, 2558) และในการชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวเจ้าหอมนิล พบว่า การเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละการสร้างแคลลัส น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยสูงที่สุด (พันทิวา ที่รวม และขวัญเดือน รัตน, 2560) อย่างไรก็ตามจะเห็นว่าความเข้มข้นของ 2,4-D ที่ใช้แตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของข้าว และชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อนำมาเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ การใช้ 2,4-D ความเข้มข้นที่สูงเกินไปอาจมีผลยับยั้งการสร้างแคลลัสของข้าวได้อีกด้วย (Htwe et al., 2011; Michiba, Okamoto & Mii, 2001)

จากการศึกษาการชักนำให้แคลลัสข้าวพันธุ์เจ้าแตกและข้าวพันธุ์เหนียวแดงเกิดต้น พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA มีผลอย่างมากต่อการชักนำให้แคลลัสเกิดต้น จากการสังเกตพบว่า แคลลัสของข้าวทั้ง 2 พันธุ์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม NAA และ BA แคลลัสจะไม่เกิดจุดสีเขียวและไม่สามารถเจริญไปเป็นต้นได้ ซึ่งแตกต่างจากแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA และ BA โดยแคลลัสจะเริ่มเกิดจุดสีเขียวบนผิวด้านบนแคลลัส และจากนั้นจะเจริญไปเป็นยอดอ่อนและพัฒนาไปเป็นต้นที่มีรากต่อไป สอดคล้องกับ Sahrawat & Chand (2001) รายงานการเจริญเป็นต้นใหม่ของแคลลัสภายหลังจากการย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้เจริญเป็นต้น จะเริ่มพัฒนาจากการสร้างจุดสีเขียว (green sport) บริเวณผิวของแคลลัสก่อนจากนั้นจึงเจริญเป็นยอดและเกิดรากในเวลาต่อมา ทำให้ได้ต้นที่สมบูรณ์โดยไม่ต้องย้ายยอดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ชักนำให้เกิดราก (ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ และคณะ, 2537) ซึ่งในการทดลองนี้พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้แคลลัสของข้าวทั้ง 2 พันธุ์เจริญเป็นต้นได้ดี โดยในข้าวพันธุ์เจ้าแตกมีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้น จำนวนต้นเฉลี่ย และจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 96 เปอร์เซ็นต์ 5.60 ต้นต่อแคลลัส และ 5.30 ราก/ต้น ตามลำดับ และในข้าวพันธุ์เหนียวแดงมีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้น จำนวนต้นและรากเฉลี่ยเท่ากับ 92 เปอร์เซ็นต์ 3.30 ต้นต่อแคลลัส และ 5.80 รากต่อต้นตามลำดับ การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินและไซโตไคนิน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง NAA และ BA มีรายงานการใช้กันอย่างแพร่หลาย เพื่อชักนำให้เนื้อเยื่อพืชสร้างอวัยวะ และกระตุ้นให้แคลลัสเจริญเป็นต้นใหม่ได้ ดังในการศึกษาของอรุณี ยูโซ๊ะ และสมปอง เตชะโต (2558) รายงานว่า การใช้ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมคลอรีนไดออกไซด์ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ยอดอ่อนข้าวหอมกระดังงามีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 12.60 ยอด และในการชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสของข้าวเหนียว กข 6 พบว่า อาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมต่อการเกิดยอดของแคลลัสมากที่สุด (Buddharaksa et al., 2013) อย่างไรก็ตามในการศึกษาของรัตน ขามฤทธิ์ (2558) พบว่า การเติมสารอินทรีย์บางชนิด เช่น น้ำมะพร้าว สามารถกระตุ้นให้แคลลัสของข้าวพันธุ์ข้าวเกลี้ยงและพญาลิ้มแกงเกิดเป็นต้นได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA BA ร่วมกับน้ำมะพร้าวความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและการเจริญเป็นต้นของข้าวพันธุ์เจ้าแตกและข้าวพันธุ์เหนียวแดง พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เมล็ดข้าวพันธุ์เจ้าแตกแคลลัสได้ดีที่สุด และในข้าวพันธุ์เหนียวแดง พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสมากที่สุด สำหรับการชักนำให้แคลลัสเจริญเป็นต้นพบว่า อาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้แคลลัสข้าวพันธุ์เจ้าแตกและข้าวพันธุ์เหนียวแดงเจริญเป็นต้นได้ดีที่สุด

เอกสารอ้างอิง

- ฉวีวรรณ วุฒินาโน. (2543). พันธุ์ข้าวพื้นเมืองไทย. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร.
- ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ, เติม ระติสุนทร, เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา, สุรินทร์ ปิยะโชดณากุล, เลิศลักษณ์ เงินศิริ, เบญจมาศ ศิลาอ้อย, พรรณี รอดแรงบุญ, กาญจนา กล้าแข็ง และรังสิต เสี่ยงพันธุ์. (2537). การชักนำให้เกิดการกลายในข้าวโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *วารสารเกษตรศาสตร์ (วิทย.)* 28 (3), 381-389.
- เติม ระติสุนทร, ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ, เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา, สุรินทร์ ปิยะโชดณากุล, และเลิศลักษณ์ เงินศิริ. (2536). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ. *วิทยาศาสตร์ (สาขาวิทยาศาสตร์)*, 27 (3), 278-285.
- พันทิwa ที่รวม และขวัญเดือน รัตน. (2560). การชักนำให้เกิดแคลลัสและต้นใหม่ของข้าวเจ้าหอมนิล. *แก่นเกษตร* 45 (ฉบับพิเศษ 1), 1052-1059.
- เมธาพร ผลวา, อังคณา จันทรพลพันธ์ และทัตดาว ภาชีผล. (2560). ผลของระยะเวลาในการพัฒนาเมล็ดข้าวต่อคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของข้าวเหนียวดำ. *แก่นเกษตร*. 45 (ฉบับพิเศษ 1), 1099-1104.
- เมธาพร ผลวา, อังคณา จันทรพลพันธ์ และทัตดาว ภาชีผล. (2561). คุณลักษณะทางเคมีและกายภาพของข้าวเหนียวแดงระหว่างการพัฒนาของเมล็ดข้าว 3 ระยะหลังการออกดอก. *แก่นเกษตร*. 46 (ฉบับพิเศษ 1), 526-532.
- รัตน ขามฤทธิ์. (2558). แนวโน้มการทนเค็มของข้าวพันธุ์ชีวกลี้งและพญาลิ้มแกง ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *วารสารเกษตร*, 31(3), 259-268.
- อรุณี ยูโซ๊ะ และสมปอง เตชะโต. (2558). การขยายพันธุ์ข้าวหอมกระดังงาโดยการเพาะเลี้ยงปลายยอดภายใต้ระบบไบโอรีแอคเตอร์. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์*, 2(3), 12-16.
- Bhaskaran, S. & Smith, R.H. (1990). Regeneration in cereal tissue: culture: a review. *Crop Science*, 30, 1328-1336.
- Buddharaksa, P., U-kong, W., Chundet, R., Wongsawad, P. & Sanguansermisri, M. (2013). Callus induction from seeds *in vitro* culture of rice KDML 105 and glutinous rice RD 6. *Naresuan Phayao Journal*, 6(2), 100-105.

- Htwe, N.N., Maziah, M.H., Ling, C., Zaman, F.Q. & Zain, A.M. (2011). Responses of some selected malaysian rice genotypes to callus induction under in vitro salt stress. *African Journal of Biotechnology*, 10 (3), 350-362.
- Michiba, K., Okamoto, T. & Mii, M. (2001). Increasing ploiding level in cell suspension cultures of *Doritaenopsis* by exogenous application of 2,4 -dichlorophenoxyacetic acid. *Physiology Planta*, 112, 142-148.
- Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A reverse medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant Physiology*, 15, 473-497.
- Sahrawat, A.K. & Chand, S. (2001). High frequency plant regeneration from coleoptile tissue of indica rice (*Oryza sativa* L.). *In vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 37, 55-61.