

### บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

เมล็ดข้าวเหนียวดำที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงจำนวน 2 พันธุ์ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างกันดังนี้ พันธุ์ G.S. No. 00621 มีลักษณะของเปลือกเมล็ด

#### 1. การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำเมล็ดข้าว 2 พันธุ์ให้เจริญเป็นแคลลัส

นำเมล็ดข้าวทั้ง 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ G.S. No. 00621 และ พันธุ์ G.S. No. 21629 มาแกะเปลือกออก แล้วล้างให้สะอาดด้วยผงซักฟอก จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาดหลายๆครั้ง แล้วนำไปฟอกฆ่าเชื้อโดยแช่เมล็ดข้าวใน 70% แอลกอฮอล์ นาน 5 นาที จากนั้นย้ายไปแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ 15% ที่เติม Tween 20 จำนวน 3-4 หยด เขย่าเป็นครั้งคราวนาน 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง นำเมล็ดข้าวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว 30 เมล็ดต่อทริตเมนต์มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS และสูตร N6 คัดแปลงที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 ก./ล., ผงวุ้น 8 ก./ล. และเติม 2,4-D ความเข้มข้นต่างกัันดังตารางที่ 2 อาหารทุกสูตรปรับ pH เท่ากับ 5.8 จากนั้นนำมาเก็บไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีแสง 16 ชม./วัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลอง

ตารางที่ 2 สูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) และ N6 (Nisch and Nisch, 1969) คัดแปลงที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นต่างกััน

สูตรอาหาร	2,4-D (มก./ล.)
1	0
2	1
3	2
4	3
5	4
6	5



## 2. การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้แคลลัสเจริญเป็นต้น

แคลลัสข้าวหึ่ง 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ G.S. No. 00621 และ พันธุ์ G.S. No. 21629 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำแคลลัสที่เหมาะสมอายุ 3 สัปดาห์มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 ก./ล., ผงวุ้น 8 ก./ล. และเติม kinetin ความเข้มข้นต่างกัน ดังตารางที่ 3 อาหารทุกสูตรปรับ pH เท่ากับ 5.8 จากนั้นนำมาเก็บไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีแสง 16 ชม./วัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลอง

ตารางที่ 3 สูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม kinetin ความเข้มข้นต่างกัน

สูตรอาหาร	kinetin (มก./ล.)
1	0
2	1
3	2
4	3
5	4
6	5

