

บทที่ 4 ผลการวิจัย

การศึกษาที่ 1. การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำเมล็ดข้าว 2 พันธุ์ให้เจริญเป็น แคลลัส

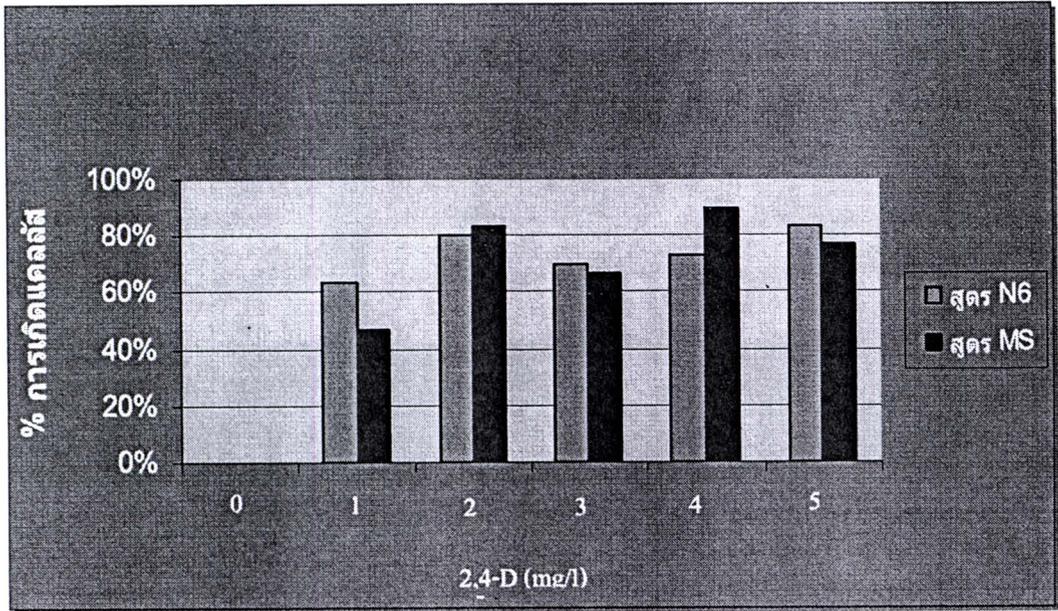
นำเมล็ดข้าวทั้ง 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ G.S. No. 00621 และ พันธุ์ G.S. No. 21629 มาแกะเปลือก
ออก แล้วล้างให้สะอาดด้วยผงซักฟอก จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาดหลายๆครั้ง แล้วนำไปฟอกฆ่าเชื้อ
โดยแช่เมล็ดข้าวใน 70% แอลกอฮอล์ นาน 5 นาที จากนั้นย้ายไปแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ 15% ที่
เติม Tween 20 จำนวน 3-4 หยด เขย่าเป็นครั้งคราวนาน 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3
ครั้ง นำเมล็ดข้าวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว 30 เมล็ดต่อทริตเมนต์มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS และ
สูตร N6 ดัดแปลงที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 ก./ล., ผงวุ้น 8 ก./ล. และเติม 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆกัน
ดังตารางที่ 2 อาหารทุกสูตรปรับ pH เท่ากับ 5.8 จากนั้นนำมาเก็บไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีแสง
16 ชม./วัน อุณหภูมิ 25+2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลอง

ตารางที่ 1 สูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) และ N6 (Nisch and Nisch, 1969) ดัดแปลง
ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นต่างกัน

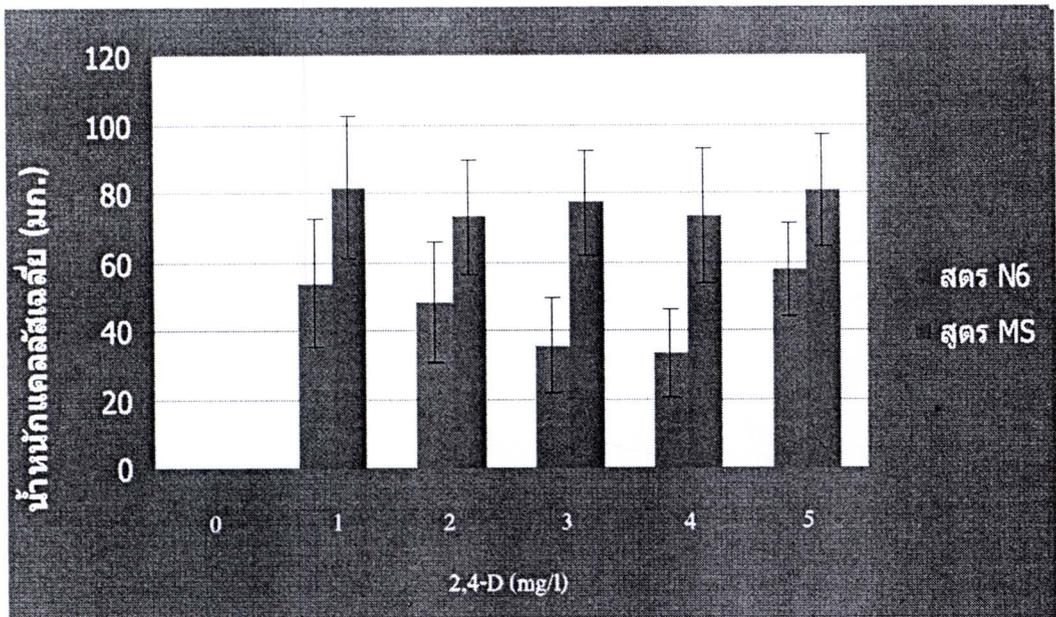
สูตรอาหาร	2,4-D (มก./ล.)
1	0
2	1
3	2
4	3
5	4
6	5

ผลการศึกษาที่ 1 การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำเมล็ดข้าว 2 พันธุ์ให้เจริญเป็นแคลลัส

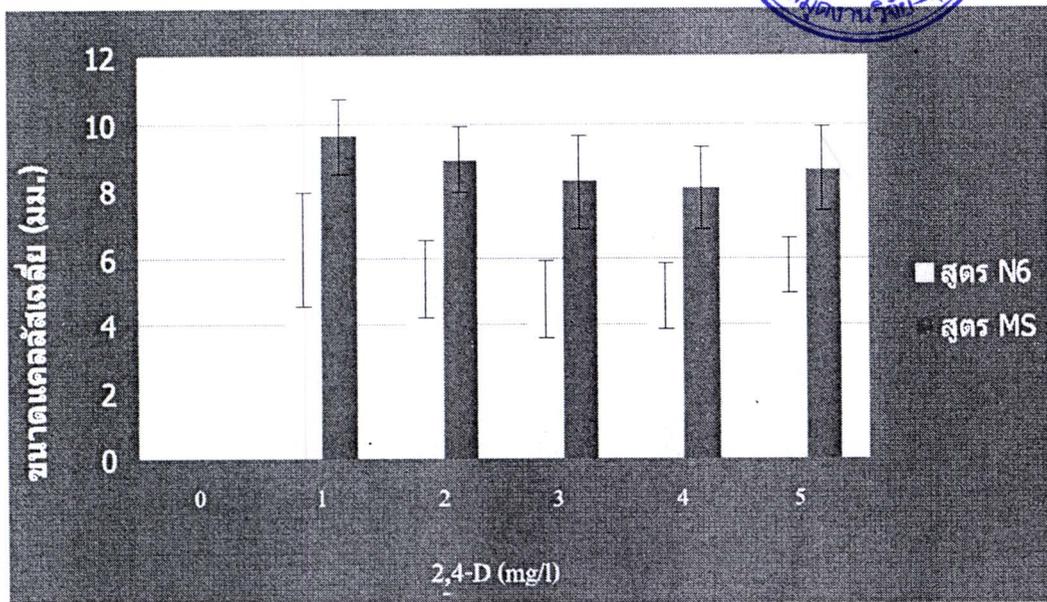
จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวเหนียวดำพันธุ์ G.S. No. 00621 และพันธุ์ G.S. No. 21629 ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS และสูตร N6 ดัดแปลงที่เติมสาร 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (ตารางที่ 1) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า แคลลัสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเกาะกันแน่น (compact callus) และที่เกาะกันหลวมๆ (friable callus) แคลลัสที่ได้มีสีเหลืองและมียอดอ่อนสีเขียวเจริญมาจากบริเวณส่วนของเอมบริโอ และพบว่าอาหารทุกสูตรที่มีการเติมสาร 2,4-D สามารถชักนำให้เมล็ดข้าวทั้ง 2 พันธุ์เจริญเป็นแคลลัสได้ โดยสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เมล็ดข้าวเหนียวดำพันธุ์ G.S. No. 00621 เจริญเป็นแคลลัส คืออาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 4 มก./ล. โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 90.00% มีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 73.33 มก. และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 8.07 มม. (ภาพที่ 1, 2, 3 และ 4) และสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เมล็ดข้าวเหนียวดำพันธุ์ G.S. No. 21629 เจริญเป็นแคลลัส คือ อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มก./ล. โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 73.33% มีน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 49.86 มก. และมีขนาดแคลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 5.52 มม. (ภาพที่ 5, 6, 7 และ 8)



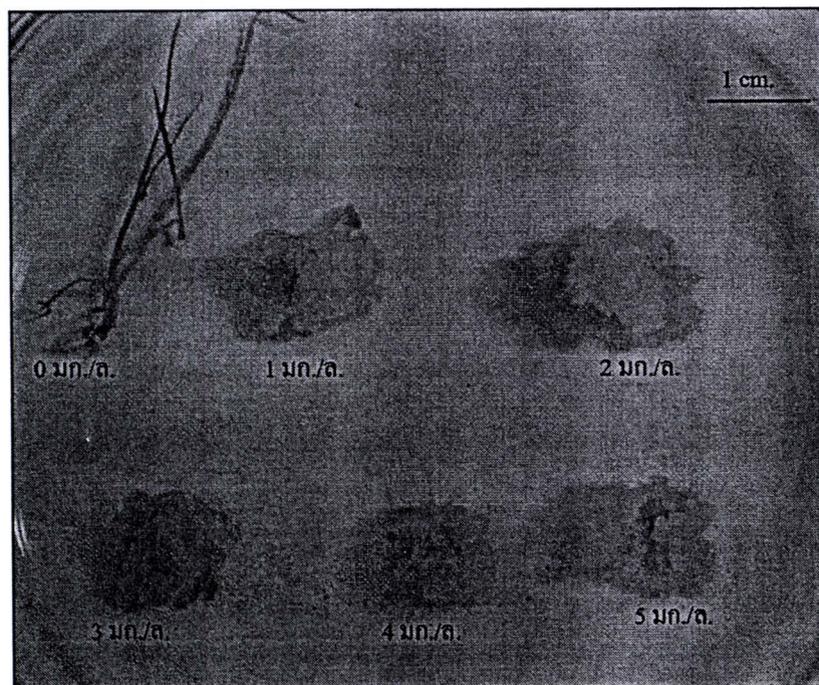
ภาพที่ 1 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสข้าวเหนียวดำพันธุ์ G.S. No. 00621 ในอาหารสูตร N6 และสูตร MS



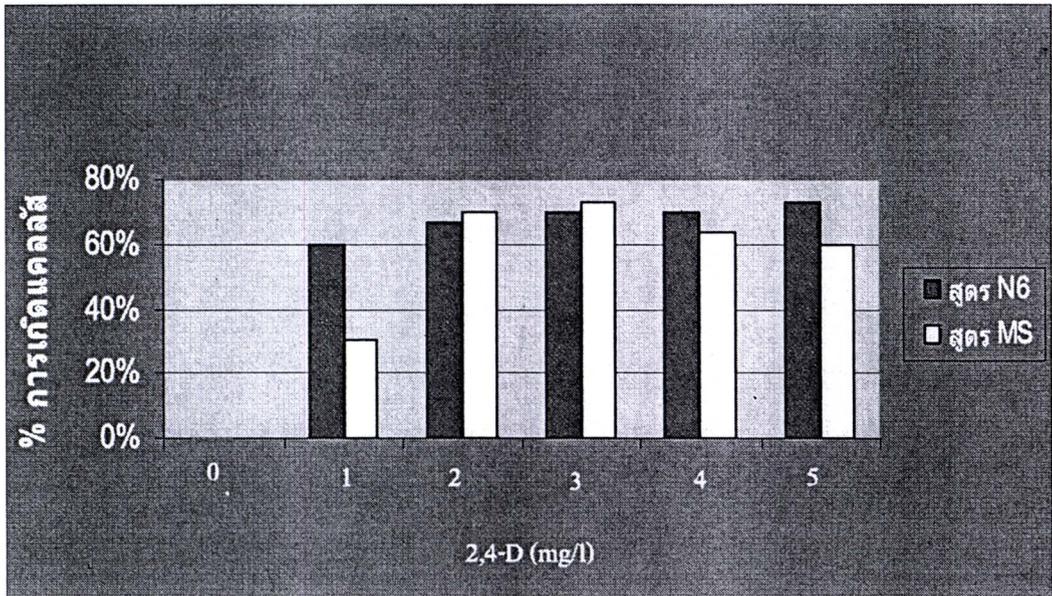
ภาพที่ 2 น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยข้าวเหนียวดำพันธุ์ G.S. No. 00621 ในอาหารสูตร N6 และสูตร MS



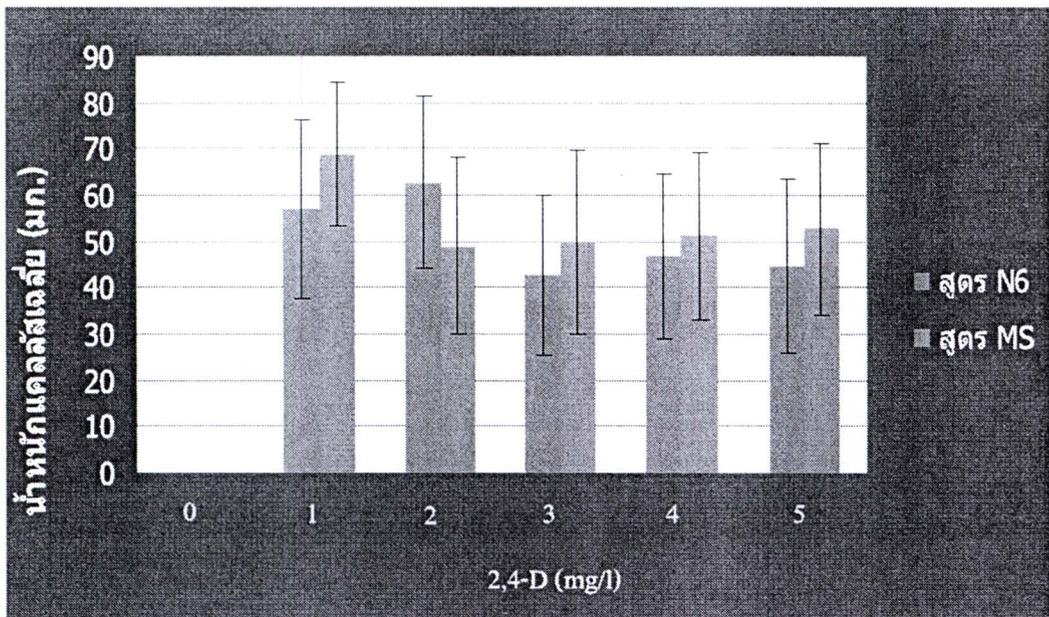
ภาพที่ 3 ขนาดแคลลัสเฉลี่ยข้าวเหนียวดำพันธุ์ G.S. No. 00621 ในอาหารสูตร N6 และสูตร MS



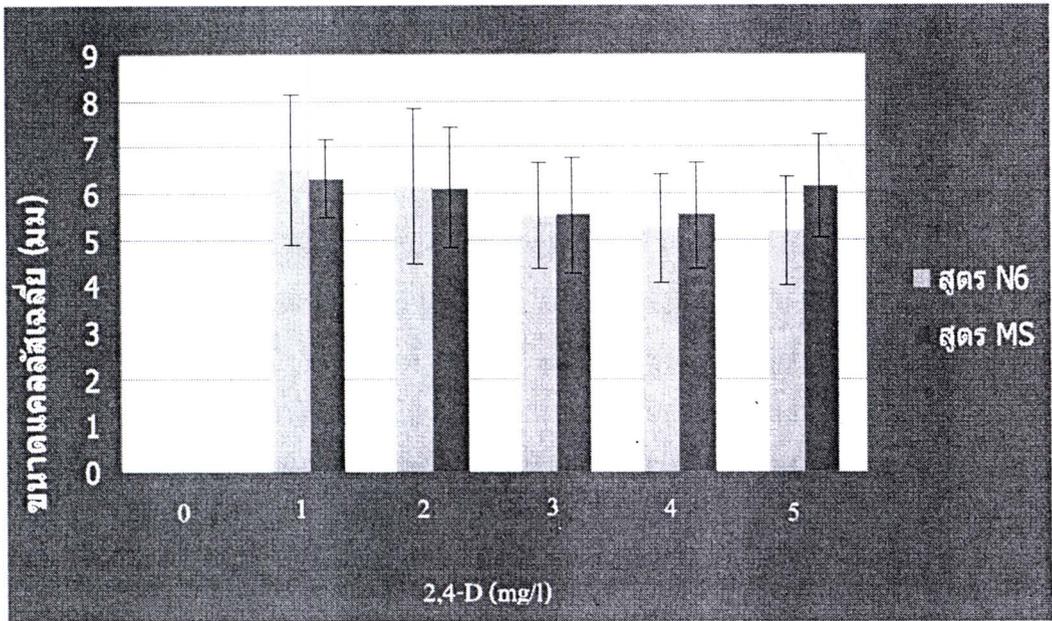
ภาพที่ 4 ลักษณะแคลลัสของข้าวพันธุ์ G.S. No. 00621 ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นต่างกัน



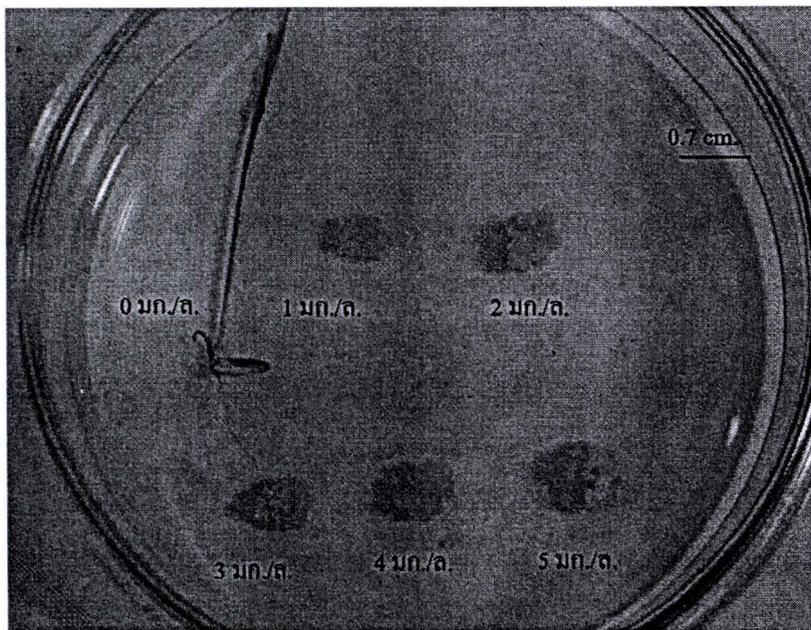
ภาพที่ 5 เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสข้าวเหนียวดำพันธุ์ G.S. No. 21629 ในอาหารสูตร N6 และสูตร MS



ภาพที่ 6 น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยข้าวเหนียวดำพันธุ์ G.S. No. 21629 ในอาหารสูตร N6 และสูตร MS



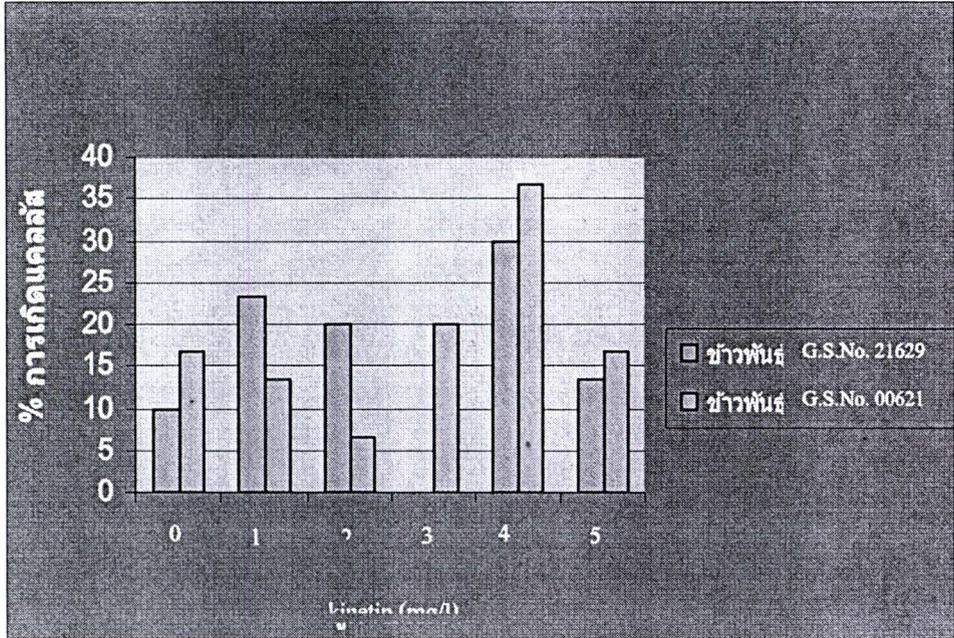
ภาพที่ 7 ขนาดแคลลัสเฉลี่ยข้าวเหนียวดำพันธุ์ G.S. No. 21629 ในอาหารสูตร N6 และสูตร MS



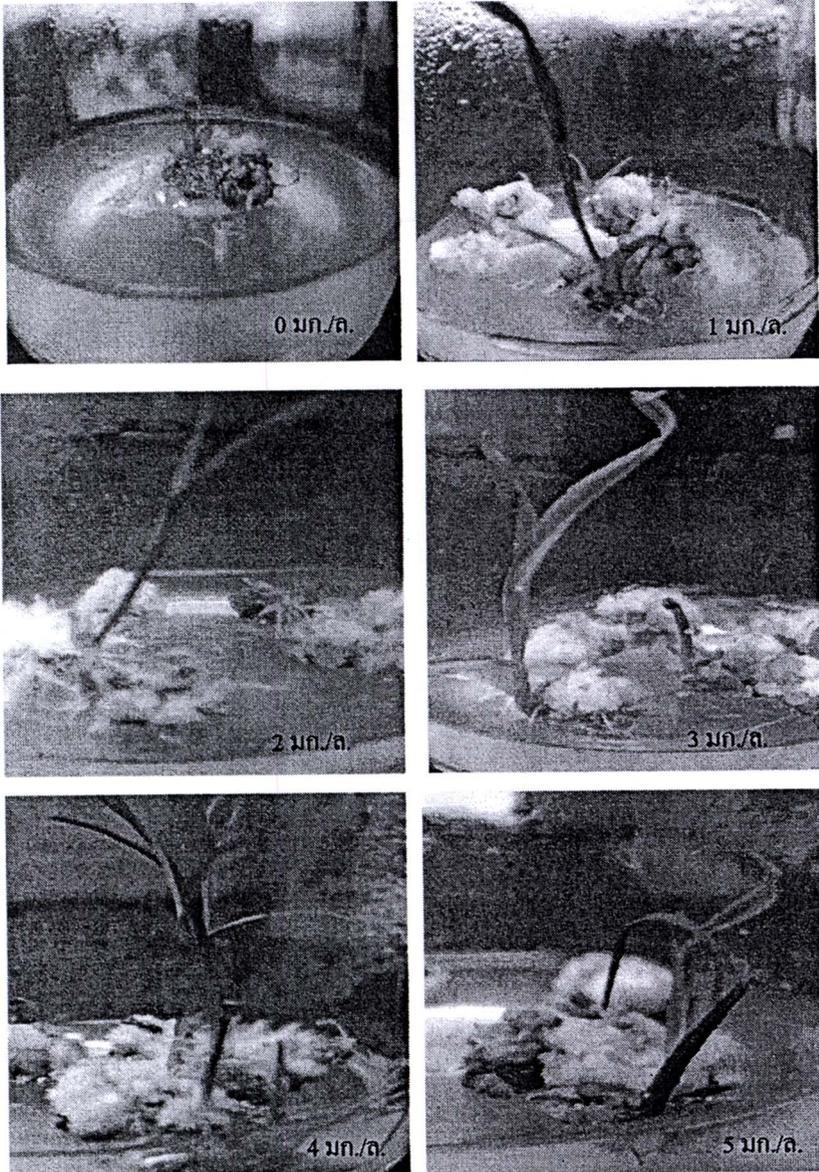
ภาพที่ 8 ลักษณะแคลลัสของข้าวพันธุ์ G.S. No. 21629 ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นต่างกัน

2. การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้แคลลัสเจริญเป็นต้น

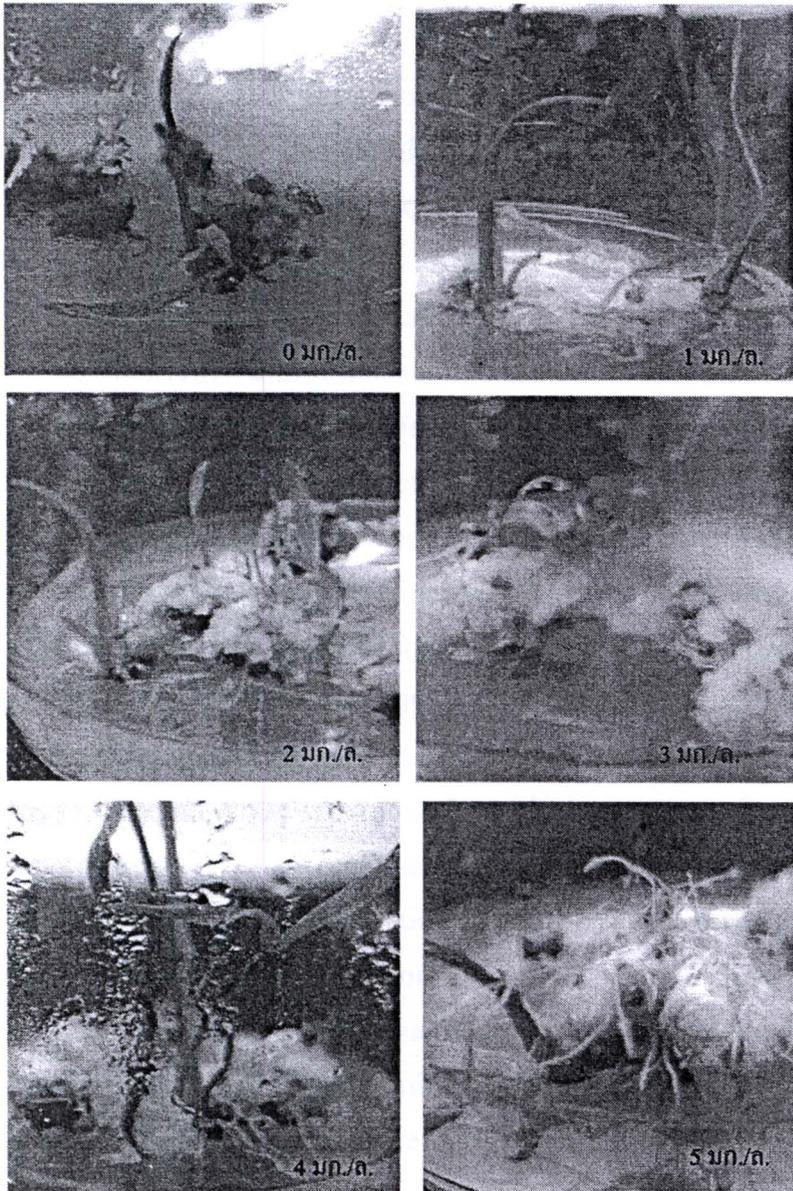
นำแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS และสูตร N6 ที่เติมสาร 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆที่เหมาะสมอายุ 3 สัปดาห์ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสาร kinetin ความเข้มข้นต่างๆ (ตารางที่ 3) พบว่า 1-2 สัปดาห์แรกแคลลัสเกิดบริเวณพื้นที่สีเขียวซึ่งบริเวณพื้นที่สีเขียวนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นยอด และในช่วงสัปดาห์ที่ 3 และ 4 พบว่าบริเวณพื้นที่สีเขียวมีการพัฒนาเป็นยอด โดยแคลลัสแต่ละก้อนจะเกิดยอดจำนวนไม่เท่ากัน ซึ่งเกิดยอดตั้งแต่ 1-6 ยอดต่อแคลลัสส่วนใหญ่แคลลัสที่เกิดยอดจะมีรากเกิดขึ้นด้วย ทำให้ได้ต้นที่สมบูรณ์โดยไม่ต้องไปเลี้ยงในอาหารชักนำราก นอกจากนั้นยังพบว่าบางแคลลัสมีการเจริญเฉพาะราก และบางแคลลัสมีขนาดใหญ่ขึ้นอย่างเดียว โดยไม่มีการเจริญของยอดและราก สำหรับแคลลัสที่เกิดยอด พบว่าบางยอดก็พัฒนาไม่สมบูรณ์ เช่น มีลำต้นสูง หงิกงอ และไม่มีใบเกิดขึ้น และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า อาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้แคลลัสข้าวพันธุ์ G.S. No. 00621 เจริญเป็นยอด คือ อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม kinetin ความเข้มข้น 4 มก./ล. โดยสามารถชักนำให้เกิดต้นได้ 36.66% (ภาพที่ 11 และ 12) และอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้แคลลัสข้าวพันธุ์ G.S. No. 21629 เจริญเป็นยอด คือ อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม kinetin ความเข้มข้น 4 มก./ล. โดยสามารถชักนำให้เกิดต้นได้ 30% (ภาพที่ 11 และ 13)



ภาพที่ 11 เปอร์เซ็นต์การเกิดขอดข้าวเหนียวดำพันธุ์ G.S. No. 21629 และพันธุ์ G.S. No. 00621 ในอาหารสูตร MS



ภาพที่ 12 ลักษณะการเกิดยอดข้าวพันธุ์ G.S. No. 00621 บนอาหาร MS ที่เติม kinetin ความเข้มข้นต่างๆ



ภาพที่ 13 ลักษณะการเกิดยอดข้าวพันธุ์ G.S. No. 21629 บนอาหาร MS ที่เติม kinetin ความเข้มข้นต่างๆ