สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

บทที่ 5 วิจารณ์และสรุปผล

จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวเหนียวดำพันธุ์ G.S. No. 00621 และพันธุ์ G.S. No. 21629 ในอาหารสูตร MS และสูตร N6 ดัดแปลงที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า อาหารที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดสำหรับข้าวพันธุ์ G.S. No. 00621 คือ อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4 มก./ล. โดยสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 90.00% และสำหรับข้าวพันธุ์ G.S. No. 21629 คือ อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3 มก./ล. โดยสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 73.33% ซึ่งแคลลัสเกิดขึ้นตรงบริเวณคัพภะใกล้ยอดอ่อน และแคลลัสที่ได้มีสีเหลือง ส่วนใหญ่มีลักษณะเกาะกันแน่น (compact callus) บางแคลลัสมีลักษณะเกาะกันอย่างหลวมๆ (friable callus) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของประภา ศรีพิจิตต์ และพรทิพย์ ชีวะเศรษฐธรรม (2537) ที่รายงานว่าแคลลัสข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เกิดขึ้นตรงบริเวณคัพภะใกล้กับส่วนฐานของยอด ตรงกลางของแคลลัสเซลล์จะเกาะกันแน่น ส่วนบริเวณผิวของแคลลัสเซลล์จะเกาะกันหลวมๆ ซึ่งลักษณะของแคลลัสที่มีเซลล์ขนาดเล็ก เกาะกันแน่น สีเหลือง ผิวแห้ง มีปุ่มเล็กๆจำนวนมาก เรียกว่า embryogenic callus (E callus) เจริญมาจากการแบ่งตัวของเนื้อเยื่อ scutellum ส่วนแคลลัสที่มีเซลล์รูปร่างขนาดใหญ่เกาะกันอย่างหลวมๆ ผิวมันเรียกว่า non-embryogenic callus (NE callus) เจริญมาจากเซลล์นอกของ procambium หรือบางครั้งอาจเกิดจากส่วนฐานของปลอกหุ้มยอดอ่อน NE callus เจริญเติบโตเร็วแต่มีอัตราการเจริญเป็นต้นต่ำกว่า E callus (เผดิม ระติสุนทร และคณะ, 2532)

ฮอร์โมน 2,4-D เป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน นิยมใช้เพื่อชักนำคัพภะข้าวให้สร้างแคลลัส และมีรายงานว่า 2,4-D เป็นฮอร์โมนที่นิยมใช้และมีประสิทธิภาพที่สุดในกลุ่มของออกซินในการชักนำเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวให้เจริญเป็นแคลลัส (ทนง พรประดับเกียรติ และ ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา, 2527) 2,4-D มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเกิดยอด มีผลในการกระตุ้นการสร้างโปรตีนกรดนิวคลีอิกเพื่อใช้ในการแบ่งเซลล์จำนวนมากและเซลล์สามารถขยายขนาดกลายเป็นก้อนแคลลัสได้ นอกจากนี้ 2,4-D ยังสามารถรักษาสภาพการเป็นแคลลัสในการเพาะเลี้ยงไว้ได้ดี และ 2,4-D ถูกทำลายโดยเซลล์พืชได้ช้ากว่าออกซินอื่นๆ (รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ, 2540) โดยความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เหมาะสมต่อการชักนำคัพภะข้าวจะแตกต่างกันในข้าวแต่ละพันธุ์ และในการทดลองนี้พบว่าเมล็ดข้าวพันธุ์ G.S. No. 00621 และพันธุ์ G.S. No. 21629 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4 มก./ล. และ 3 มก./ล. มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 90.00 % และ 73.33% ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของพรรณี รอดแรงบุญ และ นารีรัตน์ มูลใจ (2540) รายงานการเพาะเลี้ยงข้าวเหนียว 5 พันธุ์ บนอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน 2,4-D ความเข้มข้น 2-4 มก./ล. สามารถชักนำให้เป็นแคลลัสได้ 51-83% และมีรายงานการเพาะเลี้ยงข้าวในอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ สุริยันตร์ ฉะอุ่ม และคณะ (2540) รายงานการชักนำคัภพะข้าวพันธุ์นางมล-4 พบว่าอาหารที่เติมฮอร์โมน 2,4-D

ความเข้มข้น 2 มก./ล. สามารถชักนำให้คัพภะข้าวเจริญเป็นแคลลัสได้ดีที่สุด Lee *at al.* (1999) รายงานว่าอาหารสูตรที่เหมาะสมต่อการชักนำเมล็ดข้าวพันธุ์ Taipei 309 ให้เกิดแคลลัส คือ อาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2.5 มก./ล. Darshanie *et al.* (1991) รายงานว่าอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3 มก./ล. เหมาะสมต่อการชักนำเมล็ดข้าวพันธุ์ Bg 94-1 ให้สร้างแคลลัส

ในการทดลองชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นนั้น ได้ใช้แคลลัสที่มาจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำแคลลัสที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 ของข้าวพันธุ์ G.S. No. 00621 และพันธุ์ G.S. No. 21629 อายุ 3 สัปดาห์ มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม kinetin ความเข้มข้นต่างๆกัน โดยอาหารที่เติม kinetin ความเข้มข้นต่างๆกันมีผลต่อการชักนำแคลลัสให้เกิดต้นที่ต่างกัน และอาหารที่สามารถชักนำให้แคลลัสข้าวพันธุ์ G.S. No. 00621 และพันธุ์ G.S. No. 21629เจริญเป็นต้นได้ดีที่สุดในการทดลองนี้ คือ อาหารสูตร MS ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 4 มก./ล. โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นเท่ากับ 36.66% และ 30.00% ตามลำดับ

ฮอร์โมน kinetin เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินสังเคราะห์ ซึ่งฮอร์โมนกลุ่มนี้มีผลต่อการแบ่งเซลล์ ช่วยการเจริญของตาข้าง การเกิดและการเจริญของต้น การเติมไซโตไคนินลงไปในอาหารที่เพาะเลี้ยงก็เพื่อช่วยให้กระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเปลี่ยนแปลงไปเป็นหน่อเล็กๆ (adventitious shoot) จากส่วนของแคลลัสหรืออวัยวะที่เพาะเลี้ยง (บุญยืน กิจวิจารณ์, 2544) และมีรายงานว่า ไซโตไคนินส่งเสริมการแบ่งเซลล์ เนื่องจากทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์จากระยะ G2 ไปสู่ระยะไมโทซิสเพิ่มขึ้น โดยการเพิ่มอัตราการสร้างโปรตีน ซึ่งโปรตีนเหล่านี้อาจเป็นเอนไซม์ที่จำเป็นต่อกระบวนการไมโทซิส นอกจากนี้ไซโตไคนินยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างโปรตีน โดยการเพิ่มปริมาณโพลีโซม (polysome) และทำให้เกิดมีการรวมกันของกรดอะมิโนไปเป็นโปรตีนได้เร็วขึ้น (Fosket, 1977) และความเข้มข้นของ kinetin ที่เหมาะสมกับการชักนำให้แคลลัสให้เจริญเป็นต้น คือ kinetin ความเข้มข้น 4 มก./ล. ในข้าวทั้ง 2 พันธุ์ คือพันธุ์ G.S. No. 00621 และพันธุ์ G.S. No. 21629 โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 36.66% และ 30.00% ตามลำดับ และมีรายงานการชักนำแคลลัสให้เกิดต้นในอาหารที่เติม kinetin ความเข้มข้นต่างๆ พรรณี รอดแรงบุญ และ นารีรัตน์ มูลใจ (2540) รายงานการชักนำแคลลัสข้าวเหนียว 5 พันธุ์ ในอาหารสูตร MS ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 1-3 มก./ล. โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นเท่ากับ 35-75% เผดิม ระติสุนทร (2536) รายงานการชักนำแคลลัสข้าวพันธุ์ กข.15 ให้เจริญเป็นต้น เท่ากับ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม kinetin 2 มก./ล. สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล และคณะ (2537) รายงานการชักนำแคลลัสข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ให้เจริญเป็นต้น พบว่าอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม kinetin 2 มก./ล. สามารถชักนำให้เจริญเป็นต้นได้ 30% และจากการทดลองนี้ พบว่านอกจากชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นแล้วยังมีรากเกิดขึ้นอีกด้วย ทำให้ได้ต้นที่สมบูรณ์ขึ้น ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากในขั้นตอนการชักนำให้เกิดแคลลัสนั้น ได้ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมสารในกลุ่มออกซิน คือ 2,4-D ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดรากได้ ทำให้ได้ต้นที่สมบูรณ์ และ

พบว่าในการชักนำแคลลัสในพัฒนาเป็นต้นนั้น พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นต่ำ อาจเนื่องมาจากชนิดของฮอร์โมนหรือสูตรอาหารไม่เหมาะกับชนิดของข้าว และก่อนที่จะชักนำยอดควรที่จะเลี้ยงแคลลัสในอาหารที่ไม่มีฮอร์โมนก่อน เพื่อให้พืชปรับสมดุลของออกซินต่อไซโตไคนิน ที่เหมาะกับการเกิดยอด