

สรุปผลการทดลอง

- ก. ผลของการทดลองที่ดำเนินงานที่หน่วยปฏิบัติการวิจัยการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาพฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการศึกษาการเจริญและเปลี่ยนแปลงไปเป็น green spot และหน่อใหม่ของแคลลัส  
ในสูตรอาหารเปรียบเทียบ 4 สูตร

จากการศึกษาถึง differentiation และ regeneration ของแคลลัสข้าว กข 23 ในสูตรเปรียบเทียบที่ 1, 2, 3 และ 4 (ตารางที่ 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ) พบว่าสูตรที่ให้ผลดีที่สุด คือ สูตรเปรียบเทียบที่ 1 ซึ่งเป็นสูตรของ Vajrabhaya et al., (1984) โดยในสัปดาห์ที่ 2 ให้ green spot มาก (65%) และมีจำนวนหน่อที่สูงกว่า 0.5 มม. ถึง 40% แต่พบว่าถ้าเลี้ยงในสูตรนี้ต่อไปจำนวน green spot และหน่อกลับลดลง ทั้งนี้ อาจเนื่องจากในสูตรอาหารนี้ไม่มีน้ำตาล เมื่อแคลลัสเริ่มเปลี่ยนแปลงไปเป็นหน่อ จำเป็นต้องใช้ อาหารมากขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่วนของหน่อที่แข็งแรงกว่าจึงแย่งอาหารจากส่วนอื่นไปหมด หาก ย้ายแคลลัสที่ differentiate แล้วไปเลี้ยงในอาหารสูตรใหม่ที่มีน้ำตาล เชื่อว่าจะได้จำนวน หน่อสูงขึ้น

ผลของออกซิน และไซโตไคนิน ที่มีต่อขนาด และสีของแคลลัสและการเปลี่ยนแปลง  
เป็นต้นใหม่

ผลของออกซินทั้ง 2 ชนิด คือ IAA และ NAA ที่ความเข้มข้น 0-4.0 ppm. จะ ให้ผลไม่แตกต่างกัน NAA ให้ผลดีกว่าในเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่ให้ green spot แคลลัสที่ให้หน่อ และหน่อ แต่เปอร์เซ็นต์แคลลัสที่ให้ราก IAA จะสูงกว่า NAA

ส่วนไซโตไคนินพบว่า BAP ที่ความเข้มข้น 0.8-1.6 ppm. จะให้ผลของเปอร์เซ็นต์ แคลลัสที่เกิดหน่อ, หน่อ และแคลลัสที่ให้รากสูงกว่า K แต่ K ที่ความเข้มข้น 0.5-6.0 ppm. จะให้ผลดีกว่าในเรื่องของเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่ให้ green spot

สำหรับความสัมพันธ์ของขนาด และสีของแคลลัส จะมีค่าผกผันกับความสามารถของ การเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่

ผลของอัตราส่วนของออกซิน และไซโตไคนิน ต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่

ความเข้มข้นของออกซิน คือ IAA และ NAA ต่ำ ๆ จะส่งเสริมการเกิดหน่อและจำนวนหน่อที่ได้รับ ซึ่งตรงกันข้ามกับไซโตไคนินที่ต้องใช้ความเข้มข้นสูง โดยเฉพาะ K จะต้องใช้ความเข้มข้นสูงกว่า BAP มาก ในการส่งเสริมให้แคลลัสเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ นอกจากนี้ไม่เฉพาะออกซินหรือไซโตไคนินเท่านั้นที่มีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ แต่ยังขึ้นอยู่กับความสมดุลย์ หรืออัตราส่วนที่เหมาะสมของออกซินและไซโตไคนิน หรือไม่มีออกซินเลย

เมื่อเปรียบเทียบสูตรทดลองทั้งหมด 100 สูตร และสูตรเปรียบเทียบอีก 4 สูตร พบว่า สูตรที่เหมาะสมกับการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ ในข้าวสายนพันธุ์ กข 23 คือ สูตร mod. white ที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟต 200 มก./ล. NAA 0.5 ppm., BAP 1.6 ppm. น้ำมะพร้าว 10% โดยปริมาตร ยิ่งไปกว่านั้นยังได้สรุปสูตรทดลองที่น่าสนใจ เพื่อปรับปรุงการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ให้ดียิ่งขึ้น 10 อันดับ (ตารางที่ 32) และสูตรต่าง ๆ ที่มี green spot สูง ในลำดับที่ 2 (กราฟที่ 14) ซึ่ง green spot ที่ได้สามารถใช้เป็นสัญลักษณ์ของการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ต่อไป ถ้าสามารถชักนำให้เกิด green spot มาก ๆ ก็จะทำให้โอกาสเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จากแคลลัสได้มากขึ้น สูตรที่น่าสนใจ คือ สูตร mod. white ที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟต 200 มก./ล. NAA 1.0 ppm. BAP 0.2 ppm. และ NAA 0.5 ppm. BAP 0.8 ppm. ซึ่งให้ green spot สูงถึง 100%

ข. ผลของการทดลองที่ดำเนินงานที่หน่วยปฏิบัติการ TCCP มหาวิทยาลัยโคโลราโดสเตท สหรัฐอเมริกา

ผลของน้ำมะพร้าวในสูตร mod. White และ MS (1962)

พบว่าความเข้มข้นของน้ำมะพร้าว ที่ใช้ในการศึกษาในการเปลี่ยนแปลงเป็นต้น ทั้งในสูตร mod. White และ MS (1962) ที่ดีที่สุด คือ ความเข้มข้นที่ 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ใช้อยู่เดิมที่ห้องปฏิบัติการฯ จุฬาฯ

ผลการใช้ NAA แทน IAA ในสูตรเปรียบเทียบที่ 4 พบว่าควรใช้ความเข้มข้นของ NAA 1.0 ppm. จะให้แคลลัสที่มีหน่อ และ green spot สูงที่สุด (15 และ 42.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ)

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ของธาตุอาหารหลัก กับชนิดของสารอินทรีย์ พบว่า ธาตุอาหารหลักของสูตร mod. White จะให้ผลดีเมื่อใช้คู่กับการเติมน้ำมะพร้าว ในขณะที่ธาตุอาหารหลักของสูตร MS (1962) จะให้ผลดีเมื่อใช้คู่กับการเติมน้ำตาล และการเติมทั้งน้ำตาลและน้ำมะพร้าว

ในธาตุอาหารหลักทั้ง 2 จะได้ผลสู่การเติมน้ำตาล หรือน้ำมะพร้าวอย่างใดอย่างหนึ่งไม่ได้ ซึ่งอาจเป็นเพราะสารทั้ง 2 ชนิด อาจจะมีผลหักล้างกันเมื่ออยู่ด้วยกัน แทนที่จะส่งเสริมกัน

ผลการศึกษาค้นคว้าอื่น ๆ ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่

พบว่าเปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ เมื่อเปรียบเทียบอายุแคลลัส 2 และ 4 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสที่ 2 สัปดาห์จะให้ผลดีกว่า 4 สัปดาห์ แต่แคลลัสที่ให้ green spot จะมีเปอร์เซ็นต์ใกล้เคียงกัน

เมื่อศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลจากอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่า ถ้าใช้น้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารชักนำแคลลัสจะให้ green spot และหน่อสูงกว่าน้ำตาล 4 เปอร์เซ็นต์ การเติมน้ำมะพร้าว หรือน้ำตาล อย่างใดอย่างหนึ่ง ในสูตรอาหารชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ จะให้ผลดีกว่าการเติมทั้งน้ำตาล และน้ำมะพร้าว พร้อม ๆ กัน

นอกจากนี้วิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยใช้แคลลัสที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 มม. จำนวน 4 แคลลัส ต่อวันอาหาร 12.5 มล. จะให้ผลดีกว่าวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ใช้แคลลัสวางรวมกัน เพื่อให้ได้ปริมาตรทรงกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 9 มม. ซึ่งต้องใช้จำนวนแคลลัส 8 แคลลัส ต่อวันอาหาร 12.5 มล. เท่ากัน ซึ่งการใช้ประมาณแคลลัสจำนวนมากนี้จะทำให้อัตราส่วนของปริมาณแคลลัสต่ออาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อสูงเกินไป ทำให้แคลลัสได้รับอาหารไม่เพียงพอ

ค. การอนุบาลต้นอ่อนที่ปฏิบัติงานทั้งที่ห้องปฏิบัติการฯ จุฬาฯ และ TCCP

การอนุบาลต้นอ่อนและชักนำให้เกิดราก โดยใช้สูตรอาหารตาม Vajrabhaya et al. (1985) ซึ่งใช้ได้ผลดีกับสูตรอาหารชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ที่ไม่ใช้น้ำตาล ทำให้ต้นใหม่ที่ได้มีความแข็งแรง และมีรากพร้อมที่จะออกปลูกต่อไป

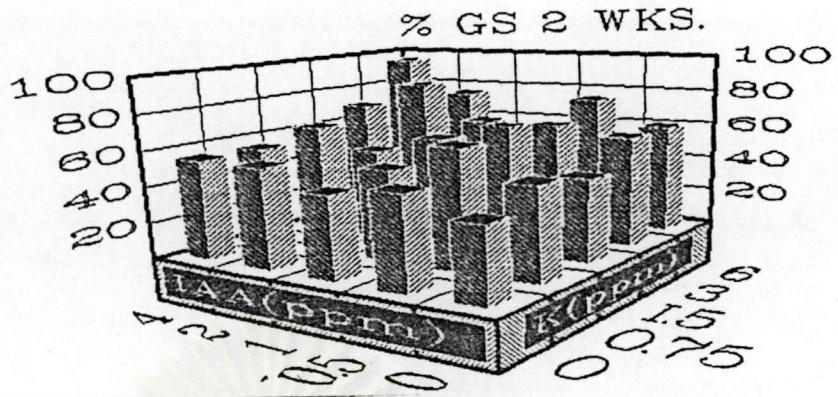
ศูนย์วิจัยพืชสวน  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 32 สรุปลผลของสูตรทดลองที่ได้เปอร์เซ็นต์แคลลัสที่ให้หน่อ และหน่อสูงที่สุด 10 อันดับ จากสูตรทดลองทั้งหมด 100 สูตร เปรียบเทียบกับสูตรเปรียบเทียบทั้ง 4 สูตร

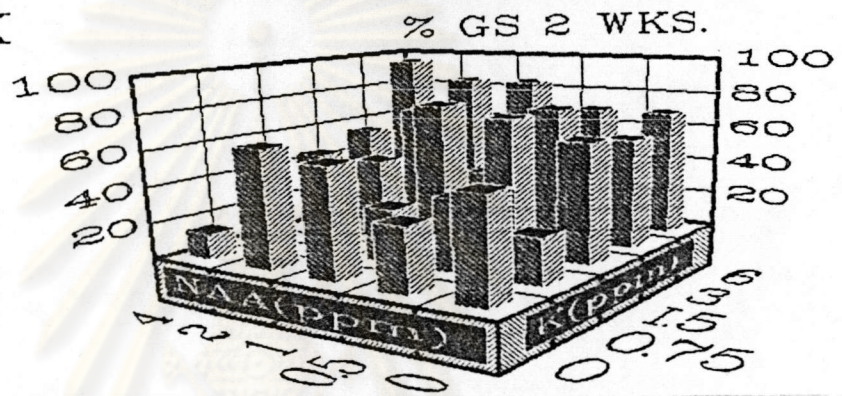
ลำดับที่	สูตรทดลอง	เปอร์เซ็นต์ของ			
		GS	SH	S	R
1	1.6 B.SN	75	30	45	0
2	1.6 B1N	70	20	45	0
3	.2B.5N	85	20	40	10
4	1.6B ON	60	20	30	5
5	.5B.5N	85	20	25	0
6	.75K.5I	65	15	25	20
7	.4B.5N	70	15	20	15
8	1.5K 1I	55	15	20	30
9	6K.5I	45	15	20	10
10	1.5K ON	70	15	20	0
สูตรเปรียบเทียบที่ 1		10	15	50	15
สูตรเปรียบเทียบที่ 2		10	10	10	20
สูตรเปรียบเทียบที่ 3		10	30	15	10
สูตรเปรียบเทียบที่ 4		10	10	35	55

หมายเหตุ 1.6B.5N หมายถึง สูตรทดลองที่มี NAA 0.5 ppm. BAP 1.6 ppm. สูตรทดลองอื่น ๆ ก็มีความหมายเหมือนกัน (I = IAA, N = NAA, K =kinetin, และ B = BAP)

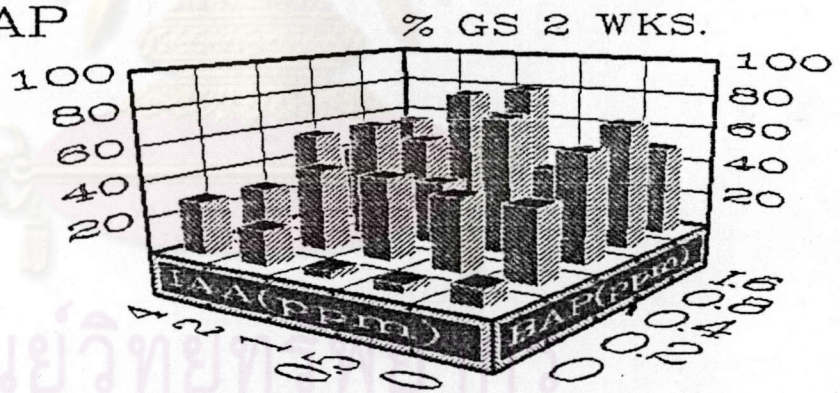
IAA:K



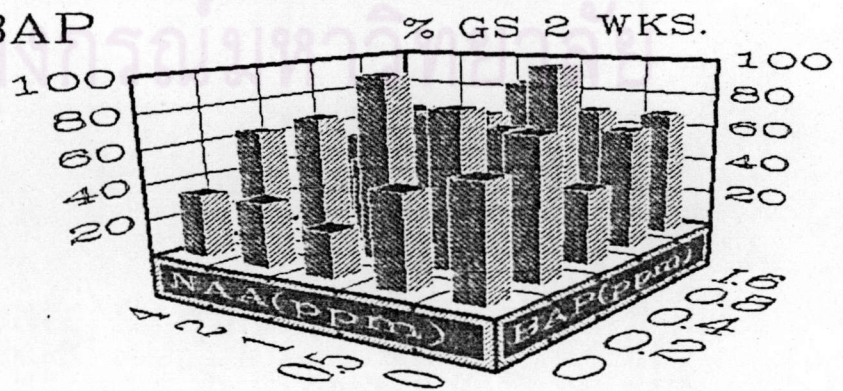
NAA:K



IAA:BAP



NAA:BAP



ภาพที่ 14 เปอร์เซ็นต์ของแคลลัสที่ให้ green spot เมื่อมีอัตราส่วนของออกซินและไซโตไคนินต่าง ๆ ในอาหารสำหรับการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ เป็นเวลา 2 สัปดาห์