

ผลของออกซินและไซโตไคนินต่อการเปลี่ยนแปลงจากแคลลัสข้าวไปเป็นต้นใหม่

นางสาวสมพร วัฒนวีระเดช



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาอนุภาษศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2531

ISBN 974-569-142-9


ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

014450

๑๑๗๕๒๖๗๘๑

Effects of Auxins and Cytokinins on Plant Regeneration
from Callus of Rice (Oryza sativa L.)

Miss Supaporn Wattanaveeradej



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Botany

Graduate school

Chulalongkorn University

1988

ISBN 974-569-142-9

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของออกซินและไซโตไคนินต่อการเปลี่ยนแปลงจากแคลลัสข้าว
ไปเป็นต้นใหม่

โดย นางสาว สุภาพร วัฒนวีรเดช

ภาควิชา พฤกษศาสตร์

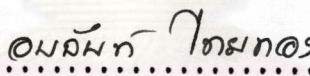
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ มณฑกานติ วัชรากัย

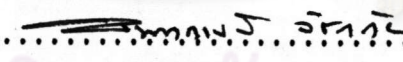
ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชรากัย


บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

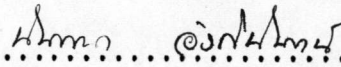

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชรากัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.อภินันท์ ไทยทอง)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ มณฑกานติ วัชรากัย)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชรากัย)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นันทนา อังกินันท์)



สุภาพร วัฒนวีรเดช : ผลของออกซินและไซโตไคนินต่อการเปลี่ยนแปลงจากแคลลัสข้าวไปเป็นต้นใหม่ (Effects of Auxins and Cytokinins on Plant Regeneration from Callus of Rice (*Oryza sativa* L.) อ.ที่ปรึกษา:รศ.มณฑกานติ วัชรราชัย และ ศ.ดร.ถาวร วัชรราชัย, 124 หน้า.

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จากแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงเอ็มบริโอที่เจริญเต็มที่ของข้าวสายพันธุ์ กข 23 ซึ่งศึกษาถึงชนิดและความเข้มข้นของออกซินและไซโตไคนินโดยใช้ IAA และ NAA ความเข้มข้น 0-4 ppm. kinetin ความเข้มข้น 0-6 ppm. และ BAP 0-1.6 ppm. รวมทั้งหมดเป็น 100 สูตร โดยจับคู่ระหว่าง IAA กับ kinetin NAA กับ kinetin IAA กับ BAP NAA กับ BAP นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงความเข้มข้นของน้ำตาลจากอาหารชักนำแคลลัส อายุแคลลัสที่ 2 และ 4 สัปดาห์ การใช้น้ำตาล และ/หรือ น้ำมะพร้าวในอาหารชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ และอัตราส่วนของจำนวนแคลลัสต่อวันอาหาร ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ ได้ผลดังนี้

การเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จะเกิดได้ดีเมื่อแคลลัสอยู่ในอาหารที่มีออกซินต่ำ คือมี IAA, NAA 0.5 ppm. หรือไม่มีเลย และมีไซโตไคนินค่อนข้างสูง คือมี 1.5 - 6.0 ppm. หรือ BAP 0.8-1.6 ppm. นอกจากนี้ยังพบว่า NAA มีผลในการชักนำการเกิด green spot และการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่ ในขณะที่ IAA แม้แต่ในความเข้มข้นต่ำๆ (ที่ 0.5 ppm.) มีผลในการชักนำให้เกิดรากได้ดี kinetin มีความเหมาะสมในการชักนำการเกิด green spot และต้องใช้ในปริมาณสูงกว่า BAP มากเพื่อชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ และยังพบว่าการใช้แคลลัสอายุ 2 สัปดาห์ ได้ผลดีกว่า 4 สัปดาห์ การใส่น้ำตาลในอาหารชักนำแคลลัส 3% ก็ให้ผลดีกว่า 4% ส่วนการเติมน้ำตาล หรือน้ำมะพร้าว ในอาหารชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ให้ผลดีกว่าการมีทั้งน้ำตาลและน้ำมะพร้าวรวมกัน และได้เสนอสูตรที่เหมาะสมกับการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จากแคลลัสข้าวสายพันธุ์ กข 23 คือ ใช้สูตรดัดแปลงจาก White เป็นธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรองของ Murashige and Skoog (1962) และเติม NAA 0.5 ppm. BAP 1.6 ppm. น้ำมะพร้าว 10% โดยปริมาตร และไม่ใส่น้ำตาล โดยจะได้ผลดีเมื่อใช้ขนาดแคลลัส 3 มม. จำนวน 4 ก้อน ต่อวันอาหาร 12.5 มล. ซึ่งทำให้แคลลัสมี green spot 90% แคลลัสที่ไถ่ต้น และจำนวนต้นต่อแคลลัสทั้งหมด 30 และ 45 % ตามลำดับ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา พฤษศาสตร์
สาขาวิชา พฤษศาสตร์
ปีการศึกษา 2531

ลายมือชื่อนิสิต *สุภาพร วัฒนวีรเดช*
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา *มณฑกานติ วัชรราชัย*

SUPAPORN WATTANAWEERADEJ : EFFECTS OF AUXINS AND CYTOKININS ON PLANT REGENERATION FROM CALLUS OF RICE (ORYZA SATIVA L.). THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. MONTAKAN VAJRABHAYA (M.Sc.) PROF. THAVORN VAJRABHAYA (Ph.D.), 124 pp.

A study on plant regeneration from callus which derived from mature embryo of rice, cultivar RD 23 was made. The effects of IAA and NAA at concentrations of 0 to 4 ppm. and kinetin 0 to 6 ppm. and BAP 0-1.6 ppm. The total of 100 formulae comprised of different combinations of IAA and kinetin, NAA and kinetin, IAA and BAP, NAA and BAP. Besides the above experiments, the different age of callus, two and four week old, concentration of 3 and 4% of sucrose in induction media, and addition of coconut water at rate of 10% (v/v) with or without 4% sucrose in regeneration media were also tried. The amount of calli per volume of agar medium were found to have effect on plant regeneration.

The best regeneration was obtained when the media were supplemented with low concentration of IAA or NAA or even without them, and with fairly high concentration of kinetin ranging from 1.5 to 6 ppm. or BAP at 0.8-1.6 ppm. In addition, it was observed that NAA induced more green spot and shoot formation whereas IAA inclined to promote more root growth at low concentration. It is interesting to note that, kinetin was found to be suitable for green spot induction, but, however, it required higher concentration than BAP to induce similar effect on shoot formation. The present of 3% sucrose in the induction media was found to have better effect than with 4% on subsequent experiments on plant regeneration. Callus at the age of two weeks was found to give better results in plant regeneration than the four week old calli. Addition of sucrose or coconut water in the regeneration media induced more regeneration but it was found that the combination of the two gave deleterious effects on tissue which, in turn affected plant regeneration.

From all experiments performed, it is concluded that the best plant regeneration medium for the two week old embryo callus of RD 23 rice is the use of a modified White macronutrients and Murashige and Skoog micronutrients supplemented with NAA 0.5 ppm, BAP 1.6 ppm, coconut water 10% (v/v) in the absence of sucrose. Four calli 3 mm. diameter per 12.5 ml. agar medium in generally suitable for initial culture. These regularly give 90% of calli producing green spot and 30% of calli producing shoots, and upto 45% of plants from total calli initially cultured.

ภาควิชา พฤษศาสตร์
สาขาวิชา พฤษศาสตร์
ปีการศึกษา 2531

ลายมือชื่อนิสิต *สุพจน์ วาจาภายา*
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา *ดร. ทวี วาจาภายา*

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ มณฑกานติ วัชรากัย และศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชรากัย ซึ่งเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำข้อคิดที่เป็นประโยชน์ อีกทั้งช่วยเหลือเอกสารประกอบการวิจัย ตลอดจนแก้ไขปัญหาอุปสรรคต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ มณฑกานติ วัชรากัย หัวหน้าโครงการวิจัย New Varieties of Rice for Saline and Acid Soil through Tissue Culture ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้ออุปกรณ์และเครื่องมือต่าง ๆ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการวิจัยมาโดยตลอดและได้กรุณาติดต่อขอทุนแลกเปลี่ยนนิสิตระดับมหาบัณฑิต เพื่องานวิจัย การเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว ระหว่าง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กับ Colorado State University

กราบขอบพระคุณ Prof. M.W.Nabors ที่กรุณาให้ทุนแลกเปลี่ยนนิสิตระดับมหาบัณฑิต เพื่องานวิจัยการเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว ระหว่าง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กับ Colorado State University สหรัฐอเมริกา เป็นเวลา 6 เดือน

กราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณี จันทรสนิท ที่กรุณาช่วยเหลือในการวางแผนการทดลอง และขอบคุณ คุณกิตติ โพธิ์ปัทมะ ที่ช่วยวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. อมพันธ์ ไทยทอง รองศาสตราจารย์ นันทนา อังกินันท์ ที่ได้กรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ และให้คำแนะนำต่าง ๆ ทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์

กราบขอบพระคุณ กองการข้าว. กรมวิชาการเกษตรที่ได้กรุณาให้ความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ข้าวสำหรับใช้ในการวิจัย

กราบขอบพระคุณ บิดามารดา ท่านอาจารย์ทุกท่าน และ ขอขอบคุณผู้ร่วมงาน พี่น้อง และ เพื่อนทุกคนที่ได้ให้การสนับสนุนและความช่วยเหลือตลอด มา ทำให้งานวิจัยสำเร็จลงด้วยดี วิทยานิพนธ์ ได้รับทุนอุดหนุนส่วนหนึ่งจากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จึงขอคุณมา ณ โอกาสนี้ด้วย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญกราฟ	ฎ
สารบัญภาพ	ฏ
สารบัญแผนภาพ	ฅ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ณ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง	13
3. ผลการทดลอง	32
4. สรุปผลการทดลอง	87
5. วิจารณ์ผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	91
เอกสารอ้างอิง	99
ภาคผนวก	109
ประวัติ	124

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. สูตรอาหารชักนำแคลลัส (Vajrabhaya et al., 1983)	20
2. สูตรชักนำให้เปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ตามวิธีการของ Vajrabhaya et al., 1984 สูตรพื้นฐานและสูตรเปรียบเทียบที่ 1	21
3. สูตรชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ สูตรเปรียบเทียบที่ 2	22
4. สูตรชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ตามวิธีการ IRRI สูตรเปรียบเทียบที่ 3	23
5. สูตรชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ตามวิธีการของ TCCP สูตรเปรียบเทียบที่ 4	24
6. สูตรอาหารสำหรับอนุบาลต้นอ่อนและชักนำให้เกิดราก	25
7. สูตรชักนำให้เปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ที่ได้ผลดีจากการทดลองที่ปฏิบัติงาน ณ หน่วยปฏิบัติการวิจัยการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จุฬาฯ สูตรพื้นฐานที่ 3	27
8. การให้คะแนแคลลัส	30
9. ผลของสูตรเปรียบเทียบทั้ง 4 สูตร ที่มีต่อจำนวนแคลลัสที่มี Green spot จำนวนหน่อและจำนวนแคลลัสที่ให้รากใน ลับดาห์ที่ 2, 4 และ 6	36
10. Duncan's multiple range test ของผลของสูตรเปรียบเทียบต่อจำนวนแคลลัสที่มี green spot แคลลัสที่ให้หน่อ หน่อ และแคลลัสที่ให้รากในลัปดาห์ที่ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส/สูตร)	38
11. ผลของ IAA, NAA, K และ BAP ที่มีต่อจำนวนแคลลัสที่มี green spot ในลัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 และ DMRT ในลัปดาห์ที่ 6 (เฉลี่ยจาก 800 แคลลัส ในแต่ละความเข้มข้น)	40
12. ผลของ IAA, NAA, K และ BAP ที่มีต่อจำนวนแคลลัสที่เกิดหน่อในลัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 และ DMRT ในลัปดาห์ที่ 6 (เฉลี่ยจาก 800 แคลลัส ในแต่ละความเข้มข้น)	43
13. ผลของ IAA, NAA, K และ BAP ที่มีต่อจำนวนแคลลัสที่ให้รากในลัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 และ DMRT ในลัปดาห์ที่ 6 (เฉลี่ยจาก 800 แคลลัส ในแต่ละความเข้มข้น)	47

ตารางที่

หน้า

14.	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ IAA, NAA, K และ BAP กับขนาดและสีของแคลลัสที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงไปเป็นหน่อในสัปดาห์ที่ 6 (เฉลี่ยจาก 800 แคลลัส ในแต่ละความเข้มข้น)	50
15.	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของแคลลัสที่มี green spot แคลลัสที่ให้ราก และแคลลัสที่ให้หน่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี K และ IAA ในสัปดาห์ที่ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส/สูตร)	53
16.	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของแคลลัสที่มี green spot แคลลัสที่ให้ราก และแคลลัสที่ให้หน่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี K และ NAA ในสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส/สูตร)	55
17.	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของแคลลัสที่มี green spot แคลลัสที่ให้ราก และแคลลัสที่ให้หน่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BAP และ IAA ในสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส/สูตร)	57
18.	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของแคลลัสที่มี green spot แคลลัสที่ให้ราก และแคลลัสที่ให้หน่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BAP และ NAA ในสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส/สูตร)	59
19.	ผลของ IAA และ K ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดหน่อ/แคลลัสทั้งหมด ในสัปดาห์ที่ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส/สูตร)	62
20.	ผลของ NAA และ K ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดหน่อ/แคลลัสทั้งหมด ในสัปดาห์ที่ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส/สูตร)	63
21.	ผลของ IAA และ BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดหน่อ/แคลลัสทั้งหมด ในสัปดาห์ที่ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส/สูตร)	64
22.	ผลของ NAA และ BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดหน่อ/แคลลัสทั้งหมด ในสัปดาห์ที่ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส/สูตร)	65
23.	เปรียบเทียบความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวในอาหารสูตรต่าง ๆ ต่อเปอร์เซ็นต์ของแคลลัสที่มี green spot แคลลัสที่ให้หน่อ หน่อ และแคลลัสที่ให้ราก เมื่อใช้แคลลัสอายุ 2 และ 4 สัปดาห์ หลังจากเริ่มชักนำบนอาหารที่มีน้ำตาล 3% และ 4% ตามวิธีการของ CU และ CSU ในสัปดาห์ที่ 6	68

ตารางที่

หน้า

24. เปรียบเทียบความเข้มข้นต่าง ๆ ของ NAA เมื่อ BAP คงที่ในสูตรอาหารของ MS (1962) ต่อเปอร์เซ็นต์ของแคลลัสที่มี green spot แคลลัสที่ให้หน่อ หน่อ และแคลลัสที่ให้ราก เมื่อใช้แคลลัสที่มีอายุ 2 และ 4 สัปดาห์หลังจากเริ่มชักนำอาหารที่มีน้ำตาล 3% และ 4% ตามวิธีการของ CU และ CSU ในสัปดาห์ที่ 6 70
25. เปรียบเทียบผลของ mod. White และ MS (1962) น้ำตาล น้ำมะพร้าว ชนิดและความเข้มข้นของออกซิน และไซโตไคนินต่าง ๆ ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่มี green spot แคลลัสที่ให้หน่อ หน่อ และแคลลัสที่ให้ราก เมื่อใช้แคลลัสที่มีอายุ 2 และ 4 สัปดาห์หลังจากเริ่มชักนำบนอาหารที่มีน้ำตาล 3% และ 4% ตามวิธีการของ CU และ CSU ในสัปดาห์ที่ 6 72
26. เปรียบเทียบชนิดและความเข้มข้นของออกซิน และไซโตไคนินต่าง ๆ ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่มี green spot แคลลัสที่ให้หน่อ หน่อ และแคลลัสที่ให้ราก ด้วยวิธีการของ CU และ CSU [A = 0.5 IAA 0.2 BAP, B = 0.5 NAA 1.6 BAP, C = 1.0 IAA 3.0 K (ppm.)] 75
27. เปรียบเทียบลักษณะต่าง ๆ ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่มี green spot แคลลัสที่ให้หน่อ หน่อ และแคลลัสที่ให้ราก ระหว่างวิธีการของ CU และ CSU 78
28. เปรียบเทียบผลของอายุแคลลัส (2 และ 4 สัปดาห์ หลังจากเริ่มชักนำ) ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่มี green spot แคลลัสที่ให้หน่อ หน่อ และแคลลัสที่ให้ราก ระหว่างวิธีการของ CU และ CSU 79
29. เปรียบเทียบผลของความเข้มข้นของน้ำตาล 3% และ 4% จากอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่มี green spot แคลลัสที่ให้หน่อ หน่อ และแคลลัสที่ให้ราก ระหว่างวิธีการของ CU และ CSU ... 81
30. เปรียบเทียบผลของ mod. White และ MS (2962) ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่มี green spot แคลลัสที่ให้หน่อ หน่อ และ แคลลัสที่ให้ราก ระหว่างวิธีการของ CU และ CSU 82


สารบัญกราฟ

กราฟที่	หน้า
1. เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของแคลลัสที่มี green spot , แคลลัส ที่ให้ราก และแคลลัสที่ให้หน่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี K และ IAA ในลำดับที่ 2, 4 และ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส / สูตร)	54
2. เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของแคลลัสที่มี green spot , แคลลัส ที่ให้ราก และแคลลัสที่ให้หน่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี K และ NAA ในลำดับที่ 2, 4 และ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส / สูตร)	56
3. เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของแคลลัสที่มี green spot , แคลลัส ที่ให้ราก และแคลลัสที่ให้หน่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BAP และ IAA ในลำดับที่ 2, 4 และ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส / สูตร)	58
4. เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของแคลลัสที่มี green spot , แคลลัส ที่ให้ราก และแคลลัสที่ให้หน่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BAP และ NAA ในลำดับที่ 2, 4 และ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส / สูตร)	60
5. แสดงผลของ IAA และ K ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การ เกิดหน่อ / แคลลัสทั้งหมด ในลำดับที่ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส / สูตร)	62
6. แสดงผลของ NAA และ K ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การ เกิดหน่อ / แคลลัสทั้งหมด ในลำดับที่ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส / สูตร)	63
7. แสดงผลของ IAA และ BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การ เกิดหน่อ / แคลลัสทั้งหมด ในลำดับที่ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส / สูตร)	64
8. แสดงผลของ NAA และ BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การ เกิดหน่อ / แคลลัสทั้งหมด ในลำดับที่ 6 (เฉลี่ยจาก 80 แคลลัส / สูตร)	65
9. เปรียบเทียบชนิดและความเข้มข้นของออกซินและไซโตไคนินที่มีผลต่อ เปอร์เซ็นต์แคลลัสที่มี green spot แคลลัสที่ให้หน่อ หน่อ และแคลลัส ที่ให้รากด้วยวิธีการของ CU และ CSU [A = 0.5 IAA 0.1 BAP, B = 0.5 NAA 1.6 BAP, C = 1.0 IAA 3.0 K (ppm.)]	75

ตารางที่

หน้า

31. เปรียบเทียบผลของน้ำตาล (4%), น้ำตาล (4%) กับน้ำมะพร้าว (10%) และน้ำมะพร้าว (10 %) ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่มี green spot แคลลัสที่ให้หน่อ หน่อ และ แคลลัสที่ให้ราก ระหว่างวิธีการของ CU และ CSU 83
32. สรุปลักษณ์ของสูตรทดลองที่ได้เปอร์เซ็นต์แคลลัสที่ให้หน่อ และหน่อสูงที่สุด 10 อันดับ จากสูตรทดลองทั้งหมด 100 สูตร เปรียบเทียบกับสูตรเปรียบเทียบทั้ง 4 สูตร 89



ศูนย์วิทยพัชกร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

10. เปรียบเทียบ ผลของอายุแคลลัส (2 และ 4 สัปดาห์หลังจากเริ่ม
ชักนำ) ต่อเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่มี green spot, แคลลัสที่ให้หน่อ,
หน่อและแคลลัสที่ให้ราก ด้วยวิธีการของ CU และ CSU 79
11. เปรียบเทียบ ผลของความเข้มข้นของน้ำตาล (3% และ 4%) จาก
อาหารชักนำแคลลัสต่อเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่มี green spot, แคลลัสที่
ให้หน่อ, หน่อและแคลลัสที่ให้ราก ด้วยวิธีการของ CU และ CSU 81
12. เปรียบเทียบผลของ mod. White และ MS (1962)
ต่อเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่มี green spot, แคลลัสที่ให้หน่อ,
หน่อและแคลลัสที่ให้ราก ด้วยวิธีการของ CU และ CSU 82
13. เปรียบเทียบผลของน้ำตาล (4%), น้ำตาล (4%) กับน้ำมะพร้าว (10%)
และน้ำมะพร้าว (10%) ต่อเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่มี green spot,
แคลลัสที่ให้หน่อ, หน่อและแคลลัสที่ให้ราก ด้วยวิธีการของ
CU และ CSU 83
14. เปอร์เซ็นต์ของแคลลัสที่ให้ green spot เมื่อมีอัตราส่วนของออกซิน
และไซโตไคนินต่าง ๆ ในอาหารสำหรับการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่
เป็นเวลา 2 สัปดาห์ 90

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. E callus และ NE callus จากเอ็มบริโอของข้าวพันธุ์ กข 23 ...	34
2. เฉพาะ E callus เท่านั้นที่จะใช้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ ..	34
3. E callus ที่มี green spot	35
4. green spot ที่พัฒนาต่อไปจนมีโครงสร้างคล้ายใบ	35
5. ยอดและรากที่ได้จากแคลลัสที่มีความสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ได้.	35
6. ตัวอย่างต้นที่ได้รับจากสูตรชักนำให้เปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่	66
7. เปรียบเทียบวิธีการของ CU และ CSU	
ก. วิธีการของ CU	77
ข. วิธีการของ CSU	77
8. ต้นข้าวที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีรากพร้อมที่นำไปปลูก	85
9. ต้นข้าวที่อ่อนบาลไว้พร้อมที่จะออกปลูกได้	85
10. การปลูกข้าวในทราย (sand culture)	86
11. สภาพของเรือนต้นไม้ที่ใช้ปลูกข้าวที่มหาวิทยาลัยโคโลราโดสเตท	86

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญแผนภาพ

แผนภาพที่	หน้า
1. แผนดำเนินงานวิจัยโดยสังเขปตลอดโครงการ	16
2. ความเข้มข้นของออกซินและไซโตไคนินที่ใช้ในสูตรทดลอง	18



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

E callus	: embryogenic callus
NE callus	: non-embryogenic callus
2, 4-D	: 2, 4 - dichlorophenoxyacetic acid
IAA, I	: indoleacetic acid
NAA, N	: naphthaleneacetic acid
K	: 6 - furfuryl - aminopurine (kinetin)
BAP, B	: 6 - benzylaminopurine
W	: สัปดาห์
CW	: น้ำมะพร้าวอ่อน
วิธีการของ CU	: ใช้การทดลองละ 20 ซ้ำ โดย 1 ซ้ำใช้ 4 แคลลัสต่อ 1 ชวด ซึ่งใช้อาหารชวดละ 12.5 มิลลิลิตร
วิธีการของ CSU	: ใช้การทดลองละ 10 ซ้ำ โดย 1 ซ้ำใช้แคลลัสรวมกันแล้ว ได้เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 9 มิลลิเมตร โดยแคลลัสอายุ 2 และ 4 สัปดาห์ หลังจากเริ่มเลี้ยงใช้ 8 และ 5 แคลลัส ตามลำดับ ต่อ 1 ชวด โดยใช้อาหารชวดละ 12.5 มิลลิลิตร
GS	: green spot
SH	: แคลลัสที่ให้หน่อ
S	: หน่อ
R	: แคลลัสที่ให้ราก
MS (1962)	: สูตรอาหารของ Murashige และ Skoog (1962)
mod.White	: สูตรอาหารดัดแปลงของ White
B ₅	: สูตรอาหารของ Gamborg และคณะ (1970)