

ผลของ 2,4-D และ TDZ ต่อการชักนำการเกิดแคลลัสและ ต้นในเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

Effects of 2,4-D and TDZ on Callus and Shoot Induction in Seed of Rice (*Oryza sativa* L.) cv.

Sang Yod Phattalung

เปรมฤดี ด้ายศ^{1*} สมพร ด้ายศ¹ เมฆา ชาติกุล¹ และ จินารัตน์ สายแก้ว¹
Premrudee Domyos^{1*}, Somporn Domyos¹, Meka Chartikul¹
and Jinarat Saykawe¹

ได้รับบทความ: 13 มี.ค. 2563

ได้รับความแก้ไข: 4 พ.ค. 2563

ยอมรับตีพิมพ์: 12 พ.ค. 2563

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) ต่อการชักนำการเกิดแคลลัสและผลของ thidiazuron (TDZ) ต่อการชักนำการเกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ทำการทดลองโดยนำเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงที่ปลอดเชื้อวางเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่ไม่เติมและเติม 2,4-D ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มก./ล. วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จำนวน 10 ซ้ำ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า 2,4-D ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ โดยที่ระดับความเข้มข้น 2 มก./ล. ชักนำให้แคลลัสมีขนาดใหญ่ที่สุด (เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 1.09 ซม.) มีลักษณะเป็นเม็ดกลม ขนาดเล็ก รวมกันเป็นก้อนค่อนข้างกลม สีเหลืองครีม ส่วนการชักนำการเกิดยอดทำโดยนำเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงที่ปลอดเชื้อวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมและเติม TDZ ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มก./ล. วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 10 ซ้ำ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า TDZ ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดยอดได้โดยไม่ผ่านการเกิดแคลลัส จำนวนยอดที่ได้มีปริมาณเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ TDZ ที่เพิ่มขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 3 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดได้จำนวนมากที่สุด (7.00 ยอด/เมล็ด)

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สถาบันการอาชีวศึกษาเกษตรภาคใต้ นครศรีธรรมราช 80250

¹ Plant Production Technology, Regional Southern Institute of Vocational Education in Agricultural, Nakhon Si Thammarat 80250

* ผู้รับผิดชอบงาน (Corresponding author) e-mail: premrudee54@gmail.com

บทความวิจัย (Research Article)

วารสารวิชาการสถาบันการอาชีวศึกษาเกษตร

ปีที่ 4 • ฉบับที่ 1 • มกราคม - มิถุนายน 2563

สรุปได้ว่า 2,4-D ความเข้มข้น 2 มก./ล. เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการชักนำการเกิดแคลลัส และ TDZ ความเข้มข้น 3 มก./ล. เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการชักนำการเกิดยอด

คำสำคัญ: ข้าวสังข์หยดพัทลุง การชักนำการเกิดแคลลัส การชักนำการเกิดยอด 2,4-D TDZ

ABSTRACT

This research was aimed to investigate effects of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) on callus induction and effects of thidiazuron (TDZ) on shoot induction of rice (*Oryza sativa* L.) cv. Sang Yod Phattalung. Sterilized seeds were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium with and without 1, 2 and 3 mg/L of 2,4-D for callus induction. The experiment was conducted using the completely randomized design (CRD) with 10 replications. After 4 weeks of culture, it was found that calli were induced on all the MS media supplemented with 2,4-D. The largest callus (1.09 cm in diameter) was found on the MS medium added with 2 mg/L of 2,4-D and it was friable and creamy yellow. In the case of shoot induction, sterilized seeds were placed on MS medium with and without 1, 2 and 3 mg/L TDZ for 4 weeks. The results showed that shoots were successfully developed directly from embryo without intervening callus stage. Multiple shoots from the cultured seeds were enhanced by increasing the concentration of TDZ from 1 to 3 mg/L. The highest average number of shoots (7.00 shoots/seed) was observed on the MS medium containing 3 mg/L TDZ. Therefore, it can be concluded that 2 mg/L of 2, 4-D and 3 mg/L of TDZ were suitable for callus and shoot induction, respectively.

Keywords: Sang Yod Phattalung rice; callus induction; shoot induction; 2,4-D; TDZ

บทนำ

ข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง (*Oryza sativa* L. cv. Sang Yod Phattalung) เป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองไวแสงพันธุ์แรกของไทยที่ได้รับการขึ้นทะเบียนเป็นข้าวสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ หรือข้าวจีไอ (Geographical Indication; GI) จัดอยู่ในกลุ่มข้าวที่มีสีแดงและมีคุณลักษณะพิเศษทางสุขอนามัยสูง [1] จากผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ปลูกในแปลงนาของวิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีพัทลุง พบว่ามีกรดแกมมา-อะมิโนบิวทีริก หรือกาบา (gamma amino butyric acid; GABA) และแคลเซียมปริมาณสูง กล่าวคือ ข้าวกล้องออก 100 ก. มีกาบาและแคลเซียม 11.53 และ 17.00 มก. ตามลำดับ สูงกว่าในข้าวกล้องซึ่งมีกาบาและแคลเซียม 3.27 และ 14.00 มก. ตามลำดับ [2] จากคุณสมบัติดังกล่าวส่งผลให้ผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศมีความต้องการบริโภคข้าวสังข์หยดพัทลุงมากขึ้น แต่การผลิตข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงในปัจจุบันไม่สามารถผลิตได้เพียงพอกับความต้องการ เนื่องจากมีพื้นที่ปลูกน้อยและผลผลิตต่อไร่ต่ำ โดยเฉพาะจังหวัดพัทลุงซึ่งเป็นแหล่งผลิตที่สำคัญของข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง พบว่ามีพื้นที่ปลูกข้าวพันธุ์สังข์

หยาตพัทลุงประมาณ 20,000 ไร่และให้ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 400 กิโลกรัม/ไร่ [3] และจากการศึกษาปัญหาด้านการผลิตของข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง พบว่าปัญหาสำคัญที่ทำให้ผลผลิตข้าวลดลง ได้แก่ ปัญหาน้ำท่วมพื้นที่นา ค่าแรงสูงและปัญหาแมลงศัตรูพืช นอกจากนี้ยังมีปัญหาด้านผู้ประกอบการแปรรูป คือ ผลผลิตข้าวไม่เพียงพอต่อความต้องการและข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงมีคุณภาพต่ำ [4] ดังนั้นในอนาคตของการผลิตข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงจึงจำเป็นต้องมุ่งเน้นไปที่การผลิตเพื่อให้ได้ข้าวที่มีคุณภาพดีและให้ผลผลิตสูง ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคต่างๆ ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงและผลผลิตมีคุณภาพดี เช่น เทคนิคด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช พันธุวิศวกรรมและชีววิทยาระดับโมเลกุล โดยเฉพาะเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชซึ่งเป็นเทคนิควิธีที่นิยมนำมาใช้เพื่อพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ได้ลักษณะตามที่ต้องการและยังเป็นพื้นฐานของการศึกษาด้านพันธุวิศวกรรมและชีววิทยาระดับโมเลกุล

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อให้ได้พันธุ์ข้าวที่มีลักษณะตามที่ต้องการ เช่น ให้ผลผลิตสูง ต้านทานโรค และแมลงศัตรูข้าว มีโภชนาการสูง ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น จำเป็นต้องศึกษาปัจจัยพื้นฐานที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์หรือเนื้อเยื่อไปเป็นต้นข้าวที่สมบูรณ์คือมีทั้งลำต้นและราก เช่น การศึกษาปัจจัยด้านสูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโต ขึ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง เช่น ปลายยอด ใบอ่อน ช่อดอก เมล็ด สำหรับพันธุ์ข้าวในประเทศไทยที่ประสบผลสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น ข้าวดอกมะลิ 105 ปทุมธานี 1 กข6 หอมกระดังงา หอมนิล เป็นต้น [5, 6, 7, 8 และ 9] ซึ่งการทดลองส่วนใหญ่ใช้เมล็ดข้าวมาเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส (callus) โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) แคลลัส คือ เนื้อเยื่อที่เกิดใหม่จากการเพาะเลี้ยงส่วนต่างๆ ของพืช ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์พาเรงคิมาที่ยังไม่มีการแปรสภาพไปเป็นอวัยวะ [10] จากนั้นนำแคลลัสที่ได้ไปชักนำให้เกิดยอด (shoot) โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด 6-benzylaminopurine (BAP) เช่นเดียวกับการทดลองในหลายประเทศ เช่น ประเทศอินเดียได้มีการทดลองชักนำแคลลัสและยอดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์ Sita, Rupali และ Masuri [11] ข้าวพันธุ์ Swarna, Gayatri, Samba Mahsuri, Pooja, Pusa Basmati1, CR Sugandh Dhan 907, Basmati-370 และ Dubraj [12] ประเทศญี่ปุ่นได้มีการทดลองชักนำการเกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ดข้าวลูกผสมในอาหารเหลว ได้แก่ msAkihikari/H87-36, msAkihikari/H87-37, msNekken 2/Milyang 23, msNekken 2/H87-50, msNekken 2/H87-53 และ msNekken 2/H87-56 [13] นอกจากนี้ ยังมีการทดลองใช้ thidiazuron [1-phenyl-3-(1,2,3-thiadiazol-5-yl) urea; TDZ] ในการชักนำการเกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดโดยไม่ผ่านการเกิดแคลลัส เช่น การทดลองในข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105, เฉียงพัทลุง, ตะเภาแก้ว, กข10, กข25 และไรซ์เบอร์รี่ [14, 15] ดังนั้น การทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ 2,4-D ต่อการชักนำการเกิดแคลลัสและผลของ TDZ ต่อการชักนำการเกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ผลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวพันธุ์อื่นๆ ตลอดจนเป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อการขยายพันธุ์ ปรับปรุงพันธุ์ และอนุรักษ์พันธุ์กรรมข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ตัวอย่างเมล็ดข้าว

เมล็ดข้าวที่ใช้ศึกษาเป็นเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง จากศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง ตำบลควนมะพร้าว อำเภอเมืองพัทลุง จังหวัดพัทลุง มีเปอร์เซ็นต์การงอก 98% ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีพัทลุง

2. การพอกฆ่าเชื้อเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

ล้างทำความสะอาดข้าวเปลือกสังข์หยดพัทลุงด้วยน้ำยาล้างจานและน้ำประปา แล้วนำมาแช่ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70% (v/v) เป็นเวลา 3 นาที และแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaOCl) ความเข้มข้น 2% (v/v) เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นล้างข้าวเปลือกด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แกะเปลือกออก นำเมล็ดข้าวที่ได้แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้น 0.5% (v/v) เป็นเวลา 10 นาทีและล้างเมล็ดข้าวด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ตักเมล็ดข้าววางบนกระดาษกรองที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้วเพื่อซับน้ำให้แห้ง นำเมล็ดข้าววางเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ขวดละ 1 เมล็ด วางขวดเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงอุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ในสภาพที่มีแสง 16 ชม./วัน ความเข้มแสง 1,300 ลักซ์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน คัดเลือกเมล็ดข้าวที่ปลอดเชื้อเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3. ศึกษาผลของ 2,4-D ต่อการชักนำการเกิดแคลลัสจากเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

นำเมล็ดข้าวที่ปลอดเชื้อวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมและเติม 2,4-D ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 1, 2 และ 3 มก./ล. สิ่งทดลองละ 10 ขวด ๆ ละ 1 เมล็ด วางเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงอุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ในสภาพที่มีแสง 16 ชม./วัน ความเข้มแสง 1,300 ลักซ์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกจำนวนเมล็ดที่เกิดแคลลัส ลักษณะของแคลลัสและเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส หาอัตราการเกิดแคลลัสและค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส วิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

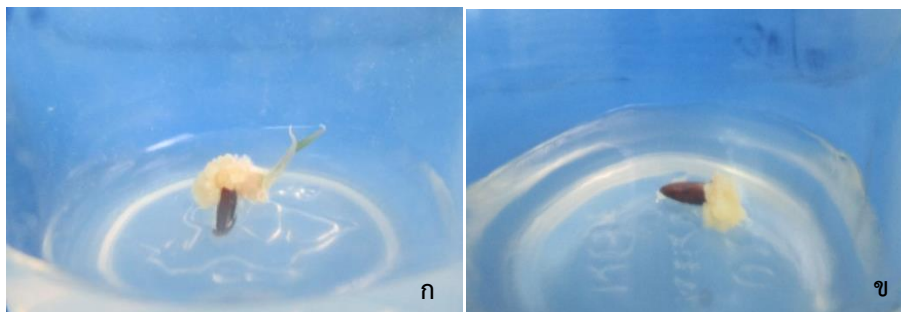
4. ศึกษาผลของ TDZ ต่อการชักนำการเกิดยอดจากเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

นำเมล็ดข้าวที่ปลอดเชื้อวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมและเติม TDZ ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 1, 2 และ 3 มก./ล. สิ่งทดลองละ 10 ขวด ๆ ละ 1 เมล็ด วางเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงอุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ในสภาพที่มีแสง 16 ชม./วัน ความเข้มแสง 1,300 ลักซ์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกจำนวนเมล็ดที่เกิดยอดและจำนวนยอดที่ชักนำได้ หาอัตราการเกิดยอดและหาค่าเฉลี่ยจำนวนยอดที่ชักนำได้วิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ผลการวิจัย

1. ผลของ 2,4-D ต่อการชักนำการเกิดแคลลัสจากเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

การวางเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมและเติม 2,4-D ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มก./ล. หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า 2,4-D ทุกระดับความเข้มข้นมีผลต่อการเกิดแคลลัสในอัตราที่เท่ากัน คือ 100% ขณะที่เมล็ดข้าวบนอาหารที่ไม่เติม 2,4-D ไม่เกิดแคลลัส แคลลัสมีสภาพพัฒนามาจากเอ็มบริโอทั้งอันและจากรากแรกเกิด (radicle) ของเอ็มบริโอ มีลักษณะเป็นเม็ดกลมขนาดเล็ก รวมกันเป็นก้อนค่อนข้างกลม สีเหลืองครีม (ภาพที่ 1) ก้อนแคลลัสมีขนาดแตกต่างกัน โดย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มก./ล. มีผลทำให้เกิดแคลลัสที่มีขนาดใหญ่ที่สุด คือ มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 1.09 ซม. รองลงมาคือ ความเข้มข้น 3 และ 1 มก./ล. (ตารางที่ 1)



ภาพที่ 1 ลักษณะแคลลัสข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงเป็นเม็ดกลม ขนาดเล็กเกาะกันเป็นก้อนค่อนข้างแน่น สีเหลืองครีม ก) แคลลัสพัฒนาจากรากแรกเกิด ข) แคลลัสพัฒนาจากเอ็มบริโอ

ตารางที่ 1 อัตราการเกิดแคลลัสและเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมและเติม 2,4-D ความเข้มข้นต่างกันหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ 2,4-D (มก./ล.)	อัตราการเกิดแคลลัส (%)	เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย ^{1/} (ซม.)
ไม่เติม	0	0.00 ^d
1	100	0.46 ^c
2	100	1.09 ^a
3	100	0.73 ^b
F-test	-	**
CV (%)	-	13.32

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.01

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ผลของ TDZ ต่อการชักนำการเกิดยอดจากเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

การวางเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมและเติม TDZ ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มก./ล. หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดข้าวเกิดยอดได้ทั้งบนอาหารที่ไม่เติมและเติม TDZ ในอัตราที่เท่ากันคือ 100% แต่จำนวนยอดที่ได้แตกต่างกัน เมล็ดข้าวบนอาหารที่ไม่เติม TDZ มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.00 ยอด/เมล็ด น้อยกว่าเมล็ดข้าวบนอาหารที่เติม TDZ ทุกระดับความเข้มข้นและ TDZ ความเข้มข้น 3 มก./ล. มีผลชักนำให้เกิดยอดได้จำนวนมากที่สุดเฉลี่ย 7.00 ยอด/เมล็ด รองลงมา คือ ความเข้มข้น 2 และ 1 มก./ล. (ตารางที่ 2 และภาพที่ 2)

บทความวิจัย (Research Article)

วารสารวิชาการสถาบันการอาชีวศึกษาเกษตร

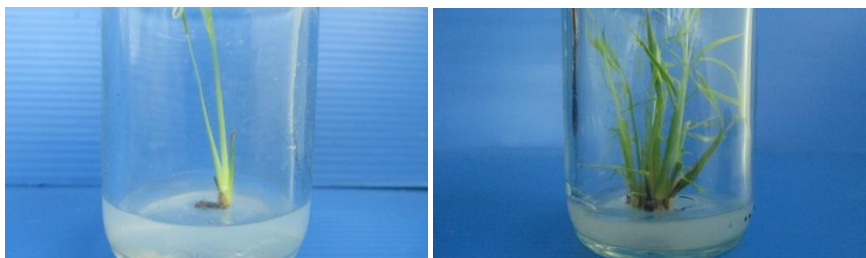
ปีที่ 4 • ฉบับที่ 1 • มกราคม - มิถุนายน 2563

ตารางที่ 2 อัตราการเกิดยอดและจำนวนยอดเฉลี่ยจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมและเติม TDZ ความเข้มข้นต่างกันหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ TDZ (มก./ล.)	อัตราการเกิดยอด (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย ^{1/} (ยอด/เมล็ด)
ไม่เติม	100	1.00 ^d
1	100	3.24 ^c
2	100	5.36 ^b
3	100	7.00 ^a
F-test	-	**
CV (%)	-	14.09

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.01

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 2 ลักษณะยอดที่ชักนำได้บนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมและเติม TDZ
ก) ไม่เติม TDZ ข) เติม TDZ ความเข้มข้น 3 มก./ล.

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การศึกษาผลของ 2,4-D ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดบนอาหารสูตร MS พบว่า 2,4-D มีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส ดังจะเห็นได้จากเมล็ดข้าวที่วางเลี้ยงบนอาหารที่เติม 2,4-D ทุกความเข้มข้นเกิดแคลลัส ขณะที่เมล็ดข้าวบนอาหารที่ไม่เติม 2,4-D ไม่เกิดแคลลัส แคลลัสที่ได้มีการพัฒนามาจากเอ็มบริโอทั้งอันและจากรากแรกเกิดของเอ็มบริโอ เช่นเดียวกับการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105, ปทุมธานี 1 และหอมนิล [5, 6 และ 9] ความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เอ็มบริโอของข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง คือ 2 มก./ล. เพราะให้แคลลัสที่มีขนาดใหญ่กว่าการใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 3 และ 1 มก./ล. สอดคล้องกับการทดลองการชักนำแคลลัสจากเมล็ดข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105, กข6, หอมนิล และปทุมธานี 1 [6, 7, 8 และ 9] และการชักนำแคลลัสจากเอ็มบริโอแก่ (mature embryo) ของข้าวพันธุ์ Sita, Rupali และ Swarna Masuri ที่พบว่า 2,4-D ความเข้มข้น 2 มก./ล. เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัส ความเข้มข้นของ 2,4-D ที่ต่ำกว่าหรือสูงกว่า 2 มก./ล. จะมีผลทำให้แคลลัสมีขนาดลดลง [11] ทั้งนี้เพราะ 2,4-D เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซินที่มีบทบาทในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการขยายขนาดของเซลล์ ซึ่งการใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้นต่ำจะส่งเสริมการแบ่งเซลล์และการขยายขนาดของเซลล์ [16] แต่หากใช้ที่ความเข้มข้นสูง ๆ จะมีผลยับยั้งการสร้างแคลลัสของข้าว [17] สำหรับการชักนำให้เกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

โดยใช้ TDZ ซึ่งเป็นสารประกอบกลุ่มฟีนิลยูเรีย (phenylureas) ที่ออกฤทธิ์คล้ายไซโทไคนิน โดยมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์ ระดับพลังงานและการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารของพืชและมีผลกระตุ้นให้เกิดตา ยอดจำนวนมาก [18] TDZ สามารถชักนำการเกิดยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหลายชนิด มีความสามารถในการชักนำการเกิดยอดได้ดีกว่าการใช้ BAP [19] ทั้งยังชักนำการเกิดยอดได้ปริมาณมากกว่าและใช้ระยะเวลาสั้นกว่าอีกด้วย [20] จากการทดลองนี้พบว่า TDZ ความเข้มข้นต่างกันมีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดได้จำนวนแตกต่างกัน ความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 3 มก./ล. ให้จำนวนต้นมากที่สุด 7 ยอด/เมล็ด และจำนวนยอดที่ชักนำได้จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ TDZ ที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yookongkaew, et. al. ในปี 2007 พบว่า จำนวนยอดที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดของข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีปริมาณเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ TDZ ที่เพิ่มขึ้น ความเข้มข้น TDZ ที่เหมาะสมคือ 4 มก./ล. ให้จำนวนยอดสูงสุดเฉลี่ย 7 ยอด/ปลายยอด และที่ความเข้มข้น 6-12 มก./ล. แม้จะได้ยอดจำนวนมากว่าที่ 4 มก./ล. แต่ยอดที่ได้มีลักษณะผิดปกติ [14] แต่ต่างจากงานวิจัยของเปรมฤดี ในปี 2561 ที่พบว่า TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. เมล็ดข้าวพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ให้จำนวนยอดสูงสุดเฉลี่ย 11 ยอด/เมล็ด และที่ความเข้มข้น 3 มก./ล. ยอดที่ชักนำได้มีจำนวนน้อยกว่าและมีลักษณะผิดปกติ คือ ยอดมีขนาดเล็ก และมีสีเขียวอ่อน [15]

การวิจัยครั้งนี้จึงสรุปผลได้ดังนี้ คือ 2,4-D มีผลต่อการชักนำการเกิดแคลลัส และ TDZ มีผลต่อการชักนำการเกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง โดย 2,4-D ความเข้มข้น 2 มก./ล. เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการชักนำการเกิดแคลลัส และ TDZ ความเข้มข้น 3 มก./ล. เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการชักนำการเกิดยอด

เอกสารอ้างอิง

- [1] ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง.(2550). *ข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง*. พัทลุง: ผู้แต่ง.
- [2] เปรมฤดี ด้ายศ. (2551). *การผลิตข้าวกล้องงอกพันธุ์สังข์หยดพัทลุง*. พัทลุง: วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีพัทลุง.
- [3] พินิตพิมพ์ สิทธิศักดิ์ และคณะ. (2557). การผลิตและการตลาดข้าวสังข์หยดของเกษตรกรในจังหวัดพัทลุง. *แก่นเกษตร*, 42(1), 493-498.
- [4] ประชาชาติธุรกิจ. (2562). *ข้าวเปลือกสังข์หยด GI พุง 2.5 หมื่นบ./ตัน*. เข้าถึงได้จาก [https:// www.prachachat.net/local-economy/news-275093](https://www.prachachat.net/local-economy/news-275093)
- [5] เปรมฤดี ด้ายศ. (2538). การแยกโปรโตพลาสต์ข้าวขาวดอกมะลิ 105. *การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 21*. (น. 266 - 267). ชลบุรี: สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์.
- [6] ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และอัญชลี จาละ. (2558). ผลของ 2,4-D และ kinetin ชักนำให้เกิดแคลลัสในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และปทุมธานี 1. *Thai Journal of Science and Technology*, 4(3), 227-235.
- [7] ภาพเก่า พุทธิรักษ์ และคณะ. (2556). การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดของข้าวหอมมะลิ 105 และข้าวเหนียว กข 6. *Naresuan Phayao Journal*, 6(2), 100-105.
- [8] อรุณี ฐาชีวะ และสมปอง เตชะโต. (2558). การขยายพันธุ์ข้าวหอมกระดังงาโดยการเพาะเลี้ยงปลายยอดภายใต้ระบบไบโอรีแอคเตอร์. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์*, 2(3), 12-16.
- [9] พันทิวา ทิรวม และขวัญเดือน รัตน. (2560). การชักนำให้เกิดแคลลัสและต้นใหม่ของข้าวเจ้าหอมนิล.

แก่นเกษตร, 45(1), 1052-1059.

- [10] เปรมฤดี ด้ายศ. (2550). เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. พัทลุง: วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีพัทลุง.
- [11] Upadhyaya, G., et al. (2015). *In vitro* callus induction and plant regeneration of rice (*Oryza sativa* L.) var. 'Sita', 'Rupali' and 'Swarna Masuri'. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 5(5), 24-27.
- [12] Repalli, S. K., et al. (2017). Regeneration Enhancement in Tissue Culture of Indica Rice's through Partial Desiccation and Chemical Supplements. *Journal of Plant Biochemistry & Physiology*, 5(3), 1-4.
- [13] Yoshida, T. & Kato, H. (1996). In Vitro Propagation of Hybrid Rice (*Oryza sativa* L.). *Japan Agriculture Research Quarterly*, 30(1), 9-14.
- [14] Yookongkaew, N., et al. (2007). Development of genotype-independent regeneration System for transformation of rice (*Oryza sativa* ssp. *indica*). *Journal of Plant Research*, 120, 237-245.
- [15] เปรมฤดี ด้ายศ. (2561). ผลของ Thidiazuron (TDZ) ต่อการชักนำการเกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่. พัทลุง: วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีพัทลุง.
- [16] Song, Y. (2014). Insight into the mode of action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) as an herbicide. *Journal of Integrative Plant Biology*, 56(2), 106-113.
- [17] Michiba, K., et al. (2001). Increasing ploiding level in cell suspension cultures of *Doritaenopsis* by exogenous application of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid. *Physiology Planta*, 112, 142-148.
- [18] Murthy, B. N. S., et al. (1998). Review Thidiazuron: a potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis. *Society for In Vitro Biology*, 34(4), 267-275.
- [19] Gairi, A. & Rashid, A. (2004). TDZ-induced somatic embryogenesis in non-responsive caryopses of rice using a short treatment with 2,4-D. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 76, 29-33.
- [20] Visser, C., et al. (1992). Morphoregulatory role of thidiazuron. Substitution of auxin and Cytokinin requirement for the induction of somatic embryogenesis in geranium hypocotyl cultures. *Plant Physiology*, 99, 1704-1707.