

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในข้าวพันธุ์ต่างๆ

Tissue Culture in Rice

เผติม ระติสุนทร ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา
สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล และ เลิศลักษณ์ เงินศิริ¹

Padern Ratisoontorn, Pradit Pongtongkam, Saowanee Suputtitada,

Surin Piyachoknakul and Lertlak Ngernsiri

ABSTRACT

Tests had been performed to determine the proper condition and most suitable ingredient of medium for 6 culturing different rice varieties. It was found that seeds culture of all six varieties for callus induction grown in the light condition was better than in the dark condition. The suitable callus induction medium for Kaodogmali 105 (KDML 105), Basmati 370 (Bas 370) and Rice Department 15 (RD 15) varieties was the modified MS medium containing 5 mg./l NAA and 1 mg./l kinetin, for Nangmol S4 (NMS 4) and Pradoodaeng (PDD) varieties was the modified MS medium supplemented with 4 mg./l NAA and 1 mg./l kinetin, and for Patumthani 60 (PTT 60) variety was the modified MS medium supplemented with 5 mg./l NAA and 0.5 mg./l kinetin.

The suitable plantlet regenerated medium for KDML 105 and NMS4 varieties was the modified MS medium without growth regulator, for PTT 60 variety was the modified MS medium containing 1 mg./l kinetin, for RD 15 variety was the modified MS medium supplemented with 2 mg./l kinetin, and for Bas 370 and PDD varieties was the modified MS medium supplemented with 3 mg./l kinetin.

Key words : rice tissue culture

บทคัดย่อ

การทดลองเพื่อหาอาหารสูตรที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวจากเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ พบว่าการชักนำให้เกิดแคลลัสในสภาพที่ได้รับแสงจะดีกว่าในสภาพมืด สูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105, พันธุ์ปทุมธานี 60 และพันธุ์ กข. 15 ได้แก่ อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA 5 มก./ล และ kinetin 1 มก./ล ส่วนพันธุ์นางมลิ S4 และพันธุ์

ประดู่แดง ได้แก่ อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA 4 มก./ล และ kinetin 1 มก./ล และพันธุ์ปทุมธานี 60 นั้นอาหารสูตรที่เหมาะสมคือ อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA 5 มก./ล และ kinetin 0.5 มก./ล

อาหารสูตรที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงแคลลัสให้เป็นต้นอ่อน สำหรับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์นางมลิ S4 ได้แก่ อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พันธุ์ปทุมธานี 60 นั้น เจริญเป็นต้นอ่อนได้ดีในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม kinetin 1

¹ ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มก./ล ในขณะที่พันธุ์ กข. 15 เหมาะสมกับอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม kinetin 2 มก./ล ส่วนพันธุ์บาสมาติ 370 และพันธุ์ประดู่แดง เหมาะสมกับอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม kinetin 3 มก./ล

คำนำ

การเพิ่มผลผลิตข้าวโพดโดยใช้สายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อสภาพพื้นที่เป็นแนวทางหนึ่งที่สำคัญในกระบวนการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเมื่อประเทศไทยคงจะไม่สามารถขยายพื้นที่ปลูกได้อีก การนำเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามาช่วยในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ข้าวจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ เทคนิคพื้นฐานที่สำคัญยิ่งในทางเทคโนโลยีชีวภาพคือ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Nakajima (1985) รายงานว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ได้ และจะมีการนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางต่อไปในกระบวนการต่างๆ ทางเทคโนโลยีชีวภาพในด้านการปรับปรุงพันธุ์

ปัจจุบันเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้เข้ามามีบทบาทต่อการปรับปรุงพันธุ์พืชมากขึ้น เช่น ย่นระยะเวลาในการผลิตสายพันธุ์แท้หรือสร้างสายพันธุ์ที่ปลอดจากเชื้อไวรัส หรือสร้างสายพันธุ์ที่มีลักษณะพึงประสงค์ เช่น สายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคหรือแมลงบางชนิด อย่างไรก็ตามการจะใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้เกิดผลดังกล่าว จำเป็นจะต้องศึกษาข้อมูลพื้นฐานเสียก่อน ดังนั้น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวเพื่อจะนำไปใช้ประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป ก็จำเป็นจะต้องศึกษาข้อมูลพื้นฐานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวได้รับการพัฒนาอย่างรวดเร็ว ขึ้นส่วนของต้นเกือบทุกส่วนสามารถจะนำมาเพาะเลี้ยงให้สร้างแคลลัสได้ เมื่อย้ายแคลลัสที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่เหมาะสม สามารถพัฒนาไปเป็นต้นใหม่ที่มีสมบูรณ์ได้ (Nishi *et al.* 1968; Henke *et al.* 1978; Vajrabaya *et al.* 1986; Raina *et al.* 1987; Wang *et al.* 1987)

เทคนิคด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ทำให้เกิดความ

ก้าวหน้าในการปรับปรุงพันธุ์พืชหลายชนิด (Oono, 1983) : การพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อพืชที่ทำมาอย่างต่อเนื่อง ทำให้ในปัจจุบันสามารถที่จะนำเทคนิคดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช ซึ่งนักปรับปรุงพันธุ์พืชได้ให้ความสนใจในการใช้วิธีการนี้เพื่อปรับปรุงพันธุ์พืชเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ (Smith, 1974; Chaleff, 1980; Kucherenko, 1980)

Ketchum *et al.* (1987) รายงานว่าเมล็ดข้าวที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้วเหมาะสมมากต่อการนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพราะจะทำให้การเกิดแคลลัสที่เป็น embryonic callus ที่สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นสมบูรณ์ได้ดี ข้าวพันธุ์ต่างๆ มีการตอบสนองต่ออาหารเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน ทั้งการชักนำแคลลัสและชักนำให้เกิดต้น (Kayima *et al.*, 1988) ความสามารถที่จะพัฒนาไปเป็นต้นจะมีความแตกต่างกันมากยิ่งกว่าอัตราการเกิดแคลลัส ปัจจัยทางพันธุกรรมที่ควบคุมการเกิดแคลลัสกับความสามารถที่จะพัฒนาไปเป็นต้นนั้นไม่เกี่ยวข้องกัน เช่นเดียวกับที่ควบคุมการเกิดแคลลัสจากเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ที่นำมาเพาะเลี้ยง (Davoyan, 1987)

จุดประสงค์ของการทดลองนี้ เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์ต่างๆ ให้เจริญเป็นแคลลัส แล้วชักนำให้แคลลัสเจริญและพัฒนาไปเป็นต้นใหม่แล้วย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติ เพื่อนำผลการทดลองนี้ไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เมล็ดข้าวพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ ข้าวดอกมะลิ 105 (KDML 105), นางมด S4(NMS4), บาสมาติ 370 (Bas370), ปทุมธานี 60 (PTT60), ประดู่แดง (PDD) และ กข.15 (RD15)

2. อาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ ที่ใช้เพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส คือ อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ casein hydrolysate 1 ก./ล, NAA 3, 4, 5 มก./ล และ kinetin 0.5, 1 มก./ล

รวมอาหารทั้งหมด 6 สูตร

3. อาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ สำหรับเพาะเลี้ยงแคลลัสเพื่อชักนำให้เกิดต้นอ่อน ได้แก่ อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ casein hydrolysate 1 ก./ล ที่ใส่ kinetin ในระดับต่างๆ คือ 0, 1, 2, 3 มก./ล รวมอาหารทั้งหมด 4 สูตร

4. นำเมล็ดข้าวเปลือกของข้าวทั้ง 6 พันธุ์ มาแกะเปลือกออกแล้วนำไปฟอกฆ่าเชื้อ โดยแช่เมล็ดในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที แล้วย้ายไปแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ เติมน้ำยาเปียกใบ 1-2 หยด แช่เป็นครั้งคราว นาน 20 นาที แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นนำเมล็ดข้าวไปเพาะเลี้ยงในอาหาร 6 สูตร ตามข้อ 2 เพาะเลี้ยงในอาหารแต่ละสูตรจำนวน 40 ขวด แยกเก็บไว้ในที่มีมือ 20 ขวด และที่มีแสง 20 ขวด ในห้องเพาะเลี้ยงอุณหภูมิ 25 ± 2 องศา

เซลเซียส บันทึกผลการเกิดแคลลัสจากขวดอาหารที่ไม่มี การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

5. คัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสม 2 สูตร ในการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวแต่ละพันธุ์ แล้วเตรียมอาหารสูตรที่คัดเลือกไว้นั้นเพื่อทำการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวซ้ำอีกครั้งหนึ่ง บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากขวดอาหารที่ไม่มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

6. นำแคลลัสที่ดีไปเพาะเลี้ยงในอาหาร 4 สูตรตามข้อ 3 เพื่อชักนำให้เกิดต้น โดยอาหารแต่ละสูตรทำการเพาะเลี้ยง 15 ขวด บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นอ่อนจากขวดอาหารที่ปราศจากการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

ผลและวิจารณ์

จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าว 6 พันธุ์ คือ พันธุ์ขาว

Table 1 Percent callus formation of rice seed cultures in various media after 4 weeks in light condition.

Media	Variety					
	KDML105	NMS 4	Bas370	PTT80	PDD	RD15
M ₁	28.57	0	0	0	0	0
M ₂	41.66	0	7.69	0	0	0
M ₃	76.92	14.29	64.28	55.55	30.77	76.92
M ₄	30.00	13.33	50.00	25.00	28.57	36.36
M ₅	42.86	17.65	66.66	36.66	45.45	53.00
M ₆	71.43	30.76	73.33	75.00	50.00	33.33

Media : Modified MS media supplemented with 15 percent coconut water, 1 g/l casein hydrolysate various concentrations of NAA and kinetin.

M₁ = 3 mg/l NAA + 0.5 mg/l kinetin

M₂ = 4 mg/l NAA + 0.5 mg/l kinetin

M₃ = 5 mg/l NAA + 0.5 mg/l kinetin

M₄ = 3 mg/l NAA + 1 mg/l kinetin

M₅ = 4 mg/l NAA + 1 mg/l kinetin

M₆ = 5 mg/l NAA + 1 mg/l kinetin

Table 2 Percent callus formation of rice seed cultures in various media after 4 weeks in dark condition.

Media	Variety					
	KDML105	NMS 4	Bas370	PTT80	PDD	RD15
M ₁	44.44	0	0	0	0	0
M ₂	11.11	0	0	0	0	0
M ₃	60.00	0	54.54	16.66	23.08	14.29
M ₄	66.66	6.66	45.45	0	20.08	14.29
M ₅	10.00	25.00	33.33	0	27.27	0
M ₆	57.14	26.66	28.57	15.38	50.00	54.45

Media : Modified MS media supplemented with 15 percent coconut water, 1 g/l casein hydrolysate and various concentrations of NAA and kinetin.

M₁ = 3 mg/l NAA + 0.5 mg/l kinetin

M₂ = 4 mg/l NAA + 0.5 mg/l kinetin

M₃ = 5 mg/l NAA + 0.5 mg/l kinetin

M₄ = 3 mg/l NAA + 1 mg/l kinetin

M₅ = 4 mg/l NAA + 1 mg/l kinetin

M₆ = 5 mg/l NAA + 1 mg/l kinetin

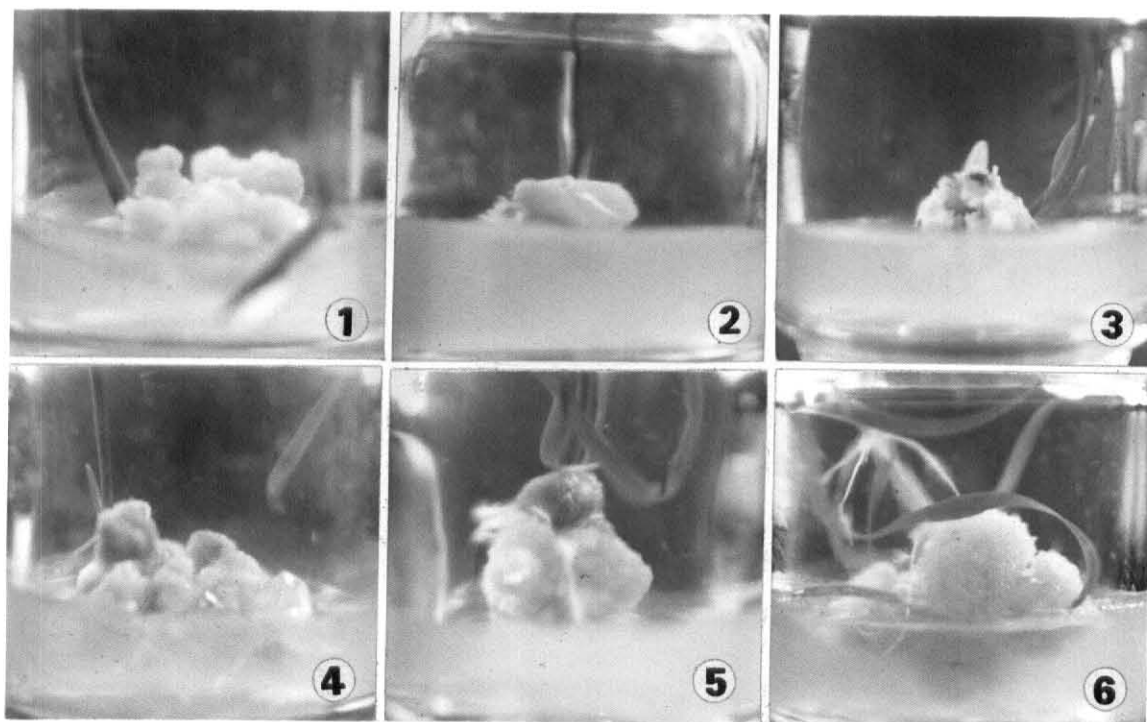


Figure 1 Calli from 6 varieties of rice.

1. Kaodogmali 105 (KDML105)
2. Nangmol S4 (NMS4)
3. Basmati 370 (Bas370)
4. Patumthani 60 (PTT60)
5. Pradoodaeng (PDD)
6. Rice Department 15 (RD15)

คอกมะลิ 105, นางมด S4, บาสมาติ 370, ปทุมธานี 60, ประดู่แดง และ กข.15 ในอาหารสังเคราะห์ 8 สูตร เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส ทั้งในสภาพมืดและสภาพที่ได้รับแสง 16 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า เมล็ดข้าวแต่ละพันธุ์ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารแต่ละสูตรในสภาพที่ได้รับแสง มีแนวโน้มเจริญเป็นแคลลัสได้ดีกว่าในสภาพมืด (Table 1, 2) ในสภาพที่ได้รับแสง เมล็ดข้าวพันธุ์ขาวคอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข.15 สามารถเจริญไปเป็นแคลลัสได้ดีในอาหารสูตรที่เติม NAA 5 มก./ล และ kinetin 0.5 มก./ล (M_3) โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 76.92 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดข้าวพันธุ์ นางมด S4, บาสมาติ 370,

ปทุมธานี 60 และประดู่แดงเจริญไปเป็นแคลลัสได้ดีในอาหารสูตรที่เติม NAA 5 มก./ล และ kinetin 1 มก./ล (M_6) โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 30.76, 73.33, 75.00 และ 50.00 ตามลำดับ (Table 1) ในสภาพมืด เมล็ดข้าวพันธุ์ขาวคอกมะลิ 105 เจริญไปเป็นแคลลัสได้ดีในอาหารสูตรที่เติม NAA 3 มก./ล และ kinetin 1 มก./ล (M_4) โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 66.66 ส่วนพันธุ์บาสมาติ 370 และปทุมธานี 60 เจริญเป็นแคลลัสได้ดีในอาหารสูตรที่เติม NAA 5 มก./ล และ kinetin 0.5 มก./ล (M_3) โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 54.54 และ 16.66 ตามลำดับ สำหรับเมล็ดข้าวพันธุ์

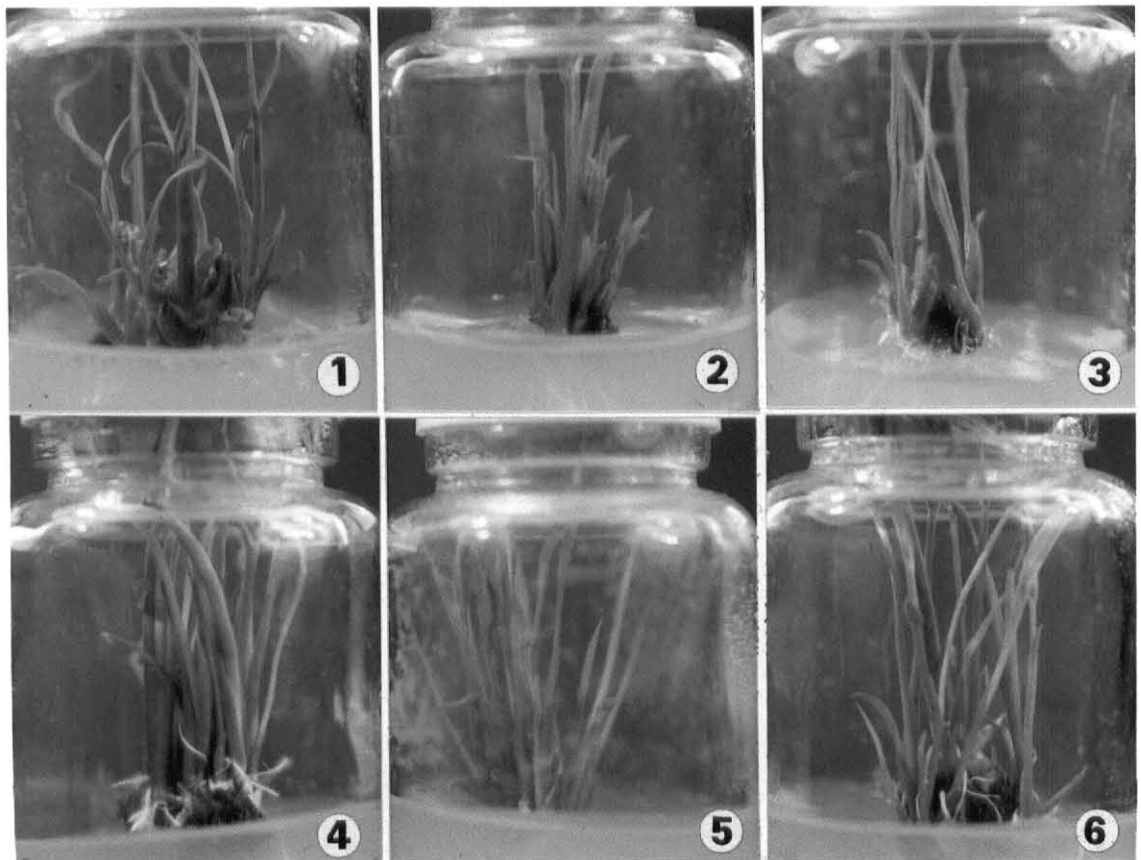


Figure 2 Plant regeneration from calli. 1. Kaodogmali 105 (KDML105)

2. Nangmol S4 (NMS4)
3. Basmati 370 (Bas370)
4. Patumthani 60 (PTT60)
5. Pradoodaeng (PDD)
6. Rice Department 15 (RD15)

นางมล S4 ประดู่แดง และ กข.15 เจริญเป็นแคลลัสได้ดีในอาหารสูตรที่เติม NAA 5 มก./ล และ kinetin 1 มก./ล (M_0) โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 26.68, 50.00 และ 54.45 ตามลำดับ (Table 2)

เมื่อทำการทดลองซ้ำโดยเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวแต่ละพันธุ์ในสูตรอาหารที่ให้แคลลัสที่มีลักษณะดี และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูง ทั้งในสภาพที่ ได้รับแสงและสภาพมืด จำนวน 2 สูตร ดำเนินการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า เมล็ดข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 บาสมาติ 370 และ กข.15 เจริญไปเป็นแคลลัสได้ดีในอาหารสูตรที่เติม NAA 5 มก./ล และ kinetin 1 มก./ล (M_0) โดยมี

เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 100, 64 และ 100 ตามลำดับ สำหรับเมล็ดข้าวพันธุ์นางมล S4 และพันธุ์ประดู่แดง เจริญเป็นแคลลัสได้ดีในอาหารสูตรที่เติม NAA 4 มก./ล และ kinetin 1 มก./ล (M_0) โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 15.38 และ 80.64 ตามลำดับ ส่วนเมล็ดข้าวพันธุ์ปทุมธานี 60 เจริญเป็นแคลลัสได้ดีในอาหารสูตรที่เติม NAA 5 มก./ล และ kinetin 0.5 มก./ล (M_0) โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 84.40 (Table 3)

จากการศึกษาขนาดของแคลลัส พบว่า แคลลัสที่เจริญมาจากเมล็ดข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105, ปทุมธานี 60, ประดู่แดง และ กข.15 มีขนาดค่อนข้างใหญ่ และมี

บริเวณสีเขียวเกิดขึ้นบนแคลลัสด้วย ส่วนแคลลัสที่เจริญมาจากเมล็ดข้าวพันธุ์นางมด S4 และบาสมาดิ 370 มีขนาดเล็กกว่า และพบบริเวณสีเขียวที่เกิดขึ้นบนแคลลัสน้อยกว่า 4 พันธุ์แรก (Figure 1)

เมื่อนำแคลลัสบริเวณที่มีสีเขียวเกิดขึ้นไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม kinetin 0, 1, 2 และ 3 มก./ล พบว่า แคลลัสของข้าวทุกพันธุ์สามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดี (Figure 2) โดยแคลลัสของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เจริญและพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนได้ดีในอาหารสูตรที่ไม่เติม kinetin มีเปอร์เซ็นต์การพัฒนาก่อนเท่ากับ 100 รองลงมา คือ อาหารสูตรที่เติม kinetin 3 มก./ล มีเปอร์เซ็นต์การพัฒนาก่อนเท่ากับ 75 แคลลัสของข้าวพันธุ์นางมด S4 เจริญและพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดีในอาหารสูตรที่ไม่เติม kinetin และที่เติม kinetin 1 และ 3 มก./ล โดยมีเปอร์เซ็นต์การพัฒนาก่อนเท่ากับ 3 สูตรอาหาร คือ 50 เปอร์เซ็นต์ สำหรับแคลลัสของข้าวพันธุ์บาสมาดิ 370 เจริญและพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดีในอาหารสูตรที่ไม่เติม kinetin และที่เติม kinetin 3 มก./ล โดยมีเปอร์เซ็นต์ การพัฒนาเป็นต้นอ่อนเท่ากับ 57.14 และ

60.00 ตามลำดับ ส่วนแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 60 เจริญและพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดีในอาหารสูตรที่ไม่เติม kinetin และที่เติม kinetin 1 มก./ล มีเปอร์เซ็นต์การพัฒนาก่อนเท่ากับ 77.77 และ 88.88 ตามลำดับ แคลลัสของข้าวพันธุ์ประดู่แดงเจริญและพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดีในอาหารสูตรที่เติม kinetin 3 มก./ล โดยมีเปอร์เซ็นต์ การพัฒนาเป็นต้นอ่อนเท่ากับ 66.66 และแคลลัสของข้าวพันธุ์ กข.15 เจริญและพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดี และใกล้เคียงกันในสูตรอาหารต่างๆ ทั้ง 4 สูตรดังกล่าว โดยมีเปอร์เซ็นต์การพัฒนาก่อนเท่ากับ 63.63, 54.23, 69.23 และ 70.00 ตามลำดับ

จากผลการทดลองดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า ข้าวแต่ละสายพันธุ์มีการเกิดแคลลัสและการพัฒนาเป็นต้นอ่อนในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงแตกต่างกัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสและการพัฒนาเป็นต้นอ่อนแตกต่างกันในแต่ละสูตรอาหาร ทำให้สามารถคัดเลือกอาหารสูตรที่เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสและพัฒนาเป็นต้นอ่อนในข้าวแต่ละพันธุ์ได้

Table 3 Percent callus formation fo rice seed cultures in most a suitable media after 4 weeks in light condition.

Media	Variety					
	KDML105	NMS 4	Bas370	PTT60	PDD	RD15
M ₃	83.33	—*	62.50	84.40	—*	91.62
M ₅	—*	15.38	—*	—*	80.64	—*
M ₆	100.00	0	64.00	75.86	16.87	100.00

—* No experiment

Media : Modified MS media supplemented with 15 percent coconut water, 1 g/l casein hydrolysate and various concentrations of NAA and kinetin :

M₃ = 5 mg/l NAA + 0.5 mg/l kinetin

M₅ = 4 mg/l NAA + 1 mg/l kinetin

M₆ = 5 mg/l NAA + 1 mg/l kinetin

Table 4 Percent plant regeneration from calli of six varieties of rice in various media after 4 weeks.

Media	Variety					
	KDML105	NMS 4	Bas370	PTT60	PDD	RD15
R ₁	100.00	50.00	57.14	77.77	33.33	63.63
R ₂	50.00	50.00	—*	88.88	0	54.54
R ₃	50.00	10.00	33.33	37.50	0	69.33
R ₄	75.00	50.00	60.00	66.66	66.66	73.00

—* not available

Media : Modified MS media supplemented with 15 percent coconut water, 1 g/l casein hydrolysate and various concentrations of kinetin :

R₁ = 0 mg/l kinetin

R₂ = 1 mg/l kinetin

R₃ = 2 mg/l kinetin

R₄ = 3 mg/l kinetin

สรุป

การเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวทั้ง 6 พันธุ์ ในสภาพที่ได้ รับแสงสามารถเจริญเป็นแคลลัสได้ดีกว่าในสภาพมืด

1. เมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เจริญเป็น แคลลัสได้ดีในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม NAA 5 มก./ล และ kinetin 1 มก./ล และแคลลัสสามารถเจริญ และพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดีในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่ ไม่เติม kinetin หรือที่เติม kinetin 3 มก./ล

2. เมล็ดข้าวพันธุ์นางมด S4 เจริญเป็นแคลลัสได้ดี ในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม NAA 4 มก./ล และ kinetin 1.0 มก./ล แล้วแคลลัสสามารถเจริญและพัฒนา เป็นต้นอ่อนได้ดีในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่ไม่เติม kinetin หรือที่เติม kinetin 1 หรือ 3 มก./ล ทั้ง 3 สูตร

3. เมล็ดข้าวพันธุ์ปทุมมา 370 สามารถเจริญเป็น แคลลัสได้ดีในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม NAA 5 มก./ล และ kinetin 1 มก./ล และแคลลัสสามารถเจริญ และพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดีในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่ ไม่เติม kinetin และเติม kinetin 3 มก./ล

4. เมล็ดข้าวพันธุ์ปทุมธานี 80 เจริญเป็นแคลลัส ได้ดีในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม NAA 5 มก./ล และ kinetin 0.5 มก./ล และแคลลัสสามารถเจริญและ พัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดีในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม kinetin และเติม kinetin 1 มก./ล

5. เมล็ดข้าวพันธุ์ประดู่แดงเจริญเป็นแคลลัสได้ดี ในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม NAA 4 มก./ล และ kinetin 1 มก./ล แคลลัสจะเจริญและพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ ดีในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม kinetin 3 มก./ล

6. เมล็ดข้าวพันธุ์ กข.15 เจริญเป็นแคลลัสได้ดีใน อาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม NAA 5 มก./ล และ kinetin 1 มก./ล แล้วแคลลัสสามารถเจริญและพัฒนาเป็น ต้นอ่อนได้ดีในอาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติม kinetin 2 และ 3 มก./ล

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยเรื่อง นี้ และศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานีที่ได้กรุณาอนุเคราะห์เมล็ดข้าว พันธุ์ต่างๆ

เอกสารอ้างอิง

- Chaleff, R.S. 1980. Tissue culture in rice improve-
ment an overview, pp.81-91. *In* Innovative
Approaches to Rice Breeding. IRRI, Los
Banos, Philippines.
- Davoyan, E.I. 1987. Genetic determination of the
processes of callus formation and induction
of regenerates in the tissue culture of rice.
Rice Abstr. 10:238.
- Henke, R.R., M.A. Manasure and M.J. Constantin.
1978. Organogenesis and plantlet formation
from organ and seedling-derived calli of rice
(*Oryza sativa*). *Physiol. Plant.* 44:11-14.
- Kayima, M., H. Yamanaka and K. Oono. 1988.
Intervarietal variations in somatic embryo-
genesis in rice (*Oryza sativa* L.) : *Bull. Natl.*
Inst. Agrobiol. Resour. 4:127-151.
- Ketchum, J.L.F., O.L. Gamborg, G.E. Hanning and
M.W. Nabors. 1987. Tissue Culture for crops
project. Dep. Botany, Colorado State Univ.,
Fort Collins, Colorado. 87p.
- Kucherenko, L.A. 1980. Tissue culture in rice im-
provement : experience in the USSR., pp.93-
102. *In* Innovative Approaches to Rice
Breeding. IRRI, Los Banos, Philippines.
- Nakajma, T. 1985. Application of tissue culture to
plant breeding. *Farming Japan.* 19(6):51-57.

- Nishi, T., Y. Yamada and E. Takahashi. 1968. Organ redifferentiation and plant restoration in rice callus. *Nature* 219:508-509.
- Oono, K. 1983. Genetic variability in rice plants regenerated from cell culture, pp.95-104. *In* Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement. Science Press, Beijing.
- Raina, S.K., P. Sathish and K.S. Sarma. 1987. Plant regeneration from *in vitro* cultures of anthers and mature seed of rice (*Oryza sativa* L.) cv. Basmati 370. *Plant Cell Rep.* 6:43-45.
- Smith, H.H. 1974. Model system for somatic cell plant genetics. *Bioscience* 24:269-276.
- Vajrabhaya, M., O. Tunvachkul and T. Vajrabhaya. 1986. Effects of auxin and cytokinin on plant regeneration from rice callus. *J. Sci. Res. Chula. Univ.* 11(2):113-115.
- Wang, M.S., F.J. Zapata and D.C. DeCastro. 1987. Plant regeneration through somaticembryogenesis from mature seed and young inflorescence of wild rice (*Oryza perennis* Moench). *Plant Cell Rep.* 6:249-296.