

แนวโน้มการทนเค็มของข้าวพันธุ์ชีวเกลี้ยงและพญาลิ้มแกง ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Tendency of Salt Tolerance in Siw Gliang and Paya Luem Kaeng Rice Cultivars Derived from Tissue Culture Plantlets

รัตนา ขามฤทธิ^{1/*}
Rattana Khamrit^{1/*}

(Received: 21 August 2014; Accepted: 9 January 2015)

Abstract: This research aimed to investigate the optimal media for callus induction and shoot regeneration in Siw Gliang and Paya Luem Kaeng rice cultivars. *In vitro* evaluation for salt tolerance of these rice cultivars were also studied. Rice seeds were surface sterilized and cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with various concentrations of 2,4-D and NAA. The suitable callus induction medium which showed the greatest fresh weight of callus (111.00 mg) in Siw Gliang cultivar was the modified MS medium containing 1 mg/l 2,4-D. In Paya Luem Kaeng rice cultivar, the highest callus fresh weight (148.00 mg) was observed when seeds were cultured on modified MS medium containing 1 mg/l 2,4-D and 1 mg/l NAA. Shoots were regenerated from calli cultured on the modified MS medium supplemented with various concentration of BA, NAA and coconut water. The MS medium supplemented with 2 mg/l BA, 0.5 mg/l NAA and 10% (v/v) coconut water was the suitable medium for shoot regeneration from the calli of Siw Gliang rice cultivar. The average shoot number produced from calli cultured on this medium was 6.0. In Paya Luem Kaeng rice cultivar, 4.8 shoots/callus were successfully regenerated on MS medium supplemented with 1 mg/l BA, 0.5 mg/l NAA and 10% (v/v) coconut water. The plantlets were selected for salt tolerance by culturing on medium supplemented with 0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0% NaCl. The results showed that the survival percentage of plantlets decreased with increasing NaCl concentrations in both rice cultivars. The highest concentrations of NaCl that plantlets of Siw Gliang and Paya Luem Kaeng rice cultivars could tolerate were 1 and 1.5%, respectively. Based on these results, it seems like plantlets of Paya Luem Kaeng cultivar are slightly tolerate to *in vitro* NaCl stress than those of Siw Gliang cultivar.

Keywords: Tissue culture, rice, salt tolerance

^{1/} คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย จังหวัดเลย 42000

^{1/} Faculty of Science and Technology, Loei Rajabhat University, Loei, Thailand 42000

* Corresponding author: E-mail address: Nopparatmaitree_m@su.ac.th

บทคัดย่อ: วัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้คือ ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสและต้นอ่อนของข้าวพันธุ์ชิวเกลี้ยง และข้าวพันธุ์พญาลิ้มแก และตรวจสอบการทนเค็มของข้าวทั้งสองสายพันธุ์ในสภาพหลอดทดลอง เมื่อนำเมล็ดข้าวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม 2,4-D และ NAA ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ พบว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำเมล็ดข้าวให้เกิดแคลลัสในข้าวพันธุ์ชิวเกลี้ยง คือ สูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสมีน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงสุด 111.00 มิลลิกรัม ส่วนข้าวพันธุ์พญาลิ้มแก คือ สูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสมีน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงสุด 148.00 มิลลิกรัม เมื่อย้ายแคลลัสไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA, NAA และน้ำมะพร้าว ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ พบว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้แคลลัสข้าวพันธุ์ชิวเกลี้ยงเกิดต้น คือ อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีจำนวนต้นเฉลี่ยต่อแคลลัส 6.0 ต้น ส่วนสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ข้าวพันธุ์พญาลิ้มแก เกิดต้นได้ดี คือ อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีจำนวนต้นเฉลี่ยต่อแคลลัส 4.8 ต้น เมื่อนำต้นอ่อนข้าวสองสายพันธุ์มาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม NaCl ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ต้นอ่อนข้าวพันธุ์ชิวเกลี้ยงและพันธุ์พญาลิ้มแก มีอัตราการรอดชีวิตที่ลดลงเมื่อความเข้มข้น NaCl เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนข้าวพันธุ์ชิวเกลี้ยง และพญาลิ้มแก พบว่าความเข้มข้นสูงสุดของ NaCl ที่ต้นข้าวพันธุ์ชิวเกลี้ยง และพญาลิ้มแกทนได้คือ 1 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นต้นข้าวพันธุ์พญาลิ้มแก จึงทนต่อความเค็มได้ดีกว่าต้นข้าวพันธุ์ชิวเกลี้ยง

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ข้าว การทนเค็ม

คำนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชที่มีความสำคัญต่อประชากรมากกว่าครึ่งหนึ่งของประชากรโลกและเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ในปัจจุบันมีการปลูกข้าวทุกภาคของประเทศ แต่จากการเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากร การลดลงของพื้นที่เพาะปลูกและปัญหาผลผลิตต่อไร่ของข้าวที่ต่ำ ทำให้เกิดปัญหาการขาดแคลนข้าวขึ้นในหลายพื้นที่ (สุทธารัตน์, 2553) ซึ่งสาเหตุที่ทำให้ผลผลิตข้าวต่ำเนื่องจากปัญหาความอุดมสมบูรณ์ของดินต่ำและยังมีปัญหาเรื่องดินเค็มในพื้นที่นาของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปัญหาดินเค็มเกิดได้จาก 2 สาเหตุคือ เกิดจากการกระทำของมนุษย์ เช่น การทำเหมืองเกลือ การตัดไม้ทำลายป่า เป็นต้น ส่วนอีกสาเหตุหนึ่งเกิดจากสภาพธรรมชาติ เนื่องจากภายใต้ดินเป็นชั้นของหินเกลือและมีแหล่งน้ำใต้ดินเป็นพาหนะในการนำเกลือขึ้นมาจากการระเหยของน้ำที่ผิวดินโดยเฉพาะในฤดูแล้ง ทำให้พื้นดินบริเวณดังกล่าวมีความเค็มมาก โดยมีเกลือในดิน

0.4-0.8 เปอร์เซ็นต์ (สมศรี, 2539) การเกิดอุทกภัยเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการแพร่กระจายของความเค็มที่ผิวดินไปตามแหล่งต่าง ๆ จากการศึกษาพบว่าดินในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นดินเกลือ 17 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่คิดเป็นพื้นที่ประมาณ 17.6 ล้านไร่ (สมศรี, 2534) โดยมีดินเค็มเกิดขึ้นเป็นหย่อม ๆ ถ้าความเค็มมากทำให้เกิดปัญหาต่อการเจริญเติบโตของพืช หลายหน่วยงานพยายามทำการทดสอบและคัดเลือกพันธุ์ข้าวเพื่อให้มีความทนต่อสภาวะความเค็มทั้งในสภาพธรรมชาติและใช้เทคโนโลยีชีวภาพเข้ามาช่วย ซึ่งวิธีการดังกล่าวเหล่านี้เป็นวิธีการที่มีข้อได้เปรียบเสียเปรียบแตกต่างกันไป การทดสอบและคัดเลือกพันธุ์ข้าวทนเค็มในสภาพธรรมชาติเป็นวิธีการที่นิยมใช้มาเป็นเวลานาน ซึ่งวิธีการนี้สามารถคัดเลือกข้าวทนเค็มได้ดีแต่มีข้อจำกัดในด้านเวลาและสภาพแวดล้อม (สมเดช, 2532) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจในการทดสอบและคัดเลือกข้าวที่มีลักษณะเกี่ยวข้องกับการทนเค็มภายใต้สภาวะแวดล้อมที่มีการควบคุมอย่างสม่ำเสมอ

ดังนั้นการทําวิจัยในครั้งนี้จึงได้ศึกษาอาหารสูตรที่เหมาะสมในการชักนำให้เมล็ดข้าวพันธุ์ชีวเกลี้ยงและพันธุ์พญาลิ้มแกง ซึ่งเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองของภาคตะวันออกเฉียงเหนือให้เกิดแคลลัส และศึกษาอาหารสูตรที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสให้เจริญเป็นต้น และศึกษาแนวโน้มการทนเค็มของข้าวพันธุ์ชีวเกลี้ยงและพญาลิ้มแกง เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวพันธุ์พื้นเมืองและเพื่อเป็นข้อมูลในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวอันจะนำไปสู่การเพิ่มผลผลิตข้าวของประเทศต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำเมล็ดข้าวให้เกิดแคลลัส

แกะเปลือกข้าวพันธุ์ชีวเกลี้ยง และพันธุ์พญาลิ้มแกงออก จากนั้นนำเมล็ดข้าวที่แกะเปลือกแล้วมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ 1 นาที และสารละลายคลอโรกซ์ 30 เปอร์เซ็นต์ ที่เติมสาร Tween-20 1-2 หยด เขย่านาน 30 นาที แล้วจึงล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที นำเมล็ดข้าวที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารทุกสูตรปรับค่า pH เท่ากับ 5.7 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง 40.5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และน้ำหนักสดของแคลลัส วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว

การทดลองที่ 2 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้แคลลัสข้าวเจริญเป็นต้น

นำแคลลัสขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมและไม่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารทุกสูตร

ปรับค่า pH เท่ากับ 5.7 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง 40.5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกจำนวนต้นเฉลี่ยต่อแคลลัส วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว

การทดลองที่ 3 การคัดเลือกพันธุ์ข้าวทนเค็มในอาหารที่เติมเกลือระดับความเข้มข้นต่างๆ

นำต้นอ่อนข้าวพันธุ์ชีวเกลี้ยง และพันธุ์พญาลิ้มแกงที่ได้จากการชักนำแคลลัสให้เจริญเป็นต้นที่มีความสูงประมาณ 1.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เหมาะสมต่อการเกิดต้นของข้าวแต่ละสายพันธุ์ ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์ นำไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่ความเข้มแสง 40.5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกจำนวนการรอดชีวิตของต้นข้าว และความสูงเฉลี่ยต่อต้น วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว

ผลการทดลอง

การชักนำเมล็ดข้าวพันธุ์ชีวเกลี้ยง และข้าวพันธุ์พญาลิ้มแกง ให้เจริญเป็นแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D และ NAA ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์ชีวเกลี้ยง และข้าวพันธุ์พญาลิ้มแกง เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เมล็ดข้าวที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดแคลลัสที่บริเวณคัพภะของเมล็ด เมื่อครบ 4 สัปดาห์ แคลลัสมีลักษณะการเจริญเกาะกลุ่มกันแน่น (compact callus) และมีสีเหลือง ส่วนสูตรอาหารที่ไม่สามารถชักนำให้เมล็ดข้าวทั้งสองสายพันธุ์เกิดแคลลัสได้คือ อาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัม

ต่อลิตร (ภาพที่ 1) โดยเมล็ดข้าวพันธุ์ซิวกเกลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 100 เปอร์เซ็นต์ และน้ำหนักสดแคลลัสสูงสุดเท่ากับ 111.00 มิลลิกรัม ส่วนเมล็ดข้าวพันธุ์พญาลิ้มแกงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 100 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักสดแคลลัสสูงสุดเท่ากับ 148.00 มิลลิกรัม (ตารางที่ 1)



ผลการทดลองที่ 2 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้แคลลัสข้าวเจริญเป็นต้น

เมื่อนำแคลลัสข้าวพันธุ์ซิวกเกลี้ยง และข้าวพันธุ์พญาลิ้มแกง มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร และ BA ร่วมกับ NAA และน้ำมะพร้าวที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ กันพบว่า ใน 1-2 สัปดาห์ แคลลัสขยายขนาดและเกิดจุดกำเนิดยอดสีเขียว (green spot) เล็กๆ บนก้อนแคลลัส จากนั้นแคลลัสจะเจริญเป็นยอดสีเขียว และแคลลัสจะเจริญเป็นยอดและรากที่สมบูรณ์เมื่ออายุได้ 4-6 สัปดาห์

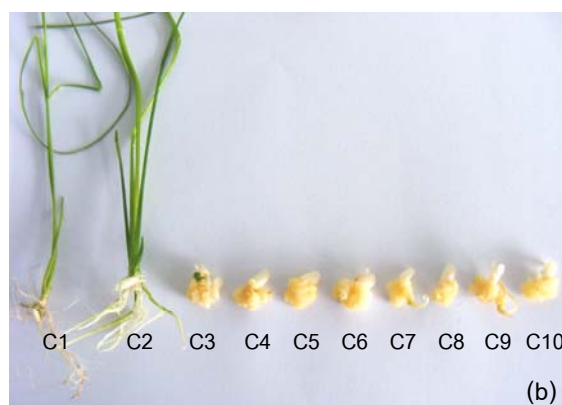


Figure 1 Calli of Siw Gliang (a) and Paya Luem Kaeng (b) rice cultivars cultured on MS solid media supplemented with various concentrations of 2,4-D and NAA for 3 weeks

Table 1 Percentage of callus induction and mean weights of calli of rice cv. Siw Gliang and Paya Luem Kaeng cultured on callus induction media for 3 weeks

Treatment	MS		Callus induction (%) $\pm$ SE		Mean weights of calli (mg) $\pm$ SE	
	2,4-D (mg/l)	NAA (mg/l)	Siw Gliang	Paya Luem Kaeng	Siw Gliang	Paya Luem Kaeng
C1	0	0	0.00 $\pm$ 0.00 ^c	0.00 $\pm$ 0.00 ^d	0.00 $\pm$ 0.00 ^c	0.00 $\pm$ 0.00 ^c
C2	0	1	0.00 $\pm$ 0.00 ^c	0.00 $\pm$ 0.00 ^d	0.00 $\pm$ 0.00 ^c	0.00 $\pm$ 0.00 ^c
C3	0.5	0	93.33 $\pm$ 6.67 ^c	66.67 $\pm$ 0.00 ^b	48.60 $\pm$ 8.10 ^b	62.00 $\pm$ 32.60 ^b
C4	0.5	1	66.67 $\pm$ 10.54 ^b	86.67 $\pm$ 8.16 ^{bc}	51.20 $\pm$ 13.20 ^b	80.60 $\pm$ 19.50 ^b
C5	1	0	100.00 $\pm$ 0.00 ^a	93.33 $\pm$ 6.67 ^{bc}	111.00 $\pm$ 36.30 ^a	94.20 $\pm$ 12.20 ^{ab}
C6	1	1	100.00 $\pm$ 0.00 ^a	100.00 $\pm$ 0.00 ^a	67.00 $\pm$ 9.70 ^{ab}	148.00 $\pm$ 13.70 ^a
C7	1.5	0	66.67 $\pm$ 0.00 ^b	86.67 $\pm$ 8.16 ^{bc}	59.20 $\pm$ 7.90 ^b	124.60 $\pm$ 6.60 ^{ab}
C8	1.5	1	100.00 $\pm$ 0.00 ^a	86.67 $\pm$ 8.16 ^{bc}	75.40 $\pm$ 7.90 ^{ab}	113.40 $\pm$ 18.90 ^{ab}
C9	2	0	86.67 $\pm$ 8.16 ^a	80.00 $\pm$ 8.16 ^{cd}	60.60 $\pm$ 19.20 ^b	103.80 $\pm$ 17.50 ^{ab}
C10	2	1	86.67 $\pm$ 8.16 ^a	93.33 $\pm$ 6.67 ^{bc}	43.40 $\pm$ 9.80 ^{bc}	109.20 $\pm$ 19.20 ^{ab}

Means followed by the same letters within the same column are not significantly different at $p \leq 0.05$ (n=5)

จากการเปรียบเทียบความแตกต่างของการเกิดต้นของแคลลัสข้าวพันธุ์ชีวเกลี้ยงและข้าวพันธุ์พญาลิ้มแกง พบว่า ในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BA และ NAA แคลลัสจะไม่มีการเกิดจุดกำเนิดยอดสีเขียวและไม่มีการเกิดต้น ส่วนสูตรอาหาร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ เพียงอย่างเดียว แคลลัสจะมีการเกิดจุดกำเนิดยอดสีเขียวน้อยและมีการเจริญเป็นต้นได้น้อยและช้ากว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการเติม BA และ NAA (ภาพที่ 2 และ 3) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของการเกิดต้นของแคลลัสข้าวพันธุ์ชีวเกลี้ยงและข้าวพันธุ์พญาลิ้มแกง

ในอาหารสูตรที่เติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการเติม BA และ IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่าแคลลัสข้าวพันธุ์ชีวเกลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสสามารถเจริญเป็นต้นได้ดีที่สุดโดยมีจำนวนต้นเฉลี่ยต่อแคลลัสเท่ากับ 6.00 ต้น ส่วนแคลลัสข้าวพันธุ์พญาลิ้มแกงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสสามารถเจริญเป็นต้นได้ดีที่สุดโดยมีจำนวนต้นเฉลี่ยต่อแคลลัสเท่ากับ 4.80 ต้น (ตารางที่ 2)

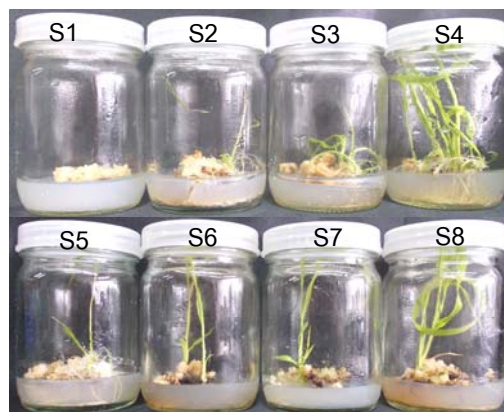


Figure 2 Growth of plantlets of Siw Gliang rice cultivar regenerated on MS solid media supplemented with various concentrations of BA and NAA for 6 weeks

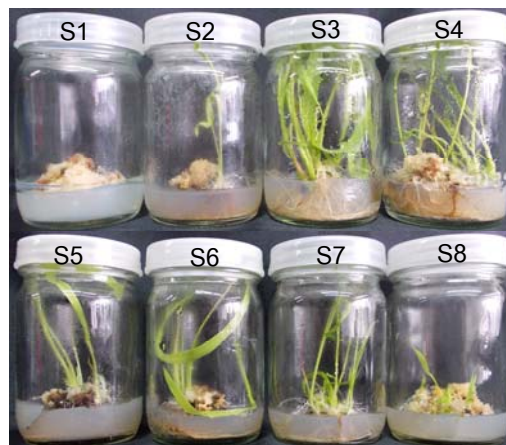


Figure 3 Growth of plantlets of Paya Luem Kaeng rice cultivar regenerated on MS solid media supplemented with various concentrations of BA and NAA for 6 weeks

Table 2 Number of shoots per callus of rice cv. Siw Gliang and Paya Luem Kaeng cultured on regeneration media for 6 weeks

Treatment	MS			number of shoots per callus $\pm$ SE	
	BA (mg/l)	NAA (mg/l)	Coconut water (%)	Siw Gliang	Paya Luem Kaeng
S1	0	0	0	0.00 $\pm$ 0.00 ^c	0.00 $\pm$ 0.00 ^c
S2	0	0	10	1.20 $\pm$ 0.20 ^{bc}	1.20 $\pm$ 0.20 ^{bc}
S3	1	0.5	10	2.20 $\pm$ 0.37 ^b	4.80 $\pm$ 0.86 ^a
S4	2	0.5	10	6.00 $\pm$ 0.95 ^a	1.80 $\pm$ 0.20 ^b
S5	3	0.5	10	2.00 $\pm$ 0.32 ^b	2.60 $\pm$ 0.51 ^b
S6	4	0.5	10	1.80 $\pm$ 0.20 ^b	1.60 $\pm$ 0.40 ^b
S7	5	0.5	10	1.60 $\pm$ 0.25 ^b	2.60 $\pm$ 0.81 ^b
S8	6	0.5	10	2.20 $\pm$ 0.49 ^b	2.00 $\pm$ 0.53 ^b

Means followed by the same letters within the same column are not significantly different at $p \leq 0.05$ (n=5)

ผลการทดลองที่ 3 ศึกษาผลของ NaCl ต่อการเจริญของต้นข้าวทั้งสองสายพันธุ์

จากการนำต้นอ่อนข้าวที่ได้จากการชักนำให้เจริญเป็นต้นที่มีขนาด 1.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เหมาะสมต่อการเกิดต้นของข้าวแต่ละสายพันธุ์ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ต้นอ่อนข้าวพันธุ์ข้าวเกลี้ยงที่เลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นอ่อนที่เลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดชีวิต 73.33 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับต้นอ่อนข้าวพันธุ์พญาลิ้มแกงที่เลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติมเกลือ โซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0, 0.5, 1 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นอ่อนที่เลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดชีวิต 0 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4)

จากการศึกษาความสูงต้นเฉลี่ยของข้าวพันธุ์ข้าวเกลี้ยงและข้าวพันธุ์พญาลิ้มแกง พบว่าต้นอ่อนข้าวพันธุ์ข้าวเกลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ มีความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 11.12 เซนติเมตร ส่วนต้นอ่อนข้าวพันธุ์ข้าวเกลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีความสูงต้นเฉลี่ย 9.35, 8.59, 1.93 และ 1.83 เซนติเมตร ตามลำดับ สำหรับต้นอ่อนข้าวพันธุ์พญาลิ้มแกงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ มีความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด 10.38 เซนติเมตร ส่วนต้นอ่อนข้าวพันธุ์พญาลิ้มแกงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.5, 1, 1.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 9.85, 9.71, 6.49 และ 2.48 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 5)

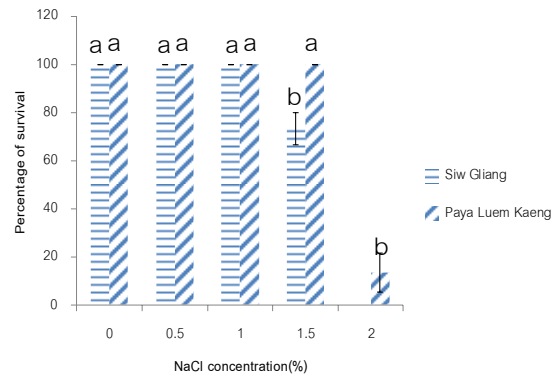


Figure 4 Survival percentage of Siw Gliang and Paya Luem Kaeng rice plantlets exposed to salt stress conditions for 4 weeks

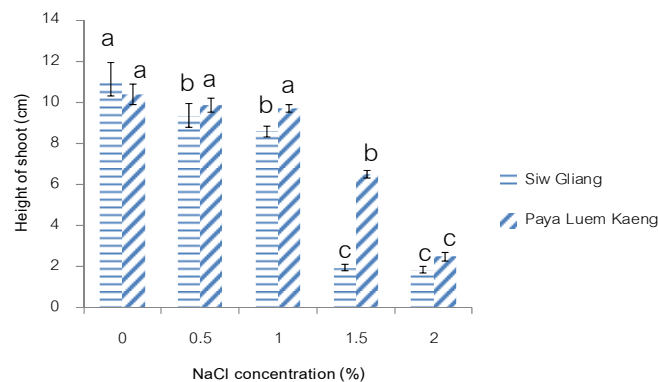


Figure 5 Average shoot height of Siw Gliang and Paya Luem Kaeng rice cultivars cultured on regeneration media containing various concentrations of NaCl for 4 weeks

วิจารณ์

จากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ชีวกลี้ง และพันธุ์พญาลิมแกง พบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำเมล็ดข้าวให้เกิดแคลลัสข้าวคือ สูตรอาหาร ซึ่งมีผลต่อเปอร์เซ็นต์และน้ำหนักสดของแคลลัส โดยเมล็ดข้าวพันธุ์ชีวกลี้งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 100 เปอร์เซ็นต์ และแคลลัสมีน้ำหนักสดสูงสุด 111.00 มิลลิกรัม ส่วนเมล็ดข้าวพันธุ์พญาลิมแกงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเกิดแคลลัสได้ดี โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสที่ 100 เปอร์เซ็นต์

และแคลลัสมีน้ำหนักสดสูงสุด 148.00 มิลลิกรัม สำหรับเมล็ดข้าวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และสูตรอาหารที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ แต่สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ทั้งหมด ซึ่งมีรายงานว่า 2,4-D เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้และมีประสิทธิภาพดีที่สุดในกลุ่มของออกซิน ในการชักนำเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวให้เจริญเป็นแคลลัส (ทะนง และ ไพบุญย์, 2527; Bhaskaran and Smith, 1990) 2,4-D มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเกิดยอด มีผลในการกระตุ้นการสร้างโปรตีนและกรดนิวคลีอิกเพื่อใช้ในการแบ่งเซลล์ ทำให้มีการแบ่งเซลล์จำนวนมากและเซลล์สามารถขยายขนาดกลายเป็นก้อนแคลลัสได้ นอกจากนี้ 2,4-D สามารถรักษาสภาพการเป็นแคลลัสในการเพาะเลี้ยงไว้ได้ดี และ

2,4-D ถูกทำลายโดยเซลล์พืชได้ช้ากว่าออกซินอื่นๆ เติมและคณะ (2532) รายงานว่า 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เมล็ดข้าวพันธุ์บาสมatik 370 เกิดแคลลัสได้สูงสุด สุทาร์ตน์ (2553) รายงานว่าการใช้ 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุดในการชักนำเมล็ดข้าวพันธุ์ กข10 ให้เกิดแคลลัส จุฑาทิพย์ และคณะ (2556) รายงานว่า 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ให้เกิดแคลลัสได้สูงสุด

จากผลการชักนำให้แคลลัสข้าวเจริญเป็นต้นใหม่ พบว่าการเจริญเป็นต้นใหม่ของแคลลัสพัฒนามาจากการขยายขนาดแคลลัสและเริ่มเกิดสีเขียวบนแคลลัส จากนั้นพื้นที่สีเขียวจะเจริญเป็นยอดอ่อน มีรายงานว่า แคลลัสที่เกิดจากการแบ่งเซลล์ สามารถเจริญเป็นอวัยวะได้โดยจุดกำเนิดของอวัยวะอาจเกิดจากเซลล์เพียงเซลล์เดียวหรือกลุ่มของเซลล์พาเรนคิมา (parenchyma cell) เจริญไปเป็นกลุ่มเนื้อเยื่อเจริญของอวัยวะที่มีการแบ่งเซลล์จำนวนมาก (เกศสุคนธ์, 2548) จากการทดลองนี้พบว่า แคลลัสข้าวพันธุ์ชีวเกลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถเกิดต้นได้ดีที่สุด โดยมีจำนวนต้นเฉลี่ยต่อแคลลัสเท่ากับ 6.00 ต้น ส่วนแคลลัสข้าวพันธุ์พญาลิมาแกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถเกิดต้นได้ดีที่สุด โดยมีจำนวนต้นเฉลี่ยต่อแคลลัสเท่ากับ 4.80 ต้น สำหรับแคลลัสข้าวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ ทั้งนี้ NAA เป็นออกซินที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการสร้างโปรตีนและกรดนิวคลีอิก กระตุ้นการเกิดราก ส่วน BA เป็นไซโตไคนินที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการแบ่งเซลล์เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีนและเอนไซม์ ทำให้แคลลัสเจริญเป็นต้นและเพิ่มจำนวนต้นได้ดี (สุรียนต์ และคณะ, 2540) สอดคล้องกับ ประดิษฐ์ และคณะ (2537) รายงานว่า แคลลัสข้าวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin

1 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสสามารถเจริญเป็นต้นได้ Yin *et al.* (1993) รายงานว่า การใช้ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร IAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้แคลลัสข้าวพันธุ์ 8706 เจริญเป็นต้นได้ นอกจากนี้ยังมีบางรายงานที่ทำการเพิ่มประสิทธิภาพการชักนำแคลลัสให้เจริญเป็นต้นใหม่โดยการใช้สารอินทรีย์บางชนิดเช่น casein hydrolysate น้ำมะพร้าว และสารสกัดจากยีสต์ (ประดิษฐ์, 2538; Zhao *et al.*, 1999) ซึ่งสอดคล้องกับ เกศสุคนธ์ (2548) รายงานว่า แคลลัสของข้าวพันธุ์ สุพรรณบุรี 60 สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดี ในอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 9 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA 1 ไมโครโมลาร์ casein hydrolysate 300 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์

จากการนำต้นข้าวมาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในธรรมชาติ ดินไม่เค็มจะมีปริมาณของเกลือในดินน้อยกว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์ ดินเค็มมากจะมีปริมาณของเกลือในดิน 0.4-0.8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนดินเค็มจัดจะมีปริมาณของเกลือในดินมากกว่า 0.8 เปอร์เซ็นต์ (สมศรี, 2539) เมื่อหาอัตราการรอดชีวิตของข้าวทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า ต้นอ่อนข้าวพันธุ์ชีวเกลี้ยงที่เลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติมเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ต้นอ่อนข้าวพันธุ์ชีวเกลี้ยงมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นอ่อนที่เลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติมเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 1.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดชีวิต 73.33 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับต้นอ่อนข้าวพันธุ์พญาลิมาแก ที่เลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติมเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0, 0.5, 1 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นอ่อนที่เลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติมเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดชีวิต 0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนข้าวพันธุ์ชีวเกลี้ยง และพญาลิมาแก พบว่า ความเข้มข้นสูงสุดของเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ที่ต้นข้าวพันธุ์ชีวเกลี้ยง และพญาลิมาแกทนได้คือ 1 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นต้นข้าวพันธุ์พญาลิมาแก จึงสามารถทนต่อความเข้มข้นของเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ใน

ระดับที่สูงกว่าต้นข้าวพันธุ์ชีวกลี้ง จากการศึกษากการเจริญเติบโตโดยพิจารณาจากความสูงของต้นข้าวทั้งสองสายพันธุ์พบว่า ต้นอ่อนจะมีความสูงต้นสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ และมีความสูงของต้นลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งจากงานวิจัยของ Tam and Lang (2003) พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสข้าวพันธุ์ Pokkali, Nep Ao Gia และ Doc Phung บนอาหารที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าแคลลัสสามารถเกิดต้นได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ เป็น 1.5 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสมีอัตราการเกิดต้นเท่ากับ 51.28, 60.00 และ 64.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Thach and Pant (1999) รายงานว่า เมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสข้าวพันธุ์ CSR27 และ พันธุ์ HBC19 บนอาหารที่ชักนำให้เกิดต้นที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.50 เปอร์เซ็นต์ พบว่า แคลลัสข้าวทั้งสองสายพันธุ์สามารถเจริญเป็นต้นได้โดยมีความสูงของต้นลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น

สรุป

สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำเมล็ดข้าวพันธุ์ชีวกลี้งให้เกิดแคลลัส คือ สูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำเมล็ดข้าวพันธุ์พญาลิมแกงให้เกิดแคลลัส คือ สูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้แคลลัสข้าวพันธุ์ชีวกลี้งเกิดต้น คือ อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 10เปอร์เซ็นต์ ส่วนสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้แคลลัสข้าวพันธุ์พญาลิมแกงเกิดต้น คือ อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการคัดเลือกการทนเค็มของข้าวทั้งสองสายพันธุ์พบว่า ต้นอ่อนข้าวพันธุ์ชีวกลี้งและพันธุ์

พญาลิมแกง มีอัตราการรอดชีวิตที่ลดลงเมื่อความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนข้าวพันธุ์ชีวกลี้ง และพญาลิมแกง พบว่าความเข้มข้นสูงสุดของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ต้นข้าวพันธุ์ชีวกลี้ง และพญาลิมแกงทนได้คือ 1 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นต้นข้าวพันธุ์พญาลิมแกง จึงทนต่อความเค็มได้ดีกว่าต้นข้าวพันธุ์ชีวกลี้ง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณกองทุนสนับสนุนงานวิจัยของบุคลากร บริหารจัดการโดยคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย ที่สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณศูนย์ข่าวชุมชนกสทชน อำเภอด่านซ้าย จังหวัดเลย ที่อนุเคราะห์เมล็ดข้าวพันธุ์พญาลิมแกง และพันธุ์ชีวกลี้ง

เอกสารอ้างอิง

- เกศสุคนธ์ มณีวรรณ. 2548. การส่งถ่ายยีนไคทีเนสสู่ข้าว (*Oryza sativa* L.). วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 148 หน้า.
- จุฑาทิพย์ ทนไชย สงวนศักดิ์ ธนาพรพูนพงษ์ และ สุชาดา เวียรศิลป์. 2556. ผลของ 2,4-D และ ไคเนตินต่อการเกิดเอ็มบริโอเจนิกแคลลัสในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105. วารสารเกษตร 29(2): 177-185.
- ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ เติม ระติสุนทร เสาวนีย์ สุพทุธิธาดา สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล เลิศลักษณ์ เงินศิริ และ เบญจมาศ ศิลาอ้อย. 2537. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในข้าวโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ตอนที่ 1. วิทยาศาสตร์เกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์ 28(3): 381-389.
- ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ เติม ระติสุนทร เสาวนีย์ สุพทุธิธาดา สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล เลิศลักษณ์ เงินศิริ และ เบญจมาศ ศิลาอ้อย. 2538. การเพาะเลี้ยงอับเรณูของข้าวลูกผสม (ข้าวดอกมะลิ 105/

- สโคบอนเนท). วิทยาศาสตร์เกษตรศาสตร์ สาขา
วิทยาศาสตร์ 29(2): 158-166.
- เผติม ระติสุนทร ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ เสาวนีย์
พุทธิธาดา และ สุพรรณิ แก่นสาร. 2532. การ
เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวพันธุ์ปทุมมาติก 370.
วิทยาศาสตร์เกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์
23(3): 205-210.
- ทะนง พรประดับเกียรติ และ ไพบุลย์ กวินเลิศวัฒนา.
2527. การเกิดและการเจริญเติบโตของแคลลัส
ของข้าวโพดหวานพันธุ์ Supper Sweet โดยการ
เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยาศาสตร์เกษตรศาสตร์
สาขาวิทยาศาสตร์ 16(2):1-13.
- สมศรี อรุณินท์. 2534. การปรับปรุงดินเค็มและดินโซดิก.
(ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล:
http://www.1dd.go.th/Lddwebsite/web_ord/Technical/pdf/P_Technical03001_4.pdf
(8 พฤศจิกายน 2556).
- สมศรี อรุณินท์. 2539. ดินเค็มในประเทศไทย. กรุงเทพฯ:
กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สมเดช อิมมาก. 2532. การศึกษาวิธีการคัดเลือกพันธุ์ข้าว
ต้านทานแล้งในระยะกล้าด้วยสารละลาย PEG
6000 ควบคุมความเครียดของน้ำในดิน.
วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชไร่ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
98 หน้า.
- สุทาร์ตน์ คนขยัน. 2553. การส่งถ่ายยีนโคทิเนสสู่ข้าว
เหนียว (*Oryza sativa* L.) พันธุ์ กข10.
วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 103 หน้า.
- สุริยันตร์ ฉะลุ่ม ศรีสม สุวัฒนานนท์ กมลพรรณ
นามวงศ์พรหม และ เฉลิมชัย วงศ์วัฒนะ. 2540.
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวพันธุ์นางมัลเอส 4.
วิทยาศาสตร์เกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์
31(2): 116-124.
- Bhaskaran, S. and R. H. Smith. 1990. Regeneration
in cereal tissue: culture: a review. Crop
Science 30: 1328-1336.
- Tam, D. M. and N. T. Lang. 2003. *In vitro* selection
for salt tolerance in rice. Omonrice 11: 68-
73.
- Thach, T. N. and R. C. Pant. 1999. *In vitro* study on
salt tolerance in rice. Omonrice 7: 80-88.
- Yin, Y., S. Li, Y. Chen, H. Guo, W. Tian, Y. Chen and
L. Li. 1993. Fertile plants regenerated from
suspension culture-derived protoplasts of
an indica type rice (*Oryza sativa* L.). Plant
Cell Tissue and Organ Culture 32: 61-68.
- Zhao, J., C. Zhao and H. Y. Yang, 1999. *In vitro*
development of early proembryos and plant
regeneration via microculture in *Oryza*
sativa. Plant Cell Tissue and Organ Culture
55: 167-174.