

การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดของข้าวหอมมะลิ 105 และข้าวเหนียว กข 6 Callus induction from seeds *in vitro* culture of rice KDML 105 and glutinous rice RD 6

ภพเก้า พุทธรักษ์¹, วารุต อยู่คง², รัฐพร จันทรเดช², พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์ และ มณฑล สงวนเสริมศรี^{4*}
Phopgao Buddharaksa¹, Warut U-kong², Ruttaporn Chundet², Pheravut Wongsawad³ and Mondhon Sanguansermisri^{4*}

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวหอมมะลิ 105 และข้าวเหนียว กข 6 บนสูตรอาหาร Murashige and Skoog (MS, 1962) ที่เติม 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม 2, 4-D สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ โดยสูตรอาหาร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้แคลลัสมีขนาดใหญ่ที่สุด ลักษณะแข็ง เกาะตัวกันแน่น และสีเหลือง หลังจากนั้นนำแคลลัสของข้าวเหนียว กข 6 มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม N⁶ benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 0, 1.0, 3.0, 5.0 และ 7.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ α -naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดต้น (ยอดและราก) พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้น (ยอดและราก) เฉลี่ย 2.4 ต้นต่อแคลลัส ด้วยเปอร์เซ็นต์การเกิดต้น 20%

คำสำคัญ : การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, ข้าวหอมมะลิ 105, ข้าวเหนียว กข 6, การชักนำให้เกิดแคลลัส

Abstract

The seeds of rice KDML 105 (*Oryza sativa* L.) and glutinous rice RD 6 (*Oryza sativa* L.) were *in vitro* cultured on Murashige and Skoog (MS, 1962) medium supplemented with 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) at 0, 0.1, 0.5, 1.0 and 2.0 mg/L for 6 weeks. The results showed that callus were induced on all the MS medium added with 2, 4-D. Significant differences were observed between the treatment. The largest callus was found on the MS medium added with 2.0 mg/L 2, 4-D with hard, compact and yellow. After that, the glutinous rice RD 6 calli were cultured on MS medium supplemented the combination of N⁶ benzyladenine (BA) at concentration

¹ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 56000

² คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290

³ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดพะเยา 50200

^{4*} คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 56000

¹ School of Pharmaceutical Sciences, University of Phayao, Phayao Province 56000

² School of Science, University of Maejo, Chiangmai Province 56000

³ School of Science, University of Changmai, Chiangmai Province 56000

^{4*} School of Pharmaceutical, University of Phayao, Phayao Province 56000

* Corresponding author e-mail: Monthons@nu.ac.th; Received: 25 January 2012; Accepted: 30 July 2013

0, 1.0, 3.0, 5.0 and 7.0 mg/L with α -naphthaleneacetic acid (NAA) at concentration 0.1 mg/L for plant regeneration (shoot and root). The results showed that MS medium supplemented the combination 3.0 mg/L BA with 0.1 mg/L NAA was regenerated the plant (shoots and roots) average 2.4 shoots/callus with the 20% of regeneration rate.

Key words: *In vitro*, jasmine rice 105, RD 6 glutinous rice, callus induction

บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของประเทศไทย ทั้งนี้เพราะการเกษตรส่วนใหญ่ของประเทศปลูกข้าวเป็นพืชหลัก ปัจจุบันข้าวยังเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในประเทศ และต่างประเทศ แต่ข้าวที่ผลิตได้ต่อไร่ ส่วนมากยังมีผลผลิตต่อไร่ต่ำอยู่ การผลิตข้าวในปัจจุบันเกษตรกรมีความจำเป็นต้องใช้ปุ๋ยเคมี และสารเคมีมากขึ้นทำให้ต้นทุนในการผลิตเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย การใส่ปุ๋ยเคมีให้กับข้าวหน้าบ่มมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของข้าวเป็นอย่างยิ่ง ถ้าหากใช้ในปริมาณที่มากเกินไปก็จะเป็นการสิ้นเปลือง อีกทั้งยังมีผลกระทบในระยะยาวต่อความอุดมสมบูรณ์ของดิน เพราะการใช้ปุ๋ยเคมีติดต่อกันเป็นเวลานานๆ จะทำลายความอุดมสมบูรณ์ของแร่ธาตุในดิน ทำให้จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดิน เช่น เชื้อรา แบคทีเรีย แอคติโนมัยซีท และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ที่อาศัยอยู่ในดินมีจำนวนลดลง มีผลทำให้ดินเสื่อมคุณภาพ ดินมีสภาพเป็นกรด ดินจับตัวกันเป็นก้อนแข็ง [1]

ประเทศไทยครองความเป็นอันดับหนึ่งในการส่งข้าวไปเลี้ยงประชากรเกือบจะทั่วโลก แต่สถานการณ์นี้อาจเปลี่ยนไปได้ ถ้ารัฐบาลไม่ให้การสนับสนุนด้านการพัฒนาพันธุ์ข้าวคุณภาพดี และด้านการเกษตรกรรม [3] เพราะในปัจจุบันข้าวไข่มุกปอร์ซาน (Pearl Paw San) ของพม่าครองอันดับหนึ่งเป็นข้าวที่อร่อย และคุณภาพดีที่สุดในโลก ทำให้ข้าวหอมมะลิของไทยที่เคยครองอันดับหนึ่งมาตลอดตอนนี้ถูกข้าวของพม่ายึดอันดับหนึ่งแทน ดังนั้นอนาคตของข้าวไทยจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมุ่งเน้นไปที่การผลิตคุณภาพสูงเพื่อการส่งออก เนื่องจากในปัจจุบันเทคโนโลยีชีวภาพ เทคนิคด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พันธุวิศวกรรม และชีววิทยาระดับโมเลกุล ได้มีการพัฒนาและมีบทบาทกับการดัดแปลงหรือปรับปรุงพันธุ์พืช รวมทั้งเพิ่มผลผลิตและมูลค่า

ของพืชทำให้มีผลต่อการค้า และเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก ซึ่งเทคโนโลยีดังกล่าวต่างอาศัยหลักการพื้นฐานของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และสามารถที่จะชักนำให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้

ดังนั้นการศึกษานี้เพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมของขยายพันธุ์ข้าวหอมมะลิ 105 และ ข้าวเหนียว กข 6 โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินชนิด 2, 4-D ซึ่งมีคุณสมบัติเพิ่มการยึดตัวของผนังเซลล์ ทำให้เซลล์ขยายขนาดขึ้นได้ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยวิธีการส่งถ่ายยีนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดข้าวหอมมะลิ 105 และ ข้าวเหนียว กข 6

นำเมล็ดของข้าวทั้งสองชนิดมาทำความสะอาดด้วยน้ำ แล้วแกะเปลือกออก จากนั้นนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรีนความเข้มข้น 15% และเติม tween 20 2-3 หยด แช่นาน 15 นาที พร้อมเขย่า หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง [4] แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

การชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวหอมมะลิ 105 และข้าวเหนียว กข 6 จากเมล็ด

นำเมล็ดของข้าวหอมมะลิ 105 และข้าวเหนียว กข 6 ที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วไปเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS [9] ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินชนิด 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลองทั้งหมด 10 ซ้ำ แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิด

แคลลัส ขนาดของแคลลัส สีของแคลลัส ชนิดของแคลลัส วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่าง ค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ด้วยฟิสัยเชิงพหุของดันแคน (Duncan's multiple range test)

การชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสของข้าวเหนียว กข 6

นำแคลลัสของข้าวเหนียว กข 6 มาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0, 1.0, 3.0, 5.0 และ 7.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลองทั้งหมด 10 ซ้ำ แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน วางแผนทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ เพาะเลี้ยง 6 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอด ความสูงยอด และ จำนวนใบ วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ด้วยฟิสัยเชิงพหุของดันแคน (Duncan's multiple range test)

การปรับสภาพต้นอ่อนนอกปลูก

นำต้นอ่อนที่มีรากออกปลูกสู่โรงเรือน โดยนำมาปรับสภาพที่อุณหภูมิห้องนาน 1 สัปดาห์ก่อนย้ายปลูก หลังจากนั้นนำมาย้ายปลูกในวัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ดินร่วน ทราย และขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1: 1: 1 รดน้ำให้ชุ่มแล้วเอาใส่ในถุงพลาสติกใส มัดปากถุงเพื่อรักษาความชื้นเป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ แล้วค่อยเจาะถุงให้มีรูขนาด 1 นิ้ว ทั้งไว้ 1 สัปดาห์ จากนั้นเปิดปากถุงไว้ 1 สัปดาห์ก่อนการบันทึกข้อมูล

ผลการศึกษา

การชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวหอมมะลิ 105 และข้าวเหนียว กข 6 จากเมล็ด

เมื่อนำเมล็ดของข้าวหอมมะลิ 105 ไปเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ชนิด 2,4-D ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดข้าวหอมมะลิพันธุ์ 105 ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดเฉลี่ย

1.70 เซนติเมตร (ตารางที่ 1, ภาพที่ 1, A) ส่วนสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และที่เติม 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้

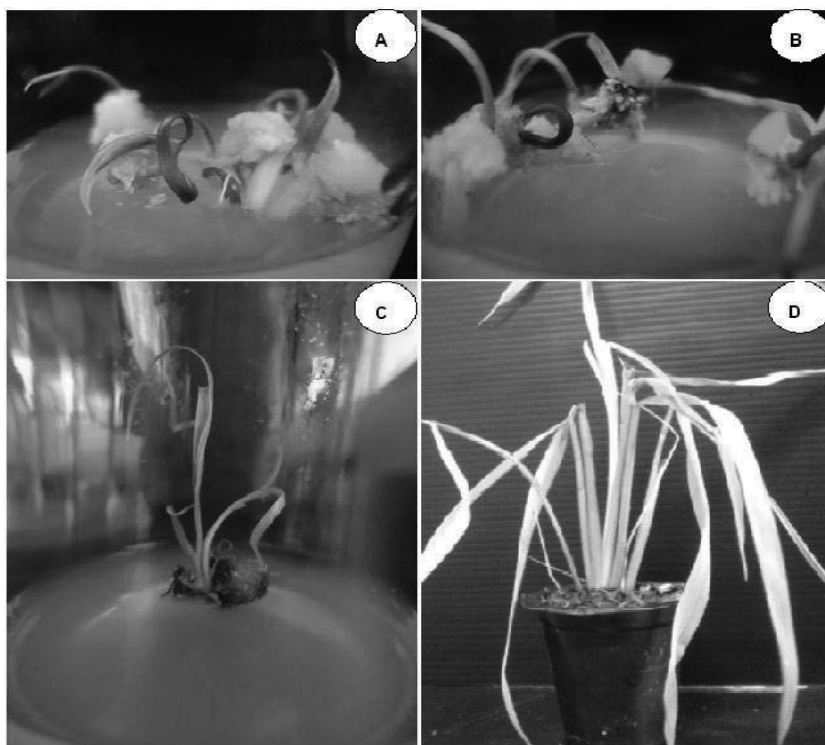
เมื่อนำเมล็ดของข้าวเหนียว กข 6 ไปเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ชนิด 2, 4-D ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเมล็ดข้าวเหนียว กข 6 ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 100% มีขนาดแคลลัสเฉลี่ย 0.90 เซนติเมตร (ตารางที่ 1, ภาพที่ 1, B) ส่วนสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และที่เติม 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้

การชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสของข้าวเหนียว กข 6

จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสของข้าวเหนียว กข 6 บนสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ชนิด BA ความเข้มข้น 0, 1.0, 3.0, 5.0 และ 7.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าข้าวเหนียว กข 6 ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดยอดได้ โดยมีจำนวนยอดค่าเฉลี่ย 2.6 ยอดต่อแคลลัส (ตารางที่ 2, ภาพที่ 1 C) รองลงมาคือสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.6 ยอดต่อแคลลัส และสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และที่เติม BA ความเข้มข้น 1 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสได้

การศึกษากการปรับสภาพต้นอ่อนนอกปลูก

เมื่อนำต้นข้าวเหนียว กข 6 จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกลงกระถางที่ประกอบด้วย ดินร่วน ทราย และขี้เถ้าแกลบ ในอัตราส่วน 1: 1: 1 ในสภาพโรงเรือนเมื่อย้ายปลูกเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าต้นข้าวเหนียว กข 6 มีการแตกของใบใหม่เกิดขึ้น และมีอัตราการรอดชีวิตสูงถึง 80% (ภาพที่ 1 D)



ภาพที่ 1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว A: แคลลัสของข้าวหอมมะลิ 105 ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ B: แคลลัสของข้าวเหนียว กข 6 ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ C: ยอดที่เกิดขึ้นจากแคลลัสของข้าวเหนียว กข 6 บนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ D: ต้นข้าวเหนียว กข 6 ที่ปลูกในกระถางเป็นเวลา 5 สัปดาห์

ตารางที่ 1 การชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวหอมมะลิ 105 และ ข้าวเหนียว กข 6 บนสูตรอาหาร MS เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ชนิดข้าว	ข้าวมะลิ 105					ข้าวเหนียว กข 6				
	2,4-D (mg/l)					2,4-D (mg/l)				
	0	0.1	0.5	1.0	2.0	0	0.1	0.5	1.0	2.0
เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	0	0	60	70	100	0	0	50	60	100
ขนาดแคลลัส (ซ.ม)	0	0	0.26±0.02 ^a	1.08±0.2 ^b	1.70±0.1 ^c	0	0	0.5±0.05 ^a	0.54±0.04 ^a	0.9±0.06 ^b
สีแคลลัส	-	-	สีเหลืองอ่อน	สีเหลืองอ่อน	สีเหลือง	-	-	สีเหลืองอ่อน	สีเหลืองอ่อน	สีเหลือง
ลักษณะของแคลลัส	-	-	เกาะกันแน่น	เกาะกันแน่น	เกาะกันแน่น	-	-	เกาะกันแน่น	เกาะกันแน่น	เกาะกันแน่น

ตัวอักษรเหมือนกันในแถวเดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยการทดสอบแบบพหุเชิงพหุของดินแดน (Duncan's multiple range test)

ตารางที่ 2 การชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสของข้าวเหนียว กข 10 บนสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมเจริญเติบโต ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

BA (mg/l)	NAA (mg/l)	เปอร์เซ็นต์ การ เกิดยอด	จำนวนยอด เฉลี่ย	จำนวนราก เฉลี่ย	ความยาว ยอดเฉลี่ย	จำนวนใบ เฉลี่ย
0	0	0	0	0	0	0
1	0.1	0	0	0	0	0
3	0.1	20	2.4±0.24 ^a	5.0±0.31 ^a	2.6±0.24 ^a	2.4±0.24 ^a
5	0.1	16	1.6±0.24 ^b	4.2±0.37 ^b	1.7±0.30 ^b	1.6±0.24 ^a
7	0.1	0	0	0	0	0

ตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยการทดสอบแบบพหุเชิงพหุของดันแคน (Duncan's multiple range test)

วิจารณ์และสรุปผล

จากการนำเมล็ดของข้าวหอมมะลิ 105 และเหนียวพันธุ์ กข 6 ไปเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด 2,4-D ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของกุลศิริ [2] ในการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์เหลืองประทิว 123 ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด และ สุชาร์รัตน์ [6] ศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสของพันธุ์ข้าว กข 10 ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำเมล็ดข้าวให้สร้างแคลลัสสูงถึง 85.71% เนื่องจาก 2,4-D เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดออกซินที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย มีคุณสมบัติดียิ่งในการปิดกั้นกระบวนการกำเนิดอวัยวะ และใช้ได้ผลดีในการเพิ่มจำนวน และรักษาสภาพการเลี้ยงเป็นแคลลัส [5]

จากการชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสของข้าวเหนียว กข 6 บนสูตรอาหาร MS ที่สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด BA ความเข้มข้น 0, 1.0, 3.0, 5.0 และ 7.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ชนิด NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสูตรอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และที่เติม BA

ความเข้มข้น 1 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้โดยส่งผลให้ขึ้นเนื้อเยื่อชืดจางและตาย ส่วนสูตรอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสได้ดีที่สุด เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Ruot *et al.* [10] ที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA ในการชักนำให้เกิดยอดจากตาข้างของ *Nyctanthes arbortristis* L. โดยใช้ BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 4.78 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ

งานวิจัยของ Bhattacharya *et al.* [7] ใช้ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำการเกิดยอดจากตาข้างของ *Jasminum officinale* L. เฉลี่ย 2.5 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ เนื่องจาก BA เป็นสารที่ใช้กระตุ้นการเจริญเติบโตประเภท Cytokinin ซึ่งสามารถกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ การแตกยอดใหม่ได้ [11] ส่วน NAA เป็นสารที่ใช้กระตุ้นการเจริญเติบโตประเภท Auxin ซึ่งสามารถกระตุ้นให้เกิดการขยายเซลล์ และชักนำให้เกิดราก [8] โดยเมื่อนำมาใช้ร่วมกัน จึงทำให้ BA และ NAA มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของข้าวเหนียว กข 6

เอกสารอ้างอิง

1. กฤษฎา สัมพันธ์รักษ์. พืชไร่. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพฯ; 2531
2. กุลศิริ ศิริบุญ. การคัดเลือกเซลล์ข้าว (*Oryza sativa* L.) ทนทานสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนท โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. [วิทยานิพนธ์ปริญญาโท]. ภาควิชาพฤกษศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2540.
3. ทวี คุปต์กาญจนากุล. การเพิ่มผลผลิตข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยวิธีการเขตกรรม. วารสารวิชาการเกษตร 2541; 16(2):144-151.
4. พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์. การชักนำให้เกิดอวัยวะและต้นใหม่ของลำไย (*Euphoria longana* Lamk.) ในสภาพปลอดเชื้อ. [วิทยานิพนธ์การศึกษามหาบัณฑิต] สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2534.
5. รังสฤษฎ์ กาวิต๊ะ. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคโนโลยี. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2540.
6. สุเมารัตน์ คนขยัน. การส่งถ่ายยีนโคทิเนสสู่ข้าวเหนียว (*Oryza sativa* L.) พันธุ์ กข1. [วิทยานิพนธ์ปริญญาโท] สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์: มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2552.
7. Bhattacharya S, Rapid multiplication of *Jasminum officinale* L. by *in vitro* culture of nodal explants. Plant Cell, Tissue and Organ culture 1997; 51:57-60.
8. Hopkins GW. Introduction to plant physiology. John Wiley & Sons, Ltd; 1999.
9. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 1962; 15:473-497.
10. Rout GR, Mahato A, Senapati SK. *In vitro* clonal propagation of *Nyctanthes arbut-tristis*. Biologia plantarum 2008; 52(3):521-524.
11. Taiz L, Zeiger E. Plant Physiology. California The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc; 2002.