รายงานการวิจัย

การคัดเลือกพันธุ์ข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองพัทลุงที่ทนต่อสภาวะแห้งแล้งด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : ข้าวเหนียวดำหมอและเปลือกขาว

In-vitro Drought-tolerant Selection of Pattalung's rice varieties: *Oryza sativa* var. *glutinosa* "Mo Black Rice" and "White Seed Coat"

จักรกริช อนันตศรัณย์

รายงานวิจัยฉบับนี้ได้รับเงินอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณกองทุนวิจัย
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
พ.ศ. 2559

ชื่องานวิจัย การคัดเลือกพันธุ์ข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองพัทลุงที่ทนต่อสภาวะแห้งแล้งด้วยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: ข้าวเหนียวดำหมอและเปลือกขาว
ผู้วิจัย จักรกริช อนันตศรัณย์
คณะ เทคโนโลยีการเกษตร
ปี 2561

บทคัดย่อ

ข้าวพื้นเมืองจังหวัดพัทลุงมีความหลากหลายสูงและกำลังลดลงอย่างต่อเนื่องเพราะพื้นที่ปลูกลดลงและภัยธรรมชาติที่รุนแรงขึ้น ข้าวเหนียวดำหมอและเปลือกขาวเป็นข้าวเหนียวสีพื้นเมืองที่มีลักษณะสายพันธ์ดีเด่นของจังหวัดพัทลุง จึงเป็นที่มาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวทั้งสองสายพันธุ์ เมล็ดข้าวถูกฟอกฆ่าเชื้อโดยจุ่มเอธิลแอลกอฮอล์ 95% 20 วินาที ต่อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1% 20 นาที ปอกเปลือกข้าวออกแล้วเลี้ยงในสูตรอาหาร MS (Murashige & Skoog, 1962) ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเพื่อชักนำยอด และใช้สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0-4 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำแคลลัส โดยเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 °C และให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน 8 สัปดาห์ ข้าวสองสายพันธุ์เจริญเติบโตใกล้เคียงกัน อาหารที่เหมาะสมต่อข้าวทั้งสองชนิดในการชักนำยอดและแคลลัส คือ MS + TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MS + 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แล้วย้ายเลี้ยงยอดในสูตรอาหาร MS + TDZ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติม PEG ความเข้มข้น 0-10.0% เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ข้าวทั้งสองสายพันธุ์มีตอบสนองแตกต่างกันเล็กน้อย โดยข้าวเหนียวดำเปลือกขาวมีการตอบสนองต่อ PEG มากกว่าข้าวเหนียวดำหมอ เนื้อเยื่อข้าวเลี้ยงใน PEG ความเข้มข้น ≤ 5% จำนวนและลักษณะยอดเจริญเติบโตได้ดีและมีความผิดปกติลดลง การชักนำเนื้อเยื่อข้าวในหลอดทดลองด้วย PEG ได้รับผลกระทบจากอาหารที่ใช้เลี้ยงก่อนชักนำ PEG และข้าวทั้งสองสายพันธุ์อนุบาลได้ยาก ข้าวที่ย้ายจาก PEG ความเข้มข้นสูงตายภายในอาทิตย์แรก ดังนั้น เนื้อเยื่อข้าวทนต่อการขาดน้ำในหลอดทดลองได้ดีหรือไม่ขึ้นกับข้าว (พันธุกรรม ธรรมชาติของข้าวและอายุของเนื้อเยื่อ) สูตรอาหาร (ชนิดและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้เลี้ยงก่อนและขณะทดสอบ) และPEG (ชนิดความเข้มข้นและระยะเวลาให้สาร) ส่วนการอนุบาลของเนื้อเยื่อข้าวหลังการเหนียวนำขึ้นกับสภาพอากาศ ความแข็งแรงของเนื้อเยื่อที่ย้ายเลี้ยง

Research Title: *In-vitro* Drought-tolerant Selection of Pattalung's Rice Varieties**:** *Oryza sativa* var. *glutinosa* "
Mo Black Rice" and "White Seed Coat"

Researcher: Jackrit Anantasaran
Faculty: Agricultural Technology
Year: 2018

Abstract

Pattalung's local rice variety had decreasing by less growth areas and high Disasters. "White Seed Coad" and "Mo Black Rice" are *Oryza sativa* var. *glutinosa* of Local outstanding colored glutinous rice cultivars in Pattalung province. Therefore, these *in vitro* rice were investigated. The first sterilization of two rice seeds was soak by Ethyl alcohol 95% 20 seconds and sterile by Sodium hypochlorite 1% 20 min. and peel seed coat. Next, seeds were cultured on MS (Murashige & Skoog, 1962) medium supplement with TDZ 0-1.0 mg. /l to shoot induction and MS supplement with 2, 4-D 0-4 mg. /l to callus induction. The cultures were kept in controlled environment at 27 ± 2 °C and 16-8 h's light/dark regime under fluorescent light 8 weeks. The result of two variety of rice was similarly. Appropriated medium of two *in vitro* rice were MS + TDZ 1 mg. /l (shoot induction) and MS + 2, 4-D 1 mg. /l (callus induction) and shoots were cultured on MS + TDZ 0.2 mg. /l and treated with PEG 0 - 10.0% after 8 weeks. The response of two *in vitro* rice was slightly difference. However, "White Seed Coat" was sensitive to *in vitro* drought by PEG than "Mo Black Rice". When two *in vitro* rice were cultured in PEG <5.0%, number and healthy shoots was better and abnormal tissue less than. PEG induction of *in vitro* rice shoots was affected by previous cultured medium. Two *in vitro* rice were incubated rarely. Many cases of high PEG concentration's rice were dead in the first week. Therefore the effect of *In-vitro* drought-tolerant selection of local rice depends on rice (cultivar, nature culture and *in vitro* aging) medium (before and after of Formula with growth regulators) and PEG (concentration and induce time) and *in vitro* rice incubation is depend weather, rice nature and *in vitro* rice health.

กิตติกรรมประกาศ

รายงานจากการศึกษางานวิจัยเรื่อง “การคัดเลือกพันธุ์ข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองพัทลุงที่ทนต่อสภาวะแห้งแล้งด้วยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : ข้าวเหนียวดำหมอและเปลือกขาว” สำเร็จได้ ด้วยความอนุเคราะห์ของหน่วยงานและบุคคลหลายท่าน ซึ่งผู้มีพระคุณท่านแรกที่ผู้ศึกษาใคร่ขอกราบขอบพระคุณ ดังรายนามต่อไปนี้

ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง ที่อนุเคราะห์พันธุ์ข้าวในการศึกษาครั้งนี้ โดยคุณขวัญใจ คชภักดี ช่วยประสานงานและจัดหาให้

ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาที่เอื้อเฟื้อสถานที่ วัสดุอุปกรณ์ต่าง ๆ สำหรับทำวิจัยทั้งในส่วนของห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ขอขอบคุณคุณนรากร ตรีเดชา ผู้ช่วยวิจัยที่ช่วยดำเนินงานและเก็บผลการทดลองได้ตามแผนการทดลองที่วางไว้

และที่สำคัญที่สุด ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาที่ให้โอกาสผู้ทำวิจัยได้มีโอกาสทำงานชิ้นนี้เสร็จสมบูรณ์ ด้วยงานวิจัยนี้ได้รับงบประมาณประจำปี 2559 เป็นทุนสนับสนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ท้ายที่สุดขอขอบคุณบุคลากรภายในและนอกคณะทุกท่านซึ่งไม่ได้กล่าวไว้ ณ ที่นี้

นาย จักรกริช อนันตศรัณย์
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
พฤศจิกายน 2560

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	**1**
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
ขอบเขตการวิจัย	2
กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	2
บทที่ 2 ทฤษฎี	**3**
บทที่ 3 การทดลอง	**7**
เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	7
วิธีการทดลอง	7
บทที่ 4 ผลการทดลองละวิจารณ์ผล	**9**
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	**24**
เอกสารอ้างอิง	25
ภาคผนวก	27
ตารางค่าความแปรปรวน	27
ประวัติผู้วิจัย	30
หนังสือรับรองการใช้ประโยชน์ผลงานวิจัย	32

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1. การเจริญเติบโตของข้าวเหนียวดำเปลือกขาวในสูตรอาหาร MS เติม TDZ ความเข้มข้นต่างๆ ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 9
2. การเจริญเติบโตของข้าวเหนียวดำหมอในสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่างๆ ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 12
3. การเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวเหนียวเปลือกขาวและดำหมอที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ ระยะเวลา 8 สัปดาห์ 14
4. ผลของ PEG ความเข้มข้นต่างๆในอาหารสูตร MS + TDZ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ต่อข้าวเหนียวดำเปลือกขาวที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 16
5. ผลของ PEG ความเข้มข้นต่างๆในอาหารสูตร MS + TDZ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ต่อข้าวเหนียวดำหมอที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 19

ตารางภาคผนวกที่

1. ค่าความแปรปรวนของลักษณะการเจริญเติบโตของข้าวเหนียวดำเปลือกขาว 29
2. ค่าความแปรปรวนของลักษณะการเจริญเติบโตของข้าวเหนียวดำหมอ 29
3. ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักสดแคลลัสของข้าวเหนียวดำเปลือกขาวและดำหมอ ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆกัน 30
4. ค่าความแปรปรวนของลักษณะการเจริญเติบโตยอดข้าวเหนียวดำเปลือกขาว ที่เลี้ยงใน PEG ความเข้มข้นต่างกัน 30
5. ค่าความแปรปรวนของลักษณะการเจริญเติบโตยอดข้าวเหนียวดำหมอ ที่เลี้ยงใน PEG ความเข้มข้นต่างกัน 31

RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1. ข้าวเหนียวดำเปลือกขาวที่เลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (a-f ตามลำดับ) (บาร์เท่ากับ 1 เซนติเมตร) 11
2. ข้าวเหนียวดำเปลือกขาวที่ผิดปกติเมื่อเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ 11
3. ข้าวเหนียวดำหมอที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (a-f ตามลำดับ) ระยะเวลา 8 สัปดาห์ (บาร์เท่ากับ 1 เซนติเมตร) 13
4. ข้าวเหนียวดำหมอที่ผิดปกติเมื่อย้ายเลี้ยงจากสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 8 สัปดาห์ 14
5. แคลลัสข้าวเหนียวเปลือกขาว (แถวบน) และดำหมอ (แถวล่าง) ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (a-d ตามลำดับ) ระยะเวลา 8 สัปดาห์ (บาร์เท่ากับ 1 เซนติเมตร) 15
6. ข้าวเหนียวดำเปลือกขาวที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ PEG ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10% (a-e ตามลำดับ) ที่ย้ายมาจากสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 0, 0.2 และ 0.4 มิลลิกรัม/ลิตร (แถวที่ 1-3) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (บาร์เท่ากับ 1 เซนติเมตร) 18
7. ข้าวเหนียวดำเปลือกขาวที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ PEG ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10% (a-e ตามลำดับ) ที่ย้ายมาจากสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 0.6 ,0.8 และ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร (แถวที่ 1-3) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (บาร์เท่ากับ 1 เซนติเมตร) 18
8. ข้าวเหนียวดำหมอที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ PEG ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10% (a-e ตามลำดับ) ที่ย้ายมาจากสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 0, 0.2 และ 0.4 มิลลิกรัม/ลิตร (แถวที่ 1-3) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (บาร์เท่ากับ 1 เซนติเมตร) 21
9. ข้าวเหนียวดำหมอที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ PEG ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10% (a-e ตามลำดับ) ที่ย้ายมาจากสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร (แถวที่ 1-3) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (บาร์เท่ากับ 1 เซนติเมตร) 21
10. ต้นข้าวเหนียวดำเปลือกขาว (แถวบน) และดำหมอ (แถวล่าง) ที่ย้ายเลี้ยงลงกระถางเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ จากสูตรอาหารที่ไม่เติม (กลุ่มที่ 1), PEG 2.5-5.0% (กลุ่มที่ 2) และ 7.5-10% (กลุ่มที่ 3) (บาร์เท่ากับ 5 เซนติเมตร) 23

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ข้าวเป็นธัญพืชหลักที่ได้รับความนิยมในการนำมาบริโภคของประเทศไทย ข้าวเป็นสายพันธุ์ที่มีความหลากหลายสูงมากในธรรมชาติ แต่เนื่องจากเป็นพืชเศรษฐกิจหลักที่สำคัญของไทยในการบริโภคภายในประเทศและส่งออกไปต่างประเทศ จึงได้มีการพัฒนาสายพันธุ์ใหม่ๆ ตลอดเวลาจากหน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชน จนได้สายพันธุ์ที่ดีมีคุณภาพและมีการส่งเสริมการปลูกอย่างแพร่หลาย เพื่อตอบสนองความต้องการของตลาดข้าวของโลก จึงมีลักษณะการปลูกข้าวเป็นพืชเชิงเดียวแบบอุตสาหกรรมเกิดขึ้น ทำให้ข้าวพื้นบ้านมีจำนวนสายพันธุ์ที่หลงเหลือตามธรรมชาติและปลูกโดยชุมชนเกษตรกรรมลดลงไปอย่างต่อเนื่อง จนเกิดความน่าเป็นห่วงของการสูญพันธุ์ของข้าวท้องถิ่นไทย โดยเฉพาะภาคใต้ของประเทศไทย ที่มีพื้นที่การปลูกข้าวในสัดส่วนที่น้อยกว่าภาคอื่นของประเทศ ทำให้เกิดความเสียหายของความหลากหลายของพันธุ์ข้าวภายในประเทศที่มีความจำเป็นที่ต้องเก็บรักษาไว้ เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปในอนาคต

ในอดีต สายพันธุ์ข้าวในจังหวัดพัทลุงและบริเวณใกล้เคียง ถูกเก็บรักษา ณ ศูนย์วิจัยพันธุ์ข้าวพัทลุง มีการเก็บรักษาพันธุ์ข้าวที่พบในภาคใต้เกือบ 1,000 ชนิด ปัจจุบัน (พ.ศ. 2557) เหลือสายพันธุ์ข้าวที่เก็บรักษาได้ 200 กว่าชนิดเท่านั้น และข้าวท้องถิ่นที่ปลูกโดยเกษตรกรก็มีแนวโน้มลดลงและสูญหายอย่างชัดเจน เพราะการเก็บพันธุ์ข้าวจะต้องมีการปลูกใหม่ทุกปี เพื่อเก็บรักษาสายพันธุ์อย่างต่อเนื่อง กอปรกับปัญหาอุทกภัยที่รุนแรงและบ่อยครั้งขึ้นในจังหวัดพัทลุง เนื่องจากภูมิประเทศของจังหวัดพัทลุงมีลักษณะเป็นเทือกเขาสูงทางด้านตะวันตกและที่ราบลุ่มติดชายฝั่งทะเลทางฝั่งตะวันออก ในช่วงฤดูฝน ฝนที่ตกหนักในพื้นที่ตอนบนลุ่มน้ำบริเวณเทือกเขาบรรทัด เกิดน้ำป่าไหลหลากและน้ำท่วมฉับพลันในหลายเขต อำเภอป่าพะยอม ศรีบรรพต กงหรา ตะโหมด ป่าบอนและกิ่งอำเภอศรีนครินทร์ เมื่อน้ำไหลผ่านตอนกลางของพื้นที่ลุ่มน้ำในเขตอำเภอเมือง ควนขนุน เขาชัยสน บางแก้ว ตะโหมด และป่าบอน เกิดน้ำเอ่อล้นตลิ่งท่วมพื้นที่สองฝั่งของลำน้ำ เนื่องจากลำน้ำมีขนาดเล็กแล้วไหลลงสู่ทะเลหลวง ทำให้เกิดน้ำท่วมขังบริเวณที่ราบลุ่มริมทะเลในเขตอำเภอเมือง ควนขนุน เขาชัยสน บางแก้วและปากพะยูน เป็นพื้นที่น้ำท่วมซ้ำซาก (สำนักงานชลประทานที่ 16, 2552)

ในขณะที่เมื่อสภาพอากาศในจังหวัดพัทลุงเข้าสู่ฤดูร้อน เดือนกุมภาพันธ์ถึงกรกฎาคมของทุกปี เกือบทุกอำเภอในจังหวัดพัทลุงจะได้รับการประกาศเป็นพื้นที่ที่เสี่ยงภัยต่อสภาวะแล้งอย่างซ้ำซาก โดยเฉพาะพื้นที่นอกเขตชลประทาน และมีแนวโน้มรุนแรงเพิ่มขึ้นทุกปี ปีนี้ (พ.ศ. 2558) นายไพศาล ขุนศรี หัวหน้าสำนักงานป้องกันและบรรเทาสาธารณภัยจังหวัดพัทลุง กล่าวว่า “สำหรับปีนี้ สภาวะภัยแล้งคาดว่าจะรุนแรงมากกว่าปีที่ผ่านมา จึงขอให้พี่น้องชาวนานอกเขตชลประทาน และ พื้นที่ตำบลลำปำ ตำบลพญาขัน ตำบลชัยบุรี อำเภอเมือง งดทำนาปรัง และให้หันมาปลูกพืชระยะสั้น ใช้น้ำน้อย เพื่อป้องกันความเสียหายที่จะเกิดขึ้น” (สมพงศ์ หนูขวัญ, 2558) นอกจากนี้สภาวะแล้งในจังหวัดพัทลุงยังกระทบต่อการปลูกพืชเกษตรอื่น เช่น กล้วย (คมชัดลึก. 2558) เป็นต้น

จากข้อมูลจะทำให้เห็นว่า การเกษตรโดยเฉพาะการปลูกข้าวเชิงเศรษฐกิจต้องพึ่งพาน้ำจากการชลประทานเป็นหลักในการเพาะปลูก ไม่สามารถอาศัยธรรมชาติได้ และมีความเสี่ยงต่อภัยธรรมชาติอื่นๆ สูงขึ้น เช่น อุทกภัยเป็นประจำทุกปี และวาตภัยเป็นบางคราว ทำให้ภาครัฐต้องดำเนินการยุทธศาสตร์เพื่อรองรับและแก้ปัญหาเป็นประจำทุกปี แต่จากการสังเกตของทีมผู้วิจัยบางท่านที่เป็นคนในพื้นที่จังหวัดพัทลุง พบว่า ชาวบ้านบางชุมชนได้ทำเกษตรปลูกข้าวท้องถิ่นได้ ในพื้นที่ที่ได้อาศัยชลประทานเพียงเล็กน้อยหรืออยู่นอกเขตชลประทาน โดยอาศัยวิธีการปลูกของบรรพบุรุษร่วมกับธรรมชาติของพื้นที่ปลูกที่เหมาะสมกับสายพันธุ์ข้าวที่ได้

คัดเลือกด้วยชาวบ้านในชุมชนเอง และเน้นการเพาะปลูกเพื่อการบริโภคในครัวเรือนเป็นหลัก เหลือจึงนำมาจำหน่ายในพื้นที่ใกล้เคียง ไม่ได้เป็นสายพันธุ์ที่แพร่หลายในเชิงพาณิชย์

ผู้วิจัยจึงมีความสนใจในปรับปรุงพันธุ์ข้าวท้องถิ่นจังหวัดพัทลุง ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อให้เกิดความหลากหลายของลักษณะที่แสดงออก แล้วคัดเลือกลักษณะที่ทนความแล้งได้ดียิ่งขึ้น แล้วนำฐานข้อมูลที่ได้ทั้งหมดถ่ายทอดแก่ชุมชน และองค์กรที่เกี่ยวข้องให้ทราบ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในระดับปฏิบัติการต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. หาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยอดจากต้นอ่อนข้าวเหนียวดำหมอและเปลือกขาว
2. สร้างความหลากหลายของลักษณะภายนอกที่ทนต่อความแล้งของข้าวดำหมอและเปลือกขาว
3. ศึกษาความทนแล้งจากข้าวดำหมอและเปลือกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจากยอดอ่อน
4. รวบรวมองค์ความรู้ทั้งหมดถ่ายทอดสู่ชุมชน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทำให้ทราบสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เหมาะสมต่อข้าวท้องถิ่นทั้งสองพันธุ์และแนวทางการปรับปรุงพันธุ์ข้าวในหลอดทดลองและได้ต้นกล้าจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ทนต่อการขาดน้ำในแปลงนา ขณะเดียวกันได้ทราบผลการประเมินความสามารถในการทนแล้งของข้าวที่เลือกมาศึกษาในพื้นที่จำกัดที่ควบคุมปัจจัยที่สนใจ และสามารถติดตามการพัฒนาของต้นข้าวทั้งลักษณะภายนอกที่สังเกตได้ด้วยตา เพื่อให้ได้พันธุ์ข้าวที่มีลักษณะเหมาะสมที่สุดในการปลูกข้าวสภาวะพื้นที่ที่ขาดแคลนน้ำ แล้วนำข้อมูลที่ได้ทั้งหมด ถ่ายทอดให้แก่ชุมชนเกษตรกรและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในพื้นที่ได้รับทราบผ่านทางการบริการทางวิชาการ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

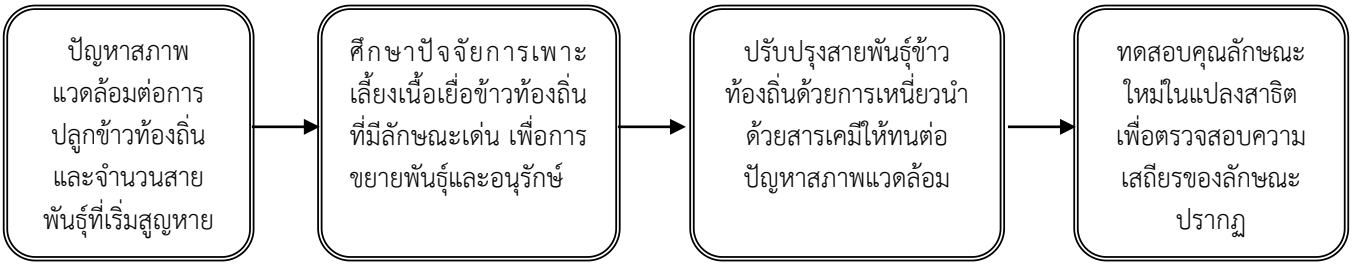
ขอบเขตของโครงการวิจัย

ขอบเขตของการวิจัยครั้งนี้ครอบคลุมตามวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย เพื่อศึกษาข้าวข้าวเหนียวดำพันธุ์ท้องถิ่นภาคใต้ที่สำคัญ โดยทำการศึกษา 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวเหนียวดำหมอและข้าวเหนียวดำเปลือกขาวเหนียวนำข้าวทั้งสองสายพันธุ์ให้เกิดการกลายพันธุ์ของยอดร่วมด้วยสารเคมี คือ polyethylene glycol แล้วคัดเลือกต้นที่มีแนวโน้มทนแล้ง นำมาทดสอบศึกษาการเจริญเติบโตและทนแล้งของต้นข้าวในบ่อสาธิตของสถานีพืชไร่ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา เป็นระยะเวลาหนึ่งปีในช่วงระยะเวลางานวิจัยที่ดำเนินการ

นิยามศัพท์เฉพาะ

สภาวะขาดน้ำในหลอดทดลอง คือ การทำให้อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกิดการสภาพอาหารแข็งกว่าปกติ ทำให้พืชได้รับน้ำจากอาหารน้อยกว่าปกติ

กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย



บทที่ 2
ทฤษฎี

ข้อมูลทั่วไปจังหวัดพัทลุง (กรมชลประทาน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2556)

สภาพทั่วไป ตั้งอยู่ทางทิศตะวันออกของภาคใต้ของประเทศไทย ระหว่างละติจูดที่ 7 องศา 6 ลิปดาเหนือ ถึง 7 องศา 53 ลิปดาเหนือ และลองติจูดที่ 9 องศา 44 ลิปดาตะวันออก ความยาวของจังหวัดจากทิศเหนือไปทิศใต้ประมาณ 78 กิโลเมตร และ ความกว้างจากทิศตะวันออกไปทิศตะวันตกประมาณ 53 กิโลเมตร มีพื้นที่ทั้งหมดประมาณ 3,424.473 ตารางกิโลเมตร เขตการปกครอง แบ่งออกเป็น 11 อำเภอ 65 ตำบล 670 หมู่บ้าน มีประชากรทั้งหมด 508,738 คน (ข้อมูล ณ วันที่ 30 มิถุนายน 2553)

สภาพภูมิประเทศ แบ่งเป็น 4 ลักษณะ ได้แก่

1) พื้นที่ภูเขา มีลักษณะเป็นเทือกเขาที่มียอดสูงๆ ต่ำๆ ความสูงเฉลี่ย 800 เมตร มีพื้นที่ร้อยละ 24.41 ของพื้นที่ทั้งหมด อยู่ในอำเภอป่าบอน ตะโหมด กงหรา ศรีนครินทร์ ศรีบรรพต และป่าพะยอม

2) พื้นที่ลูกคลื่นลานชัน อยู่ถัดจากเทือกเขาบรรทัดหรือพื้นที่เชิงเขา ลักษณะภูมิประเทศเป็นเนินเตี้ยๆ ความสูงโดยเฉลี่ยประมาณ 150 เมตร มีพื้นที่ร้อยละ 15.76 ของพื้นที่ทั้งหมด อยู่ในเขตอำเภอป่าบอน ตะโหมด ศรีนครินทร์ กงหรา ศรีบรรพต และป่าพะยอ

3) พื้นที่ราบ มีพื้นที่ร้อยละ 43.38 ของพื้นที่ทั้งหมด อยู่ในอำเภอป่าพะยอม ควนขนุน เมืองพัทลุง เขาชัยสน บางแก้ว และปากพะยูน

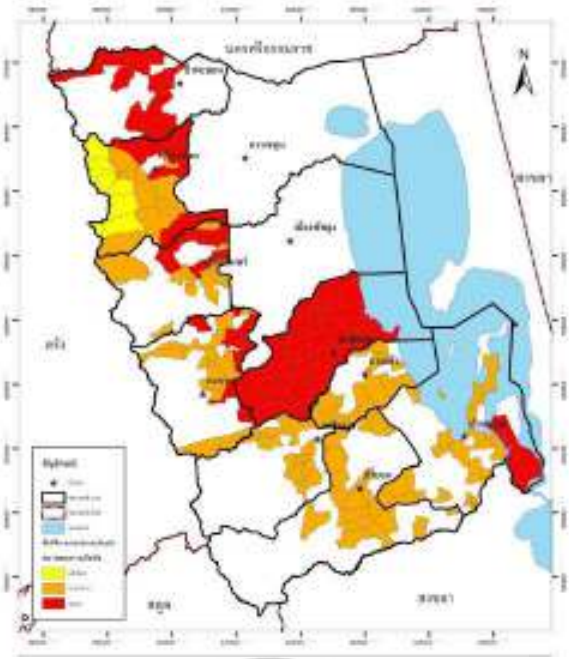
4) พื้นที่เกาะ เป็นพื้นที่บริเวณทะเลสาบสงขลาในเขตจังหวัดพัทลุง ตั้งอยู่ในเขตอำเภอปากพะยูน มีเนื้อที่ร้อยละ 6.40 ของพื้นที่ทั้งหมด

พื้นที่ผืนน้ำในจังหวัดพัทลุง ประกอบด้วย ทะเลน้อยและทะเลหลวงหรือทะเลสาบสงขลาตอนใน อยู่ในอำเภอควนขนุน เมืองพัทลุง เขาชัยสน บางแก้ว และปากพะยูน คิดเป็นร้อยละ 10.05 ของพื้นที่ทั้งหมด

ระบบลุ่มน้ำและระบบลำน้ำ จังหวัดพัทลุงตั้งอยู่ในลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา ลำน้ำส่วนใหญ่เป็นลำน้ำสายสั้นๆ ยาวประมาณ 30-45 กิโลเมตร มีต้นน้ำจากเทือกเขาบรรทัด ส่วนมากจะมีทิศทาง การไหลของน้ำจากทิศตะวันตกไปยังทิศตะวันออก ซึ่งจะไหลไปรวมกันที่ทะเลสาบสงขลา โดยจำแนกได้ 8 ลุ่มน้ำย่อย คือ ลุ่มน้ำคลองป่าพะยอม ลุ่มน้ำคลองท่าแนะ ลุ่มน้ำคลองนาท่อม ลุ่มน้ำคลองสะพานหยี ลุ่มน้ำคลองท่าเชียด-บางแกวลุ่มน้ำคลองป่าบอนและลุ่มน้ำคลองพรุ

สภาพพื้นที่การเกษตร ในปี 2552/53 จังหวัดพัทลุง มีพื้นที่ถือครองเพื่อทำการเกษตร 1,403,176.10 ไร่ หรือร้อยละ 65.56 ของพื้นที่ทั้งหมด ในส่วนนี้ เป็นพื้นที่ปลูกยางพารามากที่สุด จำนวน 790,890.50 ไร่ รองลงมาเป็นพื้นที่ปลูกข้าว 247,550.44 ไร่ หรือคิดเป็นร้อยละ 56.36

สภาพภัยแล้งในจังหวัดพัทลุง จังหวัดพัทลุงจะมีปริมาณฝนค่อนข้างมากและเกิดปัญหาอุทกภัยเกือบทุกปี ทำความเสียหายให้กับพื้นที่เกษตรกรรมมากบ้างน้อยบ้าง แต่อย่างไรก็ตาม เนื่องจากสภาพภูมิประเทศของจังหวัดพัทลุงโดยเฉพาะทางด้านทิศตะวันตก ไม่มีแหล่งกักเก็บปริมาณน้ำส่วนเกินจากช่วงฤดูฝนและฤดูน้ำหลาก น้ำส่วนนี้ก็จะไหลลงทะเลสาบไปโดยไม่ได้ใช้ประโยชน์ จึงทำให้ช่วงฤดูแล้งหรือในระยะฝนทิ้งช่วงที่มีความต้องการน้ำเพื่อการเกษตรบางพื้นที่มีการขาดแคลนน้ำจนถึงขั้นวิกฤต รวมทั้งน้ำเพื่อการอุปโภคบริโภคด้วย ดังเช่น สถานการณ์ภัยแล้งของจังหวัดพัทลุงในช่วง 4-5 ปี (พ.ศ. 2549-2554) ที่ผ่านมาจะไม่รุนแรงมากนัก แต่ในปี พ.ศ. 2555 หลังจากที่ฝนได้หยุดตกติดต่อกันหลายเดือนทางจังหวัดพัทลุงได้ประกาศภัยแล้งในพื้นที่ อำเภอเมือง ควนขนุน ศรีบรรพต ป่าพะยอม บางแก้ว เขาชัยสน กงหรา ปากพะยูน โดยทางโครงการชลประทานพัทลุงเข้าช่วยเหลือ และได้นำเสนอข้อมูลพื้นที่เสี่ยงต่อภัยแล้งปานกลางและรุนแรงในรายงานประจำปี 2555/2556 ดังในภาพ



ข้าว

ข้าวเป็นพืชล้มลุก ใบเลี้ยงเดี่ยวตระกูล หญ้า สกุล Oryza ซึ่งมีวิวัฒนาการมาจาก ข้าวป่าชนิด *ออไรซ่ากรามินี่* (*Oryza gramineae*) ตั้งแต่ประมาณ 230-600 ล้านปีมาแล้ว และได้แพร่กระจาย จากเขตร้อนชื้นของแอฟริกา สู่ภูมิภาคต่างๆ ทั่วโลก เช่น เอเชียใต้ เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ออสเตรเลีย อเมริกากลาง เป็นต้น

ข้าวเจริญเติบโตได้ทุกระดับความสูงของพื้นที่ และสภาพภูมิอากาศทั้งเขตร้อนและเขตอบอุ่น ในพื้นที่ราบลุ่มจนถึงพื้นที่สูง และมีความหลากหลายของพันธุกรรมสามารถคัดเลือกพันธุ์ลักษณะตรงตามความต้องการหรือปรับตัวตามระบบนิเวศที่อยู่ได้ สามารถผสมข้ามสายพันธุ์เกิดเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองมากมายหลากหลายชนิด

ข้าวในประเทศไทยเป็นข้าวพวก *Oryza sativa* subsp. *Indica* แบ่งเป็นข้าวเจ้า และข้าวเหนียว แตกต่างกันจากปริมาณแป้งอะไมโลเพคตินและแป้งอะไมโลสในเนื้อข้าว และข้าวสามารถแบ่งประเภทตามสภาพพื้นที่ปลูกและการใช้น้ำได้ 3 กลุ่ม คือ

ข้าวนาเมือง หรือข้าวขึ้นน้ำ เป็นข้าวปลูกแบบหว่าน และระดับน้ำในนาลึกมากกว่า 80 เซนติเมตรขึ้นไป

ข้าวนาสวน หรือ ข้าวที่ปลูกแบบปักดำหรือหว่าน ปลูกในนาลึกระดับน้ำไม่เกิน 80 เซนติเมตร

ข้าวไร่ หรือ ข้าวที่ปลูกบนที่ ดอน ไม่มีน้ำขังในพื้นที่ปลูก ใช้น้ำน้อยและทนแล้งได้ดี

วิกฤตภัยธรรมชาติ และอากาศแปรปรวนของโลกปัจจุบันส่งผลกระทบต่อพืชพรรณธรรมชาติและเพาะปลูก ข้าวเป็นแหล่งอาหารหลักของโลกที่ได้รับผลกระทบเช่นกัน โดยเฉพาะประเทศไทย พื้นที่นาข้าวเปรียบเสมือนอู่ข้าวอู่น้ำของโลก ประเทศไทยเคยส่งออกข้าวเป็นอันดับหนึ่งของโลกและมีความหลากหลายของพันธุกรรมข้าวมากติดอันดับโลกเช่นกัน การปลูกข้าวในประเทศไทยปัจจุบัน ประสบกับปัญหาจากวิกฤตภัยธรรมชาติรุนแรงขึ้นและมีความถี่สูงขึ้นลงปี เช่นเดียวกับสภาพเดียวกับอากาศแปรปรวนของโลก ทำให้พันธุข้าวเศรษฐกิจดังเดิมไม่สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ ให้ผลผลิตที่ลดลงและมีความเสี่ยงต่อความเสียหายมากขึ้น มนุษย์จึงให้ความสนใจมากขึ้นในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว ให้เพิ่มคุณสมบัติให้ทนต่อสภาพแวดล้อมที่เลวร้าย เช่น น้ำท่วมขัง อากาศเย็นจัด ร้อนจัด แล้ง หรือธาตุอาหารโลหะหนักสะสมในดิน เป็นต้น

การปรับปรุงพันธุ์ข้าว

ประเทศไทยอยู่ในเขตศูนย์สูตรจึงมีกระจายของพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่หลากหลายมาก จากรวบ รวมพันธุ์ข้าวพื้นเมืองในไทยมีประมาณ 6,000 สายพันธุ์ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวที่พบมี ลักษณะดีบางประการ เช่น ความต้านทานโรคและแมลง ความทนทานต่อสภาพแวดล้อม คุณภาพเมล็ดและ ผลผลิต เป็นต้น ความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นฐานที่สำคัญยิ่งในการนำไปปรับปรุงข้าวพันธุ์ดี (ฝ่ายชุมชนและผู้ด้อยโอกาสฯ, 2555)

วิธีการที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ได้ สายพันธุ์ใหม่ที่ดีกว่านั้นมีหลายวิธี เช่น

1. การรวบรวมและนำเข้าพันธุ์จากที่อื่น (Collection and Introduction)
2. การผสมพันธุ์ (Hybridization)
3. การสร้างพันธุ์ข้าวลูกผสม (Hybrid Rice)
4. พันธุวิศวกรรม (Genetic Engineering)
5. การคัดเลือกข้าวพันธุ์ผสมที่กระจายตัวในภูมิประเทศ
6. การคัดเลือกพันธุ์ในแปลงนา (Selection)
7. การใช้เทคโนโลยีชีวภาพชักนำให้กลายพันธุ์ (Induced Mutation) ด้วยสารเคมี

ในงานวิจัยนี้จะมุ่งเน้นงานวิจัยการปรุงปรับพันธุ์ข้าวในลักษณะวิธีข้อ 7 จึงนำเสนอเอกสารที่เกี่ยวข้องในการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีที่ 7 วิธีการของชุมชนในการปลูกข้าวสภาวะน้ำน้อยหรือแล้ง และการปรับตัวเนื้อเยื่อที่เจริญเติบโตไปเป็นรวงข้าวในสภาวะขาดน้ำ

การใช้เทคโนโลยีชีวภาพชักนำให้กลายพันธุ์ด้วยสารเคมี

การปรับปรุงพันธุ์พืชให้ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่างๆ เป็นวิธีการหนึ่งในการแก้ปัญหาการเพาะปลูกของเกษตรกรยุคใหม่ ที่ต้องสร้างสายพันธุ์พืชให้ปรับตัวได้ในสภาพแวดล้อมที่เลวร้ายมากขึ้น โดยเฉพาะลักษณะทนแล้ง เนื่องจากฝนที่ตกไม่เป็นไปตามฤดูกาล ทำให้บางช่วงพืชขาดน้ำเป็นระยะเวลานานๆ

แนวทางในการปรับปรุงพันธุ์พืชมีหลายวิธีการดังที่กล่าวแล้วข้างต้น ทางเลือกหนึ่งในการแก้ปัญหาที่ได้รับความนิยมมากขึ้นในกลุ่มนักทำวิจัยในห้องปฏิบัติการ คือ การนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ทนแล้งและพัฒนาวิธีการทดสอบและคัดเลือกลักษณะทนร้อนในข้าวพันธุ์ต่างๆ ซึ่งเทคนิคที่ได้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกลักษณะทนแล้งของข้าวพื้นเมืองหรือลูกผสมใหม่ๆ ซึ่งมีรายงานวิจัยหลายชิ้นที่รายงานความสำเร็จในการปรับปรุงสายพันธุ์พืชใหม่ที่ปรับตัวเข้ากับสภาพแล้งในการเพาะปลูกทั้งระดับเบื้องต้นในห้องทดลอง แปลงสาธิตและพื้นปลูกของเกษตรกร ดังตัวอย่าง รายงานต่อไปนี้

- รงรอง หอมหวน และคณะ (2552) ได้ชักนำให้เกิดแคลลัสของอ้อยด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้เกิดคุณลักษณะสภาพทนแล้งได้ด้วยการเลี้ยงในอาหารที่เติมสาร PEG หรือแมนนิทอล สามารถให้เกิดแคลลัสที่ทนต่อ PEG ความเข้นข้น 10 % และ Mannitol 0.5 M ในอ้อยทดลอง 5 พันธุ์ คือพันธุ์ กพส. 00-105 กพส. 01-1-25 กพส. 00-148 กพส. 94-13 และ กพส. 98-005 พบว่า อ้อยพันธุ์ กพส. 00-148 และ กพส. 01-1-25 มีแนวโน้มของการทนแล้งหรือขาดน้ำได้ในห้องปฏิบัติการ

- โชคชัย เอกทัศนาวรรณ และคณะ (2544) ทดสอบสายพันธุ์ข้าวโพด สายพันธุ์ [(M 22/4 (R) x Ki 11) x Ki 11 #2]-S2 หรือ A03-2-S2 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยเทคนิคการเลี้ยงอับละอองเกสร มาผสมกับสายพันธุ์แท้ Ki 44 และ Ki 45 ผลการทดสอบผลผลิตและลักษณะทนแล้งของสายพันธุ์และลูกผสมในสภาพให้น้ำทุกสัปดาห์และสภาพขาดน้ำในระยะติดเมล็ดในฤดูแล้งปี พ.ศ. 2539 ที่ศูนย์วิจัย

ข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ จังหวัดนครราชสีมา พบว่า สายพันธุ์ A03-2-S2 ให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์แท้ Ki 11 ในสภาพขาดน้ำในระยะติดเมล็ด และลูกผสมที่ได้ยังมีคุณสมบัติทนแล้ง

- Dipti Verma และคณะ (2013) ได้ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ปรับปรุงและคัดเลือกสายพันธุ์ข้าว PR113 ที่ทนแล้ง โดยนำข้าวพันธุ์ PR113 เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม polyethylene glycol (PEG 6000) ความเข้มข้นต่างๆ กัน ให้เกิดเนื้อเยื่อแคลลัสและพัฒนาไปเป็นต้นสมบูรณ์ แล้วปลูกในแปลงทดสอบ ปรากฏได้สายพันธุ์ข้าว PR113 ที่ทนต่อความแล้งจากต้นข้าวที่เลี้ยงในอาหารที่เติม PEG 30 กรัมต่อลิตรอาหาร

- Hemaid I.A.S.และ Mohamed H. H. (2013) ได้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยเอ็มบริโอของข้าวสาลีดูรัมจำนวน 6 พันธุ์ แล้วเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ให้มีคุณสมบัติทนต่อความแล้ง ด้วยสาร polyethylene glycol (PEG 8000) ความเข้มข้นต่างๆ ในสูตรอาหาร MS ที่มี 2, 4-D 4.0 mg/l และ kinetin 0.4 mg/l เอ็มบริโอเจริญเติบโตเกิดแคลลัส และกลายเป็นต้นสมบูรณ์ทนแล้ง สายพันธุ์ที่ปรับปรุงและทนแล้งได้ดี คือ Mexicali 75, Cham 5, Beni Suef 1 และ Suhag 3

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 3
การทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. เมล็ดข้าวเหนียวดำหมอและข้าวเหนียวดำเปลือกขาว
2. สารเคมีสูตรอาหาร MS
3. สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่
   Thidiazuron (TDZ) และ 2, 4 dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D)
4. Polyethylene glycol 6000 (PEG)
5. เครื่องมือเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น หม้อนึ่งความดันไอน้ำ เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง เครื่องชั่งสารเคมี ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อพืช ฯลฯ
6. อุปกรณ์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น บีกเกอร์ กระบอกตวง ขวดใส่อาหาร ตะเกียงแอลกอฮอล์ เครื่องแก้ว จานแก้ว เครื่องมือผ่าตัด ฯลฯ
7. อุปกรณ์เกษตร เช่น ดินผสม กระถาง เป็นต้น

วิธีการทดลอง

การทดลองปรับปรุงพันธุ์ให้เกิดความหลากหลายของลักษณะภายนอกที่แสดงออกให้มีความทนแล้งด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวเหนียวดำหมอและเปลือกข้าวนั้นได้ดำเนินการศึกษาในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และสถานีพืชไร่ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา โดยแบ่งการทดลองออกเป็นส่วนๆ ดังนี้

3.1 การเลี้ยงเอ็มบริโอของข้าวและหาสูตรอาหารที่เหมาะสม

นำเอ็มบริโอจากเมล็ดพันธุ์ข้าวเหนียวดำหมอและข้าวเหนียวดำเปลือกขาว ทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์โดยนำเมล็ดข้าวแช่เอธิลแอลกอฮอล์ 95% 20 วินาที ต่อด้วยสารละลายคลอร๊อกซ์ความเข้มข้น 20 % ระยะเวลา 20 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง แกะเปลือกข้าว แล้วนำเมล็ดข้าวเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตประเภทไซโทไคนิน ได้แก่ TDZ ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโคส 3 % และวุ้น 7.5 กรัมต่อลิตร เลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช บนชั้นไฟที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ ระยะเวลาให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แล้วบันทึกผลจากน้ำหนักสด จำนวนและขนาดของต้นอ่อนหรือยอดที่ชักนำได้ เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนของข้าวและยอดที่ชักนำได้ทั้งสองพันธุ์

3.2 การชักนำแคลลัส

นำเอ็มบริโอจากเมล็ดพันธุ์ข้าวเหนียวดำหมอและข้าวเหนียวดำเปลือกขาว ฟอกฆ่าเชื้อแล้วเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสของข้าวทั้งสองสายพันธุ์ แล้วเลี้ยงห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช บนชั้นไฟที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ ระยะเวลาให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แล้วบันทึกผลจากลักษณะและน้ำหนักของแคลลัส และพัฒนาต่อเนื่องจากแคลลัส

3.3 การชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดที่มีคุณสมบัติทนแล้ง

นำยอดที่ชักนำได้จากข้อ 3.1 และแคลลัสที่เกิดจากข้อ 13.2 มาเลี้ยงในสูตรอาหารเหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.1 แล้ว เติมสาร PEG 6000 ที่มีระดับความเข้มข้น 0, 2.5, 5.0, 7.5 และ 10 % เลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช บนชั้นไฟที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ ระยะเวลาให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แล้วบันทึกผลจากตอบสนองของเนื่อเยื่อที่ชักนำได้ เช่น เปอร์เซ็นต์การรอดของเนื้อเยื่อ เกิดยอดใหม่และจำนวนยอด เป็นต้น และคัดเลือกต้นที่รอดเพื่อทำการทดลองต่อไป โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD แล้ววิเคราะห์ความแตกต่างเฉลี่ยด้วยวิธี one-way ANOVA แบบ DMRT ในแต่ละสายพันธุ์ข้าว

3.4 อนุบาลต้นอ่อนเพื่อตรวจสอบสมบัติทนแล้ง

ย้ายต้นอ่อนที่ได้จาก 3.3 ลงในกระถางเพื่อปรับสภาพแวดล้อมเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อตรวจสอบการสนองต่อสภาวะการขาดน้ำ โดยสร้างสภาวะความเครียดแก่ต้นข้าว ได้แก่ ปริมาณน้ำที่ได้รับและระยะเวลาการขาดน้ำ สังเกตการตอบสนองที่แสดงออกทางสรีรวิทยาของต้นข้าว เช่น ขนาดต้น การแตกก่อ ลักษณะของใบ เป็นต้น

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

การทดลองปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้เกิดความหลากหลายของลักษณะภายนอกที่แสดงออกให้มีความทนแล้งด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น ได้ดำเนินการศึกษาในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ได้ผลการทดลองแบ่งเป็นตอนตามวิธีการวิจัย ดังนี้

การเลี้ยงเอ็มบริโอของข้าวและหาสูตรอาหารที่เหมาะสม

นำเมล็ดข้าวเหนียวดำหมอและเปลือกขาวจากการเก็บในแปลงทดลองศูนย์วิจัยพันธุ์ข้าวพัทลุง มารักษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว นำเมล็ดพันธุ์ทั้งสองสายพันธุ์ที่เก็บมาทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ตามวิธีการของจักรกริช (2558) แล้วเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม TDZ ความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโตของข้าวทั้งสองสายพันธุ์ ได้ผลดังตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตของข้าวเหนียวดำเปลือกขาวในสูตรอาหาร MS เติม TDZ ความเข้มข้นต่างๆ ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

TDZ (มิลลิกรัม/ลิตร)	น้ำหนักยอดสด (กรัม)	จำนวนยอด	จำนวนราก	ความสูงยอด (ซม.)
0	1.43 ± 0.85 [a]	2.00 ± 1.26 [c]	14.35 ± 6.28 [ab]	28.11 ± 13.25[a]
0.2	0.75 ± 0.55 [b]	16.00 ± 16.21[a]	6.14 ± 4.38 [c]	9.03 ± 5.75 [c]
0.4	0.92 ± 0.59 [b]	9.45 ± 6.10 [b]	14.85 ± 10.40[ab]	11.88 ± 8.16 [b]
0.6	0.93 ± 0.41 [b]	8.00 ± 4.84 [b]	13.70 ± 6.14 [ab]	11.40 ± 6.59 [b]
0.8	1.28 ± 0.86 [a]	11.05 ± 6.79 [ab]	18.45 ± 11.21[a]	11.96 ± 6.80 [b]
1.0	1.32 ± 0.87 [a]	15.35 ± 11.28 [a]	12.40 ± 6.97 [b]	12.13 ± 6.13 [b]
F-test	*	*	*	*

หมายเหตุ * มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวเหนียวดำเปลือกขาวในอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้น TDZ แตกต่างกัน พบว่า เนื้อเยื่อข้าวเหนียวดำเปลือกขาวมีการเจริญเติบโตของเอ็มบริโอที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยทุกลักษณะที่บันทึกได้ (ตารางที่ 1)

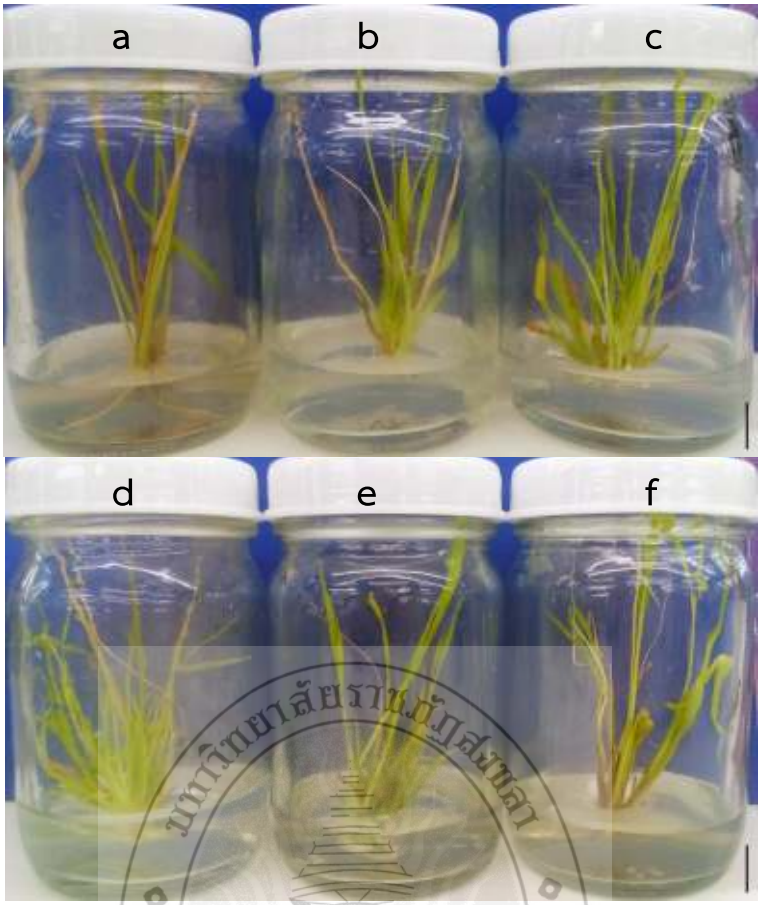
เนื้อเยื่อข้าวที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ไม่มีการเติม TDZ และเติม TDZ ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักยอดสดมากที่สุด (1.43 กรัม) แต่เมื่อพิจารณาจำนวนยอดต่อเนื้อเยื่อข้าวกลับพบว่า สูตรอาหาร MS ที่ไม่เติม TDZ กลับมีจำนวนยอดน้อยที่สุด (2.00 ยอด/ขวด) แต่สูตรอาหารที่เติม TDZ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรมีจำนวนยอดที่สูง (15.35 ยอด/ขวด) แต่สูตรที่ชักนำยอดมากที่สุด คือ MS ที่เติม TDZ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร (16.00 ยอด/ขวด) ซึ่งผลการทดลองของยอดที่ได้จะแตกต่างจากจำนวนรากที่สูตรอาหารเติม TDZ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเกิดรากน้อยที่สุด (6.14 ราก) แตกต่างจากสูตรอาหารอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($p \leq 0.05$) ถึงแม้สูตรอาหารที่ไม่เติม TDZ จะมีจำนวนยอดน้อยที่สุดแต่ต้นข้าวจะมีความสูงมากที่สุด (28.11 เซนติเมตร) เมื่อเทียบกับสูตรอาหารที่เติม TDZ ทุกความเข้มข้น (9.03-12.13 เซนติเมตร)

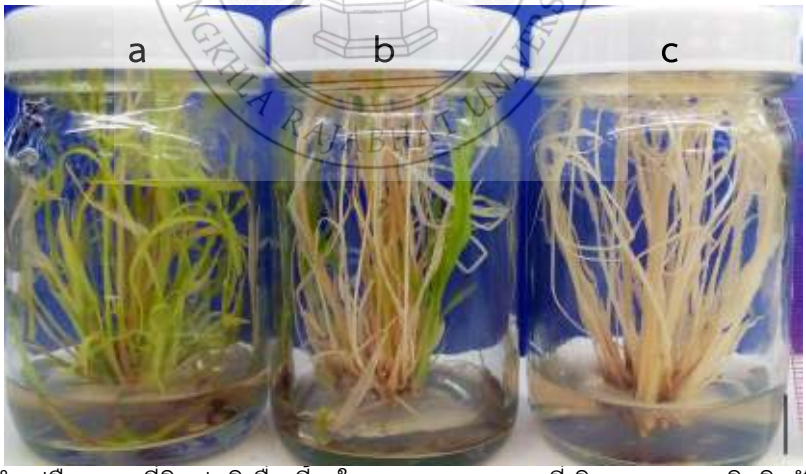
TDZ กระตุ้นให้คัพภะข้าวดำเปลือกข้าวมีพัฒนาของยอดได้มากขึ้นอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สูตรอาหาร MS ที่ไม่เติม TDZ ซึ่งจะเกิดการพัฒนาของระบบราก (ทำให้เกิดรากจำนวนมาก) และเกิดการยืดยาวของใบ และมีขนาดใบแผ่กว้าง ทำให้ต้นข้าวสูง กลายเป็นกอข้าวที่มียอดข้าวกระจุกเพิ่มจำนวนมากขึ้น ระบบรากมีการพัฒนาที่น้อยลง (สังเกตจากจำนวนรากที่ลดลงมากในสูตรอาหารที่เกิดยอดจำนวนมาก) เพราะเนื้อเยื่อข้าวเน้นการเกิดยอดใหม่จำนวนมาก และใบมีการขยายขนาดได้น้อย ทำให้ความสูงของต้นข้าวลดลง ดังนั้นสูตรอาหารที่ชักนำการเกิดยอดใหม่ได้ดี จะทำให้เกิดรากและความสูงของยอดต่ำ ส่งผลให้น้ำหนักของยอดข้าวลดลงได้อีกด้วย

เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของ TDZ ต่อการพัฒนาเนื้อเยื่อข้าวเหนียวดำเปลือกขาว พบว่า ความเข้มข้น TDZ ที่แตกต่างกันมีผลต่อการตอบสนองที่แตกต่างกัน กล่าวคือ เมื่อความเข้มข้นสูง (0.8-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ยอดข้าวมีน้ำหนักสดสูงใกล้เคียงกับสูตรอาหารที่ไม่เติม TDZ แต่การเกิดยอด รากและความสูงไม่แตกต่างกับที่ TDZ ความเข้มข้นต่ำ (0.2-0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จากภาพที่ 1 ลักษณะเนื้อเยื่อมีความผิดปกติและตายมากกว่าเนื้อเยื่อข้าวที่เลี้ยงใน TDZ ความเข้มข้นต่ำๆ เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เติม TDZ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตรกับ TDZ 0.4 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า TDZ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิดยอดและยับยั้งการเกิดรากและต้นที่ได้มีความสูงต่ำกว่า (ภาพที่ 1b) ทำให้สารอาหารไปเลี้ยงและช่วยชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีกว่าการเลี้ยงในสูตรอาหารที่เติม TDZ 0.4 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะต้นข้าวที่ได้เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรที่เติม TDZ แตกต่างกัน พบว่า มีลักษณะของต้นข้าวที่ผิดปกติเกิดขึ้น กล่าวคือ ปรากฏลักษณะใบซีดจนด่าง (albino) ในบางชุดการทดลอง บางยอดหรือบางกอข้าวในบางชุดการทดลอง โดยจะปรากฏมากในอาหารสูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นสูง (0.8, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) (ภาพที่ 1e, 1f และ 2) นอกจากนี้ยอดข้าวที่เลี้ยงใน TDZ ความเข้มข้นสูงจะปรากฏใบผิดปกติในสัดส่วนที่มากโดยปรากฏเป็นใบด่างบางส่วนจนถึงทั้งหมดในเนื้อเยื่อข้าว ส่วนสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติม TDZ เอ็มบริโอสามารถเจริญเติบโตได้ปกติ เกิดรากขนาดใหญ่ กาบใบใหญ่แข็งแรง ทำให้เกิดน้ำหนักสดสูง แต่อัตราการแตกยอดใหม่น้อยมากเมื่อเทียบกับสูตรอาหารที่เติม TDZ จึงเป็นสูตรอาหารที่เหมาะแก่การเลี้ยงยอดข้าวให้เป็นต้นที่สมบูรณ์ ไม่ใช้ชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY



ภาพที่ 1 ข้าวเหนียวดำเปลือกขาวที่เลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (a-f ตามลำดับ) (บาร์เท่ากับ 1 เซนติเมตร)



ภาพที่ 2 ข้าวเหนียวดำเปลือกขาวที่ผิดปกติเมื่อเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ a) เริ่มผิดปกติ b) ผิดปกติบางส่วน และ c) ผิดปกติทั้งกอข้าว (albino)

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวเหนียวดำหมอในอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้น TDZ แตกต่างกัน พบว่า เนื้อเยื่อข้าวเหนียวดำหมอมีการเจริญเติบโตของเอ็มบริโอที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ได้ผลดังตารางที่ 2 โดยน้ำหนักสดที่บันทึกได้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติแต่จำนวนยอด จำนวนราก และความสูงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 2 การเจริญเติบโตของข้าวเหนียวดำหมอในสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่างๆ ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

TDZ (มิลลิกรัม/ลิตร)	น้ำหนักกอข้าวสด (กรัม)	จำนวนยอด	จำนวนราก	ความสูงยอด (ซม.)
0	0.73 ± 0.55	1.85 ± 1.27 [b]	7.45 ± 3.20 [a]	16.03 ± 9.04 [a]
0.2	0.93 ± 0.41	9.07 ± 4.07 [a]	4.50 ± 4.86 [bc]	6.76 ± 5.34 [cb]
0.4	0.66 ± 0.34	12.38 ± 9.60 [a]	0.15 ± 0.38 [d]	7.56 ± 4.22 [d]
0.6	1.00 ± 0.56	13.75 ± 6.27 [a]	2.50 ± 2.68 [cd]	9.95 ± 4.93 [cd]
0.8	0.72 ± 0.60	14.24 ± 11.84[a]	4.94 ± 3.86 [b]	7.63 ± 5.67 [b]
1.0	0.66 ± 0.49	14.33 ± 8.2 8 [a]	1.40 ± 1.99 [d]	8.87 ± 3.92 [d]
F-test	ns	*	*	*

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)

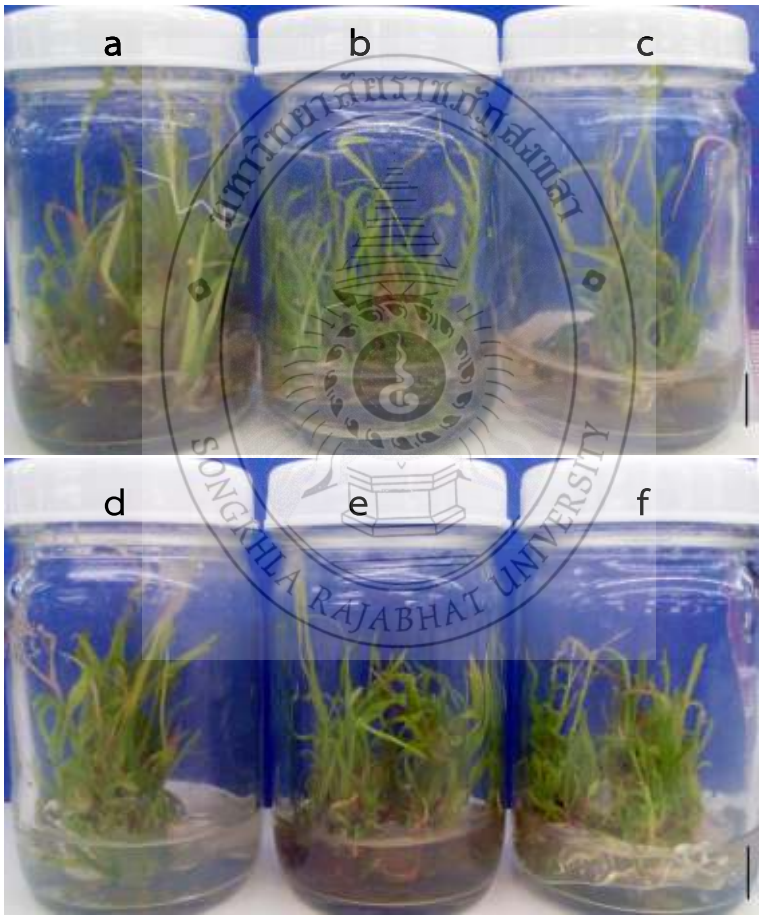
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT

การเติม TDZ ในอาหารสูตร MS ส่งผลต่อการเกิดยอดใหม่ของข้าวเหนียวดำหมออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) แต่ความเข้มข้นของ TDZ ไม่มีผลโดยตรงต่อการเกิดยอดใหม่ของข้าว แต่ส่งผลต่อการเกิดยอดเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของ TDZ ที่เพิ่มขึ้น เมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวเหนียวดำหมอในสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติม TDZ เกิดราก (7.45 ราก) ได้ดีกว่าการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ทุกความเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนความสูงของยอดข้าวจะมีค่ามากเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม TDZ (16.03 เซนติเมตร) ผลการเจริญเติบโตของข้าวเหนียวดำหมอจะคล้ายคลึงกับข้าวเหนียวดำเปลือกขาวที่ตอบสนองต่อ TDZ ดังนั้น สูตรที่ชักนำยอดมากที่สุด คือ MS ที่เติม TDZ แต่ความเข้มข้น TDZ ที่เหมาะสมไม่ชัดเจนเท่ากับการเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวเหนียวดำเปลือกขาว ผลของ TDZ ต่อลักษณะข้อมูลที่บันทึกได้มีความคล้ายคลึงกับข้าวเหนียวดำเปลือกขาว กล่าวคือ TDZ กระตุ้นทำให้เนื้อเยื่อข้าวดำหมอมีพัฒนาของยอดได้มากขึ้น โดยเปลี่ยนให้เอ็มบริโอข้าวพัฒนาจากการเกิดเป็นกอข้าวตามปกติในสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติม TDZ ซึ่งจะเกิดการพัฒนาของระบบราก และเกิดการยืดยาวของใบ ทำให้ต้นข้าวสูง กลายเป็นกอข้าวที่มียอดข้าวกระจุกเพิ่มจำนวนมากขึ้น ระบบรากมีการพัฒนาที่น้อยลงจนไม่เกิดในบางชุดการทดลอง เพราะการเกิดยอดใหม่จำนวนมากและใบเล็ก ทำให้ความสูงของต้นข้าวลดลง ดังนั้นสูตรอาหารที่ชักนำการเกิดยอดใหม่ได้ดี จึงทำให้เนื้อเยื่อมีจำนวนยอดสูง การเกิดรากและความสูงต่ำ แต่ไม่ส่งผลให้น้ำหนักของเนื้อเยื่อข้าว

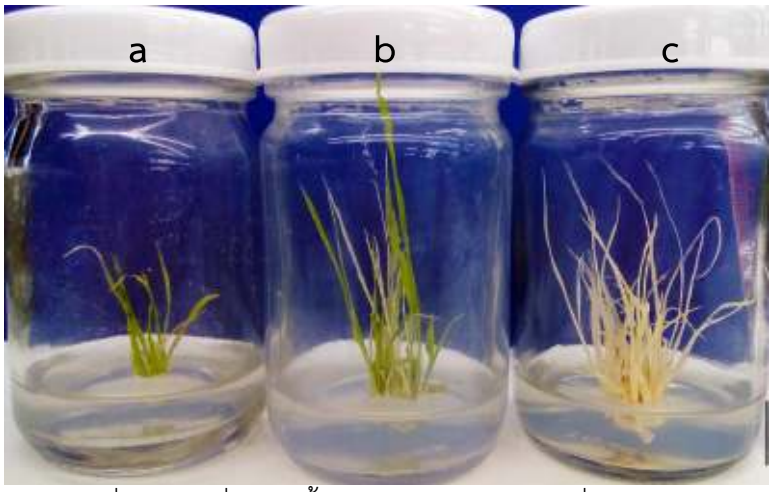
เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของ TDZ ต่อการพัฒนาเนื้อเยื่อข้าวเหนียวดำหมอ พบว่า ความเข้มข้น TDZ ที่แตกต่างกันมีผลต่อการตอบสนองที่แตกต่างกันน้อยเมื่อเทียบกับข้าวเหนียวดำเปลือกขาว แต่จากภาพที่ 2 ลักษณะเนื้อเยื่อมีความผิดปกติและตายมากกว่าเมื่อเลี้ยงใน TDZ ความเข้มข้นสูง ต้นข้าวที่ได้เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรที่เติม TDZ ความเข้มข้นแตกต่าง พบว่า มีลักษณะของต้นข้าวที่ผิดปกติเกิดขึ้น ปรากฏลักษณะใบซีดจนด่าง

ในบางใบ บางยอดหรือบางกอข้าวในบางชุดการทดลอง โดยจะปรากฏมากในอาหารสูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นสูง (0.8, 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) (ภาพที่ 3) นอกจากนี้ยอดข้าวที่เลี้ยงใน TDZ ความเข้มข้นสูงจะปรากฏใบผิดปกติและตายในที่สุดในสัดส่วนที่สูงเมื่อเทียบกับสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะผิดปกติเนื้อเยื่อข้าวที่ปรากฏได้หลายลักษณะทั้งใบที่ม้วน หงิกงอ เกิดใบบางเพียงส่วนของกอข้าวจนกระทั่งเป็นใบด่างทั้งหมดในกอข้าว (albino) (ภาพที่ 4) ส่วนสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติม TDZ เอ็มบริโอสามารถเจริญเติบโตได้ปกติเกิดกอข้าว กาบใบแข็งแรง แต่อัตราการแตกยอดใหม่น้อยเมื่อเทียบกับสูตรอาหารที่เติม TDZ จึงเป็นสูตรอาหารที่เหมาะแก่การเลี้ยงยอดข้าวให้เป็นต้นที่สมบูรณ์ ไม่ใช้ชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากเช่นเดียวกับข้าวเหนียวดำเปลือกขาว

ซึ่งลักษณะใบด่างทั้งหมดในกอข้าว (albino) สอดคล้องกับ Tsukahara และคณะ (1996) ที่พบว่า ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดเนื้อเยื่อข้าวที่มีลักษณะด่างและเนื้อเยื่อข้าวด่างสามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นข้าวด่างทั้งกอได้



ภาพที่ 3 ข้าวเหนียวดำหมอที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (a-f ตามลำดับ) ระยะเวลา 8 สัปดาห์(บาร์เท่ากับ 1 เซนติเมตร)



ภาพที่ 4 ข้าวเหนียวดำหมอที่ผิดปกติเมื่อย้ายเลี้ยงจากสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 8 สัปดาห์ a) เริ่มผิดปกติ b) ผิดปกติบางส่วน และ c) ผิดปกติทั้งกอข้าว (albino)

การชักนำให้เกิดแคลลัส

เมื่อชักนำแคลลัสจากเมล็ดข้าวเหนียวดำหมอและเปลือกขาวด้วยอาหารสูตร MS ที่เติมร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ (0-3 มิลลิกรัมต่อลิตร) เลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ เนื้อเยื่อเกิดการสร้างแคลลัสและอวัยวะต่างๆ ได้ผลดังตารางที่ 3

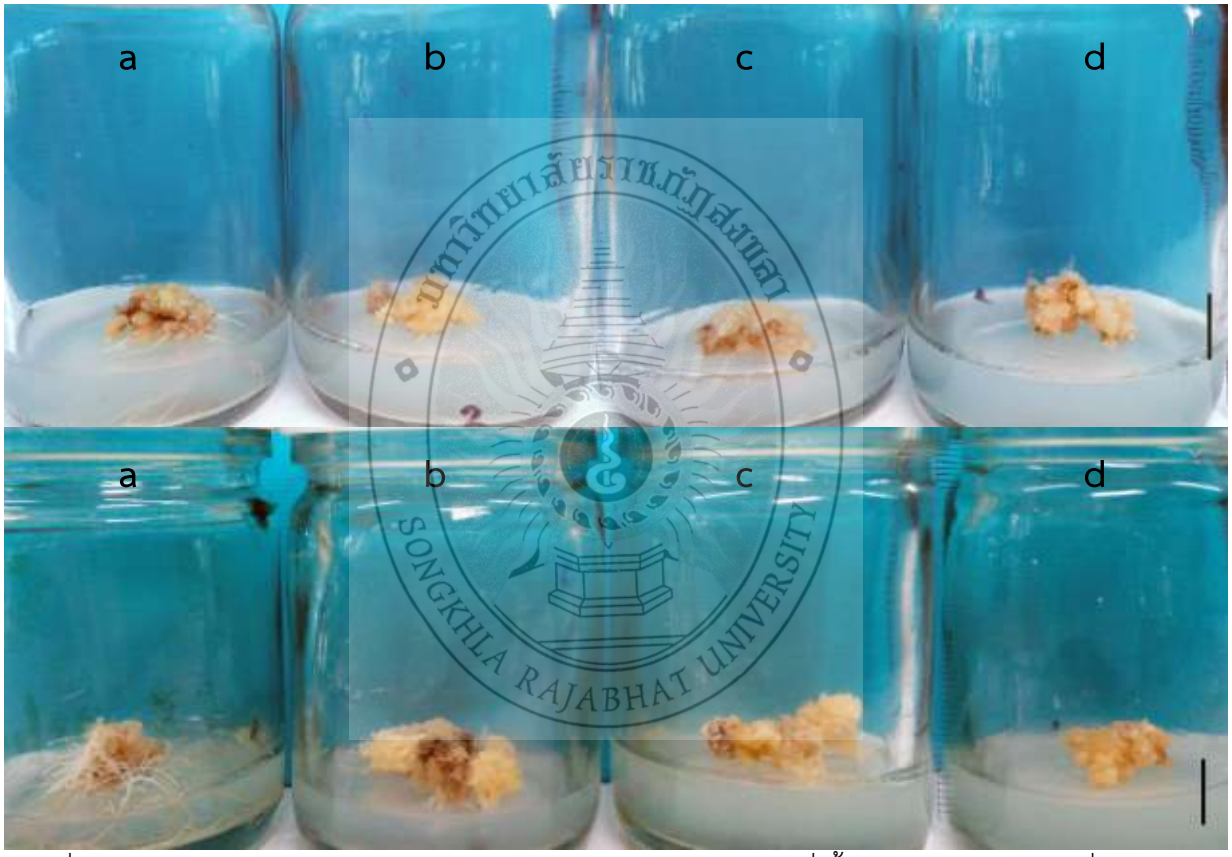
ตารางที่ 3 การเจริญเติบโตของแคลลัสข้าวเหนียวดำเปลือกขาวและดำหมอที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ ระยะเวลา 8 สัปดาห์

สายพันธุ์	2,4-D (มิลลิกรัม/ลิตร)	น้ำหนักสด แคลลัส	% การเกิดอวัยวะ	
			ราก	ต้นอ่อน
เปลือกขาว	0	1.55 ± 1.36	32.2	12.5
	1	2.11 ± 0.98	22.4	8.7
	2	2.02 ± 0.79	12.3	4.1
	3	1.89 ± 1.08	15.0	0.0
ดำหมอ	0	1.43 ± 0.83	43.3	15.3
	1	1.98 ± 1.03	23.7	7.5
	2	1.75 ± 0.73	18.1	5.0
	3	1.69 ± 1.17	12.0	0.0
F-test		ns	-	-

หมายเหตุ ns: ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05
- ไม่มีการทดสอบความแตกต่างทางสถิติ

การเกิดแคลลัสและอวัยวะใหม่ ได้แก่ รากและยอดของข้าวเหนียวดำหมอและเปลือกขาวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสายพันธุ์และความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เติมในอาหารสูตร MS แต่เมื่อพิจารณาจากค่าเฉลี่ยและลักษณะภายนอกของเนื้อเยื่อแคลลัส พบว่า สูตรอาหารที่เติม 2,4-D มีแนวโน้มชักนำการเกิดแคลลัสได้ดีกว่าสูตรที่ไม่เติม 2,4-D สอดคล้องกับผลของ 2,4-D ในการชักนำแคลลัสของข้าวหลายชนิด ตัวอย่างเช่นข้าวของปากีสถานสายพันธุ์ GNY-53, Basmati-370 และ JP-5. (Zahid H., 2010) Super

Basmati, Basmati-371 Fakhre Malakand (Tariq M., 2008) ข้าวของอินเดียสายพันธุ์ Sita, Rupali และ Swarna Masuri (Gouranga U., 2015) ข้าวของอินโดนิเซีย เช่น Fatmawati, Gilirang, Ciapus, Cimelati, IR-64 และ BP-23 เป็นต้น (Carsono N. and T. Yoshida, 2006) แคลลัสข้าวเหนียวดำหมอและเปลือกขาวที่ชักนำได้มีหลายลักษณะตั้งแต่ขาวใสจนน้ำตาลเข้ม ส่วนลักษณะแคลลัสที่สามารถชักนำให้เกิดรากและยอดได้ดีมีลักษณะเนื้อแน่น (compact callus) สีน้ำตาลอ่อนอมเหลือง แคลลัสสร้างรากได้ดีในอาหารที่ไม่เติม 2,4-D (ข้าวเหนียวดำหมอ 43% และเปลือกขาว 32%) เช่นเดียวกับยอดข้าวเหนียวดำหมอ (15 %) ความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสข้าวทั้งสองสายพันธุ์ เท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อความเข้มข้นของ 2,4-D เพิ่มมากขึ้น น้ำหนักสดของแคลลัสมีแนวโน้มลดลงเช่นเดียวกับเปอร์เซ็นต์การเกิดรากและยอดใหม่ ดังนั้น การตอบสนองของการชักนำแคลลัสและอวัยวะใหม่ของข้าวทั้งสองสายพันธุ์ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



ภาพที่ 5 แคลลัสข้าวเหนียวเปลือกขาว (แถวบน) และดำหมอ (แถวล่าง) ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (a-d ตามลำดับ) ระยะเวลา 8 สัปดาห์ (บาร์เท่ากับ 1 เซนติเมตร)

การชักนำยอดที่มีคุณสมบัติทนแล้งด้วยสาร PEG

การชักนำแคลลัสด้วยสูตรอาหารเติม MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดต่ำ จึงทำการชักนำยอดโดยตรงจากคัพภะแล้วนำยอดรวมที่เกิดขึ้นมาชักนำให้เกิดยอดใหม่ในสภาพแวดล้อมที่ขาดน้ำในขวดทดลอง เพื่อให้ยอดที่ทนต่อการขาดน้ำ โดยการชักนำยอดของข้าวเหนียวดำหมอและเปลือกขาวในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่างๆ (0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ก่อน แล้วย้ายเลี้ยงลงในสูตรอาหาร MS + TDZ ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับสาร PEG ความเข้มข้นต่างๆ (0-10 %) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แล้วบันทึกข้อมูลลักษณะกายภาพ ได้แก่ ความสูงของยอด ราก จำนวนยอดใหม่ที่ปกติและตายหรือผิดปกติ ได้ผลดังตารางที่ 4 และ 5

ตารางที่ 4 ผลของ PEG ความเข้มข้นต่างๆในอาหารสูตร MS + TDZ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ต่อข้าวเหนียวดำเปลือกขาวที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ PEG (%)	ความสูง (ซม.)	จำนวนยอด			ราก
		ปกติ	ผิดปกติ/ตาย	รวม	
0	15.58± 4.29	8.75 ± 4.78 [a]	5.08 ± 2.84	13.83 ± 5.98 [a]	16.16 ± 8.69
2.5	15.50 ± 4.60	5.33 ± 2.14 [b]	4.75 ± 2.49	10.08 ± 4.23 [abc]	14.83 ± 8.57
5.0	14.83 ± 3.06	6.75 ± 2.56 [ab]	6.33 ± 4.00	13.08 ± 6.09 [ab]	13.16 ± 3.80
7.5	14.41 ± 3.96	3.83 ± 3.04 [bc]	5.08 ± 3.72	8.91 ± 5.61 [bc]	11.58 ± 5.21
10.0	14.83 ± 5.20	5.00 ± 2.37 [c]	3.41 ± 1.31	8.41 ± 3.23 [c]	13.08 ± 5.19
รวม	15.03 ± 4.16	5.93 ± 3.46	4.93 ± 3.07	10.86 ± 5.44	13.76 ± 6.57
F-test	ns	*	ns	*	ns
C.V. (%)	27.6	58.3	62.2	50.1	47.7

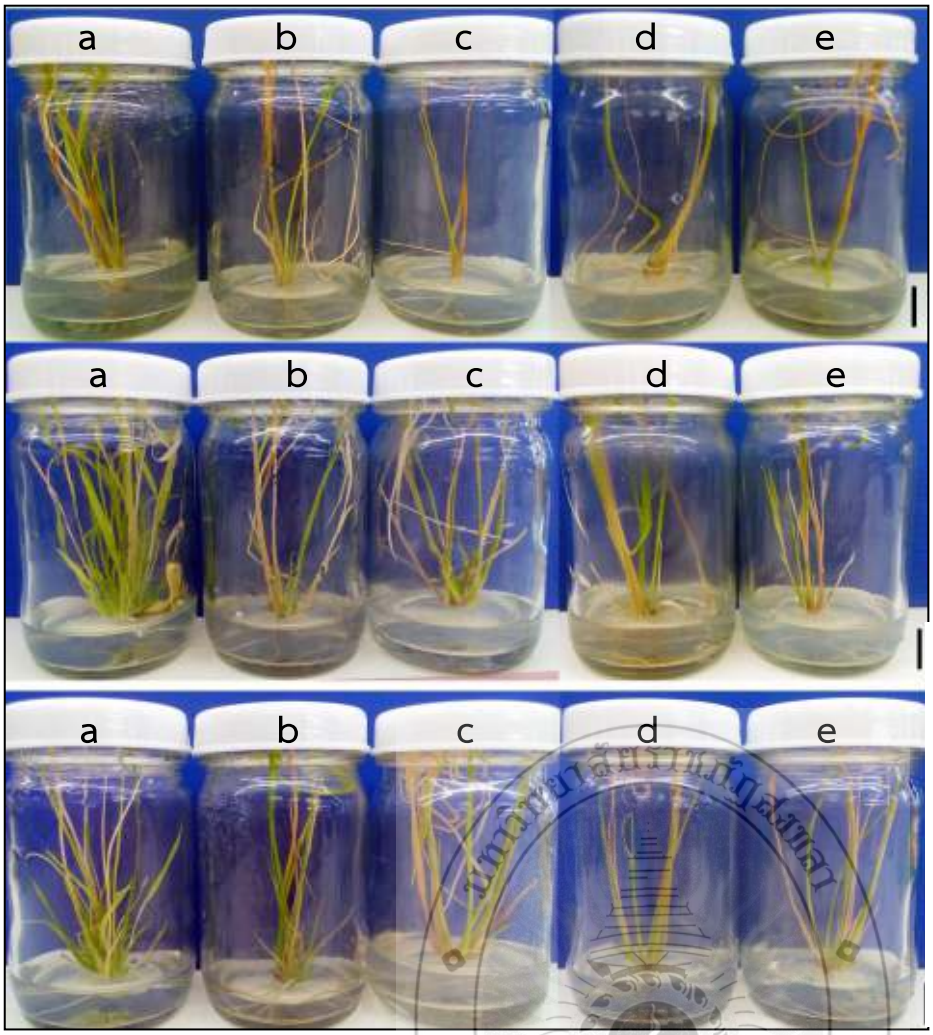
หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)
* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT

จากการศึกษาความเข้มข้นของ PEG ต่อการเจริญเติบโตของข้าวเหนียวดำเปลือกขาว (ตารางที่ 4) พบว่า PEG ไม่มีผลต่อความสูงของยอดรวมของข้าวเหนียวดำเปลือกขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ความสูงของยอดข้าวมีค่าประมาณ 14-15 เซนติเมตรในทุกชุดการทดลอง แต่ส่งผลต่อจำนวนยอดรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% โดยจำนวนยอดที่เลี้ยงในอาหารที่เติม PEG น้อยกว่า 5% ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PEG มากกว่า 5% จำนวนยอดรวมมีค่าลดลงเรื่อยๆ อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อพิจารณายอดข้าวที่เกิดใหม่เจริญเติบโตปกติเทียบกับจำนวนที่ผิดปกติหรือตายในความเข้มข้นของ PEG ที่แตกต่างกัน พบว่า จำนวนเฉลี่ยยอดข้าวที่ปกติในแต่ละความเข้มข้นของ PEG มีความแตกต่างกันทางสถิติแต่จำนวนยอดข้าวที่ผิดปกติหรือตายไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยเมื่อความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นจะทำให้จำนวนยอดข้าวที่เจริญปกติมีแนวโน้มลดลง โดยเฉพาะเมื่อความเข้มข้น PEG มากกว่า 7.5% แสดงว่า ความเข้มข้นของ PEG ที่มากกว่าขึ้น ยับยั้งการเกิดยอดใหม่ของข้าวที่เจริญเติบโตปกติ แต่ไม่ได้ส่งผลต่อยอดข้าวที่เจริญเติบโตแล้วตายภายหลัง อัตราการเกิดยอดที่ปกติมีค่าประมาณ 42-63% เช่นเดียวกับงานวิจัยทดสอบข้าวสายพันธุ์ PR113 เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม PEG 6000 ความเข้มข้นต่างๆ กัน พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PEG ใน

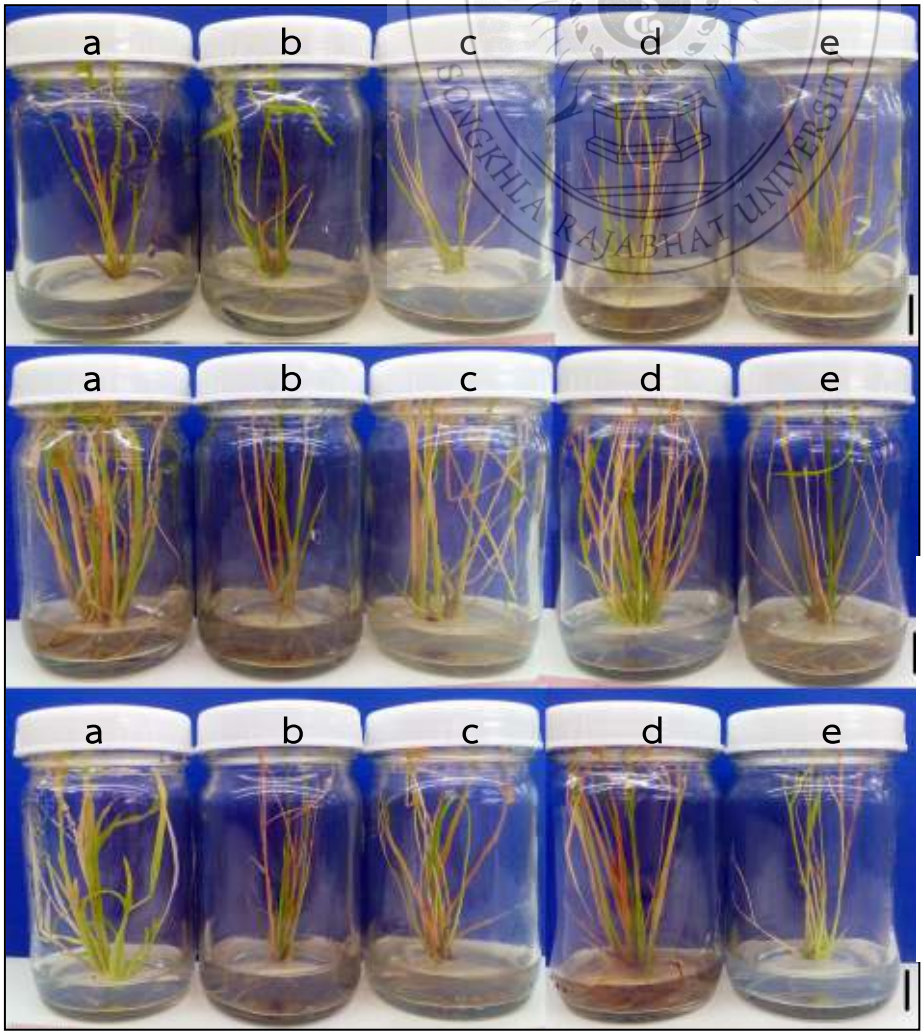
อาหารสูงขึ้น ส่งผลต่อความสูงของต้นข้าว จำนวนใบ น้ำหนักยอดให้มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Dipti Verma และคณะ, 2013) หรือ งานวิจัยทดสอบข้าวสายพันธุ์ PAU 201 and PR 116 ด้วย PEG 6000 ความเข้มข้น 0-2 % ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดต้นใหม่ลดจาก 54.67 เหลือ 8.28 (Shabir H. Wani และคณะ, 2010)

เมื่อพิจารณาลักษณะภายนอกของข้าวเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วย้ายเลี้ยงในสูตรอาหาร MS + TDZ ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาวะที่เติม PEG (ภาพที่ 6 และ 7) พบว่า การเติม PEG ทำให้ต้นข้าวมีความสมบูรณ์ลดลง การเกิดยอดข้าวใหม่มีจำนวนลดลง ยอดใหม่ที่เกิดขึ้นมีขนาดความสูงและความเส้นผ่าศูนย์กลางลดลง ความกว้างของใบลดลง ใบปรากฏลักษณะผิดปกติมากขึ้น ใบเหลือง ปลายใบเหี่ยวหรือมีการบิดงอ หักและตายในที่สุด อาการดังกล่าวปรากฏในทุดชุดการทดลอง ที่ย้ายเนื้อเยื่อข้าวมาจากสูตรอาหารที่เติม TD ทุกความเข้มข้น แล้วเลี้ยงในอาหารที่เติม PEG โดยผลกระทบของ PEG จะปรากฏชัดในยอดข้าวที่เลี้ยงมาจากสูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นสูง (1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) แล้วเลี้ยงใน PEG ความเข้มข้นสูง (10%) แต่ชุดที่เกิดการพัฒนากลุ่มยอดข้าวน้อยที่สุด คือ ยอดข้าวที่ย้ายเลี้ยงจากสูตรอาหารที่ไม่ได้เติม TDZ ลงเลี้ยงใน PEG ความเข้มข้น 10% เนื่องจากของ TDZ ช่วยในการกระตุ้นให้เกิดการสร้างยอดใหม่และได้รับความเครียดจากสภาพการขาดน้ำด้วยความเข้มข้นที่สูงของ PEG ในสภาวะที่เติม PEG ความเข้มข้นสูงยอดข้าวที่เกิดจะมีอายุสั้นมากกว่าชุดที่เติม PEG ความเข้มข้นต่ำหรือไม่มี สังเกตได้จากจำนวนยอดที่เหลืองตายในขวด และความเข้มข้นที่สูงของ PEG ก็ยับยั้งการเกิดยอดใหม่ของข้าว จึงปรากฏยอดข้าวที่เหลืองตายมากว่ายอดข้าวอ่อน สีเขียวภายในสูตรอาหารที่มี PEG ความเข้มข้นสูง

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY



ภาพที่ 6 ข้าวเหนียวดำเปลือกขาวที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ PEG ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10% (a-e ตามลำดับ) ที่ย้ายมาจากสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 0, 0.2 และ 0.4 มิลลิกรัม/ลิตร (แถวที่ 1-3) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (บาร์เท่ากับ 1 เซนติเมตร)



ภาพที่ 7 ข้าวเหนียวดำเปลือกขาวที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ PEG ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10% (a-e ตามลำดับ) ที่ย้ายมาจากสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 0.6 ,0.8 และ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร (แถวที่ 1-3) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (บาร์เท่ากับ 1 เซนติเมตร)

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

เมื่อพิจารณาการชักนำแคลลัสของข้าวเหนียวดำหมอให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับข้าวเหนียวดำเปลือกขาว จึงทำการชักนำยอดโดยตรงจากคัพภะแล้วนำยอดรวมที่เกิดขึ้นมาชักนำให้เกิดยอดใหม่ในสภาพแวดล้อมที่ขาดน้ำภายในขวดทดลอง เพื่อให้ยอดที่ทนต่อสภาพขาดน้ำในหลอดทดลอง โดยเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่างๆ (0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ก่อนแล้วนำยอดที่ได้มาเลี้ยงในสูตรอาหาร MS + TDZ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสาร PEG ความเข้มข้นต่างๆ (0-10 %) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แล้วบันทึกข้อมูลลักษณะกายภาพ ได้แก่ ความสูงของยอด ราก จำนวนยอดใหม่ที่ปกติและตายหรือผิดปกติ ได้ผลดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลของ PEG ความเข้มข้นต่างๆในอาหารสูตร MS + TDZ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ต่อข้าวเหนียวดำหมอที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ PEG (%)	ความสูง (ซม.)	จำนวนยอด			จำนวนราก
		ปกติ	ผิดปกติ/ตาย	รวม	
0	20.50 ± 4.44 [a]	3.00 ± 1.75	6.83 ± 5.45	9.91 ± 4.94	12.41 ± 4.14
2.5	19.58 ± 3.60 [ab]	2.33 ± 1.66	5.66 ± 1.72	7.91 ± 2.99	11.16 ± 4.89
5.0	17.25 ± 1.91 [bc]	3.25 ± 1.60	6.16 ± 2.28	9.41 ± 2.57	8.91 ± 3.72
7.5	16.16 ± 3.38 [c]	3.00 ± 2.04	6.50 ± 2.23	9.37 ± 3.08	9.75 ± 4.35
10.0	17.00 ± 1.75 [bc]	2.66 ± 2.22	7.75 ± 2.63	10.50 ± 3.26	10.58 ± 2.10
รวม	18.10 ± 3.50	2.85 ± 1.83	6.58 ± 3.13	9.43 ± 3.46	10.56 ± 4.01
F-test	*	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)
* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT

จากการศึกษาความเข้มข้นของ PEG ต่อการเจริญเติบโตของข้าวเหนียวดำหมอ (ตารางที่ 5) พบว่าความสูงของยอดรวมตอบสนองต่อความเข้มข้นของ PEG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแตกต่างจากข้าวเหนียวดำเปลือกขาว ความสูงของยอดข้าวดำหมอโดยเฉลี่ย (18 เซนติเมตร) มีค่ามากกว่าข้าวเหนียวดำเปลือกขาว ความเข้มข้น PEG ที่สูงขึ้นยับยั้งความสูงของยอดข้าวเหนียวดำหมอ โดย PEG ความเข้มข้นมากกว่า 5% จะให้ความสูงยอดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อพิจารณาจำนวนรากและยอด พบว่า ความเข้มข้นของ PEG ไม่ส่งผลต่อจำนวนยอดและรากที่ชักนำได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแตกต่างจากข้าวเหนียวดำเปลือกขาว และเมื่อพิจารณาลักษณะยอดอย่างละเอียด พบว่าจำนวนยอดที่ปกติ ผิดปกติและตายในแต่ละความเข้มข้นของ PEG ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยจำนวนรากมีค่า 10 รากต่อขวด และยอด 9.4 ยอดต่อขวด และมีเปอร์เซ็นต์ยอดปกติประมาณ 25-35%

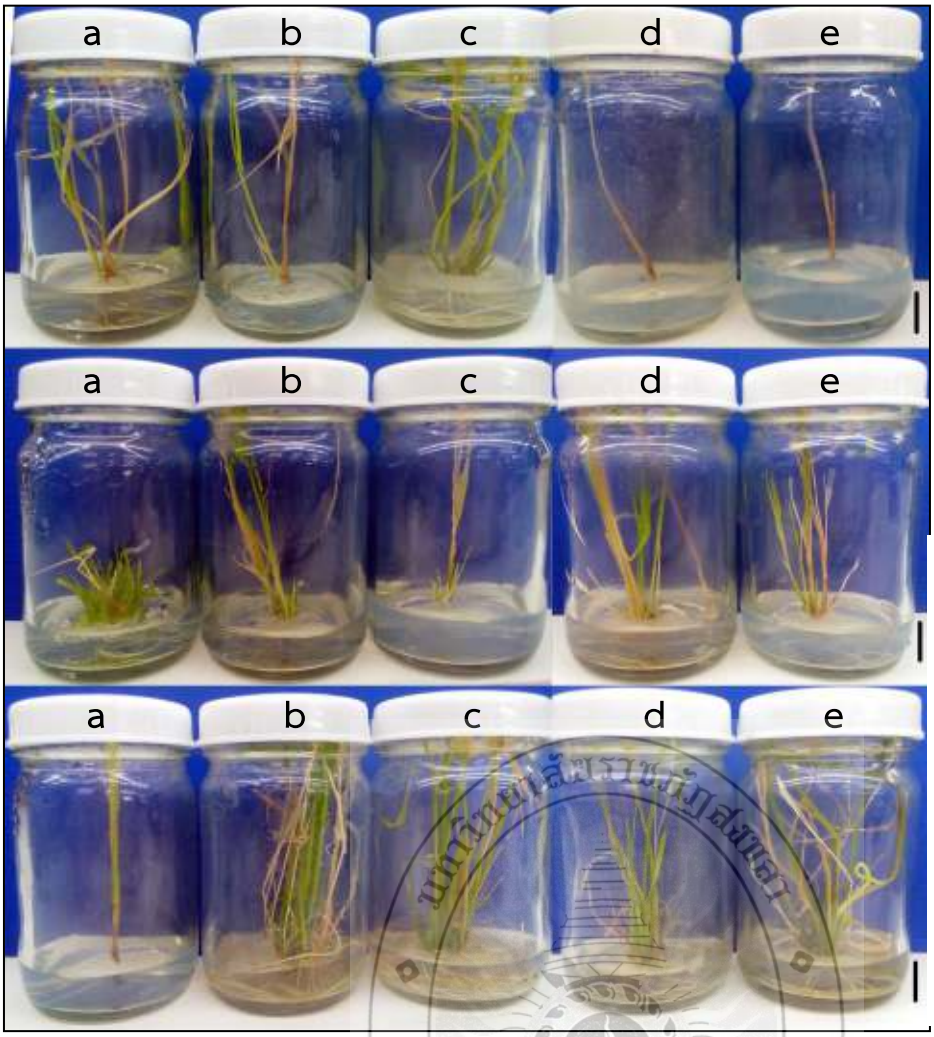
เมื่อพิจารณาลักษณะภายนอกของข้าวที่ย้ายเลี้ยงจากอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่างๆ มาเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ PEG ความเข้มข้นต่างๆ (ภาพที่ 8 และ 9) พบว่า การเติม PEG ทำให้ยอดใหม่ที่เกิดขึ้นมีขนาดความสูงและความเส้นผ่าศูนย์กลางลดลง ปรากฏว่า กาบใบมีอายุสั้น ลักษณะสีเหลือง ปลายใบเหี่ยวหรือมีการบิดงอ หักและตายในที่สุด แต่จะมีปรากฏน้อยกว่าข้าวเหนียวดำเปลือกขาว อาการดังกล่าวปรากฏในทุดชุดการทดลองที่เติม PEG ร่วมกับ TDZ ทุกความเข้มข้น โดยผลกระทบของ PEG จะปรากฏชัดในยอดข้าวที่ย้ายเลี้ยงจากสูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นสูงลงสูตรอาหารที่เติม PEG ความเข้มข้นสูงๆ (10 %) แต่ชุดที่เกิดการพัฒนากลุ่มยอดข้าวน้อยที่สุด คือ ยอดข้าวที่

ย้ายเลี้ยงจากสูตรอาหารที่ไม่เติม TDZ ลงเลี้ยงในสูตรอาหารที่เติม PEG ความเข้มข้น 10 % เนื่องจากไม่ได้ผลของ TDZ ต่อชักนำการสร้างยอดใหม่และได้รับความเครียดจากสภาพการขาดน้ำด้วยความเข้มข้นที่สูงของ PEG ในสภาวะที่เติม PEG ความเข้มข้นสูง ยอดข้าวไม่มีการสร้างยอดใหม่และยอดเดิมในหลายขวดได้ตายในที่สุด

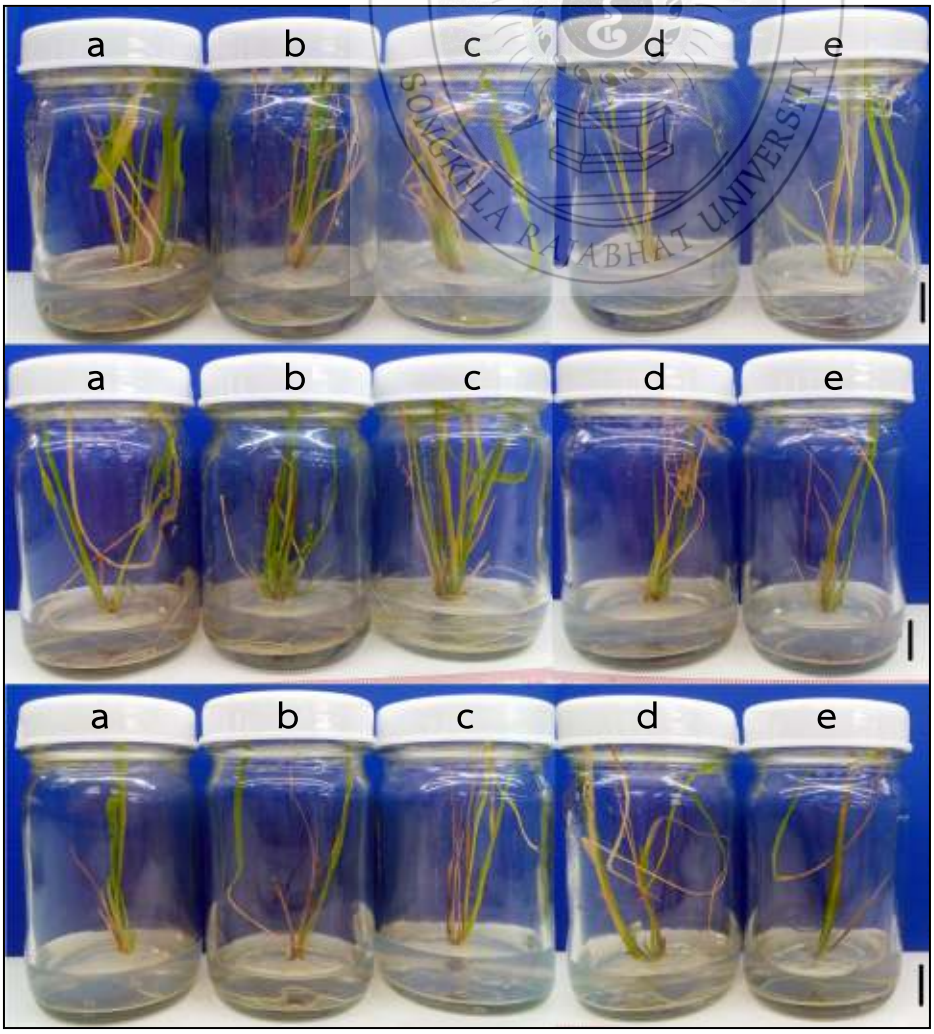
เมื่อพิจารณาการตอบสนองของข้าวเหนียวดำเปลือกขาวและดำหมอต่อสภาพความเครียดที่เกิดจากสาร PEG ความเข้มข้นต่างๆ กัน พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติในตัวแปรที่บันทึก ได้แก่ ความสูงของยอด จำนวนยอด จำนวนราก สัดส่วนของยอดปกติและยอดที่ผิดปกติที่ตาย ข้าวเหนียวดำเปลือกขาวมีความไวต่อสภาพความแล้งมากกว่าข้าวเหนียวดำหมอทำให้ตอบสนองต่อความเข้มข้นของ PEG มากกว่า ทำให้สัดส่วนการแตกกอหรือยอดใหม่และยอดที่ตายสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ PEG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ความเข้มข้นของ PEG ไม่ส่งผลต่อสัดส่วนการแตกยอดใหม่ต่อยอดที่ตายของข้าวเหนียวดำ แต่ตอบสนองต่อข้าวโดยการลดขนาดความสูงของข้าว ดังนั้น ข้าวทั้งสองสายพันธุ์มีการปรับตัวต่อสภาพความเครียดจากการขาดน้ำในหลอดทดลองที่แตกต่างกัน กล่าวคือ ข้าวเหนียวดำเปลือกขาวปรับสภาพลดอัตราการเกิดยอดใหม่แต่รักษาสภาพของยอดที่เกิดใกล้เคียงกัน ขณะที่ข้าวเหนียวดำหมอปรับสภาพยอดให้มีขนาดเล็กลงแต่ไม่ได้ลดอัตราการเกิดยอดใหม่หรือสัดส่วนการตายของยอด

สายพันธุ์ของข้าวและความเข้มข้นของ PEG จึงเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการตอบสนองการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อข้าวในหลอดทดลอง ดังเช่น ผลของ PEG ส่งผลต่อการตอบสนองของข้าวที่แตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ของข้าว 5 สายพันธุ์ ได้แก่ Binadhan-4, Binadhan-5, Binadhan-6, Binadhan-10 และ Iratom-24 ภายใต้สภาวะการขาดน้ำในหลอดทดลองด้วย PEG ความเข้มข้น 1-4% พบว่า Binadhan-10 สามารถบันทึกเจริญเติบโตได้ดีที่ PEG ความเข้มข้น 4% ขณะที่ข้าวส่วนใหญ่เจริญเติบโตได้ดีเมื่อเติม PEG ความเข้มข้น 1% ดังนั้น ข้าวสายพันธุ์ Binadhan-10 จึงตอบสนองต่อสภาพขาดน้ำได้ดีในหลอดทดลองซึ่งสอดคล้องกับธรรมชาติของข้าวชนิดนี้ และความเข้มข้น PEG ที่เพิ่มมากขึ้นส่งต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อข้าวในหลอดทดลองทำให้ค่าที่บันทึกได้ (น้ำหนักสด ความยาวยอด ความยาวราก) มีความแตกต่างกันในทุกสายพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Akte J. และคณะ, 2016) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาข้าวในสูตรอาหารที่เติม PEG ความเข้มข้นเท่ากัน พบว่ามีความสัมพันธ์ของสายพันธุ์ข้าวต่อการตอบสนองต่อ PEG เช่นเดียวกับงานวิจัยข้าวสายพันธุ์ PAU 201 ทนต่อสภาวะขาดน้ำด้วย PEG ได้ดีกว่าสายพันธุ์ PR 116 (Shabir H. W. และคณะ, 2010)

เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้น TDZ ซึ่งเป็นไซโทไคนินชนิดหนึ่งกระตุ้นการเกิดยอดแล้ว พบว่า ข้าวทั้งสองสายพันธุ์ตอบสนองคล้ายคลึงกัน คือ ความเข้มข้นที่เหมาะสมสามารถกระตุ้นการเกิดยอดใหม่ได้ดีเมื่อเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่เติม TDZ โดยความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ความเข้มข้นที่มากขึ้นจะทำให้ข้าวเกิดการเจริญเติบโตผิดปกติ จนเป็นผลเสียต่อยอดข้าว และเมื่อย้ายเลี้ยงลง PEG ภายหลังจะส่งผลเสียต่อยอดข้าวเพิ่มขึ้น



ภาพที่ 8 ข้าวเหนียวดำหมอที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ PEG ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10% (a-e ตามลำดับ) ที่ย้ายมาจากสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 0, 0.2 และ 0.4 มิลลิกรัม/ลิตร (แถวที่ 1-3) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (บาร์เท่ากับ 1 เซนติเมตร)



ภาพที่ 9 ข้าวเหนียวดำหมอที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ PEG ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10% (a-e ตามลำดับ) ที่ย้ายมาจากสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร (แถวที่ 1-3) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (บาร์เท่ากับ 1 เซนติเมตร)

หลังจากเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวทั้งสองสายพันธุ์เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ในสูตรอาหารที่มีความเข้มข้น PEG ต่างๆ กัน แล้วทำการย้ายยอดข้าวที่รอดชีวิต-อนุบาลลงในกระถางที่ควบคุมสภาพแวดล้อม เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ ได้ผลดังภาพที่ 10

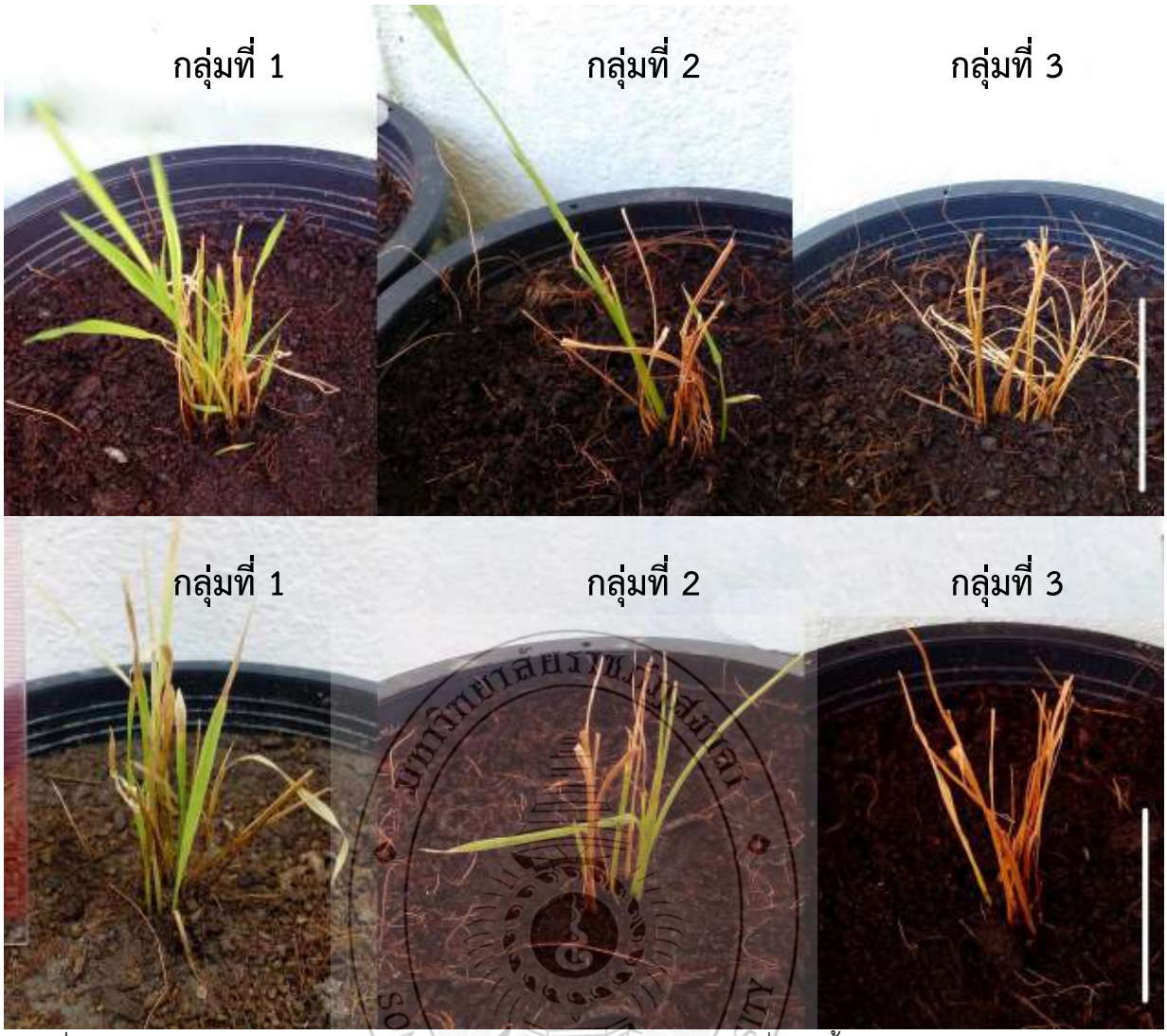
ต้นข้าวที่ได้ทั้งสองสายพันธุ์หลังอนุบาลเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ ปรากฏลักษณะภายนอกของต้นข้าวที่ได้แบ่งเป็น 3 กลุ่ม ซึ่งมีแนวโน้มสอดคล้องกับความเข้มข้นของ PEG ที่เลี้ยงในขวดทดลอง กล่าวคือ

กลุ่มแรก ยอดข้าวที่ได้จากขวดไม่มีการเจริญเติบโต ทยอยแห้งตายจนหมด ไม่มีการเกิดยอดใหม่ แม้ว่าจะมีการให้ความชื้นเพิ่มเติมจากละอองน้ำ ซึ่งจะพบในต้นข้าวที่ได้จากสูตรอาหารที่เติม PEG ความเข้มข้นค่อนข้างสูง (7.5-10%) จากการทดลองไม่มีต้นข้าวในกระถางที่เหลือรอดทั้งสองสายพันธุ์

กลุ่มที่สอง ยอดข้าวส่วนใหญ่มีการเจริญเติบโตช้ามาก มีการเหี่ยวตายเมื่ออนุบาลระยะเวลานานขึ้น จะเหลือยอดข้าวส่วนน้อยเท่านั้นที่ยังมีชีวิต แต่อัตราการเจริญเติบโตช้า แต่ไม่ตาย การแตกยอดใหม่น้อยมาก และง่ายต่อการตายในสภาพแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลง ต้นข้าวมีความอ่อนแอปรากฏได้ชัด ในข้าวเหนียวดำเปลือกขาวมีการเพิ่มความยาวใบเมื่อปรับสภาพได้ แต่ข้าวเหนียวดำหมอแตกก่อใหม่ได้เร็วกว่า แต่ไม่มีการยืดยาวของยอด พบในต้นข้าวที่เหลือรอดจากชุดการทดลองที่เติม PEG ความเข้มข้นค่อนต่ำ 2.5-5% ทั้งสองสายพันธุ์

กลุ่มที่สาม ยอดข้าวส่วนใหญ่มีการเจริญเติบโตปกติ มีการเกิดยอดใหม่ ยอดใหม่ที่ได้ปกติ แต่มีขนาดสอดคล้องกับกอข้าวเดิม ใบที่ได้ปกติ สีเขียวอ่อน มียอดตายซึ่งส่วนใหญ่เป็นยอดเดิมที่เกิดในขวดทดลอง ยอดใหม่แข็งแรง กอข้าวมีความแข็งแรงกว่าสองกลุ่มแรกข้างต้น กอข้าวที่ย้ายมาจากสูตรอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นสูงจะมีความแข็งแรงน้อยกว่าชุดที่เลี้ยงใน TDZ ความเข้มข้นต่ำๆ จะพบในต้นข้าวที่ได้จากชุดการทดลองที่ไม่เติม PEG ซึ่งเป็นชุดควบคุมในการทดลองนี้

จากการอนุบาลเลี้ยงต้นข้าวในกระถางทำให้ทราบว่า สูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการเลี้ยงร่วมกับสารที่ให้ความเครียดแก่ต้นข้าว (PEG) เพื่อให้ทนต่อการขาดน้ำในหลอดทดลอง ส่งผลต่อความแข็งแรงของต้นข้าวที่ได้จากหลอดทดลอง เพื่อการอนุบาลในกระถาง ซึ่งในการทดลองต้นข้าวมีความอ่อนแอสูงยากต่อการอนุบาลปรับสภาพแวดล้อม แม้แต่ในสภาวะปกติ กอปรกับอากาศทางภาคใต้ของประเทศไทยที่มีความผันแปรสูงในฤดูฝน (เดือนสิงหาคมถึงตุลาคม) ต้นข้าวที่ได้จึงปรากฏผลการทดลองที่ไม่ชัดต่อการทนแล้งในกระถาง เนื่องจากความชื้นในอากาศที่สูง ส่งผลต่อเชื้อจุลินทรีย์โรคตามธรรมชาติในบรรยากาศรวมทั้งข้าว แต่ผลที่ได้ประการหนึ่ง คือ สูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้เลี้ยงก่อนการปรับปรุงพันธุ์ส่งผลมากต่อโอกาสการปรับปรุงพันธุ์ได้สำเร็จและได้ต้นข้าวที่มีความแข็งแรงหรือไม่ ดังนั้น สภาพแวดล้อมของเนื้อเยื่อข้าวทั้งก่อนและหลังการปรับปรุงพันธุ์ข้าว ในและนอกหลอดทดลองล้วนมีความสำคัญต่อความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวทนแล้งในหลอดทดลอง



ภาพที่ 10 ต้นข้าวเหนียวดำเปลือกขาว (แถวบน) และดำหมอ (แถวล่าง) ที่ย้ายเลี้ยงลงกระถางเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ จากสูตรอาหารที่ไม่เติม (กลุ่มที่ 1), PEG 2.5-5.0% (กลุ่มที่ 2) และ 7.5-10% (กลุ่มที่ 3) (บาร์เท่ากับ 5 เซนติเมตร)

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

ข้าวเหนียวดำเปลือกขาวและดำหมอตอบสนองต่อการเกิดยอดใหม่ในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ดีที่สุด และชักนำแคลลัสจากเนื้อเยื่อข้าวด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำได้ดีที่สุด และเมื่อนำยอดไปเลี้ยงในสภาพขาดน้ำในหลอดทดลองด้วยอาหารสูตร MS + TDZ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติม PEG ความเข้มข้นต่ำกว่า 5% ให้จำนวนยอดและลักษณะยอดที่เกิดใหม่ที่มีความสามารถในการเจริญเติบโตได้ดีและยอดมีความผิดปกติน้อยลง ยอดข้าวที่เลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้นต่ำๆ (0.2-0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร) มาก่อน มีโอกาสเจริญเติบโตได้สูงกว่าในสูตรอาหารที่เติม PEG ความเข้มข้นเท่ากัน การตอบสนองของข้าวทั้งสองสายพันธุ์มีความแตกต่างกันเล็กน้อย โดยข้าวสายพันธุ์เปลือกขาวมีการตอบสนองต่อ PEG มากกว่าข้าวเหนียวดำหมอ เมื่อย้ายข้าวเลี้ยงในกระถาง เนื้อเยื่อข้าวมีความแข็งแรงต่ำทำให้กอข้าวปรับสภาพได้ไม่ดีเท่าทีควรโดยเฉพาะกอข้าวที่มาจาก PEG ความเข้มข้นสูง กอปรกับสภาพอากาศในขณะทดลอง เนื้อเยื่อข้าวทนต่อการขาดน้ำในหลอดทดลองได้ดีหรือไม่ขึ้นกับชนิดของข้าว สูตรอาหาร (ที่ใช้เลี้ยงก่อนและขณะทดสอบ) และPEG (ชนิดความเข้มข้นและระยะเวลาให้สาร) ส่วนการอนุบาลของข้าวผ่านการเหนียวนำได้ดีหรือไม่ขึ้นกับสภาพอากาศ ธรรมชาติและความแข็งแรงของเนื้อเยื่อที่ย้ายเลี้ยง

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาข้าวพื้นเมืองให้ทนต่อสภาพขาดน้ำในหลอดทดลองจึงควรศึกษาปัจจัยเพิ่มเติม ดังนี้

1) ปรับเปลี่ยนรูปแบบการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น อาหารเหลวและอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว
2) การใช้สาร PEG ขนาดอื่นๆ และความเข้มข้นต่างๆ กัน
3) ชักนำการเกิดต้นใหม่โดยทางอ้อม โดยการชักนำแคลลัสที่ทนต่อ PEG ก่อนชักนำให้เกิดต้น
4) ทดสอบกับข้าวพื้นเมืองสายพันธุ์อื่นๆ เพิ่มเติม

เอกสารอ้างอิง

กรมชลประทาน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2556. **แผนการบริหารจัดการน้ำและการเพาะปลูกพืชฤดูแล้ง ปี 2555/2556.** พัทลุง. โครงการชลประทานพัทลุง.

คมชัดลึก. 2558. **พัทลุง-กลุ่มแปรรูปผลิตภัณฑ์จากกล้วยเดือดร้อนหนัก หลังกล้วยขาดตลาดจากสภาพแห้งแล้ง** http://www.komchadluek.net/detail/20150318/203177.html. วันที่ 18 มีนาคม 2558. สืบค้นเมื่อ 30 มีนาคม 2558.

จักรกริช อนันตศรัณย์, สำเริง แซ่ตันและขวัญใจ คชภักดี. 2558. **ความผันแปรในลักษณะปรากฏและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของข้าวเหนียวดำมีสีพันธุ์พื้นบ้านสายพันธุ์ดีเด่นภาคใต้: ข้าวเหนียวดำช่อไม้ไผ่และข้าวเหนียวดำหมอ.** การประชุมใหญ่โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา ครั้งที่ 3. HERP congress III. 9-11 มีนาคม 2558. 133.

โชคชัย เอกทัศนาวรรณ สรรเสริญ จำปาทอง ชไมพร เอกทัศนาวรรณ นพพงศ์ จุลจอหอ ฉัตรพงศ์ บาลลาและราเชนทร์ ถิรพร. 2544. **ศักยภาพในการทนต่อสภาพแห้งแล้งของสายพันธุ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออับละอองเกสรข้าวโพดและลูกผสม.** การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39. กรุงเทพ.

ฝ่ายชุมชนและผู้ด้อยโอกาส สำนักพัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (HRD). 2555. **พัฒนาสายพันธุ์ข้าว... ลดวิกฤตแหล่งอาหารโลก.** สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.). http://nstda.or.th/rural/public/100%20articles-stkc/78.pdf. สืบค้นเมื่อ 3 เมษายน 2558.

สมพงศ์ หนูขวัญ. 2558. **ผู้ว่าราชการ จ.พัทลุง ปล่อยขบวนรถบรรทุกน้ำ ช่วยเหลือภัยแล้ง ตามโครงการกองบัญชาการกองทัพไทยร่วมใจช่วยภัยแล้ง.** http://pr.prd.go.th/ phatthalung/ ewt_news.php?nid=1151&filename=index 11 สำนักงานประชาสัมพันธ์จังหวัดพัทลุง. 11 มีนาคม 2558. สืบค้นเมื่อ 30 มีนาคม 2558.

รงรอง หอมหวล เรวัติ เลิศฤทัยโยธิน และชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล. 2552. **การพัฒนาวิธีการทดสอบอ้อยทนแล้งโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการนำไปใช้ ประโยชน์ในการคัดเลือกพันธุ์ลูก ผสมทนแล้ง.** http://rdi.ku.ac.th/kasetresearch53/group04/rungrong/template_ group04.html. สืบค้นเมื่อ 3 เมษายน 2558.

สำนักงานชลประทานที่ 16. 2552. http://irrigation.rid.go.th/rid1 6 / Construction_Project_1 / download/52/2.doc. สืบค้นเมื่อ 30 มีนาคม 2558.

สำนักงานสาขาชั่งตวงวัดเขต 4-3 ปราจีนบุรี. 2556. **ความรู้เรื่องข้าวพันธุ์พลายงาม.** https://prachinburicbwmthai43.wordpress.com/2013/02/ความรู้เรื่องข้าวพันธุ์. ศูนย์ราชการจังหวัดปราจีนบุรี. สืบค้นเมื่อ 3 เมษายน 2558.

Akte J., Yasmin S., Bhuiyan M.J.H., Khatun F., Roy J. and K. Goswami, 2016. ***In vitro* screening of rice genotypes using polyethylene glycol under drought stress**. *Progressive Agriculture* 27 (2): 128-135.

Carsono, N. and T. Yoshida, 2006. **Identification of Callus Induction Potential of 15 Indonesian Rice Genotypes.** *Plant Production Science* 9:1 65-70.

Dipti V., Mohammad W. A., Ganesh K. A., Randeep R., Alok S. and T. Narendra, 2013. ***In vitro* selection and field responses of somaclonal variant plants of rice cv. PR113 for drought tolerance**. *Plant Signaling & Behavior* 8 April 2013: 4.

Gouranga U., Moutushi S. and R. Amitava, 2015. ***In vitro* callus induction and plant regeneration of rice (Oryza sativa L.) var. 'Sita', 'Rupali' and 'Swarna Masuri'.** *Asian Journal of Plant Science & Research* 5: 24-27.

Hemaid I.A.S. and H. H. Mohamed, 2013. **Selection for Drought Tolerance Genotypes in Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Under *In vitro* Conditions.** *Middle-East Journal of Scientific Research* 14 (1): 69-78, 2013.

Narumol B., Anuntalabhochai S. and A. Jampeetong, 2013. **Morphological and Anatomical Assessment of KDML 105 (*Oryza sativa* L. spp. *indica*) and Its Mutants Induced by Low-Energy Ion Beam.** *Rice Science* 20(3): 213–219.

Marshall C., and G. B. Rossman, 2011. **Designing qualitative research**. 5th ed. Thousand Oaks, California: Sage Publications, Inc.

Phanchaisri B., Chandet R., Yu L. D., Vilaithong T., Jamjod S. and S. Anuntalabhochai, 2007. **Low-energy ion beam mutation in Thai jasmine rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML 105).** *Surface and Coatings Technology* 201: 8024–8028.

Shabir H. W., Parvez A. S., Satbir S. G. and B. S. Naorem, 2010. ***In vitro* screening of rice (*Oryza sativa* L.) callus for drought tolerance.** *Communications in Biometry and Crop Science* Vol. 5, No. 2: 108–115.

Tariq M., Gowher A., Fazal H., Shakeel A., Nasir A. and A. S. Aftab, 2008. **Callus Induction and *in vitro* Plant Regeneration of Rice (*Oryza sativa* L.) Under Various Conditions.** *Pakistan Journal of Biological Sciences* 11: 255-259.

Tsukahara M., Hirosawa T. and H. Murayama, 1996. **Effect of culture methods on the regeneration of albino rice (*Oryza sativa* L.) plantlets.** *Plant Cell Report* 15(8): 597-600.

Zahid H., Mohammad K., Raisa B., Hamid R. and C. Zubeda, 2010. **Protocol optimization for efficient callus induction and regeneration in three Pakistani rice cultivars.** *Pakistan Journal of Botany* 42: 879-887.

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ค่าความแปรปรวนของลักษณะการเจริญเติบโตของข้าวเหนียวดำเปลือกขาว

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
น้ำหนักสด	Between Groups	6.515	5	1.303	2.533	.033
	Within Groups	55.550	108	.514		
	Total	62.065	113			
ยอด	Between Groups	2464.541	5	492.908	6.743	.000
	Within Groups	7894.450	108	73.097		
	Total	10358.991	113			
ราก	Between Groups	1319.490	5	263.898	4.025	.002
	Within Groups	7080.764	108	65.563		
	Total	8400.254	113			
ความสูง	Between Groups	11401.400	5	2280.280	43.606	.000
	Within Groups	39690.079	759	52.293		
	Total	51091.479	764			

ตารางภาคผนวกที่ 2 ค่าความแปรปรวนของลักษณะการเจริญเติบโตของข้าวเหนียวดำหมอ

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
น้ำหนักสด	Between Groups	1.585	5	.317	1.221	.306
	Within Groups	23.102	89	.260		
	Total	24.686	94			
ยอด	Between Groups	2197.589	5	439.518	7.607	.000
	Within Groups	5141.948	89	57.775		
	Total	7339.537	94			
ราก	Between Groups	581.674	5	116.335	11.419	.000
	Within Groups	906.683	89	10.187		
	Total	1488.358	94			
ความสูง	Between Groups	2930.258	5	586.052	21.498	.000
	Within Groups	17910.294	657	27.261		
	Total	20840.553	662			

ตารางภาคผนวกที่ 3 ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักสดแคลลัสของข้าวเหนียวดำเปลือกขาวและดำหมอที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นต่างๆกัน

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.

เปลือกขาว	Between Groups	1.771	3	.590	2.309	.083
	Within Groups	20.456	80	.256		
	Total	22.227	83			
ดำหมอ	Between Groups	2.53	3	.843	2.210	.136
	Within Groups	32.423	85	.381		
	Total	34.953	88			

ตารางภาคผนวกที่ 4 ค่าความแปรปรวนของลักษณะการเจริญเติบโตยอดข้าวเหนียวดำเปลือกขาวที่เลี้ยงใน PEG ความเข้มข้นต่างกัน

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
ความสูง	Between Groups	11.767	4	2.942	.160	.958
	Within Groups	1010.167	245	18.367		
	Total	1021.933	249			
จำนวนยอดรวม	Between Groups	289.600	4	72.400	2.725	.038
	Within Groups	1461.333	245	26.570		
	Total	1750.933	249			
ยอดปกติ	Between Groups	170.900	4	42.725	4.361	.004
	Within Groups	538.833	245	9.797		
	Total	709.733	249			
ยอดผิดปกติ	Between Groups	52.067	4	13.017	1.416	.241
	Within Groups	505.667	245	9.194		
	Total	557.733	249			
ราก	Between Groups	149.900	4	37.475	.860	.494
	Within Groups	2396.833	245	43.579		
	Total	2546.733	249			

ตารางภาคผนวกที่ 5 ค่าความแปรปรวนของลักษณะการเจริญเติบโตยอดข้าวเหนียวดำหมอที่เลี้ยงใน PEG ความเข้มข้นต่างกัน

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.

ความสูง	Between Groups	163.567	4	40.892	4.017	.006
	Within Groups	559.833	255	10.179		
	Total	723.400	259			
จำนวนยอดรวม	Between Groups	44.067	4	11.017	.914	.462
	Within Groups	662.667	255	12.048		
	Total	706.733	259			
ยอดปกติ	Between Groups	6.067	4	1.517	.431	.786
	Within Groups	193.583	255	3.520		
	Total	199.650	259			
ยอดผิดปกติ	Between Groups	29.333	4	7.333	.734	.573
	Within Groups	549.250	255	9.986		
	Total	578.583	259			
ราก	Between Groups	86.067	4	21.517	1.372	.256
	Within Groups	862.667	255	15.685		
	Total	948.733	259			

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นายจักรกริช อนันตศรัณย์
   ชื่อ-นามสกุล(ภาษาอังกฤษ) Mr. Jackrit Anantasaran
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 9098 00651 80 9
3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ประจำโปรแกรม
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

โปรแกรมเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
โทรศัพท์ 074-336962 074-336853 โทรสาร 074-336964
e-mail: ajackrit@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2541 ปริญญาตรี วท. บ. (ชีววิทยา) (เกียรตินิยมอันดับ 1)
พ.ศ. 2550 ปริญญาเอก ปร. ด. (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ) (เกียรตินิยมอันดับ 1)
พ.ศ. 2550 นักธรรมโท

6. รางวัล/ ทุนการศึกษา

พ.ศ. 2535-2541 ได้รับทุนโครงการส่งเสริมการผลิตครูที่มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ ระดับมัธยมศึกษาตอนปลายและปริญญาตรี

พ.ศ. 2538 ได้รับรางวัลเรียนดีระดับมหาวิทยาลัย สาขาชีววิทยา จากสมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย

พ.ศ. 2541 ได้รับรางวัลเกรดเฉลี่ยสะสมสูงสุดสาขาสาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์จากมูลนิธิแถบ เนลานิติ

พ.ศ. 2542- 2550 ได้รับทุนโครงการปริญญาเอกกาญจนภิเษก (คปก.) ศึกษาในระดับปริญญาเอก

7. ประสบการทำงานวิจัย

1. เข้าร่วมประชุม World Youth Peace Submit ที่สหประชาชาติ ประเทศไทย กับเสถียรธรรมสถาน

2. ตีพิมพ์ผลงานวิจัย จำนวน 5 เรื่อง คือ

- Anantasaran, J. 1995. **The appropriate medium for *Parkia speciosa* Hass K. embryo culture.** Report of special project of Development and Promotion of Science and Technology Talent.

- Anantasaran, J. 1998. **Protoplast isolation of *Euphorbia milli*.** Report of special project on plant tissue culture.

- Anantasaran, J. and Kanchanapoom, K. 2000. **Isolation and culture of *Aristolochia indica* L. protoplasts.** The 3rd Regional IMT-GT Uninet Conference IMT-GT 2000. P104. Medan, Indonesia.

-Anantasaran J., Schröder M.B., Eimert K. and Kanchanapoom K. 2007. **Cytogenetic Characterization of *Zinnia* Species and Cultivars.** Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology. Volume 1 Number 2. 125 -130.

- Anantasaran J. and Kanchanapoom K. 2008 **Silver nitrate promotes *in vitro* plant regeneration in *Zinnia* species and cultivars**. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* Vol.30 No.1.

- Anantasaran J., Pangtae R. and Imommad A. 2011. **Effects of Medium Sterilize Technique on Tissue Culture of *Phaius tankivilleae***. SKRU academic journal Vol.4 No.1 January - June.1-9.

- Nicomrat D. and Anantasaran J. 2015. **A Reliable Homemade Tissue Culture Protocol for Dendrobium Orchid Cultivation.** Applied Mechanics and Materials Vol. 804 (2015) pp 227-230

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช พฤกษศาสตร์ ชีววิทยา

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย:

- ชนิดและสภาพของเนื้อกล้วยบดปลอดเชื้อต่อการเลี้ยงกล้วยไม้สกุลหวาย ในหลอดทดลอง
- ความผันแปรในลักษณะปรากฏและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของข้าวเหนียวดำมีสีพันธุ์พื้นบ้านสายพันธุ์ดีเด่นภาคใต้: ข้าวเหนียวดำช่อไม้ไผ่และข้าวเหนียวดำหมอ

7.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว:

- ชนิดและสภาพของเนื้อกล้วยบดปลอดเชื้อต่อการเลี้ยงกล้วยไม้สกุลหวาย ในหลอดทดลอง
- การเพาะเห็ดหูหนูและเห็ดนางรมด้วยขี้เลื่อยไม้กระถินณรงค์ที่เหลือใช้จาก การทำกรงนกเขาชวา
- การปลูกและขยายพันธุ์พืชน้ำกลุ่มคริปโตคอริน
- ความผันแปรในลักษณะปรากฏและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของข้าวเหนียวดำมีสีพันธุ์พื้นบ้านสายพันธุ์ดีเด่นภาคใต้: ข้าวเหนียวดำช่อไม้ไผ่และข้าวเหนียวดำหมอ

7.3 งานวิจัยที่กำลังทำ:

-

8. เลขทะเบียนนักวิจัยแห่งชาติของสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ไม่มี

หนังสือรับรองการใช้ประโยชน์ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์จากหน่วยงานภายนอก
ของมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ชื่อองค์กร/กลุ่ม/หน่วยงาน/ที่รับรอง กลุ่มเกษตรกรตำบลควนมะพร้าว
สถานที่ตั้ง หมู่ 15 ต. ควนมะพร้าว อ. เมือง จ. พัทลุง
วัน เดือน ปี ที่ให้การรับรอง 16 กันยายน 2560
เบอร์โทรติดต่อ 0899239087

เรื่อง ขอรับรองการใช้ประโยชน์ของผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์

เรียน อธิการบดีมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ข้าพเจ้า นางขวัญใจ คชภักดี ตำแหน่ง แกนนำเกษตรกรและเจ้าหน้าเกษตรชำนาญการ ขอรับรองว่าได้นำผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์/งานวิชาการ เรื่อง การคัดเลือกพันธุ์ข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองพัทลุงที่ทนต่อสภาวะแห้งแล้งด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : ข้าวเหนียวดำหมอและเปลือกขาว ซึ่งเป็นผลงานของ ผศ. ดร. จักรกริช อนันตศรัณย์ สังกัดคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา มาใช้ประโยชน์ในองค์กร/หน่วยงาน/กลุ่มของข้าพเจ้า ทางด้านต่อไปนี้ (โปรดเลือกรูปแบบการนำไปใช้ประโยชน์และสามารถเลือกได้มากกว่า 1 ข้อ)

( ) การใช้ประโยชน์เชิงวิชาการ ระบุ .....
.....
โดยเริ่มนำมาใช้ประโยชน์ ตั้งแต่วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. .....

(√) การใช้ประโยชน์ในเชิงสาธารณะ โดยนำเสนอในงานบริการวิชาเรื่อง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวพื้นเมือง โดยเริ่มนำมาใช้ประโยชน์ ตั้งแต่วันที่ 16 เดือน กันยายน พ.ศ. 2560

( ) การใช้ประโยชน์ในเชิงนโยบาย ระบุ .....
.....
โดยเริ่มนำมาใช้ประโยชน์ ตั้งแต่วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. .....

( ) การใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ ระบุ.....
.....
โดยเริ่มนำมาใช้ประโยชน์ ตั้งแต่วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. .....

( ) การใช้ประโยชน์ทางอ้อมของงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ ระบุ.....
.....
โดยเริ่มนำมาใช้ประโยชน์ ตั้งแต่วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. .....

ทั้งนี้ผลจากการที่องค์กร/หน่วยงาน/กลุ่ม ได้นำผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์/งานวิชาการ ดังกล่าวมาใช้ประโยชน์ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงในองค์กร/หน่วยงาน/กลุ่ม พอสรุปได้คือ ..เกษตรกรทราบวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวพื้นเมืองเพื่อการขยายพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำให้ได้ข้าวสายพันธุ์ที่ทนแล้งได้

ข้าพเจ้าขอลงนามในหนังสือรับรองการนำไปใช้ประโยชน์ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา เพื่อเป็นหลักฐานการนำผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ มาใช้ประโยชน์ดังกล่าว

ลงลายมือชื่อ .....
(นางขวัญใจ คชภักดี)
แกนนำเกษตรกรและเจ้าหน้าเกษตรชำนาญการ
วันที่ 16/กันยายน/ 2560

ใบแนบหลักฐานการใช้ประโยชน์ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์จากหน่วยงานภายนอก
ของมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

หลักฐานที่แนบมาพร้อมนี้ เพื่อเป็นการยืนยันการนำผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ไปใช้ประโยชน์ (สามารถเลือกได้มากกว่า 1 ข้อ)

(√) ภาพถ่ายกิจกรรม/โครงการ/ผลงานที่ได้พัฒนาจากผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์

( ) เอกสารที่แสดงให้เห็นว่ามีการใช้ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ไปปรับปรุงหรือพัฒนา

( ) ผลงาน ผลิตภัณฑ์ หรือรางวัลที่เกิดขึ้น อันมีผลจากการใช้ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ไปปรับปรุงหรือพัฒนา

( ) ผลประกอบการขององค์กร/หน่วยงาน/กลุ่ม ด้านบัญชีหรือรายได้ที่แสดงให้เห็นว่าเพิ่มขึ้นจากการได้พัฒนาจากผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์

(√) ผลงานหรือหลักฐานอื่น ๆ ระบุ....เอกสารประกอบการอบรม.....

<u>หมายเหตุ</u>

1. **การใช้ประโยชน์เชิงวิชาการ** เช่น สอน/บรรยาย/ฝึกอบรม พัฒนารูปแบบการจัดการเรียนการสอน การเขียนตำรา แบบเรียน การใช้ประโยชน์ในด้านการให้บริการ หรือเป็นงานวิจัยเพื่อต่อยอดโครงการวิจัย เอกสารหลักฐานประกอบ ได้แก่ เอกสารประกอบการสอน เอกสารคำสอน ที่มาจากผลงานวิจัย ตำรา แบบเรียน เป็นต้น

2. **การใช้ประโยชน์เชิงสาธารณะ** เช่น ผลจากงานวิจัย/สร้างสรรค์ได้สร้างองค์ความรู้แก่สาธารณชนในเรื่องต่างๆ และได้นำข้อความรู้นั้นไปใช้เพื่อพัฒนาคุณภาพชีวิตของประชาชนให้ดีขึ้น

3. **การใช้ประโยชน์ในเชิงนโยบาย หรือระดับประเทศ** เช่น มีการนำนโยบาย/กฎหมาย/มาตรการ ที่เป็นผลมาจากงานวิจัยนโยบาย มาใช้ในองค์กร/คณะ/สถาบัน ทั้งภาครัฐ และเอกชน

4. **การใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์** เช่น ผลจากงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ได้สร้างหรือพัฒนาสิ่งประดิษฐ์ หรือผลิตภัณฑ์ซึ่งก่อให้การลดรอบการทำงาน ลดต้นทุน หรือเกิดรายได้ตามมา เป็นต้น

5. **การใช้ประโยชน์ทางอ้อมของงานวิจัย/งานสร้างสรรค์** ซึ่งเป็นการสร้างคุณค่าทางจิตใจ ยกระดับจิตใจก่อให้เกิดสุนทรียภาพ สร้างความสุข เช่น งานศิลปะที่นำไปใช้ในโรงพยาบาล ซึ่งได้มีการศึกษา

ภาพถ่ายกิจกรรมบริการวิชาการ

เอกสารประกอบการบรรยาย

13/02/61

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวพื้นเมือง

ผศ.ดร. จิตรกวี อนันตศรัณย์

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

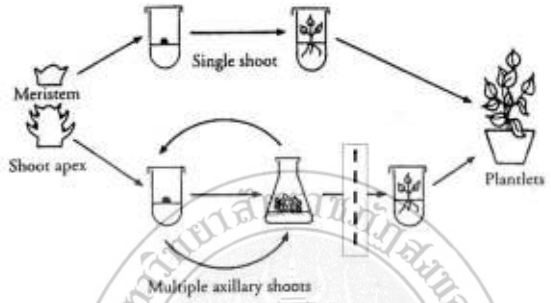
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

- การกระตุ้นเซลล์หรือชิ้นส่วนพืชให้เกิดการเจริญเติบโต หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงตามความต้องการบนอาหารสังเคราะห์ภายใต้สภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความชื้น แสงสว่าง ที่สามารถควบคุมได้ในสภาพที่ปลอดเชื้อ โดยใช้สมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโต พืช เป็นตัวกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาของเนื้อเยื่อที่นำมาทำการเพาะเลี้ยง

(สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชนฯ เล่มที่ 28)

13/02/61

ภาพแสดงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพื้นฐาน



ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- ♣ เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว
- ♣ ขยายพันธ์พืชที่เจริญเติบโตยาก
- ♣ ได้พืชที่มีพันธุกรรมเหมือนเดิม
- ♣ ได้พืชที่ปลอดเชื้อ
- ♣ เก็บรักษาพันธุ์พืชด้วยขนาดที่จำกัด
- ♣ สามารถควบคุมสภาพแวดล้อม

13/02/61

ข้าว

- ข้าวเป็นสายพันธุ์ที่มีความหลากหลายที่สูงมากในธรรมชาติ
- เป็นพืชเศรษฐกิจหลักไทย
- มีการพัฒนาสายพันธุ์ใหม่ๆตลอดเวลาจากหน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชน
- สายพันธุ์ที่ดีมีคุณภาพและมีการส่งเสริมการปลูกอย่างแพร่หลาย
- ปลูกข้าวเป็นพืชเชิงเดี่ยวแบบอุตสาหกรรม

ข้าวพื้นเมือง

- ข้าวที่ปลูกในเฉพาะถิ่น
- เดิมมีความหลากหลายสูงตามธรรมชาติ ปัจจุบันลดลง
- ปลูกโดยชุมชนเกษตรกรรมลดลงไปเรื่อยๆ
- การสูญพันธุ์ของข้าวท้องถิ่นไทย
- ภาคใต้ของประเทศไทย มีพื้นที่การปลูกข้าวน้อยกว่าภาคอื่น
- ความหลากหลายของพันธุกรรมสายพันธุ์ข้าวจำเป็นที่ต้องเก็บรักษา
- เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวในอนาคตต่อไป

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

13/02/61

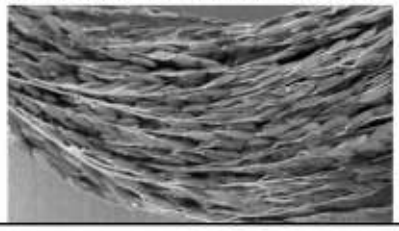
ปัญหาการปลูกข้าวในพัทลุง

- ฤดูร้อนเกิดสภาวะแล้งซ้ำซากในทุกปี
- ฤดูฝนน้ำมาก เกิดน้ำป่าไหลหลากและน้ำท่วมฉับพลัน ในหลายเขตของจังหวัด
- พื้นที่ปลูกข้าวเกิดความเสียหายทั้งฤดูร้อนและฤดูฝน

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ข้าวพื้นเมืองลักษณะดีเด่นของพัทลุง

- ศูนย์พันธุ์ข้าวจังหวัดพัทลุง เก็บรวบรวม ศึกษา ค้นคว้าสายพันธุ์ข้าว
- ข้าวเหนียวมีสีที่มีลักษณะดีมีหลายชนิด เช่น ข้าวเหนียวดำหมอ และข้าวเหนียวดำเปลือกข้าว เป็นต้น



4

13/02/61

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวในหลอดทดลอง

การเตรียมเนื้อเยื่อข้าวให้ปลอดเชื้อ

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

13/02/61

ต้นข้าวในขวดอาหาร

ลักษณะของต้นข้าวที่เลี้ยงได้ในสูตรอาหาร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ต้นข้าวที่กลายพันธุ์

ข้าวเหนียวดำ เปลือกขาวที่ผิดปกติเมื่อเลี้ยงในสูตรอาหารแล้วผิดปก

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

13/02/61

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ทนแล้ง

ข้าวเหนียวดำ

เปลือกขาว

13/02/61

ข้าวเหนียว

ดำหมอ

สรุป

- การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถช่วยในการขยายพันธุ์ข้าวเพื่อการอนุรักษ์
- การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถช่วยในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อสร้างสายพันธุ์ใหม่ที่ลักษณะที่ดีขึ้นได้

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY