# บทที่ 5

## วิจารณ์ผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาผลของออกซินและไซโตไคนินต่อการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่จากแคลลัสของเอมบริโอข้าวนี้ใช้ข้าวไทยสายพันธุ์ กข. 23 ซึ่งเป็นข้าวพันธุ์ดีที่นิยมปลูกกันแพร่หลายในประเทศ แคลลัสที่ใช้ในการทดลองนี้ได้จากการเลี้ยงเอมบริโอของเมล็ดแก่ในสูตรอาหารตาม Vajrebhaya et al. (1983) และ Vajrabhaya and Vajrabhaya (1986) ซึ่งมีส่วนประกอบของธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรองตามสูตรของ Murashige and Skoog(1962) สารอินทรีย์และวิตามินตามสูตรของ Linsmaier and Skoog (1965) และเติม K 0.3 ppm. 2,4-D 1 ppm. myo-inositol 100 มก./ล. thiamine-HCl 0.4 มก./ล. ซูโครส และ วุ้นผง 3 และ 0.8 เปอร์เซนต์ น้ำหนักต่อปริมาตรตามลำดับ เป็นสูตรที่ให้ผลของการชักนำแคลลัสสูงถึง 93.3 เปอร์เซนต์ (Vajrabhaya and Vajrabhaya, 1986)

การชักนำให้แคลลัสเจริญเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่ ในการเลี้ยงเนื่อเยื่อข้าวยังมีปัญหาอยู่มาก Vajrabhaya et al. (1984a) รายงานไว้ว่า การเจริญไปเป็นต้นใหม่จากแคลลัสของข้าวต้องการขั้นตอนสำคัญที่ต่อเนื่องกัน 2 ขั้นตอนคือ การที่แคลลัสเจริญไปเป็น green spot ก่อน แล้วจึงเจริญต่อไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ อย่างไรก็ตาม พบว่าในการชักนำให้แคลลัสเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์นั้น ยังมีปัญหาในข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ ของไทย ซึ่งเป็นข้าวพวก indica รวมทั้ง กข·23 ด้วย Vajrabhaya et al. (1984a) ยังพบว่าขั้นตอนแรกที่จะชักนำให้แคลลัสเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่ สูตรอาหารที่ประกอบด้วยธาตุหลักสูตร mod. White ซึ่งไม่เติมซูโครส ใช้น้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซนต์และเติม K 3.0 ppm. และ IAA 1.0 ppm. ซึ่งให้ผลดีกว่าสูตรอาหารอื่น ๆ ถึงแม้ว่าจะมีธาตุอาหารหลักในปริมาณสูงกว่า งานวิจัยนี้จึงอิงผลงานวิจัยในขั้นนี้ของ Vajrabhaya et al. (1984a) เพื่อจะศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของออกซินและไซโตไคนิน อาทิ IAA, NAA, K และ BAP โดยเลือกใช้อาหารหลักสูตร mod. White ธาตุอาหารรองของ Murashige and Skoog (1962) K 3.0 ppm. IAA 1.0 ppm. และเพิ่มน้ำมะพร้าวซึ่งมีองค์ประกอบของสารอินทรีย์หลายประเภทที่เสริมการเจริญและการพัฒนาของแคลลัสเป็นสูตรเปรียบเทียบที่ 1 แล้วเปลี่ยนแปลงชนิดและความเข้มข้นของออกซินและไซโตไคนิน เพื่อศึกษาอิทธิพลจากสารควบคุมการเจริญเหล่านั้น ในสูตรทดลองต่าง ๆ ส่วนสูตรเปรียบเทียบที่ 2 ก็ดัดแปลงจากสูตรเปรียบเทียบที่ 1 และใช้ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญตามสูตรเปรียบเทียบที่ 4 ซึ่งเป็นสูตรที่ใช้ได้ผลดีตาม Nabors et al. (1983) และสูตรเปรียบเทียบที่ 3 เป็นสูตรที่ใช้ได้ผลดีที่ IRRI ตาม

Zapata el al. (1983)

ในการวิจัยได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกเป็นการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญชนิดออกซินและไซโตไคนิน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ และนำสูตรทดลองจากขั้นตอนแรก ซึ่งได้ผลดีที่สุดมาทดลองซ้ำในขั้นตอนที่ 2 โดยใช้เป็นสูตรพื้นฐานเปรียบเทียบในสูตรเปรียบเทียบที่ 1 และสูตรเปรียบเทียบที่ 3 เพื่อศึกษาผลของธาตุอาหารหลักระหว่างสูตร mod. White และ MS (1962) ผลของสารอินทรีย์บางชนิดและผลทางกายภาพบางอย่างที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จากแคลลัสในขั้นตอนที่ 2 ภายหลัง

<u>ผลการศึกษาการเจริญและการเปลี่ยนแปลงไปเป็น green spot และหน่อจากแคลลัสในสูตรอาหารเปรียบเทียบ 4 สูตร</u>

ผลของการเปรียบเทียบของสูตรเปรียบเทียบทั้ง 4 พบว่าทั้งที่ 4 สูตรมีผลต่อการเพิ่มจำนวนแคลลัสที่มี green spot จำนวนแคลลัสที่ให้หน่อ จำนวนหน่อ และจำนวนแคลลัสที่ให้รากไม่แตกต่างกันทางสถิติ ถึงแม้ว่าจะมีสูตรอาหารหลัก และชนิดและความเข้มข้นทางสารควบคุมการเจริญแตกต่างกัน อาจเนื่องจากปัจจัยของชนิด และสายพันธุ์ของพืชที่มีผลต่ออัตราส่วนของสารควบคุมการเจริญ (Tamura, 1968) หรือต่อธาตุอาหารหลัก (ชัยวัฒน์ น่าชม, 2530) แต่จะเห็นได้ว่าสูตรเปรียบเทียบที่ 1 ให้ผลดีที่สุดในสัปดาห์ที่ 2 ถ้าเลี้ยงต่อไปจำนวน green spot และหน่อกลับลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจากในสูตรอาหารนี้ไม่มีน้ำตาล เมื่อแคลลัสเริ่มเปลี่ยนแปลงเป็นหน่อจำเป็นต้องใช้อาหารมากขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่วนของหน่อที่แข็งแรงกว่าจึงแย่งอาหารจากส่วนอื่นไปหมด หากย้ายแคลลัสที่เกิดการเปลี่ยนแปลงแล้วไปเลี้ยงในอาหารสูตรใหม่ที่มีน้ำตาล เชื่อว่าจะได้จำนวนหน่อสูงขึ้น

<u>ผลการศึกษาชนิดและความเข้มข้นของ IAA, NAA, K และ BAP ต่อการเกิด green spot ในสูตรทดลอง</u>

พบว่าผลของ IAA ที่มีต่อจำนวนแคลลัสที่ green spot ถึงแม้ว่าจะมี IAA ในปริมาณสูง ๆ (1.0 ppm.- 4.0 ppm.) แต่กลับทำให้จำนวนของแคลลัสที่ให้ green spot ลดลง จากสัปดาห์ที่ 2 ถึง สัปดาห์ที่ 6 ซึ่ง Maeda (1976) ได้ให้เหตุผลไว้ว่าเป็นเพราะ IAA ในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อมักเปลี่ยนรูปไปเป็น IAA aspartic acid หรือมีการลด carbon ใน IAA ลง กลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้โครงสร้างของ IAA ยังสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเอธิลีนได้ ซึ่งไม่มีประโยชน์ต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสเลย แต่เอธิลีนจะกลับส่งเสริมการเสื่อมของเซลล์ด้วย จึงทำให้ต้องใช้ IAA ในความเข้มข้นสูง ๆ เพื่อที่จะส่งเสริมการเจริญและการพัฒนาต่อไป ซึ่งเหตุการณ์อย่างนี้จะไม่เกิดขึ้นกับ

NAA การส่งเสริมจำนวนแคลลัสที่ให้ green spot ในความเข้มข้นต่าง ๆ ของ NAA สูงกว่า IAA ในทุกสัปดาห์

K มีความเหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวแคลลัสที่ให้ green spot มากกว่า BAP อย่างไรตามการมีไซโตไคนินไม่ว่าจะเป็น K หรือ BAP อยู่ในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อตั้งแต่แรก จะชักนำให้แคลลัสที่มี green spot มีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เพราะไซโตไคนินมีผลต่อการเกิดต้นจากแคลลัสข้าว (Saka and Maeda, 1969; Nabors et al., 1983; Vajrabhaya et al., 1984a, b) และ green spot มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดต้นใหม่ด้วย (Nakano and Maeda, 1974, 1979; Vajrabhaya et al., 1984a)

<u>ผลการศึกษาชนิดและผลเข้มข้นของ IAA, NAA, K และ BAP ต่อการเกิดหน่อใหม่ในสูตรทดลอง</u>

สำหรับการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่พบว่า NAA มีความเหมาะสมกว่า IAA เพราะให้เปอร์เซนต์แคลลัสที่มีหน่อสูงกว่า IAA ในขณะที่ IAA แม้แต่ในความเข้มข้นอย่างต่ำ ๆ ยังส่งเสริมการเกิดรากมากกว่า NAA แต่อย่างไรก็ดีทั้ง IAA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่ำจะส่งเสริมการเกิดหน่อด และจำนวนหน่อที่ได้รับ จากการทดลองพบว่า NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 ppm. และที่ 0.4 ppm. จะมีความแตกต่างในการชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่อย่างเห็นได้ชัด และพบว่าการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่สามารถเกิดขึ้นได้ในความเข้มข้นของ IAA และ NAA ที่ 0 ppm.หรือไม่มีออกซินเลย เช่นเดียวกับ Inoue and Maeda (1980) ได้รายงานไว้ สำหรับ BAP พบว่าความเข้มข้นที่ 1.6 ppm. ให้เปอร์เซนต์การเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่สูงที่สุด (เมื่อจับคู่กับ NAA ที่ 0.5 ppm.) และ BAP ที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ (0-0.2 ppm.) จะส่งเสริมการเกิดรากจากแคลลัสข้าวได้ดีกว่าความเข้มข้นสูง ๆ (0.8-1.6 ppm.) อย่างมีนัยสำคัญ ส่วน K จะต้องใช้ปริมาณสูงกว่า BAP มากในการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ของข้าวทั้ง ๆ ที่มีรายงานยืนยันว่า K มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จากแคลลัสของข้าว (Saka and Maeda, 1969; Vajrabhaya et al., 1984b) เพราะ K เป็นอนุพันธ์ของ adenine ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อ RNA metabolism ดังนั้น K จึงมีบทบาทต่อ RNA metabolism ด้วย แต่ไม่ทุกปฏิกิริยา นอกจากนี้ยังพบว่าในถั่วเหลือง K อาจถูกยับยั้งการทำงานได้ ถ้ามี DAP (2,6-diaminopurine หรือ 8-azagnanine) ซึ่งเป็น analog ของ purine แต่ถ้าเพิ่ม K ภายนอกให้สูงขึ้นมาก ๆ ก็จะลดการยับยั้งลงได้ (Blaydes, 1966) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่จำเป็นต้องใช้ K สูง ๆ สำหรับการเปลี่ยนแปลงเป็นหน่อในข้าวก็ได้

ผลการศึกษาขนาดและสีของแคลลัสที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงไปเป็น green spot และการเกิดหน่อ

ขนาดและสีของแคลลัส ก็มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นหน่อใหม่ พบว่าถ้าขนาดของแคลลัสเล็กเกินไปจะทำให้การเปลี่ยนแปลงเป็นต้นหน่อใหม่เกิดได้ช้าลงหรือไม่เกิดขึ้นเลย เพราะโอกาสที่จะมีชีวิตรอดน้อยกว่าขนาดของแคลลัสขนาดใหญ่ และพบว่าที่ความเข้มข้นของออกซินสูง ๆ จะให้ขนาดของแคลลัสใหญ่กว่าเช่นเดียวกัน สีของแคลลัสจะมีสีดำบนพื้นผิวของแคลลัสน้อยกว่า นั่นคือ ออกซินที่ปริมาณสูง ๆ จะส่งเสริมการเจริญของแคลลัส และ Zapata et al. (1983) พบว่า ถ้าสารใดหรือความเข้มข้นของสารตัวหนึ่งที่จะส่งเสริมการเจริญแล้วมักจะไม่ส่งเสริมการพัฒนาการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ นั่นคือ การเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จะเป็นปฏิภาคผกผันกับการเจริญของแคลลัส

การศึกษาอัตราส่วนของออกซิน (IAA, NAA) และไซโตไคนิน (K, BAP) ต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่

อัตราส่วนของออกซินและไซโตไคนิน ถ้ามีในปริมาณต่ำจะส่งเสริมการชักนำให้เกิดต้น ถ้ามีในปริมาณสูงจะส่งเสริมการเกิดราก และความสมดุลย์ของออกซินและไซโตไคนิน ก็มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ด้วย (Skoog and Miller, 1957; Inoue and Maeda, 1980; Siriwadana and Nabors, 1983 and Vajrabhaya et al., 1984a,b) ซึ่งในงานวิจัยพบว่าชนิดและความเข้มข้นของออกซินและไซโตไคนินที่เหมาะสมกับการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของข้าวสายพันธุ์ กข 23 คือ NAA ที่ความเข้มข้น 0.5 ppm. และ BAP ที่ความเข้มข้น 1.6 ppm. ซึ่งจะให้เปอร์เซนต์ของการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ 30 เปอร์เซนต์ ซึ่ง Vajrabhaya et al. (1984, 1985) ได้เคยศึกษาการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์นี้ และสามารถชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ได้เพียง 0.8 และ 12.5 เปอร์เซนต์ และพบว่าเปอร์เซนต์การเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จะลดลงอีกเมื่อศึกษาการทนต่อ stress ในระดับเซลล์ (Vajrabhaya et al., 1984a,b, 1985, 1986) และเป็นที่น่าสังเกตว่างานวิจัยสามารถชักนำการเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ ได้จากสูตรอาหารเบสิคที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญใด ๆ อยู่เลย ซึ่งอาจเป็นเพราะเนื้อเยื่อของแคลลัสสามารถสร้างไซโตไคนินได้เอง เป็น endogenous cytokinin (Inoue et al., 1979) หรืออาจมีสร้างควบคุมการเจริญในน้ำมะพร้าว (Heigl et al. 1977) ซึ่งมีปริมาณเพียงพอกับการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่

ผลการศึกษาสารอินทรีย์บางชนิด, อายุแคลลัส, ธาตุอาหารหลัก และเทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การใช้น้ำมะพร้าวในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ เพราะในน้ำมะพร้าวองค์ประกอบของกรดอะมิโนหลายชนิด สารอินทรีย์อื่น ๆ อีกหลายประเภท และที่สำคัญยังมีส่วนประกอบของสารควบคุมการเจริญที่มีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งก็คือมีไซโตไคนินอยู่ด้วย (Heigl et al., 1977; Goh, 1983) และการเลี้ยงเนื้อเยื่อในพืชใบเลี้ยงเดียวหลายชนิดพบว่า น้ำมะพร้าวมีความจำเป็นต่อการเจริญอย่างมากโดยเฉพาะกล้วยไม้ Cattleya, Dendrobiun หรือ แวนด้า (Goh, 1983; และ มนทกานติ วัชราภัย จากการแนะนำส่วนตัว) ในงานวิจัยนี้ก็พบว่า น้ำมะพร้าวที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซนต์จะส่งเสริมการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ได้ดีที่สุด

นอกจากนี้ความสามารถของการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จะลดลง ถ้าใช้แคลลัสที่มีอายุมากเช่นเดียวกับที่ Dawra (1983) พบว่าในข้าวความสามารถของการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จะลดลงเมื่อมีอายุมากขึ้น และได้เสนอใช้การฉายรังสีแกมม่า เพื่อชักนำการเจริญและเพิ่มการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ในแคลลัสข้าวที่มีอายุมาก ความเข้มข้นของน้ำตาลที่สะสมอยู่ในเนื้อเยื่อแคลลัสปริมาณสูงจะทำให้แคลลัสดำ และลดปริมาณแคลลัสที่ให้ green spot ซึ่งการทดรองที่ห้องปฏิบัติการฯ จุฬาฯ เมื่อมีน้ำตาลในอาหารชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จะทำให้แคลลัสดำและตายในที่สุด แต่ที่ TCCP สามารถเติมน้ำตาลในอาหารชักนำ การเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ได้ อาจเนื่องจาก เกรดของน้ำตาลที่ใช้ เพราะที่ห้องปฏิบัติการ ฯ จุฬาฯ ใช้น้ำตาลเกรด AR ซึ่งมีความบริสุทธิ์กว่า หรืออาจเนื่องมากจากระดับความสูงของภูมิประเทศ หรือก๊าซบางชนิด ซึ่งพบว่าที่กรุงเทพฯ จะมีก๊าซเอธิลีน และคาร์บอนมอนอคไซด์สูงกว่า หรือขึ้นกับปัจจัยอื่น ๆ ก็เป็นได้ ซึ่งจะต้องศึกษาเพิ่มเติมต่อไป ส่วนธาตุอาหารหลักในสูตร mod. White และ MS (1962) ไม่มีความแตกต่างกันในการชักนำ การเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ การใช้น้ำมะพร้าวในสูตร mod. White จะได้ผลดีกว่า MS (1962) แต่การใช้น้ำตาลถึง 4 เปอร์เซนต์ในอาหารชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จะให้ผลดีเมื่อใช้ในสูตรอาหารของ MS และจะมีผลทำให้แคลลัสดำเมื่อใช้ในสูตร mod. White (Vajrabhaya et al., 1985) นอกจากนี้ปัจจัยทางกายภาพที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือ เทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งพบว่าวิธีการของ CU จะมีปริมาณแคลลัสต่อปริมาตรวุ้นอาหารที่พอเหมาะสำหรับการเจริญและการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่

การอนุบาลต้นอ่อนซึ่งปฏิบัติการทั้งที่ห้องปฏิบัติการฯ จุฬาฯ และที่ TCCP

สำหรับการอนุบาลต้นอ่อนพบว่า แคลลัสของข้าวจะให้ยอดก่อนและต้องย้ายลงในสูตรอาหารที่ใช้ในการอนุบาลต้นอ่อนและชักนำให้เกิดราก ซึ่งมี IAA 0.1 ppm. และน้ำตาลซูโครส ถึง 6 เปอร์เซนต์ อาจเนื่องจากการที่แคลลัสต้องอยู่สูตรชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่เป็นเวลานาน (6 สัปดาห์) ทำให้ขาดแหล่งคาร์บอน ซึ่งใช้เป็นแหล่งพลังงานของเนื้อเยื่อพืช ทำให้ยอดอ่อนมักตายก่อนที่จะกลายเป็นต้นสมบูรณ์ ซึ่ง Dodds และ Robert (1982) ได้รายงานการศึกษาของ Gresshoff (1978) ว่า การเกิดรากมักพบภายหลังจากการเกิดหน่อในเนื้อเยื่อที่เลี้ยง และเชื่อว่าการพัฒนาของหน่อจะเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนภายในเนื้อเยื่อ และได้รายงานการศึกษาของ Thorpe (1978) ถึงการสะสมอาหารพวกแป้งที่คาดว่าจำเป็นต้องใช้ในระหว่างการเกิดหน่อ

ข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการชักนำให้เอมบริโอที่เจริญเต็มที่ของข้าวสายพันธุ์ กข 23 เป็นอย่างมาก ซึ่งสามารถชักนำให้มีแคลลัสที่มี green spot ถึง 100 เปอร์เซนต์ และได้กลายเป็นต้นใหม่ได้ 30 เปอร์เซนต์ จากการทดลองในการดัดแปลงสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุด พบว่า เมื่อดัดแปลงสูตรอาหารหลักของ White (1963) โดยเติมแอมโมเนียนซัลเฟต 200 มก./ล. สูตรอาหารรองของ Murashige and Skoog (1962) และเติม NAA 0.5 ppm. กับ BAP 1.6 ppm.

จากการทดลองที่ใช้น้ำตาล ปรากฏว่าผลที่ได้ยังไม่แน่นอน ซึ่งปกติการใส่ซูโครสในสูตรชักนำให้เกิดต้นใหม่ทำให้แคลลัสตายมาก แต่เมื่อใช้น้ำตาลทรายกลับมีผลดีขึ้นมาก ซึ่งยังหาคำอธิบายไม่ได้ อนึ่งการทดลองนี้ได้ทำในสภาพภูมิประเทศที่ต่างกันมาก ซึ่งอาจจะเป็นผลเนื่องจากสิ่งแวดล้อมที่ต่างกัน อาทิ ความเข้มข้นของเอธิลีน และคาร์บอนมอนนอกไซด์ เป็นต้น

การวิจัยนี้ได้ทำในขอบเขตจำกัดที่เน้นความเข้มข้นและความสัมพันธ์ระหว่างออกซินและไซโตไคนินเป็นหลัก โดยใช้วิธีการมาตรฐานที่ทำในห้องปฏิบัติการทั้งสองแห่งที่ใช้ในปัจจุบัน ในขณะที่ทำการทดลองได้สำรวจเอกสารและสังเกตการเจริญของแคลลัส รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ด้วย พบว่า

1. แคลลัสที่ได้จากอาหารชักนำแคลลัสที่มี 2,4-D อยู่นั้น 2,4-D ที่ติดมากับเนื้อเยื่อแคลลัสอาจไปมีผลต่อการยับยั้งการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ ซึ่งถ้าใช้ออกซินตัวอื่นที่สลายได้ง่ายกว่า 2,4-D อาจจะให้ผลดีกว่า

2. การย้ายแคลลัสที่อยู่ในสูตรอาหารชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ ที่ไม่ได้ใส่น้ำตาล ภายใน 4 สัปดาห์ อาจให้ผลดีขึ้น เพราะแคลลัสอาจขาดคาร์บอน ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานเพื่อที่จะใช้ในการพัฒนาต่อไป

3. การใช้ heat shock หรือ cold shock กับแคลลัส อาจจะช่วยกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ได้ดีขึ้น เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงสรีระอย่างเฉียบพลันชั่วขณะหนึ่ง ซึ่งไปมีผลทำให้สภาพสมดุลย์ทางสรีระภายในแคลลัสเปลี่ยนแปลงไป

4. การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมการเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น การลดออกซิเจนในสภาพแวดล้อม อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ดีขึ้น เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีระภายในแคลลัส ซึ่งเคยมีรายงานผลการทดลองกับพืชชนิดอื่น และได้ผลดี จึงน่าสนใจที่จะทดลองกับข้าวด้วย

5. การศึกษาเรื่องกายวิภาควิทยาของการพัฒนาของเอมบริโอที่สัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของอาหาร และสิ่งแวดล้อมในการชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ ก็น่าจะมีประโยชน์ในการส่งเสริมการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ด้วย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย