



ผลการทดลอง

1. การชักนำให้เกิดแคลลัส

ภายหลังจากเลี้ยง เมล็ดข้าวพันธุ์เหลืองประทิว ขาวดอกมะลิ และ กข.23 ที่ปลอดเชื้อบนอาหารลู่ตรชักนำแคลลัสเป็นเวลา 2 สัปดาห์ในที่มีด แคลลัสที่เกิดจากเอมบริโอแบ่งได้ 2 ชนิด คือ embryogenic callus กับ non-embryogenic callus embryogenic callus เป็นแคลลัสผิวเรียบ สีขาวหรือเหลืองนวล เซลล์รวมตัวแน่น ประกอบด้วยเซลล์ค่อนข้างกลมเป็นส่วนใหญ่ ส่วน non-embryogenic callus เป็นแคลลัสผิวขรุขระ มีสีขาว และเซลล์อยู่กันอย่างหลวม ๆ ประกอบด้วยเซลล์รูปร่างยาวเป็นส่วนใหญ่ คัดเอาเฉพาะ embryogenic callus มาศึกษา แต่เนื่องจากเมล็ดข้าวบางส่วนยังมีการปนเปื้อนของ เชื้อราหรือแบคทีเรียและ บางส่วนไม่มีการเจริญให้แคลลัสทำให้ได้แคลลัสจากการชักนำไม่ครบทุกเมล็ด อีกทั้ง การทดลองต้องใช้ embryogenic callus ที่มีขนาดสม่ำเสมอเป็นจำนวนมาก จากการทดลอง เมล็ดข้าวพันธุ์เหลืองประทิวกับขาวดอกมะลิมีการปนเปื้อนร้อยละ 15 เมล็ดข้าวพันธุ์ กข. 23 มีการปนเปื้อนร้อยละ 20 ดังนั้นจึงต้องใช้เมล็ดข้าวสำหรับชักนำแคลลัสเป็นจำนวนมากพอหรือเพิ่มจำนวนครั้งของการชักนำแคลลัสเพื่อให้ได้แคลลัสครบตามจำนวนที่ต้องการ

2. การศึกษาการเจริญของแคลลัส

จากการหาค่าน้ำหนักสดประจำสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 ของแคลลัสข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ที่เจริญบนอาหารเลี้ยง เนื้อเยื่อที่มีออสโมติคัมชนิดและความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่าแคลลัสข้าวพันธุ์เหลืองประทิว เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารลู่ตรที่มี mannitol, sorbitol หรือ PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ มีค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยประจำสัปดาห์เพิ่มมากขึ้นเกือบทุกความเข้มข้น เมื่อให้ระยะเวลา เปลี่ยนไปจนถึง สัปดาห์ที่ 6 (ตารางที่ 5, 6 และ 7) เปรียบเทียบการเจริญของแคลลัสข้าวพันธุ์เหลืองประทิว โดยศึกษาจากค่าดัชนีการเจริญประจำสัปดาห์ต่าง ๆ พบว่าในแต่ละความเข้มข้นเมื่อให้ระยะเวลาเพิ่มขึ้น แคลลัสมีการเจริญมากขึ้นเว้นแต่แคลลัสที่เจริญบนอาหารลู่ตรที่มี mannitol หรือ sorbitol 160 กรัมต่อลิตร แคลลัสมีการเจริญลดลงเมื่อเลี้ยงบนอาหารลู่ตรดังกล่าวมากกว่า 2 สัปดาห์และลดลงต่ำสุดเมื่อถึง สัปดาห์ที่ 6 (กราฟที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของแต่ละสัปดาห์ พบว่าแคลลัสมีการเจริญลดลงเมื่อความเข้มข้นของ ออสโมติคัมเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 5 ค่าน้ำหนักลดเฉลี่ยประจำสัปดาห์ น้ำหนักลดเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น และดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์ของ แคลสส์ลั่ววพันธุ์เหลืองประเทว
ที่เจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ข้ำ)

ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)															
สัปดาห์	0			20			40			80			160		
	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI
0	37	0	1	28	0	1	30	0	1	26	0	1	31	0	1
2	117	80	3.16	86	58	3.07	90	60	3	64	38	2.46	52	21	1.68
4	185	148	5	128	100	4.57	117	87	3.9	81	55	3.11	51	20	1.64
6	232	195	6.27	158	130	5.64	139	109	4.63	97	71	3.73	49	18	1.58

หมายเหตุ A = น้ำหนักลดเฉลี่ย (มิลลิกรัม)
B = น้ำหนักลดเฉลี่ย (มิลลิกรัม) ที่เพิ่มขึ้น
GI = ดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์

ตารางที่ 6 ค่าน้ำหนักลดเฉลี่ยประจำสัปดาห์ น้ำหนักลดเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น และดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์ของแคลลัสข้าวพันธุ์เหลืองประทิว ที่เจริญบนอาหารสูตรที่มี sorbitol ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ข้ำ)

สัปดาห์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)														
	0			20			40			80			160		
	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI
0	37	0	1	29	0	1	26	0	1	23	0	1	29	0	1
2	117	80	3.16	87	58	3	76	50	2.92	64	41	2.78	61	32	2.1
4	185	148	5	133	104	4.59	111	85	4.27	85	62	3.69	58	29	2
6	232	195	6.27	185	156	6.38	149	123	5.73	106	83	4.61	50	21	1.72

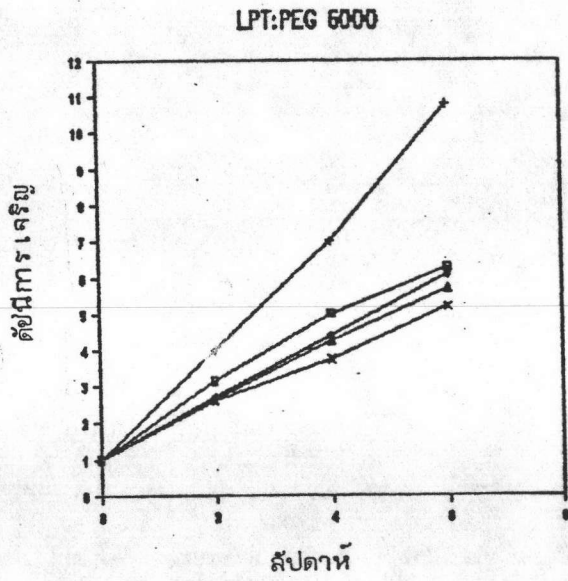
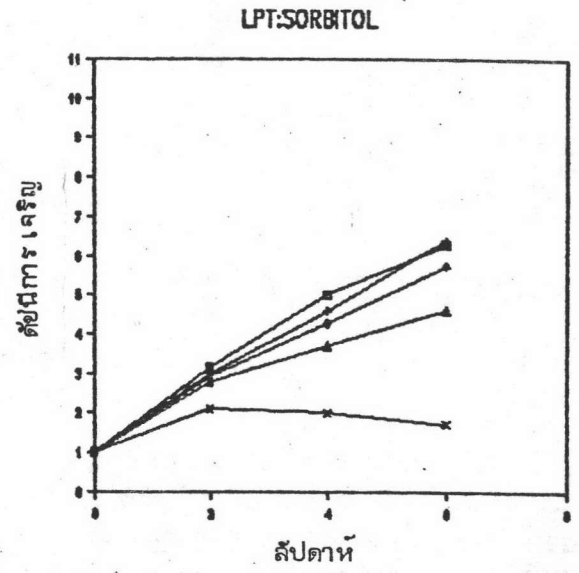
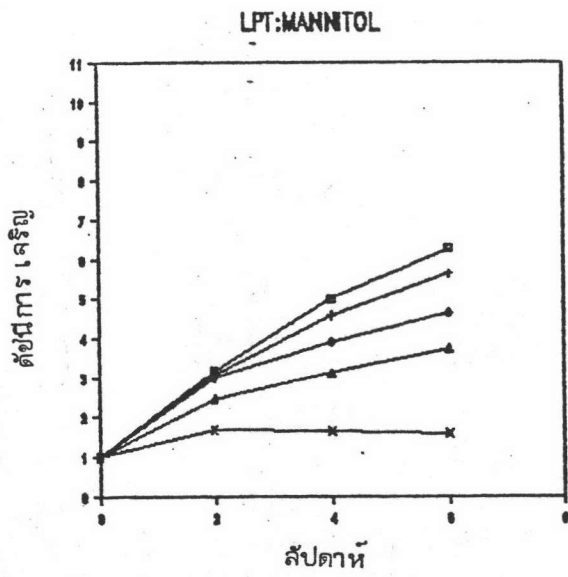
หมายเหตุ A = น้ำหนักลดเฉลี่ย (มิลลิกรัม)
 B = น้ำหนักลดเฉลี่ย (มิลลิกรัม) ที่เพิ่มขึ้น
 GI = ดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์

ตารางที่ 7 คำน้หนักสลดเจสียประจําสปีดาห้ น้หนักสลดเจสียที่เพิ่มข้ันและด้อยฝีกการ เจริญประจําสปีดาห้ของแคลลลลล ข้าวพันจุ เหลืองประ กิว
 ที่เจริญบนอาหารลู่ตรที่มี PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ข้้า)

สปีดาห้	ความข้มข้น (กรั้ม/ลิตร)														
	0			25			50			75			100		
	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI
0	37	0	1	15	0	1	23	0	1	25	0	1	20	0	1
2	117	80	3.16	60	45	4	62	39	2.69	66	41	2.64	52	32	2.6
4	185	148	5	105	90	7	101	78	4.39	106	81	4.24	75	55	3.75
6	232	195	6.27	162	147	10.8	140	117	6.09	142	117	5.68	104	84	5.2

หมายเหตุ A = น้หนักสลดเจสีย (มิลลิกรั้ม)
 B = น้หนักสลดเจสีย (มิลลิกรั้ม) ที่เพิ่มข้ัน
 GI = ด้อยฝีกการ เจริญประจําสปีดาห้

กราฟที่ 1 กราฟการเจริญของแคลลัสลำข้าวพมจู่ เหลือง ประสิทธิภาพอาหารสูตรที่มี
ออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน



- แทน control
- + " M₁, S₁ หรือ P₁
- ◇ " M₂, S₂ หรือ P₂
- △ " M₃, S₃ หรือ P₃
- X " M₄, S₄ หรือ P₄

ยกเว้นแคลลัสที่เจริญบนอาหาร ลูตริที่มี PEG 6000 25 กรัมต่อลิตร ในแต่ละสัปดาห์มีการ เจริญ
 สูงกว่าแคลลัสที่เจริญบนอาหาร ลูตริอื่น ๆ ทั้งหมด ค่าดัชนีการ เจริญมีค่ามากที่สุดที่สัปดาห์ที่ 6
 โดยมีค่าเท่ากับ 10.8 ซึ่งเป็นแคลลัสที่เจริญบนอาหารลูตริที่มี PEG 6000 25 กรัมต่อลิตร

แคลลัสข้าวพันธุขาวดอกมะลิเมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารลูตริที่มี mannitol, sorbitol
 หรือ PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ พบว่าค่าน้ำหนักลดเฉลี่ยประจำสัปดาห์เพิ่มมากขึ้นเกือบทุก
 ความเข้มข้น เมื่อให้ระยะเวลาเปลี่ยนไปจนถึงสัปดาห์ที่ 6 (ตารางที่ 8, 9 และ 10) เปรียบ
 เทียบการ เจริญของ แคลลัสข้าวพันธุขาวดอกมะลิโดยศึกษาจากค่าดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์ต่าง ๆ
 พบว่า ในแต่ละความเข้มข้นเมื่อให้ระยะเวลา เพิ่มขึ้นแคลลัสมีแคลลัสมีการ เจริญมากขึ้นวันแต่
 แคลลัสที่เจริญบนอาหารลูตริที่มี mannitol หรือ sorbitol 160 กรัมต่อลิตร แคลลัสมีการ
 เจริญลดลง เมื่อเลี้ยงบนอาหาร ลูตริ ดังกล่าวมากกว่า 4 สัปดาห์ และลดลงต่ำสุดเมื่อถึงสัปดาห์
 ที่ 6 (กราฟที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบการ เจริญของ แต่ละสัปดาห์พบว่า แคลลัสที่เจริญบนอาหาร
 ลูตริที่มี mannitol 40 กรัมต่อลิตร มีการ เจริญสูงกว่าแคลลัสที่อยู่บนอาหาร ลูตริที่ไม่มี
 mannitol ส่วนแคลลัสที่เจริญบนอาหาร ลูตริที่มี mannitol 80 และ 160 กรัมต่อลิตร
 มีการ เจริญต่ำกว่าแคลลัสที่อยู่บนอาหาร ลูตริที่ไม่มี mannitol แคลลัสที่เจริญบนอาหาร ลูตริที่มี
 sorbitol 20 และ 40 กรัมต่อลิตร มีการ เจริญสูงกว่าแคลลัสที่อยู่บนอาหาร ลูตริที่ไม่มี
 sorbitol และแคลลัสที่เจริญบนอาหารลูตริที่มี PEG 6000 25 และ 50 กรัมต่อลิตร มีการ
 เจริญสูงกว่าแคลลัสที่อยู่บนอาหาร ลูตริที่ไม่มี PEG 6000 ค่าดัชนีการ เจริญมีค่ามากที่สุดที่สัปดาห์
 ที่ 6 โดยมีค่าเท่ากับ 6.64 ซึ่งเป็นแคลลัสที่เจริญบนอาหาร ลูตริที่มี PEG 6000 25 กรัม

แคลลัสข้าวพันธุ กย.23 เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารลูตริที่มี mannitol sorbitol
 หรือ PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ พบว่าค่าน้ำหนักลดเฉลี่ยประจำสัปดาห์เพิ่มมากขึ้นเกือบทุกความ
 เข้มข้นเมื่อให้ระยะเวลา เปลี่ยนไปจนถึงสัปดาห์ที่ 6 (ตารางที่ 11, 12 และ 13) เปรียบเทียบ
 การ เจริญของ แคลลัสข้าวพันธุ กย.23 โดยศึกษาจากค่าดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์ต่าง ๆ พบ
 ว่าในแต่ละความเข้มข้นเมื่อให้ระยะเวลา เพิ่มขึ้นแคลลัสมีการ เจริญมากขึ้นวันแต่แคลลัสที่เจริญ
 บนอาหารลูตริที่มี mannitol หรือ sorbitol 160 กรัมต่อลิตร แคลลัสมีการ เจริญลดลง
 เมื่อเลี้ยงบนอาหาร ลูตริ ดังกล่าวมากกว่า 4 สัปดาห์ และลดลงต่ำสุดเมื่อถึงสัปดาห์ที่ 6 (กราฟที่ 3)
 เมื่อเปรียบเทียบการ เจริญของ แต่ละสัปดาห์พบว่าแคลลัสที่อยู่บนอาหาร ลูตริที่มีและไม่มี mannitol

ตารางที่ 8 คำน้หนักสลดเฉลี่ยประจำสัปดาห์ น้ำหนักสลดเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น และดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์ของ แคลสส์ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ ที่เจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ข้า)

สัปดาห์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)														
	0			20			40			80			160		
	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI
0	79	0	1	37	0	1	28	0	1	80	0	1	36	0	1
2	107	28	1.35	76	39	2.05	65	37	2.32	84	4	1.05	40	4	1.11
4	188	109	2.38	108	71	2.92	86	58	3.07	123	43	1.54	59	23	1.64
6	246	167	3.11	138	101	3.73	121	93	4.32	131	51	1.64	53	17	1.47

หมายเหตุ A = น้ำหนักสลดเฉลี่ย (มิลลิกรัม)
 B = น้ำหนักสลดเฉลี่ย (มิลลิกรัม) ที่เพิ่มขึ้น
 GI = ดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์ .

ตารางที่ 9 คำน้หาน้ำหนักสลดเฉลี่ยประจำสัปดาห์ น้ำหนักสลดเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น และดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์ของแคลลัสซ่า วพันธุ์ขาวดอมะลิ
ที่เจริญบนอาหารสูตรที่มี sorbitol ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ข้ำ)

สัปดาห์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)														
	0			20			40			80			160		
	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI
0	97	0	1	34	0	1	33	0	1	37	0	1	35	0	1
2	107	28	1.35	97	63	2.85	88	55	2.67	71	34	1.92	48	13	1.37
4	188	109	2.38	156	122	4.59	142	109	4.30	104	67	2.81	54	19	1.54
6	246	167	3.11	195	161	5.73	180	147	5.45	149	112	4.03	51	16	1.46

หมายเหตุ A = น้ำหนักสลดเฉลี่ย (มิลลิกรัม)
B = น้ำหนักสลดเฉลี่ย (มิลลิกรัม) ที่เพิ่มขึ้น
GI = ดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์

T 1 9 5 0 8 1 0 1

ตารางที่ 10 คำนวณน้ำหนักสลายย่อยประจำสัปดาห์ น้ำหนักสลายย่อยที่เพิ่มขึ้น และดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์ของ แคลลัสส์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ ที่เจริญบนอาหารสูตรที่ 8 PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ชั่วโมง)

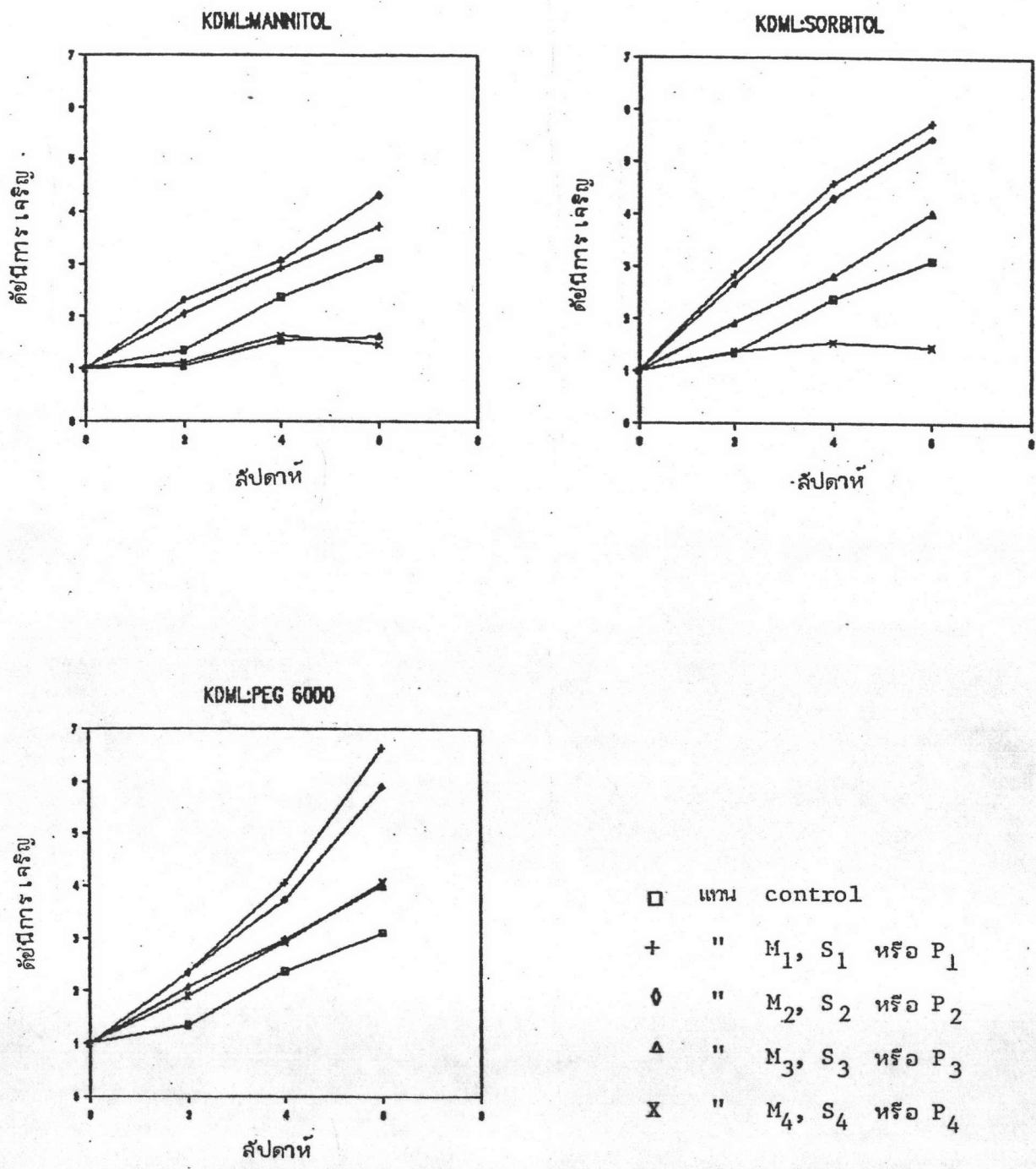
สัปดาห์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)														
	0			25			50			75			100		
	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI
0	79	0	1	36	0	1	38	0	1	36	0	1	31	0	1
2	107	28	1.35	85	49	2.36	89	51	2.34	75	39	2.08	59	28	1.9
4	188	109	2.38	146	110	4.05	142	104	3.74	107	71	2.97	91	60	2.93
6	246	167	3.11	239	203	6.64	224	186	5.89	144	108	4	126	95	4.06

หมายเหตุ A = น้ำหนักสลายย่อย (มิลลิกรัม)

B = น้ำหนักสลายย่อย (มิลลิกรัม) ที่เพิ่มขึ้น

GI = ดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์

กราฟที่ 2 กราฟการเจริญของแคลสส์ข้าวพันธุชาวดอกมะลิบนอาหารสูตรที่มี
ออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน



ตารางที่ 11 คำน้หนักสดเฉลี่ยประจำสัปดาห์ น้ำหนักสดเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น และดัชนีการเจริญประจำสัปดาห์ของแคลสส์ข้าวพันธุ์ กพ.23 ที่เจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ข้ำ)

สัปดาห์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)														
	0			20			40			80			160		
	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI
0	34	0	1	39	0	1	38	0	1	36	0	1	37	0	1
2	79	45	2.32	89	50	2.28	77	39	2.03	63	27	1.75	55	18	1.49
4	109	75	3.2	111	72	2.85	100	62	2.63	80	44	2.22	56	19	1.51
6	130	96	3.82	127	88	3.26	116	78	3.05	88	52	2.44	48	11	1.3

หมายเหตุ A = น้ำหนักสดเฉลี่ย (มิลลิกรัม)
 B = น้ำหนักสดเฉลี่ย (มิลลิกรัม) ที่เพิ่มขึ้น
 GI = ดัชนีการเจริญประจำสัปดาห์



ตารางที่ 12 คำน้หนักกลดเจลลี่ประจำสัปดาห์ น้ำหนักกลดเจลลี่ที่เพิ่มขึ้น และดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์ของ แคลสส์ข้าวพันธุ์ กย .23 ที่เจริญบนอาหารสูตรที่มี sorbitol ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ข้ำ)

สัปดาห์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)														
	0			20			40			80			160		
	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI
0	34	0	1	40	0	1	35	0	1	45	0	1	41	0	1
2	79	45	2.32	93	53	2.32	80	45	2.28	90	45	2	72	31	1.76
4	109	75	3.2	131	91	3.27	108	73	3.08	96	51	2.13	67	26	1.63
6	130	96	3.82	136	96	3.4	105	70	3	98	53	2.17	64	23	1.56

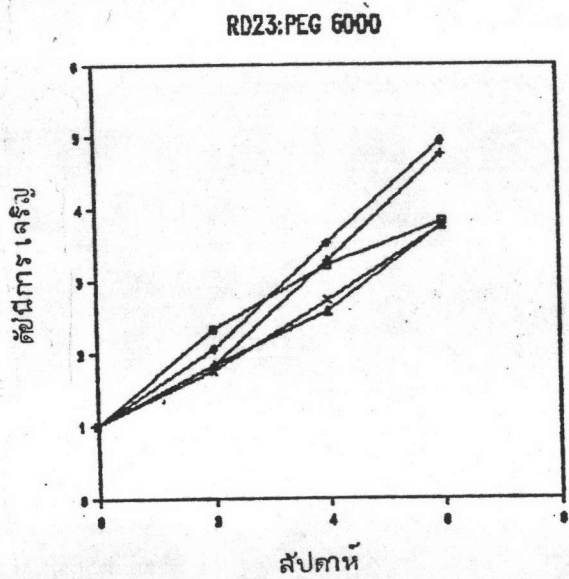
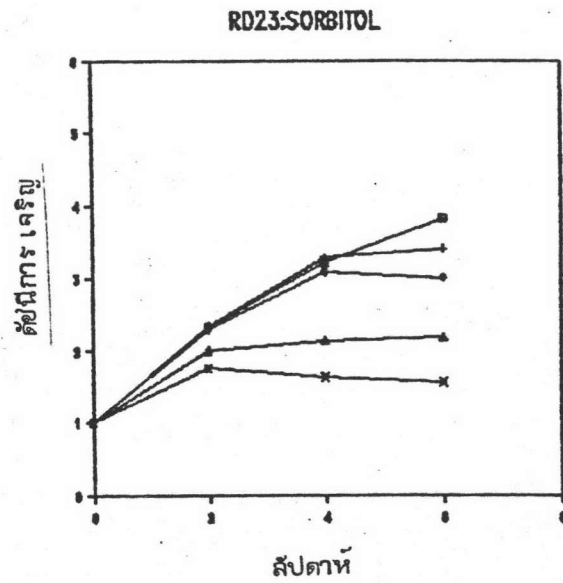
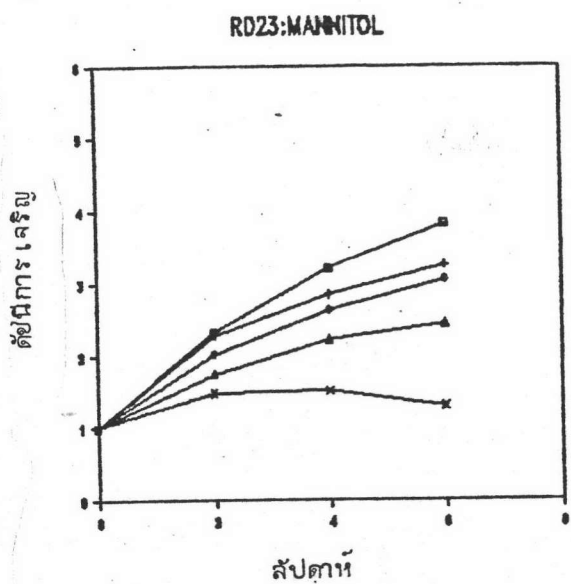
หมายเหตุ A = น้ำหนักกลดเจลลี่ (มิลลิกรัม)
 B = น้ำหนักกลดเจลลี่ (มิลลิกรัม) ที่เพิ่มขึ้น
 GI = ดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์

ตารางที่ 13 คำน้หนักสลดเจสียประจําสัปดาห์ น้หนักสลดเจสียที่เพิ่มขึน และดัชนีการ เจริญประจําสัปดาห์ของ แคลลล์ ข้าวพันธุ์ กย.23 ที่เจริญบนอาหารลู่ตรที่มี PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ข้า)

สัปดาห์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)														
	0			25			50			75			100		
	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI	A	B	GI
0	34	0	1	37	0	1	35	0	1	37	0	1	29	0	1
2	79	45	2.32	68	31	1.84	72	37	2.06	68	31	1.84	51	22	1.76
4	109	75	3.2	121	84	3.27	123	88	3.51	95	58	2.57	79	50	2.72
6	130	96	3.82	176	139	4.76	173	138	4.94	139	102	3.76	109	80	3.76

หมายเหตุ A = น้หนักสลดเจสีย (มิลลิกรัม)
 B = น้หนักสลดเจสีย (มิลลิกรัม) ที่เพิ่มขึน
 GI = ดัชนีการ เจริญประจําสัปดาห์

กราฟที่ 3 กราฟการเจริญของแคลสส์ข้าวพุ้น รกย.23 บนอาหารสูตรที่มี
ออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน



- แทน control
- + " M₁, S₁ หรือ P₁
- ◇ " M₂, S₂ หรือ P₂
- △ " M₃, S₃ หรือ P₃
- X " M₄, S₄ หรือ P₄

และ sorbitol มีการเจริญลดลงเมื่อความเข้มข้นของ mannitol และ sorbitol เพิ่มขึ้น แคลลัสที่เจริญบนอาหาร ลูตที่มี PEG 6000 ทุกความเข้มข้น มีการเจริญไม่แตกต่างจาก แคลลัสที่อยู่บนอาหาร ลูตที่ไม่มี PEG 6000 ค่าดัชนีการ เจริญมีค่ามากที่สุดที่ในสัปดาห์ที่ 6 โดยมีค่าเท่ากับ 4.94 ซึ่งเป็นแคลลัสที่เจริญบนอาหาร ลูตที่มี PEG 6000 50 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบค่าดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์ต่าง ๆ ของแคลลัสข้าวพันธุ์ต่าง ๆ พบว่าแคลลัสข้าวพันธุ์เหลืองประทิว มีดัชนีการ เจริญสูงที่สุดเมื่อเจริญบนอาหาร ลูตที่มีออสโมติคัม ความเข้มข้นเดียวกัน (ตารางที่ 5 ถึง 13)

การหาค่า ดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์สุดท้าย ตามวิธีของ Staba และคณะ (1982) พบว่า ดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์สุดท้ายของแคลลัสข้าวพันธุ์ต่าง ๆ บนอาหาร เลี้ยง เนื้อเยื่อที่มีออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กันมีค่าอยู่ระหว่าง 1.30 ถึง 10.80 (ตารางที่ 14) ดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์สุดท้ายของแคลลัสข้าวพันธุ์ต่าง ๆ บนอาหาร ลูตที่มี mannitol ปริมาณต่าง ๆ กันมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 6.27 ซึ่งเป็นแคลลัสข้าวพันธุ์เหลืองประทิวที่เจริญบนอาหาร ลูตที่ไม่มี mannitol ดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์สุดท้ายของแคลลัสข้าวพันธุ์ต่าง ๆ บนอาหาร ลูตที่มี sorbitol ปริมาณต่าง ๆ กันมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 6.38 ซึ่งเป็นแคลลัสข้าวพันธุ์เหลืองประทิวที่เจริญบนอาหาร ลูตที่มี sorbitol 20 กรัมต่อลิตร และดัชนีการ เจริญประจำสัปดาห์สุดท้ายของแคลลัสข้าวพันธุ์ต่าง ๆ บนอาหาร ลูตที่มี PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ กันมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 10.80 ซึ่งเป็นแคลลัสข้าวพันธุ์เหลืองประทิวที่เจริญบนอาหาร ลูตที่มี PEG 6000 25 กรัมต่อลิตร (แผนภูมิที่ 1)

3. การศึกษาค่า ออสโมติกโพเทนเชียล

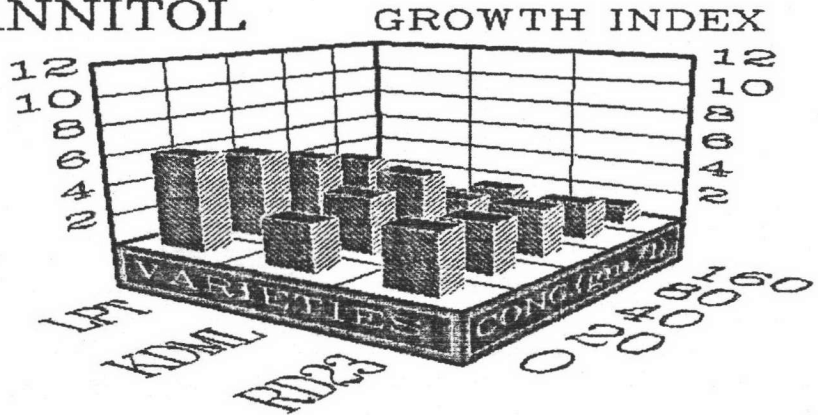
จากการหาค่าจุดเยือกแข็ง (freezing point) ของน้ำกลั่นและสารละลายอาหาร เลี้ยง เนื้อเยื่อซึ่งเป็นลูตอาหารทดลองสำหรับการ ศึกษาผลของ ออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน ต่อการ เจริญของ แคลลัสข้าวด้วยวิธี Cryoscopic method เมื่อนำค่าของจุดเยือกแข็งนี้มาหาค่า การลดลงของจุดเยือกแข็ง (freezing point depression) แล้วนำไปเข้าสู่หาค่า ออสโมติกโพเทนเชียล พบว่า ค่าออสโมติกโพเทนเชียลของ สารละลายอาหาร เลี้ยง เนื้อเยื่อที่มี และไม่มีออสโมติคัมปริมาณต่าง ๆ มีค่าอยู่ระหว่าง -27.67 ถึง -5.25 atm. โดยที่ค่า ออสโมติกโพเทนเชียลของ สารละลายอาหาร ลูตที่ไม่มีออสโมติคัมมีค่า ออสโมติกโพเทนเชียล

ตารางที่ 14 ค่าดัชนีการเจริญประจําสัปดาห์สุดท้ายของแคลสส์ข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ที่เจริญบนอาหารลู่ตรที่มีออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน

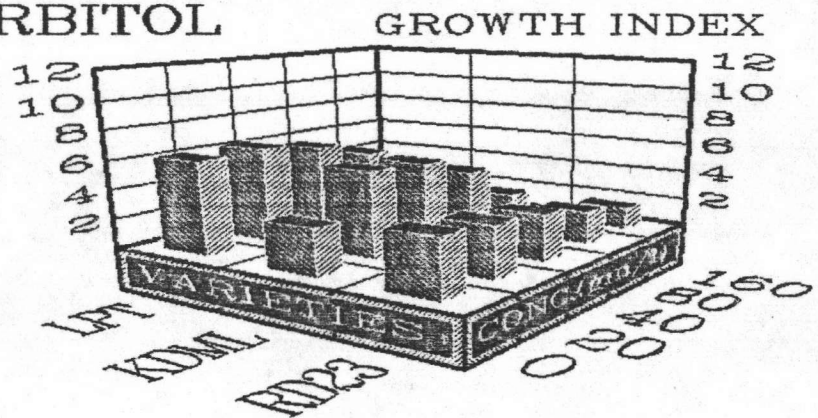
พันธุ์ข้าว อาหารลู่ตร	เหลืองประทิว	ขาวดอกมะลิ	กย.23
Control	6.27	3.11	3.82
M ₁	5.64	3.73	3.26
M ₂	4.63	4.32	3.05
M ₃	3.73	1.64	2.44
M ₄	1.58	1.47	1.30
S ₁	6.38	5.73	3.40
S ₂	5.73	5.45	3.00
S ₃	4.61	4.03	2.18
S ₄	1.72	1.46	1.56
P ₁	10.80	6.64	4.76
P ₂	6.09	5.89	4.94
P ₃	5.68	4.00	3.76
P ₄	5.20	4.06	3.76

แผนภูมิที่ 1 ดัชนีการเจริญประจําสปีดตาห้สุดท้ายของ แคลลัสข้าวพันธุ์เหลืองประทิว (LPT) ขาวดอกมะลิ (KDML) และกข.23 (RD.23) บนอาหารสูตรที่ 1 ออสโมติกชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน

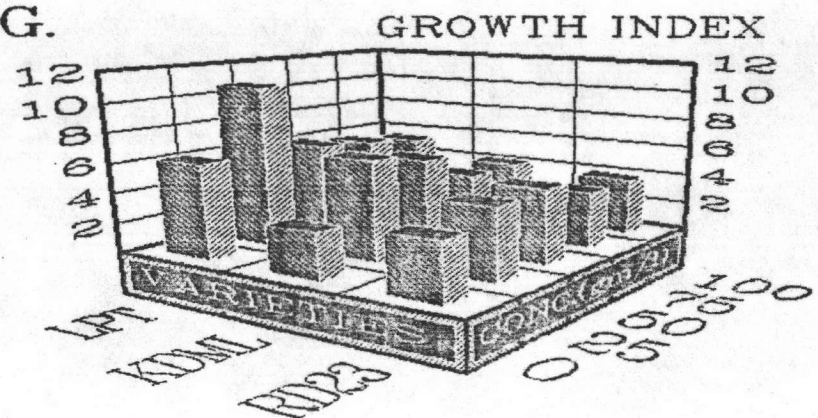
RTC:MANNITOL



RTC:SORBITOL



RTC:PEG.



สูงที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ -5.25 atm . ค่าออสโมติกโพเทนเชียลของสารละลายอาหารสูตรที่มีออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน มีค่าลดลงเมื่อปริมาณของออสโมติคัมเพิ่มขึ้น โดยค่าออสโมติกโพเทนเชียลของสารละลายอาหารสูตรที่มี mannitol และ sorbitol มีค่าใกล้เคียงกันในความเข้มข้นที่เท่ากัน ส่วนสารละลายอาหารสูตรที่มี PEG 6000 มีค่าออสโมติกโพเทนเชียลสูงกว่าสารละลายอาหารสูตรที่มี mannitol หรือ sorbitol เล็กน้อยเมื่อความเข้มข้นเท่ากัน ค่าของจุดเยือกแข็งที่ลดต่ำลง และออสโมติกโพเทนเชียลของสารละลายอาหารสูตรที่มีหรือไม่มีออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน แสดงไว้ในตารางที่ 15 และเมื่อนำค่าออสโมติกโพเทนเชียลมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของออสโมติคัมกับออสโมติกโพเทนเชียล พบว่า เมื่อความเข้มข้นของออสโมติคัมชนิดต่าง ๆ ในสารละลายอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้น ค่าออสโมติกโพเทนเชียลลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจนโดยค่าออสโมติกโพเทนเชียลมีค่าต่ำสุดเท่ากับ -27.67 atm . ซึ่งเป็นค่าที่วัดได้จากสารละลายอาหารสูตรที่มี mannitol 160 กรัมต่อลิตร (กราฟที่ 4)

4. การศึกษา เซลล์

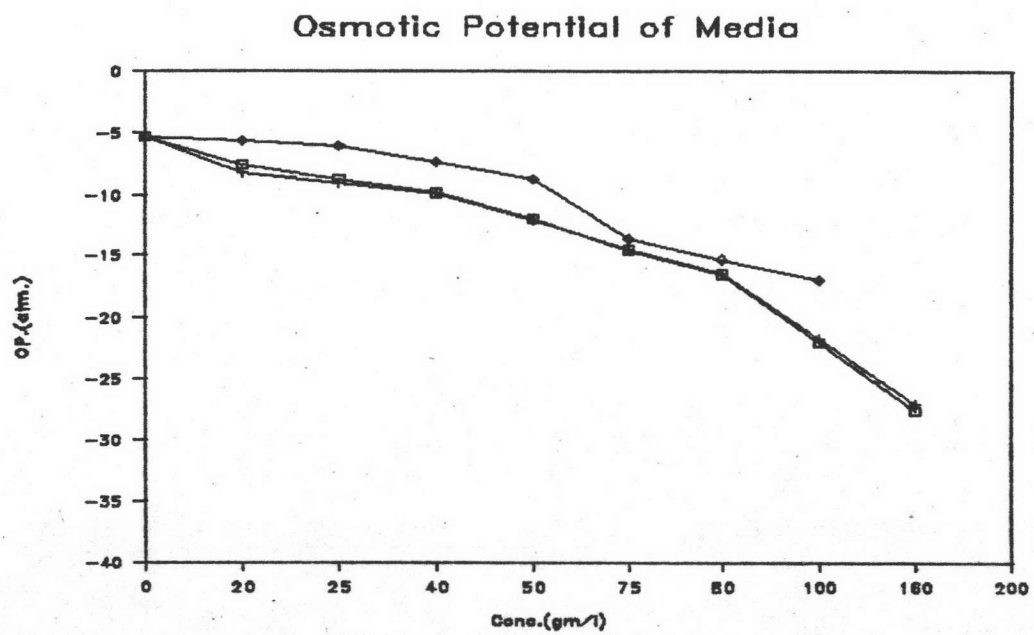
จากการศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีหรือไม่มีออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กันต่อการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ของเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่างของใบว่านกาบหอย พบว่า เมื่อหยุดสารละลายอาหารสูตรที่ไม่มีออสโมติคัมลงบนเนื้อเยื่อของใบว่านกาบหอยไม่พบการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์เห็นรงควัตถุแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งอยู่ภายในแวคิวโอล (vacuole) กระจายอยู่เต็มเซลล์ (ภาพที่ 3) เมื่อหยุดสารละลายอาหารสูตรที่มี mannitol หรือ sorbitol 20 กรัมต่อลิตรลงบนเนื้อเยื่อของใบว่านกาบหอยพบการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นภายในเซลล์โดยเซลล์เริ่มเกิดกระบวนการพลาสโมไลซิส (plasmolysis) บางส่วนของเซลล์เมมเบรน (cell membrane) หดตัวเข้ามาไม่อยู่ชิดกับผนังเซลล์ (cell wall) รงควัตถุแอนโทไซยานิน กระจายอยู่เกือบเต็มเซลล์ (ภาพที่ 3 และ 4) แต่เนื้อเยื่อของใบว่านกาบหอยซึ่งหยุดด้วยสารละลายอาหารสูตรที่มี PEG 6000 25 กรัมต่อลิตรมีการเปลี่ยนแปลงคล้ายกับเมื่อหยุดด้วยสารละลายอาหารสูตรที่ไม่มีออสโมติคัม พบว่ารงควัตถุแอนโทไซยานินกระจายอยู่เต็มเซลล์ (ภาพที่ 5) เมื่อหยุดสารละลายอาหารสูตรที่มี mannitol sorbitol

ตารางที่ 15 ค่าออสโมติกโพเทนเชียลของสารละลายอาหารสัตว์ ที่มีออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน (เฉลี่ยจาก 6 ซ้ำ)

สารละลายอาหารสัตว์	จุดเยือกแข็ง (-°C)	จุดเยือกแข็งที่ลดต่ำลง (°C)	ออสโมติกโพเทนเชียล (atm.)
Control	0.9335	0.4355	-5.24814
M ₁	1.125	0.627	-7.55336
M ₂	1.3185	0.8205	-9.88109
M ₃	1.8715	1.3735	-16.5247
M ₄	2.8015	2.3035	-27.6687
S ₁	1.175	0.677	-8.15499
S ₂	1.325	0.827	-9.95925
S ₃	1.865	1.367	-16.4467
S ₄	2.7515	2.2535	-27.0705
P ₁	1	0.502	-6.04882
P ₂	1.2215	0.7235	-8.71441
P ₃	1.6315	1.1335	-13.6430
P ₄	1.9115	1.4135	-17.0048

หมายเหตุ จุดเยือกแข็งของน้ำกลั่นเท่ากับ -0.498°C

กราฟที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของออสโมติกชนิดและปริมาณต่าง ๆ กับค่าออสโมติกโพเทนเชียล



□ แทน mannitol

+ " sorbitol

◇ " PEG 6000

80 กรัมต่อลิตร หรือ PEG 6000 75 กรัมต่อลิตร ลงบน เนื้อเยื่อของใบว่านกาบหอย พบว่า เซลล์เกิดกระบวนการพลาสโมไลซิสมากขึ้น เซลล์เมมเบรนส่วนใหญ่ไม่อยู่ชิดกับผนัง เซลล์รงควัตถุแอนโทไซยานินอยู่ร่วมกันเป็นบริเวณเล็ก ๆ ภายในเซลล์ ที่ความเข้มข้นของ PEG 6000 75 กรัมต่อลิตร เกิดพลาสโมไลซิสน้อยกว่าความเข้มข้นของ mannitol หรือ sorbitol 80 กรัมต่อลิตร จึงเห็นรงควัตถุแอนโทไซยานินกระจายเป็นบริเวณกว้างกว่า (ภาพที่ 3, 4 และ 5) เมื่อหดยดสารละลายอาหารสูตรที่มี mannitol sorbitol 160 กรัมต่อลิตร หรือ PEG 6000 100 กรัมต่อลิตร ลงบน เนื้อเยื่อของใบว่านกาบหอย พบว่า เซลล์เกิดกระบวนการพลาสโมไลซิสอย่างมาก เซลล์เมมเบรนหลุดจากผนัง เซลล์มากขึ้น รงควัตถุแอนโทไซยานินอยู่ร่วมกันเป็นบริเวณเล็ก ๆ ภายในเซลล์ (ภาพที่ 3, 4 และ 5)

เปรียบเทียบผลของปริมาณต่าง ๆ ของ ออสโมติกัมชนิดเดียวกันต่อการเปลี่ยนแปลงของ เนื้อเยื่อของใบว่านกาบหอย พบว่า เมื่อความเข้มข้นของ ออสโมติกัมในสารละลายอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้น เซลล์ของเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่างของใบว่านกาบหอย จะเกิดกระบวนการพลาสโมไลซิสมากขึ้นตามลำดับ สังเกตได้จากรงควัตถุแอนโทไซยานิน ซึ่งมีการกระจายตัวภายในเซลล์เป็นบริเวณแคบลงตามลำดับ

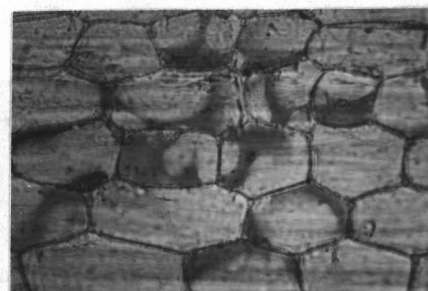
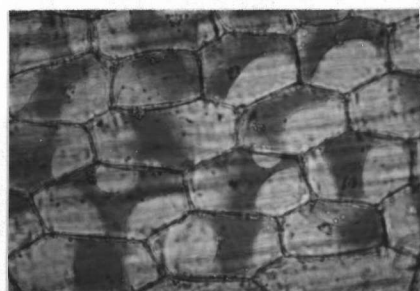
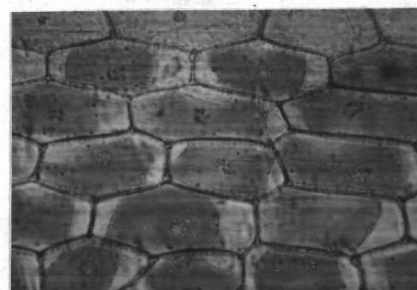
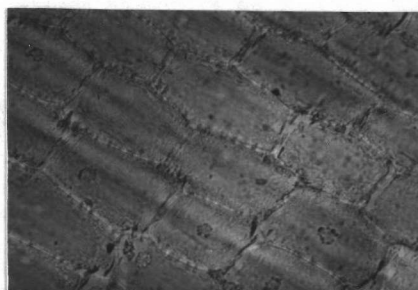
จากการศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีออสโมติกัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กันต่อการเปลี่ยนแปลงของ เซลล์ข้าวพันธุ์เหลืองประทิวพบว่า เมื่อหดยดสารละลายอาหารสูตรที่มีและไม่มีออสโมติกัมลงบน เซลล์ข้าวไม่ล้ามารถสัง เกิดพบการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์

5. การศึกษาการเกิด greensepot ของแคลสส์ข้าวพันธุ์ต่างๆ ที่ผ่านการเจริญบนอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีออสโมติกัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน

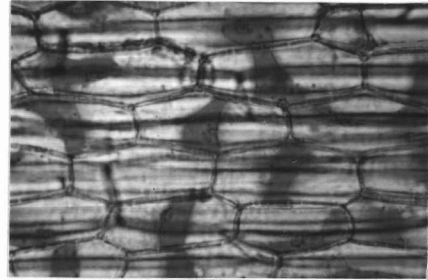
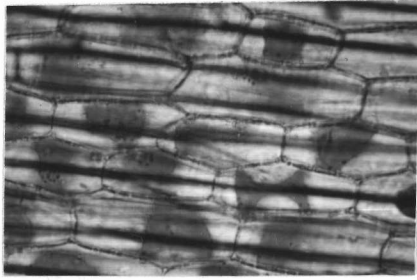
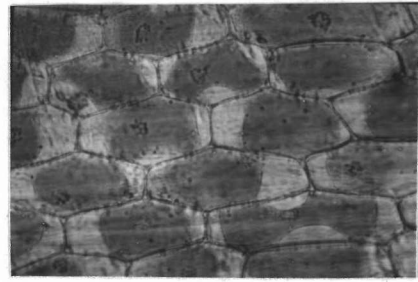
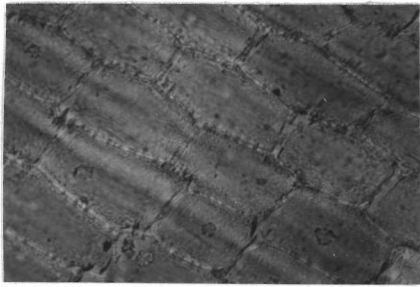
เมื่อย้ายแคลสส์ข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีออสโมติกัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กันเป็นเวลา 6 สัปดาห์มาเลี้ยงบนอาหารสูตรที่มี mannitol, sorbitol หรือ PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ กันพบว่า แคลสส์ข้าวพันธุ์เหลืองประทิวมีค่าจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greensepot ลดลงทุกความเข้มข้นเมื่อให้ระยะเวลาเพิ่มขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 6 (ตารางที่ 16, 17, และ 18 : แผนภูมิที่ 2) จำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greensepot มีค่ามากที่สุดที่สัปดาห์ที่ 2 โดยมีค่าเท่ากับร้อยละ 87.5 ซึ่งเป็นแคลสส์ที่ผ่านการเจริญ



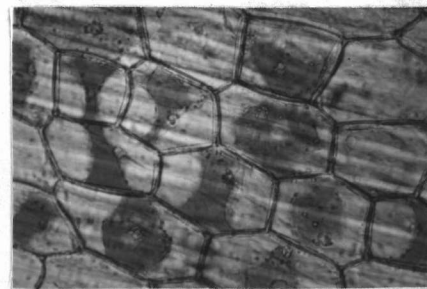
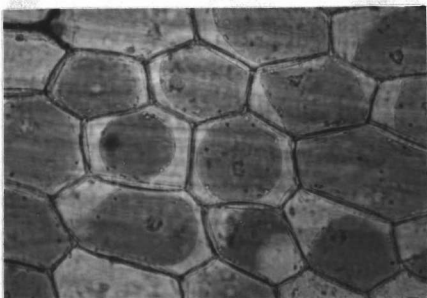
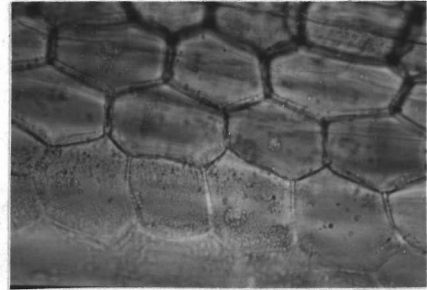
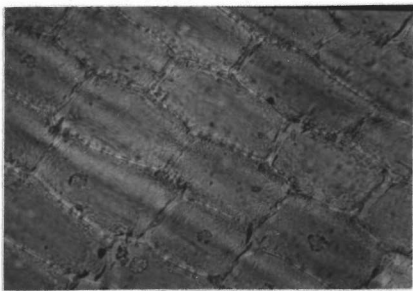
ภาพที่ 2 แคลลัสสีขาวที่ได้จากการชักนำบนอาหารสูตรชักนำแคลลัส สภาพมีด
2 สัปดาห์ (ซ้าย) และเฉพาะ embryogenic callus ที่นำมาเลี้ยง
บนอาหารสูตรที่มีออสโมติกัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน (ขวา)



ภาพที่ 3 เนื้อเยื่อผิวใบด้านล่างของใบว่านกาหยอเมื่อหยดสารละลายอาหาร
สูตรที่มี mannitol 0 กรัมต่อลิตร (บนซ้าย) 20 กรัมต่อลิตร (บนขวา)
80 กรัมต่อลิตร (ล่างซ้าย) และ 160 กรัมต่อลิตร (ล่างขวา) กำลัง
ขยาย 550 เท่า



ภาพที่ 4 เนื้อเยื่อผิวใบตัดกลางของใบว่านกาบหอยเมื่อหดยดสารละลายอาหารสูตรที่มี sorbitol 0 กรัมต่อลิตร (บนซ้าย), 20 กรัมต่อลิตร (บนขวา), 80 กรัมต่อลิตร (ล่างซ้าย) และ 160 กรัมต่อลิตร (ล่างขวา) กำลังขยาย 550 เท่า



ภาพที่ 5 เนื้อเยื่อผิวใบตัดกลางของใบว่านกาบหอยเมื่อหดยดสารละลายอาหารสูตรที่มี PEG 6000 0 กรัมต่อลิตร (บนซ้าย), 25 กรัมต่อลิตร (บนขวา), 75 กรัมต่อลิตร (ล่างซ้าย) และ 100 กรัมต่อลิตร (ล่างขวา) กำลังขยาย 550 เท่า

ตารางที่ 16 ค่าจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot ของข้าวพันธุ์เหลืองประทิวที่ผ่านการ เจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ข้า)

สัปดาห์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)				
	0	20	40	80	160
0	0	0	0	0	0
2	81.25	68.75	56.25	25	12.5
4	62.5	62.5	56.25	18.75	6.25
6	62.5	56.25	50	12.5	0

ตารางที่ 17 ค่าจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot ของข้าวพันธุ์เหลืองประทิวที่ผ่านการ เจริญบนอาหารสูตรที่มี sorbitol ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ข้า)

สัปดาห์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)				
	0	20	40	80	160
0	0	0	0	0	0
2	81.25	87.5	62.5	37.5	18.75
4	62.5	75	50	25	0
6	62.5	68.75	43.75	18.75	0



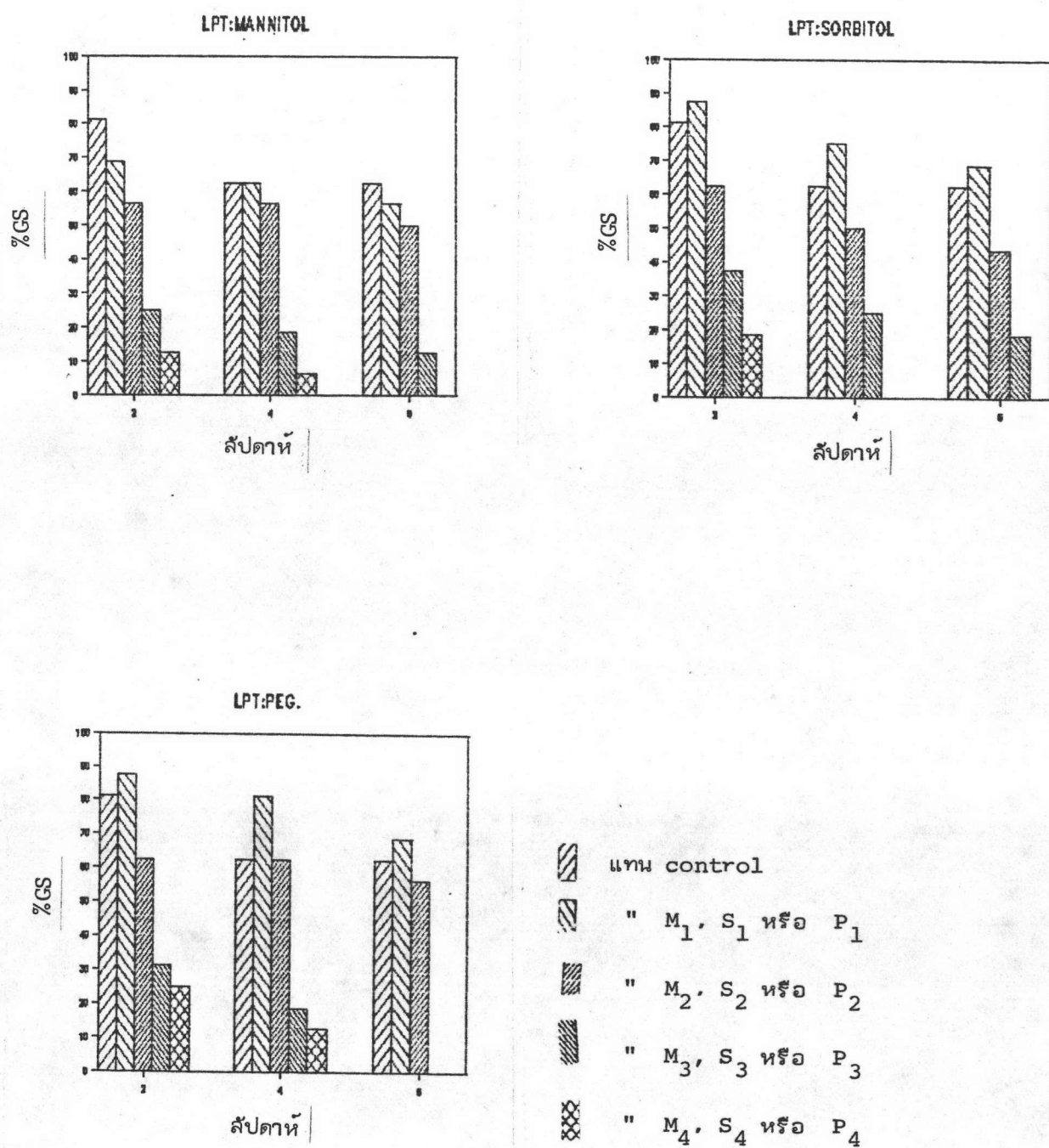
ตารางที่ 18 ค่าจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greenspot ของข้าวพันธุ์เหลืองประทิวที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ข้าว)

สัปดาห์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)				
	0	25	50	75	100
0	0	0	0	0	0
2	81.25	87.5	62.5	31.25	25
4	62.5	81.25	62.5	18.75	12.5
6	62.5	68.75	56.25	0	0

ตารางที่ 19 ค่าจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greenspot ของข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ข้าว)

สัปดาห์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)				
	0	20	40	80	160
0	0	0	0	0	0
2	81.25	75	50	12.5	6.25
4	68.75	56.25	37.5	12.5	0
6	62.5	56.25	31.25	6.25	0

แผนภูมิที่ 2 จำนวนร้อยละของแคลลัสที่เกิด greynspot ของข้าวพันธุ์เหลืองประทิวที่ผ่านการเจริญอาหารสูตรที่มีออสโมติกัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน



อาหารสูตรที่มี sorbitol 20 กรัมต่อลิตร และ PEG 6000 25 กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot ของแต่ละสัปดาห์ พบว่าร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot มีค่าลดลงในแคลสส์ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีความเข้มข้นของ mannitol เพิ่มขึ้น สำหรับแคลสส์ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี sorbitol หรือ PEG 6000 เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot ของแต่ละสัปดาห์เพิ่มขึ้น เมื่อแคลสส์ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี sorbitol 20 กรัมต่อลิตร และ PEG 6000 25 กรัมต่อลิตร และลดลงเมื่อแคลสส์ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีความเข้มข้นของออลิโมดิคัม ดังกล่าวสูงชันกว่านี้

แคลสส์ข้าวพ่นธัญพืชดอกมะลิที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol sorbitol หรือ PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ กันมีค่าจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot ลดลงทุกความเข้มข้นเมื่อให้ระยะเวลาเพิ่มขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 6 (ตารางที่ 19, 20 และ 21 : แผนภูมิที่ 3) จำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot มีค่ามากที่สุดที่สัปดาห์ที่ 2 โดยมีค่าเท่ากับร้อยละ 81.25 ซึ่งเป็นแคลสส์ที่ผ่านการเจริญบนสูตรอาหารที่ไม่มีออลิโมดิคัม เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot ของแต่ละสัปดาห์พบว่าร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot มีค่าลดลงเมื่อแคลสส์ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีความเข้มข้นของออลิโมดิคัมเพิ่มขึ้น

แคลสส์ข้าวพ่นธัญพืช กข.23 ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol sorbitol หรือ PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ กันมีค่าจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot ลดลงทุกความเข้มข้นเมื่อให้ระยะเวลาเพิ่มขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 6 (ตารางที่ 22, 23 และ 24 : แผนภูมิที่ 4) จำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot มีค่ามากที่สุดที่สัปดาห์ที่ 2 โดยมีค่าเท่ากับร้อยละ 75 ซึ่งเป็นแคลสส์ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่ไม่มีออลิโมดิคัม เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot ของแต่ละสัปดาห์พบว่าร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot ของแต่ละสัปดาห์มีค่าลดลงในแคลสส์ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีความเข้มข้นของออลิโมดิคัมเพิ่มขึ้น ยกเว้นแต่แคลสส์ซึ่งผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol 20 กรัมต่อลิตร มีค่าร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot สูงกว่าแคลสส์ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่ไม่มีออลิโมดิคัมภายหลัง 2 สัปดาห์แล้ว

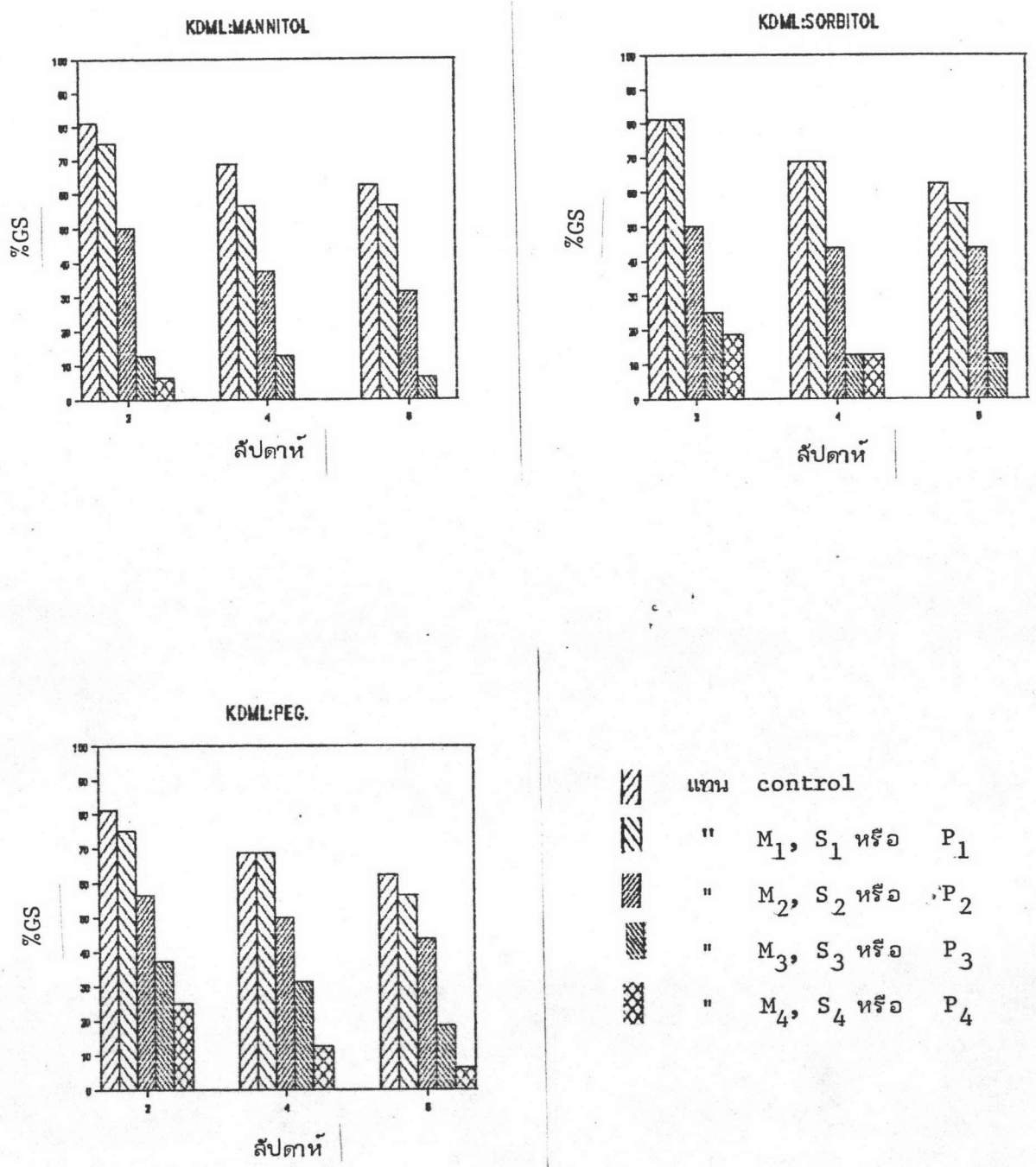
ตารางที่ 20 ค่าจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot ของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี sorbitol ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ซ้ำ)

สัปดาห์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)				
	0	20	40	80	160
0	0	0	0	0	0
2	81.25	81.25	50	25	18.75
4	68.75	68.75	43.75	12.5	12.5
6	62.5	56.25	43.75	12.5	0

ตารางที่ 21 ค่าจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot ของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ซ้ำ)

สัปดาห์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)				
	0	25	50	75	100
0	0	0	0	0	0
2	81.25	75	56.25	37.5	25
4	68.75	68.75	50	31.25	12.5
6	62.5	56.25	43.75	18.75	6.25

แผนภูมิที่ 3 จำนวนร้อยละของแผลสีที่เกิด greyness ของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีออสโมติกัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน



ตารางที่ 22 ค่าจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot ของข้าวพันธุ์ กข.23 ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ชั่วโมง)

สัปดาห์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)				
	0	20	40	80	160
0	0	0	0	0	0
2	75	75	62.5	31.25	12.5
4	62.5	75	50	18.75	6.25
6	56.25	62.5	37.5	0	0

ตารางที่ 23 ค่าจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greynspot ของข้าวพันธุ์ กข. 23 ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี sorbitol ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ชั่วโมง)

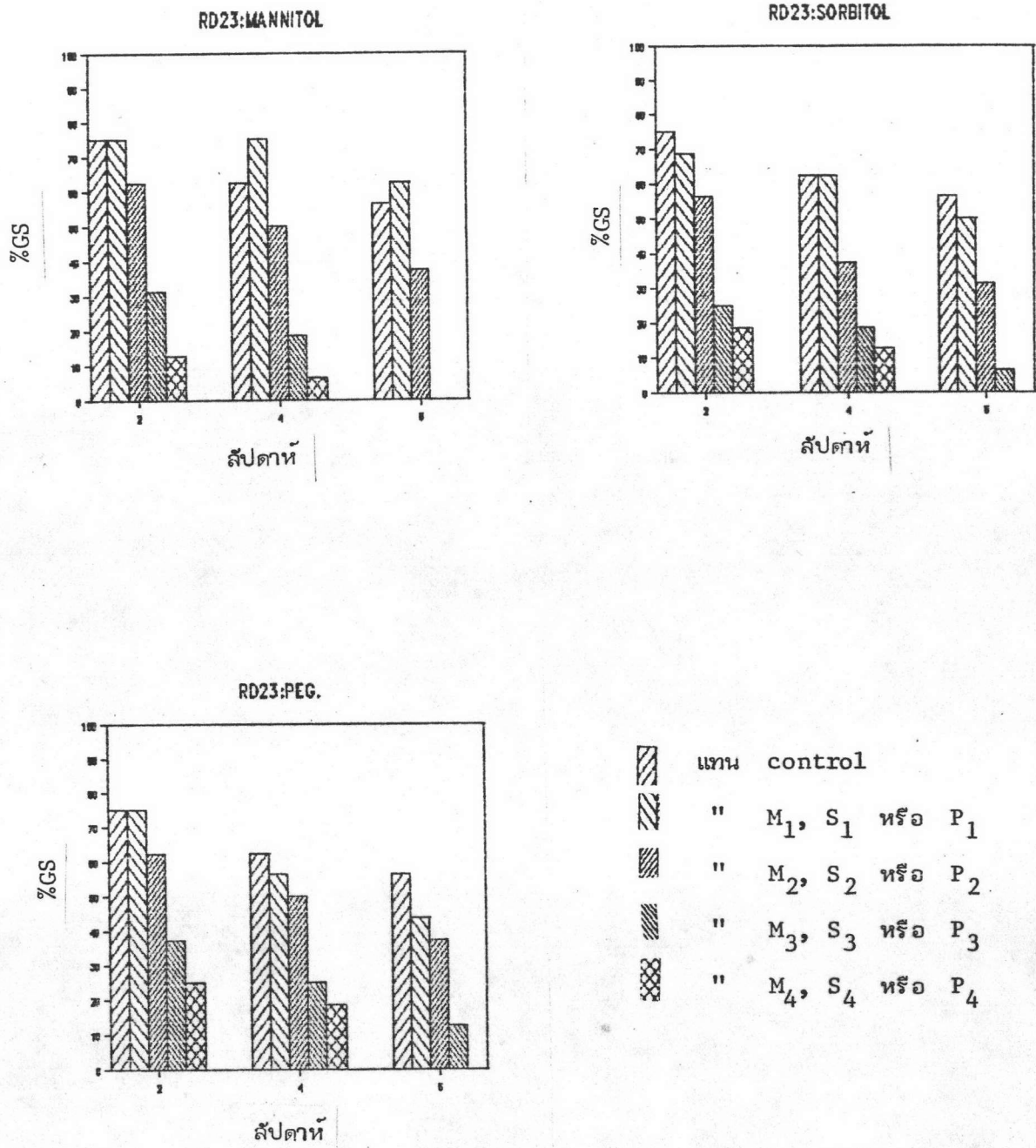
สัปดาห์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)				
	0	20	40	80	160
0	0	0	0	0	0
2	75	68.75	56.25	25	18.75
4	62.5	62.5	37.5	18.75	12.5
6	56.25	50	31.25	6.25	0

ตารางที่ 24 ค่าจำนวนร้อยละของแคลลัสที่เกิด greynspot ของข้าวพันธุ์ กข.23 ที่ผ่านการเจริญอาหารสูตรที่มี PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ กัน (จาก 16 ข้ำ)

สัปดาห์	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)				
	0	25	50	75	100
0	0	0	0	0	0
2	75	75	62.5	37.5	25
4	62.5	56.25	50	25	18.75
6	56.25	43.75	37.5	12.5	0



แผนภูมิที่ 4 จำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greyness ของข้าวพันธุ์ กข. 23 ที่ผ่านการ
เจริญบนอาหารสูตรที่มีออสโมติกัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน



เปรียบเทียบค่าจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greenspot ของแคลสส์ข้าวพันธ์ต่าง ๆ ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีออลโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน โดยพิจารณาจากจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greenspot ประจำสัปดาห์ที่ 6 (แผนภูมิที่ 5) พบว่า แคลสส์ข้าวพันธ์ กข. 23 ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol 20 กรัมต่อลิตร, แคลสส์ข้าวพันธ์เหลืองประเทิวและขาวดอกมะลิที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่ไม่มี mannitol มีจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greenspot สูงสุด โดยมีค่าเท่ากับ 62.50 ส่วน แคลสส์ข้าวพันธ์เหลืองประเทิวที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี sorbitol 20 กรัมต่อลิตร และ PEG 6000 25 กรัมต่อลิตร มีจำนวนร้อยละของแคลสส์ที่เกิด greenspot สูงสุด โดยมีค่าเท่ากับ 68.75 ในสัปดาห์ที่ 6 นอกจากนี้แคลสส์จะเกิด greenspot แล้ว greenspot บางส่วนบนแคลสส์มีการพัฒนาไปเป็นหน่อใหม่ด้วย จำนวนร้อยละของแคลสส์ข้าวพันธ์ต่าง ๆ ที่เกิด greenspot มีค่าลดลงเมื่อให้แคลสส์ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีความเข้มข้นของออลโมติคัมเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 6, 7 และ 8)

6. การศึกษาการเกิดหน่อใหม่ของแคลสส์ข้าวพันธ์ต่าง ๆ ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีออลโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน

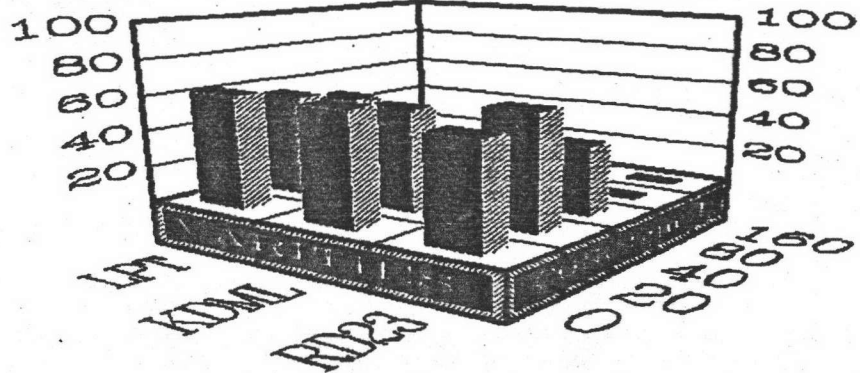
เมื่อย้ายแคลสส์ข้าวพันธ์เหลืองประเทิว ขาวดอกมะลิ และ กข. 23 ที่ผ่านการเจริญบนอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีออลโมติคัมเป็นเวลา 6 สัปดาห์ มาเลี้ยงบนอาหารสูตรสำหรับชักนำให้แคลสส์เกิด greenspot และหน่อใหม่พบว่าแคลสส์ข้าวพันธ์เหลืองประเทิว ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol 20 กรัมต่อลิตรหรือ PEG 6000 25 กรัมต่อลิตร มีค่าจำนวนร้อยละของการเกิดหน่อใหม่ต่อจำนวนแคลสส์ทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 25 แคลสส์ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol sorbitol 160 กรัมต่อลิตร หรือ PEG 6000 75 และ 100 กรัมต่อลิตรไม่ให้หน่อใหม่เลย

แคลสส์ข้าวพันธ์ขาวดอกมะลิที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีหรือไม่มี mannitol sorbitol หรือ PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ กันมีค่าจำนวนร้อยละของการเกิดหน่อใหม่ต่อจำนวนแคลสส์ทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 25 ซึ่งเป็นแคลสส์ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี PEG 6000 25 กรัมต่อลิตร แคลสส์ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol sorbitol 160 กรัมต่อลิตร หรือ PEG 6000 75 และ 100 กรัมต่อลิตรไม่ให้หน่อใหม่

แผนภูมิที่ 5 จำนวนร้อยละของแผลสีที่เกิด greynspot ประจำสัปดาห์ที่ 6 ของข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ซึ่งผ่านการ เจริญบนอาหารสูตรที่มีออสโมติคัมปริมาณต่าง ๆ กัน

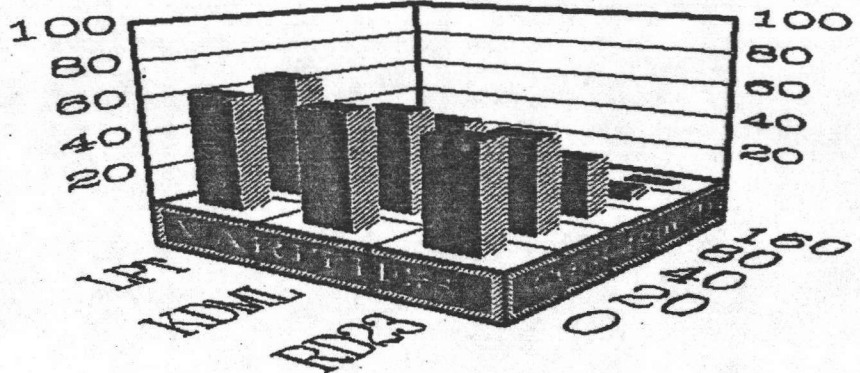
RTC:MANNITOL

% GS. 6 WK.



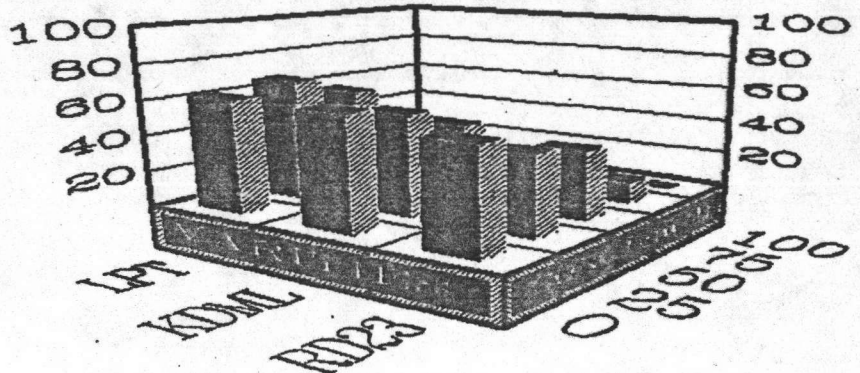
RTC:SORBITOL

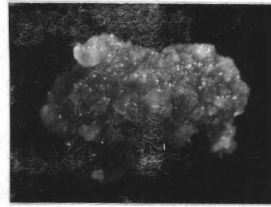
% GS. 6 WK.



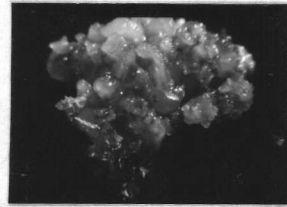
RTC:PEG.

% GS. 6 WK.

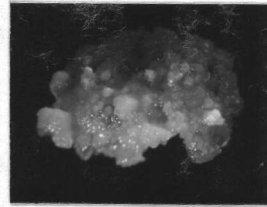




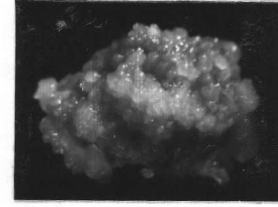
Control



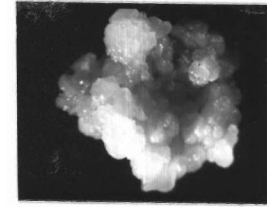
M₁



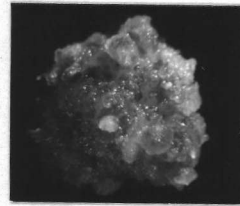
M₂



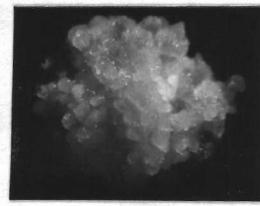
M₃



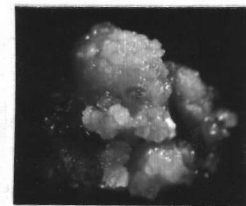
M₄



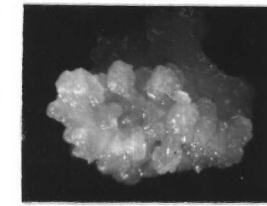
S₁



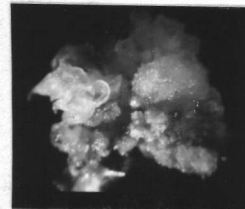
S₂



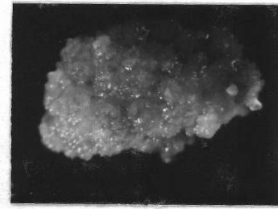
S₃



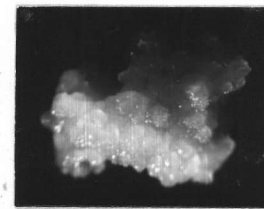
S₄



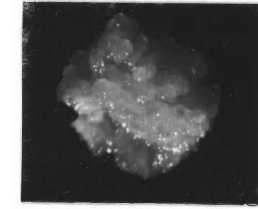
P₁



P₂

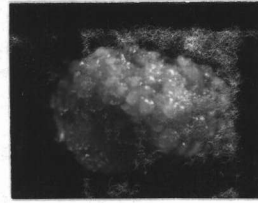


P₃

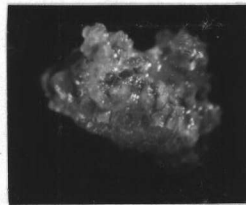


P₄

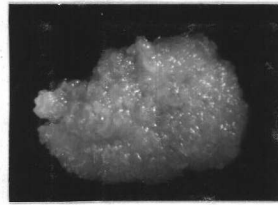
ภาพที่ 6 การเกิด greenspot ในสัปดาห์ที่ 6 ของข้าวพันธุ์เหลืองประทิว (กำลังขยาย 8 เท่า)



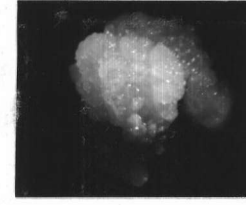
Control



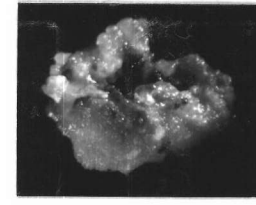
M₁



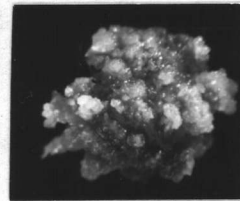
M₂



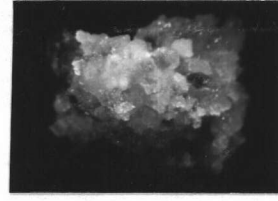
M₃



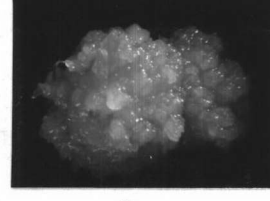
M₄



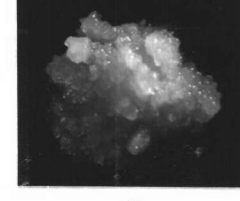
S₁



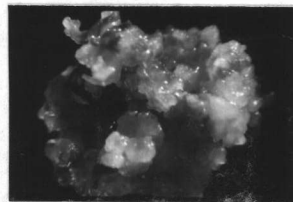
S₂



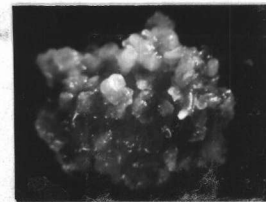
S₃



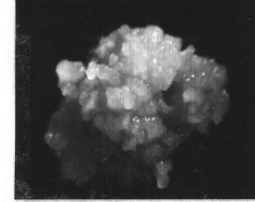
S₄



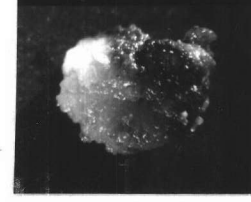
P₁



P₂

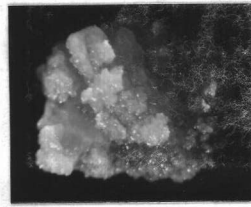


P₃

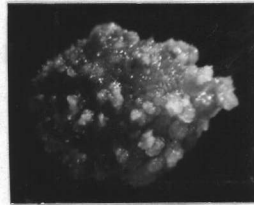


P₄

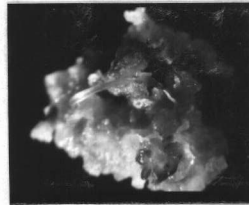
ภาพที่ 7 การเกิด greenspot ในสัปดาห์ที่ 6 ของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ (กำลังขยาย 8 เท่า)



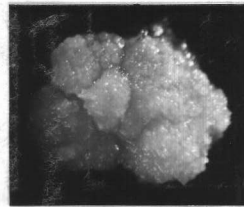
Control



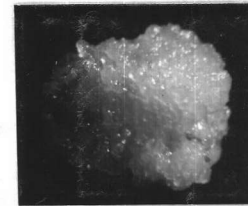
M₁



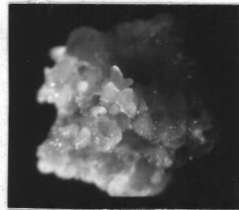
M₂



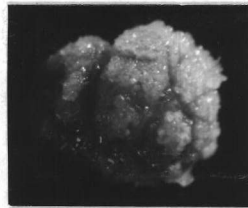
M₃



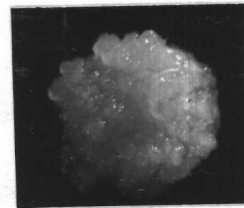
M₄



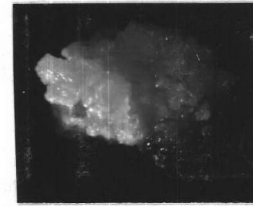
S₁



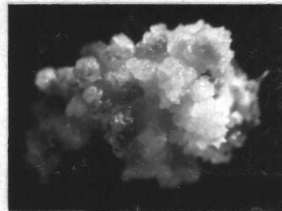
S₂



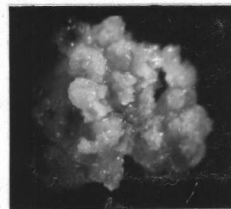
S₃



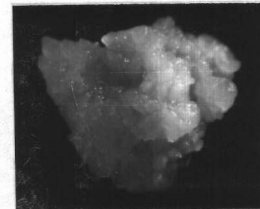
S₄



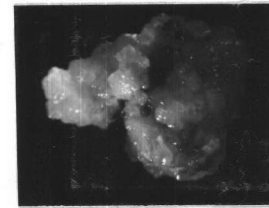
P₁



P₂



P₃



P₄

ภาพที่ 8 การเกิด greenspot ในสัปดาห์ที่ 6 ของข้าวพันธุ์ กข. 23 (กำลังขยาย 8 เท่า)



แคลลัสข้าวพันธุ กย. 23 ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีหรือไม่มี mannitol sorbitol หรือ PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ กันมีค่าจำนวนร้อยละของการเกิดหน่อใหม่ต่อจำนวนแคลลัสทั้งหมดสูงสุดเท่ากับร้อยละ 18.75 ซึ่งเป็นแคลลัสที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่ไม่มีออลิโกโมดิคัม หรือมี mannitol sorbitol 20 กรัมต่อลิตร หรือ PEG 6000 25 กรัมต่อลิตร แคลลัสที่ผ่านการเจริญบนอาหาร สูตรที่มี mannitol sorbitol 80 และ 160 กรัมต่อลิตร หรือ PEG 6000 75 และ 100 กรัมต่อลิตร พบว่าไม่ให้หน่อใหม่ (ตารางที่ 25, 26 และ 27 : แผนภูมิที่ 6, 7 และ 8)

7. การศึกษาการเกิดหน่อใหม่ของแคลลัสข้าวพันธุเหลืองประเทวที่ผ่านการเจริญบนอาหาร สูตรที่มี หรือไม่มีออลิโกโมดิคัมระยะเวลาต่าง ๆ กัน

เมื่อย้ายแคลลัสข้าวพันธุเหลืองประเทว ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol sorbitol 20 กรัมต่อลิตร หรือ PEG 6000 25 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 หรือ 4 สัปดาห์ มาเลี้ยงบนอาหาร สูตรสำหรับชักนำให้แคลลัสเกิดหน่อใหม่เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เปรียบเทียบค่า จำนวนร้อยละของการเกิดหน่อใหม่ต่อจำนวนแคลลัสทั้งหมด ระหว่างแคลลัสที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีออลิโกโมดิคัมชนิดและปริมาณเดียวกันเป็นเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์ พบว่าค่า จำนวนร้อยละของการเกิดหน่อใหม่ต่อจำนวนแคลลัสทั้งหมดมีค่า สูงสุดเท่ากับร้อยละ 25 ซึ่งเป็น แคลลัสที่ผ่านการเจริญบนอาหาร สูตรที่มี mannitol 20 กรัมต่อลิตร และ PEG 6000 25 กรัมต่อลิตรเป็นเวลา 6 สัปดาห์ (ตารางที่ 28 : แผนภูมิที่ 9)

ตารางที่ 25 ค่าจํานวนร้อยละของการเกิดหน่อใหม่ต่อจํานวนแคลลัสทั้งหมดของแคลลัสข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol ปริมาณต่าง ๆ กัน

พันธุ์ข้าว	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)				
	0	25	40	80	160
เหลืองประทิว	18.75	25	18.75	6.25	0
ขาวดอกมะลิ	18.75	18.75	12.50	0	0
กข.23	18.75	18.75	18.75	0	0

ตารางที่ 26 ค่าจำนวนร้อยละของการเกิดหน่อใหม่ต่อจำนวนแคลลัสทั้งหมดของ แคลลัสข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี sorbitol ปริมาณต่าง ๆ กัน

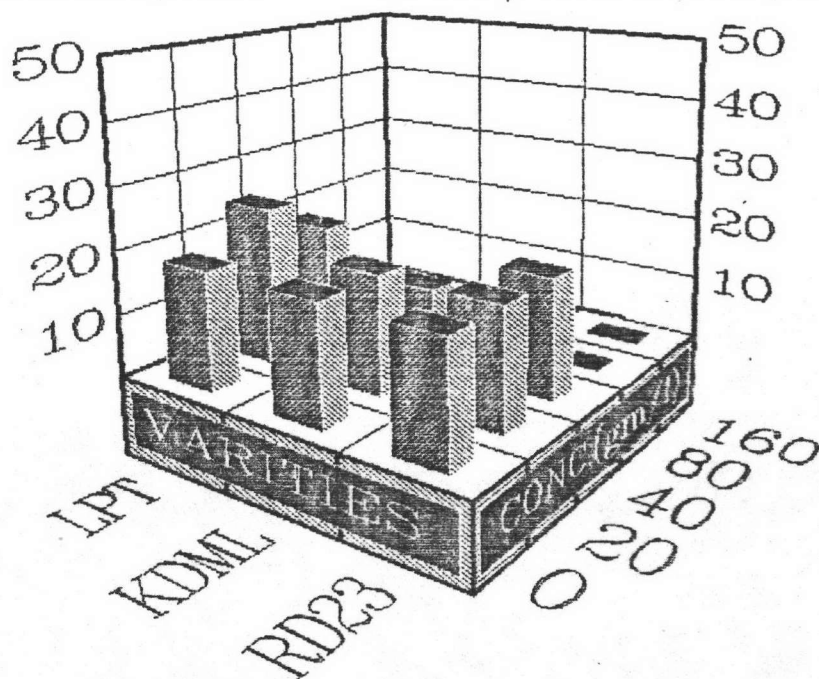
พันธุ์ข้าว	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)				
	0	20	40	80	160
เหลืองประทิว	18.75	18.75	12.50	0	0
ขาวดอกมะลิ	18.75	18.75	6.25	6.25	0
กข.23	18.75	18.75	12.50	0	0

ตารางที่ 27 ค่าจำนวนร้อยละของการเกิดหน่อใหม่ต่อจำนวนแคลลัสทั้งหมดของ แคลลัสข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ กัน

พันธุ์ข้าว	ความเข้มข้น (กรัม/ลิตร)				
	0	25	50	75	100
เหลืองประทิว	18.75	25	12.50	0	0
ขาวดอกมะลิ	18.75	25	18.75	0	0
กข.23	18.75	18.75	6.25	0	0

แผนภูมิที่ 6 จำนวนร้อยละของการเกิดหน่อใหม่ต่อจำนวนแคลลัสทั้งหมดของแคลลัสข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol ปริมาณต่าง ๆ กัน

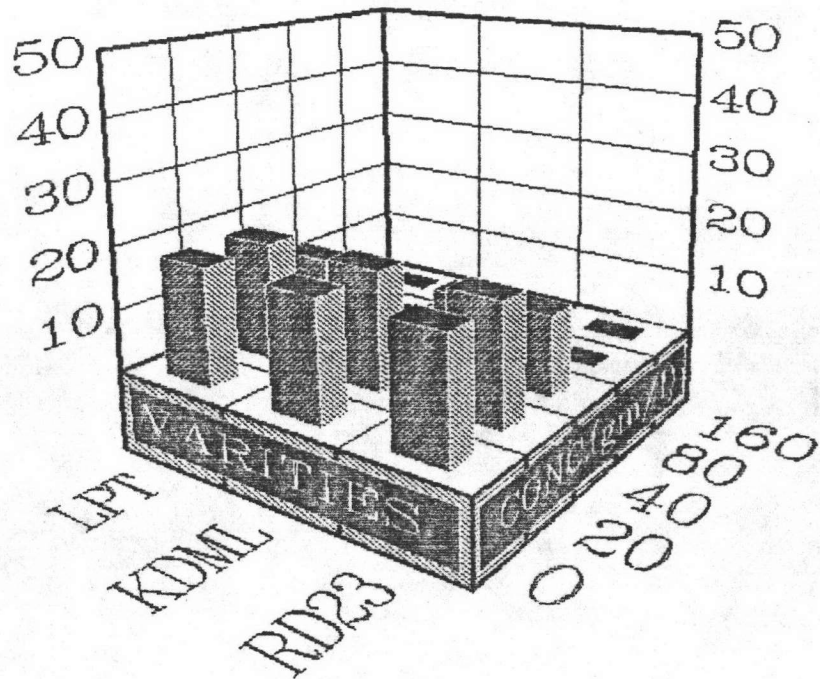
RTC:MANNITOL % SH/TOL.CALLUS





แผนภูมิที่ 7 จำนวนร้อยละของการเกิดหน่อใหม่ต่อจำนวนแคลลัสทั้งหมดของแคลลัสข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี sorbitol ปริมาณต่าง ๆ กัน

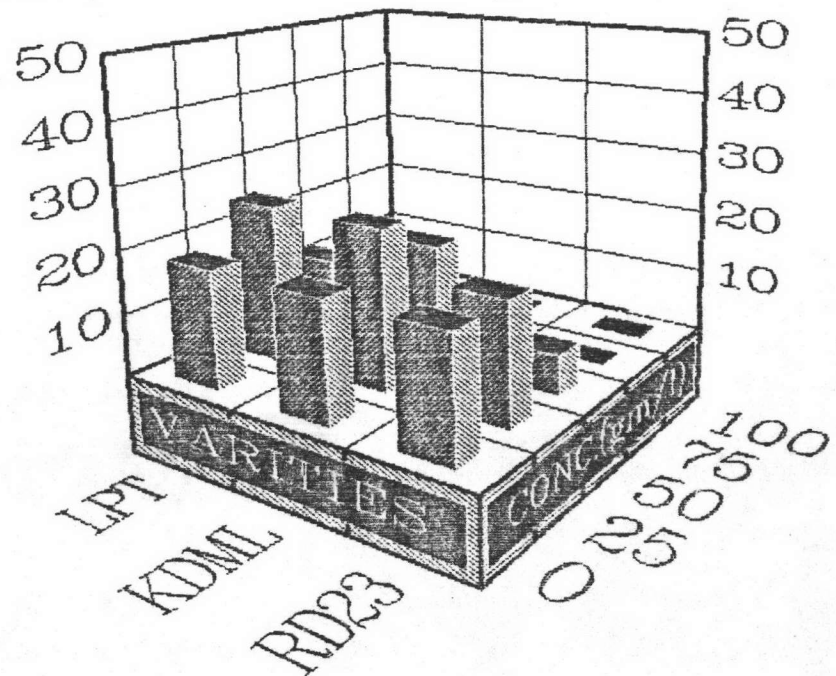
RTC:SORBITOL % SH/TOL.CALLUS



แผนภูมิที่ 8 จำนวนร้อยละของการเกิดหน่อใหม่ต่อจำนวนแคลลัสทั้งหมดของแคลลัสข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี PEG 6000 ปริมาณต่าง ๆ กัน

RTC:PEG.

% SH/TOL.CALLUS



ตารางที่ 28 ค่าจำนวนร้อยละของการเกิดหน่อใหม่ต่อจำนวนแคลลัสทั้งหมดของ แคลลัส
 ย้ำวพันธุ์เหลืองประทิวที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีและไม่มี mannitol
 sorbitol 20 กรัมต่อลิตร และ PEG 6000 25 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2, 4
 และ 6 สัปดาห์

สัปดาห์ \	ออสโมติกัม	control	mannitol	sorbitol	PEG 6000
2		20	20	20	20
4		10	20	10	20
6		18.75	25	18.75	25

แผนภูมิที่ 9 จำนวนร้อยละของการเกิดหน่อใหม่ต่อจำนวนแคลลัสทั้งหมดของ แคลลัสข้าวพั้นธุ์เหลือง
 ประทิวที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีและไม่มี mannitol sorbitol 20
 กรัมต่อลิตร และ PEG 6000 25 กรัมต่อลิตรเป็นเวลา 2, 4 และ 6 สัปดาห์

