หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

พืชในวงศ์ Graminae เป็นธัญพืชที่สำคัญที่สุดในโลก โดยเฉพาะข้าว (Oryza sativa L.) เป็นอาหารสำหรับประชากรเกือบทั่วโลก กว่า 80 เปอร์เซนต์ของประชากรในทวีปเอเชียบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก สำหรับประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศกสิกรรมที่ปลูกข้าวเป็นพืชหลัก ประชากรส่วนใหญ่ของประเทศมีอาชีพเป็นชาวนาและข้าวยังเป็นสินค้าเศรษฐกิจหลักที่สำคัญที่สุดของประเทศไทย ซึ่งทำรายได้เข้าสู่ประเทศสูงที่สุดมาตลอดในปี 2527 และ 2528 ประเทศไทยส่งข้าวออกเป็นจำนวน 4.6 และ 4.1 ล้านตันมีมูลค่าเป็นเงิน 25,932 และ 22,524 ล้านบาทตามลำดับ นับเป็นประเทศที่ส่งข้าวออกเป็นลำดับหนึ่ง รองลงมาคือสหรัฐอเมริกาและปากีสถาน (นพดล พีระเสถียร, 2527, 2528, 2529 และ เอกสารประกอบ III, 2529) ในปี พ.ศ. 2529 ประเทศไทยส่งข้าวออกในระหว่างเดือนมกราคม-พฤษภาคม เป็นจำนวน 2.16 ล้านตัน มีมูลค่า 9,607 ล้านบาท เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณการส่งออกในช่วงเวลาเดียวกันของปีที่ผ่านมา พบว่าปริมาณการส่งออกเพิ่มขึ้นถึง 3.3 เปอร์เซนต์ แต่กลับมีมูลค่าลดลงถึง 20.1 เปอร์เซนต์ (เอกสารประกอบ II, 2529) ถึงแม้ว่าการส่งข้าวออกขายในต่างประเทศของไทยจะยังคงสูงอยู่ แต่ก็มีช่องว่างเกิดขึ้นระหว่างราคาข้าวของไทยกับสหรัฐอเมริกา โครงสร้างของการส่งออกต้องเปลี่ยนไปตั้งแต่กฎหมายฟาร์มแอคท์ (Farm Act : The Food Securities Act of 1985) ของสหรัฐอเมริกามีผลบังคับใช้ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2529 ทำให้ประเทศไทยต้องส่งข้าวชนิดที่มีคุณภาพต่ำ เช่น ข้าว 15 เปอร์เซนต์ ข้าวนึ่ง และข้าวหัก มากกว่าข้าวที่มีคุณภาพดี เป็นสาเหตุให้ทำให้มูลค่าการส่งออกลดลง (เอกสารประกอบ II, 2529; นพดล พีระเสถียร, 2529)

ประเทศไทยอาจจะส่งข้าวที่มีคุณภาพดีในราคาต่ำกว่ากำหนดของ F.O.B. ได้มากเท่ากับสหรัฐอเมริกา ถ้าเราสามารถลดต้นทุนในการผลิตลงโดยการเพิ่มผลผลิตของข้าวที่มีคุณภาพดีให้สูงยิ่งขึ้น โดยปกติประเทศไทยได้ผลผลิตข้าว 321 กก./ไร่ (1 ไร่ = 1600 ตารางเมตร และ 4000 ตารางเมตร = 1 เอเคอร์) เมื่อเปรียบเทียบกับผลผลิตของสาธารณรัฐประชาชนจีน อินโดนีเซีย และมาเลเซีย ซึ่งผลิตได้ 569.7 กก./ไร่ ส่วนสหรัฐ-อเมริกา เกาหลี และญี่ปุ่นได้ผลผลิตสูงถึง 918.5 กก./ไร่ (อรรควุฒิ ทัศน์สองชั้น, 2526) เนื่องจากคาดหมายว่าความสามารถในการผลิตของสหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย และสาธารณรัฐประชาชนจีนจะเพิ่มขึ้นอีก (นพดล พีระเสถียร, 2527) จึงจำเป็นที่ประเทศไทยจะต้องหาวิธีเพิ่มผลผลิตต่อไร่ให้สูงยิ่งขึ้นเพื่อลดต้นทุนในการผลิตให้ต่ำลงจะได้สู้กับราคาตลาดโลกได้

(Vajrabhaya et al., 1984a) นักวิทยาศาสตร์จึงสนใจที่จะปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ได้ผลผลิตสูงขึ้นมีความต้านทานต่อโรคและแมลง รวมทั้งมีลักษณะที่ดีสำหรับการปลูกในพื้นที่ที่ดินมีปัญหา เช่น การชักนำและคัดเลือก mutant ของข้าวที่ทนต่อดินเค็ม หรือทนต่อดินเปรี้ยว (Yoshida et al., 1983 ; Vajrabhaya et al., 1983-1986) การไม่ไวต่อช่วงแสง และมีลักษณะทรงต้นที่ดี (Allard, 1960; อรรควุฒิ ทัศน์สองชั้น 2526)

การเพิ่มผลผลิตต่อไร่ให้อยู่ในเกณฑ์สูงนั้นทำได้หลายวิธี อาทิ การปรับปรุงพันธุ์ การขยายเขตชลประทาน ตลอดจนหาวิธีบำรุงรักษาที่ดี การปรับปรุงพันธุ์ข้าวนี้อาจทำได้หลายวิธี เช่น การนำพันธุ์จากท้องถิ่นต่าง ๆ เข้ามาปลูก แล้วทำการคัดเลือกพันธุ์ และผสมพันธุ์ตลอดจนการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม (ประพาส วีระแพทย์, 2526; อรรควุฒิ ทัศน์สองชั้น, 2526) ตามธรรมชาติสามารถเกิด mutation ได้ตลอดเวลาแม้ว่าจะมีอัตราค่อนข้างต่ำแต่ก็เป็นผลที่ทำให้ได้พันธุ์ใหม่ๆเกิดขึ้น บัจจุบันนอกจากจะปรับปรุงพันธุ์พืชโดยการคัดพันธุ์จากการผสมพันธุ์หรือจากการกลายพันธุ์ที่เกิดตามธรรมชาติแล้ว เทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชก็เป็นอีกวิธีหนึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ ทั้งนี้เพราะในขณะทำการเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อมีโอกาสเกิด mutation หรือ variation ได้ตลอดเวลาเช่นเดียวกับที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ ยิ่งกว่านั้น variation ที่เกิดในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีโอกาสแสดงออกได้มากกว่า เนื่องจากเซลล์พืชมีคุณสมบัติของ totipotency ทั้งค่าของ sheer number ของประชากรเซลล์ที่เลี้ยงในขวดแก้วนั้นมีค่าสูงกว่าในต้นพืชตามธรรมชาติมาก นักวิทยาศาสตร์จึงอาศัยหลักการนี้มาเพื่อใช้เทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในการปรับปรุงพันธุ์ (Vajrabhaya, 1988) การแปร (variation) ที่เกิดขึ้นโดยการเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อ เรียกว่า somaclonal variation พืชที่เกิดการกลายพันธุ์นั้นมีโอกาสที่จะได้ลักษณะดีขึ้นหรือเลวลงกว่าต้นเก่า ซึ่งการกลายพันธุ์นี้อาจเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) หรือบังคับให้เกิดขึ้นโดยใช้สารเคมี รังสี หรือบัจจัยทางธรรมชาติก็ได้ (Vajrabhaya, 1977)

ในอดีตการจะเกิดพันธุ์พืชใหม่ต้องอาศัยการคัดเลือกและการปรับปรุงพันธุ์พืชเท่านั้น และโอกาสของการเกิดการกลายพันธุ์โดยธรรมชาติมีน้อยมาก ต่อมาถึงแม้ว่าจะมีการใช้รังสีหรือสารเคมีเพื่อเพิ่มอัตราการเกิด mutation ก็ยังได้รับพันธุ์ใหม่ที่เกิดขึ้นน้อยอยู่เพราะลักษณะการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นจะต้องเกิดที่เนื้อเยื่อเจริญ (meristem) เท่านั้น จึงมีโอกาสแสดงออก แต่บัจจุบันนี้ได้อาศัยเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ คือ เทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งการเกิดการกลายพันธุ์ขณะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เซลล์ของแคลลัสมีโอกาสที่จะเจริญต่อไปเป็น growing point หรือเจริญเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์ต่อไปได้ ด้วยวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้ลักษณะการกลายพันธุ์ของพืชก็มีโอกาสแสดงออกได้มากกว่า (Vajrabhaya et al, 1983) และยิ่งใช้รังสี หรือสารเคมีในขณะเลี้ยงเนื้อเยื่อก็จะเพิ่มโอกาสของการเกิด mutation ได้มากยิ่งขึ้น (Vajrabhaya and

Vajrabhaya, 1974; นิด ธนาบริบรูณ์, 2527) ซึ่งวิธีการนี้จะช่วยประหยัดเวลา ค่าใช้จ่าย และพื้นที่ในการคัดเลือกพันธุ์ใหม่ได้อย่างมาก นอกจากนี้การผันแปรที่เกิดขึ้นจากการกลายในระดับโครโมโซม (chromosomal mutation) จะมีประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์อย่างมาก โดยเราสามารถทำการคัดเลือกพันธุ์ใหม่ให้ได้ตามต้องการ เพื่อใช้ขยายพันธุ์โดยตรง หรือใช้เป็นแม่พันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

การศึกษาการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยวิธีการเลี้ยงเนื่อเยื่อเริ่มได้รับความสนใจเมื่อประมาณสิบกว่าปีที่ผ่านมา และกำลังอยู่ในระหว่างการศึกษาเทคนิคต่าง ๆ ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว ในการชักนำเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของต้นข้าวให้เจริญเป็นแคลลัส ปัจจุบันไม่มีปัญหามากนัก แต่ปัญหาที่ตามมาและยังต้องศึกษากันอีกมากคือการชักนำให้แคลลัสเจริญไปเป็นต้นใหม่โดยเฉพาะสายพันธุ์พวก indica พบว่าการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ยังอยู่ในอัตราต่ำ (Yoshida et al., 1983, Zapata et al., 1983 และ Vajrabhaya et al., 1984a) ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับสาเหตุหลายประการได้แก่

1. อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งขึ้นอยู่กับ

ก. องค์ประกอบ ความเข้มข้น และสัดส่วนของธาตุอาหารอนินทรีย์ ซึ่งได้แก่ ธาตุอาหารหลัก และธาตุอาหารรอง

ข. องค์ประกอบ ความเข้มข้นและสัดส่วนของสารอินทรีย์ ซึ่งได้แก่ วิตามิน กรดอะมิโนต่าง ๆ รวมทั้งสารควบคุมการเจริญ คือ สารกลุ่มออกซิน และไซโตไคนิน ซึ่งมีความสำคัญต่อการเลี้ยงเนื้อเยื่อมาก นอกจากนี้ยังรวมถึงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสิ่งมีชีวิตที่ยังไม่ทราบองค์ประกอบที่แน่นอน

ค. แรงดันออสโมซิส และความสมดุลย์ของอิออนในอาหาร

2. สิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ได้แก่

ก. แสง ขึ้นอยู่กับ ความเข้มแสง ความยาวคลื่น และช่วงแสง

ข. อุณหภูมิ

ค. ความชื้น

ง. ก๊าซ เช่น ออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ และเอทีลีน เป็นต้น

3. ชนิดของพืชที่นำมาเลี้ยง
4. ลักษณะเฉพาะทางพันธุกรรมของพืช
5. อายุและส่วนต่าง ๆ ของพืชที่นำมาเลี้ยง
6. ระยะเวลาที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ
7. ชนิดของเซลล์ที่เจริญในอาหาร
8. เทคนิคของการทำให้ปลอดเชื้อ

งานวิจัยนี้เน้นศึกษาถึงชนิด ความเข้มข้น และสัดส่วนที่เหมาะสมของออกซิน และไซโตไคนิน เพื่อดูว่า จะมีผลต่อการเจริญของแคลลัสไปเป็นต้นใหม่อย่างไร และงานวิจัยนี้ยังเป็นส่วนหนึ่งของโครงการข้าวฯ ซึ่งเป็นโครงการร่วมมือระหว่างจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดย รองศาสตราจารย์ มนทกานติ วัชราภัย กับ Colorado State University โดย Prof. M.W. Nabors โดยได้รับทุนการวิจัยจาก U.S. International Development Cooperation Agency

วัตถุประสงค์และขอบเขตของงานวิจัย

เพื่อศึกษาถึงอิทธิพลของชนิด ความเข้มข้นและสัดส่วนที่เหมาะสมของสารควบคุมการเจริญทั้งที่เป็นกลุ่มออกซิน และไซโตไคนินที่สามารถชักนำให้แคลลัสข้าวเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่ให้ได้มากที่สุด โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ

1. ศึกษาชนิด ความเข้มข้น และสัดส่วนที่เหมาะสมของออกซิน และไซโตไคนิน ต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ของข้าว และเปรียบเทียบกับผลการทดลองที่ได้รับจากโครงการข้าวฯ โดยดำเนินงานวิจัยที่หน่วยปฏิบัติการวิจัยการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาพฤกษศาสตร์ จุฬาฯ

2. นำสูตรทดลองที่คัดเลือกจากขั้นตอนแรกที่ดีที่สุด และสูตรที่ได้จากโครงการข้าวฯ เปรียบเทียบกับสูตรที่ได้รับจาก TCCP (Tissue Culture for Crop Projects) ทั้งในเรื่องของสารอนินทรีย์ สารอินทรีย์บางชนิดและสารควบคุมการเจริญทั้งที่เป็นออกซินและไซโตไคนิน นอกจากนี้ยังเปรียบเทียบถึงเทคนิคของการเลี้ยงเนื้อเยื่อ และอายุของแคลลัสที่ใช้ในการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่โดยดำเนินงานวิจัยที่หน่วยปฏิบัติการ Tissue Culture for Crop Projects (TCCP) Colorado State University

การสำรวจเอกสาร

การศึกษาเทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อได้เกิดขึ้นมากกว่า 50 ปีแล้ว แต่การประยุกต์เอาเทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในทางเกษตรได้เริ่มขึ้นเมื่อสองทศวรรษที่ผ่านมานี้เอง (Vajrabhaya et al., 1983) เทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชยังใช้เป็นระบบของการศึกษาขั้นพื้นฐาน หรืองานวิจัยประยุกต์ได้เป็นอย่างดี การศึกษาเรื่องการเจริญ กลไกการทำงานและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อและเซลล์ของพืชใบเลี้ยงคู่ได้มีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย ส่วนในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว โดยเฉพาะธัญพืชยังมีการศึกษาทางด้านการเลี้ยงเนื้อเยื่อน้อยอยู่ จึงทำให้ความก้าวหน้าทางวิชาการด้านนี้เป็นไปได้ช้ากว่าพืชใบเลี้ยงคู่ (Lai and Liu, 1982) ซึ่งMaeda (1980) ได้แสดงความเห็นในเรื่องนี้ว่าเป็นเพราะการเจริญของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวไม่มี secondary growth ใน vascular cambium จึงทำให้การชักนำแคลลัสในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวทำได้ยาก สำหรับข้าว (Oryza sativa L.) ยิ่งมีประวัติของการศึกษาในเรื่องการ

เลี้ยงเนื้อเยื่อน้อยมาก อันเนื่องมาจากความยากลำบากทั้งในการชักนำให้เกิดแคลลัสและการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จากแคลลัส จึงเป็นอุปสรรคอย่างยิ่งในการที่จะใช้ประโยชน์ในการศึกษาการเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวเพื่อมาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว (Lai and Liu, 1982; Vajrabhaya et al., 1983) อย่างไรก็ดีได้มีรายงานการชักนำให้เกิดแคลลัสได้สำเร็จเป็นครั้งแรกในปี 1964 โดย Furahashi และ Yatagawa จากข้อของต้นกล้าข้าวโดยเลี้ยงในสูตร Heller's medium ที่มี 2,4-D (2ppm.) และมีวิตามินด้วย (Chou et al., 1983; Oono, 1983) ต่อมาก็มีนักวิทยาศาสตร์สนใจในการศึกษาการเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวมากขึ้น และสามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้จากส่วนต่าง ๆ ของข้าว เช่น ราก mesocotyl ปล้อง ข้อ coleoptile กาบใบ epidermal cell ของ scutellum (Inoue and Maeda, 1976), mature embryo (Maeda, 1968; Siriwadana and Nabors, 1983; Yoshida et al., 1983; Vajrabhaya et al., 1983; 1984; 1985; 1986) immature embryo (Lai and Liu, 1982; Vajrabhaya et al., 1985a) และ seed culture (Siriwadana and Nabors, 1983; Yoshida et al., 1983) ไม่ว่าจะเป็นแคลลัสที่ได้รับจากการเลี้ยงอับละอองเกสร หรือ somatic cell culture ก็สามารถนำมาชักนำและคัดเลือกต้นพืชซึ่งเกิด mutation ได้ แต่การเลี้ยงอับละอองเกสรของข้าวพบว่าจะสูญเสีย totipotency เมื่อทำการ subculture หลายครั้ง จึงเป็นอุปสรรคต่อการคัดเลือก mutant ในระดับเซลล์ จากเหตุผลดังกล่าวการเลี้ยง somatic cell จึงเหมาะสมและนิยมใช้ในงานวิจัยมากกว่า โดยเฉพาะการใช้เมล็ดหรือ mature embryo ของข้าว เพราะหาวัตถุดิบได้ง่ายสามารถเก็บเป็น stock ไว้ใช้นาน ๆ ได้สะดวก และการทำความสะอาดพื้นผิวได้อย่างทั่วถึง ทำให้มีการปนเปื้อนน้อย (Yoshida et al., 1983; Vajrabhaya et al., 1983 และ 1984a) และข้อได้เปรียบของการใช้เมล็ดในการเลี้ยงเนื้อเยื่ออีกข้อหนึ่ง คือ ลักษณะการเกิดต้นเผือก (albino-like plant) ซึ่งจะพบได้น้อยกว่าในการเลี้ยงอับละอองเกสร (Niizeki and Oono 1968; IRPS, 1982)

สำหรับงานวิจัยนี้ก็ใช้เมล็ดข้าวพันธุ์กข23 เป็นวัตถุดิบ เพราะนอกจากข้อดีดังกล่าวแล้ว ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยการชักนำแคลลัสจากเมล็ดข้าวพันธุ์นี้ยังไม่มีปัญหาเรื่องการพักตัวเช่นเดียวกับธัญพืชในเขตอบอุ่นอื่น ๆ (Vajrabhaya et al., 1984a) ยิ่งไปกว่านั้นข้าวพันธุ์กข 23 ยังมีลักษณะที่น่าสนใจคือ เป็นพันธุ์ข้าวไม่ไวแสง มีอายุประมาณ 120-130 วัน ความสูงของต้นประมาณ 115-120 ซม. แตกกอค่อนข้างดี ต้านทานต่อโรคจู๋และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ให้ผลผลิตสูง เมล็ดยาวเรียว ข้าวสารสวยเมื่อหุงสุกแล้วมีความนุ่มพอเหมาะและรสดี (อรรควุฒิ ทัศน์สองชั้น, 2526; เอกสารประกอบ I, 2526) ดังนั้นถ้าลักษณะที่มีความทนทานต่อสิ่งแวดล้อม

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้ดี สามารถเพิ่มเข้าไปในพันธุ์ข้าวนี้ได้โดยอาศัยการกลายพันธุ์ในสภาพแวดล้อมที่บังคับให้ในขณะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พันธุ์ข้าวนี้ก็จะมีประโยชน์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

ปัจจุบันในการเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวพบว่า การชักนำให้เกิดแคลลัสไม่เป็นปัญหาเลย เพราะสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงถึง 93.3เปอร์เซนต์ ในข้าวไทย (Vajrabhaya and Vajrabhaya, 1986) แต่ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่จากแคลลัสข้าวยังต่ำอยู่มาก (Yamada, 1982; Nabors, 1983; Vajrabhaya et al., 1984a) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่จากแคลลัสเป็นสิ่งสำคัญยิ่งในการศึกษาการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อสามารถคัดเลือกเซลล์ที่มีลักษณะที่ต้องการได้แล้ว เช่น ลักษณะทนต่อความแห้งแล้ง ทนต่อความเค็มหรือทนต่อยาปราบวัชชพืช เป็นต้น ก็จะต้องชักนำให้เซลล์ที่มีลักษณะที่ต้องการหรือที่เป็นประโยชน์นี้สามารถเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ได้มากๆ แต่โดยปรกติแล้วเปอร์เซนต์ของการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จะลดลง (Yamada, 1982; Vajrabhaya et al., 1986) ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่ของข้าวจากแคลลัส พบว่า แคลลัสที่ได้จากการชักนำเอมบริโอข้าวให้เกิดแคลลัสมีอยู่ 2 ชนิด คือ embryogenic (E) callus ซึ่งเป็น compact callus มีสีขาวถึงสีนวลอยู่กันอย่างหนาแน่น อีกชนิดหนึ่งคือ non embryogenic (NE) callus เป็น friable callus มีสีขาวใสอยู่กันหลวมๆ เฉพาะ E callus เท่านั้นที่ให้ greenspot ซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นหน่อและต้นที่สมบูรณ์ได้ในเวลาต่อมา (Nabors,1983; มนทกานติ วัชราภัย และ พวงเพชร พูนทรัพย์, 2527; Vajrabhaya et al., 1984b) รูปแบบของการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ของเซลล์หรือแคลลัสสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ได้ 2 วิธีคือ 1. โดยทางตาหน่อ ซึ่งมีการเจริญแบบทางเดียว (unipolar) ไปเป็นหน่อ การเปลี่ยนไปเป็นต้นใหม่เป็นแบบ organogenesis โดยเจริญจากกลุ่มเซลล์เมอริสเตมอยด์ (meristemoid) 2. โดยทางเอมบริโอร่างกาย (somatic embryogenesis) ซึ่งมีการเจริญแบบสองทาง (bipolar) ไปเป็นหน่อและราก การเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่จะเป็นแบบ embryogenesis โดยเจริญจากเซลล์ที่มีการพัฒนาการไปเป็นเอมบริออยด์ (embryoid หรือ somatic embryo) (Kohlenback, 1977; Dodds and Roberts, 1982) Genovesi และ Magill(1982) ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จากแคลลัสของเรณูข้าวพบว่า หน่อและรากเกิดจากการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่ทั้งแบบ organogenesis และ embryogenesis และเชื่อว่าส่วนใหญ่จะเป็นแบบ embryogenesis ในทำนองเดียวกัน Reghava Ram และ Nabors (1984) ศึกษาแคลลัสจากเอมบริโอข้าวก็ได้ผลคล้ายคลึงกัน อย่างไรก็ตาม มนทกานติ วัชราภัย และ พวงเพชร พูนทรัพย์ (2527) ก็ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ของแคลลัสจากเอมบริโอของข้าวกลับพบว่าจะเป็นแบบ organogensis เช่นเดียวกับ Yamada (1982) ที่ได้ศึกษาไว้ การเปลี่ยนแปลง

เป็นต้นใหม่จะเป็นแบบใดนั้น Murashige (1977) ยืนยันว่าขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย แต่ความสัมพันธ์ของสารควบคุมการเจริญของพืชระหว่างออกซินและไซโตไคนินทั้งในเรื่องชนิดและความเข้มข้นของสารทั้งสองจะมีบทบาทสำคัญอย่างเห็นได้ชัด นอกจากออกซินและไซโตไคนินจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่ องค์ประกอบของอาหารอื่นๆ ได้แก่ น้ำตาล แหล่งไนโตรเจน โปแตสเซียม ฟอสฟอรัส pH บัฟเฟอร์ในอาหารที่เลี้ยงเนื้อเยื่อ (Dougall, 1981) รวมทั้งชนิดและสายพันธุ์ของพืช (Abe and Futsuhara, 1984) ก็มีบทบาทต่อการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่เช่นกัน

บทบาทของธาตุอาหารทั้งธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองต่อการเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นมีความสำคัญมาก นักวิทยาศาสตร์ได้คิดค้นสูตรอาหารต่าง ๆ มากมาย ซึ่งสูตรอาหารเหล่านั้นก็มีความเหมาะสมกับพืชไม่เหมือนกัน (White, 1954; Murashige and Skoog, 1962) สูตรอาหารบางสูตรสามารถใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้ทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ (Schenk and Hildebrandt, 1972) สำหรับการศึกษาแหล่งธาตุอาหารต่าง ๆ พบว่าแหล่งธาตุไนโตรเจนและโปแตสเซียมมีบทบาทมากในการเพิ่มผลผลิตที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Murashige and Skoog, 1962) Ohira และคณะ (1973) ศึกษาความต้องการของสารอาหารในการเจริญเติบโตของแคลลัสข้าว และสรุปว่าความเข้มข้นของไนโตรเจนและโปแตสเซียมถ้าเพิ่มขึ้นจะให้ผลผลิตดีขึ้น ส่วน Yamada (1977) แนะนำว่าการเติมเกลือแอมโมเนียม5 mM ลงไปในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อจะส่งเสริมการสะสมไนเตรทและชักนำการทำงานของNADH ในข้าวไทยสายพันธุ์ กข23 ลิริพร ชาตะปัทมะ (2529) ศึกษาผลของธาตุอาหารหลักต่อการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นใหม่จากแคลลัสข้าวโดยใช้สูตรอาหารที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลักของ White (1963) และสูตรศึกษาซึ่งดัดแปลงโดยการเพิ่มหรือลดความเข้มข้นของอิออนไนเตรท ฟอสเฟต โปแตสเซียม แคลเซียมและแมกนีเซียม ที่มีอยู่เดิม 3 ถึง 16 เท่า และเติมอิออนแอมโมเนียมซึ่งไม่มีในสูตรเดิม พบว่าไนโตรเจนในรูปไนเตรทและฟอสฟอรัสทำให้ได้จำนวนหน่อเพิ่มขึ้นส่วนการลดหรือเพิ่มโปแตสเซียม แคลเซียมและแมกนีเซียมไม่มีผลต่อการเกิดหน่อ

การศึกษาบทบาทของน้ำตาลนั้น Tran Thanh Van (1977) พบว่าปริมาณน้ำตาลในอาหารมีผลต่อการเกิดดอกในเนื้อเยื่อยาสูบที่เลี้ยง และกลูโคสเหมาะในการชักนำให้เกิดดอกมากกว่าน้ำตาลชนิดอื่น Brown และคณะ (1976) ศึกษาปริมาณน้ำตาลที่มีผลต่อการเกิดหน่อในเนื้อเยื่อยาสูบที่เลี้ยงพบว่าซูโครส 3 เปอร์เซนต์ เป็นปริมาณที่พอเหมาะ Ling และคณะ (1984) รายงานว่า ซูโครส 6 เปอร์เซนต์เหมาะในการชักนำให้เกิด embryogenic callus และการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นของข้าว ในขณะที่ Vajrabhaya และคณะ (1984a) พบว่า embryogenic callus ที่มี green spot ซึ่งเป็นเครื่องหมายที่แสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นข้าวได้ในอาหารที่มีน้ำมะพร้าว โดยไม่ต้องเติมซูโครสและการเติมซูโครสทำให้

green spot ลดลง เช่นเดียวกับกล้วยไม้ โดยเฉพาะสกุลแวนด้า (มนทกานติ วัชราภัย,* Vajrabhaya & Vajrabhaya, 1976) นอกจากนี้ก็ยังมีสารอินทรีย์ที่สำคัญในการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่ออีกอย่างหนึ่งคือ วิตามิน วิตามินที่จำเป็นในการส่งเสริมการเจริญคือ ไทอามีน (Ohira et al., 1976; Huang and Murashige, 1976; Gamborg et al., 1976; Shannon and Lin, 1977) ซึ่งจะขาดไม่ได้ ไทอามีนจะใช้ในรูปไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้นระหว่าง 0.1 ถึง 30 มก./ล. และความต้องการไทอามีนจะมีมากขึ้นเมื่อมีไซโตไคนินในระดับต่ำ และพบว่าเมื่อความเข้มข้นของไซโตไคนินสูงพอสมควรคือ ประมาณ 0.1 ถึง 10 มก./ล. เซลล์ยาสูบสามารถเจริญได้โดยไม่ต้องเติมไทอามีนในอาหารที่เลี้ยง (Digby and Skoog, 1966) สำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวพบว่า ไทอามีน มีความสำคัญต่อการเจริญและการ subculture ของแคลลัสข้าว แต่ไม่จำเป็นสำหรับการชักนำแคลลัสจากเมล็ดข้าว (Inoue and Maeda, 1976; Maeda, 1980a; Maeda, Chen and Inoue, 1986)

สารที่มีบทบาทสำคัญมากต่อการเลี้ยงเนื้อเยื่ออีกกลุ่มหนึ่ง คือ สารควบคุมการเจริญซึ่ง Schenk and Hildebrandt (1972) พบว่า ในอาหารที่มีออกซินระดับสูง และมีไซโตไคนินต่ำจะเหมาะสำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ซึ่ง Ohara and Street (1978) พบว่า ออกซินมีความจำเป็นต่อการงอกของแคลลัสข้าวสาลี ทั้ง 2,4-D และ CPA (p-chlorophenoxyacetic acid) ถ้าให้ในปริมาณที่เหมาะสมจะไปยับยั้งการเจริญของยอดข้าวสาลี แต่ถ้าให้ออกซินในปริมาณมากจะไปยับยั้งการเจริญของแคลลัส แต่ในอ้อยพบว่าถ้าให้ 2,4-D สูง (3 มก./ล) และน้ำมะพร้าว 10% (v/v) จะชักนำให้ใบอ่อนของอ้อยเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด (Sreenivasan and Jalaja, 1983; Tanaboriboon and Vajrabhaya, 1987) ในข้าวฟ่างที่ชักนำแคลลัสจาก mature embryo ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน (Petersen, Hanning and Nabors, 1987)

สำหรับข้าวจะต้องใช้ 2,4-D อย่างน้อยที่สุด 0.5 มก./ล ในการชักนำให้เกิดแคลลัส (Maeda, 1985; Lai and Liu, 1982) และไซโตไคนินไม่มีความจำเป็นสำหรับการเจริญของแคลลัสเลย (Maeda, 1968) ชนิดและส่วนต่าง ๆ ของพืช จะตอบสนองต่อชนิดและความเข้มข้นของออกซินในการชักนำให้เกิดแคลลัสแตกต่างกัน ส่วน K จะไม่จำเป็นต่อการชักนำแคลลัส บางครั้งยังไปยับยั้งการเกิดแคลลัส และไม่มีความสำคัญในการ subculture ด้วย (Inoue and Maeda, 1976a; Maeda, 1980; Vajrabhaya et al., 1983; Maeda, Chen and Inoue, 1986) ถ้าเพิ่มความเข้มข้นของออกซินในอาหาร

---

* รศ. มนทกานติ วัชราภัย กรุณาให้คำแนะนำส่วนตัว

จะลด lag period ในการชักนำแคลลัสจากเมล็ดข้าวและส่วนต่างๆ ของต้นกล้า (Inoue and Maeda, 1976b) ยิ่งไปกว่านั้น Lai และ Liu (1982) พบว่า ถ้าไม่มีสารควบคุมการเจริญในอาหารจะไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เลย การใช้ NAA ในการชักนำแคลลัสจะเกิดน้อยกว่า 2,4-Dซึ่งมีความเหมาะสมมากกว่า แต่ 2,4-D ที่สะสมในแคลลัสขณะที่เลี้ยงในอาหารจะทำให้การชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ต่อมาได้ยากยิ่งขึ้นเช่นเดียวกับ Siriwadana and Nabors (1983) และ Zapata et al (1983) ที่ได้แนะนำให้ใช้ NAA หรือ IAA แทน 2,4-D ซึ่งต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงกว่า โดยเฉพาะ IAA ที่อยู่ในอาหารมักจะเปลี่ยนรูปไปเป็น IAA-aspartic acid หรือลดจำนวนคาร์บอนลงกลายเป็นก๊าซคาร์บอน-ไดออกไซด์ ซึ่งจะไม่เกิดขึ้นเมื่อใช้ 2,4-D (Inoue and Maeda, 1979) จึงทำให้ 2,4-D ส่งเสริมการยืดตัวของเซลล์และการเจริญของแคลลัสได้ดีกว่า (Zapata et al., 1983) ถึงแม้ว่าจะไม่ใส่ไซโตไคนินในอาหารเลี้ยงแคลลัสเลย Inoue, Maeda, Yoshida และ Oritani (1979) ก็ยังพบไซโตไคนินในเนื้อเยื่อแคลลัสอย่างน้อย 3 ชนิดคือ Zeatin ซึ่งพบมากที่สุด รองลงมาคือ Zeatin riboside และ N^6 - (Δ^2 -isopentenyl) จึงสรุปได้ว่าในเนื้อเยื่อของแคลลัสข้าวนั้นสามารถผลิตไซโตไคนินได้เอง (endogenous cytokinin) จึงเป็นเหตุให้อธิบายถึงความไม่จำเป็นของไซโตไคนินต่อการชักนำแคลลัส (Inoue and Maeda, 1976a) และการเจริญ (Maeda, 1968) เพราะภายในเนื้อเยื่อข้าวมีไซโตไคนินเพียงพออยู่แล้ว ส่วน Nabors (1983) และ Siriwadana and Nabors (1983) อ้างว่า K จะช่วยเพิ่มการสร้าง embryogenic callus ในข้าว และถ้าเติมกรดอะมิโนบางตัว เช่น tryptophan จะช่วยให้แคลลัสเจริญเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ได้มากขึ้น

การเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่มีความสำคัญอย่างยิ่งในการประยุกต์การเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าว เพราะจำนวนต้นใหม่ยิ่งได้มากเท่าไร โอกาสการคัดเลือก mutant ที่เกิดขึ้นก็ยิ่งมาก แต่ในปัจจุบันความสามารถในการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จากแคลลัสข้าวยังมีปัญหาอยู่มาก และบทบาทของสารควบคุมการเจริญก็มีบทบาทต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่อย่างยิ่ง ตั้งแต่ปี 1957 Skoog และ Miller เป็นคนแรกที่แสดงให้เห็นว่า สารควบคุมการเจริญชนิดที่เป็นออกซิน และไซโตไคนินมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ในแคลลัสของยาสูบ ถ้าอัตราส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินสูงก็จะชักนำให้เกิดต้น แต่ถ้าไซโตไคนินต่อออกซินต่ำจะชักนำให้เกิดราก ซึ่งในพืชอื่นก็พบในทำนองเดียวกัน .สำหรับข้าวมีการรายงานความสำเร็จในการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ครั้งแรกในปี 1968 โดย Kawata และ Ishihara จากการเลี้ยงรากของข้าว และพบว่า 2,4-D จะไปลดความสามารถของการเกิดราก แต่ IAA จะส่งเสริมการสร้างหน่อในการเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว น้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซนต์ หรือ caseinhydrolysate 1 เปอร์เซนต์ มีความสำคัญต่อการเกิดหน่อด้วย

ในข้าวนั้นทั้งหน่อ ราก และต้นใหม่จะเกิดได้ดีเมื่อมีออกซินต่ำ และเฉพาะออกซินที่เป็นตัวสำคัญในการควบคุมขบวนการ dedifferentiation และ redifferentiation ในข้าวและพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (Nishi, Yamada and Takahashi, 1968; Inuoe and Maeda, 1976a; และ Inoue and Maeda, 1977) นอกจากนี้อัตราส่วนของออกซินและไซโตไคนินที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสไปเป็นต้นใหม่ยังขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของข้าวด้วย (Tamura,1968) แต่ Saka และ Maeda (1969) กลับพบว่า เฉพาะ K ที่เติมในอาหารเท่านั้นที่มีอิทธิพลต่อการเกิดต้นจากแคลลัสข้าวที่เลี้ยงจากเอมบริโอและพบว่าการเกิดรากจะไม่เกี่ยวข้องกับการเติม K แต่ถ้ามี 2,4-D อยู่ แม้จะมีในปริมาณน้อยก็ตามจะชักนำให้เกิดรากได้ แม้แต่ในบริเวณสีดำบนแคลลัสก็ตาม

การสังเกตการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่ของข้าวพบว่าการเกิด green spot หรือ green region จะมีความสัมพันธ์กับการเกิดต้น (Nakano and Maeda,1974;Nakano and Maeda,1979) ไซโตไคนินมีผลต่อการเกิด green region ซึ่งจะพัฒนาเป็น green leaves ต่อไปที่บริเวณชั้นผิวแคลลัส ในปี 1980 Maeda พบว่า K จะชักนำการเกิดหน่อในอาหารที่เติม yeast extracts และ caseinhydrolysate อยู่ด้วย และความสามารถในการชักนำการเกิดหน่อของ K จะหายไปถ้าให้อาหารที่เป็นสารเคมีอย่างเดียว นอกจากนี้ยังพบว่า gibberellin จะไปยับยั้งการเกิดหน่อและยับยั้งความสามารถ ของ K ลงด้วย การลดความเข้มข้นของ 2,4-D จะช่วยให้เกิดการกระตุ้นการเกิด green region และเพิ่ม K จะทำให้บริเวณ green region มีการพัฒนาต่อไปเป็น protuberant regions ยิ่งไปกว่านั้นการเกิดเป็น plantlet เกิดขึ้นได้เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีออกซินอยู่ โดยแคลลัสจะเจริญกลายเป็น callus mass แล้วเกิดทั้ง adventitious shoot และ adventitious root ในที่สุดก็กลายเป็น plantlet (Maeda, 1980a, b) Inoue และ Maeda (1980a) เพิ่มเติมว่าการมีทั้ง thiamine และ K อยู่ด้วยกันจะส่งเสริมการเกิด green regions โดย thiamine จะไปมีผลต่อเซลล์ผิวของแคลลัสและชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งโครงสร้างภายในและภายนอกชักนำให้เกิด organogenesis หรืออาจกล่าวได้ว่า thiamine เป็นตัวควบคุมกระบวนการ organogenesis ตัวหนึ่ง ซึ่งพบว่า ทั้ง green region และ adventitious root จะเกิดได้เมื่อมี 2,4-D ต่ำ และ K สูง นั่นคือกระบวนการ greening และ rhizogenesis ในแคลลัสข้าวขึ้นอยู่กับปริมาณของออกซินและไซโตไคนินในอาหาร รวมทั้งปริมาณของออกซินที่อยู่ในเนื้อเยื่อของแคลลัสข้าวก็มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงของ green region นอกจากนี้ Inoue และ Maeda (1981) ยังได้เสนอวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับการศึกษาเรื่องการชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่เพื่อเพิ่มปริมาณของการเกิดหน่อและการเจริญเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์ โดยเลี้ยงใน

อาหารสองขั้นตอนคือ ขั้นตอนแรกจะใช้อาหารที่มี ABA เป็น preculture medium แล้วจึงตามด้วยขั้นตอนที่สองเพื่อให้แคลลัสตอบสนองต่อ K ในอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณการพัฒนา organ ต่างๆ ต่อไป

เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นใหม่จะต้องมีไซโตไคนินสูง และมีอัตราส่วนของไซโตไคนินและออกซินสูงและเหมาะสม ซึ่งกระทำได้โดยการเติมไซโตไคนิน (เช่น K หรือ BAP) หรือยับยั้งการส่งผ่านของออกซินโดยใช้ TIBA (Siriwadana and Nabors, 1983) แต่ Su-Wan Ko (1983) กลับแย้งว่าการเติมสารควบคุมการเจริญของพืช เช่น NAA และ K ในอาหารชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นนั้นไม่มีความจำเป็น เพียงแต่มีประโยชน์ต่อเอมบริโอที่ยังอ่อนอยู่ให้มีการพัฒนาต่อไป

สำหรับข้าวไทยสายพันธุ์ กข 23 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวที่มีเลือดผสมของสายพันธุ์ IR อยู่และมีปัญหาในการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นมากที่สุดพันธุ์หนึ่ง (Vajrabhaya et al., 1986) ซึ่งพบว่า การใช้สูตร mod. White ที่เติมน้ำมะพร้าวและไม่ใส่น้ำตาลจะดีกว่าการใช้สูตรอาหารของ MS (1962) การเติม K สูงและลด IAA จะทำให้การชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นเกิดได้ดีขึ้น อัตราส่วนที่ใช้ได้ผลดีคือ ใช้ IAA 1.0 ppm. และ K 3.0 ppm. (ซึ่งได้เปอร์เซนต์ของการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นจากแคลลัส 10 เปอร์เซนต์) (Vajrabhaya et al., 1984b) ต่อมาได้ทดลองเปลี่ยนทั้งชนิดและความเข้มข้นของ IAA เป็น 0.5 ppm. และใช้ BAP 0.1 ppm. แทน K ทำให้เปอร์เซนต์การเปลี่ยนแปลงเป็นต้นสูงขึ้น (12.5%) (Vajrabhya et al., 1985b) การเกิดรากในข้าวจะไม่ขึ้นกับไซโตไคนิน แต่ขึ้นกับออกซิน นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำตาลซูโครสในอาหารจะทำให้แคลลัสดำ จึงได้ใช้สารอินทรีย์อื่น ๆ แทน และที่ได้ผลดีคือ น้ำมะพร้าวที่ปริมาณ 10% (v/v) แต่ถ้ามีน้ำมะพร้าวปริมาณมากคือ 20 - 40% (v/v) จะเป็นพิษต่อแคลลัสข้าว โดยจะทำให้แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด (Vajrabhaya et al., 1985a, 1985b) ปัญหาที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือ การอนุบาลต้นอ่อนของข้าวที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งส่วนใหญ่ต้นอ่อนจะตายในระยะแรกเมื่อออกปลูก เนื่องจากการสูญเสียน้ำ และเมื่อเจริญจนถึงช่วงให้ผลผลิตมักจะให้เมล็ดลีบ (Guzan, 1980; Vajrabhaya et al, 1986) ยิ่งไปกว่านั้น Vajrabhaya และคณะ (1986) ได้เสนอวิธีการดูแลรักษาต้นข้าวที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการปลูกในทราย (sand culture) และรดด้วยปุ๋ยสูตร WP ซึ่งจะมีความสะอาดปลอดโรคและได้เมล็ดลีบน้อยกว่าที่เลี้ยงไว้ในน้ำ (water culture)

อย่างไรก็ดีความก้าวหน้าของการเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดแก้ว(in vitro) ก็ไม่ได้หยุดนิ่งเลย มีการศึกษาวิธีการใหม่ ๆ อยู่ตลอดเวลา เทคนิคการเลี้ยงโปรโตพลาสต์จึงเริ่มมีบทบาทมากขึ้น ในยาสูบสามารถเลี้ยงโปรโตพลาสต์จนพัฒนาเปลี่ยนแปลงเป็นต้นได้สำเร็จตั้งแต่ปี

1971 โดย Takebe, Labib และ Melchers (Evan และ Bravo, 1983) แต่ในข้าว การเลี้ยงโปรโตพลาสต์ยังมีการพัฒนาช้าอยู่ เนื่องจากความสามารถของการเกิด totipotency ของเซลล์และแคลลัสยังต่ำอยู่ จนกระทั่งปี 1985 Fujimura และคณะ (1985) จึงประสบความสำเร็จในการชักนำการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นจากการเลี้ยงโปรโตพลาสต์ในข้าวเป็นคนแรก จากสายพันธุ์ข้าวที่มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นสูง ดังนั้นถ้าจะใช้ประโยชน์จากการเลี้ยงโปรโตพลาสต์และการเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อปรับปรุงพันธุ์จะต้องพัฒนาความสามารถของการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นให้สูงยิ่งขึ้นเสียก่อน

<u>ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัยนี้</u>

เนื่องจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวกลุ่ม indica ยังมีปัญหามากในด้านการชักนำให้แคลลัสเปลี่ยนไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ งานวิจัยนี้คาดว่า จะทราบชนิดของออกซินและไซโตไคนินตลอดจนความเข้มข้นและอัตราส่วนที่เหมาะสมในการชักนำให้แคลลัสข้าวเจริญไปเป็นต้นที่สมบูรณ์มากที่สุด ซึ่งจะมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการนำเทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไปประยุกต์ใช้ในด้านการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต่อไปในอนาคต

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย