บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

เป็นที่ยอมรับกันมามากกว่าทศวรรษแล้วว่ากลุ่มเซลล์หรือเนื้อเยื่อในหลอดแก้วสามารถเกิด somatic variation ขึ้นได้ (Vajrabhaya and Vajrabhaya, 1974; Vajrabhaya, 1977; Skirvin, 1978; Vajrabhaya 1988) ทั้งนี้เพราะในการเลี้ยงเนื้อเยื่อกลุ่มเซลล์หลายร้อยล้านเซลล์ที่เจริญในหลอดทดลอง แต่ละเซลล์มีโอกาสผันแปรในทางพันธุกรรมได้เองตามธรรมชาติ ซึ่งจำนวนความถี่ของการแปรมีโอกาสเกิดมากกว่าสภาพตามนอกหลอดแก้ว ทั้งนี้เพราะได้รับสารเคมีบางชนิด ได้แก่ ฮอร์โมนพืชที่มีความแรงบางประเภทเช่น 2, 4-D สารอินทรีย์อื่น ๆ ที่มีโครงสร้างซับซ้อน เช่น น้ำมะพร้าว casein hydrolysate และ yeast extract เป็นต้น ได้มีการทดลองพบว่าสารเคมีเหล่านี้ ทำตัวเสมือนมิวตาเจนไปช่วยเร่งให้เกิดการแปรได้มากยิ่งขึ้น ยิ่งกว่านั้นต้นพืชที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อมีโอกาสแสดงออกได้มากกว่า ทั้งนี้เพราะแต่ละเซลล์ที่กลายไปมีความสามารถเจริญไปเป็นต้นใหม่ได้ ดังนั้นเมื่อกลุ่มเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงไป ในขั้นต่อไปเราจำเป็นต้องพัฒนาให้เกิดต้นใหม่ขึ้นมาให้ได้เพื่อนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ อนึ่ง เซลล์ของแคลลัสข้าวเราสามารถคัดแยกออกได้ 2 ชนิดคือ embryogenic cell และ non-embryogenic cell (Nabors et al., 1982 : 1983; Vajrabhaya, 1983 : 1984) ซึ่งพบว่า embryogenic cell เท่านั้นที่มีศักยภาพในการพัฒนาให้เป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์ได้ต่างจาก non-embryogenic cell ซึ่งขาดศักยภาพดังกล่าว ดังนั้นจึงต้องคัดเอาเฉพาะ embryogenic callus มาศึกษา

ในการทดลองนี้เลือกใช้ออสโมติคัม 3 ชนิด ได้แก่ mannitol, sorbitol และ PEG 6000 ซึ่งเป็นออสโมติคัมชนิดที่ไม่แตกตัวเป็นไอออน การเติมออสโมติคัมทั้ง 3 ชนิดนี้ลงในอาหารสูตรทดลองเป็นการเพิ่มปริมาณออสโมติคัมเนื่องจากในอาหารสูตรดังกล่าวมีซูโครสซึ่งเป็นออสโมติคัมอยู่แล้ว สำหรับ PEG 6000 เราเลือกใช้ความเข้มข้นสูงสุดเพียง 100 กรัมต่อลิตร เนื่องจากหากใช้ความเข้มข้นเกินจากนี้แล้ว PEG 6000 จะทำปฏิกิริยากับ gelrite ตกตะกอน ทำให้อาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่แข็งตัวอีกทั้งยังทำ

ปฏิกริยากับวุ้นอาหารเกิดการตกตะกอนเช่นเดียวกันไม่ว่าจะใช้วุ้นความเข้มข้นเท่าใดก็ตาม จึงต้องเลือกใช้ gelrite เป็นสารที่ทำให้อาหารสูตรที่มี PEG 6000 แข็งตัว

การวัดค่าออสโมติกโพเทนเชียลของสารละลายอาหารสูตรที่มีออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กันด้วยวิธี cryoscopic method เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างกว้างขวางสำหรับการวัดค่าออสโมติกโพเทนเชียลโดยทางอ้อม ซึ่งเกี่ยวกับการหาจุดเยือกแข็ง ค่าออสโมติกโพเทนเชียลเป็นสัดส่วนกลับกับค่าจุดเยือกแข็งที่ลดต่ำลง จากการทดลองเมื่อความเข้มข้นของออสโมติคัมชนิดต่าง ๆ ในสารละลายอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้น ค่าจุดเยือกแข็งที่ลดต่ำลงเพิ่มขึ้น ซึ่งเมื่อนำไปหาค่าออสโมติกโพเทนเชียลจากสูตรของ Lewis (1908) พบว่าออสโมติกโพเทนเชียลลดลง (ตารางที่ 15, กราฟที่ 4) สารละลายอาหารที่มีค่าออสโมติกโพเทนเชียลสูงสุดคือสารละลายอาหารสูตรที่ไม่มีออสโมติคัม ส่วนสารละลายอาหารที่มีค่าออสโมติกโพเทนเชียลต่ำสุดคือ สารละลายอาหารสูตรที่มี mannitol 160 กรัมต่อลิตร ผลที่ได้สอดคล้องกับหลักการดังกล่าวข้างต้น ค่าออสโมติกโพเทนเชียลที่วัดได้จากสารละลายอาหารสูตรต่าง ๆ อาจจะไม่ใช่ออสโมติกโพเทนเชียลที่แท้จริง เนื่องจากวิธีนี้เป็นวิธีวัดค่าออสโมติกโพเทนเชียลโดยทางอ้อม และเป็นการวัดในรูปสารละลายซึ่งที่จริงแล้วเราทดลองในรูปอาหารแข็ง นอกจากนี้จุดเยือกแข็งที่ได้อาจไม่ใช่ค่าที่ถูกต้อง เพราะขณะวัดอาจเกิดการเย็นจัดเกินไปของสารละลาย และมีการดูดความร้อนของเครื่องมือทดลอง (Crafts et al., 1949) ดังนั้นค่าที่คำนวณได้อาจสูงกว่าความเป็นจริงบ้าง การหาค่าออสโมติกโพเทนเชียล นอกจากวิธีนี้แล้วยังมีวิธีอื่นที่ให้ความแน่นอนสูงกว่าได้แก่ วิธี Vapor pressure osmometry หรือ thermocouple psychrometry (Michel and Kaufmann, 1973; Steuter et al., 1981) แต่งานวิจัยนี้เราจำเป็นต้องใช้วิธี cryoscopic method เนื่องจากมีความจำกัดในเครื่องมือ

การศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กันต่อการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ของเนื้อเยื่อผิวใบด้านล่างของใบว่านกาบหอยพบว่า เซลล์เกิดพลาสโมไลซิสมากขึ้นเมื่อหยดสารละลายอาหารสูตรที่มีออสโมติคัมความเข้มข้นสูงขึ้น mannitol ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร เริ่มทำให้เกิดพลาสโมไลซิส และเซลล์เกิดพลาสโมไลซิสมากที่สุดเมื่อความเข้มข้นของ mannitol เป็น 160 กรัมต่อลิตร

(ภาพที่ 3) sorbitol ให้ผลคล้ายกับ mannitol (ภาพที่ 4) ส่วน PEG 6000 ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร เริ่มทำให้เซลล์เกิดพลาสโมไลซิส (ไม่ได้แสดงภาพไว้) เซลล์เกิดพลาสโมไลซิสมากที่สุดเมื่อความเข้มข้นของ PEG 6000 เท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 5) การเกิดพลาสโมไลซิสของเซลล์มีความสัมพันธ์กับค่าออสโมติกโพเทนเชียลของอาหารสูตรที่มีหรือไม่มีออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน โดยเซลล์เกิดพลาสโมไลซิสมากขึ้นเมื่อออสโมติกโพเทนเชียลของอาหารสูตรต่าง ๆ มีค่าลดต่ำลง ซึ่งเป็นไปตามหลักของการเกิดกระบวนการออสโมซิส การเลือกเซลล์ของใบว่านกาบหอยมาเป็นตัวแทนในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เมื่อมีออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน เนื่องจากสามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ได้ง่าย โดยดูจากรงควัตถุแอนโทไซยานิน ซึ่งกระจายตัวอยู่ภายในแวคคิวโอลเป็นเครื่องชี้บอก อีกทั้งมีความสะดวกในการศึกษาเมื่อเทียบกับในข้าว ทั้งนี้เพราะ embryogenic callus เป็นแคลลัสที่ประกอบด้วยเซลล์จำนวนมากรวมตัวแน่น เมื่อนำไปทำเซลล์แขวนลอย พบว่าเซลล์ภายในแคลลัสไม่ค่อยกระจายตัวออกเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ อีกทั้งเซลล์มีขนาดเล็กมากในขณะที่เรามีความจำเป็นต้องเลือกเซลล์ที่มีขนาดสม่ำเสมอและมีขนาดใหญ่พอที่จะสังเกตได้ นอกจากนี้ยังต้องการเซลล์ที่มีอายุใกล้เคียงกันเพื่อนำมาเปรียบเทียบให้เห็นได้เด่นชัด จึงค่อนข้างลำบากในการศึกษาในเซลล์ข้าว และจากการทดลองศึกษาเกี่ยวกับเซลล์ข้าวพบว่าไม่สามารถสังเกตุการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ ผลการทดลองในข้อนี้ยังไม่ได้ผลเป็นที่น่าพอใจในระยะนี้แต่คาดว่าหากมีการสานต่อโครงการก็จะสามารถปรับปรุงวิธีการและขั้นตอนจนสามารถที่จะศึกษาเซลล์ข้าวได้ตรงตามวัตถุประสงค์ ดังนั้นระยะนี้จึงเลือกศึกษาเซลล์ของใบว่านกาบหอยไปพลางก่อน เพื่อใช้เป็นตัวแทนในการสาธิตผล

การเจริญของแคลลัสข้าวพันธุ์เหลืองประทิว ยาวดอกมะลิ และ กข. 23 บนอาหารสูตรที่มีออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กันมีความแตกต่างกัน แคลลัสข้าวพันธุ์เหลืองประทิวเจริญบนอาหารสูตรที่มี PEG 6000 25 กรัมต่อลิตรมีการเจริญสูงกว่าแคลลัสที่เจริญบนอาหารสูตรอื่น ๆ ทั้งหมด โดยมีค่าดัชนีการเจริญมากที่สุดเท่ากับ 10.8 (กราฟที่ 1, ตารางที่ 14) แคลลัสข้าวพันธุ์ยาวดอกมะลิ เจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol 40 กรัมต่อลิตร sorbitol 20 และ 40 กรัมต่อลิตร และ PEG 6000 25 และ 50 กรัมต่อลิตร มีการเจริญดีกว่าแคลลัสที่อยู่บนอาหารสูตรที่ไม่มีออสโมติคัมโดยมีค่าดัชนี

การเจริญสูงที่สุดเท่ากับ 6.64 ซึ่งเป็นแคลลัสที่เจริญบนอาหารสูตรที่มี PEG 6000 25 กรัมต่อลิตร (กราฟที่ 2, ตารางที่ 14) แคลลัสข้าวพันธุ์ กข. 23 ที่เจริญบนอาหารสูตรที่มีออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ กันมีการเจริญไม่ดีไปกว่าแคลลัสที่อยู่บนอาหารสูตรที่ไม่มีออสโมติคัม ค่าดัชนีการเจริญมีค่ามากที่สุดเท่ากับ 4.94 ซึ่งเป็นแคลลัสที่เจริญบนอาหารสูตรที่มี PEG 6000 50 กรัมต่อลิตร การเจริญที่แตกต่างกันของแคลลัสข้าวพันธุ์ต่าง ๆ กันคาดว่ามาจากการตอบสนองที่ไม่เหมือนกันต่อออสโมติคัมต่างชนิดกัน แคลลัสข้าวพันธุ์เหลืองประทิวมีการตอบสนองต่อ PEG 6000 25 กรัมต่อลิตรดีกว่าแคลลัสที่เจริญบนอาหารสูตรอื่น ๆ อย่างเห็นได้ชัด ซึ่งเมื่อพิจารณาออสโมติกโพเทนเชียลของสารละลายอาหารและจากเซลล์แล้ว พบว่าอาหารสูตรนี้มีค่าออสโมติกโพเทนเชียลใกล้เคียงกับอาหารสูตรที่ไม่มีออสโมติคัม ซึ่งในสภาพนี้ไม่พบว่าเซลล์เกิดพลาสโมไลซิสเช่นเดียวกับเซลล์ที่ได้รับสารละลายอาหารสูตรที่ไม่มีออสโมติคัม (ภาพที่ 3 และ 5) แต่ที่พบว่าแคลลัสมีการเจริญได้ดีกว่า อาจเกิดจาก PEG 6000 ความเข้มข้นนี้มีส่วนช่วยสร้างสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของแคลลัสข้าว

แคลลัสข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิที่เจริญบนอาหารสูตรที่มีออสโมติคัมปริมาณต่ำ (20-50 กรัมต่อลิตร) มีการเจริญดีกว่าแคลลัสที่อยู่บนอาหารสูตรที่ไม่มีออสโมติคัม) พิจารณาจากค่าออสโมติกโพเทนเชียลพบว่ามีค่าระหว่าง -9.96 ถึง -6.05 atm. (ตารางที่ 15) ซึ่งเป็นค่าที่ทำให้เซลล์เริ่มเกิดพลาสโมไลซิสเล็กน้อย อาจเป็นไปได้ว่าสภาพการเกิดพลาสโมไลซิสน้อย ๆ เป็นการสร้างสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของแคลลัสเช่นกัน แคลลัสข้าวพันธุ์ กข. 23 ที่เจริญบนอาหารสูตรที่มีออสโมติคัม ชนิดและปริมาณต่าง ๆ มีการเจริญไม่ดีกว่าแคลลัสที่อยู่บนอาหารสูตรที่ไม่มีออสโมติคัม อาจเกิดเนื่องจากแคลลัสไม่ตอบสนองต่อออสโมติคัมทั้ง 3 ชนิดนี้

เซลล์ของพืชชั้นสูงมีการปรับออสโมติกโพเทนเชียลหรือเพรสเซอร์โพเทนเชียลโดยการสังเคราะห์และสลายโมเลกุลของสารอินทรีย์บางชนิด การสะสมของโมเลกุลสารอินทรีย์เหล่านี้เพื่อตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงค่าออสโมติกโพเทนเชียลไม่ได้พบแต่เฉพาะเซลล์พืชเท่านั้น ยังพบใน รา แบคทีเรีย และเซลล์สัตว์บางชนิดด้วย (Zimmermann, 1978; Wahlstrom and Eriksson, 1976; Pahlich et al., 1983; Ammirato, 1985) Verma และ Dougal (1977) เสนอว่า ออสโมติคัมอาจเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาโบลิซึม โดยผ่านสารตัวกลางซึ่งเกิดขึ้นในอัตราที่แตกต่างกันจากออสโมติคัม ดังนั้น mannitol sorbitol และ PEG 6000 อาจมีส่วนกระตุ้นให้เกิดการสร้างสาร

ตัวกลางโดยทางตรงหรือทางอ้อมซึ่งเป็นการสร้างสารตัวกลางเพื่อมาควบคุมการเจริญอีกขั้นหนึ่ง การตอบสนองของแคลลัสข้าวต่างพันธุ์กันต่อออสโมติคัมชนิดต่าง ๆ ไม่เท่ากัน จึงพบว่าแคลลัสมีการเจริญไม่เหมือนกันแม้ได้รับออสโมติคัมชนิดและปริมาณเดียวกันนั้นอาจไม่ใช่มาจากสาเหตุของพันธุ์ข้าวต่างกันแต่คุณสมบัติของออสโมติคัมคงมีส่วนเกี่ยวข้องด้วย เช่น PEG 6000 ซึ่งใช้เป็นสารปรับค่าออสโมติกโพเทนเชียลสามารถเปลี่ยนแปลงค่าออสโมติกโพเทนเชียลได้ มีผู้เสนอว่า PEG 6000 ไม่ได้แสดงคุณสมบัติเป็นออสโมติคัมเท่านั้นยังแสดงตัวเป็นเมตริคัม (Matricum) อีกด้วย ซึ่งสามารถไปเปลี่ยนแปลงค่าเมตริกโพเทนเชียลโดยตรง คุณสมบัตินี้เกิดจากการเป็นโพลีเมอร์สายยาว อีกทั้งสามารถแสดงสภาวะคล้ายคอลลอยด์ (Steuter et al., 1981)

เมื่อความเข้มข้นของ mannitol และ sorbitol เท่ากับ 160 กรัมต่อลิตร แคลลัสข้าวทุกพันธุ์มีการเจริญลดลง เนื่องจากในสภาพนี้สารละลายอาหารมีค่าออสโมติกโพเทนเชียลต่ำสุดคือประมาณ -27.67 atm. ซึ่งมีผลทำให้เซลล์เกิดพลาสโมไลซิสอย่างมาก (ภาพที่ 3, และ 4, ตารางที่ 15) จึงเป็นไปได้ที่แคลลัสไม่สามารถเจริญเนื่องจากมีค่าออสโมติกโพเทนเชียลต่ำเกินกว่าที่เซลล์จะปรับตัวได้ (Schenk and Hildebrandt, 1972; Galiba and Erdei, 1986; Maeda (personal communication))

แคลลัสของข้าวทั้ง 3 พันธุ์ซึ่งผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีและไม่มีออสโมติคัมเมื่อย้ายลงบนอาหารสูตรสำหรับชักนำให้เกิด greenspot และหน่อใหม่ เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติแล้ว (ภาคผนวก) พบว่าแคลลัสที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีออสโมติคัมชนิดและปริมาณต่าง ๆ มีจำนวนร้อยละของแคลลัสข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ที่เกิด greenspot ไม่ดีไปกว่าแคลลัสที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่ไม่มีออสโมติคัม ถึงแม้ว่าค่าดังกล่าวจะสูงกว่ากันในบางสัปดาห์ แสดงให้เห็นว่าแคลลัสที่ผ่านการเจริญบนอาหารที่มีออสโมติคัมไม่ช่วยให้เกิด greenspot ดีขึ้น ซึ่งคาดว่าเป็นเพราะ ประการแรก การย้ายแคลลัสจากอาหารสูตรที่มีออสโมติคัมมายังอาหารสูตรสำหรับชักนำให้เกิด greenspot นั้นเป็นการเปลี่ยนแปลงสภาพออสโมซิสของอาหารที่อาจเป็นไปได้ว่าแคลลัสยังต้องการสภาพออสโมซิสระดับนั้นอยู่เพื่อช่วยให้มีการพัฒนา greenspot ดีขึ้น ประการที่สอง ช่วงระยะเวลาที่แคลลัสอยู่บนอาหารสูตรสำหรับชักนำให้เกิด greenspot นานถึง 6 สัปดาห์ อาจเป็นช่วงเวลาที่นานเกินไป

เพราะเมื่อพิจารณาการเกิด greenspot ในสัปดาห์ที่ 2 หรือที่ 4 แล้ว แคลลัสซึ่งผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีออสโมติคัมบางความเข้มข้น มีจำนวนร้อยละของแคลลัสที่เกิด greenspot ดีกว่าแคลลัสที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่ไม่มีออสโมติคัม (แผนภูมิที่ 2) จำนวนร้อยละของแคลลัสข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ที่เกิด greenspot มีค่าลดลงเมื่อให้แคลลัสผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีความเข้มข้นของออสโมติคัมเพิ่มขึ้น อาจเป็นได้ว่าแคลลัสที่ผ่านสภาพการเสียน้ำสูงมาแล้วมีการพัฒนาในขั้นต่อไปได้ไม่ดี

นอกจากแคลลัสที่เจริญและพัฒนาให้ greenspot แล้ว greenspot บางส่วนบนแคลลัสมีการพัฒนาไปเป็นหน่อใหม่ด้วย แคลลัสข้าวพันธุ์เหลืองประทิวที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol 20 กรัมต่อลิตร หรือ PEG 6000 25 กรัมต่อลิตร มีค่าจำนวนร้อยละของการเกิดหน่อใหม่ต่อจำนวนแคลลัสทั้งหมดดีกว่า แคลลัสที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่ไม่มีออสโมติคัม แคลลัสข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี PEG 6000 25 กรัมต่อลิตร มีค่าร้อยละของหน่อใหม่ต่อจำนวนแคลลัสทั้งหมดดีกว่าแคลลัสที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่ไม่มีออสโมติคัม แคลลัสข้าวพันธุ์ กข. 23 ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีออสโมติคัมมีค่าจำนวนร้อยละของหน่อใหม่ต่อจำนวนแคลลัสทั้งหมดไม่แตกต่างจากแคลลัสที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่ไม่มีออสโมติคัม และแคลลัสข้าวทุกพันธุ์ที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol sorbitol 160 กรัมต่อลิตร หรือ PEG 6000 75 และ 100 กรัมต่อลิตร ไม่ให้หน่อใหม่เลย (ตารางที่ 25, 26 และ 27, แผนภูมิที่ 6, 7 และ 8) การที่แคลลัสได้ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีออสโมติคัมความเข้มข้นต่ำ ๆ อาจมีผลช่วยให้การเกิดหน่อใหม่ดีขึ้น แต่ที่ความเข้มข้นสูงไม่มีการเกิดหน่อใหม่เลย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสภาพที่เซลล์มีการสูญเสียน้ำ สภาวะภายในเซลล์อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงไปจนเซลล์ไม่สามารถมีการพัฒนาตามปกติได้ ซึ่งเท่ากับเป็นการไปลดศักยภาพในการพัฒนาเป็นต้นใหม่ของเซลล์ ที่ความเข้มข้นของออสโมติคัมต่ำ ๆ มีผลต่อการเจริญและพัฒนาการของแคลลัสข้าวเนื่องจากการมีค่าออสโมติกโพเทนเชียลต่ำ ๆ นี้ อาจมีผลต่อกระบวนการเมตาโบลิซึม ทำให้เซลล์มีการปลดปล่อยสารบางชนิด เช่น คาร์โบไฮเดรต หรือ กรดอะมิโนบางชนิด ซึ่งมีส่วนช่วยเหลือในการกระตุ้นให้มีการเกิดหน่อใหม่ได้ดีขึ้น คล้าย ๆ กับการเติมกรดอะมิโน เช่น ไทโรซีน หรือ ทริปโตเฟน ลงในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วช่วยให้มีการ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เกิดต้นใหม่ที่สมบูรณ์ดีกว่า (Huang and Murashige, 1976; Siriwardana and Nabors, 1983) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Kishor (1987) และ Maeda (Personal communication) ซึ่งพบว่า เมื่อเลี้ยงแคลลัสข้าวที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol หรือ sorbitol ความเข้มข้นต่ำ ๆ จะมีความถี่ในการพัฒนาเป็นหน่อใหม่ที่สมบูรณ์ดีกว่า แคลลัสที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่ไม่มีออสโมติคัมดังกล่าว

ค่าจำนวนร้อยละของการเกิดหน่อใหม่ต่อจำนวนแคลลัสทั้งหมดของข้าวพันธุ์เหลืองประทิวที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มีและไม่มีออสโมติคัม 2, 4 หรือ 6 สัปดาห์ มีค่าสูงสุดที่สัปดาห์ที่ 6 โดยมีค่าเท่ากับร้อยละ 25 ซึ่งเป็นแคลลัสที่ผ่านการเจริญบนอาหารสูตรที่มี mannitol 20 กรัมต่อลิตร หรือ PEG 6000 25 กรัมต่อลิตร แสดงให้ทราบว่าแคลลัสต้องการระยะเวลาในการได้รับค่าออสโมติกโพเทนเชียลที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดการเจริญและพัฒนาการต่อไป