

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	อิทธิพลของผงถ่านกัมมันต์และ 2,4-ดี ต่อการเกิดแคลลัส และการชักนำให้ เกิดเอมบริโอเจเนซิส เพื่อผลิตเมล็ดสังเคราะห์ของข้าว	
ผู้เขียน	นางสาว สมตั้งใจ สายสิงห์ทอง	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) พี่ชไร์	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา เวียรศิลป์	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สงวนศักดิ์ ธนาพรพูนพงษ์	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

### บทคัดย่อ

การศึกษาผลของผงถ่านกัมมันต์ซึ่งมีคุณสมบัติในการดูดซับสารประกอบฟีนอลิกที่พืชปล่อยออกมาในอาหารและช่วยในการกระตุ้นการเกิดโวมิติกเอมบริโอ และ 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนแคลลัส ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสของข้าวพันธุ์ สุพรรณบุรี 1 เพื่อนำไปผลิตเมล็ดสังเคราะห์ วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD ศึกษา 3 ซ้ำ โดยทำการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวบนอาหารสูตร Linsmaier และ Skoog (LS) ดัดแปลงที่เติมผงถ่านกัมมันต์ ความเข้มข้นต่างกันคือ 0, 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร รวม 20 สูตร หลังจากทำการเพาะเลี้ยง 15 วัน พบว่าความเข้มข้นของผงถ่านกัมมันต์และ 2,4-D มีผลต่อปริมาณการเกิดและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัส โดยการใช้ผงถ่านกัมมันต์ในปริมาณที่มากขึ้นมีผลทำให้ปริมาณการเกิดแคลลัสและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมีค่าลดลง โดยผงถ่านกัมมันต์ 0.05 กรัมต่อลิตร เป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด ทำให้เกิดเอมบริโอเจนิคแคลลัส 30.94% มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.84 มิลลิเมตร และการใช้ 2,4-D ความเข้มข้นสูงขึ้นมี

ผลทำให้ปริมาณการเกิดแคลลัสและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมีค่ามากขึ้น โดย 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดที่ทำให้เกิดเอมบริโอเจนิคแคลลัสได้ 31.14% มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.69 มิลลิเมตร แต่ทั้งนี้การใช้ผงถ่านกัมมันต์ ร่วมกับ 2,4-D จะมีผลต่อปริมาณการเกิดแคลลัสและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัสมากกว่าการใช้ผงถ่านกัมมันต์ หรือ 2,4-D เพียงอย่างเดียว โดยอาหารสูตรที่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ 0.05 กรัมต่อลิตรและ 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดเอมบริโอเจนิคแคลลัสสูงถึง 60.67% และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 8.57 มิลลิเมตร นอกจากนี้อาหารสูตรนี้ยังทำให้เกิดเอมบริโอเจนิคแคลลัสชนิดไพโรเอเบิล โดยเมื่อนำแคลลัสที่ได้ไปกระตุ้นด้วย 2,4-D ที่ความเข้มข้น 0, 4, 8, 12, 16 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อกระตุ้นให้เป็นโซมาติกเอมบริโอ พบว่า 2,4-D ทุกความเข้มข้นไม่สามารถทำให้เซลล์พัฒนาไปเป็นโซมาติกเอมบริโอได้ แต่แคลลัสที่ถูกกระตุ้นด้วย 2,4-D ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถทำให้แคลลัสแยกตัวไปเป็นเซลล์เดี่ยวได้เร็ว มีปริมาณเซลล์เดี่ยวมากกว่าอัตราอื่น และมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปอยู่ในระยะ globular ได้มากที่สุด (50%) และเมื่อนำเซลล์ที่อยู่ในระยะ globular นี้ซึ่งเป็นระยะที่เซลล์กำลังมีการพัฒนากระบวนการต่างๆภายในเซลล์และการเจริญเติบโตของเซลล์ยังไม่สมบูรณ์มาผลิตเป็นเมล็ดสังเคราะห์ โดยการลดความชื้นโดยการดึงน้ำออกจากเมล็ดซึ่งเป็นการชักนำให้เมล็ดสังเคราะห์มีการพักตัวคล้ายกับเมล็ดจริง จนมีระดับการสูญเสียน้ำที่ 0, 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมล็ดสังเคราะห์ที่ผลิตจากเซลล์ที่อยู่ในระยะ globular ที่ทุกระดับการสูญเสียน้ำไม่ออก ทั้งในระหว่างการเก็บรักษาและหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์

<b>Thesis Title</b>	Influence of Activated Charcoal and 2,4-D to Callus Formation and Embryogenesis Induction for Producing Synthetic Rice Seed	
<b>Author</b>	Miss Somdangjai Saisingthong	
<b>Degree</b>	Master of Science (Agriculture) Agronomy	
<b>Thesis Advisory Committee</b>		
	Assoc. Prof. Dr. Suchada Vearasilp	Advisor
	Asst. Prof. Dr. Sa-nguansak Thanapornpoonpong	Co-advisor

### ABSTRACT

This *in vitro* study aimed to investigate the influence of an activated charcoal (AC), which could absorb phenolic compounds excreted from plant and could activate somatic embryogenesis, and the 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D), the hormone that could activate callus formation, on increasing the caulogenesis amount of *Indica* rice var. Supunburi 1 (SPR1). This study lead to the production of synthetic rice seed. The factorial in completely randomized design (Factorial in CRD) was conducted and performed for three replications. Twenty medium formulations for callus embryogenesis were performed by culturing mature rice seeds in modified Linsmaier and Skoog (LS) based medium supplemented with difference concentrations of an activated charcoal 0, 0.05, 0.10, 0.15 and 0.20 g L<sup>-1</sup> in combination with 2,4-D in various concentrations of 0, 1, 2 and 3 mg L<sup>-1</sup>. After 15 days of cultivation, it was observed that either AC or 2,4-D concentrations had an influence on the number and diameter of embryogenic calli. By increasing the concentration of AC, the number and diameter

of embryogenic calli decreased. The optimum concentration of AC was  $0.05 \text{ g L}^{-1}$  that generate 30.94% embryogenic calli with average diameter of 4.84 mm. On the contrary, increasing the concentration of 2,4-D, the number and diameter of embryogenic calli increased. The optimum concentration of 2, 4-D was  $3 \text{ mg L}^{-1}$  that produce 31.14% embryogenic calli with average diameter of 4.69 mm. However, when supplemented both AC and 2,4-D to the medium, synergistic effect on callus formation as well as its diameter was found. It was observed that the LS medium containing  $0.05 \text{ g L}^{-1}$  of AC and  $3 \text{ mg L}^{-1}$  of 2, 4-D stimulated high frequency of friable embryogenic calli (60.67%) with an average calli diameter of 8.57 mm. Moreover, this medium could generate friable embryogenic calli, These calli were further activated with 2,4-D in various concentrations of 0, 4, 8, 12, 16 and  $20 \text{ mg L}^{-1}$  to generate somatic embryo. The results showed that all concentrations of 2,4 D could not activate the callus to develop to be the somatic embryo. Nevertheless, it was observed that by using  $12 \text{ mg L}^{-1}$  of 2, 4 D the cell clusters could rapidly detach into single cell with provided more cells than other concentrations and could be transformed into the globular form (50%). Globular form, an incomplete developing cell, was then used to produce the synthetic rice seed by decreasing its moisture content *via* dehydration to 0, 60 and 80% water loss. The results revealed that the synthetic rice seed produced from the globular form cell could not germinate either during keeping time or after maintaining for 4 weeks.