Pathumwan Academic Journal, Vol. 9, No. 24, January - April 2019: 16 - 26

การเพิ่มประสิทธิภาพการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ในข้าวสายพันธุ์ไทย (ปทุมธานี1) โดยการประยุกต์ใช้วัสดุนาโนคาร์บอน

Enhanced Efficiency in Plant Regeneration of Thai Rice Variety (Pathumthani1) Using Nano-carbon Materials Application

วณิชยา เมฆประสาท และ สุธี ชุติไพจิตร*

วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

E-mail: natadee24@hotmail.com

Wanichaya Mekprasart and Sutee Chutipaijit*

College of Nanotechnology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang,

Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

E-mail: natadee24@hotmail.com

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบการประยุกต์ใช้วัสดุนาโน เพื่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสและการเกิดเป็นต้นใหม่ในสภาวะหลอดทดลองจากชิ้นส่วนเมล็ดของข้าวสายพันธุ์ไทย (ปทุมธานี1) โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีการเติมวัสดุนาโน การชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสเริ่มต้นและถูกสร้างจากเมล็ดข้าว ชิ้นส่วนดังกล่าวนำไปเพาะเลี้ยงในอาหาร NB ที่มีการเติม 2,4-D ที่ความเข้มข้นต่างๆ (1-5 มิลลิกรัมต่อลิตร) จุดสีเขียว และการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่จะถูกชักนำโดยใช้อาหาร NB ที่มีการเติม BA ที่ความเข้มข้นต่างๆ (1-5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ในความเข้มข้นที่เหมาะสมของ 2,4-D (3 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ BA (3 มิลลิกรัมต่อลิตร) จะแสดงผลการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสและการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ที่สูง ตามลำดับ นอกจากนี้อาหาร NB ที่มีการเติม 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ และการเติมวัสดุนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้นต่างๆ (0-80 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่าประสบความสำเร็จในการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียวอยู่ที่ 85.56-94.44% การชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่อยู่ที่ 37.78-57.78% และอัตราส่วนของการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสอยู่ที่ 2.06-2.31 โดยที่เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว (94.44%) การชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ (57.78%) และอัตราส่วนของการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัส (2.31) พบสูงที่สุดในอาหาร NB ที่มีการเติม 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และการเติมวัสดุนาโนคาร์บอนความเข้มข้น 40

Research Paper

***Corresponding author**

Received 14 January 2019

Revised 22 March 2019

Accepted 29 March 2019

มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ ผลการทดลองที่ได้นั้นแสดงให้เห็นว่าวัสดุนาโนคาร์บอนสามารถที่จะใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์สำหรับข้าวสายพันธุ์ไทย (ปทุมธานี1) และประยุกต์ใช้กับพืชสายพันธุ์อื่น

คำสำคัญ: การชักนำให้เกิดแคลลัส, วัสดุนาโนคาร์บอน, วัสดุนาโน, การชักนำให้เกิดต้นใหม่, ข้าว

Abstract

This research was investigated an application of nanomaterials for *in vitro* callus induction and plant regeneration from seed explants of Thai rice variety (Pathumthani1) using plant tissue culture technique supplemented with nano-carbon. Callus induction was initiated and established from rice seeds. Explants were cultured on NB medium supplemented with various concentrations of 2,4-D (1-5 mg L^{-1}). Green spots and plant regenerations were induced using NB medium supplemented with various concentrations of BA (1-5 mg L^{-1}). Optimum concentration of 2,4-D (3 mg L^{-1}) and BA (3 mg L^{-1}) showed highly induced the callus inductions and plant regenerations, respectively. Moreover, NB medium supplemented with 3 mg L^{-1} of 2,4-D for callus induction, 3 mg L^{-1} of BA for plant regeneration and various concentrations of nano-carbon (0-80 mg L^{-1}) were successfully induced the plant regeneration which percentage of green spots were 85.56-94.44%, plant regenerations were 37.78-57.78% and the ratio of seedlings per callus were 2.06-2.31. The highest percentage of green spots (94.44%), plant regenerations (57.78%) and the ratio of seedlings per callus (2.31) was obtained from NB medium supplemented with 3 mg L^{-1} of 2,4-D for callus induction, 3 mg L^{-1} of BA and 40 mg L^{-1} of nano-carbon for plant regeneration. The results indicated that nano-carbon materials could be used to potential micropropagation for Thai rice variety (Pathumthani1) and application in other plant species.

Keywords: Callus induction, Nano-carbon, Nanomaterials, Plant regeneration, Rice

1. บทนำ

จากปัญหาสภาพแวดล้อมทั้งทางกายภาพและชีวภาพที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่อง ส่งผลต่อการดำรงชีวิตอยู่ของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ในปัจจุบัน พืชที่จัดว่าเป็นสิ่งมีชีวิตที่แหล่งอาหารที่สำคัญของระบบนิเวศน์ก็ได้รับผลกระทบจากสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงดังกล่าว โดยส่งผลต่อการเจริญเติบโต การสร้างผลผลิต หรือกระบวนการทางชีวเคมีต่างๆ ภายในเซลล์พืช [1] ทำให้ในปัจจุบันนักวิจัยหรือเกษตรกรให้ความสำคัญต่อการพัฒนากระบวนการต่างๆ ที่จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณผลผลิตของพืชเพื่อให้มีแหล่งอาหารที่เพียงพอต่อความต้องการที่มีเพิ่มขึ้น ตามการเพิ่มขึ้นของประชากรโลกทั้งในปัจจุบันและ

ในอนาคต โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวซึ่งเป็นแหล่งอาหารหลักของประชากรโลก และยังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยอีกด้วย อีกทั้งประเทศไทยก็จัดเป็นประเทศกสิกรรมที่มีผู้ประกอบอาชีพเกษตรกรเป็นจำนวนมากภายในประเทศ [2]

นาโนเทคโนโลยีที่จัดเป็นเทคโนโลยีใหม่ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ในหลากหลายอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์ อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมยานยนต์ อุตสาหกรรมพลาสติก เป็นต้น [3,4] รวมไปถึงการใช้นาโนเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้ทางด้านการเกษตร โดยการนำวัสดุชนิดต่างๆ ที่มีขนาดในระดับนาโนเมตร มาใช้เพื่อการกระตุ้นหรือชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในกระบวนการทางชีวเคมีต่างๆ ภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ซึ่งการนำวัสดุที่มีขนาดในระดับนาโนเมตรมาประยุกต์ใช้ทางด้านการเกษตรที่เกี่ยวข้องกับสิ่งมีชีวิตนั้น ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์สิ่งมีชีวิตทั้งในด้านบวกและด้านลบ โดยพบว่าผลกระทบที่เกิดขึ้นดังกล่าวนั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ที่หลากหลายทั้งในส่วนของสิ่งมีชีวิตเอง และในส่วนของวัสดุที่มีขนาดในระดับนาโนเมตร เช่น ชนิดและสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิต สภาวะในการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต ชนิดและรูปร่างของวัสดุนาโน ระดับความเข้มข้นของวัสดุนาโนที่สิ่งมีชีวิตได้รับ เป็นต้น [5-7]

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเล็งเห็นถึงการนำวัสดุนาโนคาร์บอนมาประยุกต์ใช้ทางด้านการเกษตร โดยการนำวัสดุนาโนคาร์บอนมาศึกษาเพื่อช่วยเพิ่มปริมาณการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ของข้าวไทยสายพันธุ์ปทุมธานี1 ภายใต้สภาวะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งเป็นการศึกษาการเพิ่มปริมาณต้นหรือการขยายพันธุ์ของพืช (micropropagation) โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวที่เป็นพืชเศรษฐกิจอีกทางหนึ่ง และยังสามารถนำองค์ความรู้ที่ได้นั่นไปประยุกต์ใช้ในการเพิ่มปริมาณต้นในพืชสายพันธุ์อื่นๆ ต่อไปในอนาคต

2. วิธีการวิจัย

2.1 ตัวอย่างพืชและการฟอกฆ่าเชื้อตัวอย่าง

พืชที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ ข้าวอินดิกา ซึ่งเป็นข้าวไทยสายพันธุ์ปทุมธานี1 (*Oryza sativa* L. spp. *indica* cv. Pathumthani1) ที่ได้รับความอนุเคราะห์ข้าวสายพันธุ์ดังกล่าวจากศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี กองวิจัยและพัฒนาข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ โดยนำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ดังกล่าวมาแกะเปลือกออกด้วยมือ และนำไปแช่ในเอทานอลความเข้มข้น 70% เป็นเวลา 2-3 นาที จากนั้นนำเป็นแช่ในสารละลายไฮเตอร์ที่ความเข้มข้น 5% เป็นเวลา 30 นาที โดยทำการเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที และย้ายไปแช่ในสารละลายไฮเตอร์ที่ความเข้มข้น 30% เป็นเวลา 30 นาที ทำการเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีเช่นกัน จากนั้นนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 4-5 ครั้ง และนำเมล็ดข้าวที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาพักไว้บนกระดาษชำระที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

2.2 อาหารและสภาวะการเพาะเลี้ยงในการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส

นำเมล็ดข้าวที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาวางลงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร NB [8] ที่มีการเติมซูโครสที่ความเข้มข้น 3% โพรลีน (proline) ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) ที่ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงวุ้น (agar) ที่ความ

เข้มข้น 0.8% ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ±2 องศาเซลเซียส ในสภาวะมืด เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยทำการบันทึกขนาด น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของเซลล์แคลลัสที่ได้

2.3 อาหารและสภาวะการเพาะเลี้ยงในการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่

นำแคลลัสที่ได้จากการทดลองในตอนที่ 2.2 ที่ให้ผลการทดลองที่เหมาะสมที่สุด มาพักลงบนกระดาษชำระที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และทำการเพาะเลี้ยงต่อที่อุณหภูมิ 25 ±2 องศาเซลเซียส ในสภาวะมืด เป็นเวลา 1 สัปดาห์ [9] จากนั้นย้ายแคลลัสดังกล่าวลงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร NB [8] ที่มีการเติมซูโครสที่ความเข้มข้น 3% กลูตามีน (glutamine) ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โพรลีน (proline) ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด BA (6-Benzyladenine) ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร IAA (indole-3-acetic acid) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และไฟต้าเจล (Phytagel®) ที่ความเข้มข้น 0.5% ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ±2 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่ให้แสงความเข้ม 1000 ลักซ์ จำนวน 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยทำการบันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว (green spots) เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ (plant regenerations) และอัตราส่วนการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสที่ได้

2.4 อาหารที่มีการผสมวัสดุนาโนคาร์บอนและสภาวะการเพาะเลี้ยงในการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่

นำแคลลัสที่ได้จากการทดลองในตอนที่ 2.2 ที่ให้ผลการทดลองที่เหมาะสมที่สุด มาพักลงบนกระดาษชำระที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และทำการเพาะเลี้ยงต่อที่อุณหภูมิ 25 ±2 องศาเซลเซียส ในสภาวะมืด เป็นเวลา 1 สัปดาห์ [9] จากนั้นย้ายแคลลัสดังกล่าวลงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรที่ชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ที่เหมาะสมที่สุดที่ได้จากการทดลองในตอนที่ 2.3 โดยจะทำการเติมวัสดุนาโนคาร์บอน (Global Chemical Co., Ltd., Thailand) ที่ความเข้มข้น 20, 40, 60 และ 80 มิลลิกรัมต่อลิตรเพิ่มเติม และทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ±2 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่ให้แสงความเข้ม 1000 ลักซ์ จำนวน 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยทำการบันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว (green spots) เปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นต้นใหม่ (plant regenerations) และอัตราส่วนการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสที่ได้

2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในการทดลองนี้จะทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำในแต่ละชุดการทดลอง (n=5) โดยมีการออกแบบการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ผลการทดลองที่ได้นำไปวิเคราะห์ทางสถิติด้วย ANOVA และ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 15.0 (SPSS for Windows, SPSS Inc., USA)

3. ผลการศึกษาและการอภิปราย

เมื่อนำชิ้นส่วนของพืชในส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญมาเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตรที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดต่างๆ (plant growth regulators) ที่เหมาะสมจะสามารถชักนำให้เซลล์เนื้อเยื่อเจริญ

เหล่านั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์แคลลัส หรือเปลี่ยนแปลงไปเป็นส่วนต่างๆ ได้ เช่น ยอดหรือราก [10,11] ในงานวิจัยนี้เริ่มต้นจึงได้ทำการศึกษาถึงผลความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด 2,4-D ที่แตกต่างกันต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสในเมล็ดข้าวไทยสายพันธุ์ปทุมธานี1 จากผลการทดลองในตารางที่ 1 พบว่า การใช้ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้นให้ลักษณะทางสันฐานวิทยาของเซลล์แคลลัสได้ดีที่สุด โดยเซลล์แคลลัสที่ได้นั้นมีขนาดอยู่ที่ 0.46 ±0.04 เซนติเมตร น้ำหนักสด 34.11 ±0.84 มิลลิกรัม และน้ำหนักแห้ง 9.68 ±0.67 มิลลิกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เติม 2,4-D ที่ความเข้มข้น 1, 2, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองก่อนหน้านี้พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด 2,4-D นั้นเหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสในเมล็ดข้าว แต่พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมนั้นจะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ของข้าวที่ศึกษา [12-14]

ตารางที่ 1 ขนาด ปริมาณน้ำหนักสด และปริมาณน้ำหนักแห้งของเซลล์แคลลัสที่ถูกชักนำในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด 2,4-D ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน (1-5 มิลลิกรัมต่อลิตร) จากเมล็ดข้าวไทยสายพันธุ์ปทุมธานี1

ความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	**ขนาด (เซนติเมตร)**	**น้ำหนักสด (มิลลิกรัม)**	**น้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม)**
1	0.25 ±0.05 c	30.69 ±0.75 d	7.34 ±0.58 c
2	0.33 ±0.04 b	31.71 ±0.73 c	8.43 ±0.49 b
3	0.46 ±0.04 a	34.11 ±0.84 a	9.68 ±0.67 a
4	0.33 ±0.04 b	32.54 ±0.50 b	8.45 ±0.55 b
5	0.27 ±0.04 c	30.74 ±0.63 d	7.94 ±0.45 c

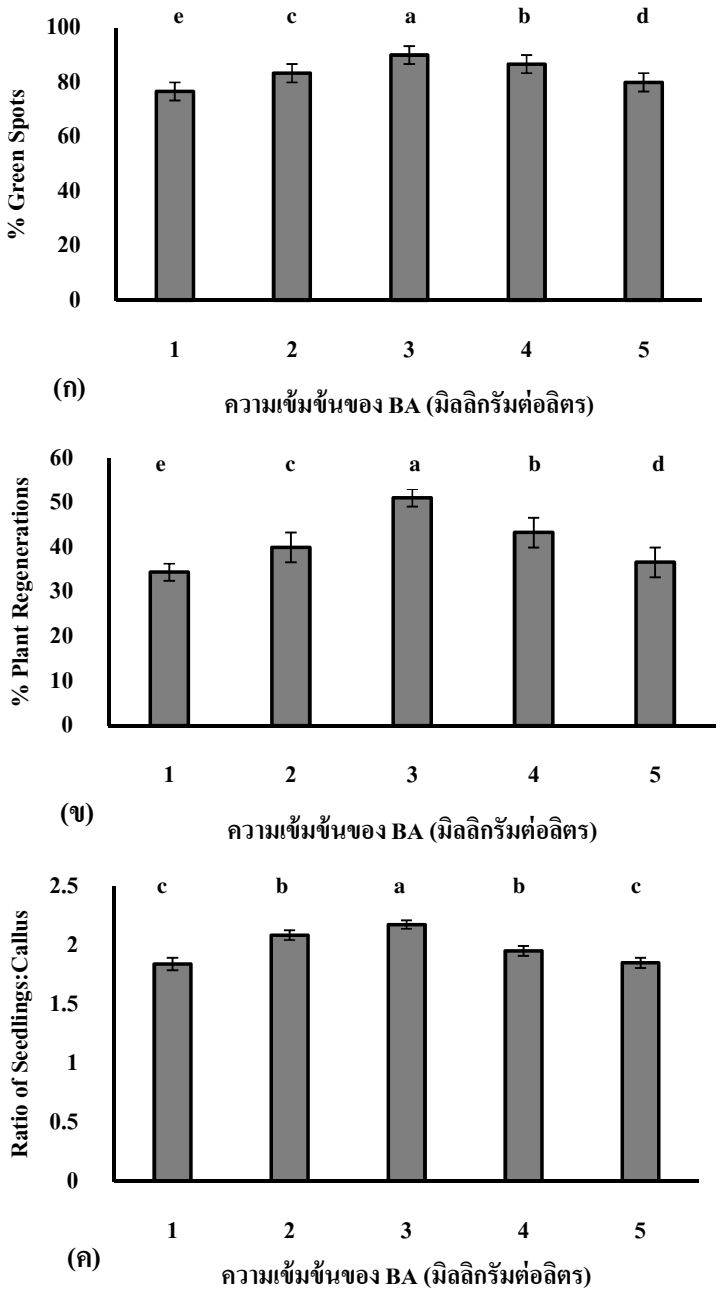
ค่าที่ได้แสดงถึงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 5 ซ้ำ (n = 5) ในแต่ละชุดการทดลอง ±ค่า S.D. และตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคุญที่ $P \leq 0.05$

เมื่อได้ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด 2,4-D ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัสในเมล็ดข้าวไทยสายพันธุ์ปทุมธานี1 แล้ว จากนั้นได้ทำการศึกษาถึงความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด BA ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่จากเซลล์แคลลัสที่ได้ โดยจากผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 1 (ก)-(ค) พบว่า การเติม BA ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ IAA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้น จะชักนำให้เซลล์แคลลัสเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นจุดสีเขียว (90%) และเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็นยอด และต้นใหม่ (51.11%) ได้ดีที่สุด รวมถึงให้อัตราส่วนของการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสได้ดีที่สุด (2.17) การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มออกซิน (auxins) และไซโตไคนิน (cytokinins) ที่เหมาะสมจะทำให้เซลล์แคลลัสของพืชนั้นสามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ [15,16] โดยพบว่างานวิจัย

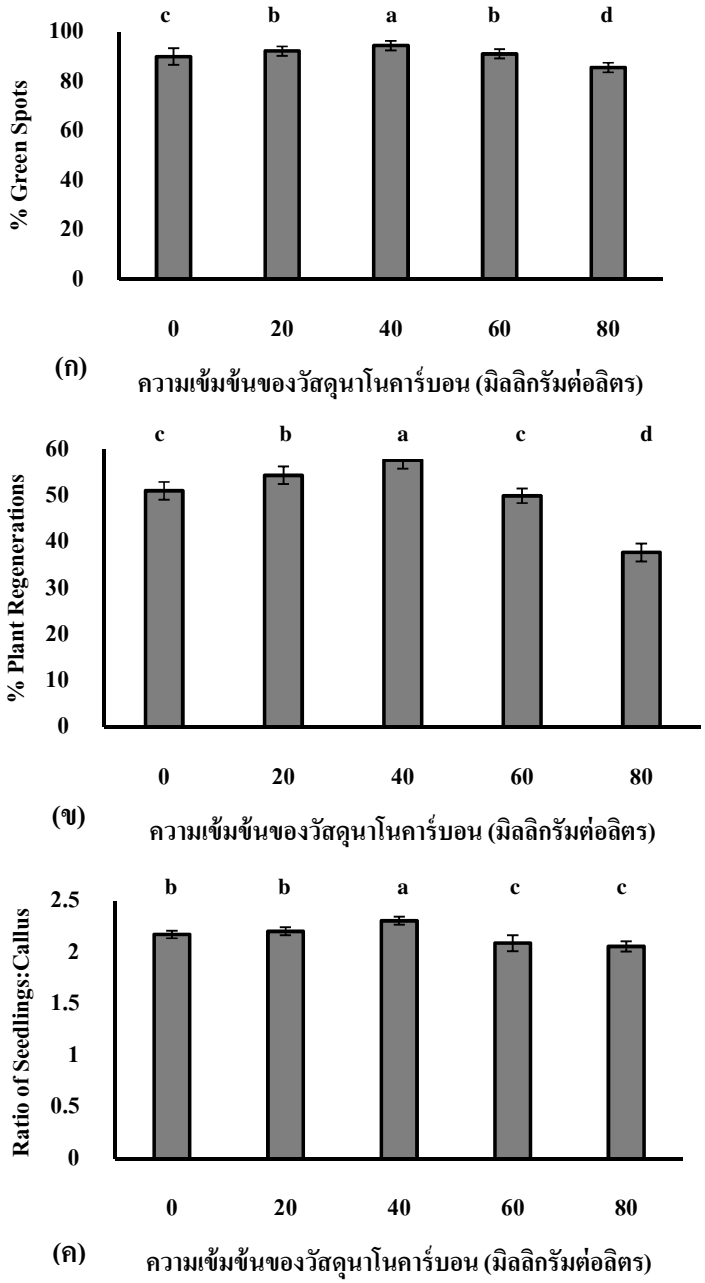
ส่วนใหญ่มีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด BA และ IAA หรือ NAA (Naphthaleneacetic acid) ร่วมกันในการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่จากเซลล์แคลลัสของข้าวอินดิกา ซึ่งเป็นสายพันธุ์เดียวกับข้าวสายพันธุ์ไทยได้เป็นอย่างดี [17-19]

เมื่อได้ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด 2,4-D ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดเซลล์แคลลัส และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด BA และ IAA ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดจุดสีเขียว และการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ในเมล็ดข้าวไทยสายพันธุ์ปทุมธานี1 แล้ว จากนั้นได้ทำการศึกษาถึงความเข้มข้นของวัสดุนาโนคาร์บอนที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่จากเซลล์แคลลัสที่ได้โดยใช้ความเข้มข้นของวัสดุนาโนที่ใช้ในงานวิจัยก่อนหน้านี้ในการประยุกต์ใช้ในงานวิจัยนี้ [19] โดยจากผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 2 (ก)-(ค) พบว่าการเติมวัสดุนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้น จะชักนำให้เซลล์แคลลัสเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นจุดสีเขียว (94.44%) และเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็นยอด และต้นใหม่ (57.78%) ได้ดีที่สุด รวมถึงให้อัตราส่วนของการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัสได้ดีที่สุด (2.31)

จากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าวัสดุนาโนคาร์บอนสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชหลากหลายชนิด โดยที่วัสดุนาโนจัดเป็นหนึ่งในแหล่งคาร์บอนที่เซลล์พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ อีกทั้งยังวัสดุนาโนสามารถกระตุ้นยีนที่ควบคุมการส่งสารและน้ำเข้า-ออกระหว่างภายในและภายนอกเซลล์ และยังส่งเสริมการแบ่งเซลล์ และการสร้างผนังเซลล์ของพืช ทำให้เซลล์พืชเกิดการเปลี่ยนแปลงให้มีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น [20-21] แต่ในบางครั้งพบว่าถ้ามีการใช้วัสดุนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้นมากกินไปจะทำให้เกิดความเป็นพิษในส่วนไซโตพลาสซึม (cytotoxicity) ในเซลล์พืช ซึ่งจะส่งผลกระทบในด้านลบต่อเซลล์พืชได้ จึงต้องศึกษาให้เหมาะสมกับพืชแต่ละสายพันธุ์ [22]



รูปที่ 1 (ก) เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว (% green spots) (ข) การเกิดเป็นต้นใหม่ (% plant regenerations) และ (ค) อัตราส่วนของการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัส (ratio of seedlings:callus) จากเซลล์แคลลัสที่ถูกชักนำในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิด BA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน (1-5 มิลลิกรัมต่อลิตร) จากเซลล์แคลลัสของข้าวไทยสายพันธุ์ปทุมธานี1 ค่าที่ได้แสดงถึงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 5 ซ้ำ (n = 5) ในแต่ละชุดการทดลอง ±ค่า S.D. และตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $P \leq 0.05$



รูปที่ 2 (ก) เปอร์เซ็นต์การเกิดจุดสีเขียว (% green spots) (ข) การเกิดเป็นต้นใหม่ (% plant regenerations) และ (ค) อัตราส่วนของการเกิดเป็นต้นใหม่ต่อแคลลัส (ratio of seedlings:callus) จากเซลล์แคลลัสที่ถูกชักนำในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีการเติมวัสดุนาโนคาร์บอนที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน (0-80 มิลลิกรัมต่อลิตร) จากเซลล์แคลลัสของข้าวไทยสายพันธุ์ปทุมธานี1 ค่าที่ได้แสดงถึงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 5 ซ้ำ (n = 5) ในแต่ละชุดการทดลอง ±ค่า S.D. และตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $P \leq 0.05$

4. สรุป

จากผลการทดลองที่ได้นั้นแสดงให้เห็นว่าสามารถนำวัสดุนาโนคาร์บอนมาประยุกต์ใช้ทางด้านการเกษตรได้ โดยในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้วัสดุนาโนคาร์บอนในความเข้มข้นที่เหมาะสมนั้น สามารถส่งเสริมการชักนำให้เซลล์แคลลัสเกิดเป็นต้นใหม่ในข้าวไทยสายพันธุ์ปทุมธานี1 ได้สูงขึ้น เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งในการขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณต้นข้าวต่อไป และยังสามารถนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองนี้ไปประยุกต์ใช้กับข้าวหรือพืชสายพันธุ์อื่นๆ ต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (A118-0260-082 และ A118-0361-055) และขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานีที่เอื้อเฟื้อเมล็ดพันธุ์ข้าว และวิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบังที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

[1] M. Caser, F. D'Angiolillo, W. Chitarra, C. Lovisolo, B. Ruffoni, B., Lu. Pistelli, La. Pistelli and V. Scariot, "Ecophysiological and phytochemical responses of *Salvia sinaloensis* Fern. to drought stress," Plant Growth Regulation, Vol. 84, No. 2, 2018, pp. 383-394.

[2] M. Li and Y. Liu, "Effects of variety and growth location on the chain-length distribution of rice starches," Journal of Cereal Science, Vol. 85, 2019, pp. 77-83.

[3] E.V. De Francisco and R.M. García-Estepa, "Nanotechnology in the agrofood industry," Journal of Food Engineering, Vol. 238, 2018, pp. 1-11.

[4] D. Rawtani, N. Khatri, S. Tyagi and G. Pandey, "Nanotechnology-based recent approaches for sensing and remediation of pesticides," Journal of Environmental Management, Vol. 206, 2018, pp. 749-762.

[5] I. Iavicoli, V. Leso, D.H. Beezhold and A.A. Shvedova, "Nanotechnology in agriculture: Opportunities, toxicological implications, and occupational risks," Toxicology and Applied Pharmacology, Vol. 329, 2017, pp. 96-111.

[6] H. Chen and R. Yada, "Nanotechnologies in agriculture: New tools for sustainable development," Trends in Food Science and Technology, Vol. 22, No. 11, 2011, pp. 585-594.

[7] P. Wang, E. Lombi, F.J. Zhao and P.M. Kopittke, "Nanotechnology: A New Opportunity in Plant Sciences," Trends in Plant Science, Vol. 21, No. 8, 2016, pp. 699-712.

[8] L. Li, R. Qu, A. De Kochko, C. Frauquet, and R.N. Beachy, "An improved rice transformation method using the biolistic method," Plant Cell Reports, Vol. 12, No. 5, 1993, pp. 250-255.

[9] S. Chutipaijit and T. Sutjaritvorakul, "Improvement of plant regeneration frequency from carbon Sources in aromatic rice (*Oryza sativa* L.)," Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science, Vol. 42, No. 3, 2018, pp. 1131-1137.

[10] S. Rostami and A. Azhdarpoor, "The application of plant growth regulators to improve phytoremediation of contaminated soils: A review," Chemosphere, Vol. 220, 2019, pp. 818-827.

[11] K. Jamwal, S. Bhattacharya and S. Puri, "Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants," Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, Vol. 9, 2018, pp. 26-38.

[12] A.R.J.M. Din, F.I. Ahmad, A. Wagiran, A.A. Samad, Z. Rahmat and M.R. Sarmidi, "Improvement of efficient *in vitro* regeneration potential of mature callus induced from Malaysian upland rice seed (*Oryza sativa* cv. Panderas)," Saudi Journal of Biological Sciences, Vol. 23, 2016, pp. S69-S77.

[13] T.N. Tran and N. Sanan-Mishra, "Effect of antibiotics on callus regeneration during transformation of IR64 rice," Biotechnology Reports, Vol. 7, 2015, pp. 143-149.

[14] Y. Li-na, L. Xia and W. Dan, "The comparison in tissue culture ability of mature embryo in different cultivars of rice," Agricultural Sciences in China, Vol. 9, No. 6, 2010, pp. 840-846.

[15] A. Kumari, P. Baskaran, L. Plačková, H. Omámiková, J. Nisler, K. Doležal and J. Van Staden, "Plant growth regulator interactions in physiological processes for controlling plant regeneration and *in vitro* development of *Tulbaghia simmleri*," Journal of Plant Physiology, Vol. 223, 2018, pp. 65-71.

[16] W. Zhang, C. Yu, K. Zhang, Y. Zhou, W. Tan, L. Zhang, Z. Li and L. Duan, "Plant growth regulator and its interactions with environment and genotype affect maize optimal plant density and yield," European Journal of Agronomy, Vol. 91, 2017, pp. 34-43.

[17] X. Feng, P. Zhao, J. Hao, J. Hu, D. Kang and H. Wang, "Effects of sorbitol on expression of genes involved in regeneration of upland rice (*Oryza sativa* L.)," Plant Cell, Tissue and Organ Culture, Vol. 106, No. 3, 2011, pp. 455-463.

[18] K.K. Sahoo, A.K. Tripathi, A. Pareek, S.K. Sopory and S.L. Singla-Pareek, "An improved protocol for efficient transformation and regeneration of diverse indica rice cultivars," Plant Methods, Vol. 7, 2011, pp. 49-59.

[19] S. Chutipaijit and T. Sutjaritvorakul, "Application of nanomaterials in plant regeneration of rice (*Oryza sativa* L.)," Materials Today: Proceedings, Vol. 4, No. 5, 2017, pp. 6140-6145.

[20] A. Husen and K.S. Siddiqi, "Carbon and fullerene nanomaterials in plant system," Journal of Nanobiotechnology, Vol. 12, 2014, pp. 16-25.

[21] S. Tripathi, S.K. Sonkar and S. Sarkar, "Growth stimulation of gram (*Cicer arietinum*) plant by water soluble carbon nanotubes," Nanoscale, Vol. 3, 2011, pp. 1176-1181.

[22] X.M. Tan, C. Lin and B. Fugetsu, "Studies on toxicity of multiwalled carbon nanotubes on suspension rice cells," Carbon, Vol. 47, No. 15, 2009, pp. 3479-3487.