

ผลของ 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid ต่อการชักนำแคลลัสของ ข้าวชิวแดง (*Oryza sativa* L. cultivars Sew Deng) และข้าวหน่อแพร์ (*Oryza sativa* L. cultivars Nor Prae)

Effect of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid for Callus Induction of Sew Deng Rice (*Oryza sativa* L. cultivars Sew Deng) and Nor Prae Rice (*Oryza sativa* L. cultivars Nor Prae)

ณัฐฐิยา ชัยชนะ¹



บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) ต่อการชักนำแคลลัสของข้าวชิวแดง (*Oryza sativa* L. cultivars Sew Deng) และข้าวหน่อแพร์ (*Oryza sativa* L. cultivars Nor Prae) โดยนำเมล็ดข้าวพื้นเมืองทั้ง 2 ชนิด มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (คลอโรกซ์) 15 % เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นย้ายเลี้ยงเอ็มบริโอลงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสข้าวชิวแดงและข้าวหน่อแพร์ได้สูงสุด 100% โดยให้น้ำหนักแห้งแคลลัสเฉลี่ยที่ 0.0414 และ 0.0652 กรัม ตามลำดับ

คำสำคัญ: แคลลัส ข้าวหน่อแพร์ ข้าวชิวแดง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ABSTRACT

This research was purposed to investigate the effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) for callus induction of Sew Deng rice (*Oryza sativa* L. cultivars Sew Deng) and Nor Prae rice (*Oryza sativa* L. cultivars Nor Prae). The seeds of both cultivars were sterilized by sodium hypochlorite (clorox) 15% for 10 minute. Then, embryos were transferred to MS medium supplemented with 2, 4D at four different concentration of 0, 0.5, 1.0 and 2.0 mg/l for 8 weeks. The result revealed that MS medium supplemented with 0.5 mg/l 2,4-D could provide 100% of callus induction of Sew Deng rice and Nor Prae rice with 0.0414 and 0.0652 g dry weight, respectively.

Keywords: callus, *Oryza sativa* L. cultivars Nor Prae, *Oryza sativa* L. cultivars Sew Deng, plant tissue culture

¹ โปรแกรมวิทยาศาสตร์ คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

บทนำ

การพัฒนาภาคการเกษตรเป็นฐานรายได้หลักและความมั่นคงด้านอาหารของประเทศ โดยเฉพาะข้าวที่เป็นพืชอาหารหลักของคนไทยและส่งออกนอกประเทศ รวมไปถึง ชุมชนท้องถิ่น เป็นกลไกที่มีความสามารถในการบริหารจัดการ มีส่วนร่วมในการพัฒนาคุณภาพชีวิตและเชื่อมโยงกันเป็นสังคมสวัสดิการ เป็นพลังหลักในการพัฒนาฐานรากของประเทศให้มั่นคง ชุมชนพึ่งตนเองสามารถบรรเทาปัญหาเศรษฐกิจ สังคม ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมในระดับท้องถิ่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในพื้นที่อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย นอกจากจะมีพรมแดนเป็นเขตติดต่อทางเศรษฐกิจแล้ว ยังมีความหลากหลายทางชาติพันธุ์มาตั้งแต่อดีต ไม่น้อยกว่า 10 ชนเผ่า อาทิเช่น ไทยวน พม่า ลาว ไทลื้อ จีน อาข่า ลาหู่ เมียน ม้ง ขมุ ลัวะ ไทยใหญ่ เป็นต้น จึงควรมีการศึกษาและอนุรักษ์ภูมิปัญญาในท้องถิ่นแต่ละชนเผ่าเพื่อไม่ให้สูญหายไป รวมไปถึงการอนุรักษ์พันธุ์ข้าวไร่ ข้าวนา ในท้องถิ่น เพื่อรักษาความมั่นคงของฐานทรัพยากร และการสร้างสมดุลระหว่างการอนุรักษ์กับการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนในอนาคตได้ ซึ่งวิธีการอนุรักษ์พันธุ์ข้าวโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจในงานวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวกับสายพันธุ์ข้าวหลายชนิด และจากงานวิจัยที่ได้มีการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าว พบว่าปัจจัยสำคัญที่จะทำให้การเพาะเลี้ยงประสบความสำเร็จนั้นขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ชนิดของเนื้อเยื่อ สารควบคุมการเจริญเติบโต และสภาพการเพาะเลี้ยง (Puhan and Siddiq, 2013) โดยการใช้การชักนำแคลลัสจากเมล็ดด้วยการเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหาร MS ที่เติม 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) 1.5–3.5 มิลลิกรัม/ลิตร และ Kinetin 0.5–1.5 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าสูตรอาหารที่สามารถชักนำแคลลัสได้สูงสุดที่ 44.4% คือ MS ร่วมกับ 2,4-D 2.5 มิลลิกรัม/ลิตร และ Kinetin 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร จากนั้นนำแคลลัสที่ได้มาชักนำให้เกิดยอดบนสูตรอาหาร MS ที่เติม 6-Benzylaminopurine (BAP) 1.0–3.0 มิลลิกรัม/ลิตร Kinetin 0.5–1.5 มิลลิกรัม/ลิตร และ Naphthaleneacetic acid (NAA) 0.5–1.5 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม BAP 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร NAA 0.5 มิลลิกรัม/

ลิตร และ Kinetin 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุด ที่ 42.5% (Wani *et al.*, 2011) และจากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวของมาเลเซียพบว่า การชักนำแคลลัสจะเกิดสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวบนอาหาร MSB₅ ที่เติม 2, 4-D 2 มิลลิกรัม/ลิตร maltose 40 มิลลิกรัม/ลิตร 600 มิลลิกรัม/ลิตร casein hydrolysate และ 0.4% gelrite (Shahsavari, 2010) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวในประเทศปากีสถานพบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 1.0 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร (Ilahi *et al.*, 2005) นอกจากนี้จากใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต เช่น Benzyl Adenine (BA), Kinetin และ NAA สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากข้าวได้สูงสุดถึง 100% (Yan *et al.*, 2010)

จากการสำรวจข้าวบางชนิดในอำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย มีคุณประโยชน์ที่สามารถนำไปต่อยอดเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ได้ เช่น ทนแล้ง แดกกอดี เยื่อหุ้มเมล็ดข้าวมีสีที่สามารถนำไปพัฒนาต่อได้ในอนาคต งานวิจัยนี้ได้ทำการคัดเลือกข้าวจำนวน 2 สายพันธุ์คือ ข้าวชิวแดง และข้าวหน่อแพร์ ซึ่งข้าวทั้งสอง มีลักษณะเด่น ดังนี้

1. ข้าวชิวแดง เป็นข้าวเหนียว พบที่บ้านป่าตึง หมู่ 5 ตำบลบ้านแซว อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย ปัจจุบันพบที่มีการปลูกอยู่ 1-2 ครัวเรือน มีแนวโน้มจะสูญหายไปจากพื้นที่สูง ด้วยความที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีแดง ทำให้เป็นที่สนใจในการปลูกและอนุรักษ์พันธุ์ไว้

2. ข้าวหน่อแพร์ สรรพพบบริเวณบ้านแม่แอบ หมู่ที่ 11 ตำบลบ้านแซว อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย ในอดีตเป็นข้าวเหนียวที่นิยมรับประทานทั่วไปในพื้นที่ เพราะสามารถให้ผลผลิตค่อนข้างดี ทนแล้ง ต่อมาเมื่อการคมนาคมขนส่งดีขึ้น การปลูกข้าวไร้ลดความนิยมลง จึงมีผู้ที่ปลูกข้าวพันธุ์นี้น้อยลงมาก ในปัจจุบัน ข้าวหน่อแพร์มีการแตกกอดี ผลผลิตดีกว่าข้าวไร้ชนิดอื่น และเมล็ดยังมีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีแดงอีกด้วยเหมาะสำหรับการส่งเสริมการอนุรักษ์พันธุ์และขยายพันธุ์สู่เกษตรกร

ดังนั้น ข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์จึงเป็นที่น่าสนใจในการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ โดยวิธีการอนุรักษ์วิธีหนึ่ง

ก็คือ การใช้กระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อให้ได้ต้นพันธุ์ในการอนุรักษ์ และสามารถผลิตขยายต้นพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วในระยะเวลาอันสั้น โดยการเพาะเลี้ยงแคลลัส เป็นเทคนิคการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อวิธีหนึ่ง ที่สามารถชักนำได้จากทั้งส่วนใบอ่อน ตา ยอด หรือ เมล็ด เมื่อชักนำให้เกิดแคลลัสได้แล้วสามารถชักนำต่อให้เกิดยอดและรากเพื่อการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชได้ นอกจากนี้ ยังสามารถเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตและเพิ่มปริมาณสารที่เป็นประโยชน์จากข้าวพื้นเมืองได้อีกทางหนึ่งด้วย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของ 2,4-chlorophenoxyacetic acid ต่อการชักนำแคลลัสของข้าวชีวิตแดงและข้าวหน่อแพร์ เพื่อเป็นแนวทางในการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากข้าวพื้นเมืองในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างข้าวพื้นเมือง 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวชีวิตแดงและข้าวหน่อแพร์ จากอำเภอยางชุมน้อย จังหวัดศรีสะเกษ นำข้าวพื้นเมืองมาอบแห้ง เพื่อทำการทดลองในขั้นตอนถัดไป

การชักนำแคลลัสในสภาพปลอดเชื้อ

นำเมล็ดข้าวพื้นเมือง ทั้ง 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวชีวิตแดงและข้าวหน่อแพร์ มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (คลอโรกซ์) ที่ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้น ตัดส่วนเอ็มบริโอของเมล็ดข้าว ย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ คือ สูตรอาหาร MS ร่วมกับ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงแคลลัสที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °C ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกอัตราการเกิดแคลลัส (%) หลังจากนั้นนำแคลลัสที่ได้จากอาหารสูตรต่างๆ ไปอบแห้ง และชั่งน้ำหนักแห้ง

เพื่อหาสูตรอาหารที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดแคลลัสข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำผลวิจัยที่ได้มาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ (Statistic analysis) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) แบบ Complete Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัย

ผลของการชักนำแคลลัสของข้าวชีวิตแดงและข้าวหน่อแพร์ ที่ 8 สัปดาห์ (ตารางที่ 1) จากผลการศึกษาพบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม 0.5 mg/l 2,4-D สามารถชักนำแคลลัสข้าวชีวิตแดงได้มากที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุดที่ 100 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0414 กรัม สูตรอาหาร MS ที่เติม 1.0 mg/l 2,4-D พบว่าเกิดแคลลัสที่ 85 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0268 กรัม สูตรอาหาร MS ที่เติม 2.0 mg/l 2,4-D สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 40 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0376 กรัม ส่วนชุดควบคุมสูตรอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้

การชักนำแคลลัสของข้าวหน่อแพร์ ผลการศึกษาพบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม 0.5 mg/l 2,4-D สามารถชักนำแคลลัสข้าวชีวิตแดงได้มากที่สุดเช่นกัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุดที่ 100 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0652 กรัม สูตรอาหาร MS ที่เติม 1.0 และ 2.0 mg/l 2,4-D พบว่าเกิดแคลลัสที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0246 กรัม และ 0.0316 กรัม ตามลำดับ ส่วนสูตรอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้

ตารางที่ 1 เปอร์เซนต์การชักนำให้เกิดแคลลัสและน้ำหนักแห้งของแคลลัสข้าวชิวแดงและข้าวหน่อแพร์ที่ 8 สัปดาห์

สายพันธุ์ข้าว	สูตรอาหาร	การชักนำให้เกิดแคลลัส (%)	น้ำหนักแห้งเฉลี่ย (กรัม)
ข้าวชิวแดง	MS	0	0 ^b
	MS+0.5 mg/l 2,4-D	100	0.0414 ^a
	MS+1.0 mg/l 2,4-D	85	0.0268 ^{ab}
	MS+ 2.0 mg/l 2,4-D	40	0.0376 ^{ab}
ข้าวหน่อแพร์	MS	0	0 ^b
	MS+0.5 mg/l 2,4-D	100	0.0652 ^a
	MS+1.0 mg/l 2,4-D	95	0.0246 ^{ab}
	MS+ 2.0 mg/l 2,4-D	95	0.0316 ^{ab}

* ข้าวแต่ละสายพันธุ์ ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามคอลัมน์คือแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



(ก)



(ข)

ภาพที่ 1 แคลลัสข้าวชิวแดง (ก) และ ข้าวหน่อแพร์ (ข)

สรุปและวิจารณ์ผล

จากผลการวิจัยจะเห็นได้ว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวชิวแดงและข้าวหน่อแพร์ได้ โดยสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำแคลลัสของข้าวชิวแดงและข้าวหน่อแพร์ คือ สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 mg/l โดยให้อัตราการเกิดแคลลัส 100% และให้ปริมาณน้ำหนักแห้งของแคลลัสสูงที่สุดที่ 0.0414 และ 0.0652 กรัม ตามลำดับ

จากการศึกษาการชักนำแคลลัสของข้าวที่ผ่านมา พบว่า ปัจจัยอย่างหนึ่งส่งผลให้เกิดการชักนำ

แคลลัสของข้าวก็คือ สารควบคุมการเจริญเติบโตหรือฮอร์โมนพืช เช่น ออกซิน (auxin) หรือ ไซโตไคนิน (cytokinin) เป็นต้น (Kadhimi et al., 2014) 2,4-D เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตประเภทออกซิน ซึ่งนำมาใช้ในการชักนำแคลลัสจากพืชอย่างแพร่หลาย ซึ่งจากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 mg/l สามารถชักนำแคลลัสได้ดีที่สุดจากข้าวหลายสายพันธุ์ (hsien rice) ในประเทศจีน (Chunbo et al., 2009) นอกจากนี้ ยังได้มีงานวิจัยการชักนำแคลลัสจากข้าวในประเทศมาเลเซียพบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D สามารถชักนำแคลลัสได้

สูงสุด (Shahsavari *et al.*, 2010) และจากการศึกษา การชักนำแคลลัสของข้าว (*Oryza sativa* L.) จำนวน 4 สายพันธุ์ คือ ASD 16, ADT 43, Basmati 370, Pusa Basmati และ Pokkali พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D สามารถชักนำแคลลัสได้ 58.33 % ถึง 96.67 % (Revathi and Arumugam Pillai, 2011) นอกจากนี้ การใช้ 2,4-D ยังช่วยในการชักนำแคลลัสของข้าว indica rice (*Oryza sativa* L.) (Karthikeyan *et al.*, 2009) อีกด้วย

ข้าวพื้นเมืองหลายสายพันธุ์ในประเทศไทย ได้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาช่วยในการอนุรักษ์ พันธุกรรม ยกตัวอย่างเช่น การขยายพันธุ์ข้าวพื้นเมือง พันธุ์กบดำด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งเป็น พันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่นิยมปลูกในอำเภอปากพนัง จังหวัด นครศรีธรรมราช โดยนำเมล็ดมาเพาะเลี้ยงบนสูตร อาหาร MS ที่เติม 2,4-D พบว่าสามารถชักนำให้เกิด แคลลัสได้ 100% และแคลลัสที่ได้ สามารถชักนำให้เกิด ยอดและรากได้ (กมลทิพย์ และคณะ, 2560) และยังสามารถ ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการ ขยายพันธุ์ข้าวพันธุ์เล่าแตกและข้าวพันธุ์เหนียวแดงใน สภาพปลอดเชื้อ ผลการศึกษาพบว่า การเลี้ยงเมล็ดบน สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D สามารถชักนำเมล็ดข้าว พันธุ์เหนียวแดงด้วยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด เท่ากับ 100% และข้าวพันธุ์เล่าแตกมีเปอร์เซ็นต์การ เกิดแคลลัสมากที่สุดคือ 96% ตามลำดับ (จตุพร และ คณะ, 2561) นอกจากนี้ สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ยังสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเมล็ด ของข้าวหอมมะลิ 105 และข้าวเหนียว กข 6 อีกด้วย (ภพแก้ว และคณะ, 2556) ดังนั้น แคลลัสข้าวที่ได้จาก การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถนำไปชักนำยอดและราก ต่อไป เพื่อเป็นการอนุรักษ์พันธุกรรมข้าวพื้นเมือง นอกจากนี้ ยังสามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสและสารที่มี ประโยชน์จากแคลลัสข้าวด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อได้ ซึ่งจะสามารถผลิตสารที่ต้องการในปริมาณ มาณมากและไม่ขึ้นกับฤดูกาล

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสนับสนุนงานวิจัยจากกองทุน สนับสนุนงานวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย

เอกสารอ้างอิง

- กมลทิพย์ สาลีแก้ว, อรพิมล แทนทอง, ผการัตน์ โรจน์ดวง และ สุภาวดี งามสูตร. 2560. การขยายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองพันธุ์กบดำด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วารสารวิชา. 36(2): 25-35.
- จตุพร หงส์ทองคำ, อภิญา สีลาโส, รัชนิกร ทองเฟื่อง และ รชยา พรม่วงศ์. 2561. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการขยายพันธุ์ข้าวพันธุ์เล่าแตกและข้าวพันธุ์เหนียวแดงในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารวิชาการ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์. 10(12): 25-34.
- ภพแก้ว พุทธิรักษ์, วารุต อยู่คง, รัฐพร จันทรเดช, พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์ และ มณฑล สงวนเสริมศรี. 2556. การชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดของข้าวหอมมะลิ 105 และข้าวเหนียว กข 6. Naresuan Phayao Journal. 6(2): 100-105.
- Chunbo, M., Zhigang, W. and Bingyao, S. 2009. Effects of 2, 4-D and 6-BA on callus induction and plantlet regeneration from mature embryos of hsien rice. Hu'nan Agricultural Science & Technology Newsletter. 10(4): 22-26.
- Ilahi, I., Bano, S., Jabeen, M. and Rahim, F. 2005. Micropropagation of rice (*Oryza sativa* L. cv SWAT-II) through somatic embryogenesis. Pakistan Journal of Botany. 37(2): 237-242.
- Kadhimi, A.A., Alhasnawi, A.N., Isahak, A., Ashraf, M.F., Mohamad, A., Doni, F., Yusoff, W.M.W. and Mohd Zain, C.R.C. 2014. Effect of genotype and growth regulators in induction of embryogenic callus in rice. Journal of Pure and Applied Microbiology. 8(6): 1-6.

- Karthikeyan, A., Pandian, S. T. K. and M. Ramesh. 2009. High frequency plant regeneration from embryogenic callus of a popular *indica* rice (*Oryza sativa* L.) Physiology and Molecular Biology of Plants.15(4): 371-375.
- Puhan, P. and Siddiq, E.A. 2013. Protocol optimization and evaluation of rice varieties response to *in vitro* regeneration. Advances in Bioscience and Biotechnology. 4: 647-653.
- Revathi, S. and Arumugam Pillai, M. 2011. *In vitro* callus induction in rice (*Oryza sativa* L.). Research in Plant Biology. 1(5): 13-15.
- Shansavari, E. 2010. Evaluation and Optimizations of Media on the Tissue Culture System of Upland Rice. International Journal of Agriculture and Biology. 12: 537–540.
- Wani, S.H., Sanghera, G.S. and Gosal, S.S. 2011. An efficient and reproducible method for regeneration of whole plants from mature seeds of a high yielding *Indica* rice (*Oryza sativa* L.) variety PAU 201. New Biotechnology. 28(4): 418–422.
- Yan, L.N., Li, X. and Wu, D. 2010. The comparison in tissue culture ability of mature embryo in different cultivars of rice. Agricultural Sciences in China. 9(6): 840–846