สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(6)
สารบาญ	(7)
รายการตาราง	(8)
รายการตารางภาคผนวก	(10)
รายการภาพประกอบ	(13)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(16)
บทที่	
1 บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	15
2 วิธีการทดลอง	16
วัสดุ	16
อุปกรณ์	17
วิธีการ	18
3 ผล	28
4 บทวิจารณ์	68
5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ	80
บรรณานุกรม	82
ภาคผนวก	88
การเผยแพร่ผลงานวิชาการ	99
ประวัติผู้เขียน	100

รายการตาราง

ตาราง		หน้า
1.	ชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์	24
2.	ชนิดของอาหารเพาะเลี้ยงโพรโทพลาสต์	29
3.	การเกิดแคลลัสจากลำต้นของโป๊ยเซียนพันธุ์สร้อยรัชนีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสสูตรMS ที่เติม 2, 4-D ในระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลาเป็นเวลา 60 วัน	32
4.	การเกิดแคลลัสจากลำต้นของโป๊ยเซียนพันธุ์เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสสูตรMS ที่เติม 2iP ในระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 60 วัน	33
4.	การเกิดแคลลัสจากข้อของโป๊ยเซียนพันธุ์สร้อยรัชนีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสสูตรMS ที่เติม 2, 4-D ในระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 60 วัน	34
5.	การเกิดแคลลัสจากข้อของโป๊ยเซียนเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสสูตรMS ที่เติม 2iP ในระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 60 วัน	35
6.	การเกิดแคลลัสจากข้อของโป๊ยเซียนเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสสูตรMS ที่เติม Kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 60 วัน	37
7.	การเกิดแคลลัสจากใบของโป๊ยเซียนเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสสูตรMS ที่เติม 2iP ในระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 60 วัน	39
8.	การเจริญของแคลลัสจากลำต้น ข้อ และ ใบในอาหารสูตรต่างๆเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอดสูตร MS ที่เติม BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 90 วัน	42
9.	การเจริญของราก เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำรากสูตร MS ที่เติม NAA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 วัน	49
10.	การเจริญของราก เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดรากสูตร MS ที่เติม IAA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 วัน	50
11.	การเจริญของราก เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดรากสูตร MS ที่เติม IBAในระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 วัน	51

รายการตาราง (ต่อ)

ตาราง **หน้า**

12. การอนุบาลต้นโป๊ยเซียนหลังออกจากขวดเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน 53
13. จำนวนโพรโทพลาสต์ที่แยกได้จากใบโป๊ยเซียนโดยใช้แมนนิทอลเป็นออสโมติคัมที่ระดับออสโมลาริตี้ต่างๆเมื่อวางบ่มในที่มืดอุณหภูมิ30±1 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 50รอบต่อนาทีเป็นเวลา 4 ชั่วโมง 54
14. จำนวนโพรโทพลาสต์ที่แยกได้เมื่อใช้เอนไซม์และความเข้มข้นชนิดต่างๆ โดยวางบ่มในที่มืดอุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 50 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 ชั่วโมง 57
15. เปรียบเทียบจำนวนโพรโทพลาสต์ที่ได้จากใบที่เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง กับใบที่ไม่ได้เก็บไว้ในที่มืด 58
16. ผลของระยะเวลาการอินคิวเบทต่อจำนวนและความมีชีวิตโพรโทพลาสต์ 59
17. ผลของจำนวนโพรโทพลาสต์เริ่มต้นที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลวสูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรหลังจากการเพาะเลี้ยง 7 วัน 62
18. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อพัฒนาการของโพรโทพลาสต์หลังจากการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลวสูตร MS เป็นระยะเวลา 7 วัน 64

ตารางภาคผนวก

ตาราง		หน้า
1.	แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเกิดแคลลัสจากลำต้นของโป๊ยเซียน เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสสูตรMS ที่เติม 2, 4-D ในระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 60 วัน	87
2.	แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเกิดแคลลัสจากข้อของโป๊ยเซียนเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสสูตรMS ที่เติม 2,4-D ในระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 60 วัน	87
3.	แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเกิดแคลลัสจากลำต้นของโป๊ยเซียน เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสสูตรMS ที่เติม 2iP ในระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 60 วัน	88
4.	แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเกิดแคลลัสจากข้อของโป๊ยเซียน เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสสูตรMS ที่เติม 2iP ในระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 60 วัน	88
5.	แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเกิดแคลลัสจากใบของโป๊ยเซียน เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสสูตรMS ที่เติม 2iP ในระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 60 วัน	89
6.	แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเกิดแคลลัสจากข้อของโป๊ยเซียน เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้ เกิดแคลลัสสูตรMS ที่เติม Kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 60 วัน	89
7.	แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญของแคลลัสจากข้อในอาหารสูตรที่มีKinetin 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอดสูตร MS ที่เติม BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 90 วัน	90
8.	แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญของแคลลัสจากลำต้นในอาหารสูตรที่มี 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอดสูตร MS ที่เติม BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 90 วัน	90

ตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตาราง		หน้า
9.	แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญของแคลลัสจากข้อในอาหารสูตรที่มี 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอดสูตร MS ที่เติม BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 90 วัน	91
10.	แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญของแคลลัสจากข้อในอาหารสูตรที่มี 2iP 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอดสูตร MS ที่เติม BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 90 วัน	91
11.	แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญของแคลลัสจากข้อในอาหารสูตรที่มี 2iP 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอดสูตร MS ที่เติม BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 90 วัน	92
12.	แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญของแคลลัสจากข้อในอาหารสูตรที่มี 2iP 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอดสูตร MS ที่เติม BA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 90 วัน	92
13.	แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญของรากเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดรากสูตร MS ที่เติม NAA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 วัน	93
14.	แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญของรากเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดรากสูตร MS ที่เติม IAA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 วัน	93
15.	แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเจริญของรากเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดรากสูตร MS ที่เติม IBA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 วัน	94
16.	แสดงผลการวิเคาระห์ความแปรปรวนจำนวนโพรโทพลาสต์ที่แยกได้จากใบโป๊ยเซียนโดยใช้แมนนิทอลเป็นออสโมติคัมที่ระดับออสโมลาริตี้ต่างๆ เมื่อวางบ่มในที่มืดอุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียสเขย่าด้วย ความเร็ว 50 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 ชั่วโมง	94

ตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตาราง	หน้า
17. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนโพรโทพลาสต์ที่แยกได้เมื่อใช้เอนไซม์และ ความเข้มข้นชนิดต่างๆ โดยวางบ่มในที่มืดอุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียสเขย่าด้วยความเร็ว 50 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 ชั่วโมง	95
18. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเปรียบเทียบจำนวนโพรโทพลาสต์ที่ได้จากใบที่เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง	95
19. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเปรียบเทียบจำนวนโพรโทพลาสต์ที่ได้จากใบที่ไม่ได้เก็บไว้ในที่มืด	96
20. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะเวลาการอินคิวเบทต่อจำนวนโพรโทพลาสต์	96
21. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะเวลาอินคิวเบทต่อความมีชีวิตโพรโทพลาสต์	96
22. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนโพรโทพลาสต์เริ่มต้นที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลวสูตร MS ที่มี NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการเพาะเลี้ยง 7 วัน	97
23. แสดงส่วนประกอบของ CPW	98

รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1.	การชักนำแคลลัสจากลำต้น ข้อ และใบโป๊ยเซียน	19
2.	วิธีการแยกโพรโทพลาสต์	23
3.	การเกิดแคลลัสจากลำต้นโป๊ยเซียนบนอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเรียงจากซ้ายไปขวาตามลำดับ เป็นเวลา 60 วัน	31
4.	การเกิดแคลลัสจากลำต้นโป๊ยเซียนบนอาหารสูตร MS ที่มี 2iP ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ เป็นเวลา 60 วัน	32
5.	การเกิดแคลลัสจากข้อโป๊ยเซียนบนอาหารสูตร MS ที่มี 2,4 -D ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ เป็นเวลา 60 วัน	34
6.	การเกิดแคลลัสจากข้อโป๊ยเซียนบนอาหารสูตร MS ที่มี 2iP ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ เป็นเวลา 60 วัน	36
7.	การเกิดแคลลัสจากข้อโป๊ยเซียนบนอาหารสูตร MS ที่มี Kinetin ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ เป็นเวลา 60 วัน	37
8.	การเกิดแคลลัสจากใบโป๊ยเซียนในอาหารสูตร MS ที่มี 2iP ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ เป็นเวลา 60 วัน	38
9.	ลักษณะของแคลลัสที่มีจุดสีเขียวเข้มเกิดขึ้นรอบๆ ผิวแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน	40
10.	แคลลัสที่เจริญเป็นยอดให้เห็นชัดเจนหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 50 วัน	40
11.	ลักษณะของแคลลัสที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำ จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต	41

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

12. การเกิดยอดรวมของแคลลัสที่มาจากลำต้นในอาหารสูตรที่มี 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 1.0 3.0 5.0 และ 7.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ เป็นเวลา 9 0 วัน 43
13. การเกิดยอดรวมของแคลลัสที่มาจากข้อในอาหารสูตร ที่มี 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 1.0 3.0 5.0 และ 7.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ เป็นเวลา 9 0 วัน 43
14. การเกิดยอดรวมของแคลลัสที่มาจากข้อ ในอาหารสูตรที่มี Kinetin 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 1.0 3.0 5.0 และ 7.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ เป็นเวลา 90 วัน 44
15. การเกิดยอดรวมเป็นแผงต่อกันเป็นทางยาวคล้ายต้นกำแพงเมืองจีนหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 7.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 120วัน (ก) และ 150 วัน (ข) 45
16. การเกิดยอดรวมของแคลลัสที่มาจากข้อในอาหารสูตร ที่มี 2iP1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 1.0 3.0 5.0 และ 7.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ เป็นเวลา 9 0 วัน 46
17. การเกิดยอดรวมของแคลลัสที่มาจากลำต้นในอาหารสูตร ที่มี 2iP 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 1.0 3.0 5.0 และ 7.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ เป็นเวลา 9 0 วัน 46
18. การเกิดยอดรวมของแคลลัสที่มาจากใบในอาหารสูตร ที่มี 2iP 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 1.0 3.0 5.0 และ 7.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ เป็นเวลา 9 0 วัน 47
19. การเกิดรากจากยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 0.0 1.0 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ เป็นเวลา 3 0 วัน 48

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ตาราง **หน้า**

20. การเกิดรากจากยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี IAA ความเข้มข้น 0.0 1.0 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ เป็นเวลา 3 0 วัน 49
21. การเกิดรากจากยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี IBA ความเข้มข้น 0.01.0 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เรียงจากซ้ายไปขวา ตามลำดับ เป็นเวลา 3 0 วัน 50
22. การอนุบาลต้นโป๊ยเซียนในเวอร์มิคูไลต์ เป็นเวลา 30 วัน 52
23. ลักษณะต้นโป๊ยเซียนที่มีลำต้นสมบูรณ์ แข็งแรง และมีดอกเกิดขึ้น เมื่อย้ายลงดิน 60 วัน 52
24. โพรโทพลาสต์ที่แยกได้จากใบโป๊ยเซียน(A)โพรโทพลาสต์ที่มีคลอโรพลาสต์รวมกลุ่มอยู่กลางเซลล์ (B) โพรโทพลาสต์ที่มีคลอโรพลาสต์รวมกลุ่มอยู่ด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ (C)โพรโทพลาสต์ที่มีลักษณะกลม ใส ไม่มีคลอโรพลาสต์ (D) โพรโทพลาสต์ที่มีรงควัตถุอยู่ภายใน 55
25. โพรโทพลาสต์ที่มีชีวิต (A) เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา (B) เมื่อย้อมด้วยสีฟลูออเรสซีนไดอะซีเตตแล้วดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ระบบฟลูออเรสเซนซ์ เห็นการเรืองแสงสีเขียว 59
26. โพรโทพลาสต์ที่สร้างผนังเซลล์ (A) เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา (B) เมื่อย้อมด้วยสีแคลคอฟลอไวท์ แล้วดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ระบบฟลูออเรสเซนซ์ เห็นการเรืองแสงของผนังเซลล์เป็นวงรอบเยื่อหุ้มเซลล์ 65
27. โพรโทพลาสต์โป๊ยเซียนที่แบ่งเซลล์ จาก 1 เป็น 2 เซลล์ (A) ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา (B) เมื่อย้อมด้วยสีแคลคอฟลอไวท์จะสังเกตเห็นการเรืองแสงของเซลล์แบ่งเป็น 2 เซลล์ 65

ตัวย่อและสัญลักษณ์

2,4-D = 2,4-dichlorophenoxyacetic acid

3,4-D = 3,4- dichlorophenoxyacetic acid

2iP = 2-iso-pentyl adenine

BA = benzyladenine

BAP = 6- benzyladeninepurine

ABA = abscisc acid

IAA = indole-3-acetic acid

NAA = α- napthaleneacetic acid

IBA = 4- [3-indoly] butyric acid

NOA = β- napthoxyacetic acid

2,4–D methyl-chlorophenoxyacetic acid (MCPA)

PCPA = P-chlorophenoxyacetic acid

2,4,5 T = 2,4,5- trichlorophenoxyacetic acid

GA_3 = gibberellic acid

BM = Basal medium

BSA = bovine serum albumin

B5 = Gamborg , et.al. (1970)

MES = 2 (N-morpholinoethanesulfonic acid)

WPM = Woody Plant Medium

MH = Medium for Hevea

MS = Murashige and Skoog (1962)