สารบาญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
สารบาญตาราง	ญ
สารบาญภาพ	ฎ
อักษรย่อ	ฑ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	24
บทที่ 4 ผลการทดลอง	32
ก. การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูของคะน้าจีนพันธุ์ Veggin 1314 และบร็อคโคลี่พันธุ์ Green King	32
1. ผลการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการพัฒนาของอับละอองเรณู	32
1.1 ความสัมพันธ์ระหว่างขนาดดอกและระยะการพัฒนาของละอองเรณู	32
1.2 ผลการพัฒนาสูตรอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของอับละอองเรณู	35
1.1.1 ผลของระดับความเข้มข้นของ 2,4-D และ NAA ที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของอับละอองเรณูของคะน้าจีนพันธุ์ Veggin 1314 และบร็อคโคลี่พันธุ์ Green King	35
1.1.2 ผลของระดับความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของอับละอองเรณูของคะจีนพันธุ์ Veggin 1314 และบร็อคโคลี่พันธุ์ Green King	41
1.3 ผลการ pretreatment ดอกคะน้าจีนพันธุ์ Veggin 1314 และบร็อคโคลี่พันธุ์ Green King ต่อการพัฒนาของอับละอองเรณูให้เป็นแคลลัส	44
1.4 ผลการพัฒนาสูตรอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการพัฒนาแคลลัสให้เจริญเป็นต้นในคะน้าจีนพันธุ์ Veggin 1314 และบร็อคโคลี่พันธุ์ Green King	46
2 ผลการตรวจสอบระดับชุดโครโมโซมของต้นยาสูบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู	50

สารบาญ (ต่อ)

ข. การรวมโปรโตพลาสต์ระหว่างคะน้าจีนพันธุ์ Veggin 1314 และบร็อคโคลี่พันธุ์ Green King 51

1. ผลการแยกโปรโตพลาสต์คะน้าจีนและบร็อคโคลี่ 51
2. ผลการตรวจสอบความมีชีวิตของโปรโตพลาสต์คะน้าจีน บร็อคโคลี่ และโปรโตพลาสต์ลูกผสม 53
3. ผลการเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อพัฒนาการของโปรโตพลาสต์ 56

บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 58

เอกสารอ้างอิง 69

ภาคผนวก 78

ประวัติผู้เขียน 90

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

สารบาญตาราง

ตาราง		หน้า
1	ความเข้มข้นของ 2,4-D และ NAA ในระดับต่าง ๆ ที่เติมในอาหารสูตร B_5	26
2	ชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ดัดแปลงเติมในอาหาร PS ที่ใช้เลี้ยงโปรโตพลาสต์ลูกผสมระหว่างคะน้าจีนพันธุ์ Veggin 1314 และบร็อคโคลี่พันธุ์ Green King	31
3	เปอร์เซ็นต์ดอกคะน้าจีนพันธุ์ Veggin 1314 ที่มีการพัฒนาของละอองเรณูในระยะต่าง ๆ	34
4	เปอร์เซ็นต์ดอกบร็อคโคลี่พันธุ์ Green King ที่มีการพัฒนาของละอองเรณูในระยะต่าง ๆ	34
5	เปอร์เซ็นต์จำนวนอับละอองเรณูของคะน้าจีนพันธุ์ Veggin 1314 ที่พัฒนาเป็นแคลลัสในอาหารสูตร B_5 ที่เติม 2,4-D และ NAA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ	37
6	เปอร์เซ็นต์จำนวนอับละอองเรณูของบร็อคโคลี่พันธุ์ Green King ที่พัฒนาเป็นแคลลัสในอาหารสูตร B_5 ที่เติม 2,4-D และ NAA ในระดับความเข้มข้นต่างๆ	38
7	เปอร์เซ็นต์จำนวนอับละอองเรณูคะน้าจีนพันธุ์ Veggin 1314 ที่พัฒนาเป็นแคลลัสในอาหารเหลวดัดแปลงสูตรต่างๆ	39
8	เปอร์เซ็นต์จำนวนอับละอองเรณูบร็อคโคลี่พันธุ์ Green King ที่พัฒนาเป็นแคลลัสในอาหารเหลวดัดแปลงสูตรต่างๆ	40
9	เปอร์เซ็นต์จำนวนอับละอองเรณูคะน้าจีนพันธุ์ Veggin 1314 ที่พัฒนาเป็นแคลลัสในอาหารสูตร B_5 ที่เติมน้ำตาลซูโครสในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	42
10	เปอร์เซ็นต์จำนวนอับละอองเรณูบร็อคโคลี่พันธุ์ Green King ที่พัฒนาเป็นแคลลัสในอาหารสูตร B_5 ที่เติมน้ำตาลซูโครสในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	43
11	จำนวนอับละอองเรณูที่สามารถพัฒนาเป็นแคลลัสของคะน้าจีนพันธุ์ Veggin 1314 ที่ผ่านการ pretreat ช่อดอกที่อุณหภูมิ 4 ^{0}ซ ในระยะเวลาต่างๆ	44
12	พัฒนาการของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูของคะน้าจีนพันธุ์ Veggin 1314 ให้เจริญเป็นต้นบนอาหารสูตรต่าง ๆ	48
13	พัฒนาการของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูของบร็อคโคลี่พันธุ์ Green King ให้เจริญเป็นต้นบนอาหารสูตรต่าง ๆ	49

14	จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เฉลี่ยต่อคู่เซลล์ปากใบของต้นบร็อคโคลี่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูและต้นบร็อคโคลี่ปกติ	50
15	ความมีชีวิตของโปรโตพลาสต์คะน้าจีน บร็อคโคลี่และโปรโตพลาสต์ลูกผสม	53
16	เปอร์เซ็นต์การแบ่งเซลล์ของโปรโตพลาสต์ในระยะเวลาต่าง ๆ (วัน) ที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร PS ที่เติม NAA 2.25 มก./ล., Zeatin 0.75 มก./ล. และสารละลาย mannitol 0.5 โมลาร์	54
17	ผลของพัฒนาการโปรโตพลาสต์ลูกผสมในอาหารเหลวสูตรต่าง ๆ หลังจากเพาะเลี้ยง 7 วัน	56

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

สารบาญภาพ

ภาพ		หน้า
1	ระยะพัฒนาการของดอกคะน้าจีนและบร็อคโคลี่สำหรับเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู a-b) ลักษณะช่อดอกคะน้าจีนและขนาดดอกที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง c-d) ลักษณะช่อดอกบร็อคโคลี่และขนาดดอกที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง	33
2	ระยะการพัฒนาของละอองเรณู (a) ระยะ pollen mother cell (b) ระยะ pollen tetrad (c) ระยะ uninucleate (d) ระยะ pollen grain	35
3	a) การพัฒนาเป็นแคลลัสของอับละอองเรณูของคะน้าจีน b) การพัฒนาเป็นแคลลัสของอับละอองเรณูของบร็อคโคลี่	36
4	การพัฒนาเป็นแคลลัสของอับละอองเรณูคะน้าจีนพันธุ์ Veggin 1314 ในอาหารสูตร B_5 ดัดแปลงสูตรต่าง ๆ จำนวน 10 สูตร	40
5	การพัฒนาเป็นแคลลัสของอับละอองเรณูบร็อคโคลี่พันธุ์ Green King ในอาหารสูตร B_5 ดัดแปลงสูตรต่าง ๆ จำนวน 10 สูตร	41
6	ระดับน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการพัฒนาเป็นแคลลัสของอับละอองเรณู (a) คะน้าจีน (b) บร็อคโคลี่	43
7	การพัฒนาเป็นแคลลัสของอับละอองเรณูของดอกคะน้าจีนที่ผ่านการเก็บดอกไว้ที่อุณหภูมิ 4 ^{0}ซ (a) ไม่ผ่านการ pretreatment (b) 24 (c) 48 และ (d) 72 ชม.	45
8	การพัฒนาเป็นแคลลัสของอับละอองเรณูบร็อคโคลี่พันธุ์ (a) ไม่ผ่านการ pretreatment (b) ผ่านการแช่ในน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 45 ^{0}ซ เป็นเวลา 1 ชม. แล้วตามด้วย 40 ^{0}ซ 1 ชม.	46
9	พัฒนาการของต้นอ่อนคะน้าจีนจากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู (a) ลักษณะแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงบนอาหารสูตร B_5 (b) การพัฒนาเป็นต้นบนแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 0.1 มก./ล., IAA 0.5 มก./ล. และ GA_3 0.1 มก./ล.	47
10	พัฒนาการของต้นอ่อนบร็อคโคลี่จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู (c) ลักษณะแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงบนอาหารสูตร B_5 (d) การพัฒนาเป็นต้นบนแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 0.25 มก./ล., IAA 0.5 มก./ล. และ GA_3 0.1 มก./ล.	47

11	เซลล์ปากใบและการเรียงตัวของเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์ปากใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู (a) ต้นคะน้าจีน (diploid) (b) ต้นบร็อคโคลี่ (diploid) (c) ต้นบร็อคโคลี่ (polyploid)	51
12	ขั้นตอนการแยกโปรโตพลาสต์ของคะน้าจีนและบร็อคโคลี่ (a) ต้นคะน้าจีน (ซ้าย) และบร็อคโคลี่ (ขวา) ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ (b) เซลล์ของใบคะน้าจีนและบร็อคโคลี่ที่ถูกย่อย หลังจากแช่ในส่วนประกอบของเอ็นไซม์ 4.5 ชม. (c) โปรโตพลาสต์ของคะน้าจีน (ซ้าย) และบร็อคโคลี่ (ขวา) ในสารละลายเอ็นไซม์ (d) การเตรียมโปรโตพลาสต์บริสุทธิ์โดยการปั่นบนน้ำตาลซูโครส 25% คะน้าจีน (ซ้าย) บร็อคโคลี่ (ขวา)	52
13	เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของโปรโตพลาสต์ลูกผสม ในอาหารสูตร PS (1981) หลังจากเพาะเลี้ยง 7 วัน	53
14	(a) ลักษณะโปรโตพลาสต์คะน้าจีนหลังแยกมีสีเขียวเข้ม (b) โปรโตพลาสต์คะน้าจีนหลังการเพาะเลี้ยง 7 วัน (c) ลักษณะโปรโตพลาสต์บร็อคโคลี่หลังแยกมีสีเขียวอ่อนใส (d) โปรโตพลาสต์บร็อคโคลี่ลูกผสมระหว่างคะน้าจีนและบร็อคโคลี่ (e) ลักษณะโปรโตพลาสต์ลูกผสมระหว่างคะน้าจีนและบร็อคโคลี่ (f) โปรโตพลาสต์ลูกผสมหลังการเพาะเลี้ยง 7 วัน	55
15	พัฒนาการของโปรโตพลาสต์ลูกผสมระหว่างคะน้าจีนและบร็อคโคลี่เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร PS ที่ดัดแปลงเติม 2,4-D 0.1 มก./ล., NAA 1.0 มก./ล., Zeatin 0.75 มก./ล. และ mannitol 0.5 โมลาร์ (a) โปรโตพลาสต์หลังผ่านกระบวนการรวมกันด้วยกระแสไฟฟ้า (b) ช่วงเริ่มต้นของการแบ่งเซลล์ของโปรโตพลาสต์ หลังจากเพาะเลี้ยง 3 วัน (c)–(e) ลักษณะการแบ่งเซลล์ของโปรโตพลาสต์ลูกผสม	57

อักษรย่อ

µl	micro litre
µs	micro second
%	percent
2,4-D	2,4-dichlorophenozyacetic acid
GA_3	gibberrellic acid
IAA	indole-3-acetic acid
IBA	indole-3-butyric acid
NAA	α-naphthaleneacetic acid
B_5	Gamborg (1968) medium
MS	Murashige and Skoog (1962) medium
PS	Prasartporn Smitamana (1981) medium
LSD	Least significant difference
°ซ	องศาเซลเซียส
มก./ล.	มิลลิกรัมต่อลิตร
มม.	มิลลิเมตร

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University