

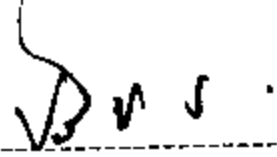
ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตเซลล์แขวนลอยของอ้อยพันธุ์ F140 และการทดสอบความทนเก็บ
ของเซลล์และต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ

ชื่อผู้ทำวิทยานิพนธ์ นายศักดิ์ดา สุขวัฒนากร

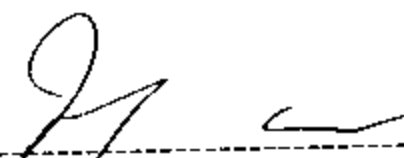
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

 ประธานกรรมการ

(ดร. วิริยะ ลิ้มปิ่นนันทน์)

 กรรมการ

(ดร. ปรีชา นีระ)

 กรรมการ

(รศ. นุชเย็น กิจวิจารณ์)

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของอ้อยพันธุ์ F140 สามารถชักนำให้เกิดไมโครแคลลัส ซึ่งพัฒนาต่อไปเป็นยอด และ รากได้ โดยเพาะเลี้ยงแคลลัสอ้อยที่ชักนำได้จากใบอ่อนบนอาหารแข็งสูตร MS เดิม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ใส่น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร แคลลัสที่เพาะเลี้ยงอายุ 4 สัปดาห์ เหมาะสมแก่การนำมาเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย เซลล์อ้อยที่ผ่านการกรองด้วยแผ่นกรองไนลอนที่มีรูขนาด 200 ไมโครเมตร นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เดิม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ใส่น้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ย้ายเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 5 วัน เซลล์เจริญเติบโตได้ดี เซลล์อ้อยใช้เวลา 15 สัปดาห์ จึงพัฒนาไปเป็นแคลลัสขนาด 1.7-1.9 มิลลิเมตร แคลลัสบางส่วนที่ชักนำได้เกิดสารสีน้ำตาลสามารถยับยั้งได้ เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ลดปริมาณแอมโมเนียมไนเตรต (NH_4NO_3) ลงครึ่งหนึ่งของสูตรอาหาร น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในที่มืด 7 วัน สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ในอาหารแข็งสูตร MS เดิม NAA ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ใส่น้ำมะพร้าวเป็นอาหารเสริม 15 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร แต่พบว่าต้นอ้อยจาก

แคลลัสเกิดต้นเหือก 16 เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตามไม่พบต้นเหือกจากแคลลัสที่พัฒนามาจากเซลล์ที่ผ่านการกรองแล้ว ต้นอ่อนอ้อยเกิดรากได้เมื่อย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA 1.0-5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดสอบการทนเค็มของเซลล์อ้อยในอาหารเหลวสูตร MS เติมเกลือ 7 ระดับ คือ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ ความหนาแน่นของเซลล์ที่ใช้เพาะเลี้ยง 1.0×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงไป 20 วัน เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเซลล์ลดลง เมื่อระดับความเค็มเพิ่มขึ้น และ เมื่อระยะเวลาการเพาะเลี้ยงยาวนานขึ้นที่ระดับความเข้มข้นของเกลือตั้งแต่ 1.5-3.0 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบว่าเซลล์มีชีวิตรอด จากนั้นจึงย้ายเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมเกลือระดับ 0, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งเป็นเวลา 6 สัปดาห์ เซลล์อ้อยที่ไม่เติมเกลือเกิดกลุ่มเซลล์ขนาด 0.5-0.7 มิลลิเมตรโดยเฉลี่ยจำนวน 92 กลุ่มเซลล์ อาหารที่มีเกลือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เกิดกลุ่มเซลล์ได้ 7 กลุ่มจาก 3 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ แต่อาหารที่เติมเกลือ 1.0 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบว่ามีกลุ่มเซลล์เกิดขึ้น

การทดสอบความเค็มของไซมาโคลนอ้อยในอาหารแข็งสูตร MS เติมเกลือ 6 ระดับ คือ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าเมื่อระดับความเค็มสูงขึ้นการเจริญเติบโต (น้ำหนักแห้ง) ลดลง จำนวนหน่อลดลง มีต้นอ้อยขนาดเล็กขนาด 0.3 – 0.5 เซนติเมตร เกิดขึ้นเป็นกระจุกบริเวณโคนต้นเกิดจากตาชอกกางใบในอาหารที่เติมเกลือพบมากในระดับความเค็ม 1.0 - 1.5 เปอร์เซ็นต์