

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 สูตรอาหาร Murashige and Skoog (1962)

ชื่อสารเคมี	สูตรสารเคมี	ปริมาณที่ใช้ในอาหาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)
<i>Macronutrients</i>		
Ammonium nitrate	NH_4NO_3	1,650
Potassium nitrate	KNO_3	1,900
Calcium chloride	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
Magnesium sulphate	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
Monopotassium phosphate	KH_2PO_4	170
<i>Micronutrients</i>		
Boric acid	H_3BO_3	6.2
Manganese sulphate	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	6.9
Zinc sulphate	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	6.14
Potassium iodide	KI	0.83
Sodium molybdate	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
Copper sulphate	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
Cobalt dichloride	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
Ferrous sulphate	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.85
<i>Organic components</i>		
Sodium EDTA	$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	37.25
Myo- Inositol		100
Glycine		2.0
Nicotinic acid		0.5
Pyridoxine-HCl		0.5
Thiamine-HCl		0.1
Sucrose		30,000
pH 5.7		

ตารางผนวกที่ 2 สูตรอาหาร Nitsch and Nitsch (1969)

ชื่อสารเคมี	สูตรสารเคมี	ปริมาณที่ใช้ในอาหาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)
<i>Macronutrients</i>		
Potassium nitrate	KNO_3	950
Ammonium nitrate	NH_4NO_3	720
Monopotassium phosphate	KH_2PO_4	68
Calcium chloride	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	166
Magnesium sulphate	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	185
<i>Micronutrients</i>		
Ferrous sulphate	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.85
Sodium EDTA	$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	37.25
Manganese sulphate	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	25
Boric acid	H_3BO_3	10
Zinc sulphate	$\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	10
Sodium molybdate	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
Copper sulphate	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
<i>Organic components</i>		
Biotin		0.05
Glycine		5.0
Myo- Inositol		2.0
Nicotinic acid		0.5
Pyridoxine-HCl		0.5
Thiamine-HCl		0.5
Folic acid		0.5
Sucrose		20,000
pH 5.5		

ตารางผนวกที่ 3 สูตรการเตรียม Washing solution 0.35 M ในการแยกโปรโตพลาสต์

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (กรัมต่อลิตร)
Mannitol	63.76
MES	1.07
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.147

ปรับให้มี pH 5.6 แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลาประมาณ 15 นาที

ตารางผนวกที่ 4 สูตรการเตรียม Enzyme solution ในการแยกโปรโตพลาสต์

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (ต่อ 200 มิลลิลิตร)
Macerozyme	0.6 กรัม
Cellulase R10	1.0 กรัม
SLLX × Major(10×) (Stock)	1.9 มิลลิลิตร

เติม Washing solution ให้ได้ 200 ml แล้วนำไปกรองผ่าน membrane filter ขนาด 0.2 μ

ตารางผนวกที่ 5 สูตรการเตรียม sucrose solution ในการแยกโปรโตพลาสต์

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (กรัมต่อ 200 มิลลิลิตร)
Saccharose	20
น้ำกลั่น	100

นำไปปรับปริมาตรให้ได้ 200 ml แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

ตารางผนวกที่ 6 สูตรอาหาร PS medium (1981) ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์
ยาสูบ

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (ต่อ 200 มิลลิลิตร)
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.3 กรัม
Saccharose	0.3 กรัม
Mannitol	12.75 กรัม
MES	0.3 กรัม
Caseinhydrolysate	0.03 กรัม
NAA (Stock)	4.5 มิลลิลิตร
Zeatin (Stock)	1.5 มิลลิลิตร
Shepard (10×)	3.0 มิลลิลิตร
MSV ₂ (100×)	1.5 มิลลิลิตร
Fe-EDTA (Stock)	0.75 มิลลิลิตร
Boric acid	2 เก็ด

ปรับให้มี pH 5.6 แล้วนำไปกรองผ่าน membrane filter ขนาด 0.2 μ

ตารางผนวกที่ 7 โปรแกรมการรวมโปรโตพลาสติกของยาสูบโดยใช้เครื่อง Shimadzu somatic
hybridizer รุ่น SSH-10

Electrode distance	3.0 mm
Frequency	1 MHz
Primary AC Voltage	12 V
Initial time	7 s
Pulse width	40 μ s
Pulse height (DC Voltage)	10 V
Electric field strength	0.03 kV/cm
Secondary AC Voltage	10 V
Pulse repeat interval	1.5 s
Number of pulses	2
Pulse height (VDC) change	+ 30 V
Final time	10 s
AC Voltage decrease rate	5 %
Adhesion intensifire	ON

ตารางผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์การงอกเจริญของอับเรณู
ยาสูบบนอาหารสังเคราะห์ 2 สูตร

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	8000.00	8000.00	14.88 **	0.0012
Within groups	18	9680.00	537.78		
Total	19	17680.00			

CV = 89.2%

** = significant at 99% level

ตารางผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดของอับเรณู
ยาสูบบนอาหารสังเคราะห์ 2 สูตร

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	6480.00	1998.60	12.68 **	0.0012
Within groups	18	511.11	134.39		
Total	19	4417.66			

CV = 94.2%

** = significant at 99% level

ตารางผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์การสร้างรากของอับเรณู
ยาสูบบนอาหารสังเคราะห์ 2 สูตร

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	7220.00	7220.00	21.81 **	0.0012
Within groups	18	5960.00	331.11		
Total	19	13180.00			

CV = 86.6%

** = significant at 99% level

ตารางผนวกที่ 11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของความกว้างของเซลล์ปาก
ใบของยาสูบพันธุ์ TN 90 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้น
ยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	1487.81	1487.81	825.93 **	0.00
Within groups	18	32.43	1.80		
Total	19	1520.24			

CV = 3.5%

** = significant at 99% level

ตารางผนวกที่ 12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของความยาวของเซลล์ปาก
ใบของยาสูบพันธุ์ TN 90 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับ
ต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	1505.11	1505.11	306.04 **	0.00
Within groups	18	88.53	4.92		
Total	19	1593.64			

CV = 4.7%

** = significant at 99% level

ตารางผนวกที่ 13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของจำนวนเม็ดคลอโร-พลาสติกในเซลล์ปากใบของยาสูบพันธุ์ TN 90 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	3302.45	3302.45	1785.11 **	0.00
Within groups	18	33.30	1.85		
Total	19	4417.66			

CV = 4.0%

** = significant at 99% level

ตารางผนวกที่ 14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของความกว้างของเซลล์ปากใบ ของยาสูบพันธุ์ Xanthi nc ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	832.05	832.05	507.69 **	0.00
Within groups	18	29.50	1.64		
Total	19	1520.24			

CV = 4.0%

** = significant at 99% level

ตารางผนวกที่ 15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของความยาวของเซลล์ปากใบของยาสูบพันธุ์ Xanthi nc ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	1209.01	1209.01	617.81 **	0.00
Within groups	18	35.23	1.96		
Total	19	1244.24			

CV = 3.7%

** = significant at 99% level

ตารางผนวกที่ 16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์ปากใบของยาสูบพันธุ์ Xanthi nc ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	451.25	451.25	120.69 **	0.00
Within groups	18	67.30	3.74		
Total	19	518.55			

CV = 9.1%

** = significant at 99% level

ตารางผนวกที่ 17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของลักษณะบางประการ ในทางเกษตร ได้แก่ ความยาวของใบยาสูบพันธุ์ TN 90 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	76.05	76.05	1.72 ns	0.21
Within groups	18	797.70	44.32		
Total	19	873.75			

CV = 17.0%

ns = not significant

ตารางผนวกที่ 18 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของลักษณะบางประการ ในทางเกษตร ได้แก่ ความกว้างของใบยาสูบพันธุ์ TN 90 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	90.31	90.31	6.36 *	0.21
Within groups	18	255.43	14.19		
Total	19	345.74			

CV = 21.3%

* = significant at 95% level

ตารางผนวกที่ 19 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของลักษณะบางประการในทางเกษตร ได้แก่ อัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของใบยาสูบพันธุ์ TN 90 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	0.69	0.69	15.05 **	0.00
Within groups	18	0.82	0.05		
Total	19	1.51			

CV = 9.5%

** = significant at 99% level

ตารางผนวกที่ 20 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของลักษณะบางประการในทางเกษตร ได้แก่ จำนวนวันที่ออกดอกของยาสูบพันธุ์ TN 90 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	88.20	88.20	1.52 ns	0.23
Within groups	18	1045.00	58.06		
Total	19	1133.20			

CV = 10.5%

ns = not significant

ตารางผนวกที่ 21 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของลักษณะบางประการในทางเกษตร ได้แก่ จำนวนใบต่อต้นของยาสูบพันธุ์ TN 90 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	0.05	0.05	0.00	0.98
Within groups	18	1170.50	65.03		
Total	19	1170.55			

CV = 31.4%

ตารางผนวกที่ 22 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของลักษณะบางประการในทางเกษตร ได้แก่ ความสูงของยาสูบพันธุ์ TN 90 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	281.25	281.25	0.21	0.65
Within groups	18	24450.50	1358.36		
Total	19	24731.75			

CV = 29.8%

ตารางผนวกที่ 23 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของลักษณะบางประการในทางเกษตร ได้แก่ ความยาวของใบยาสูบพันธุ์ Xanthi nc ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	3.62	3.62	0.77	0.39
Within groups	18	84.63	4.70		
Total	19	88.25			

CV = 13.6%

ตารางผนวกที่ 24 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของลักษณะบางประการ ในทางเกษตร ได้แก่ ความกว้างของใบยาสูบพันธุ์ Xanthi nc ที่ได้รับการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	6.38	6.38	4.67 *	0.04
Within groups	18	24.60	1.37		
Total	19	30.98			

CV = 14.6%

* = significant at 95% level

ตารางผนวกที่ 25 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของลักษณะบางประการในทางเกษตร ได้แก่ อัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของใบยาสูบพันธุ์ Xanthi nc ที่ได้รับการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	0.15	0.15	1.49 ns	0.24
Within groups	18	1.83	0.10		
Total	19	1.98			

CV = 15.8%

ns = not significant

ตารางผนวกที่ 26 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของลักษณะบางประการ ในทางเกษตร ได้แก่ จำนวนวันที่ออกดอกของยาสูบพันธุ์ Xanthi nc ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	0.00	0.00	0.00	1.00
Within groups	18	380.00	21.11		
Total	19	380.00			

CV = 5.5%

ตารางผนวกที่ 27 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของลักษณะบางประการ ในทางเกษตร ได้แก่ จำนวนใบต่อดันของยาสูบพันธุ์ Xanthi nc ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	7.20	7.20	1.37 ns	0.26
Within groups	18	94.80	5.27		
Total	19	102.00			

CV = 7.6%

ns = not significant

ตารางผนวกที่ 28 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยของลักษณะบางประการ
ในทางเกษตร ได้แก่ ความสูงของยาสูบพันธุ์ Xanthi nc ที่ได้จากการ
เพาะเลี้ยงอับเรณู เปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ได้จากเมล็ด

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	198.45	198.45	1.18 ns	0.29
Within groups	18	3022.10	167.89		
Total	19	3220.55			

CV = 14.6%

ns = not significant

ตารางผนวกที่ 29 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการตรวจสอบความมีชีวิตของ
โปรโตพลาสต์ยาสูบ ได้แก่ จำนวนโปรโตพลาสต์เมื่อคู่ด้วยกล้อง
Compound

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	2	608.00	304.00	9.06 **	0.0070
Within groups	9	302.00	33.56		
Total	11	910.00			

CV = 6.6%

** = significant at 99% level

ตารางผนวกที่ 30 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการตรวจสอบความมีชีวิตของโปรโต-
พลาสต์ยาสูบ ได้แก่ จำนวนโปรโตพลาสต์เมื่อดูด้วยกล้อง Fluorescence

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	2	344.00	172.00	18.88 **	0.0006
Within groups	9	82.00	9.11		
Total	11	426.00			

CV = 4.8%

** = significant at 99% level

ตารางผนวกที่ 31 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการตรวจสอบความมีชีวิตของ
โปรโตพลาสต์ยาสูบ ได้แก่ % ความมีชีวิตโปรโตพลาสต์

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	2	220.94	110.47	6.62 *	0.0170
Within groups	9	150.13	16.68		
Total	11	371.07			

CV = 5.7%

* = significant at 95% level

ตารางผนวกที่ 32 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลของโปรโตพลาสต์จากแหล่งต่าง ๆ
ต่อพัฒนาการของโปรโตพลาสต์ ได้แก่ จำนวนกลุ่มเซลล์ที่งอก

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	2	1896.00	948.00	31.37 **	0.0001
Within groups	9	272.00	30.22		
Total	11	2168.00			

CV = 19.6%

** = significant at 99% level

ตารางผนวกที่ 33 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลของโปรโตพลาสติกจากแหล่งต่าง ๆ ต่อพัฒนาการของโปรโตพลาสติก ได้แก่ การแบ่งเซลล์

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	1	276.13	276.13	27.73 **	0.00
Within groups	6	59.75	9.96		
Total	7	335.88			

CV = 16.3%

** = significant at 99% level

ตารางผนวกที่ 34 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลของโปรโตพลาสติกจากแหล่งต่าง ๆ ต่อพัฒนาการของโปรโตพลาสติก ได้แก่ การสร้างหน่อ

	DF	SS	MS	F	P
Between groups	2	834.50	417.25	52.34 **	0.00
Within groups	9	71.75	7.97		
Total	11	906.25			

CV = 26.3%

** = significant at 99% level

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นายจงกิง มาศิริ
วัน เดือน ปี เกิด	15 พฤศจิกายน 2513
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนจักรคำคณาทร ลำพูน ปีการศึกษา 2530 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2534
ประสบการณ์การทำงาน	ตำแหน่งนักวิชาการเกษตร 4 สถานีทดลองยาสูบแม่โจ้ โรงงานยาสูบ กระทรวงการคลัง ตั้งแต่ปี 2537-ปัจจุบัน