

กาญจนา พงษ์ฉวี 2549: การใช้วิธีการฉายรังสีและการหลอมรวมโพรโตพลาสต์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์อนุเบียส. ปรินญาปรัชญาคุณวุฒบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ปรธานกรรมการที่ปรึกษา: ศาสตราจารย์อุทัยรัตน์ ณ นคร, Ph.D. 200 หน้า ISBN 974-16-2292-9

การทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ *Anubias nana* Engler ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มี BA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน พบว่า BA 8 ไมโครโมลาร์ ให้ผลดีที่สุด เมื่อเลี้ยง 6 สัปดาห์ มีจำนวนยอดที่เกิดขึ้น 6.80 ± 0.79 ยอด และเกิดราก 2.90 ± 1.37 ราก เมื่อนำออกปลูกในระบบไร้ดินเป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่าสามารถเจริญเติบโตได้ดี มีน้ำหนัก 7.34 ± 1.29 กรัม ความสูง 7.91 ± 1.79 ซม. จำนวนใบเฉลี่ย 12.53 ± 2.52 ใบ และมีอัตราการรอด 86%

การนำต้นอ่อนปลอดเชื้อของ *A. nana* และ *A. congensis* N.E. Brawn ไปฉายรังสีแกมมา 0-120 เกรย์ พบว่าปริมาณรังสีที่เหมาะสมสำหรับชักนำให้ *A. nana* และ *A. congensis* เกิดการกลายพันธุ์ (GR_{50}) เท่ากับ 34.56 เกรย์ และ 28.30 เกรย์ ตามลำดับ รังสี มีผลให้ความสูง จำนวนยอดและจำนวนรากลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เกิดการกลายได้ต้นที่มีลักษณะเตี้ยลง หรือต้นแคระ ขนาดของใบ รูปร่างใบ และสีใบเปลี่ยนแปลงได้ สายพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะแปลกใหม่ สวยงาม มีการเจริญเติบโตได้ดีเมื่อนำออกปลูกในเรือนเพาะชำ จำนวน 5 สายพันธุ์ ผลการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ พบว่าสามารถจำแนกพันธุ์กลายออกจากพันธุ์ปกติได้โดยใช้ AFLP marker

การแยกโพรโตพลาสต์ของ *A. nana* และ *Cryptocoryne wendtii* De Wit โดยศึกษาชนิดและปริมาณเอนไซม์ ระดับแมนนิทอล ระยะเวลาบ่ม อายุพืช และระดับน้ำตาลซูโครส พบว่าสามารถแยกโพรโตพลาสต์ของ *A. nana* จากใบอ่อนอายุ 6 สัปดาห์ ด้วยเอนไซม์ Cellulase RS 2 % Pectolyase Y-23 0.2 % Mannitol 0.6 โมลาร์ $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 2.5 มิลลิโมลาร์ MES 5 มิลลิโมลาร์ บ่ม 4 ชั่วโมง ทำให้บริสุทธิ์ด้วยซูโครส 18% ได้จำนวน $4.79 \pm 0.48 \times 10^6$ โพรโตพลาสต์/กรัมน้ำหนักสด มีชีวิต $82.90 \pm 4.31\%$ และสามารถแยกโพรโตพลาสต์จากใบอ่อนอายุ 4 สัปดาห์ของ *C. wendtii* ด้วยเอนไซม์ Cellulase R-10 2 % Pectolyase Y-23 0.2 % Mannitol 0.5 โมลาร์ $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 2.5 มิลลิโมลาร์ MES 5 มิลลิโมลาร์ บ่ม 4 ชั่วโมง ทำให้บริสุทธิ์ด้วยซูโครส 16% ได้จำนวน $1.04 \pm 0.06 \times 10^7$ โพรโตพลาสต์/กรัมน้ำหนักสด มีชีวิต $90.79 \pm 4.80\%$ เมื่อเลี้ยงโพรโตพลาสต์ *A. nana* และ *C. wendtii* ในอาหารกึ่งแข็งสูตร KM8P และ MS ตามลำดับ พบว่าเกิดกลุ่มเซลล์ภายใน 30 วัน การรวมโพรโตพลาสต์ทั้งสองชนิดด้วยกระแสไฟฟ้าสลับ 90 โวลต์/ซม. 30 วินาที ไฟฟ้ากระแสตรง 1100 โวลต์/ซม. 40 ไมโครวินาที 2 pulses เกิดการรวมโพรโตพลาสต์ $22.44 \pm 5.35\%$ ได้ลูกผสมต่างสกุล $5.20 \pm 0.97\%$ มีชีวิต $79.40 \pm 1.92\%$ นำไปเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 10 วัน มีอัตราแบ่งเซลล์ $6.89 \pm 2.05\%$ และอัตราการรอด $19.75 \pm 2.87\%$

กาญจนา พงษ์ฉวี

ลายมือชื่อนิติ

อุทัยรัตน์

ลายมือชื่อประธานกรรมการ

๔3 / พท / ๔9