

การพัฒนาเทคนิคเพื่อผลิตเมล็ดพืชเทียม

นางสาวพรพิมล วงศ์กุลทรัพย์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ

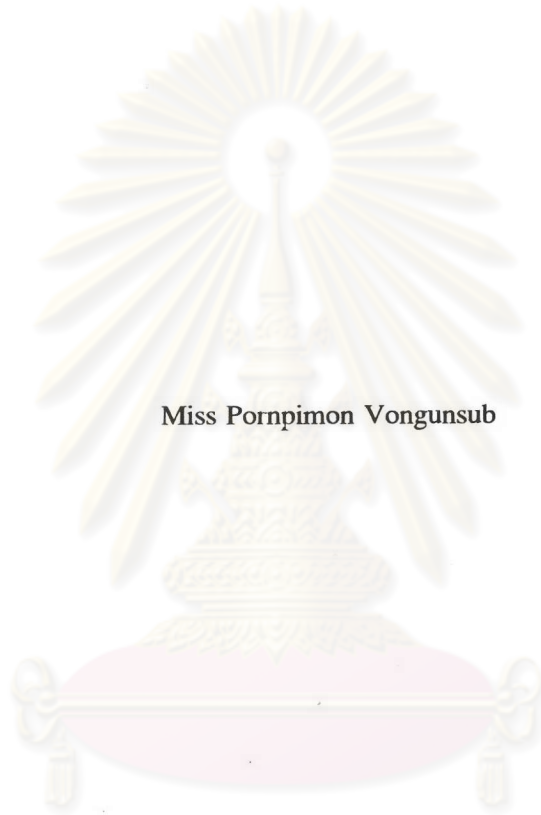
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2539

ISBN 974-633-974-5

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

DEVELOPMENT OF TECHNIQUES FOR ARTIFICIAL SEED PRODUCTION



Miss Pornpimon Vongunsub

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science**

Program of Biotechnology

Graduate School

Chulalongkorn University

1996

ISBN 974-633-974-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การพัฒนาเทคนิคเพื่อผลิตเมล็ดพืชเทียม
โดย นางสาวพรพิมล วงศ์กุลทรัพย์
หลักสูตร เทคโนโลยีทางชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์มนตรี วัชรภักย์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโท

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. สันติ อุงสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีดา บุญ-หลง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์มนตรี วัชรภักย์)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเรีชร)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ھرรษา ปุณณะพยัคฆ์)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

พรพิมล วงศ์กุลทรัพย์ : การพัฒนาเทคนิคเพื่อผลิตเมล็ดพืชเทียม (DEVELOPMENT OF TECHNIQUES FOR ARTIFICIAL SEED PRODUCTION) อ. ที่ปรึกษา : รศ. มณฑานติ วัชรภักย์, 51 หน้า. ISBN 974-633-974-5

การพัฒนาเทคนิคเพื่อผลิตเมล็ดพืชเทียมของแครอทให้สามารถเก็บรักษาได้นานขึ้น โดยปรับอุณหภูมิ แสง ความแห้งของเมล็ดพืชเทียม ตลอดจนการให้ abscisic acid (ABA) ผลการทดลองพบว่าสามารถเก็บเมล็ดพืชเทียมไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ โดยที่ไม่มีอาการงอกและการตายเกิดขึ้นในระหว่างเก็บ และมีอัตราการงอกหลังเก็บสูงถึง 60 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าแสงไม่มีผลต่อการเก็บเมล็ดพืชเทียม อย่างไรก็ตามการขนส่งเมล็ดพืชเทียมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อาจไม่สะดวก ดังนั้นจึงหาวิธีการที่เก็บเมล็ดพืชเทียม ที่ 25 องศาเซลเซียส โดยการลดปริมาณน้ำในเมล็ดพืชเทียมเพื่อเป็นการเลียนแบบเมล็ดในธรรมชาติ เมื่อเปรียบเทียบวิธีการทำเมล็ดพืชเทียมแห้งโดยการใช้ silica gel ดูดความชื้น และใช้ลมเป่าโดยตรงจาก laminar flow พบว่าการทำแห้งด้วย silica gel ให้ผลดีกว่า เพราะเปอร์เซ็นต์การงอกหลังจากทำให้ชุ่มน้ำ (rehydrate) จะสูงกว่าเมื่อทำให้เมล็ดพืชเทียมสูญเสีย น้ำ 80 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดได้ตลอดเวลาที่เก็บรักษา ซึ่งทดลองนานเป็นเวลา 3 สัปดาห์ แต่พบว่าในระหว่างเก็บมีการตายสูงขึ้นถึง 37.3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีผลต่อเนื้อทำให้อัตราการงอกหลังจากทำให้ชุ่มน้ำลดต่ำลงเหลือเพียง 40 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น เมื่อทดลองให้ ABA กับเอมบริโอเพื่อชักนำให้เกิด desiccation tolerance พบว่าระยะของเอมบริโอที่เหมาะสมคือระยะ torpedo ที่มีอายุ 14 วันหรือมีความยาว 2.6 มิลลิเมตร โดยแช่ใน ABA เข้มข้น 0.1 - 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นนำเอมบริโอนี้มาผลิตเมล็ดพืชเทียม ทำเมล็ดพืชเทียมนี้ให้เสียน้ำไป 80 เปอร์เซ็นต์ และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดพืชเทียมซึ่งผ่าน ABA treatment สามารถงอกขึ้นได้ใหม่ถึง 64 เปอร์เซ็นต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา
สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ
ปีการศึกษา 2538

ลายมือชื่อนิติ พรพิมล วงศ์กุลทรัพย์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา มณฑานติ วัชรภักย์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

C526528 : MAJOR PROGRAMME OF BIOTECHNOLOGY

KEY WORD: ARTIFICIAL SEED / DESICCATION / EMBRYOGENESIS / CONVERSION RATE
PORNPIMON VONGUNSUB : DEVELOPMENT OF TECHNIQUES FOR ARTIFICIAL SEED
PRODUCTION. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. MONTAKAN VAJRABHAYA 51 pp.
ISBN 974-633-974-5

The development of techniques in artificial seed production by prolonging the storage life by varying temperature, light, desiccation, and abscisic acid (ABA) treatments were studied. It was found that artificial seeds could be stored at 4 degree celcius for 3 weeks without germination or death during storage, 60 percent of the seeds treated were able to germinate at 25 degree celcius. It was also found that light or dark conditions during storage had no effect on germination. However, the transportation of artificial seeds at low temperature is not practical, therefore the methods in decreasing water content of artificial seeds were tried at 25 degree celcius. Comparing two desiccation methods by using silica gel and air flow in the laminar flow cabinet, it was found that silica gel gave better result as the artificial seeds had higher germination rate after rehydration. When 80 percent of water was removed from the artificial seeds, germination was totally inhibited after three weeks, however 37.3 percent of the artificial seeds died during such treatment and only 40 percent germinated after rehydration. The ABA treatments for desiccation tolerance in embryo indicated that the best stage for such treatment was a 14 day old torpedo shaped embryo (approx. 2.6 mm long). The ABA treatment was done by culturing the embryos in MS media supplemented with 0.1 - 0.2 mg/l ABA for 7 days before artificial seed production. When 80 percent of water was removed from the ABA treated artificial seeds before storing at 23 to 27 degree celcius for 3 weeks, 64 percent germination was obtained.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา..... -

สาขาวิชา..... เทคโนโลยีทางชีวภาพ

ปีการศึกษา..... 2538

ลายมือชื่อนิสิต..... พรพิชญ วงศ์กุลทรัพย์

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... สนิทวงศ์ 51112

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... -



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงอย่างสมบูรณ์ด้วยความกรุณาช่วยเหลือเป็นอย่างดียิ่งจากรองศาสตราจารย์มณฑกานติ วัชรราชย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำข้อคิดที่เป็นประโยชน์ตลอดระยะเวลาของการวิจัย ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

กราบขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชรราชย์ ที่ให้คำแนะนำ และข้อคิดต่างๆ ในการวิจัย

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีดา บุญ-หลง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร. สุเมธ ดันตระเชียร และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. หารยา ปุณณะพยัคฆ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จอย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทรงศักดิ์ สำราญสุข คุณวชิระ กิตติมศักดิ์ ที่กรุณาแนะนำเกี่ยวกับการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ และถ่ายภาพ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ และภาควิชาพฤกษศาสตร์ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ

ขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช) ที่ให้ทุนการศึกษาและทุนสนับสนุนการวิจัย

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพและพฤกษศาสตร์ทุกคนที่ทำให้กำลังใจและความช่วยเหลือด้านต่างๆ

ท้ายนี้ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ซึ่งสนับสนุนในด้านการเงินและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฌ
สารบัญแผนภาพ.....	ญ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย.....	12
3. ผลการทดลอง.....	20
4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	40
รายการอ้างอิง.....	45
ประวัติผู้เขียน.....	51

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	8
2	9
3	15
4	26
5	29
6	32
7	35
8	37
9	39

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 แคลลัสที่ชักนำจากส่วนแคมเบียมของหัวแครอต.	21
2 การเกิด somatic embryogenesis ระยะต่างๆในแครอต.	22
3 วิธีการผลิตเมล็ดพืชเทียม.	23
4 เมล็ดพืชเทียมแครอต.	24
5 การทำเมล็ดพืชเทียมให้แห้งโดยใช้ silica gel.	28
6 ลักษณะของเมล็ดพืชเทียมที่มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระดับต่างๆ	29
7 ลักษณะการงอก และการเจริญตามลำดับของเมล็ดพืชเทียม หลังการ rehydrate	30

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญแผนภาพ

แผนภาพที่		หน้า
1	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การงอกในระหว่างการเก็บรักษาเมล็ดพืชเทียมที่อุณหภูมิ 4, 15 และ 25 องศาเซลเซียส ทั้งในที่ที่มีแสงและที่มืด ระยะเวลาในการเก็บ 1, 2 และ 3 สัปดาห์.	27
2	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การงอกรวม (ระหว่างและหลังการเก็บรักษา) ของเมล็ดพืชเทียม หลังการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 15 และ 25 องศาเซลเซียส ทั้งในที่ที่มีแสงและที่มืด ระยะเวลาในการเก็บ 1, 2 และ 3 สัปดาห์.	27
3	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การงอกในระหว่างการเก็บรักษาเมล็ดพืชเทียม ที่มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระดับต่างๆ เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 1, 2 และ 3 สัปดาห์.	33
4	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การตายในระหว่างการเก็บรักษาเมล็ดพืชเทียม ที่มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระดับต่างๆ เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 1, 2 และ 3 สัปดาห์.	33
5	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การงอกรวม (ระหว่างและหลังการเก็บรักษา) หลังการ rehydrate ของเมล็ดพืชเทียมที่มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำระดับต่างๆ เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 1, 2 และ 3 สัปดาห์.	34
6	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การงอกหลังการ rehydrate ของเมล็ดพืชเทียม ที่มีการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมล็ดพืชเทียมได้จาก somatic embryo ที่มีอายุต่างๆกัน เลี้ยงในอาหารที่เติม ABA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 7 วัน.	36
7	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การงอกหลังการ rehydrate ของเมล็ดพืชเทียม ที่มีการสูญเสียน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมล็ดพืชเทียมได้จาก somatic embryo ที่เลี้ยงในอาหารซึ่งมีความเข้มข้น ABA ระดับต่างๆกัน เป็นเวลา 7 วัน.	38