ความแปรปรวนที่ได้จากการชักนำด้วยสารเอทิลมีเทนซัลโฟเนต
และจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคำฝอย *Carthamus tinctorius* Linn.

นางสาวปวีณา นวมเจริญ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ
หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2541

ISBN 974-332-235-3

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

19 มี.ค. 2546
I 19619795

ETHYLMETHANESULPHONATE INDUCED VARIATION AND SOMACLONAL VARIATION OF SAFFLOWER *Carthamus tinctorius* Linn. TISSUE CULTURE

Miss Paweena Nuamjaroen

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Biotechnology

Program of Biotechnology

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 1998

ISBN 974-332-235-3

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความแปรปรวนที่ได้จากการชักนำด้วยสารเอทิลมีเทนซัลโฟเนตและจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคำฝอย *Carthamus tinctorius* Linn.
โดย	นางสาวปวีณา นวมเจริญ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. นลิน นิลอุบล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ ดร. ชลิดา เล็กสมบูรณ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิตวิทยาลัย

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ศุภวัฒน์ ชุติวงศ์)

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิเชียร ริมพณิชยกิจ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. นลิน นิลอุบล)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(อาจารย์ ดร. ชลิดา เล็กสมบูรณ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม)

.....กรรมการ
(อาจารย์ เพชรรัตน์ จันทรทิณ)

ปวีณา นวมเจริญ : ความแปรปรวนที่ได้จากการชักนำด้วยสารเอทิลมีเทนซัลโฟเนตและจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคำฝอย *Carthamus tinctorius* Linn. (ETHYLMETHANESULPHONATE INDUCED VARIATION AND SOMACLONAL VARIATION OF SAFFLOWER *Carthamus tinctorius* Linn. TISSUE CULTURE) อ. ที่ปรึกษา : รศ. ดร. นลิน นิลอุบล, อ. ที่ปรึกษาร่วม : อาจารย์ ดร. ชลิดา เล็กสมบูรณ์, ผศ. ดร. อมร เพชรสม, 112 หน้า. ISBN 974-332-235-3.

การศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมของการใช้สาร EMS (Ethylmethanesulphonate) เพื่อชักนำให้คำฝอย (*Carthamus tinctorius* Linn.) เกิดการกลายพันธุ์ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า ภาวะที่เหมาะสม คือ การใช้สาร EMS ความเข้มข้น 0.8% ซึ่งเตรียมในอาหารเหลวสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.7 ร่วมกับสารตัวพา คือ DMSO (Dimethylsulfoxide) ความเข้มข้น 4.0% เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง ในการศึกษาความแปรปรวนของคำฝอยที่ผ่านการชักนำด้วยสาร EMS ในช่วงความเข้มข้น 0.2-1.0% พบว่า ยอดคำฝอยที่พัฒนามาจากแคลลัสของใบเลี้ยงที่ผ่านการชักนำด้วยสาร EMS มีความแปรปรวนของลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างไปจากต้นปกติเป็นปริมาณมากกว่ายอดที่ไม่ได้ผ่านการชักนำด้วยสาร EMS โดยมีความแปรปรวนของลักษณะการยืดยาวของลำต้น การอวบน้ำของใบ รูปร่างใบ และความยาวหนามที่ใบ จากการศึกษาปัจจัยที่ทำให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า ปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ชิ้นส่วนพืช อายุของชิ้นส่วนพืช สูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโต และแหล่งคาร์บอน มีผลต่อการชักนำให้เกิดความแปรปรวนของลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยมีรูปแบบความแปรปรวนคล้ายคลึงกัน

การศึกษาความแปรปรวนของการผลิตน้ำมันและกรดไขมันในแคลลัสคำฝอยที่ผ่านการชักนำด้วยสาร EMS และแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี พบว่า แคลลัสของใบเลี้ยงที่ได้รับสาร EMS มีปริมาณน้ำมันสูงกว่าแคลลัสของใบเลี้ยงที่ไม่ได้รับสาร EMS และไม่มีการเปลี่ยนแปลงชนิดของกรดไขมันหลัก คือ กรดปาล์มิติก (C16:0), กรดสเตียริก (C18:0), กรดโอเลอิก (C18:1) และกรดไลโนเลอิก (C18:2) ซึ่งการให้สาร EMS มีผลทำให้กรดไขมันไม่อิ่มตัว คือ กรดโอเลอิก (C18:1) และกรดไลโนเลอิก (C18:2) มีปริมาณสูงขึ้น และกรดไขมันอิ่มตัว คือ กรดปาล์มิติก (C16:0) และ กรดสเตียริก (C18:0) มีปริมาณลดลง ในการศึกษาอิทธิพลของอายุชิ้นส่วนพืช อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สารควบคุมการเจริญเติบโต และแหล่งคาร์บอน พบว่า ปัจจัยเหล่านี้สามารถชักนำให้เกิดความแปรปรวนของปริมาณน้ำมันและกรดไขมันในแคลลัสได้ โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงชนิดของกรดไขมันหลัก กล่าวคือ กรดไขมันส่วนใหญ่จะมีปริมาณสูงที่สุดเมื่อใช้ใบเลี้ยงอายุ 1 สัปดาห์ เพาะเลี้ยงด้วยอาหารแข็งสูตร MS โดยเสริมอาหารด้วย IBA ร่วมกับ BA และเสริมซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหาร

ภาควิชา ..... ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา ..... เทคโนโลยีทางชีวภาพ ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา ..... 2541 ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

C827145 : MAJOR BIOTECHNOLOGY
KEY WORD: *Carthamus tinctorius* / ETHYLMETHANESULPHONATE/ SOMACLONAL VARIATION/ MUTATION/ LIPIDS/ FATTY ACIDS

PAWEENA NUAMJAROEN : ETHYLMETHANESULPHONATE INDUCED VARIATION AND SOMACLONAL VARIATION OF SAFFLOWER *Carthamus tinctorius* Linn. TISSUE CULTURE. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. NALINE NILUBON, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR : CHALIDA LEKSOMBOON, Ph.D., ASSIST. PROF. AMORN PETSOM, Ph.D. 112 pp. ISBN 974-332-235-3.

Conditions for EMS (Ethylmethanesulphonate) induced mutation of safflower (*Carthamus tinctorius* Linn.) tissue were optimized. The optimal condition was treating cotyledons for 3 hours in hormone-free MS liquid medium containing 0.8% EMS and 4.0% DMSO (Dimethylsulfoxide), pH 5.7. The morphological variations of regenerated shoots from calli of cotyledons treated with 0.2-1.0% EMS were higher than those of the untreated one. The variations included the length of internodes, the succulent of leaves, leaf-shape and the length of leaf-spine. Somaclonal variations of morphological characteristics were affected by the sources and ages of explants, culture media, growth regulators and carbon sources.

Total lipid content and fatty acid compositions of the EMS-treated and untreated calli were analyzed by gas chromatography. The total lipid content of the EMS-treated calli was higher than that of untreated one although their major fatty acid compositions were similar. The major fatty acids were palmitic acid (C16:0), stearic acid (C18:0), oleic acid (C18:1) and linoleic acid (C18:2). In the EMS-treated cell, the content of unsaturated fatty acids (C18:1 and C18:2) was increased while that of the saturated fatty acids (C16:0 and C18:0) was decreased. Furthermore, it was observed that the age of explants, culture media, growth regulators and carbon sources affected the contents of both total lipid and major fatty acids with no effected on fatty acid compositions. The highest of major fatty acids were found with 1-week old cotyledon cultivated on solid MS medium containing sucrose as a carbon source and supplement with IBA and BA.

ภาควิชา ..... -	**ลายมือชื่อนิสิต** .....
สาขาวิชา ..... เทคโนโลยีทางชีวภาพ	**ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา** .....
ปีการศึกษา 2541	**ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม** .....

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาระดับปริญญามหาบัณฑิต และวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยความสมบูรณ์ โดยได้รับความกรุณาจาก รองศาสตราจารย์ ดร. นลิน นิลอุบล ที่กรุณารับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร. ชลิดา เล็กสมบูรณ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม ที่กรุณารับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ตลอดจนให้คำแนะนำและชี้แนะแนวทางในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นอย่างดี ซึ่งดิฉันขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี่เป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิเชียร ริมพณิชยกิจ และอาจารย์ เพชรรัตน์ จันทรทิณ ที่กรุณารับเป็นกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณคณะบุคลากรทุกท่าน ในสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ความสะดวกในด้านอุปกรณ์และสารเคมีในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติที่กรุณาให้ความช่วยเหลือด้านเงินทุนอุดหนุนเพื่อทำการวิจัยในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ เพื่อนจากโรงเรียนสาธิตแห่งมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยเฉพาะเพื่อน ๆ หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้ความเข้าใจ ตลอดจนเป็นกำลังใจอย่างดียิ่งในการทำวิจัยเสมอมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ญ

สารบัญรูป..... ฑ

คำย่อ..... ด

บทที่

1 บทนำ

1.1 ประวัติความเป็นมาของคำฝอย..... 1

1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของคำฝอย..... 1

1.3 สภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศและฤดูปลูกที่เหมาะสม..... 2

1.4 พันธุ์ การขยายพันธุ์ การเพาะปลูก โรคและแมลงศัตรูที่สำคัญ..... 4

1.5 คุณประโยชน์ของคำฝอย..... 5

1.6 การปรับปรุงพันธุ์คำฝอย..... 7

1.7 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคำฝอย..... 8

1.8 ความแปรปรวนที่เกิดขึ้นในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเกิดจากการชักนำด้วยสิ่งก่อกลายพันธุ์..... 9

1.9 การใช้สาร EMS ชักนำให้พืชเกิดการกลายพันธุ์..... 12

1.10 มูลเหตุจูงใจในการทำวิจัย..... 17

1.11 ขั้นตอนการวิจัย..... 17

2 วิธีการทดลอง

2.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง..... 18

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	2.2 เมล็ดพันธุ์คำฝอย	21
	2.3 อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	21
	2.4 การเตรียมตัวอย่างพืชและการฟอกฆ่าเชื้อ	21
	2.5 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมของการใช้สาร EMS เพื่อชักนำให้คำฝอยเกิดการกลายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ	21
	2.6 ศึกษาความแปรปรวนของต้นคำฝอยที่ได้จากการชักนำด้วยสาร EMS ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	24
	2.7 ศึกษาปัจจัยที่ทำให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมของต้นคำฝอยในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	24
	2.8 การตรวจสอบและวิเคราะห์ความแปรปรวนของการผลิตน้ำมันและกรดไขมันในแคลลัสคำฝอย	26
3	ผลการทดลอง	
	3.1 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมของการใช้สาร EMS เพื่อชักนำให้คำฝอยเกิดการกลายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ	
	3.1.1 การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสาร EMS เพื่อชักนำให้คำฝอยเกิดการกลายพันธุ์	
	3.1.1.1 การใช้สารละลาย EMS ในช่วงความเข้มข้น 1.0-5.0%	30
	3.1.1.2 การใช้สารละลาย EMS ในช่วงความเข้มข้น 0.2-1.0%	32
	3.1.2 การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารตัวพา DMSO	34
	3.1.3 การหาระยะเวลาที่เหมาะสมของการให้สาร EMS	36
	3.2 ความแปรปรวนของต้นคำฝอยที่ได้จากการชักนำด้วยสาร EMS ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	38
	3.3 ความแปรปรวนของต้นคำฝอยที่ได้จากการศึกษาปัจจัยที่ทำให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	
	3.3.1 ชนิดของชิ้นส่วนพืช	43
	3.3.2 อายุของชิ้นส่วนพืช	47

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	3.3.3 ชนิดของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	50
	3.3.4 ชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต	
	3.3.4.1 การใช้ BA ร่วมกับออกซินชนิดต่าง ๆ	52
	3.3.4.2 การใช้ Kinetin ร่วมกับออกซินชนิดต่าง ๆ	55
	3.3.5 ชนิดของแหล่งคาร์บอน	58
	3.4 การตรวจสอบและวิเคราะห์ความแปรปรวนของการผลิตน้ำมันและกรดไขมันในแคลลัสคำฝอย	
	3.4.1 แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโดยผ่านการชักนำด้วยสารก่อกลาย-พันธุ์	60
	3.4.2 แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตามปกติ	
	3.4.2.1 อายุของชิ้นส่วนพืช	66
	3.4.2.2 ชนิดของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	69
	3.4.2.3 ชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต	72
	3.4.2.4 ชนิดของแหล่งคาร์บอน	75
4	สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	78
รายการอ้างอิง		84
ภาคผนวก		
	ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	92
	ภาคผนวก ข การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	99
	ภาคผนวก ค กราฟมาตรฐานของกรดไขมัน	100
	ภาคผนวก ง โครมาโทแกรมของกรดไขมันในแคลลัสคำฝอย วิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี	105
ประวัติผู้เขียน		112

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	ปริมาณกรดไขมันในน้ำมันจากเมล็ดคำฝอย.....	6
1.2	ปริมาณกรดลิโนเลอิกในน้ำมันจากเมล็ดพืชบางชนิด.....	6
1.3	การเปลี่ยนแปลงที่เกิดจาก somaclonal variation ในพืชชนิดต่าง ๆ	10
1.4	ความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดจาก somaclonal variation ในพืชชนิดต่าง ๆ	11
3.1	แสดงค่าเฉลี่ยระดับความเสียหายของเนื้อเยื่อ ร้อยละการเกิดแคลลัส และร้อยละการพัฒนาไปเป็นยอดของแคลลัส ภายหลังการให้สารละลาย EMS ความเข้มข้น 1.0-5.0% ซึ่งเตรียมในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่เติม DMSO 4.0% เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง.....	31
3.2	แสดงค่าเฉลี่ยระดับความเสียหายของเนื้อเยื่อ ร้อยละการเกิดแคลลัส และร้อยละการพัฒนาไปเป็นยอดของแคลลัส ภายหลังการให้สารละลาย EMS ความเข้มข้น 0.2-1.0% ซึ่งเตรียมในฟอสเฟตบัฟเฟอร์และอาหารเหลวสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และเติม DMSO 4.0% เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง.....	33
3.3	แสดงค่าเฉลี่ยระดับความเสียหายของเนื้อเยื่อ ร้อยละการเกิดแคลลัส และร้อยละการพัฒนาไปเป็นยอดของแคลลัส ภายหลังการให้สารละลาย EMS ความเข้มข้น 0.8% ซึ่งเตรียมในอาหารเหลวสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และเติม DMSO ความเข้มข้น 1.0-4.0% เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง.....	35
3.4	แสดงค่าเฉลี่ยระดับความเสียหายของเนื้อเยื่อ ร้อยละการเกิดแคลลัส และร้อยละการพัฒนาไปเป็นยอดของแคลลัส ภายหลังการให้สารละลาย EMS ความเข้มข้น 0.8% ซึ่งเตรียมในอาหารเหลวสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และเติม DMSO 4.0% เป็นเวลานาน 1-4 ชั่วโมง.....	37

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3.5	แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของคำฝอยที่พัฒนามาจากแคลลัสของใบเลี้ยงที่ได้รับสาร EMS ความเข้มข้น 0.2-1.0%.....	39
3.6	แสดงร้อยละการเกิดแคลลัส และร้อยละการพัฒนาไปเป็นยอดของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชต่างชนิดกันบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	44
3.7	แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างชนิดกันบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	46
3.8	แสดงร้อยละการเกิดแคลลัส และการร้อยละพัฒนาไปเป็นยอดของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงอายุ 1-4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	48
3.9	แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงอายุ 1-4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	49
3.10	แสดงร้อยละการเกิดแคลลัส และร้อยละการพัฒนาไปเป็นยอดของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรต่าง ๆ ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	50
3.11	แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรต่าง ๆ ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	51
3.12	แสดงร้อยละการเกิดแคลลัส ร้อยละการพัฒนาไปเป็นยอดของแคลลัส และลักษณะแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ใส่ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับออกซินชนิดต่าง ๆ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	53
3.13	แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ใส่ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับออกซินชนิดต่าง ๆ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	54

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

3.14 แสดงร้อยละการเกิดแคลลัส ร้อยละการพัฒนาไปเป็นต้นของแคลลัส และลักษณะแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ใส่ Kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับออกซินชนิดต่าง ๆ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 56

3.15 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ใส่ Kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับออกซินชนิดต่าง ๆ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 57

3.16 แสดงร้อยละการเกิดแคลลัส ร้อยละการพัฒนาไปเป็นยอดของแคลลัส และลักษณะแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยง บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใส่น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เป็นแหล่งคาร์บอน..... 58

3.17 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี NAA และ BA ความเข้มข้นชนิดละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใส่น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เป็นแหล่งคาร์บอน..... 59

3.18 แสดงน้ำหนักแห้งของแคลลัส ร้อยละปริมาณน้ำมัน และร้อยละปริมาณกรดไขมันในแคลลัสคำฝอยอายุ 2, 3 และ 4 สัปดาห์ ที่ได้จากการให้สาร EMS กับใบเลี้ยงตามภาวะที่เหมาะสม..... 62

3.19 แสดงนำหนักแห้งของแคลลัส ร้อยละปริมาณน้ำมัน และร้อยละปริมาณกรดไขมันในแคลลัสคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงอายุ 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร..... 67

3.20 แสดงน้ำหนักแห้งของแคลลัส ร้อยละปริมาณน้ำมัน และร้อยละปริมาณกรดไขมันในแคลลัสคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรต่าง ๆ ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร..... 70

3.21 แสดงน้ำหนักแห้งของแคลลัส ร้อยละปริมาณน้ำมัน และร้อยละปริมาณกรดไขมันในแคลลัสคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินและไซโตไคนินชนิดต่าง ๆ..... 73

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3.22	แสดงน้ำหนักแห้งของแคลลัส ร้อยละปริมาณน้ำมัน และร้อยละปริมาณกรดไขมันในแคลลัสคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีน้ำตาลชนิดต่าง ๆ เป็นแหล่งคาร์บอน.....	76
ก.1	แสดงการแบ่งกลุ่มสารเคมีในการเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสูตร MS	94
ก.2	แสดงการแบ่งกลุ่มสารเคมีในการเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสูตร LS	95
ก.3	แสดงการแบ่งกลุ่มสารเคมีในการเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสูตร B5	96
ก.4	แสดงการแบ่งกลุ่มสารเคมีในการเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสูตร SH	97

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1.1	คำฝอย (*Carthamus tinctorius* L.) (ก) ต้น, (ข) ดอกหรือ capitulum, (ค) ภาคตัดขวางของดอก, (ง) ดอกย่อย จาก Purseglove (1974) และ (จ) เมล็ด จาก Chavan (1961).....	3
1.2	การจับคู่กันของ (ก) alkylated guanine กับ cytosine และ (ข) ionized form (N-7) กับ thymine จาก IAEA (1977).....	13
1.3	การเข้าไปจับของหมู่เอทิลที่ตำแหน่ง N-7 ของ guanine อาจทำให้เกิดดีเพียวริเนชัน (depurination) หรือเทาโทเมริกชิพท์ (tautomeric shift) (ล่างขวา) ได้จาก IAEA (1977).....	14
2.1	แสดงความเสียหายของเนื้อเยื่อใบเลี้ยงที่ระดับต่าง ๆ ภายหลังจากการให้สาร EMS เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์	23
2.2	การสกัดน้ำมันและเตรียมอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ในขั้นตอนเดียว (Miquel and Browse, 1992).....	28
3.1	แสดงลักษณะของลำต้นและการอวบน้ำของใบ ต้นปกติมีปล้องยาว ใบไม่อวบน้ำ (ก) และต้นที่เกิดความแปรปรวนมีปล้องสั้น ใบอวบน้ำ (ข).....	40
3.2	แสดงลักษณะความยาวของหนามที่ใบ ใบปกติมีความยาวหนามปานกลาง (ข) ใบที่เกิดความแปรปรวนมีหนามยาว (ก) หรือหนามสั้น (ค).....	41
3.3	แสดงการออกดอกของคำฝอย ดอกอ่อนมีสีเหลือง (ก) เมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีแดงส้ม (ข).....	42
3.4	แสดงลักษณะแคลสัสของใบเลี้ยงและแคลลัสของลำต้นใต้ใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	44
3.5	แสดงการพัฒนาไปเป็นต้นบนแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	45

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
3.6	แสดงลักษณะต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงอายุ 4 สัปดาห์ ซึ่งเกิดความแปรปรวน คือ ลำต้นมีปล้องสั้น ใบอวบน้ำ รูปร่างใบบิดเบี้ยว ใบมีหนามสั้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลานานจะไม่ออกดอกและเหลืองตาย.....	48
3.7	แสดงร้อยละปริมาณน้ำมันในแคลลัสคำฝอยอายุ 2, 3 และ 4 สัปดาห์ ที่ได้จากการให้สาร EMS กับใบเลี้ยงตามภาวะที่เหมาะสม.....	63
3.8	แสดงร้อยละปริมาณกรดลิโนเลอิก (C18:2) ในแคลลัสคำฝอย อายุ 2, 3 และ 4 สัปดาห์ ที่ได้จากการให้สาร EMS กับใบเลี้ยงตามภาวะที่เหมาะสม.....	63
3.9	แสดงร้อยละปริมาณกรดปาล์มิติก (C16:0) ในแคลลัสคำฝอยอายุ 2, 3 และ 4 สัปดาห์ ที่ได้จากการให้สาร EMS กับใบเลี้ยงตามภาวะที่เหมาะสม.....	64
3.10	แสดงร้อยละปริมาณกรดสเตียริก (C18:0) ในแคลลัสคำฝอย อายุ 2, 3 และ 4 สัปดาห์ ที่ได้จากการให้สาร EMS กับใบเลี้ยงตามภาวะที่เหมาะสม.....	64
3.11	แสดงร้อยละปริมาณกรดโอเลอิก (C18:1) ในแคลลัสคำฝอย อายุ 2, 3 และ 4 สัปดาห์ ที่ได้จากการให้สาร EMS กับใบเลี้ยงตามภาวะที่เหมาะสม.....	65
3.12	แสดงร้อยละปริมาณกรดไขมันแคลลัสคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงอายุ 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	68
3.13	แสดงร้อยละปริมาณกรดไขมันในแคลลัสคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรต่าง ๆ ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	71
3.14	แสดงร้อยละปริมาณกรดไขมันในแคลลัสคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินและไซโทไคนินชนิดต่าง ๆ.....	74
3.15	แสดงร้อยละปริมาณกรดไขมันในแคลลัสคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีน้ำตาลชนิดต่าง ๆ เป็นแหล่งคาร์บอน	77
ค.1	กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดปาล์มิติก (C16:0) 0-0.3 ไมโครกรัม กับค่า mean peak area ratio.....	101

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
ค.2	กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดสเตียริก (C18:0) 0-0.3 ไมโครกรัม กับค่า mean peak area ratio.....	102
ค.3	กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดโอเลอิก (C18:1) 0-0.3 ไมโครกรัม กับค่า mean peak area ratio.....	103
ค.4	กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดลิโนเลอิก (C18:2) 0-0.3 ไมโครกรัม กับค่า mean peak area ratio.....	104
ง.1	แสดงโครมาโทแกรมของกรดไขมันในแคลลัสคำฝอยที่ได้จากการให้สาร EMS กับใบเลี้ยงตามภาวะที่เหมาะสม วิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี.....	106
ง.2	แสดงโครมาโทแกรมของกรดไขมันในแคลลัสคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงอายุ 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี.....	107
ง.3	แสดงโครมาโทแกรมของกรดไขมันในแคลลัสคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรต่าง ๆ ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี.....	108
ง.4	แสดงโครมาโทแกรมของกรดไขมันในแคลลัสคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินและไซโทไคนินชนิดต่าง ๆ วิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี.....	109
ง.5	แสดงโครมาโทแกรมของกรดไขมันในแคลลัสคำฝอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีน้ำตาลชนิดต่าง ๆ เป็นแหล่งคาร์บอน วิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี.....	111

คำย่อ

คำย่อ	คำอธิบาย
EMS	Ethylmethanesulphonate
DMSO	Dimethylsulfoxide
NAA	Naphthaleneacetic acid
IAA	Indole-3-acetic acid
IBA	Indole butyric acid
2,4-D	2,4-dichlorophenoxyacetic acid
BA	N_6-benzyladenine