รายงานปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

การศึกษาเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยง Anther Cultureของข้าวโพดข้าวเหนียว 3 สายพันธุ์

Comparison of Culture media for Waxy Corn anther culture

โดย

นางสาวอารีรัตน์ คนเพียร

B4751953

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของรายวิชา 302491 สหกิจศึกษา

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3 สิงหาคม 2550

รายงานปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

“การศึกษาเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยง Anther Cultureของข้าวโพดข้าวเหนียว 3 สายพันธุ์”

“Comparison of Culture media for Waxy Corn anther culture”

โดย

นางสาวอารีรัตน์ คนเพียร

B4751953

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ปฏิบัติงาน ณ

บริษัท เจียไต๋ จำกัด

170/1 หมู่ 9 ตำบล วังด้ง อำเภอเมือง

จังหวัดกาญจนบุรี 71000

บริษัท เจียไต๋ จำกัด
170/1 หมู่ 9 ตำบล วังดง
อำเภอเมือง
จังหวัดกาญจนบุรี 71000

3 สิงหาคม 2550

เรื่อง ขอส่งรายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

เรียน อาจารย์ ยุวดี มานะเกษม อาจารย์ที่ปรึกษาสหกิจศึกา สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

ตามที่ข้าพเจ้า นางสาวอารีรัตน์ คนเพียร นักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ได้ไปปฏิบัติงานสหกิจศึกษา (302491) ระหว่างวันที่17 สิงหาคม 2550 ถึง 3 สิงหาคม 2550 ในตำแหน่งผู้ช่วยนักวิจัยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ณ บริษัท เจียไต๋ จำกัด และได้รับมอบหมายจากพนักงานที่ปรึกษาให้ศึกษาและทำรายงานเรื่อง “การศึกษาเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยง Anther cultureของข้าวโพดข้าวเหนียว จำนวน 3 สายพันธุ์ (comparison culture media of Waxy Corn anther culture)”

บัดนี้การปฏิบัติงานสหกิจศึกษาได้สิ้นสุดลงแล้วข้าพเจ้าจึงขอส่งรายงานดังกล่าวมาพร้อมกันนี้ จำนวน 1 เล่ม เพื่อขอรับคำปรึกษาต่อไป

ขอแสดงความนับถือ

นางสาวอารีรัตน์ คนเพียร
นักศึกษาสหกิจศึกษาสาขาวิชา
เทคโนโลยีการผลิตพืช

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

กิตติกรรมประกาศ

(Acknowledgement)

การที่ข้าพเจ้าได้มาปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ณ บริษัท เจียไต๋ จำกัด ตั้งแต่วันที่ 17 เมษายน พ.ศ. 2550 ถึงวันที่ 3 สิงหาคม พ.ศ. 2550 ส่งผลให้ข้าพเจ้าได้รับความรู้และประสบการณ์ต่างๆที่มีค่ามากมาย สำหรับรายงานสหกิจศึกษาฉบับนี้ สำเร็จลงได้ด้วยดีจากความร่วมมือและสนับสนุนจากหลายฝ่ายดังนี้

1 คุณ วินิจ ชวนใช้ ตำแหน่ง รองกรรมการผู้จัดการ ที่เห็นความสำคัญของระบบการศึกษาแบบสหกิจศึกษา และได้ให้โอกาสที่มีคุณค่ายิ่งแก่ข้าพเจ้า

2 ดร. สุมิตรา กันตรง ตำแหน่ง รองกรรมการฝ่ายวิจัยและพัฒนา

3 คุณเกื้อกูล บุญญาณุภาพพงษ์ ตำแหน่งหัวหน้าแผนกโรคพืช

4 คุณวินิจ พลศักดิ์ ตำแหน่ง หัวหน้าแผนกเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

และบุคคลอื่นๆที่ไม่ได้กล่าวนามทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการจัดทำรายงาน

ข้าพเจ้าใคร่ขอขอบพคุณผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านที่มีส่วนร่วมให้ข้อมูลและเป็นที่ปรึกษาในการทำรายงานฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ตลอดจนให้การดูแลและให้ความเข้าใจเกี่ยวกับชีวิตการทำงานจริง ซึ่งข้าพเจ้าขอขอบพคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย

นางสาวอารีรัตน์ คนเพียร

ผู้จัดทำรายงาน

3 สิงหาคม 2550

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

(Abstract)

การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูข้าวโพดข้าวเหนียว เป็นการนำอับละอองเรณูที่ยังไม่เจริญเต็มที่ ซึ่งภายในบรรจุด้วยเซลล์ละอองเรณูที่อยู่ในระยะ 1 นิวเคลียส (uninucleate)มาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ 5 สูตร ได้แก่ YP, YPNAS, Yu pei , Mu Yang และ Nitsch โดยเริ่มจากการคัดเลือกช่อดอกอ่อนของดอกตัวผู้ที่ยังไม่แทงช่อดอกออกสู่ภายนอกแล้วแยกเอาเฉพาะอับเรณูขนาดใหญ่ของดอก3อัน มาหาระยะการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีสที่ได้ 4 เซลล์อยู่ติดกันเรียกว่า tetrad เมื่อแยกออกเป็นแต่ละไมโครสปอร์แล้วจะได้เซลล์ที่มี 1 นิวเคลียส ข้าวโพดข้าวเหนียวที่นำมาเลี้ยงในอาหารประกอบด้วยพันธุ์ 006, 008และ 009 ทำการเปรียบเทียบการตอบสนองของข้าวโพดแต่ละพันธุ์กับสูตรอาหารทั้ง5สูตร พบว่าระยะเวลา2 เดือนสูตรอาหารแต่ละสูตรให้ผลการแตกอับละอองเรณูไม่แตกต่างกันแต่มีการแตกมากที่สุดคือสูตรอาหาร Yu-Pei พันธุ์ที่ตอบสนองดีคือพันธุ์ 008 แต่ยังสรุปไม่ได้ว่าอาหารและพันธุ์ใดที่ทำให้เกิดแคลลัส

คำสำคัญ : อับละอองเรณู, ระยะ 1 นิวเคลียส

Keyword : Anther, Uninucleate

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ

	หน้า
จดหมายนำส่ง	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
บทคัดย่อ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูปภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์	2
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
ลักษณะทางพฤษศาสตร์ข้าวโพด	3
ถิ่นกำเนิดข้าวโพด	4
ชนิดของข้าวโพด	5
การแบ่งเซลล์	6
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	10
บทที่ 3 การศึกษาดำเนินงาน	14
เครื่องมือและอุปกรณ์การทดลอง	14
การเตรียมอาหาร	16
ขั้นตอนการดำเนินงาน	22
การเตรียมต้นข้าวโพด	23
การหาระยะการแบ่งเซลล์	23
การฟอกฆ่าเชื้อ	28
การนำอับละอองเรณูเลี้ยงบนอาหาร	29
การประเมินลักษณะของ Anther	30
การเก็บข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของ Anther	30
บทที่ 4 ผลการทดลอง	31
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	35
ข้อเสนอแนะ	39
เอกสารอ้างอิง	40
ภาคผนวก	41

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 สูตรอาหาร Ku et al. (1978, 1981) 17

ตารางที่ 2 สูตรอาหาร Genouesi&Colline (1982)YP 18

ตารางที่ 3 สูตรอาหาร Nitsch(1982) 19

ตารางที่ 4 สูตรอาหาร Genouesi&Colline (1982) YPNAS 20

ตารางที่ 5 สูตรอาหาร Mu Yang 21

ตารางที่ 6 การปลูกข้าวโพดพันธุ์ต่างๆ 23

ตางรางที่ 7 ระยะเวลาในการเก็บดอกที่ตรวจหาระยะการแบ่งเซลล์ 28

ตารางที่ 8 วันที่เพาะเลี้ยงอับละอองเรณูบนอาหาร (anther culture) 30

ตารางที่ 9 แสดงการแตกของ Anther ข้าวโพดข้าวเหนียว 35

ตารางที่ 10 แสดงการแตกของ Anther ข้าวโพดข้าวเหนียวบนสูตรอาหารทั้ง 5 สูตร 36

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 อุปกรณ์และเครื่องมือในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ บริษัทเจียไต๋ จำกัด (ชนม์เจริญฟาร์ม) 15

ภาพที่ 2 การเตรียมอาหาร เมื่อทำการนึ่งฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้วจึงนำอาหารมาเทลงใน plate 16

ภาพที่ 3 ลักษณะ ของต้นข้าวโพดข้าวเหนียวที่มีดอกอยู่ในใบธง 24

ภาพที่ 4 ลักษณะของดอกข้าวโพดข้าวเหนียวนำมาแบ่งแต่ละส่วน
เพื่อหาตำแหน่งการแบ่งเซลล์แบบ tetrad 25

ภาพที่ 5 ลักษณะของอับละอองเรณูข้าวโพดบริเวณแขนงต่างๆ 26

ภาพที่ 6 ละอองเรณูที่ย้อมสีและนำไปส่องกล้อง 27

ภาพที่ 7 แสดงขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อภายในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ 29

ภาพที่ 8 การนำอับละอองเรณูเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยง 30

ภาพที่ 9 ลักาณะอับละอองเรณู ที่เลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ ระยะเวลา 2 เดือน 32

ภาพที่ 10 ลักษณะอับละอองเรณูที่เลี้ยงบนอาหาร Mu Yang ระยะเวลา 2 เดือน 33

ภาพที่ 11 ลักษณะของอับละอองเรณูพันธุ์ 009 บนอาหารสูตรต่างๆ 34

ภาพที่ 12 ลักษณะของอับละอองเรณูพันธุ์ 008 บนอาหารสูตรต่างๆ 34

ภาพที่ 13 ลักษณะของอับละอองเรณูพันธุ์ 006 บนอาหารสูตรต่างๆ 35

ภาพที่14 ค่าเฉลี่ยการแตกของAnther ของข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ต่างๆ 36

ภาพที่ 15 ค่าเฉลี่ยการแตกของAnther ของข้าวโพดข้าวเหนียวที่เลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ 37

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

ข้าวโพดเป็นพืชพวกหญ้า นิยมปลูกแพร่หลายในประเทศไทยและต่างประเทศ คนไทยรู้จักรับประทานข้าวโพดในรูปของฝักสด ต้มหรือเผา โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวโพดหวานและข้าวโพดข้าวเหนียว ฝักอ่อนใช้ปรุงอาหารได้คล้ายๆ หน่อไม้ นอกจากรับประทานฝักสดแล้วยังนิยมรับประทานข้าวโพดคือ เมล็ดข้าวโพดที่ตากแห้งแล้วนำมาคั่ว ข้าวโพดที่ผลิตได้ในประเทศไทยส่วนใหญ่ส่งไปจำหน่ายยังต่างประเทศ ทำรายได้ให้แก่ประเทศปีละประมาณ ๖,๐๐๐ ล้านบาท ส่วนที่เหลือเลี้ยงสัตว์และเก็บไว้ปลูกได้อีก ในบางประเทศประชาชนนิยมรับประทานข้าวโพดเป็นอาหารหลักคล้ายๆ กับคนไทยรับประทานข้าว นอกจากนั้นส่วนต่างๆ ของข้าวโพดยังนำไปใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมได้อีกมาก จึงนับว่า ข้าวโพดเป็นพืชที่มีความสำคัญของโลกชนิดหนึ่งรองจากข้าวเจ้าและข้าวสาลี(เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรฯ , 2541)

ข้าวโพดข้าวเหนียว(Zea mays ceratina) เป็นข้าวโพด สำหรับรับประทานฝักสดมีการปลูกและจำหน่ายในตลาดท้องถิ่นทั่วประเทศตลอดปี แต่ยังไม่มีข้อมูลว่ามีพื้นที่ปลูกมากน้อยเท่าใด คนไทยและชาวเอเชียมีการบริโภคข้าวโพดข้าวเหนียวไม่น้อย แต่ข้อจำกัดที่สำคัญในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวของประเทศไทยคือ ขาดแคลนเมล็ดพันธุ์ดี เกษตรกรปัจจุบันใช้พันธุ์ซึ่งเก็บโดยเกษตรกรเองในท้องถิ่นนั้นๆ เป็นพันธุ์ที่ใช้จำเพาะ ปรับตัวได้ดีกับสภาพแวดล้อมของท้องถิ่นเท่านั้น เมล็ดพันธุ์ยังไม่ได้มาตรฐาน(สุรนี ทองเหลือง,2550)

ดังนั้นหากมีการพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวที่สามารถให้ผลผลิตสูงเมล็ดพันธุ์ดีจะเป็นอีกหนทางที่เพิ่มมูลค่าการส่งออกได้ การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูเป็นอีกหนทางที่จะพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวที่มีโครโมโซมชุดเดียว(haploid plant)เพื่อนำมาใช้ในระบบการปรับปรุงพันธุ์และการผลิตพืชสายพันธุ์แท้ รวมทั้งเพื่อศึกษาการเจริญและพัฒนาของละอองเรณูสำหรับใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในกระบวนการผสมพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์พืช
(เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร ,2550)

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสูตรอาหารที่มีผลต่อการตอบสนองของอับละอองเรณูข้าวโพดข้าวเหนียวเพื่อเป็นข้อมูลในการศึกษาในการทดลองการเพาะลี้ยงอับละอองเรณูต่อไป

2. เพื่อศึกษาการเจริญและพัฒนาของละอองเรณูสำหรับใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

ข้าวโพด(Corn หรือ Maize) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Zea mays Linn. (ซีเมส์ :Zea mays) ชื่ออื่นๆ ข้าวสาลี สาลี(เหนือ) คง(กระบี่) โพด(ใต้) บือเคเส่ะ(กระเหรี่ยง-แม่ฮองสอน) เป็นพืชตระกูลเดียวกับหญ้ามีลำต้นสูง โดยเฉลี่ย 2.2 เมตร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้น 0.5-2.0 นิ้ว เมล็ดจากฝักใช้เป็นอาหารคนและสัตว์(รังสฤษฏ์ กาวีต๊ะและ จุฑามาศ ร่มแก้ว. 2550)

ลักษณะทางพฤษศาสตร์ข้าวโพด

ราก

ระบบรากเป็นแบบรากฝอย (fibrous root system) ประกอบด้วยรากที่พัฒนามาจากส่วนแรดิเคิล (radicle) เรียกว่า primary root หรือ first seedling root และรากที่แตกแขนงออกมาเรียกว่า secondary root หรือ lateral root รากที่เกิดจาก scutellar node เรียกว่า seminal root ส่วนรากที่เกิดจากข้อใต้ดินตั้งแต่ coleoptilar node ขึ้นไป เรียกว่า adventitious root และรากที่เกิดจากข้อเหนือดินเรียกว่า รากอากาศ (aerial root, brace root หรือ buttress root)

ลำต้น

ลำต้นข้าวโพด เรียกว่า culm หรือ stalk ตั้งตรงและค่อนข้างกลม ประกอบด้วยข้อ (node) และปล้อง (internode) ข้อประกอบด้วย วงเจริญ (growth ring) ปุ่มกำเนิดราก (root primordia) ตา (bud) และรอยกาบใบ (leaf scar) ปล้องที่อยู่เหนือตามักพบร่องตา (bud groove)

ใบ

ใบเป็นใบเดี่ยว (simple leaf) ประกอบด้วย กาบใบ (leaf sheath) และแผ่นใบ (leaf blade) บริเวณรอยต่อระหว่างกาบใบและแผ่นใบ (leaf collar) มีเยื่อกันน้ำหรือลิ้นใบ (ligule) หูใบหรือเขี้ยวใบ (auricle) ระหว่างฝักกับลำต้นพบส่วนที่มีลักษณะคล้ายใบแต่ไม่มีเส้นกลางใบ มีลักษณะเป็นสัน 2 สัน เรียกว่า prophyllum

ช่อดอกและดอก

ข้าวโพดเป็นพืชที่มีช่อดอกตัวผู้และช่อดอกตัวเมียอยู่บนต้นเดียวกัน แต่อยู่คนละตำแหน่ง เรียกว่า monoecious plant ช่อดอกตัวผู้ (staminate inflorescence) เป็นแบบ panicle เรียก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ทั่วไปว่า tassel แกนกลางของช่อดอกเรียกว่า rachis หรือ panicle axis กิ่งที่แตกจาก rachis เรียกว่า primary branch และกิ่งที่แตกจากส่วนของ primary branch เรียกว่า secondary branch กลุ่มดอกย่อย (spikelet) เกิดเป็นคู่บนก้านแขนง มีก้านดอก (pedicelled spikelet) และไม่มีก้านดอก (sessile spikelet) กลุ่มดอกย่อยตัวผู้ (staminate spikelet) มีกลีบหุ้ม 2 กลีบ ได้แก่ กลีบดอกด้านนอก (outer glume) และกลีบดอกด้านใน (inner glume) แต่ละกลุ่มดอกย่อยมีดอกย่อย (floret) 2 ดอก ถูกหุ้มด้วย lemma และ palea ภายในมีเกสรตัวผู้ (stamen) เยื่อรองรังไข่ (lodicule) และเกสรตัวเมียที่ไม่ทำหน้าที่(rudimentary pistil)

ช่อดอกตัวเมีย (pistillate inflorescence) ช่อดอกเป็นแบบ spike เรียกทั่วไปว่าฝัก (ear) ใบที่รองรับช่อดอกตัวเมีย เรียกว่า subtending leaf กลุ่มดอกย่อยตัวเมีย (pistillate spikelet) เกิดเป็นคู่เรียงบนแกนกลางช่อดอกที่เรียกว่า ซัง (cob) ดอกย่อยถูกหุ้มด้วย lemma และ palea เรียกรวมว่า chaff ดอกย่อยแต่ละดอกมีเกสรตัวเมีย (pistil) เยื่อรองรังไข่ (lodicule) และเกสรตัวผู้ที่เป็นหมัน (rudimentary stamen) ส่วนของเกสรตัวเมียที่รับละอองเกสรตัวผู้เรียกว่า ไหม (silk)

ผลและเมล็ด

ผลเป็นแบบ caryopsis ที่มีเยื่อหุ้มผล (pericarp) ติดอยู่กับเยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat หรือ testa) เรียกว่า hull เมล็ดประกอบด้วยคัพภะ (embryo) เอนโดสเปิร์ม (endosperm) คัพภะประกอบด้วยส่วนของ แรดิเคิล (radicle) พลูมูล (plumule) ใบเลี้ยงที่ไม่มีการพัฒนา (epiblast) และเนื้อเยื่อที่กั้นระหว่างคัพภะกับเอนโดสเปิร์ม (scutellum) บริเวณรอบนอกของเอนโดสเปิร์มมีชั้น aleurone layer ที่ฐานของก้านดอก (pedicel) พบเนื้อเยื่อสีดำเรียกว่า black layer ปรากฏให้เห็นเมื่อเมล็ดสุกแก่ทางสรีรวิทยา(กฤษฎา, 2528)

ถิ่นกำเนิดข้าวโพด

ได้มีการขุดพบซังข้าวโพดและซากของต้นข้าวโพดที่ใกล้แม่น้ำในนิวเม็กซิโก (แถบอเมริกาใต้) และปัจจุบันนิยมปลูกแพร่หลายในแถบอเมริกา แคนาดา สามารถปลูกได้ในสภาพที่ภูมิอากาศแตกต่างกันมาก ๆ เป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของสัตว์ เพราะสามารถนำมาเลี้ยงสัตว์ได้ทั้งต้น ใบ และเมล็ด

การนำเข้ามาในประเทศไทย

สำหรับประเทศไทย คนไทยรู้จักนำข้าวโพดมาเลี้ยงสัตว์ตั้งแต่หลังสงครามโลกครั้งที่ 1 โดย หม่อมเจ้าสิทธิพร กฤดากร ได้นำข้าวโพดพันธุ์ที่ใช้เลี้ยงสัตว์มาปลูกและทดลองใช้เลี้ยงสัตว์ ซึ่งในขณะนั้นเป็นยังเป็นที่รู้จักกันน้อย จนกระทั่งหลังสงครามโลกครั้งที่ 2 การใช้ข้าวโพดเริ่มแพร่หลายขึ้นเนื่องจาก หลวงสุวรรณวาจกกสิกิจได้นำการเลี้ยงไก่แบบการค้ามาเริ่มสาธิต และกระตุ้นให้ประชาชนปฏิบัติตามผู้เลี้ยงไก่จึงรู้จักใช้ข้าวโพดมากขึ้นกว่าเดิม แต่เนื่องจากระยะนั้นข้าวโพดมีราคาสูงและหายาก การใช้ข้าวโพดจึงใช้เป็นเพียงส่วนประกอบของอาหารหลัก ซึ่งมีรำและปลายข้าวเป็นส่วนใหญ่ แต่ในปัจจุบันผู้เลี้ยงสัตว์รู้จักข้าวโพดกันทั่วไป และในปัจจุบันประเทศไทยได้ปลูกข้าวโพดในปีหนึ่ง ๆ เป็นจำนวนมาก(http://th.wikipedia.org, 2537)

ชนิดของข้าวโพด

การแยกประเภทข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

จากลักษณะภายนอกของเมล็ดและพฤกษศาสตร์ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ อาจแยกประเภทได้ ดังนี้

1. ข้าวโพดไร่ชนิดหัวบุบ (dent corn) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays indentata* เป็นข้าวโพดที่เมล็ดตอนบนมีรอยบุบสีขาว เนื่องจากตอนบนเป็นแป้งชนิดอ่อน (Soft starch) และด้านข้างเมล็ดเป็นแป้งชนิดแข็ง (corneous starch) เมื่อตากให้แห้งส่วนที่เป็นแป้งอ่อนจึงหดยุบตัวและเกิดลักษณะหัวบุบดังกล่าว มีลำต้นสูงตั้งแต่ 2.5 – 4.5 เมตร ฝักยาวตั้งแต่ 15 – 30 เซนติเมตร และมีเมล็ดระหว่าง 8 – 24 แถว

2. ข้าวโพดไร่ชนิดหัวแข็ง (flint corn) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays indurate* เป็นข้าวโพดที่มีลักษณะเมล็ดค่อนข้างแข็งแรง กลม เรียบ หัวไม่บุบ เพราะมีแป้งชนิดอ่อนอยู่ตรงกลาง แต่ด้านนอกถูกห่อหุ้มด้วยแป้งชนิดแข็ง เมื่อตากให้แห้งจึงไม่หดตัว มีขนาดฝักและจำนวนแถวน้อยกว่าชนิดหัวบุบ

3. ข้าวโพดหวาน (sweet corn) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays saccharata* เป็นข้าวโพดปลูกรับประทานฝักสดโดยเฉพาะ เมล็ดเมื่ออ่อนจะมีลักษณะใสโปร่งแสง และมีรสหวานเนื่องจากมีน้ำตาลมาก เมื่อเมล็ดแก่จะหดตัวและเหี่ยวย่น

4. ข้าวโพดคั่ว (pop corn) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays everta* เมล็ดมีขนาดค่อนข้างเล็ก มีแป้งประเภทแข็งอยู่ภายใน ภายนอกถูกห่อหุ้มด้วยสารที่ค่อนข้างเหนียวและยืดตัวได้ ฉะนั้น เมื่อเมล็ดที่มีความชื้นอยู่ภายในพอสมควร ถูกความร้อน จะเกิดแรงดันภายในเมล็ดและเมื่อถึงขีดสุดก็จะระเบิดตัวออกมา โดยทั่ว ๆ ไป อาจแบ่งได้ตามรูปร่างเมล็ดอีก 2 พวก คือ พวก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

หัวแหลม rice pop corn และพวกเมล็ดกลม pearl pop corn เมล็ดมีสีต่าง ๆ กัน เช่น เหลือง ขาว ส้ม ม่วงฝักก็มีขนาดต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ 5 – 10 เซนติเมตร

5. ข้าวโพดข้าวเหนียว (waxy corn) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays ceratina* มีลักษณะเมล็ดเหนียวคล้ายขี้ผึ้ง ซึ่งเป็นแป้งที่มีลักษณะคล้ายแป้งมันสำปะหลัง ปลูกกันเล็กน้อยในสหรัฐอเมริกา เพื่อใช้ทำแป้งที่มีคุณภาพคล้ายแป้งมันดังกล่าว กล่าวกันว่าข้าวโพดพันธุ์นี้มีพบครั้งแรกในประเทศจีน

6. ข้าวโพดแป้ง (flour corn) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays amylacea* เมล็ดประกอบด้วยแป้งชนิดอ่อนมาก มีรูปร่างและลักษณะเมล็ดคล้ายข้าวโพดไร่ชนิดหัวแข็งมากแต่หัวไม่บุบ หรือบุบเล็กน้อย โดยสม่ำเสมอทั่วเมล็ด มีเมล็ดประมาณ 8-12 แถว ปลูกมากในบางท้องที่ของอเมริกาใต้ อเมริกากลาง และสหรัฐฯ ทางภาคตะวันตกเฉียงใต้ ซึ่งค่อนข้างแห้งแล้ง ชาวอินเดียแดงใช้เป็นอาหาร ทั้งฝักสดและฝักแก่

7. ข้าวโพดป่า (pod corn) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays tunicate* เป็นข้าวโพดที่มีลักษณะแปลก ใกล้เคียงกับพืชป่า เมล็ดมีเปลือกหุ้มทุกเมล็ด และยังมีเปลือกฝักอีกชั้นหนึ่ง ส่วนเมล็ดมีลักษณะต่าง ๆ กัน คือ มีทั้งพวกหัวบุบ หัวแข็ง ข้าวโพดแป้ง ข้าวโพดหวาน ข้าวโพดคั่ว (พิเชษฐ์ กรุดลอยมา และ สุรพงษ์ ประสิทธิ์วัฒนเสวี ,2550)

การแบ่งเซลล์

การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (meiosis)

การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส เป็นการแบ่งเซลล์เพื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสัตว์ ซึ่งเกิดในวัยเจริญพันธุ์ ของสิ่งมีชีวิต โดยพบในอัณฑะ (testes), รังไข่ (ovary), และเป็นการแบ่ง เพื่อสร้างสปอร์ (spore) ในพืช ซึ่งพบในอับละอองเรณู (pollen sac) และอับสปอร์ (sporangium) หรือโคน (cone) หรือในออวุล (ovule) มีการลดจำนวนชุดโครโมโซมจาก 2n เป็น n ซึ่งเป็นกลไกหนึ่ง ที่ช่วยให้จำนวนชุดโครโมโซมคงที่ ในแต่ละสปีชีส์ ไม่ว่าจะเป็นโครโมโซม ในรุ่นพ่อ - แม่ หรือรุ่นลูก - หลานก็ตาม (นงลักษณ์ ประสาทเกสร, 2547)

มี 2 ขั้นตอน คือ

1. ไมโอซิส I (Meiosis - I)

ไมโอซิส I (Meiosis - I) หรือ Reductional division ขั้นตอนนี้จะมีการแยก homologous chromosome ออกจากกันมี 5 ระยะย่อย คือ

- Interphase- I
- Prophase - I
- Metaphase - I
- Anaphase - I
- Telophase - I

2. ไมโอซิส II (Meiosis - II)

ไมโอซิส II (Meiosis - II) หรือ Equational division ขั้นตอนนี้จะมีการแยกโครมาทิด ออกจากกันมี 4 - 5 ระยะย่อย คือ

- Interphase - II
- Prophase - II
- Metaphase - II
- Anaphase - II
- Telophase - II

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

เมื่อสิ้นสุดการแบ่งจะได้ 4 เซลล์ที่มีโครโมโซมเซลล์ละ n (Haploid) ซึ่งเป็นครึ่งหนึ่งของเซลล์ตั้งต้น และเซลล์ที่ได้เป็นผลลัพธ์ ไม่จำเป็นต้องมีขนาดเท่ากัน

ขั้นตอนต่างๆในไมโอซิส

Meiosis - I มีขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

Interphase- I

• มีการสังเคราะห์ DNA อีก 1 เท่าตัว หรือมีการจำลองโครโมโซม อีก 1 ชุด และยังติดกันอยู่ ที่ปมเซนโทรเมียร์ ดังนั้น โครโมโซม 1 ท่อน จึงมี 2 โครมาทิด

Prophase - I

• เป็นระยะที่ใช้เวลานานที่สุด

• มีความสำคัญ ต่อการเกิดวิวัฒนาการ ของสิ่งมีชีวิตมากที่สุด เนื่องจากมีการแปลผัน ของยีนส์เกิดขึ้น

• โครโมโซมที่เป็นคู่กัน (Homologous Chromosome) จะมาเข้าคู่ และแนบชิดติดกัน เรียกว่า เกิดไซแนปซิส (Synapsis) ซึ่งคู่ของโฮโมโลกัส โครโมโซม ที่เกิดไซแนปซิสกันอยู่นั้น เรียกว่า ไบแวเลนท์ (bivalent) ซึ่งแต่ละไบแวเลนท์มี 4 โครมาทิดเรียกว่า เทแทรด (tetrad) ในคน มีโครโมโซม 23 คู่ จึงมี 23 ไบแวเลนท์

• โฮโมโลกัส โครโมโซม ที่ไซแนปซิสกัน จะผละออกจากกัน บริเวณกลางๆ แต่ตอนปลาย ยังไขว้กันอยู่ เรียกว่า เกิดไคแอสมา (chiasma)

• มีการเปลี่ยนแปลงชิ้นส่วนโครมาทิด ระหว่างโครโมโซมที่เป็นโฮโมโลกัสกัน กับบริเวณที่เกิดไคแอสมา เรียกว่า ครอสซิ่ง โอเวอร์ (crossing over) หรืออาจมีการเปลี่ยนแปลง ชิ้นส่วนของโครมาทิด ระหว่างโครโมโซม ที่ไม่เป็นโฮโมโลกัสกัน (nonhomhlogous chromosome) เรียกว่าทรานส-โลเคชัน (translocation) กรณีทั้งสอง ทำให้เกิดการผันแปรของยีน (geng variation) ซึ่งทำให้เกิดการแปรผันของลักษณะสิ่งมีชีวิต (variation)

Metaphase - I

ไบแวเลนท์จะมาเรียงตัวกัน อยู่ในแนวกึ่งกลางเซลล์ (โฮโมโลกัส โครโมโซม ยังอยู่กันเป็นคู่ๆ)

Anaphase - I

• ไมโทติก สปินเดิล จะหดตัวดึงให้ โฮโมโลกัส โครโมโซม ผละแยกออกจากกัน

• จำนวนชุดโครโมโซมในเซลล์ ระยะนี้ยังคงเป็น 2n เหมือนเดิม (2n เป็น 2n)

Telophase - I

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

• โครโมโซมจะไปรวมอยู่ แต่ละขั้วของเซลล์ และในเซลล์บางชนิด ในระยะนี้ จะมีการสร้างเยื่อหุ้มนิวเคลียส มาล้อมรอบโครโมโซม และแบ่งไซโทพลาสซึม ออกเป็น 2 เซลล์ เซลล์ละ n แต่ในเซลล์บางชนิด จะไม่แบ่งไซโทพลาสซึม โดยจะมีการเปลี่ยนแปลง ของโครโมโซม เข้าสู่ระยะ โพรเฟส II เลย

Meiosis - II มีเหตุการณ์ต่างๆ ต่อไปนี้เกิดขึ้น

Interphase - II

• เป็นระยะพักตัว ซึ่งมีหรือไม่ก็ได้ ขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์

• ไม่มีการสังเคราะห์ DNA หรือจำลองโครโมโซมแต่อย่างใด

Prophase - II

• โครมาทิดจะหดสั้นมากขึ้น

• ไม่มีการเกิดไซแนปซิส , ไคแอสมา , ครอสซิ่งโอเวอร์ แต่อย่างใด

Metaphase - II

• โครมาทิดมาเรียงตัว อยู่ในแนวกึ่งกลางเซลล์

Anaphase - II

• มีการแยกโครมาทิดออกจากกัน ทำให้จำนวนชุดโครโมโซมเพิ่มจาก n

• เป็น 2n ชั่วขณะ

Telophase - II

มีการแบ่งไซโทพลาสซึม จนได้เซลล์ใหม่ 4 เซลล์ ซึ่งแต่ละเซลล์ มีโครโมโซม เป็น n ใน 4 เซลล์ที่เกิดขึ้นนั้น จะมียีนเหมือนกันอย่างละ 2 เซลล์ ถ้าไม่เกิดครอสซิ่งโอเวอร์ หรืออาจจะมียีนต่างกันทั้ง 4 เซลล์ ถ้าเกิดครอสซิ่งโอเวอร์ (สำนักงานที่ปรึกษา กรมอนามัย, 2547)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหมายถึง การเลี้ยงชิ้นส่วนพืช (explant) หรืออาจหมายถึง การเพาะเลี้ยงเซลล์ การเพาะเลี้ยงเนื่อเยื่อ หรือการเพาะเลี้ยงอวัยวะ ในอาหารสูตรสังเคราะห์สูตรต่างๆ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมและปลอดเชื้อ

การทำเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชนิดต่างๆมีดั้งนี้

1.การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู(anther culture)

เริ่มตั้งแต่การเก็บอับละอองเรณู ทำการฆ่าเชื้อส่วนของดอกหรือตาที่มีอับละอองเรณูอยู่ แล้วเพาะเลี้ยงในอาหารที่เหมาะสม ก็จะนำไปสู่การเกิดแฮพลอยด์ได้ ทางตรงโดยการสร้างเอมบริโอหรือทางอ้อมโดยการสร้างแคลลัส หลังจากนั้นก็ชักนำให้เกิดเป็นต้นพืช ย้ายลงดินพอโตขึ้นก็นำไปเพิ่มจำนวนโครโมโซมอีกเท่าตัวอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงอับละอองเรณู สูตรอาหารเพาะเลี้ยงในระดับปกติของซูโครสที่ใช้ทั่วไป 2-4%แต่ปริมาณที่ใช้อาจผันแปรได้เช่น ข้าวบาร์เลย์ มะเขือเทศ และข้าวสาลีใช้ 6-12% การใช้ซูโครสที่ความเข้มข้นสูงๆ น่าจะเกี่ยวข้องกับความดันออสโมติกมากกว่าจะเป็นแหล่งที่ให้คาร์โบไฮเดรต การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูและไมโครสปอร์ Tulecke (ค.ศ. 1953) ได้ประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงละอองเรณูจากพวก Gymnosperm ได้จนถึงเกิดเป็นแคลลัส ต่อมา Guhaและ Meheshwia ได้เพาะเลี้ยงอับละอองเรณูของพวกแอนจิโนสเปริมบางพวก เช่นลำโพง ในเวลาต่อมาก็มีพืชแฮพลอยด์ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู ไมโครสปอร์ในพืชหลายชนิดไมโทซิสของละอองเรณูในพวกยาสูบและพืชอีกหลายชนิด ผลผลิตชั้นสุดท้ายที่เกิดจากการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสจะได้เป็นเซลล์ 4 เซลล์อยู่ติดกันเรียก tetrad จะมีสารพวกแคลโลสล้อมรอบอยู่ ต่อจากนี้ก็จะแยกออกเป็นแต่ละไมโครสปอร์แล้วมีขยายตัวโดยการสร้างแวคิวโอล หลังจากที่นิวเคลียสของไมโครสปอร์มีการแบ่งตัวแล้ว แวคิวโอลจะสลายตัวไปขนาดของเซลล์จะใหญ่ค้นพบโดยมีการสร้างไซโทพลาซึมเพิ่มขึ้นและมีการสร้างผนังที่แข็งเป็นพิเศษเรียกว่า Sporopolleninทำให้ผนังของสปอร์แข็งขึ้นซึ่งจะประกอบด้วยผนังชั้นนอกเรียก exine และผนังชั้นในเรียก intine นิวเคลียสจะถูกดันไปอยู่ทางด้านหนึ่งของสปอร์อยู่ในตำแหน่งที่มีการสร้างดีเอ็นเอขึ้นอีกเท่าตัว เมื่อเกิดไมโทซิสก็จะได้เซลล์ที่มีทั้งเจเนอเรทีฟนิวเคลียสและทิวป์นิวเคลียส

2.การเพาะเลี้ยงไมโครสปอร์ (microspore culture)

ไมดครสปอร์ที่แยกออกเป็นเดี่ยวๆคล้ายกับเป็นเซลล์ทั่วๆไปสามารถพัฒนาไปเป็นต้นพืชได้แต่จะต้องให้ไมโครสปอร์สร้างเจเนอเรทีฟนิวเคบียสแยกไมโครสปอร์ออกมาแล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมและควบคุมได้ก็จะได้เป็นต้นพืชที่เป็นแฮพลอยด์ตามต้องการ

ข้อดีของการทำการเพาะเลี้ยงไมโครสปอร์เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูมีดังนี้

1.ในการเพาะเลี้ยงไมโครสปอร์จะไม่มีสารที่ยับยั้งการเจริญเติบโตซึ่งจะนำไปสู่การสลายเนื้อเยื่อของอับละอองเรณูเพราะว่าในเนื้อเยื่อของอับละอองเรณูอาจมีสารที่จะไปขัดขวางการเจริญเติบโตของไมโครสปอร์

2.เนื้อเยื่อที่เป็นดิพลอยด์ที่อยู่รอบๆไมโครสปอร์ภายในอับละอองเรณูเช่นส่วนของก้านเกสรตัวผู้ผนังของอับละอองเรณูอาจจะเจริญได้ดีในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงซึ่งจะเป็นการแย่งการเจริญเติบโตของไมโครสปอร์ทไให้ไมโครสปอร์เติบโตได้ไม่เต็มที่

3.การเพาะเลี้ยงเอมบริโอ (Embryo culture)

เอมบริโอมีต้นกำเนิดมาจากไข่ที่ปฏิสนธิกับสเปิร์มได้เป็นไซโกต จะเจริญไปเป็นเอมบริโอและตัวโตเต็มวัยตามลำดับ การเพาะเลี้ยงเอมบริโอเป็นวิถีทางที่จะได้พืชจาก(1) ลูกผสมที่เกิดจากการผสมข้ามชนิดหรือสกุลซึ่งไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้จนถึงระยะที่เป็นต้นพืช (2) เมล็ดที่ไม่งอกภายใต้สภาพปกติ และ(3) เมล็ดที่ต้องการระยะฟักตัวยาวนาน

วิธีการทั่วๆไปของการเพาะเลี้ยงเอมบริโอ

แยกเอมบริโอของระยะต่างๆออกมาจากเนื้อเยื่อของแม่ แล้วนำมาเลี้ยงในอาหารภายใต้สภาพปลอดเชื้อ เมื่อพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนก็ย้ายลงปลูกในดิน

เอมบริโออยู่ภายในไข่อ่อน เมล็ด หรือสิ่งห่อหุ้ม ซึ่งต้องฆ่าเชื้อก่อนที่จะแคะเอาเอมบริโอออกมา

การเลือกชนิดของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเอมบริโอนับว่าเป็นปัจจัยสำคัญถึงแม้ว่าอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงจะผันแปรไปตามชนิดของพืชที่ศึกษา

การเพาะเลี้ยงเอมบริโอที่เป็นลูกผสม การผสมข้ามชนิดหรือข้ามสกุลที่มีการปฏิสนธิเกิดขึ้น เอมบริโอมักจะสลายไป เซลล์ที่สร้างมาจากไซโกตของลูกผสมจะมีแวคิวโอลและออร์แกเนลล์บางชนิด การสบายของเอมบริโอมักจะเกิดควบคู่ไปกับการสลายตัวของเอนโดสเปิร์มดังนั้นการที่เอนโดสเปิร์มไม่ทำหน้าที่อาจจะเป็นสาเหตุหนึ่งในหลายสาเหตุที่มีผลต่อการสลายของเอมบริโอเอมบริโอไม่สามารถพัฒนาได้ถ้าขาดสารอาหารต่างๆที่ได้จากเอนโดสเปิร์ม

4. การเพาะเลี้ยงเอนโดสเปิร์มและการสร้างพืชทริพลอยด์

ในการเพาะเลี้ยงเอนโดสเปิร์มของพืชที่ เป็นทริพลอยด์สำหรับการรวมกันของนิวเคลียสที่เป็นแฮพลอยด์ของ 3 นิวเคลียสในพืชดอกนั้นเอนโดสเปิร์มเป็นเนื้อเยื่อที่มีลักษณะเฉพาะชนิดหนึ่งซึ่งใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับตัวอ่อนในพืชมีดอก เอนโดสเปิร์มประกอบด้วยกลุ่มเนื้อเยื่อพวกพาเรนไคมาและไม่มีการแปรสภาพไปเป็นท่อน้ำและท่ออาหาร การสร้างแคลลัสจากเอนโดสเปิร์ม สามารถนำทั้นเอนโดสเปิร์มที่อ่อนและแก่มาเลี้ยงในอาหารได้เอนโดสเปิร์มของธัญพืชจะมีการแบ่งตัวได้ถ้าแยกออกมาเลี้ยงในระยะที่เหมาะสม

(http://www.ds.ac.th,2550)

5. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญ (meristem culture)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญได้เพิ่มความสำคัญขึ้นเรื่อยๆ ไม่เพียงแต่เป็นการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของพืชปลูกทั้งหลายแต่ยังเป็นระบบกำจัดโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสได้อีกด้วยการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสก็เป็นไปตามกระบวนการเมทาบอลิซึมตามปกติในพืชซึ่งอาจจะเป็นไปไม่ได้ที่จะยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสโดยที่ไม่มีผลต่อการเซลล์พืชการควบคุมจำนวนของไวรัสทำได้ค่อนข้างยากเมื่อไวรัสได้ติดมากับเมล็ดหรือพืชที่ขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ในปัจจุบันมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ประโยชน์ ดังนี้

1 การขยายพันธุ์ (propagation) โดยนำชิ้นส่วนต่างๆของพืชมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์โดยจัดสภาวะต่างๆ ให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชแต่ละชนิดให้สามารถควบคุมปริมาณและช่วงเวลาในการขยายพันธุ์พืชได้ตามประสงค์ ทำให้ได้จำนวนมากขึ้นในระยะเวลาอันรวดเร็ว

2 การผลิตพืชที่ปราศจากโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งการปราศจากเชื้อไวรัส โดยการตัดส่วนยอดซึ่งเป็นเนื้อเยื่อเจริญของพืชให้มีขนาดเล็กๆ

3 การผลิตสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ได้มีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาผลิตสารต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสมุนไพรชนิดต่างๆ อาจสร้างสารตัวยาได้มากกว่าในธรรมชาติ

4 การผลิตสายพันธุ์แท้ (inbred production) การผลิตสายพันธุ์แท้โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ทำได้โดยการนำละอองเรณูหรืออับเรณูมาเลี้ยงในอาหารจนเกิดเนื้อเยื่อที่มีจำนวนโครโมโซมครึ่งหนึ่งของเซลล์ปกติ เมื่อทำการเพิ่มจำนวนเป็น 2n ก็จะได้สายพันธุ์แท้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้การผลิตสายพันธุ์แท้ยังสามารถทำได้โดยการใช้รังสีต่างๆ และการรวมโพโทพลาสต์ (protoplast fusion)

5 การอนุรักษ์พันธุกรรมและการแลกเปลี่ยนพันธุ์พืช เป็นการเก็บรวบรวมพันธุ์พืชโดยการเพาะเลี้ยงไว้ในขวดและบังคับให้เติบโตอย่างช้าๆ ซึ่งทำ ให้สามารถเก็บรักษาพันธุ์พืชไว้ได้นาน ประหยัดพื้นที่และแรงงาน นอกจากนี้ยังสะดวกต่อการแลกเปลี่ยนพันธุ์พืชกับต่างประเทศเพราะอยู่ใน ขวดและปราศจากเชื้อโรค

6 การคัดเลือกสายพันธุ์กลาย (mutant selection) เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ที่มีลักษณะที่ดีเนื่องจากการเกิดการกลายทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมซึ่งการคัดเลือกทำได้โดยจัดอาหารเพาะเลี้ยงและสภาพแวดล้อมตามที่ต้องการ เช่น

การคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่ทนเค็ม โดยการใส่เกลือลงไปในอาหารคัดเลือก เพื่อคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่ทนเค็ม

7 การแปรผันทางพันธุกรรม (somaclonal variation) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น พบว่าอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในขั้นตอนการเลี้ยง ทำให้ได้สายพันธุ์ที่กลาย การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นอาจเนื่องมาจากมีการใช้สภาวะแวดล้อมต่างๆในขั้นตอนของการเพาะเลี้ยง

8 การแปลงพันธุกรรม (genetic transformation) ได้มีการใช้วิธีการทางพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยการถ่ายโอนจีนที่ต้องการเข้าไปในเซลล์พืช โดยอาศัยพาหะ (vector) (สมพร,2549)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3

การศึกษาดำเนินงาน

เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทดลอง

วัสดุ-อุปกรณ์

- เครื่องชั่ง
- เตาแก๊ส
- ช้อนตักสาร
- Magnetic bar
- pH meter
- Centrifuge
- Autoclave
- ตู้เย็น
- กล้องจุลทรรศน์
- ขวดรูปชมพู่,บิ๊กเกอร์ และ กระบอกตวง

อุปกรณ์การย้ายเนื้อเยื่อ

- ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ
- ตะเกียงแอลกอฮอร์
- Wrap plastic
- Forceps
- Marker
- มีดผ่าตัด
- กระดาษนึ่งอัดไอ
- ขวดแอลกอฮอล์
- Plate
- Timer

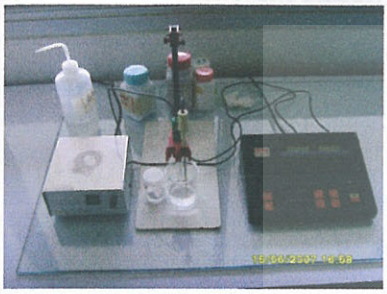
อุปกรณ์การเพาะเลี้ยง

- ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
- ชั้นเพาะเลี้ยง
- เครื่องควบคุมอุณหภูมิ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ก

ข



ค

ง

จ

ฉ

ช

ซ

ภาพ 1 อุปกรณ์และเครื่องมือในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ บริษัทเจียไต๋ จำกัด (ชนม์เจริญฟาร์ม)

ก. ตู้เพาะเขี่ยเชื้อ (Larminar air flow) ข. ตู้เครื่องแก้ว ค.เครื่องวัด pH ง. กล้องจุลทรรศน์

จ. เครื่องชั่ง ฉ. ตู้เก็บสารเคมี ช. ห้องปฏิบัติการทางด้านงานวิจัย

ซ. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การเตรียมอาหาร

การเตรียมอาหารไม่จำเป็นต้องชั่งสารเคมีทุกครั้งที่เตรียมแต่จะเป็นการเตรียมสารละลายเข้มข้นหลายๆเท่าเพื่อเป็นการประหยัดเวลาในการชั่งสารเคมีและลดความผิดพลาดในการเตรียมสารเพราะสารบางอย่างละลายรวมกันไม่ได้ต้องแยกละลาย ดังนั้นในการเตรียมอาหารจึงมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสูตรอาหารแต่ละสูตรและผู้เตรียมจะเตรียมความเข้มข้นมากน้อยอย่างไร

วิธีการเตรียมอาหาร

1 ใส่น้ำกลั่นลงในบิ๊กเกอร์ 1/3

2 ใส่สารอาหารที่เตรียมความเข้มข้นต่างๆ

3 ใส่วิตามินและสารควบคุมการเจริญเติบโต

4 ใส่น้ำตาล

5 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ให้ครบ 1 ลิตร

6 ปรับ pH

7 เติมวุ้น หลอมวุ้นให้ละลายกับอาหารจากนั้นใส่ในขวดรูปชมพู่

8 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อแล้วนำมาเทลงใน plate ตู้ปลอดเชื้อ

ภาพที่ 2 การเตรียมอาหาร เมื่อทำการนึ่งฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้วจึงนำอาหารมาเทลงใน plate

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางผนวกที่ 1 สูตรอาหาร Ku et al. (1978, 1981) YuPei

สาร	10 X	50x	100x	200x
Macro				
KNO_3	25	125.0	250.0	500.0
NH_4NO_3	1.65	8.25	16.5	33.0
$CaCl_2.2H_2O$	1.76	8.80	17.6	35.2
$MgSO_4.7H_2O$	3.7	18.50	37.0	74.0
KH_2PO_4	5.1	25.50	51.0	102.0
Micro				
$MnSO_4.4H_2O$	0.044	0.22	0.44	0.88
$ZnSO_4.7H_2O$	0.015	0.075	0.15	0.30
H_3BO_3	0.016	0.08	0.16	0.32
KI	0.008	0.04	0.08	0.16
$FeSO_4.7H_2O$	0.279	1.395	2.79	5.58
$Na_2EDTA.2H_2O$	0.373	1.865	3.73	7.46
Vitamin				
Thiamine .HCL	0.010	0.050	0.10	0.20
Nicotinamide	0.005	0.025	0.05	0.10
Pyridoxin.HCl	0.005	0.025	0.05	0.10
Amino acid				
Glycine	0.02	0.1	0.2	0.4
Protine hydrolysates	5.0	25	50.0	100.0
(Lactalbumin hydrolysate)				
pH 5.8				
Glucose 120 g/l				
Agar 8 g / l				
Proline 0.25 g/ l				
Charcoal 1 g/ l				

ที่มา : Edwin F. George ,David J. M.Puttock and Heather J. Ggeorge ,1987

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2 สูตรอาหาร Genouesi&Colline (1982)YP

สาร	10 X	50x	100x	200x
Macro				
KNO_3	25	125.0	250.0	500.0
NH_4NO_3	1.65	8.25	16.5	33.0
$CaCl_2.2H_2O$	1.76	8.80	17.6	35.2
$MgSO_4.7H_2O$	3.7	18.50	37.0	74.0
KH_2PO_4	5.1	25.50	51.0	102.0
NH_4NO_3	1.65	8.25	16.5	33
Micro				
$MnSO_4.4H_2O$	0.044	0.22	0.44	0.88
$ZnSO_4.7H_2O$	0.015	0.075	0.15	0.30
H_3BO_3	0.016	0.08	0.16	0.32
KI	0.008	0.04	0.08	0.16
$FeSO_4.7H_2O$	0.279	1.395	2.79	5.58
$Na_2EDTA.2H_2O$	0.373	1.865	3.73	7.46
Vitamin				
Thiamine .HCL	0.0025	0.0125	0.025	0.05
Nicotinamide	0.013	0.065	0.13	0.26
Pyridoxin.HCl	0.0025	0.0125	0.05	0.05
Capantothenic	0.0025	0.0125	0.05	0.05
Amino acid				
Glycine	0.02	0.1	0.2	0.4
Protine hydrolysates	5.0	25	50.0	100.0
(Lactalbumin hydrolysate)				
pH 5.8				
Glucose 120 g/l				
Agar 8 g / l				
Proline 0.25 g/ l				
TiBA 0.1 mg/l				

ที่มา : Edwin F. George ,David J. M.Puttock and Heather J. Ggeorge ,1987

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 3 สูตรอาหาร Nitsch(1982)

สาร	10 X	50x	100x	200x
Macro				
KNO_3	28.3	141.5	283.0	566.0
$CaCl_2.2H_2O$	1.660	8.30	16.60	33.20
$Mg\ SO_4.\ 7H_2O$	1.85	9.25	18.5	37.0
KH_2PO_4	4.0	20.0	40.0	80.0
$(NH_4)_2NO_3$	4.63	23.15	46.3	92.6
Micro				
$MnSO_4.\ 4H_2O$	0.044	0.22	0.44	0.88
$ZnSO_4.\ 7H_2O$	0.015	0.075	0.15	0.30
H_3BO_3	0.016	0.08	0.16	0.32
KI	0.008	0.04	0.08	0.16
$FeSO_4.\ 7H_2O$	0.279	1.395	2.79	5.58
$Na_2EDTA.2H_2O$	0.373	1.865	3.73	7.46
Vitamin				
Thiamine .HCL	0.010	0.050	0.010	0.20
Nicotinamide	0.005	0.025	0.05	0.10
Pyridoxin.HCl	0.005	0.025	0.05	0.010
Amino acid				
Glycine	0.02	0.1	0.2	0.4
Protine	1.0	5.0	10.0	20.0
Protine hydrolysates	5.0	25	50.0	100.0
(Lactalbumin hydrolysate)				
pH 5.8				
Glucose 60 g/l				
Agar 6 g / l				
Proline 0.25 g/ l				
TiBA 0.1 mg/l				

ที่มา : Edwin F. George ,David J. M.Puttock and Heather J. Ggeorge ,1987

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4 สูตรอาหาร Genouesi&Colline (1982) YPNAS

สาร	10 X	50x	100x	200x
Macro				
KNO_3	25	125	250	500
$CaCl_2.2H_2O$	1.7	8.8	17.6	35.2
$Mg\ SO_4.\ 7H_2O$	3.7	18.5	37	74
KH_2PO_4	5.1	25.5	51	102
NH_4NO_3	1.65	8.25	16.5	33
Micro				
$MnSO_4.\ 4H_2O$	0.044	0.22	0.44	0.88
$ZnSO_4.\ 7H_2O$	0.015	0.075	0.15	0.30
H_3BO_3	0.016	0.08	0.16	0.32
KI	0.008	0.04	0.08	0.16
$FeSO_4.\ 7H_2O$	0.279	1.395	2.79	5.58
$Na_2EDTA.2H_2O$	0.373	1.865	3.73	7.46
Vitamin				
Myo	1	5	10	20
Thiamine .HCL	0.025	0.0125	0.25	0.05
Nicotine acid	0.013	0.065	0.13	0.26
Amino acid				
Protine hydrolysates	5.0	25	50.0	100.0
(Lactalbumin hydrolysate)				
pH 5.8				
Glucose 25 g/l				
Agar 8 g / l				
ABA 0.005 mg/l				
KN 1 mg/l				

ที่มา : Edwin F. George ,David J. M.Puttock and Heather J. Ggeorge ,1987

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

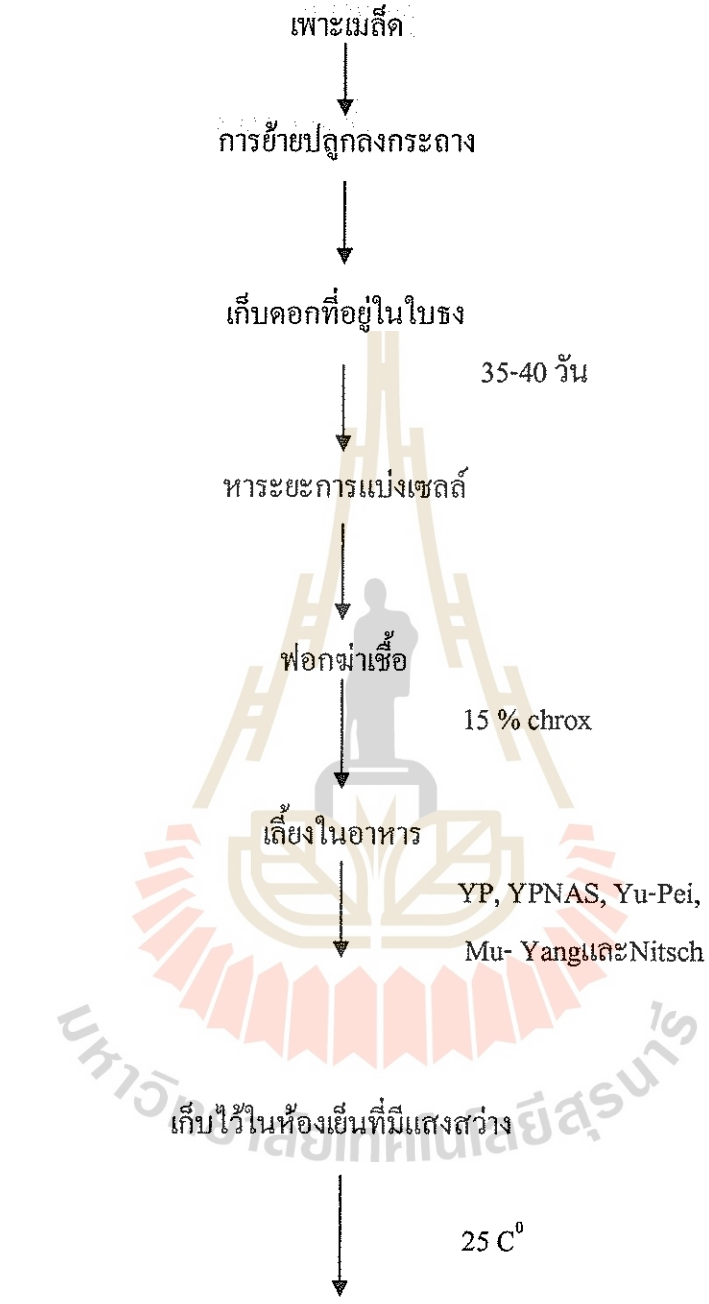
ตารางที่ 5 สูตรอาหาร Mu Yang

Mu Yang	10 X	50x	100x	200x
Macro				
KNO_3	25	125	250	500
$CaCl_2.2H_2O$	1.7	8.8	17.6	35.2
$Mg\ SO_4.\ 7H_2O$	3.7	18.5	37	74
KH_2PO_4	5.1	25.5	51	102
NH_4NO_3	1.65	8.25	16.5	33
Micro				
$MnSO_4.\ 4H_2O$	0.044	0.22	0.44	0.88
$ZnSO_4.\ 7H_2O$	0.015	0.075	0.15	0.30
H_3BO_3	0.016	0.08	0.16	0.32
KI	0.008	0.04	0.08	0.16
$FeSO_4.\ 7H_2O$	0.279	1.395	2.79	5.58
$Na_2EDTA.2H_2O$	0.373	1.865	3.73	7.46
Vitamin				
Myo	1	5	10	20
Thiamine .HCL	0.025	0.0125	0.25	0.05
Nicotine acid	0.013	0.065	0.13	0.26
Pyridorin HCl	0.01	0.05	0.1	0.2
Amino acid	0.02	0.1	0.2	0.4
Glycine	5.0	25	50.0	100.0
Protine hydrolysates				
(Lactalbumin hydrolysate)				
pH 5.8				
Glucose 150 g/l				
Agar 6- 8 g / l				
NAA 1 mg/l				
BAP 1 mg/l				
2,4-D 1mg/l				

ที่มา : Edwin F. George ,David J. M.Puttock and Heather J. Ggeorge ,1987

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ขั้นตอนการดำเนินการศึกษา Anther culture of Corn



ตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของ Anther

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การเตรียมต้นข้าวโพด

-นำข้าวโพดทั้งหมด 5 สายพันธุ์ ได้แก่006-010 มาทดสอบหาความงอก

- เลือกข้าวโพดที่มีความงอกสูง ทั้งหมด 3 พันธุ์ มาปลูกเพื่อทำการทดลอง

- ปลูกข้าวโพดที่ทำการคัดเลือกในกะบะเพาะพันธุ์ละ 5 ต้น

เมล็ดงอก 2 สัปดาห์ทำการย้ายปลูก

ตารางที่ 6 การปลูกข้าวโพดพันธุ์ต่างๆ

พันธุ์ข้าวโพด	วันที่
010	23-04-50
008	14-05-50
006	17-05-50
009	15-06-50
009	18-06-50
008	22-06-50

หมายเหตุ การปลูกข้าวโพดจะปลูกไม่พร้อมกันเพื่อตรวจหาระยะการแบ่งเซลล์ระยะต่างๆ

การเตรียมดินปลูก

-พีท : เวอร์มิคูไลท์ : ดิน อัตรา 1:1:1

-ใส่ปุ๋ยรองก้นกระถาง สูตร 15-15-15

การดูแลรักษา

- รดน้ำทุกเช้าเย็น

- กำจัดวัชพืช

การหาระยะการแบ่งเซลล์

- คัดเลือกต้นข้าวโพดที่ดอกยังอยู่ในบธงเพื่อตรวจหาระยะ tetrad เมื่อพบระยะจึงทำการฟอกฆ่าเชื้อและนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ

ขั้นตอนในการหาระยะ

- ตัดต้นข้าวโพดข้าวเหนียวขณะที่ดอกยังอยู่ในใบธง

- นำอับละอองเรณูขนาดใหญ่ 3 อันมาตรวจหาระยะโดยย้อมด้วยสีย้อมบดลงบนแผ่นสไลด์แล้วปิดด้วย cover slip

- นำไปส่องกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40X

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

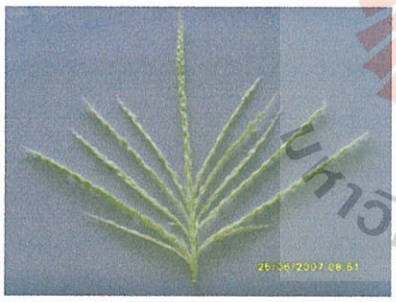
ก

ข

ค

ง

ภาพที่ 3 ลักษณะของต้นข้าวโพดข้าวเหนียวที่มีดอกอยู่ในใบธง เป็นระยะที่นำอับละอองเรณูมาส่องกล้อง ก. ต้นข้าวโพดข้าวเหนียวที่ปลูกอยู่ในโรงเรือน ข. ต้นข้าวโพดที่ตัดมาตรวจหาระยะ ค. ลักษณะของดอกข้าวโพดที่อยู่ในใบธง

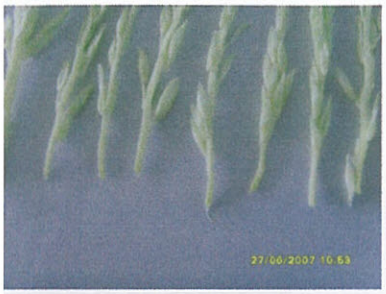


ก

ข

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ค



ง

จ

ฉ

ช

ภาพที่ 4 ลักษณะของดอกข้าวโพดข้าวเหนียวนำมาแบ่งแต่ละส่วนเพื่อค้นหาตำแหน่งที่มีการแบ่งเซลล์เป็น tetrad ก. รวงดอกข้าวโพดและแขนงย่อย ข. แขนงย่อยและดอกข้าวโพด ค. ดอกข้าวโพดจากปลายโคนแขนงไปยังปลายแขนงย่อย ง. ดอกข้าวโพดบริเวณโคนแขนงย่อย จ. ดอกข้าวโพดบริเวณกลางแขนงย่อย ฉ. ดอกข้าวโพดบริเวณปลายแขนงย่อย ช. ขนาดของดอกที่ส่วนมากจะพบระยะ tetrad

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ก

ข

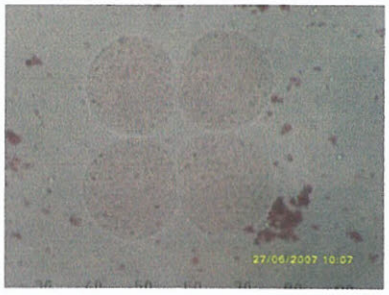
ค

ง

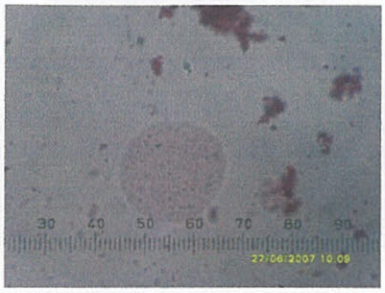
จ

ภาพที่ 5 ลักษณะของอับละอองเรณูข้าวโพด บริเวณแขนงต่างๆ
ก . อับละอองเรณู ขนาดใหญ่ 3 อันที่อยู่ภายในดอกข้าวโพด ข. อับละอองเรณู ขนาดใหญ่ 3 อันที่นำมาย้อมสีเพื่อส่องกล้อง ค. อับละอองเรณู บริเวณ โคนแขนงย่อย ง. อับละอองเรณู บริเวณกลางแขนงย่อย จ .อับละอองเรณู บริเวณปลายแขนงย่อย

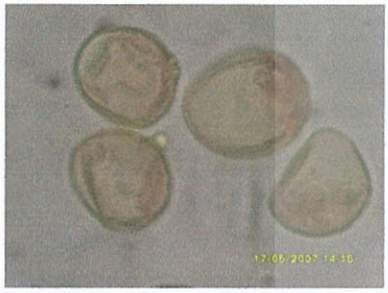
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



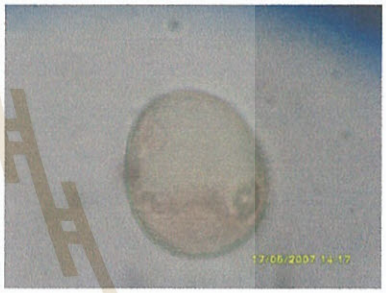
ก



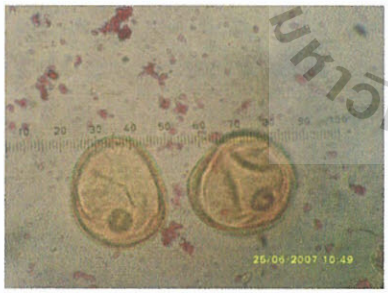
ข



ค



ง



จ

ฉ

ภาพที่ 6 อับละอองเรณูที่ย้อมสีบดละเอียดบนแผ่นสไลด์จากนั้นนำมาส่องกล้องจะพบการแบ่งเซลล์ระยะต่างๆ

ก- ข ละอองเรณูบริเวณโคณแขนง ค-ง ละอองเรณูบริเวณกลางแขนง

จ- ฉ ละอองเรณูบริเวณปลายแขนง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 7 ระยะเวลาในการเก็บดอกที่ตรวจหาระยะการแบ่งเซลล์

พันธุ์ข้าวโพด	จำนวน (วัน)
010	41
009	36
006	37
008	38
008	37

หมายเหตุ ระยะที่ตรวจพบการแบ่งเซลล์แบบ tetrad จะอยู่ระว่าง 35-40 วัน ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมในการดูแลในขณะปลูก

สรุปการหาระยะการแบ่งเซล์

จากการที่ได้ทำการแบ่งเซลล์ของละอองเรณูข้าวโพดข้าวเหนียวพบว่าดอกข้าวโพดที่อยู่ในใบธงจะเป็นระยะในการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมและบริเวณที่พบการแบ่งเซลล์แบบ tetrad บริเวณส่วนโคนของช่อดอกหรือกลางโคนช่อดอกซึ่งแล้วแต่ละยะเวลาที่เก็บดอกข้าวโพด และสภาพแวดล้อมในการดูแลรักษาต้นข้าวโพด แต่อย่างไรก็ตามดอกข้าวโพดที่พ้นใบธงไปแล้วก็สามารถนำมาเลี้ยงบนอาหารได้เนื่องจากยังไม่มีการพัฒนาไปเป็นเซลล์สืบพันธุ์

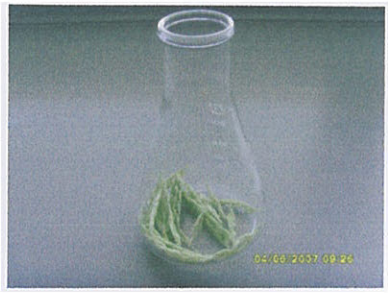
การฟอกฆ่าเชื้อ

- เลือกช่อดอกที่ตูมอยู่ในใบธง
- แช่ดอกในสารละลาย คลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์เติมทวีน-20 ประมาณ 3-4 หยดเป็นเวลา 15นาที
- ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละประมาณ 5 นาที
- ย้ายดอกลงจานเพาะเชื้อ แล้วทำการแกะดอกแยกเอาเฉพาะอับละอองเรณูไปเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงต่อไป

หลังจากที่มีการฟอกฆ่าเชื้อแล้วนำไปเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงควรปิดจานให้สนิทจากนั้นก็นำไปวางบนชั้นสำหรับวางเนื้อเยื่อในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ก



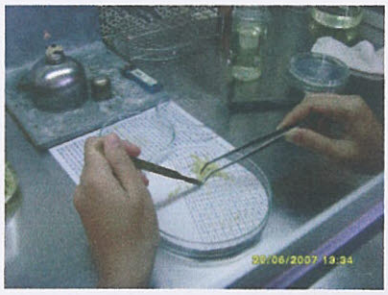
ข

ค

ภาพที่ 7 แสดงขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อ และการทำให้ปลอดเชื้อภายในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ
ก. การเตรียม คลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ ข. ดอกข้าวโพดที่จะทำการฟอก
ค. เขย่าเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นจึงล้างน้ำกลั่น 3 ครั้ง

การนำ Anther เลี้ยงในอาหาร

เมื่อต้องการที่จะเลี้ยง อับละอองเรณู สภาวะการเพาะเลี้ยงต่างๆต้องปลอดเชื้อ วิธีการเพาะเลี้ยงทำได้โดยการนำชิ้นส่วนของ อับละอองเรณู ที่ทำการฟอกฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้วมาวางบนอาหารที่เตรียมไว้ (ภาพที่3-7)นำไปเพาะในห้องเพาะเลี้ยงที่จัดสภาวะต่างๆไว้อย่างเหมาะสม การวาง Anther บนอาหารนั้นจะวาง 20 จุด ในจำนวน 1 plate ซึ่งสูตรอาหารแต่ละสูตรจะทำทั้งหมด 3 plate ในการทดลอง จะต้องนำ Anther วางบนอาหารทั้งหมด 15 plate ต่อสายพันธุ์ ดังนั้นการทดลองทั้งสามสายพันธุ์ นำ Anther วางบนอาหารทั้งหมด 45 plate และหากมีการปนเปื้อนที่ทำการย้ายได้จะทำการย้ายทันที หากย้ายไม่ได้ก็จะมีการทำเพิ่มเรื่อยๆเนื่องจากข้าวโพดทำการเพาะปลูกไม่พร้อมกัน



ก

ข

ภาพที่ 8 การนำ อับละอองเรณู เลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยง

ก. การตัดเอา อับละอองเรณู มาเลี้ยงบนอาหาร ข. การนำอับละอองเรณู วางบนอาหาร

ตารางที่ 8 วันที่เพาะเลี้ยงอับละอองเรณูบนอาหาร (anther culture)

พันธุ์ข้าวโพด	วันที่
009	23-04-50
008	26-05-50
010	28-05-50
006	4-06-50
009	19-06-50
008	20-06-50

หมายเหตุ การนำเอาอับละอองเรณูไปเลี้ยงในอาหารจะไม่พร้อมกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวโพดและวันที่เพาะปลูกข้าวโพด

การประเมินผลลักษณะของ Anther

ในการประเมินผลของ Antherหลังการทดสอบกับสูตรอาหารทั้ง 5 สูตร จะทำการประเมินผล ลักษณะเปลี่ยนแปลงไปหลังจากนำไปเลี้ยงบนอาหาร จะประเมินโดยมี การประเมินการแตกของAnther ซึ่งการแตกออกAnther ที่นำไปวางบนอาหารทั้ง 20 จุด มีการแตกออกมากี่จุด เพื่อหาค่าความแตกต่างทางสถิติของการเปลี่ยนแปลงAntherหลังจากที่เลี้ยงบนอาหาร

การเก็บข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของ Anther

ในการเก็บข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของ Anther จะทำการเก็บข้อมูลการแตกของAntherเมื่อนำไปวางบนอาหารทั้ง 5 สูตร เป็นเวลา 2 เดือนคือ การเก็บข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของ Anther ข้าวโพดข้าวเหนียวจะเก็บข้อมูลด้วยกันทั้งหมด 3 ซ้ำ จากนั้น จึงนำข้อมูลการประเมินผลการเปลี่ยนแปลงที่ได้หาค่าความแตกต่างทางสถิติของ Anther ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ที่แตกต่างกันนำไปเลี้ยงบนอาหารที่ใช้เลี้ยง Antherจะที่มีผลการตอบต่อสูตรอาหาร

บทที่ 4

ผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงอับเรณูของข้าวโพดข้าวเหนียว 3 สายพันธุ์

หลังจากที่นำอับเรณูไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่า ลักษณะการแตกของแคลลัสยังไม่ปรากฏให้เห็น แต่มีลักษณะของอับเรณูที่เลี้ยงบนสูตรอาหารต่างๆที่มีการเปลี่ยนแปลงดังภาพ

Yu Pei

Mu Yang

YP

YPNAS

Nitsch

ภาพที่ 9 ลักษณะของอับละอองเรณูที่เลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ ระยะ เวลา 2 เดือน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1

2

3

4

5

ภาพที่ 10 ลักษณะของอับเรณู พันธุ์ 009 บนอาหารสูตรต่างๆ

1 MuYang 2. Yu Pei 3. YP 4.YPNAS 5. Nitsch

1

2

3

4

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

5

ภาพที่ 11 ลักษณะของอับเรณู พันธุ์ 008 บนอาหารสูตรต่างๆ

1 MuYang 2. Yu Pei 3. YP 4.YPNAS 5. Nitsch

1

2

3

4

5

ภาพที่ 12 ลักษณะของอับเรณู พันธุ์ 006บนอาหารสูตรต่างๆ

1 MuYang 2. Yu Pei 3. YP 4.YPNAS 5. Nitsch

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาภที่ 13 ลักษณะการแตกของ Anther ข้าวโพด

จากภาพที่เห็นดังกล่าวเมื่อนำ Antherเลี้ยงบนอาหารจะมีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปเช่นมีสีเปลี่ยนไปลักษณะเซลล์เหี่ยวหรือเต่งขึ้นอยู่กับการตอบสนองและอาหารที่เหมาะสมต่อพันธุ์ข้าวโพด แต่การเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัดคือลักษณะการแตกออกมาของ Pollen ดังที่เห็นในภาพที่ 13

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูเป็นการนำเอาอับเรณูที่มีลักษณะแท่งกลมยาวทรงกระบอก ภายในบรรจะอับเรณู 6 อัน ขนาดใหญ่ 3 อันและขานดเล็กอีก3 อันในการทดลองครั้งนี้เป็นการนำเอาอับเรณูขนาดใหญ่มาเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยง 5 สูตรและพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียว ที่ใช้ 3 สายพันธุ์ซึ่งผลการตอบสนองของอับเรณูพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวทั้ง3สายพันธุ์ต่ออาหารที่นำมาเพาะเลี้ยง ดังนี้

ตารางที่ 9 แสดงการแตกของ Anther ข้าวโพดข้าวเหนียว

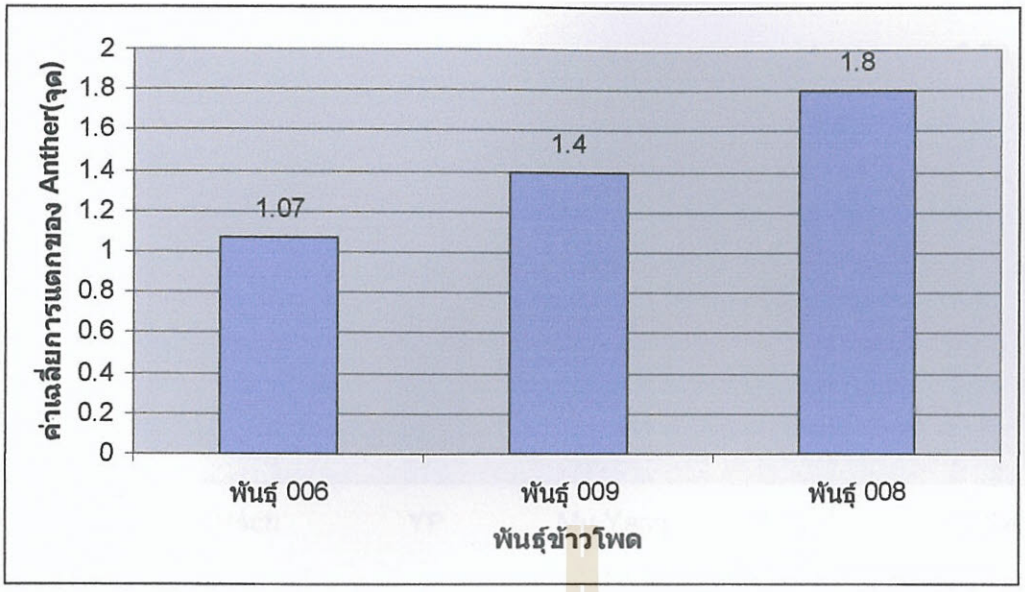
พันุ์ข้าวโพด	การแตกของ Anther
1 . 006	1.07a
2 . 009	1.40a
3. 008	1.80a
Non significant	ns
%CV	22.8%

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT)

: ns คือ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Non significant)

จากตารางข้างบนพบว่าพันธุ์ข้าวโพดที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติทั้งสามพันธุ์แต่จะสังเกตได้ว่าพันธุ์ 008 จะมีค่ามากที่มื่อเทียบทั้งสามพันธุ์และพันธุ์ที่มีค่ารองลงมาคือ 009 ส่วนพันธุ์ 006 มีค่าน้อยที่สุด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



หมายเหตุ การแตกของ Anther นั้นมีทั้งหมด 20 จุดต่อ 1 plate

ภาพที่ 14 ค่าเฉลี่ยการแตกของAnther ของข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ต่างๆ

ตารางที่ 10 แสดงการแตกของ Anther ข้าวโพดข้าวเหนียวบนสูตรอาหารทั้ง 5 สูตร

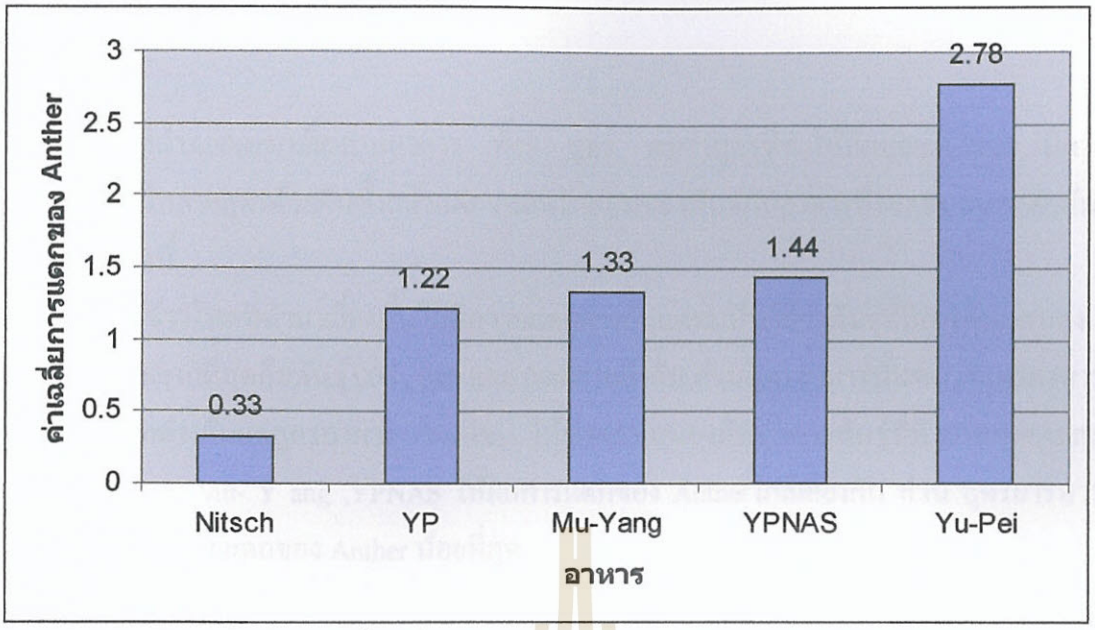
สูตรอาหาร	ค่าการแตกของ Anther
1 . Nitsch	0.33a
2 YP	1.22ab
3. Mu-Yang	1.33ab
4. YPNAS	1.44ab
5.YU-Pei	2.78b
Non significant	ns
%CV	22.8 %

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT)

: ** คือ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (highly significant)

จากตารางที่ 9 เมื่อเปรียบเทียบการแตกของ Anther บนอาหารทั้ง5 สูตรพบว่าสูตรอาหาร YP,Mu-Yang และYPNAS มีการแตกของ Antherที่ไม่แตกต่างกัน ส่วน สูตรอาหารที่มีการแตกของ anther มากที่สุดคือ Yu-Pei และสูตรอาหารที่มีการแตกของ Anther น้อยที่สุดคือ สูตรอาหาร Nitsch

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



หมายเหตุ การแตกของ Anther นั้นมีทั้งหมด 20 จุดต่อจำนวน 1 plate

ภาพที่ 15ค่าเฉลี่ยการแตกของAnther ของข้าวโพดข้าวเหนียวที่เลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ

ค่าเฉลี่ยการแตกของ Anther บนสูตรอาหารต่างๆซึ่งประกอบ ไปด้วย Mu –Yang , YP YPNAS ,Yu-Pei และ Nitsch พบว่าอาหารแต่ละสูตรทำให้มีการแตกของ Anther แตกต่างกันดังภาพที่15โดยมีค่าเฉลี่ยของการแตกของ Anther ทั้งหมดและเมื่อเปรียบสูตรอาหารกับพันธุ์ของข้าวโพดพบว่า สูตรอาหารYu-Pei ให้ผลการแตกมากที่สุดคือ 2.78จุด และรองลงมาเป็นสูตรอาหาร Mu-Yang , YP และ YPNAS ให้ผลการแตกAnther ใกล้เคียงกันแต่ Nitschทำให้เกิดการแตกของAntherน้อยที่สุดคือ0.33

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สรุปผลการทดลอง

จากที่นำAntherมาเลี้ยงบนอาหาร ทั้ง5 สูตร พบว่าสูตรที่ทำให้ลักษณะAnther มีการเปลี่ยนแปลงมีหลายสูตรด้วยกันซึ่งแล้วแต่ความเหมาะสมของพันธุ์กับอาหารที่จะตอบสนองต่อกัน โดยสรุปได้ดังนี้

พันธุ์ข้าวโพดที่นำมาเลี้ยงนั้นไม่มีความแตกต่างกันแต่จะเห็นได้ว่าพันธุ์ที่มีการตอบสนองต่อสูตรอาหารมากที่สุดคือพันธุ์ 008 , 009 และ 006 ตามลำดับ ส่วนสูตรอาหารนั้นพบว่าสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกันแต่สูตรอาหาร Yu–Pei ให้ผลตอบสนองกับทุกสายพันธุ์ที่นำมาทดลองและสูตรอาหาร YP, Mu- Y ang ,YPNAS ให้ผลการแตกของ Antherใกล้เคียงกัน ส่วน สูตรอารหาร Nitsch นั้นให้ผลการแตกของ Anther น้อยที่สุด

วิจารณ์ผล

ในการทดลองครั้งนี้ยังมีข้อผิดพราดอยู่มากอาจจะเป็นความผิดพลาดของผู้ทดลองเอง และผลที่ออกมามีข้อมูลน้อยมากเมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติทำให้ค่าที่ออกมามีเปอร์เซ็นต์ error สูง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ข้อเสนอแนะ

1 ในการทดลองครั้งนี้ต้นข้าวโพดที่ปลูกจะปลูกในกระถางและต้นข้าวโพดแต่ละชุดที่นำมาเลี้ยงในอาหารจะมีความแตกต่างกันเนื่องจากเมล็ดที่ใช้ปลูก การดูแลรักษาและสภาพแวดล้อมในแต่ละครั้งแตกต่างกันทำให้ต้นข้าวโพดสมบูรณ์ไม่เต็มที่

2 อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงอับเรณูนั้นควรจะอยู่ระหว่าง 12-20 องศาเซลเซียสและความยาวช่วงแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน

3 การทดลองจะประสบผลสำเร็จได้นั้นผู้ทำการทดลองควรคำนึงถึงปัจจัยดังนี้ ระยะการพัฒนาของละอองเรณูซึ่งแตกต่างกันในแต่ละพืชในข้าวโพดระยะที่เหมาะสมคือระยะละอองเรณูมี 1 นิวเคลียส

- เทคนิคในการฟอกฆ่าเชื้อ ก่อนทำการเพาะเลี้ยงต้องทำการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของอับเรณู
- ผู้ทำการฟอกต้องอาศัยความระมัดระวังในการทำเพื่อไม่ให้เซลล์กระทบกระเทือนหรือฉีกขาดก่อนนำไปเลี้ยงในอาหาร
- สภาพแวดล้อมต่างๆต้องคำนึงถึงความเหมาะสมในแต่ละพืช

ในการทดลองไม่มีการแตกแคลลัสขึ้นมาแต่หากมีการศึกษาว่าอาหารสูตรใดที่เหมาะสมกับพันธุ์ข้าวโพดและมีเทคนิคในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นอย่างดี อนาคตอาจจะประสบผลสำเร็จขึ้นมาได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

เอกสารอ้างอิง

เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สาราณุกรมไทยสำหรับเยาวชนฯเล่มที่28.2550. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ออนไลด์จาก: http://kanchanapisek.or.th/kp6/BOOK28

เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สาราณุกรมไทยสำหรับเยาวชนฯเล่มที่3.2541.ข้าวโพด ออนไลด์จาก :http://kanchanapisek.or.th/kp6/BOOK3/chapter2/t3-2-m.htm

นงลักษณ์ ประสาทเกสร. 2547. ชีววิทยาของพืช. ออนไลด์จาก : http://student.nu.ac.th/4610933/lesson1 .html

พิเชษฐ์ กรุดลอยมา และ สุรพงษ์ ประสิทธิ์วัฒนเสวี. 2550. ลักษณะทางพฤษศาสตร์ข้าวโพด. ออนไลด์จาก : www.doa.go.th/fiedcrops/com/oth/bot.html

รังสฤษฎ์ กาวีตะและ จุฑามาศ ร่มแก้ว. 2550.ข้าวโพด. ออนไลด์จาก : http//158.108.200.11/agron/ lesson4. shtml

สำนักงานที่ปรึกษา กรมอนามัย. 2550. การแบ่งเซลล์แบบไมโอซีส ออนไลด์จาก : http//:advisor.anamai.moph.go.th/ heathteen/ cell/meiosis.html

สมพร ประเสริฐส่งสกุล . 2549 . การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับการปรับปรุงพันธุ์พืช.ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, ปัตตานี

สุรนี ทองเหลือง. 2550. ข้าวโพดข้าวเหนียว. ศูนย์วิจัยข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ ออนไลด์จาก : www.rdi.ku.ac.th/hightech/index02.html

Edwin F. George ,David J. M.Puttock and Heather J. Ggeorge . 1987 Plant culture media Volume 1

http://th.wikipedia.org/wiki

http://www.ds.ac.th/~nongluck/homepage_nongluck/lesson4/lesson_12.html

ภาคผนวก

Aniline Blue Staining oF pollen/ pollen tubes

Materials

Faxative:10 % Acetic Acid in ethanol

1 M NaOH

50 mMKPO_4 buffer, pH 7.5 :

4.17 mL 1 MK2HPO4

0.83mL 1MKH2PO4

0.01% aniline blue in 50 % mMKPO4buffer (dry)

KPO4 buffer made with 50%glycerol (mounting media)

Method

1 Submerge pistil tissue in about 250 µL acetic acid fix for 1.5 hours or more. An eppendorf tube works well for this. Tissue can be life in fix ocernight or longer if necessary.

2 Soften tissue by Submerging tissue in 1 M NaOH overnight.

3 Wash 3 times with 50 mMKPO4 buffer. Be very gentle with the tissue because it is fragile at tissue stage

4 Stain with 200 µL aniline blue for 5-10 minutes

5 Transfer to slide, add mounting media, and observe under UV. Squash if necessary

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วัตถุประสงค์การฝึกอาชีพทางการเกษตร

1 เพื่อให้นักศึกษาได้มีโอกาสได้เรียนรู้สภาพปฏิบัติงานในสถานประกอบการจริง ก่อนสำเร็จการศึกษา

2 เพื่อเพิ่มประสบการณ์ทางด้านอาชีพและการพัฒนาตนเอง

3 เพื่อเปิดให้หน่วยงานทางภาครัฐและเอกชนได้มีส่วนร่วมในการพัฒนาคุณภาพบัณฑิต

4 เพื่อพัฒนาหลักสูตรการเรียนการสอยให้ทันสมัย

5 เพื่อส่งเสริมความสัมพันธ์ระหว่างสถานประกอบการและมหาวิทยาลัยโดยผ่านนักศึกษาผู้ไปปฏิบัติงาน

ตำแหน่ง : ผู้ช่วยนักวิจัย เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

หน้าที่รับผิดชอบ

เพาะเลี้ยงอับละอองเรณูข้าวโพดข้าวเหนียว 3 สายพันธุ์

สถานปฏิบัติงาน : สถานีวิจัยและปรับปรุงพันธุ์กาญจนบุรี บริษัทเจียไต๋ (ไร่ชนม์เจริญฟาร์ม) เลขที่ 170/1 หมู่ที่9 ตำบลวังดง อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี 17000

ระยะเวลา : 1 ภาคการศึกษา ตั้งแต่วันที่ 17 เมษายน 2550 ถึง 3 สิงหาคม 2550 ปฏิบัติงานเวลา 08.00-17.00 น. ตั้งแต่วันจันทร์ ถึงวันเสาร์

พนักงานที่ปรึกษา : คุณวินิจ พลศักดิ์ หัวหน้าแผนกเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ผู้ดูแล : ดร. สุมิตรา กันตรง ตำแหน่งรองผู้จัดการฝ่ายวิจัยและพัฒนา

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บริษัทเจียไต๋จำกัด

สถานประกอบการ บริษัทเจียไต๋ จำกัด (ไร่ชนม์เจริญฟาร์ม)เลขที่ 170/ 1 หมู่ 9 ตำบลวังดง อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี 71000

โทรศัพท์ 034-531017 โทรสาร 034-531013

ประวัติสถานประกอบการ

บริษัท เจียไต๋ จำกัด

เริ่มดำเนินธุรกิจเมล็ดพันธุ์ตั้งแต่ ปีพ.ศ. 2464 ในนามห้างเจียไต๋ ตราเครื่องบิน มีคุณเจี่ย เอ็กซอ และคุณเจี่ย เซี่ยวอุย (คุณชนม์เจริญ เจียรวนนท์) สองพี่น้องร่วมกันเป็นผู้ก่อตั้งและได้ดำเนินธุรกิจโดยส่งเมล็ดพันธุ์มาจากประเทศจีนเป็นส่วนใหญ่ หลังสงครามโลกครั้งที่ 2 คุณเจี่ย เอ็กซอ ได้ไปก่อตั้งฟาร์ม เพื่อไปคัดเลือกสายพันธุ์และขยายพันธุ์ที่เมืองซัวเถา ประเทศจีน เพื่อส่งกลับมาจำหน่ายที่ประเทศไทยจนเป็นที่เชื่อถือและไว้ใจ จนได้รับความนิยมจากเกษตรกรทั่วไปตั้งแต่นั้นมา จนกระทั่งกิจการได้เจริญรุ่งเรืองขึ้นมาเป็นลำดับและขยายงานด้านธุรกิจเกษตรด้านอื่น ๆ และได้เปลี่ยนชื่อมาเป็น บริษัท เจียไต๋ส่งเสริมการเกษตรกรรม จำกัด ในปีพ.ศ. 2502 ปัจจุบันบริษัท เจียไต๋ จำกัด คือบริษัทในกลุ่มเครือเจริญโภคภัณฑ์ ได้ดำเนินการใช้เทคโนโลยีขั้นสูงเพื่อการพัฒนาและปรับปรุงสายพันธุ์เข้ามาประยุกต์ใช้ เพื่อยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์และพืชผักต่าง ๆ เพื่อตอบสนองความต้องการของเกษตรกรและผู้บริโภค จนกิจการสามารถเจริญรุดหน้าไปอย่างรวดเร็วและปรากฏให้เห็นดังปัจจุบัน

ไร่ชนม์เจริญฟาร์ม

ไร่ชนม์เจริญฟาร์ม เป็นสถานีวิจัย ถือกำเนิดขึ้นเมื่อ 30 กว่าปีก่อน หลายคนคงนึกไม่ออกว่าผืนดินที่เคยเป็นไร่ข้าวโพดรกร้างและอยู่ห่างไกลความเจริญในตำบลวังด้ง อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี แห่งนี้ มีอะไรดี คุณวัชรชัย เจียรวนนท์ เริ่มบุกเบิกชนม์เจริญฟาร์ม ในปี 2531 หลังจากการฝึกงานด้านการปรับปรุงพันธุ์จากต่างประเทศ เขาใช้เวลาไม่นานก็สามารถบุกเบิกแปลงทดลองให้เห็นเป็นรูปเป็นร่าง งานช่วงแรก ๆ ของชนม์เจริญฟาร์ม จะเน้นไปที่การทดลองพัฒนาสายพันธุ์ผักที่เหมาะกับเมืองร้อน

ลักษณะการดำเนินธุรกิจ

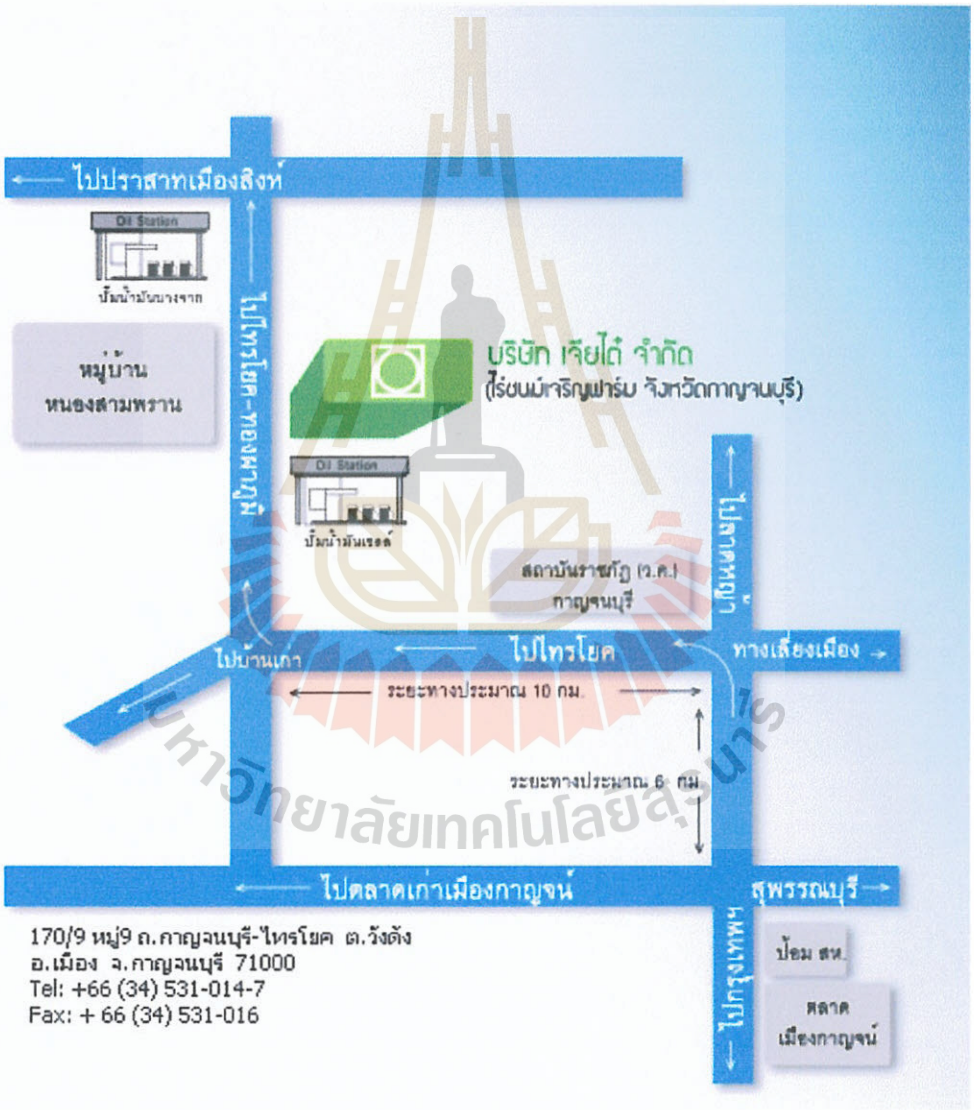
บริษัท เจียไต๋ จำกัด ประกอบด้วย 3 กลุ่มธุรกิจ ดังนี้

1. ธุรกิจเมล็ดพันธุ์ : ประกอบด้วยเมล็ดพันธุ์หลากหลายชนิดที่ได้พัฒนาและปรับปรุงสายพันธุ์ นอกจากนี้ยังมีเมล็ดพันธุ์ผักจากทั่วทุกมุมโลก เมล็ดพันธุ์ดอกไม้ เมล็ดพันธุ์ผักสวนครัวและอุปกรณ์การเกษตรต่าง ๆ อีกมากมายภายใต้เครื่องหมายการค้า “ตราเครื่องบิน” และ “ตราช่อฟ้า”

2. ธุรกิจปุ๋ยและเคมีเกษตร : ผลิตภัณฑ์และเคมีเกษตรเจียไต๋ เป็นกลุ่มผลิตภัณฑ์ที่รองรับความต้องการของเกษตรกรที่ผลิตพืชต่าง ๆ โดยผลิตภัณฑ์ปุ๋ยจัดจำหน่ายภายใต้เครื่องหมายการค้า “ปุ๋ยตรากระต่าย” และ “ตราช่อฟ้า” ส่วนผลิตภัณฑ์เคมีเกษตรจัดจำหน่ายภายใต้เครื่องหมายการค้า “เคมีเกษตรเจียไต๋”

3. ธุรกิจผักสด: มีผลิตผลที่มีคุณภาพ สะอาดและปลอดภัย ที่จัดจำหน่ายภายใต้เครื่องหมายการค้า “เจียไต๋” และ “เฟรชไจแอนท์”

แผนที่ตั้งของสถานประกอบการ



ไร่ชนม์เจริญฟาร์ม

เลขที่ 170/1 หมู่ 9 ถนน กาญจนบุรี- ไทรโยค ตำบล วังด้ง อำเภอ เมือง จังหวัด กาญจนบุรี 71000

Tel : 034-531014-7 Fax : 034-531016