เทคนิคการแยกและเลี้ยงโปรโตพลาสต์ของกล้วยไม้บางชนิด

นางสาว พรทิพย์ โล่ห์วนิชชัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาพฤกษศาสตร์
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ.2533

ISBN 974-577-853-2

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

016289

I10306444p

Techniques in Isolation and Protoplast Culture of Some Orchids

Miss Porntip Lohvanitchai

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
For the Degree of Master of Science
Department of Botany
Graduate School
Chulalongkorn University
1990

ISBN 974-577-853-2

หัวข้อวิทยานิพนธ์	เทคนิคการแยกและเลี้ยงโปรโตพลาสต์ของกล้วยไม้บางชนิด
โดย	นางสาว พรทิพย์ โล่ห์วนิชชัย
ภาควิชา	พฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย
	รองศาสตราจารย์ มนทกานติ วัชราภัย

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยาพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.อบฉันท์ ไทยทอง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ มนทกานติ วัชราภัย)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรีดา บุญ-หลง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พรทิพย์ โล่ห้วนิชชัย : เทคนิคการแยกและเลี้ยงโปรโตพลาสต์ของกล้วยไม้บางชนิด
(TECHNIQUES IN ISOLATION AND PROTOPLAST CULTURE OF SOME ORCHIDS)
อ.ที่ปรึกษา : ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย และ รองศาสตราจารย์มนทกานติ
วัชราภัย, 92 หน้า. ISBN 974-577-853-2

การแยกโปรโตพลาสต์จากกล้วยไม้ 4 สกุล แบ่งเป็น 5 ชนิด และ 1 พันธุ์ (ลูกผสม) คือ Cattleya dowiana, Dendrobium crumenatum, Den. pachyphyllum, Den. x Jaquelyn Thomas, Acriopsis indica และ Spathoglotis hybrid ได้ผลดีเมื่อใช้ cellulase R-10 1.0% และ macerozyme R-10 0.5% หรือ 1.0% ร่วมกับ mannitol ที่มีความเข้มข้นต่างกันเป็นสารรักษาความสมดุลย์ของโปรโตพลาสต์ในน้ำกลั่น โดยแยกโปรโตพลาสต์จากใบของ Den. crumenatum, Acriopsis indica และ Spathoglotis hybrid ได้เป็นจำนวนมาก แต่ใบและแคลลัสของ Cattleya dowiana, Den. pachyphyllum และ Den. x Jaquelyn Thomas กลับแยกโปรโตพลาสต์ได้น้อย

ความเข้มข้นของ mannitol ที่เหมาะสมต่อการรักษาดุลยภาพของโปรโตพลาสต์ในกล้วยไม้พวก Dendrobium และลูกผสม รวมทั้ง Acriopsis indica คือ 9.7% ส่วน Spathoglotis hybrid ต้องใช้ mannitol ที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นเป็น 9.7 - 9.8% การย่อยสลายผนังเซลล์โดยใช้เอนไซม์ของกล้วยไม้ทุกสกุลต้องใช้เวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 - 32 ^{o}C แต่ถ้าสารละลายอยู่ในที่อุณหภูมิต่ำลงคือ 24 - 27 ^{o}C จะใช้เวลาในการบ่มเพื่อย่อยผนังเซลล์มากขึ้นเป็น 10 - 14 ชั่วโมง

โปรโตพลาสต์ที่แยกได้ถูกนำไปล้างเอาเอนไซม์และเศษของเซลล์ออกไปโดยใช้สารละลายสำหรับล้างโปรโตพลาสต์ จากนั้นนำโปรโตพลาสต์ของ Acriopsis indica และ Spathoglotis hybrid ไปเลี้ยงในอาหาร 15 สูตร โดยวิธี microchamber และ microdrop การสร้างผนังเซลล์ของโปรโตพลาสต์ส่วนใหญ่เกิดขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง บางส่วนเกิดการแบ่งของไซโตพลาสซึม แล้วหยุดการเจริญและตายในเวลาต่อมา โปรโตพลาสต์ประมาณ 1% มีการแบ่งเซลล์ครั้งแรก แล้วไม่แบ่งเซลล์อีกเลย และโปรโตพลาสต์มีอัตราการอยู่รอด 30% เป็นเวลา 21 วัน รวมทั้งมีการแบ่งเซลล์ 1% ในอาหารสูตร SH-11 และ SH-12

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา พฤกษศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต พรทิพย์ โล่ห้วนิชชัย
สาขาวิชา พันธุศาสตร์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ถาวร วัชราภัย
ปีการศึกษา 2532 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม มนทกานติ วัชราภัย

พุทธศักราช สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PORNTIP LOHVANITCHAI : TECHNIQUES IN ISOLATION AND PROTOPLAST CULTURE OF SOME ORCHIDS. THESIS ADVISOR : PROF. THAVORN VAJRABHAYA, Ph.D., ASSO. PROF. MONTAKAN VAJRABHAYA, 92 PP. ISBN 974-577-853-2.

Protoplasts of five species and one hybrid of orchids belonging to four genera, Cattleya dowiana, Dendrobium crumenatum, Den. pachyphyllum, Den. x Jaquelyn Thomas, Acriopsis indica and Spathoglotis hybrid were isolated successfully by using mixture of 1.0% cellulase R-10 and 0.5 or 1.0% macerozyme R-10 in distilled water with supplemented with various concentrations of mannitol as an osmoticum. High yield of protoplasts was obtained from leaves of Den. crumenatum, Acriopsis indica and Spathoglotis hybrid, where as lower yield was obtained from both leaves and calli of Cattleya dowiana, Den. pachyphyllum, and Den. x Jaquelyn Thomas.

Optimum concentration of mannitol, used as osmoticum was 9.7% for Dendrobium species and hybrid, and Acriopsis indica; higher concentration (9.7 - 9.8%) was found to be suitable for Spathoglotis hybrid. Minimum periods of incubation for enzymatic digestion of cell wall were found to be 8 hours at 30 - 32 ^{o}C and 10 - 14 hours at 24 - 27 ^{o}C for all orchids.

After the enzymatic treatment, the protoplasts of Acriopsis indica and Spathoglotis hybrid were washed with the basic liquid medium and then cultured in fifteen different media using microchamber and microdrop techniques. Cell wall formation of most protoplasts began within 24 hours, some of them showed trace of cytokinesis which most of them stopped and later died at this stage. Only approximately 1% of the protoplasts went through the first division and none of them divided again. The best survival was found in SH-11 and SH-12 with 30% of protoplasts survived up to 21 days with 1% division.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา พฤกษศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา พันธุศาสตร์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2532 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย และรองศาสตราจารย์ มนทกานติ วัชราภัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำข้อคิดที่มีประโยชน์หลายๆด้าน และกรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ด้วยความเอาใจใส่อย่างสูง

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.อบฉันท์ ไทยทอง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรีดา บุญ-หลง กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเป็นผลให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จอย่างสมบูรณ์

กราบขอบพระคุณ คุณพิเชษฐ์ สิทธิสมบัติ ที่ได้ให้การสนับสนุนส่งเสริมกำลังใจและช่วยเหลืองานด้านต่างๆตลอดมา

ขอขอบคุณ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและการพลังงาน ที่กรุณามอบเงินอุดหนุนในการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณ คุณกิจจา หุตายน เจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนต์ ขอขอบคุณ คุณทรงศักดิ์ สำราญสุข ที่ช่วยเหลือด้านการถ่ายภาพ ขอขอบคุณ คุณวันชัย เอกสมบัติชัย ที่ช่วยเหลือจัดพิมพ์วิทยานิพนธ์ และขอขอบคุณ เพื่อนร่วมงานตลอดจนเพื่อนนิสิต ภาควิชาพฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลงด้วยดี

ท้ายสุดขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา พี่น้อง ที่ได้สนับสนุนกำลังใจและให้ความช่วยเหลือตลอดมาจนประสบความสำเร็จ

พรทิพย์ โล่ห์วนิชชัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญกราฟ ..... ฌ
สารบัญแผนภาพ ..... ญ
สารบัญภาพ ..... ฏ
อธิบายคำย่อ ..... ฒ
บทที่
1. บทนำ 1
2. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง 13
3. ผลการทดลอง 25
4. สรุปอภิปรายผลและข้อเสนอแนะ 58
เอกสารอ้างอิง 72
ภาคผนวก 81
ประวัติผู้เขียน 92

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	พืชที่สามารถแยกและเลี้ยงโปรโตพลาสต์จนเป็นต้นสมบูรณ์	9
2.	สารละลายสำหรับล้างโปรโตพลาสต์ของกล้วยไม้	18
3.	สูตรต่างๆที่ใช้เลี้ยงโปรโตพลาสต์ของกล้วยไม้	22
4.	ผลของชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์ที่มีต่อจำนวนโปรโตพลาสต์ โดยใช้ mannitol 9.6% กับ $CaCl_2$ 0.019% (จาก 6 ซ้ำ) ..	30
5.	ผลของชนิดและความเข้มข้นของสารรักษาความสมดุลย์ของออสโมซิส ที่มีต่อจำนวนโปรโตพลาสต์ โดยใช้ cellulase R-10 1.0% กับ macerozyme R-10 (จาก 6 ซ้ำ)	31
6.	ผลของอุณหภูมิและช่วงระยะเวลาในการบ่มที่มีต่อจำนวนโปรโตพลาสต์ (จาก 6 ซ้ำ)	35
7.	ผลของความเข้มแสงระหว่างการบ่มที่มีต่อจำนวนโปรโตพลาสต์ (จาก 6 ซ้ำ)	38
8.	ผลของการใช้ผ้ากรอง ขนาดผ้ากรอง 20, 30 และ 40 ไมครอน ที่มีต่อจำนวนโปรโตพลาสต์ (จาก 6 ซ้ำ)	38
9.	ผลของ centrifugation ที่มีต่อจำนวนโปรโตพลาสต์ (จาก 6 ซ้ำ)	39
10.	ผลของการเปลี่ยนอาหารของแคลลัสและต้นอ่อนกล้วยไม้ทุก 1, 2 และ 3 สัปดาห์ ความเข้มแสง 1,200 ลักส์ ที่มีต่อจำนวนโปรโต-พลาสต์ (จาก 6 ซ้ำ)	40
11.	ผลของความเข้มแสงที่ให้กับกล้วยไม้ 1 สัปดาห์ก่อนนำมาแยกโปร-โตพลาสต์ ที่มีต่อจำนวนโปรโตพลาสต์ ระยะเวลาในการเปลี่ยน อาหารทุก 1 สัปดาห์ (จาก 6 ซ้ำ)	42

สารบัญกราฟ

กราฟที่ หน้า

1. ความเข้มข้นของ mannitol ที่ใช้ในการรักษาความสมดุลย์ของออสโมซิสและจำนวนโปรโตพลาสต์/กรัม.น้ำหนักสด ของ Dendrobium pachyphyllum 33
2. ความเข้มข้นของ mannitol ที่ใช้ในการรักษาความสมดุลย์ของออสโมซิสและจำนวนโปรโตพลาสต์/กรัม.น้ำหนักสด ของ Dendrobium crumenatum 33
3. ความเข้มข้นของ mannitol ที่ใช้ในการรักษาความสมดุลย์ของออสโมซิสและจำนวนโปรโตพลาสต์/กรัม.น้ำหนักสด ของ Acriopsis indica 34
4. ความเข้มข้นของ mannitol ที่ใช้ในการรักษาความสมดุลย์ของออสโมซิสและจำนวนโปรโตพลาสต์/กรัม.น้ำหนักสด ของ Spathoglotis hybrid 34
5. อุณหภูมิ 30-32 °C และช่วงระยะเวลาในการบ่มโปรโตพลาสต์และจำนวนโปรโตพลาสต์/กรัม.น้ำหนักสด ของ Acriopsis indica และ Spathoglotis hybrid 37
6. อุณหภูมิ 24-27 °C และช่วงระยะเวลาในการบ่มโปรโตพลาสต์และจำนวนโปรโตพลาสต์/กรัม.น้ำหนักสด ของ Acriopsis indica และ Spathoglotis hybrid 37
7. การเปลี่ยนอาหารทุก 1, 2 และ 3 สัปดาห์ ความเข้มแสง 1,200 ลักส์ และจำนวนโปรโตพลาสต์/กรัม.น้ำหนักสด 41
8. ความเข้มแสง 0, 1,200 และ 1,600 ลักส์ที่ให้กับกล้วยไม้ 1 สัปดาห์ และจำนวนโปรโตพลาสต์/กรัม.น้ำหนักสด 43

สารบัญแผนภาพ

แผนภาพที่ หน้า

1. ขั้นตอนการทดลองโดยสังเขป 15

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.	การเลี้ยงโปรโตพลาสต์บนแผ่นสไลด์แบบ microchamber technique	20
2.	แคลลัสของ Cattleya dowiana ที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสูตร ก (กำลังขยาย x 0.9)	26
3.	แคลลัสของ Dendrobium x Jaquelyn Thomas ที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสูตร ก (กำลังขยาย x 0.9)	26
4.	แคลลัสของ Dendrobium pachyphyllum ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสูตร ก (กำลังขยาย x 0.9)	26
5.	แคลลัสของ C. dowiana ที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสูตร ค (กำลังขยาย x 0.9)	26
6.	แคลลัสของ Den. x Jaquelyn Thomas ที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสูตร ค (กำลังขยาย x 0.9)	26
7.	แคลลัสของ Den. pachyphyllum ที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสูตร ค (กำลังขยาย x 0.9)	26
8.	ต้น C. dowiana ในสูตรอาหารชักนำให้เกิดต้นสูตร ข หรือ สูตร ง ที่เจริญจากแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสูตร ก (กำลังขยาย x 0.4)	27
9.	ต้น Den. x Jaquelyn Thomas ในสูตรอาหารชักนำให้เกิดต้นสูตร ข หรือ สูตร ง ที่เจริญจากแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสูตร ก (กำลังขยาย x 0.4)	27
10.	ต้น Den. pachyphyllum ในสูตรอาหารชักนำให้เกิดต้นสูตร ข หรือ สูตร ง ที่เจริญจากแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสูตร ก (กำลังขยาย x 0.4)	27
11.	ต้น C. dowiana ในสูตรอาหารชักนำให้เกิดต้นสูตร ข หรือ สูตร ง ที่เจริญจากแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสูตร ค (กำลังขยาย x 0.4)	27

ภาพที่ หน้า

12. ต้น Den. x Jaquelyn Thomas ในสูตรอาหารชักนำให้เกิดต้น สูตร ข หรือ สูตร ง ที่เจริญจากแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสูตร ค (กำลังขยาย x 0.4) 27
13. ต้น Den. pachyphyllum ในสูตรอาหารชักนำให้เกิดต้นสูตร ข หรือ สูตร ง ที่เจริญจากแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสูตร ค (กำลังขยาย x 0.4) 27
14. protocorm ของกล้วยไม้ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตร ข หรือ สูตร ง (กำลังขยาย x 0.4) 28
15. ต้น C. dowiana ของกล้วยไม้ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหาร สูตร ข หรือ สูตร ง (กำลังขยาย x 0.4) 28
16. ต้น Den. crumenatum ของกล้วยไม้ที่ได้จากการเพาะเมล็ดใน อาหารสูตร ข หรือ สูตร ง (กำลังขยาย x 0.4) 28
17. ต้น Acriopsis indica ของกล้วยไม้ที่ได้จากการเพาะเมล็ดใน อาหารสูตร ข หรือ สูตร ง (กำลังขยาย x 0.4) 28
18. ต้น Spathoglotis hybrid ของกล้วยไม้ที่ได้จากการเพาะเมล็ด ในอาหารสูตร ข หรือ สูตร ง (กำลังขยาย x 0.4) 28
19. โปรโตพลาสต์ของ C. dowiana ที่แยกได้ หลังจากล้างเอา เอนไซม์ออกแล้ว (กำลังขยาย x 150, x 300) 44
20. โปรโตพลาสต์ของ Den. x Jaquelyn Thomas ที่แยกได้ หลัง จากล้างเอาเอนไซม์ออกแล้ว (กำลังขยาย x 150) 44
21. โปรโตพลาสต์ของ Den. pachyphyllum ที่แยกได้ หลังจากล้าง เอาเอนไซม์ออกแล้ว (กำลังขยาย x 150) 44
22. โปรโตพลาสต์ของ Den. crumenatum ที่แยกได้ หลังจากล้าง เอาเอนไซม์ออกแล้ว (กำลังขยาย x 150) 44
23. โปรโตพลาสต์ของ Acriopsis indica ที่แยกได้ หลังจากล้าง เอาเอนไซม์ออกแล้ว (กำลังขยาย x 150, x 238) 45
24. โปรโตพลาสต์ของ Spathoglotis hybrid ที่แยกได้ หลังจาก ล้างเอาเอนไซม์ออกแล้ว (กำลังขยาย x 150, x 238) 46
25. โปรโตพลาสต์ของ Spathoglotis hybrid หลังจากแยกด้วย เอนไซม์ ย้อมด้วย Calcofluor White (กำลังขยาย x 340) 48

ภาพที่ หน้า

26. โปรโตพลาสต์ของ Spathoglotis hybrid หลังจากเลี้ยงในอาหาร 5 ชั่วโมง ย้อมด้วย Calcofluor White (กำลังขยาย x 340) 48
27. โปรโตพลาสต์ของ Spathoglotis hybrid หลังจากเลี้ยงในอาหาร 24 ชั่วโมง ย้อมด้วย Calcofluor White (กำลังขยาย x 340) 48
28. โปรโตพลาสต์ของ Spathoglotis hybrid หลังจากเลี้ยงในอาหาร 25 ชั่วโมง ย้อมด้วย Calcofluor White (กำลังขยาย x 340) 48
29. โปรโตพลาสต์ของ Acriopsis indica หลังจากเลี้ยงในอาหาร B_5-1 ประมาณ 2 วัน (กำลังขยาย x 150) 54
30. โปรโตพลาสต์ของ Acriopsis indica หลังจากเลี้ยงในอาหาร B_5-2 ประมาณ 3 วัน (กำลังขยาย x 150) 54
31. โปรโตพลาสต์ของ Acriopsis indica หลังจากเลี้ยงในอาหาร B_5-2 ประมาณ 3 วัน (กำลังขยาย x 150) 54
32. โปรโตพลาสต์ของ Acriopsis indica หลังจากเลี้ยงในอาหาร B_5-3 ประมาณ 3 วัน (กำลังขยาย x 150) 54
33. โปรโตพลาสต์ของ Spathoglotis hybrid หลังจากเลี้ยงในอาหาร B_5-3 ประมาณ 3 วัน (กำลังขยาย x 150) 54
34. โปรโตพลาสต์ของ Acreopsis ridleyii หลังจากเลี้ยงในอาหาร SH-3 ประมาณ 3 วัน (กำลังขยาย x 150) 54
35. โปรโตพลาสต์ของ Spathoglotis hybrid หลังจากเลี้ยงในอาหาร SH-3 ประมาณ 3 วัน (กำลังขยาย x 150) 55
36. โปรโตพลาสต์ของ Spathoglotis hybrid หลังจากเลี้ยงในอาหาร SH-4 ประมาณ 3 วัน (กำลังขยาย x 150) 55
37. โปรโตพลาสต์ของ Spathoglotis hybrid หลังจากเลี้ยงในอาหาร SH-5 ประมาณ 1 สัปดาห์ (กำลังขยาย x 150) 55
38. โปรโตพลาสต์ของ Spathoglotis hybrid หลังจากเลี้ยงในอาหาร SH-6 ประมาณ 3 วัน (กำลังขยาย x 150) 55

ภาพที่ หน้า

39. โปรโตพลาสต์ของ Spathoglotis hybrid หลังจากเลี้ยงในอาหาร SH-8 ประมาณ 10 วัน (กำลังขยาย x 150) 56
40. โปรโตพลาสต์ของ Acriopsis indica หลังจากเลี้ยงในอาหาร SH-9 ประมาณ 7 วัน (กำลังขยาย x 150) 56
41. โปรโตพลาสต์ของ Spathoglotis hybrid หลังจากเลี้ยงในอาหาร SH-9 ประมาณ 7 วัน (กำลังขยาย x 150) 56
42. โปรโตพลาสต์ของ Acriopsis indica หลังจากเลี้ยงในอาหาร SH-10 ประมาณ 3 วัน (กำลังขยาย x 300) 56
43. โปรโตพลาสต์ของ Spathoglotis hybrid หลังจากเลี้ยงในอาหาร SH-10 ประมาณ 3 วัน (กำลังขยาย x 300) 56
44. โปรโตพลาสต์ของ Acriopsis indica หลังจากเลี้ยงในอาหาร SH-11 ประมาณ 3 วัน (กำลังขยาย x 300) 57
45. โปรโตพลาสต์ของ Acriopsis indica หลังจากเลี้ยงในอาหาร SH-12 ประมาณ 3 วัน (กำลังขยาย x 300) 57
46. โปรโตพลาสต์ของ Spathoglotis hybrid หลังจากเลี้ยงในอาหาร SH-12 ประมาณ 3 วัน (กำลังขยาย x 150) 57

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อธิบายคำย่อ

μ M	: micro-molar
2,4-D	: 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
BAP	: 6-Benzylaminopurine
GA_3	: Gibberellic acid
IAA	: Indole-3-acetic acid
IBA	: Indole-3-butyric acid
IPA	: 2-Isopentenyladenine
kinetin	: 6-Furfurylaminopurine
NAA	: α-Naphthalene-acetic acid
zeatin	: 6-(4-Hydroxy-3-methylbut-2-enylamino)-purine
TEM	: Transmission Electron Microscope
SEM	: Scanning Electron Microscope

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย