บรรณานุกรม

กนกพร ทีฆะสังข์. 3 มกราคม 2532. ถกปัญหาสาละวันเตี้ยลงของถั่วเหลืองในเมืองไทย. เดลินิวส์. หน้า 11.

เกียรติ กาญจนพิสุทธิ์ มรินธรรม สัจจ์ถาวร อดุลย์ พงศ์สุวรรณ บรรณ บูรณะ และ ลิขิต เอียดแก้ว. 2531. ถั่วเหลือง. กรุงเทพฯ: มิตรสยาม

บุญกุล บรรจบราษฎร์. 2533 เนื้อเยื่อพืช. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

บุญยืน กิจวิจารณ์. 2528. การเพาะเลี้ยงเยื่อพืช. ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ประสาทพร สมิตะมาน. 2528. โปรโตพลาสต์ เทคนิคการเลี้ยงและการประยุกต์ใช้. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พงศ์ยุทธ นวลบุญเรือง วันชัย ดีเอกนามกุล สัณห์ พณิชยกุล. 2533 การชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสของถั่วเหลือง. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 16, สถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ

--------. 2534. "โปรโตพลาสต์จากเซลล์เพาะเลี้ยงของถั่วเหลือง" การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 17,มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

ไพบูลย์ กรินเลิศวัฒนา. 2524. หลักการและวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.

วิชาการเกษตร,กรม. 2530 . เอกสารแนะนำพันธุ์พืชของกรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ: สยามรัฐ.

วิชชา สอาดสุด. 2524. เทคนิควิจัยทางด้านโรคพืช. เชียงใหม่:

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ส่งเสริมการเกษตร,กรม. ถั่วเหลือง . เอกสารวิชาการชุดพืชศาสตร์ที่ 3. กรุงเทพฯ: ศูนย์การทหารราบ.

Barz, W., Reingard, E., and Zenk, M.H. 1977. Plant tissue culture and its bio-technological application. Berlin : Springer-Verlag

Battey, J.F. , Schmid, K.M. ,and Ohlrogge, J.B. 1989. Genetic engineering for plant oils: potential and limitations. Trend in Biotechonlogy. 7: 122-126

Beversdorf, W.D., and Binghen ,E.T. 1977. Degree of differentiation obtained in tissue culture of Glycine species. Crop Science . 17: 307-311

Cheng, T., Saka, H. ,and Vogui-dinh, T. 1980. Plant regeneration from soyban cotyledonary node segments in culture. Plant Science Letters. 19: 91-99

Choltikul, B. 23 February 1989. As soybean controversy heads for national policy omittee. The Nation. p 23-24

Chowhury, V.K.,and Widholm , J.M. 1985. Callus production from photoautotrophic soybean cell culture protoplasts. Plant Cell Reports. 4: 289-292

Cutler, A.J., and Saleem, M. 1987 . Permeabilizing soybean protoplasts to macromolecules using electoporation and

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

hypotonic shock . Plant Physiology. 83 : 24-28

Dhir, S.K., Dhir ,S., Sturtevant, A.P., and Widholm , J.M. 1991 Regeneration of transformed shoot from electoporated soybean (Glycine max L. Merr.) protoplasts. Plant Cell Reports. 10: 97-101

Dixon, R.A. 1985. Plant cell culture : Apractical approach. Washington D.C.: IRL Press.

Ferriara C.M., Handro W. 1987. Micropropagation of Stevia rebaudiana through leaf explants from adult plants. Planta Medica . 53:157-160.

Finer, J.J. 1988. Apical proliferation of embryogenic tissue of soybean (Glycine max L.Merr.). Plant Cell Reports. 7: 238-241

Fowke,L.C., and Constabel, F. 1985. Plant protoplasts. Florida: CRC Press,Inc.

Freytag,A.H., Rao-Arelli A.P.,Anand ,S.C. ,Wrather,J.A., and Owens, L.D. 1989. Samaclonal variation in soybean plants regenated from tissue culture , Plant Cell Reports. 8: 199-202

Gamborg .O.L. 1970 .The effects of amino acids and ammonium or the growth of plant cells in suspension. Plant Physiology. 45:372-375

Gamborg ,O.L., Davis ,B.P., and Stahlhut ,R.W. 1983.

Cell division and differentiation in protoplasts from cell cultures of Glycine species and ldeaf tissue of soybean. Plant Cell Reports. 2: 213-215

--------. 1983. Somatic embryogenesis in cell cultures of Glycine species. Plant Cell Reports. 2: 209-212

Gamborg , O.L.,Miller, R.A., and Ojima ,K. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Experimental Cell Research. 50: 151-158

Ghazi, T.D., Cheema ,H.V.,and Nabors, M.W. 1986. Somatic embryogenesis and plant regeneration from embryogenic callus of soybean(Glycine max). Plant Cell Reports.5:452-456

Graybosch ,R.A., Edge,M.E., and Delannay X. 19987. Samaclonal variation in soybean plant regenerated from the cotyledonary node tissue culture system. Crop Science. 27:803-806

Greenberg ,J.M., Thompson,J.F.,and Madison ,J.T. 1988. Hemoserine kinase and threonine synthase in methionine-overproducing soybean tissue cultures. Plant Cell Reports. 7:477-480

Hartwick,L.M., Lazzeri,P.A.,Cui,D.,Collins, G.B., and Willians, E.G. 1988. Auxin-orientation effects on somatic embryogenesis from immature soybean

cotyledons. In Vitro Cellular and Developmental Biology. 24:821-828

Hemphill,J.K., and Eikenberry, E.T. 1987 . Process for regenerating soybeans.US Patent 4,684,612.

Herms,F.J. 1985. Protoplast culture and plant regeneration in Glycine caneescens. Plant Cell Tissue Organ Culture. 4: 145-149

Hilderbrand,D.F., Phillips,G.C., and Collins,G.B. 1986. Soybean(Glycine max L. Merr.) In Y.P.S. Bajaj (ed). Biotechnology in Agreculture and Forestry, p.283-308. Berlin:Spriger-Verlag.

Hinchee,M.A., et al. 1988. Production of transgenic soybean plant using Agobacterium -mediated DNA transfer. Bio/Technology 6: 915-955

Hsu,F.C., and Obendorf, R.L. 1982. Compositional analysis of in vitro matured soybean seeds. Plant Science Letters. 27:129-135

Hymowitz,T., Chalmers,N.L., Costanzu, S.H., and Saam,M.M. 1986. Plant reganeration from leaf explants of Glycine clandestina Wendl. Plart Cell Reports. 3: 192-194

Ingram,O.S.,and Helgeson,J.P. 1983 .Tissue culture Methods for Plant Pathlogists. Oxford: Blakwell Scientific Publication.

International Rice Research Inslitute. 1985 Biotechnology in Intermational Agricultural Research. Proceeding of the Inten- Center Seminar on International Agricultural Research Centers(IARC) and Biotechnology. Phillippines.

Is soybean transformation finally here? 1988. Trend in Biotechonlogy. 6: 265-266

Jia-Ping,Z., Jill Roth, E., Terzaghi,W., and Lork, G.1981. Isolation of sodium dependent variens from haploid soybean cell culture. Plant Cell Reports. 1: 48-51

Kao, K.N. 1977 Chromosomal behaviour in somatic hybrids of soybean-Nicotianal glauca. Molecular and General Genetics .150:225-230

Kao, K.N.,and Michayluk,M.R. 1975.Nutritional Requirement for growth of Vicia hajastana cell and Protoplasts at a very low population density in liquid mcdia.Planta. 126: 105-110

Kameya,T., and Widholm, J.1981. Plant regeneration from hypocotyl sections of Glycine species. Plant Science Letters. 21:289-294

Kartha,K.K.,Pahl, K.,Leung,N.L.,and Mroginski,L.A., 1981. Plant regeneration from meristem of grain legumes: soybean, cowpea, peanut, chickpea, and bean.

Canadian Journal of Botany. 59:1671-1675

Kerns,H.R.,Barwale,U.B., Myer Jr., M.M., and Widholm J.M. 1986.Correlation of cotyledonary nade shoot proliferation and samatic embryoid development in suspension culture of soybean (Glycine max L. Merr.) . Plant Cell Reports. 5: 140-143

Kukreja A.K., Mathur , A.K., and Ahuja, P.S. 1986. Morphogenic potential of foliar explant in Duboisia myoporoides R. Br.(Solanaceae). Plant Cell Reports. 5:27-30.

Lazzeri,P.A., Hilderbrand, D.F., and Collins,G.B. 1985 . A procedure for plant regeneration from immature cotyledon tissue of soybean. Plant Moleculan Biology Reporter .3:160-167

--------.1987. Soybean samatic embryogenesis:Effect of hormones and culture manipulations. Plant Cell Tissue and Organ Culture . 10:197-208

--------. 1987. Soybean somatic embryogenesis : Effect of nutritional physical and chemical factor .: Plant Cell Tissue and Organ Culture . 10:209-220

Lazzeri, P.A., Hilderbrand, D.F., Sunega J. Williams, E.G., and Clotins, G.B., 1988. Soybean samatic embryogensis: Interaction between sucrose and auxin.Plant Cell Reports. 7: 517-520

Li, B.J., Langridge,W.H.R, and Szalgy ,A.A. 1985 .Somatic embryogenesis and planlet regeneration in the soybean Glycine max. Plant Cell Reports. 4: 344-347.

Lippmann,A., and Lippmann, G.1984. Induction of somatic embryos in cotyledonary tissue of soybean, Glycine max L. Plant Cell Reports . 3: 215-218

Mantell,S.H., and Smith,H. 1986. Plant Biotechnology. Sydney : Cambridge University Press.

McCabe,D.E., Swain,W.F., Martinell, B.J.,and Christou,P. 1988. stable Trmsformation of soybean.(Glycine nax) by particle accleration . Bio/Technology . 6: 923-926.

Miller,R.A., Gamborg .O.L., Keller,W.A., and Kao. 1971. Fusion and division of nuclei in Multinucleated soybean protoplats. Canadian Journal of Genetically Cytology. 13:347-353

Murashige,T.,and Skoog,F.1962. A reversed medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Phhysiologia Plantarum. 15:473-497

Myers, J.R., Lazzeri,P.A.,and Collins, G.B. 1989 .Plant regeneration of wilds Glycine species from suspension culture-derived protoplasts.Plant Cell Reports. 8: 122-115

Owens,L.D., and Smigocki ,A.C. 1988.Transformation of soybean cell using mixed strains of Agrobacterium tumefacicns and phenolic compounds. Plant Physiology . 88:570-573

Pais,M.S., Mavituna ,F., and Novais,J.M. 1988. Plant Cell Biotechnology Berlin: Springer-Verlag.

Parrott,W.A., Dryden ,G., Vogt , S., Hilderbrand, D.F., Collins ,G.B., and Williams,E.G. 1988 . Optimization of somatic embryogenesis and embryo germination in soybean . In Vitro Cellular and Developmontal Biology . 24 : 817-820

Pedersons c., Christiansen J., and R. Wyndaele. 1983 Induction and in vitro culture of soybean crown gall tumors. Plant Cell Reports. 2:201-204

Phillips, G.C., and Collins G.B. 1979. In vitro culture of selected legumes and plant regeneration from callus culture of red clover . Crop Science .19: 59-64

Pierik, R.L.M. 1987. In Vitro culture of Higher Plants. Lancaster : Martius Nijhof Publishers.

Pilet,R.E., 1985, The Physiological Properties of Plant Protoplasts Berlin: Spinger-Verlag

Raghavan,V.1986.Embryogenesis in Angiosperms : A Developument and Experimental Study.

Cambridge: Camridge University Press

Saka,H., Voqui-Dihn, T. snd Cheng,T. 1880 .Stimulation of multiple shoot formation of soybean stem nodes in culture.Plant Scienee Letter. 19:193-201

Schwenk, F.W., Pearson, C.A., and Roth ,M.R. 1981 . Soybean Mesophyll Protoplasts. Plant Scienec Letter . 23:153-155

Tisserat,B. 1985 .Embryogenesis , Organonencsis and Plant Regeneration In.R.A. Dixon (ed). Plant Cell culture : A practical Approach. pp 79-106. Washington D.C.: IRL press

Wang ,Y., K lein, T.M.,Fromm , M., Cao, J., Sanford, J.C., and Wu,R. 1988. Transeint expression of foreign genes in rice, wheat and soybean cells following partical bombardment. Plant Molecular Biology . 11: 433-439

Wang, W.C.,and Nguyen, H. T. 1990. A novel approach for efficeint plant regeneration from long term suspension culture of wheat. Plant Cell Report. 8:639-642

Wei, Z., and Xu,Z.1988. Plant regeneration from protoplasts of soybean (Glycine max L.). Plant Cell Reports . 7: 348-351

Widholm,J., and Rick , S. 1983. Shoot regeneration from Glycine canescens tissue cultures. Plant

Cell Reports. 2: 19-20

Wright, M.S.,Kochler, S.M. Hinchee, M.A., and Carnes, M. G., 1986. Plant regeneration by organogenesis in Glycine max Plant Cell Reports . 5: 150-154

Wright, M.S., Kochler, S.M., Hinchee, M.A., and Carnes , M.G. and Kanfman, R.J. 1987. Regeneration of soybean (Glycine max) form cultured primary leaf leaf tissue. Plant Cell Reports. 6: 83-89

Xu.Z-H, Davey,M.K., and Cocking ,E.C.1982. Callus formation from root protoplasts of Glycine max . Plant Science Letter . 24:111-115

Yeoman,M.M. 1986.Plant Cell Culture Technlogy . Oxford: Blackwell Scientific Publications

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 1

สูตรอาหารของ Murashige and Skoog (1962)

Macronutrients	มก./ล.
NH_4NO_3	1650
KNO_3	1900
$CaCl_2.2H_2O$	440
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
Micronutrients	**มก./ล.**
H_3BO_3	6.2
$MnSO_4.H_2O$	6.9
$ZnSO_4.H_2O$	6.14
KI	0.83
$Na_2M_0O_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025

Iron	มก./ล.
Sodium EDTA	37.25
$FeSO_4.\ 7H_2O$	27.85
Organic component	**มก./ล.**
Glycine	2
Nicotinic acid	0.5
Pyridixin-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Sucrose	30 กรัม/ลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 2

สูตรอาหาร Gamborg B5 medium (1970)

Macronutrients	มก./ล.
$CaCl_2.2H_2O$	150
$NaH_2PO_4.H_2O$	150
KNO_3	2500
$MgSO_4.7H_2O$	250
$(NH_4)_2SO_4$	134

Micronutrients	มก./ล.
H_3BO_3	3.0
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
$CuSo_4$	0.025
KI	0.750
$MnSO_4.H_2O$	10.0
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$ZnSO_4.7H_2O$	2.0

Iron	มก./ล.
NaFeEDTA	28.0

Organic components	มก./ล.
myoinositol	100.0
nicotinic acid	1.0
Pyridoxine-HCl	1.0
thiamine-HCl	10.0
sucrose	30 กรัม/ลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 3

สูตรอาหาร RV-5

Inorganic salt ของอาหารสูตร MS

sucrose 20 กรัมต่อลิตร

Vitamin (มก./ล.)

P-Aminobenzoic acid	0.2
Ascorbic acid	0.4
Nicotinic acid	0.5
d-Panthothenic acid	0.4
Pyridoxine-HCl	0.5
Riboflavin	0.015
Thiamine-HCl	1.0

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Amino acid

L-Arginine	40
L-Asparagine	40
Glycine	20
L-Glutamine	60

ภาคผนวกที่ 4

สูตรอาหาร K8P medium

	มก./ล.		มก./ล.
NH_4NO_3	600	KI	0.75
KNO_3	1900	H_3BO_3	3
$CaCl_2.2H_2O$	600	$ZnSO_4.7H_2O$	10
$MgSO_4.7H_2O$	300	$Na_2MoO_4.2H_2O$	2
KH_2PO_4	170	$CuSO_4.5H_2O$	0.25
KCl	300	$CoCl_2.6H_2O$	0.025
Sequestrene 300 Fe	28	Biotin	0.01
Inositol	100	Choline chloride	1
Nicotinamide	1	Riboflavin	0.2
Pyridoxine HCl	1	Ascorbic acid	2
Thiamine HCl	1	Vitamin A	0.01
D-ca-Pantothenate	1	Vitamin D_3	0.01
Folic acid	0.40	Vitamin B_{12}	0.02
P-Aminobenzoic acid	0.02	Sodium Pyruvate	0.5
Malic acid	40	Citric acid	20
Fumaric acid	40	Fructose	40
Rhamnose	250	Ribose	250
Cellobiose	250	Xylose	250
Sorbitol	250	Mannose	250
Mannitol	250		
Vitamin-free casamino acid	250	Coconut water	20 มล./ล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 5

การเตรียม stock MS

Stock Ia NH_4NO_3 24.75 กรัม $MnSo_4.4H_2O$ 0.3345 กรัม

KH_2PO_4 2.55 กรัม $ZnSO_4.7H_2O$ 0.159 กรัม

H_3BO_3 0.093 กรัม

ปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 300 มล. ใช้ 20 มล.ต่ออาหาร 1 ลิตร

Stock Ib KNO_3 28.5 กรัมปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 300 มล.

ใช้ 20 มล. ต่ออาหาร 1 ลิตร

Stock II KI 0.083 กรัม $CuSO_4.5H_2O$ 0.0025 กรัม

$Na_2MoO_4.2H_2O$ 0.025 กรัม $CoCl_2.6H_2O$ 0.0025 กรัม

ปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 200 มล.ใช้ 2 มล.ต่ออาหาร 1 ลิตร

Stock III $CaCl_2 .2H_2O$ 13.2 กรัมปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 300 มล.

ใช้ 10 มล. ต่ออาหาร 1 ลิตร

Stock IV $MgSO_4.7H_2O$ 10 กรัมปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 300 มล. ใช้

10 มล. ต่ออาหาร 1 ลิตร

Stock V Na_2 EDTA 0.9325 กรัม

Fe $SO_4.7H_2O$ 0.695 กรัม

ปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 250 มล. ใช้ 10 มล.ต่ออาหาร 1 ลิตร

Stock VI myoinositol 6 กรัม

nicotinic acid 0.030 กรัม

amino glycine 0.12 กรัม

pyridoxine HCl 0.03 กรัม

Thiamine HCl 0.006 กรัม

ปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 300 มล. ใช้ 5 มล. ต่ออาหาร 1 ลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 6

การเตรียม Stock B5

Major Salt Solution

$Na_2HPO_4.4H_2O$	3 กรัม
$(NH_4)_2SO_4$	2.68 กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	5 กรัม
KNO_3	50 กรัม
KI	15 กรัม

ปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 1 ลิตร ใช้ 50 มล.ต่ออาหาร 1 ลิตร

Ca Stock

$CaCl_2.2H_2O$	15 กรัม

ปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 1 ลิตร ใช้ 10 มล. ต่ออาหาร 1 ลิตร

Fe EDTA Stock

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Na_2 EDTA	3.73 กรัม
$FeSo4.7H_2O$	2.78 กรัม

ปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 1 ลิตร ใช้ 10 มล.ต่ออาหาร 1 ลิตร

Vitamin Stock

Nicotinic acid	50 มก.
Thiamine-HCl	500 มก.
Pyridoxine-HCl	50 มก.
myoinositol	5 มก.

ปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 500 มล.เก็บไว้ในที่อุณหภูมิ -20 °c

Micronutrient stock

$H_3 BO_3$	300 มก.
$MnSO_4.H_2O$	1 กรัม
$ZnSO_4.7H_2O$	200 มก.
$Na_2MoO_4.2H_2O$	25 มก.
$CuSO_4.5H_2O$	2.5 มก.
$CoCl_2.6H_2O$	2.5 มก.

ปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 1 ลิตรใช้ 10 มล. ต่ออาหาร 1 ลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 7

สูตรของ สารละลาย CPW ที่ใช้ในการแยกโปรโตพลาสต์

KH_2PO_4	27.2	มก./ล.
KNO_3	101.0	มก./ล.
$CaCl_2.2H_2O$	1480.0	มก./ล.
$MgSO_4.7H_2O$	246.0	มก./ล.
KI	0.16	มก./ล.
$CuSO_4.5H_2O$	0.025	มก./ล.

ปรับ pH ให้เป็น 5.8

ภาคผนวกที่ 8

การเตรียม Fluorescein diacetate เพื่อใช้ในการดูเซลล์ที่มีชีวิต

ละลาย fluorescein diacetete 1-5 มก. ใน acetone 1 มล. เก็บไว้เป็น stock ที่ 0 °C ในที่มืด เมื่อต้องการจะใช้จึงดูดมา 30 ไมโคร ลิตรผสมกับ CPW 10M 470 ไมโครลิตร แล้วดูดมา 1 หยดผสมกับโปรโตพลาสต์ 1 หยดทิ้งไว้ 5 นาที จึงไปดูใต้กล้อง fluorercence microscopy เซลล์ที่มีชีวิตจะเรืองแสงฟลูออเรสเซนส์เนื่องจากเซลล์ที่มีชีวิตจะมีเอนไซม์เอสเทอเรสที่จะ deacetylate ฟลูออเรสซีนไดอะซีเตท ได้เป็นฟลูออเรสเซนส์อิสระ

ภาคผนวกที่ 9

การเตรียมสี fluorescense bitener เพื่อย้อมสีผนังเซลล์

ละลาย fluorescense bitener 0.001 กรัม ใน CPW 10M 10 มล.จากนั้นดูดมา 1 หยดผสมกับ โปรโตพลาสต์ 1 หยด นำไปส่องดูด้วยกล้อง Fluorescense microrcopy

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 10

การคำนวณหาปริมาณโปรโตพลาสต์โดยใช้ haemacytometer

เนื่องจากในแต่ละช่องหลักจะมีเนื้อที่เท่ากับ 1/400 sq.mm.

แต่ช่องที่นับมีช่องเล็กเท่ากับ 25 x 16 ช่อง

จะมีพื้นที่เท่ากับ $\frac{25 \times 16 \times 1}{400}$ sq.mm.

เมื่อใส่โปรรโตพลาสต์จะมีความลึกเท่ากับ 1/10 mm.

ปริมาตรรโปรโตพลาสต์ ที่ 1 ช่องใหญ่ เท่ากับ

$25 \times 16 \times 1/400 \times 1/10$ mm^3

แต่ช่องที่เรานับจะมีพื้นที่เท่ากับ 8/16 ของช่องใหญ่

เมื่อนับโปรโตพลาสต์ สมมติว่าได้ X โปรโตพลาสต์

ปริมาตร 25x16x1/400x1/30x16/8 จะมีโปรโตพลาสต์ X

โปรโตพลาสต์แต่ 1 มล. เท่ากับ 10 x 10 x 10 mm^3

1 มล. จะมีโปรโตพลาสต์เท่ากับ $\frac{X \times 10 \times 10 \times 10}{25 \times 16 \times 1/400 \times 1/10 \times 16/8}$

จะมีโปรโตพลาสต์เท่ากับ X x 5000 โปรโตพลาสต์/มล.

ภาคผนวกที่ 11

แสดงน้ำหนักของแคลลัสที่เลี้ยงในอาหาร B5 เสริมด้วย BA 1 มก./ล.

และ NAA 0.15 มก./ลง ในแต่ละสัปดาห์

สัปดาห์ที่	น้ำหนักแคลลัส (กรัม)			น้ำหนักแคลลัสเฉลี่ย (กรัม)
1	0.0105	0.0145	0.0143	0.0150
	0.0183	0.0218	0.0158	
2	0.0292	0.0236	0.0262	0.0248
	0.0187	0.0218	0.0293	
3	0.0803	0.0856	0.0914	0.0655
	0.0746	0.0280	0.0334	
4	0.0858	0.1284	0.0833	0.1128
	0.2192	0.0718	0.0884	
5	0.2203	0.1296	0.2271	0.1805
	0.1555	0.1453	0.1655	
6	0.1785	0.2585	0.2909	0.2247
	0.2272	0.2325	0.1811	
7	0.1577	0.2041	0.2698	0.2124
	0.1808	0.1923	0.2700	
8	0.1581	0.1536	0.2524	0.2217
	0.2547	0.2496	0.2623	
9	0.0963	0.1282	0.2303	
	0.1522	0.1809	0.1966	

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 12

ตารางแสดงจำนวนโปรโตพลาสต์ที่แยกได้จากแคลลัสที่ความเข้มข้นของ

เซลลูเลสและมาเซโรไซม์ต่าง ๆ กัน

ความเข้มข้นของเอนไซม์	ปริมาณโปรโตพลาสต์/มล.			เฉลี่ย	%viability
	rep1	rep2	rep3		
0.5:0.5	50,000	17,000	17,000	28,000	68
1 :0.5	17,000	57,000	45,000	39,666	65
2 :0.5	50,000	57,000	50,000	45,666	60
3 :0.5	80,000	100,000	100,000	93,333	72
4 :0.5	150,000	130,000	150,000	143,333	70

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 13

ตารางแสดงจำนวนโปรโตพลาสต์ที่ได้จากแคลลัสที่แยกได้เมื่อใช้ แคลลัสน้ำหนักต่าง ๆ กันต่อเอนไซม์ 3 มล.

น้ำหนักแคลลัส (กรัม)	ปริมาณโปรโตพลาสต์/มล.			เฉลี่ย
	rep1	rep2	rep3	
0.1	30,000	10,000	15,000	18,333
0.2	40,000	30,000	50,000	30,000
0.3	57,000	60,000	57,000	58,000
0.4	57,000	57,000	70,000	62,333
0.5	75,000	70,000	55,000	60,666

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 14

ตารางแสดงโปรโตพลาสต์ที่แยกได้จากแคลลัสที่เวลาต่าง ๆ กัน

ชั่วโมงที่	ปริมาณโปรโตพลาสต์/มล.		เฉลี่ย
	rep1	rep2	
1	50,000	60,000	55,000
2	150,000	105,000	127,500
3	105,000	85,000	95,000
4	105,000	80,000	92,500
5	90,000	60,000	75,000
6	50,000	35,000	42,500

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 15

ตารางแสดงโปรโตพลาสต์ที่แยกได้จากแคลลัส

ที่ความเข้มข้นของแมนทินอลต่าง ๆ กัน

% แมนนิทอล	ปริมาณโปรโตพลาสต์/มล.			เฉลี่ย
	rep1	rep2	rep3	
8	60,000	50,000	40,000	50,000
9	55,000	50,000	50,000	51,666
10	75,000	60,000	65,000	66,666
11	65,000	85,000	75,000	75,000
12	75,000	40,000	58,333	58,333
13	70,000	80,000	75,000	75,000

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 16

ตารางแสดงโปรโตพลาสต์ที่แยกจากแคลลัสที่ pH ต่าง ๆ กัน

pH	ปริมาณโปรโตพลาสต์/มล.			เฉลี่ย
	rep1	rep2	rep3	
5.0	70,000	45,000	80,000	65,000
5.2	60,000	65,000	85,000	70,000
5.4	60,000	45,000	90,000	65,000
5.6	145,000	150,000	100,000	131,666
5.8	60,000	65,000	105,000	76,666
6.0	60,000	55,000	80,000	68,000

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 17

ตารางแสดงปริมาณโปรโตพลาสต์ที่แยกได้จากแคลลัสเมื่อเติมเกลือแร่และบัฟเฟอร์

ชนิดของสาร	ปริมาณโปรโตพลาสต์/มล.			เฉลี่ย	%viability
	rep1	rep2	rep3		
Control	150,000	105,000	120,000	125,000	73
$CaCl_2$	135,000	155,000	115,000	135,000	69
$MgSO_4$	90,000	60,000	90,000	80,000	68
MES	80,000	65,000	85,000	76,666	70

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 18

ตารางแสดงน้ำหนักของเซลล์แขวนลอยที่เลี้ยงใน B5 เสริมด้วย 2,4-D 2 มก./ล. ,BA 2 มก./ล. ในแต่ละสัปดาห์

สัปดาห์ที่	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	
0	0.0013	0.0014
1	0.0015	0.0012
2	0.0021	0.0016
3	0.0034	0.0033
4	0.0102	0.0086
5	0.0100	0.0067
6	0.0390	0.0287
7	0.0589	0.0547
8	0.0481	0.0578
9	0.0481	0.0578

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 19

ตารางแสดงจำนวนของเซลล์แขวนลอยที่ถูกแยก
ด้วยเอนไซม์มาเซโรไซม์ 1 %

ซ้ำที่	ปริมาณเซลล์/มล.
1	325000
2	250000
3	295000
4	280000

ภาคผนวกที่ 20

ตารางแสดงจำนวนของเซลล์ของแคลลัสที่ถูกแยกด้วย
มาเซโรไซม์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

% มาเซโรไซม์	ปริมาณเซลล์/มล.ในแต่ละซ้ำ		
0.1	200000	270000	325000
0.5	245000	350000	380000
1	350000	325000	375000
2	350000	360000	330000

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 21

ตารางแสดงปริมาณโปรโตพลาสต์ที่แยกจากเซลล์แขวนลอย

ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ต่าง ๆ กัน

ความเข้มข้นของเอนไซม์	จำนวนโปรโตพลาสต์/มล.				เฉลี่ย	%viability
	rep1	rep2	rep3	rep4		
0.5:0.5	55,000	50,000	50,000	60,000	53,750	68
1:0.5	95,000	100,000	70,000	80,000	86,250	73
2:0.5	75,000	85,000	70,000	65,000	73,750	75
3:0.5	135,000	100,000	100,000	130,000	116,250	71
4:0.5	70,000	60,000	80,000	75,000	71,250	72

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 22

ตารางแสดงปริมาณโปรโตพลาสต์ที่แยกได้จาก

เซลล์แขวนลอยที่เวลาต่าง ๆ กัน

ชั่วโมงที่	ปริมาณโปรโตพลาสต์/มล.				เฉลี่ย
	rep1	rep2	rep3	rep4	
1	50,000	40,000	60,000	50,000	50,000
2	70,000	80,000	90,000	80,000	80,000
3	60,000	70,000	75,000	80,000	71,248
4	50,000	60,000	50,000	60,000	55,000
5	45,000	50,000	50,000	30,000	43,748
6	25,000	35,000	40,000	30,000	32,500

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 23

ตารางแสดงโปรโตพลาสต์ที่แยกจากเซลล์แขวนลอยที่ pH ต่าง ๆ กัน

pH	ปริมาณโปรโตพลาสต์/มล.			เฉลี่ย
	rep1	rep2	rep3	
5.0	50,000	70,000	60,000	60,000
5.2	150,000	100,000	90,000	113,333
5.4	80,000	85,000	80,000	57,666
5.6	90,000	80,000	80,000	83,333
5.8	60,000	80,000	60,000	66,666
6.0	90,000	80,000	60,000	76,666

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 24

ตารางแสดงปริมาณโปรโตพลาสต์ที่แยกจาก

เซลล์แขวนลอยที่ความเข้มข้นแมนนิทอลต่าง ๆ กัน

% แมนนิทอล	โปรโตพลาสต์/มล.			เฉลี่ย
	rep1	rep2	rep3	
8	95,000	100,000	75,000	90,000
9	90,000	85,000	80,000	85,000
10	130,000	100,000	90,000	100,666
11	90,000	80,000	75,000	81,666
12	82,000	90,000	60,000	77,333
13	75,000	70,000	70,000	71,666

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 25

ตารางแสดงปริมาณโปรโตพลาสต์ที่แยกจาก

เซลล์แขวนลอยเมื่อเติมเกลือแร่และบัฟเฟอร์

ชนิดของสาร	ปริมาณโปรโตพลาสต์/มล.			เฉลี่ย	%viability
	rep1	rep2	rep3		
Control	80,000	85,000	80,000	81,666	68
$CaCl_2$	100,000	75,000	70,000	81,666	70
$MgSO_4$	50,000	65,000	60,000	58,333	68
MES	45,000	55,000	40,000	45,000	72

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 26

ตารางแสดงน้ำหนักแคลลัสและปริมาณโปรโตพลาสต์ที่สัปดาห์ต่าง ๆ กัน

สัปดาห์ที่	น้ำหนักแคลลัสแห้ง (กรัม)		ปริมาณโปรโตพลาสต์/มล.	
1	0.0120	0.0150	65000	60000
	0.0125	0.0103		
2	0.0383	0.0245	75000	60000
	0.0161	0.0391		
3	0.0467	0.348	110000	130000
	0.0377	0.0426		
4	0.0757	0.0614	110000	90000
	0.0653	0.0525		
5	0.1054	0.0738	100000	90000
	0.0812	0.0912		
6	0.0831	0.1629	100000	110000
	0.1192	0.0900		
7	0.1105	0.1169	70000	80000
	0.1114	0.1239		
9	0.1700	0.2051	60000	55000
	0.2343	0.1554		
10	1.486	0.1783	10000	10000
	0.1771	0.1550		
11	0.1228	0.1439	0	
	0.1560	0.1589		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวกที่ 27

ตารางแสดงน้ำหนักของเซลล์แขวนลอย

และปริมาณโปรโตพลาสต์ที่สัปดาห์ต่าง ๆ กัน

สัปดาห์ที่	น้ำหนักเซลล์แขวนลอยแห้ง (กรัม)		ปริมาณโปรโตพลาสต์/มล.	
0	0.0233	0.0217	0	
1	0.0232	0.0257	50000	50000
2	0.0304	0.0251	110000	100000
3	0.0584	0.0526	125000	115000
4	0.0694	0.0634	90000	80000
5	0.0540	0.0545	90000	80000
6	0.0427	0.0511	10000	50000

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นายพงศ์ยุทธ นวลบุญเรือง เกิดวันที่ 15 เมษายน พ.ศ. 2508 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเกษตรศาสตร์ จากภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อปี พ.ศ. 2530

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย