การเพาะเลี้ยงเซลล์พืชไข่เน่า (Vitex glabrata R.Br.) ในสภาพแขวนลอยเพื่อผลิตฮอร์โมนลอกคราบ

นางสาว อุทัยพรรณ ประเสริฐสม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2533

ISBN 974-577-856-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

016513

Suspension Culture of *Vitex glabrata* R.Br. Cell For Molting Hormone Production

Miss Uthaiphun Prasertsom

A Thesis Submitted in Partial Fullfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Programme of Biotechnology

Graduate School

Chulalongkorn University

1990

ISBN 974-577-856-7

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การเพาะเลี้ยงเซลล์พืชไซ่เน่า (Vitex glabrata R.Br.)ในสภาพแขวนลอยเพื่อผลิตฮอร์โมนลอกคราบ

โดย นางสาว อุทัยพรรณ ประเสริฐสม

ภาควิชา หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.สัณห์ พณิชยกุล

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุเทพ ธนียวัน)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.สัณห์ พณิชยกุล)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วินิจ ทำวิวรรธน์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

อุทัยพรรณ ประเสริฐสม : การเพาะเลี้ยงเซลล์พืชไข่เน่าในสภาพแขวนลอยเพื่อผลิตฮอร์โมนลอกคราบ (SUSPENSION CULTURE OF VITEX GLABRATA R.BR. CELL FOR MOLTING HORMONE PRODUCTION) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.สัณห์ พณิชยกุล, 121 หน้า.
ISBN 974-577-856-7

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาลักษณะเซลล์ การเจริญ และการผลิตเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยพืชไข่เน่า (Vitex glabrata R.Br.) ที่เพาะเลี้ยงจากแคลลัสส่วนต่าง ๆ คือ ส่วนเปลือก ส่วนต้น และส่วนใบ

การศึกษาผลของปัจจัยต่าง ๆ คือ ชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญและสารตั้งต้นของการผลิตเบตา-เอคไดโซนต่อการเจริญ และการผลิตเบตา-เอคไดโซนโดยใช้เซลล์จากส่วนต้นเป็นต้นแบบ พบว่าเซลล์แขวนลอยทั้งสามชนิดให้ผลผลิตเบตา-เอคไดโซนใกล้เคียงกัน โดยที่เซลล์จากส่วนใบมีการเจริญต่ำสุด สารควบคุมการเจริญ กรด 2,4-ไดคลอโรฟีนอกซีอะซีติคเหมาะสมสำหรับการเจริญและการผลิตเบตา-เอคไดโซน ในขณะที่กรดอินโดลอะซีติคไม่เหมาะสม เซลล์เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร B-5 จะให้การเจริญและการผลิตเบตา-เอคไดโซนได้สูงกว่าเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร 1/2 MS การใช้โคเลสเตอรอลและสติกมาสเตอรอล-ซิโตสเตอรอลสามารถเพิ่มผลผลิตเบตา-เอคไดโซนได้เล็กน้อย ในขณะที่กรดเมวาโลนิคทำให้การผลิตลดลงเล็กน้อย ค่าการเจริญสูงสุดของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นที่เพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่องมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยในระยะเวลา 7 เดือน อย่างไรก็ตามการผลิตเบตา-เอคไดโซนมีค่าไม่คงที่แต่ไม่แตกต่างกันมากนักตลอดการเพาะเลี้ยง 7 เดือน โดยมีค่าอยู่ระหว่าง0.04-0.05 กรัมเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง

ภาควิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2532

ลายมือชื่อนิสิต .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

UTHAIPHUN PRASERTSOM : SUSPENSION CULTURE OF VITEX GLABRATA R.BR. CELL FOR MOLTING HORMONE PRODUCTION . THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. SANHA PANICHAJAKUL, Ph.D. 121 pp. ISBN 974-577-856-7

Cell suspension cultures of Vitex glabrata R.Br. were established from callus cultures, namely, epidermal, stem and leaf piece. They were then used as a source to study the morphology, growth and production of β-ecdysone.

The stem piece suspension cells were selected as a model to investigate the effect of various factors including their precursors on the production of β-ecdysone. The content of β-ecdysone in those kinds of culture cells were in the same range, although the leaf piece cells gave the minimum cell mass with similar growth pattern. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) was superior over indole acetic acid (IAA) in support growth and production of the hormone by V. glabrata R.Br. cultures. Cell cultivated in B-5 medium yielded higher growth and productivity of β-ecdysone than the 1/2 MS medium. Cholesterol and stigmasterol-sitosterol slightly effected to stimulate the hormone production, while mevalonic acid slightly decreased production. The maximum cell growth of the plant cell under the in vitro condition was diminished slowly during the 7 months. However the production of β-ecdysone was rather fluctuated (0.04-0.05 gram percents dry weight.)

ภาควิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ..... ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2532 ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตร์ตราจารย์ ดร. สัณห์ พณิชยกุล ที่ได้กรุณาเป็นที่ปรึกษา ให้แนวความคิด ความช่วยเหลือ และความเข้าใจ อันมีค่ายิ่ง ตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์นี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วินิจ ข่าวิวรรธน์ และรองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ที่ได้กรุณารับเป็นกรรมการสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณท่านคณาจารย์หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ และภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาถ่ายทอดความรู้ ขอขอบคุณ คุณ ปัทมา ถาวรนิธิ ที่ได้เอื้อเฟื้อชิ้นส่วนพืช คุณสุนันท์ รังษีกาญจน์สอง แห่งศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ช่วยเหลือวิเคราะห์ตัวอย่าง

ขอขอบคุณ คุณเพ็ญใจ สมพงษ์ชัยกุล คุณ ลัดดา แสงเดือน และคุณ ปวีณา พงษ์ดนตรี ที่ให้ความช่วยเหลือด้านการพิมพ์วิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณ คุณ นันทวดี สุวรรณบุญย์ คุณ พงศ์ยุทธ นวลบุญเรือง ที่ให้ความช่วยเหลือด้านรูปภาพและรูปถ่าย ขอขอบคุณ คุณ อภิตา เวชประสิทธิ์ ที่ให้คำแนะนำ และกำลังใจตลอดมา และขอขอบคุณพี่ เพื่อน และน้องทุกคนที่ได้มีส่วนช่วยเหลือตลอดการทำวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและการพลังงาน สำหรับความอนุเคราะห์ด้านทุนวิจัย

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และญาติพี่น้องของข้าพเจ้า ที่ให้ความช่วยเหลือ ความเข้าใจ กำลังกาย กำลังใจ และกำลังทรัพย์ในการทำวิทยานิพนธ์นี้ตั้งแต่เริ่มต้นจนเสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ญ

สารบัญรูป..... ฑ

คำอธิบายสัญญลักษณ์และคำย่อ..... ด

บทที่

1. บทนำ..... 1

2. วิธีการทดลอง

2.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง..... 13

2.1.1 อุปกรณ์..... 13

2.1.2 สารเคมี..... 14

2.2 ตัวอย่างพืช..... 15

2.3 อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แคลลัส..... 15

2.4 อาหารเหลวสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์พืชไร่เน่า..... 15

2.5 วิธีเตรียมสารละลายโคเลสเตอรอล..... 15

2.6 วิธีเตรียมสารละลายกรดเมวาโลนิค..... 16

2.7 วิธีเตรียมสารละลายสติกมาสเตอรอล-ซิโตสเตอรอล..... 16

2.8 การเหนี่ยวนำให้เกิดเซลล์แคลลัส..... 16

2.9 การเพาะเลี้ยงเซลล์แคลลัส..... 17

2.10 การเพาะเลี้ยงเซลล์พืชไร่เน่าในอาหารเหลว..... 17

2.11 การวัดการเจริญของเซลล์ในอาหารเหลว..... 19

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	2.12 การเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ระดับเบตา-เอคไดโซน.....	19
	2.13 การสกัดแยกสารเบตา-เอคไดโซนจากเซลล์เพาะเลี้ยง.....	20
	2.14 การสกัดแยกสารเบตา-เอคไดโซนจากส่วนที่อยู่ภายนอกเซลล์.....	20
	2.15 วิธีเตรียมตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์เบตา-เอคไดโซน ด้วยเทคนิค HPLC.....	20
	2.16 วิธีวิเคราะห์ปริมาณเบตา-เอคไดโซนด้วยเทคนิค HPLC.....	21
3.	ผลการทดลอง	
	3.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์แคลลัสจากส่วนต้น ใบ และเปลือกของพืชไข่เน่า.....	22
	3.2 การเพาะเลี้ยงเซลล์พืชไข่เน่าจากส่วนต้น ใบ และเปลือกในอาหารเหลว...	22
	3.3 วิธีวัดการเจริญของเซลล์แขวนลอยของพืชไข่เน่า	22
	3.4 การศึกษาผลกระทบของความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นต่อการเจริญของเซลล์ แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่า.....	25
	3.5 การเจริญ การผลิตเบตา-เอคไดโซนและลักษณะของเซลล์พืชแขวนลอยของ พืชไข่เน่าจากส่วนต้น ใบ และเปลือกในอาหารเหลวสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm.....	29
	3.6 การศึกษาผลกระทบของสารควบคุมการเจริญต่อการเจริญและการผลิต เบตา-เอคไดโซนของเซลล์พืชแขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่า.....	44
	3.7 ผลกระทบของชนิดอาหารเพาะเลี้ยงต่อการเจริญและการผลิต เบตา-เอคไดโซนของเซลล์พืชแขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่า.....	56
	3.8 ผลกระทบของโคเลสเตอรอลต่อการเจริญและการผลิต เบตา-เอคไดโซนของเซลล์พืชแขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่า.....	61

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

3.9 ผลกระทบของสติกมาสเตอรอล-ซิโตสเตอรอลต่อการเจริญและการผลิต เบตา-เอคไดโซนของเซลล์พืชแขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่า..... 66

3.10 ผลกระทบของกรดเมวาโลนิคต่อการเจริญและการผลิต เบตา-เอคไดโซนของเซลล์พืชแขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่า..... 73

3.11 การเจริญและการผลิตเบตา-เอคไดโซนของเซลล์พืชแขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าฮอร์โมนลอกคราบของพืชในอาหารเหลวสูตร B-5 เสริมด้วย โคเลสเตอรอล 100 มก.ต่อลิตร..... 77

3.12 การศึกษาความเสถียรของการเจริญและการผลิตเบตา-เอคไดโซนของเซลล์พืชแขวนลอยส่วนต้นที่เพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง..... 82

4. บทวิจารณ์และสรุป..... 87

เอกสารอ้างอิง..... 99

ภาคผนวกที่

1. อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์พืชสูตร Murashige and Skoog..... 109

2. อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์พืชสูตร B-5..... 110

3. โครมาโตแกรมของการวิเคราะห์หาปริมาณ เบตา-เอคไดโซน ด้วยเครื่อง HPLC. 111

4. กราฟมาตรฐานสำหรับปริมาณ เบตา-เอคไดโซน 113

5. การวิเคราะห์หาค่าสถิติแบบแวเรียนซ์..... 114

6. การคำนวณค่าเปรียบเทียบปริมาณเบตา-เอคไดโซนในช่วง log phase และ stationary phase 119

ประวัติผู้เขียน..... 121

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. สารจำพวกทุติยภูมิจากพืชที่ผลิตในระดับอุตสาหกรรม..... 7
2. การเจริญของสารแขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าโดยการวัดค่าเซลล์พืช Packed Cell Volume (PCV) โดยสุ่มตัวอย่างจากเซลล์แขวนลอย 10 มล. ค่าน้ำหนักแห้งและปริมาณโปรตีน โดยสุ่มตัวอย่างจากเซลล์แขวนลอย 1 และ 10 มล..... 26
3 การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง 30
4. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนใบของพืชไข่เน่าในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง 35
5. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนเปลือกของพืชไข่เน่าในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง 41
6. การเปรียบเทียบปริมาณเบตา-เอคไดโซน ภายใน ภายนอกเซลล์ และปริมาณทั้งหมดในช่วง lag pahse และ stationary phase ของเซลล์แขวนลอยส่วนต้น ใบ และ เปลือก ของพืชไข่เน่าในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 46
7. การเจริญและการผลิตเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm (อาหารสูตรควบคุมเพื่อเปรียบเทียบการใช้ 2,4-D กับ IAA))..... 47

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ หน้า

8. การเจริญและการผลิตเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารเหลวสูตร 1/2 MS เสริมด้วย IAA และ BA 1 กับ 2 ppm ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 50

9. การเจริญและการผลิตเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารเหลวสูตร 1/2 MS เสริมด้วย IAA และ BA 2 กับ 2 ppm ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 52

10. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารเหลวสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D, IAA และ BA 1, 1 กับ 2 ppm ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 54

11. การเปรียบเทียบปริมาณเบตา-เอคไดโซน ภายในเซลล์ ภายนอกเซลล์และปริมาณทั้งหมดในช่วง log phase และ stationary phase ของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm, IAA และ BA 1 กับ 2 ppm, IAA และ BA 2 กับ 2 ppm, 2,4-D, IAA และ BA 1, 1 กับ 2 ppm ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 57

12. การเจริญและการผลิตของเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารสูตร B-5 เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 58

13. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm (อาหารควบคุมเพื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตร B-5) ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 59

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ หน้า

14. การเปรียบเทียบปริมาณเบตา-เอคไคโซนภายในเซลล์ ภายนอกเซลล์ และปริมาณทั้งหมดในช่วง log phase และ stationary phase ของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารเหลวสูตร B-5 และสูตร 1/2 Ms (อาหารสูตรควบคุม) ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 62

15. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไคโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารที่มีโคเลสเตอรอล 100 มก/ล ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 63

16. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไคโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารสูตร1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm (อาหารควมคุมเพื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่มีโคเลสเตอรอล100 มก/ล) ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 64

17. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไคโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าพืชในอาหารที่มีโคเลสเตอรอล 200 มก/ล ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 67

18. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไคโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm (อาหารควมคุมเพื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่มีโคเลสเตอรอล 200 มก/ล) ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง 68

19. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไคโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารที่มีสติกมาสเตอรอล-ซิโคสเตอรอล 100 มก/ล ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 70

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ หน้า

20. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไคโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้น ของพืชไข่เน่าในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm (อาหารควมคุมเพื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่มีสติกมาสเตอรอล-ซิโตสเตอรอล 100 มก/ล) ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 71

21. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้น ของพืชไข่เน่าพืชในอาหารที่มีสติกมาสเตอรอล-ซิโตสเตอรอล 200 มก/ล ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 74

22. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้น ของพืชไข่เน่าพืชในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm (อาหารสูตรควมคุมเพื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่มีสติกมาสเตอรอล-ซิโตสเตอรอล 200 มก/ล กรดเมวาโลนิค 100 มก/ล และอาหารสูตร B-5 ที่มีโคเลสเตอรอล 100 มก/ล) ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 75

23. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้น ของพืชไข่เน่าในอาหารที่มีกรดเมวาโลนิค 100 มก/ล ที่สภาวะมาตรฐาน ของการทดลอง..... 78

24. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้น ของพืชไข่เน่าพืชในอาหารสูตร B-5 ที่มีโคเลสเตอรอล 100 มก/ล ที่สภาวะ มาตรฐานของการทดลอง..... 80

25. การเปรียบเทียบปริมาณเบตา-เอคไดโซน ภายในเซลล์ ภายนอกเซลล์และปริมาณ ทั้งหมดในช่วง log phase และ stationary phase ของเซลล์แขวนลอย ส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารสูตร 1/2 MS และอาหารสูตร B-5 ที่เสริมด้วย สารตั้งต้นต่างๆ ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 83

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1. สูตรโครงสร้างของฮอร์โมนลอกคราบโดยทั่วไป 2
2. สูตรโครงสร้างของฮอร์โมน อัลฟาและเบตา-เอคไดโซน..... 2
3. การสังเคราะห์ฮอร์โมนลอกคราบในพืช..... 8
4. การสังเคราะห์กรดเมวาโลนิก..... 10
5. สูตรโครงสร้างของซิโคสเตอรอลและสติกมาสเตอรอล..... 11
6. ภาพแสดงขั้นวางขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาวะของแคลลัส..... 18
7. ภาพแสดงเครื่องเขย่าสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์พืชแขวนลอยในอาหารเหลว..... 18
8. ลักษณะแคลลัสจากส่วนต้น ใบ และเปลือกของพืชไข่เน่า..... 23
9. เซลล์แขวนลอยส่วนต้น ใบ และเปลือกของพืชไข่เน่าในอาหารเหลว เมื่ออายุ 4 สัปดาห์..... 23
10. เซลล์แขวนลอยส่วนต้น ใบ และเปลือกของพืชไข่เน่าในอาหารเหลว เมื่ออายุ 6 สัปดาห์..... 24
11. เซลล์แขวนลอยส่วนต้น ใบ และเปลือกของพืชไข่เน่าในอาหารเหลว เมื่ออายุ 8 สัปดาห์..... 24
12. รูปแบบการเจริญของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าเมื่อวัดการเจริญในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 27
13. การเจริญของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าที่ความหนาแน่นของเซลล์เริ่มต้นต่างๆกัน..... 28
14. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารเหลวสูตร 1/2 MSเสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm. ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 31

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

15. ลักษณะเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในระยะการเจริญ log phase เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm..... 33

16. ลักษณะเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในระยะการเจริญ stationary phase เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm..... 34

17. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนใบในอาหารเหลวสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 36

18. ลักษณะของเซลล์แขวนลอยส่วนใบของพืชไข่เน่าในระยะการเจริญ log phase เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm..... 38

19. ลักษณะเซลล์แขวนลอยของพืชไข่เน่าส่วนใบในระยะการเจริญ stationary phase เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm..... 39

20. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซน ของเซลล์แขวนลอยส่วนเปลือกในอาหารเหลวสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 42

21. ลักษณะเซลล์แขวนลอยส่วนเปลือกของพืชไข่เน่าในระยะการเจริญ log phase เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm..... 43

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

22. ลักษณะเซลล์แขวนลอยส่วนเปลือกของพืชไข่เน่าในระยะการเจริญ stationary phase เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm 45
23. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารเหลวสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D และ BA 1 กับ 2 ppm (อาหารสูตรควบคุมเพื่อเปรียบเทียบการใช้ 2,4-D กับ IAA) ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง 48
24. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่า ในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย IAA และ BA 1 กับ 2 ppm ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง 51
25. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย IAA และ BA 2 กับ 2 ppm ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง 53
26. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารสูตร 1/2 MS เสริมด้วย 2,4-D,IAA และ BA 1,1 กับ 2 ppm ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง 55
27. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารสูตร B-5 ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง 60
28. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารที่มีโคเลสเตอรอล 100 มก/ล ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง 65

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

29. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไคโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารที่มีโคเลสเตอรอล 200 มก/ล ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 69

30. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไคโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารที่มีสติกมาสเตอรอล-ซิโตสเตอรอล 100 มก/ล ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 72

31. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไดโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารที่มีสติกสเตอรอล-ซิโตสเตอรอล 200 มก/ล ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 76

32. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไคโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารที่มีกรดเมวาโลนิค 100 มก/ล ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 79

33. การเจริญและการผลิตสารเบตา-เอคไคโซนของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าในอาหารสูตร B-5 ที่มีโคเลสเตอรอล 100 มก/ล ที่สภาวะมาตรฐานของการทดลอง..... 81

34. ค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดของเซลล์แขวนลอยส่วนต้นของพืชไข่เน่าเมื่อเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่องในอาหารสูตรควมคุมเป็นเวลา 7 เดือน..... 86

35. การผลิตเบตา-เอคไคโซนของเซลล์แขวนลอยจากส่วนต้นเมื่อเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่องในอาหารสูตรควมคุมเป็นเวลา 7 เดือน..... 86

ค่าย่อ

°ซ	=	องศาเซลเซียส
ml	=	มิลลิลิตร
L	=	ลิตร
g	=	กรัม
มก	=	มิลลิกรัม
ล	=	ลิตร
มล.	=	มิลลิลิตร