ผลของรังสีและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อถั่วกลาบราต้า (*Arachis glabrata*) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

THE EFFECT OF RADIATION AND PLANT GROWTH REGULATOR FOR *Arachis glabrata* BY TISSUE CULTURE

พิมพ์ชนก ทองสาด

ภิรมน อรัญญา

มนัญชยา วงศ์อินทร์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

ผลของรังสีและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อถั่วกลาบราต้า (*Arachis glabrata*) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

THE EFFECT OF RADIATION AND PLANT GROWTH REGULATOR FOR *Arachis glabrata* BY TISSUE CULTURE

พิมพ์ชนก ทองสาด

ภิรมน อรัญญา

มนัญชยา วงศ์อินทร์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE EFFECT OF RADIATION AND PLANT GROWTH REGULATOR FOR *Arachis glabrata* BY TISSUE CULTURE

PIMCHANOK TONGSAD
PHIRAMON ARUNYA
MANANCHAYA VONGIN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ผลของรังสีและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อถั่วลิสงเถากลาบราต้า (*Arachis glabrata*) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ The Effect of Radiation and Plant Growth Regulator for *Arachis glabrata* by Tissue Culture
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพิมพ์ชนก ทองสาด รหัสนักศึกษา 56050879 นางสาวภิรมน อรัญญา รหัสนักศึกษา 56050887 นางสาวมนัญชยา วงศ์อินทร์ รหัสนักศึกษา 56050888
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ	
ดร.วิมลมาศ บุญมี กรรมการ	
ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม กรรมการ และอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ผลของรังสีและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อถั่วลิสงเถากลาบราต้า (*Arachis glabrata*) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพิมพ์ชนก ทองสาด รหัสนักศึกษา 56050879
	นางสาวภิรมน อรัญญา รหัสนักศึกษา 56050887
	นางสาวมนัญชยา วงศ์อินทร์ รหัสนักศึกษา 56050888
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนข้อและลำต้นของถั่วกลาบราต้า (*Arachis glabrata*) สายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook มาชักนำให้เกิดยอดและแคลลัส ในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่าง TDZ และ BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสายพันธุ์ Ecoturf ที่สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดและแคลลัสร่วมกันได้จำนวนสูงสุด คิดเป็นร้อยละ 40 และที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนลำต้นให้เกิดแคลลัสได้จำนวนสูงสุด คิดเป็นร้อยละ 90 ส่วนสายพันธุ์ Florigraze สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดและแคลลัสร่วมกันได้จำนวนสูงสุดที่ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 50 และ Arbrook ที่ TDZ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดและแคลลัสร่วมกันได้จำนวนสูงสุด คิดเป็นร้อยละ 30 และที่สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนลำต้นให้เกิดแคลลัสได้จำนวนมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 80

การศึกษาผลกระทบของการฉายรังสีแกมมาต่อแคลลัสของถั่วกลาบราต้า นำแคลลัสฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้น 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ปริมาณรังสีที่ทำให้แคลลัสถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook มีอัตราการรอดชีวิต ร้อยละ 50 (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 7.1 8.1 และ 5.3 กิโลแรด ตามลำดับ และขนาดแคลลัสมีอัตราการเจริญร้อยละ 50 (GR_{50}) ที่ปริมาณรังสี 5.1 4.1 และ 2.8 กิโลแรด ตามลำดับ ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

คำสำคัญ ถั่วกลาบราต้า การชักนำให้เกิดยอด การชักนำให้เกิดแคลลัส การฉายรังสีแกมมา อัตราการรอดร้อยละ 50 (LD_{50}) อัตราการเจริญร้อยละ 50 (GR_{50})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	The Effect of Radiation and Plant Growth Regulator for *Arachis glabrata* by Tissue Culture
Students	Miss Pimchanok Tongsad Student ID 56050879
	Miss Phiramon Arunya Student ID 56050887
	Miss Mananchaya Vongin Student ID 56050888
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2016
Advisor	Asst. Prof. Dr. Anurug Poeaim

ABSTRACT

Studied tissue culture from node and stem of *Arachis glabrata* cv. Ecoturf Florigraze and Arbrook were for callus induction and shoot induction on MS supplemented with TDZ and BA 0.5, 0.75, 1, 2 and 3 mg/L. At 1 mg/l of TDZ gave the highest percentage of callus and shoot induction from node of Ecoturf as 40% and using 3 mg/l of TDZ gave the highest percentage of callus induction as 90% from stem of Ecoturf. For node of Florigraze using BA 2 mg/l gave the highest percentage of callus and shoot induction as 50% and Arbrook, using TDZ 2 mg/l and BA 3 mg/l gave the highest percentage of callus and shoot induction as 30%, using 1 mg/l of BA gave the highest percentage of callus induction as 80% from stem.

Studied The effect of gamma radiation for callus of *Arachis glabrata*, callus was gamma radiation with 6 concentrations (0, 2, 4, 6, 8 and 10 kRad) of Ecoturf Florigraze and Arbrook had survival rate 50% (LD_{50}) are 7.1, 8.1 and 5.3 kRad respectively and Gamma radiation dose of callus had a growth reduction 50% (GR_{50}) are 5.1, 4.1 and 2.8 kRad respectively at 8 weeks.

Keywords : *Arachis glabrata*, callus induction, shoot induction, gamma radiation, survival rate 50% (LD_{50}), growth reduction 50% (GR_{50})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้จัดขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจาก ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ที่ให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำ และแนวทางในการแก้ไขปัญหาต่างๆ ตลอดจนสนับสนุนมาโดยตลอด และขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษ ที่ได้สละเวลา และแนะนำให้คำปรึกษา รวมถึงช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องของโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ดร.วิมลมาศ บุญมี กรรมการที่คอยช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษจนสำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ ประจำภาควิชาชีววิทยาที่เอื้ออำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ สำหรับการทดลองโครงงานพิเศษในครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่งสำหรับพ่อแม่ บุคคลอันเป็นที่รักและเคารพทุกท่านที่คอยเป็นกำลังใจตลอดมา ขอบคุณพี่ๆนักศึกษาปริญญาโท ภาควิชาชีววิทยา ที่เป็นทั้งผู้ให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางที่เหมาะสม และช่วยเป็นกำลังใจเสมอมา รวมถึงเพื่อนที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และแก้ไขปัญหาต่างๆ จนจบโครงงานพิเศษ คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อบุคคลที่สนใจไม่มากก็น้อย หากมีข้อผิดพลาดประการใด ทางคณะผู้จัดทำขออภัยมา ณ ที่นี้

พิมพ์ชนก ทองสาด
ภิรมน อรัญญา
มนัญชยา วงศ์อินทร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ฉ
สารบัญรูป ..... ช
คำย่อ/สัญลักษณ์ ..... ฎ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 ถั่วกลาบราต้า (*Arachis glabrata*) 3
2.1.1 อนุกรมวิธาน 3
2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ถั่วกลาบราต้า (*Arachis glabrata*) สายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook 3
2.1.3 ประโยชน์ของต้นถั่วกลาบราต้า 5
2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 6
2.2.1 ความหมายและความเป็นมา 6
2.2.2 อาหารสังเคราะห์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 6
2.3 การฉายรังสีในพืช 7
2.3.1 ความหมายและความเป็นมา 7
2.3.2 วิธีการฉายรังสี 7
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 8
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 11
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ 11
3.1.1 พืชที่ใช้ในการศึกษา 11
3.1.2 สารเคมี 11
3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ 11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

3.2 วิธีการทดลอง 13
3.2.1 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืช 13
3.2.2 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้า 13
3.2.3 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้า 14
3.2.4 การศึกษาผลของปริมาณรังสีแกมมาต่อการเจริญของแคลลัสของถั่วกลาบราต้า 15
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 16
4.1 ผลการศึกษาของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้า 16
4.2 ผลการศึกษาของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้า 36
4.3 ผลการศึกษาปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้อัตราการอยู่รอดของแคลลัสลดลงเหลือร้อยละ 50 (LD_{50}) 48
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 56
5.1 สรุปผลการวิจัย 56
5.2 ข้อเสนอแนะ 57
เอกสารอ้างอิง 58
ภาคผนวก 61
ภาคผนวก ก 62
ภาคผนวก ข 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4.1 ผลการศึกษาของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf สัปดาห์ที่ 4 18

4.2 ผลการศึกษาของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf สัปดาห์ที่ 8 21

4.3 ผลการศึกษาของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigaze สัปดาห์ที่ 4 24

4.4 ผลการศึกษาของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigaze สัปดาห์ที่ 8 27

4.5 ผลการศึกษาของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook สัปดาห์ที่ 4 30

4.6 ผลการศึกษาของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook สัปดาห์ที่ 8 33

4.7 ผลการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf ในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ 39

4.8 ผลการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze ในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ 42

4.9 ผลการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook ในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ 45

4.10 ผลของจำนวนรอดชีวิตและอัตราการเจริญของขนาดแคลลัสของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook หลังจากฉายรังสีแกมมาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ลักษณะของรากและลำต้นของถั่วกลาบราต้า สายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook	4
2.2	ลักษณะใบของถั่วกลาบราต้า สายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook	4
2.3	ลักษณะช่อดอกและดอกของถั่วกลาบราต้า สายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook	5
4.1	แสดงร้อยละจำนวนแคลลัสและยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสาร ควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์	19
4.2	แสดงผลการชักนำชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้า สายพันธุ์ Ecoturf ให้เกิดแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก-จ) ตามลำดับ และเกิดยอดและแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฉ-ญ) ตามลำดับ ที่เวลา 4 สัปดาห์	20
4.3	แสดงร้อยละจำนวนแคลลัสและยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์	22
4.4	แสดงผลการชักนำชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้า สายพันธุ์ Ecoturf ให้เกิดแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก-จ) ตามลำดับ และเกิดยอดและแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฉ-ญ) ตามลำดับ ที่เวลา 8 สัปดาห์	23
4.5	แสดงร้อยละจำนวนแคลลัสและยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.6	แสดงผลการชักนำชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้า สายพันธุ์ Florigraze ให้เกิดแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก-จ) ตามลำดับ และเกิดยอดและแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฉ-ญ) ตามลำดับ ที่เวลา 4 สัปดาห์	26
4.7	แสดงร้อยละจำนวนแคลลัสและยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันของถั่วลิสงเถากลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์	28
4.8	แสดงผลการชักนำชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้า สายพันธุ์ Florigraze ให้เกิดแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก-จ) ตามลำดับ และเกิดยอดและแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฉ-ญ) ตามลำดับ ที่เวลา 8 สัปดาห์	29
4.9	แสดงร้อยละจำนวนแคลลัสและยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์	31
4.10	แสดงผลการชักนำชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook ให้เกิดแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก-จ) ตามลำดับ และเกิดยอดและแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฉ-ญ) ตามลำดับ ที่เวลา 4 สัปดาห์	32
4.11	แสดงร้อยละจำนวนแคลลัสและยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.12	แสดงผลการชักนำชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook ให้เกิดแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก-จ) ตามลำดับ และเกิดยอดและแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฉ-ญ) ตามลำดับ ที่เวลา 8 สัปดาห์	35
4.13	แสดงผลการเปรียบเทียบร้อยละของการเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 8 สัปดาห์	40
4.14	ผลการชักนำการเกิดแคลลัสร่วมกันจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf ในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่เวลา 4 และ 8 สัปดาห์	41
4.15	แสดงผลการเปรียบเทียบร้อยละของการเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 8 สัปดาห์	43
4.16	ผลการชักนำการเกิดแคลลัสร่วมกันจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze ในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่เวลา 4 และ 8 สัปดาห์	44
4.17	แสดงผลการเปรียบเทียบร้อยละของการเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 8 สัปดาห์	46
4.18	ผลการชักนำการเกิดแคลลัสร่วมกันจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook ในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่เวลา 4 และ 8 สัปดาห์	47
4.19	ร้อยละการรอดตายของแคลลัสของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf หลังได้รับรังสีแกมมา 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์	51
4.20	ร้อยละการรอดตายของแคลลัสของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze หลังได้รับรังสีแกมมา 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์	51
4.21	ร้อยละการรอดตายของแคลลัสของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook หลังได้รับรังสีแกมมา 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์	52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.22	อัตราการเจริญของขนาดแคลลัสของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf หลังได้รับรังสีแกมมา 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์	52
4.23	อัตราการเจริญของขนาดแคลลัสของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze หลังได้รับรังสีแกมมา 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์	53
4.24	อัตราการเจริญของขนาดแคลลัสของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook หลังได้รับรังสีแกมมา 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์	53
4.25	ลักษณะแคลลัสของสายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook หลังผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์	54
4.26	การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่รอดชีวิตหลังจากการฉายรังสี	55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ	คำอธิบาย
MS	Murashige and Skoog (1962) Basal medium
PPM	Plant Preservative Mixture Solution
TDZ	Thaidiazuron
BA	N6-Benzyladenine
LD_{50}	Lethal dose 50%
GR_{50}	Growth reduction 50%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ถั่วกลาบราต้าเป็นพืชอาหารสัตว์ชนิดใหม่ที่ทนแล้งและมีโปรตีนสูงเหมาะสำหรับการปลูกเพื่อใช้เป็นอาหารโคนม มีการเพาะปลูกกันอย่างแพร่หลายในหลายประเทศ เช่น ออสเตรเลีย อเมริกาใต้ รัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา รวมถึงทวีปเอเชีย ในภาคตะวันตกของประเทศไทยเป็นพื้นที่ที่มีสภาพภูมิอากาศเป็นแบบร้อนจัด และมีสภาพพื้นที่ที่มีลักษณะเป็นดินดานและดินเหนียวปนทราย ในช่วงฤดูแล้งจะจับตัวกันเป็นดินแข็ง มีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำและขาดความอุดมสมบูรณ์ ส่งผลต่อการปลูกพืชที่ให้ผลผลิตต่ำ ทั้งยังส่งผลต่อการผลิตพืชอาหารสัตว์โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงฤดูแล้งที่จะเกิดปัญหาการขาดแคลนพืชอาหารสัตว์ ประกอบกับเขตภาคตะวันตกจะมีการเลี้ยงปศุสัตว์โดยเฉพาะโคเนื้อและโคนมที่หนาแน่น จึงทำให้มีความต้องการพืชอาหารสัตว์ในปริมาณมากเพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของสัตว์และเพื่อให้สัตว์ได้รับคุณค่าทางโภชนาการอย่างเพียงพอ (มนัสนันท์ และคณะ, 2545) การศึกษาถึงผลผลิตและคุณภาพของถั่วกลาบราต้า 11 พันธุ์ เพื่อคัดเลือกพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับประเทศไทย พบว่าถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigaze มีโปรตีนเฉลี่ย 17.23 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตดีทั้งในฤดูฝนและฤดูแล้ง กรมปศุสัตว์จึงนำมาทดลองและส่งเสริมให้ปลูกในประเทศไทยเป็นแหล่งอาหารหยาบที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและใช้เป็นแหล่งอาหารแห้งสำหรับสัตว์ไว้ใช้ในยามขาดแคลน ปัจจุบันมีการนำเข้าถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf และ Arbrook จากต่างประเทศ ซึ่งพบว่าทั้ง 2 สายพันธุ์เป็นถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ใหม่ที่ยังไม่มีการทดลองปลูกในประเทศไทยมากนักและยังไม่ค่อยเป็นที่รู้จักของเกษตรกร อีกทั้งถั่วกลาบราต้ามีข้อจำกัดคือมีการเกิดเมล็ดน้อยมาก (ศศิธร และคณะ, 2545)

ด้วยคุณสมบัติเด่นของถั่วกลาบราต้าที่สามารถปรับปรุงคุณภาพดินให้มีความอุดมสมบูรณ์และสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารสัตว์ได้ ดังนั้นคณะผู้จัดทำจึงได้ศึกษาถึงการเจริญเติบโตของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf Florigaze และ Arbrook โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อพืชในสภาวะปลอดเชื้อเพื่อการขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว และเพื่อให้ได้องค์ความรู้ไปพัฒนาต่อยอดงานวิจัยอันจะนำไปสู่การส่งเสริมให้กรมปศุสัตว์และเกษตรกรได้นำถั่วกลาบราต้าแปรรูปเป็นอาหารสัตว์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้า (*Arachis glabrata*) สายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook

2. เพื่อศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้า (*Arachis glabrata*) สายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook

3. เพื่อศึกษาปริมาณรังสีที่ทำให้แคลลัสของถั่วกลาบราต้าตายร้อยละ 50 (LD_{50}) และปริมาณรังสีที่ทำให้อัตราการเจริญของขนาดแคลลัสลดลงร้อยละ 50 (GR_{50})

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจากการใช้ชิ้นส่วนลำต้น และข้อของถั่วกลาบราต้า สายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook ทำการศึกษาอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and skoog (1962) ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต N6-Benzyladenine (BA) และThaidiazuron (TDZ) โดยชักนำให้การเกิดแคลลัส ยอด และราก ให้เจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ และศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะของแคลลัสหลังจากผ่านการฉายรังสีแกมมา

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบสูตรอาหารและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเจริญของเนื้อเยื่อในส่วนลำต้นและข้อของถั่วกลาบราต้า (*Arachis glabrata*) สายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook ให้พัฒนาเป็นต้นใหม่

2. ทราบผลการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนของลำต้นและข้อของถั่วกลาบราต้า (*Arachis glabrata*) สายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook ให้พัฒนาเป็นต้นใหม่

3. ทราบปริมาณรังสีที่เหมาะสมที่จะใช้กับแคลลัสของถั่วกลาบราต้า และอัตราการเจริญเติบโตของขนาดแคลลัสที่ได้รับการฉายรังสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ถั่วกลาบราต้า (*Arachis glabrata*)

2.1.1 อนุกรมวิธาน

Kingdom Plantae – Plants

Subkingdom Tracheobionta – Vascular plants

Superdivision Spermatophyta – Seed plants

Division Magnoliophyta – Flowering plants

Class Magnoliopsida – Dicotyledons

Subclass Rosidae

Order Fabales

Family Fabaceae – Pea family

Genus *Arachis* L. – peanut P

Species *Arachis glabrata* Benth. – rhizoma peanut P

(ที่มา : https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=ARGL18)

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ถั่วกลาบราต้า (*Arachis glabrata*) สายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook

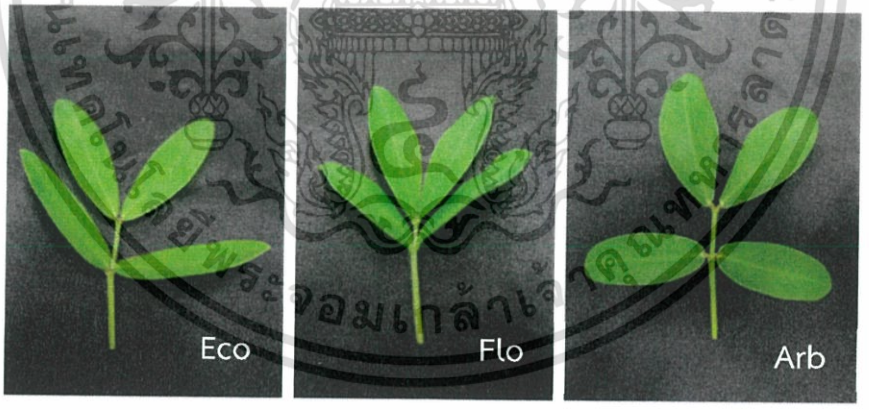
ถั่วกลาบราต้า มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Arachis glabrata* ชื่อสามัญว่า rhizoma peanut ลักษณะต้นเตี้ย มีลำต้นอยู่ใต้ผิวดินลึกประมาณ 5 - 7 เซนติเมตร เรียกว่า “เหง้า” (rhizomes) ดังรูปที่ 2.1 ลำต้นเหนือพื้นดินจะตั้งตรง แต่เมื่อโตขึ้นต้นจะเอนราบและชูยอดขึ้น ใบมีลักษณะแหลม ดอกกลม สีเหลืองส้มอ่อน ไม่ติดเมล็ด เหมาะสำหรับปลูกเป็นแปลงหญ้าคุณภาพสูงเพื่อให้สัตว์แทะเล็ม ทำเป็นถั่วแห้ง หรือใช้เป็นพืชคลุมดินก็ได้ เจริญเติบโตได้ในดินทรายถึงดินเหนียวที่มีการระบายน้ำดี ชอบดินเป็นกรดถึง pH 4.5 แต่สามารถทนต่อสภาพดินที่เป็นกลางถึงด่างได้ (pH 8.5) เจริญเติบโตได้ดีทั้งในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำถึงสูง เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูงกว่า 20 องศาเซลเซียส และชะงัก การเจริญเติบโตในช่วงฤดูหนาว ออกดอกได้มากหลังการตัดต้น หรือผ่านช่วงแล้งมาแล้วได้น้ำอย่างเต็มที่ (โสภณ, 2557)

รากเป็นระบบรากแก้ว มีรากแขนงเจริญออกจากรากแก้ว บริเวณรากมีปม ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียไรโซเบียม (*Rhizobium japonicum*) อาศัยอยู่ ลำต้นเป็นไม้เนื้ออ่อนโดยแบ่งเป็นลำต้นตั้งตรงมีการแตกกิ่งก้าน กิ่งเหล่านี้จะเจริญในแนวตั้ง ทำให้ต้นถั่วมีลักษณะเป็นพุ่มสูง และลำต้นเลื้อยเป็นลำต้นสั้น มีการแตกของกิ่งก้านจำนวนมาก มักเจริญในแนวนอนทอดไปตามผิวดินเรียกว่า ไหล (stolon)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบมีลักษณะเป็นใบประกอบแบบขนนกคู่ มีใบย่อย 2 คู่เกิดสลับกันบนข้อลำต้น รูปร่างใบย่อยเป็นรูปไข่ ขอบใบย่อยเรียบ ที่โคลนก้านใบ มีหูใบ 2 อัน ลักษณะแหลมและยาว ดังรูปที่ 2.2 ดอกเป็นดอกเดียว มีสีเหลืองส้ม ฐานของก้านดอกมีใบดอก 1 อัน และใบประดับ 2 อัน ดังรูปที่ 2.3

รูปที่ 2.1 ลักษณะของรากและลำต้นของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook
(ที่มา : ภาพจากผู้จัดทำ)



รูปที่ 2.2 ลักษณะใบของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook
(ที่มา : ภาพจากผู้จัดทำ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.3 ลักษณะช่อดอกและดอกของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook (ที่มา : ภาพจากผู้จัดทำ)

1. ถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf เป็นพืชตระกูลถั่วอาหารสัตว์ที่นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายในรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา มีถิ่นกำเนิดอยู่ที่รัฐมาตูโกรสซูโดซู ประเทศบราซิล ถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์นี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตพื้นที่ที่มีปริมาณน้ำฝน 1,400 มิลลิเมตรต่อปี

2. ถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze เป็นพืชตระกูลถั่วอาหารสัตว์สายพันธุ์ลูกผสมมีความสูงของต้นประมาณ 30 เซนติเมตร ปลูกอย่างแพร่หลายในรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา ถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์นี้สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะอากาศเย็นและดินที่มีลักษณะชื้นได้ดี

3. ถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook เป็นพืชตระกูลถั่วอาหารสัตว์ที่นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายในรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา มีถิ่นกำเนิดอยู่ที่ประเทศปารากวัย ถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์นี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตพื้นที่ที่มีปริมาณน้ำฝน 1,700 มิลลิเมตรต่อปี เป็นพืชทนแล้งและมีการปรับตัวในสภาวะแห้งแล้งได้เป็นอย่างดี

2.1.3 ประโยชน์ของต้นถั่วกลาบราต้า

ถั่วกลาบราต้าเป็นพืชทนแล้งสามารถเจริญได้ดีในดินเกือบทุกชนิด เป็นพืชที่ทนต่อการเหยียบย่ำและการแทะเล็มของสัตว์ อีกทั้งยังสามารถใช้เป็นพืชอาหารสัตว์ได้ สามารถนำไปใช้เป็นอาหารหยาบในรูปของถั่วสดและถั่วแห้ง สำหรับใช้เลี้ยงโคนม โคเนื้อ กระบือ แพะ แกะ ม้า และกระต่าย เนื่องจากมีคุณสมบัติในการตรึงไนโตรเจนโดยอาศัยไรโซเบียมซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในกระบวนการเพิ่มระดับของโปรตีนในต้นพืช และไรโซเบียมยังช่วยเป็นธาตุอาหารให้แก่ดิน ถั่วกลาบราต้าสามารถปรับตัวได้ดีในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ เช่น ดินกรด และสภาวะแห้งแล้ง นอกจากนี้ยังนิยมนำมาปลูกนิยมเพื่อป้องกันการพังทลายของหน้าดินและปลูกเพื่อเป็นไม้ประดับเพิ่มความสวยงามได้อีกด้วย (โสภณ, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (พัชรา, 2550)

2.2.1 ความหมายและความเป็นมา

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (plant tissue culture) หมายถึง การนำส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชที่ประกอบด้วยเซลล์ที่มีชีวิต ซึ่งอาจจะเป็นอวัยวะ เนื้อเยื่อ เซลล์ ตลอดจน โพรโทพลาสต์ (protoplast) ซึ่งได้แก่ส่วนของเซลล์พืชที่ได้แยกเอาผนังเซลล์ออกไป แล้วนำมาเลี้ยง ในสภาพปลอดเชื้อ (aseptic condition) โดยอาหารสังเคราะห์ และสภาพแวดล้อม ที่ควบคุม เช่น แสง อุณหภูมิ และความชื้น

2.2.2 อาหารสังเคราะห์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่สำคัญยิ่งประการหนึ่ง ได้แก่ อาหารสังเคราะห์ที่เตรียมขึ้นเพื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งต้องมีความเหมาะสม สามารถส่งเสริมการเจริญของเซลล์และเนื้อเยื่อพืชได้

องค์ประกอบหลักของ อาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ โดยทั่วไป มีดังต่อไปนี้

1. เกลืออนินทรีย์ ให้แร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชทั่วๆไป ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) ซัลเฟอร์ (S) แมกนีเซียม (Mg) เหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) สังกะสี (Zn) โบรอน (B) ทองแดง (Cu) โคบอลต์ (Co) และโมลิบดีนัม (Mo) บางสูตรเติมไอโอดีน (I) ด้วย

2. คาร์โบไฮเดรต ได้แก่ น้ำตาลซึ่งจะให้พลังงานแก่เนื้อเยื่อพืชเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตในหลอดทดลอง นิยมใช้ซูโครส (sucrose) เป็นส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 2 - 5 โดยน้ำหนัก

3. วิตามิน ช่วยให้การทำงานของเอนไซม์ต่างๆ เป็นไปได้อย่างดี ปกติพืชสามารถสังเคราะห์วิตามินได้เอง แต่ในหลอดทดลองอาจสร้างได้ไม่เพียงพอ จึงมักต้องเติมให้เสมอๆ คือ ไทอามีน (Thiamine) 0.1 – 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ การให้วิตามินเสริมจำพวกนิโคทินิกแอซิด (Nicotinic acid), ไพริดอกซินไฮโดรคลอไรด์ (Pyridoxine hydrochloride) ไมโออินอซิทอส (myoinositol) โฟลิกแอซิด (folic acid) และแคลเซียมดีเพนโท-ทิเนต (Ca D-pentothenate) ยังช่วยกระตุ้นการเจริญของเนื้อเยื่อพืชบางชนิดอีกด้วย

4. กรดแอมิโน เป็นแหล่งให้ไนโตรเจน เช่น การเติมเคซีน-ไฮโดรไลเซต (casein hydrolysate) ร้อยละ 0.02 – 1.00 ช่วยให้มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อเป็นอวัยวะได้ดีขึ้น ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช พบว่ามีผลช่วยชักนำให้เกิดยอด ราก และเอ็มบริโอจากเซลล์ที่ไม่เกี่ยวกับเพศด้วย

5. กรดอินทรีย์ เช่น ซิเทรต (citrate) มาเลต (malate) ซักซิเนต (succinate) หรือ ฟูมาเรต (fumarate) ช่วยให้เซลล์ และโพรโทพลาสต์ของพืชเจริญได้ และยังลดผลเสียจากการใช้แอมโมเนียม

6. สารประกอบจากธรรมชาติที่นิยมใช้ เช่น น้ำมะพร้าว กล้วยบด มันฝรั่ง สารสกัดจากมอลต์ สารสกัดจากยีสต์ ถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) ช่วยรักษาสมดุลของความเป็นกรดด่าง และบางชนิด ช่วยดูดซับสารที่เป็นพิษเนื่องจากมีมากเกินไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. สารควบคุมการเจริญของพืช ซึ่งหมายรวมถึงฮอร์โมนพืชด้วย ที่นิยมใช้ ได้แก่ ออกซิน มีผลกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ และ ไซโทไคนิน มีผลต่อการขยายตัวของเซลล์และขนาดของแวคิลโอลในเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น ได้แก่ TDZ และ BA

8. สารที่ทำให้อาหารแข็งตัว โดยทั่วไปมักใช้วุ้น (agar) และเจลาตินผสมลงในอาหารเพื่อทำให้แข็งตัว และวัสดุพยุงเนื้อเยื่อ ในการเลี้ยงในอาหารเหลว อาจใช้กระดาษกรองพับเพื่อวางเนื้อเยื่อพืชไม่ให้จมลงไปใต้อาหารเหลว นอกจากนี้ยังมี สำลี และใยสังเคราะห์ก็สามารถช่วยพยุงเนื้อเยื่อพืชในอาหารเหลวได้

2.3 การฉายรังสีในพืช

2.3.1 ความหมายและความเป็นมา

การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยรังสี นิยมใช้คือรังสีแกมมาและรังสีเอกซ์ ซึ่งสามารถฉายผ่านทะลุเข้าไปถึงเนื้อเยื่อภายในได้ดี เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับยีน (gene) ซึ่งเป็นหน่วยพันธุกรรม หรือทำให้เกิดการขาดของโครโมโซม ทำให้ได้ลักษณะพันธุ์ใหม่ๆ ขึ้นมา ประเทศไทยได้เริ่มนำเทคนิคนี้มาใช้ในปี พ.ศ.2508 กรมวิชาการเกษตร ได้นำเมล็ดข้าวมาฉายรังสีแกมมาที่สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ จนกระทั่งคัดเลือกได้ ข้าวพันธุ์ กข6 ข้าวพันธุ์ กข10 และข้าวพันธุ์ กข15 ซึ่งมีความต้านทานโรคเพิ่มมากขึ้น ให้ผลผลิตสูง นอกจากนั้นพันธุ์พืชอื่นๆ ที่ปรับปรุงได้ เช่น ถั่วเหลืองพันธุ์ดอยคำ เก๊กฮวย KU1 คาร์เนชั่น และกล้วยหอมทอง KU1 (วไลลักษณ์, 2560)

เมื่อเซลล์พืชได้รับรังสี รังสีจะถ่ายพลังงานให้กับโมเลกุลต่างๆของเซลล์ในกระบวนการถ่ายทอดพลังงาน ทำให้โมเลกุลที่ได้รับพลังงานแตกตัวเป็นไอออน และอนุมูลอิสระต่างๆจะมีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลใหม่ มีการทำปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างกันเกิดเป็นโมเลกุลที่มีคุณสมบัติทางชีวเคมีต่างไปจากเดิม (สิรนุช, 2540) รังสีทำให้อะตอมต่างๆ ภายในเซลล์เกิดการแตกตัวเป็นไอออนที่ไวต่อการทำปฏิกิริยาและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีขึ้นภายในเซลล์ ทำให้เกิดความเสียหายต่อการทำหน้าที่ต่างๆของเซลล์ เซลล์พืชที่ได้รับความเสียหายจากรังสีและเกิดการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลทางพันธุกรรมได้คือเซลล์เนื้อเยื่อเจริญที่อยู่ส่วนต่างๆของพืชมีความสามารถในการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนได้ซึ่งภายในเซลล์จะมีชีวโมเลกุลที่สำคัญ คือ ดีเอ็นเอ (Deoxyribonucleic : DNA)

2.3.2 วิธีการฉายรังสี

พืชต่างชนิดกันจะมีความไวต่อรังสีที่แตกต่างกัน ดังนั้นในการใช้รังสีชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของพืช ต้องทราบปริมาณรังสีที่เหมาะสมที่จะใช้กับพืชชนิดนั้นๆก่อน ปริมาณรังสีที่เหมาะสมศึกษาจากรายงานผลงานวิจัย หรือแนะนำโดยทบวงการพลังงานปรมาณูระหว่างประเทศ หรือนักวิจัยสามารถทำการทดลองเบื้องต้นเพื่อหาปริมาณรังสีที่เหมาะสมได้เช่น ทำการหาค่า LD_{50} (50% Lethal Dose) คือค่าที่ทำให้พืชมีอัตราการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ หรือ ค่า GR_{50} (50% growth reduction) คือค่าที่ทำให้อัตราการเจริญลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (อรุณี, 2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การที่จะฉายรังสีแบบใดนั้นขึ้นอยู่กับวัตถุตัวอย่างพืช และความพร้อมของอุปกรณ์การฉายรังสี การฉายรังสีกับตัวอย่างพืชทำได้ 2 วิธีคือ

1. การฉายรังสีแบบเฉียบพลัน (acute irradiation) คือ การให้รังสีโดยใช้อัตรารังสีและปริมาณรังสีสูงๆ และสิ้นสุดการฉายในระยะเวลาสั้นๆ

2. การฉายรังสีแบบเรื้อรัง (chronic irradiation) คือ การให้รังสีโดยใช้อัตรารังสีและปริมาณรังสีต่ำๆ และใช้เวลาในการฉายรังสีเป็นระยะเวลานานๆ เช่น เป็นสัปดาห์ หรือเป็นเดือน

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Atreya และคณะ (1984) ศึกษาการเจริญเป็นต้นกล้าในหลอดทดลองของถั่วลิสง (*Arachis hypogaea* L.) จากเอ็มบริโอและชิ้นส่วนใบ โดยใช้อาหารสูตร MS Gamborg (B5) สารสกัดจาก มันฝรั่ง (PE) และ Linsmaier and Skoog (LS) พบว่าอาหารสูตร MS ดีกว่าสูตรอื่นๆเนื่องจากทำให้มีการเจริญของต้นกล้าและจำนวนรากต่อต้นมากขึ้น นอกจากนี้พืชที่เจริญขึ้นใหม่จากชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วย NAA และ BA โดย NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะชักนำให้เกิดรากสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นอื่นๆ และมีการชักนำยอดได้ดีที่เมื่อใช้อาหารที่เสริมด้วย BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ยอดที่เกิดขึ้นเหล่านี้จะถูกย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่พัฒนารากที่หลายระดับความเข้มข้นส่งผลให้เกิดการเจริญของพืช แต่อย่างไรก็ตามอัตราส่วนของการเจริญนี้ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เสริมด้วย BA เพียงอย่างเดียว

McKently และคณะ (1988) ศึกษาการเจริญของถั่วลิสงในหลอดทดลองจากชิ้นส่วนของเมล็ดพันธุ์โดยชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ พบว่าชิ้นส่วนพืชที่เจริญจากเอ็มบริโอในหลอดเพาะเลี้ยงจะเกิดยอดใหม่เป็นจำนวนมากในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ปริมาณ 0.5-6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

McKently และคณะ (1991) ศึกษาการเจริญของถั่วลิสง (*A. glabrata*) จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชชิ้นส่วนใบ พบว่าเมื่อนำชิ้นส่วนใบที่มีความยาว 5-10 มิลลิเมตร มาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ทั้งหมด 4 ความเข้มข้น คือ 1 3 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า BA ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญมากที่สุด

Zhijian และคณะ (1994) ศึกษาการทำให้เกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนเมล็ดของถั่ว (*Arachis hypogaea* L.) โดยใช้ TDZ ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 1 สัปดาห์ ก็สามารถกระตุ้นให้เกิดยอดใหม่ขึ้นได้และยังนำไปพัฒนาเป็นต้นพืชต่อได้ โดยถูกนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงลำต้นใต้ใบเลี้ยงซึ่งเป็นชิ้นส่วนของเมล็ดถั่วลิสง

จันทกานต์ (2544) ได้ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในหญ้าเนเปียร์แคระโดยรังสีแกมมาร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนของหญ้าเนเปียร์แคระ (*Pennisetum purpureum* cv. Mott) ในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 5 เปอร์เซ็นต์และ 2,4-D

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด คือ 67.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำแคลลัสไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณ 0 1 2 3 4 และ 5 กิโลแรด พบว่ามีอัตราการอยู่รอด หรือค่า LD_{50} เท่ากับ 10.6 เกรย์

รัตนาภรณ์ และคณะ (2554) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเกิดยอดจำนวนมากของถั่วคาวาลเคด (*Centrosema pascuorum* cv. Cavalcade) โดยเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร ในที่มีแสงสว่าง 16 ชั่วโมง ที่มืด 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าในสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยของยอดจำนวนมากที่สุดคือ 5.2 ยอดต่อเมล็ด สำหรับสูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยความสูงของต้นมากที่สุดคือ 37.50 มิลลิเมตรต่อชิ้นเนื้อเยื่อ

รัตนาภรณ์ และคณะ (2555) ศึกษาประสิทธิภาพการเจริญเป็นต้นใหม่ของถั่วฮามาต้า (*Stylosanthes hamata* cv. Verano) จากเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ โดยเพาะเลี้ยงเมล็ดที่สมบูรณ์บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 0.5 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซูโครส 30 กรัมต่อลิตร เจลแลนกัม 2.6 กรัมต่อลิตร พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6-8 สัปดาห์ สูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย BA สามารถชักนำให้เกิดยอดได้จำนวนมาก โดยสารอาหาร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 2.57 และ 5.06 ยอดต่อเมล็ด เป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาด้านความสูง สูตรอาหาร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงเฉลี่ย 45.84 และ 54.29 มิลลิเมตรต่อยอด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ และสามารถชักนำให้เกิดรากเมื่อย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ประกอบด้วย IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

อนุรักษ์ และคณะ (2555) การชักนำการกลายพันธุ์โดยการฉายรังสีแกมมา โดยนำแคลลัสฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้น 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด มาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณรังสีที่ทำให้แคลลัสของถั่วคาวาลเคดมีเปอร์เซ็นต์การตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 6.3 กิโลแรด ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ และแคลลัสเจริญจากเซลล์แขวนลอยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 5.8 กิโลแรด ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ จากนั้นตรวจสอบการกลายพันธุ์ด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี เปรียบเทียบต้นควบคุม พบว่าสามารถแยกความแตกต่างระหว่างต้นที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา และไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมาได้

Manickam และคณะ (2014) ศึกษาการเจริญของ *Arachis hypogaea* L. และ *Moringa oleifera* Lam. ในหลอดทดลองโดยใช้ฮอร์โมนพืชที่ปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ของ *Aphanothece* sp. MBDU 515 ที่เรียกว่า CEP : Cyanobacterial Extracellular Product พบว่าอาหาร MS ที่ประกอบไปด้วย BAP และ IBA 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำยอดและรากตามลำดับ และเปรียบเทียบกับการใช้ CEP อาหารสูตร MS ที่เติม BAP มีการเจริญของยอดสูงสุดจากชิ้นส่วนที่มา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากเมล็ดของถั่วกลาบราต้า ใน *Arachis hypogaea* อาหาร MS ที่เสริมด้วย CEP ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตรต่อ 10 มิลลิลิตร และ 1 มิลลิลิตรต่อ 10 มิลลิลิตร นั้นพบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม จะมีการเกิดยอดเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดที่เพิ่มขึ้นระหว่างอาหารสูตร MS ที่เติม BAP และอาหาร MS ที่เสริมด้วย CEP ที่การทดสอบในระดับความเข้มข้นทั้งสองนั้นมีความคล้ายคลึงทางสถิติ นอกจากนี้ความยาวของยอดที่เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าในอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วย CEP 1 มิลลิลิตรต่อ 10 มิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับอาหาร MS ที่เติม BAP ทั้ง 2 ความเข้มข้น ในขณะที่ความยาวของยอดในอาหาร MS ที่เสริมด้วย CEP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อ 10 มิลลิลิตร พบว่ามีความคล้ายคลึงทางสถิติ ถึงแม้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดจะมีเพิ่มขึ้นในชิ้นส่วนที่ทดสอบด้วย BAP แต่ความยาวของยอดนั้นก็จะลดลงเมื่อเทียบกับตัวควบคุม

Aina และคณะ (2015) ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของ *A. paraguariensis* 6 สายพันธุ์ ที่นำมาเพาะเลี้ยงโดยเปรียบเทียบในอาหารที่เติม IAA IBA และ NAA ที่ความเข้มข้น 0 0.2 0.6 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดการงอกของรากได้ แต่รากจะสั้น มีลักษณะที่ผิดปกติ และเปราะ ในการทดลองการเจริญของรากและเพิ่มจำนวนที่เหมาะสมที่สุดคือการเติม IBA หรือ IAA ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 พืชที่ใช้ในการศึกษา

ชิ้นส่วนข้อ และลำต้นของถั่วกลาบราต้า (*Arachis glabrata*) จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์ต้นพันธุ์จากศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์เพชรบุรี อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี

3.1.2 สารเคมี

- อาหารสังเคราะห์สำเร็จสูตรอาหาร Murashige and skoog, 1962 (MS)
- N6-Benzyladenine (BA)
- Thaidiazuron (TDZ)
- Indole-3-butyric acid (IBA)
- Plant Preservative Mixture Solution (PPM, PCT Inc.)
- Antibiotic antimycotic solution (SIGMA Inc.)
- เมอคิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$)
- สารลดแรงตึงผิว (tween-20)
- น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (sterilized distilled water)
- ผงวุ้นไฟทาเจล (phyto technology laboratory Inc.)
- น้ำตาลทราย (sucrose)
- สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 นอร์มอล (Hydrochloric acid, 1 N HCl)
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มอล และ 3 นอร์มอล (Sodium hydroxide, 0.1 N and 3.0 N NaoH)
- สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70 และ 95

3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และฝาพลาสติกทนความร้อน (tissue culture bottle)
- จานแก้ว (petri dish)
- จานเพาะเชื้อพลาสติก (plastic Sterile Petri dish)
- ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)
- กระบอกตวง (cylinder)
- บีกเกอร์พลาสติก (plastic beaker)
- ช้อนตักสาร (spatula)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ถ้วยชั่งสาร (cup)
- ทิป (tip)
- ไมโครปิเปตต์ (micropipettes)
- ด้ามมีดและใบมีดผ่าตัด (scalpel handle and scalpel blade)
- กรรไกรผ่าตัด (scissors)
- ปากคีบ (forcept)
- ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (test tube rack)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์ (alcohol lamp)
- ไฟแช็ค (lighter)
- กระดาษทิชชู (tissue paper)
- ถุงมือยาง (rubber gloves)
- พาราฟิล์ม (parafilm)
- กระดาษฟอยล์ (aluminium foil)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด (balance)
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)
- เตาไมโครเวฟ (microwave oven)
- เครื่องเขย่าไฟฟ้า (rotary shaker)
- ตู้เย็น (refrigerator)
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow)
- กล้องถ่ายภาพ (camera)
- เครื่องวัดเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ (vernier calipers)
- เครื่องฉายรังสีแกมมามาร์ค-วัน (MARK I IRRADIATOR) ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืช

นำชิ้นส่วนข้อและลำต้นของถั่วกลาบราต้า 3 สายพันธุ์ ได้แก่ Ecoturf Florigraze และ Arbrook มาล้างผ่านน้ำเพื่อชะล้างคราบดินและฝุ่นละอองออก แล้วนำไปแช่แอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 1 ในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วร่วมกับ PPM และ antibiotics antimycotic solution ความเข้มข้น 1 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร และเมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 เติม tween-20 จำนวน 2-3 หยด ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 80 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไป ฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 ในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วร่วมกับ PPM และ antibiotic antimycotic solution ความเข้มข้น 1 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลาทำการล้างสารฟอกฆ่าเชื้อออกโดยย้ายชิ้นส่วนพืชลงในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วทำการเขย่าเป็นเวลา 10 นาที โดยล้างซ้ำ 3 ครั้ง เพื่อให้ชิ้นส่วนพืชไม่มีสารฟอกฆ่าเชื้อตกค้างอยู่

3.2.2 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้า

นำชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วนำมาตัดแต่งให้มีความยาวประมาณ 1-2 เซนติเมตร จากนั้นนำมาวางลงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 5.2 กรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยง 2 ชิ้นต่อขวด เพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส พร้อมบันทึกและวิเคราะห์ผลการเกิดของยอดและแคลลัสที่ 4 และ 8 สัปดาห์ โดยทำการสังเกตลักษณะ การเจริญเติบโตที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารแต่ละสูตร สี ขนาดของแคลลัส และความสูงของยอด วัดขนาดแคลลัสที่เกิดขึ้น นับจำนวนชิ้นส่วนที่เกิดยอด และจำนวนชิ้นส่วนทั้งหมดที่ใช้ในการทดลองมาคำนวณร้อยละการเกิดยอดได้จากสูตร

$$\text{ร้อยละการเกิดยอด} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดยอด}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนทั้งหมดที่ใช้ในการทดลอง}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นับจำนวนชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัส และจำนวนชิ้นส่วนทั้งหมดที่ใช้ในการทดลองมาคำนวณร้อยละการเกิดแคลลัสได้จากสูตร

$$\text{ร้อยละการเกิดแคลลัส} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัส}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนทั้งหมดที่ใช้ในการทดลอง}} \times 100$$

และนับจำนวนชิ้นส่วนที่เกิดยอดและแคลลัสร่วมกัน และจำนวนชิ้นส่วนทั้งหมดที่ใช้ในการทดลองมาคำนวณร้อยละการเกิดยอดและแคลลัสร่วมกันได้จากสูตร

$$\text{ร้อยละการเกิดยอดและแคลลัสร่วมกัน} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดยอดและแคลลัส}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนทั้งหมดที่ใช้ในการทดลอง}} \times 100$$

3.2.3 การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้า

นำชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วนำมาตัดแต่งให้มีความยาวประมาณ 1-2 เซนติเมตร จากนั้นนำมาวางลงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 5.2 กรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยง 2 ชิ้นต่อขวด เพาะเลี้ยงโดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส พร้อมบันทึกและวิเคราะห์ผลการเกิดของยอดและแคลลัสที่ 4 และ 8 สัปดาห์ โดยทำการสังเกตลักษณะภายนอก การเจริญเติบโตที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงในอาหารแต่ละสูตร รวมถึงสี ขนาดของแคลลัส และความสูงของยอด วัดขนาดแคลลัสที่เกิดขึ้น นับจำนวนชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัส และจำนวนชิ้นส่วนทั้งหมดที่ใช้ในการทดลองมาคำนวณร้อยละการเกิดแคลลัสได้จากสูตร

$$\text{ร้อยละการเกิดแคลลัส} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัส}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนทั้งหมดที่ใช้ในการทดลอง}} \times 100$$

และคำนวณขนาดแคลลัสที่เกิดขึ้นได้จากสูตร

$$\text{ขนาดแคลลัส} = \text{กว้าง} \times \text{ยาว} \times \text{สูง}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4 การศึกษาผลของปริมาณรังสีแกมมาต่อการเจริญของแคลลัสของถั่วกลาบราต้า

นำแคลลัสที่มีลักษณะแข็ง เกาะกันเป็นก้อน (compact callus) ของถั่วกลาบราต้า สายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook จากขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาตัดแบ่งชิ้นให้มีขนาดเท่ากัน วางเรียงในเพลทที่มีอาหารสูตร MS เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วนำเพลทแคลลัสที่เตรียมไว้ไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน (acute irradiation) ในปริมาณต่างๆคือ 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด โดยใช้เครื่องฉายรังสีแกมมามาร์ค-วัน (MARK I IRRADIATOR) ที่ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จากนั้นนำแคลลัสที่ผ่านการฉายรังสีแกมมามาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิลิตร ซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในที่สว่าง 16 ชั่วโมงและที่มืด 8 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส บันทึกผลอัตราการอยู่รอดที่ 8 สัปดาห์ โดยทำการสังเกตลักษณะการเจริญเติบโต สี และขนาดของแคลลัสแล้วคำนวณหาร้อยละของแคลลัสที่อยู่รอดเทียบกับชุดควบคุมทั้งหมด และบันทึกผลอัตราการเจริญที่ 8 สัปดาห์ โดยวัดขนาดของแคลลัสแล้วเปรียบเทียบกับขนาดของชุดควบคุม แล้วคำนวณหาร้อยละของขนาดของแคลลัสที่อยู่รอดเทียบกับชุดควบคุมทั้งหมด แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปหาค่าเฉลี่ย (mean) พร้อมสร้างแผนภูมิด้วยโปรแกรม Microsoft excel รุ่น 2016 เพื่อใช้หาปริมาณรังสีที่ทำให้ตายร้อยละ 50 (LD_{50}) และอัตราการเจริญที่ลดลงร้อยละ 50 (GR_{50}) โดยคำนวณร้อยละจำนวนรอดชีวิตได้จากสูตร

$$\text{ร้อยละจำนวนการรอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนแคลลัสที่เกิดรอดชีวิต}}{\text{จำนวนแคลลัสทั้งหมดที่ใช้ในการทดลอง}} \times 100$$

คำนวณขนาดแคลลัสได้จากสูตร

$$\text{ขนาดแคลลัส} = \text{กว้าง} \times \text{ยาว} \times \text{สูง}$$

และคำนวณร้อยละค่าเฉลี่ยขนาดของแคลลัสได้จากสูตร

$$\text{ร้อยละค่าเฉลี่ยขนาดของแคลลัส} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยขนาดของแคลลัส}}{\text{ค่าเฉลี่ยขนาดของแคลลัสที่ใหญ่สุด}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้า

จากการนำชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook มาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดและแคลลัส จากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่า ในสัปดาห์ที่ 4 สายพันธุ์ Ecoturf ในอาหารสังเคราะห์ TDZ ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดสูงสุดมีจำนวนเท่ากับ 2 ยอด คิดเป็นร้อยละ 20 ที่ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดแคลลัสสูงสุดมีจำนวนเท่ากับ 5 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 50 โดยมีค่าเฉลี่ยขนาดของแคลลัสเท่ากับ 396.83 ลูกบาศก์มิลลิเมตร และที่ TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดและแคลลัสสูงสุดมีจำนวนเท่ากับ 4 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 40 ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดจำนวน 2 ยอด คิดเป็นร้อยละ 20 ที่ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดแคลลัสสูงสุดมีจำนวนเท่ากับ 5 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 50 และ TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดและแคลลัสสูงสุดมีจำนวนเท่ากับ 4 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 40 ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.3

หลังจากการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ ชิ้นส่วนข้อที่มีการเจริญของแคลลัสมีลักษณะเกาะกันแน่นสีเขียว ดังรูปที่ 4.2 (ก-จ) และชิ้นส่วนข้อที่มีการเจริญเป็นยอดและแคลลัส มีการเจริญจากตาข้างจำนวนหลายยอด (multiple shoot) ลำต้นเป็นสีเขียว ดังรูปที่ 4.2 (ฉ-ญ) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ชิ้นส่วนข้อมีการเจริญเป็นแคลลัสมีขนาดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมน้ำตาล ดังรูปที่ 4.4 (ก-จ) ชิ้นส่วนข้อที่เกิดเป็นยอดและแคลลัสนั้นแคลลัสบริเวณเหนืออาหารเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและมียอดตาย ดังรูปที่ 4.4 (ฉ-ญ)

สายพันธุ์ Florigraze ในสัปดาห์ที่ 4 BA ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดแคลลัสมีจำนวนใกล้เคียงกัน โดยที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดแคลลัสสูงสุดจำนวน 6 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 60 ที่ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดและแคลลัสสูงสุดมีจำนวนเท่ากับ 5 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 50 ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.5 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ที่ TDZ ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดสูงสุดมีจำนวนเท่ากับ 1 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 10 ที่ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคลลัสสูงสุดมีจำนวนเท่ากับ 7 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 70 และที่ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถ ชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดและแคลลัสสูงสุดมีจำนวนเท่ากับ 5 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 50 ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.7

หลังจากการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดแคลลัสสูงสุด โดยแคลลัสมีสีขาวอมเหลือง ฉ่ำน้ำ ดังรูปที่ 4.6 (ก-จ) และสามารถพัฒนาส่วนของตาข้างให้เป็นยอดและแคลลัสได้ยอดมีสีเขียวเจริญมาจากตาข้างและแคลลัสเกิดบริเวณเหนืออาหารรอบๆ มีลักษณะสีขาวอมเหลือง ฉ่ำน้ำเกาะกันไม่แน่น ดังรูปที่ 4.6 (ฉ-ญ) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ แคลลัสขยายใหญ่ขึ้นแต่เริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหรือสีน้ำตาล ดังรูปที่ 4.8 (ก-จ) BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เจริญเป็นยอดและแคลลัส มีค่าความสูงสูงสุดเป็น 52.86 มิลลิเมตร บริเวณปลายยอดเริ่มเหี่ยวลงและแคลลัสขยายใหญ่ขึ้น ดังรูปที่ 4.8 (ฉ-ญ)

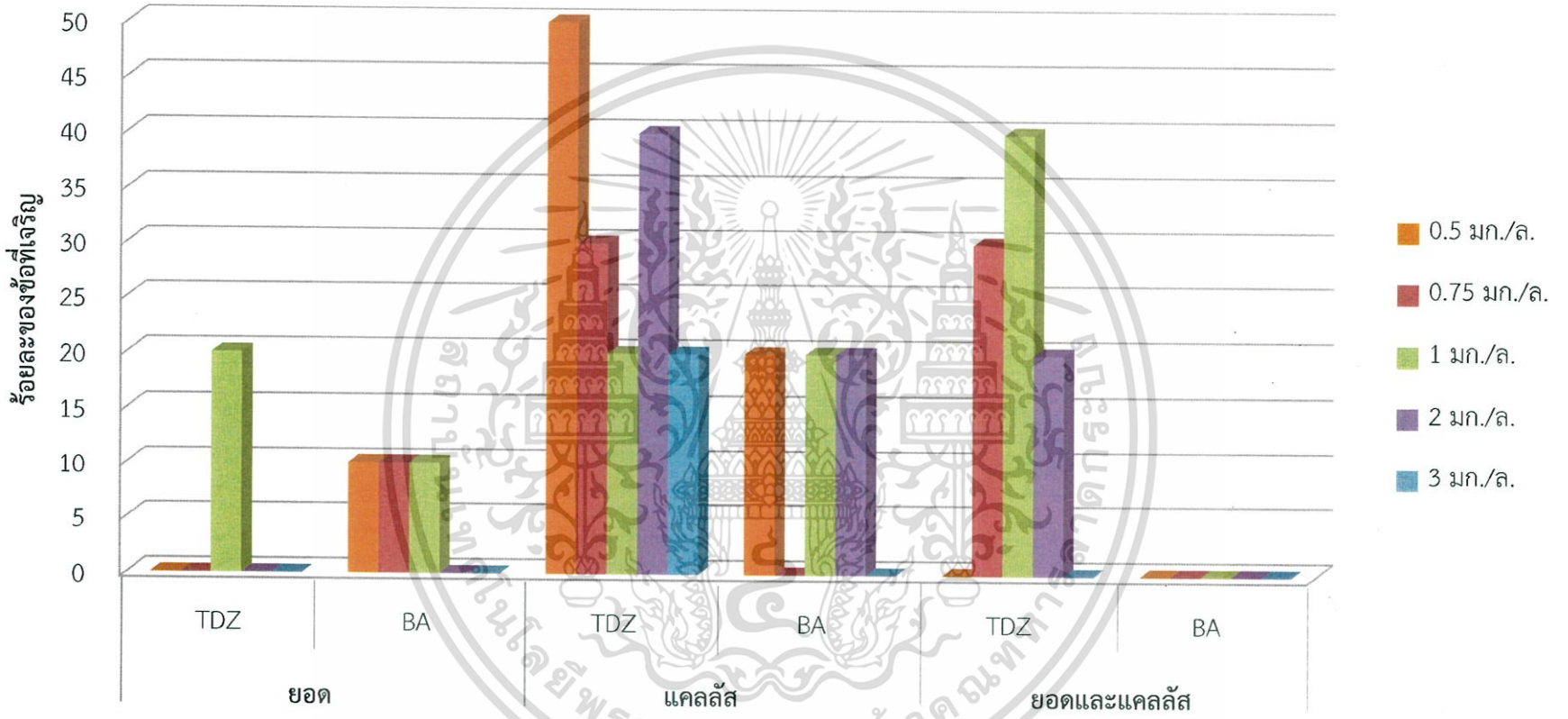
สายพันธุ์ Arbrook ในสัปดาห์ที่ 4 TDZ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดสูงสุดจำนวนเท่ากับ 4 ยอด คิดเป็นร้อยละ 40 และ BA ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดจำนวนเท่ากับ 2 ยอด มีค่าเฉลี่ยความสูงของยอดสูงสุดเท่ากับ 38.14 มิลลิเมตร ที่ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดแคลลัสสูงสุดจำนวนเท่ากับ 4 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 40 และที่ TDZ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดแคลลัสจำนวนเท่ากับ 1 ชิ้น มีค่าเฉลี่ยขนาดของแคลลัสสูงสุดเท่ากับ 380.86 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ที่ TDZ ความเข้มข้น 0.5 0.75 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตรและ BA ความเข้มข้น 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดและแคลลัส ได้จำนวนใกล้เคียงกัน โดยที่ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำได้สูงสุด 2 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 20 ดังแสดงในตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.9 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ที่ TDZ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดสูงสุดมีจำนวนเท่ากับ 4 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 40 ที่ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดแคลลัสจำนวนใกล้เคียงกันคือ 5 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 50 และที่ TDZ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรและ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดและแคลลัสสูงสุดจำนวนเท่ากับ 3 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 30 ดังแสดงในตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.11

หลังจากการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ สามารถพัฒนาเป็นแคลลัสที่มีลักษณะเกาะกันไม่แน่นมาก สีขาวอมเหลือง อยู่บริเวณรอบๆข้อเหนืออาหาร ดังรูปที่ 4.10 (ก-จ) ชิ้นส่วนข้อที่เกิดเป็นยอดและแคลลัสนั้นส่วนลำต้นแข็งแรง และมีแคลลัสสีเหลืองอยู่บริเวณเหนืออาหารรอบๆเล็กน้อยดังรูปที่ 4.10 (ฉ-ญ) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ แคลลัสที่เกิดขึ้นเกาะกันแน่น สีเขียว มีขนาดใหญ่ขึ้น ดังรูปที่ 4.12 (ก-จ) และชิ้นส่วนข้อนั้นเกิดยอดและแตกใบอ่อนออกมาจำนวนมาก แคลลัสบริเวณโคนข้อเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ดังรูปที่ 4.12 (ฉ-ญ) โดยต้นที่ชักนำให้เกิดยอดและแคลลัสสูงสุดมีความสูงคือ 82.99 มิลลิเมตร ต้นมีความแข็งแรงพอที่จะพัฒนาไปเป็นต้นที่มีความสมบูรณ์ พร้อมที่จะนำไปพัฒนาให้เกิดรากต่อไป ดังรูปที่ 4.12 (ญ)

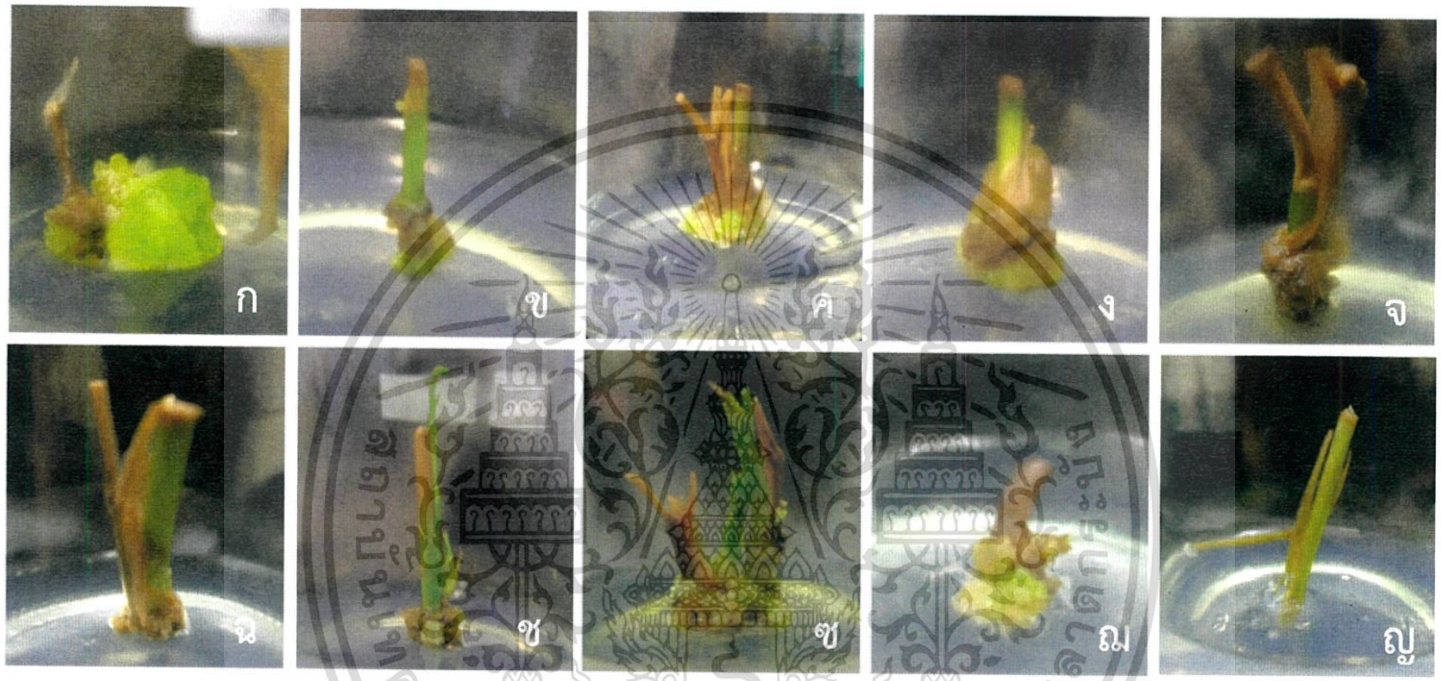
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 4.1 ผลการศึกษาของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf สัปดาห์ที่ 4

ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนข้อที่ใช้เพาะเลี้ยง	จำนวนข้อที่เกิดยอด (ร้อยละ)	ความยาวของยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	จำนวนข้อที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)	จำนวนข้อที่เกิดยอดและแคลลัส (ร้อยละ)
TDZ	BA						
0.5	-	10	0	0	5 (50)	396.83	0
0.75	-	10	0	0	3 (30)	249.53	3 (30)
1	-	10	2 (20)	17.73	2 (20)	165.94	4 (40)
2	-	10	0	0	4 (40)	107.16	2 (20)
3	-	10	0	0	2 (20)	318.59	0
-	0.5	10	1 (10)	33.19	2 (20)	106.73	0
-	0.75	10	1 (10)	17.14	0	0	0
-	1	10	1 (10)	25.30	2 (20)	185.92	0
-	2	10	0	0	2 (20)	140.38	0
-	3	10	0	0	0	0	0



รูปที่ 4.1 แสดงร้อยละจำนวนแคลลัสและยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

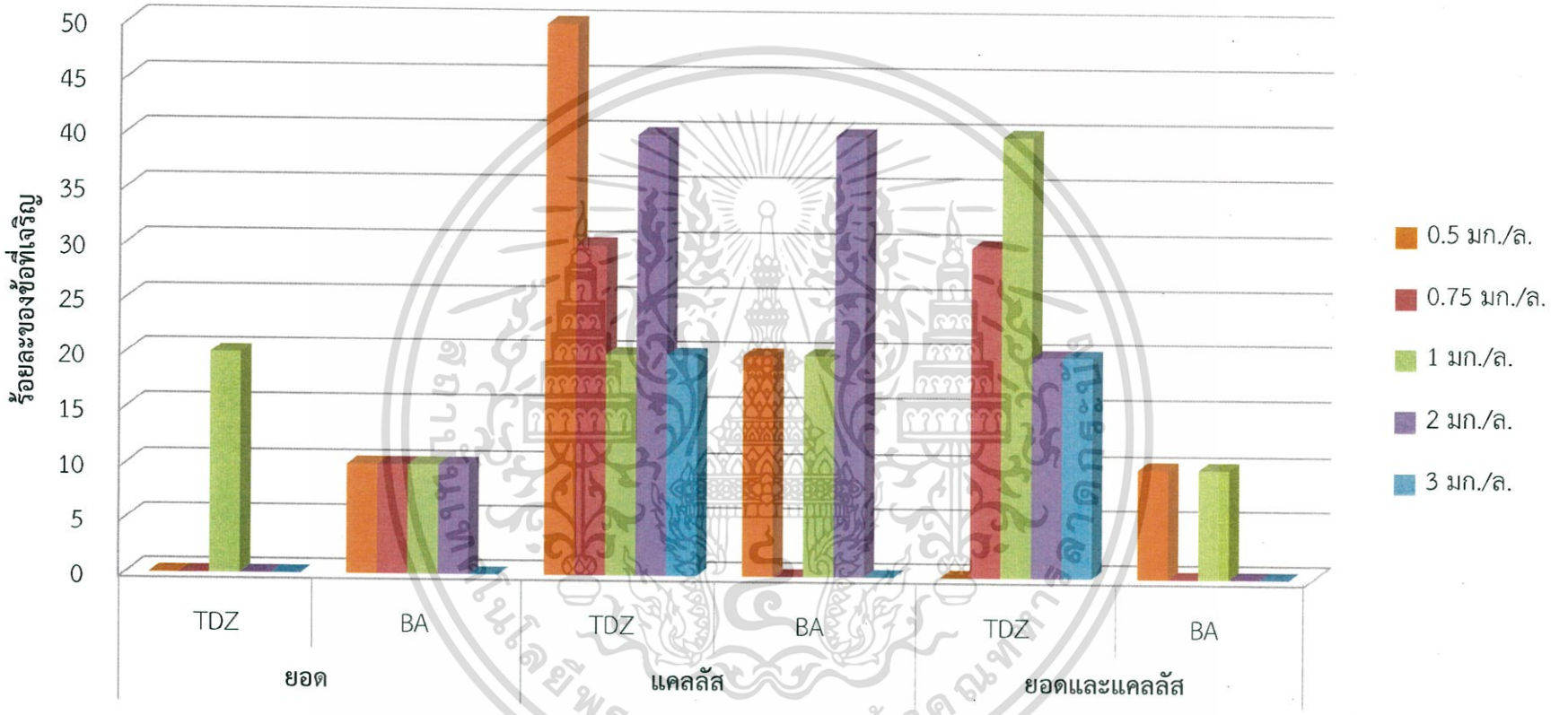


รูปที่ 4.2 แสดงผลการชักนำชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf ให้เกิดแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ3มิลลิกรัมต่อลิตร (ก-จ) ตามลำดับ และเกิดยอดและแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฉ-ญ) ตามลำดับ ที่เวลา 4 สัปดาห์

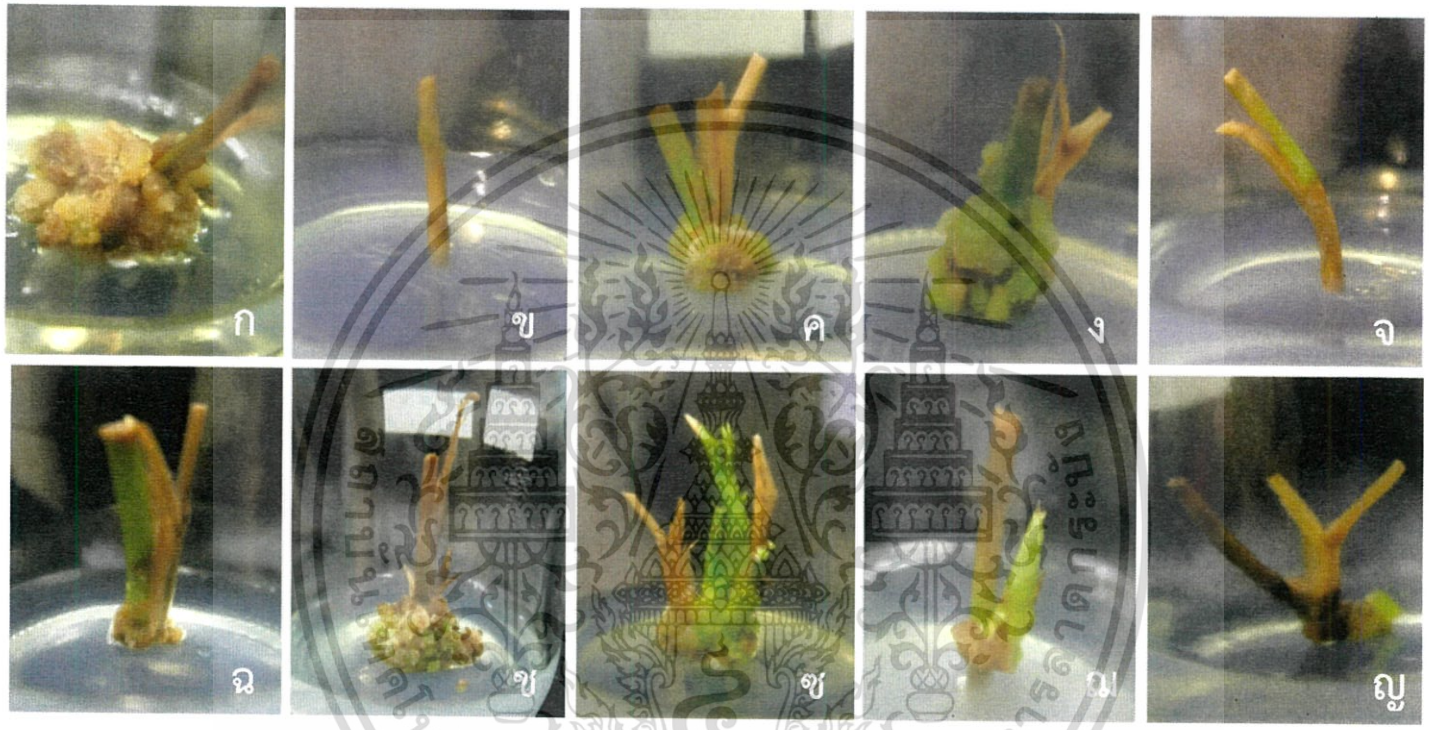
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

ตาราง 4.2 ผลการศึกษาของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf สัปดาห์ที่ 8

ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนข้อที่ใช้เพาะเลี้ยง	จำนวนข้อที่เกิดยอด (ร้อยละ)	ความยาวของยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	จำนวนข้อที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)	จำนวนข้อที่เกิดยอดและแคลลัส (ร้อยละ)
TDZ	BA						
0.5	-	10	0	0	5 (50)	933.72	0
0.75	-	10	0	0	3 (30)	1124.45	3 (30)
1	-	10	2 (20)	15.78	2 (20)	165.94	4 (40)
2	-	10	0	0	4 (40)	562.17	2 (20)
3	-	10	0	0	2 (20)	318.59	2 (20)
-	0.5	10	1 (10)	18.10	2 (20)	1108.21	1 (10)
-	0.75	10	1 (10)	17.14	0	0	0
-	1	10	1 (10)	25.30	2 (20)	2001.03	1 (10)
-	2	10	1 (10)	29.22	4 (40)	567.20	0
-	3	10	0	0	0	0	0



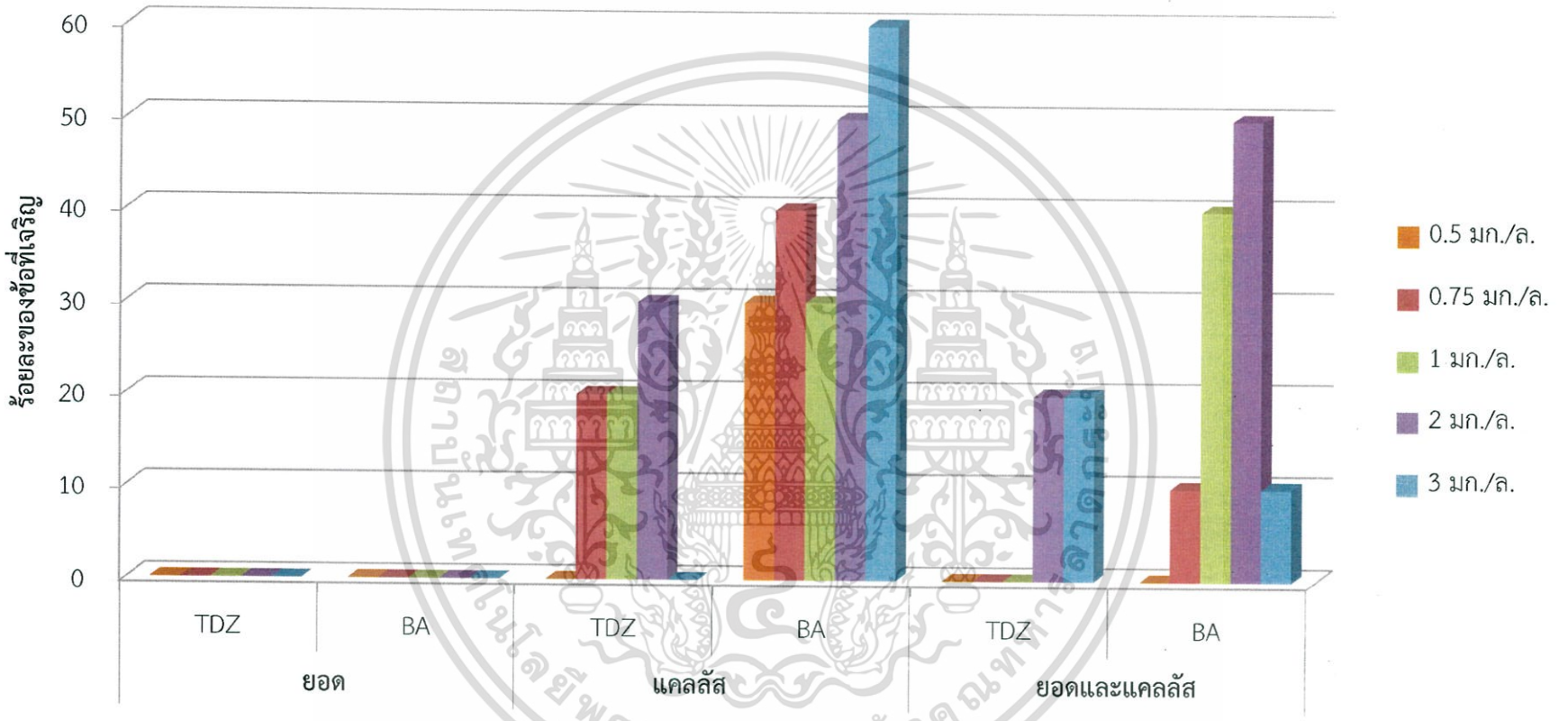
รูปที่ 4.3 แสดงร้อยละจำนวนแคลลัสและยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์



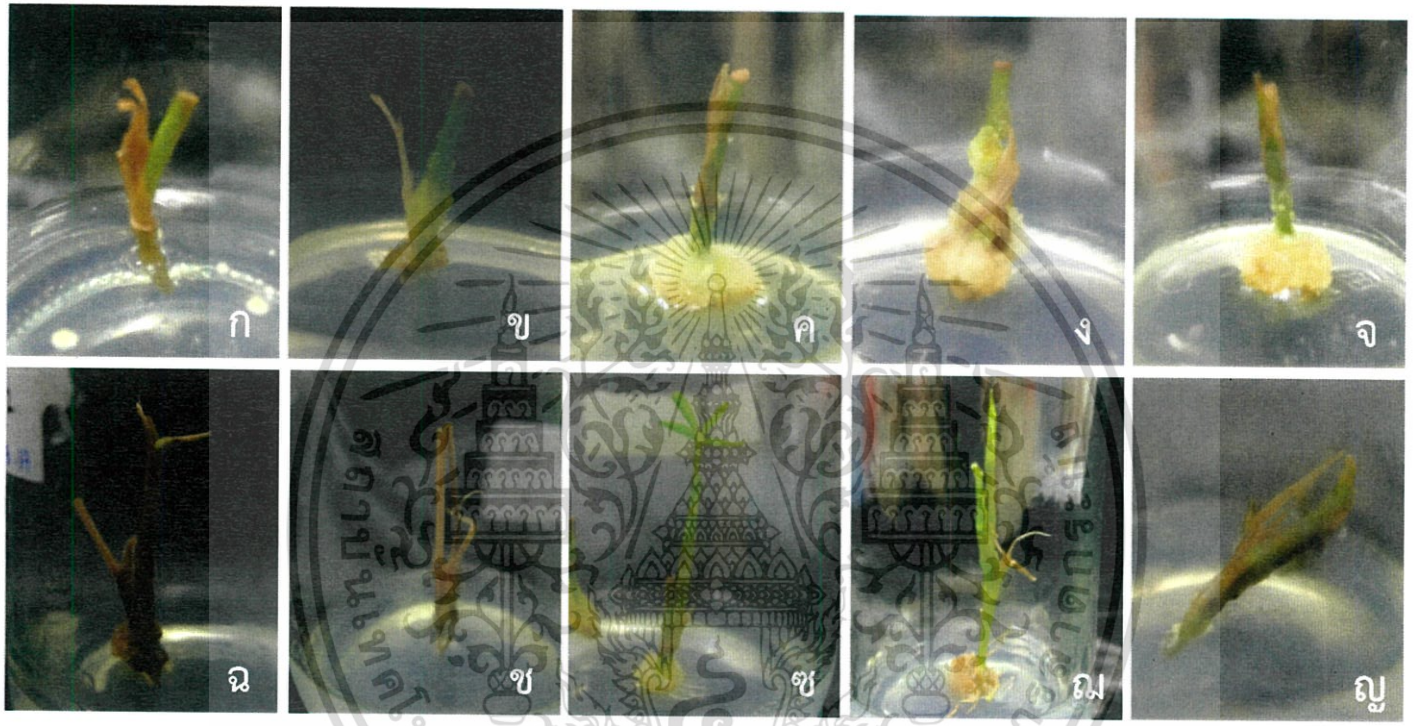
รูปที่ 4.4 แสดงผลการชักนำชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf ให้เกิดแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก-จ) ตามลำดับ และเกิดยอดและแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฉ-ญ) ตามลำดับ ที่เวลา 8 สัปดาห์

ตาราง 4.3 ผลการศึกษาของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigaze สัปดาห์ที่ 4

ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนข้อที่ใช้เพาะเลี้ยง	จำนวนข้อที่เกิดยอด (ร้อยละ)	ความยาวของยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	จำนวนข้อที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)	จำนวนข้อที่เกิดยอดและแคลลัส (ร้อยละ)
TDZ	BA						
0.5	-	10	0	0	0	0	0
0.75	-	10	0	0	2 (20)	161.68	0
1	-	10	0	0	2 (20)	198.79	0
2	-	10	0	0	3 (30)	132.40	2 (20)
3	-	10	0	0	0	0	2 (20)
-	0.5	10	0	0	3 (30)	254.86	0
-	0.75	10	0	0	4 (40)	226.66	1 (10)
-	1	10	0	0	3 (30)	538.23	4 (40)
-	2	10	0	0	5 (50)	232.22	5 (50)
-	3	10	0	0	6 (60)	268.36	1 (10)



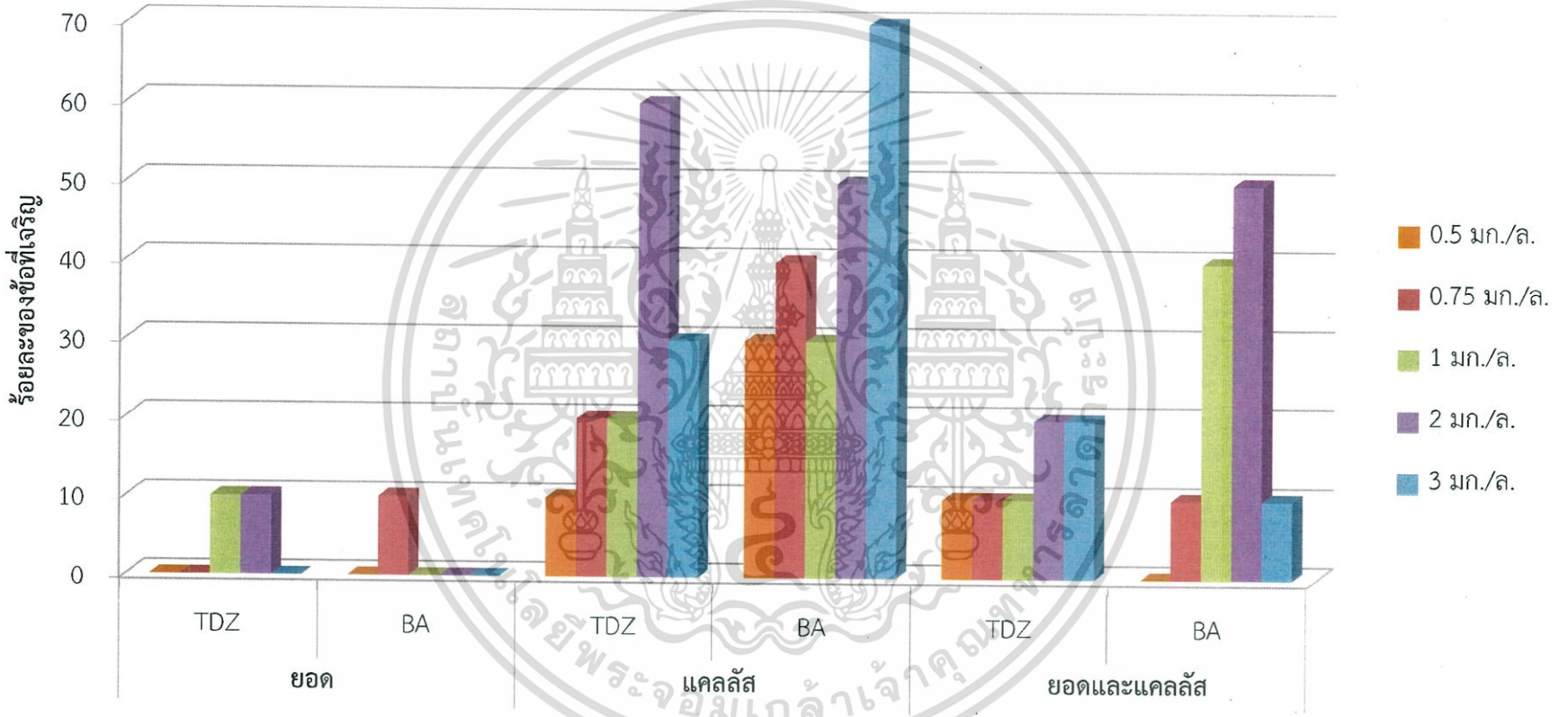
รูปที่ 4.5 แสดงร้อยละจำนวนแคลลัสและยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์



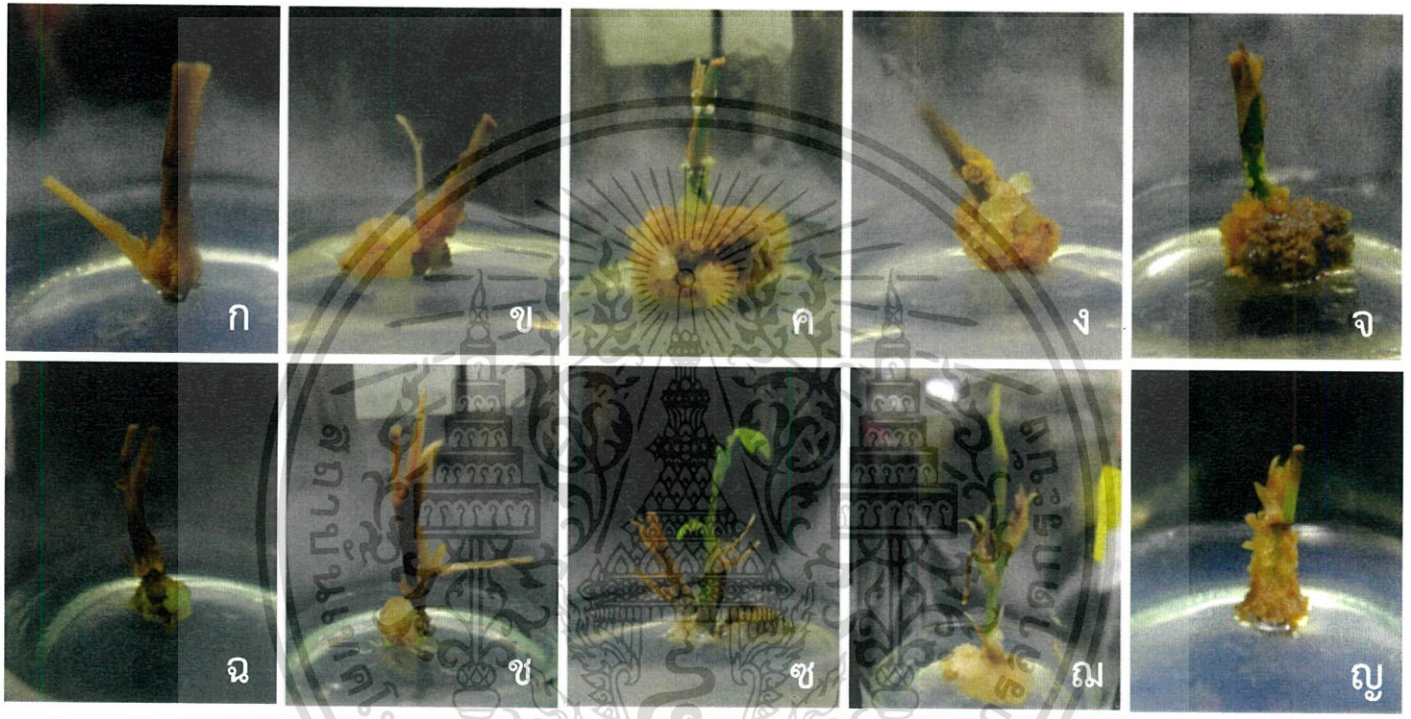
รูปที่ 4.6 แสดงผลการชักนำชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze ให้เกิดแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก-จ) ตามลำดับ และเกิดยอดและแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฉ-ญ) ตามลำดับ ที่เวลา 4 สัปดาห์

ตาราง 4.4 ผลการศึกษาของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigaze สัปดาห์ที่ 8

ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนข้อที่ใช้เพาะเลี้ยง	จำนวนข้อที่เกิดยอด (ร้อยละ)	ความยาวของยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	จำนวนข้อที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)	จำนวนข้อที่เกิดยอดและแคลลัส (ร้อยละ)
TDZ	BA						
0.5	-	10	0	0	1 (10)	196.31	1 (10)
0.75	-	10	0	0	2 (20)	1519.70	1 (10)
1	-	10	1 (10)	4.78	2 (20)	198.79	1 (10)
2	-	10	1 (10)	19.90	6 (60)	895.53	2 (20)
3	-	10	0	0	3 (30)	740.06	2 (20)
-	0.5	10	0	0	3 (30)	254.86	0
-	0.75	10	1 (10)	26.02	4 (40)	226.66	1 (10)
-	1	10	0	0	3 (30)	4590.73	4 (40)
-	2	10	0	0	5 (50)	817.62	5 (50)
-	3	10	0	0	7 (70)	1519.35	1 (10)



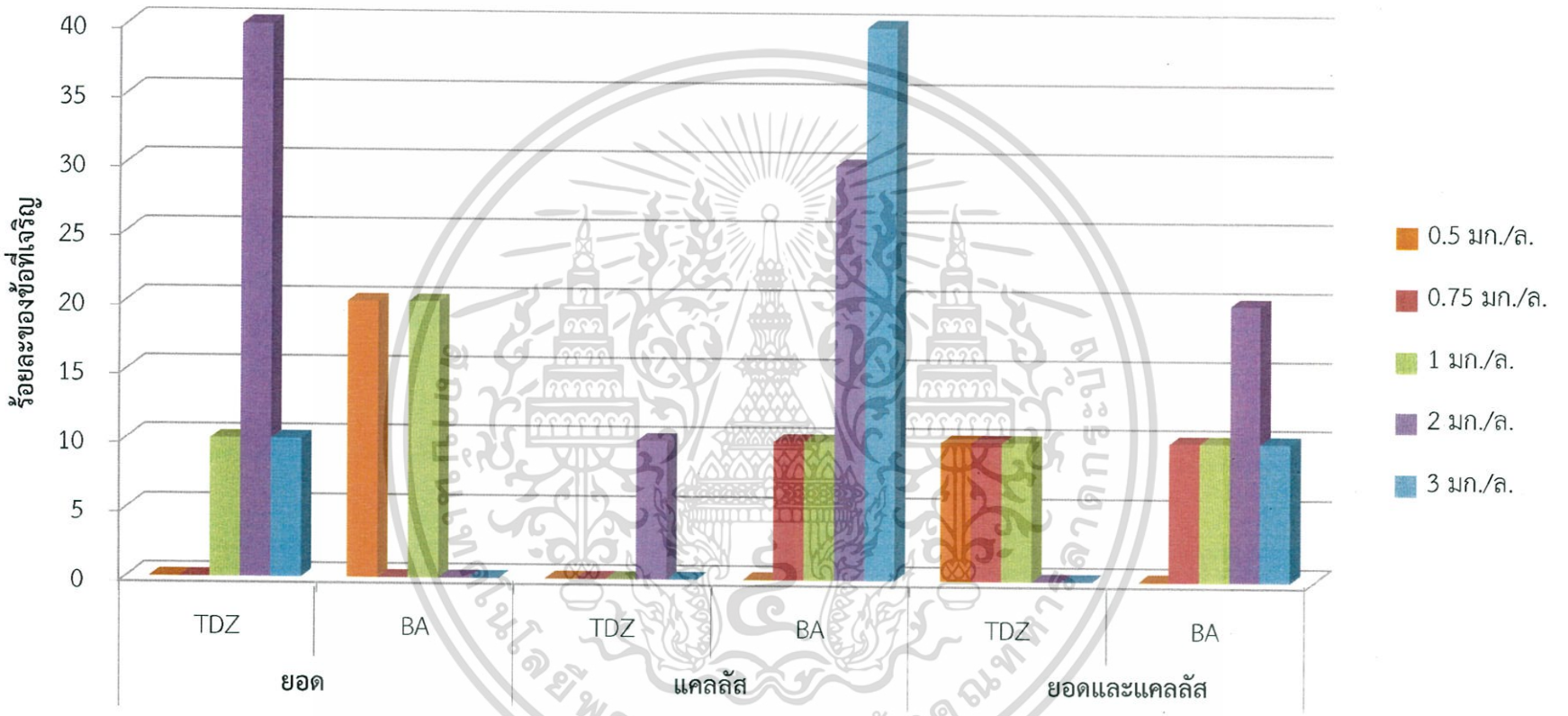
รูปที่ 4.7 แสดงร้อยละจำนวนแคลลัสและยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์



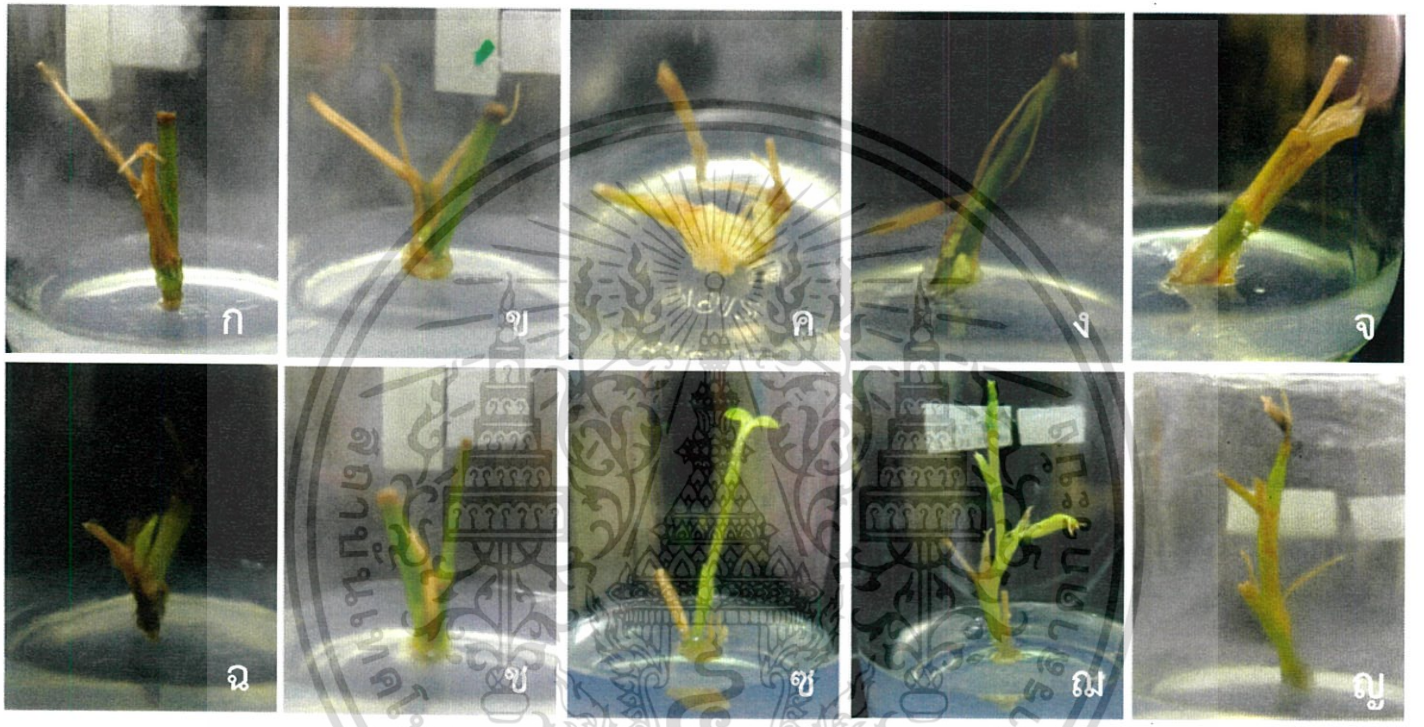
รูปที่ 4.8 แสดงผลการชักนำชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze ให้เกิดแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก-จ) ตามลำดับ และเกิดยอดและแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฉ-ญ) ตามลำดับ ที่เวลา 8 สัปดาห์

ตาราง 4.5 ผลการศึกษาของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook สัปดาห์ที่ 4

ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนข้อที่ใช้เพาะเลี้ยง	จำนวนข้อที่เกิดยอด (ร้อยละ)	ความยาวของยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	จำนวนข้อที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)	จำนวนข้อที่เกิดยอดและแคลลัส (ร้อยละ)
TDZ	BA						
0.5		10	0	0	0	0	1 (10)
0.75	-	10	0	0	0	0	1 (10)
1	-	10	1 (10)	9.44	0	0	1 (10)
2	-	10	4 (40)	8.82	1 (10)	380.86	0
3	-	10	1 (10)	3.51	0	0	0
-	0.5	10	2 (20)	38.14	0	0	0
-	0.75	10	0	0	1 (10)	77.70	1 (10)
-	1	10	2 (20)	16.79	1 (10)	158.12	1 (10)
-	2	10	0	0	3 (30)	45.06	2 (20)
-	3	10	0	0	4 (40)	90.98	1 (10)



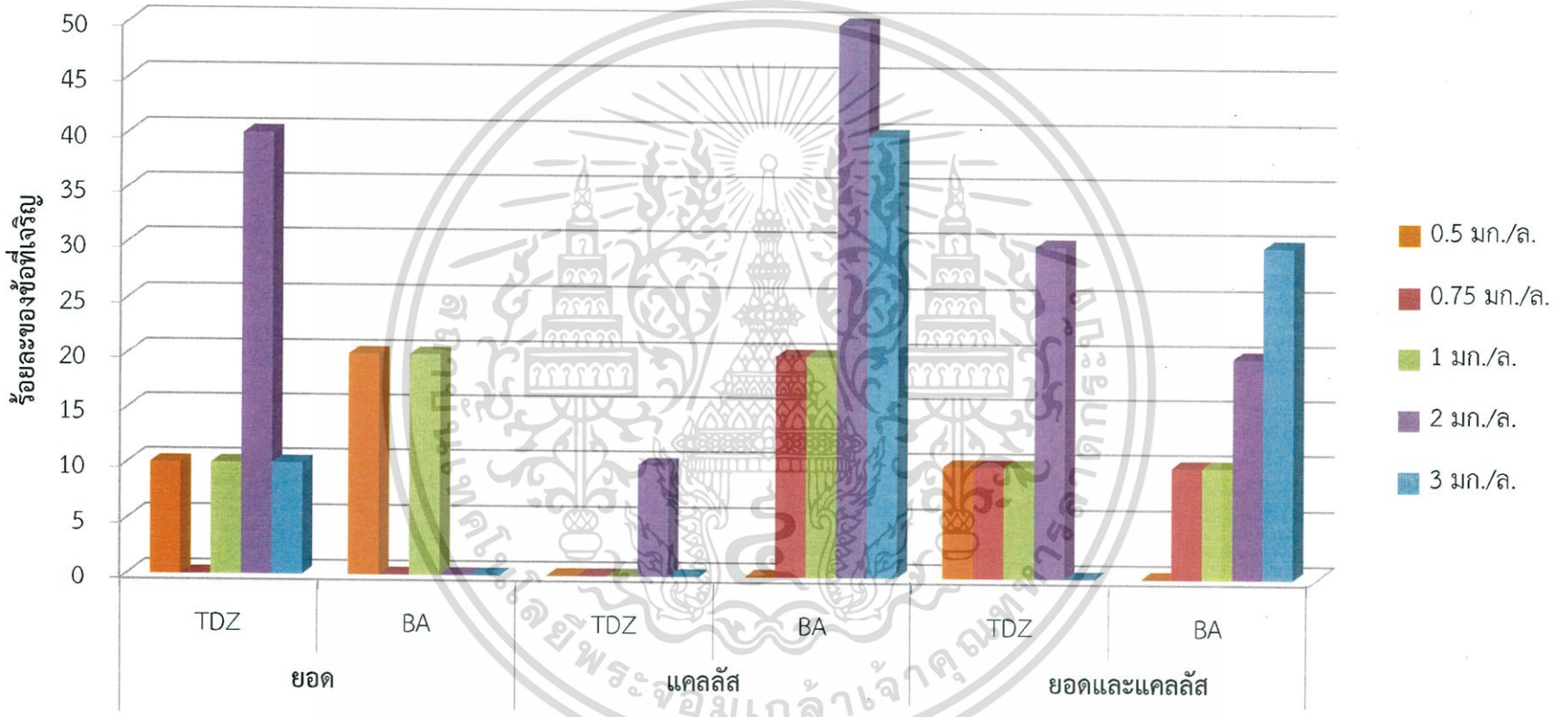
รูปที่ 4.9 แสดงร้อยละจำนวนแคลลัสและยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์



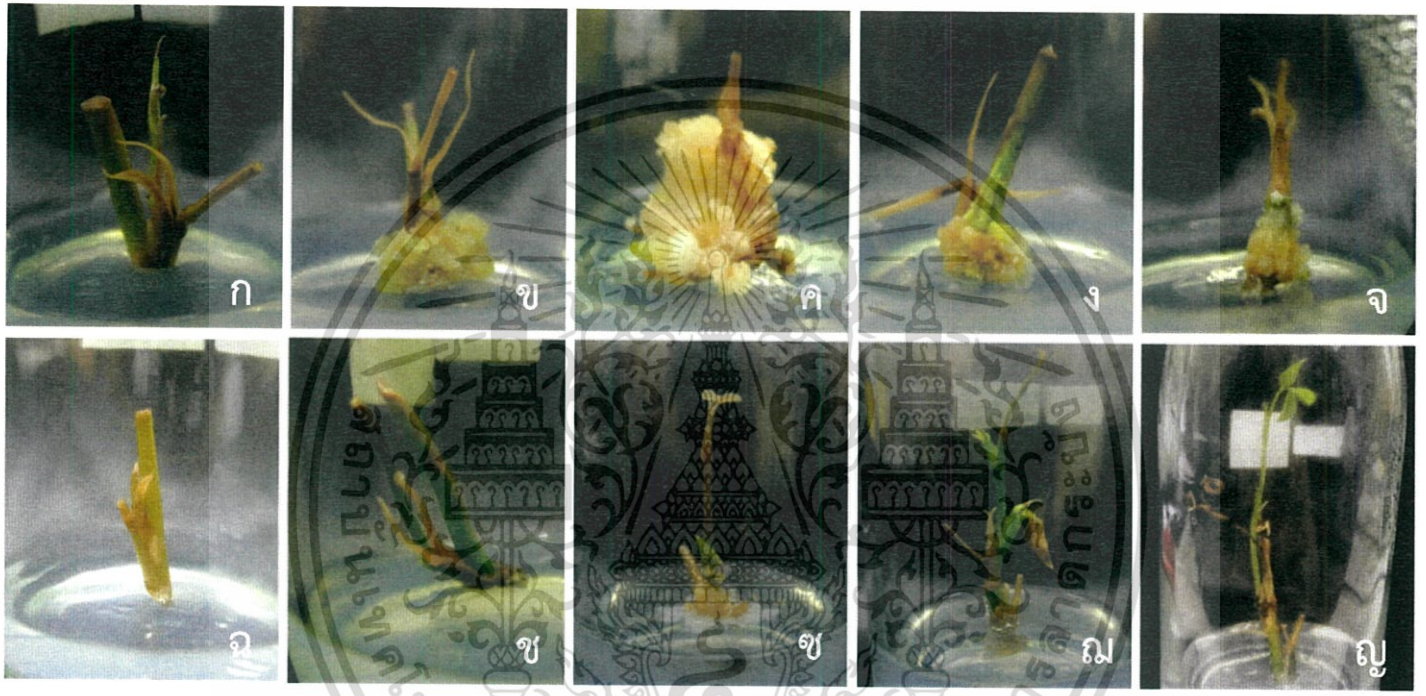
รูปที่ 4.10 แสดงผลการชักนำชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook ให้เกิดแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก-จ) ตามลำดับ และเกิดยอดและแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฉ-ญ) ตามลำดับ ที่เวลา 4 สัปดาห์

ตาราง 4.6 ผลการศึกษาของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดและแคลลัสจากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook สัปดาห์ที่ 8

ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนข้อที่ใช้เพาะเลี้ยง	จำนวนข้อที่เกิดยอด (ร้อยละ)	ความยาวของยอดเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	จำนวนข้อที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ปริมาตรแคลลัสเฉลี่ย (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)	จำนวนข้อที่เกิดยอดและแคลลัส (ร้อยละ)
TDZ	BA						
0.5	-	10	1 (10)	7.57	0	0	1 (10)
0.75	-	10	0	0	0	0	1 (10)
1	-	10	1 (10)	9.44	0	0	1 (10)
2	-	10	4 (40)	8.82	1 (10)	1778.62	3 (30)
3	-	10	1 (10)	3.51	0	0	0
-	0.5	10	2 (20)	38.14	0	0	0
-	0.75	10	0	0	2 (20)	1195.54	1 (10)
-	1	10	2 (20)	16.79	2 (20)	1734.90	1 (10)
-	2	10	0	0	5 (50)	542.65	2 (20)
-	3	10	0	0	4 (40)	975.40	3 (30)



รูปที่ 4.11 แสดงร้อยละจำนวนแคลลัสและยอดในสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์



รูปที่ 4.12 แสดงผลการชักนำชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook ให้เกิดแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก-จ) ตามลำดับ และเกิดยอดและแคลลัสในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฉ-ญ) ตามลำดับ ที่เวลา 8 สัปดาห์

4.2 ผลการศึกษาของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้า

จากการนำชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ Ecoturf Florigraze และ Arbrook มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำชิ้นส่วนลำต้นให้เกิดเป็นแคลลัส จากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่าการเพาะเลี้ยงถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุด โดยมีจำนวนชิ้นลำต้นที่เกิดแคลลัสมีจำนวนเท่ากับ 9 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 90 และ TDZ ที่ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้จำนวน 5 1 6 และ 4 ชิ้น ตามลำดับ และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปจนครบ 8 สัปดาห์ พบว่า TDZ ที่ความเข้มข้น 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้สูงสุด โดยมีจำนวนชิ้นลำต้นที่เกิดแคลลัสมีจำนวนเท่ากับ 9 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 90 และมีค่าเฉลี่ยขนาดแคลลัสเท่ากับ 1881.45 และ 1815.77 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ ลีลาพรรษ์ (2556) ได้ศึกษาการเจริญเป็นต้นใหม่ของถั่วลิสงเถากลาบราต้าในสภาวะปลอดเชื้อ จากการทดลองพบว่าในสายพันธุ์ Ecoturf สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสมากที่สุดได้ร้อยละ 60 (18 ชิ้น) จากการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ TDZ ที่ความเข้มข้น 0.5 0.75 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้จำนวน 5 1 และ 5 ชิ้น ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.13 และลักษณะของการเกิดแคลลัสหลังจากทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเกิดแคลลัสขึ้นบริเวณปลายชิ้นส่วน ลักษณะของแคลลัสเกาะกันแน่น มีสีเขียว และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปจนครบ 8 สัปดาห์ พบว่าเกิดแคลลัสรอบชิ้นส่วนลำต้น ลักษณะของแคลลัสเกาะกันแน่นมีสีเขียวและสีน้ำตาล ดังรูปที่ 4.14 (ก-ญ) และพบว่าการเพาะเลี้ยงถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุด โดยมีจำนวนชิ้นลำต้นที่เกิดแคลลัสมีจำนวนเท่ากับ 2 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 20 และมีค่าเฉลี่ยขนาดแคลลัสเท่ากับ 1248.26 ลูกบาศก์มิลลิเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้จำนวน 1 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 10 และที่ความเข้มข้น 0.75 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้ และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปจนครบ 8 สัปดาห์ พบว่าผลการเพาะเลี้ยงเหมือนกับการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพียงแต่มีค่าเฉลี่ยขนาดแคลลัสมากขึ้น ดังตารางที่ 4.7 รูปที่ 4.13 และลักษณะของการเกิดแคลลัสหลังจากทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเกิดแคลลัสสีเขียวอ่อนลักษณะของแคลลัสเกาะกันแน่น และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปจนครบ 8 สัปดาห์ พบว่าเกิดแคลลัสสีเขียวอ่อนรอบชิ้นส่วนลำต้น ลักษณะของแคลลัสเกาะกันแน่น ดังรูปที่ 4.14 (ฐ-ด)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สายพันธุ์ Florigraze เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าที่ TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุด โดยมีจำนวนเท่ากับ 3 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 30 รองลงมาคือที่ TDZ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้จำนวน 2 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 20 และที่ความเข้มข้น 0.5 0.75 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้ และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปจนครบ 8 สัปดาห์ พบว่า TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้สูงสุด โดยมีจำนวนชิ้นลำต้นที่เกิดแคลลัสมีจำนวนเท่ากับ 5 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 50 และมีค่าเฉลี่ยขนาดแคลลัสเท่ากับ 495.65 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ซึ่งสอดคล้องกับ ลีลาพรรษ์ (2556) ได้ศึกษาการเจริญเป็นต้นใหม่ของถั่วลิสงเถากลาบราต้าในสภาวะปลอดเชื้อ จากการทดลองพบว่าในสายพันธุ์ Florigraze สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสมากที่สุดได้ร้อยละ 53.33 (17 ชิ้น) จากการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่ความเข้มข้น 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้จำนวน 3 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 30 และ TDZ ที่ความเข้มข้น 0.5 0.75 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้จำนวน 1 2 และ 1 ชิ้น ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.15 และลักษณะของการเกิดแคลลัสหลังจากทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเกิดแคลลัสสีเขียวอ่อนที่ปลายชิ้นส่วนลำต้น แคลลัสมีลักษณะฉ่ำน้ำ และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปจนครบ 8 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสเป็นสีขาวและสีน้ำตาล แคลลัสมีลักษณะฉ่ำน้ำ ดังรูปที่ 4.16 (ก-ญ) และพบว่าการเพาะเลี้ยงถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ที่ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุด โดยมีจำนวนชิ้นลำต้นที่เกิดแคลลัสมีจำนวนเท่ากับ 8 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 80 รองลงมาคือ ความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้จำนวน 4 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 40 ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้จำนวน 3 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 30 และที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้ และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปจนครบ 8 สัปดาห์ พบว่าผลการเพาะเลี้ยงเหมือนกับการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพียงแต่มีค่าเฉลี่ยขนาดแคลลัสมากขึ้น ที่ความเข้มข้น 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้จำนวน 4 และ 3 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 40 และ 20 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.15 และลักษณะของการเกิดแคลลัสหลังจากทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเกิดแคลลัสรอบชิ้นส่วนลำต้น ลักษณะของแคลลัสนั้นเกาะกันแน่นมีสีเขียวและมีสีน้ำตาลเป็นบางบริเวณ และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปจนครบ 8 สัปดาห์ พบว่าเกิดแคลลัสรอบชิ้นส่วนลำต้น ลักษณะของแคลลัสนั้นเกาะกันแน่นมีสีเขียวและสีน้ำตาล ดังรูปที่ 4.16 (ฐ-บ)

สายพันธุ์ Arbrook เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้จำนวนต่ำมาก มีเพียงแค่ความเข้มข้น 0.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตรเท่านั้นที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้จำนวน 1 และ 3 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 10 และ 30 ตามลำดับ และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปจนครบ 8 สัปดาห์ พบว่าผลการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

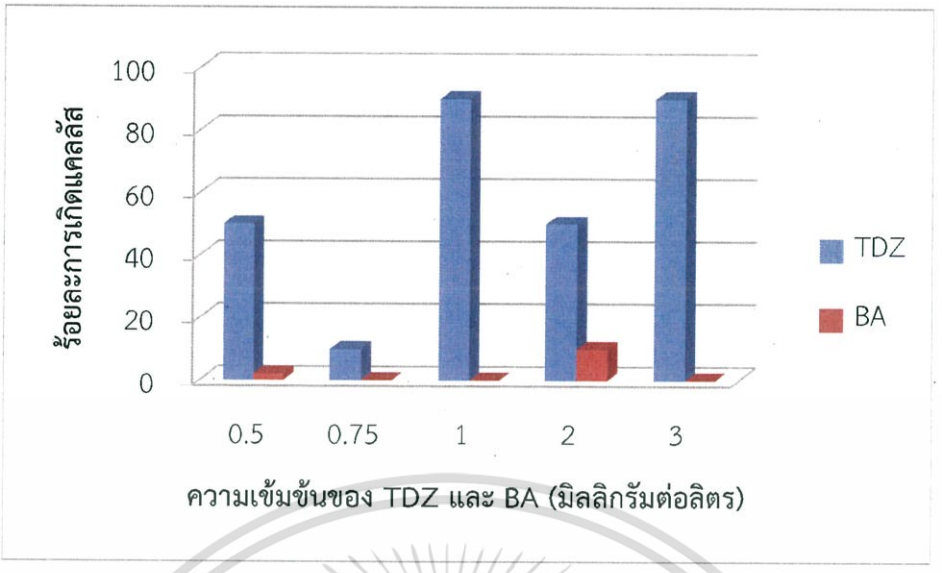
เพาะเลี้ยงเหมือนกับการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพียงแต่มีค่าเฉลี่ยขนาดแคลลัสมากขึ้น และความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้จำนวน 2 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 20 ดังตารางที่ 4.9 และรูปที่ 4.17 และลักษณะของการเกิดแคลลัสหลังจากทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเกิดแคลลัสเล็กน้อย แคลลัสมีสีเขียวและสีน้ำตาล และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงจนครบ 8 สัปดาห์ พบว่าเกิดแคลลัสบริเวณชิ้นส่วนลำต้นมากขึ้น ลักษณะของแคลลัสเกาะกันแน่นมีสีเขียวและสีน้ำตาล ดังรูปที่ 4.18 (ก-ฉ) และพบว่าการเพาะเลี้ยงถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ที่ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุด โดยมีจำนวนชิ้นลำต้นที่เกิดแคลลัสมีจำนวนเท่ากับ 8 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 80 รองลงมาคือที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้จำนวน 5 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 50 และความเข้มข้น 0.5 0.75 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้ และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปจนครบ 8 สัปดาห์ พบว่า BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุด โดยมีจำนวนชิ้นลำต้นที่เกิดแคลลัสมีจำนวนเท่ากับ 8 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 80 และมีค่าเฉลี่ยขนาดแคลลัสเท่ากับ 850.24 ลูกบาศก์มิลลิเมตร รองลงมาคือความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้จำนวน 6 ชิ้น คิดเป็นร้อยละ 60 และที่ความเข้มข้น 0.5 0.75 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นได้ ดังตารางที่ 4.9 และรูปที่ 4.17 และลักษณะของการเกิดแคลลัสหลังจากทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเกิดแคลลัสรอบชิ้นส่วนลำต้น ลักษณะของแคลลัสนั้นเกาะกันแน่นมีสีขาวเหลือง และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปจนครบ 8 สัปดาห์ พบว่าเกิดแคลลัสรอบชิ้นส่วนลำต้น ลักษณะของแคลลัสเป็นก้อน ฉ่ำน้ำ มีสีขาวปนน้ำตาล ดังรูปที่ 4.18 (ช-ญ) ซึ่งจะเห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ จากทุกความเข้มข้น สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ และการเพาะเลี้ยงถั่วกลาบราต้า สายพันธุ์ Florigraze และ Arbrook บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA จากทุกความเข้มข้น สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ผลการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf ในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ที่ 4 และ 8 สัปดาห์

ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนลำต้นที่ใช้เพาะเลี้ยง	ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้น			
			สัปดาห์ที่ 4		สัปดาห์ที่ 8	
TDZ	BA		จำนวนลำต้นที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยขนาดแคลลัส (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)	จำนวนลำต้นที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยขนาดแคลลัส (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
0.5	-	10	5 (50)	832.6	5 (50)	1511
0.75	-	10	1 (10)	1013.71	1 (10)	4584
1	-	10	6 (60)	407.11	9 (90)	1881.45
2	-	10	4 (40)	433.69	5 (50)	1853.24
3	-	10	9 (90)	662.36	9 (90)	1815.77
-	0.5	10	2 (20)	644.7	2 (20)	1248.26
-	0.75	10	0	0	0	0
-	1	10	0	0	0	0
-	2	10	1 (10)	188.76	1 (10)	188.76
-	3	10	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 แสดงผลการเปรียบเทียบร้อยละของการเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้า สายพันธุ์ Ecoturf ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

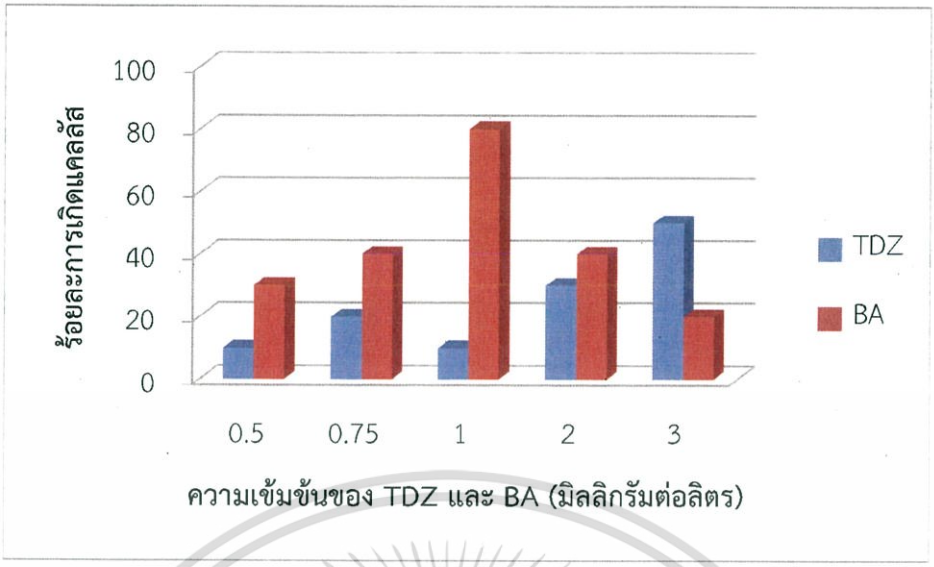
รูปที่ 4.14 ผลการชักนำการเกิดแคลลัสร่วมกันจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf ในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่เวลา 4 และ 8 สัปดาห์

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ตารางที่ 4.8 ผลการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze ในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ที่ 4 และ 8 สัปดาห์

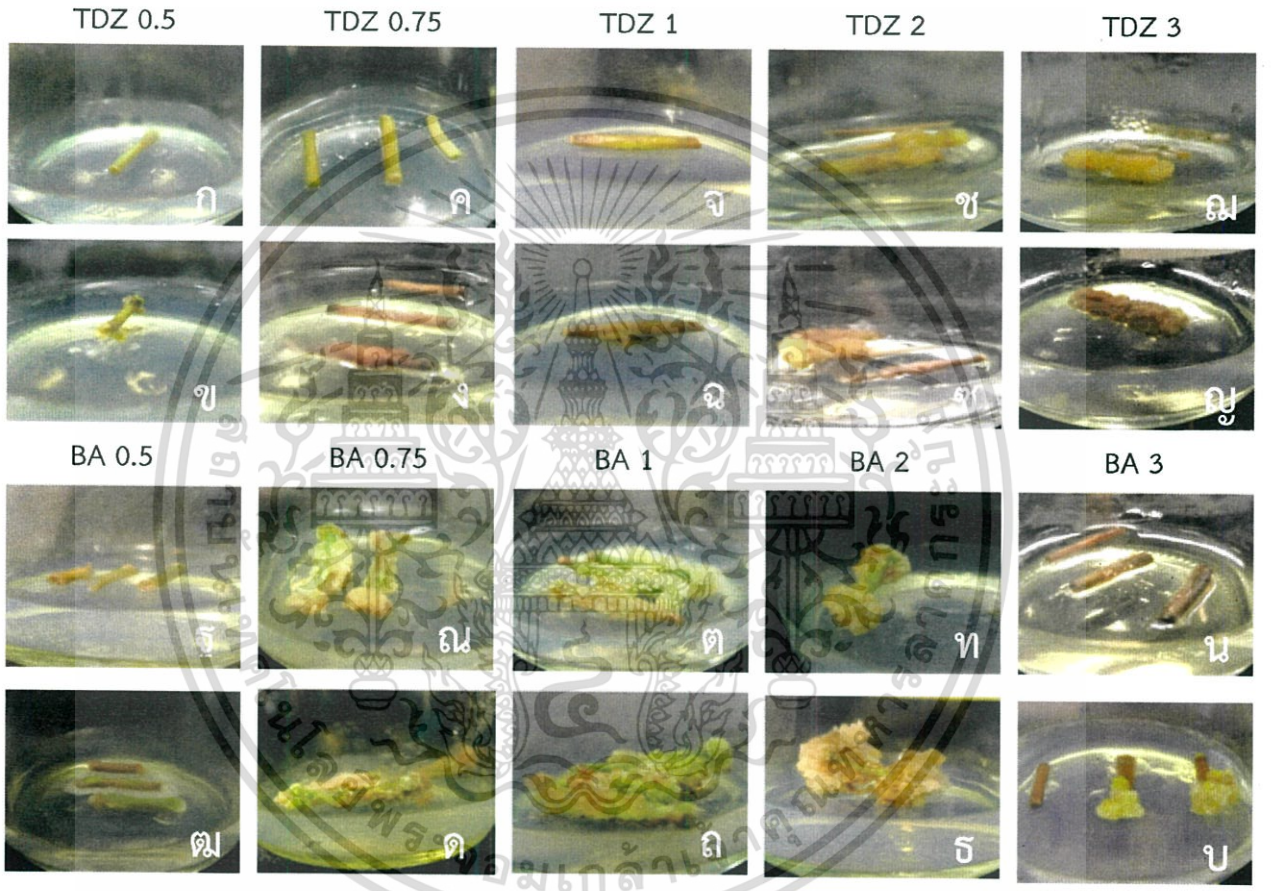
ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนลำต้นที่ใช้เพาะเลี้ยง	ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้น			
			สัปดาห์ที่ 4		สัปดาห์ที่ 8	
TDZ	BA		จำนวนลำต้นที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยขนาดแคลลัส (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)	จำนวนลำต้นที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยขนาดแคลลัส (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
0.5	-	10	0	0	1 (10)	197.88
0.75	-	10	0	0	2 (20)	79.94
1	-	10	0	0	1 (10)	106.45
2	-	10	2 (20)	240.08	3 (30)	288.33
3	-	10	3 (30)	203.71	5 (50)	495.65
-	0.5	10	3 (30)	78.5	3 (30)	133.79
-	0.75	10	4 (40)	340.72	4 (40)	1023.41
-	1	10	8 (80)	782.2	8 (80)	1170.62
-	2	10	3 (30)	284.75	4 (40)	1362.66
-	3	10	0	0	2 (20)	210.92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.15 แสดงผลการเปรียบเทียบร้อยละของการเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้า สายพันธุ์ Florigraze ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

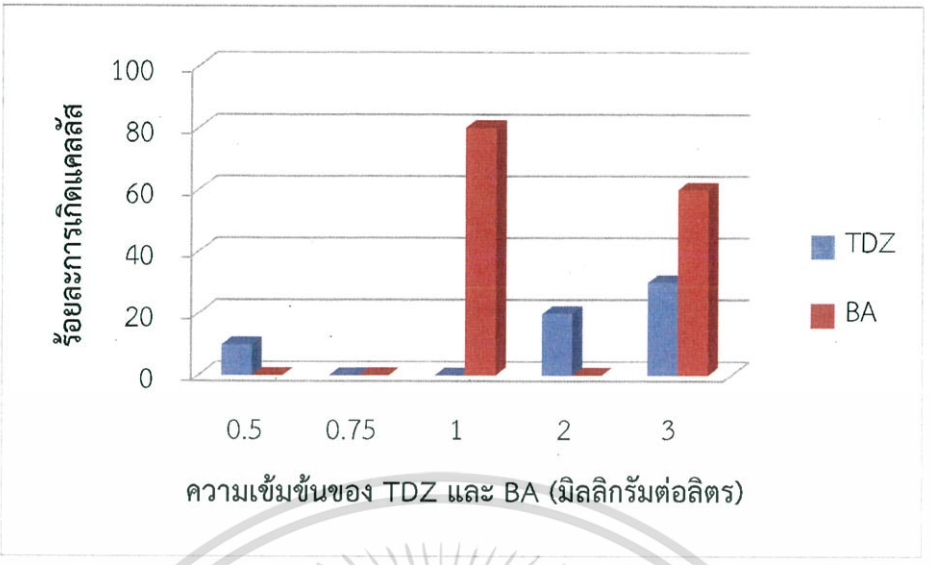


รูปที่ 4.16 ผลการชักนำการเกิดแคลลัสร่วมกันจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze ในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่เวลา 4 และ 8 สัปดาห์

ตารางที่ 4.9 ผลการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook ในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ที่ 4 และ 8 สัปดาห์

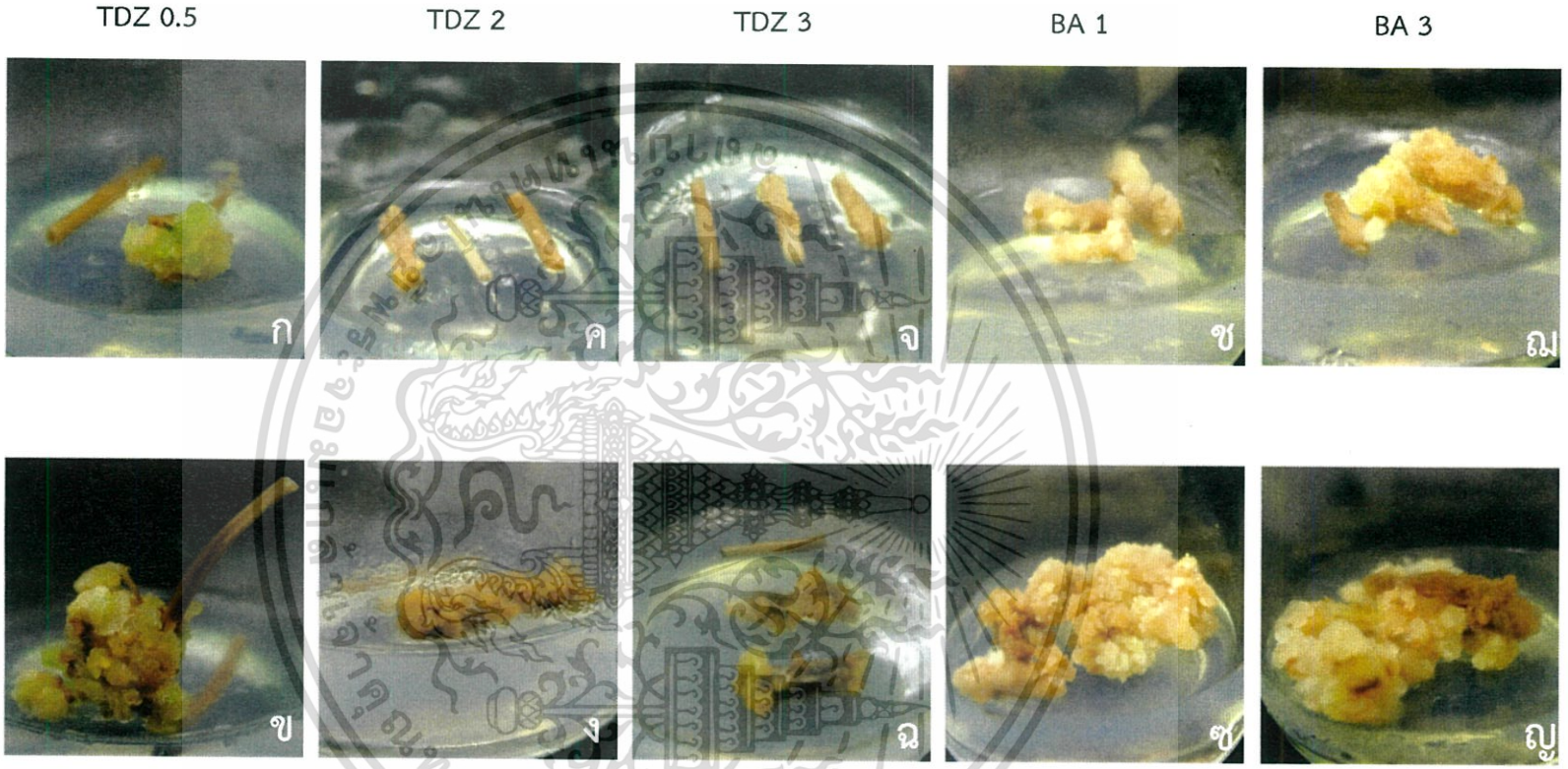
ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		จำนวนลำต้นที่ใช้เพาะเลี้ยง	ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้น			
			สัปดาห์ที่ 4		สัปดาห์ที่ 8	
TDZ	BA		จำนวนลำต้นที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยขนาดแคลลัส (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)	จำนวนลำต้นที่เกิดแคลลัส (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยขนาดแคลลัส (ลูกบาศก์มิลลิเมตร)
0.5		10	1 (10)	1989.72	1 (10)	4736.06
0.75		10	0	0	0	0
1		10	0	0	0	0
2		10	0	0	2 (20)	525.87
3		10	3 (30)	413.46	3 (30)	1555.25
	0.5	10	0	0	0	0
	0.75	10	0	0	0	0
	1	10	8 (80)	315.94	8 (80)	1366.88
	2	10	0	0	0	0
	3	10	5 (50)	866.83	6 (60)	1070.07

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.17 แสดงผลการเปรียบเทียบร้อยละของการเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้า สายพันธุ์ Arbrook ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.18 ผลการชักนำการเกิดแคลลัสร่วมกันจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook ในสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่เวลา 4 และ 8 สัปดาห์

4.3 ผลการศึกษาปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้อัตราการอยู่รอดของแคลลัสลดลงเหลือร้อยละ 50 (LD_{50})

นำแคลลัสของถั่วกลาบราต้าทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ Ecoturf Florigraze และ Arbrook ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด มาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ประกอบไปด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งให้ผลการชักนำแคลลัสให้เกิดยอดได้สูงสุด (อนุรักษ์, 2555) หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อนำข้อมูลจำนวนรอดชีวิตที่ได้มาสร้างกราฟศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรังสีกับร้อยละการรอดชีวิตโดยลากเส้นจากจุดอัตราการอยู่รอดที่ลดลงร้อยละ 50 ให้ตัดกับปริมาณรังสีแกมมาที่ได้รับ พบว่าแคลลัสสายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook ที่ได้รับปริมาณรังสี 7.1 8.1 และ 5.3 กิโลแรด มีอัตราการอยู่รอดร้อยละ 50 (LD_{50}) ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.19 4.20 และ 4.21 ร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัสลดลงเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 4.25 ซึ่งสอดคล้องกับ อนุรักษ์ (2556) ได้ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์ถั่วคาวาลเคตให้ต้านทานโรคไวรัสด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการฉายรังสีแกมมา จากการทดลองเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้นแคลลัสจะไม่สามารถอยู่รอดได้ จะเปลี่ยนเป็นสีดำคล้ำและตายในที่สุด จากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันของแคลลัสของถั่วกลาบราต้าทั้ง 3 สายพันธุ์ ค่า LD_{50} มีค่าค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อแคลลัสของหญ้าเนเปียร์แคระ มีค่า LD_{50} เท่ากับ 10.6 เกรย์ (จันทกานต์, 2544) และเมื่อศึกษาอัตราการเจริญของแคลลัส ไม่พบการเกิดยอดใหม่ มีเพียงแคลลัสของสายพันธุ์ Ecoturf ที่ปริมาณรังสี 4 กิโลแรดที่มีการงอกใบที่มีลักษณะหงิกงอผิดปกติ เทียบกับแคลลัสที่ไม่ได้รับการฉายรังสีจะมีลักษณะเกิดจุดสีเขียว ดังรูปที่ 4.26 ส่วนขนาดของแคลลัสนั้น พบว่าการขยายใหญ่ขึ้น โดยแคลลัสสายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook มีอัตราการเจริญร้อยละ 50 (GR_{50}) ที่ปริมาณรังสี 5.1 4.1 และ 2.8 กิโลแรด ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.22 4.23 และ 4.24 ขนาดของแคลลัสสายพันธุ์ Ecoturf จะมีการเจริญขยายใหญ่ลดลงเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับขนาดของแคลลัสอีก 2 สายพันธุ์ แต่แคลลัสสายพันธุ์ Florigraze ที่ปริมาณรังสี 8 กิโลแรด มีอัตราการเจริญของขนาดแคลลัสร้อยละ 34.70 ซึ่งมากกว่าปริมาณรังสี 6 กิโลแรด ที่มีอัตราการเจริญของขนาดแคลลัสร้อยละ 29.93 เมื่อเทียบกับค่าสูงสุด (แคลลัสที่ไม่ได้รับการฉายรังสี) ดังรูปที่ 4.22 ในขณะที่แคลลัสสายพันธุ์ Arbrook ที่ได้รับปริมาณรังสีที่ 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ไม่มีการขยายใหญ่ขึ้นของขนาดแคลลัส

ปริมาณรังสีที่สูงขึ้นมีผลต่ออัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโต เนื่องจากรังสีปริมาณสูงจะหยุดการเจริญของเนื้อเยื่อ มีผลทำให้เซลล์บริเวณจุดเจริญตาย ทำลายจุดกำเนิดใบ หรือมีผลต่อการแบ่งเซลล์ การฉายรังสีต่อชิ้นส่วนพืชซึ่งมีเซลล์ที่กำลังแบ่งตัวในระยะต่างๆกัน อาจทำให้เซลล์ตายทันทีที่ได้รับรังสี หรือไปทำลายองค์ประกอบต่างๆของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับเมทาบอลิซึม มีผลทำให้เซลล์ซึ่งแบ่งตัวต่อไปได้ระยะหนึ่งหลังการฉายรังสี และจะตายในที่สุด หรือเซลล์สามารถ

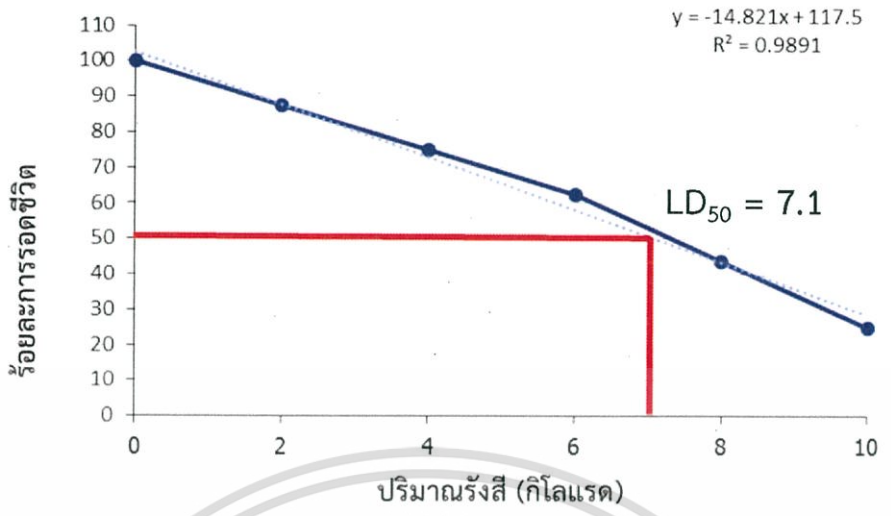
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีชีวิตรอดได้ แต่ไม่มีการแบ่งเซลล์ เนื่องจากคุณสมบัติในการเพิ่มจำนวน (proliferating power) ถูกยับยั้งหรือถูกทำลาย (สิรนุช, 2540)

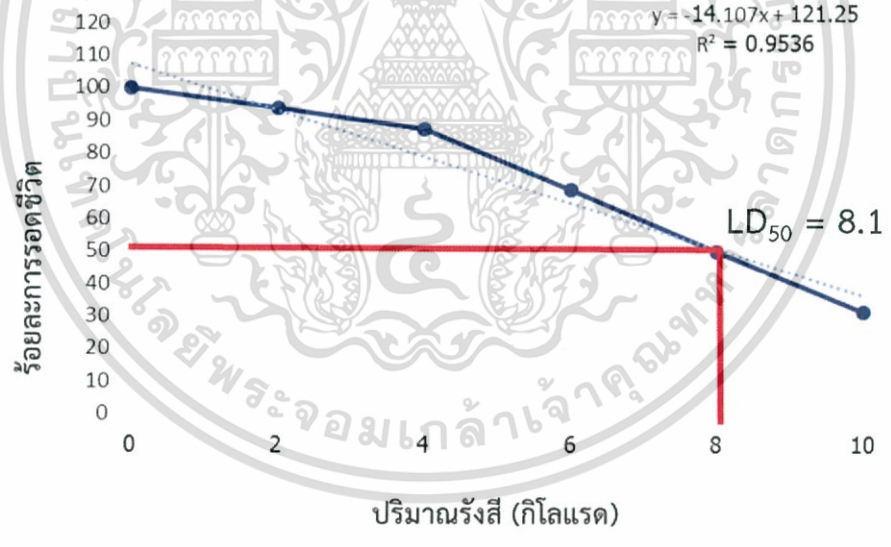
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ผลของจำนวนรอดชีวิตและอัตราการเจริญของขนาดแคลลัสของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook หลังจากฉายรังสีแกมมาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

ความเข้มข้นของรังสี (กิโลแรด)	จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	สายพันธุ์ Ecoturf		สายพันธุ์ Florigraze		สายพันธุ์ Arbrook	
		จำนวนรอดชีวิต (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยขนาดของแคลลัส (ลูกบาศก์มิลลิเมตร) (ร้อยละ)	จำนวนรอดชีวิต (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยขนาดของแคลลัส (ลูกบาศก์มิลลิเมตร) (ร้อยละ)	จำนวนรอดชีวิต (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยขนาดของแคลลัส (ลูกบาศก์มิลลิเมตร) (ร้อยละ)
0	64	64 (100.00)	3836.06 (100)	64 (100.00)	1062.08 (100)	64 (100.00)	73.81 (100)
2	64	56 (87.50)	2734.92 (71.29)	60 (93.73)	525.46 (49.47)	48 (75.00)	47.49 (64.34)
4	64	48 (75.00)	2389.49 (62.29)	56 (87.50)	497.89 (46.87)	36 (56.25)	0 (0)
6	64	40 (62.50)	2006.88 (52.31)	44 (68.75)	317.94 (29.93)	32 (50.00)	0 (0)
8	64	28 (43.75)	860.4 (22.42)	36 (50.00)	317.94 (34.70)	16 (25.00)	0 (0)
10	64	16 (25.00)	0 (0)	20 (31.25)	0 (0)	12 (18.75)	0 (0)

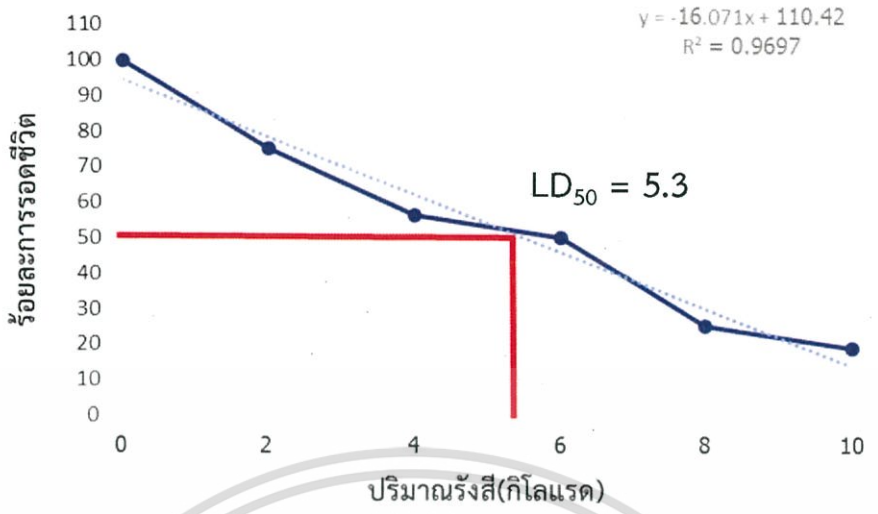


รูปที่ 4.19 ร้อยละการรอดตายของแคลลัสของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf หลังได้รับรังสีแกมมา 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

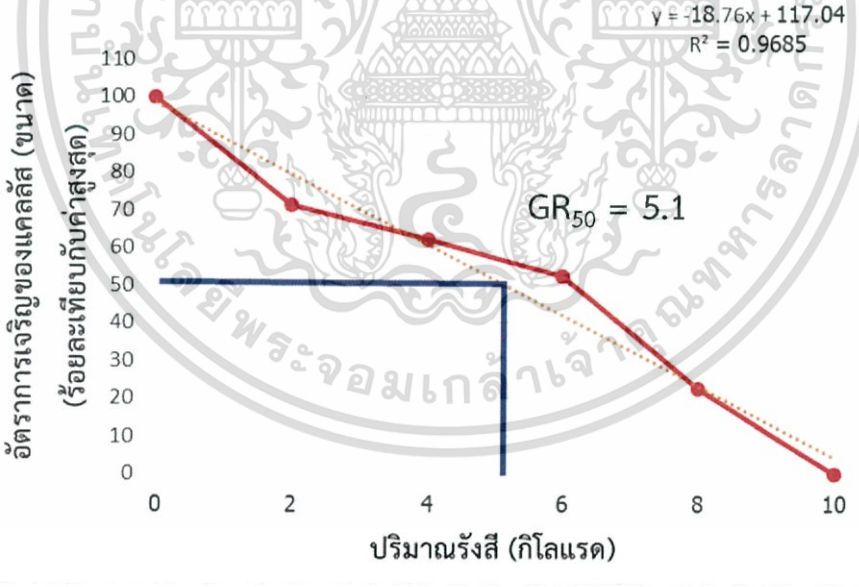


รูปที่ 4.20 ร้อยละการรอดตายของแคลลัสของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze หลังได้รับรังสีแกมมา 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

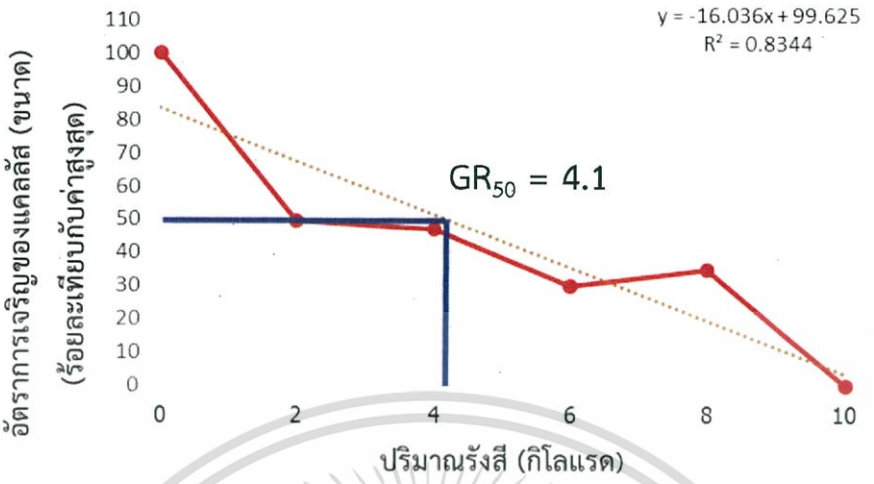


รูปที่ 4.21 ร้อยละการรอดตายของแคลลัสของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook หลังได้รับรังสีแกมมา 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

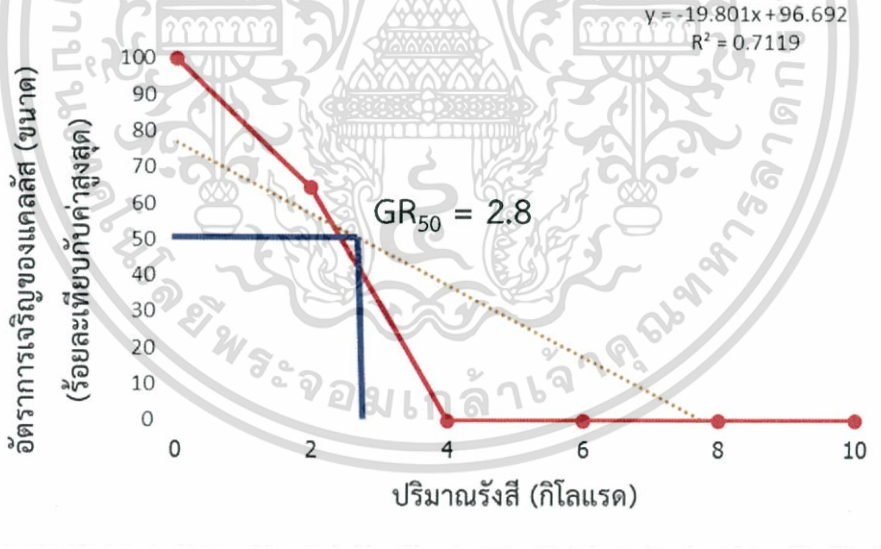


รูปที่ 4.22 อัตราการเจริญของขนาดแคลลัสของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf หลังได้รับรังสีแกมมา 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ระยะเวลา 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

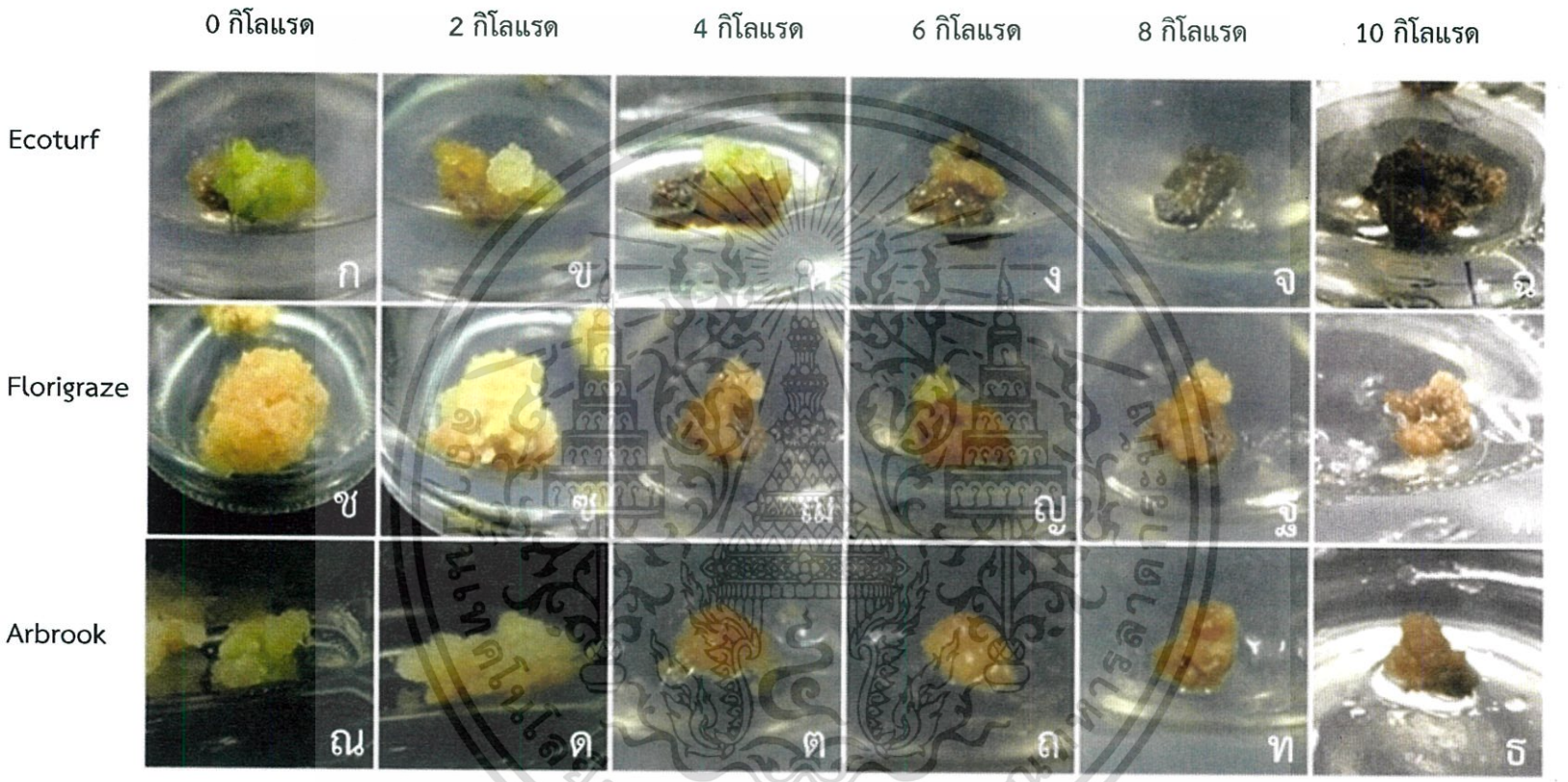


รูปที่ 4.23 อัตราการเจริญของขนาดแคลลัสของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Florigraze หลังได้รับรังสีแกมมา 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ระยะเวลา 8 สัปดาห์

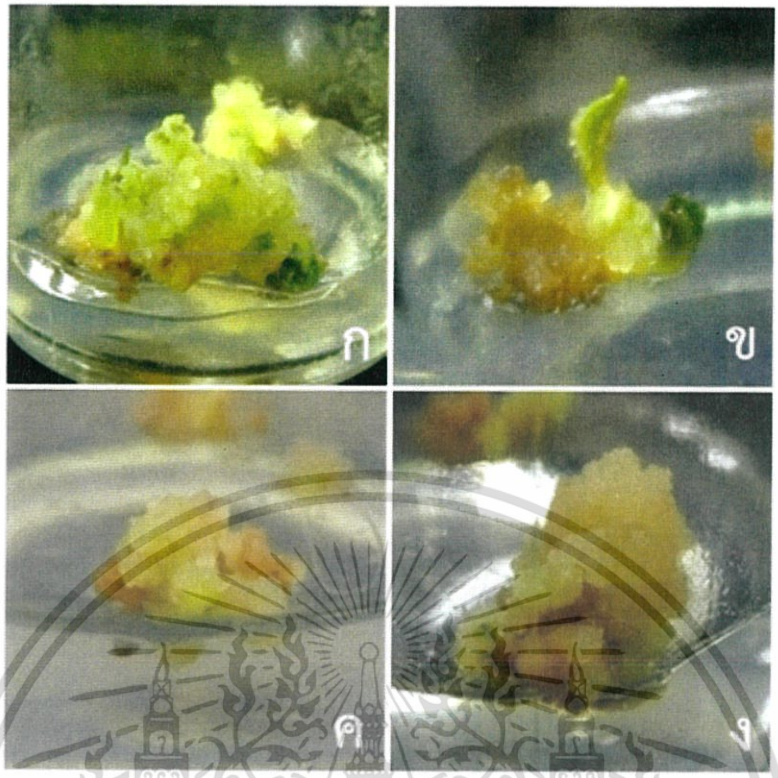


รูปที่ 4.24 อัตราการเจริญของขนาดแคลลัสของถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Arbrook หลังได้รับรังสีแกมมา 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด ระยะเวลา 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.25 ลักษณะแคลลัสของสายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook หลังผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์



รูปที่ 4.26 การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่รอดชีวิตหลังจากการฉายรังสี เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

ก. แคลลัสของสายพันธุ์ Ecoturf ที่ไม่ได้รับการฉายรังสี

ข. แคลลัสของสายพันธุ์ Ecoturf หลังผ่านการฉายรังสีที่ระดับความเข้มข้น 4 กิโลแรด ที่มีการงอกใบลักษณะหงิกงอผิดปกติ

ค. แคลลัสของสายพันธุ์ Florigraze หลังผ่านการฉายรังสีที่ระดับความเข้มข้น 6 กิโลแรด

ง. แคลลัสของสายพันธุ์ Florigraze หลังผ่านการฉายรังสีที่ระดับความเข้มข้น 8 กิโลแรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อถั่วลิสงเถากลาบราต้า (*Arachis glabrata*) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ และ BA ที่ความเข้มข้น 0.5 0.75 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่จากชิ้นส่วนข้อของถั่วกลาบราต้าที่ประกอบไปด้วยสายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook พบว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงครบ 8 สัปดาห์ ทั้ง 3 สายพันธุ์ เปรียบเทียบการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่าง TDZ และ BA สามารถชักนำให้เกิดยอดเพียงอย่างเดียวได้จำนวนที่ใกล้เคียงกัน แต่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสเพียงอย่างเดียวได้จำนวนสูงกว่าเมื่อใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA โดยในสายพันธุ์ Florograze และ Arbrook และเมื่อเทียบกับสายพันธุ์ Ecoturf มีลักษณะเกาะกันไม่แน่นมาก โดยสายพันธุ์ Florigraze มีขนาดแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด แคลลัสทั้งสามสายพันธุ์ยังไม่มีคุณสมบัติมากพอที่จะชักนำให้เกิดยอดได้ ในสายพันธุ์ Ecoturf ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดและแคลลัสได้สูงสุด คิดเป็นร้อยละ 40 ในสายพันธุ์ Florigraze และ Arbrook ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA สามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดและแคลลัสร่วมกันได้สูงกว่าเมื่อเทียบกับสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ โดยในสายพันธุ์ Florigraze ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำได้สูงสุด คิดเป็นร้อยละ 50 และในสายพันธุ์ Arbrook ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำได้สูงสุด คิดเป็นร้อยละ 30 ที่ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดยอดและแคลลัส มีความยาวสูงสุดเท่ากับ 82.99 มิลลิเมตร โดยมีการแตกยอดมาจากตาข้างและมีใบอ่อนบริเวณปลายยอด ลำต้นแข็งแรงพร้อมที่จะนำไปพัฒนาให้เกิดรากต่อไป

จากการศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนลำต้นของถั่วกลาบราต้า (*Arachis glabrata*) สายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook พบว่าในสายพันธุ์ Ecoturf สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ สามารถชักนำในเกิดแคลลัสได้จำนานสูงกว่าเมื่อเทียบกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ซึ่งสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนและขนาดของแคลลัสสูงสุด คิดเป็นร้อยละ 90 ในสายพันธุ์ Florigraze และ Arbrook สารควบคุมการเจริญเติบโต BA สามารถชักนำในเกิดแคลลัสได้จำนวนสูงกว่า เมื่อเทียบกับสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ โดยในสายพันธุ์ Florigraze ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนและขนาดของแคลลัสสูงสุด คิดเป็นร้อยละ 80 และในสายพันธุ์ Arbrook ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนและขนาดของแคลลัสสูงสุด คิดเป็นร้อยละ 80 โดยลักษณะแคลลัสสายพันธุ์ Ecoturf และ Florigraze จะมีลักษณะแคลลัสแบบเกาะกันแน่นสีของแคลลัสเป็นสีเขียว และในสายพันธุ์ Arbrook จะมีลักษณะแคลลัสแบบเป็นก้อน ฉ่ำน้ำ มีสีขาวปนน้ำตาล ซึ่งแคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนลำต้นยังไม่มีคุณสมบัติจะพัฒนาไปเป็นยอดต่อได้

การศึกษาผลกระทบของการฉายรังสีแกมมาต่อแคลลัสของถั่วกลาบราต้า (*Arachis glabrata*) นำแคลลัสฉายรังสีแกมมาที่ความเข้มข้น 0 2 4 6 8 และ 10 กิโลแรด พบว่าปริมาณรังสีที่ทำให้แคลลัสถั่วกลาบราต้าสายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook มีอัตราการอยู่รอดร้อยละ 50 (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 7.1 8.1 และ 5.3 กิโลแรด ตามลำดับ และขนาดแคลลัสมีอัตราการเจริญขยายใหญ่ขึ้น โดยแคลลัสสายพันธุ์ Ecoturf Florigraze และ Arbrook มีอัตราการเจริญร้อยละ 50 (GR_{50}) ที่ปริมาณรังสี 5.1 4.1 และ 2.8 กิโลแรด ตามลำดับ ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองศึกษาถึงสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดยอดและแคลลัส ซึ่งมีการเกิดยอดที่ค่อนข้างแข็งแรง แต่ยังไม่สามารถชักนำรากได้ จึงยังไม่เจริญเป็นต้นใหม่ที่สมบูรณ์ แต่เนื่องจากหลังการทดลองนี้เสร็จสิ้น ได้มีการนำชิ้นส่วนที่เกิดยอดแข็งแรงไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่สามารถชักนำให้เกิดราก NAA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนเริ่มมีลักษณะเกิดรากยาวออกมาประมาณ 2 มิลลิเมตร ดังนั้นในอนาคตควรทำการทดลองศึกษาถึงระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA หรือสารควบคุมการเจริญเติบโตอื่นๆที่สามารถชักนำให้เกิดราก เพื่อให้ถั่วกลาบราต้าเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์

อนึ่งการทดลองการศึกษาผลกระทบของการฉายรังสีแกมมาต่อแคลลัสนั้นเป็นการทดลองเบื้องต้น ซึ่งการทดลองที่ผ่านมายังไม่สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดยอดได้ ในอนาคตควรมีการศึกษาถึงสารควบคุมการเจริญเติบโตที่สามารถชักนำแคลลัสที่ผ่านการฉายรังสีให้เกิดยอดใหม่ได้ เพื่อที่จะสามารถศึกษาการปรับปรุงพันธุ์พืชถั่วกลาบราต้าต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กานดา นาคมณี, ศศิธร ถิ่นนคร, ฉายแสง ไผ่แก้ว และอำนาจ ปัญญาปรุ. 2547. **ลักษณะการออกดอก ผลผลิตและคุณภาพเมล็ดพันธุ์ของถั่วลิสงเถา 11 สายพันธุ์**. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2547. กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. : 185-196.

โกมล อังกุรรัตน์. 2555. **รังสีมีผลต่อมนุษย์อย่างไร.** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.tint.or.th/nkc/nkc55/content55/nstkc55-042.html.

จันทกานต์ อรณนันท์. 2544. **การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในหญ้าเนเปียร์แคระโดยรังสีแกมมากับการเพาะเลี้ยงเนื่อเยื่อ**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จารุณี ไกรแก้ว. 2555. **การฉายรังสีในการเกษตร.** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.nst.or.th-/article/article55/article55-001.html.

จิรัชญา เกตุพรหม, ธันย์สิต บุณยกาญจนารัตน์ และพิชญ์สินี สาระพันธุ์. 2558. **อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของถั่วลิสงเถากลาบราต้า (*Arachis glabrata*).** คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ธนภักษ์ อินยอด. 2545. **การชักนำให้เกิดกลายพันธุ์ในหญ้าอะตราตรัม โดยรังสีแกมมาร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปกรณ์ ตั้งปอง. 2552. **ผลของการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันและโครนิกต่อเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงอนูเบียสคอนเจนซิส**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พัชรา ลิมปนะเวช. 2550. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. สารานุกรมไทยฉบับเยาวชนโดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวรัชกาลที่ 9 เล่มที่ 31 : เรื่องที่ 5.

มนัสนันท์ นพรัตน์ไมตรี, อนันท์ เชาว์เครือ, วรางคณา กิจพิพิธ, อณัญญา ปานทอง และศักดา ประจักษ์บุญเจษฎา. 2545. **องค์ประกอบทางโภชนะและการย่อยสลายได้ของถั่วลิสงเถาในกระเพาะรูเมนด้วยเทคนิคถุงไนลอนของโคนม**. วารสารวิชาการและวิจัย, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร ฉบับพิเศษ. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล. ครั้งที่ 5-6. : 407-416.

รัตนาภรณ์ บุญเรือง, อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม, ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ และจันทกานต์ อรณนันท์. 2554. **การเกิดยอดจำนวนมากจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดของถั่วคาวาลเคด *Centrosema pascuorum* cv. Cavalcade**. วารสาร วิทยาศาสตร์เกษตร ฉบับที่ 42(2)(พิเศษ) : 185-188.

ลีลาพรรษ์ ย้อยสวัสดิ์, ศศวรรณ ขจรพันธ์ และศุภกร โพธิจันทร์. 2556. **ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการเจริญเป็นต้นใหม่ของถั่วลิสงเถากลาบราต้า (*Arachis glabrata*).** คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

วไลลักษณ์ แพทย์วิบูลย์. ไม่ระบุปี. **การใช้ประโยชน์จากพลังงานนิวเคลียร์.** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www0.tint.or.th/application/apply-plant html.

ศศิธร ถิ่นนคร, กานดา นาคมณี, ฉายแสง ไผ่แก้ว และอำนาจ ปัญญาปรุ. 2545. การศึกษาถั่วลิสงเถาเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์. **รายงานวิจัยประจำปี 2545** กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์. : 112-126.

สิรนุช ลามศรีจันทร์. 2540. **การกลายพันธุ์ของพืช**. ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

โสภณ ชินเวโรจน์. 2014. **การเพาะต้นกล้าถั่วลิสงเถา**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://nccncnt.dld.go.th/th/images/stories/pictures/forage/arachis/KM-Arachis.pdf.

อรุณี วงศ์ปิยะสถิต, สมทรง โชติชื่น, ประภารัจ หอมจันทน์, สุมนา งามผ่องใส, สิรนุช ลามศรีจันทร์ และสมยศ พิชิตพร. 2539. **การเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองและถั่วเขียว**. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม. 2555. **การปรับปรุงพันธุ์ถั่วคาวาลเคดให้ต้านทานโรคไวรัสด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. กรุงเทพมหานคร : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Bunmi, A. Kenneth, H. Quesenberry and Gallo, M. 2015. "Culture vessel and auxin treatments affect *in vitro* rooting and *ex vitro* survival of six *Arachis paraguariensis* genotypes." *Scientia Horticulturae* 183 : 167-171.

Dita, A. Normah, M. N. Rusli, I. and Azahar, M. 2016. "Gamma Irradiation Effect on Embryogenic Callus Growth of *Citrus reticulata* cv. Limau Madu." *Sains Malaysiana*, 45(3) : 329-337.

Manickam, G. Pichaimuthu, S. K. Azhagiya, M. Lakshmi, P. and Gangatharan, M. "*In vitro* regeneration of *Arachis hypogaea* L. and *Moringa oleifera* Lam. using extracellular phytohormones from *Aphanothece* sp. MBDU 515." *Department of Microbiology*. 7 : 100-105.

McKently, A. H. Moore, G. A. and Gardner, F. P. 1988. "*In Vitro* Plant Regenation of Peanut From Seed Explants." 30(1) : 192-196.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

McKently, A. H. Moore, G. A. and Gardner, F. P. 1991. "Regeneration of peanut and perennial peanut from cultured leaf tissue." Food and Agricilture Oraganization. 31(3) : 833-837.

María, L. V. Hebe, Y. R. Ana María, G. and Luis, A. M. 2004. "Somatic embryogenesis and plant regeneration through leaf culture in *Arachis glabrata* (Leguminosae)." Acta *Physiologiae Plantarum*. 26(1) : 59-66.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plant*, 15 : 473-497.

Zhijian, Li Robert, L. Jarret, Roy N. Pittman and James W. Demski. 1994 "Shoot organogenesis from cultured seed explants of peanut (*Arachis hypogaea* L.) using thidiazuron " 30(4) : 187–191.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตาราง สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช MS (Murashige and Skoog, 1962)

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัม/ลิตร)
NH_4NO_3	1,650
KNO_3	1,900
$CaCl_2.2H2O$	440
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
$MnSO_4.4H_2O$	6.2
$ZnSO_4.5H_2O$	22.3
H_3BO_3	6.2
KI	0.33
$Na_2.MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.H_2O$	0.025
$FeSO_4.7H_2O$	27.85
$Na_2EDTA.2H_2O$	37.25
Nicotic acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Glycine	2.0
Myo-inosital	100
Agar	8000
Sucrose	30000
pH 5.7	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ขั้นตอนการเตรียมอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1. ชั่งส่วนประกอบต่างๆ ได้แก่ อาหารสังเคราะห์สูตร MS 4.43 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร แล้วนำมาละลายน้ำปริมาตรครึ่งหนึ่งของปริมาตรทั้งหมดที่ต้องการ
2. ปรับปริมาตรอาหารให้ได้ตามปริมาตรอาหารที่ต้องการ
3. แบ่งอาหารใส่บีกเกอร์ตามจำนวนความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต้องการ
4. คำนวณปริมาตรของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต้องเติมลงในอาหารในแต่ละความเข้มข้น จากสูตรดังต่อไปนี้

$C_1 V_1 = C_2 V_2$

หรือ ปริมาตรที่ใช้ $= \frac{\text{ความเข้มข้นที่ต้องการเตรียม} \times \text{ปริมาตรอาหารทั้งหมด}}{\text{ความเข้มข้นจาก stock เริ่มต้น}}$

5. ดูดสารควบคุมการเจริญเติบโตจาก stock เติมลงในบีกเกอร์ แล้วปรับปริมาตรอาหารให้ได้ตามปริมาตรอาหารที่ต้องการเตรียมในแต่ละความเข้มข้น
6. นำอาหารไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารให้อยู่ระหว่าง 5.6-5.8
7. เติมไฟทาเจล 2.6 หรือ 5.2 กรัมต่อลิตร ลงในอาหารแต่ละบีกเกอร์ แล้วทำการละลายวุ้นด้วยไมโครเวฟ นาน 1-2 นาที
8. แบ่งใส่ขวดแก้วที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปริมาตร 10-20 มิลลิลิตร
9. นำอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที
10. นำอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อไปเก็บไว้ในห้องเพาะเลี้ยงนาน 2-3 วัน เพื่อสังเกตการปนเปื้อนในอาหารก่อนการนำไปใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้