16153

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเอมบริโอถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4

Study on Embryo Culture of Peanut (Arachis hypogaea L.) cv. "Khonkaen 4"

T100163

โดย

นางสาวบงกช สุนทรสถะ

สาขาวิชาพืชไร่

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ป ฟ.
บ113ก
2539
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 100163
วัน,เดือน,ปี 17 JUN 2542

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญา วิทยาศาตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

16153

ใบรับรองปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเอมบริโอถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4

Study on Embryo Culture of Peanut (Arachis hypogaea L.) cv. "Khonkaen 4"

โดย
นางสาวบงกช สุนทรสถะ

ได้รับการเห็นชอบโดย

.....

(อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ)
อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ)
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
วันที่ เดือน พศ.

ปพ.
พ113ก
2539

16153
2 ธ ก.ย. 2542

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง : การศึกษาการเพาะเลี้ยงเอมบริโอถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4

Study on Embryo Culture of Peanut (Arachis hypogaea L.) cv. "Khonkaen 4"

โดย : นางสาวบงกช สุนทรสถะ

สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ

บทคัดย่อ

การทดลองเพาะเลี้ยงเอมบริโอถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4 ในอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog,1962) ร่วมกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0, 1 และ 2 mg/l BAP 6 ระดับ คือ 0, 0.5, 1, 2, 3 และ 4 mg/l และ 2,4-D 5 ระดับ คือ 0, 0.5, 1, 2 และ 3 mg/l เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าเอมบริโอที่เลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 1 mg/l และ BAP 1 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี แคลลัสที่ได้มีขนาดใหญ่ ส่วนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 และ 2 mg/l สามารถชักนำให้มีการเกิดรากได้ดีกว่าอาหารสูตรอื่นๆ และอาหารที่เติม NAA: 2,4-D 1:3 mg/l และ 2:2-3 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี แคลลัสที่ได้มีขนาดใหญ่ อาหารทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดยอดได้จำนวน 1 ยอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ แก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่างๆ ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้อเมล็ดถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น4 เพื่อใช้ในการศึกษา

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ทรงยศ ตันพิพัฒน์ อาจารย์อุมา แสงคร้าม และอาจารย์ธีรวัฒน์ กษิรวัฒน์ที่กรุณาให้ยืมหนังสือและให้คำแนะนำที่ดีเสมอมา

ขอขอบคุณ เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไร่ ที่ช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา จนปัญหาพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่กรุณาให้กำลังใจและทุนทรัพย์ในการศึกษาเป็นอย่างดียิ่งตลอดมา

บงกช สุนทรสถะ

พฤษภาคม 2540

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ก
สารบัญตารางภาคผนวก	ข
สารบัญภาพ	ค
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	12
ผลการทดลองและวิจารณ์	19
สรุปผลการทดลอง	23
เอกสารอ้างอิง	24
ภาคผนวก	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงลักษณะประจำพันธุ์ ของถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4 เปรียบเทียบกับพันธุ์ สข.38 และพันธุ์ขอนแก่น 60-2	6
2	อัตราความเข้มข้นของ BAP กับ NAA ที่ใช้ร่วมกัน (mg/l)	13
3	อัตราความเข้มข้นของ 2,4-D กับ NAA ที่ใช้ร่วมกัน(mg/l)	13
4	แสดงผลของ NAA และ BAP ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ (mg/l) ต่อการเกิดแคลลัส	19
5	แสดงผลของ NAA และ BAP ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ (mg/l) ต่อการเกิดราก	19
6	แสดงผลของ NAA และ 2,4-D ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ (mg/l) ต่อการเกิดแคลลัส	21
7	แสดงผลของ NAA และ 2,4-D ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ (mg/l) ต่อการเกิดราก	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
1	แสดง Inorganic macronutrient(mg/l) ของอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962)	27
2	แสดง Inorganic micronutrient(mg/l) ของอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962)	27
3	แสดง Organic contituents(mg/l) ของอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962)	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงส่วนของเอมบริโอที่อยู่ในเมล็ดถั่วลิสง	14
2	แสดงคะแนนการเกิดแคลลัสของเอมบริโอถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4 ที่เลี้ยงในอาหารแข็งสูตรต่างๆ นาน 1 เดือน	17
3	แสดงคะแนนการเกิดรากของเอมบริโอถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4 ที่เลี้ยงในอาหารแข็งสูตรต่างๆ นาน 1 เดือน	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ถั่วลิสงเป็นพืชตระกูลถั่วชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศ ความต้องการของตลาดทั้งภายในและภายนอกประเทศมีสูงมาก โดยเฉพาะการนำไปใช้สกัดน้ำมันและเพื่อการบริโภค เนื่องจากมีโปรตีน 22-34 % ปริมาณน้ำมันในเมล็ดสูงถึง 45-55 % นอกจากนี้กากของเมล็ดสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์และวัตถุดิบในการอุตสาหกรรมหลายชนิด ลำต้นสดสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์และทำเป็นปุ๋ยหมัก เปลือกฝักใช้ทำปุ๋ยและวัสดุคลุมดิน (ไสว,2534) ปัจจุบันประเทศไทยมีการปลูกถั่วลิสงทั่วไปในทุกภูมิภาค สามารถปลูกได้ทั้งในฤดูแล้งและฤดูฝน ผลผลิตรวมของทั้งประเทศประมาณ 3-4 แสนตันต่อปี ผลผลิตเฉลี่ย 250-300 กิโลกรัมต่อไร่ (วุฒิศักดิ์,2539) ซึ่งยังไม่เพียงพอกับความต้องการบริโภคภายในประเทศ ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาและวิจัยงานทางด้านพันธุ์ถั่วลิสง เพื่อให้ได้พันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงขึ้น สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดีและนำผลผลิตไปใช้ได้หลายลักษณะ

การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาประยุกต์ใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์ เป็นวิธีที่ช่วยประหยัดเวลาและพื้นที่ในการทำการทดลอง สามารถติดตามการพัฒนาและเปลี่ยนแปลงได้อย่างใกล้ชิดและสามารถควบคุมตัวแปรต่างๆ ในหลอดทดลองได้ง่าย (ประศาสตร์,2536) จึงได้นำมาศึกษากับถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น4 โดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเอมบริโอ (Embryo Culture) ในสารอาหารร่วมกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตอัตราต่างๆ กัน เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานและเป็นแนวทางในการพัฒนาการศึกษาขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของ 2,4-D , NAA และ BAP ต่อการเกิดแคลลัส ราก และจำนวนยอด ในการเพาะเลี้ยงเอมบริโอของถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

ถั่วลิสงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Arachis hypogaea (L.) เป็นพืชในวงศ์หรือตระกูล (family) Papilionaceae สกุล (genus) Arachis ชนิด (species) hypogaea มีชื่อสามัญเรียกกันหลายชื่อ เช่น groundnut , peanut , earthnut และ monkey nut

ประวัติและถิ่นกำเนิด

ถั่วลิสงที่เราปลูกและใช้เป็นอาหารในปัจจุบันมีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกาใต้ แถบที่ราบเชิงเขาแอนดีสบริเวณประเทศโบลิเวีย บราซิล อาร์เจนตินาและเปรู จากหลักฐานที่ปรากฏ ในช่วงระยะที่เสปนเรืองอำนาจได้เดินทางเข้าไปสำรวจและยึดครองดินแดนในแถบอเมริกากลางและอเมริกาใต้ ก็ได้พบการปลูกถั่วลิสงกันทั่วไปตลอดตามชายฝั่งของประเทศเปรู ซึ่งช่วงเวลาเดียวกันนักผจญภัยชาวโปรตุเกสได้รายงานว่า ชาวอินเดียนแดงและชาวพื้นเมืองในบราซิลรวมทั้งในหมู่เกาะอินเดียตะวันตก ปลูกถั่วลิสงร่วมกับข้าวโพดและพืชอาหารอื่นๆ ระยะแรกๆ ถั่วลิสงจากแหล่งกำเนิดได้แพร่กระจายไปตามเมืองท่าต่างๆ ที่มีการขนถ่ายสินค้าตามชายฝั่งตะวันตกของทวีปอัฟริกา ยุโรป เอเซียและหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิค ซึ่งช่วงระยะต่อมาจะพบปลูกกันอยู่ทั่วไปตั้งแต่ละติจูด 40 องศาเหนือถึง 40 องศาใต้ (วุฒิศักดิ์,2539)

ถั่วลิสงเข้ามาสู่ประเทศไทยเมื่อใด ไม่มีหลักฐานที่แน่ชัดแต่เป็นที่เชื่อว่าพ่อค้าและนักเดินเรือจากโพ้นทะเลได้นำเข้ามาตั้งแต่สมัยกรุงศรีอยุธยาในรัชสมัยสมเด็จพระนารายณ์มหาราชหรือประมาณ 300-400 ปีมาแล้ว (Na Lampang,1993)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (ไสว,2534)

1. ราก ถั่วลิสงมีระบบรากแบบ tap root system รากอันแรกที่เกิดจาก radicle เรียกว่ารากแก้ว (tap root) มีการแตกแขนงมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อปลูกในดินร่วน รากแขนงที่แตกออกมาจากรากแก้วนี้เรียกว่า lateral root ถั่วลิสงมีรากขนอ่อน (root hair) น้อยมากบางพันธุ์อาจไม่มีเลย ที่รากแก้วและรากแขนงจะพบปม (nodule) ขนาดเล็กสีน้ำตาลอยู่ทั่วไป ปมเหล่านี้เกิดจากแบคทีเรียไรโซเบียมเข้าไปอาศัยอยู่
2. ลำต้น ถั่วลิสงเป็นพืชล้มลุกพวกไม้เนื้ออ่อน ลำต้นมีความสูงประมาณ 15-70 เซนติเมตร การเจริญเติบโตของลำต้นแบ่งออกเป็น 2 พวกคือ

   2.1 ลำต้นตั้ง (erect type) มีการแตกกิ่งก้านสาขามาก กิ่งก้านเหล่านี้มักจะเจริญไปในแนวตั้งทำให้ต้นถั่วมีลักษณะเป็นพุ่ม ฝักจะเกิดเป็นกลุ่มที่บริเวณโคนต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ลำต้นเลื้อย (runner type) มีลำต้นสั้น กิ่งก้านที่แตกออกมามักเจริญไปในแนวนอนทอดไปตามผิวดิน ฝักเกิดกระจัดกระจายอยู่ตามกิ่งก้านที่เลื้อยไปตามผิวดิน

3. ใบ ใบของถั่วลิสงเกิดสลับกัน (alternate) บนข้อของลำต้น ใบเป็นใบประกอบแบบ even-pinnate ใบประกอบหนึ่งๆ จะมีใบย่อย 2 คู่ รูปร่างแบบ obevate หรือ oblong-ovate ขอบใบเรียบ มีก้านใบยาว ที่โคนก้านใบมีหูใบ 2 อัน ซึ่งมีลักษณะแหลมและยาวประมาณ 2 เซนติเมตร
4. ดอก ถั่วลิสงมีดอกสีเหลือง มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.9-1.4 เซนติเมตร ดอกเกิดตามมุมใบ อาจเกิดเดี่ยวๆ หรือเกิดเป็นกลุ่มๆ หนึ่งๆ ประมาณ 2-5 ดอก ดอกส่วนมากเกิดที่บริเวณส่วนโคนของลำต้นซึ่งอาจอยู่เหนือผิวดินหรือใต้ผิวดินก็ได้ ก้านดอกสั้น
5. ผลและเมล็ด ผลหรือฝักอาจเกิดเดี่ยวๆ หรือเกิดเป็นกลุ่มตามมุมใบ เมื่อฝักแก่เปลือกของฝักจะแข็งและเปราะ มีลายเส้นที่เปลือกปรากฏชัดเจน ฝักมีสีขาวนวล หรือน้ำตาลอ่อน ฝักหนึ่งๆ จะมี 1-4 เมล็ด

เมล็ดถั่วลิสงมีเปลือกบาง (seed coat หรือ testa)สีม่วงแดง แดง และ ขาวนวล ขึ้นอยู่กับพันธุ์ ถัดจากส่วนของเปลือกเข้าไปจะพบใบเลี้ยงที่มีลักษณะหนา 2 อันเชื่อมติดกัน ใบเลี้ยงนี้เป็นที่เก็บสะสมอาหารจำพวกไขมัน โปรตีน และอื่นๆ ที่ฐานตรงรอยต่อของใบเลี้ยงซึ่งอยู่ด้านในจะพบส่วนของ embryo ซึ่งมีขนาดเล็กมากเมื่อเปรียบเทียบกับใบเลี้ยง embryo ประกอบด้วย radicle และ embryo leave 3-5 ใบ

<u>การจำแนกชนิดของถั่วลิสง</u> (ไสว,2534)

ถั่วลิสงสามารถจำแนกออกได้ตามลักษณะทางพฤกษศาสตร์เป็น 4 แบบดังนี้

1. Virginia type มีลำต้นเป็นพุ่มหรือทอดเลื้อยไปตามผิวดิน ใบสีเขียวเข้ม เมล็ดและฝักขนาดใหญ่ เปลือกของเมล็ดมีสีน้ำตาลแดง ฝักหนึ่งๆ มี 3-4 เมล็ด เมล็ดมีการพักตัว (dormancy) สูง อายุเก็บเกี่ยวประมาณ 135-140 วัน เช่น พันธุ์ไทนาน 9
2. Runner type มีลำต้นเลื้อย เมล็ดขนาดเล็กกว่าพวก virginia พันธุ์เบามีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 130-135 วัน ส่วนพันธุ์หนักมีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 145-150 วัน
3. Spanish type มีลำต้นตั้งตรง มีกิ่งก้านสาขามาก ใบมีสีเขียวจาง ฝักและเมล็ดมีขนาดเล็กและสั้นป้อม เปลือกของเมล็ดมีสีจางหรือขาว เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์น้ำมันสูง อายุเก็บเกี่ยวประมาณ 120-135 วัน
4. Valencia type มีลำต้นเป็นพุ่มสูง กิ่งค่อนข้างโต มีกิ่งก้านน้อย ใบมีขนาดใหญ่สีเขียวเข้ม ฝักขนาดใหญ่ ลายบนฝักเห็นได้ชัดเจน ฝักหนึ่งๆ มี 3 เมล็ด เมล็ดมีทั้งแบบป้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และยาวรี เปลือกของเมล็ดมีสีม่วง แดง น้ำตาลแดง และสีน้ำตาลอ่อน มีอายุเก็บเกี่ยวสั้นกว่าชนิดอื่นๆ เมล็ดไม่มีการพักตัว เช่นพันธุ์ สข.38 และลำปาง

<u>การใช้ประโยชน์</u> (วุฒิศักดิ์,2539)

ในปัจจุบัน ได้มีการดัดแปลง และประยุกต์ใช้ประโยชน์จากถั่วลิสงหลากหลายรูปแบบ เช่น

- เมล็ดที่ยังไม่แปรรูป สามารถนำมาบริโภคได้ทั้งในรูปถั่วต้ม ถั่วอบ ถั่วคั่ว ถั่วต้มตากหรือต้ม อบ หรือใช้ปรุงอาหารพวกต้ม แกง
- เมล็ดที่แปรรูปแล้ว บริโภคในรูปถั่วบด ถั่วป่น ถั่วกระจก ถั่วตัด ถั่วตุ๊บตั๊บ ขนมถั่ว และกระยาสารท เป็นต้น
- น้ำมัน น้ำมันถั่วลิสงใช้ในการปรุงอาหาร ทำน้ำสลัด น้ำมันหล่อลื่น ทำกาวและทำสบู่
- กากถั่ว ใช้เป็นอาหารสัตว์และใช้ทำปุ๋ย
- ลำต้น ใบ เปลือกฝัก ใช้เลี้ยงสัตว์และใช้ทำปุ๋ยบำรุงดิน
- ราก มีปมไรโซเบียมทำให้ดินร่วนซุยและเพิ่มธาตุอาหารในดิน

ประเทศไทยได้รับความร่วมมือด้านพันธุ์ถั่วลิสงจาก ICRISAT (International Crop Research for Semi-Arid Tropic) รวมทั้งได้รับความร่วมมือจาก Peanut CRST (USA) ทางด้านพันธุ์และด้านงานวิจัยถั่วลิสง จึงทำให้การศึกษาและวิจัยเทคโนโลยีการผลิตถั่วลิสงก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็ว ได้มีถั่วลิสงพันธุ์รับรองจากกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เพื่อให้เกษตรกรได้เลือกปลูกหลากหลายพันธุ์ (วุฒิศักดิ์,2539) เช่น พันธุ์ขอนแก่น 60-1 เป็นพันธุ์ที่เมล็ดค่อนข้างโต ฝักสวย ให้ผลผลิตสูง ต้านทานต่อโรคดี เหมาะสำหรับกะเทาะเมล็ดส่งโรงงาน พันธุ์ 60-2 เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงเช่นกัน ฝักมีขนาดใหญ่ ยาวสม่ำเสมอ จำนวนเมล็ดต่อฝักมาก เยื่อหุ้มเมล็ดสีชมพู รูปร่างสวย มีรสออกหวานนุ่มเหมาะกับการใช้บริโภคเป็นถั่วต้ม พันธุ์ขอนแก่น 60-3 เป็นพันธุ์เมล็ดโตพิเศษหรือที่เรียกว่า ถั่วจัมโบ้ มีความมันกรอบและเมล็ดมีขนาดโตเหมาะกับการกะเทาะแล้วประกอบอาหารว่างหรือของขบเคี้ยว พันธุ์ขอนแก่น 4 เป็นพันธุ์ที่สามารถใช้ประโยชน์ได้หลายรูปแบบทั้งในด้านอุตสาหกรรมฝักต้มและเข้าโรงงานกะเทาะเมล็ด เพราะเป็นพันธุ์ที่ปรับตัวได้ดี ให้ผลผลิตสูง รูปร่างฝักและเมล็ดสวยงาม ขนาดเมล็ดปานกลาง นอกจากนี้ยังมีถั่วลิสงพันธุ์พื้นเมืองดั้งเดิมที่ได้ปรับปรุงพันธุ์ให้มีคุณภาพและผลผลิตสูงขึ้น เช่น พันธุ์ลำปาง ซึ่งมีเมล็ดขนาดใหญ่ เยื่อหุ้มเมล็ดมีสีขาวอมชมพู พันธุ์สุโขทัย 38 เมล็ดมีขนาดใหญ่ เยื่อหุ้มเมล็ดมีสีแดง (สถาบันวิจัยพืชไร่,2536)

ถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4 ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ Taiwan2 ซึ่งเป็นพันธุ์ในกลุ่มสะแปนิชที่มีขนาดเมล็ดเล็กกว่าพันธุ์ไทนาน 9 แต่ให้ผลผลิตสูงใกล้เคียงกับพันธุ์ไทนาน 9 กับพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

UF1513-1 ซึ่งเป็นพันธุ์ในกลุ่มวาเลนเซียที่มีขนาดเมล็ดปานกลาง ให้ผลผลิตค่อนข้างต่ำ และเป็นพันธุ์ที่ ICRISAT รับรองว่าสามารถต้านทานต่อเชื้อราที่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซินได้ดี

ลักษณะเด่นของถั่วพันธุ์นี้ คือ ให้ผลผลิตฝักสดสูงกว่า พันธุ์ สข.38และขอนแก่น 60-2 มีขนาดเมล็ดโดยน้ำหนักต่อ 100 เมล็ด โตกว่าพันธุ์ สข.38และขอนแก่น 60-2 (ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น,2536)

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะประจำพันธุ์ของถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4 เปรียบเทียบกับพันธุ์ สข.38และพันธุ์ขอนแก่น 60-2 (ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น,2536)

ลักษณะ	ขอนแก่น 4	สข.38	ขอนแก่น 60-2
1.อายุออกดอก(วัน)	21-25	27-30	27-30
2.อายุเก็บเกี่ยว	95-100	95-100	95-100
3.จำนวนฝักต่อหลุม	21.6	21.2	20.0
4.จำนวนเมล็ดต่อฝัก	2.9	2.1	2.9
5.น้ำหนัก 100 เมล็ด	47.1	42.8	42.8
6.ความยาวฝัก (เซนติเมตร)	3.9	2.8	3.5
7.ความกว้างฝัก (เซนติเมตร)	1.5	1.5	1.6
8.เปอร์เซนต์กะเทาะ	63.4	59.7	61.1
9.เส้นลายบนฝัก	เห็นได้ชัดเจน	เห็นได้ชัดเจน	เห็นได้ชัดเจน
10.สีของเยื่อหุ้มเมล็ด	ชมพูเข้ม	แดง	ชมพู
11.สีของลำต้น	เขียว	เขียวอมม่วงแดง	เขียว
12.สีของใบ	เขียว	เขียวเข้ม	เขียว
13.ลักษณะทรงพุ่ม	พุ่มตรง	พุ่มตรง	พุ่มตรง
14.ผลผลิตฝักสด (กก./ไร่)	586	584	562
15.ผลผลิตฝักแห้ง (กก./ไร่)	270	260	252
16.ผลผลิตเมล็ด (กก./ไร่)	171	155	154
17.น้ำหนักสด /กก.	7.3	7.5	6.9
18.น้ำหนักแห้ง /กก.	3.4	3.3	3.3
19.โปรตีน(%)	28.7	26.0	24.5
20.น้ำมัน(%)	46.4	46.1	46.8
21.โรคราสนิม,โรคใบจุด	อ่อนแอ	อ่อนแอ	อ่อนแอ
22.โรคโคนเน่า	ทนทานปานกลาง	อ่อนแอ	ทนทานปานกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช</u> (ประศาสตร์,2536)

อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จะประกอบด้วยธาตุอาหารต่างๆ ที่พืชต้องการอย่างครบถ้วน ซึ่งเป็นสารประกอบที่สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยๆ ได้ดังนี้

1. ธาตุอาหารพวกอนินทรีย์ (Inorganic compound) ประกอบด้วยธาตุอาหารต่างๆ ดังนี้
   1.1 ธาตุอาหารที่พืชต้องการใช้ในปริมาณมาก (Macro-nutrient) ได้แก่ C, H, N, O, P, K, S, Ca และ Mg
   1.2 ธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณน้อย (Micro-nutrient) ได้แก่ Fe, Cl, Mn, Cu, Zn, B และ Mo
2. ธาตุอาหารพวกอินทรีย์ (Organic compound)
   2.1 พวกวิตามิน (Vitamin) วิตามินที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น thiamine, nicotinic acid, pyridoxine, inositol, panthothenic acid, biotin, folic acid, choline chloride, riboflavin และ ascorbic acid เป็นต้น
   2.2 ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant hormones and Plant growth regulators)ได้แก่ สารในกลุ่มพวกออกซิน (Auxin) เช่น indole acetic acid, indole butyric acid, naphthaleneacetic acid ,2,4-dichlorophenoxyacetic acid เป็นต้น สารพวกไซโตไคนิน (Cytokinin) เช่น benzyladenine, kinetin, zeatin, isopentenyl adenine เป็นต้น ส่วนสารควบคุมการเจริญเติบโตอื่นๆ เช่น gibberellic acid, paclobutrazol, abscissic acid, daminozide เป็นต้น
   2.3 สารที่เป็นแหล่งคาร์บอน (Carbon source) ได้แก่ สารประกอบพวกน้ำตาลต่างๆ เช่น glucose, sucrose, fructose, saccharose และ manitol เป็นต้น
   2.4 พวกกรดอะมิโน (Amino acid)ได้แก่ glutamine, asparagine, adenine, glycine และ casein hydrolysate เป็นต้น
   2.5 พวกสารประกอบอินทรีย์อื่นๆ ซึ่งส่วนใหญ่ได้จากธรรมชาติ เช่น น้ำมะพร้าว น้ำต้มมันฝรั่ง น้ำคั้นมะเขือเทศ กล้วยหอมบด สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) และจากมอลต์ (malt extract) เป็นต้น

<u>สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช</u> (Plant growth regulators)

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช คือ สารอินทรีย์ซึ่งไม่จำกัดว่าพืชจะสร้างขึ้นเองหรือมนุษย์สังเคราะห์ขึ้น และถ้าใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็จะสามารถกระตุ้น ยับยั้ง หรือเปลี่ยนแปลงสภาพทางสรีรวิทยาของพืชได้ (พีรเดช,2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกซิน (Auxins) เป็นสารที่มีผลกระตุ้นการขยายขนาดและการยืดตัวของเซลล์ กระตุ้นการเกิดราก ชักนำให้เกิดแคลลัสและ somatic embryogenesis ออกซินที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีทั้งที่เกิดขึ้นเองในธรรมชาติและที่สังเคราะห์ขึ้น เช่น NAA , 2,4-D , IAA , IBA เป็นต้น

ไซโตไคนิน (Cytokinins) เป็นสารที่มีผลกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ ส่งเสริมการพัฒนาและการเจริญเติบโตของตาข้าง นอกจากนี้ยังมีผลยับยั้งการเกิดของรากและ embryogenesis ตัวอย่างไซโตไคนินที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเช่น BAP , zeatin , kinetin , 2iP เป็นต้น

เมื่อนำออกซินและไซโตไคนินมาใช้ร่วมกันโดยมีอัตราส่วนระหว่างออกซินและไซโตไคนินสูงกว่า 1 เนื้อเยื่อจะมีการเจริญของรากได้ดีกว่ายอด แต่ถ้าอัตราส่วนระหว่างออกซินและไซโตไคนินต่ำกว่า 1 เนื้อเยื่อจะมีการเจริญของยอดได้ดีกว่าราก (Ellen,1996)

การเพาะเลี้ยงคัพภะหรือเอมบริโอ (embryo culture) หมายถึง การนำเอาเอมบริโอที่เกิดขึ้นจากธรรมชาติ คือ ในถุงเอมบริโอ (embryo sac) ของพืช มาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์เพื่อที่จะให้เกิดเป็นต้นพืชทั้งต้นหรือให้เป็นแคลลัส

แคลลัส (callus) คือกลุ่มของเซลล์ที่แบ่งตัวจากเซลล์เริ่มต้นบริเวณแผลรอยตัดของชิ้นส่วนพืช มีลักษณะเป็นก้อนมีสีและโครงสร้างแตกต่างกันออกไป ขึ้นกับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ โดยทั่วไปแคลลัสมีสองประเภท คือ แคลลัสที่เกาะกันหลวมๆ เรียกแคลลัสนี้ว่า friable callus ส่วนแคลลัสอีกประเภทหนึ่งเป็นแคลลัสที่เกาะกันแน่นมากเรียกว่า compact callus (สมปอง,2537)

การเพาะเลี้ยงเอมบริโอถือกำเนิดขึ้นมาในตอนต้นศตวรรษนี้เอง จากการค้นพบของ Hannina และ Brown ผู้ซึ่งได้ค้นพบการงอกในสภาพที่เกิดขึ้นเร็วกว่าปกติ การศึกษาเกี่ยวกับเรื่องนี้เกิดขึ้นอย่างจริงจังในปี 1942 เมื่อ Loroe และคณะได้ศึกษาเกี่ยวกับเอมบริโอที่เป็นลูกผสมของ Durage ซึ่งมีขนาดเล็กมาก (เล็กกว่า 200 ไมโครเมตร) สามารถเจริญได้ในอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว หลังจากนั้นก็ยังมีผู้ที่สามารถทำการเพาะเลี้ยงเอมบริโอได้สำเร็จในพืชชนิดอื่นๆปี1976 Raghavan ได้รวบรวมรายชื่อชนิดของพืชที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงเอมบริโอ ซึ่งแสดงถึงการใช้สูตรอาหารที่แตกต่างกัน ต่อมาเขาพบว่าสิ่งสำคัญในการเพาะเลี้ยงเอมบริโอ คือการเลือกสูตรอาหารที่จะนำมาใช้เลี้ยงจะต้องส่งเสริมการเจริญเติบโตของเอมบริโออย่างต่อเนื่อง ซึ่งมีสูตรอาหารต่างๆ มากมายพอสมควร สำหรับสูตรที่เหมาะสมจะต้องทำให้การพัฒนาและการเจริญเติบโตของเอมบริโอดำเนินไปได้อย่างสมบูรณ์ จึงทำให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประสบความสำเร็จ (Oono,1981)

การเพาะเลี้ยงเอมบริโอเป็นสาขาหนึ่งของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายประการดังนี้ (ประศาสตร์,2536)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ช่วยในการเจริญและพัฒนาของเอมบริโอพืชบางชนิดที่ไม่สามารถงอกเองได้ แม้ว่าจะได้รับการผสมแล้ว และมีอาหารสะสมในเมล็ดอย่างเพียงพอ เช่น เอมบริโอของมะพร้าวกะทิ
2. ช่วยการเจริญของเมล็ดที่ไม่สามารถงอกได้อันเนื่องมาจากเมล็ดไม่มีอาหารสะสม เช่น เมล็ดกล้วยไม้ หรือเมล็ดที่มีการสะสมน้ำมันในใบเลี้ยงหรือในเอนโดสเปอร์ม ซึ่งจะทำให้เอมบริโอได้รับอันตรายเมื่อเมล็ดแก่
3. ช่วยร่นระยะเวลาของการผสมพันธุ์ (breeding cycle) พืชบางชนิดระยะเวลาการพัฒนาของเอมบริโอยาวนาน หรือหลังจากที่เมล็ดแก่แล้วยังมีการพักตัว (dormancy) อีกระยะหนึ่ง ทำให้ต้องเสียเวลาในการรอคอย
4. ช่วยลดการปนเปื้อนของเชื้อ (contamination) ในขณะเริ่มทำการเพาะเลี้ยง เอมบริโอที่อยู่ในเมล็ดถือว่าเป็นส่วนของพืชที่มีความปลอดเชื้อมากที่สุด เหมาะแก่การนำมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
5. เพื่อการผลิตต้นพืชที่ปลอดจากเชื้อไวรัส ส่วนของเอมบริโอมีความปลอดภัยจากเชื้อไวรัสสูงเพราะไม่มีเนื้อเยื่อท่อลำเลียง (vascular tissue) ที่เชื่อมติดต่อกับอวัยวะอื่นๆ ของลำต้น ซึ่งเป็นทางแพร่กระจายของเชื้อไวรัส
6. สามารถขยายพันธุ์พืชได้จำนวนมากในเวลาอันรวดเร็ว
7. ช่วยการเจริญและพัฒนาของเมล็ดพืชที่ไม่ได้รับการผสม (parthenogenic embryo) ซึ่งในธรรมชาติแล้ว เอมบริโอแบบนี้จะฝ่อสลายไป (aborted)
8. ช่วยหลีกเลี่ยงสิ่งที่ยับยั้งการเจริญของเอมบริโอ (germination inhibitors) เช่นเปลือกเมล็ดที่แข็ง สารเคลือบผิวเมล็ด หรือสารเคมีที่ยับยั้งการงอกของเมล็ดบางชนิดที่ห่อหุ้มอยู่รอบๆ
9. เพื่อการผลิตที่มีชุดโครโมโซมต่างๆ ที่พิเศษนอกเหนือจากพืชธรรมดา
10. ช่วยในการเจริญของเอมบริโอที่ได้จากการผสมข้ามชนิดหรือข้ามสกุล ซึ่งเอมบริโอเหล่านี้จะประสบปัญหาเกี่ยวกับการขัดแย้งทางพันธุกรรม (genetic incompataability)
11. ใช้ในการผลิตเมล็ดพืชเทียมหรือเมล็ดพืชสังเคราะห์ (artificial หรือ synthetic seeds)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาและข้อจำกัดของการเพาะเลี้ยงเอมบริโอ

1. มีเปอร์เซนต์การกลายพันธุ์ค่อนข้างสูง
2. มีวิธีการและขั้นตอนค่อนข้างยุ่งยาก
3. การย้ายเนื้อเยื่อ (subculture) บ่อยๆ ทำให้สูญเสียการงอก
4. พืชบางชนิดชักนำให้เกิดเอมบริโอจีนีซิสยากมาก

งานทดลองเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อถั่วลิสง

Atreya C.D. และคณะ (1984) ได้ทดลองนำเอา embryo axes และ cotyledon segments ของถั่วลิสง มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS , Gamborg B5 , potato-extract และ Linsmaier and Skoog พบว่าสามารถพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้ โดยที่อาหารสูตร MS ให้ผลดีที่สุด เมื่อนำ cotyledon segments มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 mg/l สามารถชักนำให้เกิดรากได้จำนวนมากที่สุด อาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 mg/l สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด แล้วจึงย้ายยอดที่ได้ไปเลี้ยงในอาหารสูตร basal MS เพื่อชักนำให้เกิดรากต่อไป การใช้ NAA 1 mg/l ร่วมกับ BA 0.5-2 mg/l ในอาหารสูตร MS สามารถทำให้ cotyledon segments พัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้ทั้งต้น แต่การใช้ BA เพียงอย่างเดียวจะให้ผลดีกว่า การชักนำให้เกิดยอดไม่ว่าจะใช้ชิ้นส่วนเริ่มต้นเป็น embryo axes หรือ cotyledon segments ก็ให้ผลใกล้เคียงกัน

วิมลรัตน์และไพศาล(2534) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อถั่วลิสงพันธุ์ไทยนาน 9 โดยใช้เนื้อเยื่อส่วนใบเลี้ยง ใบอ่อนตา ลำต้นและราก มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติมน้ำมะพร้าว 15% ร่วมกับการใช้สารเร่งการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 4 ระดับ 0.5, 1.0, 5.0 และ 10.0 ไมโครโมลต่อลิตร BAP 3 ระดับ 1.0, 5.0, และ 10.0 ไมโครโมลต่อลิตร และ 2,4-D 3 ระดับ 1.0, 5.0, และ 10.0 ไมโครโมลต่อลิตร ผลการทดลองพบว่าเนื้อเยื่อทุกส่วนสามารถเจริญเติบโตและพัฒนาให้เกิดแคลลัสได้ มีสีและขนาดต่างๆกัน 6-8 วันหลังเลี้ยง และสามารถพัฒนาให้เกิดรากได้ประมาณ 15-20 วัน ในทุกความเข้มข้นระหว่าง BAP:NAA และ 2,4-D:NAA เนื้อเยื่อ ตา ใบอ่อน สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ได้ ในสูตรอาหารที่มี BAP:NAA 1.0-5.0:5.0 ไมโครโมลต่อลิตร ส่วน 2,4-D:NAA ทุกความเข้มข้นทำให้เกิดแคลลัสขนาดใหญ่กว่าการใช้ BAP แคลลัสมีลักษณะร่วนฟูและมีสีขาว เนื้อเยื่อทุกส่วนสามารถพัฒนาให้เกิดแคลลัสและรากได้ แต่เนื้อเยื่อใบเลี้ยง ราก และลำต้น ก็สามารถทำให้เกิดแคลลัสได้ แต่ยังไม่สามารถพัฒนาต่อไปให้เป็นต้นได้ เนื้อเยื่อตาและใบอ่อนเจริญเติบโตเป็นต้นได้แต่ช้ากว่าการใช้ BAP:NAA

ในปี 2535 วิมลรัตน์และไพศาล ได้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อถั่วลิสงจากส่วนต่างๆ เช่นลำต้น ยอด ใบอ่อน ใบเลี้ยงและราก ช่วงแรกเลี้ยงในอาหาร MS ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร NAA 1.0-5.0 ไมโครโมลต่อลิตร และ BAP 1.0-6.0 ไมโครโมลต่อลิตร ทุกส่วนของเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถพัฒนาให้เกิดแคลลัสสีเขียวอ่อนใสได้ หลังเลี้ยง 24 วัน ย้ายลงในอาหาร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 5 กรัมต่อลิตร NAA 5.0-8.0 ไมโครโมลต่อลิตร และ BAP 6.0-8.0 ไมโครโมลต่อลิตร พบว่าแคลลัสจากเนื้อเยื่อส่วนใบเลี้ยง ใบอ่อนและยอดมีแนวโน้มในการพัฒนาให้เกิดตายอดได้

ปี 2536 ได้ทำการทดลองซ้ำ โดยใช้เนื้อเยื่อส่วนต่างๆ และใบเลี้ยงที่มีอายุต่างๆ กันในช่วงแรกพบว่าสามารถพัฒนาให้เกิดแคลลัสได้ และ 20 วันหลังเลี้ยงย้ายลงในอาหารที่มีความเข้มข้นลดลงแต่เพิ่มความเข้มข้นของสารเร่งการเจริญเติบโต NAA 3.0-5.0 ไมโครโมลต่อลิตร และ BAP 6.0-8.0 ไมโครโมลต่อลิตร ทำให้เกิดแคลลัสที่มีลักษณะ แน่นสีเขียว หลังเลี้ยง 15 วัน แคลลัสจากการเนื้อเยื่อส่วนยอด (shoot meristem)ใบเลี้ยงและใบอ่อน สามารถพัฒนาให้เกิดตายอด (shoot bud)ได้ ใบเลี้ยงที่เจริญเติบโตเต็มที่สามารถพัฒนาให้เกิดตายอดได้ ส่วนใบเลี้ยงที่ยังไม่เจริญเติบโตเต็มที่ลำต้นและราก สามารถพัฒนาให้เกิดแคลลัสแต่ยังไม่สามารถพัฒนาต่อให้เกิดตายอดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. พืชทดลอง ได้แก่ เมล็ดถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4
2. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
   2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog,1962) ดูส่วนประกอบในภาคผนวก
   2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่
   - NAA (naphthaleneacetic acid)
   - BAP (benzylaminopurine)
   - 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid)

   2.3 น้ำตาลทราย
   2.4 วุ้นผง
   2.5 น้ำกลั่น
3. เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ได้แก่ บีกเกอร์, แท่งแก้วคนสาร, ช้อนตักสาร, กระบอกตวง, ปิเปต, ขวดแก้วสำหรับใส่อาหารพร้อมฝาปิด, เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter), หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) และเตาแก๊ส
4. สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ เอทธิลแอลกอฮอล์ 70% , คลอรอกซ์ และสารจับใบ (Teepol)
5. เครื่องมือที่ใช้ในการย้ายชิ้นส่วนของพืช ประกอบด้วย ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow) และเครื่องมือที่ใช้ในตู้ปลอดเชื้อ ได้แก่ มีด , ปากคีบ , ตะเกียง และจานแก้ว (petri dish)
6. เครื่องเขย่า (shaker)
7. ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ความเข้มแสงประมาณ 3,000 ลักซ์ (lux) นาน 16 ชั่วโมงและไม่ให้แสง 8 ชั่วโมง ควบคุมการปิดเปิดด้วยเครื่องตั้งเวลา (timer)
8. ชั้นสำหรับวางขวดเนื้อเยื่อ
9. อุปกรณ์ถ่ายภาพ กล้อง กระดาษสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมอาหาร

เตรียมอาหารสูตร MS และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในอัตราต่างๆ กัน คือ

NAA	3 ระดับ คือ	0 , 1 และ 2	mg/l
BAP	6 ระดับ คือ	0 , 0.5 , 1 , 2 , 3 และ 4	mg/l
2,4-D	5 ระดับ คือ	0 , 0.5 , 1 , 2 และ 3	mg/l

โดยการจับคู่ระหว่าง BAP:NAA และ 2,4-D:NAA พบกันทุกความเข้มข้นดังตาราง

ตารางที่ 2 อัตราความเข้มข้นของ BAP กับ NAA ที่ใช้ร่วมกัน (mg/l)

BAP / NAA	0	0.5	1	2	3	4
0	0,0	0,0.5	0,1	0,2	0,3	0,4
1	1,0	1,0.5	1,1	1,2	1,3	1,4
2	2,0	2,0.5	2,1	2,2	2,3	2,4

ตารางที่ 3 อัตราความเข้มข้นของ 2,4-D กับ NAA ที่ใช้ร่วมกัน (mg/l)

2,4-D / NAA	0	0.5	1	2	3
0	0,0	0,0.5	0,1	0,2	0,3
1	1,0	1,0.5	1,1	1,2	1,3
2	2,0	2,0.5	2,1	2,2	2,3

ขั้นตอนในการเตรียมอาหาร (ปริมตร 1 ลิตร)

1.1 ตวงสารละลายจาก stock ต่างๆ มารวมกัน โดยใช้ปริมาตรในแต่ละ stock ดังนี้

stock ที่ 1	20	mg/l
stock ที่ 2	10	mg/l
stock ที่ 3	10	mg/l
stock ที่ 4	10	mg/l
stock ที่ 5	10	mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 เติมน้ำตาลจำนวน 30 g/l

1.3 เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในอัตราที่ต้องการ

1.4 ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร

1.5 ปรับความเป็นกรด-ด่าง (pH) ให้อยู่ในช่วง 5.6-5.8

1.6 เติมวุ้นจำนวน 8.4 g/l

1.7 เคี่ยวอาหารเพื่อหลอมวุ้นโดยใช้เตาแก๊ส

1.8 เทอาหารลงในขวดแก้วแล้วปิดฝาให้แน่น

1.9 นำอาหารที่เทลงขวดเรียบร้อยแล้ว ไปเข้าหม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นานประมาณ 20 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น

2. การเตรียมชิ้นส่วนพืชและการทำความสะอาด

2.1 นำเมล็ดถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4 มาทำการล้างน้ำไหล (running) โดยใช้ผ้าขาวบางปิดปากบีกเกอร์ที่ใส่เมล็ดถั่วลิสง เติม Teepol 2-3 หยด แล้วเปิดน้ำไหลผ่านนานประมาณ 20 นาที

2.2 นำเมล็ดถั่วลิสงแช่ในเอทธิลแอลกอฮอล์ 70% นาน 5 นาที ลอกเปลือกเมล็ดออก

2.3 ฟอกฆ่าเชื้อโดย เขย่าใน clorox 20% + Teepol 1-2 หยด นาน 10 นาที

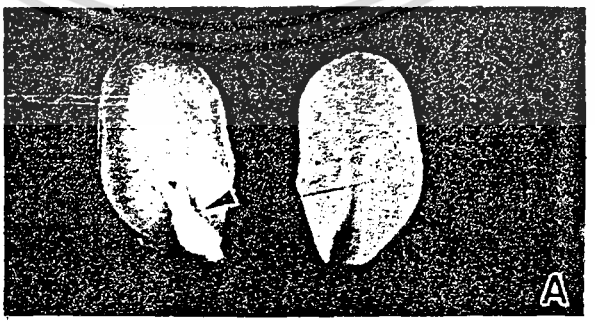
2.4 ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละประมาณ 5 นาที

2.5 ย้ายเมล็ดที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาผึ่งบนจานแก้ว ตัดเอาเฉพาะส่วนของเอมบริโอ (embryo) ดังแสดงในภาพที่ 1

2.6 ฟอกฆ่าเชื้อเอมบริโอโดย เขย่าเบาๆใน clorox 5% + Teepol 1-2 หยด นาน 10 นาที

2.7 ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละประมาณ 5 นาที

*** ขั้นตอนที่ 2.4-2.7 ต้องทำในตู้ย้ายเนื้อเยื่อ



ภาพที่ 1 แสดงส่วนของเอมบริโอที่อยู่ในเมล็ดถั่วลิสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์

นำเอมบริโอที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้ว ไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ ที่เตรียมไว้ สูตรละ 10 ขวด โดยใช้ 1 เอมบริโอต่อ 1 ขวด เป็นเวลา 1 เดือน

4. การบันทึกผล

4.1 บันทึกการเกิดแคลลัสในอาหารแต่ละสูตรเป็นเครื่องหมายต่างๆ ดังนี้

- \- ไม่เกิดแคลลัส
- \+ เกิดแคลลัสเล็กน้อย
- ++ เกิดแคลลัสค่อนข้างมาก
- +++ เกิดแคลลัสมาก

4.2 บันทึกการเกิดรากในอาหารแต่ละสูตรเป็นเครื่องหมายต่างๆ ดังนี้

- \- ไม่เกิดราก
- \+ เกิดรากเล็กน้อย
- ++ เกิดรากค่อนข้างมาก
- +++ เกิดรากมาก

4.3 บันทึกจำนวนยอดที่เกิดขึ้นในอาหารแต่ละสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

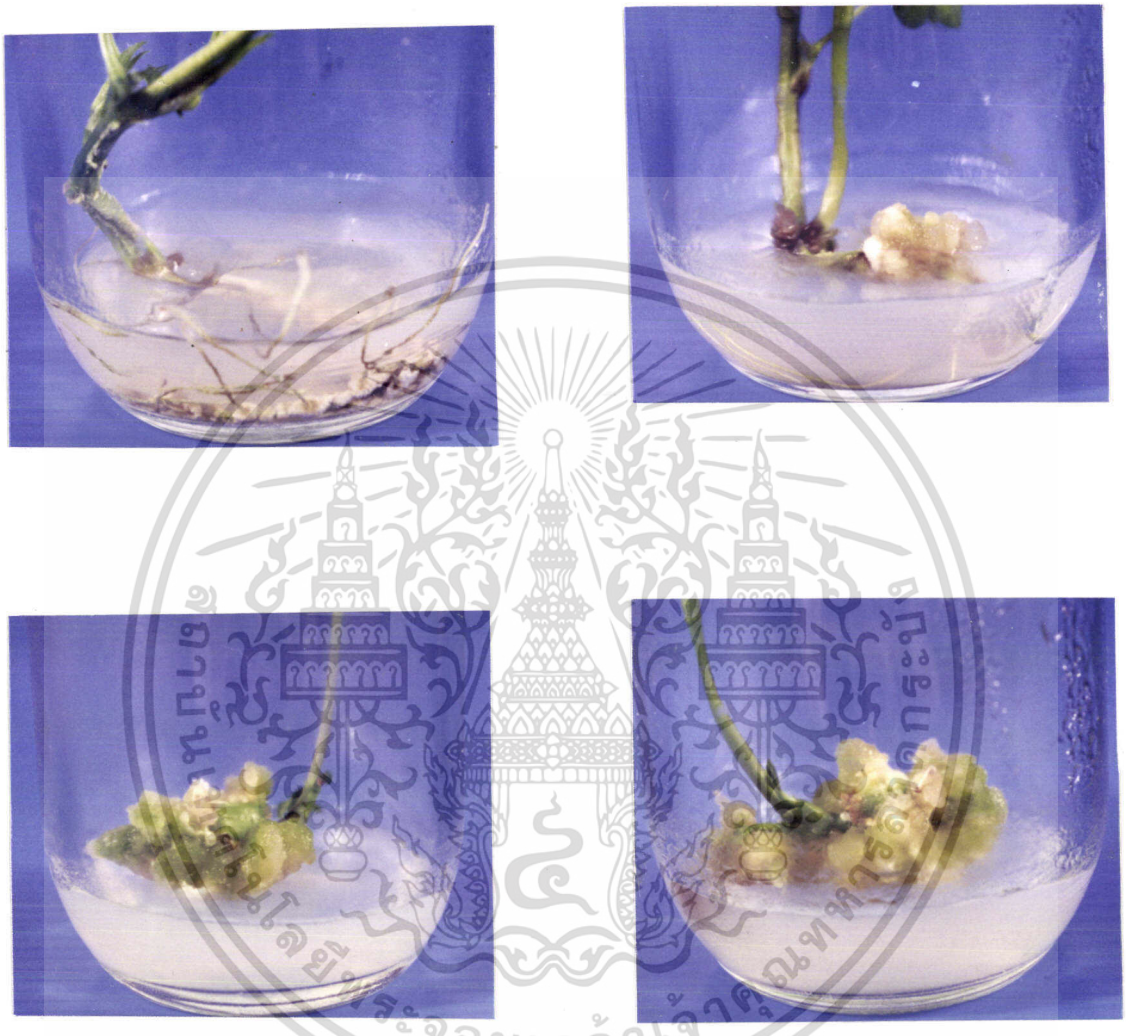
ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง วันที่ 1 มีนาคม 2540
สิ้นสุดการทดลอง วันที่ 1 มิถุนายน 2540
รวมเป็นระยะเวลาในการทดลอง 3 เดือน

สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไร่ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 แสดงคะแนนการเกิดแคลลัสของเอมบริโอถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4 ที่เลี้ยงในอาหารแข็งสูตรต่างๆ นาน 1 เดือน

แสดงการให้คะแนน - (บนซ้าย)

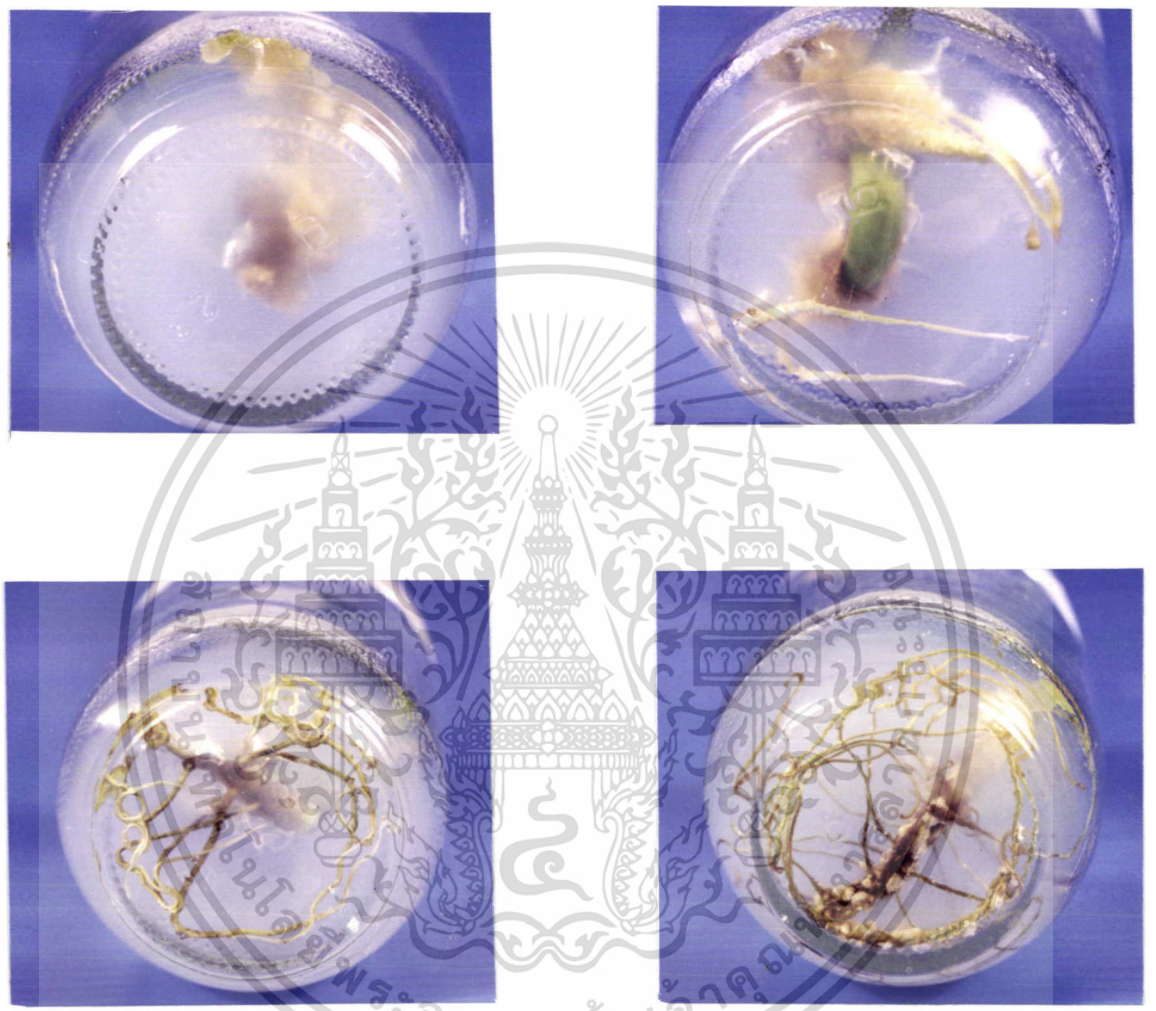
แสดงการให้คะแนน + (บนขวา)

แสดงการให้คะแนน ++ (ล่างซ้าย)

แสดงการให้คะแนน +++ (ล่างขวา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

100163



ภาพที่ 3 แสดงคะแนนการเกิดรากของเอมบริโอถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4 ที่เลี้ยงในอาหารแข็งสูตรต่างๆ นาน 1 เดือน

แสดงการให้คะแนน - (บนซ้าย)

แสดงการให้คะแนน + (บนขวา)

แสดงการให้คะแนน ++ (ล่างซ้าย)

แสดงการให้คะแนน +++ (ล่างขวา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการทดลองเพาะเลี้ยงเอมบริโอถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4 ในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ในระดับความเข้มข้น 0, 1 และ 2 mg/l ร่วมกับ BAP ในระดับความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4 mg/l เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าอาหารทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดยอดได้จำนวน 1 ยอด และสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและรากได้ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4 และ 5 ตามลำดับ

ตารางที่ 4 แสดงผลของ NAA และ BAP ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ (mg/l) ต่อการเกิดแคลลัส (ซึ่งแสดงผลเป็นเครื่องหมายตามรายละเอียดในวิธีการทดลอง ข้อ 4.1)

BAP / NAA	0	0.5	1	2	3	4
0	-	+	+	+	+	+
1	-	++	+++	+	+	+
2	-	++	++	++	++	++

ตารางที่ 5 แสดงผลของ NAA และ BAP ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ (mg/l) ต่อการเกิดราก (ซึ่งแสดงผลเป็นเครื่องหมายตามรายละเอียดในวิธีการทดลอง ข้อ 4.2)

BAP / NAA	0	0.5	1	2	3	4
0	+++	++	-	-	-	-
1	++	+	-	-	-	-
2	++	++	++	+	+	-

จากตารางที่ 4 พบว่าในอาหารที่เติม NAA เพียงอย่างเดียวไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เลยแม้ว่า NAA จะเป็นสารในกลุ่มออกซินที่มีคุณสมบัติในการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ (Ellen,1996) ซึ่งอาจเป็นเพราะการทดลองนี้ใช้ NAA ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำเกินไปจึงทำให้ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ส่วนในอาหารที่เติม BAP เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคลลัสได้เล็กน้อยในทุกระดับความเข้มข้น เนื่องจาก BAP เป็นสารในกลุ่มไซโตไคนินซึ่งมีผลในการแบ่งเซลของชิ้นส่วนที่เลี้ยงใน culture (สัมพันธ์,2526) จึงสามารถกระตุ้นการเกิดแคลลัสได้ ในอาหารที่มีการเติม NAA ร่วมกับ BAP ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ทุกสูตร โดยอาหารสูตรที่เติม NAA 1 mg/l ร่วมกับ BAP 1 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด เนื่องจากสัดส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินสมดุลย์กันมีผลทำให้แคลลัสที่เกิดขึ้นมีการเพิ่มจำนวนเซลต่อไป (นพดล,2537) จึงทำให้ได้แคลลัสที่มีขนาดใหญ่ (ดังแสดงในภาพที่ 2 ด้านล่างขวา)

จากตารางที่ 5 พบว่าในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตใดๆ สามารถชักนำให้เกิดรากได้จำนวนมากและในอาหารที่เติม NAA เพียงอย่างเดียวที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 mg/l ก็สามารถชักนำให้เกิดรากได้จำนวนมากซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Atreya และคณะ (1984) ที่นำ cotyledon segments ของถั่วลิสงมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 mg/l สามารถชักนำให้เกิดรากได้จำนวนมาก ในอาหารที่เติม NAA 1 และ 2 mg/l รากที่เกิดขึ้นมีขนาดใหญ่กว่าที่เกิดขึ้นในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เนื่องจาก NAA เป็นสารในกลุ่มออกซินที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้ระบบรากเจริญเติบโตได้ดี (พีรเดช,2529) ซึ่งสอดคล้องกับ Leopold (1967) ที่กล่าวว่า NAA เป็นสารในกลุ่มออกซินซึ่งมีผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของราก การยืดตัวของเซล การขยายขนาดของเซลและการแบ่งตัวของเซล ส่วนอาหารที่เติม BAP เพียงอย่างเดียวที่ระดับความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 mg/l ไม่มีรากเกิดขึ้นเลย เนื่องจาก BAP มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของราก (Hussey,1976) แต่ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 mg/l พบว่ายังมีรากเกิดขึ้นอยู่อาจเป็นเพราะระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตยังไม่ถึงจุดที่ยับยั้งการเกิดราก ในอาหารที่มีการเติม NAA ร่วมกับ BAP ในระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่าในอาหารที่เติม NAA:BAP 1:1-4 mg/l และ 2:4 mg/l ไม่มีรากเกิดขึ้นเลย เนื่องจาก BAP เป็นสารในกลุ่มไซโตไคนินที่เมื่อให้เข้าไปจนมีความเข้มข้นภายในสูงมากเกินไปจะก่อให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของราก (นพดล,2537) จึงทำให้ไม่มีรากเกิดขึ้นเลยแม้ว่าจะมีการเติม NAA ซึ่งเป็นออกซินที่มีผลเร่งการเจริญเติบโตของราก (สัมพันธ์,2526) ส่วนในอาหารที่เติม NAA:BAP 1:0.5 mg/l และ 2:0.5-3 mg/l พบว่ายังมีรากเกิดขึ้นอยู่เนื่องจากอิทธิพลของ NAA ที่เติมลงไป

จากการทดลองเพาะเลี้ยงเอมบริโอถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4 ในอาหารสูตร MS ที่ต NAA ในระดับความเข้มข้น 0, 1 และ 2 mg/l ร่วมกับ 2,4-D ในระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2 และ 3 mg/l เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าอาหารทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดยอดได้จำนวน 1 ยอด และสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและรากได้ดังแสดงไว้ในตารางที่ 6 และ 7 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

16153

ตารางที่ 6 แสดงผลของ NAA และ 2,4-D ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ (mg/l) ต่อการเกิดแคลลัส (ซึ่งแสดงผลเป็นเครื่องหมายตามรายละเอียดในวิธีการทดลอง ข้อ 4.1)

2,4-D / NAA	0	0.5	1	2	3
0	-	+	+	++	++
1	-	+	++	++	+++
2	-	+	++	+++	+++

ตารางที่ 7 แสดงผลของ NAA และ 2,4-D ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ (mg/l) ต่อการเกิดราก (ซึ่งแสดงผลเป็นเครื่องหมายตามรายละเอียดในวิธีการทดลอง ข้อ 4.2)

2,4-D / NAA	0	0.5	1	2	3
0	+++	++	+	-	-
1	++	+	+	-	-
2	++	+	-	-	-

จากตารางที่ 6 พบว่าในอาหารที่เติม NAA เพียงอย่างเดียวไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ อาจเป็นเพราะปริมาณ NAA ที่ใช้นี้ยังไม่มากพอที่จะกระตุ้นให้เกิดแคลลัส ส่วนในอาหารที่เติม 2,4-D เพียงอย่างเดียว สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เนื่องจาก 2,4-D เป็นสารในกลุ่มออกซินที่มีคุณสมบัติชักนำให้เกิดแคลลัสได้ (สมปอง,2537) ซึ่งสอดคล้องกับ Ellen (1996) ที่กล่าวว่า 2,4-D เป็นสารในกลุ่มออกซินที่มีผลในการชักนำให้เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

แคลลัสได้และ 2,4-D เป็นสารในกลุ่มออกซินที่มีฤทธิ์ของออกซินสูง (นพดล,2537) ในอาหารที่มีการเติม NAA ร่วมกับ 2,4-D ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ทุกสูตร โดยอาหารที่เติม NAA:2,4-D 1:3 mg/l และ 2:2-3 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของสมปองและคณะ (2530) ที่ทำการชักนำแคลลัสแรกเริ่มจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนปาล์มน้ำมันแล้วพบว่า อาหารสูตร MS ให้ผลดีกว่าอาหารสูตรอื่นๆ และ 2,4-D เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสและต้องใช้ในระดับความเข้มข้นสูง ประมาณ 2.5 mg/l

จากตารางที่ 7 พบว่าอาหารสูตร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและอาหารที่เติม NAA อย่างเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 mg/l แสดงผลการทดลองเหมือนกับในตารางที่ 5 อาหารที่เติม 2,4-D เพียงอย่างเดียวที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1 mg/l พบว่ามีรากเกิดขึ้นแต่รากมีลักษณะสั้น หนา ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 2 และ 3 mg/l ไม่มีรากเกิดขึ้นเลยแต่จะเกิดเป็นแคลลัสแทน เนื่องจาก 2,4-D เป็นสารในกลุ่มออกซินที่มีฤทธิ์สูงมาก เมื่อมีการให้จากภายนอกเข้าไปจึงทำให้เกิดการยับยั้งการเกิดราก (นพดล,2537) ในอาหารที่มีการเติม NAA ร่วมกับ 2,4-D ในระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า จะให้ผลตรงกันข้ามกับการเกิดแคลลัสในตารางที่ 6 กล่าวคือ ในระดับที่ใช้ออกซินมีฤทธิ์หรือปริมาณน้อยจะเกิดรากได้ดีแต่ไม่เกิดแคลลัส แต่เมื่อยิ่งเพิ่มฤทธิ์ของออกซินสูงขึ้นการเกิดรากจะไม่ดีแต่การเกิดแคลลัสจะดีมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 1 mg/l ร่วมกับ BAP 1 mg/l ในอาหารแข็งสูตร MS สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี แคลลัสที่ได้มีขนาดใหญ่ ส่วนอาหารที่มี NAA 1 และ 2 mg/l สามารถชักนำให้เกิดรากได้จำนวนมาก และอาหารที่มี NAA:2,4-D 1:3 mg/l และ 2:2-3 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี แคลลัสที่ได้มีขนาดใหญ่ อาหารทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดยอดได้จำนวน 1 ยอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จินตนา แก้วกุลชัย และ เสาวคนธ์ พินิจศักดิ์ . 2535. **การเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนของข้าว.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. คณะเทคโนโลยีการเกษตร . สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 40 หน้า.

ณรงค์ จิตรารัชต์ และ อุมาพร แก้วทอง . 2538. **การขยายพันธุ์สับปะรดโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. คณะเทคโนโลยีการเกษตร . สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 34 หน้า.

นพดล จรัสสัมฤทธิ์. 2537. **ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช**. สำนักพิมพ์รั้วเขียว. กรุงเทพฯ. 124 หน้า.

ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2536. **เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. ภาควิชาพฤกษศาสตร์. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 158 หน้า.

พีรเดช ทองอำไพ. 2529. **ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย**. ภาควิชาพืชสวน. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 196 หน้า.

วิมลรัตน์ ศุภรินทร์ และ ไพศาล ศุภางคเสน. 2534. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อถั่วลิสง. **รายงานผลการวิจัยประจำปี 2534 ถั่วลิสง** . ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น. สถาบันวิจัยพืชไร่. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. หน้า 226-227.

วิมลรัตน์ ศุภรินทร์ และ ไพศาล ศุภางคเสน. 2536. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อถั่วลิสง. **รายงานผลการวิจัยประจำปี 2536 ถั่วลิสง (เล่ม 1).** ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น. สถาบันวิจัยพืชไร่. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. หน้า 226-227.

วุฒิศักดิ์ บุตรธนู .2539. **ข่าวสารกองโรคพืชและจุลชีววิทยา**. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชน้ำมันและพืชไร่ตระกูลถั่ว. 6(4) :80-83.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น. 2536. **หนังสือรับรองพันธุ์ถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4** . สถาบันวิจัยพืชไร่. กรมวิชาการเกษตร.

สถาบันวิจัยพืชไร่. 2536. **เอกสารคำแนะนำการปลูกถั่วลิสง**. กรมวิชาการเกษตร. 5 หน้า.

สถาบันวิจัยพืชไร่. 2536. **เอกสารแนะนำพันธุ์ถั่วลิสง**. กรมวิชาการเกษตร. 5 หน้า.

สมปอง เตชะโต , พรชัย เหลืองอาภาพงศ์ , จรัสศรี นวลศรี และ วันทนา เอ้งย่อง. 2530. การชักนำแคลลัสเริ่มแรกจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนปาล์มน้ำมัน. **วารสารสงขลานครินทร์**. 9: 1-6.

สมปอง เตชะโต. 2537. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเศรษฐกิจ หลักการและพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ.** ภาควิชาพืชศาสตร์. คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 120 หน้า.

ไสว พงษ์เก่า .2534. **พืชเศรษฐกิจ**. ภาควิชาพืชไร่นา. คณะเกษตรศาสตร์.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 478 หน้า.

Atreya CD. , JP. Rao , NC. Subrahmanyam and J. Papa Rao . 1984. In vitro regeneration of peanut (Arachis hypogaea L.) plantlets from embryo axes and cotyledon segments. **Plant Science Letters**. 34(3) : 379-383.

Ellen G. Sutter. 1996. General laboratory requirements , media and sterilization methods. In :Robert N. Trigino and Dennis J. Gray (ed.). **Plant tissue culture concept and laboratory exercises**. CRC Press, Inc. 11-25 pp.

Hussey, G. 1976. Plantlet Regeneration from Callus and Parent Tissue in Ornithogalum thyrosoides. **J. Exp. Bot.** 27:237.

Leopold , A.C. 1967. **Auxin and Plant Growth** .Barkely. University of Califonia Press. 354p.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Na Lampang A. 1993. Chronicle of Peanut Activities in Thailand. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาวิชาการ 50 ปี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์และ 10 ปี โครงการ Peanut CRSP ในประเทศไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. บางเขน. กรุงเทพฯ. หน้า 9-14.

Oono , K. 1981. In vitro methods applies to rice. **Plant Tissue Culture Methods and Applications in Agriculture.** Academic Press, Inc. New York: p 273-298.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ส่วนประกอบของ inorganic macronutrient , micronutrient และ organic contituents ของสูตรอาหาร Murashige and Skoog (1962) ที่ใช้ในการทดลอง แสดงในตารางผนวกที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ

ตารางผนวกที่ 1 Inorganic macronutrient (mg/l)

Contituents	Murashige and Skoog
$MgSO_4 . 7H_2O$	370
$CaCl_2 . 2H_2O$	440
KNO_3	1,900
NH_4NO_3	1,650
KH_2PO_4	170

ตารางผนวกที่ 2 Inorganic micronutrient (mg/l)

Contituents	Murashige and Skoog
$FeSO_4 . 7H_2O$	27.8
$MnSO_4 . 4H_2O$	22.3
KI	0.83
$CoCl_2 . 6H_2O$	0.025
$ZnSO_4 . 7H_2O$	0.6
$CuSO_4 . 5H_2O$	0.025
H_3BO_3	6.2
$Na_2MoO_4 . 2H_2O$	0.25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 Organic contituents (mg/l)

Contituents	Murashige and Skoog
Glycine	2
Myo-inositol	100
Vitamin B_1	0.1
Vitamin B_6	0.5
Nicotinic acide	0.5
Na_2EDTA	37.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้