พัฒนาการของดอกถั่วเหลือง *Glycine max* (L.) Merrill ภายใต้ภาวะแล้ง

นายปิยวัชช นิติกุล

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2547
ISBN 974-53-1507-9
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

FLORAL ONTOGENY OF SOYBEAN *Glycine max* (L.) Merrill UNDER DROUGHT STRESS

Mr. Piyawat Nitikul

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Botany
Department of Botany
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2004

ISBN 974-53-1507-9

หัวข้อวิทยานิพนธ์	พัฒนาการของดอกถั่วเหลือง *Glycine max* (L.) Merrill ภายใต้ภาวะแล้ง
โดย	นายปิยวัชช นิติกุล
สาขาวิชา	พฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภจิตรา ชัชวาลย์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เรณู ถาวโรฤทธิ์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นันทนา อังกินันทน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภจิตรา ชัชวาลย์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เรณู ถาวโรฤทธิ์)

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

.....กรรมการ
(อาจารย์ ดร. ชุมพล คุณวาสี)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปิยวัชช นิติกุล : พัฒนาการของดอกถั่วเหลือง *Glycine max* (L.) Merrill ภายใต้ภาวะแล้ง (FLORAL ONTOGENY OF SOYBEAN *Glycine max* (L.) Merrill UNDER DROUGHT STRESS) อ. ที่ปรึกษา: ผศ. ดร. ศุภจิตรา ชัชวาลย์, อ. ที่ปรึกษาร่วม: ผศ. เรณู ถาวโรฤทธิ์, 83 หน้า, ISBN 974-53-1507-9

ศึกษาผลของภาวะแล้งในถั่วเหลือง *Glycine max* (L.) Merrill สายพันธุ์ สจ. 5 ต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของดอก โดยให้ต้นถั่วเหลืองในระยะที่มี 4 ข้อบนลำต้น (V_4) ได้รับภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ (จากจุดที่ทำให้ถั่วเหลืองตาย) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าภาวะแล้งส่งผลทำให้ปริมาณน้ำสัมพัทธ์และการเติบโต ได้แก่ ความสูงต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ส่วนด้านพัฒนาการของดอกพบว่าถั่วเหลืองเมื่อได้รับภาวะแล้งที่ระยะ V_4 สามารถสร้างดอกที่มีโครงสร้างครบสมบูรณ์ได้น้อยลงและดอกที่พัฒนาได้จะมีความสามารถของการงอกหลอดเรณูได้น้อยกว่าถั่วเหลืองชุดควบคุมทั้งในสภาพหลอดทดลองและบนยอดเกสรเพศเมีย แต่อย่างไรก็ดียอดเกสรเพศเมียของดอกชุดที่ได้รับภาวะแล้งยังคงสามารถรับละอองเรณูได้ไม่ต่างจากชุดควบคุมเมื่อวัดจากความสามารถในการผลิตเอนไซม์เอสเตอเรส แสดงว่าผลของภาวะแล้งที่มีต่อผลผลิตของถั่วเหลืองในระยะการสืบพันธุ์ มาจากการยับยั้งพัฒนาการของดอกและความสามารถในการงอกหลอดเรณูเท่านั้น เมื่อให้ถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 ได้รับภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ในระยะ V_2 พบว่าเนื้อเยื่อเจริญที่จะพัฒนาไปเป็นดอกมีการพัฒนาต่อไปเพียงระยะหนึ่งและจะหยุดการพัฒนา จากนั้นเนื้อเยื่อเจริญจะเหี่ยวแห้งและพืชทดลองทุกต้นจะตายไปในที่สุด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4572383823 : MAJOR BOTANY

KEY WORDS : ANATOMY / DROUGHT / ESTERASE / FLORAL ONTOGENY / GROWTH / POLLEN GERMINATION / SOYBEAN / STIGMA RECEPTIVITY

PIYAWAT NITIKUL: FLORAL ONTOGENY OF SOYBEAN *Glycine max* (L.) Merrill UNDER DROUGHT STRESS. THESIS ADVISOR: ASST. PROF. SUPACHITRA CHADCHAWAN, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: ASST. PROF. RENOO THAVARORITH, 83 pp. ISBN 974-53-1507-9

The effects of drought stress on growth and floral ontogeny were examined in soybean *Glycine max* (L.) Merrill cv. SJ5. The drought treatment was performed by application of 30% (death-point) stress to V_4-stage soybeans, which consisted of 4 nodes. The stressed plant showed significant reduction in relative water content and growth, such as height, fresh weight and dry weight when compared to the non-stress control. For floral ontogeny, drought stress treatment was found to reduce the number of complete flowers and also the pollen fertility. The *in vitro* pollen germination test, performed with the pollens from blooming flowers, showed that the stress decreased germination percentage. However, drought stress had no effect on stigma receptivity based on esterase production. Therefore, the severe effect of drought stress on soybean productivity at the reproductive stage was caused only by the floral development prohibition and reduction in pollen viability. The drought treatment at 30% stress was also applied to V_2-stage soybeans, the results showed that the stress decrease development in floral meristem which was dried out afterward and subsequently all the treated plant died.

Department Botany Student's signature.....

Field of study Botany Advisor' signature.....

Academic year 2004 Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากความอนุเคราะห์และช่วยเหลืออย่างดีจากบุคคลหลายฝ่ายด้วยกัน ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภจิตรา ชัชวาลย์ อาจารย์ที่ปรึกษา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ เรณู ถาวโรฤทธิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่คอยควบคุมดูแล ให้คำปรึกษาและคำแนะนำที่มีคุณประโยชน์ และให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์รวมไปถึงการแก้ไขปัญหาในทุกด้าน

ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่อ รองศาสตราจารย์ นันทนา อังกินันทน์ ประธานกรรมการสอบ รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีดา บุญ-หลง และ อาจารย์ ดร. ชุมพล คุณวาสี กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ให้คำแนะนำต่างๆ และกรุณาตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่อคณาจารย์ภาควิชาพฤกษศาสตร์ทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชา ให้ความรู้ในหลายๆ ด้าน อันจะนำมาใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ และขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงเป็นพิเศษต่อ รองศาสตราจารย์ สุมิตรา คงชื่นสิน ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะที่มีคุณค่าและให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณโครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.) ที่ได้มอบทุนการศึกษาและมอบโอกาสทางการศึกษา และทุนอุดหนุนโครงการวิจัยหรือค้นคว้าเพื่อทำวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่สนับสนุนเงินทุนวิจัยในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ทุกท่านในภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับความช่วยเหลือตลอดการทำวิจัย

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่อบิดา มารดา และครอบครัวที่สนับสนุนและให้กำลังใจตลอดมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ฌ
สารบัญรูปภาพ.....ญ
บทที่
1. บทนำ.....1
2. การตรวจเอกสาร.....5
ระยะการเติบโตของถั่วเหลือง.....5
พัฒนาการของดอกถั่วเหลือง.....6
ความเข้ากันได้ระหว่างเรณูและยอดเกสรเพศเมียของถั่วเหลือง..... 7
ภาวะแล้ง..... 8
ผลของภาวะแล้งต่อพัฒนาการของเกสรเพศผู้.....9
ผลของภาวะแล้งต่อผลผลิตของถั่วเหลือง..... 9
ลักษณะของถั่วเหลืองที่ใช้ในการทดลอง.....10
3. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....12
วัสดุอุปกรณ์การศึกษาและสารเคมี..... 12
วิธีการทดลอง.....15
4. ผลการทดลอง..... 24
4.1 ศึกษาหาปริมาณน้ำที่ให้กับต้นถั่วเหลืองเพื่อทำให้เกิดภาวะแล้ง.....24
4.2 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการเติบโตของต้นถั่วเหลือง.....27
4.3 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อความสามารถในการสร้างดอก..... 34
4.4 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการพัฒนาของดอก.....40
4.5 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อความสามารถในการสืบพันธุ์ของดอก..... 46

บทที่ หน้า

4.6 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญ..... 52
5. อภิปรายผลการทดลอง..... 60
5.1 ศึกษาหาปริมาณน้ำที่ให้กับต้นถั่วเหลืองเพื่อทำให้เกิดภาวะแล้ง.....60
5.2 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการเติบโตของต้นถั่วเหลือง.....61
5.3 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อความสามารถในการสร้างดอก..... 62
5.4 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการพัฒนาของดอก.....63
5.5 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อความสามารถในการสืบพันธุ์ของดอก..... 64
5.6 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญ.....66
6. สรุปผลการทดลอง..... 68
รายการอ้างอิง..... 72
ภาคผนวก..... 76
ภาคผนวก ก.....77
ภาคผนวก ข.....81
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....83

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 เปอร์เซ็นต์ความชื้นในดินเปรียบเทียบกับระดับภาวะแล้งที่พืชได้รับและค่าที่อ่านได้จากเครื่องวัดค่าความชื้นในดิน.....26

2 ความสูงของต้นถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 30

3 จำนวนข้อของต้นถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 31

4 น้ำหนักสดของต้นถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 32

5 น้ำหนักแห้งของต้นถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4.....33

6 จำนวนช่อดอกในระยะ R_1, R_2 และ R_3 ของถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4..... 37

7 จำนวนดอกที่บานต่อหนึ่งช่อดอกในระยะ R_1, R_2 และ R_3 ของถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4.....38

8 จำนวนดอกบานต่อต้นต้นในระยะ R_1, R_2 และ R_3 ของถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4.....39

9 การงอกของเรณูในระยะ R_2 และ R_3 ของถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร Brewbaker and Kwack's medium..... 51

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูปภาพ

รูปภาพที่ หน้า

1 ส่วนประกอบของดอกถั่วเหลือง..... 6
2 เปอร์เซ็นต์ปริมาณน้ำในดินเมื่อหยุดการให้น้ำจนถั่วเหลืองตาย.....25
3 ความสูงของต้นถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4..... 28
4 จำนวนข้อต่อต้นของถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4..... 28
5 น้ำหนักสดของต้นถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4..... 29
6 น้ำหนักแห้งของต้นถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4.....29
7 การบานของดอกถั่วเหลืองที่บริเวณข้อบนลำต้น.....35
8 จำนวนช่อดอกของถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4..... 35
9 จำนวนดอกที่บานต่อหนึ่งช่อดอกของถั่วเหลืองหลังจากได้รับ
ภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4.....36
10 จำนวนดอกทั้งต้นของถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4..... 36
11 ปลายยอดในระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม.....41
12 ปลายยอดในระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม (ขยายจากรูปที่ 11)..... 42
13 ปลายยอดในระยะ R_1 ของถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4.....43
14 ปลายยอดในระยะ R_1 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม.....43
15 ดอกที่ปลายยอดในระยะ R_1 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม..... 44
16 ดอกที่ปลายยอดในระยะ R_1 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม.....44
17 ปลายยอดในระยะ R_1 ของถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4.....45
18 การงอกหลอดเรณูของถั่วเหลือง ในอาหารสูตร
Brewbaker and Kwack's medium.....47
19 เปอร์เซ็นต์การงอกของเรณูถั่วเหลืองในระยะ R_2 หลังจากได้รับ
ภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4..... 48
20 เปอร์เซ็นต์การงอกของเรณูถั่วเหลืองในระยะ R_3 หลังจากได้รับ
ภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4..... 48
21 การงอกหลอดเรณูบนยอดเกสรเพศเมียของถั่วเหลือง..... 49

รูปภาพที่ หน้า

22 ความสามารถในการสร้างเอนไซม์เอสเตอเรสของยอดเกสรเพศเมียของถั่วเหลือง 50
23 เนื้อเยื่อเจริญปลายยอดของถั่วเหลืองระยะ V_2 ชุดควบคุม..... 55
24 เนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกในระยะ V_3 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม..... 55
25 เนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกในระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม..... 56
26 เนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกในระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม..... 56
27 เนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกในระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม..... 57
28 เนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกในระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม..... 57
29 อับเรณูจากดอกในระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม (ขยายจากรูปที่ 28)..... 58
30 เนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกในระยะ V_3 ของถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_2..... 58
31 ปลายยอดระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_2..... 59

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

พืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยและของโลกชนิดหนึ่ง คือ ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) เป็นพืชล้มลุกที่ถูกจัดอยู่ในวงศ์ Fabaceae เมล็ดของถั่วเหลืองมีปริมาณน้ำมันและโปรตีนที่สูงถึงประมาณร้อยละ 20 และ 40 ของน้ำหนักเมล็ดตามลำดับ จึงมีการนำถั่วเหลืองมาใช้เป็นพืชอาหารทั้งของมนุษย์และอาหารสัตว์มาเป็นเวลานาน ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน เนื่องจากสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนโปรตีนจากเนื้อสัตว์ ส่วนของลำต้นและรากยังสามารถนำมาใช้ทำเป็นปุ๋ยเพื่อบำรุงดินได้ อีกทั้งยังมีการนำถั่วเหลืองไปใช้ประโยชน์ในงานด้านเภสัชกรรม หรือแม้กระทั่งในงานอุตสาหกรรมอื่นๆ อีกมากมาย เช่น เครื่องสำอาง ยารักษาโรค เป็นต้น

การเติบโตของถั่วเหลืองนอกจากจะขึ้นกับลักษณะทางพันธุกรรมแล้ว สิ่งแวดล้อมก็เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองเป็นอย่างมาก และปัจจุบันความต้องการถั่วเหลืองที่เพิ่มมากขึ้นอันเป็นผลมาจากประชากรโลกที่เพิ่มมากขึ้น ทำให้เกษตรกรมีความต้องการในการปลูกถั่วเหลืองเพิ่มมากยิ่งขึ้นตามไปด้วย แต่ด้วยปัญหาอุปสรรคและข้อจำกัดในหลายๆ ด้านของทั้งพื้นที่ปลูกและสภาพภูมิอากาศ ทำให้ผลผลิตถั่วเหลืองในประเทศไทยยังไม่ดีเท่าที่ควร โดยประเทศไทยสามารถผลิตถั่วเหลืองได้เพียงร้อยละ 0.25 ของผลผลิตโลกเท่านั้น (สมศักดิ์ สุริโย, 2541) สาเหตุสำคัญประการหนึ่งอาจเนื่องมาจากปัญหาภาวะแล้งของประเทศนั่นเอง

พืชหลายชนิดเมื่อได้รับภาวะแล้ง จะมีกลไกการตอบสนองในลักษณะที่คล้ายคลึงกัน เช่น มีการลดพื้นที่ใบและปิดปากใบเพื่อลดอัตราการสูญเสียน้ำ (Taiz and Zeiger, 1998) เป็นต้น ผลกระทบของภาวะแล้งที่มีต่อพืชนั้นมีได้หลายประการ เช่น มีการเจริญเติบโตที่ไม่สมบูรณ์หรือผิดปกติ ได้แก่ ลำต้นแคระแกร็น ระยะต่างๆ ของการเจริญเติบโตสั้นลง เป็นต้น รวมทั้งปริมาณและคุณภาพของผลผลิตที่ได้จะลดลงตามไปด้วย (Hale and Orcutt, 1987) ปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อคุณภาพและปริมาณของผลผลิต อาจเนื่องมาจากพืชเกิดความ

ผิดปกติประการใดประการหนึ่งของลักษณะโครงสร้าง หรือเซลล์ที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ หรือเกิดความผิดปกติทั้งสองประการ หรืออาจเกิดจากความผิดปกติในขั้นตอนพัฒนาการของผลและเมล็ด ก่อนและหลังจากเกิดการปฏิสนธิ

ในด้านโครงสร้างของพืชพบว่า เมื่อพืชได้รับภาวะแล้งในระยะที่เกิดพัฒนาการ (ontogeny) ของอวัยวะส่วนต่างๆ ซึ่งเริ่มตั้งแต่การเปลี่ยนแปลงจากการแบ่งเซลล์ของเนื้อเยื่อเจริญไปเป็นอวัยวะที่สมบูรณ์นั้น ภาวะแล้งจะส่งผลทำให้เกิดความผิดปกติของการแบ่งเซลล์ของเนื้อเยื่อเจริญแทบทุกส่วน (Esau, 1977) โดยอาจสังเกตได้จากพืชจะมีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ เช่น พืชสามารถสร้างกิ่งได้น้อยลง (Frederick, Camp and Bauer, 2001) มีข้อสั้นและมีจำนวนน้อย แต่ระยะในการออกดอกและติดผลจะสั้นลง และชักนำให้เข้าสู่ภาวะเสื่อมถอยของอวัยวะต่างๆ ได้เร็วขึ้น (Desclaux and Roumet, 1996) ซึ่งจะส่งผลกระทบที่สำคัญต่อพืช คือทำให้ผลผลิตของพืชหลายชนิดลดต่ำลง เช่น ในถั่วเหลือง เป็นต้น (Ishibashi, Sneller and Shannon, 2003)

ส่วนพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ พบว่าพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ในพืชหลายชนิด มักจะมีการตอบสนองต่อภาวะแล้งได้มากที่สุดในระยะการแบ่งตัวของเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ (microspore mother cell) แต่สำหรับเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียนั้น ภาวะแล้งไม่มีผลต่อการแบ่งตัวของเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ (megaspore mother cell) (Saini, 1997) โดยภาวะแล้งจะยับยั้งการพัฒนาของทั้งไมโครสปอร์และเรณู ทำให้เรณูของพืชที่ได้รับภาวะแล้งมีขนาดเล็กลง รูปร่างผิดปกติไปจากเดิม ส่งผลต่อการสะสมคาร์โบไฮเดรต น้ำตาลและเอนไซม์ที่จำเป็นอีกหลายชนิด จึงนำไปสู่การเป็นหมันของเรณูได้ เช่น ในข้าวสาลี (Lalonde, Beebe and Saini, 1997 อ้างอิงใน Saini, 1997) และข้าว (Sheoran and Saini, 1996 อ้างอิงใน Saini, 1997) เป็นต้น ซึ่งผลกระทบของภาวะแล้งต่อพืชจะแตกต่างกันไปตามแต่ละระยะของการเจริญเติบโตที่พืชได้รับ

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย และทวีความสำคัญยิ่งขึ้น เนื่องจากปัจจุบันมีความต้องการทั้งการบริโภคและในอุตสาหกรรมต่างๆ ทำให้ถั่วเหลืองเป็นพืชที่ควรพัฒนาให้มีทั้งคุณภาพและปริมาณผลผลิตที่ดี เช่น มีปริมาณผลผลิตสูง มีการปรับตัวที่ดีและเหมาะสมกับสภาพแวดล้อมที่ปลูก มีความต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูที่

อาจเกิดขึ้น แต่ปัญหาสำคัญที่พบในประเทศไทย คือสภาพอากาศในบริเวณที่เพาะปลูกถั่วเหลืองโดยทั่วไปมักจะมีความแห้งแล้ง (ศุภชัย แก้วมีชัย, 2537) ปัจจุบันจึงมีการศึกษาถึงผลของภาวะแล้งต่อกลไกการตอบสนองทางสรีรวิทยาของพืชกันอย่างแพร่หลาย เช่น การศึกษาการสร้างเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (อัญชลี ร่มพา, 2543) หรือการสะสมสาร osmoprotectants เช่น proline และ betaine (McNeil, Nuccio and Hanson, 1999) เป็นต้น แต่การศึกษาผลของภาวะแล้งที่มีต่อพัฒนาการของถั่วเหลืองในระยะต่างๆ นั้นพบว่ายังไม่มีการศึกษามากนัก ทำให้ยังไม่ทราบถึงรูปแบบการพัฒนาของเนื้อเยื่อและโครงสร้างต่างๆ ในการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองที่ตอบสนองต่อภาวะแล้งอย่างแน่ชัด การศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาถึงผลกระทบของภาวะแล้งที่มีต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญ และพัฒนาการของดอกในถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีการแนะนำให้ปลูกกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากให้ผลผลิตสูงทั้งในฤดูแล้งและฤดูฝน ผลที่ได้จากการศึกษาดังกล่าว จะทำให้เกิดความเข้าใจที่ดีมากยิ่งขึ้นถึงผลกระทบของภาวะแล้งต่อระยะต่างๆ ในการพัฒนาของพืช อันจะนำไปสู่การประยุกต์ใช้สำหรับการวางแผนการให้น้ำ เพื่อลดอัตราการสูญเสียของผลผลิตทางการเกษตรต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการเติบโต พัฒนาการของดอกและความสามารถในการสืบพันธุ์ของดอกถั่วเหลือง

แผนการดำเนินการวิจัยประกอบด้วย

1. ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญและการพัฒนาของดอกในถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5
2. ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อความสามารถในการสืบพันธุ์ของดอกถั่วเหลือง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ข้อมูลที่ได้จะทำให้มีความเข้าใจที่ดียิ่งขึ้นถึงพัฒนาการของดอกภายใต้ภาวะแล้ง
2. สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการวางแผนการให้น้ำ เพื่อลดอัตราการสูญเสียผลผลิตทางการเกษตรต่อไปในอนาคต

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ระยะการเติบโตของถั่วเหลือง

Fehr and Caviness (1977) ได้แบ่งระยะพัฒนาการของถั่วเหลืองเป็นดังนี้ คือ

1. ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น ประกอบด้วย

VE คือ ระยะที่ใบเลี้ยงโผล่พ้นดิน

VC คือ ระยะที่ใบเลี้ยงกางออกจากกันและใบจริงคู่แรกมีขอบใบคลี่แยกจากกัน

V_1 คือ ใบประกอบใบแรกมีขอบใบคลี่แยกจากกัน

V_2 คือ มี 2 ข้อบนลำต้น ประกอบด้วยใบจริงคู่แรกและใบประกอบใบแรกเจริญเต็มที่แล้ว ใบบนข้อถัดไปมีขอบใบคลี่แยกจากกัน

V_3 คือ มี 3 ข้อบนลำต้น ประกอบด้วยใบจริงคู่แรกและใบประกอบ 2 ใบที่เจริญเต็มที่แล้ว ใบบนข้อถัดไปมีขอบใบคลี่แยกจากกัน

V_4 คือ มี 4 ข้อบนลำต้น ประกอบด้วยใบจริงคู่แรกและใบประกอบ 3 ใบที่เจริญเต็มที่แล้ว ใบบนข้อถัดไปมีขอบใบคลี่แยกจากกัน

V_n คือ มี n ข้อบนลำต้น ประกอบด้วยใบที่เจริญเต็มที่แล้วบนทั้ง n ข้อ ใบบนข้อที่ n+1 มีขอบใบคลี่แยกจากกัน

2. ระยะการออกดอกและติดฝัก ประกอบด้วย

R_1 คือ ดอกบานที่ข้อใดข้อหนึ่งของลำต้น

R_2 คือ ดอกบานที่ข้อใดข้อหนึ่งของ 2 ข้อบนสุดของลำต้น

R_3 คือ ฝักมีขนาด 0.5 เซนติเมตร ที่ข้อใดข้อหนึ่งใน 4 ข้อบนสุดของลำต้น

R_4 คือ ฝักมีขนาด 2 เซนติเมตร ที่ข้อใดข้อหนึ่งใน 4 ข้อบนสุดของลำต้น

R_5 คือ เมล็ดยาว 0.3 เซนติเมตร ในฝักข้อใดข้อหนึ่งใน 4 ข้อบนสุดของลำต้น

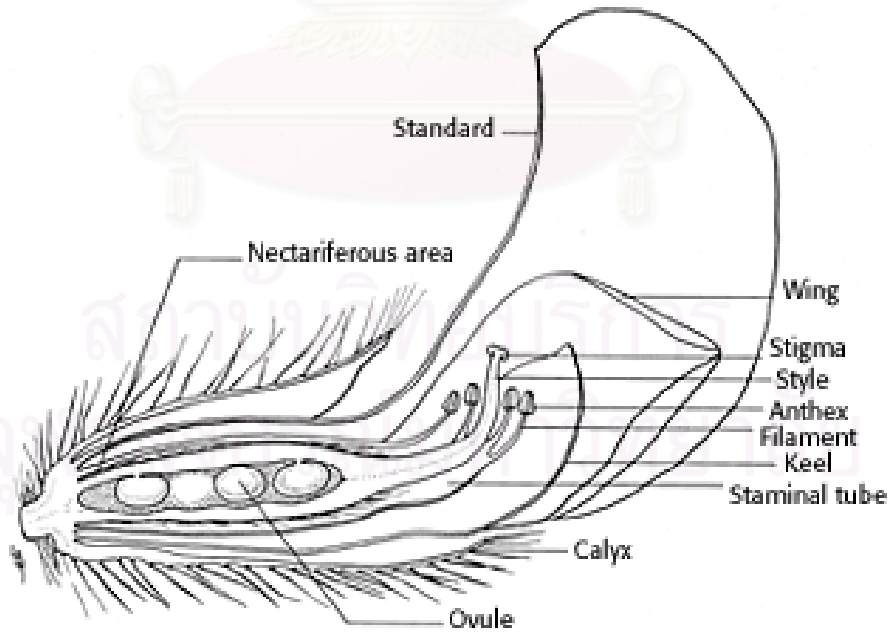
R_6 คือ เมล็ดเต็มฝักที่ข้อใดข้อหนึ่งใน 4 ข้อบนสุดของลำต้น

R_7 คือ ฝักใดฝักหนึ่งบนลำต้นเริ่มแก่ และ R_8 ร้อยละ 95 ของฝักแก่แล้ว (พร้อมเก็บเกี่ยวได้ภายใน 1 ถึง 2 สัปดาห์)

พัฒนาการของดอกถั่วเหลือง (Crozier and Thomas, 1993)

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่ออกดอกเป็นช่อแบบ raceme (Tucker, 1984) การสร้างดอกของถั่วเหลืองนั้นจะเริ่มถูกชักนำให้สร้างจากเนื้อเยื่อเจริญของตาข้าง (axillary meristem) ก่อน โดยมีการเปลี่ยนแปลงจากเนื้อเยื่อเจริญที่จะสร้างใบไปเป็นใบประดับ (bract) แทน แล้วจึงมีการสร้างตาดอก (floral bud) ขึ้นทางด้านบนของใบประดับและจะพัฒนาอยู่ตามแนวแกนของใบประดับ ทำให้เนื้อเยื่อเจริญนั้นจะเกิดสมมาตรขึ้นมา 2 ด้าน คือสมมาตรทางด้านบนกับด้านล่าง กลุ่มของเซลล์เจริญทางด้านนอกหรือด้านไกลแกน (abaxial meristem) จะเริ่มพัฒนาเป็นอวัยวะส่วนต่างๆ ของดอกก่อนกลุ่มของเซลล์เจริญทางด้านในหรือด้านใกล้แกน (adaxial meristem) ดอกถั่วเหลืองที่เกิดขึ้นจึงมีสมมาตรเป็นแบบไซโกมอร์ฟิก ที่เป็นลักษณะของ papilionaceous form ที่ประกอบไปด้วย

- กลีบเลี้ยง 5 กลีบ
- กลีบดอก 5 กลีบ ประกอบด้วย standard 1 กลีบ wing 2 กลีบ และ keel 2 กลีบ
- เกสรเพศผู้ 10 อัน แยกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแรก 9 อัน และอีกกลุ่มมี 1 อัน
- เกสรเพศเมีย 1 อัน ประกอบด้วย 1 คาร์เพลที่มีหลายออวุล



รูปที่ 1 ส่วนประกอบของดอกถั่วเหลือง (Fehr and Caviness, 1977)

การพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญที่จะสร้างองค์ประกอบแต่ละชั้นของดอกนั้น จะเกิดอยู่บนส่วนที่เรียกว่าฐานรองดอก (receptacle) และมีการสร้างแบบสลับกันของแต่ละชั้น ระยะเวลาของการพัฒนาในแต่ละชั้นของดอกจะเกิดขึ้นไม่พร้อมกัน โดยระยะเวลาในการเกิดของแต่ละชั้นจะมีการเหลื่อมซ้อนทับกัน ซึ่งการพัฒนาของดอกจะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเจริญเพื่อไปเป็นชั้นของกลีบเลี้ยงเป็นอันดับแรก และพัฒนาเพื่อสร้างกลีบดอก เกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียเป็นอันดับสุดท้าย

หลังจากที่กลีบดอกกลีบสุดท้ายถูกชักนำให้สร้างขึ้น กลุ่มของเนื้อเยื่อเจริญทั้งกลุ่มจะมีการแผ่ขยายขนาดออกไปรอบๆ จากจุดศูนย์กลางของกลุ่มเนื้อเยื่อเจริญ หลังจากนั้นจะมีการชักนำให้เนื้อเยื่อเจริญพัฒนาไปเพื่อสร้างเกสรเพศผู้อันแรก โดยถูกสร้างจากทางด้านนอกสุดก่อนแล้วจึงมีการชักนำให้สร้างเกสรเพศผู้อันอื่นขึ้นมาจนครบ เป็นเวลาเดียวกับที่ส่วนบริเวณด้านบนสุดที่อยู่ตรงกลางของกลุ่มเนื้อเยื่อเจริญ มีการเปลี่ยนแปลงเพื่อพัฒนาไปเป็นส่วนของคาร์เพลในเวลาต่อมา และมีการพัฒนาต่อไปจนสมบูรณ์ภายในกลีบดอกที่เริ่มแผ่ขยายออกอย่างรวดเร็วสำหรับล้อมรอบทั้งเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียไว้จนกว่าจะมีการบานของดอก

สำหรับการบานของดอกถั่วเหลืองนั้น ดอกที่อยู่ส่วนล่างสุดของช่อดอกจะเริ่มบานก่อนเป็นดอกแรก แล้วดอกที่อยู่ถัดขึ้นไปจึงค่อยๆ บานจนบานหมดครบทั้งช่อดอก

ความเข้ากันได้ระหว่างเรณูและยอดเกสรเพศเมียของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองจัดเป็นพืชที่มีการผสมตัวเอง (self-pollination) เนื่องจากส่วนโครงสร้างของดอกสนับสนุนให้เกิดการถ่ายละอองเรณูขึ้นภายในดอกเดียวกัน เพราะพัฒนาการของทั้งเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียจะเกิดขึ้นในเวลาที่ต่อเนื่องใกล้เคียงกัน และมีการพัฒนาจนเสร็จสมบูรณ์อยู่ภายในชั้นกลีบดอกที่แผ่ขยายมาล้อมรอบไว้ (Crozier and Thomas, 1993) เมื่ออับเรณูแตกออกจึงทำให้เรณูตกลงบนยอดเกสรเพศเมียภายในดอกเดียวกัน

ดังนั้นปัจจัยที่จะส่งผลให้ถั่วเหลืองติดเมล็ดได้หรือไม่ จึงมาจากทั้งความสามารถในผสมพันธุ์ของเรณูและความสามารถในการรับเรณูของยอดเกสรเพศเมีย โดยหากถั่วเหลืองสามารถสร้างทั้งเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียที่มีความสมบูรณ์แล้ว ก็น่าจะทำให้เกิดการติดเมล็ดที่สมบูรณ์ตามไปด้วย

ปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่งที่ทำให้เกสรเพศเมียของพืชแต่ละชนิด ยอมรับและจดจำเรณูที่จะมาผสมคือ สารประกอบโปรตีนต่างๆ ที่ถูกหลั่งออกมาบนยอดเกสรเพศเมียและที่อยู่ภายในยอดเกสรเพศเมียเอง (Shivanna and Johri, 1985 อ้างอิงใน Shivanna and Rangaswamy, 1992) สารประกอบโปรตีนที่สำคัญสำหรับยอดเกสรเพศเมีย คือ เอนไซม์เอสเตอเรส (Shivanna and Rangaswamy, 1992) ซึ่งมีหน้าที่ทำให้เกิดการสลายของสารพวก sporopollenin ที่อยู่บนผนังของเรณู (Ahokas, 1976) ทำให้เรณูสามารถงอกหลอดเรณูได้

ภาวะแล้ง

ภาวะแล้งในธรรมชาติที่พืชได้รับ เป็นภาวะที่พืชเกิดการขาดน้ำจากการที่ฝนแล้งเป็นระยะเวลานาน จนทำให้ปริมาณน้ำที่สะสมอยู่ในดินลดลง พืชจึงไม่สามารถดึงน้ำจากดินไปใช้ในกระบวนการต่างๆ ได้ แต่พืชยังคงเกิดการคายน้ำอยู่ตลอดเวลาเนื่องจากความแตกต่างของค่า water potential ระหว่างพืชกับอากาศ พืชจะมีการควบคุมโดยการปิดปากใบ ดังนั้นภาวะแล้งที่เป็นสาเหตุให้พืชไม่สามารถดึงน้ำในดินขึ้นมาใช้ได้นั้น จึงทำให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ลดลง (Hall, 2001 อ้างอิงใน ณภัศศรณ์ ปัญญาสุข, 2547)

พืชเมื่อได้รับภาวะแล้ง จะส่งผลกระทบโดยตรงสำคัญหลายประการ เนื่องจากน้ำมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาโบลิซึมโดยตรง การตอบสนองต่อภาวะแล้งของพืชมีหลายลักษณะ เช่น มีการลดพื้นที่ของใบอันเนื่องมาจากแรงดันเต่งของเซลล์ลดลง (Taiz and Zeiger, 1998) การปิดปากใบ การม้วนตัวของใบ และยังทำให้พืชทิ้งใบเพื่อลดอัตราการสูญเสียน้ำอีกด้วย ภาวะแล้งยังส่งผลต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง จากการที่พืชมีการปิดปากใบทำให้พืชไม่สามารถดึงเอาคาร์บอนไดออกไซด์จากบรรยากาศได้และส่งผลให้ในใบ

มีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ลดลง จึงทำให้กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง (Boyer, 1970 อ้างอิงใน ณภัศศรณ์ ปัญญาสุข, 2547)

ผลของภาวะแล้งต่อพัฒนาการของเกสรเพศผู้

ภาวะแล้งส่งผลต่อพัฒนาการของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ได้มากกว่าเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย พบว่าหากพืชได้รับภาวะแล้งในระยะที่มีการแบ่งตัวของเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ (microspore mother cell) แล้ว พัฒนาการของเรณูที่ได้จะไม่สมบูรณ์และมีความผิดปกติไป เช่น ทำให้เรณูของพืชที่ได้รับภาวะแล้งมีขนาดเล็กลง อาจทำให้มีรูปร่างผิดปกติไปจากเดิม อีกทั้งภาวะแล้งยังส่งผลต่อการสะสมสารต่างๆ ที่จำเป็นสำหรับเรณู เช่น สารประกอบคาร์โบไฮเดรตพวกน้ำตาลและเอนไซม์ที่จำเป็นสำหรับการงอกของหลอดเรณูอีกหลายชนิด จึงชักนำไปสู่การเป็นหมันของเรณูได้ เช่น ที่พบในข้าวสาลี (Lalonde, Beebe and Saini, 1997) และข้าว (Sheoran and Saini, 1996) เป็นต้น โดยภาวะแล้งจะสามารถยับยั้งได้ทั้งการพัฒนาของไมโครสปอร์และเรณู

ผลของภาวะแล้งต่อผลผลิตของถั่วเหลือง

Desclaux, Huynh and Roumet (2000) ได้ทดลองให้ภาวะแล้งที่ระดับ 30% Plant-Available Water แก่ต้นถั่วเหลืองในช่วงระยะเวลาที่แตกต่างกัน 4 ระยะ คือ ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น (V_4-R_1) ระยะการออกดอก (R_1-R_3) ระยะการติดฝัก (R_3-R_5) และระยะการพัฒนาของเมล็ด (R_5) พบว่า ถั่วเหลืองสามารถเติบโตจนครบวงชีพได้ แต่จำนวนของฝักถั่วเหลืองจะลดลงในทุกช่วงระยะเวลาที่ทำการทดลอง โดยที่จำนวนเมล็ดต่อฝักจะไม่ลดลง ยกเว้นหากได้รับภาวะแล้งในระยะการพัฒนาของเมล็ด ภาวะแล้งยังจะส่งผลให้ขนาดเมล็ดลดลงด้วย การที่เมื่อต้นถั่วเหลืองได้รับภาวะแล้งในระยะ V_4-R_1 R_1-R_3 และ R_3-R_5 จะไม่มีผลต่อจำนวนเมล็ดต่อฝัก อาจอนุมานได้ว่า การได้รับภาวะแล้งในระยะดังกล่าว ไม่ส่งผลถึงการพัฒนาของไมโครสปอร์และเรณู เพราะดอกมีการพัฒนาจนติดฝักได้ ซึ่งต่างจากผลของภาวะแล้งที่พบในข้าวสาลี (Lalonde, Beebe and Saini, 1997) และข้าว (Sheoran and Saini, 1996) ที่ทำให้เรณูไม่สามารถเกิดการงอกหลอดเรณูได้

การทดลองของ Linkemer และคณะ (1998) แสดงให้เห็นว่าการที่ถั่วเหลืองขาดน้ำเป็นระยะเวลาสั้นๆ ก็ส่งผลกับปริมาณของผลผลิตและการเจริญเติบโตเช่นเดียวกัน โดยพบว่าการหยุดให้น้ำในระยะต่างๆ กัน เช่น ในระยะ V_2, R_1, R_3 และ R_5 ถั่วเหลืองจะแสดงอาการตอบสนองต่อการขาดน้ำได้มากที่สุด ซึ่งการหยุดให้น้ำในระยะ V_2 และ V_3 จะทำให้ความสูงของลำต้นลดลง ยกเว้นหากขาดน้ำในระยะ R_1 ที่จะไม่มีผลต่อความสูงของลำต้นเลย การหยุดให้น้ำในระยะ V_2 ยังทำให้ถั่วเหลืองสร้างกิ่งได้น้อยลงด้วย การติดฝักนั้นจะลดลงมากเมื่อหยุดให้น้ำในระยะ R_1 และ R_3 ส่วนการหยุดให้น้ำในระยะ R_3 และ R_5 ยังทำให้ขนาดของเมล็ดที่สร้างขึ้นมีขนาดเล็กลงและทำให้จำนวนของเมล็ดในฝักลดลงด้วย

การลดลงของผลผลิตนั้นอาจเนื่องมาจากเมื่อได้รับภาวะแล้งแล้ว ถั่วเหลืองจะมีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ลดต่ำลงเนื่องจากมีการปิดปากใบดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ส่งผลให้มีการสะสมของคาร์โบไฮเดรตในใบ เช่น น้ำตาลซูโครสและแป้งลดลงตามไปด้วย จึงทำให้อาหารที่จะนำไปสะสมเพื่อสร้างเมล็ดลดลงตามไปด้วย (Liu, Jensen and Andersen, 2004)

ลักษณะของถั่วเหลืองที่ใช้ในการทดลอง (ศุภชัย แก้วมีชัย, 2537)

ถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5

เป็นสายพันธุ์ที่ได้จากการผสมพันธุ์และคัดพันธุ์ ในปี พ.ศ. 2513 และเป็นคู่ผสมที่ 24 ระหว่างสายพันธุ์ Tainung 4 (64-104) ที่มีลักษณะต้านทานต่อโรคราสนิม เมล็ดมีขนาดใหญ่ แต่มีลักษณะด้อยคือเปลือกหุ้มเมล็ดค่อนข้างแตกง่าย นำมาผสมกับสายพันธุ์ สจ. 2 ซึ่งสามารถปรับตัวดีต่อสภาพแวดล้อมของประเทศไทยและเจริญเติบโตได้ดี แต่อ่อนแอต่อโรคราสนิมและเมล็ดมีขนาดเล็ก

ถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 มีลักษณะดีดังนี้คือ

1. ให้ผลผลิตสูงประมาณ 240-336 กิโลกรัมต่อไร่
2. ทนทานต่อโรคราสนิม (rust)
3. ต้านทานต่อโรคใบด่าง (soybean mosaic virus)
4. ทนทานต่อสภาพดินที่มีความชื้นสูง

5. เมล็ดมีความงอกดี การเจริญเติบโตดีและลำต้นแข็งแรง
6. สามารถปลูกได้ให้ผลผลิตสูง ทั้งในฤดูฝนและฤดูแล้ง
7. มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเมล็ดสีม่วงต่ำ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ตัวอย่างพืช

ใช้ถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีการแนะนำให้ปลูกกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากให้ผลผลิตสูงทั้งในฤดูแล้งและฤดูฝน

วัสดุอุปกรณ์การศึกษาและสารเคมี

1. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกถั่วเหลือง

- กระถางพลาสติกสีดำขนาด 12 นิ้ว
- เครื่องวัดค่าความชื้นในดิน (moisture meter)
- เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นในอากาศ (thermo hygrometer)
- เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง
- ตู้อบตัวอย่างดิน (hot air oven)
- อลูมินัมฟอยล์

2. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดการเติบโตของถั่วเหลือง

- ตู้อบตัวอย่างพืช (hot air oven)
- เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง
- ไม้บรรทัด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญและการพัฒนาของดอก

- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องตัดเนื้อเยื่อแบบหมุน (rotary microtome) และใบมีดแบบ half-ground
- เครื่องดูดอากาศออกจากเนื้อเยื่อ (vacuum pump)
- เครื่องอุ่นสไลด์ (slide warming plate)
- เครื่องฝังเนื้อเยื่อลงในพาราฟินเหลว (paraffin embedding plate)
- ตู้หลอมพาราฟิน (paraffin oven)
- ขวดแก้วสำหรับย้อมสี (Coplin jar)
- หลอดแก้วก้นเรียบแบบมีฝาเกลียว (screw-cap vial)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- สไลด์พร้อมแผ่นแก้วปิด
- น้ำกลั่น
- น้ำยาผนึกตัวอย่างบนสไลด์ (balsam) ชนิด Permount (BDH Laboratory Supplies)
- Acetic acid, glacial
- Ammonium aluminium sulfate
- Butyl alcohol, normal
- Clove oil
- 95% Ethyl alcohol และ absolute ethyl alcohol
- Formaldehyde
- Glycerin
- Knox gelatin
- Methyl cellosolve
- Paraffin
- Paraffin oil
- Phenol crystal
- สี Haematoxylin
- สี Safranin O
- กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (compound light microscope)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- ฟิล์มสี

4. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาผลของภาวะแล้งต่อความสามารถในการสืบพันธุ์ของดอก

- ถาดแก้วเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 เซนติเมตรและฝาปิด
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องเขย่า (shaker)
- หลอดแก้วก้นเรียบแบบมีฝาเกลียว (screw-cap vial)
- สไลด์พร้อมแผ่นแก้วปิด
- Acetic acid, glacial
- Acetone
- Boric acid
- Calcium nitrate
- 95% Ethyl alcohol
- Formaldehyde
- Glycerin
- Magnesium sulfate
- Na_2HPO_4
- $Na_2HPO.7H_2O$
- α-Napthyl acetate
- Potassium nitrate
- Sodium hydroxide, 8 N
- Sucrose
- สี Aniline blue
- สี Fast blue B
- ตู้เย็น
- กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (compound light microscope)
- กล้องจุลทรรศน์แบบเรืองแสง (fluorescence microscope)
- ฟิล์มสี

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถานที่ปลูกถั่วเหลือง

- โรงควบคุมโรคและแมลง ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการทดลอง

1. **ศึกษาหาปริมาณน้ำสำหรับให้กับต้นถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 เพื่อทำให้เกิดภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์**
   1.1 แช่เมล็ดถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 เป็นเวลา 15 นาที
   1.2 เตรียมกระถางพลาสติกสีดำขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 นิ้ว จำนวน 10 ใบ ใช้ถุงพลาสติกกรุภายในกระถาง บรรจุดินผสมกระถางละ 7 กิโลกรัม รดน้ำจนเต็ม field capacity เพื่อให้ดินมีความชื้น 100 เปอร์เซ็นต์
   1.3 ปลูกถั่วเหลืองที่แช่น้ำแล้วจนโตถึงระยะ V_4 จึงหยุดการให้น้ำ ตรวจวัดความชื้นในดินทุก 1 วัน โดยวิธีการที่แตกต่างกัน 2 วิธี คือ
      1.3.1 นำตัวอย่างดินกระถางละประมาณ 100 กรัม ไปตรวจวัดความชื้น (เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักน้ำต่อน้ำหนักดินแห้ง) เพื่อคำนวณหาปริมาณน้ำที่เหลือในแต่ละวัน จนถึงระยะที่ถั่วเหลืองตาย
      1.3.2 ใช้เครื่องวัดค่าความชื้นในดิน วัดความชื้นในดิน บันทึกค่าตัวเลขที่อ่านได้
      1.3.3 เปรียบเทียบค่าความชื้นในดินจากข้อ 1.3.1 กับค่าความชื้นที่อ่านได้จากเครื่องวัดค่าความชื้นในดินในข้อ 1.3.2 เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นที่มีอยู่ในดินกับค่าตัวเลขที่อ่านได้จากเครื่องวัดค่าความชื้น
   1.4 คำนวณหาปริมาณน้ำสำหรับภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ สำหรับชุดการทดลองที่ให้ภาวะแล้งในการทดลองข้อ 2. 3, 4, 5 และ 6 โดยให้ค่าความชื้นของดินที่เต็ม field capacity เป็นภาวะที่พืชได้น้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ และให้ค่าความชื้นของดินที่ถั่วเหลืองตายเป็นภาวะแล้งที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ แล้วคำนวณค่าความชื้นดังกล่าว เพื่อให้ทราบถึงปริมาณน้ำที่มีอยู่ในดินสำหรับทำให้เกิดภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์

2. ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการเติบโตของต้นถั่วเหลือง

2.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองเป็นแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น ซึ่งจะทำให้มีการทดลองทั้งหมด 2 ชุด คือ

1. ได้รับน้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ ตลอดการทดลองซึ่งเป็นชุดควบคุม
2. ได้รับน้ำสำหรับทำให้เกิดภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ในระยะ V_4 สำหรับศึกษาการเติบโตของต้นถั่วเหลือง

2.2 การปลูกพืชทดลอง

2.2.1 เตรียมกระถางพลาสติกสีดำขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 นิ้ว จำนวน 32 ใบ และเตรียมดินเช่นเดียวกับข้อ 1.2 แต่ไม่มีการกรุถุงพลาสติกภายในกระถาง

2.2.2 เพาะเมล็ดถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 ที่แช่น้ำเป็นเวลา 15 นาที แล้ว กระถางละ 5 เมล็ด ลึกประมาณ 1 เซนติเมตร เมื่อเจริญเติบโตแล้ว 1 สัปดาห์ คัดให้เหลือกระถางละ 1 ต้น เพื่อใช้ในการทดลอง

2.2.3 รดน้ำอย่างสม่ำเสมอและควบคุมปริมาณน้ำในดินให้เกิดภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ สำหรับชุดการทดลองที่ให้ภาวะแล้ง เมื่อถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ V_4 สำหรับศึกษาการเติบโต

2.3 การเก็บข้อมูลสำหรับการทดลอง

2.3.1 ช่วงเวลาการเก็บข้อมูล

เมื่อต้นถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ V_4, R_1, R_2 และ R_3 สำหรับศึกษาความสูงต้นและจำนวนข้อต่อต้น

เมื่อต้นถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ R_2 และ R_3 สำหรับศึกษาน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง

2.3.2 วิธีการเก็บข้อมูล

2.3.2.1 ความสูง วัดความสูงของต้นถั่วเหลืองเมื่อเข้าสู่ระยะ V_4, R_1, R_2 และ R_3 จากบริเวณรอยต่อของลำต้นและรากจนถึงปลายยอด

2.3.2.2 นับจำนวนข้อต่อต้นของถั่วเหลืองเมื่อเข้าสู่ระยะ V_4, R_1, R_2 และ R_3

2.3.2.3 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้น ชั่งน้ำหนักสดส่วนลำต้นและชั่งน้ำหนักแห้งของส่วนลำต้นถั่วเหลืองที่เข้าสู่ระยะ R_2 และ R_3 ที่อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

2.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยใช้วิธี T-test

3. ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อความสามารถในการสร้างดอก

3.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับในข้อ 2.1

3.2 การปลูกพืชทดลอง

ปลูกพืชทดลองเช่นเดียวกับในข้อ 2.2

3.3 การเก็บข้อมูลสำหรับการทดลอง

3.3.1 ช่วงเวลาการเก็บข้อมูล

เมื่อต้นถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ R_1 R_2 และ R_3 สำหรับศึกษาความสามารถในการสร้างดอก โดยเก็บ

3.3.2 วิธีการเก็บข้อมูล

2.3.2.1 เก็บข้อมูลจำนวนช่อดอกต่อต้น

2.3.2.2 เก็บข้อมูลจำนวนดอกที่บานต่อหนึ่งช่อดอก

2.3.2.3 เก็บข้อมูลจำนวนดอกทั้งหมดต่อต้น

3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยใช้วิธี T-test

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการพัฒนาของดอก

4.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับในข้อ 2.1

4.2 การปลูกพืชทดลอง

ปลูกพืชทดลองเช่นเดียวกับในข้อ 2.2

4.3 การเก็บข้อมูลสำหรับการทดลอง

4.3.1 ช่วงเวลาการเก็บข้อมูล

- เมื่อต้นถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ V_4 และ R_1

4.3.2 วิธีการเก็บข้อมูล

ศึกษาการพัฒนาของดอก เก็บปลายยอด (apical shoot meristem) และตาข้าง (lateral meristem) ตลอดส่วนของลำต้น (main stem) ของถั่วเหลืองที่เข้าสู่ระยะ R_1 สำหรับศึกษาพัฒนาการของดอก โดยเตรียมไปตัดให้เป็นชิ้นบาง (section) ตามยาว แบบฝังในพาราฟิน (paraffin embedding method) ตามวิธีของ Johansen (1940) และดัดแปลงวิธีการบางขั้นตอน เพื่อทำเป็นสไลด์ถาวรสำหรับตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โดยมีขั้นตอนดังนี้

4.3.2.1 การทำให้เซลล์ตายแบบคงสภาพ (killing and fixation) นำชิ้นส่วนของพืชที่เตรียมไว้มาแช่ในสารละลายที่ทำให้คงสภาพ (fixative) ชนิด formalin-aceto-alcohol (FAA) (ภาคผนวก ก) ดูดอากาศออกจากเนื้อเยื่อโดยใช้เครื่องดูดอากาศและแช่ทิ้งไว้ไม่น้อยกว่า 48 ชั่วโมง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.3.2.2 การดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อ (dehydration) โดยแช่ไว้ในสารละลายดึงน้ำ[1] (dehydrant) ที่ประกอบด้วยส่วนผสมของ ethyl alcohol, butyl alcohol, paraffin oil และ petroleum ether ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 7 อัตราส่วน เปลี่ยนสารละลายดึงน้ำ เริ่มจากหมายเลข 1 ถึงหมายเลข 7 แต่ละขั้นตอนแช่ไว้ 3 ชั่วโมง

4.3.2.3 การให้พาราฟินแทรกซึมและการฝังด้วยพาราฟิน (paraffin infiltration and embedding) ย้ายพืชจากสารละลายดึงน้ำหมายเลข 7 ใส่ลงในพาราฟินหลอม แล้วเปลี่ยนพาราฟินหลอมทุก 3 ชั่วโมง 6 ครั้ง ในครั้งสุดท้ายจัดรูปแบบของชิ้นส่วนพืชในพาราฟินหลอมให้เหมาะสม แล้วทิ้งให้พาราฟินแข็งตัว

4.3.2.4 การตัดเป็นชิ้นบาง (sectioning) นำชิ้นส่วนของพืชที่ฝังอยู่ในพาราฟินมาตัดแต่ง (trimming) เพื่อเตรียมนำไปตัดเป็นชิ้นบาง ตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อ (microtome) ให้เป็นชิ้นต่อเนื่อง (serial section) มีความหนาของชิ้นประมาณ 10 ไมครอน

4.3.2.5 การนำส่วนของพืชที่ตัดเป็นชิ้นบางมาติดบนสไลด์ (flattening) โดยใช้น้ำยาติดสไลด์ของฮอพท์ (Haupt's adhesive) (Johansen, 1940) (ภาคผนวก ก)

4.3.2.6 การย้อมสีและการผนึกชิ้นบางบนสไลด์ (staining and mounting) นำสไลด์มาย้อมสีด้วย Delafield's Haematoxylin และ Safranin O (ภาคผนวก ก) ตามวิธีของ Johansen (1940) แล้วจึงผนึกด้วย balsam ชนิด permount แล้วนำสไลด์มาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

---

[1] *สารละลายดึงน้ำ* (จิตอารีย์ สาครินทร์, 2508)

สาร (มิลลิลิตร)	Dehydrant						
	1	2	3	4	5	6	7
น้ำกลั่น	30	15	5	-	-	-	-
95% Ethyl alcohol	50	50	40	25	-	-	-
Butyl alcohol, normal	20	35	55	75	100	100	50
Paraffin oil	-	-	-	-	-	-	50
Petroleum ether	-	-	-	-	-	-	25

4.4 การวิเคราะห์ผล

เปรียบเทียบและเขียนบรรยายลักษณะการพัฒนาของดอก ในถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งกับชุดควบคุม โดยพิจารณาพัฒนาการของดอกทั้งลำต้นว่ามีการพัฒนาที่เป็นปกติและผิดปกติอย่างไร

5. ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อความสามารถในการสืบพันธุ์ของดอก

5.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับในข้อ 2.1

5.2 การปลูกพืชทดลอง

ปลูกพืชทดลองเช่นเดียวกับในข้อ 2.2

5.3 การเก็บข้อมูลสำหรับการทดลอง

5.3.1 ช่วงเวลาการเก็บข้อมูล

เมื่อต้นถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ R_2 และ R_3

5.3.2 วิธีการเก็บข้อมูล

เก็บดอกที่กำลังเริ่มบานในระยะเดียวกันตลอดส่วนของลำต้น (main stem) แบ่งออกเป็น 2 ชุด เพื่อเตรียมไปศึกษา

5.3.2.1 Pollen viability โดยศึกษาหาเปอร์เซ็นต์การงอกของเรณู (pollen) ดังนี้

5.3.2.1.1 *In vitro* germination test ใช้วิธี suspension culture โดยการทำให้เรณูกระจายอยู่ในสารละลายสูตร Brewbaker and Kwack's medium (Brewbaker and Kwack, 1963 อ้างอิงใน Shivanna and Rangaswamy, 1992) (ภาคผนวก ก) เพื่อนำไปตรวจสอบการงอกของเรณู ตามวิธีการดังนี้

1) การเก็บรวบรวมเรณู โดยรวมเรณูทั้งหมดจากดอกทุกดอกบนต้นเดียวกันที่บานเต็มที่ในวันที่ถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ R_2 และ R_3
2) การทดสอบการงอกของเรณู นำเรณู 0.5 มิลลิกรัม แช่ในสารละลายอาหาร 1 มิลลิลิตร เขย่าด้วยความถี่ 50-80 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที
3) หยดสารละลายอาหารที่มีเรณูอยู่บนแผ่นสไลด์ เพื่อศึกษาการงอกของเรณูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โดยนับเรณูที่งอกและเรณูทั้งหมด 5 ตำแหน่ง ต่อ 1 สไลด์ คือบริเวณมุมของกระจกปิดสไลด์ทั้ง 4 ตำแหน่งและบริเวณตรงกลางสไลด์อีก 1 ตำแหน่ง แล้วนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การงอก โดยการหาร้อยละของจำนวนเรณูที่งอกเทียบกับจำนวนเรณูทั้งหมด

5.3.2.1.2 *In vivo* germination and pollen tube growth ใช้วิธี aniline blue fluorescence method ตามวิธีของ Shivanna and Rangaswamy (1992) เพื่อนำไปตรวจสอบการงอกของเรณูบนยอดเกสรเพศเมีย (stigma) ตามวิธีการดังนี้

1) เก็บเกสรเพศเมียทั้งหมดจากดอกที่บานเต็มที่ในวันที่ถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ R_2 และ R_3
2) การทำให้เซลล์ในเกสรเพศเมียตายแบบคงสภาพ โดยการแช่เกสรเพศเมียในสารละลายที่ทำให้คงสภาพ (FAA) เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 24 ชั่วโมง
3) การเก็บรักษาเกสรเพศเมีย เก็บเกสรเพศเมียใน 70% ethyl alcohol หากยังไม่ทำการศึกษาทันที
4) การทำให้เนื้อเยื่อของเกสรเพศเมียอ่อนนุ่ม โดยแช่เกสรเพศเมียในสารละลาย 8 N NaOH เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 12 ชั่วโมง แล้วล้างให้สะอาดด้วยน้ำจนปราศจากด่าง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5) การย้อมสีเรณูที่งอกอยู่ในเกสรเพศเมีย โดยแช่เกสรเพศเมียในสารละลายสี aniline blue (ภาคผนวก ก) เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 12 ชั่วโมง

6) นำเกสรเพศเมียที่ผ่านการย้อมสีมาวางบนสไลด์ ปิดด้วยแผ่นแก้วปิด ใช้นิ้วมือกดลงบนแผ่นแก้วปิดเบาๆ เพื่อให้เนื้อเยื่อของเกสรเพศเมีย แผ่ออกไปมากที่สุด นำไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเรืองแสง นับจำนวนของหลอดเรณูที่งอกภายในยอดเกสรเพศเมีย

5.3.2.2 Stigma receptivity โดยตรวจการสร้างเอนไซม์เอสเตอเรสบนยอดเกสรเพศเมีย ตามวิธีของ Shivanna and Rangaswamy (Shivanna and Rangaswamy, 1992) ตามวิธีการดังนี้

1) การเก็บเกสรเพศเมีย เก็บเกสรเพศเมียที่เจริญเต็มที่แล้วในวันที่ถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ R_2 และ R_3 แต่ยังไม่รับการถ่ายเรณู โดยเลือกจากดอกตูมที่เริ่มเห็นสีม่วง และเก็บในสภาพความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์

2) การตรวจหาเอนไซม์เอสเตอเรสโดยการแช่ยอดเกสรเพศเมียในสารละลาย substrate (ภาคผนวก ก) เป็นเวลา 20 นาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เพื่อให้เอนไซม์ทำงาน

3) ล้างยอดเกสรเพศเมียใน phosphate buffer 0.15 M (ภาคผนวก ก) นำยอดเกสรเพศเมียวางบนแผ่นสไลด์หยด glycerin แล้วปิดด้วยแผ่นแก้วปิด นำไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง สังเกตสีที่เกิดขึ้นบนยอดเกสรเพศเมีย เปรียบเทียบกับยอดเกสรเพศเมียที่ไม่ได้แช่ในสารละลาย substrate

5.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยใช้วิธี T-test

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญ

6.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับในข้อ 2.1 แต่เปลี่ยนระยะสำหรับให้ภาวะแล้ง คือ

1. ได้รับน้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ ตลอดการทดลองซึ่งเป็นชุดควบคุม
2. ได้รับน้ำสำหรับทำให้เกิดภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ในระยะ V_2 สำหรับศึกษาการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญ

6.2 การปลูกพืชทดลอง

ปลูกพืชทดลองเช่นเดียวกับในข้อ 2.2 แต่ในชุดที่ให้ภาวะแล้งเริ่มให้ภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ V_2

6.3 การเก็บข้อมูลสำหรับการทดลอง

6.3.1 ช่วงเวลาการเก็บข้อมูล

- เมื่อต้นถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ V_3 และ V_4

6.3.2 วิธีการเก็บข้อมูล

เก็บข้อมูลเช่นเดียวกับข้อ 4.3.2

6.4 การวิเคราะห์ผล

เปรียบเทียบและเขียนบรรยายลักษณะการพัฒนาเนื้อเยื่อเจริญ ในถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งกับชุดควบคุม โดยพิจารณาพัฒนาการของเนื้อเยื่อเจริญทั้งลำต้นว่ามีการพัฒนาที่เป็นปกติและผิดปกติอย่างไร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

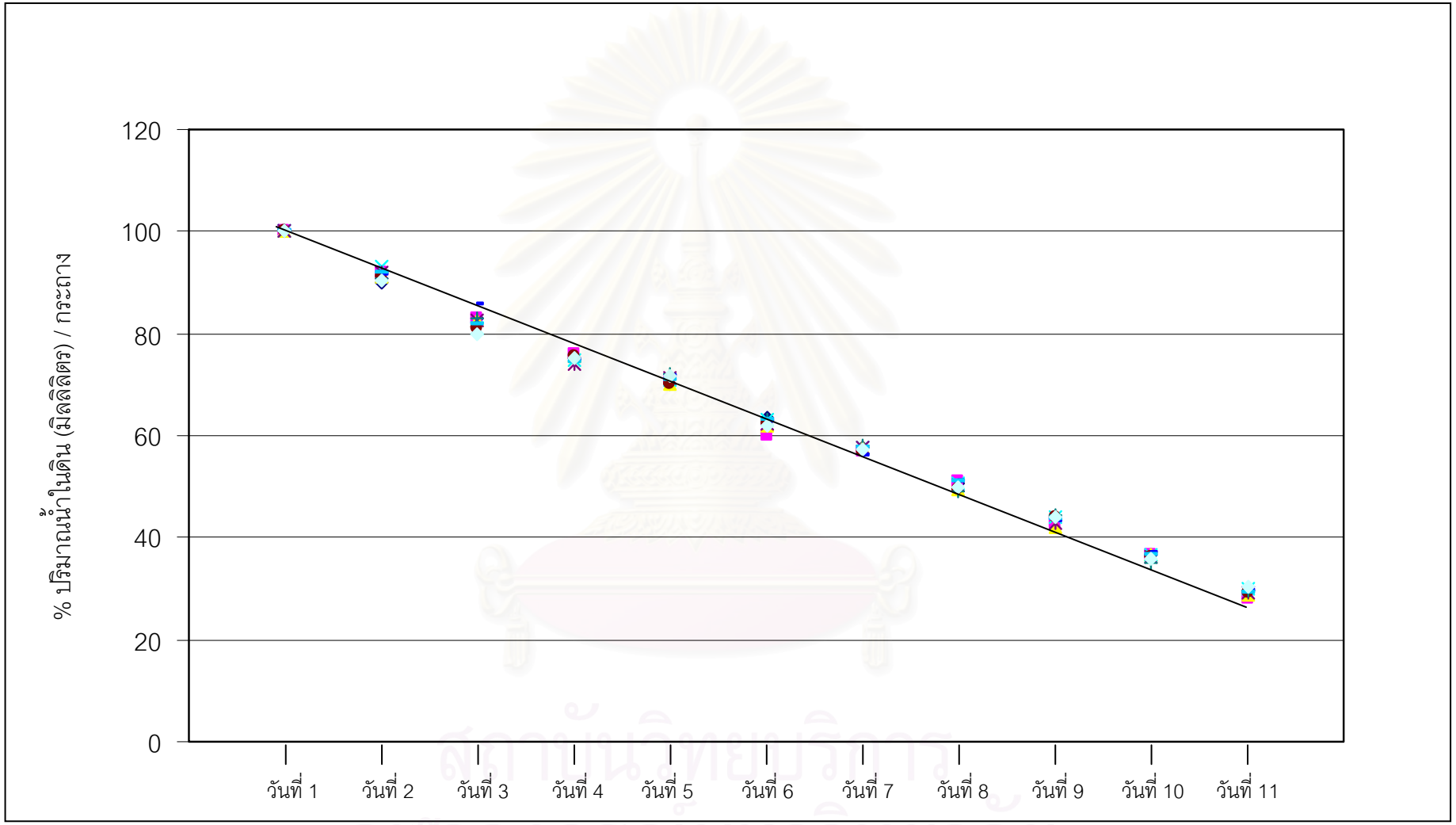
ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาหาปริมาณน้ำสำหรับให้กับต้นถั่วเหลืองเพื่อทำให้เกิดภาวะแล้ง

ถั่วเหลืองแต่ละต้นจะเริ่มเข้าสู่ระยะ V_4 ไม่พร้อมกัน โดยหลังจากถั่วเหลืองต้นแรกเข้าสู่ระยะ V_4 แล้ว ภายใน 3 วัน ต้นที่เหลือทั้งหมดจะเข้าสู่ระยะ V_4

หลังจากหยุดให้น้ำแก่ถั่วเหลืองที่เข้าสู่ระยะ V_4 นำตัวอย่างดินมากระถางละประมาณ 100 กรัม ไปตรวจวัดความชื้นโดยคำนวณเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักน้ำต่อน้ำหนักดินแห้ง (รูปที่ 2) พบว่าถั่วเหลืองเริ่มมีอาการเหี่ยวในวันที่ 2 และตายเมื่อเข้าสู่วันที่ 11 ของการหยุดให้น้ำโดยสังเกตจากใบทั้งหมดแห้งกลายเป็นสีน้ำตาลทั้งใบ เพื่อให้มั่นใจว่าถั่วเหลืองได้เข้าสู่ภาวะดังกล่าวจริง

ภาวะที่พืชได้น้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ คือดินที่ปลูกถั่วเหลืองมีปริมาณน้ำเต็มค่า field capacity ซึ่งเมื่อใช้เครื่องวัดความชื้นในดินวัดค่าความชื้นจะได้ค่าของเครื่องที่ตำแหน่งเลข 7 สำหรับภาวะแล้งที่ระดับ 0 ดินที่ปลูกถั่วเหลืองมีความชื้นที่ 29.37 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งได้จากการคำนวณ จะตรงกับตำแหน่งเลข 3 ของเครื่องวัดความชื้นในดิน ส่วนภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ตรงกับตำแหน่งเลข 4 ของเครื่องวัดความชื้นในดิน ซึ่งค่าที่ได้นี้จะช่วยอำนวยความสะดวกในการควบคุมปริมาณน้ำที่ให้กับต้นถั่วเหลืองสำหรับชุดการทดลองที่ให้ภาวะแล้ง ทำให้สามารถทราบปริมาณน้ำที่ต้องรดลงไปในแต่ละครั้งที่วัดความชื้น เพื่อทำให้ถั่วเหลืองได้รับภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)



รูปที่ 2 เปอร์เซ็นต์ปริมาณน้ำในดินเมื่อหยุดการให้น้ำจนถั่วเหลืองตาย

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ความชื้นในดินเปรียบเทียบกับระดับภาวะแล้งที่พืชได้รับและค่าที่อ่านได้จากเครื่องวัดค่าความชื้นในดิน

วันที่หยุดให้น้ำ	เปอร์เซ็นต์ความชื้นในดิน	ระดับภาวะแล้งที่พืชได้รับ	ค่าที่อ่านได้จากเครื่องวัดค่าความชื้นในดิน
1	100	100	7
2	91.38	98	6.5
3	82.40	85	6.1
4	75.07	76	5.9
5	71.00	65	5.3
6	62.42	53	5
7	57.38	45	4.5
8	50.25	30	4
9	43.46	20	3.8
10	36.33	10	3.5
11	29.37	0	3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการเติบโตของต้นถั่วเหลือง

พบว่าหลังจากต้นถั่วเหลืองได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 ถั่วเหลืองมีการแสดงออกที่แตกต่างจากชุดควบคุม คือชุดที่ให้ภาวะแล้งเริ่มมีอาการใบเหี่ยวในวันที่ 2 นับจากได้รับภาวะแล้งไปจนตลอดการทดลอง โดยใบมีอาการเหี่ยวมากในเวลาหลังจากเที่ยงวันและใบสามารถกลับฟื้นตัวได้อีกครั้งทั้งใบแก่และใบอ่อนภายหลังจากเวลาประมาณ 18:00 นาฬิกา ของทุกวันที่ทำการทดลอง

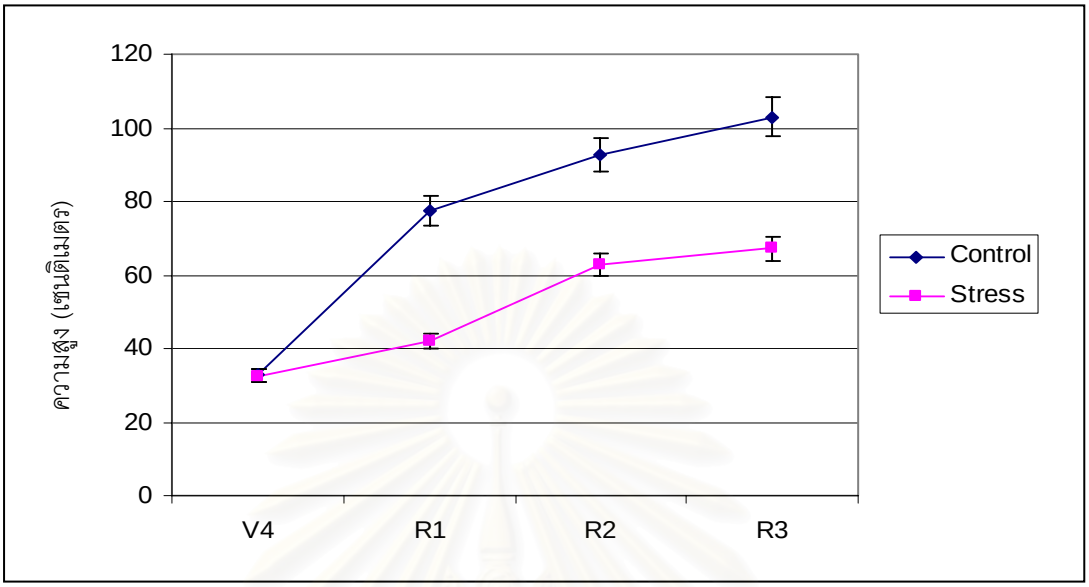
ความสูงของต้นถั่วเหลืองในระยะ V_4 ซึ่งเป็นระยะที่เริ่มหยุดการให้น้ำ การเติบโตทางด้านความสูงจึงไม่มีความแตกต่างกันทั้งระหว่างชุดที่ให้ภาวะแล้งกับชุดควบคุม ส่วนในระยะ R_1, R_2 และ R_3 ชุดที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 มีความสูงที่น้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 3 และตารางที่ 2)

จำนวนข้อต่อต้นของถั่วเหลืองในระยะ V_4 ไม่มีความแตกต่างจากชุดควบคุมเช่นกัน ส่วนในระยะ R_1, R_2 และ R_3 ชุดที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 มีจำนวนข้อที่น้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 4 และตารางที่ 3)

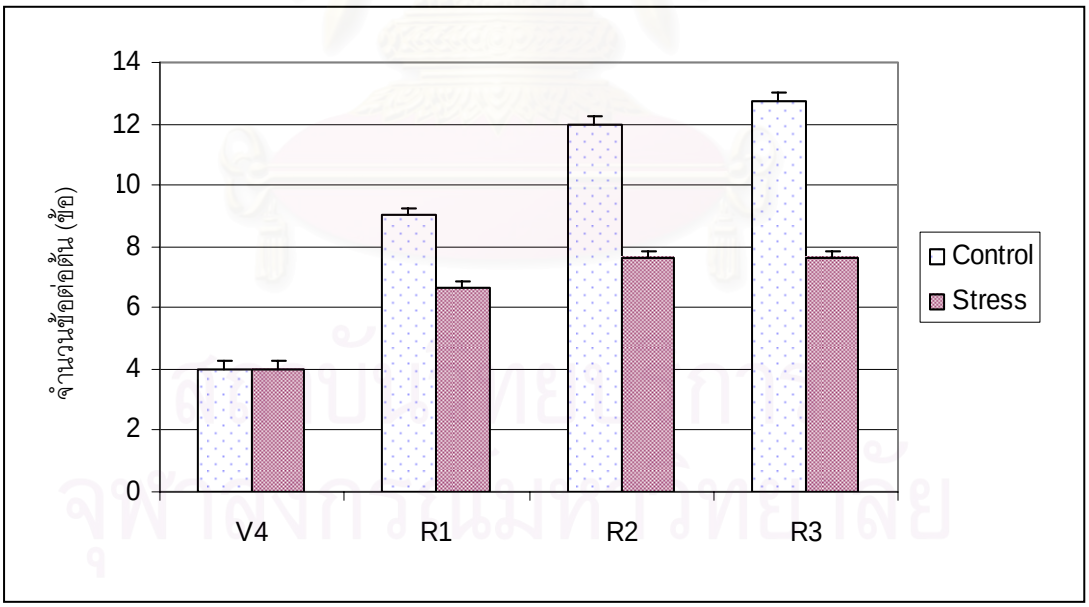
น้ำหนักสดต้น ทั้งในระยะ R_2 และ R_3 (รูปที่ 5 และตารางที่ 4) ชุดที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 มีน้ำหนักสดต้นน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

น้ำหนักแห้งต้น ในระยะ R_2 และ R_3 (รูปที่ 6 และตารางที่ 5) ชุดที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 มีน้ำหนักแห้งต้นน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

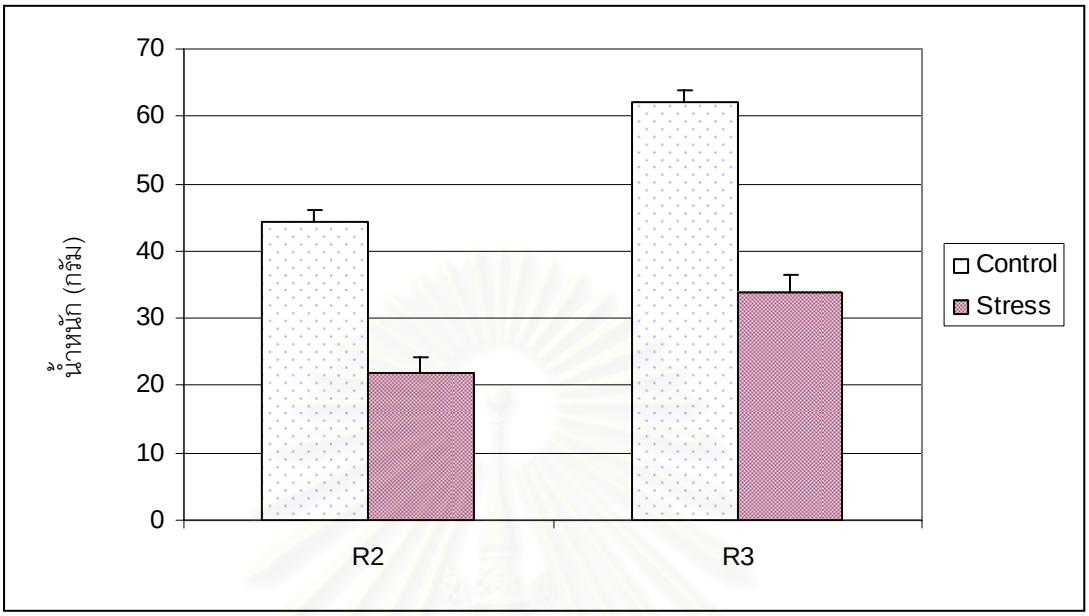
ถั่วเหลืองเมื่อได้รับภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ตั้งแต่ระยะ V_4 จะยังคงมีความสามารถในการเติบโตต่อไปได้จนครบวงชีพ สามารถสร้างดอก ติดฝักและสร้างเมล็ดได้



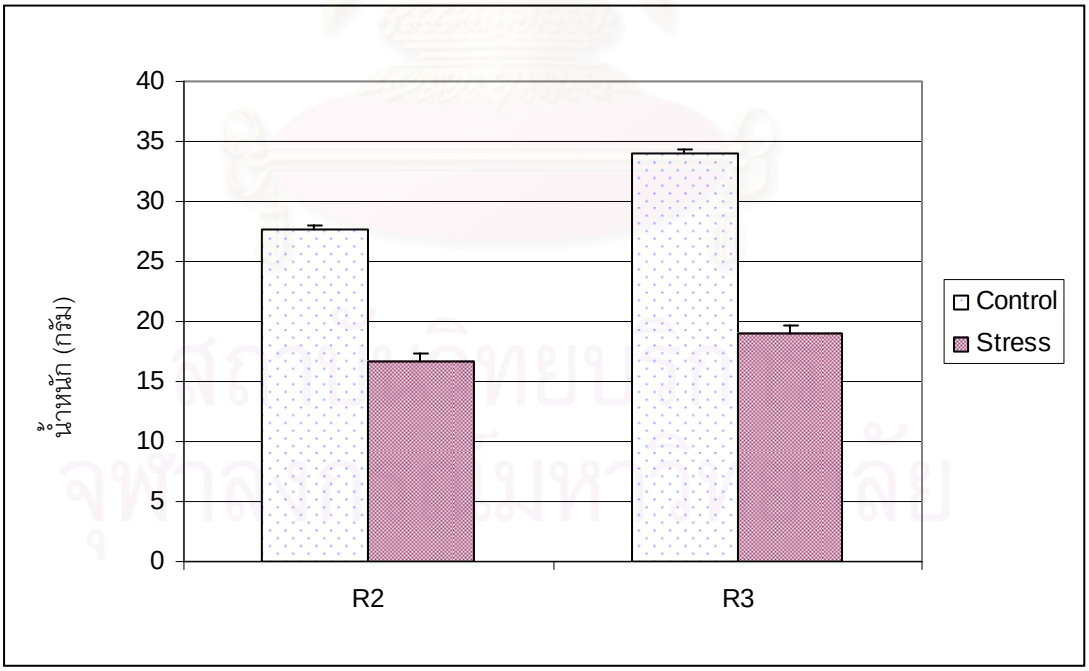
รูปที่ 3 ความสูงของต้นถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4



รูปที่ 4 จำนวนข้อต่อต้นของถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4



รูปที่ 5 **น้ำหนักสดของต้นถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ** V_4



รูปที่ 6 **น้ำหนักแห้งของต้นถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ** V_4

ตารางที่ 2 ความสูงของต้นถั่วเหลือง หลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 (mean±standard error)

ระยะการเติบโต	ความสูง (เซนติเมตร)	
	Control	Stress
V_4	32.68 ± 0.36^a	32.55 ± 0.37^a
R_1	77.47 ± 0.72^a	42.16 ± 0.49^b
R_2	92.56 ± 0.47^a	62.64 ± 1.26^b
R_3	103.00 ± 0.51^a	67.11 ± 0.47^b

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กที่เหมือนกันตามแนวนอน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 จำนวนข้อของต้นถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 (mean±standard error)

ระยะการเติบโต	จำนวนข้อต่อต้น (ข้อ)	
	Control	Stress
V_4	4.00 ± 0.00^a	4.00 ± 0.00^a
R_1	9.00 ± 0.19^a	6.62 ± 0.18^b
R_2	12.00 ± 0.19^a	7.62 ± 0.18^b
R_3	12.75 ± 0.16^a	7.62 ± 0.18^b

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กที่เหมือนกันตามแนวนอน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 น้ำหนักสดของต้นถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 (mean±standard error)

ระยะการเติบโต	น้ำหนักสด (กรัม)	
	Control	Stress
R_2	44.37 ± 1.74[a]	21.84 ± 0.40[b]
R_3	62.05 ± 0.95[a]	33.94 ± 0.69[b]

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กที่เหมือนกันตามแนวนอน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 น้ำหนักแห้งของต้นถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 (mean±standard error)

ระยะการเติบโต	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	
	Control	Stress
R_2	27.60 ± 0.17^a	16.66 ± 0.09^b
R_3	33.94 ± 0.68^a	19.04 ± 0.17^b

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กที่เหมือนกันตามแนวนอน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.3 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อความสามารถในการสร้างดอก

ระยะ R_1 ของถั่วเหลืองคือระยะที่มีดอกบานที่ข้อใดข้อหนึ่งของลำต้น (รูปที่ 7) ระยะ R_2 คือระยะที่มีดอกบานที่ข้อใดข้อหนึ่งของ 2 ข้อบนสุดของลำต้น และระยะ R_3 คือระยะฝักมีขนาด 0.5 เซนติเมตร ที่ข้อใดข้อหนึ่งใน 4 ข้อบนสุดของลำต้น (Fehr and Caviness, 1977) จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า ถั่วเหลืองชุดที่ให้ภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 จะเริ่มเข้าสู่ระยะ R_1 R_2 และ R_3 ได้เร็วกว่าชุดควบคุมประมาณ 3-4 วัน

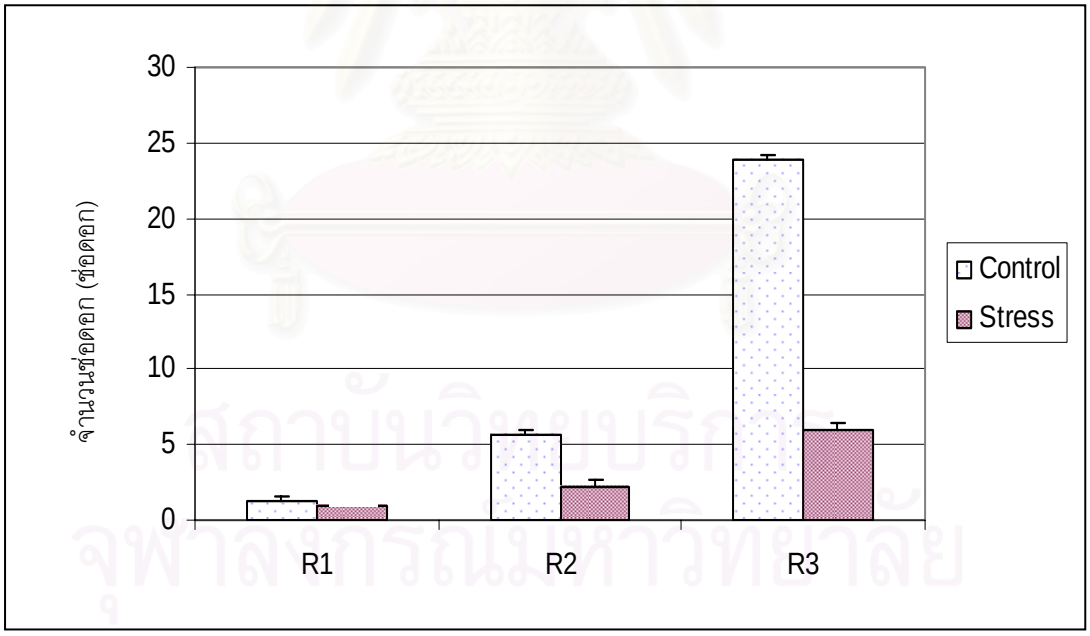
เมื่อต้นถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ R_1 จากการได้ภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 จะทำให้ถั่วเหลืองในระยะดังกล่าวมีความสามารถในการสร้างช่อดอกได้เช่นเดียวกับชุดควบคุม แต่เมื่อต้นถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ R_2 และ R_3 แล้วจำนวนช่อดอกในวันที่ถั่วเหลืองเข้าสู่การเจริญระยะนั้นๆ มีแนวโน้มลดลงตั้งแต่ระยะ R_2 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 8 และตารางที่ 6)

ถั่วเหลืองในระยะ R_1 และ R_2 มีจำนวนดอกที่บานในแต่ละช่อดอกเท่ากันทั้งในชุดที่ให้ภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 และชุดควบคุม แต่เมื่อถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ R_3 พบว่าจำนวนดอกที่บานในแต่ละช่อดอกของชุดที่ได้รับภาวะแล้งจะมีจำนวนน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 9 และตารางที่ 7)

เมื่อพิจารณาจากจำนวนดอกทั้งต้นแล้ว พบว่าเมื่อต้นถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ R_1 การได้ภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 จะทำให้ถั่วเหลืองมีความสามารถในการสร้างดอกได้เช่นเดียวกับชุดควบคุม แต่เมื่อต้นถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ R_2 และ R_3 จำนวนดอกทั้งต้นที่บานในวันที่ถั่วเหลืองเข้าสู่การเจริญระยะดังกล่าวจะน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 10 และตารางที่ 8)

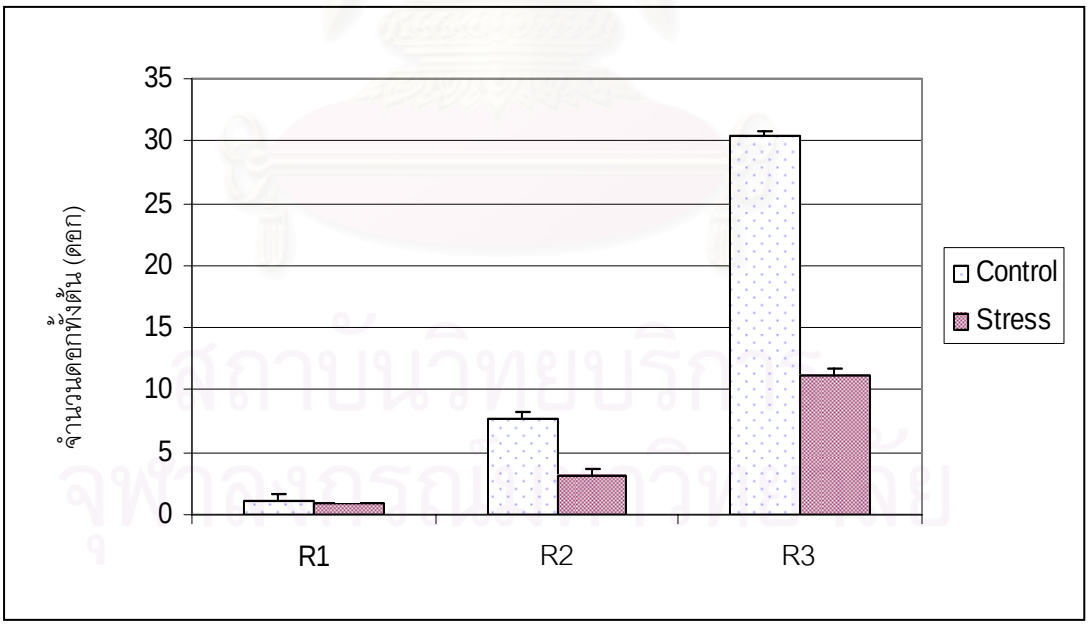
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 7 การบานของดอกถั่วเหลืองที่บริเวณข้อของลำต้น



รูปที่ 8 จำนวนช่อดอกของถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4

รูปที่ 9 **จำนวนดอกที่บานต่อหนึ่งช่อดอกของถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ** V_4



รูปที่ 10 **จำนวนดอกทั้งต้นของถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ** V_4

ตารางที่ 6 จำนวนช่อดอกในระยะ R_1, R_2 และ R_3 ของถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 (mean±standard error)

ระยะการเติบโต	จำนวนช่อดอก (ช่อดอก)	
	Control	Stress
R_1	1.25 ± 0.16^a	1.00 ± 0.00^a
R_2	5.63 ± 0.26^a	2.25 ± 0.16^b
R_3	23.87 ± 0.29^a	8.00 ± 0.26^b

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กที่เหมือนกันตามแนวนอน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 จำนวนดอกที่บานต่อหนึ่งช่อดอกในระยะ R_1, R_2 และ R_3 ของถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 (mean±standard error)

ระยะการเติบโต	จำนวนดอกที่บานต่อหนึ่งช่อดอก (ดอก)	
	Control	Stress
R_1	1.00 ± 0.00^a	1.00 ± 0.00^a
R_2	1.25 ± 0.16^a	1.00 ± 0.00^a
R_3	1.62 ± 0.26^a	1.37 ± 0.18^b

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กที่เหมือนกันตามแนวนอน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 จำนวนดอกบานต่อต้นในระยะ R_1, R_2 และ R_3 ของถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 (mean±standard error)

ระยะการเติบโต	จำนวนดอก (ดอก)	
	Control	Stress
R_1	1.12 ± 0.12^a	1.00 ± 0.00^a
R_2	7.75 ± 0.36^a	3.13 ± 0.47^b
R_3	30.37 ± 0.68^a	11.25 ± 0.49^b

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กที่เหมือนกันตามแนวนอน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

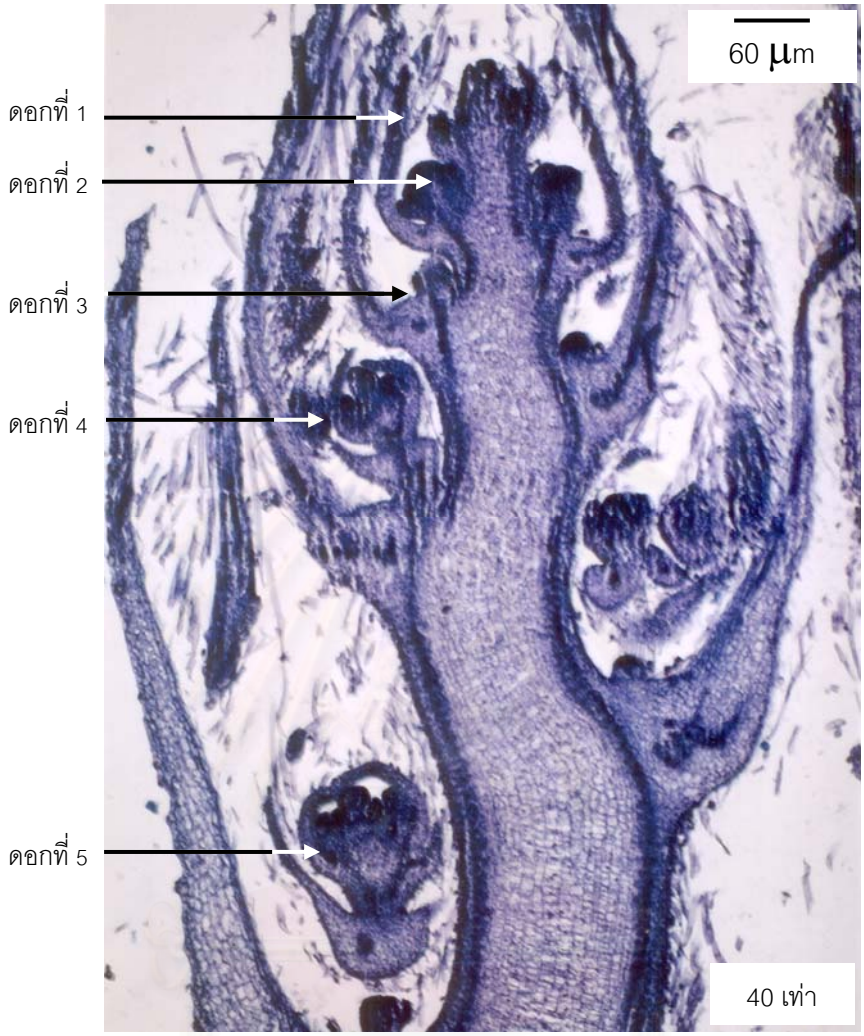
4.4 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการพัฒนาของดอก

จากการทดลอง เมื่อให้ต้นถั่วเหลืองได้รับภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ระยะ V_4 เมื่อนำมาศึกษาโดยการตัดเป็นชิ้นบางตามยาวแล้วพบว่าในระยะดังกล่าวกลุ่มของเนื้อเยื่อเจริญทั้งหมดได้มีการพัฒนาไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกแล้ว (รูปที่ 11) เช่นเดียวกับการศึกษาในชุดควบคุม และในการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกของถั่วเหลืองนั้น เนื้อเยื่อเจริญส่วนด้านล่างของช่อดอกจะเริ่มมีการพัฒนาก่อน สังเกตได้จากระยะของการพัฒนาและขนาดของกลุ่มเนื้อเยื่อเจริญที่มีความแตกต่างกัน คือเนื้อเยื่อเจริญส่วนด้านล่างจะมีขนาดที่ใหญ่กว่าเนื้อเยื่อเจริญส่วนด้านบน และเริ่มระบุโครงสร้างบางส่วนของดอกได้ชัดเจนแล้ว (รูปที่ 12)

สำหรับในระยะ R_1 พบว่าถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งมีความสามารถที่จะพัฒนาเนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกไปเป็นดอกที่มีโครงสร้างสมบูรณ์ได้ สังเกตได้จากมีการสร้างดอกที่มีส่วนประกอบชั้นต่างๆ ครบถ้วน ได้แก่ กลีบเลี้ยง กลีบดอก เกสรเพศผู้และเกสรเพศเมีย (รูปที่ 13) เช่นเดียวกับดอกของถั่วเหลืองในชุดควบคุม (รูปที่ 14) แต่ดอกที่ได้จะมีขนาดที่ใหญ่กว่าดอกของชุดควบคุมเล็กน้อย เป็นผลมาจากระยะการเจริญที่มากกว่านั่นเอง

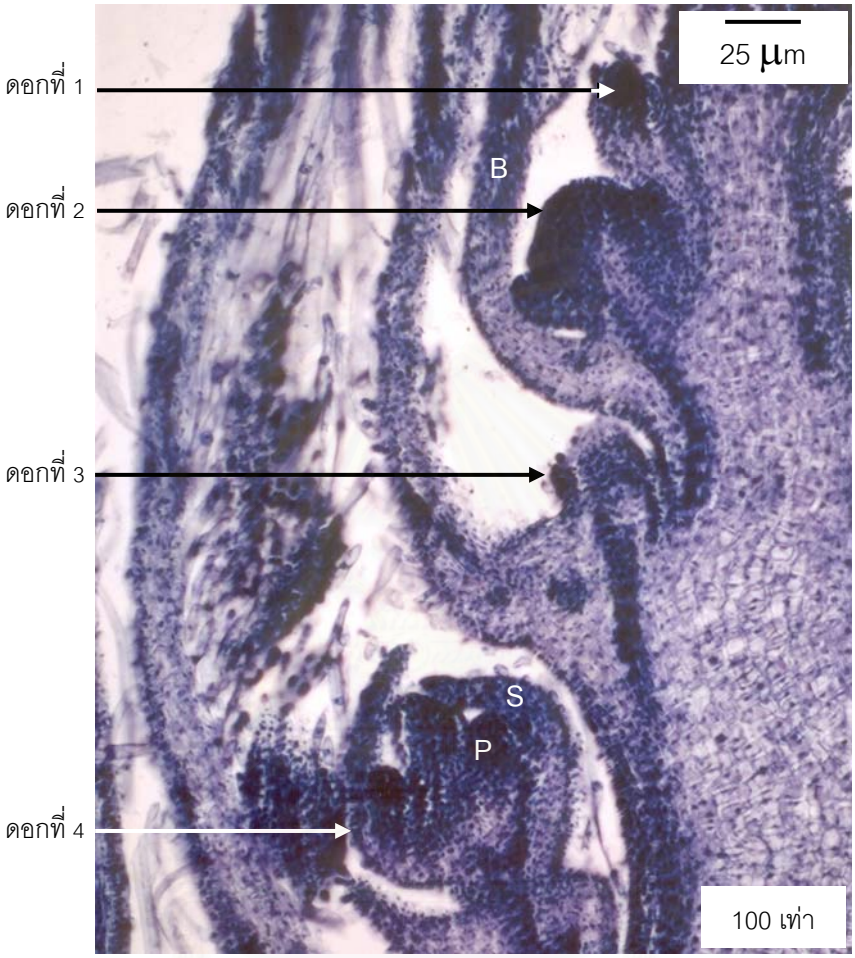
ดอกของถั่วเหลืองในระยะ R_1 นี้ ภายในอับเรณูมีการสร้างเรณูที่พัฒนาเต็มที่แล้ว (รูปที่ 15) แต่จากชิ้นตัวอย่างยังไม่สามารถระบุจำนวนของเรณูทั้งหมดได้ว่าชุดที่ได้รับภาวะแล้งและชุดควบคุมมีจำนวนเรณูที่แตกต่างกันอย่างไร พบออวุลภายอยู่ภายในรังไข่ของเกสรเพศเมียที่มีการพัฒนาแล้วเช่นกัน (รูปที่ 16) โดยจำนวนออวุลที่พบทั้งในชุดที่ได้รับภาวะแล้งและชุดควบคุมไม่มีความแตกต่างกัน จะพบดอกที่มีจำนวนออวุลที่แตกต่างกันตั้งแต่ 1 ออวุล 2 ออวุล และมากที่สุดสร้างได้เพียง 3 ออวุลเท่านั้น

ถั่วเหลืองในระยะ R_1 ของชุดที่ได้รับภาวะแล้งนี้ พบเนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกบางกลุ่มน่าจะมีการพัฒนาที่ผิดปกติ สังเกตได้จากดอกที่อยู่ส่วนบนของช่อมีระยะการพัฒนาใกล้เคียงกับดอกที่อยู่ส่วนล่างจากขนาดที่ค่อนข้างเท่ากัน (รูปที่ 17) ทั้งที่ความเป็นจริงแล้วควรจะมีระยะการเจริญมากกว่าและมีขนาดที่ใหญ่กว่า เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองในชุดควบคุมจะพบระยะการพัฒนาที่แตกต่างกันจากที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น



รูปที่ 11 **ปลายยอดในระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม แสดงดอกที่มีการเจริญระยะที่แตกต่างกันของเนื้อเยื่อเจริญ**

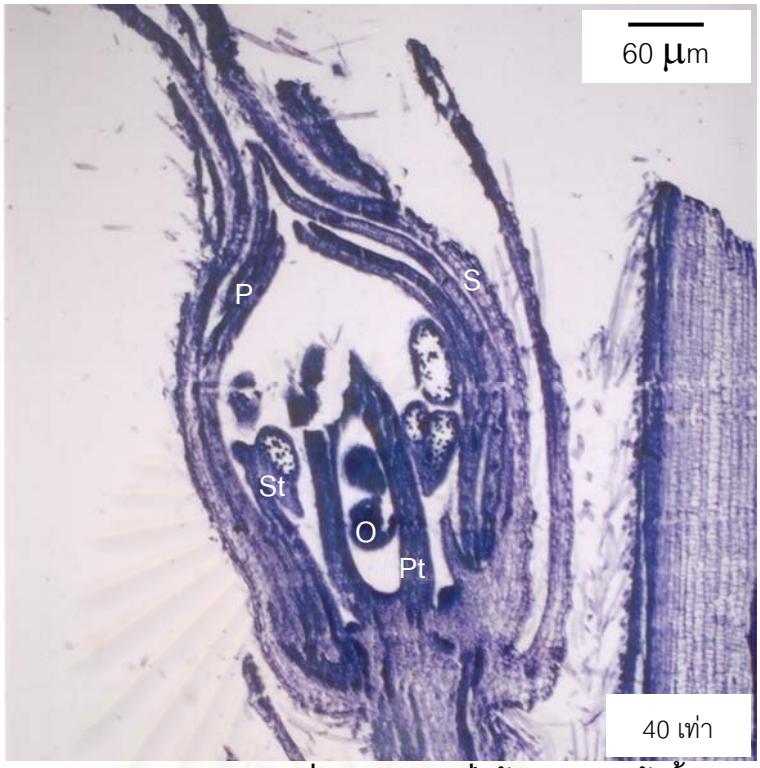
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



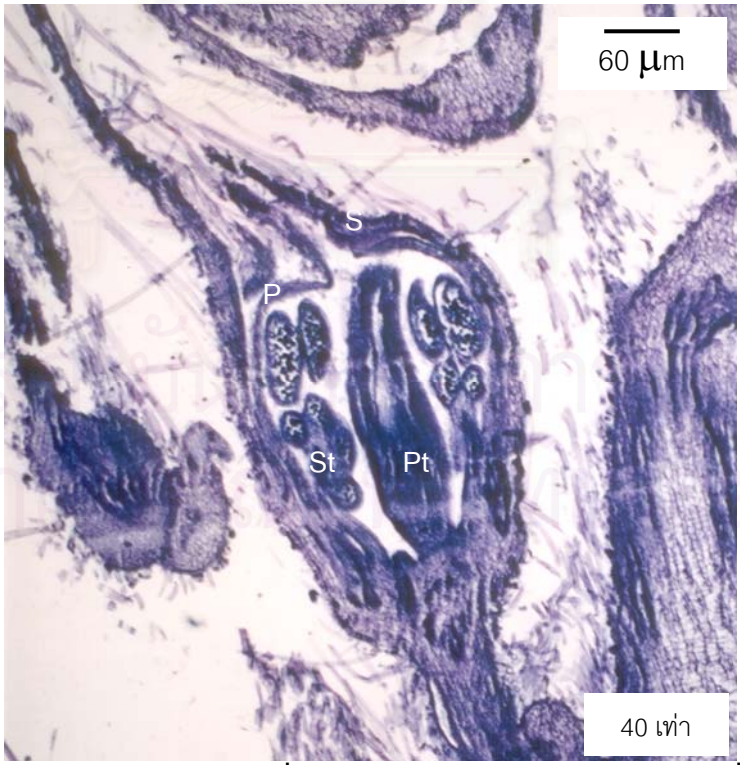
รูปที่ 12 **ปลายยอดในระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม (ขยายจากรูปที่ 11) แสดงดอกที่มีการเจริญระยะต่างๆ บริเวณซอกใบประดับ ดอกที่ 4 มีระยะการเจริญมากกว่าดอกที่ 3, 2 และ 1 ตามลำดับ**

(B=ใบประดับ, S=กลีบเลี้ยง, P=กลีบดอก)

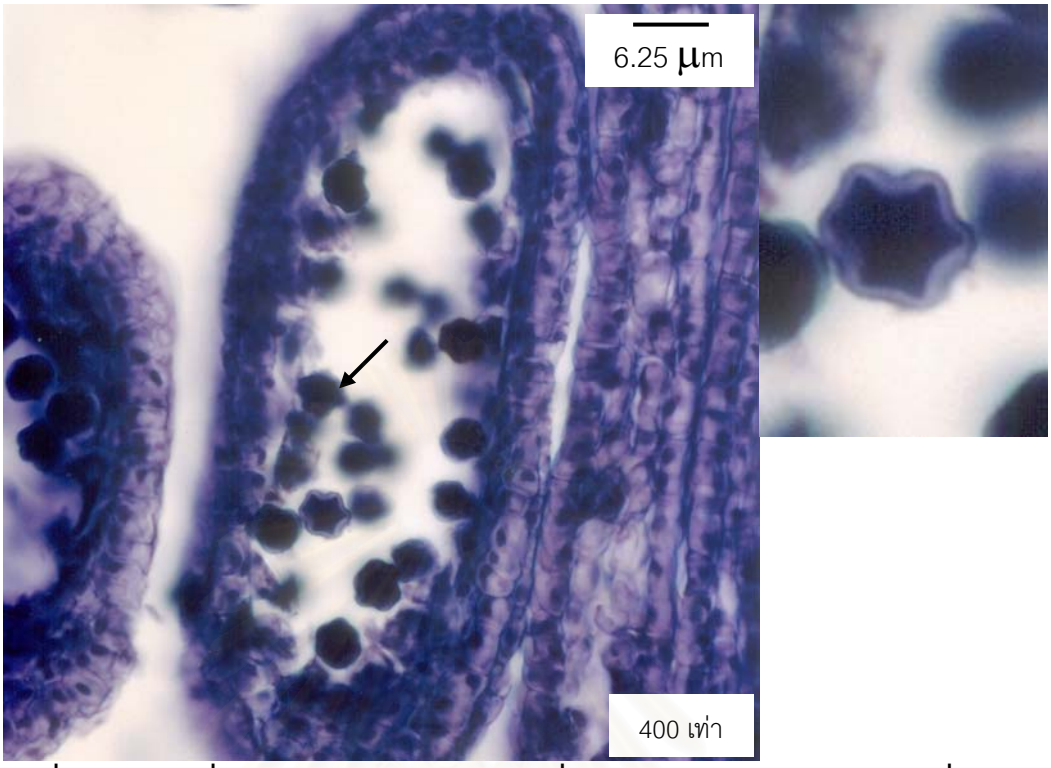
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



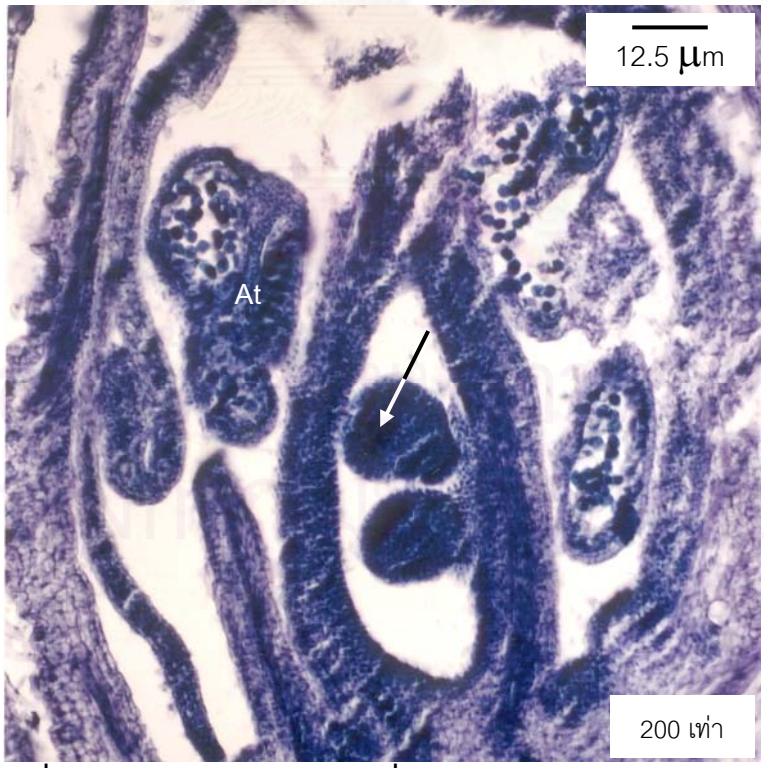
รูปที่ 13 ปลายยอดในระยะ R_1 ของถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 ที่มีส่วนประกอบชั้นต่างๆ ครบถ้วน
(S=กลีบเลี้ยง, P=กลีบดอก, St=เกสรเพศผู้, Pt=เกสรเพศเมีย, O=ออวุล)



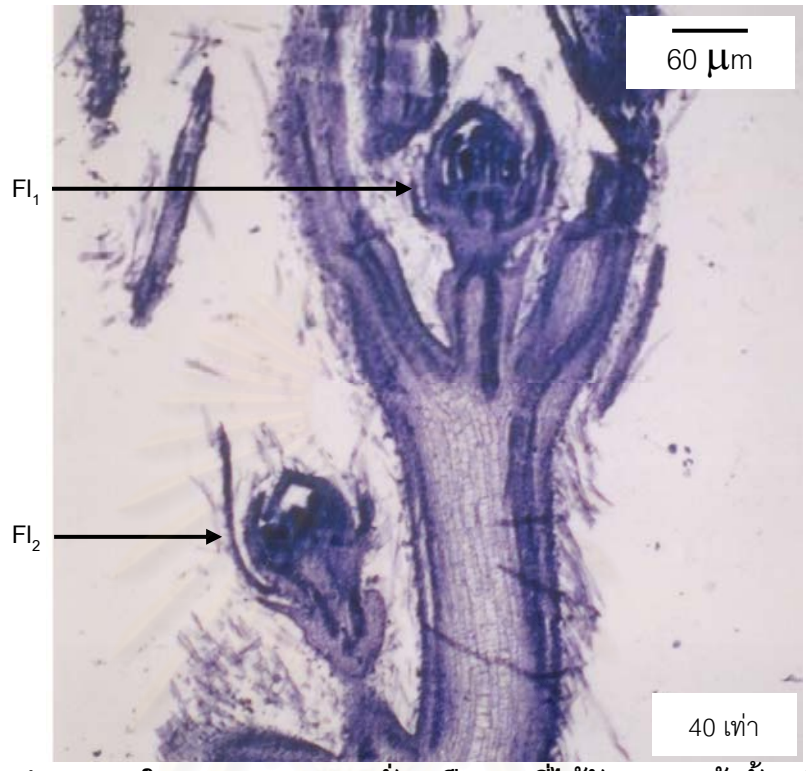
รูปที่ 14 ปลายยอดในระยะ R_1 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม แสดงดอกอ่อนที่มีส่วนประกอบชั้นต่างๆ ครบถ้วน (S=กลีบเลี้ยง, P=กลีบดอก, St=เกสรเพศผู้, Pt=เกสรเพศเมีย)



รูปที่ 15 ดอกที่ปลายยอดในระยะ R_1 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม แสดงเรณูที่อยู่ภายในอับเรณู (ศรชี้)



รูปที่ 16 ดอกที่ปลายยอดในระยะ R_1 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม แสดงออวุลที่อยู่ภายในรังไข่ของเกสรเพศเมีย (ศรชี้) (At=อับเรณู)



รูปที่ 17 **ปลายยอดในระยะ R_1 ของถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 แสดงดอกอ่อนส่วนด้านล่างของช่อดอกที่หยุดการพัฒนา (Fl_2) เมื่อเทียบกับดอกอ่อนส่วนด้านบน (Fl_1)** (Fl=ดอกอ่อน)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.5 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อความสามารถในการสืบพันธุ์ของดอก

4.5.1 Pollen viability โดยศึกษาหาเปอร์เซ็นต์การงอกของเรณู

4.5.1.1 *In vitro* germination test

การงอกของเรณู (รูปที่ 18) เมื่อต้นถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ R_2 (รูปที่ 19 และตารางที่ 9) และ R_3 (รูปที่ 20 และตารางที่ 9) หลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 พบว่าเรณูของถั่วเหลืองมีเปอร์เซ็นต์การงอกของหลอดเรณูในอาหารสูตร Brewbaker and Kwack's medium (Brewbaker and Kwack, 1963 อ้างอิงใน Shivanna and Rangaswamy, 1992) ได้น้อยลง เมื่อเปรียบเทียบกับการงอกของหลอดเรณูในถั่วเหลืองชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

4.5.1.2 *In vivo* germination and pollen tube growth

เมื่อต้นถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ R_2 และ R_3 หลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 พบว่าจำนวนเรณูที่สามารถงอกหลอดเรณูบนยอดเกสรเพศเมียและแทรกผ่านเนื้อเยื่อของก้านยอดเกสรเพศเมียได้ มีจำนวนน้อยกว่าในชุดควบคุม (รูปที่ 21)

4.5.2 Stigma receptivity

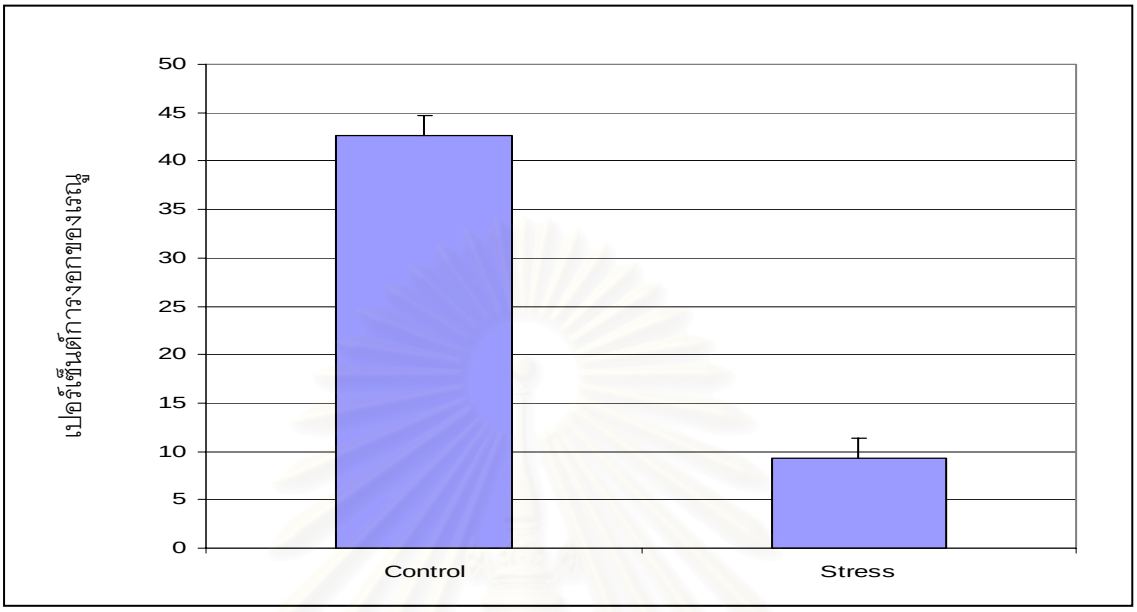
เมื่อต้นถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ R_2 และ R_3 พบว่ายอดเกสรเพศเมียของดอกถั่วเหลืองทุกดอกของทั้งชุดควบคุมและชุดที่ให้ภาวะแล้งหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 สามารถตรวจพบเอนไซม์เอสเตอเรสได้เช่นเดียวกันทุกดอก (รูปที่ 22)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

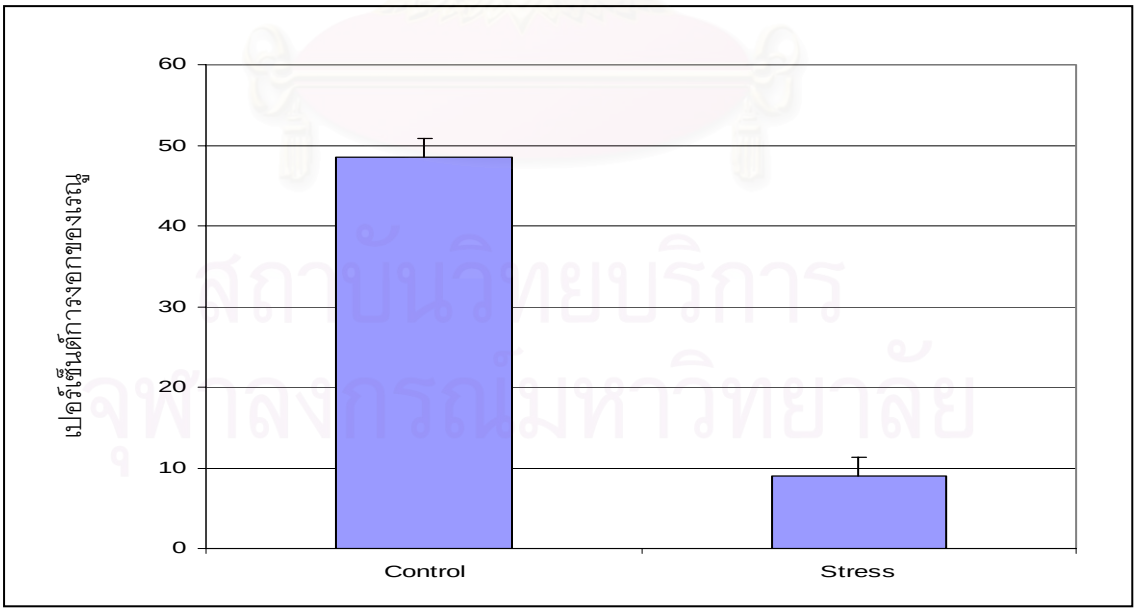
รูปที่ 18 **การงอกหลอดเรณูของถั่วเหลืองในอาหารสูตร** (Brewbaker and Kwack, 1963 **อ้างอิงใน** Shivanna and Rangaswamy, 1992) (800 **เท่า**)

ก. เรณูของถั่วเหลืองชุดควบคุม แสดงหลอดเรณูที่เจริญดี (ศรชี้)

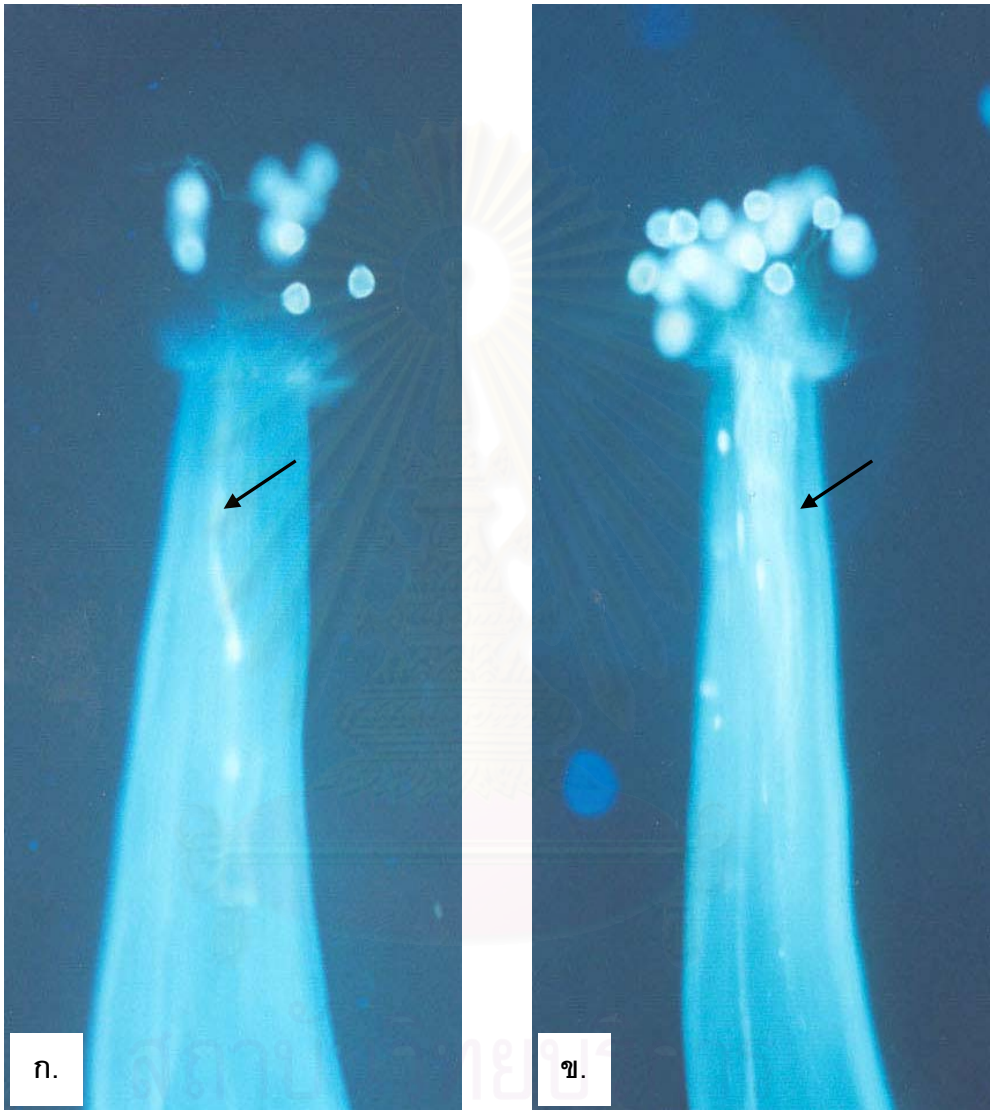
ข. เรณูของถั่วเหลืองที่ได้รับภาวะแล้ง แสดงหลอดเรณูที่เจริญไม่ดี (ศรชี้)



รูปที่ 19 **เปอร์เซ็นต์การงอกของเรณูถั่วเหลืองในระยะ** R_2 **หลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ** V_4



รูปที่ 20 **เปอร์เซ็นต์การงอกของเรณูถั่วเหลืองในระยะ** R_3 **หลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ** V_4



รูปที่ 21 การงอกหลอดเรณู บนยอดเกสรเพศเมียของถั่วเหลือง (200 เท่า)

ก. เรณูของถั่วเหลืองที่ได้รับภาวะแล้ง แสดงหลอดเรณู (ศรชี้)

ข. เรณูของถั่วเหลืองชุดควบคุม แสดงหลอดเรณู (ศรชี้)

รูปที่ 22 **ความสามารถในการสร้างเอนไซม์เอสเตอเรสของยอดเกสรเพศเมีย** (100 เท่า)

ก. ยอดเกสรเพศเมียของถั่วเหลืองที่ได้รับภาวะแล้ง

ข. ยอดเกสรเพศเมียของถั่วเหลืองชุดควบคุม

ค. ยอดเกสรเพศเมียของถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านการตรวจสอบเอ็นไซม์เอสเตอเรส

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 การงอกของเรณูในระยะ R_2 และ R_3 ของถั่วเหลืองหลังจากได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร Brewbaker and Kwack's medium (Brewbaker and Kwack, 1963 **อ้างอิงใน** Shivanna and Rangaswamy, 1992) (mean±standard error)

ระยะการเติบโต	จำนวนเรณูที่งอกในอาหาร	
	Control	Stress
R_2	42.70 ± 1.91^a	9.33 ± 0.57^b
R_3	48.50 ± 2.30^a	8.92 ± 0.38^b

* ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กที่เหมือนกันตามแนวนอน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.6 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญ

การพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญของถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 ชุดควบคุม

เริ่มเก็บตัวอย่างถั่วเหลืองตั้งระยะ V_2 เนื่องจากระยะดังกล่าวเป็นระยะที่ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเจริญจากเนื้อเยื่อเจริญสร้างใบ ไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญสร้างดอก สังเกตจากเนื้อเยื่อเจริญมีระยะการพัฒนาที่ต่างกันของใบอ่อนแต่ละใบบนปลายยอด และจากตำแหน่งที่ไม่ตรงกันของใบอ่อนแต่ละใบเช่นกัน (รูปที่ 23) เนื่องจากถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีการเรียงตัวของใบแบบสลับ

เมื่อถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ V_3 แล้ว พบว่าเนื้อเยื่อเจริญบางกลุ่มโดยเฉพาะส่วนที่ตำแหน่งข้อทางด้านล่างของปลายยอดนั้น เริ่มเปลี่ยนแปลงไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอก เนื่องจากเริ่มเห็นโครงสร้างชั้นต่างๆ ของดอก ได้แก่ กลีบเลี้ยง และกลีบดอกที่จะสร้างต่างจากการสร้างใบอ่อน คือจะพบการพัฒนาของแต่ละโครงสร้างดังกล่าวในระยะเดียวกัน มีขนาดเท่ากันและอยู่ในตำแหน่งเดียวกันบนปลายยอด โดยกลีบเลี้ยงจะอยู่ในตำแหน่งด้านนอกที่ต่ำกว่ากลีบดอกบนฐานรองดอก (รูปที่ 24) แต่ระยะนี้ยังไม่สามารถระบุส่วนโครงสร้างของเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียได้

ในระยะ V_4 เนื้อเยื่อเจริญทั้งหมดมีการพัฒนาไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกหมดแล้ว โดยจะพบโครงสร้างของดอกที่มีลักษณะครบสมบูรณ์มากขึ้น (รูปที่ 11) เมื่อเปรียบเทียบกับปลายยอดในระยะ V_3 และภายในโครงสร้างที่ต่อไปจะกลายเป็นช่อดอกนี้ยังสามารถพบระยะการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญไปเป็นดอกในระยะที่แตกต่างกันได้ โดยส่วนเนื้อเยื่อเจริญส่วนด้านล่างของช่อดอกมีการพัฒนาไปได้มากกว่า ทำให้มีขนาดที่ใหญ่กว่าเนื้อเยื่อเจริญส่วนด้านบน ในระยะนี้สามารถระบุได้แล้วว่าส่วนใดของเนื้อเยื่อเจริญจะพัฒนาเพื่อสร้างเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมีย (รูปที่ 25) โดยสามารถระบุได้ชัดเจนว่าส่วนใดเป็นเกสรเพศผู้ สังเกตจากเริ่มเห็นกลุ่มของเซลล์ที่จะเจริญเป็นอับเรณูแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนมากขึ้นจนมีลักษณะเป็นก้อนกลมหรือรี แต่กลุ่มเซลล์เจริญตรงกลางที่จะพัฒนาไปเป็นเกสรเพศเมียยังเห็นเป็นโครงสร้างที่ไม่ชัดเจนเท่าไรนัก คือลักษณะของเนื้อเยื่อเจริญยังคงคล้ายกับเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดอยู่เพียงแต่มีขนาดที่ยืดยาวขึ้นมาเล็กน้อยเท่านั้น

จากการศึกษาดอกแต่ละระยะบนปลายยอดเดียวกัน พบว่าพัฒนาการของอวัยวะส่วนต่างๆ ภายในดอกนั้น จะเริ่มมีการพัฒนาจากกลุ่มของเซลล์เจริญทางด้านนอกหรือด้านไกลแกนก่อนเสมอ จากรูปที่ 12 สังเกตได้จากส่วนที่จะพัฒนาไปเป็นเกสรเพศผู้นั้นมีขนาดไม่เท่ากันโดยกลุ่มของเซลล์เจริญทางด้านนอกหรือด้านไกลแกนมีขนาดที่ใหญ่กว่า จึงน่าจะมีการพัฒนาที่มากกว่ากลุ่มของเซลล์เจริญทางด้านในหรือด้านใกล้แกน

การพัฒนาของดอกในระยะต่างๆ ในช่อดอกเดียวกันนี้ ยังพบว่าบางดอกเห็นกลุ่มเซลล์เจริญตรงกลางที่จะพัฒนาไปเป็นเกสรเพศเมียนั้นมีการยืดตัวเพิ่มมากขึ้น เกิดเป็นโครงสร้างที่เหมือนกับเกสรเพศเมียชัดเจนขึ้น (รูปที่ 26)

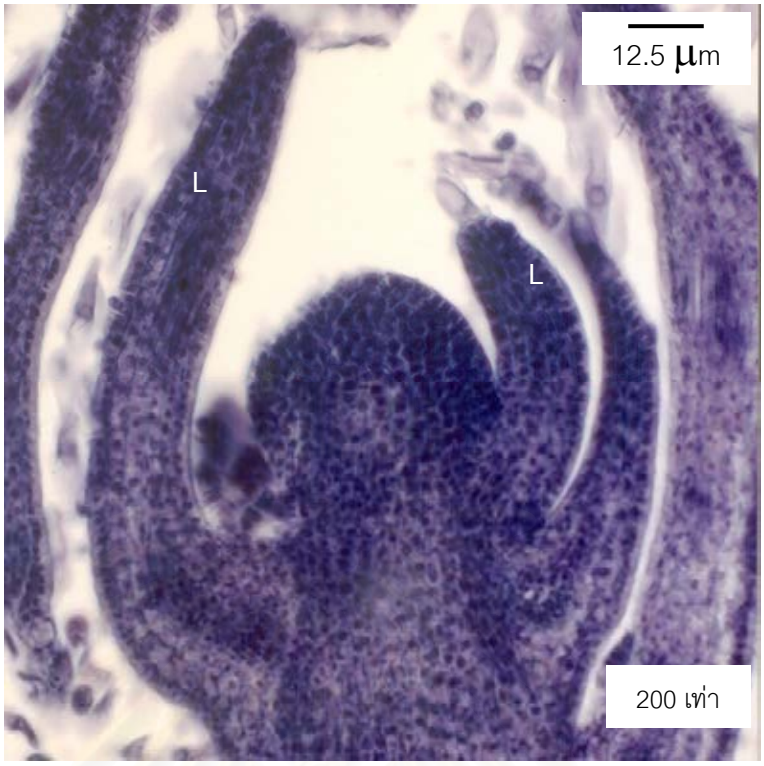
บางช่อดอกในระยะ V_4 นี้ พบการพัฒนาของเกสรเพศผู้ที่มีการสร้างอับเรณูที่มีขนาดใหญ่ขึ้นสามารถสังเกตได้ชัดเจนขึ้น (รูปที่ 27) และในบางดอกที่มีการพัฒนาขึ้นมาก่อนในตำแหน่งด้านล่างของช่อดอกนั้นมีการเจริญและพัฒนาเป็นโครงสร้างที่ครบสมบูรณ์ สามารถระบุได้ว่าส่วนใดคืออับเรณู และส่วนใดคือเกสรเพศเมียได้อย่างชัดเจน (รูปที่ 28) โดยภายในอับเรณู จะเห็นกลุ่มเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์อัดแน่นอยู่ภายใน (รูปที่ 29)

การพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญของถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 ชุดที่ได้รับภาวะแล้ง

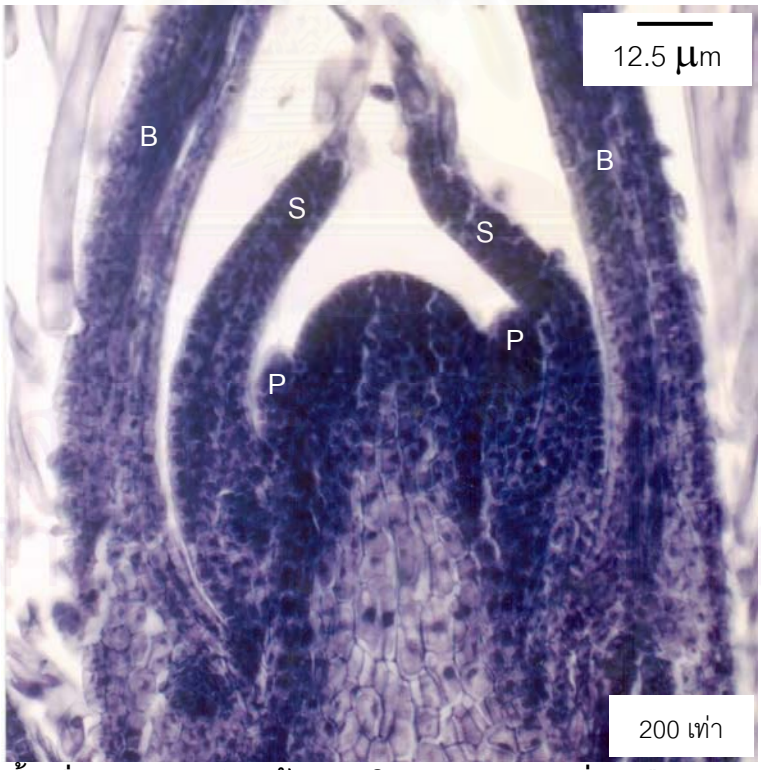
เมื่อถั่วเหลืองได้รับภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ระยะ V_2 พบว่าในระยะ V_3 เนื้อเยื่อเจริญมีระยะการพัฒนาไปเป็นดอกได้เร็วกว่าชุดควบคุม สังเกตจากดอกที่ตำแหน่งส่วนล่างของช่อดอกมีขนาดที่ใหญ่กว่าชุดควบคุม และสามารถระบุส่วนของเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียได้แล้ว (รูปที่ 30) แต่ส่วนของเนื้อเยื่อเจริญของดอกอื่นๆ ในปลายยอดเดียวกันกลับมีระยะการพัฒนาที่ใกล้เคียงและพบว่าในส่วนปลายยอดมีขนาดปล้องที่สั้น (รูปที่ 31) ซึ่งแตกต่างจากปลายยอดระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม (รูปที่ 11) ที่พบว่าเนื้อเยื่อเจริญมีระยะการพัฒนาที่ไม่เท่ากันและมีขนาดปล้องที่ยืดยาวมากกว่า

หากถั่วเหลืองยังคงได้รับภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ระยะ V_2 นี้ต่อไป จะทำให้ปลายยอดเริ่มเหี่ยวในระยะ V_5 โดยสามารถสังเกตได้จากตาเปล่า จากนั้นใบอ่อนและใบแก่ก็จะแสดงอาการเหี่ยวตามมา และไม่มีการกลับฟื้นตัวขึ้นมาอีกจนกระทั่งต้นถั่วเหลืองแห้งตายในที่สุด

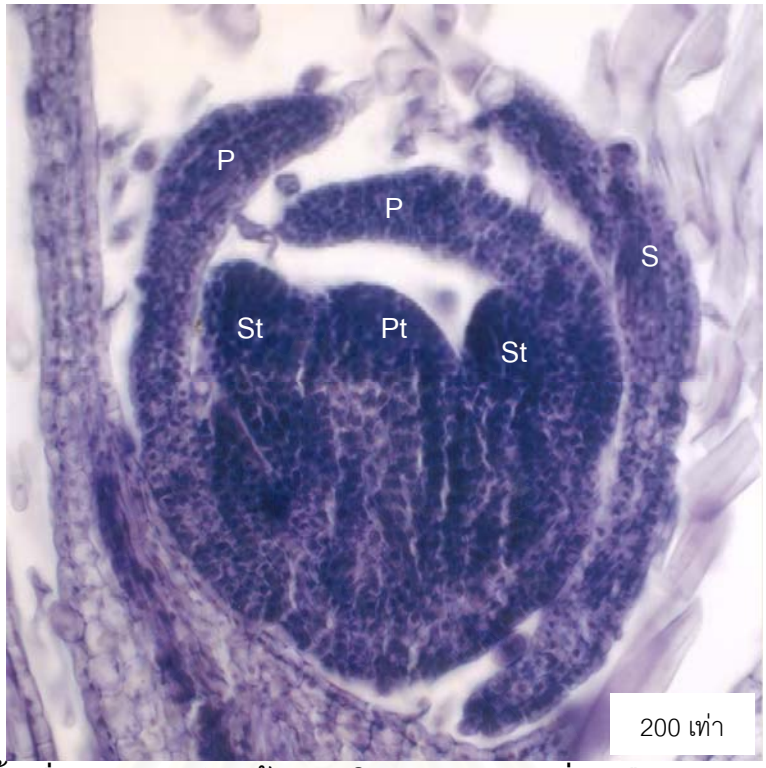
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



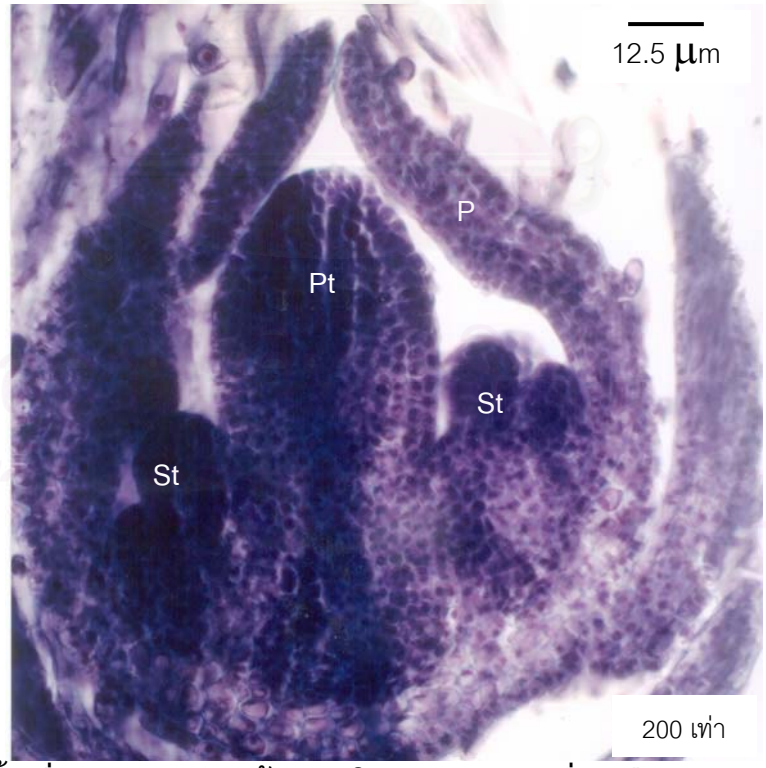
รูปที่ 23 **เนื้อเยื่อเจริญปลายยอดของถั่วเหลืองระยะ V_2 ชุดควบคุม แสดงใบอ่อนที่มีการเจริญระยะต่าง ๆ** (L=ใบอ่อน)



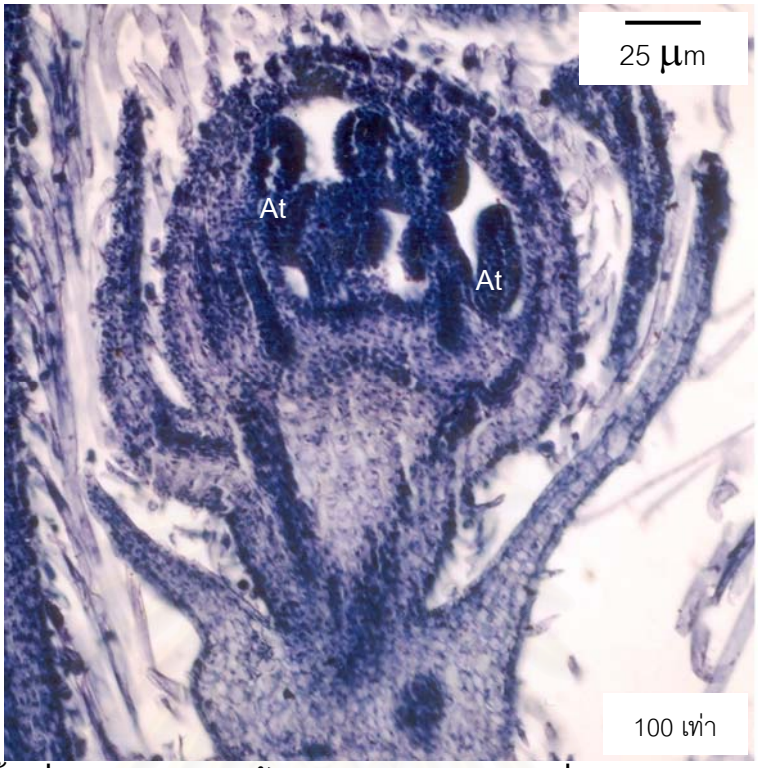
รูปที่ 24 **เนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกในระยะ V_3 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม แสดงส่วนประกอบของดอกชั้นต่าง ๆ ที่มีการเจริญในระยะเดียวกัน**
(B=ใบประดับ, S=กลีบเลี้ยง, P=กลีบดอก)



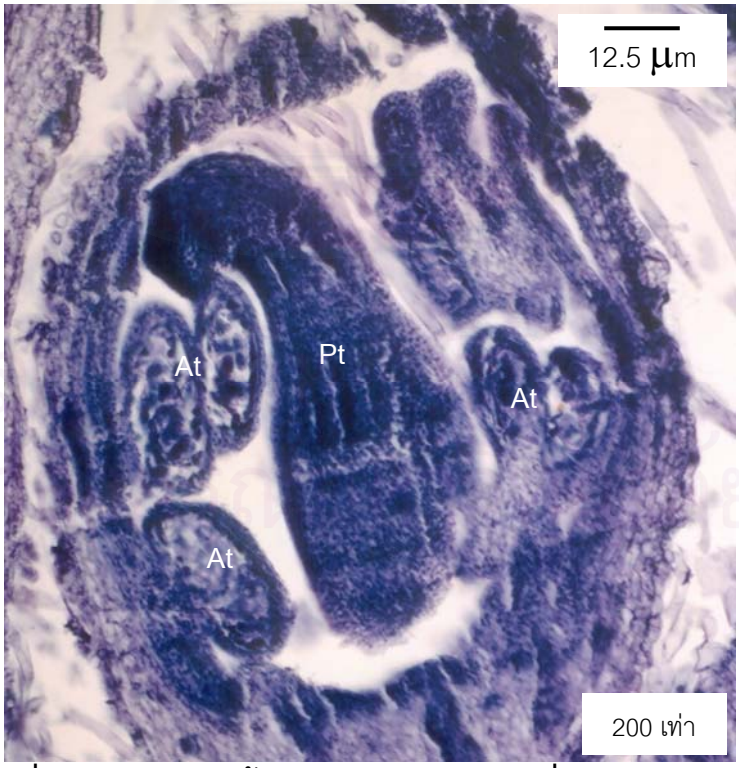
รูปที่ 25 **เนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกในระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม แสดงส่วนประกอบชั้นต่างๆ ของดอก**
(S=กลีบเลี้ยง, P=กลีบดอก, St=เกสรเพศผู้, Pt=เกสรเพศเมีย)



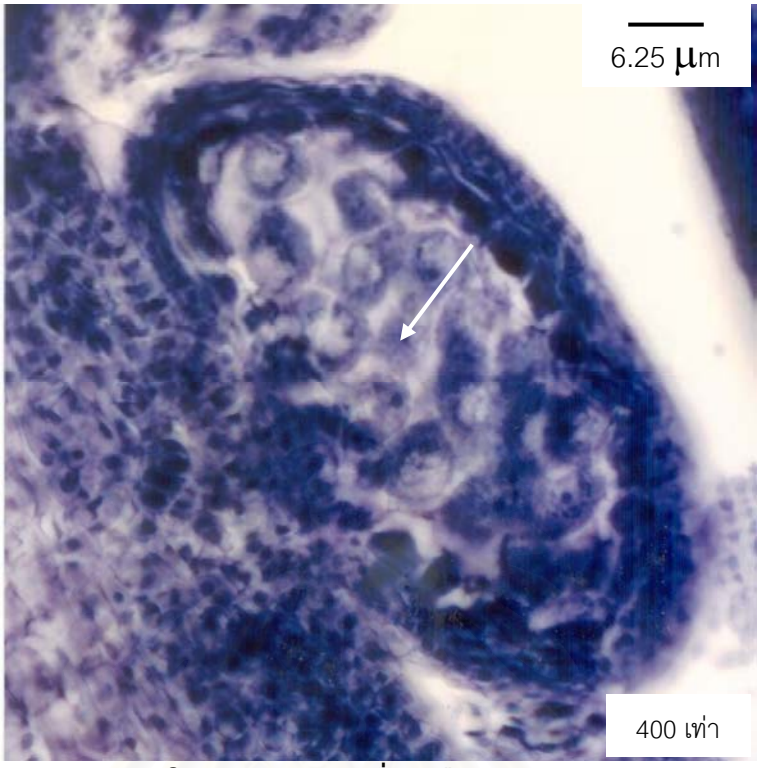
รูปที่ 26 **เนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกในระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม แสดงส่วนเกสรเพศเมียที่ยืดตัวมากขึ้น** (P=กลีบดอก, St=เกสรเพศผู้, Pt=เกสรเพศเมีย)



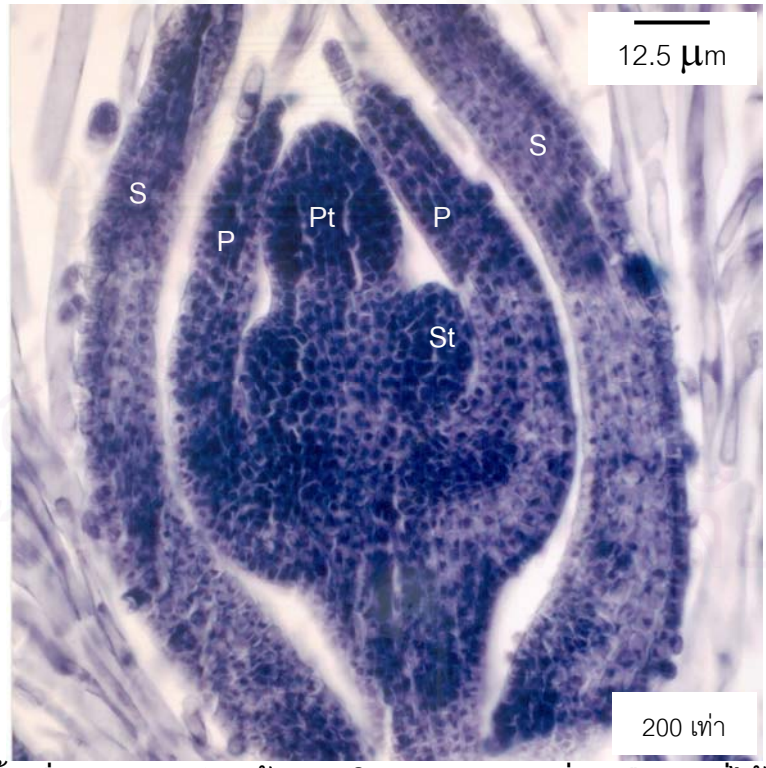
รูปที่ 27 **เนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกในระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม แสดงระยะสร้างอับเรณู** (At=อับเรณู)



รูปที่ 28 **เนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกในระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม แสดงส่วนประกอบของดอกที่สมบูรณ์** (At=อับเรณู, Pt=เกสรเพศเมีย)



รูปที่ 29 **อับเรณูจากดอกในระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดควบคุม (ขยายจากรูปที่ 28) แสดงกลุ่มเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ภายในอับเรณู (ศรชี้)**



รูปที่ 30 **เนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกในระยะ V_3 ของถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_2 แสดงส่วนประกอบชั้นต่าง ๆ ของดอก (ศรชี้)**

(S=กลีบเลี้ยง, P=กลีบดอก, St=เกสรเพศผู้, Pt=เกสรเพศเมีย)

รูปที่ 31 **ปลายยอดระยะ V_4 ของถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_2 แสดงระยะการพัฒนาที่ใกล้เคียงกันของเนื้อเยื่อเจริญ ในตำแหน่งต่าง ๆ บนช่อดอก**

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

5.1 ศึกษาหาปริมาณน้ำสำหรับให้กับต้นถั่วเหลืองเพื่อทำให้เกิดภาวะแล้ง

การให้น้ำกับต้นถั่วเหลืองนั้น ในชุดควบคุมจะทำการรดน้ำวันละ 2 ครั้ง ครั้งแรกในตอนเช้าเวลา 8:00 นาฬิกา และครั้งที่สองตอนเย็นเวลา 18:00 นาฬิกา โดยการรดน้ำแต่ละครั้งจะให้จนกระทั่งเห็นมีน้ำไหลออกมาจากกระถางที่ปลูกทางด้านล่าง เพื่อให้มั่นใจว่าน้ำที่รดไปเต็มค่า field capacity ของดินแล้ว

สำหรับการให้น้ำกับต้นถั่วเหลืองในชุดที่ให้ภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ จะทำการวัดความชื้นในดินก่อนโดยใช้เครื่องวัดค่าความชื้นในดิน วัดวันละ 3 ครั้ง เวลา 8:00, 12:00 และ 18:00 นาฬิกา เนื่องจากค่าความชื้น 30 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณน้ำในดินน้อยมาก น้ำจึงถูกใช้ไปอย่างรวดเร็วทำให้ต้องทำการตรวจวัดความชื้นหลายครั้งต่อวัน หากอ่านค่าความชื้นในดินจากเครื่องวัดค่าความชื้นในดินได้ตำแหน่งเลข 3 จะต้องรดน้ำลงไปในดินประมาณ 200 มิลลิลิตร หากอ่านค่าที่ได้ตำแหน่งเลข 3.5 จะต้องรดน้ำลงไปในดินประมาณ 150 มิลลิลิตร เพื่อให้อ่านค่าจากเครื่องวัดค่าความชื้นในดินได้ตำแหน่งเลข 4

การควบคุมปริมาณน้ำจะต้องทำการตรวจสอบค่าความชื้นทุกๆ วัน โดยในแต่ละวันค่าความชื้นที่วัดได้จะมีความแตกต่างกันออกไป ขึ้นกับสภาพภูมิอากาศว่าส่งผลให้ถั่วเหลืองมีอัตราการคายน้ำมากน้อยเพียงไร และน้ำในดินมีอัตราการระเหยได้มากน้อยเพียงไรเช่นกัน

ระดับภาวะแล้งที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ที่เลือกใช้สำหรับการทดลองในครั้งนี้ คำนวณจากจุดที่ถั่วเหลืองตาย จึงเป็นระดับภาวะแล้งที่ต่ำกว่าการทดลองของ Desclaux, Huynh and Roumet (2000) ที่ให้ระดับภาวะแล้ง 30% Plant-Available Water ซึ่งคำนวณจากจุดที่ถั่วเหลืองเกิดอาการเหี่ยวถาวร (permanent wilting point) จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าเมื่อให้ภาวะแล้งระดับดังกล่าวกับถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 ในเติบโตในระยะ V_4 ต้นถั่วเหลืองยังสามารถเจริญเติบโตจนครบวงชีพ สามารถสร้างดอก ติดฝักและสร้างเมล็ดได้ ซึ่งสอดคล้อง

กับผลการทดลองของ อัญชลี ร่มพา (2543) ที่รายงานไว้ว่าถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 ทนต่อภาวะแล้งได้ดี และจากผลการทดลองของ พรศักดิ์ ภักดีวราภรณ์ (2543) ที่รายงานไว้ว่าถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 ทนต่อภาวะเค็มได้เช่นกัน แสดงให้เห็นว่าถั่วเหลืองสายพันธุ์นี้สามารถทนต่อภาวะเครียดได้ดีกว่าสายพันธุ์อื่น จึงเลือกภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับที่พืชจะเกิดภาวะเครียดมากที่สุด และระยะการเติบโตที่ระยะ V_4 สำหรับการทดลองเพื่อให้เห็นผลของภาวะแล้งที่ส่งผลกระทบกับถั่วเหลืองมากที่สุด

5.2 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการเติบโตของต้นถั่วเหลือง

ในการทดลองวัดความสูง จำนวนข้อต่อต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต้นของถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 เมื่อได้รับภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ระยะ V_4 พบว่าการได้รับภาวะแล้งส่งผลให้ถั่วเหลืองมีความสูงต้น จำนวนข้อต่อต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต้นมีแนวโน้มลดลงต่ำกว่าชุดควบคุม เนื่องจากภาวะแล้งทำให้พืชดึงน้ำมาใช้ได้น้อย น้ำในเซลล์จึงมีปริมาณน้อยลง ส่งผลให้เซลล์ยืดตัวได้น้อยลงตามไปด้วย (Taiz and Zeiger, 1998) ถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งจึงมีจำนวนข้อที่น้อยกว่าและมีขนาดปล้องที่สั้นกว่าถั่วเหลืองชุดควบคุม อีกทั้งภาวะแล้งยังส่งผลให้มีการปิดปากใบเพื่อลดการสูญเสียน้ำจากการคายน้ำ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จึงเข้าไปในใบได้น้อยลง ทำให้ถั่วเหลืองเกิดกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงได้น้อยลงซึ่งส่งผลให้การเติบโตลดลงด้วย สังเกตได้จากแต่ละปล้องของต้นถั่วเหลืองส่วนยอดในชุดที่ได้รับภาวะแล้ง (รูปที่ 31) จะมีความยาวที่น้อยกว่ากว่าปล้องของต้นถั่วเหลืองในชุดควบคุมอย่างชัดเจน (รูปที่ 11) เมื่อพิจารณาทั้งต้นจึงเห็นถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งมีลำต้นที่เตี้ยกว่าชุดควบคุม (รูปที่ ข-1)

จากรายงานการทดลองของ Liu, Jensen and Andersen (2004) ที่กล่าวไว้ว่าหากถั่วเหลืองได้รับภาวะแล้ง จะทำให้มีการสะสมสารพวกคาร์โบไฮเดรตในใบได้น้อยลง อันเป็นผลมาจากถั่วเหลืองมีการสังเคราะห์ด้วยแสงได้น้อยลง ซึ่งอาจเป็นผลมาจากทั้งการมีพื้นที่ใบที่ลดลง (Taiz and Zeiger, 1998) ทำให้ได้รับแสงได้น้อยและการมีปริมาณน้ำที่จะใช้ในกระบวนการต่างๆ ได้น้อยลงเช่นกัน

ณภัศศรณ์ ปัญญาสุข (2547) ได้ทำการทดลองให้ภาวะแล้งจากสารละลายธาตุอาหารที่มีโพลีเอธิลีนไกลคอล 6000 ความเข้มข้น 0 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 0 วัน 3 วัน และ 6 วัน ทำให้ต้นถั่วเหลืองมีการเติบโตของต้นที่อายุประมาณ 18 วันมีพื้นที่ใบ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นและราก ความสูงต้น ลดลง เช่นเดียวกัน เช่นเดียวกับ อัญชลี ร่มพา (2543) ที่ทำการทดลองให้ภาวะแล้งที่ 0, 2.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 0 วัน 3 วัน และ 6 วัน ก็ให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกันคือถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งจะมีการเติบโตที่น้อยกว่าถั่วเหลืองชุดควบคุม

5.3 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อความสามารถในการสร้างดอก

การที่พืชได้รับภาวะแล้งจะทำให้ระยะการเจริญเติบโตจนครบวงชีพสั้นลง เนื่องจากภาวะแล้งจะทำให้พืชเข้าสู่ภาวะเสื่อมถอยได้เร็วขึ้น (Desclaux and Roumet, 1996) ซึ่งทำให้ถั่วเหลืองใช้เวลาในการพัฒนาจนครบวงชีพน้อยลง และพบว่าต้นที่ได้รับภาวะแล้งมีการสร้างดอกเร็วกว่าต้นที่อยู่ในภาวะปกติ

การจะระบุว่าถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ R_1 ได้นั้น ก็ต่อเมื่อเริ่มเห็นดอกแรกบานที่ข้อใดข้อหนึ่งบนลำต้น (Fehr and Caviness, 1977) โดยจะไม่คำนึงถึงจำนวนข้อบนลำต้น และถั่วเหลืองเกือบทุกต้นมักจะมีดอกแรกที่บานเพียงดอกเดียว มีถั่วเหลืองเพียง 2 ต้น ในชุดควบคุมเท่านั้นที่มีดอกบานเมื่อเข้าสู่ระยะ R_1 จำนวน 2 ดอก ทำให้ทั้งในชุดควบคุมและชุดที่ให้ภาวะแล้งจำนวนดอกในระยะ R_1 จึงไม่มีความแตกต่างกัน

เมื่อต้นถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะ R_2 และ R_3 ในชุดที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 พบว่ามีดอกบานน้อยกว่าชุดควบคุม โดยจำนวนดอกที่บานของแต่ละข้อในชุดที่ได้รับภาวะแล้งจะพบการบานของดอกได้มากที่สุดเพียงข้อละ 2 ดอก ส่วนในชุดควบคุมพบว่าแต่ละข้อมีดอกบานตั้งแต่ 4 ดอกขึ้นไป การที่จำนวนดอกที่บานของถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งมีน้อยนั้น น่าจะมาจากเมื่อถั่วเหลืองได้รับภาวะแล้งแล้ว ส่งผลให้ทั้งปริมาณอาหารและปริมาณน้ำในลำต้นน้อยลงจึงไม่เพียงพอสำหรับที่จะสร้างดอกที่สมบูรณ์ได้จำนวนมากเท่ากับชุดควบคุม

จำนวนข้อที่น้อยลงของถั่วเหลืองในชุดที่ได้รับภาวะแล้ง เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลให้จำนวนดอกมีน้อยกว่าชุดควบคุม เนื่องจากถั่วเหลืองจะสร้างช่อดอกที่ซอกใบบริเวณข้อของลำต้น

สำหรับดอกที่บานแล้วจะบานได้เพียง 1 วัน ทั้งชุดที่ได้รับภาวะแล้งและชุดควบคุม ดังนั้นดอกที่บานในระยะ R_2 และ R_3 จึงไม่ใช่ดอกเดียวกัน ดอกที่บานในแต่ละระยะจึงเป็นดอกที่บานขึ้นมาใหม่ทั้งสิ้น

ขนาดดอกในชุดที่ให้ภาวะแล้งและชุดควบคุม มีขนาดใกล้เคียงกันทั้งหมด อาจเนื่องจากหากมีดอกใดของถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งมีการพัฒนาได้ ก็จะมีการพัฒนาจนเป็นดอกที่มีโครงสร้างครบสมบูรณ์

5.4 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการพัฒนาของดอก

หากให้ภาวะแล้งในระยะ V_4 ซึ่งเป็นระยะพบการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกแล้วนั้น จะเห็นว่าพบเนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกเพียงบางกลุ่มเท่านั้นที่จะมีความสามารถพัฒนาต่อไปจนเป็นดอกที่มีโครงสร้างครบสมบูรณ์ได้เช่นเดียวกับชุดควบคุม อาจเนื่องมาจากปริมาณอาหารจากการสังเคราะห์ด้วยแสงและปริมาณน้ำในลำต้นที่มีอยู่ไม่เพียงพอสำหรับการพัฒนาเนื้อเยื่อเจริญทั้งหมด ทำให้ถั่วเหลืองชุดที่ให้ภาวะแล้งเลือกพัฒนาเนื้อเยื่อเจริญเพียงบางกลุ่มเท่านั้น ทำให้จำนวนดอกที่บานมีน้อยกว่าในชุดควบคุม

จากรูปที่ 17 แสดงให้เห็นได้ชัดเจนว่า ดอกอ่อนบางดอกถูกยับยั้งจากผลของภาวะแล้ง ทำให้ไม่สามารถพัฒนาไปเป็นดอกที่สมบูรณ์ได้ เมื่อนับจำนวนดอกที่บานทั้งต้นถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งจึงมีจำนวนดอกที่น้อยกว่านั่นเอง

จากการทดลองของ Desclaux, Huynh and Roumet (2000) ที่กล่าวว่าเมื่อถั่วเหลืองได้รับภาวะแล้งที่ระดับ 30% PAW ตั้งแต่ระยะ V_4 นั้นสามารถเจริญเติบโตจนครบวงชีพ มีการสร้างดอก ติดฝักและสร้างเมล็ดได้นั้น เป็นผลมาจากถั่วเหลืองมีการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญ

สำหรับสร้างดอกขึ้นมาก่อนที่จะได้รับภาวะแล้งแล้วนั่นเอง ซึ่งหากถั่วเหลืองมีการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญหลังจากได้รับภาวะแล้ง อาจส่งผลให้เนื้อเยื่อเจริญของถั่วเหลืองไม่สามารถพัฒนาต่อจนเป็นดอกที่มีโครงสร้างสมบูรณ์เลยก็ได้

5.5 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อความสามารถในการสืบพันธุ์ของดอก

การศึกษาผลของภาวะแล้งต่อความสามารถในการสืบพันธุ์ของดอกนั้น เลือกศึกษาในระยะ R_2 และ R_3 เนื่องจากในระยะ R_1 มีดอกบานเพียงแค่ดอกเดียว จึงไม่เพียงพอที่จะนำมาทำการศึกษาและเปรียบเทียบค่าที่ได้ในทางสถิติ

5.5.1 Pollen viability โดยศึกษาหาเปอร์เซ็นต์การงอกของเรณู

การจะระบุว่าเรณูของถั่วเหลืองสามารถงอกได้ในอาหารหรือไม่นั้น จะพิจารณาจากหลอดเรณูที่งอกออกมา ต้องมีความยาวมากกว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของเรณูเอง (รูปที่ 18) เพื่อให้แน่ใจว่าเรณูสามารถงอกหลอดเรณูได้และหลอดเรณูที่งอกมีความสมบูรณ์ (Shivanna and Rangaswamy, 1992)

เรณูของถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 มีเปอร์เซ็นต์การงอกหลอดเรณูได้น้อยกว่าชุดควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานผลของภาวะแล้งที่มีต่อการพัฒนาของเกสรเพศผู้โดยตรง เช่น ในข้าวสาลี (Lalonde, Beebe and Saini, 1997) และข้าว (Sheoran and Saini, 1996) ซึ่งเมื่อได้รับภาวะแล้งแล้วทำให้เรณูเป็นหมัน

จากทำการตรวจสอบการงอกของเรณูบนยอดเกสรเพศเมีย ให้ผลการศึกษาที่สอดคล้องกับการหาเปอร์เซ็นต์การงอกของเรณูในอาหาร คือชุดที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 สามารถงอกหลอดเรณูได้น้อยกว่าชุดควบคุม โดยในยอดเกสรเพศเมียพบหลอดเรณูเพียง 5-6 หลอดเท่านั้น ส่วนจำนวนหลอดเรณูของถั่วเหลืองในชุดควบคุมงอกได้ในยอดเกสรเพศเมียเป็นจำนวนมาก (รูปที่ 21) จนไม่สามารถนับจำนวนได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเรืองแสง

ความยาวของหลอดเรณูที่งอกได้มีความใกล้เคียงกัน ทั้งในชุดที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 และชุดควบคุม แสดงว่าหากเรณูในชุดที่ได้รับภาวะแล้งยังมีชีวิตและสามารถงอกหลอดเรณูได้ถึงแม้จะมีจำนวนน้อย ก็เพียงพอสำหรับการนำสเปิร์มไปเกิดการปฏิสนธิกับไข่ภายในออวุลได้ ดังนั้นภาวะแล้งที่ทำให้ผลผลิตถั่วเหลืองลดต่ำลง น่าจะมาจากการที่ถั่วเหลืองได้รับภาวะแล้งแล้ว จะสามารถสร้างดอกได้น้อยลงมากกว่าการที่เรณูมีความมีชีวิตที่น้อยลง สอดคล้องกับการทดลองของ Desclaux Huynh and Roumet (2000) ที่กล่าวว่าจำนวนเมล็ดต่อฝักจะไม่ลดลง ยกเว้นหากได้รับภาวะแล้งในระยะการพัฒนาของเมล็ด

การที่เรณูงอกหลอดเรณูได้น้อยเมื่อต้นได้รับภาวะแล้งนั้น สาเหตุหนึ่งน่าจะมาจากปริมาณอาหารที่สะสมอยู่ในเรณูมีน้อย ซึ่งเป็นผลกระทบโดยตรงเมื่อถั่วเหลืองได้รับภาวะแล้งจากที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ทำให้ในขั้นตอนของการแบ่งเซลล์ของเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์เกิดความผิดปกติได้ ส่งผลให้เรณูที่มีการพัฒนาภายใต้ภาวะแล้งมีความสมบูรณ์น้อยกว่าเรณูที่มีการพัฒนาในสภาพปกติ

5.5.2 Stigma receptivity

ภาวะแล้งไม่ได้ส่งผลต่อการสร้างเอ็นไซม์เอสเตอเรสเลย ดังนั้น ยอดเกสรเพศเมียของถั่วเหลืองที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 จึงมีความพร้อมในการรับการงอกหลอดเรณูของเรณูที่มาตกได้หากเป็นเรณูของพืชชนิดเดียวกัน สอดคล้องกับรายงานของ Desclaux, Huynh and Roumet (2000) ที่กล่าวไว้ว่าจำนวนเมล็ดถั่วเหลืองจะลดลงหากได้รับภาวะแล้งในระยะการพัฒนาของรังไข่เช่นเดียวกัน แสดงว่าภาวะแล้งไม่ได้ส่งผลกับการรับการงอกของเรณูของยอดเกสรเพศเมียเลย หากเรณูสามารถงอกได้บนยอดเกสรเพศเมีย ก็จะสามารถเกิดการปฏิสนธิและสร้างเมล็ดได้ตามปกติ

แต่พบรายงานในข้าวโพดเท่านั้นที่ระบุว่าหากข้าวโพดได้รับภาวะแล้ง จะส่งผลถึงความสามารถในการรับการถ่ายละอองเรณู (Zinselmeier et. al, 1995) และยังส่งผลให้มีการสะสมของน้ำตาลและแป้งในรังไข่ได้น้อยลงด้วย ซึ่งเป็นผลมาจากยีนที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาของเกสรเพศเมีย (Andersen et. al,2002) และจำทำให้ได้จำนวนเม็ดข้าวโพดที่ลดลงด้วย

ในพืชหลายชนิดยังพบว่าหากได้รับภาวะเครียดแล้ว จะส่งผลกระทบโดยตรงกับส่วนของเกสรเพศผู้มากกว่าเกสรเพศเมีย เช่น ในพริกไทย เมื่อได้รับอุณหภูมิที่ต่ำมากๆ ในช่วงของการพัฒนาของดอก จะทำให้เรณูมีความสามารถในการงอกได้น้อยลง (Polowick and Sawhney, 2003) เช่นเดียวกับผลการทดลองในแคนตาลูป (Maestro and Alvarez, 2003) แสดงว่าพืชส่วนมากเมื่อได้รับภาวะเครียดจะส่งผลกระทบกับเรณูโดยตรง

5.6 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญ

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีการเรียงตัวของใบเป็นแบบสลับ ทำให้สามารถแยกความแตกต่างระหว่างเนื้อเยื่อเจริญสร้างใบและเนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกในระยะแรกออกจากกันได้ โดยเนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างใบจะเห็นใบอ่อนจะอยู่บนข้อในตำแหน่งที่ต่างกันและมีการพัฒนาเป็นใบระยะต่างๆ ต่อเนื่องกัน (รูปที่ 23) ส่วนเนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกจะพบกลีบเลี้ยงหรือกลีบดอกที่อยู่บนข้อในตำแหน่งเดียวกัน (รูปที่ 24) และมีระยะการพัฒนาต่างจากใบประดับ ซึ่งเป็นใบสุดท้ายก่อนการสร้างส่วนประกอบของดอก

จากพัฒนาการของเนื้อเยื่อเจริญชุดควบคุม ทำให้ทราบได้ว่าภายในช่อดอกจะมีระยะการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญที่ไม่เท่ากัน (รูปที่ 11) โดยเนื้อเยื่อเจริญของช่อดอกทางด้านล่างของช่อดอกมีการพัฒนาขึ้นมาก่อนดอกทางด้านบนของช่อดอก ดอกถั่วเหลืองจึงมีการบานจากด้านล่างของช่อขึ้นไปด้านบน สามารถเห็นพัฒนาการของอวัยวะภายในดอกที่ไม่พร้อมกัน คือในการสร้างกลีบเลี้ยง กลีบดอก เกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียนั้น กลุ่มของเซลล์เจริญทางด้านนอกของแกนช่อดอก จะพัฒนาขึ้นก่อนกลุ่มของเซลล์ทางด้านในของแกนช่อดอก (รูปที่ 12) ตามที่ Crozier and Thomas, 1993 ได้กล่าวไว้จากการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)

การศึกษาถึงผลของภาวะแล้งต่อพัฒนาการของเนื้อเยื่อเจริญ ที่พบว่าต้นถั่วเหลืองในระยะ V_4 มีการสร้างเนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกแล้ว ดังนั้นหากเริ่มให้ภาวะแล้งที่ระยะ V_4 อาจทำให้ไม่ทราบถึงผลที่แท้จริงของภาวะแล้งที่มีต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญ จึง

มีความจำเป็นต้องให้ภาวะแล้งตั้งแต่ในระยะ V_2 ซึ่งเร็วกว่าการให้ภาวะแล้งในชุดการทดลองอื่น

การให้ถั่วเหลืองได้รับภาวะแล้งในระยะ V_2 นั้น พบเนื้อเยื่อเจริญของดอกทางด้านล่างในช่อดอกเท่านั้นที่พบการพัฒนาต่อไปได้อีกในระยะสั้น แสดงว่าภาวะแล้งส่งผลต่อการยับยั้งพัฒนาการของเนื้อเยื่อเจริญของดอกทางด้านบนของช่อดอกมากกว่า อาจเนื่องมาจากในระยะแรกที่เริ่มให้ภาวะแล้ง ภายในต้นถั่วเหลืองยังคงมีปริมาณน้ำในต้นเพียงพอที่จะทำให้มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญต่อไปได้ระยะหนึ่ง แต่หลังจากได้รับภาวะแล้งแล้วปริมาณน้ำในต้นลดลง การพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญในระยะ V_4 ในส่วนที่เริ่มพัฒนาจึงถูกยับยั้ง สังเกตได้จากเนื้อเยื่อเจริญของดอกทั้งช่อส่วนใหญ่จะอยู่ในระยะที่ใกล้เคียงกัน (รูปที่ 31) ซึ่งแตกต่างจากถั่วเหลืองชุดควบคุมในระยะ V_4 ที่พบระยะการพัฒนาที่ไม่เท่ากัน (รูปที่ 11)

ในการพัฒนาไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกนั้น Parcy, Bomblies and Weigel (2002) ได้ทำการศึกษาถึงการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องใน *Arabidopsis* ว่ามียีนที่เกี่ยวข้อง คือ *LAAFY* ที่จะคอยควบคุมการทำงานของยีน *AGAMOUS* ซึ่งเป็นยีนที่ทำหน้าที่ให้มีการเปลี่ยนแปลงจากการเติบโตระยะสร้างใบเป็นการเติบโตสำหรับการสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ ดังนั้นในถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 ที่ได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_2 หยุดการพัฒนาต่อนั้น จึงน่าจะมาจากการทำงานของยีนตัวอื่นที่ไม่ใช่ 2 ยีนที่กล่าวมาแล้วข้างต้น เพราะต้นถั่วเหลืองสามารถสร้างเนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกได้แล้ว

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

6.1 ศึกษาหาปริมาณน้ำสำหรับให้กับต้นถั่วเหลืองเพื่อทำให้เกิดภาวะแล้ง

ภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการทดลองในครั้งนี้ จะมีปริมาณน้ำอยู่ในดินประมาณ 1,000 มิลลิลิตร ต่อน้ำหนักดิน 7 กิโลกรัม ซึ่งภาวะแล้งระดับนี้เมื่อถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 ได้รับในระยะ V_4 ถั่วเหลืองจะสามารถเติบโตจนครบวงชีพได้ แต่หากได้รับภาวะแล้งที่ระยะ V_2 ถั่วเหลืองจะตายภายในการเติบโตที่ระยะ V_5

6.2 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการเติบโตของต้นถั่วเหลือง

การได้รับภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ความสูง จำนวนข้อต่อต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 มีแนวโน้มลดลง และถั่วเหลืองชุดที่ได้รับภาวะแล้งยังสามารถเจริญเติบโตจนครบวงชีพได้

6.3 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อความสามารถในการสร้างดอก

ถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 เมื่อได้รับภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ระยะ V_4 มีความสามารถในการสร้างดอกได้น้อยลงทั้งในระยะ R_2 และ R_3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6.4 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการพัฒนาของดอก

เมื่อถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 ได้รับภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ระยะ V_4 ต้นถั่วเหลืองสามารถสร้างดอกที่มีโครงสร้างครบสมบูรณ์เช่นเดียวกับชุดควบคุมได้ แต่มีบางดอกที่พบการพัฒนาไปเป็นดอกที่ไม่สมบูรณ์

6.5 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อความสามารถในการสืบพันธุ์ของดอก

6.5.1 Pollen viability โดยศึกษาหาเปอร์เซ็นต์การงอกของเรณู

6.5.1.1 *In vitro* germination test

จำนวนเรณูของถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 เมื่อได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 จะมีความสามารถในการงอกหลอดเรณูในอาหารสูตร Brewbaker and Kwack's medium (Brewbaker and Kwack, 1963 อ้างอิงใน Shivanna and Rangaswamy, 1992) ได้น้อยลง

6.5.1.2 *In vivo* germination and pollen tube growth

จำนวนเรณูของถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 เมื่อได้รับภาวะแล้งตั้งแต่ระยะ V_4 จะมีความสามารถในการงอกหลอดเรณูบนยอดเกสรเพศเมียได้น้อยลง

6.5.2 Stigma receptivity

ภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลต่อการสร้างเอนไซม์เอสเตอเรสบนยอดเกสรเพศเมีย ทำให้ยอดเกสรเพศเมียของทั้งชุดที่ได้รับภาวะแล้งและชุดควบคุมสามารถรับเรณูเพื่อให้งอกหลอดเรณูได้หากเรณูมีความสมบูรณ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6.6 ศึกษาผลของภาวะแล้งต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญ

เนื้อเยื่อเจริญของถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 มีการพัฒนาจากเนื้อเยื่อเจริญสร้างใบไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกตั้งแต่ระยะการเติบโตที่ V_3 โดยเริ่มพบการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญสำหรับสร้างดอกจากส่วนด้านล่างขึ้นไปยังส่วนด้านบนของช่อดอก ทำให้ดอกถั่วเหลืองบานจากด้านล่างขึ้นไปด้านบนจากทั้งส่วนของปลายยอดและตาข้าง

หากถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 ได้รับภาวะแล้งที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ตั้งแต่ระยะ V2 จะทำให้เนื้อเยื่อเจริญหยุดการพัฒนาต่อไปเป็นดอกที่สมบูรณ์ในระยะ V_4 และจะตายภายในระยะการเติบโตที่ V_5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อเสนอแนะ

การกำหนดระยะการเติบโตของถั่วเหลืองของ Fehr and Caviness (1977) นั้นเป็นการกำหนดขึ้นจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาเท่านั้น เมื่อได้ทำการศึกษาถึงลักษณะทางกายวิภาคทำให้พบว่าถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 มีระยะการเติบโตเพื่อการสืบพันธุ์ (reproductive growth) เกิดขึ้นตั้งแต่ระยะ V_3 ซึ่งในระยะนี้ยังคงเห็นลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นระยะการเติบโตเพื่อสร้างใบ (vegetative growth) จากผลการศึกษาในครั้งนี้น่าจะมีการเปลี่ยนแปลงระยะการเติบโตของถั่วเหลืองใหม่ เพื่อให้มีความถูกต้องและชัดเจนมากขึ้น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

จิตอารีย์ สาครินทร์. 2508. เอกสารประกอบการสอนวิชา Plant Microtechnique. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ณภัศศรณ์ ปัญญาสุข. 2547. ผลร่วมของภาวะร้อนและภาวะแล้งต่อการเติบโต ปริมาณรงควัตถุในการสังเคราะห์ด้วยแสงและการแสดงออกของยีนฮีตช็อคโปรตีนในถั่วเหลือง *Glycine max* (L.) Merrill. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พรศักดิ์ ภักดีวราภรณ์. 2543. ผลของโซเดียมคลอไรด์ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการสะสมโพรลีน โซเดียมไอออนและคลอไรด์ไอออนในถั่วเหลือง*Glycine max* (L.) Merrill. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศุภชัย แก้วมีชัย. 2537. การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองในประเทศไทย. ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สมศักดิ์ สุริโย. 2541. การผลิตถั่วเหลืองในยุคโลกาภิวัฒน์. เอกสารประกอบการอภิปรายในการประชุมวิชาการถั่วเหลืองแห่งชาติ ครั้งที่ 7 เสนอที่มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช 25-27 สิงหาคม. หน้าที่ 1-9.

อัญชลี ร่มพา. 2543. ความสัมพันธ์ของแอคทิวิตีของซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ปริมาณรงควัตถุในการสังเคราะห์ด้วยแสงและการเติบโตในถั่วเหลือง *Glycine max* (L.) Merrill ภายใต้ภาวะแล้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Ahokas, H. 1976. Evidence of a Pollen Esterase Capsule of Hydrolyzing Sporopollenin. Experientia. 32: 175-177.

Andersen, M. N. et. al. 2002. Soluble Invertase Expression Is an Early Target of Drought Stress during the Critical, Abortion-Sensitive Phase of Young Ovary Development in Maize. Plant Physiology. 130: 591-604.

Crozier, T. S. and Thomas, J. F. 1993. Normal Floral Ontogeny and Cool Temperature-Induced Aberrant Floral Development in *Glycine max* (Fabaceae). American Journal of Botany. 80(4): 492-448.

Desclaux, D., Huynh, T. T., and Roumet, P. 2000. Identification of Soybean Plant Characteristics That Indicate the Timing of Drought Stress. Crop Science. 40: 716-722.

Desclaux, D., and Roumet, P. 1996. Impact of Drought Stress on the Phenology of Two Soybean (*Glycine max* L. Merr) Cultivars. Field Crops Research. 46: 61-70.

Esau, K. 1977. Anatomy of Seed Plants. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons.

Fehr, W. R., and Caviness, C. E. 1977. Stage of Soybean Development. Special Report 80. Coop. Ext. Ser. Agric. and Home Econ. Exp. Stn., Iowa State Univ, Ames.

Frederick, J. R., Camp, C. R., and Bauer P. J. 2001. Drought-Stress Effects on Branch and Mainstem Seed Yield and Yield Component of Determinate Soybean. Crop Science. 47: 759-763.

Hale, M. G., and Orcutt, D. M. 1987. The Physiology of Plants under Stress. New York: John Wiley & Sons.

Ishibashi, T., Sneller, C. H., and Shannon, G. 2003. Soybean Yield Potential and Phenology in the Ultra- Season Production System. Agronomy Journal. 95: 1082-1087.

Johansen, D.A. 1940. Plant Microtechnique. New York: McGraw Hill Book.

Lalonde, S., Beebe, D. U., and Saini, H. S. 1997. Eary Signs of Wheat Development Associated with the Induction of Male Sterility by Meiotic-stage Water Deficit. Sexual Plant Reproduction. 10: 40-48.

Linkemer, G., Board, J. E. and Musgrave, M.E. 1998. Waterlogging Effects on Growth and Yield Components in Late-Planted Soybean. Crop Science. 38: 1576-1584.

Liu, F., Jensen, C. R. and Andersen, M. N. 2004. Drought Stress Effect on Carbohydrate Concentration in Soybean Leaves and Pods During Early Reproductive Development: Its Implication in Altering Pod Set. Field Crops Research. 86: 1–13.

Maestro, M. C. and Alvarez, J. 1998. The Effects of Temperature on Pollination and Pollen tube Growth in Muskmelon (*Cucumis melo* L.). Scientia Horticulturae. 36(3-4): 173-181.

McNeil, S. D., Nuccio, M. L., and Hanson, A.D. 1999. Betaines and Related Osmoprotectants. Target for Metabolic Engineering of Stress Resistance. Plant Physiology. 120: 945-949.

Parcy, F., Bomblies, K. and Weigel, D. 2002. Interaction of *LEAFY, AGAMOUS* and *TERMINAL FLOWER1* in Maintaining Floral Meristem Identify in *Arabodopsis.* Development. 129: 2519-2527.

Polowick, P. L. and Sawhney V. K. 1985. Temperature Effects on Male Fertility and Flower and Fruit Development in *Capsicum annuum* L. Scientia Horticulturae. 25(2): 117-127.

Saini, H. 1997. Effects of Stress on Male Gametophyte Development in Plants. Sexual Plant Reproduction.10: 67-73.

Sheoran, I. S., and Saini, H. S. 1996. Drought-Induced Male Sterility in Rice: Change in Carbohydrate Levels and Enzyme Activities Associated with the Inhibition of Starch Accumulation in Pollen. Sexual Plant Reproduction. 9: 161-169.

Shivanna, K. R., and Rangaswamy, N. S. 1992. Pollen Biology A Laboratory Manual. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Taiz, L. and Zeiger, E. 1998. Plant Physiology. 2nd ed. Massachusetts: Sinauer Associates.

Tucker, S. C. 2003. Floral Development in Legumes. Plant Physiology. 131: 911-926.

Zinselmeier, C., Westgate, M. E., Schussler J. R. and Jones R. J. 1995. Low Water Potential Disrupts Carbohydrate Metabolism in Maize (*Zea mays* L.) Ovaries. Plant Physiology. 107(2): 385-391.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารเคมีสำหรับศึกษาการพัฒนาของดอกและการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญ

Formalin-Aceto-Alcohol (Johansen, 1940)

ประกอบด้วย (สำหรับการเตรียม 100 มิลลิลิตร)

- Ethyl alcohol, 70%	90	มิลลิลิตร
- Formaldehyde	5	มิลลิลิตร
- Glacial acetic acid	5	มิลลิลิตร

น้ำยาติดสไลด์ของฮอพท์ (Johansen, 1940)

ประกอบด้วย

- น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
- Glycerin	15	มิลลิลิตร
- Knox gelatin	1	กรัม
- Phenol crystal	2	กรัม

ละลาย knox gelatin ในน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้เข้ากันดี หลังจากนั้นเติม glycerin และ phenol crystal กรองให้สะอาด เก็บในขวดสีชา

สี Delafield's Haematoxylin (Johansen, 1940)

ประกอบด้วย

- สี Haematoxylin	4	กรัม
- Ammonium aluminium sulfate	400	มิลลิลิตร (ละลายอิ่มตัวในน้ำกลั่น)
- Ethyl alcohol, 95%	25	มิลลิลิตร
- Glycerin	10	มิลลิลิตร
- Methyl alcohol	100	มิลลิลิตร

หลังจากผสมสารเคมีทั้งหมดแล้ว วางไว้ให้โดนแสงเป็นเวลาประมาณ 2 สัปดาห์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สี Safranin O (Johansen, 1940)

ประกอบด้วย

- สี Safranin O	4	กรัม
- Ethyl alcohol, 95%	100	มิลลิลิตร
- Formaldehyde	8	มิลลิลิตร
- Methyl cellosolve	200	มิลลิลิตร
- Sodium acetate	4	กรัม

สารเคมีสำหรับศึกษาความสามารถในการสืบพันธุ์ของดอก

Brewbaker and Kwack's medium (Brewbaker and Kwack, 1963 **อ้างอิงใน** Shivanna and Rangaswamy, 1992)

ประกอบด้วย

- Sucrose	10	เปอร์เซ็นต์
- Boric acid	100	มิลลิกรัมต่อลิตร
- Calcium nitrate	300	มิลลิกรัมต่อลิตร
- Magnesium sulfate	200	มิลลิกรัมต่อลิตร
- Potassium nitrate	100	มิลลิกรัมต่อลิตร

Phosphate buffer (Shivanna and Rangaswamy, 1992)

ประกอบด้วย

- 0.15 M Na_2HPO_4	51	มิลลิลิตร
- 0.15 M $Na_2HPO.7H_2O$	49	มิลลิลิตร
- pH = 6.8		

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สี Aniline blue (Shivanna and Rangaswamy, 1992)

ประกอบด้วย

- สี aniline blue 0.005 %
- 0.05 M Na_2HPO_4
- pH = 11

สารละลาย substrate **สำหรับตรวจเอนไซม์** esterase (Shivanna and Rangaswamy, 1992)

ประกอบด้วย

	Solution A (substrate)	Solution B (control)
α-Napthyl acetate [a]	5 มิลลิกรัม	0 มิลลิกรัม
Phosphate buffer 0.15 M [b]	10 มิลลิลิตร	10 มิลลิลิตร
Sucrose	10-15 %	10-15 %
Fast blue B	25 มิลลิกรัม	25 มิลลิกรัม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ ข-1 **ต้นถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 ในระยะ R_1**
ต้นถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 ที่ได้รับภาวะแล้งที่ระดับ 30% PAW (ซ้าย)
ต้นถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5 ชุดควบคุม (ขวา)

รูปที่ ข–2 **จำนวนเมล็ดโดยเฉลี่ยต่อต้นของถั่วเหลืองสายพันธุ์ สจ. 5**
ต้นถั่วเหลืองที่ได้รับภาวะแล้ง (ซ้าย)
ต้นถั่วเหลืองในชุดควบคุม (ขวา)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายปิยวัชช นิติกุล เกิดวันที่ 23 ตุลาคม พ.ศ. 2522 จังหวัดลพบุรี สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนพิบูลวิทยาลัย จังหวัดลพบุรี ในปีการศึกษา 2540 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2544 โดยได้รับทุนโครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.) ในปีการศึกษา 2541 จนถึงปัจจุบัน เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพกฤษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2545 และได้รับทุนอุดหนุนโครงการวิจัยหรือค้นคว้าเพื่อทำวิทยานิพนธ์จากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการสนับสนุนการวิจัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย