แบบรายงานเรื่องเต็ม ผลงานวิจัยที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2560

1. ชุดโครงการ **แผนงานวิจัยการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร**

2. โครงการวิจัย การขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3. ชื่อการทดลองย่อย (ภาษาไทย) การศึกษาเทคนิคและปัจจัยเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) Study of technique and factors in effecting to *In Vitro* of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.)

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	นางภุมรินทร์ วณิชชนานันท์	สังกัด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	นางสาวเตือนจิตร เพ็ชรรุณ	สังกัด	ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี
	นางนัยเนตร ทานากะ เจริญสันติ	สังกัด	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของปัจจัยภายนอกต่อการชักนำและพัฒนาแคลลัสปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2 โดยใช้สภาพแสง 4 ชนิด คือ LED สีขาว, LED สีแดง, LED สีน้ำเงิน และ Grow lux พบว่า ปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสโดยมีค่าน้ำหนักสดของแคลลัสสูงสุด คือ 0.053 กรัมเมื่อเลี้ยงนาน 4 เดือน และ น้ำหนักสดแคลลัสเฉลี่ย 0.224 กรัมเมื่อเลี้ยงนาน 6 เดือน ในสภาพแสง LED สีขาว การพัฒนา embryogenesis callus พบว่า ปัจจัยชนิดของแสงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญต่อการพัฒนาและน้ำหนักของแคลลัส โดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดแคลลัสสูงที่สุดในการเลี้ยงในแสงชนิด Grow lux เท่ากับ 2.65 กรัม และรองลงมาคือ แสง LED สีขาว เท่ากับ 2.32 กรัม ส่วนแสง LED สีน้ำเงินจะให้ค่าเฉลี่ยของแคลลัสน้อยที่สุด เท่ากับ 1.92 กรัม ปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 2 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสโดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของแคลลัสสูงสุด 0.064 กรัมเมื่ออายุแคลลัส 4 เดือนเลี้ยงในสภาพแสง LED สีน้ำเงิน และเมื่อเลี้ยงนาน 6 เดือนจะให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดแคลลัสสูงสุดในสภาพแสง Grow lux เท่ากับ 0.214 กรัม โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติ สำหรับการทดสอบการพัฒนาของแคลลัส พบว่า ปัจจัยของชนิดแสงให้ผลที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญต่อการพัฒนาของค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของแคลลัสเมื่อเลี้ยงในสภาพแสง LED สีแดงจะทำให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดแคลลัสสูงที่สุด เท่ากับ 1.75 กรัม รองลงมาคือในสภาพแสง Grow lux เท่ากับ 1.64 กรัม และให้ค่าเฉลี่ยน้อยที่สุดเมื่อเลี้ยงในสภาพแสง LED สีขาว เท่ากับ 1.13 กรัม สำหรับปัจจัยด้านสูตรอาหาร และปัจจัยร่วมกันของชนิดแสงและสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างทางสถิติในปาล์มน้ำมันทั้ง 2 พันธุ์ การชักนำแคลลัสจากใบอ่อนในสภาพที่มืดจะทำให้เกิดแคลลัสได้จากสูตรอาหาร MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ระยะเวลา 2.5 เดือน และสูตรอาหาร MS ร่วมกับ picloram ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ระยะเวลา 6 เดือน ทำให้เกิดแคลลัสที่มีลักษณะกลมมีสีน้ำตาลอ่อนเกิดขึ้นที่บริเวณขอบใบ

คำสำคัญ : ปาล์มน้ำมัน, LED, Grow lux, dicamba, picloram

ABSTRACT

Effect of factor in inducing and development callus in oil palm cv. Suratthani 1 and Suratthani 2 using 4 type of Light containing LED white color, red color, blue color and Grow lux. Suratthani 1 cultured in LED white color showed high fresh weight callus of 0.053 grams for 4 months and 0.224 grams for 6 months. Factor of light were high significant difference for development embryogenesis callus. Grow lux light gave highest fresh weight callus of 2.65 grams. Suratthani 2 showed no significant difference when be cultured in LED blue color. It gave high fresh weight callus of 0.064 grams for 4 months after callus gave high fresh weight 0.214 grams for 6 months in Grow lux. Embryogenesis callus can developed in LED red color. They gave high fresh weight callus of 1.75 grams. Factor of media and combination factor between light and media showed no significant difference in oil palm. Study of inducing callus from young leaves showd that oil palm was induced to be callus from MS media containing 1 mg/l dicamba for 2.5 months and MS media containing 3 mg/l picloram for 6 months. Callus had globular shape and light brown color.

Keyword : oil palm, LED, Grow lux, dicamba, picloram

คำนำ

สำหรับปาล์มน้ำมัน พืชน้ำมันอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจทั้งในระดับโลกและของประเทศไทย สามารถผลิตได้เฉพาะในเขตพื้นที่จำกัดประเภทร้อนชื้นเท่านั้น จัดเป็นพืชผสมข้าม เมื่อปรับปรุงจนได้พันธุ์ดีแล้วการนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้จะสามารถขยายพันธุ์ได้ในปริมาณมากและมีลักษณะเหมือนต้นเดิม การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันได้มีการศึกษาวิจัยมาระยะหนึ่งแล้ว แต่การใช้ส่วนยอดมีโอกาสทำให้ต้นปาล์มตาย และยังมีความจำเพาะต่อพันธุ์ค่อนข้างมาก (พีรเดช, 2556) การนำชิ้นส่วนเช่น ใบ ยอดจากต้นที่ให้ผลผลิตสูง หรือคัพภะอ่อนจากคู่ผสมที่มีประวัติการให้ผลผลิตสูงในรุ่นลูกมาใช้เป็นชิ้นส่วนในการขยายพันธุ์ก็จะสามารเพิ่มปริมาณพันธุ์ดีให้มากได้ แต่ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของปัจจัยต่างๆที่มีความเหมาะสมในแต่ละพันธุ์ เช่น ชนิดและความเข้มของแสง ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต และสารที่มีผลต่อการเกิดแคลลัส จึงได้นำปัจจัยต่างๆเหล่านี้ซึ่งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์ให้มากขึ้น มาศึกษากับปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 และ 2 ซึ่งเป็นพันธุ์แนะนำของกรมวิชาการเกษตร

ปัจจัยทางกายภาพที่มีอิทธิพลต่อชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (คำนูณ, 2542)

<u>แสง</u> ช่วงความยาวแสง (day length) ชนิดแสง (light quality) และความเข้มแสง (light intensity) ล้วนมีความสำคัญต่อพืชที่เลี้ยงในหลอดทดลอง และเป็นปัจจัยที่ซับซ้อน ผลของช่วงความยาวแสงต่อการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองยังไม่ทราบกันดีนัก ช่วงความยาวแสงที่เลือกใช้โดยทั่วไปคือ 14-16 ชั่วโมง แต่บางครั้งอาจมีการให้แสงตลอดเวลาหรือให้มืดตลอดเวลา

ความเข้มแสงที่ใช้โดยทั่วไปที่พอเหมาะและนิยม คือ 100-400 แรงเทียน หรือ 1,000 – 4,000 ลักซ์ (lux) หลอดไฟที่ใช้กันทั่วไปคือ หลอดฟลูออเรสเซนซ์ที่เป็นแบบคูลไวต์ (cool white type) ในบางครั้งพบว่า หลอดไฟแบบพิเศษ เช่น หลอดไฟที่มีชื่อทางการค้าว่า ซุปเปอร์โกร (super-grow) หรือโกรลักซ์ ให้ผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชดีกว่า เนื่องจากมีสัดส่วนของแสงสีแดงและน้ำเงินสูง และพืชสามารถนำไปใช้ในการสังเคราะห์แสงได้โดยตรง

ชนิดของแสงสีต่างๆ มีความสำคัญต่อการเจริญของพืชที่เลี้ยง เช่น การเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นยาสูบในอาหารที่มี IAA พบว่า ถ้านำไปเก็บเลี้ยงภายใต้แสงสีแดง และเขียว จะกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อได้ดีกว่าแสงสีน้ำเงิน เนื่องจาก IAA จะถูกทำลายโดยแสงสีน้ำเงิน ทำให้การเจริญเติบโตถูกจำกัด สำหรับการเกิดยอดหรือรากจากแคลลัสยาสูบ พบว่าแสงสีน้ำเงินและม่วงส่งเสริมการเกิดยอดในขณะที่แสงสีแดงส่งเสริมการเกิดราก เป็นต้น

การปรับตัวของพืชที่ตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมภายนอก (Plant responses to the external environment) (ชุมพล, 2549)

พืชที่เจริญเติบโตในถิ่นอาศัย (habitat) แบบใดได้ ย่อมจะต้องมีลักษณะที่มีความเหมาะสมในการมีชีวิตอยู่ในปัจจัยแวดล้อมแบบนั้น หรือสามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมที่เป็นอยู่นั้นได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามสภาพแวดล้อมหรือปัจจัยทางกายภาพต่างๆ ก็ไม่ได้มีความคงตัวหรืออยู่ในระดับที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชที่อยู่ในถิ่นอาศัยตลอดไป ในบางช่วงเวลาหรือบางฤดูกาลพืชจะต้องเผชิญกับภาวะของสิ่งแวดล้อมหรือปัจจัยทางภายภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต เรียกภาวะนี้ว่า ภาวะเครียด (stress) ซึ่งอาจเกิดจากความเข้มแสง อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำและความชื้นที่ไม่เหมาะสม เป็นต้น ซึ่งพืชแต่ละชนิดจะมีระดับการตอบสนองหรือความไวต่อภาวะเครียดที่ได้รับแตกต่างกัน รวมทั้งการปรับตัวในรูปแบบและวิธีการที่แตกต่างกันไปด้วย

เมื่อพืชได้รับภาวะความเครียด ระบบเมตาโบลิซึมต่างๆ ของฮอร์โมนภายในพืชมักจะเป็นสิ่งแรกที่มีการเปลี่ยนแปลงในการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมที่เกิดขึ้น ซึ่งหากภาวะเครียดดำเนินไปในช่วงระยะเวลาสั้นๆ การเปลี่ยนแปลงอื่นๆ ที่ตามมาอาจเกิดขึ้นเพียงในระดับของกระบวนการทางชีวเคมี หรือกระบวนการเมตาโบลิซึม แต่หากภาวะเครียดเกิดติดต่อกันเป็นระยะเวลานานๆ อาจพบการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นกับลักษณะทางสัณฐาน (morphological character) หรือลักษณะทางภายวิภาค (anatomical character) ของพืชเพื่อลดภาวะความเครียด และทำให้พืชนั้นสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้

การสร้างสภาวะเครียดของพืชในห้องปฏิบัติการทำได้โดยใช้สารละลาย PEG (polyethylene glycol) เป็นตัวควบคุมให้พืชอยู่ในสภาวะเครียดในระดับต่างๆ ตามที่ต้องการ PEG มีชื่อทางการค้าว่า Carbowaxes มีสูตรโครงสร้าง $HOCH_2(OCH2CH)_nOH$ มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน ตั้งแต่ 300-20,000 (Jackson, 1962) เป็นสารที่มีพิษต่อคนและสัตว์น้อยมาก (Smyth et al., 1955) PEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 6000 นั้น ไม่สามารถซึมผ่านเมมเบรนได้ สารละลาย PEG 6000 ที่มีความเข้มข้นสูงมีผลทำให้ osmotic potential ลดลงทำให้พืชได้รับสภาวะเครียด

สมปอง และคณะ (2530) ทำการเพาะเลี้ยงใบอ่อนปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนราจากต้นกล้าอายุ 195 วัน หลังการเพาะเลี้ยงโดยตัดใบอ่อนสีขาวมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัม/ลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ วุ้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรดด่าง 5.7 พบว่า สามารถชักนำแคลลัสที่เจริญเติบโตช้า (slow growing callus) บริเวณรอยตัดขอบใบ 40 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน

อาสลัน (2545) ศึกษาการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนราที่ให้ผลผลิตดีจากแหล่งปลูกที่สำคัญของของภาคใต้เพื่อการขยายพันธุ์ โดยศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสจากใบอ่อน คือ ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต อุณหภูมิที่เพาะเลี้ยง ตำแหน่งของทางใบและสูตรอาหารที่เหมาะสม และชนิดของสารแอนติออกซิแดนท์ พบว่า ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสของปาล์มน้ำมัน คือ dicamba เข้มข้น 1-5 มิลลิกรัม/ลิตร (ชักนำแคลลัสได้เฉลี่ย 9.11 เปอร์เซ็นต์) การเพาะเลี้ยงใบอ่อนบนอาหารเติม NAA ส่งเสริมให้ชิ้นส่วนเกิดราก อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสคือ 28±0.5 องศาเซสเซียส ทางใบที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสคือทางใบที่ 6-8 สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสคือ สูตร MS การเติมกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหารสูตร MS ร่วมกับ dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้ชิ้นส่วนสร้างแคลลัสสูงสุด 11.2 เปอร์เซ็นต์ และสามารถชักนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสูงสุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสูตร MS เติม dicamba เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับเคซีนไฮโดรไลเสทเข้มข้น 1,000 มิลลิลิตรต่อลิตร

อมรรัตน์ (2549) ศึกษาผลของไดโอดเปล่งแสงและสูตรอาหารต่อการพัฒนาของกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสในสภาพปลอดเชื้อ การทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสลูกผสม โดยการปักชำก้านช่อดอก พบว่า ภายใต้สภาพแสง LEDs สีแดง 90% กับสีน้ำเงิน 10% ก้านช่อดอกพัฒนาไปเป็นยอดได้ดีที่สุด ร้อยละ 63.6 เมื่อนำปลายยอดที่ได้มาชักนำให้เกิด PLBs ปรากฏว่า ภายใต้แสง LEDs สีแดง และสีน้ำเงิน เกิด PLBs ได้ดีที่สุดร้อยละ 42.8 โดยภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์นั้นเกิด PLBs เพียงร้อยละ 12.5

ชยานิจ และคณะ (2552) ได้รายงานการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนคัพภะอ่อน ช่อดอกอ่อน และใบอ่อนของปาล์มน้ำมันลูกผสม tenera พันธุ์สุราษฎร์ธานี 3 บนอาหารสูตร MS และ Y3 ที่เติม dicamba ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อชักนำให้ชิ้นส่วนสร้างแคลลัส พบว่า คัพภะอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม dicamba 10 μM มีอัตราการเกิดแคลลัสสูงสุด 83.30% ช่อดอกอ่อนมีอัตราการเกิดแคลลัสสูงสุด 15.8% เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Y3 เติม dicamba 15 μM ส่วนใบอ่อนมีอัตราการเกิดแคลลัสสูงสุด 24.63% เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba 15 μM เมื่อนำแคลลัสที่ได้มาเพิ่มปริมาณ แคลลัสที่เกิดจากคัพภะอ่อน ช่อดอกอ่อนและใบอ่อน เพิ่มปริมาณได้สูงสุด 7.02 เท่า 3.87 เท่า และ 9.13 เท่า บนอาหารสูตร MS ที่เติม dicamba 1 μM, 3 μM และ 1

μM ตามลำดับ ในการศึกษากระบวนการ embryogenesis พบว่า แคลลัสจากคัพภะอ่อน ช่อดอกตัวเมีย และใบอ่อนมีอัตราการพัฒนาเป็น embryogenic callus สูงสุด 50.01% 20.04% และ 46.67% ตามลำดับ บนอาหารสูตร Y3+NAA 10 μM+abscisic acid 2 μM และมีอัตราการพัฒนาเป็น somatic embryo เท่ากับ 40.08% 13.36% และ 33.34% ตามลำดับ บนอาหารสูตรเดิม somatic embryo ที่เกิดขึ้น สามารถเจริญเป็น polyembryony 2-3 ต้น มียอดและรากที่สมบูรณ์ หรือเจริญเป็นยอดขนาดเล็ก 4-5 ยอด ติดกันเป็นกลุ่มไม่มีราก

Ravindra และ Nataraja (2007) ศึกษาการใช้ 24-epibrassinolide ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ซิมบิเดียม (*Cymbidium elegans*) ด้วยชิ้นส่วนตายอด พบว่า สามารถชักนำให้เกิด Plbs 91 เปอร์เซ็นต์โดยการใช้ 24-epibrassinolide ความเข้มข้น 4 μM ภายในระยะเวลา 12 สัปดาห์

Paulo และคณะ (2013) ศึกษาการขยายพันธุ์อ้อยโดยใช้แสงจากหลอด LEDs และปริมาณน้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยสายพันธุ์ RB 872552 จากชิ้นส่วนตา ภายใต้สภาพควบคุมจากการให้แสงจากแหล่งต่างๆ คือ LEDs สีน้ำเงิน, LEDs สีแดง, LEDs สีเขียว, หลอด Growlux และหลอดฟลูออเรสเซนส์ ร่วมกับปริมาณน้ำตาลซูโครส 0, 15, 30 และ 45 กรัมต่อลิตร ระยะเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 °C พบว่า การใช้หลอด LEDs ทั้งสามสี ให้ผลดีต่อการเพิ่มปริมาณและการเกิดรากของอ้อยร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครสซึ่งมีความจำเป็นในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อย

วัตถุประสงค์

1) เพื่อศึกษาชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำและการพัฒนาของแคลลัสของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2 ที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
2) เพื่อศึกษาปัจจัยของแสงและการเจริญเติบโตภายใต้สภาวะเครียดในการชักนำให้เกิดยอดของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2 ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

วิธีดำเนินการ

<u>อุปกรณ์</u>

1. เมล็ดปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอรา (tenera type) พันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2
2. สารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS)(1962), Phytagel, น้ำตาล sucrose
3. อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น คีมคีบ (forcept), มีดผ่าตัด, จานเพาะเลี้ยง (Petri dish)
4. สารควบคุมการเจริญเติบโต เช่น 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) , 3,6-dichloro-2-methoxybenzoic acid (dicamba) , 4-amino-3,5,6-trichloror-2-pyridineccarboxylic acid (picloram), 1-Naphthaleneacetic acid (NAA)

<u>วิธีการ</u>

เลือกทะลายปาล์มน้ำมันของพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2 จากศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี ซึ่งอยู่ในระยะที่เนื้อด้านในยังมีลักษณะเป็นวุ้นกึ่งแข็งกึ่งเหลวมาใช้สำหรับการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเพื่อให้ได้ชิ้นส่วนปลอดเชื้อก่อนนำไปชักนำให้เกิดแคลลัส ประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ ดังนี้ (ภุมรินทร์และคณะ, 2554)

1) นำเมล็ดปาล์มน้ำมันล้างด้วยสารซักล้าง (Detergent) Teepol® จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาด 2-3 ครั้ง
2) นำเมล็ดปาล์มน้ำมันมาแช่ในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์
3) นำเมล็ดปาล์มน้ำมันมาจุ่มด้วย แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เพื่อนำไปลนไฟฆ่าเชื้อ จากนั้นจึงผ่าเมล็ดเพื่อนำเอมบริโอไปเลี้ยงบนอาหารชักนำแคลลัส

1. <u>การศึกษาผลของปัจจัยภายนอกต่อการชักนำและพัฒนาแคลลัสปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2</u>

1) นำ embryo ของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2 มาชักนำให้เกิดแคลลัส

2) ศึกษาชนิดของแสงต่อการชักนำการเกิดและการพัฒนาของแคลลัสปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2 โดยนำแคลลัสที่ชักนำมาจากขั้นตอนที่ 1 มาทดสอบชนิดของแสง ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 LEDs สีแดง

กรรมวิธีที่ 2 LEDs สีน้ำเงิน

กรรมวิธีที่ 3 Grow lux

กรรมวิธีที่ 4 LED สีขาว = control

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 4 กรรมวิธี จำนวน 10 ซ้ำ

3) ศึกษาความเข้มข้นของสาร Polyethylene glycol (PEG) และน้ำตาล Sorbitol เพื่อการกระตุ้นให้แคลลัสปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2 มีการพัฒนาเกิดยอด และการเลี้ยงในสภาพแสง 4 ชนิด คือ LED สีขาว, LED สีแดง, LED สีน้ำเงิน และ Grow lux ร่วมกับสูตรอาหารจำนวน 6 สูตร ประกอบด้วย

สูตรอาหารที่ 1 สูตรอาหาร MS (control)

สูตรอาหารที่ 2 สูตรอาหาร MS + Sorbitol 0.1 M

สูตรอาหารที่ 3 สูตรอาหาร MS + Sorbitol 0.2 M

สูตรอาหารที่ 4 สูตรอาหาร MS + Sorbitol 0.3 M

สูตรอาหาร5 สูตรอาหาร MS + PEG 5 %

สูตรอาหาร6 สูตรอาหาร MS + PEG 10%

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD 4 X 6 กรรมวิธี จำนวน 10 ซ้ำ

2. <u>การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบและยอดของปาล์มน้ำมัน</u>

1) นำชิ้นส่วนใบอ่อน และ ยอด ของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2 มาศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 3 ชนิด (dicamba, picloram และ brassinolide) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหาร MS = control

กรรมวิธีที่ 2 สูตรอาหาร MS + dicamba 1 mg/l

กรรมวิธีที่ 3 สูตรอาหาร MS + dicamba 2 mg/l

กรรมวิธีที่ 4 สูตรอาหาร MS + dicamba 3 mg/l

กรรมวิธีที่ 5 สูตรอาหาร MS + picloram 1 mg/l

กรรมวิธีที่ 6 สูตรอาหาร MS + picloram 2 mg/l

กรรมวิธีที่ 7 สูตรอาหาร MS + picloram 3 mg/l

กรรมวิธีที่ 8 สูตรอาหาร MS + brassinolide 1 mg/l

กรรมวิธีที่ 9 สูตรอาหาร MS + brassinolide 2 mg/l

กรรมวิธีที่ 10 สูตรอาหาร MS + brassinolide 3 mg/l

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 10 กรรมวิธี จำนวน 10 ซ้ำ

การบันทึกข้อมูล บันทึกผลของน้ำหนักแคลลัส และต้น
ร้อยละของการเกิดแคลลัส และการเกิดยอด
จำนวนยอด จำนวนราก

<u>เวลาและสถานที่</u>

<u>ระยะเวลาทำการทดลอง</u> เดือนตุลาคม 2558 – เดือนกันยายน 2564

<u>สถานที่ทำการทดลอง</u> สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
อาคารทรัพยากรพันธุกรมพืชสิรินธร อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. <u>การศึกษาผลของปัจจัยภายนอกต่อการชักนำและพัฒนาแคลลัสปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และพันธุ์สุราษฎร์ธานี 2</u>

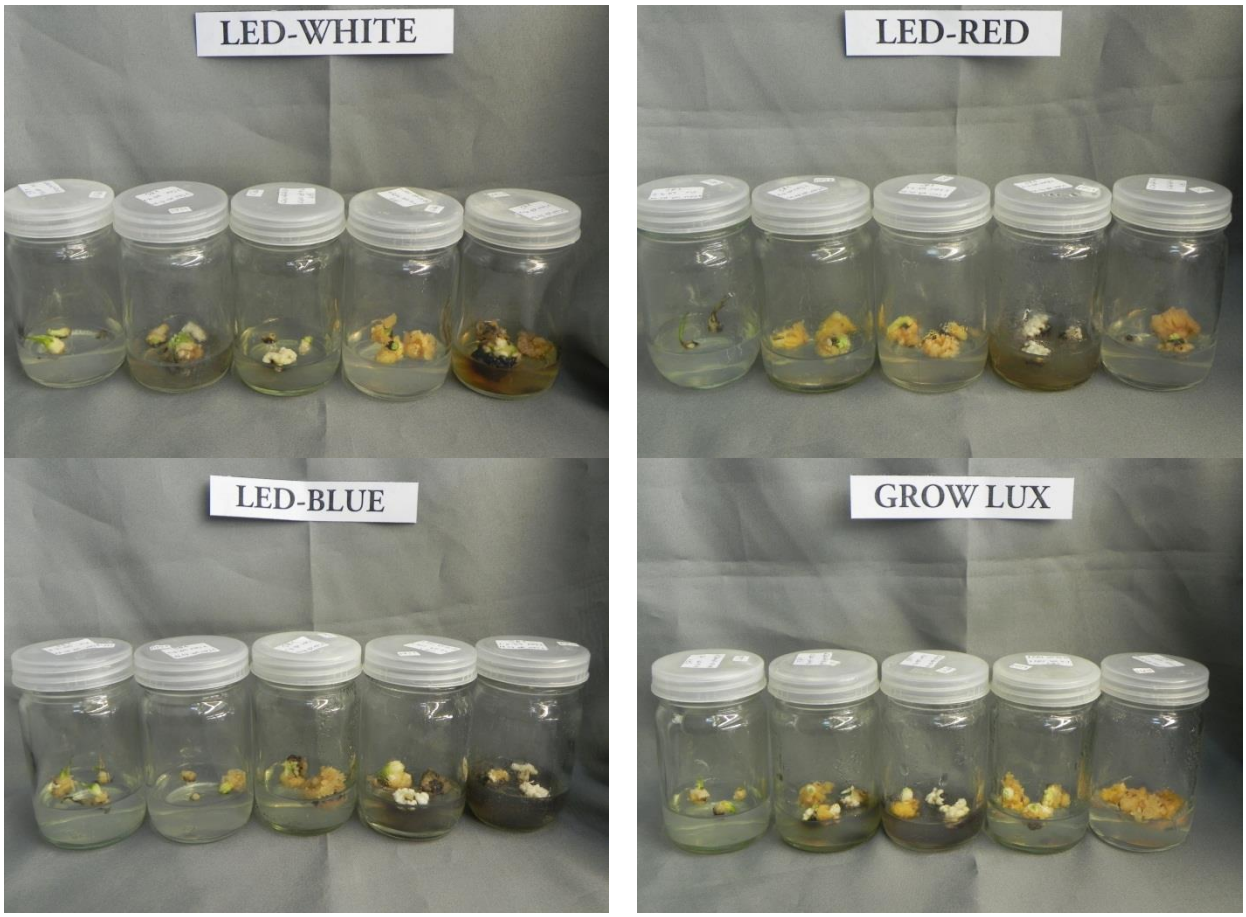
การชักนำให้เกิดแคลลัสของปาล์มน้ำมันจำนวน 2 พันธุ์ ประกอบด้วย ปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1, และปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 2 โดยพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 นำเอมบริโอมาชักนำให้เกิดแคลลัสบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต picloram ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และพันธุ์สุราษฎร์ธานี 2 ใช้สูตรอาหาร MS ร่วมกับ picloram ความเข้มเข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร นำมาเลี้ยงทดสอบในสภาพแสง 4 ชนิด ประกอบด้วย LED สีขาว (control), LED สีแดง, LED สีน้ำเงิน และ หลอด Grow lux เพื่อชักนำการเกิดแคลัส พบว่า ปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสโดยมีค่าน้ำหนักสดของแคลลัสสูงสุด คือ

0.053 กรัมเมื่อเลี้ยงนาน 4 เดือน และ น้ำหนักสดแคลลัสเฉลี่ย 0.224 กรัมเมื่อเลี้ยงนาน 6 เดือน ในสภาพแสง LED สีขาวซึ่งใช้เป็นแสงเปรียบเทียบ (control) (ตารางที่ 1, ภาพที่ 1) และพันธุ์สุราษฎร์ธานี 2 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสโดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของแคลลัสสูงสุด 0.064 กรัมเมื่ออายุแคลลัส 4 เดือนเลี้ยงในสภาพแสง LED สีน้ำเงิน และเมื่อเลี้ยงนาน 6 เดือนจะให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดแคลลัสสูงสุดในสภาพแสง Grow lux เท่ากับ 0.214 กรัม โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 1, ภาพที่ 2) จากรายงานที่ว่าปัจจัยทางกายภาพที่มีอิทธิพลต่อชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กล่าวว่า หลอดไฟที่มีชื่อทางการค้าว่า ซุปเปอร์โกร (super-grow) หรือโกรลักซ์ ให้ผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชดีกว่า เนื่องจากมีสัดส่วนของแสงสีแดงและน้ำเงินสูง และพืชสามารถนำไปใช้ในการสังเคราะห์แสงได้โดยตรง (คำนูณ, 2542) สอดคล้องกับ Paulo และคณะ (2013) ศึกษาการขยายพันธุ์อ้อยโดยใช้แสงจากหลอด LEDs และปริมาณน้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยสายพันธุ์ RB 872552 จากชิ้นส่วนตา ภายใต้สภาพควบคุมจากการให้แสงจากแหล่งต่างๆ คือ LEDs สีน้ำเงิน, LEDs สีแดง, LEDs สีเขียว, หลอด Growlux และหลอดฟลูออเรสเซนส์ ร่วมกับปริมาณน้ำตาลซูโครส 0, 15, 30 และ 45 กรัมต่อลิตร ระยะเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 °C พบว่า การใช้หลอด LEDs ทั้งสามสี ให้ผลดีต่อการเพิ่มปริมาณและการเกิดรากของอ้อยร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครสซึ่งมีความจำเป็นในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อย

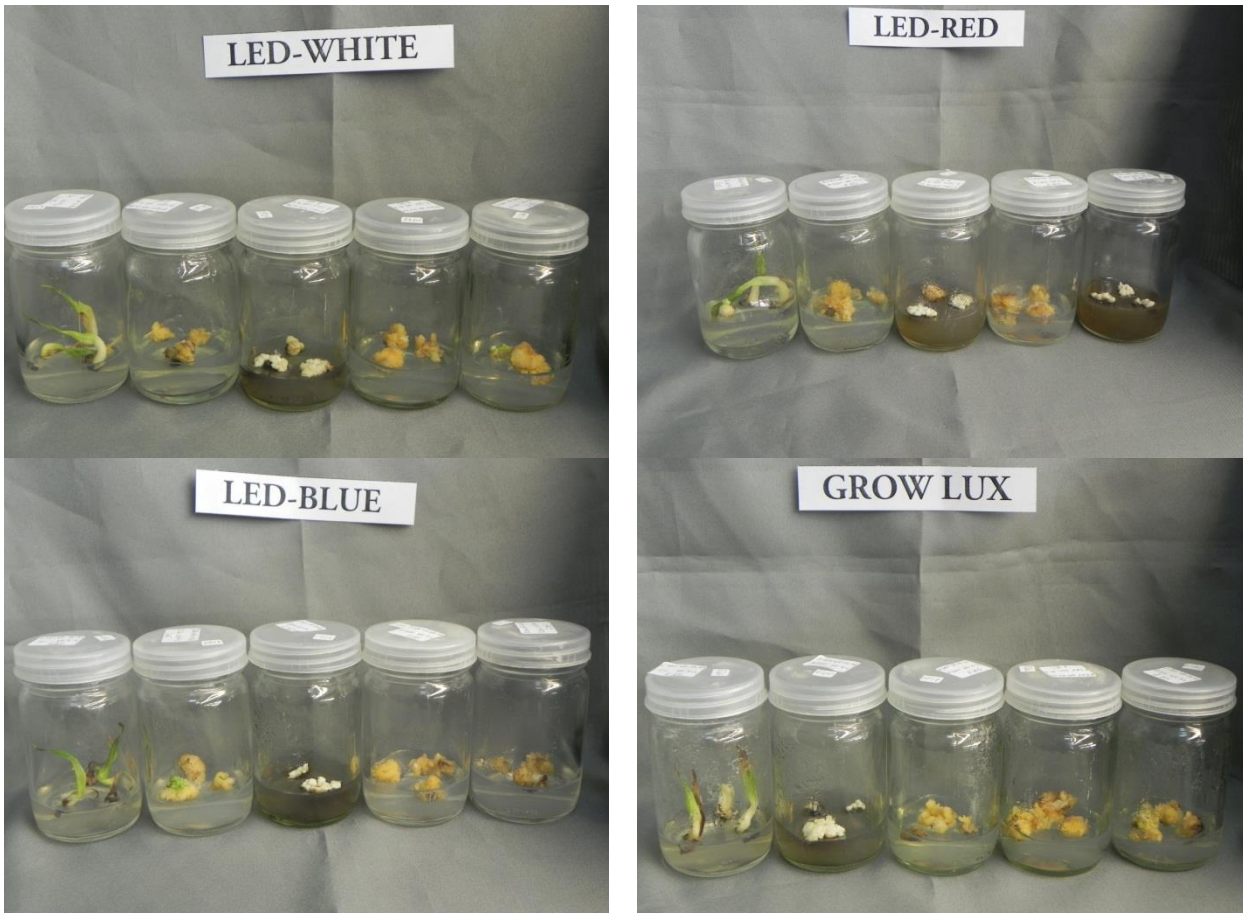
<u>ตารางที่ 1</u> แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดแคลลัสของปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี 1 และ 2 ในสภาพแสง 4 ชนิด

ชนิดแสง	น้ำหนักสดแคลลัส (กรัม)			
	พันธุ์ สฎ 1		พันธุ์ สฎ 2	
	เดือนที่ 4	เดือนที่ 6	เดือนที่ 4	เดือนที่ 6
LED สีขาว (control)	0.053	0.224	0.054	0.191
LED สีแดง	0.044	0.222	0.060	0.203
LED สีน้ำเงิน	0.050	0.201	0.064	0.188
Grow lux	0.046	0.221	0.062	0.214
F-test	ns	ns	ns	ns
c.v.(%)	95.44	87.28	75.04	70.43

ns : ไม่แตกต่างทางสถิติ



<u>ภาพที่ 1</u> การชักนำให้เกิดแคลลัสของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 ในสภาพแสง 4 ชนิด

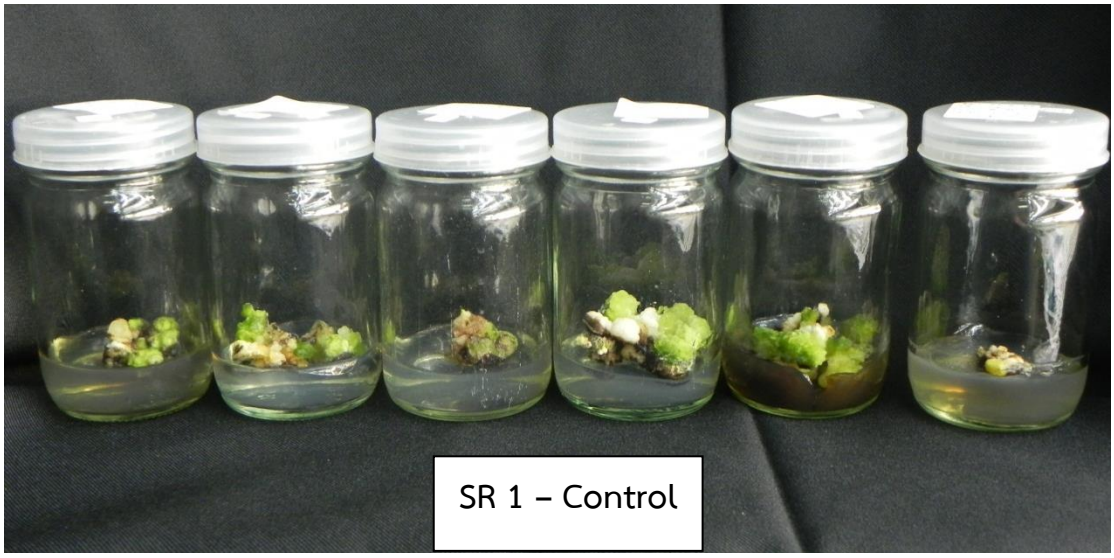


<u>ภาพที่ 2</u> การชักนำให้เกิดแคลลัสของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 2 ในสภาพแสง 4 ชนิด

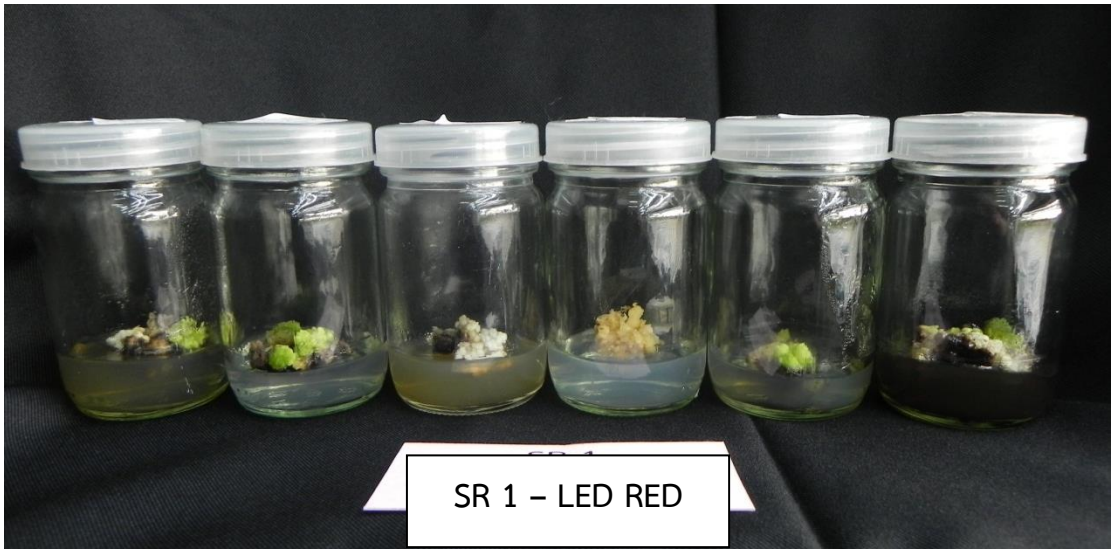
นำแคลลัสของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2 มากระตุ้นให้แคลลัสมีการพัฒนาผ่านกระบวนการ embryogenesis เพื่อให้มีการพัฒนาเป็นยอด โดยการศึกษาการพัฒนาในสูตรอาหารที่มีการเติม Polyethylenglycol (PEG) ความเข้มข้น 5% และ 10% ร่วมกับน้ำตาล sucrose หรือ sorbitol นำไปเลี้ยงบนชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีสภาพแสง 4 ชนิด ประกอบด้วย LED สีขาว (control), LED สีแดง, LED สีน้ำเงิน และหลอด Grow lux พบว่า พันธุ์ปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี 1 ผลของปัจจัยชนิดของแสงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญต่อการพัฒนาและน้ำหนักของแคลลัส โดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดแคลลัสสูงที่สุดในการเลี้ยงในแสงชนิด Grow lux เท่ากับ 2.65 กรัม และรองลงมาคือ แสง LED สีขาว เท่ากับ 2.32 กรัม ส่วนแสง LED สีน้ำเงินจะให้ค่าเฉลี่ยของแคลลัสน้อยที่สุด เท่ากับ 1.92 กรัม (ตารางที่ 3) ในขณะที่ปัจจัยด้านสูตรอาหาร และปัจจัย 2 ชนิดร่วมกันของชนิดแสงและสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 2 และ 4)

การพัฒนาของแคลลัสซึ่งเกิดจาก embryo ของปาล์มน้ำมันพันธุ์พันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 พบว่า ในสภาพแสง LED สีขาว แคลลัสที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่จะเป็นลักษณะ compact callus ที่มีการเกาะกันแน่น และจะมีสีเขียว (ภาพที่ 3) สภาพแสง LED สีแดง พบว่า แคลลัสจะมีลักษณะ compact callus ที่มีลักษณะเป็นก้อนกลมสีขาวที่มีการเกาะกันแบบหลวมๆ และแคลลัสที่มีการเกาะกันแน่นสีเขียว ในอาหารทดสอบที่มีปริมาณ sorbitol 0.2 M จะพบแคลลัสที่มีลักษณะ friable callus มีสีน้ำตาลเกิดขึ้น (ภาพที่ 4) สภาพแสง LED สีน้ำเงิน แคลลัสที่มีแนวโน้ม

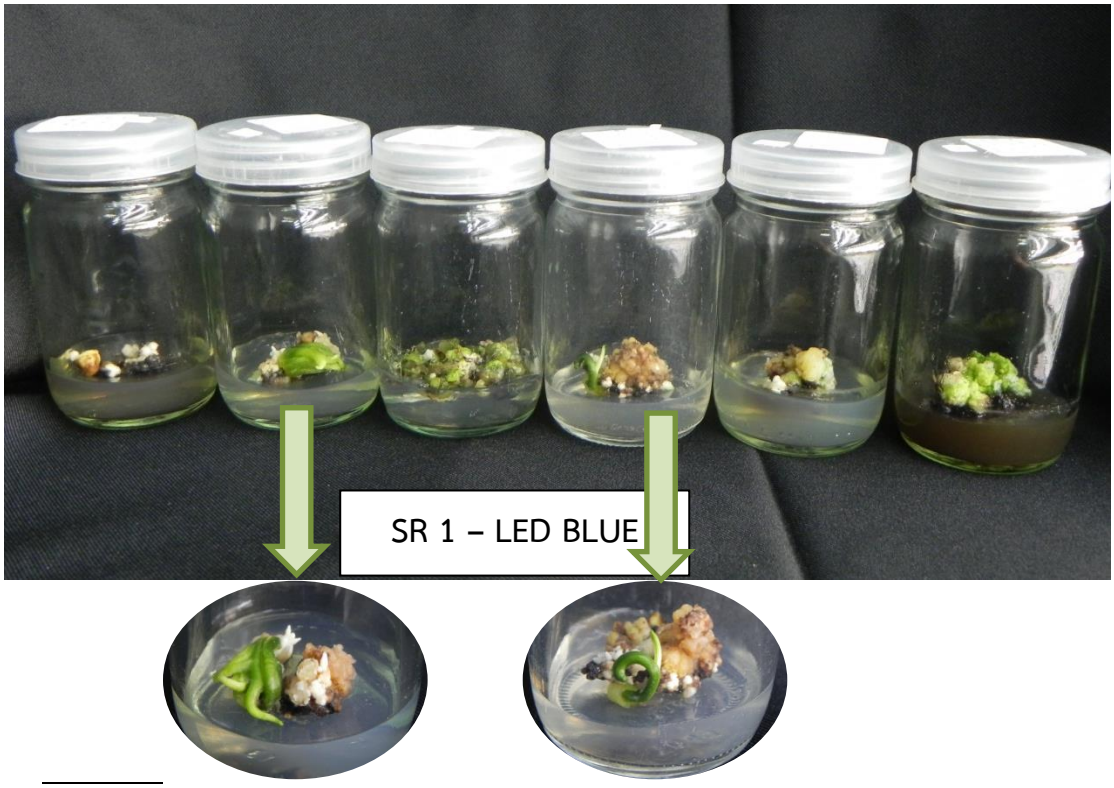
การเกิดยอดพบได้ในอาหารทดสอบที่มี sorbitol 0.1 M และ sorbitol 0.3 M (ภาพที่5) สภาพแสงสีม่วง Growlux แคลลัสที่เกิดขึ้นจะมีลักษณะเป็น compact callus สีขาวและสีเขียว แคลลัสมีการเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาลจำนวนมากเมื่อเปรียบเทียบกับสภาพแสงอื่นๆ และพบการพัฒนาเกิดราก (ภาพที่ 6)



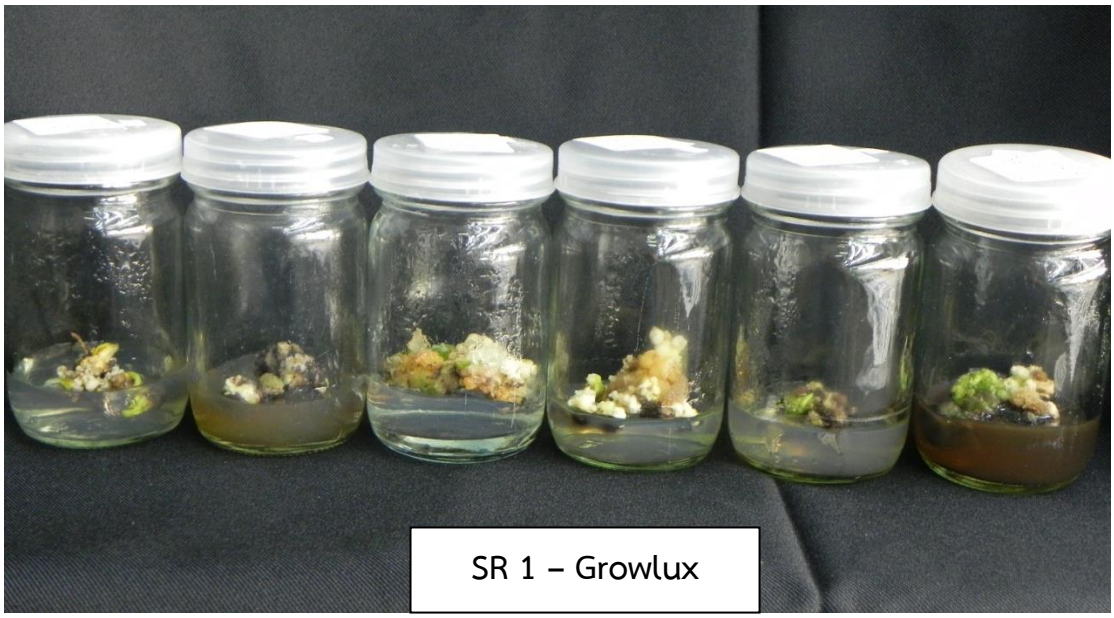
<u>ภาพที่ 3</u> การพัฒนาของแคลลัสของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 ในสภาพแสงสีขาว (control)



<u>ภาพที่ 4</u> การพัฒนาของแคลลัสของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 ในสภาพแสง LED สีแดง



<u>ภาพที่ 5</u> การพัฒนาของแคลลัสของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 ในสภาพแสง LED สีน้ำเงิน



<u>ภาพที่ 6</u> การพัฒนาของแคลลัสของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 ในสภาพแสง Growlux

สำหรับการทดสอบการพัฒนาของแคลลัสในปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 2 พบว่า ปัจจัยของชนิดแสงให้ผลที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญต่อการพัฒนาของค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของแคลลัสเมื่อเลี้ยงในสภาพแสง LED สีแดงจะทำให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดแคลลัสสูงที่สุด เท่ากับ 1.75 กรัม รองลงมาคือในสภาพแสง Grow lux เท่ากับ 1.64 กรัม และให้ค่าเฉลี่ยน้อยที่สุดเมื่อเลี้ยงในสภาพแสง LED สีขาว เท่ากับ 1.13 กรัม (ตารางที่ 3 และ 5) สำหรับปัจจัยด้านสูตรอาหาร และปัจจัยร่วมกันของชนิดแสงและสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 5)

การพัฒนาของแคลลัสในสภาพแสง LED สีขาว พบการพัฒนาของแคลลัสเกิดเป็นยอดในอาหารทดสอบที่มีการเติม PEG 5% (ภาพที่ 7) ในสภาพแสง LED สีแดงจะพบแคลลัสทั้ง 2 แบบ คือ compact callus สีขาวและสีเขียว ส่วน friable callus จะมีสีน้ำตาล (ภาพที่ 8) สภาพแสง LED สีน้ำเงินแคลลัสส่วนใหญ่จะเป็น compact callus มีสีเขียวเกาะกันแน่น และบางส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (ภาพที่ 9) การพัฒนาของแคลลัสในสภาพแสงสีม่วง Growlux พบว่ามีการพัฒนาส่วนยอดเกิดขึ้นในอาหารทดสอบที่มี sorbitol 0.1 M (ภาพที่ 10)

<u>ตารางที่ 2</u> แสดงปัจจัยของชนิดแสงและสูตรอาหารต่อการพัฒนาของแคลลัสของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1

SOV	df	SS	MS	Pr > F	
Treatment	23	38.0049	1.65	0.28	ns
ชนิดแสง	3	12.0704	4.02	0.04	*
สูตรอาหาร	5	1.0025	0.20	0.98	ns
แสง X อาหาร	15	24.9320	1.66	0.29	ns
Error	120	169.5048	1.41		
Total	143	207.5098			
c.v (%)	53.41				

* : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ns : ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

<u>ตารางที่ 3</u> แสดงปัจจัยชนิดแสงต่อค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของแคลลัสปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2

ชนิดแสง	น้ำหนักแคลลัส (กรัม)	
	พันธุ์สุราษฎร์ธานี 1	พันธุ์สุราษฎร์ธานี 2
LED สีขาว	2.32 ab [1/]	1.13 c
LED สีแดง	1.99 b	1.75 a
LED สีน้ำเงิน	1.92 b	1.24 bc
Grow lux	2.65 a	1.64 ab
F-test	*	*
c.v (%)	53.41	63.45

* : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

1/ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Ducan’s Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

<u>ตารางที่ 4</u> แสดงปัจจัยสูตรอาหารต่อค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของแคลลัสปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2

ชนิดแสง	น้ำหนักแคลลัส (กรัม)	
	พันธุ์สุราษฎร์ธานี 1	พันธุ์สุราษฎร์ธานี 2
MS (control)	2.16	1.72
MS+sorbitol 0.1 M	2.20	1.48
MS+sorbitol 0.2 M	2.39	1.53
MS+sorbitol 0.3 M	2.26	1.31
MS+PEG 5%	2.15	1.35
MS+PEG 10%	2.17	1.27
F-test	ns	ns
c.v (%)	53.41	63.45

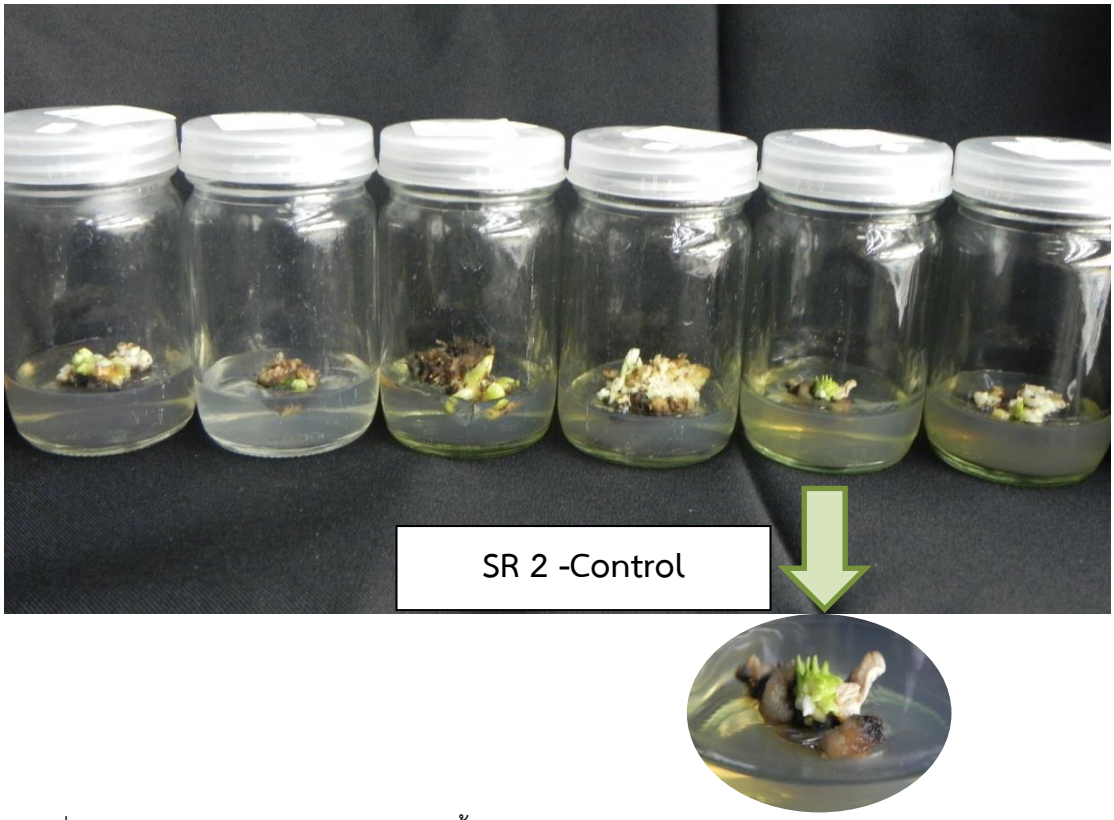
ns : ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

<u>ตารางที่ 5</u> แสดงปัจจัยของชนิดแสงและสูตรอาหารต่อการพัฒนาของแคลลัสของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 2

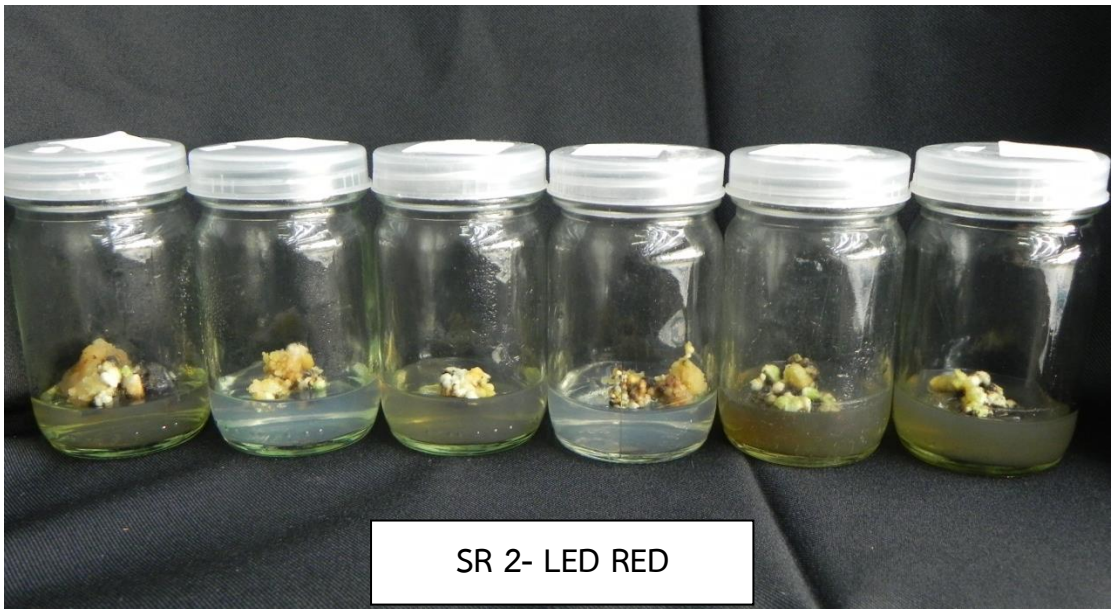
SOV	df	SS	MS	Pr > F	
Treatment	23	19.0898	0.82	0.48	ns
ชนิดแสง	3	8.2310	2.74	0.02	*
สูตรอาหาร	5	2.8301	0.56	0.64	ns
แสง X อาหาร	15	8.0286	0.53	0.83	ns
Error	96	80.7844	0.84		
Total	119	99.8741			
c.v (%)	63.45				

* : แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

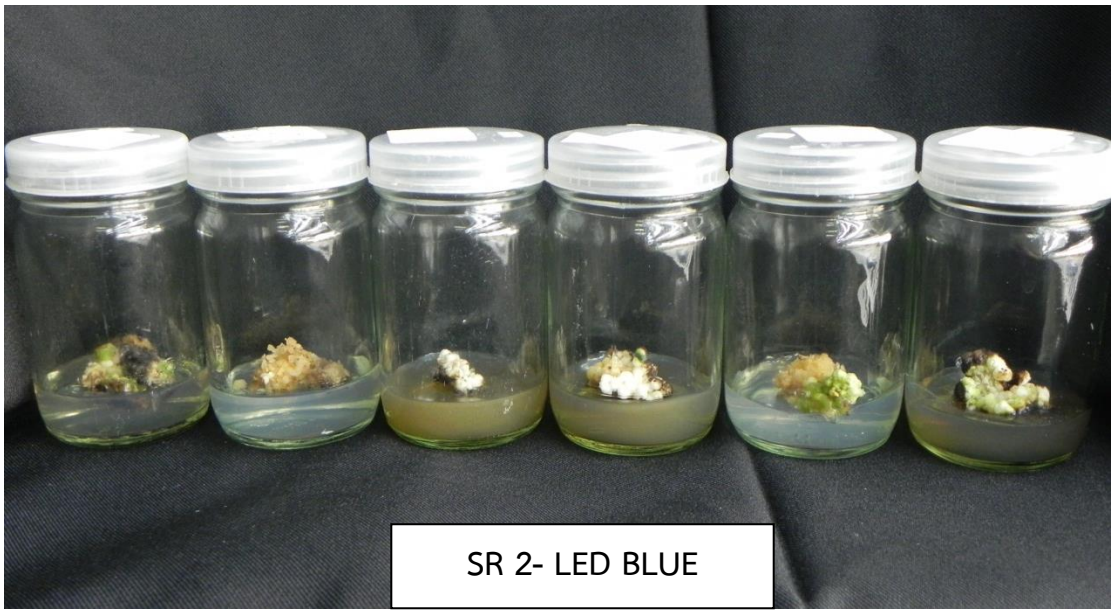
ns : ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ



<u>ภาพที่ 7</u> การพัฒนาของแคลลัสของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 2 ในสภาพแสงสีขาว (control)



<u>ภาพที่ 8</u> การพัฒนาของแคลลัสของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 2 ในสภาพแสง LED สีแดง



<u>ภาพที่ 9</u> การพัฒนาของแคลลัสของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 2 ในสภาพแสง LED สีน้ำเงิน

ภาพที่ 10 การพัฒนาของแคลลัสของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 2 ในสภาพแสง Growlux

2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบและยอดของปาล์มน้ำมัน

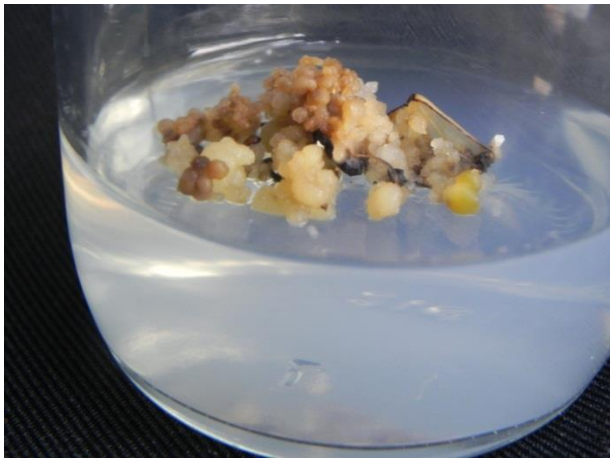
นำยอดของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 ที่ใบอ่อนยังไม่คลี่ออก ลักษณะพับซ้อนคล้ายพัดมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจาน เปิดน้ำไหลทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นเลือกชิ้นส่วนที่มีเนื้อเยื่อสีขาดบริเวณฐานของใบอ่อนมาแช่ในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์นาน 1 นาที ต่อด้วยสารฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 10% นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาดนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง แล้วตัดชิ้นส่วนใบอ่อนที่มีสีขาวและเนื้อเยื่อบริเวณยอด ขนาด 0.5 X 0.5 เซนติเมตร เลี้ยงในอาหารเพื่อการกระตุ้นการเกิดแคลลัสที่ประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน 3 ชนิด คือ dicamba, picloram และ brassinolide ที่ระดับความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า การเลี้ยงใบอ่อนในสภาพที่มืดจะทำให้เกิดแคลลัสได้จากสูตรอาหาร MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ระยะเวลา 2.5 เดือน สอดคล้องกับ อาสลัน (2545) ศึกษาการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนรา พบว่า ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสของปาล์มน้ำมัน คือ dicamba เข้มข้น 1-5 มิลลิกรัม/ลิตร (ชักนำแคลลัสได้เฉลี่ย 9.11 เปอร์เซ็นต์) และจากรายงานของชยานิจ และคณะ (2552) ได้รายงานการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนคัพภะอ่อน ช่อดอกอ่อน และใบอ่อนของปาล์มน้ำมันลูกผสม tenera พันธุ์สุราษฎร์ธานี 3 บนอาหารสูตร MS และ Y3 ที่เติม dicamba ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อชักนำให้ชิ้นส่วนสร้างแคลลัส ส่วนใบอ่อนมีอัตราการเกิดแคลลัสสูงสุด 24.63% เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba 15 μM และสูตรอาหาร MS ร่วมกับ picloram ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ระยะเวลา 6 เดือน ทำให้เกิดแคลลัสที่มีลักษณะกลมมีสีน้ำตาลอ่อนเกิดขึ้นที่บริเวณขอบใบ

(ภาพที่ 11) จากนั้นเปลี่ยนอาหารลงในสูตรอาหารที่มีการเติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 mg/l เพื่อให้แคลลัสมีการเพิ่มปริมาณและเกิดการพัฒนา พบว่า แคลลัสไม่สามารถพัฒนาต่อไปได้ (ภาพที่ 12)

MS + dicamba 1 mg/l

MS + picloram 3 mg/l

<u>ภาพที่ 11</u> การเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบอ่อนของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี



<u>ภาพที่ 12</u> แคลลัสจากใบอ่อนของปาล์มน้ำมัน บนอาหาร MS + 2,4-D 0.1 mg/l

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. การชักนำให้เกิดแคลลัสของปาล์มน้ำมันจำนวน 2 พันธุ์ โดยใช้สภาพแสง 4 ชนิด สามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้ทุกชนิดไม่แตกต่างกัน แนะนำการใช้แสง LED สีขาวเพื่อการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีในปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2 เนื่องจากมีราคาถูกและหาซื้อได้ง่ายในท้องตลาด สำหรับขั้นตอนการพัฒนา embryogenesis callus พบว่า ชนิดของแสงมีผลต่อการพัฒนาแคลลัส โดยแสง Grow lux จะทำให้ได้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักที่ดีในพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2

2. การเพาะเลี้ยงใบอ่อนของปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี 1 สามารถเกิดได้เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีการเติม dicamba 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่แคลลัสที่ได้ยังไม่สามารถพัฒนาต่อไปได้ จึงควรปรับปรุงสูตรอาหารและวิธีการเพื่อให้เหมาะสมต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เป็นข้อมูลพื้นฐานที่ได้จากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำแคลลัสปาล์มน้ำมัน และการพัฒนาแคลลัสให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ของปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 และ 2 และควรศึกษาเพิ่มเติมเพื่อนำไปพัฒนาสำหรับปาล์มน้ำมันพันธุ์แนะนำพันธุ์อื่นๆ ของกรมวิชาการเกษตรต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานีที่อนุเคราะห์เมล็ดปาล์มน้ำมันและคำแนะนำต่างๆ เพื่อนำมาใช้ในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

คำนูณ กาญจนภูมิ. 2542. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 162 หน้า.

ชยานิจ ดิษฐบรรจง, กษิดิศ ดิษฐบรรจง, ภุมรินทร์ วณิชชนานันท์, อรรัตน์ วงศ์ศรี และ อรุณี ใจเถิง. 2552. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน *ใน* เรื่องเต็มการประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 : สาขาพืช วันที่17-20 มีนาคม 2552 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 641 หน้า

ชุมพล คุณวาสี. 2549. เอกสารประกอบการสอนวิชา 2303 107 General Biology. ภาควิชาพฤกษศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 15 หน้า.

พีรเดช ทองอำไพ. พัฒนาพันธุ์ปาล์มน้ำมัน (2). 25 ธันวาคม 2556. สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) : https://www.arda.or.th

ภุมรินทร์ วณิชชนานันท์, ชยานิจ ดิษฐบรรจง, กษิดิศ ดิษฐบรรจง และ อรรัตน์ วงศ์ศรี. 2554. การเพิ่มจำนวนและการเจริญเติบโตของแคลลัสปาล์มน้ำมันโดยใช้ Silver nitrate และ Polyamine. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 เล่ม1 . สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ, กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. หน้า : 510-522.

สมปอง เตชะโต, พรชัย เหลืองอาภาพงศ์, จรัสศรี นวลศรี และ วันทนา เอ้งย่อง. 2350. การชักนำแคลลัสปฐมภูมิในปาล์มน้ำมันโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนใบอ่อน. ว.สงขลานครินทร์. 8 : 1-6.

อมรรัตน์ วงษ์นอก. 2549. ผลของไดโอดเปล่งแสงและสูตรอาหารต่อการพัฒนาของกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิสในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, ภาควิชาพืชสวน, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 71 หน้า

อาสลัน หิเล. 2545. การเพาะเลี้ยงใบอ่อนของต้นปาล์มน้ำมันที่ให้ผลผลิตดีเพื่อการขยายพันธุ์. วิทยาพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพืชศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 40 หน้า.

Jackson, W.T. 1962. Use of carbowaxes (polyethylene glycols) as osmotic agents. Plant Physiol. 37: 513–519.

Paulo Sérgio Gomes da Rocha, Roberto Pedroso de Oliveira and Walkyria Bueno Scivittaro. 2013. Sugarcane micropropagation using light emitting diodes and adjustment in growth-medium sucrose concentration. Ciência Rural, Santa Maria 43 (7) : 1168-1173.

Ravindra B.M. and K. Nataraja. 2007. Brassinosteroids Influences in vitro Regeneration Using Shoot Tip Sections of *Cymbidium elegans* Lindl. Asian J.Plant. Sci, 6(2) : 308-313.