

การเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่องานผลิตพันธุ์มะพร้าวลูกผสมกะทิ

สุภาภรณ์ สาชาติ¹ กุลินดา แทนจันทร์² อรทัย ธนัญชัย² หยกทิพย์ สุดารีย์²

ปริญดา หรุณheim³ ทิพยา ไกรทอง² วิไลวรรณ ทวิชศรี¹ กาญจนา ทองนะ¹

Supapon Sachati¹ Kulinda Thanjun² Orathai Tananchai² Yokthip Sudaree²

Parinda Hrunheem³ Tippaya Kraitong² Wilaiwan Tawichsri¹ Karnjana Thongna¹

บทคัดย่อ

การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตต้นกล้ามะพร้าวลูกผสมกะทิ มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอมะพร้าวลูกผสมกะทิ และการขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณโดยการผ่าแบ่งครั้งต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อเพื่องานผลิตพันธุ์มะพร้าว ดำเนินการปี 2561-2564 ที่สถาบันวิจัยพืชสวนและศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร ประกอบด้วย 2 การทดลอง คือ การเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอมะพร้าวลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์น้ำหอม x กะทิ (NHK), มลายูสีแดงต้นเตี้ย x กะทิ (RDK), พุงเคิ้ลัด x กะทิ (TKK), เวสต์อ์ฟริกกันตันสูง x กะทิ (WAK) และมลายูสีเหลืองต้นเตี้ย x กะทิ (YDK) และการศึกษาผลของอายุผลและการผ่าแบ่งครั้งต้นอ่อนจากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอที่มีต่อการชักนำยอดของมะพร้าวลูกผสมกะทิพันธุ์ชุมพร 84 - 2 ผลการศึกษาพบว่า ได้เทคนิคการเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอมะพร้าวลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์ คือ 1) ระยะ Germination: ใช้เอ็มบริโอที่อายุ 10 - 11 เดือน วางแบบแนวตั้งขึ้นบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงในที่มืดนาน 1 - 2 เดือน 2) ระยะ Shoot Formation: ย้ายเอ็มบริโอที่เริ่มงอกและเกิดราก เลี้ยงในอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร B2 ในที่สว่าง เปลี่ยนอาหารสูตรเดิมทุก 1 - 2 เดือน ตัดจาวในการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 2 ทำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์ และ 3) ระยะ Root Formation: สำหรับต้นอ่อนที่ไม่มีรากหรือรากไม่สมบูรณ์ เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Modified Chu N6 (Mo N6) เปลี่ยนอาหารสูตรเดิมทุก 2 - 3 เดือน ต้นจะเกิดรากสมบูรณ์ สำหรับขั้นตอนการขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณโดยการผ่าแบ่งครั้งยอดจากเอ็มบริโอของมะพร้าวลูกผสมกะทิพันธุ์ชุมพร 84-2 ในสภาพปลอดเชื้อ ที่อายุผล 10 และ 11 เดือน และเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin 3.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการพัฒนาในที่สว่าง ร้อยละ 161.5 และ 149.5 ตามลำดับ และการพัฒนาเป็นต้นกล้าร้อยละ 95.5 และ 108.5 ตามลำดับ และชักนำให้เกิดราก โดยใช้อาหารเหลวสูตร Modified Chu N6 (Mo N6) เปลี่ยนอาหารสูตรเดิมทุก 2 - 3 เดือน

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ มะพร้าวลูกผสมกะทิ การตัดจาว การผ่าครั้งเอ็มบริโอ การชักนำราก

¹ สถาบันวิจัยพืชสวน ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

¹ Horticulture Research Institute, Phahonyothin Road, Ladyao Subdistrict, Chatuchak District, Bangkok 10900

² ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร ต.วิสัยใต้ อ.สวี จ.ชุมพร 86130

² Chumphon Horticultural Research Centre, Wisai Tai, Sawi, Chumphon 86130

³ ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชสุราษฎร์ธานี ต.คันธุลี อ.ท่าชนะ จ.สุราษฎร์ธานี 84170

³ Suratthani Seed Research and Development Center Khanthuli, ThaChana, Suratthani 84170

คำนำ

มะพร้าวกะทิ (Makapuno coconut) โดยทั่วไปพบว่า เกิดร่วมกับมะพร้าวเนื้อผลปกติในทะลายหรือต้นเดียวกัน หรือบางต้นเท่านั้น ในธรรมชาติมะพร้าว 1,000 ลูก จะพบมะพร้าวกะทิเพียง 1-3 ลูกเท่านั้น หรือไม่เกิน 0.3 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากพันธุกรรมที่ควบคุมการเกิดเนื้อกะทิเป็นลักษณะด้อย และสูญเสียความสามารถในการงอกด้วยวิธีปกติ ต้องขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ (Embryo culture) เนื้อของมะพร้าวกะทิมีลักษณะเด่น คือ เนื้อหนา พู อ่อนนุ่ม รสชาติหวานมัน อร่อย คุณค่าทางโภชนาการ คือ มีไขมันต่ำกว่ามะพร้าวแฉะร้อยละ 48 เส้นใยอาหารสูงกว่ามะพร้าวแฉะถึงร้อยละ 76 (อินทิตรา, 2552) และมีกรดลอริกสูงถึงร้อยละ 46 ช่วยให้ง่ายต่อการดูดซึมไขมัน ลดคอเลสเตอรอลในเลือด ป้องกันโรคหัวใจ โรคอ้วน (สมชาย และคณะ, 2555) จึงเป็นที่ต้องการของตลาดผู้บริโภคที่รักสุขภาพและตลาดขนมหวาน

การใช้เนื้อมะพร้าวกะทิในแต่ละปี ประมาณ 150,000 กิโลกรัม หรือ 300,000 ผล (ศิริเวศ, 2562) ทำให้การขยายตัวของตลาดมะพร้าวกะทิมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ปัจจุบันสามารถซื้อขายสินค้าผ่านทางออนไลน์ใน Facebook หรือแพลตฟอร์มอีคอมเมิร์ซ เช่น Shopee และ Lazada ซึ่งมีราคา 150-250 บาทต่อลูก ส่วนราคาหน้าสวนอยู่ในช่วง 60-100 บาทต่อผล การส่งออกมะพร้าวกะทิมีหลายรูปแบบ ทั้งมะพร้าวกะทิผลสด เนื้อมะพร้าวกะทิแช่แข็ง เป็นต้น นอกจากนี้มีการใช้ในอุตสาหกรรมอื่น เช่น เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์อาหาร อุตสาหกรรมยา และอาหารเสริม เป็นต้น ผลผลิตมะพร้าวกะทิไม่เพียงพอความต้องการของตลาด ประกอบกับข้อจำกัดในการขยายพันธุ์มะพร้าวกะทิเป็นอุปสรรคต่อการเพิ่มพื้นที่การผลิตให้เพียงพอต่ออุตสาหกรรม

การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอมะพร้าวลูกผสมกะทิของกรมวิชาการเกษตรในสภาพปลอดเชื้อในปัจจุบันพบว่า การพัฒนาของเอ็มบริโอในที่มีอยู่ในช่วงร้อยละ 46.0 - 60.4 เป็นระดับต่ำถึงปานกลาง และเมื่อย้ายไปเลี้ยงในที่สว่าง การพัฒนาเป็นต้นอ่อนลดลงเหลือร้อยละ 16.6 - 35.4 และเลี้ยงต่อจนพัฒนาเป็นต้นกล้าเหลือร้อยละ 5.4 - 18.0 จากปัญหาการพัฒนาเป็นต้นกล้าของเอ็มบริโอของมะพร้าวลูกผสมกะทิอยู่ในระดับต่ำ กรมวิชาการเกษตรได้เล็งเห็นถึงปัญหาดังกล่าว จึงได้มอบหมายสถาบันวิจัยพืชสวน ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร และศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชสุราษฎร์ธานี วิจัยพัฒนาและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตต้นกล้ามะพร้าวลูกผสมกะทิ เพื่อให้ได้เทคโนโลยีและขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอมะพร้าวลูกผสมกะทิ และขั้นตอนการขยายพันธุ์โดยการผ่าแบ่งครึ่งต้นอ่อนจากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในสภาพปลอดเชื้อ เป็นองค์ความรู้ที่มีประสิทธิภาพสำหรับช่วยงานด้านงานผลิตพันธุ์หลักและการปรับปรุงพันธุ์ของกรมวิชาการเกษตร

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1. การพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในมะพร้าวลูกผสมกะทิ

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาสูตรอาหารและลักษณะการวางเอ็มบริโอที่มีผลต่อการงอกของเอ็มบริโอมะพร้าวลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์ในที่มีด ได้แก่ สายพันธุ์ น้ำหอม x กะทิ (NHK) สายพันธุ์ มลายูสีเหลืองต้นเตี้ย x กะทิ (YDK) สายพันธุ์ มลายูสีแดงต้นเตี้ย x กะทิ (RDK) สายพันธุ์ พุงเคล็ด x กะทิ (TKK) และ สายพันธุ์ เวสต์อัฟริกันต้นสูง x กะทิ

(WAK) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 3 ซ้ำ ขนาดของหน่วยทดลอง (Experimental unit) 3 ขวด (เอ็มบริโอ) มี 3 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 อาหารเหลว สูตร Y3 ดัดแปลง (ปริญดา, 2561) กรรมวิธีที่ 2 อาหารแข็ง สูตร Y3 ดัดแปลง (ปริญดา, 2561) และวางเอ็มบริโอแนวตั้ง และกรรมวิธีที่ 3 อาหารแข็ง สูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร บันทึกข้อมูลการพัฒนาของเอ็มบริโอ และเปอร์เซ็นต์การออกของเอ็มบริโอ

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาช่วงระยะเวลาในการตัดจาวที่เหมาะสมต่อการพัฒนาส่วนยอดของต้นอ่อนมะพร้าวลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 2 กรรมวิธี ขนาดของหน่วยทดลอง (Experimental unit) แต่ละสายพันธุ์ 4 ขวด (ต้น) ตัดจาวตามกรรมวิธีที่กำหนด ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 ตัดจาวในการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 1 (อายุประมาณ 2 เดือน) กรรมวิธีที่ 2 ตัดจาวในการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 2 (อายุประมาณ 4 เดือน) โดยสังเกตลักษณะของยอด ให้มีความยาวยอดประมาณ 0.5 - 1 เซนติเมตร ทดลองตัดจาว 2 ระยะ และย้ายไปเลี้ยงในที่สว่าง บนอาหารแข็งสูตร Y3 ดัดแปลง (ปริญดา, 2561) นาน 6 เดือน (นับจากเริ่มเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ) บันทึกข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโตและความสูงของยอด

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดรากในมะพร้าวลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 4 กรรมวิธี มีขนาดของหน่วยทดลอง (experimental unit) แต่ละสายพันธุ์ 4 ขวด (ต้น) ตามกรรมวิธีที่กำหนด ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 และ 2 อาหารเหลว สูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (อรทัย, 2562) เลี้ยงนาน 1.5 และ 3 เดือน ตามลำดับ และกรรมวิธีที่ 3 และ 4 อาหารเหลวสูตร Modified Chu N6 (Mo N6) (Thuzar *et al.*, 2011) เลี้ยงนาน 1.5 และ 3 เดือน ตามลำดับ โดยนำต้นอ่อนมะพร้าวลูกผสมกะทิที่ตัดจาวแล้ว และมีอายุเฉลี่ย 6 - 8 เดือน มาทดลองเลี้ยงในอาหาร 2 สูตรตามกรรมวิธีที่กำหนด วางบนชั้นเลี้ยงเนื้อเยื่อในที่สว่าง บันทึกข้อมูลจำนวนรากหลักสะสมเฉลี่ยของมะพร้าว กะทิ 5 สายพันธุ์ หลังเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรต่างๆ นาน 1.5 และ 3 เดือน และลักษณะของการพัฒนาของราก

การทดลองที่ 2. ผลของอายุผลและการผ่าแบ่งเอ็มบริโอ ที่มีต่อการชักนำยอดของมะพร้าวลูกผสมกะทิพันธุ์ชุมพร 84-2

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 6 กรรมวิธี 5 ซ้ำ มีขนาดของหน่วยทดลอง (Experimental unit) 10 ขวด (ชิ้นส่วน) ตามกรรมวิธีที่กำหนด ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 2 และ 3 ชิ้นส่วนผ่าแบ่งครึ่งยอดจากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอจากผลพันธุ์ ที่อายุ 9 10 และ 11 เดือน และเลี้ยงในอาหาร สูตร Y3 ดัดแปลง และกรรมวิธีที่ 4 5 และ 6 ชิ้นส่วนผ่าแบ่งครึ่งยอดจากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอจากผลพันธุ์ ที่อายุ 9 10 และ 11 เดือน และเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin 3.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เพาะเลี้ยงเอ็มบริโอจากผลพันธุ์มะพร้าวลูกผสมกะทิพันธุ์ชุมพร 84-2 ที่อายุ 9 10 และ 11 เดือน ในอาหารแข็ง Y3 ดัดแปลง (ปริญดา, 2561) วางในที่มืด ประมาณ 1 - 2 เดือน ให้เอ็มบริโอเริ่มมีการพัฒนาเป็น ยอด นำยอดมาผ่าแบ่งครึ่ง และนำชิ้นส่วน (ยอดที่ผ่าแบ่งครึ่งได้ 2 ชิ้นส่วน) เลี้ยงบนอาหาร 2 สูตร คือ สูตร Y3 ดัดแปลง (ปริญดา, 2561) และสูตร MS ที่เติม IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin 3.2 มิลลิกรัมต่อ ลิตร (Sisunandar, 2015) วางในที่สว่าง บันทึกข้อมูลการพัฒนาในที่สว่าง และการพัฒนาเป็นต้นกล้า

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ 1. การพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในมะพร้าวลูกผสมกะทิ

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาสูตรอาหารและลักษณะการวางเอ็มบริโอที่มีผลต่อการงอกของเอ็มบริโอมะพร้าวลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์ในที่มืด

การเลี้ยงเอ็มบริโอของมะพร้าวลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์ ในอาหารแข็งสูตร Y3 ดัดแปลง และ MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตรที่เลี้ยงในที่มืด การงอกของเอ็มบริโอมีการพัฒนาอยู่ในช่วงร้อยละ 69.0-99.7 ในขณะที่การเลี้ยงในอาหารเหลวนั้น การงอกของเอ็มบริโอมีการพัฒนาอยู่ในช่วงร้อยละ 50.7-72.3 โดยมะพร้าวลูกผสมกะทิสายพันธุ์ TKK ที่เลี้ยงในอาหารแข็งทั้ง 2 สูตร มีการงอกของเอ็มบริโอมากกว่าอาหารเหลวสูตร Y3 ดัดแปลงในที่มืด อย่างมีนัยสำคัญ (Table 1 ; Figure 1) และในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีลักษณะของยอดที่ยาวกว่าในอาหารแข็งสูตร Y3

Table 1 Embryo germination percent of 5 varieties hybrid Kathi coconut after 8 weeks of culturing in medium with embryo placement characteristics in the dark

Treatment	Embryo germination in the dark (percent)				
	NHK	RDK ^{1/}	TKK ^{1/}	WAK	YDK
Modified Y3 liquid medium	51.0	53.3 b	50.7 b	60.0	72.3
Modified Y3 solid medium placed upward	86.7	74.0 ab	86.7 a	69.0	74.0
MS solid medium with 2,4-D 1 mg l ⁻¹ placed upward	80.0	86.7 a	99.7 a	93.3	82.3
C.V. (%)	44.8	20.0	18.5	29.5	22.7

^{1/} Mean followed by a common letter are not significantly different at the 5% level DMRT

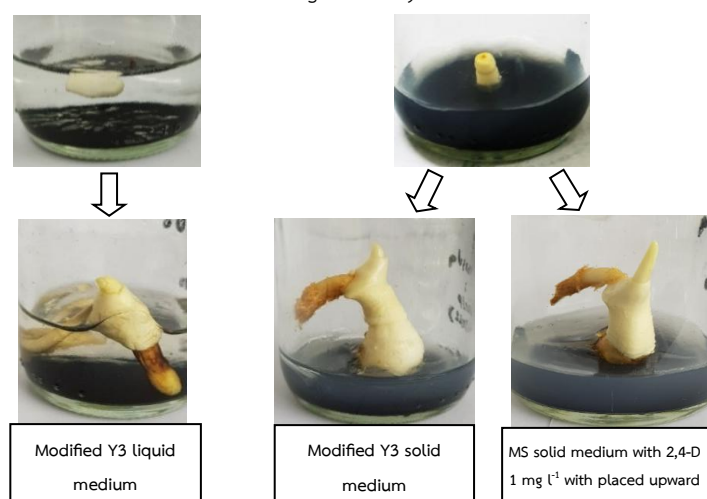


Figure 1 Embryo germination of hybrid Kathi coconut after 8 weeks of culturing in medium with embryo placement characteristics in the dark

เมื่อย้ายเอ็มบริโอจากทั้ง 3 กรรมวิธี ลงเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Y3 ดัดแปลง ในที่สว่าง พบว่า เอ็มบริโอที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Y3 ดัดแปลง มีการพัฒนาต่อเป็นต้นอ่อนเพียงร้อยละ 28.7-53.3 ในขณะที่เอ็มบริโอที่ได้จากการเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Y3 ดัดแปลง และ MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และวางเอ็มบริโอแบบตั้งขึ้น มีการพัฒนาต่อเป็นต้นอ่อนร้อยละ 62.7-99.7 โดยมีมะพร้าวลูกผสมกะทิ สายพันธุ์ NHK และTKK ที่เลี้ยงในอาหารแข็งทั้ง 2 สูตร มีการพัฒนาต่อเป็นต้นอ่อนในที่สว่างมากกว่าอาหารเหลวสูตร Y3 ดัดแปลง อย่างมีนัยสำคัญ (Table 2) สอดคล้องกับ Pech Y Ake *et al.* (2004) ที่ได้ศึกษาการหายใจแบบแอโรบิกที่เพิ่มขึ้นช่วยปรับปรุงการงอกและการพัฒนาเป็นต้นอ่อนของเอ็มบริโอมะพร้าวในหลอดทดลอง โดยทดสอบการงอกของเอ็มบริโอมะพร้าวพันธุ์ Malayan Green Dwarf (MGD) ในอาหารเหลวและอาหารแข็ง พบว่า ร้อยละการงอกเพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงเอ็มบริโอในอาหารแข็ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อวางเอ็มบริโอด้านที่มี Micropyle ให้หงายตั้งขึ้น ทำให้สัมผัสกับอากาศภายในขวด และการงอกของเอ็มบริโอจะถูกยับยั้งเมื่อบรรยากาศแวดล้อมถูกแทนที่ด้วย N_2 หรือเมื่อเติมสารยับยั้งการหายใจแบบใช้ออกซิเจนลงในอาหาร แต่จะไม่ถูกยับยั้งเมื่อบรรยากาศถูกแทนที่ด้วย N_2/O_2 (50:50, v/v) แสดงให้เห็นว่า การงอกของเอ็มบริโอต้องใช้การหายใจแบบใช้ออกซิเจน และการงอกในสภาพวางหงายตั้งขึ้นจะส่งผลให้ต้นกล้าพัฒนาดีขึ้น

Table 2 Embryo development percent of 5 varieties hybrid Kathi coconut, from cultured medium with embryo placement characteristics in the dark, after 8 weeks of sub-culturing in modified Y3 solid medium and transferring to the light

Treatment	Embryo development in the light (percent)				
	NHK ^{1/}	RDK	TKK ^{1/}	WAK ^{1/}	YDK
Modified Y3 liquid medium	28.7 b	45.0	35.7 b	53.3 b	45.3
Modified Y3 solid medium with placed upward	80.0 a	62.7	86.7 a	69.0 ab	62.7
MS solid medium with 2,4-D 1 mg l ⁻¹ placed upward	73.3 a	86.7	99.7 a	93.3 a	82.3
C.V. (%)	35.5	34.8	27.8	27.5	30.6

^{1/} Mean followed by a common letter are not significantly different at the 5% level DMRT

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาช่วงระยะเวลาในการตัดจาวที่เหมาะสมต่อการพัฒนาส่วนยอดของต้นอ่อนมะพร้าว ลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์

การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอมะพร้าว ไม่ได้มีระบุเรื่องการตัดจาว (Endosperm) ที่ ซึ่งจากการทดลองในปี 2561 พบการเน่าของจาวในทุกระยะการพัฒนาของชิ้นส่วนมะพร้าวลูกผสมกะทิ จึงได้ศึกษาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมในการตัดจาวที่มีผลต่อการพัฒนาส่วนยอดของต้นอ่อนมะพร้าว โดยนำต้นอ่อนมะพร้าวที่อายุ 1-2 เดือน มาทำการตัดจาวในการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 1 และนำต้นอ่อนมะพร้าวที่อายุ 3-4 เดือน มาตัดจาวในการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 2 หลังจากตัดจาวแล้วให้เลี้ยงในที่สว่างจนครบ 6 เดือน (นับจากเริ่มเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ) พบว่า การตัดจาวในการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 2 ของมะพร้าวลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์ ทำให้ต้นอ่อนมีความสูงเฉลี่ยมากกว่าต้นอ่อนที่ทำการตัดจาวในการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 1 (Table 3) มะพร้าว

ลูกผสมกะทิสายพันธุ์ NHK, TKK และ WAK มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการตัดจาวในการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 1 ทำให้ต้นอ่อนมะพร้าวชะงักการเจริญเติบโต เนื่องจากจาวมะพร้าวเป็นแหล่งอาหารของต้นอ่อน แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปอาหารที่สะสมไว้ในจาว หมดลงการตัดจาวจึงไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต (Figure 2)

Table 3 The average height shoots after cutting cotyledon in the first and second subcultures of 5 varieties hybrid Kathi coconut after culture for six months (from the start of embryo culture)

Treatment	The average height shoots (centimeter)				
	NHK ^{1/}	RDK	TKK ^{1/}	WAK ^{2/}	YDK
The cutting cotyledon in the first subculture	5.1 b	5.3	3.8 b	3.4 b	6.5
The cutting cotyledon in the second subculture	9.6 a	6.3	9.3 a	7.6 a	8.5
C.V. (%)	33.6	43.2	36.6	26.3	35.1

^{1/} Mean followed by a common letter are not significantly different at the 5% level DMRT

^{2/} Mean followed by a common letter are not significantly different at the 1% level DMRT



Figure 2 Shoots after the cutting cotyledon in the first (A) and second subcultures (B) of hybrid Kathi coconut after culture for six months (from the start of embryo culture)

ขั้นตอนที่ 3 สูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดรากในมะพร้าวลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์

จากการทดลองที่ผ่านมา การใช้อาหารเหลวสูตร Y3 ดัดแปลง ในการชักนำราก พบว่า สามารถชักนำรากได้ แต่เนื่องจากชิ้นส่วนเอ็มบริโอบางชิ้นส่วนจะมีเพียงรากหลักรากเดียวมีรากแขนงน้อย ต้นอ่อนแบบนี้มักตายในขั้นตอนการอนุบาล เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดรากได้มากขึ้น จึงได้ทำการศึกษาสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดรากในมะพร้าวลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์ จากการสังเกตพบว่า ต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Modified Chu N6 (Mo N6) (Thuzar *et al.*, 2011) นาน 3 เดือน สามารถเพิ่มจำนวนรากแขนงได้ดีกว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Modified Chu N6 (Mo N6) นาน 1.5 เดือนและที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1.5 และ 3 เดือน (Figure 3)

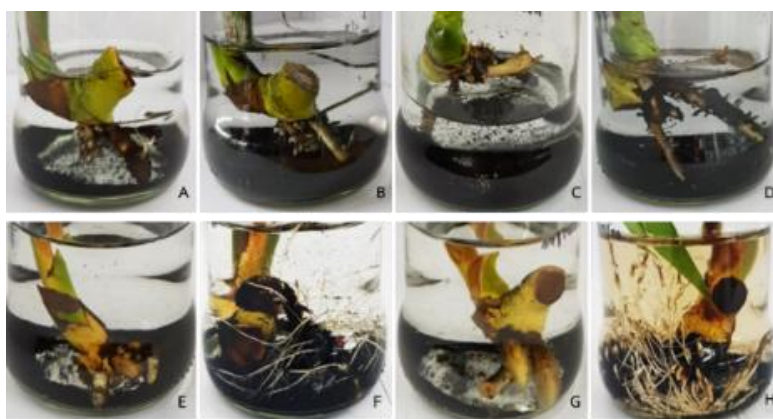


Figure 3 Characteristics of roots grown in liquid MS medium with 2,4-D 1 mg L⁻¹ after 1.5 months (A and C) and 3 months (B and D) and cultured in Modified Chu N6 medium after 1.5 months (E and G) and 3 months (F and H)

ผลการทดลองจากการปรับเปลี่ยนวิธีการและสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอมะพร้าวลูกผสมกะทิ คือ 1) วางเอ็มบริโอของมะพร้าวลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์ จากผลพันธุ์มะพร้าวอายุ 11 เดือน แบบตั้งขึ้น ในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงในที่มืด ทำให้เอ็มบริโอออกสูงถึงร้อยละ 80-99.7 และยอดยืดยาวขึ้น และ 2) ตัดจาวในการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 2 (เมื่อต้นอ่อนมีอายุประมาณ 4 เดือน) มีความเหมาะสมต่อการพัฒนยอดของต้นอ่อนมะพร้าวลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์ และได้นำมาใช้ในการทดสอบ Protocol ผลจากการศึกษาข้อมูลเพิ่มเติม พบว่า การใช้อาหารสูตร B2 (Rillo *et al.*, 2002) สามารถช่วยพัฒนยอดและรากของเอ็มบริโอในที่มืดและที่สว่างได้ จึงได้ทดลองซ้ำในเรื่องการศึกษาการชักนำการเกิดยอดของมะพร้าวลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์จากเอ็มบริโอ โดยเฉพาะเลี้ยงเอ็มบริโอที่มีอายุ 11 เดือน บนอาหารแข็ง 3 สูตร ได้แก่ สูตร Y3 ดัดแปลง (Control), สูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตร B2 ผลการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในที่มืดเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า แต่ละสายพันธุ์ตอบสนองต่อสูตรอาหารแตกต่างกัน โดยสายพันธุ์ NHK และ WAK มีการพัฒนาของเอ็มบริโอสูงที่สุดในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 68.75 และ 60.00 ตามลำดับ ส่วนสายพันธุ์ RDK และ TKK มีการพัฒนาสูงที่สุดใน 2 สูตรอาหารเท่าๆ กัน คือ Y3 ดัดแปลง และ B2 คิดเป็นร้อยละ 81.25 และ 70.59 ตามลำดับ ในขณะที่สายพันธุ์ YDK มีการพัฒนาสูงที่สุดในสูตรอาหาร B2 คิดเป็นร้อยละ 72.73 (Table 4)

Table 4 Compares the percentage of development of embryos in the dark of 5 varieties hybrid Kathi coconut at the Chumphon Horticulture Research Center in 2020

Treatment	Embryo development in the dark (percent)				
	NHK	RDK	TKK	WAK	YDK
Modified Y3	57.89	81.25	70.59	31.25	57.89
MS solid medium with 2,4-D 1 mgL ⁻¹	68.75	56.25	50.00	60.00	60.00
B2	63.16	81.25	70.59	36.84	72.73

การเปรียบเทียบความสูงของต้นกล้ามะพร้าวลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์ เมื่อเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอครบ 32 สัปดาห์ พบว่า ต้นกล้ามีการพัฒนาใบที่ยืดยาวและขยายกว้างมากขึ้น (Figure 6 และ Table 5) โดยผลการเจริญเติบโตด้านความสูงของแต่ละสายพันธุ์มีดังนี้

มะพร้าวลูกผสมกะทิสายพันธุ์ NHK พบว่า กรรมวิธีที่ 2 ให้ความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด 14.5 เซนติเมตร ขณะที่สายพันธุ์ RDK ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 5.8–11.0 เซนติเมตร ส่วนสายพันธุ์ TKK ให้ผลดีที่สุดในการวิธีที่ 2 และ 4 ที่ความสูงเฉลี่ย 13.3 และ 13.2 เซนติเมตรตามลำดับ สำหรับสายพันธุ์ WAK พบว่า กรรมวิธีที่ 2 ให้ความสูงเฉลี่ยสูงสุดถึง 17.0 เซนติเมตร และสายพันธุ์ YDK พบว่า กรรมวิธีที่ 6 ให้ความสูงเฉลี่ยมากที่สุดที่ 13.5 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยในการวิธีที่ 4 ไม่พบการพัฒนาด้านความสูงของต้น อย่างไรก็ตาม สูตร B2 ในที่สว่างมีผลต่อการเพิ่มความสูงต้นโดยเฉพาะในสายพันธุ์ NHK, TKK และ WAK

Table 5 Effects of culture media and conditions on shoot length of 5 varieties hybrid Kathi coconut lines at 32 weeks of culture

Treatment	Shoot length (cm.)				
	NHK ^{1/}	RDK	TKK ^{1/}	WAK ^{1/}	YDK ^{1/}
Treatment 1 Y3 (darkroom)/ Y3 (lightroom) (control)	8.7 ^b	11.0	7.0 ^b	10.0 ^{ab}	6.0 ^{ab}
Treatment 2 Y3 (darkroom)/ B2 (lightroom)	14.5 ^a	9.3	13.3 ^a	17.0 ^a	5.3 ^b
Treatment 3 MS (darkroom)/ Y3 (lightroom)	11.0 ^{ab}	8.9	5.8 ^b	3.0 ^c	13.3 ^{ab}
Treatment 4 MS (darkroom)/ B2 (lightroom)	9.8 ^{ab}	9.8	13.2 ^a	9.7 ^b	0
Treatment 5 B2 (darkroom)/ Y3 (lightroom)	11.7 ^{ab}	5.8	8.7 ^b	12.5 ^{ab}	7.2 ^{ab}
Treatment 6 B2 (darkroom)/ B2 (lightroom)	7.6 ^b	8.4	8.3 ^b	6.5 ^{bc}	13.5 ^{ab}
C.V. (%)	22.66	32.84	23.41	22.26	46.66

^{1/} Mean followed by a common letter are not significantly different at the 5% level DMRT

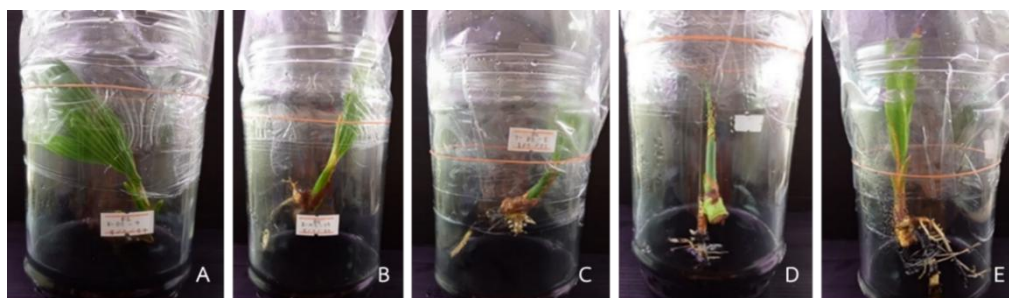


Figure 6 Characteristics of five varieties of hybrid Kathi coconut seedling at 32-week-old, NHK (A), RDK (B), TKK (C), WAK (D) and YDK (E)

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอมะพร้าวลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์ ได้ดำเนินการเพาะเลี้ยงหลายช่วงเวลา/ฤดูกาล โดยแต่ละชุดจะเป็นผลพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวในช่วงเวลาใกล้เคียงกัน แต่ได้รับปัจจัยสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันในแต่ละครั้งของการผสมพันธุ์ ซึ่งส่งผลต่อความสมบูรณ์ของผลพันธุ์ เนื่องจากมะพร้าวเป็นพืชที่ดอกตัวเมียทยอยบานใช้เวลาประมาณ 7-15 วัน และการผสมพันธุ์ระหว่างพ่อแม่พันธุ์คนละต้นหรือบางทะลายที่ได้จากพ่อแม่เดียวกันอาจสุกแก่ไม่พร้อมกัน ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การพัฒนาในแต่ละชุดแตกต่างกันออกไป นอกจากนี้การปรับเปลี่ยนจากอาหารเหลวมาเป็นอาหารแข็งในขั้นตอนการเลี้ยงในที่มืด และวางบนอาหารแข็งโดยให้ส่วน

จาวอยู่ในอาหารและส่วนยอดกับรากอยู่ด้านบนจึงช่วยเพิ่มอัตราการพัฒนาเป็นต้นกล้าได้มากขึ้น และเมื่อนำ เอ็มบริโอที่พัฒนายอดและรากแล้วมาเลี้ยงต่อในอาหารเหลว ก็จะพัฒนาเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ได้อย่างรวดเร็ว ยิ่งขึ้น ทั้งนี้ความเข้มข้นของสูตรอาหารก็มีบทบาทสำคัญเช่นกัน โดยสูตรอาหารที่มีความเข้มข้นสูงกว่าสามารถ กระตุ้นการพัฒนาของเอ็มบริโอได้มากกว่าและใช้ระยะเวลาสั้นกว่า แต่ต้องอยู่ในระดับที่ไม่เป็นพิษต่อชิ้นส่วนพืช

การทดลองที่ 2 ผลของอายุผลและการผ่าแบ่งเอ็มบริโอ ที่มีต่อการชักนำยอดของมะพร้าวลูกผสมกะทิพันธุ์ชุมพร 84-2

คัดเลือกมะพร้าวลูกผสมกะทิพันธุ์ชุมพร 84-2 อายุผล 9 เดือน 10 เดือน และ 11 เดือน เตรียมชิ้นส่วนพืช ฟอกฆ่าเชื้อ เริ่มต้นการทดลอง ใช้เอ็มบริโอทำการผ่าครึ่ง เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร Y3 ดัดแปลง ในที่มืด พบว่า ชิ้นส่วน ที่ได้พัฒนาไม่สมบูรณ์ มีลักษณะบวมอย่างเดียว หรือมีการพัฒนาเป็นยอด หรือรากอย่างเดียว และเอ็มบริโอที่พัฒนา สมบูรณ์ทั้งยอดและราก เนื่องจากการผ่าเอ็มบริโอจะสังเกตจุดเจริญได้ยาก จึงได้ปรับเปลี่ยนการใช้ชิ้นส่วนในการผ่า ครึ่ง โดยการเลี้ยงเอ็มบริโอในอาหารแข็ง Y3 ดัดแปลง ในที่มืด ประมาณ 1-2 เดือน เอ็มบริโอพัฒนาเป็นยอด นำยอด มาผ่าแบ่งครึ่งเป็นสองส่วน และเลี้ยงบนอาหารแข็ง 2 สูตร คือ สูตร Y3 ดัดแปลง และ สูตร MS ที่เติม IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin 3.2 มิลลิกรัมต่อลิตร (Sisunandar *et al.*, 2015) ในที่สว่าง พบว่า การผ่าแบ่งครึ่ง ยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การพัฒนาในที่สว่าง (ร้อยละ 122.5-161.5) และการ พัฒนาเป็นต้นกล้า (ร้อยละ 55.5-108.5) (Figure 7 และ Table 6) นอกจากนั้นไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ทั้งปัจจัย ของอายุผลมะพร้าวและสูตรอาหาร โดยการผ่าแบ่งครึ่งยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของมะพร้าวลูกผสมกะทิ พันธุ์ชุมพร 84-2 ที่อายุผล 10 เดือน และ 11 เดือน และเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin 3.2 มิลลิกรัมต่อลิตร (Sisunandar *et al.*, 2015) มีการพัฒนาในที่สว่างร้อยละ 161.5 และ 149.5 ตามลำดับ และการพัฒนาเป็นต้นกล้าร้อยละ 95.5 และ 108.5 ตามลำดับ

Table 6 Comparison of the development of half-sectioned embryo fragments of coconut fruits at 9 months, 10 months, and 11 months in Two Media Formulations

Coconut Fruit Age (months)	Media Formulations	Development in the light ^{1/} (%)	Development of the seedlings ^{1/} (%)
9 months	Modified Y3 medium	122.5	55.5
	MS medium with IBA 0.4 mg l ⁻¹ and Kinetin 3.2 mg l ⁻¹	133.5	58.5
10 months	Modified Y3 liquid medium	144.5	58.5
	MS medium with IBA 0.4 mg l ⁻¹ and Kinetin 3.2 mg l ⁻¹	161.5	95.5
11 months	Modified Y3 liquid medium	138.5	108.0
	MS medium with IBA 0.4 mg l ⁻¹ and Kinetin 3.2 mg l ⁻¹	149.5	108.5
C.V.(%)		15.7	26.2
		ns	ns

^{1/} Mean followed by a common letter are not significantly different at the 5% level DMRT

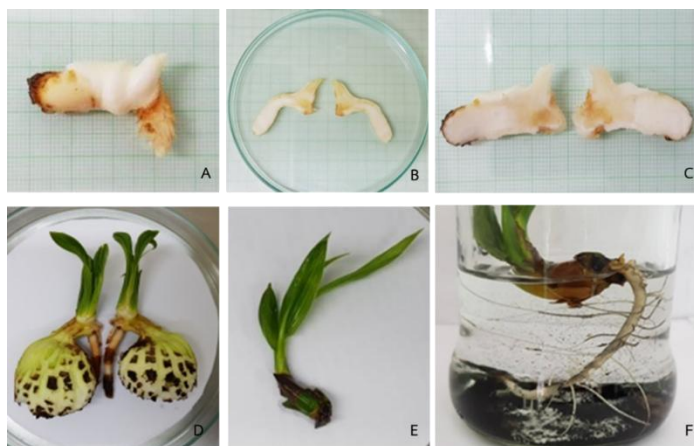


Figure 7 Embryos began germination after 6-8 weeks of culture and were ready to be incised up to halfway of the embryo (A) Characteristics of halved fragments (B, C) incised embryos after 2-3 months of culture ready to be split into two shoots (D) embryo halves No root development (E) and root emergence of embryo halves when cultured in Root medium (F)

อย่างไรก็ตามเอ็มบริโอมะพร้าวลูกผสมพันธุ์ชุมพร 84-2 ของอายุผล 9 เดือน บางเอ็มบริโอมีขนาดเล็กกว่า อายุผล 10 เดือน และ 11 เดือน จึงได้ทำการทดลองซ้ำกรรมวิธีเดิมเฉพาะกับผลมะพร้าวลูกผสมพันธุ์ชุมพร 84-2 ที่ อายุผล 10 เดือน และ 11 เดือน ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกัน ดังนั้น ผลมะพร้าวที่เหมาะสมในการนำเอ็มบริโอมาผ่าครึ่งควร มีอายุ 10-11 เดือน

สรุปผลการทดลอง

การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตต้นกล้ามะพร้าวลูกผสมกะทิ ทำให้ได้เทคนิคการเพิ่มประสิทธิภาพ การผลิตต้นกล้ามะพร้าวลูกผสมกะทิ 2 เทคโนโลยี คือ ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอมะพร้าวลูกผสมกะทิ ที่สามารถทำให้เอ็มบริโอมีการงอกสูงถึงร้อยละ 80-99.7 เพิ่มความยาวยอดและลดระยะเวลาในการ เพาะเลี้ยงลงเหลือ 8 เดือน และขั้นตอนการขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณมะพร้าวลูกผสมกะทิพันธุ์ชุมพร 84-2 โดยการ ผ่าแบ่งครึ่งยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของมะพร้าวลูกผสมกะทิพันธุ์ชุมพร 84-2 ที่อายุผล 10 เดือน และ 11 เดือน และเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin 3.2 มิลลิกรัมต่อลิตร (Sisunandar *et al.*, 2015) มีการพัฒนาในที่สว่างร้อยละ 161.5 และ 149.5 ตามลำดับ และการพัฒนาเป็นต้นกล้า ร้อยละ 95.5 และ 108.5 ตามลำดับ

การนำไปใช้ประโยชน์

1. ได้เทคนิคการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตต้นกล้ามะพร้าวลูกผสมกะทิ 2 เทคโนโลยี คือ ขั้นตอนการ เพาะเลี้ยงเอ็มบริโอมะพร้าวลูกผสมกะทิ และขั้นตอนการขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณมะพร้าวลูกผสมกะทิพันธุ์ชุมพร 84-2 โดยการผ่าครึ่งเอ็มบริโอในสภาพปลอดเชื้อ ที่ทำให้ได้ต้นกล้ามะพร้าว 2 ต้น โดยมีรายละเอียด ดังนี้

เทคโนโลยีที่ 1 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอมะพร้าวลูกผสมกะทิ ที่สามารถปฏิบัติจริงได้ คือ

1) เอ็มบริโอของมะพร้าวลูกผสมกะทิ 5 สายพันธุ์ ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง คือ เอ็มบริโอที่ได้จากมะพร้าวลูกผสมกะทิ อายุ 10 - 11 เดือน และใช้วิธีฟอกฆ่าเชื้อ คือ แช่ด้วย alcohol 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที นำไปฟอกด้วยสารละลาย NaOCl ความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ และ 0.6 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 และ 10 นาที ตามลำดับ ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง พบการปนเปื้อนเชื้อต่ำที่สุด ไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์

2) ระยะ Germination: วางเอ็มบริโอแบบแนวตั้งขึ้นบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 1 - 2 เดือน เอ็มบริโอเริ่มงอกและเกิดราก

3) ระยะ Shoot Formation: ย้ายเอ็มบริโอที่เริ่มงอกและเกิดราก ลงเลี้ยงในอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร B2 (Rillo et al., 2002) ในที่สว่าง เปลี่ยนอาหารสูตรเดิมทุก 1 - 2 เดือน ประมาณ 3 - 4 ครั้ง และตัดจาวในการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 2 เกิดต้นอ่อนที่มียอดและรากสมบูรณ์ และ

4) ระยะ Root Formation: สำหรับต้นอ่อนที่ไม่มีรากหรือมีรากไม่สมบูรณ์ เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Modified Chu N6 (Thuzar et al., 2011) เปลี่ยนอาหารสูตรเดิมทุก 2 - 3 เดือน จำนวน 1 - 2 ครั้ง ต้นอ่อนที่มียอดจะเกิดรากสมบูรณ์

เทคโนโลยีที่ 2 ขั้นตอนการขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณมะพร้าวลูกผสมกะทิพันธุ์ชุมพร 84-2 โดยการผ่าครึ่งเอ็มบริโอในสภาพปลอดเชื้อ ที่สามารถปฏิบัติจริงได้ คือ

1) อายุเอ็มบริโอของผลมะพร้าวลูกผสมกะทิพันธุ์ชุมพร 84-2 ที่เหมาะสม คือ อายุ 10 - 11 เดือน เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และเลี้ยงในที่มืด เป็นเวลา 1 - 2 เดือน โดยสังเกตลักษณะของยอด ให้มีความยาวยอดประมาณ 0.5 - 1 เซนติเมตร สำหรับใช้ในการผ่าครึ่งยอด

2) ผ่าแบ่งครึ่งยอดออกเป็น 2 ส่วนเท่ากัน ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของมะพร้าวลูกผสมกะทิพันธุ์ชุมพร 84-2 ที่อายุผล 10 และ 11 เดือน และเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin 3.2 มิลลิกรัมต่อลิตร (Sisunandar et al., 2015) มีการพัฒนาในที่สว่างร้อยละ 161.5 และ 149.5 ตามลำดับ และการพัฒนาเป็นต้นกล้าร้อยละ 95.5 และ 108.5 ตามลำดับ

3) การชักนำให้เกิดรากใช้อาหารเหลวสูตร Modified Chu N6 (Thuzar et al., 2011) เปลี่ยนอาหารสูตรเดิมทุก 2 - 3 เดือน ประมาณ 1 - 2 ครั้ง ต้นอ่อนที่มียอดจะเกิดรากสมบูรณ์

2. ได้นำไปใช้ประโยชน์ต่อยอดในงานวิจัยหลายงานของโครงการประเมินศักยภาพการขยายพันธุ์เชื้อพันธุ์กรรมสายพันธุ์มะพร้าวน้ำหอมสีเขียวในสภาพปลอดเชื้อ โครงการพัฒนาวิธีการชักนำรากและวัสดุปลูกสำหรับต้นมะพร้าวน้ำหอมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ (ปี 2565 - 2567) และโครงการวิจัยพัฒนาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบรวดเร็วเพื่อการผลิตพันธุ์มะพร้าวพันธุ์ดีของกรมวิชาการเกษตรอย่างมีประสิทธิภาพ และการสร้างแปลงขยายผลเพื่อเพิ่มปริมาณแปลงแม่พันธุ์ (ปี 2567 - 2569) ในการพัฒนาเทคนิคการเกิดยอดรวม (multiple shoots) เพื่อเพิ่มปริมาณต้นอ่อนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบรวดเร็วกับมะพร้าวกะทิพันธุ์แท้ และใช้ในการขยายพันธุ์มะพร้าวกะทิพันธุ์แท้ พันธุ์ กวก. สุราษฎร์ธานี 1 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในสภาพปลอดเชื้อ จำนวนไม่ต่ำกว่า 20,000 ต้น เพื่อจำหน่ายนำเงินเข้าเป็นเงินรายได้กรมวิชาการเกษตร

3. ขยายผลถ่ายทอดเทคโนโลยี ผ่านการจัดอบรมถ่ายทอดเทคโนโลยีการขยายพันธุ์มะพร้าวด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จำนวนรวม 3 ครั้ง และนำเสนอผลงาน รายละเอียด ดังนี้

3.1 โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีเทคนิคการขยายพันธุ์ มะพร้าวด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิจกรรมการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ หลักสูตร “ถ่ายทอดเทคนิคการขยายพันธุ์มะพร้าวด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ” โดยมีแผนดำเนินการจัดฝึกอบรมเพื่อถ่ายทอดความรู้สู่นักวิชาการกรมวิชาการเกษตร และ/หรือนักวิจัย/บุคลากรภาครัฐ ที่มีความรู้ด้านเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จำนวน 20 รายต่อครั้ง จำนวน 2 ครั้ง:

ครั้งที่ 1 ปี 2567 ระหว่างวันที่ 6-8 สิงหาคม 2567 ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร

ครั้งที่ 2 ปี 2568 ระหว่างวันที่ 7-8 กรกฎาคม 2568 ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร

3.2 โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีเทคนิคการขยายพันธุ์ มะพร้าวด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กิจกรรมการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ หลักสูตร “การพัฒนาเทคนิคการขยายพันธุ์มะพร้าวด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบรวดเร็ว ระยะที่ 2” โดยมีแผนดำเนินการจัดฝึกอบรมเพื่อถ่ายทอดความรู้สู่นักวิชาการกรมวิชาการเกษตร และ/หรือนักวิจัย/บุคลากรภาครัฐ ที่มีความรู้ด้านเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จำนวน 20 ราย จำนวน 1 ครั้ง : ระหว่างวันที่ 26-28 สิงหาคม 2568 ณ ห้องประชุม ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สถาบันวิจัยพืชสวนและสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

3.3 ได้นำเสนอผลงาน รายละเอียด ดังนี้

1) การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตต้นกล้ามะพร้าวลูกผสมกะทิ ใน รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม โครงการวิจัยการพัฒนาและเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะพร้าว สนับสนุนโดย เงินรายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร มีนาคม 2565

2) ผลของอายุผลและการผ่าแบ่งเอ็มบริโอที่มีต่อการชักนำยอดของมะพร้าวกะทิลูกผสม 84 - 2 การนำเสนอภาคบรรยายแบบออนไลน์ ผ่านโปรแกรม Zoom งานประชุมวิชาการนวัตกรรมการเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ครั้งที่ 1 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

3) Medium and Embryo Placement Characteristics Affected 5 varieties of Hybrid Kathi Coconut Embryo Germination. In International Conference “Innovation for Resilience Agriculture”, Chiang Mai University, Thailand.

4) ช่วงระยะเวลาในการตัดจาวมะพร้าวที่เหมาะสมต่อการพัฒนาส่วนยอดของต้นอ่อนมะพร้าวลูกผสมกะทิ. In การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 19 “พืชสวนสมัยใหม่ : เทคโนโลยีและนวัตกรรม” 24-25 พฤศจิกายน 2565, โรงแรมทวินโลตัส อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช.

5) Development & Increasing the Efficiency of Hybrid Macapuno Coconuts Tissue Culture in Thailand. In COCOINFO INTERNATIONAL, VOL. 29 NO. 2, 2022.



Figure 8 Commercial Propagation and Distribution of Macapuno Coconuts to Farmers

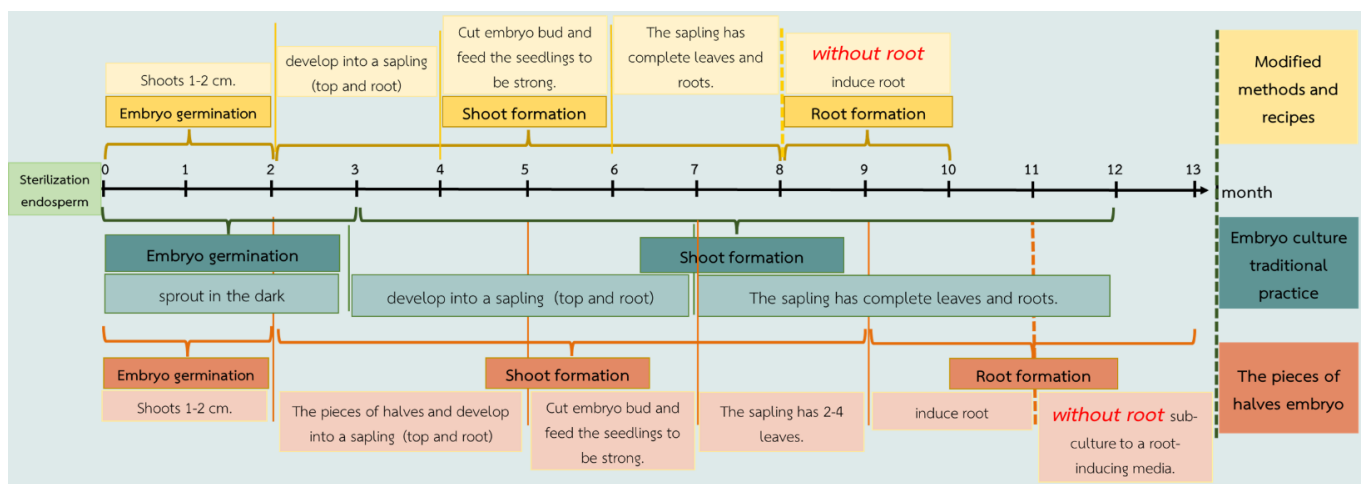


Figure 9 Comparison of the time period of the traditional practice hybrid Kathi coconut embryo culture and modified methods

คำขอบคุณ

คณะผู้ดำเนินงานขอขอบคุณกรมวิชาการเกษตร ที่สนับสนุนให้มีการดำเนินงานโครงการนี้ โดยใช้งบประมาณของเงินรายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร ขอขอบพระคุณ นางสาวศุภรา เลิศวัฒนาเกียรติ ข้าราชการบำนาญ (อดีตผู้เชี่ยวชาญด้านไม้ผล) หัวหน้าโครงการวิจัยการพัฒนาและเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะพร้าว นายสมชาย วัฒนโยธินที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตร นายสัณชัย ตันตยาภรณ์ นางปิยนุช นาคะ และนายประเสริฐ อนุพันธ์ ที่ปรึกษาคณะทำงานติดตามและประเมินผลโครงการวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตรที่ให้คำแนะนำ และคำปรึกษาต่างๆ ในขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย นางสาวศิริลักษณ์ แก้วสุริยิต นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ร่วมวิจัยในส่วนการย้ายต้นกล้าอนุบาล และให้คำแนะนำแก่เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และคณะนักวิจัย เจ้าหน้าที่ที่มีส่วนเกี่ยวข้อง ตลอดระยะเวลาการดำเนินโครงการวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- ศิวเรศ อารีกิจ. (2562). การพัฒนาพันธุ์มะพร้าวน้ำหอม-เนื้อกะทิแบบก้าวหน้ากระโดดด้วยเทคโนโลยีดีเอ็นเอ. เอกสารรายงานความก้าวหน้าแบบก้าวหน้ากระโดดด้วยเทคโนโลยีดีเอ็นเอ. 34 หน้า. โครงการวิจัยโครงการพัฒนาพันธุ์มะพร้าวน้ำหอม-เนื้อกะทิ.
- Guzman E.V. de, Rosario A.G. del. 1974. The growth and development in soil of macapuno [sport fruit of the coconut] seedlings cultured *in vitro*. NRCP Research Bulletin. v. 29(1) p. 1-16.
- Guzman, E.V. de, Rosario, A.G. del, Pagcaliwagan, P.C. 1982. Production of mutants by irradiation of *in vitro*-cultured tissues of coconut and banana and their mass propagation by the tissue culture technique. Panel proceedings series (IAEA). p. 113-138.
- Pech Y Ake, A.E., Souze, R., Maust, B., Santamaria, J.M. and C. Oropeza. 2004. Enhanced Aerobic Respiration Improves *In Vitro* Coconut Embryo Germination and Culture. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant, January-February 2004, 40:90-94.
- Rillo, E.P., Cueto, C.A., Medes, W.R. and M.B. Areza-Ubaldo. 2002. Development of an improved embryo culture protocol for coconut in the Philippines. In: F. Engelmann. P. Batugal and JT Oliver, editors. Coconut embryo in vitro culture: part II. Proceedings of 2nd international workshop on embryo culture, Mérida, Yucatán, Mexico, 14-17 March 2000. p. 41.
- Romulo, N.Arancon Jr. 1996. Makapuno from the Philippines. Cocoinfo International. Vol.3. No.1: 15-17.
- Sisunandar, S., Alkhikmah, A., Husin, A. and A. Suyadi. 2015. Embryo Incision as a New Technique for Double Seedling Production of Indonesian Elite Coconut Type “Kopyor”. Journal of Mathematical and Fundamental Science. 47(3): 252-260.
- Thuzar, M., Vanavichit, A., Tragoonrung, S. and C. Jantasuriyarat. 2011. Efficient and rapid plant regeneration of oil palm zygotic embryos cv. ‘Tenera’ through somatic embryogenesis. Acta Physiol. Plant. 33:123-128.

