การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราโดยการเพาะเลี้ยงคัพภะ

Propagation of Hybrid Tenera Oil Palm by Culturing of Zygotic Embryo

ซูไฮมิน เจ๊ะมะลี

Suhaimin Chehmalee

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Master of Science in Plant Science

Prince of Songkla University

2551

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราโดยการเพาะเลี้ยงคัพภะ
ผู้เขียน นายซูไฮมิน เจ๊ะมะลี
สาขาวิชา พืชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

…….....
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

…….....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระ เอกสมทราเมษฐ์)

คณะกรรมการสอบ

…….ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สายัณห์ สดุดี)

…….....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต)

……กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระ เอกสมทราเมษฐ์)

……กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พจมาลย์ สุรนิลพงศ์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

……
(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราโดยการเพาะเลี้ยงคัพภะ

ผู้เขียน นายซูไฮมิน เจ๊ะมะลี

สาขาวิชา พืชศาสตร์

ปีการศึกษา 2551

บทคัดย่อ

การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราโดยการเพาะเลี้ยงคัพภะคู่ผสมต่าง ๆ เพื่อชักนำการงอกโดยตรงและผ่านกระบวนการโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิสเพื่อขยายพันธุ์ในสูตรอาหารรวมกับสารควบคุมชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า คู่ผสม D865×P110 ให้การงอกปกติที่มีทั้งยอดและรากเฉลี่ยสูงสุด 31.61% คัพภะอายุ 4 เดือนหลังการผสม ให้การงอกเป็นต้นสมบูรณ์เฉลี่ยสูงสุด 21.44% และอาหารสูตร 1/2MS ให้การงอกเป็นต้นสมบูรณ์เฉลี่ยสูงสุด 17.85% หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน การชักนำยอดรวมในอาหารเหลวสูตร MS เติมน้ำมะพร้าว 15% ร่วมกับ 6-benzyladenine (BA) และ kinetin (KN) เข้มข้นอย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การสร้างยอดรวมสูงสุด 13.4% และให้จำนวนยอดเฉลี่ย 2.5 ยอดต่อชิ้นส่วน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน นอกจากนี้ มีการพัฒนาโครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดเล็ก 75% ในอาหารเติม KN เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และโครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดใหญ่ 10.56% ในอาหารเติมน้ำมะพร้าว 15% เมื่อศึกษาลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของโครงสร้างดังกล่าว พบว่า ไม่มีองค์ประกอบของอวัยวะดอกที่ชัดเจน

การขยายพันธุ์โดยการชักนำแคลลัสผ่านกระบวนการโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิส พบว่า คู่ผสม D174×P206 ให้การสร้างแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 63.7% คัพภะอายุ 6 เดือนหลังการผสม ให้การสร้างแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 61.89% และอาหารสูตร MS เติม dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การสร้างแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 87.52% หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน โดยคู่ผสม D865×P110 ให้การสร้างแคลลัสแบบปุ่มปม 31.98% แคลลัสคล้ายราก 23.56% และสร้างโซมาติกเอ็มบริโอในระยะสร้างจาว (haustorium embryo: HE) 14% ส่วนคู่ผสม D174×P206 ให้การสร้างเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส (embryogenic callus: EC) 26.03% หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน เมื่อย้ายเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม dicamba เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสดังกล่าวเพิ่มน้ำหนักสดสูงสุด 0.58 กรัม หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน HE ให้การพัฒนาโซมาติกเอ็มบริโอชุดที่ 2 (secondary somatic

embryos: SSE) 80% และให้จำนวน 15.81 SSE/HE บนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซอร์บิทอล เข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน เมื่อย้ายเลี้ยงกลุ่ม SSE บนอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 3 เดือน ให้การงอกเป็นพืชต้นใหม่ 3.7% และมีแนวโน้มการงอกเพิ่มขึ้นหลังจากเพาะเลี้ยงต่ออีกเป็นเวลา 1 เดือน เมื่อย้ายต้นกล้าที่สมบูรณ์ลงปลูกในดินเป็นเวลา 2 เดือน พบอัตราการรอดชีวิตสูงถึง 92.6%

Thesis Title	Propagation of Hybrid Tenera Oil Palm by Culturing of Zygotic Embryo
Author	Mr. Suhaimin Chehmalee
Major Program	Plant Science
Academic Year	2008

ABSTRACT

Propagation of hybrid tenera of oil palm was carried out by culturing various crosses of zygotic embryos (ZEs). Culture media together with plant growth regulator (PGR) were modified in order to induce direct shoot formation and somatic embryogenesis from the embryos. The study found that the highest percentage of normal seedling formation (31.61%) was obtained in the 865(D)×110(P) cross. ZEs at 4 months after pollination (MAP) gave the highest percentage of normal seedling formation (21.44%). ½ MS medium gave the highest percentage of normal seedling formation (17.85%) after 2 months of culture. MS medium supplemented with 15% coconut water (CW) and 6-benzyladenine (BA) and kinetin (KN) at a concentration of 0.5 mg/l gave the highest percentage of multiple shoot formation (13.4%) and number of shoot/explants (2.5) after 4 months of culture. The highest percentage of small inflorescence-like structures (75%) developed in MS supplemented with 5 mg/l KN and the highest percentage of large inflorescence-like structures (10.56%) developed in MS supplemented with 15% CW. A histological study of these structures found no clear evidence concerning the origin of the inflorescence organelles.

The highest percentage of callus formation (63.7%) was obtained from the 174(D)×206(P) cross. ZEs at 6 MAP gave the highest percentage of callus formation (61.89%). MS medium supplemented with 2.5 mg/l dicamba gave the highest percentage of callus formation (87.52%) after 3 months of culture. Cross 865(D)×110(P) gave 31.98% nodular callus, 23.56% root like callus and 14% haustorium embryos (HE). Cross 174(D)×206(P) gave 26.03% embryogenic callus (EC) on MS medium supplemented with 1 mg/l dicamba and 200 mg/l ascorbic acid for 3 months. The highest proliferation rate in terms of fresh weight of EC at 0.58 g was obtained on MS medium supplemented with 0.5 mg/l dicamba and 200 mg/l ascorbic acid

after 1 month of culture. Secondary somatic embryos (SSEs) were achieved at 80% and 15.81 SSE/HE on MS medium supplemented with 0.2 M sorbitol and 200 mg/l ascorbic acid after 3 months of culture. The conversion rate of SSE to plantlets was 3.7% on PGR-free MS medium for 3 months and tended to increase after culturing for 1 further month. A high survival rate at 92.6% was obtained after transfer the complete plantlet to soil for 2 months.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ด้วยความเมตตากรุณาของ รองศาสตราจารย์ ดร. สมปอง เตชะโต อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่กรุณาให้ความรู้ ความเข้าใจ และสอนทักษะในด้านต่าง ๆ ทั้งในด้านการเรียน และการใช้ชีวิตในสังคมปัจจุบัน ตลอดจนให้คำปรึกษาแนะนำ และช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รองศาสตรจารย์ ดร. สายัณห์ สดุดี ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พจมาลย์ สุรนิลพงศ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่อง และให้คำแนะนำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คุณพ่ออับดุลเลาะ เจ๊ะมะลี คุณแม่ตอฮีเร๊าะ เจ๊ะมะลี พี่สาว และน้อง ๆ ที่รักยิ่ง ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน เป็นกำลังใจ และให้ความความรักความเอาใจใส่เสมอมา

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ประจำภาควิชาพืชศาสตร์ คณาจารย์ทุกท่านที่ให้การสั่งสอน ขอขอบคุณ คุณสุดนัย เครือหลี ที่ช่วยเก็บตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมัน และเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาพืชศาสตร์ทุกท่านที่ให้การช่วยเหลือจนสำเร็จการศึกษา

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่กรุณาให้ทุนการศึกษาและทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จการศึกษา

ขอขอบคุณ พี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ที่ร่วมทำกิจกรรมกันมา รวมถึงสมาชิกห้องปฏิบัติการชีวภาพของพืชปลูกทุกคน ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน เป็นกำลังใจ ให้ความความรักความเอาใจใส่จนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ซูไฮมิน เจ๊ะมะลี

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบาญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการภาพประกอบ	(10)
สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ	(12)
บทที่	
1 บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	4
วัตถุประสงค์	11
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	12
วัสดุ อุปกรณ์	12
วิธีการ	13
3 ผล	17
4 วิจารณ์	43
5 สรุป	49
เอกสารอ้างอิง	51
ภาคผนวก	56
ประวัติผู้เขียน	65

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ผลของคู่ผสม อายุของคัพภะและสูตรอาหารต่อการงอกของคัพภะปาล์มน้ำมันหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ 1/2MS เป็นเวลา 2 เดือน	19
2	ผลของสูตรอาหารต่อการงอกของคัพภะปาล์มน้ำมันจากคู่ผสม D174×P206 D366×P110 และ D865×P110 ที่อายุ 4 5 และ 6 เดือนหลังการผสม หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน	20
3	ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดรวมของปาล์มน้ำมันหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 3 เดือน	22
4	ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่ออัตราการรอดชีวิต การสร้างยอด ต้นและรากของปาล์มน้ำมันหลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เป็นเวลา 4 เดือน	24
5	ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการสร้างยอดรวมและโครงสร้างคล้ายช่อดอกหลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เป็นเวลา 4 เดือน	25
6	ผลของคู่ผสม อายุของคัพภะและชนิดของออกซินต่อการสร้างแคลลัสของคัพภะปาล์มน้ำมันหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 3 เดือน	31
7	ผลของชนิดของออกซินต่อการสร้างแคลลัสของคัพภะปาล์มน้ำมันจากคู่ผสม D174×P206 D366×P110 และ D865×P110 ที่อายุ 4 5 และ 6 เดือนหลังการผสมหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 3 เดือน	32
8	ผลของน้ำตาลซอร์บิทอลต่อการสร้าง SSE หลังจากเพาะเลี้ยง HE จากคู่ผสม D865×P110 บนอาหารสูตร MS ร่วมกับกรดแอสคอบิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน	40
9	ผลของระยะเวลาการเพาะเลี้ยง SSE บนอาหารเติมซอร์บิทอลเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการงอกหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 3% เป็นเวลา 3 เดือน	41

รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1	ข้อเท็จจริงเกี่ยวกับปาล์มน้ำมันเทียบกับพืชน้ำมันอื่น ๆ	2
2	คัพภะปาล์มน้ำมันคู่ผสม D865xP110 อายุ 4 เดือนหลังการผสม เริ่มงอกหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 1 สัปดาห์	18
3	การงอกของคัพภะปาล์มน้ำมันจากคู่ผสม D865×P110 หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 2 เดือน	20
4	การงอกราก (ลูกศร) ของยอดคัพภะปาล์มน้ำมันคู่ผสม D865xP110 อายุ 4 เดือน บนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 3 เดือน	21
5	ลักษณะการสร้างยอดจากชิ้นส่วนต้นอ่อนที่ผ่าครึ่งตามยาว วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ก: ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต หรือ ข: เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ ค: เติม KN เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ ง: เติม TDZ เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ จ: เติมน้ำมะพร้าว 15% เป็นเวลา 3 เดือน	23
6	การพัฒนาของชิ้นส่วนต้นอ่อนที่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS	27
7	ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของการสร้างโครงสร้างคล้ายช่อดอก	28
8	แคลลัสที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงคัพภะปาล์มน้ำมันคู่ผสม D174xP206 บนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน	30
9	แคลลัสรูปแบบต่าง ๆ ที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงคัพภะปาล์มน้ำมันอายุ 6 เดือนหลังการผสม บนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน	33
10	แคลลัสร่วมกับการเกิดยอดที่ชักนำได้จากคู่ผสม D174xP206 อายุ 6 เดือน เดือนหลังการผสม บนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน	33

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
11	แคลลัสที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงคัพภะปาล์มน้ำมันคู่ผสม D174xP206 บนอาหารสูตร MS เติมออกซินชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 3 เดือน	34
12	ผลของคู่ผสมต่อการสร้างแคลลัสรูปแบบต่าง ๆ จากการเพาะเลี้ยงคัพภะปาล์มน้ำมันอายุ 6 เดือนหลังการผสม บนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน	36
13	การสร้างแคลลัสรูปแบบต่าง ๆ ในแต่ละคู่ผสมหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน	37
14	ผลของความเข้มข้นของ dicamba ต่อการเพิ่มน้ำหนักสดของเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสในแต่ละเดือน จากคู่ผสม D174×P206 อายุ 6 เดือนหลังผสม เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน	38
15	การเปลี่ยนแปลงและการพัฒนาของเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสจากคู่ผสม D174×P206 อายุ 6 เดือนหลังผสม เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน	39
16	ลักษณะของ SSE ที่พัฒนาจาก HE จากคู่ผสม D865×P110 หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน	40
17	การงอกเป็นต้นสมบูรณ์ของ SSE จาก HE บนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซอร์บิทอลเข้มข้น 0.2 โมลาร์ เป็นระยะเวลาต่าง ๆ	42

สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

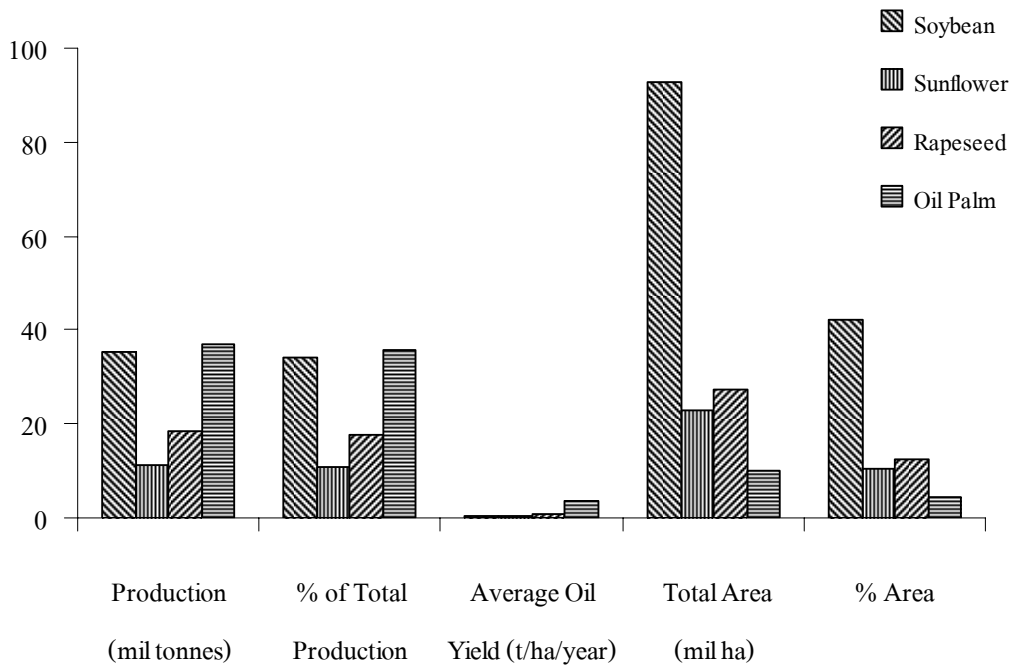
มก/ล	=	มิลลิกรัมต่อลิตร
MS	=	Murashige and Skoog medium
Y3	=	Eeuwens medium
NAA	=	α-naphthaleneacetic acid
2,4-D	=	2,4-dichlorophenoxyacetic acid
dicamba	=	3,6-Dichloro-2-methoxybenzoic acid
2iP	=	N^6-(2-isopentenyl) adenine
BA	=	6-benzyladenine
BAP	=	6-benzylaminopurine
KN	=	Kinetin
TDZ	=	Thidiazuron
CW	=	Coconut water
PGR	=	Plant growth regulator
EC	=	Embryogenic callus
HE	=	Haustorium embryo
SSE	=	Secondary somatic embryo
CRD	=	Completely randomized design
DMRT	=	Duncan's multiple range test
LSD	=	Least significant difference
%	=	Percent

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปาล์มน้ำมันจัดเป็นพืชน้ำมันอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในระดับโลก ทั้งนี้เนื่องจากปาล์มน้ำมันเป็นพืชน้ำมันชนิดเดียวที่ให้ผลผลิตน้ำมันต่อหน่วยพื้นที่สูงกว่าพืชน้ำมันอื่น ๆ ทุกชนิด ซึ่งให้ผลผลิตน้ำมันดิบเฉลี่ย 4-5 ตันต่อเฮกตาร์ และอาจเพิ่มขึ้นสูงถึง 7-8 ตันต่อเฮกตาร์ (Biofuel, 2007) ปัจจุบันแหล่งผลิตปาล์มน้ำมันหลักของโลกคือ ประเทศมาเลเซีย คิดเป็นประมาณ 48% ของการผลิตทั่วโลก ผลผลิตปาล์มน้ำมันเฉลี่ยอยู่ที่ 3.7 ตันต่อเฮกตาร์ต่อปี ซึ่งสูงกว่าพืชตระกูลกะหล่ำ 2.5 เท่า และสูงกว่าถั่วเหลือง 7 เท่า ดังนั้น การเพาะปลูกปาล์มน้ำมันสามารถเพิ่มความต้องการผลผลิตที่สูงขึ้นได้ในพื้นที่ทำการเกษตรที่มีอย่างจำกัดโดยพื้นที่เพียง 4.04 ล้านเฮกตาร์ของต้นปาล์ม คิดเป็น 1.84% ของน้ำมันที่ผลิตได้ในโลก เท่ากับ 219 ล้านเฮกตาร์ของพืชตระกูลกะหล่ำถึงสามารถผลิตน้ำมันได้ 11% ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับขนาดพื้นที่ผลิต (ภาพที่ 1) (Malaysia's Sustainable Palm Oil, 2007) ในขณะที่การผลิตของประเทศไทยนับว่ามีน้อย ปาล์มน้ำมันเป็นพืชที่ได้รับการส่งเสริมปลูกเป็นการค้าโดยเฉพาะในภาคใต้ ซึ่งเนื้อที่ปลูกปาล์มน้ำมันที่สามารถให้ผลผลิตแล้ว 833,000 ไร่ ในปี พ.ศ. 2536 เพิ่มขึ้นเป็น 1.6 ล้านไร่ ในปี พ.ศ. 2545 มีมูลค่าที่เกษตรกรขายได้ 9,202 ล้านบาท และมีปริมาณการส่งออกที่สูงขึ้นถึง 177,417 ตัน คิดเป็นมูลค่า 4,202 ล้านบาท ในปี พ.ศ. 2547 (พรชัย, 2549) รัฐบาลได้ประกาศขยายพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมัน 10 ล้านไร่ ภายใน 25 ปี (พ.ศ. 2547-2572) (ธีระ และคณะ, 2548) นอกจากนี้ยังกำหนดยุทธศาสตร์พลังงานทดแทนโดยใช้น้ำมันปาล์ม เป็นวาระแห่งชาติ ซึ่งรัฐบาลโดยกระทรวงพลังงานมีเป้าหมายให้ใช้ไบโอดีเซล 3% ของการใช้น้ำมันดีเซลทั้งหมดในปี พ.ศ. 2554 (พรชัย, 2549) ดังนั้นจึงมีการขยายพื้นที่การปลูกของเกษตรกรรายย่อยอย่างจริงจัง



ภาพที่ 1 ข้อเท็จจริงเกี่ยวกับปาล์มน้ำมันเทียบกับพืชน้ำมันอื่น ๆ
ที่มา : ดัดแปลงจาก Malaysia's Sustainable Palm Oil (2007)

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชน้ำมันยืนต้นขนาดใหญ่ ให้ผลผลิตหลังปลูกแล้วประมาณ 3 ปี และให้ผลผลิตตลอดไปถึงอายุประมาณ 25 ปี น้ำมันที่ได้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ทั้งการบริโภคและอุปโภคกว่า 2,300 ชนิด (พรชัย, 2549) สามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นอาหารในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมที่ต้องมีการทอด เนยเทียม ไอศกรีม ขนมขบเคี้ยว ลูกกวาด ครีมเทียมประเภทต่าง ๆ และที่มิใช่อาหาร เช่น อุตสาหกรรมพลาสติก สบู่ ผงซักฟอก เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมโอเลโอเคมีคอล ซึ่งรวมถึงการผลิตเชื้อเพลิง (เมทานอล) เพื่อใช้กับเครื่องยนต์ เป็นต้น น้ำมันปาล์มจัดเป็นน้ำมันที่มีการใช้ประโยชน์ภายในประเทศสูงสุดรองจากน้ำมันถั่วเหลือง ประกอบกับเป็นน้ำมันพืชที่มีราคาถูกเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันพืชชนิดอื่น ดังนั้น แนวโน้มในอนาคตคาดว่าความต้องการใช้น้ำมันปาล์มยังคงสูงและเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตามความต้องการบริโภคน้ำมันพืชรวมของโลก (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2540)

ปาล์มน้ำมันจัดเป็นพืชยืนต้นผสมข้ามประเภทที่มีช่อดอกตัวผู้และตัวเมียอยู่บนต้นเดียวกันแต่ช่วงเวลาการออกดอกไม่พร้อมกัน เป็นพืชดิพลอยด์มีจำนวนโครโมโซม 2n=2x=32 พืชนี้จัดอยู่ในสกุล *Elaeis* ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ *Elaeis guineensis* *E. oleifera* และ *E. odora* ทั้งนี้ปาล์มน้ำมันชนิด *E. guineensis* เป็นชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากเป็น

พันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้าในปัจจุบัน สายพันธุ์ของปาล์มน้ำมันชนิดนี้สามารถจำแนกได้ 3 แบบ (types) คือ แบบดูรา (Dura: D) ผลมีกะลาหนาถูกควบคุมด้วยยีนเด่น 1 คู่ แบบพิสิเฟอรา (Pisifera: P) ผลไม่มีกะลาถูกควบคุมด้วยยีนด้อย 1 คู่ และแบบเทเนอรา (Tenera) ผลมีกะลาบางถูกควบคุมด้วยยีนพันธุ์ทาง 1 คู่ เกิดจากการผสมระหว่างดูรากับพิสิเฟอรา มีเปลือกสำหรับอัดน้ำมันมาก และให้เปอร์เซ็นต์น้ำมันสูง (บุษบา, 2548) อย่างไรก็ตาม การถ่ายทอดลักษณะของพันธุ์ดูราและพิสิเฟอราเป็นลักษณะข่มไม่สมบูรณ์ ทำให้เมล็ดจากโคนต้นปาล์ม มีความแปรปรวนสูงมาก โดยเฉพาะลักษณะของผลปาล์ม ซึ่งมีการกระจายตัวของลูกผสมในชั่วที่ 2 จากการผสมตัวเองในต้นพันธุ์เทเนอราได้พันธุ์ดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา ในอัตราส่วน 1:2:1 ตามลำดับ จึงไม่สามารถนำมาขยายพันธุ์ได้ จำเป็นต้องผลิตเมล็ดพันธุ์เทเนอราอยู่ตลอดเวลา โดยต้นพันธุ์ที่ใช้เป็นพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ต้องผ่านกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ที่สามารถยืนยันได้ว่าให้ผลผลิตน้ำมันต่อหน่วยพื้นที่ต่อหน่วยระยะเวลา สูง และสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในแหล่งปลูกได้ดี รวมทั้งมีลักษณะทางการเกษตรอื่น ๆ ที่เหมาะสม เช่น มีการเจริญเติบโตด้านความสูงช้า ความยาวทางใบไม่สั้นหรือยาวเกินไป ลำต้นอวบสมบูรณ์ เป็นต้น การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันจากการเพาะเมล็ดมีวิธีการทำลายการพักตัวของเมล็ดที่ 40 องศาเซลเซียส นาน 50-90 วัน และเก็บรักษาเมล็ดที่อุณหภูมิ 20-22 องศาเซลเซียส นาน 3 เดือน ก่อนที่จะแช่น้ำประมาณ 7 วัน จึงลงเพาะได้ (ธีระ และคณะ, 2548) ซึ่งใช้เวลาค่อนข้างนาน จากปัจจัยทั้งทางกายภาพ และเคมีที่ไม่เหมาะสมต่อการรงอกของเมล็ด และปาล์มน้ำมันเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว มีการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดเท่านั้น ไม่มีการแตกหน่อ ทำให้ได้จำนวนต้นที่จำกัด (Rajesh *et al*., 2003) ดังนั้นการนำเอาเทคนิคทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้เป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันได้จนถึงปัจจุบัน อย่างไรก็ตาม การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันมีเทคนิคที่ค่อนข้างยากและใช้แรงงานจำนวนมาก และยังไม่เข้าใจในสภาพที่เหมาะสม ดังนั้น การค้นหาวิธีการที่ประสบความสำเร็จทำได้ค่อนข้างช้า (Corley and Tinker, 2003)

มีรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ชิ้นส่วนราก (Wooi, 1995) ใบอ่อน (สมปอง และคณะ, 2547) ดอก (Teixeira *et al*., 1994) และคัพภะ (Te-chato, 1998 ; Kanchanapoom and Domyoas, 1999) การเพาะเลี้ยงรากไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร เนื่องจากการเพาะเลี้ยงรากมักประสบปัญหาการปนเปื้อนของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง ส่วนการเพาะเลี้ยงดอกมีวิธีการแยกชิ้นส่วนออกมาเพาะเลี้ยงทำได้ยาก ทำให้ได้รับความเสียหาย และเกิดสีน้ำตาลหรือออกซิเดชันจำนวนมาก ขณะเดียวกันการเพาะเลี้ยงใบอ่อนอาจทำให้ต้นแม่ได้รับความเสียหายและยุ่งยาก ดังนั้นการเพาะเลี้ยงคัพภะจึงเป็นวิธีที่สะดวกในการเก็บตัวอย่างมากกว่าชิ้นส่วนอื่น และน่าจะมีการตอบสนองได้เร็วกว่าเนื่องจากเป็นต้นอ่อนอยู่แล้ว สามารถร่นระยะเวลาในการงอก ช่วยชีวิต

ลูกผสม และยังเพิ่มประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์ให้ได้จำนวนมากอย่างต่อเนื่องผ่านกระบวนการเอ็มบริโอเจเนซีส (embryogenesis) จนพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ ในการศึกษานี้ จึงได้ทำการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ คือ ผลของคู่ผสม ช่วงอายุของคัพภะ สารควบคุมการเจริญเติบโตและความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ต่อการเกิดแคลลัส เอ็มบริโอเจนิคแคลลัส และการเกิดต้นของปาล์มน้ำมันในอันที่จะขยายพันธุ์ลูกผสมต่อไป

การตรวจเอกสาร

การเพาะเลี้ยงคัพภะ คือ การนำเอาคัพภะหรือต้นอ่อนที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติจากการปฏิสนธิของละอองเกสรและไข่อ่อน มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ เพื่อส่งเสริมการงอกเป็นต้นกล้าโดยตรงหรือให้เกิดเป็นแคลลัส ซึ่งมีประโยชน์ในการแก้ไขปัญหาอัตราการงอกของเมล็ดที่ต่ำในพืชบางชนิด หรือในเมล็ดของพืชที่เกิดจากการผสมข้ามชนิดหรือข้ามสกุล ที่ยากต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาในสภาพตามธรรมชาติ รวมทั้งแก้ไขปัญหาการพักตัวที่ยาวนานของเมล็ดพืชบางชนิด (สารานุกรมไทยสำหรับเยาชนฯ เล่มที่ 28, 2547) นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงคัพภะยังช่วยขยายพันธุ์โดยการชักนำให้คัพภะสร้างยอดจำนวนมาก หรือชักนำแคลลัสเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ได้ มีรายงานการขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันจากการเพาะเลี้ยงคัพภะที่ประสบความสำเร็จโดย Teixeira และคณะ (1993) ซึ่งศึกษาการตอบสนองของชิ้นส่วนคัพภะอายุต่าง ๆ หลังการผสมพันธุ์ เมื่อวางเลี้ยงบนอาหารดัดแปลงสูตร Y3 (Eeuwens, 1976; 1978) และพบว่า คัพภะที่มีอายุ 100 วันหลังการผสมให้การสร้างเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำแคลลัสเป็นเวลา 9 เดือน เอ็มบริโอเจนิคแคลลัสพัฒนาให้พืชต้นใหม่หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลานานกว่า 1 ปี Te-chato (1998) เพาะเลี้ยงคัพภะปาล์มน้ำมันระยะสุกแก่บนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) เติมสารควบคุมต่าง ๆ พบว่า แคลลัสเริ่มต้นสามารถสร้างโซมาติกเอ็มบริโอหลังจากเพาะเลี้ยง 6 เดือน เมื่อลดความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตลง ส่งเสริมการสุกแก่ของโซมาติกเอ็มบริโอ เมื่อย้ายกลุ่มโซมาติกเอ็มบริโอไปเลี้ยงในอาหารเหลวสามารถพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ ต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่สมบูรณ์ซึ่งมีทั้งยอดและราก หลังจากอนุบาลลงดินปลูกให้อัตรารอดชีวิตสูง ส่วนโซมาติกเอ็มบริโอที่พัฒนาให้ยอดแต่ยังไม่มีราก คงเลี้ยงในอาหารเดิมหรือย้ายไปเลี้ยงในอาหารชักนำราก Kanchanapoom และ Domyoas (1999) ศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาการเกิดแคลลัสและการพัฒนาของโซมาติกเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงคัพภะบนอาหารสูตร MS แคลลัสเกิดขึ้นบริเวณถัดจากเนื้อเยื่อชั้นนอกเข้าไป (subepidermis) หลังจากเพาะเลี้ยง 1 เดือน โดยเซลล์มีขนาดเล็ก ไซโทพลาสซึมหนาแน่นและนิวเคลียสติดสีเข้ม พบกิจกรรมการแบ่งเซลล์สูงหลังจากเพาะเลี้ยง 2 เดือน การ

แบ่งเซลล์ครั้งแรกมีทิศทางที่ไม่แน่นอนและค่อย ๆ เพิ่มปริมาณจาก 2 เซลล์เป็น 4 เซลล์ ต่อมาสร้างเป็นกลุ่มของเซลล์ proembryo ประกอบด้วย 8-10 เซลล์ เริ่มมีการยืดยาวและเปลี่ยนแปลงเป็นโซมาติกเอ็มบริโอหลังจากเพาะเลี้ยง 3 เดือน จากนั้นแบ่งเซลล์เป็นต้นอ่อนระยะรูปกลม ระยะรูปหัวใจ และระยะทอร์ปิโด ลักษณะต้นอ่อนที่เกิดขึ้นจากกระบวนการโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิสเหมือนกับต้นอ่อนที่เกิดจากไซโกติกเอ็มบริโอทุกประการ Rajesh และคณะ (2003) ชักนำพืชต้นใหม่ในปาล์มน้ำมันผ่านกระบวนการโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิสจากการเพาะเลี้ยงคัพภะระยะสุกแก่ โดยใช้อาหารสูตรดัดแปลง MS เติม 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) เข้มข้น 113.12 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ 2iP [N^6-(2-isopentenyl)adenine] เข้มข้น 14.76 ไมโครโมลาร์ คัพภะสร้างแคลลัสได้หลังจากเพาะเลี้ยง 4-5 สัปดาห์ เมื่อย้ายแคลลัสไปเลี้ยงในอาหารสูตร Blaydes (1966) เติม 2,4-D เข้มข้น 0.045 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ (thidiazuron) เข้มข้น 4.54 ไมโครโมลาร์ หรือ ซีเอตินไรโบไซด์เข้มข้น 2.85 ไมโครโมลาร์ หรือพิวเทรสซีนเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ หรือสเปอร์มีนเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ เกิดเป็นเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสชนิดเกาะกันอย่างหลวม ๆ สีเหลือง ที่มีการเจริญและเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็ว สร้างเป็นโครงสร้างรูปกลมบริเวณผิวของเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสภายใน 1 เดือนต่อมา ซึ่งเพิ่มขนาดและพัฒนาเป็นโซมาติกเอ็มบริโอ จากนั้น โซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สองพัฒนาขึ้นเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่ให้สภาวะเครียดโดยการเติมโพลีเอมีน และยังพบการงอกของโซมาติกเอ็มบริโอโดยการสร้างจุดกำเนิดของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดและรากจนสามารถพัฒนาเป็นต้นปาล์มน้ำมันที่สมบูรณ์ ขณะเดียวกันส่วนที่ไม่เป็นเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส มีลักษณะทึบแสงสีขาวขุ่นและไม่สามารถพัฒนาหรืองอกเป็นต้นได้ นอกจากนี้ ยังมีรายงานการเพาะเลี้ยงคัพภะในพืชตระกูลปาล์มอื่น ๆ ด้วย เช่น ปาล์มอเมริกันแคระ (saw palmetto) ซึ่ง Gallo-Meagher และ Green (2000) ชักนำโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิสและพืชต้นใหม่จากคัพภะระยะอ่อน พบว่า กลุ่มของโซมาติกเอ็มบริโอพัฒนาบนอาหารสูตร MS เติมผงถ่าน 15% ร่วมกับ 2,4-D เข้มข้น 452 ไมโครโมลาร์ และ 2iP เข้มข้น 17.4 ไมโครโมลาร์ หลังจากเพาะเลี้ยง 1 เดือน ย้ายโซมาติกเอ็มบริโอเลี้ยงบนอาหารสูตรเดียวกัน แต่ลดความเข้มข้น 2,4-D ลงเหลือ 90.4 ไมโครโมลาร์ ส่งเสริมการเพิ่มจำนวนโซมาติกเอ็มบริโอได้ถึง 200 โซมาติกเอ็มบริโอจากหนึ่งไซโกติกเอ็มบริโอเริ่มต้นภายใน 9 เดือน เมื่อย้ายโซมาติกเอ็มบริโอไปเลี้ยงในอาหารเติม TDZ เข้มข้น 0.9 ไมโครโมลาร์ สามารถงอกเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ 12% ในขณะที่โซมาติกเอ็มบริโอที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ส่งเสริมการสร้างยอด 35% และยอดสร้างรากได้ 100% ในอาหารเติม NAA (α-naphthaleneacetic acid) เข้มข้น 22.2 ไมโครโมลาร์ Wang และคณะ (2003) เพาะเลี้ยงคัพภะของหมากจากผลระยะสุกแก่บนอาหารสูตร MS เติม dicamba (3,6-Dichloro-2-methoxybenzoic acid) ความเข้มข้นต่าง ๆ แคลลัสสร้างขึ้นหลังจากเพาะเลี้ยง 2 เดือน เมื่อย้ายเลี้ยงบนอาหารเดิมทุก 2

เดือน แคลลัสแบบปุ่มปมสร้างโซมาติกเอ็มบริโอหลังจากเพาะเลี้ยง 2-4 เดือน และโซมาติกเอ็มบริโองอกเป็นต้นสมบูรณ์ในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตหลังจากเพาะเลี้ยง 2-3 เดือน จากนั้นจึงย้ายปลูกอนุบาลในโรงเรือน พบอัตราการรอดชีวิต 24%

ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงคัพภะ

1. พันธุกรรมหรือจีโนไทป์

พันธุกรรมที่แตกต่างกันในหมากแต่ละชนิดมีผลต่อการชักนำแคลลัสแตกต่างกัน Karun และคณะ (2004) ศึกษาการตอบสนองที่แตกต่างกันของหมาก 3 ชนิด คือ Mangala Sumangala และ Mohitnagar ต่อการชักนำแคลลัส โดยนำชิ้นส่วนดอกจากต้นอายุ 12 ปี มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D หรือ dicamba หรือ picloram เป็นเวลา 4 เดือน พบว่า Sumangala ให้การสร้างแคลลัสสูงสุด 30% แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอีก 2 ชนิด คือ Mangala และ Mohitnagar ซึ่งให้การสร้างแคลลัส 15 และ 10% ตามลำดับ Steinmacher และคณะ (2007) รายงานว่า พันธุกรรมที่แตกต่างกันในพีชปาล์ม (peach palm) มีผลต่อการพัฒนาของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองแตกต่างกันด้วย เมื่อเพาะเลี้ยงดอกอ่อนจากต้นแม่ที่ได้รับการผสมจากละอองเกสรพันธุ์ที่ 1 ในอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ให้การพัฒนาของดอกได้สูงกว่าพันธุ์ที่ 2 ในขณะที่การสร้างโซมาติกเอ็มบริโอเกิดขึ้นน้อยกว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ Eshraghi และคณะ (2005) รายงานว่า พันธุ์ที่แตกต่างกันมีผลต่อการชักนำแคลลัสและโซมาติกเอ็มบริโอให้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ชิ้นส่วนปลายยอดอินทผาลัมจากต้นโตอายุ 3-4 ปี 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ Khanizi และ Mordarsing ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ให้การสร้างเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสแตกต่างกัน พันธุ์ Khanizi ให้การสร้างเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสบนอาหารเติม 2,4-D เข้มข้น 453 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ 2iP เข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ และ BAP (6-benzylaminopurine) เข้มข้น 13 ไมโครโมลาร์ โดยเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสมีระยะพัฒนาการต่าง ๆ คือ ระยะรูปกลม หัวใจ ทอร์ปิโด และระยะใบเลี้ยง เมื่อย้ายเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสไปเลี้ยงบนอาหารเติม NAA เข้มข้น 54 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ 2iP เข้มข้น 148 ไมโครโมลาร์ ส่งเสริมการพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ ในขณะที่พันธุ์ Mordarsing ให้การสร้างแคลลัสส่วนใหญ่ที่ไม่เป็นเอ็มบริโอเจนิค หรือมีการสร้างเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสบางส่วน แต่หยุดการพัฒนาในระยะรูปกลม จึงไม่สามารถพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้

2. ระยะพัฒนาการของคัพภะ

ระยะพัฒนาการของคัพภะมีผลต่อกระบวนการโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมัน Teixeira และคณะ (1993) นำคัพภะลูกผสมเทเนอราจากผลที่เก็บเกี่ยวอายุต่าง ๆ คือ 77 91 100 114 128 140 และ 193 วันหลังผสมเกสรมาวางเลี้ยงในอาหารดัดแปลงสูตร Y3 เติม 2,4-D เข้มข้น 500 ไมโครโมลาร์ และผงถ่าน 0.3% หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า คัพภะอายุ 193 วันหลังผสมเกสร ให้การสร้างแคลลัสสูงสุด 93% และมีการพัฒนาของยอดโดยไม่มีราก ส่วนคัพภะอายุ 91 วันหลังผสม ให้การสร้างเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสูงสุด 29% นอกจากนี้ยังรายงานอีกว่าคัพภะที่อ่อน (อายุหลังผสมน้อย) ให้โซมาติกเอ็มบริโอน้อยกว่าคัพภะอายุสุกแก่ และคัพภะอายุสุกแก่ให้การงอกและพัฒนาของยอดได้มาก Perera และคณะ (2007) ศึกษาระยะพัฒนาการต่าง ๆ ของดอกมะพร้าวก่อนบานมีผลต่อการสร้างแคลลัสแตกต่างกัน โดยทดลองนำรังไข่จากดอกตัวเมียขนาด 2 มิลลิเมตร ที่ระยะพัฒนาการ 4 5 และ 6 เดือนก่อนดอกบาน มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Medium 72 (Karunaratne and Periyapperuma, 1989) เติม 2,4-D และผงถ่าน เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า รังไข่ระยะ 4 เดือนก่อนดอกบานให้การสร้างแคลลัสสูงสุด 30% รองลงมาคือรังไข่ในระยะ 5 และ 6 เดือนก่อนดอกบาน ให้การสร้างแคลลัส 10 และ 5% ตามลำดับ

3. สารควบคุมการเจริญเติบโต

ชนิดของออกซินและระดับความเข้มข้นมีผลต่อการชักนำแคลลัสจากคัพภะปาล์มน้ำมัน Te-chato (1998) ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตออกซินและระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยการใช้ NAA ความเข้มข้นตั้งแต่ 15 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D เข้มข้นตั้งแต่ 1 ถึง 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารสูตร MS เติม NAA เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 2,4-D เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การสร้างแคลลัสสูงสุด 60 และ 14% ตามลำดับ แคลลัสที่ชักนำบนอาหารเติม NAA เกิดเร็วกว่าแคลลัสที่ชักนำบนอาหารเติม 2,4-D ลักษณะของแคลลัสที่ได้แตกต่างกัน NAA ให้การสร้างแคลลัสสีเขียวและบางส่วนเกิดเป็นอวัยวะหรือออร์กาโนเจเนซิส ในขณะที่ 2,4-D ให้การสร้างแคลลัสสีเหลืองชนิดคอมแพคโนดูล่าร์ เมื่อย้ายแคลลัสจากอาหารเติม NAA ไปเลี้ยงบนอาหารที่ลดความเข้มข้นของ NAA ลง แคลลัสมีการเจริญเติบโตและพัฒนากลายเป็นสีน้ำตาลในที่สุด แต่เมื่อย้ายแคลลัสสีเขียวลงในอาหารที่ลดความเข้มข้นของ 2,4-D ลง แคลลัสกลายเป็นสีเหลืองชนิดคอมแพค ส่วนแคลลัสที่เลี้ยงบนอาหารเติม 2,4-D เมื่อลดความเข้มข้นลงเหลือ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การเพิ่มปริมาณและพัฒนาเป็นเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส ในขณะเดียวกันแคลลัส

ที่ย้ายเลี้ยงบนอาหารเติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับเคซีนไฮโดรไลเสทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดแอสคอบิค 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำโซมาติกเอ็มบริโอได้เร็ว เมื่อย้ายโซมาติกเอ็มบริโอไปเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมเคซีนไฮโดรไลเสทและกรดแอสคอบิค พบว่า ส่งเสริมการสุกแก่ของโซมาติกเอ็มบริโอหรือพบโซมาติกเอ็มบริโอระยะสร้างจาว (haustorium embryo: HE) ซึ่งเกิดขึ้นบนอาหารที่เติม dicamba สูงกว่าอาหารที่เติม 2,4-D Wang และคณะ (2003) รายงานว่า dicamba เข้มข้น 18.1 ไมโครโมลาร์ ให้การสร้างแคลลัสสูงสุด 91.6% จากการเพาะเลี้ยงคัพภะของหมากจากผลระยะสุกแก่บนอาหารสูตร MS หลังจากเพาะเลี้ยง 60 วัน Chehmalee และ Te-chato (2007) เพาะเลี้ยงคัพภะปาล์มน้ำมันบนอาหารสูตร MS โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดออกซิน คือ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 2,4-D หรือ dicamba ที่ระดับความเข้มข้นอย่างละ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า dicamba ให้การสร้างแคลลัสสูงสุด 54.44% รองลงมาคือ 2,4-D และ NAA ให้การสร้างแคลลัส 37.47 และ 1.23% ตามลำดับ dicamba ชักนำแคลลัสขนาดใหญ่และให้โครงสร้างที่เป็นปุ่มปมจำนวนมาก

สมปอง และคณะ (2547) รายงานการชักนำแคลลัสในอาหารสูตร MS โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA หรือ dicamba หรือ 2,4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 1 2.5 5 10 20 30 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยง 3 เดือน พบว่า dicamba เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การสร้างแคลลัสสูงสุด 15% ส่วน 2,4-D เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การสร้างแคลลัส 2.78% ในขณะที่ NAA มีประสิทธิภาพในการชักนำแคลลัสต่ำสุดเพียง 1.67% เท่านั้น นอกจากนี้ยังศึกษาผลของความเข้มข้นของ dicamba ต่อการชักนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส โดยนำแคลลัสมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0.1 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมหรือไม่เติม เคซีนไฮโดรไลเสทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยง 3 เดือน พบว่า dicamba เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับเคซีนไฮโดรไลเสท ให้การสร้างเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสูงสุด 66.67% รองลงมาคือ อาหารเติม dicamba เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีเคซีนไฮโดรไลเสทให้การสร้างเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส 56.41%

ผลของไซโตไคนินต่อการชักนำยอดรวม

มีรายงานความสำเร็จในการชักนำยอดรวมในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวหลายชนิดโดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดไซโตไคนิน แต่ไม่พบในปาล์มน้ำมัน Gupta (1986) ศึกษาผลของไซโตไคนินต่อการสร้างยอดรวมในกล้วย โดยนำปลายยอดจากหน่อที่เพาะเลี้ยงในกระถางที่มีดินปลอดเชื้อ ซึ่งประกอบด้วยเนื้อเยื่อส่วนยอดและใบเริ่มแรก 1-2 ใบ ขนาด 1.5-2 มิลลิเมตร มาผ่า

ตามยาวผ่านปลายยอด และวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรพื้นฐาน MS ที่เติม BA (6-benzyladenine) หรือ KN (kinetin) เพียงอย่างเดียว หรือใช้ BA ร่วมกับ KN ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า BA เพียงอย่างเดียวเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การสร้างยอดรวมสูงสุดเฉลี่ย 16.4 ยอดต่อชิ้นส่วน รองลงมาคือ BA เข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ยอดรวมเฉลี่ย 14.9 ยอดต่อชิ้นส่วน นอกจากนี้พบว่า KN เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การสร้างราก 100% Ravikumar และคณะ (1998) รายงานการชักนำยอดรวมในไผ่ซาง โดยนำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ด และชิ้นส่วนข้อจากกิ่งข้างของต้นอายุ 10 ปี มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร MS เติม BA เข้มข้นตั้งแต่ 0.25-2 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 200 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ KN เข้มข้นตั้งแต่ 0.5-1 มิลลิกรัมต่อลิตร และหรือไม่เติม หลังจากเพาะเลี้ยง 20-25 วัน พบว่า BA ร่วมกับ KN ที่ความเข้มข้นอย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 200 มิลลิลิตรต่อลิตร ให้การสร้างยอดรวมจากต้นอ่อนและจากข้อสูงสุดเฉลี่ย 42 และ 8 ยอดต่อชิ้นส่วนที่เลี้ยง ตามลำดับ

การชักนำการงอกของโซมาติกเอ็มบริโอ

การงอกของโซมาติกเอ็มบริโอเกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสบนอาหารที่ลดความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตลงหรือไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Wang และคณะ (2003, 2006) รายงานว่า โซมาติกเอ็มบริโอหมากระยะสุกแก่สามารถงอกและพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์ที่มีทั้งยอดและรากประมาณ 50% หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 9-10 สัปดาห์ ในขณะที่ สมปอง และคณะ (2547) รายงานในปาล์มน้ำมันว่า การงอกของโซมาติกเอ็มบริโอในระยะสร้างจาวบนอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตยังคงต่ำ Hilae และ Te-chato (2005) ชักนำการงอกของโซมาติกเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนปาล์มน้ำมัน โดยนำโซมาติกเอ็มบริโอระยะสร้างจาวมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS 1/2MS และ 1/5MS แต่ละสูตรอาหารเติมน้ำตาลซูโครส ฟรุกโทส กลูโคส แมนนิทอล และซอร์บิทอล ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า การเติมซอร์บิทอลเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ในอาหารสูตร MS ปกติ ส่งเสริมการงอกเป็นยอดของโซมาติกเอ็มบริโอสูงสุด 40% หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน เมื่อนำยอดของปาล์มน้ำมันมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 0.2 โมลาร์ เป็นเวลา 1-2 เดือน พบว่าส่งเสริมการสร้างรากสูงสุด 31.25% นอกจากนี้ยังพบการสร้างโซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สอง (secondary somatic embryos: SSE) จำนวนมาก ดังนั้น จึงได้มีการศึกษาการชักนำการงอกของ SSE โดย Rajesh และคณะ (2003) นำโซมาติกเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงคัพภะปาล์มน้ำมัน มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Blaydes เติม 2,4-D

เข้มข้น 0.045 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ พิวเทรสซีนเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ พบว่า สามารถชักนำการงอกของโซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สองได้สูงสุดเฉลี่ย 2.9 เอ็มบริโอ Te-chato และ Hilae (2007) รายงานว่า สูตรอาหาร MS ร่วมกับน้ำตาลซอร์บิทอลเข้มข้น 0.2 โมลาร์ สามารถชักนำการสร้างของ SSE ได้ 100% จำนวน 21.55 SSE/เอ็มบริโอ เมื่อย้าย SSE ที่ชักนำได้ในสูตรอาหารดังกล่าวเป็นเวลา 3 เดือน ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อชักนำการงอก พบว่า SSE สามารถงอกได้ถึง 78% และให้ต้นกล้าที่สมบูรณ์ 35.71% หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 เดือน

วัตถุประสงค์

ศึกษาผลของคู่ผสม ระยะพัฒนาการของคัพภะ ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดแคลลัส เอ็มบริโอเจนิคแคลลัส และการเกิดต้นของปาล์มน้ำมันโดยกระบวนการเอ็มบริโอเจเนซิสเพื่อการขยายพันธุ์ลูกผสม

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ อุปกรณ์

1. วัสดุพืช

ใช้ผลปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมเทเนอรา คู่ผสม D174×P206 D366×P110 และ D865×P110 อายุ 4 5 และ 6 เดือนหลังการผสม จากสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ตั้งอยู่ ณ หมู่ที่ 5 ตำบลคลองหอยโข่ง อำเภอคลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลา

2. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- สารเคมีที่ใช้เป็นองค์ประกอบสูตรอาหาร MS
- สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อและทำความสะอาดเครื่องแก้ว ประกอบด้วย แอลกอฮอล์ 70% คลอรอกซ์ ทวีน-20 น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ทีโพล
- น้ำตาลซูโครส ซอบิทอล และกรดแอสคอร์บิค
- สารควบคุมการเจริญเติบโต ประกอบด้วย NAA BA 2,4-D dicamba KN TDZ และน้ำมะพร้าว

3. อุปกรณ์การทดลอง

- เครื่องแก้ว ประกอบด้วยขวดแก้วสำหรับใส่ stock อาหาร กระบอกตวง ปิเปต บีกเกอร์ จานเพาะเลี้ยง ขวดปรับปริมาตร ขวดเพาะเลี้ยง ขวดรูปชมพู่ และหลอดทดลอง

- อุปกรณ์ในการเตรียมอาหาร ประกอบด้วยเครื่องชั่ง 2 และ 4 ตำแหน่ง เครื่องวัด pH เครื่องคนสารละลาย แท่งแม่เหล็ก ตู้อบแห้ง ตู้อบฆ่าเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ตู้อบไมโครเวฟ และตู้เย็น
- อุปกรณ์ในการเตรียมวัสดุพืช ประกอบด้วย กรรไกรตัดกิ่ง ค้อน ถุงพลาสติกใส ถุงมือ
- อุปกรณ์ในการย้ายเลี้ยง ประกอบด้วย ตู้ย้ายเลี้ยง ถังแก๊ส แอลกอฮอล์ 95% ผ้าเช็ดพื้นตู้ ปากคีบ ใบมีด ผ่าตัดพร้อมด้าม กระดาษชำระ
- อุปกรณ์ในการวางเลี้ยง เครื่องเขย่า ชั้นวางเลี้ยงควบคุมอุณหภูมิและแสง
- กล้องถ่ายรูปดิจิตอล
- กล้องจุลทรรศน์พร้อมกล้องบันทึกภาพ

วิธีการ

การเตรียมวัสดุพืช

แยกผลปาล์มน้ำมันออกจากทลาย ตัดส่วนเนื้อปาล์มน้ำมันออก ใช้ค้อนทุบแยกส่วนกะลาออก ตัดเนื้อในเมล็ดที่มีคัพภะฝังอยู่เป็นรูปสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ขนาดประมาณ 0.3 x 0.3 x 0.8 เซนติเมตร แช่ในแอลกอฮอล์ 70% พร้อมเขย่าเป็นเวลา 1 นาที ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์เข้มข้น 20% ร่วมกับทวีน-20 2-3 หยดต่อสารฟอกฆ่าเชื้อ 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ตัดแยกคัพภะออกจากเนื้อในเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์

1. ศึกษาผลของคู่ผสม อายุของคัพภะและสูตรอาหารต่อการชักนำการงอก

นำชิ้นส่วนคัพภะจากคู่ผสม D174×P206 D366×P110 และ D865×P110 อายุ 4 5 และ 6 เดือนหลังการผสม มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ 1/2MS ในหลอดทดลอง (25×150 มิลลิลิตร ประกอบด้วยอาหาร 10 มิลลิลิตร) แต่ละสูตรอาหารเติมน้ำตาลซูโครส 3% ปรับ pH เป็น 5.7 และเติมวุ้น 0.75% นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 1.07 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 15 นาที วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27$\pm$2 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ภายใต้ความเข้มแสง 20 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที บันทึกเปอร์เซ็นต์การงอก และการตอบสนองที่เกิดขึ้นหลังจาก

เพาะเลี้ยงทุกเดือน ทำการย้ายเลี้ยงทุกเดือนเป็นเวลา 2 เดือน วางแผนการทดลองแบบ Factorial design ใน CRD (Completely randomized design) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's multiple range test) แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 หลอด หลอดละ 1 คัพภะ

2. ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดรวม

นำชิ้นส่วนยอดจากการศึกษาที่ 1 หลังเพาะเลี้ยง 2 เดือน มาตัดปลายยอดออกและผ่าครึ่งตามยาวให้มีขนาดเท่ากัน แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติม BA หรือ KN เข้มข้นอย่างละ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ TDZ เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือน้ำมะพร้าว 15% เปรียบเทียบกับอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต อาหารทุกสูตรเติมน้ำตาลซูโครส 3% ปรับ pH เป็น 5.7 และเติมวุ้น 0.75% นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 1.07 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 15 นาที โดยวางเลี้ยง 2 ชิ้น (จากยอดเดียวกัน) ในขวดขนาด 4 ออนซ์ (ประกอบด้วยอาหาร 20 มิลลิลิตร) วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ภายใต้ความเข้มแสง 20 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต จำนวนยอดรวม ใบและรากเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนที่เลี้ยง และการเกิดสีน้ำตาลหลังจากเพาะเลี้ยงทุกเดือน โดยย้ายเลี้ยงทุกเดือนเป็นเวลา 3 เดือน วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT แต่ละสูตรอาหารทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้นส่วน

ในกรณีการศึกษาผลของไซโตไคนินร่วมกัน ทำการเพาะเลี้ยงปลายยอดในอาหารเหลวสูตร MS เติม KN เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือน้ำมะพร้าว 15% หรือ BA ร่วมกับ KN เข้มข้นอย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 15% วางเลี้ยง 2 ชิ้น (จากยอดเดียวกัน) ในขวดรูปชมพู่ (ฟลาสค์) ขนาด 125 มิลลิลิตร (ประกอบด้วยอาหาร 25 มิลลิลิตร) แต่ละสูตรอาหารเพาะเลี้ยง 20 ฟลาสค์ เลี้ยงที่อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ภายใต้ความเข้มแสง 20 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต การเกิดยอด ราก ต้น ดอก ยอดรวม และจำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนที่เลี้ยงหลังจากเพาะเลี้ยงทุกเดือน โดยย้ายเลี้ยงทุกเดือนเป็นเวลา 4 เดือน วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT แต่ละการทดลองทำ 2 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้นส่วน

3. ศึกษาผลของคู่ผสม อายุของคัพภะ และชนิดของออกซินต่อการชักนำแคลลัส

นำชิ้นส่วนคัพภะจากคู่ผสม D174×P206 D366×P110 และ D865×P110 อายุ 4 5 และ 6 เดือนหลังการผสม มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ในหลอดทดลอง (25×150 มิลลิลิตร ประกอบด้วยอาหาร 10 มิลลิลิตร) เติม NAA เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 2,4-D หรือ dicamba เข้มข้นอย่างละ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารที่เติมสารควบคุมแต่ละชนิดเติมน้ำตาลซูโครส 3% ปรับ pH เป็น 5.7 และเติมวุ้น 0.75% นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 1.07 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 15 นาที วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ภายใต้ความเข้มแสง 20 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และลักษณะที่เกิดขึ้นหลังจากเพาะเลี้ยงทุกเดือน ทำการย้ายเลี้ยงทุกเดือนเป็นเวลา 3 เดือน วางแผนการทดลองแบบ Factorial design ใน CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 หลอด หลอดละ 1 คัพภะ

4. ศึกษาผลของคู่ผสม ต่อการชักนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสและโซมาติกเอ็มบริโอ

นำแคลลัสเริ่มต้นจากแต่ละคู่ผสมในการศึกษาที่ 3 มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ในหลอดทดลอง (25×150 มิลลิลิตร ประกอบด้วยอาหาร 10 มิลลิลิตร) เติม dicamba เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3% ปรับ pH เป็น 5.7 และเติมวุ้น 0.75% นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 1.07 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 15 นาที วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ภายใต้ความเข้มแสง 20 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที บันทึกเปอร์เซ็นต์การพัฒนาของแคลลัสชนิดต่าง ๆ เอ็มบริโอเจนิคแคลลัส (embryogenic callus: EC) และโซมาติกเอ็มบริโอระยะสร้างจาว (haustorium embryo: HE) โดยย้ายเลี้ยงทุกเดือนเป็นเวลา 3 เดือน วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT แต่ละคู่ผสมทำ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 หลอด

5. ศึกษาผลของความเข้มข้นของ dicamba ต่อการเจริญของเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส

นำ EC จากการศึกษาที่ 4 หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมหรือเติม dicamba ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0.1 0.25 0.5 0.75 และ 1

มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ละสูตรอาหารเติมน้ำตาลซูโครส 3% ปรับ pH เป็น 5.7 และเติมวุ้น 0.75% นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 1.07 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 15 นาที วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ภายใต้ความเข้มแสง 20 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที บันทึกอัตราการเจริญของ EC โดยชั่งน้ำหนักหลังจากเลี้ยงทุกเดือน และลักษณะที่เกิดขึ้นหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน แต่ละสูตรอาหารทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 หลอด

6. ศึกษาผลของสูตรอาหารเพาะเลี้ยงต่อการงอกของโซมาติกเอ็มบริโอ

นำ HE จากการศึกษาที่ 4 มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 0.087 โมลาร์ หรือน้ำตาลซอร์บิทอลเข้มข้น 0.2 โมลาร์ แต่ละสูตรอาหารเติมกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับ pH เป็น 5.7 และเติมวุ้น 0.75% นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 1.07 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 15 นาที วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ภายใต้ความเข้มแสง 20 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที บันทึกเปอร์เซ็นต์การงอกเป็นยอดหรือต้นที่สมบูรณ์ การสร้างโซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สอง (secondary somatic embryos: SSE) และจำนวน SSE/HE หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD (Least significant difference) แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 HE

7. ศึกษาผลของช่วงเวลาการเพาะเลี้ยง HE ร่วมกับซอร์บิทอลต่อการงอกของ SSE

นำ SSE ที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยง HE บนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซอร์บิทอลเข้มข้น 0.2 โมลาร์ เป็นเวลา 1 2 และ 3 เดือน มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ร่วมกับน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3% กรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมวุ้น 0.75% นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 1.07 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 15 นาที วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ภายใต้ความเข้มแสง 20 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที บันทึกเปอร์เซ็นต์การงอกของยอด ราก และต้นที่สมบูรณ์หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน วางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 HE (2 HE ต่อขวดขนาด 60×110 มิลลิเมตร ที่มีอาหาร 25 มิลลิลิตร)

บทที่ 3

ผล

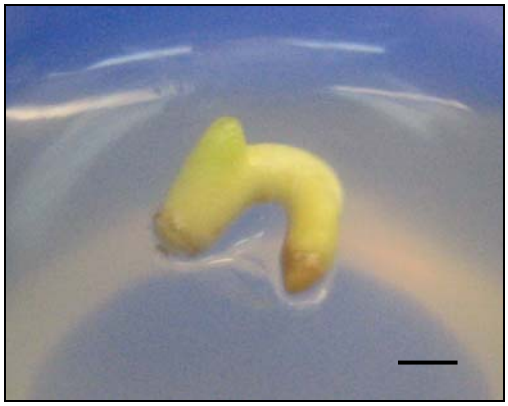
1. ผลของคู่ผสม อายุของคัพภะและสูตรอาหารต่อการชักนำการงอก

จากการเพาะเลี้ยงคัพภะแต่ละคู่ผสม ที่อายุต่าง ๆ หลังการผสม บนอาหารสูตร MS หรือ 1/2MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่า คู่ผสมต่างกัน ที่อายุต่าง ๆ ให้การตอบสนองต่อการงอกแตกต่างกัน คัพภะเริ่มงอกหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ (ภาพที่ 2) และหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน พบว่า คัพภะจากคู่ผสม D865×P110 ให้การงอกเฉพาะยอดเฉลี่ยสูงสุด 75.22% รองลงมาคือ คู่ผสม D174×P206 และ D366×P110 ให้การงอกเฉพาะยอดเฉลี่ย 57.11 และ 57.05% ตามลำดับ (ตารางที่ 1) แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง คัพภะอายุ 4 เดือนหลังการผสม ให้การงอกเฉพาะยอดเฉลี่ยสูงสุด 69.72% รองลงมาคือ คัพภะอายุ 6 เดือน หลังการผสม ให้การงอกเฉพาะยอดเฉลี่ย 66.83% ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่คัพภะอายุ 5 เดือนหลังการผสม ให้การงอกเฉพาะยอดเฉลี่ยต่ำสุด 52.83% แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 1) อาหารสูตร MS ให้การงอกเฉพาะยอดเฉลี่ย 63.96% สูงกว่าอาหารสูตร 1/2MS ที่ให้การงอกเฉพาะยอดเฉลี่ย 62.30% แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 2) ลักษณะยอดที่เกิดขึ้นมีสีเขียว (ภาพที่ 3ก) และมีส่วนของจาว (haustorium) คู่ผสมและอายุของคัพภะ เป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการงอกยอดของคัพภะอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และปัจจัยทั้งสองมีปฏิกิริยาสัมพันธ์กันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางภาคผนวกที่ 2)

คัพภะจากคู่ผสม D865×P110 ให้การงอกเป็นต้นสมบูรณ์เฉลี่ยสูงสุด 31.61% รองลงมาคือ คู่ผสม D174×P206 และ D366×P110 ให้การงอกเป็นต้นเฉลี่ย 10.89 และ 9.94% ตามลำดับ (ตารางที่ 1) แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง คัพภะอายุ 4 เดือนหลังการผสม ให้การงอกเป็นต้นเฉลี่ยสูงสุด 21.44% รองลงมาคือ คัพภะอายุ 6 และ 5 เดือนหลังการผสม ให้การงอกเป็นต้นเฉลี่ย 15.55 และ 15.44% ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1) อาหารสูตร 1/2MS ให้การงอกเป็นต้นเฉลี่ย 17.85% มากว่าอาหารสูตร MS ที่ให้การงอกเป็นต้นเฉลี่ย 17.11% (ตารางที่ 2) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ต้นกล้าที่งอกมีใบสีเขียวเข้มหนึ่งใบ และรากเริ่มต้นมีสีขาวค่อนข้างสั้น (ภาพที่ 3ข) และพบว่า คู่ผสมเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการงอกเป็นต้นของคัพภะอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางภาคผนวกที่ 3)

คัพภะจากคู่ผสม D865×P110 ให้การงอกเฉพาะรากเฉลี่ยสูงสุด 5.83% รองลงมาคือ คู่ผสม D366×P110 และ D174×P206 ให้การงอกเฉพาะรากเฉลี่ย 3.33 และ 2.83% ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ คัพภะอายุ 6 เดือนหลังการผสม ให้การงอกเฉพาะรากเฉลี่ยสูงสุด 5.05% รองลงมาคือ คัพภะอายุ 5 และ 4 เดือนหลังการผสม ให้การงอกเฉพาะรากเฉลี่ย 4.72 และ 2.22% ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1) อาหารสูตร 1/2MS ให้การงอกเฉพาะรากเฉลี่ย 6.74% สูงกว่าอาหารสูตร MS ที่ให้การงอกเฉพาะรากเฉลี่ย 1.26% แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 2) คัพภะที่งอกเฉพาะราก มีรากค่อนข้างยาว และแตกรากแขนง (ภาพที่ 3 ค) และพบว่า สูตรอาหารเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการงอกเฉพาะรากของคัพภะอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางภาคผนวกที่ 4)

เมื่อเพาะเลี้ยงยอดต่อไปเป็นเวลา 3 เดือน ยอดมีการยืดยาว ใบเริ่มแผ่ขยายขึ้น และแตกใบใหม่ ทั้งนี้พบว่า คู่ผสม D865×P110 ใบมีสีเขียวเข้มกว่าคู่ผสมอื่น ๆ และมีการงอกรากจากยอดเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 2 คัพภะปาล์มน้ำมันคู่ผสม D865xP110 อายุ 4 เดือนหลังการผสม เริ่มงอกหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 1 สัปดาห์ (บาร์ = 2.15 มิลลิเมตร)

ตารางที่ 1 ผลของคู่ผสม อายุของคัพภะและสูตรอาหารต่อการงอกของคัพภะปาล์มน้ำมันหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ 1/2MS เป็นเวลา 2 เดือน

อายุคัพภะ (เดือน) / คู่ผสม	4		5		6		
	ยอดเฉลี่ย (%)						
	MS	½MS	MS	½MS	MS	½MS	ค่าเฉลี่ย$_{คู่ผสม}$
D174×P206	78.33ab	56.66bcd	25.66ef	17.66f	82.00a	82.33a	57.11B
D366×P110	65.00abc	66.66abc	58.33abcd	60.00abcd	40.00de	52.33cd	57.05B
D865×P110	73.33abc	78.33ab	81.00ab	74.33abc	72.00abc	72.33abc	75.22A
ค่าเฉลี่ย$_{สูตรอาหาร}$ [1]	72.22^{ns}	67.22	55.00	50.67	64.67	69.00	
ค่าเฉลี่ย$_{อายุคัพภะ}$	69.72A		52.83B		66.83A		C.V. (%) 19.90
	ต้นเฉลี่ย (%)						ค่าเฉลี่ย$_{คู่ผสม}$
D174×P206	6.66d	17.66cd	9.00d	11.33cd	6.66d	14.00cd	10.89B
D366×P110	11.33cd	4.66d	12.33cd	6.66d	13.33cd	11.33cd	9.94B
D865×P110	46.66a	41.66ab	20.00bcd	33.33abc	28.00abcd	20.00bcd	31.61A
ค่าเฉลี่ย$_{สูตรอาหาร}$	21.55^{ns}	21.33	13.78	17.11	16.00	15.11	
ค่าเฉลี่ย$_{อายุคัพภะ}$	21.44^{ns}		15.44		15.55		C.V. (%) 67.90
	รากเฉลี่ย (%)						ค่าเฉลี่ย$_{คู่ผสม}$
D174×P206	0.00^{ns}	6.66	0.00	6.66	0.00	3.66	2.83^{ns}
D366×P110	0.00	0.00	6.66	0.00	0.00	13.33	3.33
D865×P110	0.00	6.66	0.00	15.00	4.66	8.66	5.83
ค่าเฉลี่ย$_{สูตรอาหาร}$	0.00^{ns}	4.44	2.22	7.22	1.55	8.55	
ค่าเฉลี่ย$_{อายุคัพภะ}$	2.22^{ns}		4.72		5.05		C.V. (%) 191.12

ns: ค่าเฉลี่ยในแต่ละการทดลองและแต่ละปัจจัยไม่แตกต่างกันทางสถิติ

[1]: ค่าเฉลี่ยในแต่ละสูตรอาหารของทุกคู่ผสมและทุกอายุคัพภะตามตารางที่ 2

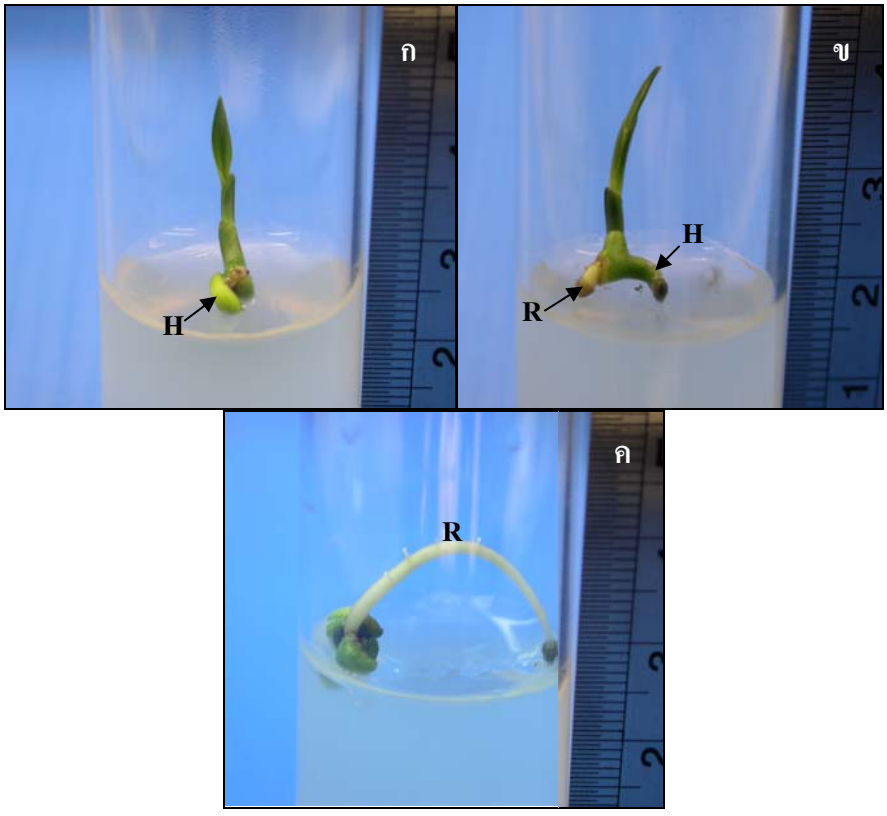
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

ตารางที่ 2 ผลของสูตรอาหารต่อการงอกของคัพภะปาล์มน้ำมันจากคู่ผสม D174×P206 D366×P110 และ D865×P110 ที่อายุ 4 5 และ 6 เดือนหลังการผสม หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน

สูตรอาหาร	ยอดเฉลี่ย (%)	ต้นเฉลี่ย (%)	รากเฉลี่ย (%)
MS	63.96	17.11	1.26b
1/2MS	62.30	17.85	6.74a
F-test	ns	ns	*
C.V. (%)	19.90	67.90	191.12

*: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (0.01<p<0.05)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

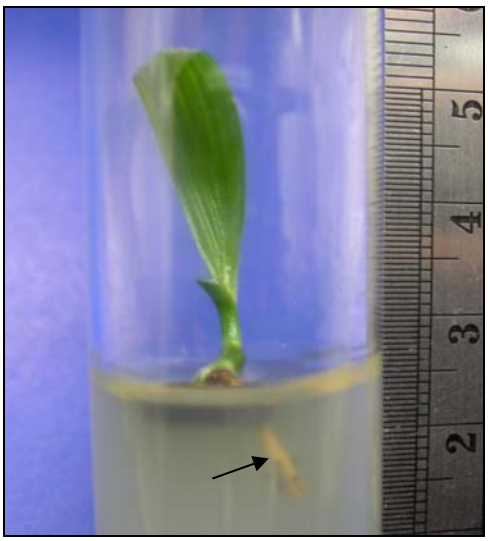


ภาพที่ 3 การงอกของคัพภะปาล์มน้ำมันจากคู่ผสม D865×P110 หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 2 เดือน (H = haustorium, R = root)

ก: งอกเฉพาะยอดของคัพภะอายุ 4 เดือนหลังการผสม บนอาหารสูตร MS

ข: ต้นกล้า (ยอดและราก) ของคัพภะอายุ 4 เดือนหลังการผสม บนอาหารสูตร MS

ค: รากของคัพภะอายุ 6 เดือน บนอาหารสูตร 1/2MS



ภาพที่ 4 การงอกราก (ลูกศร) ของยอดคัพภะปาล์มน้ำมันคู่ผสม D865xP110 อายุ 4 เดือน บนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 3 เดือน

2. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดรวม

หลังจากตัดปลายยอดและผ่าครึ่งต้นอ่อนตามยาวให้มีขนาดเท่ากันเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงไม่สามารถสร้างยอดรวมได้ มีเพียงยอดหลัก 1 ยอดหลังจากผ่าครึ่งจากชิ้นส่วนเริ่มต้นที่พัฒนาให้เห็น (ภาพที่ 5) ซึ่งแต่ละสารควบคุมการเจริญเติบโตให้การตอบสนองต่อการงอกยอดที่แตกต่างกัน โดยต้นอ่อนที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม KN เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุด 85.55% รองลงมาคือ อาหารเติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารเติมน้ำมะพร้าว 15% และอาหารไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ให้อัตราการรอดชีวิต 81.48 77.09 และ 65.44% ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่อาหารเติม TDZ เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการรอดชีวิตต่ำสุด 51.05% แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 3) โดยชิ้นส่วนที่รอดชีวิตมีการงอกยอด และแตกใบใหม่ 1-2 ใบ พบว่า อาหารเติมน้ำมะพร้าว 15% ให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 1.93 ใบต่อชิ้นส่วน รองลงมาคือ อาหารเติม KN เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต อาหารเติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารเติม TDZ เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนใบเฉลี่ย 1.47 1.28 1.20 และ 1 ใบต่อชิ้นส่วนตามลำดับ แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 3) นอกจากนี้ การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดไซโตไคนิน ช่วยลดการเกิดสีน้ำตาลของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง โดยอาหารเติมน้ำ

มะพร้าว 15% ให้การเกิดสีน้ำตาลน้อยที่สุด 19.69% แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ให้การเกิดสีน้ำตาลสูงสุด 49.1% ในขณะที่อาหารเติม KN เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารเติม TDZ เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารเติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การเกิดสีน้ำตาล 26.77 32.06 และ 33.80% ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3) ต้นอ่อนที่งอกยอดที่วางเลี้ยงบนอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตโดยส่วนใหญ่ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (ภาพที่ 5ก) อาหารที่เติม BA ชักนำการแตกของใบให้แยกออกเป็นใบเดี่ยว ๆ อย่างชัดเจน (ภาพที่ 5ข) ในขณะที่อาหารเติม KN ให้ยอดที่มีใบติดกันเป็นกระจุก (ภาพที่ 5ค) ส่วนอาหารที่เติม TDZ ให้อัตราการรอดชีวิตต่ำสุด ยอดมีใบหงิกงอ สีเขียวอ่อนซีด (ภาพที่ 5ง) ส่วนอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 15% ชักนำการงอกของยอดได้ดี ยอดมีการเจริญเติบโตและยืดยาวได้เร็วกว่าอาหารสูตรอื่น ๆ (ภาพที่ 5จ)

ตารางที่ 3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดรวมของปาล์มน้ำมัน หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 3 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มก/ล)	อัตราการรอดชีวิต (%)	จำนวนใบเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน	การเกิดสีน้ำตาล (%)
PGR-free	65.44ab	1.28b	49.10a
BA (5)	81.48a	1.20b	33.80ab
KN (5)	85.55a	1.47b	26.77b
TDZ (0.5)	51.05b	1.00b	32.06ab
CW (150)[1]	77.09a	1.93a	19.69b
F-test	*	*	ns
C.V. (%)	16.89	17.43	30.26

ns: ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

*: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($0.01<p<0.05$)

[1]: มิลลิลิตรต่อลิตร

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

ภาพที่ 5 ลักษณะการสร้างยอดจากชิ้นส่วนต้นอ่อนที่ผ่าครึ่งตามยาว วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ก: ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต หรือ ข: เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ ค: เติม KN เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ ง: เติม TDZ เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ จ: เติมน้ำมะพร้าว 15% เป็นเวลา 3 เดือน

ในขณะเดียวกัน เมื่อผ่าครึ่งต้นอ่อนในลักษณะเดียวกัน และเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เป็นเวลา 4 เดือน ทำการย้ายเลี้ยงทุกเดือน พบว่า สามารถสร้างยอดรวมและชักนำต้นที่สมบูรณ์ได้ แต่มีลักษณะที่ผิดปกติ คือ การพัฒนาโครงสร้างคล้ายช่อดอกจำนวนมาก โดยอาหารสูตร MS เติมน้ำมะพร้าว 15% ให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุด 86.37% รองลงมาคือ อาหารเติมน้ำมะพร้าว 15% ร่วมกับ BA และ KN เข้มข้นอย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการรอดชีวิต 83.34% ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และอาหารเติม KN เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการรอดชีวิต 61.12 และ 44.44% ตามลำดับ (ตารางที่ 4) อาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตส่งเสริมการสร้างยอดสูงสุด 63.34% รองลงมาคือ อาหารเติมน้ำมะพร้าว 15% อาหารเติมน้ำมะพร้าว 15% ร่วมกับ BA และ KN เข้มข้นอย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารเติม KN เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการสร้างยอด 42.22 40.18 และ 25% ตามลำดับ แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 4) อาหารเติมน้ำมะพร้าว 15% ส่งเสริมการสร้างต้นสูงสุด 25% รองลงมาคือ อาหารที่ไม่

เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและอาหารเติมน้ำมะพร้าว 15% ร่วมกับ BA และ KN เข้มข้นอย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการสร้างต้น 10 และ 7.15% ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4) ในขณะที่อาหารเติม KN เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สร้างต้น อาหารเติมน้ำมะพร้าว 15% ส่งเสริมการสร้างรากสูงสุด 31.67% รองลงมาคือ อาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและอาหารเติมน้ำมะพร้าว 15% ร่วมกับ BA และ KN เข้มข้นอย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการสร้างราก 26.67 และ 19.65% ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนอาหารเติม KN เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สร้างราก

ตารางที่ 4 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่ออัตราการรอดชีวิต การสร้างยอด ต้นและรากของปาล์มน้ำมันหลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เป็นเวลา 4 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มก/ล)	อัตราการรอดชีวิต (%)	ยอด (%)	ต้น (%)	ราก (%)
PGR-free	61.12bc	63.34a	10.00	26.67a
KN(5)	44.44c	25.00c	0.00	0.00b
CW(150)[1]	86.37a	42.22b	25.00	31.67a
CW(150)[1]+BA(0.5)+KN(0.5)	83.34ab	40.18b	7.15	19.65ab
F-test	*	**	ns	*
C.V. (%)	10.43	8.48	94.6	36.48

ns: ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

*: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($0.01<p<0.05$)

**: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.05$)

[1]: มิลลิลิตรต่อลิตร

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

ต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เติมน้ำมะพร้าว 15% ร่วมกับ BA และ KN เข้มข้นอย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารเติมน้ำมะพร้าว 15% ส่งเสริมการสร้างยอดรวม 13.4 และ 5% ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่อาหารชุดควบและอาหารเติม KN เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สร้างยอดรวม (ตารางที่ 5) อาหารเหลวสูตร MS เติมน้ำมะพร้าว 15% ร่วมกับ BA และ KN เข้มข้นอย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 2.5 ยอดต่อชิ้นส่วนสูงกว่าอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 15% เพียงอย่างเดียว โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ยเพียง 1 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5) นอกจากนี้ ในอาหารสูตร MS เติม KN เข้มข้น 5 มิลลิกรัม

ต่อลิตร ให้การพัฒนาโครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดเล็กมากถึง 75% แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับโครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดเล็กในอาหารเหลวสูตร MS เติมน้ำมะพร้าว 15% ร่วมกับ BA และ KN เข้มข้นอย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้โครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดเล็ก 13.40% ในอาหารเติมน้ำมะพร้าว 15% ให้โครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดใหญ่ 10.56% สูงกว่าในอาหารเหลวสูตร MS เติมน้ำมะพร้าว 15% ร่วมกับ BA และ KN เข้มข้นอย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้โครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดใหญ่ 6.25% แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 5 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการสร้างยอดรวมและโครงสร้างคล้ายช่อดอกหลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เป็นเวลา 4 เดือน

สารควบคุมการเจริญเติบโต (มก/ล)	ยอดรวม (%)	จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน	โครงสร้างคล้ายช่อดอก (%)	
			ขนาดเล็ก	ขนาดใหญ่
PGR-free	0.00b	0.00b	0.00c	0.00
KN(5)	0.00b	0.00b	75.00a	0.00
CW(150)[1]	5.00ab	1.00ab	0.00c	10.56
CW(150)[1]+BA(0.5)+KN(0.5)	13.40a	2.50a	13.40b	6.25
F-test	*	ns	**	ns
C.V. (%)	73.45	77.37	2.86	102.46

ns: ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

*: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($0.01<p<0.05$)

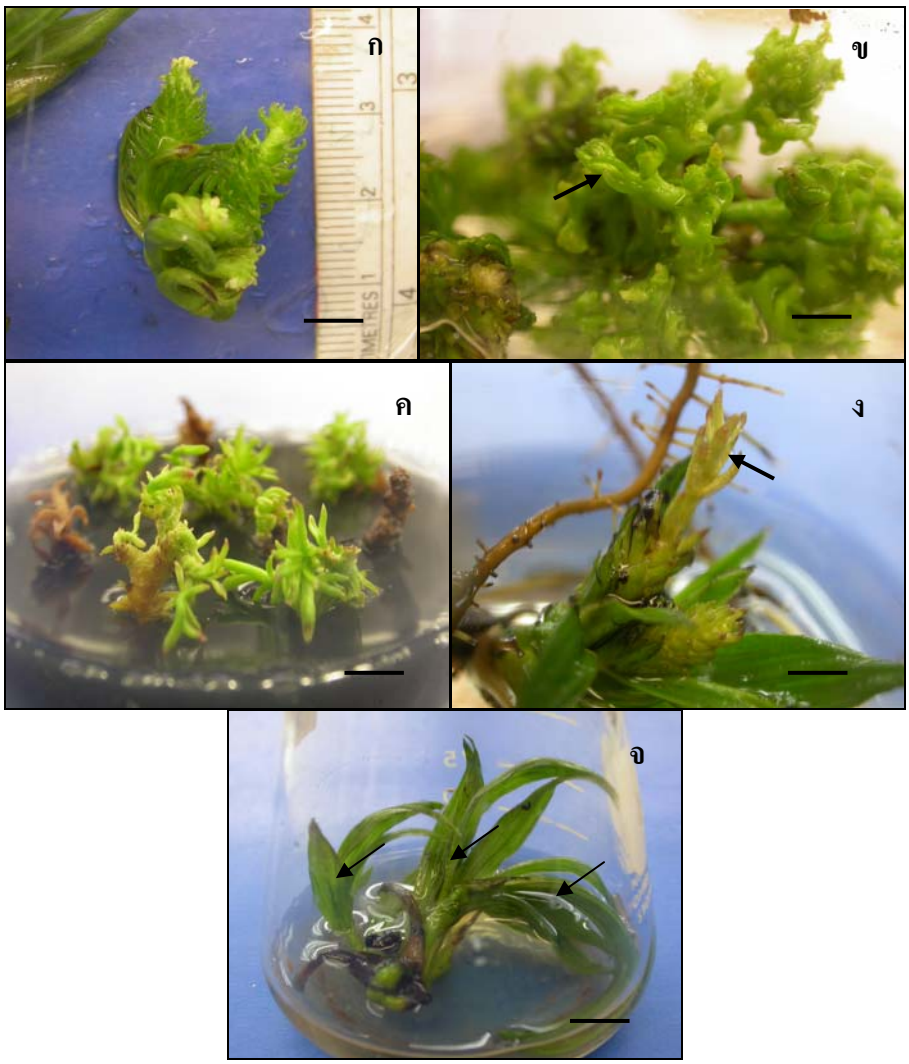
**: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.05$)

[1]: มิลลิลิตรต่อลิตร

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

โครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดเล็กพัฒนาให้เห็นชัดเจนหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน มีลักษณะกระจุกคล้ายสาหร่ายหางกระรอก อ่อนนิ่ม สีเขียวอ่อน บริเวณปลายยอดเป็นสีขาว (ภาพที่ 6ก) และไม่มีการพัฒนาเป็นชิ้นส่วนใบที่ชัดเจน หลังจากเลี้ยงต่อไปอีก 2 เดือน พบว่าชิ้นส่วนแตกออกมา และเพิ่มปริมาณจำนวนมาก มีลักษณะคล้ายใบประดับเล็ก ๆ (ภาพที่ 6ข) แต่เมื่อนำมาปักเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เติมหรือไม่เติมผงถ่าน 0.2% เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ชิ้นส่วนเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตาย (ภาพที่ 6ค) ในขณะที่โครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดใหญ่พัฒนาหลังจากมีการแตกใบใหม่ออกมา 3-4 ใบ โครงสร้าง

ดังกล่าวมีลักษณะเป็นกลีบแข็งหรือเป็นหนามแหลมซ้อนกันเป็นกระจุก จำนวน 1-2 ช่อต่อยอด สีเหลือง (ภาพที่ 6ง) และเมื่อเลี้ยงต่อไปอีก 3 เดือน กลีบดังกล่าวเริ่มร่วง เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตาย ส่วนอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวร่วมกับ BA และ KN ที่ลดความเข้มข้นลง 10 เท่า สามารถสร้างยอดรวมโดยให้ยอดที่มีลักษณะปกติ (ภาพที่ 6จ) และเมื่อศึกษาลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของโครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดเล็กจากภาพที่ 6ข หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม KN เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และโครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดใหญ่จากภาพที่ 9ง หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15% เป็นเวลา 4 เดือน ที่ผ่านการแช่ในน้ำยา Navashin's และตัดตามขวางหรือตามยาวหนา 6 ไมครอน แล้วย้อมด้วย Delafield's hematoxylin และ safranin พบว่าเนื้อเยื่อจากโครงสร้างคล้ายช่อดอกทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่ไม่มีองค์ประกอบของอวัยวะดอกที่ชัดเจน โดยเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดจากโครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดเล็กมีการแบ่งเซลล์สูงจากนิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม (ภาพที่ 7ก) เจริญและยืดยาวเป็นส่วนของจะงอยคล้ายใบประดับแต่ไม่พบท่อน้ำท่ออาหารชัดเจน (ภาพที่ 7ข) นอกจากนี้ยังแตกตาข้างและยืดยาว แต่ไม่มีการสร้างกลุ่มของตาดอก ในขณะที่โครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดใหญ่มีลักษณะเป็นช่อ และมีหนามแหลมคล้ายก้านดอกย่อย เซลล์บริเวณเนื้อเยื่อแกนกลางยืดยาวและติดสีเข้ม อย่างไรก็ตาม เนื้อเยื่อบริเวณก้านดอกย่อยไม่พบการสร้างตาดอกเช่นเดียวกัน (ภาพที่ 7ค)



ภาพที่ 6 การพัฒนาของชิ้นส่วนต้นอ่อนที่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS

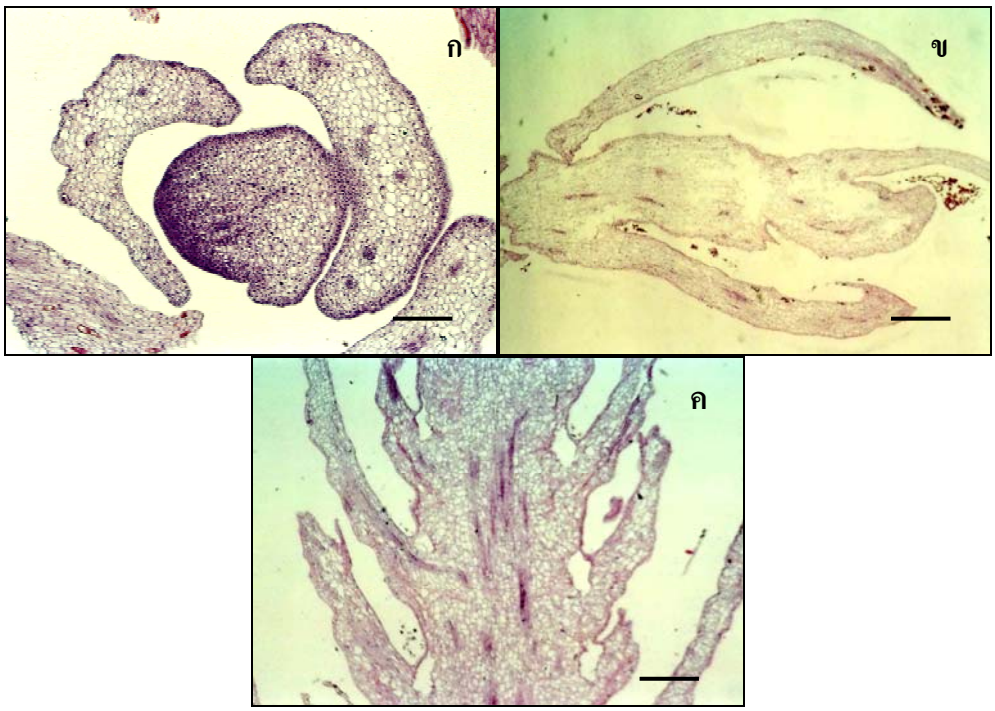
ก: ลักษณะโครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดเล็กในอาหารเติม KN เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยง 2 เดือน (บาร์ = 6.00 มิลลิเมตร)

ข: การแตกออกและเพิ่มปริมาณของลักษณะดังกล่าวหลังจากเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 2 เดือน (บาร์ = 4.33 มิลลิเมตร)

ค: ลักษณะคล้ายช่อดอกเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายหลังจากย้ายเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เป็นเวลา 3 เดือน (บาร์ = 6.00 มิลลิเมตร)

ง: ลักษณะคล้ายช่อดอกขนาดใหญ่ในอาหารเติมน้ำมะพร้าว 15% หลังจากเพาะเลี้ยง 4 เดือน (บาร์ = 5.42 มิลลิเมตร)

จ: ยอดรวม (ลูกศร) ในอาหารเติมน้ำมะพร้าว 15% ร่วมกับ BA และ KN เข้มข้นอย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (บาร์ = 1.08 เซนติเมตร)



ภาพที่ 7 ลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของการสร้างโครงสร้างคล้ายช่อดอก (ความหนา 6 ไมครอน)

ก: โครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดเล็กเมื่อตัดตามขวาง (บาร์ = 160 ไมโครเมตร)

ข: โครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดเล็กเมื่อตัดตามยาว (บาร์ = 350 ไมโครเมตร)

ค: โครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดใหญ่เมื่อตัดตามยาว (บาร์ = 330 ไมโครเมตร)

3. ผลของคู่ผสม อายุของคัพภะและชนิดของออกซินต่อการชักนำแคลลัส

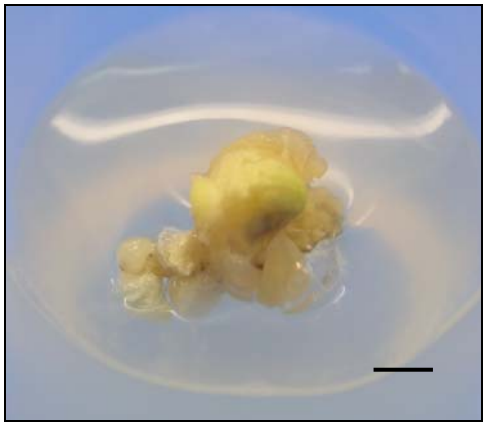
หลังจากเพาะเลี้ยงคัพภะบนอาหารเติมสารออกซินเป็นเวลา 1 เดือน คัพภะเริ่มบวมและสร้างแคลลัสให้เห็นชัดเจนบริเวณรอบ ๆ ส่วนฐานของคัพภะ (ขั้วที่เกิดราก) (ภาพที่ 8) พบว่า คัพภะจากคู่ผสมต่างกัน ที่อายุต่าง ๆ ให้การตอบสนองต่อการสร้างแคลลัสแตกต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมออกซินชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 3 เดือน คู่ผสม D174xP206 ให้การสร้างแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 63.70% รองลงมาคือ คู่ผสม D865×P110 และ D366×P110 ให้การสร้างแคลลัสเฉลี่ย 58.85 และ 53.88% ตามลำดับ แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 6) คัพภะอายุ 6 เดือนหลังการผสม ให้การสร้างแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 61.89% รองลงมาคือ คัพภะอายุ 4 เดือนหลังการผสม ให้การสร้างแคลลัสเฉลี่ย 61.77% ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่คัพภะอายุ 5 เดือนหลังการผสม ให้การสร้างแคลลัสเฉลี่ยต่ำสุด 52.77% แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 6) ออกซินชนิด dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมในอาหารสูตร MS ส่งเสริมการ

สร้างแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 87.52% รองลงมาคือ อาหารเติม 2,4-D เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารเติม NAA เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการสร้างแคลลัสเฉลี่ย 77.78 และ 11.15% ตามลำดับ แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 7) คู่ผสม อายุของคัพภะ ชนิดของออก-ซินเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการสร้างแคลลัสของคัพภะอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง นอกจากนี้ ปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างคู่ผสมและชนิดของออกซิน และปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างอายุคัพภะและชนิดของออกซินมีผลต่อการสร้างแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ส่วนปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างคู่ผสมและอายุคัพภะ และปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างทั้ง 3 ปัจจัย มีผลต่อการสร้างแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางภาคผนวกที่ 5)

ในขณะเดียวกัน คัพภะบางส่วนให้การสร้างแคลลัสร่วมกับการเกิดยอด คู่ผสม D174xP206 ให้การสร้างแคลลัสร่วมกับการเกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.48% รองลงมาคือ คู่ผสม D865×P110 และคู่ผสม D366×P110 ให้การสร้างแคลลัสร่วมกับการเกิดยอดเฉลี่ย 1.85 และ 0.74% ตามลำดับ แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 6) คัพภะอายุ 6 เดือนหลังการผสม ให้การสร้างแคลลัสร่วมกับการเกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 5.96% สูงกว่าคัพภะอายุ 5 เดือนหลังการผสม ที่ให้การสร้างยอดร่วมกับการเกิดแคลลัสเฉลี่ย 1.11% แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 6) ในขณะที่คัพภะอายุ 4 เดือนหลังการผสม ไม่สร้างแคลลัสร่วมกับการเกิดยอด อาหารเติม 2,4-D เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การสร้างแคลลัสร่วมกับการเกิดยอดเฉลี่ย 5.3% สูงกว่าอาหารเติม dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้การสร้างแคลลัสร่วมกับการเกิดยอดเฉลี่ย 1.78% แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ส่วนอาหารเติม NAA เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สร้างแคลลัสร่วมกับการเกิดยอด (ตารางที่ 7) อายุคัพภะ ชนิดของออกซิน และปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างทั้ง 2 ปัจจัย มีผลต่อการสร้างแคลลัสร่วมกับการเกิดยอดอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ส่วนคู่ผสม ปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างคู่ผสมและชนิดของออกซิน มีผลต่อการสร้างแคลลัสร่วมกับการเกิดยอดอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางภาคผนวกที่ 6)

นอกจากนี้พบว่า แต่ละคู่ผสมให้การสร้างแคลลัสรูปแบบต่าง ๆ แตกต่างกัน หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน โดยคู่ผสม D174xP206 ให้ลักษณะแคลลัสส่วนใหญ่เกาะกันแน่น (compact callus) มีสีเหลืองเข้ม (ภาพที่ 9ก) แคลลัสจากคู่ผสม D865xP110 ส่วนใหญ่เป็นแบบปุ่มปม (nodular callus) มีสีเหลืองอ่อน (ภาพที่ 9ข) และคู่ผสม D366xP110 ให้แคลลัสส่วนใหญ่เกาะกันอย่างหลวม ๆ (friable callus) มีสีเหลืองซีด (ภาพที่ 9ค) และคัพภะจากคู่ผสม D174xP206 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเติม 2,4-D เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การพัฒนาของยอดร่วมกับการสร้างแคลลัส โดยงอกยอดบริเวณฐานของคัพภะ มีสีเขียวอ่อน ม้วนงอ (ภาพที่ 10) และยังพบว่า ชนิดของออกซินมีผลต่อการ

สร้างแคลลัสแตกต่างกัน ทั้งนี้ dicamba ให้การสร้างแคลลัสแบบปุ่มปมสีเหลือง และเพิ่มปริมาณจำนวนมาก (ภาพที่ 11ก) และ 2,4-D ให้การสร้างแคลลัสแบบเกาะกันแน่น และแคลลัสมีการเพิ่มปริมาณที่น้อย (ภาพที่ 11ข) แต่ให้การสร้างยอดได้ดี ในขณะที่ NAA ให้การสร้างแคลลัสน้อยมาก คัพภะโดยส่วนใหญ่บวมและขยายขนาดขึ้น แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงใด ๆ เกิดขึ้น (ภาพที่ 11ค)



ภาพที่ 8 แคลลัสที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงคัพภะปาล์มน้ำมันคู่ผสม D174xP206 บนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน
(บาร์ = 3.14 มิลลิเมตร)

ตารางที่ 6 ผลของคู่ผสม อายุของคัพภะและชนิดของออกซินต่อการสร้างแคลลัสของคัพภะปาล์มน้ำมันหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 3 เดือน

อายุคัพภะ (เดือน) / คู่ผสม	4			5			6			
	การสร้างแคลลัส (%)									
	NAA (40)*	2,4-D (2.5)	dicamba (2.5)	NAA (40)	2,4-D (2.5)	dicamba (2.5)	NAA (40)	2,4-D (2.5)	dicamba (2.5)	ค่าเฉลี่ย$_{คู่ผสม}$
D174×P206	13.33h	93.33ab	100.00a	0.00h	86.66abc	80.00bcd	0.00h	100.00a	100.00a	63.70A
D366×P110	46.66fg	61.66ef	73.33cde	36.66g	46.66fg	66.66de	0.00h	66.66de	86.66abc	53.88B
D865×P110	0.00h	73.33cde	94.33ab	0.00h	71.66cde	86.66abc	3.66h	100.00a	100.00a	58.85B
ค่าเฉลี่ย$_{ออกซิน}$[1]	20.00b	76.12a	89.22a	12.22b	68.33a	77.77a	1.22b	88.89a	95.55a	
ค่าเฉลี่ย$_{อายุคัพภะ}$		61.77A			52.77B			61.89A		C.V. (%) 16.10
	การสร้างแคลลัสและยอด (%)									ค่าเฉลี่ย$_{คู่ผสม}$
D174×P206	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c	6.66bc	3.33c	0.00c	25.66a	4.66bc	4.48A
D366×P110	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c	6.66bc	0.00c	0.74B
D865×P110	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c	8.66b	8.00bc	1.85AB
ค่าเฉลี่ย$_{ออกซิน}$	0.00b	0.00b	0.00b	0.00b	2.22b	1.11b	0.00b	13.66a	4.22b	
ค่าเฉลี่ย$_{อายุคัพภะ}$		0.00B			1.11B			5.96A		C.V. (%) 206.02

*: มิลลิกรัมต่อลิตร

[1]: ค่าเฉลี่ยในแต่ละชนิดออกซินของทุกคู่ผสมและทุกอายุคัพภะตามตารางที่ 7

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

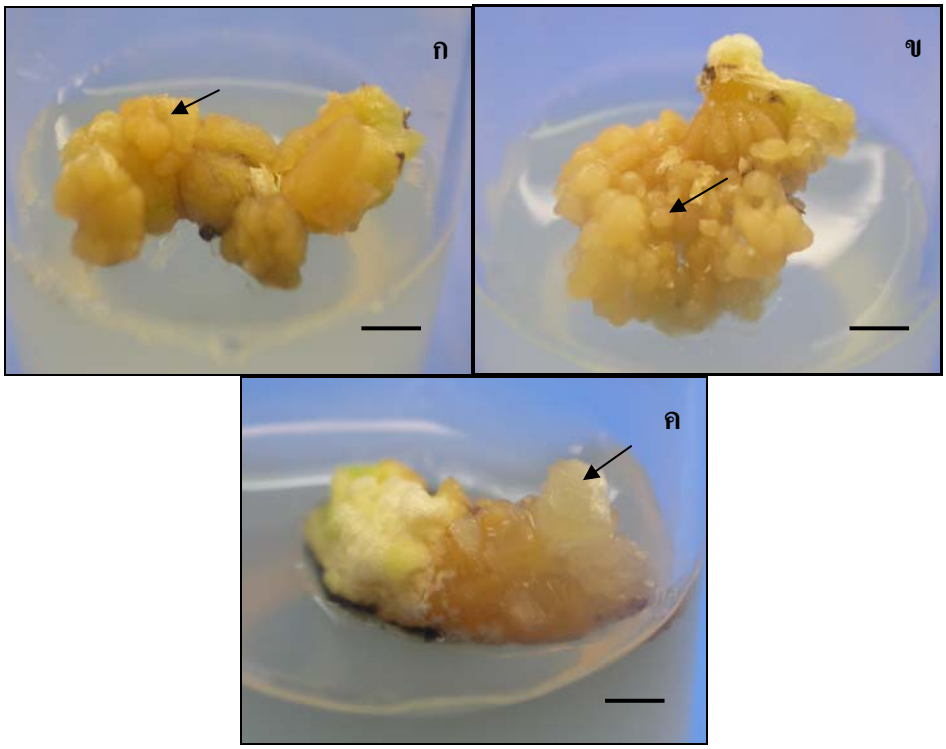
ตารางที่ 7 ผลของชนิดของออกซินต่อการสร้างแคลลัสของคัพภะปาล์มน้ำมันจากคู่ผสม D174×P206 D366×P110 และ D865×P110 ที่อายุ 4 5 และ 6 เดือนหลังการผสม หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 3 เดือน

ชนิดของออกซิน (มก/ล)	การสร้างแคลลัส (%)	การสร้างแคลลัสและยอด (%)
NAA (40)	11.15c	0.00b
2,4-D (2.5)	77.78b	5.30a
dicamba (2.5)	87.52a	1.78b
F-test	**	*
C.V. (%)	16.10	206.02

*: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($0.01<p<0.05$)

**: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.05$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT



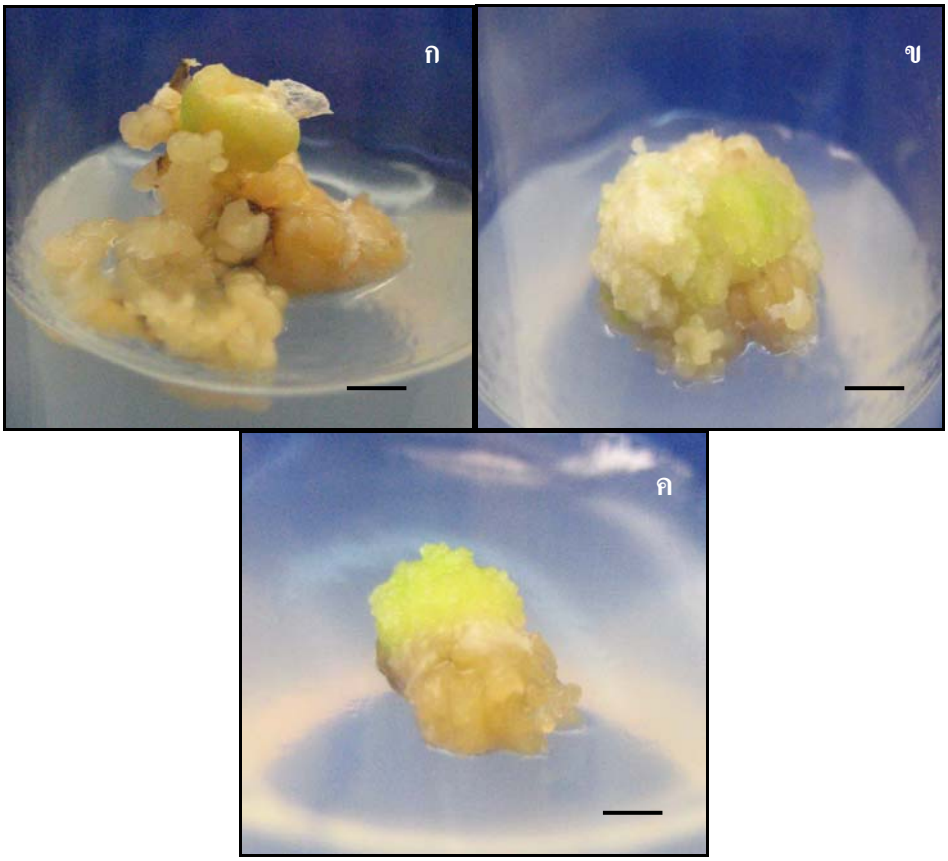
ภาพที่ 9 แคลลัสรูปแบบต่าง ๆ ที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงคัพภะปาล์มน้ำมันอายุ 6 เดือนหลังการผสม บนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน (บาร์ = 2.5 มิลลิเมตร)

ก. compact callus (ลูกศร) จากคู่ผสม D174xP206

ข. nodular callus (ลูกศร) จากคู่ผสม D865xP110

ค. friable callus (ลูกศร) จากคู่ผสม D366xP110

ภาพที่ 10 แคลลัสร่วมกับการเกิดยอดที่ชักนำได้จากคู่ผสม D174xP206 อายุ 6 เดือนเดือนหลังการผสม บนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน (บาร์ = 2.5 มิลลิเมตร)

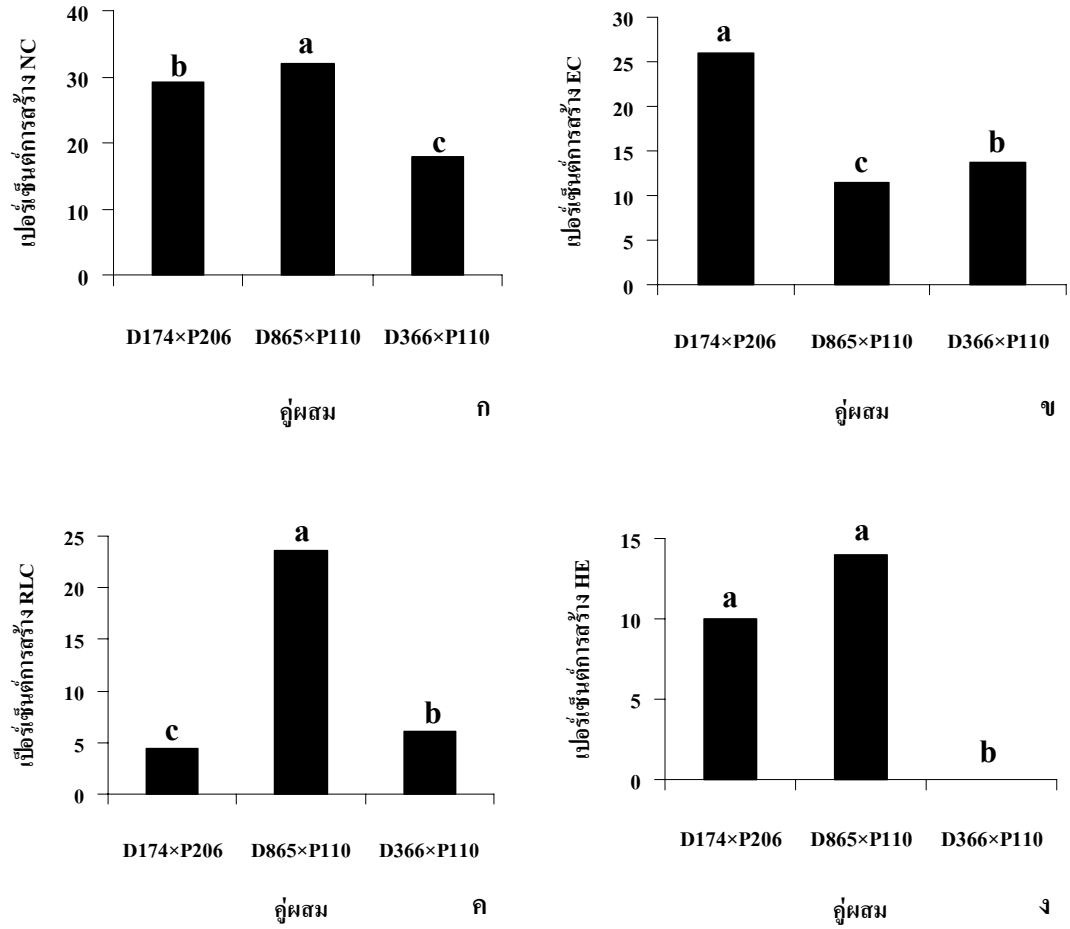


ภาพที่ 11 แคลลัสที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงคัพภะปาล์มน้ำมันคู่ผสม D174xP206 บนอาหารสูตร MS เติมออกซินชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 3 เดือน (บาร์ = 3.14 มิลลิเมตร)
ก: dicamba ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
ข: 2,4-D ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
ค: NAA ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร

4. ผลของคู่ผสมต่อการชักนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสและโซมาติกเอ็มบริโอ

แคลลัสเริ่มต้นที่ย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ในแต่ละคู่ผสมให้การตอบสนองต่อการสร้างแคลลัสที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 12) แคลลัสมีการพัฒนาแตกต่างกัน 3 รูปแบบ คือ แคลลัสแบบปุ่มปม (nodular callus: NC) เอ็มบริโอเจนิคแคลลัส (embryogenic callus: EC) และแคลลัสคล้ายราก (root like callus: RLC) แต่ละคู่ผสมชักนำการสร้างแคลลัสแบบปุ่มปมมากที่สุด รองลงมาเป็นเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสและแคลลัสคล้ายราก ตามลำดับ คู่ผสม D865×P110

ให้เปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัสแบบปุ่มปมสูงสุด 31.98% รองลงมาคือ คู่ผสม D174×P206 และ D366×P110 ให้เปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัสแบบปุ่มปม 29.22 และ 17.96% ตามลำดับ (ภาพที่ 12ก, 13ก) แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่คู่ผสม D174×P206 ให้การสร้างเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสูงสุด 26.03% เอ็มบริโอเจนิคแคลลัสที่ชักนำได้มีรูปร่างกลมขนาดเล็ก สีขาวคล้ายไข่มุก (ภาพที่ 13ข) รองลงมาคือคู่ผสม D366×P110 และ D865×P110 ให้การสร้างเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส 13.70 และ 11.52% ตามลำดับ (ภาพที่ 12ข) แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนแคลลัสที่มีลักษณะคล้ายรากพบในคู่ผสม D865×P110 มากที่สุด 23.56% (ภาพที่ 12ค) แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับคู่ผสมอื่น ๆ โดยแคลลัสมีการยืดยาว และพบอาการฉ่ำน้ำบริเวณผิว (ภาพที่ 13ค) กรณีของการสร้างโซมาติกเอ็มบริโอระยะสร้างจาว (haustorium embryo: HE) พบว่า ทั้งคู่ผสม D865×P110 และ D174×P206 ให้การสร้างเอ็มบริโอระยะสร้างจาว 14 และ 10% ตามลำดับ (ภาพที่ 12ง) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งนี้พบการพัฒนาทั้งจากระยะกลมไปจนถึงระยะสร้างจาว (ใบเลี้ยง) ซึ่งมีสีเขียว และแยกออกมาเป็นอิสระจากแคลลัส (ภาพที่ 13ง) ในขณะที่คู่ผสม D366×P110 ไม่พบการสร้างเอ็มบริโอในระยะนี้



ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

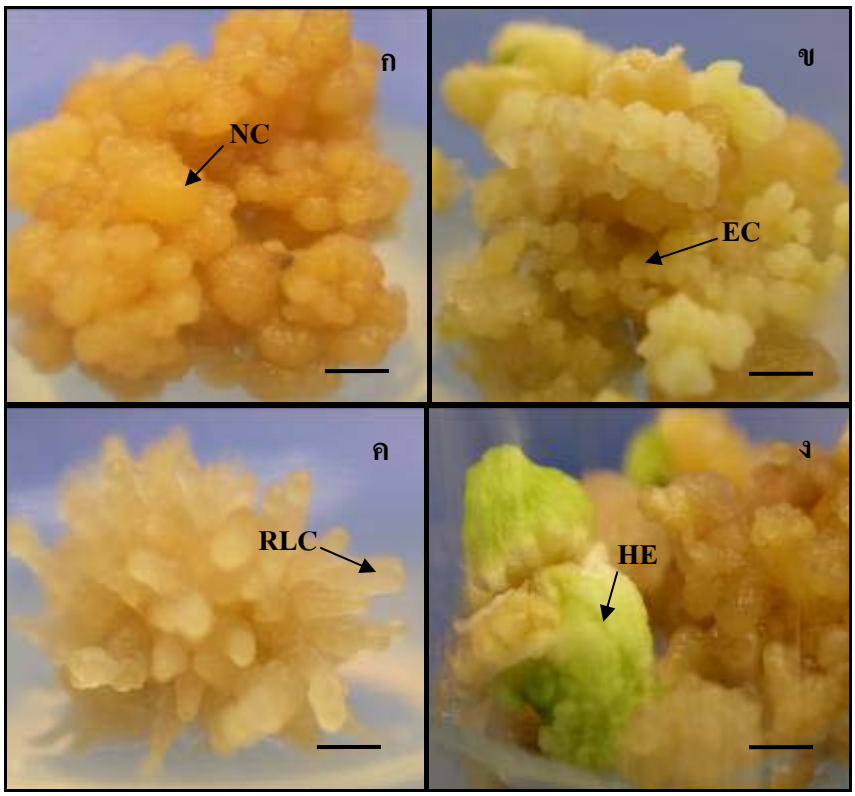
ภาพที่ 12 ผลของคู่ผสมต่อการสร้างแคลลัสรูปแบบต่าง ๆ จากการเพาะเลี้ยงคัพภะปาล์มน้ำมันอายุ 6 เดือนหลังการผสม บนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน

NC: nodular callus

EC: embryogenic callus

RLC: root like callus

HE: haustorium embryo



ภาพที่ 13 การสร้างแคลลัสรูปแบบต่าง ๆ ในแต่ละคู่ผสมหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน

ก: nodular callus (NC) (ลูกศร) จากคู่ผสม D865×P110 (บาร์ = 2.75 มิลลิเมตร)

ข: embryogenic callus (EC) (ลูกศร) จากคู่ผสม D174×P206 (บาร์ = 2.85 มิลลิเมตร)

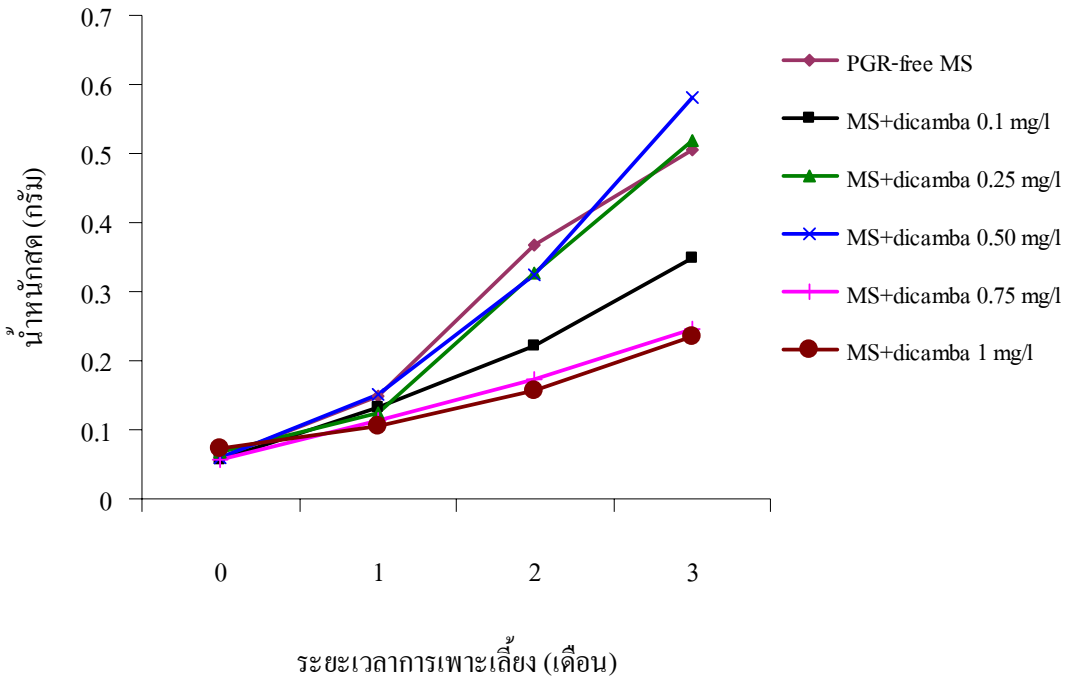
ค: root like callus (RLC) (ลูกศร) จากคู่ผสม D865×P110 (บาร์ = 2.25 มิลลิเมตร)

ง: haustorium embryo (HE) (ลูกศร) จากคู่ผสม D865×P110 (บาร์ = 2.95 มิลลิเมตร)

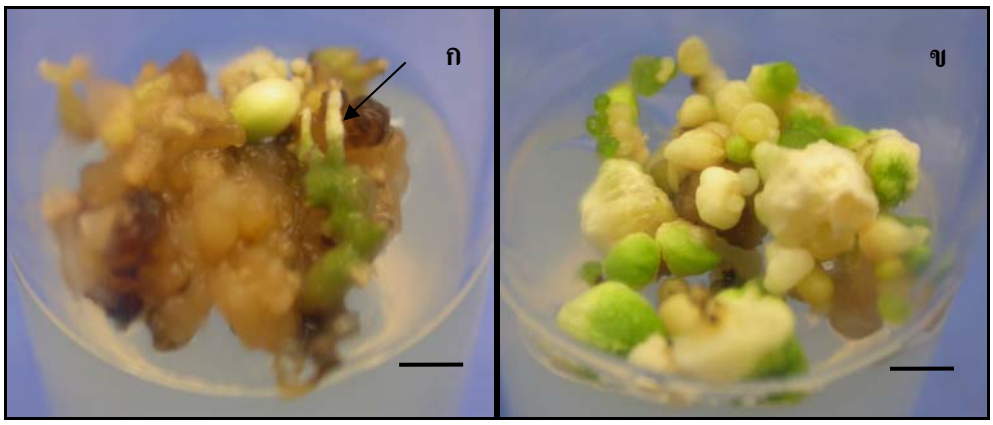
5. ศึกษาผลของความเข้มข้นของ dicamba ต่อการเจริญของเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส

น้ำหนักสดของ EC จากคู่ผสม D174×P206 เพิ่มขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของระยะเวลาการเพาะเลี้ยง หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 15 วัน อัตราการเจริญของ EC จากทุกหน่วยทดลองใกล้เคียงกัน อัตราการเจริญเริ่มมีความแตกต่างกันหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน อาหารสูตร MS เติม dicamba ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การตอบสนองต่อการเพิ่มปริมาณน้ำหนักสดของ EC สูงสุด 0.58 กรัม รองลงมาคือ dicamba ที่ความเข้มข้น 0.25 0 0.1 0.75 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การการเพิ่มน้ำหนักสดของ EC 0.52 0.50 0.35 0.25 และ 0.24 กรัม

ตามลำดับ (ภาพที่ 14) ในขณะที่อาหารที่ไม่เติม dicamba ให้อัตราการเพิ่มน้ำหนักสดลดลงหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน แคลลัสบางส่วนเปลี่ยนเป็นสีเขียว ลักษณะเป็นปุ่มปมและมีการพัฒนาเป็นราก บางส่วนกลายเป็นสีน้ำตาลและตาย (ภาพที่ 15ก) ส่วนอาหารที่เติม dicamba ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำการสร้างโซมาติกเอ็มบริโอระยะสร้างจาวจำนวนมาก (ไม่แสดงข้อมูล) (ภาพที่ 15ข)



ภาพที่ 14 ผลของความเข้มข้นของ dicamba ต่อการเพิ่มน้ำหนักสดของเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสในแต่ละเดือน จากคู่ผสม D174×P206 อายุ 6 เดือนหลังผสม เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน



ภาพที่ 15 การเปลี่ยนแปลงและการพัฒนาของเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสจากคู่ผสม D174×P206 อายุ 6 เดือนหลังผสม เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน

ก: แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีเขียวและมีการพัฒนาเป็นราก (ลูกศร) บนอาหารที่ไม่เติม dicamba

ข: โซมาติกเอ็มบริโอระยะสร้างจาวบนอาหารเติม dicamba ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (บาร์ = 2.5 มิลลิเมตร)

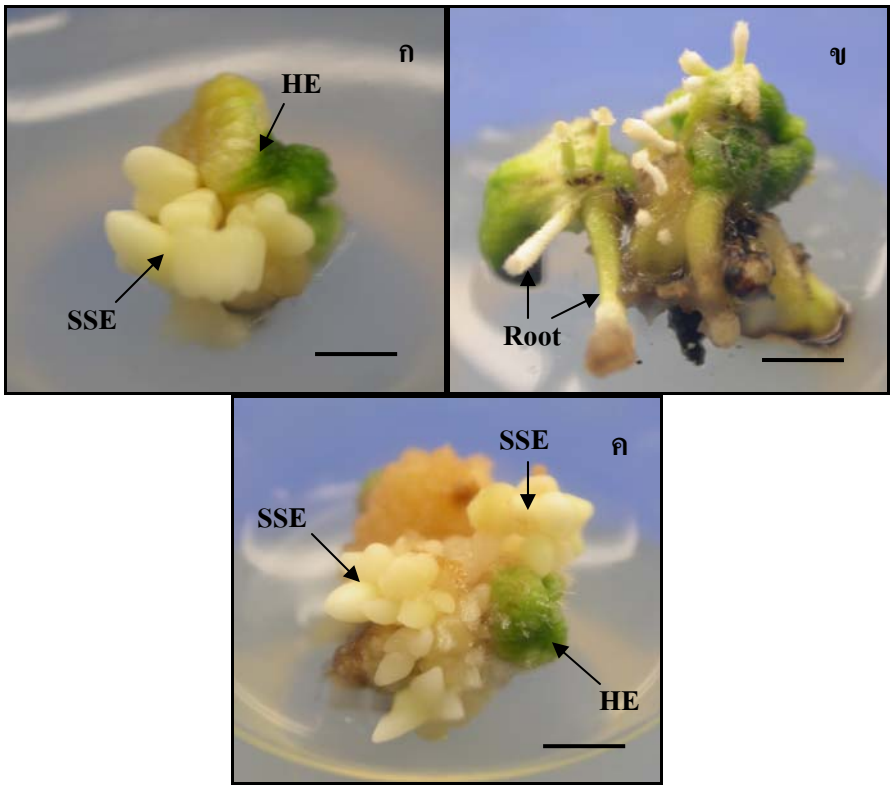
6. ผลของอาหารเพาะเลี้ยงต่อการงอกของโซมาติกเอ็มบริโอ

หลังจากเพาะเลี้ยง HE จากคู่ผสม D865×P110 บนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 0.087 โมลาร์ หรือน้ำตาลซอร์บิทอลเข้มข้น 0.2 โมลาร์ เป็นเวลา 3 เดือน ไม่พบการงอกเป็นยอดจาก HE ทั้งสองสูตรอาหาร แต่พบการงอกเป็น SSE หรืองอกเฉพาะราก โดยอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซอร์บิทอลเข้มข้น 0.2 โมลาร์ และกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การสร้าง SSE เท่ากับ 80% และให้จำนวน 15.81 SSE/HE สูงกว่าอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 0.087 โมลาร์ ซึ่งให้การสร้าง SSE และจำนวน SSE/HE เท่ากับ 20% และ 4.55 SSE/HE ตามลำดับ (ตารางที่ 8) แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่ง SSE ที่งอกจาก HE บนอาหารเติมน้ำตาลซูโครส มีจำนวนน้อย ขนาดเล็ก เกาะกันแน่น และงอกเป็นยอดหรือต้นน้อยมาก (ภาพที่ 16ก) ในขณะเดียวกันมีการสร้างรากฝอยสีขาวจำนวนมากบริเวณฐานของ HE (ภาพที่ 16ข) ส่วน SSE จำนวนมากที่งอกจาก HE ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเติมซอร์บิทอลเข้มข้น 0.2 โมลาร์ มีลักษณะสีขาวขุ่นเกาะกันอย่างหลวม ๆ ขนาดใหญ่ (ภาพที่ 16ค)

ตารางที่ 8 ผลของน้ำตาลซอร์บิทอลต่อการสร้าง SSE หลังจากเพาะเลี้ยง HE จากคู่ผสม D865×P110 บนอาหาร สูตร MS ร่วมกับกรดแอสคอบิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน

น้ำตาล (M)	จำนวน HE	การสร้าง SSE	
		เปอร์เซ็นต์	จำนวน SSE/HE
ซูโครส (0.087)	30	20.00	4.55
ซอร์บิทอล (0.2)	30	80.00	15.81
$LSD_{.05}$		43.03	5.60
C.V. (%)		24.49	15.66

M: โมลาร์



ภาพที่ 16 ลักษณะของ SSE ที่พัฒนาจาก HE จากคู่ผสม D865×P110 หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหาร สูตร MS ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน (บาร์ = 4.10 มิลลิเมตร)

ก: SSE ที่งอกจาก HE

ข: รากที่พัฒนาจาก HE บนอาหารเติมน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3%

ค: SSE ที่งอกจาก HE บนอาหารเติมน้ำตาลซอร์บิทอลเข้มข้น 0.2 โมลาร์

7. ผลของช่วงเวลาการเพาะเลี้ยง HE ร่วมกับซอร์บิทอลต่อการงอกของ SSE

การเพาะเลี้ยง SSE บนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซอร์บิทอลเข้มข้น 0.2 โมลาร์ เป็นระยะเวลานานขึ้น ก่อนย้ายเลี้ยงไปยังอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ส่งผลให้เกิดการงอกของ SSE ให้เกิดการสร้างยอด ราก และต้นกล้าที่สมบูรณ์เพิ่มขึ้น ช่วงเวลาการเพาะเลี้ยงดังกล่าวเพิ่มขึ้นจาก 1 เป็น 2 เดือน พบว่า ส่งเสริมการงอกของยอดมากถึง 20 เท่า เมื่อเพิ่มเวลาการเพาะเลี้ยงไปอีก 1 เดือน พบการงอกเพิ่มขึ้น 2 เท่า และที่ช่วงเวลาการเพาะเลี้ยง 3 เดือน พบการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ (มีทั้งยอดและราก) เท่ากับ 3.7% ในขณะที่ช่วงเวลาการเพาะเลี้ยง 1 และ 2 เดือน ไม่พบการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นที่สมบูรณ์ (ตารางที่ 9) กลุ่มของ SSE ระยะทอร์ปิโดสีขาวขุ่นบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซอร์บิทอลเข้มข้น 0.2 โมลาร์ เป็นเวลา 3 เดือน พร้อมย้ายลงบนอาหารชักนำการงอก (ภาพที่ 17ก) เมื่อย้ายไปยังอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตร่วมกับน้ำตาลซูโครส 3% เป็นเวลา 2 เดือน SSE เปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน ยืดยาวและแยกตัวจากกันเป็นอิสระ (ภาพที่ 17ข) เมื่อย้ายไปยังสูตรอาหารเดิมแล้วเพาะเลี้ยงต่อเป็นเวลา 1 เดือน พบการพัฒนาต่อไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ (ภาพที่ 17ค) และเมื่อย้ายไปปลูกลงดินเพื่ออนุบาลในโรงเรือนเป็นเวลา 2 เดือน (ภาพที่ 17ง) พบอัตราการรอดชีวิต 92.6%

ตารางที่ 9 ผลของระยะเวลาการเพาะเลี้ยง SSE บนอาหารเติมซอร์บิทอลเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อการงอก หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 3% เป็นเวลา 3 เดือน

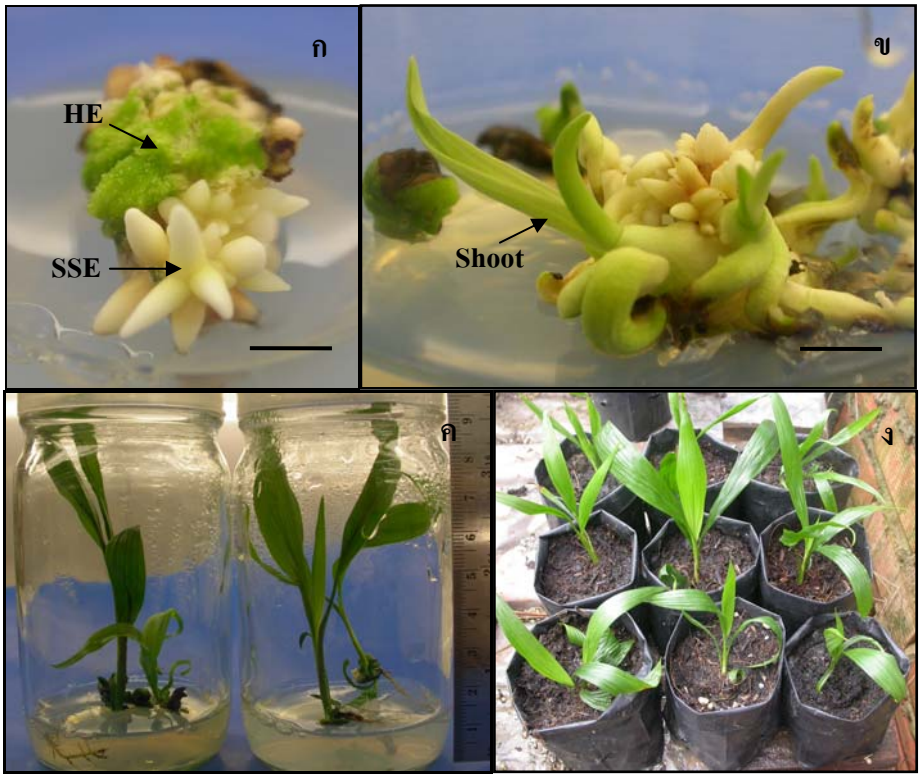
ช่วงเวลา (เดือน)	การงอกของ SSE		
	ยอด (%)	ราก (%)	ต้นสมบูรณ์ (%)
1	0.74b	4.45c	0.00b
2	15.55ab	12.59b	0.00b
3	31.10a	29.30a	3.70a
F-test	*	**	*
C.V. (%)	34.42	2.94	47.40

ns: ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

*: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($0.01<p<0.05$)

**: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.05$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 17 การงอกเป็นต้นสมบูรณ์ของ SSE จาก HE บนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซอร์บิทอล เข้มข้น 0.2 โมลาร์ เป็นระยะเวลาต่าง ๆ

ก: SSE อายุ 3 เดือน (บาร์ = 3.25 มิลลิเมตร)

ข: การพัฒนาของยอดบนอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 2 เดือน

ค: การพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์หลังจากย้ายเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 1 เดือน

ง: ต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่รอดชีวิตหลังจากย้ายปลูกลงดินเป็นเวลา 2 เดือน

บทที่ 4

วิจารณ์

พันธุกรรมและอายุที่แตกต่างกันในพืชแต่ละชนิดให้การตอบสนองต่อการงอกของคัพภะแตกต่างกัน โดยเฉลี่ยแล้ว พบว่า คัพภะจากคู่ผสม D865×P110 ให้การงอกได้สูงกว่าคู่ผสมอื่น ๆ เป็นผลจากพันธุกรรมที่แข็งแรงส่งผลให้การติดเมล็ดได้ดี ต้นอ่อนมีความแข็งแรง สังเกตจากลักษณะเมล็ดส่วนใหญ่มีองค์ประกอบภายในเมล็ดครบสมบูรณ์ทุกส่วน ส่งผลให้เกิดการตอบสนองต่อการงอกในหลอดทดลองได้ดี ในขณะที่คู่ผสม D366×P110 พบเมล็ดที่ไม่ได้รับการผสมจำนวนมาก อาจเกิดจากพันธุกรรมที่ไม่แข็งแรง นอกจากนี้ ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมีผลต่อการตอบสนองในหลอดทดลองเช่นกัน คัพภะจากพ่อแม่ที่มีความแข็งแรงทางพันธุกรรมย่อมให้ประสิทธิภาพการงอกได้ดี (Viloria *et al*., 2005) ดังนั้นจึงควรคัดเลือกและเพาะเลี้ยงคัพภะจากหลาย ๆ พันธุกรรมจึงจะสามารถเลือกต้นที่แข็งแรงเพื่อการขยายพันธุ์ต่อไปได้ การงอกของคัพภะขึ้นอยู่กับอายุเช่นเดียวกัน ในสภาพทั่วไป เมล็ดที่ระยะสุกแก่งอกได้สูงกว่าเมล็ดที่ระยะอ่อน คัพภะที่อ่อนให้เปอร์เซ็นต์การงอกที่ต่ำอาจเนื่องจากความไม่สมดุลของฮอร์โมนพืชภายในคัพภะ (Chehmalee and Te-chato, 2007) หรือมีกรดแอบซีสสิคภายในเมล็ดที่ยับยั้งการงอกของคัพภะ อย่างไรก็ตาม จากการทดลองพบว่า คัพภะอายุ 4 เดือนหลังการผสม ส่งเสริมการงอกยอดและต้นได้สูงกว่าคัพภะอายุ 5 และ 6 เดือน เนื่องจากการเพาะเลี้ยงในสภาพหลอดทดลอง ได้ทำการแยกคัพภะออกจากเมล็ด ดังนั้น สภาพที่ไม่เหมาะสมภายในเมล็ดจึงไม่มีผลต่อการงอกของคัพภะ อีกทั้งคัพภะปาล์มน้ำมันอายุแก่มีการสะสมของน้ำมันมาก จึงมีผลต่อการยับยั้งการงอกเช่นเดียวกัน (Teixeira *et al*., 1993) คัพภะอายุอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีองค์ประกอบของธาตุอาหารเท่ากับสูตรปกติ ให้การงอกยอดได้ดีเนื่องจากได้รับธาตุอาหารที่เพียงพอ ในขณะเดียวกันคัพภะอายุแก่ที่เลี้ยงบนอาหารที่ลดองค์ประกอบของธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง ส่งเสริมการงอกเป็นต้นและการเกิดรากได้ดีเนื่องจากคัพภะสร้างองค์ประกอบภายในของต้นอ่อนที่สมบูรณ์ (มีขั้วยอดและราก) พร้อมงอกเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้โดยไม่ต้องการธาตุอาหารมากนัก หรือคัพภะได้รับสภาวะเครียดจากการขาดธาตุอาหาร ทำให้มีการพัฒนาเป็นราก แต่คัพภะที่งอกเฉพาะรากเป็นลักษณะการงอกที่ผิดปกติ จึงเกิดขึ้นน้อยมากและไม่สม่ำเสมอในแต่ละการทดลอง ทำให้พบความแปรปรวนสูงมาก ดังนั้น จึงมีแนวคิดว่า เมื่อได้ยอดจำนวนมากบนอาหารสูตร MS จึงควรย้ายเลี้ยงไปยังอาหารสูตรเดียวกันที่ลดองค์ประกอบของธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่งเพื่อชักนำรากต่อไป

ชนิดของไซโตไคนินที่แตกต่างกันมีผลต่อการพัฒนาของยอดแตกต่างกัน และการชักนำยอดรวมจากการเลี้ยงต้นอ่อนที่ผ่าครึ่งตามยาวในอาหารเหลว ให้การตอบสนองได้ดีกว่าการเลี้ยงในอาหารแข็ง เนื่องจากชิ้นส่วนพืชสัมผัสกับอาหารรอบด้าน ประกอบกับเป็นอาหารเหลวที่เลี้ยงในสภาพเขย่าตลอดเวลา ทำให้ชิ้นส่วนพืชสามารถดูดธาตุอาหารมาใช้ได้ง่ายและรวดเร็ว ส่งผลให้ต้นอ่อนงอกและเจริญเติบโตได้เร็ว สอดคล้องกับ Srisawat และ Kanchanapoom (2005) ที่กล่าวว่า คัพภะที่เลี้ยงในอาหารเหลวมีการงอกเป็นต้นได้ดี ทั้งการพัฒนาของต้นอ่อนทางสรีรวิทยา น้ำหนักสด ความยาวของยอด และรากสูงกว่าคัพภะที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง ต้นอ่อนเกิดสีน้ำตาลสูงกว่าที่เลี้ยงในอาหารเหลว การเติมไซโตไคนินร่วมในอาหารช่วยลดอาการสีน้ำตาลของชิ้นส่วนได้ Mary (1994) รายงานว่าไซโตไคนินช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชัน และสามารถชะลอการสุกแก่ของพืชได้ ดังนั้นไซโต-ไคนินที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงจึงมีส่วนช่วยลดการสร้างสารประกอบฟีนอลในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันได้ อย่างไรก็ตามไซโตไคนินมีผลต่อการงอกของยอดบนอาหารแข็งไม่แตกต่างกันมากเมื่อเทียบกับการเลี้ยงในอาหารเหลว แต่ไซโตไคนินมีผลอย่างชัดเจนต่อการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนในอาหารเหลว โดยเฉพาะการเติมน้ำมะพร้าว 15% ส่งเสริมการแตกยอดและให้จำนวนใบสูงกว่าไซโตไคนินชนิดอื่น ๆ อีกทั้งยังให้ต้นที่ปกติเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลานานขึ้น และช่วยลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดี ดังนั้นการเติมไซโตไคนินที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมะพร้าว จึงเหมาะสมต่อการส่งเสริมการงอกของต้นปาล์ม อย่างไรก็ตาม การใช้ไซโตไคนินในรูปดังกล่าว ไม่สามารถชักนำยอดรวมได้ ในขณะที่การเลี้ยงยอดกล้วยที่ผ่าตามยาวบนอาหารแข็งสูตรพื้นฐาน MS เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถสร้างยอดรวมได้ถึง 16.4 ยอดต่อชิ้น (Gupta, 1986) หรือ การเลี้ยงต้นอ่อนของแตงกวาบนอาหารแข็งสูตร MS เติม KN เข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถสร้างยอดรวมได้ 31.4 ยอดต่อชิ้น (Rhonda *et al*., 1990) ทั้งนี้เนื่องจากพืชแต่ละชนิดให้การตอบสนองต่อไซโตไคนินแตกต่างกัน จึงทำการเปลี่ยนสภาพการเลี้ยงจากอาหารแข็งเป็นอาหารเหลว แต่ไม่ได้ใช้ BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากมีรายงานว่า ต้นกล้าที่ได้จากการใช้ BA มีลักษณะผิดปกติ ยอดต้นกล้ามีลักษณะม้วนเป็นหลอด เมื่อใบคลี่มีลักษณะเป็นกระจุกคล้ายพุ่มไม้กวาด (27.88 เปอร์เซ็นต์) (อาสลัน, 2551) จากการศึกษานี้พบว่า การเลี้ยงชิ้นส่วนยอดในอาหารเหลวเติมน้ำมะพร้าว 15% ร่วมกับ BA และ KN เข้มข้นอย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ประสบความสำเร็จในการชักนำยอดรวมได้ 13.4% เช่นเดียวกับการทดลองของ Ravikumar และคณะ (1998) ที่พบว่า สามารถชักนำยอดรวมจากต้นอ่อนของไผ่ซางได้ 42 ยอดต่อชิ้นส่วนหลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม BA และ KN เข้มข้นอย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 200 มิลลิลิตรต่อลิตร และได้ต้นที่มีลักษณะปกติ ในขณะที่การทดลองนี้ ได้ลดความเข้มข้นของ BA และ KN ลง ทั้งนี้

เพื่อลดความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่อาจเกิดขึ้น แต่ในสภาพอาหารเหลว ชิ้นส่วนพืชสามารถดูดสารได้ง่ายจึงได้รับฮอร์โมนเหล่านั้นมากเกินไป ทำให้แสดงลักษณะที่ผิดปกติตามมา คือ เกิดการสร้างโครงสร้างคล้ายช่อดอกที่สามารถแยกได้ 2 ขนาด คือ โครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดเล็กและขนาดใหญ่ดังภาพที่ 9ก และ 9ง ตามลำดับ ซึ่งยังไม่พบการรายงานความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับปาล์มน้ำมันโดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด KN และน้ำมะพร้าวมาก่อน นอกจากความผิดปกติที่มีรายงานจากการใช้ 2,4-D เข้มข้นสูงถึง 50-75 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขั้นตอนการชักนำแคลลัสและเซลล์ซัสเพนชัน (Thomas and Rao, 1985) และการใช้ GA_3 เข้มข้นสูงถึง 50-100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขั้นตอนของการชักนำรากจากยอด Nwanko and Krikorian (1983) รายงานว่าการใช้ GA_3 เข้มข้นเพียง 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงพอต่อการส่งเสริมให้ใบม้วนงอและยับยั้งการสร้างราก นอกจากนี้มีรายงานว่า BA เป็น ไซโตไคนินที่เกี่ยวข้องกับการสร้างดอกเพศผู้ในระหว่างการชักนำการเกิดต้นของปาล์มน้ำมัน (Jones *et al*., 1995) เนื่องจาก BA มีกระบวนการเมตาบอลิซึมที่ง่ายต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นอนุมูลอิสระของไรโบไซม ซึ่งมีผลต่อการสร้างดอกที่ผิดปกติในปาล์มน้ำมัน (Jones, 1998) การทดลองนี้สอดคล้องกับ Sim และคณะ (2008) ที่รายงานว่า การใช้น้ำมะพร้าว 15% ร่วมกับ BA เข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์ ในการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ Dendrobium Madame Thong ส่งเสริมการสร้างดอกในอาหารเหลวได้ ทั้งนี้เพราะไซโตไคนินแต่ละชนิดมีผลต่อชนิดพืชได้แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามลักษณะผิดปกติที่พบไม่ส่งเสริมให้ต้นกล้าพัฒนาต่อไปได้และตายตั้งแต่ยังอยู่ในหลอดทดลอง ดังนั้นจึงไม่สามารถคัดเลือกต้นเพื่อใช้ในการขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันต่อไป และลักษณะผิดปกติที่พบนี้อาจมีความแปรปรวนหรืออาจแสดงออกเมื่อต้นโตได้ จึงควรมีการตรวจในระดับยีนหรือดีเอ็นเอ หรือหลีกเลี่ยงการใช้ไซโตไคนินร่วมในอาหารเหลว เพื่อป้องกันความเสียหายที่อาจเกิดขึ้น

พันธุกรรมมีผลต่อการชักนำแคลลัสหรือเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงคัพภะปาล์มน้ำมัน พบว่า แต่ละคู่ผสมที่เพาะเลี้ยงให้การสร้างแคลลัสได้แตกต่างกัน คู่ผสม D174xP206 ให้การชักนำแคลลัสได้สูงกว่าคู่ผสม D865xP110 และ D366×P110 แต่ละคู่ผสมที่เพาะเลี้ยงให้การสร้างแคลลัสได้แตกต่างกัน สอดคล้องกับการทดลองของ Steinmacher และคณะ (2007) ที่พบว่า คู่ผสมหรือจีโนไทป์มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิส Karun และคณะ (2004) รายงานว่า ความแตกต่างทางพันธุกรรมมีผลต่อการตอบสนองของการสร้างและการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ จากผลการทดลองในครั้งนี้พบว่า เมล็ดจากคู่ผสม D174×P206 มีขนาดใหญ่ ประกอบด้วยคัพภะที่มีขนาดใหญ่ มีเนื้อเยื่อเจริญและสร้างสารควบคุมการเจริญเติบโตได้มาก ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์สร้างแคลลัสได้สูง Sarasan และคณะ (2005) รายงานในทำนองเดียวกันว่า คัพภะของ bottle palm ที่มีขนาดใหญ่ให้การงอกและสร้างแคลลัสได้ดี นอกจากนี้

สภาพแวดล้อมและการจัดการดูแลในแปลงปลูกที่แตกต่างกันมีผลต่อความแข็งแรงของลูกผสมแตกต่างกันด้วย (Zhang *et al*., 2003) นอกจากนี้พบว่า การตอบสนองในหลอดทดลองมีความสัมพันธ์กับอายุของคัพภะหลังการผสม พบว่า คัพภะอายุ 4 เดือนหลังการผสม ให้การตอบสนองต่อการสร้างแคลลัสและเจริญได้เร็วกว่าคัพภะอายุ 5 และ 6 เดือนหลังการผสม หลังจากเพาะเลี้ยง 1 เดือน เนื่องจากคัพภะที่อ่อนมีกิจกรรมของเนื้อเยื่อเจริญมาก สอดคล้องกับ Perera และคณะ (2007) ที่กล่าวว่า ชิ้นส่วนดอกอ่อนมีแนวโน้มในการเพิ่มปริมาณและการเกิดแคลลัสได้เร็วกว่าดอกแก่เนื่องจากเซลล์มีกิจกรรมการแบ่งเซลล์สูง คัพภะอายุ 6 เดือนหลังการผสม ให้การสร้างสารประกอบฟีนอลทำให้เกิดสีน้ำตาลจำนวนมาก แต่เมื่อย้ายเลี้ยงทุกเดือนเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าคัพภะอายุ 6 เดือนหลังการผสม ให้การเกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสได้สูงกว่าคัพภะอายุ 4 เดือนหลังการผสม และเมื่อวางเลี้ยงต่อไปอีก 2-3 เดือน มีการพัฒนาเป็นโซมาติกเอ็มบริโอระยะสร้างจาว (HE) จำนวนมาก เช่นเดียวกับ Zhang และคณะ (2003) ซึ่งรายงานว่า คัพภะที่แก่ให้เปอร์เซ็นต์การพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่สูงกว่าคัพภะที่อ่อน

สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดออกซินที่แตกต่างกันมีบทบาทต่อพัฒนาการของแคลลัส อย่างไรก็ตาม ออกซินที่ให้จากภายนอกก็มีผลเช่นเดียวกัน โดยออกซินชนิด dicamba ส่งเสริมการชักนำแคลลัสได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับ 2,4-D และ NAA สำหรับคัพภะจากคู่ผสม D174×P206 ที่อายุ 5 เดือนหลังการผสม พบว่า 2,4-D ให้การตอบสนองต่อการชักนำแคลลัสได้สูงกว่า dicamba หลังจากเพาะเลี้ยงไปเป็นเวลา 3 เดือน แคลลัสมีการสร้างสารประกอบฟีนอลออกมามาก ส่งผลให้แคลลัสหยุดการพัฒนาหรือหยุดการเจริญเติบโต จึงย้ายแคลลัสดังกล่าวไปเลี้ยงบนอาหารที่เติม dicamba ซึ่งพบว่า แคลลัสสามารถเพิ่มปริมาณและพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ อีกทั้งสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ ดังนั้น dicamba จึงเป็นออกซินตัวใหม่ที่มีศักยภาพสูงในการส่งเสริมการสร้างแคลลัสในปาล์มน้ำมัน (สมปอง และคณะ, 2547) นอกจากนี้ อาหารเติม 2,4-D ส่งเสริมการสร้างแคลลัสร่วมกับการเกิดยอด สอดคล้องกับ Teixeira และคณะ (1993) ที่รายงานว่า อาหารเติม 2,4-D ส่งเสริมการงอกของคัพภะระยะสุกแก่เป็นต้นปกติสูงถึง 2% และพบการสร้างแคลลัสบริเวณฐานของคัพภะ จากการทดลองลักษณะดังกล่าวนี้เกิดขึ้นไม่สม่ำเสมอเนื่องจากอิทธิพลของคู่ผสมและอายุคัพภะ จึงพบความแปรปรวนสูงมาก การลดความเข้มข้นของ dicamba ลง เหลือ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการศึกษานี้ พบว่าส่งเสริมการเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสูงสุดสอดคล้องกับ สมปอง และคณะ (2547) ที่รายงานว่า dicamba เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำการสร้างเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสูงสุด 66.67% นอกจากนี้ ต้นอ่อนที่เกิดขึ้นบนอาหารที่เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การพัฒนาเข้าสู่ระยะสุกแก่ หรือ HE ได้เร็ว (Te-chato, 1998) และยังมีการรายงานอีกว่า การลดลงของ

ความเข้มข้นของ dicamba ลงส่งเสริมกระบวนการโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิสของดอกอ่อนใน peach palm (Steinmacher *et al*., 2007) และแคลลัสของ *Areca catechu* (Wang *et al*., 2006) จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาพบว่า dicamba ส่งเสริมกิจกรรมการแบ่งเซลล์สูงในชั้น epidermis และ subepidermis ในขณะที่ 2,4-D ส่งเสริมการแบ่งเซลล์เฉพาะในชั้น epidermis (Te-chato *et al*., 2003)

การเติมสารแอนติออกซิแดนท์ลงในอาหารเพาะเลี้ยง มีส่วนช่วยให้การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันในหลอดทดลองประสบความสำเร็จได้ Teixeira และคณะ (1993) รายงานว่า การชักนำแคลลัสจากคัพภะปาล์มน้ำมันบนอาหารเติมออกซินชนิด 2,4-D ที่ความเข้มข้นสูง ส่งเสริมให้ชิ้นส่วนเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและสร้างสารประกอบฟีนอล ดังนั้นจึงเติมผงถ่านเพื่อลดปฏิกิริยาดังกล่าวและดูดซับสารประกอบฟีนอล เนื่องจากผงถ่านมีความละเอียด จึงมีพื้นที่ผิวในการดูดซับสารพิษได้มาก (สมปอง, 2539) ในขณะที่ Te-chato (1998) รายงานการใช้กรดแอสคอร์บิค 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมในอาหารพบว่า สามารถลดการสร้างสารประกอบฟีนอลและเพิ่มปริมาณแคลลัสได้ดี กรดแอสคอร์บิคนอกจากเป็นสารแอนติออกซิแดนท์แล้วยังช่วยส่งเสริมการสร้างต้นอ่อนเริ่มแรกอีกด้วย ดังนั้นในการศึกษานี้ จึงใช้กรดแอสคอร์บิคเพื่อลดกิจกรรมการสร้างสารประกอบฟีนอล

โซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สอง (SSE) เป็นรอบใหม่ของกระบวนการโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิส ซึ่งสามารถชักนำโดยตรงจาก HE เมื่อแยก HE มาวางเลี้ยงบนอาหารที่เติมน้ำตาลซอร์บิทอล ส่งผลให้มีการสร้าง SSE จำนวนมาก เช่นเดียวกับอาหารสูตร MS มีองค์ประกอบของธาตุอาหารปกติ และเติมน้ำตาลซอร์บิทอล 0.2 โมลาร์ ให้เปอร์เซ็นต์และจำนวนการสร้าง SSE สูงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (Te-chato and Hilae, 2007) ในขณะที่การใช้โพลีเอมีนเพื่อชักนำ SSE จากการเพาะเลี้ยงคัพภะปาล์มน้ำมัน ให้เปอร์เซ็นต์และจำนวนของเอ็มบริโอที่เกิดใหม่ต่ำ (Rajesh *et al*., 2003) ดังนั้น การใช้น้ำตาลซอร์บิทอลเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดสภาวะเครียดน้ำ (water stress) โดยการปรับออสโมติกัมให้เหมาะสมเพื่อส่งเสริมการเพิ่มจำนวน SSE จึงให้ผลดีกว่าการใช้โพลีเอมีน จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่า SSE เกิดขึ้นบริเวณส่วนฐานของ HE มีลักษณะเกาะกันเป็นกลุ่ม สีขาวขุ่น ประกอบด้วยเอ็มบริโอระยะทอร์บิโด สอดคล้องกับการศึกษาของ Promchan และ Te-chato (2007) ที่รายงานว่า SSE เกิดขึ้นโดยตรงจากชั้นเอพิเดอร์มิสบริเวณฐานของ HE ซึ่งช่วงเวลาของการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน บนอาหารที่มีน้ำตาลซอร์บิทอลเป็นองค์ประกอบเพียงพอต่อการสร้างสภาวะเครียดกับ SSE ให้พร้อมสำหรับการงอก กระบวนการนี้เกี่ยวข้องกับการไฮโดรไลซิสเนื่องจากมีการปรับสมดุลของน้ำในชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง ทำให้เกิดการสะสมอาหารมากขึ้นในเอ็น-โดสเปิร์ม และมีการเคลื่อนที่ของธาตุอาหารที่ต้องการสำหรับการงอกของต้นอ่อนเช่นเดียวกับที่รายงายโดย Sarasan และคณะ (2005) นอกจากนี้พบว่า เมล็ดแต่ละเมล็ดจากคู่ผสมเดียวกันให้การ

งอกเป็นต้นที่แตกต่างกัน บางเมล็ดให้การงอกของ SSE ที่เกาะกันแน่น ในขณะที่บางเมล็ดให้การงอกของ SSE ที่เกาะกันอย่างหลวม ๆ ทั้งนี้ SSE ที่เกาะกันอย่างหลวม ๆ มีประสิทธิภาพในการพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้สูงกว่า SSE ที่เกาะกันแน่น ทำให้ง่ายต่อการแยกและย้ายปลูกลงดิน ส่วนเอ็มบริโอที่งอกเฉพาะยอดจำเป็นต้องชักนำรากก่อนย้ายปลูกลงดิน เมื่อทำการย้ายต้นกล้าที่สมบูรณ์ต้นจากการเพาะเลี้ยงคัพภะผ่านกระบวนการเอ็มบริโอเจเนซิส ไปปลูกลงดินเพื่ออนุบาลในโรงเรือน พบว่า ต้นกล้าสามารถรอดชีวิตสูงและให้ลักษณะที่สมบูรณ์เหมือนต้นที่ปลูกโดยการเพาะเมล็ดทุกประการ

บทที่ 5

สรุป

การชักนำต้นโดยตรงจากการเพาะเลี้ยงคัพภะเป็นเวลา 2 เดือน พบว่า คู่ผสม D865×P110 ให้การงอกเฉพาะยอด และต้นสมบูรณ์ (ยอดและราก) เฉลี่ยสูงสุด 75.22 และ 31.61 ตามลำดับ คัพภะอายุ 4 เดือนหลังการผสม ให้การงอกเฉพาะยอด และต้นสมบูรณ์เฉลี่ยสูงสุด 69.72 และ 21.44% ตามลำดับ อาหารสูตร MS ให้การงอกเฉพาะยอดเฉลี่ย 63.96% สูงกว่าอาหารสูตร 1/2MS ในขณะที่อาหารสูตร 1/2MS ให้การงอกเป็นต้นสมบูรณ์และงอกเฉพาะรากเฉลี่ย 17.85 และ 6.74% ตามลำดับ สูงกว่าในอาหารสูตร MS ดังนั้นควรเลือกคัพภะจากคู่ผสม D865×P110 อายุ 4 เดือนหลังการผสม มาชักนำยอดจำนวนมากบนอาหารสูตร MS แล้วย้ายเลี้ยงไปยังอาหารสูตร 1/2MS เพื่อชักนำราก

เมื่อนำยอดที่ได้มาชักนำยอดรวมบนอาหารแข็งสูตร MS เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ไม่สามารถสร้างยอดรวมได้ อาหารสูตร MS เติมน้ำมะพร้าว 15% ให้อัตราการรอดชีวิตที่สูง ให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 1.93 ใบต่อชิ้นส่วน และให้การเกิดสีน้ำตาลของชิ้นส่วนน้อยที่สุด 19.69% และเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เป็นเวลา 4 เดือน พบว่า น้ำมะพร้าว 15% ให้อัตราการรอดชีวิต และการงอกเป็นต้นสมบูรณ์สูงสุด 86.37 และ 25 ตามลำดับ ในขณะเดียวกันก็ให้ลักษณะที่ผิดปกติคือ โครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดใหญ่สูงสุด 10.56% เช่นเดียวกับในอาหารเติม KN เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว ให้การพัฒนาโครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดเล็กสูงสุด 75% อย่างไรก็ตาม อาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 15% ร่วมกับ BA และ KN เข้มข้นอย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การสร้างยอดรวมสูงสุด 13.4% โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ย 2.5 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ให้ลักษณะโครงสร้างคล้ายช่อดอกร่วมด้วย ดังนั้น จึงควรเลือกใช้อาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ให้การเกิดยอดสูงสุด 63.34% และไม่พบลักษณะที่ผิดปกติร่วมด้วย นอกจากนี้ เมื่อศึกษาลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของโครงสร้างคล้ายช่อดอกขนาดเล็กและขนาดใหญ่ พบว่า เนื้อเยื่อดังกล่าวไม่มีองค์ประกอบของอวัยวะดอกที่ชัดเจน

การชักนำแคลลัสและโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิสหลังจากเพาะเลี้ยงคัพภะเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า คู่ผสม D174×P206 ให้การสร้างแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 63.7% คัพภะอายุ 6 เดือนหลังการผสม ให้การสร้างแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 61.89% และอาหารสูตร MS เติม dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การสร้างแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 87.52% และหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม dicamba เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น

เวลา 3 เดือน พบว่า แต่ละคู่ผสมให้การสร้างแคลลัสรูปแบบต่าง ๆ คือ คู่ผสม D865×P110 ให้การสร้างแคลลัสแบบปุ่มปม 31.98% แคลลัสคล้ายราก 23.56% และสร้างโซมาติกเอ็มบริโอระยะสร้างจาว (HE) 14% ส่วนคู่ผสม D174×P206 ให้การสร้างเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส (EC) 26.03% นอกจากนี้ อาหารสูตร MS เติม dicamba 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตรให้การเพิ่มน้ำหนักสดของเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสูงสุด 0.58 กรัม หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน ดังนั้น ควรเลือกคัพภะจากคู่ผสม D174×P206 อายุ 6 เดือนหลังการผสมมาชักนำแคลลัสบนอาหารสูตร MS เติม dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน แล้วย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของ dicamba ลงเหลือ 0.5-1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน เพื่อชักนำ EC หรือ HE จำนวนมาก

การชักนำการงอกของโซมาติกเอ็มบริโอ พบว่า โซมาติกเอ็มบริโอไม่สามารถงอกเป็นต้นโดยตรง แต่พบการพัฒนาของ SSE จาก HE จำนวนมาก โดยอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซอร์บิทอลเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การพัฒนา SSE 80% และให้จำนวน 15.81 SSE/HE สูงกว่าในอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส 0.087 โมลาร์ หลังจากย้ายเลี้ยง SSE บนอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 3 เดือน ให้การงอกเป็นยอด 31.1% งอกเฉพาะราก 29.3% และพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ 3.7% และมีแนวโน้มการงอกเพิ่มขึ้นหลังจากเพาะเลี้ยงต่อไป 1 เดือน โดยได้ต้นปาล์มน้ำมันที่สมบูรณ์ และเมื่อย้ายไปปลูกลงดินเพื่ออนุบาลเป็นเวลา 2 เดือน พบอัตราการรอดชีวิต 92.6%

เอกสารอ้างอิง

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ ชัยรัตน์ นิลนนท์ ธีระพงศ์ จันทรนิยม ประกิจ ทองคำ และสมเกียรติ สีสนอง. 2548. เส้นทางสู่ความสำเร็จการผลิตปาล์มน้ำมัน. สงขลา: คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

บุษบา ล้อประเสริฐ. 2548. คู่มือการปลูกปาล์มน้ำมัน. กรุงเทพมหานคร: ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตร.

พรชัย เหลืองอาภาพงศ์. 2549. คัมภีร์ปาล์มน้ำมันพืชเศรษฐกิจเพื่อบริโภคและอุปโภค. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มติชน.

สมปอง เตชะโต. 2539. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หลักการและพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สมปอง เตชะโต อาสลัน หิเล และอิบรอเฮม ยีดำ. 2547. การชักนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสและพืชต้นใหม่จากใบอ่อนปาล์มน้ำมันต้นโตที่ให้ผลผลิตดี ว. สงขลานครินทร์ วทท. 26: 617-628.

สารานุกรมไทยสำหรับเยาชนฯ เล่มที่ 28. 2547. เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร [ออนไลน์]. สืบค้นได้จาก: http://kanchanapisek.or.th/kp6/BOOK28/chapter5/t28-5-l2.htm#sect1 เข้าถึงเมื่อวันที่ 3 มิถุนายน 2550.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2540. แนวทางการพัฒนาปาล์มน้ำมันในแผนฯ 8 (2540-2544) ปาล์มน้ำมันและน้ำมันปาล์ม. สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. ข่าวเศรษฐกิจการเกษตร.

อาสลัน หิเล. 2551. การเพิ่มประสิทธิภาพการงอกของโซมาติกเอ็มบริโอที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของปาล์มน้ำมันต้นโตที่ให้ผลผลิตดี. ดุษฎีนิพนธ์ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต, สาขาวิชาพืช-ศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Biofuel. 2007. Journey to forever-how to make your own clean burning biofuel, biodisel from cooking oil, fuel alcohol, renewable energy, glycine, soap making [Online]. Available: http://journeytoforever.org/biofuel.html. Access on June 12, 2007.

Blaydes, D.F. 1966. Interaction of kinetin and various inhibitors in the growth of soybean callus. Physiologia Plantarum 19: 748-753.

Chehmalee, S. and Te-chato, S. 2007. Genotypes, physiological ages of zygotic embryos and auxin as affect on germination and callus formation of oil palm. International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development, Bangkok, Thailand. 26-27 April 2007. pp. 35-39.

Eeuwens, C.J. 1976. Mineral requirements for growth and callus inhibition of tissue explants excised from mature coconut palms *(Cocos nucifera* L.) and culture *in vitro*. Physiologia Plantarum 36: 23-28.

Eeuwens, C.J. 1978. Effect of organic nutrients and hormones on growth and development of tissue explants from coconut *(Cocos nucifera* L.) and date *(Phoenix dactylifera* L.) palms cultured *in vitro*. Physiologia Plantarum 42: 173-178.

Eshraghi, P., Zarghami, R. and Mirabdulbaghi, M. 2005. Somatic embryogenesis in two Iranian date palm cultivars. African Journal of Biotechnology 4: 1309-1312.

Gallo-Meagher, M. and Green, J. 2000. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of saw palmetto, an important landscape and medicinal plant. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 68: 253-256.

Gupta, P. P. 1986. Eradication of mosaic disease and rapid clonal multiplication of bananas and plantains through meristem tip culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 6: 33-39.

Hilae, A. and Te-chato, Y. 2005. Effects of carbon sources and strength of MS medium on germination of somatic embryos of oil palm *(Elaeis quineensis* Jacq.). Songklanakarin Journal of Science and Technology 27: 629-635.

Jones, L. H., Hanke, D. E. and Eeuwens, C. J. 1995. An evaluation of the role of cytokinins in the development of abnormal inflorescences in oil palms (*Elaeis guineensis* Jacq.) regenerated from tissue culture. Journal of Plant Growth Regulation 14:135-142.

Jones, L. H. 1998. Metabolism of cytokinins by tissue culture lines of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) producing normal and abnormal flowering palms. Journal of Plant Growth Regulation 17: 205–214.

Kanchanapoom, K. and Domyoas, P. 1999. The origin and development of embryoids in oil palm (*Elaeis quineensis* Jacq.) embryo culture. ScienceAsia 25: 195-202.

Karun, A., Siril, E. A., Radha, E. and Parthasarathy, V. A. 2004. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from leaf and inflorescence explants of arecanut (*Areca catechu* L.). Current Science 86: 1623-1628.

Karunaratne, S. and Periyapperuma, K., 1989. Culture of immature embryos of coconut (*Cocos nucifera* L.): callus proliferation and somatic embryogenesis. Plant Science 62: 247–253.

Malaysia's Sustainable Palm Oil. 2007. Palm oil facts [Online]. Available: http://www.soyatech.com/Palm_Oil_Facts.htm. Access on August 19, 2007.

Mary, E. M. 1994. Cytokinins and oxidative processes. *In* Cytokinins: Chemistry, Activity, and Function (ed. W. S. M. David and C. M. Machteld). pp. 167-175. United States: CRC Press.

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

Nwanko, B. A. and Krikorian, A. D. 1983. Morphogenetic potential of embryo and seedling derived callus of *Elaeis guineensis* Jacq. var pisifera Becc. Annals of Botany 51: 65-76.

Perera, P. I. P., Hocher, V., Verdeil, J. L., Doulbeau, S., Yakandawala, D. M. D. and Weerakoon, L. K. 2006. Unfertilized ovary: a novel explant for coconut (*Cocos nucifera* L.) somatic embryogenesis. Plant Cell Report 26: 21–28.

Promchan, T. and Te-chato, S. 2007. Size of haustorium embryo affecting secondary somatic embryo formation of oil palm and its origin. International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development, Bangkok, Thailand. 26-27 April 2007. pp. 22-25.

Rajesh, M.K., Radha, E., Karun, A. and Parthasarathy, V.A. 2003. Plant regeneration from embryo-derived callus of oil palm – the effect of exogenous polyamines. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 75: 41-47.

Ravikumar, R., Ananthakrishnan, G., Kathiravan, K. and Ganapathi, A. 1998. *In vitro* shoot propagation of *Dendrocalamus strictus* nees. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 52: 189–192.

Rhonda, L., Gambley and William A. D. 1990. An *in vitro* technique for the production de novo of multiple shoots in cotyledon explants of cucumber *(Cucumis sativus* L.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 20: 177-183.

Sarasan, V., Ramsay, M. M. and Roberts, A. V. 2005. Rescue of endangered palms by *in vitro* methods: the case of 'bottle palm'. *In* Protocol for Somatic Embryogenesis in Woody Plants (ed. S. M. Jain and P. K. Gupta). Vol. 77, pp. 267-274. Netherland: Springer.

Sim, G. Goh, C. and Loh, C. 2008. Induction of *in vitro* flowering in *Dendrobium* Madame Thong-In (Orchidaceae) seedlings is associated with increase in endogenous N^6-(2-isopentenyl)-adenine (iP) and N^6-(2-isopentenyl)-adenosine (iPA) levels. Plant Cell Report 27: 1281-1289.

Srisawat, T and Kanchanapoom, K. 2005. The influence of physical conditions on embryo and protoplast culture in oil palm (E*laeis guineensis* Jacq.). ScienceAsia 31: 23-28.

Steinmacher, D. A., Clement, C. R. and Guerra, M. P. 2007. Somatic embryogenesis from immature peach palm inflorescence explants: towards development of an efficient protocol. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 89: 15–22.

Te-chato, S. 1998. Callus induction from cultured zygotic embryo of oil palm subsequent to plantlet regeneration. Songklanakarin Journal of Science and Technology 20: 1-6.

Te-chato, S. and Hilae, A. 2007. High-frequency plant regeneration through secondary somatic embryogenesis in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq. *var*. tenera). Journal of Agricultural Technology 3: 345-357.

Te-chato, S. Hilae, A. and Yeedum, I. 2003. Histological study on oil palm of somatic embryos development as affected by sources of leaf explants and auxin. Journal of Agricultural Science 36: 243-250.

Teixeira, J. B., Sondahl, M. R. and Kirby, E. G. 1993. Somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of oil palm. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 34: 227-233.

Teixeira, J. B., Sondahl, M. R. and Kirby, E. G. 1994. Somatic embryogenesis from immature inflorescences oil palm. Plant Cell Report 13: 247-250.

Thomas, V. and Rao, P. S. 1985. *In vitro* propagation of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq. var tenera) through somatic embryogenesis in leaf derived callus. Current Science 54: 184-185.

Viloria, Z., Grosser, J. W. and Bracho, B. 2005. Immature embryo rescue, culture and seedling development of acid citrus fruit derived from interploid hybridization. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 82: 159–167.

Wang, H. C., Chen, J. T., Chang, W. C. 2006. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf, root and stem-derived callus cultures of Areca catechu. Biologia Plantarum 50: 279-282.

Wang, H. C., Chen, J. T., Wu, S. P., Lin, M. C. and Chang, W. C. 2003. Plant regeneration through somatic embryogenesis from zygotic embryo-derived callus of *Areca catechu* L. (Arecaceae). In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant 39: 34–36.

Wooi, K. C. 1995. Oil palm tissue culture – current practice and constraints. *In* Recent Developments in Oil Palm Tissue Culture and Biotechnology (eds. V. Rao, I. E. Henson and N. Rajanaidu). MPOB, Bangi.

Wooi, K. C. 1995. Vegetative propagation and biotechnology. *In* The Oil Palm (eds. R. H. V. Corley and P. B. Tinker) Vol. IIII, pp. 201-215. Britain: The Bath Press.

Zhang, G. Q., Zhou, W. J., Gu, H. H., Song, W. J. and Momoh, E. J. J. 2003. Plant regeneration from the hybridization of *Brassica juncea* and *B. napus* through embryo culture. Journal of Agronomy and Crop Science 189: 347-350.

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 องค์ประกอบของธาตุอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS)

องค์ประกอบ	ปริมาณสาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ธาตุอาหารหลัก	
NH_4NO_3	1650.00
KNO_3	1900.00
KH_2PO_4	170.00
$CaCl_2.2H_2O$	440.00
$MgSO_4.7H_2O$	370.00
ธาตุอาหารรอง	
KI	0.83
H_3BO_3	6.20
$MnSO_4.H_2O$	16.90
$ZnSO_4.7H_2O$	10.60
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
ธาตุเหล็ก	
$FeSO_4.7H_2O$	27.80
Na_2EDTA	37.30
สารอินทรีย์	
Myo-inositol	100.00
Nicotinic acid	0.50
Pyridoxine HCl	0.50
Thiamine HCl	0.10
Glycine	2.00
Sucrose	30,000.00
วุ้น	7,500.00

pH 5.7

แยกผลออกจากทลาย

แกะเนื้อออกจากผลโดยใช้กรรไกร

ทุบแยกส่วนกะลาออกโดยใช้ค้อน

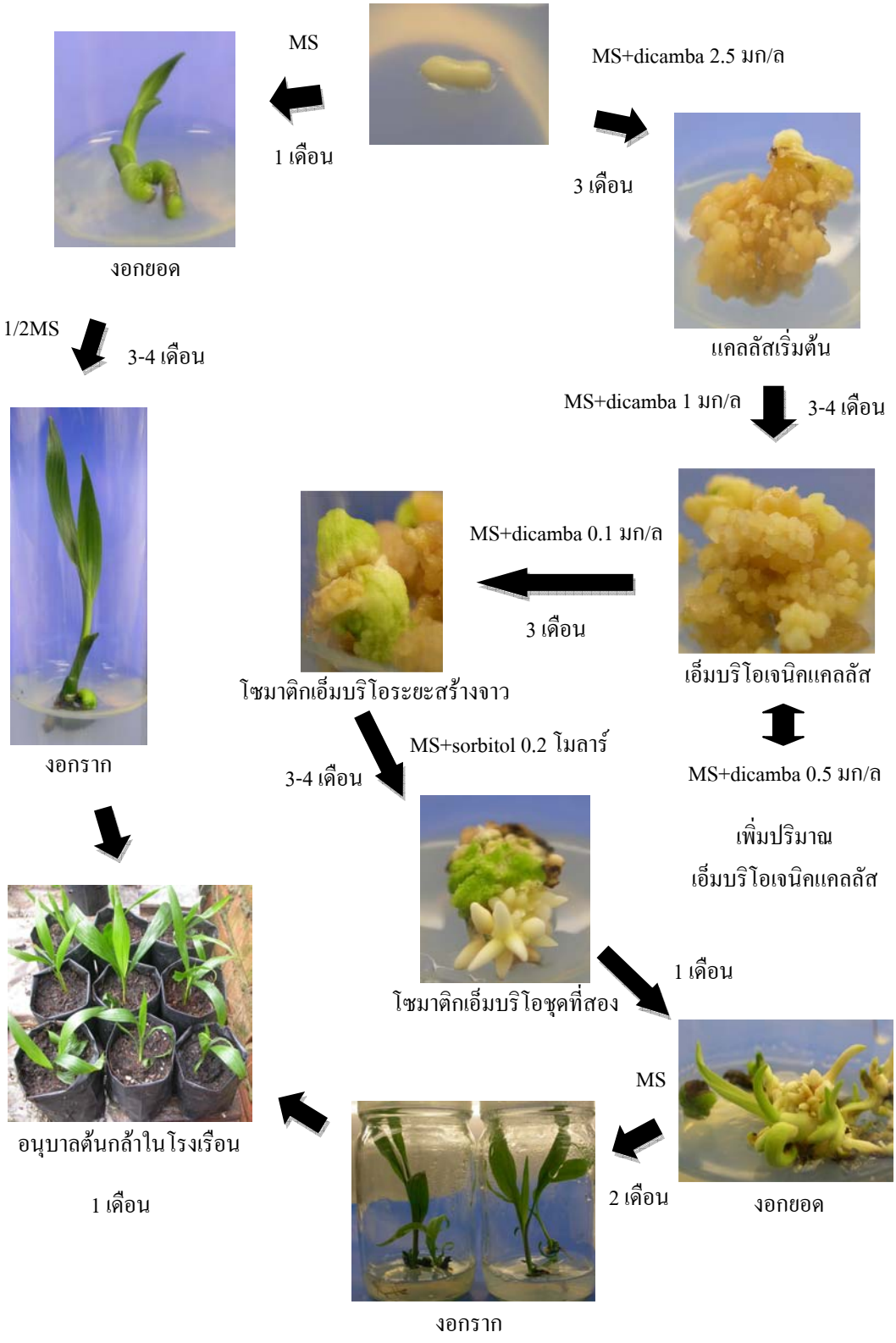
ตัดเนื้อในเมล็ดที่มีคัพภะฝังอยู่โดยใช้ใบมีด (~ 0.3 x 0.3 x 0.8 เซนติเมตร)

แช่ในแอลกอฮอล์ 70% 1 นาที (เขย่า) ตามด้วยคลอรอกซ์เข้มข้น 20% 20 นาที (เขย่า) และล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง

ตัดแยกคัพภะออกจากเนื้อในเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์

ภาพภาคผนวกที่ 1 ขั้นตอนการเตรียมชิ้นส่วนและการฟอกฆ่าเชื้อปาล์มน้ำมัน



ภาพภาคผนวกที่ 2 ขั้นตอนการขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันและการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงคัพภะ

ตารางภาคผนวกที่ 2 ความแปรปรวนของการงอกเป็นยอดของคัพภะปาล์มน้ำมันจาก 3 คู่ผสม (C) คือ D174×P206 D366×P110 และ D865×P110 ที่ 3 อายุ (D) คือ 4 5 และ 6 เดือนหลังการผสม หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหาร 2 สูตร (M) คือ MS และ 1/2MS เป็นเวลา 2 เดือน

Source	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
Replications	2	0.0186	0.0093	0.59ns	0.5604
C	2	0.3948	0.1974	12.50**	0.0001
D	2	0.2937	0.1468	9.30**	0.0006
C×D	4	1.0309	0.2580	16.32**	0.0001
M	1	0.0037	0.0037	0.24ns	0.6291
C×M	2	0.0516	0.0258	1.64ns	0.2099
D×M	2	0.0244	0.0122	0.77ns	0.4697
C×D×M	4	0.0343	0.0086	0.54ns	0.7048
Error	34	0.5368	0.0158		
Total	53	2.3890			

C.V. 19.9036%

ns: ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

*: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($0.01<p<0.05$)

**: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$)

ตารางภาคผนวกที่ 3 ความแปรปรวนของการงอกเป็นต้นของคัพภะปาล์มน้ำมันจาก 3 คู่ผสม (C) คือ D174×P206 D366×P110 และ D865×P110 ที่ 3 อายุ (D) คือ 4 5 และ 6 เดือนหลังการผสม หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหาร 2 สูตร (M) คือ MS และ 1/2MS เป็นเวลา 2 เดือน

Source	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
Replications	2	0.0114	0.0057	0.40ns	0.6706
C	2	0.5398	0.2699	19.16**	0.0001
D	2	0.0424	0.0212	1.51ns	0.2364
C×D	4	0.1089	0.0272	1.93ns	0.1276
M	1	0.0007	0.0007	0.05ns	0.8200
C×M	2	0.0309	0.0155	1.10ns	0.3456
D×M	2	0.0046	0.0023	0.16ns	0.8490
C×D×M	4	0.0429	0.0107	0.76ns	0.5583
Error	34	0.4791	0.0141		
Total	53	1.2607			

C.V. 67.9022%

ns: ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

*: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($0.01<p<0.05$)

**: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$)

ตารางภาคผนวกที่ 4 ความแปรปรวนของการงอกเป็นรากของคัพภะปาล์มน้ำมันจาก 3 คู่ผสม (C) คือ D174×P206 D366×P110 และ D865×P110 ที่ 3 อายุ (D) คือ 4 5 และ 6 เดือนหลังการผสม หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหาร 2 สูตร (M) คือ MS และ 1/2MS เป็นเวลา 2 เดือน

Source	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
Replications	2	0.0020	0.0010	0.17ns	0.8411
C	2	0.0093	0.0047	0.80ns	0.4595
D	2	0.0086	0.0043	0.74ns	0.4853
C×D	4	0.0114	0.0029	0.49ns	0.7437
M	1	0.0406	0.0406	6.94*	0.0126
C×M	2	0.0090	0.0045	0.77ns	0.4691
D×M	2	0.0016	0.0008	0.14ns	0.8706
C×D×M	4	0.0403	0.0101	1.72ns	0.1678
Error	34	0.1987	0.0058		
Total	53	0.3216			

C.V. 191.1171%

ns: ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

*: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($0.01<p<0.05$)

**: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$)

ตารางภาคผนวกที่ 5 ความแปรปรวนของการสร้างแคลลัสของคัพภะปาล์มน้ำมันจาก 3 คู่ผสม (C) คือ D174×P206 D366×P110 และ D865×P110 ที่ 3 อายุ (D) คือ 4 5 และ 6 เดือนหลังการผสม หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมออกซิน 3 ชนิด (A) คือ NAA 2,4-D และ dicamba เป็นเวลา 3 เดือน

Source	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
Replications	2	0.0145	0.0073	0.81ns	0.4510
C	2	0.1300	0.0650	7.25**	0.0017
D	2	0.1476	0.0738	8.23**	0.0008
C×D	4	0.1194	0.0299	3.33*	0.0168
A	2	9.3301	4.6650	520.38**	0.0001
C×A	4	1.0129	0.2532	28.25**	0.0001
D×A	4	0.3526	0.0882	9.83**	0.0001
C×D×A	8	0.1932	0.0242	2.69*	0.0147
Error	52	0.4662	0.0090		
Total	80	11.767			

C.V. 16.0984%

ns: ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

*: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($0.01<p<0.05$)

**: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$)

ตารางภาคผนวกที่ 6 ความแปรปรวนของการสร้างแคลลัสและยอดของคัพภะปาล์มน้ำมันจาก 3 คู่ผสม (C) คือ D174×P206 D366×P110 และ D865×P110 ที่ 3 อายุ (D) คือ 4 5 และ 6 เดือนหลังการผสม หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมออกซิน 3 ชนิด (A) คือ NAA 2,4-D และ dicamba เป็นเวลา 3 เดือน

Source	DF	SS	MS	F Value	Pr > F
Replications	2	0.0037	0.0019	0.78ns	0.4635
C	2	0.0199	0.0100	4.22*	0.0200
D	2	0.0543	0.0272	11.50**	0.0001
C×D	4	0.0150	0.0038	1.59ns	0.1920
A	2	0.0392	0.0196	8.31**	0.0007
C×A	4	0.0251	0.0063	2.66*	0.0429
D×A	4	0.0511	0.0128	5.42**	0.0010
C×D×A	8	0.0262	0.0033	1.39ns	0.2238
Error	52	0.1227	0.0024		
Total	80	0.3573			

C.V. 206.0159%

ns: ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

*: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($0.01<p<0.05$)

**: แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นายซูไฮมิน เจ๊ะมะลี

รหัสประจำตัวนักศึกษา 4910620025

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการเกษตร)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2548

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนสนับสนุนโครงการวิจัยวิทยานิพนธ์ สถานวิจัยพืชกรรมปาล์มน้ำมัน คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Chehmalee, S. and Te-chato, S. 2008. Induction of somatic embryogenesis and plantlet regeneration from cultured zygotic embryo of oil palm. Journal of Agricultural Technology 4: 137-146.