การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ที่ให้ผลผลิตสูงด้วยการเพาะเลี้ยงใบอ่อนจากต้นกล้า

Propagation of High Yielding Oil Palm SUP-PSU by Tissue Culture Technique from Young Leaves of Seedling

นูรมา มาสากี

Nurma Masakee

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

2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ที่ให้ผลผลิตสูงด้วยการเพาะเลี้ยงใบอ่อนจากต้นกล้า

Propagation of High Yielding Oil Palm SUP-PSU by Tissue Culture Technique from Young Leaves of Seedling

นูรมา มาสากี

Nurma Masakee

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

2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์	การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ที่ให้ผลผลิตสูงด้วยการเพาะเลี้ยงใบอ่อนจากต้นกล้า
ผู้เขียน	นางสาวนูรมา มาสากี
สาขาวิชา	พืชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(ดร.สุรีรัตน์ เย็นช้อน)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(ศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาวดี รามสูตร)

.....กรรมการ

(ดร.สุรีรัตน์ เย็นช้อน)

.....กรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต)

.....กรรมการ

(ดร.ทัศนี ขาวเนียม)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

.....

(ศาสตราจารย์ ดร.ดำรงศักดิ์ ฟ้ารุ่งสาง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....
(ดร.สุรีรัตน์ เย็นช้อน)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....
(นางสาวนูรมา มาสากี)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อนและไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....
(นางสาวนูรมา มาสากี)
นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ที่ให้ผลผลิตสูงด้วยการเพาะเลี้ยงใบอ่อนจากต้นกล้า

ผู้เขียน นางสาวนูรมา มาสากี

สาขาวิชา พืชศาสตร์

ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของต้นกล้าปาล์มน้ำมันทรัพย์ ม.อ. โคลน 6 บนสูตรอาหาร oil palm culture medium (OPCM) และสูตร Murashige และ Skoog (MS) เติม dicamba (3,6-dichloro-2-methoxybenzoic-acid) เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ย้ายเลี้ยงทุกเดือน เป็นเวลา 6 เดือน พบว่า ใบอ่อนที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร OPCM ให้อัตราการเกิดแคลลัส 15 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าสูตรอาหาร MS และให้อัตราการเกิดสีน้ำตาลของชิ้นส่วนใบ 13.33 เปอร์เซ็นต์น้อยกว่าสูตรอาหาร MS แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จากการศึกษาการสร้างบาดแผลโดยการสับเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส โคลน C3/77 (25) เป็นจำนวนครั้งที่ต่างกัน แล้ววางเลี้ยงบนอาหารสูตร Y_3 (Eeuwens) เติม dicamba ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าการสับเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสจำนวน 100 ครั้ง ให้น้ำหนักสดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสูงสุดเฉลี่ย 0.78 กรัม อัตราการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอ 48 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนโซมาติกเอ็มบริโอเฉลี่ยต่อหลอด 1.2 เอ็มบริโอ อาหารที่เติมกรดแอสคอร์บิค 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำหนักสดแคลลัสสูงสุดเฉลี่ย 1.03 กรัม อัตราการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนโซมาติกเอ็มบริโอเฉลี่ยต่อหลอด 2.89 เอ็มบริโอ ส่วนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเติมน้ำตาลซอร์บิทอล 0.2 โมลาร์ ร่วมกับผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ ให้อัตราการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สองสูงสุด 25 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนโซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สองเฉลี่ยต่อหลอด 1.25 กลุ่มเอ็มบริโอ และการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงโซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สอง พบว่า อาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ไม่เติมผงถ่านให้อัตราการเกิดยอดสูงสุด 16.66 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนยอดเฉลี่ยต่อหลอด 1 ยอด แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

Thesis Title	Propagation of High Yielding Oil Palm SUP-PSU by Tissue Culture Technique from Young Leaves of Seedling
Author	Miss Nurma Masakee
Major Program	Plant Science
Academic Year	2017

Abstract

The Influence of culture media on callus induction from culturing young leaves of seedling clone No. 6 on two different culture media, oil palm culture medium (OPCM) and Murashige and Skoog (MS) medium with 2.5 mg/l dicamba (3,6-dichloro-2-methoxybenzoic-acid) for 6 months was examined. The results showed that OPCM medium gave callus induction frequency 15% higher than that of MS medium. However, the percentage of browning obtained from OPCM was at 13.33% significantly lower than that from MS medium. Wounding callus of clone C3/77 (25) by chopping 100 times subsequent to culture on Eeuwens (Y_3) medium with 0.1 mg/l dicamba for 1 month gave the highest embryogenic callus (EC) fresh weight (at 0.78 g), somatic embryo (SE) induction (at 48%) and number of SEs/tube (at 1.2 embryos). Culture medium with 100 mg/l ascorbic acid (AA) and 0.2% activated charcoal (AC) gave the highest fresh weight of EC (at 1.03 g), SE induction (at 100%) and number of SEs/tube (at 2.89 embryos). PGR-free MS medium with 0.2 M sorbitol and 0.2% AC gave the highest frequency of secondary somatic embryo (SSE) formation (at 25%) and number of SSEs/tube (at 1.25 cluster embryos). For plantlet regeneration, SSEs cultured on PGR-free MS medium without AC gave significantly the highest frequency of shoot formation (at 16.66%) and number of shoots/tube (at 1 shoot).

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ดร.สุรีรัตน์ เย็นช้อน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์และศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมเป็นอย่างสูง ที่กรุณาให้ความเมตตา คอยอบรมสั่งสอน ให้คำปรึกษา ความรู้ ความเข้าใจ คำแนะนำในการดำเนินชีวิต การทำวิจัย การปฏิบัติงานทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การเก็บรวบรวมข้อมูล การตรวจสอบเนื้อหาและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาวดี รามสูตร ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ ดร.ทัศนี ขาวเนียม กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ สำหรับคำแนะนำต่าง ๆ ตลอดจนตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องภายในรูปเล่มวิทยานิพนธ์ ด้วยความเอาใจใส่เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ นายอาแว มาสากี บิดา นางยาเราะ อาแว มารดา นางสาวนูรีซำ อาแว พี่สาวและญาติพี่น้องทุกคน ที่คอยเป็นกำลังใจที่ดีที่สุด ให้ความรัก ให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน เป็นที่ปรึกษาเมื่อยามเกิดความท้อถอยให้กลับมามีแรงต่อสู้กับอุปสรรคต่าง ๆ อีกครั้ง คอยสั่งสอน คอยอบรม ตลอดจนช่วยเหลือในทุนการศึกษา และให้ความสนับสนุนเป็นอย่างดีมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทั้งในภาควิชาพืชศาสตร์ และภาควิชาอื่นๆ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ทุกท่าน ที่ได้กรุณาอบรมสั่งสอน ให้ความรู้ ทั้งทางด้านวิชาการและคุณธรรม ตลอดจนเจ้าหน้าที่ของภาควิชาพืชศาสตร์ทุกท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือด้านต่าง ๆ จนข้าพเจ้าสำเร็จการศึกษา

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษา และวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ ทุนอุดหนุนวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ทุนสนับสนุนจากสถานวิจัยความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 2 ทุนสนับสนุนการผลิตบัณฑิตสถานวิจัยพืชกรรมปาล์มน้ำมัน ระยะที่ 2 คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้การสนับสนุนทุนการศึกษาในการทำวิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพของพืชปลูก ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ทุกคน ที่คอยให้ความช่วยเหลือซึ่งกันและกัน ให้กำลังใจในทุกครั้งที่เกิดปัญหาและท้อถอย คอยสนับสนุนให้ปฏิบัติตัวไปในทางที่ดี คอยตักเตือนเมื่อทำผิดพลาด ให้ความรัก ความจริงใจต่อกัน และเป็นที่ปรึกษาในทุกเรื่องทั้งด้านการทำวิจัยและการดำเนินชีวิต จนข้าพเจ้าทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นูรมา มาสากี

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(6)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการภาพประกอบ	(10)
สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ	(12)
หนังสือตอบรับตีพิมพ์	(13)
สรุปเนื้อหา	
บทที่ 1 บทนำ	
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	11
บทที่ 2 การทดลอง	
การทดลองที่ 1 ผลของสูตรอาหารต่อการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนจากต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ที่ให้ผลผลิตสูง	12
การทดลองที่ 2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสชักนำโซมาติกเอ็มบริโอและการพัฒนาต้นกล้าของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ที่ให้ผลผลิตสูง	21
บทที่ 3 สรุป	48
เอกสารอ้างอิง	50
ภาคผนวก	55
ผลงานตีพิมพ์	59
ประวัติผู้เขียน	70

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ผลของสูตรอาหารต่ออัตราการเกิดแคลลัส และอัตราการเกิดสีน้ำตาลหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน	17
2.2	ผลของจำนวนครั้งการสร้างบาดแผลต่อการเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส และการชักนำ SE บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน	28
2.3	ผลของความเข้มข้น AA และ AC ต่อน้ำหนักสดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส อัตราการเกิด SE และจำนวน SE บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน	31
2.4	ผลของความเข้มข้น $AgNO_3$ และกรดแอสคอร์บิคต่อการชักนำ SE บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน	35
2.5	ผลของผงถ่านต่อการชักนำ SSE บนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซอร์บิทอล เข้มข้น 0.2 โมลาร์ และกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน	40
2.6	ผลของสูตรอาหาร และผงถ่านต่ออัตราการเกิดยอด และจำนวนยอดบนอาหารสูตรต่างๆ เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน	42

รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1.1	ลักษณะผลปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอรา [Dura (D) x Pisifera (P)] พันธุ์ทรัพย์ ม.อ.	3
1.2	กระบวนการเปลี่ยนโครงสร้างของวิตามินซีโดยเอนไซม์	7
1.3	ลักษณะโครงสร้างภายในของผงถ่านกัมมันต์	9
1.4	ผลของซิลเวอร์ไอออนจาก $AgNO_3$ ต่อกระบวนการสร้างเอทิลีนซึ่งมีผลกระทบต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาต่างๆในพืช	10
2.1	ลักษณะใบอ่อนจากต้นกล้าอายุ 12 เดือน ของพันธุ์ลูกผสมทรัพย์ ม.อ. โคลน 6 ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ (บาร์ = 1 ซม.)	15
2.2	ลักษณะการเกิดแคลลัส (ศรชี้) ที่ได้จากการวางเลี้ยงบนอาหารทั้ง 2 สูตร ร่วมกับ dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตรหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)	18
2.3	ลักษณะเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ลูกผสมเทเนอรา C3/77 (25) วางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร OPCM เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ หลังย้ายเลี้ยงทุก ๆ เดือน เป็นเวลา 3 เดือน (บาร์= 0.5 ซม.)	24
2.4	ผลของการสร้างบาดแผลด้วยการสับในจำนวนครั้งที่ต่างกันต่อการชักนำ SE ระยะ HE (ศรชี้) บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน	29
2.5	ผลของกรดแอสคอร์บิคต่อการชักนำ SE (ศรชี้) บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)	32
2.6	ผลของกรดแอสคอร์บิค และผงถ่านต่อการชักนำ SE (ศรชี้) บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)	33

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
2.7	ผลของ $AgNO_3$ ต่อการชักนำ SE (ศรชี้) บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)	36
2.8	ผลของ $AgNO_3$ ต่อการชักนำ SE (ศรชี้) บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)	37
2.9	ผลของ $AgNO_3$ ต่อการชักนำ SE (ศรชี้) บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)	38
2.10	ผลของ $AgNO_3$ ต่อการชักนำ SE (ศรชี้) บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)	39
2.11	การชักนำ SSE (ศรชี้) บนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซอร์บิทอล เข้มข้น 0.2 โมลาร์ กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมและไม่เติมผงถ่าน 0.2 ปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)	41
2.12	ผลของสูตรอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และผงถ่านต่อการชักนำยอด (ศรชี้) วางเลี้ยงบนสูตรอาหารต่างๆ เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)	43
2.13	ผลของสูตรอาหาร และผงถ่านต่อการชักนำยอด (ศรชี้) วางเลี้ยงบนสูตรอาหารต่างๆ เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)	44

สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

D	=	Dura
P	=	Pisifera
MS	=	Murashige and Skoog medium
½MS	=	Half-strength Murashige and Skoog medium
Y_3	=	Eeuwens medium
ARDA	=	Agricultural Research Development Agency medium
OPCM	=	Oil palm culture medium
WPM	=	Woody plant medium
AA	=	Ascorbic acid
AC	=	Activated charcoal
PGR	=	Plant growth regulator
BA	=	Benzyladenine
BAP	=	Benzylaminopurine
2,4-D	=	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
NAA	=	1-Naphthaleneacetic acid
dicamba	=	3, 6-Dichloro-2-methoxybenzoic acid
EMS	=	Ethylmethanesulfonate
PVP	=	Polyvinyl pyrrolidone
Ag	=	Silver
Ni	=	Nickle
$AgNO_3$	=	Silver nitrate
CRD	=	Completely randomized design
LSD	=	Least significant difference
DMRT	=	Duncan’s multiple range test
ns	=	Not significantly different
SE	=	Somatic embryo
SSE	=	Secondary somatic embryo
EC	=	Embryogenic callus

สำเนาต้นฉบับที่ได้รับการตอบรับให้นำเสนอและตีพิมพ์บทความ

นูรมา มาสากี, สุรีรัตน์ เย็นช้อน และสมปอง เตชะโต. 2561. ผลของการสร้างบาดแผล สารต้านอนุมูลอิสระ และซิลเวอร์ไนเตรทต่อการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ที่ให้ผลผลิตสูง. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 5(3): 1-9.

หนังสือตอบรับตีพิมพ์ในวารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์

วันที่ 27 กรกฎาคม 2561

เรื่อง แจ้งผลการพิจารณาตีพิมพ์บทความวิจัย
เรียน ผู้แต่ง

ตามที่ท่านได้ส่งบทความวิจัยเพื่อตีพิมพ์ในวารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ในหัวข้อเรื่อง **"ผลของการสร้างบาดแผล สารต้านอนุมูลอิสระ และซิลเวอร์ไนเตรทต่อการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ที่ให้ผลผลิตสูง"** ทั้งนี้บทความวิจัยดังกล่าวได้ผ่านการตรวจสอบความมีมาตรฐานทางวิชาการจากคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิแล้ว จึงตอบรับให้ตีพิมพ์ในวารสารพืชศาสตร์ฯ ปีที่ 5 ฉบับที่ 3 (กรกฎาคม – กันยายน 2561) ทั้งนี้กองบรรณาธิการฯ จะเผยแพร่ผลงานในรูปแบบ e-journal ซึ่งท่านสามารถดาวน์โหลดบทความต้นฉบับจากเว็บไซต์ของวารสารฯ ได้ที่ http://natres.psu.ac.th/ Department /PlantScience/sjps

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

ขอแสดงความนับถือ

(ศาสตราจารย์ ดร. สมปอง เตชะโต)
บรรณาธิการวารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์

กองบรรณาธิการวารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์
ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ
โทร. 074-286138-9

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชน้ำมันที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทยในปัจจุบัน และมีศักยภาพทางเศรษฐกิจสูงกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่น ๆ เช่น ในปี พ.ศ. 2551 มีผลผลิตน้ำมันต่อหน่วยพื้นที่สูงกว่าพืชน้ำมันชนิดต่างๆ (ธีระ, 2554) ประเทศไทยจัดเป็นประเทศผู้ผลิตปาล์มน้ำมันที่สำคัญอันดับต้น ๆ ของโลก มีเกษตรกรผู้ปลูกปาล์มน้ำมันมันภายในประเทศไม่ต่ำกว่า 1.28 แสนครัวเรือน (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2556) แต่การผลิตปาล์มน้ำมันของประเทศไทยนั้นยังมีความเสียเปรียบในด้านการผลิตเมื่อเทียบกับการผลิตปาล์มน้ำมันของประเทศคู่แข่งที่สำคัญอย่างประเทศอินโดนีเซียและมาเลเซีย ซึ่งทั้งสองประเทศนี้ จัดอยู่ในกลุ่มประเทศที่ผลิตน้ำมันพืชได้เกินความต้องการใช้ภายในประเทศ (ธีระ และคณะ, 2548) การผลิตปาล์มน้ำมันของประเทศไทยให้ผลผลิตต่อไร่เพียง 10,776,848 ตันต่อปี ในขณะที่การผลิตปาล์มน้ำมันของประเทศอินโดนีเซียและมาเลเซียให้ผลผลิตต่อไร่สูงถึง 86,000,000 และ 84,842,000 ตันต่อปี ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากประเทศอินโดนีเซียและมาเลเซียมีพื้นที่ให้ผลผลิตปาล์มน้ำมันมากถึง 31,250,000 และ 25,013,000 ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร , 2555) คิดเป็น สัดส่วนร้อยละ 33.34 และ 26.69 ของพื้นที่ให้ผลผลิตปาล์มน้ำมันรวมทั้งโลกตามลำดับ ในขณะที่ประเทศไทยมีพื้นที่ให้ผลผลิตปาล์มน้ำมันเพียง 3,982,623 ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2556) ซึ่งน้อยกว่าประเทศมาเลเซียและอินโดนีเซีย 5 เท่า ในส่วนของอัตราการให้น้ำมันของผลผลิตปาล์มน้ำมัน ปาล์มน้ำมันของประเทศอินโดนีเซียและมาเลเซียมีอัตราการให้น้ำมันสูงถึงร้อยละ 22 และ 19.40 ต่อปี ตามลำดับ ในขณะที่ผลผลิตปาล์มน้ำมันของประเทศไทยมีอัตราการให้ผลผลิตน้ำมันน้อย คิดเป็นร้อยละ 15.70 ต่อปี (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2556) ทั้งนี้ในปัจจุบันความต้องการปาล์มน้ำมันมีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องและรวดเร็ว เนื่องจากปาล์มน้ำมันสามารถนำมาแปรรูปเป็นน้ำมันปาล์มสำหรับอุตสาหกรรมต่อเนื่องอีกหลายชนิด เช่น อุตสาหกรรมน้ำมันพืช อุตสาหกรรมบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป เครื่องสำอาง เป็นต้น จึงทำให้มีการขยายพื้นที่ในการเพาะปลูกปาล์มน้ำมันเพิ่มขึ้นทุกปี

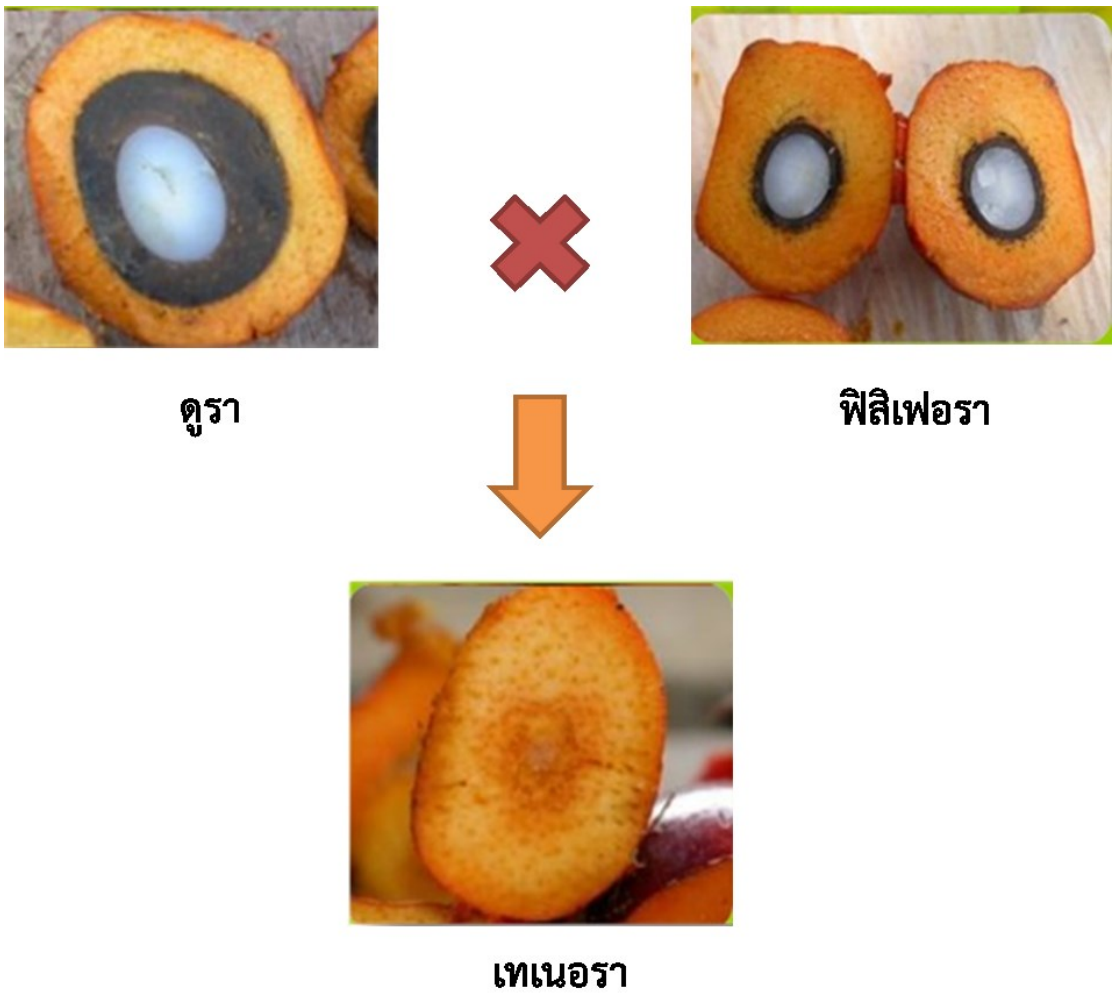
ปาล์มน้ำมันมีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปแอฟริกาแถบประเทศชายฝั่งตะวันตกและตอนกลาง จัดอยู่ในสกุล *Elaeis* สามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ *E. guineensis* *E. oleifera* และ *E. odora* แต่ชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ คือ *E. guineensis* ปาล์มน้ำมันชนิดนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 แบบ คือ แบบดูรา พิสิเฟอรา และเทเนอรา โดยแบบที่นิยมปลูกเป็นการค้า คือ แบบเทเนอรา (ธีระ และคณะ, 2543) ซึ่งเป็นพันธุ์ผสมระหว่างดูราพันธุ์แม่กับพิสิเฟอราพันธุ์พ่อ มีลักษณะเปลือก

ชั้นนอกหนาและให้เปอร์เซ็นต์น้ำมันมาก 60 – 90 เปอร์เซ็นต์ มีกะลาบาง (0.5 - 4 มิลลิเมตร) ซึ่งลักษณะความหนาของกะลาเป็นลักษณะที่สำคัญ เพราะมีผลต่อปริมาณเปลือกนอกที่ให้น้ำมัน เนื่องจากเป็นพืชที่ให้ผลผลิตน้ำมันต่อหน่วยพื้นที่ ประมาณ 640 - 800 กิโลกรัมน้ำมันต่อพื้นที่ปลูก 1 ไร่ ซึ่งสูงกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่นหลายเท่าตัว นอกจากนี้น้ำมันปาล์มยังเป็นน้ำมันพืชที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลายทั้งในสินค้าอุปโภคบริโภค รวมทั้งในด้านพลังงานทดแทน จึงทำให้มีปริมาณความต้องการสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง การผลิตน้ำมันปาล์มจึงมีแนวโน้มขยายตัวเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องและรวดเร็ว เพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค (เปรมปรี, 2549) โดยในปี พ.ศ. 2551 ผลผลิตน้ำมันจากเนื้อปาล์มและเนื้อในเมล็ดรวมเท่ากับ 48.11 ล้านตัน เพิ่มขึ้นประมาณ 17.12 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับปี พ.ศ. 2515 ซึ่งมีผลผลิตเพียง 2.81 ล้านตัน (ธีระ, 2554)

ปาล์มน้ำมันจัดเป็นพืชยืนต้น มีการผสมพันธุ์แบบผสมข้าม โดยปกติใช้เมล็ดในการขยายพันธุ์ และเป็นพืชที่สามารถให้ผลผลิตทะลายได้ตลอดทั้งปี มีอายุการเก็บเกี่ยวผลผลิตได้นานมากกว่า 25 ปี พันธุ์ปาล์มน้ำมันที่นำมาปลูกจึงต้องเป็นพันธุ์ปาล์มน้ำมันที่ดี จึงจะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพและลดต้นทุนในการผลิตตลอดอายุการเก็บเกี่ยวของปาล์มน้ำมันได้ (ธีระ, 2554) ทำให้ต้องมีการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันเพื่อให้ได้ผลผลิตทะลาย ผลผลิตน้ำมันสูง และสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในแหล่งปลูกได้ดี (ธีระ และคณะ, 2543)

ปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ปรับปรุงพันธุ์โดยศาสตราจารย์ ดร.ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ (ภาพที่ 1.1) มีลักษณะกะลาบาง ให้ผลผลิตสูง ทนแล้งได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์การค้าอื่นในประเทศไทย (ธีระ, 2554) อย่างไรก็ตาม การขยายพันธุ์เชิงการค้าในปัจจุบันใช้วิธีการเพาะเมล็ดจากพันธุ์ลูกผสมเทเนอราส่งผลให้ต้นกล้าที่ได้มีความสม่ำเสมอต่ำ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนที่ไม่เกี่ยวกับเพศ เช่น ใบอ่อน (สมปอง และคณะ, 2547) คัพภะ (ซูไฮมิน, 2551) และช่อดอก (ชยานิจ และคณะ, 2552) จะช่วยให้การผลิตต้นกล้ามีความสม่ำเสมอมากขึ้น

สำหรับการขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น ปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ จำนวนครั้งในการสร้างบาดแผลให้กับเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส และปัจจัยเคมีได้แก่ สารควบคุมการเจริญเติบโต สารต้านอนุมูลอิสระ สารยับยั้งการสร้างเอทีลีน เป็นต้น



ภาพที่ 1.1 ลักษณะผลปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอรา [Dura (D) x Pisifera (P)] พันธุ์ทรัพย์ ม.อ.
ที่มา: ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตปาล์มน้ำมัน (2556)

1.2 การตรวจเอกสาร

1.2.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ กระบวนการตัดแยกชิ้นส่วนพืชมาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อ ภายในห้องที่มีการควบคุมแสง อุณหภูมิ และความชื้นที่เหมาะสม เพื่อให้ชิ้นส่วนพืชมีการพัฒนาต่อไป (สมปอง, 2539) การขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีนี้ สามารถเพิ่มปริมาณต้นพืชได้เป็นจำนวนมาก และใช้ระยะเวลาสั้น ปัจจุบันสามารถเพาะเลี้ยงส่วนของคัพภะ และใบอ่อนของปาล์มน้ำมัน ซึ่งสามารถสร้างยอดใหม่ได้จำนวนมาก และยังสามารถใช้แคลลัสเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ได้ การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นับวันเริ่มจะมีบทบาทมากขึ้น

มีรายงานการใช้ชิ้นส่วนต่าง ๆ สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันได้สำเร็จ เช่น การชักนำให้เกิดแคลลัสจากการวางชิ้นส่วนต่าง ๆ เช่น ช่อดอกอ่อน (ชยานิจ และคณะ, 2552) คัพภะอ่อน (ซูไฮมิน, 2551) และใบอ่อนจากต้นกล้า หรือใบอ่อนจากต้นโตที่ให้ผลผลิตแล้ว (สมปอง และคณะ, 2547) ซึ่งแคลลัสที่ชักนำได้สามารถพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้ การพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมี 2 ช่องทาง คือ ชิ้นส่วนพืชสามารถพัฒนาเป็นยอดหรือราก (organogenesis) และการเกิดพืชต้นใหม่โดยผ่านการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอในระยะต่าง ๆ (somatic embryogenesis) เหมือนกับการสร้างเอ็มบริโอจากการผสมพันธุ์ และเรียกเอ็มบริโอที่พัฒนาจากการเพาะเลี้ยงเซลล์ร่างกายว่า โซมาติกเอ็มบริโอ หรือ embryoid พืชทั่วไปมีระยะการพัฒนาของโซมาติกเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 4 ระยะ คือ ระยะรูปกลม รูปหัวใจ รูปตอร์ปิโด และระยะสร้างใบเลี้ยง ในกรณีของปาล์มน้ำมันนั้นเห็นพัฒนาการของโซมาติกเอ็มบริโอได้เพียง 2 ระยะที่ชัดเจน คือ ระยะรูปกลมและระยะสร้างจาว (haustorium embryo; HE) (Te-chato and Hilae, 2007) โซมาติกเอ็มบริโอดังกล่าวสามารถพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้สูง เหมาะสมในการนำมาเป็นชิ้นส่วนพืชเริ่มต้นในการปรับปรุงพันธุ์ด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ Te-chato (1998) รายงานการผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่ปกติจำนวนมาก จากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนปาล์มน้ำมันจากต้นเทเนอรา ผ่านกระบวนการเอ็มบริโอเจนีซีสในอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในระดับต่ำ ทั้งในระยะชักนำแคลลัส พัฒนาเป็นโซมาติกเอ็มบริโอ และการชักนำการงอกยอดและต้นกล้าที่ปกติ

1.2.2 การชักนำแคลลัส

แคลลัสเกิดขึ้นได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ เช่น คัพภะอ่อน ใบอ่อน และราก เนื่องจากชิ้นส่วนเหล่านี้จะประกอบไปด้วยเนื้อเยื่อหลายชนิด เช่น อิพิเดอร์มิส คอร์แทกซ์ ซึ่งแต่ละชนิดจะมีชั้นที่ประกอบไปด้วยเซลล์ต่างๆ ที่แตกต่างกัน ส่งผลให้มีความสามารถในการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ที่แตกต่างกัน

แคลลัส คือ กลุ่มของเซลล์ที่แบ่งตัวออกจากเซลล์เริ่มต้นบริเวณบาดแผลรอยตัดของชิ้นส่วน ลักษณะเป็นก้อนมีสีและโครงสร้างแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ โดยทั้วไปแบ่งเป็นแคลลัสที่มีโครงสร้างแน่นทึบ (compact callus) และแคลลัสที่มีโครงสร้างร่วนเปราะ (friable callus) นอกจากนี้อาจแบ่งแคลลัสตามพัฒนาการของเซลล์ที่เป็นองคีประกอบ เช่น embryogenic callus หรือ meristematic nodular callus เป็นต้น (สมปอง, 2539) ชิ้นส่วนพืชเกือบทุกชนิดสามารถนำมาชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ซึ่งชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสควรเป็นชิ้นส่วนที่มีองค์ประกอบเนื้อเยื่อเจริญ เนื่องจากมีกิจกรรมการแบ่งเซลล์สูง เช่น คัพภะอ่อน ใบอ่อน และใบเลี้ยง เป็นต้น (รังสฤษดิ์, 2540) ในปาล์มน้ำมันมีหลายชิ้นส่วนที่สามารถนำมาชักนำแคลลัสได้ เช่น คัพภะอ่อน (สกุลรัตน์, 2553) ใบอ่อน (Constantin *et al.,* 2015) เป็นต้น อาสลัน

(2545) ศึกษาการชักนำแคลลัสจากใบอ่อนของปาล์มน้ำมันบนอาหารสูตร Murashige และ Skoog (MS) เติม dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้ชิ้นส่วนสร้างแคลลัสสูงสุด คือ 11.2 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ธิดารัตน์ และคณะ (2558) ศึกษาการชักนำแคลลัสจากคัพภะอ่อนของปาล์มน้ำมันแบบพิสิเฟอราที่ได้จากการผสมเปิดอายุ 5 ปี เพาะเลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร คือ MS สูตรเพาะเลี้ยงปาล์มน้ำมัน (oil palm culture medium; OPCM) และ woody plant medium (WPM) เติม dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงในสภาพมืดและให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน พบว่า อาหารสูตร MS ให้การสร้างเอ็มบริโอ เจนิคแคลลัสสูงสุด 50 เปอร์เซ็นต์ หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 90 วัน ในที่มืด

1.2.3 การชักนำโซมาติกเอ็มบริโอ

โซมาติกเอ็มบริโอเจเนซิส (somatic embryogenesis; SE) เป็นการเกิดเอ็มบริโอจากเซลล์หรือเนื้อเยื่อของร่างกายและจะมีการพัฒนาเป็นระยะต่างๆ เช่น เอ็มบริโอระยะรูปกลม รูปหัวใจ รูปตอร์ปิโด และใบเลี้ยงหรือต้นกล้า ตามลำดับ (คำนูณ, 2554) การพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จาก SE จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและอวัยวะพืชถือว่ามีประโยชน์อย่างมากต่อการขยายพันธุ์ ซึ่งสามารถผลิตต้นอ่อนเป็นจำนวนมาก และยังมีพันธุกรรมเหมือนต้นแม่ทุกประการ เนื่องจากชิ้นส่วนวางเลี้ยงเริ่มแรกเป็นชิ้นส่วนที่ไม่เกี่ยวกับเพศ หรือแม้จะเป็นชิ้นส่วนที่เกี่ยวกับเพศ หากแต่ต้นอ่อนพัฒนามาจากเซลล์ที่ไม่ใช่เซลล์เพศ ต้นที่ได้ยังคงเหมือนต้นแม่เดิม (สมปอง, 2539) เช่น อินทผาลัม (นพรัตน์ และคณะ, 2559) และปาล์มน้ำมัน (Hilae and Te-chato, 2005) เป็นต้น SE จะพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้นั้นต้องอาศัยปัจจัยต่าง ๆ ในการพัฒนา เช่น สารควบคุมการเจริญเติบโต สภาพการวางเลี้ยง ได้แก่ แสง อุณหภูมิ และความชื้น

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำ SE เช่น การศึกษาของ Balzon และคณะ (2013) ชักนำ SE โดยนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสของปาล์มน้ำมันมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต คือ picloram หรือ 2,4-D เข้มข้น 40 ไมโครโมลาร์ และไฟตาเจล เข้มข้น 2.5 กรัมต่อลิตร พบว่า 2,4-D ส่งเสริมให้เกิด SE สูงสุด 18 เอ็มบริโอต่อชิ้นส่วน เช่นเดียวกันกับนพรัตน์ และคณะ (2559) ศึกษาการชักนำ SE ในอินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.) นำเอ็มบริโอนิคแคลลัส (0.1 กรัม) ไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เติม 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) เข้มข้น 0 3 6 9 12 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ให้น้ำหนัก SE 0.27 2.02 2.59 2.13 1.97 และ 1.65 กรัม ตามลำดับ และการเติม 2,4-D เข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิด SE สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์

การชักนำหรือเพิ่มปริมาณ SE จะขึ้นอยู่กับสภาพการวางเลี้ยงเช่นเดียวกัน ซึ่งชีรวัลย์ และคณะ (2560) ศึกษาผลของสภาพการวางเลี้ยงต่อการเพิ่มปริมาณ SE ของปาล์มน้ำมัน โดยวางเลี้ยง HE ในที่มืดหรือให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน พบว่า HE ที่ผ่านการสับ วางเลี้ยงในสภาพที่มีแสง

ให้อัตราการเกิด SE สูงสุด 45 เปอร์เซ็นต์ จำนวน SE ใหม่ 4.13 เอ็มบริโอต่อหลอดทดลอง และธนวดี (2551) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการชักนำ SE พบว่า ที่อุณหภูมิ 26 ± 4 องศาเซลเซียส สามารถชักนำการเกิด SE รวมสูงสุด 23.28 เอ็มบริโอ หลังจากวางเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์

นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นที่สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนพืชมีการสร้างและพัฒนาเป็น SE ได้ เช่น การสร้างบาดแผลให้กับชิ้นส่วนพืช สารต้านอนุมูลอิสระ และสารต้านเอทธีลีน เป็นต้น

1.2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำแคลลัสและโซมาติกเอ็มบริโอ

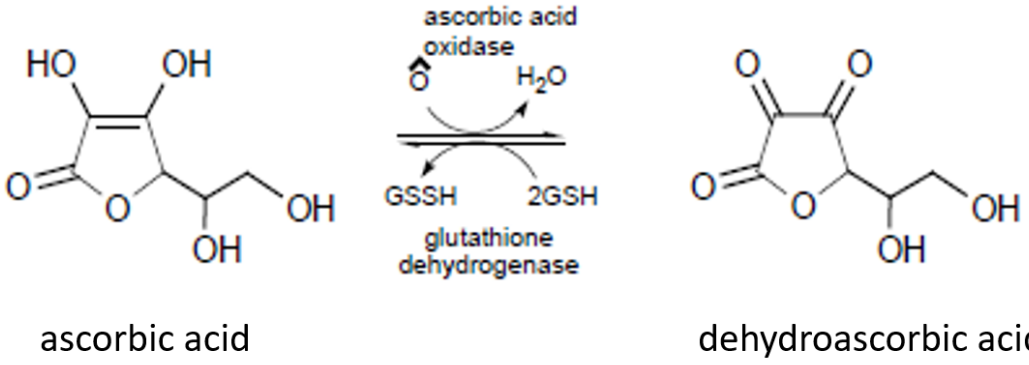
1.2.4.1 การสร้างบาดแผลด้วยการสับ

การสร้างบาดแผลให้กับชิ้นส่วนพืชเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนพืชมีการสร้างและพัฒนาเกิดเป็น SE ได้ รังสฤษดิ์ (2540) รายงานว่า การสร้างบาดแผลเป็นการช่วยส่งเสริมให้ฮอร์โมนพืชจากตำแหน่งอื่นย้ายมายังตำแหน่งที่เกิดบาดแผล และยังเป็นการเพิ่มช่องทางในการดูดอาหารของชิ้นส่วนพืช ชิ้นส่วนพืชจะสามารถดูดซับน้ำและอาหารได้โดยตรงผ่านทางบาดแผลมากยิ่งขึ้น ซึ่งจะเป็นการกระตุ้นการพัฒนาส่วนต่างๆ ในบริเวณนี้ การศึกษาของกาญจนี (2553) ที่ได้ทำการสร้างบาดแผลให้กับโนดูลาแคลลัสของปาล์มน้ำมันโดยใช้ใบมีด พบว่า การสร้างบาดแผลส่งผลให้เอ็มบริโอเจนิคแคลลัสเพิ่มปริมาณได้มากกว่าแคลลัสที่ไม่มีการสร้างบาดแผล Othmani และคณะ (2009) ได้ศึกษาผลของการสร้างบาดแผลแคลลัสของอินทผาลัมด้วยใบมีดโกนวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสได้สูงสุด 3.5 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับแคลลัสที่ไม่ได้สร้างบาดแผล และยังสามารถชักนำให้เกิด SE ได้สูงสุดเฉลี่ย 51 เอ็มบริโอ หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 55 วัน ซึ่ง SE สามารถเจริญเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ได้ อภิชญา และคณะ (2560) ศึกษาการเพิ่มปริมาณ SE ของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. โดยนำชิ้นส่วนเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสมาสับจำนวน 0 และ 50 ครั้ง วางเลี้ยงบนอาหารสูตร OPCM#1 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 20 วัน พบว่า การสับเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส 50 ครั้ง ให้น้ำหนักเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสูงสุดคือ 0.53 กรัม เช่นเดียวกันกับภาณินี และคณะ (2558) ศึกษาการชักนำและเพิ่มปริมาณแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงตาเขียวยางพารา โดยสับชิ้นส่วนแคลลัสจำนวน 0 80 90 และ 100 ครั้ง แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม Benzyladenine (BA) เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ไฟตาเจล เข้มข้น 2 กรัมต่อลิตร พบว่า การสับชิ้นส่วนแคลลัสจำนวน 100 ครั้ง สามารถชักนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสได้สูงสุด 98.45 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาดังกล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่า การสับชิ้นส่วนพืช ทั้งที่เป็นเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสและ SE เป็นชิ้นเล็กๆ ซึ่งเป็นการสร้างบาดแผลให้ชิ้นส่วนพืช ส่งเสริมให้เกิด SE ได้มากกว่าชิ้นส่วนที่ไม่มีการสร้างบาดแผล

1.2.4.2 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระคือโมเลกุลของสารที่สามารถจับกับตัวรับและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลสารอื่นๆ ได้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวเนื่องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ ปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถให้ผลิตภัณฑ์เป็นสารอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งสารอนุมูลอิสระเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และทำลายเซลล์ของร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้ายุติปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ด้วยการเข้าจับกับสารอนุมูลอิสระและยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยถูกออกซิไดซ์ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงถือเป็นตัวรีดิวซ์ อาทิ ไธออล กรดแอสคอร์บิค ผงถ่าน และโพลีฟีนอล

1. กรดแอสคอร์บิค (L-ascorbic acid) หรือ แอสคอร์เบต (ascorbate) เป็นผลึกสีขาวมีรสเปรี้ยวละลายในน้ำ จัดเป็นวิตามินซีมีฤทธิ์เป็นกรด มีฤทธิ์เป็นสารรีดิวซ์ที่แรงมาก และถูกออกซิไดส์ได้ง่ายโดยออกซิเจนในอากาศเมื่อถูกออกซิไดส์แล้วจะเปลี่ยนไปเป็นดีไฮโดรแอสคอร์บิค (dehydro ascorbic acid; DHA) ทั้งนี้จะมีเอนไซม์แอสคอร์บิคออกซิเดส (ascorbic oxidase) และ กลูตาไทโอนดีไฮโดรจีเนส (glutathione dehydrogenase) ในการเปลี่ยนวิตามินซีอยู่ในสองรูป คือ กรดแอสคอร์บิกและดีไฮโดรแอสคอร์บิก (ภาพที่ 1.2) (ศรมน, 2559)

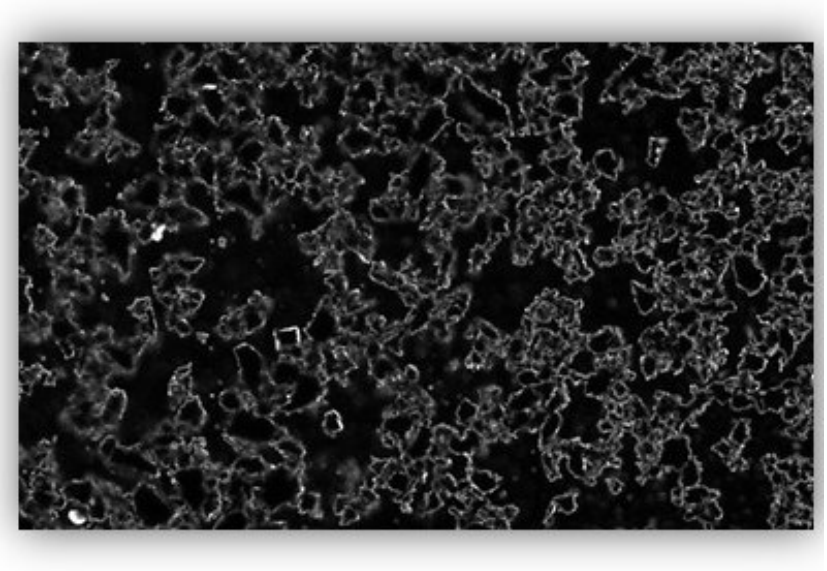


ภาพที่ 1.2 กระบวนการเปลี่ยนโครงสร้างของวิตามินซีโดยเอนไซม์
ที่มา: ศรมน (2559)

ชีรวัลย์ และคณะ (2560) ศึกษาผลของสารต้านอนุมูลอิสระต่อการเพิ่มปริมาณ SE ของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. โดยนำชิ้นส่วน HE วางเลี้ยงบนอาหารสูตร OPCM เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับโพลีไวนิลไพโรลิโดน กรดแอสคอร์บิค และกรดซิตริก เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากย้ายเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวน SE สูงสุด 9.15 เอ็มบริโอต่อหลอด ศตปพร และ สมปอง (2557) รายงานว่า การเติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหาร OPCM เติม dicamba

เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำหนักสดของเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 0.33 กรัม และให้อัตราการเกิด SE เฉลี่ยสูงสุด 30 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำโซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สอง (secondary somatic embryo; SSE) มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เติมน้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงวุ้น เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 เดือน ส่งเสริมการสร้างยอดสูงสุด 10.4 ยอดต่อชิ้นส่วน จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 8.2 รากต่อยอด และให้การพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์เฉลี่ยสูงสุด 7.20 ต้น

2. ผงถ่าน (activated charcoal) มีความสามารถในการดูดซับสารบางตัวออกจากอาหารได้ เนื่องจากผงถ่านมีช่องว่างที่ ละเอียดมาก มีพื้นที่ผิวในช่องว่างสูง (ภาพที่ 1.3) จึงใช้ผงถ่านในการดูดซับสารพิษ เช่น สารประกอบฟีนอล เอทิลีน ทำให้ปริมาณสารดังกล่าวในอาหารลดลง (เพชรรัตน์, 2556) นอกจากนี้อาจใช้ผงถ่านเติมลงในอาหารสูตรชักนำรากเพื่อสร้างสภาพมืดส่งผลให้รากเจริญเติบโตได้ดี และพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ที่สมบูรณ์ได้ สารที่มีคุณสมบัติคล้ายกันกับผงถ่าน คือ PVP และ กรดแอสคอร์บิค ซึ่งสามารถดูดซับสารฟีนอล หรือยับยั้งการเกิดสารสีน้ำตาลได้ (เพชรรัตน์, 2556) Suranthran และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาผลของผงถ่านต่อการชักนำเป็นพืชต้นใหม่ของปาล์มน้ำมัน โดยนำคัพภะวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 1-naphthaleneacetic acid (NAA) BAP และ gibberellic acid (GA_3) เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบระหว่างการเติมและไม่เติมผงถ่าน (2 กรัมต่อลิตร) พบว่า อาหารที่เติมผงถ่าน ให้ความสูงต้นสูงสุด 9.4 เซนติเมตร และความยาวรากสูงสุด 4.4 เซนติเมตร ในขณะที่อาหารที่ไม่เติมผงถ่านคัพภะไม่สามารถพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้ เช่นดียวกันกับวุฒิชัย และ สมปอง (2557) รายงานว่า การเติมผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ในอาหารเพาะเลี้ยงแคลลัสกล้วยไม้เขากวางอ่อนสูตร ½MS เติมน้ำมะพร้าว เข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำโพรโทคอร์มไลค์บอดี้ระยะแรกได้ 100 เปอร์เซ็นต์



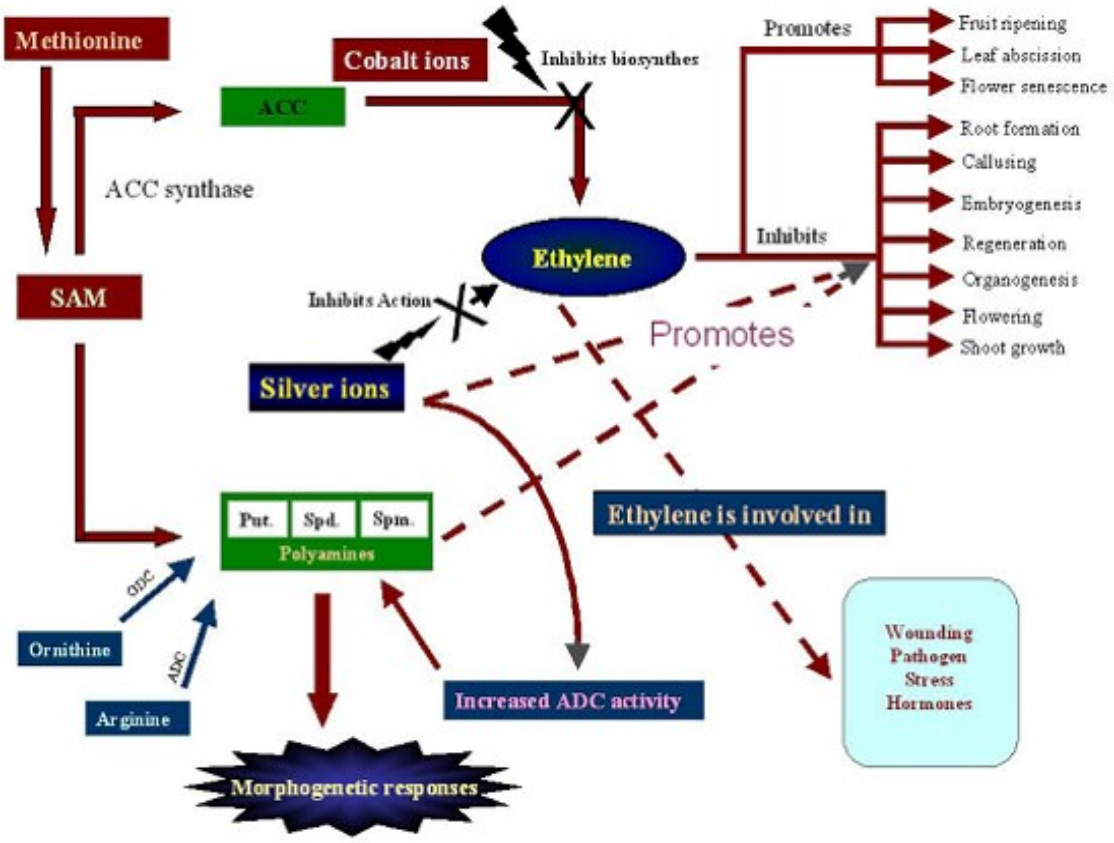
ภาพที่ 1.3 ลักษณะโครงสร้างภายในของผงถ่านกัมมันต์
ที่มา: Kajah Activated Carbon (2017)

1.2.4.3 สารต้านการสร้างเอทิลีน

เอทิลีน เป็นสารที่อยู่ในรูปของก๊าซมีผลต่อการร่วง และการเสื่อมของส่วนต่างๆ ของพืชเกิดการโค้งงอของยอด (apical hook) ทำให้เกิด Epinasty ที่ทำให้ก้านใบพืชชี้ลงดิน ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากด้านบนมีการแบ่งเซลล์ หรือมีการเจริญมากกว่าด้านล่าง ในขวดที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปกติแล้ว มักจะมีเอทิลีนสะสมอยู่ซึ่งปล่อยมาจากเนื้อเยื่อพืชเมื่อเกิดบาดแผลหรือเมื่อเกิดสภาพเครียด ดังนั้นจึงต้องมีการเติมสารยับยั้งการสังเคราะห์เอทิลีนลงในอาหาร เช่น พวกเกลือของธาตุเงิน (silver; Ag) หรือ นิกเกิล (Ni) เพื่อลดปริมาณเอทิลีน การเติมสารยับยั้งดังกล่าว พบว่าสามารถส่งเสริมกระบวนการเอ็มบริโอเจเนซิสได้ดี (สมบุญ, 2544)

Kumar และคณะ (2009) รายงานว่าซิลเวอร์ไนเตรท (silver nitrate; $AgNO_3$) มีผลยับยั้งการทำงานของเอทิลีน โดยเอทิลีนมี บทบาทเกี่ยวข้องกับกระบวนการสำคัญต่างๆ ของพืช ส่งผลในการยับยั้งการเกิดแคลลัสและการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่โดยผ่านกระบวนการเอ็มบริโอเจเนซิสหรือออแกโนเจเนซิส รวมทั้งการเสื่อมสภาพของดอกไม้ (ภาพที่ 1.4) ดังนั้นเมื่อมีการเติม $AgNO_3$ ลงในอาหารเพาะเลี้ยงทำให้การทำงานของเอทิลีนลดลงไปด้วย สุรีรัตน์ และคณะ (2557) ศึกษาความเข้มข้นของ $AgNO_3$ ต่อการชักนำดอก และการยืดอายุการบานของดอกกุหลาบสายพันธุ์มายวาเลนไทน์ในหลอดทดลอง พบว่าอาหารที่เติม $AgNO_3$ เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิดดอกสูงสุด 84.38 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนดอกสูงสุด 2.46 ดอกต่อต้น นอกจากนี้อาหาร

ที่เติม $AgNO_3$ ทุกความเข้มข้นให้อายุการบานของดอกนานกว่าอาหารที่ไม่เติม $AgNO_3$ ชาคริยา และคณะ (2560) ศึกษาความเข้มข้นของ $AgNO_3$ ต่อการชักนำ SE ของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. พบว่า $AgNO_3$ เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวน SE สูงสุดคือ 1.83 ชิ้นส่วนต่อหลอด ภาณินี และคณะ (2558) รายงานว่าการเติม $AgNO_3$ เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหาร MS เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และไฟตาเจล เข้มข้น 2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำ SE ได้สูงสุด 9.3 เอ็มบริโอต่อชิ้นส่วน เช่นเดียวกันกับวุฒิชัย และ สมปอง (2557) รายงานว่าการเติม $AgNO_3$ เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหาร MS เติมน้ำมะพร้าว เข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ และผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ให้การเจริญเติบโตแคลลัสได้ดีที่สุด น้ำหนักสดแคลลัสสูงสุด 499 มิลลิกรัม และเกิดเนื้อเยื่อสีน้ำตาลน้อยที่สุด



ภาพที่ 1.4 ผลของซิลเวอร์ไอออนจาก $AgNO_3$ ต่อกระบวนการสร้างเอทิลีนซึ่งมีผลกระทบต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาต่างๆ ในพืช

ที่มา: Kumar และคณะ (2009)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการชักนำแคลลัสจากใบอ่อน
2. เพื่อศึกษาผลของการสร้างแผลต่อการเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสและโซมาติกเอ็มบริโอ
3. เพื่อศึกษาผลของสารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านเอทธีลีนต่อการเพิ่มปริมาณโซมาติกเอ็มบริโอและต้นกล้าในหลอดทดลอง

บทที่ 2

การทดลองที่ 1

ผลของสูตรอาหารต่อการชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนจากต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ที่ให้ผลผลิตสูง

Effect of Culture Media on Callus Induction of High Yielding Oil Palm SUP-PSU from Young Leaves of Seedling

บทนำ

ปาล์มน้ำมันจัดเป็นพืชพลังงานทางเลือกที่สามารถนำมาทดแทนพืชน้ำมันชนิดอื่น เป็นพืชพลังงานทางเลือกที่สำคัญพืชหนึ่งเมื่อนำน้ำมันที่สกัดได้มาผ่านกระบวนการทางเคมีต่าง ๆ จะกลายเป็นไบโอดีเซล ทั้งยังมีการนำไปใช้บริโภคโดยตรงหรือการแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าในอุตสาหกรรมต่อเนื่อง (สรัชพงศ์, 2556) และยังมีต้นทุนในการผลิตที่ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับพืชชนิดอื่น ความหลากหลายของการใช้ประโยชน์ดังกล่าวจึงเป็นตัวแปรที่สำคัญ ส่งผลให้ปาล์มน้ำมันเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญทั้งในระดับโลก และระดับประเทศ (พวงเพชร, 2558)

ปาล์มน้ำมัน จัดเป็นพืชอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจทั้งในระดับโลกและระดับประเทศ สามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้ทั้งเครื่องอุปโภคและบริโภค เช่น สบู่ ผงซักฟอก เนยเทียม ไขมันผสม ขนมปังกรอบ ครีม เนย เครื่องสำอาง อาหารสัตว์ และยังรวมไปถึงการผลิตเชื้อเพลิงเพื่อใช้กับเครื่องยนต์ เป็นต้น (ธีระ และคณะ, 2548) ปาล์มน้ำมันมีถิ่นกำเนิดอยู่ในหลายประเทศบริเวณชายฝั่งตะวันตกและตอนกลางของทวีปแอฟริกา ซึ่งเป็นเขตร้อนชื้น (ธีระ, 2554) ปาล์มน้ำมันให้ผลผลิตน้ำมันต่อหน่วยพื้นที่สูงที่สุดเมื่อเทียบกับพืชน้ำมันชนิดอื่นๆ คือให้ผลผลิต 640 - 800 กิโลกรัมน้ำมันต่อพื้นที่ปลูก 1 ไร่ ในปัจจุบันแหล่งผลิตปาล์มน้ำมันรายใหญ่ของโลก คือประเทศอินโดนีเซีย มีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันมากที่สุด 47 ล้านไร่ รองลงมา คือ ประเทศมาเลเซีย 29 ล้านไร่ และประเทศไทย 4 ล้านไร่ (ประภาพร, 2560) โดยภาคใต้เป็นแหล่งผลิตที่สำคัญ และปลูกมากที่สุดในจังหวัดกระบี่ สุราษฎร์ธานี ชุมพร สตูล และตรัง

ความต้องการปาล์มน้ำมันมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้มีการขยายพื้นที่ปลูกมากขึ้นเช่นกัน การผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมันในเชิงการค้าใช้วิธีการเพาะเมล็ด ซึ่งไม่เพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกร เนื่องจาก 1 เมล็ด สามรถผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมันได้เพียง 1 ต้น อีกทั้งการขยายพันธุ์ดังกล่าว ส่งผลให้ต้นกล้าที่ได้มีความสม่ำเสมอต่ำ

การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวได้ ซึ่งเป็นการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการใช้ชิ้นส่วนของเซลล์ร่างกายในการเริ่มต้นเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดเป็น SE จากการรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันตั้งแต่ปี ค.ศ.1970 โดยใช้เนื้อเยื่อจากส่วนต่างๆ ของปาล์มน้ำมัน ส่วนใหญ่เป็นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพันธุ์เทเนอรา ซึ่งเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นการค้า โดยข้อดีของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน คือสามารถผลิตต้นกล้าจำนวนมากภายในระยะเวลาอันสั้น ต้นกล้าที่ได้มีลักษณะเหมือนต้นแม่เดิมทุกประการ (สมปอง, 2539) กระบวนการสร้างพืชต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันมี 2 กระบวนการ คือ เอ็มบริโอเจนีซีส และ ออกาโนเจนีซีส ซึ่งพืชต้นใหม่ที่เกิดขึ้นอาจเกิดโดยตรงจากชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง หรือโดยผ่านการสร้างแคลลัสเริ่มแรก ในปัจจุบันการขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นที่นิยมอย่างมาก โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อผ่านกระบวนการ

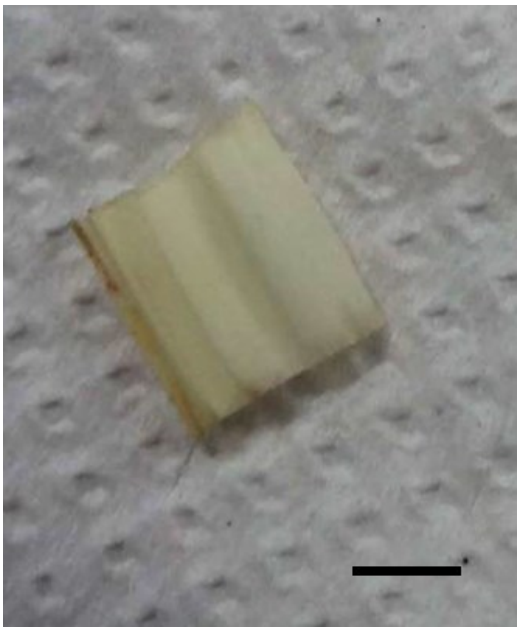
เอ็มบริโอเจนีซีส เริ่มต้นจากการชักนำแคลลัส โดยแคลลัสสามารถแบ่งตามโครงสร้างได้เป็น 2 กลุ่ม คือ แคลลัสที่มีโครงสร้างแน่นทึบ และแคลลัสที่มีโครงสร้างร่วนเปราะ (สมปอง, 2539) การชักนำแคลลัสสามารถใช้ชิ้นส่วนพืชที่มีอายุน้อย เช่น ใบอ่อน คัพภะอ่อน ยอดอ่อน และใบเลี้ยงอ่อน เป็นต้น ทั้งนี้การชักนำแคลลัสนอกจากการเลือกใช้ชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสม ยังต้องคำนึงถึง สูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโต และสภาพแวดล้อมที่วางเลี้ยงด้วย เพื่อให้สามารถชักนำแคลลัสได้อย่างมีประสิทธิภาพ และประสบผลสำเร็จมากที่สุด สำหรับประโยชน์ของการชักนำแคลลัสนอกจากใช้ในการขยายพันธุ์แล้วนั้น สามารถนำมาใช้ประโยชน์ด้านอื่นอีกหลายด้าน เช่น การนำมาใช้ในอุตสาหกรรมทางการแพทย์ การแยกโปรโตพลาสต์ การปรับปรุงพันธุ์ การสร้างสารทุติยภูมิ และการรักษาพันธุกรรม เป็นต้น (รังสฤษดิ์, 2540) อาสลัน (2545) ชักนำแคลลัสจากใบอ่อนของปาล์มน้ำมันบนอาหารสูตร MS เติม dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้ชิ้นส่วนสร้างแคลลัสสูงสุด คือ 11.2 เปอร์เซ็นต์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันเทเนอราโดยใช้ใบอ่อน เริ่มต้นชักนำให้เกิดการสร้างแคลลัส เอ็มบริโอเจนิคแคลลัส SE และพัฒนาให้เกิดเป็นพืชต้นใหม่จะประสบความสำเร็จได้ขึ้นอยู่กับสูตรอาหาร ชิ้นส่วนพืชเริ่มต้น สภาพการวางเลี้ยง นอกจากนี้ยังมีสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ที่ส่งเสริมให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประสบความสำเร็จมากขึ้น ดังนั้นหากศึกษาปัจจัยดังกล่าวข้างต้น ก็จะช่วยส่งเสริมให้เกิดการสร้างแคลลัสและเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสได้ในปริมาณมากขึ้น

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

การเตรียมชิ้นส่วน

ใช้ใบอ่อนจากต้นกล้าอายุ 12 เดือน ของพันธุ์ลูกผสมทรัพย์ ม.อ.โคลน 6 ที่ผ่านการตรวจสอบว่าให้ผลผลิตสูง นำใบอ่อนของปาล์มน้ำมันล้างด้วยน้ำยาทีโพล และปล่อยน้ำไหลผ่านชิ้นส่วนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที ตามด้วยด้วยคลอร็อกซ์ เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับทวีน – 20 ปริมาตร 1- 2 หยดต่อสารฟอกฆ่าเชื้อ 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง (ภาพผนวกที่ 1)



ภาพที่ 2.1 ลักษณะใบอ่อนจากต้นกล้าอายุ 12 เดือน ของพันธุ์ลูกผสมทรัพย์ ม.อ. โคลน 6 ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ (บาร์ = 1 ซม.)

วิธีการศึกษา

1. ศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการชักนำแคลลัสปาล์มน้ำมันจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของต้นกล้า

นำใบอ่อนปาล์มน้ำมันทรัพย์ ม.อ. โคลน 6 จากต้นกล้าอายุ 12 เดือน ล้างด้วยน้ำยาทีโพล และปล่อยน้ำไหลผ่านชิ้นส่วนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ฟอกฆ่าเชื้อโดยการจุ่มแช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ความ เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ตัดชิ้นส่วนให้มีขนาด 1 เซนติเมตร (ภาพที่ 2.1) วางเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS และ OPCM เติม dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.7 ผงวุ้น เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ และกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26 ± 2 องศาเซลเซียส วางเลี้ยงในที่มืด (สำหรับใบอ่อน) ย้ายเลี้ยงทุกเดือน เป็นเวลา 6 เดือน บันทึกอัตราการเกิดแคลลัส และอัตราการเกิดสีน้ำตาลของใบ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี T-test แต่ละสิ่งทดลองทำ 5 ซ้ำ ๆ ละ 5 หลอด แต่ละหลอดเพาะเลี้ยง 1 ชิ้นส่วน

ผลการศึกษา

1. ผลของสูตรอาหาร ต่อการชักนำแคลลัสปาล์มน้ำมันจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของต้นกล้า

จากการนำใบอ่อนปาล์มน้ำมันทรัพย์ ม.อ. โคลน 6 จากต้นกล้าอายุ 12 เดือน นำมาฟอกฆ่าเชื้อโดยการจุ่มแช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที เปรียบเทียบระหว่างสูตรอาหาร MS และ OPCM เติม dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน พบว่า ใบอ่อนที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร OPCM มีอัตราการเกิดสีน้ำตาลของใบ 13.33 เปอร์เซ็นต์ น้อยกว่า อาหารสูตร MS ที่ให้อัตราการเกิดสีน้ำตาล 26.67 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งส่งผลให้อาหาร OPCM มีอัตราการเกิดแคลลัส 15 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าเมื่อเทียบกับสูตรอาหาร MS ที่ให้อัตราการเกิดแคลลัส 10 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2.1) ซึ่งแคลลัสที่ชักนำได้บนอาหาร OPCM มีขนาดใหญ่ สีเหลืองใส และแคลลัสเกาะกันหลวม ๆ (ภาพที่ 2.3ก) ส่วนอาหาร MS แคลลัสมีขนาดเล็ก สีขาวขุ่น และแคลลัสเกาะกันอย่างหลวม ๆ (ภาพที่ 2.3ข)

ตารางที่ 2.1 ผลของสูตรอาหารต่ออัตราการเกิดแคลลัส และอัตราการเกิดสีน้ำตาล หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน

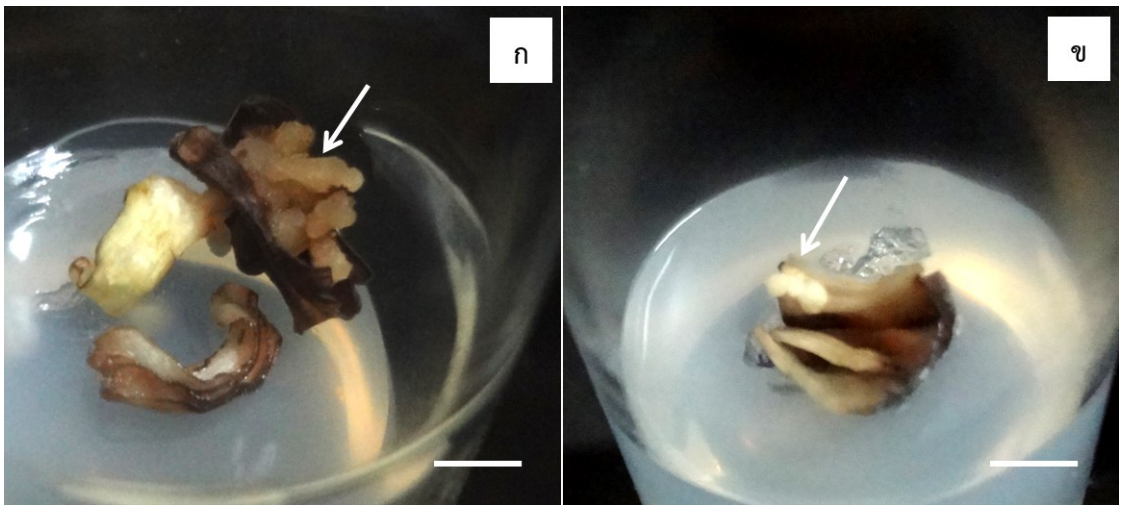
สูตรอาหาร (2.5 mg/l dicamba)	อัตราการเกิดสีน้ำตาล[1] (%)	อัตราการเกิดแคลลัส[2] (%)
OPCM	13.33[b]	15
MS	26.67[a]	10
T-test	**	ns
C.V. (%)	21.52	40

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

** แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญจากการเปรียบเทียบโดยวิธี T-test ($p \leq 0.05$)

[1] หลังจากย้ายเลี้ยงทุกเดือนเป็นเวลา 2 เดือน

[2] หลังจากย้ายลี้ยงทุกเดือนเป็นเวลา 6 เดือน



ภาพที่ 2.2 ลักษณะการเกิดแคลลัส (ศรชี้) ที่ได้จากการวางเลี้ยงบนอาหารทั้ง 2 สูตร เติม dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)

ก อาหารสูตร OPCM

ข อาหารสูตร MS

วิจารณ์ผลการทดลอง

สูตรอาหาร มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นอย่างมาก โดยสูตรอาหารแต่ละสูตรมีองค์ประกอบของธาตุอาหารที่แตกต่างกันออกไป ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันจากใบอ่อน หากเลือกใช้สูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำแคลลัสได้มากยิ่งขึ้น ซึ่งสูตรอาหาร OPCM เติม dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงในที่มืดให้อัตราการเกิดแคลลัสสูงสุด และให้อัตราการเกิดสีน้ำตาลน้อยกว่าสูตรอาหาร MS ผลดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองของ ศตปพร และ สมปอง (2557) ทำการเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส และการเกิด SE จากเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสปาล์มน้ำมันวางเลี้ยงบนอาหารสูตร agricultural research development agency medium (ARDA) เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงวุ้น เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ให้น้ำหนักสดของเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 0.33 กรัม และให้อัตราการเกิด SE สูงสุด 30 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในขณะที่สมปอง และคณะ (2547) ได้รายงานการชักนำแคลลัสจากใบอ่อนปาล์มน้ำมันในต้นโตที่ให้ผลผลิตดี บนอาหารสูตร MS เติม dicamba เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการสร้างแคลลัสสูงสุด 15 เปอร์เซ็นต์ Scherwinski และคณะ (2010) รายงานผลของการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนของปาล์มน้ำมันส่วนโคนบนสูตรอาหาร MS ให้อัตราการสร้างเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสูงที่สุด 41.5 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ เนื่องจากสูตรอาหาร MS มีธาตุโพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3) และโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) ซึ่งเป็นสารที่มีความจำเป็นในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน ช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์สามารถรวมกับสารอื่นได้ดียิ่งขึ้น ช่วยในการควบคุมศักย์ออสโมซิสซึ่งมีผลต่อการแบ่งเซลล์ (มุกดา, 2544) แต่ในการศึกษานี้พบว่า อาหาร OPCM ให้ผลการชักนำแคลลัสได้ดีกว่าอาหารสูตร MS ซึ่งสูตรอาหาร OPCM มีธาตุแคลเซียมไนเตรต [$Ca(NO_3)_2.4H_2O$] และโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) พบว่าเป็นส่วนประกอบในการผลิตปุ๋ย ซึ่งอาจจะมีผลต่อการช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ ซึ่งธาตุอาหารดังกล่าวไม่มีในสูตร MS นอกจากสูตรอาหารแล้ว สารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงมีส่วนช่วยในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ โดยเฉพาะสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ซึ่งในการศึกษานี้เลือกใช้ dicamba เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส เนื่องจาก Thawaro และ Sompong (2007) รายงานว่า dicamba จะช่วยส่งเสริมกิจกรรมการแบ่งเซลล์ในชั้นอิพิเดอร์มิส พาเรนไคมา และชั้นเนื้อเยื่อเจริญมัดท่อน้ำท่ออาหาร นอกจากปาล์มน้ำมันแล้วยังมีการใช้สารดังกล่าวในการชักนำแคลลัสในพืชหลายชนิด เช่นการศึกษาของ ปริญา และคณะ (2558) พบว่าการเพาะเลี้ยงกาบใบของขมิ้นชันบนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ dicamba เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการเกิดแคลลัสได้ดีที่สุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ เช่นเดียวกันกับ

การศึกษาของอรุณี และ สมปอง (2557) พบว่าการ ชักนำแคลลัสจากใบอ่อนข้าวหอมกระดังงา โดยใช้ dicamba เข้มข้น 0.5 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิดแคลัสสูงสุด 13.33 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน

การทดลองที่ 2

ปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัส ซักนำโซมาติกเอ็มบริโอและการพัฒนาต้นกล้าของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ที่ให้ผลผลิตสูง

Factors Affecting Callus Proliferation Somatic embryo Induction and Plantlet Regeneration of High Yielding Oil Palm SUP-PSU

บทนำ

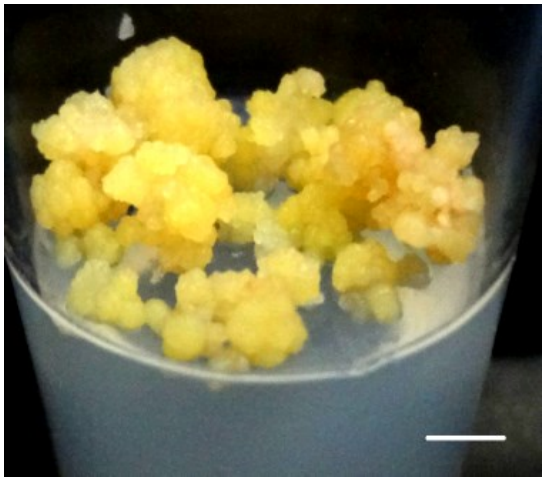
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยต่าง ๆ หลายประการ จึงจะประสบความสำเร็จ เช่น ชิ้นส่วนพืช สูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโตง สภาพการวางเลี้ยง และอุณหภูมิ เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เนื่องจากการเจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติของพืช พืชจะได้แร่ธาตุจากดินและน้ำ แต่ในสภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นวิธีการที่นำชิ้นส่วนพืชมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อ พืชจึงจำเป็นต้องได้รับน้ำและแร่ธาตุต่าง ๆ จากอาหารสังเคราะห์ซึ่งพืชแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่น เช่น การสร้างบาดแผลให้กับชิ้นส่วนพืช สารต้านอนุมูลอิสระ และสารต้านเอทีลีน เป็นต้น การสร้างบาดแผลเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนพืชมีการสร้างและพัฒนาเป็น SE และพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้ เช่น อภิชญา และคณะ (2560) รายงานว่านำชิ้นส่วนแคลลัสมาสร้างบาดแผลด้วยการสับจำนวน 50 ครั้ง วางเลี้ยงบนอาหารสูตรOPCM#1 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 20 วัน ให้น้ำหนักแคลลัสสูงสุดคือ 0.53 กรัม จากการรายงานของชีรวัลย์ และคณะ (2560) พบว่า HE ที่ผ่านการสับแล้ววางเลี้ยงบนอาหารสูตร OPCM เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน ให้จำนวน SE สูงสุด 9.15 เอ็มบริโอต่อหลอด นอกจากนี้ ภาณินี และคณะ (2558) ศึกษาการสับเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสที่ชักนำได้จากชิ้นส่วนตาเขียวของยางพารา เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไฟตาเจล เข้มข้น 2 กรัมต่อลิตร และ $AgNO_3$ เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า สามารถชักนำ SE ได้สูงสุด 9.3 เอ็มบริโอต่อชิ้นส่วน รังสฤษดิ์ (2540) รายงานว่า การสร้างบาดแผลให้ชิ้นส่วนพืชเป็นการช่วยส่งเสริมให้ฮอร์โมนพืชจากตำแหน่งอื่นย้ายมายังตำแหน่งที่เกิดบาดแผล เพิ่มช่องทางในการดูดอาหาร ซึ่งชิ้นส่วนพืชจะสามารถดูดซับน้ำและอาหารได้โดยตรงผ่านทางบาดแผลมากยิ่งขึ้น สารต้านอนุมูลอิสระคือโมเลกุลของสารที่สามารถจับกับตัวรับและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลสารอื่น ๆ ได้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวเนื่องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้ายุติปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ด้วยการเข้าจับกับสารอนุมูลอิสระและยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยถูกออกซิไดซ์ สารต้านอนุมูลอิสระจึงถือเป็นตัวรีดิวซ์ สารต้านอนุมูลอิสระมีหลายชนิด เช่น ไธออล กรดแอสคอร์บิค โพลีไวนิลไพโรลิโดน และผงถ่าน เป็นต้น งานวิจัยนี้จะศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระ 2 ชนิด คือผงถ่านและกรดแอสคอร์บิค ผงถ่านมีความสามารถในการดูดซับสารบางตัวออกจากอาหารได้ เนื่องจากผงถ่านมีช่องว่างเล็กๆที่ละเอียดมาก มีพื้นที่ผิวในช่องว่างสูง จึงใช้ผงถ่านในการดูดซับสารพิษในระหว่างการเพาะเลี้ยง นอกจากนี้อาจใช้ผงถ่านเติมลงในอาหารสูตร

ชักนำรากเพื่อสร้างสภาพมืด ส่งผลให้รากเจริญเติบโตได้ดี และพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ที่สมบูรณ์ กรดแอสคอร์บิค เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถดูดซับสารฟีนอล หรือยับยั้งการเกิดสารสีน้ำตาลได้ (เพชรรัตน์, 2556) นอกจากสารต้านอนุมูลอิสระแล้ว สารยับยั้งการสร้างเอทิลีน ก็มีผลต่อการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่เช่นกัน โดยสารต้านเอทิลีนสามารถยับยั้งการทำงานของเอทิลีน ซึ่งเอทิลีนเป็นสารที่อยู่ในรูปของก๊าซมีผลยับยั้งการเกิดแคลลัสและการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่โดยผ่านกระบวนการเอ็มบริโอเจนีซิสหรือออกาโนเจนีซิส (Kumar *et al.,* 2009) ซึ่งเป็นสารที่อยู่ในรูปของก๊าซมีผลต่อการร่วง และการเสื่อมสภาพของส่วนต่างๆ ของพืชนิยมใช้เพื่อช่วยส่งเสริมการสุกของผลไม้ และทำให้เกิดการหลุดร่วงของใบ (วุฒิชัย และ สมปอง, 2557) การเติมสารยับยั้งการสังเคราะห์เอทิลีน เช่น cobalt chloride ($CoCl_2$) และ $AgNO_3$ ลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วย สามารถลดปริมาณเอทิลีนในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การเติมสารยับยั้งดังกล่าว พบว่าสามารถช่วยในการเกิดได้ดี (สมบุญ , 2544)

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

การเตรียมชิ้นส่วนพืช

นำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส (embryogenic callus; EC) ของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ลูกผสมเทเนอรา C3/77 (25) จากคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร OPCM เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (ศตปพร และ สมปอง, 2557) ย้ายเลี้ยงทุกเดือน จากนั้นนำ EC (ภาพที่ 2.3) มาใช้ในการศึกษาต่อไป



ภาพที่ 2.3 ลักษณะเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ลูกผสมเทเนอรา C3/77 (25) วางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร OPCM เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ย้ายเลี้ยงทุก ๆ เดือน เป็นเวลา 3 เดือน (บาร์= 0.5 ซม.)

วิธีการศึกษา

1. ศึกษาผลของจำนวนครั้งของการสร้างบาดแผลต่อการเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสและชักนำ SE

นำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. C3/77 (25) มาสร้างแผลด้วยวิธีการสับด้วยใบมีดโกนในจำนวนครั้งที่ต่างกันคือ 0 50 100 และ 150 ครั้ง ย้ายกลุ่มของเอ็มบริโอที่ผ่านการสับแล้วน้ำหนักเริ่มต้น 0.1 กรัม วางเลี้ยงบนอาหารสูตรเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.7

และผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปวางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 25 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกน้ำหนักสดของเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส อัตราการเกิด SE และจำนวน SE เฉลี่ยต่อหลอด เปรียบเทียบกันระหว่างจำนวนครั้งของการสับ โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test (DMRT) แต่ละสิ่งทดลองทำ 4 ซ้ำๆ ละ 12 หลอด

2. ศึกษาผลของกรดแอสคอร์บิคและผงถ่านต่อการเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสและชักนำ SE

นำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสที่ได้จากการทดลองที่ 1 มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เติมสารต้านอนุมูลอิสระ ในการศึกษานี้ใช้สารต้านอนุมูลอิสระ 2 ชนิดคือ กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 0 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือผงถ่าน เข้มข้น 0 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.7 และ เติมผงวุ้น เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงภายใต้สภาพแวดล้อมเช่นเดียวกับการศึกษาข้างต้น หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกน้ำหนักสดของแคลลัส อัตราการเกิด SE และจำนวน SE เฉลี่ยต่อหลอด เปรียบเทียบกันระหว่างอาหารที่เติมกรดแอสคอร์บิคที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เติมและไม่เติมผงถ่าน โดยใช้แผนการทดลองแบบ 4 x 2 factorial design in CRD มี 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิค มี 4 ระดับ และความเข้มข้นของผงถ่าน มี 2 ระดับ วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT แต่ละสิ่งทดลองทำ 3 ซ้ำๆ ละ 4 หลอด

3. ศึกษาผลของ $AgNO_3$ และผงถ่านต่อการเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสและชักนำ SE

นำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสที่ได้จากการทดลองที่ 2 มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เติมกรดแอสคอร์บิค ความเข้มข้น 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.7 และผงวุ้น เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงภายใต้สภาพแวดล้อมเช่นเดียวกับการศึกษาข้างต้น หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกน้ำหนักสดของแคลลัส อัตราการเกิด SE และจำนวน SE เฉลี่ยต่อหลอด เปรียบเทียบกันระหว่างอาหารที่เติมกรดแอสคอร์บิค และ $AgNO_3$ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้แผนการทดลองแบบ 4 x 4 factorial design in CRD มี 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิค มี 4

ระดับ และความเข้มข้นของ $AgNO_3$ มี 4 ระดับ วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT แต่ละสิ่งทดลองทำ 3 ซ้ำๆ ละ 4 หลอด

4. ศึกษาผลของผงถ่านต่อการชักนำ SSE

นำ SE ที่ได้จากการทดลองที่ 3 ขนาด 0.5 เซนติเมตร มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซอร์บิทอล เข้มข้น 0.2 โมลาร์ เติมและไม่เติมผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.7 เติมผงวุ้น เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงภายใต้สภาพแวดล้อมเช่นเดียวกับการศึกษาข้างต้น หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกอัตราการเกิด SSE จำนวน SSE เฉลี่ยต่อหลอด อัตราการเกิดราก จำนวนรากเฉลี่ยต่อหลอด และความยาวราก เปรียบเทียบกันระหว่างอาหารที่เติมและไม่เติมผงถ่าน โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี T-test แต่ละสิ่งทดลองทำ 3 ซ้ำๆ ละ 4 หลอด

5. ศึกษาผลของสูตรอาหาร และผงถ่านต่อการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่

นำ SSE ที่ได้จากการทดลองที่ 4 วางเลี้ยงบนอาหาร 4 แบบ คือ

1 MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (MS free) เติมผงวุ้น เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์

2 MS ที่ลดความเข้มข้นขององค์ประกอบลงครึ่งหนึ่ง ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (½MS free) เติมผงวุ้น เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์

3 สูตรอาหาร 2 ชั้น ที่ชั้นล่างเป็นอาหารแข็งสูตร MS free เติมผงวุ้น เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ เททับด้วยอาหารเหลวสูตร ½MS และ NAA เข้มข้น 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA เข้มข้น 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร

4 สูตรอาหาร 2 ชั้น ที่ชั้นล่างเป็นอาหารแข็งสูตร MS free ร่วมกับผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ เททับด้วยอาหารเหลวสูตร ½MS และ NAA เข้มข้น 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA เข้มข้น 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร

อาหารทั้ง 4 แบบ ร่วมกับการเติมและไม่เติมผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.7 วางเลี้ยงภายใต้สภาพแวดล้อมเช่นเดียวกับการศึกษาข้างต้น หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกอัตราการเกิดยอด และจำนวนยอดเฉลี่ยต่อหลอด เปรียบเทียบกันระหว่างอาหารแต่ละแบบ ที่เติมและไม่เติมผงถ่าน โดยใช้แผนการทดลองแบบ 4 x 2 factorial design in CRD มี 2 ปัจจัย คือ ชนิดของสูตรอาหาร มี 4 ระดับ และความเข้มข้นของผงถ่าน มี 2

ระดับ วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT แต่ละสิ่งทดลอง ทำ 3 ซ้ำๆ ละ 5 หลอด

ผลการศึกษา

1. ศึกษาผลของจำนวนการสร้างบาดแผลต่อการเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสและชักนำ SE

จากการทดลองพบว่า EC สร้างบาดแผลด้วยวิธีการสับด้วยใบมีดโกนจำนวน 100 ครั้ง แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 เดือน ให้น้ำหนักสด EC สูงสุด 0.78 กรัม รองลงมาคือ 150 0 และ 50 ครั้ง ซึ่งให้น้ำหนักสด EC 0.77 0.69 และ 0.67 กรัมตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (ตารางที่ 2.2) สำหรับอัตราการเกิด SE พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยการสับ 100 ครั้ง ให้อัตราการเกิด SE สูงสุด 48 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ 50 150 และ 0 ครั้ง ให้อัตราการเกิด SE 32 24 และ 16 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2.2) สำหรับจำนวน SE พบว่า ทุกจำนวนครั้งในการสับให้จำนวน SE เฉลี่ยต่อหลอด 1.2 เอ็มบริโอ ในขณะที่การไม่สับชิ้นส่วนให้จำนวน SE เฉลี่ยต่อหลอด เพียง 0.4 เอ็มบริโอ (ตารางที่ 2.2) SE ที่ชักนำได้มีลักษณะทึบอวบใหญ่ มีสีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม อยู่ในระยะ HE (ภาพที่ 2.4)

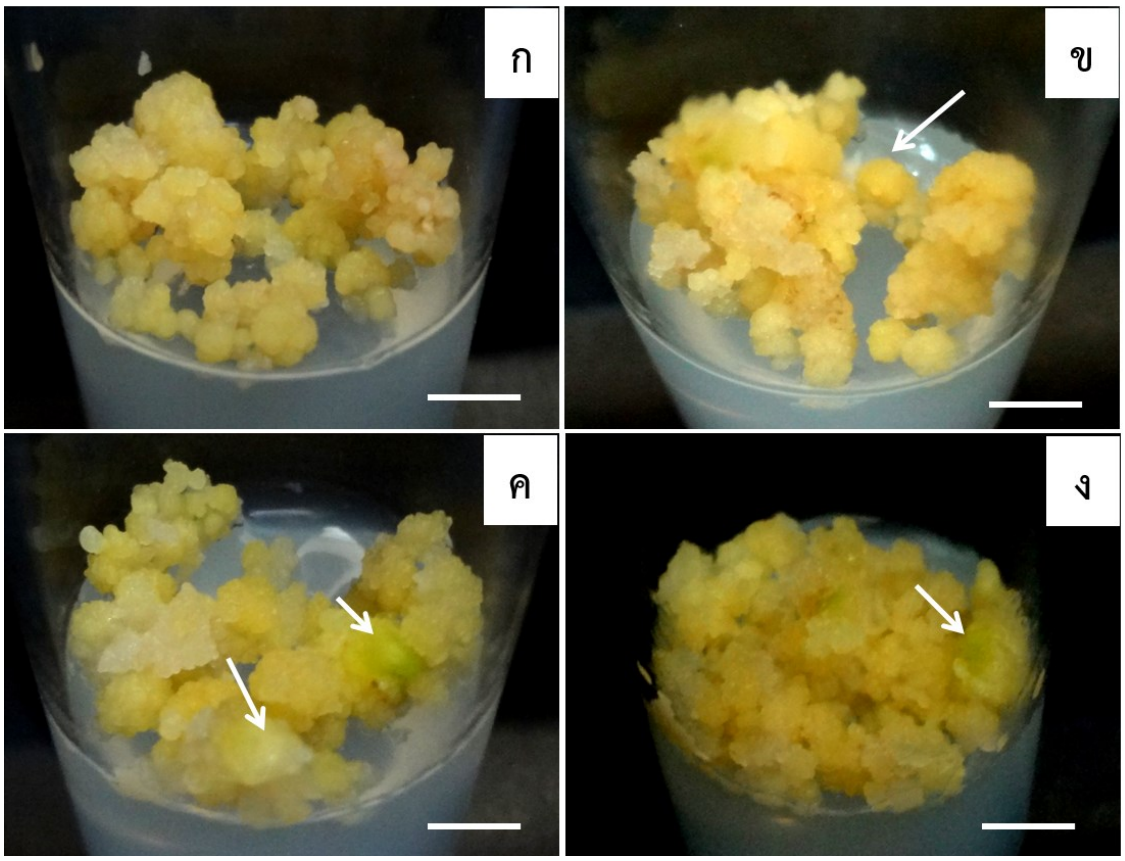
ตารางที่ 2.2 ผลของจำนวนครั้งการสร้างบาดแผลต่อการเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสและการชักนำ SE บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

จำนวนครั้งการสับ	น้ำหนักสดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสเฉลี่ย (กรัม)	อัตราการเกิด SE (%)	จำนวน SE เฉลี่ยต่อหลอด
0	0.69^{ab}	16	0.40
50	0.67^{b}	32	1.2
100	0.78^{a}	48	1.2
150	0.77^{a}	24	1.2
F-test	*	ns	ns
C.V. (%)	22.43	70.71	53.62

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

* แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 2.4 ผลของการสร้างบาดแผลด้วยการสับในจำนวนครั้งที่ต่างกันต่อการชักนำ SE ระยะ HE (ศรชี้) บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

(บาร์ = 0.5 ซม.)

ก สับจำนวน 0 ครั้ง

ข สับจำนวน 50 ครั้ง

ค สับจำนวน 100 ครั้ง

ง สับจำนวน 150 ครั้ง

2. ผลของกรดแอสคอร์บิคและผงถ่านต่อการเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสและชักนำ SE

จากการนำ EC สร้างแผลด้วยวิธีการสับด้วยใบมีดโกนในจำนวน 100 ครั้ง แล้ววางเลี้ยงบนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบระหว่างการเติมกรดแอสคอร์บิคและผงถ่านความเข้มข้นต่าง ๆ วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า อาหารที่เติมผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ในทุกความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิคให้น้ำหนักสด EC เฉลี่ย สูงสุดคือ 0.87 กรัม มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) เมื่อเทียบกับการไม่เติมผงถ่าน การเติมผงถ่านเพียงอย่างเดียว ให้น้ำหนักสด EC สูงสุด 0.93 กรัม รองลงมาคืออาหารที่เติมผงถ่านร่วมกับกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสด EC 0.88 0.85 และ 0.81 กรัมตามลำดับ (ตารางที่ 2.3) สำหรับอัตราการเกิด SE พบว่าอาหารที่เติมกรดแอสคอร์บิคทุกความเข้มข้น ร่วมกับผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ให้อัตราการเกิด SE เฉลี่ย 70.31 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาถึงความเข้มข้นของผงถ่านและกรดแอสคอร์บิค พบว่า การเติมผงถ่านร่วมกับกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิด SE สูงสุด 87.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ เติมผงถ่านเพียงอย่างเดียว และการเติมผงถ่านร่วมกับกรดแอสคอร์บิค 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิด SE 68.75 68.75 และ 56.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2.3) สำหรับจำนวน SE พบว่า อาหารที่เติมแอสคอร์บิคทุกความเข้มข้น ร่วมกับผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวน SE เฉลี่ยต่อหลอด 2.58 เอ็มบริโอ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) ในขณะที่อาหารที่เติม ผงถ่านเพียงอย่างเดียว ให้จำนวน SE สูงสุด 3.43 เอ็มบริโอต่อหลอด รองลงมาคือ อาหารที่เติมผงถ่านร่วมกับกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 300 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวน SE 2.53 2.38 และ 1.92 เอ็มบริโอต่อหลอด ตามลำดับ (ตารางที่ 2.3) อย่างไรก็ตามทั้งสองปัจจัยนี้ไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อกันทางสถิติ จากผลการศึกษา สรุปได้ว่า อาหารที่เติมผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เพียงอย่างเดียวเหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณ EC และการชักนำ SE SE ที่ชักนำได้มีลักษณะกลมและใส ส่วน HE มีลักษณะขุ่นทึบ มีสีเขียวอ่อนถึงเขียวเข้ม (ภาพที่ 2.6)

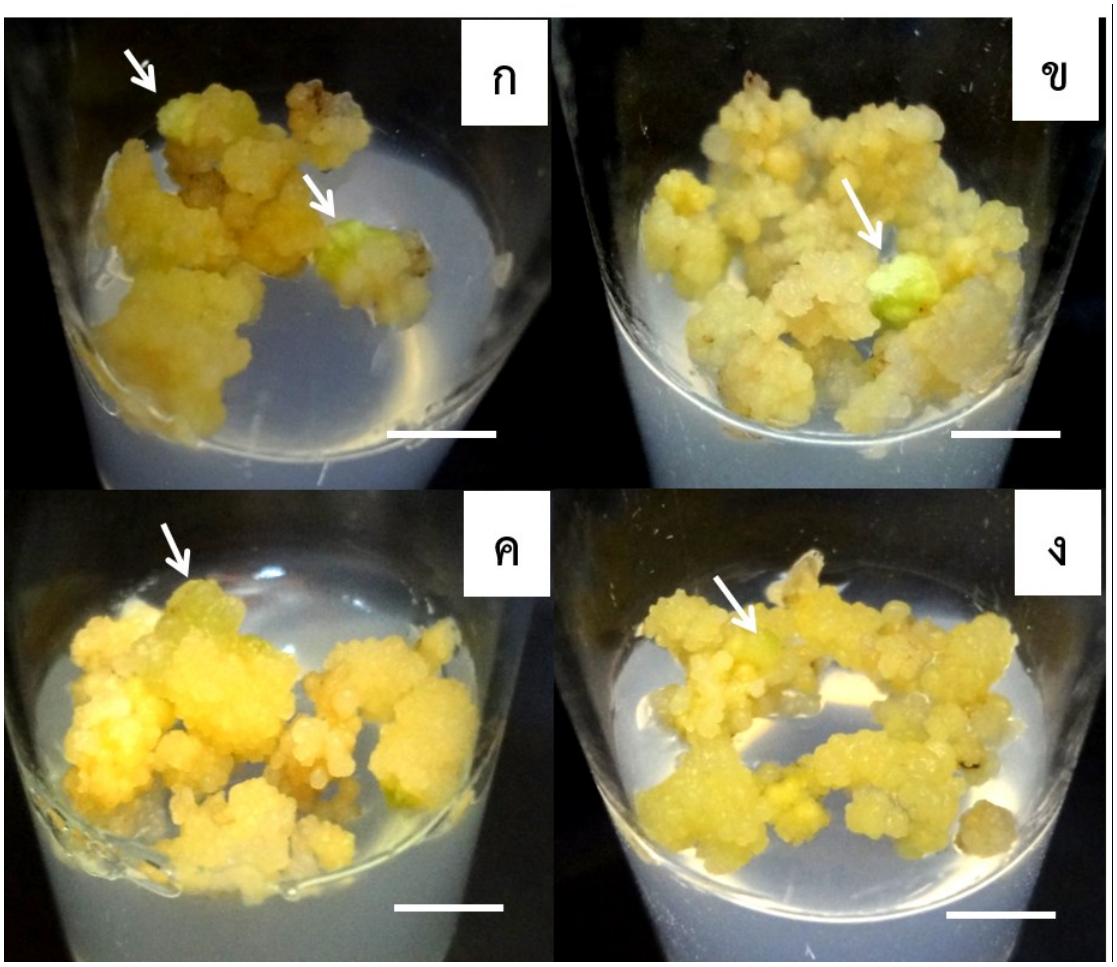
ตารางที่ 2.3 ผลของความเข้มข้น AA และ AC ต่อน้ำหนักสดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส อัตราการเกิด SE จำนวน SE บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

Concentration of AA (mg/l)	น้ำหนักสดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสเฉลี่ย (กรัม)		เฉลี่ย (AA)	อัตราการเกิด SE (%)		เฉลี่ย (AA)	จำนวน SE เฉลี่ยต่อหลอด		เฉลี่ย (AA)
	0% AC	0.2% AC		0% AC	0.2% AC		0% AC	0.2% AC	
0	0.54	0.93	0.74	62.50	68.75	65.63A	2.53	3.43	2.98
100	0.57	0.88	0.73	25.00	68.75	48.87AB	0.58	1.92	1.59
200	0.54	0.85	0.70	6.25	56.25	31.25B	0.25	2.53	1.08
300	0.52	0.81	0.67	31.25	87.50	59.38A	1.13	2.38	1.76
เฉลี่ย (AC)	0.54B	0.87A		31.25B	70.31A		1.12B	2.58A	
Conc. of AA	ns			**			ns		
Conc. of AC	**			**			**		
Conc. of AA x AC	ns			ns			ns		
C.V. (%)	16.45			90.65			41.75		

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ ** แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในสดมภ์หรือแถวเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละปัจจัยด้วยวิธี DMRT

AA= Ascorbic acid, AC= Activated charcoal



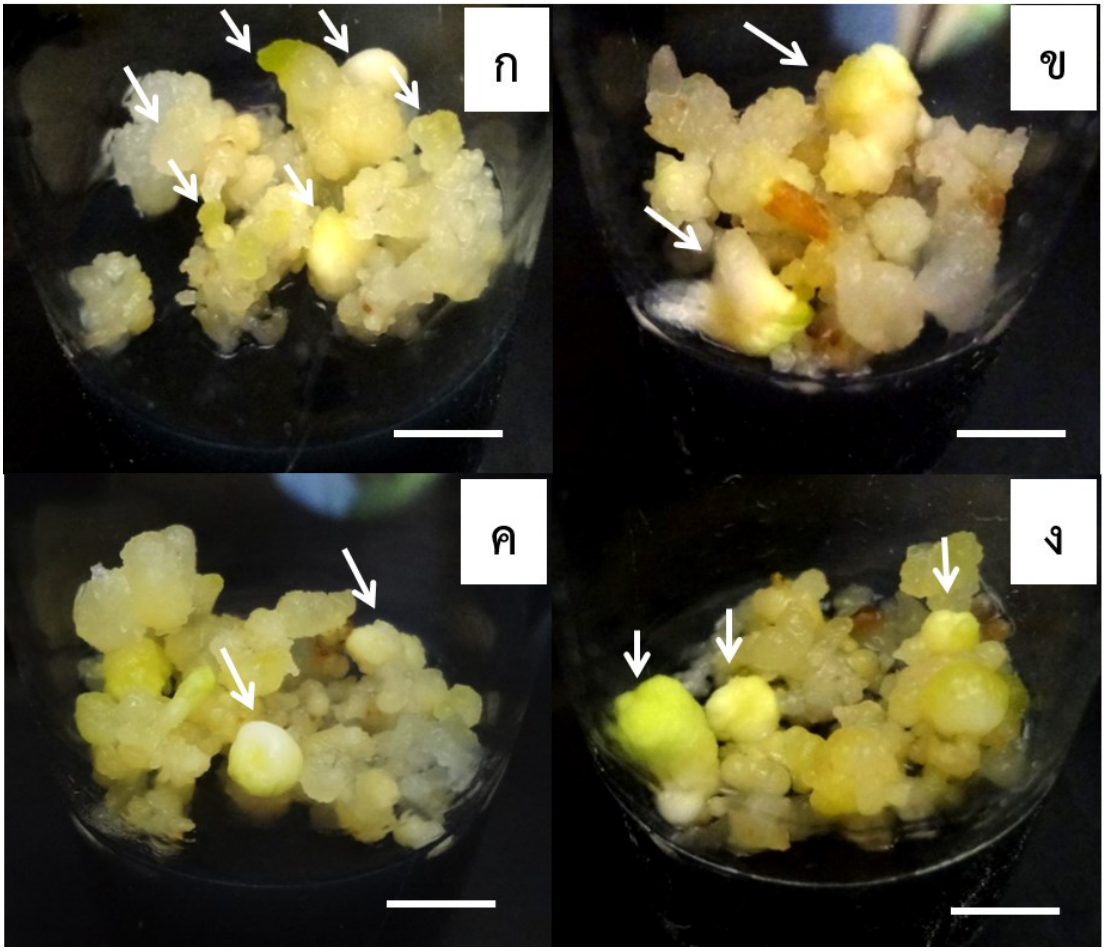
ภาพที่ 2.5 ผลของกรดแอสคอร์บิคต่อการชักนำ SE (ศรชี้) บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)

ก ไม่เติมกรดแอสคอร์บิค

ข กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 2.6 ผลของกรดแอสคอร์บิค และผงถ่านต่อการชักนำ SE (ศรชี้) บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

(บาร์ = 0.5 ซม.)

ก ไม่เติมกรดแอสคอร์บิค ร่วมกับผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์

ข กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์

ค กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์

ง กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์

3. ผลของ $AgNO_3$ และกรดแอสคอร์บิคต่อการเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสและชักนำ SE

จากการศึกษาความเข้มข้นของ $AgNO_3$ และกรดแอสคอร์บิค ในแต่ละความเข้มข้น ร่วมกับผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า อาหารที่เติมแอสคอร์บิคเพียงอย่างเดียวในทุกความเข้มข้น ให้น้ำหนักสด EC เฉลี่ย สูงสุดคือ 0.78 กรัม มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) การเติม $AgNO_3$ ในทุกความเข้มข้นร่วมกับกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสด EC เฉลี่ยสูงสุด 0.83 กรัม การเติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว ให้น้ำหนักสด EC สูงสุด 1.03 กรัม รองลงมาคือ อาหารที่เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 300 มิลลิกรัมต่อลิตร และไม่เติมกรดแอสคอร์บิค ให้น้ำหนักสด EC 1.02 0.68 และ 0.38 กรัม ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) และทั้งสองปัจจัยนี้มีปฏิสัมพันธ์ต่อกันทางสถิติ (ตารางที่ 2.4) สำหรับอัตราการเกิด SE พบว่า อาหารที่เติม $AgNO_3$ ทุกความเข้มข้น ร่วมกับกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิด SE เฉลี่ย 88.89 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) การเติมกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว ให้อัตราการเกิด SE สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ คือ อาหารที่เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิด SE 88.89 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2.4) สำหรับจำนวน SE พบว่าอาหารที่เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว ให้จำนวน SE สูงสุด 2.89 เอ็มบริโอต่อหลอด รองลงมาคือ อาหารที่เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 2 3 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวน SE 2.56 2.33 และ 1.72 เอ็มบริโอต่อหลอด ตามลำดับ (ตารางที่ 2.4) จากผลการศึกษา สรุปได้ว่า อาหารที่เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียวเหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณ EC และการชักนำ SE SE ที่ชักนำได้มีลักษณะขุ่นทึบ มีสีเขียวอ่อนถึงเขียวเข้ม (ภาพที่ 2.8)

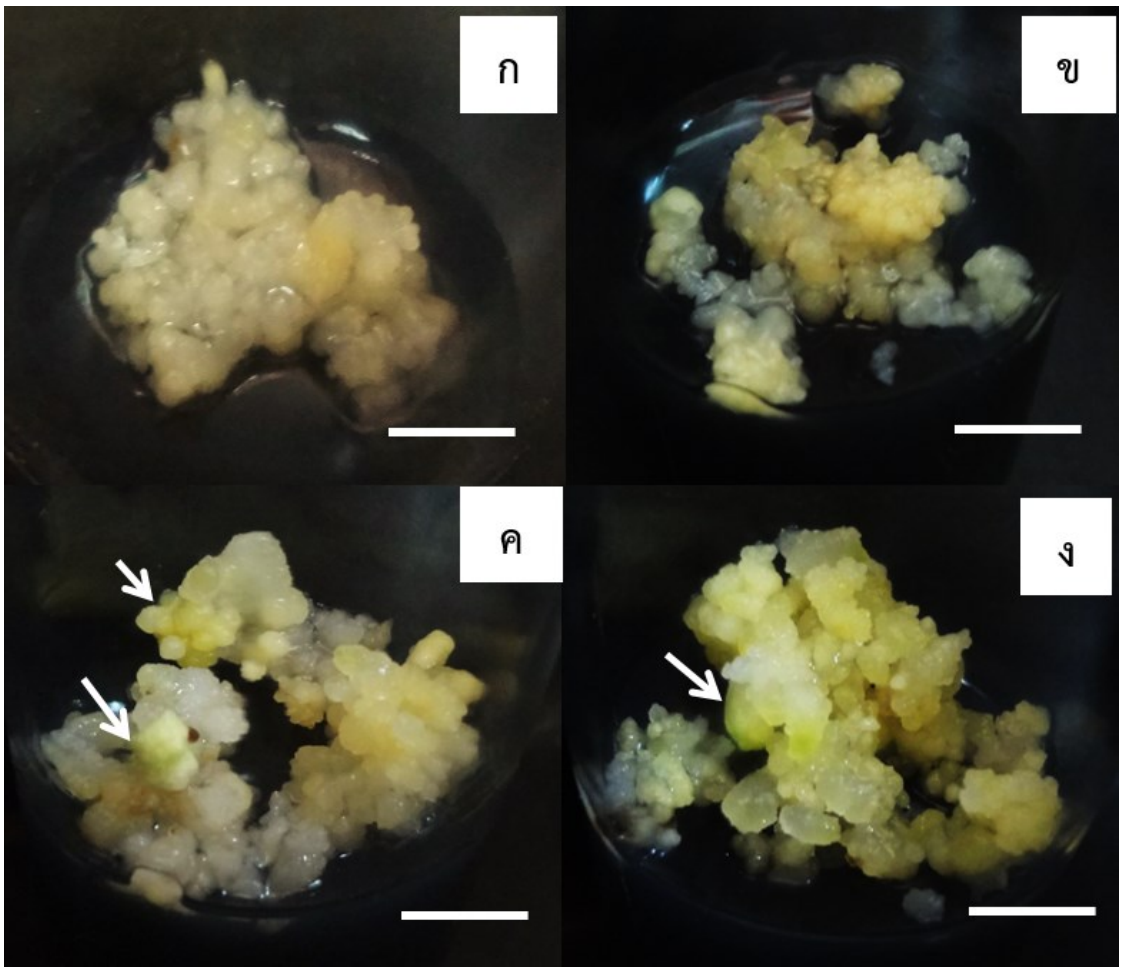
ตารางที่ 2.4 ผลของความเข้มข้น $AgNO_3$ และกรดแอสคอร์บิคต่อการชักนำ SE บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

AA (mg/l)	น้ำหนักสดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสเฉลี่ย (กรัม)				เฉลี่ย	อัตราการเกิด SE (%)				เฉลี่ย	จำนวน SE เฉลี่ยต่อหลอด				เฉลี่ย
	$AgNO_3$ (mg/l)				(AA)	$AgNO_3$ (mg/l)				(AA)	$AgNO_3$ (mg/l)				(AA)
	0	1	2	3		0	1	2	3		0	1	2	3	
0	0.38^{b}	0.40^{b}	0.42^{b}	0.80^{ab}	0.50B	0	0	33.33	22.22	13.89B	0.00	0.00	1.33	0.67	0.50
100	1.03^{a}	0.69^{ab}	0.80^{ab}	0.80^{ab}	0.83A	100	88.89	66.67	100	88.89A	2.89	1.72	2.56	2.33	2.37
200	1.02^{a}	0.67^{ab}	0.77^{ab}	0.81^{ab}	0.82A	77.78	77.78	66.67	55.55	69.44AB	1.22	1.56	1.67	1.78	1.56
300	0.68^{ab}	0.59^{ab}	0.53^{b}	0.64^{ab}	0.61B	33.33	66.67	66.67	44.44	52.78B	1.67	2.33	2.00	2.17	2.04
เฉลี่ย ($AgNO_3$)	0.78A	0.59B	0.63B	0.76AB		52.78	58.34	58.34	55.55		1.45	1.40	1.89	1.74	
Conc. of AA			**					**					ns		
Conc. Of $AgNO_3$			**					ns					ns		
Conc. of AA x $AgNO_3$			*					ns					ns		
C.V. (%)			20.57					36.69					50.44		

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ * แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ** แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) AA= Ascorbic acid, $AgNO_3$= Silver nitrate

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในสดมภ์หรือแถวเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละปัจจัยด้วยวิธี DMRT

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในสดมภ์หรือแถวเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละปัจจัยด้วยวิธี DMRT



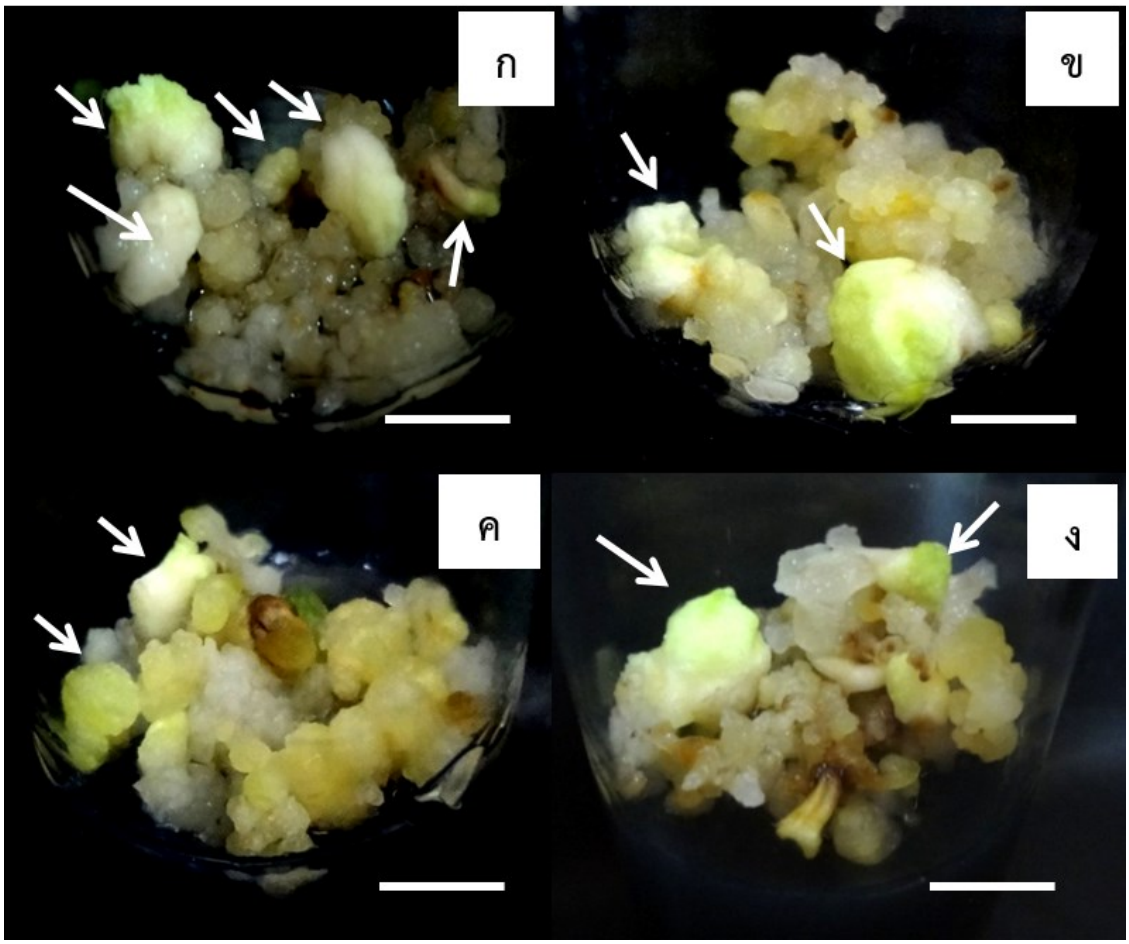
ภาพที่ 2.7 ผลของ $AgNO_3$ ต่อการชักนำ SE (ศรชี้) บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)

ก ไม่เติมกรดแอสคอร์บิค และไม่เติม $AgNO_3$

ข ไม่เติมกรดแอสคอร์บิค ร่วมกับ $AgNO_3$เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค ไม่เติมกรดแอสคอร์บิค ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง ไม่เติมกรดแอสคอร์บิค ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร



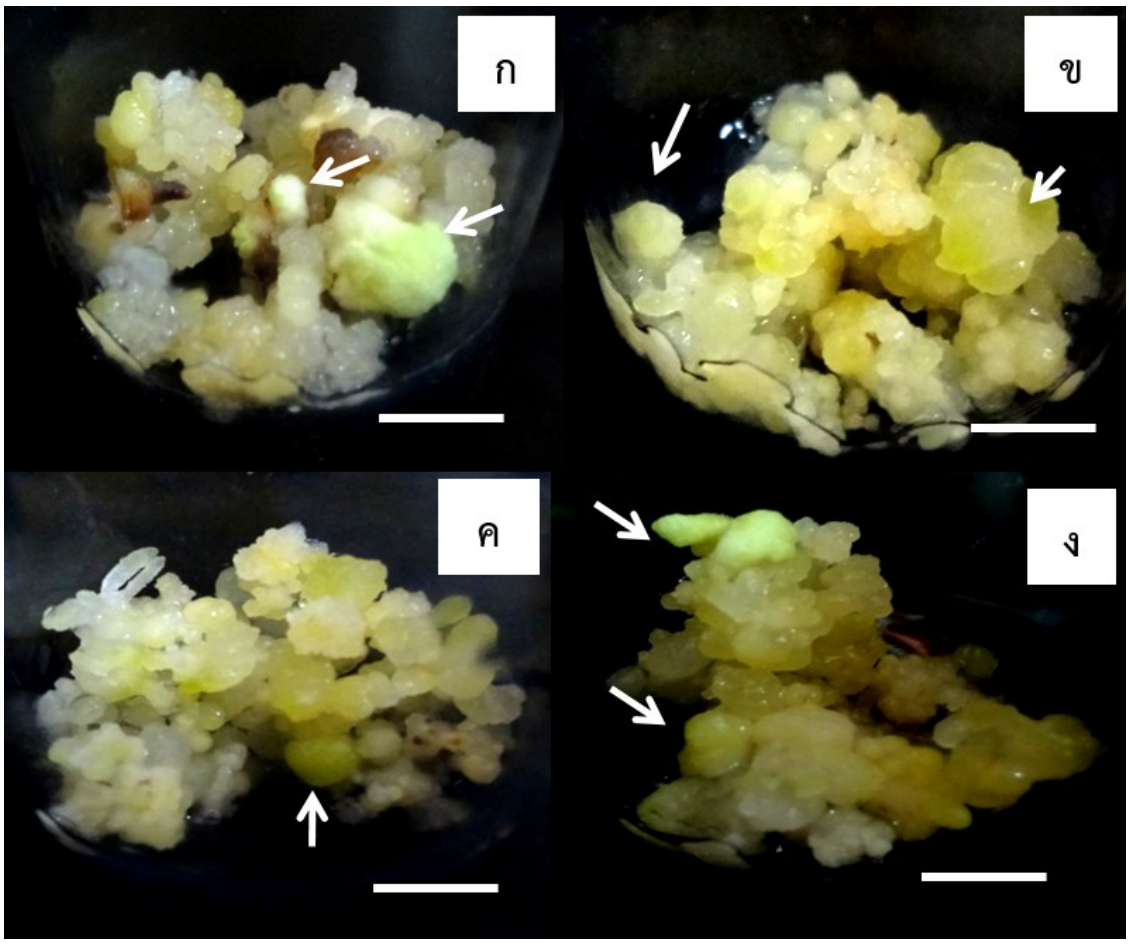
ภาพที่ 2.8 ผลของ $AgNO_3$ ต่อการชักนำ SE (ศรชี้) บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)

ก กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่เติม $AgNO_3$

ข กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร



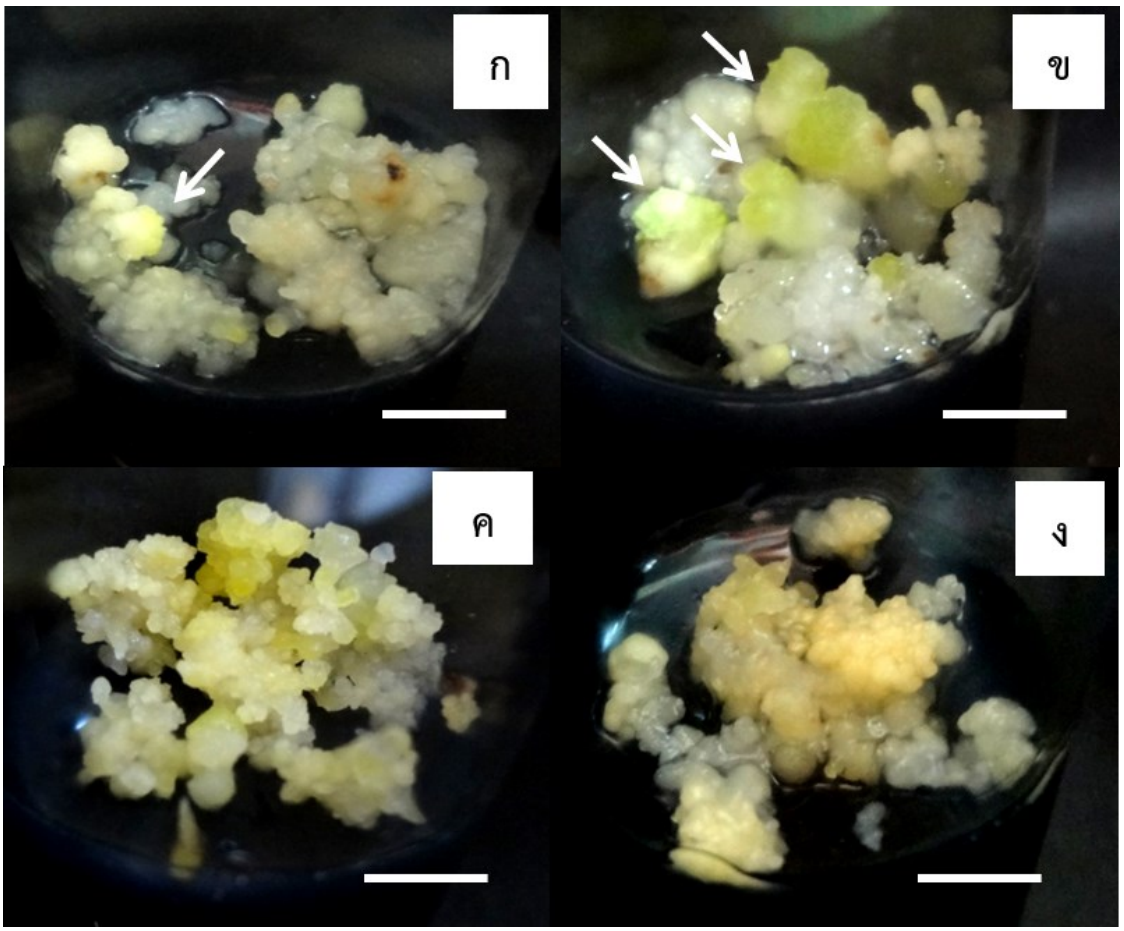
ภาพที่ 2.9 ผลของ $AgNO_3$ ต่อการชักนำ SE (ศรชี้) บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)

ก กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่เติม $AgNO_3$

ข กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 2.10 ผลของ $AgNO_3$ ต่อการชักนำ SE (ศรชี้) บนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)

ก กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่เติม $AgNO_3$

ข กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

4. ผลของผงถ่านต่อการชักนำ SSE

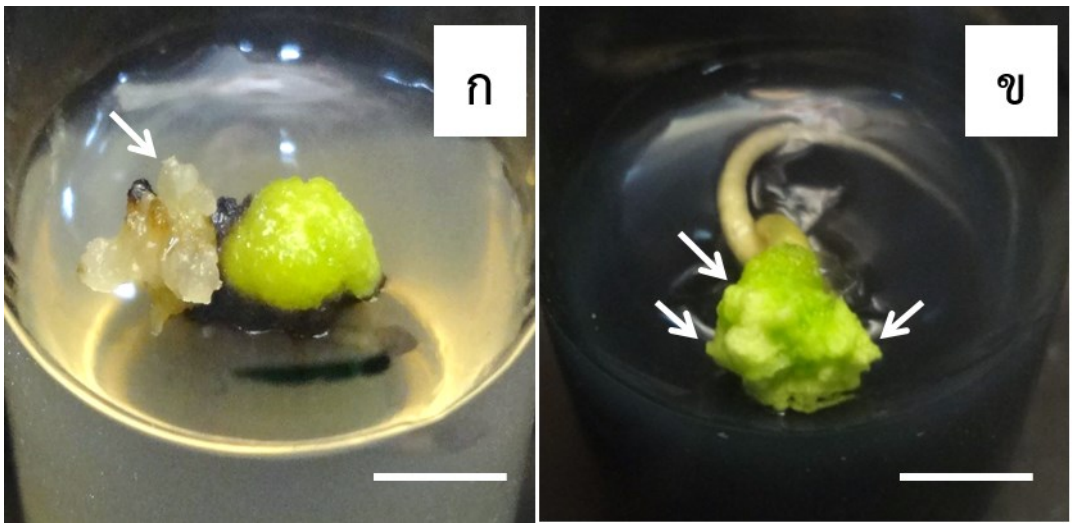
จากการนำ SE มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซอร์บิทอล เข้มข้น 0.2 โมลาร์ เปรียบเทียบระหว่างการเติมและไม่เติมผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การเติมผงถ่าน ให้อัตราการเกิด SSE 25 เปอร์เซ็นต์ และจำนวน SSE เฉลี่ยต่อหลอด 1.25 กลุ่มเอ็มบริโอ อัตราการเกิดราก 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวนรากเฉลี่ยต่อหลอด 1.58 ราก และความยาวราก 0.58 เซนติเมตร สูงกว่าอาหารที่ไม่เติมผงถ่าน ซึ่งให้อัตราการเกิด SSE 7.5 เปอร์เซ็นต์ และจำนวน SSE เฉลี่ยต่อหลอด 0.25 กลุ่มเอ็มบริโอ อัตราการเกิดราก 33.33 เปอร์เซ็นต์ จำนวนรากเฉลี่ยต่อหลอด 0.58 ราก และความยาวราก 0.42 เซนติเมตร ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 2.5) SSE สามารถชักนำได้จาก HE มีลักษณะเป็นกลุ่มแหลม ๆ มีสีเขียวอ่อน (ภาพที่ 2.11)

ตารางที่ 2.5 ผลของผงถ่านต่อการชักนำ SSE บนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซอร์บิทอล เข้มข้น 0.2 โมลาร์ และกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

AC (%)	อัตราการเกิด SSE (%)	จำนวน SSE เฉลี่ยต่อหลอด	อัตราการเกิดราก (%)	จำนวนราก เฉลี่ยต่อหลอด	ความยาวราก (cm)
0	7.5	0.25	33.33	0.58	0.42
0.2	25	1.25	50	1.58	0.58
T-test	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.(%)	77.78	101.84	82.49	55.47	91.29

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

AC= Activated charcoal



ภาพที่ 2.11 การชักนำ SSE (ศรชี้) บนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซอร์บิทอล เข้มข้น 0.2 โมลาร์ กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมและไม่เติมผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)
ก ไม่เติมผงถ่าน
ข เติมผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์

5. ผลของผงถ่านต่อการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่

จากการนำ SSE วางเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ เติมน้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบระหว่างสูตรอาหารและผงถ่านความ เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (PGR- free MS) ให้อัตราการเกิดยอดสูงสุด 8.33 เปอร์เซ็นต์ และ จำนวนยอด เฉลี่ยต่อหลอด 0.50 ยอด เมื่อพิจารณาถึงการเติมผงถ่าน พบว่า การไม่เติมผงถ่าน ให้อัตราการเกิดยอด เฉลี่ย 6.25 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอด 0.31 ยอด ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ดังนั้นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเกิดยอด คือสูตรอาหาร PGR- free MS ไม่เติมผงถ่าน ให้อัตรา การเกิดยอดสูงสุด 16.66 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนยอดเฉลี่ยต่อหลอดสูงสุด 1 ยอด อย่างไรก็ตามการ เติมผงถ่านลงในอาหารไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อกันทางสถิติ (ตารางที่ 2.6) ยอดสามารถชักนำได้จาก SSE ยอดมีลักษณะเรียวเป็นใบแก้ว มีสีเขียวใส (ภาพที่ 2.12)

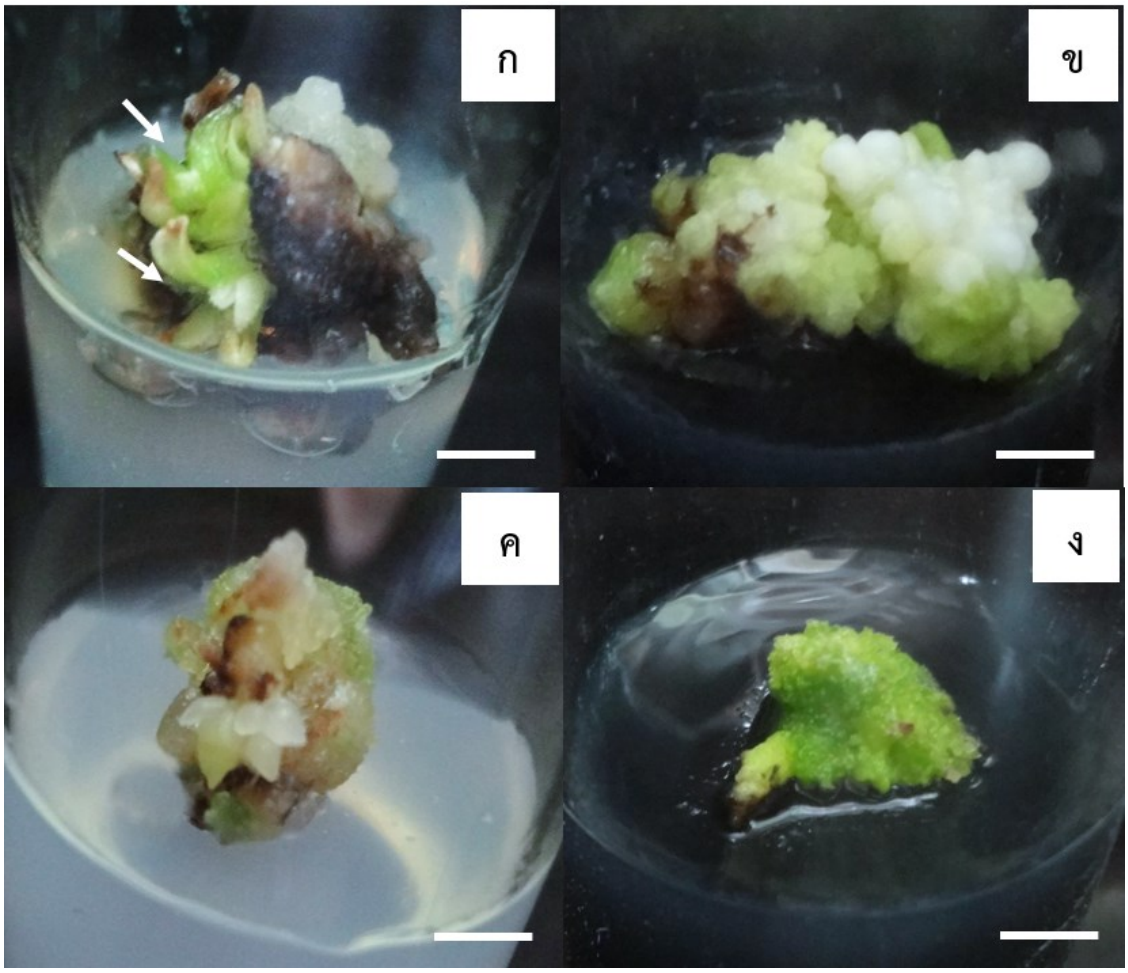
ตารางที่ 2.6 ผลของสูตรอาหาร และผงถ่านต่ออัตราการเกิดยอด และจำนวนยอดบนอาหารสูตรต่างๆ เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

สูตรอาหาร	อัตราการเกิดยอด (%)		เฉลี่ย (Media)	จำนวนยอด เฉลี่ยต่อหลอด		เฉลี่ย (Media)
	0% AC	0.2% AC		0% AC	0.2% AC	
PGR-free MS	16.66	0	8.33	1.00	0	0.50
½MS	8.33	0	4.17	0.25	0	0.13
Overlay#1	0[b]	8.33	4.17	0	0.50	0.25
Overlay#2	0[b]	16.66	8.33	0	0.50	0.25
เฉลี่ย (AC)	6.25	6.25		0.31	0.25	
Media	ns			ns		
AC	ns			ns		
Media x AC	ns			ns		
C.V. (%)	68.62			91.10		

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ AC= Activated charcoal

Overlay#1 medium คือ PGR Free MS + 0.03 BA + 0.06 NAA + 0% AC

Overlay#2 medium คือ PGR Free MS + 0.03 BA + 0.06 NAA + 0.2% AC



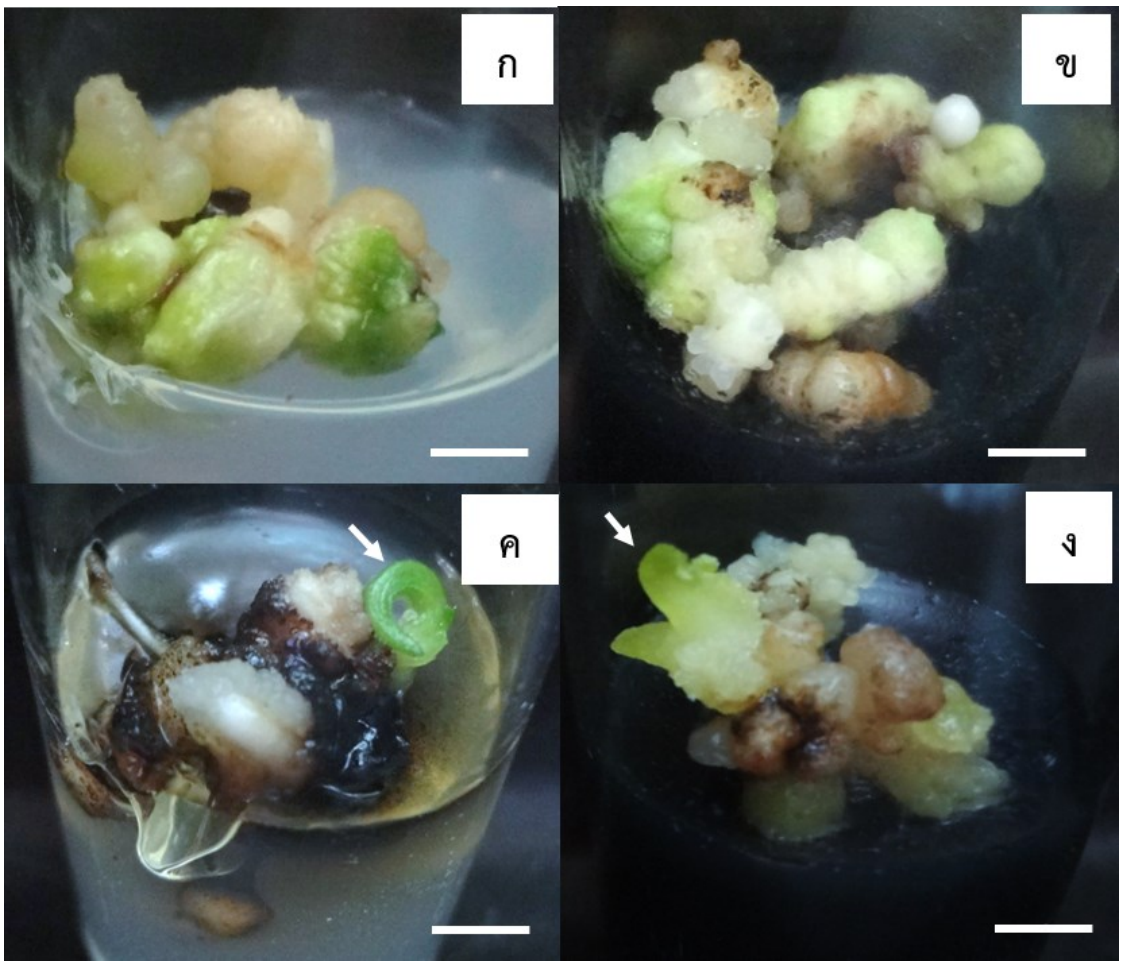
ภาพที่ 2.12 ผลของสูตรอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และผงถ่านต่อการชักนำยอด (ศรชี้) วางเลี้ยงบนสูตรอาหารต่างๆ เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)

ก สูตรอาหาร PGR-free MS ไม่เติมผงถ่าน

ข สูตรอาหาร PGR-free MS ร่วมกับ ผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์

ค สูตรอาหาร PGR-free ½MS ไม่เติมผงถ่าน

ง สูตรอาหาร PGR-free ½MS ร่วมกับ ผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 2.13 ผลของสูตรอาหาร และผงถ่านต่อการชักนำยอด (ศรชี้) วางเลี้ยงบนสูตรอาหารต่างๆ เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 0.5 ซม.)

ก สูตรอาหาร Overlay#1 ไม่เติมผงถ่าน

ข สูตรอาหาร Overlay#1 ร่วมกับ ผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์

ค สูตรอาหาร Overlay#2 ไม่เติมผงถ่าน

ง สูตรอาหาร Overlay#2 ร่วมกับ ผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์

วิจารณ์ผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นจะให้เกิดความสำเร็จต้องขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆปัจจัย เช่น ชิ้นส่วนพืช อุณหภูมิ สภาพการวางเลี้ยง และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมร่วมกับอาหารเพาะเลี้ยง และสูตรอาหารเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เนื่องจากการเจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติของพืช พืชจะได้แร่ธาตุจากดินและน้ำ แต่ในสภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นวิธีการที่นำชิ้นส่วนพืชมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อ พืชจึงจำเป็นต้องได้รับน้ำและแร่ธาตุต่าง ๆ จากอาหารสังเคราะห์ ซึ่งพืชแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อสูตรอาหารที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังมีปัจจัย เช่น การสร้างบาดแผลให้กับชิ้นส่วนพืชเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนพืชมีการสร้างและพัฒนาเกิดเป็น SE ได้ จากการรายงานของ Othmani และคณะ (2009) ศึกษาผลของการสร้างบาดแผลแคลลัสของอินทผาลัมด้วยใบมีดโกน แล้ววางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สามารถชักนำให้เกิด SE ได้สูงสุดเฉลี่ย 51 เอ็มบริโอ และเมื่อนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสมาสร้างแผลด้วยวิธีการสับด้วยใบมีดโกนในจำนวน 100 ครั้ง เพาะเลี้ยงเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน ให้น้ำหนักสดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสเฉลี่ย 0.78 กรัม อัตราการเกิด SE 48 เปอร์เซ็นต์ และ จำนวน SE เฉลี่ยต่อหลอด 1.2 เอ็มบริโอตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของชีรวัลย์ และคณะ (2560) ได้นำ HE มาสร้างบาดแผล 100 ครั้ง ให้อัตราการเกิด SE สูงสุด 45 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกันกับภาณินี และคณะ (2558) ศึกษาจำนวนการสับต่อการชักนำและเพิ่มปริมาณแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงตาเขียวยางพารา โดยสับชิ้นส่วนแคลลัสจำนวน 100 ครั้ง เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน สามารถชักนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสได้สูงสุด 98.45 เปอร์เซ็นต์

รังสฤษดิ์ (2540) รายงานว่า การสร้างบาดแผลเป็นการช่วยส่งเสริมให้ฮอร์โมนพืชจากตำแหน่งอื่นย้ายมายังตำแหน่งที่เกิดบาดแผล และยังเป็นการเพิ่มช่องทางในการดูดอาหารของชิ้นส่วนพืช ชิ้นส่วนพืชจะสามารถดูดซับน้ำและอาหารได้โดยตรงผ่านทางบาดแผลมากยิ่งขึ้น ซึ่งจะเป็นการกระตุ้นการพัฒนาส่วนต่างๆ ในบริเวณนี้ จากการศึกษานี้จะเห็นว่า การสับชิ้นส่วนพืช ทั้งที่เป็นเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสและ SE เป็นชิ้นเล็กๆ ซึ่งเป็นการสร้างบาดแผลให้ชิ้นส่วนพืช ช่วยส่งเสริมให้เกิด SE ได้มากกว่าชิ้นส่วนที่ไม่มีการสร้างบาดแผล เมื่อได้ทำการสร้างบาดแผลแล้วพืชมีการปล่อยสารจำพวก ฟีนอลซึ่งเป็นสารพิษสำหรับพืช เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น กรดแอสคอร์บิค และผงถ่าน เป็นสารต้านอนุมูลอิสระคือโมเลกุลของสารที่สามารถจับกับตัวรับและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลสารอื่นๆได้ จากการทดลองครั้งนี้ ได้นำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสร้างแผลด้วย

วิธีการสับด้วยใบมีดโกนในจำนวน 100 ครั้ง วางเลี้ยงบนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ให้การตอบสนองดีที่สุด คือให้อัตราการเกิด SE สูงสุด 68.75 เปอร์เซ็นต์ และ จำนวน SE เฉลี่ยต่อหลอด 3.43 เอ็มบริโอ ในขณะที่ชีรวัลย์ และคณะ (2560) ศึกษาผลของการสับ สภาพการวางเลี้ยง และสารแอนติออกซิแดนซ์ต่อการเพิ่มปริมาณ SE ปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. โดยนำชิ้นส่วน HE วางเลี้ยงบนอาหารสูตร OPCM เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับโพลีไวนิลไพโรลิโดน กรดแอสคอร์บิค และกรดซิตริก เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากย้ายเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวน SE สูงสุด คือ 9.15 เอ็มบริโอต่อหลอด

การขยายพันธุ์พืชในหลอดทดลองเป็นการขยายพันธุ์แบบสภาพแวดล้อมแบบปิด จึงทำให้เกิดการสะสมของเอทิลีนที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากตัวพืชหรือจากการลนปากหลอดทดลองด้วยเปลวไฟ เอทิลีนจัดเป็นฮอร์โมนพืชที่มีความสำคัญในกระบวนการต่างๆ ในวงจรชีวิตของพืชมีส่วนช่วยในการกระตุ้นและยับยั้งการเจริญเติบโตตั้งแต่งอกออกจากเมล็ดจนพืชตาย โดยเอทิลีนช่วยส่งเสริมการสุกของผลไม้ ทำให้เกิดการหลุดร่วงของใบ และการเหี่ยวของดอก (วุฒิชัย และ สมปอง, 2557) สำหรับพืชในหลอดทดลองก๊าซเอทิลีนมีผลยับยั้งต่อหลายกระบวนการเช่น กระบวนการสร้างแคลลัส กระบวนการเอ็มบริโอเจนิซีส กระบวนการออกาโนเจนิซีส การสร้างราก และการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ (Kumar *et al.,* 2009) จึงมีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้สารยับยั้งเอทิลีนเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการขยายพันธุ์พืชในหลอดทดลอง สารที่เติมร่วมกับอาหารเพาะเลี้ยงแล้วสามารถยับยั้งการทำงานของ เอทิลีนได้มีหลายชนิด เช่น $CoCl_2$ (Tamimi, 2015) และ $AgNO_3$ (Sgamma *et al.,* 2015) เมื่อสารเหล่านี้ไปยับยั้งการทำงานของเอทิลีนจึงทำให้พืชในหลอดทดลองสามารถเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนต่อไปได้ โดยเฉพาะ $AgNO_3$ มีการศึกษาในพืชหลายชนิดว่าสามารถยับยั้งการทำงานของเอทิลีนและส่งเสริมการสร้างหรือเพิ่มปริมาณยอดได้ ภาณินี และคณะ (2558) รายงานว่าการเติม $AgNO_3$ เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหาร MS เติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2, 4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และไฟตาเจล 2 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำ SE ได้สูงสุด 9.3 เอ็มบริโอต่อชิ้นส่วน โดย $AgNO_3$ มีผลในการยับยั้งการทำงานของเอทิลีน ซึ่งเอทิลีนมีบทบาทเกี่ยวข้องกับกระบวนการสำคัญต่าง ๆ ของพืชรวมทั้งการเสื่อมสภาพของดอกไม้ ซึ่งดอกไม้แต่ละชนิด ตอบสนองต่อเอทิลีนในระดับความไวที่แตกต่างกัน (Kumar *et al.,* 2009) ดังนั้นเมื่อมีการเติม $AgNO_3$ ลงในอาหารเพาะเลี้ยงอาจทำให้พืชมีการสังเคราะห์เอทิลีนลดลงจึงส่งผลให้การทำงานของเอทิลีนอาจลดลงด้วย จากการทดลองครั้งนี้อาหารที่ไม่เติม $AgNO_3$ เติมร่วมกับกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ให้การตอบสนองดีที่สุด ให้น้ำหนักสดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสูงสุด 1.03 กรัม อัตราการเกิด SE สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ และ จำนวน SE เฉลี่ยต่อ

หลอด 2.89 เอ็มบริโอ เนื่องจากกรดแอสคอร์บิค และผงถ่าน เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล (เพชรรัตน์, 2556) สอดคล้องกับการทดลองของ Eapen และ George (1996) ที่สามารถ ชักนำยอดใหม่ได้สูงสุด 9.3 ยอดต่อชิ้นส่วน เมื่อวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลาย Brassica บนอาหาร MS ที่ไม่เติม $AgNO_3$ หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน

การพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากกระบวนการ SE เป็นการเจริญและพัฒนาของเซลล์ไปในสองทิศทาง คือขั้วยอดและขั้วรากพร้อม ๆ กัน สิรนุช (2540) รายงานว่าพืชต้นใหม่ที่มีการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอระยะต่าง ๆ เหมือนกับต้นอ่อนที่ได้จากการผสมพันธุ์ เรียกเอ็มบริโอที่มีพัฒนาการมาจากเซลล์ร่างกายว่า SE โดย SE จะพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้นั้นสามารถเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ อย่างไรก็ตามพืชบางชนิดต้องอาศัยปัจจัยต่าง ๆ ในการชักนำการงอกและการพัฒนา เช่น องค์ประกอบของสูตรอาหาร แสง และอุณหภูมิ (Fuentes *et al.,* 2000) จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า เมื่อย้าย SE ไปวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เติม น้ำตาลซอร์บิทอล เข้มข้น 0.2 โมลาร์ ร่วมกับผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 เดือน ให้อัตราการเกิด SSE สูงสุด 25 เปอร์เซ็นต์ และ จำนวนกลุ่ม SSE เฉลี่ยต่อหลอด 1.25 กลุ่มเอ็มบริโอ ผงถ่านมีความสามารถในการดูดซับสารบางตัวออกจากอาหารได้ เนื่องจากผงถ่านมีช่องว่างที่ละเอียดมาก มีพื้นที่ผิวในช่องว่างสูง ผงถ่านจึงมีคุณสมบัติในการดูดซับสารพิษ ทำให้ปริมาณสารพิษในอาหารลดลง นอกจากนี้อาจเติมผงถ่านในอาหารชักนำรากเพื่อสร้างสภาพมืดทำให้รากเจริญเติบโตได้ดี (เพชรรัตน์, 2556) และจากการนำ SSE ที่ได้จากการทดลอง 4 วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมผงถ่าน ให้อัตราการเกิดยอดสูงสุด 16.66 เปอร์เซ็นต์ และ จำนวนยอดเฉลี่ยต่อหลอด 1 ยอด สอดคล้องกับการทดลองของสกุลรัตน์ และคณะ (2557) ศึกษาการชักนำ SE ของคู่ผสมที่ 7 และ 16 ในระยะสุดท้ายที่เรียกว่า HE วางเลี้ยงบนอาหาร 6 สูตร พบว่าคู่ผสมที่ 16 งอกได้ดีในอาหารเหลวสูตร MS ที่ไม่เติมผงถ่าน ส่วนการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ พบว่า อาหารเหลวสูตร MS ที่ไม่เติมผงถ่านให้การสร้างยอดและการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่สูงสุดทั้งสองคู่ผสม

การศึกษาครั้งนี้อาจเป็นส่วนหนึ่งในการหาแนวทางที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันในหลอดทดลอง เพื่อผลิตต้นกล้าพันธุ์ที่ดีที่มีลักษณะตรงตามความต้องการของเกษตรกร และเพื่อขยายพันธุ์จำนวนมากและจำหน่ายให้แก่เกษตรกรได้ต่อไปในอนาคต

บทที่ 3
สรุป

สรุป

จากการทดลองนำใบอ่อนปาล์มน้ำมันทรัพย์ ม.อ. โคลน 6 จากต้นกล้าอายุ 12 เดือน วางเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS และ OPCM เติม dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ย้ายเลี้ยงทุก เดือน เป็นเวลา 6 เดือนพบว่า ใบอ่อนที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร OPCM ให้อัตราการเกิดแคลลัสสูงสุด คือ 15 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการเกิดสีน้ำตาลของใบ 13.33 เปอร์เซ็นต์

จากการสร้างแผลเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสโดยวิธีการสับด้วยใบมีดโกนในจำนวน 100 ครั้ง วางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสำหรับการเพิ่มปริมาณ เอ็มบริโอเจนิคแคลลัสและ SE ซึ่งให้น้ำหนักสดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส 0.78 กรัม อัตราการเกิด SE 48 เปอร์เซ็นต์ และจำนวน SE เฉลี่ยต่อหลอด 1.2 เอ็มบริโอ หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

อาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณ SE ซึ่งให้ อัตราการเกิด SE สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

อาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เติมน้ำตาลซอร์บิทอล 0.2 โมลาร์ ร่วมกับ ผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ให้อัตราการเกิด SSE 25 เปอร์เซ็นต์ และจำนวน SSE เฉลี่ย ต่อหลอด 1.25 กลุ่มเอ็มบริโอ จากการนำ SSE ไปวางเลี้ยงอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุม การเจริญเติบโต ไม่เติมผงถ่าน พบว่า ให้อัตราการเกิดยอดสูงสุด 16.66 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนยอด เฉลี่ยต่อหลอด 1 ยอด

เอกสารอ้างอิง

กาญจนี ทองเทพ. 2553. ปัจจัยทางกายภาพและเคมีต่อการเจริญและพัฒนาเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสของปาล์มน้ำมัน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

คำนูณ กาญจนภูมิ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและอวัยวะพืช. สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

คำนูณ กาญจนภูมิ. 2554. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการขยายพันธุ์ปรับปรุงพันธุ์ และอนุรักษ์พันธุ์. สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ชยานิจ ดิษฐบรรจง, กษิดิศ ดิษฐบรรจง, ภุมรินทร์ วนิชชนานันท์, อรรัตน์ วงศ์ศรี และอรุณี ใจเถิง. 2552. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. กรุงเทพฯ 268-275.

ชาคริยา นิหะ, สุรีรัตน์ เย็นช้อน และสมปอง เตชะโต. 2560. ผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนาโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 4: 25- 30.

ชีรวัลย์ สิทธิศักดิ์, ทัศนี ขาวเนียม และสมปอง เตชะโต. 2560. ผลของการสับและสภาพวางเลี้ยงต่อการเพิ่มปริมาณโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 4: 41-46.

ซูไฮมิน เจ๊ะมาลี. 2551. การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอร่าจากการเพาะเลี้ยงคัพภะ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ธนวดี พรหมจันทร์. 2551. การชักนำโซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สองและการวิเคราะห์ความแปรปรวนของต้นปาล์มน้ำมันที่พัฒนาโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ธิดารัตน์ ทองแผ่, ทัศนี ขาวเนียม และสมปอง เตชะโต. 2558. ผลของสูตรอาหารและสภาพวางเลี้ยงต่อการชักนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสจากคัพภะอ่อนของปาล์มน้ำมันพิสิเฟอรา (*Elaeis guineensis* Jacq. var. Pisifera). วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 2: 41- 45.

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์, ชัยรัตน์ นิลนนท์, ธีระพงศ์ จันทรนิยม, ประกิจ ทองคำ และหะสัน กือมะ. 2543. เอกสารประกอบการฝึกอบรม การจัดการสวนปาล์มน้ำมัน. สงขลา: คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

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

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์. 2554. การปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นพรัตน์ อินถา, กวี สุจิปุลิ ปิยรัษฎ์, ปริญญาพงษ์ เจริญทรัพย์ และพีระศักดิ์ ฉายประสาท. 2559. การชักนำโซมาติกเอ็มบริโอในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมไทย. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 2: 44-49.

ประภาพร กิตติเสนาชัย. 2560. น้ำมันปาล์มเมื่อเข้าสู่ AEC. เข้าถึงได้จาก. http://tpso.moc.go.th/th/node/388 [เข้าถึงเมื่อ 23 มีนาคม 2560].

ปริญา สุคนธรัตน์, ทัศนี ขาวเนียม และสมปอง เตชะโต. 2558. การทำให้ชิ้นส่วนปลอดเชื้อ และการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนกาบใบของขมิ้นชันในหลอดทดลอง. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 2: 36-40.

เปรมปรี ณ สงขลา. 2549. ผู้ยิ่งใหญ่แห่งปาล์มน้ำมัน. วารสารเคหะการเกษตร 11: 76-98.

พวงเพชร อึ้งวิศิษฎ์วงศ์. 2558. ปาล์มน้ำมันความหวังใหม่ของเกษตรภาคใต้. สงขลา: ธนาคารแห่งประเทศไทยสำนักงานภาคใต้.

เพชรรัตน์ จันทรทิณ. 2556. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการเกษตร. กรุงเทพฯ: เอกสารประกอบการสอน สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี

ภาณินี ช่วยมี, สุรีรัตน์ เย็นช้อน และสมปอง เตชะโต. 2558. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการขยายพันธุ์ยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) พันธุ์ดั้งเดิมจากการเพาะเลี้ยงตาสีเขียวในหลอดทดลอง. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 2: 17-20.

มุกดา สุขสวัสดิ์. 2544. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วุฒิชัย ศรีช่วย และสมปอง เตชะโต. 2557. การเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้เขากวางอ่อน (*Phalaenopsis cornu-cervi* (Breda) Blume & Rchb.) โดยการชักนำเป็นพืชต้นใหม่จากแคลลัส. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 2: 13-18.

ศตปพร เกิดสุวรรณ และสมปอง เตชะโต. 2557. ผลของไดแคมบาต่อการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอและการพัฒนาเป็นต้นของปาล์มน้ำมัน วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 1: 2-9.

ศรมน สุทิน. 2559. วิตามินกับอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ 2: 80- 91.

ศูนย์วิจัยกสิกรไทย. 2556. ทิศทางอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์มโลกกับความท้าทายที่ผู้ผลิตหลักในอาเซียนต้องเร่งปรับตัว. เข้าถึงได้จาก http://www.thanonline.com/index.php?option

=com_ content&view=article&id=181896&catid=176&Itemid=524#. U2szC_ mSw6A (เข้าถึงเมื่อ 8 พฤษภาคม 2561).

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตปาล์มน้ำมัน. 2556. พันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอร่า (DxP) พันธุ์ “ทรัพย์ ม.อ. 1”. สงขลา: ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตปาล์มน้ำมัน คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2544. ชีววิทยาของพืช.กรุงเทพฯ : ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. จามจุรีโปรดักท์.(หน้า 103-104).

สมปอง เตชะโต. 2539. เทคโนโลยีชีวภาพของพืชปลูก. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สมปอง เตชะโต, อาสสัน หิเล และอิบรอเฮม ยีดำ. 2547. การชักนำเอ็มบริโอเจนนิแคลลัส และพืชต้นใหม่จากใบอ่อนปาล์มน้ำมันต้นโตที่ให้ผลผลิตดี. วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 29: 617-628.

สกุลรัตน์ แสนปุตะวงษ์. 2553. การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอร่าจากการเพาะเลี้ยงคัพภะอ่อนและการตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรม. ดุษฎีนิพนธ์ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สกุลรัตน์ แสนปุตะวงษ์, สมปอง เตชะโต และสรพงค์ เบญจศรี. 2557. ผลของผงถ่านและอาหารเหลวต่อการงอกและการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากโซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สองของปาล์มน้ำมัน. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 42: 456-461.

สิรนุช ลามศรีจันทร์. 2540. การกลายพันธุ์ของพืช. กรุงเทพฯ: ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรีรัตน์ เย็นช้อน, มาลัยวัลย์ ยังนิ่ง และสมปอง เตชะโต. 2557. ผลของซิลเวอร์ไนเตรทต่อการยืดอายุการบานของกุหลาบสายพันธุ์มายวาเลนไทน์ในหลอดทดลอง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 42: 573- 577.

สรัชพงศ์ สิทธิชัย. 2556. ความหวังของปาล์มน้ำมันไทยจากโอกาสของไบโอดีเซล. สงขลา: ธนาคารแห่งประเทศไทยสำนักงานภาคใต้.

สำนักงานเศรษกิจการเกษตร. 2556. ปาล์มน้ำมัน: เนื้อที่ยืนต้น เนื้อที่ให้ผลผลิต ผลผลิต และ ผลผลิตต่อไร่ ปี 2554-2556 (ปี 2556 พยากรณ์ไตรมาส 1 มีนาคม 2556). เข้าถึงได้จาก http://www.oae.go.th/download/prcai/farmcrop/palm52-54.pdf (เข้าถึงเมื่อ 8 พฤษภาคม 2561).

อรุณี ยูโซ๊ะ และสมปอง เตชะโต. 2557. ผลของซูโครสและไดแคมบาต่อการชักนำแคลลัสจากคัพภะแก่และใบอ่อนของข้าวหอมกระดังงา. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 1: 28-31.

อาสลัน หิเล. 2545. การเพาะเลี้ยงใบอ่อนของต้นปาล์มน้ำมันที่ให้ผลผลิตดีเพื่อการขยายพันธุ์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อภิชญา นุกูลรัตน์, สุรีรัตน์ เย็นช้อน และสมปอง เตชะโต. 2560. ผลของกรดแอสคอร์บิค ออกซิน และน้ำตาลต่อการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์ม น้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 3: 1-7.

Balzon, T. A., Luis, Z. G. and Scherwinski-Pereira, J. E. 2013. New approaches to improve the efficiency of somatic embryogenesis in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) from mature zygotic embryos. *In Vitro* Cellular and Developmental Biology - Plant 49: 41–50.

Constantin, M., Ajambang, W.N., Godswill, N.N., Wiendi, N.M.A., Wachjar, A. and Frank, N.E.G. 2015. Induction of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq. Var. Tenera) callogennesis and somatic embryogenesis from young leaf explants. Journal of Applied Biology and Biotechnology 3: 4-10.

Eapen, S. and George, L. 1996. Enhancement in shoot regeneration from leaf discs of *Brassica juncea* L. Czern. and Coss. by silver nitrate and silver thiosulfate. Physiology and Molecular Biology of Plants 2: 83–86.

Fuentes, S. R. L., Calheiros, M. B. P., Manetti-Filho, J. and Vieira, L.G.E. 2000. The effects of silver nitrate and different carbohydrate sources on somatic embryogenesis in *Coffea canephora*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 60: 5-13.

Hilae, A. and Te-chato, S. 2005. Effects of carbon sources and strength of MS medium on germination of somatic embryos of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Songklanakarin Journal of Science and Technology 27: 630-635.

Kajah Activated Carbon. chemical structure. online available http://www.activatedcarbon.in/chemical-structure/ (accessed on 23 March 2017).

Kumar, V., Parvatam, G. and Ravishankar, G.A. 2009. $AgNO_3$-A potential regulator of ethylene activity and plant growth modulator. Journal of Biotechnology 2: 1-15.

Othmani, A., Bayoudh, C., Drira, N., Marrakchi, M. and Trifi, M. 2009. Somatic embryogenesis and plant regeneration in date palm**,** *Phoenix dactylifera* L. cv. Boufeggous is significantly improved by fine chopping and partial desiccation of embryo callus. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 97: 71-79.

Scherwinski, P. J. E., Guedes, R. S., Fermino, P. C. P., Silva, T. L. and Costa, F. H. S. 2010. Somatic embryogenesis and plant regeneration in oil palm using the thin cell layer technique. *In Vitro* Cellular and Developmental Biology Plant 46: 378–385.

Sgamma, T., Thomas, B. and Muleo, R. 2015. Ethylene inhibitor silver nitrate enhances regeneration and genetic transformation of *Prunus avium* (L.) cv. Stella. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 120: 79-88.

Suranthran, P., Sinniah, U. R., Subramaniam, S., Maheran A. A., Romzi, N., and Gantait, S. 2011. Effect of plant growth regulators and activated charcoal on in vitro growth and development of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq. var. Dura) zygotic embryo. African Journal of Biotechnology 10: 10600-10606.

Tamimi S. M. 2015. Effects of ethylene inhibitors, silver nitrate ($AgNO_3$), cobalt chloride ($CoCl_2$) and aminooxyacetic acid (AOA), on *in vitro* shoot induction and rooting of banana (*Musa acuminata* L.). African Journal of Biotechnology 15: 2510-2516.

Te-chato, S. 1998. Fertile plant from young leaves-derived somatic embryo of oil palm. Songklanakarin Journal of Science and Technology 20: 7-13.

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.

Thawaro, S. and Te-chato, S. 2007. Auxins as effect type of callus formation from mature zygotic embryo culture of hybrid oil palms. International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development, Bangkok, Thailand. 26-27 April 2007.

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 องค์ประกอบของสูตรอาหาร MS Y_3 และ OPCM

องค์ประกอบ	ปริมาณสาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	MS	Y_3	OPCM
NH_4NO_3	1650.00	-	1025.00
NH_4Cl	-	535.00	-
KNO_3	1900.00	2020.00	950.00
KCl	-	1492.00	-
$NaH_2PO_4.1H_2O$	-	312.00	-
$CaCl_2.2H_2O$	440.00	294.00	268.00
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	-	-	278.00
$MgSO_4.7H_2O$	370.00	247.00	185.00
$K_2 SO_4$	-	-	495.00
KH_2PO_4	170.00	-	170.00
H_3BO_3	6.20	3.10	6.20
$MnSO_4.H_2O$	16.90	11.20	16.90
$ZnSO_4.7H_2O$	10.60	7.20	9.60
KI	0.83	8.30	0.415
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25	0.24	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025	0.16	3.138
$CoCl_2.6H_2O$	0.025	0.24	0.013
Na_2EDTA	37.30	37.30	37.30
$FeSO_4.7H_2O$	27.80	27.80	27.80
$NiCl_2\ 6H_2O$	-	0.024	-
Myoinositol	100.00	100.00	100.00
Glycine	2.00	-	2.00
Nicotinic acid	0.50	0.05	0.50
Pyridoxine.HCl	0.50	0.05	0.50
Thiamine.HCl	0.10	0.50	0.55

ตารางภาคผนวกที่ 1 องค์ประกอบของสูตรอาหาร MS Y_3 และ OPCM (ต่อ)

องค์ประกอบ	ปริมาณสาร (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	MS	Y_3	OPCM
Ca-pantothenate	-	0.05	-
Biotin	-	0.05	-
Sucrose (กรัม)	30	30	30
วุ้น (กรัม)	7.5	7.5	7.5
pH	5.7	5.7	5.7

ภาพผนวกที่ 1 ขั้นตอนและวิธีการฟอกฆ่าเชื้อใบอ่อนปาล์มน้ำมัน

ผลงานตีพิมพ์

ผลของการสร้างบาดแผล สารต้านอนุมูลอิสระ และซิลเวอร์ไนเตรทต่อการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ที่ให้ผลผลิตสูง

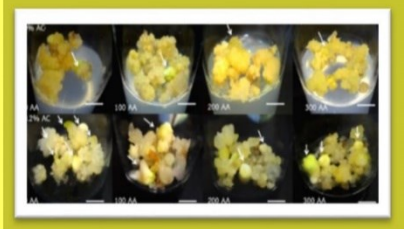
Influences of Chopping Frequencies, Antioxidant Agents and Silver Nitrate on Somatic Embryo Induction of High Yielding Oil Palm SUP-PSU

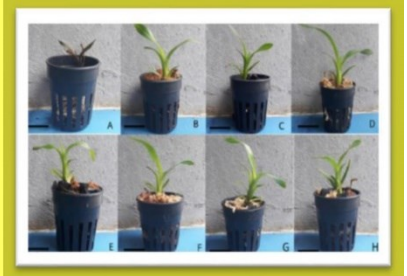
วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์
Songklanakarin Journal of Plant Science

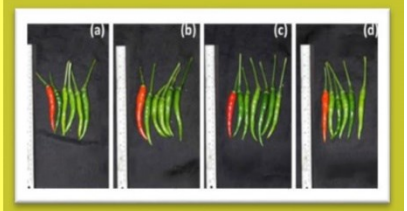
SJPS

ปีที่ 5 ฉบับที่ 3
กรกฎาคม-กันยายน 2561
Volume 5 No. 3
July-September 2018

ISSN 2351-0846







ภาควิชาพืชศาสตร์
คณะทรัพยากรธรรมชาติ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 5 ฉบับที่ 3 (กรกฎาคม-กันยายน): 1-9, 2561
Songklanakarin Journal of Plant Science, Vol. 5, No. 3 (July-September): 1-9, 2018

Research article

ผลของการสร้างบาดแผล สารต้านอนุมูลอิสระ และซิลเวอร์ไนเตรทต่อการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ที่ให้ผลผลิตสูง

Influences of Chopping Frequencies, Antioxidant Agents and Silver Nitrate on Somatic Embryo Induction of High Yielding Oil Palm SUP-PSU

นูรมา มาสากี[1,2] สมปอง เตชะโต[1,2] และ สุรีรัตน์ เย็นช้อน[1,2*]
Masakee, N.[1,2] Yenchon, S.[1,2*] and Te-chato, S.[1,2]

[1] ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112
[1] Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90112
[2] ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900
[2] Center of Excellence on Agricultural Biotechnology (Ag-BIO/PERDO-CHE), Bangkok, 10900

*Corresponding author: sureerat.y@psu.ac.th
Received 18 May 2018; Revised 25 June 2018; Accepted 27 July 2018

บทคัดย่อ

ปัจจัยที่มีผลต่อการขยายพันธุ์และการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันในหลอดทดลองได้แก่ สูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโต สภาพการวางเลี้ยง การสร้างบาดแผล และการเติมสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งในการทดลองนี้ได้ศึกษาผลของการสร้างบาดแผล สารต้านอนุมูลอิสระ และซิลเวอร์ไนเตรท (silver nitrate; $AgNO_3$) ต่อการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. โดยการนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสร้างบาดแผลผ่านการสับจำนวนครั้งที่แตกต่างกันและวางเลี้ยงบนอาหารสูตร Y_3 (Eeuwens) เติม dicamba (3,6-dichloro-2-methoxybenzoic-acid) เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า การสับจำนวน 100 ครั้ง ให้น้ำหนักสดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสูงสุด 0.78 กรัม อัตราการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอ 48 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนโซมาติกเอ็มบริโอเฉลี่ย 1.2 เอ็มบริโอต่อหลอด สำหรับสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่า อาหารที่เติมผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์เพียงอย่างเดียวให้น้ำหนักสดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสูงสุด 0.93 กรัม อัตราการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอสูงสุด 68.75 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนโซมาติกเอ็มบริโอเฉลี่ย 3.43 เอ็มบริโอต่อหลอด และสำหรับ $AgNO_3$ พบว่า อาหารที่ไม่เติม $AgNO_3$ ร่วมกับกรดแอสคอร์บิค 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ ให้อัตราการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอ 100 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนโซมาติกเอ็มบริโอเฉลี่ย 2.89 เอ็มบริโอต่อหลอด ดังนั้น อาหารที่เติมกรดแอสคอร์บิค 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอ ซึ่งสามารถนำสูตรอาหารดังกล่าวไปใช้ในการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอเพื่อการขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: การสร้างบาดแผล, สารต้านอนุมูลอิสระ, ซิลเวอร์ไนเตรท, โซมาติกเอ็มบริโอ

Abstract

Factors affecting propagation and somatic embryo (SE) induction of oil palm *in vitro* include of culture media, plant growth regulators (PGRs), culture conditions, chopping and antioxidant agents. In the present study, the influences of chopping frequencies, antioxidant agents and silver nitrate on SE induction were investigated. Embryogenic callus (EC) was chopped into small pieces at different times and cultured on Y_3 (Eeuwens) medium with 0.1 mg/L dicamba (3,6-dichloro-2-methoxybenzoic-acid) for 1 month. The

Online open access e-journal : www. natres.psu.ac.th/department/plantScience/sjps/default.htm
Published by Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University. All rights reserved.
For Permissions, please e-mail: nr-sjps@group.psu.ac.th.

results revealed that the chopped EC at 100 times gave the highest EC fresh weight (FW) at 0.78 g, SE induction at 48% and number of SEs at 1.2 embryos/tube. For antioxidant agents, without ascorbic acid (AA) and 0.2% activated charcoal (AC) containing medium gave the highest fresh weight of EC at 0.93 g, SE induction at 68.75% and number of SEs at 3.43 embryos/tube. In case of $AgNO_3$, culture medium without $AgNO_3$ with 100 mg/L AA and 0.2% AC gave the highest SE induction at 100% and number of SE at 2.89 embryos/tube. Therefore, 100 mg/L AA and 0.2% AC containing medium is suitable medium for SE induction and will be further used for somatic embryo induction and propagation of oil palm in the future.

Keywords: Chopping frequency, antioxidant agents, silver nitrate, somatic embryo

บทนำ

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชน้ำมันที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทยในปัจจุบัน และมีศักยภาพทางเศรษฐกิจสูงกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่นๆ ปัจจุบันแหล่งที่ผลิตปาล์มน้ำมันรายใหญ่ของโลก คือ ประเทศอินโดนีเซีย ผลิตมากถึง 47 ล้านไร่ (ประภาพร, 2560) ปาล์มน้ำมันมีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกาแถบประเทศชายฝั่งตะวันตก และตอนกลางบางพื้นที่ จัดอยู่ในสกุล *Elaeis* สามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ *E. guineensis E. oleifera* และ *E. odora* แต่ชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ คือ *E. guineensis* ปาล์มน้ำมันชนิดนี้สามารถแบ่งออก ได้เป็น 3 แบบ คือ ดูรา พิสิเฟอรา และเทเนอรา แต่แบบที่นิยมปลูกเป็นการค้า คือ เทเนอรา (ธีระ และคณะ, 2543) ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ได้จากการผสมระหว่างดูรากับพิสิเฟอรา มีลักษณะเปลือกชั้นนอกหนาและให้น้ำมันสูงถึง 60 - 90 เปอร์เซ็นต์ มีกะลาบาง (0.5 - 4 มิลลิเมตร) ซึ่งลักษณะความหนาของกะลาเป็นลักษณะที่สำคัญ เพราะมีผลต่อปริมาณเปลือกนอกที่ให้น้ำมัน เนื่องจากปาล์มน้ำมันเป็นพืชที่ให้ผลผลิตน้ำมันต่อหน่วยพื้นที่ประมาณ 640 - 800 กิโลกรัมน้ำมันต่อพื้นที่ปลูก 1 ไร่ ในช่วงอายุของต้น 8 - 9 ปี ซึ่งสูงกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่นหลายเท่าตัว นอกจากนี้น้ำมันปาล์มยังเป็นน้ำมันพืชที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลายทั้งอุปโภค บริโภค รวมทั้งในด้านพลังงานทดแทน จึงทำให้มีปริมาณความต้องการสูงขึ้น การผลิตน้ำมันปาล์มจึงมีแนวโน้มขยายตัวเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องและรวดเร็ว เพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค (เปรมปรี, 2549)

ปาล์มน้ำมันจัดเป็นพืชยืนต้น มีการผสมพันธุ์แบบผสมข้าม โดยปกติใช้เมล็ดในการขยายพันธุ์และเป็นพืชที่สามารถให้ผลผลิตทะลายได้ตลอดทั้งปี มีอายุการเก็บเกี่ยวผลผลิตได้นานมากกว่า 25 ปี พันธุ์ปาล์มน้ำมันที่นำมาปลูกจึงต้องเป็นพันธุ์ปาล์มน้ำมันที่ดี จึงจะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพและลดต้นทุนในการผลิตตลอดอายุการเก็บเกี่ยวของปาล์มน้ำมันได้ (ธีระ, 2554) จึงต้องมีการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันเพื่อให้ได้ผลผลิตทะลาย ผลผลิตน้ำมันสูง และยังสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในแหล่งปลูกได้ดี (ธีระ และคณะ, 2543) ปลูกได้ดี นอกจากปัจจัยเรื่องพันธุ์แล้ว การดูแลจัดการสวนปาล์มน้ำมันที่ดีจะส่งผลให้ต้นปาล์มน้ำมันเจริญเติบโตดีและให้ผลผลิตสูงขึ้น ปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ได้รับการปรับปรุงพันธุ์โดยศาสตราจารย์ ดร.ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ลักษณะเด่นของพันธุ์นี้ คือ มีลักษณะกะลาบาง ให้ผลผลิตสูง ทนแล้งได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์การค้าอื่นในประเทศไทย (ธีระ, 2554) รวมทั้งพันธุ์ที่พัฒนาและส่งเสริมของกรมวิชาการเกษตร ปัจจุบันปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. อยู่ภายใต้การผลิตเมล็ดพันธุ์และขยายพันธุ์โดยการผสมระหว่างพ่อแม่พันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกโดยการควบคุมของหน่วยงานระดับคณะแล้วจำหน่ายสู่เกษตรกรที่สนใจ ทั้งนี้ การขยายพันธุ์ด้วยวิธีการผสมข้ามต้นส่งผลให้เกิดความแปรปรวนในเมล็ดแต่ละเมล็ด ดังนั้นการหาวิธีการขยายพันธุ์ที่ช่วยแก้ปัญหาของความไม่สม่ำเสมอคือ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนที่ไม่เกี่ยวกับเพศ เช่น ใบอ่อน จะช่วยให้การผลิตต้นกล้ามีความสม่ำเสมอมากขึ้น

ปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ปรับปรุงพันธุ์โดยศาสตราจารย์ ดร.ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ มีลักษณะกะลาบาง ให้ผลผลิตสูง ทนแล้งได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์การค้าอื่นในประเทศไทย (ธีระ, 2554) อย่างไรก็ตามการขยายพันธุ์เชิงการค้าในปัจจุบันใช้วิธีการเพาะเมล็ดจากพันธุ์ลูกผสมเทเนอราส่งผลให้ต้นกล้าที่ได้มีความสม่ำเสมอต่ำ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนที่ไม่เกี่ยวกับเพศ เช่น ใบอ่อน (สมปอง และคณะ, 2547) คัภพะ (ซูไฮมิน, 2551) และช่อดอก (ชยานิจ และคณะ, 2552) จะช่วยให้การผลิตต้นกล้ามีความสม่ำเสมอมากขึ้น การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆปัจจัย เช่นปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ การสร้างบาดแผลให้กับเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส ด้วยจำนวนครั้งต่างๆ ทั้งนี้การสร้างบาดแผลให้กับชิ้นส่วนพืชเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนพืชมีการสร้างและพัฒนาเกิดเป็นโซมาติกเอ็มบริโอได้ (รังสฤษดิ์, 2540) เช่นเดียวกับการรายงานของอภิชญา และคณะ (2560) ที่นำ

ชิ้นส่วนเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสของปาล์มน้ำมันมาสับในจำนวน 50 ครั้ง ย้ายกลุ่มของเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสที่ผ่านการสับแล้ว น้ำหนักเริ่มต้น 0.1 กรัม วางเลี้ยงบนอาหารสูตร OPCM#1 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 20 วัน ให้น้ำหนักแคลลัสสูงสุดคือ 0.53 กรัม นอกจากนี้ ปัจจัยทางเคมี ได้แก่ สารควบคุมการเจริญเติบโต สารเติมอื่นๆ เช่นสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ กรดแอสคอร์บิค และผงถ่าน ซึ่งกรดแอสคอร์บิคจะเข้าจับกับสารอนุมูลอิสระและยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ส่วนผงถ่านมีความสามารถในการดูดซับสารพิษบางตัวออกจากอาหารได้ เนื่องจากผงถ่านมีช่องว่างที่ละเอียดมากสามารถดูดซับสารพิษได้ (เพชรรัตน์, 2556) นอกจากนี้สารยับยั้งการสร้างเอทิลีน เช่น $AgNO_3$ สามารถยับยั้งการทำงานของเอทิลีน ซึ่งเอทิลีนเป็นสารที่อยู่ในรูปของก๊าซมีผลยับยั้งการเกิดแคลลัสและการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ โดยผ่านกระบวนการเอ็มบริโอเจเนซิสหรือออแกโนเจเนซิส (Kumar *et al.*, 2009) มีรายงานการใช้ $AgNO_3$ ในปาล์มน้ำมัน พบว่าสามารถส่งเสริมการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอได้ (ชาคริยา และคณะ, 2560) อย่างไรก็ตาม อัตราการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอ ยังไม่เพียงพอที่จะใช้ในการขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมัน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการสร้างบาดแผล สารต้านแอนติออกซิแดนซ์ และสารต้านเอทธีลีนต่อการเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส และชักนำโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ.

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

ใช้ EC ของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. (ลูกผสมโคลน 25) ที่วางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปวางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 25 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพของพืชปลูก ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ทำการย้ายเลี้ยงทุกๆ เดือน จากนั้นนำ EC (Figure 1) ใช้ในการศึกษาต่อไป

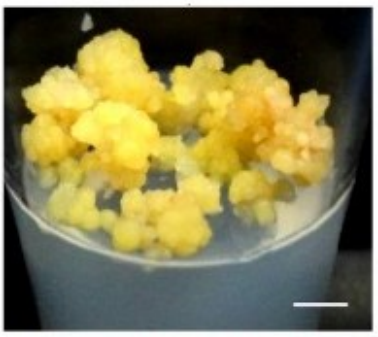


Figure 1 Embryogenic callus of oil palm SUP-PSU on Y_3 with 0.1 mg/L dicamba, 200 mg/L ascorbic acid and 3% sucrose after 1 month of culture. (bar = 0.5 cm)

ศึกษาผลของจำนวนครั้งของการสร้างบาดแผลต่อการเพิ่มปริมาณ EC และชักนำ SE

นำ EC มาสร้างบาดแผลด้วยวิธีการสับโดยใช้ใบมีดโกนด้วยจำนวนครั้งที่ต่างกันคือ 0 50 100 และ 150 ครั้ง (ชิ้นส่วนขนาดเฉลี่ย 6.5 4.5 2.1 และ 1.2 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ) ย้ายกลุ่มของ EC ที่ผ่านการสับแล้วน้ำหนักเริ่มต้น 0.1 กรัม วางเลี้ยงบนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับ pH เป็น 5.7 และผงวุ้น เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงภายใต้สภาพแวดล้อมเช่นเดียวกับการศึกษาข้างต้น หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกน้ำหนักสดของ EC อัตราการเกิด SE และจำนวน SE เฉลี่ยต่อหลอด เปรียบเทียบกันระหว่างจำนวนครั้งของการสับที่แตกต่างกัน โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test (DMRT) แต่ละสิ่งทดลองทำ 4 ซ้ำๆ ละ 12 หลอด

ศึกษาผลของกรดแอสคอร์บิคและผงถ่านต่อการเพิ่มปริมาณ EC และชักนำ SE

นำ EC ที่ได้จากการทดลองที่ 1 น้ำหนักเริ่มต้น 0.1 กรัม เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เติมชนิดและความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน คือ กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน เข้มข้น 0 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ปรับ pH เป็น 5.7 และ เติมผงวุ้น เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปวางเลี้ยงภายใต้สภาพแวดล้อมเช่นเดียวกับการศึกษาข้างต้น หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกน้ำหนักสดของ EC อัตราการเกิด SE และจำนวน SE เฉลี่ยต่อหลอด เปรียบเทียบกันระหว่างชนิดและความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระ โดย

ใช้แผนการทดลองแบบ 4 x 2 factorial design in CRD มี 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิค มี 4 ระดับ และความเข้มข้นของผงถ่าน มี 2 ระดับ วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT แต่ละสิ่งทดลองทำ 3 ซ้ำๆ ละ 4 หลอด

ศึกษาผลของ $AgNO_3$ และกรดแอสคอร์บิคต่อการเพิ่มปริมาณ EC และชักนำ SE

นำ EC ที่ได้จากการทดลองที่ 2 น้ำหนักเริ่มต้น 0.1 กรัม มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ปรับ pH เป็น 5.7 และผงวุ้น เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงภายใต้สภาพแวดล้อมเช่นเดียวกับการศึกษาข้างต้น หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน บันทึกน้ำหนักสดของ EC อัตราการเกิด SE และจำนวน SE เฉลี่ยต่อหลอด เปรียบเทียบกันระหว่างความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิค และ $AgNO_3$ โดยใช้แผนการทดลองแบบ 4 x 4 factorial design in CRD มี 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิค มี 4 ระดับ และความเข้มข้นของ $AgNO_3$ มี 4 ระดับ วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี ANOVA เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT แต่ละสิ่งทดลองทำ 3 ซ้ำๆ ละ 4 หลอด

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลของจำนวนครั้งของการสร้างบาดแผลต่อการเพิ่มปริมาณ EC และชักนำ SE

จากการทดลองพบว่า EC สร้างบาดแผลด้วยวิธีการสับด้วยใบมีดโกนจำนวน 100 ครั้ง แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 เดือน ให้น้ำหนักสด EC สูงสุด 0.78 กรัม รองลงมาคือ 150 0 และ 50 ครั้ง ซึ่งให้น้ำหนักสด EC 0.77 0.69 และ 0.67 กรัม ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (Table 1) สำหรับอัตราการเกิด SE พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติโดยการสับ 100 ครั้ง ให้อัตราการเกิด SE สูงสุด 48 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ 50 150 และ 0 ครั้ง ให้อัตราการเกิด SE 32 24 และ 16 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) สำหรับจำนวน SE พบว่า ทุกจำนวนครั้งในการสับให้จำนวน SE 1.2 เอ็มบริโอต่อหลอด ในขณะที่การไม่สับชิ้นส่วนให้จำนวน SE เพียง 0.4 เอ็มบริโอต่อหลอด (Table 1; Figure 2) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ ชีรวัลย์ และคณะ (2560) ได้นำโซมาติกเอ็มบริโอระยะสร้างจาว (huastorium embryo; HE) มาสร้างบาดแผล 100 ครั้ง ให้อัตราการเกิด SE สูงสุด 45 เปอร์เซ็นต์ การสร้างบาดแผลให้กับชิ้นส่วนพืชเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนพืชมีการสร้างและพัฒนาเกิดเป็น SE ได้ Othmani และคณะ (2009) ศึกษาผลของการสร้างบาดแผลแคลลัสของอินทผาลัมด้วยใบมีดโกน แล้ววางเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) เติม 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สามารถชักนำให้เกิด SE ได้สูงสุด 51 เอ็มบริโอ และสอดคล้องกับการศึกษาของ ภาณินี และคณะ (2558) ศึกษาผลของการสับชิ้นส่วนต่อการชักนำ EC จากการเพาะเลี้ยงดาเขียวยางพารา พบว่า การสับชิ้นส่วนแคลลัสจำนวน 100 ครั้ง สามารถชักนำ EC ได้สูงสุด 98.45 เปอร์เซ็นต์ โดย รังสฤษดิ์ (2540) รายงานว่า การสร้างบาดแผลเป็นการช่วยส่งเสริมให้ฮอร์โมนพืชจากตำแหน่งอื่นย้ายมายังตำแหน่งที่เกิดบาดแผล และยังเป็นการเพิ่มช่องทางในการดูดอาหารของชิ้นส่วนพืช ชิ้นส่วนพืชจะสามารถดูดซับน้ำและอาหารได้โดยตรงผ่านทางบาดแผลมากยิ่งขึ้น ซึ่งจะเป็นการกระตุ้นการพัฒนาส่วนต่างๆ ในบริเวณนี้ จากการศึกษานี้จะเห็นว่า การสับชิ้นส่วน EC เป็นชิ้นเล็กๆ สามารถส่งเสริมให้เกิด SE ได้มากกว่าชิ้นส่วนที่ไม่มีการสร้างบาดแผล

Table 1 Effect of chopping frequencies on SE induction after culturing on Y_3 medium with 0.1 mg/L dicamba and 200 mg/L ascorbic acid for 1 month

Chopping frequencies	EC FW (g)	SE induction (%)	No. of SEs/ tube (embryo)
0	0.69^{ab}	16	0.4
50	0.67^{b}	32	1.2
100	0.78^{a}	48	1.2
150	0.77^{a}	24	1.2
F-test	*	ns	ns
C.V. (%)	22.43	70.71	53.62

* = Significant difference at $p \leq 0.05$, ns = non significant difference

Means followed by the same letter within each column are not significantly different according to DMRT.

Masakee, et al. (2018)

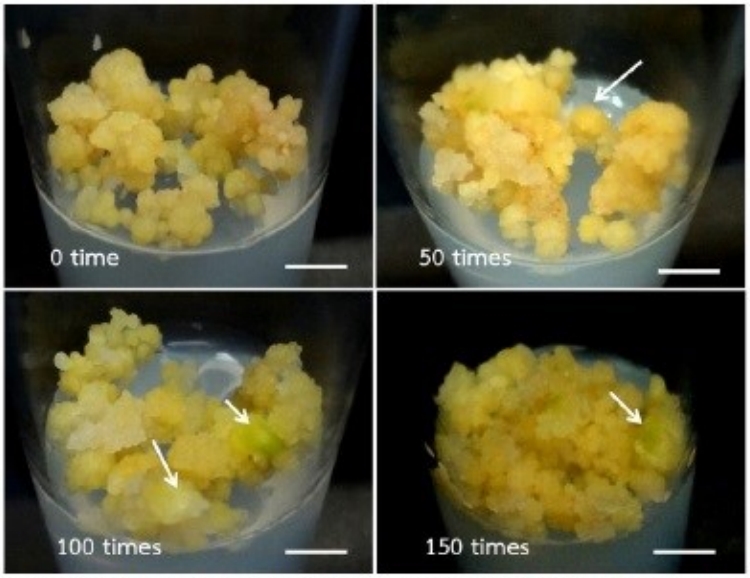


Figure 2 Characteristic of SE (arrow) derived from chopping on Y_3 medium with 0.1 mg/L dicamba and 200 mg/L ascorbic acid after 1 month of culture (bar= 0.5 cm)

ผลของกรดแอสคอร์บิคและผงถ่านต่อการเพิ่มปริมาณ EC และชักนำ SE

จากการศึกษาความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระ 2 ชนิด ในแต่ละความเข้มข้น เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า อาหารที่เติมผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ในทุกความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิคให้น้ำหนักสด EC เฉลี่ยสูงสุดคือ 0.87 กรัม มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) เมื่อเทียบกับการไม่เติมผงถ่าน การเติมผงถ่านเพียงอย่างเดียว ให้น้ำหนักสด EC สูงสุด 0.93 กรัม รองลงมาคืออาหารที่เติมผงถ่านร่วมกับกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสด EC 0.88 0.85 และ 0.81 กรัม ตามลำดับ (Table 2) สำหรับอัตราการเกิด SE พบว่า อาหารที่เติมกรดแอสคอร์บิคทุกความเข้มข้น ร่วมกับผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ให้อัตราการเกิด SE เฉลี่ย 70.31 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาถึงความเข้มข้นของผงถ่านและกรดแอสคอร์บิค พบว่า การเติม ผงถ่านร่วมกับกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิด SE สูงสุด 87.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ เติมผงถ่านเพียงอย่างเดียว และการเติมผงถ่านร่วมกับกรดแอสคอร์บิค 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิด SE 68.75 68.75 และ 56.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 2) สำหรับจำนวน SE พบว่า อาหารที่เติมแอสคอร์บิคทุกความเข้มข้น ร่วมกับผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวน SE เฉลี่ย 2.58 เอ็มบริโอต่อหลอด มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) ในขณะที่อาหารที่เติม ผงถ่านเพียงอย่างเดียว ให้จำนวน SE สูงสุด 3.43 เอ็มบริโอต่อหลอด รองลงมาคืออาหารที่เติมผงถ่านร่วมกับกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 300 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวน SE 2.53 2.38 และ 1.92 เอ็มบริโอต่อหลอด ตามลำดับ (Table 2; Figure 3) อย่างไรก็ตามทั้งสองปัจจัยนี้ไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อกันทางสถิติ เมื่อได้ทำการสร้างบาดแผลแล้ว พืชจะมีการปล่อยสารจำพวกฟีนอลซึ่งเป็นสารพิษสำหรับพืช ดังนั้นการเติมสารต้านอนุมูลอิสระ เช่นกรดแอสคอร์บิค (ascorbic acid; AA) จะสามารถจับกับตัวรับและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลสารอื่นๆได้ เช่นเดียวกับผงถ่านมีความสามารถในการดูดซับสารบางตัวออกจากอาหารได้ เนื่องจากผงถ่านมีช่องว่างที่ละเอียดมาก มีพื้นที่ผิวในช่องว่างสูง ผงถ่านจึงมีคุณสมบัติในการดูดซับสารพิษ ทำให้ปริมาณสารพิษในอาหารลดลง นอกจากนี้อาจเติมผงถ่านในอาหารชักนำรากเพื่อสร้างสภาพมืดทำให้รากเจริญเติบโตได้ดี (เพชรรัตน์, 2556) จากผลการศึกษา สรุปได้ว่า อาหารที่เติมผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เพียงอย่างเดียว เหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณ EC และการชักนำ SE สอดคล้องกับการศึกษาของ Suranthran และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาผลของผงถ่านต่อการชักนำเป็นพืชต้นใหม่ของปาล์มน้ำมัน โดยนำคัพภะวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 1-naphthaleneacetic acid (NAA) 6-benzylaminopurine (BAP) และ gibberellic acid (GA_3) เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบระหว่าง

การเติมและไม่เติมผงถ่าน (2 กรัมต่อลิตร) พบว่าอาหารที่เติมผงถ่านให้ความสูงต้น 9.4 เซนติเมตร และความยาวราก 4.4 เซนติเมตร เมื่อเทียบกับอาหารที่ไม่เติมผงถ่านคัพภะไม่สามารถพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้ในขณะที่ชีรวัลย์ และคณะ (2560) ศึกษาผลของสารแอนติออกซิแดนซ์ต่อการเพิ่มปริมาณโซมาติกเอ็มบริโอ ปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. โดยนำชิ้นส่วน HE ที่ผ่านการสับ วางเลี้ยงบนอาหารสูตร oil palm culture medium (OPCM) เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวน SE 9.15 เอ็มบริโอต่อหลอด

Table 2 Effects of types and concentrations of antioxidant agents on EC proliferation and SE induction after culturing on Y_3 medium with 0.1 mg/L dicamba for 1 month

Concentration of AA (mg/L)	EC FW (g)		Average	SE induction (%)		Average	No. of SEs/ tube (embryo)		Average
	AC (%)		(AA)	AC (%)		(AA)	AC (%)		(AA)
	0	0.2		0	0.2		0	0.2	
0	0.54	0.93	0.74	62.50	68.75	65.63A	2.53	3.43	2.98
100	0.57	0.88	0.73	25.00	68.75	48.87AB	0.58	1.92	1.59
200	0.54	0.85	0.70	6.25	56.25	31.25B	0.25	2.53	1.08
300	0.52	0.81	0.67	31.25	87.50	59.38A	1.13	2.38	1.76
Average (AC)	0.54B	0.87A		31.25B	70.31A		1.12B	2.58A	
Conc. of AA	ns			**			ns		
Conc. of AC	**			**			**		
Conc. of AA x AC	ns			ns			ns		
C.V. (%)	16.45			90.65			41.75		

** Significant difference at p≤ 0.01, ns = Non significant difference

Means followed by the same letter within each column are not significantly different according to DMRT.

AA = Ascorbic acid

AC = Activated charcoal

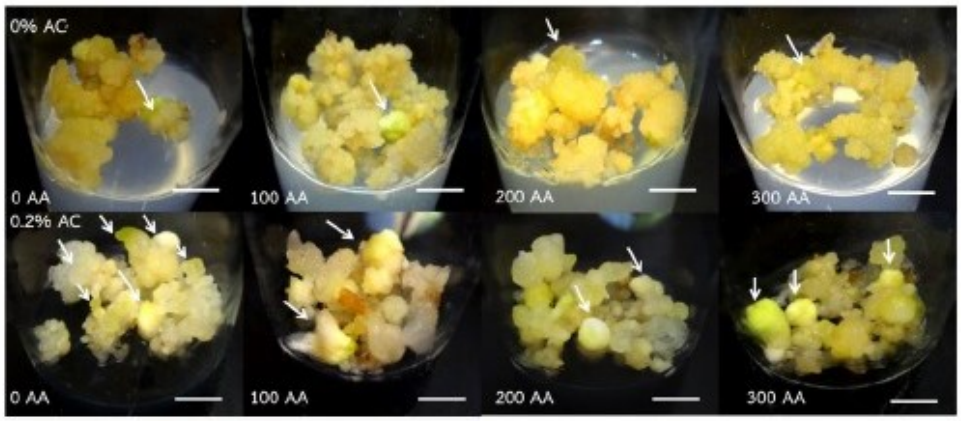


Figure 3 Characteristic of SEs (arrow) on Y_3 medium with 0.1 mg/L dicamba and various types and concentrations of antioxidant agents after 1 month of culture (bar= 0.5 cm)

ผลของ $AgNO_3$ และกรดแอสคอร์บิคต่อการเพิ่มปริมาณ EC และชักนำ SE

จากการศึกษาความเข้มข้นของ $AgNO_3$ และกรดแอสคอร์บิค ในแต่ละความเข้มข้น ร่วมกับผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า อาหารที่เติมแอสคอร์บิคเพียงอย่างเดียวในทุกความเข้มข้น ให้น้ำหนักสด EC เฉลี่ย สูงสุดคือ 0.78 กรัม มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) การเติม $AgNO_3$ ในทุกความเข้มข้นร่วมกับกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสด EC เฉลี่ยสูงสุด 0.83 กรัม การเติมกรด

แอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว ให้น้ำหนักสด EC สูงสุด 1.03 กรัม รองลงมาคือ อาหารที่เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 200 300 มิลลิกรัมต่อลิตร และไม่เติมกรดแอสคอร์บิค ให้น้ำหนักสด EC 1.02 0.68 และ 0.38 กรัม ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) และทั้งสองปัจจัยนี้มีปฏิสัมพันธ์ต่อกันทางสถิติ (Table 3) สำหรับอัตราการเกิด SE พบว่า อาหารที่เติม $AgNO_3$ ทุกความเข้มข้น ร่วมกับกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิด SE เฉลี่ย 88.89 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) การเติมกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว ให้อัตราการเกิด SE สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ คือ อาหารที่เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิด SE 88.89 เปอร์เซ็นต์ (Table 3) สำหรับจำนวน SE พบว่าอาหารที่เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว ให้จำนวน SE สูงสุด 2.89 เอ็มบริโอต่อหลอด รองลงมาคือ อาหารที่เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ $AgNO_3$ เข้มข้น 2 3 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวน SE 2.56 2.33 และ 1.72 เอ็มบริโอต่อหลอด ตามลำดับ (Table 3; Figure 4) จากผลการศึกษา สรุปได้ว่า อาหารที่เติมกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียวเหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณ EC และการชักนำ SE ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Eapen and George (1996) ที่สามารถชักนำยอดใหม่ได้สูงสุด 9.3 ยอดต่อชิ้นส่วน เมื่อวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอด Brassica บนอาหาร MS ที่ไม่เติม $AgNO_3$ หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน ในขณะที่ภาณินี และคณะ (2558) ซึ่งได้ศึกษาผลของซิลเวอร์ไนเตรทต่อการชักนำ SE พบว่า $AgNO_3$ เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำโซมาติกเอ็มบริโอได้สูงสุด 9.3 เอ็มบริโอต่อชิ้นส่วน การเติม $AgNO_3$ ลงในอาหารเพาะเลี้ยงอาจทำให้พืชมีการสังเคราะห์เอทิลีนลดลง

Table 3 Effects of concentrations of $AgNO_3$ and AA on EC and SE induction after culturing on Y_3 medium with 0.1 mg/L dicamba for 1 month

Concentration of AA (mg/L)	EC FW (g)				Average (AA)	SE induction (%)				Average (AA)	No. of SEs/ tube (embryo)				Average (AA)
	$AgNO_3$ (mg/L)					$AgNO_3$ (mg/L)					$AgNO_3$ (mg/L)				
	0	1	2	3		0	1	2	3		0	1	2	3	
0	0.38^{b}	0.40^{b}	0.42^{b}	0.80^{Ab}	0.50B	0	0	33.33	22.22	13.89B	0	0	1.33	0.67	0.50
100	1.03^{a}	0.69^{Ab}	0.80^{Ab}	0.80^{Ab}	0.83A	100	88.89	66.67	100	88.89A	2.89	1.72	2.56	2.33	2.37
200	1.02^{a}	0.67^{Ab}	0.77^{Ab}	0.81^{Ab}	0.82A	77.78	77.78	66.67	55.55	69.44AB	1.22	1.56	1.67	1.78	1.56
300	0.68^{Ab}	0.59^{Ab}	0.53^{b}	0.64^{Ab}	0.61B	33.33	66.67	66.67	44.44	52.78B	1.67	2.33	2.00	2.17	2.04
Average ($AgNO_3$)	0.78A	0.59B	0.63B	0.76AB		52.78	58.3	58.34	55.55		1.45	1.40	1.89	1.74	
Conc. of AA	**					**					ns				
Conc. of $AgNO_3$	**					ns					ns				
Conc. of AA x $AgNO_3$	*					ns					ns				
C.V. (%)	20.57					36.69					50.44				

ns = Non significant difference, * = Significant difference at $p \leq 0.05$, ** = Significant difference at $p \leq 0.01$,

Means followed by the same letter within each column are not significantly different according to DMRT.

AA = Ascorbic acid

$AgNO_3$ = Silver nitrate

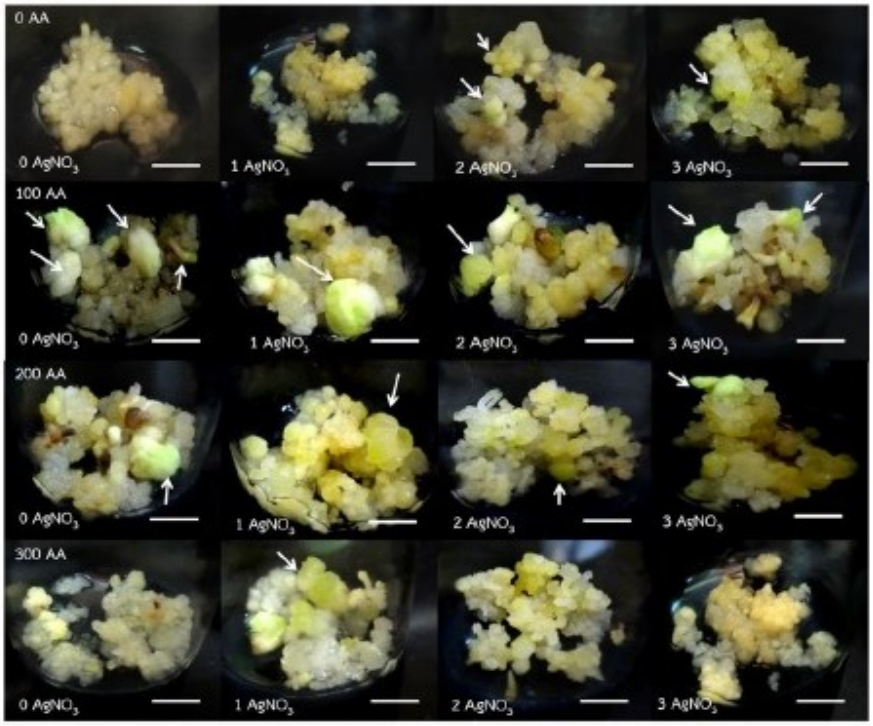


Figure 4 Characteristic of SEs (arrow) on Y_3 medium with 0.1 mg/L dicamba in combination with various concentrations of AA and $AgNO_3$ after 1 month of culture (bar= 0.5 cm)

สรุป

EC ที่ผ่านการสับจำนวน 100 ครั้ง วางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Y_3 เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และผงถ่าน เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ให้อัตราการเกิด SE สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ และจำนวน SE เฉลี่ยต่อหลอด 2.89 เอ็มบริโอ ซึ่งสูตรอาหารดังกล่าวเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณ SE และยังสามารถนำมาปรับใช้สำหรับการผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์อื่นต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่ง จากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ ขอขอบคุณทุนบัณฑิตศึกษาภายใต้โครงการวิจัย มหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 2 และสถานวิจัยพืชกรรมปาล์มน้ำมัน ระยะที่ 2 คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

เอกสารอ้างอิง

ชยานิจ ดิษฐบรรจง, กษิดิศ ดิษฐบรรจง, ภุมรินทร์ วนิชชนานันท์, อรรัตน์ วงศ์ศรี และอรุณี ใจเถิง. 2552. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. กรุงเทพฯ 268-275.

ชาคริยา นิหะ, สุรีรัตน์ เย็นช้อน และสมปอง เตชะโต. 2560. ผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 4: 25-30.

ชีรวัลย์ สิทธิศักดิ์, ทัศนี ขาวเนียม และสมปอง เตชะโต. 2560. ผลของการสับและสภาพวางเลี้ยงต่อการเพิ่มปริมาณโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 4: 41-46.

ชูไฮมิน เจ๊ะมาลี. 2551. การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอร่าจากการเพาะเลี้ยงคัพภะ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อีระ เอกสมพราเมษฐ์, ชัยรัตน์ นิลนนท์, อีระพงศ์ จันทรนิยม, ประกิจ ทองคำ และหะสัน กือมะ. 2543. เอกสารประกอบการฝึกอบรม การจัดการสวนปาล์มน้ำมัน.

สงขลา: คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์. 2554. การปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เปรมปรี ณ สงขลา. 2549. ผู้ยิ่งใหญ่แห่งปาล์มน้ำมัน. วารสารเคหะการเกษตร 11: 76-98.

เพชรรัตน์ จันทรทิณ. 2556. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการเกษตร. กรุงเทพฯ: เอกสารประกอบการสอนสาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี.

ประภาพร กิตติเสนาชัย. 2560. น้ำมันปาล์มเมื่อเข้าสู่ AEC. เข้าถึงได้จาก; http://tpso.moc.go.th/th/node/388 [เข้าถึงเมื่อ 23 มีนาคม 2560].

ภาณินี ช่วยมี, สุรีรัตน์ เย็นช้อน และสมปอง เตชะโต. 2558. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการขยายพันธุ์ยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) พันธุ์ตั้งเดิมจากการเพาะเลี้ยงตาเขียวในหลอดทดลอง. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 2: 17-20.

รังสฤษดิ์ กาวีตัะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค. กรุงเทพฯ: ภาคพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วุฒิชัย ศรีช่วย และสมปอง เตชะโต. 2557. การเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์กล้วยไม้เขากวางอ่อน (*Phalaenopsis cornu-cervi* (Breda) Blume & Rchb.) โดยการชักนำเป็นพืชต้นใหม่จากแคลลัส. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 2: 13-18.

สมปอง เตชะโต, อาสส้น หิเล และอิบรอเฮม ยีตำ. 2547. การชักนำเอ็มบริโอเจนนิแคลลัส และพืชต้นใหม่จากใบอ่อนปาล์มน้ำมันต้นโตที่ให้ผลผลิตดี. วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 29: 617-628.

อภิชญา นุกูลรัตน์, สุรีรัตน์ เย็นช้อน และสมปอง เตชะโต. 2560. ผลของกรดแอสคอร์บิค ออกซิน และน้ำตาล ต่อการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 3: 1-7.

Eapen, S. and George, L. 1996. Enhancement in shoot regeneration from leaf discs of *Brassica juncea* L. Czern. and Coss. by silver nitrate and silver thiosulfate. Physiology and Molecular Biology of Plants 2: 83–86.

Kumar, V., Parvatam, G. and Ravishankar, G. A. 2009. $AgNO_3$-A potential regulator of ethylene activity and plant growth modulator. Journal of Biotechnology 2: 1-15.

Othmani, A., Bayoudh, C., Drira, N., Marrakchi, M. and Trifi, M. 2009. Somatic embryogenesis and plant regeneration in date palm, *Phoenix dactylifera* L. cv. Boufeggous is significantly improved by fine chopping and partial desiccation of embryo callus. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 97: 71-79.

Suranthran, P., Sinniah, U. R., Subramaniam, S., Maheran A. A., Romzi, N., and Gantait, S. 2011. Effect of plant growth regulators and activated charcoal on *in vitro* growth and development of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq. var. Dura) zygotic embryo. African Journal of Biotechnology 10: 10600-10606.

SJPS-FM09-18052018

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวนูรมา มาสากี

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5810620056

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา)	มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี	2557

ทุนการศึกษา

1. วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่ง จากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ
2. ทุนอุดหนุนวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่
3. ทุนสนับสนุนสถานวิจัยความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 2
4. ทุนสนับสนุนการผลิตบัณฑิตสถานวิจัยพืชกรรมปาล์มน้ำมัน ระยะที่ 2

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

ไซนีย๊ะ สะมะลา, นูรมา มาสากี และนอร์รีซา ปอ. 2557. ผลของเอททิลมีเทนซัลโฟเนตต่ออัตราการรอดชีวิตและลักษณะของเซลล์ปากใบ *Chrysanthemum morifolium* ในสภาวะปลอดเชื้อ. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 1(4): 16-19.

นูรมา มาสากี, สุรีรัตน์ เย็นช้อน และสมปอง เตชะโต. 2559. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำแคลลัสและยอดของฮาโวเทียในหลอดทดลอง. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 3 (ฉบับพิเศษ): 76-82.

นูรมา มาสากี, สุรีรัตน์ เย็นช้อน และสมปอง เตชะโต. 2561. ผลของการสร้างบาดแผล สารต้านอนุมูลอิสระ และซิลเวอร์ไนเตรทต่อการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. ที่ให้ผลผลิตสูง. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 5(3): 1-9.