การเกิดเอ็มบริออยด์และต้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน

Somatic Embryogenesis and Plantlet Formation in Oil Palm Tissue Culture

วิสุทธิ์ พัชรพิสุทธิ์สิน

Wisut Patcharapisutsin

เลขหมู่ QK725 .P15 2533
เลขทะเบียน 029666
20 ธ.ค. 2534

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biological Sciences

Prince of Songkla University

2533

หัวข้อวิทยานิพนธ์ : การเกิดเอ็มบริออยด์และต้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน
ผู้เขียน : นายวิสุทธิ์ พัชรพิสุทธิ์สิน
สาขาวิชา : วิทยาศาสตร์ชีวภาพ
ปีการศึกษา : 2533

บทคัดย่อ

การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอรอกซ์เข้มข้น 40 เปอร์เซนต์ ให้เปอร์เซนต์ของเนื้อเยื่อที่ไม่ปนเปื้อนและเปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสสูงสุด เอ็มบริโอปาล์มน้ำมันที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารของ Murashige และ Skoog (1962) (MS) ดัดแปลง จะพัฒนาให้เป็นส่วนของต้นแต่ไม่เกิดราก การใช้ผงถ่านร่วมด้วยในอาหารมีผลทำให้เกิดรากได้ และการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชลงในสูตรอาหารที่มีผงถ่าน ช่วยให้การเจริญเติบโตของเอ็มบริโอดียิ่งขึ้น พบว่าการเติม BA 10 มก/ล ลงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่มีผงถ่าน 0.05 เปอร์เซนต์ ให้การเจริญเติบโตของเอ็มบริโอดีที่สุด

การเลี้ยงเอ็มบริโอในอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่มี 2,4-D 1-10 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ภายในเวลา 2 เดือน แคลลัสเกิดได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี 2,4-D 3 มก/ล การเติมผงถ่านลงในสูตรอาหาร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ แต่ปริมาณออกซินที่ใช้ต้องเพิ่มสูงขึ้น การเลี้ยงเอ็มบริโอในอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่มี NAA 30 มก/ล ร่วมกับผงถ่าน 0.05 เปอร์เซนต์ จะให้แคลลัสดีที่สุด แต่พบว่าจะให้ต้นที่มีแคลลัสมากที่สุดเช่นกัน การเพิ่มปริมาณ NAA ขึ้นเป็น 50 และ 70 มก/ล มีผลทำให้เกิดต้นที่มีแคลลัสลดลง

การย้ายแคลลัสที่เกิดจากการชักนำในอาหารที่มี 2,4-D ลงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่มี 2,4-D 5 มก/ล ร่วมกับผงถ่าน 0.05 เปอร์เซนต์ ให้การเจริญเติบโตของแคลลัสดีที่สุด และหลังจากย้ายแคลลัสลงเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมเป็นเวลา 3 เดือน จะเกิดการพัฒนาเป็นเอ็มบริออยด์ขึ้นบนก้อนแคลลัสนั้น สำหรับในอาหารที่มี NAA หลังจากย้ายแคลลัสที่เกิดจากการชักนำในอาหารที่มี NAA 30 มก/ล ลงเลี้ยงในอาหารใหม่ที่มี

NAA 70 มก/ล เป็นเวลา 3 เดือน จะเกิดการพัฒนาของเอ็มบริออยด์ขึ้นบนก้อนแคลลัสเช่นกัน เมื่อย้ายเอ็มบริออยด์ที่ได้ลงเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่มีผงถ่าน 0.05 เปอร์เซนต์ ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซนต์ เอ็มบริออยด์มีการพัฒนาดีที่สุด โดยเอ็มบริออยด์ที่นำมาเลี้ยงมีการเจริญเติบโตและขยายขนาดอย่างรวดเร็ว ต่อจากนั้นเริ่มสร้างเม็ดสีเขียวขึ้น และหลังจากย้ายลงเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมจะพัฒนาให้ต้นมากมาย ซึ่งต้นที่ได้จะมีทั้งที่มีรากและไม่มีราก

เนื้อเยื่อวิทยาของเอ็มบริโอและเอ็มบริออยด์ จะมีโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นที่คล้ายคลึงกัน เช่น มีส่วนของปลายยอด ส่วนใต้ใบเลี้ยง ปลายราก ใบเลี้ยง และ procambial strands

Thesis title : Somatic Embryogenesis and Plantlet Formation in Oil Palm Tissue Culture.

Author : Mr. Wisut Patcharapisutsin

Major program : Biological Sciences

Academic year : 1990

Abstract

Oil palm embryos were surface-sterilized with 40 percent (%) aqueous solution of clorox for 20 minutes. This procedure produced high percentage of uncontamination and callus initiation. Shoots were developed without roots when embryos were cultured on modified Murashige and Skoog (1962) (MS) medium. The inclusion of activated charcoal (AC) in medium appeared to stimulate root formation. The incorporation of plant growth regulators in media containing AC resulted in improved growth of embryos. In the presence of 10 milligrams per litre (mg/l) benzyladenine (BA) and 0.05 % AC on modified MS medium , the best balanced shoot and root development was obtained.

Cultured embryos produced calli in the presence of 1-10 mg/l 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) on modified MS medium within 2 months and an optimal concentration of callus initiation was 3 mg/l 2,4-D. Calli have also been initiated in media containing AC but the auxin level must be increased. The best growth of calli as well as shoots development were obtained on modified MS medium supplemented with 30 mg/l α-napthalene

acetic acid (NAA) and 0.05 % AC. An increase of NAA to a level of 50 mg/l and 70 mg/l decreased shoot development.

The calli which were induced in media containing 2,4-D developed into fast growing callus when transferred to modified MS medium containing 5 mg/l 2,4-D and 0.05 % AC. When the same calli were transferred to a similar medium for 3 months , the embryoids were developed. Whereas the calli which were induced on media containing 30 mg/l NAA and 0.05 % AC produced embryoids within 3 months after transferred to a similar medium with the increase of NAA level to 70 mg/l. The obtained embryoids were well developed when transferred to modified MS medium with the absence of growth substances but containing 15 % coconut milk and 0.05 % AC. By subculture on a similar medium , the embryoids grew into plantlets with or without roots.

Histological analysis of the mature zygotic embryo and the later development stages of the embryoid showed the similar rudimentary morphological organization e.g. shoot apex , root pole (radicle and hypocotyl) , cotyledon and a network of procambial strands.