การขยายพันธุ์อินทผลัม พันธุ์แม่โจ้ 36 (*Phoenix dactylifera* L. cv.MAEJO 36) ในสภาพปลอดเชื้อ

อำพล สอนสระเกษ

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพืชสวน

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2562

การขยายพันธุ์อินทผลัม พันธุ์แม่โจ้ 36 (*Phoenix dactylifera* L. cv.MAEJO 36) ในสภาพปลอดเชื้อ

อำพล สอนสระเกษ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การขยายพันธุ์อินทผลัม พันธุ์แม่โจ้ 36 (*Phoenix dactylifera* L. cv.MAEJO 36) ในสภาพปลอดเชื้อ

อำพล สอนสระเกษ

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพพร บุญปลอด)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(อาจารย์ ดร.พรพันธ์ ภู่พร้อมพันธุ์)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(อาจารย์ ดร.ประนอม ยังคำมั่น)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีรนุช เจริญกิจ)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ชื่อเรื่อง การขยายพันธุ์อินทผลัม พันธุ์แม่โจ้ 36 (*Phoenix dactylifera* L. cv.MAEJO 36) ในสภาพปลอดเชื้อ

ชื่อผู้เขียน นายอำพล สอนสระเกษ

ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพพร บุญปลอด

บทคัดย่อ

การศึกษาการขยายพันธุ์อินทผลัม พันธุ์แม่โจ้ 36 มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคนิคการขยายพันธุ์อินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อ ปัจจุบันการเพาะเมล็ดเป็นวิธีการขยายพันธุ์ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย จึงทำการศึกษาผลกระทบต่อการงอกของเมล็ดโดยใช้อุณหภูมิที่ต่างกัน เริ่มทำการศึกษาโดยนำเมล็ดมาทำการฟอกฆ่าเชื้อแล้วเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในอุณหภูมิที่แตกต่างกันคือ 28 และ 30 องศาเซลเซียส โดยเทียบกับชุดควบคุมคืออุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เก็บเมล็ดไว้ในที่มืดตลอดระยะเวลา 35 วัน พบว่า เมล็ดที่เพาะในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ค่าดัชนีความเร็วในการงอกสูงสุดคือ 0.377 ต้นต่อวัน และความยาว germinated tube ยาวถึง 132.47 มิลลิเมตร

จากการศึกษาการชักนำแคลลัสโดยการใช้ชิ้นส่วนเอ็มบริโอของอินทผลัม ทำการทดลองโดยการนำเอ็มบริโอหลังได้รับการผสมเกสรอายุ 1 – 5 เดือน มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D และ dicamba ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ผลการทดลอง พบว่า เอ็มบริโออายุ 3, 4 และ 5 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ dicamba ทุกความเข้มข้น สามารถชักนำแคลลัสได้ 85 - 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่อาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำ เอ็มบริโออายุ 3 และ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร ให้เกิดแคลลัสได้ 90 - 100 เปอร์เซ็นต์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 4 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดแคลลัสสูงถึง 0.88 และ 0.89 กรัม ตามลำดับ จากนั้นทำการย้ายแคลลัสลงอาหารสูตรใหม่เพื่อศึกษาการพัฒนาของแคลลัสต่อการชักนำให้เกิดยอด พบว่า แคลลัสที่ชักนำด้วย 2,4-D จากเนื้อเยื่อเอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร มีการรอดหลังการย้ายอาหารสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และสามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงถึง 32 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีปริมาณน้ำตาล Sucrose ความเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร ในระยะเวลา 8 สัปดาห์

คำสำคัญ : อินทผลัม, เอ็มบริโอ, สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช, แคลลัส

Title MICROPROPAGATION OF DATE PALM MAEJO 36 CULTIVAR (*Phoenix dactylifera* L. cv.MAEJO 36)

Author Mr. Ampol Sornsaket

Degree Master of Science in Horticulture

Advisory Committee Chairperson Assistant Professor Dr. Nopporn Boonplod

ABSTRACT

The study on date plam cv. Maejo 36 aimed to develop date palm *in vitro* propagation techniques. Nowadays, seeding is a widely-used method for date plam propagation in Thailand. Therefore, factors affecting date palm seed germination at different temperatures were studied. The study started with washing and sterilizing seeds under *in vitro* condition and kept in darkness at temperatures of 25, 28 and 30 °C for 35 days. It was found that the seeds kept in 30 °C condition had 80% of seed germination with the highest growth index at 0.377 plants/day. The length of germinated tube was 132.47 mm.

The study on callus induction by using parts of date palm embryo at 1 - 5 months after pollination were cultured on MS media with different concentrations of 2,4-D and dicamba. The results revealed that the embryos at 3, 4 and 5 months after pollination, cultured on MS media with all concentrations of dicamba could induce callus 85 - 100%, while MS media with 2,4-D at concentration 6, 8 and 10 mg/L could induce callus to 90 - 100 % and 2,4-D at concentrations of 4 and 6 mg/L gave high callus fresh weight at 0.88 and 0.89 grams, respectively. The study on development of callus to shoot formation it was found that the callus induced by 2,4-D from 4 months after pollination embryo age tissue had a 100 % survival after subculture and could be induced to shoot formation as high as 32 % within 8 weeks on 45 g / L sucrose MS media without any plant growth regulators.

Keywords : date plam, embryo, plant growth regulator, callus

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากความกรุณาของประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพพร บุญปลอด กรรมการที่ปรึกษา อาจารย์ ดร.พรพันธ์ ภู่พร้อมพันธุ์ และ อาจารย์ ดร.ประนอม ยังคำมั่น ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำในการแก้ไขปัญหาระหว่างการวิจัยมาโดยตลอด และเสียสละเวลาอันมีค่าในการตรวจ แก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสมบูรณ์ ทั้งนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรม สั่งสอน ให้ความรู้ และคำแนะนำในการทำงานวิจัยให้ถูกต้องและสมบูรณ์

ขอขอบคุณ สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ผู้ให้ทุนอุดหนุนงานวิจัย และ คุณศักดิ์ ลำจวน ศิษย์เก่าแม่โจ้รุ่น 36 เจ้าของสวน บ้านสวนโกหลักอินทผลัมไทย ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างอินทผลัมพันธุ์แม่โจ้ 36 (KL1) สำหรับการใช้ดำเนินงานวิจัย และช่วยติดต่อประสานงานการทำวิจัยตลอดระยะเวลาการเก็บข้อมูลจนงานสำเร็จ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่คอยให้กำลังใจและให้การสนับสนุนมาโดยตลอด รวมทั้งพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ตลอดระยะเวลาในการทำงานวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

อำพล สอนสระเกษ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ง
กิตติกรรมประกาศ ..... จ
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ซ
สารบัญภาพ ..... ฌ
สารบัญภาพผนวก ..... ญ
บทที่ 1 บทนำ 1
วัตถุประสงค์ 2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
ขอบเขตการศึกษา 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร 3
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 3
การปลูกและการดูแลรักษา 4
การขยายพันธุ์อินทผลัม 6
สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 9
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ 13
วัสดุและอุปกรณ์ 13
วิธีการดำเนินการวิจัย 15
การทดลองที่ 1 ศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิต่อการงอกของเมล็ด 15
การทดลองที่ 2 ศึกษาการชักนำแคลลัส (Callus) ของอินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อ 16

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการพัฒนาแคลลัสเพื่อการชักนำการเกิดยอดในสภาพปลอดเชื้อ 18
สถานที่ทำการทดลอง 19
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ 20
การทดลองที่ 1 ศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิต่อการงอกของเมล็ด 20
การทดลองที่ 2 ศึกษาการชักนำแคลลัส (Callus) ของอินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อ 25
การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการพัฒนา แคลลัสเพื่อการชักนำการเกิดยอดในสภาพปลอดเชื้อ 33
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ 45
บรรณานุกรม 46
ภาคผนวก 49
ประวัติผู้วิจัย 54

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงผลการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน 12

ตารางที่ 2 ชนิดและปริมาณสารเคมีที่ใช้ในสูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962)..... 14

ตารางที่ 3 ค่าแปลงจากมิลลิกรัมต่อลิตรเป็นไมโครโมลาร์ของสารควบคุมการเจริญเติบโต (Dixon and Gonzales, 1994)..... 17

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดอินทผลัมที่ 7-35 วันหลังเพาะ 21

ตารางที่ 5 ดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ดอินทผลัม (Speeds of Germination Index; SGI) 22

ตารางที่ 6 ความยาว germinated tube ของเมล็ดอินทผลัมที่ 7-35 วันหลังเพาะ 23

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสหลังการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ของเอ็มบริโออินทผลัมอายุ 3 – 5 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร 26

ตารางที่ 8 ปริมาณน้ำหนักสดแคลลัสหลังการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ของเอ็มบริโออินทผลัมอายุ 3 – 5 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร 27

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์การรอด การเกิดยอด และการเกิดราก ของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย 2,4-D จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร 34

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การรอด การเกิดยอด และการเกิดราก ของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย 2,4-D จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร 35

ตารางที่ 11 เปอร์เซ็นต์การรอด การเกิดยอด และการเกิดราก ของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย dicamba จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร 39

ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์การรอด การเกิดยอด และการเกิดราก ของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย dicamba จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร 40

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของอินทผลัม 4

ภาพที่ 2 การพัฒนาของเมล็ดในระยะเวลา 35 วันหลังการเพาะเมล็ด 23

ภาพที่ 3 แสดงพัฒนาการของแคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือน หลังได้รับการผสมเกสร หลังเลี้ยงบนอาหารระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 28

ภาพที่ 4 แสดงพัฒนาการของแคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 4 เดือน หลังได้รับการผสมเกสร หลังเลี้ยงบนอาหารระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 29

ภาพที่ 5 แสดงพัฒนาการของแคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 5 เดือน หลังได้รับการผสมเกสร หลังเลี้ยงบนอาหารระยะเวลา 16 สัปดาห์..... 30

ภาพที่ 6 ลักษณะการเกิดยอดของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย 2,4-D จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือน หลังได้รับการผสมเกสร เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 36

ภาพที่ 7 ลักษณะการเกิดยอดของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย 2,4-D จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 4 เดือน หลังได้รับการผสมเกสร เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 36

ภาพที่ 8 ลักษณะการเกิดรากของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย 2,4-D จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือน หลังได้รับการผสมเกสร เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 37

ภาพที่ 9 ลักษณะการเกิดรากของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย 2,4-D จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 4 เดือน หลังได้รับการผสมเกสร เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ 37

ภาพที่ 10 ลักษณะการเกิดยอดของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย dicamba จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์..... 41

ภาพที่ 11 ลักษณะการเกิดยอดของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย dicamba จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์..... 41

ภาพที่ 12 ลักษณะการเกิดรากของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย dicamba จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์..... 42

สารบัญภาพผนวก

หน้า

ภาพผนวกที่ 1 การพัฒนาขนาดผลของอินทผลัมพันธุ์แม่โจ้ 36 หลังการผสมเกสรระหว่าง 1 – 6 เดือน 50

ภาพผนวกที่ 2 ขั้นตอนการเพาะเมล็ดอินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อ..... 50

ภาพผนวกที่ 3 ขั้นตอนการเตรียมอาหารสำหรับการใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช..... 51

ภาพผนวกที่ 4 ขั้นตอนการชักนำแคลลัสของอินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อ 52

ภาพผนวกที่ 5 ขั้นตอนการชักนำยอดจากแคลลัสอินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อ..... 53

บทที่ 1
บทนำ

อินทผลัม (Date Palm) ชื่อวิทยาศาสตร์ Phoenix dactylifera L. เป็นพืชตระกูล ปาล์ม มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบตะวันออกกลาง เจริญเติบโตในภูมิภาคที่มีอากาศร้อนและแห้งแล้ง แบบทะเลทราย ลำต้นสามารถสูงได้ถึง 20 - 50 เมตร ขนาดลำต้นประมาณ 30 - 40 เซนติเมตร มีใบติดอยู่บนต้นประมาณ 40 - 60 ก้าน ทางใบยาว 3 - 4 เมตร ลักษณะใบเป็นแบบขนนก ใบย่อยพุ่งออกหลายทิศทาง ช่อดอกจะออกจากโคนใบ ผลทรงกลมรี ยาว 2-4 เซนติเมตร ออกเป็นช่อ มีรสหวาน รับประทานได้ทั้งผลดิบและสุก มีสีเหลืองถึงสีส้ม เมื่อแก่จัดจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้มมีรสหวาน ผู้บริโภคมักเข้าใจผิดว่าถูกเชื่อมด้วยน้ำตาล

การขยายพันธุ์อินทผลัมมีด้วยกันหลายแบบ คือ การขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด การขยายพันธุ์โดยการใช้หน่อ การขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปัจจุบันอินทผลัมที่ปลูกในประเทศไทยส่วนใหญ่จะขยายพันธุ์จากการเพาะเมล็ดแต่มีข้อเสีย คือ ไม่สามารถทราบได้ว่าเมล็ดที่เพาะจะเป็นต้นตัวผู้หรือตัวเมีย ซึ่งต้องใช้ระยะเวลาประมาณ 2 – 5 ปี จึงจะทราบเพศได้จากการรอให้ออกดอก ส่วนการขยายพันธุ์โดยการใช้หน่อมีข้อดี คือสามารถทราบเพศอินทผลัมได้โดยชัดเจนว่าเป็นต้นตัวผู้หรือต้นตัวเมีย เนื่องจากการแตกหน่อนั้นลักษณะทางพันธุกรรมที่ได้จะเหมือนต้นแม่ทุกประการแต่มีข้อจำกัดด้วยเช่นกัน คือ หน่อข้างของอินทผลัมจะเกิดขึ้นในช่วงที่ต้นยังไม่มีการออกดอก และอีกประการคือหน่อของอินทผลัมที่เกิดขึ้นมีปริมาณที่น้อย จึงไม่เป็นที่นิยมมากนัก ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นการขยายพันธุ์อีกหนึ่งวิธีที่น่าสนใจ เพราะการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะทำให้ได้ต้นที่มีลักษณะเหมือนกับต้นแม่ทุกประการเป็นการโคลนนิ่งเช่นเดียวกับการแตกหน่อแต่สามารถเพิ่มปริมาณได้มากตามที่ต้องการโดยการนำมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และสามารถทราบเพศได้ตั้งแต่ก่อนปลูกลงแปลงโดยการขยายพันธุ์จากต้นที่ทราบเพศแล้ว (รัตนชัย, 2559) ทั้งนี้ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังปราศจากโรคและแมลงอีกด้วย การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนิยมทำกันแพร่หลายกับพืชหลากหลายชนิด ในต่างประเทศการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมประสบความสำเร็จเป็นที่เรียบร้อย เกษตกรบางรายในประเทศไทยได้นำมาปลูกภายในประเทศบ้างแล้ว แต่เนื่องด้วยสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติที่มีความแตกต่างกัน การนำพันธุ์จากต่างประเทศมาปลูกจึงส่งผลต่อการติดผล เนื่องจากอินทผลัมจะติดผลในช่วงฤดูฝนของประเทศไทย จึงทำให้เกิดโรคหรือเกิดการร่วงของผลเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้ผลผลิตที่ได้มีปริมาณที่น้อยและไม่ได้คุณภาพ

อินทผลัมที่รู้จักกันดีในประเทศไทย คือ อินทผลัมพันธุ์แม่โจ้ 36 (KL1) เป็นอินทผลัมพันธุ์รับประทานผลสดที่ปรับปรุงพันธุ์โดย คุณศักดิ์ ลำจวน (โกหลัก) โดยเริ่มทดลองจากการช่วยผสมเกสรให้กับต้นอินทผลัมจนพบว่าอินทผลัมที่เหมาะกับการปลูกในสภาพแวดล้อมของประเทศไทยคืออินทผลัมสายพันธุ์ลูกผสมระหว่าง พันธุ์เด็คเลตนัวร์ (Degletnour) จากประเทศอิสราเอลผสมกับพันธุ์บาร์ฮี (Barhee/Barhi) จากประเทศจอร์แดน โดยผลผลิตจะมีขนาดใหญ่ ผลสดมีเนื้อหวานกรอบ สามารถออกดอกให้ผลผลิตได้ภายใน 2 – 3 ปี ในขณะที่สายพันธุ์จากต่างประเทศต้องใช้ระยะเวลานานถึง 7 ปีในการออกดอก

การศึกษาในครั้งนี้ได้มุ่งศึกษาการขยายพันธุ์อินทผลัมสายพันธุ์แม่โจ้ 36 (KL1) ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อขยายพันธุ์อินทผลัมสายพันธุ์ของไทย ที่เหมาะสมกับสภาพการเพาะปลูกภายในประเทศ หากการศึกษานี้สำเร็จตามวัตถุประสงค์จะสามารถเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์ทางด้านการเกษตรและการพัฒนาเศรษฐกิจของไทยในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการงอกของเมล็ด
2. เพื่อศึกษาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้นของอินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถทำการขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณต้นอ่อนโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และในอนาคตหากสามารถทดสอบเพศได้ตั้งแต่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะสามารถเพิ่มปริมาณในการขยายพันธุ์และส่งเสริมการปลูกให้กับเกษตรกรโดยไม่ต้องเสียเวลารอดูเพศหลังการออกดอกในแปลง

ขอบเขตการศึกษา

ศึกษาการขยายพันธุ์อินทผลัมจากเอ็มบริโอในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

บทที่ 2
ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร

อินทผลัม(Date palm) เป็นไม้ผลในวงศ์ Arecaceae พืชที่จัดอยู่ในวงศ์เดียวกัน เช่น มะพร้าว ปาล์มน้ำมัน ตาล เป็นต้น ชื่อวิทยาศาสตร์ *Phoenix dactylifera* L. มีหลากหลายสายพันธุ์ มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบตะวันออกกลาง เจริญเติบโตได้ดีในภูมิอากาศที่ร้อนและแห้งแล้ง แบบทะเลทราย อินทผลัมมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (รัตนชัย, 2559) ดังนี้

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

1. ต้น

อินทผลัมเป็นไม้ผลยืนต้นมีความสูงได้ถึง 20 – 50 เมตร หรืออาจได้มากกว่านั้นขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมในการปลูก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นทั่วไปจะอยู่ที่ประมาณ 30-40 เซนติเมตร ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ (ภาพที่ 1)

2. ก้านใบและใบ

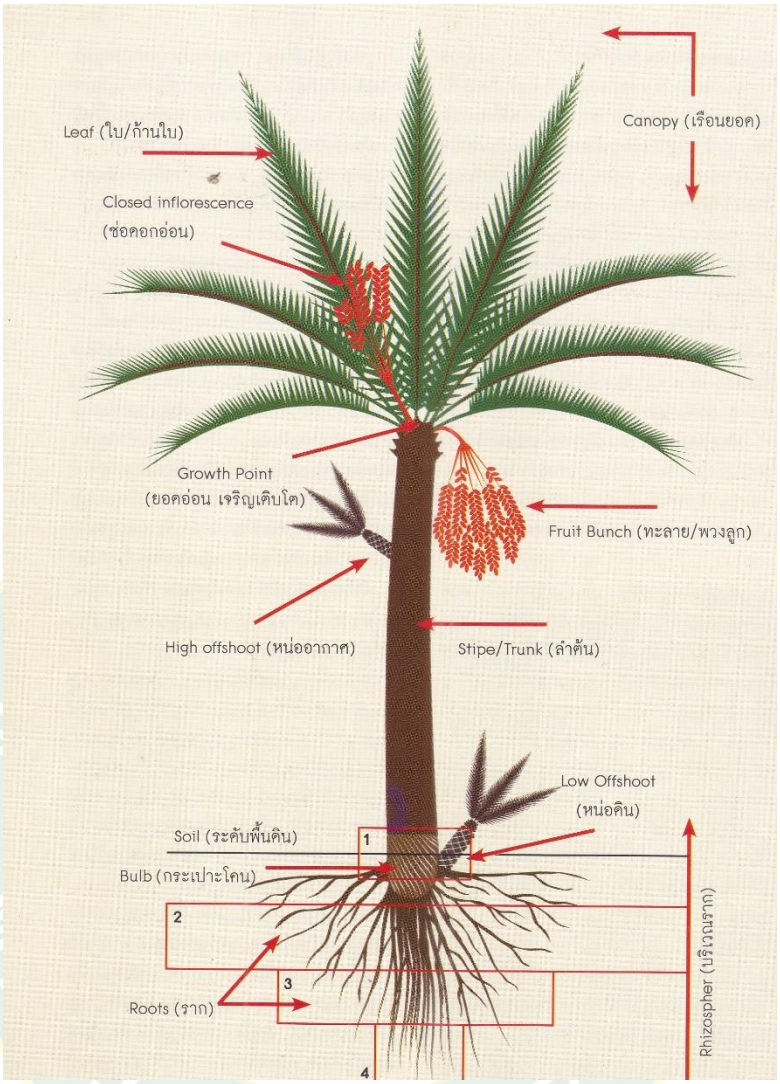
ก้านใบจะมีความยาวประมาณ 3 - 5 เมตร คล้ายขนนก โดยบริเวณโคนของก้านใบจะมีหนามที่แหลมคม ใบจะมีความยาวประมาณ 30 - 50 เซนติเมตร

3. ช่อดอก

ช่อดอกอินทผลัมจะแทงออกมาตามซอกก้านใบ ลักษณะเช่นเดียวกับมะพร้าวนิยมเรียกกันว่า จั่น มีลักษณะเป็นกาบ สีน้ำตาล หลังจากมีการแทงจั่นโดยประมาณ 20 วัน กาบจั่นจะแตกซึ่งจะทำให้เห็นดอกที่อยู่ภายใน สีดอกจะมีสีขาว และดอกเพศผู้กับดอกเพศเมียจะอยู่คนละต้น เกสรตัวผู้จะมีลักษณะเป็นแป้งฝุ่นสีครีมขาว มีกลิ่นหอมอ่อนๆ ส่วนเกสรตัวเมียจะมีลักษณะเป็นเม็ดกลมๆ เท่าหัวไม้ขีด สีไข่มุก

4. ผล

ผลแก่อินทผลัมจะมีหลายลักษณะเช่น ผลกลม ผลรี ผลรียาวคล้ายนิ้วมือ สีจะมีทั้ง สีเหลือง สีแดง สีส้ม หรือสีแดงเข้มไปจนถึงม่วง ลักษณะและขนาดของผลขึ้นอยู่กับสายพันธุ์



ภาพที่ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของอินทผลัม

ที่มา: Munier, 1973 และ Oihabi (1991 อ้างใน รัตนชัย, 2559)

การปลูกและการดูแลรักษา

1. การปลูกอินทผลัม

การเตรียมพื้นที่ปลูกอินทผลัมปัจจัยแรกคือ พื้นที่ต้องได้รับแสงแดดตลอดทั้งวัน ปลอดโปร่ง อากาศถ่ายเทได้สะดวก มีแหล่งน้ำที่สามารถให้น้ำได้ในหน้าแล้ง ระยะห่างในการปลูกที่เหมาะสมคือ 7 x 7 เมตร หรือ 8 x 8 เมตร เนื่องจากอินทผลัมเมื่อโตเต็มที่จะมีทางใบกว้างยาวโดยประมาณ 3.2 –

3.5 เมตร ขนาดของหลุมที่เหมาะสมคือขนาด 80 x 80 x 80 เซนติเมตร และ 100 x 100 x 100 เซนติเมตร (กว้างxยาวxสูง) รองก้นหลุมด้วยปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก ขุยมะพร้าว ขี้เถ้าแกลบ แกลบหมัก แล้วนำดินที่ขุดขึ้นมา 3 ส่วน ผสมกับปุ๋ยคอก 1 ส่วน ถมกลับลงไปในหลุมสูงจนเป็นเนิน แล้วนำต้นกล้าลงปลูกให้กระปุกโคนต้นกล้าเสมอพอดีกับหน้าดิน

2. การให้น้ำ

อินทผลัมเป็นพืชที่ต้องการน้ำพอสมควร เมื่อต้นอินทผลัมเจริญเติบโตได้ประมาณ 3 ปีขึ้นไป จะเริ่มกระบวนการสะสมอาหาร ในช่วงระหว่างเดือนธันวาคม-มกราคม จะเริ่มสร้างตาดอกภายในซอกของกาบใบภายในลำต้น เป็นช่วงที่ต้องการให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ อย่างน้อยอาทิตย์ละครั้ง จะทำให้ต้นอินทผลัมสะสมสารอาหารอย่างต่อเนื่องเพื่อสร้างตาดอกที่สมบูรณ์ และจะต้องให้น้ำแบบนี้จนกว่าจะเข้าฤดูฝน จากนั้นพิจารณาตามความเหมาะสมจากสภาพอากาศ แต่ไม่ควรปล่อยให้ต้นขาดน้ำ

3. การใส่ปุ๋ย

การให้ปุ๋ยอินทผลัมควรให้ปุ๋ยคอกเป็นหลักโดยราวๆ ปีละ 4 ครั้งหรือ 3 เดือนต่อครั้ง บริเวณรอบๆ โคนต้น และเสริมด้วยธาตุอาหารเสริมปีละ 2 ครั้ง ช่วง 3 ปีแรกควรใช้ปุ๋ยสูตร 25 - 7 - 7, 20 - 10 - 10 ผสมกับปุ๋ยคอกเพื่อสร้างราก สร้างลำต้นให้สมบูรณ์ หลังจากอายุ 3 ปี ช่วงเดือนธันวาคม-มกราคม เป็นช่วงที่ต้นสะสมอาหารสร้างตาดอก ควรให้ปุ๋ยสูตร 8 - 24 - 24 ลดปุ๋ยคอกให้น้อยลง พรวนดิน และกำจัดวัชพืช รอบๆ บริเวณต้น เมื่อต้นเริ่มให้ผลผลิตในระยะติดผลให้เสริมปุ๋ยทางใบ

4. การตัดแต่งใบ

การตัดแต่งใบเก่ารวมถึงการตัดหนาม (เงี่ยงแหลม) ทิ้ง ปกติจะตัดปีละ 1 ครั้งในช่วงเดือนมกราคม หรือช่วงที่ต้นเริ่มแทงจั่นออกมา เพื่อเตรียมการผสมเกสร ไม่ให้ใบเก่าเป็นที่อยู่อาศัยของแมลง และป้องกันไม่ให้เกิดอันตรายในขณะทำงาน เนื่องจากบริเวณโคนใบอินทผลัมจะมีหนามที่แข็งและยาว การตัดใบเก่า ต้องตัดเฉพาะก้านใบด้านล่างเท่านั้น ให้ก้านใบยังคงแผ่กว้างออกไปรอบๆ ต้น ไม่ควรตัดก้านใบด้านข้างรอบต้นออกเพราะต้นจะเหลือใบน้อยเกินไป ข้อควรระวังคือ ต้องอย่าให้เกิดแผลบริเวณลำต้นเพราจะทำให้ด้วงงวง เข้ามาวางไข่ที่บริเวณรอยแผลได้

5. การผสมเกสร

อินทผลัมมีต้นตัวผู้และต้นตัวเมียแยกต้นกัน การผสมโดยวิธีธรรมชาติคือลมและแมลงจึงทำให้อินทผลัมติดลูกไม่ดก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้แรงงานคนช่วยสำหรับการผสมเกสร ปกติแล้ว

อินทผลัมต้นตัวผู้จะออกดอกก่อนต้นตัวเมีย จึงต้องดำเนินการเก็บเกสรต้นตัวผู้ไว้รอผสมให้กับเกสรต้นตัวเมีย เมื่อจั่นตัวผู้แตกดอกออกมาเห็นกลีบดอกสีขาวเป็นแฉกๆ ให้นำถุงพลาสติกมาคลุมแล้วผูกปากถุงไว้จากนั้นตัดช่อดอกออกมาแล้วนำมาเขย่าจะได้ละอองเกสรตกลงมา ให้นำละอองเกสรมาใส่ถุงแล้วไล่อากาศออกปิดปากถุงให้สนิทแล้วนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นช่องปกติ ช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการผสมเกสรคือช่วงเช้า โดยนำเกสรต้นตัวผู้ที่เก็บไว้บางส่วนมาใส่ถุงพลาสติกเขย่าถุงให้ละอองเกสรฟุ้งกระจายในถุง แล้วนำไปครอบดอกตัวเมียเขย่าให้ละอองเกสรผสมกันโดยควรทำซ้ำอีก 1 ครั้งในวันต่อมา หากหลังการผสมเกสรไปแล้ว 4 – 6 ชั่วโมงเกิดฝนตกจะต้องดำเนินการผสมเกสรใหม่ เพื่อให้อินทผลัมติดผลได้ดีขึ้น

6. การตัดแต่งช่อผล

จะต้องทำการปลิดผลอินทผลัมบางส่วนในช่วงที่ผลยังมีขนาดเล็กออกบ้าง เพื่อให้ผลอินทผลัมที่เหลืออยู่มีขนาดใหญ่ มีคุณภาพที่ดี สุกเร็ว มีราคาสูง เป็นที่ต้องการของตลาดโดยจำนวนผลที่เหมาะสมอยู่ที่ประมาณ 20 – 25 ผลต่อก้าน และต้องมีประมาณ 40 – 45 ก้านต่อช่อ เนื่องจากหากปล่อยให้แต่ละช่อมีจำนวนก้านและมีผลผลิตดกมากจนเกินไปจะทำให้ผลที่ได้มีขนาดเล็กและมีผลที่ไม่สมบูรณ์

การขยายพันธุ์อินทผลัม

การขยายพันธุ์พืช คือ การเพิ่มจำนวนต้นพืชที่มีอยู่ให้มีจำนวนมากขึ้นโดยใช้ส่วนต่างๆ ของพืช สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ การขยายพันธุ์โดยอาศัยเพศ และการขยายพันธุ์โดยไม่อาศัยเพศ (จิรนันท์ และ พาวิน, 2553) การขยายพันธุ์ของอินทผลัมสามารถขยายพันธุ์ได้ทั้งหมด 3 วิธี คือ การเพาะเมล็ด การแยกหน่อจากต้นแม่ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1. การเพาะเมล็ด

การเพาะเมล็ด คือ การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ ขยายพันธุ์ได้เร็ว ต้นทุนในระยะเริ่มต้นต่ำกว่าวิธีการอื่นๆ แต่เนื่องจากอินทผลัมเป็นพืชที่ไม่สมบูรณ์เพศเมล็ดที่ได้อาจมีโอกาสเป็นต้นตัวผู้และต้นตัวเมียได้อย่างละครึ่ง ซึ่งจะไม่สามารถทราบเพศได้ทันทีหลังจากการเพาะเมล็ด แต่ต้องรอจนกว่าอินทผลัมจะออกดอกจึงจะทราบเพศได้อย่างชัดเจน หากได้ต้นตัวเมียไปปลูกลูกที่ได้ก็อาจไม่เหมือนต้นแม่ เนื่องจากผลผลิตที่ได้ของอินทผลัมมาจากการผสมกันข้ามต้นจึงถือว่าเมล็ดที่ได้เป็นพันธุ์ลูกผสม คุณภาพทั้งขนาดและรสชาติจึงอาจจะแย่ลงหรือใกล้เคียงกับต้นแม่ก็ได้

ข้อดีของการเพาะเมล็ด

1. ขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว ต้นทุนต่ำ เจริญเติบโตได้ดี
2. มีรากแก้ว สามารถหยั่งในดินได้ลึกหาน้ำและอาหารได้ดี
3. ทำได้ทุกฤดูกาล

ข้อเสียการเพาะเมล็ด

1. อินทผลัมเป็นพืชที่ไม่สมบูรณ์เพศ การขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้จึงไม่สามารถบ่งบอกได้ว่าต้นไหนเพศผู้ ต้นไหนเพศเมีย

2. ต้นที่ได้จะมีลักษณะทางพันธุกรรมที่แตกต่างออกไปจากต้นแม่ เช่น บางต้นอาจมีการเจริญเติบโตที่ช้า-เร็ว ผลโต ผลเล็ก ความฝาด ความหวาน สีสัน จะไม่เหมือนกัน ส่งผลให้การควบคุมผลผลิตทำได้ยาก

2. การแยกหน่อจากต้นแม่

การแยกหน่อเป็นการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ต้นที่ได้จะเป็นสายพันธุ์ที่มีลักษณะเหมือนต้นแม่ทุกประการ แต่อินทผลัมสามารถให้หน่อได้เฉลี่ยประมาณเพียง 20 – 30 หน่อ/ต้น ตลอดอายุ ซึ่งจำนวนหน่ออินทผลัมจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ เช่น อินทผลัมที่ให้หน่อได้เยอะ คือ อินทผลัมสายพันธุ์ Zahidi, Berim และ Hayani สายพันธุ์ที่ให้หน่อน้อย คือ Mektoum และ Barhi หน่อจะเกิดขึ้นที่ซอกใบ โดยใช้ระยะเวลาประมาณ 2 – 5 ปี ถึงจะสามารถนำมาปลูกได้ โดยหน่อจะทยอยเกิดขึ้นในช่วงไม่เกิน 15 ปีแรก และสามารถแยกไปปลูกได้ปีละประมาณ 3 – 4 หน่อ วิธีนี้จึงไม่สามารถขยายพันธุ์ได้ในปริมาณมากและใช้เวลานาน

ข้อดีการแยกหน่อจากต้นแม่

1. หน่อที่แยกจากต้นแม่จะมีพันธุกรรมเหมือนต้นแม่ทุกประการ
2. สามารถทราบเพศได้อย่างชัดเจน
3. ผลผลิตที่ได้จะเหมือนกันทุกต้น
4. สามารถให้ผลผลิตได้เร็วหลังปลูก

ข้อเสียการแยกหน่อจากต้นแม่

1. ราคาหน่อสูง เนื่องจากหน่อที่ได้มีจำนวนจำกัด ไม่เพียงพอต่อความต้องการ
2. ต้องดูแลเอาใจใส่ในระยะแรกที่แยกหน่อมาปลูก เพราะสามารถเกิดเชื้อราโรคเน่าเน่าได้ง่าย

3. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหรือการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเช่นเดียวกับการแยกหน่อจากต้นแม่ คือการนำชิ้นส่วนต่างๆ ของพืช มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อให้ได้ต้นใหม่ ในจำนวนที่มากขึ้น และได้ลักษณะเหมือนต้นแม่ทุกประการ เทคนิคนี้นิยมใช้ในการขยายพันธุ์ การปรับปรุงพันธุกรรม งานด้านโรคพืช และการเก็บรักษาพันธุ์พืช (นันทิยา, 2553)

ปัจจุบันเกษตรกรให้ความสนใจในการปลูกอินทผลัมเพิ่มขึ้นจึงมีการศึกษาการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมากขึ้น เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นที่มากในเวลาอันรวดเร็วกว่าวิธีอื่น Kurup et al. (2014) ได้ทดลองการชักนำการเกิดแคลลัสของอินทผลัมสายพันธุ์ Kheneizi โดยทำการเพาะเลี้ยงใบบนอาหารแข็งสูตร Murashige and Skoog, 1962 (MS) ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 10 50 100 และ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุดคือ สูตรอาหาร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 73.33 เปอร์เซ็นต์ และที่ชักนำให้เกิดแคลลัสได้น้อยที่สุดคือสูตรอาหาร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 14.28 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นมีการศึกษาการชักนำ somatic embryos โดยใช้อาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) และ 6-Benzylaminopurine (BAP) ดังนี้ MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร, MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ความเข้มข้น 1.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ความเข้มข้น 2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลที่ได้พบว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิด somatic embryos คือสูตรอาหาร MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 40.36 เปอร์เซ็นต์ จากผลการศึกษา พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มข้นขึ้น คือ สูตรอาหาร MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BAP ความเข้มข้น 2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้ความสามารถในการชักนำให้เกิด somatic embryos ลดลงคิดเป็น 4.62 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ผลการทดลองตรงกับ Rashid and Quraishi (1994) ในการศึกษาการขยายพันธุ์อินทผลัมที่ใช้สูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมือนกัน สำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยการใช้ใบอ่อน El Bar and Dawayati (2014) กล่าวว่า ในการเพาะเลี้ยงใบอ่อนอินทผลัมสายพันธุ์ sakoty ตลอดระยะเวลา 8 - 10 เดือน โดยใช้สูตรอาหาร MS ผสมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกันทั้งหมด 6 สูตร พบว่า สูตรอาหาร MS ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้สูงถึง 66.66 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการชักนำการเกิดรากพบการเกิดรากถึง 55.55 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร MS

ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร พรทิพย์ และ ฐิติพร (2537) ได้ทำการศึกษาการออกดอกของอินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อ โดยการตัดชิ้นส่วน germinated tube ที่งอกออกจากเมล็ดตั้งแต่ 1 - 6 สัปดาห์ ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ผสมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช IAA BAP และ NAA เป็นเวลา 6 เดือน พบว่า สูตรอาหาร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต IAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ glucose 50 กรัมต่อลิตร โดยเลี้ยงไว้ที่สภาพอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ช่วงแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มข้นประมาณ 3000 ลักซ์ สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วน germinated tube อินทผลัม เกิดการสร้างต้นใหม่และออกดอกได้ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยมีดอกตัวผู้กับดอกตัวเมียในอัตราที่เท่าๆกัน แต่การศึกษานี้ยังสามารถชักนำให้เกิดดอกขึ้นได้เพียง 15 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช คือ สารอินทรีย์ที่ไม่จำกัดว่าพืชจะสามารถสร้างขึ้นเองได้หรือมนุษย์สังเคราะห์ขึ้น (พีรเดช, 2529) โดยใช้ระดับความเข้มข้นที่ต่ำมากๆ จะมีผลให้สามารถควบคุมการเจริญเติบโตและพัฒนาการต่างๆ ของพืชได้ตั้งแต่การงอกจนถึงการตาย (นพดล, 2555)

1. ออกซิน (Auxins)

Auxins มาจากคำภาษากรีกว่า auxein หมายถึง เจริญเติบโต ออกซิน เป็นคำที่เรียกสารประกอบที่มีความสามารถในการกระตุ้นการยืดยาวของเซลล์ การเกิดราก การหลุดร่วง (นพดล, 2555) ออกซินสังเคราะห์ที่นิยมนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ทางเกษตร เช่น 1-Naphthaleneacetic acid (NAA), Indole-3-butyric acid (IBA), 2- (2, 4-dichlorophenoxy) acetic acid (2, 4-D) และ dicamba เป็นต้น สารกลุ่มนี้จะสลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกแสง จึงไม่ควรเก็บไว้ในที่ที่มีแสง (ประสาทพร, 2541)

2. ไซโตไคนิน (Cytokinins)

Cytokinins เป็นสารประกอบที่มีกลุ่ม adenine ที่ช่วยส่งเสริมการแบ่งเซลล์ การสร้างอวัยวะ การเพิ่มขนาดเซลล์ การพัฒนาของตาและกิ่งก้าน ปัจจุบันไซโตไคนินที่สังเคราะห์เพื่อนำมาใช้ประโยชน์มีด้วยกันหลายชนิด เช่น benzylaminopurine (BA), Kinetin เป็นต้น (นพดล, 2555)

3. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชตระกูลปาล์ม

ทรรศณีย์ และ สมปอง (2555) ได้ทำการศึกษาการชักนำและการเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราและการตรวจสอบความแปรปรวนโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี โดยนำชิ้นส่วนแคลลัสอายุ 4 ปีที่ชักนำจากเอ็มบริโอที่มีอายุ 3 เดือนมากระตุ้นให้เกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส(embryonic callus) พบว่า หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน ที่อุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส ในสภาพการให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวันที่ความเข้มแสง 25 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสให้มีการเจริญได้ถึง 315 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแคลลัสเริ่มต้น และทำการย้ายแคลลัสดังกล่าวลงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม dicamba ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน ทำให้เกิดการชักนำตะกอนเซลล์ (embryogenic cell suspension) โดยได้ปริมาตรตะกอนเซลล์ 2.41 มิลลิลิตร เมื่อย้าย embryogenic cell suspension ที่ได้มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS โดยเติมน้ำตาลซอร์บิทอล ความเข้มข้น 36.434 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน จะสามารถส่งเสริมการพัฒนาให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอ (somatic embryos) ได้ 5.6 เอ็มบริโอต่อตะกอนเซลล์ 1 มิลลิลิตร นำตะกอนเซลล์ และ โซมาติกเอ็มบริโอ ไปตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี พบว่า ไม่พบความแปรปรวนทางพันธุกรรมจากแคลลัสหรือโซมาติกเอ็มบริโอที่เกิดขึ้น

จิระศักดิ์ และคณะ (2553) ได้ทำการศึกษาการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์การค้าในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า เมื่อเลี้ยงเอ็มบริโอในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.012 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถทำให้เกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส ได้ในระยะเวลา 335 วัน แต่ไม่สามารถพัฒนาต่อไปเป็นโซมาติกที่สมบูรณ์ได้

Hilae and Te-chato (2005) ทำการศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนและองค์ประกอบของธาตุอาหารสูตร MS ต่อการงอกของโซมาติกเอ็มบริโอปาล์มน้ำมัน พบว่า การชักนำให้เกิดการงอกของโซมาติกเอ็มบริโอ โดยการใช้สูตรอาหาร MS ร่วมกับแมนนิทอลความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ สามารถเกิดโซมาติกเอ็มบริโอได้ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำยอดของปาล์มน้ำมันมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ทำให้เกิดรากได้ถึง 31.25 เปอร์เซ็นต์

ชยานิจ และคณะ (2552) ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันโดยการใช้ชิ้นส่วน คัพภะอ่อน ช่อดอกอ่อน และใบอ่อน เลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ Y3 ที่เติม dicamba ความเข้มข้นต่างกัน พบว่า เมื่อใช้สูตรอาหาร MS ที่เติม dicamba ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ส่งผลให้มีการเกิดแคลลัสมาที่สุดถึง 83.30 เปอร์เซ็นต์ ในชิ้นส่วนของคัพภะอ่อน และ 15.8 เปอร์เซ็นต์ ในชิ้นส่วนของช่อดอกอ่อน และเมื่อใช้อาหารสูตร Y3 พบว่า การเกิดแคลลัสสูงที่สุดคือ

การใช้ส่วนของใบอ่อน ที่เติม dicamba ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ เกิดแคลลัสสูงสุด 24.63 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำแคลลัสที่ได้มาทำการเพิ่มปริมาณ พบว่า แคลลัสที่เกิดจากใบอ่อนสามารถเพิ่มปริมาณได้มากถึง 9.13 เท่าและ แคลลัสที่ได้จากคัพภะอ่อนเพิ่มปริมาณได้ถึง 7.02 เท่า บนสูตรอาหาร MS ที่เติม dicamba ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ส่วนแคลลัสที่เกิดจากช่อดอกอ่อนสามารถเพิ่มปริมาณได้เพียง 3.87 เท่า บนสูตรอาหาร MS ที่เติม dicamba ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ หลังจากทำการศึกษา พบว่า เมื่อเลี้ยงแคลลัสที่ได้จาก คัพภะอ่อน ช่อดอกอ่อน และ ใบอ่อน บนอาหารสูตร Y3 ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ abscisic acid ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ ทำให้เกิดการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสได้สูงถึง 50.01, 20.04 และ 46.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และส่งผลให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอถึง 40.08, 13.36 และ 33.34 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ บนอาหารสูตรเดียวกัน ซึ่งโซมาติกเอ็มบริโอที่ได้ สามารถเจริญเป็นยอดได้ 4 - 5 ยอด ติดกันเป็นกลุ่มโดยที่ไม่มีราก

ไพบูลย์ และ ถิรพงศ์ (2527) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน โดยพบว่าเมื่อนำส่วนของรากมากระตุ้นให้เกิดแคลลัสสามารถทำได้ง่ายและรวดเร็ว เมื่อเทียบกับการเลี้ยงจากส่วน ยอดและใบอ่อน บนสูตรอาหาร Y3 ร่วมกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 2,4-D ที่ความเข้มข้น 2 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้เวลาในการขยายแคลลัส 3 - 4 เดือน เพื่อเพิ่มปริมาณแคลลัสให้ได้ถึง 2 เท่า ส่วนเรื่องการเลี้ยงเอ็มบริโอในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าเอ็มบริโอที่นำมาเลี้ยงสามารถเจริญเป็นต้นที่มีใบและรากแบบสมบูรณ์ได้

ศตปพร และ สมปอง (2557) ได้ศึกษาผลของ dicamba ต่อการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอและการพัฒนาเป็นต้นของปาล์มน้ำมัน โดยใช้สูตรอาหาร ARDA ร่วมกับ dicamba ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยย้ายทุกเดือนเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า dicamba ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ กรดแอสคอร์บิค ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้น้ำหนักสดของเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสมีค่าเฉลี่ย 0.33 กรัม และโซมาติกเอ็มบริโอเฉลี่ย 30 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับความเข้มข้นอื่นๆ และเมื่อย้ายโซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สอง มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ร่วมกับ ซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ กรดแอสคอร์บิค ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 3 เดือน ทำให้เกิดการสร้างยอด ราก และการพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ ต่อชิ้นส่วนเฉลี่ย 10.40 ยอด 8.20 ราก และ 7.20 ต้น ตามลำดับ

ตารางที่ 1 แสดงผลการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน

ชิ้นส่วนพืช	สูตรอาหาร	สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช	การพัฒนาของพืช	อ้างอิง
เอ็มบริโอ	อาหารแข็ง MS	0.012 mg/L 2,4-D + 2 mg/L IAA	เอ็มบริโอเจนิคแคลลัส	จิระศักดิ์ และคณะ (2553)
ใบอ่อน	อาหารแข็ง MS	1-5 mg/L dicamba + 200 mg/L ascorbic acid	โซมาติกเอ็มบริโอ	Hilae and Te-chato (2005)
ราก	อาหารแข็ง Y3	2 และ 10 mg/L 2,4-D	แคลลัส	ไพบูลย์ และถิรพงศ์ (2527)
แคลลัส	อาหารแข็ง MS	0.3 mg/L dicamba + 200 mg/L กรดแอสคอร์บิก	เอ็มบริโอเจนิคแคลลัส	ทรรศณีย์ และ สมปอง (2555)
เอ็มบริโอเจนิคแคลลัส	อาหารเหลว MS	0.3 mg/L dicamba	ตะกอนเซลล์	
ตะกอนเซลล์	อาหารเหลว MS	36.434 g/L น้ำตาลซอร์บิทอล	โซมาติกเอ็มบริโอ	
คัพภะอ่อน	อาหารแข็ง MS	10 µM dicamba +	แคลลัส	ชยานิจและคณะ (2552)
แคลลัส	อาหารแข็ง Y3	10 µM NAA + 2 µM abscisic acid	เอ็มบริโอเจนิคแคลลัส	
โซมาติกเอ็มบริโอ	อาหารแข็ง MS	-	ยอด	
เอ็มบริโอเจนิคแคลลัส	อาหารแข็ง ARDA	0.2 mg/L dicamba + 200 mg/L ascorbic acid	โซมาติกแคลลัส	ศตปพร และ สมปอง (2557)
โซมาติกแคลลัส	อาหารแข็ง MS	200 mg/L ascorbic acid	ยอด	

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

ในการศึกษาการขยายพันธุ์อินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อ ใช้อินทผลัมจาก สวนโกหลัก อำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิต่อการงอกของเมล็ด การทดลองที่ 2 ศึกษาการชักนำแคลลัส (Callus) ของอินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อ การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการพัฒนาแคลลัสเพื่อการชักนำการเกิดยอดในสภาพปลอดเชื้อ

วัสดุและอุปกรณ์

1. ชิ้นส่วนพืชสำหรับใช้ศึกษา คือ เมล็ดอินทผลัมพันธุ์แม่โจ้ 36
2. สารเคมีต่างๆ ได้แก่
   2.1 สารเคมีฆ่าเชื้อ คือ สารละลายคลอรอกซ์ และ แอลกอฮอล์
   2.2 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารวุ้นสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ชนิดและปริมาณสารเคมีที่ใช้ต่อลิตรตามตารางที่ 2
   2.3 สารเคมีในกลุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชคือ 2- (2, 4-dichlorophenoxy) acetic acid (2, 4-D), 1-Naphthaleneacetic acid (NAA), Kinetin และ dicamba
3. อุปกรณ์สำหรับเตรียมอาหาร ได้แก่ เครื่องชั่ง เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง หม้อนึ่งความดัน และเครื่องแก้วต่างๆ
4. อุปกรณ์ในการย้ายเนื้อเยื่อ ได้แก่ ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ มีดผ่าตัด ปากคีบ ตะเกียงแอลกอฮอล์
5. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
6. อุปกรณ์บันทึกข้อมูล เช่น ปากกา สมุด กล้องถ่ายรูป เป็นต้น

ตารางที่ 2 ชนิดและปริมาณสารเคมีที่ใช้ในสูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962)

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
NH_4NO_3	1,650
KNO_3	1,900
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
H_3BO_3	6.2
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	6.9
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	6.14
Kl	0.83
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025
$Na_2 \cdot EDTA$	37.25
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27.85
Glycine	2.0
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Sucrose	30,000

วิธีการดำเนินการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิต่อการงอกของเมล็ด

ศึกษาผลของอุณหภูมิที่ส่งผลต่อการงอกของเมล็ดด้วยการเพาะเมล็ดใน Water agar และเก็บไว้ในที่มืดที่ใช้อุณหภูมิ 25, 28 และ 30 องศาเซลเซียสในระยะเวลาที่ต่างกัน ใช้เวลาเพาะทั้งหมด 5 สัปดาห์ โดยกำหนดให้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นตัวควบคุม วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 9 กรรมวิธีๆ ละ 5 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 Control (อุณหภูมิห้อง)
กรรมวิธีที่ 2 เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 3 เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 4 เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 5 เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 6 เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 7 เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 8 เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 9 เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 สัปดาห์

การบันทึกผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดที่ 7 – 35 วันหลังเพาะเมล็ด คำนวณจาก (จำนวนเมล็ดที่งอก x 100)/จำนวนเมล็ดทั้งหมดที่เพาะ
2. ดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ด (Speeds of Germination Index; SGI) ที่ 7 – 35 วันหลังเพาะเมล็ด คำนวณจาก ผลรวมของ (จำนวนเมล็ดที่งอกในแต่ละวันที่ตรวจนับ/วันที่ตรวจนับหลังเพาะ) เริ่มนับการงอกของเมล็ดตั้งแต่เริ่มแทงรากโดยประมาณ 2-5 มิลลิเมตร
3. การวัดความยาวของ germinated tube ที่ 7 – 35 วันหลังเพาะเมล็ด

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำผลการทดลองมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Sirichai verion 6 และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละสิ่งทดลองโดยวิธี Duncan’s Multiple Range Test (DMRT)

การทดลองที่ 2 ศึกษาการชักนำแคลลัส (Callus) ของอินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) โดยนำเมล็ดอินทผลัมพันธุ์แม่โจ้ 36 ที่ได้รับการผสมเกสรแล้วตั้งแต่อายุ 1 – 5 เดือนมาทำการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัส โดยนำเมล็ดที่ได้มาทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย Clorox ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ที่เติม Tween-20 ปริมาณ 5 หยดเป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ต่อด้วยการฟอกฆ่าเชื้อสารละลาย Clorox ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ที่เติม Tween-20 ปริมาณ 5 หยด เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ทำการผึ่งให้แห้งในตู้ย้ายเนื้อเยื่อ จากนั้นทำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่มีปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 2, 4-D ความเข้มข้น 2 - 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ dicamba ความเข้มข้น 0.55 – 3.32 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 3) ผงวุ้น 3 กรัมต่อลิตร ปรับ pH = 5.7 เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ในที่มืดมี 12 กรรมวิธีๆ ละ 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหาร MS - Free
กรรมวิธีที่ 2 สูตรอาหาร MS + 2 mg/L 2,4-D
กรรมวิธีที่ 3 สูตรอาหาร MS + 4 mg/L 2,4-D
กรรมวิธีที่ 4 สูตรอาหาร MS + 6 mg/L 2,4-D
กรรมวิธีที่ 5 สูตรอาหาร MS + 8 mg/L 2,4-D
กรรมวิธีที่ 6 สูตรอาหาร MS + 10 mg/L 2,4-D
กรรมวิธีที่ 7 สูตรอาหาร MS + 0.55 mg/L dicamba
กรรมวิธีที่ 8 สูตรอาหาร MS + 1.10 mg/L dicamba
กรรมวิธีที่ 9 สูตรอาหาร MS + 1.66 mg/L dicamba
กรรมวิธีที่ 10 สูตรอาหาร MS + 2.21 mg/L dicamba
กรรมวิธีที่ 11 สูตรอาหาร MS + 2.76 mg/L dicamba
กรรมวิธีที่ 12 สูตรอาหาร MS + 3.32 mg/L dicamba

การเก็บข้อมูล

1. เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส โดยคำนวณจาก (จำนวนแคลลัส x 100)/จำนวนเอ็มบริโอทั้งหมด
2. ปริมาณน้ำหนักสดแคลลัส

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำผลการทดลองมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Sirichai verion 6 และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละสิ่งทดลองโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 3 ค่าแปลงจากมิลลิกรัมต่อลิตรเป็นไมโครโมลาร์ของสารควบคุมการเจริญเติบโต (Dixon and Gonzales, 1994)

ชนิดของ PGR	**NAA**	**2,4-D / dicamba**	**IAA**	**IBA**	**BAP**	**Kinetin**	**2iP**	**Zeatin**
น้ำหนักโมเลกุล	186.2	221.0	175.2	203.2	225.2	215.2	203.2	219.2
มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)	**ไมโครโมลาร์ (µM)**							
0.05	0.27	0.226	0.285	0.246	0.222	0.232	0.246	0.228
0.10	0.54	0.452	0.570	0.492	0.444	0.465	0.492	0.456
0.25	1.34	1.13	1.43	1.23	1.11	1.16	1.23	1.14
0.50	2.69	2.26	2.85	2.46	2.22	2.32	2.46	2.28
1.0	5.37	4.52	5.71	4.92	4.44	4.65	4.92	4.56
5.0	26.85	22.62	28.54	24.61	22.20	23.23	24.61	22.81
10.0	53.71	45.25	57.08	49.21	44.40	46.47	49.21	45.62
25.0	134.26	113.12	142.69	123.03	111.01	116.17	123.03	114.05
50.0	268.53	226.24	285.39	246.06	222.02	232.34	246.06	228.10

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการพัฒนาแคลลัสเพื่อการชักนำการเกิดยอดในสภาพปลอดเชื้อ

นำแคลลัสที่ได้จากทดลองที่ 2 มาดำเนินการชักนำให้เกิดยอด โดยเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรต่างๆ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1. การชักนำการเกิดยอดจากแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย 2, 4 - D ในเอ็มบริโออายุ 3 และ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร โดยทำการย้ายแคลลัสลงบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช NAA ความเข้มข้น 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin ความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครส (Sucrose) 2 ความเข้มข้นคือ 30 และ 45 กรัมต่อลิตร ปรับ pH = 5.7 ทำการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชภายใต้สภาพอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ วันละ 16 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) จำนวน 5 ซ้ำ ทำการย้ายอาหารทุก 4 สัปดาห์

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหาร MS + 30 g/L Sucrose

กรรมวิธีที่ 2 สูตรอาหาร MS + 2 mg/L NAA + 0.2 mg/L Kinetin + 30 g/L Sucrose

กรรมวิธีที่ 3 สูตรอาหาร MS + 4 mg/L NAA + 0.4 mg/L Kinetin + 30 g/L Sucrose

กรรมวิธีที่ 4 สูตรอาหาร MS + 45 g/L Sucrose

กรรมวิธีที่ 5 สูตรอาหาร MS + 4 mg/L NAA + 0.4 mg/L Kinetin + 45 g/L Sucrose

2. การชักนำการเกิดยอดจากแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย dicamba ในเอ็มบริโออายุ 3 และ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร โดยทำการย้ายแคลลัสลงบนอาหารสูตรใหม่ที่ปรับปริมาณ dicamba ลดลงเหลือเพียง 0.11 และ 0.22 มิลลิกรัมต่อลิตร พร้อมทั้งปรับปริมาณ Sucrose ออกเป็น 2 ความเข้มข้นคือ 30 และ 45 กรัมต่อลิตร ปรับ pH = 5.7 ทำการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชภายใต้สภาพอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ วันละ 16 ชั่วโมง และย้ายอาหารทุก 4 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) จำนวน 6 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหาร MS + 30 g/L Sucrose

กรรมวิธีที่ 2 สูตรอาหาร MS + 45 g/L Sucrose

กรรมวิธีที่ 3 สูตรอาหาร MS + 0.11 mg/L dicamba + 30 g/L Sucrose

กรรมวิธีที่ 4 สูตรอาหาร MS + 0.22 mg/L dicamba + 30 g/L Sucrose

กรรมวิธีที่ 5 สูตรอาหาร MS + 0.22 mg/L dicamba + 45 g/L Sucrose

การเก็บข้อมูล

1. เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด โดยคำนวณจาก (จำนวนยอด x 100)/จำนวนแคลลัสทั้งหมด
2. เปอร์เซ็นต์การรอดตายหลังการย้ายอาหาร (จำนวนแคลลัสที่รอดตายหลังการย้ายอาหาร x 100)/จำนวนแคลลัสทั้งหมด
3. เปอร์เซ็นต์การเกิดรากของแคลลัส (จำนวนแคลลัสที่เกิดราก x 100)/จำนวนแคลลัสทั้งหมด

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำผลการทดลองมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Sirichai verion 6 และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละสิ่งทดลองโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ศูนย์กล้วยไม้และไม้ดอกไม้ประดับ อาคารเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิต่อการงอกของเมล็ด

1. เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด

จากการศึกษาการเพาะเมล็ดอินทผลัมด้วยอุณหภูมิ 25, 28 และ 30 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาที่ต่างกัน พบว่า เมล็ดอินทผลัมสามารถงอกได้ตั้งแต่ 7 วันหลังเพาะในที่มืด และมีผลเปอร์เซ็นต์การงอกที่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อระยะเวลาผ่านไป 35 วันหลังเพาะเมล็ดเมล็ดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สามารถกระตุ้นการงอกได้ 50 – 80 เปอร์เซ็นต์ และพบว่า เมล็ดที่เก็บไว้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ มีการงอกสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดที่เก็บรักษาในอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส สามารถกระตุ้นการงอกได้ 40 – 65 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดที่เก็บรักษาในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สามารถกระตุ้นงอกได้น้อยสุดเพียง 25 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4)

2. ดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ด (Speeds of Germination Index; SGI)

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อค่าดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ดอินทผลัม พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง คือ เมื่อทำการเพาะเมล็ดอินทผลัมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ ส่งผลให้ดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ดมีค่าสูงที่สุดคือ 0.377 ต้นต่อวัน ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกรรมวิธีอื่นๆ ในขณะที่เพาะเมล็ดอินทผลัมที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ ส่งผลให้ดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ดมีค่าเพียง 0.201 ต้นต่อวัน ส่วนการเพาะเลี้ยงในอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ค่าดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ดมีค่าเพียง 0.097 ต้นต่อวัน (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดอินทผลัมที่ 7-35 วันหลังเพาะ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด				
	7 วัน	**14 วัน**	**21 วัน**	**28 วัน**	**35 วัน**
1. Control (อุณหภูมิห้อง)	10.00^{c}	25.00^{c}	25.00^{c}	25.00^{c}	25.00^{c}
2. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 °C (1 สัปดาห์)	40.00^{ab}	40.00^{bc}	40.00^{bc}	40.00^{bc}	50.00^{b}
3. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 °C (2 สัปดาห์)	35.00^{ab}	40.00^{bc}	40.00^{bc}	45.00^{bc}	40.00^{bc}
4. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 °C (3 สัปดาห์)	45.00^{a}	45.00^{bc}	45.00^{bc}	45.00^{bc}	45.00^{bc}
5. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 °C (4 สัปดาห์)	40.00^{ab}	45.00^{bc}	50.00^{bc}	55.00^{ab}	65.00^{ab}
6. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 °C (1 สัปดาห์)	20.00^{bc}	60.00^{ab}	60.00^{ab}	65.00^{ab}	65.00^{ab}
7. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 °C (2 สัปดาห์)	35.00^{ab}	55.00^{b}	55.00^{ab}	55.00^{ab}	55.00^{b}
8. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 °C (3 สัปดาห์)	10.00^{c}	80.00^{a}	80.00^{a}	80.00^{a}	80.00^{a}
9. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 °C (4 สัปดาห์)	35.00^{ab}	50.00^{bc}	50.00^{bc}	50.00^{bc}	50.00^{b}
F-test	**	**	**	**	**
C.V. (%)	36.27	28.01	29.19	28.71	24.96

หมายเหตุ ** = แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ค่าเฉลี่ย (Mean) ใน Column เดียวกัน ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan’ s New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 5 ดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ดอินทผลัม (Speeds of Germination Index; SGI)

กรรมวิธี	ดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ด (ต้นต่อวัน)
1. Control (อุณหภูมิห้อง)	0.097^{d}
2. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 °C (1 สัปดาห์)	0.163^{cd}
3. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 °C (2 สัปดาห์)	0.156^{cd}
4. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 °C (3 สัปดาห์)	0.201^{bc}
5. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 °C (4 สัปดาห์)	0.193^{bc}
6. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 °C (1 สัปดาห์)	0.255^{b}
7. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 °C (2 สัปดาห์)	0.269^{b}
8. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 °C (3 สัปดาห์)	0.377^{a}
9. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 °C (4 สัปดาห์)	0.273^{b}
F-test	**
C.V. (%)	21.51

หมายเหตุ ** = แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ค่าเฉลี่ย (Mean) ใน Column เดียวกัน ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan' s New Multiple Range Test (DMRT)

3. ความยาว germinated tube

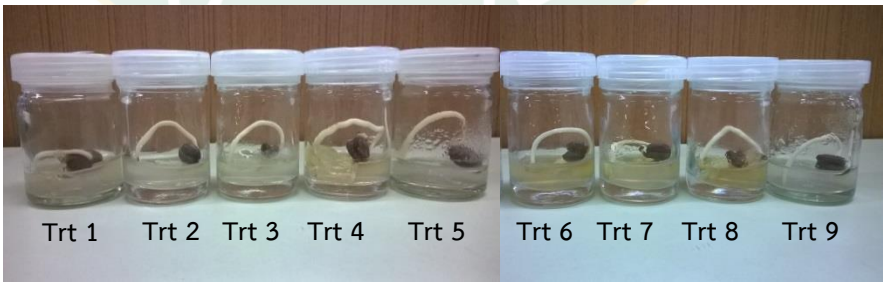
ความยาวของ germinated tube ที่ 7 – 35 วันหลังเพาะเมล็ด พบว่า ผลที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยการเก็บเมล็ดอินทผลัมไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สามารถช่วยกระตุ้นให้เมล็ดมีความยาวของ germinated tube ได้สูงถึง 132.47 มิลลิเมตร ในขณะที่การเก็บเมล็ดอินทผลัมไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส สามารถกระตุ้นให้เมล็ดมีความยาวของ germinated tube ได้น้อยกว่าคือ 117.17 มิลลิเมตร ส่วนการเก็บเมล็ดอินทผลัมไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมล็ดมีความยาวของ germinated tube เพียง 68.83 มิลลิเมตร และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกรรมวิธีอื่นๆ ที่ 35 วันหลังเพาะเมล็ด (ตารางที่ 6 และภาพที่ 2)

ตารางที่ 6 ความยาว germinated tube ของเมล็ดอินทผลัมที่ 7-35 วันหลังเพาะ

กรรมวิธี	ความยาว germinated tube (มิลลิเมตร)				
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน
1. Control (อุณหภูมิห้อง)	2.10^{b}	2.89^{f}	13.85^{e}	41.45^{e}	68.83^{d}
2. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 °C (1 สัปดาห์)	8.33^{a}	11.48^{e}	30.72^{d}	59.19^{d}	95.47^{c}
3. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 °C (2 สัปดาห์)	9.54^{a}	15.96^{cde}	42.25^{c}	81.18^{bc}	117.17^{abc}
4. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 °C (3 สัปดาห์)	8.36^{a}	17.18^{cd}	49.01^{bc}	76.66^{bc}	97.23^{c}
5. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 °C (4 สัปดาห์)	8.40^{a}	14.66^{cde}	45.54^{c}	79.53^{bc}	116.14^{abc}
6. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 °C (1 สัปดาห์)	1.78^{b}	14.53^{de}	38.64^{cd}	70.87^{cd}	99.74^{c}
7. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 °C (2 สัปดาห์)	2.32^{b}	22.59^{ab}	41.00^{c}	74.11^{c}	109.21^{bc}
8. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 °C (3 สัปดาห์)	1.26^{b}	25.85^{a}	56.81^{ab}	95.56^{ab}	123.86^{ab}
9. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 °C (4 สัปดาห์)	1.53^{b}	19.60^{bc}	60.78^{a}	102.71^{a}	132.47^{a}
F-test	**	**	**	**	**
C.V. (%)	51.16	29.96	24.12	19.58	19.49

หมายเหตุ ** = แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ค่าเฉลี่ย (Mean) ใน Column เดียวกัน ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan' s New Multiple Range Test (DMRT)



ภาพที่ 2 การพัฒนาของเมล็ดในระยะเวลา 35 วันหลังการเพาะเมล็ด

วิจารณ์ผลการทดลอง

การพักตัว (Dormancy) คือ สภาพการหยุดเติบโตอย่างชั่วคราวของโครงสร้างใดๆของพืชที่มีจุดเจริญ (meristem) โดยนักเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ได้จำกัดการพักตัวของเมล็ดว่าต้องเกิดจากปัจจัยภายในเท่านั้น คือ ถ้าเมล็ดได้รับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมแล้วไม่งอกจึงเรียกว่าพักตัว แต่ถ้าเมล็ดงอกได้ทันทีเมื่อได้รับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะเรียกว่า quiescent การสิ้นสุดการพักตัวของเมล็ดคือ การกระตุ้นให้เกิดการงอกในเอ็มบริโอทั้งหมดรวมทั้งการยืดตัวของรากและลำต้น การพักตัวของเมล็ดปาล์มหลายชนิดจัดอยู่ในกลุ่ม การพักตัวทางสัณฐานวิทยา กล่าวคือ พืชในเขตร้อน เช่น พืชใบเลี้ยงเดี่ยว (เมล็ดปาล์ม) เมื่อแยกจากต้นแม่จะมีเอ็มบริโอที่ยังพัฒนาไม่เต็มที่และต้องการอุณหภูมิสูงในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมเพื่อส่งเสริมให้เมล็ดเกิดการงอก ดังนั้นอุณหภูมิจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าหลังการงอกซึ่งประกอบด้วย 3 ช่วงอุณหภูมิ ได้แก่ อุณหภูมิต่ำสุด คือ อุณหภูมิต่ำสุดที่เมล็ดจะงอกได้ อุณหภูมิสูงสุด คือ อุณหภูมิที่เมล็ดยังสามารถงอกได้ เกินจุดนี้เมล็ดจะได้รับอันตรายหรือพักตัว และ อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ ช่วงอุณหภูมิที่ต้นกล้าสามารถงอกได้เปอร์เซ็นต์สูงสุดและงอกเร็วที่สุด (นันทิยา, 2553) จากการศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิต่อการงอกของเมล็ดอินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า หลังทำการเพาะเมล็ดเป็นระยะเวลา 35 วัน ในที่มืดเหมือนกัน แต่ได้รับสภาพอุณหภูมิต่างกัน ผลที่ได้แตกต่างกันดังนี้ ค่าดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ดมีค่าสูงสุดคือ 0.377 ต้นต่อวัน มีการงอก 80 เปอร์เซ็นต์ และมีความยาวของ germinated tube เฉลี่ยสูงถึง 132.47 มิลลิเมตร ในสภาพอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งให้ผลดีกว่าการเพาะเมล็ดที่อุณหภูมิ 25 และ 28 องศาเซลเซียส ซึ่งผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า เมื่ออุณหภูมิในการเพาะเมล็ดมีค่าสูงขึ้นจะส่งผลให้เมล็ดมีการงอกที่ดี และงอกเร็วขึ้นผลที่ได้สอดคล้องกับ สนั่น (2541) กล่าวว่า เมื่อใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเมล็ดจะช่วยให้เมล็ดสามารถงอกได้เร็วขึ้น และ จิรา (2551) พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดอยู่ที่ประมาณ 15-30 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดพืช พันธุ์ และความแข็งแรงของเมล็ดชุดนั้นๆ ดังเช่น งานวิจัยของ โองการ (2556) ที่ศึกษาการเพาะเมล็ดสกุลผักเผ็ดแม้วโดยทำการเพาะเมล็ดบนกระดาษกรองที่ใส่น้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 30 วัน โดยเพาะที่อุณหภูมิ 15, 20, 25, 30, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่า อุณหภูมิในช่วง 25 – 30 องศาเซลเซียส สามารถงอกได้สูงสุดประมาณ 90 และ 91 เปอร์เซ็นต์ แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเมล็ดปาล์มน้ำมัน คือ 38 – 40 องศาเซลเซียส (วนิตย์, 2541) เช่นเดียวกับ ชูจิตร และคณะ (2532) รายงานว่า วิธีการทำลายการพักตัวของเมล็ดปาล์มน้ำมันสามารถทำได้โดยนำผลปาล์มน้ำมันในระยะสุกแก่มาแยกเนื้อชั้นนอกออกจากนั้นนำเมล็ดมาลดความชื้นให้เหลือประมาณ 17 – 18 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 38 – 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 40 วัน จะสามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดปาล์มน้ำมันได้สูงถึง 75 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 2 เดือน

จากการทดลองพบว่า อุณหภูมิมีผลต่อการงอกของเมล็ดอินทผลัม โดยอุณหภูมิและระยะเวลาที่ได้รับอุณหภูมิระหว่างเพาะต่างกันจะส่งผลให้การงอก germinated tube ของเมล็ดอินทผลัมมีเปอร์เซ็นต์และความยาวที่แตกต่างกัน และพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดอยู่ที่อุณหภูมิ 28 – 30 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับ พรทิพย์ และ ฐิติพร (2537) ที่รายงานว่า อุณภูมิที่ 28 องศาเซลเซียสเมล็ดอินทผลัมจะสามารถงอก germinated tube ออกมาได้ในความยาวที่ต่างกันตามระยะเวลาที่กำหนด

การทดลองที่ 2 ศึกษาการชักนำแคลลัส (Callus) ของอินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อ

จากการทดลองศึกษาการชักนำแคลลัส (Callus) ของอินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้ชิ้นส่วนของ germinated tube จากการทดลองที่ 1 พบว่า germinated tube ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ จึงดำเนินการศึกษาชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่มีอายุหลังได้รับการผสมเกสรตั้งแต่ 1-5 เดือน และพบว่า เอ็มบริโอที่มีอายุ 1 – 2 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรไม่สามารถนำมาศึกษาได้เนื่องจากเอ็มบริโอมีขนาดเล็กเกินไปเมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารที่เตรียมไว้เอ็มบริโอมีการพัฒนาการเกิดสีน้ำตาลแล้วตายจึงไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ส่วนเอ็มบริโออายุหลังการผสมเกสรตั้งแต่ 3 – 5 เดือน มีการพัฒนาแคลลัสและการเจริญดังนี้

1. เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส

จากการศึกษาการใช้ชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่มีอายุหลังการได้รับการผสมเกสรที่แตกต่างกันระหว่าง 1-5 เดือนของอินทผลัมพันธุ์แม่โจ้ 36 มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับการใช้ 2,4-D และ dicamba เอ็มบริโอที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้คือ เอ็มบริโอที่มีอายุตั้งแต่ 3 - 5 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรและมีการเกิดแคลลัสสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ และพบว่าผลที่ได้มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยเอ็มบริโอที่มีอายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรสามารถเกิดแคลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 1.66, 2.21 และ 3.32 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอ็มบริโอที่มีอายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรสามารถเกิดแคลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 0.55, 1.66, 2.21, 2.76 และ 3.32 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอ็มบริโอที่มีอายุ 5 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรสามารถเกิดแคลลัสได้ 88.89 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 0.55, 1.10, 1.66, 2.21, 2.76 และ 3.32 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสหลังการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ของเอ็มบริโออินทผลัมอายุ 3 – 5 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส (%)		
	เอ็มบริโอ อายุ 3 เดือน	เอ็มบริโอ อายุ 4 เดือน	เอ็มบริโอ อายุ 5 เดือน
1. MS - free	0[c]	0[c]	0[b]
2. MS + 2 mg/L 2,4-D	25[c]	30[b]	0[b]
3. MS + 4 mg/L 2,4-D	55[b]	85[a]	0[b]
4. MS + 6 mg/L 2,4-D	95[a]	90[a]	77.78[a]
5. MS + 8 mg/L 2,4-D	95[a]	100[a]	77.78[a]
6. MS + 10 mg/L 2,4-D	100[a]	100[a]	88.89[a]
7. MS + 0.55 mg/L dicamba	90[a]	100[a]	100[a]
8. MS + 1.10 mg/L dicamba	95[a]	85[a]	100[a]
9. MS + 1.66 mg/L dicamba	100[a]	100[a]	100[a]
10. MS + 2.21 mg/L dicamba	100[a]	100[a]	100[a]
11. MS + 2.76 mg/L dicamba	95[a]	100[a]	100[a]
12. MS + 3.32 mg/L dicamba	100[a]	100[a]	100[a]
F-test	**	**	**
C.V. (%)	19.97	17.71	13.67

หมายเหตุ ** = แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ค่าเฉลี่ย (Mean) ใน Column เดียวกัน ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan’ s New Multiple Range Test (DMRT)

2. ปริมาณน้ำหนักสดแคลลัส

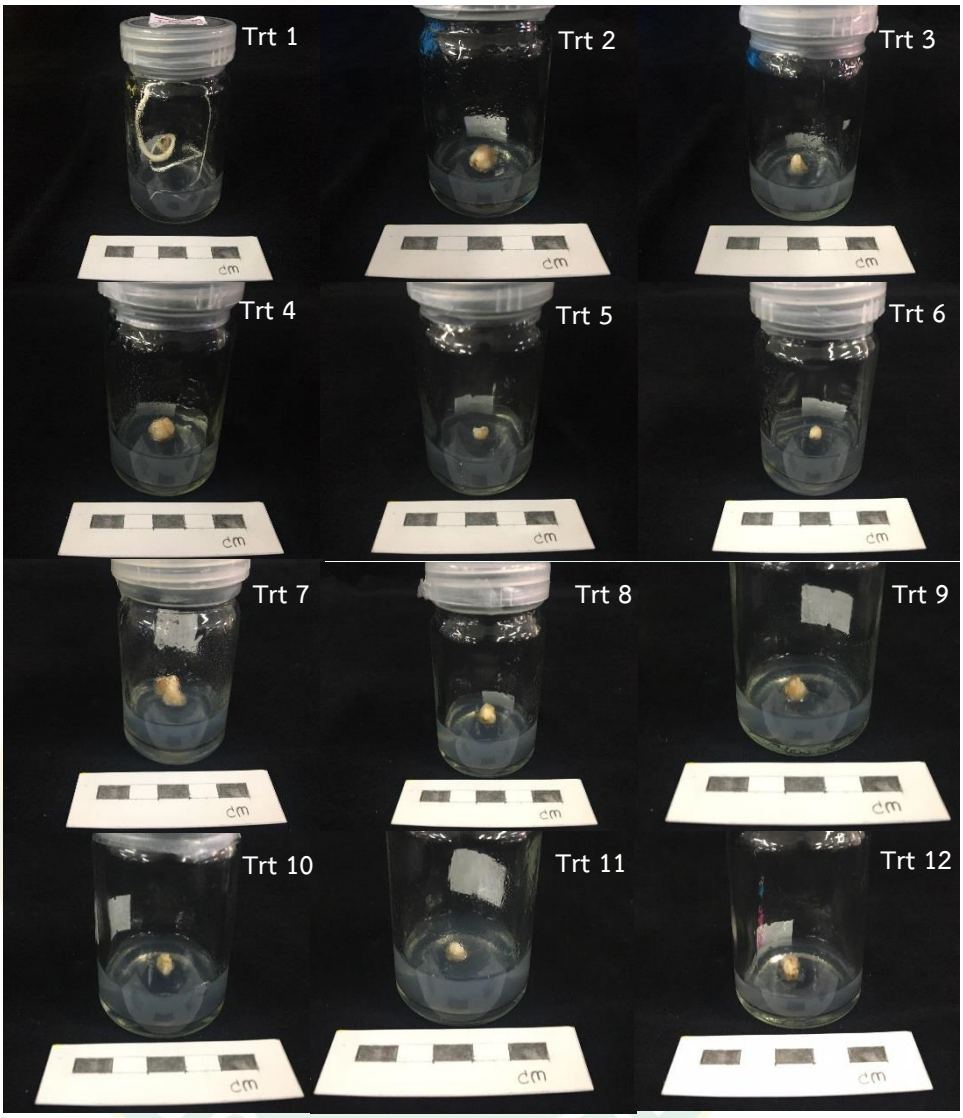
จากการชักนำเอ็มบริโออินทผลัมให้เกิดแคลลัสนั้น พบว่าแคลลัสที่ได้มีการพัฒนาขนาดที่ใหญ่ขึ้นส่งผลให้ปริมาณน้ำหนักสดของแคลลัสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยแคลลัสที่ได้จากเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถให้ปริมาณน้ำหนักสดแคลลัสเฉลี่ยถึง 0.40 กรัม แคลลัสที่ได้จากเอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร มีปริมาณน้ำหนักสดแคลลัสเฉลี่ยถึง 0.89 กรัม บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร และเอ็มบริโออายุ 5 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร มีปริมาณน้ำหนักสดแคลลัสเฉลี่ยถึง 0.29 กรัม บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระยะเวลา 16 สัปดาห์ (ตารางที่ 8 และภาพที่ 3 – 5)

ตารางที่ 8 ปริมาณน้ำหนักสดแคลลัสหลังการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ของเอ็มบริโออินทผลัมอายุ 3 – 5 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร

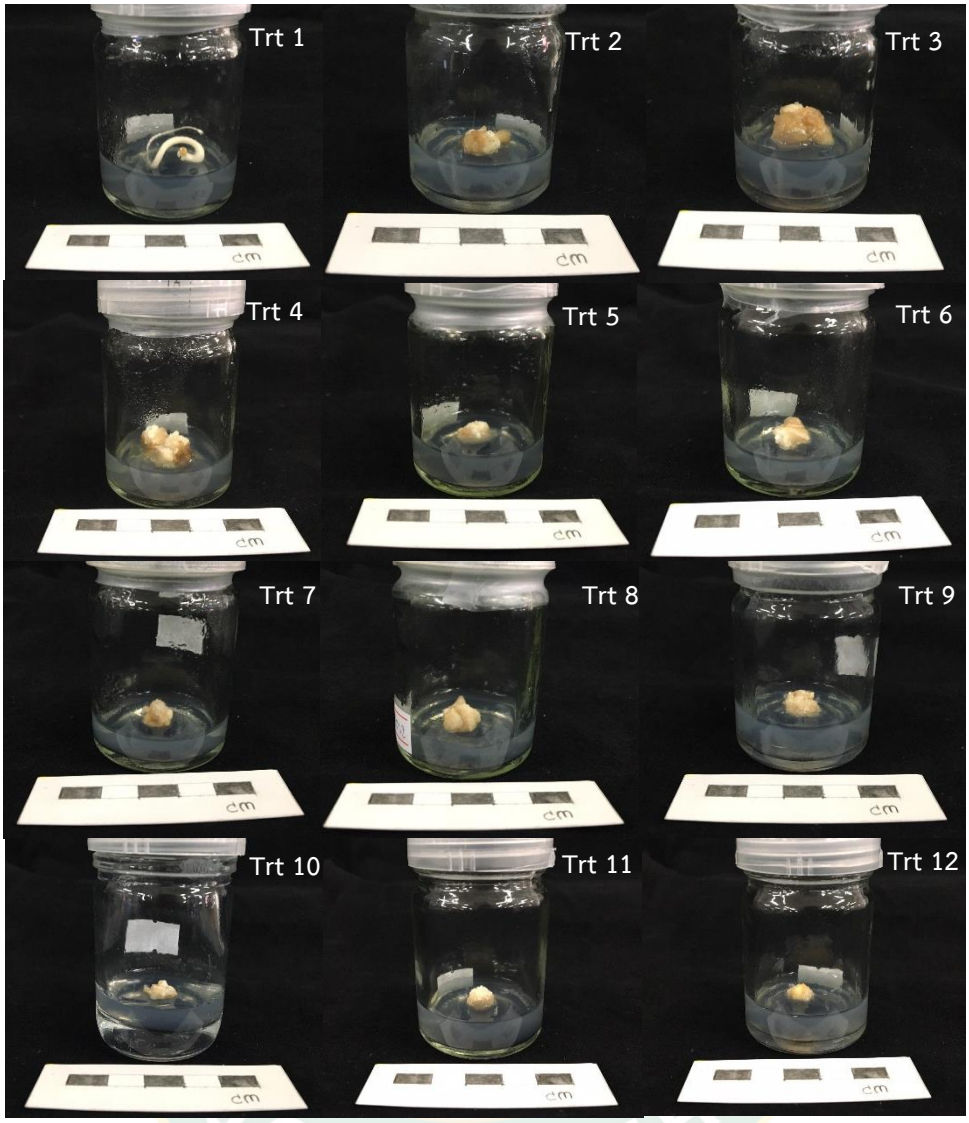
กรรมวิธี	น้ำหนักแคลลัส (กรัม)		
	เอ็มบริโอ อายุ 3 เดือน	เอ็มบริโอ อายุ 4 เดือน	เอ็มบริโอ อายุ 5 เดือน
1. MS - free	0.00^{l}	0.00^{f}	0.00^{g}
2. MS + 2 mg/L 2,4-D	0.40^{a}	0.74^{bc}	0.00^{g}
3. MS + 4 mg/L 2,4-D	0.29^{b}	0.88^{ab}	0.00^{g}
4. MS + 6 mg/L 2,4-D	0.22^{cd}	0.89^{a}	0.29^{a}
5. MS + 8 mg/L 2,4-D	0.17^{e}	0.46^{d}	0.18^{b}
6. MS + 10 mg/L 2,4-D	0.08^{g}	0.33^{de}	0.14^{c}
7. MS + 0.55 mg/L dicamba	0.22^{d}	0.69^{c}	0.11^{d}
8. MS + 1.10 mg/L dicamba	0.25^{c}	0.67^{c}	0.10^{d}
9. MS + 1.66 mg/L dicamba	0.17^{e}	0.65^{c}	0.14^{c}
10. MS + 2.21 mg/L dicamba	0.14^{f}	0.25^{e}	0.08^{e}
11. MS + 2.76 mg/L dicamba	0.06^{gh}	0.28^{e}	0.06^{f}
12. MS + 3.32 mg/L dicamba	0.05^{h}	0.23^{e}	0.10^{d}
F-test	**	**	**
C.V. (%)	15.53	31.05	12.84

หมายเหตุ ** = แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

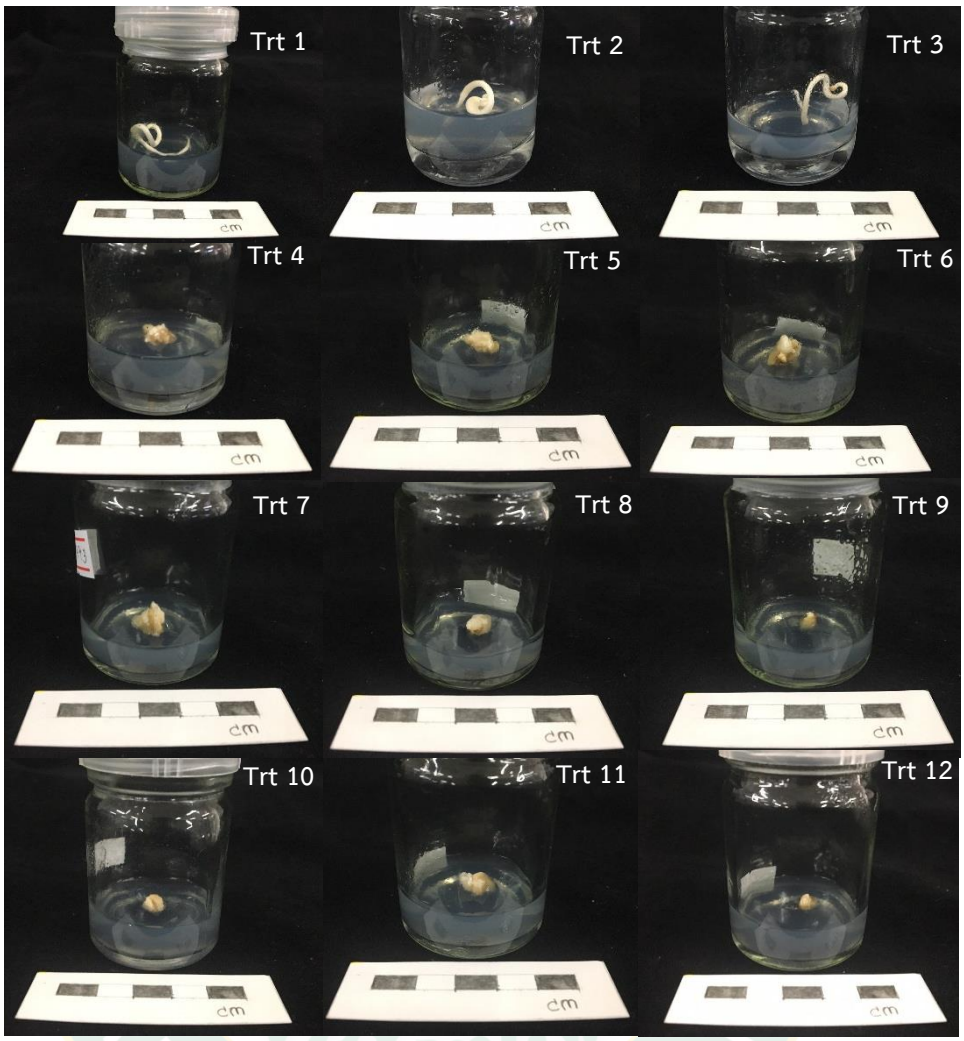
ค่าเฉลี่ย (Mean) ใน Column เดียวกัน ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan’ s New Multiple Range Test (DMRT)



ภาพที่ 3 แสดงพัฒนาการของแคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือน หลังได้รับการผสมเกสร หลังเลี้ยงบนอาหารระยะเวลา 16 สัปดาห์



ภาพที่ 4 แสดงพัฒนาการของแคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 4 เดือน หลังได้รับการผสมเกสร หลังเลี้ยงบนอาหารระยะเวลา 16 สัปดาห์



ภาพที่ 5 แสดงพัฒนาการของแคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 5 เดือน หลังได้รับการผสมเกสร หลังเลี้ยงบนอาหารระยะเวลา 16 สัปดาห์

วิจารณ์ผลการทดลอง

แคลลัส (Callus) คือ เซลล์ที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม และยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงพัฒนาไปเป็นอวัยวะต่างๆ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถนำชิ้นส่วนพืชจากอวัยวะต่างๆ ของพืชเกือบทุกชนิดมาชักนำให้เกิดแคลลัสได้ แต่จะได้ผลดีแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยง เช่น ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวนิยมใช้ส่วนของคัพภะ ใบอ่อน ปลายยอด ดอกอ่อน และส่วนของเมล็ดที่เริ่มงอกมาชักนำการเกิดแคลลัสเพื่อให้ผลที่ดีที่สุด ปกติการชักนำแคลลัสจะใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชอยู่ 2 กลุ่ม คือกลุ่มออกซินและกลุ่มไซโตไคนิน (รังสฤษดิ์, 2541) แต่สำหรับการชักนำแคลลัสของเนื้อเยื่อปาล์มสามารถใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเพียงกลุ่มเดียวได้คือ 2,4-D ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มออกซิน (Blake, 1983) ดังเช่น Witham (1968) ที่รายงานว่า การใช้ 2,4-D เพียงตัวเดียวโดยไม่ใช้

ไซโตไคนิน (Cytokinin) สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีในยาสูบ และให้ผลที่สอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้คือ เมื่อเลี้ยงเอ็มบริโอเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ เอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เอ็มบริโออายุ 5 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร สามารถชักนำแคลลัสได้ 88.89 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในทำนองเดียวกันกับ สมปอง และคณะ (2530) ที่ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสปฐมภูมิในปาล์มน้ำมันโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนใบอ่อนคือ เมื่อนำชิ้นส่วนใบอ่อนมาทำการเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้เนื้อเยื่อมีเปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัสได้ถึงร้อยละ 40 ภายในระยะเวลา 2 เดือน และ ทวีพงศ์ (2529) ที่ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสจากส่วนต่างๆ ของอินทผลัม พบว่า ส่วนตายอด สามารถเกิดแคลลัสได้สูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารแข็งสูตร Y3 ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนบริเวณใบส่วนโคนสามารถเกิดแคลลัสได้ดีที่สุดบนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 8 มิลลิกรัมต่อลิตร และส่วนรากสามารถเกิดแคลลัสได้ดีบนอาหารแข็งสูตร MS และ Y3 ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ในงานวิจัยของ นพรัตน์ และคณะ (2559) ที่สามารถชักนำแคลลัสของอินทผลัมได้ในระยะเวลา 38 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MS ที่เติมผงถ่าน 1.5 กรัมต่อลิตรและใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 2,4-D ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ Kinetin ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรและ BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ส่วนการชักนำแคลลัสด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช dicamba ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มออกซิน พบว่า สามารถชักนำเอ็มบริโออินทผลัมให้เกิดแคลลัสได้สูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นกันกับการใช้ 2,4-D โดยเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรสามารถชักนำได้บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 1.66, 2.21, และ 3.32 มิลลิกรัมต่อลิตร เอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรสามารถชักนำแคลลัสได้บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 0.55, 1.66, 2.21, 2.76 และ 3.32 มิลลิกรัมต่อลิตร และเอ็มบริโออายุ 5 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรสามารถชักนำแคลลัสได้บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 0.55, 1.66, 2.21, 2.76 และ 3.32 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งให้ผลการทดลองคล้ายกับ ชยานิจ และคณะ (2552) ที่ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน พบว่า เมื่อนำชิ้นส่วนคัพภะอ่อนมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ จะสามารถชักนำแคลลัสได้สูงถึง 83.30 เปอร์เซ็นต์

จากผลการเจริญของแคลลัสโดยดูจากค่าปริมาณน้ำหนักสดแคลลัสพบว่า เมื่อเลี้ยงแคลลัสเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ เอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรสามารถให้ปริมาณน้ำหนักสดของแคลลัสได้ 0.40 กรัม บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เอ็มบริโออายุ 4 และ 5 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรสามารถให้น้ำหนักสดแคลลัสได้ 0.89 และ 0.29 กรัม ตามลำดับ บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งให้ปริมาณน้ำหนักสดที่มากกว่า นภาพร (2548) ได้ศึกษาปริมาณน้ำหนักสดแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอปาล์มน้ำมันเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า อาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 12.5 ไมโครโมลาร์ สามารถให้ปริมาณน้ำหนักสดแคลลัสได้ 0.143 ± 0.020 กรัม และอาหารแข็งสูตร Y3 ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 12.5 ไมโครโมลาร์ สามารถให้ปริมาณน้ำหนักสดแคลลัสได้ 0.211 ± 0.015 กรัม ใกล้เคียงกับ ศตปพร และ สมปอง (2557) ที่รายงานว่าการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันโดยการเลี้ยงบนอาหารสูตร ARDA ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ กรดแอสคอร์บิค ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถให้ปริมาณน้ำหนักสดของเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 0.33 กรัม แต่ ทรรศณีย์ และ สมปอง (2555) รายงานว่า การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราโดยการกระตุ้นให้เกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสบนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ dicamba ความแข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มปริมาณน้ำหนักสดแคลลัสได้สูงถึง 315 กรัม

จากการทดลองพบว่า อาหารที่ส่งเสริมการเกิดแคลลัสและมีการเจริญได้ดีที่สุดเป็นอาหารสูตรที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 2,4-D ซึ่งต่างจากการรายงานของ สกุลรัตน์ (2553) ว่าการชักนำแคลลัสปาล์มน้ำมัน บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ dicamba ส่งเสริมจำนวนเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส และเพิ่มปริมาณน้ำหนักสดของแคลลัสได้ดีกว่า 2,4-D

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการพัฒนาแคลลัสเพื่อการชักนำการเกิดยอดในสภาพปลอดเชื้อ

เมื่อนำชิ้นส่วนแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการทดลองที่ 2 มาศึกษาการชักนำให้เกิดยอด โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ชักนำแคลลัสเริ่มต้นด้วย 2,4-D และ dicamba พบว่าแคลลัสที่สามารถนำมาศึกษาต่อได้คือแคลลัสที่ได้จากเอ็มบริโออายุ 3 และ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร การพัฒนาของแคลลัสมีด้วยกันหลายรูปแบบคือ พัฒนาเป็นยอด พัฒนาเป็นรากอย่างเดียว และไม่มีการพัฒนา ดังนี้

1. ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการเกิดยอดของแคลลัสที่ได้จากการชักนำด้วย 2,4-D

เปอร์เซ็นต์การรอด

จากการย้ายแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วย 2,4-D ลงในอาหารชักนำให้เกิดยอด พบว่า แคลลัสที่ได้จากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรมีเปอร์เซ็นต์การรอดหลังการย้ายอาหารสูงคือ 100 เปอร์เซ็นต์ และต่ำสุดคือ 96 เปอร์เซ็นต์ แต่ผลที่ได้ดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธี (ตารางที่ 9) แคลลัสที่ได้จากการชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรมีเปอร์เซ็นต์การรอดหลังการย้ายอาหารสูงสุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ และต่ำสุดคือ 96 เปอร์เซ็นต์ แต่ผลที่ได้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุกกรรมวิธี (ตารางที่ 10)

เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด

ผลการทดลองเมื่อเลี้ยงแคลลัสบนอาหารที่กำหนดเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แคลลัสจะมีการพัฒนายอดเกิดขึ้นแต่ยอดที่เกิดขึ้นจะเกิดรวมกันเป็นกระจุกไม่แยกออกเป็นยอดอย่างชัดเจน ในแคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุดคือ 28 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และ MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแต่ปรับปริมาณ Sucrose เป็น 45 กรัมต่อลิตร และต่ำสุดคือ 16 เปอร์เซ็นต์บนอาหารสูตร MS ร่วมกับNAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ผลที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธี (ตารางที่ 9 และภาพที่ 6) แคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงถึง 32 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแต่ปรับปริมาณ Sucrose เป็น 45 กรัมต่อลิตร และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกรรมวิธีที่เลี้ยงแคลลัสบนอาหารสูตร

MS ร่วมกับ NAA และ Kinetin ทุกระดับความเข้มข้นร่วมกับการน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่พบการพัฒนายอดของแคลลัสหรือมีการพัฒนาที่ต่ำเพียง 8 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 10 และภาพที่ 7)

เปอร์เซ็นต์การเกิดราก

ผลการทดลองพบว่า แคลลัสที่ได้จากการชักนำด้วยชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 และ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร มีการพัฒนารากแต่ไม่มีการพัฒนายอดสูงถึง 68 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ บนอาหารสูตร MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kinetin ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีการพัฒนารากแต่ไม่มีการพัฒนายอดต่ำสุดเท่ากันคือ 12 เปอร์เซ็นต์ บนอาหาร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (ตารางที่ 9 และ 10 และภาพที่ 8 และ 9)

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์การรอด การเกิดยอด และการเกิดราก ของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย 2,4-D จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร

กรรมวิธี	เอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร		
	การรอด (%)	การเกิดยอด (%)	การเกิดราก (%)
1. MS	100.00	28.00	12.00^{c}
2. MS + 2 mg/L NAA + 0.2 mg/L Kinetin	100.00	16.00	68.00^{a}
3. MS + 4 mg/L NAA + 0.4 mg/L Kinetin	100.00	20.00	36.00^{bc}
4. MS + 45g/L Sucrose	96.00	28.00	36.00^{bc}
5. MS + 4 mg/L NAA + 0.4 mg/L Kinetin + 45 g/L Sucrose	100.00	20.00	52.00^{ab}
F-test	ns	ns	*
C.V. (%)	4.03	60.14	52.91

หมายเหตุ ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* = แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าเฉลี่ย (Mean) ใน Column เดียวกัน ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan’ s New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การรอด การเกิดยอด และการเกิดราก ของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย 2,4-D จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร

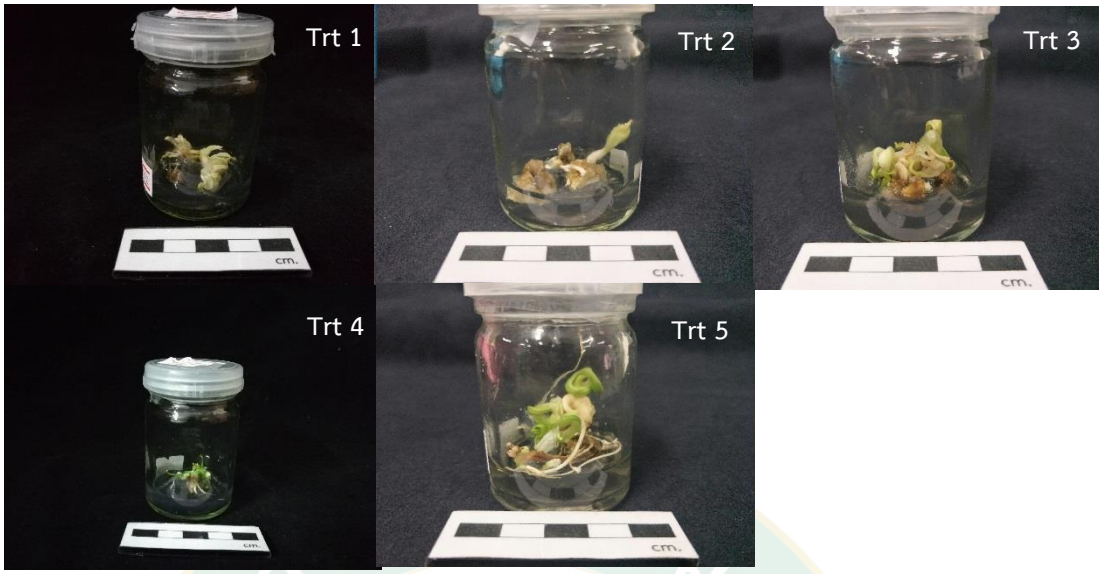
กรรมวิธี	เอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร		
	การรอด (%)	การเกิดยอด (%)	การเกิดราก (%)
1. MS	100.00	28.00[a]	12.00[b]
2. MS + 2 mg/L NAA + 0.2 mg/L Kinetin	100.00	0.00[b]	40.00[a]
3. MS + 4 mg/L NAA + 0.4 mg/L Kinetin	96.00	8.00[b]	28.00[ab]
4. MS + 45g/L Sucrose	100.00	32.00[a]	32.00[a]
5. MS + 4 mg/L NAA + 0.4 mg/L Kinetin + 45 g/L Sucrose	96.00	16.00[ab]	28.00[ab]
F-test	ns	**	*
C.V. (%)	4.98	55.20	44.10

หมายเหตุ ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

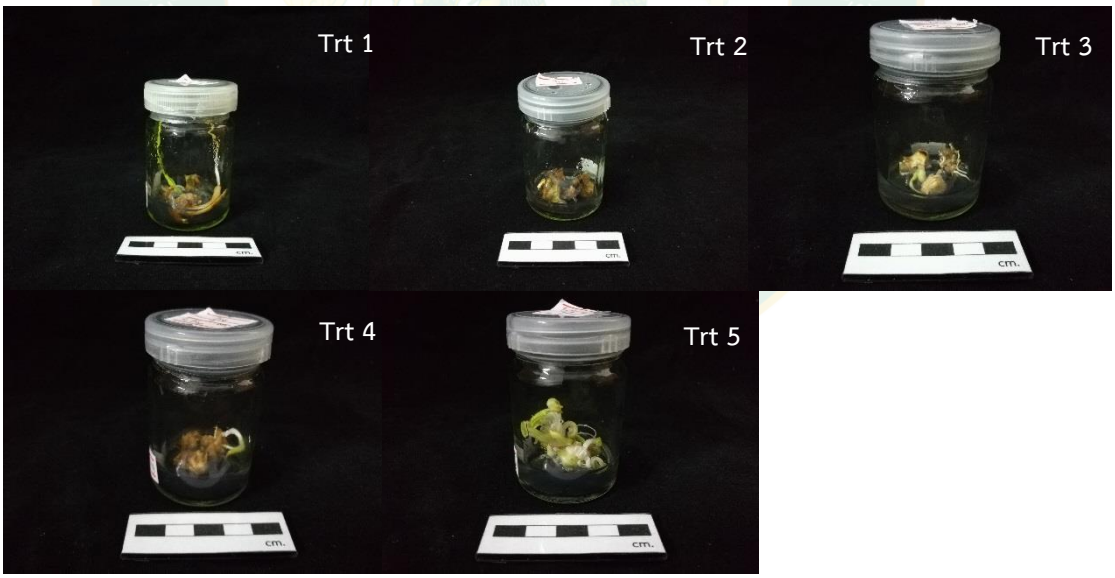
* = แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** = แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

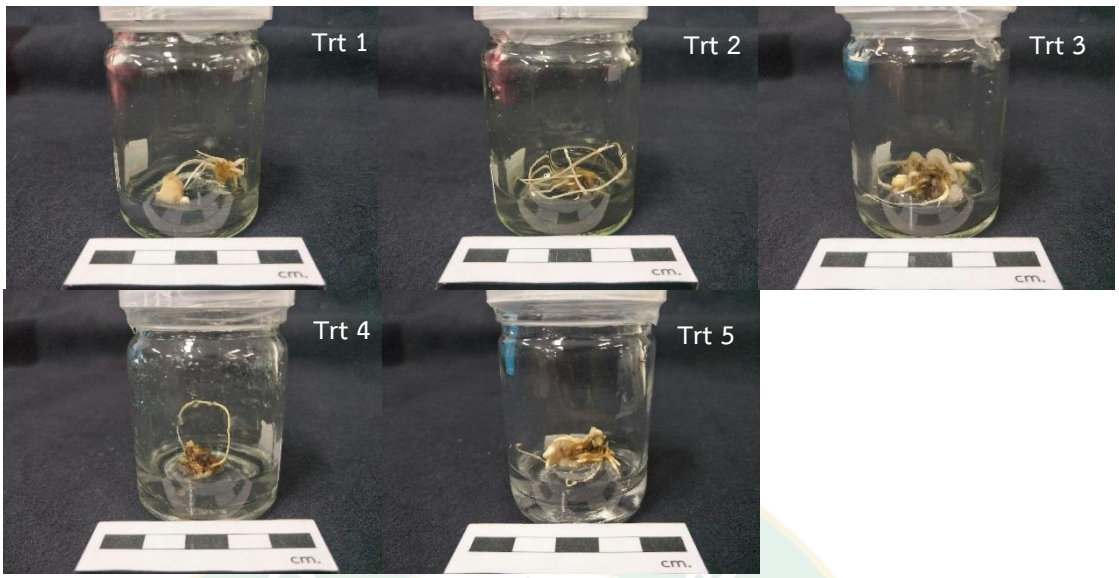
ค่าเฉลี่ย (Mean) ใน Column เดียวกัน ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan’ s New Multiple Range Test (DMRT)



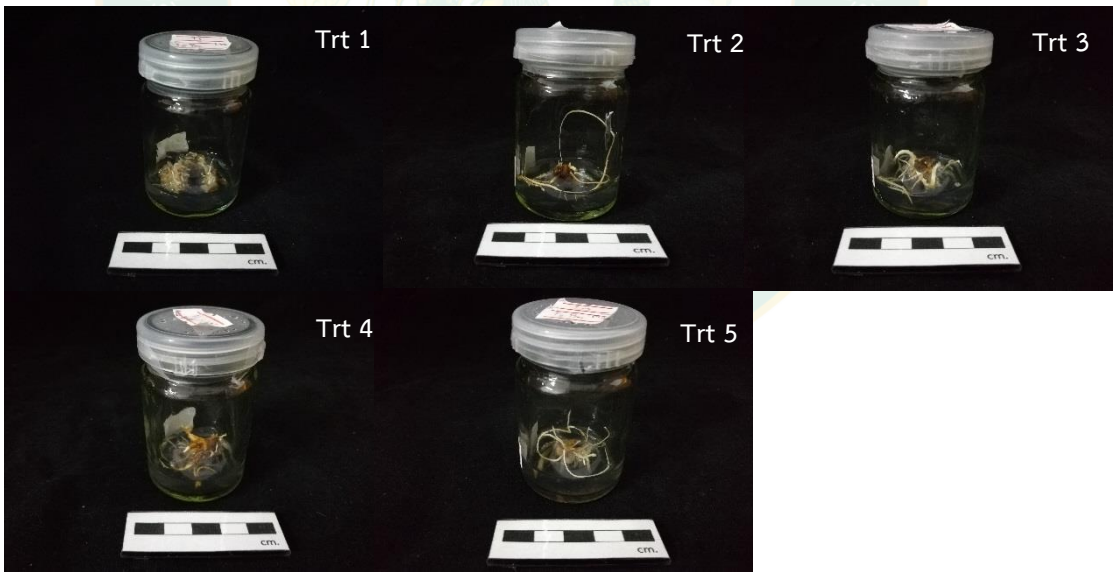
ภาพที่ 6 ลักษณะการเกิดยอดของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย 2,4-D จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 7 ลักษณะการเกิดยอดของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย 2,4-D จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 8 ลักษณะการเกิดรากของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย 2,4-D จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 9 ลักษณะการเกิดรากของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย 2,4-D จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

2. ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการเกิดยอดของแคลลัสที่ได้จากการชักนำด้วย dicamba

เปอร์เซ็นต์การรอด

จากการย้ายแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วย dicamba ลงในอาหารชักนำการเกิดยอด พบว่า แคลลัสที่ได้จากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเอ็มบริโออายุ 3 และ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรมีเปอร์เซ็นต์การรอดหลังการย้ายอาหารสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ในทุกกรรมวิธี (ตารางที่ 11 และ 12)

เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด

ผลการทดลองเมื่อเลี้ยงแคลลัสบนอาหารที่กำหนดเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แคลลัสจะมีการพัฒนายอดเกิดขึ้นแต่ยอดที่เกิดขึ้นจะเกิดรวมกันเป็นกระจุกไม่แยกออกเป็นยอดอย่างชัดเจน เช่นเดียวกับแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย 2,4-D แคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงคือ 16.67 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแต่ปรับปริมาณ Sucrose เป็น 45 กรัมต่อลิตร และผลที่ได้มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกรรมวิธีอื่น ในขณะที่เมื่อเลี้ยงแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และ MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 0.22 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสไม่สามารถพัฒนาการเกิดยอดได้ (ตารางที่ 11 และภาพที่ 10) แคลลัสที่ชักนำจากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 10 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และผลที่ได้มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกรรมวิธีอื่นในขณะที่เมื่อเลี้ยงแคลลัสบนอาหาร MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 0.11 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 0.22 มิลลิกรัมต่อลิตร และปรับปริมาณ Sucrose เป็น 45 กรัมต่อลิตร พบว่าไม่มีการพัฒนายอดเกิดขึ้นบนชิ้นส่วนของแคลลัส (ตารางที่ 12 และภาพที่ 11)

เปอร์เซ็นต์การเกิดราก

ผลการทดลองพบว่า แคลลัสที่ได้จากการชักนำด้วยชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร มีการพัฒนาเป็นรากแต่ไม่มีการพัฒนายอดสูงถึง 13.33 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแต่ปรับปริมาณ Sucrose เป็น 45 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกรรมวิธีอื่นๆ ในขณะที่เมื่อเลี้ยงแคลลัสบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 0.11 มิลลิกรัมต่อลิตร MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 0.22 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MS ร่วมกับ dicamba ความเข้มข้น 0.22 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วปรับปริมาณ Sucrose เป็น 45 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้ไม่มีการพัฒนารากเกิดขึ้น (ตารางที่ 11) ส่วนแคลลัส

ที่ได้จากการชักนำด้วยชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร พบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีพัฒนาการเกิดราก (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 11 เปอร์เซ็นต์การรอด การเกิดยอด และการเกิดราก ของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย dicamba จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร

กรรมวิธี	เอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร		
	การรอด (%)	การเกิดยอด (%)	การเกิดราก (%)
1. MS	100.00	0.00^{c}	6.67^{b}
2. MS + 45 g/L Sucrose	100.00	16.67^{a}	13.33^{a}
3. MS + 0.11 mg/L dicamba	100.00	6.67^{b}	0^{c}
4. MS + 0.22 mg/L dicamba	100.00	0.00^{c}	0^{c}
5. MS + 0.22 mg/L dicamba + 45 g/L Sucrose	100.00	3.33^{bc}	0^{c}
F-test	ns	**	**
C.V. (%)	0	46.23	59.72

หมายเหตุ ** = แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

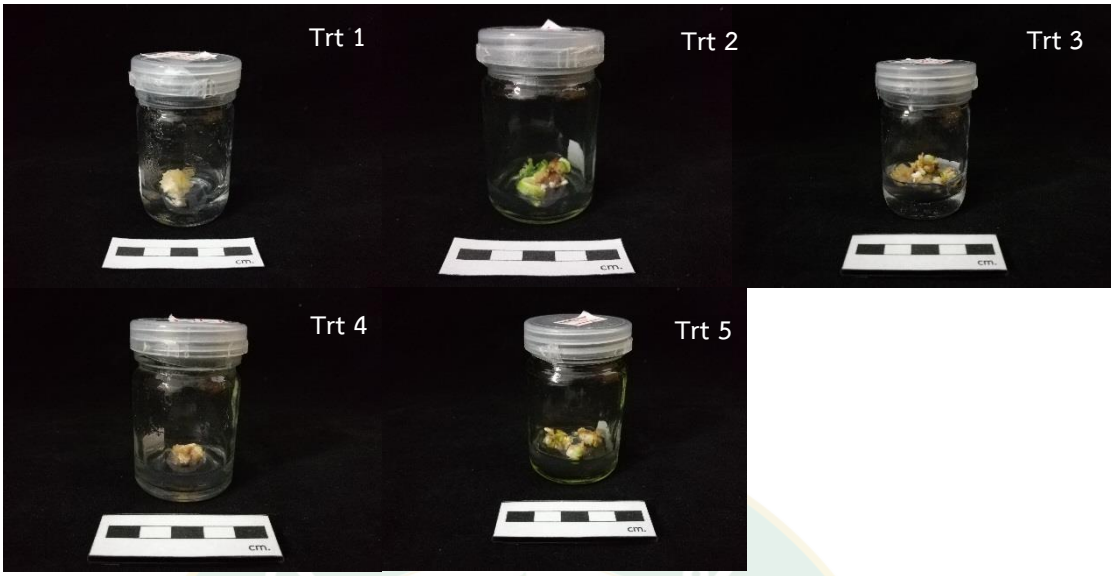
ค่าเฉลี่ย (Mean) ใน Column เดียวกัน ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan' s New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์การรอด การเกิดยอด และการเกิดราก ของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย dicamba จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร

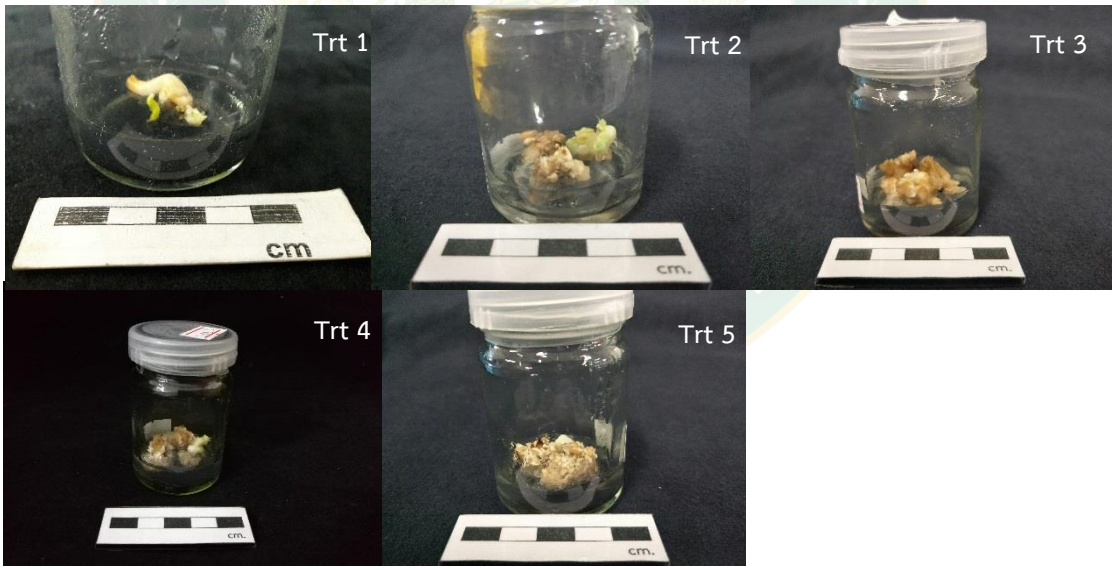
กรรมวิธี	เอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร		
	การรอด (%)	การเกิดยอด (%)	การเกิดราก (%)
1. MS	100.00	10.00[a]	0
2. MS + 45 g/L Sucrose	100.00	3.33[b]	0
3. MS + 0.11 mg/L dicamba	100.00	0[c]	0
4. MS + 0.22 mg/L dicamba	100.00	3.33[b]	0
5. MS + 0.22 mg/L dicamba + 45 g/L Sucrose	100.00	0[c]	0
F-test	ns	**	ns
C.V. (%)	0	55.20	0

หมายเหตุ ** = แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

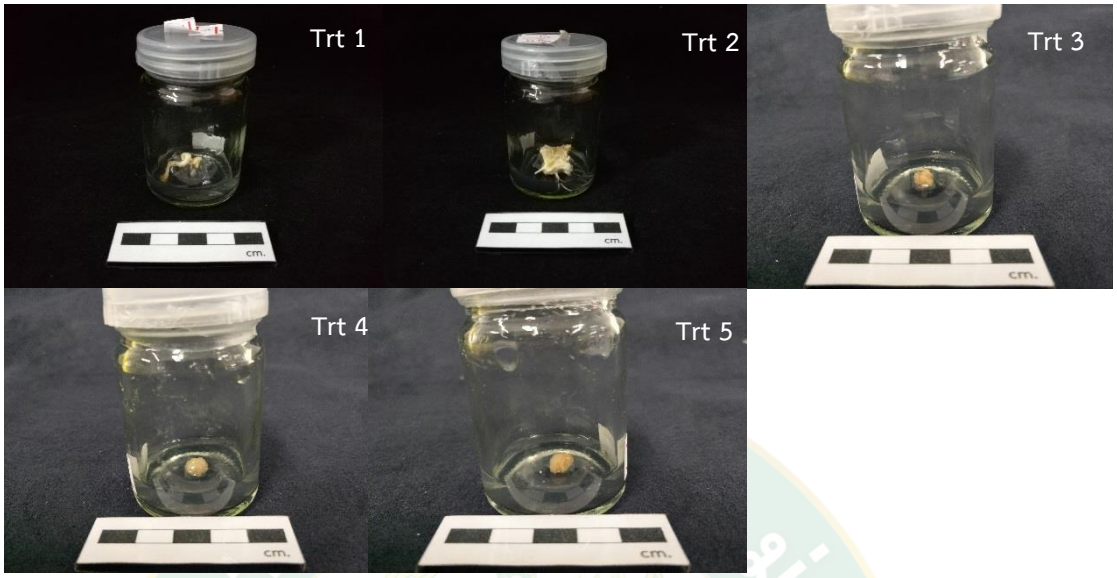
ค่าเฉลี่ย (Mean) ใน Column เดียวกัน ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan' s New Multiple Range Test (DMRT)



ภาพที่ 10 ลักษณะการเกิดยอดของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย dicamba จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 11 ลักษณะการเกิดยอดของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย dicamba จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 12 ลักษณะการเกิดรากของแคลลัสที่ถูกชักนำด้วย dicamba จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

วิจารณ์ผลการทดลอง

การชักนำการเกิดยอดของแคลลัสอินทผลัมที่ได้จากเนื้อเยื่อเอ็มบริโอที่มีอายุแตกต่างกัน พบว่า สามารถชักนำให้แคลลัสเกิดยอดได้ โดยเอ็มบริโออายุ 3 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรเมื่อชักนำให้เกิดแคลลัสเริ่มต้นด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 2,4-D หลังย้ายอาหารสามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงถึง 28 เปอร์เซ็นต์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแต่ปรับปริมาณ Sucrose เป็น 45 กรัมต่อลิตร ส่วนแคลลัสที่ถูกชักนำด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช dicamba สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงถึง 16.67 เปอร์เซ็นต์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแต่ปรับปริมาณ Sucrose เป็น 45 กรัมต่อลิตร

เอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรที่ชักนำให้เกิดแคลลัสด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 2,4-D เมื่อย้ายอาหารพบว่า สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงถึง 32 เปอร์เซ็นต์บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแต่ปรับปริมาณ Sucrose เป็น 45 กรัมต่อลิตร ส่วนแคลลัสที่ถูกชักนำด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช dicamba สามารชักนำให้เกิดยอดได้สูงถึง 10 เปอร์เซ็นต์ในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ในระยะเวลา 8 สัปดาห์ ซึ่งให้ผลการทดลองที่แตกต่างจาก ชยานิจ และคณะ (2552) ได้รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์ม

น้ำมันว่า อาหารสูตร MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ abscisic acid ความเข้มข้น 2 ไมโคโมลาร์ จะสามารถเจริญเติบโตเป็นต้น polyembryony 2 – 3 ต้นอยู่รวมเป็นกระจุกมียอดและรากที่สมบูรณ์ได้ คล้ายกับ Meziani et al. (2016) ที่รายงานว่า การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมสายพันธุ์ Najda สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุดเฉลี่ย 12.8 ยอดต่อตัวอย่าง บนอาหารสูตร ½MS ร่วมกับ NOAA (2-naphthoxyacetic acid) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร IAA (indole-3-acetic acid) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร 2iP (6-(dimethylallylamino) purine) ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

ผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tisserat (1979) รายงานว่า แคลลัสของอินทผลัมสามารถเกิดต้นใหม่ได้ในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และสอดคล้องกับ ศตปพร และ สมปอง (2557) ที่ศึกษาผลของ dicamba ต่อการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอและการพัฒนาเป็นต้นของปาล์มน้ำมัน ซึ่งพบว่า เมื่อนำโซมาติกเอ็มบริโอชุดที่2 (SSE : secondary somatic embryo) มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช แต่เติมกรดแอสคอร์บิคความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 3 เดือนสามารถส่งเสริมการสร้างยอดได้ถึง 10.4 ยอดต่อชิ้นส่วน และยังพัฒนาให้เป็นต้นที่สมบูรณ์ได้เฉลี่ยสูงสุด 7.20 ต้นต่อชิ้นส่วน และ ทวีพงศ์ (2529) รายงานว่าแคลลัสของอินทผลัมที่เลี้ยงบนอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชสามารถพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้สูงสุดคือ 85 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณ Sucrose เป็น 45 กรัมต่อลิตรช่วยส่งผลให้ต้นใหม่ที่ได้มีการเจริญได้ดี ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าปริมาณน้ำตาลอาจเป็นปัจจัยอีกหนึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดต้นจากแคลลัสอินทผลัม ซึ่ง นพมณี (2545) ได้กล่าวถึงน้ำตาลที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่าน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ในสภาพปลอดเชื้อพืชจะสูญเสียความสามารถในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) จากกระบวนการการสังเคราะห์แสง เนื่องจากปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีต่ำมาก และสภาพที่ใช้ในการวางขวดเพาะเลี้ยงนั้นมีความเข้มแสงต่ำ ดังนั้นจึงมีการเพิ่มน้ำตาลให้กับต้นพืชหรือเนื้อเยื่อที่ใช้เลี้ยง เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนที่พืชสามารถนำไปใช้ได้เลย แต่อย่างไรก็ตามพืชแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการใช้น้ำตาลที่แตกต่างกัน

นอกจากนี้ยังพบว่า แคลลัสที่นำมาเลี้ยงมีการพัฒนาหลายลักษณะกล่าวคือ แคลลัสที่มีการพัฒนาไปเป็นยอดเพียงยอดเดียวแต่ไม่มีราก แคลลัสที่มีการพัฒนาไปเป็นยอดเพียงยอดเดียวพร้อมมีราก แคลลัสที่มีการพัฒนาไปเป็นยอดหลายยอดและรวมกันเป็นกระจุกแต่ไม่มีราก แคลลัสที่พัฒนาเป็นรากแต่ไม่มียอด และแคคลัสที่เป็นมีการพัฒนา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ ชยานิจ และคณะ (2552) ที่กล่าวว่า หากนำ somatic embryo ของปาล์มน้ำมันมาเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชจะพบการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันจำนวน 4 แบบ คือ มีการ

เจริญเติบโตเป็น polyembryony 2 – 3 ต้นอยู่รวมเป็นกระจุก คัพภะเจริญยืดยาวมียอดขนาดเล็กสีเขียวอ่อนเจริญขึ้นมา พร้อมกับรากบริเวณโคน ซึ่งจะเจริญเติบโตกลายเป็นต้นที่มียอดและรากที่สมบูรณ์ มีการเจริญเป็นยอดขนาดเล็ก 4 – 5 ยอด ติดกันเป็นกลุ่ม แต่ไม่ปรากฏการเจริญของราก มีการเจริญเป็นรากขนาดใหญ่ แต่ไม่มีการเจริญเป็นยอด และไม่มีการพัฒนาใดๆ จากนั้นชิ้นส่วนตายในที่สุด

จากการทดลองพบว่า การชักนำยอดจากแคลลัสอินทผลัมที่ได้จากชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่มีอายุที่แตกต่างกัน สามารถชักนำได้ในอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช แต่การนำแคลลัสที่ได้จากชิ้นส่วนเริ่มต้นที่อายุต่างกันจะส่งผลให้มีการตอบสนองต่อปริมาณน้ำตาลและการเกิดยอดที่แตกต่างกัน

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิต่อการงอกของเมล็ดอินทผลัม โดยให้อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 25, 28 และ 30 องศาเซลเซียส ผลที่ได้คืออุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียสมีความเหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดเนื่องจากส่งผลให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ มีค่าดัชนีความเร็วในการงอกสูงสุดคือ 0.377 ต้นต่อวัน และความยาวของ germinated tube ยาวถึง 132.47 มิลลิเมตร

การชักนำให้เกิดแคลลัสในอินทผลัม สามารถทำได้โดยการใช้ชิ้นส่วนของเอ็มบริโอภายในเมล็ด โดยเอ็มบริโออายุ 3, 4 และ 5 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร เมื่อเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ dicamba ทุกความเข้มข้น สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 85 – 100 เปอร์เซ็นต์ และอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำเอ็มบริโออายุ 3 และ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสร ให้เกิดแคลลัสได้ 90-100 เปอร์เซ็นต์ โดย 2,4-D ความเข้มข้น 4 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีปริมาณน้ำหนักสดแคลลัสสูงถึง 0.88 และ 0.89 กรัม ตามลำดับ

การชักนำให้เกิดยอดจากแคลลัสอินทผลัม สามารถทำได้โดยการย้ายชิ้นส่วนแคลลัส ที่ชักนำแคลลัสเริ่มต้นด้วย 2,4-D จากชิ้นส่วนเอ็มบริโออายุ 4 เดือนหลังได้รับการผสมเกสรลงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชโดยมีปริมาณน้ำตาล Sucrose ความเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร พบว่า มีอัตราการรอดหลังการย้ายอาหาร และการเกิดยอดสูงถึง 100 และ 32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในระยะเวลา 8 สัปดาห์ โดยพบการเจริญเติบโตหลังการย้ายแคลลัสที่แตกต่างกันทั้งหมด 4 รูปแบบ ปัจจุบันยังไม่สามารถดำเนินการแยกต้นออกจากกันได้ จึงเหมาะแก่การศึกษาขั้นตอนและวิธีการแยกต้นของอินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อในอนาคต

บรรณานุกรม

จิรนันท์ เสนานาญ และ พาวิน มะโนชัย. 2553. **เทคนิคการขยายพันธุ์ไม้ผล**. เชียงใหม่**:** วนิดาการพิมพ์.

จิระศักดิ์ วิชาสวัสดิ์, ศิริชัย อุ่นศรีส่ง, สมพร มีแสงแก้ว, ประสาทพร กออวยชัย และ ปณิดา กันถาด 2553. **การเกิดโซมาติกเอมบริโอของปาล์มน้ำมันพันธุ์การค้าในสภาพปลอดเชื้อ**. รายงานผลการวิจัย. ชุมพร: มหาวิทยาลัยแม่โจ้-ชุมพร.

จิรา ณ หนองคาย. 2551. **หลักและเทคนิคการขยายพันธุ์พืชในประเทศไทย**. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

ชยานิจ ดิษฐบรรจง, กษิดิศ ดิษฐบรรจง, ภุมรินทร์ วนิชชนานันท์, อรรัตน์ วงศ์ศรี และ อรุณี ใจเถิง. 2552. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน. น. 268-275. ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47**. 17 มีนาคม 2552. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชูจิตร มามีวัฒนะ, บุญรักษ์ ตุ้ยศิริ และ วัชรี บุญช่วย. 2532. การเพาะเมล็ดพันธุ์. น. 16-20. ใน **ปาล์มน้ำมัน โครงการวิจัยและพัฒนาปาล์มน้ำมัน ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี**.. สุราษฎร์ธานี: ศูนย์วิจัยพืชสวนเขตที่ 7 สุราษฎร์ธานี.

ทรรศณีย์ นิยะกิจ และ สมปอง เตชะโต. 2555. การชักนำและเพิ่มปริมาณเอ็มบริโอโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราและการตรวจสอบความแปรปรวนโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี. **วารสารเกษตร**, 28(3), 273-283.

ทวีพงศ์ สุวรรณโร. 2529. **การขยายพันธุ์อินทผลัมโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นพดล จรัสสัมฤทธิ์. 2555. **เอกสารคำสอน วิชา พส432 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช**. เชียงใหม่: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

นพมณี โทปุญญานนท์ (บรรณาธิการ). 2545. **การขยายพันธุ์พืชโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

นพรัตน์ อินถา, กวี สุจิปุลิ, ปิยรัษภ์ ปริญญาพงษ์ เจริญทรัพย์ และ พีระศักดิ์ ฉายประสาท. 2559. การชักนำโซมาติกเอ็มบริโอในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออิทผลัมไทย. **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์**, 3(ฉบับพิเศษ), 44-49.

นภาพร นาคอุดม. 2548. **การเกิดโซมาติกเอ็มบริโอเจเนซีสจากการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยปาล์มน้ำมัน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นันทิยา วรรธนะภูติ. 2553. **การขยายพันธุ์พืช**. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์.

ประสาทพร สมิตะมาน. 2541. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเทคนิคและการประยุกต์ใช้**. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พรทิพย์ วงศ์แก้ว และ ฐิติพร ผลธรรมพิทักษ์. 2537. การชักนำการออกดอกของอินทผลัม ภายใต้สภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. น. 318-329. ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 32**. 3-5 กุมพาพันธ์ 2537. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พีรเดช ทองอำไพ. 2529. **ฮอร์โมนพืชและการสังเคราะห์ : แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย**. กรุงเทพฯ: ไดนามิคการพิมพ์.

ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา และ ถิรพงศ์ ญาณิสราพันธ์. 2527. การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันโดยเทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อ. น. 112-118. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 22 ภาคโปสเตอร์ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน**. 30 มกราคม - 3 กุมภาพันธ์ 2527. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2541. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ : หลักการและเทคนิค**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รัตนชัย ม่วงงาม. 2559. **ปลูก อินทผลัม ไม้ผลเงินล้าน**. ปรีดา เหตระกูล และ ดุจเดือน เหตระกูล (บรรณาธิการ). กรุงเทพฯ: บริษัท แม่บ้าน จำกัด.

วนิตย์ จำรูญกุล. 2541. การเพาะเมล็ดปาล์มน้ำมัน. **ข่าวกองทุนสงเคราะห์การทำสวนยาง**, 36(139), 6-8.

ศตปพร เกิดสุวรรณ และ สมปอง เตชะโต. 2557. ผลของไดแคมบาต่อการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอและการพัฒนาเป็นต้นของปาล์มน้ำมัน. **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์**, 1(1), 2-9.

สกุลรัตน์ แสนปุตะวงษ์. 2553. **การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราจากการเพาะเลี้ยงคัพภะอ่อน และการตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรม**. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สนั่น ขำเลิศ. 2541. **หลักและวิธีปฏิบัติการขยายพันธุ์พืช**. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์อักษรพิทยา.

สมปอง เตชะโต, พรชัย แหลืองอาภาพงศ์, จรัสศรี นวลศรี และ วันทนา เอ้งย่อง. 2530. การชักนำให้เกิดแคลลัสปฐมภูมิในปาล์มน้ำมันโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนใบอ่อน. **วารสารสงขลานครินทร์**, 9(1), 1-6.

โองการ วณิชาชีวะ. 2556. เปรียบเทียบปัจจัยที่มีต่อการงอกของเมล็ดวัชพืชต่างถิ่นสกุลผักเผ็ดแม้วในประเทศไทย. **วารสารแก่นเกษตร**, 41(3), 317-326.

Blake, J. 1983. Tissue culture propagation of coconut, date and oil palm. **Tissue culture of trees**, 29-50.

Dixon, R. a. & Gonzales, R. a. 1994. **Plant cell culture : a practical approach**. Oxford: Oxford University Press.

El Bar, O. H. A. & Dawayati, M. M. E. 2014. Histological changes on regeneration in vitro culture of date palm (*Phoenix dactylifera*) leaf explants. **Australian Journal of Crop Science**, 8(6). 844-855.

Hilae, A. & Te-chato, S. 2005. Effects of carbon sources and strength of MS medium on germination of somatic embryos of oil palm (*Elaeis quineensis* Jacq.). **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, 27(3). 629-635.

Kurup, S. S., Aly, M. A. M., Lekshmi, G. & Tawfik, N. H. 2014. Rapid in vitro regeneration of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Kheneizi using tender leaf explant. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, 26(6). 539-544.

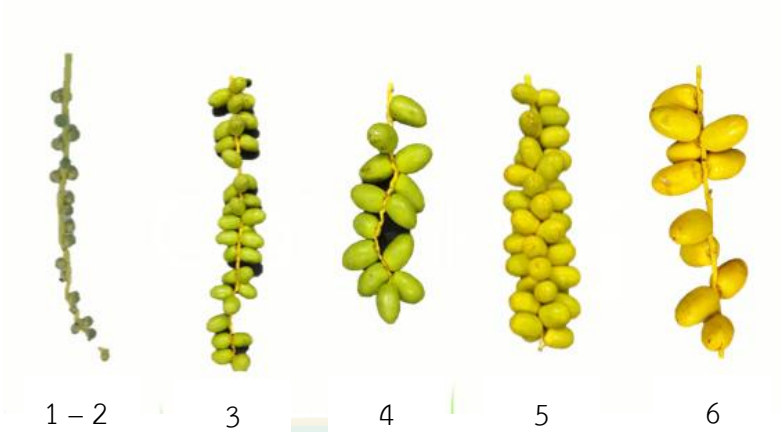
Meziani, R., Jaiti, F., Mazri, M. A., Anjarne, M., Chitt, M. A., El Fadile, J. & Alem, C. 2016. Effects of plant growth regulators and light intensity on the micropropagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Mejhoul. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, 18(5), 325-331.

Rashid, H. & Quraishi, A. 1994. Micropropagation of date palm through tissue culture. **Pakistan Journal of Agricultural Research**, 15(1), 1-7.

Tisserat, B. 1979. Propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) *in vitro*. **Journal of Experimental Botany**, 30(6), 1275-1283.

Witham, F. H. 1968. Effect of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid on the cytokinin requirement of soybean cotyledon and tobacco stem pith callus tissues. **Plant physiology**, 43(9), 1455-1457.

ภาคผนวก



ภาพผนวกที่ 1 การพัฒนาขนาดผลของอินทผลัมพันธุ์แม่โจ้ 36 หลังการผสมเกสรระหว่าง 1 – 6 เดือน

นำเมล็ดอินทผลัมมาล้างน้ำให้สะอาด

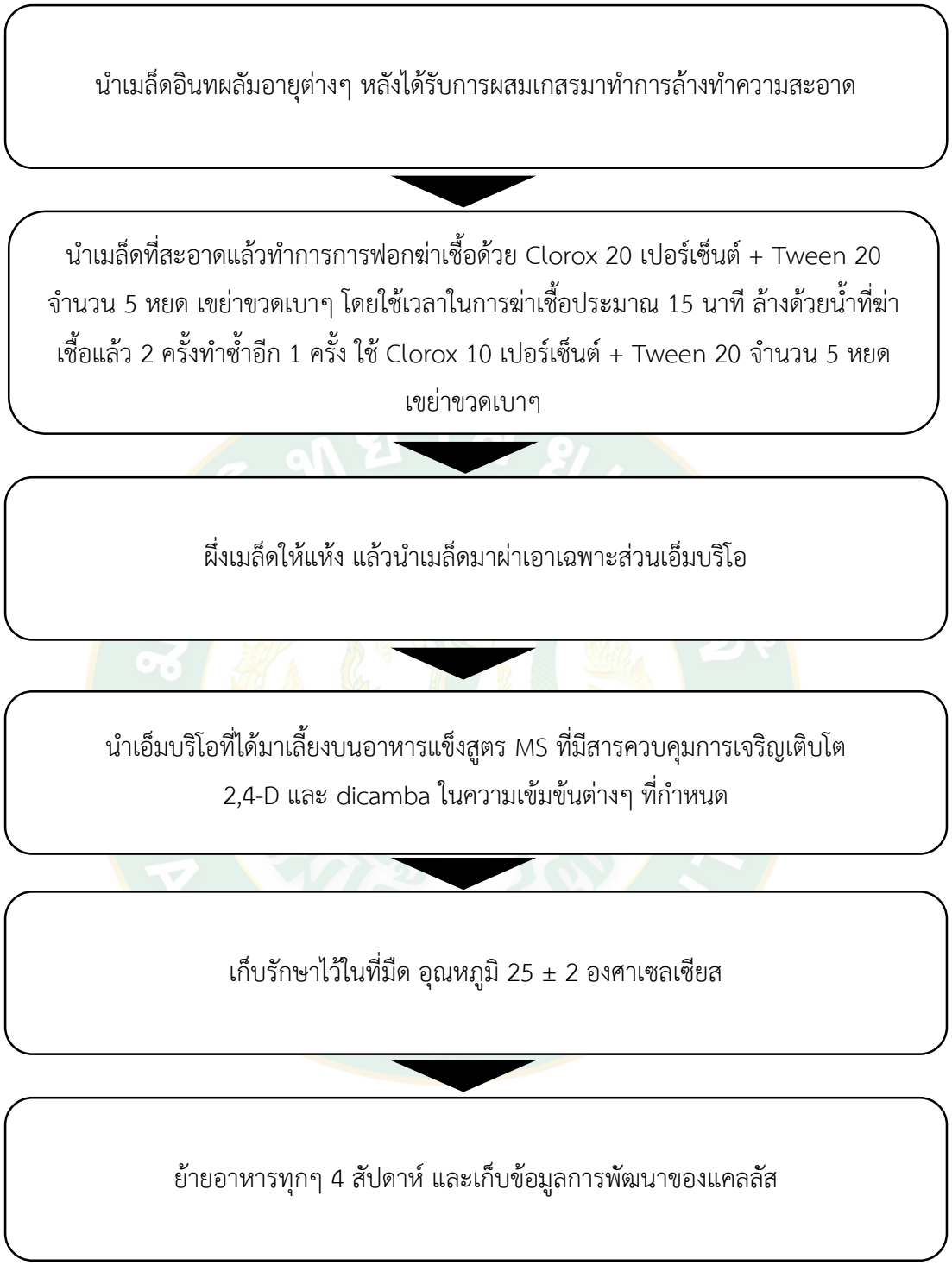
นำเมล็ดที่ทำความสะอาดแล้วใส่ลงในขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ ที่บรรจุ Clorox 15 เปอร์เซ็นต์ + Tween 20 จำนวน 5 หยด เขย่าขวดเบาๆ โดยใช้เวลาในการฆ่าเชื้อประมาณ 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำที่ฆ่าเชื้อแล้ว 1 ครั้ง

ทำการฆ่าเชื้อซ้ำอีก 1 ครั้ง ใส่ลงในขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ ที่บรรจุ Clorox 10 เปอร์เซ็นต์ + Tween 20 จำนวน 5 หยด เขย่าขวดเบาๆ โดยใช้เวลาในการฆ่าเชื้อประมาณ 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 - 3 ครั้ง

ผึ่งเมล็ดให้แห้งในตู้ย้ายเนื้อเยื่อ แล้วนำเมล็ดใส่ลงในขวดขนาด 2 ออนซ์ ที่มีอาหารสำหรับเพาะเมล็ดเตรียมไว้ (น้ำ+ผงวุ้น) แล้วนำไปเก็บไว้ตามแผนการทดลองที่กำหนด เก็บข้อมูลระหว่าง 7 – 35 วัน หลังเพาะเมล็ด

ภาพผนวกที่ 2 ขั้นตอนการเพาะเมล็ดอินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อ

ภาพผนวกที่ 3 ขั้นตอนการเตรียมอาหารสำหรับการใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช



ภาพผนวกที่ 4 ขั้นตอนการชักนำแคลลัสของอินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อ

นำแคลลัสที่ได้มาทำการตัดแบ่งให้มีขนาดที่เท่าๆ กัน

ย้ายแคลลัสลงในอาหารสูตรใหม่ตามที่กำหนดไว้ คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA, Kinetin และ dicamba ความเข้มข้นตามที่กำหนด พร้อมทั้งปรับปริมาณ Sucrose เป็น 30 และ 45 กรัมต่อลิตร

เก็บไว้ในอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ วันละ 16 ชั่วโมง

ย้ายอาหารทุกๆ 4 สัปดาห์ และเก็บข้อมูลการพัฒนาของยอด

ภาพผนวกที่ 5 ขั้นตอนการชักนำยอดจากแคลลัสอินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อ

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นายอำพล สอนสระเกษ	
เกิดเมื่อ	8 มิถุนายน 2536	
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2557	ระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต (พืชศาสตร์) พืชศาสตร์ (ไม้ผล) คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่
	พ.ศ. 2554	ระดับมัธยมศึกษาชั้นปีที่ 6 โรงเรียนกุนนทีรุทธารามวิทยาคม เขตดินแดง กรุงเทพมหานคร