โครงการวิจัยและผลิตพันธุ์และต้นกล้าปาล์มน้ำมันเพื่อสนับสนุน โครงการปลูกปาล์มน้ำมันเพื่อทดแทนพลังงาน

Project of Oil Palm Germinated Seed and Seedling Production for Oil Palm Planting and Bioenergy Project

อรรัตน์ วงศ์ศรี[1] เกริกชัย ธนรักษ์[1] วิชณีย์ ออมทรัพย์สิน[1] ชุมพล เชาวนะ[1] ยิ่งนิยม ริยาพันธ์[1] เพ็ญศิริ จำรัสฉาย[1]
สุวิมล กลศึก[1] สุจิตรา พรหมเชื้อ[1] กาญจนา ทองนะ[1] เตือนจิตร เพ็ชรรุณ[1] จิราพรรณ สุขชิต[1]
วรกร สิทธิพงษ์[1] สายชล จันมาก[2] รุจิรา สุขโหตุ[2] สุริยะ คงศิลป์[2] รุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล[3] ภรณี สว่างศรี[3]

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยและผลิตพันธุ์และต้นกล้าปาล์มน้ำมันเพื่อสนับสนุนโครงการปลูกปาล์มน้ำมันเพื่อทดแทนพลังงาน เริ่มต้นเดือนกรกฎาคม 2558 สิ้นสุด เดือนตุลาคม 2560 ได้ผลิตและจำหน่ายเมล็ดงอกพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 2 ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7 และลูกผสมสุราษฎร์ธานี 8 รวม 1,323,997 เมล็ด ผลิตต้นกล้าอายุ 3- 5 เดือน จำนวน 856,685 ต้น และต้นกล้าอายุ 8-12 เดือน จำนวน 312,603 ต้น รวมทั้งหมด 2,493,285 เมล็ดงอก/ต้นกล้า คิดเป็นพื้นที่ปลูกประมาณ 83,000 ไร่ ได้รับเงินรายได้จากการจำหน่ายพันธุ์ทั้งหมด 60,105,676 บาท ซึ่งสูงกว่าแผนการจำหน่ายเดิม 9.28 เปอร์เซ็นต์ การคัดเลือกต้นพ่อพันธุ์ชนิดพิสิเฟอราซึ่งจำแนกตามลักษณะสัณฐานจำนวน 111 ต้น ในขณะที่การใช้เครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์จำแนกได้ 97 ต้น (87.38 เปอร์เซ็นต์) จำแนกเป็นต้นเทเนอรา 5 ต้น (4.50 เปอร์เซ็นต์) และไม่สามารถจำแนกได้ 9 ต้น (8.12 เปอร์เซ็นต์) ดังนั้น จึงควรคัดเลือกต้นพ่อพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์ร่วมกับการใช้ลักษณะสัณฐานเพื่อให้ผลการคัดเลือกถูกต้องแม่นยำมากขึ้น และการนำเทคนิค Real time PCR มาพัฒนาเพื่อตรวจคัดกรองต้นดูราที่ปนในแปลงเพาะกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7 วิธีการตรวจวิเคราะห์แบบรวมตัวอย่าง (Bulk Sample) โดยใช้ต้นกล้า 10 ต้นต่อ 1 ตัวอย่าง ผลการตรวจคัดกรองจากจำนวน 50 ตัวอย่าง พบการปนของต้นดูรา 24 ตัวอย่าง และสามารถปล่อยผ่านได้ 26 ตัวอย่าง เมื่อนำทั้ง 26 ตัวอย่างมาตรวจแบบต้นต่อต้น พบว่ามีต้นดูราปน 3 ต้น คิดเป็นค่าความผิดพลาดในการปล่อยผ่าน 0.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งนับว่าเป็นวิธีการตรวจแบบรวมตัวอย่างที่ใช้ได้และให้ความแม่นยำ สามารถนำมาใช้ในการควบคุมการผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมันในปริมาณมากให้ตรงตามพันธุ์ได้

นอกจากนี้ ผลการศึกษาการนำต้นกล้าอายุมาก (อายุ 18-36 เดือน) ในสภาพชะงักการเจริญเติบโต เนื่องจากได้เพาะดูแลรักษาอยู่ในถุงขนาด 9x12 นิ้วซึ่งเป็นถุงสำหรับเพาะต้นกล้าอายุ 8-12 เดือน มาทำการฟื้นฟูเพื่อใช้ประโยชน์ในการปลูกซ่อมหรือใช้ปลูกเพื่อให้ระยะการติดทะลายเร็วขึ้น และสามารถจำหน่ายได้ พบว่า การฟื้นฟูต้นกล้าอายุ 18 และ 24 หลังจากย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 12 เดือน ต้นกล้ามีการปรับตัวได้ดีใกล้เคียงกันทุกลักษณะ ยกเว้นต้นกล้าอายุ 36 เดือน มีการฟื้นตัวได้น้อยหรือช้ากว่าต้นกล้าอายุ 18 และ 24 เดือน ส่วนการนำต้นกล้าอายุ 36 เดือน มาฟื้นฟูโดยตัดแต่งทางใบก่อนเปลี่ยนถุงใหม่ในระยะเวลา 12 เดือน พบว่า การตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 100 80 60 40 และ 20 เซนติเมตร มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ต้นกล้าที่มีการตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 20 เซนติเมตรมีผลดีต่อการขนย้ายต้นกล้าจากแปลงเพาะไปยังสถานที่แปลงปลูก การศึกษาการใช้วัสดุปลูกสำหรับการฟื้นฟูต้นกล้าอายุ 36 เดือน ประกอบด้วย สัดส่วนของดินแดง ทรายหยาบ ปุ๋ยหมัก ขุยมะพร้าว 6 กรรมวิธี ได้แก่ อัตราส่วน 1: 0: 0: 0 1: 1: 2: 6 2: 1: 3: 4 1: 0: 3: 6 1: 0: 1: 2 และ 0: 1: 1: 2 มีผลทำให้มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การใช้วัสดุปลูกที่ประกอบด้วยดินแดง ทรายหยาบ ปุ๋ยหมัก ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1: 0: 1: 2 ทำให้ต้นกล้ามีน้ำหนักเบาสะดวกต่อการขนย้ายเพื่อไปปลูกในแปลง ส่วนการใช้ดินแดงเป็นวัสดุปลูกมีต้นทุนต่ำกว่าทุกกรรมวิธี การสำรวจความพึงพอใจต่อปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานีจากเกษตรกรในจังหวัดสุราษฎร์ธานี กระบี่ นครศรีธรรมราช ชุมพร พังงา และระนอง จำนวน 250 ราย พบว่า เกษตรกรนิยมปลูกพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี เนื่องจากมีความพึงพอใจในด้านการเจริญเติบโต การออกดอก การคัดกล้าผิดปกติของต้นพันธุ์ การติดผลต่อทะลาย และการให้ผลผลิตต่อไร่ต่อปี

รหัสโครงการ 580912

[1/]ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี [2/] ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันกระบี่ [3/]สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

คำนำ

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญเพิ่มขึ้นมากสำหรับภาคอุตสาหกรรมเพื่อการบริโภค อุตสาหกรรมแปรรูปผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูง หรือโอลิโอเคมีคอล รวมทั้งผลิตไบโอดีเซลสำหรับใช้เป็นพลังงานทดแทน ในระบบการค้าน้ำมันพืช ได้แก่ น้ำมันปาล์ม น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันเมล็ดในปาล์ม น้ำมันมะพร้าว น้ำมันทานตะวัน และน้ำมันรำข้าว ซึ่งทั้งระบบมีปริมาณน้ำมันปาล์มในสัดส่วนสูงถึงร้อยละ 66-70 กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้จัดทำยุทธศาสตร์ปฏิรูปปาล์มน้ำมันและน้ำมันทั้งระบบ ปี 2560-2579 ได้สรุปสภาพปัญหาการผลิตปาล์มน้ำมันของประเทศ มีประสิทธิภาพการผลิตต่ำ ผลผลิตต่อไร่ต่ำ และอัตราการสกัดน้ำมันต่ำ ไม่สามารถแข่งขันได้ กลุ่มเกษตรกรต้องการการถ่ายทอดเทคโนโลยี และความเข้าใจในการพัฒนาคุณภาพปาล์มน้ำมัน อย่างไรก็ตาม การวางแผนการผลิตของประเทศในอนาคตจะต้องคำนึงถึงปริมาณผลผลิตให้สมดุลกับความต้องการใช้ จึงมีการวางแผนเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตมากกว่าการขยายพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมัน โดยวางเป้าหมายให้เพิ่มผลผลิตเฉลี่ยของประเทศจาก 2.5 เป็น 3.5 ตันต่อไร่ต่อปี รวมทั้งเพิ่มอัตราการสกัดน้ำมันจากร้อยละ 18 เป็นร้อยละ 23 โดยยังคงแผนปลูกทดแทนสวนเก่า 30,000 ไร่ต่อปี และขยายพื้นที่ปลูกจาก 5.23 ล้านไร่ เป็น 7.23 ล้านไร่ ภายในปี 2579

กรมวิชาการเกษตร โดยศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานีได้มีการวิจัยพันธุ์ปาล์มน้ำมันเพื่อให้บรรลุผลตามแผนยุทธศาสตร์ ผลการดำเนินงานของโครงการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน รอบที่ 1 ในปี 2541 – 2547 ได้พันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมที่ดีเด่น 6 พันธุ์ ที่ให้ผลผลิตสูงและองค์ประกอบต่างๆดี ซึ่งได้การรับรองจากกรมวิชาการเกษตรให้เป็นพันธุ์แนะนำมีชื่อว่า ปาล์มน้ำมันลูกผสมพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1 ลูกผสมพันธุ์สุราษฎร์ธานี 2 ลูกผสมพันธุ์สุราษฎร์ธานี 3 ลูกผสมพันธุ์สุราษฎร์ธานี 4 ลูกผสมพันธุ์สุราษฎร์ธานี 5 และ ลูกผสมพันธุ์สุราษฎร์ธานี 6 มีศักยภาพในการให้ผลผลิตทะลายสดไม่ต่ำกว่า 3.5 ตันต่อไร่ต่อปี และน้ำมันต่อทะลายไม่ต่ำกว่า 22 เปอร์เซ็นต์ (อรรัตน์และคณะ, 2550) การวิจัยปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน รอบที่ 2 เริ่มดำเนินการตั้งแต่ปี 2546 และในปี 2553 ได้พันธุ์แนะนำของกรมวิชาการเกษตร ได้แก่ ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7 ให้ผลผลิตทะลายสดเฉลี่ย (อายุ 3-8 ปี) 3,577.7 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี และในช่วงอายุ 3-12 ปีให้ผลผลิตทะลายสดเฉลี่ย 4,458 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี และสูงกว่าลูกผสมสุราษฎร์ธานี 3 30.2 เปอร์เซ็นต์ จำนวนทะลายเฉลี่ย 14.6 ทะลายต่อต้นต่อปี น้ำหนักทะลายเฉลี่ย 15.0 กิโลกรัมต่อทะลาย และน้ำมันต่อทะลาย 24.3 เปอร์เซ็นต์ หรือเทียบเท่าอัตราการสกัดน้ำมันของโรงงาน (Oil extraction rate, OER) 20.6 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7 มีลักษณะที่ดีในการให้เนื้อในสูง คือ มีเนื้อในต่อผลเฉลี่ย 12.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะให้น้ำมันไม่น้อยกว่า 3 เปอร์เซ็นต์ และในปี 2556 กรมวิชาการเกษตรได้รับรองปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 8 เป็นพันธุ์แนะนำ ซึ่งมีคุณลักษณะคือ ให้ผลผลิตทะลายสดเฉลี่ย (อายุ 3-10 ปี) 3,849 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี จำนวนทะลายเฉลี่ย 13.8 ทะลายต่อปี น้ำหนักทะลายเฉลี่ยสูง 15.1 กิโลกรัมต่อทะลาย และน้ำมันต่อทะลาย 24.8 เปอร์เซ็นต์ หรือเทียบเท่าอัตราการสกัดน้ำมันของโรงงาน (Oil extraction rate, OER) 21.1 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ น้ำมันปาล์มดิบจากการคำนวณของลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7 และลูกผสมสุราษฎร์ธานี 8 ได้ 844 และ 811 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี ตามลำดับ (อรรัตน์และคณะ, 2558) สรุปผลการดำเนินงานการนำผลงานวิจัยด้านพันธุ์ไปใช้ประโยชน์ในช่วงปี 2542–ปัจจุบัน ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานีได้ดำเนินการผลิตเมล็ดงอกปาล์มน้ำมันจำนวน 28,222,748 เมล็ดงอก คิดเป็นพื้นที่ปลูกประมาณ 900,000 ไร่ หรือประมาณ 18-20 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ปลูกทั้งหมด คิดเป็นรายได้ไม่ต่ำกว่า 532.7 ล้านบาท มีเกษตรกรรายย่อยจำนวนมากกว่า 40,000 ราย ที่นำพันธุ์ปาล์มน้ำมันของกรมวิชาการเกษตรไปปลูก สามารถลดการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันจากต่างประเทศลงได้ไม่น้อยกว่า 900 ล้านบาท นอกจากนี้จากการที่กรมวิชาการเกษตรกำหนดราคาขายของต้นพันธุ์ปาล์มน้ำมันทั้งเมล็ดงอกและต้นกล้าอายุต่างๆ ในราคาที่ใกล้เคียงกับต้นทุนการผลิต (unit cost) โดยไม่รวมค่าใช้จ่ายในการดำเนินการวิจัยซึ่งเป็นราคาถูกสำหรับเกษตรกร ทำให้ช่วยควบคุมราคาขายต้นกล้าพันธุ์ของปาล์มน้ำมันในท้องตลาดไม่ให้สูงจนเกินไป และ

ยังสามารถลดต้นทุนของเกษตรกรรายย่อยในการซื้อต้นกล้าปาล์มน้ำมันได้ไม่น้อยกว่า 500 ล้านบาท ลดปัญหาพันธุ์ปาล์มน้ำมันคุณภาพต่ำ หรือพันธุ์ปาล์มน้ำมันที่ไม่มีแหล่งผลิตที่ชัดเจน ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดีจากศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานีที่กระจายไปสู่เกษตรกร สามารถสร้างกำไรเฉลี่ยให้กับเกษตรกรหลังจากหักต้นทุนแล้วไม่น้อยกว่า 6,000 บาทต่อไร่ต่อปี หรือเป็นเงินหมุนเวียนในระบบของปาล์มน้ำมันของประเทศไม่ต่ำกว่า 6,000 ล้านบาทต่อปี

ลักษณะทางพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพบว่า ลูกผสมเทเนอราเกิดจากการผสมระหว่างต้นแม่ดูราและต้นพ่อพิสิเฟอรา ทำให้ผลของเทเนอรามีกะลาบาง ผลผลิตและเปอร์เซ็นต์น้ำมันต่อทะลายสูงจึงเหมาะสำหรับปลูกเป็นการค้า ปาล์มน้ำมันเทเนอราที่ปลูกเป็นการค้าควรเป็นเทเนอราที่ผ่านขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์มาอย่างถูกต้อง การปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันของกรมวิชาการเกษตรได้นำการคัดเลือกแบบวงจรสลับมาประยุกต์ใช้ (Modified Reciprocal Recurrent Selection) โดยการคัดเลือกต้นแม่พันธุ์ดูราผสมกับต้นพ่อพันธุ์เทเนอราเพื่อสร้างคู่ผสม ทำการปลูกทดสอบเพื่อคัดเลือกลูกผสมที่ให้ลักษณะทางการเกษตรดีเด่นผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จากนั้นจึงเพิ่มจำนวนต้นพ่อ-แม่พันธุ์ของคู่ผสมที่ผ่านการคัดเลือกโดยการผสมตัวเองของต้นแม่ดูราและต้นพ่อเทเนอรา ในการผสมตัวเองของต้นแม่ดูราได้ต้นพันธุ์ที่เป็นปาล์มน้ำมันดูราทั้งหมด ในขณะที่การผสมตัวเองของต้นพ่อเทเนอราได้ปาล์มน้ำมันที่มีการกระจายตัวของดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา ในสัดส่วน 1:2:1 ของประชากร ซึ่งจะคัดเลือกเฉพาะต้นพิสิเฟอรามาใช้เป็นต้นพ่อพันธุ์ผสมกับต้นแม่พันธุ์ดูราเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมเทเนอรา การคัดเลือกต้นพ่อพันธุ์พิสิเฟอราทำได้โดยจำแนกลักษณะสัณฐาน กล่าวคือพิจารณาการเจริญเติบโตทางลำต้น ลักษณะการติดผล การมีหรือไม่มีกะลา รวมทั้งไม่เป็นโรคหรือขาดธาตุอาหาร เป็นต้น ทั้งนี้จะทำการติดตามและบันทึกลักษณะสัณฐานดังกล่าวต่อเนื่องทุกปีตลอดอายุของต้นพ่อพันธุ์ อย่างไรก็ตามเนื่องจากการแสดงออกของลักษณะสัณฐานมีสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง โดยเฉพาะสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมมีผลต่อการแสดงออกของปาล์มน้ำมันเทเนอราบางกลุ่มทำให้ลักษณะการแสดงออกของผลในบางครั้งไม่สม่ำเสมอและไม่ชัดเจน มีการแสดงออกคล้ายกับปาล์มน้ำมันพิสิเฟอรา ทำให้เกิดความสับสนและคัดเลือกผิดพลาดได้หากคัดเลือกด้วยลักษณะสัณฐานเพียงอย่างเดียว ดังนั้นจึงได้นำเอาเครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์ที่พัฒนาโดยหทัยรัตน์ และคณะ (2557) มาใช้ในการคัดเลือกควบคู่ไปกับการคัดเลือกด้วยลักษณะสัณฐานทำให้สามารถตรวจสอบได้ในระดับดีเอ็นเอไม่ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม และเกิดความถูกต้องเที่ยงตรงมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ ได้นำเครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์มาใช้ประโยชน์ในการตรวจสอบการปนเปื้อนของต้นกล้าดูราในกระบวนการผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราของศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี โดยมีการพัฒนาวิธีการตรวจสอบจากการตรวจสอบต้นต่อต้นมาเป็นวิธีการตรวจสอบแบบตรวจคัดกรองทีละหลายต้นในคราวเดียวกัน เพื่อเป็นการลดจำนวนตัวอย่างให้น้อยลง เนื่องจากในระบบการผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมันเพื่อการจำหน่ายให้กับเกษตรกรมีจำนวนต้นกล้าในแต่ละชุดการผลิตเป็นจำนวนมาก ไม่สามารถใช้วิธีการตรวจสอบแบบต้นต่อต้นหรือตรวจสอบทุกต้นได้ นอกจากนี้ยังเป็นการประหยัดงบประมาณ เวลา และแรงงาน แต่ยังคงมีความถูกต้องและเชื่อมั่นได้

ต้นกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราอายุประมาณ 1 ปี เป็นต้นกล้าพร้อมปลูกลงแปลง หลังจากปลูกลงแปลงแล้วต้นกล้าปาล์มน้ำมันอาจเกิดความเสียหายได้จากหลายสาเหตุด้วยกัน ได้แก่ ความเสียหายจากการแสดงลักษณะผิดปกติ ซึ่งเกิดขึ้นได้ประมาณ 1 – 5 เปอร์เซ็นต์ แม้จะมีการคัดต้นกล้าผิดปกติในระยะอนุบาลหลักมาก่อนแล้วก็ตาม สาเหตุเนื่องมาจากในระยะอนุบาลต้นกล้า ต้นกล้าปาล์มน้ำมันเหล่านั้นยังไม่ได้แสดงอาการผิดปกติให้เห็นหรือระยะการวางต้นกล้าในเรือนเพาะชำที่ชิดกันเกินไป เช่น การวางแถวคู่ หรือวางแถวเดี่ยว ทำให้ไม่สามารถสังเกตลักษณะผิดปกติในแปลงอนุบาลหลักได้ นอกจากนี้ต้นปาล์มน้ำมันในแปลงปลูกอาจเสียหาย หรือตายจากการทำลายของหนูหรือสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมัน เช่น ตัวอ้น หมู วัว ด้วงแรด เป็นต้น ทำให้จำนวนต้นปาล์มน้ำมันต่อพื้นที่ลดลงและส่งผลต่อปริมาณผลผลิตปาล์มน้ำมันในอนาคต ในการปลูกซ่อมถ้าใช้ต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่มีอายุน้อยกว่าไปปลูกซ่อม ต้นที่ปลูกซ่อมจะเจริญเติบโตไม่ทันกับต้นที่ปลูกอยู่เดิม ทำให้ต้นที่ปลูกซ่อมมีลักษณะ

ยอดเรียว ต้นผอมชะลูด ให้ผลผลิตต่ำกว่าต้นปาล์มน้ำมันที่ปลูกอยู่เดิม ดังนั้นในการปลูกซ่อมจึงควรใช้ต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่มีอายุและขนาดใกล้เคียงกับต้นที่ปลูกอยู่ในแปลงเดิม อย่างไรก็ตาม การใช้ต้นกล้าปาล์มน้ำมันอายุมากกว่า 12 เดือน เพื่อการปลูกซ่อม ควรมีการศึกษาการเจริญเติบโตและการจัดการต้นกล้าในระยะอนุบาล เพื่อให้เกษตรกรได้รับต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่มีคุณภาพและผ่านการปฏิบัติที่ถูกต้องตรงตามหลักวิชาการ ซึ่งการอนุบาลต้นกล้าที่มีอายุ 36 เดือน ต้องใช้ถุงเพาะขนาด 21x24 นิ้ว เพื่อให้มีธาตุอาหาร และสามารถพยุงต้นกล้าปาล์มน้ำมันให้เจริญเติบโตแข็งแรง สมบูรณ์ หากใช้หน้าดินเพียงอย่างเดียวก็จะมีน้ำหนักค่อนข้างมากจะเป็นอุปสรรคในการนำไปปลูกลงแปลง จึงมีการปรับใช้วัสดุที่มีในท้องถิ่น คือ ดินแดง ขุยมะพร้าว ปุ๋ยหมัก ทรายหยาบ ผสมในอัตราส่วนต่างๆ ในการเพาะกล้าแทนหน้าดินเพียงอย่างเดียว เพื่อลดน้ำหนักลง และเพื่อความสะดวกในการขนย้ายสำหรับการปลูกซ่อม

ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี กรมวิชาการเกษตร เป็นหน่วยงานภาครัฐที่มีการศึกษาวิจัยในเรื่องการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันตั้งแต่ปี 2530 จนถึงปัจจุบัน ได้พันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมที่มีศักยภาพดีเด่นตามเกณฑ์มาตรฐานสากล และได้รับการรับรองจากกรมวิชาการเกษตรให้เป็นพันธุ์แนะนำ 8 พันธุ์ จากข้อมูลของผู้ซื้อเมล็ดงอก และต้นกล้า พบว่าผู้ซื้อมีทั้งภาคเอกชนและส่วนราชการ โดยมีการผลิตต้นกล้าจำหน่ายให้เกษตรกรนำไปปลูกไปตามจังหวัดต่างๆ ของภาคใต้ ที่มีความเหมาะสมในการปลูกปาล์มน้ำมัน ดังนั้น โครงการวิจัยนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อขยายผลงานวิจัยพันธุ์ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดีโดยการผลิตเมล็ดพันธุ์และต้นกล้าสำหรับสนับสนุนแผนส่งเสริมให้มีการขยายพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมัน นอกจากนี้การผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานีพันธุ์แนะนำของกรมวิชาการเกษตรให้ได้คุณภาพ จำเป็นต้องศึกษาการใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการจำแนกต้นพ่อพันธุ์ และการตรวจสอบการปนเปื้อนของต้นกล้าดูราในกระบวนการผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอรา และการฟื้นฟูต้นกล้าอายุมากและชะงักการเจิญเติบโต เพื่อให้ได้ข้อมูลของกระบวนการผลิตสำหรับการพัฒนาการผลิตพันธุ์ปาล์มน้ำมัน นอกจากนี้ ทำการศึกษาความพึงพอใจและทัศนคติของเกษตรกรต่อปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานีพันธุ์ต่างๆ ในภาคใต้ 6 จังหวัด คือจังหวัดสุราษฎร์ธานี กระบี่ นครศรีธรรมราช ชุมพร พังงา และระนอง จำนวน 250 ราย เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการปรับปรุงและพัฒนาพันธุ์ปาล์มน้ำมันในรอบต่อไป

วิธีดำเนินการ

กิจกรรมที่ 1 การผลิตเมล็ดงอกและต้นกล้าปาล์มน้ำมัน

อุปกรณ์

1. ถุงคลุมช่อดอกตัวผู้และถุงคลุมช่อดอกตัวเมียปาล์มน้ำมัน ตู้แช่แข็งเก็บละอองเกสร เครื่องดูดสุญญากาศ ตู้ปลอดเชื้อ และอุปกรณ์การผสมพันธุ์ (หลอดบรรจุเกสร ลวด ฟอร์มาลิน เซฟวิน และแป้งผสมเกสร)
2. เครื่องตีแยกเปลือกผลปาล์มน้ำมัน เครื่องชั่ง มีด ภาชนะบรรจุเมล็ด ห้องอบเมล็ด ห้องเพาะเมล็ด เป็นต้น
3. สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช โรค และแมลงตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

วิธีการ

ดำเนินการผลิตเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี ตามคู่มือการผลิตเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันของกรมวิชาการเกษตร และ ASD, 1996; Hertslet and Duckett, 1983; IRHO, 1992; Kushairi and Rajanaidu, 2000 และ Socfindo, 2001 โดยนำทะลายมาสับแยกช่อทะลายย่อยและบ่มไว้ประมาณ 7-10 วัน ทำการปลิดผลปาล์มจากช่อทะลายย่อย นำไปเข้าเครื่องตีเมล็ดเพื่อแยกส่วนเปลือกออกจากเมล็ด ขูดทำความสะอาดและแช่เมล็ดด้วยสารป้องกันกำจัดเชื้อรา หลังจากนั้นนำเมล็ดไปผึ่งประมาณ 2-4 วัน เพื่อลดความชื้นภายในเมล็ดให้อยู่ระหว่าง 18±1 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำเมล็ดแห้งที่ได้แต่ละพันธุ์มาทำลายการพักตัวด้วยการใช้ความร้อน (Pre-heat treatment) ที่อุณหภูมิ 39±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วัน เมล็ดแห้งที่ผ่านการพักตัวสามารถเก็บรักษาในห้องเย็นหรือนำเมล็ดออกจากห้องร้อนไปแช่น้ำประมาณ 7-10 วัน เพื่อเพิ่มความชื้นเมล็ดที่ 20±1 เปอร์เซ็นต์ แล้ว

นำเมล็ดมาผ่านกระบวนการล้างทำความสะอาด แช่สารป้องกันกำจัดเชื้อราอีกครั้ง ก่อนบรรจุเมล็ดใส่ถุงพลาสติกมัดปากถุงให้แน่นแล้วนำเข้าห้องเพาะ เปิดถุงเพาะเพื่อให้ความชื้นโดยการฉีดพ่นน้ำเป็นครั้งคราว ประมาณ 7-10 วัน เมล็ดจะเริ่มงอก แยกเมล็ดแต่ละพันธุ์ และจัดเป็นชุด (lot) ตามช่วงเวลาที่เก็บเกี่ยวใกล้เคียงกันและวันที่เพาะความงอกในแต่ละชุด บันทึกข้อมูลจำนวนเมล็ดแห้ง จำนวนเมล็ดงอกที่สมบูรณ์และไม่สมบูรณ์ เมล็ดเสียหาย และเมล็ดที่นำไปใช้ประโยชน์ คำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอกและวิเคราะห์ผล เมล็ดงอกสมบูรณ์ย้ายปลูกลงถุงพลาสติกขนาดเล็กประมาณ 3-5 เดือน คัดแยกต้นกล้าผิดปกติและตรวจสอบคุณภาพความสม่ำเสมอของต้นกล้าเล็ก จากนั้นย้ายลงถุงพลาสติกขนาดใหญ่ดูแลรักษาจนกระทั่งต้นกล้าอายุ 8-12 เดือน พร้อมปลูก คัดแยกต้นกล้าผิดปกติและตรวจสอบคุณภาพความสม่ำเสมอของต้นกล้าใหญ่

ตารางที่ 1 ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพของการผลิตพันธุ์ปาล์มน้ำมัน

ขั้นตอน/ระยะการดำเนินการ	การควบคุมคุณภาพ	การปฏิบัติงาน
1. การเตรียมละอองเกสรตัวผู้		
1.1 การคลุมช่อดอก	- ป้องกันการปนเปื้อนของละอองเกสรอื่น - ระบุหมายเลข ต้นพ่อพันธุ์ - ป้องกันการปนเปื้อนของละอองเกสรอื่น	- ตรวจสอบให้ปราศจากแมลงในถุงคลุม - บันทึกหมายเลขต้นพ่อพันธุ์ และวันที่ดำเนินการ - ปราศจากแมลงในถุงคลุมถุงคลุมอยู่ในสภาพดี
1.2 การเก็บเกี่ยวดอกตัวผู้		- บันทึกวันที่เก็บเกี่ยว
1.3 การเก็บรักษาละอองเกสร	- เก็บรักษาในสภาพสุญญากาศและอุณหภูมิต่ำ - ความมีชีวิตของละอองเกสร - ระยะเวลาการเก็บรักษา	- ในขวดสุญญากาศและอุณหภูมิ -20 ถึง -15 องศาเซลเซียส - ทดสอบความมีชีวิตและเลือกใช้ละอองเกสรที่มีความมีชีวิต มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ - เก็บรักษาได้ประมาณ 6 เดือน
2. การเตรียมช่อดอกตัวเมีย		
2.1 การคลุมช่อดอกตัวเมีย	- ป้องกันการปนเปื้อนของละอองเกสรอื่น - ระบุหมายเลขต้นแม่พันธุ์	- ปราศจากแมลงในถุงคลุม - บันทึกหมายเลขแม่พันธุ์และวันที่ดำเนินการ
2.2 การผสมละอองเกสร	- ป้องกันการปนเปื้อนของละอองเกสรอื่น	- ปราศจากแมลงในถุงคลุม ถุงคลุมอยู่ในสภาพดี - บันทึกวันที่ผสมละอองเกสร - Blank test
2.3 การถอดถุงคลุมช่อดอก	- ระบุละอองเกสรตัวผู้ - ป้องกันการปนเปื้อนของละอองเกสรอื่น	- บันทึกข้อมูลละอองเกสรตัวผู้ - ปราศจากแมลงในถุงคลุม - บันทึกวันที่ดำเนินการ
3. การเก็บเกี่ยวทะลายปาล์ม	- มาตรฐานการเก็บเกี่ยว	- เก็บเกี่ยวตามมาตรฐาน - บันทึกวันเก็บเกี่ยว น้ำหนักทะลาย - เก็บป้ายบันทึกข้อมูลต่างๆให้ติดไปกับทะลาย
4. การเตรียมเมล็ดพันธุ์	- การคัดเมล็ดพันธุ์	- คัดทิ้งทะลายที่มีผลปาล์มน้อยกว่า 300 ผลต่อทะลายและคัดทิ้งเมล็ดผิดปกติต่าง ๆ

ขั้นตอน/ระยะการดำเนินการ	การควบคุมคุณภาพ	การปฏิบัติงาน
	- ระบุเมล็ดพันธุ์ - การทำลายระยะการพักตัว - การเพาะเมล็ดให้งอก - การคัดเมล็ดพันธุ์	- การบันทึกข้อมูลต่างๆ จะต้องแยกทะลายแต่ละทะลายออกจากกัน - ตรวจสอบอุณหภูมิของห้อง 40 องศาเซลเซียส - แยกเมล็ดในแต่ละทะลาย - คัดแยกเมล็ดงอกที่สมบูรณ์ - ปราศจากเชื้อโรค และแมลง
5. การเพาะต้นกล้าระยะอนุบาลแรก ในเรือนเพาะชำ (อายุ 3-5 เดือน)	- การคัดทิ้งต้นผิดปกติ	- เพาะเลี้ยงต้นกล้าตามคำแนะนำ - คัดทิ้งต้นกล้าที่ผิดปกติ ประมาณ 10-15 เปอร์เซ็นต์
6. การเพาะต้นกล้าปาล์มน้ำมันระยะอนุบาลหลักในแปลงเพาะชำ (อายุ 8 – 12 เดือน)	- การคัดทิ้งต้นผิดปกติ	- เปลี่ยนขนาดของถุงที่ใช้เพาะเลี้ยงต้นกล้าจากขนาด 5 x 7 นิ้ว เป็น 10 x 14 นิ้ว - เพาะเลี้ยงต้นกล้าตามคำแนะนำ - คัดทิ้งต้นกล้าที่ผิดปกติ ประมาณ 5 -10 เปอร์เซ็นต์

การบันทึกข้อมูล

จำนวนทะลายจากต้นแม่พันธุ์ที่ได้รับการผสมเพื่อผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์ลูกผสม จำนวนเมล็ดแห้งทั้งหมด จำนวนเมล็ดแห้งปกติและที่ได้จากการผลิต จำนวนเมล็ดงอกทั้งหมด จำนวนเมล็ดงอกสมบูรณ์

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้นกรกฎาคม 2558 สิ้นสุด มิถุนายน 2560

สถานที่ดำเนินงาน ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี

ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันกระบี่

กิจกรรมที่ 2 การคัดเลือกต้นพ่อพันธุ์ปาล์มน้ำมัน และตรวจสอบการปนเปื้อนในระบบการผลิตเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานีโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย

การทดลองที่ 2.1 การคัดเลือกต้นพ่อพันธุ์ชนิดพิสิเฟอราในประชากรกลุ่มลาเม่

อุปกรณ์

1. วัสดุพืช ได้แก่ ปาล์มน้ำมันดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราจากประชากรกลุ่มลาเม่ อายุประมาณ 8 ปี ณ แปลงปลูกของศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันกระบี่

2. สารเคมี ได้แก่ สารเคมีสำหรับสกัดดีเอ็นเอ สารเคมีสำหรับทำอิเล็กโตรโฟรีซีส และสารเคมีสำหรับทำ Real-time PCR เป็นต้น

3. วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการสุ่มเก็บตัวอย่างใบและผลปาล์มน้ำมัน ได้แก่ ถุงพลาสติก กรรไกร กรรไกรตัดกิ่ง และกระติกน้ำแข็ง เป็นต้น

4. วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ การตรวจสอบปริมาณและคุณภาพดีเอ็นเอ และการทำ Real-time PCR เป็นต้น

วิธีการ

1. การตรวจสอบลักษณะสัณฐานและการเก็บตัวอย่างใบปาล์มน้ำมัน

ทำการตรวจสอบลักษณะสัณฐานของกะลาและการติดผลของปาล์มน้ำมันดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา จากประชากรปาล์มน้ำมันกลุ่มลาเม่ อายุประมาณ 8 ปี ณ แปลงปลูกของศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันกระบี่ จังหวัดกระบี่ โดยปาล์มน้ำมันดูราติดผลสมบูรณ์ ผลมีกะลาหนา ปาล์มน้ำมันเทเนอราติดผลสมบูรณ์ ผลมีกะลาบาง และปาล์มน้ำมันพิสิเฟอราติดผลไม่สมบูรณ์ ผลลีบ และไม่มีกะลา ทำการสำรวจและบันทึกการติดผลเป็นรายต้น สำหรับปาล์มน้ำมันต้นที่มีทะลายทำการผ่าผลเพื่อตรวจสอบการมีหรือไม่มีกะลาและความหนาของกะลา เพื่อแยกประเภทและบันทึกข้อมูลที่ได้ จากนั้นจึงเก็บตัวอย่างใบเฉพาะต้นที่แสดงลักษณะสัณฐานของกะลาและการติดผลเป็นประเภทพิสิเฟอราและต้นที่ไม่มีทะลายไม่สามารถผ่าผลเพื่อจำแนกประเภทได้ เพื่อนำตัวอย่างใบของต้นเหล่านี้มาสกัดดีเอ็นเอต่อไป

2. การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างใบปาล์มน้ำมัน โดยใช้วิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Doyle และ Doyle (1990) ดังนี้ เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ 2 x CTAB (2% (w/v) Hexadecyl trimethyl-ammonium bromide, 1.4 M NaCl, 50mM Na_2EDTA, 100 mMTris-HCl pH 8.0) โดยเติม β-mercaptoethanal เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ลงในบัฟเฟอร์ก่อนการสกัดดีเอ็นเอ นำตัวอย่างใบปาล์มน้ำมัน 200 มิลลิกรัมน้ำหนักสด ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆบดด้วยโกร่งให้ละเอียดพร้อมกับไนโตรเจนเหลว ตักตัวอย่างที่บดละเอียดแล้วใส่หลอดเอฟเพนดอร์ฟขนาด 2 มิลลิลิตร เติมสารละลายบัฟเฟอร์ดังกล่าวปริมาตร 800 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่า นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยเขย่าหลอดทุก 15 นาที เมื่อครบเวลาเติมคลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (Chloroform : Isoamyl alcohol = 24:1) ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ผสมสารละลายในหลอดโดยวิธีกลับหลอดไปมาประมาณ 5 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายใสส่วนบนปริมาตร 500 ไมโครลิตรใส่หลอดใหม่ เติมโอโซโพรพานอลปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการกลับหลอดไปมาเบา ๆ วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทสารละลายส่วนบนทิ้ง ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอธิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ 2 ครั้ง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เทเอธิลแอลกอฮอล์ทิ้งไป วางทิ้งไว้ให้ดีเอ็นเอแห้งที่อุณหภูมิห้อง ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer (1 mM Na_2EDTA, 10 mM Tris-HCl pH 8.0) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เก็บดีเอ็นเอที่สกัดได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อไปใช้งานต่อไป

3. วิธีการตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอ

ก่อนทำพีซีอาร์ทำการตรวจสอบปริมาณและคุณภาพจีโนมิกดีเอ็นเอที่สกัดได้ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงคลื่น 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer คำนวณค่าการดูดกลืนแสงที่ได้กลับมาเป็นปริมาณดีเอ็นเอ และบันทึกภาพตัวอย่างจีโนมิกดีเอ็นเอโดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซีสบนอะกาโรสเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ด้วยแรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ ในสารละลาย TAE (Tris Base, Glacial acetic acid, 0.5 M Na_2 EDTA pH 8.0) เป็นเวลา 30 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ ตรวจสอบและบันทึกภาพภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเลต

4. การทำ Real time PCR

เจือจางจีโนมิกดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วย TE buffer ให้มีความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เพื่อใช้เป็นดีเอ็นเอแม่พิมพ์ในการทำ Real time PCR ด้วยไพรเมอร์และโพรบ (หทัยรัตน์ และคณะ 2558) ดังนี้

Forward primer : 5’ GCCGGCAGGTCACTTTCT 3’

Reverse primer : 5’ CCGGCTGGAGAAGACAATCT 3’

Hybridization probe (C) : VIC-5’ -CTTTGTGATGCTGAGGTT-Q-(MQB) -3’

Hybridization probe (A) : FAM-5’ -CTTTGTTAGTATGAGGTT-Q-(MQB) -3’

ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 2xTag Man® Genotyping master mix ปริมาณ 10 ไมโครลิตร 20x Assay primer and probe ปริมาณ 1 ไมโครลิตร ดีเอ็นเอแม่พิมพ์ปริมาณ 3 ไมโครลิตร น้ำกลั่นปริมาณ 6 ไมโครลิตร ตั้งอุณหภูมิปฏิกิริยา 2 ระดับ คือ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที จำนวน 1 รอบ ตามด้วย 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วินาที และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วินาที จำนวน 50 รอบ

5. การวิเคราะห์ผล

วิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม QuantStudio™ Design & Analysis Software โดยโปรแกรมจะบันทึกและคำนวณค่าสีฟลูออเรสเซนต์ที่ได้จากแต่ละรอบของปฏิกิริยาการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลอง นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ชนิดของนิวคลีโอไทด์ในตำแหน่งสนิปส์ และสร้าง Allelic Discrimination ของแต่ละตัวอย่างดีเอ็นเอ ซึ่งนิวคลีโอไทด์ของตำแหน่งสนิปส์ที่แสดงว่าเป็นอัลลีลของต้นแม่พันธุ์ดูราจะอยู่ในแนวแกน X และนิวคลีโอไทด์ของตำแหน่งสนิปส์ ที่แสดงว่าเป็นอัลลีลของต้นพ่อพันธุ์พิสิเฟอราจะอยู่ในแนวแกน Y ส่วนนิวคลีโอไทด์ของตำแหน่งสนิปส์ ที่แสดงว่าเป็นอัลลีลของลูกผสมเทเนอราจะอยู่ในแนวกึ่งกลางระหว่างแกน X กับแกน Y

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลการตรวจสอบลักษณะผลและความหนากะลาของปาล์มน้ำมันกลุ่มลาเม่เป็นรายต้น โดยแยกเป็นผลแบบดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา และต้นที่ไม่มีการติดผล ไม่สามารถจำแนกได้ด้วยลักษณะสัณฐานของกะลา

2. บันทึกข้อมูลการเก็บตัวอย่างใบเพื่อการสกัดดีเอ็นเอและปริมาณและคุณภาพดีเอ็นเอที่สกัดได้

3. บันทึกข้อมูลผลที่ได้จากการทำ Real-time PCR ได้แก่ องค์ประกอบของสารเคมี อุณหภูมิและเวลาในการทำพีซีอาร์ ไพรเมอร์และโพรบที่ใช้ และความแปรปรวนของลำดับเบสในตำแหน่งสนิปส์จากตัวอย่างดีเอ็นเอแต่ละตัวอย่าง

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา	เริ่มต้นเดือนกรกฎาคม 2558 สิ้นสุด เดือนมิถุนายน 2560
สถานที่ดำเนินงาน	ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี
	ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันกระบี่

การทดลองที่ 2.2 การตรวจสอบการปนเปื้อนของดูรา ในระบบการผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานีเพื่อการควบคุมคุณภาพ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี 7 ที่ใช้ในการทำการศึกษา จำนวน 129 ตัวอย่าง ประกอบด้วย
    1.1 ต้นแม่พันธุ์ (Deli Dura) จำนวน 14 ตัวอย่าง
    1.2 ต้นพ่อพันธุ์ (Tanzania Pisifera) จำนวน 10 ตัวอย่าง
    1.3 ต้นลูกผสมเทเนอราพันธุ์สุราษฎร์ธานี 7 จำนวน 105 ตัวอย่าง
    1.4 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7 อายุ 5 เดือน จำนวน 500 ตัวอย่าง

2. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ ได้แก่ เครื่องปั่นเหวี่ยง อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ไมโครปิเปตขนาดต่างๆ หลอดเซนตริฟิวส์ ขนาด 1.5 0.2 และ 15 มิลลิลิตร

3. เครื่อง PCR (Gene Amp 9700) เครื่อง QuantStudio™ 5 Real-Time PCR (Applied Biosystems®) เครื่อง Spectrophotometer, เครื่อง gel documentation

4. สารเคมี/วัสดุที่ใช้ในการทดลอง

4.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ เช่น ไนโตรเจนเหลว แอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม CTAB (Hexadecyl trimetylammonium bromide)

4.2 ชุดน้ำยา Phire Plant Direct PCR Kit (Thermo Scientific), TaqMan® GTX Master Mix, TaqMan® MGB probes

วิธีการ

1. การตรวจสอบชนิดอัลลีลเพื่อยืนยันความถูกต้องของปาล์มน้ำมันดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา ของประชากรกลุ่มแทนซาเนีย

การศึกษาครั้งนี้ใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิดสนิปส์ในการตรวจจำแนกชนิดของปาล์มน้ำมัน โดยอาศัยลำดับนิวคลีโอไทด์หรือลำดับเบสในจีโนมิคดีเอ็นเอบริเวณเป้าหมายที่เกิดการกลายพันธุ์แบบแทนที่ (Substitution) เพียงหนึ่งตำแหน่ง เพื่อให้ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษามีความแม่นยำจึงจำเป็นต้องเลือกใช้ต้นที่ให้ผลผลิตทะลาย เพื่อให้สามารถตรวจสอบลักษณะสัณฐานความหนาของกะลาและบ่งชี้ได้ว่าเป็นปาล์มน้ำมันดูรา เทเนอราและพิสิเฟอราอย่างถูกต้อง โดยการเก็บตัวอย่างใบปาล์มน้ำมันดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา ของประชากรกลุ่มแทนซาเนีย จำนวน 129 ตัวอย่าง แบ่งเป็นปาล์มน้ำมันดูรา จำนวน 14 ตัวอย่าง เทเนอรา จำนวน 105 ตัวอย่าง และพิสิเฟอรา จำนวน 10 ตัวอย่าง มีขั้นตอนดังนี้

1.1 การสกัดดีเอ็นเอจากใบปาล์มน้ำมัน

ทำการสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการของ หทัยรัตน์และคณะ (2548) ซึ่งดัดแปลงเล็กน้อยจากวิธีการของ Agrawal และคณะ (1992) มีวิธีการดังนี้ นำตัวอย่างใบปาล์มน้ำมัน 2 กรัม ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วบดด้วยโกร่งให้ละเอียดพร้อมกับไนโตรเจนเหลว ตักตัวอย่างที่บดแล้วใส่หลอด 1.5 มิลลิลิตร เติมบัฟเฟอร์สกัด (Extraction buffer) [2xCTAB; 2%(w/v) Cethyl trimethyl ammonium bromide, 1.4 M NaCl, 50 mM Na_2 EDTA, 100 mM Tris-HCl ปรับ pH8.0 (ก่อนใช้ เติม β-mercaptoethanol 0.2 เปอร์เซ็นต์)] ปริมาณ 700 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มที่ 60 องศาเซลเซียส 30 นาที โดยเขย่าหลอดทุก 10 นาที เมื่อครบเวลาเติมคลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (24:1) 700 ไมโครลิตร ผสมสารละลายในหลอดโดยวิธีกลับหลอดไปมา 5 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดน้ำใสส่วนบน 500 ไมโครลิตรใส่หลอดใหม่ จากนั้นเติม 3 โมลาร์โซเดียมอะซีเตท 50 ไมโครลิตร และไอโซโพรพานอล 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันเบาๆ แล้วนำไปแช่น้ำแข็งนาน 30 นาที จึงนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เทสารละลายส่วนบนทิ้ง ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70 เปอร์เซ็นต์เอทานอล 500 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที (ล้างตะกอน 2 ครั้ง) ตั้งทิ้งไว้ให้ดีเอ็นเอแห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer (1 mM Na_2 EDTA, 10 mM Tris-HCl pH 8.0) จำนวน 50 ไมโครลิตร ตรวจสอบคุณภาพ และปริมาณของดีเอ็นเอที่ได้โดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น A260/A280 ให้อยู่ในช่วง 1.8-2.0 และตรวจสอบด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็คโทรโฟรีซีส (Agarose gel electrophoresis) ในอะกาโรสที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ในสารละลาย 1X TBE buffer ที่แรงเคลื่อนไฟฟ้า (Voltage) 100 โวลต์ เป็นเวลา 40 นาที แช่แผ่นวุ้นในเอธิเดียมโบรไมด์ที่มีความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 5 นาที บันทึกภาพแถบดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยชุดถ่ายภาพ และ UV Transilluminators

1.2 การใช้เครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์เพื่อตรวจปาล์มน้ำมันลูกผสมชนิดเทเนอรา ด้วยเทคนิค Real Time PCR

1.2.1 การออกแบบไพรเมอร์และโพรบสำหรับตรวจสนิปส์ ตามวิธีการของ หทัยรัตน์ และคณะ (2558)

ออกแบบไพรเมอร์และโพรบโดยใช้โปรแกรม TaqMan probe and primer chemistry and design ของบริษัท Applied Biosystems ในแต่ละสนิปส์จะออกแบบไพรเมอร์ 1 คู่ ขนาบข้างตำแหน่งของสนิปส์นั้น (Forward primer 5'-GCCGGCAGGTCACTTTCT-3' Reverse primer 5'-GGAGAAGACAATAAGGGCAACCT-3') และออกแบบโพรบที่มีความยาว 13 คู่เบส 2 เส้น ที่เป็นเบสคู่สมกับบริเวณโดยรอบตำแหน่ง สนิปส์ (A/T) โดยโพรบเส้นแรกติดฉลากด้วยฟลูออเรสเซนต์สี VIC ที่ปลาย 5' ลำดับนิวคลีโอไทด์ตรงตำแหน่ง สนิปส์เป็นลำดับเบสคู่สมของปาล์มน้ำมันต้นแม่ดูรา (allele A) และปลาย 3' ของโพรบติดฉลากด้วย Quencher และ Minor Groove Binder (MGB) ดังนี้ VIC-5'-CAACTCATAAGC**t**TTCTTC-Q-(MGB)-3' ส่วนโพรบเส้นที่ 2 ออกแบบคล้ายโพรบเส้นแรก แต่ลำดับ นิวคลีโอไทด์ตรงตำแหน่งสนิปส์จะเป็นลำดับเบสคู่สมของต้นพ่อพิสิเฟอรา (allele T) และติดฉลากสี FAM ที่ปลาย 5' ดังนี้ FAM-5'-CTCATAAGC**a**TTCTTC-Q-(MGB)-3' ทำการสั่งสังเคราะห์โพรบและไพรเมอร์โดยบริษัท Applied Biosystems สหรัฐอเมริกา

1.2.2 การตรวจสอบปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอรา ด้วยเทคนิค Real Time PCR

นำดีเอ็นเอของปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราที่สกัดได้จากข้อ 1.1 มาเจือจางให้มีความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เพื่อใช้เป็นแม่พิมพ์ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและตรวจวิเคราะห์สนิปส์ด้วยเทคนิค Real time PCR โดยใช้ไพรเมอร์และ TaqMan® MGB probes ที่ออกแบบไว้ในข้อ 1.2.1 โดยมีองค์ประกอบของปฏิกิริยาทั้งหมด 15 ไมโครลิตร ดังต่อไปนี้ 2xTaqMan® Genotyping master mix 7.5 ไมโครลิตร 20x Assay primer and probe 0.38 ไมโครลิตร ดีเอ็นเอ 2 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นสำหรับ PCR 5.12 ไมโครลิตร ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่อง QuantStudio™ 5 Real time PCR (Applied Biosystems®, USA) โดยมีสภาวะการทำปฏิกิริยา ดังนี้ 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที จำนวน 1 รอบ ตามด้วย 95 องศาเซลเซียส 20 วินาที และ 60 องศาเซลเซียส 60 วินาที จำนวน 50 รอบ

1.3 การวิเคราะห์ผล

บันทึกผลและวิเคราะห์ข้อมูลค่าของสีฟลูออเรสเซนต์ซึ่งจะถูกบันทึกไว้ตามจำนวนรอบของปฏิกิริยา PCR การวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ของตำแหน่งสนิปส์จะสร้าง Allelic Discrimination ของตัวอย่างด้วยโปรแกรม QuantStudio™ Design & Analysis Software ซึ่ง allele A จะอยู่ที่แกน X และ Allele T จะอยู่แกน Y ลูกผสมจะอยู่กึ่งกลางระหว่างแกนทั้งสอง พันธุ์ปาล์มน้ำมันของศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี ที่นำมาตรวจวิเคราะห์ครั้งนี้ทราบกลุ่มพันธุ์และชนิดแล้ว การตรวจสนิปส์ครั้งนี้จึงถือเป็นการตรวจสอบความใช้ได้ของไพรเมอร์และโพรบของสนิปส์ตำแหน่งต่างๆ ด้วย

2. การหาขีดจำกัดของการตรวจคัดกรองโดยการรวมตัวอย่าง (bulk sample) เพื่อวิเคราะห์การปนเปื้อนของต้นดูราในประชากรลูกผสมเทเนอรา

ในที่นี้ต้องการหาค่าขีดจำกัดของการตรวจวิเคราะห์ (Limit of Detection; LOD) จากการรวมตัวอย่างโดยใช้ตัวอย่างที่ได้รับการตรวจสอบแล้วว่าลักษณะทางจีโนไทป์มีความสอดคล้องกับลักษณะทางฟีโนไทป์ในข้อ 1 โดยมีขั้นตอนดังนี้

2.1 การหาค่าขีดจำกัดของการตรวจวิเคราะห์แบบรวมตัวอย่าง

โดยทำมาตรฐานการปนของต้นดูราในลูกผสมเทเนอรา ที่ระดับ 0-100 เปอร์เซ็นต์ เพื่อหาค่าขีดจำกัดของการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของต้นดูราในลูกผสมเทเนอราว่าสามารถตรวจพบได้ต่ำสุดที่กี่เปอร์เซ็นต์ ดำเนินการโดยใช้ต้นดูราและเทเนอรา อย่างละ 1 ต้น เลือกเจาะส่วนปลายใบให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เพื่อให้ตัวอย่างมีความสม่ำเสมอของปริมาณเซลล์ ด้วยอุปกรณ์เจาะ (ภาพที่ 2) ทำการผสมรวมตัวอย่างใบ จำนวน 20

ชิ้นต่อ 1 ตัวอย่างรวม โดยให้มีสัดส่วนการปนระหว่างต้นดูรา : เทเนอรา เท่ากับ n : 20-n (ตารางที่ 2) นำตัวอย่างการปนของต้นดูราในลูกผสมเทเนอรา ที่ระดับ 0-100 เปอร์เซ็นต์ มาทำการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB เช่นเดียวกับข้อ 1.1 ตรวจวัดคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีเจลอิเล็กโตรโฟเรซีส และชุด Qubit 2.0 Fluorometer

ตารางที่ 2 สัดส่วนการปนของต้นดูราและลูกผสมเทเนอรา 0-100 เปอร์เซ็นต์

เปอร์เซ็นต์ การปนของต้นดูรา	**จำนวนชิ้นส่วนใบปาล์มน้ำมัน**	
	ดูรา (n)	**เทเนอรา (20 - n)**
0	0	20
5	1	19
10	2	18
20	4	16
30	6	14
40	8	12
50	10	10
60	12	8
70	14	6
80	16	4
90	18	2
100	20	0

2.2 การตรวจสอบปาล์มน้ำมันลูกผสมชนิดเทเนอรา ด้วยเทคนิค Real Time PCR

นำดีเอ็นเอที่ได้มาเจือจางให้มีความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตรให้เท่ากันทุกตัวอย่าง เพื่อใช้เป็นแม่พิมพ์ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และตรวจวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสัดส่วนของอัลลีลแม่และพ่อ ด้วยเทคนิค Real time PCR โดยใช้ไพรเมอร์และ TaqMan® MGB probes ที่ออกแบบไว้ในข้อ 1.2.1 โดยมีองค์ประกอบของปฏิกิริยาทั้งหมด 15 ไมโครลิตร เตรียมปฏิกิริยาช่นเดียวกับข้อ 1.2.2 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่อง QuantStudio™ 5 Real time PCR (Applied Biosystems®, USA) โดยมีสภาวะการทำปฏิกิริยา ดังนี้ 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที จำนวน 1 รอบ ตามด้วย 95 องศาเซลเซียส 20 วินาที และ 60 องศาเซลเซียส 60 วินาที จำนวน 50 รอบ บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของค่า ΔRn และ Ct ของแต่ละอัลลีลที่ตำแหน่งสนิปส์

2.3 การวิเคราะห์ผล

บันทึกผลและวิเคราะห์ข้อมูลค่าความเข้มของสีฟลูออเรสเซนต์ (ΔRn) ของการตรวจวิเคราะห์ตำแหน่งสนิปส์ allele A/T ในแต่ละตัวอย่างดีเอ็นเอ เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณค่าสัดส่วนของ ΔRn (allele T/A) สำหรับใช้ในการวิเคราะห์การปนของต้นดูราในประชากรลูกผสมเทเนอรา

3. การตรวจคัดกรองการปนเปื้อนของต้นชนิดดูราในแปลงผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอรา

โดยการนำค่าขีดจำกัดของการตรวจวิเคราะห์ (LOD) จากข้อ 2 มาทำการทดสอบการตรวจคัดกรองการปนเปื้อนของต้นดูราในระบบแปลงผลิตกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7

3.1 การสุ่มเก็บและรวมตัวอย่างต้นกล้าปาล์มน้ำมัน

ทำการเก็บตัวอย่างต้นกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสมในแปลงเพาะกล้าของศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี (ภาพที่ 1) ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างใบต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7 สุ่มตัวอย่างแบบมีระบบ (Systematic Sampling) โดยกำหนดขนาดของตัวอย่างกล้าปาล์มน้ำมัน 10,000 ต้น สุ่มเก็บตัวอย่าง 5 เปอร์เซ็นต์ (500 ต้น) จาก 500 ต้น แบ่งเป็นตัวอย่างรวม (bulk sample) โดย 1 ตัวอย่างรวม มี 10 ต้น เก็บใบปาล์มทุกต้น ต้นละ 1 ใบ นำมาตัดชิ้นส่วนบริเวณปลายใบให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (ภาพที่ 2) แล้วนำมาสกัดดีเอ็นเอ ทั้งสิ้น 50 ตัวอย่างรวม ด้วยวิธี CTAB เช่นเดียวกับข้อ 1.1 แล้วตรวจวัดคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอที่ได้ เจือจางให้มีความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เท่ากันทุกตัวอย่าง เพื่อใช้เป็นแม่พิมพ์ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและตรวจวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสัดส่วนของ อัลลีลแม่และพ่อด้วยเทคนิค Real time PCR ใช้ไพรเมอร์และ TaqMan® MGB probes ที่ออกแบบไว้ในข้อ 1.2.1 โดยมีองค์ประกอบของปฏิกิริยาทั้งหมด 15 ไมโครลิตร ดังต่อไปนี้ 2x TaqMan® Genotyping master mix 7.5 ไมโครลิตร 20x Assay primer and probe 0.38 ไมโครลิตร ดีเอ็นเอ 2 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นสำหรับ PCR 5.12 ไมโครลิตร ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่อง QuantStudio™ 5 Real time PCR (Applied Biosystems®, USA) โดยมีสภาวะการทำปฏิกิริยา ดังนี้ 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที จำนวน 1 รอบ ตามด้วย 95 องศาเซลเซียส 20 วินาที และ 60 องศาเซลเซียส 60 วินาที จำนวน 50 รอบ

ภาพที่ 1 แปลงเพาะต้นกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราพันธุ์สุราษฎร์ธานี 1-8 ของศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี

ภาพที่ 2 ชิ้นส่วนของใบปาล์มน้ำมันขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ใช้ในการทดสอบการรวมตัวอย่างเพื่อสกัดดีเอ็นเอรวม

การวิเคราะห์ผล

บันทึกผลและวิเคราะห์ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของค่า Fluorescent intensity (ΔRn) ของการตรวจวิเคราะห์ตำแหน่งสนิปส์ allele A/Tเพื่อนำไปใช้ในการคำนวณค่าสัดส่วนของ ΔRn (allele T/A) สำหรับใช้ในการวิเคราะห์การปนของต้นดูราในประชากรลูกผสมเทเนอรา ในแต่ละตัวอย่างดีเอ็นเอ โดยการนำค่าขีดจำกัดของการตรวจวิเคราะห์ (LOD) ของเทคนิค Real time PCR ที่ได้ มาทำการคัดกรองการปนเปื้อนของต้นดูรา เพื่อให้ทราบปริมาณการปนของต้นดูราในลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7 ที่แท้จริง

3.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการ (Method validation)

ทำการทดสอบความใช้ได้ของวิธีการ โดยนำตัวอย่างต้นกล้าปาล์มแต่ละต้นที่นำมาทดสอบจากข้อ 3.1 จำนวนทั้งสิ้น 500 ต้น มาทำการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB เช่นเดียวกับข้อ 1.1 ตรวจวัดคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอที่ได้ด้วยวิธีเจล อิเล็กโตรโฟเรซีส และชุด Qubit 2.0 Fluorometer ทำการเจือจางให้มีความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เท่ากันทุกตัวอย่าง เพื่อใช้เป็นแม่พิมพ์ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ตรวจจำแนกชนิดต้นกล้าปาล์มน้ำมันแบบต้นต่อต้นเพื่อยืนยันความใช้ได้ของวิธีการด้วยเทคนิค Real time PCR เช่นเดียวกับข้อ 1.2.2

การวิเคราะห์ผล

บันทึกผลการจำแนกชนิดต้นกล้าปาล์มน้ำมัน โดยวิเคราะห์จากกราฟ Amplification plot และการสร้าง Allelic Discrimination ของตัวอย่างด้วยโปรแกรม QuantStudio™ Design & Analysis Software ซึ่ง allele A จะอยู่ที่แกน X และ Allele T จะอยู่แกน Y ลูกผสมจะอยู่กึ่งกลางระหว่างแกนทั้งสอง

4. การพัฒนาวิธีการตรวจชนิดของปาล์มน้ำมันแบบรวดเร็ว

การสกัดดีเอ็นเอใบปาล์มน้ำมันเพื่อให้ได้ดีเอ็นเอที่มีปริมาณและคุณภาพดี โดยเฉพาะจากต้นที่โตเต็มที่นั้นมีขั้นตอนที่ค่อนข้างยุ่งยากซับซ้อน ต้องใช้ระยะเวลาและแรงงานค่อนข้างมาก เพื่อให้การตรวจชนิดของปาล์มน้ำมันแบบต้นต่อต้น ทำได้สะดวกและรวดเร็วยิ่งขึ้น จึงได้พัฒนาวิธีการตรวจชนิดของปาล์มน้ำมันโดยการนำเทคนิค Direct PCR จากใบปาล์มน้ำมันโดยตรง ไม่ต้องผ่านกระบวนการสกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอ ซึ่งจะช่วยลดระยะเวลาและขั้นตอนในการตรวจสอบชนิดของปาล์มน้ำมันให้รวดเร็วยิ่งขึ้น ดังนั้นจึงได้นำวิธี Direct PCR โดยใช้ชุดสำเร็จรูป Phire Plant Direct PCR Kit, Thermo Scientific มาใช้ร่วมกับเทคนิค Real time PCR ทำการทดสอบในตัวอย่างต้นปาล์มน้ำมันชนิดดูราและลูกผสมเทเนอราที่ได้จากการสุ่มตัวอย่างจำนวน 500 ต้น ในข้อ 3.1 โดยมีวิธีการดังนี้

4.1 Direct PCR มีขั้นตอนดังนี้ เตรียมตัดชิ้นส่วนของใบปาล์มน้ำมันชนิดดูรา และลูกผสมเทเนอรา ให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร นำไปทำ PCR เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนของยีน MADS–box โดยใช้ไพรเมอร์จากส่วนอนุรักษ์ของยีนนี้คือ 5’-TTGCTTTTAATTTTGCTTGAATACC-3’ และ 5’-TTTGGATCAGGGATAAAAGGGAAGC-3’ เตรียมปฏิกิริยา PCR ดังนี้ Master Mix 12.5 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ที่ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ 3 ไมโครลิตร น้ำกลั่นสำหรับทำPCR 4.5 ไมโครลิตร รวมปฏิกิริยาทั้งสิ้น 20 ไมโครลิตร นำไปเพิ่มปริมาณด้วยเครื่อง PCR Gene Amp 9700 โดยตั้งโปรแกรมการทำงานดังนี้ 98 องศาเซลเซียส 5 นาที 1 รอบ ตามด้วย 98 องศาเซลเซียส 5 วินาที 55 องศาเซลเซียส 5 วินาที ที่ 72 องศาเซลเซียส 20 วินาที จำนวน 20 รอบ และ 72 องศาเซลเซียส 1 นาที จำนวน 1 รอบ

4.2 ตรวจวิเคราะห์สนิปส์แยกชนิดของปาล์มน้ำมันด้วยเทคนิค Real time PCR โดยนำผลผลิต PCR จากข้อ 4.1 ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตรเป็นแม่พิมพ์ องค์ประกอบของปฏิกิริยาและการตั้งเครื่องทำเช่นเดียวกับข้อ 1.2.2

4.3 การวิเคราะห์ผล วิเคราะห์ผลการจำแนกชนิดของกล้าปาล์มน้ำมันจากกราฟ Amplification plot และการสร้าง Allelic Discrimination ของตัวอย่างด้วยโปรแกรม QuantStudio™ Design & Analysis Software ซึ่ง allele A จะอยู่ที่แกน X และ Allele T จะอยู่แกน Y ลูกผสมจะอยู่กึ่งกลางระหว่างแกนทั้งสอง

การบันทึกผล

1. บันทึกข้อมูลการเก็บตัวอย่างใบปาล์มน้ำมันต้นพ่อ-แม่พันธุ์ และลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7
2. บันทึกข้อมูลการตรวจสอบลำดับเบสในส่วนของ *SHEL*L gene ของปาล์มน้ำมันต้นพ่อ-แม่พันธุ์ และลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7
3. บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงของค่า ΔRn และ Ct ของแต่ละอัลลีลที่ตำแหน่งสนิปส์ เพื่อหาขีดจำกัดของการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของต้นดูราในลูกผสมเทเนอรา
4. บันทึกข้อมูลการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของอัลลีลแม่และพ่อที่ได้จากการทำ Real-time PCR
5. บันทึกข้อมูลเวลาที่ใช้ในการตรวจชนิดของปาล์มน้ำมันด้วยการทำ Real-time PCR ทั่วไปเปรียบเทียบกับการทำ Direct Real-time PCR

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้นกรกฎาคม 2558 สิ้นสุด มิถุนายน 2560

สถานที่ดำเนินงาน สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี

กิจกรรมที่ 3 ศึกษาระบบการจัดการต้นกล้าปาล์มน้ำมันสำหรับการปลูกซ่อม

การทดลองที่ 3.1 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นกล้าปาล์มน้ำมันอายุ 8 – 12 เดือน และมากกว่า 18 เดือน ในการเปลี่ยนถุงขนาด 21 x 24 นิ้ว สำหรับการปลูกซ่อม

อุปกรณ์

1. ต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 อายุ 12 เดือน 18 เดือน 24 เดือน และ 36 เดือนอย่างละ 150 ต้น
2. ถุงพลาสติกสีดำ ขนาด 21 x 24 นิ้ว จำนวน 600 ใบ
3. ตู้อบตัวอย่างพืช
4. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง
5. เครื่องวัดพื้นที่ใบ
6. เครื่องมือสำหรับวัดการเจริญเติบโต เช่น สายวัด ตลับเมตร ไม้บรรทัด เวอเนียร์คาลิปเปอร์

วิธีการ

เปรียบเทียบการเจริญเติบโตในระยะกล้าปาล์มน้ำมันสำหรับการปลูกซ่อม ระหว่างต้นกล้าปาล์มน้ำมันปกติ (12 เดือน) กับต้นกล้าอายุ 18 เดือน 24 เดือน และ 36 เดือนในถุงขนาด 21x24 นิ้ว วางต้นกล้าปาล์มน้ำมันแบบสามเหลี่ยมด้านเท่า ระยะปลูก 1x1x1 เมตร ดูแลรักษาต่ออีก 12 เดือน

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี มี 5 ซ้ำ โดย 1 หน่วยทดลองมีต้นกล้าจำนวน 6 ต้น ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ต้นกล้าปาล์มน้ำมัน อายุ 12 เดือน

กรรมวิธีที่ 2 ต้นกล้าปาล์มน้ำมัน อายุ 18 เดือน

กรรมวิธีที่ 3 ต้นกล้าปาล์มน้ำมัน อายุ 24 เดือน

กรรมวิธีที่ 4 ต้นกล้าปาล์มน้ำมัน อายุ 36 เดือน

คัดเลือกต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่มีอายุ 12 เดือน 18 เดือน 24 เดือน และ 36 เดือน อย่างละ 150 ต้น รวม 600 ต้น โดยคัดต้นกล้าปาล์มน้ำมันในแต่ละอายุที่มีขนาดสม่ำเสมอกัน มีลักษณะเจริญเติบโตแข็งแรง สมบูรณ์ ไม่มีลักษณะผิดปกติ ในแต่ละกรรมวิธีให้ปุ๋ยเคมี และดูแลรักษาตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร จากนั้นทำการบันทึกข้อมูลเมื่อเริ่มการทดลอง และบันทึกทุก 3 เดือน รวม 5 ครั้ง ได้แก่ จำนวนทางใบเพิ่ม จำนวนทางใบทั้งหมด ความยาวทางใบ พื้นที่หน้าตัดลำต้น พื้นที่หน้าตัดแกนทาง พื้นที่ใบ และวิเคราะห์การเจริญเติบโตของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน (ภาพที่ 3)

การบันทึกข้อมูล

1. จำนวนทางใบที่สร้างขึ้นใหม่ ทำเครื่องหมายที่ทางใบที่ 1 ในเดือนแรกและทำต่อเนื่องทุก 3 เดือน นับจำนวนทางใบที่เพิ่มขึ้นในแต่ละรอบ 3 เดือน และนับจำนวนทางใบทั้งหมด

2. พื้นที่ใบ นับจำนวนใบย่อย วัดความกว้างและความยาวของกึ่งกลางใบย่อยด้านละ 3 ใบ เพื่อคำนวณพื้นที่ใบ โดยคำนวณจากความกว้างและความยาวของใบย่อยจำนวน 3 คู่ โดยใช้ใบที่อยู่ประมาณกึ่งกลางของทางใบ คำนวณค่าเฉลี่ย และคูณด้วยจำนวนใบย่อยทั้งหมด และคูณด้วยค่า correction factor 0.55

3. ความยาวทางใบ โดยใช้ทางใบที่ 1 วัดจากจุดที่เริ่มมีใบย่อยที่โคนแกนทาง (lowest rudimentary leaflets) ถึงปลายสุดของแกนทางใบ (tip of rachis)

4. พื้นที่หน้าตัดแกนทาง คำนวณจากความกว้างและลึกของแกนทางในตำแหน่งใบย่อยล่างสุดของโคนทาง

5. วัดเส้นรอบวงของลำต้น ($2\pi r$) เพื่อหารัศมี (r) นำไปคำนวณพื้นที่หน้าตัดลำต้น (πr^2)

ระยะเวลา เริ่มต้นกรกฎาคม 2558 สิ้นสุด มิถุนายน 2560

สถานที่ดำเนินงาน ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี

การทดลองที่ 3.2 ศึกษาการเจริญเติบโตของต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่ตัดแต่งทางใบปาล์มน้ำมันต่างกัน

อุปกรณ์

1. ต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 อายุ 36 เดือน จำนวน 600 ต้น
2. ถุงพลาสติกสีดำ ขนาด 21 x 24 นิ้ว จำนวน 600 ใบ
3. ตู้อบตัวอย่างพืช
4. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง
5. เครื่องวัดพื้นที่ใบ
6. เครื่องมือสำหรับวัดการเจริญเติบโต เช่น สายวัด ตลับเมตร ไม้บรรทัด เวอเนียร์คาลิปเปอร์

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี มี 5 ซ้ำ โดย 1 หน่วยทดลองเป็นต้นกล้าจำนวน 24 ต้น ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ตัดแต่งทางใบปาล์มน้ำมันให้สูงจากโคนต้น 100 เซนติเมตร

กรรมวิธีที่ 2 ตัดแต่งทางใบปาล์มน้ำมันให้สูงจากโคนต้น 80 เซนติเมตร

กรรมวิธีที่ 3 ตัดแต่งทางใบปาล์มน้ำมันให้สูงจากโคนต้น 60 เซนติเมตร

กรรมวิธีที่ 4 ตัดแต่งทางใบปาล์มน้ำมันให้สูงจากโคนต้น 40 เซนติเมตร

กรรมวิธีที่ 5 ตัดแต่งทางใบปาล์มน้ำมันให้สูงจากโคนต้น 20 เซนติเมตร

คัดเลือกต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่มีอายุ 36 เดือน อย่างละ 150 ต้น โดยคัดต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่มีขนาดสม่ำเสมอกัน มีลักษณะเจริญเติบโตแข็งแรง สมบูรณ์ ไม่มีลักษณะผิดปกติ ในแต่ละกรรมวิธีให้ปุ๋ยเคมี และดูแลรักษาตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 3 วิธีการเก็บบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นกล้า : การวัดการเจริญเติบโต (1-3) การชั่งน้ำหนักสด (4-6) และการวัดพื้นที่ใบ (7-9)

การบันทึกข้อมูล

1. จำนวนทางใบที่สร้างขึ้นใหม่ ทำเครื่องหมายที่ทางใบที่ 1 ในเดือนแรกและทำต่อเนื่องทุก 3 เดือน นับจำนวนทางใบที่เพิ่มขึ้นในแต่ละรอบ 3 เดือน และนับจำนวนทางใบทั้งหมด

2. พื้นที่ใบ นับจำนวนใบย่อย วัดความกว้างและความยาวของกึ่งกลางใบย่อยด้านละ 3 ใบ เพื่อคำนวณพื้นที่ใบ โดยคำนวณจากความกว้างและความยาวของใบย่อยจำนวน 3 คู่ โดยใช้ใบที่อยู่ประมาณกึ่งกลางของทางใบ คำนวณค่าเฉลี่ย และคูณด้วยจำนวนใบย่อยทั้งหมด และคูณด้วยค่า correction factor 0.55

3. ความยาวทางใบ โดยใช้ทางใบที่ 1 วัดจากจุดที่เริ่มมีใบย่อยที่โคนแกนทาง (lowest rudimentary leaflets) ถึงปลายสุดของแกนทางใบ (tip of rachis)

4. พื้นที่หน้าตัดแกนทาง คำนวณจากความกว้างและลึกของแกนทางในตำแหน่งใบย่อยล่างสุดของโคนทาง

5. วัดเส้นรอบวงของลำต้น ($2\pi r$) เพื่อคำนวณหาค่ารัศมี (r) นำไปคำนวณพื้นที่หน้าตัดลำต้น (πr^2)

การทดลองที่ 3.3 การเปรียบเทียบวัสดุปลูกปาล์มน้ำมันสำหรับปลูกซ่อม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 อายุ 36 เดือน จำนวน 720 ต้น
2. ถุงพลาสติกสีดำ ขนาด 21x24 นิ้ว จำนวน 720 ใบ
3. วัสดุปลูกประกอบด้วย ดินแดง ปุ๋ยหมัก ขุยมะพร้าว และทราย
4. ตู้อบตัวอย่างพืช เครื่องชั่ง เวอร์เนียคาลิปเปอร์
5. วัสดุอุปกรณ์ทางการเกษตรที่ใช้ในการเพาะและดูแลต้นกล้าปาล์มน้ำมัน

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 6 กรรมวิธีๆ ละ 30 ต้น รวม 720 ต้น กรรมวิธีที่ศึกษา เป็นวัสดุปลูกที่มีวัสดุต่างๆได้แก่ ดินแดง : ทรายหยาบ : ปุ๋ยหมัก : ขุยมะพร้าว ผสมในอัตราส่วน ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ดินแดง อัตราส่วนโดยปริมาตรเท่ากับ 1:0:0:0
กรรมวิธีที่ 2 ดินแดง : ทรายหยาบ : ปุ๋ยหมัก : ขุยมะพร้าว อัตราส่วนโดยปริมาตร เท่ากับ 1:1:2:6
กรรมวิธีที่ 3 ดินแดง : ทรายหยาบ : ปุ๋ยหมัก : ขุยมะพร้าว อัตราส่วนโดยปริมาตรเท่ากับ 2:1:3:4
กรรมวิธีที่ 4 ดินแดง : ทรายหยาบ : ปุ๋ยหมัก : ขุยมะพร้าว อัตราส่วนโดยปริมาตรเท่ากับ 1:0:3:6
กรรมวิธีที่ 5 ดินแดง : ทรายหยาบ : ปุ๋ยหมัก : ขุยมะพร้าว อัตราส่วนโดยปริมาตรเท่ากับ 1:0:1:2
กรรมวิธีที่ 6 ดินแดง : ทรายหยาบ : ปุ๋ยหมัก : ขุยมะพร้าว อัตราส่วนโดยปริมาตร เท่ากับ 0:1:1:2

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. คัดเลือกต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 อายุ 36 เดือน สำหรับปลูกทดสอบ จำนวน 720 ต้น โดยคัดต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่มีขนาดสม่ำเสมอกัน มีลักษณะเจริญเติบโตแข็งแรง สมบูรณ์ ไม่มีลักษณะผิดปกติ ในทุกกรรมวิธีตัดต้นกล้าปาล์มน้ำมันสูงจากโคนต้น 100 เซนติเมตร ดูแลรักษาตามคำแนะนำของศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี จากนั้นบันทึกข้อมูลหลังย้ายปลูกที่ 6 เดือน และ 12 เดือน

2. เตรียมวัสดุปลูกตามกรรมวิธีที่กำหนดไว้ และนำต้นกล้า ย้ายลงปลูกในถุงเพาะสีดำขนาด 21X24 นิ้ว

3. วัดการเจริญเติบโตของต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่ 6 เดือน และ 12 เดือน ได้แก่

3.1 จำนวนทางใบทั้งหมด (ทางใบต่อต้น) นับจำนวนทางใบทั้งหมดโดยเริ่มจากทางใบอ่อนที่คลี่เต็มที่แล้ว (Youngest Fully Expanded Leaf)

3.2 จำนวนทางใบเพิ่ม (ทางใบต่อต้น) ทำเครื่องหมายใบที่อ่อนที่สุดที่คลี่เต็มที่แล้วด้วยสี จากนั้นนับจำนวนใบที่เพิ่มขึ้นเดือนละ 1 ครั้ง

3.3 ความยาวทางใบ (เมตร) โดยวัดความยาวของทางใบที่ 1 ที่ทำเครื่องหมายไว้ วัดจากหนามใบย่อยล่างสุด ถึงปลายทางใบ ณ จุดที่โคนใบย่อย 2 ด้านมาบรรจบกัน

3.4 ความสูงของลำต้น (เมตร) วัดความสูงของต้นกล้า จากระดับพื้นผิวดินถึงปลายทางใบที่ 1

3.5 พื้นที่หน้าตัดแกนทาง (ตารางเซนติเมตร) โดยวัดความกว้างและความลึก (เซนติเมตร) ของแกนทาง ณ ตำแหน่งหนามใบย่อยล่างสุด โดยใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์ คำนวณพื้นที่หน้าตัดแกนทาง หรือ Petiole cross-section (PCS) = กว้างxลึก

3.6 พื้นที่ใบ กรณีต้นกล้าที่มีการพัฒนาใบเป็นใบขนนกแล้ว วัดพื้นที่ใบจากใบขนนก โดยนับจำนวนใบย่อยจากใบขนนกเพียงด้านเดียว เริ่มนับจากหนามใบย่อยล่างสุด ถึงใบย่อยที่ยังติดกันโดยนับเส้นกลางใบย่อย จากนั้นเลือกใบย่อยที่ยาวที่สุด 3 คู่ มาวัดความกว้างและความยาว (กรณีใบย่อยแยกจากกันน้อยกว่า 2/3

ของใบ ให้คำนวณแบบใบสองแฉก) คำนวณพื้นที่ใบสัมพัทธ์ ใช้สูตร 2nxb n=จำนวนใบย่อยหนึ่งด้าน และ b คือ ค่าเฉลี่ยพื้นที่ใบย่อยจำนวน 6 ใบ จากนั้นนำมาคำนวณพื้นที่ใบจริงโดยคูณด้วย 0.55 การคำนวณพื้นที่ใบ (หน่วย: ตารางเมตร) ดัดแปลงจาก Corley and Tinker (2003)

4. น้ำหนักแห้งของต้น และรากต้นกล้า นำต้นไปล้างราก และชั่งน้ำหนักสดของต้นและรากหลังครบกำหนดทดลอง นำต้น และรากปาล์มน้ำมันไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อหาน้ำหนักแห้งของต้น และรากปาล์มน้ำมัน

5. ชั่งน้ำหนักต้นกล้า และคำนวณต้นทุนของวัสดุปลูกที่ใช้ในการทดลอง

การบันทึกข้อมูล

1. คุณสมบัติทางกายภาพ และเคมีของวัสดุปลูก
2. การเจริญเติบโตหลังปลูกที่ 6 เดือน และ 12 เดือน
3. น้ำหนักต้นกล้า พร้อมวัสดุปลูก และต้นทุนของวัสดุปลูกที่ใช้ในการทดลอง
4. น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง ของต้นและรากปาล์มน้ำมันในการทดลอง
5. จำนวนทางใบทั้งหมด จำนวนทางใบเพิ่ม พื้นที่หน้าตัดแกนทาง ความสูง ความยาวทางใบ พื้นที่ใบ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา	เริ่มต้นเดือนกรกฎาคม 2558 สิ้นสุด เดือนมิถุนายน 2560
สถานที่ทำการทดลอง	ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี

กิจกรรมที่ 4: สำรวจความพึงพอใจของเกษตรกรต่อปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานีพันธุ์ต่างๆ

อุปกรณ์

แบบสอบถามเกษตรกร

วิธีการ

การสุ่มตัวอย่าง

การสุ่มตัวอย่างเป็นแบบเฉพาะเจาะจง (Purposive sampling) โดยเป็นเกษตรกรผู้ปลูกปาล์มน้ำมันที่ซื้อต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1-8 จากศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี และมีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันในพื้นที่ภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดสุราษฎร์ธานี กระบี่ นครศรีธรรมราช ชุมพร พังงา และระนอง สุ่มตัวอย่างมาจำนวน 250 ราย

การสัมภาษณ์

แบบสอบถาม มี 1 ชุด แบ่งเป็น 2 ส่วนหลัก ได้แก่ ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของเกษตรกร และส่วนที่ 2 ข้อมูลการปลูกและสภาพพื้นที่ ส่วนที่ 3 ความพึงพอใจต่อพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี ส่วนที่ 4 ความรู้เกี่ยวกับพันธุ์ปาล์มน้ำมัน ส่วนที่ 5 ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมเกี่ยวกับพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี โดยการสัมภาษณ์จะมีการชี้แจงทำความเข้าใจในหัวข้อต่าง ๆ ของแบบสอบถามให้กับผู้ที่จะไปสัมภาษณ์เพื่อให้มีความเข้าใจตรงกัน และได้ข้อมูลตรงตามวัตถุประสงค์

การประมวลผลและวิเคราะห์ผล

เก็บรวบรวมข้อมูลที่ได้จากการสัมภาษณ์ ตรวจสอบความถูกต้องครบถ้วน ทำการบันทึกข้อมูลด้วยโปรแกรม Excel ก่อนนำไปประมวลผล และจัดทำรายงานสรุปผล

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา	เริ่มต้นเดือนกรกฎาคม 2558 สิ้นสุด เดือนมิถุนายน 2560
สถานที่ดำเนินงาน	ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันกระบี่

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

กิจกรรมที่ 1 การผลิตเมล็ดงอก และต้นกล้าปาล์มน้ำมัน

ผลการดำเนินงานโครงการวิจัยและผลิตเมล็ดพันธุ์และต้นกล้าปาล์มน้ำมันเพื่อสนับสนุนโครงการปลูกปาล์มน้ำมันเพื่อทดแทนพลังงาน ระยะเวลาดำเนินการเดือนกรกฎาคม 2558 – เดือนมิถุนายน 2560 ระยะที่ 5 ซึ่งมีแผนการดำเนินงานผลิตเมล็ดพันธุ์และต้นกล้าปาล์มน้ำมันเดิมและการปรับแผนใหม่ (ตารางที่ 3) ผลการดำเนินงานได้ผลิตพันธุ์ปาล์มน้ำมันเพื่อจำหน่ายให้กับเกษตรกร โดยผลิตเป็นเมล็ดงอก และต้นกล้า รวม 2,493,285 เมล็ด/ต้น และได้รับรายได้จากการจำหน่าย ณ ปัจจุบัน (ตัดยอดเดือนตุลาคม 2560) เป็นเงิน 60,105,676 บาท ซึ่งสูงกว่าแผนรายได้จากการจำหน่าย 9.28 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการผลิตต้นกล้าอายุ 3-5 และ 8-12 เดือน ได้มากกว่าเป้าหมายที่วางไว้ เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ผลต่อแผนการดำเนินงานคิดเป็น 101 และ 104 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนเมล็ดงอกยังไม่ครบเป้าหมายที่กำหนด เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์แผนกับผลการดำเนินงานคิดเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งยังอยู่ในขั้นตอนการผลิตเมล็ดงอกต่อเนื่องเพื่อจำหน่ายต่อไป (ตารางที่ 4)

ผลของการกระจายพันธุ์ปาล์มน้ำมันไปปลูกในหลายพื้นที่ของประเทศ เกษตรกรและผู้นำไปใช้ประโยชน์ส่วนใหญ่มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในพื้นที่ภาคใต้ (ตารางภาคผนวกที่ 9)

ตารางที่ 3 แผนการดำเนินงานโครงการวิจัยและผลิตพันธุ์และต้นกล้าปาล์มน้ำมันเพื่อสนับสนุนโครงการปลูกปาล์มน้ำมันเพื่อทดแทนพลังงาน ระยะที่ 5 (กรกฎาคม 2558 – มิถุนายน 2560) ณ ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี

รายการ	แผนการผลิตเดิม			แผนการผลิตใหม่		
	จำนวน (เมล็ด/ต้น)	ราคาต่อหน่วย (บาท)	รายได้ (บาท)	จำนวน (เมล็ด/ต้น)	ราคาต่อหน่วย (บาท)	รายได้ (บาท)
เมล็ดงอก	2,000,000	13	26,000,000	1,650,000	13	21,450,000
ต้นกล้า 3-5 เดือน	600,000	30	18,000,000	850,000	30	25,500,000
ต้นกล้า 8-12 เดือน	200,000	55	11,000,000	300,000	55	16,500,000
รวม	**2,800,000**		**55,000,000**	**2,800,000**		**63,450,000**

หมายเหตุ เนื่องจากศูนย์วิจัยฯ ดำเนินการผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมัน อายุ 3-5 เดือน และ ต้นกล้า 8-12 เดือน ตามโครงการวิจัยและผลิตพันธุ์และต้นกล้าปาล์มน้ำมันเพื่อสนับสนุนโครงการปลูกปาล์มน้ำมันเพื่อทดแทนพลังงานไม่เพียงพอที่จะจัดสรรให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกปาล์มน้ำมันที่ประสบภัยน้ำท่วม จึงขออนุมัติปรับแผนการผลิตจากเมล็ดงอกซึ่งยังผลิตได้ไม่ครบตามแผน เปลี่ยนเป็นการผลิตต้นกล้าอายุ 3–5 เดือน และ ต้นกล้า 8-12 เดือน ตามแผนการผลิตใหม่ซึ่งเป็นการปรับแผนที่ยังคงเป้าหมายจำนวนเมล็ดต่อต้นเท่าเดิม และรายได้เพิ่มขึ้น โดยได้รับอนุมัติจากกรมวิชาการเกษตรให้ปรับแผน ตามบันทึกข้อความ ที่ กษ 09097/390 ลงวันที่ 14 มิถุนายน 2560 ตามแผนการผลิตเดิมและแผนการผลิตใหม่

การตรวจสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 2 ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7 และลูกผสมสุราษฎร์ธานี 8 ที่ดำเนินการเพาะความงอกในช่วงเดือนกรกฎาคม 2558 - มีนาคม 2560 จำนวน 2,765,697 เมล็ด พบว่า มีเมล็ดงอก จำนวน 1,472,362 เมล็ด ชุดที่มีความงอกอยู่ในระดับสูงปานกลางและต่ำ มีความงอก 75.1 55.6 และ 43.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ หรือเฉลี่ย 53.2 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดพันธุ์

ปาล์มน้ำมันทั้ง 4 พันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ความงอกแตกต่างกันในแต่ละชุด ดังนี้ ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 ชุดที่มีความงอกอยู่ในระดับสูง ปานกลางและต่ำ มีความงอก 77.3 57.6 และ 41.4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ หรือเฉลี่ย 59.4 เปอร์เซ็นต์ ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี 2 ชุดที่มีความงอกอยู่ในระดับสูง ปานกลางและต่ำ มีความงอก 76.5 52.7 และ 42.4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ มีความงอกเฉลี่ย 50.1 เปอร์เซ็นต์ ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7 ชุดที่มีความงอกอยู่ในระดับสูง ปานกลางและต่ำ มีความงอก 71.8 54.5 และ 43.8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และมีความงอกเฉลี่ย 57.2 เปอร์เซ็นต์ และลูกผสมสุราษฎร์ธานี 8 ชุดที่มีความงอกอยู่ในระดับสูง ปานกลางและต่ำ มีความงอก 73.8 57.8 และ 45.1 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ มีความงอกเฉลี่ย 43.8 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 4 แผนและผลการดำเนินงานโครงการวิจัยและผลิตเมล็ดพันธุ์และต้นกล้าปาล์มน้ำมันเพื่อสนับสนุนโครงการปลูกปาล์มน้ำมันเพื่อทดแทนพลังงาน ระยะที่ 5 (กรกฎาคม 2558-ตุลาคม 2560) ณ ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี

รายการ	แผนการดำเนินงาน			ผลการดำเนินงาน		เปอร์เซ็นต์ผล/แผนของรายได้
	จำนวนเมล็ด/ต้น	ราคาต่อหน่วย	รายได้ (บาท)	จำนวนเมล็ด/ต้น	รายได้ (บาท)	
เมล็ดงอก	1,650,000	13	21,450,000	1,323,997	17,211,961	80
ต้นกล้า 3-5 เดือน	850,000	30	25,500,000	856,685	25,700,550	101
ต้นกล้า 8-12 เดือน	300,000	55	16,500,000	312,603	17,193,165	104
รวม	**2,800,000**		**63,450,000**	**2,493,285**	**60,105,676**	**95**

เมื่อพิจารณากระบวนการผลิตเมล็ดงอกของปาล์มน้ำมันในระยะเวลา 2 ปี (กรกฎาคม 2558-2560) พบว่า สาเหตุของความงอกของเมล็ดพันธุ์ที่ลดลงและจำนวนเมล็ดไม่สมบูรณ์เพิ่มขึ้นมีหลายปัจจัยเกี่ยวข้อง ซึ่งอาจเกิดจากพันธุกรรมที่แตกต่างกันของลูกผสม DxP หรือพันธุกรรมของต้นแม่พันธุ์ที่ต่างกัน หรือปัจจัยสภาพแวดล้อมระหว่างการพัฒนาของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งเป็นผลกระทบต่อเนื่องจากสภาพภูมิอากาศที่แล้งจัด ปริมาณน้ำฝนและการกระจายตัวของฝนน้อยในช่วงการพัฒนาของเมล็ดปาล์มน้ำมันในช่วงปี 2557-2559 นอกจากนี้การจัดการเมล็ดพันธุ์ระหว่างกระบวนการเพาะความงอกส่งผลให้ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ลดลงและไม่คงที่ตลอดกระบวนการผลิตเมล็ดงอก ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ก่อนทำลายการพักตัวด้วยวิธีอบลมร้อน ในขั้นตอนทำลายการพักตัวและเพาะความงอกมีผลโดยตรงต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมัน

จากการทดลองของ Lima *et al.* (2014) พบว่า ความชื้นในเมล็ดปาล์มน้ำมันลูกผสมระหว่าง *E. oleifera* (origin: Manicoré) x *E. guineensis* (origin: La Mé) ที่เหมาะสมสำหรับการทำลายการพักตัวด้วยวิธีอบลมร้อนและการเพาะความงอกอยู่ระหว่าง 19-22 เปอร์เซ็นต์ และการทำลายการพักตัวของเมล็ดที่เหมาะสมคือที่อุณหภูมิ 39±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 75 วัน เมล็ดพันธุ์มีความงอกอยู่ในช่วง 71.1-84.9 เปอร์เซ็นต์ จากรายงานของ Green *et al.* (2013) พบว่า ระยะเวลาทำลายการพักตัวด้วยวิธีอบลมร้อนในเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันชนิดเทเนอรา (Deli x La Mé) มีผลแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ โดยสายพันธุ์ BRS C2328 มีความงอกสูงสุด 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อการทำลายการพักตัวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 45 วัน สายพันธุ์ BRS C2501 มีความงอกสูงสุด 92 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 69 วัน ในขณะที่ สายพันธุ์ BRS C2528 `มีความงอกสูงสุด 84 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 80 วัน เป็นต้น ในขณะที่คำแนะนำของกรมวิชาการเกษตรในขั้นตอนการทำลายการพักตัวของเมล็ด เมล็ดควรมีความชื้นอยู่ระหว่าง 18±1 เปอร์เซ็นต์

ที่อุณหภูมิ 39±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วัน และความชื้นเมล็ดที่เหมาะสมสำหรับเพาะความงอกอยู่ระหว่าง 20±1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการควบคุมความชื้นเมล็ดให้อยู่ในระดับ 18±1 เปอร์เซ็นต์ ในแต่ละขั้นตอนการผลิตเมล็ดงอกทำได้ยากในสภาพอากาศร้อนในภาคใต้ การผึ่งลมทำให้ความชื้นลดลงเหลือ 14-15 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 2-3 วัน การทำลายการพักตัวที่อุณหภูมิ 39±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วัน ส่งผลให้เมล็ดบาง lot มีความชื้นลดลงน้อยกว่า 14 เปอร์เซ็นต์ และการอบด้วยลมร้อนภายใต้ความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์ อาจกระตุ้นให้เชื้อราเจริญรวดเร็วและเข้าทำลายเมล็ดได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาแต่ละปัจจัยที่กล่าวมาในข้างต้นต่อความงอกของเมล็ด เพื่อวางแผนการจัดการกระบวนการผลิตเมล็ดงอกให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นต่อไป

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 2 7 และ 8 จำแนกตามชุดที่มีเปอร์เซ็นต์ความงอกในระดับสูง ปานกลาง และต่ำ ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม 2558 - มีนาคม 2560 ณ ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี

พันธุ์	ระดับความงอก	จำนวนเมล็ดแห้งทั้งหมด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ดที่งอก (เมล็ด)			เปอร์เซนต์ความงอกเฉลี่ย
			สมบูรณ์	ไม่สมบูรณ์	รวม	
สุราษฎร์ธานี 1	สูง	149,420	104,413	11,110	115,523	**77.3**
	ปานกลาง	421,970	204,610	38,363	24,2973	**57.6**
	ต่ำ	105,007	37,673	5,809	43,482	**41.4**
	รวม	**676,397**	**346,696**	**55,282**	**401,978**	**59.4**
สุราษฎร์ธานี 2	สูง	201,105	135,571	18,272	153,843	**76.5**
	ปานกลาง	421,784	185,906	36,254	222,160	**52.7**
	ต่ำ	833,870	284,983	68,797	353780	**42.4**
	รวม	**1,456,759**	**606,460**	**123,323**	**729,783**	**50.1**
สุราษฎร์ธานี 7	สูง	173,777	110,950	13,750	124,700	**71.8**
	ปานกลาง	139,636	63,577	12,578	76,155	**54.5**
	ต่ำ	159,564	58,378	11,495	69,873	**43.8**
	รวม	**472,977**	**232,905**	**37,823**	**270,728**	**57.2**
สุราษฎร์ธานี 8	สูง	21,821	14,856	1,257	16,113	**73.8**
	ปานกลาง	241,198	118,693	20,613	139,306	**57.8**
	ต่ำ	254,682	91,690	23,206	114,896	**45.1**
	รวม	**159,564**	**58,378**	**11,495**	**69,873**	**43.8**
รวมทั้งหมด		**2,765,697**	**1,244,439**	**227,923**	**1,472,362**	**53.2**
รวมทุกพันธุ์	สูง	**546,123**	**365,790**	**44,389**	**410,179**	**75.1**
	ปานกลาง	**1,224,588**	**572,786**	**107,808**	**680,594**	**55.6**
	ต่ำ	**1,353,123**	**472,724**	**109,307**	**582,031**	**43.0**

กิจกรรมที่ 2 การคัดเลือกต้นพ่อพันธุ์ปาล์มน้ำมัน และตรวจสอบการปนเปื้อนในระบบการผลิตเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานีโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย

การทดลองที่ 2.1 การคัดเลือกต้นพ่อพันธุ์ชนิดพิสิเฟอราในประชากรกลุ่มพันธุ์ลาเม่

1. การคัดเลือกด้วยลักษณะสัณฐาน

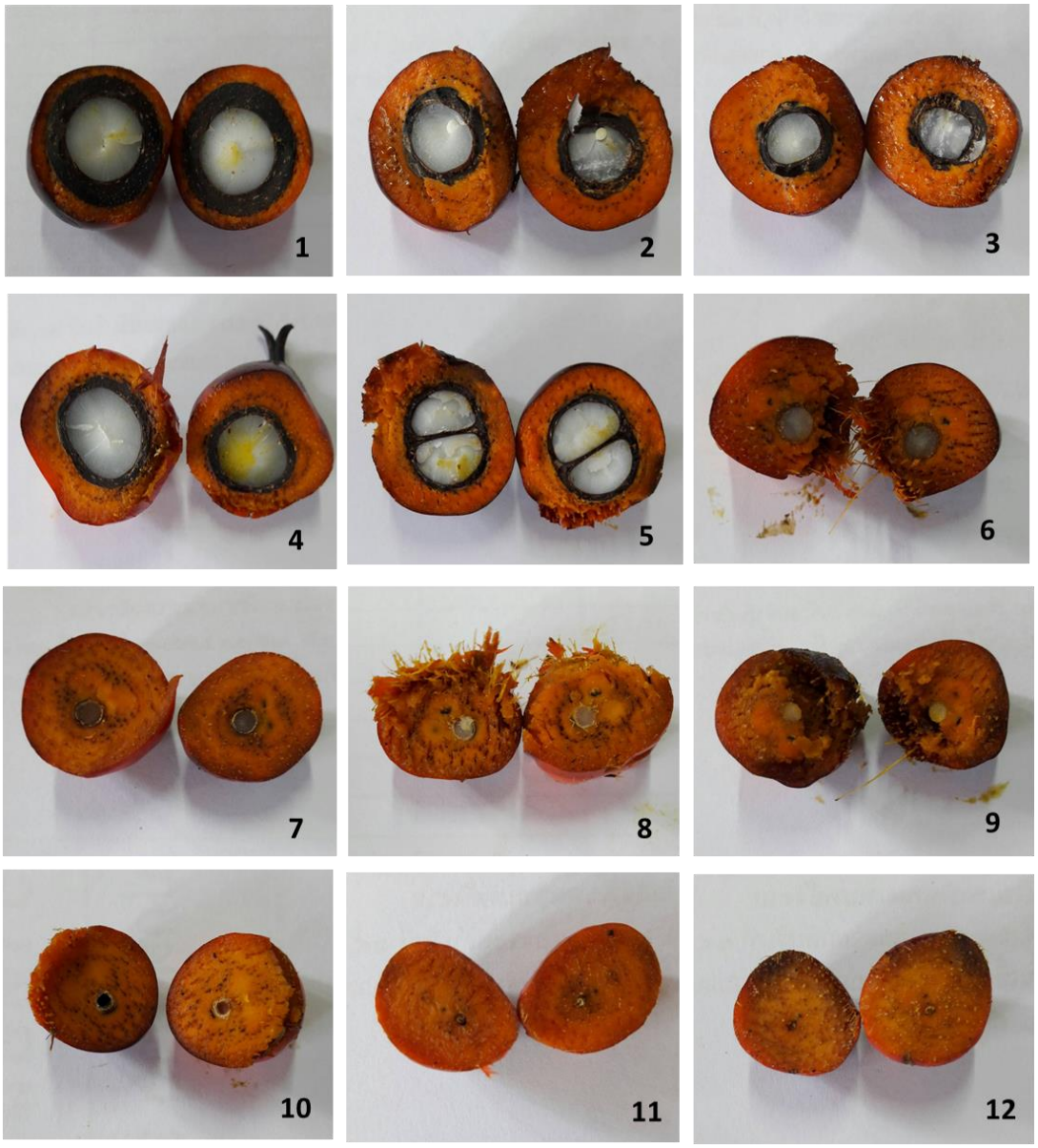
เนื่องจากปาล์มน้ำมันพิสิเฟอรามีดอกตัวเมียเป็นหมัน ทำให้เป็นข้อจำกัดในการผสมตัวเองเพื่อเพิ่มจำนวนต้นพันธุ์ ดังนั้นขั้นตอนการคัดเลือกคู่ผสมของโปรแกรมปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันจึงไม่สามารถใช้ต้นพิสิเฟอราเป็นต้นพ่อในขั้นตอนนี้ได้ตั้งแต่แรก จึงใช้วิธีการคัดเลือกต้นแม่พันธุ์ดูราผสมกับต้นพ่อพันธุ์เทเนอราแทน แล้วจึงเพิ่มจำนวนต้นพ่อ-แม่พันธุ์ของคู่ผสมที่ผ่านการคัดเลือกโดยการผสมตัวเอง ในการผสมตัวเองของต้นแม่ดูราได้ต้นพันธุ์ที่เป็นปาล์มน้ำมันดูราทั้งหมด ในขณะที่การผสมตัวเองของต้นพ่อเทเนอรากระทำเพื่อให้ได้ปาล์มน้ำมันที่มีการกระจายตัวของดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา แล้วจึงคัดเลือกเฉพาะต้นพิสิเฟอรามาใช้เป็นต้นพ่อพันธุ์ผสมกับต้นแม่พันธุ์ดูราเพื่อการผลิตลูกผสมเทเนอรา

ลักษณะสัณฐานเบื้องต้นที่บ่งชี้ว่าเป็นปาล์มน้ำมันชนิดพิสิเฟอรา กล่าวคือ ทะลายมีการติดผลไม่สมบูรณ์ ผลมีลักษณะลีบและไม่มีกะลา จากการตรวจสอบและบันทึกข้อมูลปาล์มน้ำมันกลุ่มลาเม่แปลงทดลองนี้จำนวนทั้งหมด 426 ต้น ด้วยลักษณะสัณฐานกะลา พบว่ามีต้นที่แสดงลักษณะทะลายและผลแบบพิสิเฟอรา จำนวน 111 ต้น มีต้นที่ติดผลแล้วและให้ผลแบบดูราและเทเนอราจำนวน 202 ต้น และมีต้นที่ไม่มีการติดผล ไม่สามารถจำแนกได้ด้วยลักษณะสัณฐานของกะลาจำนวน 113 ต้น

สำหรับปาล์มน้ำมันประชากรลาเม่แปลงนี้ได้มาจากการผสมตัวเองของต้นปาล์มน้ำมันชนิดเทเนอรา (Tenera Self) จากการตรวจสอบความหนาของกะลาเพื่อแยกประเภทจึงพบได้ทั้งปาล์มน้ำมันดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา ความหนากะลาเป็นลักษณะเชิงคุณภาพ ในปาล์มน้ำมันดูราและเทเนอราจึงมีขนาดความหนากะลาแตกต่างกันชัดเจน ซึ่งการกระจายตัวของลักษณะความหนากะลาที่เกิดขึ้นแสดงให้เห็นความหลากหลายที่เกิดขึ้นภายในกลุ่มของปาล์มน้ำมันดูราและเทเนอราในประชากรกลุ่มลาเม่เช่นกัน (ภาพที่ 4) ลักษณะความหนากะลาของปาล์มน้ำมันควบคุมด้วยยีน 1 คู่ (Sh) (Shah *et al*., 1994) โดยความหนากะลาของปาล์มน้ำมันดูราควบคุมด้วยยีนเด่น และปาล์มน้ำมันพิสิเฟอราซึ่งไม่มีกะลาควบคุมด้วยยีนด้อย ในขณะที่เทเนอราเป็นปาล์มน้ำมันลูกผสม ยีนควบคุมกะลาจึงเป็นเฮเทอโรไซกัสมีอัลลีลทั้งสองชนิด ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ยีนควบคุมกะลามีผลควบคุมผลผลิตปาล์มน้ำมันและน้ำมันปาล์มในทางอ้อมด้วย และทำให้รูปแบบเฮเทอโรไซกัสของยีนเป็นรูปแบบที่เหมาะสมต่อการให้ผลผลิตน้ำมันสูง นั่นคือปาล์มน้ำมันชนิดเทเนอราจะให้เปลือกนอกต่อผลสูงกว่า และส่งผลให้น้ำมันต่อทะลายสูงด้วย (Singh *et al*., 2013)

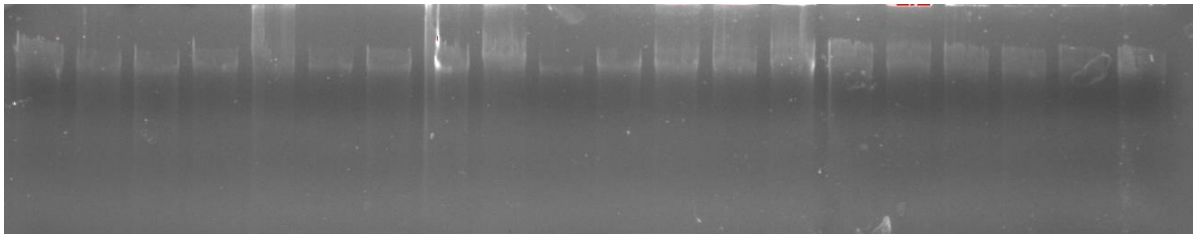
2. การคัดเลือกต้นพิสิเฟอราของประชากรปาล์มน้ำมันกลุ่มลาเม่ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์

เนื่องจากสภาพแวดล้อมมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะสัณฐานของปาล์มน้ำมัน ทำให้ในบางครั้งลักษณะการแสดงออกของผลไม่มีความสม่ำเสมอและไม่ชัดเจน โดยเฉพาะการแสดงออกของผลปาล์มน้ำมันเทเนอราบางกลุ่ม เช่น ปาล์มน้ำมันเทเนอราในกลุ่มลาเม่มีการแสดงออกคล้ายกับปาล์มน้ำมันพิสิเฟอราในกลุ่มเดียวกัน ทำให้เกิดความสับสนระหว่างปาล์มน้ำมันเทเนอรากับพิสิเฟอรา และคัดเลือกผิดพลาดได้หากคัดเลือกด้วยลักษณะสัณฐานเพียงอย่างเดียว ดังนั้น จึงได้นำเอาเครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์ที่พัฒนาโดยหทัยรัตน์ และคณะ (2557) มาใช้ในการคัดเลือกควบคู่ไปกับลักษณะสัณฐาน ทำให้สามารถตรวจสอบได้ในระดับดีเอ็นเอ ไม่ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม และเกิดความถูกต้องและเที่ยงตรงมากขึ้น



ภาพที่ 4 ความหลากหลายของลักษณะกะลาในปาล์มน้ำมันดูรา (1-3) เทเนอรา (4-5) และพิสิเฟอรา (6-12) ของประชากรปาล์มน้ำมันกลุ่มลาเม่

ทำการเก็บตัวอย่างใบจากต้นที่ทะลายติดผลไม่สมบูรณ์ ผลลีบ และเมื่อผ่าผลดูพบว่าผลไม่มีกะลา ซึ่งบ่งชี้ว่ามีแนวโน้มเป็นปาล์มน้ำมันพิสิเฟอรา จำนวน 111 ตัวอย่าง นอกจากนี้ยังตัวอย่างเก็บใบจากต้นที่ยังไม่มีการติดผลไม่สามารถจำแนกได้ว่าเป็นปาล์มน้ำมันประเภทใดจำนวน 113 ตัวอย่าง รวมเก็บตัวอย่างใบทั้งหมดจำนวน 224 ตัวอย่าง มาทำการสกัดดีเอ็นเอ ซึ่งปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้อยู่ในช่วง 226.10–3,832 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร (ภาพที่ 5 และตารางภาคผนวกที่ 1)



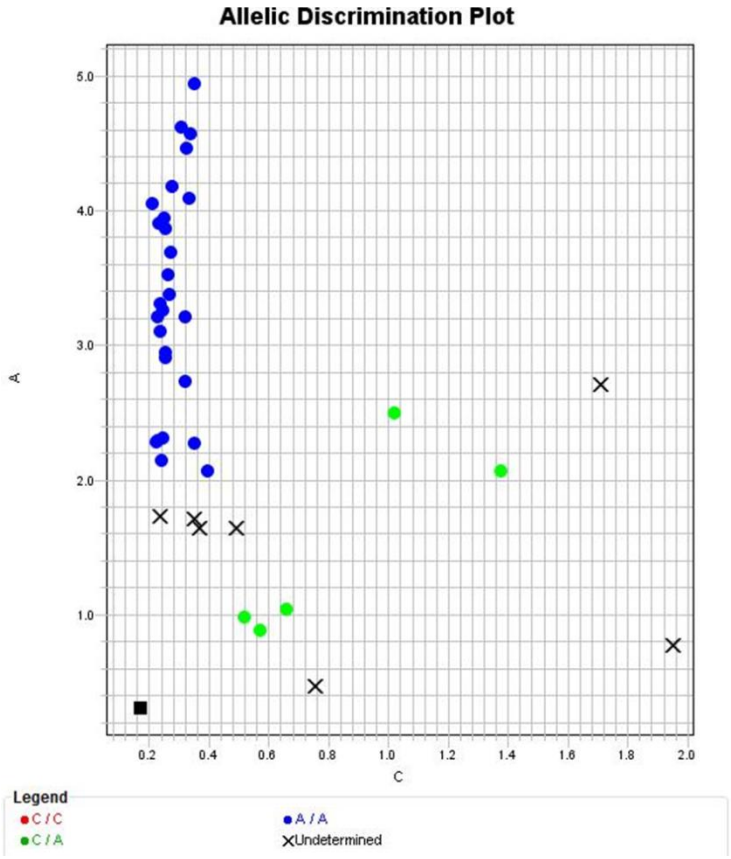
ภาพที่ 5 ตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้จากตัวอย่างใบของประชากรปาล์มน้ำมันกลุ่มลาเม่

จากรายงานของหทัยรัตน์และคณะ (2557) พบว่าลำดับเบสบริเวณของยีนควบคุมความหนากะลาในปาล์มน้ำมันดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอราของประชากรปาล์มน้ำมันกลุ่มลาเม่มีความแตกต่างกัน จากความแตกต่างนี้สามารถออกแบบเครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์เพื่อแยกความแตกต่างของปาล์มน้ำมันทั้งสามชนิดนี้ได้ สำหรับปาล์มน้ำมันในกลุ่มลาเม่ พบว่าดูรามีลำดับเบสในตำแหน่งสนิปส์เป็น C/C ปาล์มน้ำมันพิสิเฟอรามีลำดับเบสในตำแหน่งสนิปส์เป็น A/A ปาล์มน้ำมันเทเนอรามีลำดับเบสในตำแหน่งสนิปส์เป็น C/A ดังนั้นเมื่อสร้าง Allelic discrimination ของตัวอย่างแต่ละตัวอย่าง อัลลีลที่เป็นตัวแทนของต้นแม่ดูรา (C/C) จะอยู่ในแนวแกน X และอัลลีลที่เป็นตัวแทนของต้นพ่อพิสิเฟอรา (A/A) จะอยู่ในแนวแกน Y ส่วนอัลลีลที่เป็นตัวแทนของลูกผสมเทเนอรา (C/A) จะอยู่กึ่งกลางระหว่างแกนทั้งสอง (ภาพที่ 6)

การทำปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์และโพรบที่จำเพาะต่อประชากรปาล์มน้ำมันกลุ่มลาเม่ ด้วยเครื่อง real-time PCR พบว่าจากตัวอย่างดีเอ็นเอจำนวน 111 ตัวอย่าง ผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้แสดงผลอัลลีลแบบพิสิเฟอรา (A/A) จำนวน 97 ตัวอย่าง แสดงผลอัลลีลแบบเทเนอรา (C/A) จำนวน 5 ตัวอย่าง และให้ผลไม่ชัดเจน ไม่สามารถแยกได้ว่าเป็นต้นเทเนอรา ดูรา หรือพิสิเฟอรา (X) จำนวน 9 ตัวอย่าง (ตารางที่ 6 และตารางภาคผนวกที่ 1) สำหรับต้นที่ไม่สามารถจำแนกได้น่าจะเกิดจากตัวอย่างใบบางตัวอย่างได้รับความเสียหายจากความร้อนอบอ้าว ทำให้มีสีน้ำตาล เนื่องจากในขั้นตอนการเก็บตัวอย่างไม่ได้มีการแช่น้ำแข็งในทันที ทำให้ตะกอนดีเอ็นเอที่สกัดได้จากบางตัวอย่างมีสีน้ำตาลอ่อนถึงเข้มจากการปนเปื้อนของสารประกอบฟีโนลิกและมีผลต่อปฏิกิริยาพีซีอาร์ (Prakash *et al*., 2002)

จากการตรวจสอบชนิดของลำดับเบสในตำแหน่งสนิปส์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์ นอกจากตรวจพบตัวอย่างดีเอ็นเอแสดงอัลลีลโฮโมไซกัสของปาล์มน้ำมันพิสิเฟอราแล้ว ยังตรวจพบว่ามีดีเอ็นเอบางตัวอย่างแสดงอัลลีลเป็นเฮเตอโรไซกัสในรูปแบบของปาล์มน้ำมันเทเนอรา พบว่าการคัดเลือกต้นพ่อพันธุ์พิสิเฟอราจำแนกโดยลักษณะสัณฐานจำนวน 111 ต้น ในขณะที่การใช้เครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์จำแนกเป็นต้นพิสิเฟอราได้ 97 ต้น คิดเป็น 87.38 เปอร์เซ็นต์ จำแนกเป็นต้นเทเนอรา 5 ต้น คิดเป็น 4.50 เปอร์เซ็นต์ และไม่สามารถจำแนกได้ 9 ต้น คิดเป็น 8.12 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ไม่พบตัวอย่างดีเอ็นเอที่แสดงอัลลีลโฮโมไซกัสของปาล์มน้ำมันดูรา แสดงให้เห็นว่าสภาพแวดล้อมมีผลต่อการแสดงออกของปาล์มน้ำมันเทเนอราในแปลงทดลองนี้ การใช้ลักษณะการติดผลและความหนากะลาเป็นเกณฑ์เบื้องต้นในการคัดเลือก สามารถแยกความแตกต่างของปาล์มน้ำมันดูราออกจากเทเนอรา และพิสิเฟอราได้ แต่ยังไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการแยกปาล์มน้ำมันเทเนอราออกจากปาล์มน้ำมันพิสิเฟอราได้ เนื่องจากปาล์มน้ำมันเทเนอราบางต้นได้รับผลกระทบจากสภาพแวดล้อมจึงทำให้มีการแสดงออก ของลักษณะการติดผล และความหนากะลาใกล้เคียงกับการแสดงออกของพิสิเฟอรา ผลการทดลองนี้จึงยืนยันได้ว่าการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลซึ่งตรวจสอบได้ในระดับดีเอ็นเอ มีประโยชน์ในการคัดเลือกต้นพ่อพิสิเฟอราเพื่อการผลิตลูกผสมเทเนอรา ช่วยให้ผลการตรวจสอบมีความแม่นยำและมีประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อเทียบกับการใช้ลักษณะสัณฐานเพียงอย่างเดียว (Billotte *et al*., 2010; Collard and Mackil, 2008) ดังนั้นจึงควรคัดเลือกโดยใช้ทั้งเครื่องหมายโมเลกุลควบคู่ไปกับการใช้ลักษณะสัณฐาน การตรวจสอบเพื่อยืนยันความเป็นต้นพิสิเฟอราด้วยเครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์ ตรวจสอบเฉพาะต้นที่ทะลายมีการติดผลไม่สมบูรณ์ ผลลีบ และไม่มีกะลาแบบพิสิเฟอราจำนวน 111 ตัวอย่าง สำหรับต้นที่ยังไม่มีการติดผล จำนวน 113 ตัวอย่าง ยังคงเก็บดีเอ็นเอไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอให้ต้นเหล่านี้มีการติดผลและตรวจสอบลักษณะสัณฐานของกะลา และเลือกเฉพาะต้นที่ให้ผลลักษณะพิสิเฟอรามาทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ ทั้งนี้เพื่อเป็นการประหยัดค่าใช้จ่าย เนื่องจากสารเคมีไพรเมอร์ และโพรบที่ใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์มีราคาค่อนข้างสูง อย่างไรก็ตามในการคัดเลือกต้นพ่อพันธุ์พิสิเฟอรา แม้ว่าได้คัดเลือกโดยใช้ลักษณะสัณฐานเบื้องต้น และตรวจสอบจีโนไทป์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลไปพร้อมกันแล้วก็ตาม การบันทึกการเจริญเติบโต การติดผล ลักษณะผล หรือการไม่มีกะลายังคงมีความ

จำเป็นต้องกระทำอย่างต่อเนื่องทุกปี ทั้งนี้เพื่อคัดเลือกให้ได้เฉพาะต้นพิสิเฟอราที่ดี มีความสม่ำเสมอ และตรงตามพันธุ์มากที่สุดสำหรับเป็นต้นพ่อพันธุ์ในการผลิตลูกผสมเทเนอราต่อไป



ภาพที่ 6 ตัวอย่าง Allelic discrimination plot ที่ได้จากการทำ Real-time PCR ด้วยดีเอ็นเอแม่พิมพ์ที่สกัดได้จากตัวอย่างใบของประชากรปาล์มน้ำมันกลุ่มลาเม่ โดยสีน้ำเงินในตำแหน่งแกน Y คือ อัลลีลของต้นพ่อพันธุ์พิสิเฟอรา สีเขียวในตำแหน่งแกน X คือ อัลลีลของลูกผสมเทเนอรา ส่วนเครื่องหมายกากบาท (X) คือต้นที่ให้ผลไม่ชัดเจนไม่สามารถจำแนกได้

ตารางที่ 6 ผลการตรวจสอบชนิดอัลลีลโดยใช้ไพรเมอร์และโพรบที่จำเพาะต่อปาล์มน้ำมันกลุ่มลาเม่

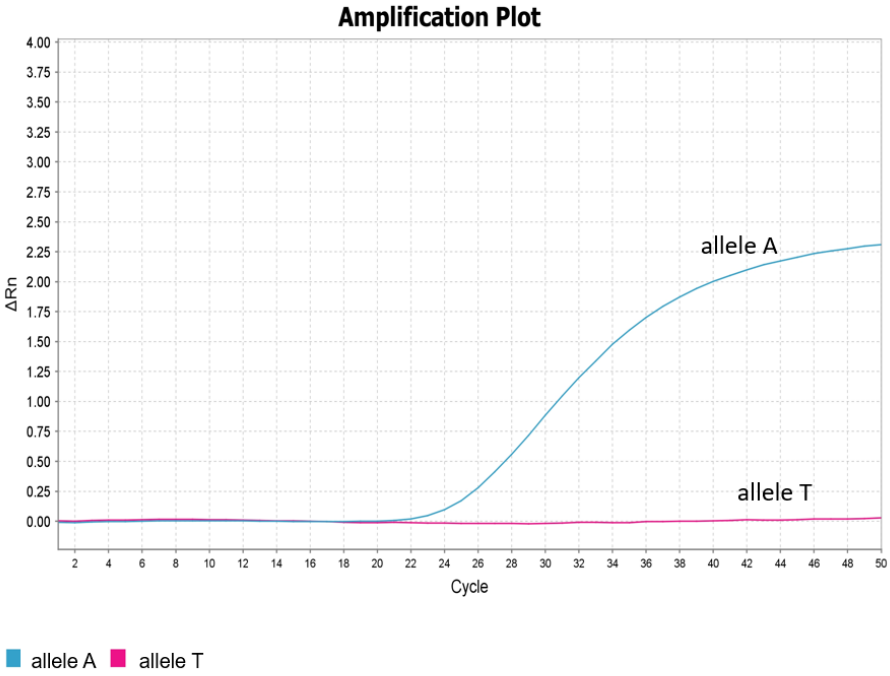
ชนิดของอัลลีล	จำนวนตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์
C/C (ดูรา)	ไม่พบ	-
A/A (พิสิเฟอรา)	97	87.38
C/A (เทเนอรา)	5	4.50
X (Unknown)	9	8.12
รวม	111	

การทดลองที่ 2.2 การตรวจสอบการปนเปื้อนของดูรา ในระบบการผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานีเพื่อการควบคุมคุณภาพ

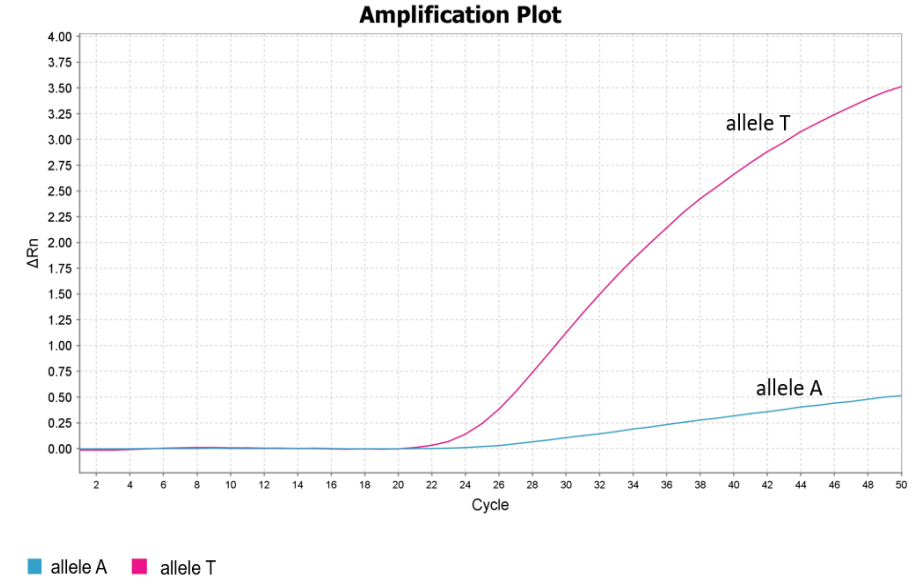
1. การตรวจสอบชนิดอัลลีลเพื่อยืนยันความถูกต้องของปาล์มน้ำมันดูรา เทเนอรา และพิสิเฟอรา ของประชากรกลุ่มแทนซาเนีย

จากการตรวจสอบชนิดอัลลีลปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราสุราษฎร์ธานี 7 จำนวน 105 ตัวอย่าง ต้นแม่พันธุ์ดูรา จำนวน 14 ตัวอย่าง และ ต้นพ่อพันธุ์พิสิเฟอรา จำนวน 10 ตัวอย่าง โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์ด้วยเทคนิค Real Time PCR ด้วยไพรเมอร์และโพรบ SNP_{TaYa} A/T ที่มีความเฉพาะเจาะจงกับการจำแนกปาล์มน้ำมันกลุ่มแทนซาเนีย โดยที่ตำแหน่งของปลาย 5’ ติดฉลากด้วยสีฟลูออเรสเซนต์ และปลาย 3’ ของโพรบติดฉลากด้วย Quencher และ Minor Groove Binder (MGB) (หทัยรัตน์ และคณะ, 2557) เมื่อตรวจสอบคุณภาพและความใช้ได้ของโพรบด้วยเทคนิค Real time PCR แล้ว พบว่าเมื่อนำดีเอ็นเอของปาล์มน้ำมันทั้ง 3 ชนิด คือ ชนิดดูรา (14 ตัวอย่างพันธุ์) พิสิเฟอรา (10 ตัวอย่างพันธุ์) และลูกผสมเทเนอรา (105 ตัวอย่างพันธุ์) มาตรวจสอบด้วยโพรบ ตำแหน่งสนิปส์ที่เหมือนต้นแม่ดูราเท่านั้นที่จะจับกับดีเอ็นเอของดูราได้ โดยเมื่อมีการสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ สี VIC ทางปลาย 5’ จะถูกตัด (Hydrolysis) ออกห่างจาก Quencher ที่อยู่ปลาย 3’ของโพรบ ทำให้ปรากฏเส้นกราฟสีของ VIC เพิ่มขึ้นตามจำนวน copy ของสายดีเอ็นเอที่ถูกสร้างขึ้นใหม่ และจำนวนรอบของ PCR ที่เพิ่มขึ้น แต่หากนำดีเอ็นเอของต้นพ่อพิสิเฟอรามาตรวจตำแหน่งสนิปส์ เมื่อมีการสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ สี FAM ทางปลาย 5’ จะถูกตัด (Hydrolysis) ออกห่างจาก Quencher ที่อยู่ปลาย 3’ของโพรบ ทำให้ปรากฏเส้นกราฟสีของ FAM และถ้านำดีเอ็นเอของลูกผสมชนิดเทเนอรามาตรวจจะให้ผลเป็นกราฟ 2 เส้น (allele A/T) ทั้งของต้นแม่ชนิดดูราและต้นพ่อชนิดพิสิเฟอรา ซึ่งจะแสดงผลในรูปแบบกราฟ Amplification plot โดยกราฟของสีฟลูออเรสเซนต์ VIC กับ FAM จะค่อยๆขึ้นในรอบที่ 24 เป็นต้นไป (ภาพที่ 7 a,b และ c)

ผลการวิเคราะห์สนิปส์จากการทำ Allelic Discrimination Plot พบว่าให้ผลที่ถูกต้อง โดยสามารถจำแนกปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี 7 ชนิดดูรา พิสิเฟอรา และเทเนอรา ได้ถูกต้องทั้ง 129 ตัวอย่างพันธุ์ ซึ่ง allele ของต้นแม่ดูราจะอยู่ในแนวแกน X และ Allele ของพ่อพิสิเฟอราจะอยู่ในแนวแกน Y ส่วนลูกผสมเทเนอราจะอยู่กึ่งกลางระหว่างแกนทั้งสอง ดังภาพที่ 7 d

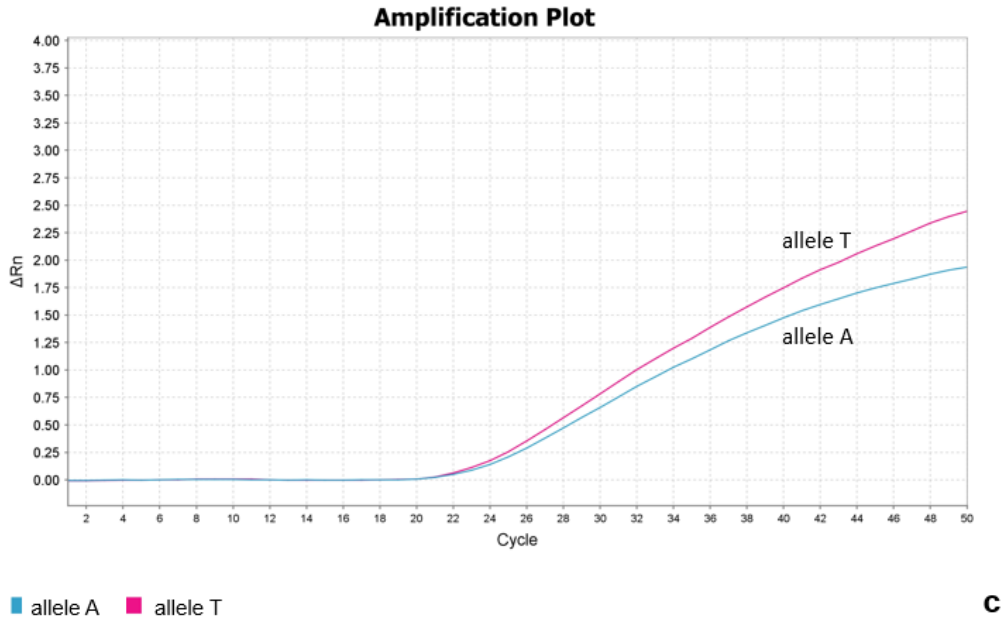


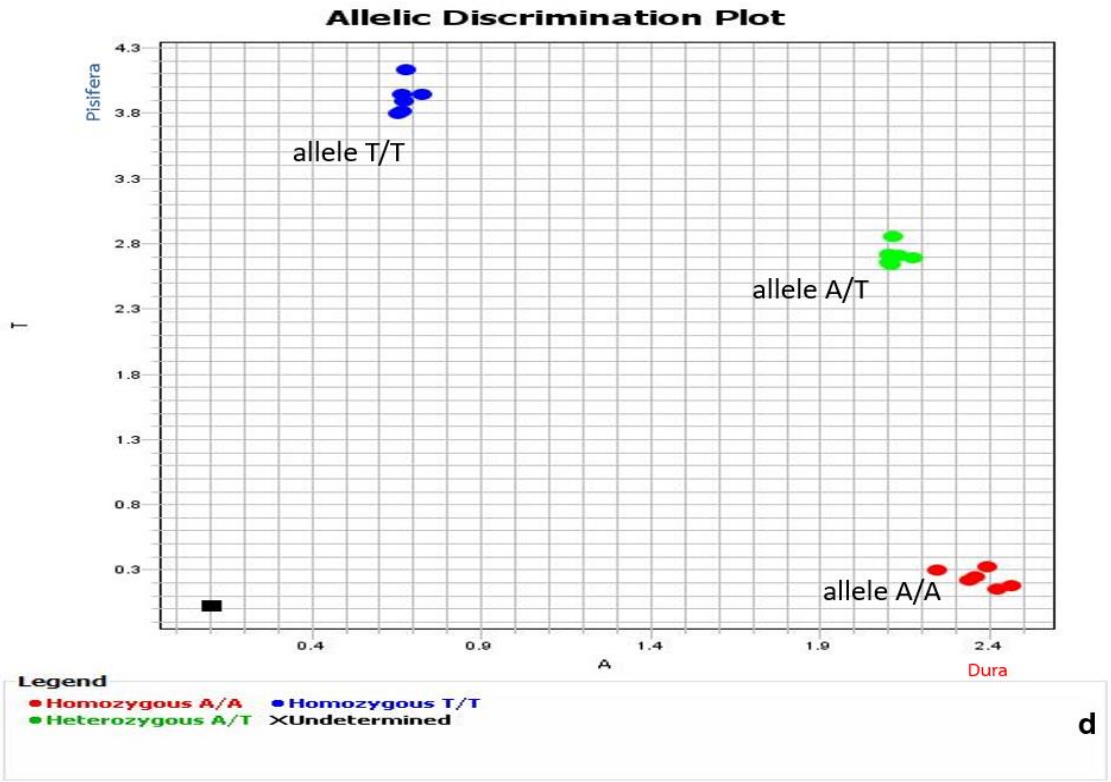
a



b

ภาพที่ 7 กราฟ Amplification plot แสดงผลการตรวจปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 7 โดยใช้ไพรเมอร์และโพรบ SNP_{TAYA} (A/T) ด้วยเทคนิค Real Time PCR ต้นแม่ดูรา (a), ต้นพ่อฟิสิเฟอรา (b), ลูกผสมเทเนอรา (c) และกราฟ Allelic discrimination plot ของต้นแม่ดูรา ต้นพ่อฟิสิเฟอรา และ ลูกผสมเทเนอรา (d)

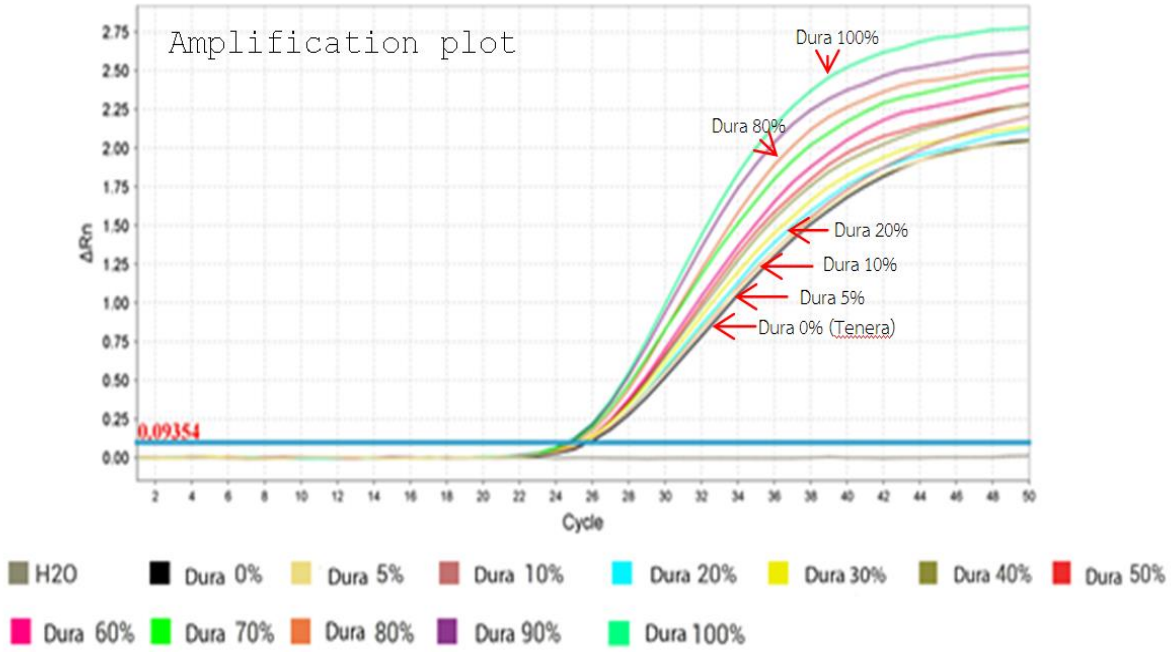




ภาพที่ 7 (ต่อ) กราฟ Amplification plot แสดงผลการตรวจปาล์มน้ำมันพันธุ์สุราษฎร์ธานี 7 โดยใช้ไพรเมอร์และโพรบ SNP_{TAYA} (A/T) ด้วยเทคนิค Real Time PCR ต้นแม่ดูรา (a), ต้นพ่อฟิสิเฟอรา (b), ลูกผสมเทเนอรา (c) และกราฟ Allelic discrimination plot ของต้นแม่ดูรา ต้นพ่อฟิสิเฟอราและลูกผสมเทเนอรา (d)

2. การหาขีดจำกัดของการตรวจคัดกรองโดยการรวมตัวอย่าง (bulk sample) เพื่อวิเคราะห์การปนเปื้อนของต้นดูราในประชากรลูกผสมเทเนอรา

จากการทำมาตรฐานการปนของตัวอย่างใบปาล์มน้ำมันกลุ่มพันธุ์ Tanzania ทั้งชนิดดูราและเทเนอราที่ผ่านการตรวจสอบลักษณะทางฟีโนไทป์ (ความหนาของกะลา) และลักษณะทางจีโนไทป์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์ มาทำการผสมตัวอย่างมาตรฐานการปนของต้นดูราในประชากรต้นลูกผสมเทเนอรา เพื่อหาขีดจำกัดของการตรวจวิเคราะห์แบบรวมตัวอย่าง พบว่า เมื่อนำตัวอย่างดีเอ็นเอที่มีการปนของต้นดูรา 0-100 เปอร์เซ็นต์ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Real time PCR ผลการวิเคราะห์จากกราฟ Amplification plot ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ของค่า Fluorescent intensity (ΔRn) ของโพรบทั้ง 2 เส้น (allele A, allele T) เมื่อจำนวนรอบของผลผลิต PCR ที่มากขึ้น แสดงให้เห็นว่า เส้นกราฟของ allele A จากตัวอย่างที่มีเปอร์เซ็นต์การปนของต้นดูรามากกว่าจะขึ้นได้เร็วกว่า และเส้นกราฟของ allele A ในตัวอย่างที่ไม่มีต้นดูราปน (เทเนอรา 100 เปอร์เซ็นต์) ขึ้นในจำนวนรอบที่ช้าสุด ทั้งนี้ในกรณีของตัวอย่างเทเนอราที่ไม่มีดูราปน ปริมาณ allele A ที่แสดงผลได้มาจากต้นเทเนอราเพียงแหล่งเดียว ในขณะที่ตัวอย่างที่มีเปอร์เซ็นต์การปนของต้นดูราที่มากขึ้น ปริมาณ allele A ที่แสดงผลนั้นได้มาจากทั้งต้นเทเนอราและต้นดูรา จึงมีผลให้สัดส่วน allele A มีค่า Fluorescent intensity (ΔRn) ที่สูงกว่าและแสดงผลได้เร็วกว่าในจำนวนรอบที่น้อยกว่า โดยเส้นกราฟของ allele A ดูรา ที่ขึ้นได้เร็วสุด คือ ดูราปน 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ ดูราปน 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5, 0 เปอร์เซ็นต์ จากกราฟ Amplification Plot เมื่อดูค่าความเข้มของสี Fluorescent ที่เกิดจากกราฟของโพรบที่จับกับ allele A ของดูรา หรือค่า ΔRn พบว่าตัวอย่างที่มีการปน 0, 5, และ 10 เปอร์เซ็นต์ เส้นกราฟอยู่ใกล้กันตรวจดูยาก นอกนั้นตัวอย่างที่มีดูราปนตั้งแต่ 20 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ค่า ΔRn ที่รอบสุดท้าย (50) แยกออกจากกันอย่างชัดเจน (ภาพที่ 8)

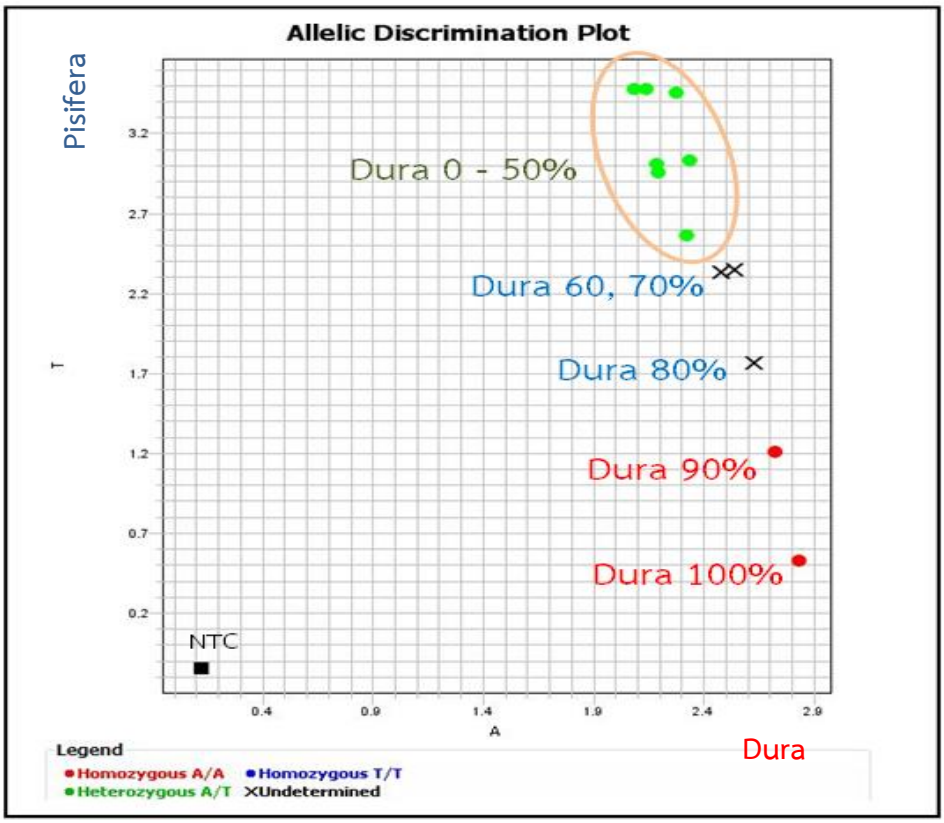


ภาพที่ 8 กราฟ Amplification plot ของ allele A ซึ่งมีการปนของดูราที่มีสัดส่วน 0-100 เปอร์เซ็นต์

การแสดงค่า Fluorescent intensity หรือค่า ΔRn allele A และ T โดยเทคนิค Real time PCR (ตารางที่ 7) ตัวอย่างที่เป็นเทเนอราอย่างเดียวไม่มีดูราปน (ดูราปน 0 เปอร์เซ็นต์) พบค่า ΔRn allele A และ T มีค่า 2.141 กับ 3.565 ตามลำดับ และที่เปอร์เซ็นต์ปนของดูรามากขึ้น ค่า ΔRn Allele A จะเพิ่มขึ้น ขณะที่ ΔRn allele T ลดลง ดังจะเห็นได้จาก เมื่อมีดูราปน 50 เปอร์เซ็นต์ ค่า ΔRn allele A เพิ่มขึ้นเป็น 2.326 ขณะที่ ΔRn Allele T ลดลงเหลือเพียง 2.561 อย่างไรก็ตามที่ดูราปน 50 เปอร์เซ็นต์นี้ ค่า Allele A ของดูราก็ยังต่ำกว่าเทเนอรา แต่เมื่อดูราปนที่ 60 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นว่าค่า ΔRn Allele A มีค่าสูงกว่า Allele T คือมีค่า 2.476 และ 2.329 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามค่า ΔRn Allele A กับ T ในแต่ละตัวอย่างขึ้นกับปริมาณดีเอ็นเอตั้งต้นด้วย ไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันโดยตรงได้ ดังนั้นการที่จะเปรียบเทียบแต่ละตัวอย่างจึงใช้ค่าสัดส่วนของ ΔRn Allele T/A ratio ซึ่งพบว่า ที่ดูราปน 0 เปอร์เซ็นต์ และ 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าใกล้เคียงกัน คือ 1.665 และ 1.664 แต่เมื่อดูราปน 10 เปอร์เซ็นต์ ค่า ΔRn Allele T/A ratio มีค่า 1.516 ซึ่งต่างจากดูราปน 5 เปอร์เซ็นต์อย่างชัดเจน และเมื่อดูราปนมากขึ้นค่า ΔRn Allele T/A ratio จะลดลง ซึ่งแสดงว่าที่ดูราปน 10 เปอร์เซ็นต์ คือขีดจำกัดของการตรวจสอบ (Limit of Detection) การปนดูราในเทเนอรา

ดังนั้น ในการรวมตัวอย่างปาล์มน้ำมัน 10 ใบต่อตัวอย่างรวม 1 ตัวอย่างดีเอ็นเอ ถ้ามีดูราปน 1 ต้น ซึ่งเท่ากับ 10 เปอร์เซ็นต์ เทคนิคดังกล่าวจะสามารถตรวจสอบได้ โดยจะต้องระมัดระวังไม่ให้มีการตรวจผิดพลาดจากค่า Limit of Detection ของการตรวจวิเคราะห์การปนของดูรา แต่เพื่อป้องกันการเกิด false positive ในการตรวจวิเคราะห์ จึงขยับค่า Limit of Detection ให้สูงขึ้นเป็น 15 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ค่า ΔRn ของ Allele T/A ratio ของดูราปน 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ รวมกันแล้วหาร 2 จะได้ค่าที่ 1.445 ซึ่งหมายถึงว่า ถ้าผลตรวจของตัวอย่างรวมมีค่า ΔRn ของ Allele T/A ratio สูงกว่า 1.445 สามารถปล่อยตัวอย่างรวมนั้นผ่านได้ (ไม่มีดูราปน) แต่ถ้าค่านี้ต่ำกว่า 1.445 แสดงว่ามีดูราปน ค่าอัตราส่วนต่ำมากแสดงว่าอาจมีต้นดูราปนมากกว่า 1 ต้น โดยโอกาสของการเกิดการปนเปื้อนของดูรามีความสัมพันธ์กับสัดส่วนของค่า ΔRn Allele T/A ratio ซึ่งสอดคล้องกับค่าเฉลี่ยของค่า ΔRn allele T/A ratio ที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ต้นลูกผสมเทเนอรา จำนวน 20 ต้น มีค่าเท่ากับ 1.673 (ตารางภาคผนวกที่ 1-2)

การนำค่า Fluorescent intensity (ΔRn) ของโพรบทั้ง 2 เส้น (allele A, T) มาใช้ในการตรวจวิเคราะห์การตรวจคัดกรองการปนของดูราในงานวิจัยนี้ เนื่องจากในการตรวจวิเคราะห์ SNPs Genotyping แบบต้นต่อต้นโดยเทคนิค Real time PCR ค่า ΔRn ดังกล่าว โปรแกรม (software) อัตโนมัติของเครื่องนำมาใช้ในการวิเคราะห์จัดจำแนกกลุ่มของประชากรในรูปแบบ Allelic discrimination plot แต่เมื่อมีการรวมตัวอย่างดูราในประชากรเทเนอราจริง พบว่าโปรแกรมไม่สามารถวิเคราะห์การปนของต้นดูราโดยตรงได้ งานวิจัยนี้จึงได้นำเอาข้อมูลความสัมพันธ์ของค่าสีฟลูออเรสเซนต์ซึ่งพบว่ามีความผันแปรตามสัดส่วนการปนของดูรามาใช้เป็นข้อมูลในการคำนวณการตรวจวิเคราะห์การปนของต้นดูราได้ ซึ่งผลการวิเคราะห์ Allelic discrimination plot เมื่อทำการทดลองปนต้นดูราในสัดส่วน 0-100 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 9 แสดงให้เห็นว่า ในการตรวจวิเคราะห์ด้วย Allelic discrimination plot นั้น เมื่อมีการปนของดูราที่ 0-50 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่สามารถตรวจวิเคราะห์การปนของดูราได้เลย ส่วนการปนดูราที่ 60-80 เปอร์เซ็นต์ ผลการวิเคราะห์ไม่สามารถจำแนกกลุ่มได้ชัดเจนแต่มีแนวโน้มมาทางชนิดดูรา แต่เมื่อมีการปนของดูราที่ 90 เปอร์เซ็นต์ จึงสามารถจำแนกได้เป็นชนิดดูรา



ภาพที่ 9 การวิเคราะห์สนิปส์ด้วย Allelic discrimination plot

3. การตรวจคัดกรองการปนเปื้อนของต้นแม่ดูราในแปลงผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอรา

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างใบจากต้นกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราพันธุ์สุราษฎร์ธานี 7 ในแปลงผลิตต้นกล้าลูกผสมเทเนอราของศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี ได้ทำการแบ่งต้นกล้าปาล์มที่ผลิตในชุดเดียวกันเป็นล็อต (10,000 ต้น/lot) สุ่มเก็บตัวอย่าง 5 เปอร์เซ็นต์ ของแต่ละล็อต โดยกำหนดการสุ่มตัวอย่างแบบมีระบบ (Systematic Sampling) จากการทดลองสกัดดีเอ็นเอทั้งสิ้น 50 ตัวอย่างรวม พบว่า ผลการตรวจคัดกรองการปนเปื้อนของต้นดูราแบบรวมตัวอย่าง โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์ด้วยเทคนิค Real time PCR พบว่า จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของ ΔRn allele T/A ratio ของตัวอย่างการสกัดดีเอ็นเอรวม จำนวน 50 ตัวอย่าง เมื่อใช้ค่าขีดจำกัดของการตรวจคัดกรอง ΔRn allele T/A ratio เท่ากับ 1.445 ในการตรวจคัดกรองการปนเปื้อนของต้นดูรา พบว่า จากการวิเคราะห์แบบสกัดดีเอ็นเอแบบรวมตัวอย่าง จำนวน 50 ตัวอย่าง (ตารางที่ 8) ให้ผลตรวจคัดกรองผ่าน จำนวน 26 ตัวอย่าง คิดเป็น 52 เปอร์เซ็นต์ และตรวจไม่ผ่าน จำนวน 24 ตัวอย่าง คิดเป็น 48 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งหากโอกาสการปนของต้นดูราอย่างน้อยสุด เท่ากับ 1 ต้น ต่อ 1 ตัวอย่างรวม การตรวจพบการปนเปื้อนของต้นดูราคิดเป็น 4.8 เปอร์เซ็นต์ (จากจำนวนประชากรที่ได้จากการสุ่มทั้งหมด 500 ต้น)

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจคัดกรองแบบรวมตัวอย่าง โดยนำต้นกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราที่ได้จากการสุ่มทั้ง 500 ต้น มาทำการตรวจวิเคราะห์แบบต้นต่อต้น ด้วยเทคนิค Real-time PCR พบว่าตัวอย่างดีเอ็นเอรวมที่ตรวจคัดกรองผ่าน จำนวน 26 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการปนของต้นดูราเลย 23 ตัวอย่าง และมีตัวอย่างที่ผิดพลาดในการปล่อยผ่าน จำนวน 3 ตัวอย่าง (ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ 28, 40 และ 47 ใน ตารางที่ 8) ตัวอย่างละ 1 ต้น รวม 3 ต้น คิดเป็น 0.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็น false negative อาจเกิดจากในขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอแบบรวมตัวอย่างนั้น ชิ้นส่วนใบของต้นดูราที่ปนอาจติดไปกับอุปกรณ์ที่ใช้ในการบดตัวอย่าง ทำให้สกัดได้ปริมาณดีเอ็นเอของต้นดูราที่ปนมาในปริมาณน้อยมาก จนไม่เพียงพอที่จะทำให้ไพรเมอร์และโพรบสามารถตรวจจับได้ เป็นผลให้การตรวจวิเคราะห์ไม่พบการปนของต้นดูราในตัวอย่างดังกล่าว ดังนั้นในขั้นตอนการสกัด

ดีเอ็นเอรวมจึงมีความสำคัญ จำเป็นต้องมีความระมัดระวังเป็นอย่างมาก การบดตัวอย่างใบต้องละเอียดสม่ำเสมอและผสมคลุกเคล้ากันอย่างสมบูรณ์ ตัวอย่างใบที่เลือกสกัดควรมีความสม่ำเสมอและเป็นใบที่อายุใกล้เคียงกัน สำหรับส่วนที่ตรวจคัดกรองไม่ผ่าน จำนวน 24 ตัวอย่าง เมื่อนำมาตรวจวิเคราะห์แบบต้นต่อต้น ตรวจพบต้นดูราจำนวนทั้งหมด 35 ต้น

การศึกษาในครั้งนี้ ถึงแม้จะมีความผิดพลาดจากการตรวจคัดกรองในการปล่อยผ่าน (false negative) ของต้นดูรา 3 ตัวอย่าง ให้กับเกษตรกร คิดเป็นดูราปน 0.6 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนที่นำมาตรวจคัดกรองทั้งหมด 500 ต้น ซึ่งยังอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ ซึ่งมาตรฐานการปนของต้นดูราตามคำแนะนำไม่ควรเกิน 5 เปอร์เซ็นต์ โดยในกรณีที่ผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์มีการควบคุมคุณภาพการผลิตที่ดีนั้น ความแปรปรวนอันเนื่องมาจากพันธุกรรมของต้นกล้าในแปลงเพาะควรจะน้อยกว่า 5% (Chow, 2540) จึงนับว่าวิธีการตรวจคัดกรองแบบรวมตัวอย่างที่พัฒนาขึ้นนี้ เป็นวิธีที่ใช้ได้และมีความแม่นยำ ข้อดีของการตรวจคัดกรองแบบรวมตัวอย่างคือ ประหยัดและรวดเร็ว เพราะไม่ต้องสกัดดีเอ็นเอทุกตัวอย่าง ถึงแม้จะยังไม่สามารถระบุต้นที่ปนได้เมื่อเทียบกับวิธีการตรวจแบบต้นต่อต้นซึ่งมีค่าใช้จ่ายสูงและต้องใช้แรงงานมาก และไม่สามารถนำมาใช้ในการตรวจคุณภาพต้นกล้าปาล์มน้ำมันซึ่งมีปริมาณการผลิตเป็นจำนวนมากได้

ตารางที่ 7 แสดงผลการวิเคราะห์ค่าของ Fluorescent intensity ของโพรบที่ติดฉลากสี VIC (allele A)และสี FAM (allele T) จากการทำมาตรฐานการปนดูราในเทเนอราที่สัดส่วน 0-100 เปอร์เซ็นต์

เปอร์เซ็นต์การปนของต้นดูราในประชากรเทเนอรา	ผลการวิเคราะห์สนิปส์	ค่า Fluorescent intensity		
		ΔRn allele A	ΔRn allele T	ΔRn allele T/A ratio
0	Heterozygous A/T	2.141	3.565	1.665
5	Heterozygous A/T	2.089	3.478	1.665
10	Heterozygous A/T	2.278	3.454	1.516
20	Heterozygous A/T	2.188	3.009	1.375
30	Heterozygous A/T	2.198	2.955	1.345
40	Heterozygous A/T	2.341	3.028	1.294
50	Heterozygous A/T	2.326	2.561	1.101
60	Undetermined	2.476	2.329	0.941
70	Undetermined	2.536	2.345	0.925
80	Undetermined	2.623	1.763	0.672
90	Homozygous A/A	2.725	1.204	0.442
100	Homozygous A/A	2.833	0.524	0.185

ตารางที่ 8 แสดงผลการวิเคราะห์ค่าของ Fluorescent intensity ของโพรบที่ติดฉลากสี VIC (female; allele A) และสี FAM (male; allele T) จากการวิเคราะห์สนิปส์ของการสุ่มเก็บตัวอย่างต้นกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสมชนิดเทเนอรา จำนวน 50 ตัวอย่างรวม

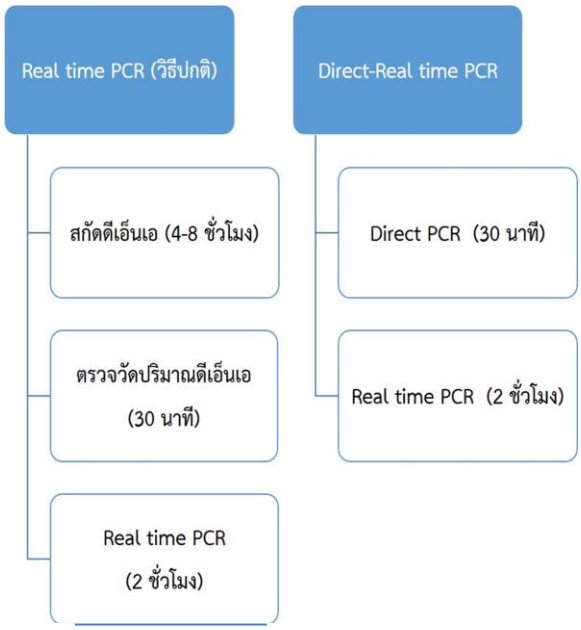
ตัวอย่าง ดีเอ็นเอรวม	ผลการวิเคราะห์สนิปส์	ค่า Fluorescent intensity			ผลการตรวจวิเคราะห์การปนของต้นดูรา แบบต้นต่อต้น โดยเทคนิค Real Time PCR
		ΔRn Allele A	ΔRn Allele T	ΔRn Allele T/A ratio	
1	Heterozygous A/T	2.380	3.249	1.365	2
2	Heterozygous A/T	2.021	3.483	1.723	-
3	Heterozygous A/T	2.056	3.070	1.494	-
4	Heterozygous A/T	2.203	2.792	1.267	2
5	Heterozygous A/T	2.459	3.082	1.254	1
6	Heterozygous A/T	2.280	2.901	1.272	2
7	Heterozygous A/T	2.210	2.635	1.192	2
8	Heterozygous A/T	2.368	2.502	1.057	2
9	Heterozygous A/T	2.034	3.182	1.564	-
10	Heterozygous A/T	2.206	2.709	1.228	1
11	Heterozygous A/T	2.287	3.216	1.406	1
12	Heterozygous A/T	2.204	3.460	1.570	-
13	Heterozygous A/T	2.255	3.300	1.463	-
14	Heterozygous A/T	2.264	3.211	1.418	1
15	Heterozygous A/T	2.196	2.213	1.008	2
16	Heterozygous A/T	2.015	2.883	1.431	-
17	Heterozygous A/T	2.047	3.010	1.470	-
18	Heterozygous A/T	2.177	2.950	1.355	1
19	Heterozygous A/T	2.278	2.468	1.084	3
20	Heterozygous A/T	2.047	3.301	1.612	-
21	Heterozygous A/T	2.278	2.874	1.262	2
22	Heterozygous A/T	2.184	2.854	1.307	2
23	Heterozygous A/T	2.319	3.072	1.325	1
24	Heterozygous A/T	2.238	3.203	1.432	1
25	Heterozygous A/T	2.133	3.374	1.582	-
26	Heterozygous A/T	2.259	2.908	1.287	2
27	Heterozygous A/T	2.311	2.851	1.234	2
28*	Heterozygous A/T	1.970	2.864	1.454	1
29	Heterozygous A/T	2.095	2.860	1.365	1
30	Heterozygous A/T	2.040	3.168	1.553	-
31	Heterozygous A/T	2.048	3.070	1.499	-
32	Heterozygous A/T	2.090	2.857	1.367	1
33	Heterozygous A/T	2.000	2.947	1.474	-
34	Heterozygous A/T	2.171	3.248	1.496	-
35	Heterozygous A/T	2.091	3.426	1.638	-
36	Heterozygous A/T	2.366	3.489	1.475	-
37	Heterozygous A/T	2.334	3.111	1.333	2
38	Heterozygous A/T	2.083	2.983	1.433	-
39	Heterozygous A/T	1.988	3.120	1.569	-
40*	Heterozygous A/T	2.240	3.371	1.505	1
41	Heterozygous A/T	2.179	2.993	1.374	1
42	Heterozygous A/T	2.088	3.175	1.521	-
43	Heterozygous A/T	2.029	3.036	1.496	-
44	Heterozygous A/T	1.964	2.967	1.510	-
45	Heterozygous A/T	2.011	2.955	1.469	-
46	Heterozygous A/T	2.108	3.314	1.572	-
47*	Heterozygous A/T	2.105	3.179	1.510	1
48	Heterozygous A/T	2.213	3.477	1.571	-
49	Heterozygous A/T	2.154	3.307	1.536	-
50	Heterozygous A/T	2.013	3.253	1.616	-

38

* ตัวอย่างที่ตรวจคัดกรองผ่าน แต่เมื่อตรวจวิเคราะห์แบบต้นต่อต้นพบการปนเปื้อนของต้นดูรา

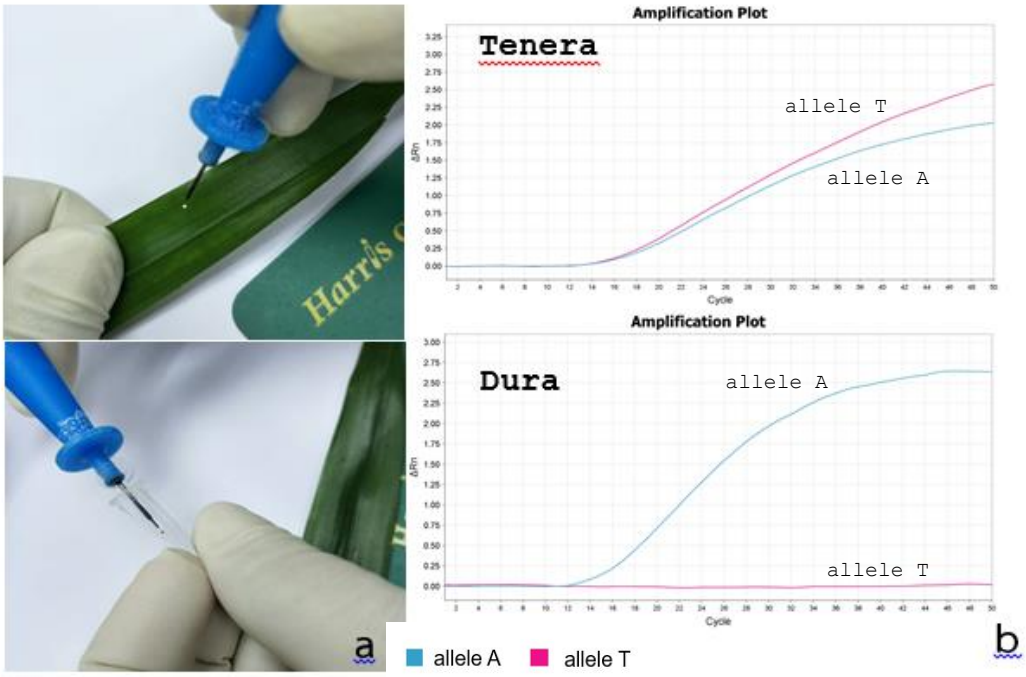
4. การพัฒนาวิธีการตรวจชนิดของปาล์มน้ำมันแบบรวดเร็ว

การพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ชนิดปาล์มน้ำมันให้รวดเร็วยิ่งขึ้น โดยนำวิธี Direct PCR มาประยุกต์ใช้ร่วมกับการใช้เครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์ในการตรวจสอบชนิดของปาล์มน้ำมันด้วยเทคนิค Real Time PCR ซึ่งวิธีเดิมต้องใช้ระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์ค่อนข้างนาน โดยเฉพาะขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอจากใบปาล์มให้ได้ปริมาณและคุณภาพที่ดี ซึ่งมีขั้นตอนที่ยุ่งยากซับซ้อนทำให้ต้องใช้เวลาและแรงงานค่อนข้างมาก แต่จากการพัฒนาวิธีการตรวจสอบแบบต้นต่อต้นอย่างรวดเร็ว พบว่า วิธี Direct PCR ที่พัฒนาขึ้น มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ง่าย ไม่ยุ่งยากซับซ้อน เพียงใช้ชิ้นส่วนของใบปาล์มน้ำมัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร มาทำปฏิกิริยา PCR โดยตรงในสภาวะปฏิกิริยาที่เหมาะสม ร่วมกับการใช้เครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์ในการตรวจสอบชนิดของปาล์มน้ำมันด้วยเทคนิค Real Time PCR สามารถช่วยร่นระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์ชนิดของปาล์มน้ำมันได้รวดเร็วยิ่งขึ้น และมีความแม่นยำสูง โดยไม่จำเป็นต้องสกัดดีเอ็นเอจากใบปาล์มน้ำมัน สามารถตรวจวิเคราะห์ต้นปาล์มน้ำมันได้ทุกช่วงอายุ ตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงต้นโตเต็มที่ ซึ่งใช้ระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์เพียง 3 ชั่วโมง ก็สามารถทราบชนิดของปาล์มน้ำมันได้ ซึ่งโดยปกติขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอของใบปาล์มน้ำมันอย่างเดียวจะใช้ระยะเวลา 4-8 ชั่วโมง (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 แสดงขั้นตอนและระยะเวลาในการตรวจจำแนกชนิดปาล์มน้ำมันด้วยเทคนิค Real time PCR และ Direct-Real time PCR

จากการนำตัวอย่างต้นกล้าปาล์มน้ำมัน ที่ได้จากการสุ่มตัวอย่างเพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์การปนของต้นดูราแบบรวมตัวอย่าง จำนวน 500 ต้น มาตรวจวิเคราะห์แบบต้นต่อต้น ซึ่งมีจำนวนต้นในปริมาณมากถึง 500 ต้น เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ (Method validation) ของวิธีการตรวจวิเคราะห์แบบรวมตัวอย่าง จึงได้นำวิธีการตรวจแบบรวดเร็วนี้ ไปช่วยในการตรวจวิเคราะห์ด้วย ซึ่งพบว่า ให้ผลในการตรวจคัดแยกชนิดปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราและชนิดดูราได้ถูกต้องเช่นเดียวกับการทำ Real Time PCR (วิธีปกติ) (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 ชิ้นส่วนใบปาล์มที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา PCR ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร (a) ผลการตรวจวิเคราะห์สนิปส์ เพื่อจำแนกปาล์มน้ำมันลูกผสม ด้วยวิธี Direct PCR ร่วมกับการใช้เครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์ด้วยเทคนิค Real Time PCR (b)

กิจกรรมที่ 3 ศึกษาระบบการจัดการต้นกล้าปาล์มน้ำมันสำหรับการปลูกซ่อม

การทดลองที่ 3.1 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นกล้าปาล์มน้ำมันอายุ 12 เดือน และมากกว่า 18 เดือน ในการเปลี่ยนถุงขนาด 21 x 24 นิ้ว สำหรับการปลูกซ่อม

1. การเจริญเติบโตของต้นกล้า

การทดลองนี้ได้ประเมินการปรับตัวของต้นกล้าที่อยู่ระหว่างการอนุบาลต้นกล้าในถุงที่มีขนาดใหญ่กว่าเดิม คือ ขนาด 21x24 นิ้ว เป็นระยะเวลา 1 ปี โดยทำการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นกล้าปาล์มน้ำมันครั้งแรกเมื่อย้ายลงถุงปลูก และเก็บข้อมูลครั้งที่ 2-5 ในเดือนที่ 3 6 9 และ 12 ตามลำดับ รวมทั้งวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าในทุกลักษณะ (ตารางที่ 9)

1.1 พื้นที่หน้าตัดแกนทาง

พื้นที่หน้าตัดแกนทางมีความสัมพันธ์กับการสะสมน้ำหนักแห้งของต้นปาล์มน้ำมัน เมื่อดูแลรักษาต้นกล้าทุกกรรมวิธี จนกระทั่งผ่านไปเป็นเวลา 12 เดือน พบว่ากรรมวิธีที่ 1-3 ต้นกล้าอายุ 12 เดือน อายุ 18 เดือนและ 24 เดือน มีค่าใกล้เคียงกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยมีพื้นที่หน้าตัดแกนทาง 5.13 4.84 และ 4.88 ตารางเซนติเมตรตามลำดับ แต่กรรมวิธีที่ 4 ต้นกล้าอายุ 36 เดือน มีพื้นที่หน้าตัดแกนทางน้อยกว่าทุกกรรมวิธี 4.59 ตารางเซนติเมตร และเมื่อเปรียบเทียบค่าเพิ่มขึ้นของพื้นที่หน้าตัดแกนทางในช่วง 12 เดือน พบว่า ต้นกล้าทุกอายุมีพื้นที่หน้าตัดแกนทางเพิ่มขึ้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 1 ต้นกล้าอายุ 12 เดือน มีพื้นที่หน้าตัดแกนทางเพิ่มขึ้นสะสมมากที่สุด 3.42 ตารางเซนติเมตร และกรรมวิธีที่ 3 ต้นกล้าอายุ 24 เดือน มีพื้นที่หน้าตัดแกนทางเพิ่มขึ้นสะสมน้อยที่สุด 2.79 ตารางเซนติเมตร อย่างไรก็ตาม พบว่าการฟื้นฟูต้นกล้าที่มีอายุมากทุกกรรมวิธีมีพื้นที่หน้าตัดแกนทางเพิ่มขึ้นและค่าเพิ่มสะสมในช่วงเวลา 12 เดือนไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 9) (ภาพที่ 12 (ก))

1.2 พื้นที่หน้าตัดลำต้น

พื้นที่หน้าตัดลำต้นบ่งบอกถึงการเจริญเติบโตของต้นกล้าปาล์มน้ำมันได้ดีกว่าลักษณะอื่นๆ หากต้นกล้ามีพื้นที่หน้าตัดลำต้นขนาดใหญ่แสดงว่าต้นกล้ามีการเจริญเติบโตที่ดี เมื่อย้ายต้นกล้าลงปลูกในถุงขนาดใหญ่เป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่า ต้นกล้าอายุ 18 และ 24 เดือนมีพื้นที่หน้าตัดลำต้นใกล้เคียงกันและไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับต้นกล้าที่มีอายุ 12 เดือน โดยมีพื้นที่หน้าตัดลำต้น 395.18 และ 413.16 ตารางเซนติเมตร ส่วนต้นกล้าอายุ 12 เดือน ซึ่งเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบมีพื้นที่หน้าตัดลำต้น 406.62 ตารางเซนติเมตร แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับต้นกล้าอายุ 36 เดือน ซึ่งมีพื้นที่หน้าตัดลำต้นน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น 305.08 ตารางเซนติเมตร และเมื่อเปรียบเทียบพื้นที่หน้าตัดลำต้นเพิ่มสะสมในช่วง 12 เดือน พบว่า ต้นกล้าอายุ 12 18 และ 24 เดือน มีพื้นที่หน้าตัดลำต้นเพิ่มขึ้นจากค่าเริ่มต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเพิ่มขึ้น 380.86 362.06 และ 366.53 ตารางเซนติเมตร แต่ต้นกล้าอายุ 36 เดือน มีพื้นที่หน้าตัดลำต้นเพิ่มสะสมน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ 273.77 ตารางเซนติเมตร เนื่องจากชะงักการเจริญเติบโตในถุงขนาด 9x12 นิ้ว เป็นระยะเวลานานจึงมีผลต่อระยะการฟื้นฟูที่นานกว่าต้นกล้าอื่น (ตารางที่ 9) (ภาพที่ 12 (ข))

1.3 พื้นที่ใบ

การสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างอาหารให้กับต้นกล้าปาล์มน้ำมัน หากต้นกล้ามีพื้นที่ใบมากแสดงว่าต้นกล้านั้นสามารถสร้างอาหารเพื่อใช้สำหรับการเจริญเติบโตได้มากเช่นกัน เมื่อเริ่มทำการทดลองยังไม่สามารถทำการวัดพื้นที่ใบได้ เนื่องจากต้นกล้าถูกตัดแต่งทางใบออกหมด และหลังจากทำการย้ายต้นกล้าลงปลูกในถุงขนาดใหญ่ที่ระยะเวลา 12 เดือน พบว่า กรรมวิธีที่ 1 ต้นกล้าอายุ 12 เดือน มีพื้นที่ใบมากที่สุด 1.55 ตารางเมตร และมีค่าใกล้เคียงกับกรรมวิธีที่ 2 ต้นกล้าอายุ 18 และ กรรมวิธีที่ 3 ต้นกล้าอายุ 24 เดือน มีพื้นที่ใบ 1.41 และ 1.34 ตารางเมตร ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรมวิธีที่ 4 ต้นกล้าอายุ 36 เดือน ซึ่งมีพื้นที่ใบน้อยที่สุด 1.28 ตารางเมตร และเมื่อเปรียบเทียบค่าเพิ่มสะสมของพื้นที่ใบในช่วง 12 เดือนพบว่า ต้นกล้าอายุ 12 เดือน มีพื้นที่ใบมากกว่ากรรมวิธี และมีค่าใกล้เคียงกับต้นกล้าอายุ 18 และ 24 เดือน แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับต้นกล้าอายุ 36 เดือน ซึ่งมีพื้นที่ใบน้อยกว่าทุกกรรมวิธี เพราะข้อมูลค่าเริ่มต้นพื้นที่ใบในทุกกรรมวิธีมีค่าเป็น 0 เนื่องจากได้รับการตัดแต่งใบก่อนทำการทดลอง จึงทำให้ค่าเพิ่มขึ้นมีค่าเท่ากันกับค่าที่วัดได้จริงในช่วง 12 เดือน (ตารางที่ 9) (ภาพที่ 12 (ค))

1.4 จำนวนทางใบ

การนับจำนวนทางใบ จะทำการนับทุก 3 เดือน การเพิ่มทางใบในแต่ละรอบเป็นการเพิ่มพื้นที่สำหรับการสังเคราะห์แสงให้กับต้นกล้าปาล์มน้ำมัน เมื่อดูแลรักษาต้นกล้าได้ระยะเวลา 12 เดือน พบว่า ต้นกล้าอายุ 12 เดือน มีจำนวนทางใบสะสมมากกว่าทุกกรรมวิธีคือ 22.51 ทางใบ ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติกับต้นกล้าอายุ 18 24 และ 36 เดือน ซึ่งมีจำนวนทางใบสะสม 21.32 20.73 และ 18.32 ทางใบตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบค่าเพิ่มขึ้นจำนวนทางใบสะสมในช่วง 12 เดือน ก็เช่นกัน เพราะข้อมูลค่าเริ่มต้นจำนวนทางใบสะสมในทุกกรรมวิธีมีค่าเป็น 0 เนื่องจากทุกกรรมวิธีได้รับการตัดแต่งทางใบก่อนทำการทดลอง จึงทำให้ค่าเพิ่มขึ้นของจำนวนทางใบสะสมในช่วง 12 เดือน มีค่าเท่ากันกับค่าที่วัดได้จริงในช่วง 12 เดือน (ตารางที่ 9) (ภาพที่ 12 (ง))

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นกล้าตั้งแต่เริ่มทำการทดลองจนถึง 12 เดือน (ตารางที่ 9) (ภาพที่ 12) พบว่า พื้นที่หน้าตัดลำต้นเพิ่มสะสม ต้นกล้าอายุ 36 เดือน มีการเพิ่มน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ และเมื่อเปรียบเทียบพื้นที่ใบเพิ่มสะสม ต้นกล้าอายุ 12 เดือน มีพื้นที่ใบเพิ่มสะสมมากที่สุด ต้นกล้าอายุ 36 เดือน มีพื้นที่ใบเพิ่มสะสมน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น แต่เมื่อเปรียบเทียบจำนวนทางใบสะสมในช่วง 12 เดือน พบว่า ต้นกล้าอายุ 12 เดือนจำนวนทางใบสะสมมากที่สุด และต้นกล้าอายุ 18 และ 24 เดือนมีจำนวนทางใบสะสมใกล้เคียงกัน ส่วนต้นกล้าอายุ 36 เดือน มีจำนวนทางใบสะสมน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ เนื่องจากในช่วงเริ่มทำการทดลองต้นกล้าที่

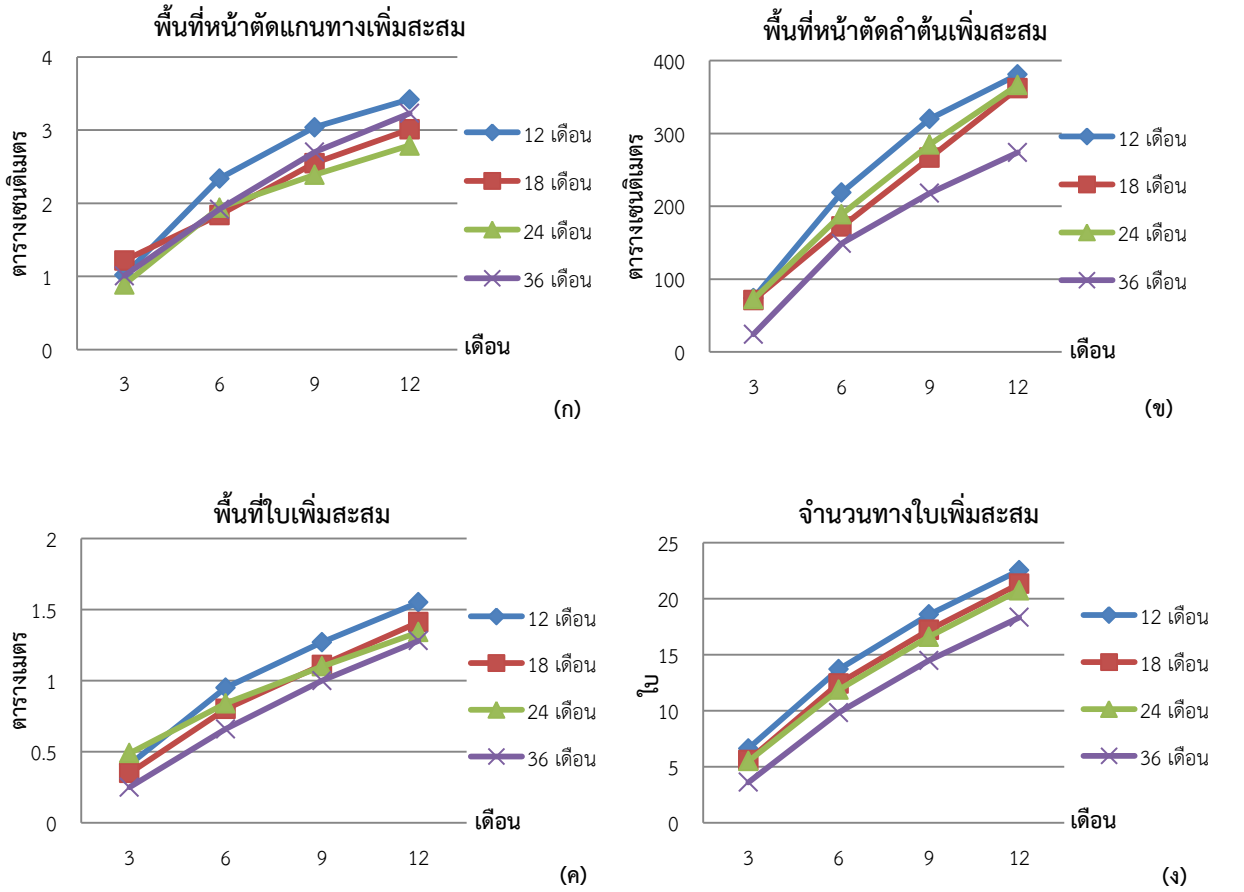
นำมาใช้ส่วนใหญ่ผ่านการตัดแต่งทางใบก่อนที่จะย้ายปลูกลงในถุงขนาดใหญ่ และหลังจากย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 12 เดือน ต้นกล้ามีการปรับตัวได้ดีใกล้เคียงกันในทุกกรรมวิธีและทุกลักษณะ ยกเว้นต้นกล้าอายุ 36 เดือน ดังนั้น ต้นกล้าอายุ 18 และ 24 เดือน มีการฟื้นฟูได้ดี และต้นกล้าอายุ 36 เดือน ซึ่งจะมีการฟื้นตัวได้น้อยหรือช้ากว่า ดังนั้นจึงต้องมีการทดสอบการเจริญเติบโตของต้นกล้าที่ผ่านการฟื้นฟูแล้วลงปลูกในแปลง เพื่อติดตามข้อมูลการปรับตัวของต้นกล้าทั้งการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตต่อไป

ตารางที่ 9 การเจริญเติบโตของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน 4 กรรมวิธี (อายุ 12 18 24 และ 36 เดือน) เมื่ออายุ 3 6 9 และ 12 เดือน หลังการย้ายปลูกในถุงขนาดใหญ่และค่าเพิ่มขึ้นในช่วง 12 เดือน ณ ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี (กรกฎาคม 2558- ตุลาคม 2560)

ต้นกล้าอายุ (เดือน)	ค่าเริ่มต้น	ระยะเวลาหลังย้ายอนุบาล								ค่าเพิ่มขึ้นในช่วง 12 เดือน
		3 เดือน		6 เดือน		9 เดือน		12 เดือน		
		ค่าวัดจริง	ค่าเพิ่มขึ้น	ค่าวัดจริง	ค่าเพิ่มขึ้น	ค่าวัดจริง	ค่าเพิ่มขึ้น	ค่าวัดจริง	ค่าเพิ่มขึ้น	
พื้นที่หน้าตัดแกนทาง (ตารางเซนติเมตร)										
12 เดือน	1.71ab	2.73a	1.02a	4.05a	1.32a	4.75a	0.70a	5.13a	0.38a	3.42a
18 เดือน	1.83ab	3.05a	1.22a	3.67ab	0.62b	4.38a	0.71a	4.84a	0.46a	3.01a
24 เดือน	2.09a	2.98a	0.89a	4.03a	1.05ab	4.48a	0.45a	4.88a	0.40a	2.79a
36 เดือน	1.36b	2.37a	1.01a	3.28b	0.91ab	4.06a	0.78a	4.59a	0.53a	3.23a
เฉลี่ย	1.74	2.78	1.04	3.75	0.98	4.41	0.66	4.86	0.44	3.12
C.V.(%)	13.68	6.61	23.70	5.73	22.09	5.20	48.52	3.85	61.22	11.46
พื้นที่หน้าตัดลำต้น (ตารางเซนติเมตร)										
12 เดือน	25.76c	99.73a	73.97a	244.73a	145.00a	345.82a	101.09a	406.62a	60.80a	380.86a
18 เดือน	33.12b	104.25a	71.13a	205.24b	100.99b	299.75ab	94.51a	395.18a	95.43a	362.06a
24 เดือน	46.63a	119.00a	72.37a	235.75a	116.75b	331.53a	95.78a	413.16a	81.63a	366.53a
36 เดือน	31.31b	55.58b	24.27a	180.39b	124.81ab	249.44b	69.05a	305.08b	55.64a	273.77b
เฉลี่ย	34.20	94.64	60.44	216.52	121.88	306.63	90.11	380.01	73.37	345.81
C.V.(%)	7.90	15.22	23.86	6.59	10.78	10.51	36.96	8.97	44.35	9.93
พื้นที่ใบ (ตารางเมตร)										
12 เดือน	0[1/]	0.41b	0.41b	0.95a	0.54a	1.27a	0.32a	1.55a	0.28a	1.55a
18 เดือน	0	0.35c	0.35c	0.80ab	0.45ab	1.11b	0.31a	1.41ab	0.30a	1.41ab
24 เดือน	0	0.49a	0.49a	0.84a	0.35b	1.10b	0.26a	1.34ab	0.24a	1.34ab
36 เดือน	0	0.25d	0.25d	0.66b	0.41b	1.00b	0.34a	1.28b	0.28a	1.28b
เฉลี่ย	-	0.37	0.37	0.81	0.44	1.12	0.30	1.39	0.27	1.39
C.V.(%)	-	7.89	7.89	9.93	14.82	5.54	30.14	7.63	34.08	7.63
จำนวนทางใบ (ใบ)										
12 เดือน	0[1/]	6.63a	6.63a	13.69a	7.06a	18.57a	4.88a	22.51a	3.94a	22.51a
18 เดือน	0	5.58b	5.58b	12.42b	6.84a	17.21b	4.79a	21.32b	4.11a	21.32b
24 เดือน	0	5.50b	5.50b	11.87b	6.37a	16.59b	4.72a	20.73b	4.14a	20.73b
36 เดือน	0	3.62c	3.62c	9.82c	6.20a	14.48c	4.66a	18.32c	3.84a	18.32c
เฉลี่ย	-	5.33	5.33	11.95	6.61	16.71	4.76	20.72	4.01	20.72
C.V.(%)	-	5.00	5.00	4.63	7.28	2.68	5.94	2.02	7.11	2.02

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

: [1/]ข้อมูลค่าเริ่มต้นพื้นที่ใบและจำนวนใบสะสมทุกกรรมวิธีจะเป็น 0 เนื่องจากได้รับการตัดแต่งใบก่อนทำการทดลอง



ภาพที่ 12 การเจริญเติบโตสะสมของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน 4 กรรมวิธี (อายุ 12 18 24 และ 36 เดือน) (พื้นที่หน้าตัดแกนทาง (ก); พื้นที่หน้าตัดลำต้น (ข); พื้นที่ใบ (ค) และจำนวนทางใบสะสม (ง)) ที่เพิ่มขึ้นในช่วงอายุ 3 6 9 และ 12 เดือนหลังย้ายปลูกในถุงขนาดใหญ่

2. การสะสมน้ำหนักแห้งของต้นกล้า

การเจริญเติบโตของต้นกล้า คือการที่ต้นกล้าสะสมน้ำหนักแห้ง เนื่องจากต้นกล้าได้รับธาตุอาหารและน้ำสำหรับกระบวนการต่างๆ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต ในเนื้อเยื่อพืชสดมีน้ำเป็นองค์ประกอบ 80-90 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับชนิดและอายุของพืชเอง และรวมถึงการสะสมน้ำหนักแห้งประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสด ข้อเสียของการวัดการเจริญเติบโตด้วยการวิเคราะห์การสะสมน้ำหนักแห้งคือ จะต้องสูญเสียต้นกล้าไป จึงต้องใช้ตัวอย่างต้นกล้าจำนวนมาก สำหรับการบันทึกข้อมูลน้ำหนักแห้งของต้นกล้าปาล์มน้ำมันในการทดลองนี้ จะใช้ต้นกล้าจำนวน 5 ต้นต่อการบันทึกข้อมูล 1 ครั้ง บันทึกข้อมูลจำนวน 4 ครั้ง โดยเริ่มเก็บข้อมูลเมื่อเริ่มทำการทดลองและเก็บทุก 4 เดือน จนกระทั่งอนุบาลต้นกล้าระยะเวลา 12 เดือน เพื่อให้ทราบถึงการเจริญเติบโตของต้นกล้าในแต่ละช่วงเวลาของการอนุบาลต้นกล้าในถุงขนาดใหญ่ (ตารางที่ 10)

2.1 น้ำหนักแห้งในส่วนใต้ดิน (ราก)

การสะสมน้ำหนักแห้งส่วนใต้ดิน บอกถึงความสามารถในการหาอาหารของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน จากการบันทึกข้อมูล พบว่า น้ำหนักแห้งของรากมีความแตกต่างกันทางสถิติทุกครั้งที่ทำการเก็บข้อมูลทุก 4 เดือน ก่อนการทดลองกรรมวิธีที่ 3 ต้นกล้าอายุ 24 เดือน มีการสะสมน้ำหนักแห้งของรากมากที่สุด 0.26 กิโลกรัมต่อต้น รองลงมาคือกรรมวิธีที่ 1 ต้นกล้าอายุ 12 เดือน 0.13 กิโลกรัมต่อต้น ส่วนกรรมวิธีที่ 2 ต้นกล้าอายุ 18 และกรรมวิธีที่ 4 ต้นกล้าอายุ 36 เดือนมีน้ำหนักแห้งใกล้เคียงกัน 0.09 และ 0.08 กิโลกรัมต่อต้น ตามลำดับ และหลัง

ย้ายลงปลูกในถุงขนาดใหญ่เป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่า กรรมวิธีที่ 1-3 (ต้นกล้าอายุ 12 18 และ 24 เดือน) มีการสะสมน้ำหนักแห้งของรากไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 1 และกรรมวิธีที่ 2 มีการสะสมน้ำหนักแห้งรากมากที่สุดและมีค่าเท่ากัน 0.80 กิโลกรัมต่อต้น แต่ต้นกล้าทั้ง 3 กรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 (ต้นกล้าอายุ 36 เดือน) ซึ่งมีการสะสมน้ำหนักแห้งรากน้อยที่สุด 0.53 กิโลกรัมต่อต้น และเมื่อเปรียบเทียบการเพิ่มน้ำหนักแห้งสะสมของรากในช่วง 12 เดือน พบว่า ต้นกล้าอายุ 12 เดือน มีน้ำหนักแห้งรากเพิ่มขึ้นสะสมมากที่สุด 0.67 กิโลกรัมต่อต้น ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับต้นกล้าอายุ 18 เดือนและต้นกล้าอายุ 24 เดือน แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับต้นกล้าอายุ 36 เดือน ซึ่งมีน้ำหนักแห้งรากเพิ่มขึ้นสะสมน้อยที่สุด 0.45 กิโลกรัมต่อต้น (ตารางที่ 10) (ภาพที่ 13 (ก))

2.2 การสะสมน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน (ลำต้น)

การสะสมน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน หรือน้ำหนักแห้งส่วนของลำต้น พบว่า น้ำหนักแห้งส่วนของลำต้นมีความแตกต่างกันทางสถิติทุกครั้งที่ทำการเก็บข้อมูลทุก 4 เดือน และมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับการสะสมน้ำหนักแห้งส่วนของราก โดยก่อนการทดลองต้นกล้าอายุ 24 เดือน มีการสะสมน้ำหนักแห้งส่วนของลำต้นมากที่สุด 1.26 กิโลกรัมต่อต้น และต้นกล้าอายุ 36 เดือน มีการสะสมน้ำหนักแห้งส่วนของลำต้นน้อยที่สุด 0.27 กิโลกรัมต่อต้น และต่อเนื่องถึงระยะ 4 เดือนหลังย้ายลงปลูกในถุงขนาดใหญ่ โดยต้นกล้าอายุ 24 เดือนยังคงมีการสะสมน้ำหนักแห้งลำต้นมากที่สุด 1.87 กิโลกรัมต่อต้น กรรมวิธีอื่นๆ มีการสะสมน้ำหนักแห้งลำต้นใกล้เคียงกันในช่วง 8 เดือนหลังย้ายลงปลูกในถุงขนาดใหญ่ ต้นกล้าอายุ 12 18 และ 24 เดือน มีการสะสมน้ำหนักแห้งลำต้น 4.62 4.45 และ 4.36 กิโลกรัมต่อต้น ตามลำดับ และช่วง 12 เดือนหลังย้ายลงปลูกในถุงขนาดใหญ่ ต้นกล้าอายุ 12 18 และ 24 เดือน มีการสะสมน้ำหนักแห้งลำต้น 7.16 6.56 และ 6.31 กิโลกรัมต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ทั้ง 2 ช่วงมีความแตกต่างทางสถิติกับต้นกล้าอายุ 36 เดือน ซึ่งมีการสะสมน้ำหนักแห้งลำต้นน้อยที่สุด 2.97 และ 4.39 กิโลกรัมต่อต้นตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งเพิ่มสะสมส่วนของลำต้นในช่วง 12 เดือน พบว่า ต้นกล้าอายุ 12 เดือน มีน้ำหนักแห้งลำต้นเพิ่มสะสมมากที่สุด 6.84 กิโลกรัมต่อต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับต้นกล้าอายุ 18 24 และ 36 เดือน โดยต้นกล้าอายุ 36 เดือน มีน้ำหนักแห้งลำต้นเพิ่มสะสมน้อยที่สุด 4.12 กิโลกรัมต่อต้น (ตารางที่ 10) (ภาพที่ 13 (ข))

2.3 การสะสมน้ำหนักแห้งรวม

การสะสมน้ำหนักแห้งส่วนของรากและลำต้น พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติทุกครั้งที่ทำการเก็บข้อมูลทุก 4 เดือน โดยก่อนการทดลองต้นกล้าทุกอายุมีการสะสมน้ำหนักแห้งส่วนของรากและลำต้นมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยต้นกล้าอายุ 24 เดือน มีการสะสมน้ำหนักแห้งส่วนของรากและลำต้นมากที่สุด 1.51 กิโลกรัมต่อต้น และต้นกล้าอายุ 36 เดือน มีการสะสมน้ำหนักแห้งส่วนของรากและลำต้นน้อยที่สุด 0.35 กิโลกรัมต่อต้น และต่อเนื่องถึงระยะ 4 เดือนหลังย้ายลงปลูกในถุงขนาดใหญ่ โดยต้นกล้าอายุ 24 เดือนยังคงมีการสะสมน้ำหนักแห้งส่วนของรากและลำต้นมากที่สุด 2.16 กิโลกรัมต่อต้น กรรมวิธีอื่นๆ มีการสะสมน้ำหนักแห้งส่วนของรากและลำต้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในช่วง 8 เดือนหลังย้ายลงปลูกในถุงขนาดใหญ่ ต้นกล้าอายุ 12 18 และ 24 เดือน มีการสะสมน้ำหนักแห้งส่วนของรากและลำต้น 5.16 4.89 และ 4.88 กิโลกรัมต่อต้นตามลำดับ และในช่วง 12 เดือนหลังย้ายลงปลูกในถุงขนาดใหญ่ ต้นกล้าอายุ 12 18 และ 24 เดือน มีการสะสมน้ำหนักแห้งส่วนของรากและลำต้น 7.96 7.22 และ 7.11 กิโลกรัมต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ทั้ง 2 ช่วง(ที่ 8 และ12 เดือน) มีความแตกต่างทางสถิติกับต้นกล้าอายุ 36 เดือน ซึ่งมีการสะสมน้ำหนักแห้งส่วนของรากและลำต้นน้อยที่สุด 3.31 และ 4.92 กิโลกรัมต่อต้น ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งส่วนของรากเพิ่มสะสมและลำต้นในช่วง 12 เดือน พบว่า ต้นกล้าอายุ 12 เดือน มีน้ำหนักแห้งส่วนของรากและลำต้นเพิ่มสะสมมากที่สุด 7.51 กิโลกรัมต่อต้น ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับต้นกล้าอายุ 18 เดือน แต่มีความแตกต่าง

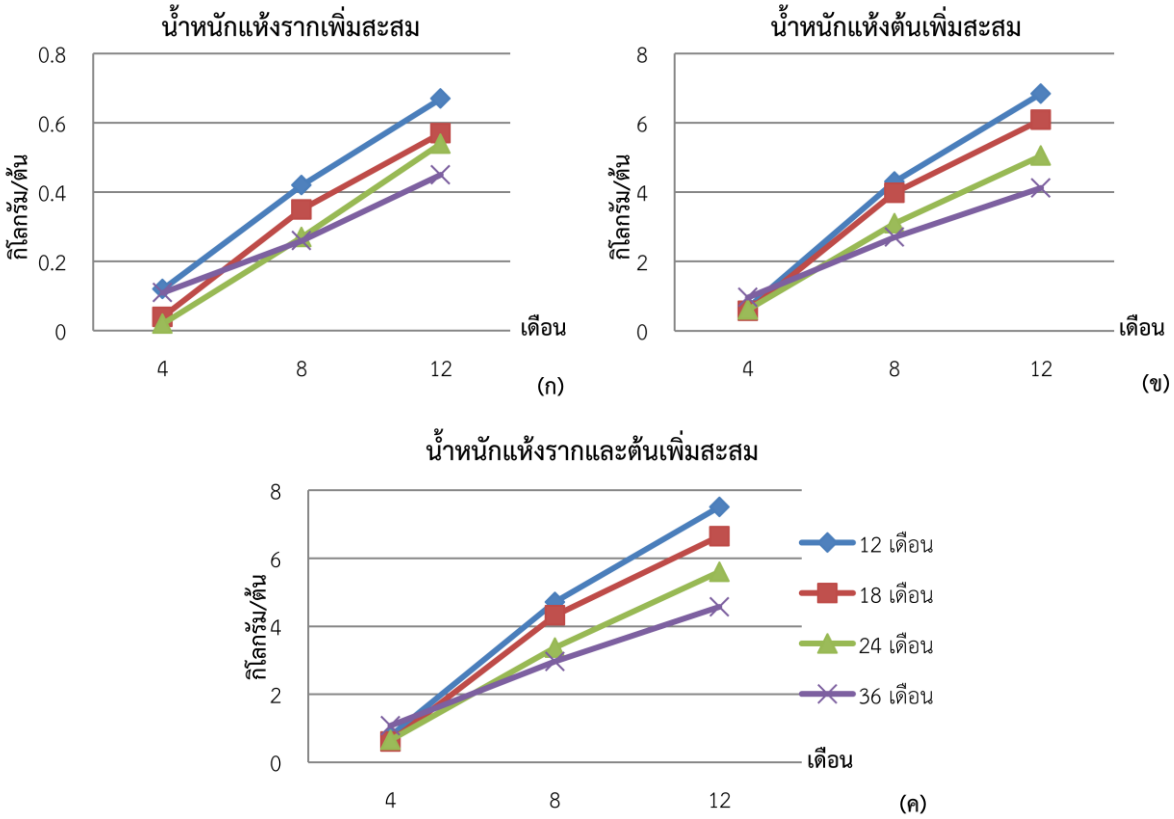
กันทางสถิติกับต้นกล้าอายุ 24 และ 36 เดือน โดยต้นกล้าอายุ 36 เดือน มีน้ำหนักแห้งส่วนของรากและลำต้นเพิ่มสะสมน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ 4.57 กิโลกรัมต่อต้น (ตารางที่ 10) (ภาพที่ 13 (ค))

จากการศึกษาการสะสมน้ำหนักแห้งของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน หลังการฟื้นฟูในถุงขนาดใหญ่เพื่อปลูกทดแทนในแปลงปลูก พบว่า ต้นกล้าอายุ 12 เดือน มีการสะสมน้ำหนักแห้งดีที่สุด รองลงมา คือ ต้นกล้าอายุ 18 และ 24 เดือน ตามลำดับ ในส่วนของต้นกล้าอายุ 36 เดือน มีการสะสมน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด เมื่อทำการชั่งน้ำหนักแห้งอย่างต่อเนื่องในช่วงระหว่างการดูแลรักษาต้นกล้านั้น พบว่า มีการสะสมน้ำหนักแห้งอย่างต่อเนื่องในทุกกรรมวิธี ดังนั้นต้นกล้าอายุ 36 เดือน สามารถนำมาฟื้นฟูเพื่อใช้ปลูกทดแทนในแปลงได้ แต่จะมีการปรับตัวได้ช้ากว่าต้นกล้าอายุ 12 18 และ 24 เดือน ทั้งนี้การอนุบาลต้นกล้าอายุมากในถุงขนาดใหญ่เป็นการประเมินเบื้องต้น หลังจากการอนุบาลต้นกล้าแล้วจึงควรมีการปลูกทดสอบในแปลงเพื่อเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตในสภาพแปลงปลูกต่อไป

ตารางที่ 10 น้ำหนักแห้งของต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่อายุ 12 18 24 และ 36 เดือนหลังการย้ายปลูกในถุงขนาดใหญ่เป็นระยะเวลา 4 8 และ 12 เดือน และค่าเพิ่มขึ้นในช่วง 12 เดือน ณ ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี (กรกฎาคม 2558-ตุลาคม 2560)

ต้นกล้าอายุ (เดือน)	ระยะเวลาหลังย้ายอนุบาล							ค่าเพิ่มขึ้นในช่วง 12 เดือน
	ค่าเริ่มต้น	4 เดือน		8 เดือน		12 เดือน		
		ค่าวัดจริง	ค่าเพิ่มขึ้น	ค่าวัดจริง	ค่าเพิ่มขึ้น	ค่าวัดจริง	ค่าเพิ่มขึ้น	
น้ำหนักแห้งราก (กิโลกรัม/ต้น)								
12	0.13b	0.25ab	0.12a	0.55a	0.30a	0.80a	0.25a	0.67a
18	0.09c	0.13c	0.04bc	0.44ab	0.31a	0.66ab	0.22a	0.57ab
24	0.26a	0.28a	0.02c	0.53a	0.25ab	0.80a	0.27a	0.54ab
36	0.08c	0.19bc	0.11ab	0.34b	0.15b	0.53b	0.19a	0.45b
เฉลี่ย	0.14	0.21	0.08	0.46	0.25	0.69	0.23	0.55
C.V.(%)	3.84	15.51	44.69	12.98	21.95	10.91	24.78	13.27
น้ำหนักแห้งต้น (กิโลกรัม/ต้น)								
12	0.32c	0.98b	0.66b	4.62a	3.64a	7.16a	2.54a	6.84a
18	0.47b	1.04b	0.57b	4.45a	3.41ab	6.56a	2.11ab	6.09b
24	1.26a	1.87a	0.61b	4.36a	2.49bc	6.31a	1.95ab	5.05c
36	0.27d	1.23b	0.96a	2.97b	1.74c	4.39b	1.42b	4.12c
เฉลี่ย	0.58	1.28	0.70	4.10	2.82	6.10	2.00	5.52
C.V.(%)	2.53	11.46	20.55	13.50	19.54	10.46	20.88	11.45
น้ำหนักแห้งรากและต้น (กิโลกรัม/ต้น)								
12	0.45c	1.22b	0.77ab	5.16a	3.94a	7.96a	2.80a	7.51a
18	0.57b	1.18b	0.61b	4.89a	3.71ab	7.22a	2.33ab	6.65ab
24	1.51a	2.16a	0.65b	4.88a	2.72bc	7.11a	2.23ab	5.60bc
36	0.35d	1.42b	1.07a	3.31b	1.89c	4.92b	1.61b	4.57c
เฉลี่ย	0.72	1.49	0.77	4.56	3.07	6.80	2.25	6.08
C.V.(%)	2.05	10.50	19.98	12.71	18.66	9.94	19.70	11.00

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT



ภาพที่ 13 เปรียบเทียบการสะสมน้ำหนักแห้ง (น้ำหนักแห้งราก (ก); น้ำหนักแห้งต้น (ข) และน้ำหนักแห้งต้นและราก (ค)) ที่เพิ่มขึ้นของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน 4 กรรมวิธี (อายุ 12 18 24 และ 36 เดือน) เมื่ออายุ 4 8 และ 12 เดือน

การทดลองที่ 3.2 ศึกษาการเจริญเติบโตของต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่ตัดแต่งทางใบปาล์มน้ำมันต่างกัน

1. การเจริญเติบโตของต้นกล้า

การเจริญเติบโตของต้นกล้าเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการประเมินการฟื้นฟูต้นกล้าที่มีอายุ 36 เดือน เพื่อให้ทราบถึงความสามารถในการพัฒนาและความพร้อมของต้นกล้าที่จะนำไปปลูกซ่อมในสวนปาล์มน้ำมัน (ที่มีอายุ 1 ปีขึ้นไป) เพื่อทดแทนต้นปาล์มน้ำมันที่มีอาการผิดปกติหรือได้รับความเสียหายจากศัตรูปาล์มน้ำมันในช่วงแรกของการปลูก (ตารางที่ 11) (ภาพที่ 14)

1.1 พื้นที่หน้าตัดแกนทาง

พื้นที่หน้าตัดแกนทางเป็นลักษณะการเจริญเติบโตบอกถึงขนาดของทางใบ และมีความสัมพันธ์กับการสะสมน้ำหนักแห้งของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน โดยเมื่อเริ่มทำการทดลองพื้นที่หน้าตัดแกนทางของต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 100 80 60 และ 20 เซนติเมตร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 20 เซนติเมตร มีพื้นที่หน้าตัดแกนทางมากที่สุด 1.74 ตารางเซนติเมตร รองลงมาคือ ต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 80 100 และ 60 เซนติเมตร มีพื้นที่หน้าตัดแกนทาง 1.65 1.59 และ 1.53 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 40 เซนติเมตร ซึ่งมีพื้นที่หน้าตัดแกนทางน้อยที่สุด 1.11 ตารางเซนติเมตร ในเดือนที่ 3 และ 6 หลังตัดแต่ง ต้นกล้ามีพื้นที่หน้าตัดแกนทางไม่แตกต่างกัน แต่จะมีความแตกต่างกันทางสถิติหลังการตัดแต่งทางใบ 9 เดือน และมีแนวโน้มเหมือนกับ

ช่วง 3 เดือนแรกหลังการตัดแต่งทางใบ โดยต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 20 เซนติเมตร มีพื้นที่หน้าตัดแกนทางมากที่สุด 4.51 ตารางเซนติเมตร และต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 40 เซนติเมตร มีพื้นที่หน้าตัดแกนทางน้อยที่สุด 3.94 ตารางเซนติเมตร และเมื่ออนุบาลต้นกล้าครบ 12 เดือน พบว่า พื้นที่หน้าตัดแกนทางทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกแต่งกันทางสถิติ และทุกกรรมวิธีเมื่อเปรียบเทียบค่าการเพิ่มขึ้นของพื้นที่หน้าตัดแกนทางตั้งแต่เริ่มตัดแต่งจนครบ 12 เดือน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นกัน และเมื่อเปรียบเทียบพื้นที่หน้าตัดแกนทางเพิ่มสะสมตั้งแต่เริ่มตัดแต่งจนครบ 12 เดือน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นกัน (ตารางที่ 11) (ภาพที่ 14 (ก))

1.2 พื้นที่หน้าตัดลำต้น

พื้นที่หน้าตัดลำต้นบ่งบอกถึงการเจริญเติบโตของทางด้านลำต้นของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน หากต้นกล้ามีขนาดลำต้นใหญ่แสดงว่าต้นกล้ามีการเจริญเติบโตที่ดี โดยเมื่อเริ่มทำการทดลองพื้นที่หน้าตัดลำต้นของต้นกล้าที่ในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นหลังการอนุบาลต้นกล้าในถุงขนาดใหญ่เป็นเวลา 3 เดือน ต้นกล้าตัดแต่งทางใบสูง 40 เซนติเมตร มีพื้นที่หน้าตัดลำต้นมากที่สุด 98.40 ตารางเซนติเมตร ส่วนกรรมวิธีอื่นๆ มีค่าใกล้เคียงกัน หลังจากนั้นต้นกล้ามีพื้นที่หน้าตัดลำต้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบพื้นที่หน้าตัดลำต้นเพิ่มสะสมในช่วง 12 เดือน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงว่าการตัดแต่งทางใบที่ความสูงแตกต่างกัน สำหรับการฟื้นฟูต้นกล้าอายุ 36 เดือน ไม่มีผลต่อการเพิ่มพื้นที่หน้าตัดลำต้น (ตารางที่ 11) (ภาพที่ 14 (ข))

1.3 พื้นที่ใบ

เมื่อเริ่มทำการทดลองยังไม่สามารถวัดพื้นที่ใบครั้งที่ 1 ได้ เนื่องจากต้นกล้าถูกตัดแต่งทางใบออกเป็นจำนวนมาก และเริ่มบันทึกข้อมูลพื้นที่ใบหลังจากทำการอนุบาลต้นกล้าเป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 80 เซนติเมตร มีพื้นที่ใบมากที่สุด 0.39 ตารางเมตร รองลงมา คือต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 20 100 และ 60 เซนติเมตร มีพื้นที่ใบ 0.36 0.35 และ 0.33 ตารางเมตร ตามลำดับ และต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 40 เซนติเมตร มีพื้นที่ใบน้อยที่สุด 0.29 ตารางเมตร และต้นกล้าหลังการอนุบาล 6 เดือน พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 100 เซนติเมตร มีพื้นที่ใบมากที่สุด 0.81 ตารางเมตร และต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 40 เซนติเมตร มีพื้นที่ใบน้อยที่สุด 0.63 ตารางเมตร ส่วนกรรมวิธีอื่นๆ มีพื้นที่ใบใกล้เคียงกัน หลังการอนุบาล 9 เดือน พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 100 เซนติเมตร ยังคงมีพื้นที่ใบมากที่สุด 0.99 ตารางเมตร ต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 60 และ 40 มีพื้นที่ใบเท่ากันและน้อยที่สุด 0.83 ตารางเมตร และพื้นที่ใบเมื่ออนุบาลครบ 12 เดือน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อพิจารณาการเพิ่มพื้นที่ใบสะสมของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน เมื่อเปรียบเทียบตั้งแต่เริ่มทำการทดลองถึงหลังการอนุบาล 12 เดือน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นกัน (ตารางที่ 11) (ภาพที่ 14 (ค))

1.4 จำนวนทางใบ

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนทางใบสะสมในทุกรอบที่เก็บข้อมูล พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบในแต่ละครั้งทุกกรรมวิธีมีจำนวนทางใบสะสมใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบจำนวนใบเพิ่มสะสมของต้นกล้าปาล์มน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำการทดลองถึงหลังการอนุบาล 12 เดือน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นกัน (ตารางที่ 11) (ภาพที่ 14 (ง))

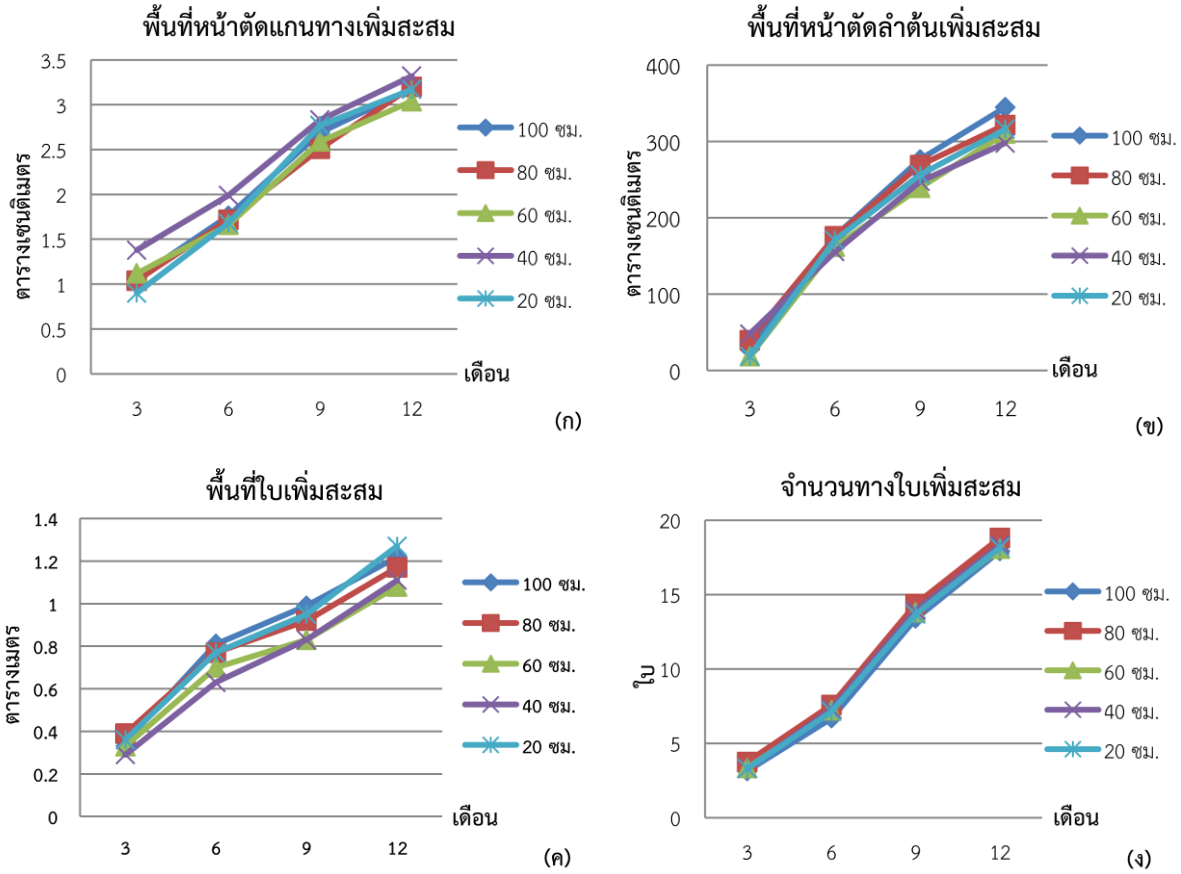
เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นกล้าตั้งแต่เริ่มทำการทดลองจนถึง 12 เดือน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกลักษณะ อย่างไรก็ตาม ในกรณีที่จำเป็นต้องย้ายต้นกล้าไปยังที่อื่น การตัดแต่งทางใบให้สั้นจะช่วยให้การขนย้ายสะดวกและได้ปริมาณมาก เพราะลดพื้นที่และลดน้ำหนักได้ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 การเจริญเติบโตของต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่ตัดแต่งทางใบที่ความสูง 20 40 60 80 และ 100 เซนติเมตร หลังการอนุบาลในถุงขนาดใหญ่ 12 เดือน ณ ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี (กรกฎาคม 2558-ตุลาคม 2560)

ระดับการตัดแต่งทางใบ	ระยะเวลาหลังย้ายอนุบาล									ค่าเพิ่มขึ้นในช่วง 12 เดือน
	ค่าเริ่มต้น	3 เดือน		6 เดือน		9 เดือน		12 เดือน		
		ค่าวัดจริง	Increment	ค่าวัดจริง	Increment	ค่าวัดจริง	Increment	ค่าวัดจริง	Increment	
พื้นที่หน้าตัดแกนทาง (ตารางเซนติเมตร)										
100 ซม.	1.59a	2.66a	1.07a	3.35a	0.69a	4.28ab	0.93a	4.77a	0.49a	3.18a
80 ซม.	1.65a	2.69a	1.04a	3.37a	0.68a	4.16ab	0.79a	4.85a	0.69a	3.20a
60 ซม.	1.53ab	2.65a	1.12a	3.19a	0.54a	4.12ab	0.93a	4.57a	0.45a	3.04a
40 ซม.	1.11b	2.49a	1.38a	3.10a	0.61a	3.94b	0.84a	4.43a	0.49a	3.32a
20 ซม.	1.74a	2.64a	0.90a	3.42a	0.78a	4.51a	1.09a	4.91a	0.40a	3.17a
เฉลี่ย	1.52	2.62	1.10	3.28	0.65	4.20	0.92	4.70	0.51	3.18
C.V.(%)	13.62	6.42	23.69	7.58	29.92	6.28	21.56	6.26	40.84	12.59
พื้นที่หน้าตัดลำต้น (ตารางเซนติเมตร)										
100 ซม.	44.01a	72.29b	28.28ab	220.08a	147.79a	320.48a	100.40a	388.71a	68.23a	344.70a
80 ซม.	45.70a	85.75ab	40.05ab	221.61a	135.86a	314.87a	93.26a	367.44a	52.57a	321.74a
60 ซม.	47.49a	66.17b	18.68b	209.78a	143.61a	287.06a	77.28a	357.97a	70.91a	310.48a
40 ซม.	50.43a	98.40a	47.97a	206.16a	107.76a	298.13a	91.97a	348.30a	50.17a	297.87a
20 ซม.	48.70a	67.59b	18.89b	219.67a	152.08a	305.07a	85.40a	364.90a	59.83a	316.20a
เฉลี่ย	47.26	78.04	30.77	215.46	137.42	305.12	89.67	365.46	60.35	318.20
C.V.(%)	10.99	15.62	36.62	9.30	15.76	11.47	42.23	8.89	52.11	9.70
พื้นที่ใบ (ใบ)										
100 ซม.	0[1/]	0.35ab	0.35ab	0.81a	0.46a	0.99a	0.18a	1.22a	0.23a	1.22a
80 ซม.	0	0.39a	0.39a	0.77ab	0.38a	0.92ab	0.15a	1.17a	0.25a	1.17a
60 ซม.	0	0.33ab	0.33ab	0.70ab	0.37a	0.83b	0.13a	1.08a	0.25a	1.08a
40 ซม.	0	0.29b	0.29b	0.63b	0.34a	0.83b	0.20a	1.11a	0.28a	1.11a
20 ซม.	0	0.36ab	0.36ab	0.77ab	0.41a	0.95ab	0.18a	1.27a	0.32a	1.27a
เฉลี่ย	-	0.34	0.34	0.73	0.39	0.90	0.17	1.17	0.26	1.17
C.V.(%)	-	11.51	11.51	9.34	19.47	8.78	42.99	8.40	35.41	8.40
จำนวนทางใบ (ใบ)										
100 ซม.	0[1/]	3.14a	3.14a	9.84a	6.70a	14.38a	4.54a	17.92a	3.54a	17.92a
80 ซม.	0	3.74a	3.74a	10.52a	6.78a	14.96a	4.44a	18.80a	3.84a	18.80a
60 ซม.	0	3.34a	3.34a	9.92a	6.58a	14.20a	4.28a	18.07a	3.87a	18.07a
40 ซม.	0	3.28a	3.28a	9.90a	6.62a	14.29a	4.39a	18.32a	4.03a	18.32a
20 ซม.	0	3.30a	3.30a	9.84a	6.54a	14.30a	4.46a	18.14a	3.84a	18.14a
เฉลี่ย	-	3.36	3.36	10.00	6.64	14.43	4.42	18.25	3.82	18.25
C.V.(%)	-	9.53	9.53	4.90	4.38	4.25	4.18	3.20	7.41	3.20

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

: [1/]ข้อมูลค่าเริ่มต้นพื้นที่ใบและจำนวนทางใบสะสมทุกกรรมวิธีจะเป็น 0 เนื่องจากได้รับการตัดแต่งใบก่อนทำการทดลอง



ภาพที่ 14 การเจริญเติบโต (พื้นที่หน้าตัดแกนทาง (ก); พื้นที่หน้าตัดลำต้น (ข); พื้นที่ใบ (ค) และจำนวนทางใบ (ง)) ที่เพิ่มสะสมของต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่ตัดแต่งทางใบที่ความสูง 20 40 60 80 และ 100 เซนติเมตร หลังการอนุบาลในถุงขนาดใหญ่ เมื่ออายุ 3 6 9 และ 12 เดือน

2. การสะสมน้ำหนักแห้งของต้นกล้า

การสะสมน้ำหนักแห้งของต้นกล้า บอกถึงการเจริญเติบโตของต้นกล้า โดยต้นกล้าใช้ปัจจัยที่ได้รับ เช่น ธาตุอาหารและน้ำ ในกระบวนการเมทาบอลิซึมต่างๆ สำหรับการบันทึกข้อมูลน้ำหนักแห้งของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน จะใช้ต้นกล้าจำนวน 5 ต้นต่อการบันทึกข้อมูล 1 ครั้ง บันทึกข้อมูลจำนวน 4 ครั้ง โดยเริ่มเก็บข้อมูลเมื่อเริ่มทำการทดลอง และเก็บทุก 4 เดือน จนอนุบาลต้นกล้าครบ 12 เดือน เพื่อให้ทราบถึงการเจริญเติบโตของต้นกล้าในแต่ละช่วงเวลาของการอนุบาลต้นกล้าในถุงขนาดใหญ่ (ตารางที่ 12) (ภาพที่ 15)

2.1 น้ำหนักแห้งในส่วนใต้ดิน (ราก)

การสะสมน้ำหนักแห้งส่วนใต้ดิน บอกถึงความสามารถในการหาอาหารของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน จากการบันทึกข้อมูล พบว่า น้ำหนักแห้งรากในทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นหลังอนุบาล 12 เดือนที่ต้นกล้ามีน้ำหนักแห้งรากไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยข้อมูลเริ่มต้นต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 80 เซนติเมตร มีน้ำหนักแห้งรากมากที่สุด 0.10 กิโลกรัมต่อต้น รองลงมาคือ ต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 100 เซนติเมตร 0.09 กิโลกรัมต่อต้น จากนั้นในระยะ 4 เดือน ต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 20 เซนติเมตร มีน้ำหนักแห้งรากมากที่สุด 0.13 กิโลกรัมต่อต้น และต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 40 เซนติเมตร มีน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด 0.09 กิโลกรัมต่อต้น ระยะ 8 เดือน ต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 60 เซนติเมตร มีน้ำหนักแห้งรากมากที่สุด 0.44 กิโลกรัมต่อต้น รองลงมาคือ ต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 20

เซนติเมตร มีน้ำหนักแห้งราก 0.43 กิโลกรัมต่อต้น และต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 100 เซนติเมตร มีน้ำหนักแห้งรากน้อยที่สุด 0.27 กิโลกรัมต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบการเพิ่มน้ำหนักแห้งของรากในช่วง 12 เดือน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบการเพิ่มน้ำหนักแห้งของรากสะสมในช่วง 12 เดือน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 12) (ภาพที่ 15 (ก))

2.2 การสะสมน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน (ลำต้น)

การสะสมน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน หรือน้ำหนักแห้งส่วนของลำต้น บอกถึงความสามารถในการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น หรือการสะสมอาหารเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตของต้นกล้า โดยการสะสมน้ำหนักแห้งลำต้นในทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยข้อมูลเริ่มต้นต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 20 เซนติเมตร มีน้ำหนักแห้งลำต้นมากที่สุด 0.36 กิโลกรัมต่อต้น ซึ่งเป็นกรรมวิธีที่ทำการตัดทางใบสั้นที่สุด และต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 40 เซนติเมตร มีการสะสมน้ำหนักแห้งลำต้นน้อยที่สุด 0.17 กิโลกรัม มีผลทำนองเดียวกันทั้งช่วงเริ่มต้นและ 4 เดือนหลังตัดแต่ง ซึ่งแตกต่างจากช่วง 8 เดือน โดยต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 60 เซนติเมตร มีการสะสมน้ำหนักแห้งลำต้นมากที่สุด 3.49 กิโลกรัมต่อต้น รองลงมาคือ ต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 80 เซนติเมตร 2.97 กิโลกรัมต่อต้น และเมื่ออนุบาลครบ 12 เดือน ต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 20 เซนติเมตร มีการสะสมน้ำหนักแห้งลำต้นมากที่สุด 7.31 กิโลกรัมต่อต้น ส่วนกรรมวิธีอื่นๆ มีการสะสมน้ำหนักแห้งลำต้นใกล้เคียงกัน

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งเพิ่มสะสมส่วนของลำต้นในช่วง 12 เดือน พบว่า ต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 20 เซนติเมตร มีน้ำหนักแห้งลำต้นเพิ่มสะสมมากที่สุด 6.95 กิโลกรัมต่อต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีอื่นๆ โดยต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 40 เซนติเมตร มีน้ำหนักแห้งลำต้นเพิ่มสะสมกว่ากรรมวิธีอื่นๆ 3.57 กิโลกรัมต่อต้น (ตารางที่ 12) (ภาพที่ 15 (ข))

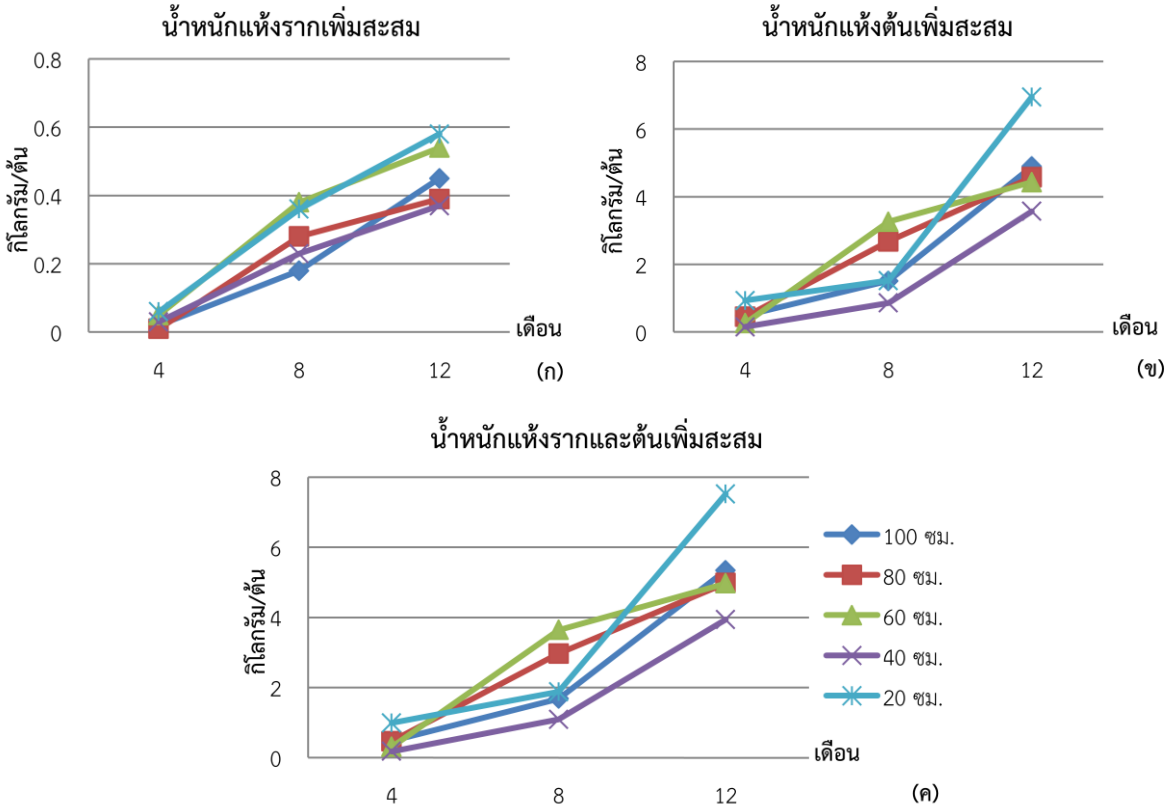
2.3 การสะสมน้ำหนักแห้งรวม

การสะสมน้ำหนักแห้งส่วนของรากและลำต้น พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกระยะเวลาการอนุบาล โดยการสะสมน้ำหนักแห้งส่วนของรากและลำต้น ในช่วง 12 เดือนหลังตัดแต่ง พบว่า ต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 20 เซนติเมตร มีการสะสมน้ำหนักแห้งมากที่สุด 7.96 กิโลกรัมต่อต้น รองลงมาคือต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 100 เซนติเมตร 5.71 กิโลกรัมต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งรากและลำต้นเพิ่มสะสมของต้นกล้าในช่วง 12 เดือน พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 20 เซนติเมตร มีน้ำหนักแห้งรากและลำต้นเพิ่มสะสมมากที่สุด 7.52 กิโลกรัมต่อต้น และต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 40 เซนติเมตร มีน้ำหนักแห้งเพิ่มสะสมน้อยที่สุด 3.94 กิโลกรัมต่อต้น (ตารางที่ 12) (ภาพที่ 15 (ค)) เมื่อเปรียบเทียบการสะสมน้ำหนักแห้งของต้นกล้าตั้งแต่เริ่มทำการทดลองจนถึง 12 เดือน พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกลักษณะ ยกเว้นการสะสมน้ำหนักแห้งของราก ซึ่งต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 20 เซนติเมตร มีการเพิ่มน้ำหนักแห้งส่วนของลำต้นมากที่สุด 6.95 กิโลกรัมต่อต้น ส่วนกรรมวิธีอื่นๆ มีน้ำหนักแห้งเพิ่มสะสมในส่วนของลำต้นใกล้เคียงกัน และน้ำหนักแห้งเพิ่มสะสมรวมของรากและลำต้น มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกับกับน้ำหนักแห้งเพิ่มสะสมส่วนของลำต้น คือ ต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 20 เซนติเมตร มีน้ำหนักแห้งเพิ่มสะสมมากที่สุด 7.53 กิโลกรัมต่อต้น ส่วนกรรมวิธีอื่นๆ มีน้ำหนักแห้งเพิ่มสะสมใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 12) (ภาพที่ 15) ต้นกล้าที่ตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 20 เซนติเมตร มีการสะสมน้ำหนักแห้งดีที่สุด และกรรมวิธีอื่นมีการสะสมน้ำหนักแห้งใกล้เคียงกัน ดังนั้นการฟื้นฟูต้นกล้าปาล์มน้ำมันอายุ 36 เดือน เพื่อใช้ปลูกทดแทนในแปลงปลูก การตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 20 เซนติเมตร เป็นกรรมวิธีที่เหมาะสม และสามารถฟื้นฟูต้นกล้าได้ดี รวมทั้งสะดวกต่อการจัดการในแปลงอนุบาล

ตารางที่ 12 น้ำหนักแห้งของต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่ตัดแต่งทางใบที่ความสูง 20 40 60 80 และ 100 เซนติเมตรหลังการอนุบาลในถุงขนาดใหญ่ เมื่ออายุ 4 8 และ 12 เดือน ณ ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี (กรกฎาคม 2558-ตุลาคม 2560)

ระดับการตัดแต่งทางใบ (เซนติเมตร)	ระยะเวลาหลังย้ายอนุบาล							ค่าเพิ่มขึ้นในช่วง 12 เดือน
	ค่าเริ่มต้น	4 เดือน		8 เดือน		12 เดือน		
		ค่าวัดจริง	ค่าเพิ่มขึ้น	ค่าวัดจริง	ค่าเพิ่มขึ้น	ค่าวัดจริง	ค่าเพิ่มขึ้น	
น้ำหนักแห้งราก (กิโลกรัม/ต้น)								
100	0.09a	0.11ab	0.02b	0.27b	0.16c	0.54	0.27a	0.45a
80	0.10a	0.11ab	0.01ab	0.38ab	0.27abc	0.49	0.11b	0.39a
60	0.06c	0.11ab	0.05a	0.44a	0.33a	0.60	0.16ab	0.54a
40	0.06bc	0.09b	0.03ab	0.29b	0.20bc	0.43	0.14ab	0.37a
20	0.07b	0.13a	0.06a	0.43a	0.30ab	0.65	0.22ab	0.58a
เฉลี่ย	0.07	0.11	0.04	0.36	0.26	0.54	0.18	0.47
C.V.(%)	11.2	19.16	64.75	19.44	24.44	20.17	36.01	23.17
น้ำหนักแห้งต้น (กิโลกรัม/ต้น)								
100	0.27b	0.75b	0.48b	1.78b	1.03b	5.16b	3.38b	4.89b
80	0.29b	0.74b	0.45b	2.97a	2.23a	4.87b	1.90bc	4.58b
60	0.23c	0.49bc	0.26bc	3.49a	3.00a	4.66b	1.17c	4.43b
40	0.17d	0.32c	0.15c	1.03b	0.71b	3.74b	2.71bc	3.57b
20	0.36a	1.29a	0.93a	1.88b	0.59b	7.31a	5.43a	6.95a
เฉลี่ย	0.26	0.71	0.46	2.23	1.52	5.14	2.92	4.88
C.V.(%)	2.70	18.8	29.18	21.32	33.49	13.97	26.64	14.74
น้ำหนักแห้งรากและต้น (กิโลกรัม/ต้น)								
100	0.37b	0.85b	0.48b	2.05c	1.20b	5.71b	3.66b	5.34b
80	0.38b	0.85b	0.47bc	3.35ab	2.50a	5.36bc	2.01c	4.98b
60	0.29c	0.60bc	0.31bc	3.93a	3.33a	5.26bc	1.33c	4.97b
40	0.23d	0.41c	0.18c	1.32c	0.91b	4.17c	2.85bc	3.94b
20	0.44a	1.43a	0.99a	2.32bc	0.89b	7.96a	5.64a	7.52a
เฉลี่ย	0.34	0.82	0.48	2.59	1.76	5.69	3.09	5.35
C.V.(%)	3.42	17.54	28.79	19.88	30.60	12.94	24.94	13.72

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT



ภาพที่ 15 เปรียบเทียบการสะสมน้ำหนักแห้งที่เพิ่มขึ้นของต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่ตัดแต่งทางใบที่ความสูง 20 40 60 80 และ 100 เซนติเมตร หลังการอนุบาลในถุงขนาดใหญ่ 12 เดือน ทั้งในด้านน้ำหนักแห้งราก (ก); น้ำหนักแห้งต้น (ข) และน้ำหนักแห้งต้นและราก (ค)

การทดลองที่ 3.3 เปรียบเทียบวัสดุปลูกปาล์มน้ำมันสำหรับปลูกซ่อม

1. คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของวัสดุปลูก

การเพาะต้นกล้าปาล์มน้ำมันโดยทั่วไปใช้ดินแดงที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง และหาได้ง่ายในท้องถิ่น ซึ่งที่ผ่านมาศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานีใช้ดินแดงเป็นวัสดุเพาะต้นกล้าปาล์มน้ำมัน ตลอดมามากกว่า 10 ปี แต่ในปัจจุบันดินแดงที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง ค่อนข้างหาได้ยากมากขึ้น จึงมีการปรับใช้วัสดุที่หาง่ายในท้องถิ่นผสมเพื่อใช้เป็นวัสดุในการเพาะกล้าปาล์มน้ำมัน เกริกชัยและคณะ (2558) ใช้วัสดุปลูกคือ ดินแดง ทรายหยาบ ขุยมะพร้าว ปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 1:2:1:1 โดยปริมาตร ในการเพาะกล้าปาล์มน้ำมันของศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี ในระยะอนุบาลแรก ซึ่งทำให้ต้นกล้าเจริญเติบโตได้ดี สมบูรณ์ แข็งแรง

ผลวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ ของวัสดุปลูกก่อนเพาะต้นกล้าปาล์มน้ำมันพบว่า ปริมาณทรายมีความเหมาะสมตามคุณสมบัติวัสดุปลูก ในกรรมวิธีที่ 1 2 3 4 และ 5 (35.5-63.5 เปอร์เซ็นต์) ส่วนกรรมวิธีที่ 5 มีปริมาณทรายสูงกว่าปริมาณที่เหมาะสมเล็กน้อย และกรรมวิธีที่ 6 มีปริมาณทรายสูงมาก (93.8 เปอร์เซ็นต์) ส่งผลให้วัสดุปลูกมีการดูดซับน้ำ และธาตุอาหารได้น้อย (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 คุณสมบัติทางกายภาพของวัสดุปลูกต้นกล้าปาล์มน้ำมัน ที่ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี

วัสดุปลูก (ดินแดง: ทรายหยาบ: ปุ๋ยหมัก: ขุยมะพร้าว)	คุณสมบัติทางกายภาพ		
	ปริมาณทราย (%)	ปริมาณดินเหนียว (%)	ปริมาณทรายแป้ง (%)
1. 1: 0: 0: 0	35.5	58.5	6.0
2. 1: 1: 2: 6	63.5	25.5	11.0
3. 2: 1: 3: 4	47.9	32.5	12.0
4. 1: 0: 3: 6	53.5	33.5	13.0
5. 1: 0: 1: 2	43.5	48.5	8.0
6. 0: 1: 1: 2	93.8a	3.24	3.0
คุณสมบัติวัสดุปลูกที่เหมาะสม	30-60	25–45	-

ผลวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของวัสดุปลูกก่อนเพาะต้นกล้าปาล์มน้ำมันของกรรมวิธีที่ 2-6 พบว่ามีปริมาณอินทรียวัตถุในปริมาณที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นวัสดุเพาะต้นกล้าปาล์มน้ำมัน และมีปริมาณฟอสฟอรัส (310-665 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) โพแทสเซียม (2,528-4,809 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และแมกนีเซียม (482-930 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ซึ่งเป็นปริมาณที่เหมาะสมตามคุณสมบัติของวัสดุปลูกปาล์มน้ำมัน (เกริกชัย, 2554) แต่กรรมวิธีที่ 1 ผลวิเคราะห์พบว่ามีปริมาณอินทรียวัตถุต่ำ (0.30 เปอร์เซ็นต์) มีความร่วนซุยต่ำ โครงสร้างของดินไม่ดี ทำให้ความสามารถในการดูดซับธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับปาล์มน้ำมันต่ำ นอกจากนี้ กรรมวิธีที่ 1 มีปริมาณฟอสฟอรัส (0.43 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) โพแทสเซียม (19 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และแมกนีเซียม (38 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) น้อยมากเมื่อเทียบกับระดับที่เหมาะสมกับปาล์มน้ำมัน เมื่อวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของปุ๋ยหมักที่ใช้เป็นส่วนผสมวัสดุปลูก พบว่า มีปริมาณอินทรียวัตถุ 6.28 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ และปริมาณแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 1,628 8,087 และ 1,871 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ซึ่งส่งผลให้วัสดุปลูกที่มีปุ๋ยหมักผสมอยู่มีความเหมาะสมตามคุณสมบัติวัสดุปลูกปาล์มน้ำมัน (ตารางที 14)

ตารางที่ 14 คุณสมบัติทางเคมีของวัสดุปลูกและปุ๋ยหมักสำหรับต้นกล้าปาล์มน้ำมัน ที่ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี

วัสดุปลูก (ดินแดง: ทรายหยาบ: ปุ๋ยหมัก: ขุยมะพร้าว)	สมบัติทางเคมีของวัสดุปลูก และปุ๋ยหมัก				
	ความเป็นกรด-ด่าง	อินทรียวัตถุ (%)	ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (มก./กก.)	ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (มก./กก.)	ปริมาณแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (มก./กก.)
1. 1: 0: 0: 0	5.44	0.30	0.43	19	38
2. 1: 1: 2: 6	7.88	5.01	466	2,529	482
3. 2: 1: 3: 4	7.92	7.63	481	2,528	510
4. 1: 0: 3: 6	8.16	8.55	665	4,809	930
5. 1: 0: 1: 2	7.90	6.45	310	3,548	575
6. 0: 1: 1: 2	8.15	5.40	577	3,180	532
คุณสมบัติวัสดุปลูกที่เหมาะสม	5.5-6.5	>2.5	>250	>120	>100

หมายเหตุ 1. คุณสมบัติของดินแดง ประกอบด้วย ทรายหยาบ 35.5 ดินเหนียว 58.5 % อินทรียวัตถุ 0.3 %)
คุณสมบัติปุ๋ยหมัก ประกอบด้วย อินทรียวัตถุ 6.28 % ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 1,628 มก./กก. โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 8,087 มก./กก. แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 1,871 มก./กก.
2. ที่มา: ดัดแปลงจาก เกริกชัย (2554)

2. น้ำหนัก และต้นทุนของวัสดุปลูก

น้ำหนักของวัสดุที่แตกต่างกัน ส่งผลให้น้ำหนักของวัสดุปลูกแต่ละกรรมวิธีไม่เท่ากัน ประกอบกับส่วนผสมที่ใช้มีความสามารถในการดูดซับน้ำที่แตกต่างกัน เมื่อให้น้ำแล้ววัสดุปลูกในแต่ละกรรมวิธีจึงดูดซับน้ำได้ไม่เท่ากัน ดังนั้นเพื่อความสะดวกในการขนย้ายควรงดการให้น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนการย้ายปลูก สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยของวัสดุปลูกพร้อมต้นกล้าปาล์มน้ำมันในถุงเพาะหลังย้ายปลูกเป็นเวลา 12 เดือน พบว่า กรรมวิธีที่ 5 วัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของ ดินแดง ทรายหยาบ ปุ๋ยหมัก ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:0:1:2 มีน้ำหนักน้อยที่สุด 24.2 กิโลกรัม และการใช้ดินแดงอย่างเดียว มีน้ำหนักมากที่สุด 40.4 กิโลกรัมต่อต้น สำหรับวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของดินแดง ทรายหยาบ ปุ๋ยหมัก ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:0:3:6 1:1:2:6 0:2:2:4 และ 2:1:3:4 มีน้ำหนัก 28.6 29.0 30.2 31.1 กิโลกรัม ตามลำดับ เมื่อคำนวณต้นทุนเฉพาะวัสดุปลูกในแต่ละกรรมวิธี พบว่า ต้นทุนวัสดุของการใช้ดินแดงเพียงอย่างเดียวมีราคาถูกที่สุด คือ 21 บาทต่อถุง ส่วนวัสดุปลูกที่ใช้ดินแดง ทรายหยาบ ปุ๋ยหมัก ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:2:6 2:1:3:4 1:0:3:6 1:0:1:2 และ 0:1:1:2 ราคา 37 43 40 37 และ 43 บาทต่อถุง ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการใช้ดินแดงเพียงอย่างเดียว จะทำให้ต้นทุนวัสดุปลูกมีราคาถูกกว่ากรรมวิธีอื่นๆ 43-53 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 น้ำหนักเฉลี่ยของวัสดุปลูกของต้นกล้าปาล์มน้ำมันอายุ 36 เดือน หลังย้ายปลูกเป็นเวลา 12 เดือน และต้นทุนวัสดุปลูก

วัสดุปลูก (ดินแดง: ทรายหยาบ: ปุ๋ยหมัก: ขุยมะพร้าว)	น้ำหนักวัสดุปลูก (กิโลกรัม/ถุง)	ต้นทุนวัสดุปลูก (บาท/ถุง)
1. 1: 0: 0: 0	40.4	21
2. 1: 1: 2: 6	29.0	37
3. 2: 1: 3: 4	31.1	43
4. 1: 0: 3: 6	28.6	40
5. 1: 0: 1: 2	24.2	37
6. 0: 1: 1: 2	30.2	43

3. น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง

การสะสมน้ำหนักสดของลำต้นและรากของต้นกล้าปาล์มน้ำมันอายุ 36 เดือน หลังย้ายปลูกเป็นเวลา 6 เดือน พบว่า กรรมวิธีที่ 5 ซึ่งมีดินแดง ปุ๋ยหมัก ขุยมะพร้าว เป็นส่วนผสมของวัสดุปลูก ต้นกล้ามีการสะสมน้ำหนักสดของลำต้น และรากมากที่สุด 4.42 และ 1.37 กิโลกรัมต่อต้น ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ 3 ดินแดง ทรายหยาบ ปุ๋ยหมัก ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 2:1:3:4 มีการสะสมน้ำหนักสดของลำต้นและรากน้อยที่สุด 2.95 และ 0.73 กิโลกรัมต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น หลังย้ายปลูกเป็นเวลา 12 เดือน พบว่าต้นกล้าปาล์มน้ำมันมีการสะสมน้ำหนักสดของลำต้น น้ำหนักสดราก และน้ำหนักสดรวมของลำต้นและรากไม่แตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธี โดยต้นกล้ามีการสะสมน้ำหนักสดลำต้นและรากในช่วง 8.32-10.08 และ 1.55-1.85 กิโลกรัมต่อต้น ตามลำดับ และต้นกล้ามีการสะสมน้ำหนักสดรวมลำต้นและรากในช่วง 9.87-11.9 กิโลกรัมต่อต้น (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 16 การสะสมน้ำหนักสดของลำต้นและราก (กิโลกรัม) ของต้นกล้าปาล์มน้ำมันอายุ 36 เดือน หลังย้ายปลูกเป็นเวลา 6 และ 12 เดือน

วัสดุปลูก (ดินแดง: ทรายหยาบ: ปุ๋ยหมัก: ขุยมะพร้าว)	6 เดือน		12 เดือน		
	น้ำหนักสดลำต้น	น้ำหนักสดราก	น้ำหนักสดลำต้น	น้ำหนักสดราก	น้ำหนักสดรวม (ลำต้นและราก)
1. 1: 0: 0: 0	4.16a	1.12ab	8.32a	1.55a	9.87a
2. 1: 1: 2: 6	4.22a	1.17ab	9.84a	1.73a	11.6a
3. 2: 1: 3: 4	2.95b	0.73b	8.97a	1.63a	10.6a
4. 1: 0: 3: 6	3.81ab	1.17ab	8.30a	1.85a	10.1a
5. 1: 0: 1: 2	4.42ab	1.37a	10.08a	1.79a	11.9a
6. 0: 1: 1: 2	4.02a	1.14ab	8.62a	1.80a	10.4a
C.V.(%)	17.61	27.85	19.20	22.50	17.79

หมายเหตุ ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

การสะสมน้ำหนักแห้งลำต้น และรากของต้นกล้าปาล์มน้ำมันอายุ 36 เดือน หลังย้ายปลูกเป็นเวลา 6 เดือน พบว่า ทุกกรรมวิธีต้นกล้ามีการสะสมน้ำหนักแห้งลำต้น และรากไม่แตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นกรรมวิธีที่ 3 ดินแดง ทรายหยาบ ปุ๋ยหมัก ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 2:1:3:4 มีการสะสมน้ำหนักแห้งลำต้น และรากน้อยที่สุด (1.05 และ 0.19 กิโลกรัมต่อต้น) ส่วนกรรมวิธีที่ 5 ต้นกล้ามีการสะสมน้ำหนักแห้งลำต้น และรากมากที่สุด (1.90 และ 0.41 กิโลกรัมต่อต้น) หลังย้ายปลูกเป็นเวลา 12 เดือน พบว่า ต้นกล้ามีการสะสมน้ำหนักแห้งลำต้น น้ำหนักแห้งราก และน้ำหนักแห้งรวมลำต้นและราก ไม่แตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธี โดยกรรมวิธีที่ 5 ต้นกล้ามีการสะสมน้ำหนักแห้งลำต้น และน้ำหนักแห้งรวมลำต้นและราก 4.99 และ 5.58 กิโลกรัมต่อต้น ส่วนกรรมวิธีที่ 4 ต้นกล้ามีการสะสมน้ำหนักแห้งราก 0.61 กิโลกรัมต่อต้น (ตารางที่ 17)

ตารางที่ 17 การสะสมน้ำหนักแห้งของลำต้นและราก (กิโลกรัม) ของต้นกล้าปาล์มน้ำมันอายุ 36 เดือน หลังย้ายปลูกเป็นเวลา 6 และ 12 เดือน-ตุลาคม 2559 - กันยายน 2560 ณ ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี

วัสดุปลูก (ดินแดง: ทรายหยาบ: ปุ๋ยหมัก: ขุยมะพร้าว)	6 เดือน		12 เดือน		
	น้ำหนักแห้งลำต้น	น้ำหนักแห้งราก	น้ำหนักแห้งลำต้น	น้ำหนักแห้งราก	น้ำหนักแห้งรวม
1. 1: 0: 0: 0	1.86a[1/]	0.32ab[1/]	4.17a	0.52a	4.69a
2. 1: 1: 2: 6	1.70ab	0.35ab	5.26a	0.51a	5.77a
3. 2: 1: 3: 4	1.05b	0.19b	3.79a	0.52a	4.32a
4. 1: 0: 3: 6	1.42ab	0.36a	4.13a	0.61a	4.74a
5. 1: 0: 1: 2	1.90a	0.41a	4.99a	0.59a	5.58a
6. 0: 1: 1: 2	1.51ab	0.33ab	4.49a	0.54a	5.03a
C.V.(%)	29.39	29.40	19.20	25.79	23.90

หมายเหตุ ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

4. การเจริญเติบโตของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน

สำหรับการเจริญเติบโตของต้นกล้าปาล์มน้ำมันอายุ 36 เดือน หลังย้ายปลูกเป็นเวลา 12 เดือน พบว่ามีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธี โดยมีจำนวนทางใบทั้งหมด 23.2-23.8 ทางใบต่อต้น จำนวนทางใบเพิ่ม 17.0-18.0 ทางใบต่อต้น ความยาวทางใบ 2.52-2.72 เมตร พื้นที่หน้าตัดแกนทาง 2.1-2.7 ตารางเซนติเมตร พื้นที่ใบ 2.93-3.30 ตารางเมตร และความสูง 2.74-2.95 เมตร (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 18 จำนวนทางใบทั้งหมด จำนวนทางใบเพิ่ม ความยาวทางใบ พื้นที่แกนทาง พื้นที่ใบ และความสูงของต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 ที่ปลูกในวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน หลังย้ายปลูกเป็นเวลา 12 เดือน ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2559 - กันยายน 2560 ณ ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี

วัสดุปลูก (ดินแดง: ทรายหยาบ: ปุ๋ยหมัก: ขุยมะพร้าว อัตราส่วน โดยปริมาตร)	ทางใบทั้งหมด (ทางใบ)	ทางใบเพิ่ม (ทางใบ)	ความยาวทางใบ (เมตร)	พื้นที่หน้าตัดแกนทาง (ตารางเซนติเมตร)	พื้นที่ใบ (ตารางเมตร)	ความสูง (เมตร)
1. 1: 0: 0: 0	23.3a	17.0a	2.61a	2.2a	3.06a	2.82a
2. 1: 1: 2: 6	23.2a	17.0a	2.72a	2.2a	3.30a	2.95a
3. 2: 1: 3: 4	23.8a	18.0a	2.70a	2.1a	3.63a	2.95a
4. 1: 0: 3: 6	23.7a	17.0a	2.52a	2.3a	2.93a	2.74a
5. 1: 0: 1: 2	23.2a	17.0a	2.64a	2.2a	3.26a	2.88a
6. 0: 1: 1: 2	23.2a	17.0a	2.62a	2.7a	3.12a	2.84a
C.V.(%)	3.50	3.38	6.04	14.79	11.64	5.86

หมายเหตุ ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

กิจกรรมที่ 4 สำรวจความพึงพอใจของเกษตรกรต่อปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานีพันธุ์ต่างๆ

จากการสำรวจความพึงพอใจของเกษตรกรที่ปลูกปาล์มน้ำมันในพื้นที่ภาคใต้ รวม 6 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดสุราษฎร์ธานี กระบี่ นครศรีธรรมราช ชุมพร พังงา และระนอง จำนวน 250 ราย ต่อปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานีพันธุ์ต่าง ๆ โดยการใช้แบบสอบถามเกี่ยวกับความความพึงพอใจต่อพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี ดำเนินการในช่วงเดือนกรกฎาคม 2559 - มิถุนายน 2560 พบว่า

1. พันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี

พันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูกมากที่สุดคือ พันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 2 คิดเป็น 56.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 และพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7 และพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 8 28.0 13.6 และ 2.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 19)

ตารางที่ 19 ผลการสำรวจความพึงพอใจปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี ในพื้นที่ 6 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดสุราษฎร์ธานี ชุมพร นครศรีธรรมราช กระบี่ ระนอง และพังงา

พันธุ์ที่ปลูก	สุราษฎร์ธานี (60 ราย)	ชุมพร (51 ราย)	นครศรีฯ (31 ราย)	กระบี่ (60 ราย)	ระนอง (23 ราย)	พังงา (25 ราย)	**เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ย**
สุราษฎร์ธานี 2	51.7	33.3	54.8	63.3	73.9	64.0	56.0
สุราษฎร์ธานี 1	28.3	47.1	19.4	33.3	13.0	24.0	28.0
สุราษฎร์ธานี 7	15.0	19.6	22.6	3.3	13.0	13.0	13.6
สุราษฎร์ธานี 8	5.0	0	3.2	0	0	0	2.4

2. ความพึงพอใจต่อการเจริญเติบโตของปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี ที่อายุ 1-3 ปี

ความพึงพอใจของปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1, 2, 7 และ8 ที่อายุ 1-3 ปี พบว่าเกษตรกรมีความพึงพอใจในระดับปานกลางถึงมาก 95 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป ทั้งนี้เพราะต้นปาล์มน้ำมันมีการเจริญเติบโตดี มีความสมบูรณ์ (ทรงต้นแผ่กว้างไม่สูงชะลูด) และต้นกล้าที่ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี ผลิตจำหน่ายในราคาต้นละ 55 บาท ซึ่งถูกกว่าเมื่อเทียบกับแปลงเพาะกล้า และบริษัทเอกชนที่มีการผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมันจำหน่ายราคาต้นละ 100-120 บาท เมื่อเกษตรกรปลูกปาล์มน้ำมันไปแล้ว 1 ปี พบต้นกล้าผิดปกติน้อยมาก ทำให้เกษตรกรมีความพึงพอใจในระดับปานกลางถึงมาก มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 20)

ตารางที่ 20 ความพึงพอใจของเกษตรกรต่อพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 2 7 และ 8 ด้านต้นพันธุ์ อายุ 1-3 ปี

พันธุ์ปาล์มน้ำมันอายุ 1-3 ปี	**ระดับความพึงพอใจ (เปอร์เซ็นต์)**		
	มาก	**ปานกลาง**	**น้อย**
1. การเจริญเติบโต	85.1	12.7	2.2
2. ความสมบูรณ์ของต้นพันธุ์	83.0	12.7	4.3
3. ระยะเริ่มการมีช่อดอก	80.8	17.0	2.2
4. ราคาของต้นพันธุ์	78.7	19.1	2.2
5. การคัดกล้าผิดปกติของต้นพันธุ์[1/]	72.4	8.5	19.1

หมายเหตุ ลักษณะต้นกล้าผิดปกติ คือ 1. ใบย่อยไม่คลี่ 2. ต้นสูงชะลูด 3. ใบใหม่เกิดสั้น 4. ต้นเล็กแคระแกร็น 5. ทางใบตก 6. ใบย่อยห่างกัน 7. ใบย่อยแน่นทึบ 8. ใบย่อยแคบ 9. ใบกิ่งกลางคอด 10. ใบขาวซีด

3. ความพึงพอใจต่อการเจริญเติบโตของปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี ที่อายุมากกว่า 3 ปี

ความพึงพอใจของปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 2 7 และ 8 ที่อายุมากกว่า 3 ปี ซึ่งต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่มีลักษณะดีควรมีการเจริญเติบโตของต้นพันธุ์ที่ดี ทรงต้นแข็งแรง ออกดอกปกติหลังปลูกลงแปลง ส่วนราคาต้นกล้าที่ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี ผลิตและจำหน่ายในราคาต้นละ 55 บาท ซึ่งถูกกว่าเมื่อเทียบกับแปลงเพาะกล้าของบริษัทเอกชน ที่มีการผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมันจำหน่าย และเมื่อเกษตรกรปลูกปาล์มน้ำมันไปแล้ว 1 ปี พบต้นกล้าผิดปกติน้อยมาก ส่งผลให้เกษตรกรมีความพึงพอใจในระดับปานกลางถึงมาก มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะของทะลายปาล์มน้ำมันที่ดีควรมีการติดผลต่อทะลายดี ทะลายมีขนาดที่ไม่เล็กหรือใหญ่จนเกินไป ควรมีหนามสั้นถึงปานกลาง เก็บเกี่ยวได้ง่าย คือ มีก้านทะลายที่ไม่สั้นจนเกินไป การให้ผลผลิตต่อไร่ต่อปีสูง และมีความทนทานต่อโรคและแมลง ซึ่งส่งผลให้เกษตรกรมีความพึงพอใจในระดับปานกลางถึงมาก มากกว่า 95.0 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 21 ผลการสำรวจความพึงพอใจของเกษตรกรต่อลักษณะต่างๆ ของพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 2 7และ 8 อายุมากกว่า 3 ปี

พันธุ์ปาล์มน้ำมันอายุมากกว่า 3 ปี	ระดับความพึงพอใจ (เปอร์เซ็นต์)		
	มาก	ปานกลาง	น้อย
1. การเจริญเติบโตของต้นพันธุ์	85.2	13.8	1.0
2. การออกดอกของต้นพันธุ์	79.8	19.7	0.5
3. การสังเกตความสุกของทะลายปาล์มน้ำมัน	74.3	23.2	2.5
4. การติดผลต่อทะลาย	72.0	24.1	3.9
5. ความทนทานต่อโรค/แมลง	71.4	26.6	2.0
6. สีผล	69.9	27.1	3.0
7. ความยากง่ายในการเก็บเกี่ยว	69.0	27.1	3.9
8. จำนวนทะลาย	68.9	28.1	3.0
9. การให้ผลผลิตต่อไร่/ต่อปี	67.9	29.6	2.5
10. ขนาดทะลาย	65.5	32.0	2.5
11. การคัดกล้าผิดปกติของต้นพันธุ์[1/]	58.6	22.2	19.2
12. ความยาวของก้านทะลาย	58.6	38.9	2.5
13. ความหนาแน่นและความยาวของหนาม	58.1	39.9	2.0

หมายเหตุ ลักษณะต้นกล้าผิดปกติ คือ 1). ใบย่อยไม่คลี่ 2). ต้นสูงชะลูด 3). ใบใหม่เกิดสั้น 4). ต้นเล็กแคระแกร็น 5). ทางใบตก 6). ใบย่อยห่างกัน 7). ใบย่อยแน่นทึบ 8). ใบย่อยแคบ 9). ใบกิ่งกลางคอด 10). ใบขาวซีด พบน้อยมากหลังปลูกลงแปลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

โครงการวิจัยและผลิตเมล็ดพันธุ์และต้นกล้าปาล์มน้ำมันเพื่อสนับสนุนโครงการปลูกปาล์มน้ำมันเพื่อทดแทนพลังงาน ประกอบด้วยกิจกรรมการผลิตเมล็ดพันธุ์และต้นกล้าที่มีคุณภาพและได้มาตรฐาน ผลการดำเนินงานได้ผลิตพันธุ์ปาล์มน้ำมันและจำหน่ายให้กับเกษตรกร องค์กรภาครัฐ และภาคเอกชน ทั้งที่เป็นเมล็ดงอกและต้นกล้า รวม 2,493,285 เมล็ด/ต้น คิดเป็นพื้นที่ปลูกประมาณ 83,000 ไร่ และได้รับรายได้จากการจำหน่าย 60,105,676 บาท ซึ่งสูงกว่าแผนเดิม 9.28 เปอร์เซ็นต์ การผลิตต้นกล้าอายุ 3-5 เดือนจำนวน 856,685 ต้น และต้นกล้าระยะอนุบาลหลัก (8-12 เดือน) จำนวน 312,603 ต้น โดยการผลิตต้นกล้าอายุ 3-5 และ 8-12 เดือน ได้มากกว่าเป้าหมายที่วางไว้ เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์แผนกับผลการดำเนินงานคิดเป็น 101 และ 104 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนเมล็ดงอกยังไม่ครบเป้าหมายที่กำหนด เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์แผนกับผลการดำเนินงานคิดเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งยังอยู่ในขั้นตอนการผลิตเมล็ดงอกต่อเนื่องเพื่อจำหน่ายต่อไป

การคัดเลือกต้นพ่อพันธุ์ปาล์มน้ำมันโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์ตรวจสอบต้นพ่อพิสิเฟอราร่วมกับการตรวจสอบด้วยลักษณะสันฐานเพื่อใช้ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี ซึ่งในขั้นตอนการคัดเลือกต้นพ่อพันธุ์กลุ่มลาเม่ พบว่าการคัดเลือกต้นพ่อพันธุ์พิสิเฟอราจำแนกโดยลักษณะสัณฐานจำนวน 111 ต้น ในขณะที่การใช้เครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์จำแนกเป็นต้นพิสิเฟอราได้ 97 ต้น คิดเป็น 87.38 เปอร์เซ็นต์ จำแนกเป็นต้นเทเนอรา 5 ต้น คิดเป็น 4.50 เปอร์เซ็นต์ และไม่สามารถจำแนกได้ 9 ต้น คิดเป็น 8.12 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นควรใช้เครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์ร่วมกับการใช้ลักษณะสัณฐานทำให้ผลการคัดเลือกถูกต้องแม่นยำมากขึ้น นอกจากนี้ เพื่อให้การผลิตต้นกล้าลูกผสมเทเนอรามีการปนเปื้อนต้นกล้าปาล์มน้ำมันชนิดอื่นน้อยที่สุด ได้ทำการพัฒนาวิธีการตรวจสอบโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลและตรวจการปนเปื้อนของปาล์มน้ำมันดูราโดยวิธีการคัดกรองก่อนแล้วจึงตรวจสอบแบบต้นต่อต้น เนื่องจากในระบบการผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมันเพื่อการจำหน่ายให้กับเกษตรกรมีจำนวนต้นกล้าในแต่ละชุดการผลิตเป็นจำนวนมาก ไม่สามารถใช้วิธีการตรวจสอบแบบต้นต่อต้นหรือตรวจสอบทุกต้นได้ การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจคัดกรองแบบรวมตัวอย่าง โดยนำต้นกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอราที่ได้จากการสุ่มทั้ง 500 ต้น มาทำการตรวจวิเคราะห์แบบต้นต่อต้น ด้วยเทคนิค Real-time PCR พบว่าตัวอย่างดีเอ็นเอรวมที่ตรวจคัดกรองผ่าน จำนวน 26 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการปนของต้นดูราเลย 23 ตัวอย่าง และมีตัวอย่างที่ผิดพลาดในการปล่อยผ่าน จำนวน 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1 ต้น รวม 3 ต้น คิดเป็น 0.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็น false negative คิดเป็นดูราปน 0.6 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนที่นำมาตรวจคัดกรองทั้งหมด 500 ต้น ซึ่งยังอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ ซึ่งมาตรฐานการปนของต้นดูราตามคำแนะนำไม่ควรเกิน 5 เปอร์เซ็นต์ วิธีนี้นอกจากสามารถตรวจพบตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนของต้นดูราได้แล้วยังช่วยลดขั้นตอนการตรวจสอบแบบต้นต่อต้นให้จำกัดอยู่เฉพาะในกลุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอรวมที่ตรวจพบการปนเปื้อนเท่านั้น ทำให้ประหยัดเวลา ค่าใช้จ่ายและแรงงานลงได้

การจัดการต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่อายุมาก (อายุ 18-36 เดือน) ในสภาพชะงักการเจริญเติบโตเนื่องจากการเพาะดูแลรักษาในถุงขนาด 9x12 นิ้ว ซึ่งเป็นขนาดถุงสำหรับต้นกล้าอายุ 8-12 เดือน นำมาทำการฟื้นฟูเพื่อใช้ประโยชน์ในการปลูกซ่อมหรือใช้ปลูกเพื่อให้ระยะการติดทะลายเร็วขึ้น พบว่า การฟื้นฟูต้นกล้าอายุ 18 และ 24 หลังจากย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 12 เดือน ต้นกล้ามีการปรับตัวได้ดีใกล้เคียงกันทุกลักษณะ ยกเว้นต้นกล้าอายุ 36 เดือน ที่มีการฟื้นตัวได้น้อยหรือช้ากว่าต้นกล้าอายุ 18 และ 24 เดือน ส่วนการนำต้นกล้าอายุ 36 เดือน มาฟื้นฟูโดยตัดแต่งทางใบก่อนเปลี่ยนถุงใหม่ในระยะเวลา 12 เดือน พบว่า การตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 100 80 60 40 และ 20 เซนติเมตร มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ต้นกล้าที่มีการตัดแต่งทางใบสูงจากโคนต้น 20 เซนติเมตรมีผลดีต่อปริมาณและการขนย้ายต้นกล้าจากแปลงเพาะลงแปลงปลูก นอกจากนี้ เพื่อความสะดวกในการปฏิบัติงานอนุบาลต้นกล้าสำหรับปลูกทดแทนในแปลงปาล์มน้ำมันที่มีอายุมากกว่า 1 ปี และสถานที่ที่ทำการ

อนุบาลต้นกล้าควรอยู่ใกล้กับพื้นที่ที่มีแผนในการปลูกซ่อม และการเปรียบเทียบวัสดุปลูกปาล์มน้ำมันสำหรับต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 อายุ 36 เดือน เพื่อปลูกซ่อมโดยดูแลนาน 12 เดือน พบว่า วัสดุปลูกแต่ละชนิดไม่ทำให้การเจริญเติบโตในด้านต่าง ๆ แตกต่างกัน เช่นเดียวกับการสะสมมวลชีวภาพทั้งในส่วนของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง แปลงเพาะกล้าสามารถเลือกใช้วัสดุปลูกกรรมวิธีใดก็ได้ในการเพาะกล้าระยะอนุบาลหลักที่มีอายุ 36 เดือน แต่หากคำนึงถึงน้ำหนักในการขนย้ายสามารถใช้วัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของ ดินแดง ปุ๋ยหมัก ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:0:1:2 โดยปริมาตร ซึ่งมีน้ำหนักเบาสุด และสามารถพยุงต้นกล้าให้เจริญเติบโตได้ดี แต่หากคำนึงถึงต้นทุนของวัสดุปลูก การใช้ดินแดงอย่างเดียวจะลดต้นทุนค่าวัสดุปลูกลงได้มากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ แต่น้ำหนักย้ายปลูกจะหนักกว่าทุกกรรมวิธี

การสำรวจความพึงพอใจต่อปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานีจากเกษตรกรในจังหวัดสุราษฎร์ธานี กระบี่ นครศรีธรรมราช ชุมพร พังงา และระนอง จำนวน 250 ราย ปรากฏว่าพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูกมากที่สุด คือ พันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 2 (Deli x La Me) รองลงมาคือพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 (Deli x Calabar) พันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7 (Deli x Tanzania) และพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 8 (Deli x Yangambi) ตามลำดับ โดยเกษตรกรมีความพึงพอใจมาก ทั้งนี้เพราะต้นปาล์มน้ำมันมีการเจริญเติบโตดี มีความสมบูรณ์ (ทรงต้นแผ่กว้างไม่สูงชะลูด) และต้นกล้าที่ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี ผลิตจำหน่ายในราคาต้นละ 55 บาท ซึ่งถูกกว่าเมื่อเทียบกับแปลงเพาะกล้าบริษัทเอกชนที่มีการผลิตต้นกล้าปาล์มน้ำมันจำหน่าย เมื่อเกษตรกรปลูกปาล์มน้ำมันไปแล้ว 1 ปี พบต้นกล้าผิดปกติน้อยมาก ส่วนลักษณะของทะลายปาล์มน้ำมัน การเก็บเกี่ยว การให้ผลผลิตต่อไร่ต่อปี และการทนทานต่อโรค/แมลง เกษตรกรมีความพึงพอใจอยู่ในระดับมากเช่นกัน แสดงให้เห็นว่าพันธุ์ปาล์มน้ำมันที่ผลิตโดยศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานีเป็นที่ชื่นชอบของเกษตรกร

โครงการนี้ได้มีการนำไปใช้ประโยชน์ โดยศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานีได้ทำการผลิตพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7 8 และ 9 ทั้งที่เป็นเมล็ดงอกและต้นกล้า รวม 2,493,285 เมล็ด/ต้น คิดเป็นพื้นที่ปลูกประมาณ 83,000 ไร่ และจำหน่ายให้แก่เกษตรกรผู้เพาะปลูกปาล์มน้ำมัน เกษตรกรผู้เพาะปลูกพันธุ์ปาล์มน้ำมันขายและหน่วยงานศูนย์วิจัยอื่นๆ (ประมาณจากจำนวน 25 เมล็ดงอก/ต้น คิดเป็นพื้นที่ 1 ไร่) ส่งผลกระทบให้เกษตรกรมีผลผลิตเพิ่มขึ้น ประมาณ 10-30 เปอร์เซ็นต์และผลผลิตเฉลี่ยของประเทศมีโอกาสเพิ่มขึ้น ซึ่งจะตอบสนองแผนยุทธศาสตร์ปฏิรูปปาล์มน้ำมันและน้ำมันปาล์มให้บรรลุเป้าหมายด้านการผลิตต้นน้ำได้ (ผลผลิตเฉลี่ยของประเทศปัจจุบัน 2.4 ตันต่อไร่ต่อปี) นอกจากนี้ สุวรรณาและคณะ (2560) จากศูนย์วิจัยเศรษฐศาสตร์ประยุกต์ คณะเศรษฐศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ได้รายงานผลกระทบของการวิจัยและพัฒนาพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานีของกรมวิชาการเกษตร สรุปผลว่า โครงการวิจัยและพัฒนาพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7 8 และ 9 ซึ่งดำเนินการผลิตและจำหน่ายพันธุ์ปาล์มน้ำมันในช่วงปี 2554-2560 สามารถก่อให้เกิดมูลค่าผลประโยชน์ต่อผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทั้ง 4 ส่วน ได้แก่

- ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี ได้ประโยชน์ในด้าน การขายเมล็ดงอก ต้นกล้าเล็ก และต้นกล้าใหญ่ ซึ่งก่อให้เกิดมูลค่าผลประโยชน์สุทธิ 92,614,474 บาท
- เกษตรกรผู้ปลูกปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7 8 และ 9 ได้ผลประโยชน์ในด้านการลดต้นทุนในการซื้อต้นพันธุ์ปาล์มน้ำมัน ก่อให้เกิดมูลค่าผลประโยชน์สุทธิ 51,273,180 บาท
- เกษตรกรผู้เพาะพันธุ์ปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 7 8 และ 9 เพื่อจำหน่าย ได้ผลประโยชน์ในด้านการได้กำไรจากการขายต้นพันธุ์ปาล์มน้ำมัน ก่อให้เกิดมูลค่าผลประโยชน์สุทธิ 77,100,200 บาท
- หน่วยงานอื่นๆที่ซื้อเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันจากศูนย์วิจัยฯ ไปเพาะพันธุ์ ได้ผลประโยชน์ในด้านการลดค่าใช้จ่ายในการซื้อเมล็ดงอกพันธุ์ปาล์มน้ำมัน ก่อให้เกิดมูลค่าผลประโยชน์สุทธิ 53,456,139 บาท

นอกจากนี้การปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันได้ดำเนินงานวิจัยแบบบูรณาการร่วมกับสำนักวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพได้ผลงานวิจัยที่นำไปขยายผลใช้ประโยชน์ในการตรวจพันธุ์ปาล์มน้ำมัน เพื่อให้ระบบการผลิตพันธุ์ปาล์มน้ำมันโดยรวมของประเทศมีต้นกล้าที่มีคุณภาพ โดยต่อยอดผลงานวิจัยเรื่อง เครื่องหมายโมเลกุลในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมและตรวจสอบปาล์มน้ำมันลูกผสมชนิดเทเนอรา และเรื่องเทคนิคการตรวจกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสมอย่างรวดเร็วโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์ ซึ่งได้รับรางวัลผลงานวิจัยดีเด่นปี 2561 กรมวิชาการเกษตร งานวิจัยนี้จึงได้นำเทคนิค Real time PCR มาพัฒนาเพื่อให้ตรวจสอบคุณภาพกล้าปาล์มน้ำมันได้อย่างรวดเร็ว ประหยัด และเชื่อถือได้ ส่งผลให้ลดความเสี่ยงของเกษตรกรที่จะได้รับพันธุ์ปาล์มที่ไม่มีคุณภาพ ทำให้เกษตรกรผู้ปลูกปาล์มน้ำมันมีพันธุ์ดีที่เหมาะสมสำหรับปลูกในประเทศ

ผลการศึกษาการฟื้นฟูต้นกล้าอายุมากเพื่อใช้ประโยชน์ในการปลูกซ่อมหรือใช้ปลูกเพื่อให้ระยะการติดทะลายเร็วขึ้น สำหรับต้นกล้าที่รอจำหน่าย จะนำไปขยายผลในการจัดการต้นกล้าในสภาวะที่ต้นกล้าตกค้างการจำหน่าย ซึ่งพบว่าต้นกล้าอายุ 12-36 เดือนสามารถนำมาฟื้นฟูได้โดยตัดแต่งที่ระดับ 20 เซนติเมตรจะช่วยในการขนย้ายได้สะดวกรวมทั้งการเลือกใช้วัสดุปลูกที่เหมาะสม ส่งผลกระทบให้การจัดการแปลงเพาะกล้าของกรมวิชาการเกษตรตลอดจนแปลงเพาะชำของเอกชนลดความเสี่ยงและมีการจัดการที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ซึ่งได้เริ่มดำเนินการพบว่า ต้นกล้าที่นำมาฟื้นฟูในการการทดลอง จำนวน 2,000 ต้นได้มีการนำไปใช้ประโยชน์สู่เกษตรกรทั้งหมด

คำขอบคุณ

คณะผู้ดำเนินงานขอขอบคุณกรมวิชาการเกษตร ในการสนับสนุนเงินรายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตรเพื่อมาดำเนินงานโครงการนี้ ขอขอบคุณ UNDP/FAO ที่ได้ให้การสนับสนุนทุน และผู้เชี่ยวชาญปาล์มน้ำมัน Mr.Ricardo Escobar จากบริษัท ASD ประเทศคอสตาริก้า ในช่วงปี 2530 และการจัดซื้อเชื้อพันธุกรรมและให้ทุนคณะนักวิจัยของศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี และผู้ปฏิบัติงานรับการฝึกอบรมที่บริษัท ASD ประเทศคอสตาริก้า ทำให้มีโครงการวิจัยปรับปรุงพันธุ์จนกระทั่งมีพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานีที่ผลิตขึ้นได้เองในประเทศไทย และขอขอบคุณคณะกรรมการบริหารการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร และคณะที่ปรึกษาคณะทำงานติดตามและประเมินผลโครงการวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ที่ได้ให้คำปรึกษาแนะนำ สนับสนุนโครงการนี้จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2554. การจัดการสวนปาล์มน้ำมันเพื่อเพิ่มผลผลิตน้ำมันปาล์ม. สถาบันวิจัยพืชไร่. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เกริกชัย ธนรักษ์. 2554. การปลูกและการดูแลรักษาปาล์มน้ำมัน. เอกสารวิชาการ การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตปาล์มน้ำมันอย่างถูกต้องและเหมาะสม. สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร. หน้า 32-40

เกริกชัย ธนรักษ์ อรรัตน์ วงศ์ศรี วิชณีย์ ออมทรัพย์สิน เพ็ญศิริ จำรัสฉาย ชุมพล เชาวนะ ยิ่งนิยม ริยาพันธ์ เตือนจิตร เพ็ชรรุณ วิรัตน์ ธรรมบำรุง สายชล จันมาก และ สุริยะ คงศิลป์. 2558. การศึกษาเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติในพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1-7. รายงานการวิจัยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองทุนสนับสนุนงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตรปี 2555–2558 โครงการผลิตเมล็ดพันธุ์และต้นกล้าปาล์มน้ำมันเพื่อสนับสนุนโครงการปลูกปาล์มน้ำมันเพื่อทดแทนพลังงาน. สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน กรมวิชาการเกษตร.

เฉลิมพล แซมเพชร. 2535. สรีรวิทยาการผลิตพืช. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 188 หน้า.

ยงยุทธ โอสถสภา อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และ ชวลิต เฮงประยูร. 2551. ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน . สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 519 หน้า

สุวรรณา ประณีตวตกุล กัมปนาท วิจิตรศรีกมล นภสม สินเพิ่มสุขสกุล. 2561. รายงานฉบับสมบูรณ์การประเมินผลกระทบของงานวิจัยด้านปาล์มน้ำมันในประเทศไทย. ศูนย์วิจัยเศรษฐศาสตร์ประยุกต์ คณะเศรษฐศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

หทัยรัตน์ อุไรรงค์ อรรัตน์ วงศ์ศรี และ นัยเนตร เจริญสันติ ทานากะ. 2557. เครื่องหมายโมเลกุลในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมและตรวจสอบปาล์มน้ำมันลูกผสมชนิดเทเนอรา. ผลงานวิจัยดีเด่น ประจำปี 2557. กรมวิชาการเกษตร.

หทัยรัตน์ อุไรรงค์ อรรัตน์ วงศ์ศรี และนัยเนตร เจริญสันติ ทานากะ. 2558. การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมและการจำแนกชนิดพันธุ์ปาล์มน้ำมันด้วยเครื่องหมายโมเลกุล. รายงานผลงานวิจัยดีเด่น ประจำปี 2558. กรมวิชาการเกษตร.

อรรัตน์ วงศ์ศรี ศิริชัย มามีวัฒนะ ชุมพล เชาวนะ วราวุธ ชูธรรมธัช และชาย โฆรวิส. 2550. โครงการวิจัยปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันรอบที่ 2 ของกรมวิชาการเกษตร ระยะที่ 1 (2545-2548). ในรายงานผลงานวิจัยประจำปี 2547-2549. ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี กรมวิชาการเกษตร.

อรรัตน์ วงศ์ศรี สุวิมล กลศึก ชุมพล เชาวนะ ยิ่งนิยม ริยาพันธ์ เกริกชัย ธนรักษ์ และเตือนจิตร เพ็ชรรุณ. 2554. การเปรียบเทียบคู่ผสมปาล์มน้ำมันเพื่อคัดพันธุ์ลูกผสม. ในรายงานผลงานวิจัยประจำปี 2549-2553. ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี กรมวิชาการเกษตร.

ASD. 1996. Seed Production and Processing. เอกสารประกอบการสัมมนา ‘ความก้าวหน้าในการวิจัยปาล์มน้ำมันของกรมวิชาการเกษตร 5 หน้า.

Billotte, N., Jourjon, M.F., Marseillac, N., Berger, A., Flori, A., Asmady, H., Adon, B., Singh, R., Potier, F., Cheah, S.C., Rohde, W., Ritter, E., Charrier, A. and Mangin. 2010. QTL detection by multi-parent linkage mapping In oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Theor. App. Genet. 120: 1673-1687.

Chow W.Y. 2540. การจัดการเพาะชำต้นกล้าปาล์ม การคัดเลือกและการคัดทิ้ง. ใน: ปาล์มน้ำมัน การใช้ปุ๋ยและการจัดการสวนปาล์มน้ำมัน. ฝ่ายวิจัยปาล์มน้ำมัน สำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 87-93.

Collard, C.Y. B. and Mackill, D.J. 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. Phil. Trans. R. Soc. B 363: 557-572.

Corley, R.H.V. and Tinker, P.B. 2003. The Oil Palm. Blackwell Science Ltd. Oxford ; 562p.

Doyle J.J. and Doyle J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13-15.

Green, M.; Lima, W.A.A.; Figueiredo, A.F.; Atroch, A.L.; Lopes, R.; Cunha, R.N.V.; Teixeira, P.C. Heat treatment and seed germination of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Journal of Seed Science, 35(3) :296-301. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S2317-15372013000300004&script=sci_arttext

Gillbanks, R.A. 2003. Standard Agronomy Procedures and Practices. In :Fairhurst,T,H. And Hardter,R.(eds.) Oil Palm : Management for Large and Sustainable Yeilds.Oxford Graphic Printers Pte Ltd. Singapore, pp 116-161.

Hertslet, L.R. and Duckett, J.E. 1983. Oil Palm Nurseries. Casual Papers on Oil Palm, The Incorporated Society of Planters. Kuala Lumpur, Malaysia. 31 pp.

IRHO, 1992. Choice of oil palm ramets in the prenursery. Oleagineux 47 (1) : 43 – 50.

Kushairi, A. and Rajanaidu, N. 2000. Breeding Populations, Seed Production and Nursery Management. p. 39-96.. *In*: Advances in Oil Palm Research.

Lima, W.A.A. Lopes, R., Green, M., Cunha, R.N.V. Abreu S.C. and Cysne, A.Q. 2014. Heat treatment and germination of seeds of interspecific hybrid between American oil palm (*Elaeis oleifera* (H.B.K) Cortes) and African oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Journal of Seed Science, 36 (4) :451-457. http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v36n41034

Prakash, D.P., Narayanaswamy, P. and Sondur, S.N. 2002. Analysis of molecular diversity in grava RAPD markers. J. Hort. Sci. Biotech. 77: 287-293.

Shah, F.H., Rashid, O., Simons, A.J. and Dunsdon, A. 1994. The utility of RAPD markers for the determination of genetic variation in oil palm (*Elaeis guineensis*). Theor. Appl. Genet. 89:713-718

Singh, R., Low, E-T.L., Ooi, L.C-L., Ong-Abdullah, M., Chin, T.N., Nagappan, J., Nookiah, R., Amiruddin, M.D., Rosli, R., Manaf, M.A.A., Chan, K-L., Halim, M.A., Azizi, N., Lakey, N., Smith, S.W., Budiman, M.A., Hogan, M., Bacher, B., Brunt, A.V., Wang, C., Ordway, J.M., Sambanthamurthi, R. and Martienssen, R.A. 2013. The oil palm *Shell* gene controls oil yield and encodes a homologue of SEEDSTICK. Nature 15: 340-344.

Socfindo. 2001. Seed production procedure book. Internal document. 47p.

Turner,P.D. and Gillbanks,R.A. 2003. Oil Palm Cultivation and Management. (Second Edition). The Incorporated Society of Planters. Kuala Lumpur. 895p.

Wanderlei Antônio Alves Lima, Ricardo Lopes , Márcia Green , Raimundo Nonato Vieira Cunha , Samuel Campos Abreu , Alex Queiroz Cysne, 2014. Heat treatment and germination of seeds of interspecific hybrid between American oil palm (*Elaeis oleifera* (H.B.K) Cortes) and African oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Journal of Seed Science 36 : 451-457.

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลการตรวจสอบชนิดอัลลีลโดยใช้ไพรเมอร์และโพรบที่จำเพาะต่อปาล์มน้ำมันกลุ่มลาเม่

ลำดับที่	ตัวอย่างดีเอ็นเอ	ปริมาณดีเอ็นเอ (ng/µl)	ชนิดอัลลีล[1]
1	1/14/258	1,782.00	A/A
2	1/14/259	1,216.00	X
3	1/14/261	1,346.50	A/A
4	1/14/262	1,050.40	A/A
5	1/14/263	1,436.20	A/A
6	1/14/264	2,038.60	A/A
7	1/14/265	1,273.60	A/A
8	1/14/268	1,995.90	A/A
9	1/14/270	1,956.30	A/A
10	1/14/271	1,595.10	A/A
11	1/14/272	1,631.10	A/A
12	1/14/273	975.90	A/A
13	1/14/274	746.70	A/A
14	1/16/303	951.50	A/A
15	1/16/307	1,760.60	A/A
16	1/16/308	664.90	A/A
17	1/16/309	1,060.40	A/A
18	1/16/310	874.90	A/A
19	1/16/312	868.50	A/A
20	1/16/314	609.00	A/A
21	1/16/315	1,246.70	A/A
22	1/13/238	1,015.00	A/A
23	1/13/244	1,478.90	A/A
24	1/13/249	696.80	A/A
25	1/13/250	1,830.10	A/A
26	1/15/277	749.40	A/A
27	1/15/278	2,132.10	C/A
28	1/15/285	1,411.50	A/A
29	1/15/297	949.30	A/A
30	1/12/214	1,081.00	A/A
31	1/12/215	1,389.40	A/A
32	1/12/219	1,529.00	A/A
33	1/12/230	1,947.20	A/A
34	1/12/231	1,773.40	A/A
35	1/1/1	1,540.60	A/A
36	1/1/18	1,427.70	A/A
37	1/1/16	1,464.70	A/A
38	1/1/4	3,028.30	A/A
39	1/1/7	1,786.60	A/A
40	1/1/10	1,208.50	A/A
41	1/7/17	1,877.70	A/A
42	1/3/41	1,339.00	A/A
43	1/3/58	1,377.30	A/A
44	1/3/57	531.90	X
45	1/3/56	925.70	A/A
46	1/3/43	1,649.40	A/A
47	1/3/54	1,728.70	A/A
48	1/3/42	1,124.90	A/A
49	1/5/79	404.70	A/A
50	1/5/80	1,150.40	A/A

ลำดับที่	ตัวอย่างดีเอ็นเอ	ปริมาณดีเอ็นเอ (ng/µl)	ชนิดอัลลีล[1]
51	1/5/87	1,267.10	A/A
52	1/5/92	1,461.50	A/A
53	1/4/77	1,277.70	A/A
54	1/4/66	1,116.80	A/A
55	1/5/94	993.70	A/A
56	1/4/65	1,001.30	A/A
57	1/4/70	1,279.00	A/A
58	1/4/75	836.40	A/A
59	1/4/71	352.40	A/A
60	1/7/117	1,131.20	A/A
61	1/6/116	1,405.20	A/A
62	1/6/105	930.50	A/A
63	1/6/114	793.20	A/A
64	1/14/271_2	1,207.50	A/A
65	1/14/273_2	226.10	A/A
66	1/14/274_1	1,036.00	A/A
67	1/15/277_2	874.50	A/A
68	1/15/279_1	1,104.20	A/A
69	1/14/268_2	1,158.90	A/A
70	1/14/259_1	820.70	A/A
71	1/12/228_1	939.40	A/A
72	1/14/272_1	1,464.30	A/A
73	1/15/278_2	1,389.20	X
74	1/13/241	-	เก็บใหม่
75	1/14/270_1	683.50	A/A
76	1/14/261_2	995.70	X
77	1/14/264_1	1,101.20	A/A
78	1/13/249_1	1,368.10	A/A
79	1/13/244_1	1,549.30	A/A
80	1/12/231_2	1,349.70	A/A
81	1/13/238_1	548.80	X
82	1/13/246_2	858.10	X
83	1/13/237_1	762.00	A/A
84	1/14/263_1	1,183.90	C/A
85	1/12/233_2	840.60	C/A
86	1/13/247_2	804.10	C/A
87	1/12/221_2	630.50	A/A
88	1/13/250_1	1,724.30	C/A
89	1/14/258_1	1,057.40	A/A
90	1/12/230_2	1,143.40	X
91	1/14/265_1	788.30	A/A
92	1/14/262_2	524.10	A/A
93	1/12/234_2	1,214.50	X
94	1/6/109	1,117.10	A/A
95	1/6/108	1,077.20	A/A
96	1/6/111	1,073.80	A/A
97	1/2/39	990.20	A/A
98	1/2/29	1,437.60	A/A
99	1/2/24	824.10	A/A
100	1/2/35	574.70	A/A
101	1/6/106	824.90	A/A
102	1/2/38	696.80	A/A

ลำดับที่	ตัวอย่างดีเอ็นเอ	ปริมาณดีเอ็นเอ (ng/µl)	ชนิดอัลลีล[1]
103	1/2/31	722.20	A/A
104	1/5/85	879.20	A/A
105	1/12/218	294.30	A/A
106	1/17/130	306.30	A/A
107	1/9/159	984.50	A/A
108	1/7/128	2,199.20	A/A
109	1/11/193	1,566.10	A/A
110	1/8/148	1,189.60	A/A
111	1/8/143	1,485.20	A/A

[1] A/A; พิสิเฟอรา, C/A; เทเนอรา และ X; Unknown

ตารางภาคผนวกที่ 2 แสดงผลการวิเคราะห์ค่าของ Fluorescent intensity ของโพรบที่ติดฉลากสี VIC (allele A) และสี FAM (allele T) ด้วยเทคนิค Real Time PCR ของต้นกล้าปาล์มชนิดเทเนอรา จำนวน 20 ตัวอย่าง

ตัวอย่าง	**ผลการวิเคราะห์**	**ค่า Fluorescent intensity**		
ต้นเทเนอรา	**สนิปส์**	**ΔRn**	**ΔRn**	**ΔRn**
Tenera 1	Heterozygous A/T	2.126	3.525	1.658
Tenera 2	Heterozygous A/T	2.169	3.625	1.671
Tenera 3	Heterozygous A/T	2.209	3.725	1.686
Tenera 4	Heterozygous A/T	2.181	3.679	1.687
Tenera 5	Heterozygous A/T	2.229	3.713	1.666
Tenera 6	Heterozygous A/T	2.142	3.552	1.658
Tenera 7	Heterozygous A/T	2.258	3.735	1.654
Tenera 8	Heterozygous A/T	2.153	3.619	1.681
Tenera 9	Heterozygous A/T	2.289	3.968	1.733
Tenera 10	Heterozygous A/T	2.260	3.916	1.732
Tenera 11	Heterozygous A/T	2.141	3.565	1.665
Tenera 12	Heterozygous A/T	2.208	3.775	1.709
Tenera 13	Heterozygous A/T	2.174	3.565	1.640
Tenera 14	Heterozygous A/T	2.172	3.561	1.639
Tenera 15	Heterozygous A/T	2.148	3.575	1.664
Tenera 16	Heterozygous A/T	2.222	3.637	1.637
Tenera 17	Heterozygous A/T	2.174	3.521	1.620
Tenera 18	Heterozygous A/T	2.161	3.726	1.724
Tenera 19	Heterozygous A/T	2.242	3.671	1.637
Tenera 20	Heterozygous A/T	2.149	3.647	1.697
			ค่าเฉลี่ย	**1.673**

ตารางภาคผนวกที่ 3 ปริมาณธาตุอาหารในใบปาล์มน้ำมัน ของต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ธานี 1 ที่ปลูกในวัสดุปลูกที่แตกต่างกันหลังย้ายปลูกเป็นเวลา 12 เดือน

กรรมวิธี	ปริมาณไนโตรเจน (%)	ปริมาณฟอสฟอรัส (%)	ปริมาณโพแทสเซียม (%)	ปริมาณแคลเซียม (%)	ปริมาณแมกนีเซียม (%)
1	2.50ab	0.16b	0.92b	1.08	0.48ab
2	2.35abc	0.16b	0.80b	1.02	0.48ab
3	2.60a	0.19a	1.38a	1.02	0.46b
4	2.13c	0.15b	0.68b	1.06	0.51ab
5	2.22bc	0.16b	0.75b	1.13	0.52a
6	2.18c	0.16b	0.68b	1.08	0.49ab
C.V.(%)	9.04	7.83	22.14	9.66	6.81

หมายเหตุ ตัวเลขในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางภาคผนวกที่ 4 สมบัติทางกายภาพของดิน

สมบัติทางกายภาพ	ระดับความเหมาะสม				
	เหมาะสมที่สุด (S1)	เหมาะสมมาก (S2)	เหมาะสม (S3)	ไม่ค่อยเหมาะสม (N)	ไม่เหมาะสม
ความลึกของดิน (ซม.)	มากกว่า100	75-100	50-75	25-50	<25
เนื้อดิน	-ดินร่วนทราย -ดินร่วน -ดินร่วนเหนียวปนทราย	-ดินร่วนปนเหนียว -ดินร่วนเหนียวปนทรายแป้ง -ดินเหนียวปนทราย	-ดินร่วนเหนียวปนทราย -ดินทรายปนร่วน -ดินเหนียวปนทรายแป้ง	-ดินเหนียว -ดินอินทรีย์	-กรวด -ทราย
ความลาดชัน (%)	0-4	4-12	12-23	23-38	มากกว่า 38
การระบายน้ำ	ดี	ปานกลาง	ช้า	ช้ามาก	เร็วมาก
การท่วมขังของน้ำ	ไม่ท่วมขัง	ไม่ท่วมขัง	ท่วมขังสั้นๆ (น้อยกว่า 5 วัน)	ท่วมขังปานกลาง (5-15 วัน)	ท่วมขังนาน (มากกว่า 15 วัน)

ที่มา: เกริกชัย (2554)

ตารางภาคผนวกที่ 5 สมบัติทางเคมีของดิน

สมบัติทางเคมี	ระดับความเหมาะสม				
	ต่ำมาก	ต่ำ	ปานกลาง	สูง	สูงมาก
ค่าความเป็นกรดด่าง	<3.5	4.0	4.2	5.5	>5.5
อินทรียวัตถุ (%)	<0.8	1.2	1.5	2.5	>2.5
ความเค็มของดิน (เดซิซีเม็น/เมตร)	0-1	1-2	2-3	3-4	>4
ไนโตรเจนทั้งหมด (%)	<0.08	0.12	0.15	0.25	>0.25
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (มก./กก.)	<120	200	250	400	>400
โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (มก./กก.)	<32	80	100	120	>120
แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (มก./กก.)	<20	50	75	100	>100

ที่มา:ดัดแปลงจาก เกริกชัย (2554)

ตารางภาคผนวกที่ 6 ความพึงพอใจของเกษตรกรต่อพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานีด้านต้นพันธุ์ อายุ 1-3 ปี

จังหวัด	ลักษณะต้นพันธุ์	ระดับความพึงพอใจ (%)		
		มาก	ปานกลาง	น้อย
สุราษฎร์ธานี	1. ความสมบูรณ์ของต้นพันธุ์	66.7	33.3	0
	2. ความผิดปกติของต้นพันธุ์	41.7	45.0	13.3
	3. ราคาของต้นพันธุ์	60.0	35.0	5.0
	4. การเจริญเติบโต	80.0	11.7	8.3
	5.ระยะเริ่มการมีช่อดอก	78.3	13.3	8.3
กระบี่	1. ความสมบูรณ์ของต้นพันธุ์	66.7	33.3	0
	2. ความผิดปกติของต้นพันธุ์	41.7	45.0	13.3
	3. ราคาของต้นพันธุ์	60.0	35.0	5.0
	4. การเจริญเติบโต	80.0	11.7	8.3
	5.ระยะเริ่มการมีช่อดอก	78.3	13.3	8.3
ชุมพร	1. ความสมบูรณ์ของต้นพันธุ์	37.3	56.9	5.9
	2. ความผิดปกติของต้นพันธุ์	27.5	68.6	3.9
	3. ราคาของต้นพันธุ์	45.1	47.1	7.8
	4. การเจริญเติบโต	43.1	45.1	11.8
	5.ระยะเริ่มการมีช่อดอก	45.1	54.9	0
นครศรีธรรมราช	1. ความสมบูรณ์ของต้นพันธุ์	37.3	56.9	5.9
	2. ความผิดปกติของต้นพันธุ์	27.5	68.6	3.9
	3. ราคาของต้นพันธุ์	45.1	47.1	7.8
	4. การเจริญเติบโต	43.1	54.9	2.0
	5.ระยะเริ่มการมีช่อดอก	45.1	54.9	0
พังงา	1. ความสมบูรณ์ของต้นพันธุ์	43.5	56.5	0
	2. ความผิดปกติของต้นพันธุ์	47.8	52.2	0
	3. ราคาของต้นพันธุ์	21.7	78.3	0
	4. การเจริญเติบโต	43.5	56.5	0
	5.ระยะเริ่มการมีช่อดอก	43.5	56.5	0
ระนอง	1. ความสมบูรณ์ของต้นพันธุ์	43.5	56.5	0
	2. ความผิดปกติของต้นพันธุ์	47.8	52.2	0
	3. ราคาของต้นพันธุ์	21.7	78.3	0
	4. การเจริญเติบโต	43.5	56.5	0
	5.ระยะเริ่มการมีช่อดอก	43.5	56.5	0

ตารางภาคผนวกที่ 7 ข้อมูลความพึงพอใจของเกษตรกรต่อพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานีด้านต้นพันธุ์ อายุมากกว่า 3 ปีขึ้นไป

จังหวัด	ลักษณะต้นพันธุ์	ระดับความพึงพอใจ (%)		
		มาก	ปานกลาง	น้อย
สุราษฎร์ธานี	1. การเจริญเติบโตของต้นพันธุ์	38.3	58.3	3.3
	2. การออกดอกของต้นพันธุ์	20.0	70.0	10.0
	3. ความผิดปกติของต้นพันธุ์	11.7	78.3	10.0
	4. การติดผลต่อทะลาย	13.3	71.7	15.0
	5. การให้ผลผลิตต่อไร่/ต่อปี	8.3	76.7	15.0
	6. ความยากง่ายในการเก็บเกี่ยว	65.0	33.3	1.7
	7. การสังเกตความสุกของทะลายปาล์มน้ำมัน	60.0	36.7	3.3
	8. ความพึงพอใจในลักษณะของทะลายปาล์มน้ำมัน			
	8.1 จำนวนทะลาย	56.7	36.7	6.7
	8.2 ความหนาแน่นและความยาวของหนาม	50.0	43.3	6.7
	8.3 ความยาวของก้านทะลาย	41.7	46.7	11.7
	8.4 ขนาดทะลาย	60.0	31.7	8.3
	8.5 สีผล	56.7	33.3	10.0
	9. ความต้านทานโรค/แมลง	65.0	30.0	5.0
กระบี่	1. การเจริญเติบโตของต้นพันธุ์	85.0	13.3	1.7
	2. การออกดอกของต้นพันธุ์	70.0	30.0	0.0
	3. ความผิดปกติของต้นพันธุ์	64.7	50.0	3.3
	4. การติดผลต่อทะลาย	56.7	38.3	5.0
	5. การให้ผลผลิตต่อไร่/ต่อปี	63.3	33.3	3.3
	6. ความยากง่ายในการเก็บเกี่ยว	61.7	33.3	5.0
	7. การสังเกตความสุกของทะลายปาล์มน้ำมัน	61.7	30.0	8.3
	8. ความพึงพอใจในลักษณะของทะลายปาล์มน้ำมัน			
	8.1 จำนวนทะลาย	53.3	41.7	5.0
	8.2 ความหนาแน่นและความยาวของหนาม	53.3	46.7	0.0
	8.3 ความยาวของก้านทะลาย	48.3	48.3	3.3
	8.4 ขนาดทะลาย	63.3	28.3	8.3
	8.5 สีผล	51.7	41.7	6.7
	9. ความต้านทานโรค/แมลง	76.7	20.0	3.3

จังหวัด	ลักษณะต้นพันธุ์	ระดับความพึงพอใจ (%)		
		มาก	ปานกลาง	น้อย
ชุมพร	1. การเจริญเติบโตของต้นพันธุ์	43.1	47.1	9.8
	2. การออกดอกของต้นพันธุ์	39.2	51.0	9.8
	3. ความผิดปกติของต้นพันธุ์	25.5	68.6	5.9
	4. การติดผลต่อทะลาย	54.9	41.2	3.9
	5. การให้ผลผลิตต่อไร่/ต่อปี	62.7	35.3	2.0
	6. ความยากง่ายในการเก็บเกี่ยว	60.8	39.2	0.0
	7. การสังเกตความสุกของทะลายปาล์มน้ำมัน	47.1	52.9	0.0
	8. ความพึงพอใจในลักษณะของทะลายปาล์มน้ำมัน			
	8.1 จำนวนทะลาย	49.0	51.0	0.0
	8.2 ความหนาแน่นและความยาวของหนาม	56.9	39.2	3.9
	8.3 ความยาวของก้านทะลาย	47.1	45.1	7.8
	8.4 ขนาดทะลาย	41.2	54.9	3.9
	8.5 สีผล	62.7	35.3	2.0
	9. ความต้านทานโรค/แมลง	49.0	45.1	5.9
นครศรีธรรมราช	1. การเจริญเติบโตของต้นพันธุ์	67.7	32.3	0.0
	2. การออกดอกของต้นพันธุ์	58.1	41.9	0.0
	3. ความผิดปกติของต้นพันธุ์	35.5	41.9	22.6
	4. การติดผลต่อทะลาย	45.2	54.8	0.0
	5. การให้ผลผลิตต่อไร่/ต่อปี	41.9	58.1	0.0
	6. ความยากง่ายในการเก็บเกี่ยว	54.8	38.7	6.5
	7. การสังเกตความสุกของทะลายปาล์มน้ำมัน	58.1	41.9	0.0
	8. ความพึงพอใจในลักษณะของทะลายปาล์มน้ำมัน			
	8.1 จำนวนทะลาย	58.1	38.7	3.2
	8.2 ความหนาแน่นและความยาวของหนาม	51.6	48.4	0.0
	8.3 ความยาวของก้านทะลาย	48.4	45.2	6.5
	8.4 ขนาดทะลาย	58.1	41.9	0.0
	8.5 สีผล	54.8	45.2	0.0
	9. ความต้านทานโรค/แมลง	54.8	45.0	0.0

จังหวัด	ลักษณะต้นพันธุ์	ระดับความพึงพอใจ (%)		
		มาก	ปานกลาง	น้อย
พังงา	1. การเจริญเติบโตของต้นพันธุ์	64.0	32.0	4.0
	2. การออกดอกของต้นพันธุ์	44.0	52.0	4.0
	3. ความผิดปกติของต้นพันธุ์	36.0	60.0	4.0
	4. การติดผลต่อทะลาย	32.0	60.0	8.0
	5. การให้ผลผลิตต่อไร่/ต่อปี	28.0	52.0	20.0
	6. ความยากง่ายในการเก็บเกี่ยว	28.0	60.0	12.0
	7. การสังเกตความสุกของทะลายปาล์มน้ำมัน	32.0	56.0	12.0
	8. ความพึงพอใจในลักษณะของทะลายปาล์มน้ำมัน			
	8.1 จำนวนทะลาย	28.0	60.0	12.0
	8.2 ความหนาแน่นและความยาวของหนาม	36.0	56.0	8.0
	8.3 ความยาวของก้านทะลาย	32.0	60.0	8.0
	8.4 ขนาดทะลาย	36.0	56.0	8.0
	8.5 สีผล	44.0	48.0	8.0
	9. ความต้านทานโรค/แมลง	24.0	68.0	8.0
ระนอง	1. การเจริญเติบโตของต้นพันธุ์	82.6	17.4	0.0
	2. การออกดอกของต้นพันธุ์	73.9	26.1	0.0
	3. ความผิดปกติของต้นพันธุ์	60.9	34.8	4.3
	4. การติดผลต่อทะลาย	73.9	26.1	0.0
	5. การให้ผลผลิตต่อไร่/ต่อปี	69.6	30.4	0.0
	6. ความยากง่ายในการเก็บเกี่ยว	56.5	43.5	0.0
	7. การสังเกตความสุกของทะลายปาล์มน้ำมัน	56.5	43.5	0.0
	8. ความพึงพอใจในลักษณะของทะลายปาล์มน้ำมัน			
	8.1 จำนวนทะลาย	60.9	34.8	4.3
	8.2 ความหนาแน่นและความยาวของหนาม	47.8	43.5	8.7
	8.3 ความยาวของก้านทะลาย	52.2	47.8	0.0
	8.4 ขนาดทะลาย	56.5	43.5	0.0
	8.5 สีผล	65.2	34.8	0.0
	9. ความต้านทานโรค/แมลง	60.9	32.1	0.0

ตารางภาคผนวก ที่ 8 สรุปการกระจายการใช้ประโยชน์พันธุ์ปาล์มน้ำมันโครงการวิจัยและผลิตเมล็ดพันธุ์และต้นกล้าปาล์มน้ำมันเพื่อสนับสนุนโครงการปลูกปาล์มน้ำมันเพื่อทดแทนพลังงาน (ตัดยอด ณ เดือนกันยายน 2560)

เมล็ดงอก	จำนวน (เมล็ด)
ภาคกลาง	120,600
กรุงเทพมหานคร	120,600
ภาคเหนือ	9,500
กำแพงเพชร	9,500
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	2,000
หนองคาย	2,000
ภาคตะวันออก	14,500
ชลบุรี	10,000
ปราจีนบุรี	4,500
ภาคใต้	1,177,397
กระบี่	114,427
ชุมพร	91,000
ตรัง	28,100
นครศรีธรรมราช	78,500
ประจวบคีรีขันธ์	51,150
พังงา	15,500
พัทลุง	65,000
ระนอง	2,700
สตูล	5,000
สงขลา	
สุราษฎร์ธานี	726,020
รวมเมล็ดทั้งหมด	1,323,997

ต้นกล้าเล็ก	จำนวน (ต้น)
ภาคกลาง	4,255
กรุงเทพมหานคร	2,060
นนทบุรี	500
ปทุมธานี	270
เพชรบุรี	25
ราชบุรี	500
สมุทรปราการ	900
ภาคเหนือ	500
พิษณุโลก	500
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	2,900
เลย	500
ศรีสะเกษ	1,000
สุรินทร์	500
อำนาจเจริญ	400
อุบลราชธานี	500
ภาคตะวันออก	2,900
จันทบุรี	900
ปราจีน	1,000
ระยอง	500
สระแก้ว	500
ภาคใต้	436,030
กระบี่	28,221
ชุมพร	166,980
ตรัง	8,600
นครศรีธรรมราช	38,970
นราธิวาส	100
ประจวบคีรีขันธ์	5,050
ปัตตานี	600
พังงา	4,100
พัทลุง	3,000
ยะลา	1,000
ระนอง	5,550
สงขลา	2,108
สตูล	900
สุราษฎร์ธานี	170,851
หน่วยงานอื่นๆ	410,000
กองการยางแห่งประเทศไ	410,000
รวมต้นกล้าทั้งหมด	856,585

ต้นกล้าใหญ่	จำนวน (ต้น)
ภาคกลาง	3,560
กรุงเทพมหานคร	1,500
นครปฐม	260
ปทุมธานี	1,800
ภาคเหนือ	1,606
พิษณุโลก	1,206
เพชรบูรณ์	400
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	810
นครพนม	10
อุดรธานี	400
อุบลราชธานี	400
ภาคตะวันออก	570
จันทบุรี	250
ชลบุรี	200
ระยอง	120
ภาคตะวันตก	400
กาญจนบุรี	400
ภาคใต้	305,657
กระบี่	51,861
ชุมพร	12,482
ตรัง	1,768
นครศรีธรรมราช	55,070
นราธิวาส	400
ประจวบคีรีขันธ์	1,950
ปัตตานี	480
พังงา	1,920
พัทลุง	3,150
ภูเก็ต	150
ระนอง	1,550
สงขลา	5,202
สตูล	3,164
สุราษฎร์ธานี	166,510
รวมต้นกล้าทั้งหมด	312,603

ตารางภาคผนวกที่ 9 แบบสอบถามเพื่อการวิจัย เรื่อง ความพึงพอใจและการยอมรับพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี

คำชี้แจง

1.แบบสอบถามฉบับนี้มีจุดมุ่งหมาย เพื่อศึกษาระดับความพึงพอใจของเกษตรกรต่อพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี

2. แบบสอบถามฉบับนี้ แบ่งเป็น 3 ตอน คือ 1) ข้อมูลทั่วไปของเกษตรกร 2) ความพึงพอใจของเกษตรกรต่อพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี 3) ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมเกี่ยวกับพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี

3. แบบสอบถามฉบับนี้ใช้สำหรับการศึกษาวิจัยเท่านั้น การตอบแบบสอบถามนี้จะไม่มีผลกระทบต่อท่านแต่อย่างใด แต่จะเป็นประโยชน์ในกระบวนการทำงานของคณะทำงานของกรมวิชาการเกษตร

.....

ตอนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของเกษตรกร

คำชี้แจง โปรดทำเครื่องหมาย ✓ลงในช่อง ( ) ที่ตรงกับสภาพเป็นจริงของท่าน

ชื่อ.....นามสกุล.....เบอร์โทรศัพท์.....

1. เพศ ( ) หญิง ( ) ชาย
2. อายุ ( ) น้อยกว่า 20 ปี ( ) 20 – 30 ปี ( ) 31 – 40 ปี ( ) มากกว่า 40 ปีขึ้นไป
3. ระดับการศึกษา ( ) ประถมศึกษา ( ) มัธยมศึกษาต้น/ปลาย ( ) ปวช./ปวส. ( ) ปริญญาตรีหรือสูงกว่า
4. อาชีพ ( ) เกษตรกร ( ) รับราชการ/รัฐสาหกิจ ( ) พนักงานบริษัท ( ) ค้าขาย/อาชีพอิสระ ( ) รับจ้าง ( ) อื่นๆ.....

ตอนที่ 2 ข้อมูลการปลูกและสภาพพื้นที่

คำชี้แจง โปรดทำเครื่องหมาย ✓ลงในช่อง ( ) ที่ตรงกับสภาพเป็นจริงของท่าน

1. ที่ตั้งแปลงปลูก เลขที่.....หมู่ที่.....ตำบล.....อำเภอ.....จังหวัด.....
2. พื้นที่ปลูก ( ) น้อยกว่า 10 ไร่ ( ) 11-20 ไร่ ( ) 21-50 ไร่ ( ) มากกว่า 50 ไร่
3. พันธุ์ที่ปลูก ( ) สฎ.1 ( ) สฎ.2 ( ) สฎ.3 ( ) สฎ.4 ( ) สฎ.5 ( ) สฎ.6 ( ) สฎ.7 ( ) สฎ.8
4. วันเดือนปี ที่ปลูก .....อายุปาล์ม.....ปี ( ) ปี 2541-2550 ( ) ปี 2551-2558
5. สภาพพื้นที่ปลูก ( ) เหมาะสมมากที่สุด ( ) เหมาะสมมาก ( ) เหมาะสมปานกลาง ( ) เหมาะสมน้อย ( ) ไม่เหมาะสม
6. การให้น้ำ ( ) ไม่ให้ ( ) ให้ ให้แบบใด..... แหล่งน้ำ.....
7. การใช้ปุ๋ย ( ) ใส่ ( ) ปุ๋ยอินทรีย์ ( ) ปุ๋ยเคมี ( ) ไม่ใส่
8. จำนวนครั้งในการใส่ปุ๋ย( ) 1 ครั้ง/ปี ( ) 2 ครั้ง/ปี ( ) 3 ครั้ง/ปี ( ) มากกว่า 3 ครั้ง/ปี

9. ชนิดปุ๋ยที่ใช้ ( ) แม่ปุ๋ย ( ) ปุ๋ยสูตรผสม.....
( ) ปุ๋ยอินทรีย์.....
( ) อื่นๆ.....

10. อัตราการใส่ปุ๋ย/ต้น/ครั้ง ( ) น้อยกว่า 1 กก. ( ) 1-2 กก. ( ) 2-3 กก. ( ) มากกว่า 3 กก.

11. ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ต่อปี ( ) น้อยกว่า 1 ตัน ( ) 1-2 ตัน ( ) 2-3 ตัน
( ) 3-4 ตัน ( ) มากกว่า 4 ตัน

ตอนที่ 3 ความพึงพอใจของเกษตรกรต่อการให้บริการขาย และความพึงพอใจต่อพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี

คำชี้แจง โปรดทำเครื่องหมาย ✓ ลงในช่องที่ตรงกับตามความรู้สึก/ความคิดเห็นของท่านมากที่สุด

ความพึงพอใจที่มีต่อการให้บริการขาย และพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี	ระดับความพึงพอใจ				
	มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด
ด้านการให้บริการ					
1. ขั้นตอนการจองต้นกล้าปาล์มน้ำมัน					
2. ขั้นตอนการรับต้นกล้าปาล์มน้ำมัน					
3. ความเต็มใจและความพร้อมในการให้บริการอย่างสุภาพ					
4. ความรู้ความสามารถในการให้บริการ เช่น สามารถตอบคำถาม ชี้แจงข้อสงสัย และให้คำแนะนำได้ เป็นต้น					
5. ความซื่อสัตย์สุจริตในการปฏิบัติหน้าที่					
6. การให้บริการเหมือนกันทุกรายไม่เลือกปฏิบัติ					
7. จุดให้บริการมีความเหมาะสม เข้าถึงได้สะดวก					
8. ความเพียงพอของสิ่งอำนวยความสะดวก เช่น ที่สำหรับนั่งรอ บริการน้ำดื่ม หนังสือพิมพ์ เป็นต้น					
9.ท่านมีความพึงพอใจต่อการให้บริการในภาพรวมอยู่ในระดับใด					
ด้านต้นพันธุ์					
อายุ 1-3 ปีหลังปลูก					
1. ความสมบูรณ์ของต้นพันธุ์					
2. ความผิดปกติของต้นพันธุ์					
3. ราคาของต้นพันธุ์					
4. การเจริญเติบโตของต้นพันธุ์					
5. ความเร็วในการออกดอกของต้นพันธุ์ (อายุ 2-3 ปีหลังปลูก)					
อายุมากกว่า 3 ปีขึ้นไป					
1. การเจริญเติบโตของต้นพันธุ์					
2. การออกดอกของต้นพันธุ์					
3. ความผิดปกติของต้นพันธุ์					
4. การติดผลต่อทะลาย					
5. การให้ผลผลิตต่อไร่/ปี					
6. ความยากง่ายในการเก็บเกี่ยว					

ความพึงพอใจที่มีต่อการให้บริการขาย และพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี	ระดับความพึงพอใจ				
	มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด
7. การสังเกตความสุกของทะลายปาล์มน้ำมัน					
8. ความพึงพอใจในลักษณะของทะลายปาล์มน้ำมัน					
8.1 จำนวนทะลาย					
8.2 ความหนาแน่นและความยาวของหนาม					
8.3 ความยาวของก้านทะลาย					
8.4 ขนาดทะลาย					
8.5 สีผล					
9. การทนทานต่อโรค/แมลง					
10. ความเข้าใจเกี่ยวกับพันธุ์ปาล์ม					

ตอนที่ 4 ความรู้เกี่ยวกับพันธุ์ปาล์มน้ำมัน

1.ทำไมถึงปลูกปาล์มน้ำมัน.....

2.ทำไมถึงปลูกพันธุ์นี้.....

3.มีปลูกพันธุ์อื่นนอกจากพันธุ์ลูกผสมสุราษฎร์ฯไหม.....

4.ซื้อพันธุ์จากที่ไหนเพราะอะไร.....

5.ได้รับความรู้เกี่ยวกับปาล์มน้ำมันจากที่ไหน.....

6.ปัญหาโรคแมลง/การป้องกันกำจัด.....

7.การกำจัดวัชพืช.....

8.อื่นๆ.....

ตอนที่ 5 ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมเกี่ยวกับพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมสุราษฎร์ธานี

จุดเด่น

.....

สิ่งที่ควรปรับปรุง

.....

ขอขอบพระคุณที่กรุณาตอบแบบสอบถาม

กรมวิชาการเกษตร

ภาพภาคผนวกที่ 1 ต้นกล้าอายุมากสภาพทรุดโทรมชะงักการเจริญเติบโต

ภาพภาคผนวกที่ 2 ต้นกล้าอายุมากในขั้นตอนเตรียมการทดลองและผลการเจริญเติบโตหลังทดลอง