รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองสิ้นสุด ปีงบประมาณ 2563

.....

1. แผนงานวิจัย การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีและนวัตกรรมปาล์มน้ำมันเพื่อการผลิตอย่างยั่งยืน

2. โครงการวิจัย วิจัยปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันเพื่อเพิ่มผลผลิตน้ำมัน

กิจกรรม การวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมที่มีศักยภาพการให้ผลผลิตสูง

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) Study of Hybrid Oil Palm Tissue Culture with Initial High Yield Potential

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวเตือนจิตร เพ็ชรรุณ	ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี
ผู้ร่วมงาน	นางสาวสุวิมล กลศึก	ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี
	นางภุมรินทร์ วณิชชนานันท์	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

5. บทคัดย่อ

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมที่มีศักยภาพการให้ผลผลิตสูง จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนปาล์มน้ำมัน บนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) และ N6 ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Picloram และ Dicamba ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่า ใบอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Dicamba ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสดีที่สุด 59.2 และ 58.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำแคลลัสที่ได้มาชักนำให้เกิดเอ็มบริโอจินิคแคลลัส บนอาหารสูตร MS และ N6 ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Dicamba และ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 เดือน ยังไม่พบการเกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส

Abstract

Study of hybrid oil palm tissue culture with initial high yield potential The young leaves were cultured on medium Murashige and Skoog (MS) and N6 supplemented with picloram and dicamba at concentrations of 0.1 0.5 1.0 1.5 2.0 and 2.5 mg/l for callus induction. The young leaves were cultured on medium MS and supplemented with dicamba at concentrations of 2.0 and 1.0 mg/l showed the best percentages callus at 59.2 and 58.0%, respectively. Those calli cultured on medium MS and N6 supplemented with dicamba and 2,4-D at concentrations

กองวิจัยการเกษตร

of 1.0 and 2.0 mg/l and medium MS without growth regulators. After 6 months of cultivation, no embryo genic calluses were found.

6. คำนำ

ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี กรมวิชาการเกษตร ได้รับมอบหมายให้เป็นหน่วยงานหลักในการศึกษาวิจัยและปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน โดยได้ทำการวิจัยปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันตั้งแต่ปี 2530 จนถึงปัจจุบัน ได้ปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมที่มีลักษณะดี และผ่านการรับรองจากกรมวิชาการเกษตรเป็นพันธุ์แนะนำ 9 พันธุ์ มีศักยภาพในการให้ผลผลิตทะลายสดไม่ต่ำกว่า 3.6 ตัน/ไร่/ปี และเปอร์เซ็นต์น้ำมันไม่ต่ำกว่า 23% หรือเทียบเท่าอัตราการสกัดน้ำมันของโรงงาน (oil extraction rate, OER) ไม่ต่ำกว่า 20% และปัจจุบันมีเชื้อพันธุ์ปาล์มน้ำมัน *Elaeis guineensis* ซึ่งมีลักษณะดี คือ ผลใหญ่ กะลาบาง และให้ผลผลิตน้ำมันสูง และเชื้อพันธุ์ *E. oleifera* ซึ่งเป็นพันธุ์ป่าที่มีลักษณะดี คือ ลำต้นเตี้ยและน้ำมันมีคุณภาพสูง ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานีจึงทำการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันด้วยวิธีมาตรฐานโดยการผสมพันธุ์ข้ามชนิดระหว่าง *E. oleifera* กับ *E. guineensis* แล้วสร้างลูกผสมแบบผสมกลับตามโปรแกรมปรับปรุงพันธุ์ มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีผลผลิตทะลายสดสูง ต้นเตี้ย และเพิ่มปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวให้สูงขึ้น อย่างไรก็ตามการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีนี้มีข้อจำกัดในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมกลับให้ได้ปริมาณมากและมีแนวโน้มให้ลูกผสมที่มีความแปรปรวนค่อนข้างสูง เพื่อแก้ข้อจำกัดนี้ในบางประเทศที่มีการจำหน่ายพันธุ์ลูกผสมดังกล่าวนี้ในเชิงการค้า ได้แก่ คอสตาริก้า และมาเลเซีย จึงขยายพันธุ์โดยวิธีการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมและวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกัน อีกทั้งพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมต่างๆ ที่กล่าวมาล้วนมีศักยภาพในการให้ผลผลิต แต่ในสวนปาล์มน้ำมัน 1 แปลง อาจพบบางต้นที่มีลักษณะดีเด่นแตกต่างจากต้นอื่นทั้งลักษณะทรงต้นหรือผลผลิต ซึ่งเกษตรกรอาจต้องการขยายพันธุ์ต้นนั้นแต่ไม่สามารถเก็บเมล็ดไปขยายพันธุ์ได้ จึงจำเป็นต้องนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาช่วยในการขยายพันธุ์ เพื่อให้ได้ต้นพันธุ์ที่มีลักษณะเหมือนต้นเดิม

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นเทคนิคการชักนำพืชต้นใหม่จากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนพืชขนาดเล็กในสภาพปลอดเชื้อ และเมื่อได้สูตรอาหารและสภาพที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงแล้วจะสามารถเพิ่มปริมาณได้เป็นจำนวนมากในเวลาอันสั้น ทำให้ได้ต้นกล้าที่มีความสม่ำเสมอสูง ดังนั้นเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จึงเป็นแนวทางที่สามารถเพิ่มการผลิตพันธุ์ปาล์มน้ำมันลูกผสมกลับและต้นปาล์มน้ำมันลูกผสมที่มีศักยภาพสูงในการให้ผลผลิตได้ในเชิงปริมาณเพื่อการขยายพันธุ์ ปัจจุบันนี้ในบางประเทศที่เป็นแหล่งผลิตพันธุ์ปาล์มน้ำมันของโลกประสบความสำเร็จในการผลิตพันธุ์ปาล์มน้ำมันโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สำหรับประเทศไทยมีรายงานการศึกษาเรื่องนี้เช่นกัน และต้องพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันนี้ต่อไป ทั้งนี้เพื่อให้ได้เทคนิคที่แน่นอน และสามารถใช้ในการผลิตพันธุ์และขยายพันธุ์กล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ดีออกมาเป็นการค้าได้ รวมทั้งใช้ในการวิจัยปรับปรุงพันธุ์เพื่อพัฒนาปาล์มน้ำมันต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> การชักนำแคลลัส

กรมวิชาการเกษตร

- **สิ่งที่ใช้ในการทดลอง**

1. ชิ้นส่วนใบอ่อนปาล์มน้ำมันลูกผสมที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูง
2. สารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) (1962), น้ำตาลซูโครส
3. สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มออกซิน
4. สารเคมีสำหรับใช้ฆ่าเชื้อ
5. อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น คีมคีบ (forcept), มีดผ่าตัด, จานเพาะเลี้ยง (Petri dish), ขวดเพาะเลี้ยง
6. ตู้อบแห้ง หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ และตู้เย็น เครื่องชั่ง 2 และ 4 ตำแหน่ง เครื่องวัด pH

- **แบบและวิธีการทดลอง**

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วยสูตรอาหารที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนจำนวน 8 กรรมวิธีๆ ละ 10 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สูตร MS ร่วมกับ Picloram ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 2 สูตร MS ร่วมกับ Picloram ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 3 สูตร MS ร่วมกับ Picloram ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 4 สูตร N6 ร่วมกับ Dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 5 สูตร N6 ร่วมกับ Dicamba ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 6 สูตร N6 ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 7 สูตร N6 ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 8 สูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต

ดำเนินการเปลี่ยนสูตรอาหาร ดังนี้

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วยสูตรอาหารที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนจำนวน 24 กรรมวิธีๆ ละ 10 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1-6 สูตร MS ร่วมกับ Picloram ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 7-12 สูตร MS ร่วมกับ Dicamba ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 13-18 สูตร N6 ร่วมกับ Picloram ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 19-24 สูตร N6 ร่วมกับ Dicamba ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

- **วิธีปฏิบัติการทดลอง**

คัดเลือกต้นปาล์มน้ำมันลูกผสมที่มีศักยภาพการให้ผลผลิตสูงแล้วนำใบอ่อนมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อจำนวน 3 ครั้ง แล้วตัดใบอ่อนปาล์มน้ำมันให้มีขนาด 5x5 มิลลิเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ ตามกรรมวิธีที่กำหนดร่วมกับการเติมกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ Gelrite 0.3 เปอร์เซ็นต์ pH 5.7 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28±0.5 องศาเซลเซียส

- **การบันทึกข้อมูล** บันทึกระยะเวลาการเกิดแคลลัส ชนิดและน้ำหนักแคลลัส

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> การชักนำการเกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส

กรมวิชาการเกษตร

- **สิ่งที่ใช้ในการทดลอง**

1. แคลลัสที่ได้จากขั้นตอนที่ 1

2. สารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) (1962), น้ำตาลซูโครส

3. สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชกลุ่มออกซิน

4. อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น คีมคีบ (forcept), มีดผ่าตัด, จานเพาะเลี้ยง (Petri dish), ขวดเพาะเลี้ยง

5. ตู้อบแห้ง หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ และตู้เย็น เครื่องชั่ง 2 และ 4 ตำแหน่ง เครื่องวัด pH

- **แบบและวิธีการทดลอง**

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วยสูตรอาหารที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงจำนวน 9 กรรมวิธีๆ ละ 10 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สูตร MS ร่วมกับ Dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 2 สูตร MS ร่วมกับ Dicamba ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 สูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 สูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 5 สูตร N6 ร่วมกับ Dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 6 สูตร N6 ร่วมกับ Dicamba ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 7 สูตร N6 ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 8 สูตร N6 ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 9 สูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต

- **วิธีปฏิบัติการทดลอง**

นำชิ้นส่วนแคลลัสปาล์มน้ำมันที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 ในแต่ละพันธุ์มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ ตามกรรมวิธีที่กำหนด ร่วมกับการเติมกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ Gelrite 0.3 เปอร์เซ็นต์ pH 5.7 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28±0.5 องศาเซลเซียส

- การบันทึกข้อมูล บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา: เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2559 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2563

สถานที่: ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การชักนำแคลลัส

ครั้งที่ 1 ทำการตัดยอดเพื่อนำชิ้นส่วนใบอ่อนปาล์มน้ำมันที่อยู่เหนือส่วนตายอดประมาณ 10 นิ้ว มาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Picloram ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตร N6 ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Dicamba และ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 0 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำการเกิดแคลลัส พบว่า ชิ้นส่วนใบอ่อนของปาล์มน้ำมันที่เพาะเลี้ยงไม่พบการเกิดแคลลัส โดยในอาหารเกือบทุกสูตรพบชิ้นส่วนใบอ่อนจะมีลักษณะเปลี่ยนแปลงในลักษณะใบจะม้วนงอและค่อยๆเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจนกระทั่งเปลี่ยนเป็นสีดำ ยกเว้นในสูตรอาหาร N6 ที่เติม Dicamba เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบชิ้นส่วนใบอ่อนเพียง 3 ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส

กองวิชาการและแผนงาน

ลักษณะเกาะตัวกันแน่นและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน ส่วนในสูตรอาหารอื่นๆ พบชิ้นส่วนใบอ่อนมีลักษณะเป็นสีดำบริเวณรอยตัดส่วนแผ่นใบยังคงมีสีขาวปนน้ำตาลเล็กน้อย (ภาพที่ 1) และหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 เดือน ไม่พบพัฒนาการของแคลลัสและชิ้นส่วนใบ จึงดำเนินการปรับเปลี่ยนสูตรอาหาร และเริ่มทำการศึกษาใหม่

(a)

(b)

ภาพที่ 1 (a) ลักษณะการเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนปาล์มน้ำมันในสูตรอาหาร N6 ที่เติม Dicamba เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (b) ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนใบอ่อนที่เพาะเลี้ยงแต่ไม่เกิดแคลลัส

ครั้งที่ 2 ดำเนินการเตรียมสูตรอาหาร MS และ N6 ที่เติมสารควบคุมการาเจริญเติบโต Picloram และ Dicamba ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำการตัดยอดเพื่อนำชิ้นส่วนใบอ่อนที่อยู่เหนือส่วนตายอดประมาณ 10 นิ้วมาเพาะเลี้ยงในที่มืด เพื่อชักนำการเกิดแคลลัส พบว่า ชิ้นส่วนใบอ่อนเริ่มเกิดแคลลัสหลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 เดือน โดยสูตรอาหารที่พบการเกิดแคลลัสเร็วที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Dicamba ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน พบว่า ชิ้นส่วนใบอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุด ในสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Dicamba ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 59.2 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ สูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Dicamba ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 58.0 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1) แต่ทั้ง 2 สูตรสามารถชักนำเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมีความแตกต่างทางสถิติกับอีก 22 สูตรอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยจะเกิดแคลลัสบริเวณขอบใบที่ม้วนงอ โดยลักษณะแคลลัสเกิดเป็นตุ่มขาวขุ่น มีลักษณะฉ่ำน้ำ (ภาพที่ 2) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของภุมรินทร์ และคณะ (2560) การชักนำแคลลัสจากใบอ่อนในสภาพที่มืดจะทำให้เกิดแคลลัสได้จากสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ระยะเวลา 2.5 เดือน และสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Picloram ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ระยะเวลา 6 เดือน ทำให้เกิดแคลลัสที่มีลักษณะกลมมีสีน้ำตาลอ่อนเกิดขึ้นที่บริเวณขอบใบ และอาสลัน และคณะ (2545) ได้รายงานว่า สามารถชักนำแคลลัสเริ่มแรกได้จากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนปาล์มน้ำมันบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28±0.5 องศาเซลเซียส และพบว่าใบอ่อนที่ได้จากต้นพันธุ์ที่อายุมาก (10 และ 20 ปี) ส่งผลให้การสร้างแคลลัสเกิดขึ้นลดลงและใช้เวลาในการชักนำแคลลัสยาวนานกว่าต้นพันธุ์ที่มีอายุน้อย (1ปี) และรายงาน

กรมวิชาการเกษตร

ว่าชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสปาล์มน้ำมัน คือ Dicamba เข้มข้น 1.0-5.0 มิลลิกรัม/ลิตร (ชักนำแคลลัสได้เฉลี่ย 9.11 เปอร์เซ็นต์)

สำหรับในสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Picloram พบว่า ชิ้นส่วนใบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสในสูตรอาหารที่มีระดับความเข้มข้นที่ 0.1 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 33.3 16.6 และ 20.8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่ำกว่าการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Dicamba ส่วนในสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Dicamba ระดับความเข้มข้น 0.1 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Picloram ที่มีระดับความเข้มข้น 1.5-2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะพบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่ำและไม่พบการเกิดแคลลัส อาจเนื่องมาจากชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างชนิดกันการตอบสนองต่อความเข้มข้นก็ต่างกันด้วย และสูตรอาหาร N6 ส่วนใหญ่ไม่พบเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสและพบต่ำมาก อาจเนื่องมาจากชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงแต่ละชนิดตอบสนองต่อสูตรอาหารต่างกัน โดยมีรายงานว่า ปาล์มน้ำมันสามารถพัฒนาให้แคลลัสได้ทุกชิ้นส่วนพืช โดยลักษณะทางจีโนไทด์ของชิ้นส่วนพืชมีผลต่อการสร้างแคลลัสแตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ ดังนั้นการพัฒนาจึงมีความแตกต่างกันไปในแต่ละชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยง เช่น การเพาะเลี้ยงใบอ่อนปาล์มน้ำมันลูกผสมที่ได้จากต้นแม่เดลี่ ดูรา (Deli dura) ผสมกับต้นพ่อลาเม (La me) สามารถสร้างแคลลัสได้ 31 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ต้นแม่เดลี่ ดูรา (Deli dura) ผสมกับต้นพ่อนิฟอร์ (Nifor) และ ต้นแม่เดลี่ ดูรา (Deli dura) ผสมกับต้นพ่อยังแกมบิ (Yangambi) แคลลัสมีการพัฒนา 7 และ 9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Rival *et al*.,1997) เตือนจิตร และคณะ (2558) สามารถชักนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอปาล์มน้ำมันลูกผสมข้ามสปีชีส์ได้ในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Picloram ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแคลลัสมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด 0.48 0.44 และ 0.42 กรัม

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนปาล์มน้ำมันในอาหารสูตร MS และ N6 ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Picloram และ dicamba ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 1.5 2.0 and 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

Media	callus (%)	Media	callus (%)
1. MS + Picloram 0.1 mg/l	33.3bc	13. N6 + Picloram 0.1 mg/l	0.0f
2. MS + Picloram 0.5 mg/l	16.9de	14. N6 + Picloram 0.5 mg/l	20.6de
3. MS + Picloram 1.0 mg/l	20.3de	15. N6 + Picloram 1.0 mg/l	4.1f
4. MS + Picloram 1.5 mg/l	0.0f	16. N6 + Picloram 1.5 mg/l	0.0f
5. MS + Picloram 2.0 mg/l	0.0f	17. N6 + Picloram 2.0 mg/l	4.1f
6. MS + Picloram 2.5 mg/l	4.1f	18. N6 + Picloram 2.5 mg/l	0.0f
7. MS + Dicamba 0.1 mg/l	0.0f	19. N6 + Dicamba 0.1 mg/l	8.9ef
8. MS + Dicamba 0.5 mg/l	24.9cd	20. N6 + Dicamba 0.5 mg/l	0.0f
9. MS + Dicamba 1.0 mg/l	58.6a	21. N6 + Dicamba 1.0 mg/l	0.0f
10. MS + Dicamba 1.5 mg/l	37.6b	22. N6 + Dicamba 1.5 mg/l	0.of
11. MS + Dicamba 2.0 mg/l	59.3a	23. N6 + Dicamba 2.0 mg/l	0.0f
12. MS + Dicamba 2.5 mg/l	0.0f	24. N6 + Dicamba 2.5 mg/l	0.0f

กรมวิชาการเกษตร

Media	callus (%)	Media	callus (%)
C.V. (%)			113.8

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 2 ลักษณะการเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนปาล์มน้ำมันในอาหารสูตร MS และ N6 ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Picloram และ dicamba

ดำเนินการย้ายชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัสลงในอาหารสูตรเดิมและบันทึกลักษณะการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสเพื่อเพิ่มปริมาณแคลลัสให้เพียงพอต่อการชักนำเอ็มบริโอจีนีซิส พบว่า ลักษณะแคลลัสมีการเพิ่มขนาดใหญ่ขึ้นในสูตรอาหาร MS ที่เติม Dicamba ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่แคลลัสส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นเส้นสีเหลืองน้ำตาลอ่อน ฉ่ำน้ำ เกาะกันแน่น และในสูตรอาหาร MS ที่เติม Dicamba ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสบางส่วนมีการขยายขนาดกลาง มีสีเหลืองน้ำตาลฉ่ำน้ำ ลักษณะเกาะกันแน่นและในสูตรอาหาร MS ที่เติม Dicamba ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสส่วนใหญ่มีการขยายขนาดเล็กน้อย มีสีเหลืองน้ำตาลฉ่ำน้ำ ลักษณะเกาะกันแน่น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ กษิดิศ และคณะ (2556) และชยานิจ และคณะ (2552) ได้รายงานว่า ลักษณะของแคลลัสที่พบจากการเพาะเลี้ยงคัพภะอ่อนปาล์มน้ำมันส่วนใหญ่จะมีลักษณะเป็นก้อนแข็งสีเหลืองอ่อน เกาะตัวกันแน่น เรียกว่า compact callus และ Te-chato และคณะ (1998) และ Teixeira และคณะ (1993) รายงานว่า คัพภะอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุดและใช้เวลาในการเกิดแคลลัสน้อยที่สุด 4 เดือน และให้แคลลัสที่เกาะตัวกันแน่น เนื่องจากเป็นเนื้อเยื่อที่อยู่ในระยะ juvenile stage ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีอายุน้อยสามารถตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตได้ดี ส่วนในสูตรอาหาร N6 แคลลัสไม่มีการพัฒนาเพิ่มเติม (ตารางที่ 2 และภาพที่ 3)

กรมวิทยาศาสตร์

ตารางที่ 2 ลักษณะการพัฒนาแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนปาล์มน้ำมันในอาหารสูตร MS และ N6 ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Picloram และ dicamba ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรอาหาร	ลักษณะการพัฒนาของแคลลัส
1. MS + Picloram 0.1 mg/l	แคลลัสไม่ค่อยพัฒนา มีสีขาวเหลือง ฉ่ำน้ำและพัฒนาเป็นเส้น ลักษณะเกาะกันแน่น
2. MS + Picloram 0.5 mg/l	แคลลัสไม่ค่อยพัฒนา มีสีขาวเหลือง ฉ่ำน้ำและพัฒนาเป็นเส้น ลักษณะเกาะกันแน่น
3. MS + Picloram 1.0 mg/l	แคลลัสไม่พัฒนา
4. MS + Picloram 1.5 mg/l	ไม่เกิดแคลลัส
5. MS + Picloram 2.0 mg/l	ไม่เกิดแคลลัส
6. MS + Picloram 2.5 mg/l	แคลลัสไม่พัฒนา
7. MS + Dicamba 0.1 mg/l	ไม่เกิดแคลลัส
8. MS + Dicamba 0.5 mg/l	แคลลัสมีการเพิ่มปริมาณหรือขนาดเล็กน้อยแต่มีสีเหลือง น้ำตาล ฉ่ำน้ำ ลักษณะเกาะกันแน่น
9. MS + Dicamba 1.0 mg/l	แคลลัสมีการเพิ่มปริมาณเล็กน้อย มีสีขาว ฉ่ำน้ำ ลักษณะเกาะกันแน่น
10.MS + Dicamba 1.5 mg/l	แคลลัสไม่ค่อยพัฒนา มีสีขาวเหลือง ฉ่ำน้ำและพัฒนาเป็นเส้น ลักษณะเกาะกันแน่น
11.MS + Dicamba 2.0 mg/l	แคลลัสมีการเพิ่มปริมาณหรือขนาดค่อนข้างใหญ่ มีสีเหลืองน้ำตาลฉ่ำน้ำ ลักษณะเกาะกันแน่นและบางชิ้นเกิดเป็นเส้น
12.MS + Dicamba 2.5 mg/l	แคลลัสมีการเพิ่มปริมาณหรือขนาดกลาง มีสีเหลืองน้ำตาลฉ่ำน้ำ ลักษณะเกาะกันแน่น
13.N6 + Picloram 0.1 mg/l	ไม่เกิดแคลลัส
14.N6 + Picloram 0.5 mg/l	แคลลัสไม่พัฒนาเพิ่ม
15.N6 + Picloram 1.0 mg/l	แคลลัสไม่พัฒนาเพิ่ม
16.N6 + Picloram 1.5 mg/l	ไม่เกิดแคลลัส
17.N6 + Picloram 2.0 mg/l	แคลลัสไม่พัฒนาเพิ่ม
18.N6 + Picloram 2.5 mg/l	ไม่เกิดแคลลัส
19.N6 + Dicamba 0.1 mg/l	แคลลัสไม่พัฒนาเพิ่ม
20.N6 + Dicamba 0.5 mg/l	ไม่เกิดแคลลัส
21.N6 + Dicamba 1.0 mg/l	ไม่เกิดแคลลัส
22.N6 + Dicamba 1.5 mg/l	ไม่เกิดแคลลัส
23.N6 + Dicamba 2.0 mg/l	ไม่เกิดแคลลัส
24.N6 + Dicamba 2.5 mg/l	ไม่เกิดแคลลัส

ภาพที่ 3 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนแคลลัสในอาหารสูตร MS ที่เติม Dicamba เข้มข้น 2.0 2.5 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. การชักนำการเกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส

กรมวิชาการเกษตร

จากการนำแคลลัสในข้อ 1 มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ N6 ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Dicamba และ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เพื่อชักนำการเกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส หลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่า ยังไม่พบการเกิดของเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส ซึ่งได้ขยายระยะเวลาการดำเนินงานในปีงบประมาณ 2565 เพื่อศึกษาเพิ่มเติม โดยมีการรายงานของภุมรินทร์และคณะ (2558) ได้รายงานว่า การพัฒนาเป็น embyogenic callus ของปาล์มน้ำมันโดยการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน ควรใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิดการพัฒนาของแคลลัสปาล์มน้ำมันให้เกิดเป็น embryogenic callus ที่มีลักษณะเป็น friable callus ที่สามารถพัฒนาต่อไปได้ และเตือนจิตร และคณะ (2558) ได้รายงานว่า แคลลัสที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงคัพภะอ่อนของปาล์มน้ำมันลูกผสมข้ามสปีชีส์มีแนวโน้มพัฒนาเป็นเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสได้ดีบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ dicamba ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็น 35 และ 26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน ทั้งนี้การพัฒนาเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสมีการตอบสนองต่อชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน อาจขึ้นอยู่กับชนิดหรือพันธุ์ปาล์มน้ำมัน ชนิดของชิ้นส่วนที่นำมาชักนำให้เกิดแคลลัส รวมทั้งอายุของแคลลัสด้วย

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูง จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนปาล์มน้ำมัน สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร MS ได้ดีกว่าสูตร N6 และการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต Dicamba สามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้ดีกว่า Picloram โดยสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Dicamba ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบอ่อนปาล์มน้ำมันดีที่สุด คิดเป็น 59.2 และ 58.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การชักนำการเกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสโดยการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบอ่อนปาล์มน้ำมันในอาหารสูตร MS และ N6 ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Dicamba และ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 เดือน ยังไม่พบการเกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เป็นข้อมูลเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเบื้องต้นที่สามารถนำไปพัฒนาต่อในการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันต่อไป

11. **เอกสารอ้างอิง**

กษิดิศ ดิษฐบรรจง ชยานิจ ดิษฐบรรจง สุรกิตติ ศรีกุล อรรัตน์ วงศ์ศรี และ ภุมรินทร์ วนิชชนานันท์. 2556. การเกิด somatic embryogenesis และ organogenesis ในปาล์มน้ำมันพิสิเฟอรา. การจัดประชุมสัมมนาวิชาการปาล์มน้ำมันประจำปี 2555 วันที่ 12-13 มีนาคม 2556 ณ. โกลเด้น ไพน์ บีช รีสอร์ท ปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์.

กรมวิชาการเกษตร

ชยานิจ ดิษฐบรรจง กษิดิศ ดิษฐบรรจง ภุมรินทร์ วณิชชนานันท์ อรรัตน์ วงศ์ศรี และ อรุณี ใจเถิง. 2552. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน *ใน* เรื่องเต็มการประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 : สาขาพืช วันที่ 17-20 มีนาคม 2552 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 641 หน้า

เตือนจิตร เพ็ชรรุณ อรรัตน์ วงศ์ศรี สุวิมล กลศึก กษิดิศ ดิษฐบรรจง ภุมรินทร์ วณิชชนานันท์ และชยานิจ ดิษฐบรรจง. 2558. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมันลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามสปีชีส์ (*Elaeis guineensis* X *E. oleifera*). รายงานผลงานวิจัยปี 2553-2558. ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี. 632 หน้า,

ภุมรินทร์ วณิชชนานันท์ ชยานิจ ดิษฐบรรจง กษิดิศ ดิษฐบรรจง เตือนจิตร เพ็ชรรุณ และอรรัตน์ วงศ์ศรี. 2558. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินต่อการชักนำการเกิดและการพัฒนาแคลลัสปาล์มน้ำมันด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. รายงานผลงานวิจัยปี 2553-2558. ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันสุราษฎร์ธานี. 632 หน้า,

ภุมรินทร์ วณิชชนานันท์, เตือนจิตร เพ็ชรรุณ และ นัยเนตร ทานากะ เจริญสันติ. 2560. การศึกษาเทคนิคและปัจจัยเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน *ใน* รายงานโครงการวิจัยการขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 59-84.

อาสลัน หิเล. 2545. การเพาะเลี้ยงใบอ่อนของต้นปาล์มน้ำมันที่ให้ผลผลิตดีเพื่อการขยายพันธุ์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาพืชศาสตร์. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.

Rival, A., Beule, T., Barre, P., Hamon, S., Duval, Y., and Noirot, M. (1997). Comparative flow cytometric estimation of nuclear DNA content in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) tissue cultures and seed-derived plants. *Plant Cell Rep.* 16, 884–887.

Te-chato, S. 1998. Callus induction from cultured zygotic embryo of oil palm subsequent to plantlet regeneration. Songklanakarin J. Sci. Tech. 20:1-6

Teixeira, J. B., Sondahi, M. R., Nakamura, T. and Kirby, E. G. 1994. Establishment of oil palm cell suspension culture and plant regeneration. Plant cell Tissue and Organ Culture. 45:159-164

กรมวิชาการเกษตร