รายงานโครงการวิจัย

ศึกษาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.)

Study of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) propagation technology

ศิริลักษณ์ อินทะวงศ์
Siriluck Inthawong

กรมวิชาการเกษตร

ปี พ.ศ. 2564

รายงานโครงการวิจัย

ศึกษาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.)

Study of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) propagation technology

ศิริลักษณ์ อินทะวงศ์
Siriluck Inthawong

กรมวิชาการเกษตร

ปี พ.ศ. 2564

คำปรารภ (Foreword หรือ Preface)

อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.) เป็นพืชที่ถูกนำมาปลูกในประเทศไทยมานานมากกว่า 10 ปีแล้ว โดยความนิยมในพืชชนิดนี้ก็มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นทุกปีๆ โดยเฉพาะชนิดรับประทานผลสด จึงทำให้พื้นที่การปลูกกระจายเพิ่มมากขึ้นในหลายจังหวัดของประเทศไทย อย่างไรก็ตาม การปลูกอินทผลัมชนิดรับประทานผลสดแม้ว่าจะประสบความสำเร็จในหลายพื้นที่แล้ว แต่ในประเทศไทยยังขาดองค์ความรู้ที่ครบวงจรในการปลูกพืชชนิดนี้อยู่หลายประเด็น ทั้งในด้านการพัฒนาสายพันธุ์ให้เหมาะสมกับการปลูกในประเทศไทย การจัดการธาตุอาหาร การจัดการโรคและแมลง การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว รวมไปถึงเทคโนโลยีการขยายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพ

โครงการศึกษาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์อินทผลัมนี้ เป็นโครงการที่เน้นการพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์ต้นอินทผลัมพันธุ์ดีโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและวิธีการเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัมให้เหมาะสมต่อการเก็บระยะยาว รวมถึงศึกษาวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายละอองเกสรของอินทผลัมพันธุ์ KL1 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ได้รับการพัฒนาโดยคุณศักดิ์ ลำจวน เกษตรกรผู้ปลูกอินทผลัมอำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ (สวนโกหลัก) โดยนำพันธุ์ Deglet Nour จากอิสราเอล และพันธุ์ Barhee จากจอร์แดนมาผสมกัน จากนั้นนำเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 ปลูกคัดเลือกต้นจนได้สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงมีแหล่งปลูกมากทางภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคอีสานในบางพื้นที่ ซึ่งความสำเร็จจากโครงการวิจัยนี้จะสามารถช่วยลดต้นทุนในการนำเข้าต้นพันธุ์ดีจากต่างประเทศที่มีราคาค่อนข้างสูง ช่วยสร้างองค์ความรู้ด้านการเก็บรักษาละอองเกสรและการเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายละอองเกสรอินทผลัมชนิดรับประทานผลสดได้ เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัยสู่สาธารณะและเกษตรกรผู้ปลูกอินทผลัมต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญ หน้า

กิตติกรรมประกาศ..... 1
ผู้วิจัย 2
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ 2
บทนำ..... 3
บทคัดย่อ..... 5
Abstracts..... 6
1. การขยายพันธุ์อินทผลัมพันธุ์ KL1 ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ somatic embryogenesis 7
2. การเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัม 24
3. ศึกษาระยะที่เหมาะสมของดอกเพศเมียต่อการถ่ายละอองเกสร 35
4. ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม 43
5. ผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม 51
บทสรุปและข้อเสนอแนะ..... 59
บรรณานุกรม..... 61

กรมวิชาการเกษตร

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่ได้สนับสนุนงบประมาณในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและห้องปฏิบัติการของกลุ่มธนาคารเชื้อพันธุ์พืช รวมถึงครุภัณฑ์ สารเคมี และอุปกรณ์ต่างๆ ในการทำงานวิจัย

ขอขอบพระคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์แปลงทดลองอินทผลัมและสิ่งอำนวยความสะดวกต่างๆ ตลอดการทำงานวิจัย

ขอขอบคุณทีมงานทุกท่านที่มีส่วนร่วมในการทำโครงการวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์

นางศิริลักษณ์ อินทะวงศ์
หัวหน้าโครงการวิจัย

กรมวิชาการเกษตร

ผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

นางศิริลักษณ์ อินทะวงศ์ ตำแหน่งนักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ

สังกัด ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1

ผู้ร่วมวิจัย

- นางสาวปาริฉัตร สังข์สะอาด ตำแหน่งนักวิชาการเกษตรชำนาญการ
  สังกัด กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
- นางประกาย อ่อนวิมล ตำแหน่งนักวิชาการเกษตรปฏิบัติการ
  สังกัด กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.) เป็นไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีแหล่งปลูกอยู่ในประเทศแถบตะวันออกกลาง และแอฟริกาเหนือ กำลังได้รับความนิยมจากเกษตรกรไทยอย่างมาก และมีความต้องการของตลาดสูง เนื่องจากผลมีรสชาติหวานอร่อย และมีประโยชน์ต่อสุขภาพเนื่องจากมีคุณสมบัติทางยา สำหรับในประเทศไทยมีการปลูกอินทผลัมหลากหลายสายพันธุ์ มีทั้งอินทผลัมประดับ บริโภคผลสดและผลแห้ง โดยพันธุ์ที่นิยมปลูกมากทางภาคเหนือ คือ พันธุ์ KL1 ซึ่งเป็นพันธุ์บริโภคผลสด ที่ได้รับการพัฒนาปรับปรุงสายพันธุ์ที่เหมาะสำหรับปลูกภายในประเทศสามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตดี

การขยายพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อ (Plant tissue culture) ในอินทผลัมทำได้จากชิ้นส่วน vegetative ด้วยวิธี somatic embryogenesis เป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพเนื่องจากต้นกล้าที่ได้จะมีลักษณะทางพันธุกรรม (genotype) และลักษณะที่แสดงออก (phenotype) ที่เหมือนต้นแม่ทุกประการ ได้จำนวนต้นกล้าปริมาณมากในระยะเวลาที่รวดเร็ว ได้ต้นกล้าที่ปลอดโรคและแมลง มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูง ต้นแข็งแรง ให้ผลผลิตดีกว่า นอกจากนี้ ยังสามารถลดต้นทุนการขนส่งได้เนื่องจากต้นกล้ามีขนาดเล็ก และน้ำหนักเบา เมื่อเทียบกับต้นกล้าที่ได้จากการแยกหน่อ

ละอองเรณู (pollen) ทำหน้าที่เป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ เมื่อดอกเจริญเต็มที่แล้วถุงละอองเรณูจะแตกออก ละอองเรณูก็จะปลิวออกมา เกสรตัวผู้ในพืชแต่ละชนิดมีจำนวนละอองเรณูมากน้อยไม่เท่ากัน และในช่วงของการถ่ายละอองเกสร หากมีปริมาณละอองเกสรเพศผู้มากกว่าปริมาณที่ต้องใช้ในการผสมเกสร ละอองเกสรที่เหลือสามารถเก็บรักษาไว้เพื่อนำไปใช้ในการผสมเกสรในครั้งถัดไป แต่หากเก็บรักษาละอองเกสรไว้ในสภาพที่ไม่เหมาะสมก็จะมีผลทำให้ความมีชีวิตของละอองเกสรและประสิทธิภาพในการผสมเกสรลดลง

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ

อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.) เป็นไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีแหล่งปลูกอยู่ในประเทศแถบตะวันออกกลาง และแอฟริกาเหนือ โดยมีผลผลิตรวมทั้งโลกเพิ่มขึ้นจาก 1,809,091 ตัน ในปี 1962 เป็น 6,924,975 ตัน ในปี 2005 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2006) ซึ่งประเทศที่ผลิตอินทผลัมได้เป็นปริมาณมากที่สุดคือ อิยิปต์ ผลิตได้ 1,170,000 ตันในปี 2005 (คิดเป็น 16.9% ของผลผลิตรวมทั้งโลก) และปัจจุบันนี้ก็ยังมีผลผลิตที่สูงเป็นอันดับหนึ่งอยู่ด้วยปริมาณการผลิตประมาณ 1 ล้านตัน (World atlast, 2015)

อินทผลัมเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่กำลังได้รับความนิยมจากเกษตรกรไทยอย่างมาก และมีความต้องการของตลาดสูง เนื่องจากผลมีรสชาติหวานอร่อย และมีประโยชน์ต่อสุขภาพเนื่องจากมีคุณสมบัติทางยา แต่การปลูกอินทผลัมในประเทศไทยให้ได้ผลผลิตดีและมีลักษณะตามที่ต้องการนั้นต้องใช้พันธุ์ที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ให้เหมาะสมกับสภาพภูมิอากาศและสภาพภูมิประเทศของไทย ซึ่งพันธุ์ที่เกษตรกรนำเข้ามาจากต่างประเทศส่วนมากไม่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในประเทศไทย บางครั้งให้ผลผลิตน้อยและไม่คงที่ อีกทั้งสภาพอากาศของประเทศไทยนั้นมีความชื้นสูงจึงไม่สามารถเก็บผลผลิตในรูปผลแห้งคาต้นได้ จึงต้องมีต้นทุนในการอบหรือต้องเก็บผลสด สำหรับในประเทศไทยมีการปลูกอินทผลัมหลากหลายสายพันธุ์ มีทั้งอินทผลัมประดับ บริโภคผลสดและผลแห้ง โดยพันธุ์ที่นิยมปลูกมากทางภาคเหนือ คือ พันธุ์ KL1 ซึ่งเป็นพันธุ์บริโภคผลสด ที่ได้รับการพัฒนาปรับปรุงสายพันธุ์ที่เหมาะสำหรับปลูกภายในประเทศสามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตดีและคงที่ได้แล้ว (จารุฉัตร และคณะ, 2558)

อินทผลัมเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวยืนต้น ที่ และยังมีข้อจำกัดในด้านของการขยายพันธุ์ เนื่องจาก 50% ของต้นกล้าที่ได้มาจากการเพาะเมล็ดนั้นจะเป็นต้นตัวผู้ และจะไม่สามารถแยกต้นตัวผู้และตัวเมียออกจากกันได้เลย จนกว่าจะออกดอกซึ่งต้องใช้ระยะเวลานานถึง 3 ปี นอกจากนี้ ต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดอาจเกิดการกลายพันธุ์ได้อีกด้วย ปัจจุบันการขยายพันธุ์จากต้นพ่อหรือแม่เพื่อรักษาคุณสมบัติทางพันธุกรรมทำได้แค่โดยการขยายพันธุ์จากหน่อที่เกิดจากข้างลำต้นพ่อหรือแม่พันธุ์ซึ่งมีจำนวนจำกัดมาก คือ 3-4 หน่อต่อต้น และตลอดอายุของอินทผลัมมีประมาณ 10-15 หน่อต่อต้นเท่านั้น หน่อข้างลำต้นนี้เกิดจากตาข้างลำต้นซึ่งเจริญเติบโตมาจากต้นในระยะที่ต้นยังอ่อนอยู่ โดยปกติแล้วหน่อข้างลำต้นจะติดอยู่กับต้นพ่อหรือแม่จนกระทั่งระบบรากมีการพัฒนาจึงจะแยกนำลงปลูกได้ จากปัญหาดังกล่าวทำให้ต้นกล้าอินทผลัมที่เป็นต้นตัวเมียนั้นมีราคาสูง โดยเฉพาะต้นตัวเมียที่มีลักษณะดี (Eke *et al*., 2005) การขยายพันธุ์อินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อจากชิ้นส่วน vegetative ด้วยวิธี somatic embryogenesis เป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพเนื่องจากต้นกล้าที่ได้จะมีลักษณะทางพันธุกรรม (genotype) และลักษณะที่แสดงออก (phenotype) ที่เหมือนต้นแม่ทุกประการ ได้จำนวนต้นกล้าปริมาณมากในระยะเวลาที่รวดเร็ว ได้ต้นกล้าที่ปลอดโรคและแมลง มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูง ต้นแข็งแรง ให้ผลผลิตดีกว่า นอกจากนี้ ยังสามารถลดต้นทุนการขนส่งได้เนื่องจากต้นกล้ามีขนาดเล็ก และน้ำหนักเบา เมื่อเทียบกับต้นกล้าที่ได้จากการแยกหน่อ (Botes and Zaid, 2002)

อินทผลัมมีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียแยกต้นกัน (dioecious plant) จึงเป็นพืชผสมข้ามอย่างสมบูรณ์ (Bacha *et al*., 2000) จึงมีโอกาสที่จะติดผลผลิตน้อย ดังนั้น การเพิ่มผลผลิตของการปลูกอินทผลัมจำเป็นต้องมีการช่วยผสมเกสร โดยการถ่ายละอองเกสร (pollination) ลงบนช่อดอกตัวเมียโดยตรง (Djerouno *et al*., 2015) ดังนั้นเกษตรกรจึงต้องเก็บละอองเกสร (pollen) ไว้สำหรับผสมพันธุ์ แต่พบว่าการเก็บของเกษตรกรในปัจจุบันยังเก็บไว้ไม่ได้นาน ประมาณ 2-3 เดือนเท่านั้น และในช่วงของการถ่ายละอองเกสร หากมีปริมาณละอองเกสรเพศผู้มากกว่าปริมาณที่ต้องใช้ในการผสมเกสร ละอองเกสรที่เหลือสามารถเก็บรักษาไว้เพื่อนำไปใช้ในการผสมเกสรในครั้งถัดไป แต่หากเก็บรักษาละอองเกสรไว้ในสภาพที่ไม่เหมาะสมก็จะมีผลทำให้ความมีชีวิตของละอองเกสรและ

ประสิทธิภาพในการผสมเกสรลดลง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาที่เหมาะสมในการเก็บละอองเกสร โดยที่ยังคงมีความงอกสูง และสามารถนำเทคนิคดังกล่าวมาใช้เก็บรักษาละอองเกสรในธนาคารเชื้อพันธุ์ต่อไป

ในบางกรณีอาจพบปัญหาปริมาณละอองเกสรเพศผู้ไม่เพียงพอต่อการถ่ายละอองเกสร เนื่องจากมีจำนวนช่อดอกเพศเมียมาก การผสมละอองเกสรกับตัวนำต่าง ๆ เช่น แป้ง หรือ สารละลายน้ำตาลในอัตราส่วนที่เหมาะสม จะเป็นการลดความสิ้นเปลืองของการใช้ละอองเกสรในการผสมเกสรแต่ละครั้งได้ นอกจากนี้ ระยะที่เหมาะสมของช่อดอกเพศเมียหลังจากกาบช่อดอกแตก และช่วงเวลาในการถ่ายละอองเกสรก็มีความสำคัญ ซึ่งหากทราบระยะที่เหมาะสมที่สุดในการผสมเกสร เกษตรกรจะสามารถวางแผนการถ่ายละอองเกสรได้ อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งจะมีผลทำให้ได้ปริมาณและคุณภาพผลผลิตตามที่ต้องการ ดังนั้น วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยนี้ คือ เพื่อพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์ต้นอินทผลัมพันธุ์ดีโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและวิธีการเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัมให้เหมาะสมต่อการเก็บระยะยาว รวมถึงศึกษาวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายละอองเกสรของอินทผลัมพันธุ์ KL1

สำหรับการดำเนินการวิจัยแบ่งออกเป็น 2 กิจกรรม ได้แก่ 1. ศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์อินทผลัมและการเก็บรักษาละอองเกสรในสภาพปลอดเชื้อ โดยจะเป็นการศึกษาการขยายพันธุ์อินทผลัมพันธุ์ KL1 โดยผ่านวิธีการ somatic embryogenesis ซึ่งมีปัจจัยด้านสูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโตในความเข้มข้นต่างๆ และชิ้นส่วนที่ใช้ซึ่งเน้นไปที่การใช้ชิ้นส่วน vegetative ซึ่งจะทำให้รักษาลักษณะทางพันธุกรรมของต้นพันธุ์ดีไว้และขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมาก และยังมีการใช้ชิ้นส่วน zygotic embryo เพื่อศึกษาเรื่อง embryo rescue เพื่อประโยชน์ด้านการปรับปรุงพันธุ์ และการศึกษาวิธีการเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัมสายพันธุ์จากแหล่งปลูกต่างๆ โดยใช้วิธีการลดความชื้นและเทคนิค Freeze drying แล้วเก็บรักษาในอุณหภูมิระดับต่างๆ จากนั้นนำไปหาค่าเปอร์เซ็นต์ความงอก เปรียบเทียบกันเพื่อหาเทคนิคการเก็บรักษาที่เหมาะสมเพื่อให้เกษตรกรนำไปใช้ประโยชน์และสามารถเก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชได้ และ 2. การเพิ่มประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตของอินทผลัมพันธุ์ KL1 โดยจะดำเนินการศึกษาระยะที่เหมาะสมของดอกเพศเมีย และช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการถ่ายละอองเกสรเพื่อให้การผสมเกสรมีประสิทธิภาพมากที่สุด นอกจากนี้ ทำการศึกษาผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ได้แก่ แป้ง talc และสารละลายน้ำตาลซูโครส ซึ่งมีรายงานว่าสามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตอินทผลัมได้ เพื่อให้ได้วิธีการที่เหมาะสมและไม่สิ้นเปลืองละอองเกสร

กรมวิชาการเกษตร

ศึกษาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.)

ศิริลักษณ์ อินทะวงศ์[/1] ปาริฉัตร สังข์สะอาด[/2] ประกาย อ่อนวิมล[/2]

บทคัดย่อ

การศึกษาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์อินทผลัม ดำเนินการในปี 2562-2564 มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์ต้นอินทผลัมพันธุ์ดีโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและวิธีการเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัมให้เหมาะสมต่อการเก็บระยะยาว รวมถึงศึกษาวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายละอองเกสรของอินทผลัมพันธุ์ KL1 โดยสามารถสรุปได้ว่า อินทผลัมเป็นไม้ยืนต้นที่ใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเยื่อค่อนข้างนานเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่น โดยใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตั้งแต่ 8 – 24 สัปดาห์ในแต่ละขั้นตอนของการเพาะเลี้ยง การเก็บรักษาละอองเกสรดอกตัวผู้ของอินทผลัมในระยะยาวควรเก็บละอองเกสรในช่วงที่ช่อดอกตัวผู้บานเต็มที่แล้ว และเก็บจากต้นทันทีเพื่อป้องกันการสูญเสียปริมาณและคุณภาพของละอองเกสร ก่อนการเก็บรักษาควรมีสภาพความชื้นต่ำ สามารถใช้เทคนิคการลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้น และ Freeze dry โดยการเก็บรักษาละอองเกสรดอกตัวผู้ของอินทผลัมมีแนวโน้มที่จะเก็บได้ระยะเวลาที่ยาวนานขึ้นเมื่อเก็บรักษาในอุณหภูมิที่ต่ำ โดยสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 เดือน ส่วนที่อุณหภูมิ -20 และ -196 องศาเซลเซียส (ในไนโตรเจนเหลว) มีแนวโน้มเก็บรักษาได้มากกว่า 18 เดือน การศึกษาระยะที่เหมาะสมของดอกเพศเมีย ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสร และผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม เพื่อศึกษาวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายละอองเกสรของอินทผลัมพันธุ์ KL1 อายุ 8 ปี วางแผนการทดลองแบบ RCB บันทึกเปอร์เซ็นต์การติดผลหลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน ปีละ 1 ครั้ง พบว่า การเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายละอองเกสรเพื่อให้มีเปอร์เซ็นต์การติดผลมากกว่า 80% ทำได้โดยการถ่ายละอองเกสรด้วยมือบนช่อดอกเพศเมียในระยะที่กาบช่อดอกเริ่มแตกและหลังจากกาบช่อดอกแตก 2 วัน แต่ไม่ควรเกิน 4 วัน เนื่องจากทำให้เปอร์เซ็นต์การติดผลน้อยลง และหากมีจำนวนช่อดอกเพศเมียอยู่ในระยะที่เหมาะสมพร้อมกัน สามารถดำเนินการถ่ายละอองเกสรได้ทุกช่วงเวลาในวันดังกล่าว ในกรณีที่เกษตรกรมีละอองเกสรปริมาณจำกัด สามารถนำละอองเกสรปริมาณ 0.5 กรัม (ครึ่งหนึ่งของปริมาณการใช้ปกติ) มาผสมกับแป้ง Talc 0.5 กรัม หรือสารละลายซูโครส 20% ก่อนถ่ายละอองเกสรตามปกติ

คำสำคัญ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อินทผลัม หน่อข้าง ปลายยอด โซมาติก เอ็มบริโอจีนเนซีส

กรมวิชาการเกษตร

[/1] ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่
[/2] สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

Study of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Propagation Technology

Siriluck Inthawong[/1] Parichart Sangsa-ad[/2] Prakay Onwimol[/2]

Abstract

The study on propagation technology of date palm, carried out from 2019 to 2021, was aimed to develop propagation method of date palm cultivar KL1 through tissue culture, long-term pollen storage and efficiency of pollination. It could be concluded that it took relatively long to perform each step of tissue culture (8-24 weeks) for date palm compared to other perennial trees. For long-term storage, pollen needed to be collected immediately from a tree when the flower was fully open to prevent the loss of quantity and quality. The humidity of pollen had to be reduced prior to storage using humidity reducing chamber or freeze-drying technique. The pollen of date palm tended to live longer when being stored at low temperature. It could last for 12 months when being stored at temperature of 4 C°. When storing at temperature of -20 C° and -196 C° (in liquid nitrogen), it could last longer than 18 months. The study on appropriate stage of female flowers, pollination time, and the effects of using pollination agents on yield of date palm fruits was carried out. The objective was to examine techniques to enhance efficiency of pollination of 8-year-old date palm cultivar KL1. The experimental design of RCB was applied. The percentage of pollinated fruits after 3 months of pollination was recorded once a year. The technique to increase the percentage of pollinated fruits to reach more than 80 % was to pollinate by hands on female flowers at the period from the first opening of spathe until 2 days. This should not be longer than 4 days as percentage of pollinated fruits would go dramatically down. If inflorescences were at appropriate stage, pollination could be performed throughout the day. When the amount of pollen was limited, 0.5 g of pollen (half the amount normally used) could be mixed with 0.5 g of Talc or 20% sucrose solution before starting regular pollination process.

Keywords Tissue culture, Date palm (*Phoenix dactylifera* L.), Offshoots, Shoot tips, Somatic embryogenesis

กรมวิชาการเกษตร

[/1] ChiangMai Agricultural Research and Development Center

[/2] Biotechnology Research and Development Office

การขยายพันธุ์อินทผลัมพันธุ์ KL1 ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ somatic embryogenesis

Propagation of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L. cv. KL1) using somatic embryo tissue culture technique

ประกาย อ่อนวิมล ศิริลักษณ์ อินทะวงศ์ ภุมรินทร์ วณิชชนานันท์ และไพฑูรย์ บุปผาดา
Prakay Onwimol, Siriluck Inthawong, Phummarin Wanichananan, and Phaitun Bupphada

คำสำคัญ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อินทผลัม หน่อข้าง ปลายยอด โซมาติก เอ็มบริโอจีนเนซีส
Keywords Tissue culture, Date palm (*Phoenix dactylifera* L.), Offshoots, Shoot tips, Somatic embryogenesis

บทคัดย่อ

อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่กำลังได้รับความนิยมในประเภทไทย แต่ประสบปัญหาการขยายพันธุ์จากต้นพันธุ์ดีเนื่องจากหน่อพันธุ์จากต้นแม่มีจำนวนน้อยและต้นพันธุ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนำเข้ามีราคาสูง งานวิจัยนี้จึงศึกษาการขยายพันธุ์อินทผลัมพันธุ์ KL1 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับปลูกในประเทศไทยด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบ somatic embryogenesis โดยนำตัวอย่างปลายยอดที่ได้จากหน่อข้างอายุ 1-2 ปี จากต้นอินทผลัมเพศเมียมาการชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่าอาหารสูตรที่ทำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดคือสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 250 µM ร่วมกับ 2iP ความเข้มข้น 10 µM ซึ่งให้อัตราการเกิดแคลลัสที่ 62.5 % และน้ำหนักแคลลัสที่ 658 mg เลี้ยงนาน 32 สัปดาห์ในที่มืด จากนั้นนำ friable callus ที่ได้มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 15 µM ร่วมกับ 2iP ความเข้มข้น 15 µM นาน 12 สัปดาห์ เพื่อให้พัฒนาเป็น embryogenic callus เลี้ยงต่อในอาหารสูตร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ในสภาพมีแสง 55 µM/m^2/s 16 ชม./วัน เป็นเวลา 4-8 สัปดาห์ เพื่อให้ขยายตัวและเพิ่มปริมาณ นำไปเลี้ยงต่อในอาหารสูตรชักนำให้เกิด somatic embryo พบว่าอาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 1 µM ร่วมกับ ABA ความเข้มข้น 4 µM เลี้ยงนาน 24 สัปดาห์ ให้ผลการชักนำ somatic embryo ดีที่สุดโดยเกิด somatic embryo จำนวน 5.1 somatic embryos ต่อขวดและอัตราการเกิด somatic embryo อยู่ที่ 40 % และนำยอด somatic embryo ที่ได้นำไปพัฒนาต่อให้เป็นยอดที่สมบูรณ์ โดยนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NAA ความเข้มข้น 1 µM ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 7.282 µM หลังจากนำไปเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 สัปดาห์ ซึ่งให้อัตราการเกิดยอดที่สมบูรณ์ 100 % หลังจากนั้นในขั้นตอนสุดท้ายจึงนำไปชักนำให้เกิดราก สำหรับสูตรอาหารที่นำไปเพาะเลี้ยงให้เกิดรากได้ดีที่สุดคือ สูตรอาหาร BA ความเข้มข้น 7.282 µM ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 26.851 µM ให้อัตราการเกิดรากที่สมบูรณ์อยู่ที่ 80 % หลังจากนำไปเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

ACCEPTED MANUSCRIPT

Abstracts

Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) is a fruit crop that is gaining popularity among Thai farmers. However, there are problems in propagating this plant in Thailand such as a shortage of offshoots since one tree can only produce a few offshoots and imported tissue-cultured plantlets are expensive. Therefore, this study was carried out to propagate date palm cv. KL1, a suitable cultivar for Thailand's climate, using somatic embryogenesis technique. Shoot tips were removed from 1 to 2-year-old offshoots of mature female date palm (cv. KL1) and placed on culture media for callus induction. The statistically highest callus weight (658 mg) with the highest callus formation rate (62.5 %) was found on MS medium supplemented with 250 µM 2,4-D and 10 µM 2iP after being cultured for 32 weeks in complete darkness. The derived friable callus was placed onto MS medium with 15 µM NAA and 15 µM 2iP for 12 weeks to become embryogenic callus. The embryogenic callus was placed on plain MS medium without PGR supplementation exposed to 55 µM/m^2/s of light at 16 h/day for 4-8 weeks to multiply. The embryogenic callus was then placed on somatic embryogenesis media for 24 weeks. The highest number of somatic embryos (5.1 per bottle) with the highest somatic embryo formation rate (40 %) were found on MS medium supplemented with 1 µM NAA and 4 µM ABA. The somatic embryos had been regenerated to complete shoot on the MS medium supplemented with 1 µM NAA and 7.282 µM BA for 24 weeks. This medium provided 100% complete shoot, after that, root would be induced for the final step. The best for root induction was the MS medium supplemented with 25.851 µM NAA and 7.282 µM BA for 12 weeks that stipulated 80% complete root.

กรมวิทยาศาสตร์

บทนำ (Introduction)

อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.) เป็นไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง มีแหล่งปลูกอยู่ในแถบตะวันออกกลางและแอฟริกาเหนือ (Al-Khayri and Al-Bahrany, 2001) ซึ่งกำลังได้รับความนิยมจากเกษตรกรไทยอย่างมากและมีความต้องการของตลาดสูง ในประเทศไทยหนึ่งในพันธุ์ที่นิยมปลูกมากคือ พันธุ์ KL1 ปลูกมากทางภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคอีสานในบางพื้นที่ (จารุฉัตร และคณะ, 2558) อินทผลัมเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวยืนต้น มีข้อจำกัดในการขยายพันธุ์ เนื่องจาก 50% ของต้นกล้าที่ได้มาจากการเพาะเมล็ดจะเป็นต้นตัวผู้ ไม่สามารถแยกต้นตัวผู้และตัวเมียออกจากกันได้จนกว่าจะออกดอกซึ่งต้องใช้ระยะเวลานานถึง 3 ปี นอกจากนี้ต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดอาจเกิดการกลายพันธุ์ได้ ปัจจุบันการขยายพันธุ์จากต้นพ่อหรือแม่เพื่อรักษาคุณสมบัติทางพันธุกรรมทำได้แค่โดยการขยายพันธุ์จากหน่อที่เกิดจากข้างลำต้นพ่อหรือแม่พันธุ์ซึ่งมีจำนวนจำกัดมาก คือ 3-4 หน่อต่อต้น จากปัญหาดังกล่าวทำให้ต้นกล้าอินทผลัมที่เป็นต้นตัวเมียที่มีลักษณะดีมีราคาสูง (Eke *et al*., 2005) รวมถึงต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนำเข้าก็มีราคาสูงเช่นกัน การขยายพันธุ์อินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อด้วยวิธี somatic embryogenesis เป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพเนื่องจากต้นกล้าที่ได้จะมีลักษณะที่เหมือนต้นแม่ทุกประการ ได้จำนวนต้นกล้าปริมาณมากในระยะเวลาที่รวดเร็ว ได้ต้นกล้าที่ปลอดโรคและแมลง มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูง นอกจากนี้ ยังสามารถลดต้นทุนการขนส่งได้เนื่องจากต้นกล้ามีขนาดเล็ก และน้ำหนักเบา เมื่อเทียบกับต้นกล้าที่ได้จากการแยกหน่อ (Botes and Zaid, 2002)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยวิธี somatic embryogenesis จะต้องมีการนำชิ้นส่วนพืชมาชักนำให้เกิดแคลลัส จากนั้นนำไปเลี้ยงต่อในอาหารสูตรอื่นเพื่อพัฒนาเป็น somatic embryo และเป็นต้นที่สมบูรณ์ (Johnson, 2011) มีการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ประสบผลสำเร็จแล้วเช่น Veramendi and Navarro (1996) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมโดยใช้ปลายยอด และตาข้าง เลี้ยงในอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ความเข้มข้น 453 µM, 2-isopentenyladenine (2iP) ความเข้มข้น 14.8 µM ใช้เวลา 8 เดือนในการชักนำแคลลัส นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอื่นๆที่ชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนต่างๆของอินทผลัมได้สำเร็จโดยใช้อาหารสูตรเดียวกัน (Tisserat, 1983; Gabr and Tisserat, 1985; Eshraghi *et al.,* 2005; El-Din *et al.,* 2006; Al-Khateeb. 2008) และมีงานวิจัยที่ใช้อาหารสูตรคล้ายกันแต่ในความเข้มข้นต่ำกว่า เช่น Tisserat and Demason (1980) ใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 135.7 µM และ Gupta (2008) ใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 45.3 µM ร่วมกับ 2iP ความเข้มข้น 14.8 µM การศึกษาการชักนำให้เกิด somatic embryo จากแคลลัสที่ประสบผลสำเร็จนั้นใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตแตกต่างกันออกไป เช่น Eshraghi *et al.* (2005) ใช้ NAA ความเข้มข้น 53.7 µM ร่วมกับ 2iP ความเข้มข้น 147.6 µM, El-Din *et al.* (2006) ใช้ NAA ความเข้มข้น 0.537 µM ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.221 µM, Al-Khateeb (2008) ใช้ NAA ความเข้มข้น 53.7 µM ร่วมกับ 2iP ความเข้มข้น 29.5 µM, Gupta (2008) BA ความเข้มข้น 53.2 µM ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 6.8 µM, และ Aslam and Khan (2009) ใช้ BA ความเข้มข้น 8.8 µM ร่วมกับ Kinetin ความเข้มข้น 9.2 µM

กรมวิชาการเกษตร

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการขยายพันธุ์อินทผลัมพันธุ์ KL1 เพศเมียให้ได้ปริมาณมาก และใช้ในการขยายพันธุ์ต้นพ่อหรือแม่ที่มีลักษณะที่ดีเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ ศึกษาผลของสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส และการพัฒนา embryogenic callus ให้สามารถชักนำเป็น somatic embryo ด้วยวิธี somatic embryogenesis ให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์

การทบทวนวรรณกรรม

นับจากปี 1970 ได้มีความพยายามอย่างหนักจากนักวิจัยในการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมในห้องปฏิบัติการเพื่อขยายพันธุ์อินทผลัมให้ได้ปริมาณมากและใช้เวลาน้อย (Poulain et al., 1979; Tisserat, 1979; Tisserat and Demason, 1980; Drira, 1983; Drira and Benbadis, 1985) พบว่า ช่วงแรกๆ มีความสำเร็จเล็กน้อย (Reuveni et al., 1972) และต่อมาได้มีงานทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่สำเร็จจนสามารถได้ต้นกล้าโดยนักวิจัยหลายกลุ่มอย่างเช่น Reynolds and Murashige (1979) ซึ่งงานของพวกเขาถูกพัฒนาต่อยอดโดย Tisserat (1979, 1981) จนสำเร็จ

Tisserat (1979) ได้เริ่มทำการทดลองการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอินทผลัมและประสบผลสำเร็จจนสามารถผลิตต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ชิ้นส่วน ตาข้าง (lateral buds) ปลายยอด (shoot tips) เอ็มบริโอ และชิ้นส่วนของลำต้น (stem) และส่วนประกอบของใบที่เรียกว่า rachilla โดยเลี้ยงในอาหารสำเร็จดัดแปลง Murashige and Skoog (MS) ซึ่งประกอบไปด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชได้แก่ N-(Δ2-Isopentenyl)adenosine ความเข้มข้น 3 mg/l, α-naphthaleneacetic acid (NAA) หรือ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ความเข้มข้น 0.1 – 100 mg/l ผงถ่าน (activated charcoal) ความเข้มข้น 3 g/l (0.3% w/v) น้ำตาล sucrose ความเข้มข้น 30 g/l (3% w/v) และ Phytagar ความเข้มข้น 8 g/l (0.8% w/v) และยังพบว่าการเพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตออกซิน (auxins) มีความจำเป็นในการทำให้เกิดแคลลัส การเจริญเติบโตเป็นต้นพืชและการงอกของราก ต้นกล้าที่ได้นั้นได้มาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนพืชต่างๆดังกล่าวโดยใช้เวลา 3-4 เดือนในห้องปฏิบัติการ การตอบสนองของการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชจากพืชเพศผู้และเพศเมียระหว่างการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่มีความแตกต่างกัน การเติมผงถ่าน ปริมาณ 0.1-3 % ช่วยให้อัตราการรอดชีวิตและการพัฒนาเป็นอวัยวะ (organogenesis) เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้ชิ้นส่วนราก ก้านผล (fruit stalk) และ อับเรณู (Anther) เพื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่ประสบความสำเร็จ

Sharma et al. (1980) ได้นำชิ้นส่วนราก ก้านใบ (petioles) ปลายยอด (shoot tips) ผลอ่อน และเอ็มบริโอที่แกะมาจากเมล็ดแก่ของต้นอินทผลัมเพศเมียมาใช้เป็นแหล่งชิ้นส่วนพืชในการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อผลปรากฏว่า จากชิ้นส่วนทั้งหมด ก้านใบ และ mesocarp ที่ได้จากผลอ่อนได้พัฒนาไปเป็นแคลลัสซึ่งเลี้ยงในอาหาร S (Staritsky, 1970) and Y3 (Eeuwens, 1976) เอ็มบริโอที่ได้จากเมล็ดแก่ได้งอกและเจริญไปเป็นต้นอ่อนซึ่งเลี้ยงในอาหาร MS (Murashige และ Skoog, 1962) ซึ่งต้นอ่อนนี้ได้ถูกนำไปเลี้ยงต่อจนเกิดแคลลัสแต่การเจริญเติบโตของแคลลัสไม่อำนวยที่จะทำให้เกิดการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไปได้ ปัญหาหลักของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระยะยาวคือเนื้อเยื้อและอาหารกลายเป็นสีน้ำตาล ซึ่งการแก้ปัญหาคือการเติมผงถ่านในอาหารเหลวและการเติม cysteine ในอาหารแข็ง การทดลองนี้ยังไม่สามารถทำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์ที่พัฒนาจากแคลลัสได้

Tisserat (1981) ได้มีการทดลองและยืนยันว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในงานทดลองของ Tisserat (1979) ได้ประสบผลสำเร็จ ชิ้นส่วนและอาหารที่ใช้เลี้ยงได้ถูกพิสูจน์แล้วว่าใช้ได้จริง นอกจากนี้ต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังสามารถนำไปปลูกในดินผสม peat:vermiculite อัตราส่วน 1:1 เมื่อต้นกล้ามีความยาว 12 ซม. และมีรากที่ชัดเจน มีจำนวนใบ 2-3 ใบ นอกจากนี้ Tisserat และ Demason (1980) ก็ได้ทดสอบการ

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ชิ้นส่วน ตาข้าง (lateral buds) และพบว่ามีการเกิดแคลลัสจากการเลี้ยงในอาหาร MS ซึ่งประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 30 mg/l และเกิด embryogenesis ที่มีพัฒนาการเกือบจะไม่แตกต่างกับ zygotic embryo ที่ได้มาจากเมล็ดและนำมาเลี้ยงในอาหารเพื่อศึกษาเปรียบเทียบ ต่อมา Tisserat (1982) ได้ทำการวิจัยต่อยอดโดยการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมพันธุ์ Medjool โดยใช้ชิ้นส่วนตาข้างที่เริ่มมีใบ (leafy lateral buds) โดยเลี้ยง embryogenic callus ในอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตออกซินชนิดและความเข้มข้นต่างๆ พบว่าผลผลิตของต้นพืชจากการเลี้ยง embryogenic callus ในอาหารที่มีออกซินความเข้มข้น 0.1 mg/l ให้ผลดีที่สุด

Veramendi and Navarro (1996) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมโดยใช้ปลายยอด และตาข้างที่เริ่มมีใบ (leafy bud) ที่ตัดมาจากหน่อที่เกิดจากต้นเต็มวัยและเลี้ยงในอาหารซึ่งประกอบด้วยอาหาร MS, inorganic salts, 2,4-D ความเข้มข้น 453 μM (100 mg/l), 2-isopentenyladenine (2iP) ความเข้มข้น 14.8 μM (3 mg/l) และ activated charcoal ความเข้มข้น 3 g/l (0.3% w/v) ซึ่งใช้เวลา 8 เดือนในการพัฒนาไปเป็นแคลลัส จากนั้นแคลลัสได้ถูกเลี้ยงในอาหารแข็งและเหลว ประกอบด้วยอาหาร MS ความเข้มข้นครึ่งหนึ่ง inorganic salts, activated charcoal ความเข้มข้น 3 g/l (0.3% w/v) และน้ำตาล sucrose ในความเข้มข้นต่างๆกันเพื่อทดสอบหาปัจจัยและสภาพที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของ somatic embryogenesis สภาพที่เหมาะสมที่สุดต่อการพัฒนาของเอ็มบริโอ คือ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลวซึ่งเขย่าที่ความเร็ว 100 rpm เป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยไม่ใส่น้ำตาล sucrose และตามด้วยการเลี้ยงต่อไปโดยใส่น้ำตาล 3%

Al-Khayri (2001) ได้ทดลองเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมโดยการเติม biotin และ thiamine ในขั้นตอนการเกิดแคลลัสและ somatic embryogenesis ผลปรากฏว่าความเข้มข้นของ thiamine และ biotin มีผลต่อน้ำหนักของ embryogenic callus จำนวนของและขนาดของ embryos อัตราการใส่และความเข้มข้นของ thiamine และ biotin ที่เหมาะสมกับการเกิดแคลลัสและเอ็มบริโอที่สุดคือ thiamine ที่อัตรา 1-1 ความเข้มข้น 0.5 mg และ biotin ที่อัตรา 1-1 ความเข้มข้น 2 mg ต้นกล้าที่ได้จากการทดลองเมื่อนำไปปลูกลงดินสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นใหญ่ได้ Al-Khayri (2010) ได้ทดลองคล้ายๆกันแต่ใช้น้ำมะพร้าวและพบว่าการเติมน้ำมะพร้าวในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีผลทำให้อัตราการเกิดแคลลัสและเอ็มบริโอเพิ่มขึ้น

Fki et al. (2003) ได้ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบ suspension culture ในอาหารเหลวและได้ปรับปรุงวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์อินทผลัมให้ได้จำนวนมาก ต้นพืชที่มีลักษณะเหมือนกันทางพันธุกรรมได้ถูกผลิตขึ้นจาก somatic embryos ซึ่งได้มาจากการเพาะเนื้อเยื่อที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูงจากการเพาะเลี้ยงแบบ suspension culture ซึ่งใช้ชิ้นส่วนใบและช่อดอกทำให้เกิดแคลลัสที่มีลักษณะบวม (friable embryogenic callus) และแสดงลักษณะที่จะสามารถพัฒนาเป็น somatic embryogenesis ได้ การทำ subculture ในอาหารเหลวซึ่งมีส่วนผสมของสารควบคุมการเจริญเติบโตในปริมาณต่ำประกอบไปด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 1 mg/l และผงถ่าน ความเข้มข้น 300 mg/l ทำให้ได้ผลคือเกิดความแตกต่างของ somatic embryos จำนวนมาก การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบ suspension culture ทำให้ผลผลิตของเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้นประมาณ 20 เท่า (จาก 10 เป็น 200 เอ็มบริโอต่อ เดือน ต่อ 100 mg น้ำหนักของ embryogenic callus) เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบปกติในอาหารแข็ง ผลผลิตโดยรวมของ somatic embryo สูงถึง 10,000 หน่วยต่อลิตรต่อเดือน นอกจากนี้ยังพบว่าการลดปริมาณของใบเลี้ยงยังช่วยกระตุ้นให้เกิดการงอกของเอ็มบริโอเพิ่มขึ้น

Gupta (2008) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากอินทผลัมโดยใช้ปลายยอด (shoot tip) ใบและตาข้าง (lateral buds) ที่ได้จากหน่อข้างต้นอินทผลัมเพศเมียอายุ 3 ปี มีการเกิดแคลลัสในปลายยอด (shoot tip) ที่เลี้ยงในอาหาร M37 (2,4-D ความเข้มข้น 10 mg/l + IAA ความเข้มข้น 5 mg/l) ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตของยอด

เท่ากับ 20% มีการเกิดแคลลัสในตาข้าง (lateral buds) ที่เลี้ยงในอาหาร M34 (2,4-D ความเข้มข้น 10 mg/l + IAA ความเข้มข้น 1 mg/l) และ M30 (2,4-D ความเข้มข้น 10 mg/l + 2iP ความเข้มข้น 3 mg/l) มีอัตราการเจริญเติบโตของยอดเท่ากับ 27.27% และ 37.5% ตามลำดับ ไม่มีการเกิดแคลลัสในชิ้นส่วนใบ การทำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์ (plant regeneration) ประสบผลสำเร็จด้วยการเลี้ยงแคลลัสในอาหาร S10 (BAP ความเข้มข้น 12 mg/l + IAA ความเข้มข้น 2 mg/l) มีอัตราการเจริญเติบโตที่ 16.67%

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอื่นๆที่ศึกษาเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมที่ประสบความสำเร็จและใช้ชิ้นส่วนพืช ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆกันดังนี้ Gabr and Tisserat (1985) ใช้อินทผลัมพันธุ์ Khalasa, Thoory และ Zahidi ใช้ชิ้นส่วนปลายยอด (shoot tips) เลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 100 mg/l และ 2iP ความเข้มข้น 3 mg/l Bhaskaran and Smith (1992) ใช้พันธุ์ Barhee ชิ้นส่วนปลายยอด (shoot tip) และช่อดอกอ่อน (immature inflorescence) เลี้ยงในอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 100 mg/l และ 2iP ความเข้มข้น 1 mg/l ในขั้นตอนการชักนำให้เกิดแคลลัส Zouine and Hadrami (2007) ใช้พันธุ์ Jihel และ Bousthami Noir ชิ้นส่วนปลายยอด (shoot tip) เลี้ยงในอาหารที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 5 mg/l ในขั้นตอนการชักนำให้เกิดแคลลัส ส่วนขั้นตอนการชักนำให้เกิดเอ็มบริโอใช้อาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 mg/l และ BAP ความเข้มข้น 0.05, 0.1 และ 0.2 mg/l และ IBA ความเข้มข้น 0.1 mg/l และสุดท้าย Alkhateeb (2008) ได้ทำการทดลองเพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลของน้ำตาลซูโครสและน้ำเชื่อมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมพันธุ์ Sukary ใช้ชิ้นส่วนตาข้าง (lateral bud) และปลายยอด (shoot tip) เลี้ยงในอาหารเริ่มต้นที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 100 mg/l และ 2iP ความเข้มข้น 3 mg/l ซึ่งใช้เวลา 9 สัปดาห์ จากนั้นได้เลี้ยงต่อในอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 10 mg/l และ 2iP ความเข้มข้น 30 mg/l เป็นเวลา 3 สัปดาห์ และขั้นตอนการทำให้เกิด embryogenic callus ได้เลี้ยงในอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 10 mg/l และ 2iP ความเข้มข้น 6 mg/l เลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์

ในประเทศไทยพบว่ายังไม่มีเอกสารวิชาการเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมออกมาเผยแพร่ แต่จากการศึกษาค้นคว้างานตีพิมพ์ของนักวิจัยในต่างประเทศที่ผ่านมา จะเห็นได้ว่ามีการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ชิ้นส่วนต่างๆของอินทผลัมและเลี้ยงในอาหารชนิดต่างๆ และการเลือกใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดและความเข้มข้นต่างๆ ในการชักนำให้เกิดแคลลัส somatic embryo ยอดและรากที่สามารถเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์สามารถนำไปปลูกในแปลงปลูกและสามารถรอดชีวิตได้ จากงานวิจัยที่นำมาทบทวน มีหลายงานทดลองที่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D เติมในอาหารที่ใช้เลี้ยงในขั้นตอนเริ่มต้นที่ชักนำให้เกิดแคลลัส โดยระดับความเข้มข้นโดยส่วนมากคือ 100 mg/l งานวิจัยบางส่วนใช้ความเข้มข้นในระดับต่ำกว่าและเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่นเข้าไปด้วย โดยทั่วไปการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีความเข้มข้นสูงในขั้นตอนการชักนำให้เกิดแคลลัสก่อน จากนั้นในขั้นตอน embryogenesis และ plant regeneration จะใช้ความเข้มข้นในระดับต่ำลง ซึ่งในงานวิจัยที่ทบทวนในที่นี้ก็ได้ดำเนินการทดลองในลักษณะดังกล่าว นอกจากนี้ชิ้นส่วนที่นิยมนำมาใช้แล้วประสบผลสำเร็จคือ ตาข้าง (lateral bud) และปลายยอด (shoot tip) ข้อมูลที่ได้จากการทบทวนงานวิจัยที่ผ่านมาได้ถูกนำมาใช้เป็นแนวทางในการวางแผนการดำเนินการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในโครงการวิจัยนี้

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

- ชิ้นส่วนตัวอย่างอินทผลัม ประกอบด้วย ยอดอ่อน และเอ็มบริโอ
- แคลลัสที่มีลักษณะ embryogenic callus ที่ได้จากการทดลองย่อยที่ 1
- สารเคมีในการเตรียมสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ประกอบไปด้วย 2,4-D, NAA, BA, IAA, TDZ, ABA, KN, 2iP, IBA, น้ำตาล Sucrose, ผงวุ้น Phytagel, ผงถ่าน
- สารเคมีในการปรับ pH
- สารฟอกฆ่าเชื้อ cefotaxime และ nystatin
- อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ประกอบไปด้วย ใบมีด คีมคีบ (ฟอร์เซป) อุปกรณ์เครื่องแก้ว petri dish

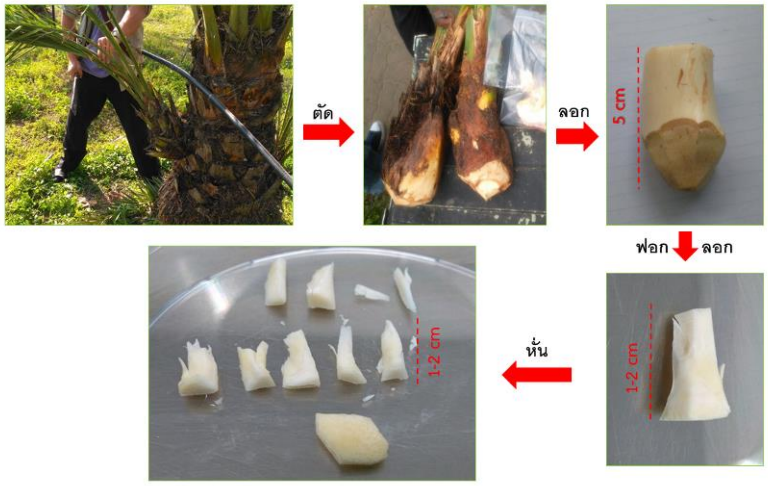
เตรียมหน่ออินทผลัม

ตัดหน่ออินทผลัมที่มีอายุประมาณ 4 ปี น้ำหนักประมาณ 12 kg จำนวน 13 หน่อ นำมาชำไว้ในตะกร้าที่บรรจุดินผสมขุยมะพร้าวและแกลบดำ อัตราส่วน 1:1:1 ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 100°C นาน 1 ชั่วโมง จากนั้น ดูแลรักษาโดยการรดด้วยน้ำผสมยาป้องกันเชื้อรา (เมธาแลกซิล) ทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 1 เดือน (ภาพที่ 1) เพื่อเตรียมสำหรับนำไปฟอกฆ่าเชื้อต่อไป

ภาพที่ 1 หน่ออินทผลัมที่ชำในกระถางที่มีดินนึ่งฆ่าเชื้อและราดด้วยน้ำยากันรา (เมธาแลกซิล)

ฟอกฆ่าเชื้อหน่ออินทผลัม

นำตัวอย่างหน่ออินทผลัม อายุ 4 ปี น้ำหนัก 12 kg ที่ผ่านขั้นตอนการชำเป็นเวลา 1 เดือน มาผ่าลอกเปลือกออกจนเหลือยอดอ่อน หลังจากนั้นตัดปลายให้เหลือความยาวประมาณ 5 cm (ภาพที่ 2) นำไปแช่น้ำยาฆ่าเชื้อรา เมทาแลกซิล (Metalaxyl) 2 กรัม/ลิตร เขย่าที่ความเร็วรอบ 145 รอบ/นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พอครบตามเวลานำมาฟอกด้วย Sodium Hypochlorite ความเข้มข้น 25 % และความเข้มข้น 20 % เติม tween 20 1-2 หยด นานครั้งละ 20 นาที ตามลำดับ หลังจากนั้นนำไปแช่ในสารฆ่าเชื้อรา Nystatin 2.5 กรัม/ลิตร และแช่ในสาร Cefotaxime Sodium 2.5 กรัม/ลิตร เพื่อฆ่าเชื้อแบคทีเรีย รวมทั้งนำไปแช่ใน L-ascorbic acid 0.75 กรัม/ลิตร เพื่อป้องกันการเกิด browning ก่อนลอกและผ่าเอาชิ้นส่วนยอดด้านในความยาวประมาณ 1-2 cm มาเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสต่อไป



ภาพที่ 2 ขั้นตอนการฟอกและเตรียมตัวอย่างชิ้นส่วนพืชเพื่อลงเลี้ยงในอาหาร

การทดลองย่อยที่ 1 การศึกษาผลของอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดแคลลัส ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัม KL1 จากชิ้นส่วนยอดอ่อน

กรรมวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลอง Completely Randomised Design (CRD) จำนวน 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ให้จำนวน 1 ซ้ำ คือ 1 ขวด ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหาร MS (control)

กรรมวิธีที่ 2 สูตรอาหาร MS + 2,4-D ความเข้มข้น 50 µM + 2iP 5 µM

กรรมวิธีที่ 3 สูตรอาหาร MS + 2,4-D ความเข้มข้น 250 µM + 2iP 10 µM

กรรมวิธีที่ 4 สูตรอาหาร MS + 2,4-D ความเข้มข้น 450 µM + 2iP 15 µM

กรรมวิธีที่ 5 สูตรอาหาร MS + 2,4-D ความเข้มข้น 650 µM + 2iP 20 µM

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เตรียมอาหาร MS โดยร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตในความเข้มข้นตามกรรมวิธี ทุกสูตรอาหารประกอบไปด้วย น้ำตาลซูโครส (sucrose) 3 % (w/v) ผงถ่าน (activated charcoal) 0.3 % (w/v) และ agar 0.8 % (w/v) เตรียมชิ้นส่วนตัวอย่าง โดยนำต้นอินทผลัมอายุ 2-4 ปี มาผ่าเอาส่วนยอดอ่อน นำจั่นต้นตัวเมียมาผ่าเอาช่อดอกอ่อน และนำผลอินทผลัมที่สุกแล้ว (6-7 เดือนหลังถ่ายละอองเกสร) มาผ่าเมล็ดเพื่อเอาส่วนของเอ็มบริโอ นำชิ้นส่วนยอดอ่อน ช่อดอกอ่อน และเอ็มบริโอ ของอินทผลัมพันธุ์ KL1 มาฟอกฆ่าเชื้อราและแบคทีเรียโดยใช้สารฟอกฆ่าเชื้อราและแบคทีเรียที่ทำการทดสอบในเบื้องต้นแล้วนำชิ้นส่วนที่ฟอกแล้วลงเลี้ยงทดสอบบนสูตรอาหารที่เตรียมไว้แล้วในที่มืดสนิท อุณหภูมิ 25 ℃ เปลี่ยนอาหาร (sub-culture) ทุก ๆ 4 สัปดาห์ จนเกิดแคลลัสที่มีลักษณะพร้อมที่จะนำไปเลี้ยงต่อไปขั้นตอนต่อไป

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลโดยการชั่งน้ำหนัก ถ่ายรูปลักษณะการเกิด และความผิดปกติของแคลลัส เช่น สี รูปร่าง ทุก ๆ 4 สัปดาห์

การทดลองย่อยที่ 2 การศึกษาผลของอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นโซมาติกเอ็มบริโอ และชักนำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมพันธุ์ KL1 จากชิ้นส่วนยอดอ่อน

ขั้นตอนที่ 1 การชักนำให้ callus พัฒนาเป็นยอด somatic embryo

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลอง Completely Randomised Design (CRD) จำนวน 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ให้จำนวน 1 ซ้ำ คือ 1 ขวด ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหาร MS (control)
กรรมวิธีที่ 2 MS + NAA 0.5 µM + ABA 2 µM
กรรมวิธีที่ 3 MS + NAA 1.0 µM + ABA 4 µM
กรรมวิธีที่ 4 MS + NAA 1.5 µM + ABA 6 µM
กรรมวิธีที่ 5 MS + NAA 2.0 µM + ABA 8 µM

วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำแคลลัสที่ได้จากการทดลองย่อยที่ 1. มาทดสอบบนสูตรอาหาร MS โดยร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ในความเข้มข้นต่างๆกัน ทุกสูตรอาหารประกอบไปด้วย น้ำตาลซูโครส (sucrose) 3 % (w/v) ผงถ่าน (activated charcoal) 0.3 % (w/v) และ agar 0.8 % (w/v) โดยทำการเปลี่ยนอาหาร (sub-culture) ทุก ๆ 4 สัปดาห์ จนเกิดเป็นเอ็มบริโอที่มีลักษณะพร้อมนำไปเลี้ยงต่อในขั้นตอนต่อไป

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลโดยการนับจำนวนยอด และถ่ายรูปลักษณะ ความผิดปกติ และการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นเอ็มบริโอ/ยอด ทุก 4 สัปดาห์

ขั้นตอนที่ 2 การชักนำให้โซมาติกเอ็มบริโอพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์

กรรมวิธีการทดลอง

มีจำนวน 6 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ให้จำนวนซ้ำคือ 1 ขวด ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหาร MS (control)
กรรมวิธีที่ 2 MS + NAA 1.0 µM + BA 0 µM
กรรมวิธีที่ 3 MS + NAA 1.0 µM + BA 2.211 µM
กรรมวิธีที่ 4 MS + NAA 1.0 µM + BA 4.433 µM
กรรมวิธีที่ 5 MS + NAA 1.0 µM + BA 7.282 µM
กรรมวิธีที่ 6 MS + NAA 1.0 µM + BA 8.875 µM

วิธีดำเนินงาน/ขั้นตอนการวิจัย

เตรียมอาหาร MS โดยร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ในความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ทุกสูตรอาหารประกอบไปด้วย น้ำตาลซูโครส (sucrose) 40 กรัม/ลิตร ผงถ่าน (activated charcoal) 1 กรัม/ลิตร และ Phytagel 3 กรัม/ลิตร นำแคลลัสที่มีลักษณะ embryogenic callus ที่ได้จากการทดลองย่อยที่ 1 ซึ่งเป็นขั้นตอนการผลิตแคลลัส มาทดสอบบนสูตรอาหารที่เตรียมไว้แล้วในห้องที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ℃ เปลี่ยนอาหาร (sub-culture) ทุก 8 สัปดาห์ จนเกิดเป็นยอดที่มีลักษณะพร้อมนำไปเลี้ยงต่อในขั้นตอนต่อไป

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลโดยการดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา ความผิดปกติ และการพัฒนาของยอด ทุก 4 สัปดาห์ บันทึกภาพและนำไปคำนวนอัตราการเกิดยอดที่สมบูรณ์ (%) โดย

$$\text{อัตราการเกิดยอดที่สมบูรณ์ (\%)} = \frac{\text{จำนวนยอดที่สมบูรณ์ X 100}}{\text{จำนวนซ้ำ}}$$

กรมวิชาการเกษตร

ขั้นตอนที่ 3 การชักนำยอดให้เกิดรากที่สมบูรณ์

กรรมวิธีการทดลอง

มีจำนวน 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ให้จำนวนซ้ำคือ 1 ขวด ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 MS + BA 7.282 µM + NAA 0 µM

กรรมวิธีที่ 2 MS + BA 7.282 µM + NAA 5.370 µM

กรรมวิธีที่ 3 MS + BA 7.282 µM + NAA 16.111 µM

กรรมวิธีที่ 4 MS + BA 7.282 µM + NAA 26.851 µM

วิธีดำเนินงาน/ขั้นตอนการวิจัย

เตรียมอาหาร MS โดยร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 7.282 µM ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 5.370, 16.111 และ 26.851 µM ทุกสูตรอาหารประกอบไปด้วย น้ำตาลซูโครส (sucrose) 40 กรัม/ลิตร ผงถ่าน (activated charcoal) 1 กรัม/ลิตร และ Phytagel 3 กรัม/ลิตร นำยอดที่ได้จากขั้นตอนที่ 2 มาเลี้ยงในสูตรอาหารชักนำรากในห้องที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ℃ เปลี่ยนอาหาร (sub-culture) ทุก ๆ 8 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลอง

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลโดยการดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา ความผิดปกติ และการพัฒนาของราก ทุก 4 สัปดาห์ บันทึกภาพและนำไปคำนวนอัตราการเกิดราก (%) โดย

$$\text{อัตราการเกิดราก (\%)} = \frac{\text{จำนวนรากที่สมบูรณ์ X 100}}{\text{จำนวนซ้ำ}}$$

ผลการวิจัย (Results)

การทดลองย่อยที่ 1 การศึกษาผลของอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดแคลลัส ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัม KL1 จากชิ้นส่วนยอดอ่อน และเอ็มบริโอ

การชักนำให้เกิดแคลลัสจากตัวอย่างปลายยอดที่ได้จากหน่อข้างอินทผลัมพันธุ์ KL1 ในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 50, 250, 450 และ 650 µM และ 2iP ความเข้มข้น 5, 10, 15 และ 20 µM ตามลำดับ พบว่าสูตรที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 250 µM และ 2iP ความเข้มข้น 10 µM เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด ให้อัตราการเกิดแคลลัสที่ 62.5 % และน้ำหนักแคลลัสที่ 658 mg (ตารางที่ 1) ซึ่งสูงกว่าอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเลี้ยงเป็นเวลา 32 สัปดาห์ เกิด friable callus บริเวณโคนของใบที่ติดอยู่กับชิ้นส่วนปลายยอดที่นำลงเลี้ยง (ภาพที่ 3A) การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมในขั้นตอนชักนำให้เกิดแคลลัสที่ผ่านมามีการใช้อาหารสูตร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 453 µM และ 2iP ความเข้มข้น 14.8 µM สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี (Tisserat, 1983; Eshraghi *et al.,* 2005; El-Din *et al.,* 2006; Al-Khateeb. 2008)

Friable callus ที่ได้ถูกแยกลงเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 15 µM ร่วมกับ 2iP ความเข้มข้น 15 µM ที่ดัดแปลงจาก Al-Khalifah and Shanavaskhan (2012) นาน 12 สัปดาห์ (ภาพที่ 3B) เพื่อให้พัฒนาเป็น embryogenic callus และพัฒนาต่อเป็นยอด (somatic embryo) พบว่าแคลลัสมีพัฒนาการของ somatic embryo ที่ดี คือจากแคลลัสที่มีลักษณะเกาะกันหลวม ร่วน เปลี่ยนแปลงเป็นก้อนกลมแยกกันเป็นเม็ดชัดเจน สีขาวขุ่น และมีขนาดใหญ่ขึ้น (ภาพที่ 3C และ 3D) จากนั้นเลี้ยงต่อในอาหารสูตร MS ไม่เติม PGR ในสภาพมีแสง

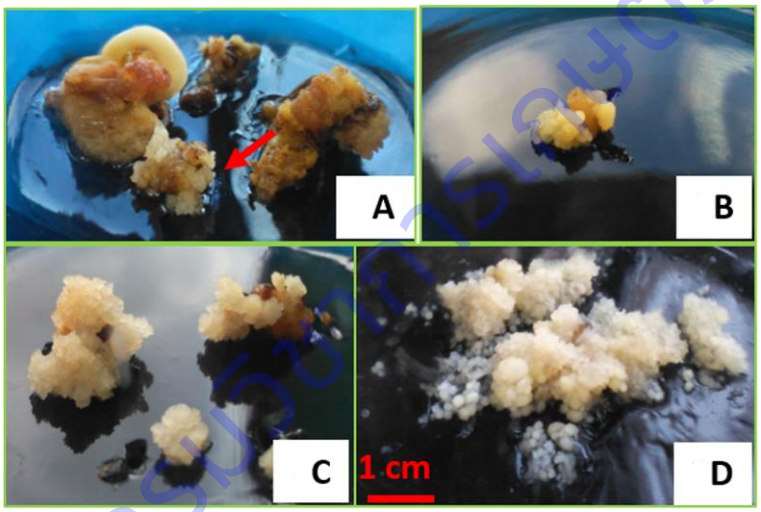
ศูนย์วิทยทรัพยากร

55 μM/m^2/s 16 ชม./วัน เป็นเวลา 4 - 8 สัปดาห์ เพื่อให้ขยายตัวและเพิ่มปริมาณและให้ somatic embryos เกิดการพัฒนาต่อ

ตารางที่ 1 น้ำหนักและอัตราการเกิดแคลลัสจากปลายยอดของอินทผลัมพันธุ์ KL1 หลังจากเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ 2iP ในสภาพมืด ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 32 สัปดาห์ โดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความเข้มข้นของ PGRs (μM)		น้ำหนักแคลลัส (mg)	อัตราการเกิดแคลลัส (%)
	2,4-D	2iP		
control	0	0	0.0 ± 0.0c	0
1	50	5	52 ± 19b	35.0
2	250	10	658 ± 159a	62.5
3	450	15	170 ± 31b	16.7
4	650	20	20 ± 9b	5.0

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 3 การพัฒนาของ somatic embryos ที่ถูกชักจาก friable แคลลัสบริเวณโคนของใบที่ติดอยู่กับชิ้นส่วนปลายยอด (A), friable แคลลัสที่แยกออกมาและนำไปเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 15 μM ร่วมกับ 2iP ความเข้มข้น 15 μM (B), embryogenic แคลลัสหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (C), friable แคลลัสที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (D)

การทดลองย่อยที่ 2 การศึกษาผลของอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นโซมาติกเอ็มบริโอ และชักนำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมพันธุ์ KL1 จากชิ้นส่วนยอดอ่อน

ขั้นตอนที่ 1 การชักนำให้ callus พัฒนาเป็นยอด somatic embryo

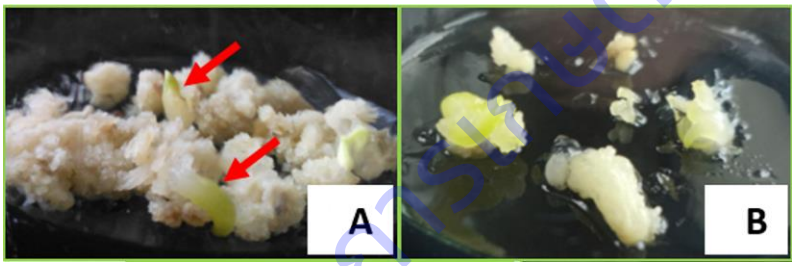
การชักนำให้เกิด somatic embryo เลี้ยง embryogenic callus ในอาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5, และ 2.0 μM ร่วมกับ ABA ความเข้มข้น 2, 4, 6, และ 8 μM ตามลำดับ ซึ่งดัดแปลงจาก Al-Khayri *et al*. (2017) (ตารางที่ 2) นาน 16 สัปดาห์ พบว่ามี somatic embryo ปรากฏขึ้นจากกลุ่มแคลลัส (ภาพที่ 4A) จึงได้แยก somatic embryo ออกมาเลี้ยงต่อในอาหารใหม่สูตรเดิม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (รวม 24

สัปดาห์) พบว่า somatic embryo มีพัฒนาการที่ดีมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีสีเขียว (ภาพที่ 4B) แต่ไม่มีการยืดยาวออกและเปลี่ยนไปเป็นยอดจึงนำไปชักนำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์ในต่อไป

ตารางที่ 2 จำนวนและอัตราการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอจากแคลลัส หลังจากเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ ABA ในสภาพความเข้มแสง 55 μM/m^2/s เป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 32 สัปดาห์ โดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความเข้มข้นของ PGRs (μM)		จำนวนโซมาติกเอ็มบริโอ	อัตราการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอ (%)
	NAA	ABA		
control	0	0	0.0 ± 0.0c	0
1	0.5	2	1.8 ± 0.14b	21.8
2	1.0	4	5.1 ± 0.43a	40.0
3	1.5	6	4.5 ± 0.70a	31.8
4	2.0	8	2.4 ± 0.43b	21.1

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 4 การพัฒนาของโซมาติกเอ็มบริโอที่ชักนำจากแคลลัส: โซมาติกเอ็มบริโอ (A) และโซมาติกเอ็มบริโอที่นำมาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ชักนำให้เป็นยอด (B)

ขั้นตอนที่ 2 การชักนำให้โซมาติกเอ็มบริโอพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์

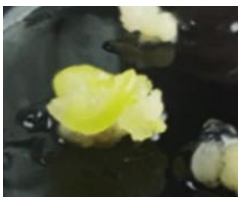
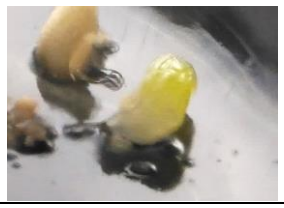
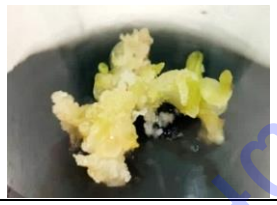
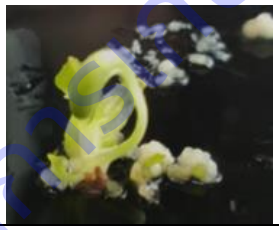
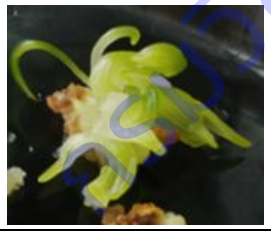
หลังจากนำแคลลัสที่มีลักษณะเป็นสีเขียวลงเลี้ยงทดสอบในสูตรอาหารชักนำให้เกิดยอดในขั้นตอน Germination คือ สูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (control) และ MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 μM ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 μM , 2.211 μM, 4.433 μM, 7.282 μM และ 8.875 μM หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้โซมาติกเอ็มบริโอพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์สูงสุด คือสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 μM ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 7.282 μM (อัตราการเกิดยอด 100%) ลักษณะของยอดที่ได้ทั้งหมดที่ได้มีการพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์มีสีเขียว บางส่วนเริ่มมีการยืดยาวของเนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตดีลักษณะของยอดสมบูรณ์แข็งแรง (ภาพที่ 5M, N และ O) สำหรับสูตรอาหารที่เหมาะสมเป็นลำดับถัดมาคือสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 μM ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 4.433 μM (อัตราการเกิดยอด 50%) ลักษณะของยอดบางส่วนเจริญเติบโตได้ดีและมีการพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์มีลักษณะสีเขียว แต่มีบางยอดที่มีลักษณะเป็นยอดที่ไม่สมบูรณ์ (ภาพที่ 5J, K และ L), ส่วนสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 μM ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.211 μM และ8.875 μM (อัตราการเกิดยอด 25%) ยอดมีการพัฒนาเพิ่มขึ้นลักษณะของยอดที่เกิดขึ้นมีการพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์น้อย ยอดบางส่วนมีสีเขียวขนาดใหญ่ แต่มีลักษณะที่ไม่สมบูรณ์การพัฒนาไปเป็นยอดไม่ชัดเจน การเจริญเติบโตช้า (ภาพที่ 5G, H, I และ ภาพที่ 5P, Q, R) สำหรับสูตรอาหารที่มีการพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์น้อยที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการ

เจริญเติบโต และสูตรอาหารที่ MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 µM ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0 µM (อัตราการเกิดยอด 0%) สังเกตได้ว่าไม่มีการพัฒนาไปเป็นยอด เนื้อเยื่อแคลลัสบางส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและหยุดการเจริญเติบโต สำหรับยอด somatic embryo ไม่มีการพัฒนาเป็นยอดที่สมบูรณ์ แม้ว่าจะเลี้ยงบนอาหารเป็นเวลานาน (ภาพที่ 5A, B และ C และ ภาพที่ 5D, E และ F) ตามลำดับ

ตารางที่ 3 จำนวนและอัตราการพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์ หลังจากเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ในสภาพความเข้มแสง 55 µM/m^2/s เป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 32 สัปดาห์ โดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความเข้มข้นของ PGRs (µM)		จำนวนการพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์	อัตราการเกิดยอดที่สมบูรณ์ (%)
	NAA	BA		
control	0	0	0	0
1	1.0	0	0	0
2	1.0	2.211	1	25
3	1.0	4.433	2	50
4	1.0	7.282	4	100
5	1.0	8.875	1	25

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 1 MS (control)	A 	B 	C
กรรมวิธีที่ 2 NAA 1+ BA 0 µM	D 	E 	F 
กรรมวิธีที่ 3 NAA 1+BA 2.211 µM	G 	H 	I
กรรมวิธีที่ 4 NAA 1+BA 4.433 µM	J 	K 	L
กรรมวิธีที่ 5 NAA 1+BA 7.282 µM	M 	N 	O
กรรมวิธีที่ 6 NAA 1+BA 8.875 µM	P 	Q 	R

ภาพที่ 5 พัฒนาการของยอดที่เกิดจาก somatic embryo หลังจากนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 24 สัปดาห์ กรรมวิธีที่ 1 control (A, B และ C) กรรมวิธีที่ 2 (D, E และ F) กรรมวิธีที่ 3 (G, H และ I) กรรมวิธีที่ 4 (J, K และ L) กรรมวิธีที่ 5 (M, N และ O) และ กรรมวิธีที่ 6 (P, Q และ R)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัย

ขั้นตอนที่ 3 การชักนำให้ยอดเกิดรากที่สมบูรณ์

การชักนำให้ยอดเกิดรากที่สมบูรณ์โดยใช้สูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 7.282 µM ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 µM , 5.370 µM, 16.111 µM และ 26.851 µM หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ยอดเกิดรากที่สมบูรณ์สูงสุด คือสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 7.282 µM ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 26.851 µM (อัตราการเกิดราก 100%) ลักษณะของรากเป็นรากเดี่ยวมีขนาดใหญ่เริ่มมีการยืดยาวมากขึ้น ส่วนยอดมีสีเขียวและมีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง (ภาพที่ 6D) สำหรับสูตรอาหารที่เหมาะสมเป็นลำดับถัดมาคือสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 7.282 µM ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 16.111 µM (อัตราการเกิดราก 50%) ยอดที่นำมาเพาะเลี้ยงบางยอดมีการพัฒนาของรากโดยรากมีขนาดเล็กเป็นรากเดี่ยวยังไม่มีการยืดยาวออกมามากนัก (ภาพที่ 6C) ส่วนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 7.282 µM ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 µM และ 5.370 µM นั้น (อัตราการเกิดราก 0%) ยังไม่พบการพัฒนาของรากเกิดขึ้น แต่ยอดมีการพัฒนาดีมาก สำหรับสูตรอาหารที่ไม่เติม NAA สังเกตได้ว่าเมื่อเพาะเลี้ยงไปเป็นเวลานานยอดเริ่มมีสีขาวเกิดขึ้นและเปลี่ยนไปเป็น สีน้ำตาล (ภาพที่ 6A และ B)

ตารางที่ 4 จำนวนและอัตราการชักนำให้ยอดเกิดรากที่สมบูรณ์ หลังจากเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ในสภาพความเข้มแสง 55 µM/m^2/s เป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 32 สัปดาห์ โดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความเข้มข้นของ PGRs (µM)		จำนวนยอดที่เกิดรากสมบูรณ์	อัตราการเกิดราก (%)
	BA	NAA		
1	7.282	0	0	0
2	7.282	5.370	1	25
3	7.282	16.111	2	50
4	7.282	26.851	4	100

กรรมวิธีที่ 1 BA 7.282 µM +NAA 0 µM	กรรมวิธีที่ 2 BA 7.282 µM +NAA 5.37 µM	กรรมวิธีที่ 3 BA 7.282 µM +NAA 16.111 µM	กรรมวิธีที่ 4 BA 7.282 µM +NAA 26.851 µM
A	B	C	D

ภาพที่ 6 พัฒนาการของรากหลังจากนำยอดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ กรรมวิธีที่ 1 (A) กรรมวิธีที่ 2 (B) กรรมวิธีที่ 3 (C) และกรรมวิธีที่ 4 (D)

กรมวิชาการเกษตร

อภิปรายผล (Discussion)

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมในขั้นตอนชักนำให้เกิดแคลลัสที่ผ่านมามีการใช้อาหารสูตร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 453 µM และ 2iP ความเข้มข้น 14.8 µM สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี (Tisserat, 1983; Eshraghi *et al.,* 2005; El-Din *et al.,* 2006; Al-Khateeb. 2008) และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gupta (2008) ที่ใช้สูตรอาหารคล้ายกันแต่ที่ความเข้มข้นของ 2,4-D ต่ำกว่า เช่น ที่ใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 45.3 µM ร่วมกับ 2iP ความเข้มข้น 14.8 µM ซึ่งมีความใกล้เคียงกับผลการทดลองในงานวิจัยนี้ที่พบว่า การใช้ 2,4-D ความเข้มข้น 250 µM เกิดแคลลัสได้ดีกว่าที่ความเข้มข้น 450 µM

จากการเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เกิด somatic embryo ได้ดีที่สุดคือ อาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 1 µM ร่วมกับ ABA ความเข้มข้น 4 µM ซึ่งได้ somatic embryo จำนวน 5.1 somatic embryo ต่อขวด และอัตราการเกิด somatic embryo อยู่ที่ 40 % ซึ่งสูงกว่าอาหารสูตรที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 2 µM ร่วมกับ ABA ความเข้มข้น 2 และ 8 µM ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่ได้สูงกว่าสูตรที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 µM ร่วมกับ ABA ความเข้มข้น 6 µM อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2) ยอด somatic embryo ที่เกิดขึ้นสามารถนำไปเลี้ยงต่อในอาหารสูตรที่ทำให้เป็นต้นสมบูรณ์ต่อไปได้ การศึกษาการชักนำให้เกิด somatic embryo จากแคลลัสที่เลี้ยงจากชิ้นส่วนอินทผลัมในงานวิจัยที่ผ่านมาได้ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดและความเข้มข้นแตกต่างกันไป เช่น Eshraghi *et al.* (2005) ใช้ NAA ความเข้มข้น 53.7 µM ร่วมกับ 2iP ความเข้มข้น 147.6 µM, El-Din *et al.* (2006) ใช้ NAA ความเข้มข้น 0.537 µM ร่วมกับ BA เข้มข้น 0.221 µM, Al-Khateeb (2008) ใช้ NAA ความเข้มข้น 53.7 µM ร่วมกับ 2iP ความเข้มข้น 29.5 µM, และ Gupta (2008) ใช้ BA ความเข้มข้น 53.2 µM ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 6.8 µM ส่วนใหญ่จะเติม NAA ร่วมกับ PGR ชนิดอื่น

สำหรับการชักนำให้เกิดยอดและรากที่สมบูรณ์นั้นได้มีทดสอบสูตรอาหารต่าง ๆ พบว่าสูตรอาหารที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดยอดที่สมบูรณ์จากชิ้นส่วนหน่อข้างคือ สูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 1.0 µM ร่วมกับ BA 7.282 µM ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดได้ดีที่สุด และสูตรอาหารที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดรากที่สมบูรณ์จากชิ้นส่วนหน่อข้างคือ สูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 7.282 µM ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 26.851 µM ให้อัตราการเกิดรากได้ดีที่สุด ซึ่งสูตรอาหารนี้อาจจะแตกต่างจากรายงานการวิจัยของ นพรัตน์และพีระศักดิ์ (2018) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้นน้อยกว่า (BA ความเข้มข้น 0.5 mg/l และ NAA ความเข้มข้น 1.2 mg/l) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าชนิดของเนื้อเยื่อที่นำมาเพาะเลี้ยงมีความแตกต่างกัน (ช่อดอก) จึงทำให้เกิดการตอบสนองต่อสูตรอาหารที่แตกต่างกันด้วย ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาควบคู่กันไปเพื่อที่จะได้สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการชักนำแคลลัสของชิ้นส่วนเริ่มต้นแต่ละชนิด (หน่อข้าง, ช่อดอก, ใบอ่อน ฯลฯ) ให้เกิดต้นที่สมบูรณ์ในอินทผลัมพันธุ์ KL1 เพื่อเป็นการเพิ่มแนวทางในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของอินทผลัมให้ประสบผลสำเร็จในอนาคต

นอกจากนี้อินทผลัมเป็นไม้ยืนต้นจึงส่งผลให้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเยื่อใช้เวลานานเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่น โดยใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตั้งแต่ 8 – 24 สัปดาห์ในแต่ละขั้นตอนของการเพาะเลี้ยง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยหลายชิ้นเช่น Maiada M. El-Dawayati and Zeinab E. Zayed (2017) รายงานว่าขั้นตอนการชักนำให้แคลลัสพัฒนาไปเป็น somatic embryo จนเกิดเป็นยอดที่สมบูรณ์ขนาดความยาวยอดประมาณ 5 เซนติเมตร เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ โดยมีการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำไปชักนำให้เกิดรากเป็นระยะเวลา 18 สัปดาห์ จึงย้ายต้นกล้าไปอนุบาลที่เรือนเพาะชำโดยใช้เวลาประมาณ 20 สัปดาห์ต้นกล้าจึงแข็งแรงและนำไปปลูกต่อไป

อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะใช้เวลานานในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแต่ก็ถือว่าคุ้มค่าเพราะต้นกล้าที่ได้เป็นต้นตัวเมีย 100 % และในการผลิตแต่ละครั้งยังได้ต้นกล้าจำนวนมาก จึงเป็นการลดต้นทุนการผลิตต้นกล้าตัวเมีย รวมทั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อจากชิ้นส่วน vegetative ด้วยวิธี somatic embryogenesis เป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพเนื่องจากต้นกล้าที่ได้จะมีลักษณะทางพันธุกรรม (genotype) และลักษณะที่แสดงออก (phenotype) ที่เหมือนต้นแม่ทุกประการ ต้นกล้าที่ได้ปลอดโรคและแมลง มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูง ต้นแข็งแรง ให้ผลผลิตดีกว่า นอกจากนี้ยังสามารถลดต้นทุนการขนส่งได้เนื่องจากต้นกล้ามีขนาดเล็ก และน้ำหนักเบาเมื่อเทียบกับต้นกล้าที่ได้จากการแยกหน่อ (Botes and Zaid, 2002)

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

การชักนำให้เกิดแคลลัสจากตัวอย่างปลายยอดที่ได้จากหน่อข้างอินทผลัมพันธุ์ KL1 อาหารสูตรที่ชักนำแคลลัสได้ดีที่สุดคือสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 250 µM และ 2iP ความเข้มข้น 10 µM ซึ่งให้อัตราการเกิดแคลลัสที่ 62.5 % และน้ำหนักแคลลัสที่ 658 mg เลี้ยง 32 สัปดาห์ และการชักนำให้เกิด somatic embryo จากแคลลัสพบว่าอาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 1 µM ร่วมกับ ABA ความเข้มข้น 4 µM เลี้ยง 24 สัปดาห์ ให้ผลการชักนำ somatic embryo ดีที่สุด ซึ่งเกิด somatic embryo จำนวน 5.1 somatic embryos ต่อขวดและอัตราการเกิด somatic embryo อยู่ที่ 40 % สำหรับสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้ somatic embryo พัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์ได้ดีที่สุดคือ สูตรอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 µM ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 7.282 µM โดยให้อัตราการเกิดยอด 100% และเมื่อนำยอดที่ได้ไปชักนำให้เกิดรากพบว่า สูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุดคือ สูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 7.282 µM ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 26.851 µM ซึ่งให้อัตราการเกิดราก 100%

กรมวิชาการเกษตร

การเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัม
Storage condition of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) pollen

ปาริฉัตร สังข์สะอาด ศิริลักษณ์ อินทะวงศ์ พิทยา วงษ์ช้าง พัชร ปิริยะวินิตร และอภิญญา วงศ์เปี้ย
Parichart Sangkasa-ad, Siriluck Inthawong, Pitthaya Wongchang, Phatchara Piriyavinit, and Aphinya Wongpia

คำสำคัญ การเก็บรักษา อินทผลัม ละอองเกสรตัวผู้
Keywords Storage, Date palm (*Phoenix dactylifera* L.), Pollen

บทคัดย่อ

การเก็บรักษาละอองเกสรดอกตัวผู้อินทผลัมพันธุ์ KL1 ในระยะยาวเพื่อการเก็บละอองเกสรไว้ผสมข้ามฤดูกาลและใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ โดยศึกษาการเก็บรักษาละอองเกสรตัวผู้ที่อุณหภูมิต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง, 4, -20 และ -196 องศาเซลเซียส ก่อนการเก็บรักษาทำการลดความชื้นด้วยวิธีการใช้ห้องลดความชื้น (drying room) และโดยเทคนิค Freeze drying ทดสอบความงอกที่ระยะเวลา 6, 12 และ 18 เดือน พบว่าที่อุณหภูมิ -20 และ -196 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มการเก็บรักษาได้นานกว่า 18 เดือน โดยยังคงมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงเฉลี่ย 72.67 และ 79.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การลดความชื้นก่อนการเก็บรักษาด้วยวิธีการใช้ห้องลดความชื้น (drying room) และเทคนิค Freeze drying ยังคงความมีชีวิตไม่แตกต่างกัน

Abstracts

Long – term storage of Date palm KL1 pollen for used in cross season pollen and conserved germplasm for breeding program. The preservation of pollen was studied at different temperatures by stored at room-temperature, 4, -20 and -196 °C. Before storage, they were dehumidified by used drying room and freeze drying technique. Germination was determined at 6, 12 and 18 months. Germination test shown the germination ability at -20 and -196 °C, the storage tendency was more than 18 months, with mean percentage germination of 72.67 and 79.91 percent, respectively. By the way, dehumidified by drying room and freeze drying technique had no different resulted.

บทนำ (Introduction)

ปัจจุบันมีเกษตรกรที่สนใจการปลูกอินทผลัมมากขึ้นในประเทศไทย เนื่องจากเป็นพืชหนึ่งที่มีผู้รู้จักและบริโภคแพร่หลายมากขึ้นอีกทั้งยังเป็นพืชที่สร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้ปลูก โดยในการเพิ่มผลผลิตของการปลูกอินทผลัม จำเป็นต้องมีการช่วยผสมเกสร เนื่องจากอินทผลัมเป็นพืชไม่สมบูรณ์เพศ กล่าวคือมีดอกตัวผู้และตัวเมียอยู่คนละต้น และยังพบว่าต้นดอกตัวผู้บานมักบานก่อนดอกตัวเมีย โอกาสที่จะติดผลผลิตเป็นไปได้น้อย ดังนั้นเกษตรกรจึงต้องเก็บละอองเกสรไว้สำหรับผสมพันธุ์ แต่พบว่าการเก็บของเกษตรกรในปัจจุบันยังเก็บไว้ไม่ได้นานประมาณ 2-3 เดือนเท่านั้น อาจเก็บได้นานกว่านั้นเล็กน้อยหากเก็บในตู้เย็น จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาที่เหมาะสมในการเก็บละอองเกสรหากต้องการผลิตเพื่อการค้าหรือการจำหน่ายเกสรตัวผู้สำหรับทำพันธุ์

กรมวิชาการเกษตร

โดยสามารถเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลานานโดยที่ยังคงมีความงอกสูง และสามารถนำเทคนิคดังกล่าวมาใช้เก็บรักษาละอองเกสรในธนาคารเชื้อพันธุ์ต่อไป ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการศึกษาในด้านพันธุกรรมหรือการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ที่ดีในอนาคต งานวิจัยนี้อยู่ภายใต้กิจกรรมเทคโนโลยีการขยายพันธุ์อินทผลัมและการเก็บรักษาละอองเกสรในสภาพปลอดเชื้อ โครงการวิจัยการเพิ่มประสิทธิภาพและเทคโนโลยีการผลิตอินทผลัม

การทบทวนวรรณกรรม

การศึกษาด้านการเก็บรักษาละอองเกสรพืชเพื่อการใช้ประโยชน์ในด้านการปรับปรุงพันธุ์ และการเพิ่มผลผลิตให้กับพืชนั้นมีการศึกษามาแล้วในพืชหลายชนิด โดยเฉพาะพืชที่มีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียแยกกัน เช่นในพืชสกุลระกำ หรืออินทผลัมเป็นต้น โดยในประเทศไทยพบการศึกษาความมีชีวิตและวิธีการเก็บรักษาละอองเรณูพืชสกุลระกำบางชนิดด้วยวิธีต่างๆ (ชมภู, 2539) และการศึกษาการเก็บรักษาละอองเรณูระกำ 4 วิธี ในไนโตรเจนเหลว ซึ่งพบว่าการเก็บละอองเรณูในไนโตรเจนเหลวโดยตรง ยังคงความมีชีวิตในระยะเวลา 360 วัน ได้ดีที่สุดโดยมีความงอก 45.11 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการเก็บที่ 0 องศาเซลเซียส, การดูดความชื้น 30 นาที ก่อนเก็บในไนโตรเจนเหลว และการผ่านความเย็นที่ -20 องศาเซลเซียส ก่อนเก็บในไนโตรเจนเหลว (รมย์ริญ, 2542) นอกจากนี้ พิชัย (2558) ศึกษาความมีชีวิตและการเก็บรักษาละอองเรณูของทุเรียนของอำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ จำนวน 6 พันธุ์ ที่อุณหภูมิ 0, 5 และ 25 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถเก็บละอองเรณูทุเรียนได้นานที่สุดที่ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 วัน และในการศึกษาการเก็บรักษาละอองเรณูว่านสี่ทิศสำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ นัด และคณะ (2558) ศึกษาความมีชีวิตของละอองเรณูว่านสี่ทิศ จำนวน 9 พันธุ์ ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส พบว่าว่านสี่ทิศทั้ง 9 พันธุ์ สามารถเก็บได้ 15-20 วัน โดยยังคงความงอกที่ดี โดยเฉพาะพันธุ์วาวี 05 และวาวี 06 สามารถเก็บรักษาได้นานถึง 45 วัน ที่เปอร์เซ็นต์ความงอก 20-50 เปอร์เซ็นต์ โดยหากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเก็บได้นานเพียง 3 วัน

ส่วนการศึกษาการเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัมมีรายงานการศึกษาในประเทศที่มีการเพาะปลูกพืชชนิดนี้ ส่วนใหญ่จะเป็นในกลุ่มประเทศแถบตะวันออกกลาง โดย Tisstrat และคณะ (1981) พบว่าความมีชีวิตของอับละอองเกสรอินทผลัม 11 พันธุ์ สามารถเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวได้นานกว่า 435 วัน โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอก มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Larbi และคณะ (1995) ศึกษาการเก็บรักษาอับละอองเกสรด้วยวิธี freeze – drying ซึ่งเป็นการเก็บในระยะยาว พบว่าที่ 24 เดือน มีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่ากับ 60.6 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Rapid freeze – drying ที่อุณหภูมิ -20 ภายใต้สภาพสูญญากาศ ต่อมา Mortazavi และคณะ, 2010 พบการศึกษาหาวิธีการเก็บรักษาที่เหมาะสม และทดสอบความงอกละอองเกสรในสภาพปลอดเชื้อของอินทผลัม 3 พันธุ์ ของอิหร่าน โดยรักษาในอุณหภูมิห้อง, ตู้เย็น, ตู้แช่แข็ง และไนโตรเจนเหลว จากการศึกษาพบว่าการเก็บรักษาละอองเกสรนาน 200 วัน ในไนโตรเจนเหลวจะคงความมีชีวิตของละอองเกสรสูงสุดเมื่อเทียบกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และ Ahmad (2012) ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาละอองเกสรอินทผลัมและพิตาชิโอในการเก็บรักษาระยะสั้น ระยะปานกลาง และระยะยาว โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ตู้เย็น ตู้แช่แข็ง และไนโตรเจนเหลว (โดยแช่ไนโตรเจนเหลว 15 นาที หลังจากนั้นนำแช่ในตู้เย็น -80 องศาเซลเซียส) จนถึง 52 สัปดาห์ นำมาทดสอบความงอกในอาหารเพาะเลี้ยงที่เติมวุ้น 1 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลซูโครส 8 เปอร์เซ็นต์ และกรดซิตริก 20 ppm. พร้อมทดสอบความมีชีวิตด้วยวิธี TTC พบว่าการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวให้ผลดีที่สุด และการเก็บรักษาในตู้เย็นมีความสะดวกในการเก็บรักษาในระยะยาว ส่วนการเก็บในตู้แช่แข็งสะดวกสำหรับการเก็บรักษาในระยะปานกลาง ส่วนในพิตาชิโอสามารถเก็บรักษาละอองเกสรในไนโตรเจนเหลวได้เพียง 4 สัปดาห์ ขณะที่เก็บรักษาในตู้เย็นและตู้แช่แข็งได้เพียง 2 สัปดาห์เท่านั้น

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

- ละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมพันธุ์ KL1
- อาหารสังเคราะห์สูตร Brewbaker และ Kwack (1963)
- กล้องจุลทรรศน์
- อุปกรณ์ในเก็บละอองเกสรอินทผลัม การทดสอบความงอก ความมีชีวิต และการเก็บรักษาในอุณหภูมิต่างๆ

แบบและวิธีการทดลอง

ทดสอบความงอกละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมพันธุ์ KL1 เพื่อรวบรวมละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมที่เหมาะสมก่อนการเก็บรักษาและ ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาละอองเกสรตัวผู้อินทผลัม

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. รวบรวมละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมที่เหมาะสมก่อนการเก็บรักษา

1.1 คัดเลือกต้นอินทผลัมเพศผู้ที่สมบูรณ์ในการให้ดอกทดสอบความงอกด้วยวิธีในอาหารสังเคราะห์สูตร Brewbaker และ Kwack (1963) ทำการเก็บช่อดอกตัวผู้เมื่อจั่นดอกอินทผลัมแตกบานเต็มที่ โดยเลือกดอกตัวผู้ที่บานเต็มที่ เคาะละอองเกสรมาทดสอบความงอกจำนวนอย่างน้อย 3 ต้น ต้นละ 2 ช่อ

1.2 ทดสอบความงอกละอองเกสรตัวผู้อินทผลัม โดยสุ่มนับละอองเกสรที่งอกและไม่งอก ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า จำนวน 5 สไลด์ และตรวจนับความงอกของละอองเกสรจำนวน 10 บริเวณต่อสไลด์ แล้วบันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอก

2. ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาละอองเกสรตัวผู้อินทผลัม

2.1 รวบรวมละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมพันธุ์ KL1 จากแปลงทดลองของ ศวพ. เชียงใหม่ ที่มีความงอกเหมาะสมจากการทดลองในข้อ 1.

2.2 ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาอับละอองเกสรของอินทผลัม วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 หลอดโดยแบ่งเป็น 2 การทดลองดังนี้

2.2.1 การลดความชื้นละอองเกสรโดยใช้ห้องลดความชื้น (drying room) โดยนำละอองเกสรบรรจุถุงวางในห้องลดความชื้น (25 องศาเซลเซียส, 15% RH) จนได้ระดับความชื้นที่เหมาะสม แล้วแบ่งใส่หลอดทดลอง โดยแบ่งเป็นการทดลองย่อยเป็น 4 การทดลอง ตามอุณหภูมิการเก็บรักษา ได้แก่ อุณหภูมิห้อง, 4, -20 และ -196 องศาเซลเซียส และทดสอบความงอกเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 0, 6, 12, และ 18 เดือน รวม 4 กรรมวิธี ในอาหารสังเคราะห์สูตร Brewbaker และ Kwack (1963) สุ่มนับละอองเกสรที่งอกและไม่งอก ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า จำนวน 5 สไลด์ และตรวจนับความงอกของละอองเกสรจำนวน 10 บริเวณต่อสไลด์ แล้วบันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอก

2.2.2 การลดความชื้นโดยเทคนิค Freeze drying โดยนำละอองเกสรมาลดความชื้นโดยใช้เครื่อง Freeze dry แล้วนำละอองเกสรแบ่งใส่หลอดทดลอง โดยแบ่งเป็นการทดลองย่อยเป็น 4 การทดลอง ตามอุณหภูมิการเก็บรักษา ได้แก่ อุณหภูมิห้อง, 4, -20 และ -196 องศาเซลเซียส และทดสอบความงอกเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 0, 6, 12, และ 18 เดือน รวม 4 กรรมวิธี ในอาหารสังเคราะห์สูตร Brewbaker และ Kwack (1963) สุ่มนับละอองเกสรที่งอกและไม่งอก ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า จำนวน 5 สไลด์ และตรวจนับความงอกของละอองเกสรจำนวน 10 บริเวณต่อสไลด์แล้วบันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอก

3. ทดสอบการติดผลหลังการเก็บรักษาละอองเกสรที่อุณหภูมิต่างๆ

กรมวิชาการเกษตร

นำละอองเกสรที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ที่สามารถเก็บรักษาได้นานที่สุดโดยที่ยังคงความงอกดีไปทดสอบการติดผลในแปลงปลูกโดยผสมกับดอกตัวเมียและคลุมช่อดอก ทำ 3 ช่อดอก/อุณหภูมิการเก็บรักษา จำนวน 3 ซ้ำ

การบันทึกข้อมูล

บันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอก โดยคำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสร จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสร} = \frac{\text{จำนวนละอองเกสรที่งอก} \times 100}{\text{จำนวนละอองเกสรทั้งหมดที่สุ่มนับ}}$$

ผลการวิจัย (Results)

ปี 2562

การรวบรวมละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมก่อนการเก็บรักษา

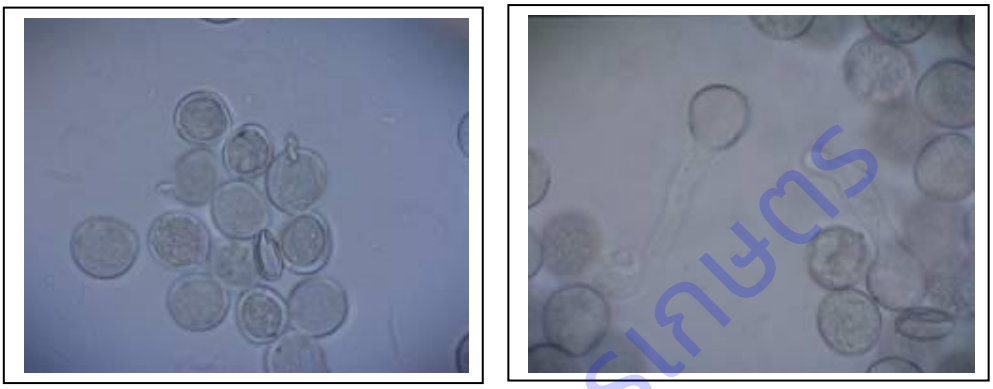
รวบรวมละอองเกสรจากช่อดอกตัวผู้ของอินทผลัมที่ออกดอกในช่วงเดือนมกราคมถึงมีนาคม 2562 ณ ศวพ. เชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ โดยคัดเลือกต้นอินทผลัมเพศผู้ที่แทงจั่นเป็นระยะเวลาประมาณ 3 -4 สัปดาห์ ดังภาพที่ 7 เก็บช่อดอกตัวผู้เมื่อจั่นดอกอินทผลัมแตกบานเต็มที่ เคาะละอองเกสรมาทดสอบความงอกของละอองเกสรที่ระยะเวลาต่างๆ ดังภาพที่ 8 นำละอองเกสรดอกตัวผู้แต่ละระยะเวลาทำการเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร Brewbaker และ Kwack (1963) โดยการหยดอาหารลงบนที่ปิดสไลด์ เขี่ยละอองเรณูให้กระจาย แล้ววางบนสไลด์หลุม และการทำบ่มไว้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง สุ่มนับละอองเกสรที่งอกและไม่งอกด้วย counting chamber ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า ตรวจนับความงอกของละอองเกสร ดังภาพที่ 8 พร้อมทำการย้อมสี acetocamine เพื่อทดสอบความมีชีวิต พบว่าละอองเกสรที่นำมาเก็บรักษามีความมีชีวิต จากการบันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอก ในเบื้องต้นพบว่าเปอร์เซ็นต์การงอกของละอองเกสรตัวผู้ที่เก็บเมื่อจั่นแตกเต็มที่แล้ว หรือนำมาผึ่งไว้ระยะหนึ่งก่อนจะมีความงอกสูงกว่าการเก็บเมื่อจั่นเริ่มแตกและจั่นแตกเต็มที่แล้วทิ้งไว้บานบนต้นระยะหนึ่ง โดยมีความงอกอยู่ที่ 18 – 36 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5) หลังจากนั้นจึงรวบรวมละอองเกสรดอกตัวผู้ของอินทผลัมจากช่อดอกตัวผู้ที่บานเต็มที่แล้วเพื่อใช้ในการนำไปทดลองเก็บรักษาที่อุณหภูมิระดับต่างๆ ต่อไป

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรตัวผู้ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

เวลาในการเก็บละอองเกสรตัวผู้	การงอกของละอองเกสรตัวผู้ (%)
เก็บเมื่อจั่นเริ่มแตก	7.20 – 16.90
เก็บเมื่อจั่นแตกเต็มที่	18.40 – 35.40
เก็บเมื่อจั่นแตกเต็มที่แล้วผึ่งไว้เป็นเวลา 3-9 ชั่วโมง	15.90 – 36.12
เก็บเมื่อจั่นแตกเต็มที่ทิ้งบานบนต้นระยะหนึ่ง	4.10 – 12.50

กรมวิชาการเกษตร

ที่ 7 ศวพ.เชียงใหม่ จ.เชียงใหม่



ภาพที่ 8 ตัวอย่างละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมที่งอกและไม่งอก ที่ระยะการเก็บต่างๆ ที่กำลังขยาย 400 เท่า

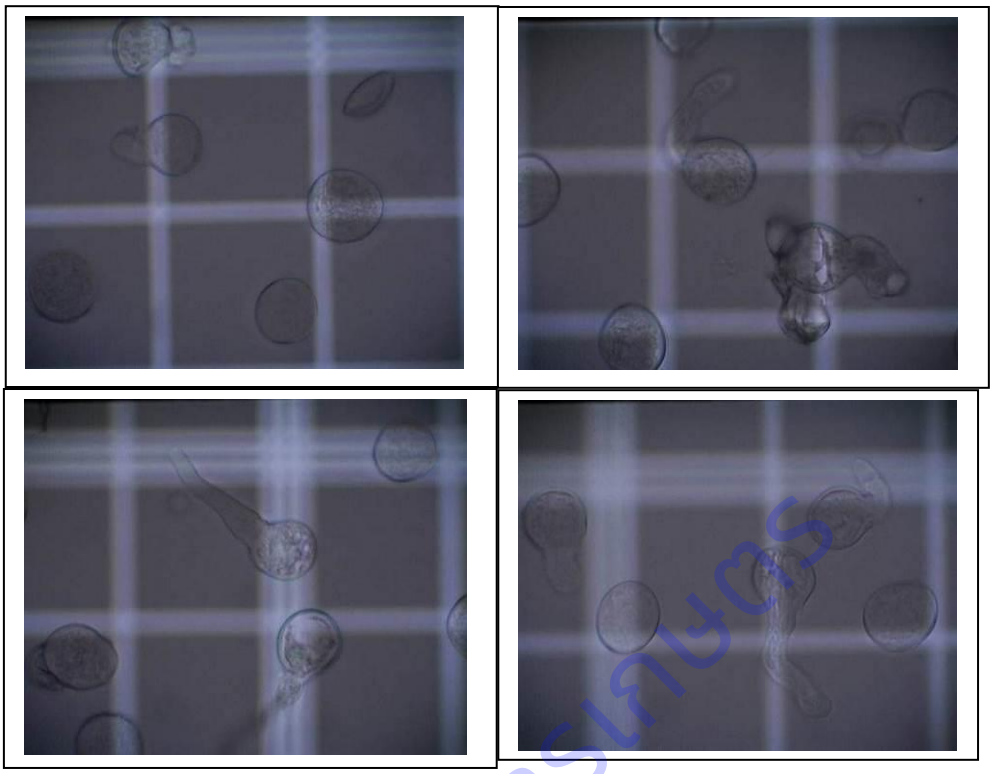
กรมวิชาการเกษตร

ปี2563 -2564

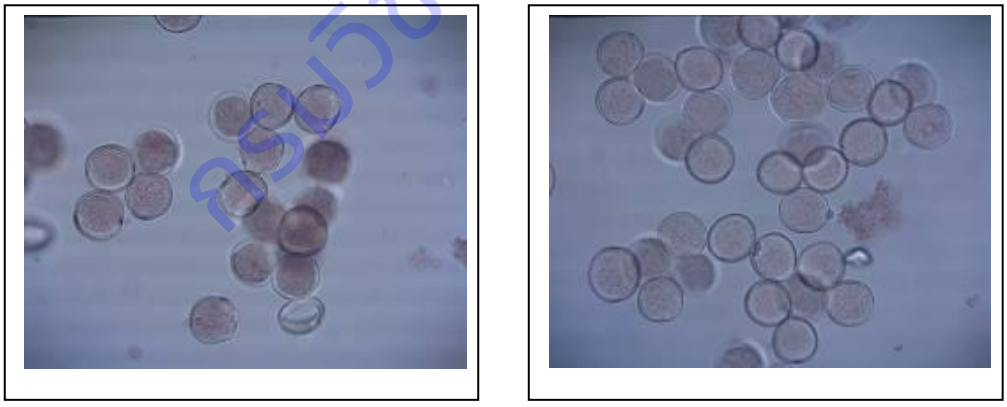
ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาละอองเกสรตัวผู้อินทผลัม

รวบรวมละอองเกสรจากช่อดอกตัวผู้ของอินทผลัมพันธุ์ KL1 จากแปลงปลูกอินทผลัม ณ ศวพ. เชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ ในเดือนมีนาคม 2563 เพื่อนำไปทดลองเก็บรักษาที่อุณหภูมิระดับต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง, 4, -20 และ -196 องศาเซลเซียส โดยทำมาลดความชื้นในห้องลดความชื้น (25 องศาเซลเซียส , 15% RH) และเครื่อง Freeze drying จนได้ระดับความชื้นที่เหมาะสมก่อนนำไปเก็บรักษา โดยการลดความชื้นในห้องลดความชื้น (drying room) ได้ค่าความชื้นก่อนทำการเก็บรักษา 9.48 เปอร์เซ็นต์ ลดความชื้นด้วยเทคนิค Freeze dry ได้ค่าความชื้นก่อนทำการเก็บรักษา 7.55 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดสอบความงอกโดยเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร Brewbaker และ Kwack (1963) โดยการหยดอาหารลงบนที่ปิดสไลด์ เขี่ยละอองเรณูให้กระจาย แล้ววางบนสไลด์หลุม และการทำบ่มไว้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง สุ่มนับละอองเกสรที่งอกและไม่งอกจำนวน 10 บริเวณ ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าความงอกเริ่มต้นก่อนทำการเก็บรักษา 78 และ 63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากนั้นแบ่งใส่หลอดทดลอง แล้วนำเก็บรักษาตามอุณหภูมิการเก็บรักษา เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน นำละอองเกสรที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ มาทดสอบความงอกตามวิธีการทดสอบความงอกที่ได้กล่าวข้างต้น (ภาพที่ 9) พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรที่ลดความชื้นทั้งสองวิธีมีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันมากนัก โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรที่ลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้นและเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้อง, 4, -20 และ -196 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 20.57, 41.12, 66.42 และ 79.65 เปอเซ็นต์ ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรที่ลดความชื้นโดยใช้เทคนิค Freeze dry และเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้อง, 4, -20

และ -196 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 30.68, 45.53, 61.95 และ 75.24 ตามลำดับ (ตารางที่ 6 และ 7) ละอองเกสรยังคงความมีชีวิต จากการตรวจสอบโดยการย้อมสี acetocamine (ภาพที่ 10)



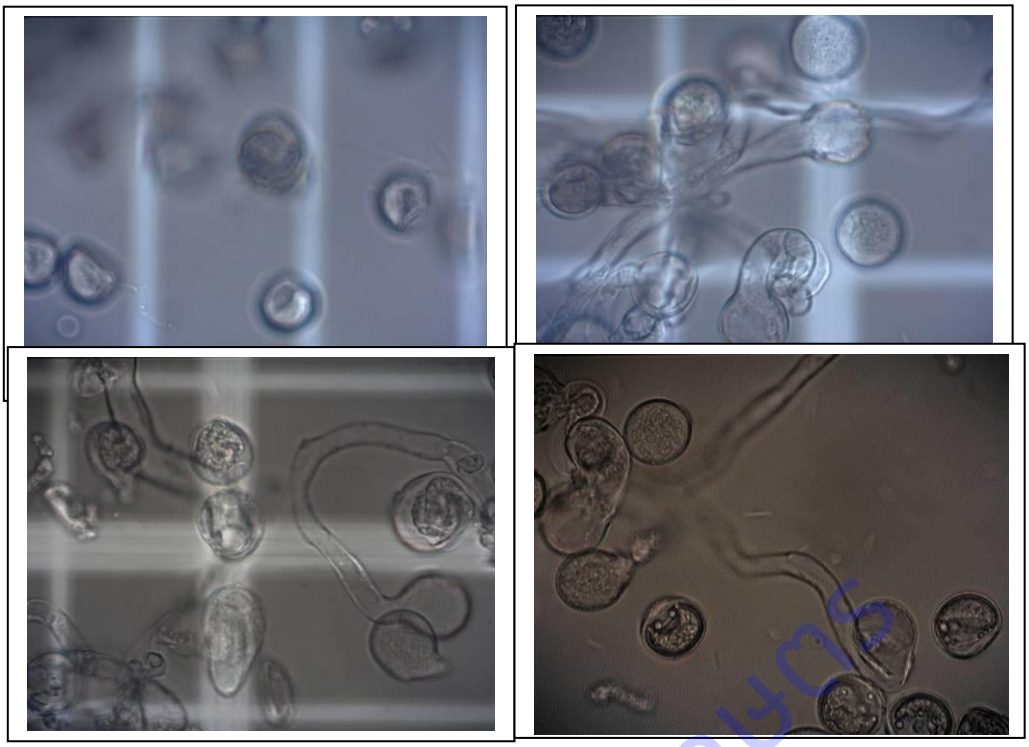
ภาพที่ 9 ละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมที่งอกในแต่ละอุณหภูมิการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน ที่กำลังขยาย 400 เท่า



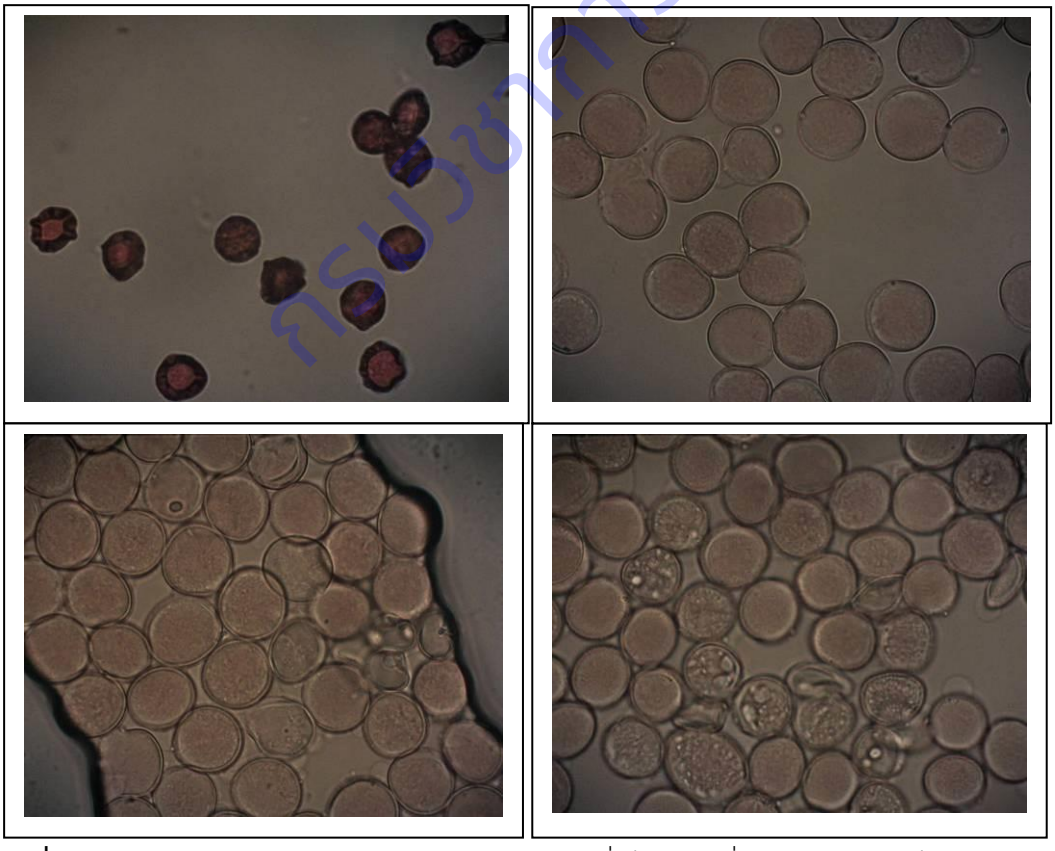
ภาพที่ 10 ความมีชีวิตของตัวอย่างละอองเกสรอินทผลัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 6 เดือน

เมื่อเก็บรักษาละอองเกสรอินทผลัมเป็นระยะเวลา 12 เดือน นำละอองเกสรที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ มาทดสอบความงอกตามวิธีการทดสอบความงอก (ภาพที่ 11) พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรที่ลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้นและเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้อง, 4, -20 และ -196 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 7.69, 34.89, 50.72 และ 48.80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรที่ลดความชื้นโดยใช้เทคนิค Freeze dry และเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้อง, 4, -20 และ -196 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 16.03, 38.23, 57.24 และ 64.53 ตามลำดับ (ตารางที่ 2 และ 3) ละอองเกสรยังคงความมีชีวิต โดยการย้อมสี acetocamine แล้วละอองเกสรส่วนใหญ่ยังคงติดสี (ภาพที่ 12)

กรมวิชาการเกษตร



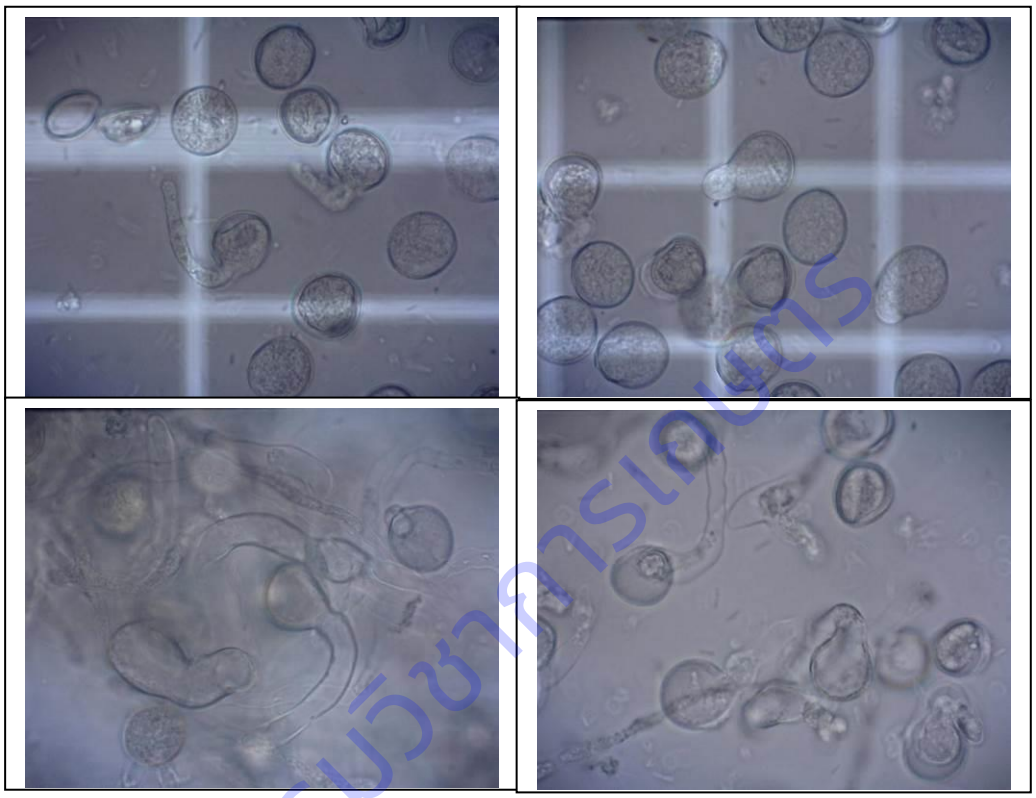
ภาพที่ 11 ละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมที่งอกในแต่ละอุณหภูมิการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 เดือน ที่กำลังขยาย 400 เท่า



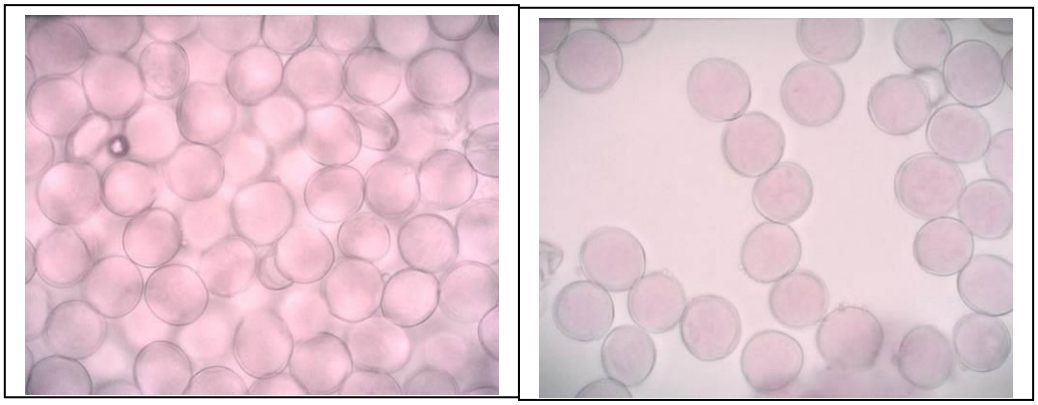
ภาพที่ 12 ความมีชีวิตของตัวอย่างละอองเกสรอินทผลัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 เดือน

ศูนย์วิทยทรัพยากร

หลังจากเก็บรักษาละอองเกสรอินทผลัมเป็นระยะเวลา 18 เดือน นำละอองเกสรที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ มาทดสอบความงอกอีกครั้งตามวิธีการทดสอบความงอก (ภาพที่ 13) พบว่าพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรที่ลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้นและเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้อง, 4, -20 และ -196 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 0, 0, 63.88 และ 65.92 เปอเซ็นต์ ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรที่ลดความชื้นโดยใช้เทคนิค Freeze dry และเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้อง, 4, -20 และ -196 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 0, 3.18, 72.67 และ 79.91 ตามลำดับ (ตารางที่ 5 และ 6) ละอองเกสรยังคงความมีชีวิต โดยการย้อมสี acetocamine แล้วละอองเกสรส่วนใหญ่ยังคงติดสี (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 13 ละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมที่งอกในแต่ละอุณหภูมิการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 18 เดือน ที่กำลังขยาย 400 เท่า



ภาพที่ 14 ความมีชีวิตของตัวอย่างละอองเกสรอินทผลัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 18 เดือน

ศูนย์วิทยทรัพยากร

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์ความงอกละอองเกสรอินทผลัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 6, 12 และ 18 เดือน จากการลดความชื้นละอองเกสรโดยใช้ห้องลดความชื้น (drying room)

อุณหภูมิการเก็บรักษา	เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย (%)		
	6 เดือน	12 เดือน	18 เดือน
อุณหภูมิห้อง	20.57	7.69	0
อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	41.12	34.89	0
อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส	66.42	50.72	63.88
อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส	79.65	48.80	65.92

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์ความงอกละอองเกสรอินทผลัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 6, 12 และ 18 เดือน จากการลดความชื้นโดยเทคนิค Freeze drying

อุณหภูมิการเก็บรักษา	เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย (%)		
	6 เดือน	12 เดือน	18 เดือน
อุณหภูมิห้อง	30.68	16.03	0
อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	45.53	38.23	3.18
อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส	61.95	57.24	72.67
อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส	75.24	64.53	79.91

กรมวิชาการเกษตร

ทดสอบการติดผลหลังการเก็บรักษาละอองเกสรที่อุณหภูมิต่างๆ

เตรียมตัวอย่างละอองเกสรที่ทำการเก็บรักษา เพื่อนำไปทดสอบการติดผล โดยนำละอองเกสรมาทดสอบความมีชีวิต ทำการย้อมสีด้วยอะซีโตคามีน พบว่าละอองเกสรยังติดสีแสดงถึงความมีชีวิตยังมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ทำการคัดเลือกตัวอย่างละอองเกสรอินทผลัมที่เก็บรักษาที่ยังมีความงอกดีไปทดสอบการติดผลในแปลงปลูกโดยผสมกับดอกตัวเมีย ซึ่งพบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 12 เดือน มีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยสูง จึงนำไปผสมกับช่อดอกตัวเมียในแปลงปลูกอินทผลัม ณ ศวพ.เชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ ในเดือนมีนาคม 2564 พบว่าอินทผลัมยังติดผลและมีแนวโน้มให้ผลผลิตที่ดีเหมือนกับการผสมละอองเกสรสด (ภาพที่ 15)

ภาพที่ 15 การติดผลอินทผลัมหลังจากการนำละอองเกสรดอกตัวผู้ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 12 เดือน

อภิปรายผล (Discussion)

การศึกษาด้านการเก็บรักษาละอองเกสรพืชเพื่อการใช้ประโยชน์ในด้านการปรับปรุงพันธุ์ และการเพิ่มผลผลิตให้กับพืชนั้นมีการศึกษามาแล้วในพืชหลายชนิด โดยเฉพาะพืชที่มีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียแยกกัน เช่นในพืชสกุลระกำ หรืออินทผลัมเป็นต้น โดยในประเทศไทยพบการศึกษาความมีชีวิตและวิธีการเก็บรักษาละอองเรณูพืชสกุลระกำบางชนิดด้วยวิธีต่างๆ (ชมภู, 2539) ทำให้เกิดแนวทางการศึกษาการเก็บรักษาละอองเกสรในระยะยาวสำหรับการผสมข้ามฤดูกาลยามเกิดสภาวะอากาศแปรปรวน การเก็บรักษาพันธุกรรมสำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ ตลอดจนพัฒนาเป็นธุรกิจการค้าละอองเกสรสำหรับผสมพันธุ์ จากการทดลองพบว่าความชื้นเป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งในการเก็บรักษาความชื้นที่เหมาะสมจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาให้ยาวนานขึ้นโดยเฉพาะการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง ซึ่งควรมีการศึกษาปัจจัยนี้ในละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมในหลากหลายพันธุ์ต่อไป

การเก็บรักษาละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมสามารถเก็บรักษาได้ในระยะยาวที่อุณหภูมิต่ำโดยสามารถเก็บรักษาในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และ -196 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 เดือน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยในพืชหลากหลายชนิด เช่น การเก็บรักษาละอองเกสรฝรั่งบางพันธุ์ พบว่าเก็บรักษาได้ดีในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสสามารถเก็บได้นานถึง 10 สัปดาห์ (สุพี, 2543) ต่างจากการศึกษาความมีชีวิตและการเก็บรักษาละอองเรณูของทุเรียนของอำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ จำนวน 6 พันธุ์ ที่อุณหภูมิ 0, 5 และ 25 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถเก็บละอองเรณูทุเรียนได้นานที่สุดที่ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 วัน (พิชัย, 2558) และการศึกษาการเก็บรักษาละอองเรณูว่านสี่ทิศสำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ นัด และคณะ (2558) ศึกษาความมีชีวิตของละอองเรณูว่านสี่ทิศ จำนวน 9 พันธุ์ ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส พบว่าว่านสี่ทิศทั้ง 9 พันธุ์ สามารถเก็บได้ 15-20 วัน โดยยังคงความงอกที่ดี โดยเฉพาะพันธุ์วาวี 05 และวาวี 06 สามารถเก็บรักษาได้นานถึง 45 วัน ที่เปอร์เซ็นต์ความงอก 20-50 เปอร์เซ็นต์ โดยหากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเก็บได้นานเพียง 3 วัน นอกจากนี้การ

กรมวิชาการเกษตร

เก็บรักษาเรณูข้าวโพดหวานที่อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส เก็บรักษาได้นาน 56 วัน ในขณะที่การเก็บที่อุณหภูมิ 4, 0 และ -20 องศาเซลเซียส เก็บได้นาน 28 วัน (พรชัย และคณะ, 2562)

ส่วนการศึกษาการเก็บรักษาละอองเรณูระกำในไนโตรเจนเหลว ซึ่งพบว่าการเก็บละอองเรณูในไนโตรเจนเหลวโดยตรง ยังคงความมีชีวิตในระยะเวลา 360 วัน ได้ดีที่สุดโดยมีความงอก 45.11 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการเก็บที่ 0 องศาเซลเซียส, การดูดความชื้น 30 นาที ก่อนเก็บในไนโตรเจนเหลว และการผ่านความเย็นที่ -20 องศาเซลเซียส ก่อนเก็บในไนโตรเจนเหลว (รมย์ริญ, 2542) ส่วนในการศึกษาการเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัมมีรายงานการศึกษาในประเทศที่มีการเพาะปลูกพืชชนิดนี้ ส่วนใหญ่จะเป็นในกลุ่มประเทศแถบตะวันออกกลาง โดย Tisstrat และคณะ (1981) พบว่าความมีชีวิตของอับละอองเกสรอินทผลัม 11 พันธุ์ สามารถเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวได้นานกว่า 435 วัน โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอก มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Larbi และคณะ (1995) ศึกษาการเก็บรักษาอับละอองเกสรด้วยวิธี freeze – drying ซึ่งเป็นการเก็บในระยะยาว พบว่าที่ 24 เดือน มีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่ากับ 60.6 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Rapid freeze – drying ที่อุณหภูมิ -20 ภายใต้สภาพสูญญากาศ Mortazavi และคณะ, 2010 พบการศึกษาหาวิธีการเก็บรักษาที่เหมาะสม และทดสอบความงอกละอองเกสรในสภาพปลอดเชื้อของอินทผลัม 3 พันธุ์ ของอิหร่าน โดยรักษาในอุณหภูมิห้อง, ตู้เย็น, ตู้แช่แข็ง และไนโตรเจนเหลว จากการศึกษาพบว่าการเก็บรักษาละอองเกสรนาน 200 วัน ในไนโตรเจนเหลวจะคงความมีชีวิตของละอองเกสรสูงสุด (Tisserat *et al*., 1983, Tisserat *et al*., 1985) เมื่อเทียบกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งให้ผลเป็นไปในในทางเดียวกันกับ Anushma และคณะ (2018) แต่สามารถเก็บรักษาได้นานถึง 12 เดือน เช่นเดียวกับ Maryam และคณะ (2015) สามารถเก็บรักษาได้นาน 12 เดือน ในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ส่วน Ahmad (2012) ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาละอองเกสรอินทผลัมและพิตาชิโอในการเก็บรักษาระยะสั้น ระยะปานกลาง และระยะยาว โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ตู้เย็น ตู้แช่แข็ง และไนโตรเจนเหลว (โดยแช่ไนโตรเจนเหลว 15 นาที หลังจากนั้นนำแช่ในตู้เย็น -80 องศาเซลเซียส) จนถึง 52 สัปดาห์ นำมาทดสอบความงอกในอาหารเพาะเลี้ยงที่เติมวุ้น 1 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลซูโครส 8 เปอร์เซ็นต์ และกรดซิตริก 20 ppm. พร้อมทดสอบความมีชีวิตด้วยวิธี TTC พบว่าการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวให้ผลดีที่สุด และการเก็บรักษาในตู้เย็นมีความสะดวกในการเก็บรักษาในระยะยาว ส่วนการเก็บในตู้แช่แข็งสะดวกสำหรับการเก็บรักษาในระยะปานกลาง ส่วนในพิตาชิโอสามารถเก็บรักษาละอองเกสรในไนโตรเจนเหลวได้เพียง 4 สัปดาห์ ขณะที่เก็บรักษาในตู้เย็นและตู้แช่แข็งได้เพียง 2 สัปดาห์เท่านั้น และอาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของละอองเกสรของอินทผลัมเพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการงอกของละอองเกสรและการจำแนกพันธุ์ (ศิรัชตนันท์ และคณะ, 2559) อย่างไรก็ดีอินทผลัมยังเป็นพืชที่ยังใหม่สำหรับประเทศไทยแต่เป็นพืชที่มีอนาคตในการสร้างรายได้ การเพิ่มประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิตเป็นสิ่งสำคัญที่ยังต้องมีการศึกษาให้เกิดการพัฒนาต่อไป

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

1. การเก็บรักษาละอองเกสรดอกตัวผู้ของอินทผลัมในระยะยาวควรเก็บละอองเกสรในช่วงที่ช่อดอกตัวผู้บานเต็มที่แล้ว และเก็บจากต้นทันทีเพื่อป้องกันการสูญเสียปริมาณและคุณภาพของละอองเกสร

2. ละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมก่อนการเก็บรักษาควรมีสภาพความชื้นต่ำ สามารถใช้เทคนิคการลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้น และ Freeze dry

3. การเก็บรักษาละอองเกสรดอกตัวผู้ของอินทผลัม มีแนวโน้มที่จะเก็บได้ระยะเวลาที่ยาวนานขึ้นเมื่อเก็บรักษาในอุณหภูมิที่ต่ำ โดยสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 เดือน และอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสและ -196 องศาเซลเซียส (ในไนโตรเจนเหลว) มีแนวโน้มเก็บรักษาได้มากกว่า 18 เดือน ขึ้นไป

ศึกษาระยะที่เหมาะสมของดอกเพศเมียต่อการถ่ายละอองเกสร
Study on suitable stage of female inflorescence for pollination

ศิริลักษณ์ อินทะวงศ์ ปาริฉัตร สังข์สะอาด สุมิตร วิลัยพร กรกช จันทร และ วีระ วรปิติรังสี
Siriluck Inthawong, Parichart Sangsa-ad, Sumit Wilaiporn, Korakoch Chantorn, and Veera Vorapitirangsee

คำสำคัญ *Phoenix dactylifera* L., การถ่ายละอองเรณู การวางแผนถ่ายละอองเรณู
Keywords *Phoenix dactylifera* L., Pollination, Planning pollination

บทคัดย่อ

การทดลองศึกษาระยะที่เหมาะสมของดอกเพศเมียต่อการถ่ายละอองเกสร มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระยะที่เหมาะสมของช่อดอกอินทผลัมเพศเมียที่สามารถผสมติดผลมากที่สุด เพื่อให้เกษตรกรสามารถวางแผนการถ่ายละอองเกสรได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำการทดลองกับต้นอินทผลัมเพศเมียพันธุ์ KL1 อายุ 8 ปี ที่ปลูกในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ ตำบลโป่งน้ำร้อน อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ ในเดือนมกราคม - มีนาคม ปี พ.ศ. 2562 และ 2563 วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (RCBD) ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ได้แก่ การถ่ายละอองเกสรด้วยมือโดยใช้ละอองเกสรจากช่อดอกอินทผลัมเพศผู้พันธุ์ KL1 ที่บานเต็มที่ ลงบนช่อดอกเพศเมีย 5 ระยะ คือ ในวันที่กาบช่อดอกเริ่มแตก และหลังจากกาบช่อดอกแตก 2, 4, 6 และ 8 วัน แล้วบันทึกเปอร์เซ็นต์การติดผลหลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน โดยเก็บข้อมูลการติดผลปีละ 1 ครั้ง พบว่า ช่อดอกเพศเมีย 2 ระยะ ได้แก่ วันที่กาบช่อดอกเริ่มแตก และหลังจากกาบช่อดอกแตก 2 วัน พบเปอร์เซ็นต์การติดผลของอินทผลัมสูงที่สุดอยู่ในช่วง 77.5- 83.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนช่อดอกเพศเมียที่ถ่ายละอองเกสรหลังจากกาบช่อดอกแตกไปแล้ว 4, 6 และ 8 วัน มีเปอร์เซ็นต์การติดผลลดลงตามลำดับ

กรมวิชาการเกษตร

Abstracts

Study on suitable stage of date palm female inflorescence which able to give the highest fruit setting for increasing efficiency of farmer pollination program. The experiment was taken on the-8-year-old KL1 date palm tree which was planted in Chiang Mai Agricultural Research and Development Center, Pong Nam Ron Sub-district, Fang District, Chiangmai Province in January–March of 2019 and 2020. The experimental design was a randomized complete block design (RCBD) with four replications. KL1 date palm pollens which collected from fully opened male inflorescence were used for hand pollination on five different stages of female inflorescence: on first day the spathe began to open, and on 2, 4, 6 and 8 days after spathe opened. In each year, after 3 months of the pollination result suggested that the highest percentage of fruit setting was observed in pollination on female inflorescence at the first day of spathe opened and 2 days after then (in range 77.5 - 83.5%). However, pollination on female inflorescence at 4, 6 and 8 days after spathe opened gave the lower percentage of fruit setting respectively.

บทนำ (Introduction)

อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.) เป็นไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีแหล่งปลูกอยู่ในประเทศแถบตะวันออกกลาง ขณะนี้กำลังได้รับความนิยมจากเกษตรกรไทยอย่างมากและมีความต้องการของตลาดสูงโดยเฉพาะชนิดรับประทานผลสด เนื่องจากผลมีรสชาติหวานอร่อยและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ ด้วยเหตุนี้พื้นที่ปลูกอินทผลัมชนิดรับประทานผลสดในประเทศไทยจึงเพิ่มมากขึ้นทุกปี จากข้อมูลการนำเข้าอินทผลัมจากสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ในปี 2562 (เดือน มกราคม-กันยายน) พบว่า ประเทศไทยมีการนำเข้าอินทผลัมมากถึง 1,844,357 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่าสูงถึง 102,716,642 บาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2563)

การปลูกอินทผลัมในประเทศไทยให้ได้ผลผลิตดีนั้นส่วนหนึ่งขึ้นอยู่กับการถ่ายละอองเกสร เนื่องจากอินทผลัมเป็นพืชที่มีดอกแยกเพศอยู่ต่างต้น (dioecious plant) จึงเป็นพืชผสมข้ามอย่างสมบูรณ์ (Bacha *et al*., 2000) ทำให้โอกาสที่จะติดผลผลิตน้อยหากไม่ช่วยผสมเกสร ดังนั้นการเพิ่มผลผลิตของการปลูกอินทผลัมจำเป็นต้องมีการถ่ายละอองเรณู (pollination) ลงบนช่อดอกเพศเมียโดยตรง (Djerouno *et al*., 2015) โดยปกติอินทผลัมจะเริ่มออกดอกประมาณเดือนมกราคม ต้นหนึ่งจะมีช่อดอกประมาณ 5-11 ช่อขึ้นอยู่กับอายุและความสมบูรณ์แข็งแรงของต้น และจะทยอยบานประมาณปลายเดือนมกราคมเป็นต้นไปทุก 5 วัน (จารุฉัตร, 2558) เกษตรกรปลูกอินทผลัม 32-35 ต้นต่อ 1 ไร่ ในจำนวนนี้จะมีต้นตัวผู้ 5-10 ต้น และมีต้นตัวเมีย 25-30 ต้น เพื่อให้เพียงพอต่อการผสมเกสร ดังนั้น เกษตรกรจึงต้องมีการวางแผนการถ่ายละอองเรณูให้ทันกับช่วงเวลาที่ดอกบาน เพื่อให้การผสมเกสรเกิดประสิทธิภาพสูงที่สุด (ศิริลักษณ์, 2563)

ได้มีการศึกษาระยะที่เหมาะสมของช่อดอกเพศเมียในประเทศแถบตะวันออกกลางโดย Moustafa, A.A. (1998) ในอินทผลัมชนิดรับประทานผลแห้งสายพันธุ์ “Seewy” ที่ปลูกใน EL-Fayoum Governorate ประเทศอียิปต์ ใน คริสต์ศตวรรษที่ 1995 และ 1996 พบว่า การถ่ายละอองเรณูวันที่กาบช่อดอกตัวเมียแตก และหลังจากกาบช่อดอกแตก 2 วัน ทำให้ปริมาณผลผลิตสูง ส่วน Ahmad *et al*., (2015) ศึกษาในสายพันธุ์ “Begum Jangi” ที่ปลูกใน Directorate of Agriculture Research Dates Turbat ประเทศปากีสถาน ใน คริสต์ศตวรรษที่ 2012 และ 2013 พบว่า การถ่ายละอองเรณูตั้งแต่ก่อนวันที่กาบช่อดอกแตก 1 วัน จนถึงหลังวันที่กาบช่อดอกแตก 4 วัน

กรมวิชาการเกษตร

มีเปอร์เซ็นต์การติดผลมากที่สุด และลดลงเรื่อย ๆ เมื่อทำการถ่ายละอองเรณูหลังวันที่กาบช่อดอกแตก 6 วันเป็นต้นไป สำหรับในประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศเป็นแบบร้อนชื้นซึ่งแตกต่างกับประเทศในแถบตะวันออกกลางที่มีสภาพภูมิอากาศแห้งแล้ง ฝนน้อย จึงอาจเป็นไปได้ว่าระยะของดอกเพศเมียที่เหมาะสมต่อการถ่ายละอองเรณูอาจไม่เหมือนกัน

สำหรับอินทผลัมสายพันธุ์ KL-1 เป็นพันธุ์บริโภคผลสด ที่ได้รับการพัฒนาปรับปรุงสายพันธุ์โดยเกษตรกรผู้ปลูกอินทผลัมอำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ (สวนโกหลัก) จากการนำเอาอินทผลัมพันธุ์ Deglet Nour จากประเทศอิสราเอลมาผสมข้ามกับพันธุ์ Barhee จากประเทศจอร์แดน แล้วปลูกคัดเลือกต้นจนได้สายพันธุ์ KL-1 ที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีและให้ผลผลิตสูงเหมาะสำหรับปลูกภายในประเทศไทย ปัจจุบันมีแหล่งปลูกมากทางภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคอีสานในบางพื้นที่ (จารุฉัตร และคณะ, 2558) การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระยะที่เหมาะสมของช่อดอกอินทผลัมเพศเมียสายพันธุ์ KL-1 ซึ่งยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อนในสภาพภูมิอากาศของประเทศไทย ทั้งนี้เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการวางแผนการถ่ายละอองเรณูได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 5 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ถ่ายละอองเกสรในวันที่กาบช่อดอกเริ่มแตก
กรรมวิธีที่ 2 ถ่ายละอองเกสรหลังกาบช่อดอกแตก 2 วัน
กรรมวิธีที่ 3 ถ่ายละอองเกสรหลังกาบช่อดอกแตก 4 วัน
กรรมวิธีที่ 4 ถ่ายละอองเกสรหลังกาบช่อดอกแตก 6 วัน
กรรมวิธีที่ 5 ถ่ายละอองเกสรหลังกาบช่อดอกแตก 8 วัน

<u>วิธีดำเนินการ</u>

1. คัดเลือกต้นอินทผลัมเพศเมียที่มีความสมบูรณ์ และให้คุณภาพผลผลิตดี
2. คัดเลือกต้นอินทผลัมเพศผู้ที่สมบูรณ์ให้ดอกและปริมาณละอองเกสรมากเพื่อใช้ในการผสมเกสร
3. ก่อนถ่ายละอองเกสร นำละอองเกสรตัวผู้จากช่อดอกที่บานเต็มที่มาตรวจสอบความมีชีวิต โดยหยดสาร acetocarmine ลงบนละอองเกสรที่เตรียมไว้บนแผ่นสไลด์ แล้วนำไปตรวจนับละอองเกสรที่ย้อมติดสีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 10 เท่า จากนั้น นำมาหาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสรโดยคำนวณเทียบกับจำนวนละอองเกสร 100 หน่วย จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต (\%)} = \frac{\text{จำนวนละอองเกสรที่ย้อมติดสี}}{\text{จำนวนละอองเกสรทั้งหมด}} \times 100$$

4. คลุมช่อดอกเพศเมียไว้เพื่อป้องกันการผสมข้ามจากแมลง เมื่อช่อดอกเริ่มแตกจึงทำการถ่ายละอองเกสรตามกรรมวิธี โดยใช้ละอองเกสรประมาณ 2 กรัมต่อการผสม 1 ช่อ และถ่ายละอองเกสรในช่วงเวลา 08.00-10.00 น.
5. หลังการถ่ายละอองเกสร นำถุงกระดาษมาคลุมช่อดอกแต่ละกรรมวิธีไว้เพื่อป้องกันการปนเปื้อนละอองเกสรจากต้นอื่น จากนั้น 15 วันจึงแกะถุงกระดาษออก
6. ปฏิบัติดูแลรักษา เช่น ตัดแต่งใบ ใส่ปุ๋ย ให้น้ำ และป้องกันกำจัดศัตรูพืช ตามปกติ

กรมวิชาการเกษตร

7. บันทึกข้อมูล
- ข้อมูลทั่วไป ได้แก่ วันที่ออกดอก วันที่ผสมเกสร และอุณหภูมิ
- ข้อมูลปริมาณผลผลิต ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การติดผล หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน

ผลการวิจัย (Results)

จากการศึกษาระยะที่เหมาะสมของช่อดอกเพศเมียอินทผลัมพันธุ์ KL1 ต่อการติดผล ในปี พ.ศ. 2562 และ 2563 นั้นให้ผลไปในทางเดียวกัน คือ การถ่ายละอองเกสรในระยะที่กาบช่อดอกเพศเมียเริ่มแตกและหลังจากกาบช่อดอกแตก 2 วัน อินทผลัมมีเปอร์เซ็นต์การติดผลสูงที่สุดอยู่ในช่วง 77.5 - 83.5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือการถ่ายละอองเกสรหลังจากกาบช่อดอกแตก 4 วัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การติดผลอยู่ในช่วง 70.3 - 71.8 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการถ่ายละอองเกสรหลังจากกาบช่อดอกแตก 6 และ 8 วัน พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การติดผลต่ำกว่า 57.9 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการถ่ายละอองเกสรในระยะที่กาบช่อดอกเพศเมียเริ่มแตกและหลังจากกาบช่อดอกแตก 2 วัน (ตารางที่ 8) (ภาพที่ 16-18)

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การติดผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี ที่ดำเนินการผสมเกสรในปี 2562 และ 2563 หลังถ่ายละอองเกสร 3 เดือน

ระยะของช่อดอกเพศเมีย	เปอร์เซ็นต์การติดผล (%)[(1)] (ปี 2562)	เปอร์เซ็นต์การติดผล (%)[(1)] (ปี 2563)
วันที่กาบช่อดอกเริ่มแตก	77.5[a]	82.7[a]
หลังกาบช่อดอกแตก 2 วัน	83.5[a]	79.6[a]
หลังกาบช่อดอกแตก 4 วัน	71.8[ab]	70.3[b]
หลังกาบช่อดอกแตก 6 วัน	52.4[c]	57.9[c]
หลังกาบช่อดอกแตก 8 วัน	54.2[bc]	47.9[d]
CV (%)	17.1	7.0

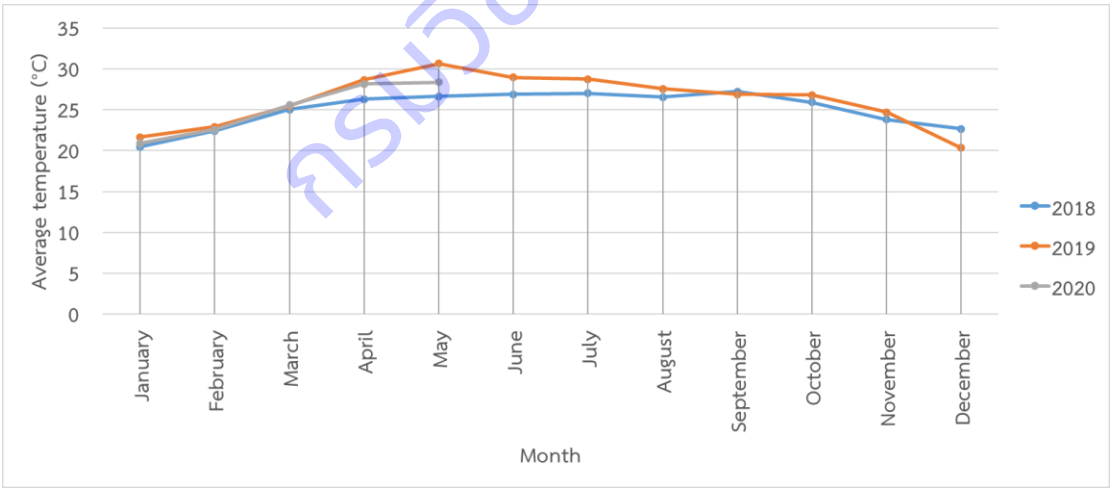
[(1)] เปอร์เซ็นต์การติดผลที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 16 ลักษณะช่อผลย่อยของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563

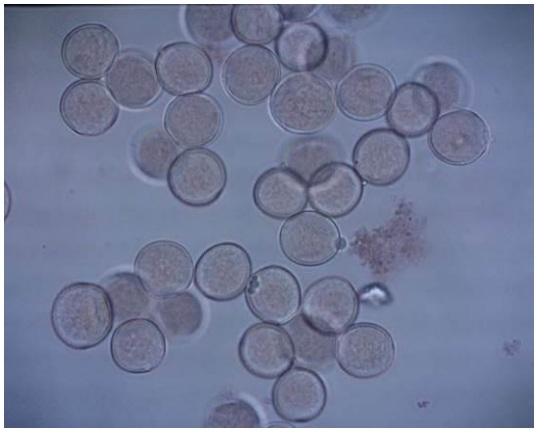
ภาพที่ 17 ลักษณะช่อผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2562

ภาพที่ 18 ลักษณะช่อผลของอินทผลัมในแต่ละกรรมวิธีหลังจากถ่ายละอองเกสรมาแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563



ภาพที่ 19 กราฟแสดงอุณหภูมิเฉลี่ยของ ศวพ.เชียงใหม่ ในปี 2561-2563

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 20 ละอองเกสรอินทผลัมที่ติดสีหลังจากย้อมด้วยสาร acetocarmine

1. คลุมช่อดอกเพศเมียที่แก่เต็มที่ด้วยถุงพลาสติกก่อนการถ่ายละอองเกสร

2. กาบช่อดอกเพศเมียเริ่มแตก

3. เก็บละอองเกสรจากช่อดอกเพศผู้ที่บานเต็มที่

4. ถ่ายละอองเกสรด้วยมือตามกรรมวิธี

5. คลุมช่อดอกเพศเมียที่ทำการถ่ายละอองเกสรแล้วด้วยถุงกระดาษนาน 15 วัน

6. ช่อดอกเพศเมียหลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 15 วัน

ภาพที่ 21 ขั้นตอนการดำเนินการถ่ายละอองเกสร

ศูนย์วิทยทรัพยากร

อภิปรายผล (Discussion)

จากผลการทดลองในปี 2562 และ 2563 จะเห็นได้ว่าการถ่ายละอองเกสรในระยะที่กาบช่อดอกเพศเมียเริ่มแตกและหลังจากกาบช่อดอกแตก 2 วัน อินทผลัมมีเปอร์เซ็นต์การติดผลสูงที่สุด ซึ่งผลดังกล่าวมีความสอดคล้องกับรายงานของ Moustafa, A.A. (1998) และ Ahmed *et al*. (2015) ที่ได้สรุปว่า การถ่ายละอองเกสรวันที่กาบช่อดอกตัวเมียแตก และหลังจากกาบช่อดอกแตก 2 วัน ทำให้ปริมาณผลผลิตสูง จนถึงหลังวันที่กาบช่อดอกแตก 4 วัน อินทผลัมมีเปอร์เซ็นต์การติดผลมากที่สุด และจะลดลงเรื่อย ๆ เมื่อทำการถ่ายละอองเกสรหลังวันที่กาบช่อดอกแตก 6 วันเป็นต้นไป อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าระยะดังกล่าวเป็นระยะที่เกสรตัวเมียมีความพร้อมสำหรับการถ่ายละอองเกสร และรังไข่อยู่ในระยะที่เหมาะสมต่อการปฏิสนธิด้วย สำหรับ Iqbal *et al*. (2012) ได้สรุปว่า ปริมาณผลผลิตอินทผลัมขึ้นอยู่กับเปอร์เซ็นต์การติดผลหลังจากถ่ายละอองเกสร โดยความสำเร็จในการถ่ายละอองเกสรขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น คุณภาพของละอองเกสร ประสิทธิภาพในการถ่ายละอองเกสร ช่วงเวลาในการถ่ายละอองเกสร ความเข้ากันได้ของสายพันธุ์อินทผลัม และสภาพแวดล้อมขณะทำการถ่ายละอองเกสร เช่น อุณหภูมิ การให้น้ำ สภาพดิน และการให้ปุ๋ย เป็นต้น

นอกจากนี้ Moustafa ยังได้สรุปว่า การถ่ายละอองเกสรในระยะที่กล่าวมาแม้จะทำให้มีปริมาณผลผลิตสูง แต่กลับทำให้คุณภาพของผลผลิตอินทผลัมต่ำกว่าการถ่ายละอองเกสรหลังจากกาบช่อดอกแตกไปแล้ว 4 วันเป็นต้นไป จากการพิจารณาช่อผลหลังจากถ่ายละอองเกสรไปแล้ว 3 เดือน ซึ่งเป็นระยะที่จำนวนผลของอินทผลัมในช่อเริ่มคงที่ (Chihcheng and Robert, 2007) เห็นได้ชัดว่าจำนวนผลต่อช่อของอินทผลัมที่ถ่ายละอองเกสรในวันที่กาบช่อเริ่มแตกและหลังจากกาบช่อดอกแตก 2 วัน มีลักษณะช่อค่อนข้างแน่น แสดงให้เห็นถึงจำนวนผลต่อช่อที่มากกว่ากรรมวิธีอื่น ทำให้การพัฒนาของผลเป็นไปอย่างจำกัดเมื่อเทียบกับช่อผลที่หนาแน่นน้อยกว่า ซึ่งไม่ได้ศึกษาคุณภาพของผลผลิตอินทผลัมในการทดลองนี้ อย่างไรก็ตาม อุณหภูมิเฉลี่ยในช่วงการถ่ายละอองเกสรในทั้ง 2 ปี อยู่ที่ 23-25 องศาเซลเซียส แต่ในอินทผลัมนั้นยังไม่พบรายงานการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการถ่ายละอองเกสรที่ชัดเจนแต่ Zaid and Wet (2002) ได้สรุปว่า อุณหภูมิสูงมีผลต่อความมีชีวิตของละอองเกสรซึ่งจะส่งผลกระทบโดยตรงกับปริมาณผลผลิตอินทผลัมต่อการถ่ายละอองเกสรในช่วงดังกล่าว

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการศึกษาระยะที่เหมาะสมของช่อดอกเพศเมียอินทผลัมพันธุ์ KL1 ต่อการติดผล พบว่า การถ่ายละอองเกสรด้วยมือบนช่อดอกเพศเมียในระยะที่กาบช่อดอกเริ่มแตกและหลังจากกาบช่อดอกแตก 2 วัน มีเปอร์เซ็นต์การติดผลสูงที่สุด มีจำนวนผลต่อช่อมาก ช่อแน่น ซึ่งตรงกับความต้องการของเกษตรกรผู้ปลูกอินทผลัมแบบรับประทานผลสด เนื่องจากจำนวนผลต่อช่อมากจะส่งผลให้น้ำหนักผลผลิตสูงขึ้นตามไปด้วย ส่วนการถ่ายละอองเกสรในระยะหลังจากที่กาบช่อดอกเพศเมียแตก 4 วันเป็นต้นไป มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การติดผลน้อยลงตามลำดับ ซึ่งเกษตรกรสามารถวางแผนการผสมเกสรได้ไม่เกิน 4 วันนับจากวันที่กาบช่อดอกเพศเมียแตกเพื่อให้ได้จำนวนผลต่อช่อมากที่สุด

กรมวิชาการเกษตร

ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม
Study on suitable pollination period for date palm yield quantity

ศิริลักษณ์ อินทะวงศ์ ปาริฉัตร สังข์สะอาด สุมิตร วิลัยพร กรกช จันทร และ วีระ วรปิติรังสี
Siriluck Inthawong, Parichart Sangsa-ad, Sumit Wilaiporn, Korakoch Chantorn, and Veera Vorapitirangsee

คำสำคัญ *Phoenix dactylifera* L., ช่วงเวลากลางวัน การวางแผนถ่ายละอองเกสร
Keywords *Phoenix dactylifera* L., Daytime, Planning pollination

บทคัดย่อ

การทดลองศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรที่สามารถผสมติดผลมากที่สุด เพื่อให้เกษตรกรสามารถวางแผนการถ่ายละอองเกสรได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำการทดลองกับต้นอินทผลัมเพศเมีย พันธุ์ KL1 อายุ 8 ปี ที่ปลูกในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ ตำบลโป่งน้ำร้อน อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ ในเดือนมกราคม - มีนาคม ปี พ.ศ. 2563 และ 2564 วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (RCBD) ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ได้แก่ ถ่ายละอองเกสรช่วงเวลา 08.00, 10.00, 12.00, 14.00 และ 16.00 น. แล้วบันทึกเปอร์เซ็นต์การติดผลหลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน โดยเก็บข้อมูลการติดผลปีละ 1 ครั้ง พบว่า การถ่ายละอองเกสรใน 5 ช่วงเวลา คือ 08.00, 10.00, 12.00, 14.00 และ 16.00 น. มีเปอร์เซ็นต์การติดผลอยู่ในช่วง 86.79-89.19 % โดยการถ่ายละอองเกสรทั้ง 5 ช่วงเวลาไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่า เปอร์เซ็นต์การติดผลจากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563 และ 2564 ยังไม่มีความแตกต่างกันอีกด้วย

Abstracts

Study on suitable period for pollination which able to give the highest fruit setting of date palm for increasing efficiency of farmer pollination program. The experiment was taken on the-8-year-old KL1 date palm tree which was planted in Chiang Mai Agricultural Research and Development Center, Pong Nam Ron Sub-district, Fang District, Chiangmai Province in January–March of 2019 and 2020. The experimental design was a randomized complete block design (RCBD) with four replications. five different periods pollination were done by hand: 8.00 a.m., 10.00 a.m., 12.00 a.m., 2.00 p.m. and 4.00 p.m. In each year, after 3 months of the pollination result was observed. The percentage of fruit setting from five pollination periods found in range 86.79 – 89.19% with not statistically significant between treatments and years.

กรมวิชาการเกษตร

บทนำ (Introduction)

อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.) เป็นไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีแหล่งปลูกอยู่ในประเทศแถบตะวันออกกลาง ขณะนี้กำลังได้รับความนิยมจากเกษตรกรไทยอย่างมากและมีความต้องการของตลาดสูงโดยเฉพาะชนิดรับประทานผลสด เนื่องจากผลมีรสชาติหวานอร่อยและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ ด้วยเหตุนี้พื้นที่ปลูกอินทผลัมชนิดรับประทานผลสดในประเทศไทยจึงเพิ่มมากขึ้นทุกปี จากข้อมูลการนำเข้าอินทผลัมจากสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ในปี 2562 (เดือน มกราคม-กันยายน) พบว่า ประเทศไทยมีการนำเข้าอินทผลัมมากถึง 1,844,357 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่าสูงถึง 102,716,642 บาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2563)

การปลูกอินทผลัมในประเทศไทยให้ได้ผลผลิตดีนั้นส่วนหนึ่งขึ้นอยู่กับการถ่ายละอองเกสร เนื่องจากอินทผลัมเป็นพืชที่มีดอกแยกเพศอยู่ต่างต้น (dioecious plant) จึงเป็นพืชผสมข้ามอย่างสมบูรณ์ (Bacha *et al*., 2000) ทำให้โอกาสที่จะติดผลผลิตน้อยหากไม่ช่วยผสมเกสร ดังนั้นการเพิ่มผลผลิตของการปลูกอินทผลัมจำเป็นต้องมีการถ่ายละอองเรณู (pollination) ลงบนช่อดอกเพศเมียโดยตรง (Djerouno *et al*., 2015) โดยปกติอินทผลัมจะเริ่มออกดอกประมาณเดือนมกราคม ต้นหนึ่งจะมีช่อดอกประมาณ 5-11 ช่อขึ้นอยู่กับอายุและความสมบูรณ์แข็งแรงของต้น และจะทยอยบานประมาณปลายเดือนมกราคมเป็นต้นไปทุก 5 วัน (จารุฉัตร, 2558) เกษตรกรปลูกอินทผลัม 32-35 ต้นต่อ 1 ไร่ ในจำนวนนี้จะมีต้นตัวผู้ 5-10 ต้น และมีต้นตัวเมีย 25-30 ต้น เพื่อให้เพียงพอต่อการผสมเกสร ดังนั้น เกษตรกรจึงต้องมีการวางแผนการถ่ายละอองเรณูให้ทันกับช่วงเวลาที่ดอกบาน เพื่อให้การผสมเกสรเกิดประสิทธิภาพสูงที่สุด (ศิริลักษณ์, 2563) การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการถ่ายละอองเกสรอินทผลัมสายพันธุ์ KL-1 ซึ่งยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อนในสภาพภูมิอากาศของประเทศไทย ทั้งนี้เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการวางแผนการถ่ายละอองเรณูได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

การทบทวนวรรณกรรม

สำหรับการศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรอินทผลัมนั้นมีเพียงประเทศในแถบตะวันออกกลาง ได้แก่ Iqbal *et al*. (2014) ที่ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรที่มีต่อปริมาณและคุณภาพของอินทผลัม สายพันธุ์ “Dhakki” ที่ปลูกใน Date Palm Research Orchard, Gomal University, D.I.Khan ประเทศปากีสถาน ทดลองในปี 2008 และ 2009 โดยทดลองถ่ายละอองเกสรหลังจากช่อดอกตัวเมียแตก 2 วัน จำนวน 9 ครั้ง คือ เวลา 08.00, 09.00, 10.00, 11.00, 12.00, 13.00, 14.00, 15.00 และ 16.00 น. รวม 9 ครั้ง โดยนำก้านช่อดอกย่อยของเกสรตัวผู้ลงในช่อดอกตัวเมีย จากนั้นคลุมด้วยถุงกระดาษเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากละอองเกสรอื่น พบว่า จากค่าเฉลี่ยทั้ง 2 ปี การถ่ายละอองเกสรในเวลา 12.00 น. มีเปอร์เซ็นต์การติดผล น้ำหนักผล ความยาวผล ความหนาเนื้อ และผลผลิตต่อต้นมากที่สุด ส่วนการถ่ายละอองเกสรในเวลา 08.00 น. มีเปอร์เซ็นต์ผลร่วงสูงที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์การติดผล และผลผลิตต่อต้นน้อยที่สุด สำหรับการถ่ายละอองเกสรในเวลา 16.00 น. มีน้ำหนักผล ความยาวผล และความหนาเนื้อน้อยที่สุด

ต่อมา Kadri *et al*. (2014) ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรที่มีต่อปริมาณและคุณภาพของอินทผลัม สายพันธุ์ 'Deglet Nour' ทำการทดลองที่ Regional Center of Research, Agricultural Oasis of Degache ประเทศตูนีเซีย โดยทดลองถ่ายละอองเกสรหลังจากกาบช่อดอกตัวเมียเริ่มแตก จำนวน 10 ครั้ง คือ เวลา 08.00, 09.00, 10.00, 11.00, 12.00, 13.00, 14.00, 15.00, 16.00 และ 17.00 น. จากนั้นคลุมด้วยถุงกระดาษเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากละอองเกสรอื่น แล้วเปิดถุงออกพร้อมบันทึกข้อมูลการติดผลหลังจากถ่ายละอองเกสร 15 วัน พบว่า การถ่ายละอองเกสรในช่วงเวลา 12.00 – 15.00 น. มีเปอร์เซ็นต์การติดผลสูงที่สุด

กรมวิชาการเกษตร

ในขณะที่การถ่ายละอองเกสรในช่วงเวลา 08.00 – 11.00 น. และ 16.00 – 17.00 น. มีเปอร์เซ็นต์การติดผลต่ำที่สุด

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 5 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ถ่ายละอองเกสรช่วงเวลา 08.00 น.
กรรมวิธีที่ 2 ถ่ายละอองเกสรช่วงเวลา 10.00 น.
กรรมวิธีที่ 3 ถ่ายละอองเกสรช่วงเวลา 12.00 น.
กรรมวิธีที่ 4 ถ่ายละอองเกสรช่วงเวลา 14.00 น.
กรรมวิธีที่ 5 ถ่ายละอองเกสรช่วงเวลา 16.00 น.

<u>วิธีดำเนินการ</u>

1. คัดเลือกต้นอินทผลัมเพศเมียสายพันธุ์ KL-1 ที่มีความสมบูรณ์ และให้คุณภาพผลผลิตดี
2. คัดเลือกต้นอินทผลัมเพศผู้สายพันธุ์ KL-1 ที่สมบูรณ์ให้ดอกและปริมาณละอองเกสรมากเพื่อใช้ในการผสมเกสร
3. ก่อนถ่ายละอองเกสร นำละอองเกสรตัวผู้จากช่อดอกที่บานเต็มที่มาตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต โดยหยดสาร acetocarmine ลงบนละอองเกสรที่เตรียมไว้บนแผ่นสไลด์ แล้วนำไปตรวจนับละอองเกสรที่ย้อมติดสีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 10 เท่า จากนั้น นำมาหาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสรโดยคำนวณเทียบกับจำนวนละอองเกสร 100 หน่วย จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต (\%)} = \frac{\text{จำนวนละอองเกสรที่ย้อมติดสี}}{\text{จำนวนละอองเกสรทั้งหมด}} \times 100$$

4. เมื่อกาบช่อดอกอินทผลัมเพศเมียเริ่มแตก (จากผลการทดลองที่ 2.1) ทำการถ่ายละอองเกสรตามกรรมวิธี โดยใช้ละอองเกสรประมาณ 2 กรัมต่อการผสม 1 ช่อ และถ่ายละอองเกสรในช่วงเวลาที่กำหนดในแต่ละกรรมวิธี หลังการถ่ายละอองเกสรนำถุงกระดาษมาคลุมช่อดอกในทุกกรรมวิธีจากนั้น 15 วันจึงแกะถุงกระดาษออก
5. ปฏิบัติดูแลรักษา เช่น ตัดแต่งใบ ใส่ปุ๋ย ให้น้ำ และป้องกันกำจัดศัตรูพืช ตามปกติ
6. บันทึกข้อมูล
   - ข้อมูลทั่วไป ได้แก่ วันที่ออกดอก วันที่ผสมเกสร และอุณหภูมิ
   - ข้อมูลปริมาณผลผลิต ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การติดผล หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน

กรมวิชาการเกษตร

ผลการวิจัย (Results)

จากการศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม พันธุ์ KL1 ในปี พ.ศ. 2563 และ 2564 นั้น พบว่า การถ่ายละอองเกสรใน 5 ช่วงเวลา คือ 08.00, 10.00, 12.00, 14.00 และ 16.00 น. มีเปอร์เซ็นต์การติดผลอยู่ในช่วง 86.79-89.19 % โดยการถ่ายละอองเกสรทั้ง 5 ช่วงเวลาไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่า เปอร์เซ็นต์การติดผลจากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563 และ 2564 ยังไม่มีความแตกต่างกันอีกด้วย (ตารางที่ 9 และ 10) (ภาพที่ 22-25)

ตารางที่ 9 วันที่ช่อดอกเพศเมียเริ่มแทงช่อ วันที่ช่อดอกเพศเมียเริ่มแตก วันที่ถ่ายละอองเกสร และอุณหภูมิขณะถ่ายละอองเกสร ในปี 2564

กรรมวิธี	วันที่ช่อดอกเพศเมียเริ่มแทงช่อ	วันที่ช่อดอกเพศเมียเริ่มแตก	วันที่ถ่ายละอองเกสร	อุณหภูมิขณะถ่ายละอองเกสร (°C)
1. ถ่ายละอองเกสรช่วงเวลา 08.00 น.	5 ม.ค. – 15 ก.พ.	17 ม.ค. – 28 ก.พ.	18 ม.ค. – 1 มี.ค.	19 – 26
2. ถ่ายละอองเกสรช่วงเวลา 10.00 น.	4 ม.ค. – 17 ก.พ.	14 ม.ค. – 28 ก.พ.	15 ม.ค. – 1 มี.ค.	21 – 26
3. ถ่ายละอองเกสรช่วงเวลา 12.00 น.	8 ม.ค. - 16 ก.พ.	21 ม.ค. – 28 ก.พ.	22 ม.ค. – 1 มี.ค.	22 – 26
4. ถ่ายละอองเกสรช่วงเวลา 14.00 น.	10 ม.ค. – 26 ก.พ.	19 ม.ค. – 10 มี.ค.	20 ม.ค. – 11 มี.ค.	19 – 26
5. ถ่ายละอองเกสรช่วงเวลา 16.00 น.	26 ม.ค. – 24 ก.พ.	8 ก.พ. – 10 มี.ค.	9 ก.พ. – 11 มี.ค.	19 – 26

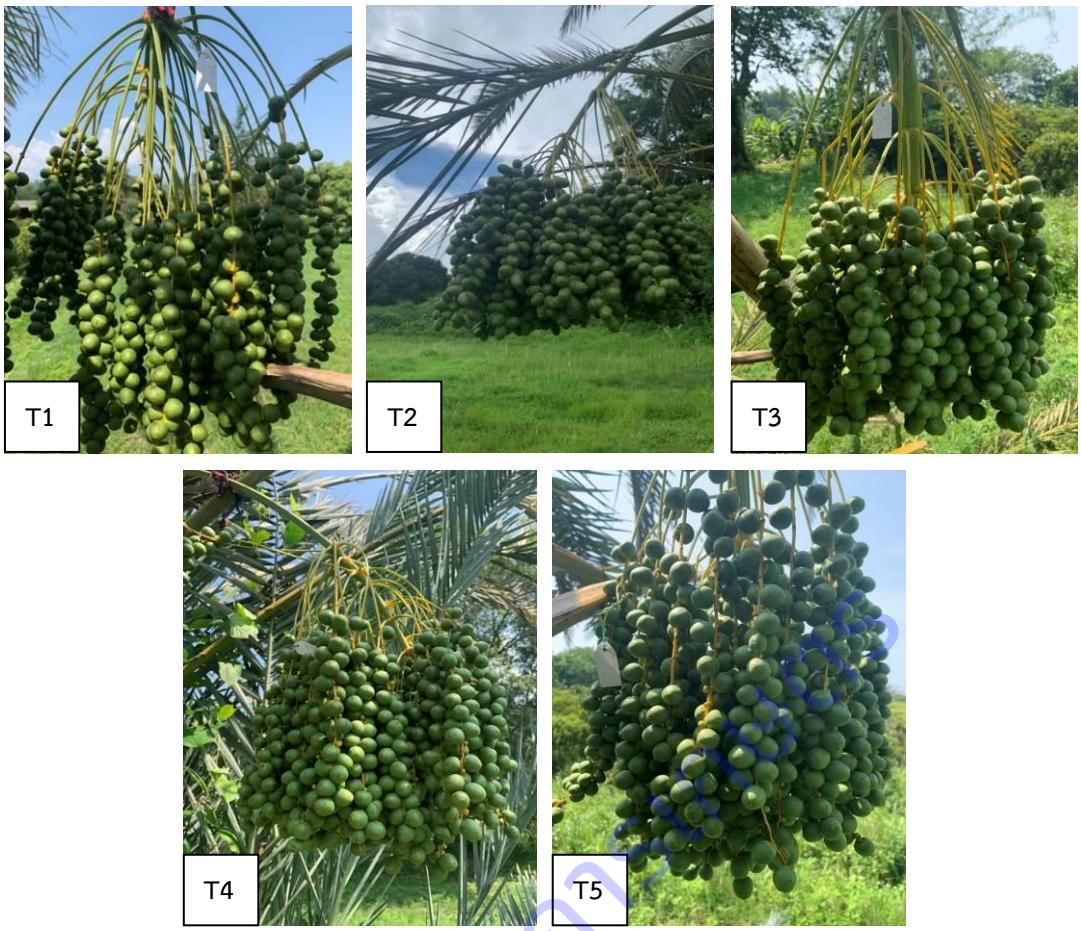
ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การติดผลของอินทผลัมพันธุ์ KL1 หลังจากถ่ายละอองเกสรนาน 3 เดือน ปี 2563 และ 2564

กรรมวิธี	ปี		เฉลี่ย
	2563	2564	
1. ถ่ายละอองเกสรช่วงเวลา 08.00 น.	89.79	84.53	87.16 a
2. ถ่ายละอองเกสรช่วงเวลา 10.00 น.	87.83	85.75	86.79 a
3. ถ่ายละอองเกสรช่วงเวลา 12.00 น.	91.15	87.23	89.19 a
4. ถ่ายละอองเกสรช่วงเวลา 14.00 น.	90.05	83.80	86.92 a
5. ถ่ายละอองเกสรช่วงเวลา 16.00 น.	89.97	85.15	87.56 a
เฉลี่ย	89.76 a	85.29 a	87.52

C.V. = 4.2 %

- ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษร a, b, c ที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT
- ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่ตามด้วยอักษร a, b, c ที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

กรมวิชาการเกษตร

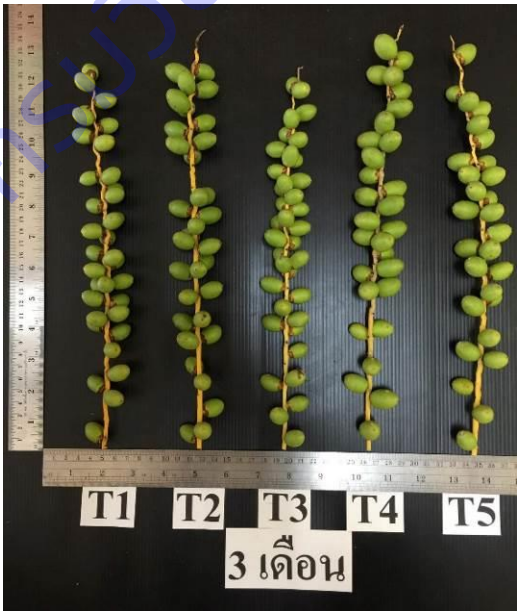


ภาพที่ 22 ลักษณะช่อผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563

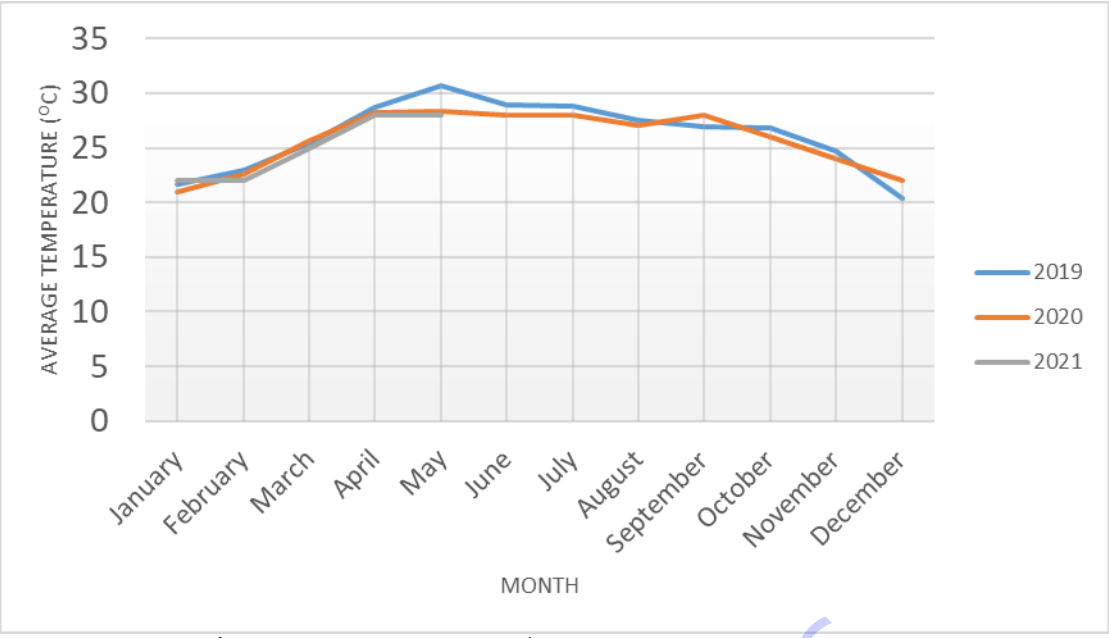
ภาพที่ 23 ลักษณะการติดผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรมาแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 24 ลักษณะช่อผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2564



ภาพที่ 25 ลักษณะการติดผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรมาแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2564



ภาพที่ 26 กราฟแสดงอุณหภูมิเฉลี่ยของ ศวพ.เชียงใหม่ ในปี 2562-2564

อภิปรายผล (Discussion)

สำหรับการศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรอินทผลัม พันธุ์ KL1 ในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ ตำบลโป่งน้ำร้อน อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ ในเดือนมกราคม - มีนาคม ปี พ.ศ. 2563 และ 2564 นั้น พบว่า การถ่ายละอองเกสรใน 5 ช่วงเวลา คือ 08.00, 10.00, 12.00, 14.00 และ 16.00 น. มีเปอร์เซ็นต์การติดผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งไม่สอดคล้องกับรายงานของ Iqbal *et al*. (2014) ที่ได้ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรที่มีต่อปริมาณและคุณภาพของอินทผลัม สายพันธุ์ “Dhakki” ที่ปลูกใน Date Palm Research Orchard, Gomal University, D.I.Khan ประเทศปากีสถานในปี 2008 และ 2009 ซึ่งพบว่าการถ่ายละอองเกสรในเวลา 12.00 น. มีเปอร์เซ็นต์การติดผล น้ำหนักผล ความยาวผล ความหนาเนื้อ และผลผลิตต่อต้นมากที่สุด ส่วนการถ่ายละอองเกสรในเวลา 08.00 น. มีเปอร์เซ็นต์ผลร่วงสูงที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์การติดผล และผลผลิตต่อต้นน้อยที่สุด สำหรับการถ่ายละอองเกสรในเวลา 16.00 น. มีน้ำหนักผล ความยาวผล และความหนาเนื้อน้อยที่สุด

ความแตกต่างของผลการทดลองดังกล่าว เกิดจากสายพันธุ์ที่ใช้ซึ่งโดยทั่วไปช่อดอกของอินทผลัมที่ปลูกในทวีปแอฟริกาเหนือจะมีความพร้อมสำหรับการถ่ายละอองเกสรหลังจากกาบช่อดอกแตกยาวนานถึง 40 วันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ เช่น 30 วัน สำหรับสายพันธุ์ 'Bousthami Noire', 7 วัน สำหรับสายพันธุ์ 'Deglet Nour', 8 วัน สำหรับสายพันธุ์ 'Jihel' และ 'Ghars' และ 3 วัน สำหรับสายพันธุ์ 'Medjhool', 'Boufeggous' และ 'Iklane' เป็นต้น นอกจากนี้ ความยาวนานของช่วงเวลากลางวันของแต่ละพื้นที่ก็มีผลอย่างมากในการติดผลของอินทผลัมเช่นกัน Kadri *et al*. (2021) อย่างไรก็ตาม ในอินทผลัม พันธุ์ KL1 ที่ปลูกในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน หากมีจำนวนต้นอินทผลัมที่ช่อดอกเพศเมียอยู่ในระยะที่เหมาะสมพร้อมกัน เกษตรกรสามารถดำเนินการถ่ายละอองเกสรได้ทุกช่วงเวลาในวันดังกล่าวซึ่งยังคงมีเปอร์เซ็นต์การติดผลมากกว่า 86.79 เปอร์เซ็นต์

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม พบว่า การถ่ายละอองเกสรใน 5 ช่วงเวลา คือ 08.00, 10.00, 12.00, 14.00 และ 16.00 น. มีเปอร์เซ็นต์การติดผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้น หากมีจำนวนต้นอินทผลัมที่ช่อดอกเพศเมียอยู่ในระยะที่เหมาะสมพร้อมกัน เกษตรกรสามารถดำเนินการถ่ายละอองเกสรได้ทุกช่วงเวลาในวันดังกล่าวซึ่งยังคงมีเปอร์เซ็นต์การติดผลมากกว่า 86.79 เปอร์เซ็นต์

กรมวิชาการเกษตร

ผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม
Effect of Some Pollen Carriers on fruit setting of date palm

ศิริลักษณ์ อินทะวงศ์ ปาริฉัตร สังข์สะอาด สุมิตร วิลัยพร กรกช จันทร และ วีระ วรปิติรังสี
Siriluck Inthawong, Parichart Sangsa-ad, Sumit Wilaiporn, Korakoch Chantorn, and Veera Vorapitirangsee

คำสำคัญ *Phoenix dactylifera* L. การถ่ายละอองเกสร การผสม
Keywords *Phoenix dactylifera* L., Pollination, Mixing

บทคัดย่อ

การทดลองผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายละอองเกสรของอินทผลัมพันธุ์ KL1 โดยไม่ทำให้ผลผลิตลดลง เพื่อให้เกษตรกรสามารถเลือกใช้ตัวนำที่เหมาะสมเพื่อใช้ถ่ายละอองเกสรได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น ทำการทดลองกับต้นอินทผลัมเพศเมียพันธุ์ KL1 อายุ 8 ปี ที่ปลูกในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ ตำบลโป่งน้ำร้อน อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ ในเดือนมกราคม - มีนาคม ปี พ.ศ. 2563 และ 2564 วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (RCBD) ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ได้แก่ ผสมธรรมชาติโดยแมลง (กรรมวิธีควบคุม) ผสมโดยใช้ละอองเกสรปริมาณ 1 กรัม (0.5 ช้อนชา) ผสมโดยใช้ละอองเกสร 0.5 กรัมผสมกับแป้ง Talc 0.5 กรัม ผสมโดยใช้ละอองเกสร 1 กรัมผสมกับสารละลายซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์ และผสมโดยใช้ละอองเกสร 0.5 กรัมผสมกับสารละลายซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์ แล้วบันทึกเปอร์เซ็นต์การติดผลหลังจากถ่ายละอองเรณูแล้ว 3 เดือน โดยเก็บข้อมูลการติดผลปีละ 1 ครั้ง พบว่า การถ่ายละอองเกสรด้วยมือ และการผสมละอองเกสรด้วยตัวนำต่างๆ ได้แก่ แป้ง Talc และ สารละลายซูโครส 20% มีเปอร์เซ็นต์การติดผลอยู่ในช่วง 76.50-79.66 % โดยเปอร์เซ็นต์การติดผลจากการถ่ายละอองเกสรทั้ง 4 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนการปล่อยให้ผสมโดยแมลงตามธรรมชาติ ในกรรมวิธีที่ 1 พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การติดผลต่ำกว่า 33.34% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 2-5 นอกจากนี้ยังพบว่า เปอร์เซ็นต์การติดผลจากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563 และ 2564 ยังไม่มีความแตกต่างกันอีกด้วย

กรมวิชาการเกษตร

Abstracts

Study on date palm pollination by mixing pollen with the other carriers to increase pollination efficiency for high fruit setting was observed. The experiment was taken on the-8-year-old KL1 date palm tree which was planted in Chiang Mai Agricultural Research and Development Center, Pong Nam Ron Sub-district, Fang District, Chiangmai Province in January–March of 2019 and 2020. The experimental design was a randomized complete block design (RCBD) with four replications. Five pollination methods were made; 1. Natural pollination by insect (control), 2. Hand pollination with 1 g pollen per 1 female inflorescence, 3. Hand pollination with mixer of 0.5 g pollen and 0.5 g Talc per 1 female inflorescence, 4. Hand pollination by spraying the mixer of 1 g pollen and 20% sucrose solution per 1 female inflorescence, and 5. Hand pollination by spraying the mixer of 0.5 g pollen and 20% sucrose solution per 1 female inflorescence. In each year, after 3 months of the pollination result was determined. The percentage of fruit setting from 4 hand pollination methods was found in range 76.50-79.66% with not statistically significant between treatments and years. On the other hand, the lowest percentage of fruit setting (≤33.34%) was found in natural pollination by insect.

บทนำ (Introduction)

อินทผลัมมีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียแยกต้นกัน (dioecious plant) จึงเป็นพืชผสมข้ามอย่างสมบูรณ์ (Bacha *et al*., 2000) จึงมีโอกาสที่จะติดผลผลิตน้อย ดังนั้น การเพิ่มผลผลิตของการปลูกอินทผลัมจำเป็นต้องมีการช่วยผสมเกสร โดยการถ่ายละอองเกสร (pollination) ลงบนช่อดอกตัวเมียโดยตรง (Djerouno *et al*., 2015) ในบางกรณีอาจพบปัญหาปริมาณละอองเกสรเพศผู้ไม่เพียงพอต่อการถ่ายละอองเกสร เนื่องจากมีจำนวนช่อดอกเพศเมียมาก การผสมละอองเกสรกับตัวนำต่าง ๆ เช่น แป้ง หรือ สารละลายน้ำตาลในอัตราส่วนที่เหมาะสม จะเป็นการลดความสิ้นเปลืองของการใช้ละอองเกสรในการผสมเกสรแต่ละครั้งได้ การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม สายพันธุ์ KL-1 ซึ่งยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อนในสภาพภูมิอากาศของประเทศไทย ทั้งนี้เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการวางแผนการถ่ายละอองเกสรได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

การทบทวนวรรณกรรม

การผสมละอองเกสรของอินทผลัมกับตัวนำอื่นๆ เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายละอองเกสร พบว่ามีการศึกษาในประเทศแถบตะวันออกกลาง ตามลำดับดังนี้

Ashour *et al*. (2008) ศึกษาการผสมละอองเกสรกับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณและคุณภาพผลผลิตของอินทผลัม 2 สายพันธุ์ คือ Zaghloul และ Samany ที่ปลูกในสวนเกษตรกรใน EL-Mansoria, Giza governorate ประเทศอียิปต์ ทดลองในปี 2006 และ 2007 โดยการผสมละอองเกสรปริมาณ 2 กรัมในสารละลาย GA3 ความเข้มข้น 10, 20 และ 30 ppm. และ สารละลายซูโครส 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำไปทำการถ่ายละอองเกสร โดยเปรียบเทียบกับวิธีการถ่ายละอองเกสรแบบปกติ (ใช้มือ) พบว่า การผสมละอองเกสรปริมาณ 2 กรัมในสารละลายซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักต่อช่อ และผลผลิตต่อต้น ของอินทผลัมทั้ง 2 สายพันธุ์สูงที่สุด ซึ่งมากกว่าวิธีการถ่ายละอองเกสรแบบปกติ 11 และ 15.3 เปอร์เซ็นต์ ในสายพันธุ์ Zaghloul และ Samany ตามลำดับ ส่วนในด้านคุณภาพผลผลิต พบว่า การผสมละอองเกสรกับสารละลายทั้ง 2 ชนิด ทำให้อินทผลัมมีคุณภาพที่ดีกว่า

Awad (2011) ศึกษาผลของการผสมละอองเกสรของอินทผลัม สายพันธุ์ “LuLu” ที่ปลูกในพื้นที่ของ College of Food and Africulture, United Arab Emirates University ประเทศซาอุดิอาระเบีย ทดลองในปี 2006 และ 2007 โดยผสมละอองเกสรกับน้ำในอัตราส่วนต่าง ๆ ได้แก่ 0.5, 1.0, และ 1.5 กรัมต่อลิตร ก่อนนำไปทำการถ่ายละอองเกสรโดยการฉีดพ่นบนช่อดอกตัวเมียโดยใช้สารละลาย 100 มิลลิลิตรต่อ 1 ช่อดอก แล้วเปรียบเทียบปริมาณและคุณภาพผลผลิตกับการถ่ายละอองเกสรลงบนช่อดอกตัวเมียโดยตรง (กรรมวิธีควบคุม) พบว่า ด้านปริมาณผลผลิต ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การติดผล น้ำหนักต่อช่อ และผลผลิตต่อต้น กรรมวิธีควบคุมให้ผลสูงกว่าการผสมละอองเกสรกับน้ำ แต่ทางด้านคุณภาพผลผลิต ได้แก่ น้ำหนักผล น้ำหนักเนื้อ น้ำหนักเมล็ด ขนาดผล เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง เปอร์เซ็นต์ความหวาน เปอร์เซ็นต์ความเป็นกรด และปริมาณวิตามินซี พบว่า การผสมละอองเกสรกับน้ำในอัตราส่วน 0.5 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้คุณภาพผลผลิตของอินทผลัมดีที่สุด โดยวิธีการดังกล่าวนอกจากจะช่วยให้การติดผลมีปริมาณที่เหมาะสมแล้ว ยังช่วยประหยัดเวลาและแรงงานในการตัดแต่งช่อผลเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพดี และช่วยลดปริมาณละอองเกสรที่ใช้ในการถ่ายละอองเกสรในแต่ละครั้งด้วย

Iqbal *et al*. (2012) ศึกษาเทคนิคการถ่ายละอองเกสรที่มีต่อปริมาณและคุณภาพผลผลิตของอินทผลัม สายพันธุ์ “Dhakki” ที่ปลูกใน Date Palm Research Orchard, Gomal University, D.I.Khan ประเทศปากีสถาน ในปี 2001 และ 2002 โดยทดลองถ่ายละอองเกสร 4 วิธี ได้แก่ 1. วิธีธรรมชาติ (ปล่อยให้ผสมตามธรรมชาติ) 2. ถ่ายละอองเกสรลงบนช่อดอกโดยตรง 3. ถ่ายละอองเกสรโดยวางก้านช่อดอกย่อยของเกสรตัวผู้ลงในช่อดอกตัวเมีย และ 4. ผสมละอองเกสรกับน้ำแล้วฉีดพ่นลงบนช่อดอกตัวเมีย โดยทุกกรรมวิธีจะเริ่มทำในเวลา 11.00 น. พบว่า การวางก้านช่อดอกย่อยของเกสรตัวผู้ลงในช่อดอกตัวเมียโดยตรง มีเปอร์เซ็นต์การติดผลสูงที่สุด ส่วนการผสมละอองเกสรกับน้ำแล้วฉีดพ่นลงบนช่อดอกตัวเมีย มีน้ำหนักเมล็ดเมื่อผลสุกสูงที่สุด สำหรับ การถ่ายละอองเกสรลงบนช่อดอกโดยตรง การวางก้านช่อดอกย่อยของเกสรตัวผู้ลงในช่อดอกตัวเมีย และการผสมละอองเกสรกับน้ำแล้วฉีดพ่นลงบนช่อดอกตัวเมีย พบว่า มีน้ำหนักต่อช่อสูงที่สุด อย่างไรก็ตาม ทุกกรรมวิธีให้ผลทางด้านน้ำหนักผล ความยาวผล และน้ำหนักเนื้อ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

Hafez *et al*. (2014) ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของการถ่ายละอองเกสร เพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพผลในอินทผลัม 2 สายพันธุ์ คือ Zaghloul และ Samany ที่ปลูกใน Abo-Rawash region, El-Giza Governorate ประเทศอียิปต์ ทดลองในปี 2011 และ 2012 โดยได้ทดลองใช้สารกระตุ้นการเจริญเติบโต ได้แก่ Milagro ซึ่งสกัดได้จากละอองเกสรของกะหล่ำปลี มาช่วยในการถ่ายละอองเกสร พบว่า การผสม ละอองเกสร กับ Milagro กับ สารเติมเต็ม (filler) ในอัตราส่วน 1:1:3 ก่อนนำไปทำการถ่ายละอองเกสรในวันที่กาบช่อดอกตัวเมีย

แตก มีเปอร์เซ็นต์การติดผล ผลผลิตต่อต้น น้ำหนักต่อช่อ น้ำหนักต่อผล และขนาดผล (ความกว้างและความยาว) มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับการใช้ละอองเกสรและ Milagro เพียงอย่างเดียว

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 5 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ผสมธรรมชาติโดยแมลง (กรรมวิธีควบคุม)
กรรมวิธีที่ 2 ผสมโดยใช้ละอองเกสรปริมาณ 1 กรัม (0.5 ช้อนชา)
กรรมวิธีที่ 3 ผสมโดยใช้ละอองเกสร 0.5 กรัม + แป้ง Talc 0.5 กรัม
กรรมวิธีที่ 4 ผสมโดยใช้ละอองเกสร 1 กรัม + สารละลายซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์
กรรมวิธีที่ 5 ผสมโดยใช้ละอองเกสร 0.5 กรัม + สารละลายซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์

วิธีดำเนินการ

1. คัดเลือกต้นอินทผลัมเพศเมียสายพันธุ์ KL-1 ที่มีความสมบูรณ์ และให้คุณภาพผลผลิตดี
2. คัดเลือกต้นอินทผลัมเพศผู้สายพันธุ์ KL-1 ที่สมบูรณ์ให้ดอกและปริมาณละอองเกสรมากเพื่อใช้ในการผสมเกสร
3. ก่อนถ่ายละอองเกสร นำละอองเกสรตัวผู้จากช่อดอกที่บานเต็มที่ มาตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต โดยหยดสาร acetocarmine ลงบนละอองเกสรที่เตรียมไว้บนแผ่นสไลด์ แล้วนำไปตรวจนับละอองเกสรที่ย้อมติดสีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 10 เท่า จากนั้น นำมาหาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสรโดยคำนวณเทียบกับจำนวนละอองเกสร 100 หน่วย จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต (\%)} = \frac{\text{จำนวนละอองเกสรที่ย้อมติดสี}}{\text{จำนวนละอองเกสรทั้งหมด}} \times 100$$

4. เตรียมส่วนผสมเพื่อใช้ในกรรมวิธีที่ 3 โดยชั่งละอองเกสร 0.5 กรัม และแป้ง Talc 0.5 กรัม จากนั้นนำมาผสมให้เข้ากัน นำส่วนผสมบรรจุลงในถุงพลาสติกแล้วเขย่าให้เข้ากันอีกครั้ง ก่อนนำไปใช้ถ่ายละอองเกสรตามกรรมวิธีที่ 3
5. เตรียมส่วนผสมเพื่อใช้ในกรรมวิธีที่ 4 และ 5 โดยละลายซูโครส 20 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้น ชั่งละอองเกสรปริมาณ 1 และ 0.5 กรัม มาผสมกับสารละลายที่ได้ ก่อนนำไปใช้ถ่ายละอองเกสรตามกรรมวิธีที่ 4 และ 5 ตามลำดับ
6. เมื่อกาบช่อดอกอินทผลัมเพศเมียเริ่มแตก (จากผลการทดลองที่ 2.1) ทำการถ่ายละอองเกสรตามกรรมวิธีในช่วงเวลา 08.00-10.00 น. หลังการถ่ายละอองเกสรนำถุงกระดาษมาคลุมช่อดอกในทุกกรรมวิธียกเว้นกรรมวิธีที่ 1 จากนั้น 15 วันจึงแกะถุงกระดาษออก
7. ปฏิบัติดูแลรักษา เช่น ตัดแต่งใบ ใส่ปุ๋ย ให้น้ำ และป้องกันกำจัดศัตรูพืช ตามปกติ
8. บันทึกข้อมูล

- ข้อมูลทั่วไป ได้แก่ วันที่ออกดอก วันที่ผสมเกสร และอุณหภูมิ
- ข้อมูลปริมาณผลผลิต ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การติดผล หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน

กรมวิชาการเกษตร

ผลการวิจัย (Results)

จากการศึกษาผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม พันธุ์ KL1 ในปี พ.ศ. 2563 และ 2564 นั้น พบว่า การถ่ายละอองเกสรด้วยมือ และการผสมละอองเกสรด้วยตัวนำต่างๆ ได้แก่ แป้ง Talc และ สารละลายซูโครส 20% มีเปอร์เซ็นต์การติดผลอยู่ในช่วง 76.50-79.66 % โดยเปอร์เซ็นต์การติดผลจากการถ่ายละอองเกสรทั้ง 4 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนการปล่อยให้ผสมโดยแมลงตามธรรมชาติ ในกรรมวิธีที่ 1 พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การติดผลต่ำกว่า 33.34% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 2-5 นอกจากนี้ยังพบว่า เปอร์เซ็นต์การติดผลจากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563 และ 2564 ยังไม่มีความแตกต่างกันอีกด้วย (ตารางที่ 11 และ 12) (ภาพที่ 27-30)

ตารางที่ 11 วันที่ช่อดอกเพศเมียเริ่มแทงช่อ วันที่ช่อดอกเพศเมียเริ่มแตก และวันที่ถ่ายละอองเกสรในปี 2564

กรรมวิธี	วันที่ช่อดอกเพศเมียเริ่มแทงช่อ	วันที่ช่อดอกเพศเมียเริ่มแตก	วันที่ถ่ายละอองเกสร	อุณหภูมิขณะถ่ายละอองเกสร (°C)
1. ผสมธรรมชาติโดยแมลง (กรรมวิธีควบคุม)	10 ม.ค. – 8 ก.พ.	24 ม.ค. – 23 ก.พ.	25 ม.ค. – 2 ก.พ.	19 - 25
2. ผสมโดยใช้ละอองเกสรปริมาณ 1 กรัม (0.5 ช้อนชา)	5 ม.ค. – 10 ก.พ.	18 ม.ค. – 23 ก.พ.	19 ม.ค. – 24 ก.พ.	18 - 25
3. ผสมโดยใช้ละอองเกสร 0.5 กรัม + แป้ง Talc 0.5 กรัม	10 ม.ค. – 9 ก.พ.	24 ม.ค. – 23 ก.พ.	25 ม.ค. – 24 ก.พ.	19 - 25
4. ผสมโดยใช้ละอองเกสร 1 กรัม + สารละลายซูโครส 20%	10 ม.ค. – 21 ก.พ.	24 ม.ค. – 7 มี.ค.	25 ม.ค. – 8 มี.ค.	23 - 26
5. ผสมโดยใช้ละอองเกสร 0.5 กรัม + สารละลาย ซูโครส 20%	12 ม.ค. – 3 มี.ค.	24 ม.ค. – 15 มี.ค.	25 ม.ค. – 16 มี.ค.	23 - 27

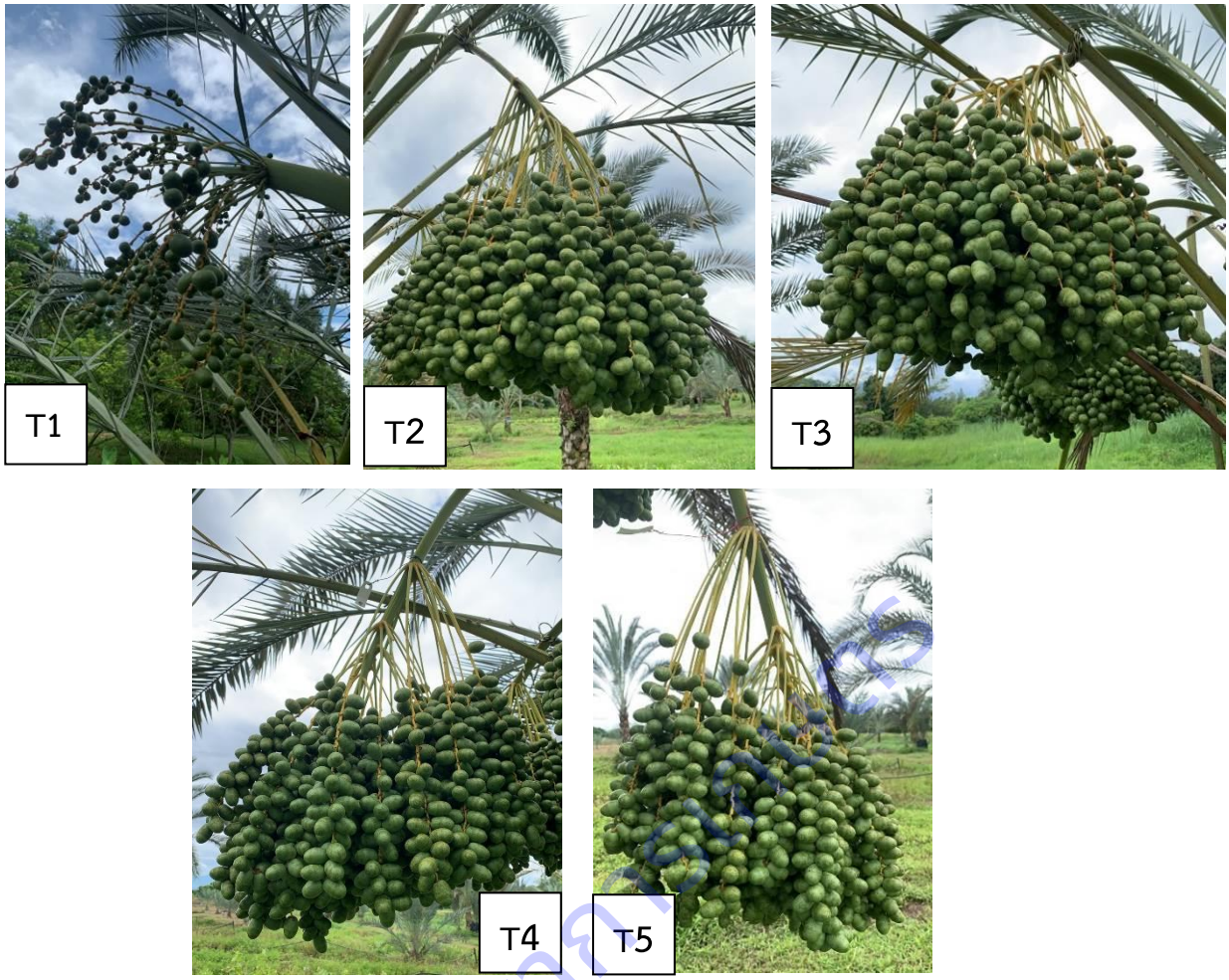
ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์การติดผลของอินทผลัมพันธุ์ KL1 หลังจากถ่ายละอองเกสรนาน 3 เดือน ปี 2563 และ 2564

กรรมวิธี	ปี		เฉลี่ย
	2563	2564	
1. ผสมธรรมชาติโดยแมลง (กรรมวิธีควบคุม)	36.73 b	29.96 b	33.34 b
2. ผสมโดยใช้ละอองเกสรปริมาณ 1 กรัม (0.5 ช้อนชา)	82.63 a	76.70 a	79.66 a
3. ผสมโดยใช้ละอองเกสร 0.5 กรัม + แป้ง Talc 0.5 กรัม	78.95 a	75.34 a	77.15 a
4. ผสมโดยใช้ละอองเกสร 1 กรัม + สารละลายซูโครส 20%	81.35 a	75.93 a	78.57 a
5. ผสมโดยใช้ละอองเกสร 0.5 กรัม + สารละลาย ซูโครส 20%	78.13 a	74.88 a	76.50 a
เฉลี่ย	71.56 a	66.534 a	69.04

C.V. = 7.8 %

- ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษร a, b, c ที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT
- ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่ตามด้วยอักษร a, b, c ที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

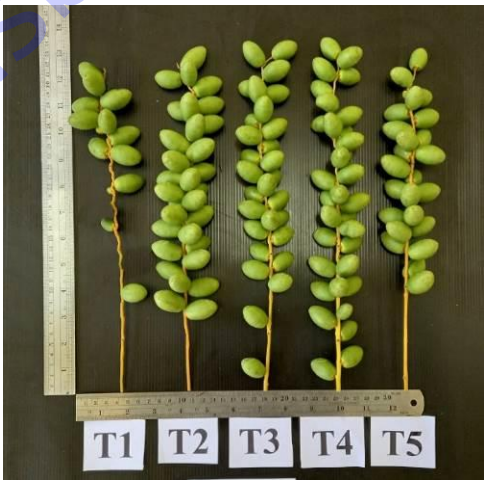
กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 27 ลักษณะช่อผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563

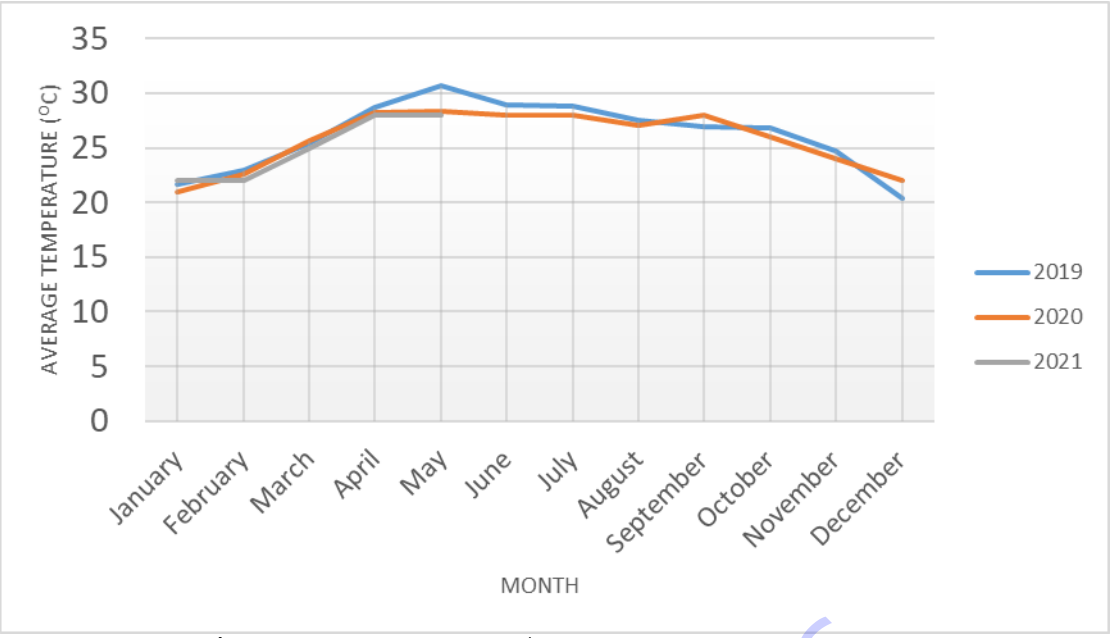
ภาพที่ 28 ลักษณะการติดผลของอินทผลัมในแต่ละกรรมวิธีหลังจากถ่ายละอองเกสรมาแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563

ภาพที่ 29 ลักษณะช่อผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2564



ภาพที่ 30 ลักษณะการติดผลของอินทผลัมในแต่ละกรรมวิธีหลังจากถ่ายละอองเกสรมาแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2564

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 31 กราฟแสดงอุณหภูมิเฉลี่ยของ ศวพ.เชียงใหม่ ในปี 2562-2564

อภิปรายผล (Discussion)

จากการทดลองผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม พันธุ์ KL1 ในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ ตำบลโป่งน้ำร้อน อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ ในเดือนมกราคม - มีนาคม ปี พ.ศ. 2563 และ 2564 นั้น พบว่า การถ่ายละอองเกสรด้วยมือ และการผสมละอองเกสรด้วยตัวนำต่างๆ ได้แก่ แป้ง Talc และ สารละลายซูโครส 20% มีเปอร์เซ็นต์การติดผลมากกว่าการปล่อยให้ผสมโดยแมลงตามธรรมชาติถึง 43.16 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Iqbal *et al*. (2012) คือ การถ่ายละอองเกสรลงบนช่อดอกโดยตรงมีน้ำหนักต่อช่อสูงที่สุด และ Ashour *et al*. (2008) ที่พบว่า การผสมละอองเกสรอินทผลัมสายพันธุ์ Zaghloul และ Samany กับสารละลายซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้อินทผลัมมีคุณภาพที่ดีขึ้น สำหรับอินทผลัม พันธุ์ KL1 ในกรณีที่เกษตรกรมีละอองเกสรปริมาณจำกัด สามารถนำละอองเกสรปริมาณ 0.5 กรัม (ครึ่งหนึ่งของปริมาณการใช้ปกติ) มาผสมกับแป้ง Talc 0.5 กรัม หรือสารละลายซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์ ก่อนถ่ายละอองเกสรตามปกติ โดยหากเกษตรกรนำผลการทดลองไปปรับใช้จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายละอองเกสรในอินทผลัมได้

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

จากการทดลองผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม พบว่า การถ่ายละอองเกสรด้วยมือ และการผสมละอองเกสรด้วยตัวนำต่างๆ ได้แก่ แป้ง Talc และ สารละลายซูโครส 20% มีเปอร์เซ็นต์การติดผลมากกว่าการปล่อยให้ผสมโดยแมลงตามธรรมชาติถึง 43.16 เปอร์เซ็นต์ ในกรณีที่เกษตรกรมีละอองเกสรปริมาณจำกัด สามารถนำละอองเกสรปริมาณ 0.5 กรัม (ครึ่งหนึ่งของปริมาณการใช้ปกติ) มาผสมกับแป้ง Talc 0.5 กรัม หรือสารละลายซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์ ก่อนถ่ายละอองเกสรตามปกติ โดยหากเกษตรกรนำผลการทดลองไปปรับใช้จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายละอองเกสรในอินทผลัมได้

กรมวิชาการเกษตร

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

กิจกรรมที่ 1 ศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์อินทผลัมและการเก็บรักษาละอองเกสรในสภาพปลอดเชื้อ

การทดลองที่ 1 การขยายพันธุ์อินทผลัมพันธุ์ KL1 ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ somatic embryogenesis

อินทผลัมเป็นไม้ยืนต้นจึงส่งผลให้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเยื่อใช้เวลานานเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่น โดยใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตั้งแต่ 8 – 24 สัปดาห์ในแต่ละขั้นตอนของการเพาะเลี้ยง ดังนี้ การชักนำให้เกิดแคลลัสจากตัวอย่างปลายยอดที่ได้จากหน่อข้างอินทผลัมพันธุ์ KL1 อาหารสูตรที่ชักนำแคลลัสได้ดีที่สุดคือสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 250 µM และ 2iP ความเข้มข้น 10 µM ซึ่งให้อัตราการเกิดแคลลัสที่ 62.5 % และน้ำหนักแคลลัสที่ 658 mg เลี้ยง 32 สัปดาห์ และการชักนำให้เกิด somatic embryo จากแคลลัสพบว่าอาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 1 µM ร่วมกับ ABA ความเข้มข้น 4 µM เลี้ยง 24 สัปดาห์ ให้ผลการชักนำ somatic embryo ดีที่สุด ซึ่งเกิด somatic embryo จำนวน 5.1 somatic embryos ต่อขวดและอัตราการเกิด somatic embryo อยู่ที่ 40 % สำหรับสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้ somatic embryo พัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์ได้ดีที่สุดคือสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 µM ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 7.282 µM โดยให้อัตราการเกิดยอด 100% และเมื่อนำยอดที่ได้ไปชักนำให้เกิดรากพบว่า สูตรอาหารที่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุดคือ สูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 7.282 µM ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 26.851 µM ซึ่งให้อัตราการเกิดราก 100%

อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะใช้เวลานานในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแต่ก็ถือว่าคุ้มค่าเพราะต้นกล้าที่ได้เป็นต้นตัวเมีย 100 % และในการผลิตแต่ละครั้งยังได้ต้นกล้าจำนวนมาก จึงเป็นการลดต้นทุนการผลิตต้นกล้าตัวเมีย รวมทั้งการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อจากชิ้นส่วน vegetative ด้วยวิธี somatic embryogenesis เป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพเนื่องจากต้นกล้าที่ได้จะมีลักษณะทางพันธุกรรม (genotype) และลักษณะที่แสดงออก (phenotype) ที่เหมือนต้นแม่ทุกประการ ต้นกล้าที่ได้ปลอดโรคและแมลง มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูง ต้นแข็งแรง ให้ผลผลิตดีกว่า นอกจากนี้ยังสามารถลดต้นทุนการขนส่งได้เนื่องจากต้นกล้ามีขนาดเล็ก และน้ำหนักเบาเมื่อเทียบกับต้นกล้าที่ได้จากการแยกหน่อ

การทดลองที่ 1.2 การเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัม

การเก็บรักษาละอองเกสรดอกตัวผู้ของอินทผลัมในระยะยาวควรเก็บละอองเกสรในช่วงที่ช่อดอกตัวผู้บานเต็มที่แล้ว และควรเก็บจากต้นทันทีเพื่อป้องกันการสูญเสียปริมาณและคุณภาพของละอองเกสร ก่อนการเก็บรักษาละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมควรมีสภาพความชื้นต่ำ สามารถลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้น หรือเทคนิค Freeze dry ก็ได้ซึ่งให้ผลด้านความมีชีวิตของละอองเกสรได้ไม่แตกต่างกัน การเก็บรักษาละอองเกสรตัวผู้ของอินทผลัมมีแนวโน้มที่จะเก็บได้ระยะเวลาที่ยาวนานขึ้นเมื่อเก็บรักษาในอุณหภูมิที่ต่ำ โดยสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 เดือน และอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และ -196 องศาเซลเซียส (ในไนโตรเจนเหลว) มีแนวโน้มเก็บรักษาได้มากกว่า 18 เดือน ขึ้นไปโดยยังคงมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงเฉลี่ย 72.67 และ 79.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

กิจกรรมที่ 2. การเพิ่มประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตของอินทผลัมพันธุ์ KL1

การทดลองที่ 2.1 ศึกษาระยะที่เหมาะสมของดอกเพศเมียต่อการถ่ายละอองเกสร

จากการศึกษาระยะที่เหมาะสมของช่อดอกเพศเมียอินทผลัมพันธุ์ KL1 ต่อการติดผล พบว่า การถ่ายละอองเกสรด้วยมือบนช่อดอกเพศเมียในระยะที่กาบช่อดอกเริ่มแตกและหลังจากกาบช่อดอกแตก 2 วัน มีเปอร์เซ็นต์การติดผลสูงที่สุด มีจำนวนผลต่อช่อมาก ช่อแน่น ซึ่งตรงกับความต้องการของเกษตรกรผู้ปลูกอินทผลัมแบบรับประทานผลสด เนื่องจากจำนวนผลต่อช่อมากจะส่งผลให้น้ำหนักผลผลิตสูงขึ้นตามไปด้วย ส่วนการถ่ายละอองเกสรในระยะหลังจากที่กาบช่อดอกเพศเมียแตก 4 วันเป็นต้นไป มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การ ติดผลน้อยลง

PSU Thailand Library

ตามลำดับ ซึ่งเกษตรกรสามารถวางแผนการผสมเกสรได้ไม่เกิน 4 วันนับจากวันที่กาบช่อดอกเพศเมียแตกเพื่อให้ได้จำนวนผลต่อช่อมากที่สุด

การทดลองที่ 2.2 ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม

จากการศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม พบว่า การถ่ายละอองเกสรใน 5 ช่วงเวลา คือ 08.00, 10.00, 12.00, 14.00 และ 16.00 น. มีเปอร์เซ็นต์การติดผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้น หากมีจำนวนต้นอินทผลัมที่ช่อดอกเพศเมียอยู่ในระยะที่เหมาะสมพร้อมกัน เกษตรกรสามารถดำเนินการถ่ายละอองเกสรได้ทุกช่วงเวลาในวันดังกล่าวซึ่งยังคงมีเปอร์เซ็นต์การติดผลมากกว่า 86.79 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2.3 ผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม

จากการทดลองผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม พบว่า การถ่ายละอองเกสรด้วยมือ และการผสมละอองเกสรด้วยตัวนำต่างๆ ได้แก่ แป้ง Talc และ สารละลายซูโครส 20% มีเปอร์เซ็นต์การติดผลมากกว่าการปล่อยให้ผสมโดยแมลงตามธรรมชาติถึง 43.16 เปอร์เซ็นต์ ในกรณีที่เกษตรกรมีละอองเกสรปริมาณจำกัด สามารถนำละอองเกสรปริมาณ 0.5 กรัม (ครึ่งหนึ่งของปริมาณการใช้ปกติ) มาผสมกับแป้ง Talc 0.5 กรัม หรือสารละลายซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์ ก่อนถ่ายละอองเกสรตามปกติ โดยหากเกษตรกรนำผลการทดลองไปปรับใช้จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายละอองเกสรในอินทผลัมได้

กรมวิชาการเกษตร

บรรณานุกรม

การขยายพันธุ์อินทผลัมพันธุ์ KL1 ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ somatic embryogenesis

จารุฉัตร เขนยทิพย์, สุมิตร วิลัยพร, ชัยกฤต พรมมา, นิรันดร์ ดิษฐ์กระจัน และ ศิริลักษณ์ อินทะวงศ์. 2558. วิจัยและพัฒนาพันธุ์อินทผลัม. รายงานผลงานวิจัยและพัฒนา ปี 2549-2558 คลังผลงานวิจัย กรมวิชาการเกษตร

นพรัตน์ อินถา และ พีระศักดิ์ ฉายประสาท. 2561. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมด้วยเทคนิคการใช้ช่อดอก. ว. วิทย. กษ. 49 : 1 (พิเศษ) : 330-334 (2561).

Al-Khalifah, N. S., and A. E. Shanavaskhan. 2012. Micropropagation of date palms. pp. 54. Asia-Pacific Consortium on Agricultural Biotechnology (APCoAB) and Association of Agricultural Research Institutions in the Near East and North Africa (AARINENA) 54. New Delhi, India.

Al-Khayri, J. M. 2001. Optimization of biotin and thiamine requirements for somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). In Vitro Cel. Dev. Biol. Plant 37(4): 453-456.

_____. 2010. Somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) improved by coconut water. Biotechnol. 9(4): 477-484.

Al-Khayri JM and Al-Bahrany AM. 2001. Silver nitrate and 2-isopentyladenine promote somatic embryogenesis in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Scientia Horticulturae. 89: 291-298.

Al-Khayri, J.M., Jain, S.M. and Johnson, D.V. eds. 2017. Date Palm Biotechnology Protocols Volume I: Tissue Culture Applications. Springer, New York.

Alkhateeb, A. 2008. Comparison effects of sucrose and date palm syrup on somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Am. J. Biotechnol. Biochem. 4(1): 19-23.

Ashour, N.E., Hassan, H.S.A. and E. A. M. Mostafa. 2008. Efficiency of Some Pollen Carriers on Yield and Fruit Quality of Zaghloul and Samani Date Palm Cultivars. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. 4(3): 391-396.

Aslam, J. and Khan, S.A. 2009. In vitro micropropagtion of Khalas date palm (*Phoenix dactylifera* L.), an important fruit plant. J. Fruit Ornam. Plant Res. 17(1): 15-27.

Awad, A. M. 2011. Pollination of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. 'Lulu' with Pollen Grains-Water Suspension. JKAU: Met., Env. & Arid Lamd Agric. Sci. 22(1): 90-101.

กรมวิชาการเกษตร

Bacha, M.A.A., Aly, M.A., Al-Obeed, R.S. and A.O. Abdul-Rahman. 2000. Compatibility Relationships in Some Date Palm Cultivars (*Phoenix dactylifera* L.). J. King Saud Univ. Agric. Sci. 12(2): 81-95.

Botes, A. and A. Zaid. 2002. Date Palm Cultivation. Food and Agricultural Organization of The United Nations, Rome, Italy.

Bhaskaran, S., and R.H. Smith. 1992. Somatic embryogenesis from shoot tip and immature inflorescence of *Phoenix dactylifera* cv. Barhee. Plant Cell Rep. 12(1): 22-25.

Djerouni, A., Chala, A., Simozraga, A., Benmehaia, R. and M. Baka. 2015. Evaluation of Male Palms Used in Pollination and The extent of its Relationship with Cultivars of Date-Palms (*Phoenix dactylifera* L.) Grown in Region of Oued Righ, Algeria. Pak. J. Bot. 47(5): 2295-2300.

Drira, N. 1983. Multiplication végétative du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par la culture in vitro de bourgeons axillaires et de feuilles qui en dérivent. CR. Acad. Sci. Paris 296: 1077-1082.

_____. and A. Benbadis. 1985. Multiplication vegetative du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par reversion, en culture *in vitro*, d'ebauches florales de pieds femelles. J. Plant Physiol. 119(3): 227-235.

Eeuwens, C. J. 1976. Mineral requirements for growth and callus initiation of tissue explants excised from mature coconut palms (*Cocos nucifera*) and cultured *in vitro*. Physiologia Plantarum. 36(1): 23-28.

Eke, C.R., Akomeah, P. and O. Asemota. 2005. Somatic embryogenesis in date palm (*Phoenix dactyllifera* L.) from apical meristem tissues from 'Zebia' and 'Loko' landraces. African J. Biotechnol. 4(3): 244-246.

El-Din, Z., Amal, F. M., AbdEl-Rasoul, M., Ibrahim, I. S., Aly, A. S., and Sharaf Eldeen, H. A. M. 2006. Micropropagation of some date palm cultivars: Changes of some chemical constituents related to embryogenesis. pp. 233-241. III International Date Palm Conference 736. 19-21 February 2006. International Society for Horticultural Science. Leuven, Belgium.

Eshraghi, P., Zarghami, R. and Mirabdulbaghi, M. 2005. Somatic embryogenesis in two Iranian date palm cultivars. Afr. J. Biotechnol. 4 (11): 1309-1312.

กรมวิทยาศาสตร์

Fki, L., Masmoudi, R., Drira, N., and A. Rival. 2003. An optimised protocol for plant regeneration from embryogenic suspension cultures of date palm, *Phoenix dactylifera* L., cv. Deglet Nour. Plant Cell Rep. 21(6): 517-524.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2006. 2005 worldwide dates production statistics.

Gabr, M. F., and B. Tisserat. 1985. Propagating palms *in vitro* with special emphasis on the date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Scientia horticulturae. 25(3): 255-262.

Gupta, A. 2008. In vitro culture of female date palm *(Phoenix dactylifera L.)* (Doctoral dissertation, CCSHAU).

Hafez, O.M., Saleh, M.A., Mostafa, E.A.M., El-Shamma, M.S. and M.A. Maksoud. 2013. Improving Pollination Efficiency, Yield and Fruit Quality of two Date Palm Cultivars Using Growth Activator. Int. J. Agric. Res. 1-9.

Iqbal, M., Khan, M.Q., Munir, M., Rehman, S.U., Rehman, H.U. and M. Niamatullah. 2010. Effect of Different Pollination Techniques on Fruit Set, Pomological Characters and Yield of Dhakki Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) in Dera Ismail Khan, KP. Sarhad J. Agric. 26(4): 515-518.

Iqbal, M. Jatoi, S.A., Niamatullah, M., Munir, M. and I. Khan. 2014. Effect of Pollination Time on Yield and Quality of Date Fruit. The JAPS. 24(3): 760-764.

Johnson, D.V. 2011. Date palm biotechnology from theory to practice. Springer, New York.

Maiada M. E. and Z. E. Zayed. 2017. Controlling Hyperhydricity in Date Palm In Vitro Culture by Reduced Concentration of Nitrate Nutrients. 175 – 183 pp. *In* Jameel M. Al-Khayri et al. (eds.), Date Palm Biotechnology Protocols Volume 1: Tissue Culture Applications, Methods in Molecular Biology, vol. 1637.

Moustafa, A.A. 1998. Studying on the Pollination of the Date Palms. The 1st Int. Conf. on Date Palm. 39-48.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia plantarum. 15(3): 473-497.

Poulain, C., Rhiss, A., and G. Beauchesne. 1979. Multiplication vegetative en culture *in vitro* du palmier-dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Comptes rendus des seances de l'Academie d'agriculture de France. 10 20 Academie d'agriculture de France.

Reuveni, O., Adato, Y. and H. Lilien-Kipnis. 1972. Study of new and rapid methods for the vegetative propagation of date palms. Rep. Annu. Date Grow Inst.

กรมวิทยาศาสตร์

Reynolds, J.F. and T. Murashige. 1979. Asexual embryogenesis in callus cultures of palms. *In Vitro* Cel. Dev. Biol. Plant. 15(5): 383-387.

Sharma, D.R., Kumari, R., and J.B. Chowdhury. 1980. *In vitro* culture of female date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissues. Euphytica. 29(1): 169-174.

Simon, S. and J. Petrášek. 2011. Why plants need more than one type of auxin. Plant Sci. 180(3): 454-460.

Staritsky, G. 1970. Tissue culture of the oil palm (*Elaeis guineensisJacq*.) as a tool for its vegetative propagation. Euphytica. 19(3): 288-292.

Tisserat, B. 1979. Propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) *in vitro*. J. Exp. Bot. 30(6): 1275-1283.

_____. 1981. Date palm tissue culture. Adv. Agri. Tech. Reg. Ser. 17, USDA, ARS. 1-50.

_____. 1982. Factors involved in the production of plantlets from date palm callus cltures. Euphytica. 31(1): 201-214.

_____. 1983. Development of new tissue culture technology to aid in the cultivation and crop provement of date palms. pp. 126-139. Proceedings of the First Symposium on The Date Palm in Saudi Arabia march. 23-25 March 1982. Hassa. Saudi Arabia.

_____. and D.A. DeMason. 1980. A histological study of development of adventive embryos in organ cultures of *Phoenix dactylifera* L. Annals Bot. 46(4): 465-472.

Veramendi, J. and L. Navarro. 1996. Influence of physical conditions of nutrient medium and sucrose on somatic embryogenesis of date palm. Plant Cel. Tissue Organ Cult. 45(2): 159- 164.

World atlast. 2015. Leading Countries Growing Dates (Fresh Date Palm Fruits) [accessed date 19 April 2017] http://www.worldatlas.com/articles/world-leading-countries-growing-fresh-dates.html

Zouine, J. and I. El-Hadrami. 2007. Effect of 2, 4-D, glutamine and BAP on embryogenic suspension culture of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Scientia horticulturae. 112(2): 221-226.

การเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัม

ชมพู กิมศรี. 2539. การศึกษาความมีชีวิต ความงอก และวิธีการเก็บรักษาละอองเรณูพืชสกุลระกำบางชนิด. ปัญหาพิเศษปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 46 น.

นัด ไชยมงคล ประสงค์ มั่นสลุง วัฒนนิกรณ์ เทพโพธา วัชรพล บำเพ็ญอยู่ วิมล แก้วสีดา และวิลาสลักษณ์ ว่องไว. 2558. การพัฒนาพันธุ์ว่านสี่ทิศ. รางานโครงการวิจัยกรมวิชาการเกษตร, 20 น.

กรมวิชาการเกษตร

พรชัย หาระโคตร จุฬารัตน์ หมื่นสุข เยาวพา จิระเกียรติกุล และพลัง สุริยหาร. 2562. ความมีชีวิตและการเก็บรักษาเรณูในเชื้อพันธุกรรมข้าวโพดหวานพิเศษจากเขตอบอุ่น. แก่นเกษตร 47(4) : 705-714.

พิชัย ใจกล้า. 2558. ความมีชีวิตและการเก็บรักษาละอองเรณูทุเรียนที่ปลูกในจังหวัดอุตรดิตถ์. วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง, 24(1) : 89-99.

รมย์ริญ ปิยารมย์. 2542. วิธีการเก็บรักษาละอองเรณูระกำ (Salacca wallichiana Mart.) ในไนโตรเจนเหลว. ปัญหาพิเศษ ปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 28 น.

ศิรัชตนันท์ โรจนวิจิตร ปิยนุช ศรชัย ดวงกมล สัมฤทธินันท์ หนึ่งฤทัย เดชสังกรานนท์ บุบผา คงสมัย และเสริมศิริ จันทร์เปรม. 2559. เทคนิคสำหรับการแยกและการทดสอบความงอกของเรณูกล้วยไม้สกุลหวายบางพันธุ์. ว.วิทย.กษ. 47(3): 305-316.

สุพี วนศิรากุล. 2543. การศึกษาความมีชีวิตของละอองเกสรฝรั่งพันธุ์ “แป้นสีทอง” และ “เย็นสอง” เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 oC และ -20 oC. ปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 21 น.

Ahmad F.A. 2012. Effect of Storage Method on Date Palm and Pistachio Pollen Viability. Jordan Journal of Agricultural Sciences, 8(4) : 573-582.

Anushma PL., L. Vincent, PE. Rajesekharan and S. Ganeshan. 2018. Pollen storage studies in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). International Journal of Chemical Studies, 6(5) : 2640-2642.

Brewbaker, J.L. and B.H. Kwack. 1963.The essential role of calcium ion in pollen germination and pollentube growth. Am.J.Bot., 50(9) : 859-865.

Larbi B., M-T. Cerceau-Larrival and J-C. Dore. 1995. Significance of freeze-drying in long term storage of date palm pollen. Grana, 34 : 408-412.

Maryam, M. J. Jaskani, B. Fatima, M. S. Haider, S. A. Naqvi, M. nafees, R. Ahmad and A. Khan. 2015. Evaluation of pollen viability in date palm cultivars under different storage temperature. Pak. J. Bot., 47(1) : 377-381.

Mortazavi S.M.H., K. Arzani and A. Moieni. 2010. Optimizing storage and *In vitro* germination of Date palm (*Phoenix dactylifera*) pollen. J,Agr.Sci.Tech, 12 : 181-189.

Tisseras B., J.M. Ulrich and B.J. Finkle. 1983. Survival of Phoenix pollen grains under cryogenic conditions. Crop Sci., 23 : 254-256.

Tisseras B., M.F. Gabr and M.T. Sabour. 1985. Viability of cryogenically treatment date palm pollen. Date Plam J., 4(1) : 25-32.

ศึกษาระยะที่เหมาะสมของดอกเพศเมียต่อการถ่ายละอองเกสร

จารุฉัตร เขนยทิพย์. 2558. วิจัยและพัฒนาพันธุ์อินทผลัม. รายงานโครงการวิจัย กรมวิชาการเกษตร.

จารุฉัตร เขนยทิพย์, สุมิตร วิลัยพร, ชัยกฤต พรมมา, นิรันดร์ ดิษฐ์กระจัน และ ศิริลักษณ์ อินทะวงศ์. 2558. วิจัยและพัฒนาพันธุ์อินทผลัม. รายงานผลงานวิจัยและพัฒนา ปี 2549-2558 คลังผลงานวิจัย กรมวิชาการเกษตร.

ศิริลักษณ์ อินทะวงศ์. 2563. ทำความรู้จักอินทผลัม. กสิกร 93(6): 6-11.

กรมวิชาการเกษตร

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2563. 'อินทผลัม' พืชเศรษฐกิจมาแรง สร้างรายได้งามกว่า 3 แสนบาท/ไร่. สืบค้นจาก: http://www.oae.go.th//assets/portals/1/fileups/publiccenter/files/News/radio/2020/10_07_63.pdf [ต.ค. 2563].

Ahmad, N., Z. Hussain, D. Rahm and N. Muhammad. 2015. Effect of pollination times on fruit characteristics and yield of Begum Jangi date palm. Life Sci. Int. J. 9(1,2,3 & 4): 3093-3097.

Bacha, M.A.A., M.A.Aly, R.S. Al-Obeed and A.O. Abdul-Rahman. 2000. Compatibility relationships in some date palm cultivars (*Phoenix dactylifera* L.). J. King Saud Univ. Agric. Sci. 12(2): 81-95.

Chihcheng, T. C. and K. R. Robert. 2007. The date palm (*Phoenix dactylifera* L.): Overview of biology, uses, and cultivation. HortScience 42(5): 1077-1082.

Djerouni, A., A. Chala, A. Simozraga, R. Benmehaia and M. Baka. 2015. Evaluation of male palms used in pollination and the extent of its relationship with cultivars of date-palms (*Phoenix dactylifera* L.) grown in region of Oued Righ, Algeria. Pak. J. Bot. 47(5): 2295-2300.

Iqbal, M., M. Niamatullah and M. Munir. 2012. Effect of various Dactylifera males pollinizer on pomological traits and economical yield index of cv's Shakri, Zahidi and Dhakki date palm (Phoenix dactylifera L.). J. Anim. Plant Sci. 22: 376-383.

Moustafa, A.A. 1998. Studying on the pollination of the date palms. The 1st Int. Conf. on Date Palm. 39-48.

Zaid, A. and P.F de Wet. 2002. Date palm cultivation. Available: http://www.fao.org/3/y4360e0c.htm (October 19, 2020)

ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม

จารุฉัตร เขนยทิพย์. 2558. วิจัยและพัฒนาพันธุ์อินทผลัม. รายงานโครงการวิจัย กรมวิชาการเกษตร.

ศิริลักษณ์ อินทะวงศ์. 2563. ทำความรู้จักอินทผลัม. กสิกร 93(6): 6-11.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2563. 'อินทผลัม' พืชเศรษฐกิจมาแรง สร้างรายได้งามกว่า 3 แสนบาท/ไร่. สืบค้นจาก: http://www.oae.go.th//assets/portals/1/fileups/publiccenter/files/News/radio/2020/10_07_63.pdf [ต.ค. 2563].

Bacha, M.A.A., M.A.Aly, R.S. Al-Obeed and A.O. Abdul-Rahman. 2000. Compatibility relationships in some date palm cultivars (*Phoenix dactylifera* L.). J. King Saud Univ. Agric. Sci. 12(2): 81-95.

Djerouni, A., A. Chala, A. Simozraga, R. Benmehaia and M. Baka. 2015. Evaluation of male palms used in pollination and the extent of its relationship with cultivars of date-palms (*Phoenix dactylifera* L.) grown in region of Oued Righ, Algeria. Pak. J. Bot. 47(5): 2295-2300.

Iqbal, M., M. Niamatullah and M. Munir. 2012. Effect of various Dactylifera males pollinizer on pomological traits and economical yield index of cv's Shakri, Zahidi and Dhakki date palm (Phoenix dactylifera L.). J. Anim. Plant Sci. 22: 376-383.

ศูนย์วิทยทรัพยากร

Kadri, K., Elsafy, M., Makhlouf, S., and M.A. Awad. 2021. Effect of pollination time, the hour of daytime, pollen storage temperature and duration on pollen viability, germinability, and fruit set of date palm (Phoenix dactylifera L.) cv "Deglet Nour". Retrieved December 10, 2021, from https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1319562X21008639?token=716883D72AECC597095DF01499237BE1218411AC58238B2F57B392E79EE905E4063E8F80725B04CBA1D996474E4D54A8&originRegion=eu-west-1&originCreation=20211210143901

ผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม

Ashour, N.E., Hassan, H.S.A., and E.A.M. Mostafa. 2008. Effect of Some Pollen Carriers on Yield and Fruit Quality of Zaghloul and Samani Date Palm Cultivars. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 4(3): 391-396.

Awad, M.A. 2011. Pollination of Date Palm (Phoenix dactylifera L.) cv. ‘Lulu’ with Pollen Grains-Water Suspension. J. King Abdulaziz Univ. Mar. Sci. 22(1): 91-101

Djerouni, A., A. Chala, A. Simozraga, R. Benmehaia and M. Baka. 2015. Evaluation of male palms used in pollination and the extent of its relationship with cultivars of date-palms (*Phoenix dactylifera* L.) grown in region of Oued Righ, Algeria. Pak. J. Bot. 47(5): 2295-2300.

Hafez, O.M., Saleh, M.A., Moatafa, E.A.M., and M.S. El-Shamma. 2014. Improving Pollination Efficiency, Yield and Fruit Quality of Two Date Palm Cultivars using Growth Activator. Inter. J. Agri. Res. 9(1): 29-37.

Iqbal, M., M. Niamatullah and M. Munir. 2012. Effect of various Dactylifera males pollinizer on pomological traits and economical yield index of cv’s Shakri, Zahidi and Dhakki date palm (Phoenix dactylifera L.). J. Anim. Plant Sci. 22: 376-383.

กรมวิชาการเกษตร