



กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

รายงานผลสัมฤทธิ์สำหรับทุนสนับสนุนงานพื้นฐาน (Fundamental Fund)

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2564

หน่วยงาน กรมวิชาการเกษตร

รายงานโครงการวิจัย

ศึกษาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.)

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

ศิริลักษณ์ อินทวงค์

Siriluck Inthawong

ปี 2564

บทสรุปผู้บริหาร

โครงการศึกษาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.) เพื่อพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์ต้นอินทผลัมพันธุ์ดีโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและวิธีการเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัมให้เหมาะสมต่อการเก็บระยะยาว รวมถึงศึกษาวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายละอองเกสรของอินทผลัมพันธุ์ KL1 โดยการดำเนินการวิจัยแบ่งออกเป็น 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 เปรียบเทียบกันเพื่อหาเทคนิคการเก็บรักษาที่เหมาะสมเพื่อให้เกษตรกรนำไปใช้ประโยชน์ และสามารถเก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชได้ และ 2. การเพิ่มประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตของอินทผลัมพันธุ์ KL1 โดยจะดำเนินการศึกษาระยะที่เหมาะสมของดอกเพศเมีย และช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการถ่ายละอองเกสร เพื่อให้การผสมเกสรมีประสิทธิภาพมากที่สุด นอกจากนี้ ทำการศึกษาผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่างๆ ได้แก่ แป้ง talc และสารละลายน้ำตาลซูโครส ซึ่งมีรายงานว่าสามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตอินทผลัมได้เพื่อให้ได้วิธีการที่เหมาะสมและไม่สิ้นเปลืองละอองเกสร

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

ศึกษาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.)

ศิริลักษณ์ อินทวงค์¹ ปาริฉัตร สังข์สะอาด² ประกาย อ่อนวิมล²

บทคัดย่อ

การศึกษาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์อินทผลัม ดำเนินการในปี 2562-2564 มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์ต้นอินทผลัมพันธุ์ดีโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและวิธีการเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัมให้เหมาะสมต่อการเก็บระยะยาว รวมถึงศึกษาวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายละอองเกสรของอินทผลัมพันธุ์ KL1 โดยสามารถสรุปได้ว่า อินทผลัมเป็นไม้ยืนต้นที่ใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อค่อนข้างนานเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่น โดยใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตั้งแต่ 8 – 24 สัปดาห์ในแต่ละขั้นตอนของการเพาะเลี้ยง การเก็บรักษาละอองเกสรดอกตัวผู้ของอินทผลัมในระยะยาวควรเก็บละอองเกสรในช่วงที่ช่อดอกตัวผู้บานเต็มที่แล้ว และเก็บจากต้นทันทีเพื่อป้องกันการสูญเสียปริมาณและคุณภาพของละอองเกสร ก่อนการเก็บรักษาควรมีสภาพความชื้นต่ำ สามารถใช้เทคนิคการลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้น และ Freeze dry โดยการเก็บรักษาละอองเกสรดอกตัวผู้ของอินทผลัมมีแนวโน้มที่จะเก็บได้ระยะเวลาที่ยาวนานขึ้นเมื่อเก็บรักษาในอุณหภูมิที่ต่ำ โดยสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 เดือน ส่วนที่อุณหภูมิ -20 และ -196 องศาเซลเซียส (ไนโตรเจนเหลว) มีแนวโน้มเก็บรักษาได้มากกว่า 18 เดือน การศึกษาระยะที่เหมาะสมของดอกเพศเมีย ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสร และผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม เพื่อศึกษาวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายละอองเกสรของอินทผลัมพันธุ์ KL1 อายุ 8 ปี วางแผนการทดลองแบบ RCB บันทึกลงเปอร์เซ็นต์การติดผลหลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 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 โชมาทิก เอ็มบริโอจิ้นเนสซิส

¹ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่

² สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

กรมวิชาการเกษตร

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

^{/1} ChiangMai Agricultural Research and Development Center

^{/2} Biotechnology Research and Development Office

กรมวิชาการเกษตร

กิตติกรรมประกาศ

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

ขอขอบพระคุณผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และห้องปฏิบัติการของกลุ่มธนาคารเชื้อพันธุพืช รวมถึงครุภัณฑ์ สารเคมี และอุปกรณ์ต่างๆ ในการทำงานวิจัย

ขอขอบพระคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์แปลงทดลองอินทผลัมและสิ่งอำนวยความสะดวกต่างๆ ตลอดการทำงานวิจัย

ขอขอบคุณทีมงานทุกท่านที่มีส่วนร่วมในการทำโครงการวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์

นางศิริลักษณ์ อินทวงค์

หัวหน้าโครงการวิจัย

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทสรุปผู้บริหาร	1
บทคัดย่อ	2
Abstract	3
กิตติกรรมประกาศ	4
สารบัญ	5
สารบัญภาพ	6
สารบัญตาราง	8
บทที่ 1 บทนำ	9
บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน	13
บทที่ 3 ผลการศึกษา	20
บทที่ 4 สรุปผลและอภิปรายผล	46
เอกสารอ้างอิง	51
ภาคผนวก	55

สารบัญภาพ

	หน้า	
ภาพที่ 1	หน่ออินทผลัมที่ชำในกระถางที่มีดินนิ่งฆ่าเชื้อและรดด้วยน้ำยากันรา (เมธาแลกซิล)	13
ภาพที่ 2	ขั้นตอนการฟอกและเตรียมตัวอย่างชิ้นส่วนพืชเพื่อลงเลี้ยงในอาหาร	14
ภาพที่ 3	การพัฒนาของ somatic embryos ที่ถูกชักจูงจาก 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)	21
ภาพที่ 4	การพัฒนาของโซมาติกเอ็มบริโอที่ชักนำจากแคลลัส: โซมาติกเอ็มบริโอ (A) และโซมาติกเอ็มบริโอที่นำมาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ชักนำให้เป็นยอด (B)	22
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)	24
ภาพที่ 6	พัฒนาการของรากหลังจากนำยอดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ กรรมวิธีที่ 1 (A) กรรมวิธีที่ 2 (B) กรรมวิธีที่ 3 (C) และกรรมวิธีที่ 4 (D)	25
ภาพที่ 7	ช่อดอกตัวผู้ของอินทผลัม ณ ศวพ.เชียงใหม่ จ.เชียงใหม่	27
ภาพที่ 8	ตัวอย่างละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมที่งอกและไม่งอก ที่ระยะการเก็บต่างๆ ที่กำลังขยาย 400 เท่า	27
ภาพที่ 9	ละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมที่งอกในแต่ละอุณหภูมิการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน ที่กำลังขยาย 400 เท่า	28
ภาพที่ 10	ความมีชีวิตของตัวอย่างละอองเกสรอินทผลัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 6 เดือน	28
ภาพที่ 11	ละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมที่งอกในแต่ละอุณหภูมิการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 เดือน ที่กำลังขยาย 400 เท่า	29
ภาพที่ 12	ความมีชีวิตของตัวอย่างละอองเกสรอินทผลัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 เดือน	29
ภาพที่ 13	ละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมที่งอกในแต่ละอุณหภูมิการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 18 เดือน ที่กำลังขยาย 400 เท่า	30
ภาพที่ 14	ความมีชีวิตของตัวอย่างละอองเกสรอินทผลัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 18 เดือน	30
ภาพที่ 15	การติดผลอินทผลัมหลังจากการนำละอองเกสรดอกตัวผู้ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 12 เดือน	32
ภาพที่ 16	ลักษณะข้อผลย่อยของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563	33
ภาพที่ 17	ลักษณะข้อผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2562	34
ภาพที่ 18	ลักษณะข้อผลของอินทผลัมในแต่ละกรรมวิธีหลังจากถ่ายละอองเกสรมาแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563	34
ภาพที่ 19	กราฟแสดงอุณหภูมิเฉลี่ยของ ศวพ.เชียงใหม่ ในปี 2561-2563	35
ภาพที่ 20	ละอองเกสรอินทผลัมที่ติดสีหลังจากย้อมด้วยสาร acetocarmine	35
ภาพที่ 21	ขั้นตอนการดำเนินการถ่ายละอองเกสร	36

ภาพที่ 22 ลักษณะข้อผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสร ในปี 2563	38
ภาพที่ 23 ลักษณะการติดผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรมาแล้ว 3 เดือน จากการ ถ่ายละอองเกสรในปี 2563	38
ภาพที่ 24 ลักษณะข้อผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสร ในปี 2564	39

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 25 ลักษณะการติดผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรมาแล้ว 3 เดือน จากการ ถ่ายละอองเกสรในปี 2564	39
ภาพที่ 26 กราฟแสดงอุณหภูมิเฉลี่ยของ ศวพ.เชียงใหม่ ในปี 2562-2564	40
ภาพที่ 27 ลักษณะข้อผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสร ในปี 2563	41
ภาพที่ 28 ลักษณะการติดผลของอินทผลัมในแต่ละกรรมวิธีหลังจากถ่ายละอองเกสรมาแล้ว 3 เดือน จากการ ถ่ายละอองเกสรในปี 2563	42
ภาพที่ 29 ลักษณะข้อผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสร ในปี 2564	42
ภาพที่ 30 ลักษณะการติดผลของอินทผลัมในแต่ละกรรมวิธีหลังจากถ่ายละอองเกสรมาแล้ว 3 เดือน จากการ ถ่ายละอองเกสรในปี 2564	43
ภาพที่ 31 กราฟแสดงอุณหภูมิเฉลี่ยของ ศวพ.เชียงใหม่ ในปี 2562-2564	43

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 น้ำหนักและอัตราการเกิดแคลลัสจากปลายยอดของอินทผลัมพันธุ์ KL1 หลังจากเพาะเลี้ยงใน สูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ 2IP ในสภาพมืด ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 32 สัปดาห์ โดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 4 สัปดาห์	20
ตารางที่ 2 จำนวนและอัตราการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอจากแคลลัส หลังจากเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ ABA ในสภาพความเข้มแสง 55 $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}$ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 32 สัปดาห์ โดยเปลี่ยนอาหารใหม่ ทุก ๆ 4 สัปดาห์	21
ตารางที่ 3 จำนวนและอัตราการพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์ หลังจากเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ในสภาพความเข้มแสง 55 $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}$ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 32 สัปดาห์ โดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 4 สัปดาห์	23
ตารางที่ 4 จำนวนและอัตราการชักนำให้ยอดเกิดรากที่สมบูรณ์ หลังจากเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ในสภาพความเข้มแสง 55 $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}$ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 32 สัปดาห์ โดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 4 สัปดาห์	25
ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรตัวผู้ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ	26
ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรอินทผลัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 6, 12 และ 18 เดือน จากการลดความชื้นละอองเกสรโดยใช้ห้องลดความชื้น (drying room)	31
ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรอินทผลัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 6, 12 และ 18 เดือน จากการลดความชื้นโดยเทคนิค Freeze drying	31
ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การติดผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี ที่ดำเนินการผสมเกสรในปี 2562 และ 2563 หลังถ่ายละอองเกสร 3 เดือน	33
ตารางที่ 9 วันที่ช่อดอกเพศเมียเริ่มแทงช่อ วันที่ช่อดอกเพศเมียเริ่มแตก วันที่ถ่ายละอองเกสร และอุณหภูมิ ขณะถ่ายละอองเกสร ในปี 2564	37
ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การติดผลของอินทผลัมพันธุ์ KL1 หลังจากถ่ายละอองเกสรนาน 3 เดือน ปี 2563 และ 2564	37
ตารางที่ 11 วันที่ช่อดอกเพศเมียเริ่มแทงช่อ วันที่ช่อดอกเพศเมียเริ่มแตก และวันที่ถ่ายละอองเกสรในปี 2564	40
ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์การติดผลของอินทผลัมพันธุ์ KL1 หลังจากถ่ายละอองเกสรนาน 3 เดือน ปี 2563 และ 2564	41

บทที่ 1 บทนำ

1. วิสัยทัศน์ และพันธกิจของหน่วยงาน

วิสัยทัศน์

กรมวิชาการเกษตรเป็นองค์กรที่เป็นเลิศด้านการวิจัยและพัฒนาด้านพืช เครื่องจักรกลการเกษตร และเป็นศูนย์กลางรับรองมาตรฐานสินค้าเกษตรด้านพืชในระดับสากล บนพื้นฐานการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

พันธกิจ

1. สร้างและถ่ายทอดองค์ความรู้จากงานวิจัยด้านพืชและเครื่องจักรกลการเกษตร สู่กลุ่มเป้าหมาย
2. กำหนดและกำกับดูแลมาตรฐานระบบการผลิตและผลิตพันธุ์พืชและปัจจัยการผลิต พัฒนาระบบตรวจรับรองสินค้าการเกษตรด้านพืชให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล
3. อนุรักษ์และพัฒนาการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพด้านพืช แมลง และจุลินทรีย์
4. กำกับ ดูแล และพัฒนากฎหมายที่กรมวิชาการเกษตรรับผิดชอบ

2. ยุทธศาสตร์ชาติที่สอดคล้องกับแผนปฏิบัติงานด้าน ววน. ของหน่วยงาน (โปรดเลือกเฉพาะยุทธศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับหน่วยงานของท่าน)

- ยุทธศาสตร์ที่ 1 ด้านความมั่นคง

เพื่อบริหารจัดการสภาวะแวดล้อมของประเทศให้มีความมั่นคง ปลอดภัย และมีความสงบเรียบร้อยในทุกกระดับและทุกมิติ

- ยุทธศาสตร์ที่ 2 ด้านการสร้างความสามารถในการแข่งขัน

เน้นการยกระดับศักยภาพในหลากหลายมิติควบคู่กับการขยายโอกาสของประเทศไทยในเวทีโลก

- ยุทธศาสตร์ที่ 3 ด้านพัฒนาและเสริมสร้างศักยภาพทรัพยากรมนุษย์

คนไทยในอนาคต มีความพร้อมทั้งกาย ใจ สติปัญญา มีทักษะที่จำเป็นในศตวรรษที่ 21 มีทักษะสื่อสารภาษาอังกฤษและภาษาที่ 3 และมีคุณธรรม

- ยุทธศาสตร์ที่ 4 ด้านการสร้างโอกาสและความเสมอภาคทางสังคม

สร้างความเป็นธรรม และลดความเหลื่อมล้ำในทุกมิติ กระจายศูนย์กลางความเจริญทางเศรษฐกิจและสังคม เพิ่มโอกาสให้ทุกภาคส่วนเข้ามาเป็นกำลังของการพัฒนาประเทศในทุกกระดับ

- ยุทธศาสตร์ที่ 5 ด้านการสร้างการเติบโตบนคุณภาพชีวิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

คำนึงถึงความยั่งยืนของฐานทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ปรับเปลี่ยนพฤติกรรมของประชาชนให้เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ผ่านมาตรการต่างๆ ที่มุ่งเน้นให้เกิดผลลัพธ์ต่อความยั่งยืน

- ☐ ยุทธศาสตร์ที่ 6 ด้านการปรับสมดุลและพัฒนาระบบการบริหารจัดการภาครัฐ
การปรับเปลี่ยนภาครัฐ ยึดหลัก “ภาครัฐของประเทศาชนเพื่อประชาชนและประโยชน์ส่วนรวม”

3. วงเงินงบประมาณกองทุน ววน. ที่ได้รับจัดสรรในปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 และโปรตรระบุแผนงาน/โครงการให้สอดคล้องกับโปรแกรมของแผน ววน.

โปรแกรมตามแผน ววน.	งบประมาณ (บาท)
Platform2 การวิจัยและสร้างนวัตกรรมเพื่อตอบโจทยัทำทหายของสังคม Objective 2 คนทุกช่วงวัยมีคุณภาพชีวิตที่ดี สามารถดำรงชีวิตได้อย่างมีความสุขและมีคุณค่า และสามารถจัดการ ปัญหาทำทหายเร่งด่วนสำคัญทางสังคมของประเทศได้อย่างเหมาะสม ด้วยองค์ความรู้ที่เกิดจากการ วิจัยและนวัตกรรม Key Result – หลักอัตราผลิตภาพการผลิตของภาคเกษตรเพิ่มขึ้นร้อยละ 1.2 ในปี 2565 และเพิ่มขึ้นอีก ร้อยละ 1.0 ในปี 2570 Key Result –รอง - Program 7 โจทยัทำทหายด้านทรัพยากร สิ่งแวดล้อม และการเกษตร Objective2.7 ใช้ความรู้ การวิจัยและนวัตกรรม เพื่อจัดการกับปัญหาทำทหายเร่งด่วนสำคัญของ ประเทศ ในด้าน ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม การเกษตร และบรรลุเป้าหมายการพัฒนาที่ยั่งยืน Key Result – หลัก2.7.4 อัตราผลิตภาพการผลิตของภาคเกษตรเพิ่มขึ้นร้อยละ 1.2 Key Result –รอง -	1,047,200

4. รายละเอียดโครงการ

ที่มาและความสำคัญ/หลักการและเหตุผล

อินทผลั้ม (*Phoenix dactylifera* L.) เป็นไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีแหล่งปลูกอยู่ในประเทศแถบ ตะวันออกกลาง และแอฟริกาเหนือ โดยมีผลผลิตรวมทั้งโลกเพิ่มขึ้นจาก 1,809,091 ตัน ในปี 1962 เป็น 6,924,975 ตัน ในปี 2005 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2006) ซึ่งประเทศที่ผลิตอินทผลั้มได้เป็นปริมาณมากที่สุดคือ อียิปต์ ผลิตได้ 1,170,000 ตันในปี 2005 (คิดเป็น 16.9% ของผลผลิตรวมทั้งโลก) และปัจจุบันนี้ก็ยังมืผลผลิตที่สูงเป็นอันดับหนึ่งอยู่ด้วยปริมาณการผลิตประมาณ 1 ล้านตัน (World atlast, 2015)

อินทผลัมเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่กำลังได้รับความนิยมจากเกษตรกรไทยอย่างมาก และมีความต้องการของตลาดสูง เนื่องจากผลมีรสชาติหวานอร่อย และมีประโยชน์ต่อสุขภาพเนื่องจากมีคุณสมบัติทางยา แต่การปลูกอินทผลัมในประเทศไทยให้ได้ผลผลิตดีและมีลักษณะตามที่ต้องการนั้นต้องใช้พันธุ์ที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ให้เหมาะสมกับสภาพภูมิอากาศและสภาพภูมิประเทศของไทย ซึ่งพันธุ์ที่เกษตรกรนำเข้ามาจากต่างประเทศส่วนมากไม่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในประเทศไทย บางครั้งให้ผลผลิตน้อยและไม่คงที่ อีกทั้งสภาพอากาศของประเทศไทยนั้นมีความชื้นสูงจึงไม่สามารถเก็บผลผลิตในรูปผลแห้งคั่วได้ จึงต้องมีต้นทุนในการอบหรือต้องเก็บผลสด สำหรับในประเทศไทยมีการปลูกอินทผลัมหลากหลายสายพันธุ์ มีทั้งอินทผลัมประดับ บริโภคผลสดและผลแห้ง โดยพันธุ์ที่นิยมปลูกมากทางภาคเหนือ คือ พันธุ์ KL1 ซึ่งเป็นพันธุ์บริโภคผลสด ที่ได้รับการพัฒนาปรับปรุงสายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับปลูกภายในประเทศสามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตดีและคงที่ได้แล้วโดยคุณศักดิ์ ลำจวน เกษตรกรผู้ปลูกอินทผลัมอำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ (สวนโกหลัก) โดยนำพันธุ์ Deglet Nour จากอิสราเอล และพันธุ์ Barhee จากจอร์แดนมาผสมกัน จากนั้นนำเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 ปลูกคัดเลือกต้น จนได้สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงมีแหล่งปลูกมากทางภาคเหนือภาคกลาง และภาคอีสานในบางพื้นที่ (จารุฉัตร และคณะ, 2558)

อินทผลัมเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวยืนต้น ที่ และยังมีข้อจำกัดในด้านของการขยายพันธุ์ เนื่องจาก 50% ของต้นกล้าที่ได้มาจากการเพาะเมล็ดนั้นจะเป็นต้นตัวผู้ และจะไม่สามารถแยกต้นตัวผู้และตัวเมียออกจากกันได้เลยจนกว่าจะออกดอกซึ่งต้องใช้ระยะเวลาถึง 3 ปี นอกจากนี้ ต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดอาจเกิดการกลายพันธุ์ได้อีกด้วย ปัจจุบันการขยายพันธุ์จากต้นพ่อหรือแม่เพื่อรักษาคุณสมบัติทางพันธุกรรมทำได้แคโดยการขยายพันธุ์จากหน่อที่เกิดจากข้างลำต้นพ่อหรือแม่พันธุ์ซึ่งมีจำนวนจำกัดมากคือ 3-4 หน่อต่อต้น และตลอดอายุของอินทผลัมมีประมาณ 10-15 หน่อต่อต้นเท่านั้น หน่อข้างลำต้นนี้เกิดจากตาข้างลำต้นซึ่งเจริญเติบโตมาจากต้นในระยะที่ต้นยังอ่อนอยู่ โดยปกติแล้วหน่อข้างลำต้นจะติดอยู่กับต้นพ่อหรือแม่จนกระทั่งระบบรากมีการพัฒนาจึงจะแยกนำลงปลูกได้ จากปัญหาดังกล่าวทำให้ต้นกล้าอินทผลัมที่เป็นต้นตัวเมียนั้นมีราคาสูง โดยเฉพาะต้นตัวเมียที่มีลักษณะดี (Eke *et al.*, 2005)

นอกจากนี้ การขยายพันธุ์อินทผลัมในสภาพปลอดเชื้อจากชิ้นส่วน vegetative ด้วยวิธี somatic embryogenesis เป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพเนื่องจากต้นกล้าที่ได้จะมีลักษณะทางพันธุกรรม (genotype) และลักษณะที่แสดงออก (phenotype) ที่เหมือนต้นแม่ทุกประการ ได้จำนวนต้นกล้าปริมาณมากในระยะเวลาที่รวดเร็ว ได้ต้นกล้าที่ปลอดโรคและแมลง มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูง ต้นแข็งแรง ให้ผลผลิตดีกว่า นอกจากนี้ ยังสามารถลดต้นทุนการขนส่งได้เนื่องจากต้นกล้ามีขนาดเล็ก และน้ำหนักเบาเมื่อเทียบกับต้นกล้าที่ได้จากการแยกหน่อ (Botes and Zaid, 2002)

เนื่องจากอินทผลัมมีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียแยกต้นกัน (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 แต่หากเก็บรักษาละอองเกสรไว้ในสภาพที่ไม่เหมาะสมก็จะมีผลทำให้ความมีชีวิตของละอองเกสรและประสิทธิภาพในการผสมเกสรลดลง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาที่เหมาะสมในการเก็บละอองเกสร โดยที่ยังคงมีความงอกสูง และสามารถนำเทคนิคดังกล่าวมาใช้เก็บรักษาละอองเกสรในธนาคารเชื้อพันธุ์ต่อไป

ในบางกรณีอาจพบปัญหาปริมาณละอองเกสรเพศผู้ไม่เพียงพอต่อการถ่ายละอองเกสร เนื่องจากมีจำนวนช่อดอกเพศเมียมาก การผสมละอองเกสรกับตัวนำต่าง ๆ เช่น แบน หรือ สารละลายน้ำตาลในอัตราส่วนที่เหมาะสม จะเป็นการลดความสิ้นเปลืองของการใช้ละอองเกสรในการผสมเกสรแต่ละครั้งได้ นอกจากนี้ ระยะที่เหมาะสมของช่อดอกเพศเมียหลังจากกาบช่อดอกแตก และช่วงเวลาในการถ่ายละอองเกสรก็มีความสำคัญ ซึ่งหากทราบระยะที่เหมาะสมที่สุดในการผสมเกสร เกษตรกรจะสามารถวางแผนการถ่ายละอองเกสรได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งจะมีผลทำให้ได้ปริมาณและคุณภาพผลผลิตตามที่ต้องการ

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1) เพื่อพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์ต้นอินทผลัมพันธุ์ดีโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและวิธีการเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัมให้เหมาะสมต่อการเก็บระยะยาว รวมถึงศึกษาวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายละอองเกสรของอินทผลัมพันธุ์ KL1

ขอบเขตการศึกษา

การดำเนินการวิจัยแบ่งออกเป็น 2 กิจกรรม ได้แก่ 1. ศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์อินทผลัมและการเก็บรักษาละอองเกสรในสภาพปลอดเชื้อ โดยจะเป็นการศึกษาการขยายพันธุ์อินทผลัมพันธุ์ KL1 โดยผ่านวิธีการ somatic embryogenesis ซึ่งมีปัจจัยด้านสูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโตในความเข้มข้นต่างๆ และชิ้นส่วนที่ใช้ซึ่งเน้นไปที่การใช้ชิ้นส่วน vegetative ซึ่งจะทำให้รักษาลักษณะทางพันธุกรรมของต้นพันธุ์ดีไว้และขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมาก และยังมีการใช้ชิ้นส่วน zygotic embryo เพื่อศึกษาเรื่อง embryo rescue เพื่อประโยชน์ด้านการปรับปรุงพันธุ์ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยในการทดสอบอัตราการรอดชีวิตเมื่อนำออกปลูกในสภาพโรงเรือน และการศึกษาวิธีการเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัมสายพันธุ์จากแหล่งปลูกต่างๆ โดยใช้วิธีการลดความชื้นและเทคนิค Freeze drying แล้วเก็บรักษาในอุณหภูมิระดับต่างๆ จากนั้นนำไปหาค่าเปอร์เซ็นต์ความออกเปรียบเทียบกันเพื่อหาเทคนิคการเก็บรักษาที่เหมาะสมเพื่อให้เกษตรกรนำไปใช้ประโยชน์ และสามารถเก็บรักษาในธนาคารเชื้อพันธุ์พืชได้ และ 2. การเพิ่มประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตของอินทผลัมพันธุ์ KL1 โดยจะดำเนินการศึกษาระยะที่เหมาะสมของดอกเพศเมีย และช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการถ่ายละอองเกสร เพื่อให้การผสมเกสรมีประสิทธิภาพมากที่สุด นอกจากนี้ยังทำการศึกษาผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่างๆ ได้แก่ แป้ง talc และสารละลายน้ำตาลซูโครส ซึ่งมีรายงานว่าสามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตอินทผลัมได้ เพื่อให้ได้วิธีการที่เหมาะสมและไม่สิ้นเปลืองละอองเกสร

นิยามศัพท์

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

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

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

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน

1.วิธีการดำเนินการวิจัย

กิจกรรมที่ 1 เทคโนโลยีการขยายพันธุ์อินทผลัมและการเก็บรักษาละอองเกสรในสภาพปลอดเชื้อ (2562-2564)

การทดลองที่ 1.1 การขยายพันธุ์อินทผลัมพันธุ์ KL1 ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ somatic embryogenesis

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 Phytigel, 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 หน่ออินทผลัมที่ชำในกระถางที่มีดินนึ่งฆ่าเชื้อและรดด้วยน้ำยากันรา (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 พอลงตามเวลานำมาฟอกด้วย Sodium Hypochlorite ความเข้มข้น 25 % และความเข้มข้น 20 % เติมน้ำ 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 $50 \mu\text{M}$ + 2iP $5 \mu\text{M}$

กรรมวิธีที่ 3 สูตรอาหาร MS + 2,4-D ความเข้มข้น $250 \mu\text{M}$ + 2iP $10 \mu\text{M}$

กรรมวิธีที่ 4 สูตรอาหาร MS + 2,4-D ความเข้มข้น $450 \mu\text{M}$ + 2iP $15 \mu\text{M}$

กรรมวิธีที่ 5 สูตรอาหาร MS + 2,4-D ความเข้มข้น $650 \mu\text{M}$ + 2iP $20 \mu\text{M}$

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เตรียมอาหาร MS โดยร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตในความเข้มข้นตามกรรมวิธี ทุกสูตรอาหารประกอบไปด้วย น้ำตาลซูโครส (sucrose) 3 % (w/v) ผงถ่าน (activated charcoal) 0.3 % (w/v) และ agar 0.8 % (w/v) เตรียมชิ้นส่วนตัวอย่างโดยนำต้นอินทผลัมอายุ 2-4 ปี มาผ่าเอาส่วนยอดอ่อน นำจั่นต้นตัวเมียมาผ่าเอาช่อดอกอ่อน และนำผลอินทผลัมที่สุกแล้ว (6-7 เดือน หลังถ่ายละอองเกสร) มาผ่าเมล็ดเพื่อเอาส่วนของเอ็มบริโอ นำชิ้นส่วนยอดอ่อน ช่อดอกอ่อน และเอ็มบริโอ ของอินทผลัมพันธุ์ KL1 มาฟอกฆ่าเชื้อราและแบคทีเรียโดยใช้สารฟอกฆ่าเชื้อราและแบคทีเรียที่ทำการทดสอบในเบื้องต้นแล้วนำชิ้นส่วนที่ฟอกแล้วลงเลี้ยง

ทดสอบบนสูตรอาหารที่เตรียมไว้แล้วในที่มีดสนิท อุณหภูมิ 25 °C เปลี่ยนอาหาร (sub-culture) ทุก ๆ 4 สัปดาห์ จนเกิดแคลลัสที่มีลักษณะพร้อมที่จะนำไปเลี้ยงต่อไปขั้นตอนต่อไป

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลโดยการชั่งน้ำหนัก ถ่ายรูปลักษณะการเกิด และความผิดปกติของแคลลัส เช่น สี รูปร่าง ทุก ๆ 4 สัปดาห์

การทดลองย่อยที่ 2 การศึกษาผลของอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นไซมาติกเอ็มบริโอ และชักนำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมพันธุ์ KL1 จากชิ้นส่วนยอดอ่อน

ขั้นตอนที่ 1 การชักนำให้ callus พัฒนาเป็นยอด somatic embryo

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 μ M + ABA 2 μ M

กรรมวิธีที่ 3 MS + NAA 1.0 μ M + ABA 4 μ M

กรรมวิธีที่ 4 MS + NAA 1.5 μ M + ABA 6 μ M

กรรมวิธีที่ 5 MS + NAA 2.0 μ M + ABA 8 μ M

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 จนเกิดเป็นเอ็มบริโอที่มีลักษณะพร้อมนำไปเลี้ยงต่อไปขั้นตอนต่อไป

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลโดยการนับจำนวนยอด และถ่ายรูปลักษณะ ความผิดปกติ และการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นเอ็มบริโอ/ยอด ทุก 4 สัปดาห์

ขั้นตอนที่ 2 การชักนำให้ไซมาติกเอ็มบริโอพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์

กรรมวิธีการทดลอง

มีจำนวน 6 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ให้จำนวนซ้ำคือ 1 ขวด ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหาร MS (control)

กรรมวิธีที่ 2 MS + NAA 1.0 μ M + BA 0 μ M

กรรมวิธีที่ 3 MS + NAA 1.0 μ M + BA 2.211 μ M

กรรมวิธีที่ 4 MS + NAA 1.0 μ M + BA 4.433 μ M

กรรมวิธีที่ 5 MS + NAA 1.0 μ M + BA 7.282 μ M

กรรมวิธีที่ 6 MS + NAA 1.0 μ M + BA 8.875 μ M

วิธีดำเนินงาน/ขั้นตอนการวิจัย

เตรียมอาหาร MS โดยร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA ในความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ทุกสูตรอาหารประกอบไปด้วย น้ำตาลซูโครส (sucrose) 40 กรัม/ลิตร ผงถ่าน (activated charcoal) 1 กรัม/ลิตร และ Phytigel 3 กรัม/ลิตร นำแคลลัสที่มีลักษณะ embryogenic callus ที่ได้จากการทดลองย่อยที่ 1 ซึ่งเป็นขั้นตอนการผลิตแคลลัส มาทดสอบบนสูตรอาหารที่

เตรียมไว้แล้วในห้องที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 °C เปลี่ยนอาหาร (sub-culture) ทุก 8 สัปดาห์ จนเกิดเป็นยอดที่มีลักษณะพร้อมนำไปเลี้ยงต่อในขั้นตอนต่อไป

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลโดยการดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา ความผิดปกติ และการพัฒนาของยอด ทุก 4 สัปดาห์ บันทึกภาพและนำไปคำนวณอัตราการเกิดยอดที่สมบูรณ์ (%) โดย

$$\text{อัตราการเกิดยอดที่สมบูรณ์ (\%)} = \frac{\text{จำนวนยอดที่สมบูรณ์} \times 100}{\text{จำนวนชำ}}$$

ขั้นตอนที่ 3 การชักนำยอดให้เกิดรากที่สมบูรณ์

กรรมวิธีการทดลอง

มีจำนวน 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ชำ ให้จำนวนชำคือ 1 ขวด ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 MS + BA 7.282 μ M + NAA 0 μ M

กรรมวิธีที่ 2 MS + BA 7.282 μ M + NAA 5.370 μ M

กรรมวิธีที่ 3 MS + BA 7.282 μ M + NAA 16.111 μ M

กรรมวิธีที่ 4 MS + BA 7.282 μ M + NAA 26.851 μ M

วิธีดำเนินงาน/ขั้นตอนการวิจัย

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

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลโดยการดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา ความผิดปกติ และการพัฒนาของราก ทุก 4 สัปดาห์ บันทึกภาพและนำไปคำนวณอัตราการเกิดราก (%) โดย

$$\text{อัตราการเกิดราก (\%)} = \frac{\text{จำนวนรากที่สมบูรณ์} \times 100}{\text{จำนวนชำ}}$$

การทดลองที่ 1.2 การเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัม (2562-2564)

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 โดยเลือกดอกตัวผู้ที่บ้านเต็มที่ 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) โดยนำละอองเกสรบรรจุลงในห้องลดความชื้น (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 ตามวิธีของ John and James (1989) 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

นำละอองเกสรที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ที่สามารถเก็บรักษาได้นานที่สุดโดยที่ยังคงความงอกดีไปทดสอบการติดผลในแปลงปลูกโดยผสมกับดอกตัวเมียและคลุมช่อดอก ทำ 3 ช่อดอก/อุณหภูมิการเก็บรักษา จำนวน 3 ซ้ำ

การบันทึกข้อมูล

บันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอก โดยคำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสร จากสูตร

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

กิจกรรมที่ 2 การเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายละอองเกสรของอินทผลัมพันธุ์ KL1

การทดลองที่ 2.1 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของดอกเพศเมียต่อการถ่ายละอองเกสร (2562-2563)

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

วิธีดำเนินการ

1. คัดเลือกต้นอินทผลัมเพศเมียที่มีความสมบูรณ์ และให้คุณภาพผลผลิตดี
2. คัดเลือกต้นอินทผลัมเพศผู้ที่สมบูรณ์ให้ดอกและปริมาณละอองเกสรมากเพื่อใช้ในการผสมเกสร
3. ก่อนถ่ายละอองเกสร นำละอองเกสรตัวผู้จากช่อดอกที่บ้านเต็มที่มาตรวจสอบความมีชีวิต โดยหยดสาร acetocarmine ลงบนละอองเกสรที่เตรียมไว้บนแผ่นสไลด์ แล้วนำไปตรวจนับละอองเกสรที่ย้อมติดสีภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า จากนั้น นำมาหาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสรโดยคำนวณเทียบกับจำนวนละอองเกสร 100 หน่วยจากสูตร

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

4. คลุมช่อดอกเพศเมียไว้เพื่อป้องกันการผสมข้ามจากแมลง เมื่อช่อดอกเริ่มแตกจึงทำการถ่ายละอองเกสรตามกรรมวิธีโดยใช้ละอองเกสรประมาณ 2 กรัมต่อการผสม 1 ช่อ และถ่ายละอองเกสรในช่วงเวลา 08.00-10.00 น.
5. หลังการถ่ายละอองเกสร นำถุงกระดาษมาคลุมช่อดอกแต่ละกรรมวิธีไว้เพื่อป้องกันการปนเปื้อนละอองเกสรจากต้นอื่น จากนั้น 15 วันจึงแกะถุงกระดาษออก
6. ปฏิบัติดูแลรักษา เช่น ตัดแต่งใบ ใส่ปุ๋ย ให้น้ำ และป้องกันกำจัดศัตรูพืช ตามปกติ
7. บันทึกข้อมูล
 - ข้อมูลทั่วไป ได้แก่ วันที่ออกดอก วันที่ผสมเกสร และอุณหภูมิ
 - ข้อมูลปริมาณผลผลิต ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การติดผล หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน

การทดลองที่ 2.2 ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสร ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม (2563-2564)

- 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.

วิธีดำเนินการ

1. คัดเลือกต้นอินทผลัมเพศเมียที่มีความสมบูรณ์ และให้คุณภาพผลผลิตดี

2. คัดเลือกต้นอินทผลัมเพศผู้ที่สมบูรณ์ให้ดอกและปริมาณละอองเกสรมากเพื่อใช้ในการผสมเกสร
3. ก่อนถ่ายละอองเกสร นำละอองเกสรตัวผู้จากช่อดอกที่บ้านเต็มที่มาตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต โดยหยดสาร acetocarmine ลงบนละอองเกสรที่เตรียมไว้บนแผ่นสไลด์ แล้วนำไปตรวจนับละอองเกสรที่ย้อมติดสีภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า จากนั้น นำมาหาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสรโดยคำนวณเทียบกับจำนวนละอองเกสร 100 หน่วยจากสูตร

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

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

การทดลองที่ 2.3 ผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม (2563-2564)

- 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. คัดเลือกต้นอินทผลัมเพศเมียที่มีความสมบูรณ์ และให้คุณภาพผลผลิตดี
2. คัดเลือกต้นอินทผลัมเพศผู้ที่สมบูรณ์ให้ดอกและปริมาณละอองเกสรมากเพื่อใช้ในการผสมเกสร
3. ก่อนถ่ายละอองเกสร นำละอองเกสรตัวผู้จากช่อดอกที่บ้านเต็มที่มาตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต โดยหยดสาร acetocarmine ลงบนละอองเกสรที่เตรียมไว้บนแผ่นสไลด์ แล้วนำไปตรวจนับละอองเกสรที่ย้อมติดสีภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า จากนั้น นำมาหาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสรโดยคำนวณเทียบกับจำนวนละอองเกสร 100 หน่วยจากสูตร

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

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) ทำการถ่ายละอองเกสรตามกรรมวิธี ในช่วงเวลา 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

3. การปรับแผนงบประมาณระหว่างปี

ไม่มี มี ได้รับอนุมัติเมื่อวันที่..... (โปรดแสดงหลักฐานในภาคผนวก)

เปลี่ยนแปลงงบประมาณ โปรดอธิบายการเปลี่ยนแปลง.....

เปลี่ยนแปลงวัตถุประสงค์/ผลผลิต โปรดอธิบายการเปลี่ยนแปลง.....

บทที่ 3 ผลการศึกษา

3.1 ผลการดำเนินงานของโครงการ

กิจกรรมที่ 1 ศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์อินทผลัมและการเก็บรักษาละอองเกสรในสภาพปลอดเชื้อ

การทดลองที่ 1 การขยายพันธุ์อินทผลัมพันธุ์ KL1 ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ somatic embryogenesis

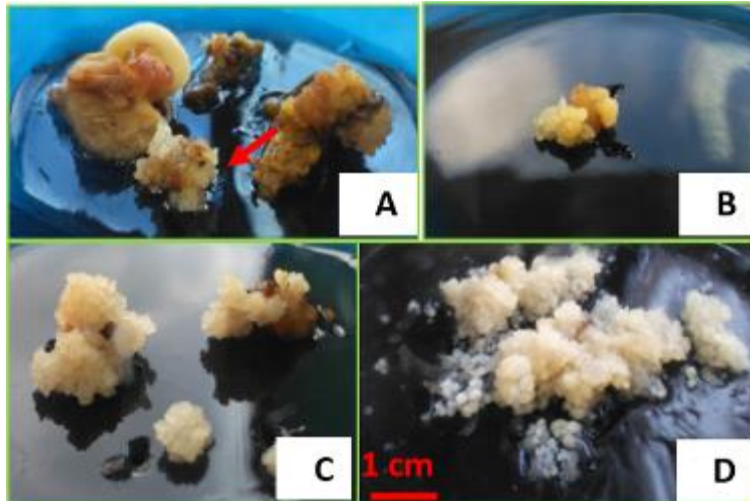
การทดลองย่อยที่ 1 การศึกษาผลของอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดแคลลัส ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัม KL1 จากชิ้นส่วนยอดอ่อน และเอ็มบริโอ

การชักนำให้เกิดแคลลัสจากตัวอย่างปลายยอดที่ได้จากหน่อข้างอินทผลัมพันธุ์ KL1 ในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 50, 250, 450 และ 650 μM และ 2iP ความเข้มข้น 5, 10, 15 และ 20 μM ตามลำดับพบว่าสูตรที่เติม 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 คือ จากแคลลัสที่มีลักษณะเกาะกันหลวม ร่วน เปลี่ยนแปลงเป็นก้อนกลมแยกกันเป็นเม็ดชัดเจน สีขาวขุ่น และมีขนาดใหญ่ขึ้น (ภาพที่ 3C และ 3D) จากนั้นเลี้ยงต่อในอาหารสูตร MS ไม่เติม PGR ในสภาพมีแสง 55 $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}$ 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	$0.0 \pm 0.0c$	0
1	50	5	$52 \pm 19b$	35.0
2	250	10	$658 \pm 159a$	62.5
3	450	15	$170 \pm 31b$	16.7
4	650	20	$20 \pm 9b$	5.0

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 3 การพัฒนาของ somatic embryos ที่ถูกชักจูงจาก 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) แต่ไม่มีการยึดยาวออกและเปลี่ยนไปเป็นยอดจึงนำไปชักนำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์ในต่อไป

ตารางที่ 2 จำนวนและอัตราการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอจากแคลลัส หลังจากเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ ABA ในสภาพความเข้มแสง 55 $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}$ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน ที่อุณหภูมิ 25 \pm 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 32 สัปดาห์ โดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 4 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความเข้มข้นของ PGRs (μM)		จำนวนโซมาติก เอ็มบริโอ	อัตราการเกิดโซมาติก เอ็มบริโอ (%)
	NAA	ABA		
control	0	0	0.0 \pm 0.0c	0
1	0.5	2	1.8 \pm 0.14b	21.8
2	1.0	4	5.1 \pm 0.43a	40.0
3	1.5	6	4.5 \pm 0.70a	31.8

4

2.0

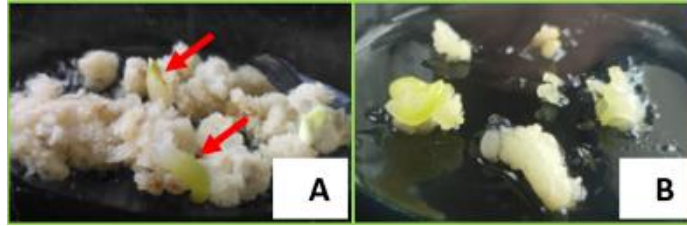
8

 $2.4 \pm 0.43b$

21.1

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าด้วยวิธี DMRT

กรมวิชาการเกษตร



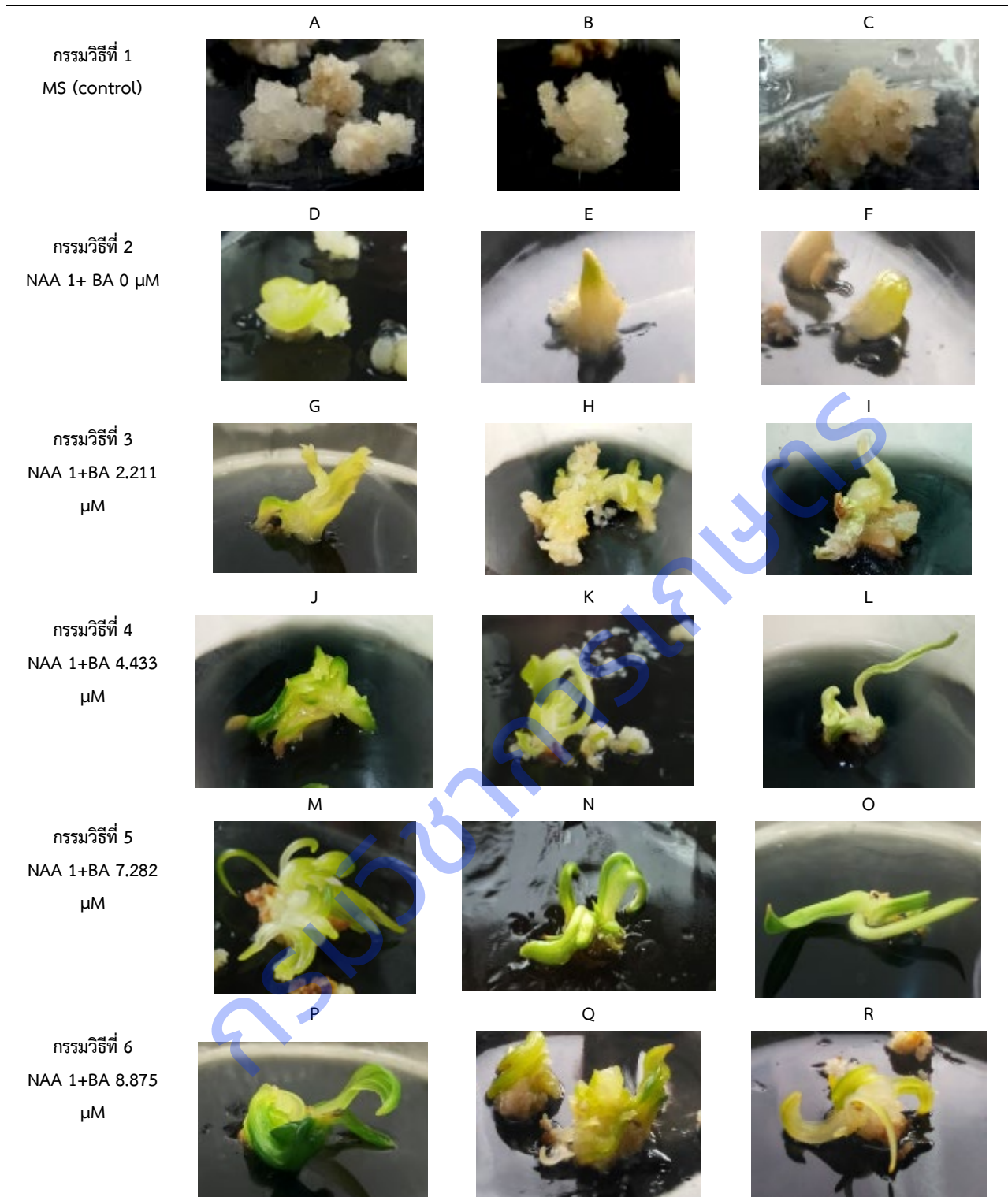
ภาพที่ 4 การพัฒนาของไซมาติกเอ็มบริโอที่ชักนำจากแคลลัส: ไซมาติกเอ็มบริโอ (A) และไซมาติกเอ็มบริโอที่นำมาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่ชักนำให้เป็นยอด (B)

ขั้นตอนที่ 2 การชักนำให้ไซมาติกเอ็มบริโอพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์

หลังจากนำแคลลัสที่มีลักษณะเป็นสีเขียวลงเลี้ยงทดสอบในสูตรอาหารชักนำให้เกิดยอดในขั้นตอน Germination คือสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (control) และ MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น $1\ \mu\text{M}$ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น $0\ \mu\text{M}$, $2.211\ \mu\text{M}$, $4.433\ \mu\text{M}$, $7.282\ \mu\text{M}$ และ $8.875\ \mu\text{M}$ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ไซมาติกเอ็มบริโอพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์สูงสุด คือสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น $1\ \mu\text{M}$ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น $7.282\ \mu\text{M}$ (อัตราการเกิดยอด 100%) ลักษณะของยอดที่ได้ทั้งหมดที่ได้มีการพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์มีสีเขียว บางส่วนเริ่มมีการยืดยาวของเนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตดีลักษณะของยอดสมบูรณ์แข็งแรง (ภาพที่ 5M, N และ O) สำหรับสูตรอาหารที่เหมาะสมเป็นลำดับถัดมาคือสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น $1\ \mu\text{M}$ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น $4.433\ \mu\text{M}$ (อัตราการเกิดยอด 50%) ลักษณะของยอดบางส่วนเจริญเติบโตดีและมีการพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์มีลักษณะสีเขียว แต่มีบางยอดที่มีลักษณะเป็นยอดที่ไม่สมบูรณ์ (ภาพที่ 5J, K และ L), ส่วนสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น $1\ \mu\text{M}$ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น $2.211\ \mu\text{M}$ และ $8.875\ \mu\text{M}$ (อัตราการเกิดยอด 25%) ยอดมีการพัฒนาเพิ่มขึ้นลักษณะของยอดที่เกิดขึ้นมีการพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์น้อย ยอดบางส่วนมีสีเขียวขนาดใหญ่แต่มีลักษณะที่ไม่สมบูรณ์การพัฒนาไปเป็นยอดไม่ชัดเจน การเจริญเติบโตช้า (ภาพที่ 5G, H, I และ ภาพที่ 5P, Q, R) สำหรับสูตรอาหารที่มีการพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์น้อยที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และสูตรอาหารที่ MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น $1\ \mu\text{M}$ ร่วมกับ BA ความเข้มข้น $0\ \mu\text{M}$ (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 $55 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}$ 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







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)

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 พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ยอดเกิดรากที่สมบูรณ์ที่สุด 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 สังเกตได้ว่าเมื่อเพาะเลี้ยงไปเป็นเวลานานยอดเริ่มมีสีขาวเกิดขึ้นและเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาล (ภาพที่ 6A และ B)

ตารางที่ 4 จำนวนและอัตราการชักนำให้ยอดเกิดรากที่สมบูรณ์ หลังจากเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ในสภาพความเข้มแสง 55 $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}$ 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 พัฒนาการของรากลหลังจากนำยอดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ กรรมวิธีที่ 1 (A) กรรมวิธีที่ 2 (B) กรรมวิธีที่ 3 (C) และกรรมวิธีที่ 4 (D)

การทดลองที่ 1.2 การเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัม ปี 2562

การรวบรวมละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมก่อนการเก็บรักษา

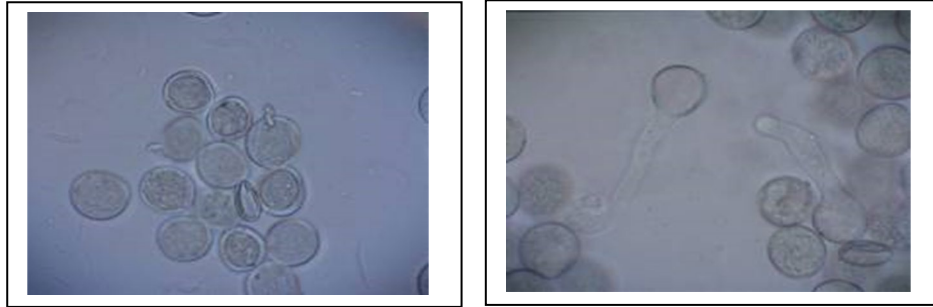
รวบรวมละอองเกสรจากช่อดอกตัวผู้ของอินทผลัมที่ออกดอกในช่วงเดือนมกราคมถึงมีนาคม 2562 ณ ศวพ.เชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ โดยคัดเลือกต้นอินทผลัมเพศผู้ที่แทงจั่นเป็นระยะเวลาประมาณ 3 -4 สัปดาห์ ดังภาพที่ 7 เก็บช่อดอกตัวผู้เมื่อจั่นดอกอินทผลัมแตกบานเต็มที่ เคาะละอองเกสรมาทดสอบความงอกของละอองเกสรที่ระยะเวลาต่างๆ ดังภาพที่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

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรตัวผู้ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

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



ภาพที่ 7 ซ่อดอกตัวผู้ของอินทผลัม ณ ศวพ.เชียงใหม่ จ.เชียงใหม่

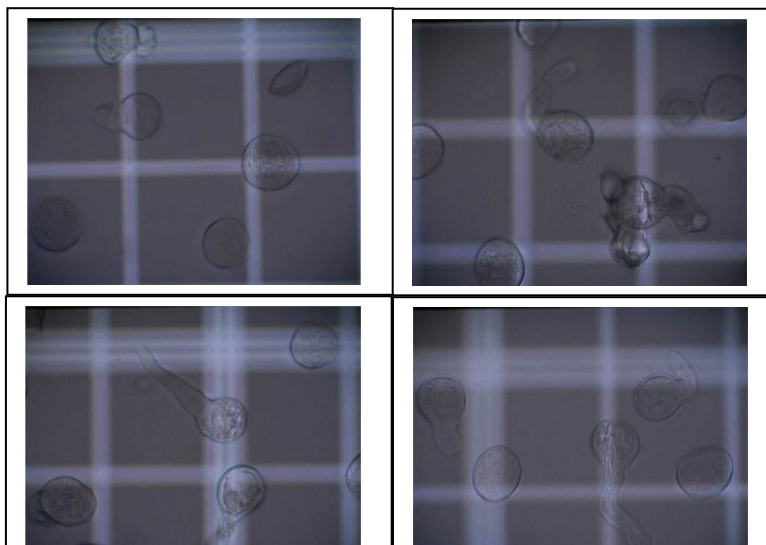


ภาพที่ 8 ตัวอย่างละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมที่งอกและไม่งอก ที่ระยะการเก็บต่างๆ ที่กำลังขยาย 400 เท่า

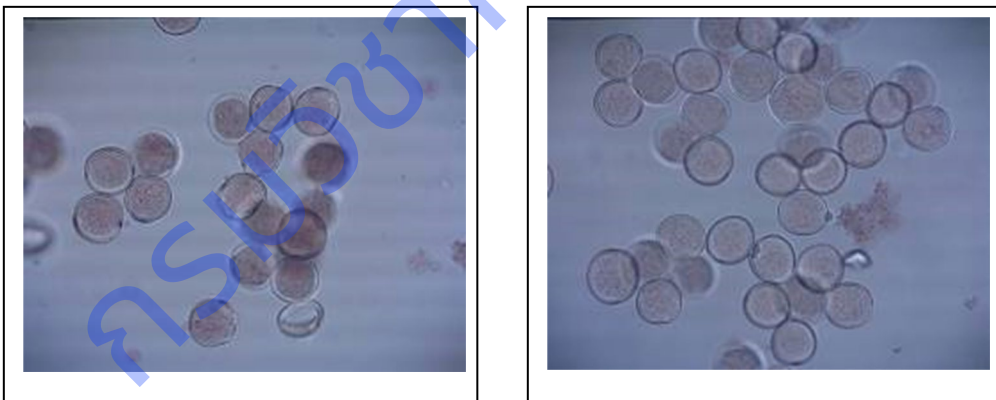
ปี2563 -2564

ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาละอองเกสรตัวผู้อินทผลัม

รวบรวมละอองเกสรจากซ่อดอกตัวผู้ของอินทผลัมพันธุ์ 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 เชียละอองเรณูให้กระจาย แล้ววางบนสไลด์หุ้มและทำการทำบ่มไว้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง สุ่มนับละอองเกสรที่งอกและไม่งอกจำนวน 10 บริเวณ ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าความงอกเริ่มต้นก่อนทำการเก็บรักษา 78 และ 63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากนั้นแบ่งใส่หลอดทดลอง แล้วนำเก็บรักษาตามอุณหภูมิการเก็บรักษา เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน นำละอองเกสรที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ มาทดสอบความงอกตามวิธีการทดสอบความงอกที่ได้กล่าวข้างต้น (ภาพที่ 9) พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรที่ลดความชื้นทั้งสองวิธีมีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันมากนัก โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรที่ลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้นและเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง, 4, -20 และ -196 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 20.57, 41.12, 66.42 และ 79.65 เปอร์เซ็นต์ 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)



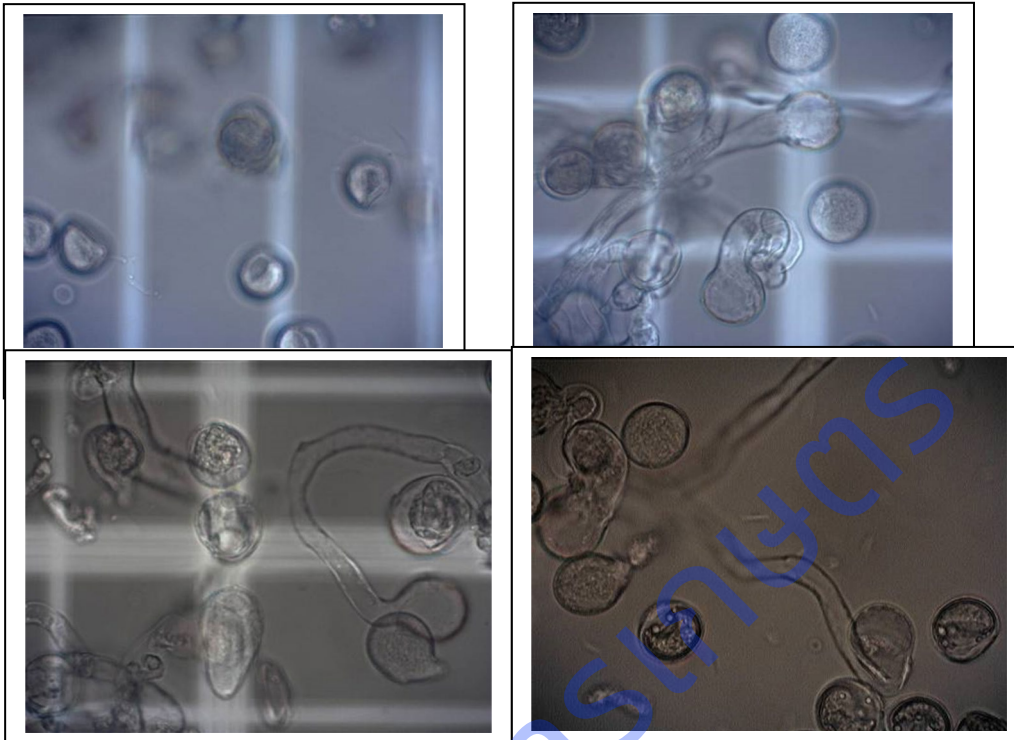
ภาพที่ 9 ละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมที่งอกในแต่ละอุณหภูมิการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน ที่กำลังขยาย 400 เท่า



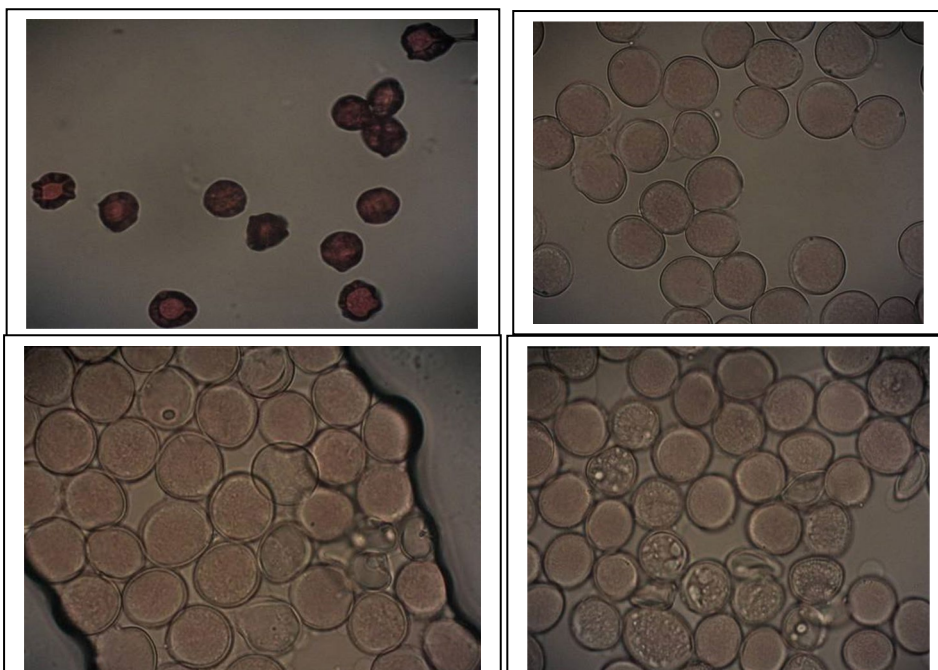
ภาพที่ 10 ความมีชีวิตของตัวอย่างละอองเกสรอินทผลัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 6 เดือน

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)

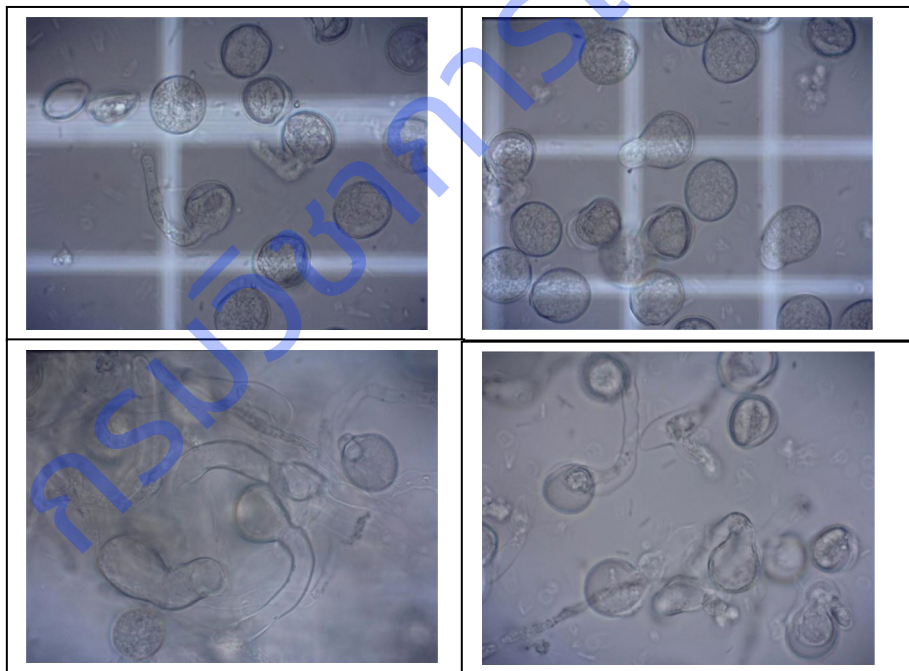


ภาพที่ 11 ละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมที่งอกในแต่ละอุณหภูมิการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 เดือน ที่กำลังขยาย 400 เท่า

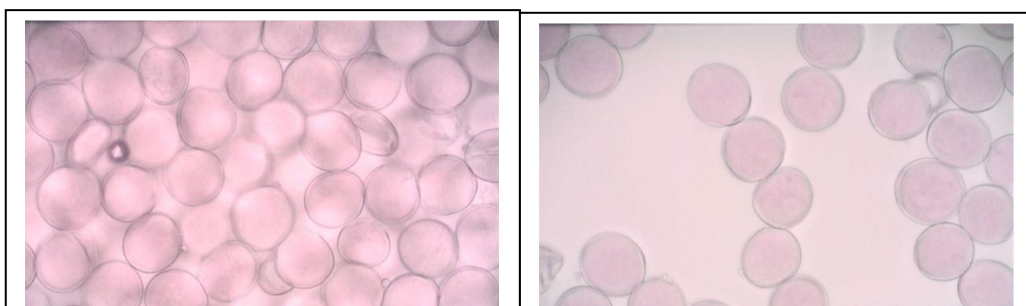


ภาพที่ 12 ความมีชีวิตของตัวอย่างละอองเกสรอินทผลัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 เดือน

หลังจากเก็บรักษาละอองเกสรอินทผลัมเป็นระยะเวลา 18 เดือน นำละอองเกสรที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ มาทดสอบความงอกอีกครั้งตามวิธีการทดสอบความงอก (ภาพที่ 13) พบว่าพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเกสรที่ลดความชื้นโดยใช้ห้องลดความชื้นและเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้อง, 4, -20 และ -196 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ย 0, 0, 63.88 และ 65.92 เปอร์เซ็นต์ 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

ภาพที่ 14 ความมีชีวิตของตัวอย่างละอองเกสรอินทผลัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นระยะเวลา 18 เดือน

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเกสรอินทผลัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ 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 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเกสรอินทผลัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ 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

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

กิจกรรมที่ 2. การเพิ่มประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตของอินทผลัมพันธุ์ KL1

การทดลองที่ 2.1 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของดอกเพศเมียต่อการถ่ายละอองเกสร

จากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของช่อดอกเพศเมียอินทผลัมพันธุ์ KL1 ต่อการติดผล ในปี พ.ศ. 2562 และ 2563 นั้น ให้ผลไปในทางเดียวกัน 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⁾	เปอร์เซ็นต์การติดผล (%) ⁽¹⁾
	(ปี 2562)	(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

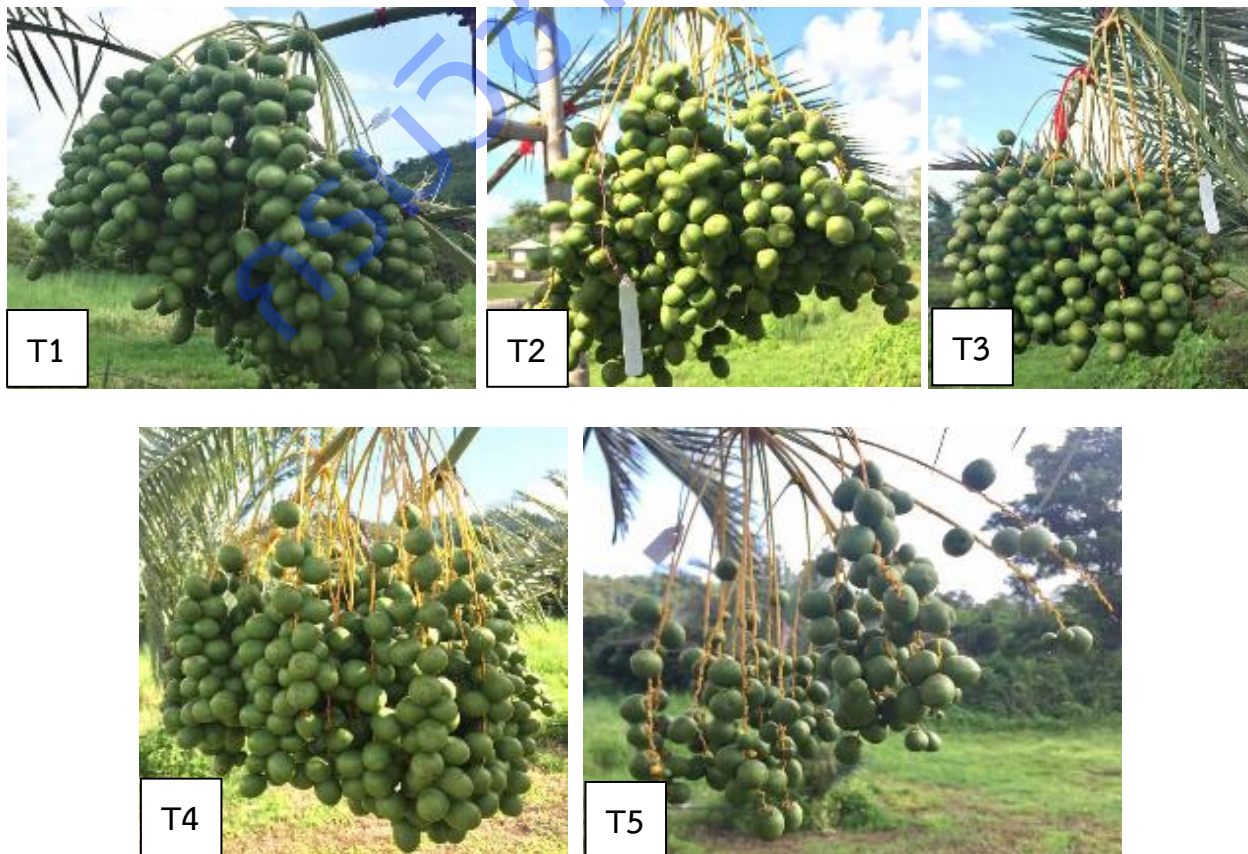
⁽¹⁾ เปอร์เซ็นต์การติดผลที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



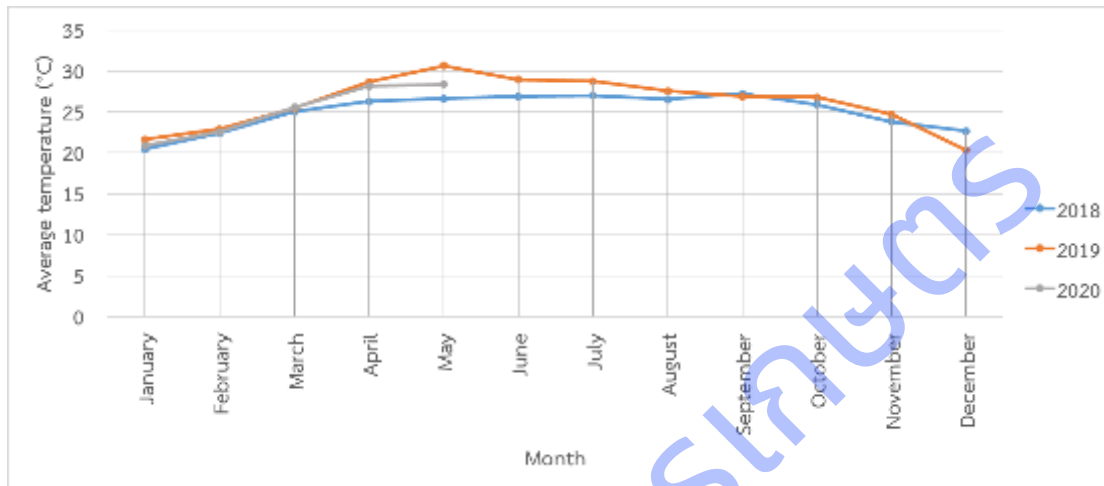
ภาพที่ 16 ลักษณะช่อผลย่อยของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563



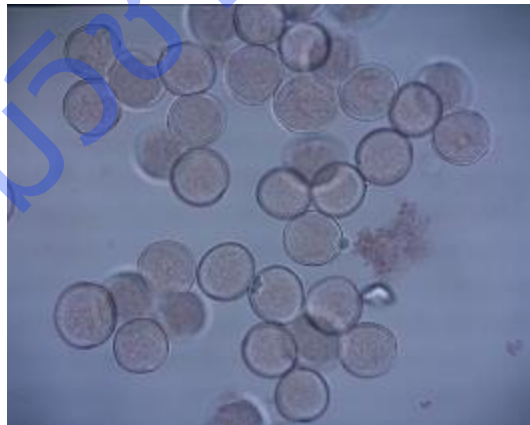
ภาพที่ 17 ลักษณะช่อผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2562



ภาพที่ 18 ลักษณะข้อผลของอินทผลัมในแต่ละกรรมวิธีหลังจากถ่ายละอองเกสรมาแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563



ภาพที่ 19 กราฟแสดงอุณหภูมิเฉลี่ยของ ศวพ.เชียงใหม่ ในปี 2561-2563



ภาพที่ 20 ละอองเกสรอินทผลัมที่ติดสีหลังจากย้อมด้วยสาร acetocarmine



1. กลุ่มช่อดอกเพศเมียที่แก่เต็มที่
ด้วยถุงพลาสติกก่อนการถ่าย
ละอองเกสร



2. กาบช่อดอกเพศเมียเริ่มแตก



3. เก็บละอองเกสรจากช่อดอก
เพศผู้ที่บ้านเดิมที่



4. ถ่ายละอองเกสรด้วยมือตาม
กรรมวิธี



5. กลุ่มช่อดอกเพศเมียที่ทำการ
ถ่ายละอองเกสรแล้วด้วยถุง



6. ช่อดอกเพศเมียหลังจากถ่าย
ละอองเกสรแล้ว 15 วัน

ภาพที่ 21 ขั้นตอนการดำเนินการถ่ายละอองเกสร

การทดลองที่ 2.2 ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม

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)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 9 วันที่ช่อดอกเพศเมียเริ่มแทงช่อ วันที่ช่อดอกเพศเมียเริ่มแตก วันที่ถ่ายละอองเกสร และอุณหภูมิขณะถ่ายละอองเกสร ในปี 2564

กรรมวิธี	วันที่ช่อดอกเพศเมียเริ่ม	วันที่ช่อดอกเพศเมียเริ่ม	วันที่ถ่ายละอองเกสร	อุณหภูมิขณะถ่าย ละอองเกสร (°C)
	แทงช่อ	แตก		
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



ภาพที่ 22 ลักษณะช่อผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563



ภาพที่ 23 ลักษณะการติดผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรมาแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563

กรมวิชาการเกษตร

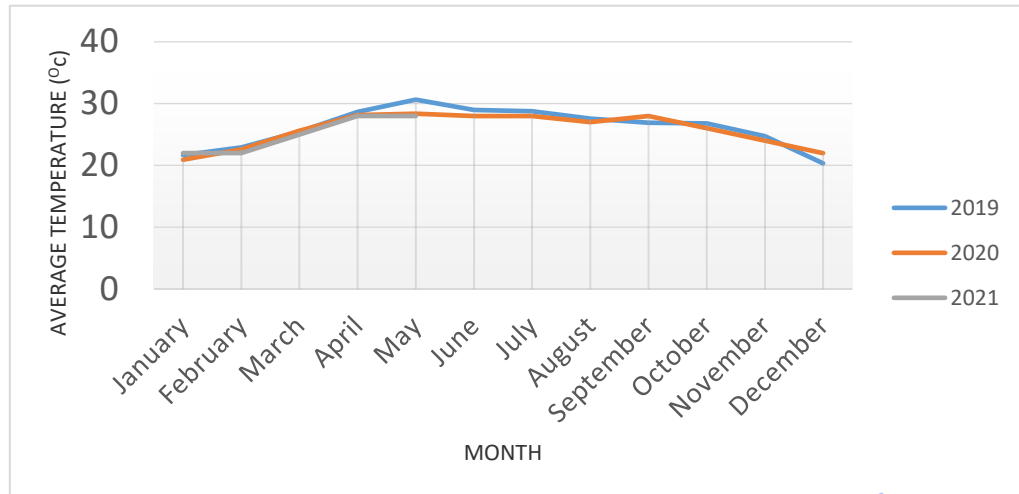


ภาพที่ 24 ลักษณะช่อผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2564



ภาพที่ 25 ลักษณะการติดผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรมาแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2564

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 26 กราฟแสดงอุณหภูมิเฉลี่ยของ ศวพ.เชียงใหม่ ในปี 2562-2564

การทดลองที่ 2.3 ผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม

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 ช่อนชา)	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

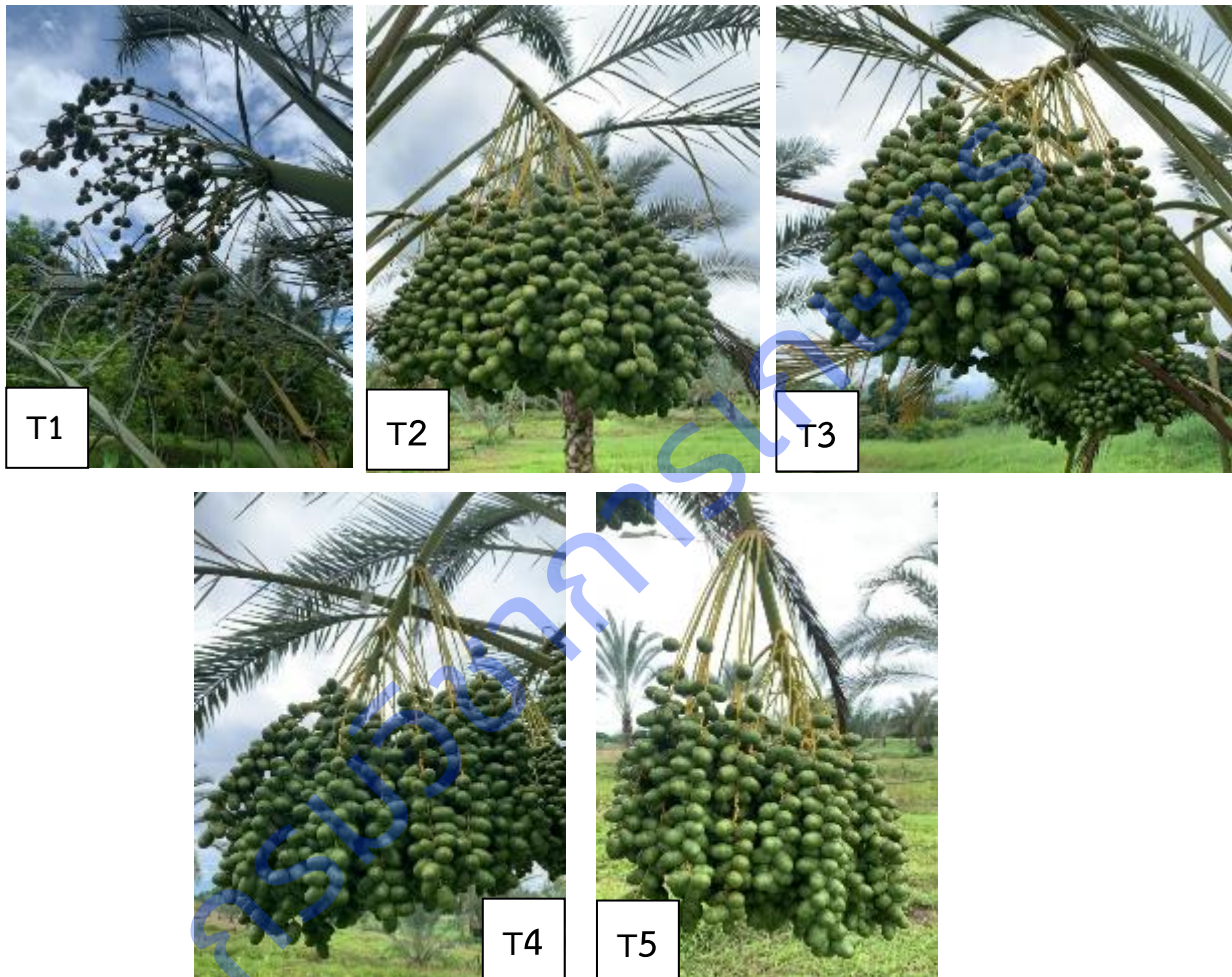
ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์การติดผลของอินทผลัมพันธุ์ KL1 หลังจากถ่ายละอองเกสรนาน 3 เดือน ปี 2563 และ 2564

กรรมวิธี	ปี		เฉลี่ย
	2563	2564	
1. ผสมธรรมชาติโดยแมลง (กรรมวิธีควบคุม)	36.73 b	29.96 b	33.34 b
2. ผสมโดยใช้ละอองเกสรปริมาณ 1 กรัม (0.5 ช่อนชา)	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 %

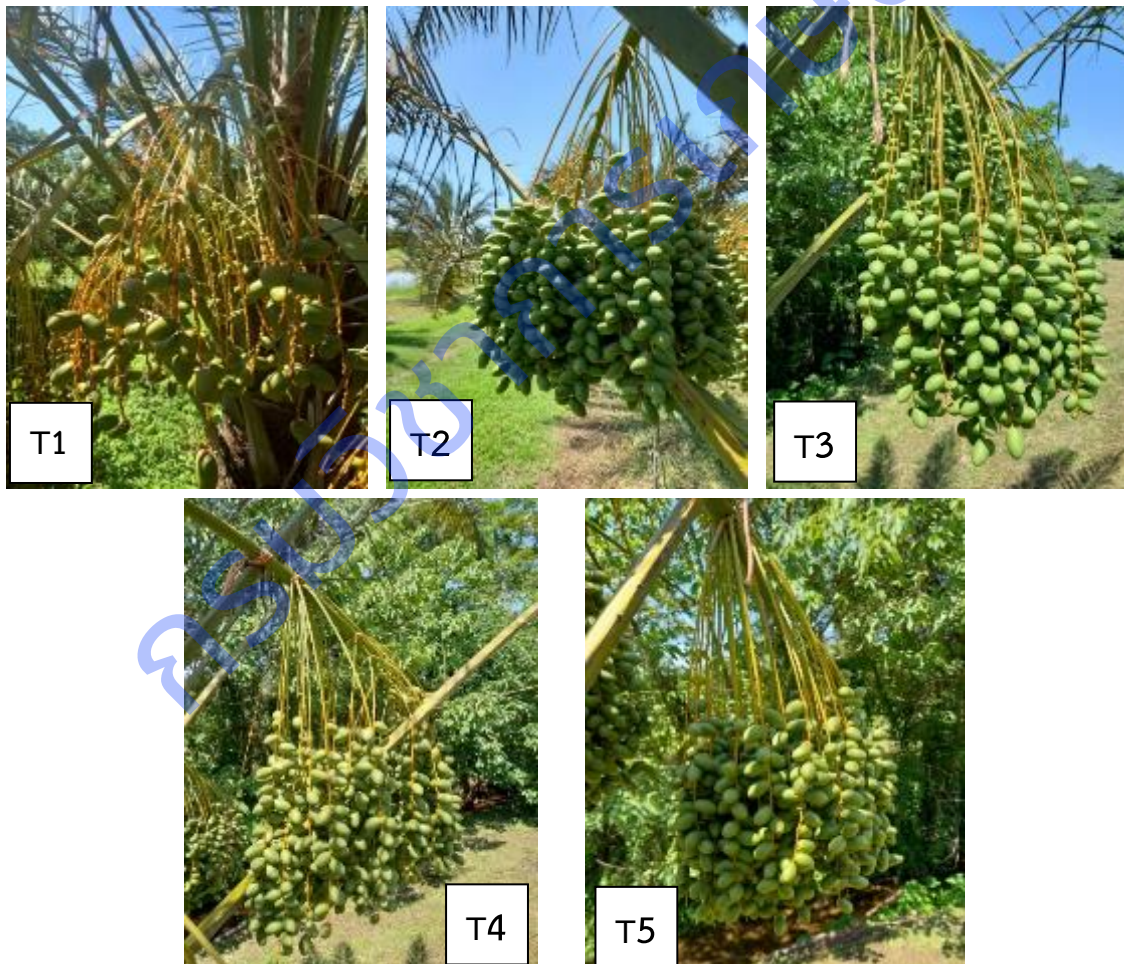
- ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษร a, b, c ที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT
- ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่ตามด้วยอักษร a, b, c ที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT



ภาพที่ 27 ลักษณะข้อผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563



ภาพที่ 28 ลักษณะการติดผลของอินทผลัมในแต่ละกรรมวิธีหลังจากถ่ายละอองเกสรมาแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2563

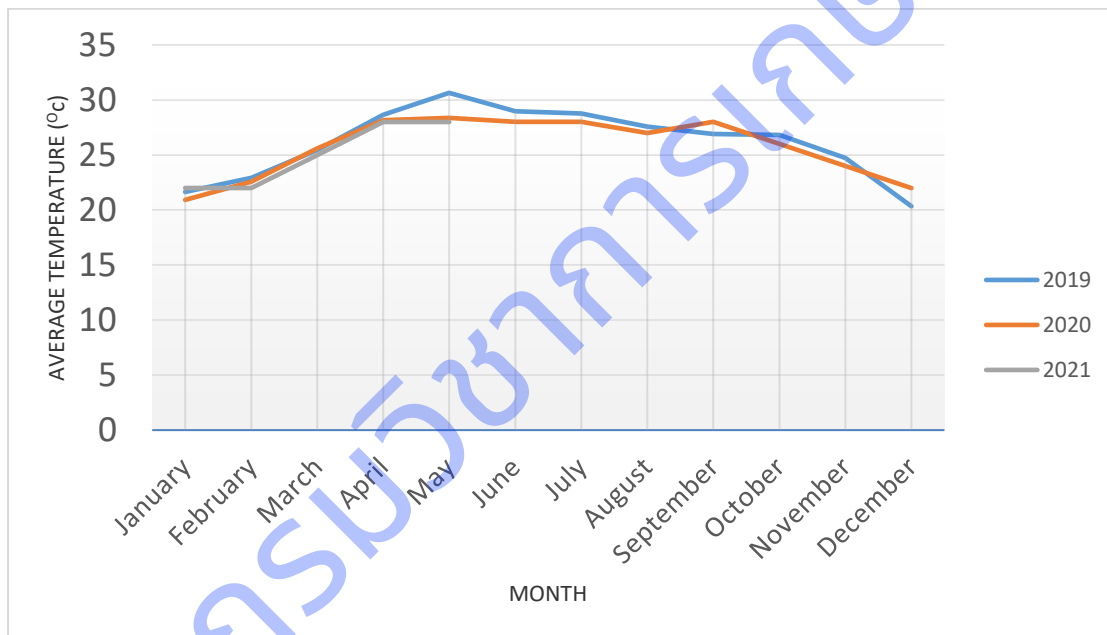


ภาพที่ 29 ลักษณะข้อผลของอินทผลัม 5 กรรมวิธี หลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2564

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 30 ลักษณะการติดผลของอินทผลัมในแต่ละกรรมวิธีหลังจากถ่ายละอองเกสรมาแล้ว 3 เดือน จากการถ่ายละอองเกสรในปี 2564



ภาพที่ 31 กราฟแสดงอุณหภูมิเฉลี่ยของ ศวพ.เชียงใหม่ ในปี 2562-2564

3.2 ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง (Output)

ผลผลิตตามคำรับรอง	จำนวน	หน่วย นับ	ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง	จำนวน	หน่วย นับ	รายละเอียดผลผลิต (พร้อมแนบหลักฐาน)	เชิงคุณภาพ
1. องค์ความรู้	1	เรื่อง	1. ข้อมูลช่วงเวลาที่เหมาะสมในการผสมเกสรอินทผลัม 2. ข้อมูลวิธีการถ่ายละอองเกสรที่มีประสิทธิภาพ 3. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัม (<i>Phoenix dactylifera</i> L.) 4. การเก็บรักษาละอองเกสรตัวผู้ของอินทผลัม	4	เรื่อง	1. ผลงานตีพิมพ์ เรื่อง ระยะที่เหมาะสมของช่อดอกเพศเมียต่อการติดผลของต้นอินทผลัม (ภาคผนวก 1) 2. ผลงานภาคโปสเตอร์ เรื่องการเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายละอองเกสรอินทผลัมพันธุ์ KL-1 ในการประชุมวิชาการกรมฯ แบบออนไลน์ เดือนกันยายน 64 (ภาคผนวก 2) 3. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมพันธุ์ KL1 (<i>Phoenix dactylifera</i> L. cv. KL1) (แนบพับ)(ภาคผนวก 3) 4. บทความ เรื่อง การเก็บรักษาละอองเกสรอินทผลัมระยะยาว เผยแพร่ทางเว็บไซต์ www.doa.go.th/genebankthailand ภายในปี 2565	1. เผยแพร่ให้ความรู้ถึงระยะที่เหมาะสมของช่อดอกเพศเมียและการเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายละอองเกสรอินทผลัมพันธุ์ KL-1 ต่อการติดผล 2. นำไปแจกจ่ายเพื่อประชาสัมพันธ์ เรื่องเทคนิคและวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมพันธุ์ KL1 ตามศูนย์วิจัยและพัฒนาต่างจังหวัด 3. ได้เทคนิคการเก็บรักษาละอองเกสรอินทผลัมในระยะยาวสามารถนำไปปรับใช้ในการเก็บรักษาละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมในการผสมเกสรสำหรับเกษตรกรและการเก็บรักษาละอองเกสรเพื่อการปรับปรุงพันธุ์
2. ต้นแบบผลิตภัณฑ์ 2.2 ระดับ ห้องปฏิบัติการ	1	ต้นแบบ	2. ต้นแบบผลิตภัณฑ์ 2.2 ระดับห้องปฏิบัติการ	1	ต้นแบบ	ต้นแบบ : เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัม (<i>Phoenix dactylifera</i> L.) ในปริมาณมากเพื่อตอบสนองความต้องการของเกษตรกรที่จะนำไปปลูก	เทคนิคและวิธีการที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงอินทผลัมพันธุ์ KL1 ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
3. การประชุม เผยแพร่ผลงาน/ สัมมนาระดับชาติ 3.1 นำเสนอแบบ โปสเตอร์	1	เรื่อง	3.1 นำเสนอแบบโปสเตอร์	1	เรื่อง	เรื่อง: การชักนำให้เกิดแคลลัสและ Somatic Embryo ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมพันธุ์ KL1 ในการประชุมวิชาการระดับชาติครั้งที่ 18 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม วันที่ 8-9 ธันวาคม 2564 (ภาคผนวก 4)	

4. ผลงานตีพิมพ์			4. ผลงานตีพิมพ์			
4.1 ระดับชาติ	1	เรื่อง	4.1 ระดับชาติ	3	เรื่อง	1. เรื่อง: ระยะที่เหมาะสมของช่อดอกเพศเมียต่อการติดผลของต้นอินทผลัม ผลงานตีพิมพ์ในวารสารคณะผลิตกรรมการเกษตร ปีที่ 3 ฉบับที่ 2 ประจำเดือนพฤษภาคม - สิงหาคม พ.ศ. 2564 (ภาคผนวก 1) 2. เรื่อง: การชักนำให้เกิดแคลลัสและ Somatic Embryo ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมพันธุ์ KL1 ในการประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 18 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน (Proceeding) วันที่ 8-9 ธันวาคม 2564 (ภาคผนวก 5) 3. การเก็บรักษาละอองเกสรอินทผลัม (อยู่ระหว่างดำเนินการ)

3.3 ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง (Outcome) (ถ้ามี)

ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง	ปีที่เกิดผลลัพธ์
เสนอต่อที่ประชุม สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 เรื่องคัดเลือกแผนงานและงบประมาณ ตัวชี้วัดระดับความสำเร็จของการนำผลงานวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมายเพื่อใช้ประโยชน์ในการพัฒนาการเกษตร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 เรื่อง การเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายละอองเกสรอินทผลัม (<i>Phoenix dactylifera</i> L.) เพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพด้านการถ่ายละอองเกสรให้กับเกษตรกรผู้ปลูกอินทผลัมและเจ้าหน้าที่จากหน่วยงานทางการเกษตร ในพื้นที่ อ.ฝาง อ.แม่สาย และ อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่ (ภาคผนวก 5)	2566

*ผลลัพธ์ : ผลสำเร็จที่เกิดจากการนำผลผลิต (Output) ไปต่อยอด การเปลี่ยนรูปของผลผลิตไปสู่รูปแบบที่ใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง หรือการเคลื่อนผลผลิตไปสู่กิจกรรมที่ต่อเนื่อง ซึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลง (Change) ที่ปรากฏชัด และมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม

3.4 ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง (Impact) (ถ้ามี)

ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง	ปีที่เกิดผลกระทบ
ด้านเศรษฐกิจ :	
ด้านสังคม :	
ด้านสิ่งแวดล้อม :	

* ผลกระทบ : ผลประโยชน์ที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงตามผลลัพธ์ (Results of the change) ซึ่งวัดได้อย่างชัดเจนและมีหลักฐานปรากฏชัด (Evidence-based) ทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม ทั้งที่วัดในเชิงปริมาณได้และไม่ได้ ผลกระทบอาจเป็นได้ทั้งทางบวกและทางลบ

3.5 การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เสนอเป็นตัวชี้วัด การนำผลงานวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมายเพื่อใช้ประโยชน์ในการพัฒนาการเกษตร ประจำปีงบประมาณ 2566 ของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 เรื่อง การเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายละอองเกสรอินทผลัม (*Phoenix dactylifera*

L.) เพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพด้านการถ่ายละอองเกสรให้กับเกษตรกรผู้ปลูกอินทผลัมและเจ้าหน้าที่จากหน่วยงานทางการเกษตร ในพื้นที่ อ.ฝาง อ.แม่เมาะ และ อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่

ด้านสังคม โดยนักวิจัย และนักวิชาการ ทั้งจากหน่วยงานรัฐบาลและเอกชน

นำข้อมูลที่ได้จากการวิจัยไปเผยแพร่สู่เกษตรกรผู้สนใจปลูกอินทผลัม เพื่อให้เกษตรกรได้มีความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับอินทผลัม รวมไปถึงการจัดการแปลงปลูกอินทผลัม เพื่อให้ได้ปริมาณผลผลิตสูง

ด้านเศรษฐกิจ โดยหน่วยงานราชการและบริษัทเอกชนที่เกี่ยวข้องกับการขยายพันธุ์อินทผลัม

นำข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับอินทผลัม และสามารถขยายพันธุ์อินทผลัมพันธุ์ดีได้จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น และเกษตรกรสามารถซื้อต้นอินทผลัมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในราคาที่ถูกลง

ด้านวิชาการ โดยนักวิจัย นักวิชาการ และนักศึกษา ทั้งจากองค์กรรัฐบาลและเอกชน

นำข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยไปพัฒนาและศึกษาวิจัยในเชิงลึก เพื่อพัฒนางานในด้านต่าง ๆ ของอินทผลัมให้เหมาะสมกับการผลิตในประเทศไทยมากที่สุด นำความรู้ที่ได้จากงานวิจัยไปปรับใช้กับแปลงปลูกอินทผลัม เพื่อให้เพื่อให้ได้ปริมาณผลผลิตสูง

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 4 สรุปผลและอภิปรายผล

สรุปผล

กิจกรรมที่ 1 ศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์อินทผลัมและการเก็บรักษาละอองเกสรในสภาพปลอดเชื้อ

การทดลองที่ 1 การขยายพันธุ์อินทผลัมพันธุ์ KL1 ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ somatic embryogenesis

อินทผลัมเป็นไม้ยืนต้นจึงส่งผลให้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใช้เวลานานเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่น 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 สัปดาห์ให้ผลการชักนำ 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%

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

การทดลองที่ 1.2 การเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัม

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

กิจกรรมที่ 2. การเพิ่มประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตของอินทผลัมพันธุ์ KL1

การทดลองที่ 2.1 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของดอกเพศเมียต่อการถ่ายละอองเกสร

จากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของช่อดอกเพศเมียอินทผลัมพันธุ์ KL1 ต่อการติดผล พบว่า การถ่ายละอองเกสรด้วยมือบนช่อดอกเพศเมียในระยะที่กาบช่อดอกเริ่มแตกและหลังจากกาบช่อดอกแตก 2 วัน มีเปอร์เซ็นต์การติดผลสูงที่สุด มีจำนวนผลต่อช่อมาก ช่อแน่น ซึ่งตรงกับความต้องการของเกษตรกรผู้ปลูกอินทผลัมแบบรับประทานผลสด เนื่องจากจำนวนผลต่อช่อมากจะส่งผลให้น้ำหนักผลผลิตสูงขึ้นไปด้วย ส่วนการถ่ายละอองเกสรในระยะหลังจากที่กาบช่อดอกเพศเมียแตก 4 วันเป็นต้นไป มีผล

ทำให้เปอร์เซ็นต์การติดผลน้อยลงตามลำดับ 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

อภิปรายผล

กิจกรรมที่ 1 ศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์อินทผลัมและการเก็บรักษาละอองเกสรในสภาพปลอดเชื้อ

การทดลองที่ 1 การขยายพันธุ์อินทผลัมพันธุ์ KL1 ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ somatic embryogenesis 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 ต่อชวด 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 ความเข้มข้น 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 เพื่อเป็นการเพิ่มแนวทางในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของอินทผลัมให้ประสบความสำเร็จในอนาคต

นอกจากนี้อินทผลัมเป็นไม้ยืนต้นจึงส่งผลให้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใช้เวลานานเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่น โดยใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตั้งแต่ 8 – 24 สัปดาห์ในแต่ละขั้นตอนของการเพาะเลี้ยง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยหลายชิ้น เช่น 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 รวมทั้งการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อจากชิ้นส่วน vegetative ด้วยวิธี somatic embryogenesis เป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพเนื่องจากต้นกล้าที่ได้จะมีลักษณะทางพันธุกรรม (genotype) และลักษณะที่แสดงออก (phenotype) ที่เหมือนต้นแม่ทุกประการ ต้นกล้าที่ได้ปลอดโรคและแมลง มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูง ต้นแข็งแรง ให้ผลผลิตดีกว่า นอกจากนี้ยังสามารถลดต้นทุนการขนส่งได้เนื่องจากต้นกล้ามีขนาดเล็กและน้ำหนักเบา เมื่อเทียบกับต้นกล้าที่ได้จากการแยกหน่อ (Botes and Zaid, 2002)

การทดลองที่ 1.2 การเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัม

การศึกษาด้านการเก็บรักษาละอองเกสรพืชเพื่อการใช้ประโยชน์ในด้านการปรับปรุงพันธุ์ และการเพิ่มผลผลิตให้กับพืชนั้นมีการศึกษามาแล้วในพืชหลายชนิด โดยเฉพาะพืชที่มีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียแยกกัน เช่นในพืชสกุลระกำ หรืออินทผลัม เป็นต้น โดยในประเทศไทยพบการศึกษาความมีชีวิตและวิธีการเก็บรักษาละอองเรณูพืชสกุลระกำบางชนิดด้วยวิธีต่างๆ (ชมภู, 2539) ทำให้เกิดแนวทางการศึกษาการเก็บรักษาละอองเกสรในระยะยาวสำหรับการผสมข้ามฤดูกาลยามเกิดสภาวะอากาศแปรปรวน การเก็บรักษาพันธุกรรมสำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ ตลอดจนพัฒนาเป็นธุรกิจการค้าละอองเกสรสำหรับผสมพันธุ์ จากการทดลองพบว่าความชื้นเป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งในการเก็บรักษาความชื้นที่เหมาะสมจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาให้ยาวนานขึ้น โดยเฉพาะการเก็บรักษาในสภาพเยือกแข็ง ซึ่งควรมีการศึกษาปัจจัยนี้ในละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมในหลากหลายพันธุ์ต่อไป

การเก็บรักษาละอองเกสรตัวผู้อินทผลัมสามารถเก็บรักษาได้ในระยะยาวที่อุณหภูมิต่ำโดยสามารถเก็บรักษาในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และ -196 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 เดือน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยในพืชหลากหลายชนิด เช่น การเก็บรักษาละอองเกสรฝรั่งบางพันธุ์ พบว่าเก็บรักษาได้ดีในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสสามารถเก็บได้นานถึง 10 สัปดาห์ (สุพิ, 2543) ต่างจากการศึกษาความมีชีวิตและการเก็บรักษาละอองเรณูของทุเรียนของอำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ จำนวน 6 พันธุ์ ที่อุณหภูมิ 0, 5 และ 25 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถเก็บละอองเรณูทุเรียนได้นานที่สุดที่ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 วัน (พิชัย, 2558) และการศึกษาการเก็บรักษาละอองเรณูว่านสีทศสำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ นัต และคณะ (2558) ศึกษาความมีชีวิตของละอองเรณูว่านสีทศ จำนวน 9 พันธุ์ ที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส พบว่าว่านสีทศทั้ง 9 พันธุ์ สามารถเก็บได้ 15-20 วัน โดยยังคงความงอกที่ดี โดยเฉพาะพันธุ์วาวิ 05 และวาวิ 06 สามารถเก็บรักษาได้นานถึง 45 วัน ที่เปอร์เซ็นต์ความงอก 20-50 เปอร์เซ็นต์ โดยหากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเก็บได้นานเพียง 3 วัน นอกจากนี้การเก็บรักษาเรณูข้าวโพดหวานที่อุณหภูมิ -196

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

ส่วนการศึกษาการเก็บรักษาละอองเรณูระก้านโนโตรเจนเหลว ซึ่งพบว่าการเก็บละอองเรณูในโนโตรเจนเหลวโดยตรง ยังคงความมีชีวิตในระยะเวลา 360 วัน ได้ดีที่สุดโดยมีความงอก 45.11 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการเก็บที่ 0 องศาเซลเซียส, การดูดความชื้น 30 นาที่ ก่อนเก็บในโนโตรเจนเหลว และการผ่านความเย็นที่ -20 องศาเซลเซียส ก่อนเก็บในโนโตรเจนเหลว (รมย์ริฎู, 2542) ส่วนในการศึกษาการเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัมมีรายงานการศึกษาในประเทศที่มีการเพาะปลูกพืชชนิดนี้ ส่วนใหญ่จะเป็นในกลุ่มประเทศแถบตะวันออกกลาง โดย Tisstrat และคณะ (1981) พบว่าความมีชีวิตของอับละอองเกสรอินทผลัม 11 พันธุ์ สามารถเก็บรักษาในโนโตรเจนเหลวได้นานกว่า 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 ภายใต้สภาพสุญญากาศ Mortazavi และคณะ, 2010 พบการศึกษาหาวิธีการเก็บรักษาที่เหมาะสม และทดสอบความงอกละอองเกสรในสภาพปลอดเชื้อของอินทผลัม 3 พันธุ์ ของอิหร่าน โดยรักษาในอุณหภูมิห้อง, ตู้เย็น, ตู้แช่แข็ง และโนโตรเจนเหลว จากการศึกษาพบว่า การเก็บรักษาละอองเกสรนาน 200 วัน ในโนโตรเจนเหลวจะคงความมีชีวิตของละอองเกสรสูงสุด (Tisserat *et al.*, 1983, Tisserat *et al.*, 1985) เมื่อเทียบกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งให้ผลเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับ Anushma และคณะ (2018) แต่สามารถเก็บรักษาได้นานถึง 12 เดือน เช่นเดียวกับ Maryam และคณะ (2015) สามารถเก็บรักษาได้นาน 12 เดือน ในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ส่วน Ahmad (2012) ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาละอองเกสรอินทผลัมและพิตาชิโอในการเก็บรักษาระยะสั้นระยะปานกลาง และระยะยาว โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ตู้เย็น ตู้แช่แข็ง และโนโตรเจนเหลว (โดยแช่โนโตรเจนเหลว 15 นาที หลังจากนั้นนำแช่ในตู้เย็น -80 องศาเซลเซียส) จนถึง 52 สัปดาห์ นำมาทดสอบความงอกในอาหารเพาะเลี้ยงที่เติมวัน 1 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลซูโครส 8 เปอร์เซ็นต์ และกรดซิตริก 20 ppm. พร้อมทดสอบความมีชีวิตด้วยวิธี TTC พบว่าการเก็บรักษาในโนโตรเจนเหลวให้ผลดีที่สุด และการเก็บรักษาในตู้เย็นมีความสะดวกในการเก็บรักษาในระยะยาว ส่วนการเก็บในตู้แช่แข็งสะดวกสำหรับการเก็บรักษาในระยะปานกลาง ส่วนในพิตาชิโอสามารถเก็บรักษาละอองเกสรในโนโตรเจนเหลวได้เพียง 4 สัปดาห์ ขณะที่เก็บรักษาในตู้เย็นและตู้แช่แข็งได้เพียง 2 สัปดาห์เท่านั้น และอาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของละอองเกสรของอินทผลัมเพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการงอกของละอองเกสรและการจำแนกพันธุ์ (ศิริชตนันท์ และคณะ, 2559) อย่างไรก็ตามอินทผลัมยังเป็นพืชที่ยังใหม่สำหรับประเทศไทยแต่เป็นพืชที่มีอนาคตในการสร้างรายได้ การเพิ่มประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิตเป็นสิ่งสำคัญที่ยังต้องมีการศึกษาให้เกิดการพัฒนาต่อไป

กิจกรรมที่ 2. การเพิ่มประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตของอินทผลัมพันธุ์ KL1

การทดลองที่ 2.1 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของดอกเพศเมียต่อการถ่ายละอองเกสร

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 วัน เป็นต้นไป 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 การถ่ายละอองเกสรในระยะที่กล่าวมาแม้จะทำให้มีปริมาณผลผลิตสูงแต่กลับทำให้คุณภาพของผลผลิตอินทผลัมต่ำกว่าการถ่ายละอองเกสรหลังจากกาบช่อดอกแตกไปแล้ว 4 วันเป็นต้นไป จากการพิจารณาข้อผลหลังจากถ่ายละอองเกสรไปแล้ว 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 อุณหภูมิสูงมีผลต่อความมีชีวิตของละอองเกสรซึ่งจะส่งผลกระทบต่อโดยตรงกับปริมาณผลผลิตอินทผลัมต่อการถ่ายละอองเกสรในช่วงดังกล่าว

การทดลองที่ 2.2 ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม

สำหรับการศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสรอินทผลัม พันธุ์ KL1 ในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร เชียงใหม่ 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 'Medjhoal', 'Boufeggous' และ 'Iklane' เป็นต้น นอกจากนี้ ความยาวนานของช่วงเวลากลางวันของแต่ละพื้นที่ก็มีผลอย่างมากในการติดผลของอินทผลัมเช่นกัน Kadri *et al.* (2021) อย่างไรก็ตาม ในอินทผลัม พันธุ์ KL1 ที่ปลูกในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน หากมีจำนวนต้นอินทผลัมที่ช่อดอกเพศเมียอยู่ในระยะที่เหมาะสมพร้อมกัน เกษตรกรสามารถดำเนินการถ่ายละอองเกสรได้ทุกช่วงเวลาในวันดังกล่าวซึ่งยังคงมีเปอร์เซ็นต์การติดผลมากกว่า 86.79 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2.3 ผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม

จากการทดลองผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม พันธุ์ KL1 ในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร เชียงใหม่ 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 Zaghoul 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

ข้อเสนอแนะต่อผู้เกี่ยวข้องสำหรับการดำเนินงานในระยะต่อไป

การศึกษาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์อินทผลัม พันธุ์ KL1 ในระหว่างปี 2562-2564 โดยแบ่งดำเนินการเป็น 2 กิจกรรม คือ ศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์อินทผลัมและการเก็บรักษาละอองเกสรในสภาพปลอดเชื้อ และการเพิ่มประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตของอินทผลัมพันธุ์ KL1 พบว่า สามารถดำเนินการได้ตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งเอาไว้ คือ ได้วิธีการขยายพันธุ์อินทผลัมพันธุ์ดีโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและวิธีการเก็บรักษาละอองเกสรของอินทผลัมให้เหมาะสมต่อการเก็บระยะยาว รวมถึงได้วิธีการเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายละอองเกสรของอินทผลัมพันธุ์ KL1 โดยผลการศึกษาในสายพันธุ์ KL1 ในทุกด้านมีความแตกต่างกับผลการศึกษาในประเทศแถบตะวันออกกลาง ซึ่งความแตกต่างดังกล่าวอาจเกิดจากสายพันธุ์ที่ใช้ และสภาพภูมิอากาศในระหว่างทำการทดลอง โดยความแตกต่างทั้ง 2 ด้านนี้เป็นปัจจัยที่มีผลอย่างมากสำหรับการทำงานวิจัยอินทผลัม อย่างไรก็ตาม เกษตรกรที่ปลูกอินทผลัมในประเทศไทยยังคงใช้ข้อมูลการจัดการแปลงตามการศึกษาของประเทศในตะวันออกกลาง และยังอาศัยการเรียนรู้ด้วยตนเองจากการลองผิดลองถูกที่เกิดขึ้นในแต่ละปี ประกอบกับองค์ความรู้ในการปลูกพืชชนิดนี้แบบครบวงจรในประเทศไทยยังไม่มีแพร่หลายมากนัก และยังไม่ครอบคลุมในทุกแขนง ทำให้เกิดปัญหาการผลิตในทุกๆ ปี ดังนั้น จึงควรมีการศึกษาเทคโนโลยีการผลิตอินทผลัมเพิ่มเติมในทุกๆ ด้าน เพื่อเผยแพร่ให้กับเกษตรกรผู้ปลูกให้เร็วที่สุด เนื่องจากอินทผลัมเป็นพืชที่มีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า ให้ผลผลิตเพียงปีละ 1 ครั้ง และมีข้อจำกัดในเรื่องของการแสดงเพศและการขยายพันธุ์อีกด้วย

ปัญหาและอุปสรรคในการทำงาน

อินทผลัมเป็นไม้ยืนต้นจึงส่งผลให้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใช้เวลานานเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่น โดยใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตั้งแต่ 8 - 24 สัปดาห์ในแต่ละขั้นตอนของการเพาะเลี้ยง อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะใช้เวลานานในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแต่เมื่อต้นอ่อนเจริญเติบโตได้อย่างสมบูรณ์พร้อมปลูกก็ถือว่าคุ้มค่าเพราะต้นกล้าที่ได้เป็นต้นตัวเมีย 100% และในการผลิตแต่ละครั้งยังได้ต้นกล้าจำนวนมากจึงเป็นการลดต้นทุนการผลิตต้นกล้าตัวเมีย รวมทั้งการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อจากชิ้นส่วน vegetative ด้วยวิธี somatic embryogenesis เป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพเนื่องจากต้นกล้าที่ได้จะมีลักษณะทางพันธุกรรม และลักษณะที่แสดงออกที่เหมือนต้นแม่ทุกประการ ต้นกล้าที่ได้ปลอดโรคและแมลง มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูง ต้นแข็งแรง ให้ผลผลิตดีกว่า นอกจากนี้ยังสามารถลดต้นทุนการขนส่งได้เนื่องจากต้นกล้ามีขนาดเล็ก และน้ำหนักเบา เมื่อเทียบกับต้นกล้าที่ได้จากการแยกหน่อ

เอกสารอ้างอิง

จารุฉัตร เชนยทิพย์. 2558. วิจัยและพัฒนาพันธุ์อินทผลัม. รายงานโครงการวิจัย กรมวิชาการเกษตร.

- จารุฉัตร เชนยทิพย์, สุมิตร วิลัยพร, ชัยกฤต พรหมมา, นิรันดร์ ดิษฐ์กระจัน และ ศิริลักษณ์ อินทวงค์. 2558. วิจัยและพัฒนาพันธุ์อินทผลัม. รายงานผลงานวิจัยและพัฒนา ปี 2549-2558 คลังผลงานวิจัย กรมวิชาการเกษตร.
- นพรัตน์ อินธา และ พีระศักดิ์ ฉายประสาธ. 2561. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมด้วยเทคนิคการใช้ช่อดอก. ว. วิทย. กษ. 49 : 1 (พิเศษ) : 330-334 (2561).
- นัต ไชยมงคล ประสงค์ มั่นสูง วัฒนนิกรณ์ เทพโพธา วัชรพล บำเพ็ญอยู่ วิมล แก้วสีดา และวิลาสลักษณ์ ว่องไว. 2558. การพัฒนาพันธุ์ว่านสีทศ. รายงานโครงการวิจัยกรมวิชาการเกษตร, 20 น.
- พรชัย หาระโคตร จุฬารัตน์ หมั่นสุข เยาวพา จิระเกียรติกุล และพลัง สุริยหาร. 2562. ความมีชีวิตและการเก็บรักษาเรณูในเชื้อพันธุกรรมข้าวโพดหวานพิเศษจากเขตตอนบน. แก่นเกษตร 47(4) : 705-714.
- พิชัย ไกลล้ำ. 2558. ความมีชีวิตและการเก็บรักษาละอองเรณูทุเรียนที่ปลูกในจังหวัดอุตรดิตถ์. วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง, 24(1) : 89-99.
- รมย์ริฎ ปิยารมย์. 2542. วิธีการเก็บรักษาละอองเรณูระกำ (*Salacca wallichiana* Mart.) ในไนโตรเจนเหลว. ปัญหาพิเศษปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 28 น.
- ศิริลักษณ์ อินทวงค์. 2563. ทำความรู้จักอินทผลัม. กลีกร 93(6): 6-11.
- ศิริชตน์นัท โรจนวิจิตร ปิยนุช ศรชัย ดวงกมล สัมฤทธิ์นันท์ หนึ่งฤทัย เดชสังกรานนท์ บุปผา คงสมัย และเสริมศิริ จันทร์เปรม. 2559. เทคนิคสำหรับการแยกและการทดสอบความงอกของเรณูกล้วยไม้สกุลหวายบางพันธุ์. ว.วิทย.กษ. 47(3): 305-316.
- สุพี วนศิริกุล. 2543. การศึกษาความมีชีวิตของละอองเกสรฝรั่งพันธุ์ “แป้นสีทอง” และ “เย็นสอง” เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 oC และ -20 oC. ปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 21 น.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2563. ‘อินทผลัม’ พืชเศรษฐกิจมาแรง สร้างรายได้งามกว่า 3 แสนบาทไร่. สืบค้นจาก: http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/publiccenter/files/News/radio/2020/10_07_63.pdf [ต.ค. 2563].
- ชมพู กิมศรี. 2539. การศึกษาความมีชีวิต ความงอก และวิธีการเก็บรักษาละอองเรณูพืชสกุลระกำบางชนิด. ปัญหาพิเศษปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 46 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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 micropropagation 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 Land Agric. Sci.* 22(1): 90-101.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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., 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 dactylifera* 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.
- 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.
- 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., 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., 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.
- 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.
- Kadri, K., Elsafy, M., Makhlof, 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=e-u-west-1&originCreation=20211210143901>
- 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.
- 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.
- Moustafa, A.A. 1998. Studying on the pollination of the date palms. The 1st Int. Conf. on Date Palm. 39-48.
- 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.

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

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.

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวก

ภาคผนวก 1

ผลงานตีพิมพ์ในวารสารคณะผลิตกรรมการเกษตร ปีที่ 3 ฉบับที่ 2 ประจำเดือนพฤษภาคม - สิงหาคม พ.ศ. 2564 (บทคัดย่อ และ Abstract)

ว. ผลิตกรรมการเกษตร 3(2):33-42
J. Agr. Prod. 33

ระยะที่เหมาะสมของช่อดอกเพศเมียต่อการติดผลของต้นอินทผลัม
Suitable Stage of Female Inflorescence on Fruit Setting of
Date Palm Trees

ศิริลักษณ์ อินทวงศ์* และ อาณัติ ดิษฐกระชาน
Siriluck Inthawong* and Arnut Ditkrachan

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ ตำบลปงน้ำร้อน อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ 50110
Chiangmai Agricultural Research and Development Center, Pong-Nam-Ron, Fang, Chiang Mai 50110
* Corresponding author: siriluck496@gmail.com

(Received: 1 April 2021; Revised: 18 June 2021; Accepted: 7 July 2021)

Abstract

The objective of this research was to study 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.

Keywords: *Phoenix dactylifera* L., pollination, planning pollination

ว. ผลิตกรรมการเกษตร 3(2):33-42
J. Agr. Prod. 34

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระยะที่เหมาะสมของช่อดอกอินทผลัมเพศเมียที่สามารถผสมติดผลมากที่สุด เพื่อให้เกษตรกรสามารถวางแผนการถ่ายละอองเรณูได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำการทดลองกับต้นอินทผลัมเพศเมียพันธุ์ KL1 อายุ 8 ปี ที่ปลูกในพื้นที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ ตำบลปงน้ำร้อน อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ ในเดือนมกราคม - มีนาคม ปี พ.ศ. 2562 และ 2563 วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (RCBD) ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ได้แก่ การถ่ายละอองเรณูด้วยมือโดยใช้ละอองเรณูจากช่อดอกอินทผลัมเพศผู้พันธุ์ KL1 ที่บานเต็มที่ ลงบนช่อดอกเพศเมีย 5 ระยะคือ ในวันที่กางช่อดอกเริ่มแตก และหลังจากกางช่อดอกแตก 2, 4, 6 และ 8 วัน แล้วบันทึกเปอร์เซ็นต์การติดผลหลังจากถ่ายละอองเรณูแล้ว 3 เดือน โดยเก็บข้อมูลการติดผลปีละ 1 ครั้ง พบว่า ช่อดอกเพศเมีย 2 ระยะ ได้แก่ วันที่กางช่อดอกเริ่มแตก และหลังจากกางช่อดอกแตก 2 วัน พบเปอร์เซ็นต์การติดผลของอินทผลัมสูงที่สุดอยู่ในช่วง 77.5- 83.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนช่อดอกเพศเมียที่ถ่ายละอองเรณูหลังจากกางช่อดอกแตกไปแล้ว 4, 6 และ 8 วัน มีเปอร์เซ็นต์การติดผลลดลงตามลำดับ

คำสำคัญ: *Phoenix dactylifera* L. การถ่ายละอองเรณู การวางแผนถ่ายละอองเรณู

คำนำ


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

การปลูกอินทผลัมในประเทศไทยให้ได้ผลผลิตดีนั้นส่วนหนึ่งขึ้นอยู่กับการถ่ายละอองเรณู เนื่องจากอินทผลัมเป็นพืชที่มีดอกแยกเพศอยู่

ต่างต้น (dioecious plant) จึงเป็นพืชผสมข้ามอย่างสมบูรณ์ (Bacha *et al.*, 2000) ทำให้โอกาสที่จะติดผลผลิตน้อยหากไม่ช่วยผสมเกสร ดังนั้นการเพิ่มผลผลิตของการปลูกอินทผลัมจำเป็นต้องมีการถ่ายละอองเรณู (pollination) ลงบนช่อดอกเพศเมียโดยตรง (Djerouno *et al.*, 2015) โดยปกติอินทผลัมจะเริ่มออกดอกประมาณเดือนมกราคม ต้นหนึ่งจะมีช่อดอกประมาณ 5-11 ช่อ ขึ้นอยู่กับอายุและความสมบูรณ์แข็งแรงของต้น และจะทยอยบานประมาณปลายเดือนมกราคม เป็นต้นไปทุก 5 วัน (จารุฉัตร, 2558) เกษตรกรปลูกอินทผลัม 32-35 ต้นต่อ 1 ไร่ ในจำนวนนี้จะจะมีต้นตัวผู้ 5-10 ต้น และมีต้นตัวเมีย 25-30 ต้น เพื่อให้เพียงพอต่อการผสมเกสร ดังนั้น เกษตรกรจึงต้องมีการวางแผนการถ่ายละอองเรณูให้ทันกับช่วงเวลาที่ดีอบานเพื่อให้การผสมเกสรเกิดประสิทธิภาพสูงที่สุด (ศิริลักษณ์, 2563)


ภาคผนวก 2

ผลงานภาคโปสเตอร์ เรื่องการเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายละอองเกสรอินทผลัมพันธุ์ KL-1 ในการประชุมวิชาการกรมวิชาการเกษตร แบบออนไลน์ เดือน กันยายน 64



การเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายละอองเกสรของอินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.) พันธุ์ KL1

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่



บทคัดย่อ

การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของดอกเพศเมีย ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายละอองเกสร และผลของการผสมละอองเกสรเพศผู้กับตัวนำต่าง ๆ ที่มีต่อปริมาณผลผลิตอินทผลัม เพื่อศึกษาวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพในการนำละอองเกสรของอินทผลัมพันธุ์ KL1 อายุ 8 ปี ในปี 2562-2564 วางแผนการทดลองแบบ RCB บล็อกเปเปอร์เข้าการคิดผลหลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน ปีละ 1 ครั้ง พบว่า ช่อดอกเพศเมีย 2 ระยะ วันที่ถ่ายละอองเกสรเริ่มแรก และหลังจากการถ่ายละอองเกสร 2 วัน การคิดผลของอินทผลัมสูงที่สุด 77.5- 83.5 % ส่วนช่อดอกเพศเมียที่ถ่ายละอองเกสรหลังจากการถ่ายละอองเกสรไปแล้ว 4, 6 และ 8 วัน มีเปอร์เซ็นต์การคิดผลลดลงตามลำดับ การถ่ายละอองเกสรใน 5 ช่วงเวลา คือ 08.00, 10.00, 12.00, 14.00 และ 16.00 น. มีเปอร์เซ็นต์การคิดผล 86.79-89.19 % ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การถ่ายละอองเกสรด้วยมือ และการผสมละอองเกสรด้วยตัวนำต่างๆ ได้แก่ แมง แปีง Tacl และ สารละลายซูโครส 20% มีเปอร์เซ็นต์การคิดผล 76.50-79.66 % ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การปล่อยให้ผสมโดยแมลงตามธรรมชาติ มีเปอร์เซ็นต์การคิดผลสูงกว่า 33.34% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการช่วยถ่ายละอองเกสร

ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย

การถ่ายละอองเกสรด้วยมือบนช่อดอกเพศเมียในระยะที่ถ่ายละอองเกสรเริ่มแรก และหลังจากการถ่ายละอองเกสร 2 วัน มีเปอร์เซ็นต์การคิดผลมากกว่า 77.5 % ซึ่งเกษตรกรสามารถถ่ายละอองเกสรได้ในเวลา 08.00-16.00 น. ไม่ทำให้การคิดผลลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เกษตรกรที่มีละอองเกสรปริมาณจำกัด สามารถนำละอองเกสรปริมาณ 0.5 กรัม (ครึ่งหนึ่งของปริมาณการเข้าปกติ) มาผสมกับแมง Tacl 0.5 กรัม หรือ สารละลายซูโครส 20 % ก่อนถ่ายละอองเกสรความปกติ ซึ่งจะทำให้การคิดผลมีมากกว่า 74.5 % หากเกษตรกรนำผลการทดลองไปปรับใช้จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายละอองเกสรในอินทผลัมได้

ที่มาของงานวิจัย

เนื่องจากอินทผลัมมีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียแยกกัน จึงเป็นพืชผสมข้ามอย่างสมบูรณ์ ดังนั้น การเพิ่มผลผลิตของอินทผลัมจำเป็นต้องมีการช่วยผสมเกสร โดยการถ่ายละอองเกสร ลงบนช่อดอกตัวเมียโดยตรง พบปัญหาปริมาณละอองเกสรเพศผู้ไม่เพียงพอเนื่องจากมีจำนวนช่อดอกเพศเมียมาก การผสมละอองเกสรกับตัวนำต่าง ๆ จะเป็นการลดความสิ้นเปลืองของการใช้ละอองเกสรในการผสมเกสรได้ ระยะที่เหมาะสมของช่อดอกเพศเมียและช่วงเวลาในการถ่ายละอองเกสรที่มีความสำคัญต่อปริมาณผลผลิต เกษตรกรสามารถวางแผนการถ่ายละอองเกสร จะมีผลทำให้ได้ปริมาณผลผลิตอินทผลัมตามที่ต้องการ

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายละอองเกสรของอินทผลัมพันธุ์ KL1

อุปกรณ์และวิธีการ

คัดเลือกต้นอินทผลัม สายพันธุ์ KL1 เพศเมียและเพศผู้อายุ 8 ปี โดยข้อมูลเปอร์เซ็นต์การคิดผลหลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน เลือกต้นที่มีความสมบูรณ์ ต้นอินทผลัมเพศเมียมีจำนวนช่อดอก 5 ช่อขึ้นไป ส่วนต้นอินทผลัมเพศผู้มีจำนวนช่อดอกและปริมาณละอองเกสรมาก โดยนำละอองเกสรที่เก็บจากช่อดอกเพศผู้หลังจากการช่อดอกเต็มที 1-2 ชั่วโมง มาตรวจสอบความมีชีวิตโดยการย้อมสีด้วย 1 เปอร์เซ็นต์ acetocarmine ก่อนนำไปถ่ายละอองเกสรกับช่อดอกเพศเมียบนต้นอินทผลัมที่คัดเลือกไว้ โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB ที่มีระยะของช่อดอกเพศเมีย ช่วงเวลาในการถ่ายละอองเกสร และการผสมละอองเกสรกับตัวนำต่างๆ ที่แตกต่างกัน ทำการผสมช่อดอกเพศเมียด้วยถุงพลาสติกใสก่อนที่ช่อดอกจะเริ่มแรก 1 วัน เพื่อป้องกันการผสมข้ามจากแมลง เมื่อช่อดอกเริ่มแรกให้ถ่ายละอองเกสรตามกรรมวิธี จากนั้นนำถุงกระดาษมาคลุมช่อดอกเพื่อป้องกันการปนเปื้อนละอองเกสรจากต้นอื่น แล้วแกะถุงกระดาษออกหลังจากผสม 15 วัน บันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การคิดผลหลังจากถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 เดือน

เปอร์เซ็นต์การคิดผลของอินทผลัมจากการทดลองระยะของช่อดอกเพศเมียที่ดำเนินการผสมเกสรในปี 2562 และ 2563 หลังถ่ายละอองเกสร 3 เดือน

ระยะของช่อดอกเพศเมีย	เปอร์เซ็นต์การคิดผล (%) ⁽¹⁾	
	(ปี 2562)	(ปี 2563)
1. วันที่ถ่ายละอองเกสรเริ่มแรก	77.5 ^a	82.7 ^a
2. หลังถ่ายละอองเกสร 2 วัน	83.5 ^a	79.6 ^a
3. หลังถ่ายละอองเกสร 4 วัน	71.8 ^{ab}	70.5 ^a
4. หลังถ่ายละอองเกสร 6 วัน	52.4 ^c	57.9 ^b
5. หลังถ่ายละอองเกสร 8 วัน	54.2 ^{bc}	47.9 ^b
CV (%)	17.1	7.0

⁽¹⁾ ผลที่ได้จากการคิดผลเป็นเปอร์เซ็นต์ที่ประเมินในแปลงการวิจัยในเขตภาคเหนือ โดยใช้ LSD ส่วนที่ความเชื่อมั่น 95%

เปอร์เซ็นต์การคิดผลของอินทผลัมจากการทดลองระยะของช่อดอกเพศเมียที่ดำเนินการผสมเกสรในปี 2562 และ 2563 หลังถ่ายละอองเกสร 3 เดือน


กรรมวิธี	ปี		
	2563	2564	เฉลี่ย
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

CV = 4.2 %
-ค่าที่ได้ในตารางนี้แสดงถึงค่า a, b, c ซึ่งต่างกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ Duncan
-ค่าที่ได้ในตารางนี้แสดงถึงค่า a, b, c ซึ่งต่างกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ Duncan


เปอร์เซ็นต์การคิดผลของอินทผลัมจากการผสมละอองเกสรกับตัวนำต่างๆ ที่ดำเนินการผสมเกสรในปี 2562 และ 2563 หลังถ่ายละอองเกสร 3 เดือน

กรรมวิธี	ปี		
	2563	2564	เฉลี่ย
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 + แมง Tacl 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


CV = 7.8 %
-ค่าที่ได้ในตารางนี้แสดงถึงค่า a, b, c ซึ่งต่างกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ Duncan
-ค่าที่ได้ในตารางนี้แสดงถึงค่า a, b, c ซึ่งต่างกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ Duncan




การคิดผลจากการทดลองระยะของช่อดอกเพศเมีย



การคิดผลจากการทดลองช่วงเวลาในการถ่ายละอองเกสร



การคิดผลจากการผสมละอองเกสรกับตัวนำต่างๆ ที่แตกต่างกัน

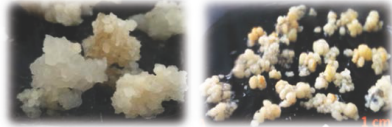


ชื่อเจ้าของผลงาน และเบอร์โทร : นางศิริลักษณ์ อินทวงค์ เบอร์โทร 089-942566

ภาคผนวก 3

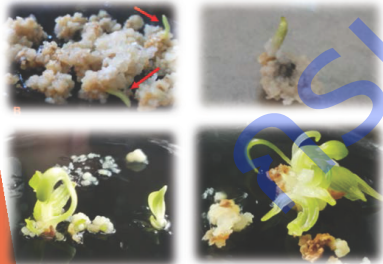
แผ่นพับเรื่อง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมพันธุ์ KL1 (*Phoenix dactylifera* L. cv. KL1)

3.2 ชักนำให้ friable callus เกิดเป็น compact callus โดยนำไปเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ร่วมกับ NAA 2.5 มิลลิกรัม/ลิตร และ 2IP 3 มิลลิกรัม/ลิตร เลี้ยงนาน 24 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 4 สัปดาห์



4. การชักนำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์

4.1 ชักนำให้ compact callus เกิดยอด โดยนำไปเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร MS ร่วมกับ NAA 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร และ ABA 1 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 24 สัปดาห์ จนเกิดลักษณะคล้ายยอด หลังจากนั้นจึงย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ NAA 0.3 มิลลิกรัม/ลิตร และ BA 1 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 24 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 4 สัปดาห์



4.2 การชักนำยอดให้เกิดรากที่สมบูรณ์
นำยอดที่สมบูรณ์ไปชักนำให้เกิดราก โดยเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ร่วมกับ NAA 4 มิลลิกรัม/ลิตร และ BA 1 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 24 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 4 สัปดาห์



5. ดันอินทผลัมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ลักษณะต้นอินทผลัมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีรากสมบูรณ์พร้อมออกปลูกลงนอกต่อไป



หมายเหตุ: ทุกสูตรอาหารที่ใช้เติมน้ำตาล 40 กรัม/ลิตร ผงวุ้น (Phytigel) 3 กรัม/ลิตร ผงถ่าน 1 กรัม/ลิตร เพาะเลี้ยงในสภาพแสง 55 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน

คณะผู้จัดทำ

ประกาย อ่อนวิมล ไพบูรย์ นุปผาดา
ภูรินทร์ วณิชชานันท์ ศิริลักษณ์ อินทวงค์

อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.)



อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.) เป็นไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีแหล่งปลูกอยู่ในประเทศแถบตะวันออกกลาง และแอฟริกาเหนือ เนื่องจากเป็นไม้ผลทางเศรษฐกิจที่มีราคาสูง ปัจจุบันจึงกำลังได้รับความ

นิยมจากเกษตรกรไทยอย่างมากเนื่องจากผลอินทผลัมมีรสชาติหวานอร่อย รวมทั้งยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น ช่วยบำรุงร่างกายที่อ่อนล้า มีเส้นใยอาหาร ช่วยลดอาการท้องผูก บำรุงเม็ดเลือด ป้องกันการเป็นโรคโลหิตจาง อุดมไปด้วยโพแทสเซียม แคลเซียม และธาตุเหล็ก รวมทั้งลดระดับน้ำตาลในเลือด บรรเทาอาการของโรคเบาหวาน สำหรับหญิงตั้งครรภ์ยังช่วยส่งเสริมสุขภาพของลูกในครรภ์ และช่วยเสริมสร้างน้ำนมให้คุณแม่อีกด้วย ด้วยเหตุนี้จึงทำให้มีความต้องการของตลาดเพิ่มขึ้น ส่งผลให้พื้นที่ปลูกอินทผลัมชนิดรับประทานผลสดในประเทศไทยมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปี จากข้อมูลการนำเข้าอินทผลัมจากสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ในปี 2562 (เดือนมกราคม-กันยายน) พบว่า ประเทศไทยมีการนำเข้าอินทผลัมมากถึง 1,844,357 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่าสูงถึง 102,716,642 บาท พันธุ์อินทผลัมชนิดรับประทานผลสดที่นิยมปลูกในประเทศไทย เช่น พันธุ์บาฮี พันธุ์ KL1 เป็นต้น

การขยายพันธุ์อินทผลัม

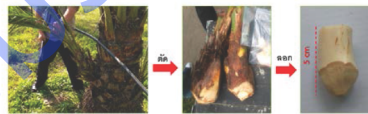
อินทผลัมเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวยืนต้น และมีข้อจำกัดในด้านของการขยายพันธุ์ เนื่องจาก 50% ของต้นกล้าที่ได้มาจากการเพาะเมล็ดนั้นจะเป็นต้นตัวผู้ และไม่สามารถ

แยกต้นตัวผู้และตัวเมียออกจากกันจนกว่าจะออกดอกซึ่งใช้ระยะเวลานาน 3 ปี นอกจากนี้ ต้นกล้าที่ได้อาจเกิดการกลายพันธุ์ได้ ปัจจุบันการขยายพันธุ์ทำได้โดยการขยายพันธุ์จากหน่อที่เกิดจากข้างลำต้นพ่อหรือแม่พันธุ์ซึ่งมีจำนวนจำกัด คือ 3-4 หน่อต่อต้น ทำให้การขยายพันธุ์ได้จำนวนต้นน้อยและต้นกล้าอินทผลัมโดยเฉพาะต้นตัวเมียที่มีลักษณะดีจะมีราคาสูงมาก ดังนั้นการขยายพันธุ์ด้วยเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเข้ามาช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวได้เป็นอย่างดี เพราะต้นกล้าที่ได้มีลักษณะทางพันธุกรรมที่เหมือนต้นแม่ทุกประการ ได้จำนวนต้นกล้าปริมาณมากในระยะเวลาน้อย ต้นกล้าที่ได้ปลอดโรคและแมลง มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูง ต้นแข็งแรงให้ผลผลิตดีกว่า นอกจากนี้ ยังสามารถลดต้นทุนการขนส่งเนื่องจากต้นกล้ามีขนาดเล็ก และน้ำหนักเบา เมื่อเทียบกับต้นกล้าที่ได้จากการแยกหน่อ

ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมพันธุ์ KL1

1. เตรียมเนื้อเยื่อหน่ออินทผลัม

นำหน่ออินทผลัมมาผ่าลอกเปลือกออกจนเหลือยอดอ่อนยาวประมาณ 5 เซนติเมตร นำไปแช่น้ำยาฆ่าเชื้อและคลอรีน ความเข้มข้น 2 กรัม/ลิตร เวลาที่ความเร็วยรอบ 145 รอบ/นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง



แช่ที่ความเร็วรอบ 145 RPM เป็นเวลา 24 ชั่วโมง



แช่ฆ่าเชื้อรา

2. การฟอกฆ่าเชื้อ

นำมาฟอกด้วย Sodium Hypochlorite ความเข้มข้น 25 % และความเข้มข้น 20 % ที่เติม tween 20 1-2 หยด นานครั้งละ 20 นาที หลังจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อแบคทีเรียด้วย Cefotaxime Sodium 2.5 กรัม/ลิตร และนำไปแช่ด้วย L - ascorbic acid 0.75 กรัม/ลิตร เพื่อป้องกันการเกิด browning ก่อนลอกและผ่าชิ้นส่วนยอดต้นในความยาวประมาณ 1-2 cm ไปเพาะเลี้ยงต่อไป



แช่ฆ่าเชื้อรา ครบ 24 ชั่วโมง

3. การชักนำให้เกิดแคลลัสจากหน่ออินทผลัม

3.1 ชักนำให้เกิด friable callus จากหน่ออินทผลัม โดยนำไปเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ร่วมกับ 2,4-D 55 มิลลิกรัม/ลิตร และ 2iP 2 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 32 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 4 สัปดาห์



ภาคผนวก 4

ผลงานตีพิมพ์การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 18 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน (Proceeding)
เรื่อง การชักนำให้เกิดแคลลัสและ Somatic Embryo ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมพันธุ์ KL1 (บทคัดย่อ และ Abstract)

The 18th KU KPS National Conference
การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 18
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
Proceedings

ระหว่างวันที่ 8-9 ธันวาคม 2564
เกษตรศาสตร์อัจฉริยะ: สุขภาวะคนไทย สู่ภัยเศรษฐกิจ

ผลงานทางวิชาการ 8 สาขา

1. สาขาพืชและเทคโนโลยีชีวภาพ
2. สาขาสัตวและสัตวแพทย
3. สาขาวิศวกรรมศาสตร์
4. สาขาศึกษาศาสตร์และพัฒนศาสตร์
5. สาขามนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์
6. สาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพและการกีฬา
7. สาขาวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี สิ่งแวดล้อม และความปลอดภัยทางชีวภาพ
8. สาขาส่งเสริมการเกษตร

กองบริหารการศึกษา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
Tels : 034-341545-6 ต่อ 125 หรือ 092-2693377 เว็บไซต์ <https://esd.kps.ku.ac.th/kuk-conference>

การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 18 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน วันที่ 8-9 ธันวาคม 2564

การชักนำให้เกิดแคลลัสและ Somatic Embryo ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมพันธุ์ KL1
Callus and Somatic Embryo Induction in Date Palm (*Phoenix dactylifera* L. cv. KL1)
Tissue Culture

ไพฑูริย์ บุญญา¹ ประกาย อ่อนวิมล² และ สิริลักษณ์ อินทวงค์³
Phaitun Bupphada¹, Prakay Onwimol² and Siriluck Inthawong³

บทคัดย่อ

อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.) เป็นไม้ผลที่กำลังได้รับความนิยมในประเทศไทยแต่ประสบปัญหาการขยายพันธุ์จากต้นพันธุ์ดีเนื่องจากหน่อพันธุ์ดีจำนวนน้อยและต้นพันธุ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีค่าใช้จ่ายสูง งานวิจัยนี้จึงศึกษาการขยายพันธุ์อินทผลัมพันธุ์ KL1 ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบ somatic embryogenesis โดยนำตัวอย่างปลายยอดที่ได้จากหน่อข้างมาชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 250 μM ร่วมกับ 2iP ความเข้มข้น 10 μM เพียงนาน 32 สัปดาห์ ชักนำแคลลัสได้ดีที่สุดโดยมีอัตราการเกิดแคลลัสที่ 62.5 % และน้ำหนักแคลลัสที่ 658 mg มากที่สุดอย่างน้อยลำดับทางสถิติ ส่วนสูตรอาหารที่ชักนำให้เกิด somatic embryo ดีที่สุดคือสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 1 μM ร่วมกับ ABA ความเข้มข้น 4 μM เพียงนาน 24 สัปดาห์ โดยมีอัตราการเกิด somatic embryo อยู่ที่ 40 % และเกิด somatic embryo จำนวน 5.1 somatic embryos ต่อขวด

คำสำคัญ: การเลี้ยงเนื้อเยื่อ, อินทผลัม, หน่อข้าง, ปลายยอด, เซลล์เนื้อเยื่อ, รมานิลิก, เซลล์เนื้อเยื่อ

Abstract

Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) is a fruit crop that is gaining popularity among Thai farmers but facing the problem of offshoots shortage and expensive imported tissue-cultured plantlets. This study was carried out to propagate date palm cv. KL1 using somatic embryogenesis technique. Shoot tips were removed from offshoots and cultured on callus induction media. 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. The embryogenic callus were then cultured on somatic embryo induction 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.

Key words: Tissue culture, Date palm (*Phoenix dactylifera* L.), Offshoots, Shoot tips, Embryo, Somatic embryogenesis
¹Corresponding author's email address: phaitunij@hotmail.com

¹ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรอำนาจเจริญ กรมวิชาการเกษตร จ.อำนาจเจริญ 37000
Amnat Charoen Agricultural Research and Development Center, Department of Agriculture, Amnat Charoen 37000, Thailand
² สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร จ.ปทุมธานี 12110
Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture, Pathum Thani 12110, Thailand
³ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่ กรมวิชาการเกษตร จ.เชียงใหม่ 50110
Chiangmai Agricultural Research and Development Center, Department of Agriculture, Chiangmai 50110, Thailand

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวก 5

รายงานการประชุมเพื่อพิจารณาคัดเลือกแผนงานและงบประมาณ ตัวชี้วัดระดับความสำเร็จของการนำผลงานวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมายเพื่อใช้ประโยชน์ในการพัฒนาการเกษตร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566



บันทึกข้อความ

ส่วนราชการ สำนักงานวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ ๑ ต.ปทุม. ๑๒๐ มข. อ.เมือง จ.เชียงใหม่ ๕๐๑๐๒
โทรศัพท์ ๐ ๕๓๑๑ ๕๑๒๑-๒๕ โทรสาร ๐ ๕๓๑๑ ๕๑๒๖ E-mail : oard๑๑๑๑๑.๑๑

ที่ กษ ๐๙๑๗/๑ ๖๒๒ วันที่ ๑๕ พฤศจิกายน ๒๕๖๔

เรื่อง รายงานการประชุมเพื่อพิจารณาคัดเลือกแผนงานและงบประมาณ ตัวชี้วัดระดับความสำเร็จของการนำผลงานวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมายเพื่อใช้ประโยชน์ในการพัฒนาการเกษตร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.๒๕๖๖

เรียน ผอ.ศูนย์ฯ/กลุ่ม/ผชช. และผู้เกี่ยวข้อง (ตามรายชื่อแนบ)

ตามที่สำนักงานวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ ๑ ได้จัดประชุมเพื่อพิจารณาคัดเลือกแผนงานและงบประมาณ ตัวชี้วัดระดับความสำเร็จของการนำผลงานวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมายเพื่อใช้ประโยชน์ในการพัฒนาการเกษตร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.๒๕๖๖ เมื่อวันที่ ๑๖ พฤศจิกายน ๒๕๖๔ เวลา ๐๙.๓๐ น. ณ ห้องประชุม ๑ สำนักงานวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ ๑ นั้น

บัดนี้ ฝ่ายเลขานุการฯ ได้จัดทำรายงานการประชุมเรียบร้อยแล้ว จึงขอส่งรายงานมาพร้อมนี้

จำนวน ๑ ชุด

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

(นางนารีรัตน์ ไนวัฒน์)

นักวิเคราะห์นโยบายและแผนชำนาญการพิเศษ วิชาการเกษตรแทน
ผู้อำนวยการสำนักงานวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ ๑

รายชื่อแนบท้าย

๑. ผู้เชี่ยวชาญด้านการจัดการผลิตพืชที่เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ภาคเหนือตอนบน สวพ.๑
๒. ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแพร่
๓. ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลำปาง
๔. ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรน่าน
๕. ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงใหม่
๖. ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเชียงราย
๗. ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน
๘. ผู้อำนวยการกลุ่มประสานและบริหารนโยบาย
๙. ผู้อำนวยการกลุ่มวิชาการ
๑๐. ผู้อำนวยการกลุ่มถ่ายทอดเทคโนโลยี
๑๑. ผู้อำนวยการกลุ่มควบคุมตามพระราชบัญญัติ
๑๒. ผู้อำนวยการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต
๑๓. ผู้อำนวยการกลุ่มจัดการพื้นที่
๑๔. นางสาวศิริพร ฝักรังสี สวพ.๑
๑๕. นางอนงค์นาฏ ชมภูแก้ว สวพ.๑
๑๖. นางสาววิศรา สุวรรณ ศวพ.นน.
๑๗. นางศิริลักษณ์ อินทวงศ์ ศวพ.ขม.
๑๘. นางสาวกชวรรณ เชื้อนเพชร ศวพ.มส.
๑๙. นายวัฒน์นิกรณั เทพโพธา ศวพ.กส.ขร.

รายงานการประชุมเพื่อพิจารณาแผนงานและงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ ๒๕๖๖
 ตัวชี้วัดระดับความสำเร็จของการนำผลงานวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมายเพื่อใช้ประโยชน์ในการพัฒนาการเกษตร
 วันอังคารที่ ๑๖ พฤศจิกายน ๒๕๖๔
 ณ ห้องประชุม ๑ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ ๑

รายชื่อผู้เข้าประชุม

๑. นางสาวประนอม ใจอ้าย	รชก.ผชช.	สวพ.๑
๒. นายสุเมธ อ่องนา	รชก.ผอ.ศวพ.ลป.	ศวพ.ลป.
๓. นางสาวฉัตรสุดา เจริญอักษร	ผอ.ศวพ.นบ.	ศวพ.นบ.
๔. นางศิริลักษณ์ อินทวงค์	รชก.ผอ.ศวพ.ชม.	ศวพ.ชม.
๕. นางสาวบุญเป็ยธิดา คล่องแคล่ว	รชก.ผอ.ศวพ.กส.ชร.	ศวพ.กส.ชร.
๖. นายสุริยนต์ คัดเหล็ก	ผอ.ศวพ.มส.	ศวพ.มส.
๗. นางพัชราภรณ์ สีสากิรมย์กุล	ผอ.กทช.	สวพ.๑
๘. นางสาวสุรชนี ดินตระกูล	ผอ.กคท.	สวพ.๑
๙. นายนิสิต บุญเพ็ง	ผอ.กคท.	สวพ.๑
๑๐. นายวิทยา อภัย	ผอ.กทป.	สวพ.๑
๑๑. นางสาวมนทิรา กุติวนาด	นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ	ศวพ.พร.
๑๒. นางสาวนริศรา สุวรรณ	นักวิชาการเกษตรชำนาญการ	ศวพ.นบ.
๑๓. นายพัฒนภรณ์ เทพโพธา	นักวิชาการเกษตรปฏิบัติการ	ศวพ.กส.ชร.
๑๔. นางสาวกวรรณ เชื้อนเพชร	นักวิชาการเกษตรปฏิบัติการ	ศวพ.มส.
๑๕. นางสาวศิริพร หัสสรังสี	นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ	สวพ.๑
๑๖. นางอนงค์นาฏ ชมภูแก้ว	นักวิชาการเกษตรชำนาญการ	สวพ.๑
๑๗. นางสาวภัทรนันท์ นันทชัย	เจ้าหน้าที่วิเคราะห์นโยบายและแผน	สวพ.๑

เริ่มประชุมเวลา ๐๙.๓๐ น. โดยนางสาวประนอม ใจอ้าย ทำหน้าที่ประธานการประชุม

ระเบียบวาระที่ ๑ เรื่องประธานแจ้งให้ที่ประชุมทราบ

ตามที่กรมวิชาการเกษตร ได้มอบหมายให้ดำเนินการในการจัดทำคำรับรองการปฏิบัติราชการ ประจำปีงบประมาณ ๒๕๖๖ โดย กทง. ขอความอนุเคราะห์ให้ สวพ.๑ จัดทำแผนงานและงบประมาณตัวชี้วัดระดับความสำเร็จของการนำผลงานวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมายเพื่อใช้ประโยชน์ในการพัฒนาการเกษตร ตามแบบฟอร์มที่ ๑ โดยคัดเลือกผลงานวิจัยใหม่ของกรมวิชาการเกษตรที่สามารถนำไปขยายผลได้สู่กลุ่มเป้าหมายและเป็นผลงานวิจัยสิ้นสุดระหว่างปี ๒๕๕๔-๒๕๖๔ หน่วยงานละ ๒ เรื่อง เป็นตัวชี้วัดของ สวพ.๑ เพื่อให้การดำเนินการตามคำรับรองการปฏิบัติราชการเป็นไปด้วยความเรียบร้อยและบรรลุประสงค์ที่กำหนดไว้ จึงได้เรียนเชิญผู้อำนวยการศูนย์เครือข่ายและผู้อำนวยการกลุ่มของ สวพ.๑ เข้าร่วมรับฟังชี้แจงในวันนี้

มติที่ประชุม รับทราบ

ระเบียบวาระที่ ๒ เรื่องเพื่อพิจารณา

ศูนย์ฯ/กลุ่ม ได้เสนอแผนงานและงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.๒๕๖๖ ตัวชี้วัดระดับความสำเร็จของการนำผลงานวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมายเพื่อใช้ประโยชน์ในการพัฒนาการเกษตรของ สวพ.๑ มาให้พิจารณาจำนวน ๕ เรื่อง คือ

๒. เรื่องการเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายละอองเกสรอินทผลัม (ศวพ.ชม.)
๓. เรื่องทดสอบเทคโนโลยีการผลิตพืชผักในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน : เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชที่ปลอดภัยจากสารพิษตกค้างในจังหวัดแม่ฮ่องสอน (ศวพ.มส.)
๔. เรื่องการจัดการโรคและแมลงศัตรูมะม่วงน้ำดอกไม้เพื่อการส่งออก จังหวัดเชียงใหม่ (กรม.ศวพ.๑)
๕. เรื่องการขยายผลปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตในการผลิตข้าวโพดหวานจังหวัดเชียงราย (ศวพ.กส.ชร.)

มติที่ประชุม ได้คัดเลือกตัวชี้วัดระดับความสำเร็จของการนำผลงานวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมายเพื่อใช้ประโยชน์ในการพัฒนาการเกษตร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.๒๕๖๖ จำนวน ๒ เรื่อง ได้แก่

๑. เรื่อง "การจัดการโรคและแมลงศัตรูมะม่วงน้ำดอกไม้เพื่อการส่งออก จังหวัดเชียงใหม่" โดยกลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ ๑ ซึ่งผู้รับผิดชอบจัดทำตัวชี้วัด คือ นางพัชราภรณ์ สีสากิรมย์กุล และผู้ประสานงานตัวชี้วัด คือ นางสาวศิริพร หัสสรังสี
๒. เรื่อง "การเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายละอองเกสรอินทผลัม" โดยศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร เชียงใหม่ ซึ่งผู้รับผิดชอบจัดทำตัวชี้วัดและผู้ประสานงานตัวชี้วัด คือ นางศิริลักษณ์ อินทวงค์ ทั้งนี้ ให้ปรับแก้ไขให้ถูกต้องตรงตามแบบฟอร์มและส่งกลับมาที่ สวพ.๑ ภายในวันที่ ๑๗ พฤศจิกายน ๒๕๖๔ ก่อน ๑๖.๐๐ น. เพื่อรวบรวมส่งให้กองแผนงานและวิชาการจัดทำข้อเสนองบประมาณต่อไป

ระเบียบวาระที่ ๓ เรื่องอื่นๆ

ประธานแจ้งว่าในส่วนงานวิจัยที่เสนอตัวชี้วัดระดับความสำเร็จของการนำผลงานวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมายเพื่อใช้ประโยชน์ในการพัฒนาการเกษตร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.๒๕๖๖ และไม่ได้รับการคัดเลือกให้ดำเนินการปรับแก้ไขและเสนอแผนงานและงบประมาณในโครงการขับเคลื่อนผลงานวิจัยสู่การใช้ประโยชน์ ปีงบประมาณ ๒๕๖๖ ซึ่งประกอบด้วยกิจกรรมดังต่อไปนี้

- กิจกรรมที่ ๑ การพัฒนาศูนย์อบรมเชิงปฏิบัติการถ่ายทอดผลงานวิจัยกรมวิชาการเกษตร (ศูนย์บ่มเพาะ)
- กิจกรรมที่ ๒ การขับเคลื่อนผลงานวิจัยผ่านเครือข่ายศูนย์เรียนรู้การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสินค้าเกษตร
- กิจกรรมที่ ๓ การเพิ่มศักยภาพชุมชนนวัตกรรมวิชาการเกษตร
- กิจกรรมที่ ๔ การเพิ่มศักยภาพการผลิตสินค้าเกษตรอัตลักษณ์และพืชท้องถิ่น
- กิจกรรมที่ ๕ การเพิ่มศักยภาพพรายสินค้าเกษตรในระบบเกษตรแบบแปลงใหญ่
- กิจกรรมที่ ๖ การพัฒนาศูนย์เฝ้าระวังการระบาดและเตือนภัยศัตรูพืช
- กิจกรรมที่ ๗ การส่งเสริมและพัฒนาอาชีพราษฎรที่ได้รับการช่วยเหลือตามโครงการจัดที่ดินทำกินให้ชุมชนตามนโยบายรัฐบาล

กิจกรรมที่ ๘ กิจกรรมอื่นๆ ที่สนับสนุนการดำเนินงานขับเคลื่อนผลงานวิจัยสู่การใช้ประโยชน์

มติที่ประชุม รับทราบ

เลิกการประชุมเวลา ๑๒.๐๐ น.

ภัทรนันท์ นันทชัย บันทึกและพิมพ์รายงาน
 อนงค์นาฏ ชมภูแก้ว ตรวจรายงานการประชุม
 ประนอม ใจอ้าย ตรวจทานรายงานการประชุม