บทความวิจัย

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการพัฒนาเอ็มบริโอของอินทผลัมพันธุ์แม่โจ้ 36 ในสภาพปลอดเชื้อ

อำพล สอนสระเกษ[1*] จุฑามาศ พิลาดี[1] และ นพพร บุญปลอด[1]

ได้รับบทความ: 24 พฤษภาคม 2561
ได้รับบทความแก้ไข: 13 ธันวาคม 2561
ยอมรับตีพิมพ์: 10 มกราคม 2562

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมพันธุ์แม่โจ้ 36 โดยเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 2-(2,4-dichlorophenoxy) acetic acid (2,4-D) ทั้ง 6 ระดับ คือ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า หลังทำการเลี้ยงในระยะเวลา 4 เดือนสามารถชักนำแคลลัสเฉลี่ยสูงถึง 96.3 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารแข็งสูตร MS + 2,4-D ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และให้น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสได้มากที่สุดถึง 0.47 กรัม บนอาหารแข็งสูตร MS + 2,4-D ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่มืด จากนั้นนำแคลลัสที่สามารถชักนำได้ย้ายลงอาหารสูตรใหม่ที่เหมาะสมต่อการชักนำยอด พบว่า บนอาหารแข็งสูตร MS + Sucrose 45 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิดยอดเฉลี่ยสูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 2 เดือน โดยเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง1,000 ลักซ์ เป็นระยะเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

คำสำคัญ: อินทผลัม เอ็มบริโอ แคลลัส สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

---

[1]สาขาวิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290
*ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: moo4me4@hotmail.com

Effect of Plant Growth Regulators on the Embryo Development of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Maejo 36 *in vitro*

Ampol Sornsaket[1*], Jutamat Philadee[1] and Nopporn boonplod[1]

Received: 24 May 2018
Revised: 13 December 2018
Accepted: 10 January 2019

ABSTRACT

The study on the effect of plant growth regulators on the embryo development of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Maejo 36 *in vitro* by MS media with plant growth regulators 2-(2,4-dichlorophenoxy) acetic acid (2,4-D) 0, 2, 4, 6, 8 and 10 mg/L. The results show that callus induction average to 96.3 % on MS + 10 mg/L 2,4-D and the average fresh weight of callus most 0.47 g on MS + 6 mg/L 2,4-D after 4 months in the dark. Then, the callus can be induced moving into a new media suitable for induction shoot. Resulted on MS media with 45 g/L sucrose can induction shoot average of 30 % in a period of 2 months. The stored at temperature 25 ± 2 °C the light intensity of 1,000 lux for 16 hours per day.

Keywords: date palm, embryo, callus, plant growth regulators

[1]Division of Plant Science, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand.
*Corresponding author, e-mail: moo4me4@hotmail.com

บทนำ

อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.) เป็นพืชวงศ์ปาล์ม(Arecaceae) มีถิ่นกำเนิดในแถบตะวันออกกลาง สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศร้อนและแห้งแล้งแบบทะเลทราย สามารถรับประทาน ได้ทั้งผลดิบและผลสุก อินทผลัมมีรสหวาน มักมีคนเข้าใจผิดว่าถูกนำไปเชื่อมด้วยน้ำตาลอยู่เสมอ อินทผลัมเป็นพืชแยกเพศต่างต้น (dioecious plant) คือ มีต้นเพศผู้และต้นเพศเมียแยกกันอยู่คนละต้น หากขาดต้นใดต้นหนึ่งไปก็ไม่อาจสร้างผลหรือเมล็ดที่สมบูรณ์ได้ ด้วยเหตุนี้จึงทำให้อินทผลัมมีด้วยกันหลากหลายสายพันธุ์ แต่สายพันธุ์ที่เหมาะสำหรับปลูกในประเทศไทยคือสายพันธุ์ แม่โจ้ 36 เป็นสายพันธุ์ที่คุณศักดิ์ ลำจวน เป็นผู้ปรับปรุงพันธุ์ขึ้นเพื่อให้เหมาะกับสภาพอากาศในเมืองไทย [1]

การขยายพันธุ์อินทผลัมเพื่อการค้าในปัจจุบันทำได้ยาก โดยทั่วไปจะขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด ซึ่งจะทำให้ลักษณะทางพันธุกรรมไม่เหมือนต้นแม่ และไม่สามารถแยกเพศได้อย่างชัดเจนหากไม่มีการออกดอก [2] เนื่องจากอินทผลัมเป็นพืชแยกเพศต่างต้น คือ มีต้นเพศผู้และต้นเพศเมียแยกกันอยู่คนละต้น อย่างที่กล่าวมาข้างต้น นอกจากนี้ยังมีวิธีการขยายพันธุ์โดยการแยกหน่ออีกหนึ่งวิธี ต้นที่ได้จากหน่อจะมี ลักษณะเหมือนต้นแม่ทุกประการ ทราบเพศอย่างชัดเจน แต่หน่อต่อต้นมีปริมาณที่น้อย ทำให้มีราคาต่อต้นค่อนข้างสูง ที่สำคัญการแยกหน่อออกจากต้นแม่หากมีการดูแลที่ไม่ดีจะทำให้เสี่ยงต่อการเกิดเชื้อรา โรครากเน่าโคนเน่า เป็นต้น การพัฒนาเทคนิคการขยายพันธุ์อินทผลัมจึงมีความจำเป็นอย่างมากสำหรับเกษตรกรที่สนใจปลูกในเชิงพาณิชย์ หากนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาทำการขยายพันธุ์เป็นวิธีหลักจะช่วยให้เกษตรกรสามารถวางแผนการปลูกและการจัดการการผลิตอินทผลัมภายในประเทศไทยได้อย่างเป็นระบบมากยิ่งขึ้น เนื่องจากต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะมีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนต้นแม่ทุกประการ ทำให้สามารถทราบเพศได้ตั้งแต่เริ่มปลูก [1] แต่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมหากต้องการเพิ่มปริมาณให้มีจำนวนมากตามที่ต้องการจะต้องทำการชักนำให้เกิดแคลลัสก่อนเสมอ

ดังนั้น การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อการขยายพันธุ์อินทผลัมพันธุ์แม่โจ้ 36 ในสภาพปลอดเชื้อโดยการใช้เนื้อเยื่อที่เหมาะสมต่อการพัฒนาแคลลัสและการพัฒนาการเกิดยอด จากการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในปริมาณความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เพื่อใช้เป็นข้อมูลอีกหนึ่งทางเลือกสำหรับการขยายพันธุ์เชิงพาณิชย์ในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตขอพืชต่อการชักนำการเกิดแคลลัสของเอ็มบริโออินทผลัม

นำเมล็ดอินทผลัมพันธุ์แม่โจ้ 36 จากบ้านสวนโกหลักอินทผลัมไทย อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่ มาใช้ในการทดลอง โดยผ่าชิ้นส่วนเอ็มบริโอภายในเมล็ดมาศึกษาร่วมกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เพื่อศึกษาการเกิดแคลลัสและการพัฒนายอด โดยมีวิธีการศึกษา ดังนี้ นำชิ้นส่วนเอ็มบริโอมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (Murashige และ Skoog, 1962) ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 2-(2,4-dichlorophenoxy) acetic acid (2,4-D) ความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 3 กรัมต่อลิตร pH = 5.7 เลี้ยงในที่มืด อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส [3] วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ โดยย้ายอาหารทุก 4 สัปดาห์

2. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการชักนำการเกิดยอด

นำแคลลัสที่ได้จากการทดลองที่ 1 มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรต่างๆดังนี้ สูตรที่ 1. MS ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (ชุดควบคุม) สูตรที่ 2. MS ร่วมกับ NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร กับ Kinetin 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตรที่ 3. MS ร่วมกับ NAA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร กับ Kinetin 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตรที่ 4. MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 45 กรัมต่อลิตร และ สูตรที่ 5. MS ร่วมกับ NAA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร กับ Kinetin 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 45 กรัมต่อลิตร pH = 5.7 เลี้ยงในอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ วันละ 16 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) จำนวน 5 ซ้ำ โดยย้ายอาหารทุก 4 สัปดาห์

ผลการทดลอง

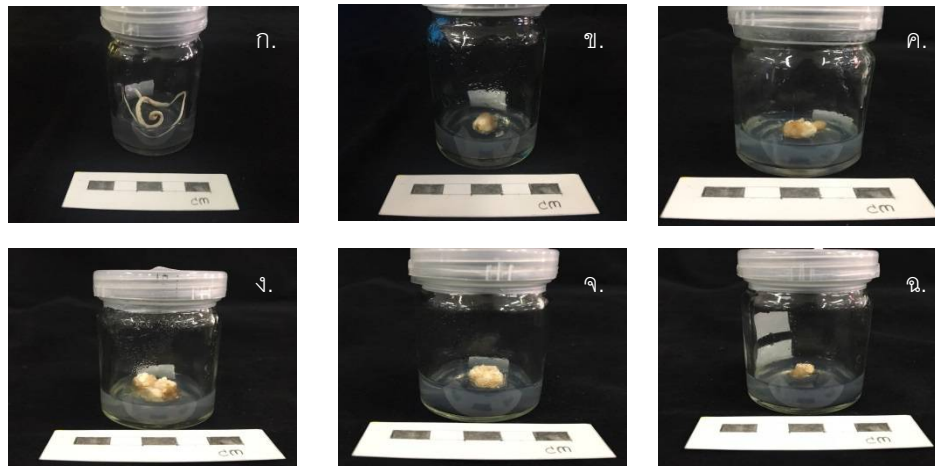
1. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการชักนำการเกิดแคลลัสของเอ็มบริโออินทผลัม

จากการศึกษาการชักนำแคลลัสโดยการใช้ชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ในปริมาณความเข้มข้นทั้งหมด 6 ระดับ คือ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระยะเวลา 4 เดือนพบว่า การเลี้ยงเอ็มบริโอบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ไม่สามารถชักนำให้เอ็มบริโอพัฒนาการเกิดแคลลัสได้ แต่เมื่อใช้อาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช พบว่า สามารถชักนำให้เอ็มบริโอมีพัฒนาการการเกิดแคลลัสได้สูงถึง 96.3 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรที่ใช้ MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 1) หลังจากนั้นนำแคลลัสที่ได้มาชั่งดูปริมาณน้ำหนักสดเฉลี่ย พบว่า บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณน้ำหนักสดเฉลี่ยอยู่ที่ 0.47 กรัม และยังพบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเพิ่มสูงขึ้นแต่ทำให้น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสมีปริมาณที่ลดต่ำลง โดยเมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของ 2,4-D เป็น 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้น้ำหนักสดเฉลี่ยอยู่เพียง 0.26 และ 0.19 กรัม ตามลำดับ และส่งผลให้แคลลัสมีขนาดที่แตกต่างกัน (รูปที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงพัฒนาการการเกิดแคลลัสและปริมาณน้ำหนักสดแคลลัสหลังเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน

สูตรอาหาร	การเกิดแคลลัส (%)	ปริมาณน้ำหนักสดแคลลัส (g)
1. MS	0.00[b]	0.00[c]
2. MS + 2 mg/L 2,4-D	18.33[b]	0.18[bc]
3. MS + 4 mg/L 2,4-D	46.67[ab]	0.36[ab]
4. MS + 6 mg/L 2,4-D	87.59[a]	0.47[a**]
5. MS + 8 mg/L 2,4-D	90.93[a]	0.26[ab]
6. MS + 10 mg/L 2,4-D	96.30[a**]	0.19[bc]
Grand Mean	56.64	0.24
C.V. (%)	35.12	38.12

หมายเหตุ: ** = ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการทดสอบ DMRT ที่ระดับ 0.01



รูปที่ 1 พัฒนาการของแคลลัสในระยะเวลา 4 เดือน ในอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ปริมาณความเข้มข้นทั้งหมด 6 ระดับ คือ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ก.-ฉ.)

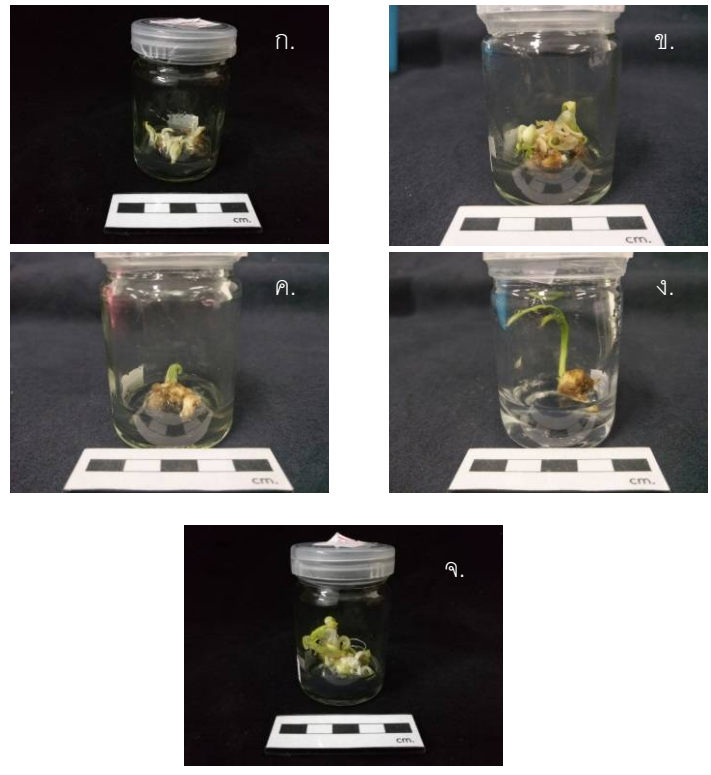
2. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการชักนำการเกิดยอด

หลังจากการนำแคลลัสที่ได้จากการทดลองที่ 1 ย้ายลงอาหารแข็งสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่า มีอัตราการรอดตายหลังการย้ายอาหารเฉลี่ยสูงสุดที่ 100 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชและ MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรกับ Kinetin ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และเฉลี่ยต่ำสุดเพียง 98 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตรกับ Kinetin ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 45 กรัมต่อลิตร และอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตรกับ Kinetin ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 45 กรัมต่อลิตร ซึ่ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่า ในระยะเวลาหลังการย้ายอาหารเพียง 2 เดือน สามารถชักนำการเกิดยอดได้ทุกสูตร (รูปที่ 2) แต่สูตรที่ 4 การเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 45 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิดยอดเฉลี่ยได้สูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์ และเฉลี่ยต่ำสุดที่ 8 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรกับ Kinetin ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่พบว่า เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร สูตร MS ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรกับ Kinetin ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร กลับส่งผลให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากแต่ไม่เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุดถึง 54 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าชุดควบคุมที่มีการเกิดรากเฉลี่ยต่ำสุดที่ 12 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 พัฒนาการ การรอด การเกิดยอด และการเกิดราก หลังการย้ายอาหารในระยะเวลา 2 เดือน

สูตรอาหาร	การรอดหลังการย้ายอาหาร(%)	การเกิดยอด (%)	การเกิดราก (%)
1. MS	100.00	28.00^{ab}	12.00^{b}
2. MS + 2 mg/L NAA + 0.2 mg/L Kinetin	100.00	8.00^{c}	54.00^{a*}
3. MS + 4 mg/L NAA + 0.4 mg/L Kinetin	98.00	14.00^{bc}	32.00^{ab}
4. MS + 45 g/L Sucrose	98.00	30.00^{a**}	34.00^{ab}
5. MS + 4 mg/L NAA + 0.4 mg/L Kinetin + 45 g/L Sucrose	98.00	18.00^{abc}	40.00^{a}
Grand Mean	98.80	19.60	34.40
C.V. (%)	3.35	38.67	35.18

หมายเหตุ: *,** = ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการทดสอบ DMRT ที่ระดับ 0.05 และ 0.01 ตามลำดับ



รูปที่ 2 พัฒนาการของการเกิดยอดในระยะเวลา 2 เดือน ก. สูตรอาหาร MS ธรรมดา ข. สูตรอาหาร MS + 2 mg/L NAA + 0.2 mg/L Kinetin ค. สูตรอาหาร MS + 4 mg/L NAA + 0.4 mg/L Kinetin ง. สูตรอาหาร MS + 45 g/L Sucrose จ. สูตรอาหาร MS + 4 mg/L NAA + 0.4 mg/L Kinetin + 45 g/L Sucrose

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาการชักนำแคลลัสโดยการใช้ชิ้นส่วนเอ็มบริโอของเมล็ดอินทผลัมพันธุ์แม่โจ้ 36 ส่งผลให้มีพัฒนาการที่แตกต่างกันออกไปทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเข้ามาเกี่ยวข้อง สอดคล้องกับ Blake [4] ว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มคือ 2,4-D โดยการชักนำแคลลัสของเอ็มบริโออินทผลัม อาหารสูตรที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุดถึง 96.30 เปอร์เซ็นต์ คือ อาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งให้ผลที่สูงกว่า Othmani และคณะ [5] ที่ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีผลต่อการชักนำ embryogenic calli จากใบอินทผลัมพันธุ์ Boufeggous ทั้งหมด 3 ขนาด พบว่า ใบอินทผลัมที่มีขนาด 5-10 มิลลิเมตรสามารถชักนำเอ็มบริโอเจนิกแคลลัส (embryogenic callus) ได้ 36.66 เปอร์เซ็นต์ บนสูตรอาหาร MS ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูงกว่า Suwanaro [3] ที่ทำการศึกษาการชักนำแคลลัสโดยการใช้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อบริเวณตายอดของอินทผลัมร่วมกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (2,4-D) ที่ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0, 2, 4 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร บนอาหารแข็งสูตร MS พบว่า เนื้อเยื่อบริเวณตายอดสามารถชักนำ

แคลลัสได้สูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์ในระยะเวลา 16 สัปดาห์ บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ใช้ในการทดลองมีความเข้มข้นที่น้อยกว่า Kurup และคณะ [6] ที่ศึกษาการใช้เนื้อเยื่อส่วนหน่อมาทำการชักนำให้เกิดแคลลัสโดยใช้อาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำแคลลัสได้ 73.33 เปอร์เซ็นต์ ปกติทั่วไปการชักนำแคลลัสจะต้องใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชด้วยกันถึงสองกลุ่มคือกลุ่มออกซินและกลุ่มไซโตไคนิน แต่สำหรับอินทผลัมแล้วการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซินเพียงอย่างเดียวก็สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เช่นกัน [7] นอกจากนี้ปริมาณความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต ของพืชยังส่งผลต่อปริมาณน้ำหนักสดแคลลัสอีกด้วย โดยพบว่า หลังจากการเลี้ยงเอ็มบริโอในอาหารแข็งสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 4 เดือน น้ำหนักสดแคลลัสที่มีปริมาณเฉลี่ยสูงที่คือ 0.47 กรัม บนอาหารแข็ง สูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของ 2,4-D สูงขึ้นเป็น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้ปริมาณน้ำหนักแคลลัสเฉลี่ยลดต่ำลงเหลือเพียง 0.19 กรัม แต่แคลลัสที่ถูกชักนำจากเอ็มบริโอในความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 6 ระดับ ยังมีปริมาณน้ำหนักสดที่น้อยกว่า Intha และคณะ [8] ที่ทำการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนของหน่อข้างด้วย 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นใกล้เคียงกัน

การศึกษาการชักนำการเกิดยอดจากแคลลัสอินทผลัมพบว่า เมื่อทำการย้ายลงอาหารใหม่แคลลัส จากเอ็มบริโออินทผลัม มีเปอร์เซ็นต์การรอดเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกันตั้งแต่ 98 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และสามารถชักนำการเกิดยอดได้สูงสุดถึง 30 เปอร์เซ็นต์ในอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแต่เพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสจากปกติ 30 กรัมต่อลิตร เป็น 45 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช สามารถชักนำการเกิดยอดได้ 28 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับ Tisserat และ DeMason [9] ที่กล่าวว่า แคลลัสของอินทผลัมสามารถเกิดยอดได้โดยไม่ต้องใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และ Suwanaro [3] ที่ศึกษาการเกิดยอดของแคลลัสอินทผลัม หลังจากการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่า อาหารแข็งสูตร MS ที่เพิ่มปริมาณน้ำตาลเป็น 45 กรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิดยอดได้ 50 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกับ Abd El Bar และ El Dawayati [10] ที่ทำการศึกษาการชักนำการเกิดยอดของอินทผลัมโดยใช้เนื้อเยื่อเริ่มต้นจากส่วนใบ พบว่า การชักนำการเกิดยอดของ อินทผลัมต้องใช้อาหารสูตร MS ร่วมกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มของไซโตไคนิน คือ BA ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงจะสามารถชักนำให้เกิดยอดได้และมีอัตราสูงถึง 66.66 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลับไม่สามารถชักนำการเกิดยอดได้เลย นอกจากนี้ยังพบว่า หลังจากย้ายแคลลัสลงในอาหารแข็งที่ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซินกับไซโตไคนิน ส่งผลให้แคลลัสมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเพียงอย่างเดียวสูงสุดถึง 54 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ บนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร กับ Kinetin 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเกิดรากสูงกว่า Abd El Bar และ El Dawayati [10] ที่ใช้อาหารสูตร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช NAA ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว

จากการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการพัฒนาเอ็มบริโออินทผลัมพันธุ์แม่โจ้ 36 ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการชักนำแคลลัสของเอ็มบริโออินทผลัมพันธุ์แม่โจ้ 36 คือ อาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากสามารถชักนำให้น้ำหนักสดเฉลี่ยของแคลลัสที่ได้มีค่าสูงถึง 0.47 กรัม ถึงแม้จะชักนำให้เกิดแคลลัสเฉลี่ยได้เพียง 87.59 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การชักนำแคลลัสไม่แตกต่างจากอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตรที่มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 96.30 เปอร์เซ็นต์แต่ให้ปริมาณน้ำหนักสดเฉลี่ย เพียง 0.19 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการชักนำการเกิดยอด พบว่า การเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชสามารถชักนำการเกิดยอดได้สูงที่สุด โดย หากเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชแต่เพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสเป็น 45 กรัมต่อลิตร จะสามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชและไม่เพิ่มปริมาณน้ำตาล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ถึง 28 เปอร์เซ็นต์ แต่หากเลี้ยงบนอาหารแข็งที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินและไซโตไคนินจะทำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากแต่ไม่เกิดยอดเฉลี่ยมากถึง 54 เปอร์เซ็นต์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สำนักพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ที่สนับสนุนทุนวิจัย บ้านสวนโกหลักอินทผลัมไทย ที่อนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์อินทผลัมพันธุ์แม่โจ้ 36 ศูนย์กล้วยไม้และไม้ดอกไม้ประดับ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อนุเคราะห์เรื่องสถานที่และอุปกรณ์ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Muangngam, R. (2016). *Date palm crops to millions*. 1st Edition. Bangkok. Maebaan. p. 112. (in Thai)
2. Elmeer, K., & Mattat, I. (2012). Marker-assisted sex differentiation in date palm using simple sequence repeats. *3 Biotech*, *2*(3), 241-247.
3. Suwanaro, T. (1986). Clonal propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Faculty of Agriculture. Department of Horticulture. Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
4. Blake, J. (1983). Tissue culture propagation of coconut, date and oil palm. In *Tissue culture of trees*. Springer, Boston, MA. (pp. 29-50).
5. Othmani, A., Bayoudh, C., Drira, N., Marrakchi, M., & Trifi, M. (2009). Somatic embryogenesis and plant regeneration in date palm *Phoenix dactylifera* L., cv. Boufeggous is significantly improved by fine chopping and partial desiccation of embryogenic callus. *Plant Cell*, *Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *97*(1), 71-79.
6. Kurup, S. S., Aly, M. A., Lekshmi, G., & Tawfik, N. H. (2014). Rapid in vitro regeneration of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Kheneizi using tender leaf explant. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 539-544.

7. Witham, F. H. (1968). Effect of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid on the cytokinin requirement of soybean cotyledon and tobacco stem pith callus tissues. *Plant Physiology*, *43*(9), 1455-1457.
8. Intha, N., Sujipuli, K., Chareonsap, P.P. & Chaiprasart, P. (2016). Somatic embryo induction of Thai date palm micropropagation. *Songklanakarin Journal of Plant Science*, *3*(1). 44-49. (in Thai)
9. Tisserat, B., & DeMason, D. A. (1980). A histological study of development of adventive embryos in organ cultures of *Phoenix dactylifera* L. *Annals of Botany*, *46*(4), 465-472.
10. Abd El Bar, O. H., & El Dawayati, M. M. (2014). Histological changes on regeneration *in vitro* culture of date palm (*'Phoenix dactylifera'*) leaf explants. *Australian Journal of Crop Science*, *8*(6), 848-855.