วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 28:3(36-43)

การชักนำพอลีพลอยด์และลักษณะสัณฐานของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน

Polyploid Induction and Morphological Characters of Oil Palm Seedlings (*Elaeis guineensis* Jacq.)

สิทธิพงษ์ พรมมา[1] และ ธีระ เอกสมทราเมษฐ์[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อชักนำให้เกิดพอลีพลอยด์ และสังเกตการเปลี่ยนแปลงของลักษณะสัณฐานของปาล์มน้ำมันในระยะกล้าอายุ 12 เดือน โดยใช้เมล็ดงอกปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมเทเนอราจากโครงการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จุ่มแช่สารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 2.5 5.0 และ 7.5 mM และระยะเวลาในการจุ่มแช่สาร 5 เวลา คือ 3 6 12 24 และ 48 ชม. ทำการประเมินความมีชีวิตรอดของกล้าปาล์มและการเปลี่ยนแปลงระดับโครโมโซมเบื้องต้นด้วยวิธีการวัดขนาด และความหนาแน่นปากใบ หลังจากนั้นทำการยืนยันด้วยการนับจำนวนโครโมโซมจากปลายราก ผลการศึกษา พบว่า เมล็ดงอกที่ผ่านการจุ่มแช่สารที่ระดับความเข้มข้นสูงและระยะเวลานานมีแนวโน้มทำให้ความมีชีวิตรอดของกล้าปาล์มลดลง โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 7.5 mM นาน 48 ชม. กล้าปาล์มมีชีวิตรอดต่ำสุด (17.78%) ต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่คาดว่าเป็นต้นพอลีพลอยด์พบในทรีทเมนต์ต่าง ๆ มีความแปรปรวนอยู่ระหว่าง 2.70-37.50% ของต้นที่รอดชีวิต แต่เฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 7.5 mM จุ่มแช่สารนาน 48 ชม เท่านั้นที่พบกล้าปาล์มแบบเททระพลอยด์ คิดเป็น 7.69 และ 12.5% ของต้นที่รอดชีวิต ตามลำดับ ทรีทเมนต์อื่นๆ ส่วนใหญ่ พบกล้าปาล์มแบบมิกโซพลอยด์ อยู่ระหว่าง 2.63 ถึง 23.08% ของต้นที่รอดชีวิต ต้นพอลีพลอยด์ที่ได้มีลักษณะสัณฐาน เช่น ความสูง ขนาดโคนต้น การสร้างใบขนนก และลักษณะความหนาแน่นของปากใบต่ำกว่าต้นดิพลอยด์ แต่มีขนาดของปากใบใหญ่กว่า โดยระดับโครโมโซมในปาล์มน้ำมันมีสหสัมพันธ์ในทางบวกกับความกว้างและความยาวของปากใบ แต่มีสหสัมพันธ์ในทางลบกับความหนาแน่นของปากใบ

คำสำคัญ : ปาล์มน้ำมัน โคลชิซิน โพลีพลอยด์ ลักษณะสัณฐาน สหสัมพันธ์

Abstract

This study aimed to induce polyploidy and determine the morphological characters in 12-month-old oil palm seedlings. The germinated seeds of a hybrid tenera variety derived from Prince of Songkla University (PSU) breeding program were used in the experiment. The treatments consisted of three colchicine concentrations (2.5, 5.0 and 7.5 mM) and five durations of immersion (3, 6, 12, 24 and 48 h). The survival rate of seedlings was evaluated. The putative polyploidy palms were observed via sizes (width and length) and densities of stomata from all survived seedlings. Polyploidys were confirmed via chromosome count from root tips. The results found that the survival rate of treated palms decreased in high concentration of colchicine and long length of time in immersion, especially at 7.5 mM for 48 h giving the lowest surviving plants at 17.78%. The putative polyploidy palms were observed in most treatments, varied between 2.70 to 37.50% of the survival palms. However, only the treatments of 5.0 and 7.5 mM with 48 h immersion gave the tetraploids at 7.69 and 12.5% of survival palms, respectively. Most other treatments provided mixoploids, ranged between 2.63 to 23.08% of survival palms. Morphological charac-

[1]ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ters of polyploidy palms including height, width of bulb, number of pinnate leaves and densities of stomata were lower than the diploid palms, except for stomata sizes which were higher. Highly positive correlation was observed between stomata size and ploidy level. In contrast, the stomatal densities gave highly negative correlation with ploidy level.

Keywords : Oil palm, Polyploidy, Colchicine, Morphological characters, Correlations

คำนำ

ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq., 2n=2x=32) เป็นพืชน้ำมันที่ให้ผลผลิตน้ำมันต่อไร่ต่อปีสูงที่สุดในบรรดาพืชน้ำมันทั้งหลาย (ธีระ, 2548 ; Corley and Tinker, 2003) จัดเป็นพืชยืนต้นผสมข้าม ปกติใช้เมล็ดในการขยายพันธุ์ เริ่มให้ผลผลิตเมื่อปลูกลงแปลงแล้วประมาณ 3 ปี และสามารถให้ผลผลิตได้ต่อเนื่องนานกว่า 25 ปีขึ้นไป น้ำมันปาล์มที่สกัดได้ถูกนำไปใช้ประโยชน์อย่างมากมายทั้งในด้านอุปโภคและบริโภค ในปัจจุบันยังถูกนำมาใช้เป็นพืชพลังงานทดแทนในการผลิตน้ำมันไบโอดีเซล พันธุ์การค้าที่ปลูกกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน คือพันธุ์เทเนอรา (Tenera) ที่มีกะลาบาง ซึ่งเป็นพันธุ์ลูกผสมระหว่างแม่พันธุ์ ดูรา (Dura) ที่มีกะลาหนา และพ่อพันธุ์พิสิเฟอรา (Pisifera) ที่ไม่มีกะลาหรือกะลาบางมาก (ธีระ และคณะ 2544 ; ธีระ, 2548) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าฐานพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์ปลูกค่อนข้างแคบ (Kushairi and Rajanaidu, 2000) ซึ่งเป็นอุปสรรคสำคัญต่อความก้าวหน้าในการปรับปรุงพันธุ์ของพืชนี้

การจัดการเกี่ยวกับยีนและโครโมโซมโดยการชักนำให้พืชเกิดพอลีพลอยด์ (polyploid) เป็นวิธีการหนึ่งที่พบว่าสามารถขยายฐานพันธุกรรมของพืชให้กว้างขึ้นเพื่อประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ (Thao *et al.*, 2003) โดยสารเคมีที่นิยมนำมาใช้มากที่สุด คือสารโคลชิซิน ส่วนวิธีการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงระดับโครโมโซมในพืชที่นิยมใช้ได้แก่ วิธีการโฟลไซโตรเมทรีซึ่งเป็นวิธีที่แม่นยำ และรวดเร็ว แต่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง ดังนั้นการวัดขนาด และความหนาแน่นของปากใบ จึงเป็นวิธีการที่สามารถใช้ทดแทนเพื่อคัดเลือกพืชพอลีพลอยด์ในเบื้องต้นได้ (Yang *et al.*, 2006) เนื่องจากพืชพอลีพลอยด์ที่ได้มักมีลักษณะเด่น เช่น ขนาดของผลใหญ่ขึ้น ผลผลิตเพิ่มขึ้น และปริมาณสารทุติยภูมิเพิ่มขึ้นในพืชสมุนไพร เป็นต้น (Thao *et al.*, 2003)

ในการศึกษาครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อชักนำให้เกิดพอลีพลอยด์ในปาล์มน้ำมัน และสังเกตการเปลี่ยนแปลงของลักษณะสัณฐานของปาล์มน้ำมันในระยะกล้า โดยใช้เมล็ดงอกปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมเทเนอรา จุ่มแช่สารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น ในระยะเวลาต่าง ๆ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การชักนำพอลีพลอยด์และการจัดการกล้าปาล์มน้ำมัน

ใช้เมล็ดงอกพันธุ์ลูกผสมเทเนอรา (DxP) ที่ได้มาจากโครงการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยคัดเลือกเมล็ดงอกที่สมบูรณ์และมีจำนวนยอดเพียง 1 ต้นต่อเมล็ด มาแช่ด้วยสารโคลชิซินที่ละลายในน้ำกลั่นในระดับความเข้มข้น จำนวน 3 ระดับ คือ 2.5 5.0 และ 7.5 mM และระยะเวลาในการจุ่มแช่สารจำนวน 5 ระยะเวลา คือ 3 6 12 24 และ 48 ชม. แต่ละระดับความเข้มข้นและระยะเวลาการจุ่มแช่สาร ใช้เมล็ดงอกจำนวน 45 เมล็ด นำเมล็ดงอกมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นภายหลังการจุ่มแช่สารทุกครั้ง แล้วจึงนำไปปลูกภายใต้สภาพร่มเงาของแสง 50%ในถุงพลาสติกสีดำ ขนาด 15x23ซม. หนา 250 เกจ ที่บรรจุวัสดุปลูกซึ่งประกอบด้วยดิน 3 ส่วน แกลบ 1 ส่วน และปุ๋ยคอก 1 ส่วน ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน เมื่อกล้าปาล์มมีอายุครบ 3 เดือน ทำการย้ายกล้าลงในถุงพลาสติกขนาด 45 x 45 ซม. หนา 500 เกจ ที่บรรจุวัสดุปลูกเช่นเดียวกันภายใต้สภาพที่มีแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อกล้าปาล์มน้ำมันอายุ 12 เดือน ทำการตรวจสอบการเพิ่มชุดโครโมโซมเบื้องต้นด้วยวิธีการวัดขนาดความกว้าง ความยาว และความหนาแน่นของปากใบ โดยทำการวัดกล้าปาล์มทุกต้นที่รอดชีวิต เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของแต่ละต้นกับตัวอย่างของชุดควบคุม โดยใช้วิธี t-test (ที่ $P<0.01$) หลังจากนั้นทำการคัดเลือกต้นที่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับชุดควบคุม เพื่อไปยืนยันผลด้วยวิธีการนับจำนวนโครโมโซมของปลายราก

บันทึกจำนวนต้นที่ได้รับการยืนยันว่ามีชุดโครโมโซมเพิ่มขึ้นในแต่ละทรีทเมนต์ แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเพิ่มชุดโครโมโซมต่อต้นที่รอดชีวิตต่อทรีทเมนต์ หลังจากนั้นทำการแบ่งกลุ่มของกล้าปาล์มน้ำมันโดยใช้ระดับความแตกต่างของโครโมโซมเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มดิพลอยด์ มาจากชุดควบคุมที่ไม่ได้แช่สารโคลชิซิน (control) และดิพลอยด์สุ่มมาจากทรีทเมนต์ที่แช่สารโคลชิซิน กลุ่มเททระพลอยด์ และกลุ่มมิกโซพลอยด์ ทำการเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานของกล้าปาล์มน้ำมันทั้ง 4 กลุ่ม ได้แก่ลักษณะ ความสูง ความกว้างโคนต้น จำนวนใบหอก ใบหางปลา และใบขนนก ขนาดความกว้าง ความยาว และความหนาแน่นปากใบ เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้วิธี F-test ($p<0.05$) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD (Least Significant Difference, $p<0.05$) และทำการประเมินค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะขนาดความกว้างปากใบ ความยาวปากใบ ความหนาแน่นปากใบ และระดับโครโมโซม

2. วิธีการตรวจสอบขนาด และ ความหนาแน่นของปากใบ

สุ่มตัดใบปาล์มน้ำมันขนาดประมาณ 3x3 ซม.จากใบปาล์มน้ำมันจำนวน 3 ใบ นำตัวอย่างใบที่ได้มาลอกเนื้อเยื่อใต้แผ่นใบด้วยใบมีดโกน และดึงออกด้วยปากคีบแล้วนำมาวางบนแผ่นสไลด์ที่หยดน้ำไว้ ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบคอมพาวด์ที่กำลังขยาย 400 เท่า วัดขนาดความกว้าง ความยาว ของปากใบจำนวน 10 เซลล์ ต่อใบ สำหรับความหนาแน่นของปากใบ นับจำนวนปากใบจากพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร จำนวน 5 พื้นที่ต่อ 1 ต้น

3. วิธีการนับจำนวนโครโมโซม

เก็บปลายรากของกล้าปาล์มน้ำมัน โดยตัดส่วนปลายรากขนาดเล็ก ยาว 1-2 เซนติเมตรในช่วงเวลา 10-11 นาฬิกา มาใส่ในหลอดแก้วที่บรรจุสารพรีแช่เมนต์ 8-Hydroxyquinoline เก็บไว้นาน 5-6 ชม. ที่อุณหภูมิ 4 $^{\circ}$C จากนั้นนำปลายรากใส่ในหลอดที่บรรจุ Canoy's fluid (absolute ethanol : glacial acetic acid อัตราส่วน 3:1) นาน 24 ชม. ที่อุณหภูมิ 10 $^{\circ}$C เก็บในที่มืด และนำปลายรากล้างด้วยน้ำกลั่น และแช่ในกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น 1 N ที่อุณหภูมิ 60 $^{\circ}$C นาน 2 นาที นำปลายรากที่ได้ไปล้างในน้ำกลั่น แล้วนำมาตัดส่วนปลายรากประมาณ 1-2 มิลลิเมตร นำมาวางบนสไลด์และหยดอะซีโตคาร์มีนเข้มข้น 2 % ประมาณ 1-2 หยด นาน 15 นาที ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วใช้ปลายดินสอที่มีด้านเป็นยางลบเคาะเบา ๆ ให้เซลล์แตกแล้วนำไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบคอมพาวด์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า นับเซลล์ในระยะเมทาเฟส จำนวน 5 เซลล์ต่อราก ทำ 3 รากต่อต้น

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของโคลชิซินต่อความมีชีวิตรอดและการเพิ่มชุดโครโมโซม

ความมีชีวิตรอดของกล้าปาล์มน้ำมัน ภายหลังการจุ่มแช่สารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นในระยะเวลาต่าง ๆ แสดงใน Table 1 พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นและระยะเวลามีแนวโน้มทำให้กล้าปาล์มมีชีวิตรอดลดลง โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 7.5 mM เป็นเวลา 48 ชม.ทำให้กล้าปาล์มมีชีวิตรอดต่ำสุดเพียง 17.78%ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Madon *et al.* (2005)

ผลการตรวจสอบกล้าปาล์มอายุ 12 เดือนที่รอดชีวิตทั้งหมดเบื้องต้นด้วยวิธีการวัดความแตกต่างของขนาดและความหนาแน่นของปากใบเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (Table 1) พบว่า ทรีทเมนต์ส่วนใหญ่มีต้นที่คาดว่าจะเป็นพอลีพลอยด์อยู่ระหว่าง 1 – 8 ต้น (คิดเป็น 2.70-37.50% ของต้นกล้า) โดยที่ระดับความเข้มข้น 5 mM ที่ระยะเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การจุ่มแช่สารต่าง ๆ มีโอกาสพบต้นที่คาดว่าจะเป็นพอลีพลอยด์สูงสุด และเมื่อนำต้นดังกล่าวไปตรวจสอบเพื่อยืนยันผลด้วยวิธีการนับโครโมโซมปลายราก พบว่า มีทั้งต้นที่ไม่มีการเพิ่มชุดโครโมโซม (Figure 1A) และมีการเพิ่มชุดโครโมโซมของกล้าปาล์มน้ำมัน ซึ่งแบบที่เพิ่มเกิดขึ้น 2 แบบ คือ เททระพลอยด์ (Figure 1B) และ มิกโซพลอยด์ โดยกล้าปาล์มที่มีโครโมโซมแบบมิกโซพลอยด์มีโอกาสเกิดขึ้นได้สูงกว่าแบบเททระพลอยด์ (Table 1) การเกิดพอลีพลอยด์แบบมิกโซพลอยด์ พบได้ในทุกระดับความเข้มข้นของสาร โดยมีระยะเวลาในการจุ่มแช่สารเป็นปัจจัยสำคัญต่อการชักนำ คือ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (2.5 mM) ต้องใช้ระยะเวลาในการจุ่มแช่สาร (24 และ 48 ชม.) มากกว่าที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่า (5 และ 7.5 mM) ซึ่งใช้ระยะเวลาในการจุ่มแช่สาร ตั้งแต่ 12 ชม. เป็นต้นไป สอดคล้องกับ Li *et al.* (2007) ที่รายงานว่าระดับความเข้มข้นของสารโคลซิซินและระยะเวลาการจุ่มแช่สารมีความสัมพันธ์ในเชิงลบ สำหรับพอลีพลอยด์แบบเททระพลอยด์ จะพบเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 7.5 mM ที่ระยะเวลาการจุ่มแช่สารนาน 48 ชม. โดยพบจำนวน 2 และ 1 ต้น ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ Madon *et al.* (2005) ที่ไม่พบต้นเททระพลอยด์ในปาล์มน้ำมันเกิดขึ้นที่ความเข้มข้น 2.5 mM เช่นกัน แต่พบที่ความเข้มข้น 5.0 mM ที่ระยะเวลาจุ่มแช่สารนาน 24 ชม. ซึ่งแตกต่างจากการทดลองนี้ ที่ต้องใช้ระยะเวลาจุ่มแช่สารนาน 48 ชม. จึงพบต้นเททระพลอยด์ แสดงให้เห็นว่าความแตกต่างของยีโนไทป์ของปาล์มน้ำมันอาจตอบสนองต่อระยะเวลาที่ใช้ในการจุ่มแช่สารที่แตกต่างกันเพื่อชักนำให้เกิดพอลีพลอยด์แบบเททระพลอยด์

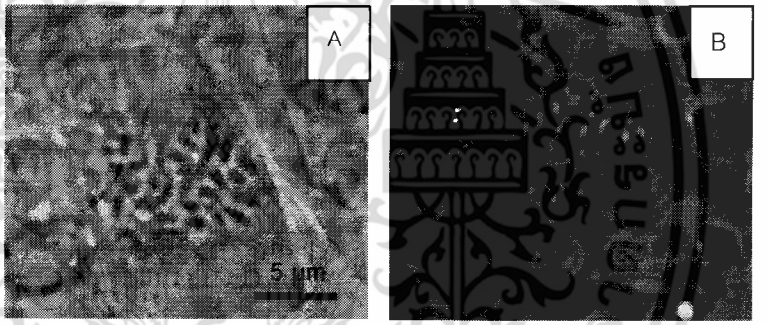

Figure 1 Chromosome of 12-month-old oil palm seedlings after treated with colchicines; diploid 2n=2x=32 (included treated and untreated colchicine, A), tetraploid 2n=2x=64 (B)

2. ผลของพอลีพลอดย์ต่อลักษณะทางสัณฐานและปากใบของกล้าปาล์มน้ำมัน

ผลการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานของกล้าปาล์มพอลีพลอยด์กับดิพลอยด์จากชุดควบคุม (Figure 2) ที่อายุ 12 เดือน พบว่าต้นเททระพลอยด์ และมิกโซพลอยด์ มีลักษณะความสูง ขนาดโคนต้น จำนวนใบรูปขนนก น้อยกว่าต้นปาล์มดิพลอยด์ (Table2) แต่ไม่มีความแตกต่างในลักษณะจำนวนใบรูปหอกกับใบรูปหางปลา เมื่อเปรียบเทียบระหว่างต้นเททระพลอยด์ และมิกโซพลอยด์ พบว่า ต้นเททระพลอยด์ยังไม่มีการสร้างใบรูปขนนก ในขณะที่ต้นมิกโซพลอยด์มีใบขนนกเกิดขึ้นเฉลี่ย 3.26 ใบ ส่วนลักษณะความสูงและขนาดโคนต้นมีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน ปกติต้นกล้าปาล์มน้ำมันจะใช้ลักษณะการสร้างใบใหม่เป็นตัวบอกถึงการเจริญเติบโต (ชูจิตต์ และคณะ, 2536) การที่ต้นเททระพลอยด์มีการเจริญเติบโตช้าและยังไม่มีการสร้างใบขนนกเกิดขึ้นอาจเนื่องจากการสะสมน้ำหนักแห้งเพื่อเพิ่มขนาดโคนต้น และความสูงยังไม่เพียงพอต่อการผลิตใบขนนกขึ้นมา ซึ่งตามรายงานของ น้ำอ้อย และธีระ (2551) ทำการประเมินค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของลักษณะการสร้างใบรูปขนนก กับขนาดโคนต้น และความสูง พบว่าสัมพันธ์ในทางบวก นอกจากนี้อาจมี สาเหตุมาจากการทำงานที่ผิดปกติทางสรีรวิทยาที่เกิดจากการลดอัตราการแบ่งเซลล์ลง (Swanson, 1957) สำหรับต้นมิกโซพลอยด์ซึ่งมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าต้นเททระพลอยด์ อาจเนื่องมาจากเซลล์บางส่วนไม่ได้ถูกทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครโมโซมจึงยังคงมีกระบวนการทางสรีรวิทยาที่ปกติ ส่วนต้นดิพลอยด์ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุ่มมาจากทรีทเมนต์ที่มีการแช่สารโคลชิชินระดับต่าง ๆ ซึ่งตรวจสอบแล้วไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับโครโมโซม ก็ไม่พบความแตกต่างของลักษณะทางสัณฐานเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้แช่สาร แสดงให้เห็นว่าสารโคลชิชินไม่มีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของกล้าปาล์มน้ำมัน แต่ความแตกต่างที่เกิดขึ้นมาจากผลของการเปลี่ยนแปลงในระดับโครโมโซม

Table 1 Effect of colchicine concentration and duration of immersion on survivals and polyploidy no. in oil palm seedlings

Colchicine concentration (mM)	Duration of immerse (h)	Seedling survival rate (%)	No. of putative polyploidy palms[a]	No. of tetraploid palms[b]	No. of mixoploid palms[b]
0 (control)		84.44	0 (0[c])	0 (0)	0 (0)
2.5	3	84.44	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	6	91.11	2 (4.48)	0 (0)	0 (0)
	12	88.89	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	24	82.22	1 (2.70)	0 (0)	1 (2.70)
	48	71.11	4 (12.5)	0 (0)	3 (9.38)
5	3	77.78	2 (5.71)	0 (0)	0 (0)
	6	88.89	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	12	75.56	1 (2.94)	0 (0)	1 (2.94)
	24	68.89	2 (6.45)	0 (0)	2 (6.45)
	48	57.78	8 (30.77)	2 (7.69)	6 (23.08)
7.5	3	77.78	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	6	82.22	2 (5.41)	0 (0)	0 (0)
	12	84.44	1 (2.63)	0 (0)	1 (2.63)
	24	53.33	2 (8.33)	0 (0)	0 (0)
	48	17.78	3 (37.5)	1 (12.5)	1 (12.5)

[a] Detected via stomatal size and density of all survived seedlings.
[b] Detected via chromosome count from root tips of all putative polyploidy palms
[c] Percentage of survived seedlings.

เมื่อพิจารณาขนาด (ความกว้างและยาว) และความหนาแน่นปากใบ พบว่าในกล้าปาล์มพอลีพลอยด์ ทั้งแบบเททระพลอยด์ และมิกโซพลอยด์ มีขนาดปากใบใหญ่ และมีความหนาแน่นต่ำกว่าต้นดิพลอยด์ในชุดควบคุม (Table 2 และ Figure 3 C,D) สอดคล้องกับรายงานที่ได้กล่าวว่าลักษณะขนาด และความหนาแน่นของปากใบเป็นตัวบ่งบอกถึงระดับโครโมโซมที่เปลี่ยนแปลงไป (Hamill *et al*, 1992; Kadota and Niimi, 2002; Thao *et al*, 2003; Gu *et al*, 2005; Chen and Gao, 2007) จากการประเมินค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ระหว่างลักษณะระดับโครโมโซมกับลักษณะปากใบ(Table 3) พบว่า ระดับโครโมโซมมีความสัมพันธ์ทางบวกกับความกว้าง และความยาวของปากใบ (r=0.60 และ 0.81 ตามลำดับ) แต่มีความสัมพันธ์ในทางลบกับความหนาแน่นของปากใบ (r=-0.67) แสดงว่า ถ้ามีการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมเกิดขึ้นขนาดความกว้าง และความยาวปากใบก็จะเพิ่มขึ้น แต่จะมีจำนวนเซลล์ปากใบต่อพื้นที่ลดลง ส่วนขนาดความกว้างของปากใบนั้นมีความสัมพันธ์ในทางบวกต่อขนาดความยาวของปากใบ แต่มีความสัมพันธ์ทางลบกับความหนาแน่นของปากใบ (r= 0.37 และ -0.59 ตามลำดับ) และขนาดความยาวของปากใบก็

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่ามีความสัมพันธ์ทางลบต่อความหนาแน่นของปากใบเช่นเดียวกัน (r=-0.50) (Table 3) ตารางค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์นี้สร้างขึ้นมาเพื่อช่วยยืนยันผลของความสอดคล้องกันระหว่างลักษณะทางปากใบที่สัมพันธ์ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับโครโมโซม และช่วยบอกถึงความสำคัญของวิธีการวัดขนาดปากใบเพื่อใช้ในการคัดเลือกต้นพอลีพลอยด์เบื้องต้น ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย ไม่ทำลายต้น ไม่เสียค่าใช้จ่ายมาก (Yang *et al*, 2006) และให้ผลค่อนข้างแม่นยำ

Figure 2 Morphology of 12-month-old oil palm seedlings after treated with colchicines; diploid 2n=2x=32 (left), tetraploid 2n=2x=64 (right)

Table 2 Morphological and stomatal characters in different ploidy levels of oil palm seedlings

Characters	control	diploids[1]	tetraploids	mixoploids	F -test	C.V.[2] (%)
Height (cm.)	18.78a	18.24a	9.50b	11.53b	**	30.29
Width of bulb (cm.)	4.94a	4.16ab	2.70b	3.32b	**	28.21
Number of lanceolate[3]	3.44	3.12	3.40	2.90	ns	26.64
Number of bifurcate	6.20	5.00	6.33	5.80	ns	28.63
Number of pinnate	6.44a	6.60a	0.00c	3.26b	**	52.57
Total leaf production	12.88a	12.37a	8.33b	10.26ab	**	20.82
Stomata width (μm)	20.25ab	17.58b	23.4a	22.5a	*	8.27
Stomata length (μm)	30.75b	30.65b	37.08a	36.65a	**	5.61
Stomata density (mm^2)	76.00a	68.00ab	46.12b	46.40b	*	21.75

[1] Random diploid from colchicine treatments
[2] Coefficient of variation
[3] 3 month-old seedlings
* significantly different at $p < 0.05$
** significantly different at $p < 0.01$
ns not significant
Mean values within the same row followed by the same letters are not significantly different as tested by Least Significant Difference ($p < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

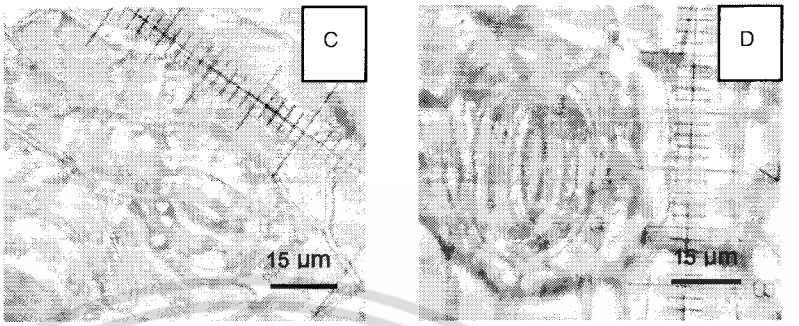

Figure 3 stomatal characters of 12-month-old oil palm seedlings after treated with colchicines; diploid palm (C), tetraploid palm (D)

Table 3 Correlation coefficient between ploidy levels and stomatal characters of 12-month-old oil palm seedlings

Characters	Ploidy levels	Stomatal width	Stomatal length
Stomatal width	0.60**	-	
Stomatal length	0.81**	0.37**	-
Stomatal density	-0.67**	-0.59**	-0.50**

** significant at $p < 0.01$

สรุป

การศึกษาในครั้งนี้สามารถชักนำให้เกิดพอลีพลอยด์ในปาล์มน้ำมัน โดยพบต้นแบบมิกโซพลอยด์ มากกว่าแบบเททระพลอยด์ การชักนำให้เกิดต้นเททระพลอยด์ จากเมล็ดงอกปาล์มน้ำมันควรใช้ สารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 7.5 mM โดยมีระยะเวลาในการจุ่มแช่สารนาน 48 ชม. ต้นพอลีพลอยด์ที่ได้มีลักษณะสัณฐาน เช่น ความสูง ขนาดโคนต้น และการสร้างใบขนนก และลักษณะความหนาแน่นของปากใบ ต่ำกว่าต้นดิพลอยด์ แต่มีขนาดของปากใบใหญ่กว่า โดยระดับโครโมโซมในปาล์มน้ำมันมีสหสัมพันธ์ในทางบวกกับความกว้าง และความยาวของปากใบ แต่มีความสัมพันธ์ในทางลบกับความหนาแน่นของปากใบ การใช้วิธีการวัดขนาด และความหนาแน่นของปากใบจึงเป็นวิธีการเบื้องต้นที่เหมาะสมเพื่อช่วยคัดเลือกต้นพอลีพลอยด์ของปาล์มน้ำมัน ก่อนการนับจำนวนโครโมโซมจากปลายราก

ต้นกล้าปาล์มพอลิพลอยด์ที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้ได้นำไปปลูกในแปลง เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตเปรียบเทียบกับกล้าปาล์มปกติ และใช้เป็นเชื้อพันธุกรรมสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่ง จากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สบว.) สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) สถานีวิจัยพืชกรรมปาล์มน้ำมัน และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เอกสารอ้างอิง

ชูจิตต์ มามีวัฒนะ วัชรี บุญช่วย และชาย โพธิวิส. 2536. ศึกษาการเจริญเติบโตของกล้าปาล์มน้ำมันเทเนอราที่ได้รับปุ๋ยอัตราและระยะเวลาต่างกัน. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์. 2548. เส้นทางสู่การผลิตปาล์มน้ำมัน. Neo Point, สงขลา.

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ นิทัศน์ สองศรี ธีระพงศ์ จันทรนิยม ประกิจ ทองคำ ชัยรัตน์ นิลนนท์ และยงยุทธ เชื้อมงคล. 2544. การกระจายตัว สหสัมพันธ์ และอัตราการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของลักษณะต่าง ๆ ในลูกชั่วที่ 2 ของปาล์มน้ำมัน. ว. สงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 23 (ฉบับพิเศษ ปาล์มน้ำมัน) : 705-715.

น้ำอ้อย ศรีประสม และธีระ เอกสมทราเมษฐ์. 2551. สหสัมพันธ์และอัตราพันธุกรรมของลักษณะทางลำต้นในระยะกล้าปาล์มน้ำมัน. ว. หาดใหญ่วิชาการ 6(2) : 109-115.

Chen, L.L. and Gao, S.L. 2007. *In vitro* tetraploid induction and generation of tetraploids from mixoploids in *Astragalus membranaceus*. Scientia Horticulturae 112: 339-344.

Coley, R.H.V. and Tinker, P.B. 2003. The Oil Palm. Blackwell Science Ltd, Oxford.

Gu, X.F., Yang, A.F., Meng, H. and Zhang, J.R. 2005. *In vitro* induction of tetraploid plants from diploid *Zizyphus jujuba* Mill. Cv. Zhanhua. Plant Cell Rep. 24: 671-676.

Hamill, S.D., Smith, M.K. and Dodd, W.A. 1992. *In vitro* induction of banana autotetraploidy by colchicine treatment of micropropagated diploids. Aust. J. Bot. 40: 887-896.

Kadota, M., Niimi, Y. 2002. *In vitro* induction of tetraploid plants from a diploid Japanese pear cultivar (*Pyrus pyrifolia* N. cv. Hosui). Plant Cell Rep. 21: 282-286.

Kushairi, A. and Rajanaidu, N. 2000. Advances in Oil Palm Research Vol. 1. Malaysian Palm Oil Board, Kuala Lumpur.

Li, W., Hu, D.N., Li, H. and Chen, X.Y. 2007. Polyploid induction of *Lespedeza formosa* by colchicine treatment. For. Stud. China 9: 283-286.

Madon, M., Clyde, M.M., Hashim, H., Mohd, Y.Y., Mat, H., and Saratha, S. 2005. Polyploidy induction of oil palm through colchicines and oryzarin treatments. Journal of Oil Palm Research 17: 110-123.

Swanson, C.P. 1957. Cytology and Cytogenetics. Prentice Hall, New Jersy.

Thao, N.T.P., Ureshino, K., Miyajima, I., Ozaki, Y. and Okubo, H. 2003. Induction of tetraploids in ornamental *Alocasia* through colchicine and oryzalin treatments. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 72: 19-25.

Yang, X.M., Cao, Z.Y., AN, L.Z., Wang, Y.M. and Fang, X.M. 2006. *In vitro* tetraploid induction via colchicine treatment from diploid somatic embryos in grapevine (*Vitis vinifera* L.). Euphytica 152: 217-224.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้