การเพิ่มชุดโครโมโซมของปาล์มน้ำมันโดยใช้คอลซิซีน ในหลอดทดลอง

In Vitro Chromosome Doubling of Oil Palm Using Colchicine

ไซนีย๊ะ สะมาลา[1/] และ สมปอง เตชะโต[1/]

Sainiya Samala[1/] and Sompong Te-chato[1/]

Abstract: Study on the effects of colchicine concentrations and durations of treatment on chromosome doubling in oil palm was carried out using secondary somatic embryos (SSEs). SSEs were immersed in 0.05, 0.10, 0.15 and 0.20% (w/v) colchicine for 12, 24 and 48 hr. The SSE were then cultured on MS medium and subcultured monthly intervals for 1 year. Putative tetraploid plantlets were screened, root tips from those plantlets collected and chromosome number from root tips examined. The results showed the chromosome numbers from root tips obtained from colchicine treatment at concentration of 0.20% for 24 hr and 0.10% for 12 hr were 2n=4x=64 while control plantlets were 2n=2x=32. The level of ploidy was confirmed by flow cytometer suggesting that SSEs immersed in 0.20% for 24 hr gave the highest tetraploid plantlets.

Keywords: Oil palm, colchicine, chromosome number, secondary somatic embryos, flow cytometry

[1/] ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จ. สงขลา 90112

[1/] Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai Campus, Songkhla, 90112, Thailand

บทคัดย่อ: ศึกษาผลของคอลชิซีน ในระดับความเข้มข้น และระยะเวลาการให้ ต่อการเพิ่มชุดโครโมโซมปาล์มน้ำมัน โดยใช้เอ็มบริโอชุดที่สอง (secondary somatic embryo: SSE) แช่ในสารละลายคอลชิซีน ความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20% (w/v) เป็นเวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 1 ปี โดยย้ายเลี้ยงทุก 1 เดือน จึงคัดเลือกต้นที่คาดว่าเป็นพอลีพลอยด์มาศึกษาจำนวนโครโมโซมจากปลายราก พบว่ากลุ่ม SSE ที่แช่สารละลายคอลชิซีน ความเข้มข้น 0.20% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ 0.10% เป็นเวลา 12 ชั่วโมง มีจำนวนโครโมโซม 2n=4x=64 ส่วนชุดควบคุม มีจำนวนโครโมโซม 2n=2x=32 การยืนยันระดับพลอยดีโดยการศึกษาระดับพลอยดีของปาล์มน้ำมันด้วยเครื่องโฟลไซโทรมิเตอร์ พบว่าการแช่ SSE ในสารละลายคอลชิซีนความเข้มข้น 0.20% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชักนำให้เกิดต้นเตตราพลอยด์ได้ดีที่สุด

คำสำคัญ: ปาล์มน้ำมัน คอลชิซีน จำนวนโครโมโซม โซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สอง โฟลไซโทเมทรี

คำนำ

ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.) เป็นพืชวงศ์ปาล์มที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอัฟริกา จัดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและเป็นพืชยืนต้น ปาล์มน้ำมันที่ปลูกเป็นการค้าคือชนิดเทเนอร่า ซึ่งเป็นลูกผสมระหว่างชนิดดูร่าและชนิดฟิสิเฟอร่า ปาล์มน้ำมันเป็นพืชน้ำมันที่ให้ปริมาณน้ำมันสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับพืชน้ำมันชนิดอื่น ๆ (Konan *et al.*, 2006) อย่างไรก็ตามพันธุ์ปาล์มน้ำมันที่เกษตรกรปลูกในปัจจุบันเป็นพันธุ์ลูกผสม ซึ่งเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ไปขยายต่อจะเกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรม ส่งผลให้ผลผลิตต่อต้นไม่สม่ำเสมอ (ธีระ และคณะ, 2548) ทำให้เกษตรกรไม่สามารถเก็บเมล็ดไปปลูกต่อได้ จากปัญหาการขาดแคลนปาล์มน้ำมันพันธุ์ดีที่ให้ผลผลิตต่อไร่สูงของประเทศไทย จึงได้มีการพัฒนาหาแนวทางเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว โดยการศึกษาครั้งนี้ได้ปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน โดยการชักนำต้นพอลีพลอยด์ เป็นวิธีการหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการพัฒนาสายพันธุ์ที่ให้ประสิทธิภาพสูง (Adaniya and Shirai, 2001; Zeng *et al.*, 2006) ซึ่งอาจจะทำให้ส่วนของ ใบ ลำต้น ราก และดอกของต้นที่เป็นพอลีพลอยด์มีขนาดใหญ่กว่าต้นดิพพลอยด์ ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับคอลชิซีน เพื่อชักนำให้เกิดพอลีพลอยด์ และตรวจสอบการเพิ่มชุดโครโมโซม โดยศึกษาจำนวนโครโมโซม และยืนยันผลด้วยเทคนิคโฟลไซโทเมทรี การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อสามารถขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงคัพภะ (Teixeira *et al.*, 1993 ; Kanchanapoom and Domyoas, 1999 ; Te-chato, 1998) การเพาะเลี้ยงใบอ่อน (สมปอง และคณะ, 2547) การเพาะเลี้ยงโซมาติกเอ็มบริโอ (somatic embryo : SE) (อาสลัน และ สมปอง, 2545) และการเพาะเลี้ยงโซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สอง (SSE) (Hilae and Te-chato, 2005) โดยการศึกษาครั้งนี้ ใช้ชิ้นส่วน SSE ในการชักนำให้เกิดการเพิ่มชุดโครโมโซม เนื่องจากสามารถชักนำการงอกของต้นอ่อนได้ปริมาณมาก (Te-chato and Hilae, 2007) และต้นเตตราพลอยด์ของปาล์มน้ำมันนั้น มีต้นเตี้ย (Madon *et al.*, 2005)

ในการศึกษานี้จึงได้ชักนำให้เกิดพอลีพลอยด์อาจจะให้ผลผลิตสูงขึ้น หรือให้สารทุติยภูมิเพิ่มขึ้น โดยคาดว่าจะได้ต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่ต้นเตี้ย ทางใบสั้น และให้ผลผลิตน้ำมันสูง

อุปกรณ์และวิธีการ

ทดลองโดยการนำโซมาติกเอ็มบริโอชุดที่สอง (secondary somatic embryo: SSE) ของปาล์มน้ำมันต้นโตที่ให้ผลผลิตดี จากสถานีวิจัยและฝึกภาคสนามเทพา คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ชักนำจากเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส (embryogenic callus : EC) จากการศึกษาของ Te-chato (2002) เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการให้คอลชิซีน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomize design : CRD) แต่ละหน่วยการทดลองใช้กลุ่ม SSE จำนวน 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 กลุ่ม ดังนี้

1. การชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์โดยคอลชิซีน

ใช้กลุ่ม SSE ในระยะทอร์ปิโด จำนวน 10 - 15 SSE มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เติมสารละลายคอลชิซีนที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20% เป็นเวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงย้ายชิ้นส่วนไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต ย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมทุก 30 วัน เป็นเวลา 1 ปี จึงนำต้นกล้าชักนำให้เกิดรากโดยย้ายเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร ARDA1 เติม เอ็นเอเอ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดแอสคอร์บิก 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโต ลักษณะภายนอกของใบ และคัดเลือกต้นที่คาดว่าเป็นต้นเตตราพลอยด์ (putative tetraploid) ใช้ในการศึกษาต่อไป

2. การศึกษาจำนวนโครโมโซมของปลายรากปาล์มน้ำมัน

เก็บตัวอย่างเซลล์ปลายราก (ภาพที่ 1a,b) จากต้นที่คัดเลือกซึ่งคาดว่าเป็นต้นเตตราพลอยด์ และต้นควบคุม (ดูแลในหลอดทดลองเป็นเวลา 1 ปี) ในช่วงเวลา 11.00-14.00 น. แต่ละสิ่งทดลอง (ความเข้มข้นและระยะเวลาการจุ่มแช่ในคอลชิซิน) ใช้จำนวนต้น 5 ต้น แต่ละต้นใช้ 2 ราก สำหรับการย้อมสีใช้ feulgen squash ดัดแปลงจากวิธีการของ Sharma and Sharma (1980) ดังนี้คือ เลือกปลายรากที่มีลักษณะขาวใสปลายขุ่นเล็กน้อยตัดรากให้มีความยาว 1 เซนติเมตร ใส่ในสารละลายอิ่มตัว α-dichlorobenzene เก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 4 - 5 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำกลั่น 1-2 ครั้ง หลังจากนั้นคงสภาพรากในน้ำยารักษาสภาพ (fixative) ที่ประกอบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95% กับกรดเกลเชียลแอซิติกในอัตราส่วน 3:1 เก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ล้างรากด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95% 1 - 2 ครั้ง จากนั้นนำรากมาย่อยในกรดเกลือเข้มข้น 1 นอร์มัล ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ย้อมสีด้วยคาร์บอนฟุกซินนาน 4 - 5 ชั่วโมง ตรวจสอบจำนวนโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบเชิงประกอบ กำลังขยาย 400 เท่า บันทึกผลการทดลองโดยการถ่ายภาพโครโมโซม เปรียบเทียบระหว่างต้นควบคุมและต้นซึ่งคาดว่าเป็นต้นเตตราพลอยด์

3. การทดสอบระดับพลอยดีของปาล์มน้ำมันโดยเทคนิคโฟลไซโทเมทรี

นำชิ้นส่วนใบจากต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่คาดว่าเป็นต้นเตตราพลอยด์และต้นควบคุม จากการศึกษาที่ 2 โดยแต่ละสิ่งทดลอง (ความเข้มข้นและระยะเวลาการจุ่มแช่ในคอลชิซิน) ใช้ 10 ต้น แต่ละต้นใช้ 1 ใบ มาวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอเพื่อยืนยันการเกิดเตตราพลอยด์ตามวิธีการของ Uozu *et al.* (1997) วิธีการหาปริมาณดีเอ็นเอดังนี้คือ นำใบอ่อนหนักประมาณ 30 มิลลิกรัม ใส่ลงในจานเพาะเลี้ยงขนาดเล็ก ที่เติมสารละลาย polyvinylpyrolidone (PVP) ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร สับชิ้นส่วนด้วยใบมีดโกนให้ละเอียด กรองสารละลายด้วยกระดาษกรองขนาด 20 ไมโครเมตรใส่หลอดทดลองขนาดเล็ก จากนั้นเติมสารละลาย propidium iodide (PI) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำไปวิเคราะห์ภายใน 15 นาที โดยนำตัวอย่างที่ได้มาวัดด้วยเครื่องโฟลไซโทมิเตอร์ โดยการนับนิวเคลียสของปาล์มน้ำมัน 4,000 นิวเคลียส ต่อตัวอย่าง วิเคราะห์ผล

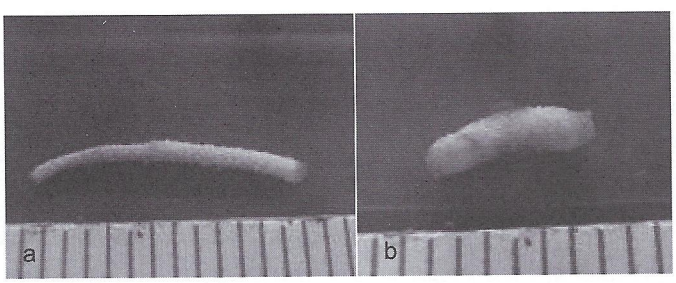


Figure 1 Characteristic of root tip of diploid (a) and putative tetraploid plantlets (b)

ที่ได้และทำการเปรียบเทียบปริมาณดีเอ็นเอ ของต้นที่คาดว่าเป็นต้นเตตราพลอยด์ และต้นควบคุม เพื่อหาระดับพลอยดี ด้วยเครื่อง FACSCalibur cytometer (becton-dickinson japan) โดยใช้ดีเอ็นเอ ของข้าวญี่ปุ่น *Oryza sativa* cv. Nipponbare ซึ่งทราบระดับพลอยดีแน่นอนแล้วเป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน

ผลการทดลอง

1. การชักนำให้เกิดพอลีพลอยด์โดยคอลซิซีน

จากการศึกษาลักษณะภายนอกของต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่ได้รับคอลซิซีนเปรียบเทียบกับต้นควบคุม หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 ปี พบว่า ต้นกล้าที่ผ่านการแช่คอลซิซีนความเข้มข้น 0.10% เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และ 0.20% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นควบคุม (ภาพที่ 2a) ใบมีสีเขียวเข้มกว่าต้นควบคุม โดยเฉพาะกลุ่มแช่สารละลายคอลซิซิน ความเข้มข้น 0.20% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่ามีขนาดของใบที่สั้น หนา ใบรูปหอก และใบมีสีเขียวเข้มมากที่สุด (ภาพที่ 2b, c)

2. การศึกษาจำนวนโครโมโซมของปลายรากปาล์มน้ำมัน

จากการศึกษาจำนวนของโครโมโซมต้นควบคุม พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=2x=32 ส่วนจำนวนโครโมโซมของต้นที่คัดเลือกและคาดว่ามีการเพิ่มชุดโครโมโซม ที่ผ่านการแช่สารละลายคอลซิซีน ความเข้มข้น 0.10% เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และ 0.20% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มเป็นสองเท่า เกิดเป็นต้นเตตราพลอยด์ คือ 2n=4x=64 (ภาพที่ 3)

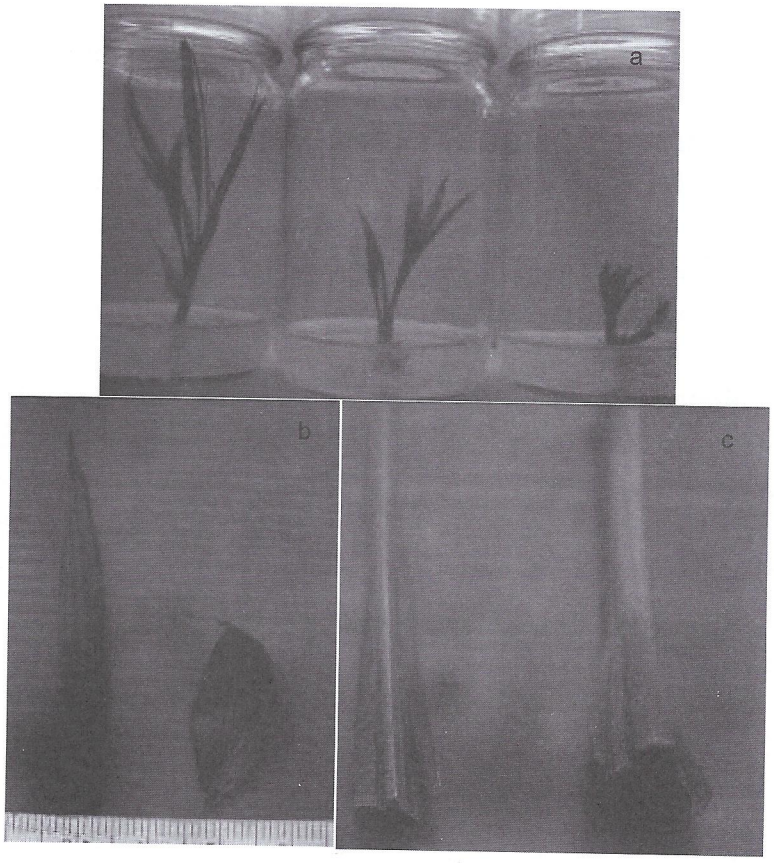


Figure 2 Plantlets (a) of controlled treatment (left), treated with 0.10% colchicine for 12 hr (middle) and 0.20% for 24 hr (right) (bar = 1 cm); (b) leaf of control (left) and putative tetraploid plantlet (right) ; (c) leaf thickness of diploid (left) and putative tetraploid plantlet (right) (bar = 0.5 cm)

3. การทดสอบระดับพลอยดีของของปาล์มน้ำมันโดยเทคนิคโฟลไซโทเมทรี

จากการตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอของปาล์มน้ำมัน โดยใช้ดีเอ็นเอของข้าวญี่ปุ่น ซึ่งมีข้อมูลระดับพลอยดีแน่นอนแล้ว เป็นดีเอ็นเออ้างอิง ยืนยันผลได้ว่าต้นควบคุมมีระดับพลอยดี 2n = 2x ส่วนต้นที่ผ่านการแช่สารละลายคอลชิซีน ความเข้มข้น 0.10% เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และ 0.20% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เกิดเป็นต้นเตตราพลอยด์ โดยระดับพลอยดีเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า คือ 2n = 4x ทั้งนี้ ต้นที่ได้รับคอลชิซีน 0.20% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เกิดเป็นต้นเตตราพลอยด์ได้มากที่สุด (ภาพที่ 4)

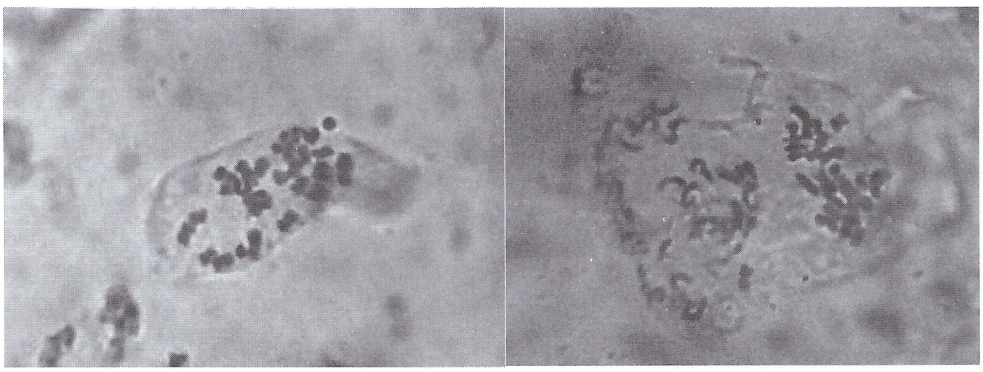


Figure 3 Comparison of chromosome number between controlled (left) and putative tetraploid plantlets (right) (bar= 20 µm)

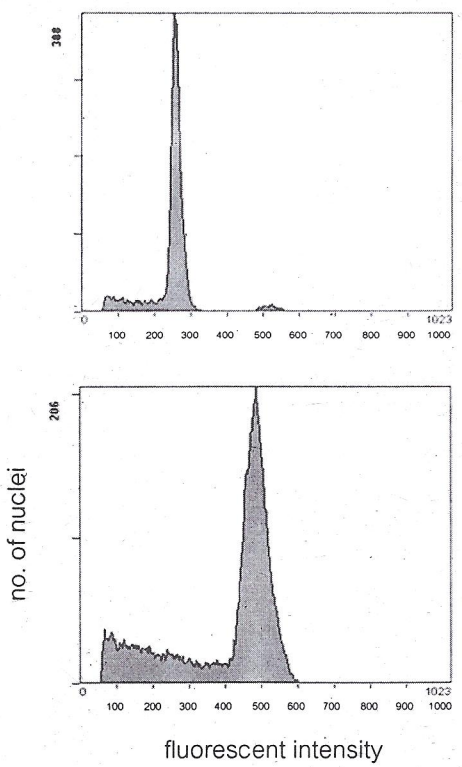


Figure 4 Comparison of fluorescent intensity histogram among (a) control plantlets (n=10) and (b) tetraploid plantlets treated with 0.20% for 24 hr (n=5)

วิจารณ์

จากการศึกษาการชักนำให้เกิดเตตราพลอยด์จากการแช่ SSE ในสารละลายคอลชิซีน ความเข้มข้น 0.20% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถชักนำให้เกิดต้นเตตราพลอยด์ได้ดีที่สุด โดยต้นเตตราพลอยด์มีโครโมโซมจำนวน 2n=4x=64 ส่วนต้นควบคุมมีจำนวนโครโมโซม 2n=2x=32 และจากการยืนยันผลการเกิดเตตราพลอยด์โดยเทคนิคโฟลไซโทเมทรี มีระดับพลอยดีที่สูงกว่าต้นควบคุมสองเท่า โดยต้นเตตราพลอยด์มีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้ากว่าต้นควบคุม ใบของต้นเตตราพลอยด์มีสีเขียวเข้ม และหนากว่าชุดควบคุม สอดคล้องกับการศึกษาของ Madon *et al.* (2005) ซึ่งรายงานว่าต้นเตตราพลอยด์ของปาล์มน้ำมันที่ชักนำจากการแช่เมล็ดงอกในสารละลายคอลชิซีนความเข้มข้น 12.5 ไมโครโมลาร์นาน 6 ชั่วโมง มีการเจริญเติบโตช้า และมีใบหนา สีเขียวเข้มกว่าต้นควบคุม ทั้งนี้เนื่องจากคอลชิซีนส่งผลต่อการเพิ่ม BA (benzyladenine) ทำให้เกิดสีเขียว โดยส่งเสริมการสร้างคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น และการเปลี่ยนอีทิโอพลาสต์ไปเป็นคลอโรพลาสต์ สีใบจึงมีสีเขียวเข้มขึ้น สังเคราะห์แสงได้มากขึ้น ใบจึงหนาขึ้น (Yan *et al.*, 2008) นอกจากนี้ การให้คอลชิซีนแก่พืชต่างกัน มีการตอบสนองแตกต่างกันด้วย จากการศึกษานี้พบว่า การใช้คอลชิซินความเข้มข้นต่ำ ไม่สามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มชุดโครโมโซมได้ และเมื่อใช้สารความเข้มข้นสูง ส่งผลให้เนื้อเยื่อพืชอาจตาย หรือเจริญผิดปกติได้ อย่างไรก็ตาม Tang *et al.* (2010) รายงานว่า การใช้คอลชิซีนที่ความเข้มข้นต่ำ แต่ใช้เวลาในการจุ่มแช่ชิ้นส่วนในสารละลายนานขึ้น สามารถเพิ่มอัตราการเกิดต้นพอลีพลอยด์ใน *Paulownia tomentosa* ได้ โดยต้นพอลีพลอยด์ให้ลักษณะต้นที่เตี้ยลง มีข้อของลำต้นสั้นลง รูปร่างของใบเปลี่ยนเป็นใบกลม นอกจากนี้การใช้สารที่มีความเข้มข้นสูง แต่ใช้เวลาในการจุ่มแช่สั้นลง สามารถชักนำต้นพอลีพลอยด์ได้เช่น เดียวกัน (Allum *et al.*, 2007) อย่างไรก็ตาม การใช้คอลชิซีนความเข้มข้นต่ำ ที่มีความเข้มข้น 1% เป็นเวลา 12 ชั่วโมงนั้น ให้จำนวนต้นเตตราพลอยด์น้อย การเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้นเป็นความเข้มข้น 0.20% และระยะเวลานานขึ้นเป็น 24 ชั่วโมง ส่งผลให้จำนวนต้นเตตราพลอยด์เพิ่มขึ้นได้ อาจเนื่องจากความเข้มข้น และระยะเวลาในการแช่มีผลต่อการยับยั้งการสร้างสายสปินเดิลไฟเบอร์ได้มากขึ้น ส่งผลให้การเพิ่มชุดโครโมโซมมากกว่าด้วย ส่วนความเข้มข้นสูงกว่านี้ อาจส่งผลเสียหาย จนเซลล์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้

การประเมินการเกิดพอลีพลอยด์ปลายรากของเสาวรสผลสีเหลือง โดยย้อมโครโมโซมในสารละลาย Giemsa ความเข้มข้น 3% ของให้ต้นเตตราพลอยด์มีจำนวนโครโมโซม 2n=4x=36 และต้นดิพลอยด์ 2n=2x=18 (Rego *et al.*, 2011) นอกจากนี้รายงานการยืนยันผลการเกิดต้นเตตราพลอยด์จากการจุ่มแช่ชิ้นส่วนในสารละลายคอลชิซีน โดยการนับจำนวนโครโมโซม และยืนยันผลด้วยโฟลไซโทเมทรี เช่น การศึกษาปลายรากของต้นเตตราพลอยด์ crape myrtle (Zhang *et al.*, 2010), โหระพา (Omidbaigi *et al.*, 2010), สาลี่ (Sun *et al.*, 2009), *Dioscorea zingiberensis* (Heping *et al.*, 2008), *Scoparia montevidiensis* (Escandon *et al.*, 2005) และ พุทรา (Gu *et al.*, 2005) จากผลดังกล่าวก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชเตตราพลอยด์ส่งผลให้มีมูลค่าเพิ่มทางเศรษฐกิจ ได้ต้นพืชที่ทนต่อสภาวะแล้ง ต้านทานโรค ให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น และมีอายุหลังการเก็บเกี่ยวได้นานขึ้น (Riddle *et al.*, 2006 ; Xiong *et al.*, 2006) ในทำนองเดียวกับปาล์มน้ำมันที่ได้จากการศึกษานี้คาดว่าต้นเตตราพลอยด์ที่ได้ มีการเจริญเติบโตช้า ทางใบสั้น ต้นเตี้ย และมีใบสั้นกว่าต้นควบคุม ทำให้สะดวกต่อการเก็บเกี่ยว และสามารถปลูกจำนวนต้นต่อพื้นที่ได้เพิ่มขึ้น จึงให้ผลผลิตต่อพื้นที่เพิ่มขึ้นด้วย และต้นเตตราพลอยด์มีใบเขียวเข้มซึ่งให้ปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่าต้นปกติ จึงสามารถนำไปผลิตเป็นอาหารสัตว์ที่มีธาตุอาหารสูง นอกจากนี้คาดว่าปริมาณน้ำมันจากเมล็ดปาล์ม จะให้ปริมาณเพิ่มขึ้นกว่าต้นดิพลอยด์ สามารถเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกร และนำไปผลิตเป็นพลังงานทดแทนตามนโยบายของรัฐบาลต่อไป

สรุป

การชักนำให้เกิดเตตราพลอยด์ โดยการใช้ชิ้นส่วน SSE แช่ในสารละลายคอลชิซีนที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาการแช่สารแตกต่างกัน ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ พบว่าการแช่ SSE ในสารละลายคอลชิซีน ความเข้มข้น 0.20% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถชักนำให้เกิดต้นเตตราพลอยด์ได้ดีที่สุด โดยต้นเตตราพลอยด์ให้การเจริญเติบโตลดลง ใบมีสีเขียวเข้ม ใบหนา จำนวนโครโมโซม และปริมาณดีเอ็นเอเพิ่มเป็นสองเท่า ซึ่งต้นเตตราพลอยด์ที่ได้ สามารถนำไปขยายพันธุ์เพื่อศึกษาการให้ผลผลิตต่อพื้นที่ และนำไปใช้ในการสร้างสายพันธุ์ใหม่ในทางการค้าต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ และ สถานวิจัยพืชกรรมปาล์มน้ำมัน คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ ชัยรัตน์ นิลนนท์ ธีระพงศ์ จันทรนิยม ประกิจ ทองคำ และ สมเกียรติ สีสนอง. 2548. เส้นทางความสำเร็จ การผลิตปาล์มน้ำมัน. ศูนย์วิจัย และพัฒนาการผลิตปาล์มน้ำมัน คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่, สงขลา. 117 หน้า.

สมปอง เตชะโต อาสลัน หิเล และ อิบรอเฮม ยีดำ. 2547. การชักนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส และพืชต้นใหม่จากใบอ่อนปาล์มน้ำมันต้นโตที่ให้ผลผลิตดี. ว. สงขลานครินทร์ วทท. 26: 617-628.

อาสลัน หิเล และ สมปอง เตชะโต. 2545. การปรับปรุงวิธีการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ผ่านกระบวนการโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบอ่อน. การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิต ศึกษาของประเทศไทย ครั้งที่ 3 วันที่ 18-19 กรกฎาคม 2545 ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา. หน้า 30-31.

Adaniya, S. and D. Shirai. 2001. *In vitro* induction of tetraploid ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and its pollen fertility and germinability. Scientia Horticulturae 88: 277-287.

Allum, J.F., D.H. Bringloe and A.V. Roberts. 2007. Chromosome doubling in a *Rosa rugosa* Thunb. hybrid by exposure of *in vitro* nodes to oryzalin : the effects of node length, oryzalin concentration and exposure time. Plant Cell Reports 26: 1977-1984.

Escandon, A.S., I. Miyajima, M. Alderete, J.C. Hagiwara, G. Facciuto, D. Mata and S.M. Sato, 2005. Wild ornamental germplasm exploration and domestication based on biotechnological approaches. *In vitro* colchicine treatment to obtain a new cultivar of *Scoparia montevidiensis*. Electronic Journal of Biotechnology 8: 204-211.

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

Heping, H., G. Shanlin, C. Lanlin and J. Xiaoke. 2008. *In vitro* induction and identification of autotetraploids of *Dioscorea zingiberensis*. *In vitro* Cellular and Developmental Biology 44: 448-455.

Hilae, A. and S. Te-chato. 2005. Effects of carbon sources and strength of MS medium on germination of somatic embryos of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Songklanakarin Journal Science Technology 27: 630-635.

Kanchanapoom, K. and P. Domyoas. 1999. The origin and development of embryoids in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) embryo culture. ScienceAsia 25: 193-200.

Konan, E.E., G.T. Durand, J.Y. Kouadio, A. Flori and A. Rival. 2006. A modeling approach of the *in vitro* conversion of oil palm (*Elaeis guineensis*) somatic embryo. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 84: 99-112.

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

Omidbaigi, R., M. Mirzaee, M.E. Hassani and M.S. Moghadam. 2010. Induction and identification of polyploidy in basil (*Ocimum basilicum* L.) medicinal plant by colchicine treatment. International Journal of Plant Production 4: 87-98.

Rego, M.M., E.R. Rigo, C.H. Bruckner, F.L. Finger and W.C. Otoni. 2011. *In vitro* induction of autotetraploids from diploid yellow passion fruit mediated by colchicine and oryzalin. Plant Cell, Tissue and Organ Culture doi: 10.1007/s11240-011-9995-6.

Riddle, N.C., A. Kato and J.A. Birchler. 2006. Genetic variation for the response to ploidy change in *Zea mays* L. Theoretical and Applied Genetics 114: 101-111.

Sharma, A.K. and A. Sharma. 1980. Chromosome Technique. 3rd ed. Butterworth Publishing, London. 711 p.

Sun, Q.R., H.S. Sun, L.G. Li and R.L. Bell. 2009. *In vitro* colchicine induced polyploidy plantlet production and regeneration from leaf explants of the diploid pear (*Pyrus communis* L.) cultivar Fertility. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 84: 548-552.

Tang, Z.Q., D.L. Chen, Z.J. Song, Y.C. He and D.T. Cai. 2010. *In vitro* induction and identification of tetraploid plants of *Paulownia tomentosa*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 102: 213-220.

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

Te-chato, S. 2002. Improve callus induction and embryogenic callus formation from cultured young leaves of oil palm seedling. Thai Journal Agricultural Science 35: 407-413.

Te-chato, S. and A. Hilae. 2007. High-frequency plant regeneration through secondary somatic embryogenesis in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq. var. *tenera*). Journal of Agricultural Technology 3: 345-357.

Teixeira, J.B., M.R. Sondahl, T. Nakamura and E.G. Kirby. 1993. Somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of oil palm. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 34: 227-233.

Uozu, S., H. Ikehashi, N. Ohmido and H. Ohtsubo. 1997. Repetitive sequences: cause for variation in genome size and chromosome morphology in the genus *Oryza*. Plant Molecular and Biology 35: 791-799.

Xiong, Y.C., F.M. Li and T. Zhang. 2006. Performance of wheat crops with different chromosome ploidy: root-sourced signals, drought tolerance, and yield performance. Planta 224: 710-718.

Yan, O., M.V. Zubo, S.Y. Yamburenko, F.M. Selivankina, A.M. Shakirova, N.V. Avalbaev, N.K. Kudryakova, K.L. Zubkova, N.K. Olga,

V.K. Victor and B. Thomas. 2008. Cytokinin stimulates chloroplast transcription in detached barley leaves. Plant Physiology 148: 1084-1093.

Zeng, S.H., C.W. Chen, H. Liu, J.H. Liu and X.X. Deng. 2006. *In vitro* induction, regeneration and analysis of autotetraploids derived from protoplasts and callus treated with colchicine in *Citrus*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 87: 85-93.

Zhang, X.Y., C.G. Hu and J.L. Yao. 2010. *In vitro* induction of tetraploids in crape myrtle (*Lagerstroemia indica* L.) Plant Cell, Tissue and Organ Culture 101: 41-47.