การชักนำการออกดอกของอินทผลัมภายใต้สภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Induction of Flowering Onset of Date Palm in Tissue Culture Condition

พรทิพย์ วงศ์แก้ว[1] และ ธิติพร ผลธรรมพิทักษ์[1]

Porntip Wongkaew[1] and Thitiporn Ponthumpitak[1]

ABSTRACT

Induction of flowering onset of date plam (*Phoenix dactylifera* L.) was investigated under controlled conditions *in vitro* to determine sex expression on this dioecious plant at early stages of ontogeny. Date plam seeds were sown aseptically in water agar and kept at 28°C in the dark for 1, 2, 3, 4, 5 and 6 weeks prior to each experiments. The sprout tissue germinated from those seeds were excised and transferred to modified MS medium of various hormone combinations. Flower initiation were obtained from MS medium containing glucose 50 g/l, IAA 1 mg/l and BAP 1 mg/l at 28°C under exposion of light intensity 3000 lux for 16 hr. per day. Male and female flowers appeared on separate plantlets derived from sprout tissue explants within 6 months after cultured. Percentage of flowering onset were similar in both the male and female flowers. There were 15% of total plantlets could be induced to flowering in this observation.

Keywords : date palm, induction of flowering, tissue culture.

บทคัดย่อ

ในการทดสอบสภาพที่สามารถกระตุ้นให้ตันอ่อนอินทผลัมในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีการสร้างดอกและแสดงลักษณะของเพศออกมาในระหว่างการเพาะเลี้ยง ได้ทำการทดลองตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อจากต้นกล้าอินทผลัมที่เพาะจากเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ โดยตัดชิ้นส่วนที่งอกออกมาจากเมล็ดนับตั้งแต่วันที่เริ่มงอกในช่วงเวลาต่างๆ ตั้งแต่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 สัปดาห์ แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารดัดแปลง MS ที่มีอัตราส่วนผสมของฮอร์โมน IAA และ BAP หรือ NAA และ BAP ในระดับต่างๆ และบ่มชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมอุณหภูมิและแสงสว่างได้ เพื่อศึกษาอิทธิพลของสภาพแวดล้อมร่วมด้วย พบว่าสามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อจากต้นกล้าอินทผลัมอายุ 3-4 สัปดาห์หลังงอกจากเมล็ด มีการสร้างต้นใหม่และออกดอกได้ โดยพบทั้งต้นที่ออกดอกเป็นดอกตัวผู้และต้นที่ออกดอกเป็นดอกตัวเมีย ในสัดส่วนเท่าๆ กัน หลังจากการเพาะเลี้ยงประมาณ 6 เดือนในอาหาร MS ที่มีส่วนผสมของ glucose 50 กรัม/ลิตร รวมกับฮอร์โมน IAA 1 มก./ลิตร และ BAP 1 มก./ลิตร ที่อุณหภูมิ 28 °ซ ความเข้มแสงประมาณ 3000 ลักซ์ ช่วงแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน แม้ว่าอัตราการสร้างดอกที่พบต่อจำนวนชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงที่ทดสอบอยู่ในระดับเพียง 15% แต่ก็แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้สำหรับการกระตุ้นให้อินทผลัมออกดอกแสดงเพศในระหว่างการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

คำหลัก : อินทผลัม การชักนำการออกดอก การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

(1) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

คำนำ

อินทผลัม(*Phoenix dactylifera* L.) เป็นไม้ผลที่สำคัญของประเทศในแถบเอเชียตะวันออกกลางและแอฟริกาตอนเหนือ ปลูกกันมากในประเทศอิรัก อิหร่าน อัลจีเรีย อียิปต์ ซาอุดิอาระเบีย มอรอคโค และกลุ่มประเทศอาหรับอื่น ๆ ซึ่งมีการบริโภคอินทผลัมเป็นอาหารหลักและยังมีความต้องการเป็นปริมาณมาก (Watson 1973) เนื่องจากเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารสูง อุดมไปด้วยน้ำตาล โปรตีน แร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกายจำพวกเหล็ก แคลเซียม โพแตสเซียมและวิตามินสำคัญ เช่น วิตามิน A และวิตามิน B ชนิดต่างๆ ใช้บริโภคโดยการรับประทานผลสุก ผลตากแห้ง เชื่อม ทำเป็นอินทผลัมผง และยังสามารถนำไปแปรรูปสำหรับการบริโภคในด้านอื่นๆ เช่น ผลและเมล็ดใช้ในการผลิตเหล้า แอลกอฮอล์ อาหารสัตว์และน้ำตาล กาบใบและก้านใบ ใช้ในการผลิตภาชนะจักสาน ตลอดจนการใช้เนื้อไม้เป็นวัสดุก่อสร้าง (Nixon 1960)

อินทผลัม เป็นพืชที่ค่อนข้างทนแล้งและทนทานต่ออากาศร้อน ปรับตัวต่อการเพาะปลูกในสภาพดินเค็มได้ดี สามารถให้ผลผลิตได้นานกว่า 100 ปี หากได้รับการสนับสนุนด้านการปรับปรุงพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและเหมาะสมต่อการเพาะปลูกในสภาพดินฟ้าอากาศของประเทศไทย อินทผลัมก็อาจเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดใหม่ที่ทำรายได้จากการส่งออกให้กับประเทศมาก

จากการศึกษาการปรับตัวของอินทผลัมในสภาพภาคตะวันออกเฉียงเหนือชี้ให้เห็นว่า พื้นที่เพาะปลูกโดยทั่วไปทั้งในสภาพดินดี ดินเลวและดินเค็ม ล้วนมีศักยภาพเพียงพอต่อการเจริญและการให้ผลผลิตของต้นอินทผลัม (สัมฤทธิ์ และคณะ 2534)

อย่างไรก็ตาม **การขยายพันธุ์อินทผลัมเพื่อการเพาะปลูกเป็นการค้านั้นทำได้ยาก เนื่องจากถูกจำกัดโดยธรรมชาติการขยายพันธุ์ของต้นอินทผลัมที่มีความสามารถในการผลิตหน่อใหม่ได้น้อย หน่อใหม่จะเกิดจากต้นจริงอายุ 4-5 ปีขึ้นไป และเกิดเป็นจำนวนน้อยมากต่อจำนวนต้นจริง ส่วนการขยายพันธุ์โดยเมล็ดก็มีข้อจำกัดที่ทำให้เป็นอุปสรรคต่อการขยายการเพาะปลูกเป็นการค้า เพราะอินทผลัม เป็นพืชจำพวก dioecious คือมีเพศผู้และเพศเมียแยกกันอยู่คนละต้นหากขาดต้นใดต้นหนึ่งก็ไม่อาจสร้างผลหรือเมล็ดที่สมบูรณ์ได้ และจากการผสมพันธุ์ตามปกติ เมื่อได้เมล็ดและทำการเพาะปลูกก็จำเป็นต้องรอจนกระทั่งต้นอินทผลัมที่เพาะจากเมล็ดมีอายุ 5-10 ปี จึงจะเริ่มออกดอกและแสดงเพศ ทำให้ไม่สามารถกำหนดการใช้พื้นที่เพาะปลูกอย่างมีประสิทธิภาพได้**

วิธีการขยายพันธุ์แผนใหม่ที่อาจนำมาใช้ได้ดีในกรณีนี้คือการปรับปรุงและขยายพันธุ์โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งประสบผลสำเร็จในการนำมาใช้กับพืชพันธุ์ชนิดต่างๆ ที่จัดอยู่ในจำพวกที่ขยายพันธุ์ได้ยากโดยวิธีปกติมาแล้วกว่าร้อยชนิด รวมทั้งอินทผลัม (พรทิพย์ และคณะ 2534)

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังอาจนำมาใช้ในการศึกษาสรีรวิทยาอื่นๆ ที่ต้องการทราบได้ เช่น การกระตุ้นลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆ การกระตุ้นการสร้างรากที่แข็งแรงจำนวนมาก การสร้างใบ และการสร้างหน่อใหม่ เป็นต้น **ฉะนั้นการศึกษาเกี่ยวกับอินทผลัมจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง โดยเฉพาะเมื่อสามารถทราบถึงเพศของอินทผลัมได้ก่อนการเพาะปลูกจริงในแปลง ซึ่งจะทำให้การวางแผนการปลูกและการจัดการผลิตอินทผลัมเป็นไปอย่างมีระบบและประสบความสำเร็จในเชิงธุรกิจได้ดียิ่งขึ้น การนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการกระตุ้นให้ต้นอินทผลัมออกดอกแสดงเพศได้ตั้งแต่ในระยะแรกของอายุการเจริญ ก็จะช่วยให้สามารถคัดเลือกต้นที่เป็นเพศที่ต้องการไปเพาะปลูกตามสัดส่วนที่เหมาะสมสำหรับการเพาะปลูกเป็นการค้าต่อไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ**

สำหรับการทดลองครั้งนี้ เป็นการศึกษาในขั้นต้นเพื่อตรวจสอบอายุของเนื้อเยื่อส่วนที่งอกจากเมล็ด(germ tube) ที่แสดงการตอบสนองต่อการกระตุ้นการเจริญและพัฒนาได้ดีที่สุด และเพื่อทดสอบสภาพการเพาะเลี้ยงในอาหารและภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม ต่อการชักนำการออกดอกแสดงเพศของอินทผลัมในระยะเวลาที่ต้องการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมชิ้นส่วนเนื้อเยื่ออินทผลัมสำหรับการเพาะเลี้ยง

เมล็ดพันธุ์อินทผลัมที่ใช้ในการทดลองได้รับความอนุเคราะห์จากสำนักงานเกษตรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ต.ท่าพระ อ.เมือง จ.ขอนแก่น

ทำการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ โดยการฟอกล้างด้วยน้ำยาล้างจากและน้ำสะอาดและเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 95% 2-3 ครั้ง แล้วฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดพันธุ์อีกด้วย Mercuric chloride

0.2% ประมาณ 3-5 นาที แล้วล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้วอีก 3 ครั้ง วางเมล็ดบน Water agar 0.6% ในขวดปลอดเชื้อและเก็บที่อุณหภูมิประมาณ 28° ซ ในที่มืดเป็นเวลา 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 สัปดาห์ที่กำหนดไว้สำหรับแต่ละการทดลอง ซึ่งเมล็ดจะงอกชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ germ tube ออกมาในความยาวระดับต่างๆ กันตามเวลาที่บ่มเพาะไว้

2. การกระตุ้นการเจริญของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อและการชักนำการออกดอก

ทำการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่งอกออกมาจากเมล็ดให้ครอบคลุมจุดที่จะเจริญเป็น shoot apex (Fig.1) ตามเวลาที่กำหนดไว้ในการบ่มเพาะ แล้วย้ายชิ้นส่วนเนื้อเยื่ออายุต่างๆ กันนั้นลงเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงที่เตรียมไว้ โดยตัดย้ายอย่างระมัดระวังภายใต้สภาพปลอดเชื้อ ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีความยาวระหว่าง 0.2-1.0 ซม. ขึ้นอยู่กับขนาด germ tube ที่งอกออกจากเมล็ด

อาหารที่ใช้ทดสอบการกระตุ้นการเจริญและพัฒนาตลอดจนการออกดอกของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง คืออาหารดัดแปลงจากสูตรอาหารหลักของ Murashige and Skoog (1962) หรืออาหาร MS โดยใช้ส่วนประกอบเสริมเป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่ม auxins และ cytokinins อัตราส่วนผสมในระดับต่างๆ (Table 1) ซึ่งฮอร์โมนพืชที่ใช้ในการทดลองได้แก่ indole acetic acid (IAA), d-naphtaleneacetic acid (NAA), 6-benzylaminopurine (BAP) และ kinetin กำหนดอัตราโดยอิงจากรายงานผลการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออินทผลัมโดยพรทิพย์และคณะ (2534) ส่วนน้ำตาลที่ผสมในอาหารใช้น้ำตาลทดสอบ 2 ชนิดคือ glucose และ sucrose ที่ระดับ 30 กรัม/ลิตร และ 50 กรัม/ลิตร

บ่มเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ ที่อุณหภูมิ 25° ซ และ 28° ซ ในที่ให้แสงสว่าง 3000 ลักซ์ 10 ชั่วโมง/วัน และ 16 ชั่วโมง/วัน แล้วสังเกตและบันทึกลักษณะการเจริญและการพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในอาหารและสภาพที่กำหนดต่างๆ ทุกระยะตลอดปีการทดลอง

Table 1 Various combinations of sugar and plant homones added in culture medium for stimulation of growth and flowering of date palm tissue explants.

Media[1/]	Sugar (g/l)		Plant Hormones (mg/l)			
	Glucose	Sucrose	IAA	NAA	BAP	Kinetion
M1	30		0.5		0.5	
M2	30		1.0		10.0	
M3	30		1.0		1.0	
M4	50		0.5		0.5	
M5	50		1.0		10.0	
M6	50		1.0		1.0	
M7		30	0.5		0.5	
M8		30	1.0		10.0	
M9		30	1.0		1.0	
M10		50	0.5		0.5	
M11		50	1.0		10.0	
M12		50	1.0		1.0	
M13	50			0.5		0.5
M14	30			1.0		10.0
M15	30			1.0		1.0
M16	50			0.5		0.5
M17	50			1.0		10.0
M18	50			1.0		1.0
M19		30		0.5		0.5
M20		30		1.0		10.0
M21		30		1.0		1.0
M22		50		0.5		0.5
M23		50		1.0		10.0
M24		50		1.0		1.0

1/ Culture media modified form basic culture medium described by Murashige and Skoog (1962)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ช่วงอายุการงอกของเมล็ดอินทผลัมที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการเจริญและพัฒนาการสร้างต้นและสร้างดอก ผลการทดสอบโดยตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อจาก germ tube ซึ่งมีส่วนของจุดที่จะเจริญเป็น shoot apex (Fig.1) มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูง M6, S8 และ M20 ซึ่งมีอัตราส่วนผสมดังแสดงใน Table 1 พบว่า

ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อจาก germ tube อายุ 2-4 สัปดาห์หลังงอกจากเมล็ดมีปฏิกิริยาตอบสนองต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตในอาหารเพาะเลี้ยงดีกว่าเนื้อเยื่อจาก germ tube ช่วงอายุอื่นๆ

ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ germ tube อายุประมาณ 2 สัปดาห์สามารถพัฒนาเป็นลำต้น ใบ และราก เกิดต้นอ่อนที่สมบูรณ์ได้จำนวนมากถึง 72% และ 73.46% จากจำนวนชิ้นส่วนเริ่มต้นเพาะเลี้ยงทั้งหมด

เนื้อเยื่อ germ tube อายุ 3 สัปดาห์มีการสร้างดอก

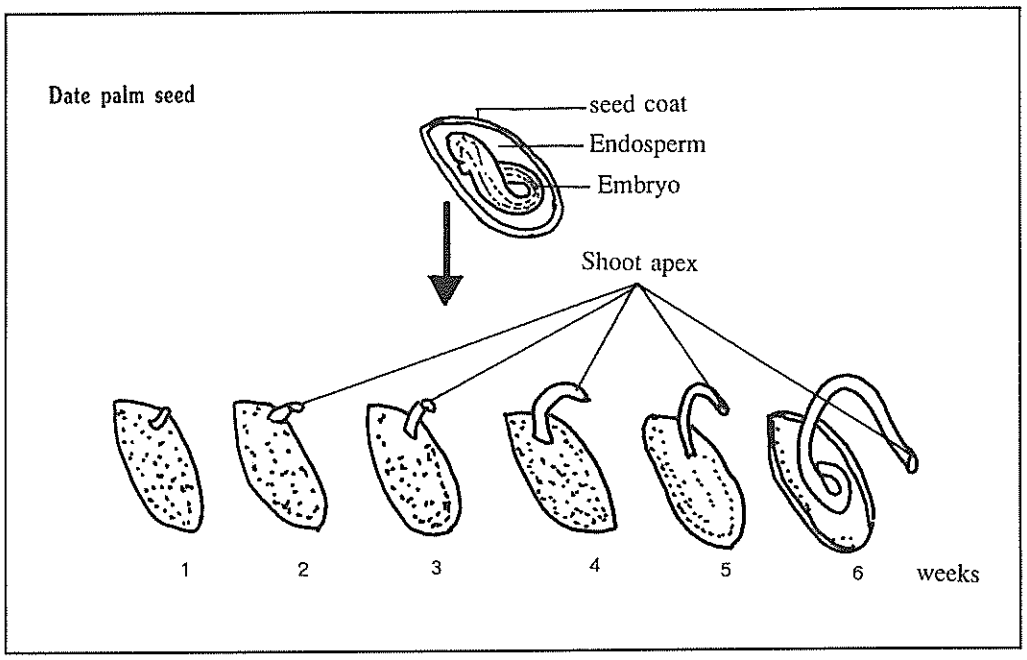

Figure 1 Germination of date palm seed and point of excision for tissue culture.

Table 2 Growth and development of tissue explants excised from 1, 2, 3, 4, 5 and 6 weeks old germ tube on culture media at 28° C under light intensity 3000 lux 16 hours per day for 7 months.

Age of[1/] germ tube explants (wk.)	Growth and development (%)[2/]								
	M 6			M 8			M 20[3/]		
	Shoot	Flowering	Anomalies[4/]	Shoot	Flowering	Anomalies	Shoot	Flowering	Anomalies
1	-	-	00	-	-	100	-	-	100
2	2	-	88	6	-	28	73.46	-	26.54
3	29.27	14.63[5/]	56.10	68.29	-	31.71	70.73	-	29.27
4	28	2[6/]	70	60	-	40	62	-	38
5	33.33	-	66.67	48.89	-	51.11	53.33	-	46.67
6	30.43	-	69.57	54.44	-	45.56	56.52	-	43.48

1/ : Total germ tube explants at least 40 replication per each treatment
2/ : Percentage of growth and development
3/ : Culture media as cited in Table 1
4/ : Cultures that shown abnormalities or weak characteristics
5/ : 3 male and 3 female flowering plantlets occurred from 41 explant cultures
6/ : 1 female flowering plantlet occurred from 50 explant cultures

เกิดขึ้นร่วมด้วยบนต้นอ่อนที่เจริญจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหาร M6 รวม 14.63% โดยเกิดทั้งดอกตัวในสัดส่วนเท่าๆ กัน และยังพบการเจริญพัฒนาเป็นต้นอ่อนถึง 68.29% และ 70.73% หลังการเพาะเลี้ยงพบอาหาร M8 และ M20

เนื้อเยื่อ germ tube อายุ 4 สัปดาห์ พบการสร้างดอกเกิดขึ้นในอัตรา 2% และความสามารถในการเจริญพัฒนาเป็นต้นอ่อนลดลงเหลือ 60% และ 62% ในอาหาร M8 และ M20 แต่ก็ยังจัดว่าอยู่ในเกณฑ์ดีกว่าผลการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อจาก germ tube อายุ 1 สัปดาห์ และ 5-6 สัปดาห์ (Table 2)

การเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ germ tube บนอาหาร M8 และ M20 ซึ่งเป็นอาหาร MS ที่มีส่วนผสมเสริมเป็นน้ำตาล sucrose 30 กรัม/ลิตร ร่วมกับ IAA 1.0 มก./

ลิตร และ BAP 10 มก./ลิตร หรือ NAA 1 มก./ลิตร และ Kinetin 10 มก./ลิตร ตามลำดับ แสดงถึงอิทธิพลของฮอร์โมนพืชที่มีสัดส่วนของ cytokinin สูงกว่า auxin เป็น 10 เท่า ทำให้มีผลกระตุ้นการสร้างรูปร่างเป็นต้นอ่อนที่มีลักษณะสมบูรณ์ครบทั้งส่วนลำต้น ใบและราก และยังมีโอกาสกระตุ้นให้เกิดการสร้างต้นใหม่ได้มากกว่าหนึ่งต้นบนชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเดียวกัน ขณะที่ฮอร์โมน auxin ทำหน้าที่กระตุ้นการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์เจริญทั่วๆ ไป ดังที่ พรทิพย์ และคณะ (2534) ได้รายงานผลการกระตุ้นการเจริญและพัฒนาของชิ้นส่วนตายอดอินทผลัมบนอาหารเพาะเลี้ยงดัดแปลงจากสูตร MS มีส่วนผสมของน้ำตาลและฮอร์โมนพืชในระดับ เดียวกันนี้

ส่วนความสามารถในการผลิตดอกของต้นอ่อนที่เจริญจากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ germ tube บนอาหาร M6 ซึ่งมีส่วนผสมของน้ำตาล glucose 50 กรัม/ลิตร ร่วมกับฮอร์โมน IAA 1 มก./ลิตร และ BAP 1 มก./ลิตร อาจเนื่องจากการให้น้ำตาล glucose ซึ่งเป็นรูปที่เหมาะต่อการนำไปใช้ได้ทันทีในระบบเมตะโบลิสซึม

Table 3 Growth and development of tissue explants excised from 3 weeks old germ tube on culture media at 28° C under light intensity 3000 lux 10 hours per day and 16 hours per day for 7 months.

Media	Growth and development							
	10 h/d length				16 h/d length			
	Total[1/]	Shoot	Flowering	Anomalies[3/]	Total	Shoot	Flowering	Anomalies
M1	35	9	-	26	56	14	-	42
M2	39	12	-	27	48	18	-	30
M3	41	12	-	29	45	12	-	33
M4	40	7	-	33	50	8	-	42
M5	46	8	-	38	45	9	-	36
M6	90[2/]	26	-	64	120[2/]	36	18[4/]	66
M7	50	11	-	39	48	9	-	39
M8	50	10	-	40	50	41	-	9
M9	49	8	-	41	51	10	-	41
M10	47	5	-	42	50	7	-	43
M11	45	12	-	33	40	5	-	35
M12	40	9	-	31	54	10	-	44
M13	42	7	-	35	45	9	-	36
M14	44	5	-	39	42	4	-	38
M15	35	4	-	31	42	6	-	36
M16	36	2	-	34	50	5	-	45
M17	39	3	-	36	46	4	-	42
M18	41	4	-	37	45	7	-	38
M19	50	6	-	44	47	5	-	42
M20	47	35	-	12	49	37	-	12
M21	48	7	-	41	50	8	-	42
M22	50	9	-	41	43	6	-	37
M23	50	10	-	40	47	9	-	38
M24	50	12	-	38	52	10	-	42

1/ : Total germ tube tissue explants

2/ : Total replication from 3 times experiments, about 50 replication for each time

3/ : Cultures that shown abnormalities or weak characteristies

4/ : 9 male and 9 female plantlets were found from total 120 tissue explant cultures, thus, induction of flowering rate was about 15%

และมีปริมาณสะสมเพียงพอ ขณะที่ฮอร์โมนเสริมทั้งสองชนิดที่รับเข้าไปอยู่ในอัตราส่วนเท่าๆ กัน ทำให้เกิดภาวะสมดุลต่อการกระตุ้นการสร้างดอก นอกจากนี้จากการสังเกตผลพบว่าถ้าการสร้างต้นอ่อนเกิดขึ้นหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหาร M6 จะพบเกิดเพียงหนึ่งต้นต่อจำนวนชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหนึ่งชิ้น

ภาวะโภชนาการและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดการสร้างดอกภายใต้สภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ดียิ่งขึ้น ได้ทำการทดลองเลี้ยงชิ้นส่วนเนื้อเยื่ออายุ 3 สัปดาห์หลังงอกจากเมล็ดบนอาหารเพาะเลี้ยงที่มีฮอร์โมนพืช auxin และ cytokinin ในสัดส่วน 1: 1 และ 1:10 ร่วมกับน้ำตาล glucose หรือ sucrose ในอัตรา 30 กรัม/ลิตร หรือ 50 กรัม/ลิตร ทดสอบช่วงเวลาการให้แสงสว่างความเข้มแสง 3000 ลักซ์ ระหว่างการให้เป็นช่วง 10 ชั่วโมง/วัน และ 16 ชั่วโมง/วัน ที่อุณหภูมิ 28° ซ

ผลการทดลองใน Table 3 แสดงว่าการให้แสงช่วงวันยาว 16 ชั่วโมงต่อวัน สามารถชักนำให้เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงมีการสร้างดอกขึ้นประมาณ 15% บนอาหาร M6 ซึ่งเป็นอัตราใกล้เคียงกับผลการทดสอบเบื้องต้นใน Table 2 ส่วนการเจริญพัฒนาเป็นต้นอ่อนโดยทั่วไปเกิดขึ้นทั้งในการให้ช่วงแสง 10 ชั่วโมง/วัน และ 16 ชั่วโมง/วัน และอาหารที่มีปริมาณน้ำตาล 30 กรัม/ลิตร โดยเฉพาะน้ำตาล sucrose ร่วมกับฮอร์โมน IAA หรือ NAA ปริมาณ 1 มก./ลิตร และ BAP หรือ kinetin ปริมาณ 10 มก./ลิตร หรืออาหารสูตร M8 และ M20 เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการสร้างต้นอ่อนจากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ germ tube

การทดลองในกรณีเดียวกันนี้โดย Ammar *et. al* (1987) ได้รายงานผลการชักนำการออกดอกของต้นกล้าอินทผลัมในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบอัตราการออกดอกประมาณ 16% โดยมีทั้งการเกิดดอกตัวผู้และดอกตัวเมียเช่นกัน แต่ไม่พบว่ามีรากเกิดขึ้นในต้นที่ออกดอก Ammar และคณะทำงาน จึงได้ตั้งข้อสังเกตไว้ว่า การชักนำการออกดอกจะเกิดขึ้นเฉพาะในกรณีที่มีการยับยั้งการสร้างรากในต้นเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาในครั้งใหม่นี้ แสดงผลการทดลองแตกต่างออกไปเล็กน้อย แม้ว่าจะมีการสร้างดอกจากการชักนำในอัตราค่อนข้างใกล้เคียงกันคือประมาณ 15% แต่การเกิดขึ้นของต้นและดอกที่พบในครั้งนี้มีความสมบูรณ์มากกว่า โดยพบอวัยวะครบทุกส่วนทั้งในต้นที่ออกดอกและต้นที่ไม่ออกดอก ซึ่งต้นที่ออกดอกก็มีทั้งลำต้น ใบ ดอก และราก ครบถ้วน (Fig.1)แสดงว่าไม่ได้มีการการแข่งขันโดยตรงในการใช้ฮอร์โมนควบคุมการเจริญพืชระหว่างการเอาไปใช้กระตุ้นการสร้างดอกและการสร้างรากดังที่ Ammar และคณะทำงานได้ให้ความเห็นไว้

สำหรับดอกอินทผลัมที่เกิดขึ้นบนต้นอ่อนระหว่างการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสีสันคล้ายคลึงกับดอกที่พบในต้นอินทผลัมที่ปลูกอยู่ในสภาพแวดล้อมภายนอกตามธรรมชาติ ซึ่งจากการเปรียบเทียบกับลักษณะดอกจากอินทผลัมต้นโตในแปลงที่มีการผลิดดอกตัวผู้และดอกตัวเมียแยกเป็นต้นละเพศ ดังใน Fig. 2* ทำให้ชี้ชัดได้แน่นอนยิ่งขึ้นว่าดอกที่ได้รับการชักนำให้เกิดขึ้นในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีลักษณะของเพศใด จากการทดลองชักนำให้เกิดการสร้างดอกภายใต้สภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบอัตราส่วนการเกิดดอกตัวผู้และดอกตัวเมียในอัตรา 1:1 จากจำนวนชิ้นส่วนเริ่มต้นทั้งหมด ซึ่งเป็นอัตราส่วนเดียวกับการเกิดในธรรมชาติที่พบในต้นอินทผลัม เจริญจากการเพาะเมล็ดโดยทั่วไป และการที่ลักษณะของดอกตัวผู้และดอกตัวเมียที่เกิดขึ้นในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด จึงง่ายต่อการจำแนกเพศทำให้สามารถทำการคัดต้นอินทผลัมเพศผู้หรือเพศเมียสำหรับการนำไปเพาะปลูกตามสัดส่วนที่คุ้มค่าในเชิงธุรกิจต่อไปได้

สรุปผลการทดลอง

การออกดอกของอินทผลัมสามารถชักนำให้เกิดขึ้นได้ภายใต้สภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีการควบคุมระดับสารอาหาร ฮอร์โมนพืช อุณหภูมิ แสง และช่วงวันการให้แสงอย่างเหมาะสม จากการทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการชักนำการออกดอกของต้นเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ germ tube อายุ 3 สัปดาห์หลังงอกจากเมล็ดมีการเจริญและออกดอกได้ภายในเวลา 6 เดือน หลังการเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีส่วนผสมเสริมของน้ำตาล glucose 50 กรัม/ลิตร รวมกับฮอร์โมน IAA 1 มก./ลิตร และ BAP 1 มก./ลิตร โดยบ่มชิ้นส่วนเนื้อเยื่อภายใต้อุณภูมิ 28° ซ ความเข้มแสง 3000 ลักซ์ ช่วงการให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน ซึ่งพบทั้งต้นที่ออกดอกตัวผู้และต้นที่ออกดอกตัวเมียในสัดส่วนเท่าๆ กัน โดยต้นที่เกิดการออกดอกดังกล่าวมีความสมบูรณ์ทุกส่วน ทั้งลำต้น ใบ ดอก และราก แม้ในการ

(*ดูภาพสีหน้า 50)

ทดลองครั้งนี้จะมีผลการชักนำการสร้างดอกในอัตราไม่สูงนัก คือประมาณ 15% ของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงทั้งหมด แต่ก็แสดงถึงความเป็นไปได้สำหรับการกระตุ้นการออกดอกแสดงเพศของต้นอินทผลัม ซึ่งผลการทดลองอาจใช้เป็นแนวทางในการศึกษาและปรับปรุงวิธีการให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น จนสามารถใช้เป็นสูตรสำเร็จสำหรับการชักนำการออกดอกเพื่อประโยชน์ในเชิงธุรกิจเกษตรและอื่นๆ ต่อไป

คำนิยม

ผลงานนี้เป็นโครงการวิจัยสนับสนุนโดยศูนย์ศึกษาค้นคว้าและพัฒนาเกษตรกรรมภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

พรทิพย์ วงศ์แก้ว, บุณเรือน เพียรงาน และจิติพร ผลธรรมพิทักษ์. 2534. การเพาะเลี้ยงเนื้อ เยื่ออินทผลัม. *แก่นเกษตร* 19(4) : 191-200.

สัมฤทธิ์ เฟื่องจันทร์, ประมณฑ์ ธรรมศักดิ์, ทวีเกียรติ ยิ้มสวัสดิ์, โสพล จินดาประเสริฐ, ไพฑูรย์ กิจเภาสงค์, แววจักร กองพลพรหม, ไสว สุหร้าย และจิตต์ อิสสรีย์. 2534. การศึกษาอินทผลัมในสภาพภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. *แก่นเกษตร* 19(4) : 184-190.

Ammar, S., A. Benbadis, and B.K. Tripathi 1987. Floral induction in date palm seedlings *(Phoenix dactylifera* var. Deglet Nour) cultured *in vitro. Can. J. Bot.* 65 : 137-142.

Murashige, T. and F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15 : 463-497.

Nixon, R.W. 1960. Report of the first international technical meeting on date production and processing. Date Grower's Inst, Dept. 37 : 5-7.

Watson, A.W. 1973. International Cooperation in research date palm culture. Date Grower's Inst. Rept. 50:13.