



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2561

เรื่องผลของคอลชิซินและรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ให้กับไซโกติกและโซมาติก
เอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันต่อการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมและ
การตรวจสอบผลของการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคทาง
ชีวโมเลกุลในหลอดทดลอง

Effects of Colchicine and UV radiation Treatment to Zygotic
and Somatic Embryos on Genetic Variation and Detection of
Genetic Variation by Molecular Technique *In Vitro*

สุภาวดี รามสูตร

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช
สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

บทคัดย่อ

หัวข้อวิจัย ผลของคอลชิซินและรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ให้กับไซโกติกและโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันต่อการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมและการตรวจสอบผลของการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลในหลอดทดลอง

ผู้วิจัย ผศ.ดร.สุภาวดี รามสูตร

ปีงบประมาณ 2561

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของคอลชิซินและรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ให้กับไซโกติกและโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันต่อการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมและการตรวจสอบผลของการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลในหลอดทดลอง โดยใช้ชิ้นส่วนไซโกติกเอ็มบริโอและเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ม.อ.มาจุ่มแช่สารคอลชิซิน (colchicine) ที่ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 12 24 และ 48 ชั่วโมง หรือฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV-C) ปริมาณ 0 1.8 3.6 7.2 และ 9.0 กิโลจูลต่อตารางเมตร สำหรับการชักนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส โดยใช้ชิ้นส่วนไซโกติกเอ็มบริโอเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) เติม dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ไม่มีการทรีตด้วยสารละลายคอลชิซินให้อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 94.31 เปอร์เซ็นต์ ให้การชักนำแคลลัสสูงสุด 25 เปอร์เซ็นต์ จำนวนเอ็มบริโอเจนิคเฉลี่ย 8.62 เอ็มบริโอต่อหลอด และให้อัตราการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอ 1.75 เปอร์เซ็นต์ จำนวนโซมาติกเอ็มบริโอ 1 เอ็มบริโอต่อหลอด ส่วนการฉายรังสี UV-C พบว่า ปริมาณรังสี UV-C 1.8 กิโลจูลต่อตารางเมตร ให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุด 76.88 เปอร์เซ็นต์ ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสูงสุด 23.33 เปอร์เซ็นต์ จำนวนเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสสูงสุด 7.92 เอ็มบริโอต่อหลอด สามารถชักนำโซมาติกเอ็มบริโอได้สูงสุด 1.13 ให้จำนวนโซมาติกเอ็มบริโอเฉลี่ย 1.00 เอ็มบริโอต่อหลอด สำหรับการชักนำโซมาติกเอ็มบริโอโดยใช้ชิ้นส่วนเอ็มบริโอเจนิคแคลลัส เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร OPCM เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่คอลชิซินเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ ให้อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 79.44 เปอร์เซ็นต์ และในแต่ละความเข้มข้นของคอลชิซินที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ให้อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 65.33 เปอร์เซ็นต์ เอ็มบริโอเจนิคแคลลัส ที่ไม่ทรีตด้วยคอลชิซินสามารถชักนำเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด 33.75 เอ็มบริโอต่อหลอด และ ที่ระดับความเข้มข้นของคอลชิซิน 0.20 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาการจุ่มแช่คอลชิซิน 48 ชั่วโมง ให้อัตราการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอสูงสุด 8.75 เปอร์เซ็นต์ จำนวนโซมาติกเอ็มบริโอ 2.75 เอ็มบริโอต่อหลอด ให้อัตราการเกิด HE สูงสุด 3.75 เปอร์เซ็นต์ จำนวน HE 3.50 เอ็มบริโอต่อหลอด และให้อัตราการเกิด GE สูงสุด 4 เปอร์เซ็นต์ และที่คอลชิซิน 0.20 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาการจุ่มแช่คอลชิซิน 24 ชั่วโมง ให้จำนวน GE เฉลี่ยสูงสุด 31.25 เอ็มบริโอต่อหลอด สำหรับการฉายรังสี UV-C พบว่า เอ็มบริโอเจนิคแคลลัสปาล์มน้ำมันที่ไม่ได้รับการฉายรังสี UV ให้อัตราการรอดชีวิตสูงสุด 80.63 เปอร์เซ็นต์ ชิ้นส่วน

เอ็มบริโอเจนิค-แคลล์ส ที่ไม่ได้รับการฉายรัง UV ให้อัตราการเกิดเอ็มบริโอเจนิค-แคลล์สสูงสุด 41.25 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเกิดโซมาติกเอ็มบริโอสูงสุด 28.50 เปอร์เซ็นต์ จำนวนโซมาติกเอ็มบริโอเฉลี่ยสูงสุด 2.88 เอ็มบริโอต่อหลอด ให้อัตราการเกิด HE 25 เปอร์เซ็นต์ จำนวน HE 2 เอ็มบริโอต่อหลอด ให้อัตราการเกิด GE 21.88 เปอร์เซ็นต์ จำนวน GE 13.11 เอ็มบริโอต่อหลอด และให้อัตราการเกิด SSE สูงสุด 8.75 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน SSE เฉลี่ยสูงสุด 2.25 เอ็มบริโอต่อหลอด สำหรับการชักนำเป็นพืชต้นใหม่ พบว่าความเข้มข้นของคอลชิซิน 0.10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาจุ่มแช่คอลชิซิน 24 ชั่วโมง ให้อัตราการ สร้างยอดสูงสุด 13.33 เปอร์เซ็นต์ จำนวน ยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.00 ยอดต่อชิ้นส่วน ความยาวยอดเฉลี่ย 1.10 เซนติเมตร และอัตราการเกิดรากสูงสุด 6.67 เปอร์เซ็นต์ จำนวนรากเฉลี่ย 5.50 รากต่อชิ้นส่วน ความยาวรากเฉลี่ย 1.00 เซนติเมตร โซมาติกเอ็มบริโอระยะ สร้างจาวที่ได้รับการฉาย UV 9 KJ/m² ให้อัตราการเกิดยอดสูงสุด 2.00 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ย 1.75 ยอดต่อ ชิ้นส่วน และความยาวยอดเฉลี่ย 0.25 เซนติเมตร และที่ไม่ได้รับการฉายรัง UV ให้อัตราการเกิดรากสูงสุด 76 เปอร์เซ็นต์ จำนวนรากเฉลี่ย 4 รากต่อชิ้นส่วน และความยาวรากเฉลี่ย 1.30 เซนติเมตร

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย ขอขอบคุณคณะกรรมการกองทุนสนับสนุนการวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ที่ประสานงานและให้ข้อเสนอแนะในการวิจัย ขอขอบคุณคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิที่ให้คำแนะนำและเสนอแนะในการวิจัย และผู้ทรงคุณวุฒิท่านอื่นๆ ที่ให้ข้อเสนอแนะจนรายงานการวิจัยเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพของพืชปลูก คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่อนุเคราะห์ปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ม.อ.

ผศ.ดร.สุภาวดี รามสูตร

คำนำ

รายงานการวิจัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของทุนอุดหนุนการวิจัยของสำนักงานคณะกรรมการ การอุดมศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช จัดทำขึ้นเพื่อผลของคอลชิซินและรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ให้กับไซโกติกและโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันต่อการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมและการตรวจสอบผลของการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลในหลอดทดลอง เพื่อสร้างความแปรปรวนและให้ได้ต้นปาล์มน้ำมันที่มีลักษณะใหม่ๆ ลักษณะใหม่ที่เกิดขึ้นนั้นคาดว่าจะให้ต้นที่เตี้ยกว่าเดิม ผลมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่งผลให้ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้มากขึ้นสามารถเพิ่มคุณค่าทางเศรษฐกิจให้กับปาล์มน้ำมันได้ ทั้งนี้เพื่อใช้ประโยชน์ในการสร้างสายพันธุ์ใหม่ทางการค้าในอนาคต

เนื้อหาในรายงานการวิจัยจะประกอบด้วยที่มาและความสำคัญของการวิจัย เอกสารที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย วิธีดำเนินการวิจัย ผลการวิเคราะห์ข้อมูล และสรุปผลและวิจารณ์ผลการวิจัย โดยจะมีตารางและภาพประกอบผลการวิจัยเพื่อให้ผู้สนใจศึกษาได้เข้าใจเนื้อหาได้ง่ายขึ้น

หากเนื้อหาในรายงานการวิจัยฉบับนี้ผิดพลาดประการใดผู้วิจัยขอน้อมรับและหวังว่าผลการวิจัยจะเป็นประโยชน์ต่อผู้สนใจและสามารถนำไปต่อยอดและเป็นแนวทางในการศึกษาวิจัยในอนาคต

ผศ.ดร.สุภาวดี รามสูตร

สารบัญ

| เรื่อง | หน้า |
|---|------|
| บทคัดย่อ | ก |
| กิตติกรรมประกาศ | ค |
| คำนำ..... | ง |
| สารบัญ..... | จ |
| สารบัญตาราง..... | ช |
| สารบัญภาพ..... | ซ |
| สารบัญภาคผนวก..... | ญ |
| สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ..... | ฎ |
| บทที่ | |
| 1 บทนำ..... | 1 |
| ที่มาและความสำคัญของการวิจัย..... | 1 |
| วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... | 3 |
| สมมติฐานของการวิจัย..... | 3 |
| ขอบเขตของการวิจัย..... | 3 |
| นิยามศัพท์เฉพาะ..... | 3 |
| ประโยชน์ของการวิจัย..... | 4 |
| 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... | 5 |
| ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของปาล์มน้ำมัน..... | 5 |
| องค์ประกอบของปาล์มน้ำมัน..... | 9 |
| พันธุ์ปาล์มน้ำมัน..... | 9 |
| โรคและแมลงศัตรูที่สำคัญของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน..... | 10 |
| การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ..... | 16 |
| การชักนำและพัฒนาของโสมมาติกเอ็มบริโอ..... | 17 |
| การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยสิ่งก่อกลายพันธุ์..... | 18 |
| งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้คออลิซินในการปรับปรุงพันธุ์พืช..... | 19 |
| งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้รังสีอัลตราไวโอเล็ตหรือรังสี UV ในการปรับปรุงพันธุ์พืช..... | 21 |
| 3 วิธีดำเนินการวิจัย..... | 22 |

| | |
|------------------------------|-----------|
| วัสดุพืช..... | 22 |
| สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง..... | 22 |
| อุปกรณ์การทดลอง..... | 23 |
| วิธีการทดลอง..... | 24 |
| 4 ผลและวิจารณ์ผล..... | 27 |
| 5 สรุปผล..... | 47 |
| บรรณานุกรม..... | 50 |
| ภาคผนวก..... | 56 |

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | หน้า |
|----------|---|
| 1 | ลักษณะพันธุ์ปาล์มน้ำมัน.....10 |
| 2 | อัตราการรอดชีวิตของไซโกติกเอ็มบริโอปาล์มน้ำมันที่จุ่มแช่ในสารละลายคอลชิซิน.....28 ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมงหลังจากเพาะเลี้ยงเป็น เวลา 1 เดือน |
| 3 | ผลของระดับความเข้มข้นของคอลชิซิน และระยะเวลาจุ่มแช่ต่อการพัฒนาของ.....30 ไซโกติกเอ็มบริโอ (Zygotic embryo : ZE) ปาล์มน้ำมัน หลังจากเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 3 เดือน |
| 4 | ผลของรังสี UV ต่อการพัฒนาของไซโกติกเอ็มบริโอปาล์มน้ำมัน หลังจากเพาะเลี้ยง.....33 เป็นเวลา 3 เดือน |
| 5 | อัตราการรอดชีวิตของเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสปาล์มน้ำมัน ที่จุ่มแช่ในสารละลาย.....35 คอลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมง หลังจากเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 1 เดือน |
| 6 | ผลของระดับความเข้มข้นของคอลชิซิน และระยะเวลาจุ่มแช่ต่อการพัฒนาของ.....38 เอ็มบริโอเจนิคแคลลัสปาล์มน้ำมัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 เดือน |
| 7 | ผลของรังสี UV ต่ออัตราการของขึ้นส่วนเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสปาล์มน้ำมัน วางเลี้ยง.....42 บนอาหารสูตร OPCM เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 3 เดือน |
| 8 | ผลของคอลชิซินต่อการงอกของไซมาติกเอ็มบริโอระยะสร้างจาว วางเลี้ยงบน.....44 อาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซอร์บิทอล 0.2 เปอร์เซ็นต์ Phytigel 0.2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน |
| 9 | ผลของรังสี UV ต่อการงอกของไซมาติกเอ็มบริโอระยะสร้างจาว วางเลี้ยงบน.....45 อาหารสูตร MS เติมน้ำตาลซอร์บิทอล 0.2 เปอร์เซ็นต์ Phytigel 0.2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก เข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน |

สารบัญภาพ

| ภาพที่ | หน้า |
|--------|--|
| 1 | รากปาล์มน้ำมัน.....6 |
| 2 | ลำต้นปาล์มน้ำมัน.....6 |
| 3 | ใบปาล์มน้ำมัน.....7 |
| 4 | ช่อดอกและดอกปาล์มน้ำมัน.....8 |
| 5 | ผลและเมล็ดปาล์มน้ำมัน.....9 |
| 6 | เมล็ดและไซมาติกเอ็มบริโอปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ มอ.....22 |
| 7 | อัตราการรอดชีวิตของไซโกติกเอ็มบริโอปาล์มน้ำมัน หลังจุ่มแช่ในสารละลาย.....28 คอลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง |
| 8 | อัตราการรอดชีวิตของไซโกติกเอ็มบริโอปาล์มน้ำมัน หลังจุ่มแช่ในสารละลาย.....29 คอลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง |
| 9 | อัตราการรอดชีวิตของไซโกติกเอ็มบริโอปาล์มน้ำมัน หลังจุ่มแช่ในสารละลาย.....29 คอลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง |
| 10 | ลักษณะไซโกติกเอ็มบริโอปาล์มน้ำมัน ทรिटด้วยสารละลายคอลชิซินที่ระดับความ.....31 เข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ บนอาหารสูตร MS เติม dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจาก เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน (บาร์ = 1 ซม.) |
| 11 | ผลของรังสี UV ต่ออัตราการรอดชีวิตของไซโกติกเอ็มบริโอปาล์มน้ำมัน หลังจาก.....32 เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน |
| 12 | ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไซโกติกเอ็มบริโอปาล์มน้ำมันที่ได้รับการฉาย UV.....33 ที่ปริมาณต่างๆ บนอาหารสูตร MS เติม dicamba เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน (บาร์ = 1 ซม.) |
| 13 | อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนเอ็มบริโอเจนิคแคลัสปาล์มน้ำมัน หลังจุ่มแช่ใน.....35 สารละลายคอลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง |
| 14 | อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนเอ็มบริโอเจนิคแคลัสปาล์มน้ำมัน หลังจุ่มแช่ใน.....36 สารละลายคอลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง |
| 15 | อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนเอ็มบริโอเจนิคแคลัสปาล์มน้ำมัน หลังจุ่มแช่ใน.....36 สารละลายคอลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง |
| 16 | ลักษณะเอ็มบริโอเจนิคแคลัสปาล์มน้ำมัน ทรिटด้วยสารละลายคอลชิซินระดับ.....39 |

ความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ บนอาหารสูตร OPCM เติม dicamba เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 3 เดือน (บาร์ = 1 ซม.)