วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 28:1 (49-59)

การใช้สารโคลชิซีนชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในบัวหลวง

Mutation Induction in Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) through Colchicine Treatment

กัญจนา แซ่เตียว[1] สุเม อรัญนารถ[1] และปรางทิพย์ มณีแสง[1]

บทคัดย่อ

การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกและพันธุ์ปทุมในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้สารโคลชิซีน ทำโดยแช่คัพภะและยอดในสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0, 0.02, 0.05 และ 0.1% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่าการใช้สารโคลชิซีนที่ความเข้มข้นสูงเป็นระยะเวลานานทำให้อัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตลดลง การศึกษาจำนวนโครโมโซมพบว่าต้นดิพลอยด์มีจำนวนโครโมโซม 2n=16 มีขนาดความยาวปากใบเฉลี่ย เท่ากับ 9.58 ไมโครเมตร และพบว่าเฉพาะสารโคลชิซีน ความเข้มข้น 0.1% เท่านั้นที่มีผลทำให้จำนวนโครโมโซมของบัวหลวง ทั้ง 2 พันธุ์ เพิ่มมากขึ้น โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ ได้เป็นต้นอนิวพลอยด์ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n+2=18 เป็นต้นมิกโซพลอยด์ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=16 และ 2n=32 มีขนาดความยาวปากใบเฉลี่ย 13.67 ไมโครเมตร และเป็นต้นเททราพลอยด์ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=32 มีขนาดความยาวปากใบเฉลี่ย 18.24 ไมโครเมตร โดยคัพภะของพันธุ์บุณฑริกที่ได้รับสารโคลชิซีนนาน 12 ชั่วโมง ได้ต้นมิกโซพลอยด์ 1 ต้น และต้นเททราพลอยด์ 1 ต้น และที่ได้รับสารนาน 24 ชั่วโมง ได้ต้นเททราพลอยด์ 4 ต้น ส่วนคัพภะของพันธุ์ปทุมที่ได้รับสารนาน 12 ชั่วโมง ได้ต้นมิกโซพลอยด์ 2 ต้น และต้นอนิวพลอยด์ 1 ต้น สำหรับการให้สารโคลชิซีน 0.1% กับยอดที่พัฒนามาจากคัพภะ พบว่าเมื่อแช่โคลชิซีนนาน 24 ชั่วโมง ทำให้ได้ต้นเททราพลอยด์ 2 ต้น และต้นที่แช่ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ได้ต้นเททราพลอยด์ 1 ต้น ลักษณะของต้นกลายพันธุ์ที่พบส่วนใหญ่ใบมีขนาดเล็กลง และมีการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นปกติ

Abstract

The effect of colchicine on mutation induction of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) 'Buntharik' and 'Pathum' was studied *in vitro*. Embryos and shoots were treated with colchicine at a concentration of 0, 0.02, 0.05 and 0.1% for 12 and 24 hours. The results showed that the higher concentration and the longer treatment duration, the less survival and growth obtained. However, even most of explants died when 0.1% colchicines applied but it was the only concentration that yielded polyploid. The cytological studied revealed that the diploid chromosome number was 2n = 16 and stoma length was 9.58 µm. The polyploid plantlets obtained could be classified into 3 groups including aneuploid with the chromosome number of 2n+2=18, mixoploid of 2n=16 and 2n=32 which had 13.67 µm stoma length and tatraploid of 2n=32 and 18.24 µm stoma length. Each of a mixoploid and a tatraploid plant were obtained from 'Buntharik' embryo treated with 0.1% colchicine for 12 hours and 4 tatraploid plants were obtained from the 24 hours treatment. In 'Pathum' cultivar, 2 mixoploid and 1 aneuploid plants were obtained from embryos treated with 0.1% colchicines for 12 hours whereas the other 2 tatraploid plants obtained from

[1] สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ฉลองกรุงลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

the treatment of 24 hours. Another for shoot explants, a tatraploid plant was obtained from 12 hours colchicines treatment. All mutants showed smaller leaf and slower growth than the normal plant.

คำนำ

บัวหลวงจัดเป็นพรรณไม้น้ำชนิดหนึ่ง (Holmes, 1986) ที่มีประวัติและความสัมพันธ์กับวิถีชีวิตของมนุษย์มายาวนาน ในประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกบัวหลวงประมาณ 5000 ไร่ กระจายอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศ (พรรณนีย์, 2548) และมีผู้สนใจหันมาปลูกบัวหลวงกันมากขึ้น เนื่องจากบัวหลวงเป็นพืชที่สามารถใช้ประโยชน์ได้จากทุกส่วน (Simpson. 2006) เช่น เส้นใยจากส่วนต่าง ๆ ใช้ทำเป็นกระดาษ (สกาวรัตน์, 2548) รากรักษาอาการอักเสบ (ทวี ทอง, 2545) และนำมาประกอบเป็นอาหาร โดยมีส่วนประกอบของวิตามินซี โปรตีน แป้ง และแคลเซียม (Warren, 1998) ใบอ่อนนำมารับประทานสด ใบแก่ใช้ห่ออาหาร เป็นส่วนผสมของยาจุดกันยุงสามารถต้านไวรัสและยับยั้งป้องกันไม่ให้เกิดเนื้องอก ก้านใบและก้านดอกใช้ขับไล่แมลง ดอกใช้สำหรับบูชาพระ กลีบดอกใช้ห่อมวนบุหรี่ ขับโลหิตและพบสารอัลคาลอยด์ชื่อว่า nelumbine อยู่ด้วย เกสรตัวผู้ใช้ทำเครื่องสำอางและใช้เป็นยาบำรุงหัวใจ (วาสนา, 2527) เมล็ดอ่อนและเมล็ดแก่สามารถนำมาประกอบเป็นอาหารได้ เปลือกเมล็ดใช้ทำปุ๋ยหมักและเป็นวัสดุสำหรับเพาะเห็ด (สุชาดา, 2542) ปัจจุบันเกษตรกรในประเทศไทยปลูกบัวหลวงเพื่อตัดดอกขายเป็นส่วนใหญ่ แต่ยังคงมีการปลูกบัวหลวงสำหรับเก็บเมล็ดและรากอยู่บ้าง เมื่อประมาณ 20 ปีที่แล้ว ประเทศไทยเคยเป็นผู้ส่งออกเมล็ดบัวหลวงไปขายยังประเทศจีนแต่ในขณะนี้ต้องนำเข้าเมล็ดและรากบัวหลวงจากประเทศจีนเป็นจำนวนมาก เพราะการปลูกบัวหลวงเพื่อเก็บเมล็ดและรากภายในประเทศมีน้อยลง ขณะที่ความต้องการบริโภคภายในประเทศมีเพิ่มมากขึ้น และนอกจากนี้เมล็ดและรากของบัวหลวงที่ผลิตได้ในประเทศไทยยังมีขนาดเล็กกว่าของที่ผลิตในประเทศจีน (ณ.นพชัย, 2547)

ปัจจุบันนี้บัวหลวงได้รับความนิยมอย่างกว้างขวางในตลาดโลก ดังนั้นจึงทำให้ทั้งชาวไทย และชาวต่างประเทศหันมาสนใจศึกษาบัวหลวงกันมากขึ้น โดยเฉพาะในประเทศจีนได้ปรับปรุงพันธุ์บัวหลวงจนได้สายพันธุ์ที่หลากหลาย

ในการปรับปรุงพันธุ์พืชนั้น วิธีการหนึ่งที่มีผู้นิยมใช้คือการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยสารเคมีที่มีคุณสมบัติในการเพิ่มจำนวนโครโมโซม วิธีการนี้สามารถนำไปใช้พัฒนาบัวหลวงของไทยให้มีสายพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะทางสรีระและทางสัณฐานดีขึ้น ซึ่งพืชที่มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นมักมีขนาดของราก ลำต้น ใบ ดอก ผล และเมล็ด ใหญ่ขึ้น รวมทั้งมีคุณค่าทางด้านอาหารและสรรพคุณทางยาเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะการพัฒนาพันธุ์สำหรับผลิตเมล็ดและรากให้มีคุณภาพเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคให้ทัดเทียมกับพันธุ์บัวหลวงของจีน และประเทศอื่น ๆ อาจทำให้เกษตรกรสนใจหันมาปลูกบัวหลวงเป็นพืชเศรษฐกิจกันมากขึ้น เพื่อทดแทนการนำเข้า ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาการใช้สารโคลชีซีนในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของบัวหลวงเพื่อให้ได้ต้นที่มีเมล็ดและรากที่ใหญ่ขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

ศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการใช้สารโคลชีซีนต่อชิ้นส่วนคัพภะ และยอดของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก และ พันธุ์ปทุมในสภาพปลอดเชื้อ โดยในแต่ละพันธุ์ทำการทดลองดังนี้

การใช้ชิ้นส่วนคัพภะ

นำคัพภะที่ได้จากเมล็ดที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาแช่ในสารละลายโคลชีซีนความเข้มข้น 0, 0.02, 0.05 และ 0.1% นาน 12 และ 24 ชั่วโมง จากนั้นย้ายเลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็ง(bi-layer) สูตร ½ MS ที่เติม IAA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ 2iP ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ เลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่มีสภาพแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน จัดกลุ่มการทดลองแบบ factorial in randomized complete block design มี 8 treatment combination ทรีทเมนต์ละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้น

การใช้ชิ้นส่วนยอดที่พัฒนามาจากคัพภะ

นำคัพภะที่ได้จากเมล็ดที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร ½ MS ที่เติม IAA ความเข้มข้น 3 ไมโคร โมลาร์ ร่วมกับ 2iP ความเข้มข้น 10ไมโครโมลาร์ เลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่มีสภาพแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2300 ลักซ์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เพื่อเพิ่มปริมาณยอด จากนั้นคัดเลือกเฉพาะยอดจากต้นที่มีลักษณะสมบูรณ์และมีขนาดใกล้เคียงกันมาแช่ในสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0, 0.02, 0.05 และ 0.1% นาน 12 และ 24 ชั่วโมง จากนั้นย้ายเลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร ½ MS ที่เติม IAA ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ 2iP ความเข้มข้น 10ไมโครโมลาร์ เลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่มีสภาพแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2300 ลักซ์ จัดกลุ่มการทดลองแบบ factorial in randomized complete block design มี 8 treatment combinations ทรีทเมนต์ละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ชิ้นส่วน

การบันทึกผลการเจริญเติบโต

บันทึกลักษณะการเจริญเติบโตของต้นบัวหลวงในสภาพปลอดเชื้อโดยการให้คะแนนตามเกณฑ์ดังนี้

1 คะแนน = ต้นตาย

2 คะแนน = ต้นผิดปกติ มีสีดำและสีน้ำตาลเป็นบางส่วน

3 คะแนน = ต้นมีการเจริญเติบโตน้อย ต้นมีลักษณะผิดปกติ เช่น ต้นอวบ ก้านใบสั้น ใบและยอดเปลี่ยนแปลงรูปร่าง

4 คะแนน = ต้นมีการเจริญเติบโตปานกลาง แต่ไม่พบลักษณะผิดปกติ

5 คะแนน = ต้นมีการเจริญเติบโตดี มีจำนวนใบเพิ่มขึ้น และมีจำนวนไหลมากกว่า 6 ไหลขึ้นไป

6 คะแนน = ต้นมีการเจริญเติบโตดีมากอย่างต่อเนื่อง และมีจำนวนไหลมากกว่า 14 ไหลขึ้นไป

การศึกษาจำนวนโครโมโซม

ตรวจวัดขนาดปากใบและจำนวนปากใบต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร โดยเลือกใบบัวหลวงหลังจากคลี่เต็มที่แล้ว 5 วัน ใช้น้ำยาทาเล็บชนิดใสทาผิวใบด้านบนแล้วลอกผิวใบออก แล้วนำมาตรวจดู จำนวน และ ขนาดความยาวของปากใบด้วยกล้องจุลทรรศน์ เปรียบเทียบกับต้นปกติ เพื่อเป็นการคัดเลือกเบื้องต้นสำหรับต้นที่อาจมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้น

การตรวจนับจำนวนโครโมโซมทำโดยตัดปลายรากอ่อน ความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ที่เวลา 8.30-11.00 นาฬิกา หยุดการแบ่งเซลล์ในระยะเมทาเฟส โดยแช่ปลายรากในสารละลาย 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 2 ไมโครโมลาร์ เก็บไว้ในตู้เย็นเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นล้างปลายรากด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แล้วนำปลายรากไปแช่ในสารละลายกรดน้ำส้มร่วมกับเอทิลแอลกอฮอล์ อัตราส่วน 1:3 เก็บไว้ในตู้เย็น เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เพื่อหยุดชีพจักรเซลล์ แล้วล้างปลายรากด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95% 3 ครั้ง จากนั้นนำปลายรากมาล้างด้วยน้ำกลั่น 10 นาที แล้วใช้วิธีการย่อยปลายรากจากการดัดแปลงตามวิธีการของสมศักดิ์ และสุมน (2543) และปรางทิพย์ (2550)โดยตัดปลายรากให้เหลือ 0.5 เซนติเมตร แล้วนำไปแช่ในสารละลายของเอ็นไซม์ประกอบด้วยเพคติเนส 2% ร่วมกับเซลลูเลส 2% บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นล้างเอ็นไซม์ออกด้วยน้ำกลั่น และหยดน้ำยาหยุดชีพจักรเซลล์จำนวน 1-2 หยด และขยี้ปลายรากเพื่อให้เซลล์กระจาย และผึ่งสไลด์ให้แห้งเป็นเวลา 5 ชั่วโมง แล้วนำสไลด์ที่ได้ไปแช่ในสารละลายสี giemsa ความเข้มข้น 2.0% เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างผ่านน้ำไหลและผึ่งสไลด์ให้แห้ง จากนั้นนำมาตรวจดูโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

ผลของสารโคลชิซีนต่อ*คัพภะ*ของบัวหลวงพันธุ์*บุณฑริก*

การรอดชีวิต ต้นจากคัพภะของบัวหลวงที่ได้รับสารโคลชิซีนที่มีความเข้มข้นและระยะเวลามากขึ้นมีแนวโน้มของการรอดชีวิตลดลง โดยต้นที่ได้รับสารความเข้มข้น 0.05% เป็นเวลา 24 ชั่วโมงเริ่มตายในสัปดาห์ที่ 12 และมีแนวโน้มการตายเพิ่มขึ้น จนถึงสัปดาห์ที่ 16 ซึ่งเป็นผลเช่นเดียวกันกับคัพภะที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง คัพภะที่ไม่ได้รับสารโคลชิซีน และ คัพภะที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.02% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงถึง 100% เช่นเดียวกัน ส่วนคัพภะที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.05% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีการรอดชีวิตเฉลี่ย 70 และ 60% ตามลำดับ และคัพภะที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีการรอดชีวิตเฉลี่ย 45 และ 40% ตามลำดับ (Table 1)

การเจริญเติบโต จากการศึกษาการเจริญเติบโตของต้นที่พัฒนามาจากคัพภะ เมื่ออายุ 20 สัปดาห์ พบว่า ต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซีน มีการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุดคือ 6.0 คะแนน ส่วนต้นที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.02% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่าในช่วงสัปดาห์ที่ 2-10 มีการเจริญเติบโตช้า และบางต้นมีลักษณะผิดปกติบางส่วน เช่น ยอดแรกมีขนาดใหญ่ขึ้น ก้านใบแรกและ ใบที่ 2 มีขนาดอวบใหญ่ สั้น ใบบิด แต่ในช่วงเวลาต่อมาทุกต้นมีลักษณะการเจริญเติบโตเป็นปกติ ใกล้เคียงกับต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซีน และมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย 6.0 คะแนน เช่นเดียวกัน ส่วนต้นที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.05% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย 4.40 และ 3.55 คะแนน ตามลำดับ และต้นที่ได้รับการแช่สารโคลชิซีน ความเข้มข้น 0.1% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยลดลงเหลือเพียง 2.25 และ 1.65 คะแนน ตามลำดับ (Table 1)

Table 1 Survival and growth of *Nelumbo nucifera* Gaertn. 'Buntharik' embryos treated with colchicine

Colchicine (%)	Time (hours)	Survival plants (%)	Score of growth	Leaf number	Leaf diameter (cm)	Petiole length (cm)	Bud number
0	12	100.00±0.00a	6.00±0.00a	33.76±2.57a	2.83±0.01a	43.85±0.38a	28.89±2.61a
	24	100.00±0.00a	6.00±0.00a	33.25±3.64a	2.85±0.03a	43.95±0.70a	28.43±2.91a
0.02	12	100.00±0.00a	6.00±0.00a	28.79±0.73ab	2.82±0.03a	43.77±0.94a	23.05±0.76b
	24	100.00±0.00a	6.00±0.00a	27.05±0.64b	2.77±0.15a	43.65±0.94a	21.75±0.76b
0.05	12	70.00±5.77b	4.40±0.37b	10.20±2.35c	1.89±0.12b	19.87±2.22b	5.20±1.63c
	24	60.00±14.14bc	3.55±0.63b	8.15±0.35c	1.62±0.02c	15.92±2.11c	3.80±0.29c
0.1	12	45.00±12.58c	2.25±0.40c	2.60±0.76d	1.14±0.07d	9.61±0.93d	1.60±0.28c
	24	40.00±0.00c	1.65±0.13c	1.90±0.25d	0.92±0.05e	9.26±1.16d	1.00±0.12c
F-test		**	**	**	**	**	**
CV (%)		17.80	13.33	18.67	5.27	8.99	21.71

Values within a column followed by the same letter are not significantly different by DMRT ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของสารโคลชิซีนต่อยอดของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก

การรอดชีวิต หลังการให้สารเป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่ายอดของบัวหลวงที่ไม่ได้รับสารโคลชิซีนและที่ได้รับสารความเข้มข้น 0.02 % เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง รอดชีวิตทั้งหมด ส่วนยอดที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้นสูงขึ้น คือ 0.05% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยลดลงเหลือ 30 และ 20% ตามลำดับ สำหรับต้นที่ได้รับสารโคลชิซีน ความเข้มข้น 0.1% นาน12 และ 24 ชั่วโมง ตายทั้งหมด (Table 2)

การเจริญเติบโต ต้นที่พัฒนามาจากยอดที่ได้รับการแช่สารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.02% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีการเจริญดีขึ้นอย่างสม่ำเสมอ ส่วนต้นจากยอดที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.05 % เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีคะแนนการเจริญเติบโตลดลงอย่างชัดเจน ในช่วงสัปดาห์ที่ 8-20 โดยมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย 1.65 และ 0.95 คะแนน ตามลำดับ (Table 2) โดยพบว่ามีบางต้นตายและบางต้นที่รอดชีวิตในระยะแรกก้านใบยืดยาวขึ้นเล็กน้อย แต่ก้านใบอวบหนาและสั้นลง แต่เปราะหักง่าย ไม่มีหนามตามก้านใบ เมื่อก้านใบหักพบว่าไม่มียาง ท่อภายในก้านใบมีขนาดใหญ่กว่าท่อของก้านใบของต้นปกติและมีขนาดไม่เท่ากัน เมื่อต้นมีอายุมากขึ้นเริ่มมีการแตกใบและไหลเพิ่มมากขึ้น ซึ่งลักษณะของก้านใบ และส่วนต่างๆ ที่แตกออกมาในช่วงหลังไม่แตกต่างจากต้นจากยอดที่ไม่ได้รับการแช่สารโคลชิซีน สำหรับยอดที่ได้รับสารโคลชิซีน ความเข้มข้น 0.1% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง ในระยะแรกยอดอวบใหญ่ขึ้น แต่กาบหุ้มตาไหลปิดสนิท ทำให้ไม่มีการแตกไหลเพิ่มขึ้น ทำให้ต้นไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ นอกจากนี้ยังพบว่าทุกต้นที่รอดชีวิตจากทุกวิธีการที่ทดลองนี้ไม่มีรากเกิดขึ้น

Table 2 Survival and growth of *Nelumbo nucifera* Gaertn. 'Buntharik' shoots treated with colchicine

Colchicine (%)	Time (hours)	Survival plants (%)	Score of growth	Leaf number	Leaf diameter (cm)	Petiole length (cm)	Bud number
0	12	100.00±0.00a	6.00±0.00a	29.85±0.39a	2.97±0.05a	44.47±0.42a	20.28±1.00a
	24	100.00±0.00a	6.00±0.00a	29.65±0.38a	2.98±0.01a	45.18±0.15a	20.65±0.63a
0.02	12	100.00±0.00a	6.00±0.00a	28.64±0.72ab	2.92±0.02a	43.63±0.13a	19.65±1.25ab
	24	100.00±0.00a	6.00±0.00a	28.26±0.60b	2.89±0.02a	42.75±0.36a	18.78±0.66b
0.05	12	30.00±5.77b	1.65±0.22b	6.08±0.11c	1.06±0.34b	5.93±1.30b	3.50±0.13c
	24	20.00±4.16c	0.95±0.09c	5.58±0.47c	0.61±0.01c	4.80±1.88b	3.35±0.33c
0.1	12	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00c	0.00±0.00d
	24	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00c	0.00±0.00d
F-test		**	**	**	**	**	**
CV (%)		12.57	5.14	5.24	15.81	7.16	10.88

Values within a column followed by the same letter are not significantly different by DMRT ($p \leq 0.05$)

ผลของสารโคลชิซีนต่อคัพภะของบัวหลวงพันธุ์ปทุม

การรอดชีวิต ในสัปดาห์ที่ 16 คัพภะที่ผ่านการแช่สารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.02% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 100% เช่นเดียวกับคัพภะที่ไม่ได้รับสาร ส่วนที่ได้รับสาร โคลชิซีนความเข้มข้น 0.05% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยลดลงเหลือ 70 และ 50% ตามลำดับ สำหรับคัพภะที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง ซึ่งมีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากัน คือ 30% ซึ่งน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับโคลชิซีนความเข้มข้นอื่น ๆ (Table 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 3 Survival and growth of *Nelumbo nucifera* Gaertn. 'Pathum' embryos treated with colchicine

Colchicine (%)	Time (hours)	Survival plants (%)	Score of growth	Leaf number	Leaf diameter (cm)	Petiole length (cm)	Bud number
0	12	100.00±0.00a	6.00±0.00a	35.05±0.74a	2.71±0.02a	43.99±0.62a	28.23±1.03a
	24	100.00±0.00a	6.00±0.00a	34.49±0.57a	2.71±0.02a	44.12±0.58a	27.25±0.61a
0.02	12	100.00±0.00a	6.00±0.00a	29.46±0.54b	2.68±0.02a	43.35±0.56a	23.30±0.77b
	24	100.00±0.00a	5.95±0.05a	28.90±0.10b	2.67±0.03a	42.90±0.51a	21.40±0.53b
0.05	12	70.00±5.75b	4.50±0.29b	9.95±1.52c	1.82±0.13b	20.56±2.57b	5.08±0.89c
	24	50.00±12.90c	3.45±0.61c	5.08±0.52d	1.45±0.14b	10.44±0.45c	3.25±0.31cd
0.1	12	30.00±10.00d	1.75±0.38d	2.95±0.92de	0.75±0.25c	6.44±2.19c	1.55±0.59de
	24	30.00±5.74d	1.25±0.10d	1.30±0.48e	0.73±0.24c	6.25±2.09c	0.55±0.19e
F-test		**	**	**	**	**	**
CV (%)		17.80	12.62	8.47	14.69	10.76	9.67

Values within a column followed by the same letter are not significantly different by DMRT ($p \leq 0.05$)

การเจริญเติบโต ต้นที่พัฒนามาจากคัพภะที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีจำนวนต้นที่มีลักษณะผิดปกติมากกว่าต้นจากคัพภะที่ได้รับสารเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งลักษณะผิดปกติที่พบ เช่น ยอดอวบใหญ่ กาบหุ้มตาปิด ก้านใบสั้นและอวบใหญ่ขึ้น บางต้นก้านใบขดม้วนและไม่มีหนาม บางต้นก้านใบมีสีเขียวอ่อนและมีขนาดเล็ก รูปทรงของใบเปลี่ยนไปโดยลักษณะส่วนใหญ่ที่พบ เช่น ใบไม่คลี่ ใบมีสีเขียวอ่อนรูปร่างคล้ายกระเปาะ ใบด่าง มีรยางค์ที่โคนก้านใบ รากอวบและสั้น ส่วนต้นจากคัพภะที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.02 และ 0.05% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่าในช่วงแรกก้านใบสั้นลงเล็กน้อย แต่เมื่อต้นสามารถแตกใบและไหลในชุดถัดมา ต้นที่เกิดใหม่มีลักษณะไม่แตกต่างกับต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซีน โดยมีการเจริญเติบโตในภาพรวม เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งเมื่ออายุ 20 สัปดาห์ พบว่า ต้นที่ได้รับสารโคลชิซีน ความเข้มข้น 0.02% เป็นเวลา 12 ชั่วโมง มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ยเท่ากับต้นปกติ คือ 6.0 คะแนน และต้นที่ได้รับสารโคลชิซีน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย เท่ากับ 5.95 คะแนน สำหรับต้นจากที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.05 และ 0.1% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย เท่ากับ 4.50, 3.45, 1.75 และ1.25 คะแนน ตามลำดับ (Table 3)

ผลของสารโคลชิซีนต่อยอดของบัวหลวงพันธุ์ปทุม

การรอดชีวิต ยอดที่ผ่านการแช่สารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.05 และ 0.1% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง เริ่มตายในสัปดาห์ที่ 8 และมีแนวโน้มตายเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงสัปดาห์ที่ 16 โดยยอดที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1% เป็นเวลา 12 ชั่วโมง รอดชีวิตเพียง 5% และที่แช่นาน 24 ชั่วโมง ตายทั้งหมดในสัปดาห์ที่ 12 ส่วนยอดที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.05 เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีการรอดชีวิตเฉลี่ย เท่ากับ 30 และ 15 % ตามลำดับ ส่วนยอดที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.02% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีการรอดชีวิตเฉลี่ย 100% ซึ่งเท่ากันกับยอดที่ไม่ได้รับสาร (Table 4)

การเจริญเติบโต ต้นที่เจริญมาจากยอดที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่าในช่วงแรกใบมีสีเขียวสดและบางต้นมีเพียงยอดเดิมแต่ขยายใหญ่ขึ้นและกาบหุ้มตาปิด ส่วนใหญ่ไม่มีไหลงอกออกมาจากจุดกำเนิด แต่ต้นมีชีวิตอยู่ได้จนอายุ 8 สัปดาห์ จึงเริ่มตายเนื่องจากยอดไม่สามารถพัฒนาและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่แตกไหล โดยยอดที่แช่โคลชิซีนนาน 24 ชั่วโมง ตายทั้งหมด อย่างไรก็ตามพบต้นที่สามารถรอดชีวิตหลังจากได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1% เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จำนวน1 ต้น คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 5% และมีค่าการเจริญเติบโตเฉลี่ย 0.25 คะแนน โดยพบว่ามีต้นใหม่เจริญออกมาจากตาที่อยู่ด้านข้างของยอดเดิม ส่วนการใช้สารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.05% เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่า มีจำนวนต้นที่รอดชีวิตมากกว่าที่ใช้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถึงเกือบเท่าตัว คือ 1.60 และ 0.90 คะแนน ตามลำดับ แต่ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นที่รอดชีวิตจากทั้ง 2 ระยะเวลาเมื่อต้นมีอายุ 20 สัปดาห์ ไม่มีความแตกต่างกันและไม่แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซีน

สำหรับต้นที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.02% เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง รอดชีวิตทุกต้น และมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย 6.00 คะแนน เท่ากับต้นปกติ โดยมีการเจริญเติบโตด้านจำนวนใบ ความยาวก้านใบ และจำนวนไหล เพิ่มขึ้นในทุก ๆ สัปดาห์ ใกล้เคียงกับต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซีนแต่แนวโน้มของจำนวนรากในต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซีนดีกว่า ในขณะที่ต้นจากยอดที่ได้รับการแช่สารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.02 % เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีการเจริญเติบโตของ ในช่วง 8-12 สัปดาห์ ค่อนข้างช้า มีจำนวนใบ ความยาวก้านใบ และจำนวนไหล และมีการเกิดรากจำนวนน้อย (Table 4)

Table 4 Survival and growth of *Nelumbo nucifera* Gaertn. 'Pathum' shoots treated with colchicine

Colchicine (%)	Time (hours)	Survival plants (%)	Score of growth	Leaf number	Leaf diameter (cm)	Petiole length (cm)	Bud number
0	12	100.00±0.00a	6.00±0.00a	29.87±0.21a	2.85±0.05a	45.11±0.68a	20.80±0.71a
	24	100.00±0.00a	6.00±0.00a	29.77±0.10a	2.84±0.01a	44.41±0.18a	21.25±0.47a
0.02	12	100.00±0.00a	6.00±0.00a	28.43±0.73a	2.80±0.02a	43.41±0.14a	19.20±1.50a
	24	100.00±0.00a	6.00±0.00a	28.10±0.62a	2.75±0.02a	42.92±0.35a	17.88±1.00ab
0.05	12	30.00±5.77b	1.60±0.22b	6.09±2.04b	0.96±0.34b	8.76±3.06b	3.63±1.26c
	24	15.00±5.00c	0.90±0.36c	2.82±1.02c	0.32±0.01c	4.38±1.46c	1.18±0.51d
0.1	12	5.00±5.00d	0.25±0.00d	0.75±0.75cd	0.09±0.09c	0.10±0.10d	0.25±0.25d
	24	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00d	0.00±0.00c	0.00±0.00d	0.00±0.00d
F-test		**	**	**	**	**	**
CV (%)		11.48	9.59	10.43	16.00	10.43	15.23

Values within a column followed by the same letter are not significantly different by DMRT ($p \leq 0.05$)

ผลการศึกษาจำนวนโครโมโซมและปากใบ

ต้นปกติที่เป็นดิพลอยด์ (diploid) ของบัวหลวงทั้ง 2 พันธุ์ มีจำนวนโครโมโซม 16 แท่ง (2n=2x=16) (Figure 1A) มีขนาดความยาวปากใบ 9.58 ไมโครเมตร จำนวนปากใบเฉลี่ยต่อ 1 ตารางมิลลิเมตร 123.35 เซลล์ (Table 5) จากการศึกษาในต้นที่รอดชีวิตจากการได้รับสารโคลชิซีนพบว่าสารโคลชิซีนสามารถชักนำให้ต้นบัวหลวงมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นได้ โดยพบต้นที่มีโครโมโซมเป็น อนิวพลอยด์ (aneupliod) มีจำนวนโครโมโซม 18 แท่ง (2n+2=18) (Figure 1B) ต้นที่เป็น มิกโซพลอยด์ (mixoploid) คือมีจำนวนโครโมโซม 32 และ 16 แท่ง (2n=4x=36 และ 2n=2x=16)ในต้นเดียวกัน และต้นเททราพลอยด์ (tetraploid) มีจำนวนโครโมโซม 32 แท่ง (2n=4x=32) (Figure 1C) ที่มีขนาดความยาวปากใบ 18.24 ไมโครเมตร และจำนวนปากใบเฉลี่ยต่อ 1 ตารางมิลลิเมตร 73.62 เซลล์ (Table 5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกพบต้นที่เป็นพอลีพลอยด์ทั้งหมด 6 ต้น แบ่งเป็นเททราพลอยด์ 5 ต้น ที่ได้จากการแช่คัพภะในโคลชิซีน 0.1% เป็นเวลา 12 ชั่วโมง 1 ต้น และ 24 ชั่วโมง จำนวน 4 ต้น และได้มิกโซพลอยด์ 1 ต้น จากการแช่คัพภะในโคลชิซีน 0.1% นาน 12 ชั่วโมง

สำหรับบัวหลวงพันธุ์ปทุมได้ต้นที่เป็นพอลีพลอยด์ทั้งหมด 6 ต้น เช่นเดียวกันแต่เป็นเททราพลอยด์ 3 ต้น ซึ่งได้จากการแช่คัพภะในโคลชิซีน 0.1% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 2 ต้น และจากการแช่ยอดในโคลชิซีน 0.1% เป็นเวลา 12 ชั่วโมงอีก 1 ต้น ส่วนที่เหลืออีก 3 ต้น เป็นมิกโซพลอยด์ 2 ต้น และ อนิวพลอยด์ 1 ต้น ซึ่งพบในต้นจากคัพภะที่ได้รับสารโคลชิซีน 0.1% เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (Table 6)

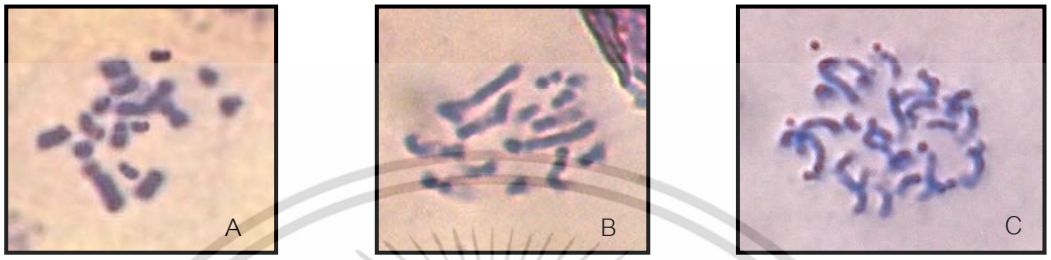

Figure 1 Chromosomes of *Nelumbo nucifera* Gaertn. 'Buntharik' (A) normal plant 2n=16, (B) aneuploid 2n+2=18, (C) tetraploid 2n=4x=3

Table 5 Stoma length and number per mm^2 of various ploidy levels of *Nelumbo nucifera* Gaertn.'Buntharik' and 'Pathum' plantlets.

ploidy	stoma length (µm)	stoma number/mm^2
Diploid 2n=2x=16	9.58	123.35
Aneuploid 2n+2=18*	nd	nd
Mixoploid 2n=4x=32 & 2n=2x=16	13.67	107.07
Tetraploid 2n=4x=32	18.24	73.62

nd = no data

วิจารณ์ผลการทดลอง

คัพภะและยอดของบัวหลวงที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเมื่อได้รับสารโคลชิซีนมีอัตราการรอดชีวิตลดลงเมื่อใช้สารโคลชิซีนความเข้มข้นสูงขึ้นและระยะเวลานานขึ้น ผลดังกล่าวนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของดิเรก (2537) ที่พบว่าการใช้สารโคลชิซีนที่ความเข้มข้นสูงขึ้นและระยะเวลานานขึ้นทำให้อัตราการรอดชีวิตของต้นเยอบีร่าลดลงและจากการสังเกตลักษณะการตายของต้นบัวหลวงที่ได้รับโคลชิซีนพบว่าเกิดลักษณะกาบหุ้มตาไหลปิดทำให้ไม่มีการแทงไหลใหม่และไม่มีการแตกใบใหม่เพิ่มขึ้น ในบางต้นไม่พบการเจริญของราก ซึ่งจากการศึกษาของ Dermen (1940) พบว่าโคลชิซีนไม่ได้จำกัดอยู่เฉพาะการแบ่งเซลล์ แต่การแพร่เข้าไปภายในเซลล์มีผลทำให้องค์ประกอบอื่น ๆ ของเซลล์ทำหน้าที่ผิดปกติไปได้เช่นกัน จึงทำให้เซลล์ที่ได้รับสารโคลชิซีนเกิดความผิดปกติซึ่งอาจรุนแรงถึงขั้นเซลล์ตายได้ การใช้สารโคลชิซีนความเข้มข้นสูงเป็นระยะนานมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นบัวหลวง โดยต้นจากชิ้นส่วนที่ได้รับการแช่สารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1% มีก้านใบสั้นที่สุด และพบต้นที่แสดงลักษณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผิดปกติมากที่สุดเช่นกัน โดยพบต้นมีลักษณะเตี้ยแคระ ก้านใบอวบใหญ่ขึ้น ก้านใบสั้นลง ผิวที่ก้านใบโป่งพองไม่สม่ำเสมอ ยอดมีขนาดอวบใหญ่ขึ้น ส่วนคัพภะ และยอด ของบัวหลวงหลังได้รับสารโคลชิซีน ความเข้มข้นต่ำลง คือที่ 0.02% นาน 12 และ 24 ชั่วโมง มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซีน

Table 6 Chromosome number of the survived *Nelumbo nucifera* Gaertn.'Buntharik' and 'Pathum' plantlets.

Treatment			Number of survival plants	'Buntharik'				Number of survival plants	'Pathum'			
Explant	Colchicine (%)	Duration (hour)		Number of plant					Number of plant			
				2n=16	*2n = 18*	2n=32, 16	4x=32		2n=16	2n=18	2n=32, 16	4x=32
Embryo	0	12	20	20	0	0	0	20	20	0	0	0
		24	20	20	0	0	0	20	20	0	0	0
	0.02	12	20	20	0	0	0	20	20	0	0	0
		24	20	20	0	0	0	20	20	0	0	0
	0.05	12	14	14	0	0	0	14	14	0	0	0
		24	12	12	0	0	0	10	10	0	0	0
	0.1	12	9	7	0	1	1	6	3	1	2	0
		24	8	4	0	0	4	6	4	0	0	2
Shoot	0	12	20	20	0	0	0	20	20	0	0	0
		24	20	20	0	0	0	20	20	0	0	0
	0.02	12	20	20	0	0	0	20	20	0	0	0
		24	20	20	0	0	0	20	20	0	0	0
	0.05	12	7	7	0	0	0	6	6	0	0	0
		24	4	4	0	0	0	3	3	0	0	0
	0.1	12	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
		24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

อย่างไรก็ตามพบว่าต้นบัวหลวงบางต้นมีลักษณะผิดปกติเกิดขึ้นในระยะแรกเท่านั้น หลังจากที่เพาะเลี้ยงต่อไปเป็นเวลานาน ต้นสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติและมีลักษณะไม่แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซีน ลักษณะดังกล่าวนี้จัดเป็นการผิดปกติจากการถูกทำลายทางสรีระ (physiological damage) ซึ่งรงรอง (2528) รายงานว่าพบความผิดปกติในระยะแรกดังกล่าวในต้นเยอบีร่าบางต้นที่ได้รับสารโคลชิซีน และลักษณะผิดปกติต่าง ๆ จะหายไปเมื่อมีการแตกยอดใหม่ขึ้นมา

การศึกษาจำนวนโครโมโซมของต้นบัวหลวงทั้ง 2 พันธุ์ ที่รอดชีวิต พบว่ามีต้นที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นอนิวพลอยด์ (2n+2=18) ซึ่งอาจเกิดจากการที่สารโคลชิซีนไม่สามารถยับยั้งการสร้างเส้นใยสเปินเดิลในระยะเมทาเฟสได้อย่างสมบูรณ์ในบางเซลล์ เมื่อเซลล์สร้างเซลล์เพลท (cell plate) ขึ้นมาเพื่อแบ่งเซลล์ออกเป็น 2 เซลล์ จึงพบว่าบางเซลล์มีจำนวนโครโมโซมมากกว่าหรือน้อยกว่า 2n เป็นบางแห่งเท่านั้น เมื่อเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซมมากกว่า 2n พัฒนาไปเป็นต้นใหม่ จึงทำให้ต้นที่ได้จำนวนโครโมโซมมากกว่า 2n (Swanson, *et al*. 1967) สำหรับกรณีของที่ต้นบัวหลวงที่เป็นมิกโซพลอยด์ มีเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซม เป็น 2n=2x=16 และ 2n=4x=32 รวมอยู่ในต้นเดียวกัน อาจเกิดขึ้นเนื่องจากต้นที่เกิดใหม่มาจากเซลล์ต้นกำเนิดหลายเซลล์ที่แต่ละเซลล์มีจำนวนโครโมโซมต่างกัน ทั้งที่เป็นดิพลอยด์ และ เททราพลอยด์ ทำให้เกิดลักษณะที่เรียกว่ามิกโซพลอยด์ขึ้นได้ ซึ่งการที่พบต้นบัวหลวงมีจำนวน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครโมโซมเป็นแบบมิกโซพลอยด์นี้สอดคล้องกับการทดลองของ Kuksova, *et al*. (1997) ที่พบต้นกลายพันธุ์ของอุ่นที่พัฒนามาจากแคลลัสปฐมภูมิ (primary callus) และ เอ็มบริโอเจนิกแคลลัส (embryogenic callus) มีจำนวนโครโมโซมเป็นแบบมิกโซพลอยด์ คือ 2n=38 และ 2n=72

จากการวัดขนาดความยาวปากใบ และนับจำนวนปากใบต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ของต้นบัวหลวงทั้ง 2 พันธุ์ที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นดิพลอยด์พบว่ามีขนาดความยาวปากใบเฉลี่ย เท่ากับ 9.58 ไมโครเมตร ซึ่งใกล้เคียงกับการทดลองของ ประเสริฐ (2551) ในขณะที่ต้นมิกโซพลอยด์ พบว่าปากใบที่มีขนาดไม่แน่นอนคือพบทั้งเซลล์ที่มีขนาดยาวกว่าเซลล์ปกติและเซลล์ที่มีขนาดยาวเท่ากับเซลล์ปกติ สอดคล้องกับงานของ Roy, *et al*. (2001) พบว่าต้นฮอพที่ได้รับสารโคลชิซีน และ มีจำนวนโครโมโซมเป็นมิกโซพลอยด์ มีปากใบบางเซลล์เป็นเททราพลอยด์ และบางเซลล์เป็นดิพลอยด์ ส่วนต้นเททราพลอยด์ของบัวหลวง จากงานวิจัยนี้พบว่ามีขนาดความยาวของปากใบยาวกว่าต้นดิพลอยด์เกือบเท่าตัว และมีจำนวนปากใบต่อพื้นที่น้อยกว่าต้นดิพลอยด์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Biswas and Bhattacharyya (1976) ที่พบว่าต้น *Phaseolus vulgaris* ที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นแบบเททราพลอยด์ มีขนาดความยาวของปากใบยาวกว่าต้นดิพลอยด์ ซึ่ง Fehr (1987) อธิบายว่าในกรณีที่พืชมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นเท่าตัว เซลล์จะมีขนาดเพิ่มขึ้น จึงอาจทำให้ขนาดของปากใบยาวกว่าพืชปกติที่เป็นดิพลอยด์ สำหรับในกรณีของต้นที่เป็นอนิวพลอยด์นั้น แม้ว่าในกรณีของบัวหลวงจากงานวิจัยนี้ไม่พบความผิดปกติทางสรีระที่ชัดเจน คือมีลักษณะผิดปกติบางส่วน เช่น ยอดมีขนาดใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์เล็กน้อย แต่จากงานวิจัยของ Nagai, *et al*. (1986) รายงานว่า สารโคลชิซีนสามารถชักนำให้ต้นอ้อยมีจำนวนโครโมโซมเป็นแบบอนิวพลอยด์ และมีการเจริญเติบโตลดลง โดยอธิบายว่าการที่พืชมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นมาเพียงบางแท่ง อาจทำให้เซลล์เสียสมดุล ส่งผลทำให้ลักษณะทางสรีระและ สัณฐานของพืชผิดปกติตามไปด้วย นอกจากนี้ลักษณะอนิวพลอยด์ในพืชบางชนิดอาจไม่มีความสมบูรณ์แข็งแรงเท่ากับพืชดิพลอยด์ (กฤษฎา 2528)

เมื่อพิจารณาถึงเนื้อเยื่อหรือชิ้นส่วนพืชที่นำมาใช้ในการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมโดยใช้สารโคลชิซีน ในกรณีของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกและ พันธุ์ปทุมที่ใช้ในการทดลองนี้ พบว่าการใช้คัพภะสามารถชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้มากกว่าการใช้ยอด ซึ่งแม้ว่าจากการทดลองนี้จะใช้ยอดที่พัฒนามาจากคัพภะก็ตาม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ DeRobertis, *et al*. (1975) ที่พบว่าการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในเซลล์ร่างกาย (somatic mutation) หากต้องการให้ได้ผลดีควรใช้ชิ้นส่วนจากคัพภะเนื่องจากเนื้อเยื่อเจริญที่คัพภะมีการตอบสนองต่อสารก่อการกลายพันธุ์ได้ดีกว่าเนื้อเยื่อจากส่วนอื่น ๆ

เอกสารอ้างอิง

กฤษฎา สัมพันธารักษ์. 2528. การปรับปรุงพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณ.นพชัย ชาญศิลป์. 2547. การแบ่งประเภทบัวตามการใช้ประโยชน์. หน้า 2-4.ในการประชุม การพัฒนาบัวให้เป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศ. กรุงเทพฯ: พิพิธภัณฑ์และวัฒนธรรมการเกษตร.

ดิเรก ตนพยอม. 2537. ผลของจำนวนชุดโครโมโซมต่อลักษณะสัณฐานวิทยาของเยอบีร่า. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทวีทอง หงส์วิวัฒน์. 2545. สารานุกรมผัก. กรุงเทพฯ: แสงแดด.

ปรางทิพย์ มณีแสง. 2550. การศึกษาเทคนิคการย้อมสีโครโมโซมบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaertn.). ปัญหาพิเศษ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง.

ประเสริฐ แป๊ะสกุล. 2551. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของบัวหลวงโดยใช้สารออรีซาลิน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง.

พรรณนีย์ วิชชาชู. 2548. บัวหลวงเป็นพืชเศรษฐกิจ. กสิกร. 78(4): 62-69.

รงรอง วิเศษสุวรรณ. 2528. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของเยอบีราในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วาสนา มิตรานนท์. 2527. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพืชสกุลบัวหลวง (*Nelumbo* Adans.) ในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สกาวรัตน์ ศรีหาพงษ์. 2548. รักษาโรคด้วยสมุนไพรใกล้ตัว. กรุงเทพฯ: ไพลินบุ๊คเน็ต.

สมศักดิ์ อภิสิทธิวาณิช และสุมน มาสุธน. 2543. การศึกษาโครโมโซมพืชด้วยการย่อยเซลล์. วารสารวิทยาศาสตร์. 54(3): 178-183.

สุชาดา ศรีเพ็ญ. 2542. พรรณไม้น้ำในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Biswas, K.A. and N.K. Bhattacharyya, 1976. Induced Polyploid in Legumes III. *Phaseolusvulgaris* L. Cytologia. 41:105-110.

Dermen, H. 1940. Colchicine Polyploidy and Technigue. The Botanical Review. 6: 599-635.

DeRobertis, E.D.P., F.A. Saez, and E.M.F. DeRobertis, 1975. Cell Biology. 6th ed. Japan: Toppan Company.

Fehr, W.R. 1987. Principles of Cultivar Development Vol.1. New York: Macmillan.

Holmes, S. 1986. Outline of Plant Classification. New York: Longman.

Kuksova, B.V., N.M. Piven and Y.Y. Gleba, 1997. Somaclonal Variation and *In Vitro* Induced Mutagenesis in Grapevine. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 49: 17-27.

Nagai, C., B.S. Ahloowalia, D. Jheinz, and T.L. Tew 1986. Colchine-Induced Aneuploids from Cell Culture of Sugarcane. Euphytica. 35: 1029-1038.

Roy, A.T., G. Leggett, and A. Koutoulis, 2001. *In Vitro* Tetraploid Induction and Generation of Tetraploids from Mixoploids in Hop (*Humulus lupulus* L.). Plant Cell Report. 20: 489–495.

Simpson, G.M. 2006. Plant Systematics. Canada: Elsevier Acadamic Press.

Warren, W. 1998. Tropical Flowers of Thailand. Bangkok: Asia Book.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้