ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี
ภาควิชาพืชสวน

เรื่อง

ผลของสารโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายวิภาคของคะน้า

The Effects of Colchicine on Anatomical Changes in Chinese Kale

โดย
นางสาวเกศศิรินทร์ แสงมณี
นายปาณัสม์ โชติมุณี

ได้รับการพิจารณาจาก

.....
(อาจารย์มณทินี ธีรารักษ์)
อาจารย์ที่ปรึกษา
วันที่ 23 เดือน มี.ค. พ.ศ. 2549

ภาควิชารับรองแล้ว

.....
(รศ.ดร.สมชาย กล้าหาญ)
หัวหน้าภาควิชาพืชสวน
วันที่ 23 เดือน มี.ค. พ.ศ. 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2183

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

ผลของสารโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายวิภาคของคะน้า

The Effects of Colchicine on Anatomical Changes in Chinese Kale

T098416

โดย

นางสาวเกศศิรินทร์ แสงมณี

นายปาณัสม์ โชติมุณี

เสนอ

ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (พืชสวน)

พุทธศักราช 2548

สน.
ก 779ส
2548

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....98416
วัน,เดือน,ปี.....11 มิ.ย. 2009

C021831

.b.....11793910.....
.i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง : ผลของสารโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคของคะน้า
โดย : นางสาวเกศศิรินทร์ แสงมณี
นายปาณัสม์ โชติมุณี
สาขา : พืชสวน
ภาควิชา : พืชสวน
คณะ : เทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์มณทินี ธีรารักษ์

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของสารละลายโคลชิซินที่มีต่อการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคของคะน้า เมื่อคะน้าได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm, 1,000 ppm, 2,000 ppm และ 4,000 ppm โดยการแช่เมล็ดคะน้าในสารละลายโคลชิซินเป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซิน 4,000 ppm ความหนาแน่นของปากใบด้าน upper epidermis และ lower epidermis มีความหนาแน่น 196.81 และ 194.23 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ Control ซึ่งมีความหนาแน่นของปากใบด้าน upper epidermis และ lower epidermis 216.16 และ 287.18 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อวัดความกว้างของปากใบที่ระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซิน 4,000 ppm มีความกว้างของปากใบด้าน upper epidermis และ lower epidermis 23.92 และ 23.79 ไมโครเมตร ตามลำดับ ในขณะต้นที่เป็น Control มีความกว้างของปากใบด้าน upper epidermis และ lower epidermis 18.02 และ 17.17 ไมโครเมตร ตามลำดับ ส่วนความยาวของปากใบไม่แตกต่างกัน เมื่อศึกษาจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบคะน้ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินที่เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	:	The Effects of Colchicine on Anatomical Changes in Chinese Kale
By	:	Miss Katsirin Sangmanee
		Mr. Panus Chotmunee
Major	:	Horticulture
Department	:	Horticulture
Faculty	:	Agricultural Technology
		King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Advisor	:	Miss Montinee Teerarak

Abstract

For the observation of anatomical changes, seeds of chinese kale were treated by soaking in aqueous colchicine solution at 0, 1,000, 2,000 and 4,000 ppm for 12 hours and grown in a field. The results indicated that stomata density both upper and lower epidermis of treatment with 4,000 ppm colchicine was about 169.81 and 194.23 number/mm^2, respectively while controls it was about 216.16 and 287.18 number/mm^2 respectively. At 4,000 ppm colchicine, the stomata diameter of upper and lower epidermis reached 23.92 and 23.79 µm, respectively while in controls it was about 18.02 and 17.17 µm, respectively. No significant difference in stomata length both upper and lower epidermis were found between controls and colchicine application at all concentrate levels. Moreover, chloroplast density (chloroplast number/guard cell) increased after colchicine application with increased concentrations.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จไปด้วยดี เนื่องจากได้รับการสนับสนุนจากหลายฝ่ายด้วยกัน อาจารย์มณทินี ธีรารักษ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษากรุณาให้คำแนะนำ ตลอดจนตรวจสอบแก้ไขในสิ่งที่ถูกต้อง จนการทดลองสำเร็จไปด้วยดี ปัญหาพิเศษฉบับนี้จะสำเร็จลุล่วงไปไม่ได้ถ้าหากไม่ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.จำรูญ เล้าสินวัฒนา ที่เอื้อเฟื้อสถานที่เพาะปลูกและให้คำแนะนำปรึกษาด้วยดีตลอดมา ขอขอบพระคุณท่านอาจารย์ทั้งสองเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอขอบพระคุณคุณพ่อสมเดช แสงมณี และคุณแม่จิราพร แสงมณี ที่ช่วยเหลือในทุกๆ เรื่อง ทั้งทรัพย์สินเงินทองที่ส่งเสียให้มีโอกาสศึกษาเล่าเรียน อีกทั้งยังคอยเป็นกำลังใจ จนในที่สุดปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่มาช่วยเหลือให้ปัญหาพิเศษสำเร็จไปด้วยดีโดยมีรายนามดังต่อไปนี้ กันติมา , กุลวดี , โฆษิต , จักรชัย , ธนินท์ , วิพิทญา , วิษณุ , วรวัฒน์ , อาทิตย์ และสุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณเพื่อนๆ ภาควิชาพืชสวนทุกคน และอาจารย์ทุกท่านที่ช่วยประสิทธิ์ประสาทวิชาจนทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอบพระคุณมากค่ะ

นางสาวเกศศิรินทร์ แสงมณี

นายปาณัสม์ โชติมุณี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

สารบัญตาราง	(I)
สารบัญภาพ	(II)
คำนำ	1
ตรวจเอกสาร	2
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของคะน้า	2
ลักษณะการมีจำนวนโครโมโซมมากกว่าหรือน้อยกว่าปกติในพืช (polyploidy)	2
รูปร่างลักษณะโดยทั่วไปของ polyploidy	3
การกลายพันธุ์ (mutation)	3
สิ่งที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์	4
การก่อให้เกิด polyploidy โดยใช้สารโคลชิซิน	4
ข้อดีและข้อเสีย polyploidy	5
ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	10
ผลการทดลอง	14
วิจารณ์ผลการทดลอง	21
สรุปผลการทดลอง	22
เอกสารอ้างอิง	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	การประเมินความงอกของเมล็ดคะน้า	14
2.	ผลของสารโคลชิซินที่มีผลต่อความหนาแน่นของปากใบ	16
3.	ผลของสารโคลชิซินที่มีผลต่อความกว้างและความยาวของปากใบ	16
4.	ผลของสารโคลชิซินที่มีผลต่อจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบ 1 เซลล์ ด้าน Lower epidermis	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.	ผลของสารโคลชิซินที่มีผลต่อความหนาแน่นและขนาดของปากใบ ด้าน Upper epidermis	18
2.	ผลของสารโคลชิซินที่มีผลต่อความหนาแน่นและขนาดของปากใบ ด้าน Lower epidermis	19
3.	ผลของสารโคลชิซินที่มีผลต่อจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบ 1 เซลล์ ด้าน Lower epidermis	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

คะน้า (*Brassica oleracea var. alboglabra*) เป็นผักที่ปลูกเพื่อบริโภคส่วนของใบและลำต้น มีแหล่งกำเนิดอยู่แถบเอเชียไมเนอร์ จัดเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในหลายประเทศของเอเชีย เช่น ไทย จีน ไต้หวัน ฮ่องกง มาเลเซีย ในประเทศไทยคะน้าเป็นผักพื้นเมืองที่เกษตรกรนิยมปลูกมาก เพราะปลูกง่ายขึ้นได้สภาพดินเกือบทุกชนิด และปลูกได้ตลอดทั้งปี มีผู้นิยมบริโภคเนื่องจากรสชาติอร่อย ราคาถูก ผู้คนส่วนใหญ่นิยมใช้คะน้าจีนประกอบอาหารสำหรับบริโภคเป็นเงินวันละหลายล้านบาท คะน้ายังมีคุณค่าทางอาหารสูง คะน้าเป็นพืชผักที่มีสีเขียว จึงประกอบไปด้วยวิตามินหลายชนิด เช่น วิตามินเอ วิตามินซี นอกจากนี้คะน้ายังมีสารอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรท โปรตีน แร่ธาตุ แคลเซียม และฟอสฟอรัสสูงอีกด้วย (ไฉน, 2542)

โคลชิซินเป็นสารอัลคาลอยด์ที่มีผลในการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซม จากสมบัติของสารโคลชิซินในการยับยั้งการสร้างสายสปินเดินในระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโทซีส และสารเคมีที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์โดยการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมเป็นชุด และยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของพืชทั้งในด้านกายวิภาคและสัณฐาน เช่น การชักนำหม่อนให้กลายพันธุ์โดยใช้สารโคลชิซิน พบว่าสามารถชักนำให้เกิดต้น tetraploid ซึ่งมีขนาดของปากใบความหนาของใบมากกว่าต้น diploid (เยาวพา, 2536) เป็นต้น ผลของโคลชิซินที่แสดงออกมาในรูปของลักษณะทางสัณฐานที่สำคัญ เช่น ความสูงของต้นเพิ่มขึ้น ความกว้างของใบเพิ่มขึ้น พื้นที่ใบเพิ่มขึ้น เส้นผ่าศูนย์กลางต้นเพิ่มขึ้น ตลอดจนขนาดดอก และยังส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาค เช่น จำนวนคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้น (Yetisir และ Sari, 2003) ขนาดของปากใบใหญ่ขึ้น (สมปองและราตรี, 2543) และจากสมบัติของสารโคลชิซินที่ทำให้เพิ่มจำนวนชุดโครโมโซม สามารถนำมาใช้เป็นประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีข้ามชนิด (interspecific hybridization) ที่มีจำนวนโครโมโซมไม่เท่ากัน เช่น การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวโดยการใช้สารโคลชิซินเพื่อแก้ไขปัญหาการผสมไม่ติดของลูกผสมข้ามชนิดระหว่างถั่วเขียวพันธุ์ปลูกกับปลูกป่า เพื่อแสวงหาพันธุกรรมลักษณะที่ต้องการจากพันธุ์ป่าให้เข้ามารวมในพันธุ์ปลูก (ปาริชาติ และคณะ, 2546) ดังนั้น วัตถุประสงค์ในการทดลองครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของสารโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคของคะน้าในเบื้องต้น และจากผลของสารโคลชิซินที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานในลักษณะต่างๆ ต่อไปในอนาคตอาจจะได้ลักษณะของคะน้าพันธุ์ดีและสามารถขยายพันธุ์เพื่อเป็นการค้าต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

ลักษณะทางพันธุศาสตร์ของคะน้า

ผักคะน้ามีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปเอเชีย นิยมปลูกในประเทศไทย ไม่ห่อหัว บริโภคใบและก้านใบ แยกพันธุ์ที่ใช้ในประเทศไทยได้ 2 แบบ ได้แก่ คะน้าพันธุ์ใบและคะน้าพันธุ์ก้าน พันธุ์มีใบใหญ่ พันธุ์ก้านมีใบเล็ก ผู้บริโภคนิยมบริโภคพันธุ์ก้านมากกว่าพันธุ์ใบ เวลาประกอบอาหารมักนิยมตัดส่วนที่เป็นใบทิ้งเหลือแต่ใบอ่อนๆ

คะน้ามีช่อดอกแบบ raceme มีดอกสมบูรณ์เพศ กลีบเลี้ยงมีสีเขียวหรือเขียวปนเหลือง มี4 กลีบ กลีบดอกมีสีขาวและสีเหลืองมี 4 กลีบ เกสรตัวผู้เป็นแบบ tetradynamous มี 6 อัน ยาว 4 อัน และสั้น 2 อัน รังไข่เป็นแบบ superior ovary มี 2 เซลล์ ดอกเป็นแบบ indeterminate เริ่มบานจากดอกข้างล่างในช่อขึ้นไป ผลของคะน้าเป็นแบบ silique เมื่อผลเก่าและแห้งจัดจะเริ่มแตกตรงรอยตะเข็บ (suture) เมล็ดคะน้ามีลักษณะกลมเล็ก มีสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำเมื่อแก่เต็มที่

การผสมเกสรอาศัยแมลงช่วยในการผสม แม้ว่าคะน้ามีดอกสมบูรณ์เพศ แต่มียีนที่ทำให้ผสมตัวเองไม่ติด (self incompatibility) ทำให้มีการผสมข้ามเป็นส่วนใหญ่ แต่สามารถทำให้ผสมตัวเองติดได้โดยใช้วิธีการผสมดอกตูมด้วยมือ เนื่องจากในดอกตูมยังไม่มีสารที่ทำให้ผสมตัวเองไม่ติดสังเคราะห์ขึ้น แต่ในดอกที่เจริญเต็มที่แล้วสารดังกล่าวทำให้เกสรตัวผู้ชะงักการเจริญบนเกสรตัวเมีย

โรคคะน้าที่พบในประเทศไทย ได้แก่ โรคใบจุด (leaf spot) เกิดจากเชื้อ *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. โรคราน้ำค้าง (downy mildew) เกิดจากเชื้อ *Peronospora parasitica* Pers. Ex. Fr. และโรคเน่าคอดิน (damping-off) เกิดจากเชื้อ *Pythium sp.* นอกจากนี้ยังมีไส้เดือนฝอย (*Hoplolaimus* sp.) ที่เป็นศัตรูสำคัญด้วย (ไฉน, 2542)

ลักษณะการมีจำนวนโครโมโซมมากหรือน้อยกว่าปกติของพืช (polyploidy)

ในสภาพปกติเซลล์ร่างกายของพืช (somatic cell) จะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 2n และในขณะเดียวกันเซลล์สืบพันธุ์ (sex cell or gamete) จะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ n แต่ในบางสภาพพืชอาจจะมีจำนวนโครโมโซมมากหรือน้อยกว่าสภาพปกติได้ การที่พืชมีจำนวนโครโมโซม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากหรือน้อยกว่าสภาพปกติ สภาพดังกล่าวนี้เรียกว่า polyploidy โดยที่ polyploidy แบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ

1. Ancuploidy หมายถึงพืชที่มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นหรือลดลงไม่เป็นจำนวนเท่าของ basic chromosome number (x) เช่น 2x-1, 2x+1, 2x-2 เป็นต้น

2. Euploidy หมายถึงพืชที่มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นหรือลดลงเป็นจำนวนเท่าของ basic chromosome number เช่น x, 3x, 4x เป็นต้น Euploidy แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

- Autopolyploid คือจำนวนโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนเท่าของ basic chromosome number นั้นเป็นชุดเดียวกันกับที่มีอยู่เดิม

- Allopolyploid คือจำนวนโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนเท่าของ basic chromosome number นั้นเป็นคนละชุดกันกับที่มีอยู่เดิม

รูปร่างลักษณะโดยทั่วไปของ polyploidy

พืชพวก polyploid จะมีรูปร่างลักษณะแตกต่างไปจากพืชพวก diploid หลายประการ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของ polyploid

โดยทั่วไปพืชที่มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มมากขึ้นกว่าปกติ มักจะมีขนาดรูปร่างและลักษณะต่างๆ ใหญ่กว่า และเด่นชัดกว่าพืช diploid เช่น มีใบใหญ่และหนา ดอกและผลมีขนาดใหญ่ ต้นมีความแข็งแรงและมีปากใบกว้างกว่า ในทางตรงกันข้ามพืชที่มีจำนวนโครโมโซมน้อยกว่าปกติ มักจะมีขนาด รูปร่าง และลักษณะต่างๆ เล็กกว่า และเด่นชัดน้อยกว่าพืชพวก diploid อย่างไรก็ดี พืชที่มีจำนวนโครโมโซมมากกว่าและน้อยกว่าปกติ จะแสดงความเป็นหมันมากกว่าพืช diploid ทั้งนี้เนื่องจากความไม่สมดุลของโครโมโซมเมื่อเกิดการเข้าคู่ หรือไม่ก็เนื่องมาจากละอองเกสรตัวผู้มีขนาดใหญ่เคลื่อนที่ได้ช้า เกสรตัวเมียแห้งตายไปก่อนที่จะได้รับการผสม (วิทยา, 2527)

การกลายพันธุ์ (Mutation)

การกลายพันธุ์เป็นการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสิ่งมีชีวิตอย่างฉับพลันอันเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรม และลักษณะที่เปลี่ยนแปลงสามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลานได้การที่พืชเกิดการกลายพันธุ์มีสาเหตุมาจาก (นพพร, 2543)

1. ส่วนประกอบและลักษณะของโครโมโซมเปลี่ยนแปลงไป (chromosome aberation) เป็นการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของโครโมโซม เช่น การกลับส่วนและตำแหน่งของโครโมโซม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(inversion) การแลกเปลี่ยนส่วนกันระหว่างโครโมโซม (translocation) การขาดหายไปของโครโมโซม (deletion) และการเพิ่มขึ้นมาของโครโมโซม (insertion or duplication)

2. การเปลี่ยนแปลงลักษณะของยีนหรือส่วนประกอบของดีเอ็นเอบนโครโมโซม (gene mutation or point mutation) เป็นการเปลี่ยนแปลงอัลลีลของยีนหรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและฟิสิกส์ของดีเอ็นเอ

3. การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของจำนวนโครโมโซม (polyploidy) (วิทยา, 2527)

สิ่งที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์

การกลายพันธุ์ของพืชสามารถเกิดขึ้นได้ 2 ทางด้วยกัน ดังนี้

1. เกิดขึ้นเองโดยธรรมชาติ (natural mutation) มีเกิดขึ้นน้อยมากและเกิดขึ้นได้โดยไม่ทราบสาเหตุที่แน่นอน โดยทั่วไปมีเกิดขึ้นไม่เกิน 0.001%

2. เกิดขึ้นโดยมนุษย์ทำขึ้นมา (induced mutation) โดยใช้การเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ ดังนี้

- การเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์ด้วยรังสี
- การเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์ด้วยสารเคมี
- การเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
- การเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์โดยวิธีการสอดแทรกดีเอ็นเอ (สิรินุช, 2536)

การก่อให้เกิด polyploidy โดยใช้สารโคลชิซิน

สารโคลชิซิน เป็นสราประกอบอัลคาลอยด์ที่สกัดจากเมล็ดและส่วนหัวของพืชพวก *Colchicum autumnale* เป็นสารมีพิษคล้ายสารหนู และเป็นอันตรายต่อการสัมผัสเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งได้ (carcinogen) นอกจากนี้สารโคลชิซินยังมีสมบัติยับยั้งการสร้างสปินเดิลไฟเบอร์ ที่ทำหน้าที่ดึงเซนโทรเมียร์ไปยังขั้วของเซลล์ระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสจึงทำให้จำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า นอกจากนี้โคลชิซินยังถูกใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยการชักนำให้เกิดการเพิ่มชุดของโครโมโซม (จักรกฤษณ์, 2546)

ส่วนของพืชที่ได้รับสารโคลชิซินมีทั้งเมล็ด ต้นกล้าอ่อน ยอดอ่อน ตาหรือตาเกล็ด โคลชิซินในรูปของสารละลายที่มีความเข้มข้นประมาณ 0.1 – 2.0 % สามารถใช้ได้ผลดีกับพืชหลายชนิด สำหรับพืชใบเลี้ยงเดียวจะทนต่อโคลชิซินได้เป็นอย่างดี ดังนั้นอาจจะใช้ต้นกล้าเล็ก ๆ จุ่มลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไปในสารละลายโคลชิซินโดยตรง หรือเพาะเมล็ดในสารโคลชิซิน แต่สำหรับพืชใบเลี้ยงคู่ โคลชิซินจะเป็นอันตรายต่อรากอย่างยิ่ง ดังนั้นควรระมัดระวังไม่ให้สารสัมผัสกับรากได้เป็นอันขาด การหยดสารในอัตราหนึ่งหยดต่อหนึ่งวันไปบนยอดของต้นกล้า หรือจุ่มเฉพาะส่วนยอดของต้นกล้าลงในสารละลายโคลชิซินโดยจรงอาจจะได้ผลในบ้างพืช (กฤษฎา, 2526) มีงานศึกษาและทดลองใช้สารโคลชิซินกับส่วนต่าง ๆ ของพืชหลายชนิด

การใช้โคลชิซินเพื่อก่อให้เกิด polyploidy ขึ้นในพืช สำหรับพืชที่มีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เมื่อเปลี่ยนสภาพเป็น polyploid ก็สามารถจะทำการขยายพันธุ์ต่อไปได้ ส่วนพืชที่มีการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด เมื่อเปลี่ยนสภาพเป็น polyploid ก็จะขยายพันธุ์ต่อไปได้ยาก เพราะมักจะเป็นหมันหรือไม่มีเมล็ด หรืออาจจะมีเมล็ดแต่เอมบริโอไม่พัฒนาเป็นต้นได้ตามปกติ (วิทยา, 2527)

ข้อดีและข้อเสียของ polyploidy

พืชเมื่อเปลี่ยนสภาพจาก diploid ไปเป็น polyploid อาจจะมีลักษณะดีและเลว มีประโยชน์มากขึ้น หรือมีประโยชน์น้อยลง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและลักษณะการเป็น polyploid ข้อดีและข้อเสียของ polyploid มีดังนี้

1. รูปร่างสัณฐานของพืชจะเปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้เนื่องจากพืชมีจำนวนโครโมโซมมากหรือน้อยลงกว่าปกติ อย่างไรก็ดีส่วนใหญ่พวก aneuploid โดยเฉพาะพวก nullisomic และ monosomic ลูกที่เกิดมามักจะตาย

2. พวก autopolyploid หรือพวก allopolyploid ส่วนมากจะมีขนาดใหญ่ขึ้นกว่าปกติ เช่น ใบ ดอก ผล ลำต้น แต่บางพวกอาจจะอ่อนแอและมีขนาดเล็กกว่าปกติได้ ระดับการเป็น polyploid จะต้องอยู่ในระดับที่พอเหมาะ เช่น พวกหญ้า timothy จะเจริญเติบโตได้ดีเมื่ออยู่ในระดับ 6n-10n พวกข้าวสาลีจะให้ผลผลิตดีเมื่ออยู่ในระดับ 4n หรือ 6n พวกลิ้นมังกรจะให้ผลดีในระดับ 4n และกล้วยไม้จะให้ผลดีในระดับ 3n เป็นต้น

3. การเพิ่มจำนวนโครโมโซมย่อมเป็นการเพิ่มทั้งจำนวนยีนที่ดีและเลวทั้งสองอย่างพร้อมๆ กัน ถ้าหากโครโมโซมเดิมประกอบด้วยยีนที่ดีทั้งชุดหรือเกือบทั้งชุด การเพิ่มจำนวนโครโมโซมก็จะเป็นผลดี แต่ถ้าหากโครโมโซมเดิมมียีนเลวอยู่มาก จำนวนโครโมโซมก็จะเป็นผลเสีย

4. ลักษณะ polyploidy สามารถใช้ประโยชน์ในการศึกษาถึงอิทธิพลของยีนการหาตำแหน่งของยีนบนโครโมโซม และลักษณะ linkage ของยีนบนโครโมโซม

5. polyploid ส่วนใหญ่มักเป็นหมัน ซึ่งเป็นข้อเสียเพราะไม่สามารถทำการขยายพันธุ์ต่อไปโดยวิธีอาศัยเพศได้ (วิทยา, 2527)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วิมล และ อนันต์ (2527) ใช้สารโคลชิซินชักนำ polyploid ในพริก ผลปรากฏว่าต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ยอด มีอัตราการเกิด polyploid สูงกว่าต้นที่เกิดจากการแช่เมล็ด โดยเฉพาะต้นพริกที่ได้รับสารที่ยอดในระดับความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิด polyploid ได้มากกว่าที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบวิธีการให้สารที่ยอดโดยการใช้สำลีชุบหรือผสมวุ้นพบว่ามีอัตราการเกิด polyploid ไม่แตกต่างกัน ส่วนวิธีการให้สารกับเมล็ด ที่ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน 1 เปอร์เซ็นต์ เวลา 48 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพที่ทำให้เกิด polyploid ดีกว่าที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เวลา 24 ชั่วโมง ต้นที่เป็น polyploid มีความสูงของลำต้นไม่แตกต่างกันจากต้น diploid และเกือบทุกต้นที่เป็น polyploid มีใบขนาดใหญ่ หนา สีเขียวเข้ม กิ่งค่อนข้างเปราะ ขนาดของเซลล์ปากใบมีขนาดใหญ่ขึ้น วันออกดอกช้า เปอร์เซ็นต์ความเป็นหมันสูง ขนาดของผลและการติดผลลดลง และจากการตรวจทางเซลวิทยาพบความผิดปกติของโครโมโซม

เกษมศักดิ์ (2532) ได้ทำการศึกษาผลของสารโคลชิซินที่มีต่อพริกไทยพันธุ์ซาราวัค พบว่าการใช้สารละลายโคลชิซินที่ปริมาณความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ แช่เมล็ดพริกไทยพันธุ์ซาราวัคนาน 16 ชั่วโมง มีผลต่อการงอกน้อยมาก และไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของขนาดและจำนวนปากใบ แต่มีผลทำให้เกิดความผิดปกติของใบ เช่น รูปร่างของใบเปลี่ยนไปและความหนาของใบเพิ่มขึ้น

เยาวพา (2536) ศึกษาการชักนำหม่อนให้กลายพันธุ์ด้วยการใช้สารละลายโคลชิซินเพื่อคัดเลือกพันธุ์ทนเค็ม โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าอัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของตาข้างลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารละลาย และระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น การแช่สารโคลชิซิน 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 วัน สามารถชักนำให้เกิดต้น tetraploid ได้มาก ซึ่งมีขนาดของปากใบ ความหนาของใบมากกว่าต้น diploid และมีจำนวนโครโมโซม $2n=4x=56$

สมปองและราตรี (2542) เพาะเลี้ยงตายอดของมังคุดบนอาหารที่มีสารโคลชิซินความเข้มข้น 0 – 10,000 มก./ล. เป็นเวลา 2 ชั่วโมงเป็นเวลา 30 วันในสภาพปลอดเชื้อเพื่อชักนำการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซม เมื่อเลี้ยงตายอดในอาหารเติมโคลชิซิน 1,500 มก./ล. เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ขนาดยอด จำนวนยอด จำนวนใบ และพื้นที่ใบ มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อตรวจสอบปริมาณคลอโรฟิลล์พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์เอเพิ่มขึ้น และเพิ่มเวลาในการเลี้ยงเป็นเวลา 10 ชั่วโมง และเพิ่มความเข้มข้นเป็น 3,000 – 10,000 มก./ล. พบว่าเปอร์เซ็นต์การสร้างยอดลดลง แต่ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มเวลาในการเพาะเลี้ยงเป็น 30 วัน พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย และการรอดชีวิตของตายอดลดลง สารโคลชิซินเข้มข้น 500, 700 และ 1,000 มก./ล. ที่เวลาข้างต้นส่งผลให้ความยาวราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพิ่มขึ้นและจำนวนใบลดลง ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารโคลชิซินเป็น 3,000, 6,000 และ 10,000 มก./ล. ทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงโดยเฉพาะความเข้มข้น 10,000 มก./ล. มียอดรอดชีวิตเพียง 12 เปอร์เซ็นต์ ใบร่วง และชะงักการเจริญเติบโต เมื่อตรวจสอบปลายราก พบว่าไม่สามารถตรวจสอบความแตกต่างได้เนื่องจากโครโมโซมมีขนาดเล็กนับจำนวนไม่ได้ เมื่อตรวจสอบจำนวนและขนาดเซลล์ปากใบพบว่า การเลี้ยงตายอดในอาหารเติมโคลชิซินเข้มข้น 750 และ 1,000 มก./ล. เป็นเวลา 30 วัน มีเซลล์ปากใบใหญ่กว่า

ปาริชาติ และคณะ (2546) ได้ทำการศึกษาการใช้สารโคลชิซินเพิ่มจำนวนโครโมโซมให้กับถั่วเขียวพันธุ์ปลูกเพื่อให้มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับถั่วป่า โดยใช้สารโคลชิซินความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ โดยหยดสารโคลชิซินลงบนสำลีที่หุ้มยอดอ่อนของถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 36 จำนวน 4 หยดต่อวัน เป็นเวลา 2 วัน พบว่าการใช้สารโคลชิซินจะมีผลทำให้ยอดอ่อนชะงักการเจริญเติบโต ใบคู่แรกจะมีสีเขียวเข้ม หลังจากนั้นจะมียอดหรือกิ่งงอกออกมาจากตาข้างที่ไม่ได้รับสารโคลชิซินโดยตรง ยิ่งให้สารโคลชิซินความเข้มข้นสูงๆ ยิ่งทำให้ยอดที่งอกออกมาจากตาข้างเพิ่มมากขึ้น แต่ยอดที่ได้รับสารโคลชิซินส่วนใหญ่จะตาย หรือมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดที่ได้รับสารโคลชิซินโดยตรงต่ำ ส่วนการใช้สารโคลชิซินความเข้มข้น 0.2 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลทำให้ดอกตูมและรากที่เกิดจากยอดที่ได้รับสารโคลชิซินโดยตรงมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็น 4x=44 และการใช้สารโคลชิซินแก่ถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 36 เพื่อเพิ่มจำนวนโครโมโซมใช้เท่ากับถั่วป่าก่อนการผสมจะทำให้สามารถผสมข้ามชนิดระหว่างถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 36 กับถั่วป่าได้สำเร็จ

ธีรวัฒน์ (2547) ศึกษาผลความเข้มข้นของสารโคลชิซินที่มีต่อการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสัณฐานของคะน้า เมื่อคะน้าได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0%, 0.125%, 0.25%, 0.50%, 1.0% และ 2.0% แช่เมล็ดเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง 12 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าสารโคลชิซินมีผลทำให้ขนาดรากและความยาวของลำต้นมีความผิดปกติ คัดเลือกเมล็ดคะน้าแช่ในสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นดังนี้ 0%, 0.125%, 0.25%, 0.50% แช่เมล็ดเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อนำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายวิภาคและสัณฐานของคะน้า พบว่าที่ความเข้มข้นสูงขึ้นความหนาแน่นปากใบมีแนวโน้มลดลง ความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางปากใบมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนความยาวของปากใบไม่แตกต่างกัน ลักษณะขนาดของใบ พื้นที่ใบ จำนวนใบต่อต้น ขนาดลำต้น และเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น

Chevre และคณะ (1989) ศึกษาลักษณะทางเซลล์วิทยาของต้นคะน้า tetraploid ที่ได้จากต้น diploid มาชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมด้วยสารโคลชิซินเข้มข้น 0.05% จำนวน 4 สายพันธุ์ พบว่า autotetraploids ที่ได้มีจำนวน chloroplast ต่อเซลล์ปากใบมากขึ้น สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ ploidy ที่ดี อัตราการสร้าง autotetraploids มีค่ามากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Francis และคณะ (1990) ศึกษาสารผลของโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดเซลล์และจำนวนคลอโรพลาสต์ ในใบ ryegrass (*Lolium perenne L.*) โดยการนำต้นอ่อน L. perenne อายุประมาณ 1 สัปดาห์ มา treat ด้วยสารละลายโคลชิซิน 0.2% และน้ำกลั่น เป็นเวลา 3 ชม. เมื่อต้นอ่อนพัฒนาเป็น mixoploids แล้วจึงตัดหน่อและแยกต้น diploid กับต้น tetraploid ออกจากกัน นำต้น diploid กลุ่มที่ได้รับสาร โคลชิซิน (C2x) ลงปลูกจนได้เมล็ด จึงนำเมล็ด (CT1) ลงปลูกอีกครั้งโดยไม่มีการทำให้สารใดๆ อีก จากการวิเคราะห์พื้นที่ใบในชั้น mesophyll และจำนวน chloroplast ในต้นอ่อน CT1 เปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มที่ทำ treatment (C2x) กับกลุ่มควบคุม 2x พบว่า มี 4 ใน 5ต้นที่กลุ่ม C2x มีพื้นที่เซลล์น้อยกว่า 2x อย่างมีนัยสำคัญ และ 2 ใน 5 ต้นที่กลุ่ม C2x มีจำนวนคลอโรพลาสต์ ต่ำกว่ากลุ่ม 2x และมี 1 ต้นที่จำนวนคลอโรพลาสต์ ต่อเซลล์เฉลี่ยของกลุ่ม C2x มีค่าสูงกว่ากลุ่ม 2x อย่างมีนัยสำคัญ

Paden และคณะ (1990) นำต้น White Felicity (WF) ((*Rhododendron carolenianum x R. dauricum*) x *R. dauricum*), Nova Zembla (NZ) และ Wendy Lyn (WL) (*Princess Elizabeth* x (*R. smirnowii* x *R. yakuskimanum*)) มาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในอาหารเหลวที่มีส่วนประกอบของสารโคลชิซิน 0.002, 0.004, 0.02 และ 0.04% เป็นเวลา 48 ชม. จากนั้นเพาะเลี้ยงบนอาหารเพื่อเพิ่มการแบ่งเซลล์ และตรวจสอบผลของสารโคลชิซินที่มีต่อพืชแต่ละชนิด พบว่า NZ มีความไวต่อสารโคลชิซินมากที่สุด ขณะที่ WF มีความไหวน้อยที่สุด เมื่อศึกษาถึงระดับ ploidy level ของต้นอ่อนโดยตรวจสอบภายใต้กล้อง epi-fluorescence microscope พบว่า เมื่อเปรียบเทียบต้น WL และ WF ที่เป็น tetraploid กับกลุ่มควบคุมพบว่า WL (tetraploid) มีจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบ มากกว่า diploid ถึง 2 เท่า จากจำนวนต้น WL 20 ต้นมี 11 ต้นที่มีจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบ สูงขึ้น 2 เท่า ขณะที่ต้น WF มีเพียง 2 ใน 20 ต้นเท่านั้น

Hassan และ Wazuddin (2000) ทำการทดลองใช้โคลชิซินเพื่อชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขนาดเซลล์ และจำนวนคลอโรพลาสต์ในข้าว การศึกษานี้เป็นการเปรียบเทียบขนาดขนาด leaf mesophyll cell และจำนวนคลอโรพลาสต์ของต้นอ่อนของกลุ่มควบคุม (2x) กับ clochicine-treated diploids (C2x) พบว่ามีกลุ่ม C2x จำนวน 7 ต้นที่มีขนาดเซลล์และจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อเซลล์มากกว่ากลุ่มควบคุม 2x อย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้การเพิ่มจำนวน chloroplast ไม่มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของขนาดเซลล์แต่อย่างใด

Ganga และคณะ (2002) ทำการพืช polyploid ในต้นกล้ากล้วยพันธุ์ *Sannachenkadali* (AA), *Anaikomban* (AA), *Kunnan* (AB) และ *Thattillakunnan* (AB) โดยการเพิ่มจำนวนโครโมโซมด้วยสารโคลชิซิน และ oryzalin (3, 5-dinitro-N4, N4 – diprophylsulfanilamide) พบว่าต้น tetraploid มีความหนาแน่นของปากใบอยู่ระหว่าง 12.00 – 19.00 stomatal / mm^2 และขนาดของปากใบ (ยาว x กว้าง) ระหว่าง 1850 – 2250 μm^2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขณะที่ diploid มีความหนาแน่นปากใบระหว่าง 39.00 – 50.00 stomata / mm^2 และขนาดปากใบระหว่าง 950 – 1200 μm^2 และ octoploid มีความหนาแน่นปากใบต่ำกว่า 8.00 stomata / mm^2 และขนาดปากใบใหญ่กว่า 2500 μm^2 เมื่อวิเคราะห์ความหนาแน่นคลอโรพลาสต์ (จำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบ 1 เซลล์) พบว่าต้น diploid มีความหนาแน่นคลอโรพลาสต์ระหว่าง 9.00 – 11.00, ต้น tetraploid มีความหนาแน่นคลอโรพลาสต์ 15.00 – 17.00 และต้น octoploid มีความหนาแน่นคลอโรพลาสต์ 19.00 – 21.00 เมื่อวิเคราะห์โดยรวม stomata และ chloroplast เข้าด้วยกัน (mixoploids) พบว่า เมื่อระดับการเพิ่มชุดโครโมโซม (ploidy level) เพิ่มขึ้น 2 เท่า จาก 2x เป็น 4x จะทำให้ขนาดปากใบเพิ่มขึ้นประมาณ 1.91 เท่า และความหนาแน่นคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นประมาณ 1.70 เท่า ระดับ ploidy level สัมพันธ์กับความหนาแน่นปากใบในเชิงลบ

Yetisir และ Sari (2003) ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะความยาวของปากใบ เส้นผ่านศูนย์กลางของปากใบ ความหนาแน่นของปากใบ และจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบ 1 เซลล์ของต้น muskmelon มีจำนวนชุดโครโมโซมเป็น haploid เปรียบเทียบกับต้น muskmelon ที่มีชุดโครโมโซมเป็น dihaploid ที่ถูกชักนำให้เพิ่มจำนวนโครโมโซมด้วยการใช้สารโคลชิซิน พบว่าต้น dihaploid มีปากใบขนาดใหญ่ ความหนาแน่นของปากใบต่อตารางมิลลิเมตรลดลงและจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อจำนวนปากใบ 1 เซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับต้น haploid

Smith และคณะ (2004) ทำการสร้าง autotetraploids ของขิง (*Zingiber officinate*) ด้วยสารโคลชิซิน โดยแช่หน่ออ่อนขิงในสารละลายโคลชิซิน 0.5% w/v ร่วมกับ dimethyl sulfoxide 2% v/v เป็นเวลา 2 ชม. เพื่อกระตุ้นให้ขิงสร้าง autotetraploids และนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและวัดความแตกต่างของ ploidy จากลักษณะปากใบ พบว่าต้น tetraploid มีความยาวของปากใบ (49.2 μm) มากกว่าต้น diploid (38.8 μm) อย่างมีนัยสำคัญ จากหน่อที่ได้รับสารโคลชิซินทั้งหมด 500 หน่อ พบว่ามีเพียง 2% เท่านั้น ที่ยังคงลักษณะ autotetraploid อยู่แม้จะปลูกมาหลายปีแล้วก็ตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. สารโคลชิซิน (บริษัท Fluka)
2. สาร $AgNO_3$
3. อุปกรณ์เครื่องแก้ว
4. ลูกยางสามทาง 1 ลูก
5. กระดาษฟรอยด์
6. กระดาษเพาะเมล็ด
7. เมล็ดคะน้า
8. ดินผสมตราดาว
9. แผ่นสไลด์
10. กระจกปิดสไลด์
11. ใบมีดโกน
12. กล้องจุลทรรศน์ รุ่น A75 (บริษัท Olympus)
13. กล้องดิจิตอล (บริษัท Cannon)
14. micrometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

วิธีการทดลองที่ 1 การศึกษาความงอกของเมล็ดคะน้า

ทำการศึกษาความงอกของเมล็ดโดยการเพาะเมล็ดแบบ Top of paper ทำการทดลองในจานแก้ว จำนวน 4 ชุด แบ่งเป็นชุดละ 50 เมล็ด ทำการบันทึกผลการทดลองดังนี้

1. ศึกษาเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดที่เป็นต้นกล้าปกติครั้งแรก (first count) หลังจากเพาะเมล็ดได้ 3 วัน

2. ศึกษาเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดที่เป็นต้นกล้าปกติ ผิดปกติ หลังจากเพาะเมล็ดเป็นเวลา 10 วัน ทำการบันทึกผลการทดลองครั้งสุดท้าย (final count) โดยการบันทึกผลการทดลองดังต่อไปนี้

2.1 ต้นอ่อนปกติ (normal seedling) คือต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่มีส่วนประกอบต่าง ๆ อยู่ครบ

2.2 ต้นอ่อนผิดปกติ (abnormal seedling) คือต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่มีส่วนประกอบต่าง ๆ ไม่สมบรูณ์หรือขาดหายไป หรือผิดปกติไปจากเดิม

2.3 เมล็ดแข็ง (hard seed) คือเมล็ดที่มีลักษณะแข็ง ผิวเปลือกไม่ดูดน้ำ เมล็ดมีขนาดเท่ากับเมล็ดที่เริ่มเพาะในวันแรก

2.4 เมล็ดที่ดูดน้ำแต่ไม่งอก (imbibed-non-germinate seed) คือเมล็ดที่ดูดน้ำและขยายผองมีขนาดเมล็ดโตขึ้น แต่ไม่มีส่วนใดงอกออกมา

2.5 เมล็ดที่เป็นโรค (diseased seed) คือจะมีกลิ่นเน่า

2.6 เมล็ดตาย (dead seed) คือเมล็ดตายที่มีลักษณะเน่าเปื่อย

วิธีการทดลองที่ 2 การศึกษาผลของโคลชิซินที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคของคะน้า

เตรียมสารละลายโคลชิซินโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายที่ระดับความเข้มข้น ดังนี้

- สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0 ppm
- สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 1,000 ppm
- สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 2,000 ppm
- สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 4,000 ppm

นำเมล็ดคะน้าจำนวน 400 เมล็ด แช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นละ 100 เมล็ดปริมาตร 5 มิลลิเมตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำเมล็ดคะน้าล้างในน้ำกลั่นจำนวน 3 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมดินปลูกคะน้า ใช้ดินผสมตราดาวมีส่วนผสมของใบก้ามปู ดิน ใส่กระถางขนาด 6 นิ้ว ใส่ปุ๋ยรองพื้นสูตร 15-15-15 อัตราการใช้ 50 กก./ไร่ จำนวน 80 กระถางนำเมล็ดคะน้าที่แช่สารละลายโคลชิซินมาปลูก โดยแบ่งเป็นดังนี้

- ที่ความเข้มข้น 0 ppm ปลูก 20 กระถาง กระถางละ 5 เมล็ด
- ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ปลูก 20 กระถาง กระถางละ 5 เมล็ด
- ที่ความเข้มข้น 2,000 ppm ปลูก 20 กระถาง กระถางละ 5 เมล็ด
- ที่ความเข้มข้น 4,000 ppm ปลูก 20 กระถาง กระถางละ 5 เมล็ด

ทำการรดน้ำทุกวัน เมื่อต้นคะน้าเริ่มมีใบจริง 2 ใบถอนแยกให้เหลือ 1 ต้น และใส่ปุ๋ยรองพื้นและปุ๋ยยูเรียทุกสัปดาห์

เมื่อต้นคะน้าอายุครบ 45 วัน ทำการบันทึกผลดังนี้

1. ขนาดของปากใบและจำนวนปากใบคะน้า

1.1 นำต้นคะน้าที่ได้รับสารละลายโคลชิซินในแต่ละความเข้มข้นจำนวนความเข้มข้นละ 20 ต้น

1.2 ลอกเซลล์ของใบคะน้าใบที่ 3 ของต้นทั้งด้าน lower epidermis และ upper epidermis ที่ได้รับสารโคลชิซิน

1.3 นำเซลล์ที่ได้วางลงบนแผ่นสไลด์ หยดน้ำ 1 หยดลง จากนั้นปิดสไลด์ด้วย cover slide

1.4 นำเซลล์ที่ได้ไปส่องดูเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายขนาด 400 เท่า เพื่อนับจำนวนปากใบต่อตารางมิลลิเมตรทั้งด้าน lower epidermis และ upper epidermis จำนวน 3 พื้นที่ต่อ 1 ใบ และวัดขนาดของปากใบทั้งด้านกว้างและด้านยาวทั้งด้าน lower epidermis และ upper epidermis จำนวน 3 เซลล์ ต่อหนึ่งใบด้วย micrometer

2. จำนวนคลอโรพลาสต์ต่อหนึ่งเซลล์ปากใบ

2.1 ลอกเซลล์ของใบคะน้าใบที่ 3 ของต้นด้าน lower epidermis ใช้ใบเดียวกับข้อ 1

2.2 นำเซลล์ที่ได้วางลงบนแผ่นสไลด์ หยดด้วยสารละลาย $AgNO_3$ 1 % จำนวน 1 หยด ปิดด้วย cover slide นับจำนวนคลอโรพลาสต์ด้าน lower epidermis ของปากใบจำนวน 3 เซลล์ต่อหนึ่งใบ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายขนาด 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวางแผนการทดลอง

แผนการทอลอง Completely Randomized Design (CRD) มี 4 ทรีทเมนต์ จำนวน 5 ซ้ำ แต่ละซ้ำมี 4 หน่วยทดลอง และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละทรีทเมนต์ด้วยวิธี Least Significant Difference (LSD)

ระยะเวลาทำการทดลอง

30 มิถุนายน ถึง 15 สิงหาคม พ.ศ. 2548

สถานที่ทำการทดลอง

แปลงทดลองทางการเกษตรและห้องปฏิบัติการภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การศึกษาความงอกของเมล็ดคะน้า

จากผลการทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกพบว่าคะน้าพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยเท่ากับ 82.5 %

ตารางที่ 1 การประเมินความงอกของเมล็ดคะน้า

เพาะเมล็ดวันที่ 21 มิ.ย. 2548
ประเมินผลครั้งแรกวันที่ 24 มิ.ย. 2548 และประเมินผลครั้งสุดท้ายวันที่ 28 มิ.ย. 2548
จำนวนเมล็ดต่อซ้ำ 50 เมล็ด จำนวน 4 ซ้ำ

	วันที่ประเมิน	จำนวนในแต่ละซ้ำ				เฉลี่ย
		1	2	3	4	(%)
ต้นกล้าปกติ	24 มิ.ย.2548	29	29	28	25	55.5
	28 มิ.ย. 2548	16	10	8	20	27
รวม		45	39	36	45	82.5
ต้นกล้าผิดปกติ		0	2	6	0	4
เมล็ดดูดน้ำ		5	7	8	5	12.5
เมล็ดเป็นโรค		0	2	0	0	1
เมล็ดตาย		0	0	0	0	0
เมล็ดพักตัว		0	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของโคลชิซินที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคของคะน้า

เมื่อศึกษาผลของสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อความหนาแน่นของปากใบ ตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซินเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ความหนาแน่นของปากใบลดลง ที่ระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซิน 4,000 ppm คะน้ามีความหนาแน่นของปากใบด้าน upper epidermis และด้าน lower epidermis น้อยที่สุด 196.87 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร และ 194.23 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่คะน้าที่เป็นต้นควบคุมมีความหนาแน่นของปากใบด้าน upper epidermis และด้าน lower epidermis 216.16 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร และ 287.18 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2, ภาพที่1 และ ภาพที่ 2) เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติของความหนาแน่นของปากใบด้าน upper epidermis พบว่าต้นควบคุมมีค่าเฉลี่ยเปรียบเทียบแตกต่างจากต้นคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินเข้มข้น 1,000 ppm และ 4,000 ppm ส่วนด้าน lower epidermis เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าต้นควบคุมมีค่าเฉลี่ยเปรียบเทียบแตกต่างจากต้นคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินเข้มข้น 4000 ppm เพียงทรีทเมนต์เดียว

เมื่อวัดความกว้างของปากใบด้วย micrometer พบว่าความกว้างปากใบเมื่อได้รับสารโคลชิซิน 0, 1,000, 2,000 และ 4,000 ppm มีความกว้างของปากใบด้าน upper epidermis 18.02, 20.66, 20.60 และ 23.92 ไมโครเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 1) เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าต้นควบคุมมีค่าเฉลี่ยเปรียบเทียบกับแตกต่างจากทรีทเมนต์ที่ได้รับสารโคลชิซินทุกความเข้มข้น ส่วนความยาวของปากใบนั้นไม่แตกต่างกัน โดยทุกทรีทเมนต์มีความยาวอยู่ในช่วง 26.60 – 28.64 ไมโครเมตร เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าทุกทรีทเมนต์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ส่วนความกว้างของปากใบด้าน lower epidermis 17.17 , 18.53 , 20.35 และ 23.80 ไมโครเมตร เมื่อได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 0, 1,000, 2,000 และ 4,000 ppm ตามลำดับ เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าต้นควบคุมมีความแตกต่างกับค่าเฉลี่ยเปรียบเทียบของต้นคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินเข้มข้น 2,000 และ 4,000 ppm ความยาวของปากใบด้าน lower epidermis ไม่แตกต่างมีความยาวอยู่ระหว่าง 25.45 – 27.74 ไมโครเมตร เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าทุกทรีทเมนต์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 2)

จากการศึกษาจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารโคลชิซินเพิ่มขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซิน 4,000 ppm มีจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบ (lower epidermis) 24.7 เม็ด ในขณะที่ต้นคะน้าที่ไม่ได้รับสารโคลชิซินมีจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบ 10.9 เม็ด (ตารางที่ 4 และภาพที่ 3) เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าต้นควบคุมมีค่าเฉลี่ยเปรียบเทียบแตกต่างจากทรีทเมนต์ที่ได้รับสารโคลชิซินทุกความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ผลของสารโคลชิซินที่มีผลต่อความหนาแน่นของปากใบ

ทรีทเมนต์	ความหนแน่นของปากใบ (cell / ตารางมิลลิเมตร)	
	Upper epidermis	Lower epidermis
โคลชิซิน 0 ppm	$216.16^{b} \pm 18.73^{sd}$	$287.18^{a} \pm 14.96^{sd}$
โคลชิซิน 1,000 ppm	$251.92^{a} \pm 30.33$	$308.59^{a} \pm 84.54$
โคลชิซิน 2,000 ppm	$188.98^{bc} \pm 17.02$	$271.15^{a} \pm 25.05$
โคลชิซิน 4,000 ppm	$169.87^{c} \pm 13.99$	$194.23^{b} \pm 17.28$
CV	10.14 %	17.17 %

^{Sd} = Standard deviation

ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงว่ามีค่าความแตกต่างทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบแบบ LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3 ผลของสารโคลชิซินที่มีผลต่อความกว้างและความยาวของปากใบ

ทรีทเมนต์	ความกว้าง (ไมโครเมตร)		ความยาว (ไมโครเมตร)	
	Upper	Lower	Upper	Lower
โคลชิซิน 0 ppm	$18.02^{c} \pm 0.87^{sd}$	$17.17^{c} \pm 0.89^{sd}$	$27.43^{a} \pm 1.33^{sd}$	$25.54^{a} \pm 3.26^{sd}$
โคลชิซิน 1,000 ppm	$20.66^{b} \pm 1.73$	$18.53^{c} \pm 1.24$	$27.36^{a} \pm 1.92$	$26.77^{a} \pm 2.14$
โคลชิซิน 2,000 ppm	$20.60^{b} \pm 1.19$	$20.35^{b} \pm 1.03$	$26.60^{a} \pm 1.45$	$25.45^{a} \pm 0.85$
โคลชิซิน 4,000 ppm	$23.92^{a} \pm 0.94$	$23.79^{a} \pm 1.16$	$28.64^{a} \pm 1.08$	$27.74^{a} \pm 1.85$
CV	5.91 %	5.45 %	5.36 %	8.35 %

^{Sd} = Standard deviation

ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงว่ามีค่าความแตกต่างทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบแบบ LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ตารางที่ 4 ผลของสารโคลชิซินที่มีผลต่อจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบ 1 เซลล์ ด้าน Lower epidermis

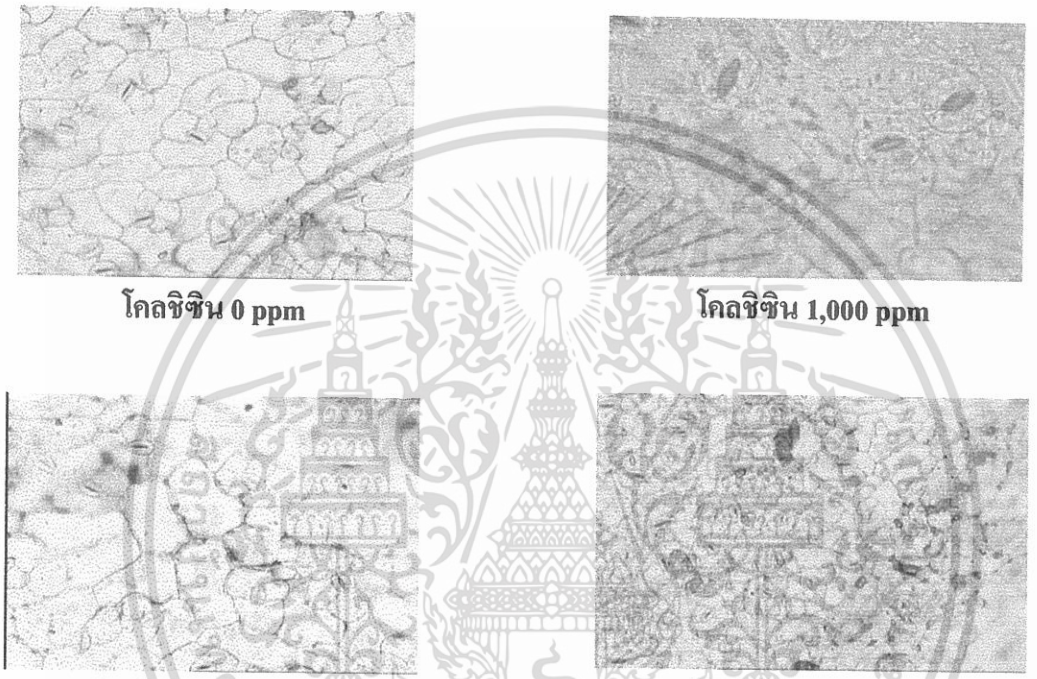
ทรีทเมนต์	จำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบ 1 เซลล์ ด้าน Lower epidermis
โคลชิซิน 0 ppm	$10.9^{c} \pm 1.47^{sd}$
โคลชิซิน 1,000 ppm	$16.5^{b} \pm 1.27$
โคลชิซิน 2,000 ppm	$22.4^{a} \pm 1.67$
โคลชิซิน 4,000 ppm	$24.7^{a} \pm 3.81$
CV	12.35 %

^{sd} = Standard deviation

ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงว่ามีค่าความแตกต่างทางสถิติ ตามการเปรียบเทียบแบบ LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

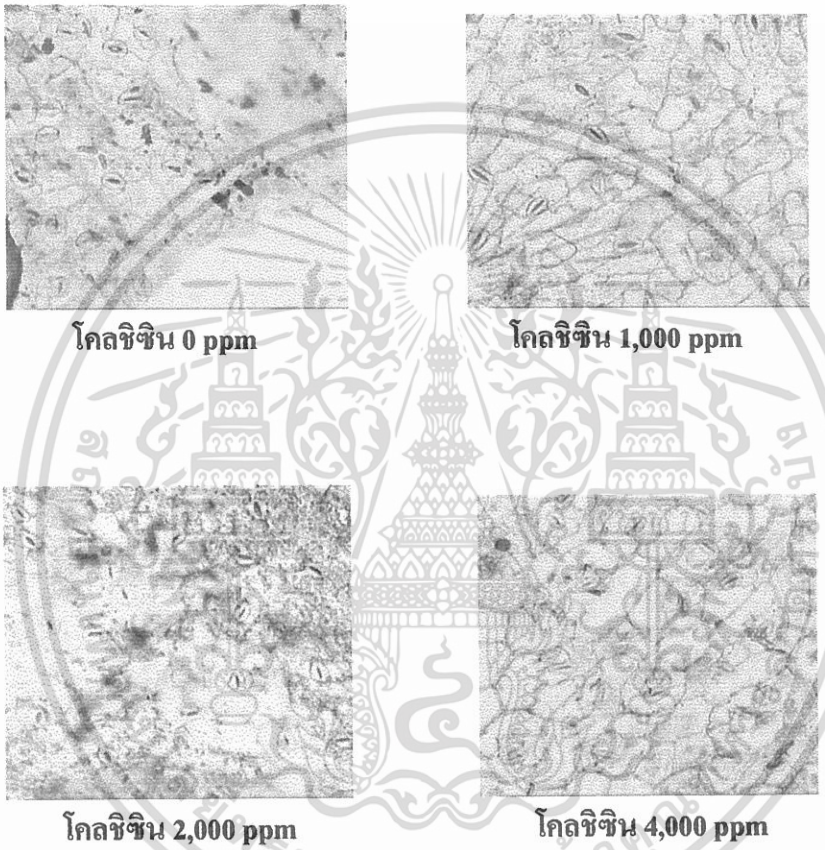
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

98416



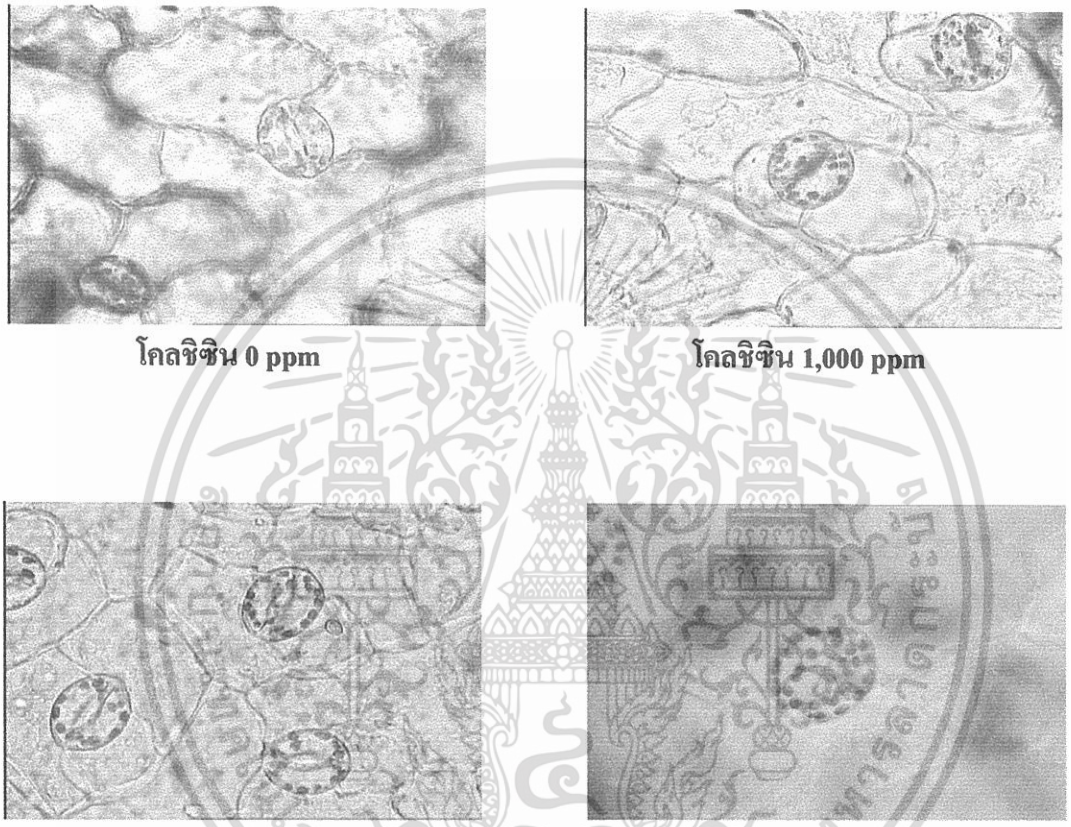
ภาพที่ 1 ผลของสารโคลชิซินที่มีต่อความหนาแน่นและขนาดของปากใบด้าน Upper epidermis กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 ผลของสารโคลชิซินที่มีต่อความหนาแน่นและขนาดของปากใบด้าน Lower epidermis กังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 ผลของสารโคลชิซินที่มีผลต่อจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบ 1 เซลล์ ด้าน Lower epidermis กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

ในการศึกษาผลของสารโคลชิซินที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคพบว่า ความหนาแน่นของปากใบคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินมีความหนาแน่นของปากใบลดลง ความกว้างของปากใบเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ (วิมลและอนันต์, 2527) โดยใช้สารโคลชิซินชักนำ polyploid ในพริก ที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้เกิดต้น polyploidy ที่มีใบขนาดใหญ่ หนา สีเขียวเข้ม ขนาดของเซลล์ปากใบมีขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับต้น diploid และยังมีผลต่อจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบ 1 เซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้น และให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับการศึกษาการเพิ่มจำนวนโครโมโซมด้วยสารโคลชิซินในมังคุด (สมปอง และราตรี, 2542) muskmelon (Yetisir และ Sari, 2003) ต้น sugar beet (Iudanova และคณะ, 2004) และคะน้า (Chevre และคณะ, 1989) พบว่าต้นพืชที่ได้รับสารโคลชิซินมีปากใบใหญ่ ความหนาแน่นของปากใบลดลง และจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบ 1 เซลล์เพิ่มขึ้น

การศึกษาลักษณะทางกายวิภาค พบว่าทรีทเมนต์ที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้นสูงๆ มีปากใบใหญ่ขึ้น ความหนาแน่นของปากใบลดลง และจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบ 1 เซลล์มีจำนวนเพิ่มขึ้น ลักษณะกายวิภาคดังกล่าวสามารถแยกความแตกต่างของต้นพืชที่เป็น Control เป็นต้นพืชที่มีโครโมโซมปกติ (diploid) และต้นพืชที่ได้รับสารโคลชิซินเพื่อชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซม (polyploidy) ในการศึกษาครั้งต่อไปควรศึกษาด้านเซลล์วิทยาเพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซมควบคู่ไปกับการศึกษาลักษณะทางกายวิภาค เพื่อจะนำลักษณะทางกายวิภาคเป็นตัวประเมินความสำเร็จในการเพิ่มจำนวนโครโมโซมของพืชที่ได้รับสารโคลชิซินในทางอ้อม เช่นเดียวกับที่ประสบความสำเร็จมาแล้วในแตงโม (Sari และคณะ, 2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของคะน้าเท่ากับ 82.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ยอมรับเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถือได้ว่าเมล็ดคะน้านี้มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ดี

2. ต้นคะน้าที่ได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้นมีผลทำให้ความกว้างของปากใบที่เพิ่มขึ้น แต่ความยาวของปากใบไม่แตกต่างและความหนาแน่นของปากใบลดลงทั้งด้าน upper epidermis และ lower epidermis และจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบมีจำนวนเพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กฤษฎา สัมพันธารักษ์. 2526. ปรับปรุงพันธุ์พืช. ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพฯ. 155 หน้า.

เกษมศักดิ์ ผลากร. 2532. ผลของรังสีแกมมาและสารโคลชิซินที่มีต่อพริกไทยพันธุ์ซาราวัค. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จักรกฤษณ์ ภารการ. 2546. สัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 13 เรื่อง พันธุศาสตร์กับการพัฒนาที่ยั่งยืน. มหาวิทยาลัยนเรศวร. 420 หน้า

ไฉน ยอดเพชร. 2542. พืชผักในตระกูลครูซิเฟอร์. รั้วเขียว, กรุงเทพฯ. 355 หน้า.

ธีรวัฒน์ พงศ์นพรัตน์. 2547. ผลของสารโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิยาของคะน้า. ปัญหาพิเศษ. ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

นพพร สายัมพล. 2543. เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืช. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 261 หน้า.

ปาริชาติ ไผผักแว่น, ประสิทธิ ใจศิล, สุวิทย์ เลาหศิริวงศ์ และ รัช อรรคแสง. 2546. การใช้สารโคลชิซินเพื่อแก้ปัญหาการผสมไม่ติดของลูกผสมข้ามชนิดระหว่างถั่วเขียวพันธุ์ปลูกกับถั่วเขียวพันธุ์ป่า. การประชุมสัมมนาวิชาการประจำปี 2546, 27-28 มกราคม 2546. มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เยาวพา จิระเกียรติกุล. 2536. การชักนำให้หม่อนเกิดการกลายและคัดพันธุ์ทนเค็มโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิทยา บัวเจริญ. 2527. หลักการผสมและปรับปรุงพันธุ์พืช. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์(บางพระ) วิทยาลัยเทคโนโลยีและอาชีวศึกษา, ชลบุรี. 169 หน้า.

วิมล ขวัญเกื้อ และ อนันต์ ภู่พิทยาสถาพร. 2527. การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในพริกโดยการใช้สารโคลชิซิน. วิทยาศาสตร์ 37(7-8) : 488-492.

สมปอง เตชะโช และ ราตรี สุจารีย์. 2542. การชักนำการกลายพันธุ์มังคุดโดยการใช้สารโคลชิซินกับใช้ตายอดที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง. วิทยาศาสตร์ 21(2) : 155 – 167.

สิรนุช ลามศรีจันทร์. 2536. การกลายพันธุ์ของพืช. ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 197 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chevre, A.M., F. Eber, G. Thormas and F. Baron. 1989. Cytological studies of tetraploid kale (*Brassica oleracea L. spp. Acephala*) obtained from diploid lines after colchicine treatment. Agronomie 9(5) : 521–525.

Francis, A., R.N. Jones, J.S. Parker and U.K. Posselt. 1990. Colchicine-induced heritable varitable in cell size and chloroplast numbers in leaf mesophyll cells of diploid ryegrass (*Lolium peerenne L.*). Euphytica 49(1) : 49–55.

Ganga, M., N. Chezhiyan, N. Kumar and K. Soorianathasundaram. 2002. Stomatal and chloroplast traits as ploidy assessment techniques for ploidy screening of in vitro induced tetraploids of banana. Phytomorphology 52(2/3) : 113–120.

Hassan, L. and M. Wazuddin. 2000. Colchicine-induced variation of cell size and chloroplast number in leaf mesophyll of rice. Plant Breeding 119(6) : 531–533.

Indanova, S.S., E.I. Maleskaia and S.I. Maleskii. 2002. Varibility of the number of chloroplasts in a population of stoma guard cells in the sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Geneti ka 38(1) : 72-78.

Paden, D.W., M.M. Meyer and A.L. Rayburn. 1990. Doubling chromosomes with colchicine treatment in vitro as determined by chloroplast number in epidermal guard cells. Amerucan Rhododendron Society Journal 44(3) : 162–165.

Sari, N., K. Abak and M. Pitrat. 1999. Comparison of ploidy level screening methods in watermelon : *Citrullus lanatus* (Thumb) Matsum and Nakai. Scientia Horticulturae 82 : 205-277.

Yetisir, H. and N. Sari. 2003. A new method for haploid muskmelon (*Cucumis melo* L.) Dihaploidization. Scientia Horticulturae 98 : 277–283.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้