ใบรับรองปัญหาพิเศษ

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง ผลของโคลชิซินต่อการกลายพันธุ์ของโลบิเลียที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of Colchicine on Mutation of *Lobelia cardinalis in vitro*

ชื่อนักศึกษา นายวีรยุทธ วัฒนะพุ่มชู

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา.....

(ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(ผศ.สมชาย หวังวิบูลย์กิจ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่ 1 เดือน เมษายน พ.ศ. 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

18746

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของโคลซิซินต่อการกลายพันธุ์ของโลบิเลียที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of Colchicine on Mutation of *Lobelia cardinalis in vitro*

T099318

โดย

นายวีรยุทธ วัฒนะพุ่มชู

ปพ.
วิ833ผ
2545

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

พ.ศ 2545

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน.เดือน.ปี.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของโคลชิซินต่อการกลายพันธุ์ของโลบิเลียที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of Colchicine on Mutation of *Lobelia cardinalis in vitro*

ผลของโคลชิซินต่อการกลายพันธุ์ของโลบิเลียที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้ต้นอ่อนของโลบิเลียที่ระดับความเข้มข้นของโคลชิซิน 0, 50, 100 และ 200 ppm. นาน 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าอัตราการรอดของต้นอ่อนโลบิเลียเป็น 100 เปอร์เซนต์ ส่วนอัตราการเจริญเติบโต จำนวนยอด ความสูงของยอดใหม่มีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของโคลชิซินและระยะเวลาเพิ่มขึ้นผลของโคลชิซินมีแนวโน้มที่จะทำให้ลักษณะของใบเล็กแคระ ความหนาของใบลดลง ความยาวของเซลล์ปากใบเพิ่มขึ้นและจำนวนโครโมโซมไม่เปลี่ยนแปลง

ผลของโคลชิซินต่อการกลายพันธุ์ของโลบิเลียที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้ต้นอ่อนของโลบิเลียที่ระดับความเข้มข้นของโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm. นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง พบว่าอัตราการรอดของต้นอ่อนโลบิเลียเป็น 100 เปอร์เซนต์ อัตราการเจริญเติบโต จำนวนยอด ความสูงของยอดใหม่มีแนวโน้มลดลงอย่างมากเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ผลของโคลชิซินมีแนวโน้มที่จะทำให้ลักษณะของใบเล็กแคระ ต้นเตี้ย ความเข้มข้นของโคลชิซิน 500 ppm มีแนวโน้มที่จะทำให้ความยาวของเซลล์ปากใบลดลงและจำนวนโครโมโซมไม่เปลี่ยนแปลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ และ อาจารย์มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ ซึ่งเป็นที่ปรึกษาให้คำแนะนำ ช่วยแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการทำปัญหาพิเศษ และอาจารย์ในภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่าน คุณรัชนีกร จารุพันธุ์ คุณบุปผา จงพัฒน์ เจ้าหน้าที่ทุกท่านและ เพื่อนทุกคนที่ช่วยเหลืออำนวยความสะดวก ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้

นายวีรยุทธ วัฒนะพุ่มชู

เดือนมีนาคม พ.ศ 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	IV
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	6
ผลการทดลองและวิจารณ์	10
สรุป	29
เอกสารอ้างอิง	30
ภาคผนวก	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ลักษณะผิดปกติและอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนหลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน	10
2	จำนวนยอดที่เกิดใหม่ของต้นอ่อนโลบิเลียหลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน	13
3	ความสูงของต้นอ่อนโลบิเลีย หลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน	14
4	ความยาวของปากใบของต้นอ่อนโลบิเลียหลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน	14
5	อัตราการรอดชีวิตและลักษณะผิดปกติของต้นอ่อนหลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน	21
6	จำนวนยอดที่เกิดใหม่และความสูงของต้นอ่อนโลบิเลียหลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน	22
7	ความยาวของปากใบของต้นอ่อนโลบิเลียหลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1. 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน	25

ตารางผนวกที่

1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสูงของต้นอ่อนที่ได้รับ สารโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดของต้นอ่อนที่ได้รับสารโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง	33
3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวของปากใบของต้นอ่อนที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง	34
4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสูงของต้นอ่อนที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง	35
5	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดของต้นอ่อนที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง	36
6	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวของปากใบของต้นอ่อนที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง	37
7	ข้อมูลความสูงของยอด หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน	38
8	ข้อมูลจำนวนยอด หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน	39
9	ข้อมูลจำนวนยอด หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน	40
10	ข้อมูลความสูงหลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน	41
11	ข้อมูลปากใบของโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 500 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน	42
12	ข้อมูลปากใบของโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโลบิเลีย	11
2	การเจริญเติบโตของต้นอ่อนโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน	15
3	การเจริญเติบโตของต้นอ่อนโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน	16
4	ลักษณะผิดปกติของต้นอ่อนโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน	17
5	ลักษณะปากใบของโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน	18
6	ลักษณะปากใบของโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน	19
7	ภาพและแผนภาพแสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากของโลบิเลียต้นปกติ(1000x)	20
8	การเจริญเติบโตของต้นอ่อนโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน	24
9	ลักษณะปากใบของโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

โลบิเลีย (*Lobelia cardinalis*) เป็นพรรณไม้น้ำสวยงามที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง นิยมใช้ประดับตู้ปลาสวยงามหรือตู้พรรณไม้น้ำ มีใบเดี่ยวรูปไข่ขนาดเล็กแตกออกจากลำต้นแบบสลับเวียนรอบๆ ลำต้น ทำให้มองดูน่ารักคล้ายดอกไม้สีม่วง และมีการเจริญเติบโตช้า นิยมนำมาประดับหน้าตู้โดยปลูกเป็นกลุ่มประมาณ 5 - 20 ต้น

ในการปรับปรุงพันธุ์โดยการใช้สิ่งก่อกลายพันธุ์ (mutagen) เพื่อชักนำให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมร่วมกับเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางเพราะเป็นวิธีหนึ่งที่จะได้มาซึ่งลักษณะที่แปลกใหม่ โดยสิ่งก่อกลายพันธุ์ต่างๆ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ยีน (gene) และโครโมโซม (chromosome) ส่วนเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นการเพิ่มต้นพืชให้ได้เป็นจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น และเป็นการเพิ่มโอกาสการกลายพันธุ์ทั้งต้นเนื่องจากต้นพืชที่ได้จากวิธีนี้มีขนาดเล็กจึงมีจำนวนเซลล์น้อยกว่าต้นพืชที่ได้จากการเพาะเมล็ด จากท่อนพันธุ์หรือจากหัว

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของโคลชิซินระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่มีต่อการกลายพันธุ์ของโลบิเลีย
2. เพื่อศึกษาผลของโคลชิซินความเข้มข้นสูงที่ระยะเวลาต่างๆ ต่อการกลายพันธุ์ของ โลบิเลีย
3. เพื่อศึกษาผลของการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของโลบิเลียเพื่อเป็นแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

อนุกรมวิธานของโลบิเลีย (*Lobelia cardinalis*)

Lobelia (Cardinalis flower)

Division: Magnoliophyta

Class: Magnoliopsida

SubClass: Asteridae

Order: Campanulales

Family. Lobeliaceae

Genus: Lobelia

Species: cardinalis (Watson *et al.*, 1992)

โลบิเลีย (*Lobelia cardinalis*) เป็นพรรณไม้น้ำที่อยู่ในวงศ์ Lobeliaceae ซึ่งพรรณไม้ในสกุลนี้มีอยู่ทั้งหมดประมาณ 365 ชนิด ถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาเหนือ ในเขตอบอุ่นของรัฐฟลอริดา (Rataj and Horeman,1977) สภาพธรรมชาติเจริญในที่ชื้นแฉะที่มีแสงแดดส่องถึง มีรากเจริญใต้น้ำและลำต้นเจริญเหนือน้ำ ใบเป็นใบเดี่ยวลักษณะรูปไข่ขนาดเล็กแตกออกจากลำต้นแบบสลับเวียนรอบๆ ลำต้น ใบอ่อนที่ได้รับแสงมากใต้ใบจะเป็นสีม่วง ดอกสีแดงสดใสสวยงามมาก สามารถทำให้เป็นพุ่มเล็กๆ ได้โดยการตัดส่วนยอดออกเพื่อให้แตกกิ่งข้าง (Roger, 2001) เนื่องจากมีการเจริญเติบโตช้าในสภาวะปกติ (Olga, 1997) และเติบโตในน้ำช้ากว่าสภาวะปกติ แต่ถ้ามีการเตรียมน้ำดี ได้รับแสงและปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเหมาะสม จะเจริญเติบโตได้ดีกว่าปกติ (Rataj and Horeman,1977) นิยมนำมาประดับหน้าตู้ปลาสวยงามโดยปลูกเป็นกลุ่มๆ โลบิเลียที่ปลูกอยู่ในสภาพธรรมชาติไม่เหมาะที่จะนำมาจัดตู้ปลา สภาพที่เหมาะสมต้องปลูกอยู่ในที่มีความชื้นสูงเช่นในโรงเรือนกระจก (greenhouse) สามารถเจริญในน้ำที่มีอุณหภูมิสูงถึง 30 องศาเซลเซียส Thomas (2001) และ Busko (2001) พบว่าใบของโลบิเลียที่แตกหักจะปลดปล่อยสารบางอย่างลงในน้ำซึ่งทำอันตรายต่อปลาที่เลี้ยงไว้ได้ และ Watson *et al.* (1992) รายงานว่าโลบิเลียเป็นอันตรายต่อคนด้วยจึงไม่ควรบริโภค โลบิเลียมีชื่อเรียกอย่างไม่เป็นทางการว่า Cryptoholia (Rataj and Horeman,1977) ขยายพันธุ์โดยการแยกหน่อที่เกิดบริเวณโคนต้น นำมาปลูกแบบครึ่งบกครึ่งน้ำ หรือขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การกลายพันธุ์

การกลายพันธุ์คือการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมของเซลล์ การกลายพันธุ์อาจเกี่ยวข้องกับการสูญหายไปของยีน หรือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในยีน เรียกว่าการกลายพันธุ์ของยีน (gene mutation) ส่วนการกลายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนส่วนของโครโมโซม การสูญหายไปหรือการเข้ามาของส่วนของโครโมโซมที่ครอบคลุมมากกว่าหนึ่งยีน เรียกว่าการกลายพันธุ์ของโครโมโซม (gene chromosome) (สิรินุช, 2536) การกลายพันธุ์ของพืชเกิดขึ้นได้ 2 วิธี คือเกิดเองตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) ซึ่งเกิดขึ้นได้ในอัตราค่อนข้างต่ำ และเกิดขึ้นโดยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ (induced mutation) โดยสิ่งก่อกลายพันธุ์ 2 ประเภทคือ สิ่งก่อกลายพันธุ์ทางกายภาพ (physical mutation) ได้แก่ รังสีแกมมา รังสีเอกซ์ รังสีอุลตราไวโอเลตและอนุภาคนิวตรอน โดยจะก่อให้เกิดการแตกหักของโครโมโซม และสิ่งก่อกลายพันธุ์ทางเคมี (chemical mutation) ได้แก่สารเคมีต่าง ๆ ที่สามารถทำปฏิกิริยากับ DNA เช่น ethyl methane sulfonate (EMS), diethyl sulfate (DES), colchicine และ base analogues เช่น 5-bromo-uracil (5-BU) (ไพศาล, 2535)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโลบิเลีย

สภาพแวดล้อมและสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโลบิเลีย (*Lobelia nicotianaefolia*) โดยใช้สูตรอาหาร MS (murashige and Skoog, 1962) น้ำตาลซูโครส 30 กรัม วุ้น (phytagel) 2 กรัม ความเป็นกรดเป็นด่าง 5.8 ในหลอดขนาด 25 x 150 มิลลิเมตร และ 50 x 150 มิลลิเมตร นำไปนึ่งที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 20 นาที ให้ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์สีขาวที่ให้ความเข้มแสง 30 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที และมีความชื้น 55 เปอร์เซ็นต์ (Tissue culture studies, 2001)

การใช้สารโคลชิซิน

โคลชิซิน (colchicine) เป็นสารอัลคาลอยด์สกัดได้จากหัวหรือเมล็ดของโครคัส (*Colchicum autumnale*) และ ดองดึง (*Gloriosa superba*) หรือพืชอื่นๆ ที่อยู่ในวงศ์ของ Liliaceae มีลักษณะเป็นผลึกรูป เข็มสีเหลืองอ่อน ส่วนโคลชิซินบริสุทธิ์ มีสูตรทางเคมีเป็น $C_{22}H_{25}O_6N$ เป็นผลึกรูปเข็มไม่มีสี สามารถละลายได้ง่ายในแอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์มและน้ำเย็น แต่ละลายได้น้อยในน้ำร้อน โคลชิซินมีผลชักนำให้เกิดการเพิ่มชุดของโครโมโซม โดยจะไปยับยั้งการทำงานของ spindle fiber การใช้โคลชิซินต้องใช้กับเซลล์ที่มีการแบ่งตัว โดยทาตามส่วนที่เจริญค่อนข้างรวดเร็วของพืช เช่น ต้นอ่อน ตาที่กำลังแตก เมล็ดที่กำลังงอก กล้าอ่อน ฯลฯ (ไพศาล, 2535) นิยมใช้ความเข้มข้นระหว่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.01 - 0.5 เปอร์เซ็นต์นาน 1 - 24 ชั่วโมงขึ้นไปและอาจถึง 10วัน (Harten, 1998 และ Saber, 1995) Cuzn (2001) แนะนำว่าอาจชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยสเปรย์สารละลายโคลชิซินให้สัมผัสกับใบพืช ประมาณ 3 สัปดาห์ โคลชิซินเป็นสารที่อันตรายมากและเป็นสารก่อมะเร็ง ดังนั้นจึงควรสวมถุงมือและหน้ากากขณะปฏิบัติงาน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาคือ -15 องศาเซลเซียส ถึง -25 องศาเซลเซียส และควรเก็บในขวดสีชาในที่มืดเนื่องจากโคลชิซินจะสลายตัวเมื่อถูกแสง (Wouter, 2001) สารโคลชิซินมีผู้นำมาใช้ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์อย่างกว้างขวางเนื่องจาก ไม่ทำอันตรายต่อต้นพืช แม้ใช้ในอัตราสูงเพราะเป็นสารที่สกัดมาจากพืช เคลื่อนย้ายไปตามส่วนต่างๆ ของพืช โดยยังรักษารูปเดิม และมีประสิทธิภาพสูง (นพพร, 2543)

การใช้สารโคลชิซินกับไม้ดอกไม้ประดับ

Chen และ Colden-Kallemeyn (1979) ชักนำให้ดอกไม้จีน (*Hemerocallis flava*) มีจำนวนโครโมโซมเป็นเตตราพลอยด์และออกตาพลอยด์โดยการเพาะเลี้ยงแคลลัส (2n=22) บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4 – D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และโคลชิซิน 0, 1, 10, 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่มืด อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงให้ฟื้นตัว 1 สัปดาห์ในสภาพเดิม แต่เลี้ยงไว้บนอาหารที่ไม่มีโคลชิซิน แล้วจึงนำมาเพาะเลี้ยงให้เกิดต้นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่ามากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของต้นที่เกิดจากแคลลัสที่ได้รับสารโคลชิซินเป็นเตตราพลอยด์ ส่วนที่ไม่ได้รับสารเป็นปกติทั้งหมด โดยที่ความเข้มข้นของโคลชิซิน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำได้ดีที่สุด ทิวา (2533) ศึกษาผลของโคลชิซินที่มีต่อการกลายพันธุ์ของแกลดิโอลัสที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ที่ระดับความเข้มข้น 0-200 ppm นาน 6-36 ชั่วโมง พบว่าสารโคลชิซิน ทำให้น้ำหนัก ขนาดของแคลลัส และความสูงของต้นมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น แต่ทำให้ใบหนาขึ้น และการศึกษาจำนวนโครโมโซมที่ปลายรากของแกลดิโอลัสพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโมโซม Emsweller และ Brierley (1940) ชักนำให้เกิดต้นเตตราพลอยด์ของลิลลี่ (*Lilium formosanum*) ได้จากการจุ่มส่วนปลายยอดลงในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.4, 0.6 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมงซึ่งปลายยอดที่ได้รับสารโคลชิซินมีเส้นผ่าศูนย์กลางใหญ่ขึ้น หัวย่อยที่เกิดบางหัวมีลักษณะเป็นเตตราพลอยด์ และให้ดอกที่มีขนาดใหญ่กว่าปกติ 25 เปอร์เซ็นต์ รัศมี (2536) ศึกษาผลของโคลชิซินที่มีต่อการกลายพันธุ์ของลิลลี่ ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยแช่กลีบหัวลิลลี่พันธุ์ต่างๆ ในโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 0 – 10 ชั่วโมง พบว่าอัตราการรอดชีวิตลดลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น มีจำนวนหัวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย น้ำหนักหัว จำนวนใบ และขนาดของใบลดลง และสามารถชักนำให้ลิลลี่เกิดเป็นต้นเตตราพลอยด์ได้ 7 พันธุ์ จากทั้งหมด 10 พันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิชชุตา (2537) ศึกษาผลของโคลชิซินที่มีต่อการกลายพันธุ์ของหน้าวัวพันธุ์ Double Spath ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.01, 0.05 และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง กับข้อและแคลลัส พบว่าอัตราการรอดชีวิต การเกิดยอดใหม่และความสูงมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของโคลชิซินเพิ่มขึ้น และที่ระดับความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ ทำให้อัตราการเกิดยอดใหม่จากแคลลัสสูงขึ้น ผลของโคลชิซินมีแนวโน้มที่จะทำให้เกิดลักษณะใบด่าง ความยาวของปากใบเพิ่มขึ้น และจำนวนโครโมโซมไม่เปลี่ยนแปลง และสุรวิช (2526) ศึกษาผลของโคลชิซินต่อกุหลาบหินพันธุ์ลาร์โกที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำกิ่งข้างมาแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0 - 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่า โคลชิซินทำให้เกิดลักษณะผิดปกติ คือ เกิดต้นที่มีขนาดเล็ก มีกิ่งข้างจำนวนมาก และสามารถชักนำให้เกิดเป็นเตตราพลอยด์ได้ Srivastav และ Raina (1982) ใช้สารโคลชิซิน ความเข้มข้น 0.15 เปอร์เซ็นต์ หยดลงที่ปลายยอดของต้นอัญชัน เมื่อใบแรกของต้นมีขนาด 1 มิลลิเมตร โดยใช้สำลีหุ้มปลายยอด เพื่อให้สามารถดูดซับสารโคลชิซินไว้ได้ทิ้งไว้นาน 10.5 ชั่วโมง พบว่าสามารถชักนำให้เกิดออโตเตตราพลอยด์ได้ 5 ต้น จากต้นที่รอดชีวิต 30 ต้น รงรอง (2528) ศึกษาผลของโคลชิซินต่อเยอบีร่าสายพันธุ์ยุโรปที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำหน่อแช่ในสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0.025 - 0.05 เปอร์เซ็นต์ นาน 24 พบว่า โคลชิซินความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ทำให้เยอบิร่าตาย 100 เปอร์เซ็นต์ โคลชิซินความเข้มข้น 0.025 เปอร์เซ็นต์จะมีการรอดตายสูง และสามารถชักนำให้เกิดเป็นเตตราพลอยด์ได้

การใช้โคลชิซินกับพืชสวนและพืชไร่

ปิยะดา (2531) ศึกษาผลของโคลชิซินต่อขิงที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยแช่ต้นขิงในสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0 – 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 - 4 วัน พบว่า การเพิ่มระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่สารละลายโคลชิซิน ทำให้การเจริญเติบโตและอัตราการรอดชีวิตลดลงและทำให้เกิดลักษณะผิดปกติ เช่นลำต้นอ้วน ใบหนาและกว้าง บางต้นมีลักษณะใบด่างเป็นริ้ว และการแช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 วัน และ 0.50 เปอร์เซ็นต์ นาน 2 วัน สามารถชักนำต้นให้เป็นเตตราพลอยด์ได้ เสริมศิริ (2532) ศึกษาผลของโคลชิซินต่อเก็กฮวยพันธุ์หังโจวที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อโดยแช่โคลชิซินความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 1-5 ชั่วโมง พบว่าสามารถชักนำต้นให้เป็นเตตราพลอยด์ได้และ Fu et.al. (1995) ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในแอปเปิ้ลและเชอร์รี่โดยใช้ EMS 0.2 เปอร์เซ็นต์ 1 ชั่วโมง ร่วมกับ โคลชิซิน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 24 ชั่วโมงมีผลทำให้ใบของเชอร์รี่บางลง และใช้โคลชิซิน 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้ใบของแอปเปิ้ลมีลักษณะบางลง ได้ต้นแอปเปิ้ลและเชอร์รี่ที่กลายพันธุ์อย่างละ 2 ต้น จากต้นที่รอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

พืชทดลอง

โลบิเลีย (*Lobelia cardinalis*) ในสภาพปลอดเชื้อ

เครื่องมือและสารเคมีในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1. เครื่องมือในการเตรียมอาหารได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบหยาบและแบบละเอียด กระบอกตวง บีกเกอร์ ปิเปต เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ขวดแก้วพร้อมฝาปิด หม้อนึ่งความดันและเตาแก๊ส

2. เครื่องมือในการย้ายชิ้นส่วนพืช ได้แก่ ตู้ปลอดเชื้อ มีดผ่าตัด ปากคีบ จานแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์

3. สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารวิทยาศาสตร์สูตร Murashige และ Skoog (1962) (MS) วุ้น น้ำตาลซูโครส

4. สารควบคุมการเจริญเติบโต คือ NAA (1 – Naphthylacetic acid) และ kinetin

5. สารเคมีสำหรับปรับความเป็นกรด – ด่างคือ HCl 1 N และ KOH 1 N

6. สารเคมีสำหรับฆ่าเชื้อโรคได้แก่ คลอรอกซ์ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ สารเหนียว (tween-20) แอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์

7. เครื่องเขย่าซึ่งหมุน 120 รอบต่อนาที

8. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่มีสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน

สิ่งก่อกลายพันธุ์

โคลชิซิน โดยใช้โคลชิซินความเข้มข้น 50, 100, 200 และ 500 ppm

เครื่องมือและสารเคมีในการศึกษาใบและโครโมโซม

1. เครื่องมือได้แก่ เครื่องวัดความหนาของใบ (micrometer) กล้องจุลทรรศน์พร้อมกล้องถ่ายภาพ กระจกสไลด์ กระจกปิดสไลด์ เข็มเขี่ย ตะเกียงแอลกอฮอล์และหลอดหยด

2. สารเคมี ได้แก่ สารละลายโคลชิซิน 0.05 เปอร์เซ็นต์ น้ำยาตรึงเซลล์ (glacial acetic acid : absolute ethanol ในอัตราส่วน 1:3) HCl 5 เปอร์เซ็นต์ และสี aceto – carmine

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

แผนการทดลอง

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด ดังนี้

1. การทดลองชุดที่ 1 วางแผนการทดลองแบบ 4x2 Factorial Experiment in CRD มี 10 ซ้ำประกอบด้วย 2 ปัจจัยคือ

ปัจจัยที่ 1 ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน 4 ระดับคือ 0, 50, 100 และ 200 ppm

ปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาในการแช่สารละลายโคลชิซิน 2 ระดับคือ 24 และ 48 ชั่วโมง

2. การทดลองชุดที่ 2 วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 ซ้ำประกอบด้วย ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมอาหาร เตรียมอาหารแข็งสูตรของ Murashige และ Skoog (1962) เติมน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับ pH ให้ได้ 5.6 โดยใช้ HCl 1 N และ KOH 1 N ใส่วุ้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ ต้มจนวุ้นละลายหมด แล้วจึงบรรจุอาหารลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปิดฝานำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วนาน 15 นาที

2. การทำความสะอาดเนื้อเยื่อ นำต้นโลบิเลียมาทำความสะอาด โดยการล้างด้วยน้ำก๊อกที่ไหลผ่าน แล้วนำชิ้นส่วนพืชแช่ในน้ำยาล้างผัก 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 2 นาที แล้วจึงย้ายไปแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ หยด tween-20 1 – 2 หยด นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 2 นาที ย้ายไปแช่ในสารละลายคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ หยด tween-20 1 – 2 หยด นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 2 นาที แล้วแช่ไว้ในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

3. การเลี้ยงเนื้อเยื่อ นำส่วนของต้นที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาตัดเป็นท่อนๆ ขนาด 1 เซนติเมตร ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ แล้วปลูกลงอาหารแข็งที่เตรียมไว้ แล้วจึงย้ายไปเลี้ยงบนชั้นเลี้ยงเนื้อเยื่อให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การดำเนินงาน

4.1 การทดลองชุดที่ 1 นำส่วนของต้นอ่อนขนาด 1 เซนติเมตร แช่ในสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นำขวดสารละลายวางบนเครื่องเขย่าซึ่งหมุน 120 รอบต่อนาที เขย่าเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำต้นอ่อนมาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งที่เตรียมไว้ ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ 12 ชั่วโมงต่อวัน ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อทุกสัปดาห์เป็นเวลา 2 เดือน

4.2 การทดลองชุดที่ 2 นำส่วนของต้นอ่อนขนาด 1 เซนติเมตร แช่ในสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำต้นอ่อนมาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งที่เตรียมไว้ ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1000 ลักซ์ 12 ชั่วโมงต่อวัน ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อทุกสัปดาห์เป็นเวลา 2 เดือน

5. การเก็บข้อมูล

5.1 ขนาดของปากใบ (stomata) ลอกผิวใบด้านล่างของต้นในแต่ละสิ่งทดลองนำชิ้นส่วนที่ได้วางบนสไลด์ หยดน้ำสะอาด 1 หยด แล้วปิดด้วย cover glass ทำการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ และวัดความยาวของปากใบโดยใช้ micrometer หาค่าเฉลี่ยจาก 5 เซลล์

5.2 จำนวนโครโมโซม

5.2.1 Pre - treatment ตัดปลายรากของโลบิเลียที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ แช่ในสารละลายโคลชิซินเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 - 4 ชั่วโมง

5.2.2 Fixation หลังจาก Pretreatment แล้วนำรากมาแช่ในน้ำยาตรึงเซลล์ (glacial acetic acid : absolute ethanol ในอัตราส่วน 1:3) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5.2.3 Maceration นำปลายรากที่ผ่าน Fixation มาทำให้เซลล์อ่อนตัวด้วย HCl 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด หยดสี aceto – carmine 2 - 3 หยด เป็นเวลา 5 - 10 นาที

5.2.4 Squash technique ตัดเฉพาะส่วนปลายราก ขนาด 1 – 2 มิลลิเมตร วางบนกระจกสไลด์ หยดสี aceto – carmine 1 หยด ผ่านสไลด์ไปบนเปลวไฟพออุ่นๆ ซึ่งช่วยให้โครโมโซมแผ่ตัวได้ดี ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์นำไปวางบนกระดาษซับแล้วปิดทับด้วยกระดาษซับอีกแผ่น ใช้หัวแม่มือกดแรงพอประมาณเพื่อให้เซลล์กระจายออก กระดาษจะซับสีส่วนเกินออก นำสไลด์ไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ (ภูวดล, 2528)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบันทึกข้อมูล

บันทึกอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนโลบิเลีย จำนวนยอดที่เพิ่มขึ้น ความยาวเซลล์ปากใบ และจำนวนโครโมโซม บันทึกอัตราการกลายพันธุ์ โดยนับจำนวนต้นที่มีการเปลี่ยนแปลงแล้วเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม Excel 97

สถานที่ทำการทดลอง

1. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

2. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มทำการทดลองตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2544 และสิ้นสุดการทดลองเดือน มีนาคม 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาผลของโคลชิซินที่มีต่อโลบิเลียที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อปรากฏผลดังนี้

การทดลองชุดที่ 1

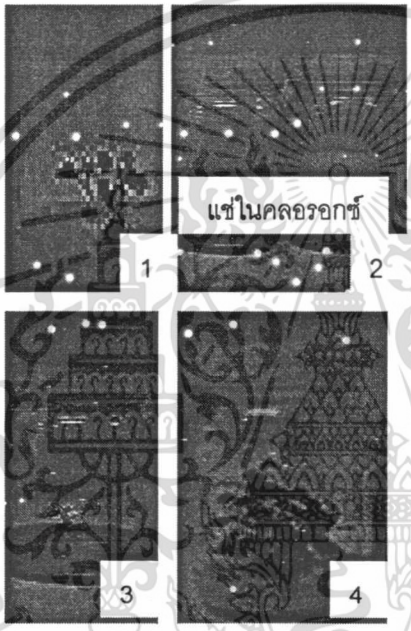
1. การศึกษาอัตรารอดชีวิตของต้นอ่อน หลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง ปรากฏผลดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะผิดปกติและอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนหลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน

ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน(ppm)	ระยะเวลาในการแช่สาร (ชั่วโมง)	จำนวนต้นที่ใช้ศึกษา (ต้น)	จำนวนต้นที่รอดชีวิต 60วัน (ต้น)	อัตราการรอดชีวิต (%)	จำนวนต้นที่ผิดปกติ ใบแคระ ข้อถี่ (ต้น)
0	24	10	10	100	-
	48	10	10	100	-
50	24	10	10	100	3
	48	10	10	100	1
100	24	10	10	100	1
	48	10	10	100	-
200	24	10	10	100	1
	48	10	10	100	1

จากตารางที่ 1 พบว่าทุกระดับความเข้มข้นและทุกระยะเวลาในการแช่สารละลายโคลชิซิน ยังคงให้อัตรารอดชีวิตของโลบิเลียเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ปรากฏลักษณะที่ผิดปกติให้เห็น คือ จะมีลักษณะใบแคระ เล็ก ลำต้นมีข้อถี่และมีการแตกกิ่งข้างจำนวนมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโลบิเลีย

1. ท่อนพันธุ์ที่นำมาฟอกฆ่าเชื้อ
2. ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาทีและ ฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 2 นาที
3. เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตรของ Murashige และ Skoog (1962) ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin 2 มิลลิกรัมต่อลิตร
4. เจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

2. การศึกษาจำนวนยอดที่เกิดใหม่ของต้นอ่อนโลบิเลีย หลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน พบว่าต้นอ่อนโลบิเลีย ที่แช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 50 ppm ให้จำนวนยอดสูงสุด เฉลี่ย 5.9 ยอด และโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นสูงมีผลทำให้จำนวนยอดลดลง โดยต้นอ่อนโลบิเลีย ที่แช่สารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm ให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่ำสุดคือ 4.15 ยอด(ตารางที่ 2) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

3. การศึกษาความสูงของต้นอ่อนโลบิเลีย หลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน พบว่าความเข้มข้นของโคลชิซินมีผลทำให้ความสูงของต้นอ่อนโลบิเลียมีแนวโน้มลดลงตามความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินที่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 2 และ 3) โดยต้นอ่อนโลบิเลียที่ไม่ได้แช่สารละลายโคลชิซินให้ความสูงเฉลี่ยสูงสุดคือ 4.41 เซนติเมตรซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับต้นอ่อนที่ได้รับสารโคลชิซินทุกระดับความเข้มข้น ส่วนต้นอ่อนโลบิเลียที่แช่สารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 50 และ 100 ppm ให้ความสูงของต้นอ่อนโลบิเลียเฉลี่ยเท่ากัน ต่ำสุดคือ 2.265 เซนติเมตรและต้นอ่อนโลบิเลียที่แช่สารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm ให้ความสูงเฉลี่ย 2.27 เซนติเมตร (ตารางที่ 3) ต้นอ่อนที่ได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 50, 100 และ 200 ppm พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 จำนวนยอดของต้นอ่อนโลบิเลียหลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน

ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน (ppm)	ระยะเวลาในการแช่สาร (ชั่วโมง)	
	24	48
0	4.5±0.833[a]	4.5±0.833[a]
50	6.6±0.819[a]	5.2±0.916[a]
100	4.4±0.956[a]	5.5±1.176[a]
200	4.7±0 863[a]	4.9±0.752[a]

*ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

4. การศึกษาลักษณะใบและต้นอ่อนโลบิเลียหลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน พบว่ามีต้นที่มีลักษณะผิดปกติ คือต้นมีใบขนาดเล็ก และต้นมีข้อถี่มาก จำนวน 7 ต้น คิดเป็น 8.75 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 4)

5. การศึกษาความยาวของปากใบ พบว่าต้นอ่อนโลบิเลียที่ไม่ได้รับสารโคลชิซิน มีความยาวปากใบน้อยที่สุด เฉลี่ย 0.1080 มิลลิเมตร แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับต้นอ่อนโลบิเลียที่แช่สารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ซึ่งมีความยาวปากใบเฉลี่ย 0.1152 มิลลิเมตร ส่วนต้นอ่อนโลบิเลียที่แช่สารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm นาน 48 ชั่วโมง มีความยาวปากใบสูงที่สุด เฉลี่ย 0.1744 มิลลิเมตร (ภาพที่ 5, 6 และ ตารางที่ 4) ความยาวปากใบเฉลี่ยของต้นอ่อนโลบิเลียที่แช่สารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 50 และ 200 ppm พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับต้นอ่อนโลบิเลียที่ไม่ได้รับสารโคลชิซิน

6. การศึกษาจำนวนโครโมโซมจากปลายรากของโลบิเลีย ที่ได้รับสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นระดับต่างๆ พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโมโซม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ความสูงของต้นอ่อนโลบิเลียหลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน

ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน (ppm)	ระยะเวลาในการแช่สาร (ชั่วโมง)	
	24	48
0	4.41±0.596 [a]	4.41±0.596 [a]
50	2.41±0.278 [b]	2.12±0.201 [b]
100	2.14±0.207 [b]	2.39±0.232 [b]
200	2.60±0.217 [b]	1.94±0.305 [b]

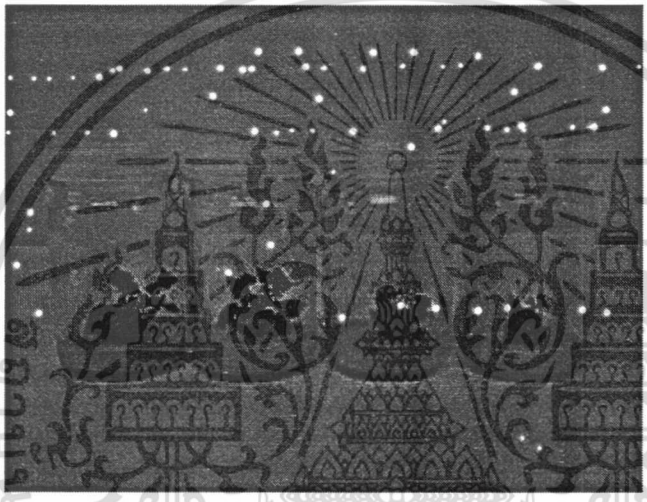
*ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 4 ความยาวปากใบของต้นอ่อนโลบิเลียหลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน

ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน (ppm)	ระยะเวลาในการแช่สาร (ชั่วโมง)	
	24	48
0	0.1064±0.0075 [a]	0.1080±0.0069 [a]
50	0.1072±0.0034 [b]	0.1640±0.0063 [b]
100	0.1000±0.0028 [a]	0.1304±0.0057 [ab]
200	0.1640±0.0063 [c]	0.1744±0.0060 [c]

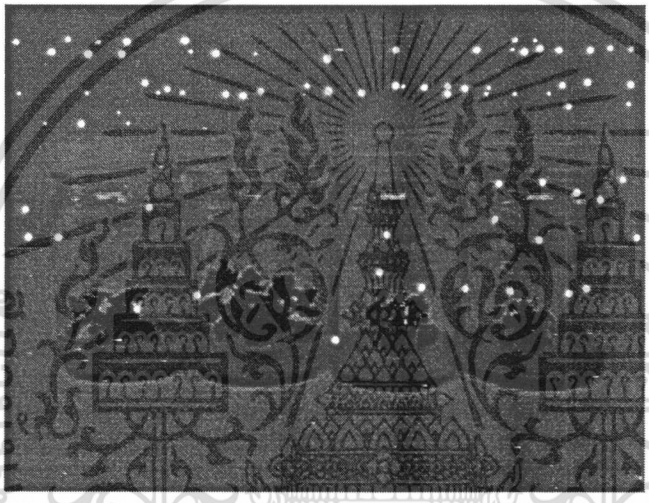
*ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



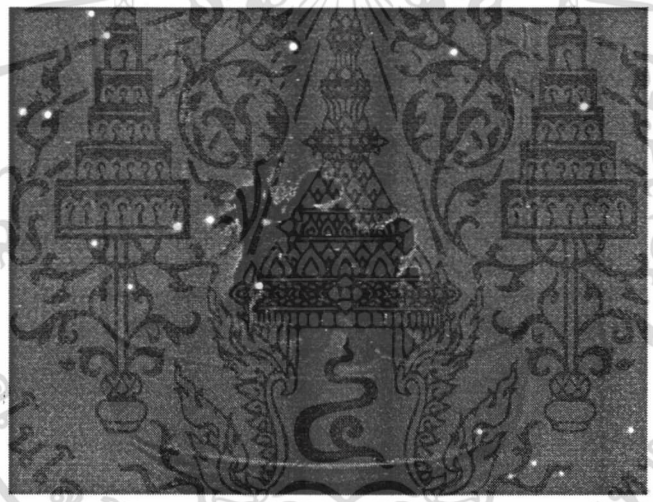
ภาพที่ 2 การเจริญเติบโตของต้นอ่อนโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อครบ 60 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



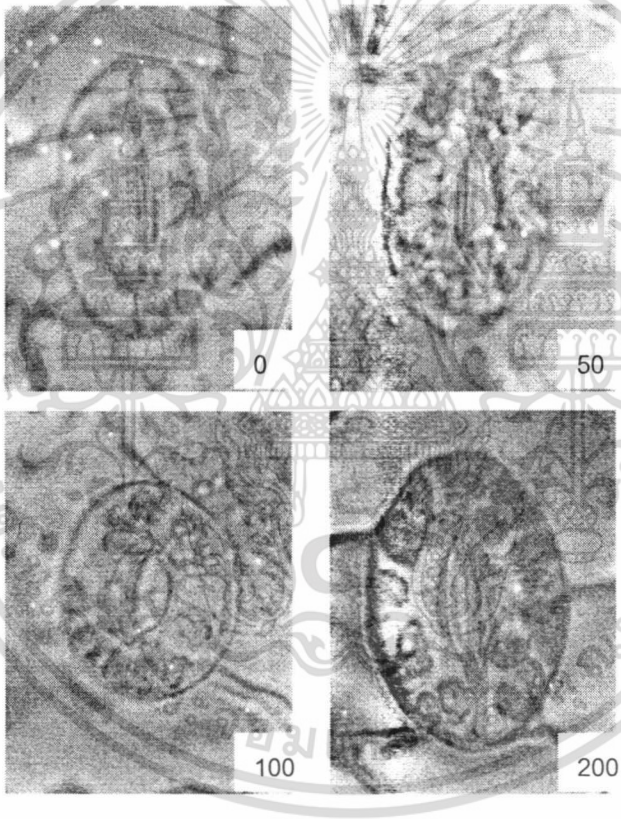
ภาพที่ 3 การเจริญเติบโตของต้นอ่อนโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



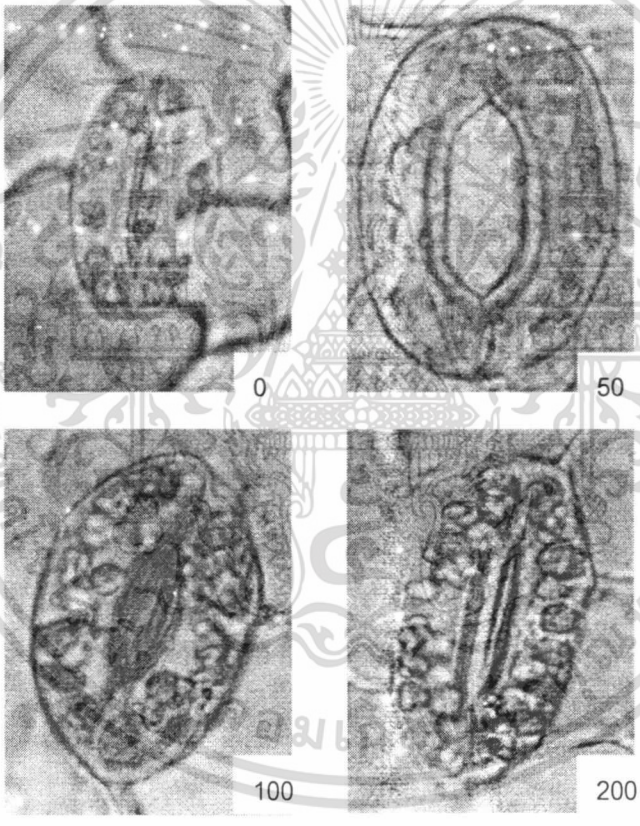
ภาพที่ 4 ลักษณะผิดปกติของต้นอ่อนโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
99818



ภาพที่ 5 ลักษณะปากใบของโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100และ 200 ppm นาน 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 ลักษณะปากใบของโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 7 ภาพและแผนภาพแสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากของโลบิเลียต้นปกติ(1000x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

18716

การทดลองชุดที่ 2

1. การศึกษาอัตรารอดชีวิตของต้นอ่อนโลบิเลีย หลังจากแช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน ปรากฏผลดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ลักษณะผิดปกติและอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนโลบิเลีย หลังจากแช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 500 ppm นาน 1 2 3 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน

ระยะเวลาในการแช่สาร (ชั่วโมง)	จำนวนต้นที่ใช้ศึกษา (ต้น)	จำนวนต้นที่รอดชีวิต 60วัน(ต้น)	อัตราการรอดชีวิต (%)	จำนวนต้นที่ผิดปกติ ใบแคระ ข้อถี่ (ต้น)
0	5	5	100	-
1	5	5	100	-
2	5	5	100	-
3	5	5	100	1
4	5	5	100	2
5	5	5	100	3

จากตารางที่ 5 พบว่าทุกระดับความเข้มข้นและทุกระยะเวลาในการแช่สารละลายโคลชิซิน ยังคงให้อัตรารอดชีวิตของโลบิเลียเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ปรากฏลักษณะที่ผิดปกติให้เห็น คือ จะมีลักษณะใบแคระ เล็ก และลำต้นมีข้อถี่

2. การศึกษาจำนวนยอดที่เกิดใหม่ของต้นอ่อนโลบิเลีย หลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน พบว่าต้นอ่อนโลบิเลียที่ไม่ได้รับสารละลายโคลชิซินให้จำนวนยอดสูงสุด เฉลี่ย 5 ยอด และพบว่าที่ระยะเวลานานขึ้นมีผลทำให้จำนวนยอดลดลง โดยต้นอ่อนโลบิเลีย ที่แช่สารละลายโคลชิซินนาน 5 ชั่วโมง ให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่ำสุดคือ (ตารางที่ 6) 1.8 ยอด แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

3. การศึกษาความสูงของต้นอ่อนโลบิเลีย หลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน พบว่าต้นอ่อนโลบิเลียไม่ได้ที่รับสารละลายโคลชิซินให้ความสูงเฉลี่ยสูงสุดคือ 2.5 เซนติเมตร และต้นอ่อนโลบิเลียที่แช่สารละลายโคลชิซินนาน 5 ชั่วโมง ให้ความสูงเฉลี่ยต่ำสุดคือ 0.58 เซนติเมตร (ตารางที่ 6) ความสูงของต้นอ่อนโลบิเลียที่แช่สารละลายโคลชิซินนาน 0 - 2 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนความสูงของต้นอ่อนโลบิเลียที่แช่สารละลายโคลชิซินนาน 3 - 5 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกลุ่มของต้นอ่อนโลบิเลียที่แช่สารละลายโคลชิซินนาน 0 - 2 ชั่วโมง ต้นอ่อนโลบิเลียที่ได้รับสารโคลชิซินระยะเวลานานขึ้นมีผลทำให้ความสูงของต้นอ่อนโลบิเลียมีแนวโน้มลดลง (ภาพที่ 8)

ตารางที่ 6 จำนวนยอดที่เกิดใหม่และความสูงของต้นอ่อนโลบิเลียหลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน

ระยะเวลาในการแช่สาร (ชั่วโมง)	จำนวนยอดที่เกิดใหม่ (ต้น)	ความสูงของต้นอ่อน (เซนติเมตร)
0	4.5 ± 0.5000^{a}	2.50 ± 0.1870^{a}
1	3.8 ± 0.7348^{a}	1.42 ± 0.1392^{a}
2	2.8 ± 0.2000^{a}	1.40 ± 0.1000^{a}
3	3.2 ± 0.6633^{a}	1.14 ± 0.0400^{b}
4	2.2 ± 0.5830^{a}	1.02 ± 0.0916^{c}
5	1.8 ± 0.3741^{a}	0.58 ± 0.1157^{bc}

*ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

4. การศึกษาลักษณะใบและต้นอ่อนของโลบิเลียหลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน พบว่ามีต้นที่มีลักษณะผิดปกติ คือต้นมีใบขนาดเล็ก และต้นมีข้อถี่มาก จำนวน 6 ต้น คิดเป็น 20 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การศึกษาความยาวของปากใบ พบว่าต้นอ่อนโลบิเลียที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1 และ 5 ชั่วโมง มีความยาวปากใบเฉลี่ย 0.1053, 0.0973 และ0.1240 มิลลิเมตรตามลำดับ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับ ต้นอ่อนโลบิเลียที่แช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 500 ppm นาน 2, 3 และ 4 ชั่วโมง ซึ่งมีความยาวปากใบเฉลี่ย 0.1300, 0.1480 และ 0.1420 มิลลิเมตรตามลำดับ (ภาพที่ 9 และ ตารางที่ 7) สารโคลชิซินความเข้มข้นสูงที่ระยะเวลานานขึ้นทำให้ความยาวปากมีแนวโน้มลดลง

6. การศึกษาจำนวนโครโมโซมจากปลายรากของโลบิเลีย ที่ได้รับสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโมโซม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 8 การเจริญเติบโตของต้นอ่อนโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 1 2 3 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน

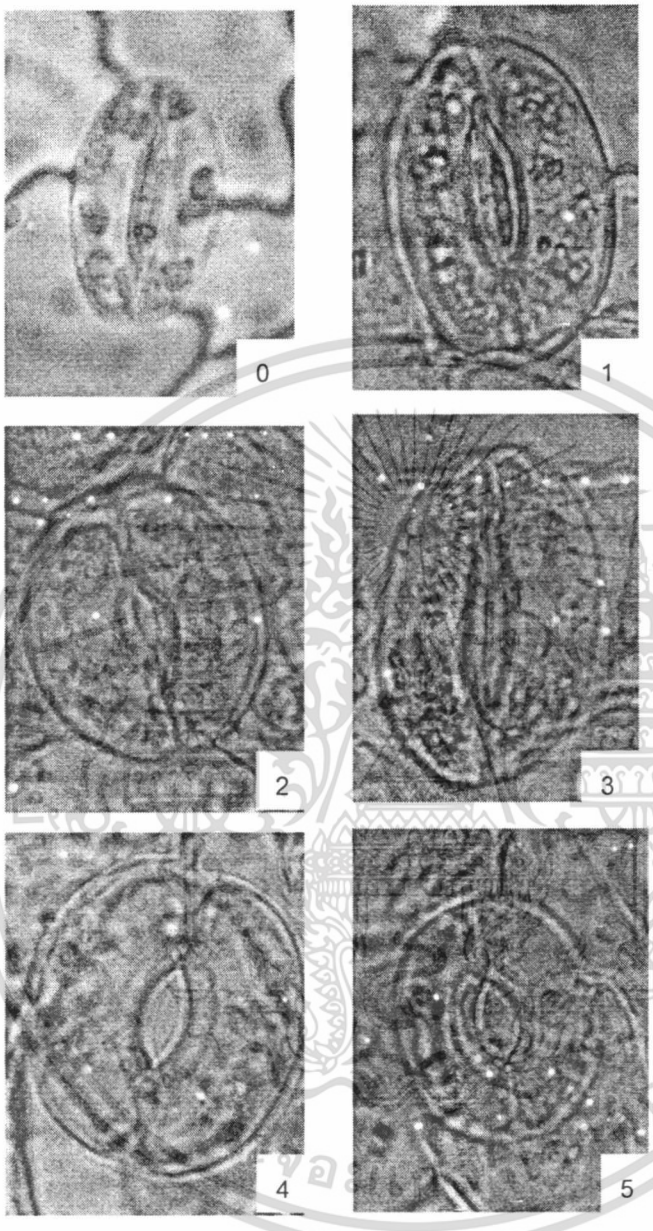
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ความยาวของปากใบของต้นอ่อนโลบิเลียหลังจากแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งครบ 60 วัน

ระยะเวลาในการแช่สาร (ชั่วโมง)	ความยาวของปากใบ (มิลลิเมตร)
0	0.1053 ±0.0062[a]
1	0.1300±0.0061 [b]
2	0.0973 ±0.0019[c]
3	0.1480±0.0081 [b]
4	0.1420 ±0.0062[b]
5	0.1240±0.0025 [a]

*ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 ลักษณะปากใบของโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์

การทดลองชุดที่ 1

ผลของการทดลองแช่ต้นอ่อนโลบิเลียในสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าทุกระดับความเข้มข้นและทุกระยะเวลาในการแช่สารละลายโคลชิซิน ยังคงให้อัตรารอดของโลบิเลียเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1) แต่มีต้นที่มีลักษณะผิดปกติ คือต้นมีใบขนาดเล็ก ต้นมีข้อถี่ และมีการแตกกิ่งข้างจำนวนมาก (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 4) ซึ่งสอดคล้องกับสุรวิช (2526) ศึกษาผลของโคลชิซินต่อกุหลาบหินพันธุ์ลาร์โกที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำกิ่งข้างมาแช่ในสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0 - 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าเกิดลักษณะผิดปกติคือ เกิดต้นที่มีขนาดเล็ก มีกิ่งข้างจำนวนมาก

การศึกษาจำนวนยอดและความสูงของต้นโลบิเลียที่เกิดใหม่ พบว่าสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นสูงและใช้ระยะเวลานานขึ้นมีแนวโน้มทำให้จำนวนยอดและความสูงของต้นที่เกิดใหม่ลดลง (ตารางที่ 2, 3 และ ภาพที่ 2, 3) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้นมีแนวโน้มทำให้การเจริญเติบโตของต้นอ่อนลดลงซึ่งสอดคล้องกับปิยะดา (2531) ศึกษาผลของโคลชิซินต่อขิงที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยแช่ต้นขิงในสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0 – 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 - 4 วัน พบว่าการเพิ่มระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่สารละลายโคลชิซิน ทำให้การเจริญเติบโตและอัตราการรอดชีวิตลดลง

การศึกษาความยาวของปากใบ พบว่าต้นอ่อนที่ไม่ได้รับสารโคลชิซิน มีความยาวปากใบน้อยที่สุด เฉลี่ย 0.1080 มิลลิเมตร และต้นอ่อนที่แช่สารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm นาน 48 ชั่วโมง มีความยาวปากใบสูงที่สุดเฉลี่ย 0.1744 มิลลิเมตร (ภาพที่ 5, 6 และ ตารางที่ 4) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นสูงและระยะเวลานานขึ้นมีแนวโน้มทำให้ความยาวของปากใบสูงขึ้น และเมื่อศึกษาจำนวนโครโมโซมปลายรากของโลบิเลีย พบว่าจำนวนโครโมโซมไม่เปลี่ยนแปลง คือมีจำนวนโครโมโซมเป็นปกติ (2n=12) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของวิชชุตา (2537) ศึกษาผลของโคลชิซินที่มีต่อการกลายพันธุ์ของหน้าวัวพันธุ์ Double Spath ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 0 - 0.10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง กับข้อและแคลลัส พบว่าความยาวของปากใบเพิ่มขึ้น และจำนวนโครโมโซมไม่เปลี่ยนแปลง และทิวา (2533) ศึกษาผลของโคลชิซินที่มีต่อการ กลายพันธุ์ของแกลดิโอลัสที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ที่ระดับความเข้มข้น 0 - 200 ppm นาน 6 - 36 ชั่วโมง พบว่าสารโคลชิซิน ทำให้น้ำหนัก ขนาดของแคลลัสและความสูงของต้นมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น แต่ทำให้ใบหนาขึ้น และการศึกษาจำนวนโครโมโซมที่ปลายรากของแกลดิโอลัสพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโมโซม

การทดลองชุดที่ 2

ผลของการทดลองแช่ต้นอ่อนโลบิเลียในสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง พบว่าทุกระยะเวลาในการแช่สารละลายโคลชิซิน ยังคงให้อัตรารอดชีวิตของโลบิเลียเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5) การศึกษาจำนวนยอดและความสูงของต้นอ่อนโลบิเลีย พบว่าสารโคลชิซินที่ใช้ระยะเวลานานขึ้นมีแนวโน้มทำให้จำนวนยอดและความสูงของต้นที่เกิดใหม่ ลดลง (ตารางที่ 6 และ ภาพที่ 8) และสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm ทุกระยะเวลาในการทดลองทำให้ การเจริญเติบโตของต้นอ่อนโลบิเลียลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับสารละลายโคลชิซิน การศึกษาลักษณะใบและต้นของโลบิเลียที่เกิดจากต้นอ่อน พบว่ามีต้นที่มีลักษณะผิดปกติ คือต้นแคระแกรน มีใบขนาดเล็ก ต้นมีข้อถี่ (ตารางที่ 5) สอดคล้องกับเสริมศิริ (2532) ศึกษาผลของโคลชิซินต่อเก็กฮวยพันธุ์หังโจวที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อโดยแช่โคลชิซินความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 1-5 ชั่วโมง พบว่าต้นดิพลอยด์มีลักษณะแคระแกรนเป็นจำนวนมาก ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากความเข้มข้น 500 ppm นั้นสูงเกินไป ทำให้ขบวนการต่างๆ ภายในเซลล์พืชผิดปกติ โดยสารโคลชิซินมีคุณสมบัติยับยั้งการสร้าง spindle fiber (วิทยา, 2527)

การศึกษาความยาวของปากใบ พบว่า ต้นอ่อนที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 500 ppm นาน 2 ชั่วโมง มีความยาวปากใบน้อยที่สุดเฉลี่ย 0.0973 มิลลิเมตร และต้นอ่อนที่แช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 500 ppm นาน 3 ชั่วโมง มีความยาวปากใบสูงที่สุด เฉลี่ย 0.1480 มิลลิเมตร (ภาพที่ 9 และ ตารางที่ 8) แสดงให้เห็นว่าสารโคลชิซินความเข้มข้นสูงที่ระยะเวลานานขึ้นมีแนวโน้มทำให้ความยาวของปากใบลดลง และเมื่อศึกษาจำนวนโครโมโซมจากปลายรากของโลบิเลีย พบว่าจำนวนโครโมโซมไม่เปลี่ยนแปลง สันนิษฐานได้ว่าจำนวนต้นที่ใช้ทดลองน้อยจึงไม่พบว่ามีต้นที่เป็นเตตราพลอยด์ เนื่องจากการปรับปรุงพันธ์พืชโดยสารเคมี มีโอกาสเกิดการกลายพันธุ์แล้วได้ลักษณะที่ต้องการน้อยมาก (นพพร, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

การทดลองแช่ต้นอ่อนโลบิเลียที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง ไม่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของโลบิเลีย แต่เมื่อระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซินสูงขึ้นและใช้ระยะเวลานานขึ้นมีผลทำให้จำนวนยอด ความสูงของต้นโลบิเลียและการเจริญเติบโตของต้นที่เกิดใหม่ลดลง ต้นโลบิเลียที่ได้มีลักษณะแคระแกรน ส่วนความยาวของปากใบมีแนวโน้มสูงขึ้น สารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นสูงและระยะเวลานานพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโมโซมของโลบิเลีย

การทดลองแช่ต้นอ่อนโลบิเลียที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4และ 5 ชั่วโมง ไม่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของโลบิเลีย แต่เมื่อระยะเวลานานขึ้นมีผลทำให้จำนวนยอด ความสูงของต้นโลบิเลียและการเจริญเติบโตของต้นที่เกิดใหม่ลดลงอย่างมาก ต้นโลบิเลียที่ได้มีลักษณะแคระแกรน ส่วนความยาวของปากใบมีแนวโน้มลดลงเมื่อได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นสูงเป็นระยะเวลานาน และไม่มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโมโซมของโลบิเลีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ทิวา รักนิ่ม. 2533. ผลของโคลชิซินที่มีต่อการกลายพันธุ์ของแกลดิโอลัสที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

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

ปิยะดา ตันฑสวัสดิ์. 2531. ผลของโคลชิซินที่มีต่อชิงที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2535. พันธุศาสตร์. คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 341 หน้า.

ภูวดล บุตรรัตน์. 2528. เทคนิคทางพฤกษศาสตร์. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 213 หน้า.

รงรอง วิเศษสุวรรณ. 2528. การชักนำให้เยอบีร่ากลายพันธุ์ในหลอดทดลอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

รัศมี ฟักกลัด. 2536. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในลิลลี่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิชชุตา รุ่งเรือง. 2537. ผลของโคลชิซินและรังสีแกมม่าที่มีต่อการกลายพันธุ์ของหน้าวัวพันธุ์ "Double Spathe" ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิทยา บัวเจริญ. 2527. หลักการผสมและปรับปรุงพันธุ์พืช. วิทยาลัยเทคโนโลยีและอาชีวศึกษา,ชลบุรี. 169 หน้า.

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

สุรวิช วรรณไกรโรจน์. 2526. ผลของรังสีและสารเคมีต่อกุหลาบหินพันธ์ลาร์โกที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เสริมศิริ เอี่ยมแฟง. 2532. การปรับปรุงพันธุ์เก็กฮวยโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cuzn Buzz. 2001. Colchicine. www.cannabisnews.com/news/thread9915.shtml

Emsweller, S. L., and P. Brierley. 1940. Colchicine induced tetraploidy in *Lilium* , Hered. 31 : 223 - 235.

Fu, R.,Andersen, R. L., Cheng, Z. and Liu, Z.o.n.g. .R. 1995. Studies on Induced Mutation of Fruit Trees *in vitro*. Acta Hort. (IHIS) 403 : 111-116. http://www.actahort.org/books/403/403_24.htm

Harten, Van. A. M. 1998. Mutation Breeding . theory and practical applications. Cambridge University. United Kingdom. 353 pp.

Ivo Busko. 2001. Re; Lobelia poisonous to fish. www.thekrib.com/Plants/Plants/

Olga Betts. 1997. Lobelia. www.thekrib.com/Plants/Plants/

Rataj K. and T. J. Horeman. 1977. Aquarium Plants, "their identification, cultivation and ecology". T.F.H. Pub, Inc. Ltd., London. 448 pp.

Roger Miller. 2001. *Lobelia cardinalis* 'small form'. www.thekrib.com/Plants/Plants/

Saber. 1995. Re: Mutagens (Colchicine). www2.labs.agilent.com/botany/cp/list/cp95alld/0458.htm

Smith. 2001. *Lobelia cardinalis* {Lobeliaceae}#199800112 L:3303 Q:2. florawww.eeb.ucon.edu/acc_num/199800112.html

Srivastav, P. K. and S. N. Raina. 1982. Cytogenetics of clitoria I. Induced autotetraploidy in clitoria ternatea. Cytologia. 47 : 99 - 107.

Thomas Barr. 2001. Re; Lobelia. www.thekrib.com/Plants/Plants/

Wouter Addink. 2001. Colchicine. www.geocities.com/RainForest/Vines/2259/colchicine.htm

ไม่ปรากฏชื่อผู้แต่ง. 2001. Tissue Culture Studies ; Conservation and Bioprospecting of Endangered, Medicinaland Mangrove Plant Species. www.mssrf.org/annualreport10/spa%20208.2.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสูงของต้นอ่อนที่ได้รับสารโคลชิซิน ความเข้มข้น 0 50 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Time	0.6125	1	0.6125	0.458801	0.500355	3.973895
colchicine	68.9085	3	22.9695	17.20562	1.59E-08	2.731809
Colchicine x Time	2.2985	3	0.766167	0.573908	0.634007	2.731809
Within	96.12	72	1.335			
Total	167.9395	79				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดของต้นอ่อนที่ได้รับสารโคลชิซิน ความเข้มข้น 0 50 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Time	1.8	1	1.8	0.222222	0.638777	3.973895
colchicine	34.45	3	11.48333	1.417695	0.244636	2.731809
Colchicine x Time	25.3	3	8.433333	1.041152	0.379659	2.731809
Within	583.2	72	8.1			
Total	644.75	79				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวของปากใบของต้นอ่อนที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 0 50 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Time	0.00615	1	0.00615	35.92523	1.11E-06	4.149086
colchicine	0.022939	3	0.007646	44.66355	1.52E-11	2.901118
Colchicine x Time	0.004502	3	0.001501	8.766355	0.000218	2.901118
Within	0.005478	32	0.000171			
Total	0.03907	39				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสูงของต้นอ่อนที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 500 ppm. นาน 1 2 3 4 และ 5 ชั่วโมง

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	2.3504	4	0.5876	11.12879	6.48E-05	2.866080706
Within Groups	1.056	20	0.0528			
Total	3.4064	24				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดของต้นอ่อนที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 500 ppm. นาน 1 2 3 4 และ 5 ชั่วโมง

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	12.56	4	3.14	2.093333	0.119651	2.866081
Within Groups	30	20	1.5			
Total	42.56	24				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความยาวของปากใบของต้นอ่อนที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 500 ppm. นาน 1 2 3 4 และ 5 ชั่วโมง

ANOVA

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	0.014127	5	0.002825	17.48876662	9.11E-09	2.477165
Within Groups	0.005816	36	0.000162			
Total	0.019943	41				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7 ข้อมูลความสูงของยอด หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อครบ 60 วัน

	ความเข้มข้นโคลชิซิน (ppm)			
เวลา	0	50	100	200
24	9	3.7	1.7	2.8
	4	4.2	2	3.7
	5	2.5	3	3.5
	5	2	3.5	3
	3.3	1.8	2	3
	5.5	1.5	1.8	2
	2.5	1.7	1.7	2
	3.3	2.5	1.5	2.2
	3	2.2	2.5	2
	3.5	2	1.7	1.8
48	9	2.8	3.5	3
	4	2.2	3.7	3
	5	3	2.5	3.5
	5	2.7	1.5	1
	3.3	1.5	2	1
	5.5	2.5	2.4	1.2
	2.5	1.2	2.7	2
	3.3	1.3	1.8	1.7
	3	2	1.8	0.8
	3.5	2	2	2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 8 ข้อมูลจำนวนยอด หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน

	ความเข้มข้นโคลชิซิน (ppm)			
เวลา	0	50	100	200
24	4	4	3	2
	11	10	1	1
	4	7	3	4
	4	7	2	3
	3	5	4	2
	5	12	4	1
	6	6	4	5
	4	4	12	2
	3	5	5	10
	1	6	6	4
48	4	2	1	3
	11	7	2	5
	4	3	2	2
	4	3	3	6
	3	4	7	10
	5	7	7	2
	6	9	13	4
	4	5	9	6
	3	2	5	5
	1	10	6	6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 9 ข้อมูลจำนวนยอด หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน

เวลา					
t0	4.5	3	5	6	4
t1	3	3	2	5	6
t2	3	2	3	3	3
t3	4	1	3	5	3
t4	1	2	1	4	3
t5	3	1	2	2	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 10 ข้อมูลความสูงหลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน

เวลา					
t0	2	3	3.5	2	2
t1	1.5	1.2	1.7	1.7	1
t2	1.5	1	1.5	1.5	1.5
t3	1.2	1	1.1	1.2	1.2
t4	1	0.7	1	1.2	1.2
t5	0.5	1	0.3	0.5	0.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 11 ข้อมูลปากใบของโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 500 ppm นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อครบ 60 วัน

	ความเข้มข้นโคลชิซิน (ppm)			
เวลา	0	50	100	200
24	0.08	0.104	0.108	0.184
	0.1	0.1	0.1	0.172
	0.12	0.108	0.104	0.16
	0.12	0.12	0.096	0.156
	0.112	0.104	0.092	0.148
48	0.096	0.172	0.116	0.16
	0.12	0.156	0.12	0.16
	0.092	0.16	0.136	0.18
	0.128	0.148	0.148	0.184
	0.104	0.184	0.132	0.188

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 12 ข้อมูลปากใบของโลบิเลีย หลังจากได้รับสารละลายโคลซิซิน ความเข้มข้น 500 ppm นาน 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ครบ 60 วัน

เวลา					
t0	0.08	0.1	0.12	0.12	0.112
t1	0.136	0.12	0.112	0.12	0.152
t2	0.1	0.096	0.1	0.088	0.1
t3	0.16	0.12	0.168	0.168	0.136
t4	0.16	0.14	0.144	0.124	0.128
t5	0.12	0.12	0.124	0.124	0.136

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้