

การศึกษาผลของสารออริซาลินที่ชักนำให้เกิด polyploidization ของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก และพันธุ์ปทุมนอกสภาพปลอดเชื้อ โดยนำเมล็ด ต้นกล้า และไหลของบัวหลวงทั้งสองสายพันธุ์ไปแช่ในสารออริซาลินในระดับความเข้มข้น 0, 10, 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ ที่ระยะเวลาในการแช่สารนาน 24 และ 48 ชั่วโมง และในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำยอดของต้นบัวหลวงทั้งสองสายพันธุ์ ไปแช่ในสารออริซาลินในระดับความเข้มข้น 0, 10, 20 และ 30 ไมโครโมลาร์ ที่ระยะเวลาในการแช่สารนาน 3 และ 6 ชั่วโมง และนำต้นอ่อนของบัวหลวงทั้งสองสายพันธุ์ไปแช่ในสารออริซาลินในระดับความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมลาร์ ที่ระยะเวลาในการแช่สารนาน 3 และ 6 ชั่วโมง พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารออริซาลินสูงขึ้นและระยะเวลาที่ได้รับสารนานขึ้นมีผลทำให้อัตรการรอดชีวิตลดลง ต้นบัวหลวงที่ไม่ได้รับสารออริซาลินและที่ได้รับสารในความเข้มข้นต่ำ มีลักษณะปกติ คือมีใบเรียบบีเขี้ยว ก้านใบยาวมีตุ่มหนามสีน้ำตาลแดง มีรากแขนงสีขาวเรียวยาว ส่วนต้นบัวหลวงที่ได้รับสารออริซาลินความเข้มข้นสูงมีลักษณะผิดปกติ คือ มีใบขนาดใหญ่ แผ่นใบหนา พื้นใบไม่เรียบบีเขี้ยว ได้ใบมีจุดประสีน้ำตาลแดง ก้านใบสั้นกลมขนาดใหญ่ มีจุดประสีน้ำตาลดำนูน ไม่เกิดราก และตายในที่สุด จากการตรวจสอบทางเซลล์วิทยาพบว่าต้นบัวหลวงมีจำนวนโครโมโซม $2n=16$ มีความยาวของเซลล์ปากใบเฉลี่ย 9.66 ไมโครเมตร และยังพบว่าสารออริซาลินมีผลทำให้ต้นบัวหลวงกลายพันธุ์แบบ tetraploid โดยมีจำนวนโครโมโซม $2n=32$ มีความยาวของเซลล์ปากใบเฉลี่ย 11.20 ไมโครเมตร จำนวน 4 ต้น โดยเกิดจากต้นบัวหลวงพันธุ์มณฑริกที่ได้จากการนำต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อไปแช่ในสารออริซาลิน 5 ไมโครโมลาร์ ที่ระยะเวลาในการแช่สารนาน 3 ชั่วโมง 2 ต้น ที่ระยะเวลาในการแช่สารนาน 6 ชั่วโมง 1 ต้น และต้นบัวหลวงพันธุ์ปทุมที่ได้จากการนำต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อไปแช่ในสารออริซาลิน 5 ไมโครโมลาร์ ที่ระยะเวลาในการแช่สารนาน 6 ชั่วโมง 1 ต้น

การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก และพันธุ์ปทุมนอกสภาพปลอดเชื้อ โดยการแช่เมล็ด ต้นกล้า และไหลในสารโคลชิซินความเข้มข้น 0, 0.02, 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง และการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของบัวหลวงพันธุ์มณฑริก และพันธุ์ปทุมในสภาพปลอดเชื้อ โดยการแช่คัพภะ และยอดในสารโคลชิซินความเข้มข้น 0, 0.02, 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่า การใช้สารโคลชิซินที่มีระดับความเข้มข้นสูงเป็นระยะเวลานานทำให้อัตรการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตลดลง และพบว่าสารโคลชิซินมีผลต่อลักษณะการแสดงออกของต้นและใบบัวหลวง คือ ทำให้ต้นเตี้ยแคระ ก้านใบ และยอดอวบใหญ่ ใบมีขนาดเล็กกลอง ผิวใบขรุขระ ใบหนาขึ้น และมีใบด่าง ใบมีรูปร่างผิดปกติ และพบบางต้นชะงักการเจริญเติบโต แล้วตายในที่สุด จากการศึกษานับจำนวนโครโมโซม พบว่าต้น ดิพลอยด์มีจำนวนโครโมโซม 16 แห่ง ($2n=16$) มีขนาดความยาวปากใบเฉลี่ย เท่ากับ 9.58 ไมครอน และจำนวนปากใบต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร เท่ากับ 123.35 เซลล์ และพบว่าสาร โคลชิซินความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการเพิ่มจำนวนโครโมโซมของบัวหลวง ทั้ง 2 พันธุ์ เป็นต้นอนิวพลอยด์มีจำนวนโครโมโซม 18 แห่ง ($2n+2=18$) และเป็นต้นมิคโซพลอยด์มีจำนวนโครโมโซม 32 และ 16 แห่ง ($2n=32$ และ 16) มีขนาดความยาวปากใบเฉลี่ย เท่ากับ 13.67 ไมครอน และจำนวนปากใบต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร เท่ากับ 107.07 เซลล์ และเป็นต้นเทตราพลอยด์มีจำนวนโครโมโซม 32 แห่ง ($2n=32$) มีขนาดความยาวปากใบเฉลี่ย เท่ากับ 18.24 ไมครอน และจำนวนปากใบต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร เท่ากับ 73.62 เซลล์ ซึ่งพบในต้นจากเมล็ดของบัวหลวงที่ได้รับการแช่สารโคลชิซินความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง นอกสภาพปลอดเชื้อมีจำนวนโครโมโซมเป็นแบบ อนิวพลอยด์ และเทตราพลอยด์ แต่ไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ และตายภายในช่วง 4-8 สัปดาห์

ในขณะที่ต้นกลายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อมีชีวิตรอดทุกต้น โดยต้นจากคัพภะของบัวหลวงพันธุ์บุนทริกที่ได้รับการแพร่กระจายโคลชิซินความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ได้ต้นมิทโซพลอยด์ 1 ต้น และได้ต้นเทตราพลอยด์ 1 ต้น และต้นจากคัพภะที่ได้รับการแพร่กระจายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้ต้นเทตราพลอยด์ 4 ต้น ส่วนต้นจากคัพภะของ บัวหลวงพันธุ์ปทุมที่ได้รับการแพร่กระจายโคลชิซินความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ได้ต้นมิทโซพลอยด์ 2 ต้น และได้ต้นอนิวพลอยด์ 1 ต้น ส่วนต้นจากคัพภะที่ได้รับการแพร่กระจายโคลชิซินความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้ต้นเทตราพลอยด์ 2 ต้น และต้นจากยอดที่ได้รับการแพร่กระจายโคลชิซินความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ได้ต้นเทตราพลอยด์ 1 ต้น และลักษณะของต้นกลายพันธุ์มีขนาดใบเล็กกลอง และมีการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นปกติ

Abstract

217197

Effect of oryzalin on polyploidization induction of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) cv. "Buntharik" and "Pathum" was studied. Seeds, seedlings and rhizomes were treated *in vivo* with oryzalin at a concentration of 0, 10, 20 and 30 μM for 24 and 48 hours. Shoots were treated *in vitro* with oryzalin at a concentration of 0, 10, 20 and 30 μM for 3 and 6 hours. Embryos were also treated *in vitro* with oryzalin at a concentration of 0, 1, 3 and 5 μM for 3 and 6 hours. The results showed that the higher concentration and the longer treatment of oryzalin the less number of survival plants. The lotus plants without oryzalin treatment showed the normal growth such as smooth-green leaves, petiole with red-brown prickles and fastigiated white roots. On the contrary, the plants with oryzalin treatment showed abnormal appearance such as rounder, broader and thicker petioles. They also performed abnormal leaf-edge and showed red-brown nodule on lower side of leaves. When cytology was studied the diploid number of chromosome was 16 and stoma length was 9.66 micrometers. Three plants of tetraploid cell were achieved from *in vitro* embryos of lotus cv. Buntharik which treated with oryzalin at a concentration of 5 μM for 3 hours and 6 hours respectively. One plant of tetraploid cell was also obtained from *in vitro* embryos of lotus cv. Pathum which treated with 5 μM for 6 hours. The chromosome number of tetraploid plant was $2n=32$ and stoma length was 11.20 micrometers.

Effect of colchicine on mutation induction of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) cv. "Buntharik" and "Pathum" was studied. Seeds, seedlings and stolons were treated *in vivo* with colchicine at a concentration of 0, 0.02, 0.05 and 0.1% for 24 and 48 hours. Embryos and shoots were treated *in vitro* with colchicine at a concentration of 0, 0.02, 0.05 and 0.1% for 12 and 24 hours. The results showed that the higher concentration and the longer treatment duration, the less survival rates and plant growth. The morphology of treated plants performed short height, large petioles, large shoots and small, rough, spotted, thick leaves, and abnormal leaf shape. The growth of some plants were stopped and finally died. When cytology was studied the diploid number of chromosome was 16 ($2n = 16$) and stoma length was 9.58 μM and stoma number per 1 square millimeter leaf area was 123.35 cells. The 0.1% colchicine gave the highest rate of polyploidization. The chromosome number of aneuploid was 18 ($2n+2 = 18$) and mixoploid was 16 and 32 which had 13.67 μM

stoma length and stoma number per 1 square millimeter leaf area was 107.07 cells. The tetraploid plants ($2n = 32$) were also achieved which had 18.24 μM stoma length and stoma number per 1 square millimeter leaf area was 73.62 cells. *In vivo* seeds of lotus cv. "Buntharik" and "Pathum" which treated with 0.1% colchicine for 24 and 48 hours gave aneuploid and tetraploid plants, but all plants died within 4-8 weeks. On the other hand, all mutants from *in vitro* treatment could survive. The 1 mixoploid and 1 tetraploid plant obtained from *in vitro* Buntharik embryo which treated with 0.1% colchicine for 12 hours and 4 tetraploid plants also achieved from Buntharik embryo which treated with 0.1% colchicine for 24 hours. In Pathum cultivar, 2 mixoploid and 1 aneuploid plant obtained from embryos treated with 0.1% colchicine for 12 hours and 2 tetraploid plants also achieved from embryo treated with 0.1% colchicine for 24 hours. The 1 tetraploid plant also obtained from shoots treated with 0.1% colchicine for 12 hours. The mutants showed smaller leaf and slow growth.