

ប្រធាន

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในดินแดนเนียบภายใต้สภาพปลอดเชื้อด้วยการใช้สารโคลชิซินชนิดเม็ด

Polyploid Induction in *In vitro* *Lindernia* sp. Using Colchicine Tablet

นางสาวกมลทิพย์ สังข์แก้ว

๒ ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รศ.ศาสตราจารย์รัชณะ เตชะสีลพิทักษ์, วท.ม.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เณรมาลย์ วงศ์ชาวจันทร์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์พัฒนา สุขประเสริฐ, ศศ.ด.)

หัวหน้าภาควิชา
(รongศาสตราจารย์อลิศรา มีนกะนิษฐ, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณะบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในลินเคอเนียภายใต้สภาพปลอดเชื้อ
ด้วยการใช้สารโคลชิซินชนิดเม็ด

Polyploid Induction in *In vitro* *Lindernia* sp. Using Colchicine Tablets

โดย

นางสาวกมลทิพย์ สังข์แก้ว

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อขอความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชสวน)

พ.ศ. 2558

กมลทิพย์ สังข์แก้ว 2558: การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในลินเคอเนียภายใต้สภาพปลอดเชื้อด้วยการใช้สารโคลชิซินชนิดเม็ด ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พืชสวน)
สาขาพืชสวน ภาควิชาพืชสวน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์
ธัญญะ เตชะศิลปัทย์, วท.ม. 84 หน้า

ศึกษาผลของสารละลายยาเม็ดโคลชิซินต่อชิ้นส่วนของลินเคอเนีย เพื่อชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ โดยตัดชิ้นส่วนของข้อและใบไปแช่ในสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ppm ที่ระยะเวลาแตกต่างกัน คือ 1 2 และ 3 วัน พบว่า ต้นที่เจริญมาจากชิ้นส่วนข้อและใบมีอัตราการรอดชีวิต การเจริญเติบโตทางด้านความสูง ความยาวปล้อง จำนวนรากและความยาวรากลดลง แต่ความหนาของลำต้น ความหนาของราก ความกว้างใบ และความยาวใบเพิ่มมากขึ้น แต่ความสามารถในการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ลดลง เมื่อระดับความเข้มข้นของสารละลายสูงและเวลาในการแช่ยาวนานขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชิ้นส่วนข้อและใบที่ใช้ในการทดลอง พบว่า การใช้ชิ้นส่วนข้อสามารถชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ได้ดีกว่าการใช้ชิ้นส่วนใบ และต้นโพลีพลอยด์ที่เจริญมาจากชิ้นส่วนข้อมีความแข็งแรงของต้นมากกว่า ส่งผลให้เมื่อนำไปปลูกมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าต้นโพลีพลอยด์ที่เจริญมาจากชิ้นส่วนใบ และเมื่อเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นที่เจริญมาจากส่วนของข้อ ระหว่างต้นดิพลอยด์และต้นโพลีพลอยด์หลังออกปลูกพบว่า โดยส่วนใหญ่ต้นโพลีพลอยด์มีความสูงต้น ความยาวปล้อง ความหนาของลำต้น ขนาดใบ ความหนาใบ และขนาดดอกมากกว่าต้นดิพลอยด์ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอ โดยวิธี flow cytometry พบว่า ต้นลินเคอเนียที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์มีปริมาณดีเอ็นเอนิวเคลียสเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า และสี่เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นดิพลอยด์ แสดงว่าต้นโพลีพลอยด์ที่ได้ คือ ต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์ ตามลำดับ และจากการทดลองพบว่า ต้นลินเคอเนียที่ได้รับสารโคลชิซินทุกความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับสารสามารถชักนำให้เกิดต้นเตตระพลอยด์ได้ และที่ระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซิน 10 ppm เป็นเวลา 1 วัน และ 3 วัน สามารถชักนำให้เกิดต้นออกตะพลอยด์ได้ 2 ต้น และ 1 ต้น ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางเซลล์วิทยาพบว่า ต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์ มีความยาวของเซลล์ปากใบและขนาดของละอองเกสรมากกว่าต้นดิพลอยด์สองเท่า และมีจำนวนปากใบต่อพื้นที่น้อยกว่าต้นดิพลอยด์สามเท่า

Kamontip Sungkaew 2015: Polyploid Induction in *In vitro* *Lindernia* sp. Using Colchicine Tablets. Master of Science (Horticulture), Major Field: Horticulture, Department of Horticulture. Thesis Advisor: Associate Professor Thunya Taychasinpitak, M.S. 84 pages.

The purpose of this research was to study the effects of colchicines tablet solution on *Lindernia* section that could induce polyploidy *in vitro*. Nodes and leaves were cut and soaked in different concentrations of colchicines solution 0 5 10 15 and 20 ppm for 1 2 and 3 days. It was found that survival rate, plant height, internode length, number of roots and root length were decreased; but stem thickness, root thickness, leaves width and leaves length were increased but polyploidy induction rate was decreased when colchicine concentration and treatment duration were increased. The frequency of polyploidy induction was higher in node sections than in leaf sections and the plants regenerated from node sections were also stronger and had a higher survival rate when transplanted than those regenerated from leaf sections. Morphological characteristics of diploid and polyploidy after transplanting were compared. It was found that the plant height, internode length, stem thickness, leaves size, leaves thickness and flower size of polyploid plants of *Lindernia* sp. were increased when compared with diploid plants. Flow cytometric analysis showed that the nuclear DNA of putative polyploidy *Lindernia* plants were doubled and quadrupled relative to that of control diploid plants. Shows that the putative polyploidy *Lindernia* plants were tetraploid and octaploid plants, respectively. It was found that the *Lindernia* plants which were treated all concentration colchicine and duration induce tetraploid plants and the treatment group exposed to colchicine at the concentration of 10 ppm for 1 and 3 days induce octaploid plant 2 and 1 clones, respectively. Cytological characteristics of diploid tetraploid and octaploid plants were compared. It was found that the length stomata and pollen sizes of tetraploid and octaploid plants were larger than doubled of diploid plants and stomata density were lower than tripled of diploid plants.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

____ / ____ / ____

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เมอมาลย์ วงศ์ชาวจันทร์ และ รองศาสตราจารย์พัฒนา สุขประเสริฐ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม อาจารย์ ดร. เบญญา มะโนชัย ประธานการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย และศาสตราจารย์ ดร. วัฒนา เสถียรสวัสดิ์ ผู้ทรงคุณวุฒิของการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนการให้คำปรึกษา ตรวจสอบ และแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำการทดลอง ตลอดจนเครื่องมือต่าง ๆ สำหรับใช้ในการทดลอง และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ดูแลแปลงทดลอง ภาควิชาพืชสวน ที่ให้ความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาการทำการทดลอง ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยในการทำงานวิจัย ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ ที่ให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจในเรื่องการเรียน การทำการทดลอง และการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาจนสำเร็จการศึกษา รวมทั้งเจ้าของงานวิจัยที่ข้าพเจ้านำมาใช้อ้างอิงประกอบการทำวิทยานิพนธ์

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คุณพ่อและคุณแม่ ที่ได้อบรม ให้การสนับสนุน และให้กำลังใจผู้วิจัยมาโดยตลอดในทุก ๆ เรื่อง

กมลทิพย์ สังข์แก้ว

พฤษภาคม 2558

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	15
อุปกรณ์	15
วิธีการ	17
ผลและวิจารณ์	23
ผล	23
วิจารณ์	67
สรุปและข้อเสนอแนะ	75
สรุป	75
ข้อเสนอแนะ	76
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	78
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	84

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 อิทธิพลของชิ้นส่วนพืช ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการ แช่สารต่ออัตราการรอดชีวิต และจำนวนต้นที่งอกจากชิ้นส่วนทั้งหมดของ ลินเดอเนีย ภายหลังจากได้รับสารโคลชิซินและเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง สูตร ½ MS เป็นเวลา 30 วัน	24
2 อัตราการรอดชีวิตและจำนวนต้นที่งอกทั้งหมดของข้อและใบลินเดอเนีย ภายหลังจากได้รับสารโคลชิซิน และเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS เป็นเวลา 30 วัน ภายใต้อสภาพปลอดเชื้อ	25
3 อิทธิพลของชิ้นส่วนพืช ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการ แช่สารต่อความสูงต้นและความยาวปล้องของต้นลินเดอเนียที่เจริญมาจาก ชิ้นส่วนข้อและใบหลังได้รับสารโคลชิซิน 60 วัน ภายใต้อสภาพปลอดเชื้อ	28
4 ความสูงและความยาวปล้องของต้นลินเดอเนียที่ได้จากชิ้นส่วนข้อและใบ หลังได้รับสารโคลชิซิน 60 วัน ภายใต้อสภาพปลอดเชื้อ	29
5 อิทธิพลของชิ้นส่วนพืช ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการ แช่สารต่อความกว้างและความยาวใบของต้นลินเดอเนียที่เจริญมาจาก ชิ้นส่วนข้อและใบ หลังได้รับสารโคลชิซิน 60 วัน ภายใต้อสภาพปลอดเชื้อ	30
6 ความกว้างและความยาวใบของต้นลินเดอเนียที่ได้จากชิ้นส่วนข้อและใบ หลังได้รับสารโคลชิซิน 60 วัน ภายใต้อสภาพปลอดเชื้อ	31
7 อิทธิพลของชิ้นส่วนพืช ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการ แช่สารต่อจำนวนราก และความยาวรากของต้นลินเดอเนียที่เจริญมาจาก ชิ้นส่วนข้อและใบ หลังได้รับสารโคลชิซิน 60 วัน ภายใต้อสภาพปลอดเชื้อ	32
8 จำนวนรากและความยาวรากของต้นลินเดอเนียที่ได้จากชิ้นส่วนข้อและใบ หลังได้รับสารโคลชิซิน 60 วัน ภายใต้อสภาพปลอดเชื้อ	33
9 อิทธิพลของชิ้นส่วนพืช ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการ แช่สารต่อความถี่ของการเกิดโพลีพลอยด์ของลินเดอเนีย หลังได้รับสารโคลชิซิน 60 วัน ภายใต้อสภาพปลอดเชื้อ	37

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
10 ความถี่ของการเกิดโพลีพลอยด์จากชิ้นส่วนข้อและใบของดินเคอเนีย หลังจากได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน	38
11 อิทธิพลของชิ้นส่วนพืช ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการ แช่สารต่ออัตราการรอดชีวิตหลังออกปลูกของต้นดินเคอเนีย	39
12 อัตราการรอดชีวิตหลังออกปลูกของต้นดินเคอเนียที่เจริญมาจากชิ้นส่วน ของข้อและใบ	40
13 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารโคลชิซิน ระยะเวลาในการแช่สาร และอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่สาร ต่อความสูงของต้นดินเคอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน	44
14 ความสูงของต้นดินเคอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน	45
15 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารโคลชิซิน ระยะเวลาในการแช่สารและ อิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการ แช่สารต่อความยาวปล้องของต้นดินเคอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน	46
16 ความยาวปล้องของต้นดินเคอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน	47
17 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารโคลชิซิน ระยะเวลาในการแช่สาร และ อิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่ สารต่อความหนาของลำต้นดินเคอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน	48
18 ความหนาของลำต้นดินเคอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน	49
19 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารโคลชิซิน ระยะเวลาในการแช่สาร และ อิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการ แช่สารต่อความกว้างใบของต้นดินเคอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน	50
20 ความกว้างใบของต้นดินเคอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน	51

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
21 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารโคลชิซิน ระยะเวลาในการแช่สาร และ อิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการ แช่สารต่อความยาวใบของต้นลินเดอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน	52
22 ความยาวใบของต้นลินเดอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน	53
23 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารโคลชิซิน ระยะเวลาในการแช่สาร และ อิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการ แช่สารต่อจำนวนดอกของต้นลินเดอเนีย หลังออกปลูก 45 วัน	54
24 จำนวนดอกของต้นลินเดอเนีย หลังออกปลูก 45 วัน	55
25 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารโคลชิซิน ระยะเวลาในการแช่สาร และ อิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการ แช่สารต่อขนาดดอกและความยาวก้านดอกของต้นลินเดอเนีย หลังออกปลูก 45 วัน	56
26 ขนาดดอกและความยาวก้านดอกของต้นลินเดอเนีย หลังออกปลูก 45 วัน	57
27 เปรียบเทียบจำนวนปากใบต่อพื้นที่ ขนาดของเซลล์ปากใบ และขนาดของ ละอองเกสรระหว่างดิพลอยด์ เตตราพลอยด์ และออกตะพลอยด์ของต้น ลินเดอเนีย	64

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 สูตรโครงสร้างของโคลชิซิน (colchicine)	9
2 ต้น <i>Lindernia</i> sp. ที่ใช้ในการทดลอง	15
3 การวัดขนาดของดอก	20
4 การวัดขนาดความกว้างและความยาวของใบ	20
5 ลักษณะต้นลินเดอเนียหลังจากได้รับสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้น 5 ระดับ	34
6 ลักษณะรากของต้นลินเดอเนีย หลังจากได้รับสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้น 5 ระดับ	35
7 ฮิสโตแกรม flow cytometry ของต้นลินเดอเนียกลุ่มดิพลอยด์	58
8 ฮิสโตแกรม flow cytometry ของต้นลินเดอเนียกลุ่มเตตระพลอยด์	59
9 ฮิสโตแกรม flow cytometry ของต้นลินเดอเนียกลุ่มออกตะพลอยด์	59
10 เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาระหว่างต้นดิพลอยด์ ต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์ของลินเดอเนีย	61
11 เปรียบเทียบลักษณะของดอกและใบ ระหว่างต้นดิพลอยด์ (2x) ต้นเตตระพลอยด์ (4x) และต้นออกตะพลอยด์ (8x) ของลินเดอเนีย	62
12 เปรียบเทียบลักษณะเซลล์ปากใบ ระหว่างต้นดิพลอยด์ ต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์ของลินเดอเนีย	65
13 เปรียบเทียบขนาดของละอองเกสร ระหว่างต้นดิพลอยด์ ต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์ของลินเดอเนีย	66

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

CRD = Completely Randomized Design

ppm = Parts per million

การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในลินเดอเนียภายใต้สภาพปลอดเชื้อ ด้วยการใช้สารโคลชิซินชนิดเม็ด

Polyloid Induction in *In vitro* *Lindernia* sp. Using Colchicine Tablets

คำนำ

ลินเดอเนีย (*Lindernia* sp.) จัดอยู่ในวงศ์ Linderniaceae เป็นพืชล้มลุกที่มีความสูง 5 - 20 เซนติเมตร ลำต้นเป็นเหลี่ยม เลื้อยแผ่ไปตามพื้นดิน ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงตรงข้าม ขอบใบมีทั้งแบบขอบใบหยักฟันเลื่อยและขอบใบเรียบ ดอกมีขนาดเล็ก กลีบดอกเป็นรูปปากเปิดสีม่วง ส่วนฐานของดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอดยาว (Smitinand, 1990) และสามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี เนื่องจากเจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่ทั่ว ๆ ไปตามธรรมชาติ โดยเฉพาะพื้นที่ที่เป็นดินทรายชื้น และมีการวิจัยเชิงระบบนิเวศพบว่า เป็นพืชที่ทนเค็มและทนแล้งได้ดี อีกทั้งสามารถออกดอกได้ยาวนาน โดยการออกดอกที่ดีที่สุดจะอยู่ในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงเดือนมีนาคม (Shinba, 1987) และลักษณะของดอกคล้ายกับแวนชัวร์า ซึ่งจัดเป็นไม้ดอกที่นิยมนำมาใช้ประดับ แต่ลินเดอเนียยังไม่เป็นที่รู้จักแพร่หลาย ดอกมีขนาดเล็ก อีกทั้งความหลากหลายทางพันธุกรรมในธรรมชาติยังไม่เพียงพอต่อการคัดเลือกพันธุ์เพื่อนำมาใช้เป็นไม้กระถางหรือไม้คลุมดิน เนื่องจากดอกมีขนาดเล็ก สีสั้นไม่หลากหลาย และติดเมล็ดจำนวนมาก ส่งผลให้ต้นเสื่อมสภาพเร็วยิ่งขึ้น และเกิดการแพร่กระจายอย่างรวดเร็วจึงทำให้กลายเป็นวัชพืช ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์โดยการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซม จึงเป็นวิธีหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์ลินเดอเนีย เพื่อให้มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น เนื่องจากการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซม มักได้ต้นที่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เช่น ส่วนประกอบต่าง ๆ มีขนาดใหญ่ขึ้น ดอกและใบมีสีเข้มขึ้น ลำต้นเตี้ย ข้อและปล้องสั้น เป็นต้น (เบญจมาศ, 2545)

สารเคมีที่นิยมใช้ในการเพิ่มจำนวนโครโมโซมคือ สารโคลชิซิน เนื่องจากเป็นสารประกอบที่มีผลต่อการแบ่งเซลล์ โดยโคลชิซินจะเป็นตัวไปอุดตามปลายท่อต่าง ๆ ของ microtubule ภายในเซลล์ ทำให้ microtubule ไม่สามารถต่อกันเป็น spindle fiber ที่ทำหน้าที่ในการช่วยดึงโครโมโซมระยะเมทาเฟสได้ (อมรา, 2546) ส่งผลให้โครโมโซมไม่แยกออกจากกัน จึงทำให้นิวเคลียสโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า จากคุณสมบัตินี้โคลชิซินจึงถูกนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชอย่างกว้างขวาง และสารโคลชิซินที่นิยมใช้เป็นสารโคลชิซินบริสุทธิ์ อาจก่อให้เกิด

อันตรายต่อผู้ใช้ได้ เนื่องจากถ้าเข้าตาจะทำให้เกิดการระคายเคืองและอักเสบอย่างรุนแรง เมื่อสัมผัสกับผิวหนังจะเกิดการระคายเคืองและเกิดการดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย อีกทั้งยังเป็นพิษต่อระบบทางเดินอาหารและระบบการหายใจ (กรมควบคุมมลพิษ, ม.ป.ป.; Addink, 2007) ดังนั้น สารโคลชิซินบริสุทธิ์จึงเป็นอันตรายต่อผู้ใช้อย่างมาก ยาเม็ดรักษาโรคเก๊าท์เป็นยาที่มีสารโคลชิซินเป็นองค์ประกอบและมีนักวิจัยทดลองนำมาใช้ในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของพืชบางชนิดได้ผลเป็นอย่างดี เช่น การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในแววมยุราพันธุ์ต่าง ๆ (สันจิตา, 2552; จิราภรณ์, 2554; สศิริ, 2556) ซึ่งยาเม็ดรักษาโรคเก๊าท์ที่มีสารโคลชิซินเป็นองค์ประกอบค่อนข้างปลอดภัยกับผู้ใช้มากกว่าการใช้สารโคลชิซินบริสุทธิ์ จึงทำให้เกิดแนวคิดในการปรับปรุงพันธุ์ลินเคอเนีย โดยใช้ยาเม็ดรักษาโรคเก๊าท์ มีชื่อทางการค้าว่า โคลชิซิน ร่วมกับการนำเอาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการขั้นตอนการปฏิบัติ โดยศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาที่ใช้แช่ในสารละลายโคลชิซินที่เหมาะสมเพื่อชักนำให้เกิดต้นโพลีพลอยด์ในลินเคอเนีย ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการสร้างความหลากหลาย ทั้งในรูปฟอร์มต้นและสีดอก เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าของลินเคอเนีย อีกทั้งยังสามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมที่มีศักยภาพในการพัฒนาพันธุ์พืชในสกุลนี้ต่อไปได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาชิ้นส่วนของพืชและวิธีการที่เหมาะสมในการใช้สารโคลชิซินจากยาเม็ดรักษาโรคเก๊าท์ เพื่อชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในลินเดอเนียภายใต้สภาพปลอดเชื้อ
2. เพื่อศึกษาผลของสารละลายโคลชิซินจากยาเม็ดรักษาโรคเก๊าท์ต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาหลังออกปลูก และตรวจสอบระดับพลอยดีของลินเดอเนีย
3. เพื่อเปรียบเทียบลักษณะทางเซลล์วิทยาระหว่างต้นดิพลอยด์ และต้นโพลีพลอยด์ของลินเดอเนีย

การตรวจเอกสาร

พืชในสกุลแวนิวไล (*Lindernia* sp.) เป็นสกุลที่มีจำนวนสมาชิกมากที่สุดของพืชวงศ์ Linderniaceae จากการสำรวจพบว่า ในประเทศไทยมีพืชในสกุลนี้จำนวนทั้งหมด 32 ชนิด แต่เป็นที่รู้จักหรือมีการนำมาใช้ประโยชน์เพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้น

ลักษณะทั่วไปของลินเดอเนีย

พืชล้มลุกสูง 5-20 เซนติเมตร ลำต้นเป็นเหลี่ยม มักเลื้อยแผ่ไปตามพื้นดิน ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามรูปไข่หรือรูปขอบขนานแกมรูปไข่ กว้าง 4-15 มิลลิเมตร ยาว 6-19 มิลลิเมตร ปลายใบมนหรือแหลม ฐานใบรูปลิ้น ขอบใบหยักซี่ฟันเลื่อยหรือเรียบ ใบมีขนทั้งสองด้าน โดยที่ผิวใบด้านบนมีขนกระจายทั่วทั้งแผ่นใบ ส่วนผิวใบด้านล่างมีขนกระจายทั่วทั้งใบ แต่มีมากบริเวณเส้นใบ ก้านใบยาว 1-7 มิลลิเมตร ดอกเป็นดอกเดี่ยวออกที่ซอกใบ ก้านดอกยาว 4-18 มิลลิเมตร กลีบเลี้ยงเชื่อมกันเป็นถ้วยที่ฐานยาว 3-4 มิลลิเมตร ปลายแยกเป็น 5 แฉก ผิวด้านนอกมีขน กลีบดอกรูปปากเปิดสีม่วง ส่วนฐานเชื่อมกันเป็นหลอดยาว 7-11 มิลลิเมตร กลีบปากบน 1 กลีบรูปใบหอก ส่วนปลายแยกเล็กน้อย กลีบปากล่าง 3 กลีบ เกสรเพศผู้มีสองคู่ยาวไม่เท่ากัน เกสรเพศผู้ขนาดสั้นอยู่บริเวณฐานกลีบปากบน เกสรเพศผู้ขนาดยาวอยู่สลับบนฐานของแฉกกลีบปากล่าง เกสรเพศเมียรังไข่อยู่เหนือวงกลีบรูปรี มีจำนวนฐานดอกรองรับ ก้านชูเกสรเป็นแท่งยาว 4-6 มิลลิเมตร ผลแบบแคปซูลยาว 3-4 มิลลิเมตร กว้าง 2-2.5 มิลลิเมตร มีกลีบเลี้ยงหุ้มทั้งผลที่ปลายผลมีก้านเกสรเพศเมียและยอดเกสรเพศเมียติดอยู่ เมล็ดรูปกลมขนาดเล็กมีจำนวนมาก (Smitinand, 1990) พบในแถบทวีปแอฟริกา อเมริกา ออสเตรเลีย เอเชียเขตร้อนและเขตอบอุ่น ขึ้นบริเวณดินทรายชื้น นาข้าว แปลงพืชไร่ สวนผลไม้ สวนยางพารา สวนมะพร้าว และสวนปาล์มน้ำมัน ตามริมถนน ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด ออกดอกตลอดปี

จำนวนโครโมโซมของลินเดอเนีย (*Lindernia* sp.)

พืชสกุล *Lindernia* โดยทั่วไปเป็นพloid (diploid) ซึ่งจำนวนโครโมโซมแตกต่างกันไป เท่าที่มีรายงานพบว่า มีจำนวนโครโมโซม $2n = 28$, $2n = 32$ และ $2n = 42$ (Kostermans *et al.*, 1987; Shinha, 1987)

การปรับปรุงพันธุ์พืช (Plant Breeding)

จุดมุ่งหมายเบื้องต้นของนักปรับปรุงพันธุ์พืชคือ การพัฒนาสายพันธุ์ใหม่ ๆ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อมนุษย์และเศรษฐกิจ เช่น ลักษณะความแข็งแรง การต้านทานต่อโรคและแมลง ความสามารถที่จะเจริญในสภาพที่แห้งแล้งได้ รวมทั้งคุณภาพและปริมาณของผลผลิต นักวิจัยต้องมีความสามารถที่จะชักย้ายถ่ายทอดความถี่ของยีน และพัฒนาจีโนไทป์แบบใหม่ ๆ ซึ่งในปัจจุบันนอกจากจะอาศัยวิธีการผสมพันธุ์ในแบบดั้งเดิมแล้ว การปรับปรุงพันธุ์พืชยังอาศัยเทคนิคการเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซม ทั้งแบบอโตะและอัลโตะโพลีพลอยด์ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (ดาวรุ่ง, 2549)

การเกิดโพลีพลอยด์

การชักนำให้เกิด polyploidy ในพืชถือว่าการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ระดับโครโมโซม ซึ่งเป็นประโยชน์ทั้งในด้านการปรับปรุงพันธุ์ และเพื่อศึกษาการพัฒนาส่วนต่างๆ ของพืชจากชั้นเนื้อเยื่อเจริญ (อดิศร, 2547)

โพลีพลอยดี (polyploidy) หมายถึง สิ่งมีชีวิตซึ่งมีจำนวนโครโมโซมมากกว่า 2 ชุดขึ้นไป ปกติเซลล์ร่างกายของสิ่งมีชีวิตทั้งหลายถูกกำหนดให้มีโครโมโซมเป็น $2n$ และ $2n = 2x$ นั่นคือ เซลล์ร่างกายของสิ่งมีชีวิตปกติจะมีจำนวนโครโมโซมเป็น 2 ชุด โดย x คือชุดหนึ่งของโครโมโซมพื้นฐาน หรือชุดของจีโนม (genome) แสดงว่าเซลล์ของร่างกายมีจีโนม 2 ชุด และในการเกิดโพลีพลอยด์ (polyploid) นั้นจะมีหลายระดับด้วยกัน ดังนี้ triploidy ($2n = 3x$), tetraploidy ($2n = 4x$), pentaploidy ($2n = 5x$), hexaploidy ($2n = 6x$), heptaploidy ($2n = 7x$), octaploidy ($2n = 8x$)

โพลีพลอยดีมีความสำคัญมากในพืช เพราะพบว่าในวิวัฒนาการของพืชในระยะต้น ๆ ก็พบพืชที่เป็นโพลีพลอยด์แล้ว โดยจะแบ่งสิ่งมีชีวิตพวกที่เป็นโพลีพลอยด์ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1. ออโตะโพลีพลอยด์ (autopolyploid) คือ สิ่งมีชีวิต พวกโพลีพลอยด์ที่มีชุดของโครโมโซมเพียงชนิดเดียว เกิดจากการผสมระหว่างสิ่งมีชีวิตชนิด (species) เดียวกัน ตัวอย่างเช่น ในกล้วยหอม ซึ่งเป็นทรูปพลอยด์ (triploid) มีชุดของจีโนมเป็น AAA เกิดจากกล้วยป่าที่มีจีโนมเป็น AA เป็นต้น

พืชที่เป็นออโตโพลีพลอยด์ นอกจากกล้วยแล้วยังมี มะเขือเทศ ข้าวโพด ลำไย กาแฟ ถั่วลิสง และ มอส เป็นต้น

2. อัลโลโพลีพลอยด์ (allopolyploid) คือ สิ่งมีชีวิตพวกโพลีพลอยด์ที่มีชุดของโครโมโซมที่แตกต่างกันมากกว่า 1 ชนิด เกิดจากการผสมระหว่างสิ่งมีชีวิตต่างชนิด (species) หรือ ต่างสกุล (genus) ตัวอย่างเช่น กล้วยน้ำว้า เป็นทริพลอยด์ (triploid) มีชุดของโครโมโซมหรือจีโนมเป็น ABB เพราะเกิดจากกล้วยป่าที่มีจีโนม AA และกล้วยป่าตานีที่มีจีโนมเป็น BB นอกจากนี้ยังมียาสูบ มันฝรั่ง และกาแฟ เป็นต้น

สิ่งมีชีวิตที่เป็นโพลีพลอยด์ โดยเฉพาะพวกออโตโพลีพลอยด์ส่วนใหญ่มักจะเป็นหมัน เนื่องจากการเข้าคู่กันของโครโมโซม และการแยกตัวของโครโมโซมเข้าสู่ขั้วของเซลล์จะไม่เป็นไปอย่างปกติ ระหว่างที่มีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสเพื่อจะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ประดิษฐ์, 2550; เบญจมาศ, 2545)

กลไกการเกิดโพลีพลอยดี

โพลีพลอยดีอาจเกิดขึ้นได้ทั้งจากธรรมชาติและมนุษย์สร้างขึ้น การเกิดโพลีพลอยดีเกิดได้จากกลไกดังต่อไปนี้

1. เกิดจากการแบ่งเซลล์ในไมโทซิสผิดปกติ โดยอาจเกิดจากเซลล์ร่างกาย หรือเกิดในช่วงของการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์ ทำให้จำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า

2. เกิดจากการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสผิดปกติ ทำให้ได้เซลล์สืบพันธุ์ที่ไม่มีการลดจำนวนโครโมโซมลงครึ่งหนึ่งในไมโอซิส I (unreduced gamete) ทำให้ได้เซลล์สืบพันธุ์ที่เป็น $2n$

3. เกิดจากการที่ไข่ถูกผสมโดยสเปิร์มมากกว่า 1 ตัว หรือเมื่อเกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสผิดปกติในเกสรตัวผู้ (เบญจมาศ, 2545)

การเกิดโพลีพลอยด์จากการสร้างขึ้นของมนุษย์ ซึ่งสามารถทำให้สิ่งมีชีวิตมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นได้หลายชุด ด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

1. การใช้ความร้อนสูงอย่างรวดเร็ว ส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นได้กับพืชที่มีการเปลี่ยนแปลงได้ง่าย

2. การใช้รังสีสามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในสิ่งมีชีวิตได้ ซึ่งบางครั้งอาจเกิดโพลีพลอยดีได้เช่นกัน

3. การใช้สารเคมี เป็นวิธีที่ใช้กันมาก สารเคมีทำให้เกิดโพลีพลอยด์ได้เนื่องจากเกิดการยับยั้ง การเกิดผนังเซลล์กัน ในช่วงของการแบ่งเซลล์จะไปทำให้จำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเท่าตัว สารเคมีที่นิยมใช้กันมากได้แก่ โคลชิซิน (colchicine) นอกจากนี้ยังมีไนตรัสออกไซด์ (nitrous oxide) oryzalin amiprofos methyl และ podophylin วิธีการใช้สารเคมี คือ

3.1 การแช่เมล็ด ทำการแช่เมล็ดลงในสารละลายที่มีความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสม ล้างน้ำแล้วนำไปเพาะ

3.2 ใช้กับต้นพืชโดยตรง ต้นพืชที่ใช้ใช้ได้ตั้งแต่ต้นกล้า หมายถึง ต้นเล็กที่เกิดจากการเพาะเมล็ด หรือที่กิ่ง หรือส่วนที่กำลังเจริญ มีจุดเจริญเช่น ปลายยอด หยอดสารละลายที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมลงที่ยอดที่มีใบอ่อนอยู่ประมาณ 2-3 ใบ แต่สารละลายนั้นอาจจะไหลลงไปได้ จึงควรผสมกับน้ำยาจับใบด้วย และถ้าจะให้ดีควรนำลำต้นเป็นก้อนขนาดเล็ก ๆ วางที่จุดที่จะหยดสารละลาย และหยดสารละลายบนลำต้นให้สารละลายค่อย ๆ ซึมผ่านลำต้นลงไปที่ยอด

3.3 ใช้กับต้นอ่อนของพืชในสภาพปลอดเชื้อ หรือในสภาพการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ให้นำต้นอ่อนของพืช ตัดส่วนปลายออก นำมาแช่ในสารละลาย ซึ่งอยู่ในสภาพปลอดเชื้อ ระยะเวลาในการแช่ จะต้องทำการศึกษาก่อนเพื่อให้ได้เวลาที่เหมาะสม แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นในตู้ที่ปลอดเชื้อ แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมต่อไป การที่พืชจะเกิดเป็นโพลีพลอยด์หรือไม่ ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นระยะเวลา หรือความถี่ในการให้สารเคมีนั้น ๆ (เบญจมาศ, 2545)

ผลของโพลีพลอยดี

ปกติการเกิดโพลีพลอยดีในธรรมชาติมักเกิดร่วมกับการเกิดการผสมพันธุ์ระหว่างชนิด สายพันธุ์ หรืออาจจะต่างสกุล ดังนั้นรูปร่างจึงขึ้นอยู่กับ genotype ของบรรพบุรุษ การเกิดโพลีพลอยด์อาจจะมีทั้งสิ่งที่ดีและไม่ดีก็ได้ ดังนี้

1. เพิ่มขนาดของเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้อวัยวะหรือส่วนต่างๆของพืชมีขนาดใหญ่ขึ้นด้วย ดังเช่น ขนาดของใบ สำหรับเซลล์ที่ใช้วัดได้อย่างชัดเจนได้แก่ ขนาดของ

guard cell ของปากใบ (stomata) ซึ่งจะเป็นตัวชี้ได้ว่าพืชนั้น ๆ เป็นโพลิพลอยด์หรือไม่ นอกจากนี้ขนาดของละอองเกสรเพศผู้ก็สามารถชี้วัดได้เช่นกัน

2. มีการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโต ปกติแล้วอัตราการเจริญของออโตโพลิพลอยด์จะช้ากว่าดิพลอยด์ (diploid) จึงทำให้เกิดดอกช้า การแตกกิ่งก้านน้อยลง บางครั้งผลมีขนาดเล็กลง กิ่งก้าน และการแตกหน่อลดลง ดังเช่น กล้วยเทพนม ซึ่งเกิดจากการใช้สารออริซาลิน พบว่าต้นมีขนาดเล็กลงมาก มีการเกิดใบช้า ไม่ค่อยมีการแตกหน่อ

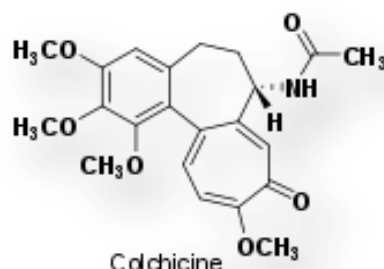
3. รูปร่างของอวัยวะต่างๆของพืช เนื่องจากพืชมีการเพิ่มขนาดของเซลล์ มีการเจริญเติบโตที่ช้า อาจทำให้รูปร่างเปลี่ยนแปลง ใบมีความหนามากขึ้น กว้างขึ้น เช่น ในกล้วยเทพ คำลิง ผักบุ้ง และข้าวโพด บางชนิดการเกิดลักษณะเหล่านี้ทำให้พืชมีความแข็งแรงขึ้น แต่ในพืชบางชนิดอาจลดลง เช่น ในต้นกล้วย ต้นที่เป็นโพลิพลอยด์มีความแข็งแรงมากขึ้น ดังเช่น กล้วยหอมซึ่งเป็นโพลิพลอยด์จะแข็งแรงกว่ากล้วยไข่และกล้วยเล็บมือนางซึ่งเป็นดิพลอยด์ แต่ใบกล้วยหอมมีโอกาสนึกขาดมากกว่ากล้วยไข่

4. จำนวนละอองเกสรเพศผู้น้อยลง เกิดความเป็นหมันมากขึ้นทั้งดอกตัวผู้และดอกตัวเมีย ดังนั้นต้นที่เป็นโพลิพลอยด์จึงมักจะเป็นหมัน เช่น แดงโม กล้วย

5. เกิดการผสมกันเองภายในชนิดเดียวกันไม่ได้ (self-incompatible) ถ้าหากต้นโพลิพลอยด์นั้นเกิดจากพ่อแม่ที่เป็นหมัน ผสมตัวเองไม่ได้ ลูกที่เป็นโพลิพลอยด์จะมีโอกาสเป็นสูงขึ้น หรือเรียกว่า เกิดสิ่งกีดขวางของยีน (genetic barrier) ในพวกที่เป็นออโตโพลิพลอยด์ที่ไม่สามารถผสมกันเองได้ ทั้งนี้เนื่องจากการแบ่งเซลล์ไม่ปกติ ทำให้เกิดการเป็นหมันสูง เช่น คะน้า ผักกาดหัว และพิทูเนีย (เบญจมาศ, 2545)

เทคนิคที่ใช้สารโคลชิซินชักนำให้มีการเพิ่มจำนวนชุดในพืชเริ่มมีมาตั้งแต่ ค.ศ.1937 ผลที่ได้นับเป็นจุดเริ่มต้นที่ดีในการนำสารโคลชิซินมาใช้กับพืช ซึ่งพบว่าสามารถให้สารนี้แก่พืชผ่านทางวิธีการต่าง ๆ ดังนี้ คือ ให้อาบน้ำเมล็ด ให้อาบน้ำต้นอ่อน และให้อาบน้ำต้นพืชที่อยู่ในระยะเติบโตที่พ้นจากระยะต้นอ่อนไปแล้ว (ชบา และ กันยารัตน์, 2527)

โคลชิซิน (colchicine)



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของโคลชิซิน (colchicine)

สารโคลชิซิน (colchicine) เป็นสารประกอบประเภทอัลคาลอยด์ สูตรโมเลกุล $C_{22}H_{35}NO_6$ สกัดได้จากเมล็ดและส่วนหัวของพืชพวก Autumn crocus (*Colchicum autumnale* L.) อยู่ในวงศ์ Liliaceae และอาจพบในสกุลอื่นของพืชวงศ์นี้ เช่น พบในหัวคองคิง (*Gloriosa superba* L.) สารโคลชิซินบริสุทธิ์มีลักษณะเป็นเกล็ด หรือผงสีเหลืองอ่อน เมื่อถูกแสงสีจะเข้มขึ้น ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์และคลอโรฟอร์ม ในทางการแพทย์นำมาใช้รักษาโรคเก๊าท์ ไขข้ออักเสบ ส่วนในด้านพันธุศาสตร์ และการปรับปรุงพันธุ์พืช นำมาใช้ในการเพิ่มชุดโครโมโซมของพืช โดยโคลชิซินจะเป็นตัวไปอุดตามปลายท่อต่าง ๆ ของ microtubule ภายในเซลล์ ทำให้ microtubule ไม่สามารถต่อกันเป็น spindle fiber ที่ทำหน้าที่ในการช่วยดึงโครโมโซมระยะเมทาเฟสได้ (อมรา, 2546) โครโมโซมไม่สามารถเคลื่อนที่ไปยังขั้วเซลล์ทั้งสอง และหยุดอยู่ระหว่างขั้วเซลล์ทั้งสอง มีการแบ่งโครโมโซมแต่ไม่มีการแบ่งนิวเคลียส ลักษณะเช่นนี้เรียกว่า colchicine-mitosis (C - mitosis) จากนั้นก็มีการสร้างผนังนิวเคลียสขึ้นมาใหม่อีกครั้งหนึ่งในเซลล์เดิม เมื่อเป็นเช่นนี้จึงทำให้เซลล์นั้นมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นอีกเท่าตัว โดยไม่ทำให้โครงสร้างของโครโมโซมมีการเปลี่ยนแปลงไป เซลล์ที่ได้นี้จะมีลักษณะเป็น โพลีพลอยด์ (polyploid) (ยรรยงค์, 2523) จากคุณสมบัตินี้ โคลชิซินจึงถูกนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยการชักนำให้เกิดการเพิ่มชุดโครโมโซม (polyploidy induction) และสารโคลชิซินควรใช้กับพืชที่กำลังเจริญเติบโต ซึ่งมีอัตราการแบ่งเซลล์สูง โดยอาจแช่เมล็ดในสารละลาย หยดสารละลายที่ยอดต้นกล้า หรือจุ่มเนื้อเยื่อในสารละลาย แล้วนำไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นต้น

แม้ว่าสารโคลชิซินจะมีผลเป็นที่น่าพอใจในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์พืช แต่ก็ยังมีผลกระทบต่อผู้วิจัย โดยสารโคลชิซินจัดอยู่ในพวก teragen (สารที่ทำให้เกิดการบกพร่องของการ

พัฒนาทารกในครรภ์) และอาจเป็นสารพิษ (carcinogen) โดยสารโคลชิซินบริสุทธิ์เพียง 3 มิลลิกรัม ก่อให้เกิดการตายได้ และมีการทดลองในสัตว์ทดลองคือ หนู การใช้สารโคลชิซินในปริมาณเพียง 0.125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว ก่อให้เกิดอัตราการรอดชีวิตที่ 57 เปอร์เซ็นต์ (LD 50) (Barry, 2000) ซึ่งนับได้ว่า โคลชิซินเป็นสารที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์อย่างมากเมื่อเกิดการสัมผัส และดูดซึมเข้าสู่ผิวหนัง ทั้งในรูปผงและสารละลาย ดังนั้น ผู้วิจัยจึงต้องมีความระมัดระวังในการใช้ และเก็บไว้ในที่ปลอดภัย นอกจากนี้สารโคลชิซินออกฤทธิ์คล้ายสารหนูก่ออันตรายได้ด้วยการสัมผัส ถ้าเข้าตาจะทำให้เกิดอันตรายอย่างรุนแรง หากรับประทานเข้าไปจะเป็นพิษรุนแรงกับระบบทางเดินอาหาร และถ้าได้รับในปริมาณมากอาจถึงแก่ชีวิตได้ (กรมควบคุมมลพิษ, ม.ป.ป.; Addink, 2007)

สำหรับการตรวจหาลักษณะพืชที่ถูกชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ (polyploidy) วิธีที่ดีที่สุดคือการตรวจนับจำนวนโครโมโซม ซึ่งมักจะนิยมใช้กันเป็นวิธีสุดท้ายกับพืชที่เชื่อว่าเป็นโพลีพลอยด์ (polyploidy) ทั้งนี้เพราะเป็นวิธีที่ต้องใช้เวลามาก สำหรับเกณฑ์แรก ๆ ที่ใช้คือ การสังเกตลักษณะต่าง ๆ เช่น รูปร่างและขนาดของส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ใบ ดอก ผล และ เมล็ด ซึ่งพอจะช่วยแยกพืชได้เป็น 2 กลุ่ม คือ พวกที่ตอบสนองต่อสารโคลชิซิน กับพวกที่ไม่ตอบสนองต่อสารโคลชิซิน หรือการวัดขนาดปากใบ ตลอดจนขนาดของละอองเกสร ซึ่งจะมีขนาดใหญ่กว่าต้นปกติ

ผลที่เกิดขึ้นกับส่วนต่าง ๆ ของพืชหลังได้รับสารโคลชิซิน

การเพิ่มชุดของโครโมโซมจากจีโนมเดียวกันทั้งหมด (autopolyploid) สามารถเกิดขึ้นเองได้ตามธรรมชาติและเกิดจากการเหนี่ยวนำ ผลของโพลีพลอยด์มักทำให้เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น โดยนิวเคลียสจะขยายขนาดตามสัดส่วนของจำนวนโครโมโซมที่เพิ่มขึ้น (อมรา, 2546) ซึ่งการทำให้เกิด autopolyploid นั้น เพื่อประโยชน์ในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยส่วนใหญ่มักทำในไม้ดอกและไม้ประดับ ลักษณะที่ได้นอกจากจะทำให้ดอกใหญ่ขึ้นแล้ว ยังทำให้คุณภาพด้านอื่นดีขึ้นด้วย เช่น สามารถปักแจกันได้นานขึ้น หรือบานทน เป็นต้น (สุทัศน์, 2552) แต่ทั้งนี้เนื่องจากจำนวนโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นทำให้วัฏจักรของเซลล์ช้าลงทำให้มีการออกดอกและติดผลผลิตช้ากว่าและเจริญเติบโตช้ากว่าดิพลอยด์ และในต้นที่เป็นเตตระพลอยด์จะมีความยุ่งยากในการแยก (segregation) ของ homologous chromosome ในไมโอซิส จึงทำให้ต้นพืชมีอัตราการติดเมล็ดลดลง (อมรา, 2546)

การเกิดไคเมอร่า (chimera) ซึ่งไคเมอร่าเกิดเมื่อมีการกลายของเซลล์ อาจเป็นการกลายตามธรรมชาติ หรือการเหนี่ยวนำด้วยสิ่งก่อกลาย ได้แก่ รังสี หรือสารเคมี ถ้าเซลล์กลายอยู่บริเวณปลายยอด ซึ่งจะต้องมีการแบ่งเซลล์ต่อไป เซลล์ที่เกิดใหม่จากการแบ่งตัวของเซลล์กลายก็จะเป็นเซลล์กลายทั้งหมด ผลก็คือ ในเนื้อเยื่อพืชนั้น ๆ จะมีเซลล์ที่มีจีโนไทป์ต่างกันอยู่ใกล้ ๆ กัน เรียกลักษณะดังกล่าวนี้ว่า ไคเมอร่า เนื่องจากการกลายเป็นปรากฏการณ์ที่เรียกว่า one cell event คือการกลายในลักษณะใดลักษณะหนึ่ง จะมีโอกาสเกิดในเซลล์เพียงเซลล์เดียว ดังนั้น การกลายของเซลล์ร่างกายจะพบเนื้อเยื่อที่ประกอบไปด้วยเซลล์กลายและเซลล์ปกติอยู่ร่วมกัน เซลล์ทั้งสองประเภทจะมีการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนเพื่อเจริญเป็นกิ่งก้านต่อไป กิ่งก้านที่เจริญมาจึงมีลักษณะรวมทั้งส่วนที่ปกติและส่วนที่กลาย โดยมีการแข่งขันกันในการเจริญเติบโต โดยทั่วไปเซลล์กลายจะมีความสามารถในการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนได้ช้ากว่าเซลล์ปกติ สำหรับส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น bulbs, tubers, rhizomes หรือกิ่งชำนั้นเป็นพวกที่ตาหรือยอดของต้นพืชจะมีจำนวนเซลล์อยู่หลายเซลล์ และที่ตาหรือยอดของต้นพืชยังประกอบด้วยชั้นของเซลล์ที่ค่อนข้างจะเป็นอิสระแก่กัน จึงทำให้ต้องใช้เวลานานขึ้นในการคัดเลือก และลักษณะบางอย่างอาจสูญหายไปได้ เนื่องจากสิ่งที่เราต้องการคือ ให้เซลล์ที่กลายพันธุ์นั้นเจริญขึ้นเป็นเนื้อเยื่อส่วนใหญ่ของพืช ซึ่งวิธีการที่ดีและน่าจะเป็นไปได้คือ การได้ต้นพืชที่เกิดจากเซลล์เพียงเซลล์เดียว อาจเกิดขึ้นได้จากการขยายพันธุ์ของพืชทั้งวิธี *in vitro* หรือ *in vivo* ซึ่งสามารถที่จะหลีกเลี่ยงการเกิดไคเมอร่า เป็นการเพิ่มความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ให้สูงขึ้น และอาจจะทำให้มีชนิดของการกลายพันธุ์ที่กว้างขึ้น และยังเป็นการง่ายที่จะพบการกลายพันธุ์ของลักษณะที่ต้องการอีกด้วย ดังนั้น การกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ในเซลล์หนึ่งเซลล์ใด จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง

ในปัจจุบันวิธีการสำคัญที่นักปรับปรุงพันธุ์พืชได้ปฏิบัติเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดไคเมอร่า ได้แก่ วิธีที่เรียกว่า adventitious bud technique โดยพืชสามารถสร้างยอดจากตาพิเศษ (adventitious bud) ได้ ดังนั้นการฉายรังสีก้านใบ หรือแผ่นใบจะพบการกลายอย่างสมบูรณ์ คือ กลายทั้งต้น (solid mutant) ซึ่งไม่มี chimera เกิดขึ้น บ่งชี้ให้เห็นว่ายอดของต้นเหล่านั้นเจริญมาจาก epidermal cell เพียงเซลล์เดียว (อดิศร, 2539; อรุณี, 2550)

งานวิจัยด้านการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้สารโคลชิซิน

Tandon and Bhutani (1965) ศึกษาการใช้สารโคลชิซินในการเหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซมในแวนมยูรา โดยใช้ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10

ชั่วโมง ชิ้นส่วนของพืชที่นำมาแช่ในสารโคลชิซินคือ ต้นอ่อนที่ได้จากการเจริญเติบโตของเมล็ด มีใบเลี้ยง 4-6 ใบ ได้ต้นที่มีลักษณะโครโมโซมเป็นเตตระพลอยด์ (tetraploid) ขนาดของเซลล์ใหญ่ขึ้น เช่น ขนาดของดอก ขนาดของใบ เป็นต้น ซึ่งเป็นการพัฒนาสายพันธุ์แววมยุราให้มีลักษณะที่ดียิ่งขึ้น

Griesbach (1990) ชักนำ *Eustoma grandiflorum* ให้เพิ่มจำนวนชุดโครโมโซม โดยใช้ปลายยอดแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 และ 5 วัน พบว่าเมื่อแช่เป็นเวลา 5 วัน เกิดต้นเตตระพลอยด์ได้ดีที่สุด มีการเจริญเติบโตของพืชดีที่สุด อีกทั้งต้นที่เป็นเตตระพลอยด์ยังมีขนาดของลำต้น ความกว้างของใบ และความกว้างของกลีบดอก ใหญ่กว่าต้นที่เป็นดิพลอยด์

รัชนี (2553) ศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการให้โคลชิซินต่อการเจริญเติบโต และจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้เอื้องเงิน โดยนำโพธิ์คอร่มหลังออก 1 เดือน มาแช่ในอาหารที่มีสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.05, 0.10 และ 0.50 เปอร์เซ็นต์ (W/V) เป็นเวลา 4 และ 5 วัน จากนั้นจึงย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร VW จนถึงสัปดาห์ที่ 14 พบว่า ลำต้นของเอื้องเงินใหญ่และโตกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ส่วนความหนาของใบ ความหนาและความยาวของปากใบจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินเพิ่มสูงขึ้น แต่การรอดชีวิตของเอื้องเงินจะลดลง และสำหรับการนำไปศึกษาโครโมโซมนั้น พบว่า กลุ่มที่แช่สารละลายโคลชิซิน 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนโครโมโซม $2n=2x=38$ ส่วนกลุ่มที่แช่สารละลายโคลชิซิน 0.10 และ 0.50 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 4 และ 5 วัน มีจำนวนโครโมโซม $2n=4x=76$ จึงสรุปได้ว่าแช่ในสารละลายโคลชิซิน 0.10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 4 วัน เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดเตตระพลอยด์ในเอื้องเงิน

Gantait *et al.* (2011) ศึกษาผลของสารโคลชิซินต่อการเจริญเติบโตของปลายยอด *Gerbera jamesonii* เพื่อชักนำให้เกิดต้นเตตระพลอยด์ พบว่า อัตราการตายของชิ้นส่วนพืชจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่โคลชิซิน โดยยอดที่ได้รับโคลชิซินความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 8 ชั่วโมง สามารถชักนำให้เกิดเตตระพลอยด์ได้ดีที่สุด

Tharawoot *et al.* (2012) ศึกษาความเข้มข้นของสารโคลชิซินที่เหมาะสม เพื่อชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ใน *Impatiens patula* Craib โดยใช้ปลายยอดที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0, 0.03, 0.05 และ 0.09 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่า โคลชิซินความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง สามารถชักนำให้เกิดต้นเตตระพลอยด์ โดย

ต้นที่ได้มีความหนาใบเพิ่มขึ้นและปากใบมีขนาดใหญ่ขึ้น อีกทั้งยังมีคลอโรพลาสต์สูงกว่าต้นดิพลอยด์

งานวิจัยด้านการใช้สารละลายจากยาเม็ดโคลชิซิน

สันธิฐิตา (2552) ได้ศึกษาผลของสารละลายจากยาเม็ดโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงของแววมยุราสารพันธุ์ลูกผสมระหว่างลูกผสมพันธุ์การค้าของ *Torenia concolor* กับ *T. fournieri* และแววมยุราสายพันธุ์ป่า โดยการตัดใบแล้วนำก้านใบไปแช่ในสารละลายจากยาเม็ดโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0, 5, 10, 15 และ 20 ppm เป็นเวลา 0, 1, 2 และ 3 วัน พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต การเจริญเติบโตทางด้านความสูง ความกว้างทรงพุ่ม และจำนวนกิ่งแขนง มีแนวโน้มลดลงที่ระดับความเข้มข้นสูงและเวลาในการแช่นานขึ้น มีการเปลี่ยนแปลงของสีดอก และรูปทรงของดอก ดอกมีขนาดใหญ่ขึ้น ลำต้นแข็งแรง ใบมีขนาดใหญ่และหนาขึ้น เป็นต้น ซึ่งสารละลายจากยาเม็ดโคลชิซินสามารถชักนำให้แววมยุราทั้ง 2 สายพันธุ์ เกิดต้นโพลีพลอยด์ได้ คือ แววมยุราสายพันธุ์ลูกผสมระหว่างลูกผสมพันธุ์การค้าของ *T. concolor* กับ *T. fournieri* ได้ต้นเตตระพลอยด์ ($2n = 4x = 36$) 4 ต้น และต้นเฮกซะพลอยด์ ($2n = 6x = 54$) 1 ต้น และแววมยุราสายพันธุ์ป่า ได้ต้นเตตระพลอยด์ ($2n = 4x = 36$) 6 ต้น ซึ่งมีขนาดของเซลล์ปากใบ ขนาดละอองเรณูใหญ่กว่าต้นปกติ และเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของละอองเกสรน้อยกว่าต้นปกติ และมีเปอร์เซ็นต์การเป็นหมันน้อยลง

จิราภรณ์ (2554) ได้ศึกษาผลของสารละลายยาเม็ดโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงของแววมยุราพันธุ์ลูกผสมระหว่าง *T. concolor* กับ *T. fournieri* และแววมยุรากลายดอกสีเหลือง โดยตัดใบจากต้นแววมยุราแล้วนำไปแช่ในสารละลายยาเม็ดโคลชิซิน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 5, 10, 15 และ 20 ppm เป็นเวลา 0, 1, 2 และ 3 วัน พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต การเจริญเติบโตทางด้านความสูง ความกว้างทรงพุ่ม และจำนวนกิ่งแขนงลดลง เมื่อระดับความเข้มข้นของสารละลายสูง และเวลาในการแช่นานขึ้น และได้คัดเลือกจากต้นแววมยุราพันธุ์ลูกผสม ได้จำนวน 14 ต้น และแววมยุราพันธุ์กลายดอกสีเหลืองได้จำนวน 7 ต้น เมื่อนำมาศึกษาจำนวนโครโมโซมพบว่า ทั้งหมดเป็นต้นเตตราพลอยด์ ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมเป็น $2n = 4x = 34$ พบความถี่ในการเกิดเตตราพลอยด์สูงสุดในแววมยุราพันธุ์ลูกผสม เมื่อให้สารละลายระดับความเข้มข้น 15 ppm เป็นเวลา 2 วัน มีค่าเป็น 0.08 และในแววมยุราพันธุ์กลายดอกสีเหลือง เมื่อให้สารละลายระดับความเข้มข้น 20 ppm เป็นเวลา 1 วัน มีค่าเป็น 0.06 เมื่อเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยา ระหว่างต้นดิพลอยด์และต้นโพลีพลอยด์ของแววมยุรา 2 พันธุ์พบว่า ต้นโพลีพลอยด์ของแววมยุราพันธุ์ลูกผสม มีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น คือ ความสูง ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนกิ่งแขนง มากกว่าต้นดิพลอยด์ ส่วนต้นโพลีพลอยด์ของแววมยุราพันธุ์กลายดอกสีเหลือง มีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น คือ ความสูง ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนกิ่งแขนง มากกว่าต้นดิพลอยด์

มยุราพันธุ์กลายดอกสีเหลืองมีความสูงและความกว้างของทรงพุ่มน้อยกว่า แต่จำนวนกิ่งแขนงมากกว่าต้นดิพลอยด์ ซึ่งต้นโพลีพลอยด์ของทั้ง 2 พันธุ์มีความหนาของลำต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ และความหนาใบ มากกว่าต้นดิพลอยด์

สติริ (2556) ได้ศึกษาผลของสารละลายจากยาเม็ดโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงของแววมยุราพื้นเมือง (*Torenia fournieri*) โดยการตัดใบแล้วนำไปแช่ในสารละลายจากยาเม็ดโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ppm ที่ระยะเวลาแตกต่างกันคือ 0 1 2 และ 3 วัน พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ความสูง ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนกิ่งแขนงมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นสูง และระยะเวลาในการแช่สารนานขึ้น ซึ่งสามารถคัดเลือกต้นที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์ได้จำนวน 7 ต้น จากการเจริญเติบโตที่ช้าลง มีใบสีเขียวเข้ม หนาขึ้น ขนาดใบและดอกใหญ่ขึ้น เมื่อวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธี Flow cytometry พบว่าต้นแววมยุราพื้นเมืองที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณดีเอ็นเอนิวคลีอัสเป็นสองเท่า และเมื่อศึกษาจำนวนโครโมโซมพบว่า สามารถชักนำให้เกิดขึ้นเตตระพลอยด์ ($2n=4x=36$) เมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะทางเซลล์วิทยาพบว่า ต้นเตตระพลอยด์มีความยาวของเซลล์ปากใบมากกว่า แต่มีจำนวนปากใบต่อพื้นที่น้อยกว่า และมีความกว้างของเซลล์ปากใบ และขนาดของละอองเกสรไม่แตกต่างกัน สำหรับความมีชีวิตของละอองเกสรต้นเตตระพลอยด์มากกว่าต้นดิพลอยด์ และเมื่อทดลองผสมตัวเองพบว่า ต้นเตตระพลอยด์มีอัตราการผสมติดน้อยกว่าต้นดิพลอยด์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พืชทดลอง

ลินเดอเนีย (*Lindernia* sp.) มีลักษณะลำต้นเป็นเหลี่ยม เลื้อยแผ่ไปตามพื้นดิน กลีบดอกเป็นรูปปากเปิดสีม่วง ส่วนฐานดอกเชื่อมกันเป็นหลอดยาว เมล็ดมีขนาดเล็กจำนวนมาก ทำให้เกิดการแพร่กระจายอย่างรวดเร็ว และสามารถออกดอกได้ตลอดทั้งปี ซึ่งต้นลินเดอเนียที่นำมาทดลองพบที่อำเภอเมือง จังหวัดนครนายก โดยมีสีสันของกลีบดอกแตกต่างไปจากต้นลินเดอเนียที่พบเห็นโดยทั่วไป



ภาพที่ 2 ต้น *Lindernia* sp. ที่ใช้ในการทดลอง

2. อุปกรณ์สำหรับเตรียมสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ

2.1 ขวดแก้วพร้อมฝาปิด, กระบอกตวง, ปิกเกอร์, ไมโครฟิลเตอร์ (microfilter) ขนาด 0.2 ไมครอน, อลูมินัมฟรอยด์สำหรับห่อขวดสารละลาย, ไซริงค์พลาสติก 50 ซีซี, อาหารสูตร ½ MS เป็นต้น

2.2 สารเคมี ได้แก่ ยาเม็ดยี่ห้อม Colchicine (ยา 1 เม็ด ประกอบด้วย โคลชิซิน 0.6 มิลลิกรัม, แคลโคส, แมกนีเซียม, สเตียเรต และแป้ง) ซึ่งเป็นตัวยานำเข้าจากประเทศ สวิตเซอร์แลนด์ และสามารถซื้อได้ตามร้านขายยาทั่วไป

3. อุปกรณ์สำหรับชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์

ขวดแก้วพร้อมฝาปิด, ปากกิบ, จานแก้ว, ใบมีด, อลูมินัมฟรอยด์สำหรับห่อขวดสารละลาย, เครื่องเขย่าสาร (shaker) เป็นต้น

4. อุปกรณ์สำหรับวัดขนาดเซลล์ปากใบและขนาดของละอองเกสร

4.1 กล้องจุลทรรศน์

4.2 เครื่องแก้ว ได้แก่ กระจกสไลด์ กระจกปิดสไลด์

4.3 สารเคมี ได้แก่ สีที่ใช้ย้อมละอองเกสร คือ aceto-orcein

4.4 ใช้โปรแกรม ZEISS AxioVision 3.1 ที่เชื่อมต่อกับกล้องจุลทรรศน์ (ZEISS, เยอรมัน) ในการวัดขนาดเซลล์ปากใบ

4.5 อุปกรณ์อื่น ๆ ได้แก่ ปากคีบปลายแหลม น้ำยาทาเล็บ กรรไกร สก๊อตเทป เป็นต้น

5. วัสดุที่ใช้สำหรับปลูกพืช

5.1 วัสดุปักชำ คือ พืทมอส

5.2 วัสดุปลูก คือ ทราย ถ่านแกลบ ขุยมะพร้าว กาบมะพร้าวสับ ปุ๋ยหมัก

อัตราส่วน 1:1:1:1:½

5.3 ถาดหลุมขนาด 128 หลุม

5.4 กระถางขนาด 3 นิ้ว

5.5 ปุ๋ยเม็ดละลายช้า สูตร 14-14-14

5.6 ปุ๋ยเกล็ดละลายน้ำ สูตร 21-21-21

6. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับเก็บข้อมูลและบันทึกผล

วิธีการ

การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในลินเดอเนียด้วยการใช้สารโคลชิซินชนิดเม็ดภายใต้สภาพปลอดเชื้อ แบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 การศึกษาชิ้นส่วนพืชและวิธีการที่เหมาะสมในการใช้ยาเม็ดรักษาโรคเก๊าท์ เพื่อชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในลินเดอเนียภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และตรวจสอบระดับพลอยดีของลินเดอเนีย และการทดลองที่ 2 เปรียบเทียบลักษณะทางเซลล์วิทยาของลินเดอเนียดั้งเดิมพลอยด์ ดั้งเดิมพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์

การทดลองที่ 1 การศึกษาชิ้นส่วนของพืชและวิธีการที่เหมาะสม ในการใช้ยาเม็ดรักษาโรคเก๊าท์ เพื่อชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ภายใต้สภาพปลอดเชื้อและตรวจสอบระดับพลอยดีของลินเดอเนีย

วางแผนการทดลองแบบ $2 \times 5 \times 3$ Factorial in CRD (Factorial in Completely Randomized Design) แบ่งออกเป็น 3 ปัจจัย ได้แก่

- ปัจจัยที่ 1 คือ ชิ้นส่วนของพืช ประกอบด้วย ข้อ และ ใบ
- ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน ประกอบด้วย 0 5 10 15 และ 20 ppm
- ปัจจัยที่ 3 คือ ระยะเวลาในการแช่ชิ้นส่วนของพืชในสารละลายโคลชิซิน ประกอบด้วย 1 2 และ 3 วัน แต่ละชุดการทดลองมี 10 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ชิ้นพืช

การฟอกฆ่าเชื้อและการเพิ่มจำนวนต้นลินเดอเนียภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

ลินเดอเนีย (*Lindernia* sp.) ถูกใช้ในการศึกษาครั้งนี้ โดยจะคัดเลือกต้นที่มีความสมบูรณ์ปราศจากโรค ตัดส่วนของตายอดและตาข้างมาล้างให้สะอาดด้วยน้ำไหล ตัดใบออกให้เหลือเฉพาะส่วนของตายอดและตาข้าง จากนั้นนำชิ้นพืชมาฆ่าเชื้อด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 60 วินาที และแช่ในสารละลายคลอโรกซ์จำนวน 2 ครั้ง โดยครั้งแรกแช่ใน สารละลายคลอโรกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ tween 20 จำนวน 2-3 หยด เป็นเวลา 10 นาที ต่อมาแช่ครั้งที่ 2 ในสารละลายคลอโรกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง และตัดแต่งชิ้นส่วนที่ถูกสารเคมีทำลาย โดยให้แต่ละชิ้นมีความยาวประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร โดยแต่ละชิ้นต้องมีส่วนของตายอดหรือตาข้าง นำไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร $\frac{1}{2}$ MS (Murashige and Skoog,

1962) ที่ปราศจากสอร์โอมิน และเลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และมีการให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน โดยจะเปลี่ยนอาหารทุกๆ 1 เดือน เพื่อเพิ่มจำนวนต้นให้ได้เพียงพอสำหรับงานวิจัย

ขั้นตอนการเตรียมสารละลายจากยาเม็ดโคลชิซิน

เตรียมสารละลายจากยาเม็ดโคลชิซิน โดยตัวยา 1 เม็ด ประกอบด้วยส่วนผสมของโคลชิซิน 0.6 มิลลิกรัม ทำการเตรียมสารละลายให้มีความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ppm โดยใช้สูตร

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

N_1 คือ ปริมาณความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน (มิลลิกรัม)

V_1 คือ ปริมาตรของตัวทำละลาย (มิลลิลิตร)

N_2 คือ ปริมาณความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่ต้องการเตรียม (มิลลิกรัม)

V_2 คือ ปริมาตรของตัวทำละลายที่ต้องการเตรียม (มิลลิลิตร)

นำยามาละลายในอาหารเหลวสูตร $\frac{1}{2}$ MS (ตามที่คำนวณได้จากสูตร) เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินต่าง ๆ ตามที่ต้องการ สำหรับสารละลายความเข้มข้น 0 ppm จะใช้อาหารเหลวสูตร $\frac{1}{2}$ MS เพียงอย่างเดียว

การชักนำให้เกิดโพลิพลอยด์

นำต้นลินเดอเนียที่มีอายุ 1 เดือนในสภาพปลอดเชื้อ มาตัดส่วนของใบ และข้อไปแช่ในสารละลายโคลชิซินที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15 และ 20 ppm จากนั้นนำไปแช่ด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 1, 2 และ 3 วัน เมื่อครบเวลาที่กำหนดแล้ว ชับโคลชิซินออก และย้ายลงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร $\frac{1}{2}$ MS เพาะเลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีความชื้นสัมพัทธ์ 60 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 30 วัน โดยทำการทดลองแบบ $2 \times 5 \times 3$ Factorial in CRD แต่ละทรีทเมนต์ใช้ส่วนข้อ 10 ข้อ แช่ละ 2 ชิ้นพืช และใบ 10 ข้อ แช่ละ 2 ชิ้นพืช จากนั้นบันทึก เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต และจำนวนต้นที่ได้จากชิ้นส่วนแต่ละชิ้น

การคัดเลือกต้นที่สันนิษฐานว่าจะเป็นโพลีพลอยด์

เมื่อต้นลินเคอเนียมีอายุ 30 วันหลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน คัดเลือกต้นที่สันนิษฐานว่าจะเป็นโพลีพลอยด์ โดยพืชจะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาคือ ใบมีสีเขียวเข้มขึ้น ขนาดใหญ่และหนาขึ้น ขอบใบหยักชัดเจน ลำต้นหนา ปล้องสั้นลง และรากหนาขึ้น ย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร $\frac{1}{2}$ MS เป็นระยะเวลา 30 วัน จากนั้นบันทึกความสูงต้น ขนาดใบ จำนวนราก และความยาวราก แต่ความถี่ในการเกิดโพลีพลอยด์จะคัดเลือกเฉพาะต้นที่มีลักษณะดังที่กล่าวมาครบทุกข้อ จึงนำออกปลูก

ออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

นำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องควบคุมออกมาปรับสภาพที่อุณหภูมิห้อง โดยมีการคลายฝาขวดให้เกิดการหมุนเวียนอากาศ และลดความชื้นภายในขวดอย่างช้า ๆ เป็นระยะเวลา 3-5 วัน จากนั้นนำต้นออกจากขวด และล้างอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกให้หมด ปลูกลงในถาดหลุมโดยใช้พีทมอสเป็นวัสดุปลูก รดน้ำให้ชุ่ม จากนั้นครอบด้วยถุงพลาสติก มัดปากถุงไว้ เมื่อเวลาผ่านไป 1 สัปดาห์ ค่อยๆเปิดปากถุงพลาสติกเพื่อให้ต้นค่อยๆปรับตัวให้ชินกับความชื้นที่ลดลง และเมื่อออกปลูกเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

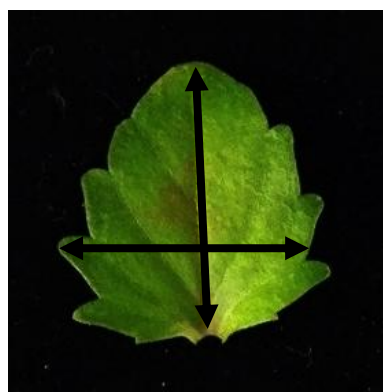
หลังออกปลูกเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ คัดเลือกต้นที่รอดชีวิตที่รืทเมนต์ละ 10 ต้น ย้ายลงกระถางขนาด 3 นิ้ว โดยใช้วัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ทราย ถ่านแกลบ ขุยมะพร้าว กาบมะพร้าวสับ ปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 1:1:1:1:½ ใส่ปุ๋ยเม็ดละลายช้าสูตรเสมอ 14-14-14 อัตรา 5 กรัมต่อกระถาง และให้ปุ๋ยชนิดเกล็ดละลายน้ำสูตร 21-21-21 อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร บันทึกผลหลังออกปลูกทุก ๆ 15 วัน เป็นเวลา 45 วัน โดยบันทึกการเจริญเติบโตทางด้านความสูง ระยะห่างระหว่างข้อ ความหนาของลำต้น ขนาดของใบ จำนวนดอก ขนาดดอก และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เกิดขึ้นภายหลังการได้รับสารโคลชิซิน เพื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซิน)



ภาพที่ 3 การวัดขนาดของดอก

ก. ภาพลักษณะด้านหน้าของดอกลินเดอเนีย (วัดความกว้างและความยาวของดอก)

ข. ภาพลักษณะด้านข้างของดอกลินเดอเนีย (วัดความสูงของดอก)



ภาพที่ 4 การวัดขนาดความกว้างและความยาวของใบ

การวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอ เพื่อวัดระดับพลอยดีของลินเดอเนีย โดยวิธี Flow cytometry

นำใบอ่อนของต้นลินเดอเนียจากต้นชุดควบคุมและต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน จำนวนตัวอย่างละ 1 ใบ วางลงบน plastic petridish สับตัวอย่างใบพืชรด้วยใบมีดที่คม หยดสารละลาย extraction buffer 500 ไมโครลิตร (Partec Cy stain UV ploidy, one step DAPI staining solution) จากนั้นกรองสารที่สกัดได้ใส่ใน celltrics disposable filtered ขนาด 30 ไมโครเมตร และนำไปวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอ เพื่อหาระดับพลอยดีโดยวิธี flow cytometry ด้วยเครื่อง Partec PA II

การทดลองที่ 2 การเปรียบเทียบลักษณะทางเซลล์วิทยาของลินเคอเนียต้นดิพลอยด์ ต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยให้ชนิดพลอยดี (ploidy) ที่ต่างกันเป็นแต่ละสิ่งทดลอง โดยแบ่งออกเป็น 3 สิ่งทดลอง สิ่งทดลองละ 10 ซ้ำ

การศึกษาลักษณะปากใบและขนาดของละอองเกสร

ตัดใบลินเคอเนียจากต้นดิพลอยด์ ต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์ เพื่อศึกษา ลักษณะของปากใบ โดยใช้น้ำยาทาเล็บสีฟ้าทาลงบนผิวใบด้านบน เมื่อน้ำยาแห้งจึงลอกเอาน้ำยาทา เล็บออกจากผิวใบ นำมาวางบนกระจกสไลด์ แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ และนำมาส่องภายใต้ กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า (400X) ศึกษาจำนวนปากใบต่อพื้นที่ 1.0 ตารางมิลลิเมตร และ วัดขนาดของปากใบหรือเซลล์คุม โดยใช้โปรแกรม ZEISS AxioVision 3.1 ที่เชื่อมต่อกับกล้อง จุลทรรศน์ (ZEISS, เยอรมัน) และบันทึกภาพ

นำละอองเกสรของลินเคอเนียต้นดิพลอยด์ และต้นโพลีพลอยด์ วางบนสไลด์ หยดสี aceto-orcein 1 หยด จากนั้นเจียละอองเกสรให้กระจาย และเจียเอาส่วนที่สกรกทั้ง ปิดด้วยกระจกปิด สไลด์ วัดขนาดของละอองเกสรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้โปรแกรม ZEISS AxioVision 3.1 ที่ เชื่อมต่อกับกล้องจุลทรรศน์ (ZEISS, เยอรมัน) บันทึกผลและภาพ

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

สถานที่ทำการวิจัย

1. ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและห้องปฏิบัติการกลาง ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

2. แปลงทดลอง 1 ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

ระยะเวลาการทำงานวิจัย

เริ่มทำการวิจัยตั้งแต่เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2557 ถึง เดือนเมษายน 2558

ผลและวิจารณ์

ผล

การทดลองที่ 1 การศึกษาชิ้นส่วนของพืชและวิธีการที่เหมาะสม ในการใช้สารโคลชิซินจากยาเม็ดรักษาโรคเกาต์ เพื่อชักนำให้เกิดโพลีพลอยดีในลินเดอเนียภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และตรวจสอบระดับพลอยดีของลินเดอเนีย

1.1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของลินเดอเนียหลังได้รับสารโคลชิซิน

เมื่อนำข้อและใบจากต้นลินเดอเนียที่มีอายุ 1 เดือนในสภาพปลอดเชื้อ ไปแช่ในสารละลายโคลชิซินจากยาเม็ดรักษาโรคเกาต์ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 5 10 15 และ 20 ppm โดยในแต่ละความเข้มข้นใช้เวลาในการแช่ คือ 1 2 และ 3 วัน หลังจากนั้นย้ายลงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS เพาะเลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีความชื้นสัมพัทธ์ 60 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกผลการรอดชีวิตที่ 30 วัน พบว่า ความเข้มข้นของสารโคลชิซินระยะเวลาในการแช่สาร และชิ้นส่วนของพืชต่ออัตราการรอดชีวิตของลินเดอเนียหลังได้รับสารโคลชิซินมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยทั้งข้อและใบในชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายสูงขึ้นและระยะเวลาในการแช่นานขึ้น นอกจากนี้ยังส่งผลให้ความสามารถในการเจริญเติบโตจากชิ้นส่วนข้อและใบกลายเป็นต้นลดลง และเมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและการพัฒนาเพื่อเจริญเติบโตเป็นต้นพืชระหว่างชิ้นส่วนของข้อและใบ พบว่า ชิ้นส่วนของข้อหลังจากได้รับสารละลายโคลชิซิน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและการเจริญเติบโตเป็นต้นสูงกว่าชิ้นส่วนใบ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 อิทธิพลของชิ้นส่วนพืช ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่สารต่อ อัตราการรอดชีวิต และจำนวนต้นที่งอกจากชิ้นส่วนทั้งหมดของลินเคอเนีย ภายหลังจาก ได้รับสาร โคลชิซินและเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร $\frac{1}{2}$ MS เป็นเวลา 30 วัน

ทรีทเมนต์	อัตราการรอดชีวิตหลังได้รับ สารโคลชิซิน (%)		จำนวนต้นที่งอกจากชิ้นส่วนทั้งหมด	
	ข้อ	ใบ	ข้อ	ใบ
A: ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)				
0	100.00±0.00 ^{d1/2/}	100.00±0.00 ^c	353.67±42.15 ^b	359.33±47.26 ^b
5	95.00±4.14 ^c	78.33±16.73 ^b	203.33±70.46 ^a	154.00±85.86 ^a
10	83.33±16.73 ^b	68.33±19.57 ^a	167.67±107.58 ^a	127.33±87.64 ^a
15	80.00±10.95 ^b	68.33±10.42 ^a	155.00±59.23 ^a	117.67±38.53 ^a
20	75.00±4.14 ^a	63.33±14.54 ^a	160.00±68.42 ^a	130.33±91.51 ^a
F-test	**	**	*	*
B: ระยะเวลา (วัน)				
1	92.00±8.19 ^b	91.00±9.24 ^c	276.20±66.19	228.60±56.43
2	91.00±8.67 ^b	74.00±14.05 ^b	200.00±96.54	176.80±111.52
3	77.00±15.49 ^a	62.00±19.81 ^a	147.60±100.42	127.80±151.83
F-test	**	**	**	ns
C: ชิ้นส่วนพืช				
	86.67±13.16 ^b	75.67±19.10 ^a	207.93±98.90 ^b	177.73±113.42 ^a
F-test	**		*	
C.V. (%)	21.29		54.80	

หมายเหตุ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 2 อัตราการรอดชีวิตและจำนวนต้นที่งอกทั้งหมดของข้าวและใบลินเคอเนีย ภายหลังจากได้รับสารโคลชิซิน และเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS เป็นเวลา 30 วัน ภายใต้อสภาพปลอดเชื้อ

ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)	ระยะเวลาในการแช่ (วัน)	จำนวนชิ้นส่วนที่ใช้ (ชิ้น)		อัตรา การรอดชีวิต (%)		จำนวนต้นที่งอกจากชิ้นส่วนทั้งหมด	
		ข้อ	ใบ	ข้อ	ใบ	ข้อ	ใบ
0	1	20	20	100	100	386	306
	2	20	20	100	100	369	376
	3	20	20	100	100	306	396
5	1	20	20	100	100	282	252
	2	20	20	95	75	146	118
	3	20	20	90	60	182	92
10	1	20	20	95	95	261	212
	2	20	20	95	60	192	133
	3	20	20	60	50	50	37
15	1	20	20	85	80	217	152
	2	20	20	90	70	149	125
	3	20	20	65	55	99	76
20	1	20	20	80	80	235	221
	2	20	20	75	65	144	132
	3	20	20	70	45	101	38

1.2 การเจริญเติบโตของลินเคอเนียจากชิ้นส่วนของข้อและใบ หลังได้รับสารละลายโคลชิซินและเพาะเลี้ยงภายใต้สภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 60 วัน

ความสูงและความยาวปล้อง

ข้อและใบที่แช่ในสารละลายโคลชิซินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 60 วัน พบว่า ข้อและใบที่ได้รับ

สารละลายโคลชิซินส่งผลให้ต้นที่ได้มีความสูงต้นน้อยกว่าต้นในชุดควบคุม และสารละลายโคลชิซินที่ความเข้มข้น 5 ppm ส่งผลให้ต้นที่ได้มีความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 3.29 ± 0.43 และ 3.61 ± 0.70 เซนติเมตร ตามลำดับ และระยะเวลาในการแช่ 1 วัน ส่งผลให้มีความสูงต้นน้อยที่สุดเช่นเดียวกัน คือ 3.39 ± 0.52 และ 3.77 ± 0.65 เซนติเมตร ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาถึงความยาวปล้อง พบว่า มีแนวโน้มคล้ายกับความสูงต้น คือ ทั้งข้อและใบที่ได้รับสารโคลชิซิน ส่งผลให้ต้นที่ได้มีความยาวปล้องน้อยกว่าต้นในชุดควบคุม และที่ความเข้มข้น 5 ppm ส่งผลให้มีความยาวปล้องน้อยที่สุดเช่นเดียวกัน โดยมีความยาวปล้องเท่ากับ 0.87 ± 0.18 และ 0.86 ± 0.25 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนระยะเวลาในการแช่ พบว่า ระยะเวลาในการแช่น้อยส่งผลให้มีความยาวปล้องน้อย และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชิ้นส่วนของข้อและใบต่อความสูงต้นและความยาวปล้องพบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยต้นที่เจริญมาจากชิ้นส่วนข้อมีความสูงต้นและความยาวปล้องน้อยกว่าต้นที่เจริญมาจากชิ้นส่วนใบ และเมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่าง 3 ปัจจัยคือ ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน ระยะเวลาในการแช่สาร และชิ้นส่วนของพืชพบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3) สำหรับต้นที่ได้รับสารโคลชิซินบางต้นโตช้า บางต้นโตเร็ว แต่โดยส่วนใหญ่ต้นที่ได้รับสารโคลชิซิน เมื่อเปรียบเทียบกับต้นในชุดควบคุม ความสูงมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และชิ้นส่วนข้อและใบที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 5 ppm เป็นเวลา 1 วัน ส่งผลให้ต้นที่ได้มีความสูงต้นเฉลี่ยน้อยกว่าทรีทเมนต์อื่น คือ 3.08 ± 0.52 และ 3.20 ± 0.55 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4) แสดงให้เห็นว่าสารโคลชิซินมีผลต่อความยาวปล้อง ส่งผลให้ต้นที่ได้รับสารโคลชิซินมีความสูงต้นลดลง แต่ต้นที่ได้มีความแข็งแรงเพิ่มมากขึ้น โดยมีลักษณะของลำต้นหนากว่าเมื่อเปรียบเทียบกับต้นในชุดควบคุม (ภาพที่ 5)

ขนาดใบ

จากการวัดความกว้างและความยาวใบของต้นลินเดอเนีย หลังจากได้รับสารโคลชิซิน 60 วัน พบว่า ความเข้มข้นของสารโคลชิซินต่อความกว้างและความยาวใบเฉลี่ยของต้นลินเดอเนียที่ได้จากข้อและใบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยต้นที่เกิดจากชิ้นส่วนข้อและใบจากชุดควบคุมมีความกว้างใบเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 0.23 ± 0.03 และ 0.22 ± 0.02 เซนติเมตร ตามลำดับ และความยาวใบเฉลี่ยน้อยที่สุดเช่นเดียวกัน คือ 0.53 ± 0.07 และ 0.53 ± 0.08 เซนติเมตร ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารโคลชิซินและระยะเวลาในการแช่ต่อความกว้างและความยาวใบของต้นลินเดอเนียที่ได้จากข้อและใบ พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อิทธิพลร่วมระหว่าง 3 ปัจจัย ต่อความกว้างและความยาวใบพบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 5) สำหรับต้นลินเดอเนียที่ได้รับสารโคลชิซินทุกความเข้มข้นพบว่า มีความยาวใบเฉลี่ย

เพิ่มขึ้น ส่วนความกว้างใบเฉลี่ยเพิ่มมากขึ้นเกือบ 2 เท่าของชุดควบคุม แสดงให้เห็นว่า สารโคลชิซินมีผลต่อขนาดของใบลินเดอเนีย ส่งผลให้ใบมีขนาดใหญ่ขึ้น (ตารางที่ 6)

จำนวนรากและความยาวราก

จากการนับจำนวนรากและวัดความยาวรากของต้นลินเดอเนีย หลังจากได้รับสารโคลชิซิน 60 วัน พบว่า ความเข้มข้นของสารโคลชิซินต่อจำนวนและความยาวรากเฉลี่ยของต้นลินเดอเนียที่เจริญมาจากข้อและใบ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยต้นที่ได้จากชิ้นส่วนข้อและใบจากชุดควบคุมมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด คือ 23.25 ± 4.91 และ 26.35 ± 4.15 ราก ตามลำดับ และความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด คือ 2.53 ± 0.35 และ 2.41 ± 0.31 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนระยะเวลาในการแช่มีผลต่อจำนวนรากและความยาวรากเช่นเดียวกัน โดยเมื่อระยะเวลาในการแช่เพิ่มขึ้นจะส่งผลให้มีจำนวนรากและความยาวรากมากขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชิ้นส่วนของข้อและใบพบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติต่อจำนวนราก แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งต่อความยาวราก โดยต้นที่เจริญมาจากชิ้นส่วนข้อมีความยาวรากสั้นกว่าต้นที่เจริญมาจากชิ้นส่วนใบ และเมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่าง 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่ต่อจำนวนรากและความยาวรากของต้นลินเดอเนียที่เจริญมาจากข้อและใบ พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 7) โดยต้นที่ได้จากชิ้นส่วนข้อและใบในกลุ่มชุดควบคุม มีแนวโน้มว่ามีจำนวนรากและความยาวรากมากที่สุด ส่วนต้นที่ได้รับสารโคลชิซินเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่า มีจำนวนรากและความยาวรากลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 8) แสดงให้เห็นว่าสารโคลชิซินมีผลต่อจำนวนรากและความยาวราก ส่งผลให้ต้นที่ได้มีจำนวนรากและความยาวรากลดลง แต่รากมีลักษณะอวบและแข็งแรงมากขึ้น (ภาพที่ 6)

ตารางที่ 3 อิทธิพลของชิ้นส่วนพืช ความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่สารต่อ ความสูงต้นและความยาวปล้องของต้นดินเดอเนี่ยที่เจริญมาจากชิ้นส่วนข้อและใบ หลัง ได้รับสาร โคลชิซิน 60 วัน ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

ทรีทเมนต์	ความสูงต้น (ซม.)		ความยาวปล้อง (ซม.)	
	ข้อ	ใบ	ข้อ	ใบ
A: ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)				
0	3.69±0.36 ^{b1/2/}	4.45±0.68 ^c	1.15±0.14 ^c	1.32±0.16 ^c
5	3.29±0.43 ^a	3.61±0.70 ^a	0.87±0.18 ^a	0.86±0.25 ^a
10	3.64±0.83 ^b	4.27±1.01 ^{bc}	0.88±0.18 ^a	0.97±0.20 ^b
15	3.86±0.52 ^b	3.99±0.54 ^b	0.99±0.21 ^b	0.96±0.18 ^b
20	3.61±0.66 ^b	3.95±0.99 ^b	0.99±0.21 ^b	0.96±0.22 ^b
F-test	**	**	**	**
B: ระยะเวลา (วัน)				
1	3.39±0.52 ^a	3.77±0.65 ^a	0.88±0.17 ^a	0.93±0.27 ^a
2	3.75±0.42 ^b	4.14±0.84 ^b	0.97±0.16 ^b	1.07±0.20 ^b
3	3.73±0.77 ^b	4.25±0.96 ^b	1.08±0.24 ^c	1.04±0.27 ^b
F-test	**	**	**	**
A × B	**	**	**	**
C: ชิ้นส่วนพืช	3.62±0.61 ^a	4.05±0.85 ^b	0.98±0.21 ^a	1.01±0.26 ^b
F-test	**		**	
A × C	*		**	
B × C	ns		**	
A × B × C	**		*	
C.V. (%)	20.05		24.00	

หมายเหตุ * มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์
 ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์
 ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ
^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ
 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 4 ความสูงและความยาวปล้องของต้นลินเคอเนียที่ได้จากชิ้นส่วนข้อและใบ หลังได้รับสารโคลชิซิน 60 วัน ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

ความเข้มข้น ของสารโคล- ชิซิน (ppm)	ระยะเวลา (วัน)	ความสูงต้น (เซนติเมตร)		ความยาวปล้อง (เซนติเมตร)	
		ชิ้นส่วนพืช		ชิ้นส่วนพืช	
		ข้อ	ใบ	ข้อ	ใบ
0	1	3.56±0.46 ^{abc1/2/}	4.58±0.61 ^{cd}	1.08±0.17 ^{def}	1.37±0.21 ^g
	2	3.80±0.30 ^{bcd}	3.81±0.40 ^{ab}	1.13±0.09 ^{efg}	1.31±0.13 ^g
	3	3.72±0.28 ^{bcd}	4.95±0.47 ^{de}	1.24±0.11 ^g	1.26±0.12 ^{fg}
5	1	3.08±0.52 ^a	3.20±0.55 ^a	0.84±0.14 ^{ab}	0.70±0.11 ^a
	2	3.32±0.39 ^{ab}	3.61±0.51 ^{ab}	0.83±0.19 ^{ab}	0.91±0.20 ^{bcd}
	3	3.48±0.30 ^{abc}	4.00±0.81 ^{bc}	0.95±0.20 ^{bcd}	0.97±0.31 ^{bcd}
10	1	3.37±0.40 ^{ab}	3.51±0.29 ^{ab}	0.79±0.07 ^a	0.83±0.16 ^{ab}
	2	3.82±0.37 ^{bcd}	5.25±1.12 ^e	0.96±0.11 ^{bcd}	1.13±0.14 ^{ef}
	3	3.74±1.30 ^{bcd}	4.05±0.41 ^{bc}	0.89±0.27 ^{abc}	0.96±0.19 ^{bcd}
15	1	3.50±0.64 ^{abc}	3.76±0.52 ^{ab}	0.79±0.12 ^a	0.88±0.14 ^{bc}
	2	4.12±0.37 ^d	4.09±0.37 ^{bc}	1.00±0.13 ^{cde}	0.95±0.09 ^{bcd}
	3	3.96±0.32 ^{cd}	4.13±0.66 ^{bc}	1.20±0.12 ^{fg}	1.06±0.23 ^{de}
20	1	3.45±0.50 ^{abc}	3.78±0.33 ^{ab}	0.88±0.12 ^{abc}	0.88±0.11 ^{bcd}
	2	3.66±0.29 ^{bcd}	3.94±0.43 ^{bc}	0.95±0.14 ^{bcd}	1.04±0.16 ^{cde}
	3	3.73±0.99 ^{bcd}	4.13±1.67 ^{bc}	1.14±0.26 ^{efg}	0.95±0.33 ^{bcd}
F-test		**	**	**	**
C.V. (%)		16.85	20.99	21.43	25.74

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 5 อิทธิพลของชิ้นส่วนพืช ความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่สารต่อ ความกว้างและความยาวใบของต้นดินเดอเนียที่เจริญมาจากชิ้นส่วนข้อและใบ หลัง ได้รับสาร โคลชิซิน 60 วัน ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

พรีทเมนต์	ความกว้างใบ (ซม.)		ความยาวใบ (ซม.)	
	ข้อ	ใบ	ข้อ	ใบ
A: ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)				
0	0.23±0.03 ^{a1/2/}	0.22±0.02 ^a	0.53±0.07 ^a	0.53±0.08 ^a
5	0.41±0.05 ^b	0.46±0.12 ^b	0.67±0.12 ^b	0.62±0.13 ^b
10	0.39±0.08 ^b	0.43±0.10 ^b	0.70±0.41 ^b	0.70±0.13 ^c
15	0.42±0.06 ^b	0.43±0.09 ^b	0.68±0.09 ^b	0.69±0.10 ^c
20	0.40±0.07 ^b	0.44±0.10 ^b	0.67±0.10 ^b	0.71±0.12 ^c
F-test	**	**	**	**
B: ระยะเวลา (วัน)				
1	0.38±0.09 ^b	0.41±0.12	0.65±0.12	0.63±0.13 ^a
2	0.38±0.09 ^b	0.40±0.12	0.62±0.10	0.64±0.11 ^{ab}
3	0.35±0.11 ^a	0.38±0.14	0.68±0.33	0.68±0.15 ^b
F-test	*	ns	ns	*
A × B	**	**	**	**
C: ชิ้นส่วนพืช	0.37±0.09 ^a	0.40±0.13 ^b	0.65±0.21	0.65±0.13
F-test	**		ns	
A × C	ns		ns	
B × C	ns		ns	
A × B × C	ns		ns	
C.V. (%)	28.95		26.15	

หมายเหตุ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละตัวมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 6 ความกว้างและความยาวใบของต้นลินเดอเนียที่ได้จากชิ้นส่วนข้อและใบ หลังได้รับสารโคลชิซิน 60 วัน ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

ความเข้มข้น ของสารโคลชิ ซิน (ppm)	ระยะเวลา (วัน)	ความกว้างใบ (เซนติเมตร)		ความยาวใบ (เซนติเมตร)	
		ชิ้นส่วนพืช		ชิ้นส่วนพืช	
		ข้อ	ใบ	ข้อ	ใบ
0	1	0.24±0.03 ^{a1/2/}	0.22±0.02 ^a	0.49±0.04 ^a	0.48±0.05 ^a
	2	0.23±0.03 ^a	0.22±0.02 ^a	0.53±0.67 ^{ab}	0.53±0.07 ^{ab}
	3	0.21±0.02 ^a	0.23±0.02 ^a	0.58±0.08 ^c	0.58±0.08 ^{bc}
5	1	0.40±0.06 ^{cde}	0.46±0.05 ^b	0.63±0.07 ^{abc}	0.54±0.06 ^{ab}
	2	0.42±0.05 ^{cde}	0.47±0.07 ^b	0.67±0.13 ^{abcd}	0.69±0.07 ^{de}
	3	0.41±0.06 ^{cde}	0.44±0.20 ^b	0.71±0.13 ^{bcd}	0.62±0.17 ^{bcd}
10	1	0.39±0.04 ^{bcd}	0.43±0.09 ^b	0.65±0.10 ^{abc}	0.87±0.11 ^{cde}
	2	0.37±0.05 ^{bc}	0.46±0.14 ^b	0.61±0.08 ^{abc}	0.66±0.13 ^{cde}
	3	0.41±0.12 ^{cde}	0.41±0.06 ^b	0.84±0.70 ^d	0.76±0.12 ^e
15	1	0.45±0.03 ^e	0.46±0.12 ^b	0.74±0.08 ^{cd}	0.71±0.11 ^{de}
	2	0.42±0.05 ^{cde}	0.42±0.05 ^b	0.64±0.04 ^{abc}	0.64±0.07 ^{cd}
	3	0.39±0.08 ^{bcd}	0.41±0.08 ^b	0.64±0.09 ^{abc}	0.72±0.12 ^{de}
20	1	0.43±0.06 ^{de}	0.47±0.05 ^b	0.74±0.11 ^{cd}	0.75±0.09 ^e
	2	0.44±0.05 ^{de}	0.43±0.07 ^b	0.66±0.09 ^{abc}	0.70±0.10 ^{de}
	3	0.34±0.07 ^b	0.42±0.15 ^b	0.62±0.08 ^{abc}	0.70±0.16 ^{de}
F-test		**	**	**	**
C.V. (%)		24.32	32.50	32.31	20.00

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 7 อิทธิพลของชิ้นส่วนพืช ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่สารต่อ
จำนวนรากและความยาวรากของต้นลินเดอเนี่ยที่เจริญมาจากชิ้นส่วนข้อและใบ หลัง
ได้รับสารโคลชิซิน 60 วัน ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

ทรีทเมนต์	จำนวนราก		ความยาวราก (ซม.)	
	ข้อ	ใบ	ข้อ	ใบ
A: ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)				
0	23.25±4.91 ^{c1/2/}	26.35±4.15 ^b	2.53±0.35 ^c	2.41±0.31 ^b
5	12.20±2.59 ^a	13.04±3.65 ^b	1.73±0.28 ^a	2.10±0.45 ^a
10	12.46±3.69 ^{ab}	12.97±2.90 ^a	1.86±0.47 ^{ab}	2.19±0.28 ^a
15	13.85±2.30 ^b	12.42±2.48 ^a	1.97±0.29 ^b	2.15±0.30 ^a
20	12.61±2.67 ^{ab}	11.66±3.34 ^a	1.86±0.38 ^{ab}	2.19±0.41 ^a
F-test	**	**	**	**
B: ระยะเวลา (วัน)				
1	14.05±4.16 ^a	14.61±5.59 ^a	1.92±0.37 ^a	2.13±0.33 ^a
2	14.36±4.02 ^a	14.66±5.37 ^a	1.92±0.40 ^a	2.23±0.29 ^{ab}
3	16.22±7.21 ^b	16.59±8.05 ^b	2.11±0.55 ^b	2.27±0.45 ^b
F-test	**	**	**	*
A × B	**	**	**	**
C: ชิ้นส่วนพืช	14.88±5.39	15.29±6.48	1.99±0.45 ^a	2.21±0.37 ^b
F-test	ns		**	
A × C	**		**	
B × C	ns		ns	
A × B × C	ns		**	
C.V. (%)	39.52		20.48	

หมายเหตุ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ
เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

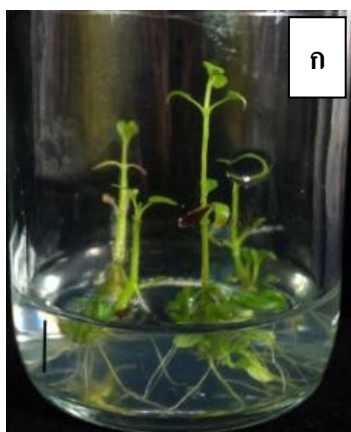
ตารางที่ 8 จำนวนรากและความยาวรากของต้นลินเดอเนียที่ได้จากชิ้นส่วนข้อและใบ หลังได้รับสารโคลชิซิน 60 วัน ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

ความเข้มข้น ของสารโคลชิ ซิน (ppm)	ระยะเวลา (วัน)	จำนวนราก (ราก)		ความยาวราก (เซนติเมตร)	
		ชิ้นส่วนพืช		ชิ้นส่วนพืช	
		ข้อ	ใบ	ข้อ	ใบ
0	1	20.30±2.75 ^{d1/2/}	24.71±2.36 ^c	2.29±0.17 ^{fg}	2.41±0.39 ^{cd}
	2	21.17±1.98 ^d	23.82±2.58 ^c	2.38±0.23 ^g	2.33±0.28 ^{bcd}
	3	28.28±4.84 ^e	30.51±3.73 ^d	2.90±0.28 ^h	2.49±0.23 ^d
5	1	11.61±2.87 ^{ab}	13.15±2.22 ^{ab}	1.59±0.27 ^a	1.91±0.26 ^a
	2	11.15±1.78 ^a	11.54±2.38 ^{ab}	1.71±0.23 ^{abc}	2.17±0.29 ^{abcd}
	3	13.83±2.36 ^{abc}	14.42±5.21 ^b	1.87±0.27 ^{abcd}	2.22±0.66 ^{abcd}
10	1	12.22±3.24 ^{abc}	12.42±2.19 ^{ab}	1.76±0.25 ^{abcd}	2.02±0.22 ^{ab}
	2	12.24±1.90 ^{abc}	13.26±4.01 ^{ab}	1.59±0.33 ^a	2.34±0.34 ^{bcd}
	3	12.92±5.37 ^{abc}	13.24±2.33 ^{ab}	2.21±0.56 ^{efg}	2.21±0.18 ^{abcd}
15	1	12.86±2.43 ^{abc}	12.22±1.80 ^{ab}	2.03±0.42 ^{def}	2.05±0.30 ^{ab}
	2	14.62±1.54 ^c	12.62±2.62 ^{ab}	1.94±0.17 ^{bcd}	2.18±0.28 ^{abcd}
	3	14.07±2.60 ^{bc}	12.37±3.06 ^{ab}	1.93±0.23 ^{bcd}	2.22±0.33 ^{abcd}
20	1	13.24±2.35 ^{abc}	10.53±2.47 ^a	1.93±0.28 ^{bcd}	2.23±0.25 ^{abcd}
	2	12.60±1.88 ^{abc}	12.04±1.83 ^{ab}	1.99±0.47 ^{cde}	2.12±0.25 ^{abc}
	3	12.01±3.58 ^{abc}	12.40±4.90 ^{ab}	1.67±0.31 ^{ab}	2.21±0.62 ^{abcd}
F-test		**	**	**	**
C.V. (%)		36.25	42.38	22.61	16.74

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

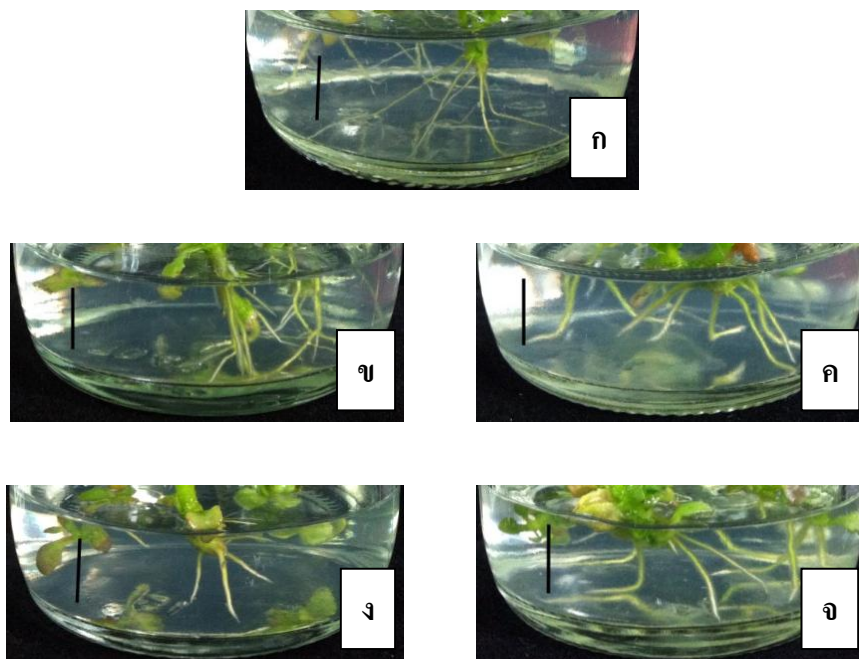
^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)



ภาพที่ 5 ลักษณะต้นดินเดอเนียหลังจากได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 5 ระดับ

- | | |
|--------------------------------------|------------------------------|
| (ก) ไม่ได้รับสารโคลชิซิน (ชุดควบคุม) | (ข) ได้รับสารโคลชิซิน 5 ppm |
| (ค) ได้รับสารโคลชิซิน 10 ppm | (ง) ได้รับสารโคลชิซิน 15 ppm |
| (จ) ได้รับสารโคลชิซิน 20 ppm | |



ภาพที่ 6 ลักษณะรากของต้นดินเคอเนีย หลังจากได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 5 ระดับ

- | | |
|--------------------------------------|------------------------------|
| (ก) ไม่ได้รับสารโคลชิซิน (ชุดควบคุม) | (ข) ได้รับสารโคลชิซิน 5 ppm |
| (ค) ได้รับสารโคลชิซิน 10 ppm | (ง) ได้รับสารโคลชิซิน 15 ppm |
| (จ) ได้รับสารโคลชิซิน 20 ppm | |

1.3 ความถี่ของการเกิดโพลีพลอยด์ของต้นดินเคอเนีย

ความถี่ของการเกิดโพลีพลอยด์ของต้นที่ได้จากชิ้นส่วนข้อและใบหลังได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่สารแตกต่างกัน พบว่า ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน ระยะเวลาในการแช่สาร และชิ้นส่วนพืชต่อความถี่ของการเกิดโพลีพลอยด์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยการใช้สารโคลชิซินทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ได้ และเมื่อความเข้มข้นของสารละลายสูงขึ้น ระยะเวลาในการแช่สารนานขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ลดลง (ตารางที่ 9) โดยความเข้มข้นของสารโคลชิซิน 10 ppm เป็นเวลา 1 วัน ส่งผลให้ชิ้นส่วนข้อสามารถชักนำให้เกิดต้นโพลีพลอยด์จำนวน 43 ต้น คิดเป็นความถี่ของการเกิดโพลีพลอยด์ 10.70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ได้สูงที่สุด และรองลงมาความเข้มข้นของสารโคลชิซิน 5 ppm เป็นเวลา 1 วัน 20 ppm เป็นเวลา 1 วัน และ 15 ppm เป็นเวลา 1 วัน สามารถชักนำให้เกิดต้นโพลีพลอยด์จำนวน 34 33 และ 26 ต้น ตามลำดับ คิดเป็นความถี่ของการ

ชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ 8.46 8.21 และ 6.47 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสำหรับชิ้นส่วนของใบพบว่า สารโคลชิซินความเข้มข้น 15 ppm เป็นเวลา 1 วัน สามารถชักนำให้เกิดต้นโพลีพลอยด์ได้สูงสุดจำนวน 17 ต้น คิดเป็นความถี่ของการเกิดโพลีพลอยด์ 4.23 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 10) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชิ้นส่วนของข้อและใบพบว่า การใช้ชิ้นส่วนข้อสามารถชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ได้มากกว่าชิ้นส่วนใบ (ตารางที่ 9)

1.4 อัตราการรอดชีวิตหลังออกปลูกของต้นที่เจริญมาจากข้อและใบที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์

นำต้นที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์ โดยมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาไปจากต้นในชุดควบคุม คือ ใบมีสีเขียวเข้ม ขนาดใหญ่ และหนา ขอบใบหยักชัดเจน ลำต้นหนา ปล้องสั้น และรากมีขนาดใหญ่ นำมาออกปลูกในถาดหลุมโดยใช้พีทมอสเป็นวัสดุปลูก พบว่าความเข้มข้นของสาร โคลชิซินและชิ้นส่วนพืช มีอิทธิพลต่ออัตราการรอดชีวิตหลังออกปลูก โดยต้นในชุดควบคุมที่ได้จากชิ้นส่วนข้อและใบมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นที่ได้รับสาร โคลชิซินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่ที่แตกต่างกัน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตหลังออกปลูกลดลง โดยต้นที่เจริญมาจากชิ้นส่วนของข้อมีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 94.30 ± 6.13 เปอร์เซ็นต์ และต้นที่เจริญมาจากชิ้นส่วนของใบมีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 62.74 ± 28.67 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 11) แสดงให้เห็นว่าต้นที่เจริญมาจากชิ้นส่วนข้อ มีอัตราการรอดชีวิตมากกว่าต้นที่เจริญมาจากชิ้นส่วนใบ และจากตารางที่ 12 พบว่า ต้นที่เจริญมาจากชิ้นส่วนใบโดยได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 20 ppm เป็นเวลา 3 วัน ส่งผลให้มีอัตราการรอดชีวิตหลังออกปลูก 0.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีจำนวนต้นที่รอดชีวิต และที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มีจำนวนต้นที่รอดชีวิตน้อยมาก จึงทำให้ผู้วิจัยเลือกเฉพาะต้นที่เจริญมาจากชิ้นส่วนของข้อ เพื่อทำการศึกษารูปร่างโตทางสัณฐานวิทยาหลังออกปลูกต่อไป

ตารางที่ 9 อิทธิพลของชิ้นส่วนพืช ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่สารต่อความถี่ของการเกิดโพลีพลอยด์ของดินเคอเนีย หลังได้รับสารโคลชิซิน 60 วัน ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

ทรีทเมนต์	จำนวนต้นโพลีพลอยด์		ความถี่ของการเกิดโพลีพลอยด์	
	ข้อ	ใบ	ข้อ	ใบ
A: ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)				
0	0.00±0.00 ^{a1/2/}	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
5	23.33±11.59 ^b	10.67±4.16 ^b	5.81±2.88 ^b	2.65±1.04 ^b
10	22.00±18.19 ^b	8.67±2.52 ^b	5.47±4.53 ^{ab}	2.16±0.63 ^b
15	21.33±4.16 ^b	14.00±3.00 ^b	4.56±1.87 ^{ab}	3.48±0.75 ^b
20	22.00±11.00 ^b	12.00±5.20 ^b	5.47±2.74 ^{ab}	2.98±1.29 ^b
F-test	*	*	*	*
B: ระยะเวลา (วัน)				
1	27.20±16.36	11.40±6.73	6.77±4.07 ^b	2.84±1.67
2	15.40±9.89	10.00±6.04	3.83±2.46 ^{ab}	2.49±1.50
3	10.60±7.09	5.80±3.90	2.19±1.23 ^a	1.44±0.97
F-test	ns	ns	*	ns
C: ชิ้นส่วนพืช				
	17.73±13.07 ^b	9.07±5.81 ^a	4.27±3.28 ^b	2.25±1.45 ^a
F-test	*		**	
C.V. (%)	81.12		82.51	

หมายเหตุ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 10 ความถี่ของการเกิดโพลีพลอยด์จากชิ้นส่วนข้อและใบของลินเดอเนีย หลังจากได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ความเข้มข้นของ สารโคลชิซิน (ppm)	ระยะเวลา ในการแช่ (วัน)	จำนวน		ความถี่ของการเกิด	
		ต้นโพลีพลอยด์		โพลีพลอยด์ (%)	
		ข้อ	ใบ	ข้อ	ใบ
0	1	0	0	0.00	0.00
	2	0	0	0.00	0.00
	3	0	0	0.00	0.00
5	1	34	14	8.46	3.48
	2	25	12	6.22	2.98
	3	11	6	2.74	1.49
10	1	43	11	10.70	2.74
	2	12	9	2.98	2.24
	3	11	6	2.74	1.49
15	1	26	17	6.47	4.23
	2	18	14	4.48	3.48
	3	20	11	2.74	2.74
20	1	33	15	8.21	3.73
	2	22	15	5.47	3.73
	3	11	6	2.74	1.49

ตารางที่ 11 อิทธิพลของขึ้นส่วนพืช ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่สารต่อ อัตราการรอดชีวิตหลังออกปลูกของต้นดินเดอเนีย

ทรีทเมนต์	จำนวนต้นโพลีพลอยด์	
	ข้อ	ใบ
A: ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)		
0	100.00±0.00 ^{c1/2/}	100.00±0.00 ^c
5	97.33±2.31 ^{bc}	53.97±22.88 ^{ab}
10	87.41±3.82 ^a	66.83±14.80 ^{bc}
15	89.78±6.34 ^{ab}	64.03±18.45 ^{ab}
20	96.97±5.25 ^{bc}	28.87±26.94 ^a
F-test	*	*
B: ระยะเวลา (วัน)		
1	96.00±4.90	77.39±16.87
2	92.53±8.56	65.08±25.58
3	94.36±5.16	45.76±36.08
F-test	ns	ns
C: ขึ้นส่วนพืช	94.30±6.13 ^b	62.74±28.67 ^a
F-test	**	
C.V. (%)	33.02	

หมายเหตุ * มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์
 ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์
 ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ
^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ
 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 12 อัตราการรอดชีวิตหลังออกปลูกของต้นลินเคอเนียที่เจริญมาจากชิ้นส่วนของข้อและใบ

ความเข้มข้นของ สารโคลชิซิน (ppm)	ระยะเวลา ในการแช่ (วัน)	อัตราการรอดชีวิตหลังออกปลูก (%)	
		ข้อ	ใบ
0	1	100.00	100.00
	2	100.00	100.00
	3	100.00	100.00
5	1	96.00	78.57
	2	96.00	50.00
	3	100.00	33.33
10	1	88.00	72.72
	2	83.33	77.78
	3	90.90	50.00
15	1	96.00	82.35
	2	83.33	64.28
	3	90.00	45.45
20	1	100.00	53.33
	2	100.00	33.33
	3	90.90	0.00

1.5 เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาหลังออกปลูก ระหว่างต้นลินเดอเนียที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกันกับต้นลินเดอเนียในชุดควบคุม (ศึกษาเฉพาะต้นที่เจริญมาจากชิ้นส่วนของข้อ)

ความสูง

นำต้นลินเดอเนียที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์ ซึ่งเจริญมาจากชิ้นส่วนของข้อที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน และต้นในชุดควบคุมมาออกปลูก จากนั้นคัดเลือกต้นที่รอดชีวิตหลังออกปลูกทริทเมนต์ละ 10 ต้น ศึกษาการเจริญเติบโตทางด้านความสูง หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน พบว่า ความเข้มข้นของสารโคลชิซินและระยะเวลาในการแช่ข้อต่อความสูงของต้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยต้นในชุดควบคุมหลังออกปลูก 45 วัน มีความสูงต้นน้อยกว่าต้นที่ได้รับสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่ข้อนานขึ้น ส่งผลให้ต้นมีความสูงลดลง และอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยทั้ง 2 ต่อความสูงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 13) โดยความสูงต้นในชุดควบคุมมีแนวโน้มน้อยกว่าต้นที่ได้รับสารโคลชิซิน ซึ่งต้นที่ได้รับสารโคลชิซินบางต้นโตช้า บางต้นโตเร็ว แต่ส่วนใหญ่มีความสูงต้นมากกว่าชุดควบคุม (ตารางที่ 14) ส่วนต้นที่ได้รับสารโคลชิซินแต่มีความสูงต้นน้อยกว่าต้นในชุดควบคุม จะมีลักษณะต้นและใบแตกต่างไปจากต้นในชุดควบคุมอย่างเห็นได้ชัด แต่ต้นที่มีลักษณะเช่นนี้มีน้อย ซึ่งจะพบในความเข้มข้น 10 ppm

ความยาวปล้อง

ความยาวปล้องของต้นลินเดอเนียที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์ ซึ่งเจริญมาจากชิ้นส่วนของข้อที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน เปรียบเทียบกับต้นในชุดควบคุม (ต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซิน) หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน พบว่า ความเข้มข้นของสารโคลชิซินต่อความยาวปล้องมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยต้นในชุดควบคุมหลังออกปลูก 15 และ 45 วัน ความยาวปล้องมีแนวโน้มน้อยกว่าต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ส่วนระยะเวลาในการแช่ข้อต่อความยาวปล้องมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในช่วง 15 วันแรก หลังออกปลูก โดยระยะเวลาในการแช่ข้อนานขึ้น ส่งผลให้มีความยาวปล้องสั้นลง แต่หลังจากออกปลูก 30 และ 45 วัน ความยาวปล้องไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยทั้ง 2 ต่อความยาวปล้องมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยหลังออกปลูก 45 วัน จะเห็นได้ชัดว่าความ

ยาวปล้องของต้นในชุดควบคุมน้อยกว่าต้นที่ได้รับสารโคลชิซิน จึงส่งผลให้ต้นที่ได้รับสารโคลชิซินมีความสูงต้นมากกว่าต้นในชุดควบคุม(ตารางที่ 15 และ 16)

ความหนาของลำต้น

ความหนาของลำต้นลินเดอเนียที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์ ซึ่งเจริญมาจากชิ้นส่วนของข้อที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน เปรียบเทียบกับต้นในชุดควบคุม (ต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซิน) หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน พบว่า ความเข้มข้นของสารโคลชิซินต่อความหนาของลำต้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยต้นในชุดควบคุมหลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน มีความหนาของลำต้นน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ได้รับสารโคลชิซิน โดยมีความหนาของลำต้นเท่ากับ 0.73 ± 0.09 0.83 ± 0.10 และ 0.93 ± 0.06 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนระยะเวลาในการแช่ต่อความหนาของลำต้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญหลังออกปลูก 15 และ 30 วัน โดยระยะเวลาในการแช่นานขึ้น ส่งผลให้มีความหนาของลำต้นน้อยลง และอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยทั้ง 2 ต่อความหนาของลำต้น มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 17) และพบว่า ต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นต่ำ แต่มีระยะเวลาในการแช่นาน และต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่สูง แต่มีระยะเวลาในการแช่น้อย จะส่งผลให้ต้นที่ได้มีความหนาของลำต้นเพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 18)

ขนาดใบ

ความกว้างและความยาวใบของต้นลินเดอเนียที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์ ซึ่งเจริญมาจากชิ้นส่วนของข้อที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน เปรียบเทียบกับต้นในชุดควบคุม (ต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซิน) หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน พบว่า ความเข้มข้นของสารโคลชิซินต่อความกว้างและความยาวใบ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยต้นในชุดควบคุมหลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน มีความกว้างใบน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ได้รับสารโคลชิซิน โดยมีความกว้างใบเท่ากับ 0.89 ± 0.08 1.17 ± 0.10 และ 1.22 ± 0.11 เซนติเมตร ตามลำดับ และความยาวใบของต้นในชุดควบคุมหลังออกปลูก 45 วัน มีความยาวใบน้อยที่สุด คือ 2.11 ± 0.16 เซนติเมตร ส่วนระยะเวลาในการแช่ต่อความกว้างและความยาวใบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญหลังออกปลูก 15 วัน และ 30 วัน โดยระยะเวลาในการแช่นาน ส่งผลให้ต้นที่ได้มีความกว้างและความยาวใบน้อยลง และอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยทั้ง 2 ต่อความกว้างและความยาวใบ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 19 และ 21) โดยต้นในชุดควบคุมมีความ

กว้างใบหลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน น้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ (ตารางที่ 20) ส่วนความยาวใบของต้นในชุดควบคุมหลังออกปลูก 45 วัน ความยาวใบมีแนวโน้มน้อยกว่าต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ (ตารางที่ 22)

จำนวนและขนาดของดอก

นำต้นลินเดอเนียที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์ ซึ่งเจริญมาจากชิ้นส่วนของข้อที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน เปรียบเทียบกับต้นในชุดควบคุม (ต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซิน) นับจำนวนดอกทั้งหมดหลังออกปลูก 45 วัน พบว่า ความเข้มข้นของสารโคลชิซินต่อจำนวนดอก มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยต้นในชุดควบคุมมีจำนวนดอกเฉลี่ยมากที่สุด คือ 12.13 ± 7.39 ดอก ซึ่งมีจำนวนดอกมากกว่าต้นที่ได้รับสารโคลชิซินในทุกความเข้มข้น ส่วนระยะเวลาในการแช่ต่อจำนวนดอก มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยระยะเวลาในการแช่นานขึ้น ส่งผลให้มีจำนวนดอกลดลง และอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยทั้ง 2 ต่อจำนวนดอก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 23) โดยจำนวนดอกของต้นในชุดควบคุมมีแนวโน้มมากกว่าจำนวนดอกของต้นที่ได้รับสารโคลชิซิน (ตารางที่ 24) และเมื่อวัดขนาดดอก พบว่า ความเข้มข้นของสารโคลชิซินมีผลต่อขนาดของดอก ส่งผลให้ความกว้าง ความยาว และความสูงของดอกแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังส่งผลให้มีความยาวก้านดอกที่แตกต่างกัน โดยต้นในชุดควบคุมมีความกว้าง ความยาว ความสูงดอก และความยาวก้านดอกน้อยที่สุด คือ 0.40 ± 0.06 1.00 ± 0.02 1.30 ± 0.05 และ 1.60 ± 0.32 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนระยะเวลาในการแช่ไม่มีผลต่อความกว้างและความยาวดอก แต่มีผลต่อความสูงดอกและความยาวก้านดอก โดยระยะเวลาในการแช่ที่นานขึ้นส่งผลให้มีความสูงดอกและความยาวก้านดอกเพิ่มมากขึ้น และอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยทั้ง 2 ต่อความกว้าง ความยาว ความสูงดอก และความยาวก้านดอกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 25) โดยต้นในกลุ่มชุดควบคุมมีความกว้าง ความยาว ความสูงดอก และความยาวก้านดอกน้อยกว่าต้นที่ได้รับสารโคลชิซินในทุกความเข้มข้น ส่วนต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 10 ppm เป็นเวลา 2 วัน มีความกว้าง ความยาว ความสูงดอก และความยาวก้านดอกมากกว่าต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นอื่น ๆ (ตารางที่ 26)

ตารางที่ 13 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารโคลชิซิน ระยะเวลาในการแช่สาร และอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่สารต่อความสูงของต้นลินเดอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน

ปัจจัย	ความสูงต้น (เซนติเมตร)		
	15 วัน	30 วัน	45 วัน
ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)			
0	6.67±1.51 ^{ab1/2/}	9.53±1.77 ^{ab}	15.61±3.08 ^a
5	6.83±1.97 ^{ab}	9.86±2.30 ^b	18.16±4.23 ^b
10	6.20±1.72 ^a	8.68±2.18 ^a	17.46±4.63 ^b
15	7.12±1.94 ^b	9.43±2.32 ^{ab}	17.55±4.64 ^b
20	6.33±1.97 ^a	8.87±2.53 ^a	16.96±4.31 ^{ab}
F-test	*	*	*
ระยะเวลา (วัน)			
1	6.82±1.87 ^b	9.74±2.16 ^b	17.65±4.04 ^b
2	7.07±1.64 ^b	9.89±1.96 ^b	18.44±4.02 ^b
3	6.01±1.88 ^a	8.19±2.27 ^a	15.35±4.17 ^a
F-test	**	**	**
ความเข้มข้น × เวลา	**	**	*
C.V. (%)	27.90	24.35	24.90

หมายเหตุ * มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์
 ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์
^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 14 ความสูงของต้นลินเดอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน

ความเข้มข้นของ สารโคลชิซิน (ppm)	ระยะเวลา (วัน)	ความสูงต้น (เซนติเมตร)		
		15 วัน	30 วัน	45 วัน
0	1	6.43±1.53 ^{bcd1/2/}	9.04±1.43 ^{bc}	15.19±2.72 ^{ab}
	2	6.93±1.48 ^{bcd}	10.26±1.72 ^{cd}	16.47±2.38 ^{abcd}
	3	6.65±1.58 ^{bcd}	9.31±1.99 ^{bcd}	15.18±3.95 ^{ab}
5	1	6.62±1.80 ^{bcd}	9.73±2.39 ^{bcd}	17.72±3.82 ^{bcd}
	2	7.29±2.27 ^{cd}	10.47±2.30 ^{cd}	19.05±4.68 ^{cd}
	3	6.57±1.86 ^{bcd}	9.40±2.24 ^{bcd}	17.71±4.29 ^{bcd}
10	1	5.80±1.82 ^b	8.79±2.18 ^{bc}	16.89±4.50 ^{abcd}
	2	6.42±1.45 ^{bcd}	9.09±2.23 ^{bc}	19.46±5.14 ^d
	3	6.39±1.92 ^{bcd}	8.16±2.17 ^b	16.03±3.74 ^{abc}
15	1	7.63±2.24 ^d	10.29±2.63 ^{cd}	19.03±4.61 ^{cd}
	2	7.63±1.44 ^d	9.97±1.68 ^{cd}	19.43±3.54 ^d
	3	6.11±1.78 ^{bc}	8.04±2.00 ^b	14.18±3.95 ^a
20	1	7.60±1.37 ^d	10.88±1.39 ^d	19.43±3.23 ^d
	2	7.07±1.32 ^{bcd}	9.69±1.71 ^{bcd}	17.79±3.42 ^{bcd}
	3	4.33±1.39 ^a	6.06±1.34 ^a	13.65±4.17 ^a
F-test		**	**	**
C.V. (%)		27.90	24.35	24.90

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์
^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ
เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 15 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารโคลชิซิน ระยะเวลาในการแช่สาร และอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่สารต่อความยาวปล้องของต้นลินเดอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน

ปัจจัย	ความยาวปล้อง (เซนติเมตร)		
	15 วัน	30 วัน	45 วัน
ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)			
0	2.35±2.40 ^{a1/2/}	2.32±0.36 ^{ab}	2.40±0.34 ^a
5	2.61±0.55 ^{bc}	2.46±0.43 ^b	2.72±0.54 ^b
10	2.40±0.60 ^{ab}	2.23±0.51 ^a	2.42±0.49 ^a
15	2.65±0.52 ^c	2.28±0.35 ^a	2.56±0.38 ^{ab}
20	2.45±0.52 ^{abc}	2.13±0.54 ^a	2.56±0.42 ^{ab}
F-test	*	**	**
ระยะเวลา (วัน)			
1	2.51±0.51 ^{ab}	2.33±0.41	2.58±0.44
2	2.58±0.52 ^b	2.31±0.40	2.58±0.45
3	2.38±0.56 ^a	2.20±0.54	2.44±0.45
F-test	*	ns	ns
ความเข้มข้น × เวลา	**	**	**
C.V. (%)	21.28	19.74	17.79

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 16 ความยาวปล้องของต้นดินเดอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน

ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)	ระยะเวลา (วัน)	ความยาวปล้อง (เซนติเมตร)		
		15 วัน	30 วัน	45 วัน
0	1	2.47±0.47 ^{bc1/2/}	2.25±0.47 ^{bcd}	2.47±0.39 ^{abcde}
	2	2.20±0.34 ^{ab}	2.22±0.21 ^{bcd}	2.24±0.26 ^a
	3	2.38±0.36 ^{bc}	2.48±0.32 ^{cd}	2.49±0.34 ^{abcde}
5	1	2.60±0.55 ^{bc}	2.35±0.49 ^{bcd}	2.77±0.55 ^e
	2	2.76±0.63 ^c	2.50±0.42 ^d	2.74±0.59 ^{de}
	3	2.47±0.44 ^{bc}	2.52±0.40 ^d	2.64±0.50 ^{bcde}
10	1	2.29±0.53 ^{ab}	2.31±0.45 ^{bcd}	2.39±0.51 ^{abcd}
	2	2.41±0.52 ^{bc}	2.09±0.50 ^b	2.55±0.49 ^{abcde}
	3	2.50±0.76 ^{bc}	2.28±0.58 ^{bcd}	2.32±0.48 ^{abc}
15	1	2.57±0.49 ^{bc}	2.30±0.38 ^{bcd}	2.59±0.39 ^{abcde}
	2	2.78±0.47 ^c	2.39±0.28 ^{bcd}	2.62±0.34 ^{bcde}
	3	2.59±0.60 ^{bc}	2.12±0.35 ^{bc}	2.47±0.40 ^{abcde}
20	1	2.62±0.47 ^{bc}	2.43±0.26 ^{bcd}	2.68±0.25 ^{cde}
	2	2.78±0.31 ^c	2.34±0.41 ^{bcd}	2.73±0.33 ^{de}
	3	1.96±0.37 ^a	1.63±0.51 ^a	2.28±0.49 ^{ab}
F-test		**	**	**
C.V. (%)		21.28	19.74	17.79

หมายเหตุ

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 17 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารโคลชิซิน ระยะเวลาในการแช่สาร และอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่สารต่อความหนาของลำต้นลินเดอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน

ปัจจัย	ความหนาของลำต้น (มิลลิเมตร)		
	15 วัน	30 วัน	45 วัน
ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)			
0	0.73±0.09 ^{a1/2/}	0.83±0.10 ^a	0.93±0.06 ^a
5	0.93±0.11 ^b	1.13±0.13 ^c	1.32±0.15 ^b
10	0.91±0.11 ^b	1.12±0.13 ^{bc}	1.36±0.13 ^b
15	0.90±0.14 ^b	1.06±0.14 ^b	1.34±0.15 ^b
20	0.91±0.14 ^b	1.07±0.15 ^b	1.36±0.17 ^b
F-test	**	**	**
ระยะเวลา (วัน)			
1	0.90±0.14 ^b	1.03±0.15 ^a	1.25±0.22
2	0.90±0.12 ^b	1.07±0.18 ^b	1.26±0.19
3	0.83±0.15 ^a	1.02±0.17 ^a	1.28±0.23
F-test	**	*	ns
ความเข้มข้น × เวลา	**	**	*
C.V. (%)	15.91	16.35	16.67

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ
 * มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
 ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์
^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 18 ความหนาของลำต้นลินเดอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน

ความเข้มข้นของ สารโคลชิซิน (ppm)	ระยะเวลา (วัน)	ความหนาของลำต้น (มิลลิเมตร)		
		15 วัน	30 วัน	45 วัน
0	1	0.76±0.12 ^{ab1/2/}	0.85±0.11 ^a	0.92±0.05 ^a
	2	0.73±0.06 ^{ab}	0.84±0.08 ^a	0.96±0.06 ^a
	3	0.70±0.07 ^a	0.80±0.11 ^a	0.92±0.05 ^a
5	1	0.89±0.15 ^{cd}	1.05±0.13 ^{bc}	1.23±0.13 ^b
	2	0.93±0.07 ^{de}	1.19±0.08 ^d	1.33±0.16 ^{bcd}
	3	0.97±0.10 ^{def}	1.14±0.13 ^{cd}	1.39±0.13 ^{cd}
10	1	0.91±0.11 ^{de}	1.08±0.15 ^{bc}	1.37±0.14 ^{cd}
	2	0.94±0.11 ^{def}	1.45±0.13 ^{cd}	1.35±0.12 ^{cd}
	3	0.89±0.10 ^{cd}	1.12±0.11 ^{bcd}	1.36±0.14 ^{cd}
15	1	0.92±0.12 ^{de}	1.05±0.12 ^{bc}	1.31±0.13 ^{bcd}
	2	0.99±0.09 ^{ef}	1.12±0.14 ^{bcd}	1.33±0.15 ^{bcd}
	3	0.81±0.16 ^{bc}	1.03±0.15 ^b	1.38±0.17 ^{cd}
20	1	1.02±0.07 ^f	1.11±0.09 ^{bcd}	1.43±0.16 ^d
	2	0.93±0.09 ^{de}	1.08±0.21 ^{bc}	1.31±0.12 ^{bc}
	3	0.78±0.13 ^{ab}	1.02±0.09 ^b	1.34±0.20 ^{bcd}
F-test		**	**	**
C.V. (%)		15.91	16.35	16.67

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์
^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ
เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 19 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารโคลชิซิน ระยะเวลาในการแช่สาร และอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่สารต่อความกว้างใบของต้นลินเดอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน

ปัจจัย	ความกว้างใบ (เซนติเมตร)		
	15 วัน	30 วัน	45 วัน
ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)			
0	0.89±0.08 ^{a1/2/}	1.17±0.10 ^a	1.22±0.11 ^a
5	1.28±0.17 ^c	1.71±0.21 ^c	1.85±0.17 ^b
10	1.17±0.20 ^b	1.58±0.18 ^b	1.87±0.17 ^b
15	1.23±0.21 ^{bc}	1.61±0.16 ^b	1.83±0.20 ^b
20	1.22±0.23 ^{bc}	1.59±0.19 ^b	1.86±0.17 ^b
F-test	**	**	**
ระยะเวลา (วัน)			
1	1.18±0.22 ^b	1.54±0.26 ^{ab}	1.71±0.30
2	1.24±0.22 ^c	1.56±0.25 ^b	1.75±0.29
3	1.06±0.21 ^a	1.50±0.26 ^a	1.73±0.31
F-test	**	*	ns
ความเข้มข้น × เวลา	**	**	*
C.V. (%)	19.82	16.99	17.34

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 20 ความกว้างใบของต้นลินเคอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน

ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)	ระยะเวลา (วัน)	ความกว้างใบ (เซนติเมตร)		
		15 วัน	30 วัน	45 วัน
0	1	0.89±0.09 ^{a1/2/}	1.15±0.11 ^a	1.19±0.11 ^a
	2	0.93±0.08 ^a	1.20±0.09 ^a	1.25±0.12 ^a
	3	0.87±0.07 ^a	1.15±0.10 ^a	1.23±0.09 ^a
5	1	1.20±0.15 ^{cd}	1.61±0.17 ^{cde}	1.75±0.14 ^{bc}
	2	1.39±0.13 ^f	1.74±0.24 ^{ef}	1.85±0.15 ^{bcd}
	3	1.27±0.17 ^{def}	1.79±0.18 ^f	1.95±0.18 ^c
10	1	1.13±0.19 ^{bc}	1.57±0.17 ^{cd}	1.88±0.18 ^{cd}
	2	1.24±0.20 ^{cde}	1.60±0.22 ^{cd}	1.89±0.17 ^{cd}
	3	1.13±0.21 ^{bc}	1.57±0.17 ^{cd}	1.85±0.16 ^{bcd}
15	1	1.33±0.21 ^{ef}	1.67±0.18 ^{cdef}	1.88±0.16 ^{cd}
	2	1.29±0.15 ^{def}	1.62±0.15 ^{cde}	1.88±0.16 ^{cd}
	3	1.07±0.17 ^b	1.55±0.15 ^c	1.73±0.25 ^b
20	1	1.35±0.08 ^{ef}	1.70±0.17 ^{def}	1.85±0.16 ^{bcd}
	2	1.36±0.12 ^{ef}	1.65±0.14 ^{cde}	1.87±0.14 ^{cd}
	3	0.95±0.17 ^a	1.43±0.15 ^b	1.87±0.20 ^{bcd}
F-test		**	**	**
C.V. (%)		19.82	16.99	17.34

หมายเหตุ

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 21 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารโคลชิซิน ระยะเวลาในการแช่สาร และอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารโคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่สารต่อความยาวใบของต้นลินเดอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน

ปัจจัย	ความยาวใบ (เซนติเมตร)		
	15 วัน	30 วัน	45 วัน
ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)			
0	1.46±0.18 ^{bc1/2/}	1.99±0.18 ^b	2.11±0.16 ^a
5	1.53±0.23 ^c	2.03±0.23 ^b	2.26±0.20 ^b
10	1.35±0.23 ^a	1.87±0.20 ^a	2.34±0.20 ^b
15	1.41±0.26 ^{ab}	1.90±0.20 ^a	2.25±0.18 ^b
20	1.39±0.29 ^{ab}	2.03±0.25 ^b	2.32±0.20 ^b
F-test	**	**	**
ระยะเวลา (วัน)			
1	1.47±0.23 ^b	1.99±0.24 ^b	2.25±0.18
2	1.52±0.17 ^b	1.99±0.21 ^b	2.25±0.21
3	1.29±0.27 ^a	1.91±0.21 ^a	2.27±0.22
F-test	**	*	ns
ความเข้มข้น × เวลา	**	**	**
C.V. (%)	17.48	11.17	8.85

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 22 ความยาวใบของต้นลินเคอเนีย หลังออกปลูก 15 วัน 30 วัน และ 45 วัน

ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)	ระยะเวลา (วัน)	ความยาวใบ (เซนติเมตร)		
		15 วัน	30 วัน	45 วัน
0	1	1.43±0.20 ^{bc1/2/}	2.01±0.17 ^{bc}	2.14±0.17 ^{ab}
	2	1.52±0.13 ^{bcd}	2.03±0.17 ^{bcd}	2.08±0.18 ^a
	3	1.43±0.20 ^{bc}	1.94±0.20 ^{ab}	2.11±0.15 ^a
5	1	1.43±0.27 ^{bc}	1.95±0.25 ^{abc}	2.19±0.12 ^{abc}
	2	1.59±0.21 ^{cd}	2.04±0.22 ^{bcd}	2.22±0.26 ^{abcde}
	3	1.58±0.20 ^{cd}	2.11±0.20 ^{cd}	2.37±0.17 ^{ef}
10	1	1.37±0.20 ^b	1.83±0.20 ^a	2.27±0.19 ^{bcdef}
	2	1.48±0.23 ^{bcd}	1.91±0.25 ^{ab}	2.39±0.19 ^f
	3	1.21±0.20 ^a	1.87±0.14 ^{ab}	2.36±0.20 ^{ef}
15	1	1.51±0.24 ^{bcd}	2.01±0.17 ^{bc}	2.28±0.13 ^{bcdef}
	2	1.55±0.15 ^{cd}	1.92±0.23 ^{ab}	2.28±0.13 ^{bcdef}
	3	1.16±0.17 ^a	1.79±0.15 ^a	2.20±0.26 ^{abcd}
20	1	1.62±0.15 ^d	2.19±0.26 ^d	2.35±0.20 ^{def}
	2	1.49±0.12 ^{bcd}	2.04±0.19 ^{bcd}	2.27±0.19 ^{bcdef}
	3	1.06±0.20 ^a	1.87±0.18 ^{ab}	2.33±0.20 ^{cdef}
F-test		**	**	**
C.V. (%)		17.48	11.17	8.85

หมายเหตุ

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 23 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารโคลชิซิน ระยะเวลาในการแช่สาร และอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่สารต่อจำนวนดอกของต้นลินเดอเนีย หลังออกปลูก 45 วัน

ปัจจัย	จำนวนดอกหลังออกปลูก 45 วัน (ดอก)
ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)	
0	12.13±7.39 ^{b1/2/}
5	6.42±4.64 ^a
10	5.62±4.39 ^a
15	6.67±4.65 ^a
20	7.60±4.70 ^a
F-test	**
ระยะเวลา (วัน)	
1	7.28±4.64 ^{ab}
2	8.84±6.51 ^b
3	6.95±5.74 ^a
F-test	*
ความเข้มข้น × เวลา	**
C.V. (%)	74.25

หมายเหตุ * มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์
 ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์
^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 24 จำนวนดอกของต้นลินเคอเนีย หลังออกปลูก 45 วัน

ความเข้มข้นของสารโคลชิ ซิน (ppm)	ระยะเวลา (วัน)	จำนวนดอกหลังออกปลูก 45 วัน (ดอก)
0	1	9.53±4.97 ^{cd1/2/}
	2	14.87±8.66 ^c
	3	12.00±7.53 ^{de}
5	1	4.60±3.60 ^a
	2	7.60±5.05 ^{abc}
	3	7.07±4.88 ^{abc}
10	1	4.67±3.83 ^a
	2	7.13±4.81 ^{abc}
	3	5.07±4.35 ^{ab}
15	1	8.33±4.41 ^{abcd}
	2	7.27±4.08 ^{abc}
	3	4.40±4.79 ^a
20	1	9.27±3.99 ^{bcd}
	2	7.33±5.91 ^{abc}
	3	6.20±3.67 ^{abc}
F-test		**
C.V. (%)		74.25

หมายเหตุ

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 25 อิทธิพลของความเข้มข้นของสารโคลชิซิน ระยะเวลาในการแช่สาร และอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสาร โคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่สารต่อขนาดดอกและความยาวก้านดอกของต้นลินเดอเนีย หลังออกปลูก 45 วัน

ปัจจัย	ขนาดดอกหลังออกปลูก 45 วัน (เซนติเมตร)			
	ความกว้างดอก	ความยาวดอก	ความสูงดอก	ความยาวก้านดอก
ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน (ppm)				
0	0.40±0.00 ^{a1/2/}	1.00±0.02 ^a	1.30±0.05 ^a	1.60±0.32 ^a
5	0.51±0.04 ^b	1.13±0.09 ^b	1.45±0.09 ^b	2.08±0.52 ^{bc}
10	0.52±0.04 ^b	1.20±0.08 ^c	1.55±0.05 ^d	2.32±0.63 ^c
15	0.51±0.03 ^b	1.15±0.06 ^b	1.49±0.05 ^c	2.04±0.49 ^b
20	0.51±0.02 ^b	1.16±0.07 ^b	1.50±0.05 ^c	2.07±0.50 ^{bc}
F-test	**	**	**	**
ระยะเวลา (วัน)				
1	0.49±0.05	1.12±0.08	1.45±0.10 ^a	1.89±0.46 ^a
2	0.49±0.05	1.13±0.11	1.46±0.11 ^{ab}	2.11±0.66 ^a
3	0.49±0.06	1.14±0.09	1.47±0.10 ^b	2.07±0.49 ^{ab}
F-test	ns	ns	*	*
ความเข้มข้น × เวลา	*	*	*	*
C.V. (%)	10.20	7.96	6.85	27.23

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 26 ขนาดดอกและความยาวก้านดอกของต้นลินเดอเนีย หลังออกปลูก 45 วัน

ความเข้มข้นของ สารโคลชิซิน (ppm)	ระยะเวลา (วัน)	ขนาดดอกหลังออกปลูก 45 วัน (เซนติเมตร)			
		ความกว้าง ดอก	ความยาว ดอก	ความสูง ดอก	ความยาว ก้านดอก
0	1	0.40±0.00 ^{a1/2/}	1.01±0.03 ^a	1.30±0.07 ^a	1.68±0.21 ^{ab}
	2	0.40±0.00 ^a	1.00±0.00 ^a	1.30±0.05 ^a	1.37±0.35 ^a
	3	0.40±0.00 ^a	1.01±0.00 ^a	1.31±0.03 ^a	1.75±0.29 ^{ab}
5	1	0.52±0.04 ^{bc}	1.11±0.09 ^b	1.43±0.09 ^b	2.06±0.58 ^{bc}
	2	0.50±0.05 ^b	1.13±0.10 ^b	1.45±0.07 ^{bc}	2.17±0.62 ^{bc}
	3	0.51±0.03 ^{bc}	1.15±0.05 ^{bc}	1.48±0.10 ^{bcd}	2.01±0.37 ^{bc}
10	1	0.50±0.00 ^b	1.14±0.05 ^b	1.51±0.03 ^{cde}	1.86±0.41 ^b
	2	0.54±0.05 ^c	1.25±0.07 ^c	1.58±0.04 ^f	2.69±0.61 ^d
	3	0.52±0.04 ^{bc}	1.21±0.07 ^{cd}	1.56±0.05 ^{ef}	2.42±0.59 ^{cd}
15	1	0.50±0.00 ^b	1.16±0.07 ^{bc}	1.49±0.06 ^{bcd}	1.97±0.54 ^{bc}
	2	0.50±0.00 ^b	1.14±0.05 ^b	1.49±0.06 ^{bcd}	2.15±0.55 ^{bc}
	3	0.53±0.05 ^{bc}	1.16±0.05 ^{bc}	1.49±0.06 ^{bcd}	2.00±0.41 ^{bc}
20	1	0.51±0.03 ^{bc}	1.16±0.05 ^{bc}	1.50±0.05 ^{cd}	1.90±0.47 ^b
	2	0.50±0.00 ^b	1.15±0.08 ^{bc}	1.48±0.06 ^{bcd}	2.15±0.48 ^{bc}
	3	0.51±0.03 ^{bc}	1.16±0.07 ^{bc}	1.52±0.04 ^{de}	2.16±0.56 ^{bc}
F-test		**	**	**	**
C.V. (%)		10.20	7.96	6.85	27.23

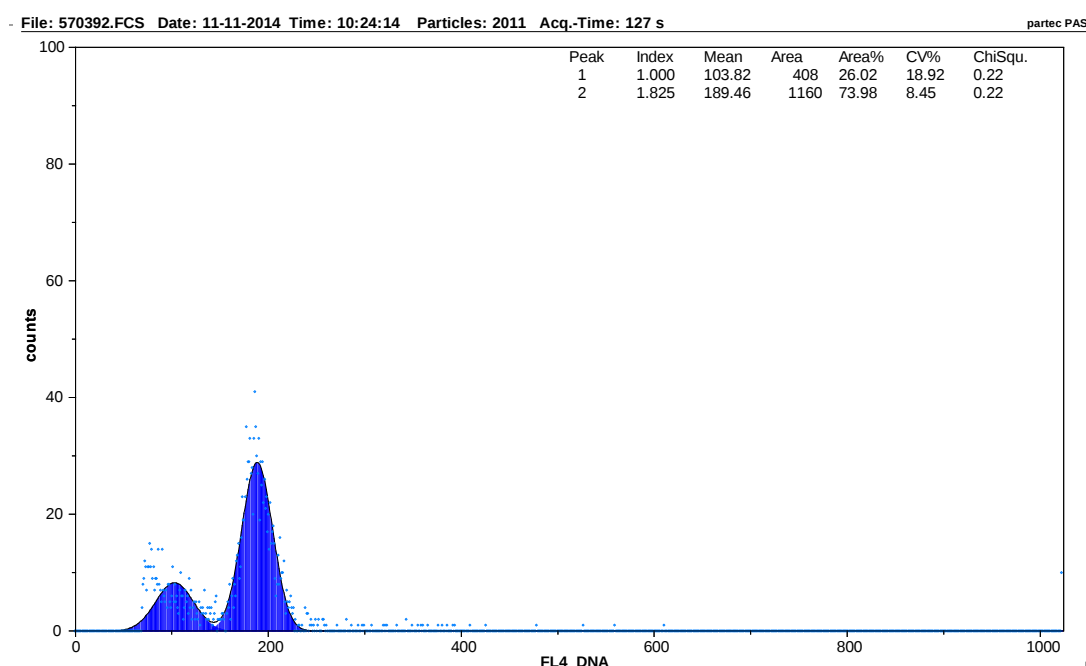
หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

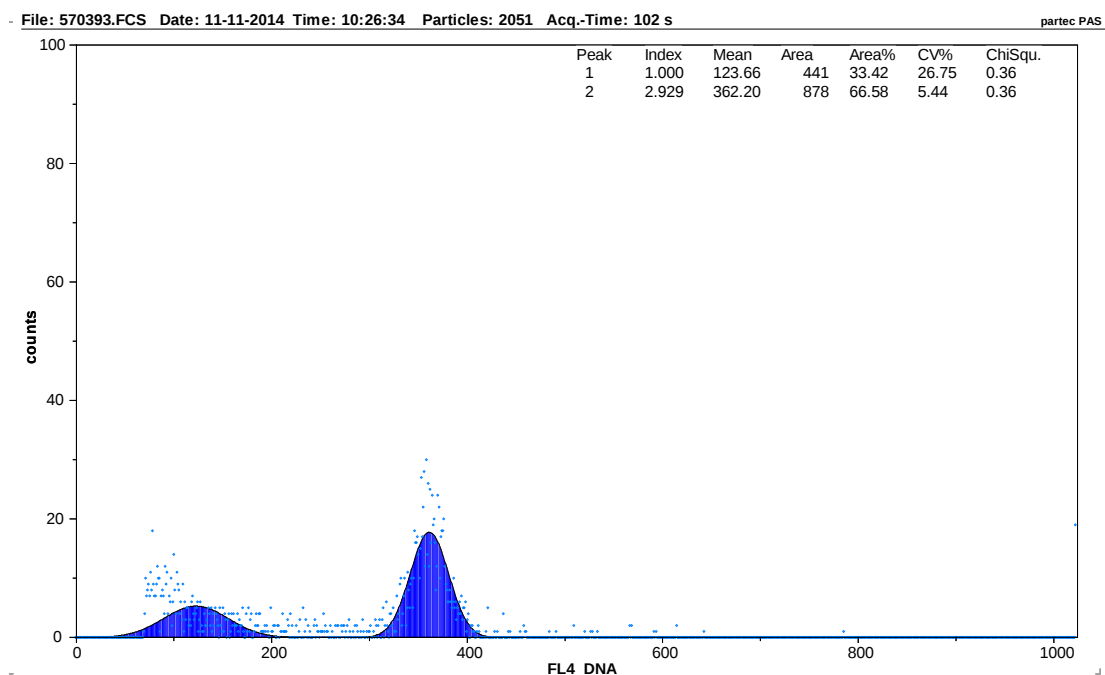
^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

1.6 ตรวจสอบลักษณะโพลีพลอยด์ ด้วยการวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอ เพื่อวัดระดับพลอยดีของลินเคอเนีย โดยวิธี Flow cytometry

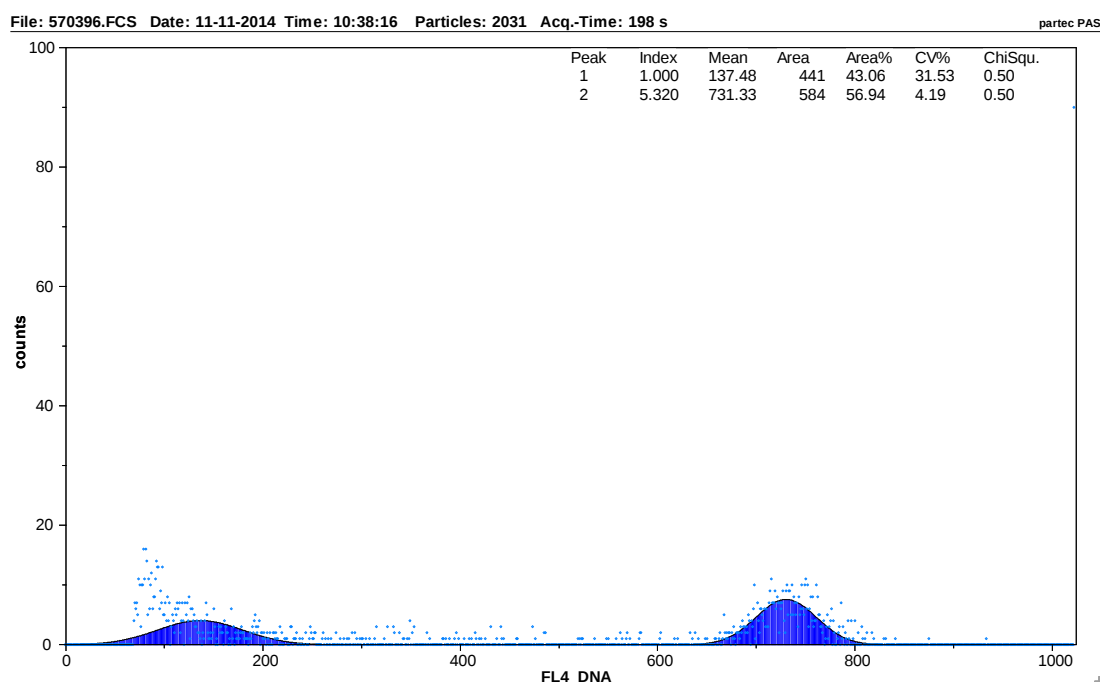
นำใบลินเคอเนียมาวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยวิธี Flow cytometry โดยคัดเลือกต้นที่มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงของการเจริญเติบโตแตกต่างไปจากชุดควบคุม เช่น มีการเจริญเติบโตช้า ใบหนา ขอบใบมีรอยหยักชัดเจน และลำต้นหนา มาวัดโดยใช้เครื่อง Flow cytometer รุ่น Partec II พบว่า ผลของการวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอของลินเคอเนียมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณดีเอ็นเอนิวเคลียส โดยต้นในชุดควบคุมหรือต้นดิพลอยด์ ($2n=2x$) จะมี peak ตำแหน่งสูงสุดที่ 200 (ภาพที่ 7) และต้นลินเคอเนียที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์ มีระดับพลอยดีเป็นเตตระพลอยด์ ($2n=4x$) จะมี peak สูงสุดที่ตำแหน่ง 400 ซึ่งมากกว่าต้นดิพลอยด์สองเท่า (ภาพที่ 8) และต้นโพลีพลอยด์ที่มีระดับพลอยดีเป็นออกตะพลอยด์ ($2n=8x$) จะมี peak สูงสุดที่ตำแหน่ง 800 ซึ่งมากกว่าต้นดิพลอยด์สี่เท่า (ภาพที่ 9) จากการทดลอง ต้นลินเคอเนียที่ได้รับสารโคลชิซินทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดเตตระพลอยด์ได้ ส่วนต้นออกตะพลอยด์พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน 10 ppm เป็นเวลา 1 และ 3 วัน สามารถชักนำให้เกิดออกตะพลอยด์ได้ 2 ต้น และ 1 ต้น ตามลำดับ



ภาพที่ 7 ฮิสโตแกรม flow cytometry ของต้นลินเคอเนียกลุ่มดิพลอยด์



ภาพที่ 8 ฮิสโตแกรม flow cytometry ของต้นลินเคอเนียกลุ่มเตตระพลอยด์



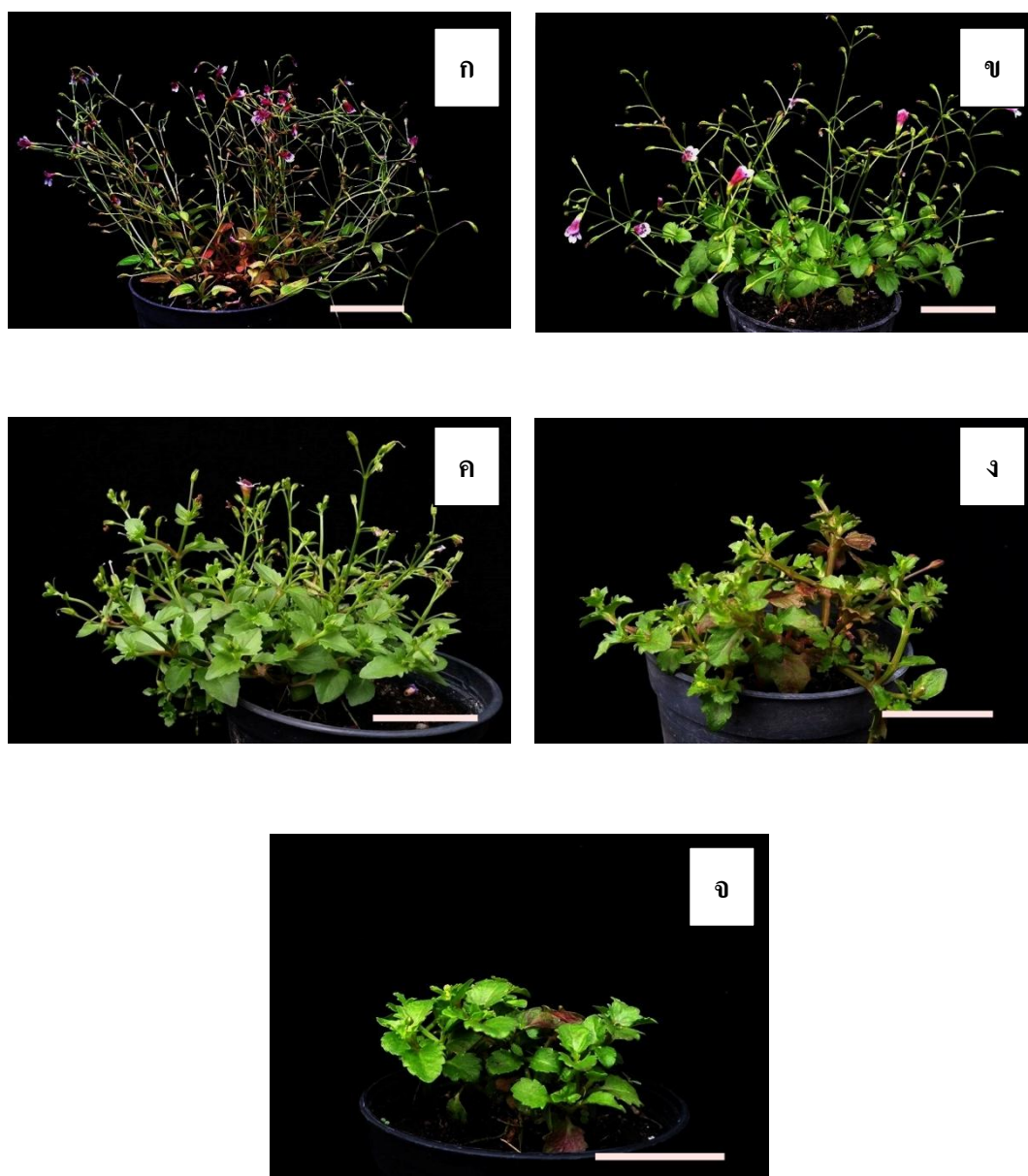
ภาพที่ 9 ฮิสโตแกรม flow cytometry ของต้นลินเคอเนียกลุ่มออกตะพลอยด์

1.7 เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาระหว่างต้นดิพลอยด์ ต้นเตตระพลอยด์ และต้น ออกตะพลอยด์ของลินเคอเนีย

หลังจากคัดเลือกต้นลินเคอเนียที่มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงของการเจริญเติบโตแตกต่างไปจากชุดควบคุม (ต้นดิพลอยด์) สามารถคัดเลือกได้ 4 ลักษณะไปวิเคราะห์จำนวนชุดโครโมโซมเพื่อวัดระดับพลอยดี โดยวิธี Flow cytometry พบว่า ต้นในชุดควบคุมเป็นต้นดิพลอยด์ โดยต้นจะยืดยาว ลักษณะลำต้นไม่แข็งแรง และมีดอกจำนวนมาก (ภาพที่ 10 ก) แต่ดอกและใบมีขนาดเล็ก (ภาพที่ 11 ก-ค; 2x)

ต้นที่แตกต่างไปจากชุดควบคุมลักษณะที่หนึ่งคือ ต้นเตตระพลอยด์ สามารถชักนำให้เกิดได้ในทุกความเข้มข้นของสารโคลชิซินและระยะเวลาที่ใช้ทดสอบ โดยต้นที่ได้จะมีความแข็งแรงมากกว่าต้นดิพลอยด์ ถึงแม้ต้นจะยืดยาวแต่ลักษณะลำต้นแข็งแรง เนื่องจากมีขนาดของลำต้นหนา ส่วนการออกดอกจะช้ากว่า และจำนวนดอกต่อต้นน้อยกว่าต้นดิพลอยด์ (ภาพที่ 10 ข) แต่ขนาดของดอกและใบใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์ โดยลักษณะใบจะมีขอบใบหยักชัดเจน (ภาพที่ 11 ก-ค; 4x)

ลักษณะที่สอง สาม และสี่คือ ต้นออกตะพลอยด์ สามารถชักนำให้เกิดได้โดยใช้สารโคลชิซินความเข้มข้น 10 ppm เป็นเวลา 1 และ 3 วัน โดยต้นที่ได้มีขนาดของลำต้นหนา ปล้องสั้น จึงทำให้ทรงต้นมีลักษณะเป็นพุ่ม ออกดอกช้ากว่าต้นดิพลอยด์และเตตระพลอยด์ (ภาพที่ 10 ค-จ) แต่ดอกที่ได้มีขนาดใหญ่กว่าและสีดอกเข้มกว่า (ภาพที่ 11 ก และ ข; 8x) และบางดอกมีลักษณะผิดปกติ เช่น เกิดรอยหยักที่กลีบดอก กลีบดอกล่างจากปกติ 3 กลีบเพิ่มเป็น 4 หรือ 5 กลีบ ดอกไม่บาน และมีเกสรตัวเมียโผล่ออกมานอกดอกในขณะที่ดอกตูม เป็นต้น ส่วนใบของต้นออกตะพลอยด์มีขนาดแผ่นใบไม่แตกต่างไปจากต้นเตตระพลอยด์ แต่มีแผ่นใบหนากว่า และมีลักษณะรอยหยักของขอบใบแตกต่างออกไปจากต้นดิพลอยด์และต้นเตตระพลอยด์ (ภาพที่ 11 ค; 8x)



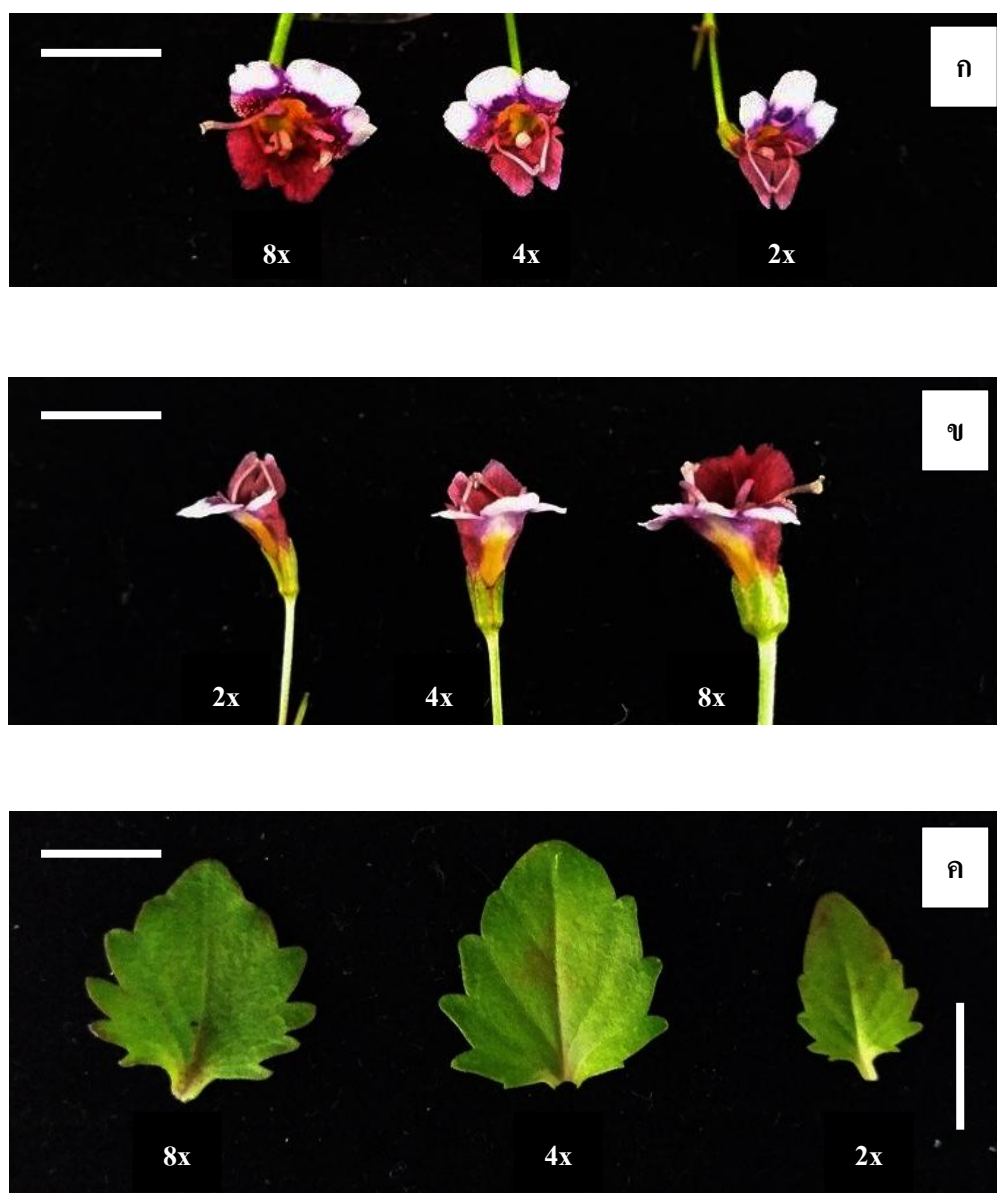
ภาพที่ 10 เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาระหว่างต้นดิพลอยด์ ต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์ของลินเคอเนีย (บาร์ = 5 เซนติเมตร)

(ก) ต้นดิพลอยด์

(ข) ต้นเตตระพลอยด์

(ค) และ (ง) ต้นออกตะพลอยด์ ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 10 ppm เป็นเวลา 1 วัน

(จ) ต้นออกตะพลอยด์ ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 10 ppm เป็นเวลา 3 วัน



ภาพที่ 11 เปรียบเทียบลักษณะของดอกและใบ ระหว่างต้นดิพลอยด์ (2x) ต้นเตตระพลอยด์ (4x) และต้นออกตะพลอยด์ (8x) ของลินเดอเนีย (บาร์ = 1 เซนติเมตร)

(ก) ลักษณะด้านหน้าของดอกระหว่างต้นดิพลอยด์ เตตระพลอยด์ และออกตะพลอยด์

(ข) ลักษณะด้านข้างของดอกระหว่างต้นดิพลอยด์ เตตระพลอยด์ และออกตะพลอยด์

(ค) ลักษณะของใบระหว่างต้นดิพลอยด์ เตตระพลอยด์ และออกตะพลอยด์

การทดลองที่ 2 การเปรียบเทียบลักษณะทางเซลล์วิทยาของต้นลินเคอเนียกลุ่มดิพลอยด์ เตตระพลอยด์ และออกตะพลอยด์

2.1 เปรียบเทียบจำนวนปากใบต่อพื้นที่ ขนาดของเซลล์ปากใบ และขนาดของละอองเกสร
ระหว่างต้นลินเคอเนียกลุ่มดิพลอยด์ เตตระพลอยด์ และออกตะพลอยด์

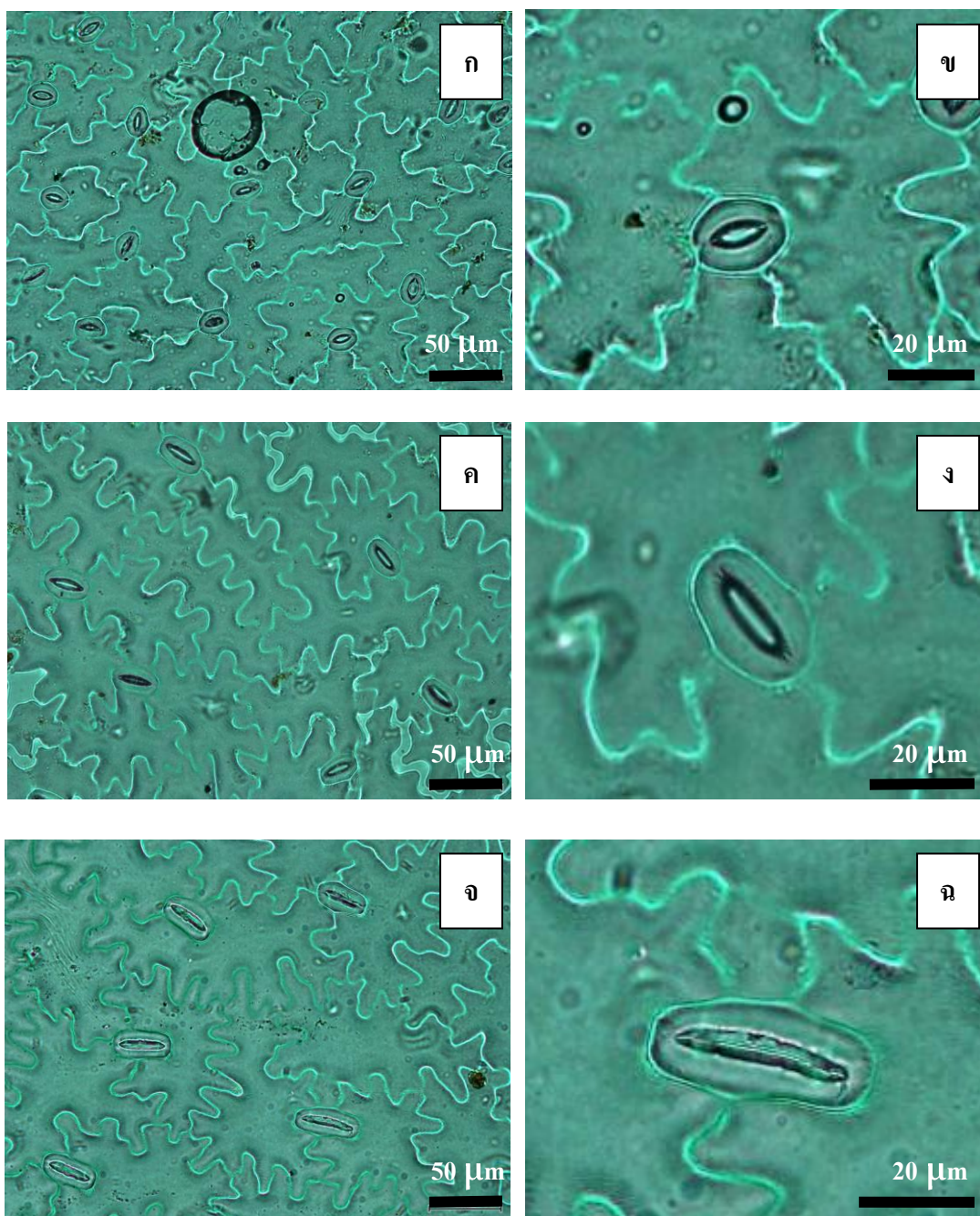
เมื่อนำต้นลินเคอเนียกลุ่มดิพลอยด์ เตตระพลอยด์ และออกตะพลอยด์ มาศึกษาลักษณะทาง
เซลล์วิทยา คือ จำนวนปากใบต่อพื้นที่ ความยาวของเซลล์ปากใบ และขนาดของละอองเกสร พบว่า
ต้นดิพลอยด์ ต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์ มีลักษณะทางเซลล์วิทยาแตกต่างกันอย่างมี
นัยสำคัญทางสถิติ โดยต้นดิพลอยด์มีจำนวนปากใบเฉลี่ยสูงสุด 16.40 ± 2.22 ปากใบต่อตาราง
มิลลิเมตร รองลงมาต้นเตตระพลอยด์และต้นออกตะพลอยด์ โดยมีจำนวนปากใบเฉลี่ย 9.80 ± 1.32
และ 5.40 ± 0.52 ปากใบต่อตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 27) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าต้นดิพลอยด์มี
ความหนาแน่นของปากใบมากกว่าต้นเตตระพลอยด์และต้นออกตะพลอยด์ (ภาพที่ 12 ก ค และ จ)
เมื่อวัดความยาวของเซลล์ปากใบภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบว่า ต้นดิพลอยด์มี
ความยาวของเซลล์ปากใบเฉลี่ยน้อยที่สุด 21.55 ± 1.35 ไมโครเมตร ในขณะที่ต้นเตตระพลอยด์และ
ต้นออกตะพลอยด์มีความยาวของเซลล์ปากใบเฉลี่ย 30.58 ± 1.10 และ 41.97 ± 1.22 ไมโครเมตร
ตามลำดับ (ตารางที่ 27) แสดงให้เห็นว่าต้นเตตระพลอยด์และต้นออกตะพลอยด์มีความยาวของ
เซลล์ปากใบมากกว่าต้นดิพลอยด์ถึง 2 เท่า (ภาพที่ 12 ข ง และ ฉ)

สำหรับละอองเกสรของลินเคอเนีย เมื่อวัดขนาดภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า
พบว่า ต้นดิพลอยด์มีขนาดของละอองเกสรเฉลี่ยเล็กที่สุด 20.86 ± 0.97 ไมโครเมตร ในขณะที่ต้นเต
ตระพลอยด์และต้นออกตะพลอยด์มีขนาดของละอองเกสรเฉลี่ย 26.44 ± 0.85 และ 30.88 ± 1.09
ไมโครเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 27) แสดงให้เห็นว่าต้นเตตระพลอยด์และต้นออกตะพลอยด์มี
ขนาดของละอองเกสรใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์ (ภาพที่ 13 ก-ค)

ตารางที่ 27 เปรียบเทียบจำนวนปากใบต่อพื้นที่ ขนาดของเซลล์ปากใบ และขนาดของละอองเกสร ระหว่างคิพลอยด์ เตตระพลอยด์ และออกตะพลอยด์ของต้นลินเดอเนีย

ชนิดต้นลินเดอเนีย	จำนวนปากใบ ต่อพื้นที่เฉลี่ย (ปากใบต่อตารางมิลลิเมตร)	ความยาว เซลล์ปากใบเฉลี่ย (ไมโครเมตร)	ขนาดละออง เกสรเฉลี่ย (ไมโครเมตร)
ต้นคิพลอยด์	16.40±2.22 ^{c1/2/}	21.55±1.35 ^a	20.86±0.97 ^a
ต้นเตตระพลอยด์	9.80±1.32 ^b	30.58±1.10 ^b	26.44±0.85 ^b
ต้นออกตะพลอยด์	5.40±0.52 ^a	41.97±1.22 ^c	30.88±1.09 ^c
F-test	**	**	**
C.V. (%)	45.87	27.35	16.42

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์
^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)



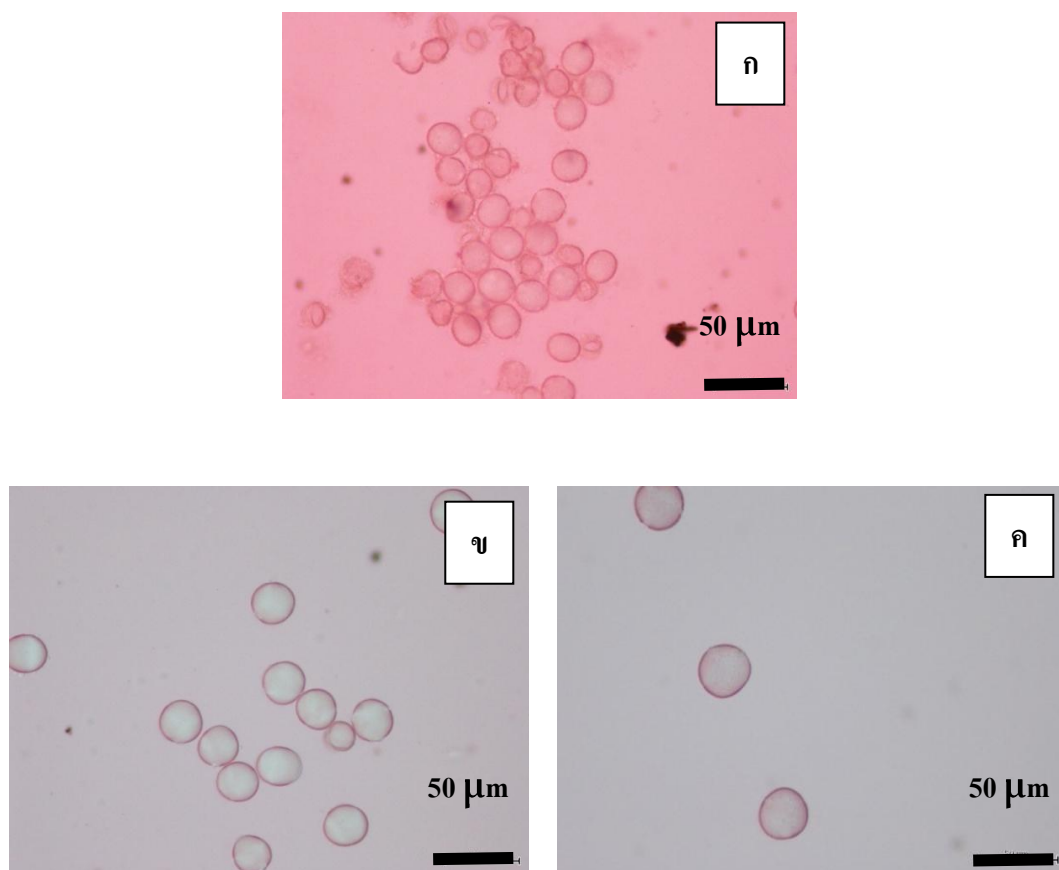
ภาพที่ 12 เปรียบเทียบลักษณะเซลล์ปากใบระหว่างต้นดิพลอยด์ ต้นเตตระพลอยด์

และต้นออกตะพลอยด์ของลินเดอเนีย (กำลังขยาย 400 เท่า)

(ก) และ (ข) เซลล์ปากใบของต้นดิพลอยด์

(ค) และ (ง) เซลล์ปากใบของต้นเตตระพลอยด์

(จ) และ (ฉ) เซลล์ปากใบของต้นออกตะพลอยด์



ภาพที่ 13 เปรียบเทียบขนาดของละอองเกลสร ระหว่างต้นดิพลอยด์ ต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์ของลินเดอเนีย (กำลังขยาย 400 เท่า; บาร์ = 50 ไมโครเมตร)

(ก) ละอองเกลสรของต้นดิพลอยด์

(ข) ละอองเกลสรของต้นเตตระพลอยด์

(ค) ละอองเกลสรของต้นออกตะพลอยด์

วิจารณ์

ผลการศึกษาการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในลินเดอเนีย (*Lindernia* sp.) ด้วยการใส่สารโคลชิซินชนิดเม็ดภายใต้สภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนข้อและใบแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 5 10 15 และ 20 ppm ในแต่ละความเข้มข้นใช้เวลาแช่ คือ 1 2 และ 3 วัน หลังจากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นและระยะเวลาของการใส่สารละลายโคลชิซินจากยาเม็ดรักษาโรคเกาต์ที่เหมาะสมต่อชิ้นส่วนของลินเดอเนียในการชักนำให้เกิดต้นโพลีพลอยด์ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยา เซลล์วิทยา และตรวจสอบระดับพลอยดีของลินเดอเนีย

1. ศึกษาชิ้นส่วนของพืชและวิธีการที่เหมาะสมในการใช้สารโคลชิซินจากยาเม็ดรักษาโรคเกาต์ เพื่อชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในลินเดอเนียภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

เมื่อทำการบันทึกผลการรอดชีวิตหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS เป็นเวลา 30 วัน พบว่าทั้งข้อและใบในชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการรอดชีวิตจะลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารละลายสูงขึ้นและระยะเวลาในการแช่ยาวนานขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของสันจิตา (2552); จิราภรณ์ (2554); สลิรี (2556) ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในแวมยुरา โดยใช้สารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 ppm เป็นเวลา 0 1 2 และ 3 วัน พบว่า เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมีแนวโน้มลดลง เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นและระยะเวลาในการแช่สารละลายยาวนานขึ้น และรัชนิวรรณ (2546) ซึ่งทำการชักนำด่างให้เกิดการกลายพันธุ์โดยการแช่เมล็ดในสารละลายโคลชิซินที่มีความเข้มข้น 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 24 และ 36 ชั่วโมง พบว่า ความแข็งแรงของเมล็ดและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเมล็ดด่างมีแนวโน้มลดลง แต่เปอร์เซ็นต์ต้นกล้าผิดปกติมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่เมล็ดเพิ่มขึ้น และการทดลองของปฐมภรณ์และสาโรจน์ (2557) นำโปรโตคอร์มกล้วยไม้เหลืองจันทบูรคำเต็มคอแช่ในอาหารเหลวสูตร VW ที่ผสมโคลชิซินความเข้มข้น 0 0.10 0.15 และ 0.20 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 1 2 3 4 5 6 และ 7 วัน พบว่า เมื่อความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่โคลชิซินเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้โปรโตคอร์มกล้วยไม้มีอัตราการรอดชีวิตลดลง และ Gantait *et al.* (2011) ได้ทำการทดลองโดยนำปลายยอดของเยอบีร่าที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ แช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.01 0.10 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 4 และ 8 ชั่วโมง พบว่า อัตราการรอดชีวิตของยอดลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินและ

ระยะเวลาในการแช่เพิ่มมากขึ้น และการทดลองของอัญญาณีและสมปอง (2553) นำแคล์สของหน้าวัวพันธุ์ Micky Mouse จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0 0.05 0.1 0.15 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 46 และ 72 ชั่วโมง พบว่า ความเข้มข้นของสารละลายที่เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตของแคล์สลดลง และอมรรรัตน์ (2544) ซึ่งทำการทดลองแช่ต้นปรางชนิดต่าง ๆ ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 0 6 12 และ 18 ชั่วโมง พบว่า อัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตลดลง เมื่อระยะเวลาในการแช่นานขึ้น และสอดคล้องกับการทดลองของ Abdoli *et al.* (2013) พบว่า เมื่อนำต้นกล้าของ *Echinacea purpurea* L. ไปแช่ในสารละลายโคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 0 24 48 72 96 และ 168 ชั่วโมง พบว่า เมื่อระยะเวลาในการแช่สารละลายโคลชิซินนานขึ้น ส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้าลดลง และการทดลองของรัตนภรณ์ (2555) พบว่าการรอดชีวิตของห้วบัวดินลดลง เมื่อระยะเวลาในการแช่สารละลายโคลชิซินเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เพราะเมื่อแช่ในสารละลายโคลชิซินที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นและระยะเวลาการแช่นาน พืชสามารถดูดซับสารได้มากขึ้นจึงทำให้อัตราการรอดชีวิตลดลง เนื่องจากสารโคลชิซินไม่ได้จำกัดอยู่ที่เฉพาะการแบ่งเซลล์เท่านั้น แต่จะแพร่เข้าไปในส่วนประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ ทำให้เกิดความผิดปกติได้เมื่อได้รับสารนั้นในความเข้มข้นสูง (Dermen, 1940) โดยสารโคลชิซินมีผลทำให้ความหนืดของไซโตพลาซึมเปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้การทำงานของเซลล์ผิดปกติ (Cook and Loudon, 1952) หรือชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซม ทำให้เซลล์เสียดุลและตายได้ (Distabanjong *et al.*, 2007) และจากการทดลองเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชิ้นส่วนของข้อและใบ พบว่า ชิ้นส่วนของข้อหลังได้รับสารโคลชิซิน มีอัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตเป็นต้นสูงกว่าชิ้นส่วนใบ อาจเนื่องมาจากแผ่นใบมี adventitious bud ทำให้มีการพัฒนาเพื่อจะเจริญเป็นต้นมากขึ้นไป ส่งผลให้เกิดการเบียดและแย่งอาหารจนไม่เพียงพอต่อการพัฒนา จึงทำให้ต้นส่วนใหญ่ไม่แข็งแรง ส่งผลให้ต้นเหล่านั้นถูกคัดทิ้ง และสำหรับแผ่นใบที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้นสูง จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นได้ จึงทำให้อัตราการรอดชีวิตลดลง ดังนั้นการนำสารโคลชิซินมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ จำเป็นต้องหาระดับที่เหมาะสม ซึ่งความเข้มข้นของโคลชิซินจะผันแปรไปตามชนิดพืชและส่วนของพืชที่ใช้

นำต้นลินเดอเนียที่มีอายุ 30 วันหลังจากได้รับสารโคลชิซิน มาคัดเลือกต้นที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์ โดยพืชจะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ ใบมีสีเขียวเข้มขึ้น ขนาดใหญ่ และหนา ขอบใบหยักชัดเจน ลำต้นหนา ปล้องสั้น และรากหนา พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารละลายสูงขึ้น และระยะเวลาในการแช่นานขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ลดลง เนื่องจากเมื่อพืชได้รับสารโคลชิซินในความเข้มข้นสูงและปริมาณมาก ทำให้เกิดความเป็นพิษภายในเซลล์พืช ส่งผลให้การทำงานของเซลล์ผิดปกติ ทำให้เซลล์เสียดุลและตายได้

จึงเป็นเหตุให้การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ลดลง และอาจเกิดจากเซลล์ทุกเซลล์ไม่ได้ตอบสนองต่อการชักนำของสารเคมีในระดับเดียวกัน จึงทำให้พืชมีโอกาสเกิดโพลีพลอยด์กับเซลล์บางกลุ่มเท่านั้น (วิมล, 2527) นอกจากนี้ Dermen (1940) ได้กล่าวว่า การชักนำด้วยสารโคลชิซินแล้วไม่ได้ผลมักเป็นผลมาจากการที่สารโคลชิซินไม่สามารถผ่านหรือซึมเข้าไปยังกลุ่มเนื้อเยื่อเป้าหมายได้ หรือการที่เนื้อเยื่อนั้น ๆ มีความต้านทานต่อสารชนิดนี้สูง และจากการทดลองเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชิ้นส่วนข้อและใบ พบว่า การใช้ชิ้นส่วนข้อสามารถชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ได้ดีกว่าการใช้ชิ้นส่วนใบ เนื่องจากการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมด้วยสารโคลชิซินจะต้องทำกับส่วนที่กำลังเจริญเติบโต และมีอัตราการแบ่งเซลล์สูง ซึ่งส่วนของพืชที่เหมาะสมต่อการใช้สารโคลชิซิน คือ เมล็ด ต้นกล้า และตายอดที่กำลังเจริญเติบโต จึงเป็นไปได้ที่ชิ้นส่วนข้อจะสามารถชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ได้สูงกว่าชิ้นส่วนใบ เพราะข้อเป็นชิ้นส่วนที่มีตา ซึ่งเป็นส่วนที่กำลังเจริญเติบโต

บันทึกการเจริญเติบโตที่ 60 วันหลังจากได้รับสารโคลชิซินภายใต้สภาพปลอดเชื้อ เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของสารโคลชิซินและระยะเวลาที่แช่ชิ้นส่วนข้อและใบต่อความสูงต้น ความยาวปล้อง ขนาดของใบ จำนวนราก และความยาวรากของลินเดอเนียที่เจริญมาจากชิ้นส่วนข้อและใบ พบว่า ความเข้มข้นของสารโคลชิซินต่อความสูงต้น ความยาวปล้อง ความกว้างใบ ความยาวใบ จำนวนราก และความยาวราก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับระยะเวลาที่แช่ข้อและใบมีผลต่อ ความสูงต้น ความยาวปล้อง ความกว้างใบของต้นจากชิ้นส่วนข้อ ความยาวใบของต้นจากชิ้นส่วนใบ จำนวนราก และความยาวราก แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติต่อความกว้างใบของต้นจากชิ้นส่วนใบ และความยาวใบของต้นจากชิ้นส่วนข้อ สำหรับอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยทั้งสองต่อความสูงต้น ความยาวปล้อง ความกว้างใบ ความยาวใบ จำนวนราก และความยาวรากมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยส่วนใหญ่พบว่า ต้นในชุดควบคุมของลินเดอเนียทั้งจากชิ้นส่วนข้อและใบ มีการเจริญเติบโตทางด้านความสูง ความยาวปล้อง จำนวนราก และความยาวรากมากกว่า แต่มีความกว้างและความยาวใบน้อยกว่าต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ และต้นที่ได้รับสารโคลชิซินจะมีความสูงและความยาวปล้องน้อย แต่มีลักษณะลำต้นหนา ใบมีขนาดใหญ่ ขอบใบมีรอยหยักชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของสันธิตา (2552) และจิราภรณ์ (2554) ที่ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในแววมยุรา โดยใช้สารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ พบว่า สารโคลชิซินชักนำให้แววมยุราเกิดต้นโพลีพลอยด์ โดยมีความหนาของลำต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ และความหนาใบมากกว่าต้นดิพลอยด์ และการทดลองของนิมศรี (2553) ได้ทำการศึกษาผลของสารโคลชิซินต่อการเจริญเติบโตของต้นกระชายแดง พบว่า ต้นดิพลอยด์มีแนวโน้มสูงกว่าต้นเตตระพลอยด์ และการทดลองของอมรรัตน์ (2544) พบว่า ต้นดิพลอยด์ของเปราะหอม เปราะเลื้อยเต้ และมะหานิยม มีความสูงต้นและ

จำนวนใบมากกว่าต้นเตตระพลอยด์ และ Abdoli *et al.* (2013) ได้ทำการทดลองโดยนำต้นกล้าของ *Echinacea purpurea* ไปแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 48 72 96 และ 168 ชั่วโมง พบว่า สามารถชักนำให้เกิดเตตระพลอยด์ได้ โดยต้นเตตระพลอยด์ที่ได้มีความสูงต้นน้อยกว่า แต่มีความหนาของลำต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ และความหนาของใบมากกว่า ต้นดิพลอยด์ และวีรภัทรา (2552) ได้ศึกษาผลของโคลชิซินต่อการเจริญเติบโต และชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ของเอื้องดินใบหมากชนิดดอกสีขาว โดยการให้สารโคลชิซินความเข้มข้น 0 0.005 0.01 0.025 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ แก่ชิ้นส่วนโปรโตคอร์ัมเป็นเวลา 5 วัน พบว่า สารโคลชิซินทุกความเข้มข้นมีผลทำให้ความสูงต้นลดลง ในขณะที่ความกว้างใบเพิ่มมากขึ้น สำหรับจำนวนรากและความยาวรากของลินเคอเนียต้นเตตระพลอยด์ จากการทดลองพบว่า มีจำนวนรากและความยาวรากน้อย แต่รากมีลักษณะอวบและแข็งแรงมากขึ้น คล้ายคลึงกับการศึกษาของปฐมภรณ์ และสาโรจน์ (2557) ที่พบว่าต้นกล้วยไม้เหลืองจินตบูรคำเต็มดอกกลุ่มเตตระพลอยด์ มีความยาวรากน้อยกว่าต้นดิพลอยด์ และการทดลองของ Gantait (2011) พบว่า เขอบีร่าต้นเตตระพลอยด์มีจำนวนรากน้อยกว่า ต้นดิพลอยด์ ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากเมื่อเซลล์ได้รับสาร โคลชิซินจะทำให้เกิดความล่าช้าในการแบ่งเซลล์ และเซลล์จะชะงักการแบ่งเซลล์ไประยะหนึ่ง หลังจากนั้นจะสามารถแบ่งตัวได้ตามปกติ (สิรินุช, 2540) หรืออาจเกิดจากการแช่สารโคลชิซินนานเกินไปทำให้พืชได้จำนวนโครโมโซมเกินระดับที่ต้องการจนทำให้เซลล์เสียสมดุล แต่ทั้งนี้ขึ้นกับการตอบสนองของเซลล์ในพืชแต่ละชนิดด้วย (วิทยา, 2527) และสารโคลชิซินสามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมเป็นสองเท่า มีผลทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลงไป เนื่องจากได้เพิ่มขนาดของเซลล์ที่กำลังเจริญให้มีขนาดใหญ่ขึ้น มีจำนวนเซลล์รวมลดลง จึงทำให้พืชมีอัตราการเจริญเติบโตช้ากว่าปกติ (นพพร, 2546; Chandrasekharan *et al.*, 1975)

นำต้นที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์ออกมาปลูกในถาดหลุม โดยใช้พีทมอสเป็นวัสดุปลูก พบว่า ต้นในชุดควบคุมที่ได้จากข้อและใบมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด ส่วนต้นที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่แตกต่างกัน มีอัตราการรอดชีวิตหลังออกปลูกลดลง อาจมีสาเหตุมาจากการมีสาร โคลชิซินตกค้างอยู่ในเซลล์ และต้นที่เจริญมาจากส่วนของข้อที่ได้รับสารโคลชิซินมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าต้นที่เจริญมาจากส่วนของใบ เนื่องจากต้นที่เจริญมาจากส่วนของข้อมีความแข็งแรงของต้นมากกว่า เพราะชิ้นส่วนข้อหลังได้รับสารโคลชิซินสามารถเจริญเป็นต้นเดี่ยว ๆ ที่แข็งแรงได้ แต่ชิ้นส่วนของใบหลังได้รับสาร โคลชิซิน แผ่นใบมีการพัฒนาเพื่อเจริญเป็นต้นจำนวนมากเกินไป ส่งผลให้เกิดการเบียดและแย่งอาหารจนไม่เพียงพอต่อการพัฒนาต้นที่เจริญมาจากใบส่วนใหญ่จึงไม่แข็งแรง เมื่อออกปลูกจึงมีอัตราการรอดชีวิตต่ำ

2. การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาหลังออกปลูกระหว่างต้นในชุดควบคุม และต้นที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์ และตรวจสอบระดับพลอยดีของลินเดอเนีย

ต้นลินเดอเนียที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์ ซึ่งเจริญมาจากชิ้นส่วนของข้อที่ได้รับสารโคลชิซินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน และต้นในชุดควบคุมมาออกปลูก ศึกษาการเจริญเติบโตของต้น พบว่า โดยส่วนใหญ่ต้นโพลีพลอยด์ของลินเดอเนียมีความสูงต้นและความยาวปล้องมากกว่าต้นในชุดควบคุม แต่มีบางต้นที่มีความสูงน้อยกว่าและมีความยาวปล้องสั้นกว่า โดยมีลักษณะต้นและใบแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งส่วนใหญ่จะพบลักษณะเช่นนี้ในสารโคลชิซินความเข้มข้น 10 ppm และลำต้นของลินเดอเนียกลุ่มโพลีพลอยด์มีความหนาของลำต้นมากกว่ากลุ่มดิพลอยด์ เนื่องจากสารโคลชิซินสามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมเป็นสองเท่า มีผลทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลงไป โดยไปเพิ่มขนาดของเซลล์ที่กำลังเจริญให้มีขนาดใหญ่ขึ้น จึงส่งผลให้ความหนาของลำต้นเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Gantait (2011) ที่พบว่าต้นเขยปีราในกลุ่มเตตระพลอยด์มีความสูงต้นมากกว่าต้นดิพลอยด์ นอกจากนี้ต้นลินเดอเนียในกลุ่มโพลีพลอยด์ที่ได้จากการทดลองมีขนาดของใบใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์ โดยมีความกว้างใบและความยาวใบมากกว่าต้นดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าลักษณะใบมีการเปลี่ยนแปลงคือ ใบมีสีเขียวเข้ม ขนาดใหญ่และหนา ขอบใบหยักชัดเจน บางต้นแผ่นใบมีผิวขรุขระ และรอยหยักของขอบใบแตกต่างจากต้นปกติ อาจเนื่องมาจากการที่พืชโพลีพลอยด์มีขนาดใหญ่มากกว่าดิพลอยด์ จึงมีขนาดและปริมาตรของเซลล์เพิ่มมากขึ้น จำนวนคลอโรพลาสต์ก็จะเพิ่มเป็นสัดส่วนกับความหนาของใบ นอกจากนี้การใช้สารโคลชิซินอาจทำให้เกิดลักษณะผิดปกติของต้นและใบ โดยสารโคลชิซินอาจจะมีการสะสมอยู่ในไซโตพลาซึม มีผลทำให้พืชมีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา เช่น ใบหนา ย่น ใบบิดเบี้ยว ซึ่งการเกิดลักษณะผิดปกตินี้ อาจจะหายไปในวันต่อไป หรือบางต้นยังคงลักษณะผิดปกติ แสดงว่าอาจจะเกิดจากความผิดปกติระดับยีนหรือโครโมโซมก็เป็นได้ (Dermen, 1940; Eigsti, 1938; Eigsti, 1957; Havas, 1940)

เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตของดอกลินเดอเนีย พบว่า ต้นโพลีพลอยด์มีความกว้างดอก ความยาวดอก ความสูงดอก และความยาวก้านดอกมากกว่าต้นดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเกิดดอกช้ากว่า มีจำนวนดอกน้อยกว่าต้นดิพลอยด์ บางดอกมีลักษณะบิดเบี้ยว รูปทรงของกลีบดอกผิดปกติไปจากต้นดิพลอยด์ เนื่องจากการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมมักได้ต้นต่างๆ ที่มีลักษณะผิดไปจากต้นดิพลอยด์ เช่น มีการเพิ่มขนาดของเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้อวัยวะหรือส่วนประกอบต่าง ๆ ของพืชมีขนาดใหญ่ขึ้นด้วย เช่น ลำต้น ใบ ราก ดอก และ

ผล (ไพศาล, 2527) หรืออาจมีผลทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลงไปได้ (นพพร, 2546) และโดยปกติอัตราการเจริญของออโตโพลิพลอยด์จะช้ากว่าดิพลอยด์ จึงทำให้เกิดดอกช้า ดอกและใบมีสีเขียวเข้ม ลำต้นเตี้ย ขื่อและปล้องสั้น (เบญจมาศ, 2545) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยหลายชิ้นที่พบว่าพืชโพลิพลอยด์มีจำนวนของดอกลดลง แต่ดอกมีขนาดใหญ่ขึ้น เช่น จำนวนของดอกต่อต้นลดลงในต้น *Impatiens patula* ที่ได้รับสารโคลชิซิน (Tharawoot *et al.*, 2012) ต้น *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Sciella ที่ได้รับสารโคลชิซินมีขนาดดอกใหญ่ขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นในชุดควบคุม (Gantait *et al.*, 2011) และ *Echinacea purpurea* (L.) ต้นเตตระพลอยด์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของดอกมากกว่าต้นดิพลอยด์ (Abdoli *et al.*, 2013)

หลังจากออกปลูกคัดเลือกต้นลินเคอเนียที่มีลักษณะการเจริญเติบโตทางสัณฐานวิทยาแตกต่างไปจากชุดควบคุม (ต้นดิพลอยด์) เช่น มีการเจริญเติบโตช้า ใบใหญ่ หนา และมีสีเขียวเข้ม ขอบใบมีรอยหยักชัดเจน ลักษณะของรอยหยักที่ขอบใบแตกต่างไปจากต้นในชุดควบคุม ลำต้นมีลักษณะหนาและมีปล้องสั้น ดอกมีขนาดใหญ่และหนาขึ้น เป็นต้น ซึ่งสามารถคัดเลือกได้ 4 ลักษณะ จากนั้นนำใบของต้นลินเคอเนียแต่ละลักษณะมาวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอ เพื่อวัดระดับพลอยดี ด้วยวิธีการ Flow cytometry พบว่า ผลของการวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอของลินเคอเนียมีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเกิดขึ้น โดยต้นในชุดควบคุมหรือต้นดิพลอยด์ มี peak ตำแหน่งสูงสุดที่ 200 และต้นลินเคอเนียที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลิพลอยด์ มีระดับพลอยดีเป็นเตตระพลอยด์ โดยมี peak สูงสุดที่ตำแหน่ง 400 ซึ่งมากกว่าต้นดิพลอยด์สองเท่า และต้นโพลิพลอยด์ที่มีระดับพลอยดีเป็นออกตะพลอยด์ มี peak สูงสุดที่ตำแหน่ง 800 ซึ่งมากกว่าต้นดิพลอยด์สี่เท่า และจากการทดลองพบว่าต้นลินเคอเนียที่ได้รับสารโคลชิซินทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดเตตระพลอยด์ได้ ส่วนต้นออกตะพลอยด์พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซิน 10 ppm เป็นเวลา 1 วัน และ 3 วัน สามารถชักนำให้เกิดต้นออกตะพลอยด์ได้ 2 ต้น และ 1 ต้น ตามลำดับ ซึ่งจากการตรวจสอบการชักนำให้เกิดโพลิพลอยด์จากต้นดิพลอยด์กลายเป็นต้นออกตะพลอยด์ด้วยการใช้สารโคลชิซินเกิดขึ้นน้อยมาก และในพืชต่าง ๆ ส่วนใหญ่ได้ต้นเตตระพลอยด์ สอดคล้องกับงานวิจัยของปฐมาภรณ์ และสาโรจน์ (2557) ได้ทำการวิเคราะห์หาระดับพลอยดีด้วยวิธี Flow cytometry พบว่า ระดับพลอยดีของต้นในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารโคลชิซิน มีระดับพลอยดี $2n=2x$ โดยปริมาณโครโมโซมของต้นที่เป็นดิพลอยด์จะมี peak ตำแหน่งสูงสุดที่ 200 และกลุ่มที่ได้รับสารโคลชิซินมีระดับพลอยดีเป็นเตตระพลอยด์ $2n=4x$ ซึ่งมี peak สูงสุดที่ตำแหน่ง 400 และในกลุ่มไม้เหืองจันทบูรดำเต็มคอสามารถชักนำให้เกิดเตตระพลอยด์ได้ในทุกความเข้มข้นของสารโคลชิซินและเวลาที่ใช้ทดสอบ และในต้นมะนาว พบว่า ต้นที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลิพลอยด์มีลักษณะการเกิด peak ที่แสดงปริมาณดีเอ็นเอในตำแหน่ง 400 ในขณะที่กลุ่มควบคุมหรือต้นดิพลอยด์จะเกิด peak ในตำแหน่ง 200 ซึ่งจะ

เห็นว่าต้นมะนาวที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์จะมีปริมาณดีเอ็นเอมากกว่ากลุ่มควบคุมสองเท่า ซึ่งแสดงว่าต้นดิพลอยด์มี $2n=2x=2c$ ส่วนต้นที่สันนิษฐานว่าเป็นโพลีพลอยด์มี $2n=4x=4c$ ดังนั้นจึงอาจเรียกได้ว่าเป็นต้นเตตระพลอยด์ (นงนุชและคณะ, 2555) อาจเนื่องมาจากโคลชิซินเป็นสาเหตุของการสลายตัวของโครงสร้างไมโครทูบูล โดยสามารถยับยั้งการสร้างทูบูลิน ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักของไมโครทูบูล จากการทดสอบผลของโคลชิซินต่อการสร้างทูบูลินในรากหัวหอมใหญ่ พบว่า เมื่อนำรากหัวหอมใหญ่แช่ในโคลชิซินผ่านไป 2 ชั่วโมง ทูบูลินสามารถสร้างได้เพียง 25 เปอร์เซ็นต์ ทำให้การสร้างไมโครทูบูลถูกยับยั้ง และพบโครงสร้างของไมโครทูบูลถูกแยกชิ้นส่วน 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อแช่ในโคลชิซินผ่านไป 6 ชั่วโมง (Utrilla *et al.*, 1989) และ Caperta (2006) ได้กล่าวไว้ว่า สารโคลชิซินมีผลต่อการหยุดการทำงานของกระบวนการแบ่งเซลล์ โดยสารโคลชิซินจะเข้าไปอุดตันในท่อไมโครทูบูล ซึ่งเป็นสายสั้น ๆ จึงทำให้ไมโครทูบูลไม่สามารถต่อกันเป็นสาย spindle fiber ได้ ดังนั้นภายในเซลล์ขณะที่เกิดการแบ่งตัวจึงไม่มีสาย spindle fiber ที่ทำหน้าที่สำหรับดึงโครโมโซมในระยะเมทาเฟสออกสู่ขั้วเซลล์ เพื่อเข้าสู่ระยะแอนาเฟส ภายในเซลล์จึงมีจำนวนโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ และเมื่อเซลล์ดำเนินวงจรการแบ่งเซลล์ต่อไปจนถึงขั้นตอนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ โครโมโซมที่ไม่มีการแบ่งตัวจึงเกิดการจำลองตัวและเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า เป็นผลให้ภายในเซลล์มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้น (Segui-Simarro and Nuez, 2008; Yemets and Blume, 2008; Lee *et al.*, 2009 และ Ade and Rai, 2010)

เมื่อเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาระหว่างต้นดิพลอยด์ ต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์ พบว่า ต้นดิพลอยด์มีลักษณะลำต้นยืดยาว เลื้อยแผ่ไปตามพื้นดิน ไม่แข็งแรง ออกดอกจำนวนมาก แต่ใบและดอกมีขนาดเล็ก ระยะเวลาในการบานของดอกสั้น และเมื่อออกดอกแล้ว ระยะเวลาการมีชีวิตของต้นสั้นลง ซึ่งแตกต่างจากต้นเตตระพลอยด์ คือ แม้จะมีลำต้นที่ยืดยาว แต่ลักษณะลำต้นแข็งแรง เนื่องจากมีขนาดลำต้นหนา มีการออกดอกช้ากว่า และมีจำนวนดอกต่อต้นน้อยกว่าต้นดิพลอยด์ แต่ขนาดของดอกและใบใหญ่กว่า ระยะเวลาในการบานของดอกนานขึ้น ดอกมีสีเข้มขึ้น และการมีชีวิตของต้นนานขึ้น ส่วนต้นออกตะพลอยด์มีขนาดของลำต้นหนา ปล้องสั้น จึงทำให้ทรงต้นมีลักษณะเป็นพุ่ม ใบมีขนาดใหญ่ แผ่นใบหนา ลักษณะรอยหยักของขอบใบแตกต่างไปจากต้นดิพลอยด์ ออกดอกช้า และในระยะดอกตูม ดอกมีลักษณะกลมมนและใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์และต้นเตตระพลอยด์ จึงทำให้ดอกมีขนาดใหญ่ สีของดอกเข้ม แต่การบานของดอกน้อยและบางดอกกลับมีลักษณะผิดปกติ สอดคล้องกับการทดลองของ Gantait *et al.* (2011) พบว่า *Gerbera jamesonii* ต้นเตตระพลอยด์มีการงอกของต้นช้าลง แต่ต้นที่ได้มีความแข็งแรงมากขึ้น ใบกว้างและหนาขึ้น ดอกมีขนาดใหญ่ และก้านดอกยาว นอกจากนี้ยังพบว่าดอกมีอายุการปักแจกันยาวนานขึ้น

3. การเปรียบเทียบลักษณะทางเซลล์วิทยาของลินเคอเนียดันดิพลอยด์ ต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์

สำหรับการตรวจหาพืชที่ถูกชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ วิธีที่ดีที่สุด คือ การตรวจนับจำนวนโครโมโซม สำหรับเกณฑ์แรก ๆ ที่ใช้ คือ การสังเกตลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ รูปร่าง และขนาดของส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ใบ ดอก ผล และเมล็ด โดยจะทำให้สามารถแยกพืชได้เป็น 2 กลุ่ม คือ พวกที่ตอบสนองต่อสารโคลชิซิน และพวกที่ไม่ตอบสนองต่อสารโคลชิซิน หรืออาจใช้วิธีการวัดขนาดของปากใบ และขนาดของละอองเกสร ซึ่งจะมีขนาดใหญ่กว่าต้นปกติ (วิมล, 2527) จึงทำการคัดเลือกต้นที่คาดว่าป็นโพลีพลอยด์ได้ แต่จากการทดลองนี้ ได้คัดเลือกลักษณะที่แตกต่างไปจากชุดควบคุม ซึ่งคัดเลือกได้ 4 ลักษณะไปวิเคราะห์จำนวนชุดโครโมโซม เพื่อวัดระดับพลอยดีด้วยวิธี Flow cytometry พบว่า มีต้นดิพลอยด์ (ชุดควบคุม) ต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์ จึงได้ทำการศึกษาเซลล์ปากใบ และขนาดของละอองเกสรของลินเคอเนีย เพื่อเปรียบเทียบลักษณะระหว่างต้นดิพลอยด์ ต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์ พบว่า ต้นดิพลอยด์มีจำนวนปากใบต่อพื้นที่มากที่สุด รองลงมาต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์ ตามลำดับ จึงทำให้ต้นดิพลอยด์มีความหนาแน่นของปากใบมากที่สุด แต่เมื่อวัดขนาดของเซลล์ปากใบและขนาดของละอองเกสรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า พบว่า ต้นดิพลอยด์มีความยาวของเซลล์ปากใบและขนาดของละอองเกสรน้อยที่สุด ตามมาด้วยต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์ซึ่งมีความยาวของเซลล์ปากใบและขนาดของละอองเกสรมากกว่าต้นดิพลอยด์ถึงสองเท่า ทั้งนี้เนื่องจากสารโคลชิซินมีผลทำให้ขนาดของเซลล์ปากใบเพิ่มขึ้น จำนวนปากใบต่อพื้นที่จึงลดลง (Levin, 2002 และ Roy, 2009) เช่นเดียวกับต้น *Echinacea purpurea* (Abdoli et al., 2013) ต้นมะนาว (นนุชและคณะ, 2555) ต้นบัวดิน (รัตนกรณ, 2555) ต้น *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Sciella (Gantait et al., 2011) ต้นแวมบูรา (จิรากรณ, 2554 และ สลิรี, 2556) และกล้วยไม้เอื้องดิน (รัชนิ, 2553) เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากนอกจากสารโคลชิซินจะมีผลต่อการเพิ่มขนาดของเซลล์ปากใบแล้ว ยังมีผลทำให้รูปร่างของแผ่นใบเกิดการเปลี่ยนแปลง เป็นผลทำให้การกระจายตัวของปากใบต่อพื้นที่มีจำนวนเปลี่ยนแปลงไปด้วย

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาชิ้นส่วนของพืชและวิธีการที่เหมาะสมในการใช้สารโคลชิซินจากยาเม็ดรักษาโรคเกาต์ เพื่อชักนำให้เกิดโพลิพลอยด์ในลินเดอเนีย ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนข้อและใบของลินเดอเนียไปแช่ในสารละลายโคลชิซินจากยาเม็ดรักษาโรคเกาต์ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 5 10 15 และ 20 ppm โดยในแต่ละความเข้มข้นใช้เวลาในการแช่คือ 1 2 และ 3 วัน พบว่า ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินและระยะเวลาในการแช่ที่แตกต่างกัน มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของลินเดอเนีย โดยอัตราการรอดชีวิตจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายสูงขึ้นและเวลาในการแช่นานขึ้น นอกจากนี้ยังส่งผลให้ความสามารถในการเจริญเติบโตจากชิ้นส่วนข้อและใบกลายเป็นต้นและความสามารถในการชักนำให้เกิดโพลิพลอยด์ลดลง โดยการใช้สารโคลชิซินทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดโพลิพลอยด์ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm เป็นเวลา 1 วัน สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนข้อเกิดต้นโพลิพลอยด์มากที่สุด 43 ต้น โดยได้ทั้งต้นเตตระพลอยด์และต้นออกตะพลอยด์ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชิ้นส่วนข้อและใบ พบว่า การใช้ชิ้นส่วนข้อสามารถชักนำให้เกิดโพลิพลอยด์ได้ดีกว่าการใช้ชิ้นส่วนใบ การศึกษาผลของสารละลายโคลชิซินต่อการเจริญเติบโตภายใต้สภาพปลอดเชื้อ พบว่า ต้นที่ได้รับสารโคลชิซินจะมีการเจริญเติบโตช้า มีความยาวปล้องน้อยจึงส่งผลให้ต้นมีความสูงน้อย แต่มีลักษณะลำต้นหนา ใบมีขนาดใหญ่ ขอบใบมีรอยหยักชัดเจน สำหรับรากพบว่า มีจำนวนรากและความยาวรากน้อย แต่รากมีลักษณะอวบและแข็งแรงมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อนำต้นในสภาพปลอดเชื้อไปออกปลูก พบว่า ต้นในชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด ส่วนต้นที่ได้รับสารโคลชิซินมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตหลังออกปลูกลดลง นอกจากนี้พบว่าต้นที่เจริญมาจากชิ้นส่วนข้อมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าต้นที่เจริญมาจากชิ้นส่วนใบ แสดงให้เห็นว่าการใช้ชิ้นส่วนข้อของลินเดอเนียในการชักนำให้เกิดโพลิพลอยด์ดีที่สุด การศึกษาผลของสารละลายโคลชิซินต่อการเจริญเติบโตของลินเดอเนียหลังออกปลูก พบลักษณะการเปลี่ยนแปลงของดอก ลำต้น และใบ อาทิเช่น เกิดดอกช้า ดอกมีขนาดใหญ่และมีสีเข้ม ลำต้นหนาและแข็งแรงมากขึ้น ใบมีขนาดใหญ่และหนา รอยหยักของขอบใบเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งสามารถคัดเลือกลักษณะที่แตกต่างจากชุดควบคุมได้ 4 ลักษณะ นำไปวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอเพื่อวัดระดับพลอยดีด้วยวิธี Flow cytometry พบว่า ลินเดอเนียในชุดควบคุมเป็นต้นดิพลอยด์ มี peak ตำแหน่งสูงสุดที่ 200 และอีก 4 ลักษณะ โดย 1 ลักษณะมีระดับพลอยดีเป็นเตตระพลอยด์ เนื่องจากมี peak สูงสุดที่ตำแหน่ง 400 ซึ่งมากกว่าต้นดิพลอยด์สองเท่า

และอีก 3 ลักษณะมีระดับพลอยดีเป็นออกตะพลอยด์ เนื่องจากมี peak สูงสุดที่ตำแหน่ง 800 ซึ่งมากกว่าต้นดิพลอยด์ถึงสี่เท่า และจากการทดลองพบว่า ต้นลินเดอเนียที่ได้รับสารโคลชิซินทุกความเข้มข้นและระยะเวลาที่แช่สามารถชักนำให้เกิดต้นเตตระพลอยด์ได้ ส่วนต้นออกตะพลอยด์พบว่า โคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm เป็นเวลา 1 วันและ 3 วัน สามารถชักนำให้เกิดต้นออกตะพลอยด์ได้ 2 ต้น และ 1 ต้น ตามลำดับ และเมื่อศึกษาลักษณะทางเซลล์วิทยาาระหว่างต้นดิพลอยด์ ต้นเตตระพลอยด์ และต้นออกตะพลอยด์ พบว่า ต้นดิพลอยด์มีจำนวนปากใบต่อพื้นที่มากที่สุด แต่มีขนาดความยาวของเซลล์ปากใบและขนาดของละอองเกสรน้อยที่สุด ส่วนต้นเตตระพลอยด์และต้นออกตะพลอยด์ มีจำนวนปากใบน้อย แต่มีความยาวของเซลล์ปากใบและขนาดของละอองเกสรมาก โดยต้นออกตะพลอยด์จะมีความยาวของเซลล์ปากใบและขนาดของละอองเกสรมากกว่าต้นเตตระพลอยด์ และมีขนาดความยาวของเซลล์ปากใบมากกว่าต้นดิพลอยด์ถึงสองเท่า

จากการทดลองนี้พบว่า ต้นโพลีพลอยด์ของลินเดอเนียมีลักษณะที่ดีกว่าต้นดิพลอยด์ เช่น ใบและดอกมีขนาดใหญ่ ใบและลำต้นหนา ทำให้มีความแข็งแรงและทนทานมากกว่า จึงเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ และสามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมที่มีศักยภาพในการพัฒนาพันธุ์ใหม่ต่อไปได้

ข้อเสนอแนะ

การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในลินเดอเนีย พบว่า สารโคลชิซินจากยาเม็ดรักษาโรคเก๊าท์ สามารถชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ได้ ดังนั้นการทดลองโดยใช้ยาเม็ดโคลชิซินซึ่งเป็นยารักษาโรคเก๊าท์ จึงเป็นทางเลือกที่ดีวิธีการหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีการเพิ่มจำนวนโครโมโซม อีกทั้งยังมีความปลอดภัยในขั้นตอนการเตรียมสารละลายมากกว่าการใช้สารโคลชิซินบริสุทธิ์ แต่การนำสารโคลชิซินมาใช้จำเป็นต้องหากระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสม เนื่องจากสารโคลชิซินมีความเป็นพิษต่อพืช และพืชแต่ละชนิด รวมถึงชิ้นส่วนของพืชที่ใช้ จะตอบสนองต่อสารโคลชิซินแตกต่างกัน และจากการทดลองนี้สามารถนำต้นเตตระพลอยด์และออกตะพลอยด์ของพืชที่ปรับปรุงพันธุ์ด้วยการใช้สารโคลชิซินชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์มาใช้ในการปรับปรุงตกแต่ง โดยการปลูกในกระถางแขวนเพื่อโชว์ หรือการปลูกประดับในรูปแบบต่าง ๆ เนื่องจากต้นเตตระพลอยด์และออกตะพลอยด์ที่ได้ มีลักษณะของทรงพุ่มที่สวยงาม มีดอกและใบขนาดใหญ่ แต่ต้นลินเดอเนียในธรรมชาติจัดเป็นวัชพืช ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการดัดแปลงพันธุกรรมของพืชชนิดนี้ที่

ปรับปรุงได้ และอาจจะปรับปรุงพันธุ์ต่อโดยการนำต้นเตตระพลอยด์ผสมกับต้นดิพลอยด์ เพื่อให้
เกิดต้นทริพลอยด์ ซึ่งจะทำให้ต้นลินเคอเนียมีลักษณะเป็นหมันได้

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ. ม.ป.ป. **Colchicines**. ศูนย์ข้อมูลวัตถุอันตรายและเคมีภัณฑ์. แหล่งที่มา:

<http://www.msds.pcd.go.th>, 26 สิงหาคม 2557.

จิราภรณ์ จิรานภาพันธุ์. 2554. การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในแวมยูราพันธุ์ลูกผสม

(*Torenia fournieri* × *Torenia baillonii*) และแวมยูราพันธุ์กลายดอกสีเหลืองด้วยการใช้สารโคลชิซินชนิดเม็ด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชบา อ่ำราไพ และ กันยรัตน์ ไชยสุต. 2527. การใช้สารโคลชิซินชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ใน

แพงพวยฝรั่ง. เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 4. ชมรมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

ดาวรุ่ง กังวานพงศ์. 2549. พันธุศาสตร์. ห้างหุ้นส่วนจำกัดบุญไชยการพิมพ์, เชียงใหม่.

นิยมศรี ศรีคุณ. 2553. การขยายพันธุ์และการชักนำให้กระชายแดงเกิดการกลายด้วยโคลชิซินใน

สภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นนุช เอื้อวงศ์, ชลกรานต์ อวยจินดา, วิไลพร แซ่ลิ่ม, สุพรรณญิกา เสิงสาย และ วิมล ขวัญเกื้อ.

2555. การศึกษาทางสัณฐานและเซลล์วิทยาของมะนาว (*Citrus aurantifolia* Swingle) โพลีพลอยด์ที่ถูกชักนำด้วยสารโคลชิซิน. วารสารวิชาการเกษตร 30(3): 258-273.

นพพร คล้ายพงษ์พันธุ์. 2546. เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัย

เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เบญจมาศ ศิลาย้อย. 2545. โพลีพลอยด์. สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

(สสวท.) สาขาชีววิทยา. แหล่งที่มา:

http://kroo.ipst.ac.th/biology/main.php?url=article_view&article_id=9, 25 สิงหาคม 2557.

ปฐมภรณ์ ทิลารักษ์ และ สาโรจน์ ประเสริฐศิริวัฒน์. 2557. ผลของโคลชิซินต่อการชักนำให้เกิด
โพลีพลอยด์ในกล้วยไม้เหลืองจันทร์นวลดำเต็มคอ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 16(1): 61-68.

ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. 2550. พันธุศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2527. หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัย
สงขลานครินทร์, สงขลา.

ยรรยง เหตุานุรักษ์. 2523. การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ของโครโมโซมในแตงโมพันธุ์ต่าง ๆ ด้วย
สารโคลชิซิน. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รัชนี เพ็ชรช้าง. 2553. ผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการให้โคลชิซินต่อการเจริญและจำนวน
โครโมโซมของกล้วยไม้เอื้องเงิน. ว. วิทย เทคโนโลยี มมส 29(4): 413-419.

รัชนีวรรณ จิ่งสงวนสิทธิ์. 2546. ความแปรปรวนทางสัณฐานวิทยาและเซลล์วิทยาในตำลึงที่เกิด
จากการใช้สารโคลชิซิน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รัตนภรณ์ เกิดเจริญ. 2555. การชักนำบัวดินให้กลายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้รังสีแกมมาและ
สารโคลชิซิน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิมล ขวัญเกื้อ. 2527. ข่าวสารเกษตรศาสตร์. มิถุนายน-กรกฎาคม. หน้า 22-34.

วิทยา บัวเจริญ. 2527. หลักการผสมและปรับปรุงพันธุ์พืช. วิทยาลัยเทคโนโลยีและอาชีวศึกษา,
ชลบุรี.

วีรภัทร ทิพย์วารี. 2552. ผลของโคลชิซินต่อการเติบโตและชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ของเอื้องดิน
ใบหมาก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สสิริ บุญบงการ. 2556. การชักนำให้เกิดโพลีพลอยดีในแวมมูราพื้นเมือง (*Torenia fournieri*) ด้วยการใช้สารโคลชิซินชนิดเม็ด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สัณฐิตา ตั้งจิตวางกูร. 2552. การชักนำให้เกิดโพลีพลอยดีในแวมมูราด้วยการใช้สายโคลชิซินชนิดเม็ด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สิรินุช ลามศรีจันทร์. 2540. การกลายพันธุ์ของพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์. 2552. การปรับปรุงพันธุ์พืช. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อดิสร กระแสชัย. 2547. บทปฏิบัติการ Cytogenetics in Agriculture. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

อรมา คัมภีรานนท์. 2546. พันธุศาสตร์ของเซลล์. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อมรรัตน์ สระเพชร. 2544. ผลของโคลชิซินที่มีต่อเปราะบางชนิดที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์. 2550. การกลายพันธุ์: เพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อัญญาณี จันทรักดิ์ และ สมปอง เตชะโต. 2553. ผลของสารโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิต ลักษณะทางสรีรวิทยา และสัณฐานวิทยาของหน้าวัวพันธุ์ Micky Mouse. วารสารเกษตร 26(1): 15-25

- Abdoli, M., A. Moieni and H. N. Badi. 2013. Morphological, physiological, cytological and phytochemical studies in diploid and colchicines-induced tetraploid plants of *Echinacea purpurea* (L.). **Acta Physiol Plant** 35: 2075-2083.
- Addink, W. 2007. **Colchicine: used in plant breeding work to induced mutation (polyploidy)**. Available Source: <http://www.geocities.com/RainForest/Vines/2259/colchicines.htm>, August 20, 2014.
- Ade, R. and M. K. Rai. 2010. Review: colchicines, current advances and future prospects. **Bioscience** 2(2): 90-96.
- Barry, S. 2000. **Colchicine Hazards**. Available Source: <http://www.carnivorousplants.org/cpn/samples/Cult291ColchHaz.html>, May 12, 2014.
- Caperta, A. D., M. Delgado, F. Reaurreicao, A. Meister, W. V. Jones and A. Houben. 2006. Colchicine-Induces Polyploidization Dependson Tubulin Polymerization in C-Methaphase Cells. **Protoplasma** 227(2-4): 147-153.
- Chandrasekharan, S. N., S. V. Parthasarathy, N. Krishnawamy and N. Hirohashi. 1975. **Cytogenetics and Plant Breeding**. Madras: P. Varadachary & Co.
- Cook, J. W. and L. D. Loudon. 1952. Colchicine. **The Alkaloid Chemistry and Physiology** 2: 261-329.
- Dermen, H. 1940. Colchicine polyploidy and technique. **The Bot.** 6: 599-635.
- Distabanjong, C., K. Distabanjong, B. Songpra and S. Supakasorn. 2007. **Chromosome doubling in Torch Ginger, *Etlingera elatior* (Jack) R. M. Smith via Tissue Culture**. Office of Biotechnology Research and Development. Department of Agriculture, Bangkok.

- Eigati, O. J. 1938. A cytological study of colchicines effects in the induction of polyploidy in plants. **Proc. Nat. Acad. Sci.** 24: 56-63.
- _____. 1957. Induced polyploidy. **American Journal of Botany** 44(3): 272-279.
- Gantait, s., N. Mandal, S. Bhattacharyya and P. K. Das. 2011. Induction and identification of tetraploids using in vitro colchicines treatment of *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Sciella. **Plant Cell Tiss Organ Cult** 106: 485-493.
- Griesbach, R. J. 1987. Colchicine-induced polyploidy in *Eustoma grandiflorum*. **HortScience** 25(10): 1284-1286.
- Havas, L. 1940. Colchicine Chronology. **Jour. Hered.** 31: 115-117.
- Kostermans *et al.* 1987. **Lindernia crustacea – Plantwise Technical Factsheet**. Available Source:<http://www.plantwise.org/KnowledgeBank/Datasheet.aspx?dsid=30864.html>, August 25, 2014.
- Lee, H. O., J. M. Davidson and R. J. Duronio. 2009. Endoreplication: polyploidy with purpose. **Genes & Development** 23: 2461-2477.
- Levin, D. A. 2002. **The role of chromosomal change in plant evolution**. Oxford University Press, New York.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum** 15: 473-497.
- Roy, D. 2009. **Cytogenetic**. Alpha science international Ltd., U.K.

Segui-Simarro, J. M. and F. Nuez. 2008. Pathways to doubled haploidy: chromosome doubling during androgenesis. **Cytogenetic and Plant Breeding** 120: 358-369.

Shinha, A. R. P. 1987. Colchipoidey in *Lindernia crustacea* (L.) F. Muell. **Cytologia** 52: 151-155

Smitinand, T. 1990. **Flora of Thailand Volume Five Part Two**. The Forest Herbarium, Royal Forest Department, Bangkok.

Tandon, S. L. and K. Bhutani. 1965. Morphological and cytological studies of colchicines induced tetraploids in *Torenia fournieri* Lind. **Genetica** 36: 439-445.

Tharawoot, T., W. Samyam and S. Vessabutr. 2012. Colchicine induced polyploidy of *in vitro* *Impatiens patula* Craib. **Thai Journal of Botany** 4(Special Issue): 75-80.

Utrilla, L., J. Sans and C. D. L. Torre. 1989. Colchicine-Resistant Assembly of Tubulin in Plant Mitosis. **Protoplasma** 152: 101-108.

Yemets, A. I. and Y. B. Blume. 2008. Progress in plant polyploidization based on antimicrotubular drugs. **The open horticulture journal** 1: 15-20.

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ	นางสาวกมลทิพย์ สังข์แก้ว
เกิดวันที่	25 ตุลาคม 2533
สถานที่เกิด	จังหวัดนครศรีธรรมราช
ประวัติการศึกษา	วท.บ. วิทยาศาสตร์บัณฑิต (พืชสวน)
ตำแหน่งปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนบัณฑิตศึกษา 2558 จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ