PRAWARUN AGRICULTURAL JOURNAL

https://li01.tci-thaijo.org/index.php/pajrmu/index

บทความวิจัย

ผลของสารโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโต และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของข้าวพันธุ์ขาวเจ๊ก จังหวัดชัยนาท

สัณฐิตา ตังคจิวางกูร*

หลักสูตรเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรและชีวภาพ มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย 10900

ข้อมูลบทความ

Article history
รับ: 10 กรกฎาคม 2567
แก้ไข: 9 กันยายน 2567
ตอบรับการตีพิมพ์: 10 กันยายน 2567
ตีพิมพ์ออนไลน์: 5 ตุลาคม 2567

คำสำคัญ
สารโคลชิซิน
ขาวเจ๊ก
สัณฐานวิทยา

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารละลายโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิต การเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม ขนาดของเซลล์ปากใบ และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของข้าวพันธุ์ขาวเจ๊ก โดยได้เก็บรวบรวมตัวอย่างเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวเจ๊กจากอำเภอหันคา จังหวัดชัยนาท และนำเมล็ดที่งอกแล้วมาแช่ในสารละลายโคลชิซินที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 0.01 0.05 0.10 และ 0.50 % เป็นระยะเวลา 1 2 และ 3 วัน ตามลำดับ ผลการวิจัยพบว่า อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยของข้าวหลังจากแช่ในสารละลายโคลชิซินเป็นเวลา 60 วัน ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อความเข้มข้นของสารเพิ่มขึ้นและระยะเวลาในการแช่ยาวนานขึ้น นอกจากนี้ ภายหลังจากการแช่สารละลายโคลชิซินเป็นเวลา 120 วัน พบว่า ความสูงเฉลี่ยของต้นข้าวมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารและระยะเวลาในการแช่เพิ่มขึ้น เมื่อนำมาตรวจสอบโครโมโซม สามารถคัดเลือกต้นเตตราพลอยด์ ได้จำนวน 2 ต้น ซึ่งมีจำนวนโครโมโซม 2n = 4x = 48 คือ ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 %, 1 วัน และที่ระดับความเข้มข้น 0.50 %, 1 วัน พบความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) ในส่วนของความยาวและความกว้างของเซลล์ปากใบระหว่างพืชดิพลอยด์และเตตราพลอยด์ ซึ่งบ่งชี้ว่าพืชเตตราพลอยด์มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้ความยาวของรวงข้าว รวมถึงความยาวและความหนาของเมล็ดข้าวในต้นเตตราพลอยด์ยังมีค่ามากกว่าต้นดิพลอยด์อย่างชัดเจน

บทนำ

ข้าว ถือเป็นธัญพืชหลักที่สำคัญของมนุษย์ ปัจจุบันผู้บริโภคใส่ใจสุขภาพมากขึ้น ซึ่งหากพิจารณาถึงองค์ประกอบทางเคมีต่าง ๆ ภายในข้าว พบว่าข้าวประกอบด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เยื่อใย วิตามิน แร่ธาตุ สารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ และมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ปัจจุบันมีการปรับปรุงพัฒนาสายพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะต่าง ๆ ที่ดีขึ้น โดยการปลูกข้าวในประเทศไทยเป็นการปลูกข้าวแบบใช้น้ำฝน ในเขตพื้นที่ภาคกลางเกือบทุกจังหวัดประสบปัญหาการขาดแคลนน้ำอย่างรุนแรง เนื่องจากสถานการณ์ภัยแล้ง โดยเฉพาะจังหวัดสุพรรณบุรีและจังหวัดชัยนาทได้รับผลกระทบอย่างหนัก ข้าวที่ปลูกในพื้นที่ภาคกลางเป็นข้าวที่มีราคาผลผลิตสูง มีคุณภาพ และเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค ดังนั้น ควรมีการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวทั้งสายพันธุ์เศรษฐกิจและข้าวสายพันธุ์ท้องถิ่นให้มีลักษณะเด่น มีคุณภาพดี ทนทานต่อความแห้งแล้ง และมีองค์ประกอบผลผลิตที่สูงขึ้น เพื่อตอบสนองความต้องการในตลาดอย่างมีประสิทธิภาพ (Yuenyen et al., 2023)

ข้าวขาวเจ๊ก เป็นข้าวเจ้าที่ไวต่อช่วงแสง อายุเบา เก็บเกี่ยวผลผลิตในช่วงเดือนพฤศจิกายน พื้นที่ทำนาของจังหวัดชัยนาท ระบบน้ำชลประทานยังเข้าไม่ถึง จึงต้องรอแหล่งน้ำจากปริมาณน้ำฝนในการเพาะปลูก ทำให้เกษตรกรในพื้นที่ปลูกข้าวพันธุ์นี้ปีละครั้ง ข้าวพันธุ์ขาวเจ๊กเป็นข้าวเจ้านาปี ซึ่งเป็นข้าวพื้นเมืองสายพันธุ์ดีของจังหวัดชัยนาท ที่ศูนย์วิจัยข้าวชัยนาท กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว ได้ดำเนินงานในกิจกรรมการรวบรวม และได้คัดเลือกพันธุ์ไว้ ข้าวพันธุ์นี้มีคุณลักษณะดีหลายประการ อาทิเช่น มีคุณภาพเมล็ดดี เมล็ดค่อนข้างยาว ใหญ่และอ้วน มีกลิ่นหอมอ่อน ๆ ไม่แพ้ข้าวหอมมะลิ เมื่อหุงสุกแล้ว รสชาติอร่อย อ่อนนุ่มกำลังดี รวมทั้งได้รับความนิยมจากเกษตรกร และผู้บริโภคเป็นอย่างมาก (Office of Agricultural Economics, 2018) ข้าวพันธุ์นี้จึงมีผลผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด เนื่องจากเป็นข้าวที่มีระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต 120 วัน เกษตรกรผู้ปลูกข้าวจึงหันไปปลูกข้าวพันธุ์อื่น ๆ ที่มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น สำหรับข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองนั้น เป็นข้าวที่มีลักษณะเด่น คือ เกิดจากการเพาะพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์ที่ทนสภาพแวดล้อมต่าง ๆ เช่น ทนต่อแดดและฝน เหมาะสมกับสภาพดินฟ้าอากาศในท้องถิ่นนั้น ๆ ซึ่งข้าวพื้นเมืองอาจเป็นพันธุ์ดั้งเดิม หรือเกิดจากการกลายพันธุ์ของข้าวตามธรรมชาติก็ได้ ปัจจุบันมีการรวบรวมข้าวพื้นเมืองหลายสายพันธุ์ แต่มักไม่ได้รับการส่งเสริมให้ปลูกมากนัก ในอดีตการปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมืองเป็นการปลูกข้าวแบบนาดำ ใช้ปริมาณเมล็ดข้าวไม่มากนัก ซึ่งแตกต่างจากปัจจุบันที่มุ่งเน้นการปลูกแบบการค้า ปัญหาในการปลูกข้าวของเกษตรกรมีสาเหตุมาจากปัจจัยทางกายภาพ เช่น ปัญหาภัยแล้ง ปัญหาน้ำท่วมพื้นที่ เป็นต้น และปัจจัยทางชีวภาพ เช่น ปัญหาโรคและแมลง ศัตรูพืชต่าง ๆ ทำให้ผลผลิตข้าวลดลง (Samleekaew et al., 2017)

*Corresponding author
E–mail address: Santhita.t@chandra.ac.th (S. Tungkajiwangkoon)
Online print: 5 October 2024 Copyright © 2024. This is an open access article, production, and hosting by Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University. https://doi.org/10.14456/paj.2024.41

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวเป็นการเพิ่มศักยภาพของผลผลิตเป็นการปรับปรุง เปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรมให้มีผลผลิตสูง มีคุณภาพ และเป็นที่ต้องการของตลาด โดยขนาดของเมล็ดข้าวมีความหลากหลายตามความต้องการของผู้บริโภคและมีการส่งออกในหลายประเทศ เช่น ประเทศในแถบเอเชีย แอฟริกาเหนือ ลาตินอเมริกา และตะวันออกกลาง ซึ่งมีการส่ง ออกข้าวที่มีขนาดเมล็ดปานกลางได้ถึง 3 ล้านตันต่อปี (Junbuathong et al., 2021) การชักนำให้เกิด polyploid เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่นิยมนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช ซึ่งพืชที่เป็น polyploidy จะมีลักษณะฟีโนไทป์แตกต่างจากต้นดิพลอยด์ เช่น ความสูง ขนาดของลำต้น และเมล็ดมีขนาดใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์ เป็นต้น โคลชิซินเป็นสารที่นิยมใช้ในการเพิ่มจำนวนโครโมโซม โดยจะส่งผลต่อจำนวนโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าในการแบ่งเซลล์ มีการยับยั้งการสร้างเส้นใยสปินเดิล ทำให้โครมาติดของโครโมโซมไม่แยกออกจากกันในระยะแอนนาเฟส จึงทำให้โครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า โดยพืชโพลีพลอยด์มักมีขนาดใหญ่กว่า (Hailu et al., 2021) สารโคลชิซินเป็นสารที่นิยมนำมาใช้ในการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ โดยสารโคลชิซินจะยับยั้งการแบ่งเซลล์ในระยะแรกของเมตาเฟส ทำให้ไม่สามารถสร้างเส้นใยไมโทติกที่จำเป็นสำหรับการแยกโครโมโซมระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสได้ จึงทำให้โครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า (Haring, et al., 2023) และประสบความสำเร็จในพืชหลายชนิด เช่น ฝ้าย (Maru et al., 2021) กาแฟ (Venial et al., 2020) และหยาดน้ำค้าง (ไม้กินแมลง) (Tungkajiwangkoon et al., 2016) เป็นต้น ซึ่งการทำให้โครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า ส่งผลให้พืชมีลักษณะที่ดีขึ้น เช่น ใบหนาขึ้น ลำต้นแข็งแรงมากขึ้น ดอกใหญ่ขึ้น และสามารถแก้ความเป็นหมันได้ เป็นต้น วิธีนี้เป็นการปรับปรุงพันธุ์เพื่อสร้างความหลากหลายทางธรรมชาติ แต่อย่างไรก็ตามควรใช้ด้วยความระมัดระวัง เนื่องจากเป็นสารก่อมะเร็ง

ดังนั้นจากเหตุผลดังกล่าว ผู้วิจัยจึงมีความคิดที่จะหาแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวขาวเจ๊ก เพื่อสร้างองค์ความรู้ใหม่ เพิ่มคุณลักษณะที่ดีของข้าวพันธุ์พื้นเมือง และเป็นทางเลือกให้เกษตรกรปลูกข้าวพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่อไร่สูงกว่าเดิม โดยวัตถุประสงค์ของการวิจัย เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน และระยะเวลาในการแช่สารละลาย โคลชิซิน ที่มีผลต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะคุณภาพต่าง ๆ ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวพันธุ์ขาวเจ๊ก

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวเจ๊กจากอำเภอหันคา จังหวัดชัยนาท ได้ปฏิบัติตามระเบียบที่คณะกรรมการกำหนดในพระราชบัญญัติคุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ. 2542 โดยมิได้มีวัตถุประสงค์เพื่อประโยชน์ทางการค้า ทำการคัดเลือกเมล็ดพันธุ์ โดยพิจารณาจากขนาดเมล็ด ความสมบูรณ์ และการไม่มีโรคหรือแมลงปะปน หลังจากนั้นเพาะเมล็ด 5 วัน คัดเลือกต้นอ่อนที่งอกสำหรับการแช่สารละลายโคลชิซิน โดยพิจารณาคัดเลือกต้นอ่อนที่เจริญเติบโตดี มีความสูงประมาณ 3 - 5 เซนติเมตร หรือมีใบจริงออกมา 1 - 2 ใบ ซึ่งแสดงว่าต้นอ่อนมีความแข็งแรงพอสำหรับการทรีทด้วยสารละลายโคลชิซิน การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบ 5x3 Factorial experiments in CRD โดยใช้สารละลายโคลชิซินระดับความเข้มข้น 0 0.01 0.05 0.10 และ 0.50 % ระยะเวลาการแช่สารละลายโคลชิซิน คือ 1 2 และ 3 วัน ตามลำดับ แต่ละชุดการทดลองเริ่ม การทดลอง โดยเพาะเมล็ดข้าวขาวเจ๊ก หลังจากนั้นเมื่อเมล็ดเริ่มงอก ทำการคัดเลือกต้นที่งอกขนาดเท่าๆ กัน จำนวน 20 ซ้ำ ต่อ 1 ทรีทเม้นต์ ซ้ำละ 1 ต้น รวม 300 ต้น นำต้นอ่อนที่เริ่มงอก (อายุ 5 วัน) และนำไปแช่ในสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้นละ 20 ต้น เวลาในการแช่ คือ 1 2 และ 3 วัน หลังจากนั้นนำต้นอ่อนไปปลูกในวัสดุปลูกที่มีอัตราส่วนทรายและถ่านแกลบเป็นส่วนผสม ในอัตราส่วน 1:1 เมื่อต้นอายุ 2 สัปดาห์ ได้ย้ายปลูกลงในกระถางขนาด 4 นิ้ว ซึ่งมีวัสดุปลูก คือ ดินร่วนเหนียว หรือดินทราย โดยระยะเวลาการทดลองทั้งสิ้น 120 วัน บันทึกการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม หลังจากแช่สารละลายโคลชิซินเป็นระยะเวลา 120 วัน คัดเลือกต้นที่คาดว่าจะเกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมไปทำการตรวจสอบโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์ compound microscope

ศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการจุ่มแช่สารละลายโคลชิซินต่อการรอดชีวิต เป็นระยะเวลา 60 วัน

การศึกษาอัตราการรอดชีวิต (%) บันทึกการเปลี่ยนแปลงทุกสัปดาห์ ภายหลังการแช่เมล็ดข้าวพันธุ์ขาวเจ๊กด้วยสารละลายโคลชิซิน 60 วัน และนำลงปลูก พบอัตราการรอดชีวิตเริ่มคงที่ ในการศึกษาการรอดชีวิตของต้นกล้าข้าว ใช้เกณฑ์การพิจารณา คือ ต้นกล้าถือว่ารอดชีวิตเมื่อมีการเจริญเติบโตต่อเนื่อง ใบเขียวสด และลำต้นแข็งแรง ส่วนต้นกล้าที่ใบแห้งเหี่ยว ลำต้นเน่า หรือไม่เจริญเติบโตจะถือว่าตาย

การบันทึกผลอัตราการรอดชีวิต (%) ของข้าวพันธุ์ขาวเจ๊กภายหลังการการแช่เมล็ดข้าวพันธุ์ขาวเจ๊กด้วยสารละลายโคลชิซินและนำลงปลูก 60 วัน โดยคำนวณจากสูตร

$$\text{อัตราการรอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนต้นที่รอดชีวิต}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$$

การศึกษาการเจริญเติบโตด้านความสูงของของต้นข้าวพันธุ์ขาวเจ๊กเมื่ออายุ 120 วัน

หลังจากแช่สารละลายโคลชิซินและปลูกข้าวครบ 120 วัน สุ่มตัวอย่างข้าวที่แช่ด้วยสารละลายโคลชิซินที่ระดับ ความเข้มข้น 0 0.01 0.05 0.10 และ 0.50 % ระยะเวลาการแช่สารละลายโคลชิซิน คือ 1 2 และ 3 วัน ตามลำดับ มาตัวอย่างละ 5 ต้น มาทำการวัดและบันทึกค่าเพื่อหาค่าเฉลี่ยความสูง (เซนติเมตร) โดยวัดความสูงจากโคนต้น (บริเวณที่ต้นข้าวงอกขึ้นจากดิน) จนถึงจุดสูงสุดของรวงข้าว หรือยอดของต้นข้าว

ศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการจุ่มแช่สารละลายโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม เมื่ออายุ 120 วัน

1. นำรากที่เตรียมไว้ ใส่น้ำยาฟิกส์ราก สารเคมีที่ใช้ คือ สารละลายคาร์นอย (Carnoy's solution) ซึ่งเตรียมจาก 3 absolute ethanol : 1 glacial acetic acid แช่รากทิ้งไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น คือ ประมาณ 10°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. นำรากที่เก็บไว้ในแอลกอฮอล์มาล้างให้สะอาด โดยการไฮโดรไลซิสด้วยกรดเกลือเข้มข้น 1 นอร์มัล (1 N HCL) เพื่อทำลายผนังเซลล์ (middle lamella) โดยทำการอุ่นให้ร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 4 นาที

3. หลังจากไฮโดรไลซิสแล้ว นำรากมาล้างด้วยน้ำกลั่น 2 - 3 ครั้ง ซับด้วยกระดาษทิชชู่ จากนั้นนำมาย้อมสีด้วย Carbol fuchsin นาน ประมาณ 2 ชั่วโมง ตัดปลายรากเฉพาะส่วนที่ติดสีม่วงแดง ซึ่งประกอบด้วยเนื้อเยื่อเจริญวางบนสไลด์ หยดสี Carbol fuchsin 1 - 2 หยด ปิดด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์ แล้วเคาะปลายรากด้วยปลายฟอร์เซปให้เซลล์กระจายดีหลังจากนั้นใช้เทคนิค squash ซึ่งเป็นวิธีพื้นฐานโดยการใช้หัวแม่มือกดทับบนสไลด์เพื่อให้โครโมโซมอยู่ในระนาบเดียวกัน นับจำนวนโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โดยใช้เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 100 เท่า

การคำนวณความถี่ของต้นเตตราพลอยด์ (Tetraploid Frequency) ในประชากร

สามารถทำได้โดยใช้สูตรคำนวณ ดังนี้

$$\text{ความถี่ของต้นเตตราพลอยด์} = \frac{\text{จำนวนต้นเตตราพลอยด์ทั้งหมด}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมดในประชากร}} \times 100$$

การศึกษาลักษณะและขนาดของปากใบเฉลี่ยของต้นข้าวขาวเจ๊ก เมื่ออายุ 120 วัน

เก็บใบที่ 3 จากยอดของต้นข้าวพันธุ์ขาวเจ๊กในชุดควบคุม เปรียบเทียบกับต้นที่มีการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม นำมาลอกผิวใบด้านล่าง โดยทำการหยดน้ำกลั่น 1 หยด และปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ศึกษาลักษณะและขนาดของเซลล์ปากใบด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า จำนวน 5 ซ้ำ เพื่อหาค่าเฉลี่ย

การศึกษาความยาวของรวงข้าว, ความกว้าง ความยาว และความหนาของเมล็ดข้าว เมื่ออายุ 120 วัน

ความยาวของรวงข้าว สุ่มตัวอย่างรวงข้าวของต้นในชุดควบคุมกับต้นเตตราพลอยด์มาวัดเปรียบเทียบ ซึ่งวัดจากโคนรวงที่ติดกับใบจนถึงปลายรวง โดยใช้ไม้ตลับเมตรที่มีความละเอียด 0.10 มิลลิเมตร

ความกว้าง ความยาว และความหนาของเมล็ดข้าว สุ่มตัวอย่างเมล็ดข้าวมาวัดความกว้าง ความยาว และความหนาของเมล็ดข้าว โดยใช้เวอร์เนียร์คาร์ลิปเปอร์ทำการวัด 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 เมล็ด บันทึกผลเป็นหน่วยมิลลิเมตร โดยความยาวของเมล็ดข้าว ซึ่งวัดจากฐานล่างสุดของกลีบดอกถึงยอดเมล็ด โดยใช้เวอร์เนียร์คาร์ลิปเปอร์ที่มีความละเอียด 0.01 มิลลิเมตร ความกว้างของเมล็ดข้าว วัดส่วนกึ่งกลางของเมล็ด โดยใช้เวอร์เนียร์คาร์ลิปเปอร์ที่มีความละเอียด 0.01 มิลลิเมตร ความหนาของเมล็ดข้าว วัดจากส่วนกึ่งกลางของเมล็ดข้าว เพราะส่วนนี้เป็นส่วนที่หนาที่สุดและสามารถให้ค่าที่แม่นยำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนอื่น ๆ ของเมล็ดข้าว

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อ มั่น 95 % หรือ 99 % (ตามหัวข้อที่แสดงผล) โดยใช้โปรแกรม SPSS 17.0

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

ศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการจุ่มแช่สารละลายโคลชิซินต่อการรอดชีวิต เป็นระยะเวลา 60 วัน

หลังจากทำการคัดเลือกเมล็ดที่มีขนาดเท่า ๆ กัน จำนวน 300 เมล็ด มาทำการแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0 0.01 0.05 0.10 และ 0.50 % เวลาในการแช่ คือ 1 2 และ 3 วัน ตามลำดับ ภายหลังการแช่ด้วยสารละลายโคลชิซิน 60 วัน พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 0.50 % ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุด อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยต่ำที่สุดอยู่ที่ 8.76 % ซึ่งบ่งชี้ว่าความเข้มข้นของโคลชิซินที่สูงมาก เมื่อรวมกับระยะเวลาการแช่สารที่ยาวนาน ส่งผลให้การเจริญเติบโตของต้นพืชชะลอตัวอย่างมากหรือหยุดชะงัก ส่งผลให้ต้นพืชไม่สามารถรอดชีวิตได้ ในทางกลับกันที่ความเข้มข้น 0 % ซึ่งไม่มีการใช้โคลชิซินเลย ต้นพืชมีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด อยู่ที่ 84.80 % แสดงให้เห็นว่าการไม่มีสารละลายโคลชิซินช่วยให้ต้นพืชสามารถเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ โดยพบว่าระดับความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน และระยะเวลาการแช่สารมีอิทธิพลร่วมกันอย่างชัดเจนต่ออัตราการรอดชีวิตของต้นพืช และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยความเข้มข้นที่สูงและการแช่สารเป็นเวลานาน ทำให้ผลกระทบรุนแรงมากขึ้น ส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตลดลงอย่างมาก (Table 1) สอดคล้องกับการทดลองของ Kerdsuwan & Te-chato (2012) ที่ศึกษาผลของสารละลายโคลชิซินต่ออัตรา การรอดชีวิต ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และเซลล์วิทยาของกล้วยไม้ช้างแดง พบว่า อัตราการรอดชีวิตจะลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นสูงขึ้น และระยะเวลาการแช่นานขึ้น และการทดลองของ Choopeng et al. (2019) ที่ศึกษาผลของโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิตและระดับโพลีพลอยดี ระหว่างกล้วยไม้ลูกผสม ระหว่าง *Dendrobium santana* x *D. friedericksianum* พบว่า ระดับ ความเข้มข้นโคลชิซินที่สูงขึ้น ระยะเวลาการแช่นานขึ้น ส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตต่ำลง ซึ่งสันนิษฐานว่า ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินมีความเป็นพิษต่อเซลล์พืช ส่งผลให้กระบวนการภายในเซลล์เกิดความไม่สมดุลและส่งผลให้พืชตายในที่สุด

การศึกษาการเจริญเติบโตด้านความสูงของของต้นข้าวพันธุ์ขาวเจ๊ก เมื่ออายุ 120 วัน

เมื่อปลูกข้าวครบ 120 วัน สุ่มตัวอย่างข้าวที่แช่ด้วยสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0 0.01 0.05 0.10 และ 0.50 % ระยะเวลาการแช่สารละลายโคลชิซิน คือ 1 2 และ 3 วัน ตามลำดับ มาตัวอย่างละ 5 ต้น มาทำการวัดและบันทึกค่าเพื่อหาค่าเฉลี่ยความสูง (เซนติเมตร) โดยวัดความสูงจากโคนต้น (บริเวณที่ต้นข้าวงอกขึ้นจากดิน) จนถึงจุดสูงสุดของรวงข้าว หรือยอดของต้นข้าว พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของโคลชิซินและระยะเวลาการแช่สารละลายส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยความเข้มข้นที่สูงขึ้นและการแช่สารนานขึ้นทำให้การเจริญเติบโตชะลอตัวหรือหยุดชะงัก ตัวอย่างเช่น ที่ความเข้มข้น 0.50 % ในวันแรก พืชมีความสูงเฉลี่ยสูงถึง 109 เซนติเมตร แต่ความสูงลดลงอย่างมากและพบต้นตายเมื่อเวลาในการแช่มากขึ้น และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (Table 2) สอดคล้องกับการทดลองของ Tiwari & Mishra (2012) ที่ศึกษาผลของสารละลายโคลชิซิน ในไม้ดอกล้มลุก *Phlox drummondii* พบว่า สารละลายโคลชิซินที่มีความเข้มข้นสูงและระยะเวลาในการแช่นาน ทำให้พืชมีความสูงต่ำลง เกิดจากการขัดขวางการเกิดพอลิเมอไรเซชันของไมโครทูบูลในการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส ทำให้จำนวนโครโมโซมเป็นสองเท่า และจากการยับยั้งการสร้างเส้นใยสปินเดิลไม่ให้เกิดการแยกตัวของ

โครโมโซม จะทำให้เกิดการชะลอการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังมีรายงานผลกระทบจากการกลายพันธุ์อื่น ๆ รวมถึงการเปลี่ยนแปลงเชิงปริมาณสำหรับพืชต่าง ๆ อาทิเช่น Maneerattanarungroj et al. (2016) ได้ศึกษาผลของสารละลายโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิต ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางกายวิภาคในข้าวหอมนิล พบว่า หลังจากการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Clorox) และแช่ในสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0 0.01 0.02 0.03 และ 0.04 % ในที่มืด เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง และเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ข้าวหอมนิลที่แช่สารละลายโคลชิซิน 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 และ 0.02 % มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดเท่ากัน พบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นที่แช่สารละลายโคลชิซิน ที่ระดับความเข้มข้นไม่เปลี่ยนแปลง แต่จำนวนใบ ความกว้างใบ ความยาวใบ และขนาดของเซลล์ปากใบมากกว่าต้นในชุดควบคุม และสารละลายโคลชิซินยังช่วยในเรื่องการสร้างโพลีพลอยด์ในข้าว Parera & Dahanayake (2016) ได้ศึกษาผลของสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการชักนำให้เกิด โพลีพลอยด์ในแคลลัสของข้าวพันธุ์ Suwadel และ Sulaai เพื่อเพิ่มความทนทานต่อความแห้งแล้งและความเค็ม พบว่า แคลลัสที่ได้รับสารโคลชิซินในความเข้มข้น 30, 60, 90 และ 120 มก./ลิตร ในเวลา 12 และ 24 ชั่วโมงสามารถรอดชีวิตได้ แต่ความสามารถในการสร้างยอดของแคลลัสลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารและระยะเวลาการแช่เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่า สารโคลชิซินมีผลต่อการพัฒนาและความทนทานของข้าว ซึ่งต้องมีการควบคุมความเข้มข้นและระยะเวลาอย่างเหมาะสมถึงจะเกิดประสิทธิภาพ

ศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการจุ่มแช่สารละลายโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ภายหลังการแช่เมล็ดข้าวด้วยสารละลายโคลชิซิน ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.01 0.05 0.10 และ 0.50 % เวลาในการแช่ คือ 1 2 และ 3 วัน ตามลำดับ เป็นเวลา 120 วัน ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นข้าวขาวเจ๊ก ได้ทำการคัดเลือกต้นที่ได้รับการแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.50 % 1 วัน มีลักษณะดีขึ้น เช่น ใบมีลักษณะหนาและมีสีเขียวเข้ม เป็นต้น (Figure 1) เมื่อเปรียบเทียบกับต้นในชุดควบคุม พบว่า ค่าเฉลี่ยความยาวของรวงข้าว ค่าเฉลี่ยความยาวของเมล็ดข้าว และค่าเฉลี่ยความหนาของเมล็ดข้าวในต้นเตตราพลอยด์มีค่ามากกว่าต้นดิพลอยด์ และแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยต้นดิพลอยด์ค่าเฉลี่ยความยาวรวงข้าว คือ 13.96 ± 0.79 ต้นเตตราพลอยด์มีค่าเฉลี่ยความยาวรวงข้าว คือ 23.15 ± 1.49 มิลลิเมตร ต้นดิพลอยด์มีค่าเฉลี่ยความยาวเมล็ดข้าว คือ 10.75 ± 0.62 ต้นเตตราพลอยด์มีค่าเฉลี่ยความยาวเมล็ดข้าว คือ 11.86 ± 0.67 ต้นดิพลอยด์มีค่าเฉลี่ย ความหนาของเมล็ดข้าว คือ 2.24 ± 0.11 ต้นเตตราพลอยด์มีค่าเฉลี่ยความหนาของเมล็ดข้าว คือ 3.37 ± 0.09 ซึ่งทั้ง 3 ข้อมูลนี้มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % อย่างไรก็ตามค่าเฉลี่ยความกว้างของเมล็ดข้าวไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบต้นดิพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % (Table 4) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Eng et al. (2021) ที่ศึกษาผลของโคลชิซินต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาในกระทุ่ม (*Neolamarckia cadamba)* พบว่า ใบมีสีเข้มขึ้น ลำต้นมีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งอาจสัมพันธ์กับคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์ที่เพิ่มมากขึ้น และความหนาของใบ ทำให้ใบมีสีเข้มขึ้น โดยจำนวนคลอโรพลาสต์ สามารถศึกษาทางกายวิภาคของปากใบ

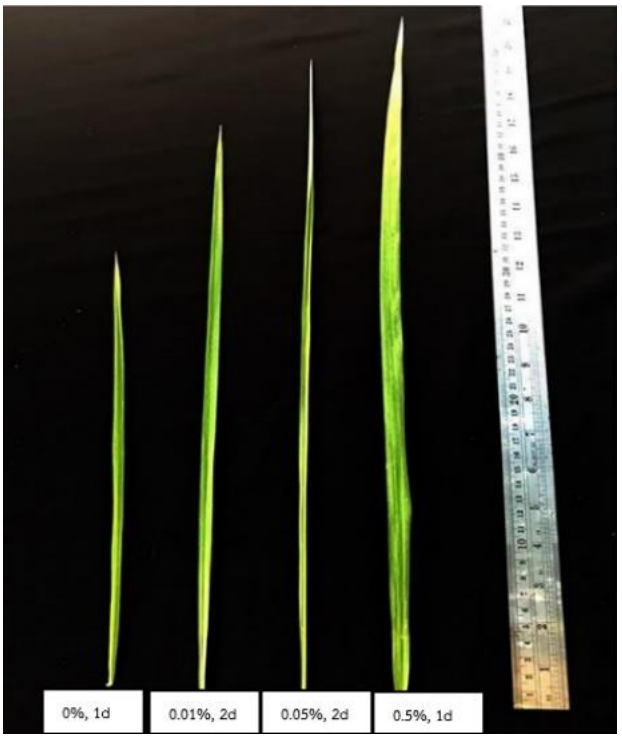

Figure 1 Comparison of leaf sizes resulting from treatment with colchicine solution at different concentrations and durations. (0 %, 1 day, 0.01 %, 2 days, 0.05 %, 2 days, and 0.50 %, 1 day for 120 days).

ศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการจุ่มแช่สารละลายโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม

ภายหลังการแช่ด้วยสารละลายโคลชิซิน ระดับความเข้มข้น 0 0.01 0.05 0.10 และ 0.50 % เวลาในการแช่ คือ 1 2 และ 3 วัน ตามลำดับ เป็นเวลา 120 วัน ได้ทำการคัดเลือกต้น ที่คาดว่าเป็นต้นเตตราพลอยด์ ซึ่งพบการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานที่ชัดเจน เช่น ใบมีลักษณะหนาและมีสีเขียวเข้ม เป็นต้น มาทำการตรวจสอบโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์ compound microscope ที่กำลังขยาย 100X โดยพบต้นดิพลอยด์ หรือต้นปกติมีจำนวนโครโมโซม (2n=2x=24) และสามารถคัดเลือกต้นเตตราพลอยด์ได้จำนวน 2 ต้น คือ ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 % 1 วัน และที่ระดับความเข้มข้น 0.50 % 1 วัน (2n=4x=48) (Figure 2, Table 3) โดยพบว่าสารละลายโคลชิซินสามารถชักนำให้เกิดต้นเตตราพลอยด์ในพืชหลายชนิด (Lv et al., 2024)

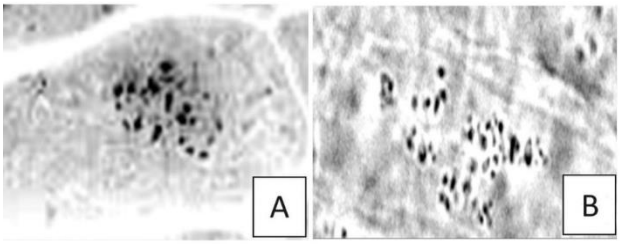

Figure 2 Metaphase chromosomes of mitosis in root tips (A) diploid control; (B) obtained tetraploid (100X).

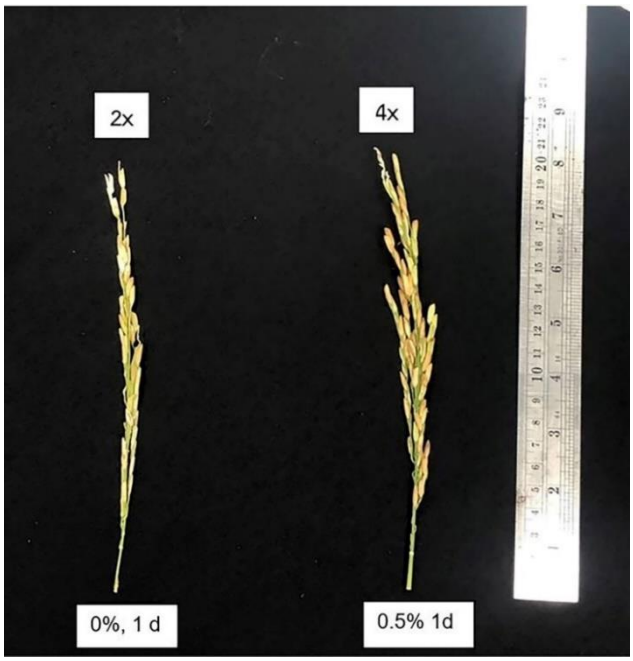

Figure 3 Comparison of the size of the panicles between the diploid and tetraploid plants after treat colchicine 120 days. panicles of the diploid (left), panicles of the tetraploid (right).

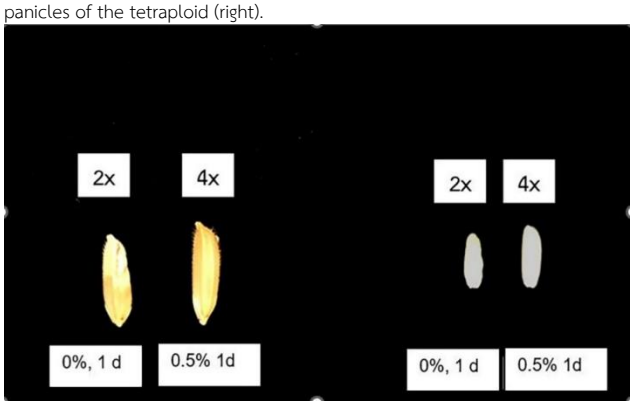

Figure 4 Comparison of the size of seed between the diploid and tetraploid plants after treat colchicine 120 days.

ศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการจุ่มแช่สารละลายโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดของเซลล์ปากใบเฉลี่ยของต้นข้าวขาวเจ๊กดิพลอยด์ และเตตราพลอยด์ (โดยสุ่มจากต้นเตตราพลอยด์ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 % และ 0.50 % เวลาในการแช่ คือ 1 วัน)

ภายหลังการแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0 0.01 0.05 0.10 และ 0.50 % เวลาในการแช่ คือ 1 2 และ 3 วัน ตามลำดับ เป็นเวลา 120 วัน ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงขนาดของเซลล์ปากใบเฉลี่ยของต้นข้าวพันธุ์ขาวเจ๊กดิพลอยด์ และเตตราพลอยด์ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ compound microscope กำลังขยาย 40X พบว่า ความยาวของเซลล์ปากใบเฉลี่ยและความกว้างของเซลล์ปากใบเฉลี่ย มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % ความยาวของเซลล์ปากใบเฉลี่ยของต้นดิพลอยด์ คือ 21.10 ± 0.97 ไมโครเมตร และความยาวเซลล์ปากใบเฉลี่ยของต้นเตตราพลอยด์ คือ 22.53 ± 1.42 ไมโครเมตร ความกว้างของเซลล์ปากใบเฉลี่ยของต้นดิพลอยด์ คือ 15.20 ± 0.74 ไมโครเมตร และความกว้างเซลล์ปากใบเฉลี่ยของต้นเตตราพลอยด์ คือ 17.25 ± 1.24 ไมโครเมตร (Figure 5, Table 5) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Kara & Yazar (2022) ที่ได้ศึกษาผลของสารละลายโคลชิซินในองุ่นสำหรับใช้ทำไวน์ พบว่า ภายหลังการทรีทด้วยสารละลายโคลชิซิน มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดของของปากใบทั้งด้านความกว้างและความยาว โดยพบว่าเมื่อเปรียบเทียบต้นดิพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์ ต้นดิพลอยด์มีความยาวของเซลล์ปากใบเฉลี่ย 21.10 ± 0.97 ต้นเตตราพลอยด์มีความยาวของเซลล์ปากใบเฉลี่ย 22.53 ± 1.42 และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง นอกจากนี้ Tammu et al. (2021) ได้ศึกษาผลของสารละลายโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมในพริก Katokkon โดยแช่ในสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ ดังนี้ 0.025 % (K1), 0.05 % (K2), 0.075 % (K3), และ 0.10 % (K4) ระยะเวลาการแช่ 24 ชั่วโมง พบว่า ทุกระดับความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดมิกโซพลอยด์ และขนาดของปากใบในด้านความยาวไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่ขนาดความกว้างของปากใบระหว่างต้นโพลีพลอยด์และดิพลอยด์ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันในเรื่องของขนาด แต่โดยส่วนใหญ่พบขนาดของปากใบจะใหญ่ขึ้นในพืชที่เป็นออโตเตตราพลอยด์ นอกจากนี้ความหนาแน่นของปากใบก็สามารถเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญของการเกิดโพลีพลอยด์ ซึ่งเป็นการตรวจสอบโดยทางอ้อม ในการเหนี่ยวนำให้เกิดโพลีพลอยด์ สามารถใช้การวิเคราะห์ขนาดของปากใบร่วมด้วย เนื่องจากขนาดของปากใบ ถือเป็นตัวชี้วัดหนึ่งในการเปรียบเทียบระดับของโพลีพลอยด์ในพืชหลายชนิด พบว่า หลังการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ด้วยสารละลายโคลชิซิน ความหนาแน่นของปากใบลดลงเนื่องจากเซลล์มีขนาดที่ใหญ่ขึ้น ซึ่งการวัดขนาดของปากใบเป็นตัวบ่งชี้ที่เชื่อถือได้และมีประสิทธิภาพ มักนิยมใช้ร่วมกับการนับโครโมโซม (Nagat et al., 2020)

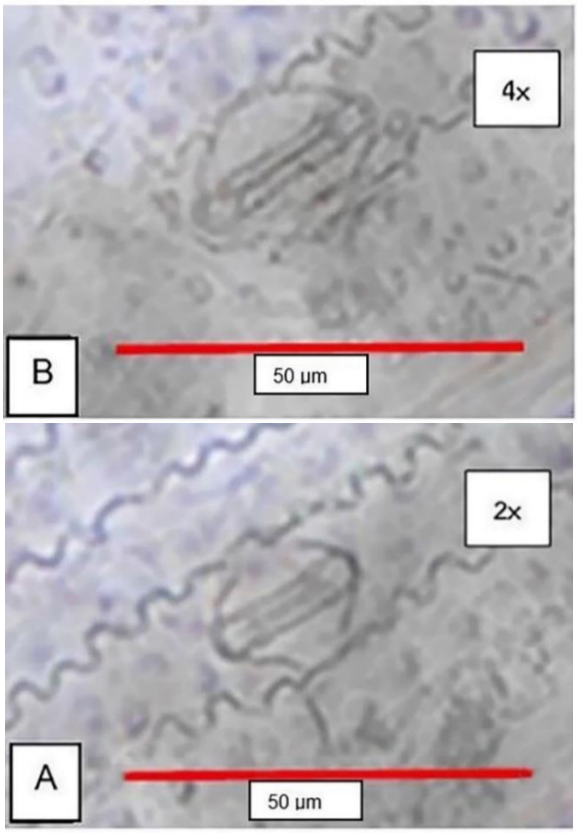

Figure 5 Comparison of the stomata size of diploid (2n=2x=24) (A). tetraploid (2n=4x=48) (B). Bar=50 µm.

สรุปผลการวิจัย

การศึกษา % การรอดชีวิตของข้าวพันธุ์ขาวเจ๊ก พบว่า ระดับความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินและระยะ เวลาการแช่สารมีอิทธิพลร่วมกันอย่างชัดเจนต่ออัตราการรอดชีวิตของต้นพืช และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของโคลชิซินและระยะเวลาการแช่สารละลายส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยความเข้มข้นที่สูงขึ้นและการแช่สารนานขึ้น ทำให้การเจริญเติบโตชะลอตัวหรือหยุดชะงัก เมื่อทำการคัดเลือกต้นที่คาดว่าจะเป็นเตตราพลอยด์ จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ดีขึ้นมาทำการตรวจสอบโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์ compound microscope และสามารถคัดเลือกต้นเตตราพลอยด์ได้จำนวน 2 ต้น คือ ที่ระดับความเข้มข้น 0.10 % 1 วัน และที่ระดับความเข้มข้น 0.50 % 1 วัน (2n=4x=48) นอกจากนี้ยังได้ศึกษาการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงขนาดของเซลล์ปากใบเฉลี่ยของต้นข้าวขาวเจ๊กดิพลอยด์และเตตราพลอยด์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ compound microscope กำลังขยาย 40X ได้ทำการเปรียบเทียบ ความยาวของรวงข้าว, ความกว้างความยาว และความหนาของเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวเจ๊กดิพลอยด์และเตตราพลอยด์ พบว่า ความยาวเซลล์ปากใบเฉลี่ย และความกว้างเซลล์ปากใบเฉลี่ย ความยาวของรวงข้าว, ความยาวและความหนาของเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวเจ๊กของต้นเตตราพลอยด์มีค่ามากกว่าต้นดิพลอยด์ โดยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่ความกว้างของของเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวเจ๊กไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษมที่สนับสนุนทุนวิจัย และขอขอบคุณกลุ่มเกษตรกรในอำเภอหันคา จังหวัดชัยนาท ในการเก็บตัวอย่าง และหลักสูตรเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรและชีวภาพ มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม ที่ให้ความอนุเคราะห์แปลงทดลองและห้องปฏิบัติการในการวิจัยครั้งนี้

Table 1 Effect of colchicine concentration and duration time on the survival rate of *Oryza sativa* L. cv. Khao Jek after treat colchince solution at 60 days

Concentration of colchicine (%)	Survival rate (%)			Average of survival rate (%)
	Duration period (days)			
	1	2	3	
0	91.90[a]	83.75[a]	78.75[a]	84.80[a1/]
0.01	63.15[b]	59.40[b]	43.13[b]	55.23[b]
0.05	54.38[c]	13.75[c]	12.50[c]	26.88[c]
0.10	27.50[d]	11.25[c]	2.50[d]	13.75[d]
0.50	5.63[e]	1.875[d]	1.25[d]	8.76[d]
Average (%)	48.51[a2/]	34.01[b]	27.63[c]	
F-test	Concentration Level	*		
	Soaking duration	*		
	Concentration Level X Soaking duration	*		
C.V. (%)	3.91			

[1/]Different letters within the same columns indicate statistically significance difference using DMRT test at 95 % ($p<0.05$).

[2/] Different letters within the same row indicate statistically significance difference using DMRT test at 95 % ($p<0.05$).

*=There were statistically significant difference at 95 %; ns= not significant difference.

Tables 2 Effect of colchicine concentration and duration time on the average height of *Oryza sativa* L. cv. Khao Jek at 120 days

Concentration Of colchicine (%)	Average height (cm)			Total average (cm)
	Duration period (days)			
	1	2	3	
0	67.44 ± 4.39[b]	68.06 ± 4.06[a]	66.42 ± 4.13[a]	67.31[b1/]
0.01	87.91 ± 3.96[a]	64.82 ± 3.57[b]	72.13 ± 2.23[a]	74.95[a]
0.05	68.06 ± 4.06[b]	68.00 ± 1.41[a]	72.00 ± 1.41[a]	69.35[b]
0.10	68.80 ± 3.11[b]	72.50 ± 2.12[a]	-	47.10[c]
0.50	109.00[a]	-	-	36.33[d]
Average (%)	80.24[a2/]	54.68[b]	42.11[c]	
F-test	Concentration Level	*		
	Soaking duration	*		
Concentration LevelX Soaking duration		*		
C.V. (%)	14.79			

[1/]Different letters within the same columns indicate statistically significance difference using DMRT test at 95 % ($p<0.05$).

[2/] Different letters within the same row indicate statistically significance difference using DMRT test at 95 % ($p<0.05$).

*=There were statistically significant difference at95 %; ns= not significant difference.

Table 3 Frequency of polyploidization of *Oryza sativa* L. cv. Khao Jek for 120 days after colchicine treatment

Concentration of colchicine (%)	Duration period (days)	Total number of plants	Number of tetraploid	Frequency of tetraploid (%)
0	1	20	0	0
	2	20	0	0
	3	20	0	0
0.01	1	20	0	0
	2	20	0	0
	3	20	0	0
0.05	1	20	0	0
	2	20	0	0
	3	20	0	0
0.10	1	20	1	5
	2	20	0	0
	3	20	0	0
0.50	1	20	1	5
	2	20	0	0
	3	20	0	0

Table 4 Comparison between diploid and tetraploid plants of panicle length, length width and thickness of a grain of rice at 120 days

plants	Panicle length (mm)	Length of a grain of rice (mm)	Width of a grain of rice (mm)	Thickness of a grain of rice (mm)
Diploid	13.96 ± 0.79[1/b2/]	10.75 ± 0.62[b]	2.28 ± 0.28	2.24 ± 0.11 [b]
Tetraploid	23.15 ± 1.49[a]	11.86 ± 0.67[a]	2.22 ± 0.14	3.37± 0.09 [a]
t-test	**	**	ns	**

** There is a statistical difference at the 99 % confidence level.

ns= not significant difference.

[1/]Average ± Standard Deviation.

[2/]Different letters within the same columns indicate statistically significance difference.

Comparing the means of two samples by t-test method.

Table 5 Effect of colchicine concentration and duration period on stomata size

Plants	Mean stomata Length ± SD (µm)	Mean stomata Width ± SD (µm)
Diploid	21.10 ± 0.97 [1/b2/]	15.20 ± 0.74[b]
Tetraploid	22.53 ± 1.42[a]	17.25 ± 1.24[a]
t-test	**	**

** There is a statistical difference at the 99 % confidence level.

[1/]Average ± Standard Deviation.

[2/]Different letters within the same columns indicate statistically significance difference.

Comparing the means of two samples by t-test method.

References

Choopeng, S., Te-chato, S., & Khawnium, T. (2019). Effect of colchicine on survival rate and ploidy level of hybrid between *Dendrobium santana* x *D. friedericksianum* orchid. *International Journal of Agricultural Technology*, *15*(2), 249-260.

Eng, W. H., Ho, W. S., & Ling, K. H. (2021). Effects of colchicine treatment on morphological variations of *Neolamarckia cadamba*. *International Journal of Agricultural Technology*, *17*(1), 47-66.

Hailu, M. G., Mawcha, K. T., Nshimiyimana, S., & Suharsono, S. (2021). Garlic micro-propagation and polyploidy induction *In vitro* by colchicine. *Plant Breeding and Biotechnology*, *9*(1), 1-19. doi: 10.9787/PBB.2021.9.1.1

Haring, F., Farid, M., Sudirman, S., & Anshori, M. F. (2023). The morpho-somatic and chromosomal changes in colchicine polyploidy induction *Colocasia esculenta* var. Antiquorium. *Plant Breeding and Biotechnology, 11*(2), 105-116. doi: 10.9787/PBB.2023.11.2.105

Junbuathong, S., Thongrak, W., Yaodam, K., Sukviwat, W., Maneenil, P., Kriswadi, A., Wutiwong, K., Thamasamisorn, B., Ruksopa, K., & Lengbumrung, P. (2021). RD91, a non-glutinous rice variety. *Thai Rice Research Journal*, *12*(2), 5-19. (in Thai)

Kara, Z, & Yazar, K. (2022). Induction of polyploidy in grapevine (*Vitis vinifera* L.) seedlings by *in vivo* colchicine applications. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 46*(2), 152-159. doi: 10.55730/ 1300-011X.2967

Kerdsuwan, N., & Te-chato, S. (2012). Effects of colchicine on survival rate, morphological, physiological and cytological characters of chang daeng orchid (*Rhynchostylis gigantean* var. *rubrum* Sagarik) *in vitro*. *Journal of Agricultural Technology*, *8*(4), 1451-1460.

Lv, H., Zhou, Y., Tian, H., Fei, Z., Li, D., & Zhong, C. (2024). New insights into colchicine-mediated tetraploidy in *Actinidia chinensis* 'Donghong'. *The Horticulture Journal*, *93*(3), 273-281. doi: 10.2503/hortj.QH-136

Maneerattanarungroj, P., Weruwanaruk, C., & Maneerattanarungroj, P. (2016). Effect of colchicine on some morphological and anatomical characteristics of Homnil rice seedling (*Oryza sativa* L.), Landrace rice of Thailand. *Koch Cha Sam Journal of Science, 38*(2), 72-78.

Maru, B., Parihar, A., Kulshrestha, K., & Vaja, M. (2021). Induction of polyploidy through colchicine in cotton (*Gossypium herbaceum*) and its conformity by cytology and flow cytometry analyses. *Journal of Genetics, 100*(1), 52. doi: 10.1007/s12041-021-01297-z

Nagat, E., Kamla, B., & Hoda, K. (2020). Phenotypic and molecular characterization of polyploidy Vicia faba induced by colchicine. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences, 11*(03), 235-243. doi:10.30574/gscbps.2020.11.3.0184

Office of Agricultural Economics. (2018). *Office of Agricultural Economics.* Accessed November 23, 2018, Retrieved from https://www.oae.go.th. (in Thai)

Parera, P. C. D., & Dahanayake, N. (2016). Chromosome observation of rice root tip and effect of callus colour variation and texture in different colchicine concentrations on the induction of rice polyploids. *Universal Journal of Agricultural Research, 4*(2), 56-59. doi: 10.13189/ujar.2016.040205

Samleekaew, K., Taenthorng, O., Rotduang, P., & Ramasoot, S. (2017). Propagation of Kab-dum native rice cultivar (*Oryza sativa*) by tissue culture techniques. *Wichcha Journal, 36*(2), 25-35. (in Thai)

Tammu, R. M., Nuringtyas, T. R., & Daryono, B. S. (2021). Colchicine effects on the ploidy level and morphological characters of Katokkon pepper (*Capsicum annuum* L.) from north Toraja, Indonesia. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 19*(1), 31. doi: 10.1186/s43141-021-00131-4.

Tiwari, A. K., & Mishra, S. K. (2012). Effect of colchicine on mitotic polyploidization and morphological characteristics of *Phlox drummondii*. *African Journal of Biotechnology*, *11*(39), 9336-9342. doi: 10.5897/AJB11.3820

Tungkajiwangkoon, S., Shirakawa, J., Azumatani, M., & Hoshi, Y. (2016). Breeding and cytogenetic characterizations of new hexaploid *Drosera* strains colchicine-induced from triploid hybrid of *D. rotundifolia* and *D. spatulata*. *Cytologia, 81*(3), 263-269. doi:: 0.1508/cytologia.81.263

Venial, L. R., Mendonça, M. A. C., Amaral-Silva, P. M., Canal, G. B., de Jesus Passos, A. B. R., Ferreira, A., Soares, T. C. B., & Clarindo, W. R. (2020). Autotetraploid *Coffea canephora* and auto-alloctaploid *Coffea arabica* from *in vitro chromosome* set doubling: new germplasms for *Coffea*. *Frontiers in Plant Science, 11*, 154. doi: 10.3389/fpls.2020.00154

Yuenyen, Y., Viriyawattana, N.., & Sinworn, S. (2023). Development of drought-tolerant rice between local rice varieties and economic varieties in Suphanburi Province. *Academic Journal*: *Uttaradit Rajabhat University Science and Technology (for Local Development)*, *18*(2), 13-24. (in Thai)

Research article

Effects of colchicine on growth and morphological characteristics of *Oryza sativa* L. cv. Khao Jek in Chai Nat Province

Santhita Tungkajiwangkoon*

Program in Agriculture, Faculty of Agriculture and Life Sciences, Chandrakasem Rajabhat University, Chatuchak District, Bangkok Province, Thailand 10900

ARTICLE INFO

Article history
Received: 10 July 2024
Revised: 9 September 2024
Accepted: 10 September 2024
Online published: 5 October 2024

Keyword
Colchicine
Khao Jek
morphology

ABSTRACT

The study aimed to investigate the effects of colchicine on survival rate, growth, chromosome number variation, stomatal cell size, and morphological characteristics of *Oryza sativa* L. cv. Khao Jek. Samples were collected from Hankha District in Chai Nat Province. Germinated seeds of *Oryza sativa* L. cv. Khao Jek were immersed in different concentrations of colchicine solution (0, 0.01, 0.05, 0.10, and 0.50 %) for 1, 2, and 3 days, respectively. The average survival rate of the rice after 60 days of colchicine treatment significantly decreased ($P<0.05$) as the concentration and duration of treatment increased. After 120 days of treatment, plant height was found to decrease as both the concentration of colchicine and the duration of treatment increased. Chromosome counting confirmed the presence of two tetraploid plants, both with chromosome numbers of $2n = 4x = 48$, at 0.10 % and 0.50 % colchicine concentrations for 1 day. Highly significant differences ($P<0.01$) in stomatal length and width between diploid and tetraploid plants were observed, indicating that tetraploid plants exhibit altered morphological characteristics. The panicle length, as well as the length and thickness of the seeds in tetraploid plants, were greater compared to those in diploid plants.

*Corresponding author
E–mail address: Santhita.t@chandra.ac.th (S. Tungkajiwangkoon)
Online print: 5 October 2024 Copyright © 2024. This is an open access article, production, and hosting by Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University. https://doi.org/10.14456/paj.2024.41