



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์คัพภวิทยา (พืชสวน)

ปริญญา

พืชสวน

สาขา

พืชสวน

ภาควิชา

เรื่อง การสร้างพืชโพลีพลอยด์เพื่อแก้ลักษณะความเป็นหมันในปทุมมาลูกผสม

Polyploidisation for Restore Fertile of Curcuma Hybrid

นางผู้วิจัย นางสาวสุธนา เกตุมาโร

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ธัญญา เตชะศีลพิทักษ์, วท.ม.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์อัมพันธ์ชญา มงคลชัยพฤกษ์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์เฉลิมมาลย์ วงศ์ชาวจันทน์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ณัฐ พิษกรรม, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การสร้างพืชโพลีพลอยด์เพื่อแก้ลักษณะความเป็นหมันในปทุมมาลูกผสม

Polyploidisation for Restore Fertile of Curcuma Hybrid

โดย

นางสาวสุธนา เกตุมาโร

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (พืชสวน)

พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุธนา เกตุมาโร 2555: การสร้างพืชโพลีพลอยด์เพื่อแก้ลักษณะความเป็นหมันในปทุมมาลูกผสม
ปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (พืชสวน) สาขาพืชสวน ภาควิชาพืชสวน อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ธัญญา เตชะศีลพิทักษ์, วท.ม.
140 หน้า

การชักนำให้เกิดต้นโพลีพลอยด์เพื่อแก้ลักษณะความเป็นหมันในปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดระหว่าง
ปทุมรัตน์และเทพราลิก (*Curcuma sparganifolia* x *C. parviflora*) โดยการให้สารโคลชิซินและออไรซาลินกับ
กลุ่มยอดขนาดเล็กในสภาพปลอดเชื้อ ผลจากการให้สารความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา
48 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นหลังจากได้รับสารทั้งสองชนิดลดลงเมื่อความเข้มข้น
และระยะเวลาที่ได้รับสารเพิ่มสูงขึ้น สารทั้งสองชนิดมีผลในการลดการเจริญเติบโตของปทุมมาลูกผสมลง การ
ได้รับสารออไรซาลินความเข้มข้นสูงมีผลทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนยอดต่อกระถางขึ้น นอกจากนี้สารทั้งสองชนิด
ยังก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของหัวพันธุ์และช่อดอกหลายลักษณะ และเมื่อทำการตรวจวัดระดับ ploidy โดย
เครื่อง Flow Cytometer จากต้นที่พบลักษณะที่เปลี่ยนแปลงทั้งหมด พบว่าต้นที่หัวพันธุ์มีขนาดใหญ่และคุ่มสะสม
อาหารมีลักษณะกลมมน จากชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินเท่านั้นที่มีการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม
โดยตรวจพบต้นมิกโซพลอยด์ทั้งหมด 5 ต้น จากปทุมมาลูกผสมที่ได้รับสารทั้งสองชนิดรวม 6,060 ต้น คิดเป็น
ความถี่ของการเกิดโพลีพลอยด์คือ 0.08 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณู พบว่าต้น
มิกโซพลอยด์ทั้งหมดมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณู 57-72 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทำการทดสอบการผสม
โดยการผสมตัวเองและผสมกลับไปยังปทุมรัตน์และเทพราลิก พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การผสมติดภายหลังจากการ
ผสมตัวเอง 5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมื่อผสมกลับไปยังปทุมรัตน์และเทพราลิกพบเปอร์เซ็นต์การผสมติด 5-15
เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเมื่อนำออบริโอจากเมล็ดทั้งหมดไปทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์เพื่อร่นระยะเวลาการ
พัฒนาเป็นต้น พบว่ามีเพียง 3 เมล็ดเท่านั้นที่สามารถเจริญเป็นต้นได้ โดยเกิดจากการผสมตัวเอง 2 เมล็ด และเกิด
จากการผสมกับเทพราลิก 1 เมล็ด เมื่อทำการตรวจวัดระดับ ploidy โดยเครื่อง Flow Cytometer พบต้นเตตรา
พลอยด์ 2 ต้น และต้นทริพลอยด์ 1 ต้น ซึ่งการได้รับสารโคลชิซินหรือออไรซาลินนอกจากมีผลในการชักนำให้
เกิดการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซมแล้ว สารทั้งสองชนิดยังมีผลก่อให้เกิดลักษณะที่เปลี่ยนแปลง เช่น เกิดการ
เปลี่ยนแปลงของลักษณะกลีบประดับ ใบมีลักษณะหนาขึ้น และเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีช่อดอกทั้งเข้มขึ้น อ่อน
ลง และเปลี่ยนเป็นสีขาว แต่ภายหลังจากการเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ และปลูกทดสอบหัวพันธุ์จากต้นที่มีการ
เปลี่ยนแปลงของลักษณะต่างๆ ดังกล่าว พบว่ามีเพียงต้นที่ช่อดอกเปลี่ยนเป็นสีขาวเท่านั้นที่ยังคงลักษณะการกลาย
ไว้ได้

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Suthana Ketmaro 2012: Polyploidisation for Restore Fertile of Curcuma Hybrid.
Doctor of Philosophy (Horticulture), Major Field: Horticulture, Department of
Horticulture. Thesis Advisor: Associate Professor Thunya Taychasinpitak, M.S.
140 pages.

Colchicine and oryzalin were treated to induce polyploidy as a means to overcome infertility in a Curcuma hybrid (*Curcuma sparganifolia* x *C. parviflora*). The treatments, administered to shoot clusters *in vitro*, consisted of colchicine or oryzalin at the concentrations of 0, 1, 3 or 5 mg/l for a duration of 48, 72 or 96 hours. The survival rate of shoots was decreased with increases in concentrations and durations of both colchicine and oryzalin applications, and both types of spindle inhibitor also had a negative effect on Curcuma shoot growth. When transferred to the greenhouse, the plants treated with high concentrations of oryzalin tended to have more shoots per pot. Exposure to both colchicine and oryzalin also caused several variations in the rhizomes and inflorescences. When the ploidy level of all the plants with irregularities was tested by flow cytometer, changes in chromosome number were only detected in those plants from the colchicine treatment groups that had larger rhizomes and bulged, rounded storage bulbs. Five mixoploid plants were found out of 6,060 treated with colchicine and oryzalin (0.08%). Pollen viability testing showed that the mixoploid plants had 57-72% pollen viability. The results of fertility tests by selfing and backcrossing with *C. sparganifolia* and *C. parviflora* showed that only 5% of the self-fertilized plants produced seed and 5-15% of the backcross fertilizations were successful. All the resulting seeds were cultured on synthetic medium to speed their development but only 3 seeds successfully germinated into new plants 2 from selfed plants and 1 from a backcross. Flow cytometry analysis revealed that 2 were tetraploids and 1 triploid. In addition to increasing the chromosome number, the colchicine and oryzalin treatments caused several variations, such as different sizes and shapes of bracts, thicker leaves and changes in inflorescences color to darker or paler shades of pink as well as white. However, when the next generation of plants was grown from the rhizomes, the change to white inflorescences was the only mutation that proved stable.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์รัชฎะ เตชะศีลพิทักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก อาจารย์ ดร. อัมมชัญญ์ มงคลชัยพฤกษ์ และอาจารย์ ดร. เฉลิมมาลัย วงศ์ชาว
จันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ ตลอดจนการให้คำปรึกษา
ตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ กราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.
วัฒนา เสถียรสวัสดิ์ ผู้ทรงคุณวุฒิซึ่งเป็นผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย และ อาจารย์ ดร. เบญญา มะโนชัย
ประธานการสอบ ที่กรุณาให้คำแนะนำเพื่อให้วิทยานิพนธ์สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.ธราธร ทิระฉูติ และ คุณลิขิต มณีนันท์ ที่ดูแลเอาใจใส่ให้ความรู้
และ ให้คำปรึกษาแนะนำตลอดการทำวิทยานิพนธ์นี้เป็นอย่างดี ขอขอบคุณศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและ
เทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำการทดลอง ตลอดจนเครื่องมือต่าง ๆ สำหรับใช้ใน
การทดลอง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และพี่ๆ จากศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ที่
ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกตลอดระยะเวลาการทำการทดลอง และขอขอบคุณ
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยในการทำงานวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาจนสำเร็จการศึกษา รวมทั้ง
เจ้าของงานวิจัยที่ข้าพเจ้านำมาใช้อ้างอิงประกอบการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณเพื่อนๆ และน้องๆ นิสิตบัณฑิตวิทยาลัย และเจ้าหน้าที่ภาควิชาพืชสวน คณะ
เกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ที่ให้คำแนะนำ เป็นกำลังใจ และให้ความ
ช่วยเหลือด้วยดีมาโดยตลอด

ด้วยความดีหรือคุณประโยชน์อันใดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คุณพ่อ คุณแม่ ผู้ซึ่ง
เป็นผู้ให้กำเนิดและให้ทุกสิ่งทุกอย่างแก่ชีวิตลูกคนนี้อย่างทุ่มเทตลอดมา รวมถึงน้องสาวที่น่ารักที่
ให้ความรัก ความห่วงใย และเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าเสมอ

สุธนา เกตุมาโร

มีนาคม 2555

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(8)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(12)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	21
อุปกรณ์	22
วิธีการ	25
ผลการทดลอง	34
วิจารณ์	106
สรุป	117
ข้อเสนอแนะ	120
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	121
ภาคผนวก	131
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	140

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังได้รับสารโคลชิซิน ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน ภายหลังจากการย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 30 วัน 35
2	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังได้รับสารโคลชิซิน ความเข้มข้น และระยะเวลาแตกต่างกัน ภายหลังจากการย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 60 วัน 35
3	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังได้รับสารโคลชิซิน ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน ภายหลังจากการย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 90 วัน 36
4	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังได้รับสารออไรซาลิน ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน ภายหลังจากการย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 30 วัน 36
5	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังได้รับสารออไรซาลิน ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน ภายหลังจากการย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 60 วัน 37
6	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังได้รับสารออไรซาลิน ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน ภายหลังจากการย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 90 วัน 37
7	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับต่อความสูงของต้น ปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>) 41
8	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อจำนวนยอดต่อ กระถางของต้นของปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>) 42
9	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อจำนวนใบ ของต้นปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>) 44
10	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความยาวใบ ของต้นปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>) 45

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
11	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความกว้างใบ ของต้นของปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>)	46
12	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความยาวช่อดอก ของต้นของปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>)	47
13	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความกว้าง ช่อดอกของต้นของปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>)	49
14	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความยาวก้าน ช่อดอกของต้นของปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>)	50
15	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อจำนวนชั้นกลีบ ประดับของต้นของปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>)	51
16	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับต่อจำนวนหัวพันธุ์ของ ต้นของปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>)	52
17	ตารางสรุปอิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสาร ต่อการ เจริญเติบโตทางลำต้นของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังจากได้รับสาร โคลชิซิน หรือออไรซาลินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน	54
18	ตารางสรุปอิทธิพลร่วมของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสาร ต่อ การเจริญเติบโตของช่อดอกของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังจากได้รับสาร โคลชิซินหรือออไรซาลินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน	55
19	ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาภายหลังจากการได้รับสาร โคลชิซิน หรือออไรซาลินความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน	58
20	ลักษณะการเปลี่ยนแปลงสีช่อดอกภายหลังจากการได้รับสาร โคลชิซินหรือ ออไรซาลินความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน	59
21	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความสูงต้น ของปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>) ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1	67

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
22	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อจำนวนยอดต่อ กอกของต้นของปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>) ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1 68
23	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อจำนวนใบของ ต้นปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>) ที่เก็บเกี่ยว หัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1 70
24	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความยาว ใบของต้นปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>) ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1 71
25	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความกว้างใบ ของต้นปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>)ที่เก็บ เกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1 72
26	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความยาวข้อ ดอกของต้นปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>) ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1 74
27	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความกว้างข้อ ดอกของต้นปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>) ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1 75
28	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อจำนวนชั้นกลีบ ประดับของต้นปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>) ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1 76
29	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความยาวก้าน ข้อดอกของต้นปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>) ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1 77

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
30	อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อจำนวนหัวพันธุ์ของต้นปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>) ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1	78
31	การวิเคราะห์ระดับ ploidy ของต้นที่ปลูกจากหัวพันธุ์ที่มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้น มีการเปลี่ยนแปลงของสีดอก และหัวพันธุ์ที่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม จากการทดลองที่ 1	80
32	ตารางสรุปอิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับต่อการเจริญเติบโตทางลำต้นของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังจากเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1 มาทำการปลูกทดสอบ	81
33	ตารางสรุปอิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับ ต่อการเจริญเติบโตของช่อดอกปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังจากเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1 มาทำการปลูกทดสอบ	82
34	เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูของต้นมิกโซพลอยด์ทั้ง 5 ต้นที่ได้จากการทดลองที่ 2	86
35	เปอร์เซ็นต์การผสมติดจากการผสมตัวเองของต้นดิพลอยด์และต้นมิกโซพลอยด์ของปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>)	88
36	เปอร์เซ็นต์การผสมติดจากการผสมกลับไปยังพ่อแม่พันธุ์ของต้นดิพลอยด์และต้นมิกโซพลอยด์ของปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>)	88
37	เปอร์เซ็นต์เอมบริโอที่พัฒนาเป็นต้นจากการผสมตัวเองของต้นดิพลอยด์และต้นมิกโซพลอยด์ของปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>)	89
38	เปอร์เซ็นต์เอมบริโอที่พัฒนาเป็นต้นจากการผสมกลับไปยังพ่อแม่พันธุ์ของต้นดิพลอยด์และต้นมิกโซพลอยด์ของปทุมมาลูกผสม (<i>Curcuma sparganifolia</i> × <i>Curcuma parviflora</i>)	90
39	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตทางด้านความสูง จำนวนใบ ความกว้างใบ ความยาวใบ และจำนวนวันออกดอกของต้นดิพลอยด์ มิกโซพลอยด์และเตตราพลอยด์	94

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
40	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของความยาวช่อดอก ความกว้างช่อดอก ความยาว ก้านช่อดอก จำนวนชั้นกลีบประดับ ความยาวดอก และความกว้างดอกของต้น ปทุมมาลูกผสมดิพลอยด์ มิกโซพลอยด์ และเตตราพลอยด์	95
41	เปรียบเทียบขนาดปากใบ จำนวนปากใบต่อพื้นที่ เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของ ละอองเรณู และเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเรณูของต้นปทุมมาลูกผสม ดิพลอยด์ มิกโซพลอยด์ และเตตราพลอยด์	99
42	เปรียบเทียบน้ำหนักสดของหัวพันธุ์ต่อต้น จำนวนหัวพันธุ์ต่อกระถาง และเส้นผ่าน ศูนย์กลางหัวพันธุ์ของต้นปทุมมาลูกผสมดิพลอยด์ มิกโซพลอยด์ และเตตราพลอยด์	103
43	เปรียบเทียบจำนวนรากสะสมอาหาร ความยาวดุ่มสะสมอาหาร ความกว้างดุ่ม สะสมอาหาร และความยาว รากสะสมอาหารของต้นปทุมมาลูกผสมดิพลอยด์ มิกโซพลอยด์ และเตตราพลอยด์	104

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
1 จำนวนยอดต่อกระถางและความสูงของปทุมมาลูกผสม (<i>C. sparganifolia</i> × <i>C. parviflora</i>) ที่ได้รับสาร โคลชิซินและออไรชาลินปริมาณ และระยะเวลาแตกต่างกัน หลังจากการย้ายปลูก 90 วัน	133
2 จำนวนใบ ความยาวใบและความกว้างใบของปทุมมาลูกผสม (<i>C. sparganifolia</i> × <i>C. parviflora</i>) ที่ได้รับสาร โคลชิซินและออไรชาลินปริมาณ และระยะเวลาแตกต่างกัน หลังจากการย้ายปลูก 90 วัน	134
3 ความยาวช่อดอก และความกว้างช่อดอกของปทุมมาลูกผสม (<i>C. sparganifolia</i> × <i>C. parviflora</i>) ที่ได้รับสาร โคลชิซินและออไรชาลินปริมาณ และระยะเวลาแตกต่างกัน หลังจากการย้ายปลูก 90 วัน	135
4 ความยาวก้านช่อดอกของปทุมมาลูกผสม (<i>C. sparganifolia</i> × <i>C. parviflora</i>) ที่ได้รับสาร โคลชิซินและออไรชาลินปริมาณ และระยะเวลาแตกต่างกัน หลังจากการย้ายปลูก 90 วัน	136
5 จำนวนชั้นกลีบประดับ หลังจากการย้ายปลูก 90 วัน และจำนวนหัวพันธุ์ของปทุมมาลูกผสม (<i>C. sparganifolia</i> × <i>C. parviflora</i>) ที่ได้รับสาร โคลชิซินและออไรชาลินปริมาณ และระยะเวลาแตกต่างกัน	137
6 จำนวนยอดต่อกระถางและความกว้างใบของปทุมมาลูกผสม (<i>C. sparganifolia</i> × <i>C. parviflora</i>) ที่ปลูกจากหัวพันธุ์ซึ่งเก็บเกี่ยวจากการทดลองที่ 1 หลังจากการย้ายปลูก 90 วัน	138
7 จำนวนชั้นกลีบประดับและจำนวนหัวของปทุมมาลูกผสม (<i>C. sparganifolia</i> × <i>C. parviflora</i>) ที่ปลูกจากหัวพันธุ์ซึ่งเก็บเกี่ยวจากการทดลองที่ 1 หลังจากการย้ายปลูก 90 วัน	139

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ตัวอย่างพืชในสกุลย่อย Eucurcuma หรือกลุ่มกระเจียว	4
2	ตัวอย่างพืชในสกุลย่อย Paracurcuma หรือกลุ่มปทุมมา	5
3	ลักษณะต้นและช่อดอกของปทุมมา (<i>Curcuma alismatifolia</i> Gagnep.)	6
4	สูตรโครงสร้างของโคลชิซิน	13
5	สูตรโครงสร้างของออไรชาลิน	14
6	เครื่อง Flow Cytometry และหลักการทำงาน	20
7	ลักษณะดอกปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดระหว่าง <i>Curcuma sparganifolia</i> Gagnep. กับ <i>Curcuma parviflora</i> Wall. ที่ใช้ในการทดลอง	21
8	ลักษณะต้นที่เกิดการพัฒนาจากกลุ่มยอดของชุดควบคุม (ก) ชุดที่ได้รับสารโคลชิซิน (ข) และชุดที่ได้รับสารออไรชาลิน (ค) ในสภาพปลอดเชื้อ	38
9	ความแตกต่างของลักษณะต้นปทุมมาลูกผสมเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุม (ก) ชุดที่ได้รับสารโคลชิซิน (ข) และชุดที่ได้รับสารออไรชาลิน (ค) หลังการย้ายปลูก 120 วัน	39
10	ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของกลีบประดับแบบต่างๆที่พบภายหลังจากที่ได้รับสารโคลชิซินหรือออไรชาลินความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน (ก) กลีบประดับมีลักษณะปกติจากชุดควบคุม (ข) กลีบประดับมีลักษณะบิดและปลายกลีบประดับแหลม (ค) กลีบประดับมีลักษณะเรียวแหลม	60
11	ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของกลีบประดับและเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีช่อดอกจากสีชมพูเป็นสีขาวที่พบภายหลังจากที่ได้รับสารโคลชิซินหรือออไรชาลิน ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน (ก) กลีบประดับมีลักษณะปกติจากชุดควบคุม (ข) กลีบประดับมีลักษณะปกติแต่เปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีขาว (ค) กลีบประดับมีลักษณะบิดและปลายกลีบประดับแหลม และเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีขาว (ง) กลีบประดับมีลักษณะเรียวแหลมและเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีขาว	61

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
12	การเปลี่ยนแปลงสีของช่อดอกภายหลังการที่ได้รับสารโคลชิซินหรือออไรซาลิน ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกันจากสีชมพู (ชุดควบคุม) (ก) เป็นสีชมพูเข้ม (ข) สีชมพูอ่อน (ค) และสีขาว (ง)	62
13	ลักษณะหัวพันธุ์จากชุดควบคุม (ก) และหัวพันธุ์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยมีหัวพันธุ์มีขนาดใหญ่ คุ่มสะสมอาหารมีลักษณะกลมมนและความยาวคุ่มสะสมอาหารสั้น (ข)	63
14	กราฟแสดงการตรวจสอบจำนวนโครโมโซมของปทุมรัตน์ (ก) เทพรำลึก (ข) และปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดระหว่างปทุมรัตน์และเทพรำลึก (ค) โดยเครื่อง Flow cytometry	64
15	การปลูกทดสอบหัวพันธุ์ที่ทำการคัดเลือกหัวพันธุ์จากต้นที่หัวพันธุ์มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไป หัวพันธุ์จากต้นที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาต้นและช่อดอกเปลี่ยนแปลงไป (ก) และหัวพันธุ์จากต้นที่มีการเปลี่ยนแปลงของสีช่อดอก (ข) ในกระถางขนาด 15 เซนติเมตร ที่เก็บเกี่ยวจากการทดลองที่ 1	65
16	การปลูกหัวพันธุ์ที่ได้จากการทดลองที่ 1 ลงในแปลงเพื่อคัดเลือกต้นที่คาดว่าจะมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซม และมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา	66
17	ต้นมิโกโซพลอยด์ที่ตรวจระดับ ploidy โดยเครื่อง Flow cytometry จากต้นที่หัวพันธุ์มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม จากการทดลองที่ 1 (ก) มิโกโซพลอยด์ต้นที่ 1 จากชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง (มิโกโซพลอยด์-1) (ข) มิโกโซพลอยด์ต้นที่ 2 จากชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง (มิโกโซพลอยด์-2) (ค) มิโกโซพลอยด์ต้นที่ 3 จากชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (มิโกโซพลอยด์-3)	83

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
18	ต้นมิกโซพลอยด์ที่ตรวจระดับ ploidy โดยเครื่อง Flow cytometry จากต้นที่หัวพันธุ์มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม และต้นจากชุดควบคุม จากการทดลองที่ 1 (ก) มิกโซพลอยด์ต้นที่ 1 จากชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง (มิกโซพลอยด์-4) (ข) มิกโซพลอยด์ต้นที่ 2 จากชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (มิกโซพลอยด์-5) (ค) ต้นจากชุดควบคุม	84
19	การเปรียบเทียบลักษณะต้นจากชุดควบคุมและต้นมิกโซพลอยด์ที่ได้จากหัวพันธุ์ที่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไป จากการทดลองที่ 1	85
20	ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของสีช่อดอกปทุมมาลูกผสมจากสีชมพูเป็นสีขาวซึ่งยังคงลักษณะการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวไว้ได้	85
21	การตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเรณูปทุมมาลูกผสมข้ามชนิด จากต้นดิพลอยด์ (ก) และต้นมิกโซพลอยด์ (ข) โดยการย้อมสี Aceto-carmin 1 เปอร์เซนต์	87
22	การงอกของหลอดละอองเรณูจากต้นมิกโซพลอยด์บนเกสรเพศเมียของต้นเทพราลี	88
23	กราฟแสดงจำนวนโครโมโซมของต้นเตตราพลอยด์ต้นที่ 1 (ก) และต้นที่ 2 (ข) ที่เกิดจากการผสมตัวเองของต้นมิกโซพลอยด์	91
24	ลักษณะของต้นทรูปลอยด์ที่เกิดจากการทดสอบการผสมต้นมิกโซพลอยด์กับต้นเทพราลี	92
25	การเปรียบเทียบลักษณะดอก (ก) และส่วนประกอบของดอก (ข) จากต้นดิพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์	96
26	การเปรียบเทียบลักษณะต้นและขนาดช่อดอกของต้นดิพลอยด์ (ก) และเตตราพลอยด์ (ข)	97
27	ขนาดเซลล์คุมปากใบของต้นดิพลอยด์ (ก) และต้นเตตราพลอยด์ (ข)	100
28	จำนวนปากใบต่อพื้นที่ของต้นปทุมมาลูกผสมดิพลอยด์ (ก) และต้นเตตราพลอยด์ (ข)	100

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
29	การย้อมสี Aceto-carminel1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อตรวจสอบความมีชีวิตของเรณู ปทุมมาลูกผสมจากต้นดิพลอยด์ (ก) และต้นเตตราพลอยด์ (ข)	102
30	การงอกของละอองเรณูปทุมมาลูกผสมเตตราพลอยด์ในอาหารสังเคราะห์สูตร Taylor's ที่เติมน้ำตาลซูโคสความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์เมื่อระยะเวลาผ่านไป 1 (ก) 3 (ข) 4 (ค) และ 5 (ง) ชั่วโมง	102
31	การเปรียบเทียบลักษณะหัวพันธุ์ของต้นดิพลอยด์ (ก) ต้นมิโกโซพลอยด์ (ข) และต้นเตตราพลอยด์ (ค)	105
32	แผนผังสรุปวิธีสร้างและการคัดเลือกพืชโพลีพลอยด์	119

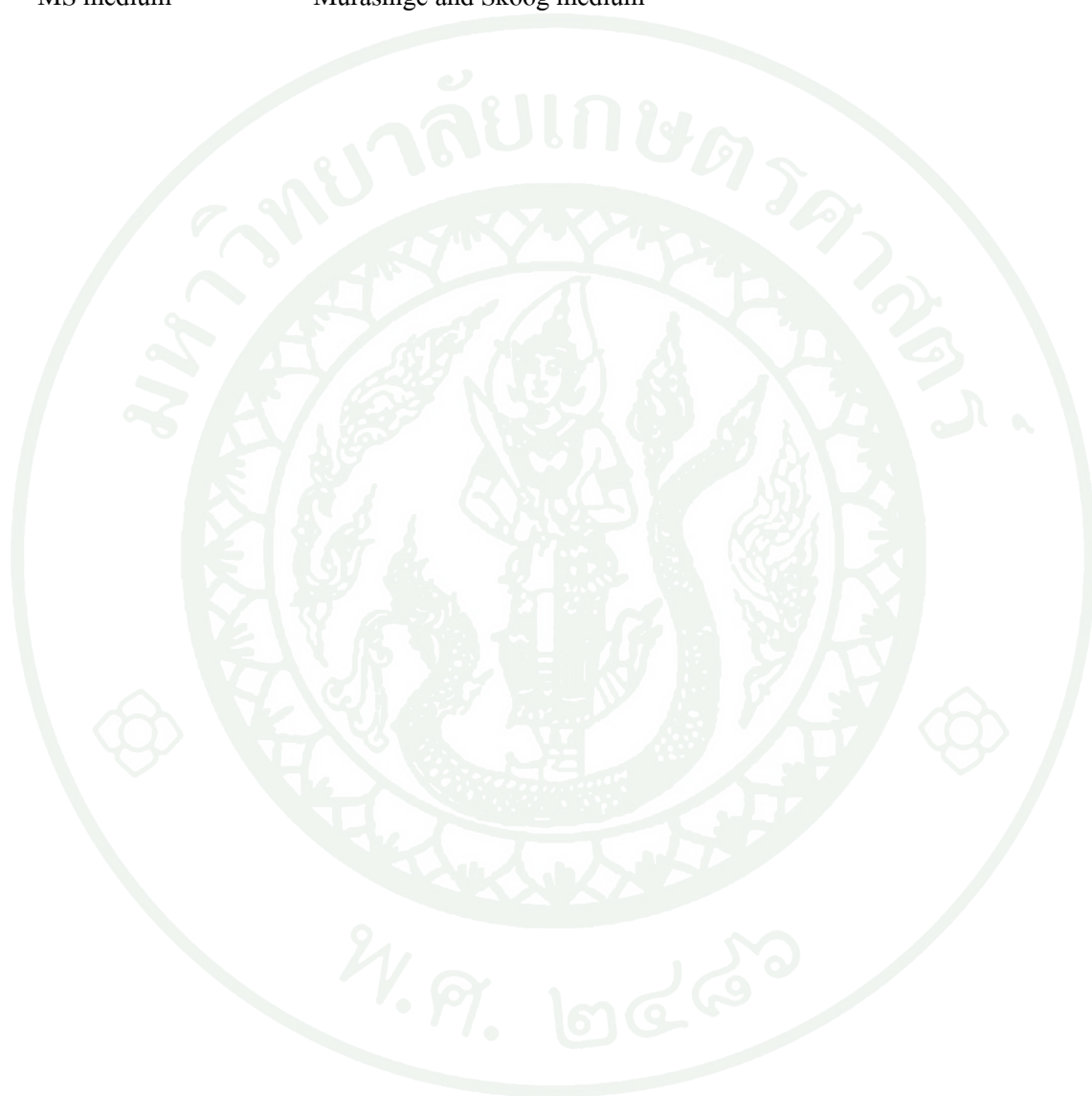
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

CRD

Completely Randomized Design

MS medium

Murashige and Skoog medium



การสร้างพืชโพลีพลอยด์เพื่อแก้ลักษณะความเป็นหมันในปทุมมาลูกผสม

Polyploidisation for Restore Fertile of Curcuma Hybrid

คำนำ

ปทุมมาเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวประเภทไม้หัวล้มลุกอายุหลายปี จัดอยู่ในวงศ์ขิง (Zingiberaceae) สกุลขมิ้น (Curcuma) หลายชนิดมีถิ่นกำเนิดและเป็นพืชพื้นเมืองในประเทศไทย และหลายชนิดมีการกระจายตัวอยู่ในเขตร้อนของทวีปเอเชีย จากลักษณะช่อดอกที่มีสีสันสวยงาม แปลกตา รวมถึงมีอายุการใช้งานได้นาน จึงทำให้ปทุมมาได้รับความนิยมมากในต่างประเทศ อีกทั้งยังเป็นไม้ดอกส่งออกที่มีมูลค่าการส่งออกเป็นที่สองรองจากกล้วยไม้ โดยมีการส่งออกปทุมมาในรูปแบบของหัวพันธุ์และไม้ตัดดอกไปยังตลาดยุโรป อเมริกา และญี่ปุ่น

พันธุ์ที่ได้รับความนิยมในตลาดต่างประเทศได้แก่ เชียงใหม่พังก์ เชียงใหม่เรด และสโนไวท์ เป็นต้น (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2545) เพื่อเพิ่มศักยภาพการแข่งขันในตลาดไม้ดอกโลกจึงมีการพัฒนาพันธุ์ปทุมมาใหม่ๆ ออกมาอย่างต่อเนื่อง การพัฒนาพันธุ์นั้นนอกจากจะทำโดยการคัดเลือกพันธุ์ดีในธรรมชาติแล้ว ยังมีการสร้างลูกผสมพันธุ์ใหม่โดยการผสมข้ามสายพันธุ์ ข้ามชนิด และข้ามสกุลย่อย เพื่อสร้างความหลากหลายของสีช่อดอก รูปทรงช่อดอก หรือลักษณะกลีบประดับที่มีลักษณะแปลกใหม่ที่ดีและเป็นที่ต้องการของตลาด โดยผู้ที่พัฒนาพันธุ์นอกจากจะเป็นเกษตรกรผู้ปลูกเลี้ยงแล้วยังมีผู้ส่งออกและนักวิชาการจากหลากหลายหน่วยงานที่ทำการคัดและผสมพันธุ์ปทุมมา

การสร้างลูกผสมข้ามชนิดทำให้นักปรับปรุงพันธุ์ได้ต้นที่มีลักษณะต้นและช่อดอกที่ดี มีสีสันสวยงามหลากหลายมากยิ่งขึ้น แต่ปัญหาใหญ่ที่ทำให้การปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมข้ามชนิดนี้ขาดความต่อเนื่องจนถึงหยุดชะงักคือ การผสมพันธุ์ปทุมมากับพืชสกุลเดียวกันชนิดอื่น ลูกผสมระหว่างชนิดที่ได้มักเป็นหมันไม่สามารถผสมตัวเองหรือผสมข้ามกับปทุมมาหรือพืชสกุลเดียวกันชนิดอื่นๆ ได้ ด้วยปัญหานี้ทำให้การปรับปรุงพันธุ์เกิดความล่าช้าและหยุดชะงักลง

ในทางทฤษฎีแล้วการแก้ลักษณะความเป็นหมันในลูกผสมระหว่างชนิดทำได้โดยการเพิ่มจำนวนโครโมโซมหรือชักนำให้เกิดต้นโพลีพลอยด์ขึ้น จากสืบค้นข้อมูลพบว่าการชักนำให้เกิดต้น

เตตราพลอยด์จากต้นดิพลอยด์ที่มีลักษณะเป็นหมัน สามารถเพิ่มการติดเมล็ดในพืชหลายชนิด เช่น กล้ายไม้ (สาริณี, 2538), ลิลลี่ (Rhee *et al.*, 2005), มะเขือ (Ali *et al.*, 1992) และจิง (Adaniya and Shirai, 2001) โดยสารเคมีที่นิยมใช้ในการเพิ่มจำนวนโครโมโซมในพืชได้แก่สารโคลชิซินและสารออไรซาลิน

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงทำการศึกษาผลของสารโคลชิซินและสารออไรซาลินต่อการชักนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซมในปทุมมาลูกผสมข้ามชนิด การทดสอบการผสมพันธุ์ของต้นที่มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซม และเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นที่มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซม เพื่อใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกและแก้ลักษณะความเป็นหมันในปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดต่อไป

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาหาความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมของสาร โคลชิซินและสารออไรซาลินในการชักนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซมในปทุมมาลูกผสมข้ามชนิด
2. ศึกษาความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้ามของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดที่มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซม
3. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นที่มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซม

การตรวจเอกสาร

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ปทุมมา (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.) เป็นไม้หัวล้มลุกอายุหลายปี เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ขิง (Zingiberaceae) สกุลขมิ้น (*Curcuma*) พืชสกุลนี้มีถิ่นกำเนิดในประเทศแถบเอเชีย ได้แก่ ไทย พม่า จีน อินเดีย กัมพูชา มาเลเซีย และอินโดนีเซีย (พิมพ์ใจ และคณะ, 2539) ปทุมมาและพืชในวงศ์เดียวกันในทวีปเอเชียเขตร้อน มีอยู่ไม่น้อยกว่า 70 ชนิด โดยพบอยู่ในประเทศไทยประมาณ 30 ชนิด กระจายพันธุ์อยู่ทั่วประเทศ โดยในประเทศไทยพบพืชกลุ่มนี้ทั่วไปในป่าที่มีความชื้นสูงทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ป่าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือติดกับประเทศกัมพูชา ทั้งยังพบในภาคกลางแถบจังหวัดปราจีนบุรี (สุรชาติ, 2539) และพบในทุ่งหญ้าหรือป่าละเมาะทางภาคใต้ แหล่งพันธุ์กรรมตามธรรมชาติที่พบคือบริเวณอุทยานแห่งชาติป่าหินงาม อำเภอเทพสถิตย์ จังหวัดชัยภูมิ

นักพฤกษศาสตร์ได้จำแนกพืชสกุลขมิ้นออกเป็น 2 สกุลย่อย (อรรณ, 2548) ได้แก่

1. สกุลย่อย *Eucurcuma* หรือกลุ่มกระเจียว ลักษณะเด่นสังเกตที่ดอกจริงปากกลีบดอกจะมีสีขาวหรือสีเหลือง และการออกดอก ช่อดอกที่เกิดจะเกิดจากเหง้าโดยตรง หรือช่อดอกเกิดจากตาของลำต้นเทียม เช่น จัตรทิพย์ จัตรทอง พลอยชมพู พลอยทักษิณ เป็นต้น



Curcuma roscoeana



Curcuma aurantiaca



Curcuma cordata



Curcuma sp.

ภาพที่ 1 ตัวอย่างพืชในสกุลย่อย *Eucurcuma* หรือกลุ่มกระเจียว

2. สกุลย่อย *Paracurcuma* หรือกลุ่มปทุมมา ลักษณะเด่นสังเกตที่ดอกจริงที่ปากกลีบดอกจะมีสีขาวหรือม่วง และการออกดอก ช่อดอกที่เกิดจะเกิดจากตาของลำต้นเทียม เช่น ปทุมมา พลอยมยุรา แวอูบล เทพรำลึก เป็นต้น



Curcuma alismatifolia



Curcuma parviflora



Curcuma sparganifolia



Curcuma sp.

ภาพที่ 2 ตัวอย่างพืชในสกุลย่อย *Paracurcuma* หรือกลุ่มปทุมมา

ปทุมมาเป็นไม้หัวล้มลุกอายุหลายปี ลำต้นที่เห็นเหนือดินเป็นลำต้นเทียม (pseudostem) และมีลำต้นใต้ดินแบบเหง้า (rhizome) ตาข้างของเหง้าเจริญเติบโตเป็นลำต้นเทียมอยู่เหนือดิน ซึ่งเกิดจากการอัดตัวกันของกาบใบภายในลำต้นเทียม รากเป็นระบบรากฝอย ปลายรากส่วนหนึ่งที่ปลายบวมพองออกมีลักษณะเป็นคู้ม ทำหน้าที่สะสมน้ำและอาหาร เพื่อใช้ในช่วงพักตัวและช่วยในการงอก

ใบปทุมมาเป็นใบเดี่ยว (simple leaf) ที่ประกอบด้วยกาบใบที่ห่อรวมตัวกันแน่น เกิดเป็นลำต้นเทียม ก้านใบชูออกจากลำต้นเทียมในมุมที่ต่างกัน แผ่นใบเป็นใบเดี่ยวมีรูปร่างเป็นวงรี แฉกบ้าง ป้อมบ้าง โคนใบมนหรือเรียว ขอบใบเรียบ หรือเป็นคลื่น ปลายใบป้าน หรือ แหลม เส้นใบขนานแบบเฉียงขึ้น



ภาพที่ 3 ลักษณะต้นและช่อดอกของปทุมมา (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.)

ช่อดอก (inflorescence) เกิดที่ปลายยอดของลำต้นเทียม เป็นแบบช่อแน่น (compact spike) ประกอบด้วยกลีบของใบประดับ (bract) เรียงซ้อนกันแน่นเกิดเป็นช่อทรงกระบอก โอบรอบโคนช่อดอกย่อย โคนใบประดับจะเชื่อมติดกันเกิดเป็นโครงสร้างคล้ายถ้วย โดยเรียงซ้อนกันเวียนเป็นเกลียวหรือเรียงเป็นแถวเกิดเป็นช่อดอก ใบประดับส่วนล่างมีขนาดเล็ก ใบประดับส่วนบนมีขนาดใหญ่สีม่วงแดง สีส้มพู โดยที่ส่วนปลายจะมีสีเขียวแต้มอยู่ ซึ่งใบประดับส่วนนี้เรียกว่า comabract ปทุมมามีดอกจริงเป็นดอกสมบูรณ์เพศ ไม่มีก้านช่อดอก สมมาตรของดอกเป็นแบบ bilateral ดอกย่อยมีกลีบเลี้ยงขนาดสั้นสีขาวใส ส่วนโคนเชื่อมเป็นวงติดอยู่กับส่วนบนของรังไข่ปลายของกลีบเลี้ยงแยกออกเป็น 3 แฉก กลีบดอกมีสีขาวอยู่ถัดจากวงของกลีบเลี้ยงเข้ามา ด้านในส่วนโคนเชื่อมต่อกันเป็นหลอด ส่วนปลายของหลอดขยายกว้าง แยกออกเป็น 2 ชั้น แต่ละชั้นประกอบด้วยกลีบดอก 3 กลีบ กลีบดอกชั้นนอกกลีบบนจะมีความกว้างมากกว่ากลีบล่าง 2 กลีบที่มีรูปร่างเหมือนกัน ส่วนกลีบดอกชั้นในอีก 3 กลีบจะเรียงตัวสลับกับกลีบชั้นนอก กลีบชั้นในที่อยู่ด้านข้าง 2 อัน จะมีรูปร่างเหมือนกัน กลีบล่างมีลักษณะเหมือนปากมีสีม่วงเข้มส่วนโคนเป็นร่องลึกตรงกลางมีขอบสันนูนเป็นทางสี่เหลี่ยม ขอบหยักเป็นริ้ว (จิรวัดน์ และคณะ, 2539) ดอกจะอยู่ในซอกของใบประดับส่วนล่างของช่อดอก โดยแต่ละใบประดับอาจมีดอกอยู่ 4-6 ดอก ดอกในช่อดอกย่อยเดียวกันจะบานห่างกัน 4-6 วัน การบานของดอกเริ่มจากใบประดับแรกบริเวณโคนช่อดอกแล้วบานขึ้นไปทางปลายช่อ โดยเริ่มบานในช่วงเวลา 6.00-7.00 น. และมีอายุการบานดอกเพียง 1 วัน จากนั้นจะมีการบานของดอกในใบประดับถัดไปต่อเนื่องกันไปทุกวัน (อรรณพ, 2548)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ การนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช เช่น อวัยวะ เนื้อเยื่อ หรือเซลล์มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งประกอบด้วยแร่ธาตุ น้ำตาล วิตามินและสารควบคุมการเจริญเติบโต ในสภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์ โดยมีการควบคุมสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ แสง และความชื้น โดยส่วนของพืชที่นำมาเลี้ยงนี้สามารถเติบโตพัฒนาได้หลายรูปแบบ ไม่ว่าจะพัฒนาเป็นส่วนอวัยวะ เกิดเป็นกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า แคลลัส หรือ คัพภะ (ต้นอ่อนขนาดเล็ก) ที่เรียกว่า เอ็มบริโอ ซึ่งในที่สุดก็จะสามารถบังคับให้ส่วนต่างๆ เหล่านี้เจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ได้ ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์พืชหลายประการ คือ

1. ประโยชน์ในการเก็บเชื้อพันธุ์พืช ในกรณีที่เราต้องการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จำนวนมากสามารถนำเซลล์หรือเนื้อเยื่อของพืชนั้นมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่ทำให้การเจริญของพืชเป็นไปได้ช้าที่สุด ซึ่งเรียกว่า minimum growth หรือใช้วิธีที่เรียกว่า freeze preservation โดยการนำไปเก็บรักษาในสภาพที่มีอุณหภูมิต่ำ เช่น ไนโตรเจนเหลวที่มีอุณหภูมิต่ำ -196 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการนำเชื้อพันธุ์พืชนั้นมาใช้ก็นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีธาตุอาหารเพื่อชักนำการเจริญเติบโตของพืช หรือนำแคลลัสหรือเซลล์ที่เพาะเลี้ยง (cell culture) ไปเก็บที่อุณหภูมิต่ำถึง -196 องศาเซลเซียสซึ่งเรียกว่า cryogenic preservation ณ อุณหภูมิดังกล่าวเซลล์พืชหยุดการแบ่งตัว เชื้อพันธุ์ที่เก็บจึงคงลักษณะเดิมไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงที่อาจเกิดจากการแบ่งเซลล์ (Bajaj, 1979)

2. ช่วยในการสร้างสายพันธุ์แท้ (inbred line) ในเวลาอันรวดเร็วกว่าทำการผสมตัวเองซึ่งต้องใช้เวลา 2-3 ชั่ว โดยการนำละอองเกสรเพศผู้หรืออับละอองเกสรเพศผู้ ซึ่งอยู่ในระยะที่ละอองเกสรเพศผู้ยังไม่พร้อมจะผสม (immature pollen grain) หรือยังอยู่ในระยะที่เป็นไมโครสปอร์ (microspore) หรือนำไข่ที่ยังไม่ได้รับการผสม มาเพาะเลี้ยง เมื่อได้ต้นพืชแฮพลอยด์แล้วจึงนำมาเพิ่มชุดโครโมโซมอีก 1 เท่าโดยใช้สารเคมี เช่น โคลชิซิน ก็จะได้พืชที่เป็นดิพลอยด์ซึ่งยีนทุก loci จะอยู่ในสภาพโฮโมไซกัส และป็นค้อยสามารถแสดงลักษณะออกมาให้เลือกใช้ได้ทันที

3. ใช้ในการผสมพันธุ์พืชที่ไม่สามารถผสมกันโดยวิธีธรรมชาติได้ โดยการนำเซลล์พืชมาจัดผนังเซลล์ออก เหลือแต่ส่วนที่เรียกว่าโปรโตพลาส จากนั้นนำโปรโตพลาสของพืชที่ต้องการผสมกันมารวมเพาะเลี้ยงไว้ในที่เดียวกัน โปรโตพลาสทั้งสองจะรวมกันได้เป็นพืชพันธุ์ใหม่ ซึ่งวิธีนี้เรียกว่า somatic cell hybridization

4. ช่วยในการคัดเลือกพืชให้มีลักษณะที่ต้องการ เช่น การคัดพืชเพื่อให้ต้านทานโรคบางชนิด ทำโดยการนำสารพิษที่เชื้อโรคสร้างขึ้นมาผสมลงในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงนั้น เซลล์ที่อ่อนแอจะตายไป นำเซลล์ต้านทานที่เหลืออยู่มาเพาะเลี้ยงจนเจริญเป็นต้นพืชต่อไป พืชที่ประสบความสำเร็จในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรค เช่น ข้าวโพด มันฝรั่ง อ้อย และยาสูบ

5. ใช้ในการเพาะเลี้ยงต้นอ่อน หรือเซลล์ไข่ ที่ได้จากการผสมระหว่างพืชที่มีความเกี่ยวข้องกันน้อย การผสมต่างสปีชีส์ หรือต่างจีโนส ซึ่งบ่อยครั้งที่พบว่า ไข่ที่ได้รับการผสมหรือต้นอ่อนไม่สามารถเจริญเติบโต จนได้เมล็ดที่สมบูรณ์นำไปเพาะได้ ก็สามารถนำต้นอ่อนหรือคัพภะดังกล่าวไปเพาะเลี้ยงให้ได้ต้นพืช ซึ่งเรียกวิธีการนี้ว่า embryo culture หรือ ovule culture ในบางพืชที่เมล็ดมีการพักตัว การนำต้นอ่อนที่เจริญอยู่ในระยะก่อนพักตัวมาเพาะเลี้ยง ก็จะทำให้ต้นอ่อนงอกได้เร็วขึ้น

6. ใช้ในการหาการกลายพันธุ์จากเซลล์ร่างกายที่นำมาเพาะเลี้ยง เนื่องจากสามารถเพาะเลี้ยงเซลล์ได้ครั้งละมากๆ จึงมีโอกาสพบเซลล์ที่เกิดการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ หรือเกิดเนื่องจากสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง ซึ่งเรียกว่า somaclonal variation ได้ลักษณะใหม่ที่น่าสนใจมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไปได้

7. ในปัจจุบันมีผู้คิดค้นเทคนิคทางพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) มาช่วยในงานปรับปรุงพันธุ์พืช โดยการย้ายสารพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะที่ต้องการเข้าสู่เซลล์พืช (transformation) โดยใช้พลาสมิดของแบคทีเรีย (bacterial plasmid) ไวรัส หรือพาหะอื่น เซลล์ที่ได้จะต้องนำไปเพาะเลี้ยงจนได้เป็นต้นสมบูรณ์ที่เรียกว่า transgenic plant จึงจะสามารถใช้ประโยชน์จากเทคนิคดังกล่าวได้

8. แยกพืชที่มีพันธุกรรมที่ต้องการให้ปราศจากโรค ในบางครั้งพบว่าพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส มีลักษณะอื่นๆที่พึงประสงค์ ถึงแม้เชื้อไวรัสจะเคลื่อนย้ายสู่ทุกส่วนของพืช แต่พบว่าเซลล์ที่เกิดใหม่บริเวณปลายยอดเชื้อยังเคลื่อนไปไม่ถึง จึงนำส่วนนั้นมาเพาะเลี้ยงให้ได้พืชที่ปราศจากโรคเพื่อนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป (นพพร, 2546)

การเกิดโพลีพลอยดีในพืช

การชักนำให้เกิด polyploidy ในพืชถือได้ว่าเป็นการชักนำให้เกิด chromosome mutation ซึ่งเป็นประโยชน์ทั้งในด้านการปรับปรุงพันธุ์ และเพื่อศึกษาการพัฒนาส่วนต่าง ๆ ของพืชจากชั้นของเซลล์ meristem (อดิศร, 2539)

โพลีพลอยดี (polyploidy) หมายถึง สิ่งมีชีวิตซึ่งมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานมากกว่า 2 ชุดขึ้นไป ($3x, 4x, 6x, \dots$) ส่วนมากพบในอาณาจักรพืช (ประภา, 2543) ปกติเซลล์ร่างกายของสิ่งมีชีวิตทั้งหลายถูกกำหนดให้มีโครโมโซมเป็น $2n$ และ $2n = 2x$ นั่นคือเซลล์ร่างกายของสิ่งมีชีวิตปกติจะมีจำนวนโครโมโซมเป็น 2 ชุด โดย x คือชุดของโครโมโซมพื้นฐาน หรือชุดของจีโนม (genome) แสดงว่าเซลล์ของร่างกายมีจีโนม 2 ชุด และในการเกิดโพลีพลอยด์ (polyploid) นั้นจะมีหลายระดับด้วยกัน ดังนี้

ทริพลอยดี (triploidy) $2n = 3x$

เฮกซะพลอยดี (hexaploidy) $2n = 6x$

เตตระพลอยดี (tetraploidy) $2n = 4x$

เฮปตะพลอยดี (heptaploidy) $2n = 7x$

เพนตะพลอยดี (pentaploidy) $2n = 5x$

ออกตะพลอยดี (octaploidy) $2n = 8x$

โพลีพลอยดีมีความสำคัญมากในพืช เพราะพบว่าในวิวัฒนาการของพืชตั้งแต่ระยะต้น ๆ ก็พบพืชที่เป็นโพลีพลอยด์แล้ว ดังนั้นจะพบว่าพืชส่วนใหญ่ใน Angiosperm เป็นโพลีพลอยด์ ในพืชใบเลี้ยงคู่เป็นโพลีพลอยด์ 43 เปอร์เซ็นต์ หรือประมาณ 12,000 ชนิด (species) ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวพบ 58 เปอร์เซ็นต์ หรือประมาณ 5,000 ชนิด อาจจะกล่าวโดยรวมได้ว่าพืชใน Angiosperm มีที่เป็นโพลีพลอยด์อยู่ 47 เปอร์เซ็นต์ พืชสกุลต่าง ๆ ที่เป็นโพลีพลอยด์มากอยู่ในตระกูล Polygonaceae Crassuladeae Rosaceae Malvaceae Araliaceae Gramineae Iridaceae และ Musaceae ในไม้ยืนต้น (perennial plant) ไม่ว่าจะเป็นไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้นมีโอกาสเกิดโพลีพลอยด์สูงกว่าพืชล้มลุก (annual plant) ในพืชพวก Gymnosperm โดยเฉพาะพวกปรง (Cycad) และแปะก๊วย (Ginko) ไม่พบโพลีพลอยด์เลย แต่พบในสน *Pseudolarix amabilis Sequoia sempervirens Juniperus chinensis* var. *Pfitzeriana* และบางชนิดในสกุล *Podocarpus* นอกจากนี้ยังพบมากในอันดับ Gnetales

ใน Bryophyte พบมากในมอส (moss) พบทั้งที่เกิดในธรรมชาติและที่มนุษย์ได้ทำขึ้น ส่วนใหญ่มักพบในพืชที่มีท่อน้ำท่ออาหาร ใน Thallophyte มีพบในสาหร่ายหลายสกุล เช่น *Cladophora* และ *Lomentaria* ในเชื้อรา (fungi) ไม่มีโพลีพลอยดีในราเลย สำหรับในสัตว์ ไม่พบว่าสัตว์เป็น

โพลีพลอยด์เพราะสัตว์ไม่สามารถทำหน้าที่ได้อย่างปกติแม้จะมีการเพิ่มหรือลดจำนวนโครโมโซมลงเพียง 1 หรือ 2 ก็ตาม (เบญจมาศ, 2545)

ชนิดของโพลีพลอยดี

โพลีพลอยดีแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มด้วยกันจากต้นกำเนิดว่าเกิดจากพืชในชนิดเดียวกัน หรือ ลูกผสมชนิดเดียวกันหรือต่างชนิด ต่างสกุลกัน

1. ออโตโพลีพลอยดี (autopolyploidy) คือกลุ่มของสิ่งที่มีชีวิตที่เกิดจากสิ่งที่มีชีวิตชนิดเดียวกัน จึงมีชุดของโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นมีจีโนมเดียวกันกับชุดเดิม การเข้าคู่กันของ homologous chromosome จะประกอบด้วยโครโมโซมมากกว่า 2 แท่งขึ้นไป เช่น ดิพลอยด์มีจีโนมเป็น AA เมื่อกลายเป็น autopolyploid จะเป็น AAAA โดยโพลีพลอยด์ดังกล่าวมีผลทำให้ผลผลิตสูงกว่าดิพลอยด์ปกติ ดังเช่นในกล้วยหอม ซึ่งเป็นทรูปพลอยด์ (triploid) มีชุดของจีโนมเป็น AAA เกิดจากกล้วยป่าที่มีจีโนมเป็น AA เป็นต้น พืชที่เป็นออโตโพลีพลอยด์นอกจากกล้วยแล้วยังมี มะเขือเทศ ข้าวโพด ลำไย กาแฟ ถั่วลิสง และมอส เป็นต้น

2. อัลโลโพลีพลอยดี (allopolyploidy) คือกลุ่มของสิ่งที่มีชีวิตที่มีโครโมโซมหลายชุด โครโมโซมที่เพิ่มขึ้นเป็นชุดที่มีจีโนมต่างกัน แต่มักจะเป็นจีโนมที่มีวิวัฒนาการใกล้ชิดกันเป็นโพลีพลอยด์ที่เกิดจากการผสมระหว่างชนิด (interspecific hybridization) หรือระหว่างสกุลกัน จึงทำให้มีจีโนมต่างกัน ซึ่งลูกผสมที่ได้มักเป็นหมันซึ่งเกิดจากการเข้าคู่ของ chromosome homologous ที่ผิดปกติในระยะ meiosis (Vainstein, 2002) แต่เมื่อมีการเหนี่ยวนำให้มีการเพิ่มชุดของโครโมโซม (chromosome doubling) ลูกผสมดังกล่าวสามารถสร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้เป็นปกติ การเกิด allopolyploid ในพืชมักให้ผลผลิตสูงกว่าพืชดิพลอยด์ปกติ (อมรา, 2546) ตัวอย่างเช่น กล้วยน้ำว้าเป็นทรูปพลอยด์ (triploid) มีชุดของโครโมโซมหรือจีโนมเป็น ABB เพราะเกิดจากกล้วยป่าที่มีจีโนม AA และกล้วยป่าตานีที่มีจีโนมเป็น BB นอกจากนี้ยังมียาสูบ มันฝรั่ง และกาแฟ เป็นต้น (เบญจมาศ, 2545)

กลไกการเกิดโพลีพลอยดี

โพลีพลอยดีอาจเกิดขึ้นได้ทั้งจากธรรมชาติและมนุษย์สร้างขึ้น การเกิดโพลีพลอยดีเกิดได้จากกลไกดังต่อไปนี้

1. เกิดจากการแบ่งเซลล์ในไมโทซิสผิดปกติ โดยอาจเกิดจากเซลล์ร่างกายหรือเกิดในช่วงของการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์ ทำให้จำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า
2. เกิดจากการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสผิดปกติ ทำให้ได้เซลล์สืบพันธุ์ที่ไม่มีการลดจำนวนโครโมโซมลงครึ่งหนึ่งในไมโอซิส 1 (unreduced gamete) ทำให้ได้เซลล์สืบพันธุ์ที่เป็น $2n$
3. เกิดจากการที่ไข่ถูกผสมโดยสเปิร์มมากกว่า 1 ตัว หรือเมื่อเกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส ผิดปกติในเกสรเพศผู้ (เบญจมาศ, 2545)

วิธีการทำให้เกิดโพลีพลอยดี

1. การเกิดตามธรรมชาติ โดยปรากฏการณ์ทางธรรมชาติ เช่น ฟ้าร้อง ฟ้าผ่า พายุ สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนและรูปร่างของโครโมโซมได้ ซึ่งพบว่ามีพืชโพลีพลอยด์ใน Angiosperm มาตั้งแต่โบราณกาล โพลีพลอยดีที่พบมีทั้งออโตโพลีพลอยด์และอัลโลโพลีพลอยด์ ดังเช่น กล้วยหอม AAA เกิดมาจากกล้วยป่าที่มีพื้นที่แถบมาเลเซีย กล้วยเหล่านี้มีบรรพบุรุษมาจากกล้วยป่า *Musa acuminata* Colla ซึ่งมีจีโนม AA ส่วนกล้วยที่เป็นอัลโลโพลีพลอยด์ ดังเช่น กล้วยกล้วย (AAB) กล้วยน้ำว้า (ABB) กล้วยหักมุก (ABB) กล้วยเทพรส (ABBB) เกิดโพลีพลอยด์หลังจากเกิดการผสมของกล้วยป่า *Musa acuminata* Colla มีจีโนม AA กับกล้วยตานี *Musa balbisiana* Colla จีโนม BB ซึ่งอยู่แถบอินเดีย และต่อมาได้มีการเคลื่อนย้ายไปปลูกในประเทศต่าง ๆ

2. การสร้างขึ้นของมนุษย์สามารถทำให้สิ่งที่มีชีวิตมีจำนวนโครโมโซมได้หลายชุดด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

2.1 การใช้ความร้อนสูงอย่างรวดเร็ว ส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นได้กับพืชที่มีการเปลี่ยนแปลงได้ง่าย

2.2 การใช้รังสี สามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในสิ่งที่มีชีวิตได้ ซึ่งบางครั้งอาจเกิดโพลีพลอยดีได้เช่นกัน

2.3 การใช้สารเคมี เป็นวิธีที่ใช้กันมาก สารเคมีทำให้เกิดโพลีพลอยด์ได้เนื่องจากการเกิดการยับยั้งการเกิดผนังเซลล์กั้นในช่วงของการแบ่งเซลล์ จะไปทำให้จำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเท่าตัว สารเคมีที่นิยมใช้กันมากได้แก่ โคลชิซิน (Colchicine) และออไรซาลิน (Oryzalin) นอกจากนี้ยังมี ไนตรัสออกไซด์ (nitrous oxide) Amiprophos methyl และ Podophylin วิธีการใช้สารเคมี คือ

2.3.1 การแช่เมล็ด ทำการแช่เมล็ดลงในสารละลายที่มีความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสม ล้างน้ำ แล้วนำไปเพาะ

2.3.2 ใช้กับต้นพืชโดยตรง ต้นพืชที่ใช้ใช้ได้ตั้งแต่ต้นกล้า หมายถึง ต้นเล็กที่เกิดจากการเพาะเมล็ด หรือที่กิ่ง หรือส่วนที่กำลังเจริญ มีจุดเจริญ เช่น ปลายยอด หยอดสารละลายที่มีความเข้มข้นที่พอเหมาะลงที่ยอดที่มีใบอ่อนอยู่ประมาณ 2-3 ใบ แต่สารละลายนั้นอาจจะไหลลงไปได้จึงควรผสมกับน้ำยาจับใบด้วย และถ้าจะให้ดีควรนำลำต้นเป็นก้อนขนาดเล็ก ๆ วางที่จุดที่จะหยดสารละลาย แล้วหยดสารละลายบนลำต้น ให้สารละลายค่อย ๆ ซึมผ่านลำต้นลงไปที่ยอด

2.3.3 ใช้กับต้นอ่อนของพืชในสภาพปลอดเชื้อ หรือในสภาพการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ให้นำต้นอ่อนของพืชตัดส่วนปลายออก นำมาแช่ในสารละลายซึ่งอยู่ในสภาพปลอดเชื้อ ระยะเวลาในการแช่จะต้องทำการศึกษาก่อนเพื่อให้ได้เวลาที่พอเหมาะ แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นในตู้ที่ปลอดเชื้อ แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมต่อไป การที่พืชจะเกิดเป็นโพลีพลอยด์หรือไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นระยะเวลา หรือความถี่ในการให้สารเคมีนั้น ๆ (เบญจมาศ, 2545)

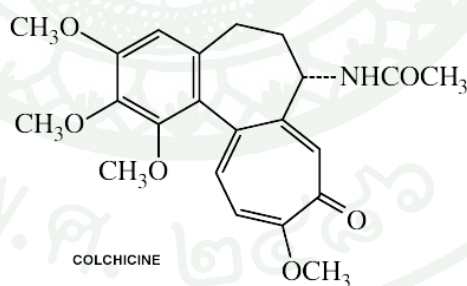
ในการปรับปรุงพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับโดยการชักนำให้เกิด polyploidy มีผลทำให้ขนาดของต้นพืชเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยพบลักษณะของใบมีความหนาและความยาวใบมากยิ่งขึ้น และรวมไปถึงขนาดของดอกมีการเปลี่ยนแปลงไปอีกด้วย (Shao *et al.*, 2003)

การชักนำให้เกิดโพลีพลอยดีโดยสารเคมีในพืช

สารเคมีที่สามารถชักนำให้จำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่ามีหลายชนิด เช่น โคลชิซิน (colchicine) ออไรซาลิน (oryzalin) ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide หรือ DMSO) เจอมิไซด์ (germicide) และเฟนิลเมอร์คิวริก-พี-โทลูอินซัลโฟนาไมด์ (phenylmercuric-p-toluensulfonanilide) (ประภา, 2543) เมื่อเซลล์เหล่านี้ได้รับสารเหล่านี้มากกว่า 1 ซีกวัฏจักร (cell cycle) แล้วจำนวนโครโมโซมอาจจะเพิ่มขึ้นโดยไม่เกิดการแบ่งเซลล์ (Griesbach, 1987) โดยสารเคมีที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางคือ โคลชิซิน (colchicine) และ ออไรซาลิน (oryzalin)

โคลชิซีน(colchicine) เป็นสารประเภทอัลคาลอยด์ สามารถสกัดได้จาก *Colchicum* (*Colchicum autumnale*) *Colchicum* เป็นพืชป่าในแถบทะเลเมดิเตอร์เรเนียน มีสารอัลคาลอยด์ 20 ชนิด พบในส่วนของหัวและเมล็ด สารอัลคาลอยด์ส่วนใหญ่คือสารโคลชิซีนซึ่งมีลักษณะเป็นผลึก รูปเข็มสีเหลืองอ่อน โคลชิซีนบริสุทธิ์มีสูตรโครงสร้างทางเคมี $C_{22}H_{25}NO_6$ มีลักษณะเป็นผลึก รูปเข็มไม่มีสี สามารถละลายได้ง่ายในแอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม และน้ำเย็น มีประโยชน์ทางการแพทย์ใช้ในการรักษาโรคเก๊าท์ (Popovice และ Gasic ,1993) แต่ในปัจจุบันสามารถสกัดสารโคลชิซีนได้จาก *Colchicum* ชนิดอื่นรวมถึง *Merendera* และพืชในสกุล *Gloriosa* เช่น *Gloriosa superba* ซึ่งพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ Liliaceae (Kitajima et al., 2008)

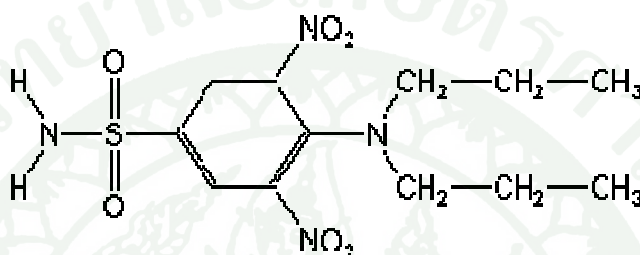
สารโคลชิซีนมีคุณสมบัติในการยับยั้งการสร้างสายสปินเดิล (spindle fiber) ในระยะที่มีการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส เรียกว่า C-mitotic agent โดยสารโคลชิซีนจะไปรวมกับองค์ประกอบที่เป็นโปรตีนของไมโครทิวบูล (microtubule) ภายในเซลล์ทำให้ไมโครทิวบูลไม่สามารถต่อกันเป็นสายสปินเดิลที่จะช่วยดึงโครโมโซมให้แยกออกจากกันในระยะเมตาเฟส (metaphase) โครโมโซมจึงไม่เคลื่อนที่เข้าสู่ขั้วเซลล์ ทำให้มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นอีกเท่าตัว (สิรินุช, 2536; อมรา, 2536) จากคุณสมบัตินี้โคลชิซีนจึงถูกนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซม (polyploidy induction) (ประดิษฐ์, 2541; อมรา, 2540; เอกรินทร์, 2525; Addink, 2007)



ภาพที่ 4 สูตรโครงสร้างของ โคลชิซีน

การนำสารโคลชิซีนมาใช้กับพืชควรใช้กับส่วนของพืชที่กำลังเจริญเติบโต ซึ่งมีอัตราการแบ่งเซลล์สูง ดังนั้นจึงมักใช้กับเมล็ดที่กำลังงอก ใช้กับตาหรือยอดที่กำลังงอกใหม่ การเพิ่มจำนวนโครโมโซมโดยใช้สารโคลชิซีนกับพืชสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การจุ่มต้นพืชลงในสารละลายโคลชิซีนผสมกับลาโนลิน หรือแช่เมล็ดในสารละลาย เป็นต้น สำหรับความเข้มข้น และ

ระยะเวลาที่ใช้จะผันแปรไปตามชนิดพืช และส่วนของพืชที่ใช้ (วิบูลย์, 2536; อติสร, 2539) มีการรายงานการใช้โคลชิซินในการเหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของชุดโครโมโซมใน *Citrus* spp. (Wu and Mooney, 2002) *Acacia dealbata* และ *Acacia mangium* (Blakesley *et al.*, 2002) *Alocasia* spp. (Thao *et al.*, 2003) *Punica granatum* (Shao *et al.*, 2003) *Colophospermum mopane* (Rubuluza *et al.*, 2007) *Mecardonia tenella* (Escandón *et al.*, 2007) *Astragalus membranaceus* (Chen and Gao, 2007) และ Oriental lilies (Wu *et al.*, 2007)



ภาพที่ 5 สูตรโครงสร้างของออไรซาลิน

สารออไรซาลิน (oryzalin) มีชื่อการค้าว่า sulflan หรือ ryzelan ซึ่งมีสูตรโครงสร้างทางเคมี $C_{12}H_{18}N_4O_6S$ (3,5-dinitro- N,N' -dipropylsulfanilamide) มีลักษณะเป็นผลึกสีเหลืองส้ม มักใช้เป็นสารกำจัดวัชพืช (selective preemergence herbicide) และยังมีคุณสมบัติเป็น antimitotic agent คล้ายกับ โคลชิซิน (Hassawi and Liang, 1991) พบการรายงานการใช้ออไรซาลินในการเหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของชุดโครโมโซมในลูกผสม *Rosa rugosa* Thunb. (Allum *et al.*, 2007) และมันฝรั่ง (Barandalla *et al.*, 2006; Chauvin *et al.*, 2003)

ได้มีผู้ทดลองใช้สารโคลชิซินและสารออไรซาลินในการเหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของจำนวนชุดโครโมโซมในพืชดังนี้

ปิยะดา และ อรดี (2532) ศึกษาผลของโคลชิซินต่อจิงที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อโดยแช่ต้นจิงในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0-1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1-4 วัน พบว่า การเพิ่มระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่สารละลายโคลชิซิน ทำให้การเจริญเติบโตและอัตราการรอดชีวิตลดลง และทำให้เกิดลักษณะผิดปกติ เช่น ลำต้นอวบ ใบหนาและกว้าง บางต้นมีลักษณะใบด่างเป็นริ้ว และการแช่ต้นจิงในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 วัน และ 0.50 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 วัน สามารถชักนำให้ต้น VM₂ เป็นเตตราพลอยด์ 50 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์

ตามลำดับ ส่วนต้น VM_3 ที่แยกจากต้น VM_2 ที่เป็นเตตราพลอยด์ พบว่าเป็นต้นเตตราพลอยด์ 30 เปอร์เซนต์ และเป็นต้นดิพลอยด์ 40 เปอร์เซนต์

ทิวา (2533) ศึกษาผลของโคลชิซินต่อการกลายพันธุ์ของแคลดีโอลัสในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้สารโคลชิซินความเข้มข้น 0 50 100 และ 200 ppm เป็นเวลา 6 12 24 และ 36 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นของโคลชิซินมีผลต่อน้ำหนัก ขนาดของแคลลัส ความสูงต้น ความหนาของใบ เมื่อศึกษาจำนวนโครโมโซมจากปลายรากพบว่า จำนวนโครโมโซมมีการเปลี่ยนแปลง ($2n=46$)

วิบูลย์ (2536) นำต้นปทุมมาที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่มีสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซนต์ เป็นเวลา 2 วัน ทำให้ได้ต้นที่มีลักษณะลำต้นอวบ ใบหนาและกว้าง ในรุ่น VM_6 และ VM_7

Chen and Coeden-kallemeyn (1979) ศึกษาการชักนำแคลลัสของ Daylily ให้เพิ่มจำนวนโครโมโซมด้วยโคลชิซิน เพื่อให้ได้เตตราพลอยด์โดยนำแคลลัสเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และโคลชิซิน 0 10 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพมืด อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน พบว่าสามารถเกิดต้นเตตราพลอยด์ที่สมบูรณ์ได้มากกว่า 50 เปอร์เซนต์ เมื่อใช้โคลชิซินความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์

Esnard *et al.* (1994) ได้ศึกษาการชักนำไม้ประดับ *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott cv. Inglesa ให้เกิดต้นเตตราพลอยด์ในสภาพปลอดเชื้อ โดยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ IAA หรือ 2,4-D ร่วมกับสารโคลชิซินความเข้มข้น 0 12.5 25.0 และ 50.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 วัน พบว่าการใช้สารโคลชิซินเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดต้นเตตราพลอยด์ ($2n=52$) ซึ่งจะมีจำนวนใบเฉลี่ยและการแตกหน่อน้อยกว่าต้นดิพลอยด์ แต่ต้นเตตราพลอยด์มีความต้านทานโรค root rot

Lindsay *et al.* (1994) ศึกษาผลของโคลชิซินต่อต้น *Lisanthus* พบว่าหลังจากให้ โคลชิซินกับโปรโตพลาของ *Lisanthus* แล้วชักนำให้เกิดเป็นต้น ทำการย้ายปลูกลงกระถาง พบว่าใบของ *Lisanthus* ที่ได้รับโคลชิซินมีขนาดใหญ่ขึ้น และปากใบยาวมากกว่าต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซิน เมื่อทำการตรวจสอบจำนวนชุดของโครโมโซมโดย Flow cytometry พบต้นที่เป็นเตตราพลอยด์

Ping *et al.* (1997) ศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาในการให้สารโคลชิซินกับลูกผสมข้ามชนิด *Allium fistulosum* x *A. cepa* พบว่าแคลลัสที่เลี้ยงในอาหาร BDS ที่มีสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง พบต้นเตตราพลอยด์มากที่สุด

Gao *et al.* (1997) นำชิ้นส่วนตาของซัลเวียที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีการเติมโคลชิซิน 10 ppm สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดต้นเตตราพลอยด์ได้ และต้นเตตราพลอยด์ยังมีความสูงกว่าต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซิน

Karen *et al.* (2003) ศึกษาผลของโคลชิซินและออไรซาลินความเข้มข้นต่างๆกันต่อชิ้นส่วน ยอด, แคลลัส และ ใบ ของ *Miseanthus sinensis* ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าหลังจากชิ้นส่วนดังกล่าวได้รับโคลชิซินและออไรซาลิน พบแคลลัสที่เป็น เตตราพลอยด์ และสามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นได้

Kermani *et al.* (2003) ใช้ออไรซาลินในการเหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มชุดโครโมโซมกุหลาบพันธุ์ Thérèse Bugnet โดยให้ ออไรซาลินความเข้มข้น 5 และ 15 ไมโครโมลาร์ พบว่าเกิดยอดที่เป็นเตตราพลอยด์สูงถึง 40 เปอร์เซ็นต์ หลังจากได้รับ ออไรซาลินความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 14 วัน โดยต้นที่ได้รับการ double chromosome พบใบที่มีลักษณะหนาขึ้น ใบมีสีเขียวเข้มขึ้น มีความยาวข้อมากขึ้น จำนวนกลีบดอกเพิ่มมากขึ้น และความมีชีวิตของละอองเกสรเพิ่มสูงขึ้น

Stanys *et al.* (2004) แก่ลักษณะความเป็นหมันใน Ribes ลูกผสม 5 สายพันธุ์ โดยการให้โคลชิซินและออไรซาลินกับ microshoot และ isolated embryo ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยให้โคลชิซิน ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ และให้ออไรซาลินความเข้มข้น 20 ถึง 40 ไมโครโมลาร์ ภายหลังจากที่พืชที่ได้รับโคลชิซินและออไรซาลินพบพืชที่มีลักษณะเป็น chimera และพบว่าอัตราการรอดชีวิตลดลงเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของโคลชิซินและออไรซาลินขึ้น

Carvalho *et al.* (2005) เหนี่ยวนำให้เกิดโพลีพลอยด์ใน annatto (*Bixa orellana*) โดยใช้ชิ้นส่วนของ hypocotyls และชิ้นส่วน cotyledon ในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำมาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีสาร antimitotic คือ โคลชิซินความเข้มข้น 0 25 250 และ 1,250 ไมโครโมลาร์ และออไรซาลินความเข้มข้น 0 5 15 และ 30 ไมโครโมลาร์ โดยระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเหนี่ยวนำให้เกิด

เตตราพลอยด์คือ 15 และ 30 วัน เป็นระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับขึ้นส่วนของ cotyledon ที่ได้รับ ออไรซาลิน 15 ไมโครโมลาร์

Barandalla *et al.* (2006) ให้ออไรซาลินและโคลชิซินกับยอดของมันฝรั่ง 6 สายพันธุ์ ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน และระยะเวลาที่แตกต่างกัน โดยใช้เครื่อง Flow Cytometry ในการตรวจสอบจำนวนชุดของโครโมโซม พบว่าได้ต้นที่เป็นเตตราพลอยด์ในมันฝรั่ง 3 สายพันธุ์ จาก 6 สายพันธุ์ที่ได้รับออไรซาลิน ส่วนชุดการทดลองที่ได้รับโคลชิซินไม่พบต้นที่เป็นเตตราพลอยด์ ชุดการทดลองที่ได้รับออไรซาลินความเข้มข้น 28.8 ไมโครโมลาร์ ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบต้นเตตราพลอยด์ สูงที่สุด 43เปอร์เซ็นต์

Allum *et al.* (2007) ให้ออไรซาลินซึ่งเป็นสารยับยั้งการทำงานของ spindle fiber กับชิ้นส่วนตาข้างของกุหลาบ (*Rosa rugosa* Thumb.) ขนาด 2 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 2 หรือ 2.5 ไมโครโมลาร์ และชิ้นส่วนตาข้างขนาด 10 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 2.5 หรือ 5 ไมโครโมลาร์ ที่ระยะเวลา 0 6 12 24 และ 48 ชั่วโมง ยอดที่เกิดใหม่ทั้งหมดหลังจากได้รับออไรซาลิน ได้รับการตรวจสอบระดับ ploidy ชิ้นส่วนตาข้างขนาด 2 มิลลิเมตร ที่ได้รับ ออไรซาลิน 5 ไมโครโมลาร์ ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง พบใบที่เป็นเตตราพลอยด์ 35 เปอร์เซ็นต์โดยพบว่ากุหลาบที่เป็นเตตราพลอยด์ใบของกุหลาบมีขนาดใหญ่ขึ้น ใบมีสีเขียวเข้มขึ้น ดอกใหญ่ขึ้นและจำนวนกลีบดอกมากขึ้น

Rubulaza *et al.* (2007) เหนี่ยวนำให้เกิดเตตราพลอยด์จากเมล็ดของ *Colophospermum mopane* โดยให้โคลชิซินความเข้มข้น 0.05 0.1 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (w/v) เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 96 ชั่วโมง ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 45เปอร์เซ็นต์ จากนั้นใช้ Flow cytometry ตรวจสอบระดับ ploidy ต้นกล้าที่รอดชีวิต ต้นกล้าที่เป็นเตตราพลอยด์ส่วนใหญ่เป็นชุดการทดลองที่ได้รับโคลชิซิน 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่า กิ่งแขนงยาวขึ้น ใบมีขนาดเล็กลง และพบว่าชุดที่ได้รับโคลชิซินมียอดจำนวนมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ผลของโพลีพลอยดี

ปกติการเกิดโพลีพลอยดีในธรรมชาติมักเกิดร่วมกับการเกิดการผสมพันธุ์ระหว่างชนิดสายพันธุ์ หรืออาจจะต่างสกุล ดังนั้นรูปร่างจึงขึ้นอยู่กับ genotype ของบรรพบุรุษ การเกิดโพลีพลอยดีอาจจะมีทั้งสิ่งที่ดีและไม่ดีก็ได้ ดังนี้

1. เพิ่มขนาดของเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้อวัยวะหรือส่วนต่าง ๆ ของพืชมีขนาดใหญ่ขึ้นด้วย ดังเช่น ขนาดของใบ สำหรับเซลล์ที่ใช้วัดได้อย่างชัดเจนได้แก่ ขนาดของ guard cell ของปากใบ (stomata) ซึ่งจะเป็นตัวชี้ได้ว่าพืชนั้น ๆ เป็นโพลีพลอยด์หรือไม่ นอกจากนี้ขนาดของละอองเกสรเพศผู้ก็สามารถชี้ชัดได้เช่นกัน

2. มีการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโต ปกติแล้วอัตราการเจริญของอโตโพลีพลอยด์จะช้ากว่าดิพลอยด์ (diploid) จึงทำให้การเกิดดอกช้า การแตกกิ่งก้านน้อยลง บางครั้งผลมีขนาดเล็กลง กิ่งก้าน และการแตกหน่อลดลง ดังเช่นกล้วยเบพ ซึ่งเกิดจากการใช้สารออไรซาลิน พบว่าต้นมีขนาดเล็กเตี้ยลงมาก มีการเกิดใบช้า ไม่ค่อยมีการแตกหน่อ

3. รูปร่างของอวัยวะต่าง ๆ ของพืช เนื่องจากพืชมีการเพิ่มขนาดของเซลล์ มีการเจริญเติบโตที่ช้า อาจทำให้รูปร่างเปลี่ยนแปลง ใบมีความหนามากขึ้น กว้างขึ้น เช่น ในกล้วยเบพ ลำต้น ผักบุ้ง และข้าวโพด บางชนิดการเกิดลักษณะเหล่านี้ทำให้พืชมีความแข็งแรงขึ้น แต่ในพืชบางชนิดอาจลดลง เช่น ในต้นกล้วย ต้นที่เป็นโพลีพลอยด์มีความแข็งแรงขึ้นดังเช่น กล้วยหอมซึ่งเป็น โพลีพลอยด์จะแข็งแรงกว่ากล้วยไข่และกล้วยเล็บมือนางซึ่งเป็นดิพลอยด์ แต่ใบกล้วยหอมมีโอกาสนึกขาดมากกว่ากล้วยไข่

4. จำนวนละอองเกสรเพศผู้น้อยลง เกิดความเป็นหมันมากขึ้นทั้งดอกตัวผู้และดอกตัวเมีย ดังนั้นต้นที่เป็นโพลีพลอยด์จึงมักจะเป็นหมัน เช่น แดงโม กล้วย

5. เกิดการผสมกันเองภายในชนิดเดียวกันไม่ได้ (self-incompatible) ถ้าหากต้นโพลีพลอยด์นั้นเกิดจากพ่อแม่ที่เป็นหมัน ผสมตัวเองไม่ได้ ลูกที่เป็นโพลีพลอยด์จะมีโอกาสเป็นสูงขึ้น หรือเรียกว่า เกิดสิ่งกีดขวางของยีน (genetic barrier) ในพวกที่เป็นอโตโพลีพลอยด์ที่ไม่สามารถผสมกันเองได้ ทั้งนี้เนื่องจากการแบ่งเซลล์ไม่ปกติ ทำให้เกิดการเป็นหมันสูง เช่น กระน้ำ ผักกาดหัว และพิทูเนีย (เบญจมาศ, 2545)

การตรวจวิเคราะห์จำนวนโครโมโซมในพืช

1. การนับจำนวนโครโมโซม เป็นวิธีการที่ดีที่สุด แต่มักใช้เป็นวิธีสุดท้ายในการตรวจหาต้นโพลีพลอยด์ในพืชหลายชนิด ทั้งนี้เนื่องจากเป็นวิธีที่ต้องใช้เวลามาก และในการตรวจนับต้องใช้เนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายยอดหรือปลายราก ซึ่งมีผลทำให้ต้นที่นำมาทำการตรวจนับเกิดการตายได้ (พิมพ์ใจ และคณะ 2539)

2. การวัดขนาดปากใบและละอองเรณู ต้นโพลีพลอยด์มักมีเซลล์เนื้อเยื่อเจริญที่มีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้อวัยวะหรือส่วนต่าง ๆ ของพืชมีขนาดใหญ่ขึ้นด้วย โดยเซลล์ที่นิยมใช้วัดขนาดในการคัดแยกต้นที่เป็นต้นโพลีพลอยด์ได้อย่างชัดเจน ได้แก่ เซลล์ปากใบ (stomata) และละอองเรณู (pollen grain) ซึ่งต้นโพลีพลอยด์มักมีเซลล์ปากใบและละอองเรณูขนาดใหญ่กว่าต้นปกติ

3. การวัดปริมาณ DNA ในเซลล์โดยวิธี Flow Cytometry

Flow Cytometry เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการวัดการเรืองแสงที่เกิดขึ้นบนผิวเซลล์หรือภายในเซลล์เมื่อเซลล์ไหลผ่านลำแสงเลเซอร์ เทคนิคนี้มีความไวสูง สามารถวัดเซลล์จำนวนมากได้รวดเร็วและแม่นยำ โดย Wallace Coulter ได้จดลิขสิทธิ์ของเครื่องมือ Flow Cytometer ที่ใช้ในการนับเซลล์เม็ดเลือดขาวขึ้นเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ.1949 (โกวิท, 2539) ปัจจุบันได้มีการนำ Flow Cytometer มาใช้ในการวิจัยทางการแพทย์หลายด้านเช่น การตรวจหาความผิดปกติในโครโมโซม การตรวจหาเซลล์มะเร็งเพื่อติดตามผลการรักษา เป็นต้น สำหรับงานวิจัยทางพืช เริ่มมีรายงานการใช้เทคนิคนี้ตั้งแต่ปี ค.ศ.1973 และปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้วิธีนี้ในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับพืชได้ เช่น ploidy determination, genome size estimation, analysis and sorting of chromosomes, gene isolation and mapping, cytogenetic studies และ cell wall fraction studies เป็นต้น (Ochatt, 2008)

เครื่อง Flow cytometer มีส่วนประกอบหลัก 4 ส่วนคือ (Ochatt, 2008)

1. Fluidic system มีหน้าที่ควบคุมการไหล จะดูดสารละลายเซลล์ขึ้นมาผสมรวมกับบัฟเฟอร์ที่เรียกว่า "Sheath fluid" เพื่อเข้าสู่หัวฉีดที่จะบังคับให้เซลล์แขวนลอยเหล่านี้วิ่งเป็นสายของเซลล์เดี่ยวๆ ผ่านลำแสงเลเซอร์

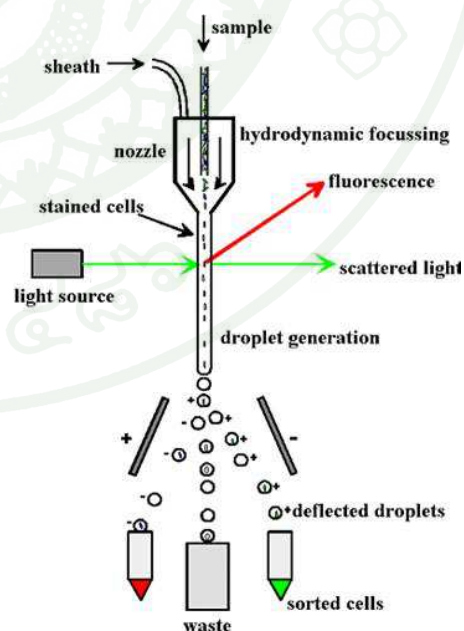
2. Optical system ทำหน้าที่สร้างลำแสง ซึ่งส่วนมากเป็นแสงเลเซอร์ เนื่องจากเป็น monochromatic และ high intensity ลำแสงเลเซอร์ที่กระทบกับเซลล์จะทำให้อิเล็กทรอนิกส์ของสีย้อมเรืองแสงเข้าสู่สถานะกระตุ้นซึ่งเกิดพลังงานในระดับที่สูง และหลังจากผ่านลำแสงเลเซอร์แล้ว อิเล็กทรอนิกส์จะสูญเสียพลังงานในรูปแบบของโฟตอน และเปล่งแสงในความยาวคลื่นที่จำเพาะ ซึ่งสามารถตรวจวัดได้ด้วย detector การวัดการเรืองแสงจะขึ้นอยู่กับการดูดซับและการเปล่งแสงของเซลล์ในความยาวคลื่นต่างๆ โดยลำแสงนี้จะผ่านเลนส์ และฟิลเตอร์ซึ่งทำหน้าที่หักเหแสง และกรองสัญญาณแสงไปยัง photomultiplier tube ซึ่งเป็น detector เพื่อตรวจวัดแสงในความยาวคลื่นตามชนิดของสีย้อมที่ใช้ เพราะสีย้อมต่างชนิดกันจะเปล่งแสงให้ความยาวคลื่นที่ต่างกันออกไป

เครื่อง Flow Cytometer แต่ละรุ่นจะมี photomultiplier tube ต่างกันไปตามความสามารถในการทำงาน

3. Detector system มีหน้าที่ตรวจรับสัญญาณแสง โดยมี photo-multiplier tube ทำหน้าที่รับสัญญาณคลื่นแสงที่เกิดจากการสะท้อน (scatter) หรือจากแสงฟลูออเรสเซนส์ แล้วแปลงเป็นสัญญาณไฟฟ้า

4. Data process system มีหน้าที่รวบรวมสัญญาณไฟฟ้าที่ได้รับมาจาก detector system แล้วนำไปประมวลผล เรียบเรียงให้เป็น histogram ซึ่งทั้งหมดนี้จะเป็นการทำงานของระบบคอมพิวเตอร์แล้วแสดงออกมาที่หน้าจอหรือพิมพ์ออกมาในกระดาษได้

การวัดจำนวนชุดของโครโมโซมด้วยวิธีการ Flow cytometry ทำโดยคัดเลือกลักษณะที่แตกต่างจากต้นปกติ โดยการสังเกตลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ รูปร่าง หรือ ขนาดของส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ใบ ดอก หรือผล ซึ่งพอจะช่วยแยกพืชที่เป็นโพลีพลอยด์ออกจากพืชปกติได้ จากนั้นนำส่วนของพืชจากต้นนั้นๆ มาทำการวัดโดยทำการตั้งค่าของเครื่องโดยให้ปริมาณดีเอ็นเอในนิวเคลียสของเซลล์ต้นควบคุม (2x) อยู่ทีระดับ 200 ดังนั้น ต้นที่มีการเปลี่ยนแปลงเป็น 4x จะอยู่ที่ระดับ 400



ภาพที่ 6 เครื่อง Flow Cytometry และหลักการทำงาน

อุปกรณ์และวิธีการ

ลักษณะพฤกษศาสตร์ของปทุมมาลูกผสม

ต้นปทุมมาลูกผสมที่ใช้ในการทดลองเกิดจากการผสมข้ามชนิดระหว่าง *Curcuma sparganifolia* Gagnep. กับ *Curcuma parviflora* Wall. ซึ่งปรับปรุงพันธุ์โดยคุณลิขิต มณีสินธุ์ โดยปทุมมาลูกผสมดังกล่าวมีลักษณะที่ดี คือ มีช่อดอกสีชมพูอ่อนกลีบเขียว ดอกจริงสีชมพูแดง ช่อดอกชูขึ้นเหนือใบ ใบรูปรียาวปลายใบแหลม แผ่นใบเรียบ ต้นที่เจริญเติบโตเต็มที่มีความสูงประมาณ 35-40 เซนติเมตร ช่อดอกยาวประมาณ 5-7 เซนติเมตร และมีจำนวนชั้นกลีบประดับ 5-6 ชั้น



ภาพที่ 7 ลักษณะดอกปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดระหว่าง *Curcuma sparganifolia* Gagnep. กับ *Curcuma parviflora* Wall. ที่ใช้ในการทดลอง

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดการเจริญเติบโต

- 1.1 ดินสอ
- 1.2 ไม้บรรทัด สายวัด
- 1.3 กล้องถ่ายรูป
- 1.4 สมุดจดบันทึก

2. การตรวจวิเคราะห์หาจำนวนโครโมโซม

- 2.1 เครื่อง Flow Cytometer : Partec Ploidy Analyser PA-II
- 2.2 เยื่อตาข่ายกรองเซลล์ Partec CellTrics 30 μm
- 2.3 Reagent kit for nuclei extraction
- 2.4 Reagent kit for DNA staining

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาความมีชีวิตของละอองเรณู

- 3.1 หลอดสำหรับเก็บตัวอย่างดอก
- 3.2 แผ่นกระจกสไลด์และแผ่นกระจกปิดสไลด์
- 3.3 สีที่ใช้ย้อมละอองเรณู คือ Aceto-carmin ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์
- 3.6 สีที่ใช้ย้อมหลอดละอองเรณู คือ Aniline blue
- 3.4 กล้องจุลทรรศน์ชนิด Compound microscope
- 3.5 กล้องจุลทรรศน์ชนิด Fluorescence microscope

4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการผสมเกสร

- 4.1 ไม้จิ้มฟัน
- 4.2 ปากคีบปลายแหลม (forcept)
- 4.3 สำลี
- 4.4 เอทิลแอลกอฮอล์
- 4.5 ด้ายสีต่างๆ

5. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

5.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS; 1962)

5.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต

- TDZ (N-phenyl-N'-1,2,3-thidiazol-5-yl urea)
- BA (6-Benzyl-adenine)
- Kinetin (6-Furfurylaminopurine)

5.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

- เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด
- เครื่องคนสาร (magnetic stirrer)
- เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH-meter)
- เตาไมโครเวฟ
- กระบอกตวง
- บีกเกอร์
- ปิเปต
- แท่งแก้วคนสาร
- กรวยกรอง
- หลอดหยด

5.3 สารเคมีสำหรับทำความสะอาดขวดและฟลัก

- Sodium hypochlorite
- Tween 20

5.4 สารอินทรีย์ที่ใช้ร่วมกับอาหารเพาะเลี้ยง

- น้ำตาลทราย
- Kelcogel[®]

5.6 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ใช้นึ่งฆ่าเชื้ออาหารเพาะเลี้ยงและอุปกรณ์ที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนึ่งที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

5.7 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air-flow cabinet)
- มีดผ่าตัด (scalpel)
- ปากคีบ (forceps)
- ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 8 ออนซ์

- แอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- ไฟแช็ค
- ชั้นวางมีดผ่าตัดและปากคีบ

6. อุปกรณ์ที่ใช้ในการย้ายปลูกและเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์

6.1 วัสดุปลูก

- พีทมอส
- จีเล้าเกลบ
- ขุยมะพร้าว
- ปุ๋ยคอก
- กระถางพลาสติกขนาด 10 และ 15 เซนติเมตร

6.2 ปุ๋ย

- ปุ๋ยเม็ดละลายช้าสูตรเสมอ 14-14-14 (อัตรา 5 กรัมต่อกระถาง)
- ปุ๋ยชนิดเกล็ดละลายน้ำสูตร 21-21-21 (อัตรา 30 กรัม ต่อ น้ำ 20 ลิตร ทุกสัปดาห์)

6.3 ตะกร้า

6.4 ถังตาข่าย

6.5 ถังน้ำพลาสติก

วิธีการ

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการให้สารโคลชิซินหรือออไรซาลินที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมในปทุมมาลูกผสมข้ามชนิด

1.1 การฟอกฆ่าเชื้อช่อดอกอ่อน

ตัดช่อดอกอ่อนที่กลีบประดับยังไม่บานมาล้างทำความสะอาดพื้นผิวด้านนอกด้วยสบู่เหลว แล้วล้างสบู่ออกภายใต้ น้ำไหล จุ่มแช่ช่อดอกอ่อนดังกล่าวลงในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 1 นาที และฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ (Clorox, 1.40 เปอร์เซ็นต์ (v/v) sodium hypochlorite) 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที และฟอกครั้งที่ 2 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างช่อดอกอ่อนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วด้วยน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ตัดดอกอ่อนที่อยู่ภายในช่อดอกอ่อนให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.4 ± 0.1 เซนติเมตร และเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog medium; Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม BA ปริมาณ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 ± 5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350 lm Philips Thailand) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 4 สัปดาห์ เป็นเวลา 3 เดือน เพื่อชักนำให้เกิดต้นจากเนื้อเยื่อเจริญจากดอกอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ

1.2 การชักนำให้เกิดกลุ่มยอดของปทุมมา (Multiple shoot)

นำต้นปทุมมาในสภาพปลอดเชื้อมาทำการชักนำให้เกิดกลุ่มยอดโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ปริมาณ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 ± 5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350 lm Philips Thailand) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จะพบเนื้อเยื่อที่มีลักษณะการพัฒนากลุ่มยอดขนาดเล็ก

1.3 การชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซม

นำชิ้นส่วนปทุมมาที่ผ่านการชักนำกลุ่มยอด (multiple shoot) จำนวน 15 กลุ่มยอดต่อชุดการทดลอง มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่มีการเติมสารโคเคนดินปริมาณ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีการเติมสารโคลชิซินหรือสารออไรซาลินความเข้มข้น 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 72 และ 96 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่าแบบ Orbital shaker ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 ± 5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350 lm Philips Thailand)

วางแผนการทดลองแบบ $3 \times 3 \times 3$ factorial in CRD (Factorial in Completely Randomized Design) ศึกษา 3 ปัจจัย ปัจจัยที่ 1 คือ ชนิดของสาร ประกอบด้วย ชุดควบคุม ชุดที่ได้รับโคลชิซิน และ ชุดที่ได้รับออไรซาลิน ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับความเข้มข้น ประกอบด้วย 0 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และปัจจัยที่ 3 คือ ระยะเวลาที่แช่สาร ประกอบด้วย 48 ชั่วโมง 72 ชั่วโมงและ 96 ชั่วโมง

หลังจากให้สารโคลชิซินและสารออไรซาลินตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่กำหนดแล้ว ย้ายชิ้นส่วนกลุ่มยอดดังกล่าวเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีการเติมสารโคเคนดิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ จากนั้นทำการย้ายต้นปทุมมาลูกผสมที่ได้รับสารดังกล่าว ออกปลูกในกระถางขนาด 10 เซนติเมตร โดยใช้วัสดุปลูก คือ พีทมอส ขี้เถ้าแกลบ และขุยมะพร้าว ในอัตราส่วน 1:1:1 และให้ปุ๋ยละลายช้าในอัตรา 5 กรัมต่อกระถางทุก 4 สัปดาห์ และให้ปุ๋ยเกล็ดละลายน้ำ สูตร 21-21-21 อัตรา 30 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ทุกสัปดาห์

การบันทึกผลการทดลอง

1. บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ 30 60 และ 90 วัน
2. บันทึกผลการเจริญเติบโตของต้น
 - ความสูงต้น (เซนติเมตร)
 - จำนวนต้นต่อกระถาง (ต้น)
 - จำนวนใบ (ใบ)
 - ความยาวใบ (เซนติเมตร)

- ความกว้างใบ (เซนติเมตร)
- ความยาวช่อดอก (เซนติเมตร)
- ความกว้างช่อดอก (เซนติเมตร)
- ความยาวก้านช่อดอก (เซนติเมตร)
- จำนวนชั้นกลีบประดับ (ชั้น)
- จำนวนหัวพันธุ์ (หัว)

3. บันทึกลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาที่เกิดการเปลี่ยนแปลงภายหลังจากที่ได้รับสาร

4. วิเคราะห์ระดับ ploidy ของต้น โดยเครื่อง Flow cytometry ที่คัดเลือกจากการสังเกตลักษณะผิดปกติ

การทดลองที่ 2 การปลูกเพื่อคัดเลือกลำต้นที่มีการเพิ่มจำนวนโครโมโซมจากหัวพันธุ์ปทุมมาลูกผสมที่ทำการเก็บเกี่ยวจากการทดลองที่ 1

2.1 การเก็บเกี่ยวและเก็บรักษาหัวพันธุ์

ภายหลังจากการรดน้ำเป็นระยะเวลา 20 วัน ขุดหัวพันธุ์มาล้างทำความสะอาด จากนั้นนำหัวพันธุ์ดังกล่าวแช่ลงในยากันราเป็นระยะเวลา 10 นาที จากนั้นนำหัวพันธุ์ทั้งหมดใส่ในถุงตาข่ายแขวนตากในที่ร่มมีลมพัดผ่าน เมื่อหัวพันธุ์แห้งสนิทเก็บรักษาหัวพันธุ์ดังกล่าวในห้องเย็นที่มีการควบคุมอุณหภูมิที่ 15 ± 2 องศาเซลเซียส เพื่อรอปลูกในฤดูปลูกถัดไป

2.2 การปลูกหัวพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวจากการทดลองที่ 1

คัดแยกหัวพันธุ์ที่มีลักษณะผิดปกติ หัวพันธุ์จากต้นที่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและหัวจากชุดการทดลองต่างๆ จำนวนชุดการทดลองละ 50 หัว ปลูกกระถางละ 1 หัวลงในกระถางขนาด 15 เซนติเมตร โดยใช้วัสดุปลูก คือ พีทมอส ขี้เถ้าแกลบ และขุยมะพร้าว ในอัตราส่วน 1:1:1 และให้ปุ๋ยละลายช้าในอัตรา 5 กรัมต่อกระถางทุก 4 สัปดาห์ และให้ปุ๋ยเกล็ดละลายน้ำสูตร 21-21-21 อัตรา 30 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ทุกสัปดาห์ ส่วนหัวพันธุ์ที่เหลือทั้งหมดทำการปลูกลงในแปลงโดยแบ่งพื้นที่ปลูกตามชุดการทดลองอย่างชัดเจน

การบันทึกผลการทดลอง

1. บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ 30 60 และ 90 วัน

2. บันทึกผลการเจริญเติบโตของต้น

- ความสูงต้น (เซนติเมตร)
- จำนวนต้นต่อกระถาง (ต้น)
- จำนวนใบ (ใบ)
- ความยาวใบ (เซนติเมตร)
- ความกว้างใบ (เซนติเมตร)
- ความยาวช่อดอก (เซนติเมตร)
- ความกว้างช่อดอก (เซนติเมตร)
- ความยาวก้านช่อดอก (เซนติเมตร)
- จำนวนชั้นกลีบประดับ (ชั้น)
- จำนวนหัวพันธุ์ (หัว)

3. บันทึกลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาที่ยังคงลักษณะการกลาย ภายหลังจากปลูกทดสอบหัวพันธุ์จากต้นที่เกิดการเปลี่ยนแปลงจากการทดลองที่ 1

4. วิเคราะห์ระดับ ploidy ของต้นโดยเครื่อง Flow cytometry จากต้นที่หัวพันธุ์มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไป และต้นที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์มาจากการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 3 ศึกษาความสามารถในการผสมตัวเองและการผสมกลับไปยังพ่อแม่พันธุ์ของปทุมมาลูกผสมที่มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซม

3.1 การศึกษาความมีชีวิตของละอองเรณูจากต้นที่มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซมจากการทดลองที่ 2

เก็บดอกจากต้นมิโกโซพลอยด์ทั้ง 5 ต้นที่ได้จากการทดลองที่ 2 ในช่วงเช้า เวลาประมาณ 8-11 นาฬิกา จากนั้นเขียนละอองเกสรซึ่งมีลักษณะเหนียวและเกาะเป็นกลุ่มลงบนแผ่นสไลด์ จากนั้นหยด Acetone carmine 1 เปอร์เซ็นต์ ลงบนกลุ่มละอองเกสรเป็นระยะเวลาประมาณ 2 นาที จากนั้นปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ส่องนับจำนวนละอองเกสรที่มีการติดสีสม่ำเสมอภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากนั้นคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสร

การบันทึกผลการทดลอง

1. บันทึกเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสร โดยคำนวณจาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสร} = \frac{\text{จำนวนละอองเกสรที่ติดสี} \times 100}{\text{จำนวนละอองเกสรที่ทำการนับทั้งหมด}}$$

3.2 การทดสอบการผสม โดยนำต้นที่มีการเพิ่มจำนวนโครโมโซมจากการทดลองที่ 2 มาทำการผสมตัวเองและผสมกลับไปยังพ่อแม่ โดยช่วงเวลาในการผสมคือ 7.30-11.00 น. เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมที่สุด ดอกจริงบานเต็มที่ อุนหภูมิไม่สูงนัก เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การผสมติดของไม้ดอกหลายชนิด

ในการผสมใช้วิธีการผสมแบบ Direct pollen application คือ การนำเกสรเพศผู้มาผสมยังดอกต้นแม่โดยตรง โดยการใช้เครื่องมือและเทคนิคที่ต่างกัน (นพพร, 2546) เริ่มจากการใช้ปากคีบดึงดอกที่บานแล้วจากต้นพ่อออกมา แล้วใช้ไม้จิ้มฟันเขี่ยเกสรซึ่งมีลักษณะเหนียวและลงบนยอดเกสรเพศเมีย (stigma surface) ของต้นแม่อย่างเบามือ เพื่อป้องกันไม่ให้ยอดเกสรช้ำ เมื่อผสมเสร็จทำเครื่องหมาย จดเบอร์ต้นที่นำมาทำการผสมและวันที่ผสม เพื่อง่ายต่อการสังเกตและนับอายุฝักเป็นประโยชน์ในการคำนวณวันในการเก็บฝักไปฟอกฆ่าเชื้อเพื่อเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอเพื่อร่นระยะเวลาในการเจริญและพัฒนาไปเป็นต้นของลูกผสม

การผสมตัวเอง โดยทำการผสมชุดการทดลองละ 20 ดอก ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1	ดิพลลอยด์ × ดิพลลอยด์
ชุดการทดลองที่ 2	มิกโซพลอยด์ × มิกโซพลอยด์

การผสมกลับ โดยทำการผสมชุดการทดลองละ 20 ดอก ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1	ดิพลลอยด์ × ปทุมรัตน์
ชุดการทดลองที่ 2	ดิพลลอยด์ × เทพรัลิก
ชุดการทดลองที่ 3	ปทุมรัตน์ × ดิพลลอยด์
ชุดการทดลองที่ 4	เทพรัลิก × ดิพลลอยด์
ชุดการทดลองที่ 5	มิกโซพลอยด์ × ปทุมรัตน์
ชุดการทดลองที่ 6	มิกโซพลอยด์ × เทพรัลิก

ชุดการทดลองที่ 7	ปทุมรัตน์ × มิกโซพลอยด์
ชุดการทดลองที่ 8	เทพรำลึก × มิกโซพลอยด์

การบันทึกผลการทดลอง

1. บันทึกเปอร์เซ็นต์การผสมติด โดยคำนวณจาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์การผสมติด} = \frac{\text{จำนวนดอกที่ผสมติด} \times 100}{\text{จำนวนดอกที่ผสมทั้งหมด}}$$

2. บันทึกเปอร์เซ็นต์เอมบริโอที่พัฒนาเป็นต้น

ทำการฟอกฆ่าเชื้อฝักหลังจากการผสม 21 วันจากนั้นแกะเมล็ดออกจากฝัก แล้วนำเมล็ดที่อยู่ภายในมาผ่า เพื่อนำเอมบริโอมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ดัดแปลงโดยเติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร GA₃ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร (หยกทิพย์, 2550) และ Kelcogel[®] 2.5 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 ± 5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350 lm Philips Thailand) จากนั้นบันทึกผลเปอร์เซ็นต์เอมบริโอที่พัฒนาเป็นต้น โดยคำนวณจาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์เอมบริโอที่พัฒนาเป็นต้น} = \frac{\text{จำนวนเอมบริโอที่พัฒนาเป็นต้น} \times 100}{\text{จำนวนเอมบริโอที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด}}$$

3. ทำการตรวจสอบการงอกของละอองเกสรเข้าไปในรังไข่โดยการเก็บดอกที่ได้รับการผสมเกสรแล้วเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการย้อมสี Aniline blue เพื่อดูลักษณะการงอกของหลอดละอองเรณูบนเกสรเพศเมีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Fluorescence

4. วิเคราะห์ระดับ ploidy ของต้นที่ได้จากการผสมโดยเครื่อง Flow cytometry

การทดลองที่ 4 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นดิพลอยด์ ($2n=2x$) ต้นมิโกโซพลอยด์ ($2n=2x+4x$) และต้นเตตราพลอยด์ ($2n=4x$) ของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิด

เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาระหว่างต้นดิพลอยด์ ต้นมิโกโซพลอยด์ และต้นเตตราพลอยด์ ที่ทำการเก็บหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 2 และการทดลองที่ 3 มาปลูกทดสอบเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยปลูกกระถางละ 1 หัวลงในกระถางขนาด 15 เซนติเมตร โดยใช้วัสดุปลูก คือ พีทมอส จีเถ้าแกลบ และขุยมะพร้าว ในอัตราส่วน 1:1:1 และให้น้ำละลายช้าในอัตรา 5 กรัมต่อกระถางทุก 4 สัปดาห์ และให้ปุ๋ยเกล็ดละลายน้ำสูตร 21-21-21 อัตรา 30 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ทุกสัปดาห์ ปลูกหัวพันธุ์ปทุมมาในดินผสม โดยใช้วัสดุปลูก คือ จีเถ้าแกลบ พีทมอส ขุยมะพร้าว ในอัตราส่วน 1:1:1 ในกระถางขนาด 12 เซนติเมตร และให้น้ำละลายช้าในอัตรา 5 กรัมต่อกระถางทุก 4 สัปดาห์

การบันทึกผลการทดลอง

1. บันทึกผลการเจริญเติบโตของต้น

- ความสูงต้น (เซนติเมตร)
- จำนวนใบ (ใบ)
- ความยาวใบ (เซนติเมตร)
- ความกว้างใบ (เซนติเมตร)
- จำนวนวันออกดอก (วัน)
- ความยาวช่อดอก (เซนติเมตร)
- ความกว้างช่อดอก (เซนติเมตร)
- ความยาวก้านช่อดอก (เซนติเมตร)
- จำนวนชั้นกลีบประดับ (ชั้น)
- ความยาวดอก (เซนติเมตร)
- ความกว้างดอก (เซนติเมตร)
- จำนวนหัวพันธุ์ (หัว)
- ขนาดปากใบ (ไมโครเมตร)
- จำนวนปากใบต่อพื้นที่ (ตารางมิลลิเมตร)
- น้ำหนักสดของหัวพันธุ์ต่อต้น (กรัม)
- จำนวนหัวต่อกระถาง (หัว)

- เส้นผ่านศูนย์กลางหัวพันธุ์ (เซนติเมตร)
- จำนวนรากสะสมอาหาร (ราก)
- ความยาวค้ำสะสมอาหาร (เซนติเมตร)
- ความกว้างค้ำสะสมอาหาร (เซนติเมตร)
- ความยาวรากสะสมอาหาร (เซนติเมตร)

2. บันทึกผลความมีชีวิตของละอองเรณู

- เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณู

เก็บดอกจากต้นดิพลอยด์ ต้นมิโกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์ในช่วงเช้า เวลาประมาณ 8-11 นาฬิกา จากนั้นเขียนละอองเกสรซึ่งมีลักษณะเหนียวและเกาะเป็นกลุ่มลงบนแผ่นสไลด์ จากนั้นหยดสี Acetone carmine 1 เปอร์เซ็นต์ ลงบนกลุ่มละอองเกสรเป็นระยะเวลาประมาณ 2 นาที จากนั้นปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ส่องนับจำนวนละอองเกสรที่มีการติดสีสม่ำเสมอภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากนั้นคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสร โดยคำนวณจาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสร} = \frac{\text{จำนวนละอองเกสรที่ติดสี} \times 100}{\text{จำนวนละอองเกสรที่ทำการนับทั้งหมด}}$$

- เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเรณู

เก็บดอกจากต้นดิพลอยด์ ต้นมิโกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์ในช่วงเช้า เวลาประมาณ 8-11 นาฬิกา จากนั้นเขียนละอองเกสรซึ่งมีลักษณะเหนียวและเกาะเป็นกลุ่มลงบนแผ่นสไลด์หลุม จากนั้นหยดอาหารสังเคราะห์สูตร Taylor's ที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์จนท่วมละอองเรณู ทำการเพาะเลี้ยงในกล่องที่ปิดสนิทเพื่อไม่ให้อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงละอองเรณูแห้ง เมื่อระยะเวลาผ่านไป 3 ชั่วโมง หลอดละอองเรณูเริ่มมีการงอก และงอกยาวขึ้นเรื่อยๆ เมื่อระยะเวลาผ่านไป 5 ชั่วโมง ส่องนับจำนวนละอองเรณูที่มีการงอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากนั้นคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเรณู โดยคำนวณจาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเรณู} = \frac{\text{จำนวนละอองเกสรที่งอก} \times 100}{\text{จำนวนละอองเกสรที่ทำการนับทั้งหมด}}$$

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

สถานที่

1. ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ
2. บริษัท เรียด ซีด อโกร อำเภอมะริม จังหวัดเชียงใหม่

ระยะเวลาทำการวิจัย

เริ่มทำการวิจัยเดือนมิถุนายน 2550 และสิ้นสุดการทดลองในเดือนมกราคม 2553

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการให้สารโคลชิซินหรือออไรซาลินที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมในปทุมมาลูกผสมข้ามชนิด

1.1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

ภายหลังจากการชักนำให้เกิดกลุ่มยอด (multiple shoot) จากนั้นนำกลุ่มยอดดังกล่าวไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่มีการเติมโคลชิซินหรือออไรซาลินความเข้มข้น 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร บนเครื่องเขย่าแบบ Orbital shaker โดยใช้ระยะเวลาในการเขย่า 48 72 และ 96 ชั่วโมง ภายหลังจากการชักนำให้เกิดต้นแล้วย้ายออกปลูกในโรงเรือน ทำการบันทึกผลการรอดชีวิตที่ 30 60 และ 90 วัน พบว่า ชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุด คือ 94-100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนชุดการทดลองที่ได้รับสาร โคลชิซินและออไรซาลินนั้นระดับความเข้มข้นของสารและระยะเวลาที่ได้รับสารมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต โดยเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารและระยะเวลาที่ได้รับสารเพิ่มสูงขึ้น และชุดการทดลองที่ได้รับสาร โคลชิซิน ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยต่ำที่สุดคือมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตภายหลังจากการย้ายปลูก 30 60 และ 90 วัน เท่ากับ 92.38 87.13 และ 85.50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1 2 และ 3) เป็นไปในทางเดียวกันกับชุดการทดลองที่ได้รับสารออไรซาลินความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยต่ำที่สุดคือมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตภายหลังจากการย้ายปลูก 30 60 และ 90 วัน เท่ากับ 65.45 61.27 และ 44.89 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4 5 และ 6)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังได้รับสารโคลชิซิน
ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน ภายหลังจากการย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 30 วัน

ความเข้มข้น ของโคลชิซิน (ppm)	ระยะเวลาที่ได้รับสาร (ชั่วโมง)				ค่าเฉลี่ย±SD
	0	48	72	96	
0	100.00	99.08	100.00	99.71	99.70±0.43
1	100.00	99.27	96.98	97.79	98.51±1.37
3	99.67	98.34	97.75	97.01	98.19±1.13
5	99.72	97.99	98.01	92.38	97.03±3.20
ค่าเฉลี่ย±SD	99.85±0.18	98.67±0.61	98.19±1.29	96.72±3.11	

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังได้รับสารโคลชิซิน
ความเข้มข้น และระยะเวลาแตกต่างกัน ภายหลังจากการย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 60 วัน

ความเข้มข้น ของโคลชิซิน (ppm)	ระยะเวลาที่ได้รับสาร (ชั่วโมง)				ค่าเฉลี่ย±SD
	0	48	72	96	
0	100.00	98.24	98.4	97.76	98.60±0.97
1	98.78	97.71	95.82	95.00	96.83±1.73
3	98.00	95.23	95.78	94.21	95.81±1.60
5	97.43	92.67	96.14	87.13	93.34±4.60
ค่าเฉลี่ย±SD	98.55±1.11	95.96±2.56	96.54±1.25	93.53±4.53	

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังได้รับสารโคลชิซิน
ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน ภายหลังจากการย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 90 วัน

ความเข้มข้น ของโคลชิซิน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาที่ได้รับสาร (ชั่วโมง)				ค่าเฉลี่ย±SD
	0	48	72	96	
0	98.25	98.24	95.00	94.52	96.50±2.02
1	96.71	94.16	89.67	93.87	93.60±2.92
3	97.31	94.54	94.00	88.56	93.60±3.66
5	95.53	89.44	92.79	85.50	90.82±4.33
ค่าเฉลี่ย±SD	96.95±1.14	94.10±3.6	92.87±2.31	90.61±4.33	

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังได้รับสารออไรซาลิน
ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน ภายหลังจากการย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 30 วัน

ความเข้มข้น ของโคลชิซิน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาที่ได้รับสาร (ชั่วโมง)				ค่าเฉลี่ย±SD
	0	48	72	96	
0	100.00	100.00	98.43	99.23	99.42±0.75
1	100.00	95.76	94.71	82.23	93.18±7.65
3	100.00	94.48	87.11	74.14	88.93±11.19
5	98.87	87.23	80.32	65.45	82.97±13.96
ค่าเฉลี่ย±SD	99.72±0.56	94.37±5.31	90.14±8.07	80.26±14.38	

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังได้รับสารอโรชาลิน

ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน ภายหลังจากการย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 60 วัน

ความเข้มข้น ของโคลชิซิน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาที่ได้รับสาร (ชั่วโมง)				ค่าเฉลี่ย±SD
	0	48	72	96	
0	100.00	98.24	98.24	98.83	98.83±0.83
1	98.75	93.37	82.41	77.67	88.05±9.70
3	97.43	86.64	75.56	67.23	81.72±13.15
5	97.32	71.11	64.81	61.27	73.63±16.31
ค่าเฉลี่ย±SD	98.38±1.26	87.34±11.82	80.26±14.01	76.25±16.51	

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังได้รับสารอโรชาลิน

ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน ภายหลังจากการย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 90 วัน

ความเข้มข้น ของโคลชิซิน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาที่ได้รับสาร (ชั่วโมง)				ค่าเฉลี่ย±SD
	0	48	72	96	
0	98.17	97.75	98.24	97.32	97.87±0.43
1	98.75	90.86	74.62	68.93	83.29±13.88
3	97.13	67.91	79.32	53.28	74.41±18.52
5	97.32	61.17	57.91	44.89	65.32±22.46
ค่าเฉลี่ย±SD	97.84±0.76	79.42±17.63	77.52±16.59	66.11±23.07	



ภาพที่ 8 ลักษณะต้นที่เกิดการพัฒนาจากกลุ่มยอดของชุดควบคุม (ก) ชุดที่ได้รับสารโคลชิซีน (ข) และชุดที่ได้รับสารออไรซาลิน (ค) ในสภาพปลอดเชื้อ

จากการสังเกตการพัฒนามาเป็นต้นจากกลุ่มยอดในสภาพปลอดเชื้อภายหลังจากที่ได้รับสาร 4 สัปดาห์ พบว่า ต้นที่พัฒนาจากกลุ่มยอดที่ได้รับสารโคลชิซีนพบใบที่มีลักษณะเรียวยาวแตกต่างจากชุดควบคุม และการเจริญของต้นค่อนข้างช้า ส่วนการพัฒนาของต้นจากกลุ่มยอดที่ได้รับสารออไรซาลินพบว่า การพัฒนาเป็นต้นของกลุ่มยอดน้อยกว่าชุดควบคุมและชุดที่ได้รับสารโคลชิซีน แต่ต้นที่พัฒนาขึ้นมานั้นมีลักษณะต้นอวบอ้วน ใบหนา และใบมีขนาดใหญ่เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมและชุดที่ได้รับโคลชิซีน (ภาพที่ 8) แต่ภายหลังจากการย้ายออกปลูกเป็นระยะเวลา 120 วันพบว่าต้นที่มีลักษณะที่เปลี่ยนแปลงในสภาพปลอดเชื้อดังกล่าวมีลักษณะต้นไม่แตกต่างจากต้นในชุดการทดลองเดียวกัน



ภาพที่ 9 ความแตกต่างของลักษณะต้นปทุมมาลูกผสมเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุม (ก) ชุดที่ได้รับสารโคลชิซิน (ข) และชุดที่ได้รับสารออไรซาลิน (ค) หลังการย้ายปลูกลง 120 วัน

ภายหลังจากการย้ายต้นออกปลูกเป็นระยะเวลา 120 วันพบว่า ต้นที่ได้รับสารทั้งสองชนิดมีผลทำให้ใบและต้นมีลักษณะแตกต่างจากต้นจากชุดควบคุมคือ ต้นจากชุดควบคุมมีแผ่นใบเรียบแต่ต้นที่ได้รับสารทั้งสองชนิดจะพบว่าแผ่นใบมีลักษณะหยักและชุดการทดลองที่ได้รับสารออไรซาลินพบใบมีสีอ่อนลงและต้นมีการเจริญเติบโตช้ากว่าชุดที่ได้รับสารโคลชิซินและชุดควบคุม (ภาพที่ 9)

1.2 การเจริญเติบโตทางด้านลำต้น

1.2.1 ความสูง

การศึกษาผลของชนิดสาร ความเข้มข้น ระยะเวลาที่ได้รับสาร และอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดสารที่ได้รับ ความเข้มข้นของสาร และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความสูงของปทุมมาลูกผสม โดยภายหลังจากการชักนำให้เกิดต้นจากกลุ่มยอดที่ได้รับสาร โคลิซิซีนและออไรชาลินความเข้มข้น และระยะเวลาแตกต่างกันภายหลังการย้ายออกปลูกในโรงเรือนเป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่าอิทธิพลร่วมระหว่าง 3 ปัจจัยคือชนิดของสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารมีผลต่อความสูงปทุมมาลูกผสมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของสารและความเข้มข้น และอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของสารและระยะเวลามีผลทำให้ความสูงของต้นที่ได้รับสารมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยต้นที่ได้รับสารมีการเจริญเติบโตทางด้านความสูงช้า และเมื่อได้รับสารความเข้มข้นสูงขึ้นและระยะเวลานานขึ้น ความสูงต้นมีแนวโน้มลดลงต้นที่ได้รับสารออไรชาลินความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมงมีความสูงเฉลี่ยของต้นน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม คือมีความสูง 17 และ 28 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

1.2.2 จำนวนยอดต่อกระถาง

อิทธิพลร่วมระหว่าง 3 ปัจจัยคือ ชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารไม่มีความแตกต่างทางสถิติของจำนวนยอดต่อกระถางของปทุมมาลูกผสม แต่อิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของสารและระยะเวลามีผลทำให้จำนวนยอดต่อกระถางของปทุมมาลูกผสมที่ได้รับสารมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยชุดที่ได้รับสารโคลิซิซีนความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีจำนวนยอดเฉลี่ยต่อกระถางน้อยที่สุดคือ 1 ยอด และต้นที่ได้รับสารออไรชาลินความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 72 และ 96 ชั่วโมง มีจำนวนยอดเฉลี่ยต่อกระถางมากที่สุดคือ 3.4 3 และ 3.4 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 7 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับต่อความสูงของต้น
ปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-	28.86±1.85		
โคลชิซีน	1 ppm	28.24±1.97	27.38±3.10	27.44±1.65
	3 ppm	27.58±1.49	25.76±2.03	25.70±2.64
	5 ppm	27.40±1.98	26.64±0.85	23.64±1.27
ออไรซาลิน	1 ppm	25.04±2.31	25.30±3.19	18.70±1.01
	3 ppm	20.92±2.27	24.44±2.15	19.24±1.45
	5 ppm	24.46±1.51	20.20±3.51	17.48±1.02
ชนิดสาร		**		
ความเข้มข้น		**		
ระยะเวลา		**		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		ns		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		**		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		**		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 8 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อจำนวนยอดต่อ
กระถางของต้นของปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-	1.40±0.55		
โคลชิซีน	1 ppm	1.20±0.45	1.40±0.55	1.20±0.45
	3 ppm	1.00±0.00	1.40±0.55	1.20±0.45
	5 ppm	1.00±0.00	1.20±0.45	1.20±0.45
ออไรซาลิน	1 ppm	1.20±0.45	1.40±0.55	1.80±0.84
	3 ppm	2.00±0.71	2.20±0.84	3.40±0.55
	5 ppm	2.00±1.00	3.00±0.71	3.40±1.14
ชนิดสาร		**		
ความเข้มข้น		**		
ระยะเวลา		**		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		**		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		**		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

1.2.3 จำนวนใบ ความยาวใบ และความกว้างใบ

อิทธิพลร่วมระหว่าง 3 ปัจจัยคือ ชนิดของสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสาร ไม่มีความแตกต่างทางสถิติของทั้งจำนวนใบ ความยาวใบ และความกว้างใบของปทุมมาลูกผสม อิทธิพลร่วมระหว่างชนิดสารและความเข้มข้น อิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นและระยะเวลามีผลต่อความยาวใบของปทุมมาลูกผสมอย่างมีนัยสำคัญ ชุดการทดลองที่ได้รับสาร โคลชิซินความเข้มข้นต่างๆ มีความยาวใบเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน ยกเว้นชุดการทดลองที่ได้รับสารความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง มีความยาวใบแตกต่างจากชุดที่ได้รับโคลชิซินชุดอื่นๆ และชุดการทดลองที่ได้รับสารออไรซาลินความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง และได้รับสารความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง มีความยาวเฉลี่ยของใบน้อยที่สุดคือ 13.64 และ 12.90 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 9 และ 10)

ส่วนอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดสารและความเข้มข้น และอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดสารและระยะเวลามีผลต่อความกว้างของใบปทุมมาลูกผสม (ตารางที่ 11) โดยต้นในกลุ่มชุดควบคุมมีความกว้างของใบมากที่สุด โดยมีความกว้างของใบเฉลี่ยเท่ากับ 4.02 เซนติเมตร ส่วนชุดการทดลองที่ได้รับสารออไรซาลินความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมงมีความกว้างใบเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 2.20 เซนติเมตร

ตารางที่ 9 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อจำนวนใบ
ของต้นปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-	4.80±0.45		
โคกลิพิด	1 ppm	4.80±0.45	4.80±0.45	4.80±0.45
	3 ppm	4.80±0.45	4.60±0.55	4.80±0.45
	5 ppm	4.60±0.55	4.60±0.55	4.60±0.55
ออไรซาลิน	1 ppm	4.40±0.55	4.60±0.55	4.40±0.55
	3 ppm	4.80±0.45	4.60±0.55	4.80±0.45
	5 ppm	4.80±0.45	4.60±0.55	4.40±0.55
ชนิดสาร		ns		
ความเข้มข้น		ns		
ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		ns		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		ns		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 10 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความยาวใบของ
ต้นปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-	23.80±1.20		
โคลชิซีน	1 ppm	23.84±1.07	24.34±1.45	23.86±1.84
	3 ppm	22.82±2.68	23.30±2.56	22.40±1.60
	5 ppm	23.60±1.24	23.10±2.33	19.32±1.54
ออไรซาลิน	1 ppm	18.42±2.24	18.76±0.81	18.18±1.20
	3 ppm	16.80±0.95	15.86±0.88	13.64±1.99
	5 ppm	16.14±1.12	14.70±0.76	12.90±0.96
ชนิดสาร		**		
ความเข้มข้น		**		
ระยะเวลา		**		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		*		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		ns		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		*		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 11 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความกว้างใบ
ของต้นของปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-	4.02±0.34		
โคกลิพิด	1 ppm	3.98±0.33	3.84±0.23	3.80±0.29
	3 ppm	3.94±0.26	3.54±0.23	3.86±0.42
	5 ppm	3.94±0.44	3.36±0.38	3.56±0.29
ออไรซาลิน	1 ppm	3.98±0.33	3.48±0.34	3.52±0.34
	3 ppm	3.50±0.18	3.36±0.40	2.72±0.41
	5 ppm	3.24±0.26	2.96±0.42	2.20±0.23
ชนิดสาร		**		
ความเข้มข้น		**		
ระยะเวลา		**		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		**		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		**		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 12 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความยาวช่อดอก
ของต้นของปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-	5.86±0.22		
โคกลิพิด	1 ppm	5.64±0.43	5.64±0.51	5.46±0.50
	3 ppm	6.00±0.38	5.36±0.54	4.98±0.74
	5 ppm	5.06±0.47	5.10±0.55	4.78±0.50
ออไรซาลิน	1 ppm	5.42±0.60	5.30±0.57	4.90±0.82
	3 ppm	4.70±0.45	4.24±0.51	3.96±1.04
	5 ppm	4.64±0.43	4.48±0.92	4.00±0.61
ชนิดสาร		**		
ความเข้มข้น		**		
ระยะเวลา		**		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		*		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		ns		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

1.2.4 ความยาวช่อดอก ความกว้างช่อดอก และจำนวนชั้นกลีบประดับ

การศึกษาผลของชนิดสาร ความเข้มข้น ระยะเวลาที่ได้รับสาร และอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของสารที่ได้รับ ความเข้มข้นของสาร และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความยาวช่อดอก ความกว้างช่อดอก และจำนวนชั้นกลีบประดับของปทุมมาลูกผสม โดยภายหลังจากการชักนำให้เกิดต้นจากกลุ่มยอดที่ได้รับสารโคลชิซินและออไรซาลินความเข้มข้น และระยะเวลาแตกต่างกันภายหลังจากการย้ายออกปลูกในโรงเรือนเป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่าง 3 ปัจจัยคือชนิดของสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารไม่มีความแตกต่างทางสถิติของทั้งความยาวช่อดอก ความกว้างช่อดอก และจำนวนชั้นกลีบประดับของปทุมมาลูกผสม แต่อิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของสารและความเข้มข้นมีผลต่อความยาวและความกว้างช่อดอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 12 และ 13) ชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมงมีความยาวช่อดอกมากที่สุดเท่ากับ 6.00 เซนติเมตร ส่วนชุดการทดลองที่ได้รับออไรซาลินความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง และได้รับสารความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง มีความยาวช่อดอกเล็กน้อยที่สุดคือ 3.96 และ 4.00 เซนติเมตร ตามลำดับ อิทธิพลร่วมระหว่างชนิดสารและความเข้มข้นส่งผลต่อความกว้างช่อดอกปทุมมาลูกผสม โดยเมื่อได้รับสารความเข้มข้นและระยะเวลานานขึ้นมีผลให้ความกว้างเฉลี่ยของช่อดอกลดลง โดยชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง ชุดการทดลองที่ได้รับสารออไรซาลินความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง และชุดการทดลองที่ได้รับสารออไรซาลินความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง มีความกว้างช่อดอกเล็กน้อยที่สุดคือ 3.00 3.02 3.00 และ 3.02 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 13)

ส่วนอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดสารและความเข้มข้น มีผลต่อจำนวนชั้นกลีบประดับของปทุมมาลูกผสม โดยต้นในกลุ่มชุดควบคุมและชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมงมีจำนวนชั้นกลีบประดับมากที่สุด โดยมีจำนวนชั้นกลีบประดับเฉลี่ยเท่ากับ 5.80 ชั้น ส่วนชุดการทดลองที่ได้รับสารออไรซาลินความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมงมีจำนวนชั้นกลีบประดับเล็กน้อยที่สุดคือ 3.40 ชั้น (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 13 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความกว้าง

ข้อดอกของต้นของปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-	4.10±0.42		
โคกลิพิด	1 ppm	4.06±0.35	4.04±0.17	3.84±0.23
	3 ppm	3.72±0.23	3.54±0.46	3.22±0.23
	5 ppm	3.52±0.24	3.38±0.59	3.00±0.47
ออไรซาลิน	1 ppm	3.38±0.35	3.24±0.49	3.02±0.29
	3 ppm	3.00±0.14	3.02±0.30	3.22±0.63
	5 ppm	3.34±0.31	3.20±0.49	3.30±0.45
ชนิดสาร		**		
ความเข้มข้น		**		
ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		**		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		ns		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 14 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความยาวก้าน
 ช่อดอกของต้นของปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-	15.60±0.65		
โคลชิซีน	1 ppm	15.50±1.22	15.20±0.91	14.94±0.70
	3 ppm	15.42±0.83	15.00±0.35	15.00±0.79
	5 ppm	14.80±0.91	15.20±0.91	15.50±0.71
ออไรซาลิน	1 ppm	15.60±1.14	15.26±0.63	14.90±1.02
	3 ppm	15.50±1.00	15.04±0.62	13.70±1.20
	5 ppm	13.90±0.65	12.50±1.73	11.70±1.20
ชนิดสาร		**		
ความเข้มข้น		**		
ระยะเวลา		**		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		**		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		*		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 15 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อจำนวนชั้นกลีบ
 ประดับของต้นของปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-	5.80±0.45		
โคกลิพิด	1 ppm	5.60±0.55	5.60±0.55	5.60±0.55
	3 ppm	5.80±0.45	5.20±0.45	5.40±0.55
	5 ppm	5.20±0.45	5.40±0.55	5.20±0.84
ออไรซาลิน	1 ppm	4.60±0.55	5.40±0.55	4.80±0.45
	3 ppm	4.40±0.55	3.80±0.45	3.80±0.84
	5 ppm	3.80±1.10	4.40±1.34	3.40±0.55
ชนิดสาร		**		
ความเข้มข้น		**		
ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		*		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		ns		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 16 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับต่อจำนวนหัวพันธุ์ของ
ต้นของปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)

ชนิดสาร (A)	ความเข้มข้น (B)	ระยะเวลาที่ได้รับสาร (C)		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-	4.20±0.84		
โคกลิพิด	1 ppm	4.20±1.30	3.80±0.45	4.20±1.30
	3 ppm	4.60±0.55	4.60±1.14	5.20±0.84
	5 ppm	5.00±1.22	4.00±1.00	5.00±1.00
ออไรซาลิน	1 ppm	5.60±0.55	4.80±1.30	6.20±0.84
	3 ppm	5.80±1.10	5.60±0.89	5.40±0.55
	5 ppm	6.20±0.84	6.00±0.71	6.20±0.84
ชนิดสาร		**		
ความเข้มข้น		ns		
ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		ns		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		ns		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

** มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

1.2.5 ความยาวก้านช่อดอก

อิทธิพลร่วมระหว่าง 3 ปัจจัยคือ ชนิดของสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสาร ไม่มีผลทำให้ความยาวก้านช่อดอกของปทุมมาลูกผสมเกิดความแตกต่างทางสถิติ แต่อิทธิพลร่วมระหว่างชนิดสารและความเข้มข้น และอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดสารและระยะเวลา มีผลทำให้ความยาวก้านช่อดอกมีความแตกต่างทางสถิติ โดยชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ได้รับความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง และ ได้รับสารความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง มีความยาวก้านช่อดอกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 15.50 15.42 และ 15.50 เซนติเมตรตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองที่ได้รับสารออไรซาลินที่ได้รับสารความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมงมีความยาวก้านช่อดอกเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 11.70 เซนติเมตร (ตารางที่ 14)

1.2.6 จำนวนหัวพันธุ์

ปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนหัวต่อกระถางคือชนิดสารที่ได้รับโดยชุดการทดลองที่ได้รับสารต่างชนิดกันมีความแตกต่างของจำนวนหัวพันธุ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ชุดการทดลองที่ได้รับสารออไรซาลินความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง ได้รับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง และ ได้รับสารความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมงมีจำนวนหัวพันธุ์เฉลี่ยมากที่สุดคือ 6.20 หัวต่อกระถาง (ตารางที่ 16)

จากตารางสรุปอิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสาร ต่อการเจริญเติบโตทางลำต้นและช่อดอกของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังจากได้รับสารโคลชิซินหรือออไรซาลินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน พบว่า มีเพียงการเจริญเติบโตทางด้านความสูงของต้นเท่านั้นที่มีความแตกต่างทางสถิติ เนื่องจากอิทธิพลร่วมของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับ ส่วนอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดสารและความเข้มข้นของสารที่ได้รับมีผลให้จำนวนยอดต่อกระถาง ความยาวใบ ความกว้างใบ ความยาวช่อดอก ความกว้างช่อดอก ความยาวก้านช่อดอก และจำนวนชั้นของกลีบประดับมีความแตกต่างทางสถิติ ส่วนอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดสารและระยะเวลาที่ได้รับมีผลให้ความสูง จำนวนยอดต่อกระถาง ความกว้างใบ และจำนวนชั้นกลีบประดับมีความแตกต่างกัน ส่วนอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้น และระยะเวลามีผลต่อความยาวใบเท่านั้น (ตาราง 17 และ 18)

ตารางที่ 17 ตารางสรุปอิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสาร ต่อการเจริญเติบโตทางลำต้นของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังจากได้รับสารโคลชิซินหรือออโรซาลินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน

ปัจจัย	ความสูง	จำนวนยอดต่อกระถาง	จำนวนใบ	ความยาวใบ	ความกว้างใบ	จำนวนหัวพันธุ์
ชนิดสาร	**	**	ns	**	**	**
ความเข้มข้น	**	**	ns	**	**	ns
ระยะเวลา	**	**	ns	**	**	ns
ชนิดสาร × ความเข้มข้น	ns	**	ns	*	**	ns
ชนิดสาร × ระยะเวลา	**	**	ns	ns	**	ns
ความเข้มข้น × ระยะเวลา	ns	ns	ns	*	ns	ns
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา	**	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 18 ตารางสรุปอิทธิพลร่วมของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสาร ต่อการเจริญเติบโตของช่อดอกของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังจากได้รับสาร โคลชิซินหรือออโรซาลินที่ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน

ปัจจัย	ความยาวช่อดอก	ความกว้างช่อดอก	ความยาวก้านช่อดอก	จำนวนชั้นกลีบประดับ
ชนิดสาร	**	**	**	**
ความเข้มข้น	**	**	**	**
ระยะเวลา	**	ns	**	ns
ชนิดสาร × ความเข้มข้น	*	**	**	*
ชนิดสาร × ระยะเวลา	ns	ns	*	ns
ความเข้มข้น × ระยะเวลา	ns	ns	ns	ns
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

1.3 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเปลี่ยนแปลงสีดอกภายหลังจากการได้รับสารโคลชิซินและออไรชาลินความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน

1.3.1 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ภายหลังจากการย้ายปลูกปทุมมาลูกผสมในกระถางขนาด 10 เซนติเมตร เป็นระยะเวลา 120 วัน ต้นปทุมมาดังกล่าวมีการเจริญเติบโตเต็มที่และออกดอก จากการสังเกตพบต้นที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลงไปคือ กลีบประดับมีลักษณะเปลี่ยนแปลง โดยดอกปกติมีกลีบประดับลักษณะกลมมน แต่ต้นที่พบนั่นกลีบประดับมีลักษณะเรียวยาวแหลม รวมถึงพบต้นที่มี ใบหนาและมีช่อดอกขนาดใหญ่และเล็กลง (ภาพที่ 10 และ 11) โดยชุดการทดลองที่ได้รับสารออไรชาลินความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง พบต้นที่กลีบประดับมีลักษณะเปลี่ยนแปลงมากที่สุดคือ 32 ต้น ชุดการทดลองที่ได้รับออไรชาลินความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบต้นที่มีช่อดอกขนาดเล็กมากที่สุด คือ 32 ต้น ชุดการทดลองที่พบต้นที่มีลักษณะใบหนามากที่สุดคือชุดการทดลองที่ได้รับโคลชิซินความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง และชุดการทดลองที่ได้รับออไรชาลินความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง และชุดการทดลองที่ได้รับโคลชิซินความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบต้นที่มีช่อดอกขนาดใหญ่มากที่สุดคือ 12 ต้น เมื่อสรุปรวมจำนวนต้นที่พบการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาทั้งหมด พบต้นที่กลีบประดับมีลักษณะเปลี่ยนแปลงทั้งหมด 188 ต้น คิดเป็น 3.10 เปอร์เซ็นต์ ต้นที่ช่อดอกมีขนาดเล็กลง 96 ต้น คิดเป็น 1.58 เปอร์เซ็นต์ ต้นที่มีใบหนากว่าต้นปกติ 79 ต้น คิดเป็น 1.30 เปอร์เซ็นต์ และต้นที่ช่อดอกมีขนาดใหญ่ 95 ต้น คิดเป็น 1.57 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 19)

1.3.2 การเปลี่ยนแปลงของสีช่อดอก

นอกจากการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของต้นแล้วยังพบการเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีช่อดอก โดยพบลักษณะการเปลี่ยนสีของช่อดอกจากสีชมพู กลายเป็นสีชมพูเข้ม ชมพูอ่อน และสีขาว (ภาพที่ 11 และ 12) โดยชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบต้นที่มีช่อดอกสีชมพูเข้มมากที่สุดคือ 8 ต้น ส่วนชุดการทดลองที่พบต้นที่มีช่อดอกเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนมากที่สุดคือชุดการทดลองที่ได้รับออไรชาลินความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบทั้งหมด 8 ต้น และชุดการทดลองที่ได้รับออไรชาลินความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบต้นที่มีช่อดอกเปลี่ยนเป็นสีขาว

มากที่สุดคือ 16 ต้น เมื่อสรุปรวมจำนวนของต้นที่ช่อดอกเกิดการเปลี่ยนแปลงสี พบต้นที่ดอกมีสีชมพูเข้มทั้งหมด 35 ต้น คิดเป็น 0.58 เปอร์เซ็นต์ ต้นที่มีดอกสีชมพูอ่อนลง 37 ต้น คิดเป็น 0.61 เปอร์เซ็นต์ และต้นที่มีดอกสีขาว 59 ต้น คิดเป็น 0.97 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 20)



ตารางที่ 19 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาภายหลังการได้รับสารโคลชิซินหรือ
ออไรซาลินความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน

ชนิดสาร	ความ	ระยะ	จำนวน	ลักษณะที่เกิดการเปลี่ยนแปลง ^{1/}				
	เข้มข้น	เวลา		ต้น	กลีบประดับมี	ช่อ	ใบหนา	ช่อ
	(มก./ล.)	(ชม.)		(ต้น)	ลักษณะ	ดอก		ดอก
				เปลี่ยนแปลง	เล็ก		ใหญ่	
ชุดควบคุม			398	0	0	0	0	
โคลชิซิน	1	48	387	13 ^{1/} (3.36%)	4 (1.03%)	2 (0.52%)	8 (2.07%)	
		72	356	0	0	1 (0.28%)	4 (1.12%)	
		96	383	0	2 (0.52%)	4 (1.04%)	2 (0.52%)	
	3	48	398	2 (0.50%)	0	3 (0.75%)	0	
		72	376	3 (0.70%)	0	5 (1.33%)	9 (2.39%)	
		96	364	0	0	3 (0.82%)	4 (1.10%)	
	5	48	356	5 (1.40%)	0	7 (1.97%)	12 (3.37%)	
		72	373	0	0	2 (0.54%)	6 (1.61%)	
		96	348	0	0	9 (2.59%)	11 (3.16%)	
ออไรซาลิน	1	48	378	22 (5.28%)	32 (8.47%)	5 (1.32%)	2 (0.53%)	
		72	298	16 (5.37%)	24 (8.05%)	4 (1.34%)	6 (2.01%)	
		96	284	11 (3.87%)	2 (0.70%)	2 (0.70%)	8 (2.82%)	
	3	48	254	14 (5.51%)	4 (1.57%)	3 (1.18%)	4 (1.57%)	
		72	303	18 (5.94%)	2 (0.66%)	9 (2.97%)	5 (1.65%)	
		96	211	12 (5.67%)	8 (3.79%)	6 (2.84%)	11 (5.21%)	
	5	48	219	16 (7.31%)	6 (2.74%)	4 (1.83%)	3 (1.37%)	
		72	216	24 (11.11%)	2 (0.93%)	8 (3.70%)	0	
		96	158	32 (20.25%)	12 (7.59%)	2 (1.27%)	0	
รวม			6,060	188 (3.10%)	96 (1.58%)	79 (1.30%)	95 (1.57%)	

หมายเหตุ ^{1/} 1 ต้นสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงได้มากกว่า 1 ลักษณะ

ตารางที่ 20 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงสีช่อดอกภายหลังการได้รับสารโคลชิซินหรือออไรซาลิน
ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน

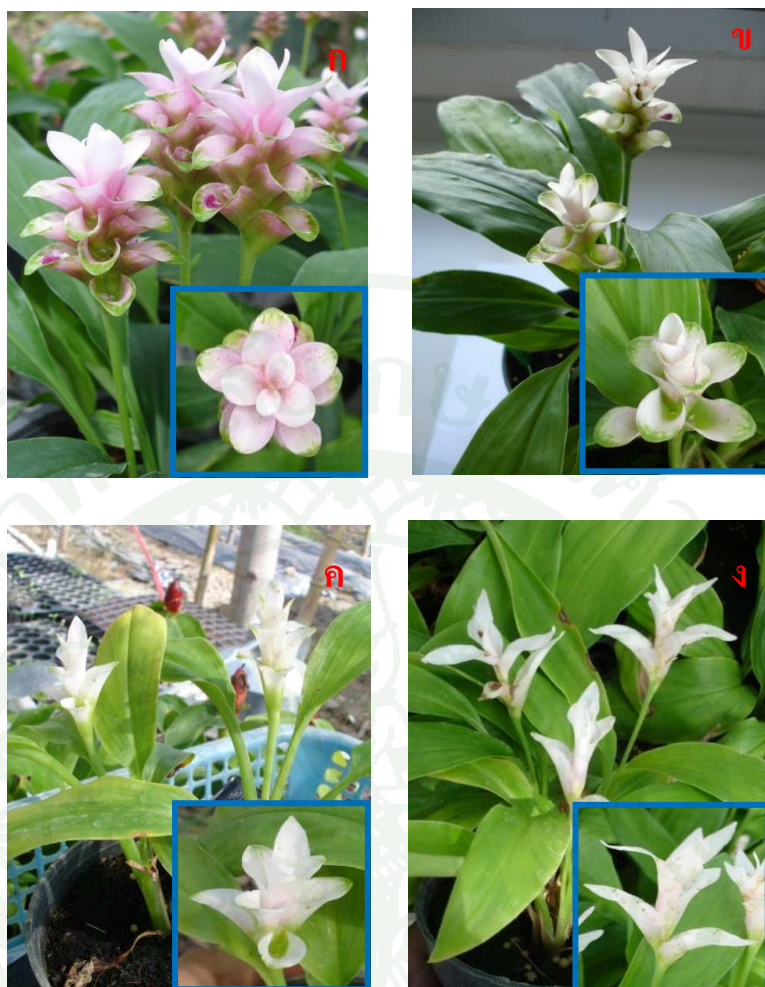
ชนิดสาร	ความเข้มข้น (มก./ล.)	ระยะเวลา (ชม.)	จำนวนต้น (ต้น)	ลักษณะที่เกิดการเปลี่ยนแปลง ^{1/}		
				ดอกสีขาว	ดอกสี อ่อน	ดอกสีเข้ม
ชุดควบคุม			398	0	0	0
โคลชิซิน	1	48	387	2 ^{1/} _(0.52%)	2 _(0.52%)	2 _(0.52%)
		72	356	3 _(0.84%)	0	2 _(0.56%)
		96	383	0	0	4 _(1.04%)
	3	48	398	1 _(0.25%)	1 _(0.25%)	0
		72	376	1 _(0.27%)	0	8 _(2.13%)
		96	364	0	0	0
	5	48	356	1 _(0.28%)	7 _(1.97%)	7 _(1.97%)
		72	373	0	0	2 _(0.54%)
		96	348	0	0	0
ออไรซาลิน	1	48	378	16 _(4.23%)	7 _(1.85%)	6 _(1.58%)
		72	298	0	8 _(2.68%)	1 _(0.34%)
		96	284	8 _(2.82%)	0	0
	3	48	254	7 _(2.76%)	5 _(1.97%)	2 _(0.79%)
		72	303	11 _(3.63%)	3 _(0.99%)	1 _(0.33%)
		96	211	0	2 _(0.95%)	0
	5	48	219	11 _(5.02%)	0	0
		72	216	0	1 _(0.46%)	0
		96	158	0	1 _(0.63%)	0
รวม			6,060	59 _(0.97%)	37 _(0.61%)	35 _(0.58%)

หมายเหตุ ^{1/} 1 ต้นสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงได้มากกว่า 1 ลักษณะ



ภาพที่ 10 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของกลีบประดับแบบต่างๆที่พบภายหลังจากที่ได้รับสาร โคลชิซินหรือออไรซาลินความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน

- (ก) กลีบประดับมีลักษณะปกติจากชุดควบคุม
- (ข) กลีบประดับมีลักษณะบิดและปลายกลีบประดับแหลม
- (ค) กลีบประดับมีลักษณะเรียวแหลม



ภาพที่ 11 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของกลีบประดับและเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีช่อดอกจากสีชมพูเป็นสีขาวที่พบภายหลังจากที่ได้รับสาร โคลชิซินหรือออไรซาลิน ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน

- (ก) กลีบประดับมีลักษณะปกติจากชุดควบคุม
- (ข) กลีบประดับมีลักษณะปกติแต่เปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีขาว
- (ค) กลีบประดับมีลักษณะบิดและปลายกลีบประดับแหลมและเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีขาว
- (ง) กลีบประดับมีลักษณะเรียวแหลมและเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสีขาว



ภาพที่ 12 การเปลี่ยนแปลงสีของช่อดอกภายหลังจากที่ได้รับสาร โคลชิซินหรือออโรชาลิน ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกันจากสีชมพู (ชุดควบคุม) (ก) เป็นสีชมพูเข้ม (ข) สีชมพูอ่อน (ค) และสีขาว (ง)

1.4 ลักษณะหัวพันธุ์

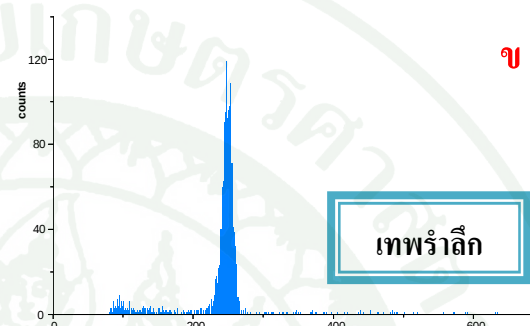
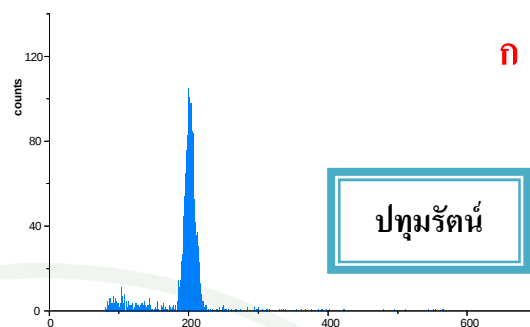
หลังจากการเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ พบหัวพันธุ์ที่มีลักษณะแตกต่างไปจากหัวพันธุ์ปกติคือ พบหัวพันธุ์ที่มีขนาดใหญ่และคุ่มสะสมอาหารมีลักษณะกลมมน และมีความยาวของคุ่มสะสมอาหารสั้นแตกต่างไปจากหัวพันธุ์ปกติซึ่งหัวพันธุ์มีขนาดเล็ก และคุ่มสะสมอาหารมีลักษณะยาวรี (ภาพที่ 13) จึงทำการคัดแยกเพื่อการปลูกทดสอบต่อไป



ภาพที่ 13 ลักษณะหัวพันธุ์จากชุดควบคุม (ก) และหัวพันธุ์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยมีหัวพันธุ์มีขนาดใหญ่ คุ่มสะสมอาหารมีลักษณะกลมมนและมีความยาวคุ่มสะสมอาหารสั้น (ข)

1.5 การวิเคราะห์ระดับ ploidy โดยเครื่อง Flow cytometry

ทำการวิเคราะห์ระดับ ploidy ของต้นปทุมรัตน์ และเทพรำลึกเปรียบเทียบกับพบว่า จำนวนของโครโมโซมจากต้นทั้งสองไม่เท่ากัน และเมื่อไปเปรียบเทียบกับต้นลูกผสม พบว่า ลูกผสมดังกล่าวมีจำนวนโครโมโซมกึ่งกลางระหว่างปทุมรัตน์และเทพรำลึก (ภาพที่ 14) และเมื่อนำต้นที่ทำการคัดเลือกจากลักษณะ ต้นที่มีขนาดใหญ่ ใบหนา ช่อดอกมีขนาดใหญ่ กลับระดับมีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม และสีดอกมีการเปลี่ยนแปลง นำไปตรวจวัดระดับ ploidy โดยเครื่อง Flow cytometry เปรียบเทียบกับต้นในชุดควบคุม พบว่าต้นที่ทำการคัดเลือกออกมาทั้งหมด ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโมโซมเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม



ภาพที่ 14 กราฟแสดงการตรวจสอบจำนวน โครโมโซมของปทุมรัตน์ (ก) เทพรำลึก (ข) และ ปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดระหว่างปทุมรัตน์และเทพรำลึก (ค) โดยเครื่อง Flow cytometry

การทดลองที่ 2 การปลูกเพื่อคัดเลือกต้นที่มีการเพิ่มจำนวนโครโมโซมจากหัวพันธุ์ปทุมมาลูกผสม ที่ทำการเก็บเกี่ยวจากการทดลองที่ 1

ภายหลังจากการเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ที่ได้จากการทดลองที่ 1 นำมาทำการปลูกทดสอบเพื่อ
ศึกษาการเจริญเติบโต และทดสอบความคงตัวของต้นที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาพบว่า

2.1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

ภายหลังจากการปลูกทดสอบหัวพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวจากการทดลองที่ 1 โดยปลูกหัวพันธุ์ที่
ทำการคัดเลือกกว่าหัวพันธุ์มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไป และหัวพันธุ์จากต้นที่มีลักษณะทางสัณฐาน
วิทยาต้น และช่อดอกผิดปกติ รวมถึงหัวพันธุ์จากต้นที่มีการเปลี่ยนแปลงของสีช่อดอกลงใน
กระถางขนาด 15 เซนติเมตร (ภาพที่ 15) และปลูกหัวพันธุ์ที่เหลือทั้งหมดลงในแปลงปลูก (ภาพที่
16) ทำการบันทึกผลการรอดชีวิตที่ 30 60 และ 90 วัน พบว่าหัวพันธุ์ทั้งหมดมีการรอดชีวิต 100
เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 15 การปลูกทดสอบหัวพันธุ์ที่ทำการคัดเลือกหัวพันธุ์จากต้นที่หัวพันธุ์มีลักษณะ
เปลี่ยนแปลงไป หัวพันธุ์จากต้นที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาต้นและช่อดอกเปลี่ยนแปลง
ไป (ก) และหัวพันธุ์จากต้นที่มีการเปลี่ยนแปลงของสีช่อดอก (ข) ในกระถางขนาด 15
เซนติเมตร ที่เก็บเกี่ยวจากการทดลองที่ 1



ภาพที่ 16 การปลูกหัวพันธุ์ที่ได้จากการทดลองที่ 1 ลงในแปลงเพื่อคัดเลือกต้นที่คาดว่าจะมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซม และมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา

2.2 การเจริญเติบโตทางด้านลำต้นของปทุมมาลูกผสมที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ จากการทดลองที่ 1

2.2.1 ความสูง

การศึกษาผลของชนิดสาร ความเข้มข้น ระยะเวลาที่ได้รับสาร และอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดสารที่ได้รับ ความเข้มข้นของสาร และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความสูงของปทุมมาลูกผสม โดยภายหลังจากปลูกหัวพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวจากการทดลองที่ 1 เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่า อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น ระยะเวลาที่ได้รับสาร และอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสาร ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตทางด้านความสูงปทุมมาลูกผสม (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 21 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความสูงต้น
ของปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)
ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-		36.54±2.78	
โคลชิซิน	1 ppm	36.58±1.16	36.26±2.37	36.04±2.87
	3 ppm	36.76±1.44	36.58±1.33	36.22±2.09
	5 ppm	36.68±1.77	36.28±1.01	36.32±2.19
ออไรซาลิน	1 ppm	36.70±2.31	36.90±1.29	36.34±2.49
	3 ppm	35.38±2.93	36.48±2.43	36.38±1.88
	5 ppm	35.62±2.07	35.58±3.70	36.28±2.54
ชนิดสาร		ns		
ความเข้มข้น		ns		
ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		ns		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		ns		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 22 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อจำนวนยอดต่อ
กอของต้นของปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)
ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-		1.00±0.00	
โคลชิซิน	1 ppm	1.20±0.45	1.00±0.00	1.00±0.00
	3 ppm	1.00±0.00	1.20±0.45	1.40±0.55
	5 ppm	1.20±0.45	1.40±0.55	1.40±0.55
ออโรซาลิน	1 ppm	1.00±0.00	1.20±0.45	1.60±0.55
	3 ppm	1.60±0.55	1.40±0.55	1.40±0.55
	5 ppm	1.40±0.55	1.80±0.84	1.80±0.84
ชนิดสาร			*	
ความเข้มข้น			*	
ระยะเวลา			ns	
ชนิดสาร × ความเข้มข้น			ns	
ชนิดสาร × ระยะเวลา			ns	
ความเข้มข้น × ระยะเวลา			ns	
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา			ns	

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

2.2.2 จำนวนยอดต่อกอ

เมื่อทำการเก็บข้อมูลจำนวนยอดต่อกอ ภายหลังจากการปลูกหัวพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวจากการทดลองที่ 1 เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่า มีเพียงอิทธิพลร่วมของชนิดสารและความเข้มข้นมีผลต่อจำนวนยอดต่อกระถางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยชุดการทดลองที่ได้รับสารออไรซาลินความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 72 และ 96 ชั่วโมง มีจำนวนยอดต่อกระถางเฉลี่ยมากที่สุด คือ 1.80 ยอด (ตารางที่ 22)

2.2.3 จำนวนใบ ความยาวใบ และความกว้างใบ

ภายหลังจากการปลูกหัวพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวจากการทดลองที่ 1 เป็นระยะเวลา 90 วัน เก็บข้อมูลจำนวนใบ ความยาวใบ และความกว้างใบ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติของจำนวนใบ และความยาวใบของชุดควบคุมและชุดที่ได้รับสาร (ตารางที่ 23 และ 24) แต่ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารมีผลต่อความกว้างใบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซิน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีความกว้างใบเฉลี่ยมากที่สุด คือ 6.84 เซนติเมตร (ตารางที่ 25)

ตารางที่ 23 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อจำนวนใบของ
ต้นปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)
ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-	4.20±0.43		
โคลชิซิน	1 ppm	4.60±0.55	4.40±0.55	4.40±0.55
	3 ppm	4.40±0.55	4.20±0.45	4.80±0.45
	5 ppm	4.60±0.55	4.60±0.55	4.60±0.55
ออโรซาลิน	1 ppm	4.40±0.55	4.20±0.45	4.80±0.45
	3 ppm	4.40±0.55	4.40±0.55	4.40±0.55
	5 ppm	4.80±0.45	4.80±0.45	4.60±0.55
ชนิดสาร		ns		
ความเข้มข้น		ns		
ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		ns		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		ns		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 24 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อของความยาวใบ
ของต้นปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)
ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-	30.20±1.35		
โคลชิซิน	1 ppm	29.50±1.54	30.40±1.71	29.90±1.24
	3 ppm	29.70±2.36	29.50±1.76	30.60±2.27
	5 ppm	30.30±2.20	29.50±1.62	30.10±2.88
ออโรซาลิน	1 ppm	29.10±1.71	30.30±2.20	29.00±1.17
	3 ppm	29.80±2.13	29.70±2.36	29.50±1.76
	5 ppm	29.10±2.48	28.90±1.98	28.80±1.89
ชนิดสาร		ns		
ความเข้มข้น		ns		
ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		ns		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		ns		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 25 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความกว้างใบของ
ต้นปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*) ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์
จากการทดลองที่ 1

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-		6.70±0.84	
โคลชิซิน	1 ppm	6.84±0.65	6.76±0.62	6.28±0.44
	3 ppm	6.06±0.63	6.14±0.61	5.78±0.33
	5 ppm	6.06±0.80	6.12±0.42	6.02±0.48
ออไรซาลิน	1 ppm	6.00±1.02	6.32±0.68	5.90±0.26
	3 ppm	6.44±0.52	5.96±0.09	5.70±0.57
	5 ppm	6.40±0.40	6.04±0.17	5.74±0.34
ชนิดสาร		ns		
ความเข้มข้น		*		
ระยะเวลา		*		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		ns		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		ns		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

2.2.4 ความยาวช่อดอก ความกว้างช่อดอก และจำนวนชั้นกลีบประดับ

การศึกษาผลของชนิดสาร ความเข้มข้น ระยะเวลาที่ได้รับสาร และอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของสารที่ได้รับ ความเข้มข้นของสาร และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความยาวช่อดอก ความกว้างช่อดอก และจำนวนชั้นกลีบประดับของปทุมมาลูกผสม ที่ปลูกจากหัวพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวจากการทดลองที่ 1 เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติของความยาวและ ความกว้างช่อดอก (ตารางที่ 26 และ 27) แต่ชนิดสารและความเข้มข้นมีผลต่อจำนวนชั้นกลีบประดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยชุดการทดลองที่ได้รับสารออไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมงมีจำนวนชั้นกลีบประดับเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 4.80 ชั้น ส่วนชุดควบคุมและชุดที่ได้รับสารโคลจิซีนความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีจำนวนชั้นกลีบประดับเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 6.40 และ 6.20 ชั้นตามลำดับ (ตารางที่ 28)

2.2.5 ความยาวก้านช่อดอก

อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น ระยะเวลาที่ได้รับสาร และอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดสารที่ได้รับ ความเข้มข้นของสาร และระยะเวลาที่ได้รับสารไม่มีผลทำให้ความยาวก้านช่อดอกมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 29)

ตารางที่ 26 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความยาวช่อดอก
ของต้นปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)
ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-		8.10±0.89	
โคลชิซิน	1 ppm	7.90±0.54	7.64±1.04	7.84±0.69
	3 ppm	8.10±0.82	8.10±0.55	7.36±0.72
	5 ppm	7.44±1.55	7.82±0.60	7.90±0.74
ออไรซาลิน	1 ppm	7.62±0.93	7.80±0.84	7.80±0.27
	3 ppm	7.64±0.42	7.80±0.57	7.70±0.76
	5 ppm	7.70±0.57	7.80±0.76	7.68±0.54
ชนิดสาร		ns		
ความเข้มข้น		ns		
ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		ns		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		ns		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 27 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความกว้างช่อดอก
ของต้นปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)
ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-		4.90±0.22	
โคลชิซิน	1 ppm	5.00±0.35	4.60±0.49	4.90±0.22
	3 ppm	4.90±0.42	4.90±0.22	4.70±0.27
	5 ppm	4.34±0.71	4.90±0.42	4.60±0.65
ออโรซาลิน	1 ppm	5.00±0.35	4.82±0.40	4.32±0.58
	3 ppm	4.72±0.42	4.66±0.41	4.54±0.51
	5 ppm	4.70±0.20	4.50±0.49	4.70±0.47
ชนิดสาร		ns		
ความเข้มข้น		ns		
ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		ns		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		ns		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 28 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อจำนวนชั้นกลีบ
 ประดับของต้นปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)
 ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-		6.40±0.55	
โคลชิซิน	1 ppm	6.20±0.84	6.00±0.71	6.00±0.71
	3 ppm	5.60±0.55	5.40±0.55	5.80±0.45
	5 ppm	5.60±0.55	5.60±0.55	6.00±0.71
ออไรซาลิน	1 ppm	5.60±0.55	5.80±0.45	5.60±0.55
	3 ppm	5.00±1.22	4.80±0.45	5.00±1.00
	5 ppm	5.40±0.55	5.00±0.71	5.00±0.71
ชนิดสาร			**	
ความเข้มข้น			**	
ระยะเวลา			ns	
ชนิดสาร × ความเข้มข้น			ns	
ชนิดสาร × ระยะเวลา			ns	
ความเข้มข้น × ระยะเวลา			ns	
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา			ns	

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 29 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อความยาวก้านช่อดอกของต้นปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*) ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-	16.80±0.91		
โคลชิซิน	1 ppm	16.80±0.57	16.24±0.61	16.44±0.56
	3 ppm	16.50±0.61	16.22±0.80	16.34±0.72
	5 ppm	16.16±0.23	15.94±1.23	16.30±0.88
ออโรซานิน	1 ppm	16.66±0.42	16.32±0.78	16.20±0.76
	3 ppm	16.44±0.46	16.30±0.62	16.30±0.48
	5 ppm	16.32±0.61	16.22±0.74	16.32±0.67
ชนิดสาร		ns		
ความเข้มข้น		ns		
ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		ns		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		ns		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 30 อิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อจำนวนหัวพันธุ์ของ
ต้นปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)
ที่เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลาที่ได้รับสาร		
		48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	-	6.80±1.79		
โคลชิซิน	1 ppm	6.40±1.14	5.60±1.52	6.00±1.00
	3 ppm	6.60±1.52	5.80±0.84	5.80±0.84
	5 ppm	6.40±0.55	6.40±0.55	5.60±1.14
ออไรซาลิน	1 ppm	6.40±0.55	6.00±0.71	6.20±0.45
	3 ppm	6.20±0.84	6.80±0.84	6.40±1.14
	5 ppm	6.80±0.84	6.80±1.64	7.20±1.30
ชนิดสาร		*		
ความเข้มข้น		ns		
ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น		ns		
ชนิดสาร × ระยะเวลา		ns		
ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา		ns		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

2.2.6 จำนวนหัวพันธุ์

ภายหลังจากการปลูกหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1 เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่า อิทธิพลของชนิดสารที่ได้รับมีผลทำให้จำนวนหัวพันธุ์มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลองที่ได้รับสารออไรซาลินความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมงมีจำนวนหัวพันธุ์เฉลี่ยมากที่สุดคือ 7.20 หัว (ตารางที่ 30)

จากตารางสรุปอิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับต่อการเจริญเติบโตทางลำต้นและช่อดอกของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังจากเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1 มาทำการปลูกทดสอบ พบว่าความสูงต้น จำนวนใบ ความยาวใบ ความยาวช่อดอก และความกว้างช่อดอกไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่ชนิดสารที่ได้รับมีผลต่อจำนวนช่อดอกต่อกระถาง จำนวนหัวพันธุ์และจำนวนชั้นกลีบประดับ ส่วนความเข้มข้นของสารที่ได้รับมีผลทำให้จำนวนช่อดอก ความกว้างใบ และจำนวนชั้นกลีบประดับมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์ ส่วนระยะเวลาที่ได้รับสารนั้นมีผลทำให้ความกว้างใบมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 32 และ 33)

2.3 การวิเคราะห์ระดับ ploidy โดยเครื่อง Flow cytometry

ภายหลังจากการเก็บหัวพันธุ์ที่มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้น มีการเปลี่ยนแปลงของสีดอก รวมทั้งมีหัวพันธุ์ที่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม จากการทดลองที่ 1 มาทำการปลูกทดสอบ และทำการวัดระดับ ploidy พบว่า ต้นที่มีสัณฐานวิทยาผิดปกติและต้นที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีดอกนั้นมีระดับ ploidy ไม่แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้รับสาร แต่ต้นที่ได้จากหัวพันธุ์ที่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปแสดงลักษณะของต้นมิกโซพลอยด์ คือเป็นต้นที่มีเซลล์ปกติและเซลล์ที่มีการเพิ่มจำนวนโครโมโซมขึ้นเป็นสองเท่าอยู่ในต้นเดียวกัน โดยพบต้นมิกโซพลอยด์ทั้งหมด 5 ต้น (ภาพที่ 17 และ 18) จากชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบต้นมิกโซพลอยด์มากที่สุดคือ 2 ต้น คิดเป็น 0.52 เปอร์เซ็นต์ และชุดการทดลองที่ได้รับโคลชิซิน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง ชุดการทดลองที่ได้รับโคลชิซินความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง และชุดการทดลองที่ได้รับโคลชิซินความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบต้นมิกโซพลอยด์ชุดการทดลองละ 1 ต้น (ตารางที่ 31) เมื่อเปรียบเทียบลักษณะของต้นมิกโซพลอยด์และต้น

ปกติจากชุดควบคุม พบว่าต้นมิทไชลพลอยด์มีการเจริญเติบโตช้า ใบหนาและใบมีสีเขียวเข้มกว่าต้นจากชุดควบคุม (ภาพที่ 19)

ตารางที่ 31 การวิเคราะห์ระดับ ploidy ของต้นที่ปลูกจากหัวพันธุ์ที่มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้น มีการเปลี่ยนแปลงของสีดอก และหัวพันธุ์ที่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม จากการทดลองที่ 1

ชนิดสาร	ความเข้มข้น (มก./ล.)	ระยะเวลา (ชม.)	จำนวนต้น (ต้น)	ระดับ Ploidy	
				2x + 4x	4x
	Control		398	0	0
โคลชิซิน	1	48	387	2 _(0.52%)	0
		72	356	1 _(0.28%)	0
		96	383	-	0
	3	48	398	1 _(0.25%)	0
		72	376	1 _(0.26%)	0
		96	364	0	0
	5	48	356	0	0
		72	373	0	0
		96	348	0	0
ออไรซาลิน	1	48	378	0	0
		72	298	0	0
		96	284	0	0
	3	48	254	0	0
		72	303	0	0
		96	211	0	0
	5	48	219	0	0
		72	216	0	0
		96	158	0	0
รวม			6,060	5 _(0.08%)	0

ตารางที่ 32 ตารางสรุปอิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับต่อการเจริญเติบโตทางลำต้นของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังจากเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1 มาทำการปลูกทดสอบ

ปัจจัย	ความสูง	จำนวนยอดต่อกอ	จำนวนใบ	ความยาวใบ	ความกว้างใบ	จำนวนหัวพันธุ์
ชนิดสาร	ns	*	ns	ns	ns	*
ความเข้มข้น	ns	*	ns	ns	*	ns
ระยะเวลา	ns	ns	ns	ns	*	ns
ชนิดสาร × ความเข้มข้น	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ชนิดสาร × ระยะเวลา	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ความเข้มข้น × ระยะเวลา	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา	ns	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

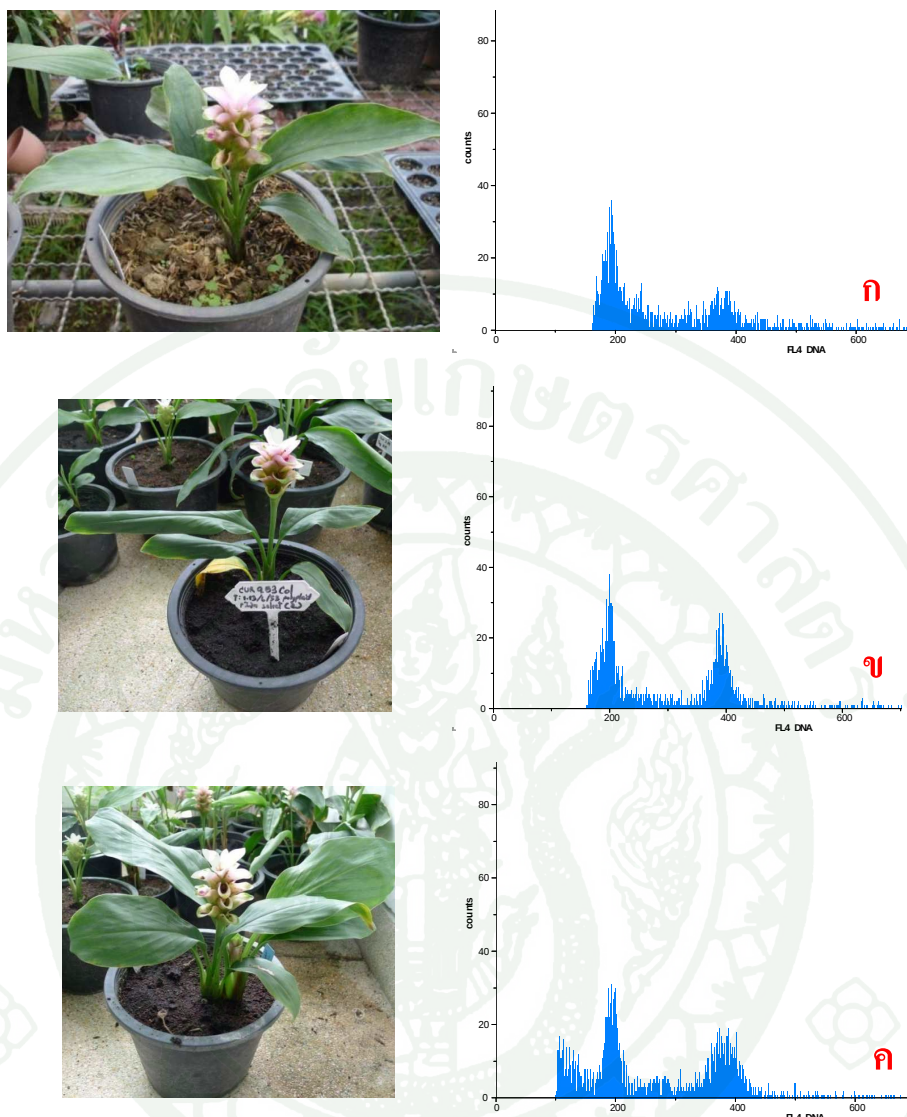
* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 33 ตารางสรุปอิทธิพลของชนิดสาร ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับ ต่อการเจริญเติบโตของช่อดอกปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดหลังจากเก็บเกี่ยว หัวพันธุ์จากการทดลองที่ 1 มาทำการปลูกทดสอบ

ปัจจัย	ความยาวช่อดอก	ความกว้างช่อดอก	ความยาวก้านช่อดอก	จำนวนชั้นกลีบประดับ
ชนิดสาร	ns	ns	ns	**
ความเข้มข้น	ns	ns	ns	**
ระยะเวลา	ns	ns	ns	ns
ชนิดสาร × ความเข้มข้น	ns	ns	ns	ns
ชนิดสาร × ระยะเวลา	ns	ns	ns	ns
ความเข้มข้น × ระยะเวลา	ns	ns	ns	ns
ชนิดสาร × ความเข้มข้น × ระยะเวลา	ns	ns	ns	ns

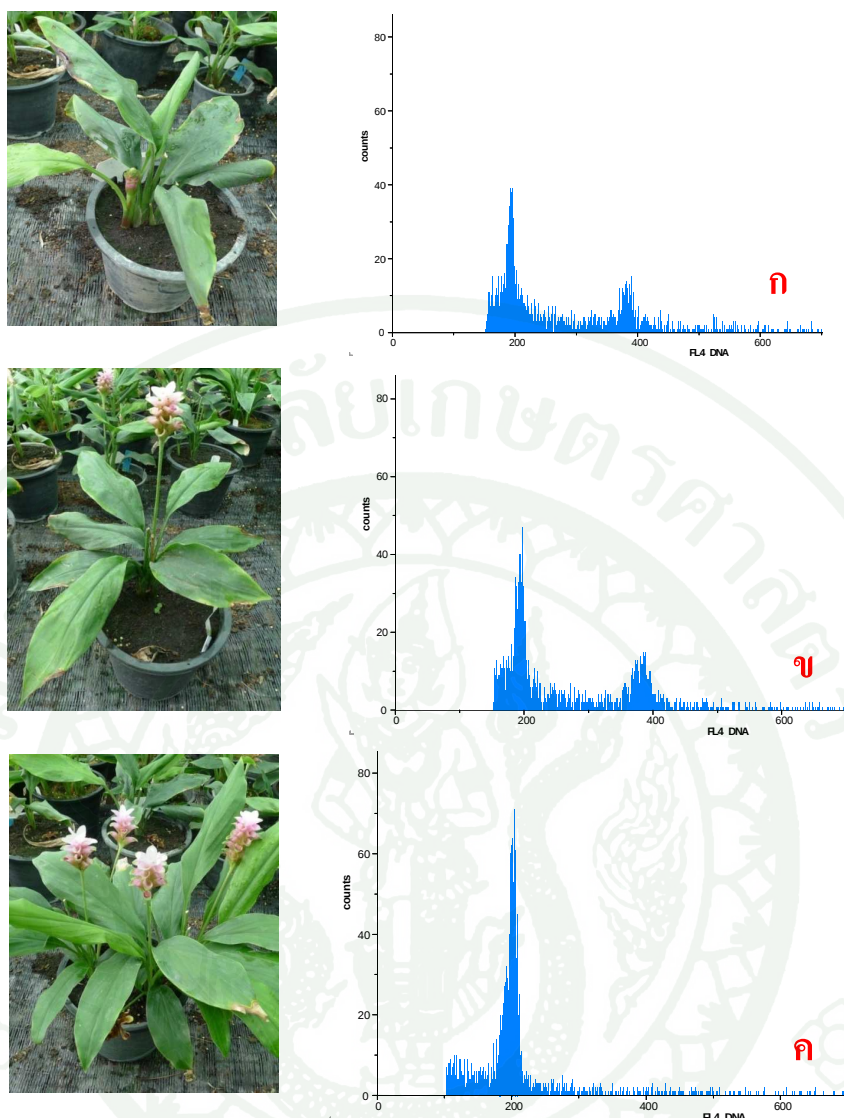
หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์



ภาพที่ 17 ต้นมิกโซพลอยด์ที่ตรวจระดับ ploidy โดยเครื่อง Flow cytometry จากต้นที่หัวพันธุ์มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม จากการทดลองที่ 1

- (ก) มิกโซพลอยด์ต้นที่ 1 จากชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง (มิกโซพลอยด์-1)
- (ข) มิกโซพลอยด์ต้นที่ 2 จากชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง (มิกโซพลอยด์-2)
- (ค) มิกโซพลอยด์ต้นที่ 3 จากชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (มิกโซพลอยด์-3)



ภาพที่ 18 ต้นมิกโซพลอยด์ที่ตรวจระดับ ploidy โดยเครื่อง Flow cytometry จากต้นที่หัวพันธุ์มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม และต้นจากชุดควบคุม จากการทดลองที่ 1

(ก) มิกโซพลอยด์ต้นที่ 1 จากชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง (มิกโซพลอยด์-4)

(ข) มิกโซพลอยด์ต้นที่ 2 จากชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (มิกโซพลอยด์-5)

(ค) ต้นจากชุดควบคุม



ภาพที่ 19 การเปรียบเทียบลักษณะต้นจากชุดควบคุมและต้นมิคโพลอยด์ที่ได้จากหัวพันธุ์ที่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไป จากการทดลองที่ 1

2.3 การทดสอบความคงตัวของลักษณะที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสัณฐานวิทยาต้นและเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีช่อดอก จากหัวพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวจากการทดลองที่ 1

ภายหลังจากการเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากต้นที่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะของต้น ช่อดอก หรือกลีบประดับ นำมาทำการปลูกซ้ำเพื่อทดสอบความคงตัวของลักษณะการกลายต่างๆ ที่เกิดขึ้นพบว่ามีเพียงลักษณะการกลายของสีช่อดอก จากสีชมพูกลายเป็นสีขาวเท่านั้นที่ยังคงลักษณะการกลายดังกล่าวไว้ได้ (ภาพที่ 20)



ภาพที่ 20 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของสีช่อดอกปทุมมาลูกผสมจากสีชมพูเป็นสีขาวซึ่งยังคงลักษณะการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวไว้ได้

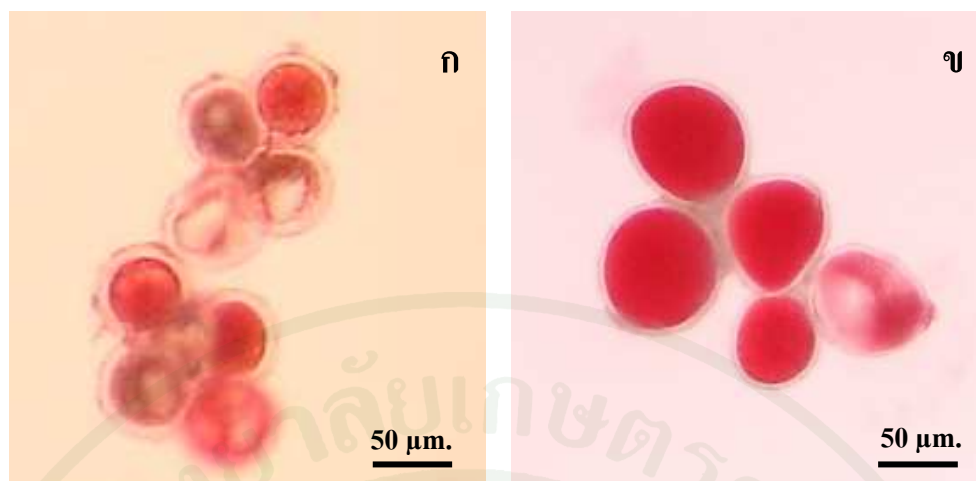
การทดลองที่ 3 ศึกษาความสามารถในการผสมตัวเองและการผสมกลับไปยังพ่อแม่พันธุ์ของ ปทุมมาลูกผสมที่มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซม

3.1 การตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเรณูของต้นมิโกโซพลอยด์ทั้ง 5 ต้นที่ได้จากการ
ทดลองที่ 2

ภายหลังจากการปลูกหัวพันธุ์ที่พบว่ามีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปคือ หัวพันธุ์มีขนาดใหญ่
และตุ่มสะสมอาหารมีลักษณะกลมมนที่เก็บเกี่ยวได้จากการทดลองที่ 1 พบว่า ต้นที่เกิดจากหัวพันธุ์
ดังกล่าวมีการเจริญเติบโตช้า ใบหนา ไม่แตกกอ ออกดอกช้า ช่อดอกเล็กกว่าต้นปกติ กลับระดับ
หนา และมีระยะการบานของดอกจริงยาวนานกว่าต้นปกติ เมื่อนำไปทำการวิเคราะห์หาระดับ
ploidy โดยเครื่อง Flow Cytometry พบว่าต้นดังกล่าวมีเซลล์ที่มีระดับ ploidy เป็นดิพลอยด์และเต
ตราพลอยด์อยู่รวมกัน หรือที่เรียกกันทั่วไปว่าต้นมิโกโซพลอยด์ และเมื่อทำการย้อมสีละอองเรณู
โดย Aceto-carmin 1 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 21) เพื่อทำการทดสอบความมีชีวิตของละอองเรณูพบว่า
ต้นมิโกโซพลอยด์ดังกล่าวมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูสูงถึง 77-90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นดิ
พลอยด์มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูเพียง 7 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น (ตารางที่ 34)

ตารางที่ 34 เปอร์เซนต์ความมีชีวิตของละอองเรณูของต้นมิโกโซพลอยด์ทั้ง 5 ต้นที่ได้จาก
การทดลองที่ 2

ระดับ ploidy	เปอร์เซนต์ความมีชีวิตของละอองเรณู
ดิพลอยด์	7.67±0.58
มิโกโซพลอยด์-1	90.67±2.52
มิโกโซพลอยด์-2	77.67±3.51
มิโกโซพลอยด์-3	83.67±4.51
มิโกโซพลอยด์-4	77.67±3.79
มิโกโซพลอยด์-5	89.33±2.52



ภาพที่ 21 การตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเรณูปทุมมาลูกผสมข้ามชนิด จากต้นดิพลอยด์ (ก) และต้นมิโกโซพลอยด์ (ข) โดยการย้อมสี Aceto-carmin 1 เปอร์เซ็นต์

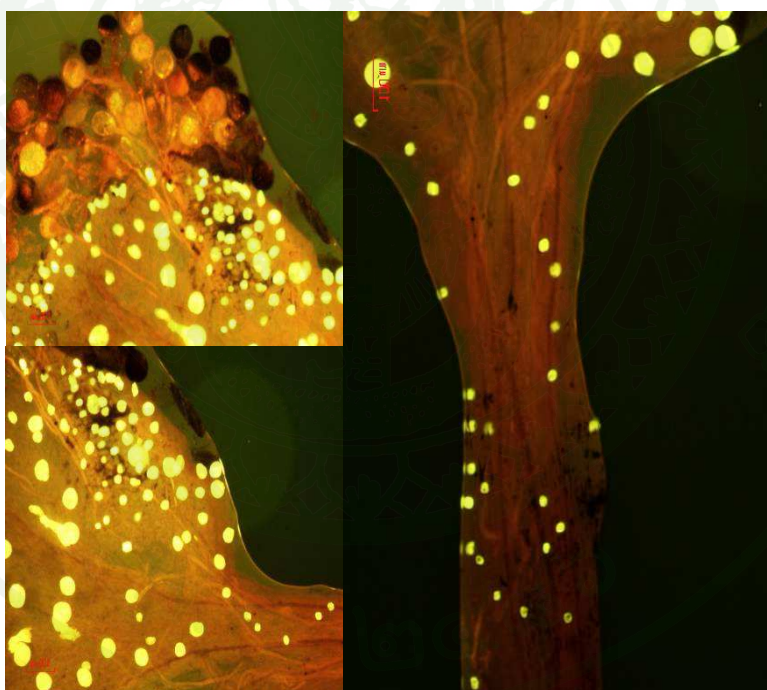
3.2 การทดสอบการผสม

เมื่อนำต้นดิพลอยด์และมิโกโซพลอยด์ที่ได้จากการทดลองที่ 2 มาทำการผสมตัวเองและผสมกลับไปยังพ่อแม่พันธุ์ พบว่า ต้นดิพลอยด์ผสมตัวเองและผสมกลับไปยังพ่อแม่พันธุ์ไม่ติด แต่เมื่อนำเอาต้นมิโกโซพลอยด์มาทำการผสมตัวเองและผสมกลับไปยังพ่อแม่พันธุ์ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การผสมตัวเองติด 5 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 35) และเมื่อผสมกลับไปยังพ่อแม่พันธุ์ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การผสมติดสูงสุดถึง 15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ต้นมิโกโซพลอยด์เป็นแม่พันธุ์และใช้ปทุมรัตน์เป็นพ่อพันธุ์ และเมื่อทำการผสมกลับพ่อแม่พันธุ์คือใช้ปทุมรัตน์เป็นแม่พันธุ์และใช้ต้นมิโกโซพลอยด์เป็นพ่อพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์การผสมติด 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำต้นมิโกโซพลอยด์ผสมกับเทพราลิกทั้งที่ใช้ต้นมิโกโซพลอยด์เป็นแม่พันธุ์และผสมกลับเป็นพ่อพันธุ์พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การผสมติดเพียง 5 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 36)

ตารางที่ 35 เปอร์เซ็นต์การผสมติดจากการผสมตัวเองของต้นดิพลอยด์และต้นมิโครพลอยด์ของ
ปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)

คู่ผสม	จำนวนดอกที่ผสม	จำนวนดอก ที่ผสมติด	เปอร์เซ็นต์ การผสมติด
ดิพลอยด์ × ดิพลอยด์	20	0	0
มิโครพลอยด์ × มิโครพลอยด์	20	1	5

ภายหลังจากการทำการผสมเกสรต้นมิโครพลอยด์กับปทุมมาเทพรำลึกเป็นเวลา 24 ชั่วโมงทำการย้อมสี Anilineblue ที่เกสรเพศเมีย แล้วส่องด้วยกล้องฟลูออเรสเซนซ์ พบว่า หลอดละอองเรณูจากต้นมิโครพลอยด์ดังกล่าวสามารถงอกบนเกสรเพศเมียของต้นเทพรำลึกได้ (ภาพที่ 20)



ภาพที่ 22 การงอกของหลอดละอองเรณูจากต้นมิโครพลอยด์บนเกสรเพศเมียของต้นเทพรำลึก

ตารางที่ 36 เปอร์เซ็นต์การผสมติดจากการผสมกลับไปยังพ่อแม่พันธุ์ของต้นดิพลอยด์และต้น
มิโกไซพลอยด์ของปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)

กลุ่มผสม	จำนวนดอกที่ผสม	จำนวนดอกที่	เปอร์เซ็นต์การ
		ผสมติด	ผสมติด
ดิพลอยด์ × ปทุมรัตน์	20	0	0
ดิพลอยด์ × เทพรำลึก	20	0	0
ปทุมรัตน์ × ดิพลอยด์	20	0	0
เทพรำลึก × ดิพลอยด์	20	0	0
มิโกไซพลอยด์ × ปทุมรัตน์	20	3	15
มิโกไซพลอยด์ × เทพรำลึก	20	1	5
ปทุมรัตน์ × มิโกไซพลอยด์	20	2	10
เทพรำลึก × มิโกไซพลอยด์	20	1	5

ภายหลังจากการผสมติด 21 วันทำการเก็บฝักมาทำการฟอกฆ่าเชื้อเพื่อนำเอ็มบริโอจาก
เมล็ดในฝักมาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์เพื่อช่วยเร่งระยะเวลาการเจริญไปเป็นต้นที่
สมบูรณ์ พบว่า เอ็มบริโอที่เกิดจากการผสมตัวเองของต้นมิโกไซพลอยด์มีเพียง 2 เมล็ด เท่านั้นที่
สามารถ พัฒนาไปเป็นต้นได้ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ 33.33 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 37) ส่วนการเพาะเลี้ยง
เอ็มบริโอที่เกิดจากการผสมกลับไปยังพ่อแม่พันธุ์ พบว่า มีเอ็มบริโอที่เกิดจากการผสมระหว่างต้นมิโก
ไซพลอยด์กับเทพรำลึกเพียง 1 เมล็ดเท่านั้นที่สามารถพัฒนาไปเป็นต้นได้ (ตารางที่ 38)

ตารางที่ 37 เปอร์เซ็นต์เอ็มบริโอที่พัฒนาเป็นต้นจากการผสมตัวเองของต้นดิพลอยด์และต้น
มิโกไซพลอยด์ของปทุมมาลูกผสม (*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)

กลุ่มผสม	จำนวนเอ็มบริโอ	จำนวนเอ็มบริโอ	เปอร์เซ็นต์เอ็มบริโอ
	ที่เพาะเลี้ยง	ที่พัฒนาเป็นต้น	ที่พัฒนาเป็นต้น
ดิพลอยด์ × ดิพลอยด์	0	0	0
มิโกไซพลอยด์ × มิโกไซพลอยด์	6	2	33.33

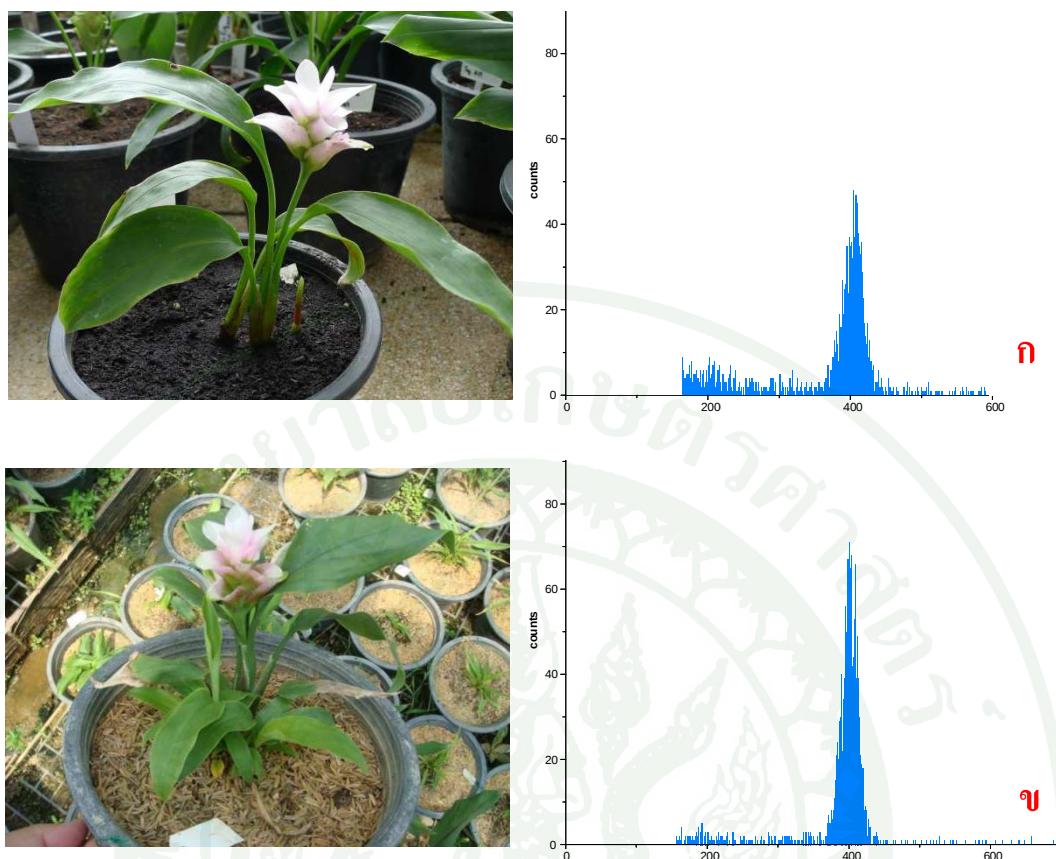
ตารางที่ 38 เปอร์เซ็นต์เอมบริโอที่พัฒนาเป็นต้นจากการผสมกลับไปยังพ่อแม่พันธุ์ของต้น

ดิพลอยด์และต้นมิโกโซพลอยด์ของปทุมมาลูกผสม(*Curcuma sparganifolia* × *Curcuma parviflora*)

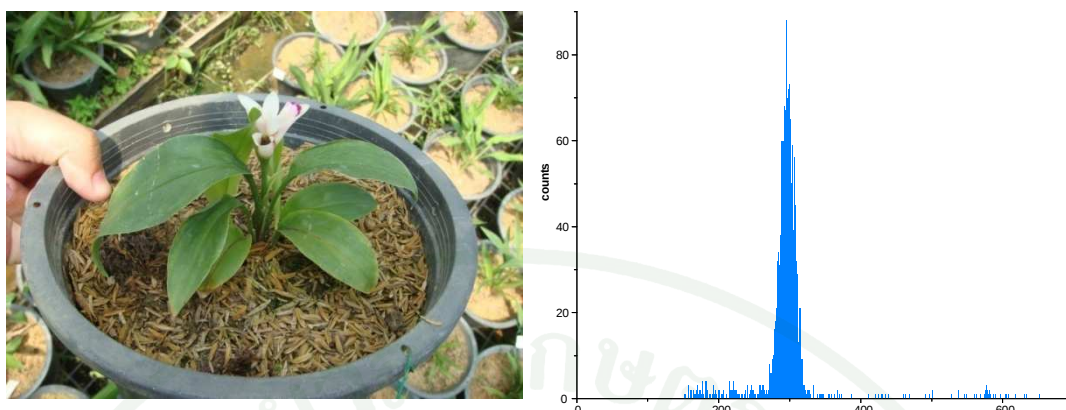
	จำนวนเอมบริโอ ที่เพาะเลี้ยง	จำนวนเอมบริโอ ที่พัฒนาเป็นต้น	เปอร์เซ็นต์เอมบริโอ ที่พัฒนาเป็นต้น
ดิพลอยด์ × ปทุมรัตน์	0	0	0
ดิพลอยด์ × เทพรำลึก	0	0	0
ปทุมรัตน์ × ดิพลอยด์	0	0	0
เทพรำลึก × ดิพลอยด์	0	0	0
มิโกโซพลอยด์ × ปทุมรัตน์	8	0	0
มิโกโซพลอยด์ × เทพรำลึก	4	1	25
ปทุมรัตน์ × มิโกโซพลอยด์	5	0	0
เทพรำลึก × มิโกโซพลอยด์	4	0	0

3.3 การวิเคราะห์ระดับ ploidy

ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงเอมบริโอที่เกิดจากการผสมตัวเองของต้นมิโกโซพลอยด์ และการผสมต้นมิโกโซพลอยด์กลับไปยังเทพรำลึกเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ จากนั้นทำการย้ายปลูกลงในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร เมื่อต้นทั้งหมดออกดอก นำใบจากต้นที่เกิดจากการผสมตัวเอง 2 ต้น และต้นที่เกิดจากการผสมกลับ 1 ต้น ไปทำการวิเคราะห์ระดับ ploidy โดยเครื่อง Flow cytometry พบว่า ต้นที่เกิดจากการผสมตัวเองทั้ง 2 ต้นเป็นต้นเตตราพลอยด์ (4x) (ภาพที่ 23) และต้นที่เกิดจากการผสมระหว่างต้นมิโกโซพลอยด์กับต้นเทพรำลึกเป็นต้นทริพลอยด์ (3x) 1 ต้น (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 23 กราฟแสดงจำนวนโครโมโซมของต้นเตตราพลอยด์ต้นที่ 1 (ก) และต้นที่ 2 (ข) ที่เกิดจากการผสมตัวเองของต้นมิกลอชพลอยด์



ภาพที่ 24 ลักษณะของดินทรินพลอยด์ที่เกิดจากการทดสอบการผสมดินมิกโซพลอยด์กับดิน
เทพราลิก

การทดลองที่ 4 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นดิพลอยด์ ($2n=2x$) ต้นมิโกโซพลอยด์ ($2n=2x+4x$) และต้นเตตราพลอยด์ ($2n=4x$) ของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิด

4.1 การเจริญเติบโตทางลำต้น

เมื่อเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของปทุมมาลูกผสมดิพลอยด์ มิโกโซพลอยด์ และ เตตราพลอยด์ พบว่า ความสูง ความยาวใบ ความกว้างใบ และจำนวนต้นต่อกระถาง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยต้นดิพลอยด์มีความสูงเฉลี่ยสูงกว่าต้นเตตราพลอยด์ 20 เซนติเมตร และมีความกว้างและความยาวใบมากกว่าต้นเตตราพลอยด์ 2 เท่า โดยต้นเตตราพลอยด์มีความกว้างใบ และความยาวใบเฉลี่ย 4.42 และ 14.44 เซนติเมตรตามลำดับ จากการสังเกตลักษณะใบพบว่า ใบของต้นมิโกโซพลอยด์ และเตตราพลอยด์มีความหนาแน่นกว่าต้นดิพลอยด์ นอกจากนี้ยังพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติของจำนวนใบของต้นดิพลอยด์ มิโกโซพลอยด์ และ เตตราพลอยด์ และเมื่อพิจารณาจำนวนวันออกดอก พบว่าต้นเตตราพลอยด์ซึ่งมีการเจริญเติบโตช้าทำให้มีจำนวนวันออกดอกมากกว่าต้นดิพลอยด์ และมิโกโซพลอยด์ โดยมีจำนวนวันออกดอกเฉลี่ย 111.20 วัน ซึ่งมากกว่าต้นดิพลอยด์ถึง 20 วัน (ตารางที่ 39)

4.2 การเจริญเติบโตของช่อดอก

ต้นเตตราพลอยด์มีความยาวและความกว้างช่อดอกน้อยกว่าต้นดิพลอยด์และต้นมิโกโซพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยต้นเตตราพลอยด์มีความยาวและความกว้างช่อดอกเฉลี่ยเป็น 4.78 และ 4.02 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 26) เมื่อพิจารณาความยาวก้านช่อดอกพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความยาวก้านช่อดอกจากต้น ดิพลอยด์ มิโกโซพลอยด์ และ เตตราพลอยด์ โดยต้นดิพลอยด์มีความยาวก้านช่อดอกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 17.10 เซนติเมตร และต้นเตตราพลอยด์มีความยาวก้านช่อดอกเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 9.88 เซนติเมตร จำนวนชั้นกลีบประดับของต้นดิพลอยด์และมิโกโซพลอยด์ไม่แตกต่างกัน จำนวนชั้นกลีบประดับของต้นเตตราพลอยด์มีจำนวนชั้นเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 4.20 ชั้น กลีบดอกของต้นมิโกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์มีลักษณะหนาแน่นกว่าต้นดิพลอยด์ (ภาพที่ 25) ความยาวดอกของต้นมิโกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์น้อยกว่าต้นดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างของความกว้างดอกจากต้น ดิพลอยด์ มิโกโซพลอยด์ และเตตราพลอยด์ (ตารางที่ 40)

ตารางที่ 39 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตทางด้านความสูง จำนวนใบ ความกว้างใบ ความยาวใบ และจำนวนวันออกดอกของต้นดิพลอยด์ มิกโซพลอยด์และเตตราพลอยด์

ระดับ ploidy	ความสูง (ซม.)	จำนวนใบ (ใบ)	ความกว้างใบ (ซม.)	ความยาวใบ (ซม.)	จำนวนวันออกดอก (วัน)
ดิพลอยด์	35.52±1.72 a ^{1/}	4.00±0.00	7.90±0.55 a	29.80±1.15 a	91.60±6.07 a
มิกโซพลอยด์	30.60±0.96 b	4.00±0.00	8.50±0.79 a	27.30±1.86 b	104.00±1.00 b
เตตราพลอยด์	15.98±1.18 c	3.60±0.55	4.42±0.77 b	14.44±1.58 c	111.20±2.28 c
F-Test	*	ns	*	*	*
CV. (%)	4.84	8.18	10.23	6.52	5.24

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 40 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของความยาวช่อดอก ความกว้างช่อดอก ความยาวก้านช่อดอก จำนวนชั้นกลีบประดับ ความยาวดอก และความกว้างดอกของต้นปทุมมาลูกผสมดิพลอยด์ มิกโซพลอยด์ และเตตราพลอยด์

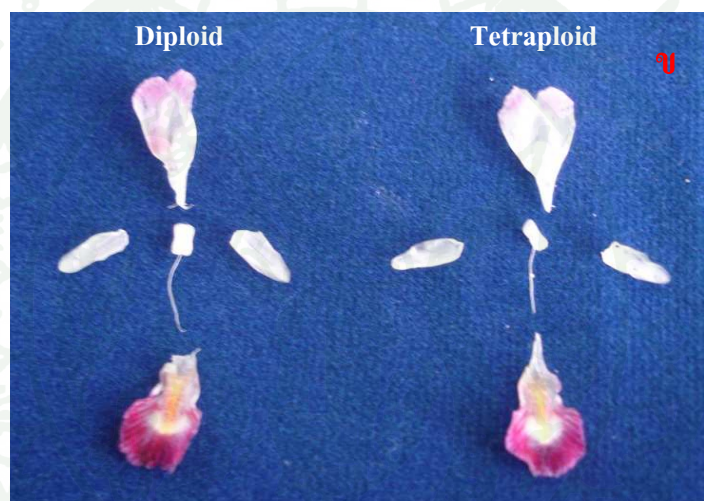
ระดับ ploidy	ความยาวช่อดอก (ซม.)	ความกว้างช่อดอก (ซม.)	ความยาวก้านช่อดอก (ซม.)	จำนวนชั้นกลีบประดับ (ชั้น)	ความยาวดอก (ซม.)	ความกว้างดอก (ซม.)
ดิพลอยด์	8.10±0.89 a ^{1/}	5.10±0.42 a	17.10±1.24 a	6.60±0.55 a	1.22±0.44 a	0.62±0.21
มิกโซพลอยด์	8.30±0.67 a	5.20±0.57 a	12.80±1.64 b	6.40±0.55 a	0.98±0.38 b	0.48±0.13
เตตราพลอยด์	4.78±0.41 b	4.02±0.34 b	9.88±0.76 c	4.20±0.45 b	0.98±0.31 b	0.54±0.22
F-Test	*	*	*	*	*	ns
CV. (%)	9.75	9.50	9.56	9.01	12.89	20.32

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อเปรียบเทียบ โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)



ภาพที่ 25 การเปรียบเทียบลักษณะดอก (ก) และส่วนประกอบของดอก (ข) จากต้นดิพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์



ภาพที่ 26 การเปรียบเทียบลักษณะต้นและขนาดช่อดอกของต้นคิพลอยด์ (ก) และเตตราพลอยด์ (ข)

4.3 ขนาดปากใบและจำนวนปากใบต่อพื้นที่

ต้นเตตราพลอยด์และต้นมิโกโซพลอยด์มีขนาดปากใบใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยต้นดิพลอยด์มีขนาดปากใบเฉลี่ย 54.82 ไมโครเมตร ส่วนต้นมิโกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์มีขนาดปากใบใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์ 7.22 และ 17.42 ไมโครเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 27) ภายหลังจากการนับจำนวนปากใบต่อพื้นที่พบว่า ต้นเตตราพลอยด์และมิโกโซพลอยด์มีจำนวนปากใบต่อพื้นที่แตกต่างกับต้นดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 28) โดยต้นเตตราพลอยด์มีจำนวนปากใบเฉลี่ยต่อพื้นที่น้อยที่สุดเท่ากับ 78.07 ส่วนต้นดิพลอยด์มีจำนวนปากใบเฉลี่ยต่อพื้นที่กับ 136 แสดงให้เห็นว่าต้นที่มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซมนั้น มีขนาดปากใบใหญ่ขึ้นแต่มีจำนวนปากใบต่อพื้นที่น้อยลง (ตารางที่ 41)

ตารางที่ 41 เปรียบเทียบขนาดปากใบ จำนวนปากใบต่อพื้นที่ เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณู และเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเรณูของต้นปทุมมา ลูกผสมดิพลอยด์ มิกโซพลอยด์ และเตตราพลอยด์

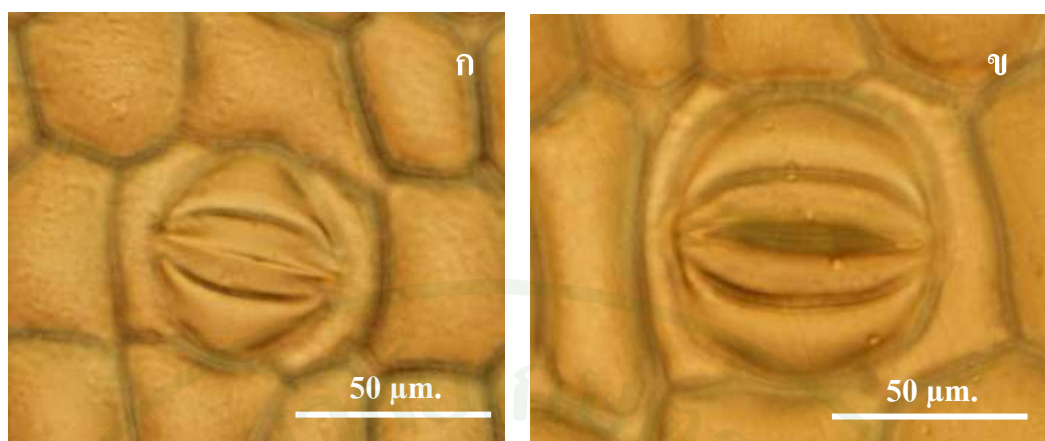
ระดับ ploidy	ขนาดปากใบ (ไมโครเมตร)	จำนวนปากใบต่อพื้นที่ (ตารางมิลลิเมตร)	เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของ ละอองเรณู	เปอร์เซ็นต์ความงอกของ ละอองเรณู
ดิพลอยด์	54.82±1.40 c ^{1/}	136.00±1.52 a	7.60±2.34 c	0.00±0.00 b
มิกโซพลอยด์	62.04±4.16 b	114.20±0.89 b	75.00±4.06 b	58.00±6.94 a
เตตราพลอยด์	72.24±2.71 a	78.07±0.84 c	87.80±4.34 a	62.20±3.49 a
F-Test	*	*	*	*
CV. (%)	4.73	10.29	7.74	11.23

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

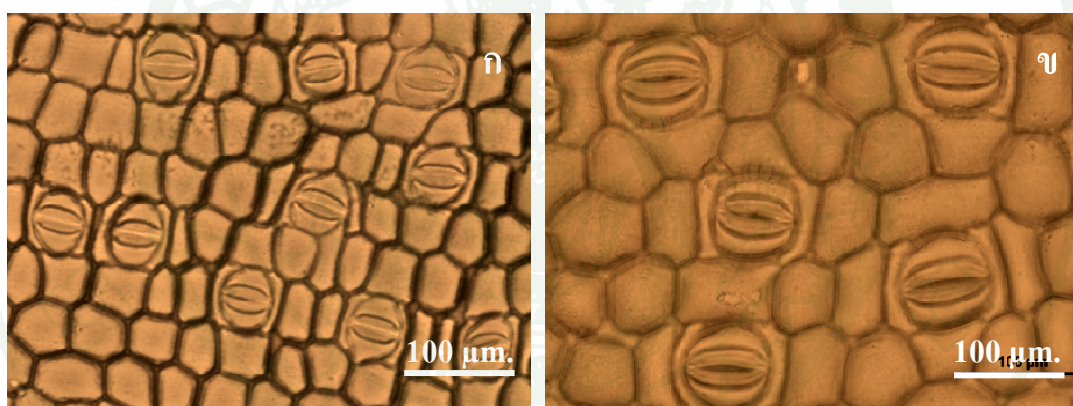
* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)



ภาพที่ 27 ขนาดเซลล์ปากใบของต้นคิพลอยด์ (ก) และต้นเตตราพลอยด์ (ข)



ภาพที่ 28 จำนวนปากใบต่อพื้นที่ของต้นปทุมมาลูกผสมคิพลอยด์ (ก) และต้นเตตราพลอยด์ (ข)

4.4 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตและเปอร์เซ็นต์การงอกของละอองเรณู

หลังจากการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตและเปอร์เซ็นต์การงอกของละอองเรณูเปรียบเทียบระหว่างต้นดิพลอยด์ มิกโซพลอยด์ และเตตราพลอยด์ พบว่า เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตและเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเรณูของต้นมิกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์มีความแตกต่างทางสถิติกับต้นดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญ โดยต้นเตตราพลอยด์มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต และเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยของละอองเรณูมากที่สุดคือ 87.70 และ 62.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 41) และเมื่อสังเกตการย้อมติดสี Aceto-carmin 1 เปอร์เซ็นต์ ของละอองเรณูจากต้นดิพลอยด์พบว่าละอองเรณูส่วนใหญ่ย้อมไม่ติดสี หรือติดสีไม่สม่ำเสมอ แสดงให้เห็นว่าละอองเรณูเหล่านี้เป็นละอองเรณูที่ไม่มีชีวิต แต่เมื่อทำการย้อมสีดังกล่าวให้กับละอองเรณูต้นมิกโซพลอยด์ และต้นเตตราพลอยด์ พบว่าละอองเรณูส่วนใหญ่ติดสีแดงเข้มสม่ำเสมอ (ภาพที่ 29) และเมื่อทำการทดสอบความงอกของละอองเรณูจากต้นดิพลอยด์ ต้นมิกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์ โดยการเพาะเลี้ยงละอองเรณูในอาหารสังเคราะห์สูตร Taylor's ที่มีการเติมน้ำตาลซูโคส 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ไม่พบการงอกของหลอดละอองเรณูจากต้นดิพลอยด์เมื่อระยะเวลาผ่านไป 5 ชั่วโมง แต่ละอองเรณูจากต้นมิกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์ เริ่มมีการงอกของหลอดละอองเรณูเมื่อระยะเวลาผ่านไป 3 ชั่วโมง และงอกยาวขึ้นเรื่อยๆ เมื่อระยะเวลาผ่านไป 5 ชั่วโมง (ภาพที่ 30)

4.5 ลักษณะหัวพันธุ์

เมื่อพิจารณาลักษณะของหัวพันธุ์ปทุมมาลูกผสมดิพลอยด์ มิกโซพลอยด์ และเตตราพลอยด์ พบว่า หัวพันธุ์ของต้นมิกโซพลอยด์และเตตราพลอยด์มีขนาดหัวพันธุ์ใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 31) โดยต้นเตตราพลอยด์มีน้ำหนักหัวเฉลี่ยต่อต้น 2.56 กรัม ส่วนต้นดิพลอยด์มีน้ำหนักหัวเฉลี่ยต่อต้น 1.88 กรัม ทั้งนี้หัวพันธุ์ที่ได้จากต้นเตตราพลอยด์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางหัวพันธุ์และจำนวนรากสะสมอาหารมากกว่าหัวพันธุ์จากต้นดิพลอยด์ ในขณะที่จำนวนหัวต่อต้นของต้นดิพลอยด์และมิกโซพลอยด์มีจำนวนใกล้เคียงกันเมื่อนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบกับต้นเตตราพลอยด์ พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 42 และ 43)

ตารางที่ 42 เปรียบเทียบน้ำหนักสดของหัวพันธุ์ต่อต้น จำนวนหัวพันธุ์ต่อกระถาง และเส้นผ่านศูนย์กลางหัวพันธุ์ของต้นปทุมมาลูกผสมดิพลอยด์ มิกโซพลอยด์ และเตตราพลอยด์

ระดับ ploidy	น้ำหนักสดของหัวพันธุ์ต่อต้น (กรัม)	จำนวนหัวต่อกระถาง (หัว)	เส้นผ่านศูนย์กลางหัวพันธุ์ (เซนติเมตร)
ดิพลอยด์	1.88±0.13 b ^{1/}	5.20±0.84 a	1.24±0.43 b
มิกโซพลอยด์	2.52±0.66 a	3.00±0.71 b	1.88±0.83 a
เตตราพลอยด์	2.56±0.23 a	2.00±1.00 b	1.90±0.87 a
F-Test	*	*	*
CV. (%)	17.72	22.14	11.44

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 43 เปรียบเทียบจำนวนรากสะสมอาหาร ความยาวค้ำสะสมอาหาร ความกว้างค้ำสะสมอาหาร และความยาว รากสะสมอาหารของต้นปทุมมา ลูกผสมดิพลอยด์ มิกโซพลอยด์ และเตตราพลอยด์

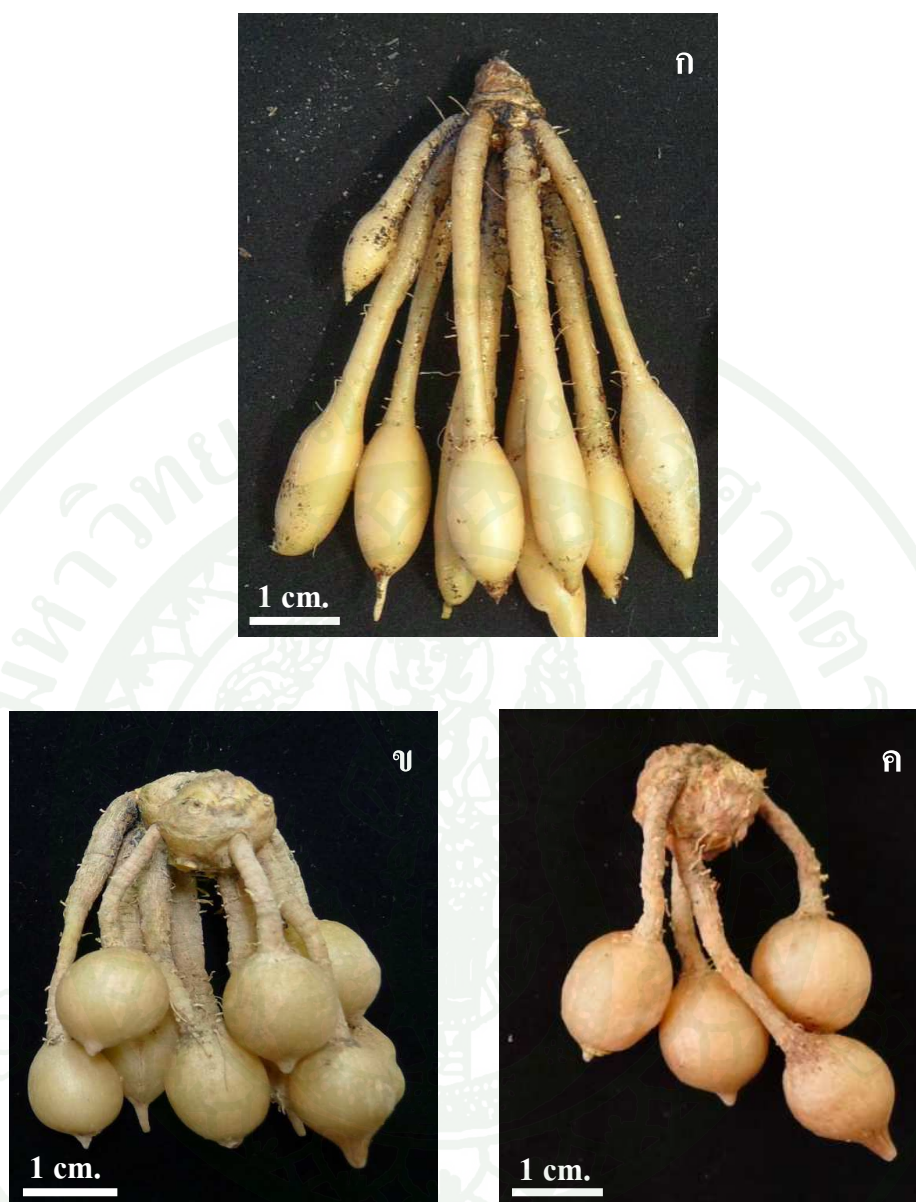
ระดับ ploidy	จำนวนรากสะสมอาหาร (ราก)	ความยาวค้ำสะสมอาหาร (เซนติเมตร)	ความกว้างค้ำสะสมอาหาร (เซนติเมตร)	ความยาวรากสะสมอาหาร (เซนติเมตร)
ดิพลอยด์	2.20±0.84 b ^{1/}	2.80±0.84 a	1.18±0.35 b	7.68±2.35 a
มิกโซพลอยด์	3.40±0.55 a	2.56±0.44 a	1.38±0.41 a	4.54±1.89 b
เตตราพลอยด์	3.60±0.55 a	2.08±0.66 b	1.52±0.44 a	3.66±1.24 b
F-Test	*	*	*	*
CV. (%)	16.84	12.32	10.05	17.41

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)



ภาพที่ 31 การเปรียบเทียบลักษณะหัวพันธุ์ของต้นดิพลอยด์ (ก) ต้นมิโกโซพลอยด์ (ข) และต้นเตตราพลอยด์ (ค)

วิจารณ์

ผลจากการชักนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซมหรือการชักนำให้เกิดต้นโพลีพลอยด์เพื่อแก้ลักษณะความเป็นหมันในปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดระหว่างปทุมรัตน์และเทพรำลึก (*Curcuma sparganifolia* × *C. parviflora*) โดยการให้สารละลายโคลชิซินหรือออไรชาลิน ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 0 48 72 และ 96 ชั่วโมง กับกลุ่มยอดขนาดเล็ก (multiple shoot) ภายหลังจากการย้ายปลูก ศึกษาผลของสารทั้งสองชนิดต่อการเจริญเติบโตของต้น และการชักนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซม รวมถึงเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยา เซลล์วิทยา และอัตราการผสมติดระหว่างต้นดิพลอยด์และต้น โพลีพลอยด์

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการให้สารโคลชิซินหรือออไรชาลินที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมในปทุมมาลูกผสมข้ามชนิด

ภายหลังจากได้รับสารเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ต้นที่พัฒนาจากกลุ่มยอดของแต่ละชุดการทดลองในสภาพปลอดเชื้อมีลักษณะต้นแตกต่างกัน โดยต้นที่ได้รับสารโคลชิซินนั้นมีการพัฒนาเป็นต้นจำนวนมากแต่มีการเจริญเติบโตช้าและใบมีลักษณะเรียวยาว ส่วนต้นที่พัฒนาจากชุดการทดลองที่ได้รับสารออไรชาลินนั้นมีต้นที่พัฒนาจากกลุ่มยอดน้อย แต่ต้นที่พัฒนาขึ้นมามีลักษณะใบใหญ่หนาและมีลำต้นอวบ เมื่อทำการติดตามสังเกตต้นที่มีลักษณะดังกล่าวภายหลังจากการย้ายออกปลูกพบว่า ต้นดังกล่าวมีลักษณะการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากต้นในชุดการทดลองเดียวกัน เนื่องมาจากการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมนั้นส่วนใหญ่มักทำการชักนำบริเวณเนื้อเยื่อที่มีการเจริญ หรือมีจุดเจริญ เช่นบริเวณปลายยอด แต่เนื่องจากบริเวณปลายยอดหรือจุดเจริญของปทุมมานั้นอยู่ภายในกาบใบซึ่งห่อรวมตัวกันแน่นเกิดเป็นลักษณะลำต้นเทียม ดังนั้นจุดเจริญดังกล่าวอาจไม่ได้รับสารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมได้โดยตรง แต่บริเวณเซลล์ด้านนอกที่พัฒนาเป็นกาบใบได้รับสารโดยตรงทำให้บริเวณกาบใบดังกล่าวอาจมีการเพิ่มขึ้นของโครโมโซมแต่เมื่อทำการเปลี่ยนอาหารและมีการตัดลอกกาบใบดังกล่าวออกทำให้ภายหลังจากการย้ายออกปลูกจึงไม่พบลักษณะที่เกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว และเมื่อทำการเก็บข้อมูลเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตภายหลังจากการย้ายออกปลูกเป็นระยะเวลา 30 60 และ 90 วัน พบว่า ความเข้มข้นของสารละลายและระยะเวลาที่ได้รับสารมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิด โดยเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายและระยะเวลาที่ได้รับสารทั้งสองชนิดเพิ่มสูงขึ้น โดยภายหลังจากได้รับสาร 90 วัน ชุดควบคุมซึ่งไม่ได้รับสารมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงถึง 97 เปอร์เซ็นต์ ส่วนชุดการทดลองที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 5

มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 85 เปอร์เซ็นต์ และชุดการทดลองที่ได้รับสารออไรซาลิน ความเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเพียง 44 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากสารทั้งสองชนิดนอกจากมีผลในการชักนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของโครโมโซมแล้ว เมื่อได้รับในปริมาณที่สูงหรือระยะเวลานานจะก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยมีผลต่อความหนาแน่นไซโทพลาสซึมรวมถึงรบกวนกระบวนการต่างๆภายในเซลล์ทำให้เซลล์เกิดการเสียสมดุล องค์ประกอบในเซลล์เกิดความผิดปกติและเกิดการตายในที่สุด (Dermen, 1940; Cook and Loudon, 1952; Distabanjong *et al.*, 2007) โดยเฉพาะออไรซาลินซึ่งมีคุณสมบัติเป็นยาแก้ปวดหัว (Morejohn *et al.*, 1987) สารชนิดนี้เป็นสารที่มีการเลือกการทำลายส่วนใหญ่ใช้ในการควบคุมกำจัดหูกและวัชพืชใบกว้าง โดยมีผลไปรบกวนการเจริญเติบโตของพืชในลักษณะการยับยั้งการแบ่งเซลล์ โดยการทำลายการสร้าง spindle fiber ทำให้ nucleus ไม่สามารถแยกตัวได้ รวมถึงมีผลในการยับยั้งการงอกของเมล็ดโดยการเข้าไปหยุดกระบวนการแบ่งเซลล์ในเนื้อเยื่อเจริญทำให้เมล็ดดังกล่าวไม่เกิดการงอก และเข้าทำลายในส่วนหนึ่งของเซลล์ที่กำลังมีการแบ่งเซลล์โดยเฉพาะเซลล์ของราก ทำให้รากที่เกิดขึ้นมานั้นมีลักษณะโค้งงอหรือสั้นผิดปกติจึงทำให้พืชไม่สามารถหาอาหารได้ การเจริญของพืชลดลงแล้วเกิดการตายในที่สุด (Ross and Childs, 1996; Peterson D. E., *et al.*, 2010; Cox, 2011) ดังนั้นเมื่อใช้ในปริมาณที่สูงมักทำให้พืชตาย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Miguel และ Leonhardt (2011) ที่ได้ศึกษาผลของออไรซาลินที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกันเพื่อชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในกล้วยไม้ *Dendrobium* *Epidendrum* *Odontioda* และ *Phalaenopsis* ในสภาพปลอดเชื้อ โดยให้สารออไรซาลินความเข้มข้น 14.4 28.9 และ 57.7 ไมโครโมลาร์ เป็นระยะเวลา 3 และ 6 วัน กับ protocorm-like bodies พบว่าความเข้มข้นและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นของการได้รับสารออไรซาลินมีผลไปลดอัตราการรอดชีวิตของกล้วยไม้พันธุ์ต่างๆลง แต่มีผลในการเพิ่มโอกาสในการเกิดต้นโพลีพลอยด์ขึ้นโดยความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นโพลีพลอยด์ในกล้วยไม้แต่ละพันธุ์แตกต่างกัน โดยความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อกล้วยไม้ *Dendrobium* และ *Odontioda* คือ 14.4 ไมโครโมลาร์ เป็นระยะเวลา 6 วัน ส่วนความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อกล้วยไม้ *Epidendrum* คือ 57.7 ไมโครโมลาร์ เป็นระยะเวลา 6 วัน และความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อกล้วยไม้ *Phalaenopsis* คือ 14.4 ไมโครโมลาร์ เป็นระยะเวลา 3 วัน เป็นไปในทางเดียวกันกับการทดลองของดวงจันทร์ (2549) ซึ่งทำการชักนำให้เกิดการเพิ่มชุดโครโมโซมในปทุมมาลูกผสมระหว่าง *C. alismatifolia* กับ *C. rhabdota* โดยการให้โคลชิซิน ความเข้มข้น 0 800 1,000 และ 1,200 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับ dimethylsulfoxide 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 4 วัน กับหน่ออ่อนของปทุมมาลูกผสมในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าหน่ออ่อนที่ได้รับโคลชิซินความเข้มข้นต่างๆมีอัตราการรอดชีวิตลดลงโดยมีอัตราการรอดชีวิต 30-45 เปอร์เซ็นต์และมีจำนวนยอดเฉลี่ยน้อยมากคือ 0.1-0.25 ยอด

ต่อชิ้นส่วน เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซินซึ่งมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์และมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงถึง 8-13 ยอดต่อชิ้นส่วน การได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้นสูงหรือระยะเวลายาวนานมีผลทำให้ชิ้นส่วนหรือต้นพืชตายได้ เนื่องจากสารโคลชิซินเป็นสารเคมีที่มีความเป็นพิษต่อพืช การนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านต่าง ๆ จำเป็นต้องหาระดับหรือปริมาณที่เหมาะสมในการใช้ ถ้าใช้ในความเข้มข้นและระยะเวลาไม่เหมาะสมก็มีผลทำให้พืชไม่พัฒนาและตายในที่สุด ซึ่งความเข้มข้นของโคลชิซินที่เหมาะสมจะผันแปรไปตามชนิดและส่วนของพืชที่ใช้ (อดิศร, 2539; Takamura and Miyajima, 1996; Van *et al.*, 1992)

เมื่อศึกษาผลของสารทั้งสองชนิดต่อการเจริญเติบโต พบว่า การเจริญเติบโตของต้นที่ได้รับสารโคลชิซินหรือออไรซาลินความที่ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารเพิ่มสูงขึ้นเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งไม่ได้รับสาร พบว่า การเจริญเติบโตทางลำต้นมีแนวโน้มช้ากว่าต้นที่ไม่ได้รับสารทั้งสองชนิด เมื่อพิจารณาผลของชนิดสารที่ได้รับ ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารต่อการเจริญเติบโตทางลำต้นพบว่า ชนิดสารที่ได้รับมีผลทำให้ความสูง จำนวนยอดต่อกระถาง ความยาวใบ ความกว้างใบ จำนวนหัวพันธุ์ ความยาวช่อดอก ความกว้างช่อดอก ความยาวก้านช่อดอก และจำนวนชั้นกลีบประดับของต้นมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนความเข้มข้นของสารทั้งสองชนิดที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลต่อความสูง จำนวนยอดต่อกระถาง ความยาวใบ ความกว้างใบ ความยาวช่อดอก ความกว้างช่อดอก ความยาวก้านช่อดอก และจำนวนชั้นกลีบประดับ และระยะเวลาที่ได้รับสารที่แตกต่างกันมีผลให้ความสูง จำนวนยอดต่อกระถาง ความยาวใบ ความกว้างใบ ความยาวช่อดอก และความยาวก้านช่อดอกของต้นที่ได้รับสารมีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้อิทธิพลร่วมระหว่างชนิดสารที่ได้รับและความเข้มข้นของสารที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลทำให้จำนวนยอดต่อกระถาง ความยาวใบ ความกว้างใบ ความยาวช่อดอก ความกว้างช่อดอก ความยาวก้านช่อดอก และจำนวนชั้นกลีบประดับมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดสารที่ได้รับและระยะเวลาที่ได้รับสารส่งผลให้ ความสูง จำนวนยอดต่อกระถาง ความกว้างใบ และความยาวก้านช่อดอกมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์ และอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของสารที่ได้รับและระยะเวลาที่ได้รับสารมีผลทำให้ความยาวใบมีความแตกต่างกัน ผลของปัจจัยร่วม 3 ปัจจัยคือชนิดสารที่ได้รับ ความเข้มข้น และระยะเวลามีผลทำให้เกิดความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ กับความสูงของต้นเท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของวิรัชทรา (2552) ซึ่งได้ศึกษาผลของโคลชิซินต่อการเติบโตและชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ของเอื้องดินใบหมากดอกสีขาว โดยการให้สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0 0.005 0.010 0.025 และ 0.050 เปอร์เซ็นต์ แก่ชิ้นส่วนโปรโตคอร์มเป็นเวลา 5 วัน พบว่า

สารละลายโคลชิซินทุกความเข้มข้นมีผลทำให้ความสูงต้น ความยาวใบ จำนวนราก และความยาวรากลดลง ในขณะที่ความกว้างใบเพิ่มขึ้น และการทดลองของ Silva และคณะ (2000) ซึ่งพบว่า การให้สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์กับโปรโตคอร์มของกล้วยไม้ *Cattleya intermedia* L. มีผลทำให้โปรโตคอร์มมีการตายมากที่สุด และต้นที่ได้รับสารโคลชิซินมีการเจริญเติบโตลดลง

ภายหลังจากการย้ายปลูกเป็นระยะเวลา 120 วัน จากนั้นทำการคัดเลือกต้นที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาผิดปกติ เช่น ใบหนา กลีบประดับมีลักษณะผิดปกติ ช่อดอกใหญ่ และช่อดอกเล็ก ออกมาทั้งหมด 458 ต้น และคัดต้นที่มีการเปลี่ยนแปลงของสีดอก คือ ดอกเปลี่ยนเป็นสีชมพูเข้ม ดอกเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน และดอกเปลี่ยนเป็นสีขาว ออกมาทั้งหมด 131 ต้น จากนั้นนำต้นที่ทำการคัดเลือกทั้งหมดไปทำการตรวจสอบระดับ ploidy โดยเครื่อง Flow cytometry โดยการเปรียบเทียบกับระดับ ploidy ของต้นจากชุดควบคุม พบว่าต้นที่ทำการคัดเลือกออกมาทั้งหมดไม่มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโมโซม เนื่องจากสารโคลชิซินและออไรซาลีนนั้นนอกจากจะมีผลในการชักนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซมแล้วยังเป็นสิ่งที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ทางเคมี (chemical mutagen) ชนิดหนึ่งด้วย โดยสิ่งก่อกลายพันธุ์ทางเคมีเหล่านี้สามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา (morphological abnormalities) หรือเกิดการกลายพันธุ์ได้ (สิรินุช, 2536) โดยมีผลทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆในเซลล์ผิดปกติหรือเปลี่ยนแปลงไป อีกทั้งยังมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช หรือทำให้พืชเกิดการตายได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความรุนแรงหรือปริมาณ ชนิดของสิ่งก่อกลายพันธุ์ที่ได้รับ ชนิดของพืช และอายุของพืช เป็นต้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ye และคณะ (2010) ที่ได้ชักนำให้เกิดต้นเตตราพลอยด์ในยี่เข่ง 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ ‘Zi Wei’ ‘Hong Wei’ และ ‘Yin Wei’ โดยให้สารโคลชิซินกับปลายยอดของต้นกล้าในระยะที่ยังมีใบเลี้ยง ผลจากการให้สารโคลชิซินความเข้มข้นและใช้ระยะเวลาในการให้สารแตกต่างกัน จากการสังเกตลักษณะทางสัณฐานวิทยา และเซลล์วิทยา พบลักษณะผิดปกติคือ ใบมีขนาดใหญ่และหนาขึ้น ใบมีสีเขียวเข้มขึ้น เซลล์ปากใบมีขนาดใหญ่ขึ้น ความหนาแน่นของเซลล์ปากใบลดลง และจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมปากใบเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นจึงสามารถนำเอาลักษณะดังกล่าวมาใช้ในการคัดเลือกเบื้องต้นสำหรับต้นที่สันนิษฐานว่าเป็นเตตราพลอยด์จากต้นที่ได้รับสารทั้งหมด

ภายหลังจากงัดน้ำเป็นระยะเวลา 20 วัน เพื่อทำการเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ พบหัวพันธุ์ที่มีลักษณะแตกต่างจากหัวพันธุ์ปกติ คือหัวพันธุ์มีขนาดใหญ่ ตุ่มสะสมอาหารมีลักษณะกลมมน และมีความยาวของตุ่มสะสมอาหารสั้น ซึ่งแตกต่างไปจากหัวพันธุ์ปกติซึ่งมีหัวพันธุ์ที่มีขนาดเล็กและตุ่มสะสมอาหารมีลักษณะยาวรี เมื่อนำไปทำการปลูกทดสอบ และวัดระดับ ploidy จากต้นที่พัฒนามา

จากหัวพันธุ์ที่มีลักษณะดังกล่าวพบว่าต้นที่เกิดขึ้นมานั้นมีลักษณะเป็นต้นมิกโซพลอยด์ ซึ่งเป็นต้นที่มีเซลล์ซึ่งที่มีจำนวนโครโมโซมปกติและมีเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าอยู่ในต้นเดียวกัน ดังนั้นเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าซึ่งมีการแบ่งตัวซ้ำและเซลล์มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ปกติจึงมีผลทำให้หัวพันธุ์ดังกล่าวมีขนาดใหญ่กว่าหัวพันธุ์ปกติ และมีคุณสมบัติผสมอาหารสั้นและมีลักษณะกลมมน

การทดลองที่ 2 การปลูกเพื่อคัดเลือต้นที่มีการเพิ่มจำนวนโครโมโซมจากหัวพันธุ์พุ่มมาลุกผสมที่ทำการเก็บเกี่ยวจากการทดลองที่ 1

หลังจากการรดน้ำเพื่อเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์จากฤดูปลูกที่ 1 แล้วทำการปลูกทดสอบในฤดูปลูกที่ 2 พบว่า หัวพันธุ์ทั้งหมดมีการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต พบว่าอิทธิพลของชนิดของสาร ความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับสาร อิทธิพลร่วมระหว่าง 2 ปัจจัย และอิทธิพลร่วมระหว่าง 3 ปัจจัยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตด้านความสูง จำนวนใบ ความยาวใบ ความกว้างใบ ความยาวช่อดอก ความกว้างช่อดอก ความยาวก้านช่อดอก และจำนวนชั้นกลีบประดับ แต่อิทธิพลของชนิดสารมีผลต่อความสูง จำนวนหัวพันธุ์และจำนวนชั้นกลีบประดับ โดยมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์ และอิทธิพลของความเข้มข้นของสารที่ได้รับมีผลทำให้จำนวนยอดต่อกอ และจำนวนชั้นกลีบประดับมีความแตกต่างทางสถิติ จะเห็นได้ว่าผลของสารโคลชิซินและออไรซาลินที่ได้รับจากการทดลองที่ 1 ยังมีผลต่อการแตกยอดใหม่ของหัวพันธุ์ที่นำมาทำการปลูกในฤดูปลูกที่ 2 เนื่องจากสารออไรซาลินมีระยะเวลาในการสลายตัวในธรรมชาติ ดังนั้นจึงยังมีผลของสารอยู่ในการปลูกในฤดูที่ 2 แต่เนื่องจากการสลายตัวของสารไปบ้างแล้วจึงทำให้ยังคงมีผลตกค้างต่อจำนวนยอดต่อกอเท่านั้น

การนำหัวพันธุ์จากต้นที่เกิดการเปลี่ยนแปลงหรือตรวจพบลักษณะการกลาย เช่น ดอกมีขนาดเล็ก กลีบประดับมีลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ทั้งที่มีลักษณะเรียวแหลม และมีลักษณะกลมมน รวมถึงสีกลีบประดับมีการเปลี่ยนจากสีชมพู เป็นสีชมพูเข้มขึ้น สีชมพูอ่อน และสีขาว ไปปลูกทดสอบในฤดูปลูกที่ 2 พบว่าลักษณะความผิดปกติต่างๆทางสัณฐานวิทยาหายไปอันเป็นผลเนื่องมาจากสารเคมีดังกล่าวทำให้เกิดการทำลายทางสรีระ (physiological damage) ซึ่งโดยปกติแล้วจะปรากฏลักษณะดังกล่าวอยู่เฉพาะชั่วที่หนึ่งเท่านั้น จะไม่ถ่ายทอดไปยังลูกหลานส่วนใหญ่เกิดเนื่องจากกระบวนการต่างๆในเซลล์ถูกขัดขวางหรือถูกรบกวน ทำให้กิจกรรมต่างๆของเซลล์ไม่สามารถดำเนินต่อไปได้ตามปกติ หรือมีประสิทธิภาพลดลง จึงทำให้พืชแสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างจากต้นปกติ แต่มีเพียงลักษณะดอกที่เปลี่ยนเป็นสีขาวเท่านั้นที่

มีความคงตัว และเมื่อนำห้วพันธุ์ดังกล่าวไปปลูกยังคงลักษณะดังกล่าวไว้ได้ ซึ่งลักษณะดังกล่าวจัดว่าเป็นพันธุ์กลายได้ เนื่องจากการกลายพันธุ์ (mutation) คือ การเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมของเซลล์ ซึ่งสามารถที่จะถ่ายทอดไปยังลูกหลานได้ (สิรินุช, 2540) โดยไม่ได้เป็นผลมาจากการกระจายตัวและการรวมตัวกันอย่างอิสระของยีน (Harten, 1998) อย่างไรก็ตามลักษณะที่เปลี่ยนแปลงบางลักษณะอาจเปลี่ยนแปลงกลับไปเป็นลักษณะเดิม ซึ่งเกิดจากความเสียหายทางสรีรวิทยาของพืช (อรุณี, 2530)

ภายหลังการวัดระดับ ploidy จากต้นที่พบลักษณะฐานวิทยาผิดปกติและต้นที่มีการเปลี่ยนแปลงของสีดอกนั้นมีระดับ ploidy ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม แต่ต้นที่ได้จากห้วพันธุ์ที่มีลักษณะห้วผิดปกติจากชุดการทดลองที่ได้รับโคลชิซินเท่านั้นแสดงลักษณะของต้นมิกโซพลอยด์ คือ ต้นที่มีเซลล์ปกติและเซลล์ที่มีการเพิ่มจำนวนโครโมโซมขึ้นเป็นสองเท่าอยู่ในต้นเดียวกัน เนื่องจากโคลชิซินจัดเป็นสารก่อกลายพันธุ์ประเภท antimitotic agent ซึ่งจะมีผลขัดขวางการแบ่งเซลล์ในกระบวนการไมโทซิส (mitosis) โดยการเข้าทำปฏิกิริยารวมตัวกับโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของ microtubule ทำให้ไม่สามารถต่อกันเป็น spindle fiber ที่จะเข้าจับกับโครโมโซมจึงทำให้โครโมโซมไม่เคลื่อนเข้าสู่ขั้วเซลล์ในระยะแอนาเฟส (anaphase) ดังนั้นจำนวนโครโมโซมภายในเซลล์จึงเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า (Elliott, 1958) โดยพบต้นที่เป็นต้นมิกโซพลอยด์ทั้งหมด 5 ต้น

การทดลองที่ 3 ศึกษาความสามารถในการผสมตัวเองและการผสมกลับไปยังพ่อแม่พันธุ์ของปทุมมาลูกผสมที่มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซม

ภายหลังจากการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูโดยการย้อมสี Acetocarmine 1 เปอร์เซ็นต์กับปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดในชุดควบคุม พบว่า ต้นดิพลอยด์ดังกล่าวมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูเพียง 6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อส่องตรวจนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ละอองเรณูดังกล่าวมีรูปร่างลักษณะผิดปกติ และพบการติดสีไม่สม่ำเสมอ แสดงให้เห็นว่าละอองเรณูดังกล่าวเกิดความผิดปกติและไม่มีชีวิต เนื่องจากพืชที่เกิดจากการผสมข้ามระหว่างพืชดิพลอยด์สองชนิดที่มีจำนวนโครโมโซมไม่เท่ากัน หรือมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันแต่มียีนต่างกัน หรือที่เรียกกันว่าการผสมข้ามชนิดนั้น ลูกผสมชั่วแรกที่เกิดขึ้นมักเป็นหมัน เนื่องจากในระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส โครโมโซมมีการเข้าคู่และแยกจากกันอย่างผิดปกติ ทำให้เกิดความไม่สมดุลของจำนวนโครโมโซมในเซลล์สืบพันธุ์ ดังนั้นจึงเกิดลักษณะความเป็นหมันขึ้น ซึ่งพบลักษณะดังกล่าวในพืชผักหรือผลไม้บางชนิดซึ่งไม่สามารถติดเมล็ดหรือเกิดลักษณะเมล็ดลีบขึ้น เนื่องจากโครโมโซมมีพฤติกรรมที่ผิดปกติในระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส โดยโครโมโซม

จากชุดที่เหมือนกันจะเข้าคู่กันเป็นไบวาเลนต์ ส่วนโครโมโซมอีกชุดหนึ่งซึ่งไม่มีโครโมโซมคู่เหมือนจะอยู่เป็นยูนิวาเลนต์ ดังนั้นการแยกตัวของยูนิวาเลนต์ในระยะอนาเฟส I จะเป็นไปอย่างสุ่ม จึงเกิดความไม่สมดุลของโครโมโซมในเซลล์สืบพันธุ์ทำให้เกิดลักษณะเป็นหมันและไม่ติดเมล็ดขึ้น (ประภา, 2550)

เมื่อทำการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูต้นมิกโซพลอยด์ พบว่า ต้นมิกโซพลอยด์ทั้ง 5 ต้น มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูสูงถึง 57-72 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าละอองเรณูมีลักษณะปกติและยอมติดสีส้มน้ำเสมอ การที่ต้นมิกโซพลอยด์ดังกล่าวมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูเพิ่มสูงขึ้นเนื่องมาจากการเพิ่มจำนวนโครโมโซมขึ้นเป็นเท่าตัว ทำให้การเข้าคู่กันของโครโมโซมคู่สมเกิดการเข้าคู่อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นจึงมีผลให้เซลล์ดังกล่าวเกิดกระบวนการต่างๆเป็นไปตามปกติ ให้ลูกชั่วต่อมาไม่เป็นหมัน

เมื่อนำต้นดิพลอยด์และมิกโซพลอยด์จากการทดลองที่ 2 มาทำการทดสอบการผสม โดยการผสมตัวเองและผสมกลับไปยังพ่อแม่พันธุ์ พบว่า ต้นดิพลอยด์ผสมตัวเองและผสมกลับไปยังพ่อแม่พันธุ์ไม่ติด เนื่องจากละอองเรณูไม่มีชีวิต แต่เมื่อนำเอาต้นมิกโซพลอยด์มาทำการผสมตัวเองและผสมกลับไปยังพ่อแม่พันธุ์ พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การผสมตัวเองติด 5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อผสมกลับไปยังพ่อแม่พันธุ์ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การผสมติดสูงสุดถึง 15 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากต้นมิกโซพลอยด์นั้นมีเซลล์ที่โครโมโซมมีการเพิ่มจำนวนขึ้นเป็นเท่าตัว (polyploidization) จึงทำให้เซลล์ดังกล่าวกลายเป็นจีโนมอัลโลเตตราพลอยด์ โดยโครโมโซมจากฝ่ายพ่อและแม่จะไม่มาจับคู่กัน แต่จะเกิดการจับคู่กันขึ้นระหว่างโครโมโซมที่มีจีโนมเหมือนกันซึ่งเกิดจากการเพิ่มขึ้นของชุดโครโมโซม โครโมโซมจะจับคู่กันเป็นไบวาเลนต์ และแยกตัวออกจากกันอย่างปกติ ดังนั้นลูกในชั่วต่อมาจึงแสดงลักษณะไม่เป็นหมัน

ภายหลังจากการผสมติดแล้วทำการเก็บฝักมาทำการผ่าเพื่อเอาเอ็มบริโอมาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์เพื่อช่วยร่นระยะเวลาการเจริญไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ พบว่า เอ็มบริโอที่เกิดจากการผสมตัวเองของต้นมิกโซพลอยด์เกิดเป็นต้นเตตราพลอยด์ (4x) จำนวน 2 ต้น และพบต้นทริพลอยด์ (3x) ซึ่งเกิดจากการผสมระหว่างต้นมิกโซพลอยด์กับต้นเทพาลิก 1 ต้น

การทดลองที่ 4 การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นดิพลอยด์ ($2n=2x$) ต้นมิโกโซพลอยด์ ($2n=2x+4x$) และต้นเตตราพลอยด์ ($2n=4x$) ของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิด

ทำการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นดิพลอยด์หรือต้นในชุดควบคุมที่ไม่ได้รับสาร ต้นมิโกโซพลอยด์ซึ่งเกิดจากต้นดิพลอยด์ที่ได้รับสารโคลชิซินแล้วพบว่า ต้นมิเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซมปกติและเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าอยู่ในต้นเดียวกัน และต้นเตตราพลอยด์ที่เกิดจากการผสมตัวเองของต้นมิโกโซพลอยด์ พบว่า การเจริญเติบโตทางด้านลำต้น เช่น ความสูง ความยาวใบ ความกว้างใบ และจำนวนต้นต่อกระถาง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยต้นดิพลอยด์มีความสูงเฉลี่ยสูงกว่าต้นเตตราพลอยด์ถึง 20 เซนติเมตร มีความกว้างและความยาวใบมากกว่าต้นเตตราพลอยด์ถึง 2 เท่า โดยต้นเตตราพลอยด์มีความกว้างใบและความยาวใบเฉลี่ยเป็น 4.42 และ 14.44 เซนติเมตรตามลำดับ การเจริญเติบโตทางด้านลำต้นของต้นมิโกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์ช้ากว่าต้นดิพลอยด์ เนื่องจากต้นโพลีพลอยด์ทั้งสองชนิดมีเซลล์ที่มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซม เนื่องมาจากการได้รับสารโคลชิซินซึ่งสามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของโครโมโซมเป็นสองเท่าได้ ต้นโพลีพลอยด์ดังกล่าวจะมีวัฏจักรของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสยาวนานกว่าต้นดิพลอยด์หรือต้นปกติ เพราะต้องใช้เวลาในการสังเคราะห์องค์ประกอบต่าง ๆ ในเซลล์ยาวนานขึ้น และขนาดของเซลล์ที่กำลังเจริญพัฒนามีขนาดใหญ่ขึ้น มีจำนวนเซลล์รวมลดลง จึงทำให้การเจริญเติบโตของต้นช้ากว่าต้นปกติ (นพพร, 2546; Chandrasekharan *et al.*, 1975; Derman, 1940) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของวัชรินทร์ (2544) ซึ่งทำการเพาะเลี้ยงปลายยอดขมิ้นชันและขมิ้นอ้อยในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 0 1 2 3 และ 4 วัน พบว่าต้นขมิ้นชันและขมิ้นอ้อยที่เป็นต้นโพลีพลอยด์นั้นมีความสูงของต้นน้อยกว่าต้นดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีรายงานในลักษณะเดียวกันใน *Lychnis* spp. (Nonaka *et al.*, 2011), *Salvia miltiorrhiza* Bge. (Gao *et al.*, 1997), *Cyclamens* (Takamura and Miyajima, 1996) และ *Paulownia tomentosa* (Tang *et al.*, 2010)

จากการสังเกตลักษณะใบพบว่าใบของต้นมิโกโซพลอยด์ และเตตราพลอยด์มีความหนา มากกว่าต้นดิพลอยด์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Smith และคณะ (2004) ซึ่งทำการชักนำให้เกิดต้นออโตเตตราพลอยด์ในขิง (*Zingiberaceae officinale*) พบว่า ขิงที่มีลักษณะเป็นออโตเตตราพลอยด์มีใบหนาสีเขียวเข้ม ใบและหัวมีขนาดใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์ เนื่องจากเซลล์ของต้นโพลีพลอยด์มีขนาดใหญ่ขึ้น ดังนั้นเมื่อสังเกตที่ใบจะพบใบหนาและมีสีเขียวเข้มขึ้น เซลล์ปากใบมีขนาดใหญ่ขึ้น แต่จำนวนปากใบต่อหน่วยพื้นที่ลดลง และละอองเกสรมักมีขนาดใหญ่ขึ้นด้วย

ส่วนเมื่อเปรียบเทียบขนาดช่อดอกของปทุมมาลูกผสมดิพลอยด์ มิกโซพลอย และเตตราพลอยด์ พบว่า ความยาวช่อดอกและความกว้างช่อดอกของต้นเตตราพลอยด์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นดิพลอยด์และต้นมิกโซพลอยด์ โดยต้นเตตราพลอยด์มีความยาวช่อดอกและความกว้างช่อดอกเฉลี่ยเป็น 4.78 และ 4.02 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจำนวนชั้นกลีบประดับและความยาวก้านช่อดอก พบว่า ต้นเตตราพลอยด์มีจำนวนชั้นกลีบประดับและความยาวก้านช่อดอกเฉลี่ยน้อยที่สุด และเมื่อพิจารณาจำนวนวันออกดอก พบว่า ต้นเตตราพลอยด์ซึ่งมีการเจริญเติบโตช้าทำให้มีจำนวนวันออกดอกมากกว่าต้นดิพลอยด์ และมิกโซพลอยด์ โดยมีจำนวนวันออกดอกเป็น 111 วัน ซึ่งมากกว่าต้นดิพลอยด์ถึง 20 วัน เนื่องจากต้นโพลีพลอยด์ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตช้า ทำให้มีอัตราแบ่งเซลล์ช้ากว่าปกติ จึงมีผลทำให้ต้นโพลีพลอยด์ดังกล่าวออกดอกช้ากว่าต้นดิพลอยด์ นอกจากนี้ในพืชหลายชนิดอาจมีจำนวนกึ่งก้านน้อยกว่าพืชดิพลอยด์ด้วย และลักษณะกลีบดอกของต้นมิกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์มีลักษณะหนากว่าต้นดิพลอยด์ แต่มีขนาดความกว้างและความยาวดอกเล็กกว่าต้นดิพลอยด์ จากการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาและความสมบูรณ์พันธุ์ของปทุมมาลูกผสม (*C. alismatifolia* × *C. rhabdota*) โดยมะลิวรรณ (2551) พบว่าความยาวช่อดอก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านช่อดอก และขนาดดอกของต้นเตตราพลอยด์มีค่ามากกว่าต้นดิพลอยด์ โดยดอกของต้นเตตราพลอยด์ใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์ 16 เปอร์เซ็นต์ และมีกลีบดอกหนามากกว่า ทำให้ระยะเวลาการบานของดอกนานกว่าของต้นดิพลอยด์ 6-7 วัน ต้นเตตราพลอยด์มีอับเรณูใหญ่กว่าและมีละอองเรณูใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์ 22 เปอร์เซ็นต์ และยังพบลักษณะเช่นเดียวกันนี้ในต้นเจอราเนียม (*Pelargonium x hortorum* Bailey) (Cramer, 1999) และกล้วยไม้หวายซึ่งผ่านการชักนำให้เกิดต้นเตตราพลอยด์ขึ้น โดยต้นดังกล่าวดอกมีขนาดใหญ่ขึ้น กลีบดอกหนาขึ้น ก้านมีลักษณะตั้งตรงและมีขนาดใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์ ทำให้มีอายุการบานของดอกนานขึ้น (สาริณี, 2538)

เมื่อทำการวัดขนาดของปากใบพบว่า ต้นเตตราพลอยด์และต้นมิกโซพลอยด์มีขนาดปากใบใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยต้นดิพลอยด์มีขนาดปากใบเฉลี่ย 54.82 ไมโครเมตร ส่วนต้นมิกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์มีขนาดปากใบใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์ถึง 7.22 และ 17.42 ไมโครเมตร ตามลำดับ และภายหลังจากการนับจำนวนปากใบต่อพื้นที่พบว่าต้นเตตราพลอยด์และมิกโซพลอยด์มีจำนวนปากใบต่อพื้นที่แตกต่างกับต้นดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญ โดยต้นเตตราพลอยด์มีจำนวนปากใบต่อพื้นที่น้อยกว่าต้นดิพลอย 1 เท่า แสดงให้เห็นว่าต้นที่มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซมนั้น มีขนาดปากใบใหญ่ขึ้นแต่มีจำนวนปากใบต่อพื้นที่น้อยลงซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Kaensaksiri และคณะ (2011) ซึ่งทำการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในต้น *Centella asiatica* L. โดยพบว่า ต้นเตตราพลอยด์มีความยาวปากใบและค่า stomatal index

มากกว่าต้นดิพลอยด์ โดยพบผลการทดลองเช่นเดียวกันนี้ใน *C. asiatica* (Chulalaksananukul and Chimnoi, 1999), *Bixa orellana* (Carvalho et al., 2005), *Chrysanthemum cinerariifolium* (Liu and Gao, 2007), *Brachiaria ruziziensis* (Ishigaki et al., 2009), *Lagerstroemia indica* (Zhang et al., 2010) และ *Salvia coccinea* (Kobayashi et al., 2008) และพบการรายงานถึงจำนวนปากใบต่อพื้นที่ของต้นเตตราพลอยด์ซึ่งมีจำนวนน้อยกว่าดิพลอยด์เช่นเดียวกันนี้ในต้น *Stevia* (De Oliveira et al., 2004) ซึ่งรายงานว่าต้น *Stevia* ที่เป็นโพลีพลอยด์จะมีจำนวนปากใบต่อพื้นที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับต้นดิพลอยด์

เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตและเปอร์เซ็นต์การงอกของละอองเรณูระหว่างต้นดิพลอยด์ มิกโซพลอยด์ และเตตราพลอยด์ พบว่า เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตและเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเรณูของต้นมิกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์มีความแตกต่างทางสถิติกับต้นดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญ โดยต้นมิกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูสูงกว่าต้นดิพลอยด์ถึง 10 เท่า โดยหลังจากการย้อมสี Aceto-carmine 1 เปอร์เซ็นต์ ให้กับละอองเรณูต้นดิพลอยด์เพื่อดูความมีชีวิตของละอองเรณูพบว่า ละอองเรณูส่วนใหญ่ย้อมไม่ติดสี หรือติดสีไม่สม่ำเสมอ รวมทั้งมีรูปร่างลักษณะผิดปกติ แสดงให้เห็นว่าละอองเกสรเหล่านี้เป็นละอองเกสรที่ไม่มีชีวิต แต่เมื่อทำการย้อมสีดังกล่าวให้กับละอองเรณูต้นมิกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์ พบว่าละอองเรณูส่วนใหญ่ติดสีแดงเข้มสม่ำเสมอ และเมื่อทำการทดสอบความงอกโดยการเพาะเลี้ยงละอองเรณูในอาหารสังเคราะห์สูตร Taylor's ที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่พบการงอกของละอองเรณูที่ได้จากต้นดิพลอยด์ แม้เวลาจะผ่านไปถึง 7 ชั่วโมงก็ตาม ส่วนละอองเรณูที่ได้จากต้นมิกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์นั้นมีการงอกของละอองเรณูที่สังเกตได้ชัดเจนเมื่อเวลาผ่านไป 3 ชั่วโมง และเมื่อคิดเปอร์เซ็นต์ความงอกของหลอดละอองเรณูจากต้นดังกล่าว พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยสูงถึง 58 และ 62.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของเฉลิมศรี และคณะ (2552) ซึ่งทำการทดสอบความงอกของละอองเรณูปทุมมา 3 สายพันธุ์ และพบว่าละอองเรณูที่มีชีวิตจากปทุมมาทั้ง 3 สายพันธุ์นั้นสามารถงอกได้ดีในอาหารเพาะเลี้ยงละอองเรณูที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์ และพบการงอกของละอองเรณูในอาหารที่มีการเติมน้ำตาลความเข้มข้นลักษณะเดียวกันนี้ในปทุมมาลูกผสม (*C. alismatifolia* x *C. rhabdota*) (มะลิวรรณ, 2551)

และภายหลังจากการเปรียบเทียบลักษณะของหัวพันธุ์ปทุมมาลูกผสมดิพลอยด์ มิกโซพลอยด์ และเตตราพลอยด์ พบว่า หัวพันธุ์ของต้นมิกโซพลอยด์และเตตราพลอยด์มีขนาดหัวพันธุ์ใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยน้ำหนักหัวเฉลี่ยต่อต้นของต้นเตตราพลอยด์มีน้ำหนักเฉลี่ย 2.56 กรัม ส่วนต้นดิพลอยด์มีน้ำหนักหัวเฉลี่ยต่อต้น 1.88 กรัม ทั้งนี้หัวพันธุ์ที่ได้จาก

ต้นเตตราพลอยด์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางหัวพันธุ์และจำนวนรากสะสมอาหารมากกว่าหัวพันธุ์จากต้นดิพลอยด์ ในขณะที่จำนวนหัวต่อต้นของต้นดิพลอยด์และมิโกโซพลอยด์มีจำนวนใกล้เคียงกันเมื่อนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของมะลิวรรณ (2551) ที่พบว่าต้นเตตราพลอยด์ของปทุมมาลูกผสม (*C. alismatifolia* x *C. rhabdota*) จากต้นอายุ 2 และ 3 ปีมีขนาดและน้ำหนักของหัวพันธุ์มากกว่าต้นดิพลอยด์ และยังมีรากสะสมอาหารขนาดใหญ่ที่มีลักษณะอ้วนและสั้นกว่าต้นดิพลอยด์อีกด้วย และยังพบลักษณะหัวพันธุ์ที่มีขนาดใหญ่ มีน้ำหนักหัวพันธุ์มาก มีรากและตุ่มสะสมอาหารขนาดใหญ่ดังกล่าวในจึง (Ramachandran, 1982) และ *Alstroemeria* (Lu and Bridgen, 1997)

สรุป

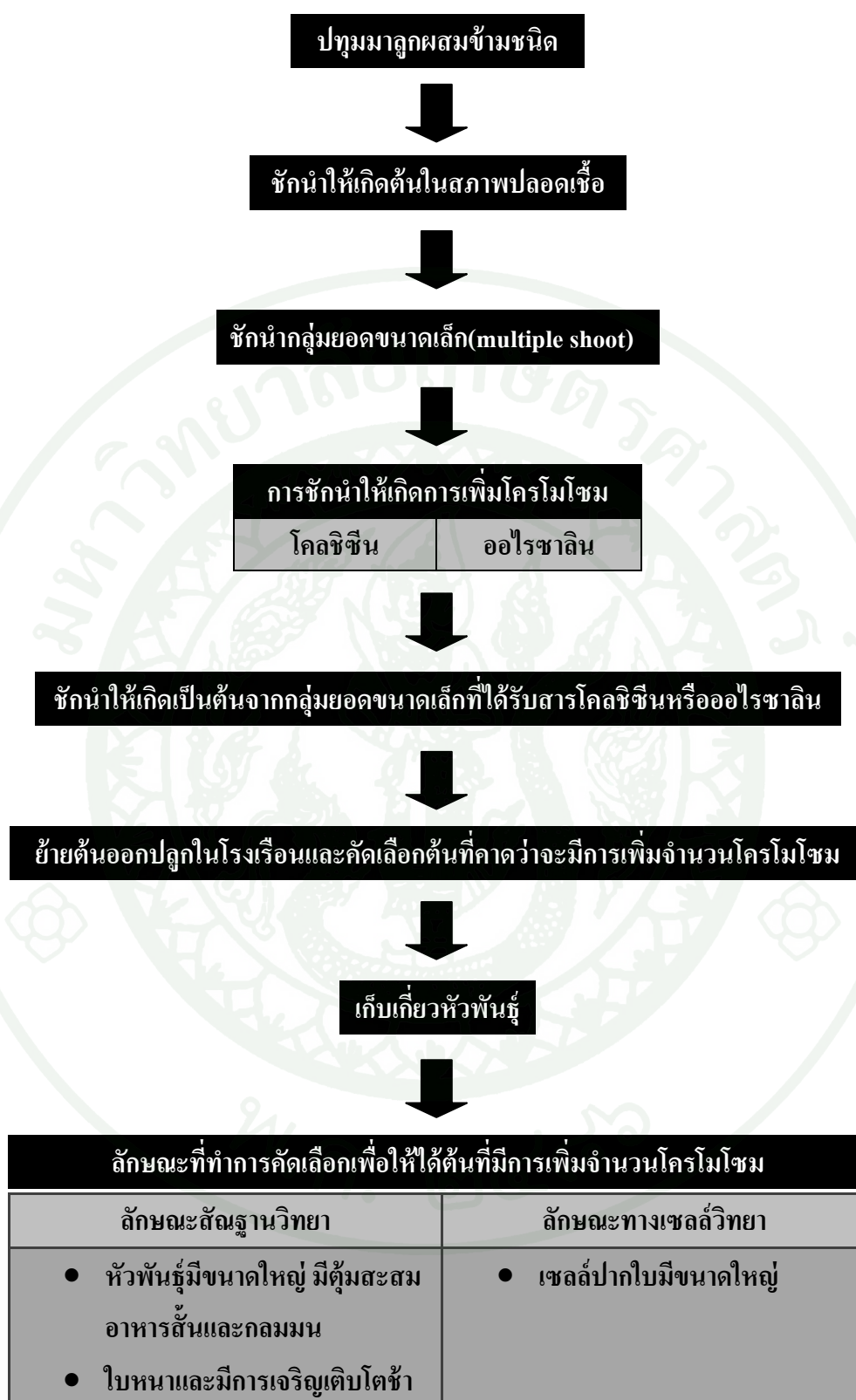
การชักนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซมหรือการชักนำให้เกิดต้นโพลีพลอยด์ เพื่อแก้ลักษณะความเป็นหมันในปทุมมาลูกผสมระหว่างปทุมรัตน์และเทพรำลึก (*Curcuma sparganifolia* x *C. parviflora*) โดยการชักนำให้เกิดยอดขนาดเล็กในสภาพปลอดเชื้อ จากนั้นนำไปแช่ในสารละลายโคลชิซินหรือออไรซาลิน ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 0 48 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นของสารละลายและระยะเวลาที่ได้รับสารมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปทุมมาลูกผสม โดยเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายและระยะเวลาที่ได้รับสารเพิ่มสูงขึ้น และเมื่อศึกษาผลของสารทั้งสองชนิดต่อการเจริญเติบโต พบว่า การเจริญเติบโตของต้นที่ได้รับสารโคลชิซินหรือออไรซาลินความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสารเพิ่มสูงขึ้นการเจริญเติบโตทางลำต้นมีแนวโน้มช้ากว่าต้นที่ไม่ได้รับสารทั้งสองชนิด

เมื่อทำการคัดเลือกต้นที่สันนิษฐานว่าเป็นต้นโพลีพลอยด์จากการสังเกต โดยคัดเลือกต้นที่มีการเจริญเติบโตช้า มีลักษณะใบหนา และหัวพันธุ์มีลักษณะแตกต่างจากหัวพันธุ์ปกติ โดยหัวพันธุ์มีขนาดใหญ่ มีตุ่มสะสมอาหารสั้นและมีลักษณะกลมมนแตกต่างจากหัวพันธุ์จากชุดที่ไม่ได้รับสารอย่างชัดเจน เมื่อตรวจสอบจำนวนโครโมโซมโดยเครื่อง Flow cytometry พบว่า ต้นที่ได้รับสารโคลชิซินเท่านั้นที่มีการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม โดยตรวจพบต้นมิกโซพลอยด์ ทั้งหมด 5 ต้น จากปทุมมาลูกผสมที่ได้รับสารทั้งสองชนิดรวม 6,060 ต้น ภายหลังจากการย้อมสี Acetocarmine 1 เปอร์เซ็นต์ กับละอองเรณูจากต้นมิกโซพลอยด์ทั้ง 5 ต้น พบว่า ต้นมิกโซพลอยด์ทั้งหมดมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูสูงถึง 77-90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นปกติซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูเพียง 7 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากการผสมตัวเองและผสมกลับไปยังปทุมรัตน์และเทพรำลึกของต้นมิกโซพลอยด์พบว่า ได้ต้นเตตราพลอยด์จากการผสมตัวเอง 2 ต้น และได้ต้นทริพลอยด์ 1 ต้น จากการผสมต้นมิกโซพลอยด์กับเทพรำลึก

สารโคลชิซินหรือออไรซาลินนอกจากมีผลในการชักนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซมแล้ว สารทั้งสองชนิดยังมีส่วนก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะของฐานวิทยาของต้นขึ้น เช่น เกิดการเปลี่ยนแปลงของลักษณะกลีบประดับ พบใบที่มีลักษณะหนาขึ้น และเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีดอกทั้งเข้มขึ้น อ่อนลง และเปลี่ยนเป็นสีขาว แต่ภายหลังจากการเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ และปลูกทดสอบหัวพันธุ์จากต้นที่มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะต่างๆ ดังกล่าวพบว่ามีเพียงต้นที่ดอกเปลี่ยนเป็นสีขาวเท่านั้นที่ยังคงลักษณะการกลายไว้ได้

เมื่อเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นดิพลอยด์ มิกโซพลอยด์ และต้นเตตราพลอยด์ พบว่า ต้นดิพลอยด์และต้นมิกโซพลอยด์มีการเจริญทางลำต้น เช่น ความสูง ต้น ความยาวและความกว้างใบ ความยาวและความกว้างช่อดอก และจำนวนชั้นกลีบประดับ ใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบกับต้นเตตราพลอยด์ แต่ต้นเตตราพลอยด์มีความสูงต้น ความยาวและความกว้างใบ จำนวนวันออกดอก ความยาวและความกว้างช่อดอก ความยาวก้านช่อดอก จำนวนชั้นกลีบประดับ และความยาวดอกน้อยกว่าต้นดิพลอยด์และมิกโซพลอยด์ เมื่อทำการวัดขนาดของปากใบรวมถึงนับจำนวนปากใบต่อพื้นที่ พบว่าต้นเตตราพลอยด์มีขนาดของปากใบใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์และมิกโซพลอยด์ และมีจำนวนปากใบต่อพื้นที่น้อยที่สุด เมื่อทำการย้อมสี Aceto-carmin 1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเรณูและนำละอองเรณูไปทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ เพื่อตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเรณู พบว่า ต้นมิกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูสูงถึง 75 และ 87 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์ความงอกของละอองเรณู 58 และ 62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนต้นดิพลอยด์มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูเพียง 7 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำละอองเรณูไปทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ไม่พบการงอกของหลอดละอองเรณู และหลังการเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ พบว่า ต้นมิกโซพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์มีลักษณะของหัวพันธุ์คล้ายกันคือหัวพันธุ์มีขนาดใหญ่ มีตุ่มสะสมอาหารสั้นและมีลักษณะกลมมน แตกต่างจากต้นดิพลอยด์ที่มีตุ่มสะสมอาหารยาวรีอย่างชัดเจน

การใช้สารเคมี เช่น โคลชิซินหรือออโรซาลินในการแก้ลักษณะความเป็นหมันของปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดโดยการเพิ่มจำนวนโครโมโซมนั้นสารเคมีดังกล่าวสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดต้นที่มีการเพิ่มขึ้นของโครโมโซมหรือต้นมิกโซพลอยด์ขึ้นได้ โดยต้นมิกโซพลอยด์ดังกล่าวมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูเพิ่มสูงขึ้น ทำให้สามารถนำไปใช้ผสมพันธุ์ต่อไปได้ แนวทางในการแก้ปัญหาดังกล่าวจึงเป็นความหวังในการนำปทุมมาลูกผสมข้ามชนิดมาใช้เพื่อเพิ่มฐานพันธุกรรมในการสร้างปทุมมาลูกผสมต่อไปในอนาคต



ภาพที่ 32 แผนผังสรุปวิธีสร้างและการคัดเลือกพืชโพลีพลอยด์

ข้อเสนอแนะ

การใช้สารเคมีชักนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซมนั้น ส่วนใหญ่สารที่ใช้มักเป็นสารก่อมะเร็ง ดังนั้นการหาวิธีในการใช้ การใช้สารชนิดอื่นซึ่งเป็นอันตรายน้อยกว่า หรือการใช้สารชนิดนี้แต่อยู่ในรูปที่ไม่ก่อให้เกิดอันตราย เช่น การใช้โคลชิซินเม็ด ซึ่งเป็นยารักษาโรคเกาต์เข้ามาแทนการใช้โคลชิซินสัปดาห์ละครั้ง จะก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ทำการทดลองน้อยกว่าการใช้สารเคมีบริสุทธิ์

อีกทั้งส่วนของเนื้อเยื่อ หรือจุดเจริญ ที่ใช้ในการชักนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของโครโมโซมก็มีความสำคัญอย่างยิ่ง โดยถ้าทำการเลือกส่วนของเนื้อเยื่อหรือจุดเจริญที่สารสามารถซึมผ่านเข้าไปทำปฏิกิริยาได้ดี จะเป็นการเพิ่มโอกาสการเกิดต้นที่เป็นโพลีพลอยด์ให้สูงขึ้น เช่น การเลือกใช้เซลล์ somatic embryo ซึ่งเป็นเซลล์เดี่ยวที่พัฒนาไปเป็นต้นได้เลย ก็เป็นแนวทางหนึ่งที่จะเพิ่มโอกาสการเกิดต้นโพลีพลอยด์ดังกล่าวขึ้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

โกวิทย์ พัฒนาปัญญาสัจย์. 2539. **โพลีไซโทเมทรี**. วังตะวัน. กรุงเทพมหานคร.

จิรวัดณ์ บัวเฟื่อน ฉันทนา สุวรรณธาดา พิมพะใจ อาภาวัชรุตม์ และพิศิษฐ์ วรอุไร. 2539.

การพัฒนาดอกของปทุมมา, น. 78-85. ใน รายงานการประชุมวิชาการไม้ดอกไม้ประดับแห่งชาติ ครั้งที่ 2. กองโครงการและประสานงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี, หยกทิพย์ สุดารีย์, ธัญญะ เตชะสีลพิทักษ์, เฉลิมมาลัย วงชาวจันทร์ และ ธารธร ทิรมลจิตติ. 2552. การศึกษาการผสมเกสรของพืชในสกุลขมิ้นที่ผสมในชนิดเดียวกันและต่างชนิดกัน. **บทคัดย่อ PE-39 การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 8**. ณ โรงแรมดิเอ็มเพลส : เชียงใหม่.

ดวงจันทร์ เกษบุตร. 2549. การเพิ่มจำนวนยอดและการชักนำให้เกิดการเพิ่มชุดโครโมโซมในปทุมมาลูกผสม(*Curcuma alismatifolia* x *C. rhabdota*) โดยโคลชิซินในสภาพหลอดแก้ว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

ทิวา รักนิม. 2533. ผลของ Colchicine ที่มีต่อการกลายพันธุ์ของแกลดิโอลัสที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นพพร คล้ายพงษ์พันธุ์. 2546. **เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืช**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เบญจมาศ ศิลาชัย. 2545. **โพลีพลอยดี**. สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) สาขาชีววิทยา. แหล่งที่มา:
http://kroo.ipst.ac.th/biology/main.php?url=article_view&article_id=9,
12 เมษายน, 2553.

ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. 2541. **พันธุศาสตร์**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ประภา ศรีพิจิตต์. 2543. เอกสารคำสอนวิชาเซลล์พันธุศาสตร์ที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช.

ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____. 2550. เซลล์พันธุศาสตร์ที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช (Cytogenetics in Plant Breeding). เอกสารคำสอนวิชาเซลล์พันธุศาสตร์ที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช.

ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ปิยะดา ดันติสวัสดิ์ และ อรดี สหวัชรินทร์. 2532. การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้วิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับสารโคลชิซิน, น. 102 ใน การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 27, 30 มกราคม-1 กุมภาพันธ์ 2532. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พิมพ์ใจ อาภาวัชรุทธิ์ ถกฉรรณ ศรีสวัสดิ์ และ จันทนา สุวรรณธาดา. 2539. การศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชกลุ่มกระเจียวไทย 17 ชนิด. น.86-93 ใน รายงานการประชุมวิชาการไม้ดอกไม้ประดับแห่งชาติ ครั้งที่ 2. สำนักคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

มะลิวรรณ จุฑา. 2551. การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาและความสมบูรณ์พันธุ์ของปทุมมาลูกผสม(*Curcuma alismatifolia* x *C. rhabdota*) ดิพลอยด์และเทตระพลอยด์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

วิบูลย์ ธีระโสภณ. 2536. ผลของโคลชิซินต่อปทุมมาที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วีรภัทร ทิพย์วารี. 2552. ผลของโคลชิซินต่อการเติบโตและชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ของเอื้องดินใบหมาก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วัชรินทร์ รัตนพันธ์. 2544. การเพิ่มจำนวนโครโมโซมของขมิ้นชันและขมิ้นอ้อยด้วยโคลชิซินในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สาริณี ไชยเจริญ. 2538. การศึกษาจำนวนโครโมโซม ลักษณะดอก และความสมบูรณ์ในการสืบพันธุ์ของกล้วยไม้ *Dendrobium superbiens* ดิพลอยด์ และออลโลเตตราพลอยด์. วิทยาศาสตร์เกษตร. 29: 150-157.

สิรินุช ตามศรีจันทร์. 2536. การกลายพันธุ์ของพืช. ห้างหุ้นส่วนจำกัดฟีนีฟับบลิซซิ่ง, กรุงเทพฯ.

_____. 2540. การกลายพันธุ์ของพืช. ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุรชาติ คูอาริยะกุล. 2539. เอกสารประกอบคำบรรยาย การสัมมนาทางวิชาการเรื่อง “ผลกระทบของโรคหัวเน่าของปทุมมาต่อการผลิตและการส่งออก” ศูนย์วิจัยพืชสวน เชียงราย สถาบันวิจัยพืชสวน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, เชียงราย.

หยกทิพย์ สุตารีย์. 2550. การศึกษาการผสมเกสร การติดเมล็ด และการงอกของเมล็ดพืชในกลุ่มขมิ้น (*Curcuma*) ที่ผสมภายในชนิดเดียวกันและต่างชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

อรรวรรณ วิชัยลักษณ์. 2548. เอกสารวิชาการเรื่องปทุมมา. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด, กรุงเทพฯ.

อมรา คัมภีรานนท์. 2536. พันธุศาสตร์ของเซลล์. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____. 2540. พันธุศาสตร์ของเซลล์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____. 2546. พันธุศาสตร์ของเซลล์. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อดิศร กระแสชัย. 2539. การปรับปรุงพันธุ์ไม้ดอกโดยวิธีการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์. เอกสารประกอบการสอนวิชาการปรับปรุงพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์. 2530. **วิธีการปรับปรุงพันธุ์โดยการกลายพันธุ์**. เอกสารการสอนการใช้รังสีและไอโซโทป. ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เอกรินทร์ สายฟ้า. 2525. **พฤกษเคมี เล่มที่ 2 อัลคาลอยด์ (ตอน 1)**. ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

Addink, W. 2007. **Colchicine : used in plant breeding work to induced mutation (polyploidy).**

Available Source: <http://www.geocities.com/RainForest/Vines/2259/colchicines.htm>, November 6, 2010.

Allum, J.F., D.H. Bringle and A.V.Roberts. 2007. Chromosome doubling in a *Rosa rugosa* Thunb. Hybrid by exposure of *in vitro* nodes to oryzalin: the effects of node length, oryzalin concentration and exposure time. **Plant Cell Rep** 26,1977-1984.

Bajaj, Y.P.S. 1979. Technology and prospects of cryopreservation of germ plasm. **Euphytica** 28: 267-285.

Barandalla, L., E. Ritter and J.I.R.D. Galarreta. 2006. Oryzalin Treatment of Potato Diploids Yields Tetraploid and Chimeric Plants from which Euploids could be Derived by Callus Induction. **Potato Research** 49, 143-154.

Blakesley, D., A. Allen, T.K. Pellny and A.V.Roberts. 2002. Natural and induced polyploidy in *Acacia dealbata* Link. and *Acacia mangium* Willd. **Annals of Botany** 90, 391-398.

Carvalho, J.F.R.P., C.R. Carvalho and W.C. Otoni. 2005. *In vitro* induction of polyploidy in annatto(*Bixa orellana*). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 80, 69-75.

Chandrasekharan, S. N., Parthasarathy, S. V., Krishnawamy, N. and N. Hirohashi. 1975. **Cytogenetics and Plant Breeding**. Madras: P. Varadachary & Co.

- Chauvin, J.E., C. Souchet, J.P. Dantec and D. Ellissèche. 2003. Chromosome doubling of 2x *solanum* species by oryzalin: method development and comparison with spontaneous chromosome doubling *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 73, 65-73.
- Chen, C.H. and V.C. Coeden-Kallemeyn. 1979. *In vitro* induction of tetraploid plant from colchicines-treated diploid daylily callus. **Euphytica** 28: 705-709.
- Chen, L.L. and S.L. Gao. 2007. *In vitro* tetraploid induction and generation of tetraploids from mixoploids in *Astragalus membranaceus*. **Scientia Horticulturae** 112, 339-344.
- Chulalaksananukul, W. and W. Chimnoi. 1999. Polyploid Induction in *Centella asiatica* (L.) Urban by Colchicine Treatment. **J. Sci. Res. Chula. Univ.** 24: 56-65.
- Cook, J.W. and L.D. Loudon. 1952. Colchicine. **The Alkaloid Chemistry and Physiology**. 2:261-329.
- Cox, C. 2011. **Herbicide Factsheet “Oryzalin”**. Jornal of Pesticide Reform/Winter 21.
- De Oliveira, V.M., E.R. Forni-Martins, P.M. Magalhães and M.N. Alves. 2004. Chromosomal and morphological studies of diploid and polyploid cytotypes of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (Eupatorieae, Asteraceae). **Genetics and Molecular Biology**, 27 (2): 215-222.
- Dermen, H. 1940. Colchicine polyploidy and technique. **The Bot. Rev.** 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.
- Elliott, F.C. 1958. **Plant Breeding and Cytogenetic**. McGraw-Hill, Inc, New York.

- Escandón, A.S., L.M. Alderete and J.C. Hagiwara. 2007. *In vitro* polyploidization of *Mecardonia tenella*, a native plant from South America. **Scientia Horticulturae** 115, 56-61.
- Esnard, J., F. Ferwarda, E.R. Amador and P.R. Hepperly. 1994. Induction of tetraploid in the tanier culture “Inglesa”(Xanthosoma sagittifolium(L.) Schott.). **Plant Breeding** (Germany) 111(4):335-338.
- Gao, S.L., D.N.Zhu, Z.H.Cai and D.R.Xu. 1997. Autotetraploid plants from colchicine-treated bud culture of *Salvia miltiorrhiza* Bge. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 47(1):73-77.
- Griesbach, R.J. 1987. Selected topics on induced chromosome changes in tissue culture cells. **Hort Science** 22, 1204-1026.
- Harten, V.A.M. 1998. **Mutation Breeding : Theory and Practical Applications**. Cambridge University Press, United Kingdom. 353 p.
- Ishigaki, G. T. Gondo, K. Suenaga and R. Akashi. 2009. Induction of tetraploid ruzigrass (*Brachiaria ruziziensis*) plants by colchicine treatment of *in vitro* multiple-shoot clumps and seedlings. **Grassland Science**. 55: 164-170.
- Kaensaksiri T., P. Soontornchainaksaeng, N. Soonthornchareonnon and S. Prathanurug. 2011. *In vitro* induction of polyploidy in *Centella asiatica* (L.) Urban. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 107: 187-194.
- Karen, P.,P.Hagberg and K.Kristiansen. 2003. Colchicine and oryzalin mediated chromosome doubling in different genotypes of *Miscanthus sinensis*. **Plantcell, Tissue and Organ Culture** 73(2):137-146.

- Hassawi, D.S. and G.H. Liang. 1991. Antimitotic agents: Effect of double haploid production in wheat. **Crop Sci.** 31:723-726.
- Kermani, M.J., V. Sarasan, A.V. Roberts, K. Yokoya, J. Wentworth and V.K. Sieber. 2003. Oryzalin-induced chromosome doubling in *Rosa* and its effect on plant morphology and pollen viability. **Theor Appl Genet** 107, 1195-1200.
- Kitajima, M., A. Tanaka, N. Kogure and H. Takayama. 2008. Four new colchicinoids, gloriosamines A-D, from *Gloriosa rothschildiana*. **Tetrahedron Letters** 49, 257-260.
- Lindsay, G.C., M.E. Hopping and I.E.W. O'Brien. 1994. Detection of protoplast-derived DNA tetraploid *Lisianthus* (*Eustoma grandiflorum*) plants by leaf and flower characteristics and by flow cytometry. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 38(1):53-55.
- Liu, Z. and S. Gao. 2007. Micropropagation and induction of autotetraploid plants of *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Vis. **In Vitro Cellular & Developmental Biology** 43: 404-408.
- Lu, C.Y. and M.P. Bridgen. 1997. Chromosome numbers and genome size variation in Indian species of *Curcuma* (Zingiberaceae). **Annal of botany.** 100: 505-526.
- Miguel, T.P. and K.W. Leonhardt. 2011. *In vitro* polyploid induction of orchids using oryzalin. **Scientia Horticulturae** 130, 314-319.
- Morejohn, L.C., T.E. Bureau, J. Mole-Bajer, A. Bajer and D.E. Fosket. 1987. Oryzalin, a dinitroaniline herbicide, binds to plant tubulin and inhibits microtubule polymerization. **Planta.** 172:141-147.

- Nonaka, T., E. Oka, M. Asano, S. Kuwayama, H. Tasaki, D.S. Han, T. Godo and M. Nakano. 2011. Chromosome doubling of *Lychnis* spp. by *in vitro* spindle toxin treatment of nodal segments. **Scientia Horticulturae** 129 : 832-839.
- Ochatt, S. J. 2008. **Flow cytometry in plant breeding**. Cytometry A 73:581-598.
- Peterson, D. E., C. R. Thompson, D. E. Shoup and B. L. Olson. 2010. **Herbicide Mode of Action**. Kansas State University.
- Ping, S., W. K. and E.B. Peffley.1997. Chromosome doubling of *Allium fistulosum* × *A. cepa* interspecific F₁ hybrids through colchicine treatment of regenerating callus. **Euphytica** 93(3):257-262.
- Ramachandran, K. 1982. Polyploidy induced in ginger by colchicines treatment. **Current Science**. 51(6): 288-289.
- Ross, M.A. and D.J. Childs. 1996. **Herbicide mode of action summary**.
Available Source: <http://www.ces.purdue.edu/extmedia/ws/ws-23-w.html>, March 1, 2012.
- Rubuluza, T., R.V. Nikolova, M.T. Smith, and K. Hannweg. 2007. *In vitro* induction of tetraploids in *Colophospermum mopane* by colchicines. **South African Journal of Botany** 73, 259-261.
- Shao, J., C. Chen and X.Deng. 2003. *In vitro* induction of tetraploid in pomegranate (*Punica granatum*). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 75, 241-246.
- Silva, S., C. Jacques and M. H. Zanettini. 2000. Induction and identification of polyploids in *Cattleya intermedia* Lindl. (Orchidaceae) by *in vitro* techniques. **Ciencia Rural, Santa Maria**. 30(1): 105-111.

- Smith, M.K., S.D. Hamill, B.J. Gogel and A.A. Severn-Ellis. 2004. **Ginger (*Zingiber officinale*) autotetraploids with improved processing quality produced by an *in vitro* colchicine treatment.** *Australian Journal of Experimental Agriculture* 44(10) 1065–1072.
- Stanys, V., G. Staniene and T. Šikšnianas. 2004. *In vitro* induction of polyploidy in *Ribes*. **Acta Universitatis Latviensis, Biology** vol 676, 235-237.
- Takamura, T. and I. Miyajima. 1996. Colchicine induced tetraploids in yellow-flowered cyclamens and their characteristics. **Scientia Horticulturae** 65, 305-312.
- Tang, Z.-Q., D.-L. Chen, Z.-J. Song, Y.-C. He and D.-T. Cai. 2010. *In vitro* induction and identification of tetraploid plants of *Paulownia tomentosa*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. 102, 213-220.
- Thao, N.T.P., K. Ureshino, I. Miyajima, Y. Ozaki and H. Okubo. 2003. Induction of tetraploids in ornamental *Alocasia* through colchicines and oryzalin treatments. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 72, 19-25.
- Van Tuyl, J. M., B. Meijer and M. P. Van Dien. 1992. The use of oryzalin as an alternative for colchicine in *in vitro* chromosome doubling of *Lilium* and *Nerine*. **Acta Horticulturae**. 325: 625-630.
- Wu, H., S. Zheng, Y. He, G. Yan, Y. Bi and Y. Zhu. 2007. Diploid female gametes induced by colchicines in Oriental lilies. **Scientia Horticulturae** 114, 50-53.
- Wu, J. and Mooney, P., 2002. Autotetraploid tangor plant regeneration from *in vitro* *Citrus* somatic embryogenic callus treated with colchicines. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 70, 99-104.

Ye, Y.M., Tong, J., Shi, X.P., Yuan, W. and G.R. Li. 2010. Morphological and cytological studies of diploid and colchicine-induced tetraploid lines of crape myrtle (*Lagerstroemia indica* L.). **Scientia Horticulturae**. 124: 95–101.





สูตรอาหาร Murashige and Skoog (1962)

สารประกอบ	สูตรเคมี	หน่วย(มิลลิกรัมต่อลิตร)
Ammonium nitrate	NH_4NO_3	1,650
Potassium nitrate	KNO_3	1,900
Calcium chloride	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
Magnesium sulfate	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
Potassium dihydrogen – phosphate	KH_2PO_4	170
Boric acid	H_3BO_3	6.2
Manganese sulfate	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	6.9
Zinc sulfate	$\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	6.14
Potassium iodide	KI	0.83
Sodium molybdate	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
Copper sulfate	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
Cobalt chloride	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
EDTA Disodium Salt	Na_2EDTA	37.25
Iron sulfate	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.85
Glycine	$\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$	2.0
Nicotinic acid (vitamin B ₃)	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$	0.5
Pyridoxine-HCl (vitamin B ₆)	$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_3$	0.5
Thiamine-HCl (vitamin B ₁)	$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{OS}$	0.1
Sucrose	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	30,000
Kelcogel®		2,500
pH		5.7-5.8

ตารางผนวกที่ 1 จำนวนยอดต่อกระถางและความสูงของปทุมมาลูกผสม (*C. sparganifolia* × *C. parviflora*) ที่ได้รับสาร โคลชิซินและออไรซาลินปริมาณ และระยะเวลา แตกต่างกัน หลังจากการย้ายปลูก 90 วัน

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลา	จำนวนยอดต่อกระถาง (ยอด)	ความสูง (เซนติเมตร)
	Control		1.40±0.55 bcd ^{1/}	28.86±1.85 a
Colchicine	1	48	1.20±0.45 cd	28.24±1.97ab
		72	1.40±0.55 bcd	27.38±3.10 abcd
		96	1.20±0.45 cd	27.44±1.65 abcd
	3	48	1.00±0.00 d	27.58±1.49 abc
		72	1.40±0.55 bcd	25.76±2.03bcde
		96	1.20±0.45 cd	25.70±2.64 bcde
	5	48	1.00±0.00 d	27.40±1.98 abcd
		72	1.20±0.45 cd	26.64±0.85 abcde
		96	1.20±0.45 cd	23.64±1.27 e
Oryzalin	1	48	1.20±0.45 cd	25.04±2.31 cde
		72	1.40±0.55 bcd	25.30±3.19 bcde
		96	1.80±0.84 bcd	18.70±1.01 fg
	3	48	2.00±0.71 bc	20.92±2.27 f
		72	2.20±0.84 b	24.44±2.15 de
		96	3.40±0.55 a	19.24±1.45 fg
	5	48	2.00±1.00 bc	24.46±1.51 de
		72	3.00±0.71 a	20.20±3.51 fg
		96	3.40±1.14 a	17.48±1.02 g
F-test			**	**

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางผนวกที่ 2 จำนวนใบ ความยาวใบและความกว้างใบของปทุมมาลูกผสม (*C. sparganifolia* × *C. parviflora*) ที่ได้รับสาร โคลชิซินและออไรซาลินปริมาณ และระยะเวลา แตกต่างกันหลังจากการย้ายปลูก 90 วัน

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลา	ความยาวใบ (เซนติเมตร)	ความกว้างใบ (เซนติเมตร)
	Control		23.80±1.20 a ^{1/}	4.02±0.34 a
Colchicine	1	48	23.84±1.07 a	3.98±0.33 ab
		72	24.34±1.45 a	3.84±0.23 abc
		96	23.86±1.84 a	3.80±0.29 abcd
	3	48	22.82±2.68 a	3.94±0.26 abc
		72	23.30±2.56 a	3.54±0.23 bcde
		96	22.40±1.60 a	3.86±0.42 abc
	5	48	23.60±1.24 a	3.94±0.44 abc
		72	23.10±2.33 a	3.36±0.38 def
		96	19.32±1.54 b	3.56±0.29 abcde
Oryzalin	1	48	18.42±2.24 bc	3.98±0.33 ab
		72	18.76±0.81 bc	3.48±0.34 cde
		96	18.18±1.20 bcd	3.52±0.34 bcde
	3	48	16.80±0.95 cde	3.50±0.18 bcde
		72	15.86±0.88 e	3.36±0.40 def
		96	13.64±1.99 f	2.72±0.41 g
	5	48	16.14±1.12 de	3.24±0.26 ef
		72	14.70±0.76 ef	2.96±0.42 fg
		96	12.90±0.96 f	2.20±0.23 h
F-test			**	**

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางผนวกที่ 3 ความยาวช่อดอก และความกว้างช่อดอกของปทุมมาลูกผสม (*C. sparganifolia* × *C. parviflora*) ที่ได้รับสาร โคลชิซินและออไรซาลินปริมาณ และระยะเวลา แตกต่างกันหลังจากการย้ายปลูก 90 วัน

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลา	ความยาวช่อดอก (เซนติเมตร)	ความกว้างช่อดอก (เซนติเมตร)
	Control		5.86±0.22 ab ^{1/}	4.10±0.42 a
Colchicine	1	48	5.64±0.43 abc	4.06±0.35 ab
		72	5.64±0.51 abc	4.04±0.17ab
		96	5.46±0.50 abcd	3.84±0.23 abc
	3	48	6.00±0.38 a	3.72±0.23 abcd
		72	5.36±0.54 abcde	3.54±0.46 bcde
		96	4.98±0.74 bcdef	3.22±0.23 de
	5	48	5.06±0.47 bcdef	3.52±0.24 bcde
		72	5.10±0.55 bcdef	3.38±0.59 cde
		96	4.78±0.50 cdefg	3.00±0.47 e
Oryzalin	1	48	5.42±0.60 abcd	3.38±0.35 cde
		72	5.30±0.57 abcde	3.24±0.49 de
		96	4.90±0.82 cdef	3.02±0.29 e
	3	48	4.70±0.45 defg	3.00±0.14 e
		72	4.24±0.51 fg	3.02±0.30 e
		96	3.96±1.04 g	3.22±0.63 de
	5	48	4.64±0.43 defg	3.34±0.31 cde
		72	4.48±0.92 efg	3.20±0.49 de
		96	4.00±0.61 g	3.30±0.45 cde
F-test			**	**

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางผนวกที่ 4 ความยาวก้านช่อดอกของปทุมมาลูกผสม (*C. sparganifolia* × *C. parviflora*)
ที่ได้รับสาร โคลชิซินและออไรซาลินปริมาณ และระยะเวลาแตกต่างกัน หลังจาก
การย้ายปลูก 90 วัน

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลา	ความยาวก้านช่อดอก (เซนติเมตร)
	Control		15.60±0.65 a ^{1/}
Colchicine	1	48	15.50±1.22 a
		72	15.20±0.91 ab
		96	14.94±0.70 abc
	3	48	15.42±0.83 a
		72	15.00±0.35 abc
		96	15.00±0.79 abc
	5	48	14.80±0.91 bc
		72	15.20±0.91 abc
		96	15.50±0.71 a
Oryzalin	1	48	15.60±1.14 a
		72	15.26±0.63 ab
		96	14.90±1.02 abc
	3	48	15.50±1.00 a
		72	15.04±0.62 abc
		96	13.70±1.20 cd
	5	48	13.90±0.65 bc
		72	12.50±1.73 de
		96	11.70±1.20 e
F-test			**

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ
เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางผนวกที่ 5 จำนวนชั้นกลีบประดับ หลังจากการย้ายปลูก 90 วัน และจำนวนหัวพันธุ์ของ
ปทุมมาลูกผสม (*C. sparganifolia* × *C. parviflora*) ที่ได้รับสารโคลชิซินและ
ออไรซาลินปริมาณ และระยะเวลาแตกต่างกัน

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลา	จำนวนชั้นกลีบประดับ (ชั้น)	จำนวนหัวพันธุ์ (หัว)
	Control		5.80±0.45 a ^{1/}	4.20±0.84 cde
Colchicine	1	48	5.60±0.55 ab	4.20±1.30 cde
		72	5.60±0.55 ab	3.80±0.45 e
		96	5.60±0.55 ab	4.20±1.30 cde
	3	48	5.80±0.45 a	4.60±0.55 bcde
		72	5.20±0.45 abcd	4.60±1.14 bcde
		96	5.40±0.55 abc	5.20±0.84 abcde
	5	48	5.20±0.45 abcd	5.00±1.22 abcde
		72	5.40±0.55 abc	4.00±1.00 de
		96	5.20±0.84 abcd	5.00±1.00 abcde
Oryzalin	1	48	4.60±0.55 cde	5.60±0.55 abc
		72	5.40±0.55 abc	4.80±1.30 abcde
		96	4.80±0.45 bcd	6.20±0.84 a
	3	48	4.40±0.55 de	5.80±1.10 ab
		72	3.80±0.45 ef	5.60±0.89 abc
		96	3.80±0.84 ef	5.40±0.55 abcd
	5	48	3.80±1.10 ef	6.20±0.84 a
		72	4.40±1.34 de	6.00±0.71 ab
		96	3.40±0.55 f	6.20±0.84 a
F-test			**	**

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ
เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางผนวกที่ 6 จำนวนยอดต่อกระถางและความกว้างใบของปทุมมาลูกผสม (*C. sparganifolia* × *C. parviflora*) ที่ปลูกจากหัวพันธุ์ซึ่งเก็บเกี่ยวจากการทดลองที่ 1 หลังจากการย้ายปลูก 90 วัน

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลา	จำนวนยอดต่อกระถาง (ยอด)	ความกว้างใบ (เซนติเมตร)
Control			1.00±0.00 b ^{1/}	6.70±0.84 ab
Colchicine	1	48	1.20±0.45 ab	6.84±0.65 a
		72	1.00±0.00 b	6.76±0.62 ab
		96	1.00±0.00 b	6.28±0.44 abc
	3	48	1.00±0.00 b	6.06±0.63 abc
		72	1.20±0.45 ab	6.14±0.61 abc
		96	1.40±0.55 ab	5.78±0.33 c
	5	48	1.20±0.45 ab	6.06±0.80 abc
		72	1.40±0.55 ab	6.12±0.42 abc
		96	1.40±0.55 ab	6.02±0.48 abc
Oryzalin	1	48	1.00±0.00 b	6.00±1.02 abc
		72	1.20±0.45 ab	6.32±0.68 abc
		96	1.60±0.55 ab	5.90±0.26 bc
	3	48	1.60±0.55 ab	6.44±0.52 abc
		72	1.40±0.55 ab	5.96±0.09 bc
		96	1.40±0.55 ab	5.70±0.57 c
	5	48	1.40±0.55 ab	6.40±0.40 abc
		72	1.80±0.84 a	6.04±0.17 abc
		96	1.80±0.84 a	5.74±0.34 c
F-test			*	*

หมายเหตุ * มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางผนวกที่ 7 จำนวนชั้นกลีบประดับและจำนวนหัวของปทุมมาลูกผสม (*C. sparganifolia* × *C. parviflora*) ที่ปลูกจากหัวพันธุ์ซึ่งเก็บเกี่ยวจากการทดลองที่ 1 หลังจากการย้ายปลูก 90 วัน

ชนิดสาร	ความเข้มข้น	ระยะเวลา	จำนวนชั้นกลีบประดับ (ชั้น)	จำนวนหัว (หัว)
	Control		6.40±0.55 a ^{1/}	6.80±1.79 ab
Colchicine	1	48	6.20±0.84 a	6.40±1.14 ab
		72	6.00±0.71 ab	5.60±1.52 b
		96	6.00±0.71 ab	6.00±1.00 ab
	3	48	5.60±0.55 abc	6.60±1.52 ab
		72	5.40±0.55 abc	5.80±0.84 b
		96	5.80±0.45 abc	5.80±0.84 b
	5	48	5.60±0.55 abc	6.40±0.55 ab
		72	5.60±0.55 abc	6.40±0.55 ab
		96	6.00±0.71 ab	5.60±1.14 b
Oryzalin	1	48	5.60±0.55 abc	6.40±0.55 ab
		72	5.80±0.45 abc	6.00±0.71 ab
		96	5.60±0.55 abc	6.20±0.45 ab
	3	48	5.00±1.22 bc	6.20±0.84 ab
		72	4.80±0.45 c	6.80±0.84 ab
		96	5.00±1.00 bc	6.40±1.14 ab
	5	48	5.40±0.55 abc	6.80±0.84 ab
		72	5.00±0.71 bc	6.80±1.64 ab
		96	5.00±0.71 bc	7.20±1.30 a
F-test			**	*

หมายเหตุ * มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ	นางสาวสุธนา เกตุมาโร
เกิดวันที่	2 ตุลาคม 2524
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี
ประวัติการศึกษา	วท.บ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วท.ม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนบัณฑิตศึกษา 2553 จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)