



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พืชสวน)

ปริญญา

พืชสวน

พืชสวน

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ และการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ
ในต้นหงส์เหิน

Embryo Culture and Induced Mutation *in vitro* Culture on *Globba* spp.

นามผู้วิจัย นายณัฐพงศ์ จันจุฬา

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์รัชฎะ เตชะศิริพิทักษ์, วท.ม.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์อัญชลี จาละ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์พินุช จอมพุก, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์เบญญา มะโนชัย, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ณัฐ พิชกรรม, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่

เดือน

พ.ศ.

สิงห์บุรี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ และการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อในต้นหงส์เหิน

Embryo Culture and Induced Mutation *in vitro* Culture on *Globba* spp.

โดย

นายณัฐพงศ์ จันจุฬา

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชสวน)

พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ณัฐพงศ์ จันจุฬา 2555: การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ และการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ภายใต้สภาวะ
ปลอดเชื้อในต้นหงส์เหิน ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชสวน) สาขาพืชสวน ภาควิชาพืชสวน
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ธัญญา เตชะศิลปัทย์, วท.ม. 101 หน้า

“หงส์เหิน” จัดเป็นไม้ดอกไม้ต่างประเทศเริ่มให้ความสนใจ และมีความต้องการเป็นจำนวนมาก
เนื่องจากมีรูปทรงดอกที่แปลกตา ปัจจุบันมีการส่งออกหัวพันธุ์หงส์เหินไปยังประเทศญี่ปุ่น และเนเธอร์แลนด์
สำหรับประเทศไทยการใช้หงส์เหินในการปักแจกัน และไม้กระถางประเภทนี้ยังไม่แพร่หลายมากนัก เนื่องจาก
มีความหลากหลายน้อย และสียังไม่เป็นที่สะดุดตา นอกจากนี้ข้อมูลเกี่ยวกับการผลิตและการปรับปรุงพันธุ์
ยังมีไม่เพียงพอ จึงได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ การศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสม การศึกษาการ
เจริญเติบโตในแต่ละเดือนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้โคลชิซิน โอไรซาลิน
รังสีแกมมา และการใช้โคลชิซินร่วมกับรังสีแกมมา พบว่า การคัดเมล็ดบริเวณหัว (ไมโครไพล) ทั้ง ทำให้
เอ็มบริโอเจริญอย่างรวดเร็ว และรอดชีวิตสูงสุด วัสดุที่เหมาะสมในการย้ายกล้า คือ แกลบ :ทราย:พีทมอส
(1:1:1) มีชีวิตรอดสูงสุด 94.44 เปอร์เซ็นต์ ในการเจริญเติบโตของหงส์เหินในเดือนต่างๆ สามารถเจริญเติบโต
ได้ และให้ช่อดอกที่ยาวกว่า 9 เซนติเมตร และไม่พักตัวในเดือนตุลาคม ซึ่งสามารถทำเป็นไม้ตัดดอก และไม่
กระถางได้ เมื่อทำการใช้โคลชิซิน พบว่าไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ แต่มีผลต่อการทำให้การ
ออกดอกเร็วขึ้น กลีบประดับหนาขึ้น มีขนาดใหญ่ขึ้น พบการกลาย 3 ลักษณะ คือ ลำต้นแข็งใบสีเขียวเข้ม ใบ
ลายต่าง 2 ต้น ใบเรียวยาว และเกิดดอกกิ่งตั้งกิ่งห้อย กลีบประดับค่อนข้างกลมมน กลีบประดับเรียวยาว เมื่อ
ได้รับโอไรซาลิน ส่งผลให้ใบมีขนาดเล็ก แตกกอจำนวนมาก ลำต้นสั้น อวบอ้วน รากสะสมอาหารมีขนาดใหญ่
ขึ้น เมื่อต้นอ่อนได้รับรังสีแกมมาเฉียบพลันทำให้การรอดชีวิตลดลง ค่า $LD_{50(60)}$ เท่ากับ 98.89 เกรย์ ค่า $GR_{50(60)}$
เท่ากับ 58.85 เกรย์ และที่ปริมาณรังสี 20 และ 40 เกรย์ มีการแตกกอมากกว่าปกติ 140.68 และ 117.87
เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และรุ่น M_1V_2 สามารถทำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นกลุ่มเซลล์ และเกิดยอดอ่อน
สีเขียวอ่อนเป็นจำนวนมาก และเกิดลักษณะเหี่ยว 1 ต้น เมื่อได้รับโคลชิซินร่วมกับรังสีแกมมา พบว่าที่ความ
เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 12 ชั่วโมง มีค่า $LD_{50(60)}$ เท่ากับ 45.85 เกรย์ ต้นอ่อนมีขนาดเล็ก ใบมีสีเขียว
อ่อน 500 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 24 ชั่วโมง มีค่า $LD_{50(60)}$ เท่ากับ 44.07 เกรย์ ต้นควบคุมใบมีสีเขียวเข้ม ลำต้น
หนา ใบหนา และมันวาว ต้นอ่อนที่ได้รับรังสีส่วนใหญ่เจริญมาจากเซลล์ที่มีสีน้ำตาล

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Nattapong Janjula 2012: Embryo Culture and Induced Mutation *in vitro* Culture on *Globba* spp.

Master of Science (Horticulture), Major Field: Horticulture, Department of Horticulture.

Thesis Advisor: Associate Professor Thunya Taechasinpitak, M.S. 101 pages.

“*Globba*” is extraordinary ornamental plant with high demand in the international market due to its magnificent shape. The major importers are Japan and the Netherlands. In Thailand, use of globba as a cut flower or potted plant is not widespread because of lack of variation, unnoticeable colors, and insufficient information on production. This study thus covered embryo culture, appropriate potting media, seasonal growth after culturing, and chemical and physical mutation induction. The results show that cutting the micropyle could highly increase the growth and survival rate of embryos. Furthermore, the most appropriate planting medium is chaff:sand:peatmoss (1:1:1), which showed the highest survival rate at 94.44%. Moreover, globba from tissue culture could grow in any season and provided long inflorescences (9 cm), which is suitable for producing of cut flower or potted plant. Treatment with colchicine had no effect on growth rate *in vitro*, but resulted in earlier flowering, thicker bracts, and bigger petals. Mutations detected included thicker stems, dark green leaves, striped leaves, tapered leaves, flowers with semi-pendulous from, and rounded or slender bracts. After treatment with oryzalin, the plants were shorter and thicker with more numerous side shoots, larger roots and smaller leaves. When seedlings were exposed to acute gamma radiation the survival rate decreased. The LD₅₀₍₆₀₎ was 98.89 Gray and GR₅₀₍₆₀₎ was 58.85 Gray. The seedlings exposed to 20 and 40 Gray radiation exhibited more side branches than normal 140.68 and 117.87%, respectively. In the M₁V₂ generation some cells developed into callus, with subsequently generated new shoots. One of the plants was albino. When seedlings were treated with both colchicine and gamma radiation, at the concentration of 500 mg/l for 12 hr. the LD₅₀₍₆₀₎ was 45.85 Gray, the seedlings were small and the leaves were apple green. At the concentration of 500 mg/l for 24 hr. the LD₅₀₍₆₀₎ was 44.07 Gray and the control leaves were dark-green, with thick stems, and thick glossy leaves. Most of the shoots from radiated plants were grown from cells that were light brown.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ รัชฎะ เตชะสีลพิทักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์หลัก รองศาสตราจารย์ ดร. อัญชลี จาละ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิรณัฐ จอมพุก และ อาจารย์ ดร. เบญญา มะโนชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และช่วยเหลือในการเรียน และการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนการให้คำปรึกษา ตรวจสอบแก้ไข วิทยานิพนธ์จนกระทั่งสมบูรณ์ กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์จิตราพรรณ เทียมปโยธร ผู้ทรงคุณวุฒิซึ่งเป็นผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย และ อาจารย์ ดร. อัญชันชญาณ์ มงคลชัยพฤกษ์ ประธาน การสอบ ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ศูนย์พันธุวิศวกรรม และเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ และภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้อ สถานที่ทำการทดลอง ตลอดจนเครื่องมือต่าง ๆ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ดูแลแปลงทดลองภาควิชา พืชสวน ที่ให้การช่วยเหลือตลอดระยะเวลาการทำการทดลอง ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาจนสำเร็จการศึกษา รวมทั้ง เจ้าของงานวิจัยที่ข้าพเจ้านำมาใช้อ้างอิงประกอบการทำวิทยานิพนธ์

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คุณพ่อ คุณแม่ และ ครอบครัวจันทูพา และญาติพี่น้องทุกคนที่ได้อบรม ให้กำลังใจ และให้การสนับสนุนในทุกๆ เรื่อง ตลอดมา

ณัฐพงศ์ จันทูพา

ธันวาคม 2554

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	23
อุปกรณ์	23
วิธีการ	26
ผลและวิจารณ์	38
ผล	38
วิจารณ์	80
สรุปและข้อเสนอแนะ	88
สรุป	88
ข้อเสนอแนะ	89
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	90
ภาคผนวก	99
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	101

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดหงส์เหินในสัปดาห์ที่ 1 และ 2 หลังเพาะ	39
2	ผลของวัสดุปลูกต่อการรอดชีวิตหงส์เหินหลังย้ายปลูก 7 วัน	42
3	การเจริญเติบโตของหงส์เหินในเดือนต่างๆ	43
4	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตหงส์เหินหลังได้รับโคลชิซิน และย้ายปลูก	48
5	การเจริญเติบโตของหงส์เหินหลังได้รับโคลชิซินในสภาพปลอดเชื้อเมื่ออายุ 30 วัน	49
6	การเจริญเติบโตของหงส์เหินหลังได้รับโคลชิซินหลังย้ายปลูกเมื่ออายุ 30 วัน	51
7	การเจริญเติบโตของหงส์เหินหลังได้รับโคลชิซินหลังย้ายปลูกเมื่ออายุ 60 วัน	53
8	การเจริญเติบโตของหงส์เหินหลังได้รับโคลชิซินหลังย้ายปลูกเมื่ออายุ 90 วัน ก่อนออกดอก	55
9	ผลของโคลชิซินต่อระยะเวลาการออกดอก ความยาวช่อดอก ก้านชูดอกจริง ระยะห่างระหว่างดอก	57
10	ผลของโคลชิซินต่อความกว้าง ความยาว ความหนา bract	59
11	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของหงส์เหินหลังได้รับโอไรซาลิน และย้ายปลูก	63
12	การเจริญเติบโตของหงส์เหินหลังได้รับโอไรซาลิน 60 วัน	64
13	การเจริญเติบโตของหงส์เหินที่ได้รับโอไรซาลินหลังย้ายปลูก 60 วัน	67
14	การเจริญเติบโตของหงส์เหินที่ได้รับรังสีแกมมาเมื่ออายุ 60 วัน ในรุ่น M_1V_2	74

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	สูตรโครงสร้างของโคลชิซิน	17
2	สูตรโครงสร้างของโอไรซาลิน	17
3	หงส์เหินพันธุ์กลีบดอกสีขาว (<i>Globba magnifica</i>)	23
4	หงส์เหินพันธุ์การคำสีม่วงอมชมพู (<i>Globba wiliamsiana</i>)	23
5	ตำแหน่งการตัดเมล็ดหงส์เหิน	26
6	การตัดเมล็ดหงส์เหิน	40
7	ลักษณะของต้นหงส์เหินที่ปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่างๆ	42
8	(ก) ปรับสภาพต้นกล้า และ(ข) ต้นหงส์เหินในเดือนพฤษภาคม	44
9	(ก) ต้นหงส์เหินในเดือนกรกฎาคม และ(ข) ต้นกล้าในเดือนกันยายน	44
10	ต้นหงส์เหินในเดือนธันวาคม	44
11	หงส์เหินในสภาพปลอดเชื้อ	48
12	ต้นหงส์เหินเมื่ออายุ 60 วัน	60
13	ผลของโคลชิซินต่อลักษณะช่อดอก และกลีบประดับของหงส์เหิน	60
14	ลักษณะปากใบของหงส์เหิน	60
15	ลักษณะต้นหงส์เหินหลังได้รับโอไรซาลิน 60 วัน	66
16	ลักษณะรากต้นหงส์เหินหลังได้รับโคลชิซิน 60 วัน	66
17	ลักษณะต้นหงส์เหินที่ได้รับโอไรซาลิน	69
18	การแตกกอของหงส์เหินหลังได้ได้รับรังสีแกมมา 60 วัน	72
19	ต้นหงส์เหินที่ไม่ได้รับรังสีแกมมา	72
20	ต้นหงส์เหินที่ได้รับรังสีแกมมา	73
21	ต้นหงส์เหินที่ได้รับรังสีแกมมาจากช่วง $GR_{50(60)}$	75
22	ต้นหงส์เหินรุ่น M_1V_2 จากการฉายรังสี 40 เกรย์	75
23	ต้นหงส์เหินรุ่น M_1V_2 จากการฉายรังสี 50 เกรย์	76
24	ต้นหงส์เหินรุ่น M_1V_2 จากการฉายรังสี 60 เกรย์	76
25	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตหงส์เหินหลังได้รับโคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 12 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา	77

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
26	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของหิ่งห้อยที่ได้รับโคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 24 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา	78
27	ต้นหงส์เหินรุ่น M_1V_1 หลังได้รับโคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 12 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา	78
28	ต้นหงส์เหินรุ่น M_1V_1 หลังได้รับโคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 24 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา	79

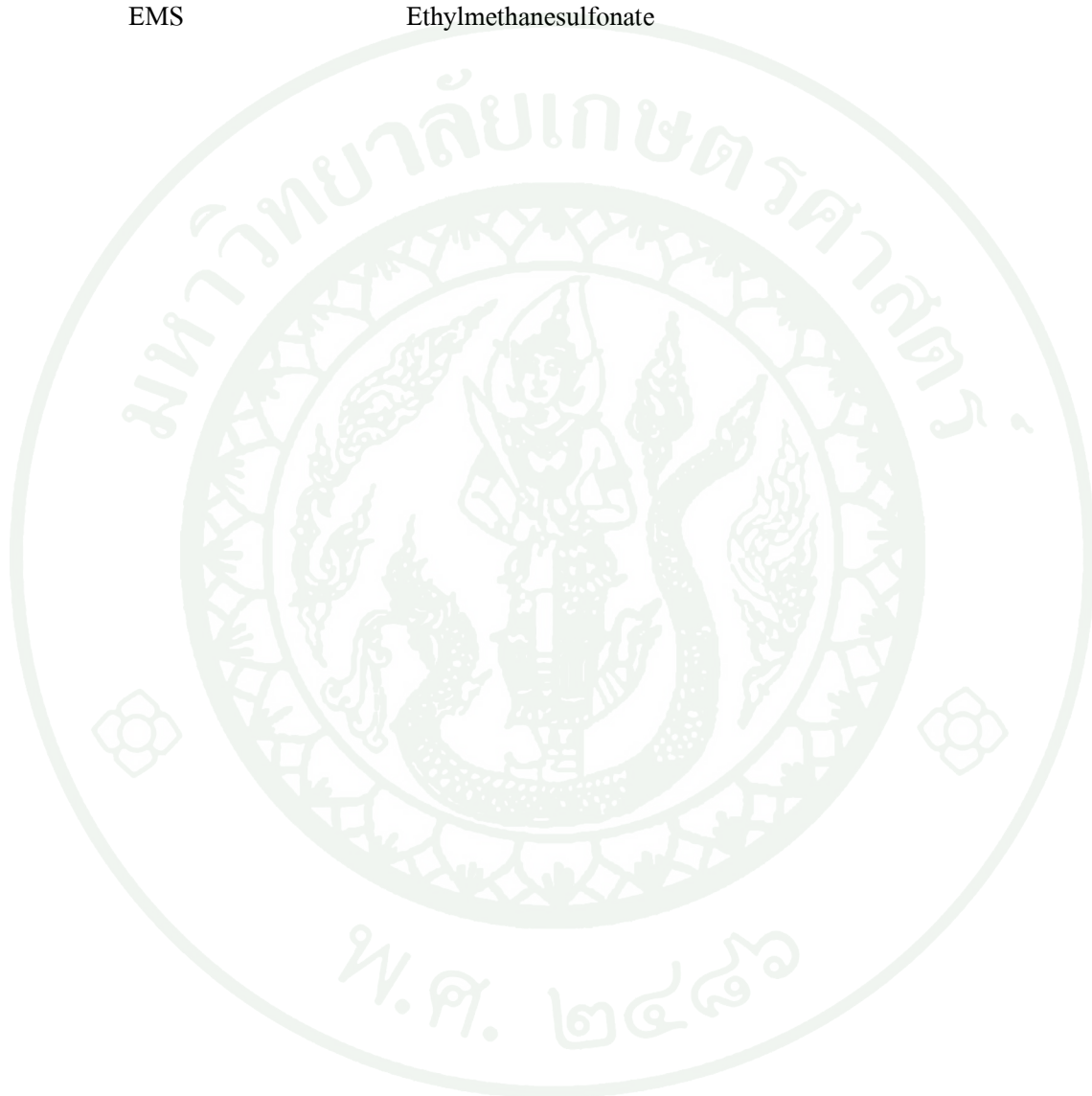
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

MS medium

Murashige and Skoog medium

EMS

Ethylmethanesulfonate



การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ และการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อในต้น หงส์เหิน

Embryo Culture and Induced Mutation *in vitro* Culture on *Globba* spp.

คำนำ

หงส์เหินเป็นพืชพื้นเมืองที่มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ไทย พม่า เวียดนาม ในป่าเขตร้อนชื้น ใต้ร่มไม้ใหญ่ ขึ้นอยู่ตามชายป่า ในประเทศไทยพบมากบริเวณป่าทางภาคเหนือ บริเวณ จังหวัดตาก ภาคกลาง บริเวณ จังหวัดสระบุรี ปราจีนบุรี และสระแก้ว ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ บริเวณ จังหวัดบุรีรัมย์ สกลนคร และหนองบัวลำภู ภาคใต้ บริเวณ จังหวัดนครศรีธรรมราช หงส์เหินจัดเป็นไม้ดอกที่ต่างประเทศเริ่มให้ความสนใจ และมีความต้องการเป็นจำนวนมาก เนื่องจากมีรูปทรงดอกที่แปลกตา โดยปัจจุบันมีการส่งออกหัวพันธุ์หงส์เหินไปยังประเทศญี่ปุ่น และเนเธอร์แลนด์ สำหรับประเทศไทยการใช้หงส์เหินในการปักแจกัน และใช้เป็นไม้กระถางประเภทนี้ ยังไม่แพร่หลายมากนัก เนื่องจากพันธุ์การค้า มีความหลากหลายน้อย และสีส่วนใหญ่ยังไม่เป็นที่สะดุดตา นักวิชาการจึงเริ่มหันมาสนใจที่จะพัฒนาพันธุ์หงส์เหินให้มีความสวยงามมากขึ้น แต่การปรับปรุงพันธุ์ที่ผ่านมาทำอย่างไม่เป็นระบบและไม่ต่อเนื่อง ทำให้การพัฒนาพันธุ์เป็นไปได้ช้า เมื่อเกิดปัญหาขึ้นการพัฒนามักหยุดชะงัก

ในการผสมข้าม ระหว่างพืช ต่าง ชนิดเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ พบว่าเกิดปัญหาขึ้น หลายประการ เช่น ผสมไม่ติด ติดเมล็ดน้อย เมล็ดลูกผสมไม่งอก ต้นที่งอกไม่แข็งแรง และลูกผสมเป็นหมันหรือผลิตเมล็ดน้อย เมื่อเมล็ดลูกผสมไม่งอก แก้ไขโดยนำต้นอ่อนไปเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ที่เรียกว่าการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ (embryo culture) ซึ่งเป็นอีกทางหนึ่งในการช่วยชีวิตเอ็มบริโอ และเพิ่มจำนวนต้นหงส์เหินให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว ทำให้ ได้ลูกผสมที่หลากหลายปลูกและเก็บเกี่ยวในระยะเวลาใกล้เคียงกัน ซึ่งง่ายต่อการจัดการ และเป็นการลดต้นทุนในการผลิต

วิธีการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์เป็นวิธีการหนึ่งที่ทำให้ได้พืชที่มีลักษณะใหม่ๆ เกิดขึ้นในระยะเวลาอันสั้น ซึ่งในปัจจุบันมักทำได้ 2 วิธี คือ การใช้รังสีในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ เช่น รังสีแกมมา รังสีเอกซ์ ไอออนบีม รังสียูวี และการใช้สารเคมี เช่น EMS โคลชิซิน โอไรซาลิน (อรุณี, 2550)

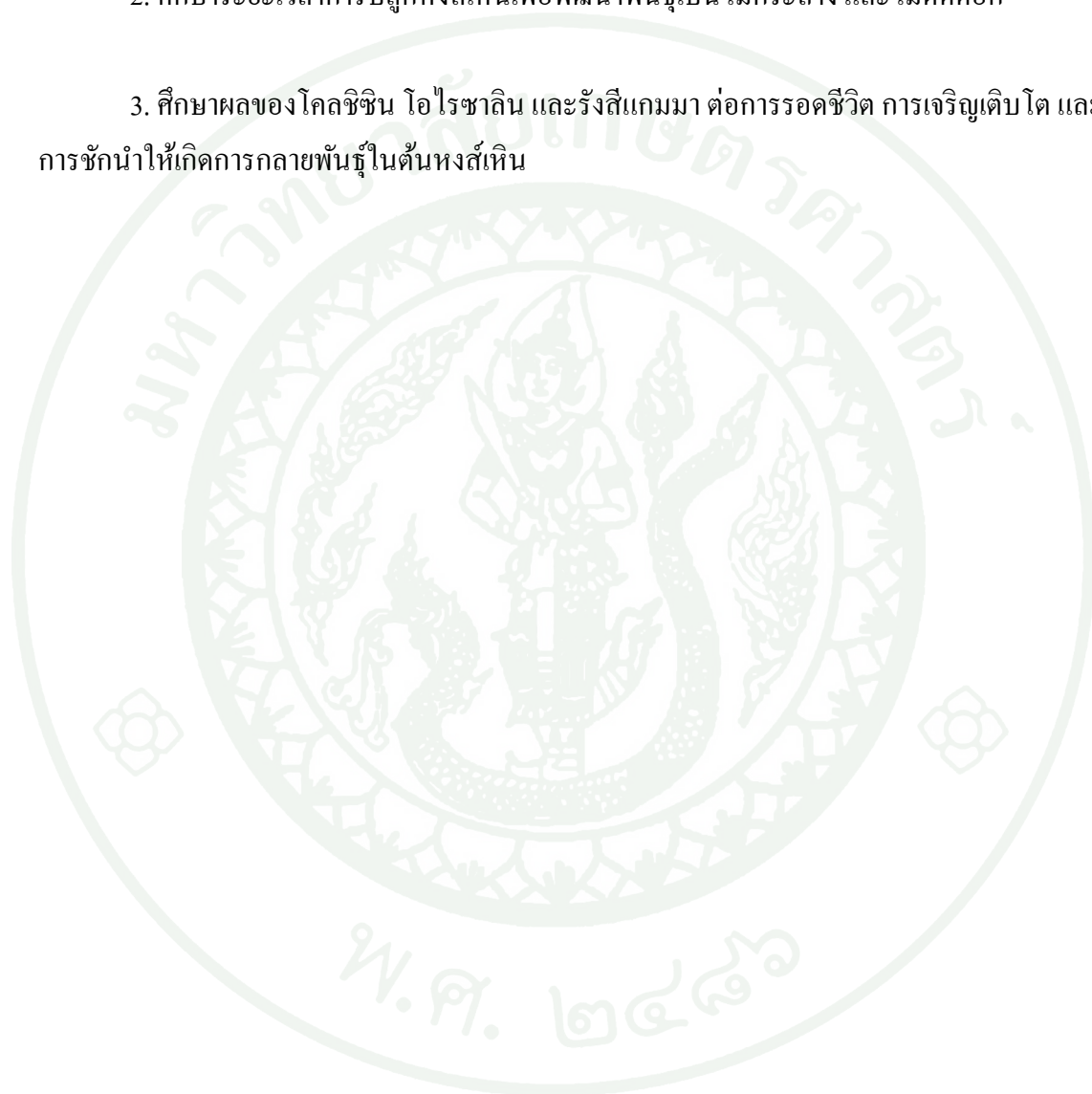
รังสีแกมมาเป็นรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่สูง ไม่มีมวล ไม่มีประจุ มีอำนาจทะลุทะลวงสูง นักปรับปรุงพันธุ์พืช นิยมใช้รังสีแกมมาในการชักนำพืชให้เกิดการกลายมากกว่า รังสีเอกซ์ การฉายรังสีตัวอย่างพืชสามารถฉายได้ 2 แบบคือ คือ การฉายรังสีแบบเฉียบพลัน (acute irradiation) คือ อัตรา (dose rate) และปริมาณ (total dose) รังสีสูงใช้ระยะเวลาในการฉายสั้น เช่น นาที หรือชั่วโมง ส่วนของพืชมักเป็นเมล็ด ท่อนพันธุ์ หรือเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง และการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิก (chronic irradiation) โดยฉายรังสีในอัตรารังสีที่ต่ำ แต่ให้ตัวอย่างพืชได้รับรังสีเป็นระยะเวลานานๆ โดยปริมาณรังสีที่ได้รับจะสูงหรือต่ำขึ้นกับระยะเวลาในการฉาย เช่น สัปดาห์ เดือน หรือปี นิยมใช้กำพืดที่กำลังเจริญเติบโต (อรุณี, 2550)

โคลชิซินที่นักปรับปรุงพันธุ์นิยมใช้มักเป็นสาร โคลชิซินบริสุทธิ์ อาจส่งผลกระทบต่อผู้วิจัยเนื่องจากสารละลายโคลชิซินบริสุทธิ์ออกฤทธิ์คล้ายสารหนู (arsenic) ซึ่งก่ออันตรายได้ด้วยกลไกการสัมผัส ถ้าเข้าตาอาจเกิดการอักเสบอย่างรุนแรง และตาบอดชั่วคราว หากรับประทานเข้าไปจะเป็นพิษรุนแรงกับระบบทางเดินอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณกระเพาะ และลำไส้ ถ้าหากรับประทานมากอาจถึงแก่ชีวิต (วิมล, 2527; Addink, 2007; Cook and Loudon, 1952) แต่ปัจจุบันพบว่ายาเม็ดรักษาโรคเกาต์ยี่ห้อ โคลชิซิน ซึ่งมีสารโคลชิซินอยู่ในเม็ดยาในปริมาณ ที่กำหนดตามฉลาก และยารักษาโรคเกาต์นี้สามารถหาซื้อได้ตามร้านขายยาทั่วไป ราคาไม่แพง มีความสะดวก และปลอดภัยในการเตรียมสารละลายมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารโคลชิซินบริสุทธิ์ และการเลือกใช้วิธีดังกล่าวถือเป็นทางเลือกที่ดีวิธีการหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์หงส์เหินเพื่อให้มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น

ในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์เป็นวิธีการที่ทำให้ได้ต้นพืชที่มีลักษณะใหม่ๆ เกิดขึ้นในระยะเวลาเวลาอันสั้น อย่างไรก็ตามไม่มีหน่วยงานใดหรือนักวิชาการที่มาพัฒนางานด้านนี้อย่างจริงจัง ทำให้งานด้านการปรับปรุงพันธุ์หงส์เหินเป็นไปอย่างล่าช้า และไม่ทันกับความต้องการของตลาด

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของหงส์เหินเพื่อลดระยะเวลาการปรับปรุงพันธุ์
2. ศึกษาระยะเวลาการปลูกหงส์เหินเพื่อพัฒนาพันธุ์เป็นไม้กระถาง และไม้ตัดดอก
3. ศึกษาผลของโคลชิซิน โอไรซาลิน และรังสีแกมมา ต่อการรอดชีวิต การเจริญเติบโต และการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในต้นหงส์เหิน



การตรวจเอกสาร

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของหงส์เหิน

หงส์เหิน (*Globba* spp.) เป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae (ขิง, ข่า) อยู่ในสกุล *Globba* เป็นพืชที่มีลำต้นเป็นหัวใต้ดิน (tuberous rhizome) ประเภทเหง้า มีรากสะสมอาหารลักษณะอวบน้ำคัล้ายราก กระชายเรียงอยู่โดยรอบหัว ส่วนของลำต้นเหนือดิน เป็นลำต้นเทียม เกิดจากการที่กาบใบรวมที่เรียงตัวกันอัดแน่นทำหน้าที่คล้ายเป็นลำต้นเทียมเหนือดินสูงประมาณ 30-70 เซนติเมตร ใบมีลักษณะเรียวยาว ใบรูปหอกคล้ายใบกระชายแต่มีขนาดเล็กกว่าเป็นสองเท่าในระนาบเดียวกัน ขนาดใบประมาณ 10x25 เซนติเมตร ดอก ออกเป็นช่อซึ่งแทงออกมาจากยอดของลำต้นเทียม ช่อจะโค้งและห้อยตัวลงอย่างสวยงาม มีก้านช่อดอกย่อยเรียงอยู่โดยรอบประกอบด้วยดอกจริง 1-3 ดอก ดอกจริงมีสีเหลืองลักษณะของดอกคล้ายกับหงส์กำลังบิน และมีกลีบประดับ (bract) ที่มีรูปทรงและสีที่หลากหลาย หงส์เหินเริ่มออกดอกตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงเดือนกันยายน โดยจะออกมากในช่วงวันเข้าพรรษา การออกดอกจะออกดอกเมื่อมีใบประมาณ 5 ใบ ต้นหงส์เหินเป็นพืชที่พบได้ทุกภาคของประเทศไทย การเรียกชื่ออาจจะแตกต่างกันไปตามพื้นที่ เช่น ดอกเข้าพรรษา (สระบุรี), กล้วยจี่ก่า (ตาก), กล้วยเครือคำ (เชียงใหม่), วานดอกเหลือง (เลย), ปุคนกยูง (ภาคใต้), พดิ่งโง (พม่า) ในต่างประเทศนิยมเรียกว่า “Dancing Ladies” (อรวรรณ, 2553)

การปลูกและดูแลรักษา

การขยายพันธุ์

การขยายพันธุ์หงส์เหินสามารถทำได้หลายวิธีการเช่น การแยกเหง้า และการเพาะเมล็ด แต่ที่วิธีที่สะดวกรวดเร็วและได้ผลดี คือวิธีการแยกเหง้าโดยการขุดเหง้า (หัว) ใต้ดินในระยะพักตัวประมาณช่วงฤดูหนาวเข้าฤดูแล้ง (ลักษณะที่แสดงว่าสามารถเก็บเหง้าได้นั้นสามารถสังเกตจากลำต้นเทียมเหนือดินได้ยุบตัวลงไปแล้ว) นำมาปลิดแยกเหง้าเป็นหัวๆ แล้วลงปลูกในแปลงโดยฝังลึก 5 เซนติเมตร ใช้ระยะปลูก 30 x 30 เซนติเมตร วิธีการที่ไม่เหมาะสำหรับการขยายพันธุ์หงส์เหินคือวิธีการแยกหน่อ เพราะหน่อที่แยกมาปลูกจะชะงักการเจริญเติบโตได้ (อรวรรณ, 2553)

การให้น้ำ

หงส์เหินเป็นพืชที่ต้องการความชุ่มชื้นแต่ไม่ชอบแฉะ ถ้าอากาศแห้งมากควรมีการให้น้ำอย่างน้อยวันละครั้งในช่วงเช้า (อรรณ, 2553)

การตัดแต่ง

ในกรณีที่แปลงปลูกจากปีที่ 2 เป็นต้นไป ต้นหงส์เหินในแปลงอาจมีความหนาแน่นมากเกินไป เป็นสาเหตุประการหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคระบาด ดอกมีขนาดเล็กไม่สมบูรณ์ ควรมีการตัดแต่งให้แปลงปลูกโปร่งโดยตัดต้นที่ไม่สมบูรณ์หรือตัดใบทิ้ง (อรรณ, 2553)

การเพิ่มความยาววัน และความเข้มแสง

หงส์เหินเป็นพืชวันยาว เช่นเดียวกับปทุมมา โดยปกติจะเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ในช่วงเดือนพฤศจิกายน ซึ่งเป็นระยะที่หัวเริ่มเข้าสู่การพักตัว ในการเข้าสู่ระยะที่มีการพักตัวเป็นช่วงสภาพวันสั้น (อภิชาติ, 2550) ความยาววัน และความเข้มแสงเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และพัฒนาการของพืช ซึ่งเมื่อให้ความยาววันเพิ่มขึ้นจะทำให้ความสูงของต้นปทุมมา จำนวนใบเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับแสงนาน 16 ชั่วโมง และการสะสมคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้นในรากสะสมอาหารเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับแสง 20 ชั่วโมง (Ruamrungsri *et al.*, 2002) ในการให้แสงขึ้นในช่วงกลางคืน (night break) จะทำให้หงส์เหินแตกหน่อได้ตามปกติ แต่ความสมบูรณ์ของลำต้น ไม่สมบูรณ์เมื่อเปรียบ เทียบกับในเดือนสิงหาคมถึงกันยายน (อภิชาติ, 2550) และเมื่อหงส์เหินได้รับความเข้มแสงน้อยเกินไป หรือมากเกินไปจะมีผลเสียต่อหงส์เหินทั้งสิ้น จากการทดลองในหงส์เหิน *Globba schomburdikii* Hk. ความเข้มแสงที่เหมาะสม คือ 6,000 lx ซึ่งจะทำให้ได้ต้นที่มีความสมบูรณ์และคุณภาพของดอกดี ถ้าความเข้มแสงมากกว่า 6,000 lx จำทำให้ลำต้นเตี้ย ใบเล็ก แต่จะมีการแตกหน่อมาก (อภิชาติ, 2550)

การพักตัวของเมล็ด

การพักตัวของพืชเป็นลักษณะทางธรรมชาติ โดยพืชจะหยุดการเจริญเติบโตในช่วงที่มีสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม และมีการเจริญเติบโตต่อไปเมื่อสภาพแวดล้อมกลับสู่สภาพปกติอีกครั้ง (พิรเดช, 2537) ในเมล็ดพืชส่วนใหญ่ที่นำมาเพาะปลูกทุกวันนี้มักไม่พบว่า มีการพักตัวหรือมีการพักตัวเพียงระยะสั้นๆทั้งนี้ เป็นผลมาจากการคัดเลือกที่มีมาเป็นเวลานานนับพันปี ลักษณะการ

พักตัวของเมล็ดได้ถูกคัดทิ้งอย่างค่อยเป็นค่อยไปจน กระทั่งแทบไม่มีเหลืออยู่ในพันธุ์ปลูก แต่จะพบมากในพันธุ์ป่า หรือพืชที่ขึ้นอยู่เองตามธรรมชาติ เช่น เมล็ดถั่วเขียวพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์ป่า หรือเมล็ดวัชพืช เมล็ดพืชตระกูลหญ้า การที่เมล็ดพืชพันธุ์ป่ามีการพักตัวสูงนี้จัดว่าเป็นกลไกการอยู่รอดของพืชในธรรมชาติจะช่วยไม่ให้เมล็ดงอกขึ้นมาในขณะที่สภาพแวดล้อมยังไม่เหมาะสม (วันชัย, 2537) เมล็ดพืชในแถบอบอุ่น ซึ่งมีอากาศหนาวเมื่อสุกแก่แล้วจะมีการพักตัวสักระยะหนึ่งจนกว่าถึงฤดูใบไม้ผลิ หรือฤดูร้อน ส่วนในแถบที่มีฝนตกชุกและแห้งแล้งสลับกัน เมล็ดพืชจะมีระยะพักตัวในช่วงอากาศแห้งแล้งและจะงอกได้เมื่อมีน้ำเพียงพอ (จวงจันทร, 2521)

สำหรับหงส์เหินจะมีการพักตัวเมื่อหมดฤดูฝนและงอกใหม่เมื่อเข้าสู่ฤดูฝนในปีถัดไป เมล็ดที่ได้จากการผสมพันธุ์หงส์เหินก็จะมีการพักตัวเช่นเดียวกัน อีกทั้งยังมีเปลือกหุ้มเมล็ดที่แข็งแกร่งนำมาเพาะเพื่อให้เกิดเป็นต้นใหม่จึงเกิดได้ยาก การปรับปรุงพันธุ์จึงต้องใช้เวลานาน

สาเหตุการพักตัวของเมล็ด

1. การพักตัวที่เกิดขึ้นเนื่องจากส่วนของเปลือกหรือเยื่อหุ้มเมล็ด (exogenous dormancy) ไม่ยอมให้น้ำซึมผ่านเข้าไปยังส่วนต่างๆภายในเมล็ดเนื่องจากเมล็ดแข็ง (hard seed) เปลือกหุ้มมีสารบางชนิดหุ้มอยู่ (สารเพคติน หรือซูเบอร์ิน) เซลล์ของเยื่อหุ้มเมล็ดอยู่กันอย่างหนาแน่น หรือไม่ยอมให้ออกซิเจน หรือคาร์บอนไดออกไซด์ซึมผ่าน เข้าไปภายในของเมล็ดจึงไม่มีโอกาสที่จะได้รับออกซิเจนในการหายใจ การพักตัวแบบนี้ มักมีน้อยมักเกิดกับพืชใน ตระกูลหญ้าที่เป็นวัชพืช (จวงจันทร, 2521) ซึ่งในพืชบางชนิดที่มีเปลือกหุ้มเมล็ดหนาและแข็งเป็นตัวขัดขวางน้ำและออกซิเจนไม่ให้ซึมผ่านเข้าไปภายในเมล็ดได้ (Seliger and Mc Elroy, 1995)

2. การพักตัวของเมล็ดที่เกิดขึ้นเนื่องจากส่วนประกอบภายในเมล็ด (endogenous dormancy) การพักตัวของเมล็ด เนื่องจากเอมบริโอ (embryo dormancy) ก่อนข้างจะสลัซบซ้อนจะพบมากในพืชเขตอบอุ่นและเขตหนาว เมล็ดจะต้องผ่านอากาศหนาวเย็น 1 ถึง 10 องศาเซลเซียส (stratification) ช่วงระยะหนึ่งจึงจะงอกได้ เช่น แปร (Pyrus grossularia L.) องุ่น (Vitis sp.) และไอริส (Iris resicolor L.) (จวงจันทร, 2521) แต่ในพืชพวก Orchidaceae Fraxinus และ Ranunculus จะงอกได้ก็ต่อเมื่อคัพภะนั้นเจริญเต็มตัวเอง (คณัย, 2537)

3. การพักตัวของเมล็ดเนื่องจากมีสารยับยั้งการเจริญเติบโต (inhibitors) สารยับยั้งการงอกของเมล็ด (germination inhibitors) พบในเมล็ดที่เปลือกหรือ เอมบริโอ มีการพักตัว เช่น คอกเคิล

เบอร์ (*Xanthium* spp.) มีการพักตัวเนื่องจากมีสารยับยั้งเมื่อนำไปล้างน้ำทำให้การพักตัวหมดไป (จวงจันทร, 2529) เช่น ในเมล็ดฮาเซลนัท (hazel) ที่เกาะเยื่อหุ้มเมล็ดและเปลือกออก เมล็ดจะสามารถงอกได้ แต่ถ้าหากนำเยื่อหุ้มเมล็ด (testa) และเปลือก (pericarp) ไปไว้ในจานแก้วงานเดียวกันกับเมล็ดที่เกาะเปลือกออกจะทำให้เอมบริโอไม่สามารถงอกได้ (วันชัย, 2337) ซึ่งสารเคมีที่ยับยั้งการงอกของเมล็ด คอมาริน (caumarin) กรดแอบซิซิก (abscisic acid) และไซยาไนด์ (นพดล, 2537) หรือมีสารเคมียับยั้งการงอกของเอมบริโออยู่ในเปลือกหุ้มเมล็ดหรือเนื้อเยื่ออื่นๆ ภายในเมล็ด (Jaime, 1995) ทำให้เอมบริโอไม่สามารถงอกได้ การกระเทาะเปลือกหุ้มเมล็ดออกแล้วนำเอาเอมบริโอมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์จะช่วยให้เมล็ดงอกได้เร็วขึ้น (สมปอง, 2539ข)

การเพาะเลี้ยงเอมบริโอ (embryo culture)

การเพาะเลี้ยงเอมบริโอ หมายถึงการนำเอมบริโอที่เกิดจากต้นพืชในธรรมชาติในถุงรังไข่ (embryo sac) มาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้น ทั้งโดยตรงหรือโดยผ่านแคลลัสเสียก่อน ในการเพาะเลี้ยงเอมบริโอที่ได้จากการผสมเรียกว่า zygotic embryo และเรียกเอมบริโอที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแคลลัส เซลล์เดี่ยว เซลล์แขวนลอย หรือเอมบริโอที่ได้จากเซลล์ร่างกายโดยตรงว่า somatic embryo หรือ embryoid (รังสฤษฎ์, 2541)

การเพาะเลี้ยงเอมบริโอนี้มีประโยชน์สำหรับการเพาะเลี้ยง เอมบริโอ ที่ได้จากการผสมระหว่างพืชที่มีความเกี่ยวข้องกันน้อย เช่น การผสม พันธุ์พืช ต่างชนิด (speies) หรือต่างสกุล (genus) ซึ่งบ่อยครั้งพบว่าพืชที่ได้รับการผสมไม่สามารถเจริญเติบโตจนได้เมล็ดที่สมบูรณ์ (นพพร, 2543) และพบว่าในพืชบางชนิดที่มีเปลือกหุ้มเมล็ดหนาและแข็งเป็นตัวขัดขวางน้ำและออกซิเจนไม่ให้ซึมผ่านเข้าไปภายในเมล็ดได้ หรือมีสารเคมียับยั้งการงอกของเอมบริโอ การกระเทาะเปลือกหุ้มเมล็ดออกแล้วนำเอาเอมบริโอมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์จะช่วยให้เมล็ดงอกได้เร็วขึ้น ประโยชน์ดังกล่าวจะช่วยลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชกลุ่มไม้ผลยืนต้น และล้มลุก ที่มีระยะเวลาพัฒนาของเอมบริโอยาวนาน หรือเมล็ดที่สุกแก่แล้วมีการพักตัวยาวนานทำให้เสียเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ (รังสฤษฎ์, 2541)

ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเอมบริโอ (ประศาสตร์, 2536)

1. ช่วยในการเจริญและพัฒนาของเอมบริโอพืชบางชนิดที่ไม่สามารถงอกเองได้แม้ว่าจะได้รับการผสมแล้ว และมีอาหารสะสมในเมล็ดอย่างเพียงพอ เช่น มะพร้าวกะทิ

2. ช่วยในการเจริญของเมล็ดที่ไม่สามารถงอกได้อันเนื่องมาจากเมล็ดไม่มีอาหารสะสม เช่น เมล็ดกล้วยไม้ หรือเมล็ดที่มีการสะสมน้ำมันในใบเลี้ยง หรือในเอนโดสเปิร์ม ซึ่งจะทำให้เอมบริโอได้รับอันตรายเมื่อเมล็ดแก่

3. ช่วยลดระยะเวลาของการผสมพันธุ์ พืชบางชนิดที่มีระยะเวลาการพัฒนาของเอมบริโอยาวนาน หรือหลังจากที่เมล็ดแก่แล้วยังมีการพักตัวอีกระยะหนึ่ง ทำให้ต้องใช้เวลาในการรอคอย

4. ช่วยลดการปนเปื้อนเชื้อ เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเอมบริโอที่อยู่ในเมล็ด ถือว่าเป็นส่วนของพืชที่มีความปลอดภัยมากที่สุดเหมาะแก่การนำมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

5. เพื่อการผลิตต้นพืชที่ปลอดจากเชื้อไวรัส นอกจากส่วนของเนื้อเยื่อเจริญตรงปลายยอดแล้ว ส่วนของเอมบริโอก็ เป็นอีกส่วนที่มีความปลอดจากเชื้อไวรัสสูง ทั้งนี้เพราะเอมบริโอไม่มีเนื้อเยื่อท่อลำเลียงที่เชื่อมติดต่อกับอวัยวะอื่นๆของลำต้น ซึ่งจะเป็นทางแพร่กระจายของเชื้อไวรัส

6. สามารถขยายพันธุ์พืชได้จำนวนมากในเวลาอันรวดเร็ว

7. ช่วยการเจริญและการพัฒนาของเมล็ดพืชที่เกิดจากไข่ที่ไม่ได้รับการผสม ซึ่งในธรรมชาติแล้วเอมบริโอแบบนี้จะฝ่อสลายไป

8. ช่วยหลีกเลี่ยงสิ่งที่ยับยั้งการเจริญของเอมบริโอ ซึ่งอาจจะเป็นลักษณะทางกายภาพของเมล็ด เช่น เปลือกเมล็ดที่แข็ง สารเคลือบผิวเมล็ด หรือสารเคมีที่ยับยั้งการงอกของเมล็ดบางชนิดที่ห่อหุ้มอยู่รอบๆ

9. เพื่อการผลิตพืชที่มีชุดจำนวนโครโมโซมต่างๆที่พิเศษนอกเหนือจากพืชธรรมดา เช่น พืชที่มีโครโมโซมชุดเดียว จากการเพาะเลี้ยงละอองเรณู หรือไข่ที่ยังไม่ได้รับการผสม พืชที่มีโครโมโซม 3 ชุด จากการนำเอาเอนโดสเปิร์มมาเลี้ยง และพืชที่มีจำนวนโครโมโซม 4 ชุด จากการเพาะเลี้ยงพืชที่มีโครโมโซม 2 ชุด ในสารอาหารที่มีสารโคลชิซิน

ปัจจัยสภาพแวดล้อม (environmental factors) ที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ (พีรเดช, 2529)

แสง ส่วนใหญ่แล้วจะเป็นปัจจัยที่ส่งเสริมการเกิดกระบวนการนี้ ปกติต้องการความเข้มแสงต่ำ เพราะรังสีดวงอาทิตย์หรือแสงทำให้ออกซินสลายตัวได้ง่ายและไปยับยั้งการเกิดเอ็มบริโอ และในพืชบางชนิดก็ไม่ต้องการแสงเลย

อุณหภูมิ ปกติพืชบางชนิดต้องการอุณหภูมิสูงกว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออื่นๆ เพียงเล็กน้อย (มากกว่า 25 องศาเซลเซียส) ในการเกิดเอ็มบริโอ แต่บางชนิดต้องนำไปเก็บในที่ อุณหภูมิต่ำระยะหนึ่ง จึงค่อยนำมาเพาะเลี้ยง เช่น การชักนำ embryo-like structure จากอับละอองเกสรข้าวโพด

ออกซิเจน ในระยะเริ่มแรกของการชักนำเอ็มบริโอเจเนซิส จะเกิดได้เร็วถ้าใช้ความเข้มข้นของออกซิเจนสูง เอ็มบริโอหรือเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปเป็นเอ็มบริโอมีกิจกรรมภายในเซลล์ค่อนข้างสูงจึงต้องการออกซิเจนในปริมาณมากเพื่อใช้ในกระบวนการหายใจให้ได้พลังงานมาใช้ แต่หลังจากนั้นควรลดความเข้มข้นลง

ความเป็นกรดและด่าง (pH) มีความผันแปรขึ้นกับชนิด อายุ และระยะการพัฒนาของพืชที่จะนำชิ้นส่วนมาเลี้ยง

ผลสำเร็จจากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในพืชชนิดต่างๆ

Lakshmy *et al.* (1993) เพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของกล้วยสุกผสมระหว่าง Mysore (AAB) กับ Pisang Lilin (AA) ซึ่งเป็นลูกผสมที่มีโครโมโซม 4 ชุด บนอาหารสูตร Knudson เพาะที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ นาน 16 ชั่วโมงต่อวัน พบว่าเอ็มบริโอสามารถพัฒนาเป็นแคลลัสได้ภายใน 5 วัน ส่วนราก และยอดพัฒนาได้ภายใน 7 วัน เมื่อต้นกล้ามีใบจริงครบ 2 ใบ ข้ายออกปลูกลงในทราย ปรากฏว่าหลังจากย้ายปลูกต้นกล้ามีชีวิตรอดถึง 85 เปอร์เซ็นต์

Custers *et al.* (1995) ศึกษาการช่วยชีวิตเอ็มบริโอในการผสมข้ามชนิดของทิวลิป โดยการผสมข้ามระหว่าง *Tulipa gesneriana* × *Tulipa kaufmanniana* ในการเลี้ยงเอ็มบริโอ ซึ่งสามารถแยกต้นอ่อนมาเลี้ยงและสามารถเกิดเป็นต้นใหม่ได้อย่างสมบูรณ์ และต้นอ่อนที่ได้จะหยุดชะงักในการพัฒนา ซึ่งพบว่าการช่วยชีวิตเอ็มบริโอสามารถช่วยไม่ให้เกิดการแท้งได้สำเร็จ

Chunsheng and Bridgen (1996) ทำการเพาะเลี้ยงโอดูลจากการผสมข้ามชนิด *Alstroemeria* โดยนำโอดูลอายุ 7 วันหลังการผสมเกสรมา เพาะในอาหารสูตร MS คัดแปลงโดยเพิ่มกลูตามีน 146 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ปรับ pH เป็น 5.5 พบว่ามีการงอกของเอ็มบริโอ 53 เปอร์เซ็นต์

Obata *et al.* (2000) ทำการทดลองผสมข้ามชนิดของลิลี่หลังการผสมแล้ว 30-40 วัน จึงนำโอดูล ที่ติดกับ placenta มาเลี้ยงบนอาหารที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรองของ B5 FeEDTA และวิตามิน MS น้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ และ gellan gum 0.2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงได้ 5 สัปดาห์ โอดูลเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล แต่บางส่วนสามารถเจริญต่อไปได้ หลังจากนั้น 8 สัปดาห์ ได้แยกโอดูลออกมาเลี้ยงในอาหารใหม่ พบว่า ในกลุ่มผสมระหว่าง *Lilium regale* × *Lilium nobilissimum* เมื่อเก็บโอดูล อายุ 30 วัน หลังการผสม มาเลี้ยงบนอาหาร สามารถพัฒนาได้ 3 เปอร์เซ็นต์ และ โอดูลอายุ 40 วันหลังการผสม สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ 9 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใน *Lilium nobilism* × *Lilium regale* โอดูลอายุ 40 วันหลังการผสม สามารถพัฒนาได้ 3.6 เปอร์เซ็นต์ แต่โอดูลอายุ 30 วัน หลังการผสมนั้น โอดูลไม่สามารถเจริญเป็นต้นได้

Chi (2002) ได้ศึกษาวิธีการช่วยชีวิต เอ็มบริโอ ลูกผสมข้ามชนิดในลิลี่ ด้วยวิธีต่างๆ พบว่า การทำ embryo (sac) rescue ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าวิธีอื่นเมื่อได้ทำเปรียบเทียบกันแล้ว ในลิลี่ ทั้งการทำ ovary slice culture, ovule with placenta culture และ young single ovule โดยพัฒนาให้เกิดเป็นต้นได้มากที่สุดถึง 0.2 ถึง 0.3 เปอร์เซ็นต์

Rhee *et al.* (2005) รายงานว่าการช่วยชีวิตเอ็มบริโอที่ได้จากการผสมข้ามชนิดของลิลี่ในสายพันธุ์ Formolongi hybrids จะนำรังไข่ที่มีอายุน้อยกว่า 35 วันภายหลังการผสมเกสร ส่วนสายพันธุ์ Oriental hybrids จะนำรังไข่ที่มีอายุ 60 วัน ภายหลังการผสมเกสร สำหรับการผสมข้ามชนิดของ Oriental × Longiflorum Oriental × Asiatic Formolongi × Asiatic และ Formolongi × Oriental hybrids โดยศึกษาความสามารถในการช่วยชีวิตลูกผสมโดยการเลี้ยงเอ็มบริโอ โอดูล และถุงเอ็มบริโอจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของลิลี่ วิธีการผสมเกสร และสภาพของละอองเกสร จำนวนของโอดูล และเอ็มบริโอที่ได้จากการผสมข้ามซึ่งมีความแตกต่างกันมากในบางกลุ่มผสม เช่น Asiatic × Oriental Asiatic × Longiflorum Longiflorum × Oriental และ Longiflorum × Asiatic hybrids จะมีเอ็มบริโอเกิดขึ้นเพราะว่ารังไข่จะฝ่อและตายภายใน 2 สัปดาห์ภายหลังการผสมเกสรบนยอดเกสรตัวเมียโดยตรง และการผสมเกสรโดยการตัดก้านชูเกสรตัวเมีย

Liu *et al.* (2006) ทำการปรับปรุงพันธุ์ของ *Leucadendron* จากการผสมพันธุ์ข้ามชนิดโดยใช้ศึกษาความสามารถในการผสมข้ามชนิดประกอบกับประสิทธิภาพของการช่วยชีวิตเอ็มบริโอ เพื่อแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นจากการเข้ากันไม่ได้ของคูโครโมโซม ทำให้ได้พันธุ์ใหม่สำหรับการผลิตในทางการค้าให้เกิดขึ้นอย่างกว้างขวาง

Eeckhaut *et al.* (2007) ทำการศึกษาความสามารถในการสร้างเอนโดสเปอร์มซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่สะสมอาหารอยู่ในเมล็ดต่ำของ *Rhododendron* ที่ได้จากการผสมข้ามชนิด ได้ด้วยวิธีการช่วยชีวิตเอ็มบริโอ พบว่าสามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของเมล็ด และต้นพืชที่รอดชีวิตสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ปกติ

Liu *et al.* (2007) ประสบความสำเร็จในการช่วยชีวิตเอ็มบริโอ ลูกผสมข้ามชนิดในกลุ่มผสมที่ใช้เป็นต้นแม่กับต้นพ่อ คือ แอปริคอต และพลัม ซึ่งพบว่าปกติเอ็มบริโอจะตายหลังจากผสมเกสร 7-8 สัปดาห์ แต่เมื่อใช้เทคนิคการช่วยชีวิต เอ็มบริโอ ทำให้เอ็มบริโอ สามารถเจริญเติบโตได้มากกว่าร้อยละ 90 จากเอ็มบริโอทั้งหมด พบว่าในอาหาร MS คัดแปลงเมื่อเติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดตายอดสูงสุด และในอาหาร MS ที่เติม IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดจำนวนรากสูงสุด

Ishizaka (2008) รายงานว่าในการพัฒนาสายพันธุ์ไซคลา เมน โดยพันธุ์ป่านั้นทำให้เกิดปัญหา คือ การเข้ากันไม่ได้ของคูโครโมโซมหรือทำให้เกิดพืชที่เป็นหมันขึ้น ซึ่งเทคนิคการช่วยชีวิตเอ็มบริโอ นั้น ทำให้ลูกผสมรอดชีวิต และแก้ความเป็นหมันของพืชผสมข้ามชนิดได้ โดยพบว่าสามารถปรับปรุงพันธุ์ให้ได้ลักษณะใหม่ที่มีความสำคัญทาง การค้าคือ มีกลิ่นหอมและสามารถต้านทานต่อโรคได้ดี

Lili *et al.* (2008) ทำการช่วยชีวิตเอ็มบริโอของลูกผสมองุ่นไร้เมล็ดในกลุ่มผสมพันธุ์ ‘Emerald Seedless’ × ‘Beichun’ นำเอ็มบริโอออกมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร WPM (woody plant medium; Lloyd and McCown, 1980) คัดแปลงโดยการเพิ่ม 6-BA 1 ไมโครโมล น้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ และผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เอ็มบริโอมีความงอกสูงถึง 91.2 เปอร์เซ็นต์และมีการพัฒนาเป็นต้นลูกผสม 77.4 เปอร์เซ็นต์

การปรับปรุงพันธุ์โดยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์

การกลายพันธุ์ หมายถึง การเปลี่ยนแปลงทุกชนิดที่เกิดขึ้นกับสารพันธุกรรม (genetic material) หรือดีเอ็นเอ (DNA) ในเซลล์ ซึ่งไม่เกิดจากการรวมตัว (recombination) หรือการแยกตัว (segregation) ของสารพันธุกรรมตามปกติ และสามารถถ่ายทอดลักษณะการเปลี่ยนแปลงนั้นๆ จากเซลล์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงไปยังเซลล์ลูกได้ด้วยกระบวนการแบ่งเซลล์ (อรุณี, 2550)

สาเหตุของการกลายพันธุ์ของพืช (สิรินุช, 2540)

1. การกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) เป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ โดยที่มนุษย์ไม่มีส่วนเกี่ยวข้อง และไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัด แต่มีบทบาทสำคัญยิ่งต่อวิวัฒนาการของพืช ทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรม ซึ่งมนุษย์ได้นำประโยชน์จากการแปรผันทางพันธุกรรมมาใช้ในการคัดเลือก ผสมพันธุ์ สร้างพันธุ์พืชใหม่ๆ ให้มีลักษณะตามต้องการ

2. การกลายพันธุ์ที่เกิดจากการชักนำ (induced mutation) เป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นโดยใช้วิธีการหรือสิ่งก่อกลายพันธุ์ (mutagen) ต่างๆ เพื่อชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์สามารถทำได้โดยการใช้รังสี สารเคมี เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และด้วยวิธีสอดแทรก DNA

สิ่งก่อกลายพันธุ์ (mutagen) (อรุณี, 2550)

แบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ รังสี (radiation) โดยรังสีที่กระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์มี 2 ชนิด คือ รังสีที่ก่อให้เกิดไอออน (ionizing radiation) เช่น รังสีบีตา, รังสีแกมมา, รังสีเอกซ์ และ รังสีที่ไม่ก่อให้เกิดไอออน (non-ionizing radiation) เช่น รังสีอัลตราไวโอเลต และสิ่งก่อกลายพันธุ์อีกชนิดคือ สารเคมี เช่น สารโคลชิซิน (colchicine) โอไรซาลิน (oryzalin) มีผลทำให้จำนวนชุดของโครโมโซมเพิ่มขึ้น ผลดังกล่าวนี้ทำให้ผลผลิตพืชเพิ่มขึ้น สารไดคลอวอส (dichlofos) ที่ใช้กำจัดแมลงและพาราควอต (paraquat) ที่ใช้กำจัดวัชพืช ก็สามารถทำให้เกิดการผิดปกติของโครโมโซมในคนและสัตว์ได้

สิ่งก่อกลายพันธุ์มีข้อดีและมีข้อเสียแตกต่างกันไปในแต่ละชนิด ซึ่งข้อดีของการใช้รังสีในการก่อกลายพันธุ์ คือ มีอำนาจในการทะลุทะลวงสูง วัดปริมาณรังสีถูกต้องและแม่นยำ การทดลอง

ซ้ำได้ผลเหมือนเดิม นอกจากนี้มีวิธีการทำทริตเมนต์ไม่ยุ่งยาก และการป้องกันอันตรายทำได้ง่าย แต่มีข้อเสียคือ เครื่องฉายรังสีมีราคาแพง จึงมีจำนวนเครื่องฉายรังสีค่อนข้างจำกัด หากผู้ปฏิบัติงานอยู่ห่างไกลจากสถานที่ๆ มีเครื่องฉายรังสีจะไม่สะดวกใน การปฏิบัติงานการเปลี่ยนต้นกำเนิดรังสีแต่ละครั้งยุ่งยาก และค่าใช้จ่ายสูง แต่ในการฉายรังสีจะทำให้เกิดความเสียหายแก่โครโมโซม เป็นอย่างมาก

การใช้สารเคมีในการก่อกลายพันธุ์มีข้อดี คือ มีราคาถูก หาซื้อง่าย สะดวกต่อการเตรียม ส่วนใหญ่เหนี่ยวนำให้เกิดการกลายของยีน ทำให้เกิดความเสียหายกับโครโมโซมน้อยกว่าการใช้รังสี และชนิดของลักษณะการกลายที่ได้ อาจแตกต่างจากที่ได้จากการใช้รังสี และมีความถี่ของการกลายค่อนข้างสูงอย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีในการก่อกลายพันธุ์มีข้อเสีย คือ มีอำนาจในการทะลุทะลวงต่ำ โดยเฉพาะกับเนื้อเยื่อหรือตัวอย่างพืชที่มีเซลล์จำนวนมาก การวัดปริมาณสารเคมีค่อนข้างยาก ทดลองซ้ำมักได้ผลไม่เหมือนเดิม วิธีการทำทริตเมนต์ยุ่งยาก มีความเสี่ยงในการใช้เนื่องจากสารเคมีที่ใช้ในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ส่วนใหญ่เป็นสารก่อมะเร็ง

รังสีที่นิยมใช้ในการชักนำให้พืชกลายพันธุ์

1. รังสีเอกซ์ (X-rays) ผลิตได้จากเครื่องกำเนิดรังสีเอกซ์ ประกอบด้วยหลอดสูญญากาศภายในมีเป้า ซึ่งทำจากวัสดุที่มีจุดหลอมเหลวสูง ทำหน้าที่เป็นขั้วบวก (anode) และไส้หลอด (filament) ทำหน้าที่เป็นขั้วลบ (cathode) เมื่อไส้หลอดร้อนจะปลดปล่อยอิเล็กตรอนให้เคลื่อนที่ไปปะทะเป้า แล้วให้รังสีเอกซ์ออกมา

2. รังสีแกมมา (gamma-rays) เป็นรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่สูง ไม่มีมวล ไม่มีประจุ มีอำนาจทะลุทะลวงสูง นักปรับปรุงพันธุ์สามารถฉายรังสีตัวอย่างพืชได้ 2 แบบ คือ การฉายรังสีแบบเฉียบพลัน (acute irradiation) คือ ให้อัตราและปริมาณรังสีสูง ในระยะเวลาฉายรังสีสั้น เช่น นาที หรือชั่วโมง และการฉายรังสีแบบโครนิค (chronic irradiation) โดยฉายในปริมาณรังสีต่ำ แต่ให้ตัวอย่างพืชได้รับรังสีเป็นระยะเวลานานๆ เช่น สัปดาห์ เดือน หรือปี

3. รังสีนิวตรอน (neutron) เป็นอนุภาคที่ไม่มีประจุไฟฟ้า จึงสามารถผ่านเข้าไปในตัวกลางได้ดี รวมทั้งเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ในปริมาณรังสีที่เท่ากัน นิวตรอนมีความรุนแรงมากกว่ารังสีเอกซ์ และรังสีแกมมา โดยเกิดอันตรายมากกว่ารังสีเอกซ์หรือรังสีแกมมาถึง 10 เท่า

4. ไอออนบีม (ion-beams) เป็นอนุภาคที่มีประจุ เช่น อิเล็กตรอน หรือไอออนอื่นๆ ได้แก่ คาร์บอนไอออน ไนโตรเจนไอออน นีออนไอออน เคลื่อนที่ไปในทิศทางเดียวกัน และมุ่งเข้าสู่เป้าหมายเดียวกัน

ผลของรังสีต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์

ความผิดปกติต่างๆ ที่เกิดขึ้น ภายในเซลล์เมื่อได้รับรังสี จะส่งผลกระทบต่อโครงสร้าง และหน้าที่ของเซลล์ เช่น อาจมีผลต่อเยื่อหุ้มต่างๆ ภายในเซลล์ กระบวนการเมแทบอลิซึม กระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการแบ่งตัวของเซลล์ด้วย การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณรังสีที่ได้รับ อัตรารังสี ชนิดของเซลล์ เป็นต้น (อรุณี, 2541) ผลของรังสีในระดับเซลล์ แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ ผลต่อการแบ่งตัวของเซลล์ และผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ (สิรินุช, 2527)

1. ความล่าช้าในการแบ่งตัวของเซลล์

การที่เซลล์ได้รับรังสีปริมาณน้อยๆ จะทำให้เซลล์เกิดความล่าช้าในการแบ่งตัวของเซลล์ โดยรังสีไปทำให้มีการลดจำนวนเซลล์ที่กำลังแบ่งตัว เรียกว่า ไมโทติกดีเลย์ (mitotic delay) ซึ่งจะเป็นอย่างนี้ในช่วงหนึ่งภายหลังเซลล์ได้รับรังสี หลังจากนั้นเซลล์จะเริ่มกิจกรรมมีการแบ่งตัวใหม่เพิ่มจำนวนเซลล์โดยการแบ่งตัวแบบไมโทซิสขึ้น เรียกว่า ไมโทติกโอเวอร์ชูต (mitotic overshoot)

ความล่าช้าในการแบ่งตัวของเซลล์มีสาเหตุหลายประการ เช่น สารเคมีที่เกี่ยวข้องในการแบ่งเซลล์ถูกกระทบกระเทือน โดยรังสีอาจไปทำให้กระบวนการสร้างโปรตีนหยุดชะงักไม่มีการสร้างโปรตีนขึ้นมาใช้ในการแบ่งเซลล์ กระบวนการเข้ามารวมกลุ่มกันของโครโมโซม (chromosome assembly) ล่าช้าลงหรือเพิ่มความเหนียวให้กับโครโมโซมทำให้โครโมโซมมีความยากลำบากในการแยกจากกันเพื่อไปสู่ในเซลล์ที่เกิดใหม่ อย่างไรก็ตาม ความล่าช้าของเซลล์ในการเข้าสู่ไมโทซิสขึ้นอยู่กับปริมาณรังสีที่เซลล์ได้รับ และระยะของเซลล์ในขณะได้รับรังสีบางระยะจะไวต่อรังสีมากกว่าระยะอื่นๆ เมื่อได้รับรังสีในปริมาณสูงทำให้เซลล์หยุดชะงัก การแบ่งตัวอย่างถาวร และไม่มีการฟื้นคืนกลับมาทำหน้าที่ได้อย่างเดิม ในที่สุดเซลล์จะตาย เซลล์อื่นที่ไม่ตายอาจแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเข้ามาแทนที่เซลล์ที่ตายได้ ในบางกรณีพบว่าเซลล์ที่ผ่านการฉายรังสีสามารถแบ่งตัวตามปกติ หลายครั้งหลังจากนั้นเซลล์ก็จะตาย

2. ผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์

การที่รังสีทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์น่าจะมีผลต่อเนื่องจากการที่รังสีทำอันตรายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ต่างๆ ภายในเซลล์ และเอนไซม์ ตัวอย่างเช่น รังสีทำอันตรายกับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหายใจ อันเป็นผลเนื่องมาจากรังสีทำอันตรายต่อเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรีย ซึ่งมีเอนไซม์เกาะติดอยู่ทำให้เอนไซม์ได้รับความกระทบกระเทือนด้วยการควบคุมการเข้าออกของสารผ่านเซลล์โดยวิธีแอกทีฟทรานสปอร์ตเป็นไปอย่างลำบาก เช่น เมื่อเซลล์รากพืชได้รับรังสีเซลล์รากพืชจะดูดซึมน้ำได้น้อยลง

ผลของรังสีแกมมาต่อการเปลี่ยนแปลงของพืช

การให้รังสีกับพืชไม่ว่าจะเป็นแบบโครนิค (chronic) หรือแบบเฉียบพลัน (acute) กับส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช หรือกับพืชที่กำลังเจริญเติบโต จะทำให้เกิดความผิดปกติอย่างใดอย่างหนึ่งหรือหลายอย่างพร้อมกันได้ ความผิดปกติดังกล่าวอาจเป็นไปได้ทั้งผลดีหรือผลเสีย ซึ่งอาจเป็นประโยชน์หรือไม่มีประโยชน์ในด้านการปรับปรุงพันธุ์ก็ได้ ความผิดปกติดังกล่าวแบ่งออกได้เป็นดังนี้ (อรุณี, 2530)

1. ผลของรังสีที่มีต่อสรีรวิทยาของพืช (physiology effects of radiation)

ผลทางด้านสรีรวิทยาจัดว่าเป็นผลลำดับแรกของรังสี ได้แก่ การยับยั้งการแบ่งเซลล์ ซึ่งจะมีผลต่อการเจริญเติบโต นิสัยการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยาอันเนื่องมาจากรังสีอื่นๆ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของใบ การเปลี่ยนแปลงการจัดเรียงตัวของใบบนลำต้น (phyllotaxy) ซึ่งมีผลต่อความยาวข้อปล้อง การเกิดการแยกของลำต้นออกเป็นหลายๆ กิ่ง (fasciation) การเพิ่มหรือลดจำนวนของกลีบดอก ผลของรังสีที่มีผลต่อระบบทางสรีรวิทยาของพืชมักจะเป็นผลที่ไม่ถาวรหายไปยังชั่วต่อไป และผลที่เกิดขึ้นจะรุนแรงมากน้อยแค่ไหนขึ้นกับวิธีการฉายรังสี และปริมาณรังสีที่ใช้ หากเป็นรังสีแบบเฉียบพลัน (acute irradiation) และใช้ปริมาณรังสีสูงผลจะรุนแรงมาก ความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับรูปร่างลักษณะของพืชที่ได้รับรังสีอาจเกิดขึ้นกับราก ลำต้น ใบ ดอก ผล เช่น รังสีไปยับยั้งการแบ่งเซลล์ในบริเวณยอด และยับยั้งการยึดตัวของเซลล์บริเวณปล้อง ทำให้ต้นแคระแกรน

2. ผลของรังสีที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงสี (color change)

พืชที่ได้รับรังสีเอกซ์หรือรังสีแกมมามักเกิดการเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับสี โดยเฉพาะอย่างยิ่งสีใบ เกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่า mosaic ส่วนใหญ่เกิดขึ้นเนื่องจากการกระจายตัวของคลอโรฟิลล์ไม่สม่ำเสมอ นอกจากนี้อาจพบว่าใบเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีอื่นๆ เช่น สีเหลือง หรือสีขาว เป็นต้น

3. ขยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช (growth inhibition)

ผลของรังสีที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโต เนื่องมาจากการยับยั้งการแบ่งเซลล์ ทำให้เกิดลักษณะผิดปกติ เช่น ขอบปล้องสั้น ทำให้ต้นเตี้ยแคระ โดยพบใน บีโกเนียพันธุ์ Bella vista (สุมนา, 2528), เบญจมาศ (ชุดินทร, 2532), พิทูเนีย (พรรณี, 2543) รวมไปถึงการยืดตัวของเซลล์ (อดิศร, 2533)

4. เร่งการเจริญเติบโต (growth stimulation)

ผลอีกด้านหนึ่งก็คือเกิดการกระตุ้น การเจริญของพืชอย่างผิดปกติ เนื่องจากผลของการแบ่งเซลล์และขยายตัวอย่างผิดปกติ (อดิศร, 2533) มีรายงานว่ารังสีปริมาณต่ำๆ สามารถไปเร่งการเจริญเติบโตของพืช บางชนิดได้ ปริมาณรังสีที่ไปเร่งการเจริญเติบโตได้ คือ ปริมาณรังสีที่ต่ำกว่า 5000 เเรนต์เกินการแสดงออกถึงการเร่งการเจริญเติบโต อาจแสดงออกมาในลักษณะต่างๆ เช่น ต้นพืชสูงขึ้น มีรากยาว งอกเร็ว ออกดอกเร็ว ผลผลิตสูง หรืออายุเก็บเกี่ยวสั้นลง เป็นต้น

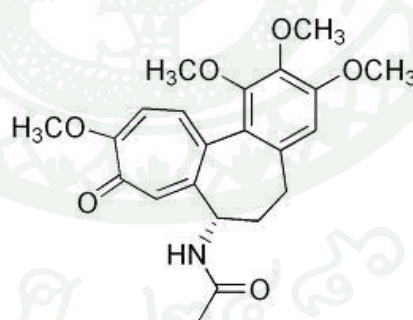
ในการนำส่วนของพืชที่เตรียมไว้มาฉายรังสีโดยเลือกวิธีการฉายแบบโครนิก หรือการฉายแบบเฉียบพลันนั้นขึ้นอยู่กับชนิดและขนาดของตัวอย่าง สำหรับปริมาณรังสีที่ใช้ก็ต้องพิจารณาตามความเหมาะสมของตัวอย่างพืชรวมถึงชนิดของพืชด้วย เพราะพืชแต่ละชนิดจะตอบสนองต่อรังสีได้ไม่เท่ากัน โดยทั่วไปมีหลักการว่าปริมาณรังสีที่ให้กับพืชต้องไม่สูงจนถึงกับทำให้พืชตายหรือไม่เจริญเติบโต แต่ปริมาณรังสีต้องไม่ต่ำจนเกินไปเพราะจะทำให้มีอัตราการกลายต่ำมากจนไม่สามารถตรวจพบการกลายหรือไม่พบการเปลี่ยนแปลงใดๆ เกิดขึ้น

พืชแต่ละชนิดมีความไวต่อรังสี (radiosensitivity) แตกต่างกันไป ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ลักษณะความไวต่อรังสีหรือความทนทานต่อรังสีส่วนหนึ่งควบคุมด้วยยีน และสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ การพิจารณาฉายรังสีกับพืชแต่ละชนิดนักวิจัยอาจสืบค้นข้อมูลจากผลงาน

ที่ทำมาแล้วโดยนักวิจัยท่านอื่นๆ หรืออาจจะหาปริมาณรังสีที่เหมาะสมของพืชที่จะทำการวิจัยเองก็ได้ โดยวัดความเสียหายทางสรีรวิทยาที่เกิดกับต้นกล้า ซึ่งมี 2 วิธี คือ วัดการเจริญเติบโตของ ต้นกล้า (seedling growth) แล้วหาค่าปริมาณรังสีที่ทำให้ต้นกล้าลดการเจริญเติบโตลง 50 % (50 % Growth Reduction, GR₅₀) ของกลุ่มเปรียบเทียบ (control) และวัดเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของต้นกล้า (seedling survival percentage) แล้วหาปริมาณรังสีที่ทำให้ต้นกล้าตายไป 50 % (50 % Lethal Dose, LD₅₀) ของกลุ่มเปรียบเทียบ (control) (สิรินุช, 2540)

สารเคมีที่นิยมใช้ในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์

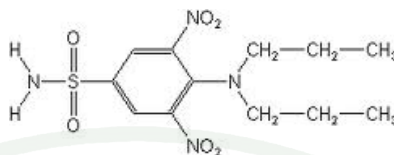
โคลชิซิน (colchicine) เป็นสารประเภท alkaloid ในอดีตสามารถสกัดได้จาก *Colchicum* (*Colchicum autumnale*) *Colchicum* เป็นพืชป่าในแถบทะเลเมดิเตอร์เรเนียน มีสารอัลคาลอยด์ 20 ชนิดพบในส่วนของหัวและเมล็ด สารอัลคาลอยด์ส่วนใหญ่คือสารโคลชิซิน ซึ่งมีลักษณะเป็นผลึก รูปเข็มสีเหลืองอ่อน โคลชิซินบริสุทธิ์ มีสูตรโครงสร้างทางเคมี C₂₂H₂₅NO₆ มีลักษณะเป็นผลึก รูปเข็มไม่มีสีสามารถละลายได้ง่ายในแอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม และน้ำเย็น มีประโยชน์ทางการแพทย์ ใช้ในการรักษาโรคเก๊าท์ (Popovice and Gasic, 1993) แต่ในปัจจุบันสามารถสกัดสารโคลชิซินได้จาก *Colchicum* ตัวอื่น, *Merendera* และพืชในสกุล *Gloriosa* เช่น *Gloriosa superba* ซึ่งเป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ Liliaceae (Kitajima et al., 2008)



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของโคลชิซิน

สารโคลชิซิน (colchicine) มีคุณสมบัติในการยับยั้งการสร้างสายสปินเดิล (spindle fiber) ในระยะที่มีการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส เรียกว่า C-mitotic agent โดยสารโคลชิซินจะไปรวมกับองค์ประกอบที่เป็นโปรตีนของไมโครทิวบูล (microtubule) ภายในเซลล์ทำให้ไมโครทิวบูลไม่สามารถต่อกันเป็นสายสปินเดิลที่จะช่วยดึงโครโมโซมให้แยกออกจากกันในระยะเมตาเฟส

(metaphase) โครโมโซมจึงไม่เคลื่อนที่เข้าสู่ขั้ว เซลล์ ทำให้มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นอีกเท่าตัว (สิรินุช, 2536; อมรา, 2536)



ภาพที่ 2 สูตรโครงสร้างของโอไรซาลิน

โอไรซาลิน (oryzalin) (ชื่อสามัญ) หรือ sulflan, ryzelan (ชื่อการค้า) ซึ่งมีสูตรโครงสร้างทางเคมี $C_{12}H_{18}N_4O_6S$ (3,5-dinitro- N,N' dipropylsulphanilamide) มีลักษณะเป็นผลึกสีเหลืองส้ม มักใช้เป็นสารกำจัดวัชพืช (selective preemergence herbicide) และยังมีคุณสมบัติเป็น antimitotic agent คล้ายกับ โคลชิซิน (Hassawi และ Liang, 1991)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์

ปาริชาติ (2526) ศึกษาผลของสิ่งก่อกลายพันธุ์ ในกล้วยหอมทองในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการเพิ่มปริมาณรังสีทำให้อัตราการเจริญเติบโตของกล้วยลดลง และทำให้เกิดลักษณะผิดปกติต่างๆ ซึ่งรังสี 3.5 krad ชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมจาก triploid ($2n=33$) เป็น aneuploid และเมื่อแช่ปลายยอดในโคลชิซิน 0.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 0-8 ชั่วโมง พบว่า เมื่อแช่เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ชักนำให้จำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็น hexaploid ($2n=66$) ในบางต้น

รกรอง (2528) ศึกษาการชักนำให้เยื่อปรีการกลายพันธุ์ในหลอดทดลอง พบว่ารังสีทำให้เกิดลักษณะผิดปกติบางอย่าง แต่จำนวนโครโมโซมไม่เปลี่ยนแปลง และการใช้โคลชิซินเข้มข้น 0.025 เปอร์เซ็นต์จะมีอัตราการรอดตายสูงสุด และพบต้นที่เป็น tetraploid ($4X=100$) และ mixoploid

เสริมศิริ (2532) ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์ของแก้วฮวย ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้สารโคลชิซิน 0.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 1-5 ชั่วโมง พบว่าได้ต้น tetraploid ที่มีลักษณะแคะแกระ้น ซึ่งไม่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ส่วนการชักนำโดยรังสีแกมมา 1-5 krad ทำให้เกิดการกลายได้มาก

ทิวา (2533) ศึกษาผลของโคลชิซินต่อการกลายพันธุ์ของแกลดิโอลัสในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้ความเข้มข้น 0 50 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 6 12 24 และ 36 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นของ โคลชิซิน มีผลต่อน้ำหนัก ขนาดของแกลดัส ความสูง ความหนาใบ เมื่อศึกษาจำนวนโครโมโซม จากปลายราก พบว่าจำนวนโครโมโซมไม่มีการเปลี่ยนแปลง ($2n=46$)

เยาวพา (2536) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการชักนำห่อนให้กลายพันธุ์ด้วยการใช้สารโคลชิซิน และการฉายรังสีแกมมาเพื่อที่จะทำการคัดเลือกพันธุ์ทนเค็มโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าอัตราการรอดชีวิตรวมถึงอัตราการเจริญเติบโตของตาข้างลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลาย และระยะเวลาเพิ่มขึ้น การแช่สารโคลชิซิน 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 2 วัน สามารถที่จะชักนำให้เกิดต้น tetraploid ได้มาก ซึ่งมีเซลล์ปากใบ ความหนาใบมากกว่าต้น diploid มีจำนวนของโครโมโซม $2n=4X=56$ ส่วนรังสีแกมมาจะทำให้ได้ต้นที่มีลักษณะเดี่ยวแกระ และมีจำนวนโครโมโซมไม่เปลี่ยนแปลง

สุชาดา (2550) ศึกษาการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในไทรย้อยใบแหลมค้างโดยใช้รังสีแกมมาเฉียบพลัน พบว่าค่า $LD_{50(45)}$ มีค่าเท่ากับ 60 เกรย์ เมื่อทำการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิก ทำให้เกิดการกลายของใบหลายลักษณะ โดยเปลี่ยนการดำรงของใบ รูปร่างของใบ สีของใบ และขนาดของใบ และลักษณะการกลายที่คงตัวพบว่ามีเพียง 2 ลักษณะเท่านั้น

สุธนา (2550) ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์ไผ่ฟิลิปปินส์โดยใช้รังสีแกมมา เฉียบพลัน พบว่าค่า $LD_{50(120)}$ มีค่าเท่ากับ 465 เกรย์ เมื่อเพิ่มปริมาณรังสีให้สูงขึ้น พบว่าการเจริญเติบโตทางด้านความสูง ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนยอด และความยาวข้อปล้องของไผ่ฟิลิปปินส์พันธุ์ Florida Beauty ลดลง

สุภาภรณ์ (2536) ศึกษาผลของโคลชิซินต่อกลิ้วไข่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอด พบว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ร่วมกับโคลชิซินความเข้มข้น 500 1000 และ 1500 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 24 48 และ 72 ชั่วโมง จะมีการตายเพิ่มขึ้น การแตกหน่อลดลง ความเข้มข้นของสารละลาย และระยะเวลาในการแช่สารมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช แต่ไม่สามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมได้

วิษชุดา (2537) ศึกษาผลของโคลชิซิน และรังสีแกมมาต่อการกลายพันธุ์ของหน้าวัวพันธุ์ Double Spathe พบว่าปริมาณรังสี 5 เกรย์ ทำให้เกิดลักษณะผิดปกติมากที่สุด แต่ความยาวของปากใบ ของต้นที่ได้รับรังสีไม่แตกต่างกับต้นที่ไม่ได้รับการฉายรังสี และมีจำนวนโครโมโซมไม่

เปลี่ยนแปลง ส่วนการใช้ โคลชิ จินความเข้มข้น 0.01 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์นาน 24 และ 48 ชั่วโมง ทำให้อัตราการรอดชีวิตลดลงเกิดลักษณะใบต่าง จำนวนโครโมโซมไม่เปลี่ยนแปลงเช่นกัน

กิตติศักดิ์ (2551) ศึกษาความเข้มข้นของโคลชิซินต่อการเจริญเติบโตของแคลต์ สซอนด์กลีน พบว่า ที่ความเข้มข้นของโคลชิซิน 0 0.1 0.5 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 4 และ 5 วันพบว่าเมื่อแช่เนื้อเยื่อนาน 3 วัน เนื้อเยื่อเป็นสีเขียวทั้งชิ้น และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุด และที่ความเข้มข้นสูง คือ 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เนื้อเยื่อเป็นสีน้ำตาล และมีอัตราการรอดชีวิตต่ำ

ณัฐพงศ์ (2552) ศึกษาการชักนำให้เกิดการกลายในสภาพปลอดเชื้อด้วยโคลชิซิน ร่วมกับรังสีแกมมาในต้นหงส์เหินดอกขาว พบว่าต้นที่ได้รับโคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 72 ชั่วโมง ลักษณะแกระแกร็น เตี้ยผิดปกติ การแตกกอดีเยี่ยม ทร ใบเป็นเกล็ด สีเขียวอ่อน ลำต้นเตี้ยแกระ คล้ายกำปู บางลักษณะคล้ายกำกุ่ม ต้นที่ได้รับโคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 72 ชั่วโมง มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ บี สูงที่สุด ส่วนต้น ผ่านการฉายรังสี แกมมา แบบเฉียบพลัน ค่า $LD_{30(40)}$ - $LD_{50(40)}$ มีค่าเท่ากับ 27.54-42.75 เกรย์ และต้นที่ได้รับโคลชิซิน 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลานาน 48 และ 72 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา เฉียบพลัน ค่า $GR_{30(40)}$ - $GR_{50(40)}$ มีค่าเท่ากับ 34.99-22.36 เกรย์

ปิ่นอนงค์ (2552) ศึกษาการชักนำให้เกิดการกลายในสภาพปลอดเชื้อของต้นหงส์เหินชมพูพันธุ์ป่าด้วยรังสีแกมมา ร่วมกับโคลชิซิน พบว่าต้นที่ได้รับโคลชิซิน ที่ความเข้มข้น 1 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 48 ชั่วโมง ต้นอ่อนมีชีวิตรอด 93.33 % ค่า $LD_{30(40)}$ - $LD_{50(40)}$ มีค่า 19.19-31.98 เกรย์ และต้นที่ได้รับรังสีแกมมา 50 เกรย์ ไม่พบต้นรอดชีวิต

Verhoeven *et al.* (1990) ศึกษา spindle toxin ในระยะเมตาเฟส และการเกิด micronuclei โดยใช้โคลชิซิน, โอไรซาติน และ amiprophosmethyl (APM) กับเซลล์แขวนลอยของ *Nicotiana plumbaginifolia* พบว่า oryzalin และ APM จะยับยั้งการสร้างเส้นใย spindle ได้มากกว่าโคลชิซิน และทำให้เกิด micronuclei ในเซลล์ได้มากกว่าด้วย

Hassawi *et al.* (1991) ศึกษา antimitotic agents กับการทวิจำนวนโครโมโซมของข้าวสาลีที่เป็น haploid โดยการใช้สารโคลชิซินความเข้มข้น 0.0125 และ 0.025 เปอร์เซ็นต์, ไตรฟลูราลิน 5 และ 10 μ M โอไรซาติน 5 และ 10 μ M พบว่าข้าวสาลีพันธุ์ Povon สามารถตอบสนองต่อสารก่อกลายพันธุ์ได้ดี โดยที่โคลชิซินจะมีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิด doubled haploid ($2n=6X=42$)

Ramula *et al.* (1991) รายงานว่าไอโรชาลิน , amiprophosmethyl (AMP) และโคลชิซินซึ่งเป็นสารต้าน antimicrotubule สามารถหยุดกระบวนการไมโทซิสในเซลล์ แวนดอยของมันฝรั่ง ทำให้ micronuclei และโครโมโซมเพิ่มขึ้น หลังจากได้รับสารไอโรชาลิน และ APM ความเข้มข้น 15-32 μM มีผลยับยั้งในระยะ metaphase ได้มากกว่าโคลชิซิน 0.5-5 μM เมื่อเปลี่ยนอาหาร และตรวจสอบด้วย flow cytometry เพื่อหาปริมาณ DNA ในระยะ interphase และจำนวนโครโมโซมของเซลล์ พบว่าสารที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มจำนวนโครโมโซมได้ดีที่สุด คือ ไอโรชาลิน รองลงมาคือ APM และ โคลชิซินตามลำดับ

Wan *et al.* (1991) ศึกษาการใช้ สารในกลุ่ม antimicrotubule herbicides คือ APM, pronamide, ไอโรชาลิน และ trifluralin โดยทำการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร (anther) ของข้าวโพด ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงระดับ ploidy จากต้น double haploid plant callus ด้วย flow cytometry พบว่า haploid callus ที่ได้รับ APM 5-10 μM หรือ pronamide 10 μM นาน 3 วัน สามารถเพิ่มจำนวนโครโมโซมเป็น diploid ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทั้ง APM และ pronamide ในความเข้มข้นนี้ไม่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแคลลัส และแคลลัสยังสามารถพัฒนาไปเป็นต้นได้มาก ไอโรชาลินมีประสิทธิภาพในการในการชักนำได้มาก แต่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโต ส่วน trifluralin สามารถชักนำได้ที่มีความเข้มข้นต่ำ (0.5-1 μM)

Novak *et al.* (1990) ศึกษาการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์จากเนื้อเยื่อปลายยอดกล้วยในสภาพปลอดเชื้อที่ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเจริญ และใบแรกเกิด 2 คู่ นำมาฉายรังสีแกมมา เจียบพลัน พบว่าความไวต่อรังสีขึ้นกับระดับของ ploidy และการรวมตัวของ genome A และ B ระดับรังสีแกมมาที่เหมาะสมสำหรับการฉายให้กับกล้วย diploid, AAA triploid, AAB ABB triploid และ AAAA tetraploid คือ 25, 35, 40 และ 50 เกรย์ตามลำดับ พันธุ์กล้วยที่ได้จากการชักนำกล้วย Grand Nain คือ GN60A ซึ่งมีการออกดอกเร็วขึ้น เครื่องจักรคุณภาพและน้ำหนักเครือมากขึ้น ต้น เตี้ยลง และองค์ประกอบภายในผลต่างไปจากเดิม นอกจากนี้ยังใช้สาร EMS กับกล้วย diploid และ triploid โดยแช่ shoot tip ใน EMS 0.2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ DMSO 2 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 ชั่วโมง สามารถชักนำให้เกิดการกลายได้อีกด้วย

Smith *et al.* (1993) รายงานว่ากล้วย Dwarf Perfitt ซึ่งต้านทาน โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* race4 เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการฉายรังสีแกมมา ต้นกล้วยที่ได้โตเร็ว และทนต่ออากาศเย็นดีกว่าเดิม และยังคงต้านทานเชื้อได้ด้วย

Barandalla *et al.* (2006) ให้โอไรซาลินและโคลชิซินกับยอดของมันฝรั่ง 6 สายพันธุ์ ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน และระยะเวลาที่แตกต่างกัน โดยใช้เครื่อง flow cytometry ในการตรวจสอบจำนวนชุดของโครโมโซม พบว่าได้ต้นที่เป็นเตตราพลอยด์ในมันฝรั่ง 3 สายพันธุ์ จาก 6 สายพันธุ์ที่ได้รับ โอไรซาลิน ส่วนชุดการทดลองที่ได้รับโคลชิซินไม่พบต้นที่เป็นเตตราพลอยด์ ชุดการทดลองที่ได้รับ โอไรซาลินความเข้มข้น 28.8 ไมโครโมลาร์ ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบต้นเตตราพลอยด์สูงที่สุด 43%

Rubuluza *et al.* (2007) ชักนำให้เกิดเตตราพลอยด์จากเมล็ดของ *Colophospermum mopane* โดยให้โคลชิซินความเข้มข้น 0.05, 0.1 และ 1.0% (w/v) เป็นระยะเวลา 24 48 และ 96 ชั่วโมงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 45% จากนั้นใช้ Flowcytometry ตรวจสอบ ploidy level ต้นกล้าที่รอดชีวิต ต้นกล้าที่เป็นเตตราพลอยด์ส่วนใหญ่เป็นชุดการทดลองที่ได้รับโคลชิซิน 0.05 และ 0.1% เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่า กิ่งแขนงยาวขึ้น ใบมีขนาดเล็กลง และพบว่าชุดที่ได้รับ โคลชิซินมียอดจำนวนมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พืชทดลอง

1.1 การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ ใช้เมล็ดหงส์เหินพันธุ์ป่า กลีบประดับสีขาว มีขนาดเล็กที่สามารถติดเมล็ดได้ง่าย โดยผสมตัวเอง และเก็บเมล็ดเมื่ออายุ 20 วัน



ภาพที่ 3 หงส์เหินพันธุ์กลีบดอกสีขาว (*Globba magnifica*)

1.2 การศึกษาการเจริญเติบโต และการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ ใช้ต้นหงส์เหินพันธุ์การค้า มีลักษณะช่อดอกสีม่วงอมชมพู ช่อดอกยาว ดอกจริงมีขนาดใหญ่ สังเกตตัวหงส์ได้ชัด มีก้านช่อดอกยาว ลำต้นสูง ใบมีขนาดใหญ่



ภาพที่ 4 หงส์เหินพันธุ์การค้าสีม่วงอมชมพู (*Globba williamsiana*)

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.1 ปากกิบ จานแก้ว ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ตะเกียงแอลกอฮอล์ ตะแกรงวางมีดผ่าตัด ปากกิบ มีดผ่าตัด ใบมีด กระจกทรงตัดเนื้อเยื่อ ตู้ปลอดเชื้อ กระบอกตวง ปีกเกอร์ แท่งแก้วคนสาร กระบอกฉีดยา ปิเปตต์ เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง เตาไมโครเวฟ เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH-meter) หม้อนึ่งความดัน

2.2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS, 1962) คลอโรกซ์ น้ำตาลซูโครส ผงวุ้น (kelcogel)

3. อุปกรณ์สำหรับเตรียมสารละลายโคลชิซิน ไอโซชาลินความเข้มข้นต่างๆ

3.1 โกร่งบดยา เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง กระจกชั่งสาร ขวดแก้วพร้อมฝาปิด ปีกเกอร์ กระบอกฉีดยา แท่งแก้วคนสาร ตัวกรองขนาด 0.2 ไมครอน ขวดเตรียมสารละลาย (duran) ถังมือ

3.2 สารเคมี ได้แก่ ยาเม็ดยี่ห้อ colchicine (ยา 1 เม็ด ประกอบด้วย โคลชิซิน 0.6 มิลลิกรัม แลคโตส แมกนีเซียม สเตียเรต และแป้ง) ซึ่งเป็นตัวยำนำเข้าจากประเทศสวิสเซอร์แลนด์ และสามารถหาซื้อได้ตามร้านขายยาทั่วไป ไอโซชาลิน เป็นสารบริสุทธิ์ ผงสีเหลือง บรรจุในขวดสีชาของบริษัท sigma แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลายไอโซชาลิน

4. อุปกรณ์สำหรับฉายรังสีแกมมา

4.1 เครื่องฉายรังสี Mark I และซีเซียม 137

4.2 ขวดแก้วพร้อมฝาปิด กระบอกใส่เนื้อเยื่อ

5. อุปกรณ์สำหรับศึกษาปากใบ

ได้แก่ ใบมีดโกน สไลด์แก้ว กระจกปิดสไลด์ ปากกิบ น้ำยาทาเล็บ ocular micrometer stage micrometer กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope เป็นต้น

6. อุปกรณ์สำหรับปลูกพืช

- วัสดุขี้เถ้า คือ ถ่านแกลบ ฟิทมอส ทราย อัตราส่วน 1:1:1
- วัสดุปลูก คือ ทราย ถ่านแกลบ ขุยมะพร้าว กาบมะพร้าวสับ ปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 1:1:1:1:1:1/2
- ถาดหลุมขนาด 104 หลุม
- กระถางขนาด 4 นิ้ว 6 นิ้ว 8 นิ้ว และ 12 นิ้ว
- ปุ๋ยเม็ดละลายช้าสูตรเสมอ 14-14-14 (อัตรา 5 กรัมต่อกระถาง)

- ปุ๋ยบำรุงต้นเมล็ดสีฟ้าสูตรเสมอ 14-14-14 (อัตรา 5 กรัมต่อกระถาง)

7. สารเคมีป้องกันและกำจัดโรคและแมลงศัตรูพืช

- สารเคมีป้องกันเชื้อราขี้หื้อ ออโรไซค์ (อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร)
- สารเคมีป้องกันและกำจัดเพลี้ยแป้ง

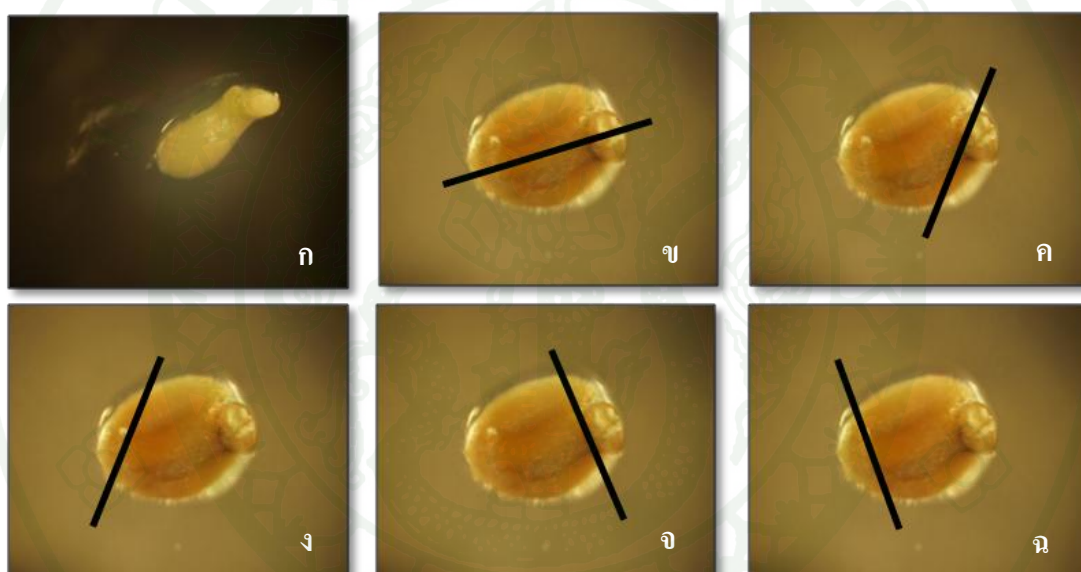
8. อุปกรณ์สำหรับเก็บข้อมูลและบันทึกผล



วิธีการ

การทดลองที่ 1 การเพาะเลี้ยงเอมบริโอหงส์เหินเพื่อลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์

เก็บฟักของหงส์เหินที่มีอายุ 20 วันหลังการผสมตัวเอง มาทำความสะอาดด้วยน้ำสบู่และล้างด้วยน้ำไหลนาน 15 นาที จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อพื้นผิวด้านนอกด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นฟอกด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (Clorox, 1.40 เปอร์เซ็นต์ (v/v) sodium hypochlorite) 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที และทำการแกะเมล็ดออก ฟอกครั้งที่ 2 ด้วยสารละลายคลอโรกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง และตัดเมล็ดหงส์เหิน ดังนี้



หมายเหตุ เส้นทึบแสดงตำแหน่งการตัดเมล็ดหงส์เหิน

ภาพที่ 5 ตำแหน่งการตัดเมล็ดของหงส์เหิน

- ก. แกะเอมบริโอ (ควบคุม)
- ข. กรีดตรงกลางเมล็ด
- ค. ตัดเมล็ดเฉียงหัว (เฉียงบริเวณไมโครไพล)
- ง. ตัดเมล็ดเฉียงท้าย (ตัดแนวเฉียงท้ายเมล็ด)
- จ. ตัดเมล็ดตรงหัว (ตัดผ่านไมโครไพล)
- ฉ. ตัดเมล็ดตรงท้าย (ตัดแนวตรงท้ายเมล็ด)
- ช. ไม่ตัดเมล็ด (ไม่มีรอยตัดดังภาพข-ฉ)

แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง คัดแปลง สูตร MS (Murashige and Skoog medium; Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ GA₃ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร พงวัน 7 กรัมต่อลิตร เนื้อเชื้อถูกเพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 ± 5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350 lm Philips Thailand) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 2 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดต้นอ่อนเร็วขึ้น เมื่อเกิดเป็นต้นอ่อน ทำการย้ายลงสู่อาหารอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเพื่อทำการเพิ่มปริมาณต้นหงส์เหินต่อไป

ทำการทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) (CRD) แบ่งออกเป็น 7 ทรีตเมนต์ โดยแต่ละทรีตเมนต์มี 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำใช้เมล็ดหงส์เหิน 15 เมล็ด และทำการบันทึกผลในสัปดาห์ที่ 1 และสัปดาห์ที่ 2 โดยการบันทึกการงอกของเมล็ดหงส์เหิน และทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติโดย Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลแบบ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2 การศึกษาวัสดุปลูก และการเจริญเติบโตของต้นหงส์เหินเพื่อพัฒนาเป็นไม้ตัดดอก และไม่กระถางจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.1 การศึกษาวัสดุปลูกในการย้ายกล้า

ทำการทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) (CRD) แบ่งออกเป็น 5 ทรีตเมนต์ตามชนิดของวัสดุปลูก โดยแต่ละทรีตเมนต์มี 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำประกอบด้วยต้นหงส์เหิน 6 ต้น โดยทำการศึกษาวัสดุปลูกดังนี้

- ทราย
- แกลบเผา
- พีทมอส
- แกลบเผา:ทราย (อัตราส่วน 1:1)
- แกลบเผา:ทราย:พีทมอส (อัตราส่วน 1:1:1)

บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตหลังย้ายปลูก 7 วัน และสังเกตความสมบูรณ์แข็งแรงของต้นหงส์เหิน

2.2 การศึกษาการเจริญเติบโตของต้นหงส์เหินเพื่อพัฒนาเป็นไม้ตัดดอกและไม้กระถางจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเตรียมต้นพันธุ์หงส์เหินโดยการเพาะเลี้ยงข้อดอกในสภาพปลอดเชื้อ

นำต้นหงส์เหินพันธุ์การค้า กลีบประดับสีม่วงอมชมพู ที่ปราศจากโรคและแมลงรบกวน นำมาพักไว้ในโรงเรือนปิดโดยทำความสะอาด ใบและต้น ของต้นหงส์เหินก่อนนำเข้าสู่โรงเรือน งดการให้น้ำ 3 วัน ตัดข้อดอกอ่อนมาล้างด้วยน้ำสบู่เหลวและล้างสับป้อนภายใต้ฟลูออเรสเซนต์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานาน 1 นาที และฟอกด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (Clorox, 1.40 เปอร์เซ็นต์ (v/v) sodium hypochlorite) 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที และฟอกครั้งที่ 2 ด้วย สารละลายคลอโรกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ล้างด้วยน้ำ กลั่นที่ผ่านการ ฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ตัดแต่งเนื้อเยื่อที่สัมผัส คลอโรกซ์ทิ้ง และตัดแบ่งข้อดอกลงเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร เนื้อเยื่อถูกเพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 ± 5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350 Im Philips Thailand) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน และทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 4 สัปดาห์ จนกว่าจะเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนเพื่อนำไปเพิ่มจำนวนเนื้อเยื่อหงส์เหิน

การเพิ่มปริมาณต้นอ่อนหงส์เหิน (Micropropagation)

นำต้นหงส์เหิน ที่ปลอดเชื้อ มาตัดยอดให้สูงจากฐาน 1.5 ± 0.2 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 ± 5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350 Im Philips Thailand) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

โดยทำการเพิ่มปริมาณหงส์เหินในเดือนมกราคม ถึงกุมภาพันธ์เมื่อหงส์เหินมีรากและต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง ทำการย้ายต้นกล้าออกปลูกในเดือนมีนาคมโดยทำการล้างวัน และย้ายลงถาดหลุมเพาะเมล็ดเพื่อปรับสภาพต้นอ่อนเป็นเวลา 7 วัน และรดต้นกล้าแข็งแรง ทำการย้ายลงกระถาง 4 นิ้ว โดยใช้วัสดุปลูก แกลบดิบ : แกลบเผา : ขุยมะพร้าว : กาบมะพร้าวสับ : ปุ๋ยหมัก (อัตราส่วน 1:1:1:1:1/2)

โดยให้ปุ๋ยสูตรเสมอ 14-14-14 บำรุงต้น และปุ๋ยละลายช้าออสโมโคส 14-14-14 ร่วมด้วย เมื่อหงส์เหินอายุ 60 วันทำการย้ายลงกระถาง 8 นิ้ว และให้ปุ๋ยสูตรเสมอ 14-14-14 บำรุงต้น และปุ๋ยละลายช้าออสโมโคส 14-14-14 อีกครั้ง ให้แสงไฟเพื่อเพิ่มวันยาวในช่วงเวลา 17.00-21.00 น. และให้น้ำเพื่อเพิ่มความชื้นในช่วงเช้า และเย็นของทุกวัน ทำการวัดการเจริญเติบโตทุก ๆ เดือนตั้งแต่เดือนเมษายน ถึงธันวาคม 2554 โดยบันทึกผลการทดลองดังนี้

- จำนวนต้นตอก
- ความสูงของลำต้นเทียม
- ความกว้างของใบ
- ความยาวของใบ
- จำนวนช่อดอก
- ความยาวของช่อดอก
- ระยะการเจริญเติบโต (vegetative และ reproductive)

การทดลองที่ 3 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้โคลชิซินชนิดเม็ด

นำต้นหงส์เหินที่ผ่านการเพิ่มจำนวนมาตัดยอด และรากทิ้งให้ได้ขนาด 2 เซนติเมตร มาเลี้ยงในอาหารเหลว MS เดิม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตรที่มีสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้

- ไม่ได้รับโคลชิซิน (ควบคุม)
- โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลานาน 1 วัน
- โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลานาน 3 วัน
- โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลานาน 5 วัน
- โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลานาน 7 วัน
- โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลานาน 1 วัน
- โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลานาน 3 วัน
- โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลานาน 5 วัน
- โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลานาน 7 วัน
- โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลานาน 1 วัน
- โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลานาน 3 วัน
- โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลานาน 5 วัน

- โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 7 วัน
- โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 1 วัน
- โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 3 วัน
- โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 5 วัน
- โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 7 วัน

เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนิ่งมาเชื้อ 3 ครั้ง ตัดแต่งเนื้อเยื่อบางส่วน ทั้ง ข่ายลงอาหารแข็ง MS เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 ± 5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350 Im Philips Thailand) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

ทำการทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) (CRD) แบ่งออกเป็น 17 ทรีตเมนต์ โดยแต่ละทรีตเมนต์มี 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำประกอบด้วย ขั้วต้น หงส์เหิน 5 ต้น และทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติโดย Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลแบบ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ขั้นตอนการเตรียมสารละลายจากยาเม็ดโคลชิซิน

เตรียมสารละลายจากยาเม็ดโคลชิซิน โดยตัวยา 1 เม็ด ประกอบด้วยส่วนผสมของโคลชิซิน 0.6 มิลลิกรัม ทำการเตรียมสารละลายที่ความเข้มข้น 1 3 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้สูตร

$$N_1 V_1 = N_2 V_2$$

N_1 คือ ปริมาณความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน (มิลลิกรัม)

V_1 คือ ปริมาตรของตัวทำละลาย (มิลลิลิตร)

N_2 คือ ปริมาณความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่ต้องการเตรียม (มิลลิกรัม)

V_2 คือ ปริมาตรของตัวทำละลายที่ต้องการเตรียม (มิลลิลิตร)

นำยาเม็ดละลายในอาหารเหลว MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ผ่านการนิ่งมาเชื้อ (ตามที่คำนวณได้จากสูตร) เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินต่างๆ ตามความต้องการ สำหรับ

ต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซินจะใช้อาหารเหลว MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียวและทำการกรอกรองจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในตู้ปลอดเชื้อจำนวน 2 ครั้ง เมื่อครบระยะเวลา 30 วันทำการบันทึกผลการทดลองดังนี้

- นับจำนวนต้นที่รอดชีวิตหลังได้รับโคลชิซิน
- วัดความยาวใบ
- วัดความกว้างใบ
- ความยาวราก
- นับจำนวนต้นต่อกอ
- วัดความสูงต้น

หลังจากเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหงส์เหินเป็นเวลา 30 วันพบว่าหงส์เหินมีราก และลำต้นที่แข็งแรงทำการย้ายปลูกลงถาดหลุมเพาะเมล็ด ซึ่งใช้ แกลบเผา:ทราย:พีทมอส (อัตราส่วน 1:1:1) เป็นวัสดุเพาะกล้า และปรับสภาพต้นให้แข็งแรงเป็นระยะเวลา 7 วันก่อนทำการย้ายลงกระถางขนาด 4 นิ้ว โดยใช้แกลบดิบ :แกลบเผา:ขุยมะพร้าว :กาบมะพร้าวสับ :ปุ๋ยหมัก (อัตราส่วน 1:1:1:1/2) เป็นวัสดุปลูก ย้ายลงปลูกในกระถาง 4 นิ้ว และให้ปุ๋ยสูตรเสมอ 14-14-14 ร่วมกับปุ๋ยละลายช้าในอัตรา 5 กรัมต่อกระถางทุกๆ 1 เดือน ทำการบันทึกการเจริญเติบโตหลังย้ายปลูกที่ระยะเวลา 30 60 และ 90 วัน ดังนี้

- ศึกษาอัตราการรอดชีวิตหลังย้ายปลูก
- วัดความยาวใบ
- วัดความกว้างใบ
- นับจำนวนต้นต่อกอ
- วัดความสูงต้น
- วัดความหนาใบ
- วัดความยาวของช่อดอก
- วัดความหนาของกลีบประดับ (bract)
- สังเกตลักษณะสีของกลีบประดับ (bract)
- ศึกษาความผิดปกติของปากใบ
- สังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงของลำต้น สีใบ สีดอก เป็นต้น

การทดลองที่ 4 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้โอไรซาลิน

เตรียมสารละลายโอไรซาลินชนิดผงใช้ 70 เปอร์เซ็นต์เอทานอลเป็นตัวทำละลาย โดยเตรียมสารละลายในความเข้มข้นสูง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งโอไรซาลิน 100 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 50 มิลลิตร จนสารโอไรซาลินละลายหมด แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบปริมาตรที่กำหนด เมื่อนำมาใช้ในความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้สูตร

$$N_1 V_1 = N_2 V_2$$

N_1 คือ ปริมาณความเข้มข้นของสารละลายโอไรซาลิน (มิลลิกรัม)

V_1 คือ ปริมาตรของสารโอไรซาลินที่ความเข้มข้นสูง (มิลลิลิตร)

N_2 คือ ปริมาณความเข้มข้นของสารโอไรซาลินที่ต้องการเตรียม (มิลลิกรัม)

V_2 คือ ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการเตรียม (มิลลิลิตร)

นำสารละลายโอไรซาลินความเข้มข้นสูงดูตามความเข้มข้นที่ต้องการลงอาหารเหลว MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (ตามที่คำนวณได้จากสูตร) เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายโอไรซาลินตามความต้องการ สำหรับต้นที่ไม่ได้รับโอไรซาลินจะใช้อาหารเหลว MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียวและกรองในตู้ปลอดเชื้อจำนวน 2 ครั้งเพื่อกรองเพื่อให้ปราศจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน

ทำการทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) (CRD) ทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติโดย Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลแบบ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ แบ่งออกเป็น 16 ทรีตเมนต์ โดยแต่ละทรีตเมนต์มี 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำประกอบด้วยต้นหงส์เหิน 5 ต้น ดังนี้

- ไม่ได้รับโอไรซาลิน (ควบคุม)
- โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 1 วัน
- โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 3 วัน
- โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 5 วัน
- โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 7 วัน
- โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 9 วัน

- โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 1 วัน
- โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 3 วัน
- โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 5 วัน
- โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 7 วัน
- โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 9 วัน
- โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 1 วัน
- โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 3 วัน
- โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 5 วัน
- โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 7 วัน
- โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 9 วัน

นำต้นหงส์เหินที่ผ่านการเพิ่มจำนวนตัดยอด และรากทิ้งให้ได้ขนาด 2 เซนติเมตร เลี้ยง ในอาหารเหลว MS เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีสารละลายโอไรซาลินความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.1 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 3 5 7 และ 9 วัน เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดล้างเนื้อเยื่อด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนิ่งมาเชื้อ 3 ครั้ง ตัดแต่งเนื้อเยื่อบางส่วนทิ้ง ย้ายลงอาหารแข็ง MS เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 ± 5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350 Im Philips Thailand) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เมื่อครบระยะเวลา 30 วันทำการบันทึกผลการทดลองดังนี้

- นับจำนวนต้นที่รอดชีวิตหลังได้รับโอไรซาลิน
- วัดความยาวใบ
- วัดความกว้างใบ
- ความยาวราก
- นับจำนวนต้นต่อกอ
- วัดความสูงต้น

เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนด 30 วัน ย้ายต้นหงส์เหินที่มีราก และมีลำต้นที่แข็งแรง ลงปลูกในถาดหลุมเพาะเมล็ด ซึ่งใช้ แกลบเผา:ทราย:พีทมอส (อัตราส่วน 1:1:1) เป็นวัสดุเพาะกล้า และปรับสภาพดินให้แข็งแรงเป็นระยะเวลา 7 วันก่อนทำการย้ายลงกระถางขนาด 4 นิ้ว โดยใช้แกลบดิบ : แกลบเผา:ขุยมะพร้าว:กาบมะพร้าวสับ:ปุ๋ยหมัก (อัตราส่วน 1:1:1:1/2) เป็นวัสดุปลูก ย้ายลงปลูกใน

กระถาง 4 นิ้ว และให้ปุ๋ยสูตรเสมอ 14-14-14 ร่วมกับปุ๋ยละลายช้าในอัตรา 5 กรัม ต่อกระถางทุกๆ 1 เดือน ทำการบันทึกการเจริญเติบโตที่ระยะเวลา 30 60 และ 90 วัน หลังย้ายปลูก ดังนี้

- ศึกษาอัตราการรอดชีวิตหลังย้ายปลูก
- วัดความยาวใบ
- วัดความกว้างใบ
- นับจำนวนต้นต่อกอ
- วัดความสูงต้น
- วัดความหนาใบ
- สังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงของลำต้น สีใบ สีดอก เป็นต้น

การทดลองที่ 5 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้รังสีแกมมา

นำต้นหงส์เหินที่ผ่านการเพิ่มจำนวนยอดมาเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่มีกรด BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ใช้ระยะเวลาในการเขย่า 72 ชั่วโมง ภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 ± 5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350 Im Philips Thailand) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) (CRD) แบ่งออกเป็น 7 ทริตเมนต์ตามปริมาณรังสี โดยแต่ละทริตเมนต์มี 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำประกอบด้วยต้นหงส์เหิน 15 ต้น จึงย้ายต้นหงส์เหินใส่ขวดที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วนำไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน (acute) ดังนี้

- ไม่ได้รับรังสีแกมมา (ควบคุม)
- ได้รับรังสีแกมมา 20 เกรย์
- ได้รับรังสีแกมมา 40 เกรย์
- ได้รับรังสีแกมมา 60 เกรย์
- ได้รับรังสีแกมมา 80 เกรย์
- ได้รับรังสีแกมมา 100 เกรย์
- ได้รับรังสีแกมมา 150 เกรย์

เมื่อฉายรังสีครบทุกทริตเมนต์ ทำการ ย้ายลงอาหารแข็งสูตร MS ที่มีการเติม BA 2 มิลลิกรัม ต่อลิตร เป็นระยะเวลา 60 วัน แล้วทำการหาค่า $GR_{50(60)}$ เพื่อหาปริมาณรังสีที่เหมาะสมใน การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์หงส์เหิน และทำการบันทึกผลการทดลองดังนี้

- นับจำนวนต้นที่รอดชีวิต
- นับจำนวนต้นตอกอ
- หาค่า $GR_{50(60)}$ และ $LD_{50(60)}$
- สังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น เช่น สีใบ รูปทรงใบ

เมื่อได้ค่า $GR_{50(60)}$ และ $LD_{50(60)}$ ที่เหมาะสมใน การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์นำ ต้นหงส์เหิน จำนวน 50 ต้น/ทริตเมนต์ มาทำการฉายรังสีแกมมาเฉียบพลัน ดังนี้

- ไม่ได้รับรังสีแกมมา (ควบคุม)
- ได้รับรังสีแกมมา 40 เกรย์
- ได้รับรังสีแกมมา 40 เกรย์
- ได้รับรังสีแกมมา 60 เกรย์
- ได้รับรังสีแกมมา 80 เกรย์

ทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติโดย Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลแบบ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

หลังจากฉายรังสีแกมมาต้นหงส์เหิน ย้ายต้นอ่อนลงสู่อาหาร MS ที่มีการเติม BA 2 มิลลิกรัม ต่อลิตรเป็นระยะเวลา 30 วัน ทำการบันทึกผลการทดลองดังนี้

- จำนวนต้นตอกอ
- ความสูงของต้น
- ความกว้างใบ
- ความยาวใบ
- ความยาวราก
- ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัส
- จำนวนยอดที่พัฒนาจากแคลลัส

การทดลองที่ 6 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้โคลชิซิน ร่วมกับรังสีแกมมา

นำต้นหงส์เหินที่ผ่านการเพิ่มจำนวนยอดเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่มีการเติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โคลชิซินความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับรังสีแกมมา วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) (CRD) แบ่งออกเป็น 12 ทรีตเมนต์ โดยแต่ละทรีตเมนต์มี 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำประกอบด้วยต้นหงส์เหิน 5 ต้น ดังนี้

- โคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 12 ชั่วโมง
- โคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 12 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา 20 เกรย์
- โคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 12 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา 40 เกรย์
- โคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 12 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา 60 เกรย์
- โคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 12 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา 80 เกรย์
- โคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 12 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา 100 เกรย์
- โคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 24 ชั่วโมง
- โคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 24 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา 20 เกรย์
- โคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 24 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา 40 เกรย์
- โคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 24 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา 60 เกรย์
- โคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 24 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา 80 เกรย์
- โคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 24 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา 100 เกรย์

เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 ± 5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนซ์ (TLD 36W/84 3350 Im Philips Thailand) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นระยะเวลา 60 วัน แล้วบันทึกผลการทดลองดังนี้

- นับจำนวนต้นที่รอดชีวิต
- หาค่า $LD_{50(60)}$
- สังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น เช่น สีใบ รูปทรงใบ ลักษณะของต้น

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

สถานที่ทำการวิจัย

1. ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ศูนย์โอดี เขตอนุสาวรีย์ กรุงเทพมหานคร
2. ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย) ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร
3. ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ปทุมธานี
4. แปลงทดลอง 1 ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

ระยะเวลาทำการวิจัย

เริ่มทำการวิจัย เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2553 ถึงเดือนธันวาคม 2554

ผลและวิจารณ์

ผล

การทดลองที่ 1 การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอหงส์เหินเพื่อลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์

จากการศึกษาเทคนิคการตัดเมล็ดหงส์เหินวิธีต่างๆ โดยใช้เมล็ดหงส์เหินพันธุ์ปากลิบ ประดับมีสีขาว (*Globba magnifica*) ที่มีอายุ 20 วันหลังการผสม มาทำการตัดเมล็ดแบบต่างๆ ดังนี้ แคะเอ็มบริโอ (ควบคุม) ไม่ตัดเมล็ดกรีด ตรงกลางเมล็ด ตัดเมล็ดเฉียงหัว (เฉียงบริเวณไมโครไพล) ตัดเมล็ดเฉียงท้าย (ตัดแนวเฉียงท้ายเมล็ด) ตัดเมล็ดตรงหัว (ตัดผ่านไมโครไพล) ตัดเมล็ดตรงท้าย (ตัดแนวตรงท้ายเมล็ด) พบว่า

สัปดาห์ที่ 1 หงส์เหินที่แคะเอ็มบริโอ (ควบคุม) ออกจากเมล็ด มีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย สูงสุด คือ 98.03 ± 3.09 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ ตัดเมล็ดตรงหัว (ตัดผ่านไมโครไพล) ตัดตรงท้าย เมล็ด (ตัดแนวตรงท้ายเมล็ด) เมล็ดตัดเฉียงท้าย (ตัดแนวเฉียงท้ายเมล็ด) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การงอก 78.33 ± 3.37 72.03 ± 1.38 68.69 ± 1.09 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับผลการแคะเอ็มบริโอ แต่ไม่พบเปอร์เซ็นต์การงอกในเมล็ดที่ไม่มีการตัด (ตารางที่ 1)

สัปดาห์ที่ 2 หงส์เหินที่แคะเอ็มบริโอ (ควบคุม) ออกจากเมล็ด มีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย สูงสุด คือ 98.03 ± 3.09 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับผลการตัดเมล็ดตรงหัว (ตัดผ่านไมโครไพล) และการตัดเมล็ดเฉียงท้าย (ตัดแนวเฉียงท้ายเมล็ด) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ การงอก เฉลี่ย 96.66 ± 5.77 และ 85.04 ± 7.98 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ รองลงมา คือ การตัดเมล็ดตรงท้าย (ตัดผ่าน ไมโครไพล) และมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อตัดเมล็ดเฉียงหัว (ตัดแนวเฉียงผ่านไมโครไพล) กรีดกลางเมล็ด มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 82.61 ± 8.20 55.08 ± 1.84 31.05 ± 1.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ไม่พบเปอร์เซ็นต์การงอกในเมล็ดที่ไม่มีการตัด (ตารางที่ 1)

การตัดเมล็ดในลักษณะต่างๆ จะส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดหงส์เหิน และความ รวดเร็วในการงอกของเมล็ด แต่สิ่งที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ คือความสมบูรณ์แข็งแรงของ เอ็มบริโอ พบว่า ในสัปดาห์ที่ 2 เอ็มบริโอที่เจริญมาจากการ ตัดเมล็ดเฉียงท้าย (ตัดแนวเฉียงท้าย เมล็ด) เอ็มบริโอสามารถเจริญได้ดีไม่แตกต่างกับการแคะเอ็มบริโอ และการตัดเมล็ดตรงหัว (ตัดผ่าน ไมโครไพล) แต่ในทางปฏิบัติ การตัดเมล็ดเฉียงท้าย (ตัดแนวเฉียงท้ายเมล็ด) มีความสะดวก และ

รวดเร็วแก่ผู้ปฏิบัติงาน และส่งผลกระทบต่อเอมบริโอน้อยที่สุด จึงทำให้ต้นอ่อนเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วและแข็งแรง (ภาพที่ 4)

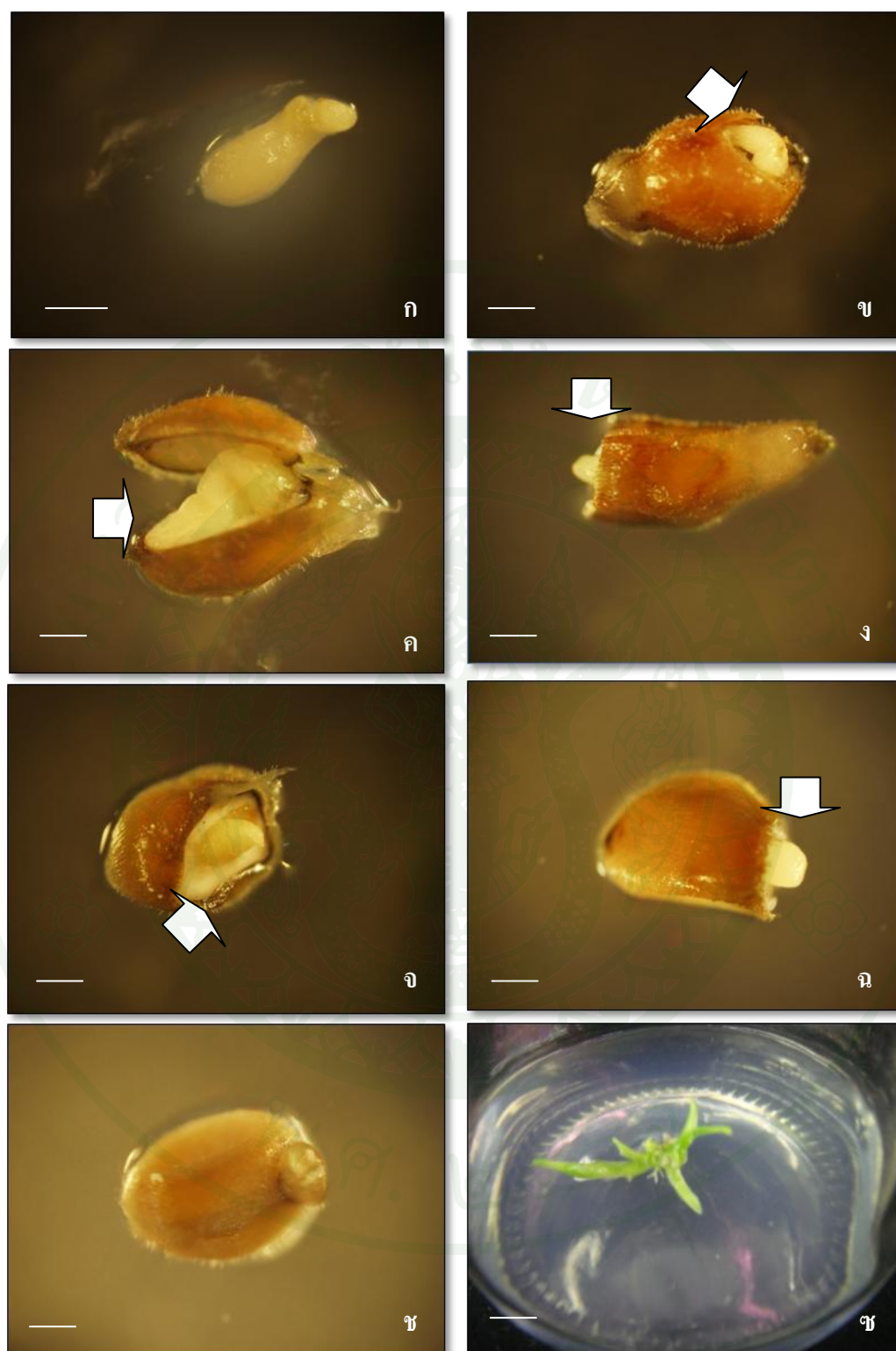
ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดหงส์เหิน ในสัปดาห์ที่ 1 และ 2 หลังเพาะ

ตำแหน่งการตัดเมล็ด	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยการงอกของเมล็ด	
	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2
และเอมบริโอ (ควบคุม)	$98.03 \pm 3.39^{1/c2/}$	98.03 ± 3.39^d
ไม่ตัดเมล็ด	0.00 ± 0.00^a	0.00 ± 0.00^a
ตัดเมล็ดตรงหัว (ตัดผ่านไมโครไพล)	78.33 ± 3.37^c	96.66 ± 5.77^d
ตัดเมล็ดตรงท้าย (ตัดแนวตรงท้ายเมล็ด)	72.03 ± 1.38^c	82.61 ± 8.20^d
ตัดเมล็ดเฉียงหัว (เฉียงบริเวณไมโครไพล)	34.19 ± 1.87^b	55.08 ± 1.84^c
ตัดเมล็ดเฉียงท้าย (ตัดแนวเฉียงท้ายเมล็ด)	68.69 ± 1.09^c	85.04 ± 7.98^d
กรีดตรงกลางเมล็ด	1.33 ± 2.30^a	31.50 ± 1.04^b
F-test	*	*
C.V. (%)	26.99	5.05

หมายเหตุ * มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

^{1/} ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ



ภาพที่ 6 การตัดเมล็ดหงส์เหิน (ก) แกะเอมบริโอ (ข) ตัดเฉียงท้าย (ค) กรีดกลางเมล็ด (ง) ตัดตรง
ท้าย (จ) ตัดเฉียงหัว (ฉ) ตัดตรงหัว (ช) ไม่ตัดเมล็ด และ (ซ) ต้นอ่อน (บาร์= 0.1 มม)

การทดลองที่ 2 การศึกษาวัสดุปลูก และการเจริญเติบโตของหงส์เหินเพื่อพัฒนาเป็นไม้ตัดดอก และไม้กระถางจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.1 การศึกษาวัสดุปลูกในการย้ายกล้า

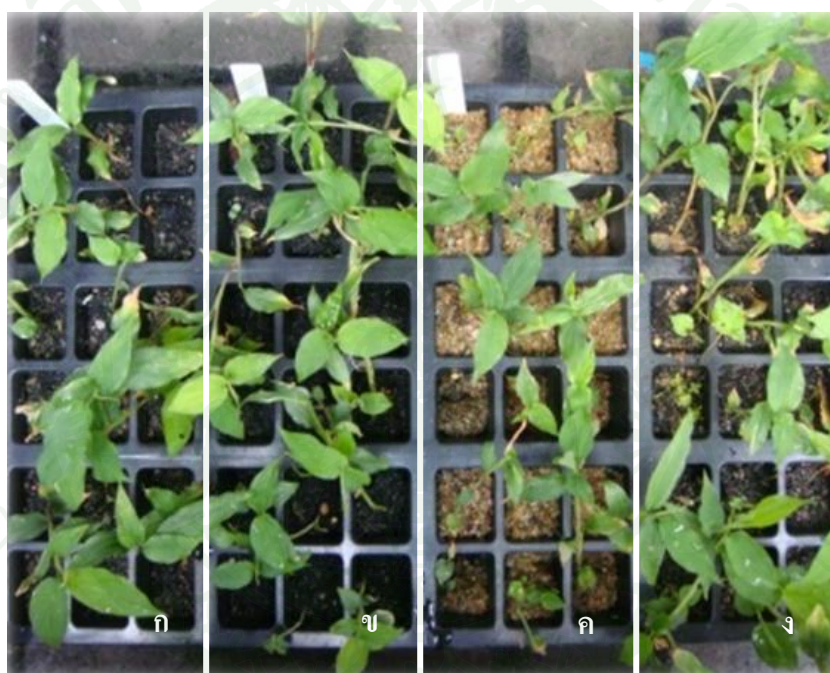
นำต้นหงส์เหินจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีอายุ 45 วัน ซึ่งมีรากและลำต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง นำมาล้างเอาวุ้นออกให้สะอาด แช่ยาออโรไซค์เพื่อป้องกันเชื้อราอัตราส่วน 1 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร นาน 30 นาที แล้วย้ายต้นกล้าลงวัสดุปลูกทั้ง 5 ชนิด คือ ทราย แกลบเผา แกลบเผา : ทราย (อัตราส่วน 1:1) แกลบเผา:ทราย:พีทมอส (อัตราส่วน 1:1:1) พีทมอส พบว่า ต้นหงส์เหินที่ปลูกใน แกลบเผา : ทราย:พีทมอส (อัตราส่วน 1:1:1) มีเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยการรอดชีวิตสูงสุด คือ 94.44 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ทราย แกลบเผา แกลบเผา : ทราย (1:1) และพีทมอส มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เฉลี่ย 88.89 83.33 66.67 และ 38.89 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 2) แต่ลักษณะความสมบูรณ์แข็งแรงของต้นหงส์เหินไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 5)

2.2 การเจริญเติบโตของหงส์เหินเพื่อพัฒนาเป็นไม้ตัดดอกและไม้กระถางจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เมื่อทำการเพิ่มปริมาณหงส์เหิน ได้ตามจำนวนที่ต้องการ และทำการย้ายต้นกล้าเพื่อปรับสภาพออกปลูก (ภาพที่ 6ก) จนต้นกล้ามีความสมบูรณ์แข็งแรง และทำการให้แสงไฟเพื่อเพิ่มความยาวนานของแสง โดยให้แสงในช่วงเวลา 17.00-21.00 น. ในระยะการเจริญเติบโต (vegetative growth) (ภาพที่ 6ข) จนกระทั่งหงส์เหินให้ช่อดอกข้อแรก ทำการตัดแต่งต้นที่เสื่อมสภาพทุกๆ เดือน และให้ปุ๋ยสูตรเสมอ 14-14-14 บำรุงต้นทุกๆ 2 เดือน พบว่าต้นหงส์เหินสามารถเจริญเติบโตนอกฤดูการได้ และออกได้สมบูรณ์สวยงาม ไม่แตกต่างจากต้นที่ปลูกด้วยหัวพันธุ์ และไม่เกิดการพักตัว ซึ่งแตกต่างจากหัวพันธุ์ที่ต้น พันธ์จะพักตัวตั้งแต่ช่วงตุลาคม เมื่อต้นหงส์เหิน ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญเติบโตเต็มที่ (vegetative growth) ระยะเวลา 90 วัน จะเริ่มให้ช่อดอกข้อแรก และช่อดอกจะเริ่มออกทุกๆ ต้นที่มีความสมบูรณ์ เมื่อต้นหงส์เหินให้ใบ 6 ถึง 9 ใบ จะให้ช่อดอกทันที โดยช่อดอกในเดือนกรกฎาคม (อายุมากกว่า 90 วัน) จะมีขนาดเล็ก และไม่สวยงาม (ภาพที่ 7ก) แต่ในช่วงเดือนสิงหาคม ถึงธันวาคม จะให้ช่อดอกที่มีความยาวมากกว่า 9 เซนติเมตร (ภาพที่ 7ข) ซึ่งสามารถใช้เป็นไม้ตัดดอกได้ (ภาพที่ 8) และการแตกกอ ความสูง ขนาดใบจะเพิ่มขึ้นในทุกๆ เดือน (ตารางที่ 3) ดังนั้นความเป็นไปได้ในการพัฒนาการปลูกหงส์เหินจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีแนวโน้มเป็นไปได้สูง โดยทดแทนการใช้ หัวพันธุ์ เพื่อควบคุมกระบวนการผลิต ทั้งในรูปแบบไม้ตัดดอกและไม้กระถาง ซึ่งต้นหงส์เหินที่ได้จะปลอดภัยจากโรคที่ติดมากับต้นพันธุ์รบกวน

ตารางที่ 2 ผลของวัสดุปลูกต่อการรอดชีวิตหงส์เหินเมื่อย้ายปลูก 7 วัน

วัสดุปลูก	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยการรอดชีวิต
ทราย	88.89
แกลบเผา	83.33
แกลบเผา:ทราย (1:1)	66.67
แกลบเผา:ทราย:พีทมอส (1:1:1)	94.44
พีทมอส	38.89



ภาพที่ 7 ลักษณะของต้นหงส์เหินที่ปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่างๆ

ก. แกลบเผา:ทราย (1:1)

ข. แกลบเผา

ค. ทราย

ง. แกลบเผา:ทราย:พีทมอส (1:1:1)

ตารางที่ 3 การเจริญเติบโตของหงส์เหินในเดือนต่างๆ

เดือน	จำนวนลำ เฉลี่ย (ต้น)	ความสูงลำ เฉลี่ย (ซม)	ความกว้างใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวใบ เฉลี่ย (ซม)	จำนวนช่อดอก เฉลี่ย (ช่อ)	ความยาวช่อดอก เฉลี่ย (ซม)	ระยะการ เจริญเติบโต
มกราคม	เพิ่มปริมาณด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ย้ายต้นกล้าปรับสภาพออกปลูก						
กุมภาพันธ์							
มีนาคม							
เมษายน	1.54	6.63	2.07	5.04	-	-	Vegetative
พฤษภาคม	3.81	13.04	3.77	12.40	-	-	Vegetative
มิถุนายน	5.69	15.23	3.11	13.33	-	-	Vegetative
กรกฎาคม	8.00	16.85	3.03	13.56	8.00	5.35	Reproductive
สิงหาคม	8.22	20.25	3.36	13.87	8.22	9.70	Reproductive
กันยายน	10.35	32.00	5.60	19.33	10.35	9.50	Reproductive
ตุลาคม	10.25	30.35	5.53	18.21	10.25	9.53	Reproductive
พฤศจิกายน	ประสบเหตุอุทกภัยไม่สามารถบันทึกผลการทดลอง						
ธันวาคม	16.33	44.00	5.80	23.33	16.33	9.33	Reproductive



ภาพที่ 8 (ก) ปรับสภาพต้นกล้า และ(ข) ต้นหงส์เหินในเดือนพฤษภาคม



ภาพที่ 9 (ก) ต้นหงส์เหินในเดือนกรกฎาคม และ(ข) ต้นกล้าในเดือนกันยายน



ภาพที่ 10 ต้นหงส์เหินในเดือนธันวาคม

การทดลองที่ 3 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้โคลชิซิน

ผลของโคลชิซินต่อการรอดชีวิตของหงส์เหินหลังได้รับโคลชิซินในสภาพปลอดเชื้อ

เมื่อหงส์เหินมีอายุครบ 30 วัน พบว่า ชุดควบคุมควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 100 เปอร์เซ็นต์ แต่การทดลองครั้งที่ใส่สารละลายโคลชิซินในรูปแบบของยา และใช้ความเข้มข้นต่ำ แต่ใช้ระยะเวลาในการแช่สารนานขึ้น อาจทำให้ต้นพืชที่อยู่ในสารละลายสามารถปรับสภาพ และมีชีวิตอยู่ในสารละลายได้ใกล้เคียงกับต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซิน คือ ต้นที่ได้รับโคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 100 เปอร์เซ็นต์เท่ากับต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซิน และต้นที่ได้รับโคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยต่ำสุด 66.67 เปอร์เซ็นต์ และต้นที่ได้รับโคลชิซินในความเข้มข้นต่างๆ และระยะเวลาที่ได้รับนานขึ้น ส่งผลให้เนื้อเยื่อมีลักษณะกลายเป็นสีน้ำตาลแต่เมื่อย้ายลงอาหารแข็ง MS เดิม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร กลับพบว่า เมื่ออายุประมาณ 60 วันต้นอ่อนสามารถเจริญเกิดขึ้น จากเนื้อเยื่อที่มีสีน้ำตาล จึงทำให้เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดโดยเฉลี่ยของแต่ละ ทริตเมนต์ สูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ทุกทริตเมนต์ (ตารางที่ 4)

ผลของโคลชิซินต่อการรอดชีวิตของหงส์เหินหลังได้รับโคลชิซินหลังย้ายปลูก

นำต้นหงส์เหินจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีอายุ 30 วัน ซึ่งมีรากและลำต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง ล้างเอาวุ้นให้สะอาด แช่ยาออกซิไซด์เพื่อป้องกันเชื้อรา อัตราส่วน 1 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร นาน 30 นาที แล้วย้ายต้นกล้าลงที่มีเกล็ดผา:ทราย:พีทมอส (อัตราส่วน 1:1:1) เป็นวัสดุปลูก พบว่า ต้นหงส์เหินที่ไม่ได้รับโคลชิซิน (ควบคุม) มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 93.33 เปอร์เซ็นต์ และต้นที่ได้รับโคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ต้นที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยน้อยที่สุด คือต้นที่ได้รับ โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 66.67 เปอร์เซ็นต์ แต่ทุกทริตเมนต์ที่ได้รับโคลชิซิน นั้น มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ทุกทริตเมนต์ (ตารางที่ 4)

ผลของโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหงส์เหินสภาพปลอดเชื้อ

เมื่อหงส์เหินมีอายุครบ 30 วัน หลังจากได้รับโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ การแตกกอ ความสูง ความกว้างใบ ความยาวใบ และความยาวราก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5) แต่พบว่าลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซิน พบว่าต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซิน มีลำต้นยืดยาวใบมีขนาดเล็ก เรียวยาว มีความมันวาวของใบน้อย รากมีขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 9ก) แต่ต้นที่ได้รับโคลชิซินมีลำต้นที่หนา อวบอ้วน ใบค่อนข้างกลม ลำต้นสั้น รากมีขนาดใหญ่ ใบมันวาวกว่าต้นปกติ (ภาพที่ 11ข)

ผลของโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหงส์เหินหลังย้ายปลูก

เมื่อหงส์เหินมีอายุครบ 60 วัน ทำการเลือกลักษณะที่มีความผิดปกติจากต้นปกติ มาทำการคัดเลือกลักษณะต่างๆ ก่อนทำการบำรุงต้นด้วยปุ๋ยสูตรเสมอ 14-14-14 และปุ๋ยละลายช้าออสโมโคส สูตร 14-14-14 และตัดแต่งต้นที่เสื่อมสภาพทิ้ง พบว่า ต้นหงส์เหินที่ได้รับโคลชิซินมีลักษณะที่เด่นชัดแตกต่างจากต้นปกติที่เจริญเติบโตได้ช้า ลำต้นสั้น ใบไม่หนา (ภาพที่ 12ก) 3 ลักษณะ คือใบมีสีเขียวเข้ม หนา ลำต้นหนาและสั้น แข็งแรงไม่โน้มเอียง (ภาพที่ 12ข) ต้นที่มีลักษณะใบสีเขียวเข้มใบด่างขาว สลับเขียวเป็นลายเส้นซึ่งพบเพียง 2 ต้น (ภาพที่ 12ค) และ ต้นที่มีลักษณะใบเรียวแหลม คล้ายใบไผ่ มีการแตกกอมากกว่าปกติ ทรงพุ่มกว้าง ลำต้นโน้มเอียงไม่แข็งแรง

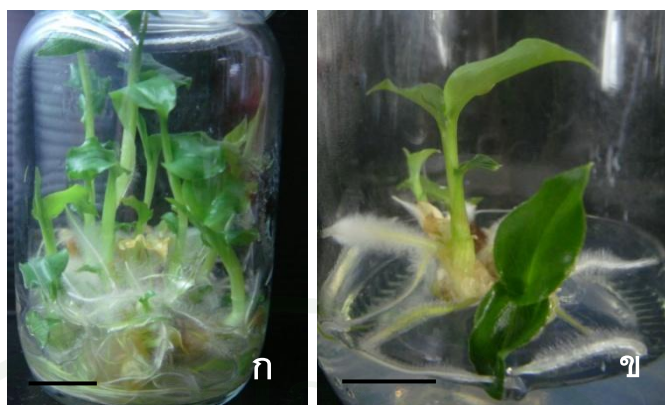
การเจริญเติบโตเมื่อหงส์เหินอายุครบ 30 วัน การแตกกอเฉลี่ยแตกต่างจากต้นควบคุม คือต้นที่ได้รับโคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 และ 5 วัน มีการแตกกอ เฉลี่ย สูงสุด 3.06 ± 0.61 และ 3.00 ± 0.69 ต้นตามลำดับ ความสูงเฉลี่ยของต้นที่ได้รับโคลชิซินมีความสูง เฉลี่ย สูงกว่าต้นควบคุม โดยต้นที่สูงที่สุด คือได้รับโคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน สูงเฉลี่ย 12.00 ± 1.44 เซนติเมตร และขนาดความกว้างความยาวใบ เฉลี่ย มีขนาดใหญ่กว่าต้นที่ได้รับโคลชิซินทุกพริตเมนต์ (ตารางที่ 6)

การเจริญเติบโตเมื่อหงส์เหินอายุครบ 30 วัน การแตกกอ เฉลี่ยแตกต่างจากต้นควบคุม คือทุกพริตเมนต์มีการแตกกอมากกว่าต้นควบคุม โดยต้นที่ได้รับโคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 และ 5 วัน มีการแตกกอ เฉลี่ยสูงที่สุด คือ 7.33 ± 0.75 และ 7.66 ± 1.22 ต้นตามลำดับ และต้นที่ได้รับโคลชิซินมีความสูงเฉลี่ยมากกว่าสองเท่าเมื่อเทียบกับต้นควบคุม แต่ความยาวใบเฉลี่ย และความหนาของใบเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 7)

เมื่อถึงระยะการออกดอกโดยทำการวัดการออกดอก จากดอกช่อที่สองของต้นหงส์เหิน เนื่องจากดอกช่อแรกที่ได้ จะมาจากต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ช่อดอกจะมีขนาดสั้น และไม่สมบูรณ์แข็งแรง พบว่า ความกว้างใบ ความยาวใบ ความหนาใบ เฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ยิ่งทางสถิติ แต่จำนวนใบเฉลี่ยทั้งหมดก่อนเริ่มแทงช่อดอกไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยต้นที่ได้รับ โคลชิซิน 1 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 7 วัน มีขนาดความกว้างของใบเฉลี่ยแตกต่างจาก ต้นควบคุม คือ 4.68 ± 0.32 และ 4.12 ± 0.43 เซนติเมตรตามลำดับ ซึ่งต้นควบคุมความกว้างใบเฉลี่ย 1.98 ± 0.12 เซนติเมตร ความยาวใบ เฉลี่ยต้นที่ได้รับ โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 5 วัน และ 135 มิลลิกรัมต่อ ลิตร นาน 7 วัน มีความยาวใบเฉลี่ยมากกว่าต้นควบคุม คือ 16.34 ± 3.33 16.45 ± 1.15 16.39 ± 0.82 17.47 ± 1.14 เซนติเมตรตามลำดับ ต้นควบคุมมีความยาวใบเฉลี่ย 8.32 ± 0.35 เซนติเมตร และต้นที่ได้รับ โคลชิซินนาน 7 วันมีขนาดใบ เฉลี่ย ที่หนากว่าต้นควบคุม จึงทำให้ต้นที่ได้รับ โคลชิซินที่สังเกตเห็นมีขนาดใบที่ใหญ่ และหนากว่าต้นควบคุม (ตารางที่ 8)

เมื่อหงส์เหินอายุมากกว่า 90 วันจะเริ่มให้ดอกช่อแรก แต่ในการทดลองจะไม่เก็บผลการ ทดลองจากดอกช่อแรกดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น พบว่าต้นหงส์เหินที่ได้รับ โคลชิซินจะใช้ระยะเวลา ในการออกดอกเฉลี่ยน้อยกว่าต้นที่ไม่ได้รับ โคลชิซินซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ยิ่ง เมื่อทำการวัดความยาวช่อดอก และระยะห่างระหว่างก้านชูดอกจริง ไม่มีความแตกต่างกันทาง สถิติ แต่ขนาดความยาว เฉลี่ยของก้านชูดอกจริงมีความยาว เฉลี่ยมาก กว่าก้านชูดอกจริงของต้นที่ ไม่ได้รับ โคลชิซินอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อกลีบประดับเจริญจนมีสีเข้มทำการวัดขนาดโดยวัด ความ กว้าง ความยาว ความหนา พบว่ากลีบประดับมีขนาดใหญ่ขึ้น และหนาขึ้น ซึ่งมีความแตกต่างกัน ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 9) เมื่อทำการคัดเลือกลักษณะของดอกหงส์เหินหลังจาก เจริญเติบโตทั้งช่อดอกลักษณะที่เด่นชัดมี 3 ลักษณะที่แตกต่างจากต้นไม่ได้รับ โคลชิซินที่มีกลีบ ประดับขนาดเล็กช่อดอกสั้น กลีบประดับบาง (ภาพที่ 13ก) คือ ช่อดอกสั้น กิ่งตั้งกิ่งห้อย กลีบ ประดับเรียวยาว ปลายกลีบเรียวยาวแหลม แตกกอเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 13ข) ลำต้นสูงกลีบประดับมี ขนาดใหญ่ ค่อนข้างกลมมน (ภาพที่ 13ค) และลำต้นสั้น กลีบประดับเรียวยาว ปลายกลีบเรียวยาวแหลม (ภาพที่ 8ง)

เมื่อศึกษาลักษณะความผิดปกติของปากใบพบว่า ต้นที่ได้รับ โคลชิซินเซลล์ข้างเคียงบริเวณ ปากใบ (subsidiary cell) มีลักษณะผิดปกติจากเดิม คือมีลักษณะยาว และเรียวยาวขึ้น เมื่อ เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับ โคลชิซิน เซลล์ข้างเคียง (subsidiary cell) ค่อนข้างสมมาตร (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 11 หงส์เหินในสภาพปลอดเชื้อ (ก) ต้นควบคุม และ(ข) ต้นที่ได้รับโคลซิกซิน (บาร์=1 ซม)

ตารางที่ 4 เปอร์เซนต์การรอดชีวิตของหงส์เหินหลังได้รับโคลซิกซิน และหลังย้ายปลูกเมื่ออายุ 30 วัน

สิ่งทดลอง	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยการรอดชีวิต	
	หลังได้รับโคลซิกซิน	หลังย้ายปลูก
ไม่ได้รับโคลซิกซิน (ควบคุม)	100.00	93.33
โคลซิกซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	93.33	93.33
โคลซิกซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	93.33	93.33
โคลซิกซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	86.67	80.00
โคลซิกซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	100.00	86.67
โคลซิกซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	93.33	93.33
โคลซิกซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	93.33	93.33
โคลซิกซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	100.00	73.33
โคลซิกซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	93.33	66.67
โคลซิกซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	80.00	86.67
โคลซิกซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	73.33	100.00
โคลซิกซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	100.00	100.00
โคลซิกซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	100.00	100.00
โคลซิกซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	86.67	100.00
โคลซิกซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	66.67	93.33
โคลซิกซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	100.00	100.00
โคลซิกซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	80.00	73.33

ตารางที่ 5 การเจริญเติบโตของหงส์เหินหลังได้รับโคลชิซินในสภาพปลอดเชื้อเมื่ออายุ 30 วัน

สิ่งทดลอง	การแตกกอ เฉลี่ย (ต้น)	ความสูง เฉลี่ย (ซม)	ความกว้างใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวราก เฉลี่ย (ซม)
ไม่ได้รับโคลชิซิน (ควบคุม)	2.93±0.75 ^{1/}	2.98±0.09	0.76±0.19	1.18±0.22	4.14±1.03
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	3.13±0.75	3.17±0.44	0.91±0.20	1.94±0.22	4.24±0.52
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	2.46±0.30	2.80±0.49	0.83±0.13	1.70±0.26	4.12±0.88
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	2.73±0.70	4.32±0.43	1.04±0.27	2.30±0.47	4.64±1.20
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	2.06±0.23	3.62±0.56	0.98±0.15	2.28±0.42	3.80±0.86
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	2.60±0.60	3.82±0.90	0.94±0.30	1.86±0.58	5.10±0.49
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	2.86±0.11	3.61±1.24	0.86±0.33	2.14±0.74	4.62±0.13
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	2.53±1.27	4.02±1.14	0.91±0.14	1.91±0.39	4.74±0.73
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	4.08±3.57	3.32±0.36	0.77±0.18	1.69±0.20	3.53±0.84
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	2.33±0.50	3.34±0.46	0.93±0.14	1.74±0.25	4.31±0.26
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	3.33±0.11	3.58±0.32	1.08±0.14	2.19±0.13	4.91±0.83
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	2.80±0.34	4.02±1.38	1.02±0.22	2.42±0.58	5.54±0.79
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	3.60±0.40	3.54±0.33	0.94±0.29	2.00±0.57	3.69±0.73

ตารางที่ 5 (ต่อ)

สิ่งทดลอง	การแตกกอ เฉลี่ย (ต้น)	ความสูง เฉลี่ย (ซม)	ความกว้างใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวราก เฉลี่ย (ซม)
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	2.66±0.23 ^{1/}	4.01±0.38	1.01±0.13	2.12±0.36	5.00±0.59
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	3.53±0.50	3.48±0.31	1.00±0.25	1.90±0.12	4.25±0.57
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	3.06±0.94	3.99±1.31	0.91±0.16	2.43±0.23	4.92±0.84
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	3.40±0.20	2.66±1.24	0.72±0.34	1.79±0.74	3.13±1.76
F-test	ns	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	19.98	18.88	23.29	19.41	18.64

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 6 การเจริญเติบโตของหงส์เหินหลังที่ได้รับโคลชิซินหลังย้ายปลูกเมื่ออายุ 30 วัน

สิ่งทดลอง	การแตกกอ เฉลี่ย (ต้น)	ความสูง เฉลี่ย (ซม)	ความกว้างใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวใบ เฉลี่ย (ซม)
ไม่ได้รับโคลชิซิน (ควบคุม)	1.13±0.41 ^{a1/}	4.86±0.56 ^a	1.52±0.35 ^a	3.70±0.79 ^a
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	2.20±0.20 ^{abc}	9.03±0.20 ^{bcd}	2.75±0.17 ^{bc}	7.46±0.44 ^b
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	1.93±0.4 ^{abc}	8.10±2.08 ^{bc}	2.20±0.39 ^{abc}	6.64±1.47 ^b
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	1.93±0.61 ^{abc}	8.10±1.94 ^{bc}	2.18±0.48 ^{abc}	5.94±1.35 ^{ab}
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	2.26±0.41 ^{abc}	12.00±1.44 ^d	2.98±0.23 ^c	8.64±0.82 ^b
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	2.53±0.30 ^{bc}	8.76±1.70 ^{bcd}	2.50±0.39 ^{bc}	6.99±1.00 ^b
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	2.53±0.50 ^{bc}	9.20±1.05 ^{bcd}	2.42±0.10 ^{bc}	7.40±0.65 ^b
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	2.00±0.96 ^{abc}	9.30±0.79 ^{bcd}	2.53±0.40 ^{bc}	7.30±0.79 ^b
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	2.13±0.75 ^{abc}	6.38±1.48 ^{ab}	1.94±0.29 ^{ab}	5.80±1.30 ^{ab}
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	1.53±0.11 ^{ab}	7.56±0.35 ^{abc}	2.14±0.16 ^{abc}	6.18±0.50 ^{ab}
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	2.86±0.80 ^{bc}	10.20±2.66 ^{cd}	2.50±0.41 ^{bc}	8.05±1.45 ^b
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	1.80±0.52 ^{abc}	8.73±1.92 ^{bcd}	1.99±0.56 ^{ab}	6.00±1.50 ^{ab}
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	2.53±0.64 ^{bc}	10.36±0.23 ^{cd}	2.81±0.47 ^{bc}	8.23±1.30 ^b

ตารางที่ 6 (ต่อ)

สิ่งทดลอง	การแตกกอ เฉลี่ย (ต้น)	ความสูง เฉลี่ย (ซม)	ความกว้างใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวใบ เฉลี่ย (ซม)
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	2.86±0.30 ^{1/bc2/}	9.45±1.48 ^{bcd}	2.43±0.03 ^{bc}	7.10±0.71 ^b
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	3.06±0.61 ^c	9.16±0.20 ^{bcd}	2.68±0.15 ^{bc}	7.78±0.38 ^b
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	3.00±0.69 ^c	8.86±0.41 ^{bcd}	2.36±0.17 ^{abc}	7.06±0.66 ^b
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	2.26±0.50 ^{abc}	7.86±1.00 ^{abc}	3.03±0.59 ^c	5.96±1.88 ^{ab}
F-test	**	**	**	**
C.V. (%)	23.26	13.147	12.90	15.30

หมายเหตุ ** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 7 การเจริญเติบโตของหงส์เหินหลังที่ได้รับโคลชิซินหลังย้ายปลูกเมื่ออายุ 60 วัน

สิ่งทดลอง	การแตกกอ เฉลี่ย (ต้น)	ความสูง เฉลี่ย (ซม)	ความกว้างใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวใบ เฉลี่ย (ซม)	ความหนาใบ เฉลี่ย (มม)
ไม่ได้รับโคลชิซิน (ควบคุม)	2.80±0.91 ^{1/a2/}	10.76±2.08 ^a	2.73±0.38	8.70±1.24 ^a	0.10±0.01
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	5.40±0.80 ^{abcd}	21.23±1.70 ^{bc}	4.62±0.33	15.03±2.90 ^{abc}	0.15±0.00
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	4.26±1.13 ^{abc}	21.60±5.86 ^{bc}	4.06±0.92	15.46±4.21 ^{bc}	0.15±0.02
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	4.80±1.05 ^{abcd}	21.36±2.30 ^{bc}	3.80±0.30	14.06±1.33 ^{abc}	0.14±0.03
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	4.93±0.50 ^{abcd}	27.00±2.08 ^c	4.70±0.65	16.80±2.27 ^{bc}	0.15±0.02
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	5.06±1.13 ^{abcd}	26.93±5.25 ^c	4.36±0.81	15.86±3.07 ^{bc}	0.14±0.02
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	6.46±1.27 ^{bcd}	23.00±2.94 ^{bc}	4.00±0.43	15.66±2.31 ^{bc}	0.14±0.00
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	5.53±1.60 ^{abcd}	27.00±3.81 ^c	4.06±0.47	17.03±2.46 ^{bc}	0.14±0.01
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	5.06±1.89 ^{abcd}	18.40±4.33 ^{abc}	3.58±0.89	12.10±3.26 ^{ab}	0.13±0.02
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	3.73±0.70 ^{ab}	22.60±2.64 ^{bc}	4.06±0.37	16.86±0.41 ^{bc}	0.13±0.02
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	7.13±0.23 ^{cd}	25.66±3.53 ^{bc}	4.23±0.47	16.16±2.89 ^{bc}	0.14±0.00
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	4.93±1.17 ^{abcd}	21.93±6.00 ^{bc}	3.86±1.41	13.86±4.60 ^{abc}	0.13±0.03
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	6.73±0.61 ^{cd}	23.66±4.08 ^{bc}	3.93±0.55	14.46±1.87 ^{abc}	0.13±0.00

ตารางที่ 7 (ต่อ)

สิ่งทดลอง	การแตกกอ เฉลี่ย (ต้น)	ความสูง เฉลี่ย (ซม)	ความกว้างใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวใบ เฉลี่ย (ซม)	ความหนาใบ เฉลี่ย (มม)
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	6.93±1.55 ^{1/ cd2/}	25.26±1.52 ^{bc}	4.86±0.70	19.40±1.58 ^c	0.16±0.00
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	7.33±0.75 ^d	26.46±0.70 ^{bc}	4.16±0.37	16.53±1.10 ^{bc}	0.14±0.00
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	7.66±1.22 ^d	24.93±3.82 ^{bc}	4.26±0.50	16.33±2.08 ^{bc}	0.14±0.00
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	5.06±0.83 ^{abcd}	17.33±3.97 ^{ba}	3.74±0.74	12.56±1.80 ^{ab}	0.15±0.00
F-test	**	**	ns	**	ns
C.V. (%)	19.46	15.27	14.28	15.75	7.84

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ

ns ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 8 การเจริญเติบโตของหงส์เหินหลังที่ได้รับโคลชิซินหลังย้ายปลูกเมื่ออายุ 90 วัน ก่อนออกดอก

สิ่งทดลอง	ความกว้างใบ	ความกว้างใบ	จำนวนใบ	ความหนาใบ
	เฉลี่ย (ซม)	เฉลี่ย (ซม)	เฉลี่ย (ซม)	เฉลี่ย (มม)
ไม่ได้รับโคลชิซิน (ควบคุม)	$1.98 \pm 0.12^{1/a2/}$	8.32 ± 0.35^a	4.93 ± 0.11	0.11 ± 0.11^{ab}
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	3.81 ± 0.84^{ab}	13.70 ± 2.47^{ab}	6.98 ± 0.69	0.13 ± 2.77^{ab}
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	3.98 ± 1.10^{ab}	14.13 ± 3.22^{ab}	6.18 ± 1.25	0.14 ± 2.99^{ab}
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	3.85 ± 0.50^{ab}	13.86 ± 0.87^{ab}	6.06 ± 0.94	0.12 ± 1.30^{ab}
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	4.26 ± 1.32^{ab}	15.88 ± 4.78^{ab}	7.93 ± 0.98	0.08 ± 3.07^a
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	4.18 ± 0.80^{ab}	15.43 ± 1.79^{ab}	7.20 ± 0.87	0.15 ± 3.00^{ab}
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	4.20 ± 0.46^{ab}	15.31 ± 2.22^{ab}	9.00 ± 0.52	0.16 ± 1.67^b
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	4.32 ± 1.02^{ab}	16.34 ± 3.33^b	7.93 ± 1.22	0.16 ± 2.68^b
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	3.58 ± 1.28^{ab}	13.38 ± 4.19^{ab}	7.06 ± 1.44	0.12 ± 2.85^{ab}
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	3.96 ± 0.11^{ab}	13.96 ± 0.84^{ab}	6.60 ± 0.52	0.14 ± 2.11^{ab}
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	2.43 ± 1.29^{ab}	9.60 ± 5.01^{ab}	6.73 ± 1.52	0.11 ± 4.90^{ab}
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	3.83 ± 1.51^{ab}	12.83 ± 4.53^{ab}	6.23 ± 1.50	0.13 ± 3.00^{ab}

ตารางที่ 8 (ต่อ)

สิ่งทดลอง	ความกว้างใบ เฉลี่ย (ซม)	ความกว้างใบ เฉลี่ย (ซม)	จำนวนใบ เฉลี่ย (ซม)	ความหนาใบ เฉลี่ย (มม)
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	$2.49 \pm 1.44^{1/ab2/}$	9.48 ± 5.24^{ab}	6.40 ± 1.38	0.10 ± 5.95^{ab}
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	4.68 ± 0.32^b	16.45 ± 1.15^b	7.93 ± 0.23	0.17 ± 1.61^b
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	4.34 ± 0.18^{ab}	16.39 ± 0.82^b	8.15 ± 0.13	0.16 ± 1.23^b
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	4.68 ± 0.55^b	17.47 ± 1.14^b	8.23 ± 0.25	0.17 ± 1.23^b
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	4.12 ± 0.43^{ab}	16.10 ± 1.55^{ab}	6.21 ± 3.65	0.17 ± 1.20^b
F-test	**	**	ns	**
C.V. (%)	22.04	19.78	14.35	19.84

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

^{1/} ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ

ns ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 9 ผลของโคลชิซินต่อระยะเวลาการออกดอก ความยาวช่อดอก ก้านชูดอกจริง ระยะห่างระหว่างดอก

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา	ความยาวช่อ	ก้านชูดอกจริง	ระยะห่างดอก
	เฉลี่ย (วัน)	เฉลี่ย (ซม)	เฉลี่ย (ซม)	เฉลี่ย (ซม)
ไม่ได้รับโคลชิซิน (ควบคุม)	134.44±0.96 ^{1/ c2/}	4.53±2.53	2.36±1.22 ^a	0.95±0.53
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	102.65±1.65 ^a	12.53±1.37	5.46±0.44 ^b	1.71±0.14
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	121.87±1.10 ^{abc}	9.36±4.82	3.53±1.01 ^{ab}	1.28±0.52
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	122.50±7.51 ^{abc}	9.83±3.38	3.55±0.95 ^{ab}	1.42±0.46
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	113.18±5.24 ^{ab}	13.00±1.50	5.32±0.79 ^b	1.80±0.30
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	112.92±6.25 ^{ab}	12.26±1.80	4.88±0.44 ^{ab}	1.46±0.29
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	109.90±2.52 ^{ab}	10.67±1.07	3.93±0.95 ^{ab}	1.28±0.43
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	125.17±1.59 ^{bc}	8.33±1.68	5.20±1.00 ^{ab}	1.72±0.23
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	113.26±1.06 ^{ab}	8.16±1.91	3.74±1.22 ^{ab}	1.22±0.39
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	117.75±2.25 ^{abc}	10.86±1.27	3.96±0.85 ^{ab}	1.69±0.13
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	115.81±2.16 ^{abc}	9.40±2.94	2.84±0.97 ^{ab}	0.96±0.40
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	124.83±2.32 ^{bc}	8.49±4.43	3.18±1.37 ^{ab}	1.04±0.43
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	106.58±2.84 ^{ab}	12.50±1.16	3.76±1.02 ^{ab}	1.40±0.10

ตารางที่ 9 (ต่อ)

สิ่งทดลอง	ระยะเวลา	ความยาวข้อ	ก้านชูดอกจริง	ระยะห่างดอก
	เฉลี่ย	เฉลี่ย	เฉลี่ย	เฉลี่ย
	(วัน)	(ชม)	(ชม)	(ชม)
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	117.27±0.83 ^{1/ abc2/}	14.13±1.20	5.93±0.35 ^b	1.70±0.26
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	117.00±2.16 ^{abc}	9.80±1.11	4.60±0.30 ^{ab}	1.65±0.45
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	117.38±2.68 ^{abc}	10.50±1.47	4.85±0.61 ^{ab}	1.88±0.27
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	125.68±3.80 ^{bc}	8.06±5.33	3.80±2.68 ^{ab}	1.22±0.68
F-test	**	ns	**	ns
C.V. (%)	2.50	27.39	27.27	28.93

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ

ns ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 10 ผลของโคลชิซินต่อความกว้าง ความยาว ความหนา bract

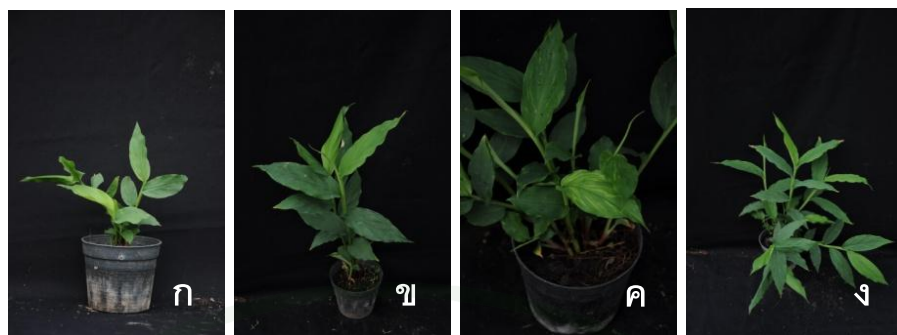
สิ่งทดลอง	ความกว้าง	ความยาว	ความหนา
	bract	bract	bract
	เฉลี่ย (ชม)	เฉลี่ย (ชม)	เฉลี่ย (ชม)
ไม่ได้รับโคลชิซิน (ควบคุม)	0.62±0.13 ^{1/ a 2/}	1.52±0.26 ^a	0.09±2.00 ^{ab}
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	1.18±0.09 ^{ab}	2.61±0.35 ^{ab}	0.16±3.75 ^{ab}
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	0.98±0.37 ^{ab}	2.35±0.65 ^a	0.14±5.10 ^{ab}
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	0.74±0.07 ^{ab}	1.70±0.09 ^a	0.09±2.15 ^{ab}
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	1.14±0.24 ^{ab}	2.56±0.60 ^{ab}	0.10±3.85 ^{ab}
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	1.15±0.16 ^{ab}	2.58±0.20 ^{ab}	0.17±3.17 ^{ab}
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	1.28±0.02 ^b	3.04±3.49 ^b	0.18±1.80 ^b
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	1.21±0.17 ^{ab}	2.81±0.22 ^{ab}	0.17±3.81 ^{ab}
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	0.94±0.40 ^{ab}	2.09±0.84 ^a	0.12±5.50 ^{ab}
โคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	0.90±0.12 ^{ab}	2.46±0.33 ^a	0.14±2.87 ^{ab}
โคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	0.63±0.40 ^a	1.52±0.99 ^a	0.07±5.02 ^a
โคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	0.93±0.20 ^{ab}	2.31±0.48 ^a	0.13±3.80 ^{ab}
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	0.74±0.41 ^{ab}	1.79±1.03 ^a	0.12±6.47 ^{ab}
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	1.26±0.17 ^b	2.60±0.34 ^{ab}	0.18±2.60 ^b
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	0.97±0.05 ^{ab}	2.27±0.13 ^a	0.15±0.83 ^{ab}
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	1.14±0.28 ^{ab}	2.48±0.69 ^a	0.16±4.98 ^{ab}
โคลชิซิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	1.32±0.12 ^b	3.18±0.21 ^{ab}	0.18±4.68 ^b
F-test	**	**	**
C.V. (%)	23.43	29.16	30.99

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์ โดยใช้วิธี Duncan's

New Multiple Range Test

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

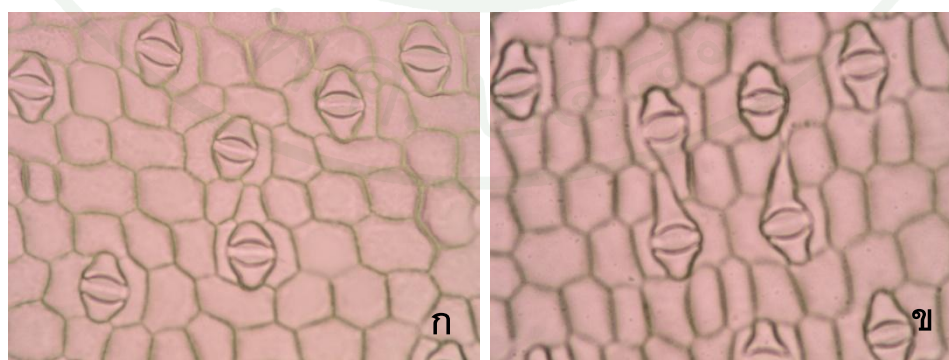
^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน ในตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ



ภาพที่ 12 ต้นหงส์เหินเมื่ออายุ 60 วัน (ก) ต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซิน (ข) ลำต้นแข็งใบสีเขียวเข้ม (ค) ใบลายด่าง และ(ง) ใบเรียวแหลม



ภาพที่ 13 ผลของโคลชิซินต่อลักษณะช่อดอก และกลีบประดับของหงส์เหิน (ก) กลีบประดับมีขนาดเล็ก (ควบคุม) (ข) ช่อดอกสั้นกึ่งตั้งกึ่งห้อย (ค) กลีบประดับค่อนข้างกลม และ(ง) กลีบประดับเรียวยาว



ภาพที่ 14 ลักษณะของปากใบหงส์เหิน (ก) ไม่ได้รับโคลชิซิน (ข) ได้รับโคลชิซิน

การทดลองที่ 4 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้โอไรซาลิน

ผลของโอไรซาลินต่อการรอดชีวิตของหงส์เหินหลังได้รับโอไรซาลินในสภาพปลอดเชื้อ

เมื่อนำต้นหงส์เหินที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 2 เซนติเมตร ทำการตัดปลายยอด และรากทิ้ง นำมาแช่ในสารละลายโอไรซาลินในสภาวะปลอดเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 0.1 1 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแช่ในสภาวะมืด ใช้ระยะเวลา 1 3 5 7 และ 9 วัน ส่วนต้นหงส์เหินที่ไม่ได้รับโอไรซาลินจะเลี้ยงบนอาหารเหลว MS ปราศจากโอไรซาลิน และเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 rpm เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดทำการล้างสารละลาย โอไรซาลิน ที่ตกค้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ตัดแต่งเนื้อเยื่อพืชลงในอาหารแข็ง MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อหงส์เหินมีอายุครบ 30 วัน พบว่าชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 100 เปอร์เซ็นต์ และในการทดลองนี้ได้ใช้โอไรซาลินในความเข้มข้นต่ำทำให้ต้นที่ได้รับโอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วันมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อหงส์เหินได้รับโอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 9 วัน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 25.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต้นหงส์เหินที่ได้รับโอไรซาลินที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลาเดียวกัน (ตารางที่ 11)

ผลของโอไรซาลินต่อการรอดชีวิตของหงส์เหินหลังย้ายปลูก

นำต้นหงส์เหินจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีอายุ 60 วัน ซึ่งมีรากและลำต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง นำมาล้างเอาวุ้นให้สะอาด แช่ยาออร์โทไซด์เพื่อป้องกันเชื้อราอัตราส่วน 1 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร นาน 30 นาที แล้วย้ายต้นกล้าลงที่มีเกลบผา:ทราย:ทิมอส (อัตราส่วน 1:1:1) เป็นวัสดุปลูก พบว่า ต้นหงส์เหินที่ไม่ได้รับ โอไรซาลิน (ควบคุม) มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 83.33 เปอร์เซ็นต์ และต้นที่ได้รับโอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน ไม่พบการรอดชีวิตหลังย้ายปลูก ต้นที่ได้รับโอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วันมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 16.66 เปอร์เซ็นต์ ต้นที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่าต้นที่ไม่ได้รับโอไรซาลิน (ควบคุม) คือ ต้นที่ได้รับโอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 9 วัน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 91.66 97.22 94.44 และ 84.09 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

ผลของโอไรซาลินต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหงส์เหินสภาพปลอดเชื้อ

เมื่อหงส์เหินมีอายุครบ 60 วัน หลังจากได้รับโอไรซาลินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ การแตกกอของต้นที่ได้รับโอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 5 วัน มีการแตกกอเฉลี่ยสูงสุดถึง 5.33 ± 0.75 ต้น เมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับโอไรซาลินมีการแตกกอ 2.00 ± 0.20 ต้น ต้นมีความสูงน้อยที่สุดหลังได้รับโอไรซาลิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 3 วัน ซึ่งมีความสูง 1.26 ± 0.25 เซนติเมตร ส่วนต้นที่ไม่ได้รับโอไรซาลินสูง 6.19 ± 1.77 เซนติเมตร ขนาดความกว้าง ความยาวของใบต้นที่ได้รับโอไรซาลินทุกทรีตเมนต์ มีขนาดใบน้อยกว่าต้นที่ไม่ได้รับโอไรซาลิน และความยาวรากต้นที่ไม่ได้รับโอไรซาลินรากมีความยาวมากกว่าต้นที่ได้รับโอไรซาลิน (ตารางที่ 11)

เมื่อทำการสังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงของต้นหงส์เหิน พบว่าต้นที่ไม่ได้รับโอไรซาลิน มีลักษณะลำต้นพอมสูง ยืดยาว ใบมีขนาดใหญ่ (ภาพที่ 12ก) แต่ต้นที่ได้รับโอไรซาลิน ใบมีขนาดเล็ก การแตกกอเป็นจำนวนมาก ลำต้นสั้น อวบอ้วน ซึ่งแตกต่างจากต้นปกติอย่างชัดเจน (ภาพที่ 12ข)

เมื่อทำการสังเกตลักษณะของรากสะสมอาหาร พบว่า ต้นที่ไม่ได้รับโอไรซาลิน มีรากสะสมอาหารมีขนาดเล็ก ก และมีรากฝอยเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 13ก) และต้นที่ได้รับโอไรซาลิน มีรากสะสมอาหารมีขนาดใหญ่ และมีรากฝอยเป็นจำนวนน้อย (ภาพที่ 13ข)

ผลของโอไรซาลินต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหงส์เหินหลังย้ายปลูก

เมื่อหงส์เหินมีอายุครบ 60 วัน ทำการเลือกลักษณะที่มีความผิดปกติจากต้นปกติ และคัดเลือกลักษณะต่างๆ ก่อนทำการบำรุงต้นด้วยปุ๋ยสูตรเสมอ 14-14-14 และปุ๋ยละลายช้าออสโมโคสสูตร 14-14-14 และตัดแต่งต้นที่เสื่อมสภาพทิ้ง พบว่า การแตกกอ ความสูง ขนาดของใบ และความหนาใบมีความแตกต่างกันทางสถิติ และความแตกต่างระหว่างทรีตเมนต์หลังได้รับโอไรซาลิน มีการกระจายตัว คือ ต้นที่รับโอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 1 วัน มีการแตกกอเฉลี่ย 5.00 ± 0.81 ต้น แต่ไม่แตกต่างกับต้นที่ไม่ได้รับโอไรซาลินมีการแตกกอเฉลี่ย 4.11 ± 1.17 ต้น ต้นที่ได้รับโอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 1 วัน มีความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุด 6.38 ± 1.25 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับต้นที่ไม่ได้รับโอไรซาลิน มีความสูงเฉลี่ย 17.44 ± 1.83 เซนติเมตร ต้นที่ได้รับโอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 1 วัน มีขนาดความกว้าง และความยาวใบเฉลี่ยน้อยที่สุด 2.38 ± 0.41 6.00 ± 0.66 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งต้นปกติมีความกว้างความยาวใบเฉลี่ย 4.11 ± 0.19

12.77±0.83 เซนติเมตร ตามลำดับ ต้นที่ได้รับโอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 3 วัน มีความหนาใบเฉลี่ยสูงสุด แต่ไม่แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้รับโอไรซาลิน ซึ่งมีความหนาเฉลี่ย 0.16±0.00 0.15±0.01 มิลลิเมตร ตามลำดับ และต้นที่มีความหนาใบน้อยกว่าต้นควบคุมคือ ต้นที่ได้รับโอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 1 วัน และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 กับ 7 วัน ซึ่งมีความหนาใบเฉลี่ย 0.13±0.01 0.13±0.00 0.13±0.00 มิลลิเมตร (ตารางที่ 13)

เมื่อทำการคัดเลือกต้นหงส์หงส์เหินที่มีลักษณะเด่นแตกต่างไปจากต้นควบคุม ลักษณะที่พบมีเพียง 5 ลักษณะดังนี้ ใบสีเขียวเข้ม ลำต้นพอม (ภาพที่ 17ก) ใบสีเขียวอ่อน ลำต้นพอม (ภาพที่ 17ข) ลำต้นหนา แตกกอช้า ใบสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 17ค) ลำต้นหนา ต้นเตี้ย ใบสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 17ง) ลำต้นหนา ใบลายด่างเหลือง (ภาพที่ 17จ)

ตารางที่ 11 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของหงส์เหินหลังได้รับโอไรซาลิน 60 วัน และย้ายปลูก 7 วัน

สิ่งทดลอง	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย	
	หลังได้รับโอไรซาลิน	หลังย้ายปลูก
ไม่ได้รับโอไรซาลิน (ควบคุม)	100.00	83.33
โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	100.00	70.83
โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	95.00	77.77
โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	85.00	91.66
โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	70.00	38.88
โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	75.00	97.22
โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	45.00	94.44
โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	75.00	31.37
โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	75.00	84.09
โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	30.00	0.00
โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	75.00	16.66
โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	65.00	66.66
โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	65.00	63.88
โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 9 วัน	70.00	83.33
โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 9 วัน	70.00	47.36
โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 9 วัน	25.00	71.42

ตารางที่ 12 การเจริญเติบโตของหงส์เหินหลังที่ได้รับโอไรซาลิน 60 วัน

สิ่งทดลอง	การแตกกอ เฉลี่ย (ต้น)	ความสูง เฉลี่ย (ซม)	ความกว้างใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวราก เฉลี่ย (ซม)
ไม่ได้รับโอไรซาลิน (ควบคุม)	2.00±0.20 ^{1/a2/}	6.19±1.77 ^{bc}	1.40±0.60 ^c	4.14±0.18 ^c	10.40±3.20 ^d
โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	2.93±0.70 ^a	6.32±1.14 ^{bc}	1.14±0.05 ^{bc}	3.79±0.19 ^c	7.35±1.99 ^{bcd}
โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	2.86±0.23 ^a	7.31±0.45 ^c	1.21±0.18 ^{bc}	3.90±0.27 ^c	6.11±0.24 ^{bcd}
โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	5.33±0.75 ^b	2.87±0.12 ^{bc}	1.30±0.18 ^{bc}	2.90±0.79 ^{bc}	6.24±0.57 ^{bcd}
โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	3.33±0.41 ^a	6.92±0.48 ^c	1.24±0.02 ^{bc}	3.60±0.31 ^c	6.86±2.08 ^{bcd}
โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 9 วัน	2.53±1.02 ^a	5.87±3.02 ^{bc}	1.05±0.18 ^{bc}	3.26±1.09 ^{bc}	5.52±4.25 ^{abcd}
โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	2.73±0.50 ^a	5.60±0.40 ^{bc}	1.22±0.02 ^{bc}	3.72±0.18 ^c	5.43±2.11 ^{abcd}
โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	2.80±0.52 ^a	6.04±2.47 ^{bc}	1.20±0.20 ^{bc}	3.66±1.27 ^c	3.99±2.83 ^{abc}
โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	3.00±0.20 ^a	4.20±1.51 ^{abc}	1.12±0.15 ^{bc}	2.80±0.48 ^{bc}	6.24±0.57 ^{bcd}
โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	2.66±0.30 ^a	7.04±0.12 ^c	1.12±0.14 ^{bc}	3.26±0.52 ^{ab}	8.62±2.16 ^{cd}
โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 9 วัน	2.33±0.61 ^a	2.92±1.27 ^{ab}	0.85±0.10 ^{ab}	1.72±0.38 ^{ab}	2.28±2.38 ^{ab}

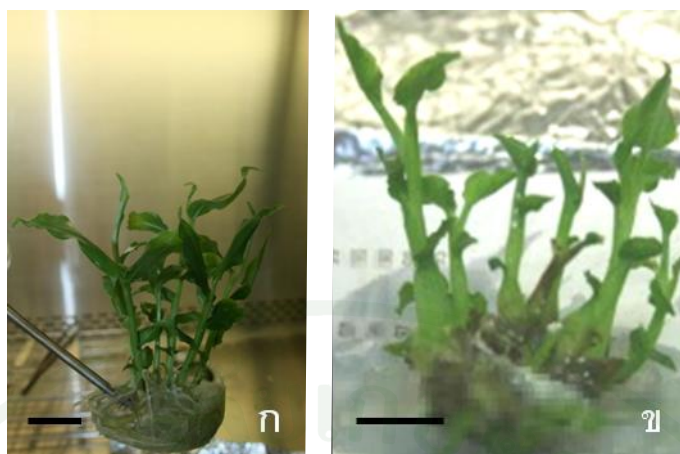
ตารางที่ 12 (ต่อ)

สิ่งทดลอง	การแตกกอ เฉลี่ย (ต้น)	ความสูง เฉลี่ย (ซม)	ความกว้างใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวราก เฉลี่ย (ซม)
โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	2.73±0.50 ^{1/ a2/}	5.83±3.11 ^{bc}	1.08±0.37 ^{bc}	3.12±1.47 ^{bc}	4.74±4.40 ^{abcd}
โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	2.66±2.04 ^a	2.95±0.69 ^{ab}	0.84±0.14 ^{ab}	1.81±0.23 ^{ab}	2.66±0.95 ^{ab}
โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	1.66±0.61 ^a	1.26±0.25 ^a	0.59±0.42 ^a	0.69±0.42 ^a	0.06±0.11 ^a
โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	2.66±0.70 ^a	6.04±1.41 ^{bc}	1.12±0.21 ^{bc}	3.36±0.72 ^{bc}	6.88±0.62 ^{bcd}
โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 9 วัน	2.93±0.30 ^a	6.20±0.92 ^{bc}	1.23±0.04 ^{bc}	3.33±0.64 ^{bc}	3.46±0.50 ^{abc}
F-test	**	**	**	**	**
C.V. (%)	22.42	23.68	19.04	19.35	47.61

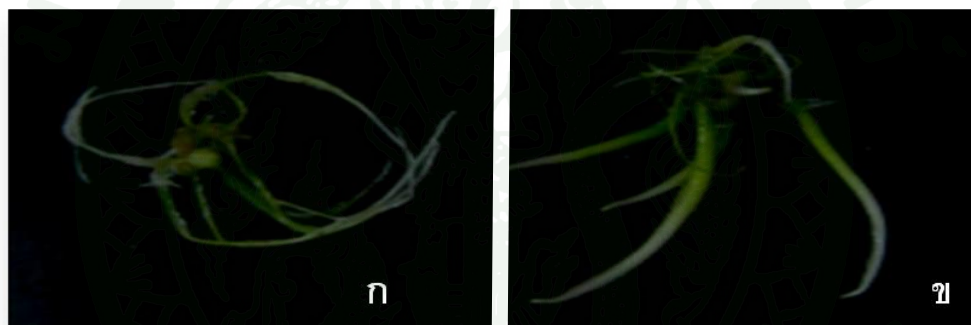
หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปรียบเทียบโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ



ภาพที่ 15 ลักษณะต้นหงส์เหินหลังได้รับไอโรชาลิน 60 วัน (ก) ไม่ได้รับโคลชิซิน (ควบคุม)
(ข) ต้นที่ได้รับไอโรชาลิน (บาร์ = 1 ซม)



ภาพที่ 16 ลักษณะรากต้นหงส์เหินหลังได้รับไอโรชาลิน 60 วัน (ก) ไม่ได้รับโคลชิซิน (ควบคุม)
(ข) ต้นที่ได้รับโคลชิซิน

ตารางที่ 13 การเจริญเติบโตของหงส์เหินหลังที่รับโอไรซาลินหลังย้ายปลูกเมื่ออายุ 60 วัน

สิ่งทดลอง	การแตกกอ เฉลี่ย (ต้น)	ความสูง เฉลี่ย (ซม)	ความกว้างใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวใบ เฉลี่ย (ซม)	ความหนาใบ เฉลี่ย (มม)
ไม่ได้รับโอไรซาลิน (ควบคุม)	4.11±1.17 ^{1/ bcd2/}	17.44±1.83 ^{gh}	4.11±0.19 ^{de}	12.77±0.83 ^{ef}	0.15±0.01 ^{de}
โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	3.44±2.16 ^{bc}	6.38±1.25 ^b	2.38±0.41 ^b	6.00±0.66 ^b	0.13±0.01 ^{bcd}
โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	5.33±0.57 ^{cd}	13.88±1.71 ^{cdef}	3.77±0.19 ^{de}	10.00±1.15 ^{cde}	0.16±1.07 ^c
โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	2.77±1.07 ^{bc}	13.88±2.98 ^{cdefg}	3.66±0.88 ^{cde}	11.55±3.89 ^{de}	0.14±1.50 ^{bcde}
โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	2.77±0.38 ^{bc}	12.33±1.33 ^{cdefg}	3.66±0.57 ^{cde}	11.44±2.21 ^{de}	0.14±0.88 ^{bcd}
โอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 9 วัน	4.11±0.19 ^{bcd}	15.00±2.60 ^{defg}	3.88±0.50 ^{de}	12.00±2.18 ^{de}	0.15±0.19 ^{bcde}
โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	5.00±0.81 ^{bcd}	15.22±2.45 ^{efg}	4.11±0.38 ^{de}	13.44±1.50 ^{ef}	0.15±0.33 ^{bcde}
โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	4.44±1.01 ^{bcd}	21.77±1.34 ^h	4.77±0.50 ^c	16.22±1.71 ^f	0.16±0.00 ^{de}
โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	2.88±0.38 ^{bc}	17.44±5.16 ^{gh}	4.44±0.50 ^c	12.11±1.38 ^{de}	0.14±0.01 ^{bcde}
โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	4.00±1.00 ^{bcd}	10.44±0.38 ^{bcd}	3.66±0.28 ^{cde}	9.66±1.20 ^{bcde}	0.14±0.00 ^{bcde}
โอไรซาลิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 9 วัน	3.51±0.46 ^{bc}	9.48±0.71 ^{bcde}	3.24±0.21 ^{bcd}	8.59±.044 ^{bcd}	0.15±0.00 ^{cde}

ตารางที่ 13 (ต่อ)

สิ่งทดลอง	การแตกกอ เฉลี่ย (ต้น)	ความสูง เฉลี่ย (ซม)	ความกว้างใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวใบ เฉลี่ย (ซม)	ความหนาใบ เฉลี่ย (มม)
โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วัน	6.53±2.14 ^{1/ d2/}	16.11±2.98 ^{fg}	3.83±0.50 ^{de}	12.16±0.60 ^{de}	0.14±0.00 ^{bcde}
โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 3 วัน	2.66±0.57 ^{bc}	9.33±3.46 ^{bcd}	2.61±0.34 ^{bc}	12.16±0.60 ^{de}	0.13±0.00 ^b
โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 5 วัน	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน	2.88±1.01 ^{bc}	8.22±1.34 ^{bc}	3.00±0.33 ^{bcd}	8.44±0.94 ^{bcd}	0.13±0.00 ^{bc}
โอไรซาลิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 9 วัน	2.33±0.33 ^b	8.88±1.26 ^{bc}	2.27±0.53 ^b	6.83±1.87 ^{bc}	0.14±7.09 ^{bcde}
F-test	**	**	**	**	**
C.V. (%)	22.03	15.05	11.55	11.74	4.83

หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ



ภาพที่ 17 ลักษณะต้นหงส์เหินที่ได้รับโอไรชาลิน (ก) ไม่ได้รับโอไรจิน (ต้นควบคุม) (ข) ใบสีเขียวเข้ม ลำต้นผอม (ค) ใบสีเขียวอ่อน ลำต้นผอม (ง) ลำต้นหนา แตกกอช้า ใบสีเขียวเข้ม (จ) ลำต้นหนา ต้นเตี้ย ใบสีเขียวเข้ม และ (ฉ) ลำต้นหนา ใบลายด่างเหลือง (บาร์ = 1 ซม)

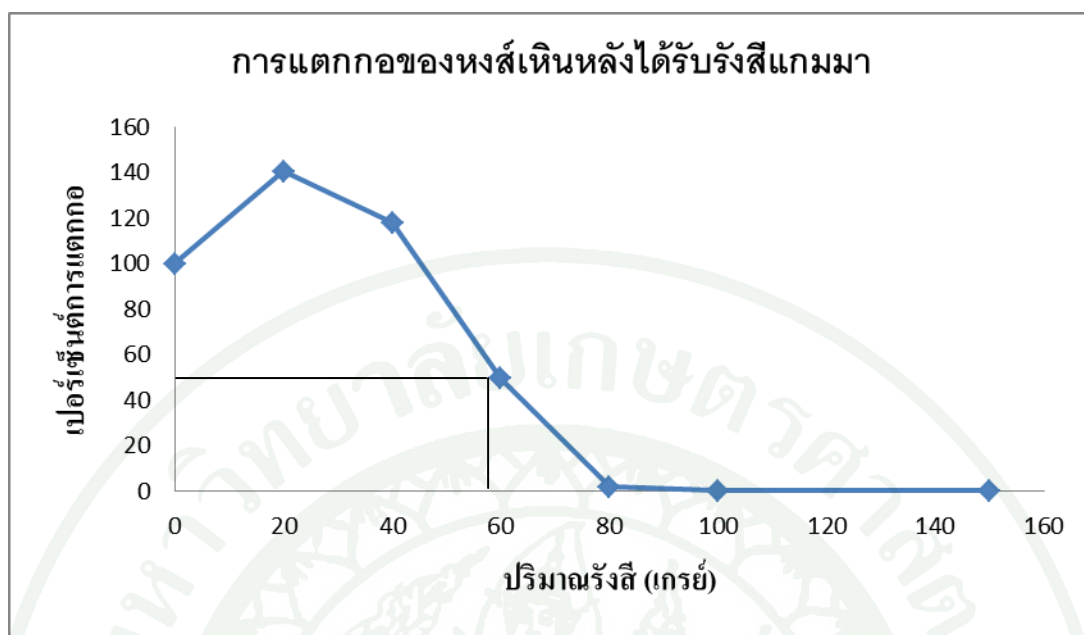
การทดลองที่ 5 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้รังสีแกมมา

เมื่อนำต้นหงส์เหินที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 2 เซนติเมตร ทำการตัดปลายยอด และรากทิ้ง ทำการฉายรังสีแกมมาเฉียบพลันที่ความเข้ม 0 20 40 60 80 100 และ 150 เกรย์ และย้ายเนื้อเยื่อลงสู่อาหารแข็ง MS ที่มีการเติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จนครบเวลา 40 วัน พบว่าสามารถหาค่า $LD_{50(60)}$ มีค่าเท่ากับ 98.89 เกรย์ ซึ่งมีปริมาณสูงเกินไป จึงทำการหาค่า $GR_{50(60)}$ โดยวัดการแตกกอของต้นหงส์เหิน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 58.85 เกรย์ และที่ระดับรังสี 20 และ 40 เกรย์ สามารถกระตุ้นการแตกกอของหงส์เหินได้ ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ย 140.68 และ 117.87 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 30 วัน ตามลำดับ (ภาพที่ 18) ลักษณะการแตก กอของต้นหงส์ได้รับรังสีในรุ่น M_1V_1 ไม่พบความผิดปกติ เช่นการค่างของใบ แต่พบลักษณะการตายของเซลล์ เซลล์เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล และตายในที่สุด เมื่อใช้รังสีในปริมาณที่เหมาะสมต้นหงส์จะถูกกระตุ้นให้แตกกอ (ภาพที่ 20ก, ข) ได้มากกว่าต้นที่ไม่ได้รับรังสี (ภาพที่ 19) และเมื่อรังสีมีปริมาณสูงขึ้นการแตก กอลดต่ำลงตั้งแต่ระดับรังสี 60 เกรย์ (ภาพที่ 20ค) เป็นต้นไป และต้นอ่อนเป็นสีน้ำตาล และตายเป็นจำนวนมากในระดับรังสี 80 ถึง 150 เกรย์ (ภาพที่ 21)

หลังจากได้ค่า $GR_{50(60)}$ มีค่าเท่ากับ 58.85 เกรย์ จึงมาทำการฉายรังสีใหม่ที่ ระดับปริมาณรังสี 0, 40, 50, 60, 70 และ 80 พบว่าการเปลี่ยนแปลงในรุ่น M_1V_1 ไม่เปลี่ยนแปลง จึงทำการตัดแต่งเนื้อเยื่อลงอาหารใหม่ เพื่อเร่งกระตุ้นการเกิดต้นใหม่ ในรุ่น M_1V_2 พบว่า ต้นหงส์เหินที่ได้รับรังสีปริมาณ 70 และ 80 เกรย์ มีลักษณะเป็นสีน้ำตาล และตายในเวลาต่อมา และการเจริญเติบโตของหงส์เหินมีความแตกต่างกันทางสถิติ คือ ต้นหงส์เหินที่ได้รับปริมาณรังสีในระดับที่สูงขึ้น มีการแตกกอลดลง แต่รังสีกระตุ้นการแตกกอได้มากกว่าต้นที่ไม่ได้รับรังสี ความสูงของต้นที่ได้รับรังสี ปริมาณ 40 เกรย์มีความสูงเฉลี่ยสูงกว่าต้นควบคุม 6.17 ± 0.00 7.22 ± 0.41 เซนติเมตร ตามลำดับ และ ใบ มีขนาดความกว้าง ความยาวใบ ความยาวราก เฉลี่ยมากกว่าต้นควบคุม 1.18 ± 0.03 2.11 ± 0.09 7.00 ± 0.60 เซนติเมตร เมื่อดันหงส์เหินโดนทำลายลักษณะทางสรีระวิทยาอย่างรุนแรง ทำให้ต้นที่รอดชีวิตต้องปรับตัว จึงทำให้เกิดเป็นแคลลัสขนาดใหญ่ และมียอดเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก ซึ่งแตกต่างจากต้นควบคุมที่ไม่เกิดแคลลัส และยอดได้ คือ ที่ระดับรังสี 40 เกรย์ ขนาดแคลลัสเฉลี่ย 2.16 ± 0.28 เซนติเมตร และจำนวนยอด เฉลี่ยจากแคลลัส 23.33 ± 5.00 ยอด ที่ระดับรังสี 50 เกรย์ขนาดแคลลัสเฉลี่ย 1.60 ± 0.17 เซนติเมตร และจำนวนยอดเฉลี่ยจากแคลลัส 31.33 ± 3.05 ยอด ที่ระดับรังสี 60 เกรย์ขนาดแคลลัสเฉลี่ย 1.16 ± 0.28 เซนติเมตร และจำนวนยอด เฉลี่ยจากแคลลัส 24.00 ± 2.00 ยอด (ตารางที่ 14) ลักษณะของเนื้อเยื่อที่เกิดการเปลี่ยนแปลงคือ ต้นควบคุมมีลำต้นสูง ใบมีขนาดใหญ่ มีรากเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 22ก) ต้นที่ได้รับรังสี 40 เกรย์ เกิดเป็น กลุ่มแคลลัสสีเขียวอมเหลือง เกิด

ยอดจากก้อนแคลลัส ต้นอ่อนอวบอ้วน ลำต้นสั้น (ภาพที่ 22ข) ต้นที่ได้รับรังสี 50 เกรย์ เกิดแคลลัสขนาดใหญ่ สีเขียวอมเหลือง ยอดที่ได้จากแคลลัส มีขนาดใหญ่ อวบอ้วน ลำต้นสั้น ใบหนา (ภาพที่ 22ค) ต้นที่ได้รับรังสี 60 เกรย์ เกิดแคลลัสขนาดเล็ก แต่อัดตัวกันแน่น สีเขียวอมเหลือง การแตกยอดเกิดขึ้นได้น้อย ยอดที่เกิดขึ้นกระจุกตัวกันแน่น (ภาพที่ 22ง) และต้นที่ได้รับรังสี 70-80 เกรย์ ต้นหงส์เหิน มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลทั้งต้น และตายในเวลาต่อมา (ภาพที่ 22จ, ฉ)

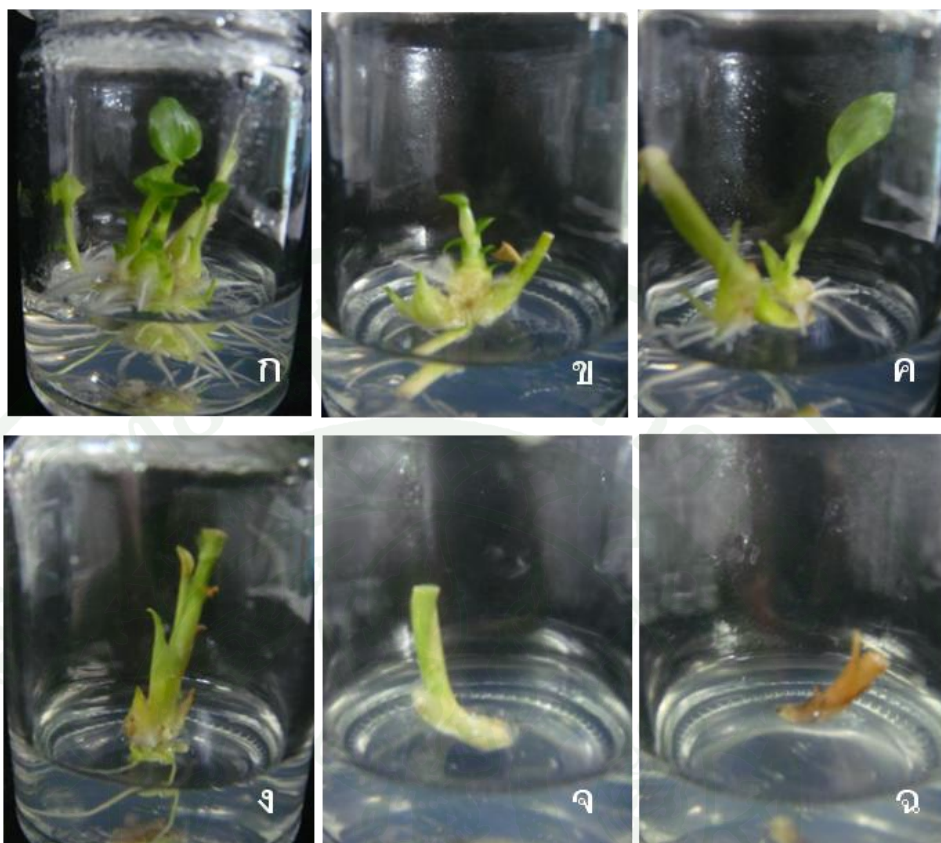
เมื่อทำการคัดแยกต้นที่มีลักษณะที่แตกต่างจากต้นควบคุม พบว่า ที่ระดับรังสี 40 เกรย์ พบการเปลี่ยนแปลง 3 ลักษณะ คือ ต้นอ่อนเกิดเป็นแคลลัสขนาดใหญ่สีเขียวอมเหลือง และเกิดกลุ่มยอดเป็นจำนวนมาก ซึ่งต้นอ่อนที่ได้ใบมีขนาดเล็ก สีเขียวอ่อนทั้งหมด (ภาพที่ 23ก) ต้นที่ได้รับรังสีไม่สามารถเกิดเป็นก้อนแคลลัส แต่รังสีไปกระตุ้นการแตกกอ ทำให้เกิดยอดเป็นจำนวนมากแต่ลักษณะใบที่เกิดขึ้น มีขนาดเล็ก มีสีเขียวอ่อน (ภาพที่ 23ข) และเกิดต้นเผือก มีสีขาวทั้งต้น จำนวน 1 ขวด (ภาพที่ 23ค) ต้นหงส์เหินรุ่น M_1V_2 จากการฉายรังสี 50 เกรย์ เกิดกลุ่มแคลลัสสีเขียวอมเหลือง แคลลัสมีขนาดใหญ่ เกิดต้นอ่อนเป็นจำนวนมาก ใบมีสีเขียวอ่อนขนาดเล็ก (ภาพที่ 23ง, จ) ต้นที่มีปล้องสั้น ใบมีสีเขียวเข้ม แต่มีขนาดเล็ก และกลม และบางต้นเกิดอาการสีเนื้อเยื่อกลายเป็นสีน้ำตาล และตายในที่สุด ที่ระดับรังสี 60 เกรย์ เกิดกลุ่มยอดเป็นจำนวนมากจากต้นต่อ ยอดมีสีเขียวอ่อนทั้งหมด (ภาพที่ 24ก) ยอดที่เกิดจากแคลลัส มีลักษณะปล้องสั้น และเกิดต้นเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 24ข) และต้นอ่อนที่เจริญมาจากเซลล์สีน้ำตาลที่โคนลำตายจากรังสี เกิดยอดอ่อนเป็นกระจุกสีเขียวอ่อนอมเหลือง (ภาพที่ 24ค)



ภาพที่ 18 การแตกกอของหงส์เหินหลังได้ได้รับรังสีแกมมา 60 วัน มีค่า $GR_{50(60)}$ เท่ากับ 58.85 เกรย์



ภาพที่ 19 ต้นหงส์เหินที่ไม่ได้รับรังสีแกมมา



ภาพที่ 20 ต้นหงส์เหินที่ได้รับรังสีแกมมา (ก) 20 เกรย์ (ข) 40 เกรย์ และ (ค) 60 เกรย์ (ง) 80 เกรย์ (จ) 100 เกรย์ และ (ฉ) 150 เกรย์

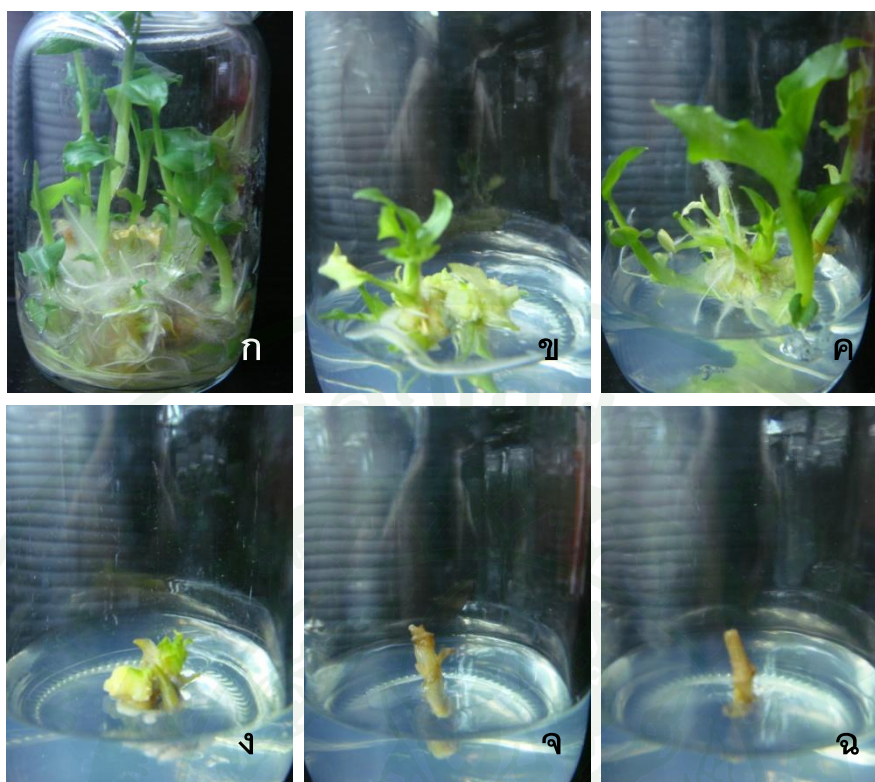
ตารางที่ 14 การเจริญเติบโตของหงส์หินหลังได้รับรังสีแกมมาเมื่ออายุ 60 วันใน M_1V_2

ปริมาณ รังสี (เกรย์)	การแตกกอ เฉลี่ย (ต้น)	ความสูง เฉลี่ย (ซม)	ความกว้างใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวใบ เฉลี่ย (ซม)	ความยาวราก เฉลี่ย (ซม)	ยอดจากแคลลัส เฉลี่ย (ยอด)	ขนาดแคลลัส เฉลี่ย (ซม)
0	1.44±0.19 ^{bc1/}	6.17±0.00 ^c	1.11±0.09 ^{cd}	1.61±0.09 ^c	5.77±0.19 ^b	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
40	8.22±0.83 ^d	7.22±0.41 ^d	1.18±0.03 ^d	2.11±0.09 ^d	7.00±0.60 ^b	23.33±5.00 ^b	2.16±0.28 ^c
50	4.00±1.33 ^c	5.50±0.72 ^c	0.88±0.09 ^{bc}	1.72±0.09 ^c	6.66±1.01 ^b	31.33±3.05 ^c	1.60±0.17 ^b
60	2.77±0.19 ^{bc}	2.44±0.25 ^b	0.83±0.16 ^b	1.27±0.19 ^b	1.83±1.32 ^a	24.00±2.00 ^b	1.16±0.28 ^b
70	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
80	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
F-test	**	**	**	**	**	**	**
C.V. (%)	10.56	3.92	6.88	5.00	16.52	6.58	7.95

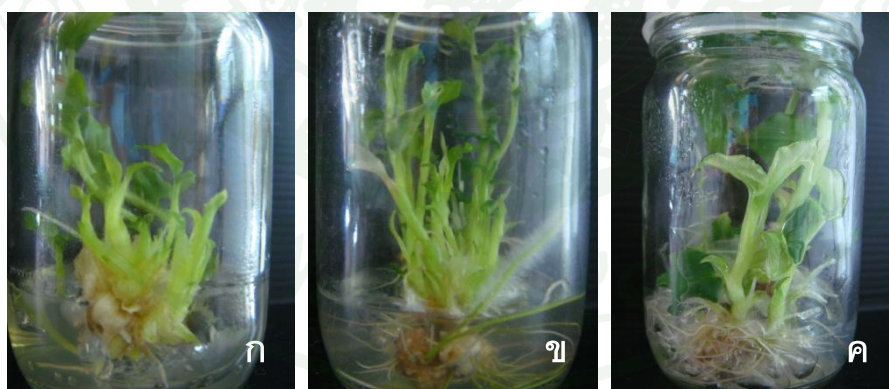
หมายเหตุ ** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

^{1/} ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

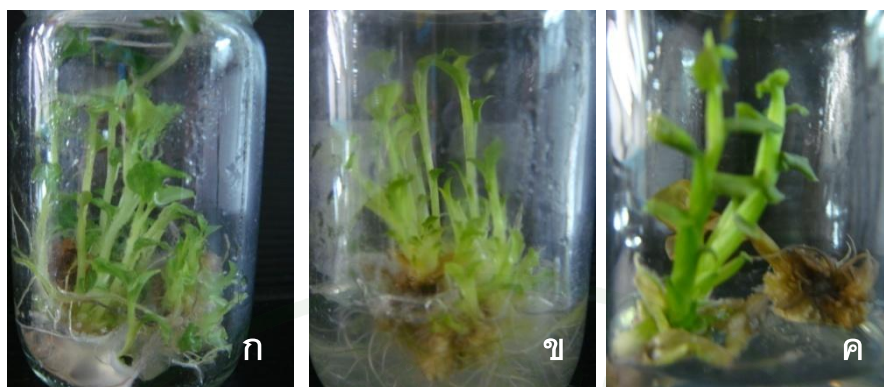
^{2/} ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ



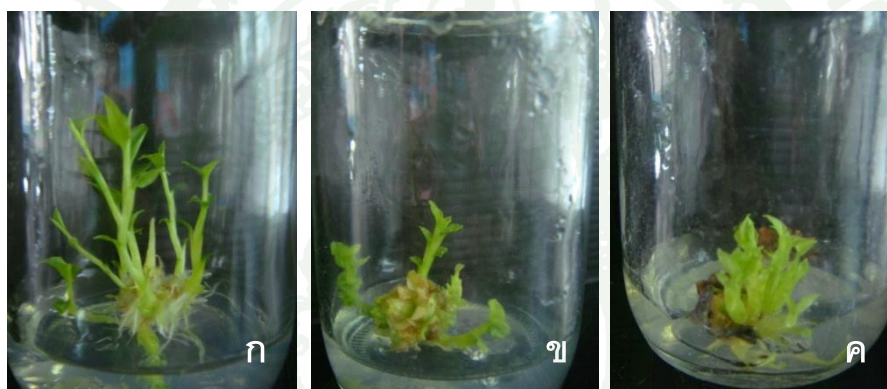
ภาพที่ 21 ต้นหงส์เหินที่ได้รับรังสีแกมมาจากช่วง GR₅₀₍₆₀₎ (ก) ควบคุม (ข) 40 เกรย์ (ค) 50 เกรย์ (ง) 60 เกรย์ (จ) 70 เกรย์ และ (ฉ) 80 เกรย์



ภาพที่ 22 ต้นหงส์เหินรุ่น M₁V₂ จากการฉายรังสี 40 เกรย์ (ก) ยอดที่เกิดจากแคลลัส (ข) ยอดที่เกิดจากต้นตอ และ (ค) ต้นเหือก



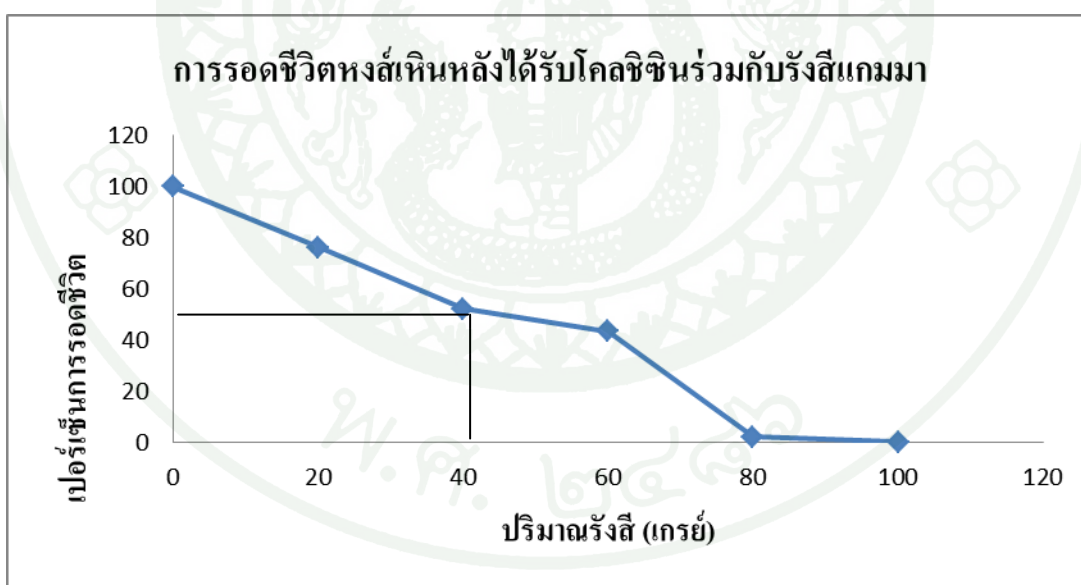
ภาพที่ 23 ต้นหงส์เหินรุ่น M_1V_2 จากการฉายรังสี 50 เกรย์ (ก) ยอดที่เกิดจากแคลลัส (ข) กลุ่มแคลลัสขนาดใหญ่ และ (ค) ต้นที่มีปล้องสั้น และต้นที่ตาย



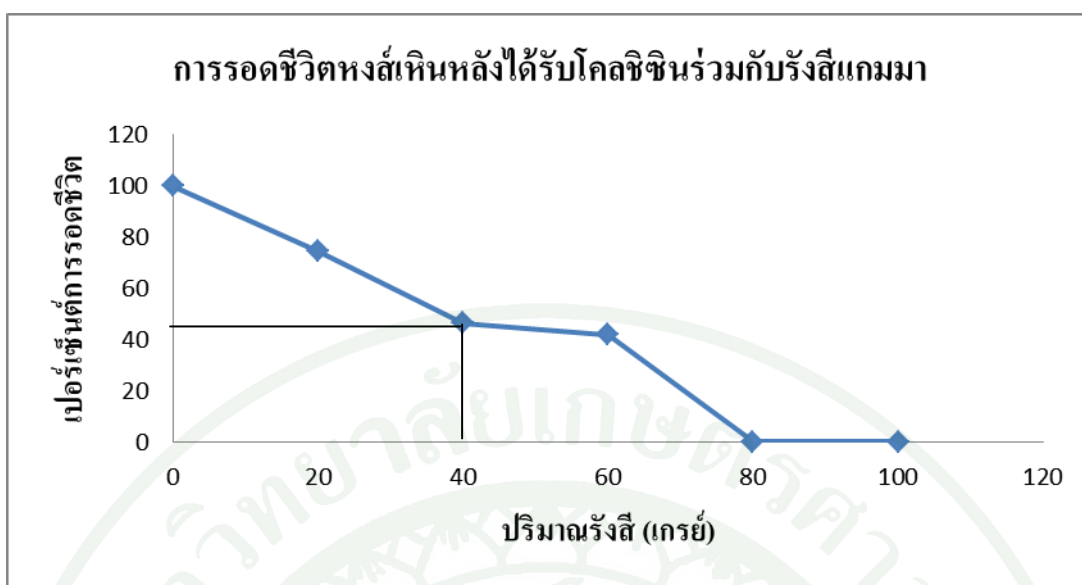
ภาพที่ 24 ต้นหงส์เหินรุ่น M_1V_2 จากการฉายรังสี 60 เกรย์ (ก) ยอดที่เกิดจากต้นตอ (ข) กลุ่มแคลลัส ต้นที่มีปล้องสั้น และ (ค) ต้นอ่อนที่เจริญจากเซลล์ที่โดนรังสีทำลายเซลล์

การทดลองที่ 6 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้โคลชิซิน ร่วมกับรังสีแกมมา

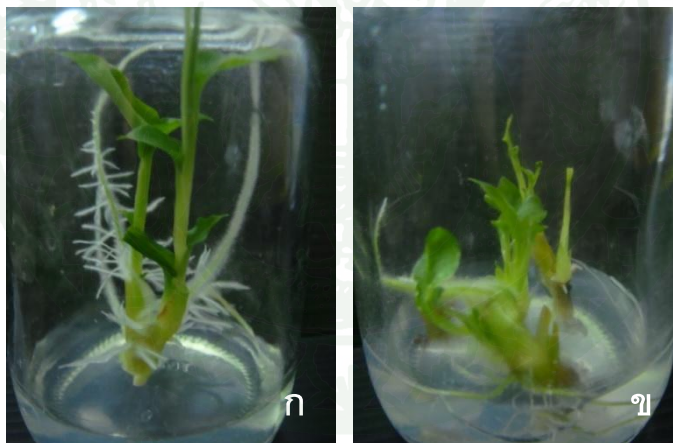
เมื่อนำต้นหงส์เหินที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 2 เซนติเมตร ทำการตัดปลายยอด และรากทิ้ง นำมาแช่สารละลายโคลชิซินที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 12 และ 24 ชั่วโมง เมื่อครบระยะเวลาล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว แล้วนำไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เกรย์ พบว่าการเจริญเติบโตของต้นหงส์เหินรังได้รับรังสีแกมมา 60 วัน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น ซึ่ง ที่ระดับความเข้มข้นของโคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 12 ชั่วโมง ค่า $LD_{50(60)}$ มีค่าเท่ากับ 45.85 เกรย์ (ภาพที่ 25) ลักษณะของต้นอ่อนที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็ก ใบมีสีเขียวอ่อน มากกว่าต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซิน (ภาพที่ 27) และที่ระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 24 ชั่วโมง ค่า $LD_{50(60)}$ มีค่าเท่ากับ 44.07 เกรย์ (ภาพที่ 26) ลักษณะของต้นอ่อนที่ได้รับโคลชิซิน แต่ไม่ได้รับรังสีแกมมา ใบมีขนาดใหญ่ สีเขียวเข้ม มันวาว (ภาพที่ 28ก) และต้นที่ได้รับโคลชิซินร่วมกับรังสีแกมมา เนื้อเยื่อกลายเป็นสีน้ำตาล แต่ต้นอ่อนสามารถเจริญขึ้นมาใหม่ได้ และต้นที่ได้ ใบมีสีเขียวอ่อน และหนา (ภาพที่ 28ก-ง)



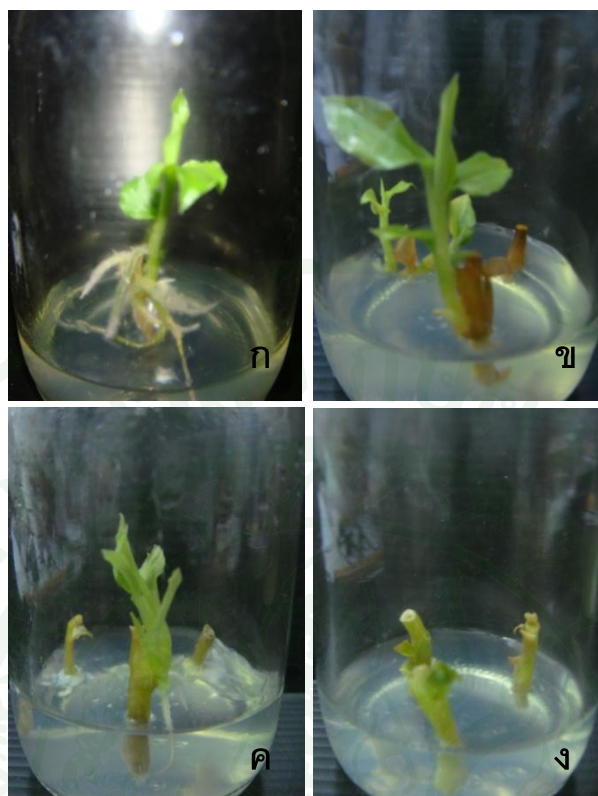
ภาพที่ 25 เปอร์เซนต์การรอดชีวิตของหงส์เหินหลังได้รับโคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 12 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา เมื่ออายุ 60 วัน มีค่า $LD_{50(60)}$ เท่ากับ 45.85 เกรย์



ภาพที่ 26 เปอร์เซนต์การรอดชีวิตของหงส์เหินหลังได้รับโคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 24 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมาเมื่ออายุ 60 วัน มีค่า $LD_{50(60)}$ เท่ากับ 44.07 เกรย์



ภาพที่ 27 ต้นหงส์เหินรุ่น M_1V_1 หลังได้รับโคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 12 ชั่วโมงร่วมกับรังสีแกมมา (ก) ไม่ได้รับรังสีแกมมา (ข) ได้รับรังสีแกมมา 60 เกรย์



ภาพที่ 28 ต้นหงส์เหินรุ่น M_1V_1 หลังได้รับโคลิซิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 24 ชั่วโมงร่วมกับ รังสีแกมมา (ก) ไม่ได้รับรังสีแกมมา (ข) ได้รับรังสีแกมมา 40 เกรย์ (ค) ได้รับรังสีแกมมา 60 เกรย์ และ (ง) ได้รับรังสีแกมมา 80 เกรย์

วิจารณ์

การทดลองที่ 1 การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอหงส์เหิน

การศึกษาเทคนิคการตัดเมล็ดหงส์เหินวิธีต่างๆ โดยใช้เมล็ดของหงส์เหินพันธุ์ *Globba magnifica* ที่มีอายุ 20 วันหลังการผสม มาทำการตัดเมล็ดแบบต่างๆ ดังนี้ ไม่ตัดเมล็ดกริด ตรงกลางเมล็ด ตัดเมล็ดเฉียงหัว (เฉียงบริเวณไมโครไพล) ตัดเมล็ดเฉียงท้าย (ตัดแนวเฉียงท้ายเมล็ด) ตัดเมล็ดตรงหัว (ตัดผ่านไมโครไพล) ตัดเมล็ดตรงท้าย (ตัดแนวตรงท้ายเมล็ด) ซึ่งเป็นเทคนิคใหม่ที่จะช่วยลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ และช่วยลดความเสียหายของเอ็มบริโอ วิธีที่เหมาะสมที่สุดในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของหงส์เหินคือ การตัดเมล็ดเฉียงท้าย (ตัดแนวเฉียงท้ายเมล็ด) ทำให้เปอร์เซ็นต์การออกในสัปดาห์ที่ 2 สูงสุดซึ่งไม่แตกต่างจากการแกะเอ็มบริโอออก จากเมล็ด แต่พบว่าการแกะเอ็มบริโอออกจากเมล็ดสร้างความเสียหายแก่เอ็มบริโอทำให้เอ็มบริโอพัฒนาเป็นแคลลัส แต่การตัดเมล็ดเฉียงท้ายนั้น ทำให้เอ็มบริโอไม่เกิดการเสียหาย เพราะส่วนที่โดนตัดทิ้งไปคือส่วนของเอนโดสเปิร์มเท่านั้น และเอ็มบริโอไม่ได้รับความเสียหาย ทำให้น้ำและอาหารซึมผ่าน จนเอ็มบริโอสามารถงอกได้เร็วและสมบูรณ์ ซึ่งความสามารถในการพัฒนาและการอยู่รอดของเอ็มบริโอมีความสามารถที่แตกต่างกัน ตามชนิดและความยากง่ายในการผสมติดทางพันธุกรรม แม้ว่าการพัฒนาในการผสมติดสูง แต่การพัฒนาของเอ็มบริโออาจจะงักได้ เนื่องจากความแตกต่างทางฐานพันธุกรรม สภาพแวดล้อมหลังการผสม และสภาพความสมบูรณ์ของต้นแม่ อาจส่งผลให้เกิดความล้มเหลวของการพัฒนาในระยะแรก และส่งต่อเนื่องถึงระยะโตเต็มที่ สาเหตุที่เอ็มบริโอมีการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาที่แตกต่างกันอาจเกิดจากพันธุกรรมของพืชเองเนื่องจากลูกผสมของพืชมีจีโนไทป์แตกต่างกัน จะมีความยากง่ายในการเจริญเติบโตในสภาพเพาะเลี้ยงต่างกัน (Pierik, 1987; Bridgen, 1994) เทคนิคในการแยกเอ็มบริโอออกจากเมล็ด อาจทำให้เอ็มบริโอได้รับความเสียหายขณะตัดแยก รวมไปถึงองค์ประกอบของอาหาร และสภาพแวดล้อมที่ได้รับ ทำให้เนื้อเยื่อบริเวณรอยตัด หรือ บริเวณที่ได้รับความเสียหายเกิดการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็วจึงสามารถเกิดเป็นแคลลัสได้ แคลลัสที่เกิดจากเอ็มบริโอจะมีลักษณะเป็นสีเขียวและขาว อาจเนื่องจากแคลลัสเป็นกลุ่มของเซลล์พารენไคมา (parenchyma) ที่เกาะตัวกันอยู่ โดยยังไม่มีมีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะเจาะจง (ไพบูรณ์, 2524) จากศึกษาของ Eeckhaut *et al.* (2007) สามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของเมล็ดและความสามารถในการสร้างเอนโดสเปิร์มซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่สะสมอาหารอยู่ในเมล็ดดำของ *Rhododendron* ที่ได้จากการผสมข้ามชนิด ได้ด้วยวิธีการช่วยชีวิตเอ็มบริโอ พบว่าต้นพืชที่รอดชีวิตสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ปกติ และ Lili *et al.* (2008) ทำการช่วยชีวิตเอ็มบริโอของลูกผสมองุ่นไร้เมล็ด ในกลุ่มผสมพันธุ์ 'Emerald

Seedless' × 'Beichun' นำเอมบริโอออกมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร WPM (woody plant medium; Lloyd and McCown, 1980) ดัดแปลงโดยการเพิ่ม 6-BA 1 ไมโครโมล น้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ และ ผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เอมบริโอออกสูงถึง 91.2 เปอร์เซ็นต์และมีการพัฒนาเป็นต้น ลูกผสม 77.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมล็ดยิ่งงอกเร็วมากเท่าไรโอกาสในการประสบความสำเร็จในงานด้าน ปรับปรุงพันธุ์พืชที่ผสมข้ามมีโอกาสสูงขึ้นด้วย

การทดลองที่ 2 การศึกษาวัสดุปลูก และวันปลูกต้นหงส์เหินเพื่อพัฒนาเป็นไม้ตัดดอก และไม้กระถางจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

นำต้นหงส์เหินจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีอายุ 45 วัน ซึ่งมีรากและลำต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง นำมาล้างเอาฝุ่นให้สะอาด แช่ยาออร์โทไซด์เพื่อ ป้องกันเชื้อรา อัตราส่วน 1 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร นาน 30 นาที แล้วย้ายต้นกล้าลงวัสดุปลูกทั้ง 5 ชนิด คือ ทราาย แกลบเผา แกลบเผา :ทราาย (อัตราส่วน 1:1) แกลบเผา:ทราาย:พีทมอส (อัตราส่วน 1:1:1) พีทมอส พบว่า ต้นหงส์เหินที่ปลูกใน แกลบเผา :ทราาย:พีทมอส (อัตราส่วน 1:1:1) มีเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยการรอดชีวิตสูงสุด คือ 94.44 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ทราาย แกลบเผา แกลบเผา:ทราาย (1:1) และพีทมอส มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 88.89 83.33 66.67 และ 38.89 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 2) แต่ลักษณะความสมบูรณ์แข็งแรงของต้น หงส์เหินไม้แตกต่างกัน ในทางปฏิบัตินั้นการเลือกใช้วัสดุปลูกทางการเกษตรในปัจจุบันมักใช้วัสดุอินทรีย์ และอนินทรีย์ซึ่งช่วยให้พืชดูดซึมน้ำ ออกซิเจน และสารอาหาร ทำให้ส่งผลต่อการเจริญเติบโต และพัฒนาการของพืชอย่างมีประสิทธิภาพ (Verdonck *et al.*, 1982) อย่างไรก็ตาม วัสดุที่แตกต่างกันอาจมีผลกระทบโดยตรง หรือทางอ้อมแก่ต้นพืช ดังนั้นการเลือกวัสดุที่ดีที่สุดสำหรับพืชมีความจำเป็น เพื่อนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของผลผลิต การควบคุมศัตรูพืช โรคและแมลง ความเป็นกรดด่างของดิน (Olympious, 1992)

เมื่อทำการเพิ่มปริมาณหงส์เหินได้ตามจำนวนที่ต้องการ และทำการย้ายต้นกล้าเพื่อปรับสภาพออกปลูก จนต้นกล้ามีความสมบูรณ์แข็งแรง และทำการให้แสงไฟเพื่อเพิ่มความยาวนานของแสง โดยให้แสงในช่วงเวลา 17.00-21.00 น. เนื่องจากหงส์เหินเป็นพืชวงศ์เดียวกับปทุมมาที่อาศัยอาศัยช่วงสภาพวันยาวในการเจริญเติบโต (อภิชาติ, 2550) ซึ่งระยะการเจริญเติบโต (vegetative growth) จนกระทั่งหงส์เหินให้ช่อดอกข้อแรก พบว่าต้นหงส์เหินสามารถเจริญเติบโตนอกฤดูการ ปลูกได้ และออกได้สมบูรณ์สวยงาม ไม่แตกต่างจากต้นที่ปลูกด้วยหัวพันธุ์ และไม่เกิดการพักตัว ซึ่งแตกต่างจากการหัวพันธุ์ที่ต้นพันธุ์จะพักตัวตั้งแต่ช่วงตุลาคม จากการศึกษาวงจรชีวิตของปทุมมานั้น พบว่า จะเข้าสู่ระยะการพักหัวในช่วงสภาพวันสั้น (จิรวรรณ, 2535) ความยาวนาน และความเข้มแสงเป็น

ปัจจัยหลักที่มีผลต่อการพัฒนา และการเจริญเติบโตของพืช (Kuehhy *et al.*, 2002) โดยเมื่อต้นหงส์เหินจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญเติบโตเต็มที่ (vegetative growth) ระยะเวลา 90 วัน จะเริ่มให้ดอกช่อแรก และช่อดอกจะเริ่มออกทุกๆ ต้นที่มีความสมบูรณ์ โดยเมื่อหงส์เหินให้ใบ 6 ถึง 9 ใบ จะให้ช่อดอกทันที โดยช่อดอกในเดือนกรกฎาคม (อายุมากกว่า 90 วัน) จะมีขนาดเล็ก และไม่สวยงาม แต่ในช่วงเดือนสิงหาคม ถึงธันวาคม จะให้ช่อดอกที่มีความยาวมากกว่า 9 เซนติเมตร และการแตกออก ความสูง ขนาดใบจะเพิ่มขึ้นในทุกๆ เดือน ในการทดลองให้ความยาววันเพิ่มขึ้นในปทุมมา พบว่าในช่วงสภาพความยาววัน 13 ชั่วโมง ทำให้ต้นปทุมมาที่มีความสูงมากที่สุด เส้นผ่านศูนย์กลางลำมากที่สุด ซึ่งแตกต่างจากการให้แสง 7 และ 10 ชั่วโมง แต่ความยาวนานของแสงไม่มีผลต่อการจำนวนหัวใหม่ จำนวนใบต่อต้น และจำนวนรากสะสมอาหาร (อภิชาติ, 2550) นอกจากนี้พบว่าสภาพวันยาวช่วยเพิ่มไนโตรเจน โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตในใบของเบญจมาศ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าความยาวช่วงวันเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตเพื่อสร้างอาหาร และการสะสมอาหารในพืช (Shanmugan and Muthuswamy, 1974) ต้นหงส์เหินนั้น สามารถใช้เป็นไม้ตัดดอกได้ ดังนั้นความเป็นไปได้ในการพัฒนาการปลูกหงส์เหินจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีแนวโน้มเป็นไปได้สูง โดยทดแทนการใช้หัวพันธุ์ เพื่อควบคุมกระบวนการผลิต ทั้งในรูปแบบไม้ตัดดอกและไม่กระถาง ซึ่งต้นหงส์เหินที่ได้จะปลอดภ้ยจากโรคที่ติดมากับต้นพันธุ์รบกวน

การทดลองที่ 3 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้โคลชิซิน

หลังจากนำต้นหงส์เหินที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 2 เซนติเมตร ทำการตัดปลายยอด และรากทิ้ง นำมาแช่ในสารละลายโคลชิซินในสภาวะปลอดเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 1 3 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแช่ในสภาวะมืด ใช้ระยะเวลานาน 1 3 5 และ 7 วัน ส่วนต้นหงส์เหินที่ไม่ได้รับโคลชิซินจะเลี้ยงบนอาหารเหลว MS ปราศจากโคลชิซิน และเขย่าที่บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 rpm เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดทำการล้างสารละลายโคลชิซินที่ตกค้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ตัดแต่งเนื้อเยื่อพืชลงในอาหารแข็ง MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อหงส์เหินมีอายุครบ 30 วัน พบว่า ชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ในการทดลองครั้งนี้สารละลายโคลชิซินที่ใช้อยู่ในรูปแบบของยา และใช้ในความเข้มข้นที่ต่ำ แต่ใช้ระยะเวลาในการแช่สารที่นานขึ้น ทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายสูงขึ้น และระยะเวลาในการแช่สารที่นานขึ้น เนื่องมาจากสารโคลชิซินไม่ได้จำกัดอยู่ที่เฉพาะการแบ่งเซลล์เท่านั้น แต่จะแพร่เข้าไปในส่วนประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ ทำให้เกิดความเป็นพิษได้เมื่อได้รับความเข้มข้นสูง (Dermen, 1940) โดยสารโคลชิซินมีผลทำให้ความหนืดของไซโทพลาสซึมเปลี่ยนแปลงไป การทำงานของเซลล์จึงผิดปกติ (Cook and Loudon, 1952) หรือชักนำให้เกิดการเพิ่ม

จำนวนโครโมโซมทำให้เซลล์เสียหายและตายได้ (Distabanjong *et al.*, 2007) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของเปรมจิต (2549) ที่ได้ศึกษาผลของโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ ที่มีต่อเนื้อเยื่อปลายยอดของกล้วยเล็บมือนาง พบว่าการใช้สารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาเพิ่มขึ้นทำให้อัตราการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อปลายยอดลดลง และภาสันต์ (2540) ซึ่งทำการชักนำต้นอ่อนกล้วยไข่ให้กลายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้สารโคลชิซิน 0 0.5 0.75 1.0 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ DMSO 2 เปอร์เซ็นต์ นาน 2.5 5.0 7.5 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารก่อกลายพันธุ์เพิ่มมากขึ้นและระยะเวลาที่ได้รับสารนานขึ้นทำให้อัตราการรอดชีวิตลดลง และการทดลองของ Havas (1940) พบว่าเมื่อทดลองแช่เมล็ดพริกในสารละลายโคลชิซินที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ในเวลาต่างกัน พบว่าระดับความเข้มข้นของโคลชิซินที่สูงและระยะเวลาในการแช่ที่นานทำให้มีเปอร์เซ็นต์การตายเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Espino และ Vazquez (1981) พบว่าเมื่อนำใบแอฟริกันไวโอเล็ตไปแช่ในสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่าสารโคลชิซินที่มีความเข้มข้นสูงทำให้ชิ้นส่วนของพืชตาย โดยสารละลายโคลชิซินมีความเป็นพิษต่อพืช การนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ จำเป็นต้องหาระดับที่เหมาะสม ถ้าความเข้มข้นและระยะเวลาไม่เหมาะสมจะทำให้พืชไม่พัฒนาและตายได้ ซึ่งความเข้มข้นของโคลชิซินจะผันแปรไปตามชนิดพืช และส่วนของพืชที่ใช้ (อดิสร, 2539; Takamura and Miyajima, 1996; Van *et al.*, 1992)

เมื่อหงส์เหินมีอายุครบ 30 วัน หลังจากได้รับโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ การแตกกอ ความสูง ความกว้างใบ ความยาวใบ และความยาวราก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่พบว่ามีลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซิน พบว่าต้นที่ไม่ได้รับ โคลชิซินลำต้นยืดยาวใบมีขนาดเล็ก เรียวยาว มีความมันวาวของใบน้อย รากมีขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก แต่ต้นที่ได้รับโคลชิซินมีลำต้นที่หนา อวบอ้วน ใบค่อนข้างกลม ลำต้นสั้น รากมีขนาดใหญ่ ใบมันวาวกว่าต้นปกติ เนื่องจากเมื่อเซลล์ได้รับสาร โคลชิซินจะทำให้เกิดความล่าช้าในการแบ่งเซลล์ และเซลล์จะชะงักการแบ่งเซลล์ไประยะหนึ่ง หลังจากนั้นจะสามารถแบ่งตัวได้ตามปกติ (สิรินุช, 2540) หรืออาจเกิดจากการแช่สารละลายโคลชิซินนานเกินไปทำให้พืชได้จำนวนโครโมโซมเกินระดับที่ดื้อ การจนทำให้เซลล์เสียหาย แต่ทั้งนี้ขึ้นกับการตอบสนองของเซลล์ในพืชแต่ละชนิดด้วย (วิทยา, 2527) และสารโคลชิซินสามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมเป็นสองเท่า มีผลให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลงไป เนื่องจากได้เพิ่มขนาดของเซลล์ที่กำลังเจริญให้มีขนาดใหญ่ขึ้น มีจำนวนเซลล์รวมลดลง จึงทำให้พืชมีอัตราการเจริญเติบโตช้ากว่าปกติ (นพพร, 2546; Chandrasekharan *et al.*, 1975)

เมื่อถึงระยะการออกดอกโดยทำการวัดการออกดอก จากดอกช่อที่สองของต้นหงส์เหิน เนื่องจากดอกช่อแรกที่ได้ จะมาจากต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ช่อดอกจะมีขนาดสั้น และไม่สมบูรณ์แข็งแรง พบว่า ความกว้างใบ ความยาวใบ ความหนาใบ เฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ แต่จำนวนใบเฉลี่ยทั้งหมดก่อนเริ่มแทงช่อดอกไม่แตกต่างกันทางสถิติ ต้นหงส์เหินที่ได้รับโคลชิซินจะใช้ระยะเวลาในการออกดอกเฉลี่ยน้อยกว่าต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซินซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อทำการวัดความยาวช่อดอก และระยะห่างระหว่างก้านช่อดอกจริง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ขนาดความยาวเฉลี่ยของก้านช่อดอกจริงมีความยาวเฉลี่ยมากกว่าก้านช่อดอกจริงของต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซินอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อกลีบประดับเจริญจนมีสีเข้มทำการวัดขนาดโดยวัดความกว้าง ความยาว ความหนา พบว่ากลีบประดับมีขนาดใหญ่ขึ้น และหนาขึ้น ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อทำการคัดเลือกลักษณะของดอกหงส์เหินหลังจากเจริญเติบโตทั้งช่อดอกลักษณะที่เด่นชัดมี 3 ลักษณะที่แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซินที่มีกลีบประดับขนาดเล็กช่อดอกสั้น กลีบประดับบาง คือ ช่อดอกสั้น กิ่งตั้งกิ่งห้อย กลีบประดับเรียวยาว ปลายกลีบเรียวยาวแหลม แตกกอเป็นจำนวนมาก ลำต้นสูงกลีบประดับมีขนาดใหญ่ ก่อนข้างกลมมน และลำต้นสั้น กลีบประดับเรียวยาว ปลายกลีบเรียวยาวแหลม เนื่องจากอาจเกิดการเพิ่มของโครโมโซม หรือจำนวนโครโมโซมผิดปกติไปจากเดิม มักทำให้เกิดต้นลักษณะต่างๆ เช่น มีการเพิ่มขนาดของเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น อวบน้ำมากขึ้น ทำให้อวัยวะหรือส่วนประกอบต่าง ๆ ของพืชมีขนาดใหญ่ขึ้นด้วย เช่น ลำต้น ใบ ราก ดอก และผล ซึ่งลักษณะนี้เรียกว่า gigas (ไพศาล, 2527) หรืออาจมีผลทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลงไปได้ (นพพร, 2546) และนอกจากนี้ทำให้ดอกและใบมีสีเขียวเข้มขึ้น ลำต้นเตี้ย ช่อ และปล้องสั้น (เบญจมาศ, 2545) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ye *et al.* (2010) ที่ให้สาร โคลชิซินกับปลายยอดของต้นกล้าในระยะใบเลี้ยงของยี่เข่ง 3 สายพันธุ์ พบว่าลักษณะดอกในต้นเตตราพลอยด์ได้เพิ่มมูลค่าขึ้น โดยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของดอกแต่ละดอกมีขนาดเพิ่มขึ้น และความยาวฐานของกลีบดอกและเล็บ (claw) เพิ่มมากยิ่งขึ้น พบลักษณะกลีบดอกของต้นเตตราพลอยด์ มีแนวโน้มที่จะม้วนย่นเพิ่มขึ้น สำหรับขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของละอองเกสร และขนาดของฝักและเมล็ด มีขนาดใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์อย่างมีนัยสำคัญ และสุมนา (2549) พบว่าเมื่อแช่ต้นอ่อนเขปี่ราในโคลชิซิน ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 48 ชั่วโมง และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 96 ชั่วโมง ทำให้เขปี่ราที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ $2n = 4x = 100$ แท่ง และเขปี่ราที่ได้รับสาร โคลชิซินความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 96 ชั่วโมง ดอกมีลักษณะบิดเบี้ยว รูปทรงของดอกผิดปกติไม่เป็นวงกลมหรือวงรี

การทดลองที่ 4 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้โอไรซาลิน

เมื่อศึกษาการรอดชีวิตหลังได้รับโคลชิซิน 60 วัน พบว่าชุดควบคุมควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 100 เปอร์เซ็นต์ และในการทดลองนี้ได้อำนาจโอไรซาลินในความเข้มข้นต่ำทำให้ต้นที่ได้รับโอไรซาลิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 วันมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อหงส์เหินได้รับโคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 9 วัน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 25.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต้นหงส์เหินที่ได้รับโอไรซาลินที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลาเดียวกัน และขนาดความกว้าง ความยาวของใบต้นที่ได้รับโอไรซาลินทุกทริตเมนต์ มีขนาดใบน้อยกว่าต้นที่ไม่ได้รับโอไรซาลิน และความยาวรากต้นที่ไม่ได้รับโอไรซาลินรากมีความยาวมากกว่าต้นที่ได้รับโอไรซาลิน เมื่อทำการสังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงของต้นหงส์เหิน พบว่าต้นที่ไม่ได้รับโอไรซาลิน มีลักษณะลำต้นพอมสูง ยืดยาว ใบมีขนาดใหญ่ แต่ต้นที่ได้รับโอไรซาลิน ใบมีขนาดเล็ก การแตกกอเป็นจำนวนมาก ลำต้นสั้น อวบอ้วน ซึ่งแตกต่างจากต้นปกติอย่างชัดเจน รากสะสมอาหาร พบว่า ต้นที่ไม่ได้รับโอไรซาลิน มีรากสะสมอาหารมีขนาดเล็ก และมีรากฝอยเป็นจำนวนมาก และต้นที่ได้รับโอไรซาลิน มีรากสะสมอาหารมีขนาดใหญ่ และมีรากฝอยเป็นจำนวนน้อย เนื่องจากอาจเกิดการเพิ่มของโครโมโซม หรือจำนวนโครโมโซมผิดปกติไปจากเดิม มักทำให้เกิดต้นลักษณะต่างๆ เช่น มีการเพิ่มขนาดของเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น อวบน้ำมากขึ้น ทำให้อวัยวะหรือส่วนประกอบต่าง ๆ ของพืชมีขนาดใหญ่ขึ้นด้วย เช่น ลำต้น ใบ ราก ดอก และผล ซึ่งลักษณะนี้เรียกว่า gigas (ไพศาล, 2527) หรืออาจมีผลทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลงไปได้ (นพพร, 2546) และนอกจากนี้ทำให้ ดอกและใบมีสีเขียวเข้ม ลำต้นเตี้ย ข้อ และปล้องสั้น (เบญจมาศ, 2545) เมื่อทำการคัดเลือกต้นหงส์เหินที่มีลักษณะเด่นแตกต่างไปจากต้นควบคุม ลักษณะที่พบมีเพียง 5 ลักษณะดังนี้ ใบสีเขียวเข้ม ลำต้นพอม ใบสีเขียวอ่อน ลำต้นหนา แตกกอช้า ใบสีเขียวเข้ม ลำต้นหนา ต้นเตี้ย ใบสีเขียวเข้ม ลำต้นหนา ใบลายด่างเหลือง จากการทดลองของ Ramula *et al.* (1991) ใช้โอไรซาลินกับเซลล์แขวนลอยของมันฝรั่ง ส่งผลให้เกิดไมโครนิวเคลียสมากขึ้น และโครโมโซมเพิ่มขึ้น และพบว่าโอไรซาลินสามารถยับยั้งในระยะเมทาเฟสได้มากที่สุด และเกิดการเพิ่มของโครโมโซมมากที่สุด เช่นเดียวกับ Verhoeven *et al.* (1990) ศึกษาในยาสูบให้ผลเช่นเดียวกัน

การทดลองที่ 5 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้รังสีแกมมา

เมื่อนำต้นหงส์เหินที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 2 เซนติเมตร ทำการตัดปลายยอด และรากทิ้ง ทำการฉายรังสีแกมมาเฉียบพลันที่ความเข้ม 0 20 40 60 80 100 และ 150 เกรย์ และทำการย้ายเนื้อเยื่อลงสู่อาหารแข็ง MS ที่มีการเติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จนครบเวลา 40 วัน พบว่าสามารถหาค่า $LD_{50(60)}$ มีค่าเท่ากับ 98.89 เกรย์ ซึ่งมีปริมาณสูงเกินไป จึงทำการหาค่า $GR_{50(60)}$ โดยวัดการแตกกอของต้นหงส์เหิน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 58.85 เกรย์ และที่ระดับรังสี 20 และ 40 เกรย์สามารถกระตุ้นการแตกกอของหงส์เหินได้ ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ย 140.68 และ 117.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ลักษณะการแตกกอของต้นหงส์เหินได้รับรังสีในรุ่น M_1V_1 ไม่พบความผิดปกติ แต่พบลักษณะการตายของเซลล์ เซลล์เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล และตายในที่สุด เมื่อใช้รังสีในปริมาณที่เหมาะสมต้นหงส์เหินจะถูกกระตุ้นให้แตกกอ ได้มากกว่าต้นที่ไม่ได้รับรังสี และเมื่อรังสีมีปริมาณสูงขึ้นการแตกกอลดต่ำลงตั้งแต่ระดับรังสี 60 เกรย์ เป็นต้นไป และต้นอ่อนเป็นสีน้ำตาล และตายเป็นจำนวนมากในระดับรังสี 80 ถึง 150 เกรย์ เมื่อทำการคัดแยกต้นที่มีลักษณะที่แตกต่างจากต้นควบคุม พบว่า ที่ระดับรังสี 40 เกรย์ พบการเปลี่ยนแปลง 3 ลักษณะ คือ ต้นอ่อนเกิดเป็นแคลลัสขนาดใหญ่สีเขียวอมเหลือง และเกิดกลุ่มยอดเป็นจำนวนมาก ซึ่งต้นอ่อนที่ได้ใบมีขนาดเล็ก สีเขียวอ่อนทั้งหมด ต้นที่ได้รับรังสีไม่สามารถเกิดเป็นก้อนแคลลัส แต่รังสีไปกระตุ้นการแตกกอ ทำให้เกิดยอดเป็นจำนวนมาก แต่ลักษณะใบที่เกิดขึ้น มีขนาดเล็ก มีสีเขียวอ่อน และเกิดต้นฝ่อ มีสีขาวทั้งต้น จำนวน 1 ขวด ต้นหงส์เหินรุ่น M_1V_2 จากการฉายรังสี 50 เกรย์ เกิดกลุ่มแคลลัสสีเขียวอมเหลือง แคลลัสมีขนาดใหญ่ เกิดต้นอ่อนเป็นจำนวนมาก ใบมีสีเขียวอ่อนขนาดเล็ก ต้นที่มีปล้องสั้น ใบมีสีเขียวเข้ม แต่มีขนาดเล็ก และกลม และบางต้นเกิดอาการสีเนื้อเยื่อกลายเป็นสีน้ำตาล และตายในที่สุด ที่ระดับรังสี 60 เกรย์ เกิดกลุ่มยอดเป็นจำนวนมากจากต้นต่อ ยอดมีสีเขียวอ่อนทั้งหมด ยอดที่เกิดจากแคลลัส มีลักษณะปล้องสั้น และเกิดต้นเป็นจำนวนมาก และต้นอ่อนที่เจริญมาจากเซลล์สีน้ำตาลที่โดนทำลายจากรังสี เกิดยอดอ่อนเป็นกระจุก สีเขียวอ่อนอมเหลือง ในการชักนำให้เกิดการกลายด้วยรังสีแกมมา ปริมาณรังสีที่มีปริมาณสูงขึ้นจะทำให้การเจริญเติบโตของต้นอ่อนกลัวย่นช้า เช่น ความสูง จำนวนใบ จำนวนราก และจำนวนหน่อลดลง (ปริญนันท์, 2553) เมื่อนำต้นอ่อนเบญจมาศดอกสีม่วงมาฉายรังสีแกมมา พบว่าค่า LD_{50} มีค่าเท่ากับ 14 เกรย์ (Lamseejan *et al.*, 2000) และเมื่อทดลองให้รังสีแกมมากับต้นพิทูเนียด้วยรังสีแกมมาพบว่าค่า LD_{50} เท่ากับ 33 เกรย์ และทำให้ให้เกิดลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมทั้งหมด 19 ลักษณะ (ชัยญะ และคณะ, 2549) และรังสีที่ระดับ 200-400 เกรย์ เมื่อฉายรังสีแก่เมล็ดแดงโมเนลลิ่งพันธุ์ห้วยทรายทอง พบว่าเกิดเถาสั้น คุณภาพผลดี สีเปลือกไม่มีลาย (วไลลักษณ์, 2549) เมื่อนำเหง้าปทุมมาไปฉายรังสีแกมมาในปริมาณ 20-100 เกรย์ ทำให้มีการเจริญเพิ่มขึ้นตามปริมาณรังสีที่ได้รับ ใบและดอกก็ผิดปกติ (อดิสร, 2533) แต่ต้นหงส์เหิน พบว่านั้น

กลับมีผลตรงกันข้ามเมื่อได้รับรังสีในปริมาณเพิ่มสูงขึ้น ทำให้เนื้อเยื่อกลายเป็นสีน้ำตาล และไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เมื่อปริมาณรังสีสูงเกินไป นอกจากนี้ยังพบลักษณะใบต่างขาว ใบมีสีเขียวอ่อน และเมื่อใช้ embryogenic callus ที่ระดับรังสี 10 ถึง 50 เกรย์ พบว่ารังสีจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตเมื่อปริมาณรังสีนั้นสูงขึ้น แต่ที่ระดับรังสี 10 เกรย์ สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตได้ (Masaru *et al*, 2009) เช่นเดียวกับในการทดลองที่ให้รังสี 20-40 เกรย์ที่กระตุ้นการแตกกอหงส์เหิน และเซลล์ที่เป็นสีน้ำตาลสามารถเจริญเติบโตได้ อาจเกิดจากการซ่อมแซมตัวเองจากการได้รับรังสีให้กลับคืนสู่สภาพเดิมได้ (อรุณี, 2539) แต่อย่างไรก็ตามลักษณะบางลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม อาจเกิดจากความเสียหายทางสรีรวิทยาของพืช โดยเกิดการต่างของใบเนื่องจากรังสีไปมีผลทำให้การกระจายตัวของคลอโรฟิลล์ไม่สม่ำเสมอ ทำให้เกิดการต่าง หรือเกิดการเปลี่ยนสีใบด้วย (อรุณี, 2539)

การทดลองที่ 6 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้โคลชิซินร่วมกับรังสีแกมมา

เมื่อนำต้นหงส์เหินที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 2 เซนติเมตร ทำการตัดปลายยอด และรากทิ้ง นำมาแช่สารละลายโคลชิซินที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 12 และ 24 ชั่วโมง เมื่อครบระยะเวลาล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านกา รึ่งฆ่าเชื้อแล้ว แล้วนำไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์ พบว่าการเจริญเติบโตของต้นหงส์เหินหลังได้รับรังสีแกมมา 60 วัน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น ซึ่งที่ระดับความเข้มข้นของโคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 12 ชั่วโมง มีค่า $LD_{50(60)}$ เท่ากับ 45.85 เกรย์ ลักษณะของต้นอ่อนที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็ก ใบมีสีเขียวอ่อน มากกว่าต้นที่ไม่ได้รับโคลชิ และที่ระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 24 ชั่วโมง มีค่า $LD_{50(60)}$ เท่ากับ 44.07 เกรย์ ลักษณะของต้นอ่อนที่ได้รับโคลชิซิน แต่ไม่ได้รับรังสีแกมมา ใบมีขนาดใหญ่ สีเขียวเข้ม มั่นวาว และต้นที่ได้รับโคลชิซินร่วมกับรังสีแกมมา เนื้อเยื่อกลายเป็นสีน้ำตาล แต่ต้นอ่อนสามารถเจริญขึ้นมาใหม่ได้ และต้นที่ได้ ใบมีสีเขียวอ่อน และหนา ในการทดลองใช้โคลชิซินร่วมกับรังสีแกมมากับเมล็ดกล้วยไม้ส่งผลให้เมล็ดกล้วยไม้งอกช้ากว่าปกติ (10 เดือน) และไม่สามารถเกิดเป็นรากได้ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ได้รับรังสีเพียงอย่างเดียว (งอกภายใน 5 เดือน) และเมื่อใช้ความเข้มข้นของโคลชิซิน และรังสีแกมมาสูงขึ้น จะทำให้เมล็ดไม่สามารถงอกได้ (Rosario and Mantngas, 1998) ในการทดลองในหงส์เหิน (*Globba magnifica*) พบว่ามีค่า $GR_{50(40)}$ เท่ากับ 22.36 เกรย์ และที่ระดับความเข้มข้นโคลชิซิน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 48 ชั่วโมง เพาะเลี้ยงนาน 40 ก่อนฉายรังสีแกมมาที่ 50 เกรย์ พบว่า ต้นที่ได้มีลักษณะแคระแกร็น ผิดปกติ การเจริญเติบโตช้า ใบสีเขียวอ่อน ใบต่าง ใบเรียวแหลม (ณัฐพงศ์ 2552) ซึ่งความผิดปกติที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างกัน

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อด้วยโคลชิซิน โอไรซาลิน ร่วมกับรังสีแกมมาในต้นหงส์เหินครั้งนี้ ทำให้ทราบถึงข้อมูลพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอเพื่อ ย่นระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ การเจริญเติบโตในแต่ละเดือนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ กระบวนการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้โคลชิซิน โอไรซาลิน รังสีแกมมา และการใช้ โคลชิซินร่วมกับรังสีแกมมา ดังนี้

1. การตัดเมล็ดบริเวณหัว (ตัดผ่าน ไมโครไพล) ทำให้เอ็มบริโอเจริญอย่างรวดเร็ว และรอดชีวิตสูงสุด ภายในระยะเวลา 2 สัปดาห์
2. การใช้วัสดุที่เหมาะสมในการย้ายอนุบาลต้นกล้า คือ แกลบ :ทราย:พีทมอส อัตราส่วน 1:1:1 ทำให้ต้นกล้าแข็งแรงและรอดสูงสุด
3. การเจริญเติบโตของหงส์เหินในเดือนต่างๆ สามารถเจริญเติบโตได้ และให้ช่อดอกที่ยาวกว่า 9 เซนติเมตร และไม่พักตัวในเดือนตุลาคม ซึ่งสามารถทำเป็นไม้ตัดดอก และไม้กระถางได้
4. การใช้โคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ระยะเวลาสั้น สามารถชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ ต้นที่ได้มีหลายลักษณะ เช่น ลำต้นแข็งใบสีเขียวเข้ม ใบลายต่าง 2 ต้น ใบเรียวยาว และเกิดดอกกึ่งตั้งกึ่งห้อย กลีบประดับค่อนข้างกลมมน กลีบประดับเรียวยาว
5. การใช้โอไรซาลินที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ระยะเวลาสั้น สามารถชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ ทำให้ใบมีขนาดเล็ก การแตกกอเป็นจำนวนมาก ลำต้นสั้น อวบอ้วน รากสะสมอาหารขนาดใหญ่ขึ้น
6. การใช้รังสีแกมมาในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์มีค่า $GR_{50(60)}$ เท่ากับ 58.85 เกรย์ และที่ปริมาณรังสี 20 และ 40 เกรย์ สามารถกระตุ้นการแตกกอได้มากกว่าปกติ เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นกลุ่มเซลล์ และเกิดยอดอ่อนสีเขียวอ่อนเป็นจำนวนมาก และเกิดลักษณะเผือกได้

7. การใช้โคลชิซินร่วมกับรังสีแกมมา พบว่าที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 12 ชั่วโมงร่วมกับรังสีแกมมา มีค่า $LD_{50(60)}$ เท่ากับ 45.85 เกรย์ ตันอ่อนมีขนาดเล็ก ใบมีสีเขียวอ่อน เมื่อได้รับโคลชิซิน 500 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 24 ชั่วโมง ร่วมกับรังสีแกมมา มีค่า $LD_{50(60)}$ เท่ากับ 44.07 เกรย์ ตันที่ได้รับโคลชิซิน (ควบคุม) ใบมีสีเขียวเข้ม ลำต้นหนา ใบหนา และมันวาว ตันอ่อนส่วนใหญ่เจริญมาจากเซลล์ที่มีสีน้ำตาล

ข้อเสนอแนะ

ในการทดลองการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอและกาชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในต้นหงส์ หิน ในการตัดเอ็มบริโอนั้นควรใช้ความชำนาญในการตัดเนื้อเยื่อ ก่อนลงมือทำควรศึกษาลักษณะทางลักษณะทางพันธุกรรมของพืชที่สนใจก่อนลงมือทำการทดลอง เพื่อลดการสูญเสียตัวอย่างพืช และในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยโคลชิซิน สามารถใช้โคลชิซินชนิดเม็ดทดแทนการใช้โคลชิซินบริสุทธิ์พบว่า สารโคลชิซินจากยาเม็ดรักษาโรคเกาต์สามารถชักนำให้เกิด การกลายพันธุ์ในต้นหงส์หิน จึงเป็นทางเลือกที่ดีอีกทางหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้สารโคลชิซินชนิดเม็ด เนื่องจากสามารถหาซื้อได้ตามร้านขายยาทั่วไป ราคาไม่แพง มีสารโคลชิซินอยู่ในเม็ดยาในปริมาณที่กำหนดตามฉลาก จึงมีความสะดวกและปลอดภัยในขั้นตอนการเตรียมสารละลายมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ การใช้สารโคลชิซินบริสุทธิ์ ซึ่งการสั่งซื้อสารยังมีข้อจำกัด เนื่องจากไม่ได้มีวางจำหน่ายโดยทั่วไป และมีราคาสูง นอกจากนี้สารโคลชิซินบริสุทธิ์มีลักษณะเป็นเกล็ดหรือเป็นผง ดังนั้นการเตรียมสารละลายต้องมีการชั่งตวงสาร จึงทำให้เกิดการฟุ้งกระจาย และเป็นอันตรายต่อผู้วิจัยได้ถ้าสัมผัสโดยตรงทั้งในรูปผงหรือสารละลาย เนื่องจากสารโคลชิซินบริสุทธิ์ออกฤทธิ์คล้ายสารหนู (arsenic) ทำให้เกิดการบกพร่องของพัฒนาการของทารกในครรภ์ (teratogen) และอาจเป็นสารพิษ (carcinogen) ซึ่งถ้าได้รับสารในปริมาณมากอาจอันตรายถึงแก่ชีวิต สำหรับการนำสาร โคลชิซินมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซมจะทำให้เกิดผลกระทบต่อพืช เนื่องจากสารโคลชิซินมีความเป็นพิษต่อพืช และพืชแต่ละชนิดจะตอบสนองต่อสารโคลชิซินแตกต่างกัน ส่งผลให้ความเข้มข้นและระยะเวลาที่ใช้จะผันแปรไปตามชนิดพืช และส่วนของพืชที่ใช้ ดังนั้นการนำสารโคลชิซินมาใช้จึงจำเป็นต้องหาระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสม โดยอาจสืบค้นข้อมูลจากผลงานวิจัยอื่น ๆ และนำมาประยุกต์ใช้ให้เหมาะสม และในการทดลองพบว่า โอไรซาลินสามารถชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์เช่นเดียวกับโคลชิซิน ซึ่งคุณสมบัติของโอไรซาลินมีฤทธิ์เช่นเดียวกับโคลชิซิน และเป็นสารที่ก่อให้เกิด การบกพร่องของพัฒนาการของทารกในครรภ์ (teratogen) และอาจเป็นสารพิษ (carcinogen) ซึ่งถ้าได้รับสารในปริมาณมากอาจอันตรายถึงแก่ชีวิตเช่นเดียวกัน หากมีความจำเป็นต้องใช้ ต้องใช้ด้วยความระมัดระวังเป็นอย่างมาก

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2553. หงส์เหินดอกไม้เข้าพรรษา. แหล่งที่มา: <http://saraburi.doae.go.th/amazing/hong.htm>, 3 พฤศจิกายน 2554.

กิตติศักดิ์ สรรตัจจะนนท์. 2551. ผลของโคลชิซินและโอไรซาลินที่มีผลต่อเนื้อเยื่ออ่อนกลั่นและขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ. โครงการปัญหาพิเศษ, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2521. เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

คนัย บุญเกียรติ. 2537. สรีรวิทยาของพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ชุดินทร บุรณะกนิษฐ์. 2532. การชักนำให้เบญจมาศกลายพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ร่วมกับการฉายรังสีแกมมา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นพพร คล้ายพงษ์พันธุ์. 2546. เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ณัฐพงศ์ จันจุฬา. 2552. การชักนำให้เกิดการกลายในสภาพปลอดเชื้อด้วยโคลชิซิน ร่วมกับรังสีแกมมาในต้นหงส์เหินดอกขาว. โครงการปัญหาพิเศษ, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

เบญจมาศ ศิลาย้อย. 2545. โพลีพลอยดี. สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) สาขาชีววิทยา. แหล่งที่มา: http://kroo.ipst.ac.th/biology/main.php?url=article_view&article_id=9, 12 พฤศจิกายน, 2554.

ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2536. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

เปรมจิต รongสวัสดิ์. 2549. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในกล้วยเล็บมือนางโดยสารโคลชิซิน และเอธิลมีเทนซัลโฟเนต. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยทักษิณ.

ปิ่นอนงค์ ลัคณานันท์. 2552. การชักนำให้เกิดการกลายในสภาพปลอดเชื้อของหงส์เหินสีชมพูพันธุ์
ป่าด้วยรังสีแกมมาร่วมกับโคลชิซิน. โครงการปัญหาพิเศษ, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

พรรณิ ศรีสวัสดิ์. 2543. การศึกษาอิทธิพลของรังสีแกมมาต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะการ
เจริญเติบโตของพืชน้ำพันธุ์ Pearl Wave. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี,
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2527. หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช. คณะทรัพยากรธรรมชาติ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

พีรเดช ทองอำไพ. 2529. ฮอว์โมนพืชและสารสังเคราะห์. ห้างหุ้นส่วนจำกัด ไดนามิคการพิมพ์,
กรุงเทพฯ.

_____. 2529. ฮอว์โมนและสารสังเคราะห์และแนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย.
สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____. 2537. ฮอว์โมนพืชและการสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย.
วิชัยการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

ภาสตันด์ สารทูลทัต. 2540. การชักนำให้กลายพันธุ์ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วย colchicine
และ oryzalin. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เขวภา จิระเกียรติคุณ. 2536. การชักนำให้หม่อนเกิดการกลาย และคัดเลือกพันธุ์ทนเค็มโดยการ
เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รังสฤษฎ์ กาวิต๊ะ. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลักการและเทคนิค. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.

วันชัย จันทร์ประเสริฐ. 2537. สรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.

วิทยา บัวเจริญ. 2527. หลักการผสมและปรับปรุงพันธุ์พืช. วิทยาลัยเทคโนโลยีและอาชีวศึกษา, ชลบุรี.

วิชชุดา รุ่งเรือง. 2537. ผลของโคลชิซิน และรังสีแกมมาที่มีผลต่อการกลายพันธุ์ของหน้าวัวพันธุ์ “Double Spathe” ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมปอง เตชะโต. 2539ข. เทคโนโลยีชีวภาพของพืชปลูก. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

สิรินุช ลามศรีจันทร์. 2527. พันธุศาสตร์รังสี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____. 2536. การกลายพันธุ์ของพืช. ห้างหุ้นส่วนจำกัดพันธุ์พืชบลิซซิ่ง, กรุงเทพฯ.

_____. 2540. การกลายพันธุ์พืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุชาดา ศรีบุญเรือง. 2550. การเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในไทรย้อยใบแหลมต่างโดยใช้รังสีแกมมา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุธนา เกตุมาโร. 2550. การปรับปรุงพันธุ์ฝัฟลิปปีนส์โดยใช้รังสีแกมมา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุภาภรณ์ รุ่งเรืองขจรเลิศ. 2536. ศึกษาการเกิดหน่อของกล้วยไข่ 8 พันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปัญหาพิเศษปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุมนา กิจไพฑูรย์. 2528. การกลายพันธุ์ของบีโกเนียโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการฉายรังสีแกมมา. ปัญหาพิเศษปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุมนา จาปา. 2549. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในเยอบีร่าโดยใช้สารโคลชิซินและสารเอทิลมีเทนซัลโฟเนต. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เสริมศิริ เอี่ยมแฟง. 2532. การปรับปรุงพันธุ์แก๊สไฮโดรคาร์บอนโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ปัญหาพิเศษ
ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

อรุณี วงศ์ปิยะสถิต. 2530. วิธีการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยการกลายพันธุ์ เอกสารการสอนการใช้รังสี
และไอโซโทป. ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

_____. 2541. หลักการและวิธีการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยรังสีในพืชที่ขยายพันธุ์ด้วย
เมล็ด. เอกสารการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยใช้เทคนิคการกลายพันธุ์
ณ ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและนิวเคลียสเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

_____. 2550. การกลายพันธุ์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อมรา คัมภีรานนท์. 2536. พันธุศาสตร์ของเซลล์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อดิสร กระแสชัย. 2533. การปรับปรุงพันธุ์ไม้ดอกโดยวิธีการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

อภิชาติ ชิดบุรี, ถิ่นทนา สุวรรณธาดา, วินัน บัณฑิตย์, ทาญจิ โอยามา, และโสระยา ร่วมรังสี. 2550.
ผลของความยาววันต่อการเจริญเติบโต การสังเคราะห์แสง และการสะสมอาหารในปทุมมา.
วารสารเกษตร. 23(2): 105-113.

Anonymous. 2011. **Colchicine**. Available Source: <http://www.bio-medicine.org/biology-definition/colchicine/>, December 6, 2011.

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.

- 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.
- Celike, G. 1999. Effect of different substrates on yield and quality of tomato. **Acta Hort.** **486**: 353-357.
- Chi, H.S. 2002. The efficiency of various embryo rescue in interspecific crosses of *Lilium*. **Botanical Bulletin of Academia Sinica** **43**: 139-146.
- Chunsheng, L., and M.P. Bridgen. 1996. Effects of genotype, culture medium and embryo developmental stage on the in vitro responses from ovule cultures of interspecific hybrids of *Alstroemeria*. **Plant Science** **116**: 205-212.
- Chandrasekharan, S. N., S.V. Parthasarathy, N. Krishnawamy and N. Hirohashi. 1975. **Cytogenetics and Plant Breeding**. Madras: P. Varadachary & Co.
- Chulalaksananukul, W., and W. Chimnoi. 1999. Polyploid induction in *Centella asiatica* (L.) Urban by colchicines treatment. **J. Sci. Res Chula. Univ.**, **24(2)**: 55-56
- Cook, J.W. and L.D. Loudon. 1952. Colchicine. **The Alkaloid Chemistry and Physiology**. **2**: 261-329.
- Custers, J.B.M., W. Eikelboom and J.P. Van Eijk. 1995. Embryo-rescue in the Genus *Tulipa* L; successful direct transfer of *T. kaufmanniana* Regel germplasm into *T. gesneria* L. **Euphytica** **82**: 253-261.
- Eeckhaut, T., E. De Keyser, J. Van Huylenbroeck, J. De Riek and E. Van Bockstaele. 2007. Application of embryo rescue after interspecific crosses in the genus *Rhododendron*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture** **89(1)**: 29-35.

- Espino F. J. and A. M. Vazquez. 1981. Chromosome numbers of Saintpaula Zonantha plantlets regenerated from leaves cultured in vitro with Caffeine and colchicines. **Euphytica**. 30 : 847-853.
- Dermen, H. 1940. Colchicine polyploid and technique. **The Botanical Review** 6: 599-635.
- Eigsti, O.J. 1938. A cytological study of colchicines effects in the induction of polyploidy in plants. **Proc. Nat> Acad.Sci** 24: 56-63.
- _____. 1957. Induced polyploidy. **American Journal of Botany** 44(3): 272-279.
- Elliott, F.C. 1958. **Plant Breeding and Cytogenetic**. McGraw-Hill, Inc, New York. 395 p.
- Forni-Martins, ER, ND. Cruz. 1985. Dados preliminares sobre inducao de poliploidia em *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae). **Congresso da Sociedade Botanica de Sao Paulo. V. Botucatu: Resumos**: 167 p.
- Gantait, S., N. Mandal., and P. Kanti Das. 2011. Induction and identification of tetraploids using *in vitro* colchicines treatment of *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Sciella. **Plant Cell Tiss Organ Cult**. DOI 10.1007/s11240-011-9947-1.
- Hassawi, D.S. and G.H. Liang. 1991. Antimitotic agents:effect of double haploid production in wheat. **Crop Sci** 31(3): 723-726.
- Havas, L. 1940. Colchicine chronology. **Jour. Hered.** 31: 115-117.
- Heinz, D.J., and G.W.P. Mee, 1970. Colchicine-induced polyploids from cell suspension cultures of sugarcane. **Crop Science** 10: 696-699.
- Ishizaka, H. 2008. Interspecific hybridization by embryo rescue in the genus Cyclamen. **Plant Biotechnology** 25: 511-519.

- Jaime, K. 1995. Seed Germination in Arid and Semiarid Regions. pp. 645-699. In Jaime, K. and G. Galili, eds. **Seed Development and Germination**. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Lakshmy, V., P.K. Valsalakumari, P. K. Rageevan and M. Aravindakshan. 1993. Embryo culture in banana hybrids Mysore (AAB) x Pisang Lilin (AA). **South Indian Horticulture**: 41-40.
- Lili, T., Y. Wang, Y. Nui, and D. Tang. 2008. Breeding of disease-resistant seedless grapes using Chinese wild *Vitis* spp. I. *In vitro* embryo rescue and plant development. **Scientia Horticulturae** **117**: 136-141.
- Liu, H., G. Yan and R. Sedgley. 2006. Interspecific hybridization in the genus *Leucadendron* through embryo rescue. **South African Journal of Botany** **72**: 416-420.
- Liu, W., X. Chen., G. Liu., Q. Liang., T. He and J. Feng. 2007. Interspecific hybridization of *Prunus persica* with *P. armeniaca* and *P. salicina* using embryo rescue. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**: 289-299.
- Morejohn, L.C., and D.E. Fosket. 1984. Taxol-induced rose microtubule polymerization *in vitro* and its inhibition by colchicines. **The Journal of Cell Biology**, **99**: 141-147.
- Murashige T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. **Physiology Plant** **15**: 473-474.
- Novak, F.J., R. Afza, M. van Duren and M.S. Omar. 1990. Mutation induction by gamma irradiation of *in vitro* cultured shoot-tips of banana and plantain (*Musa cvs*) **Trop Agri** **67(1)**: 21-28.
- Obata, Y., Y.N. Nakano and I. Miyajima. 2000. Interspecific hybrids between *Lilium nobilissimum* and *L. regale* produced via ovule-with-placenta tissue culture. **Scientia Horticulture** **84**: 191-204.

- Olympious, CM. 1992. Soilless media under protected cultivation rockwool, peat, perlite and other substrates. **Acta Hortic.** **401**: 443-451.
- Popovic, M. and O. Gasic. 1993. Alkaloids form wild growing plant. **Hemijshi Pregled** **34**: 50-53.
- Praveen, N., P. M. Naik, S. H. Manohar, A. Nayeem and H. N. Murthy. 2009. *In vitro* regeneration of brahmi shoots using semisolid and liquid cultures and quantitative analysis of bacoside. **Acta Physiologiae Plantarum** **31(4)**: 723-728.
- Ramula, K., H.A. Verhoeven and P. Dijkhuis. 1991. Mitotic blocking, micronucleation and chromosome doubling by oryzalin, amiprofosmethyl and colchicines in potato. **Protoplasma** **160:2-3**: 65-71.
- Rhee, H.K., J.H. Lim and Y.J. Kim. 2005. Improvement of Breeding Efficiency for Interspecific hybridization of Lilies in Korea. **National Horticulture Research Institute**: 310-440.
- 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.
- Seliger, H.H. and W.D. Mc Elroy. 1995. Temperature and Plant Development. pp. 407-419. **Introduction to Plant Physiology**. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Smith, M.K., S.D. Hamill, P.W. langdo and K.G. Pegg. 1993. Mutation breeding Programme produces a plant with potential *Fusarium wilt* (race4) resistant Cavendish variety. **Mutation Breeding Newsletter**: 4-5.
- Valli Khan, P.S. Sha., E. Prakash, and K.R. Rao. 1997. *In vitro* micropropagation of an endemic fruit tree *Syzygium alternifolium* (Wight) walp. **Plant Cell Reports** **16**: 325-328.

- Verdonck, O., D. Vleeschauwe. and De. Boodt M. 1982. The influence of the substrate to plant growth. **Acta Hortic. (ISHS). 126:** 251-258.
- Verhoeven, H.A., K. Rammula and P. Dijkhuis. 1990. A comparison of the effects of Various spindle toxins on metaphase arrest and formation of micronuclei in cell suspension cultures of *Nicotiana plumbaginifolia*. **Planta 182 (3):** 408-414.
- Wilailak, C., and S. Sreemaung. 2008. Colchicine Affecting the Alteration of Ploidy Level in Plantlets of *Eulophia andamanensis* Reichb.f. **Agricultural Sci. J. 39(3) (Suppl.):** 275-277.
- Wan, Y., D.R. Duncan, A.L. Rayburn, J.F. petolino and J.M. Widholm. 1991. The use of Antimicrotubule herbicides for the production of doubled haploid plants from anther derived maize callus. **Theoretical and Applied Genetics 81(2):** 205-211.
- 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.
- Yohana de Oliveira. 2010. An efficient protocol for micropropagation of *Melaleuca alternifolia* Cheel. **In Vitro Cell.Dev.Biol.—Plant 46:** 192-197.
- Zhang, Z., H. Dai., and M. Xiao. 2008. *In vitro* induction of tetraploids in *Phlox subulata* L.. **Euphytica. 159:** 59–65.



องค์ประกอบของอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962)

ธาตุอาหาร	ปริมาณ (mg/l)
<u>Macronutrients</u>	
NHNO_3	1,650.000
KNO_3	1,900.000
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440.000
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370.000
KH_2PO_4	170.000
<u>Micronutrients</u>	
KI	0.830
H_3BO_3	6.200
$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	6.900
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	6.140
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.250
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
Fe-EDTA solution	
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.850
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37.250
<u>Organic compounds</u>	
Myo-inositol	100.000
Glycine	2.000
Nicotinic acid	0.500
Pyridoxine-HCl	0.500
Thiamine-HCl	0.500
<u>Others</u>	
Sucrose	30,000.000
pH	5.7-5.8

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ นายณัฐพงศ์ จันจุฬา
 เกิดวันที่ 6 ธันวาคม 2530
 สถานที่เกิด อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
 ประวัติการศึกษา วท.บ. (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
 ตำแหน่งปัจจุบัน -
 สถานที่ทำงานปัจจุบัน -
 ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ -
 ทุนการศึกษาที่ได้รับ ทุนอุดหนุนการทำวิจัย บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 ประจำปี 2554