บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ช่อทับทิม (*Globba rosea* Gagnep.) , ต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* Linn.) และดอกดาว (*Ipomoea quamoclit* Linn.) เป็นตัวอย่างส่วนหนึ่งของพืชหลายชนิดที่มีความสวยงาม ตลอดจนศักยภาพในการนำมาพัฒนาเพื่อใช้เป็นไม้ประดับ ในอนาคตได้

1. ช่อทับทิม

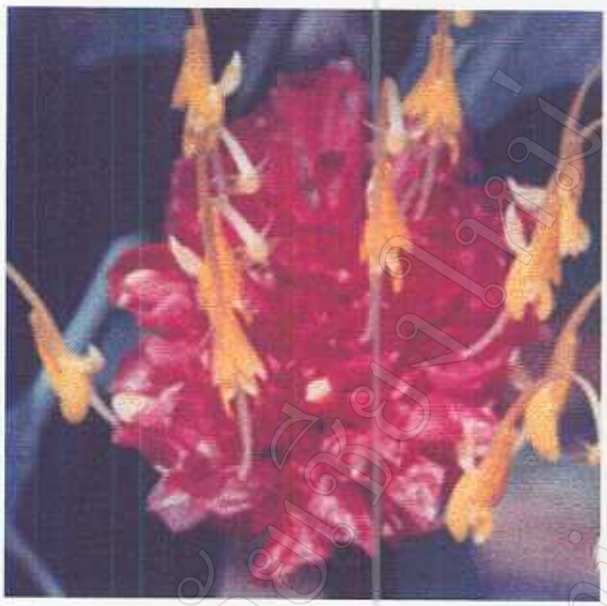
1.1 ลักษณะทั่วไป

ช่อทับทิม (*Globba rosea* Gagnep.) (ภาพ 1 และ 2) เป็นพืชที่อยู่ใน Family Zingiberaceae Tribe Globba (กำปั่น, 2541 และเอื้อมพร, 2541) โดยกำปั่น (2541) กล่าวว่า ช่อทับทิมเป็นพืชไม่มีเนื้อไม้มีอายุหลายปี ใบร่วงและต้นพักตัวในช่วงฤดูแล้ง พุ่มต้นมีความสูงประมาณ 25 ซม ลำต้นใต้ดินเป็นเหง้าสั้นๆ ทอดไปตามพื้นดิน ด้านนอกสีน้ำตาลอ่อนด้านในสีครีม รากเป็นระบบรากฝอย กาบใบเรียงซ้อนทับกันเป็นลำต้นเทียมมีลักษณะแคบ และยาวเรียว ใบเป็นใบเดี่ยวแยกออกเป็นสองแนว เรียงสลับในระนาบเดียวกัน แผ่นใบบางใบเป็นรูปหอกขนาด 1.8-2.7x7.5-12 ซม ขอบใบเรียบ ผิวใบเรียบทั้งสองด้าน ด้านบนสีเขียวเข้มด้านล่างสีเขียวอ่อน ช่อดอกเกิดที่ปลายยอดมีลักษณะห้อยลงเป็นแบบ cymose แต่ละดอกมีกาบรองดอก (bract) รองรับดอกจริงโดยกลุ่มของกาบรองดอกจับกันเป็นกลุ่มก้อน (cluster) สีม่วงแดง ขนาด 1.2-1.7x1.5-1.8 ซม มีลักษณะบาง โดยแต่ละกลีบจะซ้อนกันไป และกลีบนอกสุดจะหุ้มกลีบอื่นๆไว้ แต่ละกลุ่มย่อยของกาบรองดอกอยู่รวมกันเป็นกลุ่มบริเวณปลายสุดของช่อดอก ใบประดับ (bracteole) เป็นรูปมนรีถึงรูปไข่ปลายแหลมผิวเรียบทั้งสองด้านขอบนอกมีขน สีม่วงอ่อนขนาด 0.8-1.1x1-1.5 ซม บริเวณใบประดับรองรับช่อดอกจะเกิดหัวย่อย (bulbil) ลักษณะมนรีปลายมน (obtuse) สีเหลืองหม่นขนาด 3x4 มม

โดยปกติดอกจริงจะบานครั้งละ 1 ดอกในแต่ละกลุ่ม ลักษณะดอกห้อยลงด้านล่างก่อนแล้วจึงตั้งตรงขึ้น ดอกสมมาตรด้านข้าง ดอกสมบูรณ์เพศ กลีบเลี้ยงเชื่อมกันเป็นหลอด รูปร่างเป็นรูปถ้วย ปลายแยกเป็น 3 แฉกมีขนาดไม่เท่ากัน สีขาว มีขนขึ้นปกคลุม กลีบดอกสีส้มอ่อนเชื่อมกันเป็นหลอดมีขนาดเล็กยาวประมาณ 2.2 ซม ปกคลุมด้วยขนขนาดเล็ก กลีบดอกมี 3 กลีบลักษณะบาง มี 2 กลีบรูปร่างขอบขนาน ปลายแหลมสีเหลือง ผิวเรียบทั้ง 2 ด้านมีลักษณะเว้าเล็กน้อยขนาดประมาณ 3.2x5.2 มม ส่วนอีก 1 กลีบเว้ามากกว่า ขนาดประมาณ 4.2x6.1 มม ปลายมน กลีบดอกลักษณะคล้าย

ปากห้อยลงเป็นรูปไข่ถึงรูปหอก ส่วนหนึ่งของด้านล่าง เชื่อมติดกับก้านชูอับละอองเรณู ส่วนด้านบนจะแยกเป็นอิสระและมีปลายแยกออกเป็น 2 พู สีส้ม ผิวเรียบทั้ง 2 ด้านขนาดประมาณ 3.3x6 มม เกสรตัวผู้มี 1 อัน ก้านชูอับละอองเรณูบริเวณส่วนบนมีลักษณะโค้ง สีส้มอ่อนขนาดประมาณ 1x4 มม อับละอองเรณูมี 2 ห้อง สีครีม ขนาดประมาณ 1.2x2.3 มม เกสรตัวผู้ที่เป็นหมันมีลักษณะเหมือนกลีบดอก (petaloid) มี 2 อันรูปร่างมนรี ผิวเรียบทั้ง 2 ด้าน สีส้ม ขนาดประมาณ 4.2x8.3 มม ที่ขอบลักษณะเป็นคลื่น ยอดเกสรตัวเมียมีลักษณะกลม มีขนโดยรอบ ก้านชูยอดเกสรตัวเมียยาว คล้ายเส้นด้ายสีขาว ยาวประมาณ 4.3 ซม แทรกอยู่ระหว่างอับละอองเรณู รังไข่อยู่ในระดับต่ำกว่าส่วนอื่นของดอก ลักษณะค่อนข้างกลม ขนาดประมาณ 2x2 มม สีขาวผิวเรียบ มีขนขึ้นปกคลุมมี 1 ห้อง ไข่อ่อนติดที่ผนังของรังไข่มีจำนวนมาก ผลเป็นแบบ capsule

ภาพ 1 ใบและช่อดอกของช่อทับทิม (*Globba rosea* Gagnep.)



ภาพ 2 ช่อดอกของช่อทับทิม (*Globba rosea* Gagnep.)

1.2 การทดลองกับพืชใน Family Zingiberaceae

การทดลองกับพืชกลุ่มไม้ดอกไม้ประดับที่อยู่ใน Family Zingiberaceae ยังมีไม่มากนัก นฤมล (2534) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการเปรียบเทียบชนิดของเครื่องปลูกร่วมกับสูตรปุ๋ยที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของต้นขิงแดง (*Alpinia purpurata*) โดยพบว่าการใช้เครื่องปลูกที่เป็นดินล้วนๆ ร่วมกับการใช้ปุ๋ยสูตร 18-18-18 หรือ 10-24-24 ให้ผลดีใกล้เคียงกันคือมีความสูงของหน่อที่ 1 , 2 , 3 และ 4 เท่ากับ 19.36, 18.23, 16.35, 13.96 ซม และ 17.64, 16.83, 13.71 และ 10.95 ซม ตามลำดับ ซึ่งการเจริญในสัปดาห์ที่ 10 มีจำนวนหน่อเฉลี่ยต่อต้น 7.91 และ 7.04 หน่อ ตามลำดับ ส่วนเครื่องปลูกอื่นที่สามารถใช้แทนดินได้ คือ ถ่านแกลบผสมทรายในอัตราส่วน 3:1 หรือ ถ่านแกลบเพียงอย่างเดียว ร่วมกับการใช้ปุ๋ยทั้งสองสูตร โดยมีผลต่อการเจริญไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และในพืชชนิดเดียวกันนี้ อารีรัตน์ (2537) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตระหว่าง ขิงแดง (*Alpinia purpurata*) กับขิงชมพู (*Alpinia* sp.) ซึ่งพบว่าความสูงของต้นขิงแดงสูงกว่าขิงชมพู โดยขิงแดงมีความสูงโดยเฉลี่ย 60 ซม ส่วนขิงชมพูมีความสูงเฉลี่ย 55.8 ซม จำนวนหน่อใหม่มีเกิดขึ้นในขิงแดงมากกว่าขิงชมพู โดยมีจำนวน 33 และ 28 หน่อ ตามลำดับ จำนวนใบทั้งหมดใน 1 กอ ของขิงแดงก็มากกว่าขิงชมพู โดยมีจำนวน 215 และ 179 ใบ ตามลำดับ สำหรับจำนวนใบต่อต้น ตั้งแต่เริ่มปลูกจนกระทั่งออกดอก ขิงแดงมี 8-10 ใบ ในขณะที่ขิงชมพูมีเพียง 6-8 ใบ นอกจากนี้จำนวน

โครโมโซมในขิงแดงยังมากกว่าขิงชมพู โดยที่ขิงแดงมีจำนวนโครโมโซม 48 แท่ง ส่วนขิงชมพูมีเพียง 24 แท่ง ลักษณะของโครโมโซมของขิงทั้งสองชนิดนี้คล้ายกันมาก แต่ขนาดของโครโมโซมของขิงแดงใหญ่กว่าขิงชมพูเล็กน้อย ส่วนการศึกษาส่วนประกอบภายในดอก พบว่า ส่วนประกอบภายในดอกเหมือนกันคือ มีเกสรตัวผู้ที่ประกอบด้วยก้านชูเกสรที่มีขนาดยาวเรียว มีอับละอองเกสร 2 พู แต่ละพูมีอับละอองเกสร 2 อับ ที่ฐานของอับละอองเกสรยื่นออกมาเป็นเดือย เกสรตัวเมียมีลักษณะเป็นเส้นยาวแทรกอยู่ระหว่างกลางของอับละอองเกสร 2 พู ปลายของก้านชูเกสรเป็นยอดเกสรตัวเมีย ซึ่งแผ่ขยายออกไปด้านข้าง ตรงกลางเป็นแอ่งลึกลงไป ในการผลิตดอกขิงเป็นการค้า การปลูกขิงแดงได้จำนวนดอกใน 1 กอมากกว่าขิงชมพู นอกจากนี้ขิงแดงยังออกดอกได้เร็วกว่าขิงชมพูประมาณ 2-3 สัปดาห์

ส่วนการศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมของพืชชนิดอื่นใน Family Zingiberaceae เช่นปทุมมา (*Curcuma sparganifolia*) ซึ่งได้ศึกษาในวัสดุปลูก 5 ชนิดคือ ดินเหนียว ดินแม่น้ำ ดินร่วนผสมเปลือกถั่ว ทรายผสมขุยมะพร้าว และ แกลบดิบผสมขุยมะพร้าว พบว่าในแกลบดิบผสมขุยมะพร้าวใช้เวลาในการแทงหน่อน้อยกว่าวัสดุปลูกอื่น และพบว่าปทุมมาที่อยู่ในวัสดุปลูกทรายผสมขุยมะพร้าว และแกลบดิบผสมขุยมะพร้าวมีอัตราการเจริญเติบโตเร็วกว่าในวัสดุปลูกอื่นด้วย ด้านจำนวนใบของต้นปทุมมาในทุกวัสดุปลูกมีความใกล้เคียงกันมาก แต่ในส่วนของดอกการปลูกในแกลบดิบผสมขุยมะพร้าว ให้ดอกเฉลี่ยสูงสุด คือ 4.1 ดอกต่อถุง ซึ่งช่วงที่มีการให้ดอกมากที่สุดจะอยู่ในระหว่างสัปดาห์ที่ 20-21 หลังการปลูก ในส่วนของหัวใหม่ที่ได้ พบว่าวัสดุปลูกแกลบดิบผสมขุยมะพร้าวให้หัวใหม่เฉลี่ยสูงสุดคือ 7.2 หัว (ฉันทลักษณ์, 2538)

ในพืชชนิดเดียวกันนี้ ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับแสงที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดวันยาว เพื่อไม่ให้ยุบตัวในดูหนาว โดยศึกษาที่ความเข้มแสง 6, 20 และ 95 ลักซ์ และให้ต้นได้รับแสงจากหลอดไฟชนิดมีไส้ วันละ 4 ชม ตั้งแต่ 19.00-22.00 น. พบว่า ที่ความเข้มแสง 6 ลักซ์ ต้นปทุมมายุบตัว 30 % ส่วนความเข้มแสงตั้งแต่ 20 ลักซ์ ต้นจะไม่ยุบตัวแต่อย่างใด วันยาวที่ชักนำโดยความเข้มแสงที่ 95 ลักซ์ ทำให้ต้นปทุมมามีจำนวนหน่อ ความสูงของต้น และ จำนวนใบมากกว่าความเข้มแสงที่ต่ำกว่า และทำให้ออกดอกเร็วขึ้นด้วยทั้งต้นที่เกิดจากหน่อที่ 1 และ 2 (อุษา, 2537)

สมใจ (2532) ได้ทำการศึกษาเครื่องปลูกที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นกระเจียวแดง (*Curcuma roscoeana* Linn.) โดยใช้ทราย ขี้เถ้าแกลบ ขุยมะพร้าว ปุ๋ยคอก เปลือกถั่ว ขี้วัว และดินร่วน เป็นส่วนผสมของเครื่องปลูกโดยมีส่วนผสมต่างๆกัน พบว่าส่วนผสมของทราย ขี้วัว เปลือกถั่ว และดิน อย่างละส่วน หรือ ทราย, ขี้เถ้าแกลบ และดิน อัตราส่วน 1:1:2 และส่วนผสมของทราย ขี้วัว ขี้เถ้าแกลบ และดิน ในอัตราส่วน 1:1:1:2 ทั้งสามวิธีนี้ให้ความสูงของต้น น้ำหนักสดของต้น น้ำหนักสดของราก จำนวนรากอวบน้ำ น้ำหนักรากสะสมอาหาร และมีแนวโน้มของ

จำนวนรากสะสมอาหารดีกว่าที่ได้จากส่วนผสมของเครื่องปลูกอื่น ส่วนการใช้ทรายอย่างเดียวจะทำให้รากมีความยาวสูงที่สุด รองลงมาคือรากที่ได้จากการปลูกในทราย และขี้เถ้าแกลบ อย่างละส่วน นอกจากนั้นการใช้ทรายเพียงอย่างเดียวเครื่องปลูกมีการยุบตัวน้อยที่สุด ส่วนเครื่องปลูกที่มีการยุบตัวมากที่สุดคือ เครื่องปลูกที่มีส่วนผสมของทราย, ขี้เถ้าแกลบ และดิน ในอัตรา 1:1:2

ทวีศักดิ์ (2538) ได้ศึกษาเพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตระหว่างกระเจียวส้ม และปทุมมา พบว่ากระเจียวส้ม และปทุมมาใช้เวลาการงอกเฉลี่ยใกล้เคียงกัน คือ 50.31 และ 49.65 วัน ตามลำดับ เปอร์เซนต์การงอกเป็น 80 และ 85 % กระเจียวส้มมีจำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 10.75 ใบ ในขณะที่ปทุมมามีจำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น คือ 5.71 ใบ ระยะเวลาตั้งแต่ปลูกจนถึงการออกดอกแรก กระเจียวส้มใช้เวลาเฉลี่ย 169.88 วัน ส่วนปทุมมาใช้เวลาเฉลี่ย 108.81 วัน กระเจียวส้มมีจำนวนดอกต่อต้นเฉลี่ย 1.00 ดอก และมีจำนวนหน่อต่อต้นเฉลี่ย 1.25 หน่อ ในขณะที่ปทุมมามีจำนวนดอกต่อต้นเฉลี่ย 2.75 ดอก และมีจำนวนหน่อต่อต้นเฉลี่ย 3.18 หน่อ และพืชทั้งสองชนิดมีจำนวนใบของหน่อแรกของพืชน้อยกว่าจำนวนใบของต้นที่งอกจากหัวที่ใช้ปลูก

2. ต้อยติ่ง

2.1 ลักษณะทั่วไป

ต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* Linn.) เป็นพืชใน Family Acanthaceae (นันทวัน, 2541 ; วิทย์, 2530 ; วิชัย, 2532 ; เอื้อมพร, 2541) เป็นไม้ล้มลุกเนื้ออ่อนพุ่มเตี้ย แตกกิ่งก้านสาขาออกไปรอบๆต้น สูงประมาณ 5-6 น ลักษณะใบเป็นรูปไข่และมีขนละเอียดปกคลุมอยู่ทั่วไป ขอบใบเรียบไม่มีจัก มองเห็นเส้นแขนงใบได้ชัด ใบยาวประมาณ 1.5-2 น ใบเป็นแบบใบเดี่ยวออกเป็นคู่ตรงข้ามสลับกันไปรอบๆต้น (ภาพ 3) ช่อดอกออกที่ปลายยอด เป็นชนิดดอกตรงกลางบานก่อน และมีดอกข้าง 2 ดอก ดอกออกเป็นช่อสั้นตามปลายกิ่งบริเวณซอกใบ ลักษณะดอกเป็นรูปทรงปากบาน ตอนปลายแยกออกเป็น 5 กลีบ สีม่วงอมสีน้ำเงิน (ภาพ 4) กลีบอ่อนบางพื้นผิวย่น เกสรสั้นซ่อนอยู่ภายในหลอดดอก โคนหลอดดอกสีเหลือง ขนาดดอกบานเต็มที่กว้าง 1-1.5 น ดอกบานตอนเช้าถึงตอนบ่ายแล้วจะโรย เมื่อดอกโรยแล้วจะติดผล ผลเป็นฝักรูปหลอดเล็กยาว 1-1.5 น เปลือกแข็งปลายแหลม ผลแก่เมื่อถูกน้ำจะแตกทำให้เมล็ดสามารถกระจายไปได้เองในระยะไกล และสามารถงอกเป็นต้นได้ในระยะเวลาสั้น มีถิ่นกำเนิดอยู่ในคาบสมุทรมาเลย์ จนถึงทวีปอเมริกาเขตร้อน ต้อยติ่งจัดเป็นพืชสมุนไพร นิยมใช้เมล็ดแช่น้ำมาพอกฝีดูดหนอง และใช้เป็นยาสมานแผล

ภาพ 3 ใบและฝักของต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* Linn.)

ภาพ 4 ลักษณะดอกต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* Linn.)

2.2 การทดลองของพืชที่อยู่ใน Family Acanthaceae

ฉวีวรรณ (2540) ได้รายงานการศึกษาถึงผลของโคลชิซีน ต่อการงอก และการเพิ่มจำนวนโครโมโซมของเมล็ดต้อยติ่งไว้ว่า การแช่เมล็ดต้อยติ่งในสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 % เปรียบเทียบกับการแช่ในน้ำกลั่นนาน 24 ชม พบว่าสารละลายโคลชิซีนมีผลทำให้การงอก

ของเมล็ดต้อยติ่งลดลง โดยเมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่นมีการงอก 41.00 % แต่เมล็ดที่แช่ในสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 % มีเปอร์เซนต์การงอกเป็น 2.33 และ 15.66 % ตามลำดับ และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่ได้รับโคลชิซีนมีโครโมโซมเป็น mixoploid โดยที่ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซีน 0.1 % ทำให้เกิดเซลล์ที่เป็น diploid 50.93 % เซลล์ที่เป็น tetraploid 45.33 % และเมื่อเมล็ดได้รับสารละลายโคลชิซีนเพิ่มขึ้นเป็น 0.2 % พบเซลล์ที่เป็น diploid ลดลงเป็น 46.30 % และเซลล์ที่เป็น tetraploid เพิ่มขึ้นเป็น 50.25 % แต่ที่ความเข้มข้นทั้งสองระดับนี้ ทำให้เกิดเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซมมากกว่า tetraploid ใกล้เคียงกันคือ 3.74 และ 3.45 % ตามลำดับ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดต้นอ่อนที่มีลักษณะผิดปกติ ได้แก่ ใบเลี้ยงมีสีเขียวเข้ม หนา งอรุ้มลง ใบจริงหงิกงอ ต้น และรากสั้น และมีการเจริญเติบโตที่ช้ากว่าต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซีน ต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่ได้รับสารละลายโคลชิซีน 0.1 % มีลักษณะต้นปกติ 16.67 % และต้นผิดปกติ 85.07 % แต่เมื่อเมล็ดได้รับโคลชิซีน 0.2 % ต้นอ่อนจะแสดงลักษณะผิดปกติทั้งหมด

3. ดอกดาว

3.1 ลักษณะทั่วไป

ดอกดาว มีชื่อเรียกหลายชื่อได้แก่ รกฟ้า แข้งสิงห์ เข็มแดง คอนสวรรค์ พันสวรรค์ สนก้างปลา Cypress vine Cardinal climber หรือ Star glory (*Ipomoea quamoclit* Linn.) เป็นไม้เลื้อยใน Family Convolvulaceae (วงศ์สถิตย์ และคณะ, 2538 ; เต็ม, 2523 ; เอื้อมพร, 2541 ; Anonymous, 1998 และ Markku, No date) เป็นไม้ล้มลุก ลำต้นเรียบ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ต้นสามารถเลื้อยทอดยาวได้มากกว่า 20 ฟุต โดยมักจะแตกแขนงย่อย แต่จะไม่แพร่กระจายออกไป ใบกว้าง 0.5-2.5 น ยาว 1-2 น มีลักษณะเป็นแบบขนนก (finely divided pinnately) (ภาพ 5) ช่อดอกออกบริเวณข้อใต้ใบมีดอกย่อย 2-6 ดอก ทยอยกันบาน ดอกบานที่ปลายช่อ ก้านช่อดอกยาว 4-6 น ดอกสีแดงสดมีลักษณะเป็นแบบ tubular ยาว 1-1.5 น ปลายกลีบดอกแยกออกเป็น 5 แฉก (ภาพ 6) ลักษณะคล้ายรูปดาวมีรอยยับตามทางยาวแนวกลีบดอก กลีบเลี้ยงมี 5 กลีบ สีเขียวฉาบน้ำตาล เกสรตัวผู้มี 5 อัน ก้านชูเกสรตัวผู้เป็นสีแดงยาว 1.5-1.8 น อับละอองเกสรตัวผู้สีขาว ก้านชูเกสรตัวเมียยาวเสมอเกสรตัวผู้เป็นสีขาว ยอดเกสรตัวเมียสีขาว รังไข่มี 4 พู อยู่เหนือฐานรองดอก ผลรูปไข่เมื่อแห้ง แตกได้ เมล็ดมีสีน้ำตาลแก่

แหล่งกำเนิดธรรมชาติที่พบดอกดาว ไม่มีรายงานในประเทศไทย แต่ได้มีรายงานว่าเป็นพืชท้องถิ่นของเม็กซิโก และอเมริกาเขตร้อน ปัจจุบันสามารถพบเห็นได้ทั่วไปในแถบตะวันออกของอเมริกา ตั้งแต่รัฐฟลอริด้าจนถึงรัฐเท็กซัส และแถบตอนล่างของรัฐแคนซัสจนถึงรัฐโอไฮโอ ซึ่งพบได้ตามท้องทุ่ง พื้นที่ว่าง ตลอดจนข้างทางทั่วไป

ภาพ 5 ต้นและดอกของดอกดาว (*Ipomoea quamoclit* Linn.)

ภาพ 6 ลักษณะของดอกดาว (*Ipomoea quamoclit* Linn.)

3.2 การทดลองของพืชที่อยู่ใน Family Convolvulaceae

การศึกษาในพืชอื่นที่อยู่ใน Family Convolvulaceae นี้ Atushi and Kihachiro (1999) ได้ทำการศึกษาถึงระบบการผสมเกสรของพืช 4 ชนิดใน Genus *Calystegia* โดยทำการศึกษาใน *Calystegia soldanella* , *C. hederacea* , *C. japonica* และ *C. sepium* โดยที่ *C. soldanella* , *C. hederacea* และ *C. japonica* เป็นพืชชนิดไม่สามารถผสมตัวเองได้ ขณะที่ *C. sepium* เป็นชนิดผสมตัวเอง แต่จำเป็น

ต้องใช้พาหะช่วยในการผสมพันธุ์ ด้วยเหตุที่พืชในกลุ่มนี้มีความจำเป็นต้องอาศัยพาหะในการช่วยผสมเกสร ทั้งกลุ่มที่ผสมตัวเองได้ และไม่ได้ จึงมีละอองเกสร และน้ำหวานเพื่อเรียกแมลง เช่น ผึ้ง หรือแมลงที่กินน้ำหวานต่างๆ ใน *C. soldanella* เป็นชนิดที่ขึ้นอยู่กับฤดูกาลในการผสมเกสรเพื่อให้มีเมล็ดติดในปริมาณมาก แต่ *C. hederacea* และ *C. japonica* การติดเมล็ดและผล ไม่ได้ขึ้นกับจำนวนของพาหะ แต่ขึ้นกับจำนวนของละอองเกสร ส่วน *C. sepium* มีการติดผล และเมล็ดได้มาก และคงตัวเนื่องจากที่สามารถผสมตัวเองได้ และมีสีสรรตลอดจนความสวยงามดึงดูดแมลงพาหะได้ดีกว่าชนิดอื่นๆ

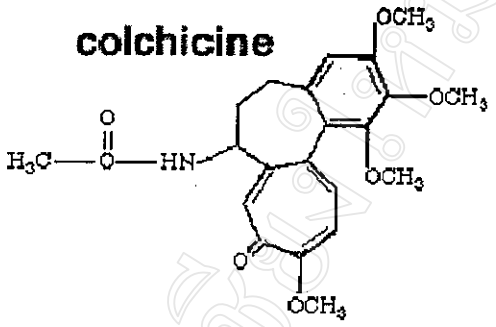
ในการศึกษาถึงอิทธิพลของตำแหน่งยีน (locus) ที่ทำให้เกิดรงควัตถุสีในกลีบดอกของ *Ipomoea purpurea* ที่พบในแถบตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าอัลลีลที่ให้สีขาว (white allele) เป็นยีนเด่นต่อยีนในตำแหน่งเดียวกัน จากการเปรียบเทียบกับลักษณะด้อยที่ให้สีเข้ม (dark allele) พบว่าต้นที่มีลักษณะสีเข้มที่เป็น homozygote จะเจริญแตกกิ่งใบได้น้อยกว่า มีดอกน้อย ผล และเมล็ดต่อผล น้อยกว่าต้นที่เป็น heterozygote หรือ ต้นที่มีลักษณะดอกสีขาวที่เป็น homozygote แต่ต้นที่มียีนสีขาวที่เป็น homozygote กลับให้เมล็ดเล็กกว่าต้นที่เป็น heterozygote ซึ่งผลที่ได้แสดงให้เห็นถึงการส่งเสริมกันของยีนที่อยู่ในตำแหน่งเดียวกันของพืชชนิดนี้ (Rausher and Fry, 1993)

4. โคลชิซีน

โคลชิซีน หรือ acetyltrimethylcolchicinic acid มีชื่อทางเคมีคือ : (S)-N-(5,6,7,9-tetrahydro-1,2,3,10-tetramethoxy-9-oxobenzo (a) heptalen-7-yl) acetamide น้ำหนักโมเลกุล 399.43 มีสูตรเคมีดังนี้ $C_{22}H_{25}NO_6$ (ภาพ 7) สารชนิดนี้สามารถสกัดได้จากต้น meadow saffron (*Colchicum autumnale*) (Lucy, 1997 ; 1998 และ Matthew , 1998) และดองดึง (*Gloriosa superba* L.) ซึ่งพบสารโคลชิซีนอยู่แทบทุกส่วนของลำต้น โดยเฉพาะฝัก และเมล็ดจะมีปริมาณสูงมาก (นันทวัน, 2541 และ ศุภฤกษ์ และ สุมิตรา, 2530) จัดเป็นพืชสมุนไพร มักใช้ส่วนของต้นที่เป็นเหง้า และหัวใต้ดินต้มน้ำรับประทานแก้ท้องอืดท้องเฟ้อ คนไทยในชนบทนิยมใช้ดองดึงเป็นยารักษาโรคพยาธิภายในให้แก่สัตว์เลี้ยงจำพวกโคกระบือ ซึ่งจะใช้ต้นสดทั้งต้น ให้แก่สัตว์เลี้ยงที่เป็นโรคกิน (วิชัย, 2532)

สารโคลชิซีนมีพิษคล้ายสารหนู ก่ออันตรายได้ด้วยการสัมผัส ถ้าเข้าตาจะทำให้เกิดการอักเสบอย่างรุนแรง และตาบอดชั่วคราว หากรับประทานเข้าไปจะเป็นพิษรุนแรงกับระบบทางเดินอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณกระเพาะ และลำไส้ ถ้าหากได้รับสารในปริมาณมากๆ อาจถึงตาย

ได้ (วิมล, 2527) อย่างไรก็ดี สารนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในการแพทย์ โดยสามารถนำมาใช้รักษาโรคบางอย่างได้ (ศุภฤกษ์ และ สุมิตรา, 2530 อ้างถึง Chopra *et al.*, 1965)



ภาพ 7 โครงสร้างทางเคมีของสารโคลชิซีน

สารนี้ยังมีประโยชน์ในด้านการศึกษาเกี่ยวกับพันธุศาสตร์ของเซลล์ เนื่องจากมีรายงานและการทดลองทั้งใน และต่างประเทศ พบว่ามีการใช้โคลชิซีนซึ่งเป็นสารเคมีประเภทอัลคาลอยด์ที่มีผลต่อกระบวนการแบ่งเซลล์ โดยทำหน้าที่ในการยับยั้งการพัฒนาของ spindle fiber ทำให้โครโมโซมไม่สามารถแยกออกจากกันไปอยู่ในแต่ละด้านของเซลล์ได้ จึงส่งผลให้เซลล์นั้นไม่สามารถแยกโครโมโซมออกจากกันได้ ซึ่งคุณสมบัตินี้ได้นำมาใช้ในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช ให้มีจำนวนชุดของโครโมโซมเพิ่มเป็น 2 เท่าได้ (ศุภฤกษ์ และ สุมิตรา, 2530) ดัง Tamura *et al.* (1996) ได้รายงานถึงการเพิ่มชุดของจำนวนโครโมโซม 2 เท่า จากการเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์ *Diospyros kaki* cv. Jiro (2n=6x=90 , x=15) ในอาหารเหลวดัดแปลงสูตร KM8p ที่เติมโคลชิซีน 0.1 % เป็นเวลา 3-9 วัน โดยสามารถเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซมเป็น 12 ชุด (2n=12x=180)

การชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมด้วยสารโคลชิซีนนั้น ยังใช้ประโยชน์ในด้านการชักนำพืชที่เป็น haploid ให้เป็น diploid เพื่อใช้ประโยชน์ในการหาสายพันธุ์แท้ หรือการพัฒนาสายพันธุ์ เช่นการทดลองของ Miyoshi and Asakusa (1996) ในเยอบีร่า (*Gerbera jamesonii*) โดยการเลี้ยงต้นอ่อนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่เป็น haploid ซึ่งมีใบ 4-6 ใบ และมีระบบรากที่แข็งแรงแล้ว ในอาหารที่มีส่วนผสมของสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.05 % เป็นระยะเวลา 2-6 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นที่เป็น dihaploid ได้ถึง 24.2-34.1 %

การนำสารโคลชิซีนมาใช้กับพืช เพื่อชักนำให้พืชเพิ่มจำนวนโครโมโซม จะต้องใช้กับส่วนของพืชที่กำลังเจริญเติบโต ซึ่งมีอัตราการแบ่งเซลล์สูง ดังนั้นจึงมักใช้กับเมล็ดที่กำลังงอก ตา หรือ

ยอดที่กำลังงอกใบใหม่ (วิมล, 2527) การใช้สารโคลชิซีนกับพืช สามารถทำหลายวิธี เช่น การใช้สารโคลชิซีนกับเมล็ด ดังการทดลองของ วิมล และอนันต์ (2526) ซึ่งใช้สารโคลชิซีนชักนำให้เกิด polyploid ในพริกไร่ (*Capsicum* sp.) โดยแช่เมล็ดในสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 1 % และ 2 % นาน 48 และ 24 ชม ตามลำดับ พบว่าเมล็ดที่แช่ในสารละลายโคลชิซีน 1 % นาน 48 ชม มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิด polyploid ได้ดีกว่า 2 % นาน 24 ชม ต้นที่เป็น polyploid มีความสูงของลำต้นไม่แตกต่างจากต้น diploid และเกือบทุกต้นที่เป็น polyploid มีใบขนาดใหญ่ หนา สีเขียวเข้ม กิ่งค่อนข้างเปราะ ขนาดของ เซลล์ปากใบใหญ่ขึ้น วันออกดอกช้า เปอร์เซ็นต์ความเป็นหมันสูง ขนาดของผล และการติดผลลดลง Tojyo (1985) ได้ชักนำให้เกิด polyploid ในหม่อน (*Morus* sp.) โดยใช้วิธีการแช่เมล็ดหม่อนที่ผึ่งให้แห้งแล้วในสารละลายโคลชิซีน ความเข้มข้น 0.1-0.4 % นาน 24 ชม นอกจากนี้ Mungtzin and Rumquist (1939) (อ้างจาก เกวลิน, 2529) ได้ทำการแช่เมล็ดมันฝรั่ง *Solanum tuberosum* var. *triumph* ในสารละลายโคลชิซีน พบว่ารากมันฝรั่งมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็น 96 แท่ง เช่นเดียวกับการทดลองของ Tang and Loo (1940) (อ้างจาก Tang *et al.*,1945) ที่ได้ทดลองแช่เมล็ดข้าวบาร์เลย์ในสารละลายโคลชิซีน ความเข้มข้น 0.05 % นาน 48 ชม พบว่าสามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวน โครโมโซมในข้าวบาร์เลย์ได้ โดยปกติเมล็ดที่ถูกแช่ในสารละลายโคลชิซีน ที่มีความเข้มข้นสูง หรือแช่ไว้เป็นเวลานานจะงอกช้า และเปอร์เซ็นต์การงอกลดลง วิธีนี้จะใช้ได้ผลดีกับเมล็ดที่งอกเร็วหรือไม่มีระยะพักตัว (วิมล , 2527)

Grimbly (1973) ได้ทำการทดลองกับ *Cucumis sativus* L. (2n=14) พบว่าการแช่เมล็ดในน้ำเปล่า 8 และ 24 ชม ก่อน แล้วแช่ในโคลชิซีน 0.2 % นาน 24 ชม ให้เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของต้น tetraploid สูงที่สุด และพบว่าให้ผลผลิตของผลดีกว่าต้นที่เป็น diploid แต่ภายหลังพบว่ามีการแตกยอดจากตาข้างช้ากว่าจึงไม่ค่อยได้รับการยอมรับในเวลาต่อมา

Kollanyl and Simon (1970) แช่เมล็ดราสเบอรี่ลูกผสมพันธุ์ A6248 ในสารละลายโคลชิซีน ความเข้มข้น 1 % นาน 4 ชม แล้วแช่ในความเข้มข้น 0.2 % ต่อไปอีก 10-15 ชม ได้ต้น tetraploid ที่ให้ผลผลิตเหมือนเดิม ขนาดของผลใหญ่ขึ้น แต่ความสมบูรณ์พันธุ์ลดลง

การใช้สารโคลชิซีนกับส่วนของยอดของพืชนั้น บุษรา (2536) ได้ทดลองแช่ยอดว่านหางจระเข้ (*Aloe barbadensis*) ในสารละลายโคลชิซีน ที่มีความเข้มข้น 0 , 50 , 100 และ 150 สตล ตามลำดับ โดยใช้ความเข้มข้นละ 36 ยอด แช่ยอดนาน 1 , 2 และ 4 วัน แล้วนำไปเก็บใน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ได้รับแสง 16 ชม ต่อวัน เลี้ยงในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม BAP 1 สตล พบว่า พืชมีอัตราการตายสูงที่ความเข้มข้น 150 สตล รองลงมาคือ 100 , 50 และ 0 สตล ตามลำดับ การแช่ยอดนาน 4 วัน พืชมีอัตราการตายมากที่สุด รองมาคือ 2 และ 1 วันตามลำดับ จากการตรวจนับโครโมโซมปลายราก พบว่าที่ความเข้มข้น 150 สตล นาน 1, 2 และ 4 วัน ชักนำให้พืชเพิ่มจำนวน

โครโมโซมได้ดีที่สุด คือมีจำนวนอยู่ในระหว่าง 20-28 โครโมโซม ต้นปกติมีจำนวน 14 โครโมโซม ส่วนลักษณะภายนอกของต้นที่เป็น polyploid นั้นไม่แตกต่างจากต้นปกติ แต่มีอัตราการเจริญ การออกดอก และการแตกกอ ช้าและน้อยกว่าต้นปกติที่เป็น diploid

นอกจากนี้ ได้มีรายงานของ Verma and Raina (1991) ซึ่งได้ทดลองโดยการจุ่มปลายยอดที่อยู่ระหว่างใบเลี้ยงของต้นฟล็อกซ์ (*Phlox drummondii*) ในสารละลายโคลชิซีน 0.1-0.2 % นาน 5-6 ชม ต่อวัน ติดต่อกัน 2-3 วัน สามารถชักนำให้เกิดต้นที่มีโครโมโซม 4 ชุด มีดอกขนาดใหญ่ขึ้น และบานได้นานขึ้น นอกจากนี้ Lu and Bridgen (1997) ได้แช่ปลายยอดต้นลูกผสมของ alstroemeria ซึ่งไม่สามารถติดเมล็ดได้ โดยการแช่ปลายยอดที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในสารละลายโคลชิซีนเข้มข้น 0.2-0.6 % นาน 6-24 ชม พบว่าได้ต้นที่มีจำนวนโครโมโซม 4 ชุดถึง 41 % ซึ่งต้นที่มีลักษณะเป็น tetraploid นี้สามารถคงลักษณะได้มากกว่า 87.5 % ภายหลังการปลูกเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 ปี แต่ต้นที่ได้ยังคงลักษณะความเป็นหมันเหมือนเดิม

Emsweller and Brierley (1940) พบว่า การแช่ยอดของ *Lilium formosanum* (2n=24) ในสารละลาย โคลชิซีน 1.0 % นาน 2 ชม สามารถชักนำให้เกิดต้น tetraploid ได้ ส่วนการทดลองเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้สารโคลชิซีนระหว่างเมล็ด กับยอดหรือส่วนต่างๆของพืชนั้น Bragdo (1955) ได้รายงานถึงการทดสอบประสิทธิภาพระหว่าง การแช่เมล็ดของต้น red clover (*Trifolium pratense*) ที่ผ่านการแช่น้ำเปล่าก่อน 24 ชม จึงแช่ในสารโคลชิซีน 0.1 % ระยะเวลา 48 ชม และ 0.2 % ระยะเวลา 24 ชม กับการให้วุ้นที่ผสมสารละลายโคลชิซีนที่ปลายยอด 3-4 ครั้ง ในระยะเวลา 2 วัน โดยผสมสารละลายโคลชิซีน 2 % สองส่วนต่อวุ้นที่ละลายในน้ำ 3 % หนึ่งส่วน พบว่าต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซีนขณะเป็นเมล็ดมีการตายสูง เนื่องจากการให้กับเมล็ดจะทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญและการพัฒนาของราก ทำให้อัตราส่วนของต้นที่เป็น tetraploid ในส่วนของการให้ที่ปลายยอดมีจำนวนสูงกว่า แต่หากเปรียบเทียบเฉพาะต้นที่รอด พบว่าต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซีนจากเมล็ด มีอัตราส่วนของ tetraploid สูงกว่าต้นที่ได้รับจากยอด

การใช้สารละลายโคลชิซีน กับชิ้นส่วนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ขนาด 1 ซม ของมันฝรั่งลูกผสมพันธุ์ A-6 (*Solanum tubersosum* X *S. demissum*) โดยเติมโคลชิซีน 50 , 100 และ 200 สตล ในอาหารเหลวสูตร MS (1962) ที่เติม NAA 5 มก/ล และ BAP 3 มก/ล พบว่าสามารถชักนำให้เกิด polyploid ได้ทุกความเข้มข้น โดยจะมีจำนวนโครโมโซมอยู่ในช่วง 95-112 แท่ง (จากเดิม 60 แท่ง) และมีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอด 96 , 96 และ 100 % ตามลำดับ (เกวลิน, 2529)

การชักนำจาก ชิ้นส่วนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้ ทำได้ในพืชอีกหลายชนิด เช่น alfafa cell line G13/K5 (*Medicago sativa* L.) 2n=4x=32 โดยใช้ความเข้มข้น 0.05 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) นาน 48 ชม แล้วเลี้ยงต่อใน BL medium โดยสามารถชักนำให้เพิ่มระดับของชุด

โครโมโซมได้ (Aroslav and Pavla , 1989) ในพืชพวกกุหลาบ เช่น *Rosa wichuraiana* พบว่าการเลี้ยงต้นอ่อน (plantlet) ในอาหารเหลวที่มีโคลชิซีนความเข้มข้น 0.05 % นาน 12 ชม สามารถชักนำให้เกิดเซลล์ที่เป็น tetraploid ได้ (Roberts *et al.*, 1990)

Gao *et al.* (1996) ได้ชักนำให้เกิดจำนวนโครโมโซม tetraploid .ในกลุ่มยอดอ่อนของ *Salvia miltiorrhiza* Bga. โดยการเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS (1962) ที่ผสมโคลชิซีนความเข้มข้น 5-100 สตล นาน 30 วัน โดยพบการรอดตายมากที่สุดถึง 70 % ในอาหารที่ผสมโคลชิซีนความเข้มข้น 10 สตล และ พบต้นที่เป็น tatraploid (2n=4x=48) มากที่สุดคือ 12 % ในอาหารที่ผสมโคลชิซีนความเข้มข้นเดียวกัน

การชักนำโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้ ได้มีการแนะนำให้มีการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกันกับที่จะใช้ชักนำก่อนช่วงระยะเวลาหนึ่ง (preculture) เพื่อให้ผลที่ดีกว่า โดย Anderson *et al.* (1990) ได้รายงานถึงผลของการชักนำปลายยอดของ colvers (*Trifolium spp.*) ที่ผ่านการเลี้ยงมาก่อนการชักนำด้วยอาหารวุ้นสูตร ML8 ที่เติมโคลชิซีน 0.1 % โดยปริมาตร เป็นระยะเวลา 48 หรือ 72 ชม พบว่าจะให้ผลดีกว่าในการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซม เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่มีการเลี้ยงล่วงหน้ามาก่อน

การทดลองโดยใช้ชิ้นส่วนของพืชผ่านการเลี้ยงมาก่อน ในลักษณะคล้ายกันนี้ Chen and Yvonnec (1979) ได้ทำการทดลองกับ daylily (*Hemerocallis flava* L.) โดยการนำชิ้นส่วนแคลลัสที่ผ่านการตัดย้ายอาหารนาน 7 วัน มาเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MS (1962) ที่เติม 2,4-D 1 มก/ล และ kinetin 1 มก/ล โดยผสมโคลชิซีนความเข้มข้น 10-40 มก/ล เป็นระยะเวลา 3 วันที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส โดยการนำส่วนผิวหน้าคว่ำลงสัมผัสอาหาร แล้วย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีโคลชิซีน และกลับส่วนที่สัมผัสโคลชิซีนหงายขึ้น ซึ่งในช่วงเวลา 7 วันหลังการย้ายอาหารจะนำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อลดพิษของโคลชิซีนที่มีต่อเซลล์ หลังจากนั้นจึงนำมาเลี้ยงในที่มืด ที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จนเกิดยอดจึงย้ายปลูกในอาหารสูตร MS (1962) ที่ไม่เติมสารกระตุ้นการเจริญ ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส โดยให้แสงสว่าง 16 ชม และมืด 8 ชม เพื่อการพัฒนาของต้นอ่อน พบว่าการเลี้ยงในอาหารที่เติมโคลชิซีนความเข้มข้น 20 มก/ล ให้ประสิทธิภาพการชักนำให้เกิดต้น tetraploid มากที่สุด

นอกจากนี้ สมปอง และ ราตรี (2543) ได้ทำการทดลองเกี่ยวกับผลของโคลชิซีนที่ให้กับแคลลัสมังคุดต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการนำแคลลัสมังคุดที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพิ่มปริมาณแคลลัสเป็นเวลา 20 วัน มาจุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 5-100 มก/ล ในภาชนะที่เขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 80 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชม และแคลลัสที่วางเลี้ยงในอาหาร 2 ชั้น ชั้นล่างเป็นสูตร WPM (Woody Plant Medium) ที่เติม BA 0.1 มก/ล และ PVP

500 มก/ล หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน จึงเติมอาหารเหลวสูตร MS ที่ลดองค์ประกอบลงครึ่งหนึ่ง โดยเติม NAA 0.06 มก/ล และ BA 0.03 มก/ล และโคลชิซีนความเข้มข้น 500 และ 750 มก/ล วางเลี้ยงต่ออีกเป็นระยะเวลา 21 วัน ภายหลังจากการชักนำด้วยโคลชิซีนแบบต่างๆแล้วจึงนำชิ้นส่วนแคลลัสที่ได้ไปเลี้ยงในอาหารชักนำยอด อาหารส่งเสริมการยืดยาวของยอด และอาหารชักนำราก พบว่ายอดที่พัฒนาจากการจุ่มแช่โคลชิซีนทุกระดับมีปริมาณคลอโรฟิลล์ b เพิ่มขึ้น ขนาดของยอด พื้นที่ใบ และจำนวนใบมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่จำนวนและความยาวรากเพิ่มขึ้น สำหรับการใช้โคลชิซีนความเข้มข้น 500 มก/ล เติมลงในอาหารและเลี้ยงร่วมกับแคลลัส พบว่า ใบจากยอดพัฒนาผิดปกติ มีการสร้างแคลลัสสีน้ำตาล แต่ยอดมีการสร้างรากได้ตามปกติ บางใบสร้างยอดขนาดเล็ก ส่วนความเข้มข้น 750 มก/ล ให้การสร้างรากได้ถึง 5 ราก/ยอด ยอดขนาดเล็กมีการสร้างรากขนาดใหญ่ นอกจากนี้ยังพบมังคุด 3 ใบจาก 1 ข้อด้วย

การชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมด้วยสารโคลชิซีน อาจพบความผิดปกติในลักษณะแตกต่างออกไปจากการเพิ่มชุดของจำนวนโครโมโซม ลักษณะผิดปกติที่มักพบบ่อยได้แก่ ลักษณะของ aneuploidy และ chimera เช่น ใน *Datura* ซึ่งพบ aneuploidy ในหลายแบบเช่น 2n+1, 2n-1, 3n+1, 3n+2, 3n-1 เป็นต้น (Sengbusch, 2000 อ้างถึง Blakeslee *et al.*, 1959)

กฤษฎา (2519) ได้กล่าวถึงการเกิดความผิดปกติแบบ chimera ซึ่งเกิดจากพืชที่ถูกชักนำให้เกิดเป็น polyploid เพียงบางส่วนของเนื้อเยื่อว่า มักพบในสองลักษณะคือ sectorial ploid-chimera และ periclinal ploid-chimera โดย sectorial ploid-chimera คือการเกิดการเปลี่ยนแปลง เพียงบางส่วนของของตาที่เจริญเป็น polyploid ซึ่งส่งผลให้ส่วนที่เจริญจากส่วนที่เปลี่ยนแปลงกลายเป็น polyploid แต่ส่วนอื่นๆยังคงปกติ และ periclinal ploid-chimera เกิดจากเซลล์ชั้นของเอพิเดอร์มิสและเซลล์ชั้นในมีจำนวนโครโมโซมที่แตกต่างกัน ผลที่ได้อาจส่งผลให้เซลล์ปากใบซึ่งเจริญมาจากเซลล์ชั้นนอกแสดงผลเป็น polyploid คือมีลักษณะใหญ่กว่าต้นปกติ แต่ขนาดของละอองเรณู ซึ่งเจริญมาจากเซลล์ชั้นในมีลักษณะปกติ Duren *et al.* (1996) ได้ศึกษาถึงผลของการให้สารโคลชิซีนต่ออัตราการเกิดลักษณะ chimera ในกล้วย (*Musa acuminata*) สายต้น SH3362 โดยการเพาะเลี้ยงยอดในอาหารเหลวที่เติมโคลชิซีน 5.0 มลม และ dimethyl sulfoxide (DMSO) 2 % (โดยปริมาตร) พบอัตราการไม่เกิด ลักษณะ chimera สูงถึง 23.1 % จากการทดสอบถึงสี่ชั่วรุ่นของการปลูก

การตรวจหาลักษณะพืชที่ถูกชักนำให้เกิด polyploid วิธีที่ดีที่สุด คือการตรวจนับจากจำนวนโครโมโซม ซึ่งมักจะนิยมใช้กันเป็นวิธีสุดท้าย กับพืชที่เชื่อว่าเป็น polyploid ทั้งนี้เพราะเป็นวิธีที่ต้องใช้เวลามาก สำหรับเกณฑ์แรกๆ ที่ใช้คือการสังเกตลักษณะต่างๆ ได้แก่ รูปร่าง และขนาดของส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ใบ ดอก ผล และเมล็ด ซึ่งพอจะช่วยแยกพืชได้เป็น 2 กลุ่ม คือพวกที่

ตอบสนองต่อสารโคลชิซีน กับพวกที่ไม่ตอบสนองต่อสารโคลชิซีน หรือการวัดขนาดของปากใบตลอดจนขนาดของละอองเกสร ซึ่งจะมีขนาดใหญ่กว่าต้นปกติ (วิมล, 2527)

การตรวจนับจำนวนโครโมโซม มีเทคนิคการตรวจนับอยู่หลายวิธี เช่น การตรวจนับจากดอกอ่อน ซึ่งจากรายงานของ ปกขวัญ และคณะ (2530) ตรวจนับจำนวนโครโมโซมใน *Ocimum* spp. บางชนิด โดยการแช่ช่อดอกอ่อนในน้ำยา fixative ที่มีส่วนผสมของ absolute ethyl alcohol 3 ส่วน และ glacial acetic acid 1 ส่วน โดยใส่ ferric chloride 1-2 หยด เพื่อให้เซลล์ติดสีย้อมดีขึ้น หลังจากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 20-24 ชม แล้วล้างออกด้วย ethyl alcohol 95 % 2 ครั้ง แล้วเก็บช่อดอกไว้ใน ethyl alcohol 70 % เตรียมสไลด์แล้วเขี่ยเอาอับเรณูออกจากดอก หยดสีย้อม propionocarmine 1-2 หยด แล้วกดอับเรณูให้แตก ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ อังไฟพออุ่น แล้วนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยเลือกเซลล์ microsporocyte ที่กำลังแบ่งตัวอยู่ในระยะปลายของ prophase I ไปจนถึง metaphase I นับจำนวนโครโมโซม ใช้กำลังขยาย 1,000 เท่า และอีกวิธีหนึ่งที่นำมาใช้คือการตรวจนับจากเซลล์ปลายราก เช่นการย้อมปลายราก โดยแช่ปลายรากพืชใน 8-hydroxyquinoline แล้วรักษาสภาพเนื้อเยื่อพืชใน fixative ที่มีส่วนผสมของ absolute ethyl alcohol และ glacial acetic acid แล้วย้อมด้วยสี acetocarmine ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่แพร่หลายที่สุด (เกตุการ, 2536 อ้างถึง เกวลิน, 2526) ซึ่งการหาโครโมโซมโดยวิธีคล้ายคลึงกันนี้พบในหลายการทดลอง เช่น การทดลองของ Park and Walton (1990) โดยหาโครโมโซมของพืชทดลองซึ่งเป็นลูกผสมระหว่าง *Elymus canadensis* และ *Psathyrostachys juncea* โดยการเก็บรักษาปลายรากในน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชม และรักษาสภาพเซลล์ในน้ำยา fixative ที่มีส่วนผสมของ ethanol และ acetic acid 3:1 ส่วน ส่วนช่อดอกอ่อนใช้น้ำยา fixative สูตรของ Carnoy (6:3:1 ethanol-chloroform-acetic acid) โดยทั้งสองวิธีการ squash และย้อมสีโครโมโซมด้วยสี acetocarmine 1.5 % หรือการทดลองของ Lena *et al.* (1991) ในพืช *Actinidia* spp. ซึ่งเตรียมตัวอย่างปลายราก โดยการแช่ใน p-dichlorobenzene ที่อุณหภูมิ 10-16 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชม แล้วนำปลายรากที่ได้มารักษาสภาพเนื้อเยื่อในน้ำยารักษาสภาพ ที่มีส่วนผสมของ absolute ethyl alcohol 3 ส่วน และ glacial acetic acid 1 ส่วน และนำไปย่อยสลายผนังเซลล์ด้วย 5N HCl ที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลา 4-5 ชม แล้วตรวจหาจำนวนโครโมโซมโดยใช้สี acetic orcein หรือ formic-lactic-propinoic orcein