# บทที่ 2

# ตรวจเอกสาร

อัญชัน เป็นพรรณไม้เลื้อยกลางแจ้ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Clitoria ternatea* Linn. มีชื่อสามัญเรียกกันหลายชื่อ คือ Butterfly Pea, Blue Pea หรือ Mussel Shell Creeper มีชื่อไทยพื้นเมืองเรียกว่า อัญชัน (กลาง) แดงชัน เอื้องชัน อังจัน (เหนือ) อัญชันซ้อน อัญชันม่วง อัญชันขาว อัญชันเขียว อัญชันบ้าน อังชัน เอื้องจัน จัดอยู่ในตระกูล Leguminosae และตระกูลย่อย Papilionaceae มีถิ่นกำเนิดเดิมที่ ปานามา อินเดีย และหมู่เกาะโมลุกะ (วุฒิ, 2540) เป็นไม้ที่ขึ้นได้ดีทั้งประเทศไทย และเขตร้อนของเอเชีย ออกดอกได้ตลอดทั้งปี (สมสุข, 2536)

**ลักษณะทางพฤกษศาสตร์**

**ลำต้น** เป็นไม้เลื้อยล้มลุกขนาดเล็ก ซึ่งมีลำเถาอ่อนและเล็กเลื้อยได้ไกลถึง 20 ฟุต

**ใบ** เล็กค่อนข้างบาง รูปใบเกือบเป็นทรงกลม ออกรวมเป็นแผงสลับกันไปตามข้อต้นแผงละ 5-9 ใบ ขนาดใบยาวแผงละ 4-6 นิ้ว (วิชัย, 2532)

**ดอก** ออกเป็นช่อตามข้อบริเวณปลายยอด ช่อดอกละประมาณ 2-4 ดอก ดอกมีลักษณะคล้ายดอกถั่วมี 2 ประเภท คือ พวกดอกราซึ่งมีกลีบดอกเพียง 2 กลีบ และพวกดอกซ้อนมีกลีบดอก 5 กลีบ กลีบมีขนาดใกล้เคียงกัน มีลักษณะบิด ดอกซ้อนเมื่อโตเต็มที่มีขนาดใหญ่กว่าดอกเดี่ยว และดอกกว้างประมาณ 5 ซม ปกติอัญชันมีดอก 2 สี คือ สีน้ำเงินอมม่วง กับ สีขาว แต่ในปัจจุบันอัญชันมีพันธุ์กลายให้ดอกสีต่างๆอีกหลายสี เช่น สีเหลืองแก่ สีเหลืองอ่อน สีชมพู และสีคราม อัญชันออกดอกได้ตลอดปี (วิชัย, 2532)

**ผล** มีลักษณะเป็นฝัก คล้ายฝักถั่วยาวประมาณ 2 นิ้ว

**จำนวนโครโมโซม** ของ *Clitoria ternatea* 2n = 16 ส่วน *C. biflora* 2n = 14 ( Supriya and Patil, 1993)

**การขยายพันธุ์** ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

อัญชันเป็นไม้กลางแจ้ง เจริญเติบโตได้ดีในดิน ร่วนซุย ต้องการน้ำ และความชื้นในปริมาณปานกลาง

**การใช้ประโยชน์** นิยมปลูกเลื้อยปกคลุมรั้วหน้าบ้าน รั้วลวดหนามได้สวยงาม เนื่องจากออกดอกได้ตลอดทั้งปี ดอกนำมาสกัดสีใช้ผสมกับอาหารได้อย่างปลอดภัย (กองบรรณาธิการวารสารบ้านและสวน, 2526) คนไทยสมัยเก่านิยมใช้ดอกอัญชันขยี้บนศีรษะเด็กเพื่อให้ผมดก หรือขยี้ฝนที่คิ้วเพื่อให้คิ้วดก (วิชัย, 2532) สรรพคุณทางสมุนไพร ใช้เมล็ดซึ่งมีรสมัน ระบายท้อง รากมีรสขมเย็น ขับปัสสาวะ แก้ปัสสาวะพิการ ระบายท้อง บำรุงดวงตา ฝนหยดตาแก้ตาเจ็บตาฟางทำให้ตาสว่าง ทำยาสีฟัน ทำให้ฟันทน และ แก้ปวดฟัน ดอกรักษาอาการผมร่วง แก้พิษต่างๆ แก้ปวดบวม (วุฒิ, 2540)

**ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา** แก้ปวด ยาชาเฉพาะที่ ลดไข้ เสริมฤทธิ์ยานอนหลับ ลดปฏิกิริยาตอบสนองต่ออันตราย ต้านการฝังตัวของตัวอ่อนที่ผนังมดลูก นอกจากนี้ยังทำให้แมลงกินอาหารไม่ได้ ฆ่าพยาธิไส้เดือน ยับยั้ง trypsin ใช้เลี้ยงสัตว์ลดการย่อยแป้ง และ bovine serum albumin ไม่ทำให้ไมโครโซมผิดปกติ ยับยั้งการเกิดไมโครนิวเคลียส ยับยั้งแบคทีเรีย เชื้อรา และใช้ฆ่าปลา การทดสอบความเป็นพิษ พบว่าเมื่อฉีดสารสกัดส่วนที่อยู่เหนือดินด้วยแอลกอฮอล์ 95เปอร์เซ็นต์ เข้าท้องหนูขาวในขนาด 460 มก/กก พบว่าเป็นพิษ และเมื่อฉีดสารสกัดพืชส่วนที่อยู่เหนือดินด้วยเอธานอล และน้ำ (1:1) เข้าช่องท้องหนู พบว่าขนาดที่ทำให้หนูถีบจักรตายเป็นจำนวนครึ่งหนึ่งคือ 1 ก/กก (นันทวัน และ อรนุช, 2543)

**ภาพ 1** ต้น ใบ ดอก และฝักของอัญชันดอกซ้อนสีน้ำเงินอมม่วง

(*Clitoria ternatea* Linn. )

**การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**

ในปัจจุบันความก้าวหน้าทางเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้กลายเป็นเครื่องมือสำคัญช่วยการขยายพันธุ์ และการพัฒนาพันธุ์พืชชนิดใหม่ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยใช้ส่วนต่างๆ เพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้นเป็นเป้าหมายสุดท้ายที่จะได้มาซึ่งพืชที่ต้องการ ดังนั้นชนิดของอาหารและเทคนิคต่างๆ ในขั้นตอนนี้มีความสำคัญที่จะทำให้กระบวนการต่างๆประสบผลสำเร็จได้ (อารีย์, 2541) แม้ว่าพืชแต่ละชนิดจะต้องการธาตุอาหารหลักที่เหมือนกัน แต่ความต้องการในเชิงปริมาณ หรือ ความเข้มข้นจะแตกต่างกันไป โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารควบคุมการเจริญเติบโตจะมีความแตกต่างผันแปรกันไปอย่างยิ่ง (ประศาสตร์, 2538) สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใหญ่ใช้อ๊อกซิน และ ไซโตไคนิน สารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจัดอยู่ในกลุ่มใหญ่ คือ อ๊อกซิน เช่น IAA, NAA, IBA และ 2,4-D เป็นต้น ซึ่งใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโต มีผลต่อการแบ่งเซลล์กระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ การยืดตัวของเซลล์ และยังมีผลกระตุ้นการเกิดราก การเจริญเติบโตในส่วนต่างๆของพืช ส่วนสารควบคุมการเจริญเติบโตที่อยู่ในกลุ่มไซโตไคนิน พืชสามารถสร้างขึ้นมาใช้ในการเจริญเติบโตได้ในรูปของสาร ซีเอติน (zeatin) ส่วนสารสังเคราะห์ในกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ ไคเนติน (kinetin), BAP (6-benzyladinine purine) และ BA (6-bezyladinine) เป็นต้น สารในกลุ่มนี้มีผลต่อการแบ่งเซลล์และการกระตุ้นการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นของพืช กระตุ้นการเจริญของตาข้าง ที่ใช้กันมากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ เพื่อกระตุ้นการเจริญของก้อนแคลลัสให้พัฒนาเป็นยอด อย่างไรก็ตามการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตแต่ละชนิด หรือการนำมาใช้ร่วมกันในสัดส่วนที่แตกต่างกันเมื่อใช้กับพืชต่างชนิดกันเนื้อเยื่อมักตอบสนองต่างกัน แม้ว่ารายงานเกี่ยวกับพืชชนิดต่างๆ และพืชที่ใกล้เคียงอัญชัน เช่น ถั่ว ที่มีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ชิ้นส่วนต่างๆของพืช และมีการใช้ส่วนประกอบของอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโตตลอดจนเทคนิคที่แตกต่างกันไปตามชนิดของพืชก็ตาม แต่ยังไม่เคยมีรายงานเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออัญชัน อย่างไรก็ตาม พอจะจำแนกรายงานที่เกี่ยวข้องกับพืชที่ใกล้เคียงอัญชันได้ดังนี้

Svanbaev and Butenko (1988) ได้ศึกษากระบวนการเกิดอวัยวะและการงอกเป็นต้นของถั่ว โดยตัดชิ้นส่วนใบขนาด 1-2 มม จากสายพันธุ์ Rannii Konsevnyi (Early Canning), OVMI, Alma-Atingkii 340 และ 370-86 นำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA, IBA และ BA พบว่า ไม่เกิดแคลลัสบนอาหารที่เติม NAA และ BA แต่เกิดแคลลัสบนอาหารที่เติม IBA และ BA เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากทุกๆสายพันธุ์ และพบว่าพันธุกรรมของแต่ละสายพันธุ์แตก

ต่างกันในการเกิดยอด ยอดเกิดมากที่สุดจากแคลลัสของพันธุ์ OVMI และรากมีการพัฒนาจากยอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี NAA 1 มก/ล โดยรากเกิดมากถึง 55-60 เปอร์เซ็นต์

Mallick and Rashid (1989) ได้ศึกษาการกระตุ้นให้เกิดยอดจำนวนมากจากข้อตรงตำแหน่งใบเลี้ยงจากต้นกล้าของธัญญพืช ถั่ว และ lentil เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มีไซโตไคนิน (BA 5-10 มก) สามารถกระตุ้นให้เกิดยอดได้หลายยอด แต่ส่วนอื่นๆของต้นกล้า คือ ราก ใบ และ ลำต้นใต้ใบเลี้ยง ไม่สามารถเกิดยอดได้ และพบว่าแคลลัสเกิดขึ้นเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มีไซโตไคนินและอ๊อกซิน แต่เนื้อเยื่อสามารถเกิดรากได้อย่างเดียว

Venketeswaran *et al.* (1990) ได้รายงานการเลี้ยงส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) และส่วนของลำต้นเหนือใบเลี้ยง (epicotyl) จากต้นกล้าที่ยังอ่อน ของถั่วพู โดยใช้อาหารสูตร MS (1962) ที่เติม BA 1 มก/ล และ NAA 0.1 มก/ล ทำให้เกิดยอดบนชิ้นส่วนพืชได้

Angelini Rota *et al.* (1990) ได้เลี้ยงส่วนของใบเลี้ยง ขนาด 0.4-1 ซม ของ ถั่ว (*P. coccineus* L.) โดยใช้อาหารสูตร MS (1962) ที่เติม BA 1 มก/ล ชิ้นส่วนที่เลี้ยงสามารถเกิดยอด และคัพภะเทียมได้

Brar *et al.* (1990) ได้เลี้ยงปลายยอดของ *Vigna unguiculata* (L.) Walp. ซึ่งมีความยาว 5 มม โดยใช้อาหารสูตร MS (1962) ที่เติม BA 1, 2.5 และ 5 มก/ล หรือ kinetin 1, 2.5 และ 5 มก/ล โดยใช้ร่วมกับ 2,4-D 0.01, 0.1 และ 0.5 มก/ล หรือ NAA 0.01, 0.1 และ 0.5 มก/ล พบว่ายอดเกิดมากที่สุดบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม BA 5 มก/ล ร่วมกับ 2,4-D หรือ NAA 0.01 มก/ล

Chiwon *et al.* (1994) ได้ศึกษาการงอกของ *Coreopsis lanceolata* L. จากการเลี้ยงชิ้นส่วนจากใบในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 5, 10, 20 หรือ 40 มคม ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1 หรือ 2 มคม พบว่าสามารถกระตุ้นให้เกิดยอดในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้นทั้ง 4 ระดับ เมื่อใช้ร่วมกับ NAA ระดับต่ำ โดยได้จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนอยู่ในช่วง 1.4-4.3 หลังจากที่เลี้ยงไปแล้ว 7 สัปดาห์ ส่วนรากเกิดที่ฐานของยอดบนอาหารสูตรเดิมโดยใช้เวลามากกว่า 7 สัปดาห์ ต้นที่เกิดสามารถย้ายปลูกลงดินได้

Hosoki and Honda (1995) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์ถั่วยืนต้น (*Lathyrus latifolius*.L.) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้ข้อจากยอดมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม BA 0.44 มคม ยอดสามารถยืดยาวจากข้อที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ รากเกิดขึ้นได้ 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี IBA 0 หรือ 0.49 มคม ในขณะที่ 60 เปอร์เซ็นต์ ของรากเกิดบนอาหารที่เติม IBA 4.9 มคม ต้นอ่อนที่ได้สามารถนำมาปรับสภาพและปลูกในสภาพแปลงปลูกได้

Moda-Cirino *et al.* (1996) ได้ใช้ชิ้นส่วนจากต้นถั่วปากอ้า (*Phaseolus vulgaris* L.) สายพันธุ์ Brazilian 10 สายพันธุ์ เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 80 มคม พบว่า ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดจากชิ้นส่วนจากข้อใบแรกอยู่ในช่วง 34.92 (FT Taruma) ถึง 68.66 เปอร์เซ็นต์ (IAPARLP88-175) ส่วนเปอร์เซ็นต์ของยอดที่เกิดรากเมื่อย้ายลงแปลงปลูกมีประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์

Gai and Guo (1997) ได้ศึกษาผลของการเกิดต้นพืชผ่านคัพภะเทียมจากใบเลี้ยงของถั่วเหลือง โดยใช้ชิ้นส่วนของใบเลี้ยงและส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยงจากต้นกล้าที่มีอายุ 5-6 วัน ของ 11 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ที่ได้จากการผสมพันธุ์จาก พันธุ์ Jiangsu, Henan และ Heilongjing (China) เมื่อนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS สามารถกระตุ้นให้เกิดแคลลัส จากนั้นย้ายเลี้ยงบนอาหารสำหรับพัฒนา พบว่า คัพภะเทียมเกิดได้มากที่สุดจากชิ้นส่วนพืชจากใบเลี้ยงของ พันธุ์ Hongyin 1 (33.3 เปอร์เซ็นต์) ตามด้วย Nannong 73-935 (30.1 เปอร์เซ็นต์) แต่คัพภะเทียมเกิดมากที่สุดจากชิ้นส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยง ของพันธุ์ Heinong 35 (24.8 เปอร์เซ็นต์) ตามด้วย 91-5 (22.6%) ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเอมบริโอเจนนิกแคลลัสของพันธุ์ Hongyin 1 สามารถเกิดจากใบเลี้ยงของต้นถั่วเหลืองโดยสามารถงอกได้มากกว่า 34.3 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสูตร MS ที่เติม thidiazuron 0.25 มก/ล หลังจากนำเอมบริโอเจนนิกแคลลัสย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1.5 มก/ล และ kinetin 0.5 มก/ล มีการเปลี่ยนเป็นสีเขียว และ 63-83 เปอร์เซ็นต์ ของเนื้อเยื่อที่เลี้ยงงอกเป็นเอมบริออยด์ และเกิดเป็นยอดได้

Raruqui *et al.* (1997) ได้เพาะเมล็ดของ *Pisum sativum* 2 จีโนไทป์ คือ (HaNS และ EC103B) และ 1 จีโนไทป์ ของ *P.sativum* var. *arvense* (103B) ลูกผสมของทั้ง 2 กลุ่มงอกภายใต้สภาวะที่ปลอดเชื้อ หลังจากนั้นต้นกล้าถูกนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีความแตกต่างกัน 6 ส่วนผสม โดยการผสมกันของ 2,4-D, NAA, BA และ kinetin พบว่าแคลลัสที่เกิดขึ้นมีหลายลักษณะและสามารถพัฒนาเป็นยอดได้ การตอบสนองของจีโนไทป์ขึ้นอยู่กับอาหารที่ใช้เลี้ยงอย่างชัดเจน การตอบสนองของแคลลัสที่ดีที่สุดได้จากการเลี้ยงในอาหารที่มีส่วนผสมระหว่าง NAA 1 มก/ล กับ BA 0.5 มก/ล

Loiseau *et al.* (1998) ได้ใช้ส่วนของปลายยอด และส่วนของใบเลี้ยงจากต้นกล้าของถั่วที่มีอายุ 7 วัน ซึ่งได้จากการเลี้ยงคัพภะที่อ่อนอยู่ นำมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเพื่อกระตุ้นให้เกิดคัพภะเทียม การศึกษาทางด้านเนื้อเยื่อวิทยาแสดงให้เห็นว่า ชิ้นส่วนพืชจากทั้งสองแหล่งที่ใช้เลี้ยงให้คัพภะเทียมซึ่งเกิดจากเซลล์ที่เป็นจุดกำเนิดต่างๆมากมาย เซลล์ที่อยู่รอบๆปลายยอดที่เกิดมาจากคัพภะเทียมจะมีเม็ดแป้งมาก ส่วนแคลลัสที่เกิดจากการแบ่งเซลล์จากใบเลี้ยงของคัพภะอ่อนไม่มี

การพัฒนาต่อ เนื่องจากไม่ได้สร้างแป้ง ซึ่งพอสรุปได้ว่าคัพภะเทียมส่วนใหญ่ไม่สามารถพัฒนาต่อไปได้เพราะขาดธาตุอาหารสำรองในแคลลัส

Anjali *et al.* (1998) ได้ใช้ชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยง และคัพภะแก่ของ pigeon pea 9 จีโนไทป์ เลี้ยงบนอาหารสูตรของ Blayde พบว่าอาหารที่มี kinetin, IAA ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 9.3, 5.7 และ 11.1 มคม ตามลำดับ ช่วยให้เกิดยอดจากแคลลัสที่ได้จากส่วนใบของพันธุ์ Bahar, ICOL-87 และ UPAS-120 ขณะที่แคลลัสที่ได้จากส่วนของลำต้นเกิดยอดได้ในพันธุ์ H 82-1 เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ส่วนอาหารที่มี BA 11.1 มคม อย่างเดียวสามารถกระตุ้นให้เกิดยอดได้ในพันธุ์ Bahar ซึ่งให้ผลดีที่สุดในการเกิดยอด เนื้อเยื่อจากคัพภะแก่ของพันธุ์ Bahar กระตุ้นให้เกิดยอดได้ในสูตรอาหารที่มี BA เมื่อใช้ร่วมกับ kinetin

Franklin and Ignacimuthu (1999) รายงานว่าชิ้นส่วนพืชจากลำต้นอ่อนของถั่วเขียว (*Pisum sativum* L.) สามารถเกิดโครงสร้างคล้ายปุ่มเล็กๆของการเกิดอวัยวะ โครงสร้างนี้เริ่มมีการพัฒนาเป็นยอดจากข้อตรงตำแหน่งใบเลี้ยงและปลายยอดของต้นอ่อนของถั่วที่เจริญเติบโตบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยวิตามินสูตร B5 ที่เติม BA โครงสร้างนี้ในที่สุดเกิดเป็นตายอดจำนวนมาก และพบว่าเกิดดีที่สุดเมื่อต้นกล้ามีอายุ 5 วัน แล้วเลี้ยงบนอาหารที่มี BA 13.3 มคม และยอดสามารถยืดยาวได้บนอาหารสูตรเดิม แต่รากเกิดบนอาหารที่มี IBA 2.5 มคม และสามารถเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์มีการติดเมล็ดได้

El-Bahr *et al.* 1999 ได้ศึกษาการเลี้ยงถั่วเขียว (*Pisum sativum* L.) พบว่าคัพภะเทียมเกิดจากชิ้นส่วนของคัพภะอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ใช้วิตามินของสูตร B5 ที่เติม NAA 2 มก/ล หรือ 2,4-D 1 มก/ล และคัพภะเทียมเกิดได้โดยตรงไม่ผ่านแคลลัส คัพภะเทียมที่เกิดขึ้นบนอาหารที่เติม NAA สามารถเปลี่ยนเป็นต้นเล็กๆได้ง่ายกว่าอาหารที่เติม 2,4-D และต้นเหล่านี้มีการเจริญต่อเมื่อย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS-B5 ที่เติม BA 2 มก/ล

Franklin *et al.* (2000) ได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการบานของดอกและการติดผลในสภาพปลอดเชื้อของถั่วเขียว (*Pisum sativum* L.) โดยนำยอดที่สามารถเกิดจากข้อตรงตำแหน่งใบเลี้ยงและชิ้นส่วนปลายยอดของต้นกล้าถั่วเขียว ที่มีอายุ 15 วัน เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยวิตามินสูตร B5 และเติม BA 2 มก/ล แล้วนำยอดย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดแอมโมเนียมไนเตรทลงครึ่งหนึ่ง (8.25 ก/ล) และเติมอ๊อกซิน (IAA หรือ NAA) อย่างใดอย่างหนึ่งเพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับจิบเบอเรลลิน การเกิดรากและการบานของดอกเกิดขึ้นเมื่อย้ายเลี้ยงบนอาหารที่เกิดราก 7 วัน และ 15 วัน ตามลำดับ ดอกมีการผสมตัวเองในหลอดทดลอง มีการติดฝักและฝักแก่ภายใน 25 วัน เมล็ดที่เกิดนี้สามารถเกิดเป็นต้นได้ในหลอดทดลองและใน

สภาพแปลงปลูก นอกจากนี้เมล็ดจากการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อยังสามารถนำมาเพาะเมล็ดในกระถางภายใต้สภาพแปลงปลูก และพัฒนาต่อเป็นต้นที่ให้ดอก เกิดฝัก และติดเมล็ดที่สมบูรณ์ได้

Rao *et al.* 2001 ได้ศึกษาบทบาทของกรดอะมิโนต่อการเกิด ethylene และ methane และการพัฒนาของยอดเล็กๆใน pigeon pea (*Cajanus cajan*) โดยเลี้ยงข้อตรงตำแหน่งใบเลี้ยงบนอาหารที่มีส่วนผสมของ BAP 2 มก/100 มล สามารถทำให้เกิดตายอดบนชิ้นส่วน และเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม BAP 0.1 มก/100 มล และ NAA 0.01 มก/100 มล พบว่าประมาณ 35% ของตายอดพัฒนาเป็นยอดเล็กๆ และเมื่อเติมกรดอะมิโนได้แก่ proline, glutamine, asparagine และ L-cystein จะส่งเสริมให้ตายอดพัฒนาเป็นยอดเล็กๆเกือบเป็น 2 เท่า ส่วนการเติม proline ได้จำนวนยอดเล็กต่อชิ้นส่วนจำนวนมากเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร B5 (19.4 ยอด) และอาหารสูตร MS (17.9 ยอด) และยังพบอีกว่าถ้ามีการเพิ่มความเข้มข้นของกรดอะมิโนทำให้น้ำหนักสดเพิ่มขึ้นแต่จำนวนยอดเล็กลดลง การเพิ่มกรดอะมิโนส่งผลให้สาร methane เพิ่มขึ้น ในขณะที่สาร ethylene ค่อยๆลดลง และส่งเสริมการพัฒนาของยอดเล็กๆเหล่านี้

Debnath *et al.* 2001 ได้กระตุ้นให้เกิดแคลลัสและเกิดยอดจากชิ้นส่วนต้น, ก้านช่อดอก และชิ้นส่วนใบ ของ beach pea (*Lathrus japonicus* Willd.) โดยใช้ส่วนผสมของสารควบคุมการเจริญระหว่าง NAA และ BA โดยพบว่าเมื่อเลี้ยงได้ 3 สัปดาห์ ชิ้นส่วนของใบแก่เกิดแคลลัสได้ดีเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4.4 มคม โดย 87% ของชิ้นส่วนพืชเกิดแคลลัสซึ่งไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของ NAA ส่วนความเข้มข้นของ NAA ที่ทำให้เนื้อเยื่อที่เลี้ยงเกิดเซลล์ตื่นตัวอยู่ในช่วง 5.4-10.7 มคม ขึ้นอยู่กับชิ้นส่วนพืชที่ใช้ และยังพบอีกว่า BA ความเข้มข้น 4.4 มคม ให้ผลดีมากกว่าความเข้มข้น 1.1 มคม ตาจำนวนมากที่ถูกกระตุ้นให้เกิดจากแคลลัสสามารถพัฒนาเป็นยอดได้เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 2.7 มคม ร่วมกับ BA 4.4 มคม แคลลัสที่เกิดขึ้นทั้งหมดที่พบจากชิ้นส่วนของใบแก่มีขนาดใหญ่ สีเขียว และเป็นแบบแน่น (compact callus) ในขณะที่ชิ้นส่วนใบอ่อนให้แคลลัสมีขนาดเล็กกว่า สีค่อนข้างเหลืองหรือขาว และเป็นแบบร่วน (friable callus) ส่วนแคลลัสที่เกิดจากก้านช่อดอกเป็นแบบแน่นและมีสีเขียวเข้มกว่าแคลลัสที่เกิดจากชิ้นส่วนของต้น และยังพบอีกว่าถ้าใช้ส่วนผสมของ NAA 2 หรือ 3 มก/ล ร่วมกับ BA 0.25 มก/ล ยอดที่เกิดจากแคลลัสจากชิ้นส่วนใบ ลำต้น และ ก้านช่อดอก จะไม่มีการพัฒนาต่อและมีลักษณะเป็นสีน้ำตาล

**การปรับปรุงพันธุ์โดยการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์**

การกลายพันธุ์ (mutation) คือ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในโครงสร้างทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต ซึ่งทำให้สิ่งมีชีวิตหนึ่งๆมีลักษณะใดลักษณะหนึ่งต่างไปจากเดิม การกลายพันธุ์อาจเกี่ยวกับการสูญหายไปของส่วนของยีน หรือ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในยีน เรียกว่า การกลายพันธุ์ของยีน (gene mutation) ส่วนการกลายพันธุ์ที่เกี่ยวกับการแลกเปลี่ยนส่วนของโครโมโซม การสูญหายไป หรือการเพิ่มขึ้นมา ของส่วนของโครโมโซมที่ครอบคลุมมากกว่าหนึ่งยีน เรียกว่า การกลายพันธุ์ของโครโมโซม (chromosome mutation) เป็นสาเหตุสำคัญของการวิวัฒนาการ (อดิศร, 2539) การกลายพันธุ์อาจเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ เรียกว่า spontaneous mutation (สุทัศน์, 2528) การกลายพันธุ์โดยธรรมชาติที่สำคัญเกิดเนื่องจากระบบทางสรีรวิทยาและระบบทางพันธุกรรมของพืช (อดิศร, 2540) หรืออาจเกิดจากการก่อการกลายพันธุ์ (induced mutation) ก็ได้ การกลายพันธุ์อาจนำไปสู่การได้พันธุ์ดี แม้ว่าส่วนใหญ่แล้วมักจะได้ลักษณะที่ไม่พึงต้องการก็ตาม อย่างไรก็ตามการกลายพันธ์มีประโยชน์ในการปรับปรงพันธุ์พืช (สุทัศน์, 2528)

การเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยรังสี

รังสี (radiation) ที่ใช้แยกได้ 2 ชนิด (สุทัศน์, 2528) คือ

1. Ionizing radiation ได้แก่ รังสีเอกซ์ (X-ray) รังสีแกมมา (Gamma -ray) รังสีเบต้า (Beta-ray) และรังสีนิวตรอน (Neutron-ray) ซึ่งกลุ่มนี้มีคุณสมบัติเบื้องต้นในการทำให้เกิดไอออไนเซชั่นแก่อะตอมหรือโมเลกุลที่ได้รับรังสี มีอำนาจทะลุทะลวงสูง ส่วนใหญ่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมทำให้โครโมโซมผิดปกติ (chromosome aberration) และยังอาจก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ DNA ซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน

2. Nonionizing radiation ที่นิยมใช้มีอยู่ชนิดเดียว คือ รังสีอุลตราไวโอเลต (Ultraviolet radiation) มีอำนาจในการทะลุทะลวงต่ำ เซลล์พืชจะดูดรังสีนี้เข้าไปแล้วก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นการเปลี่ยนแปลงของยีนมากกว่าการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซม

การเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ โดยการใช้รังสีเกิดขึ้นโดยเซลล์พืชได้รับรังสีแล้วจะถ่ายพลังงานให้โมเลกุลต่างๆของเซลล์ทำให้โมเลกุลแตกตัวเป็นไอออน และ ฟรีแรดิคอล (free radical) มีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลใหม่มีการทำปฏิกริยาระหว่างกัน เกิดเป็นโมเลกุลที่มีคุณสมบัติทางชีวเคมีต่างไปจากเดิม แต่ภายในเซลล์ก็มีกระบวนการซึ่งทำหน้าที่ลดอันตรายที่เกิดจากรังสีให้น้อยลง โดยทำการซ่อมแซม DNA ที่ได้รับความเสียหาย ให้กลับคืนเป็นปกติ หรือทำหน้าที่เดิมได้ (DNA repair process) กระบวนการซ่อมแซมยังเกิดความผิดพลาดขึ้นได้ ซึ่งความ

ผิดพลาดที่เกิดขึ้นนี้นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม (สิรนุช, 2540) และพบว่าในการฉายรังสีเมื่อมีการใช้ปริมาณรังสีสูงที่ถูกปลดปล่อยในระยะเวลาอันสั้น (high dose rate) จะก่อให้เกิดความเสียหายกับเซลล์รุนแรงซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการซ่อมแซมดังกล่าวมาแล้วข้างต้น (อดิศร, 2539)

การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีการฉายรังสีจะได้รับความสำเร็จหรือไม่นั้น นอกเหนือจากปริมาณรังสี วิธีการดำเนินงาน และการควบคุมสิ่งแวดล้อมที่ดีแล้วยังขึ้นอยู่กับส่วนของพืชที่นำไปฉายรังสีด้วย (สุทัศน์, 2528)

สิรนุช (2540) กล่าวว่าการเปลี่ยนแปลงทางฟีโนไทพ์เป็นสิ่งที่บ่งชี้ว่า สิ่งมีชีวิตนั้นมีการกลายพันธุ์เกิดขึ้น ตัวอย่างเช่น การกลายพันธุ์ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในรูปทรงของต้น เปลี่ยนแปลงสีของดอก จำนวนและขนาดของผล อายุการเก็บเกี่ยวเร็วขึ้นหรือช้าลง ซึ่งการกลายพันธุ์ชนิดนี้สามารถคัดเลือกนำมาใช้ประโยชน์ได้ง่าย ส่วนของพืชที่ใช้ขยายพันธุ์ได้ เช่น เมล็ด หัว ราก ไหล กิ่งทาบ กิ่งตอน พืชทั้งต้น หรือเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง สามารถนำมาฉายรังสีได้ทั้งสิ้น การพิจารณาเลือกส่วนใดมาฉายรังสีขึ้นอยู่กับชนิดของพืช วิธีการขยายพันธุ์ ความสะดวกในการนำมาฉายรังสี ความสะดวกในการปลูก และดูแลรักษา เป็นต้น

เมล็ดเป็นส่วนที่นิยมใช้กันมากที่สุดเพราะสะดวก ทั้งในขั้นตอนการฉายรังสี หรือการชักนำการกลายพันธุ์ด้วยสารเคมี เพราะเมล็ดสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆได้ดี

**ตาราง 1** ปริมาณรังสีแกมมาที่เหมาะสมสำหรับการปรับปรุงพันธุ์พืชตระกูล Leguminosae ที่ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด (IAEA, 1977 อ้างโดย สิรนุช, 2540)

| ชนิดพืช | ปริมาณรังสีที่เหมาะสม (กิโลแรด) |
|---|---|
| *Arachis hypogaea.* | 20-30 |
| *Cajanus cajan.* | 8-14 |
| *Cicer arietinum.* | 12-18 |
| *Glycine max.* | 10-20 |
| *Lens esculenta.* | 10-17 |
| *Lupinus albus* | 15-25 |
| *Medicago sativa* | 40-60 |
| *Melilotus albus* | 50-70 |
| *Phaseolus lunatus* | 5-70 |
| *Phaseolus vulgaris* | 8-15 |
| *Pisum sativum* | 6-18 |
| *Vigna radiata* | 40-70 |
| *Vigna unguiculata* | 15-25 |

ได้มีการทดลองเกี่ยวกับการเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์ด้วยรังสีกับพืชต่างๆตัวอย่างเช่น

Gupta (1966, 1970 อ้างโดย อดิศร, 2539) ได้ทำการฉายรังสีกิ่งชำแพรเซี่ยงไฮ้โดยใช้รังสีแกมมา พบว่า ได้ดอกที่เป็นดอกชนิดกิ่งซ้อน ดอกซั้นเดียว ดอกมีรอยหยัก และกลีบดอกม้วนเข้าสู่กลางดอก โดยปริมาณที่เหมาะสมประมาณ 4 กิโลแรด

สิรนุช และคณะ (2526) ได้ฉายรังสีแกมมาแก่เมล็ดถั่วเขียวพันธุ์อู่ทอง 1 โดยใช้ปริมาณรังสี 4 ระดับ คือ 30, 40, 50 และ 70 กิโลแรด พบว่าการฉายรังสี 50 กิโลแรด สามารถทำให้เกิดพันธุ์กลายให้ใบย่อยจำนวนมากขึ้น และทำให้มีความสูงน้อยลง จึงได้ต้นเตี้ยลง

Sena *et al.* (1991) ได้กระตุ้นการกลายพันธุ์ใน common bean และ ถั่วเขียว โดยฉายรังสีแกมมาปริมาณ 6, 12, 18, 24 และ 30 กิโลแรด ให้กับเมล็ดที่พักตัวของสายพันธุ์ Milionario 1732 (BAT 65) พบการกลายพันธุ์ในลักษณะดอกและสีของเปลือกเมล็ด และลักษณะอื่นๆของเมล็ดโดยตรวจพบในรุ่น M2 และพบว่าการกลายพันธุ์มีความถี่สูงสุดเมื่อกระตุ้นด้วยปริมาณรังสี 24 กิโลแรด การกลายพันธุ์ที่ได้คือ ดอกสีขาว มีความแตกต่างของสีเปลือกเมล็ด ซึ่งเป็นมันวาว และมีการเปลี่ยนแปลงขนาดกับรูปร่างเมล็ด

Barbosa and Sena (1992) ได้ศึกษา การเกิดไคเมรา ในถั่วเขียวจากต้นที่เจริญเติบโตจากเมล็ดที่ฉายรังสี โดยใช้เมล็ดที่มีความชื้นใกล้เคียงกันประมาณ 13 เปอร์เซ็นต์ มาฉายด้วยรังสีแกมมาปริมาณ ระหว่าง 6 ถึง 30 กิโลแรด พบว่ามีพืชที่ได้รับการฉายรังสีที่ปริมาณ 18 กิโลแรด ต้นเดียวที่สามารถเจริญเติบโตในรุ่น M2 ต้นที่ได้มีการเจริญเติบโตและมีการแตกกิ่งแขนงดี

Veeresh *et al.* (1995) ได้ศึกษาผลของการฉายรังสีเมล็ดแห้งต่อลักษณะบางอย่างของ ถั่วพู (*Psophocarpus tetragonolobus*) สายพันธุ์ Chimbu โดยฉายรังสีแกมมาที่มีปริมาณแตกต่างกัน คือ 10, 15, 20, 25, 30 และ 35 กิโลแรด พบว่าปริมาณรังสีที่สูงมีผลต่อ น้ำหนักแห้ง ความยาวยอด และความยาวราก อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการฉายรังสีปริมาณ 15 กิโลแรด มีผลต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ด และน้ำหนักสดของต้น จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าต้นพืชมีความไวต่อรังสีแกมมาที่ฉายก่อนระยะการเจริญเติบโต

Liu *et al.* (1996) ได้รายงานผลของรังสีต่อธัญญพืชโดยใช้ ถั่วลิสง (*Arachis hypogaea*) ถั่วเหลือง (*Glycine max*) ถั่วแดง (*Phaseolus angularis* [*Vigna angularis*]) ถั่วเขียว (*Phaseolus aureus* [*Vigna radiata*]) และ catjiang cowpea (*Vigna cylindrica* [*Vigna unguiculata* subsp. cylindrica]) เมื่อนำเมล็ดฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณ 0.15, 0.30, 0.45, 0.60, 0.75, 0.90, 1.05, 1.20, 1.38 และ 1.50 เกรย์ พบว่าอัตราการงอก ความสูงของต้นกล้า พื้นที่ใบแรก ความตื่นตัวของรากแรก และปริมาณคลอโรฟิลล์ ของต้นทั้งหมดมีผลทางลบโดยมีความสัมพันธ์กับปริมาณ

รังสี อย่างไรก็ตามอัตราส่วนคลอโรฟิลล์ a/b ของใบต้นกล้าตอบสนองในทางบวกต่อความสัมพันธ์กับปริมาณรังสี และเมล็ดตอบสนองต่างกันตามชนิดถั่วที่ใช้

Singh and Singh (1997) ได้ศึกษาความแปรปรวนทางสัณฐานวิทยาของอัญชัน โดยใช้รังสีเอ็กซ์ 5-40 กิโลแรด กระตุ้น พบว่าถ้าปริมาณรังสีเพิ่มขึ้นทำให้ อัตราการงอก การตั้งตัวของต้นกล้า และการรอดชีวิตลดลง และเมื่อได้รับรังสี 30 กิโลแรด ทำให้เกิดความหลากหลายทางสัญฐานวิทยาซึ่งจะพบที่ใบและดอกในต้นที่แก่แล้ว ถ้าได้รับ 25 กิโลแรด ทำให้เกิดกลายพันธุ์โดยทำให้เกิดการแตกกิ่งข้างมากขึ้น แต่เมื่อได้รับปริมาณรังสีสูงถึง 40 กิโลแรด ทำให้ต้นตายได้

Klu *et al.* (1997) ได้ศึกษาการชักนำให้กลายพันธุ์ในถั่วพู (*Psophocarpus tetragonolobus* L.DS) เพื่อให้มีปริมาณแทนนินต่ำ โดยใช้เมล็ดที่แห้ง มาฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณ 150 และ 250 เกรย์ ซึ่งเคยพบว่าเป็นปริมาณที่เหมาะสมต่อการกลายพันธุ์และต้นของถั่วพูยังเจริญเติบโตได้ การคัดเลือกถั่วพูที่กลายพันธุ์เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงปริมาณแทนนินทั้งหมด 4 พันธุ์ จาก UPS 122 และ พันธุ์ Kade 16/16 รุ่น M3 พบว่าพันธุ์ Kade 16/16 มีระดับของแทนนินประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ ของพันธุ์ดั้งเดิม ส่วนอีก 3 พันธุ์ที่เหลือมีระดับของแทนนินเท่ากันหรือเพิ่มขึ้น

Rabie *et al.* (1997) ได้ศึกษาผลของการฉายรังสีแกมมาต่อสมดุลย์ของฮอร์โมน การงอก การเจริญเติบโต และฝักของต้นจากเมล็ดของ *Vicia faba* สายพันธุ์ Giza ที่นำมาฉายรังสีปริมาณ 1, 2, 4, 8 หรือ 10 กิโลแรด พบว่าการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณ 1, 2 และ 4 กิโลแรด เพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด ความยาวของต้นกล้า และสารควบคุมการเจริญเติบโตเมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุมหรือปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น ปริมาณรังสี 4 กิโลแรด จะให้ผลผลิตเมล็ดและเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดสูงที่สุด

Yu *et al.* (1997) ได้นำเมล็ดแห้งของถั่วเหลืองมาฉายรังสีแกมมาปริมาณ 5-20 กิโลแรด พบว่า กิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส และปริมาณของโปรตีนเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณการฉายรังสีเพิ่มขึ้น แต่น้ำหนักแห้งลดลง และการฉายรังสียังส่งผลให้ขนาดของใบ จำนวนราก ความสูง และจำนวนข้อต่อต้น ฝักต่อต้นลดลง

Singh *et al.* (1999) ได้ฉายรังสีแกมมา 6 ระดับ คือ 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 เกรย์ แก่คาร์เนชั่นสายพันธุ์ Espana ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าทุกระดับของปริมาณรังสีมีผลต่อการเจริญเติบโตทางลำต้น และการเจริญเติบโตทางดอกเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น รังสีแกมมาที่ปริมาณ 5 เกรย์ ทำให้การเจริญเติบโตทางลำต้น และลักษณะของดอกหลากหลาย ในขณะที่ปริมาณ 10 เกรย์ และปริมาณที่สูงกว่านั้นการเจริญทางลำต้นเริ่มลดลง เปอร์เซ็นต์การงอกรากของยอดขณะที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อและการรอดตายหลังจากปลูกเลี้ยงในสภาพภายนอกสูงถึง

99.7 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าปริมาณรังสีที่สูงขึ้นมีผลกระตุ้นให้สีของดอกมีการเปลี่ยนแปลงหลากหลายขึ้น พบว่าที่ปริมาณรังสี 50 เกรย์ ให้ดอกเป็นสีชมพูเข้มโดยมีความถี่ 4.44 เปอร์เซ็นต์ และที่ปริมาณรังสี 30 และ 40 เกรย์ ให้ดอกเป็นสีชมพูเข้มมีลายสีแดง โดยมีความถี่ 1.79 และ 3.94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Das and Kundagrami (2000) ได้รายงานการทดลองใช้เมล็ดแห้งของ grasspea (*Lathyrus sativus*) จีโนไทป์ (genotype) Nirmal และ P24 มาฉายรังสีแกมมาปริมาณ 10, 20 และ 30 กิโลแรด ต้นพืชสามารถเจริญได้ดีในรุ่น M2 จากนั้นคัดเลือกเลือกต้นที่มีการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ ในรุ่น M1 และ M2 พบว่าถ้าปริมาณรังสีสูงขึ้นความถี่ของการเปลี่ยนแปลงคลอโรฟิลล์สูงขึ้นในทั้ง 2 พันธุ์ ความถี่ของการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ค่อยๆเพิ่มขึ้นในรุ่น M1 และ M2 การเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์มี 5 ชนิด คือ albina, chlorina, striata, maculata และ marginata ได้วิเคราะห์พบในรุ่น M1 ของพันธุ์ Nirmal และพันธุ์ P24 ที่ปริมาณรังสี 20 และ 30 กิโลแรด ส่วนที่ปริมาณรังสี 10 กิโลแรด ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ 4 ชนิด ซึ่งไม่มี albina ในรุ่น M1 ของพันธุ์ Nirmal ในขณะที่มีเพียง maculata และ marginata วิเคราะห์พบในรุ่น M1 ของพันธุ์ P24 ส่วนในรุ่น M2 ของพันธุ์ Nirmal แสดงการเปลี่ยนแปลงทั้ง 5 ชนิด เมื่อใช้รังสีปริมาณ 30 กิโลแรด ขณะที่พันธุ์ P24 ไม่แสดงการเปลี่ยนแปลงของ albina

**การศึกษาการใช้สารเคมีชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืช**

การชักนำให้พืชมีการกลายพันธุ์โดยการใช้สารเคมีเป็นอีกวิธีการหนึ่งเพื่อให้ได้ต้นพืชที่มีจำนวนชุดของโครโมโซมเพิ่มขึ้นจากเดิม พืชที่เกิดขึ้นจากวิธีการนี้นอกจากคาดว่าจะทำให้มีความสมบูรณ์พันธุ์ (fertility) สูงขึ้น ช่วยให้ติดเมล็ดได้ดีขึ้นในพืชที่ไม่สามารถติดเมล็ดได้ตามธรรมชาติแล้ว มักจะได้ลักษณะใหม่ๆที่น่าสนใจ และมีคุณค่าทางเศรษฐกิจเพิ่มมากขึ้น เช่น การเพิ่มขนาดของต้นและผล การผลิตพันธุ์ผัก และพันธุ์ไม้ผลที่ไม่มีเมล็ดจากลูกผสมที่มีจำนวนชุดของโครโมโซม 3 ชุด และยังใช้เป็นเครื่องมือในการสร้างลูกผสมข้ามจากการใช้ต้นแม่พันธุ์ที่มีการเปลี่ยนแปลงให้มีจำนวนชุดโครโมโซมเพิ่มขึ้นได้อีก (Hancock, 1997) สารเคมีที่นำมาใช้เพื่อชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนชุดของโครโมโซมในพืชมีหลายชนิด เช่น colchicine, para dichlorobenzene, oryzalin, amiprophosmethyl, pronamide และ caffeine เป็นต้น (ถกลวรรณ และ ธีรพล, 2541)

โคลชิซีน (colchicine) เป็นสารเคมีชนิดหนึ่งที่สามารถทำให้มีการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมในพืชพบตั้งแต่ ค.ศ. 1973 โดย Blakeslee ซึ่งได้ทดลองกับพืชหลายชนิดโดยวิธีการต่างๆ ผลที่ได้นับว่าเป็นจุดเริ่มต้นที่ดีในการนำสารละลายโคลชิซีนมาใช้กับพืช (อดิศร, 2539) โคลชิซีนจัดเป็นสารอัลคาลอยด์จากธรรมชาติ สามารถสกัดได้จากต้น meadow saffron (*Colchicum antumnale.*) (อดิศร, 2539) และดองดึง (*Gloriosa superba* L.) ซึ่งพบสารละลายโคลชิซีนอยู่แทบทุกส่วนของลำต้น โดยเฉพาะฝัก และเมล็ดมีปริมาณสูงมาก (นันทวัน, 2541) โคลชิซีนเป็นพิษมากกับมนุษย์ และจะแสดงผลทางด้านการกลายพันธุ์ทางพันธุกรรมในพืช (Van Tuyl *et al.* 1992) โคลชิซีนจะเป็นตัวไปอุดตามปลายท่อต่างๆของ microtubule ภายในเซลล์ทำให้ microtubule ไม่สามารถต่อกันเป็นสายใยสปินเดิลในการช่วยดึงโครโมโซมระยะเมทาเฟสได้ (อมรา, 2540) ซึ่งคุณสมบัตินี้ได้นำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช ให้มีจำนวนชุดของโครโมโซมเพิ่มเป็น 2 เท่าได้ (ศุกฤกษ์ และ สุมิตรา, 2530) การใช้สารละลายโคลชิซีนกับพืช เพื่อชักนำให้พืชเพิ่มจำนวนโครโมโซม จะต้องใช้กับส่วนของพืชที่กำลังเจริญเติบโต ซึ่งมีอัตราการแบ่งเซลล์สูง ดังนั้นจึงใช้กับเมล็ดที่กำลังงอก ตา หรือ ยอดที่กำลังงอกใบใหม่ (วิมล, 2527) การเพิ่มจำนวนโครโมโซมโดยการใช้สารละลายโคลชิซีนกับพืช สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การจุ่มส่วนของต้นพืชในสารละลาย ผสมกับลาโนลีน หรือแช่เมล็ดในสารละลาย เป็นต้น สำหรับความเข้มข้นและระยะเวลาที่ใช้จะผันแปรไปตามชนิดพืชและส่วนของพืชที่ใช้ (อดิศร, 2539)

การชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมด้วยสารโคลชิซิน อาจพบความผิดปกติในลักษณะแตกต่างออกไปจากการเพิ่มชุดจำนวนโครโมโซม ลักษณะที่พบบ่อยได้แก่ ลักษณะของ aneuploid และ chimera กฤษฎา (2519) ได้กล่าวถึงการเกิดความผิดปกติแบบ chimera ซึ่งเกิดจากพืชที่ชักนำให้เกิดเป็นโพลีพลอยด์เพียงบางส่วนของเนื้อเยื่อว่า มักพบในสองลักษณะคือ sectorial ploid-chimera และ periclinal pliod-chimera โดย sectorial ploid-chimera คือการเกิดการเปลี่ยนแปลง เพียงบางส่วนของตาที่เจริญเป็นโพลีพลอยด์ ซึ่งส่งผลให้ส่วนที่เจริญจากส่วนที่เปลี่ยนแปลงกลายเป็นโพลีพลอยด์แต่ส่วนอื่นยังคงปกติ และ periclinal ploid-chimera เกิดจากเซลล์ชั้นของเอพิเดอร์มิสและเซลล์ชั้นในมีจำนวนโครโมโซมที่แตกต่างกัน ผลที่ได้อาจส่งผลให้เซลล์ปากใบซึ่งเจริญมาจากเซลล์ชั้นนอกแสดงผลเป็นโพลีพลอยด์ คือลักษณะใหญ่กว่าปกติ แต่ขนาดของละอองเรณู ซึ่งเจริญมาจากเซลล์ชั้นในมีลักษณะปกติ

การตรวจหาลักษณะพืชที่ถูกชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์วิธีที่ดีที่สุด คือการตรวจนับจากจำนวนโครโมโซม ซึ่งมักจะนิยมใช้เป็นวิธีสุดท้ายกับพืชที่เชื่อว่าเป็นโพลีพลอยด์ทั้งนี้เพราะเป็นวิธีที่ใช้เวลามาก สำหรับเกณฑ์แรกๆที่ใช้คือการสังเกตลักษณะต่างๆ ได้แก่ รูปร่างและขนาดของส่วนต่างๆของพืช เช่น ใบ ดอก ผล และเมล็ด ซึ่งพอจะแยกพืชได้เป็น 2 กลุ่ม คือพวกที่ตอบ

สนองต่อสารละลายโคลชิซีน กับพวกที่ไม่ตอบสนองต่อสารละลายโคลชิซีน หรือวัดขนาดปากใบตลอดจนขนาดของละอองเกสร ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าต้นปกติ (วิมล, 2527)

การทดลองของ วิมล และ อนันต์ (2526) ซึ่งใช้สารละลายโคลชิซีนชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ จากการใช้เมล็ดพริกไร่ (*Capsicum* sp.) โดยแช่เมล็ดในสารละลายความเข้มข้น 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ นาน 48 และ 24 ชม ตามลำดับ พบว่าเมล็ดที่แช่สารละลายโคลชิซีน 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 48 ชม มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ ได้ดีกว่าเมื่อใช้ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ นาน 24 ชม ต้นที่เป็นโพลีพลอยด์มีความสูงของต้นไม่แตกต่างจากต้น ดิปพลอยด์ และเกือบทุกต้นที่เป็นโพลีพลอยด์มีใบขนาดใหญ่ หนา สีเขียวเข้ม กิ่งค่อนข้างเปราะ ขนาดของเซลล์ปากใบใหญ่ขึ้น วันออกดอกช้า เปอร์เซ็นต์การเป็นหมันสูง ขนาดของผลและการติดผลลดลง

สาริณี (2538) ได้ศึกษากับกล้วยไม้ *Dendrobium superbiens* ที่เป็นลูกผสมระหว่าง *D. phalaenopsis* และ *D. undulatum, D. superbiens* เป็นต้นที่เป็นออลโลเตตราพลอยด์ที่ได้มาจากการใช้สารละลายโคลชิซีน 0.05 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มจำนวนโครโมโซมในเนื้อเยื่อแคลลัสที่เป็นดิปพลอยด์ พบว่าต้นดิปพลอยด์มีจำนวนโครโมโซม 38 และออลโลเตตราพลอยด์ที่ได้มีจำนวนโครโมโซม 76 จำนวนดอกในช่อของต้นดิปพลอยด์มีมากกว่าต้นออลโลเตตราพลอยด์ ดอกของต้นออลโลเตตราพลอยด์มีขนาดใหญ่กว่า และกลีบดอกมีความกว้างกว่าดอกของต้นดิปพลอยด์ การบานของดอกจากต้นออลโลเตตราพลอยด์ก็บานนานกว่าต้นดิปพลอยด์ 8 วัน

Pryor (1972) ได้ชักนำให้เกิดเตตราพลอยด์ จาก *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hook โดยใช้สารละลายโคลชิซีน 0.5 เปอร์เซ็นต์ แช่เมล็ดนาน 1-3 ชม แล้วล้างเมล็ดในน้ำก่อนนำไปปลูก การตรวจสอบการเกิดโพลีพลอยดี จากส่วนต่างๆของต้น พบว่า โครโมโซมปลายรากจากต้นที่รับสารละลายโคลชิซีนมีจำนวน 100 ในขณะที่ต้นควบคุมมีจำนวนโครโมโซมเพียง 50 และยังพบว่าเซลล์ปากใบ และละอองเกสรของต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซีนมีขนาดเกือบเป็น 2 เท่าของต้นที่ควบคุม ทั้งใบและกลีบดอก หนากว่าและดอกมีขนาดใหญ่กว่าต้นควบคุม

Serebrovskaya (1974) ได้รายงานอิทธิพลของโคลชิซีนที่มีผลต่อถั่ว (pea) โดยกล่าวว่าโคลชิซีนที่มีความเข้มข้นต่ำๆมีผลต่อการสร้างต้นพืชเตตราพลอยด์ให้ประสบความสำเร็จได้

Chen and Goeden-Kallemeyn. (1979) ได้กระตุ้นให้เกิดต้นเตตราพลอยด์โดยให้โคลชิซีนแก่แคลลัสที่เป็นดิปพลอยด์ (2n = 22) ของดอกไม้จีน (*Hemerocallis flava* L.) โดยนำแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารดัดแปลง MS ที่เติม 2,4-D 1 มก/ล และ kinetin 1 มก/ล และเติมโคลชิซีนความเข้มข้น 0, 10, 20 และ 40 มก/ล .ในที่มืด อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน แล้วนำมาเลี้ยงในสภาพเดิมแต่ไม่มีโคลชิซีนเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นนำแคลลัสมาเลี้ยงใน

สภาพปกติเพื่อให้เจริญเป็นต้นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำต้นกล้าที่ได้เลี้ยงในกระถางแล้วนำปลายรากมาตรวจดูจำนวนโครโมโซม และหาขนาดของปากใบ และละอองเกสร พบว่าต้นกล้ามากกว่า 50% ที่เจริญจากแคลลัสที่ได้รับโคลชิซีน เป็นต้นเตตราพลอยด์ที่สมบูรณ์ และมีความแตกต่างจากต้นดิปพลอยด์ที่เกิดจากแคลลัสที่ไม่ได้รับโคลชิซีน เมื่อเปรียบเทียบโคลชิซีนทั้ง 3 ระดับ พบว่าที่ความเข้มข้น 20 มก/ล มีผลต่อการเกิดต้นเตตราพลอยด์มากที่สุด

Griesbach and Bhat (1990) ได้ศึกษาการชักนำโพลีพลอยด์โดยให้โคลชิซีนแก่ต้นกล้าที่มีความสูง 2-3 ซม กับ *Enstroma grandiflorum.* พันธุ์ Blue Poppy, Yodel Pink, Blue Poppy × Somaclonal variant, Yodel Pink × Somaclonal variant โดยหยดโคลชิซีนความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ บนยอดของเนื้อเยื่อเจริญทุกวันเป็นเวลา 0, 3 และ 5 วัน หลังจากนั้นนำต้นพืชมาล้างโคลชิซีนที่เหลือ จากนั้นนำตาดอกความยาว 5-6 มม มาตรวจนับจำนวนโครโมโซม ตรวจดูปากใบ พบว่ามีต้นเตตราพลอยด์เกิดขึ้น ต้นเหล่านี้มีลำต้นยาวกว่า และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของต้นลดลงและยังพบว่าให้ดอกดีกว่าต้นที่เป็นดิปพลอยด์

Verma and Raina (1993) ได้จุ่มปลายยอดที่อยู่ระหว่างใบเลี้ยงของต้นฟล็อกซ์ (*Phlox drummondii* Hook.) ในสารละลายที่มีโคลชิซีน 0.1-0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5-6 ชมต่อวัน ติดต่อกัน 2-3 วัน สามารถชักนำให้เกิดต้นที่มีจำนวนโครโมโซม 4 ชุด ซึ่งมีดอกขนาดใหญ่ขึ้น และบานได้นานขึ้น

Chaicharoen *et al.* (1995) สามารถชักนำให้เกิดต้นโพลีพลอยด์จากแคลลัสที่ได้จากชิ้นส่วนของใบอ่อนของหม่อน (*Morus alba*) พันธุ์ S85 โดยการแช่แคลลัสในสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นชักนำให้เกิดต้นบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงโดยเติมสารกระตุ้นการเจริญเติบโตต่างๆ จากการตรวจนับจำนวนโครโมโซมปลายรากของต้นอ่อนพบว่า ร้อยละ 47.22 เป็นต้นที่มีจำนวนโครโมโซม 4 ชุด

Chalak and Legave (1996) ได้ใช้ส่วนยอด และใบจากต้น ทริพพลอยด์ ของ kiwifruit พบว่าการใช้โคลชิซีนความเข้มข้น 1.25 มคม สามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมจากชิ้นส่วนยอด แต่จะทำให้การเกิดเป็นต้นอ่อนจากชิ้นส่วนใบลดลงมากเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ oryzalin ความเข้มข้น 5 มคม ซึ่งได้ผลดี โดยเฉพาะเมื่อใช้กับชิ้นส่วนใบ

Cohen and Jai-Long (1996) ได้ศึกษาการเพิ่มจำนวนโครโมโซมในสภาพปลอดเชื้อกับ *Zantedeschia* 9 พันธุ์ โดยนำส่วนยอดมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 12 มคม (3 มก/ล) เมื่อได้กลุ่มยอดแล้วย้ายมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีโคลชิซีน 0.05 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลา 1, 2 หรือ 4 วัน จากนั้นย้ายไปเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีโคลชิซีน ผลการทดลองพบว่าส่วนใหญ่ยอดจะตาย แต่ยอดที่มีชีวิตรอดจะเพิ่มจำนวนมากขึ้นเมื่อย้ายชิ้นส่วนพืชเปลี่ยนอาหารหลายๆครั้ง หลังจากย้าย

ลงปลูกเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าความยาวของปากใบในต้นเตตราพลอยด์ยาวกว่าจากต้นที่เป็นดิปพลอยด์ จำนวนโครโมโซมจากพืชที่ตรวจนับ 44 ต้น พบว่า 38 ต้น เป็น เตตราพลอยด์ 4 ต้น เป็น ดิปพลอยด์ และ 2 ต้น เป็นไคเมรา การทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการนำโคลชิซีนมาเพิ่มจำนวนยอดในสภาพปลอดเชื้อเมื่อย้ายชิ้นส่วนเปลี่ยนอาหารหลายๆครั้งก่อนปลูกลงดินจะลดการเกิดไคเมรา

Gao *et al.* (1996) ได้ศึกษาการเกิดออโตเตตราพลอยด์ โดยใช้โคลชิซีนกับกลุ่มตายอดของ *Salvia miltrorrhiza* ที่ได้จากการนำเมล็ดมาเลี้ยงบนอาหารพื้นฐานสูตร MS 1/2X ภายใต้แสง หลังจากเลี้ยงนาน 15 วัน ย้ายต้นกล้าเลี้ยงบนอาหารสูตร MS 1X ที่เติม BA 1 มก/ล และ IAA 0.5 มก/ล เพื่อกระตุ้นให้เกิดกลุ่มตายอด จากนั้นนำกลุ่มตาเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีโคลชิซีนความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 5, 10, 50 และ 100 สตล เพื่อกระตุ้นให้เกิดโพลีพลอยด์ หลังจากเลี้ยง 30 วัน นำยอดที่รอดชีวิตและพืชต้นอ่อนย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ IAA เช่นเดิม พบว่าโคลชิซีน 10 สตล สามารถชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ได้ พืชที่เป็นเตตราพลอยด์เมื่อย้ายปลูกลงแปลงทดลองให้สารเคมีที่สำคัญ มากกว่าต้นปกติ

Tamura *et al.* (1996) ได้รายงานการเพิ่มชุดโครโมโซม 2 เท่า จากการเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์ของ *Diospyros kaki* cv. Jiro (2n=6x=90, x=15) ในอาหารเหลวดัดแปลงสูตร KM8p ที่เติมโคลชิซีน 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3-9 วัน โดยสามารถเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมเป็น 12 ชุด (2n=12x=180)

Song *et al.* (1997) ได้ศึกษาการเพิ่มจำนวนโครโมโซมในแคลลัสที่มีจุดเขียวๆขนาด 2 มม ของลูกผสม F1 ระหว่าง *Allium fistulosum* × *A.cepa.* โดยใช้โคลชิซีน ความเข้มข้น 0, 0.05, 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ แช่เป็นเวลานาน 36, 48 และ 72 ชม พบว่าแคลลัสที่ได้รับโคลชิซีนในหลอดทดลองเกิดยอดลดลงเมื่อได้รับโคลชิซีนที่มีความเข้มข้น และเวลาเพิ่มขึ้น เมื่อนำต้นเล็กๆที่เกิดขึ้นมาตรวจนับจำนวนโครโมโซมโดยใช้ปลายรากพบว่า ต้นควบคุมไม่มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้น ส่วนจำนวนโครโมโซมของต้นเล็กๆบางต้นที่เกิดจากแคลลัสที่ได้รับโคลชิซีนในหลอดทดลอง เพิ่มขึ้นเป็นเตตราพลอยด์ การให้โคลชิซีน 0.1 หรือ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเหลว BDS เป็นเวลา 48 หรือ 72 ชม ให้จำนวนต้นที่เป็นเตตราพลอยด์สูงที่สุด

Lu and Bridgen (1997) ได้ศึกษาการเพิ่มจำนวนโครโมโซมของต้นลูกผสมข้ามชนิดระหว่าง *Alstromeria aurea* × *A. caryphyllaea* ซึ่งไม่สามารถติดเมล็ดได้ โดยการแช่ปลายยอดที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.2-0.6 เปอร์เซ็นต์ นาน 6-24 ชม พบว่าได้ต้นที่มีจำนวนโครโมโซม 4 ชุด ถึง 41 เปอร์เซ็นต์ และต้นที่ได้ยังคงรักษาระดับพลอยดีได้นานถึง 1 ปีมากถึง 87.5 เปอร์เซ็นต์ และจากการศึกษาการแบ่งเซลล์แม้จะพบว่ากระบวนการ

แบ่งเซลล์ เพื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์จะเกิดขึ้นได้ปกติ และได้ละอองเกสรที่มีชีวิตรอดถึง 12 เปอร์เซ็นต์ ก็ตาม แต่ไม่สามารถติดเมล็ดได้ แม้จะผสมตัวเองหรือผสมกลับกับต้นพันธุ์พ่อหรือแม่

Te-chato and Sujaree (1999) พบว่าการเลี้ยงกลุ่มตายอดที่ได้จากการเลี้ยงใบอ่อนของมังคุดในอาหารเหลวที่มีโคลชิซีนความเข้มข้น 1,500 มก/ล เป็นเวลา 2 ชม ไม่มีผลต่อการพัฒนาของยอด แต่ต้นที่ได้มีขนาดยอด จำนวนใบ จำนวนราก พื้นที่ใบแตกต่างจากเดิม และปริมาณคลอโรฟิลล์เอเพิ่มมากขึ้น ส่วนการเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีโคลชิซีนความเข้มข้น 3,000-10,000 มก/ล นาน 10 ชม มีอัตราการพัฒนาของต้นอ่อนลดลง แต่ต้นอ่อนที่เกิดขึ้นมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์รวมเพิ่มขึ้นจากปกติ แต่เมื่อเลี้ยงกลุ่มตายอดบนอาหารวุ้น และอาหารเหลวที่มีโคลชิซีนความเข้มข้น 0-1,000 มก/ล ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ของต้นอ่อน แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 3,000, 6,000 และ 10,000 มก/ล ทำให้ยอดอ่อนที่เลี้ยงมีอัตราการรอดลดลงเหลือ 49, 22 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อีกทั้งต้นอ่อนที่ได้รับยังมีลักษณะที่ผิดปกติ กล่าวคือ ใบเป็นสีน้ำตาล และหลุดร่วง และยอดหยุดการเจริญเติบโต

Zamani *et al.* (2000) ได้ศึกษาการเกิดต้น จากการเลี้ยงเกสรตัวผู้ของข้าวสาลี 3 จีโนไทป์ โดย 1 จีโนไทป์ เลี้ยงในฤดูหนาว (พันธุ์ Mv Szigma) และ 2 จีโนไทป์ เลี้ยงในฤดูใบไม้ผลิ (พันธุ์ Vergina และ พันธุ์ Acheloos) โดยเกสรเหล่านี้ได้ถูกนำไปชักนำให้เกิดการเพิ่มโครโมโซมในอาหารเหลวที่มีส่วนประกอบของโคลชิซีน 0.03 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 วัน พบว่าสารละลายโคลชิซีนไม่มีผลต่อการตอบสนองของเกสรตัวผู้และการเกิดเอมบริออยด์ของจีโนไทป์ทั้งหมดที่นำมาเลี้ยง อย่างไรก็ตามในพันธุ์ Mv Szigma สารละลายโคลชิซีนมีผลในการลดการเกิดต้นเล็กๆ และความสามารถในการเกิดเป็นต้นลดลงในพันธุ์ Vergina และ พันธุ์ Acheloos หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซีน ในทางตรงกันข้ามทั้ง 3 จีโนไทป์ สามารถเกิดต้นได้มากในอาหารกระตุ้นการเกิดต้นถึงแม้ว่ามีส่วนผสมของสารละลายโคลชิซีน การทดลองนี้สรุปได้ว่าการเพิ่มสารละลายโคลชิซีนในอาหารที่กระตุ้นการเกิดต้นดีกว่าการเลี้ยงเกสรตัวผู้ในอาหารแบบธรรมดา