บทที่ 4

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ

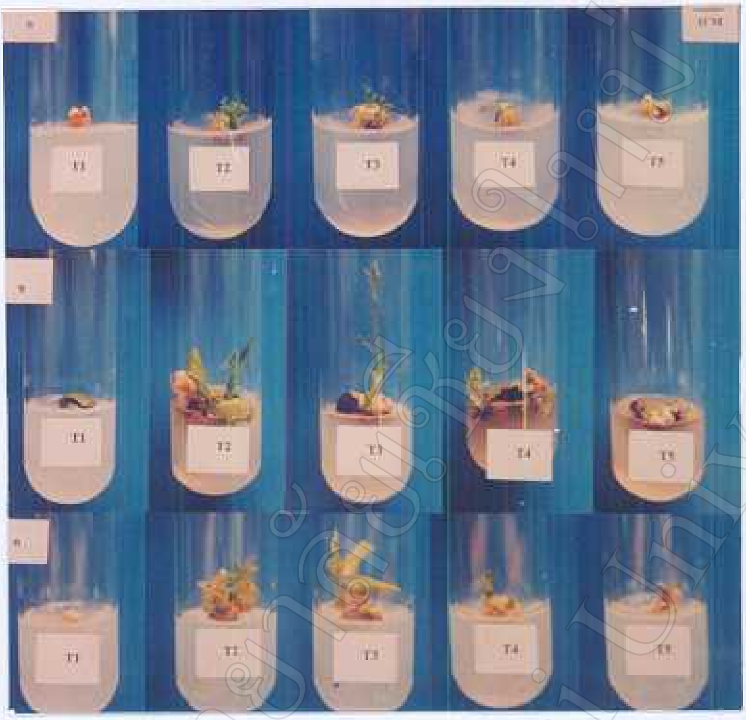
การทดลองที่ 1.1 ผลของอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่ออัญชัน เพื่อชักนำให้เกิดยอด และคัพภะเทียม จากส่วนต่างๆในสภาพปลอดเชื้อ

การทดลองนี้ได้ใช้เนื้อเยื่อจาก 3 ส่วน คือส่วนต้นใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) ส่วนใบเลี้ยง และส่วนของราก จากต้นกล้าอายุ 10 วัน โดยตัดให้มีขนาด 5 มม เลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2 มก/ล **โดยทำแยกเป็น 3 การทดลองย่อย** ได้ผลดังนี้

1.1.1 การเกิดยอด และคัพภะเทียม

จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดยอดและคัพภะเทียมที่มองเห็นด้วยตาเปล่า เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและคัพภะเทียม จำนวนยอดและคะแนนคัพภะเทียมเฉลี่ย แตกต่างกันเมื่อสิ้นสุดการทดลองโดยใช้เวลาเลี้ยง 8 สัปดาห์ (ภาพ 4) ดังแสดงไว้ในตาราง 9

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University



ภาพ 4 ยอดและคัพภะเทียมที่เกิดจากชิ้นส่วนพืชต่างๆที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม BA ระดับต่างกัน เมื่อเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์

T1 = อาหารสูตร MS ที่ไม่มี BA
T2 = อาหารสูตร MS ที่มี BA 0.5 มก/ล
T3 = อาหารสูตร MS ที่มี BA 1.0 มก/ล
T4 = อาหารสูตร MS ที่มี BA 1.5 มก/ล
T5 = อาหารสูตร MS ที่มี BA 2.0 มก/ล
ก) ใช้ชิ้นส่วนจากลำต้นใต้ใบเลี้ยง
ข) ใช้ชิ้นส่วนจากใบเลี้ยง
ค) ใช้ชิ้นส่วนจากราก

ตาราง 9 ผลของ BA ต่อจำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดยอดและคัพภะเทียม จำนวนยอดเฉลี่ยและคัพภะเทียมเฉลี่ย และเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและคัพภะเทียม เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์[1]

ชิ้นส่วน ขนาด 5 มม	ความเข้มข้น BA (มก/ล)	จำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิด		จำนวนเฉลี่ย/หลอด		เปอร์เซ็นต์การเกิด	
		ยอดอ่อน	คัพภะเทียม	ยอดอ่อน (ยอด)	คัพภะเทียม (คะแนน)	ยอดอ่อน	คัพภะเทียม
ส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยง	0	45.16 c	-	1.50 b	-	60	-
	0.5	21.00 a	-	3.00 a	-	100	-
	1.0	20.80 a	-	3.60 a	-	100	-
	1.5	27.00 b	-	2.10 b	-	100	-
	2.0	28.80 b	-	1.80 b	-	100	-
LSD $_{p=0.05}$		4.71		0.85			
ส่วนใบเลี้ยง	0	-	-	-	-	-	-
	0.5	18.22a	22.20a	1.33ab	3.50a	50	90
	1.0	19.10a	17.10a	1.50a	3.70a	80	100
	1.5	21.22b	32.40b	1.11ab	3.00ab	50	90
	2.0	22.12b	36.60b	1.00b	2.30b	40	80
LSD $_{p=0.05}$		1.49	6.14	0.48	1.05		
ส่วนของราก	0	17.90c	-	1.10b	-	50	-
	0.5	12.20a	20.88a	2.70a	2.00a	100	90
	1.0	11.70a	21.10a	2.30a	2.10a	100	90
	1.5	13.40ab	22.12b	1.20b	1.25b	100	80
	2.0	14.20b	22.28b	1.10b	1.14b	100	70
LSD $_{p=0.05}$		1.74	0.93	0.91	0.44		

abc อักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบตัวเลขในสดมภ์เดียวกัน

[1] ชิ้นส่วนพืชแต่ละชนิดทำการทดลองแยกกัน

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

1.1.1.1 จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดยอดและคัพภะเทียม

จากตาราง 9 พบว่าเมื่อเลี้ยงส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยง บนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้นต่างๆ ชิ้นส่วนพืชมีจำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดยอดต่างกันคือ อาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มก/ล มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับผลที่ได้รับเมื่อใช้ความเข้มข้น 1.5 และ 2 มก/ล โดยมีจำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดยอด 21.00 กับ 20.80 และ 27.30 กับ 28.80 วันตามลำดับ และมีความแตกต่างจากผลที่ได้จากอาหารที่ไม่เติม BA ซึ่งมีจำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดยอดนานที่สุดคือ 45.16 วัน และพบว่าชิ้นส่วนจากต้นใต้ใบเลี้ยงไม่สามารถเกิดคัพภะเทียมได้

สำหรับชิ้นส่วนของใบเลี้ยง พบว่า ชิ้นส่วนพืชที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มก/ล มีจำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดยอดและคัพภะเทียมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับผลจากความเข้มข้น 1.5 และ 2 มก/ล โดยมีจำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดยอดคือ 18.22 กับ 19.10 และ 21.22 กับ 22.12 วันตามลำดับ และมีจำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดคัพภะเทียมคือ 22.20 กับ 17.40 และ 32.40 กับ 36.60 วันตามลำดับ ส่วนชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม BA ไม่สามารถเกิดยอดและคัพภะเทียมได้ แต่ชิ้นส่วนกลายเป็นสีน้ำตาลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ชิ้นส่วนของราก เลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มก/ล มีจำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดยอด 12.20 และ 11.70 วันตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับที่ได้รับจากความเข้มข้น 1.5 มก/ล คือ 13.40 วัน แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับผลจากความเข้มข้น 2 มก/ล และอาหารที่ไม่เติม BA โดยมีจำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดยอดคือ 14.20 และ 17.90 วันตามลำดับ ส่วนการเกิดคัพภะเทียม พบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มก/ล มีจำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดคัพภะเทียมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับที่ความเข้มข้น 1.5 และ 2 มก/ล โดยมีจำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดคัพภะเทียมคือ 20.88 กับ 21.10 และ 22.12 กับ 22.28 วันตามลำดับ อาหารที่ไม่เติม BA ไม่สามารถเกิดคัพภะเทียมได้

1.1.1.2 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและคัพภะเทียม

อาหารที่เติม BA ทุกความเข้มข้นสามารถทำให้ชิ้นส่วนต้นใต้ใบเลี้ยงเกิดยอดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอาหารที่ไม่เติม BA เกิดยอดได้เพียง 60 เปอร์เซ็นต์ และชิ้นส่วนที่เลี้ยงทุกกรรมวิธีไม่สามารถเกิดคัพภะเทียม

สำหรับชิ้นส่วนของใบเลี้ยง ขนาด 5 มม พบว่าชิ้นส่วนพืชที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 1 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากที่สุด รองลงมาคือ 0.5 กับ 1.5 และ 2 มก/ล โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเป็น 80, 50, 50 และ 40 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่ได้เติม BA ไม่สามารถเกิดยอดและคัพภะเทียมได้เลย เปอร์เซ็นต์การเกิดคัพภะเทียมเกิดมากน้อยในทำนองเดียวกันในช่วง 80-100 เปอร์เซ็นต์

ชิ้นส่วนของราก ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ทุกความเข้มข้นชิ้นส่วนพืชสามารถเกิดยอดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่อาหารไม่เติม BA สามารถทำให้เกิดยอดได้เพียง 50 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการเกิดคัพภะเทียมจากชิ้นส่วนราก พบว่าอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มก/ล สามารถช่วยให้เกิดคัพภะเทียมได้ 90 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับผลจากความเข้มข้น 0.5 มก/ล รองลงมาคือ 1.5 และ 2 มก/ล ตามลำดับ โดยเกิดได้ 80 และ 70 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนอาหารที่ไม่เติม BA ไม่สามารถเกิดคัพภะเทียมได้

1.1.1.3 จำนวนยอดและคะแนนคัพภะเทียม

จำนวนยอดเฉลี่ยและคะแนนคัพภะเทียมเฉลี่ยจากชิ้นส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยง ที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มก/ล มีจำนวนยอดเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับที่ได้รับจากความเข้มข้น 1.5, 2 มก/ล และอาหารที่ไม่เติม BA โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย คือ 3.00, 3.60, 2.10, 1.80 และ 1.50 ยอดตามลำดับ ในขณะที่ชิ้นส่วนพืชที่เลี้ยงบนอาหารทุกกรรมวิธีไม่สามารถเกิดคัพภะเทียมได้

จำนวนเฉลี่ยของยอดจากชิ้นส่วนใบเลี้ยงที่ได้จากอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มก/ล ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้น 0.5 และ 1.5 มก/ล แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับผลที่ได้รับจาก BA ความเข้มข้น 2 มก/ล แต่ผลที่ได้รับจากความเข้มข้นสูงสุดนี้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับผลจากความเข้มข้น 0.5 และ 1.5 มก/ล สำหรับคะแนนคัพภะเทียมเฉลี่ยจากอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5-1.5 มก/ล ซึ่งให้คัพภะเทียมเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนที่เลี้ยง 3.00-3.70 คะแนน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มนี้ และคัพภะเทียมจากการใช้ BA 1.5 มก/ล ก็ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับผลจาก BA 2 มก/ล ส่วนชิ้นส่วนพืชที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม BA ไม่สามารถเกิดยอดและคัพภะเทียมได้

สำหรับชิ้นส่วนรากที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 0.5 และ 1 มก/ล มีจำนวนยอดเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับผลจาก BA ความเข้มข้น 1.5, 2 มก/ล และอาหารที่ไม่เติม BA โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยคือ 2.70 กับ 2.30 และ 1.20, 1.10 และ 1.10 ยอดตามลำดับ สำหรับคะแนนคัพภะเทียมเฉลี่ย พบว่าชิ้นส่วนพืชที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 0.5 และ

1 มก/ล มีคะแนนคัพภะเทียมเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับที่ได้รับจากความเข้มข้น 1.5 และ 2 มก/ล โดยมีคะแนนคัพภะเฉลี่ยคือ 2.00 กับ 2.10 และ 1.25 กับ 1.14 คะแนนตามลำดับ ในขณะที่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม BA ไม่สามารถเกิดคัพภะเทียมได้

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของชิ้นส่วนจากลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยงที่นำมาเลี้ยงบนอาหารเพื่อดูจุดกำเนิด และการพัฒนาของตายอด พบว่า **การตัดเนื้อเยื่อตามยาวและตามขวางของเนื้อเยื่อ**ที่เริ่มเลี้ยงบนอาหารประกอบด้วยชั้นของ เอพิเดอร์มิส (epidermis), คอร์เท็กซ์ (cortex) และมัดท่อลำเลียง (vascular bundle) (ภาพ 5)

วันที่ 3 หลังการเลี้ยงเริ่มสังเกตเห็นเซลล์ในชั้นคอร์เท็กซ์มีการแบ่งตัว (ภาพ 6) เซลล์ที่มีการตื่นตัวจะมีนิวเคลียสขนาดใหญ่ นิวเคลียสติดสีเข้ม วันที่ 6 เริ่มสังเกตเห็นกลุ่มเซลล์ซึ่งติดสีเข้มบริเวณคอร์เท็กซ์มีเซลล์ตื่นตัวแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้น (ภาพ 7) ส่วนวันที่ 9 หลังจากเลี้ยงพบว่าในชั้นคอร์เท็กซ์มีการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นทำให้เห็นกลุ่มเซลล์มีการแบ่งเพิ่มมากขึ้น (ภาพ 8) จนถึงวันที่ 15 ซึ่งเซลล์เรียงตัวเป็นแนวชัดเจนแสดงการเริ่มเกิดตายอด (bud differentiation) (ภาพ 9 ข) เมื่อกลุ่มเซลล์พัฒนาจนถึงวันที่ 18 (ภาพ 10) มองเห็นชั้นเอพิเดอร์มิสชัดขึ้น เริ่มมีการพัฒนาของโพรแคมเบียม (procambium) เมื่อผ่านไป 21 วัน สังเกตเห็นการพัฒนาของแนวมัดท่อลำเลียง (vascular strand) ชัดเจนขึ้น และเห็นบางส่วนของใบแรกเกิด (leaf primodia) และส่วนปลาย (apex) ชัดเจนขึ้น (ภาพ 11)

จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของชิ้นส่วนจากใบเลี้ยงที่นำมาเลี้ยงเพื่อดูจุดกำเนิด และการพัฒนาของยอดและคัพภะเทียม พบว่า **การตัดเนื้อเยื่อตามยาวและตัดขวางของเนื้อเยื่อ**ที่เริ่มเลี้ยงบนอาหารประกอบด้วยเซลล์ชั้น เอพิเดอร์มิส มีโซฟิลล์ (mesophyll) ซึ่งประกอบด้วยเซลล์สปองจี (spongy cell) และ เซลล์พาลิเซด (palisade cell) และ มัดท่อลำเลียง (ภาพ 12)

วันที่ 3 หลังจากเริ่มเลี้ยงเริ่มมีการแบ่งเซลล์ให้เห็นในชั้นบริเวณเซลล์สปองจี (ภาพ 13) วันที่ 6 พบมีการแบ่งเซลล์มากขึ้น และเซลล์เริ่มแน่นขึ้น ติดสีเข้มขึ้น เซลล์มีการแบ่งตัวมากขึ้นในบริเวณเนื้อเยื่อพาเรงคิมา (ภาพ 14) ต่อมาวันที่ 9 เซลล์ในเนื้อเยื่อพาเรงคิมามีการแบ่งตัวมีการดันตัวนูนขึ้นจากชั้นเอพิเดอร์มิส (ภาพ 15) หลังจากนั้นวันที่ 12 เซลล์ที่แบ่งตัวเริ่มมีการพัฒนามากขึ้น และเริ่มเรียงกันเป็นแนวเห็นการเริ่มเกิดตายอด และเห็นชัดขึ้นในวันที่ 15 (ภาพ 16) ต่อมาวันที่ 18 จุดเริ่มต้นของการเกิดยอด มองเห็นชัดเจนขึ้น และสังเกตเห็นการพัฒนาของโพรแคม

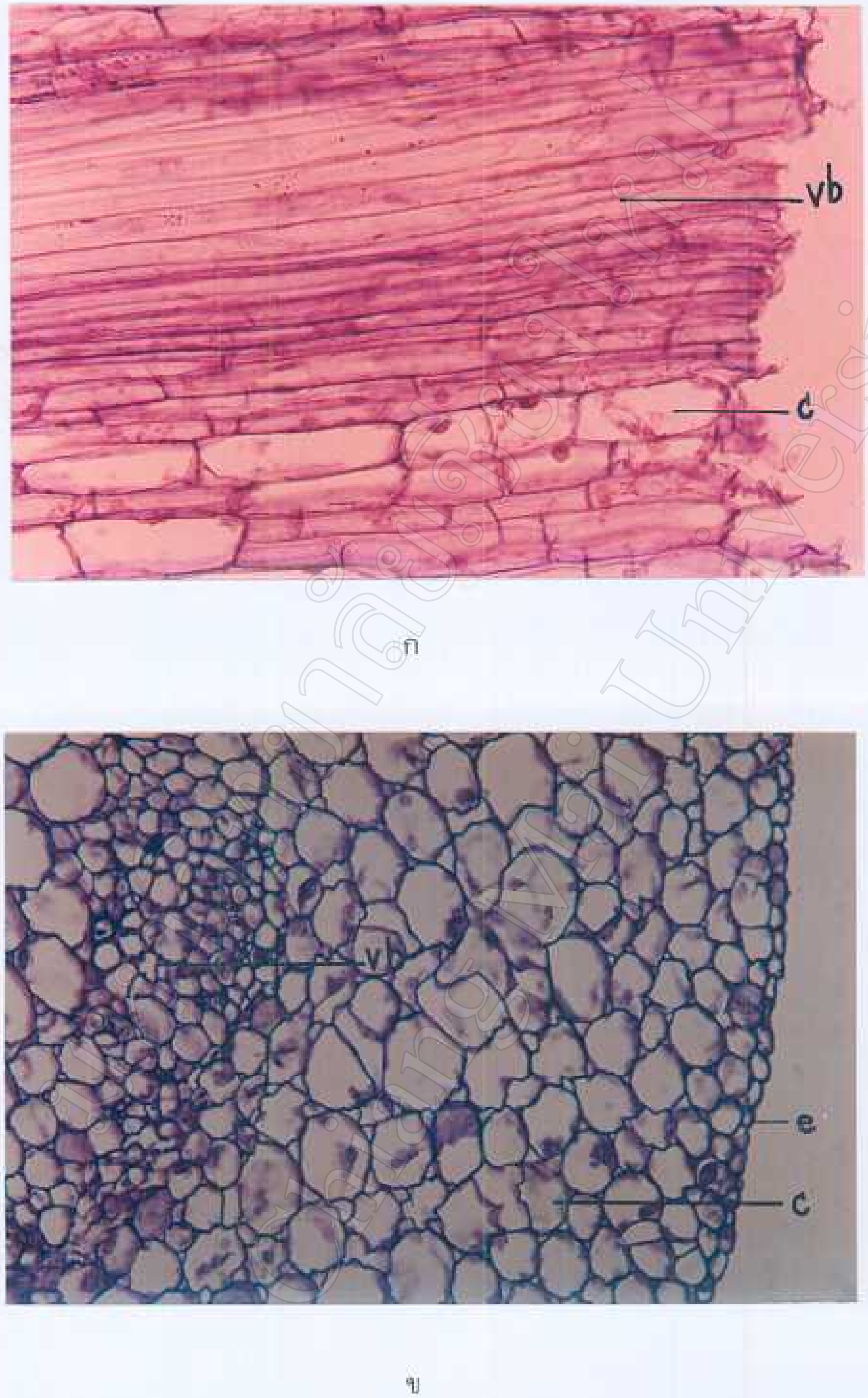
เบียม (ภาพ 17) ต่อมาเมื่อ 21 วัน มองเห็นเนื้อเยื่อเจริญของปลายยอด (shoot apex) และ ใบแรกเกิด (ภาพ 18)

การพัฒนาของชิ้นส่วนที่เลี้ยงยังมีการพัฒนาอีกแบบหนึ่งซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่าหลังเลี้ยง 18 วัน โดยสังเกตเห็นโครงสร้างเป็นเม็ดกลมสีเขียวอ่อนและใสเกิดขึ้นตามผิวของใบเลี้ยงจึงมีลักษณะคล้ายคัพภะเทียมในระยะ globular stage เมื่อทำการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาจึงพบว่า หลังจากการเลี้ยงได้ 3 วัน เซลล์มีการแบ่งตัวในชั้นสปองจี (ภาพ 19) หลังจากเลี้ยง 9 วันมีกลุ่มเซลล์ตื่นตัวมากขึ้น เซลล์ที่แบ่งใหม่ทำให้เกิดเป็นคัพภะเทียมในระยะ early globular stage และ late globular stage และกลุ่มเซลล์นี้มีขอบเขตแยกออกจากเนื้อเยื่อแม่อย่างเห็นได้ชัด ซึ่งมีเฉพาะของการเกิดคัพภะเทียม (ภาพ 20) ต่อมาหลังจากเลี้ยง 15 วัน (ภาพ 21) กลุ่มเซลล์ตื่นตัวพัฒนาเป็น heart shape และ torpedo shape ซึ่งพบหลังจากการเลี้ยง 18 วัน (ภาพ 22) โครงสร้างดังกล่าวเกิดขึ้นจำนวนหลายอันแต่ละอันมีขอบเขตแยกจากโครงสร้างอื่นอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งต่อมาสามารถเกิดยอดอ่อนจากโครงสร้างเหล่านี้ได้

จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของชิ้นส่วนรากที่นำมาเลี้ยงเพื่อดูจุดกำเนิด และการพัฒนาของยอดและคัพภะเทียม พบว่า **การตัดเนื้อเยื่อตามยาวและตามขวางของเนื้อเยื่อที่เริ่มเลี้ยงบน**อาหารประกอบด้วยเซลล์ชั้น เอพิเดอร์มิส, คอร์เท็กซ์ และ มัดท่อลำเลียง (ภาพ 23)

วันที่ 3 เซลล์มีการแบ่งตัวให้เห็นในส่วนของเนื้อเยื่อชั้นพาเรงคิมาที่อยู่ใกล้รากฝอย (ภาพ 24) จากนั้นวันที่ 6 เซลล์มีการพัฒนามากขึ้นและเซลล์ตื่นตัวเริ่มมีการขยายออกในเนื้อเยื่อชั้นคอร์เท็กซ์พร้อมที่มีการเรียงตัวของเซลล์เป็นแนวเห็นได้ชัดจนถึงวันที่ 9 มองเห็นการเริ่มเกิดยอดได้ (ภาพ 25 และ 26) เมื่อผ่านไป 12 วัน เริ่มมีจุดกำเนิดที่เห็นเป็นเซลล์ที่ตื่นตัว และเริ่มมีการพัฒนาจุดกำเนิดของยอดมากขึ้น และเริ่มเกิด โพรแคมเบียม (ภาพ 27) จากนั้นเมื่อผ่านไป 15 วัน จุดกำเนิดยอดมีการพัฒนาเป็นยอดที่สมบูรณ์ สามารถเห็นปลายยอด และเห็นมัดท่อลำเลียงชัดเจน (ภาพ 28)

นอกจากการเกิดยอดแล้วรากก็สามารถเกิดคัพภะเทียมได้ซึ่งสังเกตมองเห็นด้วยตาเปล่าได้หลังจากเลี้ยงนาน 15 วัน คัพภะเทียมมีขอบเขตชัดเจนแยกจากเนื้อเยื่อแม่ (ภาพ 29) และบางจุดเกิดใบแรกเกิดแล้ว



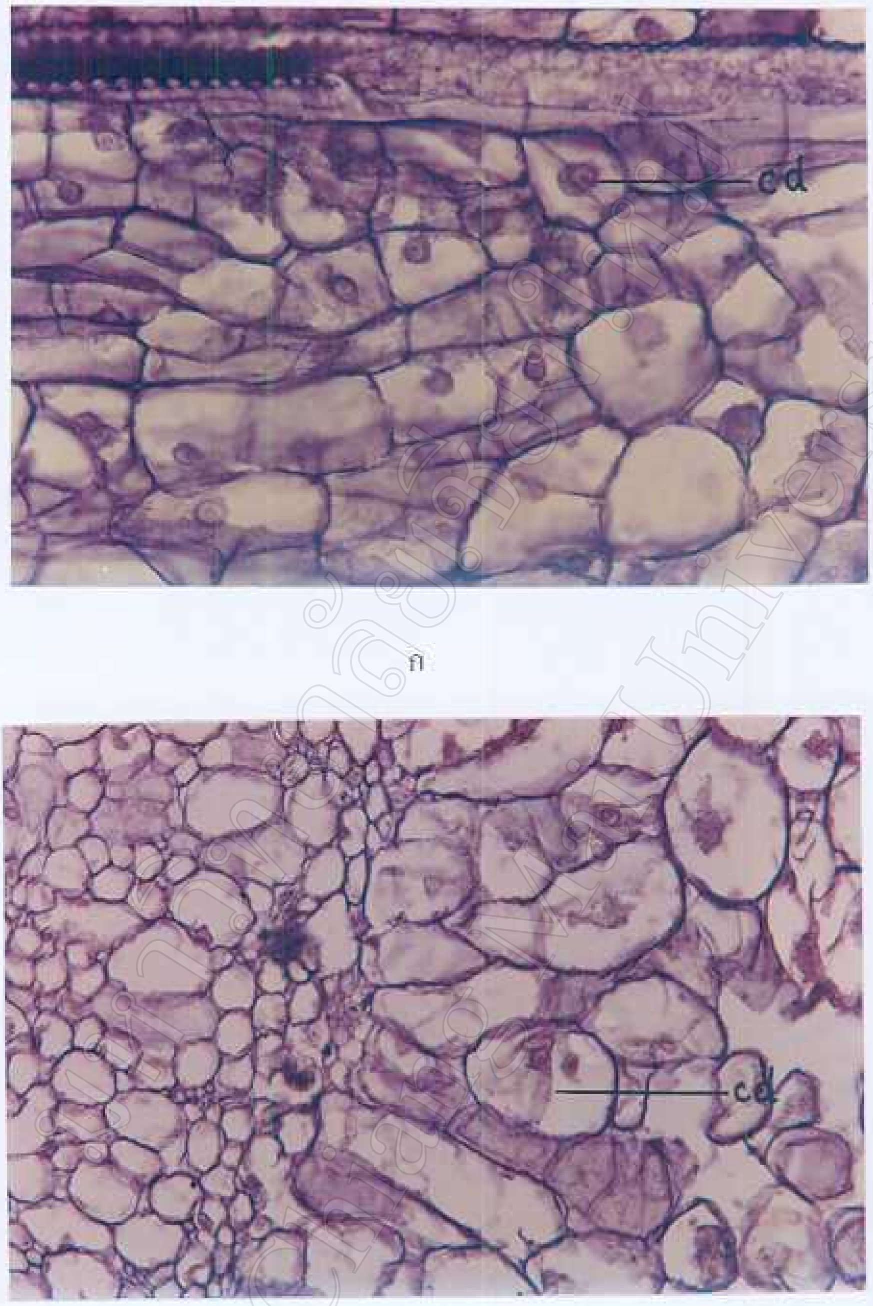
ภาพ 5 ภาพตัดตามยาวและตัดตามขวางของเนื้อเยื่อส่วนต้นใต้ใบเลี้ยงเมื่อเริ่มเลี้ยง

ก) ภาพตัดตามยาว (235x)

ข) ภาพตัดตามขวาง (235x)

e = epidermis c = cortex

vb = vascular bundle



ก

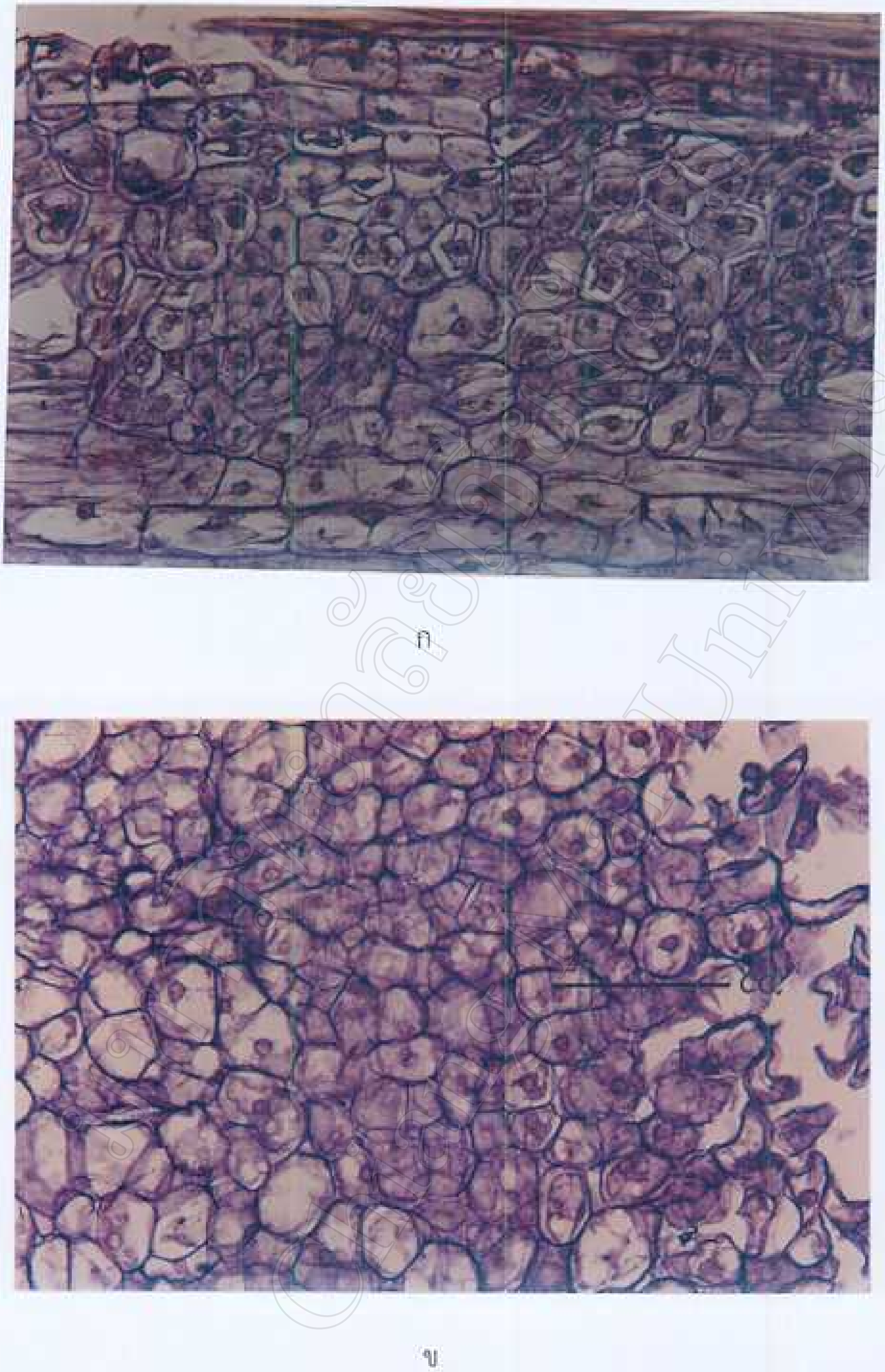
ข

ภาพ 6 ภาพตัดตามยาวและตัดตามขวางแสดงให้เห็นการแบ่งตัวของเซลล์ในชั้น คอร์เท็กซ์เมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต้นใต้ใบเลี้ยงนาน 3 วัน

ก) ภาพตัดตามยาว (471x)

ข) ภาพตัดขวาง (471x)

cd = cell division

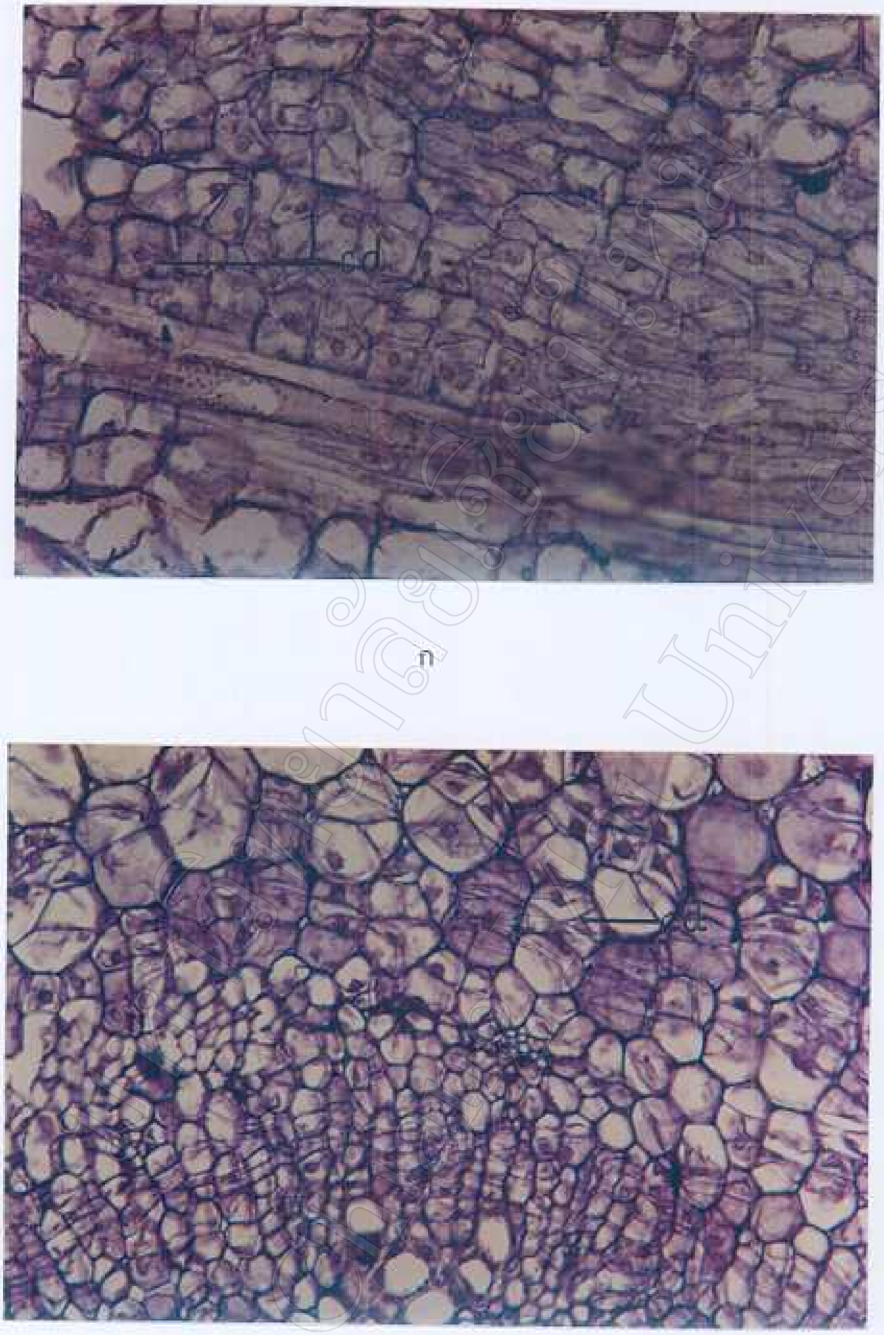


ภาพ 7 ภาพตัดตามยาวและภาพตัดตามขวางแสดงการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต้นใต้ใบเลี้ยงนาน 6 วัน

ก) ภาพตัดตามยาว (235x)

ข) ภาพตัดตามขวาง (235x)

cd = cell division



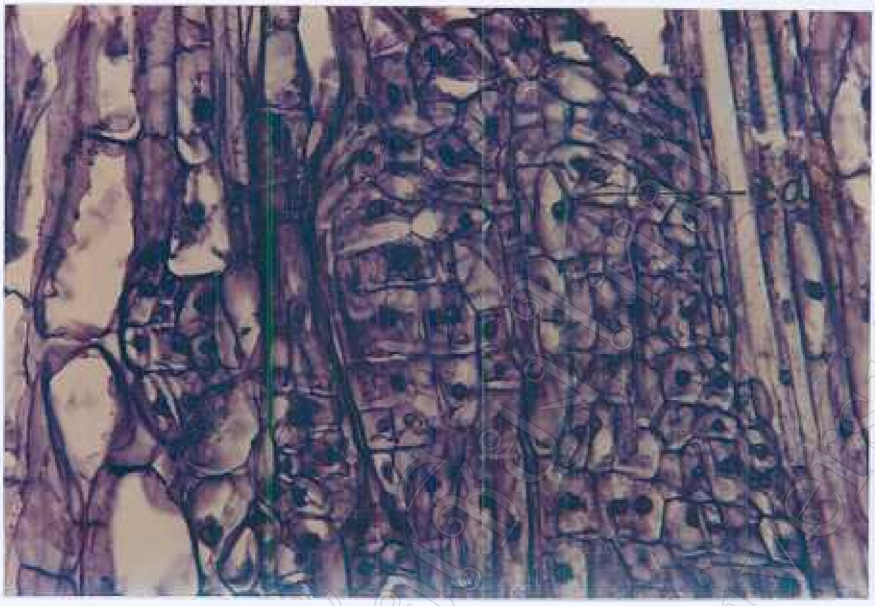
ข

ภาพ 8 ภาพตัดตามยาวและตัดตามขวางแสดงการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อนาน 9 วัน

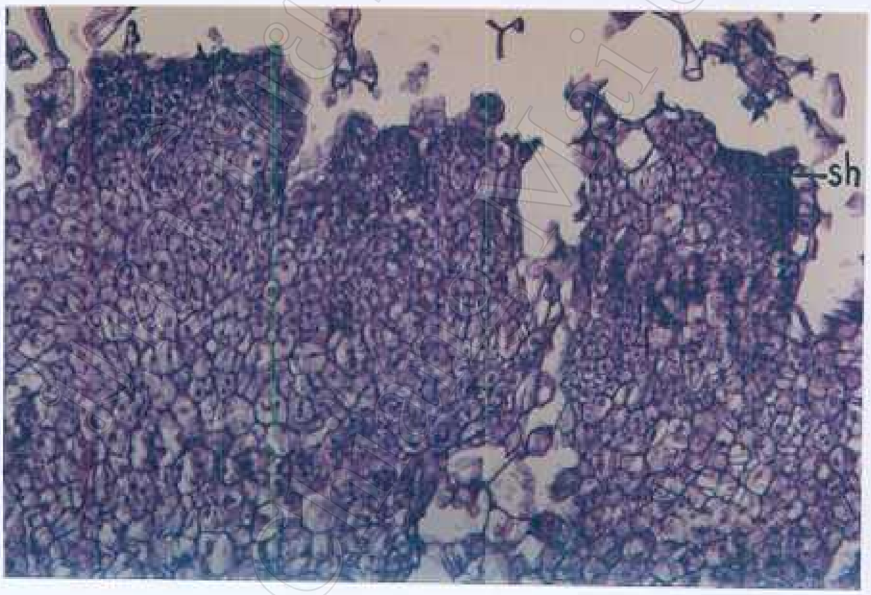
ก) ภาพตัดตามยาว (235x)

ข) ภาพตัดตามขวาง (235x)

cd = cell division



ก



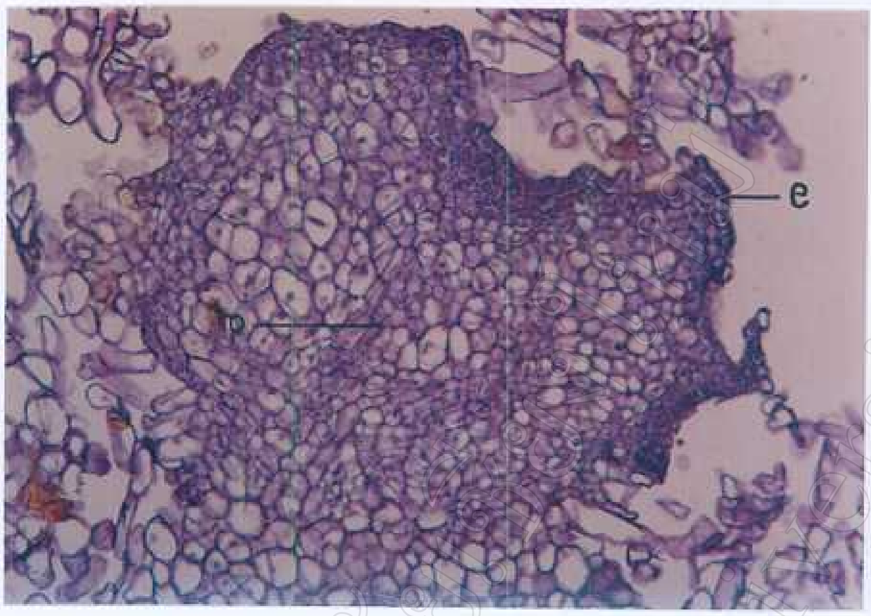
ข

ภาพ 9 ภาพตัดตามยาวและตัดตามขวางแสดงกลุ่มเซลล์ติ้นตัวเรียงเป็นแนวชัดเจนแสดงการเกิด เมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต้นใต้ใบเลี้ยงนาน 15 วัน

ก) ภาพตัดตามยาว (235x)

ข) ภาพตัดตามขวาง (117x)

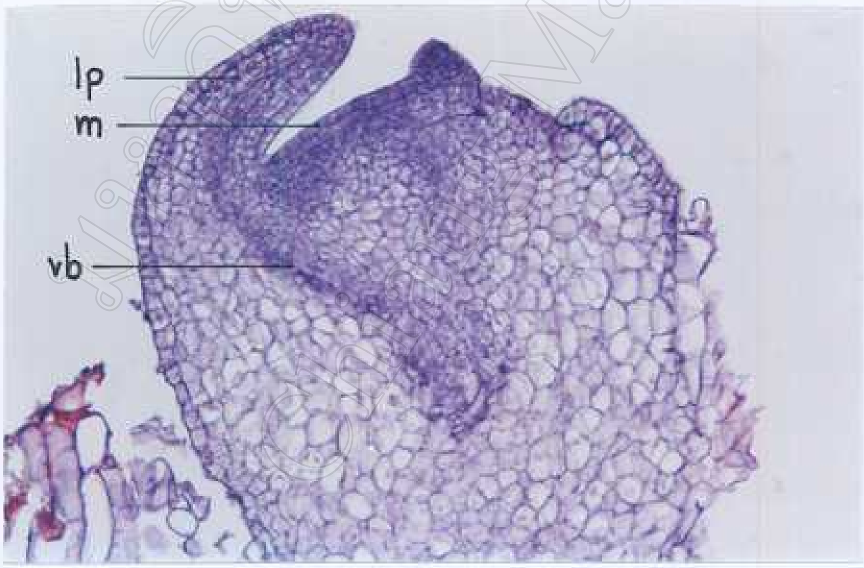
sh = shoot bud



ภาพ 10 ภาพตัดตามยาวแสดงการเกิดตายอด และการพัฒนาของโพรเคียมเบียม เมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต้นใต้ใบเลี้ยงนาน 18 วัน (235x)

p = procambium

e = epidermis

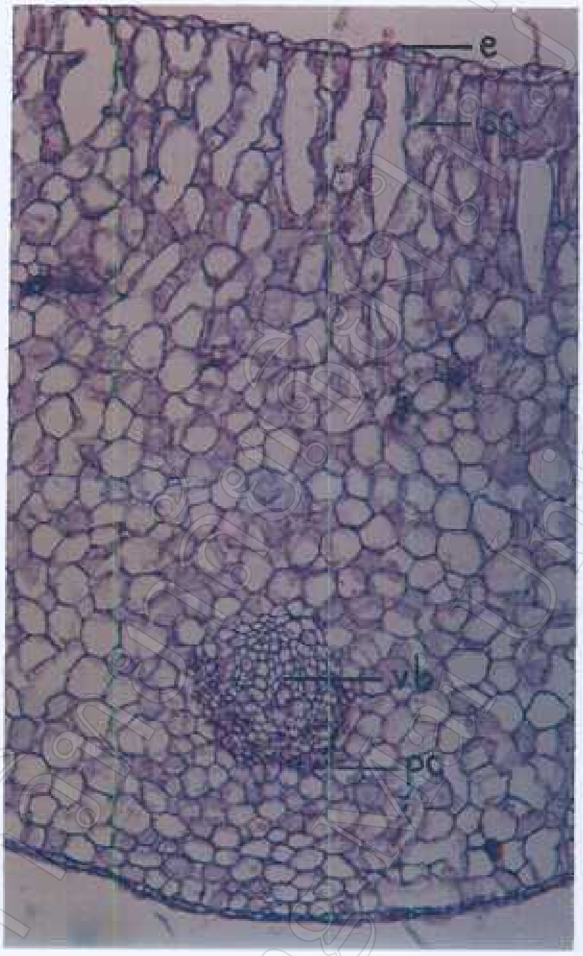


ภาพ 11 ภาพตัดตามยาวแสดงการพัฒนาของตายอดที่สมบูรณ์เมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต้นใต้ใบเลี้ยงนาน 21 วัน (235x)

m = meristem

lp = leaf primordia

vb = vascularbundle



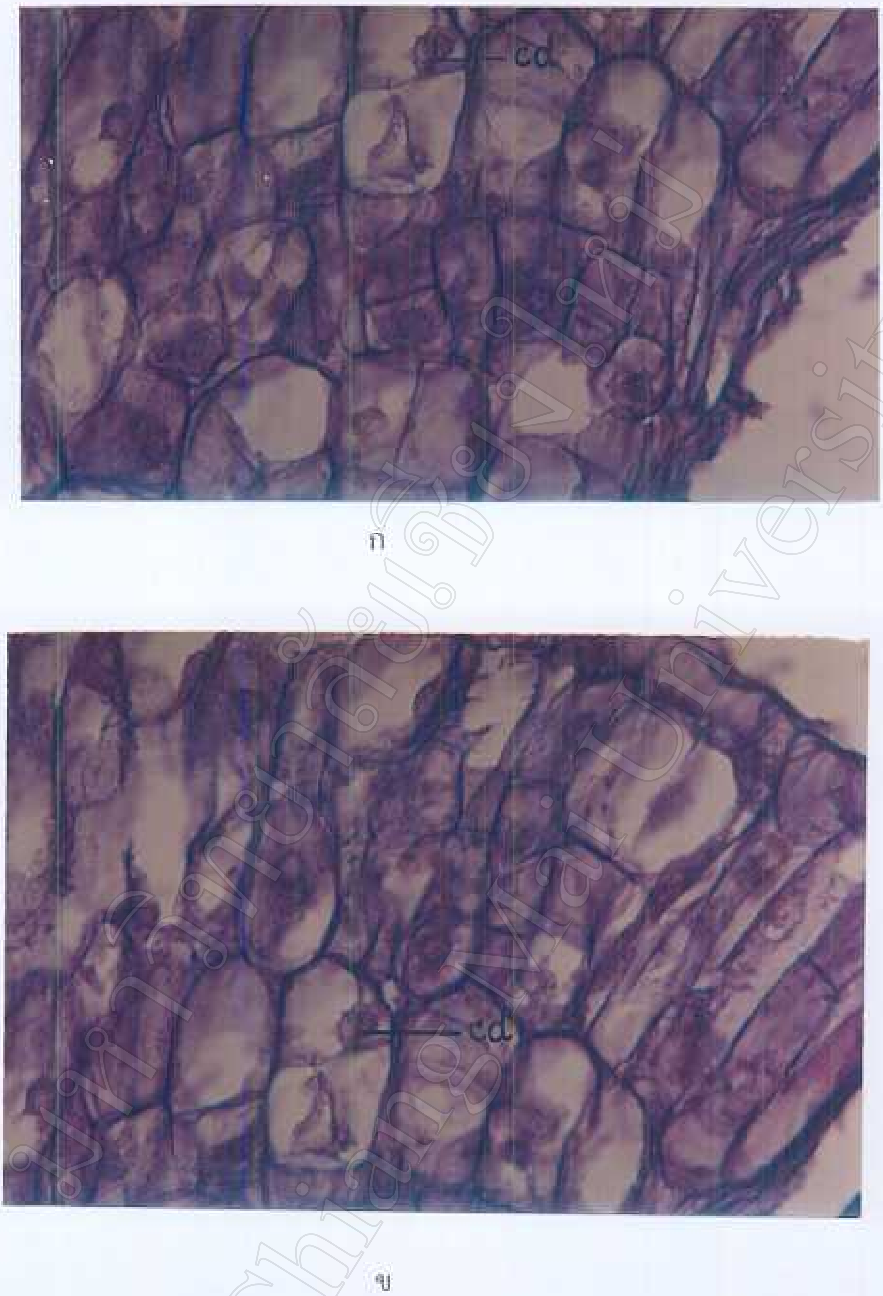
ภาพ 12 ภาพตัดตามขวางของเนื้อเยื่อส่วนใบเลี้ยงเมื่อเริ่มเลี้ยง

e = epidermis

pc = palisade cell

sc = spongy cell

vb = vascularbundle

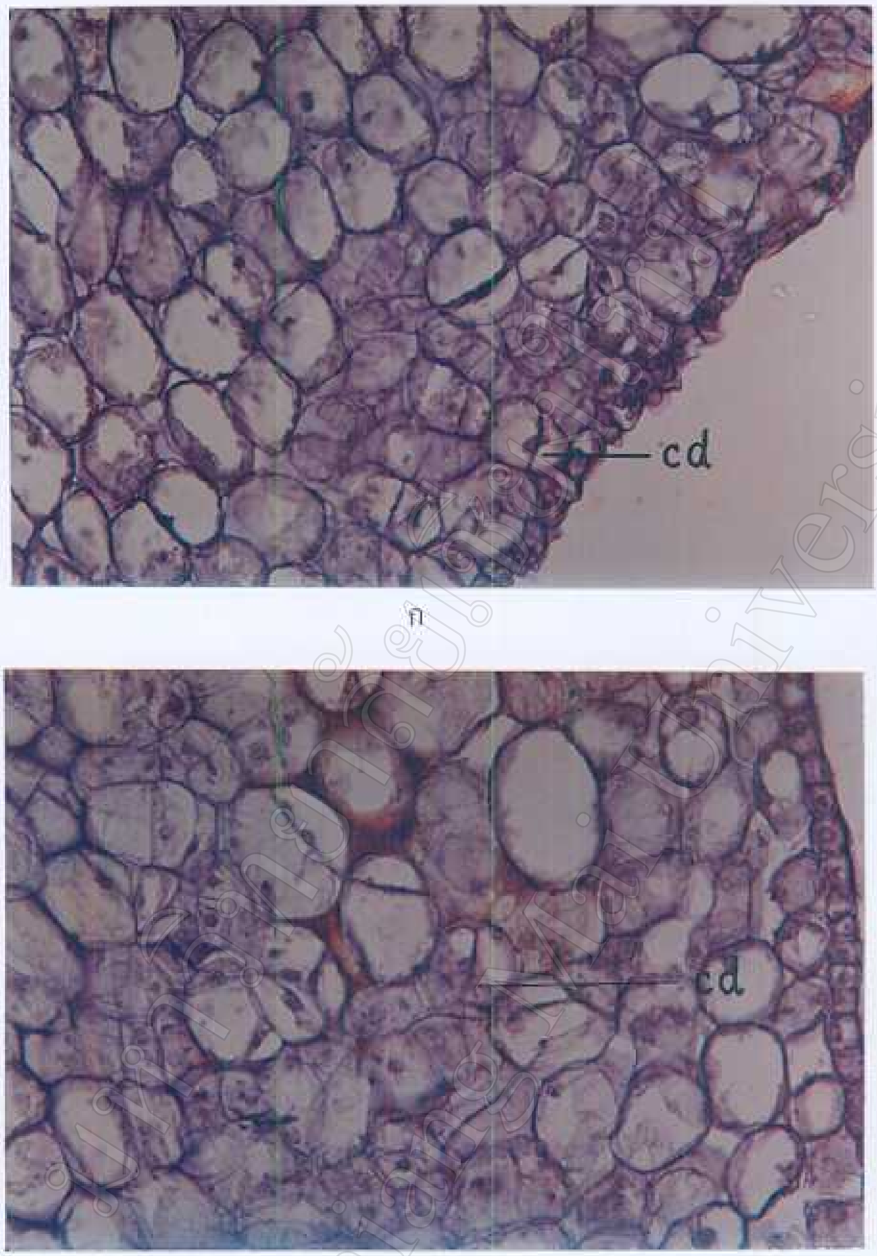


ภาพ 13 ภาพตัดตามยาวและตัดตามขวางเมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อจากใบเลี้ยงนาน 3 วัน แสดงการเริ่มแบ่งเซลล์

ก) ภาพตัดตามยาว (471x)

ข) ภาพตัดตามขวาง (471x)

cd = cell devision



ก

ข

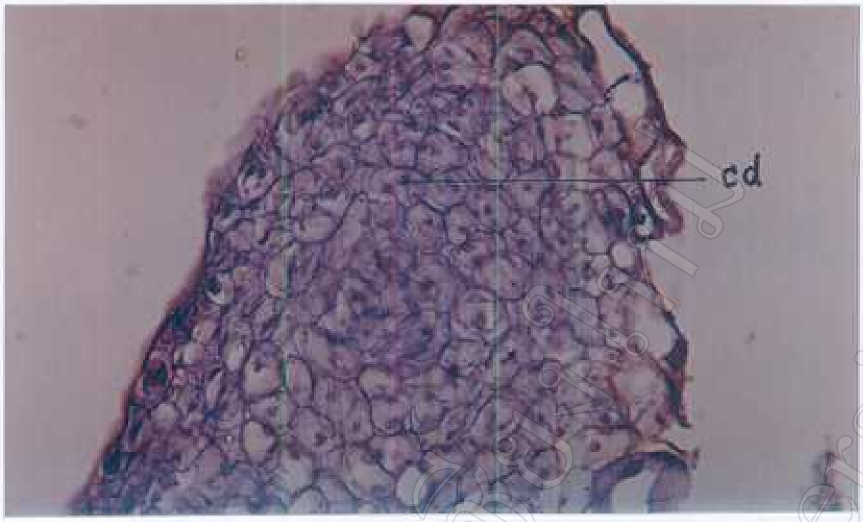
ภาพ 14 ภาพตัดตามยาวและตัดตามขวางเมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใบเลี้ยงนาน 6 วัน แสดงการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้น

ก) ภาพตัดตามยาว (235x)

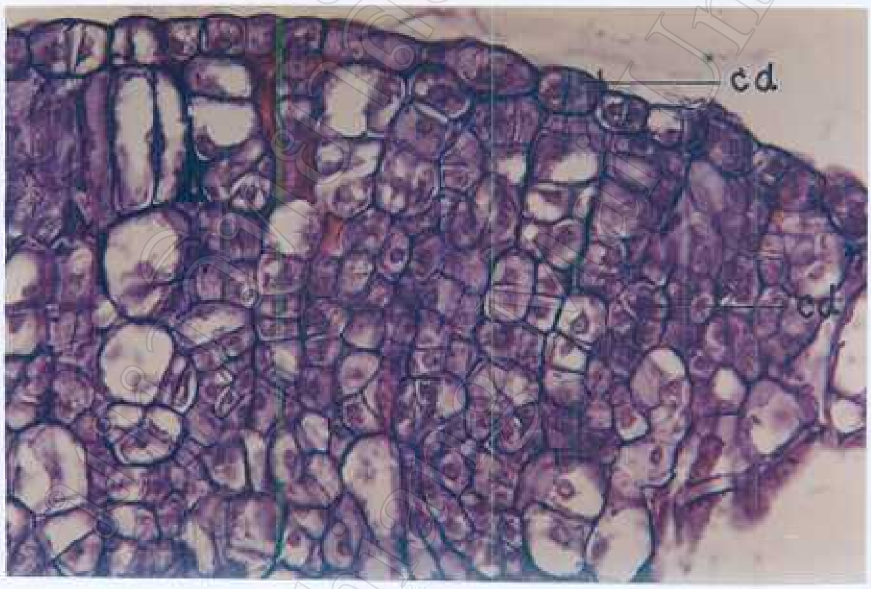
ข) ภาพตัดตามขวาง (235x)

cd = cell division

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright by Chiang Mai University



ก



ข

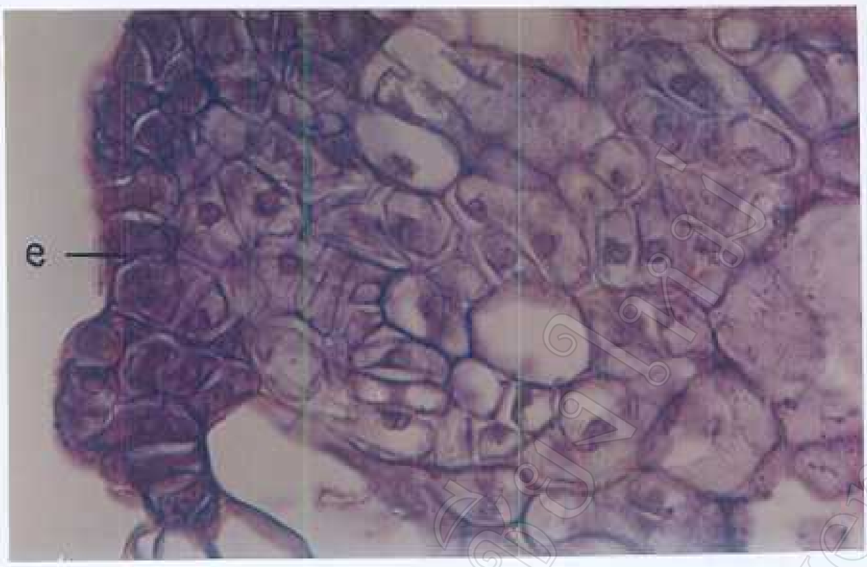
ภาพ 15 ภาพตัดตามยาวและตัดตามขวางเมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใบเลี้ยงนาน 9 วัน

ก) ภาพตัดตามยาว (235x)

ข) ภาพตัดตามขวาง (235x)

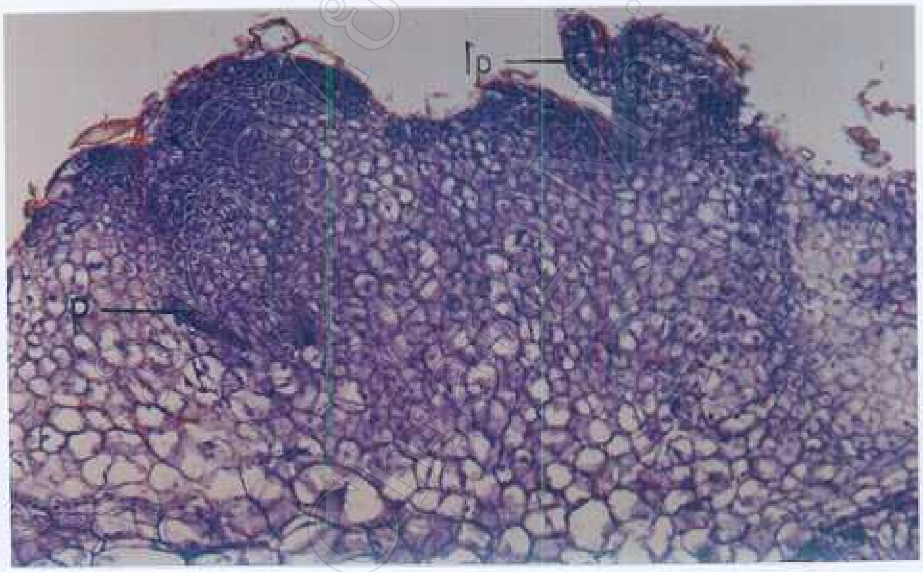
cd = cell division

Chulalongkorn University



ภาพ 16 ภาพตัดตามขวางแสดงกลุ่มเซลล์ตื่นตัว และพัฒนาเป็นจุดกำเนิดยอด บริเวณผิวเมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใบเลี้ยงนาน 15 วัน (471x)

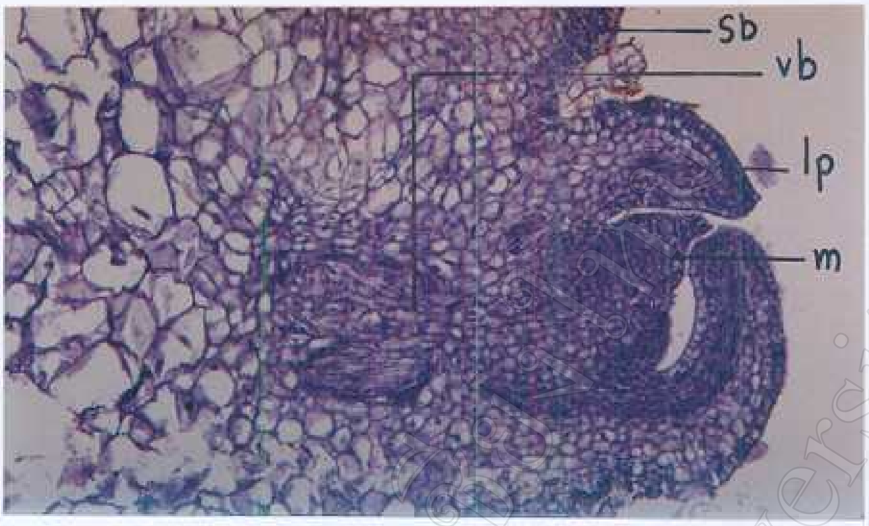
e = epidermis



ภาพ 17 ภาพตัดตามขวางแสดงการพัฒนาของยอดเพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใบเลี้ยงนาน 18 วัน (235x)

p = procambium

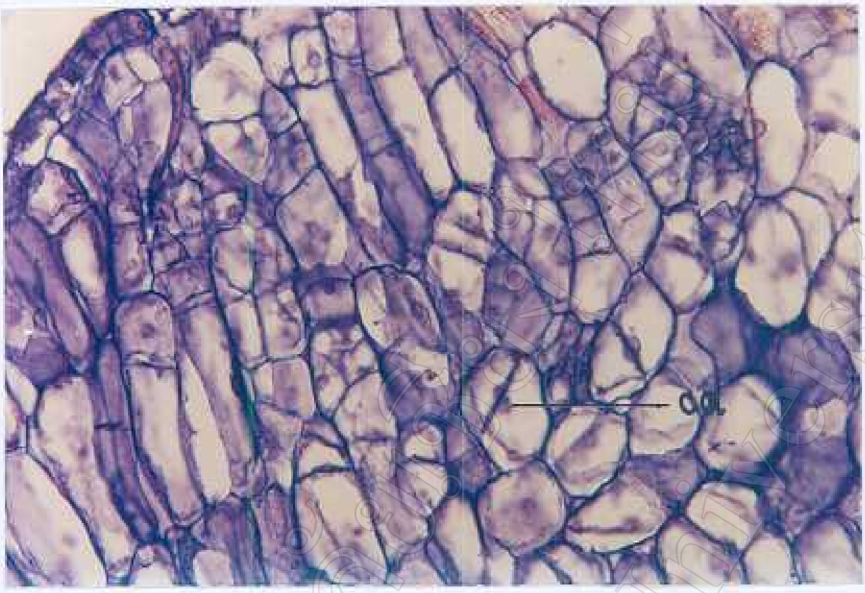
lp = leaf primodia



ภาพ 18 ภาพตัดขวางแสดงการพัฒนาของตายอดตามยาวที่สมบูรณ์ เมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใบเลี้ยงนาน 21 วัน (235x)

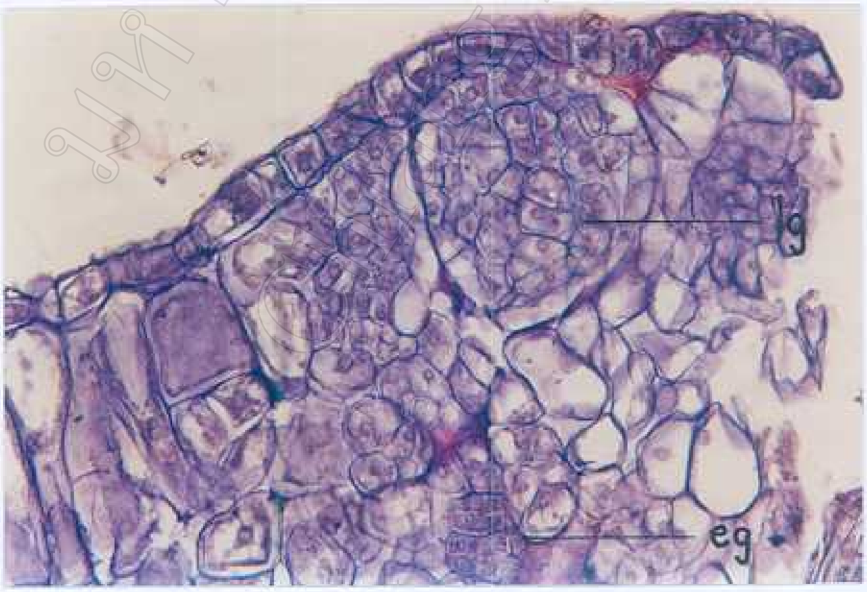
sb = shoot bud
lp = leaf primodia
m = meristem
vb = vascular bundle

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

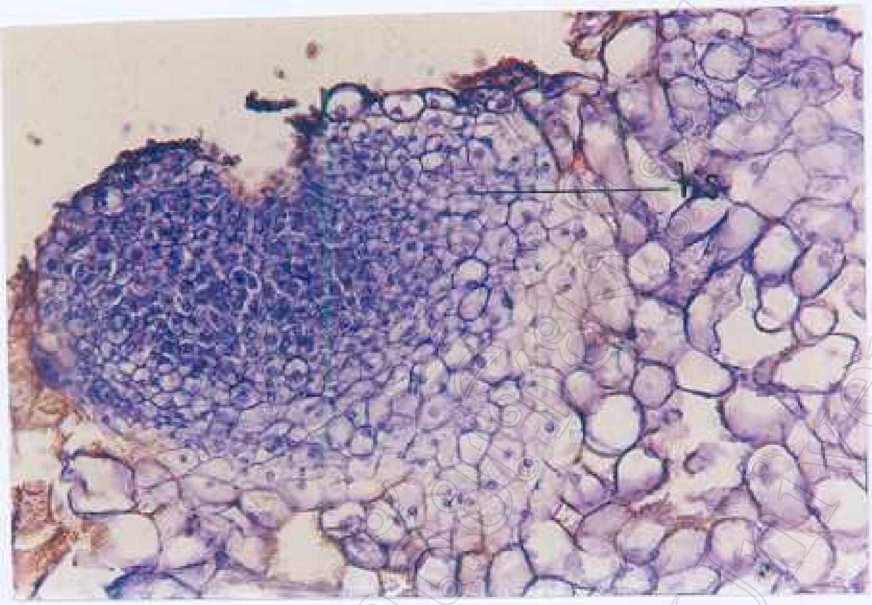


ภาพ 19 ภาพตัดตามยาวเมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อใบเลี้ยง 3 วัน แสดงการเริ่มแบ่งเซลล์ (235x)

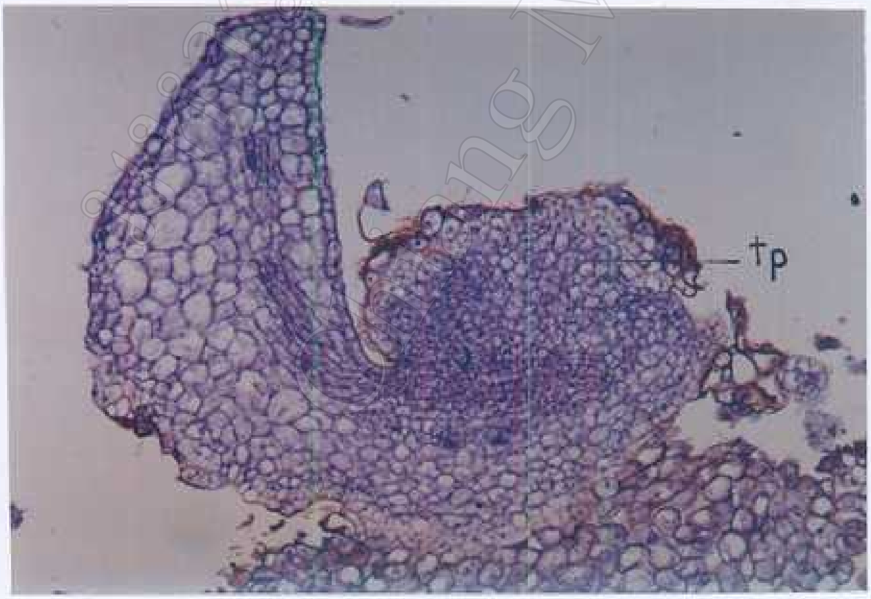
cd = cell division



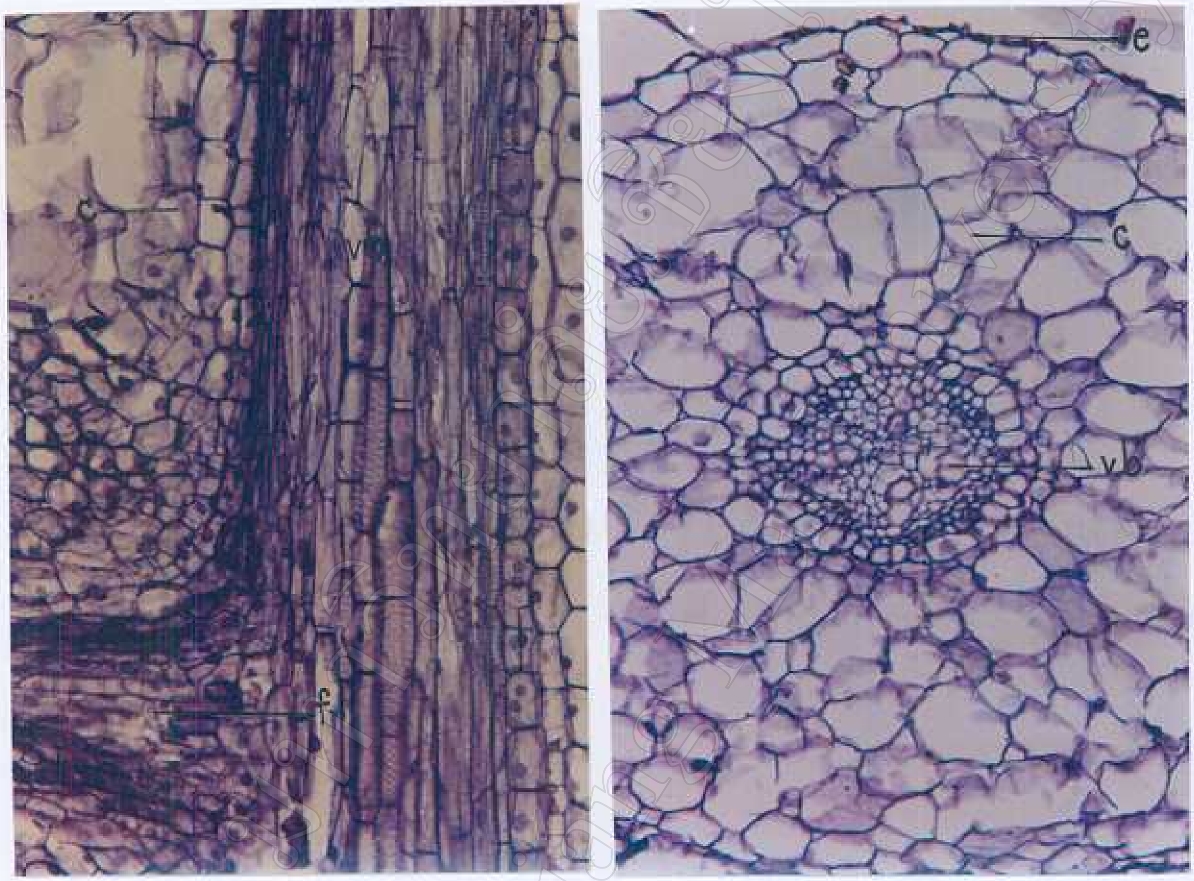
ภาพ 20 ภาพตัดตามยาวของเนื้อเยื่อใบเลี้ยงเมื่อเลี้ยงได้ 9 วัน แสดงเซลล์ตื่นตัวเกิดเป็นคัพภะเทียมในระยะ early globular stage (eg) และ late globular stage (lg) (235x)



ภาพ 21 ภาพตัดตามยาวของเนื้อเยื่อใบเลี้ยงเมื่อเลี้ยงได้ 15 วัน แสดงการเกิดคัพภะเทียมระยะ heart shape (hs) (117x)



ภาพ 22 ภาพตัดตามยาวของใบเลี้ยงเมื่อเลี้ยงได้ 18 วัน แสดงการเกิดคัพภะเทียมระยะ torpedo shape(tp) (117x)



ก ข

ภาพ 23 ภาพตัดตามขาวและตัดตามขวางของเนื้อเยื่อส่วนรากเมื่อเริ่มเลี้ยง

ก) ภาพตัดตามยาว (235x)

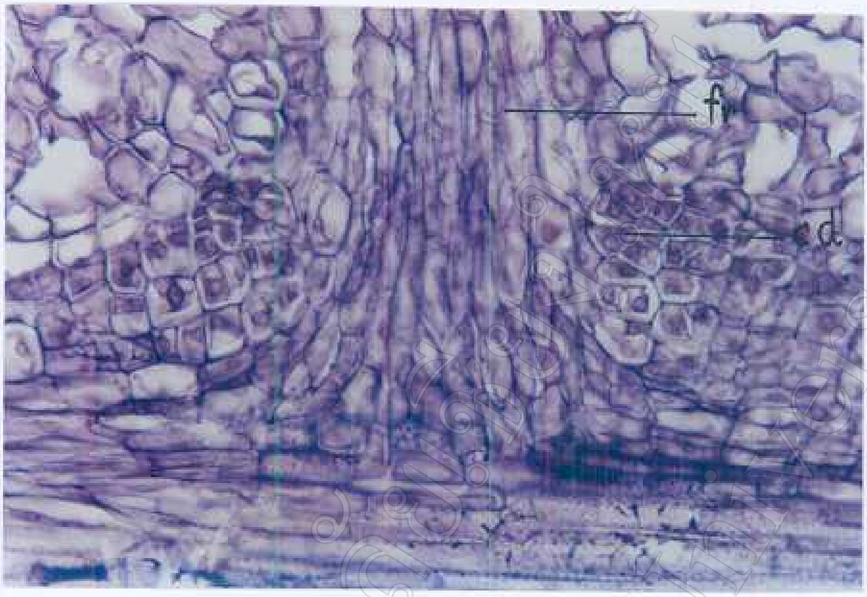
ข) ภาพตัดตามขวาง (235x)

e = epidermis

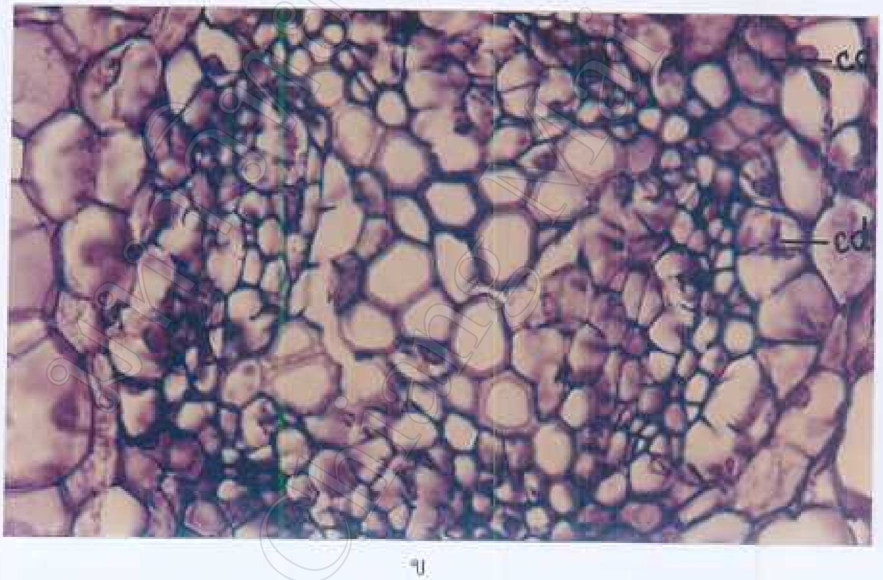
c = cortex

fr = fibrous root

vb = vascular bundle



ก



ข

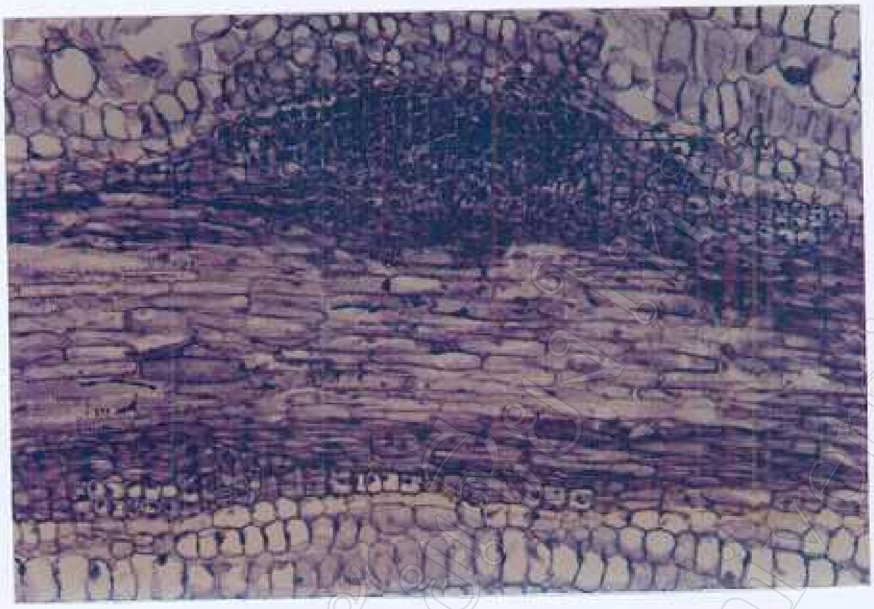
ภาพ 24 ภาพตัดตามยาวและตัดตามขวางเมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนรากนาน 3 วัน

ก) ภาพตัดตามยาว (471x)

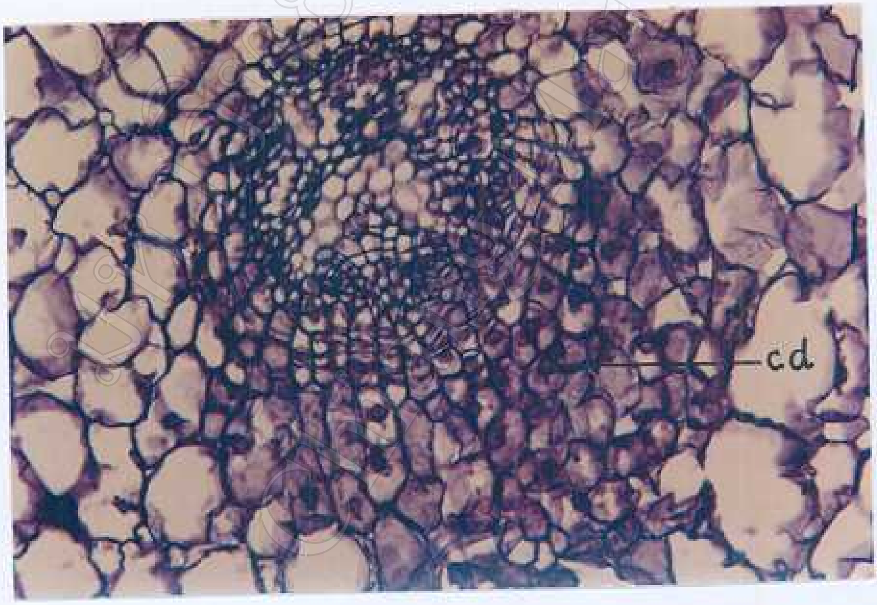
ข) ภาพตัดตามขวาง (471x)

cd = cell division

fr = fibrous root



ก



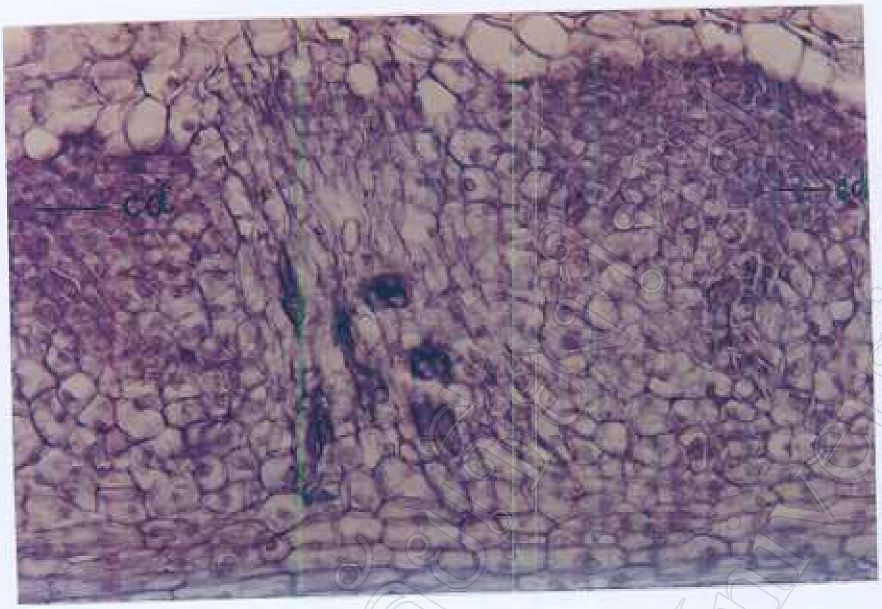
ข

ภาพ 25 ภาพตัดตามยาวและตัดตามขวางเมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนรากนาน 6 วัน

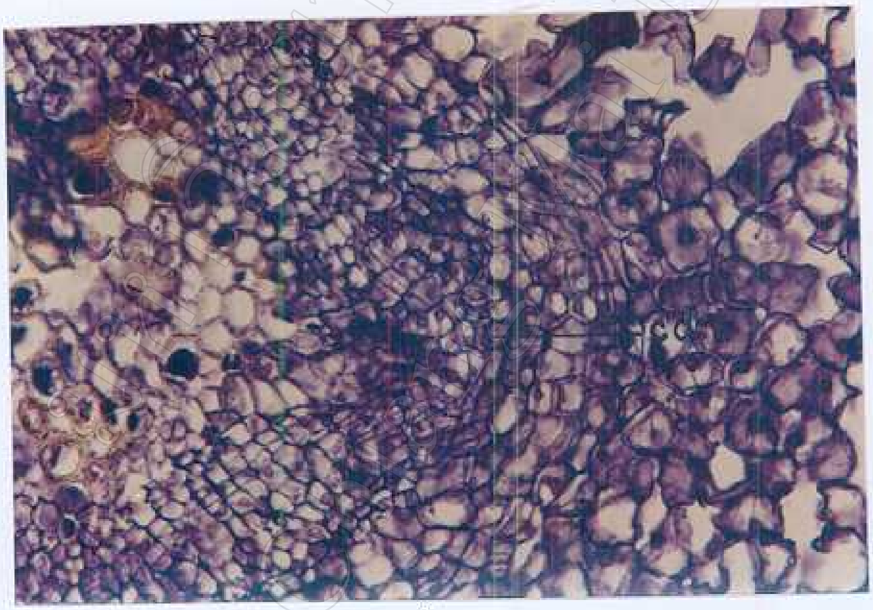
ก) ภาพตัดตามยาว (235x)

ข) ภาพตัดตามขวาง (235x)

cd = cell division



ก



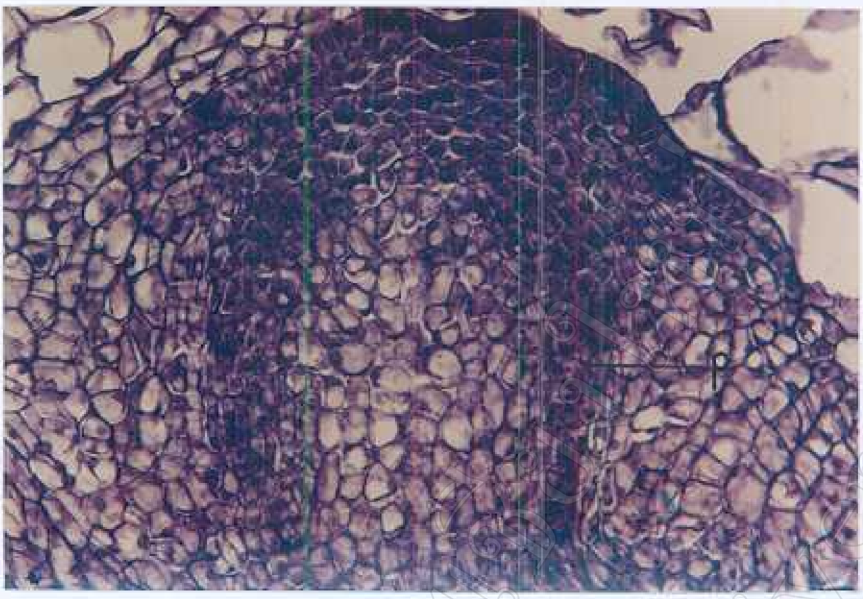
ข

ภาพ 26 ภาพตัดตามยาวและตัดตามขวางแสดงการเกิดเซลล์ที่ตื่นตัว และ จุดกำเนิดยอด เมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนรากนาน 9 วัน

ก) ภาพตัดตามยาว (235x)

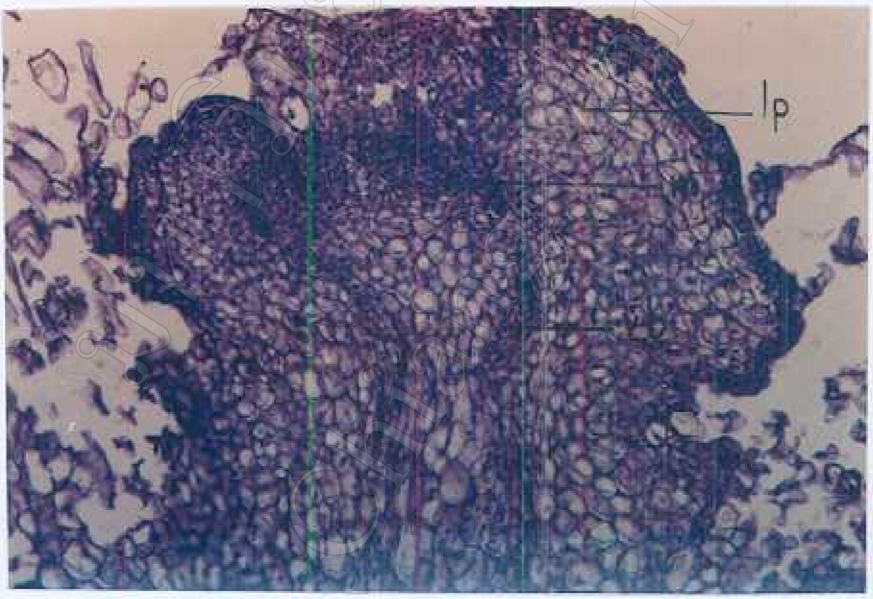
ข) ภาพตัดตามขวาง (235x

cd = cell division



ภาพ 27 ภาพตัดตามยาวแสดงการพัฒนาของตายอด และการพัฒนาของโพแคมเบียมเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนรากนาน 12 วัน (235x)

p = procambium

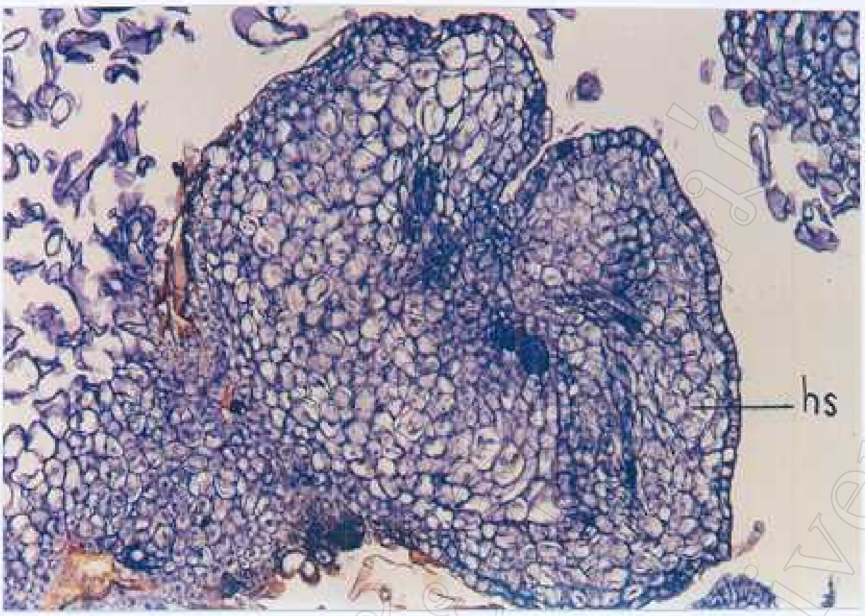


ภาพ 28 ภาพตัดตามยาวแสดงการพัฒนาของยอดที่สมบูรณ์เมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนรากนาน 15 วัน (235x)

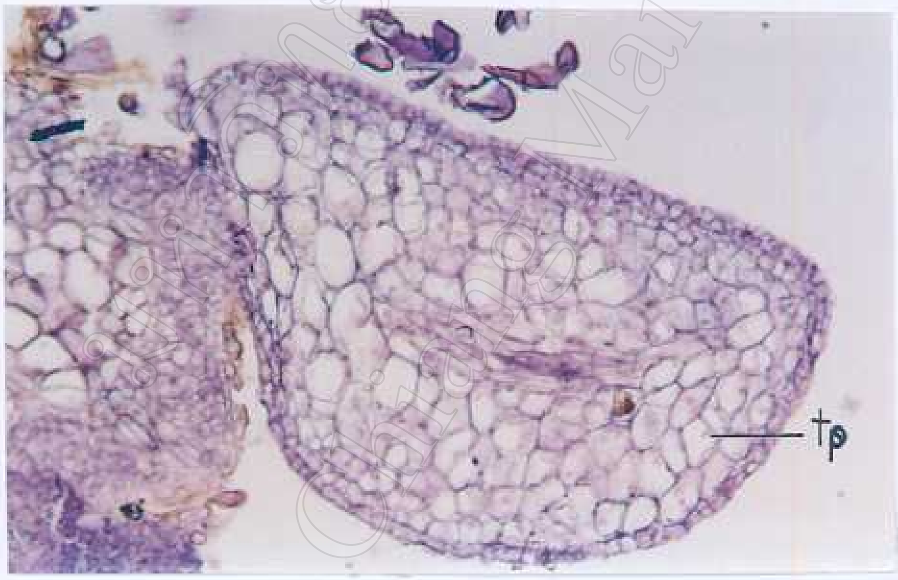
m = meristem

lp = leaf primordia

vb = vascular bundle



ก



ข

ภาพ 29 ภาพตัดตามขวางเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนรากนาน 15 วัน แสดงการเกิดคัพภะเทียมระยะ heart shape, torpedo shape (117x)

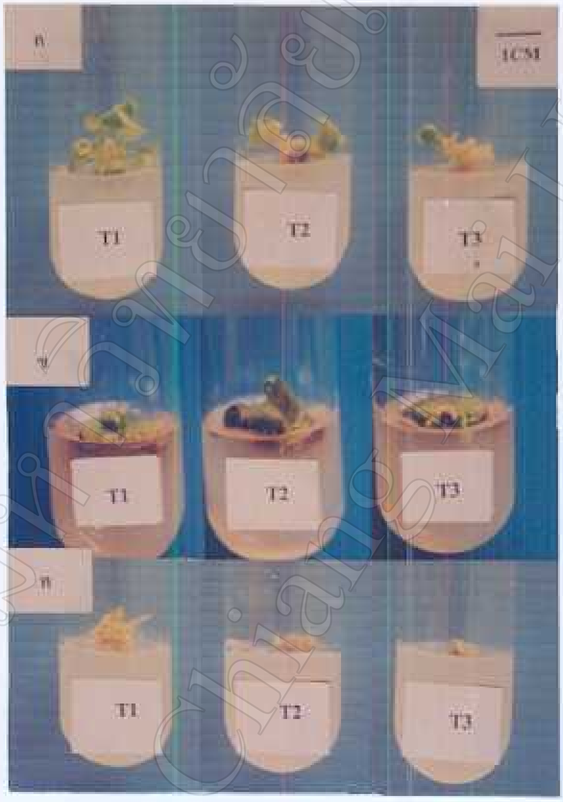
ก) heart shape

ข) torpedo shape

การทดลองที่ 1.2 ผลของตำแหน่งของชิ้นส่วนพืชต่อการเกิดยอดและคัพภะเทียม

1.2.1 การเกิดยอดและการเกิดคัพภะเทียม

เมื่อตัดชิ้นส่วนจากลำต้นใต้ใบเลี้ยง ส่วนของใบเลี้ยง และส่วนของราก จากต้นกล้าที่มีอายุ 10 วัน โดยตัดให้หนา 5 มม และตัดแบ่งส่วนทั้ง 3 ออกเป็น 3 ตำแหน่ง คือ ส่วนโคน ส่วนกลาง และส่วนปลาย นำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก/ล เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนพืชนาน 8 สัปดาห์ (ภาพ 30) มีผลทำให้จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดยอดและคัพภะเทียม เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและคัพภะเทียม และจำนวนของยอดและคะแนนคัพภะเทียมเฉลี่ยแตกต่างกันดังแสดงในตาราง 10



ภาพ 30 ยอดและคัพภะเทียมจากชิ้นส่วนพืชและตำแหน่งที่ต่างกัน เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก/ล เมื่อเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์

ก) T1, T2, T3 = ชิ้นส่วนจากส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยง ส่วนโคน ส่วนกลาง ปลาย (จากขวาไปซ้าย)

ข) T1, T2, T3 = ชิ้นส่วนจากส่วนใบเลี้ยง ส่วนโคน ส่วนกลาง ปลาย (จากซ้ายไปขวา)

ค) T1, T2, T3 = ชิ้นส่วนจากราก ส่วนโคน ส่วนกลาง ปลาย (จากซ้ายไปขวา)

ตาราง 10 ผลของตำแหน่งของชิ้นส่วนพืช ต่อจำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มเกิดยอดและคัพภะเทียม เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและคัพภะเทียม และจำนวนยอดเฉลี่ยและคะแนนคัพภะเทียมเฉลี่ย [1]

ชิ้นส่วนพืช ขนาด 5 มม	ตำแหน่ง	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิด		จำนวนเฉลี่ย	จำนวน	เปอร์เซ็นต์การเกิด	
		ยอด	คัพภะเทียม	ยอดอ่อน (ยอด)	คัพภะเทียม (คะแนน)	ยอด (เปอร์เซ็นต์)	คัพภะเทียม (เปอร์เซ็นต์)
ส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยง	โคน	18.90	-	1.67b	-	100	-
	กลาง	18.10	-	2.10b	-	100	-
	ปลาย	17.40	-	3.70a	-	100	-
$\text{LSD}_{p=0.05}$		NS		0.8339			
ส่วนใบเลี้ยง	โคน	18.90	20.10	1.36	2.50	80	100
	กลาง	18.50	19.40	1.50	3.00	40	100
	ปลาย	19.10	19.60	1.00	2.40	20	100
$\text{LSD}_{p=0.05}$		NS	NS	NS	NS		
ส่วนของราก	โคน	12.62	21.28	2.00	1.51	70	70
	กลาง	12.50	21.00	1.50	1.50	60	60
	ปลาย	-	22.00	-	1.00	-	40
$\text{LSD}_{p=0.05}$		NS	NS	NS	NS		

ab อักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบตัวเลขในสดมภ์เดียวกัน

NS ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบตัวเลขในสดมภ์เดียวกัน

[1] ส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยง ส่วนใบเลี้ยง และส่วนของราก ทำการทดลองแยกกัน

1.2.1.1 จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดยอดและคัพภะเทียม

เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยง พบว่า เนื้อเยื่อจากส่วนโคน ส่วนกลาง และส่วนปลาย มีจำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดยอดระหว่าง 17.40-18.90 วัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และยังพบว่าชิ้นส่วนพืชจากทั้ง 3 ตำแหน่งไม่สามารถเกิดคัพภะเทียมได้

สำหรับชิ้นส่วนของใบเลี้ยง พบว่าเนื้อเยื่อจากทั้ง 3 ส่วน เริ่มเกิดยอดระหว่าง 18.50-19.10 วัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกัน เช่นเดียวกับการเกิดคัพภะเทียมซึ่งใช้เวลาเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 19.40-20.10 วัน เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติก็ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกัน

สำหรับชิ้นส่วนของราก พบว่า ส่วนโคนมีจำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดยอด 12.62 วัน ซึ่งไม่ต่างจากผลจากเนื้อเยื่อส่วนกลางอย่างมีนัยสำคัญ แต่ส่วนปลายไม่สามารถเกิดยอดได้ แต่ชิ้นส่วนปลายรากเกิดคัพภะเทียมได้เช่นเดียวกับชิ้นส่วนพืชอีก 2 ตำแหน่ง โดยใช้เวลาระยะเวลาเฉลี่ย 21.00-22.00 วัน ซึ่งเมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

1.2.1.2 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดและคัพภะเทียม

ชิ้นส่วนทั้ง 3 ตำแหน่งจากลำต้นใต้ใบเลี้ยง สามารถเกิดยอดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่สามารถเกิดคัพภะเทียมได้

สำหรับชิ้นส่วนของใบเลี้ยง ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากที่สุด คือ 80 เปอร์เซ็นต์ จากชิ้นส่วนโคน และลดลงเป็น 40 และ 20 เปอร์เซ็นต์ จากส่วนกลางและส่วนปลายตามลำดับ สำหรับคัพภะเทียมบนชิ้นส่วนตำแหน่งต่างๆเกิดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ จากทุกตำแหน่ง

สำหรับชิ้นส่วนของราก จากส่วนโคน และ ส่วนกลาง เกิดยอดบนชิ้นส่วนพืชที่เลี้ยงใกล้เคียงกันคือ 70 และ 60 เปอร์เซ็นต์ แต่การเกิดคัพภะเทียมบนชิ้นส่วนตำแหน่งต่างๆเท่ากับ 70, 60 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

1.2.1.3 จำนวนยอดเฉลี่ยและคะแนนคัพภะเทียมเฉลี่ย

ส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยง จากบริเวณส่วนปลายมีจำนวนยอดเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับ ส่วนโคน และ ส่วนกลาง โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยคือ 3.70, 2.30 และ 1.67 ตามลำดับ แต่ชิ้นส่วนจากพืชทั้ง 3 ตำแหน่ง ไม่สามารถเกิดคัพภะเทียมได้

สำหรับชิ้นส่วนของใบเลี้ยง จากส่วนโคน ส่วนกลาง และส่วนปลาย ขนาด 5 มม ให้จำนวนยอดและคะแนนคัพภะเทียมไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.36, 1.50 และ 1.00 ตามลำดับ และมีคะแนนคัพภะเทียมเฉลี่ย 2.50, 3.00 และ 2.40 ตามลำดับ

สำหรับชิ้นส่วนของราก จากส่วนโคน ส่วนกลาง และส่วนปลาย ให้จำนวนการเกิดยอดจากส่วนโคนและส่วนกลางไม่มีความแตกกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 2.00 และ 1.50 ตามลำดับ แตส่วนของรากไม่เกิดยอด และมีคะแนนคัพภะเทียมเฉลี่ย 1.51, 1.50 และ 1.00 ตามลำดับ ซึ่งก็ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกัน

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

การทดลองที่ 2 การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ด้วยสารละลายโคลชิซีน

การทดลองที่ 2.1 ผลของสารละลายโคลชิซีนต่อการเกิดโพลีพลอยด์ในต้นอัญชันในสภาพแปลงปลูก

เมื่อนำเมล็ดที่แก่เต็มที่โดยคัดเอาขนาดที่ใกล้เคียงกันมาทำการฆ่าเชื้อโดยเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ แล้วฟอกฆ่าด้วยน้ำยาคลอร็อกซ์ 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นแช่เมล็ดในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว นาน 24 ชั่วโมง เลือกเมล็ดที่มีการพองตัวขนาดใกล้เคียงกัน มาแช่ในสารละลายโคลชิซีน ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0, 0.1, 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ระยะเวลาแช่นาน 2, 4 และ 6 ชม ทำให้จำนวนโครโมโซมจากปลายราก การเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูงของต้น จำนวนใบต่อต้น ขนาดต้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น การรอดตายของต้นกล้า ต่างกัน ดังแสดงไว้ในตาราง 11

ตาราง 11 เปอร์เซ็นต์การงอก เปอร์เซ็นต์การรอดตาย การเจริญเติบโต และจำนวนวันเมื่อเริ่มเกิดดอกของต้นซึ่งเกิดจากเมล็ดที่ได้รับโคลชิซีนความเข้มข้น และระยะเวลา ที่ต่างกัน ภายหลังการปลูกเป็นระยะเวลา 3 เดือน[1]

เวลาที่แช่โคลชิซีน (ชม)	ความเข้มข้นโคลชิซีน (เปอร์เซ็นต์)	การงอกของเมล็ด (เปอร์เซ็นต์)	การรอดตาย (เปอร์เซ็นต์))	ความสูงเฉลี่ยของต้น (ซม)	เส้นผ่าศูนย์กลางต้นเฉลี่ย (ซม)	จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น	จำนวนกิ่งข้างเฉลี่ยต่อต้น	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อดอกเริ่มบาน
2	0	100	100	76.74	0.46	10.60	5.72	44.26
	0.1	100	80	48.74	0.42	10.46	5.53	56.06
	0.3	100	60	45.15	0.41	10.13	5.46	56.80
	0.5	100	50	44.66	0.40	10.13	5.26	57.93
4	0	100	100	75.90	0.45	10.80	6.20	45.06
	0.1	100	50	45.71	0.41	10.33	5.41	57.90
	0.3	100	40	44.93	0.34	10.00	5.36	57.27
	0.5	100	0	-	-	-	-	-
6	0	100	100	76.14	0.45	10.86	5.86	44.93
	0.1	100	30	38.30	0.34	9.80	5.20	61.20
	0.3	100	30	36.60	0.33	10.00	5.00	62.00
	0.5	100	0	-	-	-	-	-

---

[1] ค่าเฉลี่ยไม่ได้นำไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ

2.1.1 เปอร์เซ็นต์การงอก และเปอร์เซ็นต์การรอดตาย

เมื่อนำเมล็ดที่แช่สารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มาเพาะในจานแก้วเลี้ยงเชื้อที่มีความชื้นจากกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 3 ที่เปียกน้ำ พบว่า เปอร์เซ็นต์การงอกไม่แตกต่างกันคือ เมล็ดที่ผ่านกรรมวิธีต่างๆที่กำหนดไว้มีเปอร์เซ็นต์การงอก 100 เปอร์เซ็นต์เหมือนกัน จากนั้นตัดปลายรากต้นกล้าเพื่อไปตรวจดูจำนวนโครโมโซม แล้วนำส่วนที่เหลือไปปลูกในกระถางขนาด 2 นิ้ว โดยมีทรายผสมกับขี้เถ้าแกลบในอัตราส่วน 1:1 พบว่า เปอร์เซ็นต์การรอดตายต่างกันคือ ต้นจากเมล็ดที่ไม่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนมีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนของต้นที่เมล็ดผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซีนและระยะเวลาในการแช่เพิ่มมากขึ้น คือ ต้นที่เมล็ดผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีน 0.1 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 2, 4 และ 6 ชม มีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย 80, 50 และ 30 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนต้นที่เมล็ดผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีน 0.3 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 2, 4 และ 6 ชม มีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย 60 ,40 และ 30 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และภาพนี้เห็นได้ชัดขึ้นเมื่อใช้สารละลายโคลชิซีนระดับสูงสุดคือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 2 ชม มีการรอดตาย 50 เปอร์เซ็นต์ แต่ต้นไม่สามารถเจริญเติบโตได้และตายหมดเมื่อแช่นาน 4 และ 6 ชม

2.1.2 จำนวนโครโมโซมจากปลายราก (ตาราง 12)

เมื่อเมล็ดงอกได้ 5 วัน ตัดเอาส่วนปลายรากยาว 1-2 มม ตรวจนับจำนวนโครโมโซม พบว่า ต้นที่เมล็ดไม่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนมีจำนวนโครโมโซม 2n = 2x = 16 (ตาราง 12) ต้นที่มาจากเมล็ดผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1, 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 2, 4 และ 6 ชม มีจำนวนโครโมโซมเป็นมิกซาพลอยด์ จำนวนในเซลล์ของแต่ละรากแตกต่างกันไปโดยมีทั้งหมด 8 จำนวนคือมี 2n = 2x, 4x, 6x, 7x, 8x, 12x, 14x และ 16x = 16, 32, 48, 56, 64, 96, 112 และ 128 แท่งตามลำดับ (ภาพ 31) แสดงว่าการเกิดมิกซาพลอยด์ของต้นจากเมล็ดที่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนที่ความเข้มข้นต่างกันมีอัตราส่วนการเกิดพลอยดีและจำนวนโครโมโซมต่างกัน โดยเมล็ดที่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนที่มีความเข้มข้นต่ำ และใช้ระยะเวลาแช่ต่ำ จำนวนโครโมโซมที่เกิดเป็นมิกซาพลอยด์มีระดับพลอยดีต่ำกว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นสูงขึ้นและระยะเวลาแช่นานขึ้น ซึ่งทำให้จำนวนโครโมโซมที่เป็นมิซาพลอยด์มีระดับพลอยดีสูงขึ้นด้วย โดยที่ความเข้มข้นสารละลายโคลชิซีน 0.1 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 2, 4 และ 6 ชม มีจำนวนโครโมโซมที่เป็นมิกซาพลอยด์ มีระดับพลอยดีเป็น 2x, 4x, 6x และ 8x

โดยมี 2x มากที่สุดรองลงมาคือ 4x (ยกเว้นเมื่อแช่นานที่สุด) ซึ่งต้นที่มีจำนวนโครโมโซมทั้งสองแบบนี้สามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้และต้นที่ได้ส่วนมากเป็นต้นดิปพลอยด์ ส่วนความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 2, 4 และ 6 ชม มิกซาพลอยด์ที่เกิดมีระดับพลอยดีตั้งแต่ 2x, 4x, 6x, 7x และ 8x โดยมีพลอยดีเพิ่มขึ้นเป็น 12x และ 4x เมื่อเพิ่มเวลาแช่เป็น 4 และ 6 ชม ตามลำดับ ซึ่งมีผลทำให้ต้นที่พัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้มีจำนวนน้อยกว่าที่เกิดจากผลของความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซีน 0.5 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 4 และ 6 ชม มีจำนวนโครโมโซมเป็นมิกซาพลอยด์ที่มีระดับพลอยดีดังนี้ 2x, 4x, 6x, 7x, 8x, 12x, 14x และ 16x โดยมีจำนวนเซลล์ที่มีระดับพลอยดี 6x-16x มากขึ้น ต้นจึงรอดตายน้อยและบางกรรมวิธีไม่สามารถพัฒนาได้และตายในที่สุดเนื่องจากมีเซลล์ที่ผิดปกติมาก เมล็ดที่ไม่ได้รับสารโคลชิซีนมีลักษณะรากยาวปกติสีขาว แต่เมล็ดที่ได้รับสารละลายโคลชิซีนทุกกรรมวิธีปลายรากไม่แหลมแต่ชงักและมีปลายรากสีน้ำตาลอ่อน

เมื่อพิจารณาถึงเปอร์เซ็นต์การเกิดพลอยดี พบว่าแต่ละพลอยดีจากพลอยดีตั้งแต่ 7x ขึ้นไปเกิดขึ้นเป็นเปอร์เซ็นต์ที่ต่ำกว่าเปอร์เซ็นต์จากพลอยดีที่ต่ำกว่า ยกเว้นเมื่อใช้โคลชิซีนที่ความเข้มข้นสูงสุดและแช่นานที่สุดมีเปอร์เซ็นต์การเกิดพลอยดีต่างๆใกล้เคียงกันละเปอร์เซ็นต์ของ 2x ต่ำที่สุด

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ตาราง 12 จำนวนโครโมโซมจากปลายรากของต้นกล้าอัญชัน อายุ 5 วัน จากเมล็ดที่ผ่านการแช่สารโคลชิซีนมาแล้ว

วลาแช่สาร ละลาย โคลชิซีน (ชม)	ความเข้มข้น (%)	จำนวนรากที่ใช้นับ	จำนวนรากที่นับโครโมโซมได้	รากที่	จำนวนเซลล์ที่มีระดับของพลอยดีต่างๆ							
					2x	4x	6x	7x	8x	12x	14x	16x
2	0.1	30	14	1	7	6	1	-	-	-	-	-
				2	5	3	-	-	-	-	-	-
				3	2	2	-	-	-	-	-	-
				4	3	4	-	-	-	-	-	-
				5	5	10	4	-	-	-	-	-
				6	16	4	-	-	-	-	-	-
				7	2	7	1	2	-	-	-	-
				8	3	4	-	-	-	-	-	-
				9	2	4	2	-	-	-	-	-
				10	5	2	-	-	-	-	-	-
				11	2	4	-	-	-	-	-	-
				12	3	2	2	2	-	-	-	-
				13	12	4	2	-	-	-	-	-
				14	5	7	2	-	-	-	-	-
จำนวนเซลล์รวมของแต่ละพลอยดี					72	63	14	4	-	-	-	-
2	0.3	30	12	1	2	2	2	1	1	-	-	-
				2	3	4	2	2	2	-	-	-
				3	5	2	2	1	-	-	-	-
				4	2	4	3	1	2	-	-	-
				5	1	2	5	4	1	-	-	-
				6	3	2	1	1	-	-	-	-
				7	2	2	2	-	1	-	-	-
				8	1	3	2	3	2	-	-	-
				9	1	1	4	1	1	-	-	-
				10	2	3	-	1	-	-	-	-
				11	3	1	1	3	-	-	-	-
				12	-	2	1	-	2	-	-	-
จำนวนเซลล์รวมของแต่ละพลอยดี					25	28	25	18	12	-	-	-

ตาราง 12 จำนวนโครโมโซมจากปลายรากของต้นกล้าอัญชัน อายุ 5 วัน จากเมล็ดที่ผ่านการแช่สารโคลชิซีนมาแล้ว (ต่อ)

วลาแช่สารละลายโคลชิซีน (ชม)	ความเข้มข้น (%)	จำนวนรากที่ใช้นับ	จำนวนรากที่นับโครโมโซมได้	รากที่	จำนวนเซลล์ที่มีระดับของพลอยดีต่างๆ							
					2x	4x	6x	7x	8x	12x	14x	16x
2	0.5	30	8	1	2	3	3	-	-	-	-	-
				2	1	-	2	2	3	2	-	-
				3	9	7	2	-	-	-	-	-
				4	4	5	4	2	-	2	-	-
				5	1	6	5	1	2	2	-	-
				6	1	1	1	2	2	2	-	-
				7	2	2	5	-	4	1	1	-
				8	-	5	2	-	1	1	2	-
จำนวนเซลล์รวมของแต่ละพลอยดี					20	29	24	7	12	10	3	-
4	0.1	30	13	1	5	4	3	-	-	-	-	-
				2	4	3	7	-	-	-	-	-
				3	2	1	3	-	-	-	-	-
				4	8	3	2	-	-	-	-	-
				5	3	2	1	1	2	-	-	-
				6	5	6	2	-	-	-	-	-
				7	4	1	1	-	-	-	-	-
				8	3	3	2	-	-	-	-	-
				9	9	4	3	-	-	-	-	-
				10	2	8	1	2	2	-	-	-
				11	5	1	1	-	-	-	-	-
				12	2	5	2	1	1	-	-	-
				13	3	7	1	-	-	-	-	-
จำนวนเซลล์รวมของแต่ละพลอยดี					55	48	29	4	5	-	-	-

ตาราง 12 จำนวนโครโมโซมจากปลายรากของต้นกล้าอัญชัน อายุ 5 วัน จากเมล็ดที่ผ่านการแช่สารโคลชิซีนมาแล้ว (ต่อ)

วลาแช่สาร ละลาย โคลชิซีน (ชม)	ความ เข้ม ข้น (%)	จำนวน รากที่ใช้ นับ	จำนวนราก ที่นับ โครโมโซม ได้	รากที่	จำนวนเซลล์ที่มีระดับของพลอยดีต่างๆ							
					2x	4x	6x	7x	8x	12x	14x	16x
4	0.3	30	11	1	1	2	5	1	4	2	-	-
				2	-	1	1	2	1	-	-	-
				3	-	2	2	1	3	-	-	-
				4	3	2	1	-	3	-	-	-
				5	3	4	3	1	1	1	-	-
				6	5	2	2	-	1	-	-	-
				7	2	4	3	-	1	-	-	-
				8	1	3	4	1	2	-	-	-
				9	4	3	2	1	1	-	-	-
				10	1	7	3	-	1	-	-	-
				11	3	7	5	-	2	-	-	-
จำนวนเซลล์รวมแต่ละพลอยดี					23	37	31	7	20	3	-	-
4	0.5	30	13	1	1	1	1	1	1	1	-	-
				2	-	1	2	1	1	-	-	-
				3	1	4	2	2	5	2	1	-
				4	1	5	4	1	2	-	-	-
				5	2	1	1	2	1	-	2	1
				6	4	5	2	1	2	-	-	-
				7	-	-	3	1	4	2	1	-
				8	1	2	1	1	1	3	1	-
				9	-	1	4	2	5	2	1	2
				10	1	2	5	-	4	2	2	-
				11	2	4	3	-	3	2	-	-
				12	2	5	5	-	3	2	-	-
				13	-	-	2	-	3	1	2	1
จำนวนเซลล์รวมแต่ละพลอยดี					15	31	35	12	35	17	10	4

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

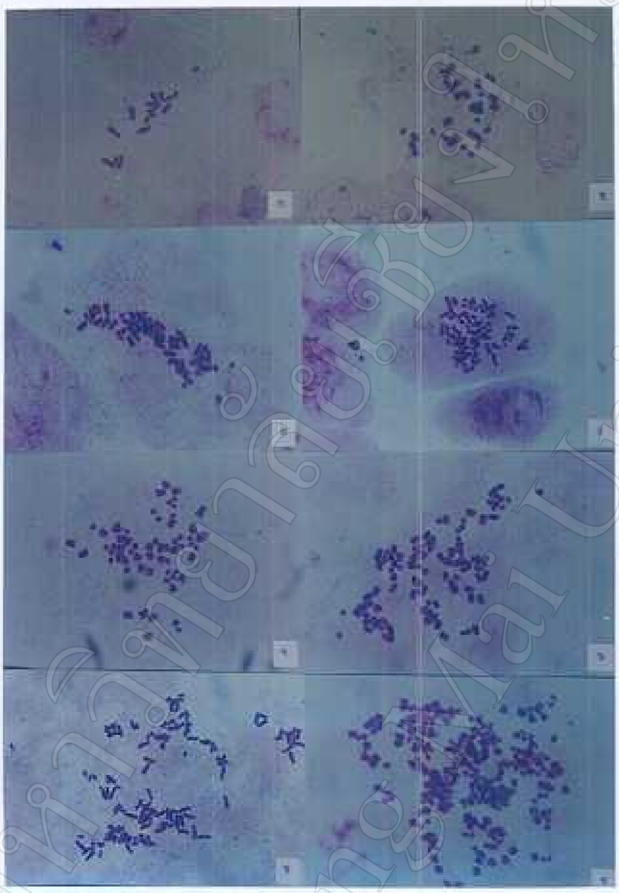
ตาราง 12 จำนวนโครโมโซมจากปลายรากของต้นกล้าอัญชัน อายุ 5 วัน จากเมล็ดที่ผ่านการแช่สารโคลชิซีนมาแล้ว (ต่อ)

วลาแช่สารละลายโคลชิซีน (ชม)	ความเข้มข้น (%)	จำนวนรากที่ใช้นับ	จำนวนรากที่นับโครโมโซมได้	รากที่	จำนวนเซลล์ที่มีระดับของพลอยดีต่างๆ							
					2x	4x	6x	7x	8x	12x	14x	16x
6	0.1	30	14	1	4	4	4	1	1	-	-	-
				2	6	2	5	-	-	-	-	-
				3	4	4	2	-	-	-	-	-
				4	4	3	-	-	-	-	-	-
				5	1	1	2	-	-	-	-	-
				6	5	10	4	-	-	-	-	-
				7	5	4	1	-	-	-	-	-
				8	4	10	2	-	-	-	-	-
				9	10	4	2	1	2	-	-	-
				10	2	7	1	-	-	-	-	-
				11	7	6	1	1	2	-	-	-
				12	5	10	1	-	-	-	-	-
				13	4	5	2	-	-	-	-	-
				14	3	3	2	-	-	-	-	-
จำนวนเซลล์รวมแต่ละพลอยดี					64	73	29	3	5	-	-	-

ตาราง 12 จำนวนโครโมโซมจากปลายรากของต้นกล้าอัญชัน อายุ 5 วัน จากเมล็ดที่ผ่านการแช่สารโคลชิซีนมาแล้ว (ต่อ)

วลาแช่สารละลายโคลชิซีน (ชม)	ความเข้มข้น (%)	จำนวนรากที่ใช้นับ	จำนวนรากที่นับโครโมโซมได้	รากที่	จำนวนเซลล์ที่มีระดับของพลอยดีต่างๆ							
					2x	4x	6x	7x	8x	12x	14x	16x
6	0.3	30	16	1	3	4	2	-	-	-	-	-
				2	2	2	-	-	-	-	-	-
				3	-	-	2	1	1	-	-	-
				4	2	6	3	1	1	1	-	-
				5	5	2	4	-	-	-	-	-
				6	7	2	2	2	1	-	-	-
				7	5	4	2	1	1	1	-	-
				8	-	2	2	-	3	-	-	-
				9	3	2	4	2	1	-	-	-
				10	1	3	5	2	2	1	1	-
				11	-	1	3	1	1	2	-	-
				12	2	2	1	1	1	-	-	-
				13	3	2	2	-	1	-	-	-
				14	1	4	3	2	2	2	-	-
				15	2	5	5	1	2	1	1	-
				16	2	3	4	1	1	-	-	-
จำนวนเซลล์รวมแต่ละพลอยดี					38	44	44	15	18	8	2	-
6	0.5	30	8	1	-	-	4	2	4	2	3	3
				2	3	6	2	1	2	2	-	-
				3	-	-	5	2	2	2	4	1
				4	-	-	5	1	2	1	1	2
				5	-	-	-	2	1	1	1	1
				6	-	2	1	2	1	1	1	2
				7	5	7	1	1	2	1	-	-
				8	-	2	7	1	1	1	3	4
จำนวนรวมเซลล์แต่ละพลอยดี					8	17	25	12	15	11	13	13

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

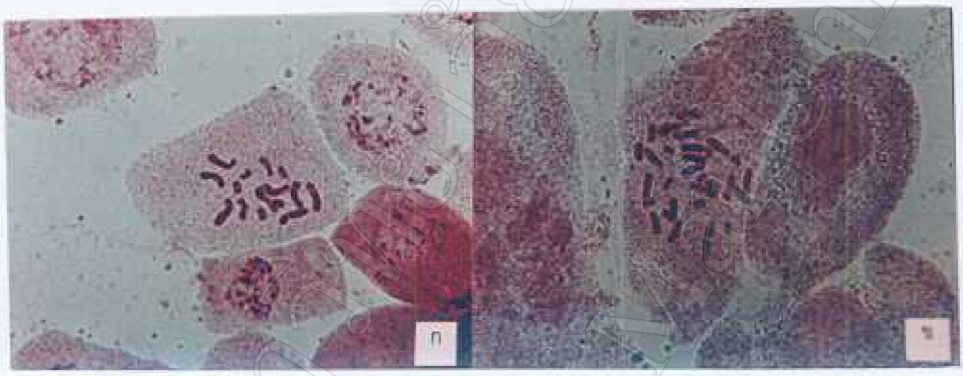


ภาพ 31 จำนวนโครโมโซมที่พบจากปลายรากของเมล็ดที่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนและงอก 5 วัน ก่อนปลูกลงดิน (1,178x)

ก $2n = 2x = 16$
ข $2n = 4x = 32$
ค $2n = 6x = 48$
ง $2n = 7x = 56$
จ $2n = 8x = 84$
ฉ $2n = 12x = 96$
ช $2n = 14x = 112$
ซ $2n = 16x = 128$

2.1.3 จำนวนโครโมโซมจากปลายยอด

เมื่อนำต้นอ่อนที่ผ่านการหาโครโมโซมแล้วนำไปปลูกในกระถางขนาด 2 นิ้ว โดยมีทรายผสมกับขี้เถ้าแกลบในอัตราส่วน 1:1 นำต้นที่รอดตายไปปลูกในกระถางขนาด 8 นิ้ว แล้วนำไปตรวจนับจำนวนโครโมโซมจากปลายยอด พบว่า ต้นที่รอดตายทุกต้นมีจำนวนโครโมโซม 2n = 2x = 16 และ 1 ต้นจากจำนวนทั้งหมด 24 ต้น ที่ได้รับสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 2 ชม มีจำนวนโครโมโซม 2n = 4x= 32 ซึ่งสามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์และสามารถให้ดอกได้ (ภาพ 32)



ภาพ 32 จำนวนโครโมโซมจากปลายยอดของต้นเมื่อปลูกนาน 2 เดือน

ก) จำนวนโครโมโซมของต้นดิปพลอยด์ 2n = 2x = 16 (1,178x)

ข) จำนวนโครโมโซมของต้นเตตราพลอยด์ 2n = 4x = 32 (1,178x)

2.1.4 ความสูงเฉลี่ยของต้นที่รอดตาย

จากตาราง 11 แสดงให้เห็นว่าความสูงเฉลี่ยของต้นจากเมล็ดที่ไม่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนมีมากที่สุดเมื่อปลูกได้นาน 3 เดือนคือ 75.90-76.74 ซม ซึ่งต่างกันอย่างเห็นได้ชัดจากความสูงเฉลี่ยที่ได้รับเมื่อใช้สารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1-0.5 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 2 ชม และเมื่อใช้ 0.1-0.3 เปอร์เซ็นต์ ที่เพิ่มเวลาแช่เป็น 4 ชม และกลุ่มนี้ยังแตกต่างอย่างเห็นได้ชัดจากผลที่ได้จากการใช้สารละลายโคลชิซีนความเข้มข้นเท่ากันแต่เพิ่มเวลาแช่เป็น 6 ชม ส่วนความเข้มข้นสูงสุดและการแช่นาน 4-6 ชม ทำให้ต้นตายหมด

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

2.1.5 เส้นผ่าศูนย์กลางต้นเฉลี่ย

จากตาราง 11 แสดงให้เห็นว่าเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของต้นที่เกิดจากเมล็ดที่ไม่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนมีมากที่สุดคือ 0.45-0.46 ซม แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดกับต้นที่เมล็ดผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1-0.3 เปอร์เซ็นต์ เมื่อแช่นาน 4 และ 6 ชม ส่วนที่ความเข้มข้นสูงที่สุดและแช่นาน 4 และ 6 ชม ทำให้ต้นตาย

2.1.6 จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น

จากตาราง 11 แสดงให้เห็นว่า จำนวนใบรวมเฉลี่ยต่อต้นที่รอดตายเมื่อปลูกนาน 3 เดือน ไม่แตกต่างกันมากคืออยู่ระหว่าง 9.80-10.86 ใบ

2.1.7 จำนวนกิ่งข้างเฉลี่ยต่อต้น

จากตาราง 11 แสดงให้เห็นว่า จำนวนกิ่งข้างเฉลี่ยของต้นที่รอดตายทุกกรรมวิธีมีค่าไม่แตกต่างกันมากคืออยู่ระหว่าง 5.00-6.20 กิ่ง

2.1.8 จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อดอกบาน

จากตาราง 11 ต้นที่เกิดจากเมล็ดที่ไม่ได้แช่สารละลายโคลชิซีนออกดอกเร็วใช้เวลาเฉลี่ย 44.26-45.06 วัน ในขณะที่การใช้ความเข้มข้น 0.1-0.5 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 2 ชม และ 0.1-.03 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 4 ชมใช้เวลาเพื่อการออกดอกนานกว่าอย่างเห็นได้ชัด

2.1.9 ลักษณะอื่นที่เกิดขึ้นระหว่าง ต้นดิปพลอยด์ และ ต้นเตตราพลอยด์

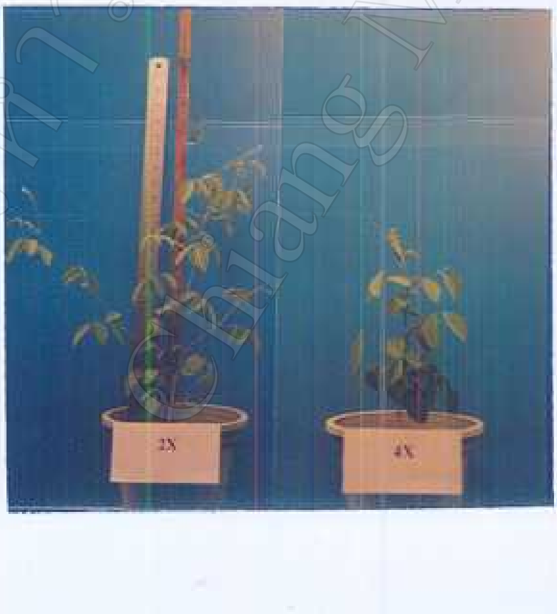
จากตาราง 13 แสดงให้เห็นว่า ต้นที่เกิดเป็นเตตราพลอยด์ จากการที่เมล็ดผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 2 ชม มีลักษณะที่เปลี่ยนไปจากต้นที่เป็น ดิปพลอยด์ คือมีขนาดของละอองเกสรใหญ่ขึ้นเกือบเป็น 2 เท่า มีขนาดใบใหญ่ขึ้น หนาขึ้นจากการสัมผัส มีขนาดดอกใหญ่กว่าเล็กน้อย มีสีของดอก และสีของใบเข้มขึ้น มีการออกดอกช้ากว่าปกติ และสังเกตเห็นการติดผลน้อยลง มีข้อสั้นกว่าต้นปกติทำให้ลำต้นเตี้ยลง (ภาพ 33, 34, 35)

ตาราง 13 การเปรียบเทียบลักษณะต่างๆระหว่างอัญชันต้นดิปพลอยด์ และต้นเตตราพลอยด์

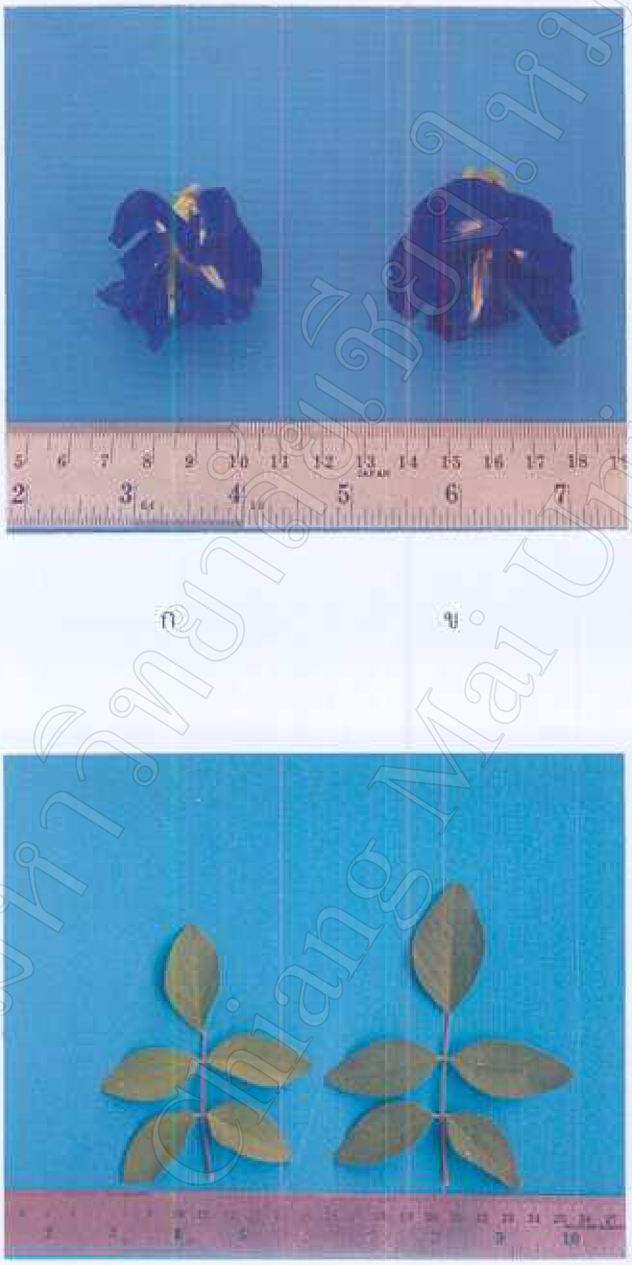
ลักษณะที่เปรียบเทียบ	ต้นดิปพลอยด์	ต้นเตตราพลอยด์
1. จำนวนโครโมโซมจากปลายราก	16	32
2. ขนาดละอองเกสรเฉลี่ย[1]	89 ไมโครเมตร	127 ไมโครเมตร
3. ขนาดปากใบเฉลี่ย[2]	128 ไมโครเมตร	234 ไมโครเมตร
4. ขนาดดอกเฉลี่ย	กว้าง 4.19 ซม ยาว 4.55 ซม	กว้าง 4.31 ซม ยาว 5.12 ซม
5. ขนาดใบเฉลี่ย	กว้าง 6.5 ซม ยาว 8.5 ซม	กว้าง 7.7 ซม ยาว 9.2 ซม
6. สีของดอก	RHS Violet-Blue Group B เบอร์ 89	RHS Violet-Blue Group A เบอร์ 89
7. สีของใบ	RHS Green Group A เบอร์ 143	RHS Green Group A เบอร์ 137

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 30 ละอองเกสร

[2] ค่าเฉลี่ยจาก 30 ปากใบ



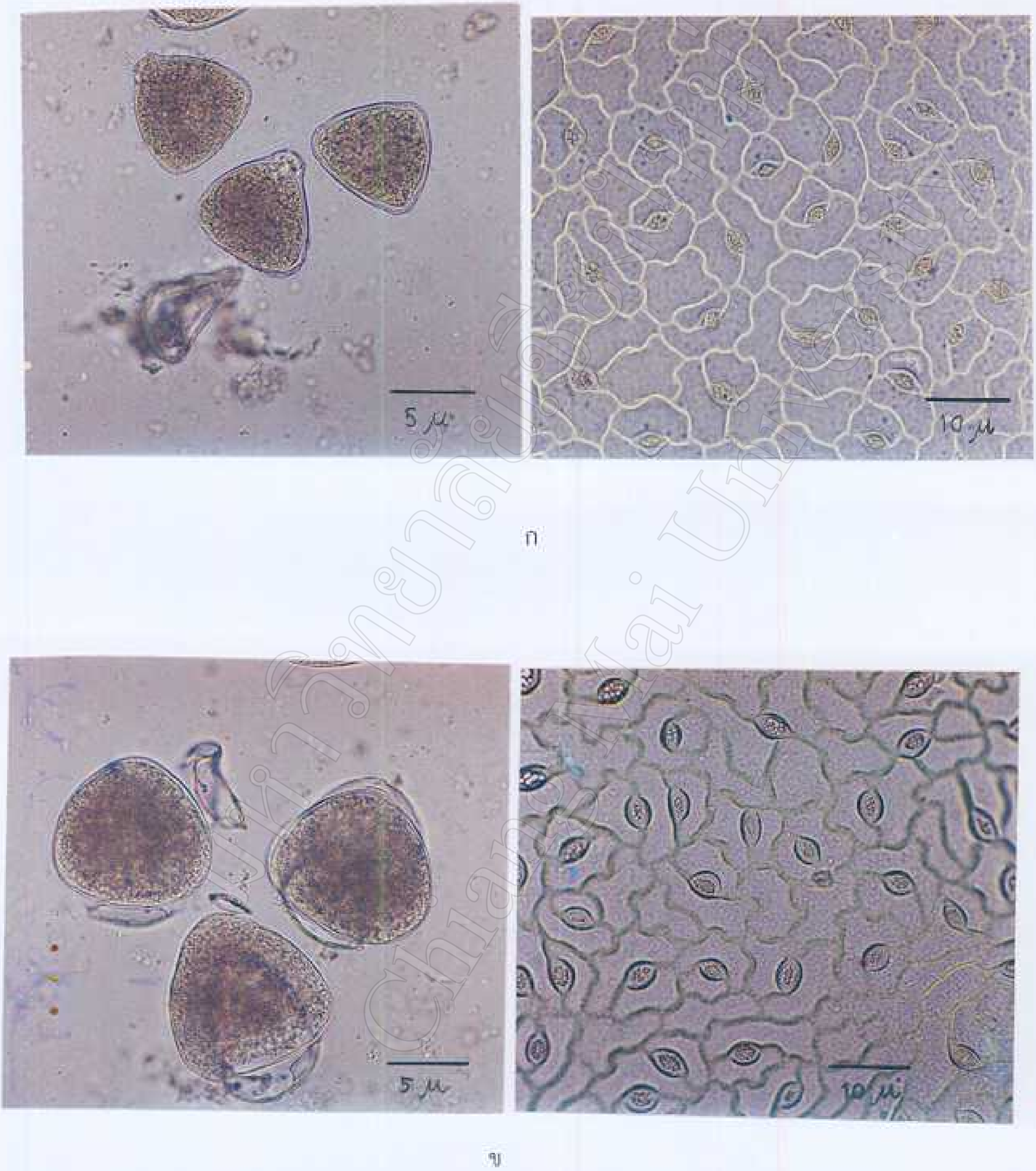
ภาพที่ 33 ต้นที่รอดตาย เมื่อมีอายุ 3 เดือน เปรียบเทียบต้นปกติที่เป็นดิปพลอยด์ ($2n=2x=16$) กับ ต้นที่เป็นเตตราพลอยด์ ($2n=4x=32$)



ภาพ 34 ดอกและใบของต้นดิปพลอยด์เปรียบเทียบกับต้นเตตราพลอยด์

ก) ดอก และ ใบ ของต้นดิปพลอยด์

ข) ดอก และ ใบ ของต้นเตตราพลอยด์



ภาพ 35 ขนาดของละอองเกสร และปากใบของต้นดิปพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์

ก) ละอองเกสร (235x) และ ปากใบ (117x) ของต้นดิปพลอยด์

ข) ละอองเกสร (235x) และ ปากใบ (117x) ของต้นเตตราพลอยด์

การทดลองที่ 2.2 ผลของสารละลายโคลชิซีนต่อการเกิดโพลีพลอยด์จากการแช่ชิ้นส่วนข้อในสภาพปลอดเชื้อ

เมื่อนำข้อตรงตำแหน่งใบเลี้ยงของต้นกล้าที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อและมีอายุ 10 วัน มาแช่สารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ โดยแช่นาน 0, 15, 30 และ 60 นาที พบว่าเมื่อนำชิ้นส่วนพืชไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก/ล เป็นเวลา 2 เดือน ทำให้วันที่เริ่มเกิดยอด จำนวนยอด ความยาวของยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่ จำนวนโครโมโซมจากปลายยอด แตกต่างกัน ดังแสดงไว้ในตารางที่ 14 และ ภาพ 36

ตาราง 14 ผลของเวลาการแช่สารละลายโคลชิซีน ต่อจำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดยอด จำนวนยอดเฉลี่ยความยาวยอดเฉลี่ย และเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด

เวลาแช่สารละลายโคลชิซีน (นาที)	จำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มเกิดยอด	จำนวนยอดเฉลี่ย	ความยาวยอดเฉลี่ย	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด
0	2.80	3.00 a	1.80 a	100
15	3.00	1.80 b	0.30 b	100
30	3.20	1.80 b	0.33 b	100
60	3.40	1.60 b	0.29 b	100
$LSD_{p=0.05}$	NS	0.8741	0.4281	

ab อักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบตัวเลขในสดมภ์เดียวกัน

NS ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบตัวเลขในสดมภ์เดียวกัน

2.2.1 จำนวนวันเฉลี่ยที่เมื่อเริ่มเกิดยอด

จากตาราง 14 แสดงให้เห็นว่า ยอดที่เกิดจากข้อบริเวณที่เกิดใบเลี้ยงใช้ระยะเวลาเฉลี่ยในการเกิดยอดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกรรมวิธี

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

2.2.2 จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน

จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุดได้จากชิ้นส่วนที่ไม่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีน โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.00 ยอด ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชิ้นส่วนพืชที่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนทั้งหมด

2.2.3 ความยาวเฉลี่ยของยอด

ความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุดเกิดจากชิ้นส่วนที่ไม่ได้แช่สารละลายโคลชิซีน โดยมีความยาวยอดเฉลี่ย 1.80 ซม ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับ ชิ้นส่วนพืชที่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนทั้งหมด

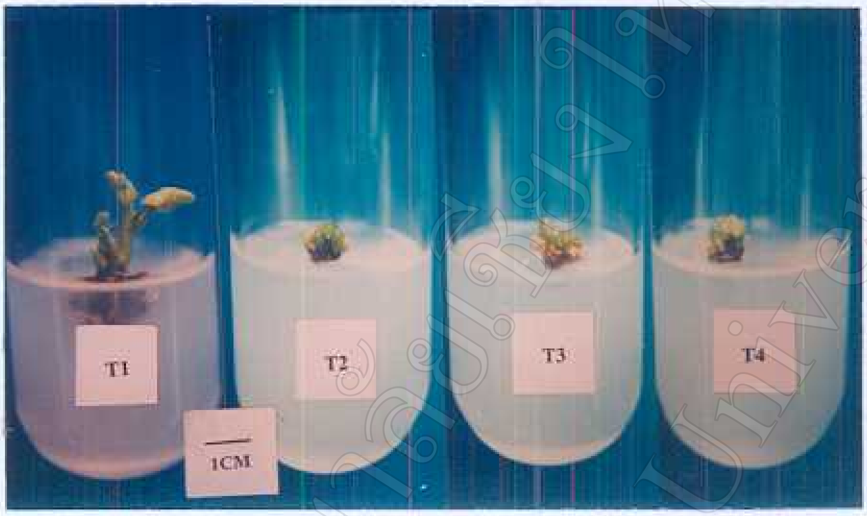
2.2.4 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด

ทุกกรรมวิธีที่กำหนดไว้ชิ้นส่วนสามารถเกิดยอดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ชิ้นส่วนที่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 15, 30 และ 60 นาที ยอดพัฒนาได้เล็กน้อยเท่านั้น

2.2.5 จำนวนโครโมโซมจากปลายยอด

จากการกำหนดไว้ในการหาจำนวนโครโมโซมจากปลายยอดนั้น สามารถหาได้เฉพาะยอดจากข้อที่ไม่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนเท่านั้นโดยมี $2n = 16$ แท่ง แต่ยอดที่เกิดจากข้อที่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนนาน 15-60 นาที ไม่สามารถหาได้เนื่องจากยอดไม่ยืดตัวเป็นปกติ และพัฒนาได้น้อยมาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University



ภาพ 36 ยอดที่เกิดจากข้อที่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.2% โดยใช้เวลาแช่นานต่างกันแล้วนำมาเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์

T1 = ชิ้นส่วนพืชที่ไม่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีน

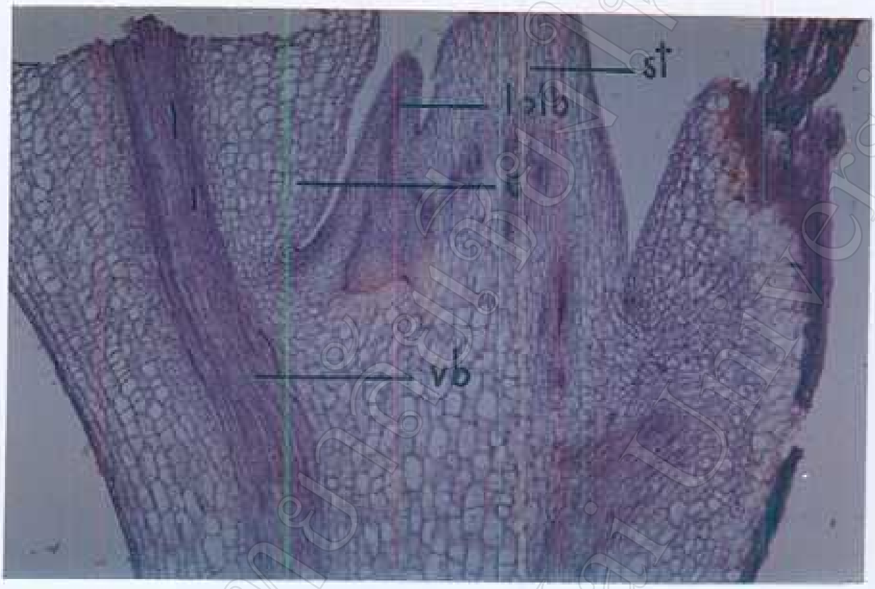
T2 = ชิ้นส่วนพืชที่แช่สารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.2% นาน 15 นาที

T3 = ชิ้นส่วนพืชที่แช่สารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.2% นาน 30 นาที

T4 = ชิ้นส่วนพืชที่แช่สารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.2% นาน 60 นาที

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของข้อตรงตำแหน่งใบเลี้ยง (cotyledon) ที่เลี้ยงไว้ เพื่อดูการพัฒนาของยอด พบว่าเมื่อเริ่มเลี้ยงประกอบไปด้วยตาซึ่งกำลังพัฒนาจากซอกใบเลี้ยงทั้ง 2 ข้าง (ภาพ 37) และพบว่าเมื่อเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ ข้อที่ไม่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนมีการพัฒนาของยอดเป็นไปได้อย่างสมบูรณ์ โดยมีส่วนของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด และใบแรกเกิดชัดเจน ส่วนข้อที่ผ่านการแช่สารละลายโคลชิซีนมีการพัฒนาของยอดผิดปกติ โดยเซลล์มีลักษณะผิดปกติต่างไปจากเดิมการเรียงตัวของเซลล์ไม่เป็นระเบียบ และเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น ยอดไม่มีการพัฒนาจึงไม่สามารถมองเห็นเนื้อเยื่อเจริญที่ปลายยอด และใบอ่อนมากได้ชัดเจน เห็นเป็นเพียงเซลล์มีหลายชั้นเรียงตัวกันแน่นเป็นเซลล์ที่ตื่นตัวเพราะสามารถติดสีย้อมชัดเจน (ภาพ 38)



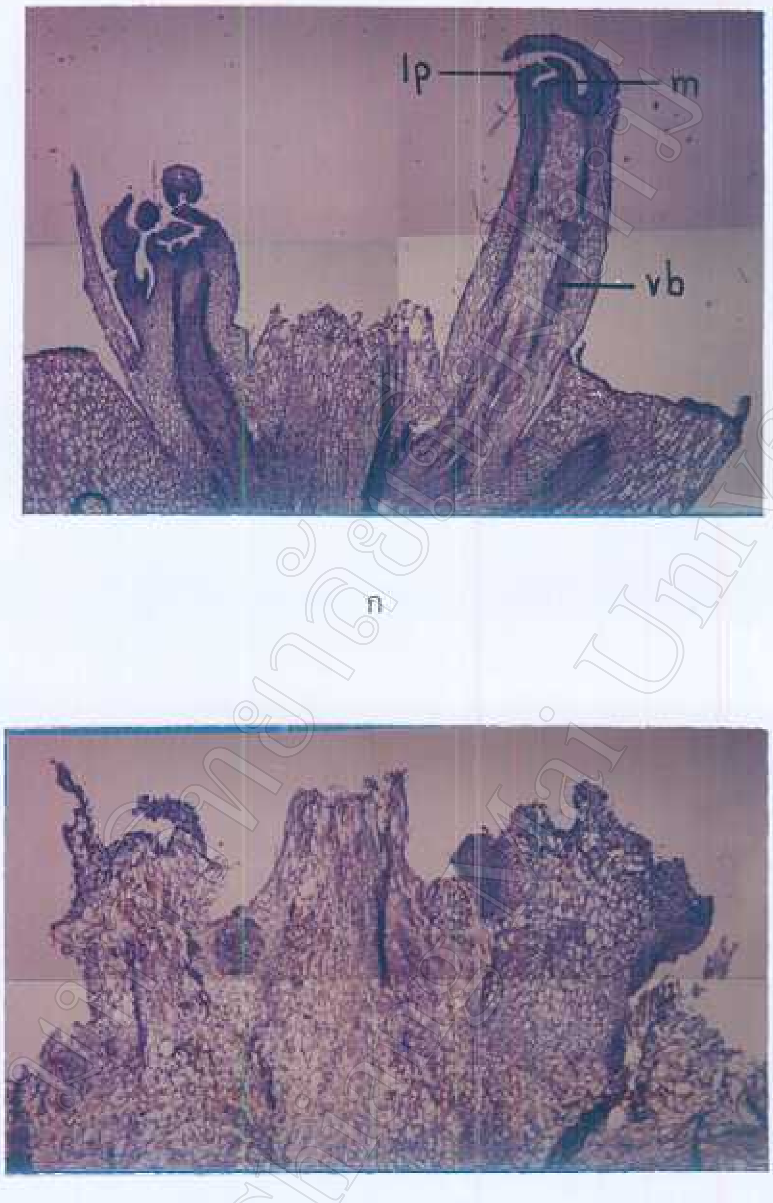
ภาพ 37 ภาพตัดตามยาวแสดงข้อตำแหน่งใบเลี้ยงของต้นกล้าอายุ 10 วัน (253x)

c = cotyledon

vb = vascular bundle

lplb = leaf primordia of lateral bud

st = stem



ภาพ 38 ภาพตัดตามยาวแสดงการเกิดยอดจากข้อที่ตำแหน่งใบเลี้ยงเมื่อเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์

ก) ยอดที่เกิดจากข้อบริเวณที่เกิดใบเลี้ยงโดยไม่แช่สารละลายโคลชิซีน (42x)

ข) ยอดที่เกิดจากบริเวณซอกใบของข้อบริเวณที่เกิดใบเลี้ยงหลังจากแช่สารละลายโคลชิซีน (30.71x)

m = meristem

lp = leaf primordia

vb = vascular bundle

การทดลองที่ 3 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยการใช้รังสีแกมมา

เมื่อนำเมล็ดแห้งที่แก่เต็มที่ของอัญชันดอกซ้อนสีน้ำเงินอมม่วงโดยเลือกเมล็ดที่มีขนาดใกล้เคียงกัน มาฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน โดยมีปริมาณรังสี 5 ระดับ คือ 0, 100, 200, 300 และ 400 เกรย์ เมื่อนำเมล็ดไปปลูกโดยใช้ระยะเวลา 3 เดือน มีผลทำให้ วันที่เริ่มงอก เปอร์เซ็นต์การรอดตาย การเจริญเติบโต ได้แก่ ขนาดต้น จำนวนใบต่อต้น ความสูง จำนวนกิ่งข้าง และลักษณะที่ได้เปลี่ยนแปลงไปจากการเจริญจากต้นที่ไม่ได้ฉายรังสี ดังแสดงไว้ในตาราง 15

ตาราง 15 ผลของรังสีแกมมา ต่อจำนวนวันเฉลี่ยเมื่อเริ่มงอก เปอร์เซ็นต์การรอดตาย ความสูงต้น ขนาดต้น จำนวนใบต่อต้น จำนวนกิ่งข้างเฉลี่ย

ปริมาณรังสีแกมมา (เกรย์)	จำนวนวันเฉลี่ยที่เมล็ดเริ่มงอก	ความสูงเฉลี่ยของต้น (ซม)	ขนาดเฉลี่ยของต้น (ซม)	จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น	จำนวนกิ่งข้างเฉลี่ย	ขนาดทรงพุ่มเฉลี่ย (ซม)	เปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย	เปอร์เซ็นต์การรอดตายเฉลี่ย
0	3.31 a	66.00 a	0.43 b	10.91 a	5.90 a	14.55 bc	76	100
100	4.13 b	66.78 a	0.41 b	10.99 a	6.37 a	16.30 ab	65	100
200	4.20 b	47.11 b	0.41 ab	11.05 a	5.77 a	18.82 a	60	100
300	4.34 b	19.05 c	0.39 a	7.136 b	3.81 b	10.92 cd	46	98.33
400	4.47 b	14.64 c	0.39 a	6.076 b	2.29 b	7.99 d	40	44.77
LSD$_{p=0.05}$	0.80	10.53	0.30	1.93	1.84	3.85		

abc อักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบตัวเลขในสดมภ์เดียวกัน

3.1 จำนวนวันเฉลี่ยเมล็ดเริ่มงอก

เมื่อนำเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา มาแช่น้ำ 24 ชั่วโมง แล้วปลูกในกระถางขนาด 2 นิ้ว โดยมีทรายผสมกับขี้เท่าแกลบในอัตราส่วน 1:1 พบว่า เมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการฉายรังสีงอกเร็วที่สุด นั่นคือมีจำนวนวันเฉลี่ยที่เริ่มงอก 3.31 วัน ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากเมล็ดที่ได้รับรับรังสีทุกระดับซึ่งใช้เวลานานกว่า

3.2 เปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย

ความงอกเฉลี่ยจากเมล็ดที่ไม่ได้รับรังสีสูงสุดถึง 76 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์จะลดลงตามระดับของรังสีที่สูงขึ้น และรังสีสูงสุด 400 เกรย์ มีความงอกเพียง 44 เปอร์เซ็นต์

3.3 เปอร์เซ็นต์การรอดตายเฉลี่ย

เมื่อเมล็ดงอกและมีการเจริญเติบโตไประยะหนึ่ง เปอร์เซ็นต์การรอดตายของต้นกล้าต่างกันคือ ต้นกล้าที่เมล็ดไม่ได้ผ่านการฉายรังสี และต้นกล้าที่เกิดจากเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 100 และ 200 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์เท่ากัน ใกล้เคียงมากกับต้นกล้าที่เมล็ดผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 300 เกรย์ ที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย 98.33 เปอร์เซ็นต์ แต่มีความแตกต่างกันกับต้นกล้าจากเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณ 400 เกรย์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายเพียง 44.77 เปอร์เซ็นต์

3.4 การเจริญเติบโตของต้นที่รอดตาย

การเจริญเติบโตหลังการย้ายปลูกลงดิน 3 เดือน ต้นอัญชันมีการเจริญเติบโตด้านต่างๆดังนี้

3.4.1 ความสูงเฉลี่ยของต้น

จากตาราง พบว่า ต้นที่เมล็ดผ่านการฉายรังสีแกมมาในปริมาณที่ต่างกันมีผลทำให้ความสูงเฉลี่ยของต้นต่างกัน เมื่อมีการเจริญเติบโตเป็นระยะเวลา 3 เดือน คือ ต้นที่เมล็ดไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา และต้นที่เมล็ดผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 100 เกรย์ มีความสูงเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่แตกต่างกันกับความสูงเฉลี่ยของต้นที่เมล็ดผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 200 เกรย์ ซึ่งมีความสูงเฉลี่ย 47.11 ซม และความสูงจะลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจนเมื่อเพิ่มปริมาณรังสีเป็น 300 และ 400 เกรย์ โดยลดลงเหลือ 19.05 และ 14.64 ซมตามลำดับ

3.4.2 ขนาดเฉลี่ยของต้น

จากตาราง พบว่าต้นที่เมล็ดไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา และต้นที่เมล็ดผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 100 และ 200 เกรย์ มีขนาดต้นเฉลี่ยใหญ่กว่าต้นที่เมล็ดผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 300 และ 400 เกรย์ ซึ่งมีขนาดต้นเฉลี่ย 0.39 ซม

3.4.3 จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้น

ต้นจากเมล็ดไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา และต้นจากเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 100 และ 200 เกรย์ มีจำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ คือ 10.91, 10.99 และ 11.05 ใบตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากผลของต้นที่เมล็ดผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณสูงคือ 300 และ 400 เกรย์ (ตาราง 14)

3.4.4 ขนาดเฉลี่ยของทรงพุ่ม

ขนาดเฉลี่ยทรงพุ่มของต้นจากเมล็ดที่ไม่ได้รับรังสี และต้นจากเมล็ดที่ได้รับรังสีปริมาณน้อย 100 และ 200 เกรย์ มีขนาดใหญ่กว่าทรงพุ่มที่ได้รับรังสีปริมาณสูงสุด 2 ระดับอย่างมีนัยสำคัญ

3.4.5 จำนวนกิ่งข้างเฉลี่ยต่อต้น

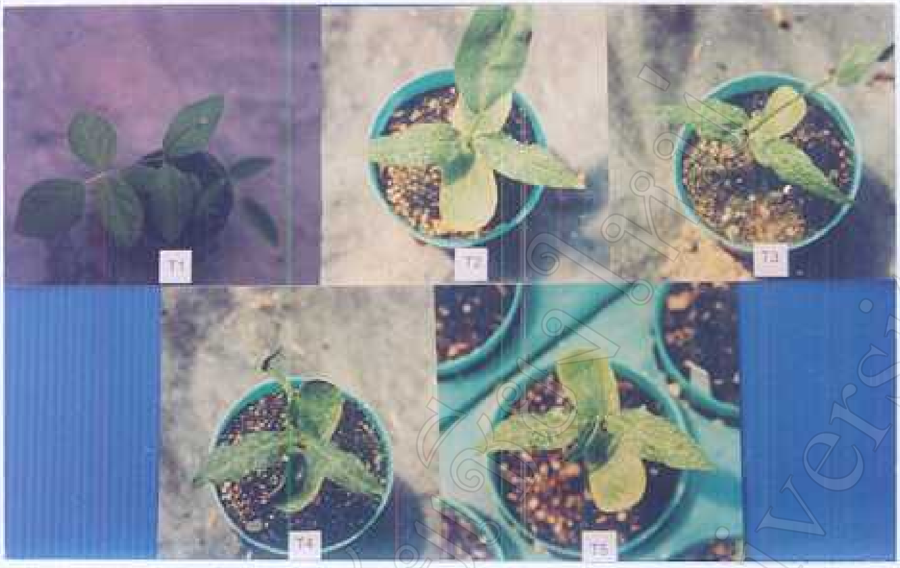
ต้นจากเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา 100 และ 200 เกรย์ ให้ผลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับต้นจากเมล็ดที่ไม่ได้รับรังสีคือ 6.37, 5.77 และ 5.90 กิ่งตามลำดับ แต่จำนวนกิ่งข้างเฉลี่ยแตกต่างจำนวนที่ได้รับจากต้นของเมล็ดที่ได้รับรังสีสูงสุดอีก 2 ระดับ

3.5 ลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

เมล็ดที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา เมื่อนำไปปลูก สามารถงอกและมีการเจริญเติบโต แต่มีการเปลี่ยนแปลงด้านคุณภาพสามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตา พอแยกได้ดังนี้

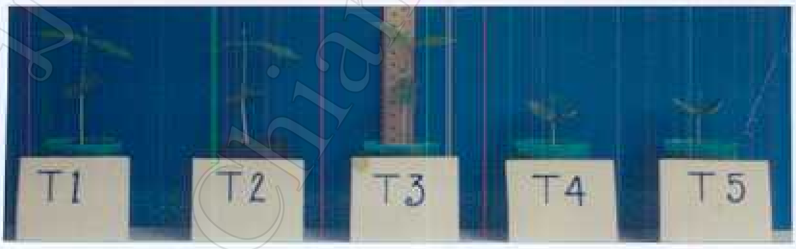
3.5.1 การยืดยาวของต้นกล้า

ต้นจากเมล็ดไม่ผ่านการฉายรังสีเมื่อเมล็ดงอกเห็นใบเลี้ยง และต่อมาเกิดใบจริงคู่แรก เกิดขึ้นภายในสัปดาห์ที่ 1 ส่วนต้นที่เมล็ดผ่านการฉายรังสีปริมาณ 100 และ 200 เกรย์ ต้นสามารถยืดตัวขึ้นได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยต้นที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณดังกล่าว ใบแท้คู่แรกเกิดจุดด่างทั่วใบและรูปใบเริ่มผิดปกติ ส่วนของลำต้นจากเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณ 300 และ 400 เกรย์ ใบแท้คู่แรกเกิดจุดด่างมากขึ้นและมีลักษณะหงิกหรือเป็นคลื่นตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้นตามลำดับ (ภาพ 39) และทำให้ยอดของต้นที่รอดตายมีการยืดตัวช้าลง (ภาพ 40) คือจะเริ่มยืดตัวในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 (ภาพ41) ส่วนยอดที่ไม่สามารถพัฒนาได้ก็จะทำให้ต้นเหยี่ยวตายในสัปดาห์ที่ 3 เป็นส่วนใหญ่ ต้นที่สามารถยืดตัวได้เมื่อเจริญเติบโตจนถึงออกดอกแล้วมีลำต้นที่ส่วนโคนต้นตำแหน่งข้อแรกเกิดเป็นปมกว่าปกติ และมีบางต้นที่เตี้ยกว่าปกติอย่างเห็นได้ชัด (ภาพ 42)



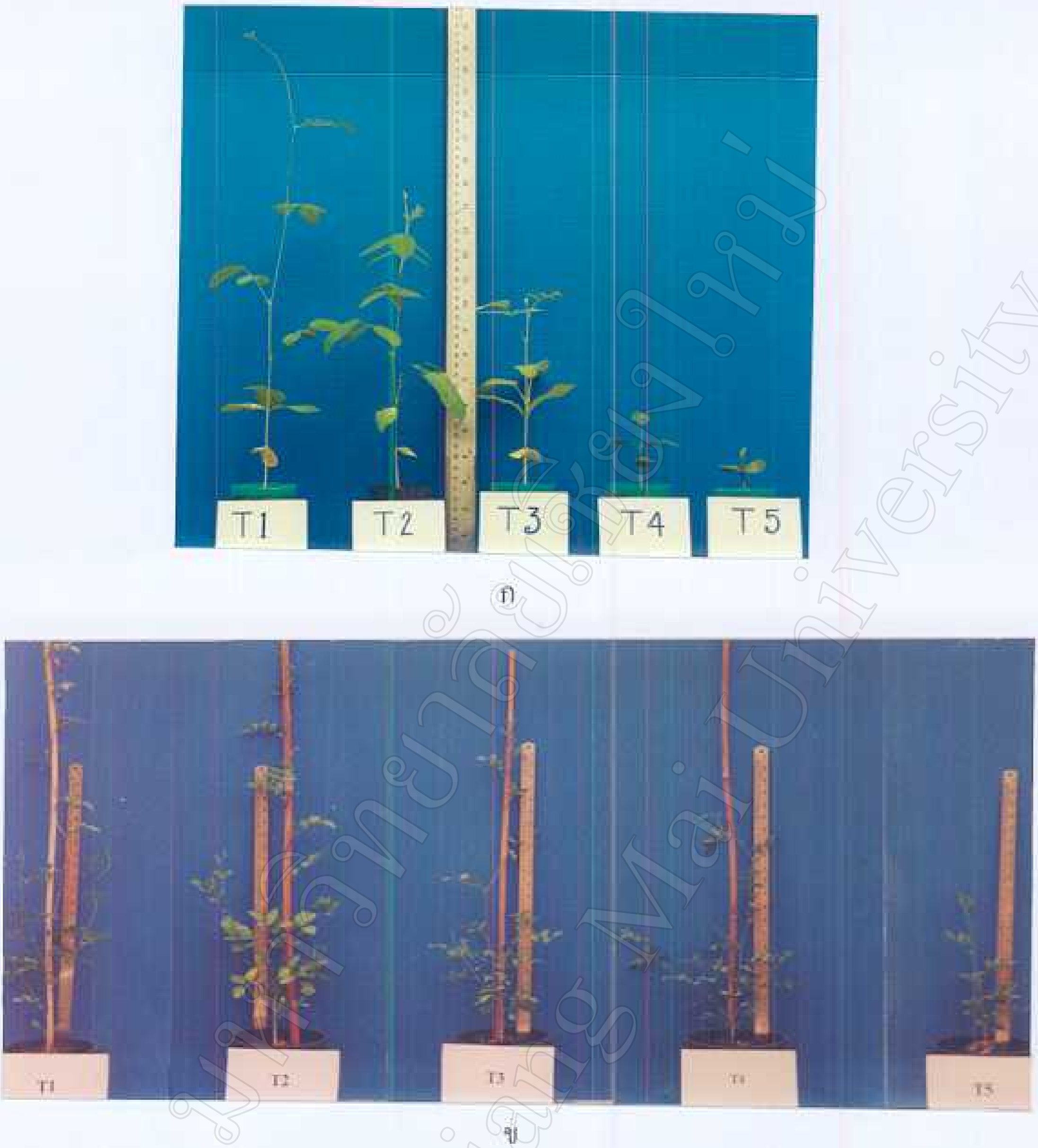
ภาพ 39 ใบแท้คู่แรกที่เกิดผิดปกติจากการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณต่างๆ เมื่อมีอายุได้ 7 วัน หลังจากงอก

T1 = ต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา
T2 = ต้นที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 100 เกรย์
T3 = ต้นที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 200 เกรย์
T4 = ต้นที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 300 เกรย์
T5 = ต้นที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 400 เกรย์



ภาพ 40 ต้นที่รอดตายจากการฉายรังสีแกมมาปริมาณต่างๆ เมื่อมีอายุ 1 สัปดาห์ หลังปลูก

T1 = ต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา
T2 = ต้นที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 100 เกรย์
T3 = ต้นที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 200 เกรย์
T4 = ต้นที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 300 เกรย์
T5 = ต้นที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 400 เกรย์



ภาพ 41 ต้นที่รอดตายจากการฉายรังสีแกมมาปริมาณต่างๆ

ก) เมื่ออายุ 1 เดือน

ข) เมื่ออายุ 3 เดือน

T1 = ต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสีแกมมา

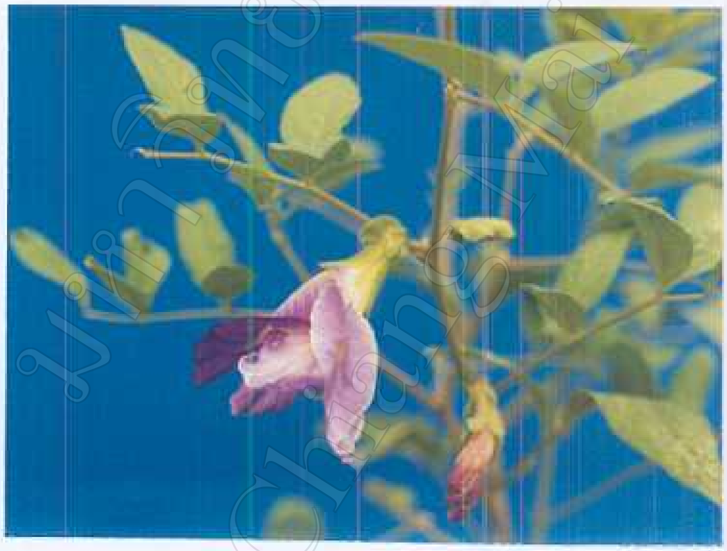
T2 = ต้นที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 100 เกรย์

T3 = ต้นที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 200 เกรย์

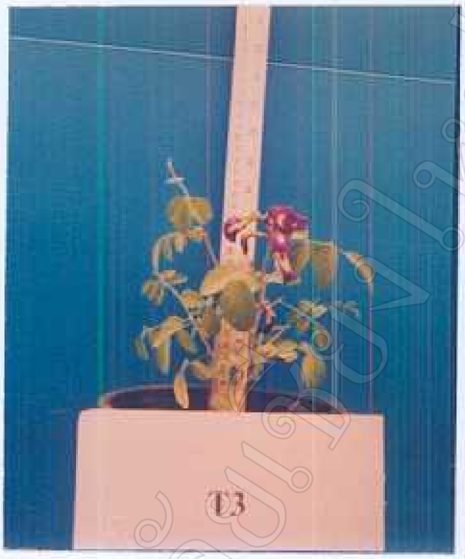
T4 = ต้นที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 300 เกรย์

T5 = ต้นที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 400 สีของดอก

เมื่อต้นมีอายุหลังปลูกลงดินเป็นระยะเวลา 2 เดือน ต้นก็เริ่มมีการออกดอก จากการสังเกตพบว่า ต้นจากเมล็ดที่ไม่ผ่านการฉายรังสี และต้นจากเมล็ดที่ได้รับรังสีรังสีปริมาณ 100 และ 200 เกรย์ ใช้ระยะเวลา 44-46 วัน ในขณะที่ต้นจากเมล็ดที่ได้รับปริมาณสูง 300 และ 400 เกรย์ ออกดอกช้าโดยใช้ระยะเวลาออกดอก 51-53 วัน ดอกมีลักษณะเป็นปกติและมีขนาดไม่แตกต่างกันมากนัก สีดอกมีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม 1 ต้น มีลักษณะเป็นไคเมรา โดยต้นจากเมล็ดที่ได้รับรังสีรังสีปริมาณ 200 เกรย์ มีกลีบชั้นนอกเป็นสีม่วงอ่อน บางดอกมีสีม่วงอ่อนเป็นสีพื้นทั้งดอกซึ่งอยู่คนละช่อกัน มีรหัสจากตารางเทียบสีคือ RHS Violet-Blue Group C เบอร์ 91 และกลีบชั้นในบางกลีบเป็นสีม่วงอ่อน แต่สีเดิมบริเวณปลายกลีบ โดยที่สีปกติมีรหัสเป็น Violet-Blue Group C เบอร์ 89 มีการติดฝักเป็นปกติ และมีจำนวนเมล็ดต่อฝักใกล้เคียงกัน (ภาพ 43)



ภาพ 42 ต้นที่มีดอกเป็นลักษณะไคเมรา



ภาพ 43 ต้นที่เตี้ยผิดปกติเกิดดอกที่ปลายยอด จากการฉายรังสีแกมมา 200 เกรย์