วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 6 ฉบับที่ 1 (มกราคม-มีนาคม): 13-18, 2562
Songklanakarin Journal of Plant Science, Vol. 6, No. 1 (January-March): 13-18, 2019

Research article

ผลของโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิตและลักษณะของเซลล์คุมของดาหลาในสภาวะปลอดเชื้อ

Effect of Colchicine on Survival Rate and Guard Cell Characteristics of *Etlingera elatior* (Jack) R.M. Sm. *In Vitro*

อรุณี ม่วงแก้วงาม[1,2*] และ สมปอง เตชะโต[2]
Muangkaewngam, A.[1,2*] and Te-chato, S. [2]

[1] คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา อ.เมือง จ.ยะลา 95000
[1] Department of Agricultural Technology, Faculty of Science Technology and Agriculture, Yala Rajabhat University, Yala, 95000
[2] ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จ.สงขลา 90112
[2] Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hatyai, Songkhla, 90112

** Corresponding author: muangkaewngam.arunee@gmail.com*
Received 7 January 2018; Revised 1 June 2018; Accepted 18 July 2018

บทคัดย่อ

ดาหลาเป็นไม้ดอกพื้นเมืองที่ใช้ประโยชน์ได้หลากหลายทั้งรับประทานเป็นอาหาร เครื่องดื่ม เครื่องเทศ และเครื่องสำอาง การปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้มีลำต้นเตี้ย อายุตั้งแต่ปลูกจนออกดอกสั้นจนพัฒนาเป็นไม้ดอกกระถางนั้นนับว่าจำเป็น การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เบื้องต้นเพื่อทดสอบผลของโคลชิซินต่อความมีชีวิต และลักษณะทางสรีรวิทยาของใบภายหลังการจุ่มแช่ส่วนยอดดาหลาในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0 50 100 150 200 250 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า การใช้สารโคลชิซินความเข้มข้นสูงทำให้อัตราการรอดชีวิตและการสร้างยอดรวมลดลง ความเข้มข้น 194.65 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตรารอดชีวิตของยอดที่จุ่มแช่ การสร้างยอดรวม และจำนวนยอดรวมลดลง 50% (LD_{50}) เมื่อพิจารณาลักษณะทางสรีรวิทยาขององค์ประกอบภายในใบพบว่า โคลชิซินเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ขนาดเซลล์คุมต่ำสุด 20.23x20.87 ไมโครเมตร ความหนาแน่นของเซลล์คุมสูงสุด 5.33 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร และจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมสูงสุด 22.00 เซลล์ จากผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า ลักษณะทางสรีรวิทยาเป็นค่าหลักที่จะบ่งบอกถึงการเปลี่ยนแปลงชุดโครโมโซมมากกว่าค่าอัตรารอดชีวิตและการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ ดังนั้นการจุ่มแช่ส่วนยอดดาหลาในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 6 ชั่วโมง น่าจะเหมาะสมต่อการเพิ่มชุดโครโมโซม

คำสำคัญ: ดาหลา, การกลายพันธุ์, โคลชิซิน, อัตราการรอดตาย 50 เปอร์เซ็นต์, ลักษณะทางสรีรวิทยา

Abstract

Torch ginger is native flower which can be used for eating as food, beverage, spice and cosmetic. Improvement of this plant for bushy type and early flowering in order to grow as potted plant is of great importance. Thus, the aim of this study was to study the primary effects of colchicine on viability and physiological characteristics of torch ginger leaves after soaking shoot in colchicine solution at the concentrations of 0, 100, 100, 200, 250, 250 and 300 mg/l for 6 hours. The results showed that high concentrations of colchicine resulted in the decrement of survival rate and multiple shoot formation. The estimated concentration at 194.65 mg/l could inhibit survival rate, multiple shoot formation and number of shoots at 50% (LD_{50}). For physiological characteristics colchicine at 300 mg/l gave the lowest size of guard cell (20.23x20.87 μm) but the highest guard cell density and number of chloroplasts (5.33 cells per square mm and 22 cells, respectively). In conclusion, physiological characteristics could indicate the change of chromosome number better than LD_{50}. Thus, colchicine at 300 mg/l for 6 hours might be the best concentration for ploidy induction.

Keywords: Torch ginger, mutation, colchicine, LD_{50}, physiological characteristic

Published by Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University. All rights reserved.
For Permissions, please e-mail: nr-sjps@group.psu.ac.th.

บทนำ

ดาหลา (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Sm.) อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae (Abdelmageed *et al*., 2011) ลำต้นเป็นเหง้าอยู่ใต้ดิน ขึ้นเป็นกลุ่มกอ มีกลีบซ้อนทับกันหลายชั้น กลีบชั้นนอกมีขนาดใหญ่และค่อยลดขนาดลงเป็นลำดับ สำหรับประเทศไทยดาหลาเป็นไม้ดอกพื้นเมืองที่นิยมปลูกในเขตจังหวัดยะลา ปัตตานี และนราธิวาส ชาวบ้านนำดอกและหน่ออ่อนมารับประทานเป็นผักจิ้มกับน้ำพริกและประกอบอาหาร เช่น ใส่แกงเผ็ด แกงกะทิ แกงคั่ว ยำ หรือหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ผสมในข้าวยำ ใช้ทำเป็นเครื่องดื่ม เป็นเครื่องเทศเพิ่มรสชาติในอาหาร นอกจากการนำดาหลามาปรุงเป็นอาหารชนิดต่าง ๆ แล้วสามารถใช้ดาหลาทำสีย้อมผ้า เครื่องสำอางปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์หลากหลายขึ้น เช่น ใช้เป็นไม้ตัดดอก (Lekawatana and Pituck, 1998) ประดับตกแต่งอาคารสถานที่ ทำให้ตลาดไม้ดอกมีความต้องการดอกดาหลาเพิ่มมากขึ้นทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ ดังนั้นจึงทำให้เกษตรกรกลุ่มหนึ่งเริ่มปลูกดาหลาเป็นการค้าอย่างจริงจัง และมีแนวโน้มเพิ่มปริมาณการผลิตขึ้นเรื่อย ๆ ดาหลาเป็นไม้ดอกที่มีโรคหรือแมลงศัตรูพืชเข้าทำลายน้อย เกษตรกรจึงไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ดาหลาจึงเป็นไม้ดอกอีกชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการผลิตเป็นไม้ดอกปลอดภัยตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคที่ต้องการสินค้าเกษตรที่ปลอดภัยและเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ การพัฒนาให้ดาหลามีความหลากหลายของสีสันทั้งส่วนของดอกและใบจึงมีความจำเป็น การสร้างความหลากหลายดังกล่าวข้างต้นสามารถทำได้โดยการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกับดาหลาโดยใช้สารเคมี ซึ่งสารเคมีที่นิยมใช้เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในพืช ได้แก่ สารโคลชิซิน (colchicine) และสารเอทธิลมีเทนซัลโฟเนท (ethylmethanesulphonate : EMS) มีไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิดประสบผลสำเร็จจากการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้สารเคมี เช่น บัวหลวง (กัญจนา และคณะ, 2557) หน้าวัว (อัญญาณี และสมปอง, 2553) กล้วยไม้ดินหมูกลิ้ง (สุขไผท และวิไลลักษณ์, 2551) กล้วยไม้เหลืองจันทบูรดำเต็มคอ (ปฐมาภรณ์ และสาโรจน์, 2557) และ เบญจมาศ (Gantait *et al*., 2011) เป็นต้น จากเอกสารทางวิชาการพบว่ายังไม่มีรายงานการใช้สารเคมีเพื่อชักนำดาหลาให้มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะต่าง ๆ ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิตและลักษณะของเซลล์คุมของดาหลาร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทั้งนี้เพื่อช่วยให้สามารถปรับปรุงพันธุ์ได้สะดวกและรวดเร็วขึ้นและเพื่อประโยชน์ในการสร้างสายพันธุ์ใหม่ทางการค้าในอนาคต

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุพืช

การศึกษาครั้งนี้ใช้ยอดรวมดาหลาที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog) เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นเพื่อเพาะเลี้ยงร่วมกับสารโคลชิซินเพื่อชักนำการเพิ่มชุดโครโมโซม

สิ่งก่อกลายพันธุ์

สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0 50 100 150 200 250 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิธีการศึกษา

1. การศึกษาความเข้มข้นของโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิตและการสร้างยอด

จุ่มแช่ส่วนยอดดาหลาขนาด 1 เซนติเมตร อายุ 4 สัปดาห์ ในสารละลายโคลชิซินเข้มข้น 0 50 100 150 200 250 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 6 ชั่วโมง ในสภาพนิ่ง เมื่อครบเวลา นำส่วนยอดออกจากสารละลายโคลชิซิน ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและซับด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อจนแห้ง จึงนำชิ้นส่วนยอดมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนยอด เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวม จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน แต่ละความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ยอด วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design : CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) จากนั้นวิเคราะห์ความเข้มข้นของโคลชิซินที่ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิต และการสร้างยอดรวม 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) โดยการคำนวณสหสัมพันธ์เชิงเส้น (Linear Regression) โดยใช้โปรแกรม Excel เวอร์ชั่น 2013

2. การตรวจสอบลักษณะทางสรีรวิทยา

ใช้ใบจากชิ้นส่วนยอดที่ได้จากการจุ่มแช่ยอดในสารละลายโคลชิซินทั้ง 7 ความเข้มข้น โดยนำใบมาลอกปากใบด้วยใบมีดโกนลอกผิวใบด้านท้องใบ หลังจากนั้นนำเนื้อเยื่อที่ลอกออกวางบนสไลด์ ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ตรวจสอบความหนาแน่นของเซลล์คุม วัดความยาว ความกว้างของเซลล์คุม และจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดคอมพาวด์ ที่กำลังขยาย 40 เท่า โดยแต่ละความเข้มข้นของโคลชิซินทดลองทำ 3 ใบ แต่ละใบใช้ 3 ตำแหน่ง (โคนใบ กลางใบ และปลายใบ)

ผลการทดลอง

1. ความเข้มข้นของโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิตและการสร้างยอดรวม

จากการจุ่มแช่ส่วนยอดดาหลาในสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้น 0-300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนยอดที่แช่ในสารละลายโคลชิซินมีอัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง LD_{50} คือ 194.69 มิลลิกรัมต่อลิตร (Figure 1)

เมื่อพิจารณาถึงผลของสารละลายโคลชิซินต่อการสร้างยอดรวมพบว่าชุดควบคุมให้การสร้างยอดรวมสูงสุด และมีจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนเฉลี่ยสูงสุดคือ 100 เปอร์เซ็นต์ และ 7.67 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ (Table 1) ชิ้นส่วนยอดที่แช่ในสารละลายโคลชิซินมีอัตราการสร้างยอดรวมลดลงครึ่งหนึ่ง LD_{50} คือ 158.18 มิลลิกรัมต่อลิตร (Figure 2)

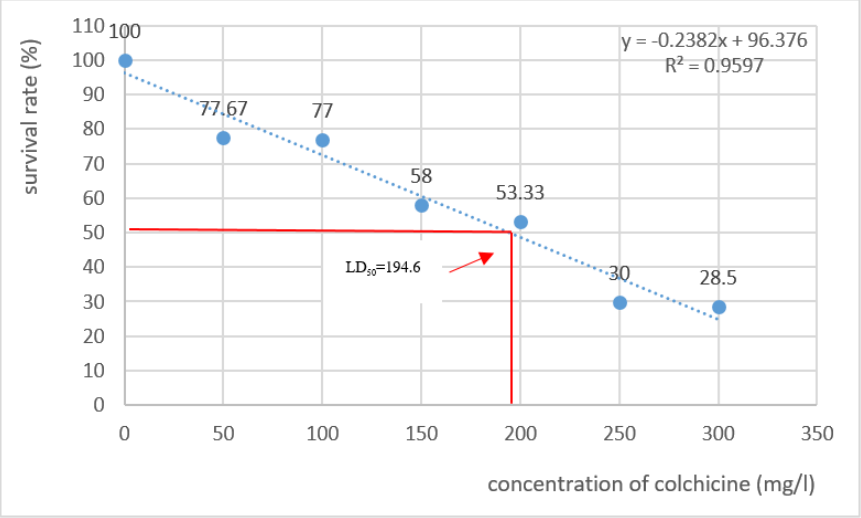

Figure 1 Survival percentage of shoot explants of torch ginger after treating with various concentrations of colchicine for 6 hours subsequent to culturing on MS medium supplemented with 3 mg/l BA for 4 weeks

Table 1 Survival percentage and multiple shoot formation from colchicine-treated shoot for 6 hours subsequent to culturing on MS medium with 3 mg/l BA for 4 weeks

Colchicine (mg/l)	Survival rate (%)	Multiple shoot formation (%)	Number of shoots/explant (shoot)
0	100a	100.00a	7.67a
50	77.67b	63.33b	6.33ab
100	77.00b	56.67c	4.33bc
150	58.00c	53.33c	4.00bc
200	53.33d	46.67c	3.33c
250	30.00e	25.00d	3.00c
300	28.50f	18.59e	2.25c
F-test	*	*	*
C.V. (%)	1.25	6.34	18.65

* Significantly different at $P \leq 0.05$

Means followed by the same letter (s) within each column are not significantly different according to DMRT.

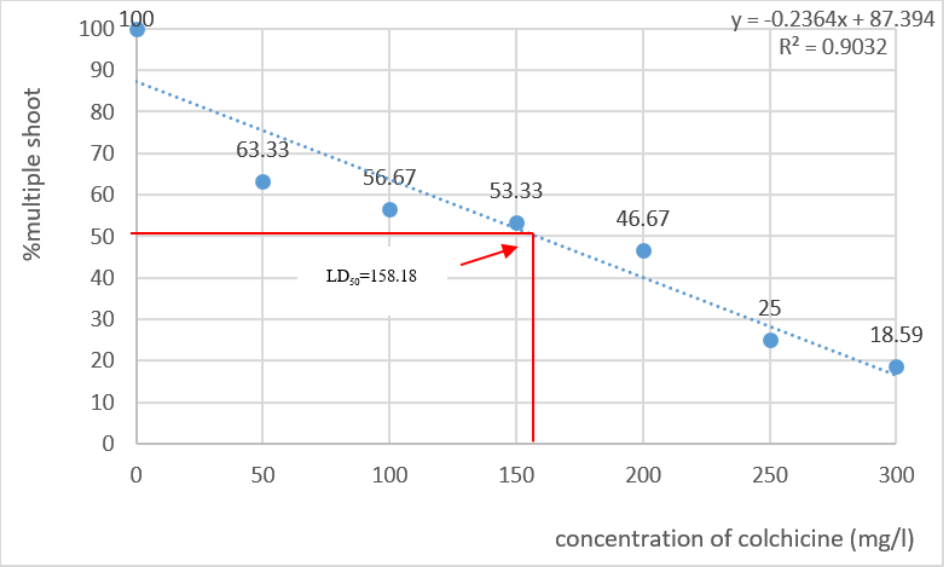

Figure 2 Multiple shoots percentage of shoot explants of torch ginger after treating with various concentrations of colchicine for 6 hours subsequent to culturing on MS medium supplemented with 3 mg/l BA for 4 weeks

2. ความเข้มข้นของโคลชิซินต่อลักษณะทางสรีรวิทยา ความหนาแน่น และขนาดของเซลล์คุม

จากการตรวจสอบความหนาแน่นและขนาดเซลล์คุมจากยอดที่จุ่มแช่ในโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าใบจากยอดที่ได้รับโคลชิซินทุกความเข้มข้นมีความหนาแน่นของเซลล์คุมสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่จุ่มแช่โคลชิซินแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยที่ไม่จุ่มแช่ให้เซลล์คุมมีความหนาแน่นต่ำสุด 2.25 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร เมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้นส่งผลให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมเพิ่มขึ้น โคลชิซิน 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมสูงสุด 5.33 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร เมื่อพิจารณาขนาดของเซลล์คุมพบว่าเป็นไปในทางตรงข้ามกับความหนาแน่น โดยเมื่อความเข้มข้นของโคลชิซินเพิ่มขึ้นส่งผลให้ขนาดของเซลล์คุมลดลง และต่ำสุดที่ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เซลล์คุมมีความกว้าง 20.23 ไมโครเมตร และความยาว 20.87 ไมโครเมตร (Table 2, Figure 3)

Table 2 Effect of different concentration of colchicine treatment on guard cell density and size and number of chloroplast of torch ginger after culturing on MS medium supplemented with 3 mg/l BA for 8 weeks

Colchicine (mg/l)	Density of guard cell (cell/mm^2)	Gard cell size (µm)		Number of chloroplasts
		width	length	
0	2.25c	42.54a	59.76a	16.67a
50	2.95c	34.56b	37.93b	18.33b
100	3.00b	25.58cd	37.87b	19.33b
150	3.00b	24.62cd	36.12b	18.75b
200	3.11b	24.32cd	25.89b	18.67b
250	3.17b	22.23d	23.87c	18.33b
300	5.33a	20.23d	20.87c	22.00b
F-test	*	*	*	*
C.V. (%)	22.49	5.29	4.42	11.79

* Significantly different at $P \leq 0.05$

Means followed by the same letter (s) within each column are not significantly different according to DMRT.

จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์

จากการตรวจสอบจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์คุม พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.50$) เมื่อความเข้มข้นของสารโคลชิซินเพิ่มขึ้นส่งผลให้จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมเพิ่มขึ้น ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์สูงสุด 22 เซลล์ (Table 2 Figure 3)

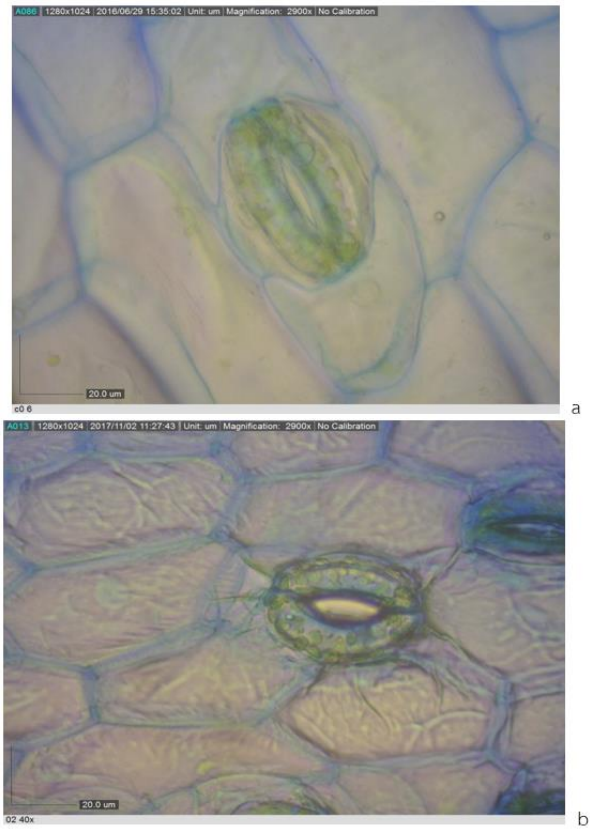

Figure 3 Size of guard cell and number of chloroplasts in guard cell from peel epidermis of torch ginger leaves obtained from control (a) and 300 mg/l colchicine-treated shoots for 6 hours (b) after culturing on MS medium supplemented with 3 mg/l BA for 8 weeks

วิจารณ์

เทคนิคการใช้สารละลายโคลชิซินชักนำให้มีการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมในพืชเริ่มมีมาตั้งแต่ ค.ศ.1937 โดยได้มีการทดลองกับพืชหลายชนิดนับเป็นจุดเริ่มต้นในการนำสารโคลชิซินมาใช้กับพืช (ไซนีย๊ะ และคณะ, 2558) โคลชิซินเป็นสารประกอบประเภทอัลคาลอยด์ที่สกัดได้จากเมล็ดและส่วนหัวของ *C. autumnale* (อดิศร, 2547 อ้างโดย ไซนีย๊ะ และคณะ, 2558) จากการทดลองจุ่มแช่ส่วนยอดดาหลาในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า ความเข้มข้นของสารโคลชิซินส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนยอดดาหลา โดยการศึกษาครั้งนี้พบว่า การจุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นเพิ่มขึ้นให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนยอดลดลง เช่นเดียวกับการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *Colophospermum mopane* โดยใช้สารโคลชิซินพบว่าเมื่อความเข้มข้นของโคลชิซินเพิ่มขึ้นส่งผลให้อัตราการงอกของเมล็ดลดลง ซึ่งอาจเป็นผลจากความเป็นพิษของโคลชิซินโดยเฉพาะความเข้มข้นสูงมีผลต่อการงอกของเมล็ดพืชและอัตราการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อพืช (Rubuluza *et al*., 2007) ซึ่งผลการทดลองที่ได้ตรงข้ามกับการจุ่มแช่ส่วนลำต้นของหญ้า *Brachiaria brizantha* ในอาหารที่มีโคลชิซินความเข้มข้น 0.01 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าโคลชิซินความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ให้อัตราการรอดชีวิตสูงกว่าที่ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ (Pincheiro *et al*., 2000) เช่นเดียวกับการทดลองของ Nguyen และคณะ (2003) พบว่า พืช *Alocasia* ที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 และ 72 ชั่วโมง มีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าพืชที่ได้รับความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามพืชบางชนิดให้การตอบสนองต่อความเข้มข้นของโคลชิซินไม่แตกต่างกัน เช่นการจุ่มแช่ต้นหยาดน้ำค้างด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ พบว่าความเข้มข้นของสารสูงไม่ส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตลดลง โดยทุกความเข้มข้นให้อัตราการรอดชีวิตเท่ากัน 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องจากความเข้มข้นที่ใช้กับต้นหยาดน้ำค้างอาจยังไม่สูงพอต่อความเป็นพิษในพืชชนิดนี้ (ไซนีย๊ะ และคณะ, 2558)

จากการทดลองในดาหลาพบว่าความเข้มข้นจากการคำนวณ 194.69 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ชิ้นส่วนยอดดาหลามีอัตราการรอดชีวิต อัตราการสร้างยอดรวม และจำนวนยอดรวมลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) เมื่อพิจารณาลักษณะทางสรีรวิทยาของใบโดยศึกษา 3 ตัวแปร พบว่าโคลชิซินส่งผลต่อขนาดของเซลล์คุมในขณะที่ความหนาแน่นและจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้น จากตัวแปรทั้ง 3 ของลักษณะทางสรีรวิทยาเห็นชัดเจนว่าขนาดปากใบลดลงครึ่งหนึ่งของขนาดปกติอย่างชัดเจนเมื่อยอดได้รับโคลชิซินความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งลักษณะทางสรีรวิทยาเป็นตัวบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงในระดับพลอยดีได้ดีกว่าอัตรารอดชีวิตจากการศึกษาจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมจากใบดาหลาพบว่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของโคลชิซินที่สูงขึ้นและสูงสุดที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร (22.00

คลอโรพลาสต์) สอดคล้องกับการทดลอง อัญญาณี และสมปอง (2551) พบว่า ใบหน้าวัวมีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโคลชิซินเพิ่มขึ้น และจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์กับจำนวนชุดโครโมโซมมีความสัมพันธ์กันแบบแปรผันตรง กล่าวคือจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นตามจำนวนชุดโครโมโซมที่เพิ่มขึ้น แม้ว่าจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์จะไม่เพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า แต่มีการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมเป็นสองเท่า (อัญญาณี และสมปอง, 2551) ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้แม้ว่าไม่ได้ศึกษาถึงจำนวนชุดโครโมโซม แต่จากผลของจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์คุมของใบดาหลาจะสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้การเพิ่มขึ้นของจำนวนชุดโครโมโซมได้ ซึ่งถือว่าเป็นวิธีการที่ง่าย มีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ไม่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย และใช้ระยะเวลาสั้น

สรุป

การชักนำการกลายพันธุ์ในดาหลาจากการนำชิ้นส่วนยอดมาจุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า การจุ่มแช่โคลชิซินความเข้มข้น 194.69 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) เมื่อพิจารณาถึงการสร้างยอดรวมพบว่า เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวมและจำนวนยอดรวมต่อชิ้นส่วนลดลงตามความเข้มข้นของโคลชิซินที่จุ่มแช่ โดยชิ้นส่วนที่ได้รับโคลชิซินความเข้มข้นสูงจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด จากการศึกษาเซลล์คุมพบว่าที่ความเข้มข้นสูงขึ้นส่งผลให้ความหนาแน่น และขนาดของเซลล์คุมลดลง แต่ทำให้จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมสูงขึ้นและสูงสุดที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา ที่อำนวยความสะดวกห้องปฏิบัติการในการทำวิจัย บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับทุนวิจัยในระดับบัณฑิตศึกษา และสถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ สำหรับทุนสนับสนุนการทำวิจัยในระดับปริญญาเอก

เอกสารอ้างอิง

กัญจนา แซ่เตียว, สุเม อรัญนาราถ และปรางทิพย์ มณีแสง. 2557. การใช้สารโคลชิซินชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในบัวหลวง. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 28: 49-59.

ไซนีย๊ะ สะมาลา, หัสยา จันทร์สีดำ และอรอนงค์ แซ่ฮั้น. 2558. ผลของสารโคลชิซินต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นหยาดน้ำค้างในหลอดทดลอง. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 2(1): 24-28.

ปฐมาภรณ์ ทิลารักษ์ และ สาโรจน์ ประเสริฐศิริวัฒน์. 2557. ผลของโคลชิซินต่อการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในกล้วยไม้เหลืองจันทบูรดำเต็มคอ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 16(1): 61-68

สุขไผท ศรีเมือง และวิไลลักษณ์ ชินะจิตร. 2551. ผลของโคลชิซินที่มีต่อกล้วยไม้ดินหมูกลิ้งในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารแก่นเกษตร 36: 234-239.

อัญญาณี จันทร์ภักดี และสมปอง เตชะโต. 2551. ความสัมพันธ์ระหว่างชุดโครโมโซมกับปริมาณคลอโรพลาสต์ในเซลล์ปากใบของหน้าวัวพันธุ์ Micky mouse ผ่านการทรีตด้วยสารโคลชิซิน. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 39(3): 219-222.

Abdelmageed, A.H.A., Faridah, Q.Z., Norhana, F. M.A., Julia, A.A., and AbdulKadir, Midhzar. 2011. Micropropagation of *Etlingera elatior* (Zingiberaceae) by using axillary bud explants. Journal Medicinal 5(18): 4465-4469.

Gantait, S., Mandal, N., Bhattacharyya, S. and Das, K. P. 2011. Induction and identification of tetraploid using *in vitro* colchicine treatment of *Gerbera jamesonii* Bolus cv.Sciella. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 106: 485-493.

Lekawatana, S. and Pituck, O. 1998. New floricultural crop in Thailand. Acta Horticulturae 454: 59-94.

Nguyen, T.P.T., Kengi, U., Ikuo, N., Yukio, O. and Hiroshi, O. 2003. Induction of tetraploid in ornamental *Alocasia* through colchicine and oryzalin treatments. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 72: 19-25.

Pinheiro, A.A., Pozzobon, M.T., Valle, C.B., Pentedo, M.I.O. and Carneiro, V.T. 2000. Duplication of the chromosome number of diploid *Brachiaria brizantha* plant using colchicine. Plant Cell Reports 19: 274-278.

Rubuluza, T., Nikolova, R.V., Smith, M.T. and Hannweg, K. 2007. *In vitro* induction of tetraploid in *Colophospermum mopane* by colchicine. South African Journal of Botany 73: 259-261.

SJPS-O-M02-R-95