อิทธิพลของโคลชิซินชนิดเม็ดต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหงส์เหิน

Influence of Colchicine Tablets on Morphological Changes of *Globba wiliamsiana*

ณัฐพงศ์ จันจุฬา[1] ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์[1] เบญญา มะโนชัย[1] พีรนุช จอมพุก[2] อัญชลี จาละ[3]
Nattapong Janjula[1] Thunya Taychasinpitak[1] Benya Manochai[1] Peeranuch Jompook[2] Anchalee Jala[3]

Abstract

The various concentration of colchicine (0, 1, 3, 5, 7 mg/l) were introduced into *Globba* shoots, which were propagated on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 2 mg/l 6-benzyladenine (BA) for various times (0, 1, 3, 5, 7 days) to create plants with different characteristics. Data were analyzed as a completely randomized design (CRD). A study of transplanting material was also discussed. The results showed that 1:1:1 ratio between burned chaff:sand:peat moss ratio gave the best survival and healthiness which was 94.44 %. In addition, using low concentration of colchicine for long periods (1 mg/l for 7 hr) showed glossy leaves, thicker stems and shorter. As a result, superior varieties were given such as thick stems, strong stems, spotted leaves, slender taper tillering. Lastly, flowers contained different features such as a semi-set and semi-pendulous inflorescence, petals adorn slender, larger decorated petals and and petals adorn slender. Leaves and flowers are larger and thicker.

[1]ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพ 10900
[1]Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Jatujak, Bangkok 10900. THAILAND
[2]ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพ 10900
[2]Department of Applied Radiation and Isotopes, Faculty of Science, Kasetsart University, Jatujak, Bangkok 10900. THAILAND
[3]ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ รังสิต ปทุมธานี 10121
[3]Department of Biotechnology, Faculty of Science&technology, Thammasat University, Rangsit, Pathumtani 10121. THAILAND
รับเรื่อง : มกราคม 2555
Corresponding author : agrtyt@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาอิทธิพลของโคลชิซินชนิดเม็ดต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหงส์เหินในสภาพปลอดเชื้อ หลังจากทำการฟอกฆ่าเชื้อช่อดอก และเพิ่มจำนวนต้น ก่อนทำการให้สารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 3, 5 และ 7 มก/ล และระยะเวลา 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) พบว่าวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการย้ายปลูกหงส์เหินจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือแกลบเผา:ทราย: พีทมอส อัตราส่วน 1:1:1 ทำให้หงส์เหินรอดชีวิตและแข็งแรงสูงที่สุด 94.44 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้โคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1 มก/ล นาน 7 วัน) ทำให้หงส์เหินในสภาพปลอดเชื้อ มีลักษณะใบมันวาว ใบมีความหนาขึ้น ลำต้นสั้นลง และเมื่อย้ายปลูกหงส์เหินที่ได้รับโคลชิซินมีลำต้นหนา แข็งแรงขึ้น ใบด่าง ใบเรียวเล็ก เรียวยาว การแตกกอมากกว่าปกติ และเมื่อออกดอก ลักษณะของดอกที่ได้มีหลายลักษณะ เช่น ช่อดอกสั้น กึ่งตั้งกึ่งห้อย กลีบประดับเรียวยาว ปลายกลีบเรียวแหลม กลีบประดับมีขนาดใหญ่ ค่อนข้างกลมมน กลีบประดับเรียวยาว ปลายกลีบเรียวแหลม ใบและดอกมีขนาดใหญ่และหนาขึ้น

คำนำ

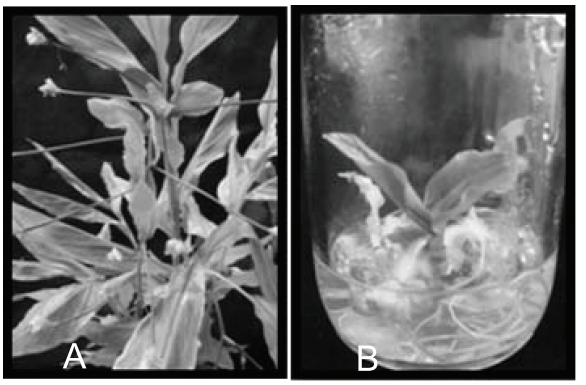
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นขั้นตอนหนึ่งที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เนื่องจากสามารถขยายพันธุ์พืชได้อย่างรวดเร็ว และได้ต้นที่ปลอดโรค นอกจากนี้ยังช่วยลดขั้นตอน และร่นระยะเวลาในการปรับปรุง พันธุ์พืช อีกทั้งยังสามารถชักนำให้เกิดการกลาย ซึ่งสามารถเพิ่มจำนวนต้นที่มีลักษณะกลายที่แตกต่างจากต้นปกติได้อย่างรวดเร็ว และเมื่อนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ ต้นพันธุ์มีอัตราการรอดชีวิตสูง “หงส์เหิน” เป็นดอกไม้ที่มีสีสันสวยงามสะดุดตา และมีความคงทน ชาวต่างชาติชื่นชม และสนใจนำไปปรับปรุงสายพันธุ์ให้มีความสวยงามโดดเด่นเพิ่มมากขึ้น ในปัจจุบันได้มีผู้เริ่มหันมาสนใจต้นหงส์เหินมากขึ้น ทั้งปลูกเพื่อความสวยงาม และปลูกเป็นการค้า

การผสมพันธุ์ระหว่างพืชต่างชนิด (interspecific hybridization) ซึ่งเป็นการสร้างพืชพันธุ์ใหม่ โดยมากจะทำให้ลูกผสมส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นหมัน ไม่สามารถทำการผสมพันธุ์คัดเลือกต่อไปได้ จึงเป็นอุปสรรคต่อการปรับปรุงพันธุ์ ทั้งนี้สามารถแก้ไขการเป็นหมันได้โดยทำการเพิ่มจำนวนโครโมโซม ซึ่งทำให้เกิด polyploidy ซึ่งจะได้ต้นที่มีขนาดใหญ่ และทนโรค (Sriwattanapong, 1985) สารเคมีที่นิยมใช้ในการเพิ่มจำนวนโครโมโซม คือ สารโคลชิซิน แต่เนื่องจากสารโคลชิซินบริสุทธิ์ออกฤทธิ์คล้ายสารหนู ซึ่งก่ออันตรายได้ด้วยการสัมผัส ถ้าหากได้รับสารในปริมาณมากอาจอันตรายถึงแก่ชีวิต (Addink, 2007; Cook and Loudon, 1952) นอกจากนี้การสั่งซื้อสารยังมีข้อจำกัด เนื่องจากไม่ได้มีวางจำหน่ายโดยทั่วไป และมีราคาสูง จึงทำให้เกิดแนวความคิดในการปรับปรุงพันธุ์หงส์เหินด้วยการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยใช้ยาเม็ดรักษาโรคเก๊าท์ยี่ห้อโคลชิซิน ซึ่งมีสารโคลชิซินอยู่ในเม็ดยาในปริมาณที่กำหนดตามฉลาก และยารักษาโรคเก๊าท์นี้สามารถหาซื้อได้ตามร้านขายยาทั่วไป ราคาไม่แพง มีความสะดวก และปลอดภัยในขั้นตอนการเตรียมสารละลายมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารโคลชิซินบริสุทธิ์ และการเลือกใช้วิธีการดังกล่าวถือเป็นทางเลือกที่ดีวิธีการหนึ่งในการพัฒนาพันธุ์หงส์เหินเพื่อให้มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น อีกทั้งยังสามารถนำไปปรับใช้เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับชนิดต่างๆ ต่อไป ดังนั้นในการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นและ

ระยะเวลาการได้รับสารละลายโคลชิซินจากยาเม็ดรักษาโรคเก๊าท์ที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา เพื่อนำไปสู่การคัดเลือกพันธุ์กลายต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

นำดอกอ่อนหงส์เหิน (ภาพที่ 1A) ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ (Clorox, 1.40 เปอร์เซ็นต์ (v/v) sodium hypochlorite) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที และล้างด้วยน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง และตัดแต่งเนื้อเยื่อที่โดนคลอรอกซ์ทิ้ง ย้ายลงอาหารกึ่งแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog medium; Murashige and Skoog, 1962) (ภาพที่ 1B) เมื่อได้ต้นหงส์เหินจำนวนตามต้องการ ทำมาตัดเป็นชิ้นขนาด 2 เซนติเมตร ก่อนทำการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยโคลชิซินชนิดเม็ดใช้รักษาโรคเก๊าซ์ (Colchicine ®) ซึ่งมีตัวยาโคลชิซิน 0.6 มิลลิกรัม ต่อ 1 เม็ด ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้



ภาพที่ 1 A. ช่อดอกหงส์เหินที่นำมาทำการฟอกฆ่าเชื้อ B. ต้นหงส์เหินที่เพิ่มปริมาณอายุ 1 เดือน

ตารางที่1 ระยะเวลาและความเข้มข้นของโคลชิซินที่ใช้ในการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ความเข้มข้น (มก/ล)	ระยะเวลา (วัน)	ความเข้มข้น (มก/ล)
0	0	5	1
1	1		3
	3		5
	5		7
	7	7	1
3	1		3
	3		5
	5		7
	7		

การเตรียมสารละลายโคลชิซิน

เตรียมสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0, 1, 3, 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารเหลวสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ โดยทำการกรองสารละลายโคลชิซินในสภาวะปลอดเชื้อด้วยแผ่นกรองเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.2 ไมครอน จำนวน 2 ครั้ง เพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในอาหาร จากนั้นทำการแช่ชิ้นส่วนพืชในสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน ภายใต้สภาวะมืด เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว และย้ายลงอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มีการเติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และบันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเมื่ออายุครบ 30 วัน

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาในสภาพปลอดเชื้อ

ทำการบันทึกการเจริญเติบโตของต้นหงส์เหินเมื่อมีอายุ 30 วัน โดยทำการสังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น คือ ขนาดของรากสะสมอาหาร สี และรูปร่างของใบ

การศึกษาผลของวัสดุปลูกในการย้ายต้นกล้า

โดยทำการศึกษาผลของวัสดุปลูก 5 ชนิด คือ ทราย แกลบเผา แกลบเผา:ทราย อัตราส่วน 1:1 พีทมอส:แกลบเผา:ทราย อัตราส่วน1:1:1 และพีทมอสที่มีผลต่อการรอดชีวิตของต้นกล้า โดยทำการบันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตหลังย้ายปลูก 7 วัน ทำการล้างวุ้นออกจากต้นกล้าให้สะอาด แช่ยาป้องกันเชื้อราความเข้มข้น 1 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร นาน 30 นาที แล้วปลูกลงในถาดเพาะเมล็ดโดยใช้วัสดุปลูกซึ่งประกอบด้วย พีทมอส ทราย และถ่านแกลบ ในอัตราส่วน 1:1:1 ทำการปรับสภาพต้นพืชเป็นระยะเวลา 7 วัน แล้วทำการบันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เปรียบเทียบกับชุดควบคุม แล้วทำการย้ายปลูกลงกระถางขนาด 4 นิ้ว โดยใช้วัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ดิน ขุยมะพร้าว ทราย แกลบดิบ ถ่านแกลบ กาบมะพร้าวสับ ในอัตราส่วน 1:1:1:1:1:1 ใส่ปุ๋ยสูตรเสมอ 14-14-14 อัตราส่วน 1 กรัมต่อกระถาง และใส่ปุ๋ยเม็ดละลายช้าสูตรเสมอ 14-14-14 อัตราส่วน 5 กรัมต่อกระถาง ทำการบันทึกการเจริญเติบโตของต้นหงส์เหิน

การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตหลังออกปลูกในสภาพภายนอก

บันทึกการเจริญเติบโตของหงส์เหินทุก 30 วัน จนถึงระยะออกดอก โดยบันทึกความสูงต้น ความกว้างความยาวใบ ความหนาใบ ระยะเวลาการออกดอก เมื่อหงส์เหินออกดอกทำการวัดความยาวช่อดอก ความกว้าง ความหนา กลีบดอกสังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น คือ ความสูง สีใบ ลักษณะช่อดอก สีของกลีบประดับ และบันทึกภาพเปรียบเทียบ

ผลและวิจารณ์

ผลของโคลชิซินชนิดเม็ดต่อการรอดชีวิตของหงส์เหิน

เมื่อหงส์เหินมีอายุครบ 30 วัน พบว่า ชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ในการทดลองครั้งนี้ สารละลายโคลชิซินที่ใช้อยู่ในรูปของยาเม็ดและใช้ในความเข้มข้นที่ต่ำ แต่ใช้ระยะเวลาในการแช่สารที่นานขึ้น อาจทำให้ต้นพืชที่อยู่ในสารละลายสามารถปรับสภาพ และมีชีวิตอยู่ในสารละลายได้ใกล้เคียงกับต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซิน คือต้นที่ได้รับโคลชิซิน มีลักษณะของเนื้อเยื่อกลายเป็นสีน้ำตาลแต่เมื่อย้ายลงอาหารกึ่งแข็ง กลับพบว่าต้นอ่อนสามารถเจริญเกิดขึ้น จากเนื้อเยื่อที่มีสีน้ำตาล จึงทำให้เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดโดยเฉลี่ยของแต่ละทรีตเมนต์สูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อใช้โคลชิซินในความเข้มข้นสูงและนานขึ้น ทำให้แนวโน้มของการรอดชีวิตของหงส์เหินลดต่ำลง ซึ่งจากการทดลองในต้น *Jatropha curcas* โดยใช้โคลชิซิน ความเข้มข้นต่ำ ระยะเวลานานขึ้น ทำให้ไม่เกิดการตาย แต่ความถี่การเกิดโพลีพลอยด์สูงขึ้น (Forni-Martins and Cruz, 1985) และเมื่อย้ายปลูกหงส์เหินมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) ซึ่งในทาง

ทฤษฎีนั้นโคลชิซินไม่ได้จำกัดเฉพาะการแบ่ง cell เท่านั้นแต่จะเข้าไปในส่วนต่างๆของ cell ของสิ่งมีชีวิต ทำให้เกิดความเป็นพิษแก่ cell เมื่อได้รับโคลชิซินในระดับความเข้มข้นที่สูงเกินไป (Derman, 1940) โดยสารละลายโคลชิซินมีผลทำให้ความหนืดของ Cytoplasm เปลี่ยนแปลงไป ทำให้เกิดการแบ่ง cell ผิดปกติ และอาจเกิดเสียสภาพ หรืออาจทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของโครโมโซมและทำให้ cell เสียสมดุลและตายได้ (Cook and Loudon, 1952) แต่เมื่อใช้ในความเข้มข้นต่ำๆ cell อาจปรับสภาพสู่สมดุล และอาจทำให้เกิดการเพิ่มหรือลดลงของจำนวนโครโมโซมได้เช่นกัน และโอกาสในการตายของเนื้อเยื่อลดน้อยลง (Janjula, 2010)

ผลของโคลชิซินชนิดเม็ดต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหงส์เหินสภาพปลอดเชื้อ

เมื่อหงส์เหินมีอายุครบ 30 วัน หลังจากได้รับโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น เมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซิน พบว่าต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซิน ลำต้นยืดยาวใบมีขนาดเล็กเรียวยาว มีความมันวาวของใบน้อย รากมีขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 3A) แต่ต้นที่ได้รับโคลชิซินมีลำต้นที่หนา อวบอ้วน ใบค่อนข้างกลม ลำต้นสั้น รากมีขนาดใหญ่ใบมันวาวกว่าต้นปกติ (ภาพที่ 3B) ซึ่งคิดเป็น 0.39 เปอร์เซ็นต์ของทั้งหมด ตามรายงานที่ผ่านมาได้กล่าวไว้ว่าโคลชิซินจะไปมีผลทำให้ microtubule หดสั้นลงมีผลทำให้ spindle fiber สลายหายไป เป็นเหตุให้จำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นทั้งชุด (Anonymous, 2008; Wikipedia, 2008; Morejohn and Fosket,1984) และต้นที่มีการเปลี่ยนแปลงระดับ ploidy เป็น tetraploid นี้ก็จะแสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างไปจากต้นที่เป็น diploid ซึ่งลักษณะนี้สอดคล้องกับงานทดลองในพืชอื่น ๆ เช่น Phlox (Zhang, 2008) นอกจากนี้โคลชิซินยังอาจมีการสะสมอยู่ในไซโตพลาสซึมมีผลทำให้พืชมีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา เช่น ใบหนา ย่นใบบิดเบี้ยวได้ (Dermen, 1940; Eigsti, 1938; 1957; Havas, 1940)

ผลของวัสดุปลูกต่อการรอดชีวิตของหงส์เหิน

หลังจากนำต้นหงส์เหินจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีอายุประมาณ 45 วัน ซึ่งมีรากและลำต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง ย้ายต้นกล้าลงวัสดุปลูกทั้ง 5 ชนิด (ภาพที่ 2) พบว่า ต้นหงส์เหินที่ปลูกในพีทมอสมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยต่ำสุด 38.89 เปอร์เซ็นต์ แต่ในวัสดุปลูกแกลบเผา:ทราย:พีทมอส ในอัตราส่วน 1:1:1 ทำให้หงส์เหินที่ปลูกมีชีวิตรอดเฉลี่ยสูงที่สุด 94.44 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อปลูกในทราย แกลบเผา และแกลบเผาผสมทราย อัตราส่วน 1:1 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 88.89, 83.33 และ 66.67 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ในทางปฏิบัตินั้น การเลือกใช้วัสดุปลูกทางการเกษตรในปัจจุบันมักใช้วัสดุอินทรีย์ และอนินทรีย์ซึ่งช่วยให้พืชดูดซึมน้ำ ออกซิเจน และสารอาหาร ทำให้ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืชอย่างมีประสิทธิภาพ (Verdonck *et al*., 1982) การที่หงส์เหินรอดชีวิตได้น้อยในพีทมอสเนื่องจาก พีทมอสมีสภาพเป็นกรด จึงไม่เหมาะแก่การปลูกหงส์เหิน

ผลของโคลชิซินชนิดเม็ดต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหงส์เหินหลังย้ายปลูก

เมื่อหงส์เหินมีอายุครบ 60 วันทำการเลือกต้นที่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะมาทำการคัดเลือกลักษณะต่างๆ ก่อนทำการบำรุงต้นด้วยปุ๋ยสูตรเสมอ 14-14-14 และปุ๋ยละลายช้าออสโมโคทสูตร 14-14-14 และตัดแต่งต้นที่เสื่อมสภาพทิ้ง ซึ่งจากการทดลองสามารถแบ่งกลุ่มต้นหงส์เหินที่ได้รับโคลชิซินตามลักษณะที่แตกต่างไปจากต้นปกติได้ 3 กลุ่ม คือกลุ่มที่1 ต้นหงส์เหินที่มีใบสีเขียวเข้ม ใบหนา ลำต้นหนาและสั้น แข็งแรง (ภาพที่ 4A) กลุ่มที่ 2 ต้นที่มีลักษณะใบสีเขียวเข้มใบด่างขาว สลับเขียวเป็นลายเส้นซึ่งพบเพียง 2 ต้น(ภาพที่ 4B) และกลุ่มที่ 3 ต้นที่มีลักษณะใบเรียวแหลมคล้ายใบไผ่ มีการแตกกอมากกว่าปกติ ทรงพุ่มกว้าง ลำต้นโน้มเอียงไม่แข็งแรง (ภาพที่ 4C) และเมื่อพิจารณาลักษณะของต้นก่อนการออกดอก พบว่า ต้นหงส์เหินที่ได้รับโคลชิซิน มีความกว้างใบ ความยาวใบ ความ

หนาใบ เฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ แต่จำนวนใบเฉลี่ยทั้งหมดก่อนเริ่มแทงช่อดอกไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยต้นที่ได้รับโคลชิซิน 1 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 7 วัน มีขนาดความกว้างของใบเฉลี่ยแตกต่างจากต้นในชุดควบคุม คือ 4.68 ± 0.32 และ 4.12 ± 0.43 เซนติเมตรตามลำดับ ซึ่งต้นในชุดควบคุมมีความกว้างใบเฉลี่ย 1.98 ± 0.12 เซนติเมตร ความยาวใบต้นที่ได้รับโคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร 5 วัน และ 1, 3, 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน มีความยาวใบเฉลี่ยมากกว่าต้นในชุดควบคุม คือ 16.34 ± 3.33, 16.45 ± 1.15, 16.39 ± 0.82, 17.47 ± 1.14 เซนติเมตรตามลำดับ ต้นในชุดควบคุมมีความยาวใบเฉลี่ย 8.32 ± 0.35 เซนติเมตร และต้นที่ได้รับโคลชิซินนาน 7 วันมีขนาดใบที่หนากว่าต้นในชุด (ตารางที่ 4)

เมื่อหงส์เหินอายุมากกว่า 90 วันจะเริ่มให้ดอกช่อแรก แต่ในการทดลองจะไม่เก็บผลการทดลองจากดอกช่อแรกเนื่องด้วยมีความสมบูรณ์น้อย จึงทำการบันทึกข้อมูลในช่อที่ 2 พบว่าต้นหงส์เหินที่ได้รับโคลชิซินจะใช้ระยะเวลาในการออกดอกน้อยกว่าต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซิน ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อทำการวัดความยาวช่อดอก และระยะห่างระหว่างก้านชูดอกจริง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ขนาดความยาวของก้านชูดอกจริงมีความยาวกว่าก้านชูดอกจริงของต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซินอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อกลีบประดับเจริญจนมีสีเข้มทำการวัดขนาดโดยวัดความกว้าง ความยาว ความหนา กลีบประดับมีขนาดใหญ่ขึ้น และหนาขึ้น ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ คือต้นที่ได้รับโคลชิซิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน และต้นที่ดีรับโคลชิซิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วันมีขนาดใบแตกต่างจากชุดที่ไม่ได้รับโคลชิซิน คือ 4.68±0.32 4.68±0.55 และ1.98± 0.12 เซนติเมตรตามลำดับ ต้นที่ได้รับโคลชิซิน 1 3 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 7 วัน มีความยาวใบ 16.45± 1.15 16.39± 0.82 และ17.47± 1.14 เซนติเมตรตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมมีขนาดใบ 8.32± 0.35 เซนติเมตร ความหนาใบของต้นที่ได้รับโคลชิซิน 7 วัน มีความหนาใบมากที่สุด แต่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (ตารางที่ 4) เมื่อทำการคัดเลือกลักษณะของดอกหงส์เหินหลังจากเจริญเติบโตทั้งช่อดอกลักษณะที่เด่นชัดมี 3 ลักษณะที่แตกต่างจากต้นไม่ได้รับโคลชิซินที่มีกลีบประดับขนาดเล็ก ช่อดอกสั้น กลีบประดับบาง (ภาพที่ 5A) คือ ช่อดอกสั้น กึ่งตั้งกึ่งห้อย กลีบประดับเรียวยาว ปลายกลีบเรียวแหลม แตกกอเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 5B) ลำต้นสูงกลีบประดับมีขนาดใหญ่ ค่อนข้างกลมมน (ภาพที่ 5C) และลำต้นสั้น กลีบประดับเรียวยาว ปลายกลีบเรียวแหลม (ภาพที่ 5D) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ Gantait (2011) รายงานว่าจากการออกปลูกเยอรบีร่า tetraploid ลักษณะของดอกมีขนาดใหญ่ขึ้น อายุการบานของดอกนานขึ้น กลีบดอกยาวขึ้น อายุการปักแจกันนานขึ้น กว่าต้นควบคุม และในต้น *Phlox subulata* L. พบว่าดอกมีขนาดใหญ่เส้นผ่านศูนย์กลางของดอกใหญ่กว่าปกติ ลำต้นใหญ่ ใบมีขนาดใหญ่ ทรงพุ่มกว้างขึ้น (Zhang, 2008) และมีใบคล้ายใบไผ่ ต้นเตี้ย ใบสีเขียวเข้ม กลีบดอกเรียวยาวปลายแหลม ปลายกลีบมีหาง ขอบกลีบมีรอยจีบในหงส์เหินดอกขาว (Janjula, 2552)

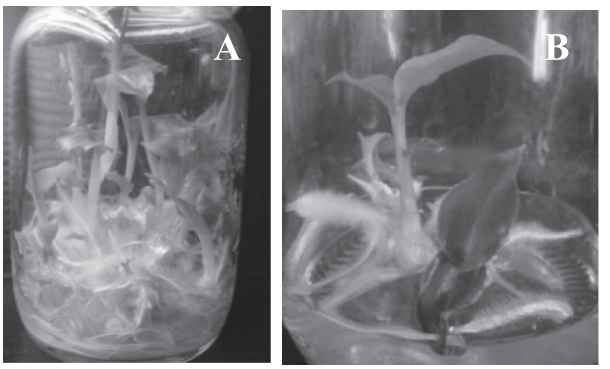
สรุป

เมื่อใช้ความเข้มข้นของโคลชิซินสูงขึ้น ระยะเวลานานขึ้น ต้นหงส์เหินมีเปอร์เซ็นต์แนวโน้มการรอดชีวิตต่ำลง ลักษณะการเปลี่ยนแปลงในสภาพปลอดเชื้อลำต้นที่หนา อวบอ้วน ใบค่อนข้างกลม ลำต้นสั้น รากมีขนาดใหญ่ ใบมันวาวกว่าต้นปกติ ซึ่งคิดเป็น 0.39 เปอร์เซ็นต์ของทั้งหมด วัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการย้ายปลูกหงส์เหินจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือแกลบเผา:ทราย:พีทมอส อัตราส่วน 1:1:1 ทำให้หงส์เหินรอดชีวิตและแข็งแรง เมื่อย้ายปลูกต้นที่ได้มีลักษณะหลายๆ ลักษณะสามารถสร้างความหลากหลายแก่หงส์เหินได้ คือ ลำต้นหนา แข็งแรงขึ้น ใบด่าง ใบเรียวเล็ก เรียวยาว การแตกกอมากกว่าปกติ และเมื่อออกดอก ลักษณะของดอกที่ได้มีหลายลักษณะ เช่นช่อดอกสั้น กึ่งตั้งกึ่งห้อย กลีบประดับเรียวยาว ปลายกลีบเรียวแหลม กลีบประดับมีขนาดใหญ่ ค่อนข้างกลมมน กลีบประดับเรียวยาว ปลายกลีบเรียวแหลม ใบและดอกมีขนาดใหญ่และหนาขึ้น

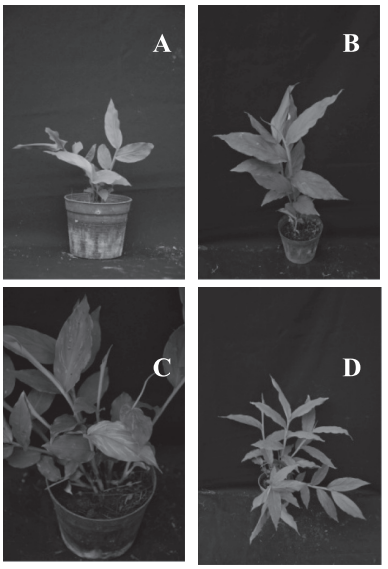
ตารางที่ 2 ผลของวัสดุปลูกต่อการรอดชีวิตของหงส์เหินหลังย้ายปลูก 7 วัน

วัสดุปลูก	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต
ทราย	88.89
แกลบเผา	83.33
แกลบเผา:ทราย	66.67
แกลบเผา:ทราย:พีทมอส	94.44
พีทมอส	38.89

ภาพที่ 2 ลักษณะของต้นหงส์เหินที่ปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่างๆ (A) แกลบเผา:ทราย (1:1) (B) แกลบเผา (C) ทราย (D) แกลบเผา:ทราย:พีทมอส (1:1:1)



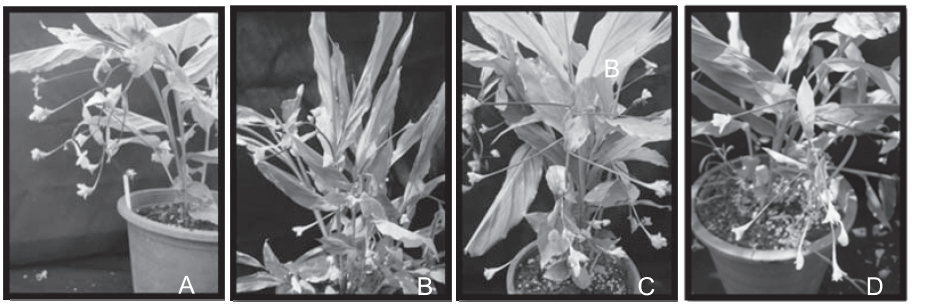
ภาพที่ 3 ลักษณะต้นหงส์เหินเมื่ออายุ 30 วัน A. ต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซิน (ควบคุม) B. ต้นที่ได้รับโคลชิซิน (บาร์= 1 ซม.)



ภาพที่ 4 ลักษณะต้นหงส์เหินเมื่ออายุ 60 วัน (A) ต้นที่ไม่ได้รับโคลชิซิน (ควบคุม) (B) ลำต้นแข็งใบสีเขียวเข้ม (C) ใบลายด่าง (D) ใบเรียวแหลม

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของหงส์เหินหลังได้รับโคลชิซิน 30 วัน และหลังย้ายปลูก 7 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ความเข้มข้น (มก/ล)	เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอด		ระยะเวลา (วัน)	ความเข้มข้น (มก/ล)	เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอด	
		หลังได้รับโคลชิซิน(30 วัน)	หลังย้ายปลูก(7 วัน)			หลังได้รับโคลชิซิน(30 วัน)	หลังย้ายปลูก (7 วัน)
0	0	100.00	93.33	5	1	80.00	86.67
1	1	93.33	93.33		3	73.33	100.00
	3	93.33	93.33		5	100.00	100.00
	5	86.67	80.00		7	100.00	100.00
	7	100.00	86.67	7	1	86.67	100.00
3	1	93.33	93.33		3	66.67	93.33
	3	93.33	93.33		5	100.00	100.00
	5	100.00	73.33		7	80.00	73.33
	7	93.33	66.67				



ภาพที่ 5 ลักษณะช่อดอกหงส์เหิน A. กลีบประดับมีขนาดเล็ก (ควบคุม) B. ช่อดอกสั้นกึ่งตั้งกึ่งห้อย C. กลีบประดับค่อนข้างกลม D. กลีบประดับเรียวยาว

ตารางที่ 4 การเจริญเติบโตของหงส์เหิน เมื่อมีอายุ 90 วัน ก่อนออกดอก (ค่าเฉลี่ย±SD)

ระยะเวลา (วัน)	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/ลิตร)	ความกว้างใบ (ซม)	ความยาวใบ (ซม)	จำนวนใบ (ใบ)	ความหนาใบ (มม)
0	0	1.98 ± 0.12 [a1/]	8.32 ± 0.35 [a]	4.93 ± 0.11	0.11 ± 0.11 [ab]
1	1	3.81 ± 0.84 [ab]	13.70 ± 2.47 [ab]	6.98 ± 0.69	0.13 ± 2.77 [ab]
	3	3.98 ± 1.10 [ab]	14.13 ± 3.22 [ab]	6.18 ± 1.25	0.14 ± 2.99 [ab]
	5	3.85 ± 0.50 [ab]	13.86 ± 0.87 [ab]	6.06 ± 0.94	0.12 ± 1.30 [ab]
	7	4.26 ± 1.32 [ab]	15.88±4.78 [ab]	7.93 ± 0.98	0.08 ± 3.07 [a]
3	1	4.18 ± 0.80 [ab]	15.43 ± 1.79 [ab]	7.20 ± 0.87	0.15 ± 3.00 [ab]
	3	4.20 ± 0.46 [ab]	15.31 ± 2.22 [ab]	9.00 ± 0.52	0.16 ± 1.67 [b]
	5	4.32 ± 1.02 [ab]	16.34 ± 3.33 [b]	7.93 ± 1.22	0.16 ± 2.68 [b]
	7	3.58 ± 1.28 [ab]	13.38 ± 4.19 [ab]	7.06 ± 1.44	0.12 ± 2.85 [ab]
5	1	3.96 ± 0.11 [ab]	13.96 ± 0.84 [ab]	6.60 ± 0.52	0.14 ± 2.11 [ab]
	3	2.43 ± 1.29 [ab]	9.60 ± 5.01 [ab]	6.73 ± 1.52	0.11 ± 4.90 [ab]
	5	3.83 ± 1.51 [ab]	12.83 ± 4.53 [ab]	6.23 ± 1.50	0.13 ± 3.00 [ab]
	7	2.49 ± 1.44 [ab]	9.48 ± 5.24 [ab]	6.40 ± 1.38	0.10 ± 5.95 [ab]
7	1	4.68 ± 0.32 [b]	16.45 ± 1.15 [b]	7.93 ± 0.23	0.17 ± 1.61 [b]
	3	4.34 ± 0.18 [ab]	16.39 ± 0.82 [b]	8.15 ± 0.13	0.16 ± 1.23 [b]
	5	4.68 ± 0.55 [b]	17.47 ± 1.14 [b]	8.23 ± 0.25	0.17 ± 1.23 [b]
	7	4.12 ± 0.43 [ab]	16.10 ± 1.55 [ab]	6.21 ± 3.65	0.17 ± 1.20 [b]
F-test		**	**	ns	**

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 99%
ns ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ 5 ระยะเวลาการออกดอก ขนาดของดอกจริง และกลีบประดับ (ค่าเฉลี่ย±SD)

ระยะเวลา (วัน)	ความเข้มข้น (มก/ล)	ระยะเวลา (วัน)	ความยาวช่อ (ซม)	ก้านชูดอกจริง (ซม)	ระยะห่างดอก (ซม)	bract กว้าง (ซม)	bract ยาว (ซม)	bract หนา (ซม)
0	0	134.44±0.96 [c1/]	4.53±2.53	2.36±1.22 [a]	0.95±0.53	0.62±0.13 [a]	1.52±0.26 [a]	0.09±2.00 [ab]
1	1	102.65±1.65 [a]	12.53±1.37	5.46±0.44 [b]	1.71±0.14	1.18±0.09 [ab]	2.61±0.35 [ab]	0.16±3.75 [ab]
	3	121.87±1.10 [abc]	9.36±4.82	3.53±1.01 [ab]	1.28±0.52	0.98±0.37 [ab]	2.35±0.65 [a]	0.14±5.10 [ab]
	5	122.50±7.51 [abc]	9.83±3.38	3.55±0.95 [ab]	1.42±0.46	0.74±0.07 [ab]	1.70±0.09 [a]	0.09±2.15 [ab]
	7	113.18±5.24 [ab]	13.00±1.50	5.32±0.79 [b]	1.80±0.30	1.14±0.24 [ab]	2.56±0.60 [ab]	0.10±3.85 [ab]
3	1	112.92±6.25 [ab]	12.26±1.80	4.88±0.44 [ab]	1.46±0.29	1.15±0.16 [ab]	2.58±0.20 [ab]	0.17±3.17 [ab]
	3	109.90±2.52 [ab]	10.67±1.07	3.93±0.95 [ab]	1.28±0.43	1.28±0.02 [b]	3.04±3.49 [b]	0.18±1.80 [b]
	5	125.17±1.59 [bc]	8.33±1.68	5.20±1.00 [ab]	1.72±0.23	1.21±0.17 [ab]	2.81±0.22 [ab]	0.17±3.81 [ab]
	7	113.26±1.06 [ab]	8.16±1.91	3.74±1.22 [ab]	1.22±0.39	0.94±0.40 [ab]	2.09±0.84 [a]	0.12±5.50 [ab]
5	1	117.75±2.25 [abc]	10.86±1.27	3.96±0.85 [ab]	1.69±0.13	0.90±0.12 [ab]	2.46±0.33 [a]	0.14±2.87 [ab]
	3	115.81±2.16 [abc]	9.40±2.94	2.84±0.97 [ab]	0.96±0.40	0.63±0.40 [a]	1.52±0.99 [a]	0.07±5.02 [a]
	5	124.83±2.32 [bc]	8.49±4.43	3.18±1.37 [ab]	1.04±0.43	0.93±0.20 [ab]	2.31±0.48 [a]	0.13±3.80 [ab]
	7	106.58±2.84 [ab]	12.50±1.16	3.76±1.02 [ab]	1.40±0.10	0.74±0.41 [ab]	1.79±1.03 [a]	0.12±6.47 [ab]
7	1	117.27±0.83 [abc]	14.13±1.20	5.93±0.35 [b]	1.70±0.26	1.26±0.17 [b]	2.60±0.34 [ab]	0.18±2.60 [b]
	3	117.00±2.16 [abc]	9.80±1.11	4.60±0.30 [ab]	1.65±0.45	0.97±0.05 [ab]	2.27±0.13 [a]	0.15±0.83 [ab]
	5	117.38±2.68 [abc]	10.50±1.47	4.85±0.61 [ab]	1.88±0.27	1.14±0.28 [ab]	2.48±0.69 [a]	0.16±4.98 [ab]
	7	125.68±3.80 [bc]	8.06±5.33	3.80±2.68 [ab]	1.22±0.68	1.32±0.12 [b]	3.18±0.21 [ab]	0.18±4.68 [b]
F-test		**	ns	**	ns	**	**	**

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 99%
ns ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ
โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Wongpiyasatid, A., 2009. Mutation for Breedig. 279 page. (in thai)

Addink, W., 2007. Colchicine :used in plant breeding work to induced mutation (polyploidy). AvailableSource:http://www.geocities.com/RainForest/Vines/2259/colchicines.htm., November 6, 2010

Celike, G. 1999. Effect of different substrates on yield and quality of tomato. Acta Hortic., 486: 353-357.

Cook, J.W. and L.D. Loudon. 1952. Colchicine. The Alkaloid Chemistry and Physiology. 2: 261-329.

Dermen, H. 1940. Colchicine polyploid and technique. The Botanical Review .6: 599-635.

Eigsti, O.J. 1938. A cytological study of colchicines effects in the induction of polyploidy in plants. Proc. Nat> Acad.Sci. 24 : 56-63.

Eigsti, O.J. 1957. Induced polyploidy. American Journal of Botany, 44(3) : 272-279.

Elliott, F.C. 1958. Plant Breeding and Cytogenetic. McGraw-Hill, Inc, New York. 395 p.

Forni-Martins, ER, ND. Cruz., 1985. Dados preliminaries sobre inducao de poliploidia em *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae). Congresso da Sociedade Botanica de Sao Paulo. V. Botucatu. Resumos. 167 p

Gantait, S., N. Mandal., and P. Kanti Das. 2011. Induction and identification of tetraploids using in vitro colchicines treatment of *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Sciella. Plant Cell Tiss Organ Cult. DOI 10.1007/s11240-011-9947-1.

Havas, L. 1940. Colchicine chronology. Jour. Hered. 31 : 115-117.

Janjula, N., 2010. Induced mutation *in vitro* by colchicines combined with gamma irradiation on white dragon (*Globba magnifica*). 119 page. (in thai)

Heinz, D.J., and G.W.P. Mee, 1970. Colchicine-induced polyploids from cell suspension cultures of sugarcane. Crop Science. 10 : 696-699.

Morejiohn, L.C., and D.E. Fosket, 1984. Taxol-induced rose microtubule polymerization *in vitro* and its inhibition by colchicines. The Journal of Cell Biology, 99 : 141-147

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. Physiology Plant 15: 473-474.

Sriwattanapong, S. 1985. Plant Breeding. Kasetsart University. Bangkok.(in thai)

Verdonck, O., D. Vleeschauwe. and De. Boodt M. 1982. The influence of the substrate to plant growth. Acta Hortic. (ISHS). 126: 251-258.

Wilailak, C., and S. Sreemaung., 2008. Colchicine Affecting the Alteration of Ploidy Level in Plantlets of *Eulophia andamanensis* Reichb.f. Agricultural Sci. J. 39(3) (Suppl.) : 275-277.

Zhang, Z., H. Dai., and M. Xiao. 2008. *In vitro* induction of tetraploids in *Phlox subulata* L.. Euphytica. 159:59–65.