

การชักนำให้เกิดเตตราพลอยด์ในแวมยูราลูกผสม และการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยา

Tetraploid Induction of *Torenia* sp. Hybrid

(*T. concolor* x *T. fournieri*) and Its Morphological Changes

ธัญญา เตชະศีลพิทักษ์, เหมอมารย์ วงศ์ชาวจันทร์ และอภิญญา สาตรา

ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

ณัฐพงศ์ จันจุฬา*

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 13180

Thunya Taychasinpitak, Shermarl Wongchaochant, Aphinya Satra

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkhen Campus,

Ladyao, Chatuchak, Bangkok, 10900

Nattapong Chanchula*

Faculty of Agricultural Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under Royal Patronage,

Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 13180

บทคัดย่อ

การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นเตตราพลอยด์ในแวมยูรา และการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานของแวมยูราที่กลายพันธุ์ตามธรรมชาติ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ แบ่งออกเป็น 5 สิ่งทดลอง จำนวน 30 ซ้ำ โดยการตัดใบที่มีก้านใบไปแช่ในสารละลายจากโคลชิซินชนิดเม็ดที่ระดับความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าอัตราการรอดชีวิต ลดลงเมื่อระยะเวลาในการแช่เพิ่มขึ้น และพบว่าที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง สามารถชักนำให้เกิดต้นเตตราพลอยด์ได้สูงสุดคือ 23.33 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานระหว่างต้นดิพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์หลังการปักชำกิ่ง 60 วัน พบว่าต้นดิพลอยด์มีขนาดทรงพุ่มมากกว่าต้นเตตราพลอยด์ และต้นเตตราพลอยด์มีขนาดใบขนาดตาดอก ความกว้างของปากดอก และความหนาใบมากกว่าต้นดิพลอยด์ 6.21 ± 0.54 ซม., 1.66 ± 0.02 ซม., 4.83 ± 0.25 ซม. และ 0.40 ± 0.01 มม. ตามลำดับ ส่วนจำนวนกิ่งแขนง จำนวนดอก และความยาวจากปากดอกถึงฐานรองดอกของต้นเตตราพลอยด์และต้นดิพลอยด์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

คำสำคัญ : แวมยูรา; โคลชิซินเม็ด; เตตราพลอยด์

Abstract

The effects of different treated duration of colchicines on ploidy level and morphology of *Torenia* sp. hybrid derived from spontaneous mutation were investigated in this study. The experiment used complete randomized design with 30 replications in 5 treatments. Leaves were cut and soaked in 15 mg/l colchicine solution before incubation for 0 12 24 48 or 72 hours. After treatment, the reductions of the survival rate were observed when the treated durations were increased. The highest frequency of tetraploid induction (23.33 %) of *Torenia* sp. hybrid was found at 72 hours treated time. Morphological characteristics of tetraploid and diploid plants were compared after 60 days stem cutting. As a result, the plant canopies of tetraploids were lower than that of diploids, while, the leaf size (6.21 ± 0.54 cm), flower bud size (1.66 ± 0.02 cm), flower diameter (4.83 ± 0.25 cm) and leaf thickness (0.40 ± 0.0 mm) of tetraploid plants were higher than that of diploids. However, no significant differences in number of branch, number of flower and flower length of tetraploid and diploid plants.

Keywords: *Torenia*; colchicine tablet; tetraploid

1. คำนำ

แวมมยूरามีประมาณ 40 สกุล (Miyazaki *et al.*, 2006) แต่แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่เป็นพืชฤดูเดียว (annual) เช่น *T. fournieri* ดอกมีสีแดง สีชมพู สีม่วงเข้ม สีม่วงอ่อน โคนกลีบสีขาวกลีบล่างอาจมีแต้มสีเหลือง และ *T. flava* ดอกมีสีเหลือง โคนกลีบสีม่วง *T. violacea* (Azaola ex Blanco) Pennell ดอกสีขาวมีส่วนที่เป็นสีม่วงเข้มที่พู่ด้านข้าง พบตามทุ่งหญ้าชื้น ตามพื้นที่ทราย หรือน้ำ และ เช่น ภูกระดึง ภูหลวง ภูเมี่ยง ชนิดและกลุ่มที่เป็นพืชหลายฤดู (perennial) เช่น *T. concolor* (เอื้อมพร และคณะ, 2540; รัชัญญะ, 2545; Yamazaki, 1985; Boufford *et al.*, 1998) ในการนำแวมมยूरามาปรับปรุงพันธุ์เพื่อเป็นการค้านั้นส่วนใหญ่มักมีการพัฒนาพันธุ์ในต่างประเทศเท่านั้น เช่น บริษัท Danzinger ในประเทศอิสราเอล บริษัท Pan American Seed ในประเทศสหรัฐอเมริกา บริษัท Suntory ในประเทศญี่ปุ่น และโดยนักวิจัยชาวญี่ปุ่น เช่น Sasaki *et al.* (2008) สามารถปรับปรุงพันธุ์จน

ได้พันธุ์ใหม่ ๆ ซึ่งมีสีดอกตั้งแต่สีขาวจนถึงสีม่วงอ่อน สีม่วงเข้ม สีชมพูอ่อน สีชมพูเข้ม สีเหลือง ในปัจจุบันนี้ความรู้ทางการปรับปรุงพันธุ์ในแวมมยूरายังมีอยู่น้อย ทั้งในเรื่องการทำให้เกิดดอกซ้อน การเปลี่ยนแปลงลักษณะรูปร่างของดอก ซึ่งได้มีการทดลองของ Chanchula (2015) ได้ทดลองฉายรังสีแกมมาแวมมยूर่าพันธุ์ป่าดอกสีม่วงเข้ม พบว่ารังสีสามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีดอกและรูปร่างดอกได้ 3 ลักษณะ คือ ดอกสีชมพู ดอกสีม่วงปนดำ และขอบดอกหยาบกว่าปกติและเกสรตัวผู้เป็นหมัน แต่ในการทดลองของ Sawangmee และคณะ (2011) ได้ฉายรังสีแกมมาแวมมยूर่าพบว่าสามารถชักนำให้เกิดต้นโพลีพลอยด์ และดอกมีขนาดใหญ่ขึ้น ในงานวิจัยที่ผ่านมามีการชักนำให้เกิดการเพิ่มโครโมโซมในพืชหลายชนิด แต่ผู้วิจัยส่วนใหญ่มักใช้สารเคมีที่บริสุทธิ์ในการชักนำ ซึ่งสารเหล่านี้เป็นอันตรายต่อตัวผู้วิจัย เช่น โคลชิซินบริสุทธิ์ มีฤทธิ์คล้ายสารหนู ซึ่งก่ออันตรายด้วยการสัมผัส ถ้าหากได้รับในปริมาณมากอาจอันตรายถึง

แก่ชีวิต (Addink, 2007; Cook and London, 1952) นอกจากนี้ยังมีข้อจำกัดในการสั่งซื้อ คือ ไม่มีจำหน่ายทั่วไปตามท้องตลาด และมีราคาสูง แต่ยาเม็ดโคลชิซินโดยทั่วไปที่ใช้รักษาโรคเก๊าท์มีจำหน่ายตามร้านขายยาทั่วไป ราคาไม่แพง มีความสะดวก และปลอดภัยในขั้นตอนการเตรียมสารละลายมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารละลายโคลชิซินบริสุทธิ์ และการเลือกวิธีการดังกล่าวถือเป็นการพัฒนาพันธุ์แวมยูราให้มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้นอีกทั้งยังสามารถนำไปปรับใช้เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับชนิดต่าง ๆ ต่อไป (ณัฐพงศ์ และคณะ, 2555) ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงระยะเวลาที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นเตตราพลอยด์ในแวมยูรา และเพื่อเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานระหว่างต้นดิพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์ของแวมยูรา เมื่อได้ลักษณะที่ดีและเหมาะสมจะสามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์และพัฒนาพันธุ์ต่อไปได้



รูปที่ 1 ลักษณะทรงพุ่มและสีดอกสีชมพูของแวมยูราพันธุ์ลูกผสมกลาย

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 พืชทดลอง วัสดุปลูก และสารเคมี

2.1.1 พืชทดลอง คือ แวมยูราพันธุ์ลูกผสมกลาย (*T. concolor* x *T. fourmieri*) (รูปที่ 1) ดอกมีสีชมพูอ่อนที่เกิดจากการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) โดย รอง

ศาสตราจารย์ธัญญา เตชະศีลพิทักษ์ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน มีความร่วมมือเรื่องการปรับปรุงพันธุ์แวมยูรากับ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชินจิ คิคุชิ คณะพืชสวน มหาวิทยาลัยชิบะ ประเทศญี่ปุ่น

2.1.2 ยาเม็ดโคลชิซินสำหรับรักษาโรคเก๊าท์ ยี่ห้อ colchicine เป็นยานำเข้ามาจากประเทศสวิตเซอร์แลนด์ และสามารถซื้อได้ตามร้านขายยาทั่วไป โดยยา 1 เม็ด ประกอบด้วย โคลชิซิน 0.6 มิลลิกรัม แลคโตส แมกนีเซียม สเตียเรต และแป้ง

2.1.3 วัสดุที่ใช้สำหรับปลูก คือ พีทมอส ใช้สำหรับปักชำใบ ทวาย ถ่านแกลบ ขุยมะพร้าว กาบมะพร้าวสับ และปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 1:1:1:1:0.5 ใช้สำหรับย้ายกระถาง

2.2 การวางแผนการทดลอง

โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized design) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 ทรีตเมนต์ ทรีตเมนต์ละ 30 ช้ำ ช้ำละ 1 ใบ โดยแช่ใบในสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร (จากการทดลองของ Boonbongkarn (2013) ความเข้มข้นที่ชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์สูงที่สุด) เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง และเมื่อครบระยะเวลา 60 วัน ตัดชำกิ่งแวมยูราทุกทรีตเมนต์ของการทดลอง เพื่อดูความคงตัวของต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน และต้นที่คาดว่าจะเป็ต้นเตตราพลอยด์ คือ ใบมีขนาดใหญ่ หนา มีสีเขียวเข้ม และดอกมีขนาดใหญ่ขึ้น

2.3 การเตรียมสารละลายจากยาเม็ดโคลชิซิน

เม็ดยา 1 เม็ด มีส่วนผสมของยาโคลชิซิน 0.6 มิลลิกรัม โดยละลายยาเม็ดโคลชิซินในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว และเตรียมที่ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 400 มิลลิตร (ใช้ยาเม็ดโคลชิซิน 10 เม็ด)

2.4 การชักนำให้เกิดต้นเตตราพลอยด์

ตัดใบที่มีก้านใบจากต้นแวมยูราพันธุ์ลูกผสมกลาย (*T. concolor* x *T. fournieri*) ไปแช่ในสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปปักชำในวัสดุปักชำ คือ พีทมอส เมื่อเกิดรากและต้นตั้งตัวได้ ย้ายปลูกลงในกระถางขนาด 4 นิ้ว โดยใช้วัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ทราย ถ่านแกลบ ขุยมะพร้าว กาบมะพร้าวสับ และปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 1:1:1:1:0.5 ใส่ปุ๋ยเม็ดละลายช้า สูตรเสมอ 14-14-14 อัตรา 5 กรัมต่อกระถาง และให้ปุ๋ยชนิดเกล็ดละลายน้ำสูตร 21-21-21 อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุกสัปดาห์ บันทึกอัตราการรอดชีวิต การเจริญเติบโตทางด้านทรงพุ่ม จำนวนกิ่งแขนง ขนาดใบ และการเปลี่ยนแปลงลักษณะพื้นฐาน โดยบันทึกข้อมูลทุก 30 วัน เพื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากนั้นทำการตัดชำกิ่งแวมยูราทุกทริตเมนต์ของการทดลองจากต้นที่มีอายุ 60 วัน มาปักชำในวัสดุปักชำ คือ พีทมอส เมื่อเกิดรากและต้นตั้งตัวได้ ย้ายปลูกลงในกระถางขนาด 4 นิ้ว โดยใช้วัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ทราย ถ่านแกลบ ขุยมะพร้าว กาบมะพร้าวสับ และปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 1:1:1:1:0.5 ใส่ปุ๋ยเม็ดละลายช้าสูตรเสมอ 14-14-14 อัตรา 5 กรัมต่อกระถาง และให้ปุ๋ยชนิดเกล็ดละลายน้ำสูตร 21-21-21 อัตรา 30 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทุกสัปดาห์ บันทึกอัตราการรอดชีวิต การเจริญเติบโตทางด้านทรงพุ่ม จำนวนกิ่งแขนง ขนาดใบ การเปลี่ยนแปลงทางลักษณะพื้นฐานที่เกิดขึ้นภายหลังการได้รับสาร โดยบันทึกข้อมูลทุก 30 วัน เพื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

2.5 การคัดเลือกต้นเตตราพลอยด์

เมื่อแวมยูราที่มีอายุ 60 วัน คัดเลือกต้นที่คาดว่าต้นเตตราพลอยด์ ซึ่งพบการเปลี่ยนแปลงลักษณะพื้นฐานที่ชัดเจน เช่น เจริญเติบโตช้า

ใบมีสีเขียวเข้มขึ้น มีขนาดใหญ่ หนาและหยาบ และดอกมีขนาดใหญ่ขึ้น (Boonbongkarn, 2013)

2.6 การวิเคราะห์จำนวนชุดโครโมโซมโดยวิธี flow cytometry

นำใบอ่อนอายุ 30 วัน ของต้นแวมยูราพันธุ์ลูกผสมกลายจากต้นชุดควบคุมและต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน จำนวน 1 ใบ วางลงบนจานพลาสติก สับตัวอย่างใบพืชด้วยใบมีดที่คม หยดสารละลาย extraction buffer 500 ไมโครลิตร (Partec Cy stain UV ploidy, one step DAPI staining solution) จากนั้นกรองสารที่สกัดได้ใส่ใน celltrics disposable filtered ขนาด 30 ไมโครเมตร และนำไปวิเคราะห์หาระดับพลอยดี (ploidy) ด้วยวิธี flow cytometry ด้วยเครื่อง Partec PA II (Web Suwanseree, 2011)

2.7 การบันทึกผล

2.7.1 อัตราการรอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การเกิดเตตราพลอยด์ของแวมยูราพันธุ์ลูกผสมกลาย หลังปักชำไป 30 วัน และวัดทรงพุ่ม จำนวนกิ่งแขนง และขนาดใบ หลังปักชำไป 60 วัน

2.7.2 การเจริญเติบโตของลำต้น คือ ขนาดทรงพุ่ม จำนวนกิ่งแขนง ขนาดใบ ความหนาใบ หลังปักชำกิ่ง 30 และ 60 วัน

2.7.3 การเจริญเติบโตของดอก คือ จำนวนดอก ขนาดดอก ความกว้างของปากดอก และความยาวจากปากดอกถึงฐานรองดอก หลังปักชำกิ่ง 30 และ 60 วัน

2.7.4 วิเคราะห์ระดับพลอยดีด้วยวิธี flow cytometry

2.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยข้อมูลการเจริญเติบโตของลำต้นและดอกตามวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS 16.0

3. ผลการวิจัย

3.1 จำนวนต้นที่รอดชีวิต จำนวนต้นที่คาดว่าเกิดโพลีพลอยด์ และเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นที่คาดว่าเกิดเป็นโพลีพลอยด์ของแวมยुरาพันธุ์ลูกผสมกลาย (*T. concolor* x *T. fournieri*)

หลังจากนำไปปักชำในวัสดุปักชำและบันทึกอัตราการรอดชีวิตที่ 30 วัน พบว่าชุดควบคุมและระยะเวลาที่แช่ 12 ชั่วโมง มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด คือ 30 ต้น ระยะเวลาในการแช่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของแวมยुरาพันธุ์ลูกผสมกลาย โดยอัตราการรอดชีวิตจะลดลงเมื่อระยะเวลาในการแช่

นานขึ้น ระยะเวลาที่แช่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง มีอัตราการรอดชีวิต 29, 23 และ 17 ต้น ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์การเกิดเตตราพลอยด์ พบว่าระยะเวลาที่แช่ 72 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดเตตราพลอยด์สูงสุด คือ 23.33 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาที่แช่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดเตตราพลอยด์ของแวมยुरาพันธุ์ลูกผสมกลาย โดยเปอร์เซ็นต์การเกิดเตตราพลอยด์จะเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการแช่ นานขึ้น ระยะเวลาที่แช่ 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดเตตราพลอยด์ 0, 6.67, 6.67 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 จำนวนต้นที่รอดชีวิต จำนวนต้นที่เกิดเตตราพลอยด์ และเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นเตตราพลอยด์ของแวมยुरาพันธุ์ลูกผสมกลาย (*T. concolor* x *T. fournieri*) หลังปักชำไป 30 วัน

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	จำนวนใบ	จำนวนต้นที่รอดชีวิต	จำนวนต้นเตตราพลอยด์	เปอร์เซ็นต์การเกิดเตตราพลอยด์
0	30	30	0	0
12	30	30	2	6.67
24	30	29	2	6.67
48	30	23	3	10
72	30	17	7	23.33

ตารางที่ 2 การเจริญเติบโตทางด้านทรงพุ่ม จำนวนกิ่งแขนง และขนาดใบของของแวมยुरาพันธุ์ลูกผสมกลาย (*T. concolor* x *T. fournieri*) หลังปักชำไป 60 วัน

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ขนาดทรงพุ่ม (เซนติเมตร)	จำนวนกิ่งแขนง (กิ่ง)	ขนาดใบ (เซนติเมตร)
0	25.80±3.58a ^{1/}	6.70±2.87	4.97±1.09a
12	18.15±6.06b	8.00±2.98	4.59±1.07ab
24	24.47±3.60a	7.30±2.83	3.88±0.49b
48	19.26±4.28b	6.70±2.75	4.49±1.19ab
72	15.36±5.69b	6.10±2.60	3.87±0.58b
F-test	*	ns	*
% C.V.	23.09	40.36	21.34

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD); ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ; *มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์; ^{1/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันตามแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ตามการวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's multiple-range test (DMRT)

3.2 การเจริญเติบโตทางด้านทรงพุ่ม จำนวนกิ่งแขนง และขนาดใบของแวมยูราพันธุ์ลูกผสมกลาย (*T. concolor* x *T. fourneri*) หลังปักชำใบ 60 วัน

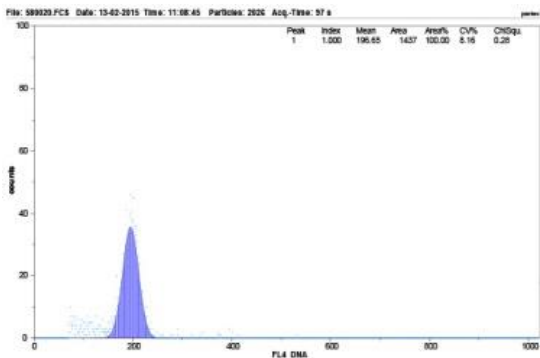
การวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าระยะเวลาที่แช่ก้านใบต่อความสูงมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ต้นที่ได้รับสารละลายจากยาเม็ดโคลชิซินในช่วงเวลาแตกต่างกัน พบว่าต้นในกลุ่มชุดควบคุมมีขนาดทรงพุ่มเฉลี่ยมากที่สุด คือ 25.80 ± 3.58 เซนติเมตร ระยะเวลาที่แช่ 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง มีขนาดทรงพุ่มเฉลี่ย คือ 18.15 ± 6.06 , 24.74 ± 3.60 , 19.26 ± 4.28 และ 15.36

เมื่อนำใบของต้นแวมยูราที่มีการเจริญเติบโตช้าลง ใบหนาขึ้น มีสีเขียวเข้มขึ้น ดอกมีขนาดใหญ่และหนาขึ้นมาวัดระดับพลอยด์ด้วยวิธี flow cytometry โดยใช้เครื่อง flow cytometer รุ่น Partec II ผลการนับจำนวนชุดโครโมโซมของแวมยูราพันธุ์ลูกผสมกลายพบว่ามีการเพิ่มจำนวนของ

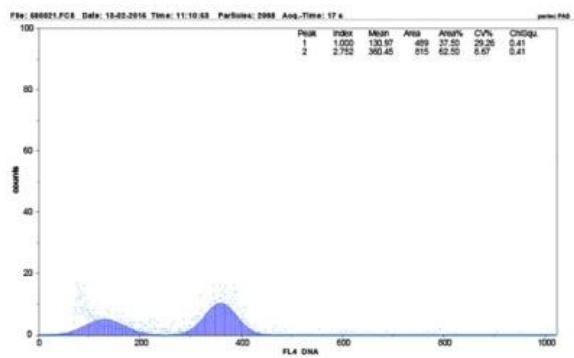
± 5.69 เซนติเมตร ตามลำดับ จำนวนกิ่งแขนงไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ซึ่งต้นที่ได้รับสารละลายจากยาเม็ดโคลชิซินมีลักษณะต้นแข็งแรง ต้นที่มีจำนวนกิ่งแขนงมากที่สุด คือ ต้นที่แช่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง มีจำนวนกิ่งแขนงเฉลี่ย คือ 8.00 ± 2.8 กิ่ง ระยะเวลาที่แช่ 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง มีจำนวนกิ่งแขนงเฉลี่ย 6.70 ± 2.87 , 7.30 ± 2.83 , 6.70 ± 2.75 , 6.10 ± 2.60 กิ่ง ตามลำดับ แต่ใบมีขนาดเล็กกลง (ตารางที่ 2)

3.3 การวิเคราะห์จำนวนชุดโครโมโซมเพื่อวัดระดับพลอยด์ของแวมยูราพันธุ์ลูกผสมกลายด้วยวิธี flow cytometry

ชุดโครโมโซมเกิดขึ้นโดยต้นดิพลอยด์หรือต้นควบคุมมีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ของฮีสโตแกรม เท่ากับ 100 (รูปที่ 2ก) และพบในแวมยูราที่คาดว่าป็นโพลีพลอยด์ มีการเพิ่มจำนวนของชุดโครโมโซมเป็นเตตราพลอยด์ คือ มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ของฮีสโตแกรม เท่ากับ 62.50 (รูปที่ 2ข)



ก



ข

รูปที่ 2 ฮีสโตแกรม flow cytometry ของแวมยูราต้นดิพลอยด์ (ก) และต้นเตตราพลอยด์ (ข)

3.4 การเจริญเติบโตทางด้านขนาดทรงพุ่ม จำนวนกิ่งแขนง ขนาดใบ จำนวนดอก ขนาดตาดอก ความกว้างของปากดอก ความยาวจากปากดอกถึงฐานรองดอก และความ

หนาของใบของแวมยูราพันธุ์ลูกผสมกลาย (*T. concolor* x *T. fourneri*) ระหว่างต้นดิพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์หลังปักชำกิ่ง 30 วัน

หลังจากต้นแววมยุราเจริญเติบโตได้ 60 วัน หลังจากการปักชำกิ่ง ตัดกิ่งของแววมยุรา มาปักชำ และย้ายลงวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของทราย ถ่านแกลบ ขุยมะพร้าว กาบมะพร้าวสับ และปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 1:1:1:1:0.5 แล้วบันทึกผลการทดลองที่ระยะเวลา 30 วัน หลังการย้ายปลูก พบว่าขนาดทรงพุ่ม จำนวนกิ่งแขนง ขนาดใบ ความยาวจากปากดอกถึงฐานรองดอก ไม่มีความแตกต่าง

ทางสถิติ แต่จำนวนดอก (8.25 ± 1.26 และ 5.45 ± 1.24 ดอก) ขนาดตาดอก (1.65 ± 0.03 และ 1.55 ± 0.06 ซม.) ความกว้างของปากดอก (4.57 ± 0.37 และ 3.87 ± 0.41 ซม.) เพิ่มขึ้น และความหนาใบหนาขึ้น (0.40 ± 0.03 และ 0.29 ± 0.04 มม.) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างต้นเตตราพลอยด์กับต้นดิพลอยด์ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตทางด้านทรงพุ่มของใบของแววมยุราพันธุ์ลูกผสมกลาย (*T. concolor* x *T. fournieri*) ระหว่างต้นดิพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์หลังปักชำกิ่ง 30 วัน

ชนิดพืช	ขนาดทรงพุ่ม (ซม.)	จำนวนกิ่งแขนง (กิ่ง)	ขนาดใบ (ซม.)	จำนวนดอก (ดอก)	ขนาดดอก (ซม.)	ความกว้างของปากดอก(ซม.)	ความยาวจากปากดอกถึงฐานรองดอก (ซม.)	ความหนาใบ (มม.)
ดิพลอยด์	29.45±4.73 ^{1/}	5.75±1.26	4.62±0.73	8.25±1.26a	1.55±0.06b	3.87±0.41b	3.75±0.06	0.29±0.04b
เตตราพลอยด์	23.40±1.68	7.20±1.18	5.98±0.90	5.45±1.24b	1.65±0.03a	4.57±0.37a	3.97±0.21	0.40±0.03a
t-test	ns	ns	ns	*	*	*	ns	*
% C.V.	13.45	18.86	15.45	18.27	2.85	9.17	3.93	10.74

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD); ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ; *มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์; ^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันตามแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ตามการวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's multiple-range test (DMRT)

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตทางด้านทรงพุ่มของใบของแววมยุราพันธุ์ลูกผสมกลาย (*T. concolor* x *T. fournieri*) ระหว่างต้นดิพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์หลังปักชำกิ่ง 0 วัน

ชนิดพืช	ขนาดทรงพุ่ม (ซม.)	จำนวนกิ่งแขนง (กิ่ง)	ขนาดใบ (ซม.)	จำนวนดอก (ดอก)	ขนาดดอก (ซม.)	ความกว้างของปากดอก(ซม.)	ความยาวจากปากดอกถึงฐานรองดอก (ซม.)	ความหนาใบ (มม.)
ดิพลอยด์	40.18±3.45a ^{1/}	7.75±1.71	4.88±0.61b	9.00±2.16	1.55±0.06b	3.91±0.68b	3.90±0.14	0.27±0.03b
เตตราพลอยด์	35.09±1.63b	8.63±0.25	6.21±0.54a	6.78±0.72	1.66±0.02a	4.83±0.25a	4.06±0.17	0.40±0.01a
t-test	*	ns	*	ns	*	*	ns	*
% C.V.	7.18	14.91	10.39	20.41	2.68	11.73	3.98	7.41

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD); ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ; *มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์; ^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันตามแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ตามการวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan's multiple-range test (DMRT)

3.5 การเจริญเติบโตทางด้านขนาดทรงพุ่ม จำนวนกิ่งแขนง ขนาดใบ จำนวนดอก ขนาดตาดอก ความกว้างของปากดอก ความยาวจากปากดอกถึงฐานรองดอก และความ

หนาของใบของแววมยุราพันธุ์ลูกผสมกลาย (*T. concolor* x *T. fournieri*) ระหว่างต้นดิพลอยด์และต้นเตตราพลอยด์หลังปักชำกิ่ง 60 วัน

หลังปักชำกิ่งแววมยุราได้ 60 วัน พบว่า

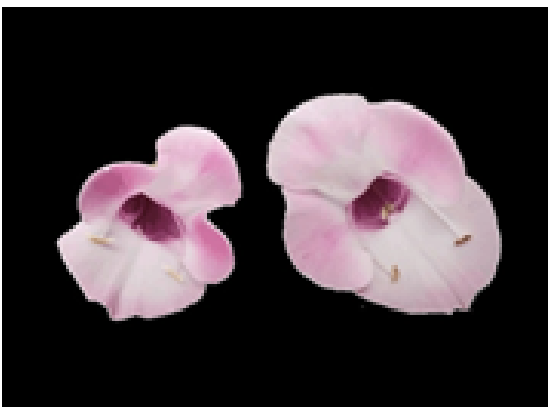
จำนวนกิ่งแขนง จำนวนดอก และความยาวจากปากดอกถึงฐานรองดอก ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่ขนาดทรงพุ่มเฉลี่ยลดลง (35.09 ± 1.63 และ 40.18 ± 3.45 ซม.) (รูปที่ 5) ขนาดใบใหญ่ขึ้น (6.21 ± 0.54 และ 4.88 ± 0.61 ซม.) (รูปที่ 3) จำนวนดอกลดลง (6.78 ± 0.72 และ 9.00 ± 2.16 ดอก) ขนาดดอกใหญ่ขึ้น (1.66 ± 0.02 และ 1.55 ± 0.06 ซม.) ความกว้างของปากดอกใหญ่ขึ้น (4.83 ± 0.25 และ 3.91 ± 0.68 ซม.) (รูปที่ 5) ความหนาของใบหนาขึ้น (0.40 ± 0.01 และ 0.27 ± 0.03 มม.) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างต้นเตตราพลอยด์กับต้นดิพลอยด์ตามลำดับ (ตารางที่ 4)



รูปที่ 5 เปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโตระหว่างต้นดิพลอยด์ (ซ้าย) และต้นเตตราพลอยด์ (ขวา) ของแวมยुरาพันธุ์ลูกผสมกลาย



รูปที่ 3 เปรียบเทียบขนาดใบระหว่างต้นดิพลอยด์ (ซ้าย) และต้นเตตราพลอยด์ (ขวา) ของแวมยुरาพันธุ์ลูกผสมกลาย



รูปที่ 4 เปรียบเทียบขนาดดอกระหว่างต้นดิพลอยด์ (ซ้าย) และต้นเตตราพลอยด์ (ขวา) ของแวมยुरาพันธุ์ลูกผสมกลาย

4. วิจารณ์

เมื่อแช่ใบที่มีก้านใบของแวมยुरาในสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ปรากฏว่าเมื่อแช่เป็นเวลานานขึ้นส่งผลให้ใบมีรอยช้ำวิตลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ จิราภรณ์ (2544) และ สันติตา (2552) ที่ชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในแวมยुरา โดยใช้สารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 0, 1, 2 และ 3 วัน พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมีแนวโน้มลดต่ำลงเมื่อมีความเข้มข้นที่สูงขึ้น และในงานวิจัยของ สุธนา (2555) ได้ศึกษาในปทุมมา โดยใช้สารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงเมื่อมีความเข้มข้นของสารและระยะเวลาในการแช่ที่นานขึ้น เมื่อทำการบันทึกผลการเจริญเติบโตที่ระยะเวลา 60 วันหลังปักชำใบ พบว่าบางลักษณะไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่การเจริญเติบโตมี

แนวโน้มลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของต้นดิพลอยด์ อาจเกิดจากเซลล์ได้รับสิ่งก่อกลาย จึงทำให้เกิดความล่าช้าในการแบ่งและจะชะงักการแบ่งเซลล์ไประยะหนึ่ง หลังจากนั้นจะกลับสู่สภาวะการแบ่งเซลล์ได้ปกติ (สิรินุช, 2540) หรืออาจเกิดจากจำนวนโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นเกินระดับที่เซลล์ต้องการจนทำให้เซลล์เสียสมดุล แต่ทั้งนี้ต้องขึ้นกับการตอบสนองของพืชชนิดนั้น ๆ หากพืชมีโครโมโซมมากเกินไปจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายวิภาค และนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐาน เช่น เซลล์มีขนาดเพิ่มขึ้น ผนังเซลล์หนาขึ้น ขนาดท่อลำเลียงใหญ่ขึ้น เนื้อเยื่อชั้นในเพิ่มขึ้น (Chanchula, 2015) เมื่อตรวจสอบชุดโครโมโซมพบว่ามีความเพิ่มขึ้นหลังได้รับการแช่สารละลายโคลชิซิน ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Boonbongkarn และคณะ (2013) ที่ได้ศึกษาในใบแวมยูราเช่นเดียวกัน ซึ่งแช่ใบในสารละลายโคลชิซินชนิดเม็ดที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 0, 1, 2 และ 3 วัน สามารถเพิ่มชุดโครโมโซมได้เป็นสองเท่าจาก $2n = 2x = 18$ เป็น $2n = 4x = 36$ หลังทำการปักชำที่ระยะเวลา 30 วัน พบว่าขนาดทรงพุ่ม จำนวนกิ่งแขนง ขนาดใบ ความยาวจากปากดอกถึงฐานรองดอก ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ อาจเป็นผลมาจากมีโคลชิซินตกค้างอยู่ในเซลล์พืช และหลังจาก 60 วัน พบว่าพืชสามารถฟื้นตัว จึงทำให้ขนาดใบใหญ่ขึ้น ดอกใหญ่ขึ้น แต่จำนวนดอกลดลง ความกว้างของปากดอกใหญ่ขึ้น ความหนาของใบหนาขึ้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างต้นเตตราพลอยด์กับต้นดิพลอยด์เช่นเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ye และคณะ (2010) ได้ใช้โคลชิซินกับปลายยอดของยี่เข่ง 3 สายพันธุ์ พบว่าทำให้เส้นผ่านศูนย์กลางของดอกใหญ่ขึ้น ความยาวของกลีบดอก และโคนของกลีบดอกเพิ่มขึ้น ซึ่งโดยปกติแล้วอัตราการเจริญเติบโตของพืชที่เป็นอโโตโพลีพลอยด์จะช้ากว่าดิพลอยด์

ลำต้นจะสั้น ส่งผลให้ทรงพุ่มเล็กและกระชับขึ้น ขอบล้อมสั้นลง (เบญจมาศ, 2545)

5. สรุป

สารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง มีความเหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นเตตราพลอยด์ในแวมยูราพันธุ์ลูกผสมกลาย โดยสามารถชักนำให้เกิดต้นเตตราพลอยด์ได้มากที่สุด คือ 7 ต้น เมื่อตรวจสอบจำนวนชุดของโครโมโซมด้วยวิธีการ flow cytometry โดยพบว่าแวมยูราพันธุ์ลูกผสมกลายมีการเพิ่มจำนวนของชุดโครโมโซมเกิดขึ้น และมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐาน

6. รายการอ้างอิง

- จิราภรณ์ จิราภภาพันธุ์, 2554, การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในแวมยูราพันธุ์ลูกผสม (*Torenia fournieri* x *Torenia baillonii*) และแวมยูราพันธุ์กลายดอกสีเหลืองด้วยการใช้สารโคลชิซินชนิดเม็ด, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ณัฐพงศ์ จันจุฬา, ธัญญา เตชะศีลพิทักษ์, เบญญา มะโนชัย, พิระนุช จอมพุก และอัญชลี จาละ, 2555, อิทธิพลของโคลชิซินชนิดเม็ดต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหงส์เหิน, ว.วิทย.เกษตร. 43(1): 121-131.
- ธัญญา เตชะศีลพิทักษ์, 2545, เขียนเรื่องดอกไม้ไว้อ่านเล่น เล่ม 3, สำนักพิมพ์อมรินทร์พรินติ้ง, กรุงเทพฯ.
- เบญจมาศ ศิลาชัย, 2545, โพลีพลอยดี, สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) สาขาชีววิทยา, แหล่งที่มา : <http://kroo.ipst.ac.th/biology>, 12 มกราคม, 2557
- สิรินุช ลามศรีจันทร์, 2540, การกลายพันธุ์ของพืช,

- สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สัณฐิตา ตังคจิวงกูร, 2552, การชักนำให้เกิดโพลีพลอยดีในแวมยธราด้วยการใช้โคลชิซินชนิดเม็ด, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุธนา เกตุมาโร, 2555, การสร้างพืชโพลีพลอยดีเพื่อแก้ลักษณะความเป็นหมันในปทุมมาลูกผสม, วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- เอี่ยมพร วิสมหมาย, ศศิยา ศิริพานิช, อลิศรา มีนะกนิษฐ และณัฐวิ พิชกรรม, 2540, พรรณไม้ในงานภูมิสถาปัตยกรรม, สมาคมภูมิสถาปนิกประเทศไทย, กรุงเทพฯ.
- Addink, W., 2007, Colchicine: Used in plant breeding work to induced mutation (polyploidy), Available Source: <http://www.geocities.com/RainForst/Vines/2259/colchicines.htm>, February 11, 2014.
- Boonbongkarn, S., Taychasinpitak, T., Wongchochant, S. and Kikuchi, S., 2013, Effect of colchicine tablets on morphology of *Torenia fournieri*, Int. Trans. J. Eng. Mang. Sci. Tech. 4: 299-309.
- Boufford, D.E., Hsieh, C.F., Huang, T.C., Lowry, P.P., Ohashi, H. and Peng, C., 1998, Flora of Taiwan Vol. 4 (Scrophulariaceae), Herbarium, Nation Taiwan University, Available Source: <http://www.tai2.ntu.edu.tw/fotdv/v4index.htm>, February 11, 2014.
- Chanchula, N., 2015, Biotechnological Techniques for Improvement of Natives *Torenia* and their Hybrids, Ph.D. Thesis, Kasetsart University, Bangkok.
- Cook, J.W. and Loudon, L.D., 1952, Colchicine, The alkaloid chemistry and physiology, 2: 261-329.
- Sasaki, K., Aida, R., Niki, T., Yamaguchi, H., NarumiNishijima, T., Hayashi, Y., Ryuto, H., Fukunishi, N., Abe, T. and Ohtsubo, N., 2008, High-efficiency improvement of transgenic *Torenia* flowers by ion beam irradiation, Plant Biotechnol. 25: 81-89.
- Miyazaki, K., Suzuki, K., Iwaki, K., Kusumi, T., Abe, T., Yoshida, S. and Fukui, H., 2006, Flower pigment mutations induced by heavy ion beam irradiation in an interspecific hybrid of *Torenia*, Plant Biotechnol. 23: 163-167.
- Sasaki, K., Aida, R., Niki, T., Yamaguchi, H., Narumi, T., Nishijima, T., Hayashi, Y., Ryuto, H., Sawangmee, N., Taychasinpitak, W.P., Jompuk, T., Kikuchi, S., 2011, Effect of gamma ray irradiation in plant morphology of interspecific hybrids between *Torenia fournieri* and *Torenia baillonii*, Kasetsart J. (Nat. Sci.) 45: 803-810.
- Suwanseree, W.V., Teerakathiti, T., Wongchaochant, S. and Taychasinpitak, T., 2011, Petal color and petal form mutations observed in *Torenia hybrida* following gamma irradiation *in vitro*, Kasetsart J. (Nat. Sci.) 45: 656-665.
- Yamazaki, T., 1985, A revision of the Genera *Limnophila* and *Torenia* from Indochina, J. Fac. Sci. Univ. Tokyo III 13: 575-624.
- Ye, Y.M., Tong, J., Shi, X.P., Yuan, W. and Li, G.R., 2010, Morphological and cytological

studies of diploid and colchicine-induced tetraploid lines of crapemyrtle (*Lagerstroe-*

mia indica L.), *Sci. Hort.* 124: 95-101.