การปรับปรุงพันธุ์ดาหลา *(Etlingera elatior* L.) โดยวิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพ

Varietal Improvement of Torch Ginger *(Etlingera elatior* L.) Using Biotechnological Method

อรุณี ม่วงแก้วงาม

Arunee Muangkaewngam

วิทยานิพนธ์นี้สำหรับการศึกษาตามหลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาพืชศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Fulfillment of the Requirements for the

Degree of Doctor of Philosophy Program in Plant Science

Prince of Songkla University

2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การปรับปรุงพันธุ์ดาหลา *(Etlingera elatior* L.) โดยวิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพ

Varietal Improvement of Torch Ginger *(Etlingera elatior* L.) Using Biotechnological Method

อรุณี ม่วงแก้วงาม

Arunee Muangkaewngam

วิทยานิพนธ์นี้สำหรับการศึกษาตามหลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาพืชศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy Program in Plant Science

Prince of Songkla University

2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การปรับปรุงพันธุ์ดาหลา *(Etlingera elatior* L.) โดยวิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้เขียน นางสาวอรุณี ม่วงแก้วงาม
สาขาวิชา พืชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

…….....
(ศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต)

คณะกรรมการสอบ

……ประธานกรรมการ
(ดร.สุรีรัตน์ เย็นช้อน)

…….....กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต)

…….....กรรมการ
(ดร.ทัศนี ขาวเนียม)

……..……กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาวดี รามสูตร)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำหรับการศึกษา ตามหลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

.....
(ศาสตราจารย์ ดร.ดำรงศักดิ์ ฟ้ารุ่งสาง)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....
(ศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....
(นางสาวอรุณี ม่วงแก้วงาม)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....
(นางสาวอรุณี ม่วงแก้วงาม)
นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ การปรับปรุงพันธุ์ดาหลา *(Etlingera elatior* L.) โดยวิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้เขียน นางสาวอรุณี ม่วงแก้วงาม
สาขาวิชา พืชศาสตร์
ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อ

ดาหลาเป็นไม้ดอกสำคัญของจังหวัดชายแดนภาคใต้ มีศักยภาพในการผลิตเป็นไม้ดอกเศรษฐกิจ หากมีการพัฒนาให้มีความหลากหลายทั้งขนาด รูปร่าง และสีสัน ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของสารเคมีก่อกลายพันธุ์ต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลาในหลอดทดลอง 2) ศึกษาอิทธิพลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตของดาหลาและ 3) เพื่อตรวจสอบและคัดเลือกต้นดาหลาพันธุ์กลายที่ชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะในหลอดทดลองด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา ผลการทดลองพบว่าสารโคลชิซินและเอทธิลมีเทนซัลโฟเนท (EMS) มีผลต่ออัตราการรอดชีวิต เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่ และจำนวนยอดของการวางเลี้ยงชิ้นส่วนยอดดาหลาในหลอดทดลอง เมื่อความเข้มข้นของโคลชิซินและ EMS เพิ่มขึ้นส่งผลให้อัตราการรอดชีวิต เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่ และจำนวนยอดของดาหลาลดลง ต่ำสุดที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อจุ่มแช่เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ค่า LD_{50} ของการจุ่มแช่โคลชิซินและ EMS เป็นเวลา 6 ชั่วโมงเท่ากับ 194.69 และ 164.71 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อตรวจสอบความหนาแน่นของเซลล์คุมพบว่าการจุ่มแช่ส่วนยอดดาหลาในโคลชิซินและ EMS ให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมน้อยกว่าชุดควบคุม (ไม่ได้จุ่มแช่สาร) เมื่อความเข้มข้นของโคลชิซินและ EMS เพิ่มขึ้นส่งผลให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมลดลง ผลที่ได้ตรงข้ามกับจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม พบว่าเมื่อความเข้มข้นของโคลชิซินและ EMS เพิ่มขึ้น จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์จะเพิ่มขึ้น และสูงสุดที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ปริมาณคลอโรฟิลล์ให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติ

การศึกษาผลของสารพาโคลบิวทราโซล (PBZ) พบว่าการเติม PBZ ความเข้มข้นต่ำ (10 มิลลิกรัมต่อลิตร) ช่วยส่งเสริมการเกิดยอดรวม โดยมีอัตราการเกิดยอดสูงสุด 97.62 เปอร์เซ็นต์ เมื่อความเข้มข้นของ PBZ เพิ่มขึ้นจะยับยั้งการสร้างยอด ทำให้อัตราการเกิดยอดลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น เมื่อตรวจสอบความหนาแน่นของเซลล์คุมพบว่าการเติม PBZ ในอาหารสังเคราะห์ทำให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ PBZ เพิ่มขึ้น สูงสุดที่ความ

เข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำต้นดาหลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปปลูกในกระถางภายนอกหลอดทดลอง และทำการราดด้วย PBZ ความเข้มข้น 0-400 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าต้นดาหลาที่ไม่ได้รับ PBZ มีความสูงมากที่สุด และเมื่อความเข้มข้นของ PBZ เพิ่มขึ้น ความสูงของต้นจะลดลง และต่ำสุดที่ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ใบดาหลาที่ไม่ได้รับ PBZ มีความหนาแน่นของเซลล์คุมสูงกว่าที่ได้รับ PBZ ทุกความเข้มข้น แต่จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมให้ผลตรงข้ามกันกล่าวคือต้นที่ได้รับ PBZ มีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น และสูงสุดที่ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ 31.67 คิดเป็น 1.70 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับ PBZ ดังนั้นหากต้องการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในดาหลาสามารถเลือกใช้ PBZ เป็นสารก่อกลายพันธุ์ได้นอกเหนือจากสารก่อกลายพันธุ์อื่น ๆ

Thesis Title Varietal Improvement of Torch Ginger *(Etlingera elatior* L.) Using Biotechnological Method

Author Ms. Arunee Muangkaewngam

Major Program Plant Science

Academic Year 2017

ABSTRACT

Torch ginger is an economically important plants of three southern border provinces of Thailand. This plant has been potentially produced for commercial purpose if some characters e.g. flower size, shape and color have been developed. The aims of this study were to 1) investigate the effect of chemical mutagens on the changes of morphological and physiological characteristics, 2) to study the effect of paclobutrazol (PBZ) on growth characteristics and 3) to screen mutants of torch ginger by those characteristics.

The results revealed that both colchicine and ethylmethane sulfonate (EMS) affected survival rate, multiple shoot formation in terms of percentage of shoot induction and number of shoots. Increase in concentration of both two mutagens caused the decrement in those characters. Colchicine at concentration of 194.69 $mg.L^{-1}$ and EMS at concentration of 164.71 $mg.L^{-1}$ for 6 hours gave the decrement of survival rate to be 50% (LD_{50}). Investigation of guard cell density revealed that plantlets obtained from treated shoot tips had lower result than that of untreated one. Contrary results were obtained with the number of chloroplasts. Increase in concentration of the two mutagens caused the higher number of chloroplasts and maximum number of chloroplasts was obtained from 150 $mg.L^{-1}$EMS-treated shoot tips. For chlorophyll content there was not significant different between treated and untreated-shoot tips derived plantlets.

For the effect of PBZ low concentration at 10 $mg.L^{-1}$ promoted multiple shoot formation at 97.62%, however, higher concentrations than this caused lower percentage multiple shoot formation and shoot numbers. All concentrations of PBZ were not affected guard cell density significantly. However, higher concentration of PBZ

yielded higher number of chloroplasts in guard cells and maximum number of chloroplasts was obtained from treating plant with 40 $mg.L^{-1}$ PBZ. Acclimatized plants were again treated with PBZ at concentrations of 0-400 $mg.L^{-1}$. The results showed that control treatment (without PBZ) gave the highest stem height. Stem height decreased according to the increase in concentration of PBZ and reach to the maximum decrement when PBZ at 400 $mg.L^{-1}$ was applied. Leaves from control plants had higher guard cell density than PBZ-applied-plants. However, PBZ-applied-plants had higher number of chloroplasts than control plants. PBZ at 400 $mg.L^{-1}$ gave the highest number of chloroplasts at 31.67 chloroplasts, 1.7 times higher than that of control plants. Therefore, PBZ is one of the potent chemical mutagen for treating with torch ginger in the future.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ เป็นอย่างสูงที่ได้กรุณาเสียสละเวลา ให้ความช่วยเหลือ และสนับสนุนในการทำวิทยานิพนธ์ตั้งแต่เริ่มต้นด้วยการให้คำปรึกษา คำแนะนำ ให้กำลังใจ และข้อคิดในด้านต่าง ๆ ตลอดจนช่วยตรวจสอบ และแก้ไขจนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์และสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร. สุรีรัตน์ เย็นช้อน ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาวดี รามสูตร และ ดร.ทัศนี ขาวเนียม กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและแก้ไขข้อบกพร่องในด้านการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทความรู้และวิชาการด้านต่าง ๆ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติทุกท่านที่ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และสถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ที่สนับสนุนงบประมาณการทำวิจัย

ขอขอบคุณผู้บริหารมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลาที่ให้โอกาส และได้พิจารณาอนุมัติทุนสนับสนุนค่าลงทะเบียนศึกษาระดับปริญญาเอกตามเกณฑ์ของหลักสูตร

สุดท้ายนี้ผู้เขียนขอขอบพระคุณพ่อและแม่ผู้ให้ชีวิต เลี้ยงดู และสนับสนุนให้มีโอกาสทางการศึกษา ขอขอบคุณสมาชิกในครอบครัวที่คอยให้กำลังใจเป็นแรงผลักดันให้มีความอดทน และมุมานะจนสามารถทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

อรุณี ม่วงแก้วงาม

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(10)
รายการตาราง	(11)
รายการภาพ	(14)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	5
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	28
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	29
วัสดุพืช	29
สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยง	30
สารเคมีและอุปกรณ์	30
วัสดุเกษตร	31
วิธีการศึกษา	32
3. ผลการทดลอง	35
4. วิจารณ์	79
5. สรุปและข้อเสนอแนะ	85
เอกสารอ้างอิง	87
ประวัติผู้เขียน	98

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่สารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์	36
3.2	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่ของชิ้นส่วนยอดดาหลาหลังการแช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังการวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	39
3.3	จำนวนยอดใหม่จากการแช่ส่วนยอดในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	41
3.4	ความหนาแน่นของเซลล์คุมเมื่อแช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	42
3.5	ขนาดของเซลล์คุมจากใบดาหลาที่แช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	44
3.6	จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมจากใบดาหลาที่จุ่มแช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	47
3.7	ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมจากใบดาหลาของต้นที่ผ่านการจุ่มแช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อแช่เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงส่วนยอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์)	49
3.8	อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่สารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์	51
3.9	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่ของชิ้นส่วนยอดดาหลาหลังการแช่สารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังการวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	53

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3.10	จำนวนยอดใหม่จากการแช่ส่วนยอดในสารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	55
3.11	ความหนาแน่นของเซลล์คุมเมื่อแช่สารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	57
3.12	ขนาดของเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาที่แช่สารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	59
3.13	จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมจากใบที่จุ่มแช่สารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	62
3.14	ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมจากใบดาหลาของต้นที่ผ่านการจุ่มแช่สารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อแช่เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงส่วนยอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์	64
3.15	ผลของ PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่ออัตราการเกิดยอด จำนวนยอดและความยาวยอดของดาหลา หลังจากการวางเลี้ยงส่วนยอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	66
3.16	ความหนาแน่นและขนาดของเซลล์คุมของต้นดาหลาเมื่อวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์	68
3.17	ผลของสาร PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ของดาหลาหลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์	69
3.18	ผลของการให้สาร PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธีการราดลงดินต่อความสูงของต้นดาหลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากปลูกเป็นระยะเวลาต่าง ๆ	72

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3.19	ผลของการให้สาร PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธีการราดลงดินต่อขนาดใบของต้นดาหลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	73
3.20	ความหนาแน่นและขนาดของเซลล์คุมเมื่อได้รับสาร PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธีราดลงดินหลังจากราดสารเป็นเวลา 4 เดือน	75
3.21	ผลของการให้สาร PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธีราดลงดินต่อจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์หลังจากราดสารเป็นเวลา 4 เดือน	77

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1.1	ส่วนประกอบต่าง ๆ ของดาหลา	7
1.2	สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารพาโคลบิวทราโซล	20
2.1	ยอดรวมดาหลาที่ใช้เป็นวัสดุเริ่มต้น	29
3.1	ชิ้นส่วนยอดดาหลาหลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้นเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	37
3.2	อัตราการรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) ของชิ้นส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น และเวลาต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์	38
3.3	อัตราการสร้างยอดใหม่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) ของส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น และเวลาต่าง ๆ หลังการวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	40
3.4	ความหนาแน่นของเซลล์คุมจากใบดาหลา หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์	43
3.5	เซลล์คุมจากใบดาหลาหลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	46
3.6	เม็ดคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาหลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์	48
3.7	อัตราการรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) ของส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่ด้วยสารละลาย EMS ความเข้มข้น และเวลาต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์	52
3.8	อัตราการสร้างยอดใหม่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) ของส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่ด้วยสารละลาย EMS ความเข้มข้น และเวลาต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	54
3.9	ยอดดาหลาผิดปกติหลังจากจุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	56

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
3.10	ความหนาแน่นของเซลล์คุมจากใบดาหลาหลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์	58
3.11	ขนาดเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาหลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	61
3.12	เม็ดคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาหลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	63
3.13	อัตราการเกิดยอด 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) ของส่วนยอดดาหลาที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	67
3.14	ชิ้นส่วนยอดดาหลาที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ไม่เติม PBZ (ก) เติม PBZ เข้มข้น10 (ข) 20 (ค) 30 (ง) และ 40 (จ) มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์	67
3.15	เม็ดคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาหลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์	70
3.16	ต้นดาหลาที่ได้รับสาร PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากได้รับสาร 4 และ 10 เดือน	74
3.17	ความหนาแน่นของเซลล์คุมในใบดาหลาที่ได้รับสาร PBZ ด้วยวิธีราดลงดิน หลังจากราดสาร เป็นเวลา 4 เดือน	76
3.18	เม็ดคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาหลังจากราดสาร PBZ เป็นเวลา 4 เดือน	78

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปัจจุบันสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปพื้นที่สีเขียวเริ่มลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสังคมเมืองที่ประสบกับปัญหามลพิษด้านต่าง ๆ มากมาย ในเมืองใหญ่จะมีโรงงานอุตสาหกรรมจำนวนมากซึ่งมีผลดีต่อเศรษฐกิจทำให้ประเทศเกิดการพัฒนามากยิ่งขึ้น แต่ในทางกลับกันกลับทำลายสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างมาก สภาพแวดล้อมทุกวันนี้เปลี่ยนแปลงไปโลกร้อนขึ้นเพราะสารเคมีจากโรงงานอุตสาหกรรม นอกจากนี้โรงงานอุตสาหกรรมบางแห่งทำให้เกิดสาร Chlorofluorocarbon (CFC) ไปทำลายชั้นบรรยากาศของโลกให้เบาบางลง หรือที่เรียกปรากฏการณ์เรือนกระจก มีการใช้ทรัพยากรธรรมชาติมากขึ้น สีเขียวจากต้นไม้ลดลง ทำให้คนส่วนใหญ่เริ่มหันกลับมาให้ความสำคัญกับการปลูกพืชเพื่อสร้างสภาพแวดล้อมที่ดีเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งคนที่อยู่ในสังคมเมือง แต่เนื่องจากพื้นที่ที่มีอยู่อย่างจำกัดจึงไม่สามารถปลูกไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ได้ ไม้ดอกไม้ประดับจึงมีความสำคัญต่อการดำเนินชีวิตมากขึ้น ช่วยให้เกษตรกรมีรายได้จากการจำหน่ายไม้ดอกไม้ประดับในรูปแบบต่าง ๆ เพิ่มขึ้นจึงส่งผลต่อเศรษฐกิจของประเทศด้วยเช่นเดียวกัน ภาพรวมมูลค่าการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตรของไทยไปยังประเทศสมาชิกอาเซียนซึ่งประกอบด้วย 10 ประเทศ ได้แก่ ไทย กัมพูชา เมียนมาร์ สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว มาเลเซีย สิงคโปร์ บรูไน เวียดนาม ฟิลิปปินส์ และอินโดนีเซีย มีแนวโน้มสูงขึ้น ประเทศที่ไทยส่งสินค้าไปจำหน่ายมากที่สุดคือ สิงคโปร์ รองลงมาคือ มาเลเซีย อินโดนีเซีย และเวียดนาม ส่วนการนำเข้าจากประเทศในกลุ่มอาเซียน พบว่าไทยนำเข้าสินค้าจากประเทศมาเลเซียมากที่สุด รองลงมาคือ สิงคโปร์ อินโดนีเซีย และเมียนมาร์ (สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์การค้า, 2556 อ้างโดยโสระยา, 2556) ปัจจุบันไทยยังคงเป็นผู้นำด้านการค้าไม้ดอกในกลุ่มประเทศอาเซียน มีพื้นที่การผลิตไม้ดอกไม้ประดับประมาณ 70,000 ไร่ จัดเป็นอันดับที่ 6 ของโลก รองจากประเทศอินเดีย จีน ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา และเม็กซิโก (Flora Culture, 2008 อ้างโดยโสระยา, 2556) ไม้ดอกสำคัญที่มีการผลิตและส่งออกเป็นอันดับหนึ่งได้แก่ กล้วยไม้ มีมูลค่าการส่งออกประมาณ 2,300 ล้านบาท และไม้ดอกอื่นอีกประมาณ 460 ล้านบาท นอกจากกล้วยไม้แล้วไม้ดอกสำคัญที่มีศักยภาพ

และมูลค่าทางเศรษฐกิจรองลงมา ได้แก่ พืชกลุ่มปทุมมา และกระเจียว ซึ่งมีการส่งหัวพันธุ์ไปจำหน่ายยังตลาดยุโรป สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น มีมูลค่าการส่งออกในปี พ.ศ. 2547 ประมาณ 24,871,170 บาท (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2548 อ้างโดย โสระยา, 2556)

พืชวงศ์ขิงเกี่ยวข้องกับวิถีชีวิตของคนไทยมาตั้งแต่สมัยโบราณ เป็นแหล่งสำคัญของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์ทั้งส่วนที่นำมาใช้ประกอบอาหาร เช่น ขิง (*Zingiber officinale*) ข่า *(Alpinia galangal)* ขมิ้น (*Curcuma longa*) และกระชาย*(Boesenbergia rotunda*) ส่วนที่ใช้ในรูปเป็นเครื่องเทศผลแห้ง เช่น กระวาน *(Amomum rervanh)* ช่วยลดกรดในกระเพาะอาหาร (Chaveerach *et al*., 2008) ส่วนที่ใช้เหง้า (Rhizome) เป็นส่วนประกอบของยาสมุนไพร เช่น ไพล (*Zingiber montanum*) ช่วยกระตุ้นการไหลเวียนของเลือด (Picheansanthon *et al*., 2001 อ้างโดย Chaveerach *et al*., 2007) และส่วนที่ใช้เป็นไม้ดอกไม้ประดับเช่น ขิงแดง (*Alpinia purpurata*) ดาหลา (*Etlingera elatior*) ปทุมมา (*Curcuma alismatifolia*) พืชวงศ์ขิงที่มีการจำแนกประมาณ 1,400 สปีชีส์ (Chepman, 1995 อ้างโดย Kuehny *et al*., 2005) ส่วนใหญ่เป็นไม้พื้นล่างของป่าเขตร้อนและเขตกึ่งร้อน มีศูนย์กลางการกระจายพันธุ์อยู่ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พรรณไม้ในวงศ์นี้เป็นไม้ล้มลุกพบน้อยที่เป็นพืชอิงอาศัยและมีอายุได้หลายปี มีเซลล์ที่ผลิตน้ำมันหอมระเหยกระจายอยู่ทั่วไปในทุกส่วนของพืช น้ำมันหอมระเหยเป็นสารทุติยภูมิที่พืชสร้างขึ้นและพบได้ที่ส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ใบ เมล็ด ผลและเปลือก เป็นต้น (Bakkali *et al*., 2008) น้ำมันหอมระเหยของพืชสามารถนำมาใช้กำจัดศัตรูพืชได้หลายแบบ เช่น ใช้เป็นสารสัมผัส สารไล่แมลง สารรม หรือสารยับยั้งการกิน เป็นต้น ดังนั้นน้ำมันหอมระเหยจากพืชจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการควบคุมแมลงศัตรูผลิตผลเกษตร เพื่อลดปริมาณการใช้สารเคมีซึ่งจะเป็นอันตรายต่อผู้ใช้และปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม (Suthisut *et al*., 2011) พืชในวงศ์ขิงเป็นพืชที่สามารถนำน้ำมันหอมระเหยมาใช้ประโยชน์ได้มาก เช่น พืชในสกุล Zingiber ใช้กำจัดด้วงถั่วเหลือง (Owolabi *et al.,* 2009) และมีประสิทธิภาพในการเป็นสารไล่ด้วงงวงข้าวโพด (สุภาณี และคณะ, 2545) พืชวงศ์ขิงที่มีความสำคัญและเป็นที่รู้จักกันทั่วไป ได้แก่ สกุล *Curcuma* มีประมาณ 65 สปีชีส์ที่พบในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ *Curcuma* มีความหลากหลายในสีดอก รูปร่าง และขนาดของดอก (Steffey, 1986 อ้างโดย Sarmiento and Kuehny, 2003) ตลาดของ *Curcuma* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี ในปี ค.ศ.1995 ประเทศไทยส่งไรโซมของ *Curcuma* จำหน่ายต่างประเทศจำนวน 15 ล้านหัว คิดเป็นมูลค่าถึง 3 ล้านเหรียญ เพิ่มขึ้นเป็นหลายเท่าเมื่อเปรียบเทียบกับปี ค.ศ.1990 ประเทศไทยส่งเหง้าของ *Curcuma* จำหน่ายต่างประเทศคิดเป็นมูลค่า 18,000 เหรียญ (Lekawatana and Pituck, 1998) พืชวงศ์ขิงอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจคือ

สกุล *Kaempferia* มีใบที่สวยงามสามารถใช้ประดับตกแต่งอาคารสถานที่ได้ ทั้งสองสกุลมีศักยภาพในการใช้ประโยชน์เพื่อเป็นไม้ดอกกระถางประดับได้ทั้งภายในและภายนอกอาคาร อีกทั้งสามารถนำมาผลิตเป็นไม้ดอกที่ปลอดภัย เนื่องจากมีปัญหาเรื่องโรคและแมลงศัตรูพืชน้อยมาก (Kuack, 1996 อ้างโดย Sarmiento and Kuehny, 2003) จึงสามารถลดหรือหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีเพื่อป้องกันและกำจัดศัตรูพืชที่อาจจะก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค และสภาพแวดล้อมได้ นอกจากนี้ตลาดไม้ดอกในปัจจุบันมีความต้องการไม้ดอกกระถางที่มีลักษณะเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานสากลมากขึ้น โดยเกณฑ์มาตรฐานของไม้ดอกกระถางคือต้นพืชต้องมีความสูงประมาณ 1.5-2 เท่าของความสูงภาชนะบรรจุ (Nelson, 1998 อ้างโดย Sarmiento and Kuehny, 2003) พืชวงศ์ขิงขาดคุณสมบัติดังกล่าว จึงยังไม่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจในตลาดไม้ดอกกระถางทั้ง ๆ ที่มีศักยภาพสามารถผลิตเป็นไม้ดอกกระถางได้ ดังนั้นจึงควรพัฒนาพืชวงศ์ขิงให้เป็นไม้ดอกกระถางที่ตลาดต้องการ วิธีการผลิตพืชวงศ์ขิงให้เป็นไม้ดอกกระถางสามารถทำได้โดยการควบคุมอาหาร น้ำ และขนาดภาชนะที่ใส่ต้นไม้เพื่อบังคับให้ต้นไม้มีขนาดเล็กลง ซึ่งมีขั้นตอนยุ่งยาก สิ้นเปลืองแรงงาน ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสูง ผลผลิตมีปริมาณไม่แน่นอน จึงจำเป็นต้องหาวิธีการที่สะดวก ไม่ยุ่งยาก และมีประสิทธิภาพ วิธีการดังกล่าวได้แก่ การเลือกใช้สารชะลอการเจริญเติบโตชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมปัจจุบันประสบผลสำเร็จในการผลิตไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิดเช่น เบญจมาศ (Gilbertz, 1992) กล้วยไม้ (Te-chato *et al*., 2009) และลิลลี่ (Zheng *et al*., 2012) เป็นต้น ดาหลาเป็นไม้ดอกวงศ์ขิงจำพวกเดียวกับขิงแดง ปทุมมา กระชาย และขมิ้น มีลำต้นเป็นเหง้าใต้ดิน ส่วนลำต้นเหนือดินเป็นกาบใบที่โอบซ้อนกันแน่นเป็นลำต้นเทียม (pseudostem) เช่นเดียวกับพวกกล้วย มีกลีบซ้อนทับกันหลายชั้น กลีบชั้นนอกมีขนาดใหญ่และค่อยลดขนาดลงเป็นลำดับในวงชั้นใน กลีบดอกชั้นนอกสุดจะเปลี่ยนสภาพเป็นเกสรเกาะติดกันเป็นกระปุกยอดแหลม กลีบดอกเรียบมัน ไม่มีกลิ่น มีขนาดของดอกกว้างตั้งแต่ 4 นิ้วขึ้นไป สำหรับประเทศไทยดาหลาเป็นไม้ดอกพื้นเมืองที่นิยมปลูกในเขตจังหวัดยะลา ปัตตานี และนราธิวาส ชาวบ้านนำดอกและหน่ออ่อนมารับประทานเป็นผักจิ้มกับน้ำพริกและประกอบอาหาร เช่น ใส่แกงเผ็ด แกงกะทิ แกงคั่ว ยำ หรือหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ผสมในข้าวยำ ใช้ทำเป็นเครื่องดื่ม เป็นเครื่องเทศเพิ่มรสชาติในอาหาร จากการตรวจสอบตามหลักโภชนาการ พบว่าดาหลามีคุณค่าทางด้านโภชนาการมากมาย ในดอกส่วนที่รับประทานได้ปริมาณ 100 กรัม ประกอบด้วยน้ำ 91 กรัม โปรตีน 1.3 กรัม ไขมัน 1.0 กรัม คาร์โบไฮเดรต 4.4 กรัม เยื่อใย 1.2 กรัม โพแทสเซียม 541 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 30 มิลลิกรัม แคลเซียม 32 มิลลิกรัม แมกนีเซียม 27 มิลลิกรัม เหล็ก 4 มิลลิกรัม แมงกานีส 6 มิลลิกรัม สังกะสี 0.1 มิลลิกรัม และทองแดง 0.1

มิลลิกรัม นอกจากการนำดาหลามาปรุงเป็นอาหารชนิดต่าง ๆ แล้วสามารถใช้ดาหลาทำสีย้อมผ้า เครื่องสำอาง หรือเป็นไม้ประดับเพื่อความสวยงาม นอกจากนี้สามารถใช้เป็นส่วนผสมในสมุนไพรสมัยโบราณ เนื่องจากมีสรรพคุณช่วยแก้ลมพิษ แก้โรคผิวหนัง ช่วยขับลม หรือแก้ท้องอืดท้องเฟ้อ ปัจจุบันพบว่าดาหลามีความสำคัญทางเศรษฐกิจเพิ่มขึ้นเนื่องจากดอกดาหลามีความสวยงาม ให้ดอกดกในฤดูร้อน มีอายุการปักแจกันไม่น้อยกว่า 1 สัปดาห์ ขณะที่ไม้ดอกชนิดอื่น ๆ ไม่ค่อยจะมีดอกในช่วงฤดูดังกล่าว ผู้บริโภคใช้ประโยชน์จากดาหลาเพิ่มขึ้น เช่น ประดับตกแต่งอาคารสถานที่ ทำให้ตลาดไม้ดอกมีความต้องการดอกดาหลาเพิ่มมากขึ้นทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ ดังนั้นจึงทำให้เกษตรกรกลุ่มหนึ่งเริ่มปลูกดาหลาเป็นการค้าอย่างจริงจัง และมีแนวโน้มเพิ่มปริมาณการผลิตขึ้นเรื่อย ๆ ดาหลาเป็นไม้ดอกที่มีโรคหรือแมลงศัตรูพืชเข้าทำลายน้อย เกษตรกรจึงไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ดาหลาจึงเป็นไม้ดอกอีกชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการผลิตเป็นไม้ดอกปลอดภัยตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคที่ต้องการสินค้าเกษตรที่ปลอดภัยและเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ

ดังนั้นหากต้องการส่งเสริมให้ดาหลาเป็นไม้ดอกเศรษฐกิจของสามจังหวัดชายแดนภาคใต้ ควรสนับสนุนให้เกษตรกรปลูกดาหลาในเชิงการค้ามากขึ้น และสร้างแรงจูงใจให้ผู้บริโภคหันมาใช้ดอกดาหลาแทนไม้ดอกนำเข้า การปลูกดาหลาควรส่งเสริมให้ปลูกในพื้นที่ร่มเงาจะช่วยให้เกษตรกรลดค่าใช้จ่ายเรื่องตาข่ายพรางแสงลงได้ ดังนั้นหน่วยงานภาครัฐควรให้ความรู้และสนับสนุนให้เกษตรกรปลูกดาหลาในพื้นที่ระหว่างแถวยางพารา ตลอดจนไม้ผลชนิดอื่น ๆ เช่น ลองกอง หรือมังคุด เป็นต้น จะเป็นการใช้ประโยชน์จากพื้นที่ว่างระหว่างแถวของพืชหลักอย่างมีประสิทธิภาพ แต่ปัญหาของการปลูกดาหลาคือระยะปลูกห่างต้องใช้พื้นที่ปลูกมาก ทั้งนี้เนื่องจากดาหลาเป็นพืชที่มีทรงพุ่มกว้าง จึงต้องใช้ระยะระหว่างต้นมากกว่าพืชอื่น ๆ ดังนั้นหากเกษตรกรใช้ระยะปลูกเพิ่มขึ้น จำนวนต้นต่อพื้นที่จะน้อยลง ผลผลิตที่เกษตรกรได้รับจะลดลงด้วย แต่ถ้าเกษตรกรสามารถลดความสูง และขนาดทรงพุ่มของดาหลาลงได้จะทำให้เกษตรกรสามารถลดระยะปลูก ผลที่ตามมาคือเกษตรกรจะได้จำนวนต้นต่อพื้นที่มากขึ้น ทำให้มีผลผลิตเพิ่มขึ้นส่งผลโดยตรงต่อรายได้ การทำให้ดาหลาหรือไม้ดอกไม้ประดับชนิดต่าง ๆ มีความสูงและขนาดทรงพุ่มลดลง สามารถทำได้โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มสารชะลอการเจริญเติบโตกับต้นพืช โดยสารที่มีการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในไม้ดอกไม้ประดับคือสารพาโคลบิวทราโซล เป็นสารที่มีประสิทธิภาพลดการเจริญเติบโต ทำให้ทรงพุ่มกะทัดรัด โดยสารดังกล่าวมีคุณสมบัติยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินบริเวณใต้เนื้อเยื่อเจริญส่วนยอดและข้อทำให้การเจริญด้านลำต้นลดลง เกษตรกรสามารถใช้กับพืชได้ทั้งวิธีราดลงดินหรือฉีดพ่นทางใบ

เพื่อทำให้ไม้ดอกเหล่านั้นมีขนาดเตี้ยลงตามความต้องการ ตลอดจนใช้เทคนิคบางประการในระหว่างการปลูกเลี้ยงเพื่อบังคับให้ไม้ดอกออกดอกพร้อมกันทั้งต้น โดยคงจำนวน ขนาด และสีตลอดจนความสวยงามของดอกให้ใกล้เคียงกับของเดิมทุกประการ นอกจากการพัฒนาให้ดาหลามีขนาดทรงพุ่มเล็กลงเพื่อสร้างรูปแบบการใช้ประโยชน์เป็นไม้ดอกกระถางแล้ว การพัฒนาให้ดาหลามีความหลากหลายของสีสันทั้งส่วนของดอกและใบก็มีความจำเป็นเช่นเดียวกัน การสร้างความหลากหลายดังกล่าวข้างต้นสามารถทำได้โดยการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกับดาหลาโดยใช้สารเคมี สารเคมีที่นิยมใช้เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในพืชได้แก่ โคลชิซิน (colchicine) และเอทธิลมีเทนซัลโฟเนต (ethylmethanesulphonate : EMS) มีไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิดประสบผลสำเร็จจากการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้สารเคมี เช่น บัวหลวง (กัญจนา และคณะ, 2557) เอื้องดินใบหมาก (วีรภัทรา และณัฐา, 2553) หน้าวัว (อัญญาณี และสมปอง, 2553) และกล้วยไม้ดินหมูกลิ้ง (สุขไผท และวิไลลักษณ์, 2551) เป็นต้น จากเอกสารทางวิชาการพบว่ายังไม่มีรายงานการใช้สารเคมีเพื่อพัฒนาดาหลาให้เป็นไม้ดอกกระถาง และชักนำให้มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะต่าง ๆ ดังนั้นการทดลองเพื่อพัฒนาดาหลาจึงน่าจะมีประโยชน์ต่อเกษตรกรได้ในอนาคต

การตรวจเอกสาร

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของดาหลา

ชื่อ	: ดาหลา
ชื่อวิทยาศาสตร์	: *Etlingera elatior* (Jack) R.M Sm. (Mohamad *et al*., 2012)
ชื่อพ้อง	: *Phaeomeria magnifica, Nicolaia elatior*
ชื่อสามัญ	: Torch ginger
ชั้น	: Liliopsida
วงศ์	: Zingiberaceae
ชื่ออื่น ๆ	: กาหลา กะลา
ถิ่นกำเนิด	: เอเชียตะวันออกเฉียงใต้

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของดาหลาตามรายงานของ วิเชษฐ (2542) พอสรุปได้ดังนี้

ลำต้น ลักษณะคล้ายขิง ข่า ขมิ้น หรือกระชาย มีลำต้นใต้ดินเรียกว่าเหง้า เหง้านี้จะเป็นบริเวณที่เกิดของหน่อดอกและหน่อต้น ส่วนลำต้นเหนือดินเป็นกาบใบที่โอบซ้อนกันแน่นเช่นเดียวกับพวกกล้วย ในส่วนนี้คือลำต้นเทียม มีความสูงประมาณ 2-3 เมตร มีสีเขียวเข้ม เป็นไม้เนื้ออ่อนมีกาบใบห่อหุ้มอยู่จำนวนมาก ลำต้นดาหลาแต่ละต้นจะอยู่ชิดกันมาก ทำให้ส่วนล่างของลำต้นสูงจากผิวดินประมาณ 1-2 ฟุต ไม่มีใบเรียกลักษณะของลำต้นหลาย ๆ ต้นที่เจริญอยู่ใกล้ชิดกันว่ากอ ดาหลา 1 ต้น สามารถให้หน่อใหม่ได้ประมาณ 7 หน่อภายในเวลา 1 ปี ดาหลาที่เจริญเต็มที่สูงประมาณ 5-6 เมตร แต่ที่พบทั่วไปสูงประมาณ 3-4 เมตร (ภาพที่ 1.1 ก)

ใบ เป็นใบเดี่ยว เส้นใบขนานกัน มีรูปร่างยาวรี กลางใบกว้างแล้วค่อย ๆ เรียวไปหาปลายใบ และฐานใบ ผิวใบเกลี้ยงทั้งด้านบนและด้านล่าง ใบยาวประมาณ 30-80 เซนติเมตร กว้างประมาณ 10-15 เซนติเมตร ปลายใบแหลมฐานใบเรียวลาดเข้าหาก้านใบ เส้นกลางใบปรากฏชัดทางด้านล่างของใบ ก้านใบสั้นมากติดอยู่กับกาบใบ ซึ่งมีลักษณะเป็นกาบหุ้มลำต้นเอาไว้ กาบใบจะเจริญเลยตำแหน่งตรงที่ก้านใบต่อกับกาบใบ ทำให้มีลักษณะคล้ายรูปสามเหลี่ยมเล็ก ๆ ติดอยู่ที่ปลายใบ ใบที่เจริญอย่างแท้จริงจะเริ่มจากใบที่ 3 หรือ 4 เป็นต้นไป ซึ่งอยู่สูงจากโคนต้นไปประมาณ 30 เซนติเมตร จำนวนใบแตกต่างกันขึ้นอยู่กับอายุ อายุเพิ่มขึ้นมีใบมากขึ้น ดาหลาอายุ 2 ปี มีจำนวนใบเฉลี่ย 15- 20 ใบ ขนาดของใบกว้างยาวไม่สม่ำเสมอ ใบที่อยู่ตอนล่างมีขนาดเล็ก ใบที่อยู่ช่วงกลางมีขนาดใหญ่และยาวมาก ส่วนใบที่อยู่สูงขึ้นไปมีขนาดลดลงไปเรื่อย ๆ ตามลำดับ จนถึงใบสุดท้ายจะเล็กมากและม้วนตัวคล้ายหลอด (ภาพที่ 1.1 ข)

ดอก เป็นดอกช่อมีลักษณะดอกแบบ head ประกอบด้วยกลีบประดับมี 2 ขนาด ส่วนโคนประกอบด้วยกลีบประดับขนาดใหญ่ มีความกว้างกลีบประมาณ 2-3 เซนติเมตร มีสีแดงขลิบขาวเรียงซ้อนกันอยู่ประมาณ 25-30 กลีบ และมีกลีบประดับขนาดเล็กอยู่ส่วนบนของช่อดอก ความกว้างกลีบประมาณ 1 เซนติเมตร ซึ่งมีสีเดียวกับกลีบประดับขนาดใหญ่ กลีบประดับเล็กนี้จะหุบเข้าเรียงเป็นระดับมีประมาณ 300-330 กลีบ ภายในกลีบประดับขนาดใหญ่ที่บานออกมีดอกขนาดเล็กกลีบดอกสีแดง ซึ่งเป็นดอกสมบูรณ์เพศอยู่จำนวนมาก ดอกบานเต็มที่มีความกว้างประมาณ 14-16 เซนติเมตร ความยาวช่อประมาณ 10-15 เซนติเมตร มีก้านช่อดอกยาว 30-150 เซนติเมตร ลักษณะก้านช่อดอกแข็ง ตั้งตรง ดอกพัฒนามาจากหน่อดอกที่แทงออกมาจากเหง้าใต้ดินลักษณะของหน่อจะมีสีชมพูที่ปลายหน่อ ดอกดาหลาจะออกตลอดปีแต่ให้ดอกดกที่สุดในช่วงฤดูร้อนคือ เดือนมีนาคม-พฤษภาคม (ภาพที่ 1.1 ค)

ผล เป็นผลกลุ่ม ผลอ่อนมีสีเขียวอ่อน เมื่ออายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมชมพู และสีน้ำตาลอ่อน ตามลำดับ ดาหลาจะติดผลเมื่ออายุ 2 ปี ในช่อดอกหนึ่ง ๆ จะติดผลโดยเฉลี่ยประมาณ 30 ผล (ภาพที่ 1.1 ง) แต่ละผลมีเมล็ดประมาณ 40-80 เมล็ดตามขนาดของผล เมล็ดจะมีสีดำ และมีเมือกสีขาวหุ้มเมล็ดอยู่ (ภาพที่ 1.1 จ)

ภาพที่ 1.1 ส่วนประกอบต่าง ๆ ของดาหลา ลำต้น (ก) ใบ (ข) ดอก (ค) ผล (ง) และเมล็ด (จ)
(บาร์ = 1.0 ซม)

2. การขยายพันธุ์ดาหลา

2.1 วิธีการเพาะเมล็ด

การปลูกดาหลาด้วยเมล็ดทำได้โดยนำฝักแก่ที่เปลือกเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเขียวอมน้ำตาล หรือเปลี่ยนจากสีแดงเป็นแดงอมน้ำตาลและเมล็ดมีสีดำมาแกะเมล็ดออกแล้วแช่น้ำ 1 คืน ล้างเมือกสีขาวที่หุ้มเมล็ดออกจนหมด ผึ่งลมให้แห้งแล้วนำไปเพาะในกระบะที่บรรจุวัสดุปลูกผสมระหว่างดิน ขุยมะพร้าว และทราย อัตราส่วน 1:1:1 หลังจากเพาะประมาณ 3 เดือน หรือเมื่อต้นดาหลามีใบจริง 3-4 ใบ ให้นำลงชำในถุง หลังจากนั้น 6 เดือนจึงย้ายลงแปลงได้ การปลูกด้วยวิธีการนี้มีข้อดีคือทำได้ง่ายและทำได้คราวละมาก ๆ ช่อดอกหนึ่งจะได้หลายต้น แต่ไม่นิยมขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดเพราะมีโอกาสกลายพันธุ์สูงเนื่องจากเป็นพืชผสมข้าม (Chan *et al*., 2011 อ้างโดย สมพร, 2558)

2.2 วิธีการแยกหน่อ

การปลูกดาหลาโดยวิธีการแยกหน่อนั้นจะต้องแยกหน่อออกจากต้นแม่ที่ให้ดอกแล้วและมีลำต้นเทียม 2-3 ต้นติดมาด้วย พร้อมกับแต่งรากด้วยมีดคม นำลงปลูกในถุงดำก่อนย้ายปลูกในแปลง การปลูกด้วยวิธีการแยกหน่อมีข้อดีคือออกดอกได้เร็ว ให้สีดอกตรงตามต้นแม่พันธุ์ แต่มีข้อเสียคือได้จำนวนต้นใหม่น้อย ดาหลา 1 กอจะให้ต้นใหม่เพียง 7-10 ต้นต่อปี ต้นดาหลาที่ขยายพันธุ์ด้วยหน่อจะเริ่มออกดอกหลังจากปลูกประมาณ 6-12 เดือน ขึ้นอยู่กับขนาดของหน่อ ความอุดมสมบูรณ์ของดินและการบำรุงรักษา ปัญหาสำคัญของดาหลาคือขยายพันธุ์ได้ช้าเมื่อใช้ลำต้นใต้ดิน นอกจากนี้ยังมีโอกาสได้รับเชื้อจุลินทรีย์สูง มีรายงานว่าพืชวงศ์ขิงมักติดเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของอาการหน่อเน่า เกิดจากจุลินทรีย์พวกรา Phytium และโรคใบจุดเกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* (Keng and Hing, 2004)

2.3 วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ชิ้นส่วนที่นิยมใช้ขยายพันธุ์ดาหลาและพืชวงศ์ขิงด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ ตาของลำต้นใต้ดินและปลายยอด เพราะตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงได้ดี (Kambask and Santilata, 2009; Abdelmageed *et al*., 2011) นอกจากชนิดของชิ้นส่วนพืชแล้วขนาดของชิ้นส่วนพืชก็มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเช่นเดียวกัน ชิ้นส่วนพืชขนาดเล็กจะมีการปนเปื้อน

เชื้อจุลินทรีย์น้อย แต่จะเกิดการบอบช้ำได้ง่ายจากการตัด ในขณะที่ชิ้นส่วนพืชขนาดใหญ่จะปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ได้ง่าย (George *et al*., 1996 อ้างโดย สมพร, 2558)

ก่อนนำชิ้นส่วนพืชมาวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ต้องทำให้ชิ้นส่วนเหล่านั้นปลอดเชื้อ เนื่องจากชิ้นส่วนดาหลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออยู่ใต้ดินจึงทำความสะอาดยาก เพราะมีเชื้อจุลินทรีย์จำนวนมากปะปนอยู่ในดิน การทำให้ปลอดเชื้อต้องอาศัยสารเคมีที่เป็นพิษต่อเชื้อจุลินทรีย์แต่ไม่เป็นอันตรายต่อชิ้นส่วนพืช สารเคมีฟอกฆ่าเชื้อที่ใช้กันทั่วไป ได้แก่ แอลกอฮอล์ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ และเมอคิวริกคลอไรด์ สารฟอกฆ่าเชื้อที่นิยมใช้มีชื่อการค้าว่าคลอร๊อกซ์ สารออกฤทธิ์ในคลอร๊อกซ์คือโซเดียมไฮโปคลอไรท์ มีรายงานการทำให้ลำต้นใต้ดินของดาหลาปลอดเชื้อโดยการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร๊อกซ์ 60 เปอร์เซ็นต์ เติมทวีน 20 จำนวน 6-7 หยด เพื่อลดแรงตึงผิวของน้ำ ฟอกฆ่าเชื้อเป็นเวลา 30 นาที และฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร๊อกซ์ 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 7 ครั้ง จึงนำไปวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ต่อไป (Abdelmegeed *et al*., 2011; Yanus *et al*., 2012) เมื่อชิ้นส่วนพืชปลอดเชื้อจึงนำมาวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ซึ่งประกอบด้วยเกลือแร่ ธาตุอาหารต่าง ๆ วิตามิน น้ำตาล และสารควบคุมการเจริญเติบโต เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ได้รับแสง 1,000 - 2,000 ลักซ์ ชิ้นส่วนพืชสามารถพัฒนาเป็นต้นใหม่โดยตรงหรือเจริญเป็นแคลลัสก่อนแล้วพัฒนาเป็นต้นพืชต่อไป

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประสบความสำเร็จในพืชวงศ์ขิง เช่น ขิงแดง สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้สูงสุด 4.8 ยอด เมื่อวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรมูราชิคและสกุค (Murashige and Skoog: MS) เติม Benzyladenine (BA) เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ Napthalene acetic acid (NAA) เข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Kochuthressia *et al*., 2010) อรุณี (2559) รายงานว่าดาหลาขาวเกิดยอดได้ดีที่สุด 6.5 ยอดต่อชิ้นส่วน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พืชต่างชนิดกันมีความต้องการ BA ในปริมาณแตกต่างกัน การชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากเป็นขั้นตอนแรกของการเพิ่มจำนวนพืชต้นใหม่ แต่ขั้นตอนที่สำคัญอีกอย่างคือการชักนำรากที่สมบูรณ์ การศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชพบว่าการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อไปเป็นต้นหรือรากขึ้นอยู่กับสมดุลของฮอร์โมนระหว่างออกซินและไซโตไคนิน ซึ่งจากพื้นฐานความรู้เกี่ยวกับอิทธิพลของฮอร์โมนต่อการเจริญเติบโตของพืชนำมาสู่การควบคุมการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อตามที่เราต้องการได้ ดังนั้นในปัจจุบันฮอร์โมนพืชได้เข้ามามีบทบาทสำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์พืช

ฮอร์โมนพืชที่นิยมนำมาใช้คือไซโตไคนิน และออกซินดังเช่น รายงานการใช้ออกซินเพื่อเร่งรากกล้วยไม้ป่ากะเรกะร่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นอ่อน โดยทดลองใช้ออกซิน 2 ชนิด ได้แก่ Indole butylic acid (IBA) และ NAA 5 ระดับ ได้แก่ 0 0.1 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการวางเลี้ยงพบว่าสูตรอาหารที่เติม IBA สามารถชักนำรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ จำนวนราก 4.8 ราก และความยาวราก 4.66 เซนติเมตร รากตั้งตรง ขนาดใหญ่ ในขณะที่สูตรอาหารเติม NAA มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากต่ำ รากมีลักษณะอวบใหญ่ สั้น และม้วนเป็นก้อน (ปิยะพร และเลิศชาย, 2549)

ปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ขยายพันธุ์ดาหลา มีรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลาโดยอภิชาติ (2542) ศึกษาการขยายพันธุ์ดาหลาโดยการนำหน่อดาหลามาล้างทำความสะอาด และเช็ดหน่อดาหลาด้วยสารละลายแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ และแช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดจึงล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ตัดส่วนปลายยอดให้มีขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร นำไปวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยง 60 วัน พบว่าส่วนปลายยอดมีการพัฒนาขยายขนาดและมียอดใหม่เกิดขึ้น นอกจากนี้ Mohamad และคณะ (2012) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์ดาหลาโดยการนำหน่อขนาด 5 เซนติเมตร มาฟอกฆ่าเชื้อในสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที และตัดให้มีขนาด 2 เซนติเมตร จากนั้นแช่ส่วนหน่อในสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และนำมาวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 0 13.32 22.20 31.08 และ 44.40 ไมโครโมลาร์ พบว่า BA ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำยอดใหม่ได้ จำนวนยอดที่ได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ BA ความเข้มข้น 44.40 ไมโครโมลาร์ ให้ยอดที่มีความยาวสูงสุดเฉลี่ย 3.15 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้นอื่น ๆ ที่ทำการวางเลี้ยง อรุณี (2557) รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลาโดยการนำชิ้นส่วนยอดมาวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA และ Kinetin (KN) 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 1.0 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน หลังจากวางเลี้ยง 8 สัปดาห์ พบว่าเกิดยอดรวม 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุด 10.62 ยอดต่อชิ้นส่วน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้นอื่น ๆ กระบวนการชักนำยอดรวมมีความสำคัญต่อการขยายพันธุ์ดาหลาด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่ขั้นตอนที่สำคัญอีกขั้นตอน

หนึ่งคือการชักนำราก จึงควรเลือกสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสม สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการชักนำรากคือออกซิน เนื่องจากมีคุณสมบัติกระตุ้นการเกิดรากและการเจริญเติบโตของราก จึงมีการนำออกซินมาใช้เพื่อชักนำราก นอกจากนี้พืชบางชนิดเกิดรากยากถ้ามีการใช้ออกซินเข้าช่วยจะทำให้เกิดรากได้ง่ายขึ้น ออกซินที่นิยมใช้ในการเร่งราก คือ NAA และ Indole butylic acid (IBA) ซึ่งมีพิษต่อพืชต่ำ รากที่เกิดขึ้นจึงไม่ผิดปกติ แต่ถ้าใช้ 2,4- Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) ซึ่งมีฤทธิ์ของออกซินสูงจะทำให้รากผิดปกติคือกุดสั้น รากหนาเป็นกระจุก ดังนั้นหากต้องการเพิ่มประสิทธิภาพการเกิดราก ควรเลือกชนิดของออกซินให้เหมาะสม เยาวภา และคณะ (2558) ได้ทดลองขยายพันธุ์หัวข้าวเย็น (*Dioscorea birmanica* Prain & Burkill) ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรใช้รักษาโรคต่าง ๆ เช่น มะเร็ง เอดส์ และเลือดเป็นพิษ โดยเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติมผงถ่านความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Indole acetic acid (IAA) IBA และ NAA ความเข้มข้น 0-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอัตราการเกิดยอด จำนวนยอด และความยาวยอด ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อนำส่วนยอดมาชักนำรากพบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร ½MS เติมผงถ่านความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิดรากสูง รากมีจำนวนมาก การเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างรากต้องเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด ซึ่งสูตรอาหารส่วนใหญ่ที่นิยมใช้เพื่อชักนำรากคือสูตรอาหาร MS แต่มีสูตรอาหารอีกหลายชนิดที่สามารถส่งผลต่อการเกิดรากได้ดี เช่น สูตรอาหาร Vacin and Went (VW) เป็นสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้โดยเฉพาะ ใช้ได้ทั้งการชักนำยอด และราก เมื่อชักนำยอดและรากที่สมบูรณ์ขั้นตอนสุดท้ายของการขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคือการย้ายปลูก

ในขณะที่พืชเจริญเติบโตภายในสภาพปลอดเชื้อมีการควบคุมความเข้มแสง อุณหภูมิ และความชื้นให้เหมาะสมกับความต้องการของพืช ซึ่งแตกต่างจากสภาพภายนอกหลอดทดลอง ดังนั้นการย้ายพืชที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อออกนอกหลอดทดลองต้องมีการปรับสภาพก่อนการย้ายปลูก ความมีชีวิตรอดของพืชที่ย้ายปลูกขึ้นกับสภาพระหว่างการย้ายปลูก ดาหลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีการย้ายปลูกในกระถางที่มีวัสดุปลูกเป็นดิน ทราย พีทมอส อัตราส่วน 1:1:1 คลุมด้วยพลาสติกเพื่อรักษาความชื้น วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27$\pm$3 องศาเซลเซียส รดน้ำ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ พบว่าวัสดุปลูกดังกล่าวทำให้ต้นกล้ามีชีวิตรอดสูงสุด 93.33 เปอร์เซ็นต์ (Yunus *et al.,* 2012 อ้างโดย สมพร, 2558) นอกจากนี้ Abdelmageed และคณะ (2011) ได้ย้ายต้นดาหลาที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองลงปลูกในภาชนะที่มีวัสดุปลูกเป็นพีสมอส และดิน คลุมพลาสติกเพื่อรักษาความชื้น วางเลี้ยงในโรงเรือนพลางแสง 50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากวางเลี้ยง 7 วัน นำพลาสติก

ออก พบว่าต้นกล้ามีชีวิตรอด 75 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าหากต้องการให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลาประสบผลสำเร็จทุกขั้นตอนมีความสำคัญ ต้องปฏิบัติให้ถูกต้องและเหมาะสม จึงจะได้พืชต้นใหม่ที่มีคุณลักษณะเหมือนต้นแม่และจำนวนมากตามต้องการ

3. การกลายพันธุ์ในพืช

การกลายพันธุ์คือการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของยีนจากสภาพหนึ่งไปเป็นอีกสภาพหนึ่งหรือการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมในลักษณะต่าง ๆ (สิรินุช, 2540) สามารถถ่ายทอดลักษณะการเปลี่ยนแปลงไปยังเซลล์ลูกได้ด้วยกระบวนการแบ่งเซลล์ การกลายพันธุ์มี 2 ระดับคือการกลายพันธุ์ระดับยีน เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในยีน เป็นการสูญหายหรือเพิ่มเข้ามาของส่วนของยีน หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงในส่วนโครงสร้างของยีน และการกลายพันธุ์ระดับโครโมโซมเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดในโครงสร้างโครโมโซม อาจเกิดจากการขาดหายไปของส่วนของโครโมโซม ทำให้ยีนจำนวนหนึ่งขาดหายไป หรือเกิดจากการที่ส่วนของโครโมโซมเพิ่มมากกว่าปกติ หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นในพืชแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะดังนี้

3.1 การกลายพันธุ์ที่เกิดตามธรรมชาติ มีบทบาทสำคัญยิ่งต่อวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต พืชได้ผ่านการพัฒนาการมาอย่างยาวนานเช่นเดียวกับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ปัจจัยหลักที่ช่วยให้พืชสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงตลอดเวลาคือความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นและสะสมอยู่ในพืช พืชที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมส่วนหนึ่งมาจากการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ อาจเกิดจากการถูกกระตุ้นจากสิ่งที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เช่น แสงอัลตร้าไวโอเลต รังสีต่าง ๆ และสารเคมีที่ปะปนอยู่ในสภาพแวดล้อม ปัจจัยที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติของพืชมีหลายปัจจัย เช่น ปัจจัยภายในต้นพืช ส่วนใหญ่เกิดจากความผิดพลาดในกระบวนการจำลองดีเอ็นเอ และการซ่อมแซม การขาด หรือการเพิ่มของชิ้นส่วนดีเอ็นเอทำให้พืชสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่ผิดปกติ หรือปัจจัยภายนอก เช่น ธาตุอาหาร การปลูกในดินที่ขาดธาตุอาหารบางชนิดมีผลต่ออัตราการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (อรุณี, 2550) อุณหภูมิ การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างกะทันหันทำให้พืชเกิดความผิดปกติได้ นอกจากนี้รังสีที่พบตามธรรมชาติ ได้แก่รังสีที่เกิดจากการสลายตัวของสารกัมมันตรังสี เช่น ยูเรเนียม ทอเรียม ตลอดจนรังสีที่มนุษย์นำมาใช้ทางการแพทย์ การเกษตร และอุตสาหกรรม ก็มีส่วนทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของพืชตามธรรมชาติ นักปรับปรุงพันธุ์พืชได้อาศัยความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่มีอยู่ตาม

ธรรมชาติในการปรับปรุงพันธุ์พืช จนได้พืชสายพันธุ์ใหม่ ๆ มากมาย ดังนั้นความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นและสะสมอยู่ในพืชมีประโยชน์มากมายในการสร้างพืชพันธุ์ใหม่ให้เกิดขึ้นและมีคุณลักษณะที่ต้องการ

3.2 การกลายพันธุ์ที่เกิดจากการกระตุ้น เป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นจากสิ่งก่อกลายพันธุ์ ซึ่งสิ่งก่อการกลายพันธุ์มี 2 ชนิด ได้แก่ รังสี เป็นสิ่งที่เกิดจากสารกัมมันตภาพรังสีมี 2 รูปแบบคือรูปอนุภาคได้แก่ รังสีแอลฟา รังสีเบต้า และนิวตรอน และรังสีในรูปคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ได้แก่ รังสีเอ็กซ์ และรังสีแกมมา เมื่อพืชได้รับรังสีอาจทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ สิ่งก่อการกลายพันธุ์อีกชนิดหนึ่งคือสารเคมี มีหลายชนิดที่กระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ เช่น กลุ่มอัลไคเลติงเอเจนต์ เป็นสารเคมีพวกที่มีหมู่อัลคีลซึ่งก่อให้เกิดการกลายพันธุ์โดยไปทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของดีเอ็นเอทั้งกลุ่มฟอสเฟตและกลุ่มเบสพวกไพริมีดีน จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน สารที่มีการใช้กันอย่างกว้างขวางคือ EMS ซึ่งมีผลคล้ายกับรังสีอย่างมาก (ไพศาล และปิยะดา, 2550) การเปลี่ยนแปลงของพืชไม่ว่าจะเกิดตามธรรมชาติ หรือเกิดจากการกระตุ้นจากปัจจัยภายนอกที่มนุษย์กระทำล้วนสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งสิ้น โดยการใช้ประโยชน์สามารถทำได้ 2 ทาง คือการใช้ประโยชน์โดยตรง พืชที่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะไปจากเดิมตามวัตถุประสงค์ของการปรับปรุงพันธุ์ สามารถนำมาขยายพันธุ์และส่งเสริมให้เป็นพันธุ์ปลูกสำหรับเกษตรกรได้ทันทีหลังจากผ่านการทดสอบพันธุ์ของหน่วยงานที่เกี่ยวข้องแล้ว และการใช้ประโยชน์โดยอ้อม หากพืชที่ได้มีคุณลักษณะไม่เป็นไปตามวัตถุประสงค์ไม่สามารถขยายพันธุ์และส่งเสริมให้เป็นพันธุ์ปลูกสำหรับเกษตรกรได้ นักปรับปรุงพันธุ์สามารถนำมาใช้ในการผสมพันธุ์เพื่อถ่ายทอดลักษณะที่ต้องการจากพันธุ์กลายเข้าไปยังพืชที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์ได้

4. การใช้รังสีชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์

รังสี เป็นพลังงานรูปหนึ่งที่ปล่อยออกมาจากแหล่งกำเนิด สามารถเคลื่อนที่ทะลุทะลวงผ่านวัตถุต่าง ๆ ที่เป็นตัวกลางโดยมีการถ่ายเทพลังงานให้กับวัตถุที่ผ่าน อาจอยู่ในรูปของคลื่นหรือลำอนุภาคเล็ก ๆ ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของวัตถุนั้น รังสีแบ่งเป็น 2 ประเภทคือ

4.1 รังสีชนิดไม่ก่อให้เกิดไอออน คือรังสีที่มีพลังงานต่ำเมื่อผ่านเข้าไปในตัวกลาง จะไม่สามารถทำให้ตัวกลางนั้นแตกตัวเป็นไอออนได้ เนื่องจากพลังงานไม่มากพอที่จะผลักอิเล็กตรอนให้หลุดออกจากอะตอมได้เช่น คลื่นแสง คลื่นไมโครเวฟ คลื่นวิทยุ และคลื่นเสียง เป็นต้น

4.2 รังสีชนิดก่อให้เกิดไอออน คือรังสีที่มีพลังงานสูงเมื่อรังสีชนิดนี้ผ่านตัวกลางจะทำให้อะตอมของตัวกลางแตกตัวเป็นไอออน โดยที่พลังงานจากรังสีสามารถผลักให้อิเล็กตรอนในอะตอมของตัวกลางหลุดออกจากอะตอม ดังนั้นรังสีประเภทนี้เป็นรังสีที่ให้ผลดีและนำมาใช้ประโยชน์ในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืช เช่น รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา รังสีนิวตรอน เป็นต้น

การฉายรังสีกับพืชเพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสามารถทำได้กับส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชที่สามารถนำไปขยายพันธุ์ได้เช่น เมล็ด ซึ่งเป็นชิ้นส่วนที่มีความทนทานต่อสภาวะเครียดต่าง ๆ ได้ดีกว่าชิ้นส่วนอื่น ๆ มีการทดลองฉายรังสีแกมมาแก่เมล็ดดาวเรืองในปริมาณ 0 50 100 200 300 400 500 600 700 และ 800 เกรย์ พบว่าเมล็ดดาวเรืองที่ไม่ได้ฉายรังสีมีอัตราการรอดชีวิต 98 เปอร์เซ็นต์หลังจากเพาะ 21 วัน เมล็ดที่ได้รับรังสีปริมาณ 100 และ 200 เกรย์ เจริญเติบโตและออกดอกได้เร็วกว่าปกติ ดอกมีขนาดใหญ่ ส่วนเมล็ดที่ได้รับรังสีสูงกว่า 200 เกรย์ ต้นดาวเรืองเจริญเติบโตช้า ลำต้นแคระแกร็น ออกดอกช้า ดอกมีขนาดเล็ก (สายัณ, 2550) เนื้อเยื่อพืชส่วนอื่นก็สามารถนำมาชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีได้ เช่น ชิ้นส่วนข้อ มีรายงานของนุชรัฐและคณะ (2560) กล่าวว่าชิ้นส่วนข้อของมันเทศประดับลูกผสมเมื่อนำมาฟอกฆ่าเชื้อและวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากนั้นทำการย้ายเลี้ยงและนำไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ระดับ 20 40 60 80 และ 100 เกรย์ หลังจากนั้นทำการย้ายเลี้ยงจนได้เป็นต้นใหม่และนำออกปลูกในแปลง พบว่ามันเทศประดับที่ได้รับรังสี 20 เกรย์ มีการเปลี่ยนแปลงของสีใบเป็นสีเขียวอ่อนต่างจากต้นที่ไม่ได้รับการฉายรังสี นอกจากนี้ส่วนหัวใต้ดิน ราก เหง้า และไหล ก็มีเนื้อเยื่อเจริญในการรับรังสี มีการทดลองฉายรังสีแกมมาปริมาณ 10-100 เกรย์กับส่วนไรโซมในไม้ดอกในวงศ์ขิงหลายชนิดเช่น *Curcuma domestica* (Chosdu *et al.,* 1995) *Curcuma longa* L. (Ilyas and Naz, 2014) และ *Curcuma alismatifolia* (Taheri *et al*., 2014) พบว่าปริมาณ curcumin ในไรโซมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ หลังจากฉายรังสี นอกจากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืชที่กล่าวมาข้างต้นส่วนเนื้อเยื่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถนำมาใช้ในการฉายรังสีได้เช่นเดียวกัน มีข้อดีคือสามารถนำมาฉายรังสีได้คราวละมาก ๆ ไม่จำเป็นต้องใช้พื้นที่มากเหมือนการฉายส่วนอื่น ๆ มีการทดลองใช้ส่วนยอดรวมของเบญจมาศที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนในสภาพปลอดเชื้อมาฉายรังสีพบว่าสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะของดอกได้เช่นเดียวกัน (พันทิพา และคณะ, 2560)

การฉายรังสีในพืชสามารถทำได้ 2 แบบ คือแบบเฉียบพลัน เป็นการฉายรังสีปริมาณสูงและใช้เวลาสั้นเพื่อไม่ให้พืชมีโอกาสซ่อมแซมความเสียหายในช่วงที่ได้รับรังสี ทำให้เกิดอัตราการ

กลายพันธุ์ค่อนข้างสูง อีกรูปแบบคือการฉายรังสีแบบเรื้อรังเป็นการฉายรังสีในปริมาณน้อย แต่ช่วงระยะเวลานาน เพื่อให้ทุกระยะของการเจริญเติบโตได้รับรังสี ทำให้เกิดความเสียหายน้อยกว่าแบบเฉียบพลันหากใช้ในปริมาณเท่ากัน โดยรังสีที่นิยมใช้เป็นรังสีเอกซ์ และรังสีแกมมา ส่วนปริมาณที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและส่วนของพืชที่ใช้ในการฉายรังสี ตลอดจนวิธีการฉายรังสี พืชแต่ละชนิดมีความไวต่อรังสีแตกต่างกัน เช่น การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในแพงพวย โดยนำเมล็ดพันธุ์มาฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันปริมาณ 0 50 100 150 และ 200 เกรย์ พบว่าปริมาณรังสี 50-200 เกรย์ ทำให้กลีบดอกแพงพวยมีลักษณะรอยด่างขาวกระจายอยู่ทั่วกลีบดอก ปริมาณรังสี 50 และ 100 เกรย์ ทำให้บางดอกมีจำนวนกลีบดอกลดลงเหลือ 4 กลีบ มีขนาดทรงพุ่มกว้างที่สุดและออกดอกเร็วกว่าปกติ (Padungsil *et al*., 2015)

การชักนำให้เกิดความแปรปรวนทางสัณฐานวิทยาของผักเป็ดโดยนำส่วนยอดของผักเป็ดอายุ 5 สัปดาห์ มาฉายรังสีแกมมาระดับ 0-10 กิโลแรด แบบเฉียบพลัน นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เติม KN ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อวัดการเจริญเติบโตโดยการชั่งน้ำหนักสดของยอดที่แตกใหม่ พบว่าการเจริญเติบโตของยอดลดลงเมื่อได้รับปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น และปริมาณรังสี 3.7 กิโลแรด ทำให้ยอดตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) เมื่อย้ายยอดผักเป็ดที่รอดชีวิตไปวางเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 2 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดรากจึงนำออกปลูกภายนอกหลอดทดลอง พบความแปรปรวนในลักษณะของใบ เช่น ใบด่าง ใบมีขนาดใหญ่ขึ้น ใบแคบเรียวยาวกว่าปกติ (รักชนก และคณะ, 2549) นอกจากนี้มีการนำส่วนไรโซมของ *Zingiber officinale* มาฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน หลังจากย้ายปลูกลงกระถาง 50 วัน พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ ลักษณะที่เปลี่ยนแปลงมากที่สุดคือขอบใบเป็นสีเหลือง รองลงมาคือลักษณะขอบใบเป็นแถบขาว การชักนำให้พืชเกิดการกลายพันธุ์ด้วยวิธีการนี้สามารถร่นระยะเวลาและประหยัดค่าใช้จ่ายเมื่อเปรียบเทียบกับการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีอื่น แต่เนื่องจากการฉายรังสีต้องใช้ต้นพืชจำนวนมาก จึงได้นำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ร่วมด้วย

Chanchula (2013) รายงานการชักนำการกลายพันธุ์ในต้นหงส์เหินซึ่งเป็นพืชวงศ์ขิงที่มีดอกสวยงาม แต่มีปัญหาการผสมพันธุ์ไม่ติดเมล็ด และลูกผสมเป็นหมันไม่สามารถพัฒนาพันธุ์ต่อไปได้ การปรับปรุงพันธุ์จึงต้องนำต้นหงส์เหินมาเพิ่มจำนวนด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก่อน นำไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันปริมาณ 10 20 40 60 80 100 และ 150 เกรย์ จากนั้นนำมาวางเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าหลังเพาะเลี้ยง 60 วัน ชิ้นส่วนที่ได้รับรังสีแกมมา 0-60 เกรย์ สามารถเกิดยอดใหม่ได้ แต่ที่ 80-100 เกรย์ ไม่สามารถพัฒนายอดใหม่ได้ ต้นอ่อนมีสีเขียวปกติ

ที่ระดับ 150 เกรย์ เนื้อเยื่อเป็นสีน้ำตาลและตาย ลักษณะผิดปกติที่พบคือต้นสีขาว จำนวน 2 ต้น จากการฉายรังสีปริมาณ 40 เกรย์

5. การใช้สารเคมีชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์

สารเคมีที่ใช้ในการชักนำให้พืชกลายพันธุ์มีหลายชนิด แต่ละชนิดมีคุณสมบัติและส่งผลต่อกระบวนการต่าง ๆ ภายในต้นพืชแตกต่างกัน ดังนั้นการเลือกใช้สารก่อกลายพันธุ์กับพืชเพื่อกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งด้านสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาภายในต้นพืช ต้องพิจารณาทั้งชนิด ความเข้มข้น และวิธีการใช้ สารเคมีที่ใช้ในการชักนำให้พืชกลายพันธุ์มีดังนี้

5.1 โคลชิซิน มีสูตรเคมีว่า $C_{22}H_{25}NO_6$ เป็นสารประกอบอโรมาติกกลุ่มอัลคาลอยด์พบมากในต้นดองดึง ทางการแพทย์นำมาใช้รักษาโรคเกาต์ ไขข้ออักเสบ ส่วนทางด้านพันธุศาสตร์และการปรับปรุงพันธุ์พืช นำมาใช้ในการเพิ่มชุดโครโมโซมของพืชเพราะมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างเส้นใยสปินเดิ้ลระหว่างการแบ่งนิวเคลียส ทำให้โครโมโซมไม่แยกตัว มีผลให้สารพันธุกรรมที่ถูกสร้างขึ้นมาใหม่กับชุดเดิมไม่แยกจากกัน เซลล์นั้นจึงมีสารพันธุกรรมเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า ปกติเซลล์เนื้อเยื่อทั่วไปมีโครโมโซม 2 ชุด หรือ 2x เมื่อสารพันธุกรรมเพิ่มเป็น 2 เท่า ทำให้ได้เนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยเซลล์ที่มีโครโมโซม 4x ซึ่งมักส่งผลให้เนื้อเยื่อพืชมีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปในทางดีหรือเลวลงได้ เช่น เนื้อเยื่อหนาขึ้น ขนาดใหญ่ขึ้น รูปร่างอาจแตกต่างจากเดิม กิจกรรมของเซลล์อาจเปลี่ยนแปลงไปได้ อัตราการเจริญเติบโตอาจช้าหรือเร็วกว่าปกติ เป็นต้น สารโคลชิซินนี้มีผู้นำมาใช้ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืชอย่างกว้างขวาง เนื่องจากไม่เป็นอันตรายต่อพืช แม้จะใช้ในอัตราสูงเพราะเป็นสารที่สกัดจากพืช เคลื่อนย้ายไปตามส่วนต่าง ๆ ของพืชโดยยังคงรักษารูปเดิมและทำหน้าที่ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้เป็นเวลานาน อีกทั้งไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยีน (นพพร, 2546)

5.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการใช้สารโคลชิซินเพื่อปรับปรุงพันธุ์พืช

ปัจจัยสำคัญต่อประสิทธิภาพของการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์คือ ชิ้นส่วนพืช ระดับความเข้มข้นของสารเคมี ร่วมกับระยะเวลาการจุ่มแช่ชิ้นส่วนพืช และวิธีการให้สาร (Petersen *et al*., 2003) โดยพืชแต่ละชนิดจะตอบสนองต่อโคลชิซินได้แตกต่างกัน

5.2.1 ชิ้นส่วนพืช ผลสำเร็จของการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้โคลชิซินขึ้นกับชนิดของชิ้นส่วนพืชที่นำมาใช้ และประสิทธิภาพในการลำเลียงสารของเนื้อเยื่อพืชชนิดนั้น ๆ เข้าสู่เนื้อเยื่อเจริญ (Allum *et al*., 2007) โดยทั่วไปนิยมใช้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญในการ

ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ เช่น เมล็ด ข้อ ปลายยอด และตาข้าง เป็นต้น พรพิรุณ และคณะ (2553) ทำการศึกษาวิธีการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมของพริกขี้หนูโดยแช่เมล็ดพริกในสารละลายโคลชิซินในที่มืด เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าการแช่เมล็ดพริกขี้หนูในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นพริกโพลีพลอยด์ได้สูงสุด 70 เปอร์เซ็นต์

อัญญาณี และสมปอง (2553) ชักนำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมในหน้าวัวพันธุ์ Micky Mouse โดยใช้แคลลัสจุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0 0.05 0.10 0.15 และ 0.20 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าอัตราการรอดชีวิตของแคลลัสหลังย้ายเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน ลดลงตามความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินที่สูงขึ้น เมื่อทำการตรวจสอบขนาดใบพบว่าความยาว และความกว้างใบไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบลักษณะอาการใบด่าง

นอกจากชิ้นส่วนเมล็ดและแคลลัสแล้วชิ้นส่วนอื่น ๆ ของพืชสามารถนำมาชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้สารโคลชิซินร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ เช่น วีรภัทรา และณัฐา (2553) ทดลองใช้โปรโตคอร์มของเอื้องดินใบหมากมาจุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0 0.005 0.01 0.025 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ ทำให้โปรโตคอร์มมีอัตราการรอดชีวิตต่ำสุด 51.67 เปอร์เซ็นต์ และมีผลทำให้ความสูงของต้น ความยาวใบ ความยาวราก และจำนวนรากลดลง แต่ความกว้างใบเพิ่มขึ้น

5.2.2 วิธีการใช้ เป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่ออัตราการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อพืช ซึ่งวิธีการใช้สารโคลชิซินกับชิ้นส่วนพืชสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การจุ่มแช่ชิ้นส่วนพืช (กัญจนา และคณะ, 2557; อัญญาณี และสมปอง, 2551; Herrera *et al*., 2002) การวางเลี้ยงร่วมกับอาหารสังเคราะห์ การหยดสารละลายโคลชิซีนลงบนยอดอ่อน (วุฒิกร และกิตติ, 2555) การใช้สำลีชุบสารละลายโคลชิซินวางบนยอดอ่อน การผสมโคลชิซินกับวุ้นหรือลาโนลินแล้วนำไปวางบนยอดอ่อน หรือฉีดสารละลายโคลชิซินเข้าต้นพืชด้วยเข็มฉีดยา เป็นต้น (วรวุฒิ, 2542 อ้างโดย นคร และจรัสศรี, 2550)

5.2.3 ความเข้มข้น และระยะเวลา ความเข้มข้นของโคลชิซินร่วมกับระยะเวลาที่ใช้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนพืช ซึ่งพืชแต่ละชนิดตอบสนองแตกต่างกันหากใช้ความเข้มข้นต่ำอาจไม่สามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนพืชได้ แต่ถ้าใช้ความเข้มข้นสูงเกินไปทำให้ส่งผลเสียและชิ้นส่วนพืชอาจตายได้ ดังนั้นความเข้มข้นและระยะเวลาเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญมากในการชักนำให้พืชเกิดการเปลี่ยนแปลง Tang และคณะ (2010) ทดลองจุ่มแช่แคลลัสของ *Paulownia tomenosa* ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่ำ แต่เพิ่มระยะเวลาจุ่มแช่ให้นานขึ้น พบว่าสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นโพลิพลอยด์ได้ นอกจากนี้การใช้สารโคลชิซิน

ความเข้มข้นสูง แต่ใช้ระยะเวลาการจุ่มแช่น้อยลง สามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของต้นพืชได้เช่นกัน (Allum *et al*., 2007)

นิตย์ศรี และอำไพ (2541) ชักนำให้เกิดเตตระพลอยด์ในหม่อนพันธุ์น้อยคุณไพและใหญ่บุรีรัมย์ โดยการใช้สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.02-0.10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2-5 วัน พบว่าต้นหม่อนใบหนา สีเขียวเข้ม ขนาดของเซลล์ปากใบ และจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์ปากใบเพิ่มขึ้น

สุขไผท และวิไลลักษณ์ (2551) ทดลองนำส่วนต้นอ่อนกล้วยไม้ดินหมูกลิ้ง (*Eulophia andamanensis* Rchb.f) มาวางเลี้ยงในอาหารเหลวที่เติมและไม่เติมโคลชิซินความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 48 หรือ 72 ชั่วโมง จากนั้นนำต้นอ่อนล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Vacin and Went เป็นเวลา 4 เดือน พบว่าต้นอ่อนที่วางเลี้ยงบนอาหารเติมสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 72 ชั่วโมง และโคลชิซินเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ นาน 48 ชั่วโมง มีน้ำหนักสดของต้นสูงสุด จำนวนปากใบไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การแช่ต้นอ่อนของกล้วยไม้ดินหมูกลิ้งในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ นาน 48 ชั่วโมง มีจำนวนปากใบน้อยที่สุด

กัญจนา และคณะ (2557) ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก และพันธุ์ปทุมมาในสภาพปลอดเชื้อโดยแช่คัพภะและยอดในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0 0.02 0.05 และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่าการใช้โคลชิซินความเข้มข้นสูงเป็นระยะเวลานานทำให้อัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตลดลง

บัณฑิตา และคณะ (2560) กล่าวว่าการแช่ชิ้นส่วนข้อของลินเดอเนีย ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Linderniaceae มีลักษณะคล้ายต้นแววมยุรา ในอาหารเหลวสูตร 1/2MS ที่มีสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0 5 10 15 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าชิ้นส่วนข้อมีอัตราการรอดชีวิตต่ำ สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ทำให้ชิ้นส่วนพืชมีอัตราการรอดชีวิตเพียง 15 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของความสูง ความยาวปล้อง และความยาวใบลดลงในทุกความเข้มข้น จากการคัดเลือกต้นที่คาดว่าเป็นโพลีพลอยด์พบว่าต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซินมีความหนาของลำต้นเพิ่มขึ้น ความสูงของต้นลดลง ใบหดสั้นลง มีลักษณะหงิกงอในทุกความเข้มข้นแตกต่างจากที่ไม่ได้รับสารละลายโคลชิซิน

จากการทดลองที่กล่าวมาข้างต้นพบว่าความเข้มข้น และระยะเวลาการแช่ชิ้นส่วนพืชในสารละลายโคลชิซินแตกต่างกัน ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนพืชในลักษณะที่ต่างกัน

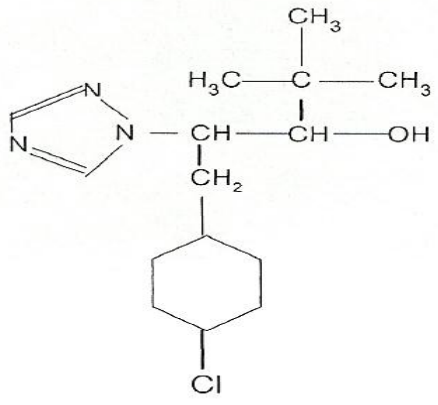
5.3 สารเอทธิลมีเทนซัลโฟเนท (Ethylmethanesulphonate: EMS) มีสูตรโมเลกุลคือ $CH_2SO_4OCl_2H_5$ เป็นของเหลวใส ไม่มีสี ละลายน้ำได้ประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ในสิ่งมีชีวิต มีผลกระทบต่อความผิดปกติของโครโมโซมพืชน้อยมาก ศิริญญาและสมปอง (2551) จุ่มแช่โปรโตคอร์มไลบอดี้ (Protocorm–like bodies : PLBs) ของกล้วยไม้เหลืองจันทบูรในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 0 0.25 0.50 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 60 และ 90 นาที แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน PLBs ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 0.80 เปอร์เซ็นต์ นาน 90 นาที มีอัตราการรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ PLBs ที่ไม่จุ่มแช่สารละลาย EMS สร้างยอดใหม่สูงสุด 15 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ PLBs ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 90 นาที ให้อัตราการเกิดยอดต่ำสุดเท่ากันคือ 2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าทรีตเมนต์ที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 60 นาที เกิดต้นเผือก 10 เปอร์เซ็นต์ และ EMS เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 90 นาที พบอาการใบด่าง 11 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าความเข้มข้นของ EMS แม้จะใช้ในปริมาณน้อยก็สามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ สอดคล้องกับการทดลองของชานนท์ และเมิง-เจียว (2560) รายงานว่าการจุ่มแช่ PLBs ของกล้วยไม้ *Erycina pussila* ในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ทั้งด้านการเจริญเติบโตและทางสรีรวิทยา เช่น ลักษณะผิดปกติของใบ จำนวนช่อดอกเพิ่มขึ้น

ไซนีย๊ะ และคณะ (2557) ทดลองจุ่มแช่ PLBs ของกล้วยไม้หวายโซเนียในสารละลาย EMS เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 60 และ 90 นาที พบว่าความเข้มข้นและระยะเวลาที่ใช้ทำให้ PLBs มีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ต้นกล้าที่ผ่านการแช่ในสารละลาย EMS เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ นาน 90 นาที มีการเจริญเติบโตเร็วกว่า มีขนาดใบ ราก และเซลล์คุมใหญ่กว่าชุดควบคุม

ข้อดีของสารเคมีก่อกลายพันธุ์ที่เหนือกว่าการใช้รังสีก่อกลายพันธุ์คือ สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่จำเพาะและสามารถทำนายได้ อย่างไรก็ตามแม้ว่าสารเคมีก่อกลายพันธุ์จะทำให้เกิดการกลายของยีนได้ในอัตราที่สูงกว่ารังสีก่อกลายพันธุ์ แต่มีข้อเสียหลายประการ ได้แก่ ความไม่แน่นอนในการเข้าถึงเซลล์เป้าหมาย มีการทำซ้ำได้ยาก มีความคงอยู่นานของสิ่งก่อกลายพันธุ์ และต้องคำนึงถึงความปลอดภัยในการดำเนินการมากกว่าการใช้รังสีก่อกลายพันธุ์ (กิตติ และคณะ, 2555)

6. การใช้สารชะลอการเจริญเติบโตพาโคลบิวทราโซล

สารพาโคลบิวทราโซลมีสูตรทางเคมีคือ $C_{15}H_{20}ClNO_3$ (ภาพที่ 1.2) ชื่อการค้าว่า Cultar, Parly และ Bonzi เป็นผลิตภัณฑ์ในรูปสารแขวนลอยความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ หรือผงละลายน้ำได้ 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเป็นพิษ (LD_{50}) เมื่อให้สารกับหนู 1,300-2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นสารชะลอการเจริญเติบโตที่ใช้กับพืชได้อย่างกว้างขวางทั้งพืชสวน พืชไร่ และไม้ดอกไม้ประดับ มีผลยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินภายในพืช ทำให้กิ่งไม่ยืดยาว ความยาวของกิ่งจึงสั้นกว่าปกติ ไม่มีผลต่อใบ จำนวนใบจึงไม่เปลี่ยนแปลง (Sterett,1985) นอกจากนี้สารพาโคลบิวทราโซลยังมีผลทำให้ลำต้น และใบมีขนาดเล็กลง ข้อและปล้องสั้นลง ใบมีสีเขียวเข้ม มีจำนวนคลอโรฟิลล์ และคลอโรพลาสต์เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชมีประสิทธิภาพสูงขึ้น จึงส่งผลต่อผลผลิตทั้งด้านปริมาณและคุณภาพ สารพาโคลบิวทราโซลเคลื่อนย้ายได้ดีทางท่อน้ำแต่ไม่เคลื่อนที่ทางท่ออาหาร จึงสามารถนำมาใช้ได้ทั้งวิธีการฉีดพ่นทางใบ และราดลงดิน มีการทดลองเพื่อศึกษาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการให้สารพาโคลบิวทราโซลกับต้นกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์บอมโจเพื่อทำเป็นไม้แคระ พบว่าการให้สารโดยวิธีราดลงดินทำให้ความสูงเฉลี่ยของลำต้นเพิ่มขึ้นน้อยที่สุด สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ได้ดีกว่าวิธีการฉีดพ่นทางใบ (สนอง, 2550) ดังนั้นหากต้องการใช้สารพาโคลบิวทราโซลกับพืชต้องพิจารณาถึงวิธีการให้สารและระดับความเข้มข้นของสารที่พืชสามารถตอบสนองได้ด้วย



ภาพที่ 1.2 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารพาโคลบิวทราโซล
ที่มา : ภาณุพงศ์ (2548)

7. อิทธิพลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อพืช

7.1 ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การใช้สารพาโคลบิวทราโซลในสภาพปลอดเชื้อมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการชักนำยอด อรุณี และสมปอง (2559) รายงานการใช้สารพาโคลบิวทราโซลในสภาพปลอดเชื้อเพื่อขยายพันธุ์ดาหลา โดยการเติมสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 0 10 20 30 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหารสังเคราะห์ที่วางเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของดาหลา พบว่าหลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ทุกความเข้มข้น โดยเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดรวม และจำนวนยอดรวมให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อพิจารณาความยาวยอดพบว่ามีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลเพิ่มขึ้น โดยส่วนยอดดาหลาที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ยอดใหม่ที่มีความยาวยอด 3.15-3.69 เซนติเมตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และส่วนยอดดาหลาที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ยอดใหม่ที่มีความยาวยอด 1.75 และ 1.25 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้มีรายงานการใช้สารพาโคลบิวทราโซลกับดาหลาในสภาพปลอดเชื้อ โดยการวางเลี้ยงส่วนปลายยอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วยสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ดาหลาเกิดยอดสูงสุด ความสูงเฉลี่ย 3.78 เซนติเมตร และใบมีสีเขียวเข้มขึ้น (Chidburee, 2002) Jala และ Bodhipadma (2012) ทดลองขยายพันธุ์กระเจียวฉัตรทิพย์ซึ่งเป็นไม้ดอกวงศ์ขิงเช่นเดียวกับดาหลา โดยวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วยสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้กระเจียวฉัตรทิพย์เกิดยอดรวมได้เพิ่มขึ้นเฉลี่ย 7.25 ยอดต่อชิ้นส่วน สูงกว่าการไม่เติมพาโคลบิวทราโซล

การใช้สารพาโคลบิวทราโซลกับพืชที่ได้จากการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลายชนิด เช่น เบญจมาศ (Kucharska and Orlikowaka, 2008) ดาหลา (อรุณี และสมปอง, 2559) แอปเปิล (Kepenek and Karoglu, 2011) กระเจียว (Jala and Bodhipadma, 2012) ปทุมมา (Jala, 2014) และขมิ้น (Archana *et al*., 2015) เป็นต้น ผลที่เกิดขึ้นเป็นไปในลักษณะคล้ายคลึงกัน กล่าวคือต้นกล้าที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลทั้งก่อนหรือหลังการย้ายปลูกมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าต้นกล้าที่ไม่ได้รับสาร เช่น การเติมสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 0.5 1.0 หรือ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารสังเคราะห์เพื่อชักนำรากเบญจมาศ พบว่าต้นกล้าที่ชักนำรากบนอาหารที่มีสารพาโคลบิวทราโซลจะมีคุณภาพสูงกว่าต้นกล้าที่ไม่ได้รับสาร กล่าวคือเมื่อทำการบันทึกการเจริญเติบโตในส่วนของยอดและรากหลังจากการย้ายปลูก 1 เดือน พบว่าต้นกล้าที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลมีน้ำหนัก

สดของยอดและรากเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลเพิ่มขึ้น และสูงสุดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นที่ไม่ได้รับสาร แต่จำนวนใบและพื้นที่ใบไม่แตกต่างกัน (Kucharska and Orlikowaka, 2008) นั่นแสดงให้เห็นว่าต้นกล้าที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลมีความสามารถในการดูดน้ำได้ดีกว่า และเจริญเติบโตได้เร็วกว่าต้นที่ไม่ได้รับสาร

7.2 ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการควบคุมความสูงของพืช

การผลิตพืชวงศ์ขิงเป็นไม้ดอกกระถางหากเกษตรกรต้องการจำหน่ายไปยังประเทศต่าง ๆ ทั่วโลกจำเป็นต้องพัฒนาต้นให้มีความสูงตามมาตรฐานสากล คือ 1.5-2 เท่าของความสูงของภาชนะที่ปลูก โดยต้องลดความสูงของต้นและความยาวช่อดอก การลดความสูงสามารถทำได้โดยใช้สารพาโคลบิวทราโซลซึ่งมีคุณสมบัติยับยั้งการสร้างจิบเบอเรลลิน Thohirah และคณะ (2005) ทดลองใช้สารพาโคลบิวทราโซลกับพืชวงศ์ขิง 2 ชนิดคือ ต้นกล้าของ *Curcuma roscoena* อายุ 3 สัปดาห์ ใช้วิธีการราดลงดิน และไรโซมของ *Curcuma alismatifolia* ใช้วิธีการแช่ พบว่าสารพาโคลบิวทราโซลมีผลต่อความสูงของต้นพืชไม่ว่าจะให้สารด้วยวิธีการใด หรือใช้ชิ้นส่วนใดก็ตาม เมื่อความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลเพิ่มขึ้นความสูงจะลดลง ความเข้มข้นที่เหมาะสมหากใช้วิธีการราดลงดินคือ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร และหากใช้วิธีการแช่ไรโซมความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร สารพาโคลบิวทราโซลมีผลต่อการยืดยาวของลำต้นเท่านั้นไม่ได้ส่งผลต่อส่วนอื่น ๆ จึงทำให้ต้นพืชไม่มีลักษณะผิดปกติเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับสาร สารพาโคลบิวทราโซลจะส่งผลต่อความสูงของพืชวงศ์ขิงได้เพิ่มขึ้นหากใช้สารร่วมกับการควบคุมจำนวนชั่วโมงที่พืชได้รับแสงต่อวัน พืชวงศ์ขิงที่ตอบสนองต่อจำนวนชั่วโมงที่ได้รับแสงต่อวันเช่น ปทุมมา เห็นได้จากความสูง และจำนวนใบที่เพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนชั่วโมงที่ได้รับแสงเพิ่มขึ้น ดังนั้นหากต้องการควบคุมความสูงของปทุมมาด้วยวิธีการใช้สารพาโคลบิวทราโซล ควรทำร่วมกับการควบคุมแสงในปริมาณที่เหมาะสมจะช่วยเพิ่มผลสำเร็จของการผลิตไม้ดอกกระถางได้อีกทางหนึ่ง (Thohirah *et al*., 2005)

นอกจากพืชวงศ์ขิงแล้วสารพาโคลบิวทราโซลได้ถูกนำมาใช้กับไม้ดอกอีกหลายชนิด เช่น กล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์บอมโจ *Dendrobium* Sonia “Bomjo” (สนอง, 2550) อายุ 6 เดือน เพื่อทำไม้แคระ โดยราดสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 200 300 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงบนวัสดุปลูกเพียงครั้งเดียว พบว่าการให้สารโดยวิธีการราดลงบนวัสดุปลูกนั้นทำให้ความสูงเฉลี่ยของลำต้นเพิ่มขึ้นน้อยที่สุด 0.33 เซนติเมตร และทำให้ขนาดของทรงพุ่มเพิ่มขึ้นน้อยที่สุดเฉลี่ย 0.50 เซนติเมตรเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับสาร โดยสารพาโคลบิวทราโซล จะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายได้เพียง 3 เดือน หลังจากนั้นความสูงและขนาดของทรงพุ่มไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นที่ไม่ราดสาร การทดลองใช้สารพาโคลบิวทราโซลกับต้นเบญจมาศพันธุ์เหลืองไต้หวันเพื่อผลิตเป็นไม้ดอกกระถางโดยเปรียบเทียบ

จำนวนครั้งที่ให้คือ 0 1 2 และ 3 ครั้ง ระดับความเข้มข้นที่ให้คือ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตรต่อกระถางต่อครั้ง เท่ากันทุกครั้ง จากการศึกษาพบว่าการให้สารพาโคลบิวทราโซลแก่ต้นเบญจมาศสามารถลดความสูงและความยาวของปล้องทำให้ทรงพุ่มกระชับมากขึ้น มีผลชะลออายุดอกบาน 50 เปอร์เซ็นต์ให้นานขึ้น มีผลทำให้จำนวนดอกต่อกระถาง และขนาดดอกลดลงตามจำนวนครั้งที่ให้เมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุม

7.3 ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อสภาวะขาดน้ำของพืช

ประเทศไทยประสบปัญหาสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่น ความแห้งแล้ง ฝนไม่ตกตามฤดูกาล สภาพปัญหาดังกล่าวทำให้พืชตกอยู่ในสภาวะขาดน้ำซึ่งถือเป็นความเครียดที่เกิดขึ้นในพืชเกือบตลอดเวลาเนื่องจากน้ำในดินลดลง พืชไม่สามารถดูดน้ำที่อยู่ภายนอกเข้าสู่เซลล์ได้ สภาพอากาศที่แห้งแล้งทำให้พืชสูญเสียน้ำโดยเฉพาะการคายน้ำและการระเหยของน้ำ ส่งผลกระทบทั้งในระดับเซลล์และกระบวนการต่าง ๆ ภายในเซลล์ เช่น ทำให้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง การเกิดสารอนุมูลอิสระซึ่งสารดังกล่าวมีคุณสมบัติเป็นตัวออกซิแดนซ์อย่างรุนแรง ทำลายโมเลกุลของสารต่าง ๆ เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน เยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เซลล์ตายได้ (Farooq *et al*., 2009) สภาวะแล้งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา กระบวนการทางชีวเคมี รวมไปถึงรูปแบบการแสดงออกของยีนหลายประการ การตอบสนองของพืชเมื่อได้รับสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมเป็นผลมาจากการพยายามปรับตัวเพื่อให้สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ พืชมีการส่งสัญญาณเชื่องโยงของระบบต่าง ๆ รวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา สัณฐานวิทยา และกลไกทางชีวเคมี เช่น การสร้างสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อกำจัดอนุมูลอิสระ นอกจากนี้เมื่อพืชอยู่ในสภาวะแห้งแล้งจะมีการสะสมตัวถูกละลายที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ เช่น โพรลีน ไกลซีน เพิ่มสูงขึ้น การสะสมตัวถูกละลายเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการรักษาสมดุลของน้ำภายในเซลล์ ส่งผลให้พืชสามารถรักษาระดับน้ำในเซลล์ที่ต่ำกว่าระดับน้ำภายนอกเซลล์อย่างต่อเนื่องและเป็นกลไกสำคัญในการทนต่อสภาวะแห้งแล้งของพืช

สภาวะเครียดน้ำเป็นสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะสภาวะขาดน้ำ ซึ่งเป็นสภาวะที่พืชมีอัตราการคายน้ำมากกว่าอัตราการดูดน้ำ เป็นผลให้ปริมาณน้ำในพืชลดลงจนมีผลต่อสรีรวิทยาของพืช (Hajihashemi and Ehsanpour, 2013) โดยพืชจะมีกระบวนการตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำหลายกระบวนการ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระดับความรุนแรงและช่วงเวลาของการขาดน้ำ การสร้างและสะสมโพรลีนเป็นดัชนีชี้วัดที่สำคัญสำหรับการอยู่รอดของพืชในสภาพขาดน้ำ (Jungklang and Saengnil, 2012) ภาวะเครียดในพืชที่เกิดจากความแห้งแล้ง อาจมาจากหลายสาเหตุ เช่น ปริมาณน้ำในดินน้อยเกินไป อัตราการระเหยของน้ำสูง สภาพอากาศที่แห้งแล้ง ปริมาณน้ำฝนน้อย ซึ่งล้วนแล้วแต่ทำให้พืชอยู่ในภาวะที่ขาดน้ำทั้งสิ้น โดยทั่วไปสาเหตุของความแห้งแล้งมักจะเกิดจากปริมาณน้ำฝนที่น้อยเกินไป ร่วมกับเกิดอัตราการระเหยของน้ำสูง เป็นที่ทราบกันว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่ในเซลล์พืชคือน้ำ และน้ำยังเป็น

ตัวกลางในการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่สำคัญภายในเซลล์ของพืช ดังนั้นสภาวะที่พืชขาดน้ำย่อมจะทำให้เกิดความผิดปกติต่าง ๆ ได้ เช่น แรงดันเต่งภายในเซลล์ลดลง เกิดปรากฏการณ์ plasmolysis และพืชแสดงอาการเหี่ยว อัตราการเจริญเติบโตช้าลง เซลล์ใหม่ที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็ก และกระบวนการต่าง ๆ ภายในต้นพืชจะค่อย ๆ ถูกทำลายไปในที่สุด เมื่อพืชเกิดภาวะขาดน้ำจะมีการสร้างกรดแอบซิซิกเพิ่มมากขึ้นซึ่งเป็นสัญญาณทางเคมีที่ทำให้พืชรับรู้ว่าเกิดภาวะขาดน้ำ และทำให้เกิดการตอบสนองต่อภาวะขาดน้ำในลักษณะที่แตกต่างกันไปในอวัยวะแต่ละส่วนของพืช รวมถึงการเปลี่ยนแปลงด้านการเจริญเติบโตและพัฒนาการต่าง ๆ ของพืช เช่น ปากใบจะปิดแคบลง มีอัตราการเจริญเติบโตของรากสูงกว่ายอด มีลักษณะสัณฐานวิทยาบางประการเปลี่ยนแปลงไป เช่น มีการสร้างขนมากขึ้น เปลือกไม้หนาขึ้น มีหนามมากขึ้น เป็นต้น ในทางสรีรวิทยาพบว่าขณะที่เกิดภาวะขาดน้ำ เมื่อแรงดันเต่งลดลง พืชจะพยายามหาทางรักษาภาวะสมดุลเอาไว้ กลไกอย่างหนึ่งที่เกิดขึ้นคือการสร้างสารประกอบไนโตรเจนและคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้เพิ่มขึ้นในเซลล์ มีการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลเพื่อรักษาสภาพแรงดันภายในเซลล์ และทำให้เกิดการออสโมซิสของน้ำกลับเข้ามาในเซลล์ให้มากขึ้น เพื่อชะลอไม่ให้แรงดันเต่งลดลงทำให้เซลล์รักษาสภาพไว้ได้ พืชแต่ละชนิดมีวิธีการหรือกลไกที่ทำให้สามารถอยู่รอดได้ในภาวะขาดน้ำหรือในสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้งได้แตกต่างกัน การเพิ่มความสามารถดูดน้ำพบว่าพืชมีการสร้างรากที่มีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว และมีความยาวรากหยั่งลึกลงไปในดิน รวมทั้งมีการแยกและแผ่กระจายออกอย่างหนาแน่นเพื่อที่จะสามารถดูดน้ำที่อยู่ในชั้นดินระดับล่าง ๆ การลดการคายน้ำพืชจะมีช่วงเวลาที่ปากใบปิดยาวนานขึ้น นอกจากนั้นยังพบว่าปากใบที่ถูกสร้างขึ้นในขณะที่สภาพแวดล้อมขาดน้ำจะมีขนาดเล็กกว่าปกติ แต่จะมีความหนาแน่นเพิ่มมากขึ้น การมีปากใบเพิ่มมากขึ้นจะช่วยทำให้พืชสามารถควบคุมการคายน้ำได้เร็วขึ้น และการมีชั้นอิพิเดอมิสด้านนอกหนาเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยลดอัตราการสูญเสียน้ำออกจากพืชได้เช่นเดียวกัน

Jungklang และ Saengnil (2012) ทดลองให้สารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 0 และ 1500 มิลลิกรัมต่อลิตรแก่หน่อปทุมมาขนาด 10-15 เซนติเมตร หลังจากนั้น 2 สัปดาห์ นำต้นปทุมมามางดการให้น้ำเป็นเวลา 0-40 วัน บันทึกผลอัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นปทุมมา พร้อมทั้งวัดปริมาณน้ำในดิน ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ ปริมาณโพรลีนในใบ พบว่าต้นปทุมมาที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลเตี้ยกว่าต้นที่ไม่ได้รับสารเมื่อต้นปทุมมาขาดน้ำนาน 25-40 วัน ส่วนน้ำหนักแห้งต่อต้นพบว่าต้นที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซล มีน้ำหนักแห้งต่อต้นสูงกว่าชุดควบคุม เมื่อต้นปทุมมาขาดน้ำมากกว่า 20 วัน จากการวัดความชื้นในดินรอบ ๆ หัวพันธุ์ปทุมมาที่ลึก 3 นิ้วจากผิวดินพบว่าดินที่ขาดน้ำนานกว่า 30 วัน มีปริมาณน้ำในดินลดลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณน้ำในดินที่ต่ำเช่นนี้ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตทางด้านความสูงของปทุมมาที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซล โดยพบว่าต้นที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลมีการเจริญเติบโตทางด้านความสูงน้อยกว่าต้นที่ไม่ได้รับสาร อาจเนื่องมาจากฤทธิ์ของสารพาโคลบิวทราโซลไปมีผลยับยั้งการสร้างจิบเบอเรลลินภายในพืชโดยไปยับยั้งการเกิด oxidation ของ kaurene ไปเป็น

kaurenoic acid ที่เซลล์บริเวณใต้เนื้อเยื่อเจริญปลายยอดทำให้ลำต้นชะลอการเติบโตลง (Sterett, 1985)

นอกจากนี้มีไม้ดอกอีกหลายชนิดเมื่อได้รับสารพาโคลบิวทราโซลจะลดปริมาณการใช้น้ำลงได้เช่น ภาณุพล และปวีณา (2557) ศึกษาผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตและการใช้น้ำของดาวเรืองกระถาง โดยให้สารพาโคลบิวทราโซล 0 50 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยวิธีการราดลงดินจำนวน 3 ครั้ง พบว่าการให้สารพาโคลบิวทราโซลทำให้พืชมีการเจริญเติบโตลดลงตามความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลที่เพิ่มขึ้น สารพาโคลบิวทราโซล 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าการให้สารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นเพิ่มขึ้นทำให้ดาวเรืองมีค่าการใช้น้ำและสัมประสิทธิ์การใช้น้ำลดลง โดยการใช้น้ำของพืชคือการสูญเสียน้ำโดยการระเหยออกไปจากผิวดินหรือวัสดุปลูกรอบ ๆ ต้นพืชร่วมกับการคายน้ำของพืชออกทางปากใบ การให้สารพาโคลบิวทราโซลทำให้ดาวเรืองกระถางมีค่าการใช้น้ำลดลงเนื่องจากขนาดทรงพุ่มและพื้นที่ใบลดลง และประสิทธิภาพการใช้น้ำของดาวเรืองลดลงด้วยเช่นเดียวกัน ในอนาคตหากมีการเปรียบเทียบต้นทุนการผลิต และยืนยันได้ว่าราคาสารพาโคลบิวทราโซลที่ใช้มีมูลค่าน้อยกว่าปริมาณน้ำที่สูญเสียไปได้ จะช่วยให้เกษตรกรลดต้นทุนการผลิตโดยการประหยัดน้ำในสภาวะที่ทรัพยากรน้ำมีจำกัด โดยได้ผลผลิตที่มีคุณภาพและไม่กระทบต่อคุณภาพผลผลิต

8. การตรวจสอบการกลายพันธุ์ในพืช

วิธีการตรวจสอบการกลายพันธุ์ของพืชที่ได้จากการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้สารเคมี สามารถตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะทางสรีรวิทยา และการตรวจสอบลักษณะทางเซลล์วิทยา

8.1 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากการชักนำให้กลายพันธุ์ สามารถตรวจสอบจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือลักษณะที่ปรากฏโดยทั่วไปสามารถสังเกตได้ เป็นการบอกความแตกต่างโดยใช้วิธีการเปรียบเทียบลักษณะภายนอก ได้แก่ การใช้ลักษณะรูปพรรณสัณฐานพืชที่มีความแตกต่างกันมาใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ เช่น ลักษณะใบ ลำต้น ฝัก และดอก เป็นต้น ซึ่งทำได้ง่ายและสะดวก อย่างไรก็ตามการตรวจสอบลักษณะการกลายพันธุ์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา มีข้อจำกัดบางประการ เช่น พืชบางชนิดต้องใช้ระยะเวลานานหากต้องการเปรียบเทียบลักษณะของดอก ฝัก หรือเมล็ด เนื่องจากต้องรอให้ต้นเจริญเติบโตจนถึงระยะที่แสดงลักษณะเหล่านั้นออกมา การแสดงออกของลักษณะต่าง ๆ เป็นผลเนื่องมาจากพันธุกรรมและบางลักษณะผันแปรตามสภาพแวดล้อม และอิทธิพลร่วมระหว่างสภาพแวดล้อมกับลักษณะทางพันธุกรรม ทำให้การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาคลาดเคลื่อนได้ ชานนท์ และเมิง-เจียว (2560) รายงานการ

กลายพันธุ์ของกล้วยไม้ *Erycina pusilla* จากการกระตุ้นด้วยสารละลาย EMS ความเข้มข้น 0.1 0.2 0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30, 60 และ 120 นาที พบว่าเมื่อแช่ PLBs ในสารละลาย EMS ความเข้มข้นสูงและระยะเวลาการแช่นาน PLBs เริ่มมีการเปลี่ยนเป็นสีเหลืองจนถึงสีขาว และบางส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด การใช้สารละลาย EMS ความเข้มข้นต่ำ และระยะเวลาการแช่น้อย ส่งผลให้เกิดการกลายพันธุ์สังเกตได้จากลักษณะการผิดปกติของใบ จำนวนช่อดอกเพิ่มขึ้น ระยะเวลาออกดอกเร็วขึ้น ดอกมีขนาดเล็กลง การเปลี่ยนแปลงของกลีบดอก กลีบเลี้ยง เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ใช้สาร เช่นเดียวกับการจุ่มแช่ชิ้นส่วนใบกล้อกซิเนียในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 60 และ 90 นาที พบลักษณะยอดรวมที่ผิดปกติ เช่น ยอดรวมมีขนาดเล็ก ใบสีเขียวอ่อน สีของใบซีด (ยุพาภรณ์ และสมปอง, 2551)

Madon และคณะ (2005) รายงานว่าต้นเตตระพลอยด์ของปาล์มน้ำมันที่ชักนำจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซิน มีการเจริญเติบโตช้าและมีใบสีเขียวเข้มหนากว่าต้นที่ไม่ได้รับสาร วราภรณ์ และสมปอง (2557) ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นปาล์มน้ำมันที่ผิดปกติในหลอดทดลอง โดยพิจารณาจากขนาดของดอก พบว่าต้นกล้าปาล์มน้ำมันทั้งหมดมีขนาดดอกใกล้เคียงกัน แต่เมื่อพิจารณาลักษณะดอก สีดอก พบว่าต้นกล้าปาล์มน้ำมันดังกล่าวมีลักษณะแตกต่างกันอย่างชัดเจน นอกจากนี้มีรายงานการตรวจสอบต้นพันธุ์กลายโดยการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาในพืชชนิดอื่น เช่น Lin และ Gao (2007) รายงานว่าต้นเตตระพลอยด์ของเบญจมาศมีการเจริญเติบโตช้า ลำต้น ใบและรากมีขนาดใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์ ปฐมาภรณ์ และสาโรจน์ (2557) ทดลองใช้สารละลายโคลชิซินกับโปรโตคอร์มของกล้วยไม้เหลืองจันทบูรดำเต็มคออายุ 1 เดือน เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของต้นกลุ่มควบคุมที่มีโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ และกลุ่มทดลองที่มีโครโมโซมเป็นเตตระพลอยด์ พบว่าต้นกล้วยไม้กลุ่มดิพลอยด์มีลักษณะผอมยาว ใบและรากยืดยาวเจริญได้ดี ในขณะที่กลุ่มเตตระพลอยด์ส่วนลำต้นมีลักษณะหนาสั้น ใบและรากมีขนาดเล็ก สั้น เช่นเดียวกับผลของโคลชิซินต่อกล้วยไม้เอื้องเงิน พบว่ากล้วยไม้ที่แช่โคลชิซินมีลักษณะลำต้นใหญ่กว่า ใบมีสีเขียวเข้มกว่าต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซิน (รัชนี, 2553)

8.2 การตรวจสอบลักษณะทางสรีรวิทยา

การตรวจสอบความแปรปรวนของพืชที่ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์สามารถคัดเลือกได้โดยการศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยา เช่น ขนาดเซลล์คุม ความหนาแน่นของเซลล์คุม ปริมาณคลอโรฟิลล์ จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม เป็นต้น โดยทั่วไปลักษณะทางสรีรวิทยาของพืชมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางสัณฐานวิทยา ดังนั้นจึงสามารถคัดเลือกต้นพันธุ์กลายโดยการศึกษาลักษณะภายนอกที่สามารถสังเกตได้ และนำมาตรวจสอบขนาดของเซลล์คุม นับจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม เป็นขั้นตอนที่ทำได้ง่าย สะดวก และประหยัด ขนาดของเซลล์คุมสามารถนำมาประเมินต้นเตตระพลอยด์ได้ สันติ และรุ่งนภา (2557) ใช้การเปลี่ยนแปลงขนาด

ของปากใบในการตรวจสอบต้นกล้าสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียอายุ 4 เดือนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ถูกชักนำให้กลายพันธุ์โดยการจุ่มแช่ต้นในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 1 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 48 ชั่วโมง พบว่าต้นกล้าสับปะรดที่ได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดของปากใบใหญ่ที่สุด โดยมีความกว้าง 21.48 ไมโครเมตร และความยาว 24.30 ไมโครเมตร นอกจากนี้ ไซนีย๊ะ และคณะ (2558) รายงานการตรวจสอบขนาดของปากใบต้นหยาดน้ำค้างในหลอดทดลอง หลังการจุ่มแช่ต้นในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.05 0.10 และ 0.20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าความกว้างและความยาวของปากใบมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นและระยะเวลาในการจุ่มแช่สารละลายโคลชิซินที่สูงขึ้น โดยที่ความเข้มข้น 0.05 และ 1 เปอร์เซ็นต์ จุ่มแช่นาน 48 ชั่วโมง ให้ความกว้างของปากใบสูงสุด 17.47 ไมโครเมตร และความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ จุ่มแช่นาน 48 ชั่วโมง ให้ความยาวปากใบสูงสุด 18.47 ไมโครเมตร จะเห็นได้ว่าการจุ่มแช่ต้นหยาดน้ำค้างในสารละลายโคลชิซินเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ปากใบ

นิติพัฒน์ (2557) รายงานว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบดาวเรืองที่เพิ่มขึ้นเมื่อราดสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ก่อนการตัดยอด 15 วัน อาจมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ของสารพาโคลบิวทราโซลในการกระตุ้นการสังเคราะห์ไซโตไคนิน มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ (Fletcher *et al*., 1982 อ้างโดย นิติพัฒน์, 2557) ส่งผลให้สามารถตรวจวัดคลอโรฟิลล์ได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามขนาดของใบเล็กลงเป็นผลให้สามารถตรวจพบคลอโรฟิลล์ได้ในปริมาณที่มากขึ้น เนื่องจากสารพาโคลบิวทราโซลมีผลต่อการสร้างเนื้อเยื่อชั้นแพลิเซดเพิ่มขึ้น และมีช่องว่างระหว่างเซลล์ลดลง

ธนวดี และคณะ (2559) ทดลองให้สารพาโคลบิวทราโซลกับต้นดาวเรืองพันธุ์อเมริกันและใช้ตัวบ่งชี้ในการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงคือปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่าความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลมีอิทธิพลร่วมกันกับวิธีให้สาร สีของใบจะซีดลง โดยการฉีดพ่นต้นดาวเรืองด้วยสารพาโคลบิวทราโซลเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เอสูงสุด คือ 8.73 ± 1.01 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ส่วนปริมาณแคโรทีนอยด์จากดอกดาวเรืองพบว่าความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลมีอิทธิพลร่วมกันกับวิธีให้สารเช่นกัน โดยการฉีดพ่นต้นดาวเรืองด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) ให้แคโรทีนอยด์สูงสุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น

8.3 การตรวจสอบจำนวนโครโมโซม

การศึกษาจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากด้วยวิธี Feulgen squash สามารถใช้ประเมินการเกิดต้นพันธุ์กลายได้อย่างแม่นยำ มีพืชหลายชนิดที่มีการตรวจสอบการกลายพันธุ์จากจำนวนโครโมโซม เช่น Madon และคณะ (2005) รายงานว่าปาล์มน้ำมันที่ผ่านการทรีตด้วยสารละลายโคลชิซิน เมื่อตรวจสอบจำนวนโครโมโซมพบว่า ต้นที่เป็นดิพลอยด์มีจำนวนโครโมโซม

2n=2x=32 แตกต่างจากต้นเตตระพลอยด์ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=4x=64 Tang และคณะ (2010) ได้ชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในต้น *Paulownia tomentosa* โดยการจุ่มแช่ชิ้นส่วนยอดในสารละลายโคลชิซิน ภายหลังการตรวจสอบจำนวนโครโมโซม พบว่าจำนวนโครโมโซมของต้นเตตระพลอยด์ 2n=4x=80 และจำนวนโครโมโซมของต้นดิพลอยด์ 2n=2x=40

ศตปพร และสมปอง (2558) ทดลองนำต้นแววมยุราที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาจุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นและระยะเวลาต่างกัน เมื่อตรวจสอบจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซิน พบว่าต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซินมีจำนวนโครโมโซม 2n=2x=18 ส่วนจำนวนโครโมโซมของต้นที่คัดเลือกและคาดว่าเป็นเตตระพลอยด์ที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 36 ชั่วโมง และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีจำนวนโครโมโซมเป็นมิกโซพลอยด์ (2n=2x=18 และ 2n=4x=36) ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมผสมระหว่างดิพลอยด์และเตตระพลอยด์

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของสารโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิต การสร้างยอดรวม และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลาในหลอดทดลอง
2. เพื่อศึกษาผลของ EMS ต่ออัตราการรอดชีวิต การสร้างยอดรวม และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลาในหลอดทดลอง
3. เพื่อศึกษาผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่ออัตราการสร้างยอดรวม ความยาวยอด และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลาในหลอดทดลอง
4. เพื่อศึกษาผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายนอกหลอดทดลอง

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

1. วัสดุ อุปกรณ์

1.1 วัสดุพืช

ใช้ยอดรวมดาหลาที่ชักนำจากการวางเลี้ยงส่วนปลายยอดของต้นดาหลาดอกสีขาว จากแปลงเกษตรกร ตำบลทุ่งพลา อำเภอโคกโพธิ์ จังหวัดปัตตานี บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้นเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ โดยทำการย้ายเลี้ยงทุก ๆ 8 สัปดาห์

ภาพที่ 2.1 ยอดรวมดาหลาที่ใช้เป็นวัสดุเริ่มต้น (bar = 1 ซม.)

1.2 สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยง

สูตรอาหารที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นสูตรอาหาร MS ใช้สำหรับชักนำยอดรวม และชักนำราก ดังนี้

1.2.1 สูตรอาหารเพิ่มจำนวนยอดรวม คืออาหารแข็งสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้นเข้มข้น 0.80 เปอร์เซ็นต์

1.2.2 สูตรอาหารชักนำราก คืออาหารแข็งสูตร MS เติม IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้นเข้มข้น 0.80 เปอร์เซ็นต์

1.3 สารเคมี

1.3.1 สารเคมีที่ใช้เป็นองค์ประกอบของสูตรอาหาร MS
1.3.2 แอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์
1.3.3 ซูโครส
1.3.4 พาโคลบิวทราโซล
1.3.5 โคลชิซิน
1.3.6 เอทธิลมีเธนซัลโฟเนต
1.3.7 ผงวุ้น
1.3.8 กรดไฮโดรคลอริก
1.3.9 โซเดียมไฮดรอกไซด์
1.3.10 อะซิโตน
1.3.11 พาราไดคลอโรเบนซิน
1.3.12 กรดเกลเซียลอะซิติก
1.3.13 ไฮดรอกซีควิโนลีน
1.3.14 อะซิโตคามีน

1.4 อุปกรณ์

1.4.1 อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับเตรียมอาหาร

- เครื่องแก้ว ประกอบด้วย ปิเปต กระบองตวง ขวดปรับปริมาตร ฟลาสต์ จานเพาะเชื้อ บีกเกอร์ ขวดเพาะเลี้ยง และหลอดทดลอง
- ตู้อบความร้อน
- เครื่องชั่ง 2 และ 4 ตำแหน่ง
- หม้อนึ่งความดัน
- เครื่องวัดความเป็นกรด–ด่าง (pH meter)

- เครื่องทำน้ำกลั่น
- ไมโครเวฟ
- ตู้เย็น
- เครื่องคนสารละลายพร้อมแท่งแม่เหล็ก
- ช้อนตักสารเคมี

1.4.2 อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการย้ายเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
- ตู้ย้ายเลี้ยงเนื้อเยื่อ
- ชุดตัดแยกเนื้อเยื่อพืชประกอบด้วย ปากคีบ ใบมีดผ่าตัด ด้ามมีดผ่าตัด
- เครื่องเขย่า

1.4.3 อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการวางเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
- ชั้นวางเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
- เครื่องปรับอากาศ
- เครื่องควบคุมเวลา (timer)

1.4.4 อุปกรณ์สำหรับการตรวจนับเซลล์คุม
- กล้องจุลทรรศน์
- เข็มเขี่ย
- แผ่นสไลด์
- แผ่นกระจกปิดสไลด์
- เครื่องคอมพิวเตอร์

1.4.5 อุปกรณ์สำหรับศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์
- เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโทมิเตอร์
- กรวยกรอง
- กระดาษกรองเบอร์ 1
- โกร่ง

1.5 วัสดุการเกษตร

1.5.1 ดินผสม

1.5.2 ปุ๋ยสูตร 15-15-15

1.5.3 อุปกรณ์ผสมดิน เช่น จอบ พลั่ว

1.5.4 กระถางพลาสติกสีดำขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15 นิ้ว

1.5.5 บัวรดน้ำ

1.6 วัสดุสำหรับบันทึกผล

1.6.1 ไม้บรรทัด

1.6.2 สายวัด

1.6.3 กล้องถ่ายภาพ

2. วิธีการศึกษา

2.1 ผลของโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิต การสร้างยอดรวม และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลาในหลอดทดลอง

ตัดแยกยอดรวมดาหลาให้เป็นยอดเดี่ยว ๆ ขนาด 0.5 เซนติเมตร จุ่มแช่ยอดในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0 50 100 150 200 250 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2, 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง แล้วนำมาวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26$\pm$2 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ วางเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกจำนวนยอดที่รอดชีวิต การสร้างยอดรวม และจำนวนยอด เปรียบเทียบกันโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design : CRD) แต่ละความเข้มข้นทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ชิ้นส่วน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ทำการเก็บรวบรวมใบจากยอดดาหลาที่รอดชีวิตและสร้างยอดใหม่มาลอกปากใบเพื่อตรวจสอบความหนาแน่นของเซลล์คุม วัดความกว้าง ความยาวของเซลล์คุม นับจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม และตรวจหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เปรียบเทียบแต่ละความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินทั้ง 3 ระยะเวลาการจุ่มแช่ โดยใช้แผนการทดลองข้างต้น จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน และอัตราการรอดชีวิตของส่วนยอดด้วยโปรแกรม Excel เวอร์ชั่น 2013 เพื่อหาความเข้มข้นที่ทำให้ชิ้นส่วนพืชมีอัตราการรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ (Lethal dose : LD_{50})

2.2 ผลของ EMS ต่ออัตราการรอดชีวิต การสร้างยอดรวม และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลาในหลอดทดลอง

ตัดแยกยอดรวมดาหลาให้เป็นยอดเดี่ยว ๆ ขนาด 0.5 เซนติเมตร จุ่มแช่ยอดในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 0 50 100 150 200 250 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง แล้วนำมาวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26$\pm$2 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ วางเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกจำนวนยอดที่รอดชีวิต การสร้างยอดรวม และจำนวนยอด เปรียบเทียบกันโดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD แต่ละความเข้มข้นทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ชิ้นส่วน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ทำการเก็บรวบรวมใบจากยอดดาหลาที่รอดชีวิตและสร้างยอดใหม่มาลอกปากใบเพื่อตรวจสอบความหนาแน่นของเซลล์คุม วัดความกว้าง ความยาวของเซลล์คุม นับจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม และตรวจหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เปรียบเทียบในแต่ละความเข้มข้นของสารละลาย EMS ทั้ง 3 ระยะเวลาการจุ่มแช่ โดยใช้แผนการทดลองข้างต้น จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย EMS และอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนพืช เพื่อหาความเข้มข้นที่ทำให้ชิ้นส่วนพืชมีอัตราการรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50})

2.3 ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่ออัตราการสร้างยอดรวม ความยาวยอด และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลาในหลอดทดลอง

ตัดแยกยอดรวมดาหลาให้เป็นยอดเดี่ยว ๆ ขนาด 0.5 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติมสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 0 10 20 30 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26$\pm$2 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ วางเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการสร้างยอดรวม จำนวนยอด และความยาวยอด

หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติมสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ทำการเก็บรวบรวมใบจากยอดดาหลามาลอกปากใบเพื่อตรวจสอบความหนาแน่นของเซลล์คุม วัดความกว้าง ความยาวของเซลล์คุม และนับจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม เปรียบเทียบในแต่ละความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซล โดยใช้แผนการ

ทดลองแบบ CRD แต่ละความเข้มข้นทำ 4 ซ้ำๆ ละ 10 ชิ้นส่วนเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

2.4 ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายนอกหลอดทดลอง

เมื่อชักนำยอดรวมได้จำนวนมากทำการตัดแยกยอดรวมให้เป็นยอดเดี่ยว ๆ และวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำรากเมื่อมียอดและรากที่สมบูรณ์จึงนำต้นดาหลาออกจากหลอดทดลอง ล้างวุ้นออกจนหมด และย้ายลงปลูกในถุงดำ ดูแลในโรงเรือนที่พลางแสงด้วยซาแลน 50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากย้ายปลูกเป็นเวลา 1 เดือนทำการราดสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 0 100 200 300 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อต้น จำนวน 1 ครั้ง บันทึกความสูงหลังจากราดสารเป็นเวลา 1 2 3 และ 4 เดือน

เก็บรวบรวมใบจากต้นดาหลาอายุ 4 เดือน (หลังจากราดสาร PBZ) มาลอกปากใบเพื่อตรวจสอบความหนาแน่นของเซลล์คุม วัดความกว้าง ความยาวของเซลล์คุม นับจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม และหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เปรียบเทียบในแต่ละความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซล โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD แต่ละความเข้มข้นทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ครั้ง เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

บทที่ 3

ผลการทดลอง

1. ผลของโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิต การสร้างยอดรวม และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลาในหลอดทดลอง

1.1 ผลของโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิต

เมื่อวางเลี้ยงส่วนยอดดาหลาที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซิน 7 ระดับ เป็นเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยง 4 สัปดาห์ พิจารณาอัตราการรอดชีวิต พบว่าชิ้นส่วนที่ไม่ได้รับสารละลายโคลชิซินมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากการให้สารละลายโคลชิซินทุกความเข้มข้น การแช่ชิ้นส่วนยอดดาหลาในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 50 100 150 200 250 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 2 ชั่วโมง ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 88.33 76.67 75.00 73.82 72.35 และ 47.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 86.67 79.41 70.59 66.67 43.33 และ 30.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อจุ่มแช่สารละลายโคลชิซินนานขึ้นเป็น 6 ชั่วโมง ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลง 77.67 77.00 58.00 53.33 30.00 และ 28.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3.1) การแช่ชิ้นส่วนยอดดาหลาในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ให้ชิ้นส่วนยอดดาหลามีอัตราการรอดชีวิตต่ำสุด 28.50 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3.1) จากการพิจารณาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตโดยเฉลี่ย พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนยอดดาหลาลดลงหลังการจุ่มแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นสูงขึ้น และได้รับสารเป็นเวลานานขึ้น ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เมื่อวิเคราะห์ค่า LD_{50} ในแต่ละความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ พบว่าค่า LD_{50} สำหรับการจุ่มแช่ส่วนยอดดาหลาในสารละลายโคลชิซินเป็นเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ คือ 290.18 232.20 และ 194.69 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 3.2)

ตารางที่ 3.1 อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์

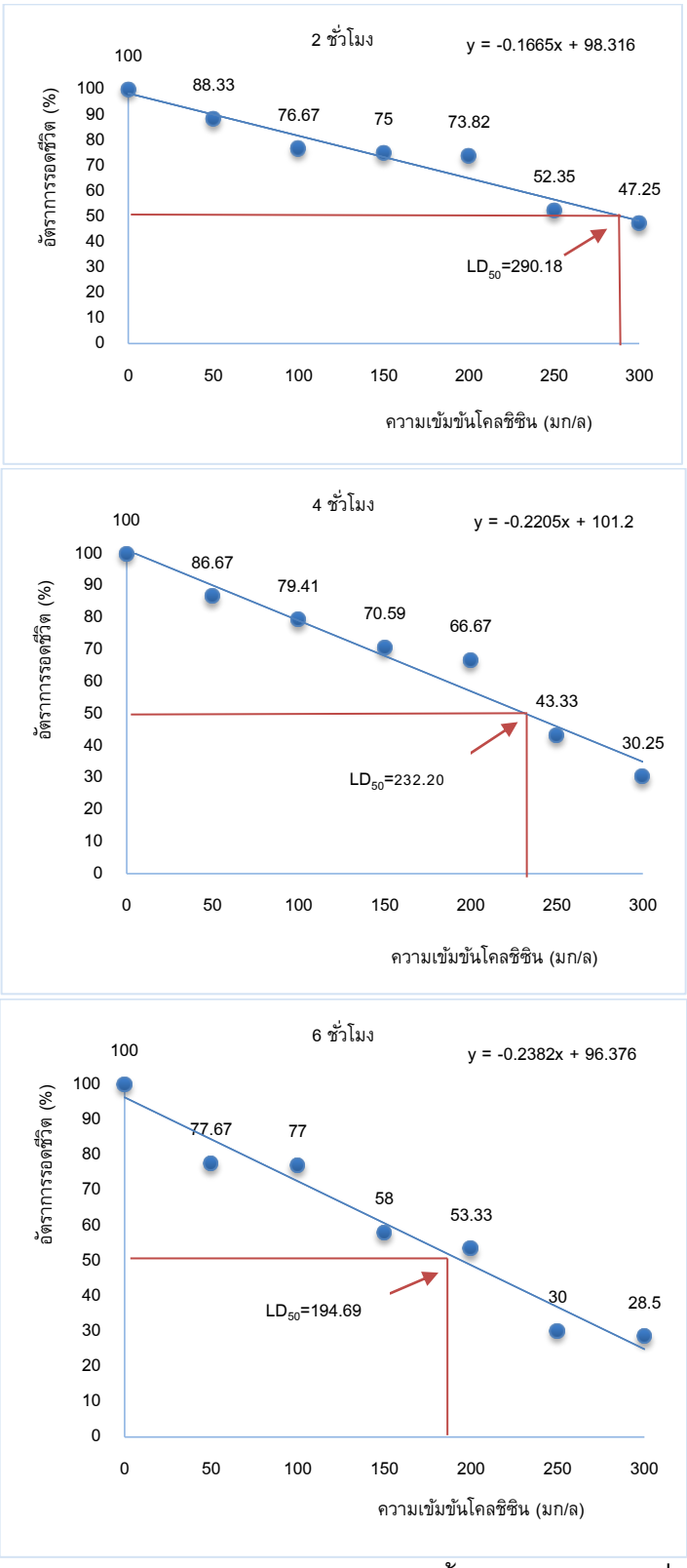
โคลชิซิน (มก/ล)	อัตราการรอดชีวิต (%)		
	2	4	6 ชั่วโมง
0	100.00a	100.00a	100.00a
50	88.33b	86.67b	77.67b
100	76.67c	79.41c	77.00b
150	75.00cd	70.59d	58.00c
200	73.82cd	66.67e	53.33d
250	52.35d	43.33f	30.00e
300	47.25d	30.25g	28.50f
F-test	*	*	*
C.V.(%)	1.41	1.73	1.25

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

ภาพที่ 3.1 ชิ้นส่วนยอดดาหลาหลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และผงวุ้นเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (บาร์ = 1 ซม)

ก. ยอดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (browning) และตาย

. ข. ยอดปกติ



ภาพที่ 3.2 อัตราการรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) ของชิ้นส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น และเวลาต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์

1.2 ผลของโคลชิซินต่อการสร้างยอดรวม

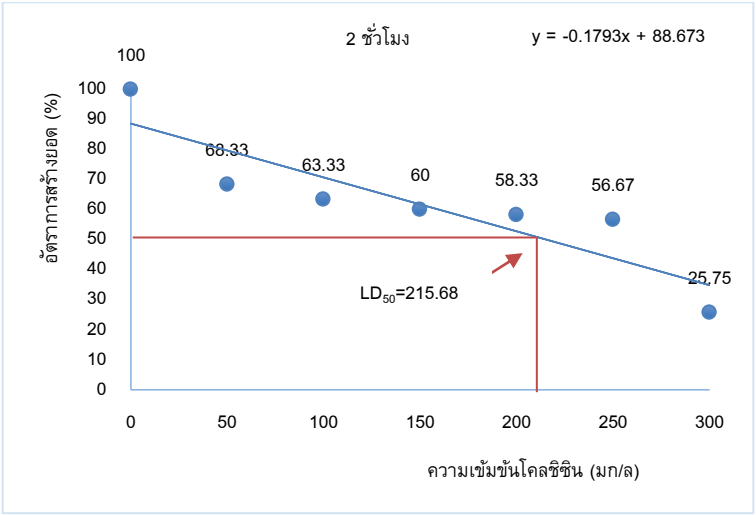
การพัฒนาเป็นยอดใหม่จากชิ้นส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าทุกความเข้มข้นและระยะเวลาของการจุ่มแช่สามารถพัฒนาเป็นยอดใหม่ได้ ส่วนยอดที่ไม่ผ่านการจุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินให้ยอดใหม่ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินส่งผลให้การเกิดยอดใหม่ลดลงตามความเข้มข้น และระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ความสามารถในการเกิดยอดใหม่ต่ำสุด 18.59 เปอร์เซ็นต์ เมื่อจุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซิน 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ผลที่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เป็นไปในทำนองเดียวกันทุกช่วงเวลาของการจุ่มแช่ส่วนยอด (ตารางที่ 3.2)

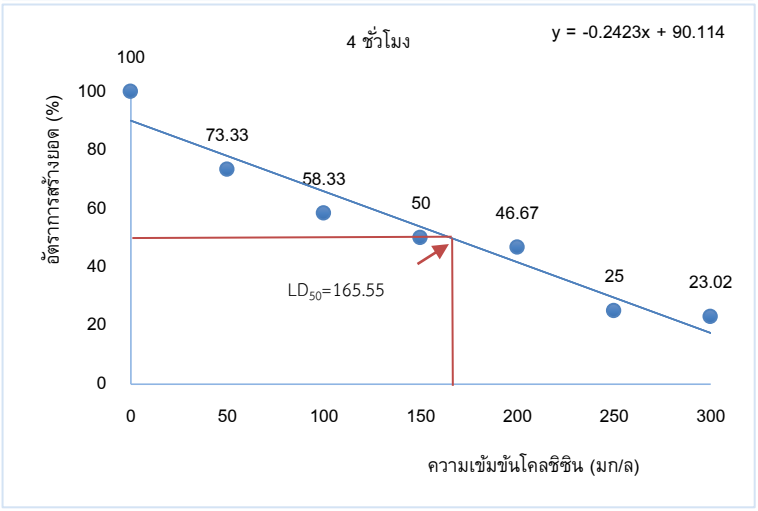
เมื่อวิเคราะห์ค่า LD_{50} ในแต่ละความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ พบว่า ค่า LD_{50} สำหรับการจุ่มแช่ส่วนยอดดาหลาในสารละลายโคลชิซินเป็นเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ คือ 215.68 165.55 และ 158.18 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 3.3)

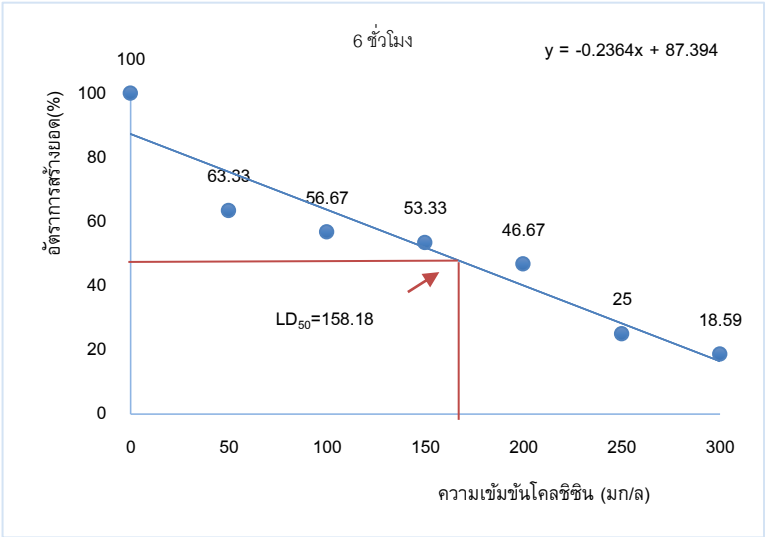
ตารางที่ 3.2 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่ของชิ้นส่วนยอดดาหลาหลังการแช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังการวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

โคลชิซิน (มก/ล)	การเกิดยอดใหม่ (%)		
	2	4	6 ชั่วโมง
0	100.00a	100.00a	100.00a
50	68.33b	73.33b	63.33b
100	63.33b	58.33c	56.67c
150	60.00bc	50.00c	53.33c
200	58.33bc	46.67c	46.67c
250	56.67bc	25.00d	25.00d
300	25.75c	23.02d	18.59e
F-test	*	*	*
C.V.(%)	12.73	10.78	6.34

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT







ภาพที่ 3.3 อัตราการสร้างยอดใหม่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) ของส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่ด้วยสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น และเวลาต่าง ๆ หลังการวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

เมื่อพิจารณาจำนวนยอดที่เกิดขึ้นจากยอดดาหลาที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซิน ความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าทุกความเข้มข้นและระยะเวลาของการจุ่มแช่ให้จำนวนยอดรวมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ชุดควบคุมที่ไม่จุ่มแช่สารละลายโคลชิซินให้จำนวนยอดรวมสูงสุด 7.67 ยอดต่อชิ้นส่วน (ตารางที่ 3.3) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน และระยะเวลาการจุ่มแช่ส่งผลให้จำนวนยอดรวมลดลงตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น จำนวนยอดรวมต่ำสุด 2.25 ยอดต่อชิ้นส่วน เมื่อจุ่มแช่ส่วนยอดในสารละลายโคลชิซินเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.3 จำนวนยอดใหม่จากการแช่ส่วนยอดดาหลาในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

โคลชิซิน (มก/ล)	จำนวนยอด (ยอดต่อหนึ่งชิ้นส่วน)		
	2	4	6 ชั่วโมง
0	7.67a	7.67a	7.67a
50	5.33b	7.33ab	6.33ab
100	5.27b	6.33ab	4.33bc
150	5.00b	5.67b	4.00bc
200	5.67b	5.33bc	3.33c
250	4.67b	4.03c	3.00c
300	4.05b	3.80c	2.25c
F-test	*	*	*
C.V.(%)	39.56	20.56	18.65

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

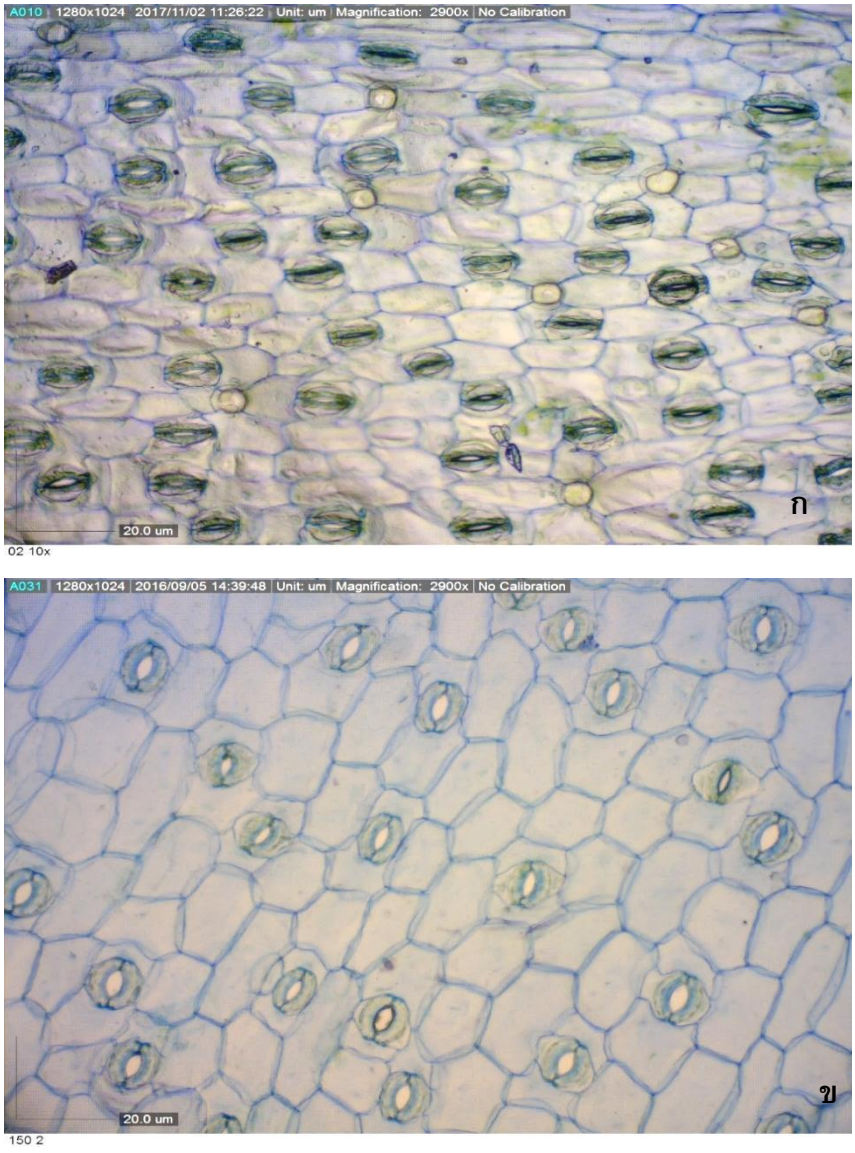
1.3 ผลของโคลชิซินต่อความหนาแน่นและขนาดของเซลล์คุม

เมื่อพิจารณาความหนาแน่นและขนาดเซลล์คุมจากยอดดาหลาที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าทุกความเข้มข้นและระยะเวลาของการจุ่มแช่สามารถตรวจสอบความหนาแน่นและขนาดของเซลล์คุมได้ ส่วนยอดที่ได้รับโคลชิซินทุกความเข้มข้นให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมน้อยกว่าชุดควบคุมที่ไม่จุ่มแช่สารละลายโคลชิซินแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยที่ไม่จุ่มแช่ให้เซลล์คุมมีความหนาแน่นสูงสุด 5.33 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินส่งผลให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมลดลงเป็นไปในทำนองเดียวกันทุกเวลาของการให้สาร (ตารางที่ 3.4) ส่วนยอดที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นเดียวกัน ระยะเวลาการจุ่มแช่ต่างกันพบว่าความหนาแน่นของเซลล์คุมลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น เป็นไปในทำนองเดียวกันทุกความเข้มข้น สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เวลาจุ่มแช่ 6 ชั่วโมง ให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมต่ำสุด 2.25 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร (ภาพที่ 3.4)

ตารางที่ 3.4 ความหนาแน่นของเซลล์คุมเมื่อแช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

โคลชิซิน (มก/ล)	ความหนาแน่นของเซลล์คุม (เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร)		
	2	4	6 ชั่วโมง
0	5.33a	5.33a	5.33a
50	4.00ab	3.80b	3.11b
100	3.67ab	3.33b	3.00b
150	3.33ab	3.33b	3.00b
200	3.67ab	3.67b	3.17b
250	3.33b	3.17c	2.95c
300	3.02b	3.07c	2.25c
F-test	*	*	*
C.V.(%)	21.00	25.14	22.49

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 3.4 ความหนาแน่นของเซลล์คุมจากใบดาหลา หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. ชุดควบคุม (ไม่จุ่มแช่สารละลายโคลชิซิน)

ข. ยอดที่แช่สารละลายโคลชิซิน 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

ส่วนขนาดของเซลล์คุมพบว่าการแช่ยอดดาหลาในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์ ให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซินมีขนาดเซลล์คุมสูงสุด 42.54x59.76 ไมโครเมตร การจุ่มแช่ยอดดาหลาในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นเพิ่มขึ้นส่งผลให้ขนาดเซลล์คุมลดลง เป็นไปในลักษณะเดียวกันทุกระยะเวลาของการจุ่มแช่สาร โดยสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ขนาดเซลล์คุมต่ำสุด 20.23x20.87 ไมโครเมตร เมื่อจุ่มแช่สารละลายโคลชิซินเป็นเวลา 6 ชั่วโมง และเพิ่มขึ้นเป็น 5.36x39.54 และ 27.07x33.74 ไมโครเมตร เมื่อจุ่มแช่สารละลายโคลชิซินเป็นเวลา 4 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ (ตารางที่ 3.5 ภาพที่ 3.5)

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินกับขนาดเซลล์คุมเมื่อจุ่มแช่ส่วนยอดเป็นเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง พบว่าเป็นไปในลักษณะเดียวกันกล่าวคือ ความกว้างและความยาวของเซลล์คุมลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินเพิ่มขึ้น และต่ำสุดเมื่อแช่ส่วนยอดดาหลาในสารละลายโคลชิซินเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบช่วงเวลาในการจุ่มแช่พบว่าระยะเวลาเพิ่มขึ้นทำให้ความกว้างและความยาวของเซลล์คุมลดลงต่ำสุดที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง

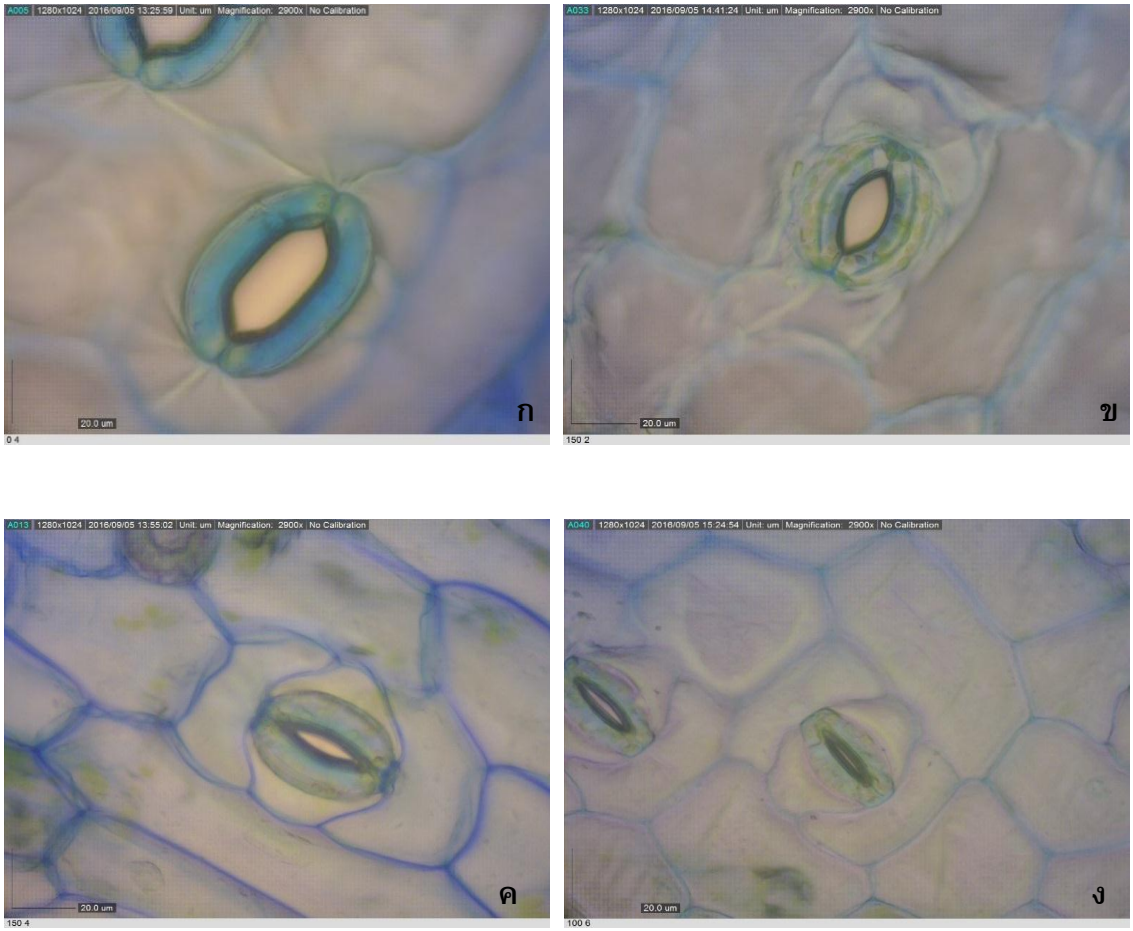
ตารางที่ 3.5 ขนาดของเซลล์คุมจากใบดาหลาที่แช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	โคลชิซิน (มก/ล)	ขนาดของเซลล์คุม (ไมโครเมตร)	
		ความกว้าง	ความยาว
2	0	42.54a	59.76a
	50	36.22b	45.79b
	100	30.64b	43.05b
	150	30.38c	45.13b
	200	28.95c	42.78b
	250	28.07c	35.74c
	300	27.07c	33.74c
	F-test	*	*
	C.V.(%)	5.86	7.31

ตารางที่ 3.5 (ต่อ)

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	โคลชิซิน (มก/ล)	ขนาดของเซลล์คุม (ไมโครเมตร)	
		ความกว้าง	ความยาว
4	0	42.54a	59.76a
	50	40.81a	52.63b
	100	39.20a	50.46b
	150	26.77b	43.69c
	200	26.83b	40.32cd
	250	26.36b	40.05d
		25.36b	39.54d
	F-test	*	*
	C.V.(%)	5.17	2.72
6	0	42.54a	59.76a
	50	34.56b	37.93b
	100	25.58cd	37.87b
	150	24.62cd	36.12b
	200	24.32cd	25.89b
	250	22.23d	23.87c
	300	20.23d	20.87c
	F-test	*	*
	C.V.(%)	5.29	4.42

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 3.5 เซลล์คุมจากใบดาหลาหลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. เซลล์คุมจากใบดาหลาที่ไม่จุ่มแช่โคลชิซิน

ข. เซลล์คุมจากใบดาหลาที่จุ่มแช่โคลชิซินเข้มข้น 300 มก/ล เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ค. เซลล์คุมจากใบดาหลาที่จุ่มแช่โคลชิซินเข้มข้น 300 มก/ล เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

ง. เซลล์คุมจากใบดาหลาที่จุ่มแช่โคลชิซินเข้มข้น 300 มก/ล เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

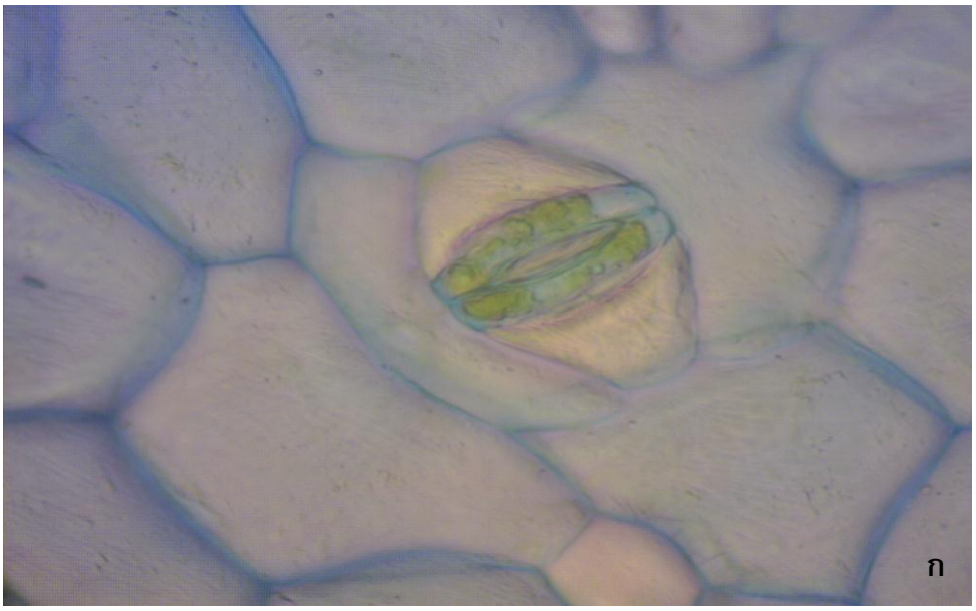
1.4 ผลของโคลชิซินต่อจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม

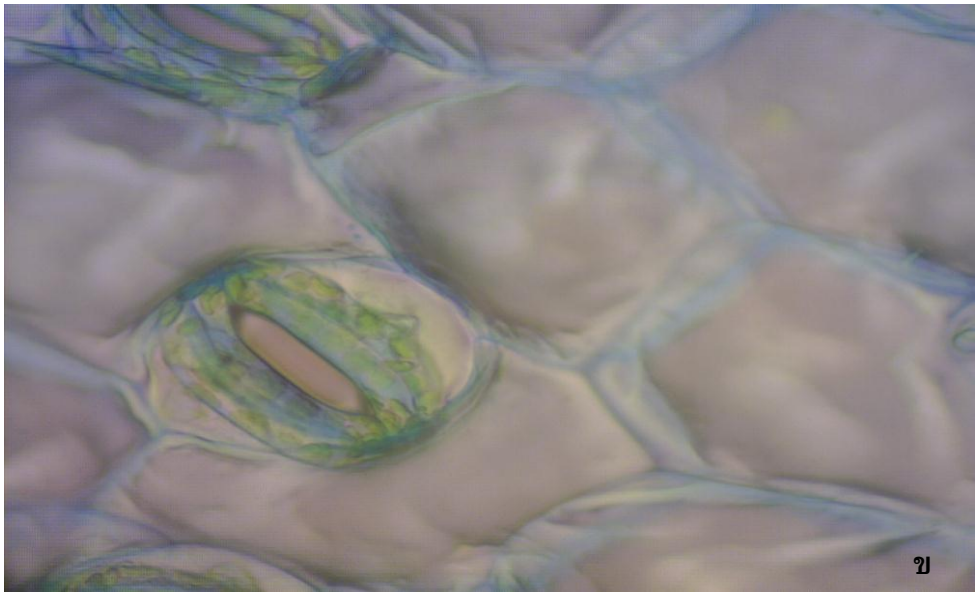
เมื่อวางเลี้ยงส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ นำใบดาหลามาลอกเพื่อตรวจนับจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม พบว่าการให้สารโคลชิซินส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p<0.05*) จากชุดควบคุม โดยใบจากยอดดาหลาที่ไม่ได้แช่สารละลายโคลชิซินมีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ต่ำสุด 16.67 คลอโรพลาสต์ เมื่อจุ่มแช่ชิ้นส่วนยอดดาหลาในสารละลายโคลชิซินทุกความเข้มข้นให้จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ไม่แตกต่างทางสถิติ เป็นไปในทำนองเดียวกันทุกช่วงเวลาของการจุ่มแช่ (ตารางที่ 3.6) เมื่อพิจารณาผลของสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ ในแต่ละช่วงเวลาของการจุ่มแช่ พบว่าทุกช่วงเวลาให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ โคลชิซินเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร แช่นาน 6 ชั่วโมง มีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์สูงสุด 22 คลอโรพลาสต์ (ตารางที่ 3.6 ภาพที่ 3.6)

ตารางที่ 3.6 จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมจากใบดาหลาที่จุ่มแช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

โคลชิซิน (มก/ล)	จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์		
	2	4	6 ชั่วโมง
0	16.67b	16.67b	16.67b
50	19.33a	18.67a	18.33a
100	19.67a	18.07a	19.33a
150	18.33	19.67a	22.00a
200	19.00a	18.33a	18.67a
250	18.67a	18.07a	18.33a
300	19.05a	19.21a	18.75a
F-test	*	*	*
C.V.(%)	8.28	9.26	11.79

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *(p<0.05)*
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT





ภาพที่ 3.6 เม็ดคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาหลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์
ก. เม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาที่ไม่จุ่มแช่โคลชิซิน
ข. เม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาที่จุ่มแช่โคลชิซินเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

1.5 ผลของโคลชิซินต่อปริมาณคลอโรฟิลล์

เมื่อต้นดาหลาอายุ 4 เดือน ทำการเก็บรวบรวมใบดาหลามาสกัดคลอโรฟิลล์โดยบดด้วยสารละลายอะซิโตน 80 เปอร์เซ็นต์พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ใบดาหลาที่ไม่ผ่านการจุ่มแช่สารละลายโคลชิซินมีปริมาณคลอโรฟิลล์ต่ำสุดคือ คลอโรฟิลล์เอ 0.1853 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด คลอโรฟิลล์บี 0.6323 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และคลอโรฟิลล์รวม 0.8176 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 3.7) ใบดาหลาที่จุ่มแช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์บีสูงสุดเท่ากับ 0.2935 และ 0.6747 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ

ตารางที่ 3.7 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมจากใบดาหลาของต้นที่ผ่านการจุ่มแช่สารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อแช่เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงส่วนยอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

โคลชิซิน (มก/ล)	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มก/ก น้ำหนักสด)		
	คลอโรฟิลล์เอ	คลอโรฟิลล์บี	คลอโรฟิลล์รวม
0	0.1853	0.6323	0.8176
50	0.2890	0.6473	0.9363
100	0.2583	0.6550	0.9133
150	0.2935	0.6747	0.9682
200	0.2733	0.6547	0.9280
250	0.2273	0.6543	0.8816
300	0.2368	0.6487	0.8655
F-test	ns	ns	ns
C.V.(%)	14.49	14.55	16.85

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

2. ผลของ EMS ต่ออัตราการรอดชีวิต การสร้างยอดรวม และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานและสรีรวิทยาของดาหลาในหลอดทดลอง

2.1 ผลของ EMS ต่ออัตราการรอดชีวิต

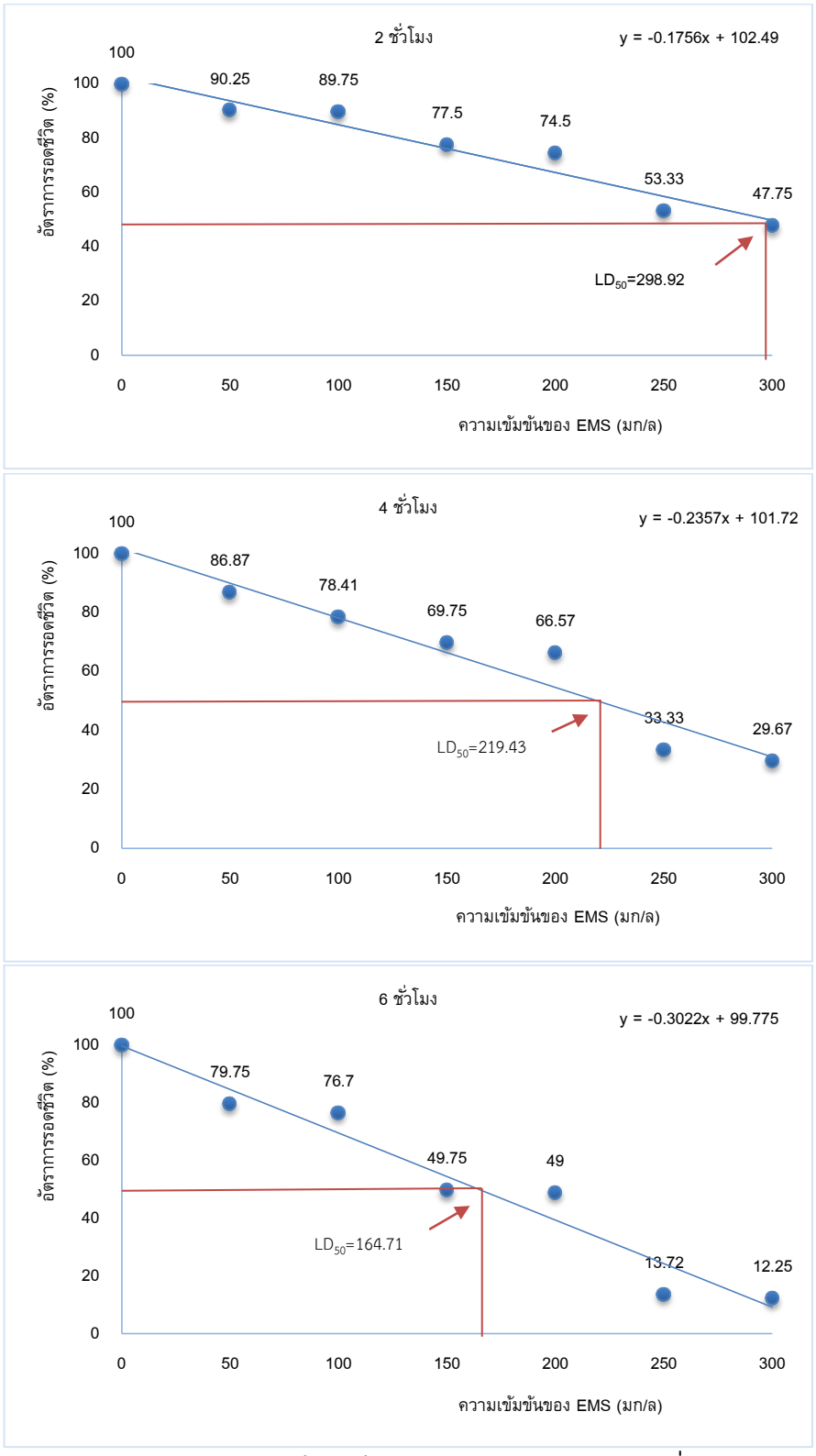
เมื่อวางเลี้ยงส่วนยอดดาหลาที่ผ่านการแช่ในสารละลาย EMS 7 ระดับ เป็นเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยง 4 สัปดาห์ พิจารณาอัตราการรอดชีวิต พบว่าชิ้นส่วนที่ไม่ได้รับสารละลาย EMS มีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากการให้สารละลาย EMS ทุกความเข้มข้น การแช่ชิ้นส่วนยอดดาหลาในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 50 100 150 200 250 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลา 2 ชั่วโมง ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 90.25 89.75 77.50 74.50 53.33 และ 47.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง ให้อัตรารอดชีวิต 86.87 78.41 69.75 66.57 33.33 และ 29.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อให้สารละลาย EMS นานขึ้นเป็น 6 ชั่วโมง ให้อัตราการรอดชีวิตลดลง 79.75 76.70 49.75 49.00 13.72 และ 28.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3.8) การแช่ชิ้นส่วนยอดดาหลาในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ให้ชิ้นส่วนยอดดาหลามีอัตราการรอดชีวิตต่ำสุด 12.25 เปอร์เซ็นต์ จากการพิจารณาอัตราการรอดชีวิตโดยเฉลี่ย พบว่าอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนยอดดาหลาลดลงหลังการจุ่มแช่ด้วยสารละลาย EMS ความเข้มข้นสูงขึ้น และได้รับสารเป็นเวลานานขึ้น ส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เมื่อวิเคราะห์ค่า LD_{50} ในแต่ละความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ พบว่า ค่า LD_{50} สำหรับการจุ่มแช่ส่วนยอดดาหลาในสารละลาย EMS เป็นเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง คือ 298.92 219.43 และ 164.71 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 3.7)

ตารางที่ 3.8 อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่สารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์

EMS (มก/ล)	อัตราการรอดชีวิต (%)		
	2	4	6 ชั่วโมง
0	100.00a	100.00a	100.00a
50	90.25b	86.87b	79.75b
100	89.75b	78.41bc	76.70b
150	77.50c	69.75c	49.75c
200	74.50c	66.57c	49.00c
250	53.33d	33.33d	13.72d
300	47.75d	29.67d	12.25d
F-test	*	*	*
C.V.(%)	24.56	50.63	22.25

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 3.7 อัตราการรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) ของส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่ด้วยสารละลาย EMS ความเข้มข้น และเวลาต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์

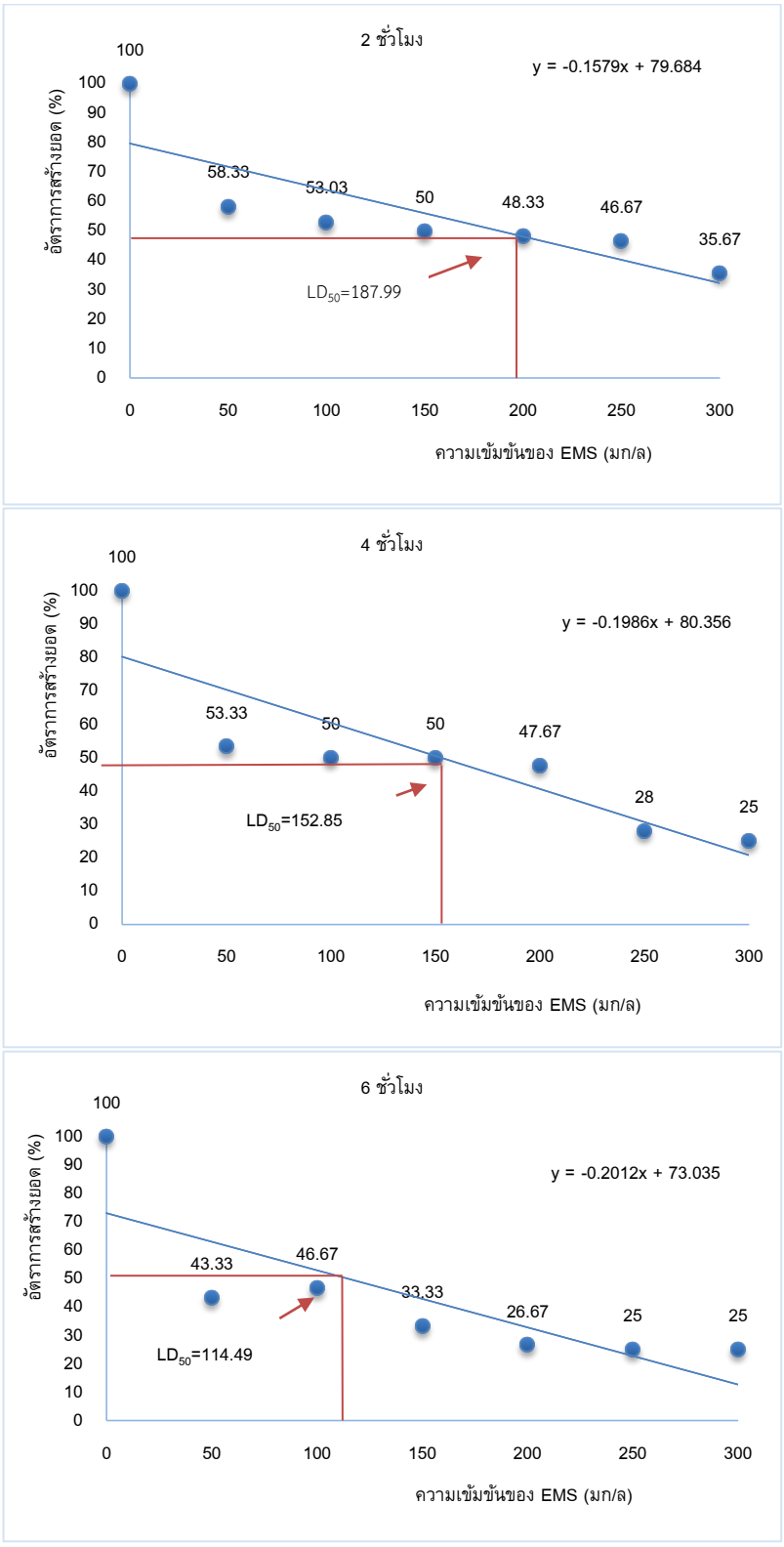
2.2 ผลของ EMS ต่อการสร้างยอดรวม

การพัฒนาเป็นยอดใหม่จากชิ้นส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าสารละลาย EMS ความเข้มข้นสูงขึ้นส่งผลให้การสร้างยอดรวมลดลง แตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับสิ่งทดลองที่ไม่ได้จุ่มแช่ซึ่งให้ความสามารถในการสร้างยอดรวม 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย EMS ส่งผลให้อัตราการเกิดยอดใหม่ลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ความสามารถในการเกิดยอดใหม่ต่ำสุด 25.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อจุ่มแช่ในสารละลาย EMS เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง (ตารางที่ 3.9) เมื่อพิจารณาความเข้มข้นที่ส่งผลให้อัตราการสร้างยอดรวมลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) พบว่าค่า LD_{50} สำหรับการจุ่มแช่ส่วนยอดดาหลาในสารละลาย EMS เป็นเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง คือ 187.99 152.85 และ 114.49 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 3.8)

ตารางที่ 3.9 เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่ของชิ้นส่วนยอดดาหลาหลังการแช่สารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังการวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

EMS (มก/ล)	การเกิดยอดใหม่ (%)		
	2	4	6 ชั่วโมง
0	100.00a	100.00a	100.00a
50	58.33b	53.33b	43.33b
100	53.03b	50.00b	46.67b
150	50.00b	50.00b	33.33bc
200	48.33bc	47.67c	26.67c
250	46.67bc	28.00d	25.00c
300	35.67c	25.00d	25.00c
F-test	*	*	*
C.V.(%)	22.73	16.78	16.34

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 3.8 อัตราการสร้างยอดใหม่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) ของส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่ด้วยสารละลาย EMS ความเข้มข้น และเวลาต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

เมื่อพิจารณาจำนวนยอดที่เกิดขึ้นจากส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าทุกความเข้มข้นและระยะเวลาของการจุ่มแช่ให้จำนวนยอดรวมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ชุดควบคุมที่ไม่จุ่มแช่สารละลาย EMS ให้จำนวนยอดรวมสูงสุด 5.33 ยอดต่อหนึ่งชิ้นส่วน (ตารางที่ 3.10) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย EMS และระยะเวลาการจุ่มแช่ส่งผลให้จำนวนยอดรวมลดลงตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น เมื่อจุ่มแช่ส่วนยอดในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบต้นดาหลาที่มีลักษณะผิดปกติคือการจัดเรียงตัวของใบตรงข้ามกัน (ภาพที่ 3.9)

ตารางที่ 3.10 จำนวนยอดใหม่จากการแช่ส่วนยอดดาหลาในสารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

EMS (มก/ล)	จำนวนยอด (ยอดต่อชิ้นส่วน)		
	2	4	6 ชั่วโมง
0	5.33a	5.33a	5.33a
50	5.00a	2.67b	2.33b
100	3.33b	2.33b	1.67bc
150	2.33c	1.67b	1.53bc
200	2.33c	1.67b	1.33bc
250	1.67c	1.33b	1.00c
300	1.33c	1.03b	1.00c
F-test	*	*	*
C.V.(%)	21.11	29.57	42.62

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

ภาพที่ 3.9 ยอดดาหลาผิดปกติหลังจากจุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (บาร์ = 1 ซม)

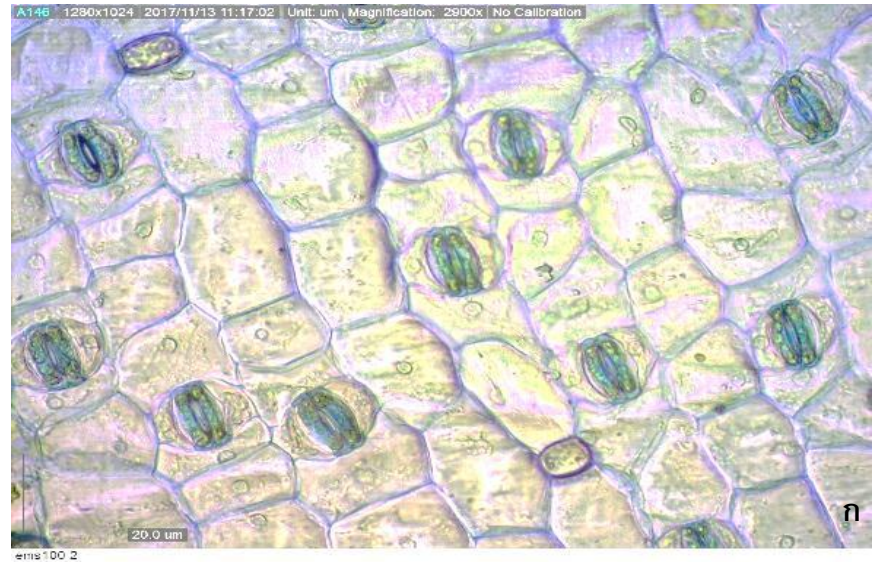
2.3 ผลของ EMS ต่อความหนาแน่นและขนาดของเซลล์คุม

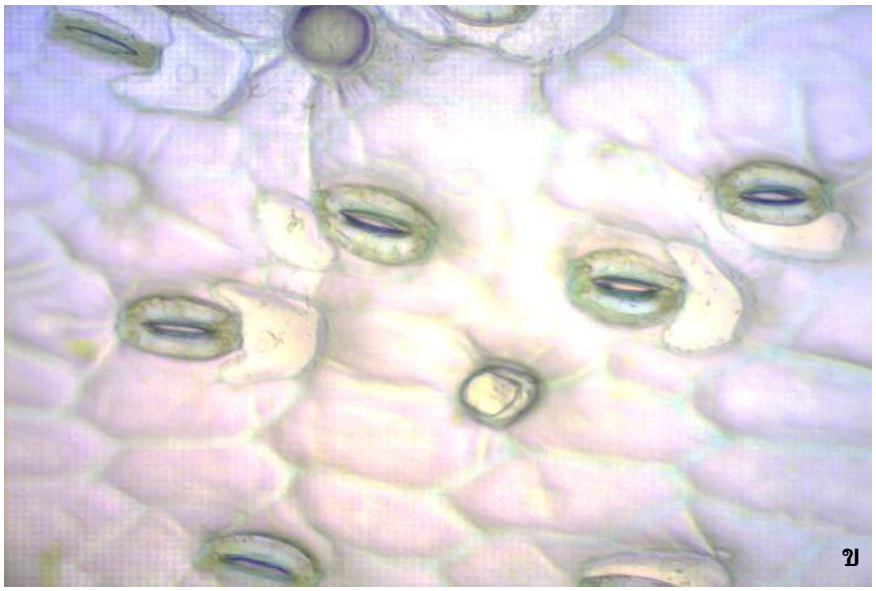
เมื่อพิจารณาความหนาแน่นและขนาดเซลล์คุมจากยอดดาหลาที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าทุกความเข้มข้นและระยะเวลาของการจุ่มแช่สามารถตรวจสอบขนาดและความหนาแน่นของเซลล์คุมได้ ส่วนยอดที่ได้รับสารละลาย EMS ทุกความเข้มข้นให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมน้อยกว่าชุดควบคุมที่ไม่จุ่มแช่สารละลาย EMS แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.50$) โดยที่ไม่จุ่มแช่ให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมสูงสุด 4.80 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย EMS ส่งผลให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมเพิ่มขึ้น และสูงสุดที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อความเข้มข้นสูงกว่า 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ความหนาแน่นของเซลล์คุมลดลงตามลำดับ เป็นไปในทำนองเดียวกันทุกเวลาของการจุ่มแช่ สารละลาย EMS ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เวลาจุ่มแช่ 6 ชั่วโมง ให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมต่ำสุด 2.17 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 3.11) ส่วนยอดที่ผ่านการแช่สารละลาย EMS ความเข้มข้นเดียวกัน แต่ระยะเวลาเพิ่มขึ้นส่งผลให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมลดลงเป็นไปในทำนองเดียวกันทุกความเข้มข้น (ภาพที่ 3.10)

ตารางที่ 3.11 ความหนาแน่นของเซลล์คุมเมื่อแช่สารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

EMS (มก/ล)	ความหนาแน่นของเซลล์คุม (เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร)		
	2	4	6 ชั่วโมง
0	4.80a	4.80ab	4.80cd
50	3.00bc	3.00b	2.67d
100	3.33bc	3.33b	3.67bc
150	3.67bc	4.67ab	4.33ab
200	4.67a	5.00a	4.67a
250	4.33ab	4.67ab	2.33d
300	4.13ab	3.67b	2.17d
F-test	*	*	*
C.V.(%)	14.39	16.20	11.81

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT





ภาพที่ 3.10 ความหนาแน่นของเซลล์คุมจากใบดาหลาหลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์
ก. ชุดควบคุมไม่จุ่มแช่สารละลาย EMS
ข. ยอดที่แช่สารละลาย EMS เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

ส่วนขนาดของเซลล์คุมพบว่าการแช่ยอดดาหลาในสารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์ ให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลาย EMS มีขนาดเซลล์คุม 2.60x38.46 ไมโครเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากความเข้มข้นอื่น ๆ ในระยะเวลา

เดียวกัน (ตารางที่ 3.12) การจุ่มแช่ยอดดาหลาในสารละลาย EMS ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นส่งผลให้ขนาดเซลล์คุมเพิ่มขึ้น และสูงสุดที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เซลล์คุมขนาด 39.48x67.90 ไมโครเมตร เมื่อจุ่มแช่เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ขนาด 35.73x57.83 ไมโครเมตร เมื่อจุ่มแช่เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อเวลาจุ่มแช่เพิ่มขึ้นเป็น 6 ชั่วโมง ให้ขนาดเซลล์คุมเป็น 33.62x49.38 ไมโครเมตร เมื่อแช่สารละลาย EMS ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น 200-300 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ขนาดของเซลล์คุมลดลง เป็นไปในลักษณะเดียวกันทุกระยะเวลาของการจุ่มแช่ โดยสารละลาย EMS ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ขนาดเซลล์คุมต่ำสุด 30.18x38.44 ไมโครเมตร เมื่อจุ่มแช่สารละลาย EMS เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ขนาด 30.68x47.24 และ 24.29x46.31 ไมโครเมตร เมื่อจุ่มแช่สารละลาย EMS เป็นเวลา 4 และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ (ตารางที่ 3.12 ภาพที่ 3.11)

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย EMS กับขนาดเซลล์คุมเมื่อจุ่มแช่ส่วนยอดดาหลาเป็นเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง พบว่าเป็นไปในลักษณะเดียวกัน กล่าวคือ ขนาดของเซลล์คุมทั้งความกว้างและความยาวลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลาย EMS เพิ่มขึ้น และต่ำสุดเมื่อแช่ส่วนยอดในสารละลาย EMS เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบช่วงเวลาในการจุ่มแช่พบว่าระยะเวลาเพิ่มขึ้นทำให้ความกว้างและความยาวของเซลล์คุมลดลง ต่ำสุดที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง

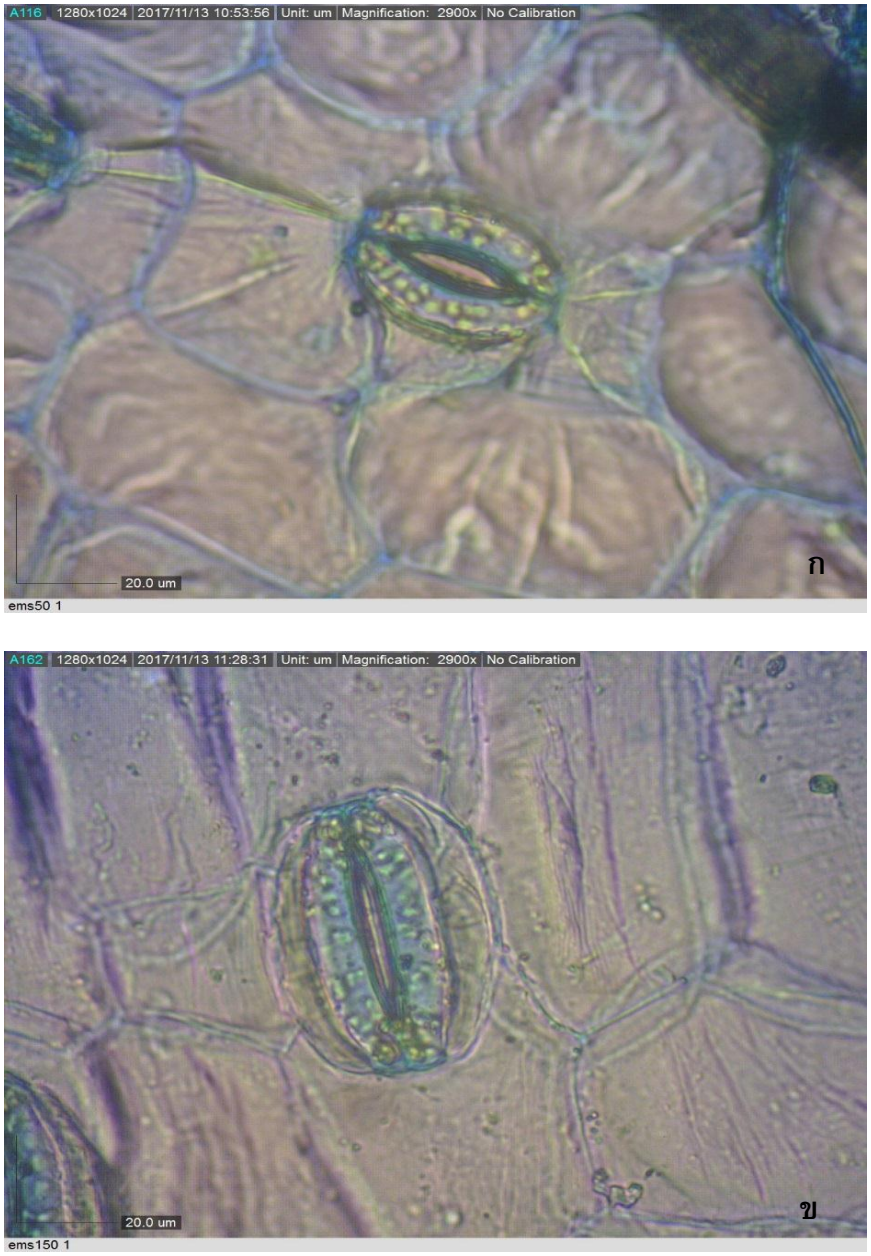
ตารางที่ 3.12 ขนาดของเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาที่แช่สารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	EMS (มก/ล)	ขนาดของเซลล์คุม (ไมโครเมตร)	
		ความกว้าง	ความยาว
2	0	26.10c	38.46c
	50	25.21c	46.53b
	100	30.72b	43.95bc
	150	39.48a	67.90a
	200	38.01a	40.70bc
	250	26.71c	39.70c
	300	27.18c	38.44c
	F-test	*	*
	C.V.(%)	3.60	5.17

ตารางที่ 3.12 (ต่อ)

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	EMS (มก/ล)	ขนาดของเซลล์คุม (ไมโครเมตร)	
		ความกว้าง	ความยาว
4	0	26.10c	38.46c
	50	28.86bc	49.41bc
	100	30.53b	54.23b
	150	35.73a	57.83a
	200	34.87a	52.43b
	250	30.82b	51.48bc
	300	30.68b	37.24c
	F-test	*	*
	C.V.(%)	2.26	2.02
6	0	26.10bc	38.46c
	50	26.41bc	56.36a
	100	28.26b	47.01b
	150	33.62a	49.38b
	200	25.71bc	46.92b
	250	24.81bc	46.92b
	300	24.29c	46.31b
	F-test	*	*
	C.V.(%)	4.86	2.73

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p<0.05*)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 3.11 ขนาดเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาหลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. เซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาที่ไม่จุ่มแช่สารละลาย EMS

ข. เซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาที่จุ่มแช่สารละลาย EMS เข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

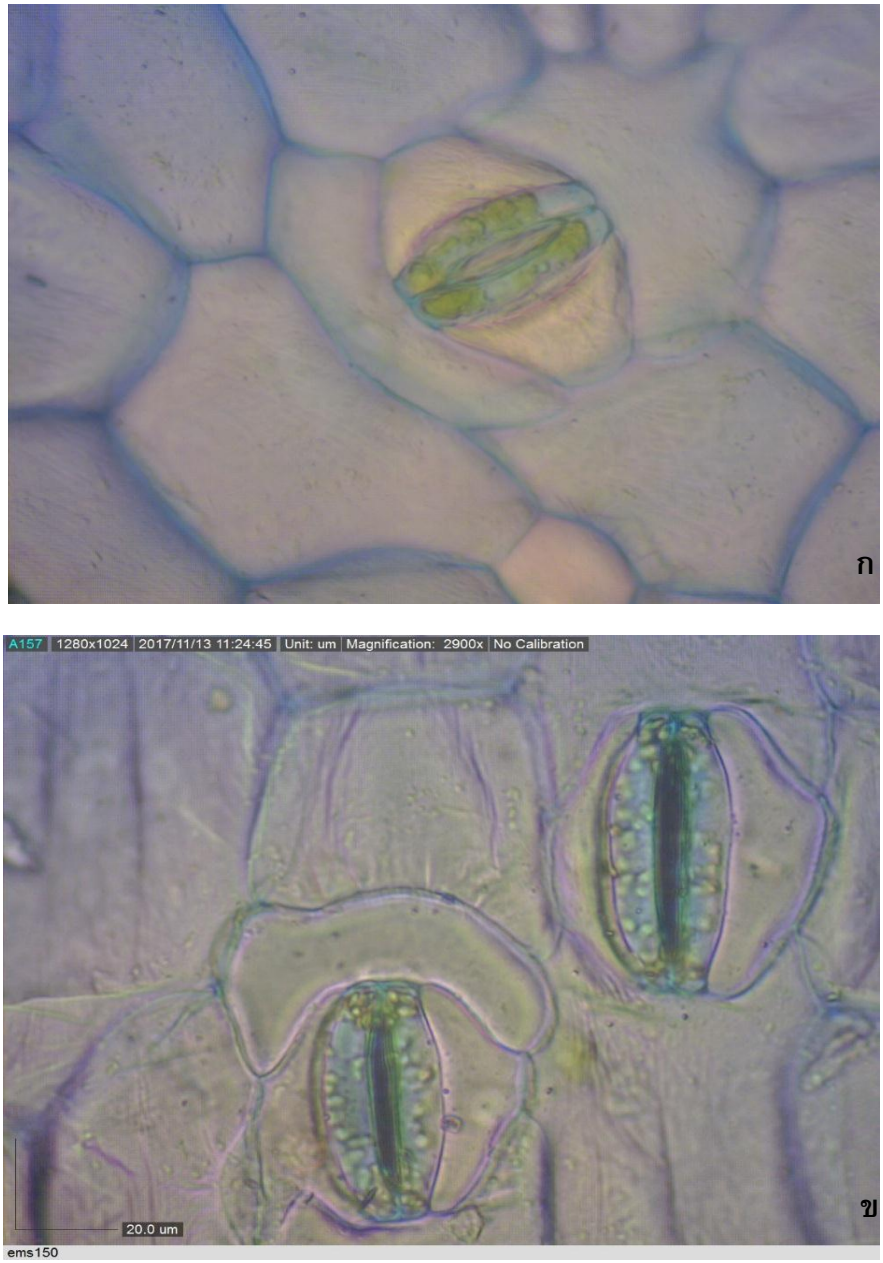
2.4 ผลของ EMS ต่อความหนาแน่นและขนาดของเซลล์คุม

เมื่อวางเลี้ยงส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่ในสารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ นำใบดาหลามาลอกเพื่อตรวจนับจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม พบว่า การจุ่มแช่ในสารละลาย EMS ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากชุดควบคุม โดยใบจากยอดดาหลาที่ไม่ได้แช่สารละลาย EMS มีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ต่ำสุด 18.00 เม็ด เมื่อจุ่มแช่ชิ้นส่วนยอดดาหลาในสารละลาย EMS ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นให้จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้น สูงสุดที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ 26.33 เม็ด ระยะเวลาแช่ 2 ชั่วโมง 27.33 และ 25.67 เม็ด ที่ระยะเวลาแช่ 4 และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ (ตารางที่ 3.13) สารละลาย EMS ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร แช่นาน 4 ชั่วโมง มีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์สูงสุด 27.33 เม็ด (ภาพที่ 3.12)

ตารางที่ 3.13 จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมจากใบที่จุ่มแช่สารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

EMS (มก/ล)	จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์		
	2	4	6 ชั่วโมง
0	18.00d	18.00c	18.00c
50	19.00cd	22.67abc	21.33bc
100	21.33b	23.00bc	23.67ab
150	26.33a	27.33a	25.67a
200	24.33ab	25.00ab	24.67ab
250	23.67ab	22.00bc	24.00ab
300	20.67bcd	19.67bc	21.67ab
F-test	*	*	*
C.V.(%)	5.39	14.73	11.57

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 3.12 เม็ดคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาหลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. เม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาที่ไม่จุ่มแช่สารละลาย EMS

ข. เม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาที่จุ่มแช่สารละลาย EMS เข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

2.5 ผลของ EMS ต่อปริมาณคลอโรฟิลล์

เมื่อต้นดาหลาอายุ 4 เดือน ทำการเก็บรวบรวมใบดาหลามาสกัดคลอโรฟิลล์โดยบดด้วยสารละลายอะซิโตน 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์เอจากใบชุดควบคุมที่ไม่จุ่มแช่สารละลาย EMS มีปริมาณสูงสุด 0.0837 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบที่จุ่มแช่สารละลาย EMS ทุกระดับความเข้มข้น ใบดาหลาจากยอดที่จุ่มแช่สารละลาย EMS มีปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ในกรณีของคลอโรฟิลล์บีพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 3.14) ดาหลาจากยอดที่ไม่จุ่มแช่สารละลาย EMS มีปริมาณคลอโรฟิลล์บีต่ำสุด 0.6233 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด เมื่อความเข้มข้นของสารละลาย EMS เพิ่มขึ้น ปริมาณคลอโรฟิลล์บีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามลำดับ

ตารางที่ 3.14 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์รวมจากใบดาหลาของต้นที่ผ่านการจุ่มแช่สารละลาย EMS ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อแช่เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากวางเลี้ยงส่วนยอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

โคลชิซิน (มก/ล)	ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มก/ก น้ำหนักสด)		
	คลอโรฟิลล์เอ	คลอโรฟิลล์บี	คลอโรฟิลล์รวม
0	0.0837a	0.6233	0.7070
50	0.0373d	0.6520	0.6893
100	0.0400cd	0.6633	0.7033
150	0.0408cd	0.6720	0.7128
200	0.0553bcd	0.6790	0.7343
250	0.0573bc	0.6820	0.7390
300	0.0637b	0.6850	0.7489
F-test	*	ns	ns
C.V.(%)	12.50	5.07	9.75

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

3. ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่ออัตราการสร้างยอดรวม ความยาวยอด และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลาในหลอดทดลอง

3.1 ผลของสารพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ต่อการสร้างยอดรวม

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดดาหลามาวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย PBZ เข้มข้น 10 20 30 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าทุกความเข้มข้นของ PBZ สามารถพัฒนาเป็นยอดใหม่ได้ ส่วนยอดที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ปราศจาก PBZ ให้ยอดใหม่สูงสุด 93.50 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากการเติม PBZ ในอาหารวางเลี้ยง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PBZ ส่งผลให้การเกิดยอดใหม่ลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ความสามารถในการเกิดยอดใหม่ต่ำสุด 56.25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเติม PBZ ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารสังเคราะห์ (ตารางที่ 3.15) เมื่อพิจารณาความเข้มข้นที่ส่งผลให้อัตราการสร้างยอดรวมลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) พบว่าค่า LD_{50} สำหรับการเติม PBZ ในอาหารสังเคราะห์เพื่อชักนำยอดรวมคือ 37.71 (ภาพที่ 3.13)

เมื่อพิจารณาจำนวนยอดที่เกิดขึ้นจากส่วนยอดดาหลาที่วางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยง 8 สัปดาห์ พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ PBZ ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุดเฉลี่ย 3.00 ยอด ในกรณีความยาวยอดที่ชักนำได้พบว่าให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยส่วนยอดที่วางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ปราศจากสาร PBZ ให้ยอดใหม่ที่มีความยาวเฉลี่ยสูงสุด 3.69 เซนติเมตร และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PBZ ส่งผลให้ความยาวยอดลดลง โดย PBZ ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวยอดต่ำสุด 1.75 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 3.14)

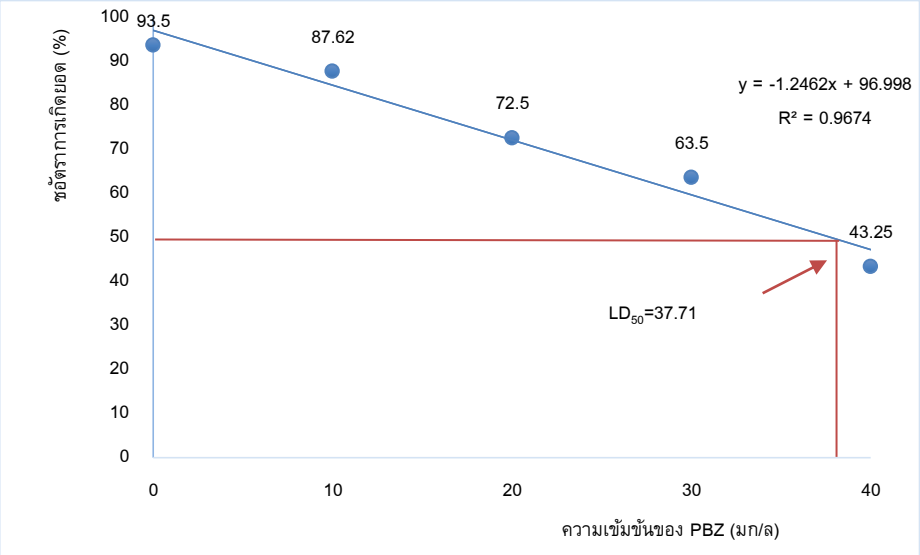
ตารางที่ 3.15 ผลของ PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่ออัตราการเกิดยอด จำนวนยอด และความยาวยอดของดาหลา หลังจากการวางเลี้ยงส่วนยอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

PBZ (มก/ล)	อัตราการเกิดยอด (%)	จำนวนยอด (ยอด)	ความยาวยอด (ซม)
0	93.50ab	2.25	3.69[a]
10	97.62a	2.75	3.16[a]
20	85.00b	2.50	3.15[a]
30	73.50c	2.70	3.09[a]
40	56.25d	3.00	1.75[b]
F-test	*	ns	*
C.V.(%)	8.57	8.50	9.25

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 3.13 อัตราการเกิดยอด 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) ของส่วนยอดดาหลาที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ภาพที่ 3.14 ชิ้นส่วนยอดดาหลาที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ไม่เติม PBZ (ก) เติม PBZ เข้มข้น 10 (ข) 20 (ค) 30 (ง) และ 40 (จ) มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (บาร์ = 1 ซม)

3.2 ผลของ PBZ ต่อความหนาแน่นและขนาดของเซลล์คุม

เมื่อพิจารณาความหนาแน่นและขนาดเซลล์คุมจากยอดที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าส่วนยอดที่ได้รับ PBZ ทุกความเข้มข้นให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมน้อยกว่าชุดควบคุม (ไม่เติมสาร PBZ) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การไม่เติมสาร PBZ ให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมสูงสุด 4.25 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PBZ ส่งผลให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมลดลง แต่ไม่ส่งผลให้เกิดความแตกต่างทางสถิติของความหนาแน่นของเซลล์คุมจากยอดที่วางเลี้ยงบนอาหารเติม PBZ ทุกความเข้มข้นที่ทดลอง (ตารางที่ 3.16) ส่วนขนาดของเซลล์คุมพบว่าการวางเลี้ยงส่วนยอดดาหลาบนอาหารไม่เติม PBZ ให้เซลล์คุมมีขนาดสูงสุด 5.80x6.07 ไมโครเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากการเติม PBZ

ตารางที่ 3.16 ความหนาแน่นและขนาดของเซลล์คุมของต้นดาหลาเมื่อวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

PBZ (มก/ล)	ความหนาแน่นของเซลล์คุม (เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร)	ขนาดของเซลล์คุม (ไมโครเมตร)	
		ความกว้าง	ความยาว
0	4.25a	5.80a	6.07a
10	3.02b	4.00b	5.07bc
20	3.00b	4.33b	5.27b
30	3.07b	4.67b	4.13c
40	3.17b	4.00b	4.07c
F-test	*	*	*
C.V.(%)	14.39	16.20	11.81

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

3.3 ผลของ PBZ ต่อจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม

เมื่อวางเลี้ยงส่วนยอดดาหลาบนอาหารสูตร MS เติมสาร PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ นำใบดาหลามาลอกเพื่อตรวจนับจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม พบว่าการเติมสาร PBZ ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) จากชุดควบคุม (ไม่เติมสาร PBZ) โดยใบจากยอดดาหลาที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ปราศจากสาร PBZ มีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ต่ำสุด 17.00 เม็ด ไม่แตกต่างทางสถิติจากการเติมสาร PBZ ความเข้มข้น 10-20 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเติมสาร PBZ ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น (30 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร) ให้จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นสูงสุดที่ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ 29.00 เม็ด (ตารางที่ 3.17 และภาพที่ 3.15)

ตารางที่ 3.17 ผลของสาร PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ของดาหลา หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

PBZ (มก/ล)	จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์
0	17.00b
10	18.00b
20	18.20b
30	27.60a
40	29.00a
F-test	**
C.V.(%)	11.10

** แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

ภาพที่ 3.15 เม็ดคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาหลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. เม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ปราศจากสาร PBZ

ข. เม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมสาร PBZ ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร

4. ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของต้นดาหลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายนอกหลอดทดลอง

4.1 ผลของสาร PBZ ต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำต้นดาหลาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาปลูกในกระถาง เมื่อต้นกล้าอายุ 1 เดือน (หลังจากย้ายปลูก) ทำการราดสาร PBZ ความเข้มข้น 4 ระดับ จำนวน 1 ครั้ง บันทึกผลหลังจากย้ายปลูกเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ชุดควบคุม (ต้นที่ไม่ได้ราดสาร PBZ) มีความสูงมากที่สุด 18.70 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากต้นที่ได้รับสาร PBZ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PBZ ส่งผลให้ต้นดาหลามีความสูงลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ต้นดาหลามีความสูงน้อยที่สุด 15.88 เซนติเมตร เมื่อได้รับสาร PBZ เข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตาม ต้นดาหลาที่ได้รับสาร PBZ ทุกความเข้มข้นมีความสูงไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อต้นกล้าอายุ 1 เดือน หลังจากได้รับสาร (ตารางที่ 3.18) เมื่ออายุของต้นดาหลาเพิ่มขึ้นเป็น 2 3 และ 4 เดือน (หลังจากได้รับสาร PBZ) พบว่าต้นที่ไม่ได้รับสาร PBZ มีความสูงมากที่สุด 29.85 41.75 และ 53.65 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากต้นดาหลาที่ได้รับสาร PBZ เมื่อพิจารณาความสูงของต้นดาหลาในแต่ละช่วงอายุพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อความเข้มข้นของ PBZ เพิ่มขึ้นส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงความสูงของต้นดาหลา โดยความสูงลดลงเมื่อความเข้มข้นของ PBZ เพิ่มขึ้น และต่ำสุดที่ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นดาหลามีความสูง 17.65 19.95 และ 21.25 เซนติเมตร เมื่อต้นดาหลาอายุ 2 3 และ 4 เดือน (หลังจากได้รับสาร) ตามลำดับ การลดลงของความสูงต้นดาหลาเป็นไปในลักษณะเดียวกันทุกช่วงอายุที่บันทึกผล

ตารางที่ 3.18 ผลของการให้สาร PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธีการราดลงดินต่อความสูงของต้นดาหลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากปลูกเป็นระยะเวลาต่าง ๆ

PBZ (มก/ล)	ความสูงของต้นดาหลา (เซนติเมตร)			
	1	2	3	4 เดือน
0	18.70[a]	29.85[a]	41.75[a]	53.65[a]
100	16.70[b]	20.77[b]	30.97[b]	36.17[b]
200	16.57[b]	19.42[c]	25.00[b]	31.58[b]
300	15.95[b]	18.00[c]	20.77[c]	22.54[c]
400	15.88[b]	17.65[c]	19.95[c]	21.25[c]
F-test	**	**	**	**
C.V.(%)	20.68	22.80	23.65	31.02

** แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ *(p<0.01)*

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

เมื่อดาหลาอายุ 4 เดือนหลังจากได้รับสาร PBZ ตรวจวัดขนาดใบพบว่าชุดควบคุม (ต้นที่ไม่ได้รับสาร PBZ) ให้ความกว้างและความยาวใบสูงสุด 6.80 และ 23.67 เซนติเมตร ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติจากขนาดใบของต้นดาหลาที่ได้รับสาร PBZ ความเข้มข้น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ PBZ ส่งผลให้ขนาดของใบทั้งความกว้างและความยาวลดลงตามความเข้มข้นของ PBZ ที่เพิ่มขึ้น สาร PBZ ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ใบขนาดเล็กที่สุดมีความกว้าง 5.37 เซนติเมตร และความยาว 12.05 เซนติเมตร (ตารางที่ 3.19 ภาพที่ 3.16)

ตารางที่ 3.19 ผลของการให้สาร PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธีการราดลงดินต่อขนาดใบของต้นดาหลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

PBZ (มก/ล)	ขนาดใบของต้นดาหลา (ซม)	
	ความกว้าง	ความยาว
0	6.80a	23.67a
100	6.73a	23.30a
200	6.57a	22.27a
300	5.57b	13.80b
400	5.37b	12.05b
F-test	*	*
C.V.(%)	13.08	12.96

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

ภาพที่ 3.16 ต้นดาหลาที่ได้รับสาร PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากได้รับสาร 4 และ 10 เดือน (บาร์ = 20 ซม)

ก. ชุดควบคุม

ข. ราดสาร PBZ ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค. ราดสาร PBZ ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง. ราดสาร PBZ ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร

จ. ราดสาร PBZ ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.2 ผลของสาร PBZ ต่อความหนาแน่นและขนาดของเซลล์คุม

เมื่อพิจารณาความหนาแน่นและขนาดเซลล์คุมจากยอดที่ได้รับสาร PBZ ด้วยวิธีราดลงดิน หลังจากราดสาร 4 เดือน พบว่าทุกความเข้มข้นของสาร PBZ สามารถตรวจสอบขนาดและความหนาแน่นของเซลล์คุมได้ ส่วนยอดที่ได้รับ PBZ ทุกความเข้มข้นให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมน้อยกว่าชุดควบคุม (ไม่ราดสาร PBZ) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ โดยที่ไม่ราดสารให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมสูงสุด 2.67 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PBZ ส่งผลให้ความหนาแน่นของเซลล์คุมลดลงและต่ำสุดที่ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 3.20 ภาพที่ 3.17)

ส่วนขนาดของเซลล์คุมพบว่าการราดสาร PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ ให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เซลล์คุมจากใบของยอดที่ไม่ราดสาร PBZ มีขนาดเซลล์คุม 21.60x47.77 ไมโครเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากความเข้มข้นอื่น ๆ (ตารางที่ 3.20) การราดสาร PBZ ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นส่งผลให้ขนาดเซลล์คุมเพิ่มขึ้น และสูงสุดที่ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เซลล์คุมขนาด 29.81x54.95 ไมโครเมตร

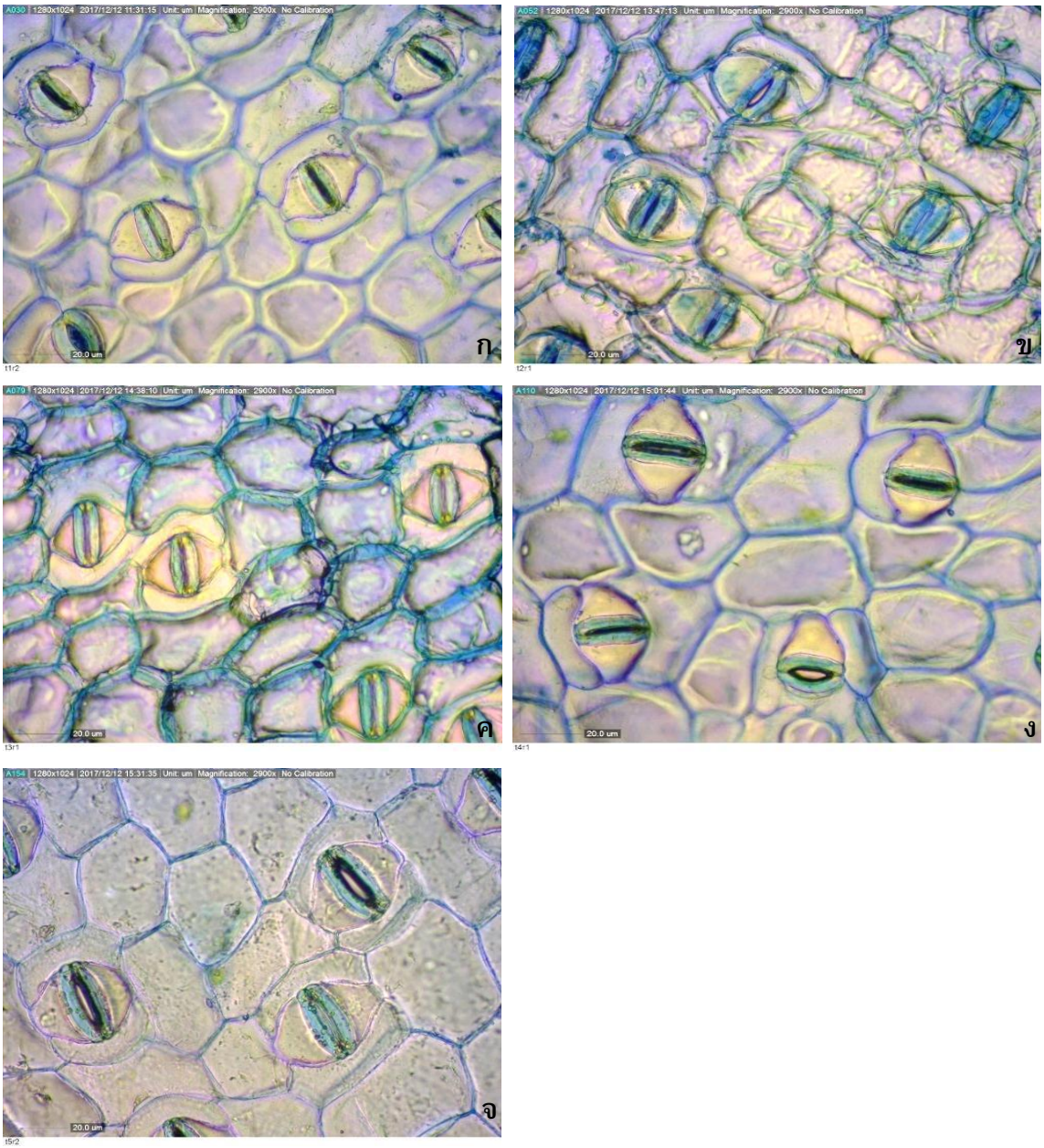
ตารางที่ 3.20 ความหนาแน่นและขนาดของเซลล์คุมเมื่อได้รับสาร PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธีราดลงดินหลังจากราดสารเป็นเวลา 4 เดือน

PBZ (มก/ล)	ความหนาแน่นของเซลล์คุม (เซลล์/มม^2)	ความกว้างของเซลล์คุม (ไมโครเมตร)	ความยาวของเซลล์คุม (ไมโครเมตร)
0	2.67	21.61b	47.77b
100	2.33	21.75b	45.86b
200	2.33	20.38b	46.80b
300	2.00	29.65a	45.58b
400	2.05	29.81a	54.95a
F-test	ns	*	*
C.V.(%)	20.20	9.02	10.39

ns ไม่แตกต่างทางสถิติ

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 3.17 ความหนาแน่นของเซลล์คุมในใบดาหลาที่ได้รับสาร PBZ ด้วยวิธีราดลงดิน หลังจากราดสาร เป็นเวลา 4 เดือน

ก. ชุดควบคุม (ไม่ราดสาร PBZ)

ข. ราดสาร PBZ ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค. ราดสาร PBZ ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง. ราดสาร PBZ ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร

จ. ราดสาร PBZ ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร

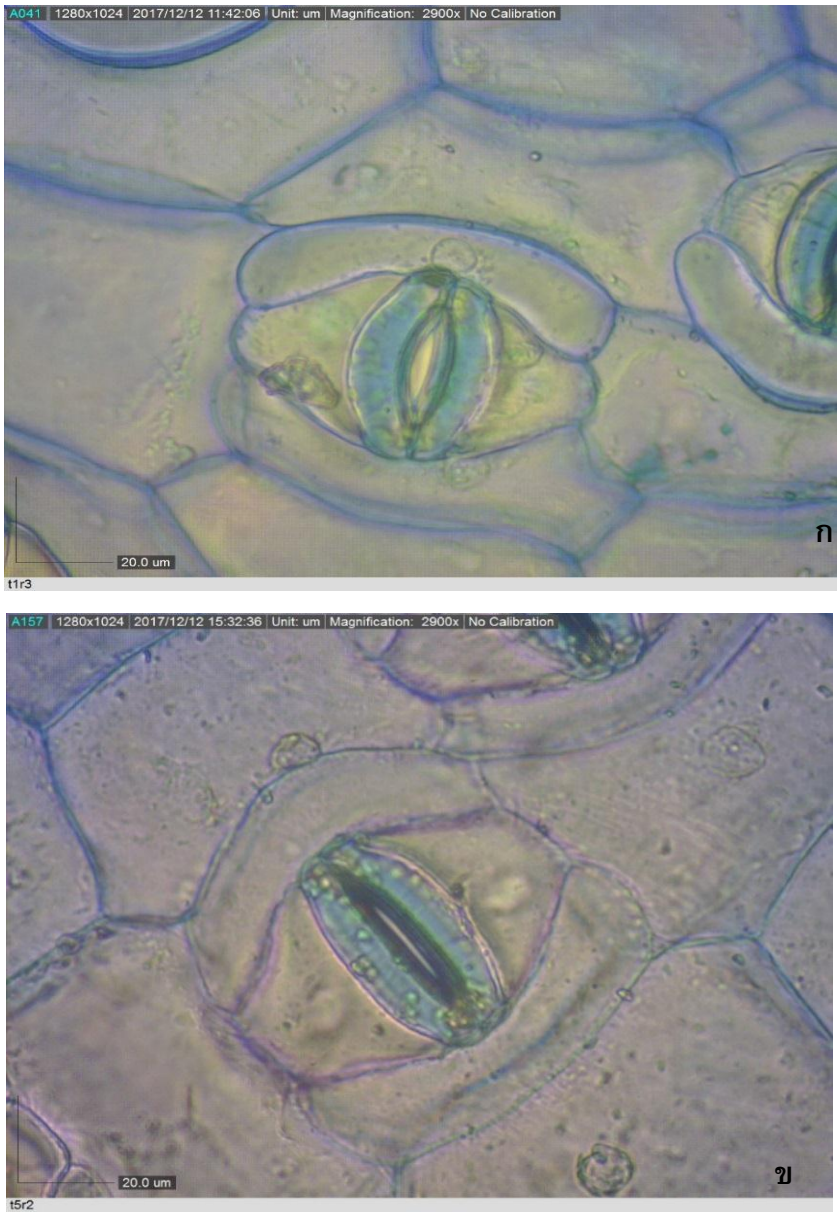
4.3 ผลของ PBZ ต่อจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม

เมื่อนำใบดาหลามาลอกเพื่อตรวจนับจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม พบว่า การราดสาร PBZ ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากชุดควบคุม โดยใบจากยอดดาหลาที่ไม่ได้ราดสาร PBZ มีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ต่ำสุด 18.67 เม็ด เมื่อราดสาร PBZ ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นให้จำนวนเม็ดคลอโรพาสต์เพิ่มขึ้น สูงสุดที่ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ 31.67 เม็ด (ตารางที่ 3.21 ภาพที่ 3.18)

ตารางที่ 3.21 ผลของการให้สาร PBZ ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธีราดลงดินต่อจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ หลังจากราดสารเป็นเวลา 4 เดือน

PBZ (มก/ล)	จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์
0	18.67c
100	19.00c
200	19.00c
300	23.00b
400	31.67a
F-test	*
C.V.(%)	23.29

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 3.18 เม็ดคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์คุมจากใบของยอดดาหลาหลังจากราดสาร PBZ เป็นเวลา 4 เดือน

ก. เม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมจากใบดาหลาที่ไม่ราดสาร PBZ

ข. เม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมจากใบดาหลาที่ราดสาร PBZ ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร

บทที่ 4

วิจารณ์

1. ผลของโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิต การสร้างยอดรวม และลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลาในหลอดทดลอง

จากการศึกษาอัตราการรอดชีวิตของส่วนยอดดาหลาทั้งที่ไม่ได้รับและได้รับโคลชิซินที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นทุกระยะเวลา ทำให้ส่วนยอดดาหลามีอัตราการตายสูงขึ้น อัตราการรอดชีวิตลดลง ชิ้นส่วนยอดที่ตายนั้นสังเกตจากลักษณะของชิ้นส่วนยอดที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และตายในที่สุด สอดคล้องกับการจุ่มแช่ชิ้นส่วนแคลลัสในสารละลายโคลชิซินของกล้วยไม้ *Cymbidium* sp.Silky (Kim *et al*., 1997) แคลลัสของหน้าวัวพันธุ์ Micky Mouse (อัญญานี และสมปอง, 2553) ต้นหยาดน้ำค้าง (ไซนีย๊ะ และคณะ, 2558) และชิ้นส่วนข้อของต้นลินเดอเนีย (บัณฑิต และคณะ, 2560) จากการทดลองในดาหลาพบว่าความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตรให้อัตราการรอดชีวิตต่ำสุด 28.50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อจุ่มแช่ชิ้นส่วนยอดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เนื่องจากโคลชิซินสามารถแทรกซึมเข้าไปภายในเซลล์มีผลทำให้องค์ประกอบอื่น ๆ ของเซลล์ทำหน้าที่ผิดปกติไปด้วยเช่นเดียวกัน จึงทำให้เซลล์ที่ได้รับสารโคลชิซินเกิดความผิดปกติ ซึ่งอาจรุนแรงถึงขั้นเซลล์ตาย (Dermen, 1940 อ้างโดย กัญจนา และคณะ, 2558) โคลชิซินทำให้อวัยวะภายในเซลล์ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงไป โดยมีผลยับยั้งการสร้างสาย spindle fiber หรือทำให้การทำงานผิดปกติ (ไพศาล และปิยดา, 2550) การใช้โคลชิซินมากเกินไปจะเป็นพิษต่อชิ้นส่วนพืชซึ่งสอดคล้องกับ Takamura และ Miyajima (1996) อ้างโดย รัชนี (2553) ที่พบว่าการนำสารโคลชิซินมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ นั้น ต้องหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม เนื่องจากโคลชิซินเป็นสารที่มีความเป็นพิษสูงมากกับพืช แต่ในพืชบางชนิดความเข้มข้นของสารโคลชิซินสูงขึ้นไม่ได้ส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตลดลง เช่น ต้นหยาดน้ำค้าง พบว่าการจุ่มแช่ต้นในอาหารเหลวสูตร MS เติมสารโคลชิซินเข้มข้น 0 0.05 0.10 และ 0.20 เปอร์เซ็นต์ แล้วเพาะเลี้ยงต่อมาเป็นเวลา 3 สัปดาห์ให้อัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ (ไซนีย๊ะ และคณะ, 2558) ทั้งนี้อาจเนื่องจากหยาดน้ำค้างมีความทนทานต่อความเข้มข้นที่สูงและแม้ระยะเวลาการให้ที่นานขึ้นก็อาจไม่ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิต ความเข้มข้นที่เหมาะสมของสิ่งก่อกลายพันธุ์ต่อการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในเซลล์พืชรวมทั้งชิ้นส่วนยอดของพืชคือความเข้มข้นที่ทำให้อัตราการรอดชีวิตหลังจากได้รับสารลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) จากการศึกษานี้พบว่าค่า LD_{50} ของการจุ่มแช่ส่วนยอดดาหลาเป็นเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง คือ 290.18 232.20 และ 194.69 มิลลิกรัมต่อลิตรอตามลำดับ

ในกรณีของการสร้างยอดรวมพบว่าการจุ่มแช่ส่วนยอดดาหลาในสารละลายโคลชิซินทุกความเข้มข้นและทุกระยะเวลาให้จำนวนยอดรวมน้อยกว่าชิ้นส่วนยอดที่ไม่ได้รับสารโคลชิซิน เนื่องจากเมื่อชิ้นส่วนยอดดาหลาได้รับสารโคลชิซินทำให้การแบ่งเซลล์ถูกขัดขวางหรือชะลอ ผล

ที่ตามมาคือชะงักการเจริญเติบโตสอดคล้องกับการทดลองของธัญญะ และคณะ (2561) ทดลองจุ่มแช่ส่วนข้อของต้นลินเดอเนียในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ พบว่าจำนวนยอดลดลงเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น หรือที่ความเข้มข้นเดียวกันแต่เพิ่มระยะเวลานานขึ้นจำนวนยอดก็ลดลงเช่นเดียวกัน นอกจากนี้พบว่าในเบญจมาศที่ได้รับสารโคลชิซินให้ต้นเตตระพลอยด์ที่มีการสร้างยอดรวมน้อยกว่าต้นดิพพลอยด์ ในขณะที่ต้นเตตระพลอยด์มีความสูง และขนาดใบกว้าง และยาวกว่าต้นดิพลอยด์ (Gantait *et al*., 2011)

เมื่อพิจารณาลักษณะทางสรีรวิทยาของใบดาหลาจากการศึกษานี้พบว่าโดยภาพรวมค่าเฉลี่ยของความหนาแน่น และขนาดของเซลล์คุมลดลงเมื่อความเข้มข้นของโคลชิซินเพิ่มขึ้นและต่ำสุดที่โคลชิซินความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ในกรณีของจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น และสูงสุดเมื่อใช้สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมและขนาดของเซลล์คุมสามารถเป็นตัวบ่งชี้การเพิ่มขึ้นของจำนวนโครโมโซมได้โดยเฉพาะจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์คุม (Sari *et al.,* 1999 อ้างโดย อัญญาณี และสมปอง, 2553) Gu และคณะ (2005) รายงานว่าพุทราจีน (*Zizyphus jujube* cv. Zhanhua) ที่มีจำนวนชุดโครโมโซมเป็นเตตระพลอยด์มีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์คุมมากกว่าและขนาดเซลล์คุมใหญ่กว่าพืชดิพลอยด์ ซึ่งโดยทั่วไปหากจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์คุมเพิ่มเป็นสองเท่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมอาจส่งผลให้มีการเพิ่มชุดโครโมโซมเป็นสองเท่า ซึ่งการใช้วิธีการนี้เป็นตัวบ่งชี้การเพิ่มขึ้นของจำนวนชุดโครโมโซมเป็นวิธีการที่ง่าย และใช้ระยะเวลาสั้น เมื่อพิจารณาลักษณะทางสรีรวิทยาของใบโดยศึกษา 3 ตัวแปรจากการทดลองนี้พบว่าโคลชิซินส่งผลต่อขนาดของเซลล์คุมในขณะที่ความหนาแน่น และจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้น จากตัวแปรทั้ง 3 ของลักษณะทางสรีรวิทยาพบว่าขนาดปากใบลดลงครึ่งหนึ่งของขนาดปกติอย่างชัดเจนเมื่อยอดได้รับโคลชิซินความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งลักษณะทางสรีรวิทยาเป็นตัวบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงในระดับพลอยดีได้ดีกว่าอัตรารอดชีวิต

จากการศึกษาจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมจากใบดาหลาพบว่าจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของโคลชิซินที่สูงขึ้น และสูงสุดที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร (22.00 คลอโรพลาสต์) สอดคล้องกับการทดลองอัญญาณี และสมปอง (2551) ซึ่งพบว่าใบหน้าวัวมีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโคลชิซินเพิ่มขึ้น และจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์กับจำนวนชุดโครโมโซมมีความสัมพันธ์กันแบบแปรผันตรง กล่าวคือจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นตามจำนวนชุดโครโมโซมที่เพิ่มขึ้น แม้ว่าจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์จะไม่เพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า แต่มีการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมเป็นสองเท่า (อัญญาณี และสมปอง, 2551) ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้แม้ว่าไม่ได้ศึกษาถึงจำนวนชุดโครโมโซม แต่จากผลของจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์คุมของใบดาหลาจะสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้การเพิ่มขึ้นของจำนวนชุดโครโมโซมได้ ซึ่งถือว่าเป็นวิธีการที่ง่ายมีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ไม่สิ้นเปลือง

ค่าใช้จ่าย และใช้ระยะเวลาสั้น อย่างไรก็ตามเพื่อเพิ่มความมั่นใจในการบอกผลที่ชัดเจนในการศึกษาครั้งต่อไปควรตรวจสอบจำนวนโครโมโซมด้วยวิธีการทางเซลล์วิทยามาประกอบด้วย

2. ผลของ EMS ต่ออัตราการรอดชีวิต การสร้างยอดรวม และลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลาในหลอดทดลอง

จากการศึกษาอัตราการรอดชีวิตของส่วนยอดดาหลาทั้งที่ไม่ได้รับและได้รับ EMS ที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นทุกระยะเวลา ทำให้ส่วนยอดดาหลามีอัตราการตายสูงขึ้น อัตราการรอดชีวิตลดลง เป็นไปในลักษณะเดียวกับโคลชิซิน เนื่องจากความเข้มข้นของ EMS สูงเข้าทำลายกลุ่มเนื้อเยื่อได้มากกว่า (ไซนีย๊ะ และคณะ, 2557) สอดคล้องกับการจุ่มแช่ชิ้นส่วนต่าง ๆ ในสารละลาย EMS เช่น อับละอองเกสรของ loquat (Qin *et al*., 2011) ชิ้นส่วนใบของ saintpaulia (Fang, 2011) และชิ้นส่วนข้อของเบญจมาศ (ไซนีย๊ะ และคณะ, 2557) จากการทดลองในดาหลาพบว่าความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตรให้อัตราการรอดชีวิตต่ำสุด 12.25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อจุ่มแช่ชิ้นส่วนยอดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาค่า LD_{50} ของการจุ่มแช่ส่วนยอดดาหลาใน EMS เป็นเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมง คือ 298.92 219.43 และ 164.71 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยสมปอง และวิทยา (2542) อ้างโดย ชญานีย์และสมปอง (2557) รายงานว่าค่า LD_{50} ถือเป็นค่าในการประเมินความเข้มข้นที่เหนี่ยวนำการกลายพันธุ์ ทั้งนี้เพราะความเข้มข้นดังกล่าวสร้างความเสียหายและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกับหน่วยพันธุกรรมอย่างน้อย 50 เปอร์เซ็นต์ โดยพืชแต่ละชนิดมีค่า LD_{50} แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของชิ้นส่วนพืช อายุของพืชที่นำมาจุ่มแช่ ชนิดและความเข้มข้นของสารเคมีก่อกลายพันธุ์ที่ใช้ (สิรนุช, 2540) เช่น ปาล์มน้ำมันมีค่า LD_{50} เท่ากับ 0.79 เปอร์เซ็นต์ (ชญานีย์ และสมปอง, 2557) และกล๊อกซิเนียมีค่า LD_{50} เท่ากับ 0.88 เปอร์เซ็นต์ (ยุพาภรณ์ และสมปอง, 2551) อย่างไรก็ตามในการชักนำการกลายพันธุ์ของกล้วยไม้หวายโซเนียต้องใช้ความเข้มข้นของ EMS สูงกว่า โดยค่า LD_{50} คือ 1 เปอร์เซ็นต์ (วัชรินทร์ และกัณยารัตน์, 2548 อ้างโดย ศิริญญา และสมปอง, 2551)

สำหรับการเกิดยอดรวมของชิ้นส่วนยอดที่ได้รับ EMS ความเข้มข้นสูงทำให้เกิดจำนวนยอดลดลง และบางชิ้นส่วนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด สอดคล้องกับการศึกษาของยุพาภรณ์และสมปอง (2551) ชักนำการกลายพันธุ์จากใบกล๊อกซิเนียในหลอดทดลอง โดยจุ่มแช่ EMS ความเข้มข้น 0-1 เปอร์เซ็นต์ นาน 60 นาที พบว่าลักษณะยอดรวมผิดปกติเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นและระยะเวลาการจุ่มแช่นานขึ้น

ในกรณีของความหนาแน่นและขนาดของเซลล์คุมพบว่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ EMS เพิ่มขึ้น และสูงสุดที่ EMS ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาลักษณะทางสรีรวิทยาของใบดาหลาโดยศึกษา 3 ตัวแปร พบว่า EMS ส่งผลต่อขนาดและความหนาแน่นของเซลล์คุม และจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ จากการศึกษาจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมจากใบดาหลาพบว่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ EMS ที่สูงขึ้น สูงสุดที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัม

ต่อลิตร (25.67 คลอโรพลาสต์) สอดคล้องกับการทดลองของอัญญาณี และสมปอง (2551) ซึ่งพบว่าใบหน้าวัวมีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารเคมีก่อกลายพันธุ์เพิ่มขึ้นและจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์กับจำนวนชุดโครโมโซมมีความสัมพันธ์กันแบบแปรผันตรง กล่าวคือจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นตามจำนวนชุดโครโมโซมที่เพิ่มขึ้น แม้ว่าจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์จะไม่เพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า แต่มีการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมเป็นสองเท่า (อัญญาณี และสมปอง, 2551)

3. ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่ออัตราการสร้างยอดรวม ความยาวยอด และลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลาในหลอดทดลอง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนยอดดาหลาบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าสารพาโคลบิวทราโซลมีผลต่ออัตราการเกิดยอดและความยาวยอด ไม่ส่งผลต่อจำนวนยอดเนื่องจากสารพาโคลบิวทราโซลเป็นสารประกอบที่มีกลไกการออกฤทธิ์ที่สำคัญในการยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน ทำให้พืชที่ได้รับสารดังกล่าวมีระดับการผลิตจิบเบอเรลลินลดต่ำลง จึงมีผลในการยับยั้งการแบ่งเซลล์และการยืดยาวของเซลล์พืชบริเวณใต้ปลายยอด (Cumming *et al*., 1999 อ้างโดย นิติพัฒน์ พัฒนฉัตรชัย, 2557) ดังนั้นเมื่อเติมสารพาโคลบิวทราโซลลงในอาหารเพาะเลี้ยงจึงส่งผลให้อัตราการเกิดยอด และความยาวของยอดดาหลาลดลง โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลในอาหารเพาะเลี้ยงจะส่งผลให้อัตราการเกิดยอด และความยาวยอดดาหลาลดลงเช่นเดียวกับงานทดลองของ Thohirah และคณะ (2005) และ Jala (2014) ซึ่งได้ทดลองเพาะเลี้ยงกระเจียวพันธุ์ฉัตรทิพย์บนอาหารที่เติมสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าการเติมสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นต่ำ สามารถกระตุ้นการเกิดยอดใหม่ได้ใกล้เคียงกับการไม่เติมสารพาโคลบิวทราโซล หากเติมสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นสูงจะส่งผลให้การเจริญเติบโตของกระเจียวพันธุ์ฉัตรทิพย์ลดลงทั้งปริมาณการเกิดยอดใหม่ จำนวนใบ ความกว้าง และความยาวก้านใบ พาโคลบิวทราโซลจัดเป็นสารจำพวกยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ ไม่ว่าทดลองใช้กับไม้ดอกดังรายงานข้างต้น หรือใช้กับไม้ผลก็ส่งผลเป็นไปในทำนองเดียวกัน Kepenek และ Karoglu (2011) ทดลองใช้สารพาโคลบิวทราโซลกับแอปเปิ้ลพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลส่งผลให้การเจริญเติบโตของรากและยอดอ่อนที่เกิดขึ้นใหม่ลดลง จากการศึกษานี้พบว่าการวางเลี้ยงส่วนยอดดาหลาบนอาหารสูตร MS ที่มีสารพาโคลบิวทราโซลทุกระดับไม่ส่งผลต่อจำนวนยอดรวมที่ชักนำได้ แต่ส่งผลต่ออัตราการเกิดยอดและความยาวยอด โดยสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นต่ำ (10 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร) ไม่ส่งผลให้ความยาวยอดแตกต่างกันทางสถิติความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลที่ส่งผลต่อความยาวยอดมากที่สุด คือ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ในกรณีของความหนาแน่นและขนาดของเซลล์คุมจากยอดดาหลาที่วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีสารพาโคลบิวทราโซลมีค่าน้อยกว่ายอดดาหลาที่วางเลี้ยงบน

อาหารสูตร MS ปราศจากสารพาโคลบิวทราโซล ผลดังกล่าวตรงข้ามกับจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม เมื่อความเข้มข้นของพาโคลบิวทราโซลเพิ่มขึ้นให้จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นสูงสุดที่ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากสารพาโคลบิวทราโซลมีผลยับยั้งการแบ่งเซลล์และการยืดยาวของเซลล์ และยังมีผลทำให้ใบมีสีเขียวเข้มขึ้น มีจำนวนคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นส่งผลให้การสร้างคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น ผลที่ตามมาคือการสังเคราะห์แสงของพืชมีประสิทธิภาพสูงขึ้น (Purohit, 1986 อ้างโดย Thohirah *et al*., 2005)

4. ผลของสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตและลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายนอกหลอดทดลอง

การศึกษาผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อความสูงดาหลา โดยการราดสาร 4 ความเข้มข้นเปรียบเทียบกับการไม่ใช้ พบว่าทุกช่วงอายุของต้นดาหลาที่ทำการบันทึกความสูงให้ผลการทดลองที่ได้เป็นไปในทำนองเดียวกัน กล่าวคือต้นดาหลาที่ไม่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลมีความสูงมากที่สุด เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซล ความสูงจะลดลงและต่ำสุดที่ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อดาหลาอายุ 4 เดือน เนื่องจากสารพาโคลบิวทราโซลมีคุณสมบัติยับยั้งการแบ่งเซลล์และการยืดยาวของเซลล์ ได้มีการทดลองใช้สารพาโคลบิวทราโซลกับต้นพืชอีกหลายชนิดและให้ผลเป็นไปในทำนองเดียวกัน เช่น การทดลองของ Thohirah และคณะ (2005) ใช้สารพาโคลบิวทราโซลกับพืชวงศ์ขิง แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วน คือ *Curcuma roscoena* ทดลองกับต้นกล้าอายุ 3 สัปดาห์ใช้วิธีการรดสารลงดิน ส่วน *Curcuma alismatifolia* ทดลองกับไรโซมโดยวิธีการแช่ พบว่าสารพาโคลบิวทราโซลมีผลต่อความสูงของต้นพืชไม่ว่าจะให้สารดังกล่าวแก่พืชด้วยวิธีการใดหรือใช้ชิ้นส่วนใดก็ตาม เมื่อความเข้มข้นของสารเพิ่มขึ้นความสูงต้นลดลง และเนื่องจากสารพาโคลบิวทราโซลมีผลต่อการยืดยาวของลำต้นเท่านั้น ไม่ได้ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงในส่วนอื่น ๆ จึงทำให้ต้นพืชไม่มีลักษณะผิดปกติ มีพืชอีกหลายชนิดที่ตอบสนองต่อสารพาโคลบิวทราโซลในลักษณะเดียวกับดาหลา เช่น ดาวเรือง (ภาณุพล และปวีณา, 2557; ธนวดี และคณะ, 2559) ศรีตรัง (วรัญญู และคณะ, 2559) และ Canola (Hua *et al.,* 2014) เป็นต้น นอกจากจะมีผลต่อความสูงของพืชแล้วพาโคลบิวทราโซลยังส่งผลต่อขนาดของเซลล์คุมดาหลาด้วยเช่นเดียวกัน โดยขนาดของเซลล์คุมเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร เซลล์คุมมีขนาด 29.81x54.95 ไมโครเมตร (กว้างxยาว) เมื่อพิจารณาความหนาแน่นของเซลล์คุมพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่ใบดาหลาที่ไม่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลมีความหนาแน่นของเซลล์คุมสูงกว่าใบดาหลาที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลทุกความเข้มข้น ต่ำสุดที่ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนเซลล์คุมที่ลดลงจะส่งผลต่อความสามารถในการทนแล้งของพืชกล่าวคือเมื่อความหนาแน่นของเซลล์คุมลดลง ปริมาณการคายน้ำของพืชจะลดลงตามไปด้วย สอดคล้องกับการทดลองให้สารพาโคลบิวทราโซลแก่ปทุมมาในสภาพขาดน้ำ เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับ

สารพบว่าต้นที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลมีแนวโน้มการเจริญเติบโตดีกว่าต้นที่ไม่ได้รับสารเมื่ออยู่ในสภาวะขาดน้ำ (จารุณี และคณะ, 2550; Jungklang and Saengnil, 2012) ต้นที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลมีปริมาณโพรลีนน้อยกว่าต้นที่ไม่ได้รับสาร โพรลีนทำหน้าที่รักษาสมดุลของน้ำภายในเซลล์กับสภาพแวดล้อมภายนอก เมื่อพืชอยู่ในสภาวะขาดน้ำพืชจะเร่งสร้างโพรลีนเพื่อให้อยู่รอดได้ในสภาวะเครียดน้ำ แต่พืชที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลจะสร้างโพรลีนน้อย แสดงให้เห็นว่าสามารถทนต่อความเครียดได้เพิ่มขึ้น (จารุณี และคณะ, 2550) นอกจากนี้พืชที่ได้รับสภาวะเครียดจากการขาดน้ำจะมีอัตราการสร้างรงควัตถุในกระบวนการสังเคราะห์แสงลดลง (Jaleel *et al*., 2009) แต่จากการศึกษาในดาหลาครั้งนี้พบว่าจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์จากใบของต้นดาหลาที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลสูงกว่าต้นที่ไม่ได้รับสาร จึงส่งผลให้ต้นดาหลาสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะเครียดจากการขาดน้ำ เมื่อความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลเพิ่มขึ้น จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นสูงสุดที่ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ 31.67 คิดเป็น 1.70 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซล อัญญาณี และสมปอง (2551) รายงานว่าจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์กับจำนวนชุดโครโมโซมมีความสัมพันธ์กันแบบแปรผันตรง กล่าวคือจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นตามจำนวนชุดโครโมโซมที่เพิ่มขึ้น แม้ว่าจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์จากใบดาหลาที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตรจะไม่เพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า แต่มีความใกล้เคียงมากดังนั้นความเข้มข้นดังกล่าวน่าจะใช้เป็นความเข้มข้นเริ่มต้นในการทดลองเพื่อชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในดาหลาได้ นอกเหนือจากการใช้สารก่อกลายพันธุ์อื่น ๆ

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. ผลของโคลชิซินและ EMS ต่ออัตราการรอดชีวิต การสร้างยอดรวม ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลาในหลอดทดลอง

ชิ้นส่วนยอดดาหลาที่จุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซิน และ EMS ทุกความเข้มข้นและระยะเวลาการจุ่มแช่สามารถพัฒนาเป็นยอดใหม่ได้ เมื่อความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน และ EMS เพิ่มขึ้นเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่และจำนวนยอดลดลง ต่ำสุดที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลาจุ่มแช่ 6 ชั่วโมง ความหนาแน่นและขนาดของเซลล์คุมต่ำกว่าชุดควบคุมที่ไม่จุ่มแช่สารละลายโคลชิซิน และ EMS ปริมาณคลอโรฟิลล์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติทุกความเข้มข้นของโคลชิซินที่ทดลอง ในกรณีของจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์พบว่ายอดที่ไม่ได้จุ่มแช่สารละลายโคลชิซิน และ EMS มีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ต่ำสุด

2. ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่ออัตราการสร้างยอดรวม การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของดาหลา

สารพาโคลบิวทราโซลทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนยอดดาหลาเกิดยอดใหม่ได้ในสภาพปลอดเชื้อ จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมเพิ่มขึ้นเมื่อวางเลี้ยงชิ้นส่วนยอดดาหลาบนอาหารที่มีสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นเพิ่มขึ้น เมื่อนำสารพาโคลบิวทราโซลมาใช้กับต้นดาหลาภายนอกหลอดทดลอง พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารพาโคลบิวทราโซลเพิ่มขึ้นมีผลให้ความสูงของต้นดาหลาลดลง ความหนาแน่นของเซลล์คุมน้อยกว่าต้นที่ไม่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซล แต่จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เท่ากับ 31.67 เม็ด เพิ่มขึ้นเป็น 1.7 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซล

ข้อเสนอแนะ

1. การใช้สารละลายโคลชิซินและ EMS เพื่อชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา และสรีรวิทยาของดาหลาในหลอดทดลองต้องใช้ในความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น เพราะจากผลการทดลองพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสรีรวิทยา เช่น ขนาด และความหนาแน่นของ

เซลล์คุม แต่ไม่ปรากฏการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่จะบ่งชี้ว่ามีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น

2. การใช้สารพาโคลบิวทราโซลกับดาหลาทั้งภายในและภายนอกหลอดทดลอง พบว่ามีการตอบสนองต่อความสูงของต้น และผลการทดลองที่ชัดเจนคือการเพิ่มขึ้นของจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ในเซลล์ นั่นแสดงว่าสารพาโคลบิวทราโซลทำให้กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น ดังนั้นควรมีการต่อยอดงานวิจัยจากผลการทดลองที่ได้รับ จะสามารถนำผลที่ได้รับมาใช้ประโยชน์ในด้านการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรได้ในอนาคต

3. ควรมีการนำสารพาโคลบิวทราโซลมาทดลองใช้ในกระบวนการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืชเพิ่มขึ้นอีกชนิดหนึ่งนอกเหนือจากสารที่นิยมใช้กันทั่วไป เช่น โคลชิซิน และ EMS เนื่องจากผลการทดลองที่ได้พบว่าสารพาโคลบิวทราโซลสามารถเพิ่มจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์คุมได้ 1.7 เท่า เมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับสาร ซึ่งโอกาสที่จะหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์เป็น 2 เท่า สามารถกระทำได้โดยใช้ข้อมูลที่ได้จากการงานวิจัยนี้เป็นข้อมูลเริ่มต้น

เอกสารอ้างอิง

กัญจนา แซ่เตียว สุเม อรัญนารถ และปรางทิพย์ มณีแสง. 2557. การใช้สารโคลชิซินชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในบัวหลวง. ว.เกษตรพระจอมเกล้า, 28: 49-59.

กิตติ โพธิปัทมะ สุริยา ฤธาทิพย์ และกรวิศฏ์ ณ ถลาง. 2555. การแปรผันและการกลายของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ว.วิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, 22: 225-231.

จารุณี จูงกลาง กนกกาญจน์ ปวงแก้ว กอบเกียรติ แสงนิล และจำนง อุทัยบุตร. 2550. การเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยาและชีวเคมีบางประการของปทุมมาที่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลภายใต้สภาวะการขาดน้ำ. ว.วิทยาศาสตร์เกษตร, 38: 33-36.

ชญานีย์ สังวาล และสมปอง เตชะโต. 2557. ผลของเอธิลมีเทนซัลโฟเนต (EMS) ต่ออัตราการรอดชีวิตของโซมาติกเอ็มบริโอระยะสร้างจาวและการสร้างโซมาติกเอ็มบริโอของปาล์มน้ำมันในหลอดทดลอง. ว.พืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 1: 14-20.

ชานนท์ ลาภจิตร และ เมิง-เจียว เจิง. 2560. ประสิทธิภาพในการกลายพันธุ์และผลของ Ethyl methanesulphonate (EMS) ต่อกล้วยไม้ *Erycina pusilla*. ว.แก่นเกษตร, 45: 386-391.

ไซนีย๊ะ สะมาลา สมปอง เตชะโต และสุรีย์รัตน์ เย็นช้อน. 2557. ผลของ ethyl methane sulphonate (EMS) ต่อกล้วยไม้หวายโซเนีย. ว.แก่นเกษตร, 42: 506-511.

ไซนีย๊ะ สะมาลา หัสยา จันทร์สีดำ และอรอนงค์ แซ่ฮั้น. 2558. ผลของสารโคลชิซินต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นหยาดน้ำค้างในหลอดทดลอง. ว.พืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 2: 24-28.

ธนวดี พรหมจันทร์ กันยารัตน์ หรัญยา พรนภา รุ่งสว่าง อาริสา ทับทิม และพิมพ์ใจ มีตุ้ม. 2559. ผลของความเข้มข้นและวิธีการให้สารละลายพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตของต้นดาวเรืองพันธุ์อเมริกัน. ว.พืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 3: 10-18.

ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์ กมลทิพย์ สังข์แก้ว นุชรัฐ บาลลา ณัฐพงศ์ จันจุฬา และอนันต์ พิริยะภัทรกิจ. 2561. การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลินเดอเนียที่ระดับพลอยดีต่างกัน. ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 7: 21-31.

นคร สารวัตร์ และ จรัสศรี นวลศรี. 2550. การชักนำการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมในมะนาวฝรั่ง [*Citrus limon* (L.) Burm.f.] โดยใช้สารโคลชิซิน. ว.วิชาการเกษตร, 25: 240-253.

นพพร คล้ายพงษ์พันธุ์. 2546. เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืช. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 261 หน้า.

นิตย์ศรี แสงเดือน และอำไพ สินพัฒนานนท์. 2541.การชักนำให้เกิดหม่อนเททราพลอยด์โดยใช้โคลชิซินร่วมกับเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยาสารเกษตรศาสตร์ (วิทยาศาสตร์), 32: 424-430.

นิติพัฒน์ พัฒนฉัตรชัย. 2557. พาโคลบิวทราโซล : ผลต่อการเติบโตของทรงพุ่มและปริมาณคลอโรฟิลล์ของชวนชมพันธุ์ฮอล์แลนด์. ว.แก่นเกษตร, 42: 39-46.

นุชรัฐ บาลลา ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์ อัญชลี จาละ และธีระชัย ธนานันต์. 2560. ผลของรังสีแกรมมาที่มีต่อมันเทศประดับพันธุ์ผสมในสภาพปลอดเชื้อ. ว.วิทยาศาสตร์เกษตร, 48:151-159.

บัณฑิตา เพ็ญสุริยะ ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์ เฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์ และพัฒนา สุขประเสริฐ. 2560. การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์จากเนื้อเยื่อลินเดอเนียด้วยสารละลายโคลชิซินในสภาพปลอดเชื้อ. ว.วิทยาศาสตร์เกษตร, 48: 23-35.

ปฐมาภรณ์ ทิลารักษ์ และสาโรจน์ ประเสริฐศิริวัฒน์. 2557. ผลของโคลชิซินต่อการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในกล้วยไม้เหลืองจันทบูรดำเต็มคอ. ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 16: 61-68.

ปิยะพร แสนสุข และเสิศชาย สาพรมมา. 2549. การขยายพันธุ์กล้วยไม้ปากะเรกะร่อนในหลอดทดลอง. ว.วิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 4: 233-236.

พรพิรุณ เปลี่ยนคง ผดุงศักดิ์ สุขสะอาด และสุรวิชา วรรณไกรโรจน์. 2553. การเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมพริกขี้หนูสวนด้วยสารโคลชิซิน. ว.วิทยาศาสตร์เกษตร, 41: 181-184.

พันทิพา ลิ้มสงวน สนธิชัย จันทร์เปรม อิทธิฤทธิ์ อึ้งวิเชียร ปัทมา ศรีน้ำเงิน และเสริมศิริ จันทร์เปรม. 2560. การปรับปรุงพันธุ์โดยการชักนำการกลายพันธุ์ในเบญจมาศโดยใช้รังสีแกมมาและการตรวจสอบการกลายพันธุ์โดยวิธีเอเอฟแอลพี. ว.วิทยาศาสตร์เกษตร, 48: 334-345.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ และปิยะดา ทิพยผ่อง. 2550. หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช. พิมพ์ครั้งที่ 8. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 372 หน้า.

ภาณุพงศ์ ศรีอ่อน. 2548. ผลของสาร Paclobutrazol และ Trinexapac - ethyl ต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของไม้ดอกและไม้ประดับบางชนิด. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภาณุพล หงษ์ภักดี และ ปวีณา สนทา. 2557. การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการตอบสนองทางสรีรวิทยาของดาวเรืองกระถางต่อการใช้สารพาโคลบิวทราโซล. ว.แก่นเกษตร, 42: 541-546.

เยาวพา จิระเกียรติกุล อรอุมา สองศรี ภาณุมาศ ฤทธิไชย และ อรุณพร อิฐรัตน์. 2558. การขยายพันธุ์หัวข้าวเย็น (*Smilax glabra* Roxb.). ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 23: 11-21.

ยุพาภรณ์ ศิริโสม และสมปอ เตชะโต. 2551. ผลของเอธิลมีเทนซัลโฟเนต (EMS) ต่ออัตราการรอดชีวิตและการสร้างยอดรวมของกล๊อกซิเนีย (*Sinninga speciosa*) ในหลอดทดลอง. ว.วิทยาศาสตร์เกษตร, 39: 223-226.

รักชนก โคโต ศิริพร ศรีภิญโญวณิชย์ สนธิชัย จันทร์เปรม และเสริมศิริ จันทร์เปรม. 2549. การชักนำให้เกิดความแปรปรวนในลักษณะทางสัณฐานวิทยาของผักเป็ดโดยการใช้รังสีแกมมาร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยาสารกำแพงแสน, 4: 34-40.

รัชนี เพ็ชร์ช้าง. 2553. ผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการให้โคลชิซินต่อการเจริญและจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้เอื้องเงิน. ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 29: 413-419.

วรัญญู ขวดหรีม อมรรัตน์ จันทนาอรพินท์ ขวัญตา ขาวมี และระวี เจียรวิภา. 2559. ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตและการออกดอกของต้นศรีตรังในกระถาง. ว.พืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 3: 18-22.

วราภรณ์ หีดฉิม และสมปอง เตชะโต. 2557. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายอาร์เอพีดีกับการตรวจสอบความผิดปกติของต้นกล้าปาล์มน้ำมันในหลอดทดลอง. ว.พืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 1: 10-15.

วิเชษฐ ค้าสุวรรณ. 2542. ไม้ตัดดอก. กรุงเทพฯ: ไทยวัฒนาพานิช. หน้า 63-65.

วีรภัทรา ทิพย์วารี และณัฐา โพธาภรณ์. 2553. ผลของโคลชิซินต่อการเติบโตของโปรโตคอร์มเอื้องดินใบหมาก. ว.เกษตร, 26: 27-34.

วุฒิกร เหลี่ยมสุทธิพันธุ์ และกิตติ สัจจาวัฒนา. 2555. ผลของโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานและสรีรวิทยาที่สัมพันธ์กับต้นเตตระพลอยด์ของแตงโม. ว.แก่นเกษตร, 40: 201-206.

ศตปพร เกิดสุวรรณ และ สมปอง เตชะโต. 2558. ผลของโคลชิซินต่อการชักนำโพลีพลอยด์ในแวววยุราในหลอดทดลอง. ว.พืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 29: 17-23.

ศิริญญา ม่วงสอน และสมปอง เตชะโต. 2551.การใช้ EMS เพื่อชักนำการกลายพันธุ์ในกล้วยไม้เหลืองจันทบูร. ว.เกษตร, 24: 153-164.

สนอง ทองปาน. 2550. การศึกษาผลการใช้สารแพคโคบิวทราโซลกับต้นกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์บอมโจ *Dendrobium* Sonia “Bomjo” เพื่อทำไม้แคระ. ว.วิชาการศึกษาศาสตร์, 8: 38-53.

สมพร ประเสริฐส่งสกุล. 2558. การขยายพันธุ์ดาหลาในหลอดทดลอง. ว.มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา, 10: 21-28.

สันติ ช่างเจรจา และรุ่งนภา ช่างเจรจา. 2557. ผลของความเข้มข้นของโคลชิซีนต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย. ว.แก่นเกษตร, 42: 8-11.

สายัณ พุทธลา. 2550. ผลของรังสีแกมมาที่มีต่อเมล็ดดาวเรืองและเมล็ดหงอนไก่. ว.ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์, 7: 111-120.

สิรนุช ลามศรีจันทร์. 2540. การกลายพันธุ์ของพืช. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 205 หน้า

สุขไผท ศรีเมือง และวิไลลักษณ์ ชินะจิตร. 2551. ผลของโคลชิซินที่มีต่อกล้วยไม้ดินหมูกลิ้งในสภาพปลอดเชื้อ. ว.แก่นเกษตร, 36: 234-239.

สุภาณี พิมพ์สมาน สังวาล สมบูรณ์ และเบญจมาภรณ์ ฤทธิ์ไธสง. 2545. ความเป็นพิษและผลในการไล่ของน้ำมันหอมระเหยต่อด้วงงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais* Motsch.) ว.วิทยาศาสตร์เกษตร, 33: 295-299.

โสระยา ร่วมรังษี. 2556. การพัฒนาไม้ดอกของไทยสู่การแข่งขันในตลาดอาเซียน. ว.แก่นเกษตร, 41: 209-212.

อภิชาติ ชิดบุรี. 2542. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการปรับปรุงพันธุ์ดาหลา. ลำปาง : สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตร ลำปาง สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล.

อรุณี ม่วงแก้วงาม. 2557. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลา (*Etlingera elatior*). ว.พืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 1: 10-13.

อรุณี ม่วงแก้วงาม. 2559. การขยายพันธุ์ดาหลาขาวด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ว.พืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 3: 8-11.

อรุณี ม่วงแก้วงาม และสมปอง เตชะโต. 2559. ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลา [*Etlingera elatior* (Jack.) R.M. Smith]. ว.มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์, 8: 111-116.

อรุณี วงศ์ปิยะสถิต. 2550. การกลายพันธุ์: เพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 352 หน้า.

อัญญาณี จันทร์ภักดี และสมปอง เตชะโต. 2551. ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนชุดโครโมโซมกับปริมาณคลอโรพลาสต์ในเซลล์ปากใบของหน้าววัวสายพันธุ์ Micky mouse ที่ผ่านการทรีตด้วยสารโคลซิซิน. ว.วิทยาศาสตร์เกษตร, 39: 219-222.

อัญญาณี จันทร์ภักดี และสมปอง เตชะโต. 2553. ผลของสารโคลซิซินต่ออัตราการรอดชีวิต ลักษณะทางสรีรวิทยาและสัณฐานวิทยาของหน้าววัวพันธุ์ Micky Mouse. ว.เกษตร, 26: 15-25.

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: 4465-4469.

Allum, J. F., Bringloe, D. H. and Roberts, A. V. 2007. Chromosome doubling in a *Rosa rugose* Thunb. Hybrid by exposure of *in vitro* nodes to oryzalin: the effects of node length, oryzalin concentration and exposure time. Plant Cell Reports, 26: 1977-1984.

Archana, C. P., Geetha, S. P. and Indira Balachndran, 2015. *In vitro* microrhizome induction in three high yielding varieties of turmeric (*Curcuma longa* L.) using paclobutrazol. International Journal of Scientific Research Today, 11: 101-107.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils-A review.

Bashir, S., Wani, A. A. and Nawchoo, A. I. 2013. Mutagenic sensitivity of gamma rays, EMS and sodium azide in *Trigonella foenum-graecum* L. Science Research Reporter, 3: 20-26.

Chanchula, N. 2013. Mutation induction in *Globba williamsiana* by gamma irradiation. Thai Journal of Science and Technology, 2: 45-52.

Chaveerach, A., Mokkamul, P., Sudmoon, R. and Tanee, T. 2007. A new species of *Zingiber* (Zingiberaceae) from northern Thailand. Taiwania, 52: 159-163.

Chaveerach, A., Mokkamul, P., Sudmoon, R. and Tanee, T. 2008. A new species of *Amomum* Roxb. (Zingiberaceae) from northern Thailand. Taiwania, 53: 6-10.

Chen, W. H., Ching, Y. T. and Kao, Y. L. 2009. Ploidy doubling by in vitro culture of excised protocorms or protocorm-like bodies in *Phalaenopsis* species. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 98: 229-238.

Chidburee, A. 2002. Effect of paclobutrazol and sucrose on growth of torch ginger (*Etlingera elatior*). Agricultural Science Journal, 33: 57-61.

Chosdu, R., Erizal, Iriawan, T. and Hilmy, N. 1995. The effect of gamma irradiation on curcumin component of *Curcuma domestica*. Radiation Physics and Chemistry Journal, 46: 663-667.

Fang, Y. J. and Traore, S. 2011. *In vitro* Mutation induction of *Saintpaulia* using ethyl methanesulfonate. HortScience, 46: 981-984.

Farooq, M., Basra, S. M. A., Wahid, A., Ahmad, N. and Saleew, B. A. 2009. Improving the drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) by exogenous application of salicylic acid. Journal of Agronomy and Crop Science, 195: 237-246.

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.

Gilbertz, D. A. 1992. Chrysanthemum response to timing paclobutrazol and uniconazole sprays. HortScience, 27: 322-323.

Gu, X. F., Yang, A. F., Meng, H and Zhang, J. R. 2005. *In vitro* induction of tretraploid plants from diploid *Zizyphus jujube* Mill.Cv.Zhanhua. Plant Cell Report, 24: 671-676.

Hajihashemi, S. and Ehsanpour, A. A. 2013. Influence of exogenously applied paclobutrazol on some physiological traits and growth of *Stevia rebaudiana* under *in vitro* drought stress. Biologia, 68: 414-420.

Herrera, C. J., Moreno, G. L., Acuna, R. J., De Pena, M. and Osorio, D. 2002. Colchicine-induced microspore embryogenensis in coffee. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 71: 89-92.

Hua, S., Zhang, Y., Yu, H., Lin, B., Ding, H., Shang, D., Ren, Y. and Fang, Z. 2014. Paclobutrazol application effects on plant height, seed yield and carbohydrate metabolism in canola. International Journal of Agriculture and Biology, 16: 471-479.

Ilyas, S. and Naz, S. 2014. Effect of gamma irradiation on morphological characteristic and isolation of curcuminoids and oleoresins of *Curcuma longa* L. The Journal of Animal and Plant Science, 24: 1396-1404.

Jala, A. 2014. Effect of paclobutrazol and BA on micropropagation in *Curcuma* sp. *In vitro*. Thai Journal of Science and Technology, 3: 15-22.

Jala, A. and Bodhipadma, K. 2012. Low concentration of paclobutrazol induced multiple shoots and plantlet formation in amethyst curcuma. The Journal of King Mongkut 's University of Technology North Bangkok, 22: 505- 510.

Jaleel, C. A., Gopi, R., Azooz, M. M. and Panneerselvam, R. 2009. Leaf anatomical modification in catharanthusroseus as affected by plant growth promoters and retardants. Global Journal of Molecular Sciences, 4: 1-5.

Jungklang, J. and Saengnil, K. 2012. Effect of paclobutrazol on patumma cv. Chiang Mai Pink under water stress. Songklanakarin journal of science and technology, 34: 361-366.

Kambask, K. B. and Santilata, S. 2009. Effect of plant growth regulator on micropropagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) cv. Suprava and Suruchi. Journal of Agricultural Technology, 5: 271-280.

Keng, C. L. and Hing, T. W. 2004. *In vitro* propagation of zingiberaceae species with medicinal properties. Journal of Plant Biotechnology, 6: 181-188.

Kepenek, K. and Karoglu, Z. 2011. The effects of paclobutrazol and daminozide on *in vitro* micropropagation of some apple (*Malus domestica*) cultivars and M9-rootstock. African Journal Biotechnology, 10: 4851-4859.

Kim, M. S. and Kim, J. Y., and Eun, J. S. 1997. Chromosome doubling of *Cymbidium* hybrid with colchicines treatment in meristem culture. American Orchid Society Bulletin, 32: 885-887.

Kochuthressia, P. K., Britto, J. S., Raj, M. L., Jaseentha, O. M. and Senthilkumar, R. S. 2010. Efficient regeneration of *Alpinia purpurata* (Vieill). K.Schum. plantlets from rhizome bud explants. International Research Journal of Plant Science, 1: 43-47.

Kucharaka, D. and Orlikowska, T. 2008. The influence of paclobutrazo in the rooting medium on the quality of chrysanthemum vitroplants. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 16: 417-424.

Kuehny, S. J., Sarmiento, M., Paz, P. M. and Branch, C. P. 2005. Effect of light intensity, photoperiod and plant growth retardants on production of *Zingiberacea* as pot plants. Acta Horticulturae, 683: 145-154.

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

Lin, Z. and Gao, S. 2007. Micropropagation and induction of autotetraploid plants of *Chrysanthemum cinerarifolium* (Trev) Vis. *In vitro* cellular and developmental Biology, 43: 404-408.

Madon, M., Clyde, M. M., Hashim, H., Mohd, Y. Y., Mat, H. and Saratha, S. 2005. Polyploidy induction of oil palm through colchicines and oryzaline treatments. Journal of Oil Palm Research, 17: 110-123.

Mohamad, F. Y., Maheran, A. A., Mihdzar, A. K. and Azmi, A. R. 2012. *In vitro* propagation of *Etlingera elatior* (Jack.). Scientia Horticulturae, 135: 145-150.

Owolabi, M. S., Oladimeji, O. M., Lajide, L., Singh, G., Marimuthu, P. and Isidorov, A. V. 2009. Bioactivity of three plant derived essential oils against the maize weevils *Sitophilus zeamais* Motschulsky and cowpea weevils *Callosobruchus maculatus*. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 8: 828-835.

Padungsil, N., Taechasinpitak, T., Wongchowchan, S. and Chanchula, N. 2015. Mutational induction in *Catharanthus roseus* L. by acute gamma irradiation. Thai Journal of Science and Technology, 4: 95-103.

Petersen, K. K., Hagberg, P. and Kristiansen, K. 2003. Colchicine and oryzalin mediated chromosome doubling in different genotypes of *Miscanthus sinensis*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 73: 137-146.

Qin, M. H., Wang, Q. Y. and Hou, X. C. 2011. Effect of ethyl methane sulfonate (EMS) in *in vitro* mutation on anther-derived embryos in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). African Journal of Agricultural Research, 6: 2450-2455.

Sarmiento, J. M. and Kuehny, S. J. 2003. Efficacy of paclobutrazol and gibberellin on growth and flowering of three *Curcuma* species. HortTechnology, 13: 493-496.

Sterett, J. P. 1985. Paclobutrazol: apromising growth inhibitor for injection into woody plant. Journal of American Society Horticulturae Science, 100: 4-8.

Suthisut, D., Fields, G. P. and Chandrapatya, A. 2011. Efficacy of essential oils from zingiberaceae as repellent to maize weevil (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) and red flour beetle (*Tribolium castaneum*). Khon Kaen Agriculture Journal, 39: 345-358.

Taheri, S., Abdullah, L. T., Ahmad, Z. and Abdullah, N. A. P. 2014. Effect of acute gamma irradiation on *Curcuma alismatifolia* varieties and detection of DNA polymorphism through SSR marker. Biomedical Research International, 63: 1-18.

Tang, Z. Q., Chen, D. L., Song, Z. J., He, Y. C. and Cai, D. T. 2010. *In vitro* induction and identification of tetraploid plants of *Panlownia tomensota*. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 102: 213-220.

Te-chato, S., Nujeen, P. and Muangsorn, S. (2009).Paclobutrazol enhance bud break and flowering of Friederick'sDendrobium orchid *In vitro*. Journal of Agricultural Technology, 5: 157-165.

Thohirah, L. A., Ramlan, M. F. and Kamalakshi, N. 2005.The effect of paclobutrazol and flurprimidol on the growth and flowering of *Curcuma roscoeana* and *Curcuma alismatifolia.* Malaysian Applied Biology Journal, 34: 1-5.

Yanus, M. F., Aziz, M. A., Kadir, M. A. and Rashid, A. A. 2012. *In vitro* propagation of *Etlingera elatior* (Jack) (torch ginger). Sciencetia Horticulturae, 135: 145-150.

Zheng, R., Wu, Y. and Xia, Y. 2012. Chlorocholine chloride and paclobutrazol treatments promote carbohydrate accumulation on bulbs of lilium oriental hybrid. Journal of Zhejiang University Science (Biomedicine&Biotechnology), 13: 136.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวอรุณี ม่วงแก้วงาม

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5510630007

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2532
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชศาสตร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2535

ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

อรุณี ม่วงแก้วงาม. 2557. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลา. ว.พืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 1: 1-3.

อรุณี ม่วงแก้วงาม. 2558. ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญเติบโตของดาหลา. รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติและนานาชาติ ราชภัฏวิชาการ ครั้งที่ 3 วันที่ 20-22 พฤษภาคม 2558 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.

อรุณี ม่วงแก้วงาม. 2559. การขยายพันธุ์ดาหลาขาวด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ว.พืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 3: 8-11.

อรุณี ม่วงแก้วงาม และสมปอง เตชะโต. 2559. ผลของสารพาโคลบิวทราโซลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลา [*Etlingera elatior* (Jack.) R.M. Smith]. ว.มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์, 8: 111-116.

อรุณี ม่วงแก้วงาม และสมปอง เตชะโต. 2561. ผลของโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิตและลักษณะของเซลล์คุมของดาหลาในสภาวะปลอดเชื้อ. ว.พืชศาสตร์สงขลานครินทร์, ได้รับการตอบรับจากกองบรรณาธิการ กำลังรอรับการแก้ไข

Muangkaewngam, A and Te-chato, S. 2018. Morphological and Physiological Responses of torch Ginger [*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Smith] to Paclobutrazol Application. International Journal of Agricultural Technology, อยู่ระหว่างขั้นตอนการพิจารณา

Muangkaewngam, A. and Te-chato, S. 2018. Effect of Colchicine for Survival Rate and Guard Cell Characteristics of *In Vitro Etlingera elatior* (Jack) R.M. Sm. International Journal of Agricultural Technology,
อยู่ระหว่างขั้นตอนการพิจารณา