



ความถี่และการเกิดพอลิพลอยดีในฝรั่งพันธุ์เงินอุหลังการให้สารโคเลซิซีน

นิศาชล อันเชื้อจิ้น

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน

ชื่อเรื่อง
ความถี่และการเกิดพอลิพลอยดีในฝรั่งพันธุ์เงินจูฮองการให้สารโคลชิซิน

โดย
นิสาชล อันเชื้อเงิน

พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการที่ปรึกษา

(อาจารย์ ดร.จันทน์ ชนารุง)

วันที่ 26 เดือน ก.ย. พ.ศ. 2555

กรรมการที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพพร บุญปลอด)

วันที่ 26 เดือน ก.ย. พ.ศ. 2555

กรรมการที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.สห ตูลพงค์)

วันที่ 26 เดือน ก.ย. พ.ศ. 2555

ประธานกรรมการประจำหลักสูตร

(อาจารย์ ดร.พรพันธ์ ภู่อ้อมพันธ์)

วันที่ 27 เดือน ก.ย. พ.ศ. 2555

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จตุรงค์ วาทุทธิ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 27 เดือน ก.ย. พ.ศ. 2555

ชื่อเรื่อง	ความถี่และการเกิดพอลิพลอยดีในฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการให้สารโคลชิซิน
ชื่อผู้เขียน	นางสาวนิสาชล อันเชื้อจีน
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน
ประธานกรรมการที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.ชินพันธ์ ชนารุง

บทคัดย่อ

ฝรั่งเป็นผลไม้ที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งวิตามินซี จึงใช้บริโภคผลสดหรือแปรรูปเป็นน้ำผลไม้และผลิตภัณฑ์อาหาร แต่ข้อเสียของฝรั่งพันธุ์การค้าทั่วไปมักมีเมล็ดมากไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ทั้งผล จึงได้มีการเพิ่มชุดโครโมโซมในต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูโดยใช้สาร โคลชิซิน ซึ่งแบ่งเป็น 2 การทดลอง ณ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ การทดลองที่ 1 วางแผนการทดลองแบบ 5x5 factorial in CRD มี 3 ซ้ำ กับเข้มข้นด้วยสารโคลชิซินต่างความเข้มข้น (0.00, 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08%) นาน 0, 15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง พบว่าความสูงของต้นกล้า จำนวนปากใบ และขนาดปากใบ มีความแตกต่างกันทางสถิติ และได้ต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูที่มีโครโมโซม 4 ชุด จำนวน 5 ต้น หลังจากการตรวจสอบจำนวนนิวคลีโอลิ หรือ Nucleolar Organizer Regions (NORs) 4 จุดต่อเซลล์ จำนวนโครโมโซม ($2n=4x=44$) และวิเคราะห์ flow cytometry โดยสารโคลชิซิน 0.04 และ 0.06% นาน 15 และ 60 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการชักนำต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูให้มีการเพิ่มโครโมโซมจาก $2x=22$ เป็น $4x=44$ และการทดลองที่ 2 วางแผนการทดลองแบบ 5x5 factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ โดยหุ้มกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.00, 0.04, 0.06, 0.08, และ 0.10% นาน 0, 5, 15, 30, และ 45 วัน พบเรณูขนาดใหญ่มีผลทำให้ต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูที่ได้จากการหุ้มด้วยสารโคลชิซินมีโครโมโซม 3 ชุด จำนวน 3 ต้น หลังจากการผสมสลับระหว่างดอกฝรั่งพันธุ์เงินจูปกติกับดอกที่ได้รับสารโคลชิซิน 0.06 และ 0.08% นาน 15 และ 30 วัน หลังตรวจสอบได้ NORs 3 จุดต่อเซลล์ และจำนวนโครโมโซม $2n=3x=33$ ฉะนั้น สารโคลชิซินสามารถผลิตต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูให้มีโครโมโซมเป็น 4 และ 3 ชุด ตามลำดับ และต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูที่ได้ยังคงรูปร่างอยู่จนถึงปัจจุบันมีอายุ 2 ปี

Title	Frequency and Occurrences of Autopolyploid Guava (<i>Psidium guajava</i> L. cv. "Jen Ju") by Colchicine Application
Author	Miss Nisachol Aoncherjeen
Degree of	Master of Science in Horticulture
Advisory Committee Chairperson	Dr. Chinnapan Thanarut

ABSTRACT

Guava (*Psidium guajava* L.), an important fruit crop for its high nutritive value and high vitamin C content, can be eaten as fresh or preserved and can be processed for use in dairy and baked products. However, the disadvantage of commercial guava cultivar is diploid with seediness in nature which cannot be easily used as a table variety for consumption and processing. In this study, the two experiments were conducted at the Faculty of Agriculture Production, Maejo University, Chiang Mai, under the objectives of increasing chromosome sets on "Jen Ju" guava seedlings by colchicine application. The first experiment was 5x5 factorial in a completely randomized design with 3 replications of 5 different concentrations (0.00, 0.02, 0.04, 0.06, and 0.08%) of the chemical colchicine, exposed to soaking seeds of "Jen Ju" guava in interval times being 0, 15, 30, 45, and 60 hours. The result showed that there were significant differences in seedling height, stomata number and stomata length. Five tetraploid form guava seedlings, which were observed by tetraploid four NORs or nucleoli number and chromosome number ($2n=4x=44$) after analysing of flow cytometry machine, can be certified. Colchicine 0.04 % and 0.06 % are effectively mutagenic concentrations which can produce tetraploid from guava seedlings by the increasing of chromosome number $2n=2x=22$ to $2n=4x=44$ with a soaking duration time of 15 and 60 hours respectively. In the second experiment, branches of "Jen Ju" guava treated with five different concentrations of 0.00, 0.04, 0.06, 0.08, and 0.1% of colchicine at five different phenological stages of 0, 5, 15, 30, and 45 days were used 5x5 factorial in a completely randomized design with 3 replications. In this experiment were of big pollen grains, three triploid seedlings were successfully produced at 15 and 30 days of phenological stages by reciprocal crossing of untreated flowers with flowers treated of 0.06 and 0.08% colchicine

concentration. Results revealed that three NORs per cell and chromosome number identified triploidy ($2n=3x=33$) of these three seedlings. These obtained two years old polyploid seedlings are remained stable.



กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สห ตูลพงศ์ อดีตประธานกรรมการที่ปรึกษา ได้ให้คำแนะนำในการวางแผนการดำเนินงานทดลองทดลองจนช่วยสนับสนุนวัสดุอุปกรณ์สำหรับใช้ในการดำเนินงาน ให้คำแนะนำ กระทั่งงานทดลองสำเร็จ แต่เนื่องจากรองศาสตราจารย์ ดร.สห ตูลพงศ์ เกษียณอายุราชการและได้รับการแต่งตั้งเป็นอาจารย์พิเศษประจำบัณฑิต ทำให้ไม่สามารถทำหน้าที่เป็นประธานกรรมการที่ปรึกษาได้ จึงมีการเปลี่ยนแปลงโดยอาจารย์ ดร.ชินพันธ์ ธารุจ รับหน้าที่ประธานกรรมการที่ปรึกษาแทน โดยรองศาสตราจารย์ ดร.สห ตูลพงศ์ ยังคงดำรงตำแหน่งกรรมการที่ปรึกษา และได้กรุณาให้คำแนะนำ ตรวจสอบแก้ไขจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพพร บุญปลอด ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัยงานทะเบียน ที่ได้ให้คำแนะนำทดลองจนช่วยตรวจสอบแก้ไขจนกระทั่งสำเร็จเป็นวิทยานิพนธ์อย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนและให้วิชาความรู้ เจ้าหน้าที่และพนักงานสาขาไม้ผลทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือเสมอมา และขอขอบคุณ Miss Thaingi Myint และว่าที่ร้อยตรีหญิงกชกร พุททะ ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณพ่ออรุณ อันเชื้อจีน นางชนพร ติธาวาณิช ที่ได้สนับสนุนค่าใช้จ่ายในการศึกษาเล่าเรียนมาโดยตลอด ขอขอบคุณนายอมร บ่างวิรุฬห์รักษ์ และทุกๆ คนในครอบครัว พี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ที่ช่วยเหลือและคอยให้กำลังใจตลอดระยะเวลาการศึกษา

นิสาชล อันเชื้อจีน

กันยายน 2555

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(6)
สารบัญ	(7)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญภาพ	(11)
สารบัญตารางภาคผนวก	(12)
บทที่ 1 บทนำ	1
ปัญหาของการวิจัย	2
วัตถุประสงค์	2
ขอบเขตของการวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	4
ฝรั่ง (Guava)	4
ถิ่นกำเนิดและประวัติของฝรั่ง	4
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	5
สายพันธุ์ฝรั่ง	6
สภาพแวดล้อมของฝรั่ง	9
การปลูกและการดูแลรักษา	10
การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในพืช	14
การแบ่งเซลล์ในเซลล์สืบพันธุ์ (sex cell)	15
กระบวนการถ่ายเกสร	15
เมล็ดหรือการงอกของเมล็ด	16
สาเหตุการเกิดผลที่ไม่มีเมล็ด	19
สารโคเลชิซิน	21

ความแปรปรวนในจำนวนชุดของโครโมโซม	22
แฮพลอยด์ (haploid)	23
กำเนิดของแฮพลอยด์ในธรรมชาติหรือโดยการชักนำให้เกิด	24
ลักษณะทั่วไปของพืชแฮพลอยด์	25
พฤติกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของพืชแฮพลอยด์	25
การผลิตพืชดิพลอยด์จากแฮพลอยด์	26
การใช้ประโยชน์แฮพลอยด์ในการปรับปรุงพันธุ์พืช	27
พอลิพลอยด์ (polyploid)	28
วิธีการทำให้เกิดพอลิพลอยด์	28
ประเภทพอลิพลอยด์	30
ลักษณะทั่วไปของพืชพอลิพลอยด์	30
ออโตพอลิพลอยด์ (autopolyploid)	31
กำเนิดออโตพอลิพลอยด์	32
วิธีการผลิตพืชออโตพอลิพลอยด์	32
ประโยชน์ของออโตพอลิพลอยด์ในการปรับปรุงพันธุ์พืช	33
ทริพลอยด์ (triploid)	33
การใช้ประโยชน์ทริพลอยด์ในการปรับปรุงพันธุ์พืช	33
เทตระพลอยด์ (tetraploid)	35
พฤติกรรมของเทตระพลอยด์ในระหว่างการแบ่งเซลล์	35
พันธุกรรมของเทตระพลอยด์	36
ประโยชน์ของเทตระพลอยด์ทางการเกษตร	37
แอนเนวพลอยด์ (aneuploid)	37
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	38
สถานที่ดำเนินการวิจัย	38
วัสดุและอุปกรณ์	38
วิธีการดำเนินงาน	39
บทที่ 4 ผลการวิจัย	47
การทดลองที่ 1 การเพิ่มโครโมโซมเป็น 4 ชุด ของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูหลังได้รับสารโคลชิซินต่างความเข้มข้น	47

การทดลองที่ 2 การผลิตต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูให้มีโครโมโซม 3 ชุด จากเรณูของ ดอกฝรั่งที่มีโครโมโซม 2 ชุด ผสมเกสรสลักับเรณูจากดอกฝรั่ง ที่มีโครโมโซม 4 ชุด หลังได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น แตกต่างกัน	59
บทที่ 5 วิเคราะห์ผลการทดลอง	75
การทดลองที่ 1 การเพิ่มโครโมโซมเป็น 4 ชุด ของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลัง ได้รับสารโคลชิซินต่างความเข้มข้น	75
การทดลองที่ 2 การผลิตต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูให้มีโครโมโซม 3 ชุด จากเรณูของ ดอกฝรั่งที่มีโครโมโซม 2 ชุด ผสมเกสรสลักับเรณูจากดอกฝรั่ง ที่มีโครโมโซม 4 ชุด หลังได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้น แตกต่างกัน	77
บทที่ 6 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	80
สรุปผล	80
ข้อเสนอแนะ	81
บรรณานุกรม	83
ภาคผนวก	91
ภาคผนวก ก ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ	92
ภาคผนวก ข ประวัติผู้วิจัย	106

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 ลักษณะต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูได้จากเมล็ดแช่ในสาร โคลชิซินความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน	51
2 ลักษณะต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูได้จากเมล็ดที่แช่ในสาร โคลชิซินความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน	54
3 จำนวนต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูที่ได้จากการขลิบเมล็ดแช่ในสาร โคลชิซินและระยะเวลาแตกต่างกัน	55
4 จำนวนนิวคลีโอไทด์จากเซลล์ปลายรากของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังได้รับสาร โคลชิซินต่างความเข้มข้น	56
5 จำนวนปากใบ ความยาว ความกว้างปากใบและจำนวนคลอโรพลาสต์ในปากใบ ต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังได้รับสาร โคลชิซินต่างความเข้มข้นและเวลาในการแช่เมล็ด	56
6 ลักษณะของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังได้รับสาร โคลชิซินความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน	63
7 ลักษณะเรณูจากดอกฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังได้รับสาร โคลชิซินความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน	67
8 การผสมเกสรระหว่างดอกเพศเมียไม่ได้รับสารกับดอกเพศผู้ได้รับสาร โคลชิซินและระยะเวลาแตกต่างกันต่อจำนวนผลและขนาดผล	70
9 การผสมเกสรระหว่างดอกเพศเมียได้รับสาร โคลชิซินกับดอกเพศผู้ไม่ได้รับสารและระยะเวลาแตกต่างกันต่อจำนวนผลและขนาดผล	71
10 ลักษณะและจำนวนต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังได้รับสาร โคลชิซินและการผสมเกสรแบบสลัป	72
11 จำนวน ขนาดปากใบ และคลอโรพลาสต์จากปากใบของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังได้รับสาร โคลชิซินและการผสมเกสรแบบสลัป	72

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 ลักษณะใบและต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูอายุ 6 เดือน หลังได้รับสาร โคลชิซิน	57
2 ลักษณะและจำนวนนิวคลีโอไลจากเซลล์ปลายรากต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูอายุ 6 เดือน	57
3 ลักษณะและจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูอายุ 6 เดือน	58
4 ลักษณะและจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์ปากใบต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูอายุ 6 เดือน	58
5 แผนภูมิจากเครื่อง flow cytometry ได้จากใบของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูอายุ 6 เดือน	59
6 ลักษณะละอองเรณูฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังได้รับสาร โคลชิซิน	73
7 ลักษณะและจำนวนนิวคลีโอไลของเซลล์ปลายรากต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูอายุ 6 เดือน	73
8 ลักษณะและจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูอายุ 6 เดือน	74
9 ลักษณะและจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์ปากใบของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูอายุ 6 เดือน	74

สารบัญตารางผนวก

[illegible]

ตารางผนวก	หน้า
14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความยาวปากใบ ของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจู (ไม่ขลิบเมดัล) หลังแช่เมล็ดด้วยสาร โคลชิซิน	99
15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) จำนวนใบของกิ่ง ฝรั่งพันธุ์จินจูหลังการหุ้มด้วยสาร โคลชิซิน	100
16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความกว้างใบของ กิ่งฝรั่งพันธุ์จินจูหลังการหุ้มด้วยสาร โคลชิซิน	100
17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความยาวใบของกิ่ง ฝรั่งพันธุ์จินจูหลังการหุ้มด้วยสาร โคลชิซิน	101
18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความหนาใบของ กิ่งฝรั่งพันธุ์จินจูหลังการหุ้มด้วยสาร โคลชิซิน	101
19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) จำนวนปากใบของ กิ่งฝรั่งพันธุ์จินจูหลังการหุ้มด้วยสาร โคลชิซิน	102
20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความกว้างปากใบ ของกิ่งฝรั่งพันธุ์จินจูหลังการหุ้มด้วยสาร โคลชิซิน	102
21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความยาวปากใบ ของกิ่งฝรั่งพันธุ์จินจูหลังการหุ้มด้วยสาร โคลชิซิน	103
22 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) จำนวนเรณูขนาด ปกติจากดอกฝรั่งพันธุ์จินจูหลังการหุ้มกิ่งด้วยสาร โคลชิซิน	103
23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) จำนวนเรณูขนาด ใหญ่จากดอกฝรั่งพันธุ์จินจูหลังการหุ้มกิ่งด้วยสาร โคลชิซิน	104
24 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) จำนวนเรณูไม่ สมบูรณ์จากดอกฝรั่งพันธุ์จินจูหลังการหุ้มกิ่งด้วยสาร โคลชิซิน	104
25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ขนาดความกว้าง เรณูจากดอกฝรั่งพันธุ์จินจูหลังการหุ้มกิ่งด้วยสาร โคลชิซิน	105
26 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ขนาดความยาวเรณู จากดอกฝรั่งพันธุ์จินจูหลังการหุ้มกิ่งด้วยสาร โคลชิซิน	105

บทที่ 1

บทนำ

ฝรั่ง (*Psidium guajava* L.) เป็นไม้ผลขนาดกลาง ปลูกเป็นการค้ากันทั่วโลก มีพื้นที่เป็นลักษณะเขตร้อนและกึ่งร้อน (Rymbai and Reddy, 2011) เพราะฝรั่งมีถิ่นกำเนิดในอเมริกาเขตร้อน จึงเจริญเติบโตได้ดีและสามารถเจริญเติบโตในทุกภูมิภาคของประเทศไทย มีความทนทานต่อความแห้งแล้ง ปลูกได้ในดินแทบทุกชนิด แหล่งปลูกที่สำคัญอยู่ที่จังหวัดนครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร และชลบุรี พื้นที่ปลูกในประเทศไทยประมาณ 75,000 ไร่ ให้ผลผลิตประมาณ 160,000 ตันต่อปี ผลผลิตส่วนใหญ่ใช้บริโภคภายในประเทศ และส่วนหนึ่งส่งจำหน่ายต่างประเทศ เช่น ฮองกง สิงคโปร์ ฝรั่งสามารถเก็บรักษานอมอาหารในรูปแบบต่างๆ คือ ทำฝรั่งดอง ทำแยม เยลลี่ (Beewar *et al.*, 1983) หรือฝรั่งหีบ และส่วนอื่นๆ ของฝรั่ง เช่น ใบฝรั่งมีสรรพคุณทางยา เช่น กัน ขี้ด คือให้ผลผลิตตลอดปี (ไพโรจน์, 2540) แต่มีมากช่วงเดือนกรกฎาคมถึงกันยายน ปลูกกันหลายพันธุ์ เช่น กลมสาเล่ เป็นสีทอง เป็นต้น ผลแก่สุกมีผิวสีขาวอมเขียว ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ เนื้อมีรสชาติหวานกรอบและอุดมไปด้วยวิตามิน ผลที่สุกแก่มีผิวสีขาวอมเขียวขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ รสชาติหวานกรอบ ฝรั่งอุดมไปด้วยวิตามินนิยมนำมาแปรรูปผลไม้ทั้งพันธุ์ที่มีเมล็ดและไร้เมล็ด ในการรับประทานฝรั่งมีเมล็ดจึงต้องระมัดระวัง เพราะเมล็ดฝรั่งมีความแข็ง (McVaugh, 1968) บางครั้งอาจเป็นอันตรายต่อฟัน ระบบการย่อยอาหาร และระบบขับถ่าย แต่ฝรั่งที่ไม่มีเมล็ดเป็นที่นิยมนำบริโภคมากขึ้นคือฝรั่งไร้เมล็ด เพราะสามารถรับประทานได้ทั้งผล และการรับประทานฝรั่งมีเมล็ดจึงควรระวังเมล็ดฝรั่งที่แข็ง ซึ่งบางครั้งอาจเป็นอันตรายต่อฟันได้

ฝรั่งมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน $X=11$ หรือ $2n=2x=22$ (Ray, 2002) พืชที่มีโครโมโซมหลายชุดหรือพอลิพลอยด์ (polyploid) คือสิ่งมีชีวิตหรือพืชที่มีจำนวนโครโมโซมมากกว่า 2 ชุด ขึ้นไป ($3x, 4x, 6x$) เป็นต้น (ประภา, 2534) การเกิดพอลิพลอยด์อาจเกิดขึ้นได้ 2 ทาง คือเกิดขึ้นเองในธรรมชาติ (spontaneous or natural polyploidy) หรือเกิดโดยมนุษย์ทำขึ้นมา (artificial or induced polyploidy) เช่น การใช้สารเคมี (วิทยา, 2527) โดยช่วยในการเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซม และการศึกษาโครโมโซมร่างกาย (somatic chromosome) เป็นวิธีที่มีการนับจำนวนโครโมโซมหรือศึกษาลักษณะและพฤติกรรมของโครโมโซมในการแบ่งเซลล์ระยะต่างๆ นิยมนำเนื้อเยื่อพืชในบริเวณที่มีการแบ่งเซลล์ เนื้อเยื่อบริเวณที่นิยมใช้และมีการแบ่งตัวแบบไมโทซิส (mitosis) คือ บริเวณปลายราก หรือปลายยอด (ชัยฤกษ์, 2525) ส่วนเนื้อเยื่อที่มีการแบ่งตัวแบบไมโอซิส (meiosis) ศึกษาจากเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้จากอับเรณู (กันยารัตน์, 2532)

ดังนั้น การปรับปรุงพันธุ์เพื่อพัฒนาให้ฝรั่งไร้เมล็ด โดยใช้สารเคมีเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซม 4 ชุด เพื่อใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในอนาคตจากต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจู เพื่อนำต้นฝรั่งที่มีโครโมโซม 4 ชุด ผสมกับฝรั่งที่มีจำนวนโครโมโซม 2 ชุด ลูกผสมที่ได้มีโครโมโซม 3 ชุด หรือ triploid chromosomal plant ซึ่งพืชที่พลอยคมีคุณสมบัติพิเศษ คือ ไร้เมล็ด (seedless crops)

ปัญหาของการวิจัย

ฝรั่งเป็นไม้ผลที่สามารถให้ผลผลิตและบริโภคได้ทั้งปี ผู้บริโภคส่วนใหญ่นิยมรับประทานฝรั่งที่ไม่มีเมล็ด เนื่องจากสามารถรับประทานได้ทั้งผล ส่วนผลที่มีเมล็ดสร้างความยุ่งยากในการรับประทาน คือรับประทานเพียงครึ่งผล ส่วนอีกครึ่งผลเป็นเมล็ดซึ่งต้องแกะทิ้ง หรือแปรรูปเป็นน้ำฝรั่งปั่น ก่อนปั่นต้องแกะเอาเมล็ดออก จึงเป็นการสิ้นเปลืองเวลาในการแยกเมล็ดออก สำหรับในการทดลองครั้งนี้ใช้พันธุ์ฝรั่งที่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค คือพันธุ์เงินจูรวมกับการใช้สารเคมีช่วยเปลี่ยนแปลงจำนวนชุดของโครโมโซมและเพิ่มจำนวนโครโมโซม คือสารโคลชิซิน เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของฝรั่ง เป็นการพัฒนาฝรั่งพันธุ์เงินจูให้มีโครโมโซม 3 ชุด และไร้เมล็ด

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษขนาดของเรณูจากดอกฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังได้รับสารโคลชิซิน
2. เพื่อชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ในต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการแช่เมล็ดและการผสมเกสรด้วยมือ
3. เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสารโคลชิซินที่เหมาะสมต่อการเพิ่มชุดของโครโมโซมในฝรั่งพันธุ์เงินจู

ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดการเพิ่มชุดโครโมโซมของฝรั่งพันธุ์เงินจู
2. ศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการชักนำให้เกิดการเพิ่มชุดของจำนวนโครโมโซมของฝรั่งพันธุ์เงินจู
3. ศึกษาโครโมโซมและจำนวนชุดของโครโมโซมในต้นกล้าฝรั่งหลังจากการให้สารโคลชิซิน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อทราบขนาดต่างๆ ของเรณูจากดอกฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังได้รับสารโคลชิซิน
2. เพื่อชักนำให้เกิดโครโมโซมเป็น 4 และ 3 ชุด ในต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการแช่เมล็ดและการผสมเกสรด้วยมือ
3. เพื่อทราบความเข้มข้นของสารโคลชิซินที่เหมาะสมต่อการเพิ่มชุดของโครโมโซมในฝรั่งพันธุ์เงินจูในการชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ฝรั่ง (Guava)

การจำแนกชั้นทางวิทยาศาสตร์ (Scientific Classification)

Kingdom: Plantae

Division: Magnoliophyta

Class: Magnoliopsida

Subclass: Rosidae

Order: Myrtales

Family: Myrtaceae

Subfamily: Myrtoideae

Tribe: Myrteae

Genus: *Psidium*

Species: *guajava*

ถิ่นกำเนิดและประวัติของฝรั่ง

ฝรั่ง (*Psidium guajava* L.) เป็นไม้ผลขนาดกลางอยู่ในวงศ์ Myrtaceae มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนของทวีปอเมริกา พบมากในประเทศบราซิล เม็กซิโก เปรู ต่อมาขยายเข้ามาสู่ประเทศอินเดียและประเทศไทย ฝรั่งสามารถเจริญเติบโตได้ทุกสภาพภูมิประเทศทั้งในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อน (Mishra *et al.*, 2007) หรือประเทศที่มีอากาศค่อนข้างอบอุ่นแต่ไม่ทนทานต่ออากาศที่เย็นจัด

สำหรับประเทศไทยมีการปลูกกันมากกว่า 35 ปี ตั้งแต่ประเทศไทยเริ่มมีสัมพันธไมตรีกับประเทศอเมริกาและพวกคณะมิชชันนารี ได้นำพันธุ์ฝรั่งเข้ามาเผยแพร่ทำให้คนไทยเรียกผลไม้ชนิดนี้ว่า “ฝรั่ง” และยังได้มีการนำพันธุ์เข้ามาจากประเทศจีน อินเดีย รวมทั้งเวียดนาม มาเพาะปลูกกันแพร่หลายจนกลายเป็นผลไม้พื้นบ้านของประเทศไทย ส่วนฝรั่งในสมัยก่อนๆ อาจมีขนาดไม่ใหญ่โตเหมือนฝรั่งในสมัยนี้ ที่มีทั้งขนาดผลเล็กๆ เช่น ฝรั่งขึ้นก ฝรั่งจีน

เป็นต้น ต่อมาได้มีการปรับปรุงสายพันธุ์ ทำให้มีฝรั่งมากมายที่มีปลูกและจำหน่าย เช่น ฝรั่งเวียดนาม ฝรั่งสาลี่ ฝรั่งอินเดีย รวมทั้งฝรั่งไร้เมล็ด นอกจากนี้การแปรรูปจากผลฝรั่ง เช่น น้ำฝรั่ง เป็นต้น ทำให้ฝรั่งเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญของประเทศไทยมากขึ้น ฝรั่งส่วนใหญ่ทำการเพาะปลูกในภาคกลาง เช่น กรุงเทพฯ นครปฐม สมุทรสาคร ราชบุรี เป็นต้น

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ฝรั่งเป็นพืชวงศ์ Myrtaceae เป็นพรรณไม้ยืนต้นมีขนาดเล็กถึงขนาดกลาง ทรงต้นสูงประมาณ 3-10 เมตร แตกกิ่งเป็นวงกว้างบริเวณใกล้โคนต้น มีเปลือกไม้สีน้ำตาลเทา เมื่อขูดอ่อน มีลักษณะเป็นเหลี่ยมมีจำนวนของเกรสเฟสผู้มาก ผลเป็นแบบมีเนื้อหนึ่งถึงหลายเมล็ด พืชในสกุล *Psidium* มีประมาณ 150 ชนิด และฝรั่งเป็นผลไม้ชนิดบ่มให้สุกได้ (climacteric fruit) โดยปกติฝรั่งมีจำนวนโครโมโซม $X=11$, $2n=22$ (Ray, 2002) และฝรั่งไร้เมล็ดมีจำนวนโครโมโซม $X=11$, $3n=33$ ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้ในธรรมชาติหรือเกิดจากมนุษย์สร้างขึ้น เช่น การปรับปรุงพันธุ์หรือการใช้สารเคมี

ลำต้น (stem)

ที่ผิวเปลือกตอนแรกลำต้นมีสีน้ำตาลอมแดงหรือน้ำตาลอมสีเขียว กิ่งอ่อนเป็นสี่เหลี่ยม มีขนปกคลุมอย่างหนาแน่น ขนสีขาวจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลคล้ำ ลำต้นเรียบเกลี้ยงเปลือกลอกออกง่ายเมื่อลำต้นแก่จัด แต่สำหรับกิ่งแก่ไม่มีปีก

ใบ (leaf)

ใบฝรั่งจัดอยู่ในประเภทใบเลี้ยงคู่ ใบเป็นรูปไข่ ปลายมน ใบเป็นใบหนา ใต้ท้องใบเป็นริ้วเห็นเส้นใบได้ชัด ใบอ่อนสีเขียวลักษณะไม่เรียบมีขนปกคลุมแตกแยกออกเป็น 2 แนว เรียงตัวตรงข้ามกันส่วนด้านบนมีร่องลึกและมีขนขึ้นนวลบางขนาดของใบยาวประมาณ 2-5 นิ้ว กว้างประมาณ 1.5-3.00 นิ้ว

ดอก (flower)

ดอกออกเป็นช่อบริเวณซอกใบ ในหนึ่งช่อมีดอกย่อยประมาณ 3-5 ดอก ลักษณะของดอกเป็นดอกเล็ก มีสีขาวอมเขียวอ่อนๆ กลีบเลี้ยงแข็งมีความคงทนมาก ก้านดอกเป็นสีเขียวอมเหลือง และมีขนอ่อนสีเขียวอมเหลืองปกคลุมอยู่บริเวณกลีบรองดอก ขณะดอกยังตูมกลีบเลี้ยง

หุ้มส่วนอื่นๆ ของดอกไว้ หลังจากที่ถูกปลีเลี้ยงที่หุ้มดอกแตกออกดอกเริ่มคลี่บาน ดอกเริ่มบานตั้งแต่ 4.00-10.00 น. แต่ช่วงที่ดอกบานมากที่สุดคือช่วง 5.00-7.00 น. ในกรณีของฝรั่งพันธุ์ป่าดอกบานช่วง 4.00-6.00 น. เกสรตัวผู้เริ่มแตกประมาณ 15-20 นาที เรณูเริ่มแตกออกจากเกสรเพศผู้ประมาณ 45 นาทีหลังดอกบาน ช่วงนี้ฝรั่งพร้อมในการถ่ายเรณูให้แก่เกสรเพศเมีย และช่วงเวลาการปฏิสนธิขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของฝรั่ง (Ray, 2002) ส่วนการพัฒนาการของดอก พืช โดยทั่วไปการออกดอกเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (shoot apical meristem) จากการเติบโตและพัฒนาการทางลำต้นไปสู่การเติบโต และพัฒนาการทางการสืบพันธุ์โดยเกิดการพัฒนาอย่างเป็นลำดับและต่อเนื่องของเนื้อเยื่อเจริญของดอก (floral meristem) เพื่อสร้างโครงสร้างดอก การออกดอก การออกดอกสามารถแบ่งได้เป็น 3 ระยะ คือ

1. ระยะ induction
2. ระยะ evocation
3. ระยะ floral development (ลิลลี่ และคณะ, 2548)

ผล (fruit)

ลักษณะของผลเป็นรูปต่างกันตามลักษณะของแต่ละชนิดพันธุ์ แต่ลักษณะของผิวเกลี้ยงเรียบ ผลเมื่อยังอ่อนจะเป็นสีเขียวแก่หรือเขียวอ่อน แต่เมื่อผลสุกเปลี่ยนเป็นสีเหลือง มีกลิ่นหอม เมล็ดติดอยู่กับเนื้อชั้นในใจกลางของผล มีเมล็ดจำนวนมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ เมล็ดมีสีเหลืองอ่อน หรือน้ำตาลอมเหลือง เปลือกแข็ง เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.2-0.3 เซนติเมตร ความยาว 0.3-0.5 เซนติเมตร รูปร่างมีลักษณะโค้งคล้ายไต (นฤมล, มมป.) ทิพย์วรรณ (2542) ได้ศึกษาทดลองอิทธิพลของสารจิบเบอเรลลินต่อความเข้มข้น (GA_3 , GA_{4+7} และ $GA_{4+7}+BA$) ต่อการติดผลของฝรั่งพันธุ์กลมสาเล่ และพันธุ์บางกอกแอปเปิล พบว่าการฉีดพ่นสารในระยะหลังดอกบาน 3 วัน มีผลทำให้จำนวนเมล็ดน้อยกว่าการฉีดสารในระยะก่อนดอกบานและระยะบานเต็มที่ และฉีดพ่นสารเพียง 1 ครั้ง ทำให้เปอร์เซ็นต์การติดผลดีกว่า 2 ครั้ง พันธุ์กลมสาเล่เมื่อฉีดพ่นสารในระดับความเข้มข้นสูง ทำให้เปอร์เซ็นต์การติดผลลดลง แต่อย่างไรก็ตาม จิบเบอเรลลินระดับความเข้มข้นสูง มีแนวโน้มในการลดจำนวนเมล็ดของฝรั่งพันธุ์กลมสาเล่เช่นกัน

สายพันธุ์ฝรั่ง

ความหลากหลายด้านพันธุกรรมของฝรั่งแสดงออกมาในหลายรูปแบบ เช่น ขนาดผล รูปร่างผล ขนาด และ ความแข็งของเมล็ด รสชาติ กลิ่น ลักษณะเนื้อ สีเนื้อ ปริมาณวิตามินซี

ความอ่อนแอต่อโรคและแมลงศัตรูพืช และต่อการแตกของผล ผลผลิต ทรงต้น ความแข็งแรงของต้น ช่วงเวลาที่ใช้ในการออกดอกจนถึงผลแก่ การตอบสนองต่อการชักนำการออกดอก และมีรายละเอียดแต่ละสายพันธุ์ดังต่อไปนี้

พันธุ์จีนก

ฝรั่งพันธุ์จีนก เป็นฝรั่งที่มีขนาดเล็กมาก จำนวน 20-25 ผลต่อกิโลกรัม ใ้สีสีแดง ไม่มีการปลูกเป็นสวนเพื่อการพาณิชย์ สันนิษฐานว่าเป็นฝรั่งอินเดียที่มีการนำเข้ามาปลูกและมีการพัฒนาพันธุ์ขึ้นมา

ลักษณะประจำพันธุ์

ต้น ลำต้นมีการเจริญเติบโตช้า

ผล มีขนาดเล็กมาก รูปไข่ เนื้อสีชมพู เนื้อบาง รสชาติหวานอมเปรี้ยวหรือมีรสฝาดปน

เมล็ด ขนาดเล็กและแข็ง

พันธุ์แป้นสีทอง

ฝรั่งพันธุ์แป้นสีทองจัดว่าเป็นฝรั่งที่นิยมรับประทานผลสดมากที่สุด และครองตลาดต่อเนื่องอย่างยาวนาน โดยพันธุ์นี้ปรากฏครั้งแรกในงานเกษตรแห่งชาติที่เกษตรศาสตร์ บางเขน เมื่อวันที่ 31 มกราคม 2534 โดยคุณสมัย แดงสมบูรณ์ ชาวสวน ตำบลบางช้าง อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ได้ส่งเข้าประกวดในนามฝรั่งกลมสาลี่ซึ่งได้รับรางวัลที่ 1 (ประจำปี, 2542) เป็นที่สนใจ และเชื่อว่าฝรั่งแป้นสีทองอาจเกิดมาจากฝรั่งพันธุ์บางกอกแอปเปิล

ลักษณะประจำพันธุ์ เป็นฝรั่งที่มีผลขนาดใหญ่ เนื้อหนา มีเมล็ดน้อย ลำต้นใหญ่ กิ่งก้านใหญ่ แข็งแรง เพราะรูปร่างผลกลมแป้น ผิวสวย เป็นทรงกลมสวยงาม และสามารถเก็บรักษาได้นานกว่าสายพันธุ์อื่นจึงมีการตั้งพันธุ์นี้ชื่อว่าเป็นสีทอง

พันธุ์กลมสาลี่

เป็นพันธุ์ที่ตลาดนิยมที่สุดในอดีต ก่อนเปลี่ยนมานิยมพันธุ์แป้นสีทองในปัจจุบัน เพราะมีข้อดีกว่าพันธุ์แป้นสีทองหลายประการ เช่น ผลที่มีขนาดเล็กกว่า ความดกของผลน้อยกว่า ใ้ผลมากเท่าใ้ผลยิ่งเล็ก เพราะพันธุ์กลมสาลี่มีขนาดของกิ่งเล็ก ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการคัดแต่งกิ่งมาก แต่มีข้อดีคือ มีการให้ผลสม่ำเสมอ ผลค่อนข้างทนทานต่อการขนส่ง ไม่เหี่ยวง่าย เก็บไว้ได้นาน เมื่อผลแก่สามารถปล่อยให้บนต้นได้นานกว่าพันธุ์อื่นๆ

ลักษณะประจำพันธุ์ ฝรั่งพันธุ์กลมสาละมีน้ำหนักต่อผลประมาณ 300-350 กรัม ทรงผลกลมแป้นถึงกลมทรงสูง ด้านขั้วเว้าลงลึก ด้านก้นผลเรียบ ผิวเรียบถึงขรุขระเล็กน้อย เนื้อหนา ด้านนอกเป็นสีขาวปนเขียว เนื้อด้านในเป็นสีขาว เนื้อหนาแน่นกรอบ รสชาติหวานอมเปรี้ยว มีรสฝาดเล็กน้อย เมื่อสุกเนื้อนุ่มเป็นทราย มีกลิ่นหอม ไข่เป็นเนื้อตัน มีเมล็ดเล็กและแข็งจำนวนมาก มีสีน้ำตาลอ่อน

ไร้เมล็ดพันธุ์เงินจูหรือเงินจู

ในกลุ่มของฝรั่งไร้เมล็ดพันธุ์เงินจูหรือเงินจู โดยอาจารย์ประทีป ภูณาสล อดีตผู้เชี่ยวชาญทางด้านไม้ผลจากกรมวิชาการเกษตรนำเข้ามาจากไต้หวัน เมื่อประมาณปี พ.ศ. 2542 ประวัติความเป็นมาของฝรั่งพันธุ์นี้พบว่ามีความเกี่ยวข้องกับประเทศไทย คือเป็นสายพันธุ์ฝรั่งที่อยู่ในสถานทดลองพืชสวนไต้หวันแห่งหนึ่งทางตอนใต้ของประเทศ เป็นฝรั่งที่ได้จากการเพาะเมล็ดและกลายพันธุ์มาดี โดยเกิดจากการผสมพันธุ์ของไทย 2 สายพันธุ์ คือ พันธุ์กลมสาละ (มีเมล็ด) และพันธุ์บางกอกแอปเปิล ซึ่งไม่มีเมล็ดสำหรับเกษตรกรที่ปลูกเริ่มแรกคือ คุณวิลัง โก ควงจิลา จังหวัดสมุทรสาคร ได้อธิบายถึงลักษณะเด่นของฝรั่งสายพันธุ์นี้ซึ่งจัดเป็นฝรั่งที่มีเมล็ดน้อยมากถึงไม่มีเมล็ด แต่มีลักษณะเด่นเมื่อผลแก่มีรสชาติดหวานกรอบมาก (นายเกษตร, 2548) และเนื้อไม่หยาบ เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่น ส่วนใหญ่เนื้อหยาบ (ทวีศักดิ์, 2548) ซึ่งในประเทศไทยเรียกฝรั่งพันธุ์นี้ว่าพันธุ์กิมจู แต่มีข้อเสียคือ ไม่สามารถเก็บรักษาได้นานคือ ประมาณ 1 วัน ผลเริ่มสุกนึ่งและเลิรสชาติ (ประสิทธิ์ศิลป์, 2548)

พันธุ์บางกอกแอปเปิล

ฝรั่งพันธุ์บางกอกแอปเปิล เป็นพันธุ์นิยมปลูกในประเทศมาเลเซีย อินโดนีเซีย และฟิลิปปินส์ แต่ไม่นิยมปลูกในประเทศไทย

ลักษณะประจำสายพันธุ์ ผลมีขนาดใหญ่ น้ำหนักประมาณ 600-1,000 กรัม ผิวสีเขียวอ่อนเนื้อหนาแน่นตลอดทั้งผล รสชาติดหวานอมเปรี้ยว กรอบ รูปทรงผลสวย ตั้งชื่อบางกอกแอปเปิล เพราะรูปร่างคล้ายผลแอปเปิล ไร้เมล็ด ผลสุกช้า เมื่อสุกเนื้อไม่ละ

ฝรั่งไร้เมล็ด

เป็นฝรั่งไร้เมล็ดที่เป็นที่นิยมของผู้บริโภคและพันธุ์ที่นำเข้ามาจากมาเลเซีย สันนิษฐานว่าฝรั่งพันธุ์นี้ประเทศมาเลเซียพัฒนาขึ้นมาจากฝรั่งพันธุ์บางกอกแอปเปิล ซึ่งฝรั่งไร้เมล็ด

เป็นที่รู้จักและปลูกเป็นการค้า มีเพียงพันธุ์บางกอกแอปเปิลเท่านั้น แต่ปัญหาของพันธุ์นี้คือติดผลยาก จึงทำให้พันธุ์สาลีทองไร้เมล็ด มีข้อดีกว่าในแง่การลงทุน เป็นที่ต้องการของตลาด

ลักษณะประจำพันธุ์ ผลมีรูปร่างสวยแปลกตา สีผิวสวย ไร้เมล็ด รสชาติเปรี้ยวเล็กน้อย

พันธุ์เด่นขุนวัง

ฝรั่งพันธุ์เด่นขุนวัง เป็นฝรั่งที่ได้รับความนิยมจากชาวสวน แต่ให้ผลผลิตน้อยกว่าเป็นสีทองเล็กน้อย

ลักษณะประจำสายพันธุ์ มีรูปร่างและขนาดของผล ไม่แตกต่างจากฝรั่งพันธุ์แป้นสีทอง แต่แตกต่างกันภายในผลเด่นขุนวังไร้เมล็ดและรสชาติดี

สภาพแวดล้อมของฝรั่ง

ฝรั่งจัดเป็นไม้ผลที่มีความทนทานต่อสภาพอากาศที่แห้งแล้งได้เป็นอย่างดี สามารถให้ผลผลิตสม่ำเสมอในที่มีแสงแดดส่องทั่วถึง และปริมาณน้ำฝนปานกลาง เพราะฝรั่งชอบแสงแดด สำหรับพื้นที่ที่มีฝนตกชุก และมีความชื้นสูงมากส่งผลกระทบต่อ ทำให้มีผลผลิตน้อยและมีความทนทานต่อโรคและแมลงศัตรูพืช ลดลง สำหรับประเทศไทยมีสภาพอากาศที่เหมาะสมในการปลูกฝรั่งทุกพันธุ์

ดิน

ฝรั่งเป็นไม้ที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับไม้ผลชนิดอื่นๆ ดังนั้น ฝรั่งจึงสามารถปลูกได้ในดินเกือบทุกสภาพและทุกภาคของประเทศไทย นอกจากนี้ฝรั่งไร้เมล็ดยังสามารถปลูกได้แม้ดินที่เป็นกรด (pH ต่ำกว่า 4.5) และดินที่เป็นด่างอ่อนๆ (pH ประมาณ 7.5) หากเป็นดินเหนียวระบายน้ำยากต้องยกเป็นร่องสูงเพื่อไม่ให้ดินและจนเกินไป พื้นที่อยู่ใกล้แม่น้ำ ภาควิชาการปลูกฝรั่งในที่ดอนนั้นการเตรียมพื้นที่ไม่ยุ่งยากมากนัก คือ หากมีวัชพืชมากควรทำการไถพรวน ไถหนึ่งรอบเพื่อกำจัดหญ้า หากปลูกพืชในแปลงมาก่อนและพืชแสดงอาการขาดแคลเซียม หรือ แมกนีเซียม ควรหว่านแคลเซียมคาร์บอเนต หรือ หินปูนบด ปูนมาร์ล ปูนขาว ปูนโดโลไมท์ หรือ พอกยิปซัม

อุณหภูมิ

ต้นฝรั่งสามารถทำการเพาะปลูกได้ในเขตที่มีอากาศร้อนและกึ่งร้อน ทำการเพาะปลูกได้ในอากาศชุ่มชื้น หากปลูกต้นฝรั่งเพื่อการค้าจะต้องทำการปลูกในแหล่งที่มีอากาศร้อน มีอุณหภูมิประมาณ 16 องศาเซลเซียส และฤดูหนาวมีอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 7 องศาเซลเซียส

ลม

การเพาะปลูกต้นฝรั่งไม่ต้องกลัวเรื่องลมโกรก เพราะว่าต้นฝรั่งมีระบบรากที่แข็งแรง กิ่งเหนียว มีข้อยกเว้นสำหรับในพื้นที่ที่ลมพัดแรง ทำให้เกิดใบร่วงได้และส่งผลเสียต่อการออกดอกและติดผล ควรทำการเพาะปลูกไม้ไว้สำหรับกันลม

การปลูกและการดูแลรักษา

การปลูกฝรั่ง นิยมใช้ระยะปลูก 3 x 4 ตารางเมตร หรือ 4 x 4 ตารางเมตร หรือประมาณ 100 ต้น/ไร่ สามารถปลูกได้ทั้งที่ลุ่มและที่ดอน ในที่ลุ่มควรขุดร่องส่วนที่ดอนไม่จำเป็นต้องขุดร่อง ฝรั่งจัดเป็นไม้ผลไม้ที่ทนน้ำท่วมขังได้ดีและทนแล้งได้พอสมควรแต่อย่างไรก็ตาม ฝรั่งยังต้องการดินที่มีอินทรีย์วัตถุสูงควรมีการใส่ปุ๋ยคอกปุ๋ยหมัก เพราะทำให้ผลมีคุณภาพและรสชาติดี ถ้ามีการเตรียมหลุมปลูกที่ดีฝรั่งเจริญเติบโตในช่วงปีแรกเร็ว พบเกษตรกรบางรายเตรียมหลุมขนาด 50x50 ตารางเซนติเมตร นำปุ๋ยหมักลงไปหลุมอย่างน้อย 3 เดือน ก่อนปลูก นำปุ๋ยคอกและเศษพืชต่างๆ ใส่ลงไปทั้งไว้อย่างน้อย 3 เดือน แล้วนำกิ่งพันธุ์มาปลูก ก่อนปลูกควรแน่ใจว่าปุ๋ยที่หักสลายตัวแล้ว ไม่เกิดความร้อน โดยการทดลองใช้มือคุ้ยดินผสมในหลุม มีการย่อยสลายดีและไม่มีความร้อน สามารถนำกิ่งพันธุ์ลงปลูกได้ หลังจากปลูกประมาณ 6 เดือน วิธีนี้ฝรั่งเจริญเติบโตเต็มที่พร้อมให้ผลผลิตได้ หากไม่สามารถทำตามวิธีดังกล่าวได้แนะนำให้ขุดหลุมขนาด 30 x30 ตารางเซนติเมตร นำปุ๋ยหมักสำเร็จใส่ผสม อาจใส่ปุ๋ยเคมีประมาณ 10-15 กรัม รองก้นหลุมแล้วกลบดินทับอย่างน้อยหนึ่งฝ่ามืออย่าให้ปุ๋ยสัมผัสกับรากโดยตรง หลังจากปลูกควรปักไม้ยึดลำต้น รดน้ำให้ชุ่ม

การดูแลรักษาในช่วง 6 เดือนแรก

การให้น้ำควรรดน้ำให้สม่ำเสมอเพราะฝรั่งชอบน้ำแต่ไม่ชอบแฉะในช่วง 6 เดือนแรก หากไม่มีฝนควรรดน้ำ วันละ 2 ครั้ง เช้า เย็น ส่วนใหญ่ในการสวนแบบขุดร่องมักรดน้ำวันละ 1 ครั้ง เมื่อต้นโตแล้วการรดน้ำก็เว้นระยะได้ 6 เดือน ในฤดูแล้งระยะที่ใกล้ออกดอก ควรงดการให้น้ำ

มากเพราะการให้น้ำมากเกินไปในระยะออกดอก ทำให้ชะลอการออกดอกส่วนระบบการให้น้ำ เกษตรกรที่มีสวนขนาดใหญ่ สวนฝรั่งที่ปลูกในคอนอาจจะมีการให้น้ำระบบมินิสปริงเกอร์ ฝรั่งที่ ปลูกในที่ลุ่มอาจใช้วิธีการรดน้ำระหว่างร่อง ควรพรวนดินเดือนละ 2 ครั้ง เพื่อกำจัดวัชพืชหรืออาจ ใช้สารกำจัดวัชพืช

การห่อผลฝรั่ง

เมื่อผลผลิตออกมามีขนาดโตประมาณลูกมะนาว โดยทำการห่อผลฝรั่งให้มีฉิดฉิด เพื่อเป็นการป้องกันแมลงรบกวน เพื่อได้ผลฝรั่งที่สีผิวสวย รสชาติอร่อยและปลอดภัยจากสารเคมี ซึ่งเทคนิคพิเศษในการห่อผลฝรั่งและผลไม้ทุกชนิดที่ทำให้แมลงไม่สามารถเข้าไปรบกวนได้โดยไม่ใช้สารเคมีใดๆ และทำให้ฝรั่งมีรสชาติอร่อยอีกด้วยโดยมีวิธีการดังนี้

อุปกรณ์ที่ต้องเตรียมในการห่อผลฝรั่ง

1. กระดาษขนาด A4 จำนวน 1 แผ่นต่อฝรั่ง 1 ผล
2. ถุงพลาสติกสีขาวขุ่นขนาด 6 x 14 ตารางเซนติเมตร จำนวน 1 ถุงต่อ 1 ผล

วิธีการห่อ

การห่อผลฝรั่งสามารถใช้ถุงห่อผลไม้สำเร็จมาห่อได้แต่มีราคาแพง ซึ่งสามารถ คัดแปลงโดยใช้ถุงห่อแบบประหยัดได้ดังนี้

1. นำกระดาษ A4 มาพับครึ่งตามแนวขวาง
2. ฉีกกระดาษตามแนวพับยาวประมาณ 2 นิ้ว
3. ก่อนนำกระดาษห่อผลฝรั่ง ให้เด็ดส่วนที่เป็นเกสรที่ติดอยู่กับผลฝรั่งออกจน หมดเพื่อเป็นการป้องกันแมลงเข้าไปอาศัยอยู่และทำลายผลผลิตหลังห่อ
4. นำกระดาษในส่วนที่เป็นรอยฉีกวางไว้ด้านบนสุดของผลฝรั่งที่ติดกับขั้ว
5. พับกระดาษลงมาให้กระดาษคลุมโดยรอบของผลฝรั่งแล้วพับกระดาษในส่วน ด้านล่างให้ปิดผลฝรั่งจนมิดทั้งผล
6. นำถุงพลาสติกสีขาวขุ่นที่เตรียมไว้เข้าคลุมด้านนอกให้มีฉิดฉิดอีกครั้ง
7. หลังห่อผลประมาณ 60 วัน สามารถเก็บผลผลิตจำหน่ายได้

การตัดแต่งกิ่งฝรั่งและการกระตุ้นการออกดอกฝรั่ง

สำหรับการตัดแต่งกิ่งฝรั่งในต้นที่สมบูรณ์ตัดออกประมาณ 25-30 เปอร์เซ็นต์ ส่วน การบังคับให้ฝรั่งออกดอกเร็วขึ้นนั้น โดยปกติแล้วฝรั่งออกดอกบริเวณส่วนยอดเกิดใหม่ที่โคนก้าน

คือ ใบคู่ที่ 3-4 บนกิ่งอ่อน โดยทั่วไปฝรั่งให้ผลเร็วถ้าเป็นฝรั่งที่ได้จากกิ่งตอน เก็บผลครั้งแรกเมื่ออายุได้ประมาณ 1 ปี หรือถ้าเป็นต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ดเก็บผลได้ช้ากว่า คือ อายุประมาณ 1-2 ปี ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ฝรั่ง ดังนั้นการปลูกฝรั่งเมื่อมีการออกดอกติดผลอาจใช้การกระตุ้นการออกดอกของฝรั่ง โดยวิธีการดังต่อไปนี้

1. การโน้มกิ่งฝรั่งมีช่อดอกที่กิ่งอ่อน ดังนั้นการทำให้เกิดกิ่งอ่อนชักนำให้เกิดดอกได้ การโน้มกิ่งฝรั่งให้อยู่ในแนวระดับแล้วใช้ไม้รวกยึดปักไว้ เเร่งใส่ปุ๋ย รดน้ำ ฝรั่งแตกกิ่งจากกิ่งที่โน้มพร้อมทั้งมีช่อดอกออกมาด้วย
2. การตัดแต่งทำให้เกิดการแตกกิ่งอ่อนและช่อดอกได้กิ่งที่ตัดแต่งคือ กิ่งที่อ่อนแอ กิ่งที่เป็นโรคและกิ่งที่อยู่ในทรงพุ่มแน่นทึบ
3. การทำให้ใบร่วง โดยใช้ปุ๋ยยูเรียพ่นให้ทั่วทั้งต้น เพื่อให้ใบฝรั่งร่วงหมดระยะนี้ ต้องให้น้ำและปุ๋ยบำรุงต้น หลังจากนั้นประมาณ 5 สัปดาห์ จะเห็นช่อดอกเจริญออกมาพร้อมกิ่งอ่อนที่แตกขึ้นใหม่และเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ใน 5 เดือน หลังจากแตกยอดอ่อน
4. การเคี้ยช่อดอกฝรั่งโดยนับใบจากปลายกิ่งถึงใบคู่ที่ 4 จึงเคี้ยช่อดอกทิ้ง จากนั้นฝรั่งจะเริ่มแทงช่อดอกออกมา

คุณค่าอาหารที่เป็นประโยชน์ของฝรั่ง

สำหรับคุณค่าทางด้านสารอาหารของฝรั่งนั้นในปริมาณ 100 มิลลิกรัม ฝรั่งอุดมไปด้วยวิตามินซี 1,600 มิลลิกรัม ให้พลังงาน 34 แคลอรี โปรตีน 0.6 กรัม ไขมัน 0.1 กรัม คาร์โบไฮเดรต 8 กรัม โยอาหาร 2.9 กรัม แคลเซียม 2 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 12 มิลลิกรัม เหล็ก 0.4 มิลลิกรัม เบต้า-แคโรทีน 21 ไมโครกรัม วิตามินบี 1 0.05 มิลลิกรัม วิตามินบี 2 0.11 มิลลิกรัม ไนอะซิน 1.3 มิลลิกรัม วิตามินซี 187 มิลลิกรัม ฝรั่งมีวิตามินมากกว่าส้มเขียวหวานถึง 9 เท่า ซึ่งเพียงพอต่อความต้องการของร่างกายในแต่ละวัน (30-40 มิลลิกรัม) และนอกจากผลแล้วใบฝรั่งมีประโยชน์ และมีคุณค่าเป็นยาสมุนไพรด้วย เช่น ใช้บรรเทาอาการท้องเสียหรือนำมาเคี้ยวดับกลิ่นปาก

ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ของฝรั่ง

คุณสมบัติทางยา สามารถแบ่งได้ 2 ประเภท คือ รักษาภายในและรักษาภายนอก คือ ใบฝรั่งและผลอ่อนฝรั่ง

สารเคมีสำคัญในใบฝรั่งและผลฝรั่งอ่อน

1. แทนนิน (tannin) มีรสฝาด พบว่าใบฝรั่งมีสารแทนนิน 8-15 เปอร์เซ็นต์ เป็นประเภท Catechol และ Pyrogallol เป็นสารที่ก่อให้เกิดรสฝาด มีฤทธิ์ในการลดการระคายเคืองของ

ลำไส้ ลดการสูญเสียน้ำ มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในกระเพาะอาหารและลำไส้ เช่นแบคทีเรียชื่อว่า *Staphylococcus aureus* และ *E.coli*

2. ฟลาโวนอล (flavanol) สามารถพบได้ทุกส่วนของพืชและเป็นสารที่มีสีออกแดง เหลือง ม่วง น้ำเงิน เป็นชนิดเดียวกับสารในผลโกโก้ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและทำให้หัวใจทำงานดีขึ้น

3. วิตามินซี
4. แร่ธาตุแคลเซียม
5. แร่ธาตุเหล็ก

ใบฝรั่ง

ใบฝรั่งที่แก่สมบูรณ์เต็มที่ ช่วยบรรเทาอาการท้องเสีย มีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ ในการออกฤทธิ์แก้อาการท้องเสีย สารที่พบคือ Quercetin และ Quercetin-3 arabinoside โดยยับยั้ง Acetylcholine มีผลทำให้หยุดถ่าย และมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส และพยาธิ เป็นสาเหตุของอาการท้องเสีย สารสกัดจากใบด้วยน้ำ สามารถต้านเชื้อ *Shigella dysenteriae* การทดลองทางคลินิกใช้รักษาอาการท้องเสีย มีรายงานการรักษา โดยใช้แคปซูลใบฝรั่งแห้งบดเป็นผงกับคนไข้ อุจจาระร่วง 122 คน ชาย 64 คน หญิง 58 คน โดยรับประทาน 2 แคปซูลๆ ละ 250 มิลลิกรัม ทุก 3 ชั่วโมง นาน 3 วัน พบว่าได้ผลดีกว่า Tetracycline และไม่พบอาการข้างเคียง

ผลฝรั่ง

ผลฝรั่งอ่อนมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียซึ่งเป็นสาเหตุของอาการท้องเสียฆ่าเชื้อแบคทีเรียสาเหตุของโรคไทฟอยด์ (*Bacillus typhosus*) สารสำคัญในการออกฤทธิ์แก้อาการท้องเสีย ผลฝรั่ง มีรสฝาดใช้แก้อาการท้องเสีย

ใบฝรั่งแห้งบดเป็นผงช่วยรักษาโรคอุจจาระร่วง มีการศึกษาวิจัยโดยใช้ใบฝรั่งแห้งบดเป็นผง แล้วบรรจุในแคปซูล ทำให้รับประทานได้ง่าย และสามารถพกพาได้ไปสะดวก สามารถฆ่าเชื้อ *Salmonella typhosa* และ *Shigella antidysenterae* ได้ และสรุปผลได้ว่าใบฝรั่งสามารถลดอาการอุจจาระร่วงและลดระยะเวลาของการถ่ายเหลวได้ โดยไม่พบอาการข้างเคียงจากยา นอกจากนี้ ใบฝรั่งช่วยลดอาการปวดประจำเดือน มีการวิจัยสารสกัดด้วยเอทานอลจากใบฝรั่ง (ในสารสกัดขนาด 300 มิลลิกรัม จะต้องมียาฟลาโวนอล 1 มิลลิกรัม)

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในพืช

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในพืช แบ่งออกเป็น 2 ชนิด

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในพืช แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ พัฒนาการของเรณู (Pollen development) ส่วนสืบพันธุ์เพศผู้ (male gamete) การสร้างเรณูเกิดขึ้นภายในอับเรณูของเกสรเพศผู้ ภายในอับเรณู ประกอบด้วยเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์ (microspore mother cell) หรือไมโครสปอโรไซต์ (microsporocyte) จำนวนมาก แต่ละเซลล์มีจำนวนโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ ($2n$) ซึ่งเมื่อแต่ละเซลล์แบ่งตัวแบบไมโอซิสจาก 1 เซลล์ จะกลายเป็น 4 เซลล์ แต่ละเซลล์เรียกว่าไมโครสปอร์ (microspore) มีจำนวนโครโมโซมเป็นแฮพลอยด์ จากนั้นแต่ละไมโครสปอร์จะแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส โดยไม่มีการแบ่งไซโทพลาซึมทำให้แต่ละเซลล์มี 2 นิวเคลียส นิวเคลียสอันหนึ่งเรียกว่า ทูบนิวเคลียส (tube nucleus) อีกหนึ่งนิวเคลียสเรียกว่า เขเนอเรทีฟ นิวเคลียส (generative nucleus) และเขเนอเรทีฟ นิวเคลียส แบ่งเซลล์แบบไมโทซิสอีกครั้ง โดยไม่มีการแบ่งไซโทพลาซึมได้ 2 สเปิร์มนิวเคลียส (sperm nucleus) เซลล์ที่ได้ดังกล่าวนี้เรียกว่าเรณู การสร้างไข่ (megasporogenesis) เกิดขึ้นภายในรังไข่ ของเกสรเพศเมีย ซึ่งประกอบด้วย เมกะสปอร์มาเทอร์เซลล์ (megaspore mother cell) หรือเมกะสปอโรไซต์ (megasporocyte) โดยเริ่มจาก 1 เซลล์ แบ่งแบบไมโอซิสได้ 4 เซลล์ แต่ละเซลล์เรียกว่าเมกะสปอร์ (megaspore) มีจำนวนโครโมโซมเป็นแฮพลอยด์ (n) ต่อจากนั้น 3 เมกะสปอร์ จะสลายตัวหายไปคงเหลือ 1 เมกะสปอร์ ซึ่งแบ่งนิวเคลียสแบบไมโทซิส 3 ครั้ง โดยไม่มีการแบ่งไซโทพลาซึม ได้เซลล์ที่มีขนาดใหญ่ภายในมี 8 นิวเคลียส โดย 3 นิวเคลียสมาเรียงตัวกันอยู่ทางด้านรูเปิดไมโครไพล์ (micropyle) นิวเคลียสอยู่ตรงกลางเรียกว่าไข่ (egg) อีก 2 นิวเคลียสประกบอยู่ 2 ด้านข้างของเซลล์ไข่ เรียกว่า ซินเนอร์จิด (synergid) อีก 3 นิวเคลียสเรียงตัวกันอยู่ด้านตรงข้ามกับรูไมโครไพล์ เรียกว่าแอนติโอดัล (antipodal) ที่เหลืออีก 2 นิวเคลียสเรียงตัวอยู่ตรงกลาง เรียกว่า โพลาร์นิวเคลียส (polar nuclei) เรียกเซลล์ขนาดใหญ่นี้ว่าถุงเอ็มบริโอ (embryo sac) ถุงเอ็มบริโอนี้ถูกล้อมรอบด้วยเนื้อเยื่อของรังไข่ เรียกว่า อินทิกูเมนต์ (integument) และนูเซลลัส (nucellus) ที่ปลายด้านหนึ่งของถุงเอ็มบริโอจะมีรูเปิดเรียกว่า ไมโครไพล์ ซึ่งเป็นช่องทางที่ โพลเลนทูป (pollen tube) แทรกตัวเข้าไปเพื่อนำทางให้สเปิร์มนิวเคลียสทั้ง 2 เซลล์เข้าผสมกับไข่ และโพลาร์นิวเคลียส สเปิร์มนิวเคลียสที่เข้าปฏิสนธิกับไข่กลายเป็นไซโกตและเจริญเติบโตเป็นเอ็มบริโอ ($2n$) ส่วนสเปิร์มที่เข้าผสมกับโพลาร์นิวเคลียสทั้ง 2 นิวเคลียส รวมเป็น 3 นิวเคลียส จะเจริญเป็นเอนโดสเปิร์ม (endosperm) หรือเนื้อเยื่อสะสมอาหารสำหรับต้นอ่อนซึ่งมีจำนวนโครโมโซมเป็นทรินพลอยด์ ($triploid = 3n$) ถุงเอ็มบริโอทั้งถุงที่ถูกผสมแล้วนี้ คือส่วนที่เป็นเมล็ด ส่วนผนังหุ้มรังหรือฐานรองดอกจะเจริญเป็นผลหุ้มเมล็ดไว้ภายในอีกทีหนึ่ง (ชลธิชา, 2547)

การแบ่งเซลล์ในเซลล์สืบพันธุ์ (sex cell)

การแบ่งเซลล์สืบพันธุ์ (sex cell division) มีการเพิ่มจำนวนโครโมโซมเพียงหนึ่งครั้ง แต่มีการแยกตัวของโครโมโซมและไซโทพลาสซึมสองครั้ง เป็นผลให้จำนวนโครโมโซมของแต่ละเซลล์ลดลงเหลือครึ่งหนึ่งจากเซลล์เริ่มต้น การแบ่งเซลล์เพื่อลดรูปร่างทางพันธุกรรมแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนคือ

1. การแบ่งเพื่อลดจำนวนโครโมโซม (reductional division หรือ meiotic I)
2. การแบ่งเซลล์เพื่อให้โครมาติดเซลล์แยกออกจากกัน (duplicational division หรือ meiotic II) (กฤษฎา, 2546) ในกิจกรรมการเติบโตและการแบ่งเซลล์ โคลชิซินเป็นสารเคมีที่ใช้เพิ่มจำนวนของโครโมโซม Seneviratne *et al.* (2002) ได้ทดลองใช้สารโคลชิซินในการสร้างดอกของ African violets เพื่อการเพิ่มกลีบดอกสีขาว กลีบดอกชั้นเดียวสีม่วงมีขอบใบ โดยให้โคลชิซินในความเข้มข้นที่ต่างกัน (0.04, 0.06 และ 0.09 เปอร์เซ็นต์) และระยะเวลาที่ต่างกัน (21.5, 22.5, 23.5, และ 48 ชั่วโมง) ส่วนผสมมีทรายแม่น้ำและใบไม้อัตรา 1:1 สังเกตใช้ระยะเวลา 8 เดือน ในโรงเรือน การใช้โคลชิซินมีความสม่ำเสมอของสีดอก การตัดแต่งใบ การเลี้ยงเนื้อเยื่อการใช้โคลชิซินจำนวนดอกลดลงที่ 0.06 เปอร์เซ็นต์ จำนวนของกลีบดอกเพิ่มขึ้น (5-10 กลีบดอก) การให้สาร 0.04 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 23.5 ชั่วโมง ความเข้มข้นนี้จะเพิ่มกลีบดอก

กระบวนการถ่ายเกสร

กระบวนการถ่ายเรณู คือวิธีการที่เกสรเพศผู้เคลื่อนที่ไปตกลงบนยอดเกสรเพศเมีย เพื่อให้เกิดการปฏิสนธิและสืบพันธุ์ต่อไปมี 2 แบบ คือ

1. การถ่ายเรณูในพืชผสมตัวเอง (self-pollination) พืชที่มีดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ คือพืชที่มีเกสรเพศผู้และเพศเมียอยู่ในดอกเดียวกัน เรณูสามารถร่วงหรือปลิวมาตกบนยอดเกสรเพศเมียได้พืชที่ถ่ายเรณูในดอกเดียวกัน ได้แก่ ถั่ว มะเขือ ฝ้ายและพืชที่มีดอกสมบูรณ์เพศอื่นๆ (นพพร, 2546)
2. การถ่ายเรณูต่างดอกหรือข้ามต้น (cross-pollination) เกิดกับพืชที่มีดอกเพศผู้หรือดอกเพศเมียอยู่คนละต้น จึงต้องใช้วิธีการถ่ายเรณูข้ามต้น พืชที่มีดอกสมบูรณ์เพศหรือพืชที่มีดอกเพศผู้และดอกเพศเมียอยู่ในต้นเดียวกัน อาจจะถ่ายเรณูข้ามต้นได้เหมือนกัน โดยอาศัยลม มนุษย์ หรือสัตว์พาไป เนื่องจากพืชเคลื่อนที่ด้วยตนเองไม่ได้ จำเป็นต้องอาศัยธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมเข้าช่วยเหลือ สิ่งสำคัญที่ช่วยในการถ่ายเรณูของพืชดอก ได้แก่ แมลง ซึ่งเป็นสัตว์ที่มี

ส่วนช่วยในการถ่ายเรณูของพืชมากที่สุด ดอกของพืชเมื่อเจริญเติบโตกลีบดอกมีสีสวยงามบางชนิดมีกลิ่นหอม บริเวณโคนกลีบดอกมีน้ำค้อย ซึ่งเป็นอาหารของแมลง พืชสร้าง สี กลิ่น และน้ำค้อยที่ดอกเพื่อล่อแมลงมาเกาะ แล้วเรณูได้ติดไปกับขา ขน ปีก ปาก ของแมลงไปตกลงบนยอดเกสรเพศเมีย แมลงที่ช่วยในการถ่ายเรณูของพืชมีหลายชนิดเช่น ผีเสื้อ ผึ้ง แมลงภู่ ฯลฯ

เมล็ดและการงอกของเมล็ด

เมล็ดคืออวูลที่เจริญเต็มที่แล้ว (mature ovule) หลังจากการปฏิสนธิ ประกอบด้วย เอ็มบริโอ เอนโดสเปิร์ม (หรือในบางครั้งไม่มี) และเปลือกเมล็ด (seed coat) ส่วนประกอบส่วนใหญ่ของเมล็ดคือ เอ็มบริโอกับเอนโดสเปิร์ม ส่วนผนังอวูล (integument) ซึ่งเปลี่ยนเป็นเปลือกเมล็ดนั้นปริมาณความหนาลดลง

เปลือกเมล็ด เป็นส่วนของเมล็ดที่เจริญมาจากผนังอวูลโดยทั่วไปมี 2 ชั้นคือ ชั้นนอกเรียกว่าเปลือกเมล็ดชั้นนอก (testa) เจริญมาจากผนังอวูลชั้นนอก (outer integument) มักหนาแข็ง และเหนียว ชั้นในเรียกว่าเปลือกเมล็ดชั้นใน (tegmen) เจริญมาจากผนังอวูลชั้นใน (inner integument) มักเป็นเยื่อบางๆ เปลือกเมล็ดบางชนิดมีชั้นเดียวเนื่องจากขณะที่เป็นอวูล มีผนังอวูล (integument) ชั้นเดียว หรือบางทีผนังอวูล (integument) ทั้งสองชั้นรวมกันเป็นชั้นเดียว พืชบางชนิดเปลือกเมล็ดจะรวมกับผนังผล (pericarp) และบางชนิดมีเปลือกเมล็ดที่แห้งและแข็งมาก เพื่อป้องกันอันตรายต่างๆ ให้แก่เอ็มบริโอที่อยู่ภายใน บนเปลือกเมล็ดส่วนมากเห็นรอยต่างๆ คือ ขั้วเมล็ด (hilum) เป็นรอยแผลเป็นขนาดเล็ก เกิดจากเมล็ดติดกับก้านอวูล (funiculus) ใกล้กับขั้วเมล็ดคือไมโครไพล์ (micropyle) ซึ่งเดิมเป็นทางเข้าของหลอดเรณู ตรงข้ามกับไมโครไพล์จะเห็นเปลือกเป็นสันขึ้นมาเล็กน้อย เรียกว่าสันขั้วเมล็ด (raphe) เป็นรอยที่ก้านของอวูลแผ่ออกจับกับเปลือกเมล็ดโดยการบิดโค้งตัวของอวูลที่ปลายสุดของสันขั้วเมล็ด เป็นบริเวณที่มีเนื้อเยื่อลำเลียงเดิมเป็นรอยค่อของ นิวเซลลัส (nucellus) กับผนังอวูลเรียกว่าฐานอวูล (chalaza) (เทย์มใจ, 2546)

การงอกของเมล็ดปกติในความหมายของนักสรีรวิทยาพืชหมายถึง กระบวนการทางสรีรวิทยา ที่เกิดภายในเมล็ดซึ่งมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาทางสัณฐานวิทยาจนกระทั่งรากแรกเกิด (radicle) งอกออกมานอกเมล็ด (ลิลลี่ และคณะ, 2548)

ส่วนประกอบของเมล็ด ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วน ได้แก่

1. เปลือกหุ้มเมล็ด
2. เอ็มบริโอ ประกอบด้วย ใบเลี้ยง ตา ยอด ต้นอ่อน และราก
3. อาหารสะสมในเมล็ด

ในพืชมีดอกหลังจากการปฏิสนธิแล้วอวูลจะเจริญเป็นเมล็ด ภายในเมล็ดมีเอ็มบริโอ ประกอบด้วยต้นพืชที่เกิดใหม่และแหล่งเก็บอาหารรังไข่เจริญเป็นผล ซึ่งภายในมีเมล็ดอาจมีเมล็ดเดียวหรือหลายเมล็ด การกระจายของเมล็ดขึ้นอยู่กับชนิดของผลคือ ผลที่แตกได้และผลที่แตกไม่ได้

ผลที่แตกได้ (dehiscent fruit) หมายถึง ผลที่มีหลายเมล็ด เมื่อผลแก่เต็มที่เมล็ดจะกระจายออกจากผลก่อนที่ผลแตกออกเช่น ผลที่เป็นฝักและแคปซูล การกระจายของเมล็ดอาศัยลม น้ำและสิ่งต่างๆ

ผลที่แตกไม่ได้ (indehiscent fruit) ผลพวกนี้มีส่วนของผลช่วยในการกระจายผลของเมล็ด มีลักษณะคล้ายร่มชูชีพ เช่น ผลยาง ลมจะช่วยพัดพาไปบางชนิดส่วนของพืชมีลักษณะตะขอกาะติดไปกับขนสัตว์ ทำให้เมล็ดปลิวไปตามที่ต่างๆหรือเมื่อสัตว์กินผลไม้ทำให้เมล็ดตกอยู่ที่พื้นดิน

การงอกของเมล็ด (germination) การงอกของเมล็ดจะเกิดขึ้น เมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสมยอดอ่อนและรากอ่อนเจริญออกจากเปลือกหุ้มเมล็ดเจริญเป็นต้นใหม่หรือต้นกล้า

ปัจจัยในการงอกของเมล็ด

เมล็ดที่จะงอกได้ จะต้องมีปัจจัยที่เหมาะสม ทั้งเมล็ดและสภาพแวดล้อมภายนอก ดังนี้

1. การมีชีวิตของเมล็ดนับว่าเป็นปัจจัยสำคัญในการเพาะเมล็ด การที่เมล็ดมีชีวิตอยู่ได้น้อย เนื่องจากการเจริญเติบโตของเมล็ดไม่เหมาะสม ขณะที่ยังอยู่บนต้นแม่หรือเนื่องจากได้รับอันตรายขณะทำการเก็บเกี่ยวหรือกระบวนการในการผลิตเมล็ดไม่ดีพอ

2. สภาพแวดล้อมในขณะเพาะเมล็ดต้องอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ดังนี้

- 2.1 น้ำเป็นตัวทำให้เปลือกเมล็ดอ่อนตัว และเป็นตัวทำละลายอาหารสะสมภายในเมล็ดที่อยู่ในสภาวะที่เป็นของแข็งให้เปลี่ยนเป็นของเหลว และเคลื่อนที่ได้ทำให้จุดเจริญของเมล็ดนำไปใช้ได้

- 2.2 แสง เมล็ดเมื่อเริ่มงอกมีทั้งชนิดที่ต้องการแสง และไม่ต้องการแสง ส่วนใหญ่เมล็ดเมื่อเริ่มงอกไม่ต้องการแสง ดังนั้น การเพาะเมล็ดโดยทั่วไป จึงมักกลบดินปิดเมล็ดเสมอ แต่แสงมีความจำเป็นหลังจากที่เมล็ดงอก ขณะที่ป็นต้นกล้าแสงที่พอเหมาะทำให้ต้นกล้าแข็งแรงและเจริญเติบโตได้ดี

2.3 อุณหภูมิที่เหมาะสมช่วยให้เมล็ดคุดน้ำได้เร็วขึ้น กระบวนการในการงอกของเมล็ดเกิดขึ้นเร็ว และช่วยให้เมล็ดงอกได้เร็วขึ้น อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับพืชแต่ละชนิดไม่เท่ากันพืชเมืองร้อนย่อมต้องการอุณหภูมิสูงกว่าพืชเมืองหนาวเสมอ

2.4 ออกซิเจน เมื่อเมล็ดเริ่มงอกจะเริ่มหายใจมากขึ้น ซึ่งก็ต้องใช้ออกซิเจนไปเผาผลาญอาหารภายในเมล็ดให้เป็นพลังงานใช้ในการงอก ยิ่งเมล็ดที่มีมันมากยิ่งต้องใช้ ออกซิเจนมากขึ้น ดังนั้น การกลบดินทับเมล็ดหนาเกินไป หรือใช้ดินเพาะเมล็ดที่ถ่ายเทอากาศไม่ดี มีผลยับยั้งการงอก หรือทำให้เมล็ดงอกช้าลงหรือไม่งอกเลย

การพักตัวของเมล็ด

การพักตัวของเมล็ดหมายถึง ช่วงที่เมล็ดพืชยังไม่พร้อมงอกขึ้นเป็นต้นพืชใหม่ได้ ดังนั้นการเพาะเมล็ดบางชนิดอาจต้องทำลายการพักตัวของพืชก่อน เพื่อให้เมล็ดงอกได้เร็วยิ่งขึ้น

วิธีการทำลายการพักตัวของเมล็ด

1. ลอกเปลือกหุ้มเมล็ดออก วิธีการนี้ทำให้เมล็ดงอกเร็วขึ้นกว่าวิธีการเพาะเมล็ดทั้งเปลือกหุ้มเมล็ด ซึ่งวิธีการลอกเปลือกหุ้มเมล็ดออกต้องทำด้วยความระมัดระวัง อย่าให้เป็นอันตรายต่อเมล็ดภายใน เพราะอาจทำให้การงอกของเมล็ดสูญเสียไปได้ พืชที่นิยมลอกเปลือกหุ้มเมล็ดออก ได้แก่ มะม่วง

2. ฝนเมล็ดเป็นการทำให้เปลือกแข็งหุ้มเมล็ด เกิดเป็นรอยด้านโดยการฝนเมล็ดลงบนกระดาษทรายหรือหินฝน ไม่ควรฝนลึกเกินไปและอย่าฝนตรงจุดที่เป็นที่อยู่ของเอ็มบริโอ วิธีนี้ช่วยให้เมล็ดงอกได้เร็วขึ้น

3. การกะเทาะเอาเมล็ดออก นิยมทำกับพืชที่มีเมล็ดแข็งเมื่อกะเทาะเปลือกหุ้มเมล็ดแตกออกแล้ว จึงค่อยนำเมล็ดอ่อนภายในไปทำการเพาะ วิธีนี้ช่วยให้เมล็ดพืชงอกได้เร็วกว่าวิธีการเพาะแบบไม่กะเทาะเปลือกหุ้มเมล็ด พืชที่ต้องทำการกะเทาะเมล็ดก่อนเพาะ ได้แก่ บัวย พืชพุทรา สมอจีน ฯลฯ

4. การตัดปลายเมล็ดเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยให้เมล็ดพืชงอกได้เร็วกว่าปกติ โดยตัดเปลือกหุ้มเมล็ดทางด้านตรงข้ามกับด้านหัวของเอ็มบริโอ และอย่าตัดให้เข้าเนื้อของเมล็ดนิยมใช้กับพืชที่มีเมล็ดแข็ง เช่น เหยียง หางนกยูงฝรั่ง

5. การแช่น้ำ การนำเมล็ดไปแช่น้ำช่วยให้เมล็ดพืชงอกได้เร็วกว่าปกติ ทั้งนี้เพราะน้ำทำให้เปลือกหุ้มเมล็ดอ่อนตัว จึงเป็นการช่วยให้เมล็ดงอกได้เร็วขึ้นน้ำที่ใช้แช่อาจเป็นน้ำอุ่น หรือน้ำเย็น และช่วงเวลาการแช่ ชั่วโมงหรือเร็วขึ้นอยู่กับชนิดพืช พืชบางชนิดใช้เวลาประมาณ 1-2 วัน บาง

ชนิดใช้เวลาประมาณ 6-12 ชั่วโมง ทั้งนี้สังเกตจากขนาดของเมล็ดขยายใหญ่และเต่งขึ้นหรือเปลือกหุ้มเมล็ดนิ่มนำไปเพาะได้

สาเหตุการเกิดผลที่ไร้เมล็ด

1. ผลที่ปราศจากเมล็ด

การเกิดผลลม (parthenocarp) หมายถึงการพัฒนาการผลที่ไม่ต้องมีเมล็ด แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

1.1 ผลที่ปราศจากเมล็ดที่ไม่กระตุ้น (vegetative parthenocarp) เป็นการติดผลและพัฒนาโดยไม่มีการถ่ายเกสร

1.2 ผลที่ปราศจากเมล็ดที่กระตุ้น (stimulative parthenocarp) เป็นการติดผลที่ต้องการถ่ายละอองเกสร แต่ไม่มีการรวมเชื้อตัวผู้กับไข่จุดกำเนิดจะฝ่อในเวลาอันสั้นหลังจากที่มีการผสมกันระหว่างตัวผู้กับไข่การไม่มีเมล็ดนี้ เรียกว่าผลที่มีเมล็ดลีบ (stenospermocarp) ซึ่งไม่ควรจัดอยู่ในผลที่ปราศจากเมล็ด (สัมฤทธิ์, 2537)

การใช้สารบางชนิดที่มีสมบัติในการเร่งเร้าการเจริญเติบโต จะช่วยให้เกิดผลที่ไม่มีเมล็ดได้เช่น การใช้ NOA (naphthoxyacetic acid) ในอัตราความเข้มข้น 80 ppm หรือ PCPA (para-chlorophenoxyacetic acid) ในอัตราความเข้มข้น 30 ส่วนต่อล้านส่วน ฉีดพ่นดอกมะเขือเทศ ขณะที่รังไข่ยังไม่ได้การรับการปฏิสนธิ จะเกิดผลที่ไม่มีเมล็ดทำการค้าได้นอกจากนี้การใช้ IBA (indolebutyric acid) และ IAA (indoleacetic acid) ทำให้ไร้เมล็ดในสตรอเบอร์รี่ และแอปเปิ้ลได้ผลดีสารที่สกัดได้จากเรณู ทำให้รังไข่ของพืชบางชนิดเจริญเติบโตไปเป็นผลได้ แสดงให้เห็นว่าเรณูอาจมีสารฮอร์โมนซึ่งช่วยให้รังไข่เจริญได้ ในไม้ผลบางชนิด เช่น ส้มสะเคือ (navel orange) ช้ทงูมา (satsuma) มะนาวพันธุ์ ดาฮิติ กล้วยหอม ปกติจะเกิดผลลม (parthenocarp fruit) แต่ไม้ผลบางชนิดอาจพัฒนาผลได้ทั้งแบบมีเมล็ด และไร้เมล็ด ส้มโอบางพันธุ์ในท้องที่อำเภอสามพรานออกดอก 2 ครั้งต่อปี คือครั้งหนึ่งระหว่างเดือนมกราคมถึงกุมภาพันธ์ และครั้งที่ 2 ในเดือนตุลาคมถึงเดือนพฤศจิกายน ดอกที่ออกในเดือนตุลาคม-พฤศจิกายน ให้ผลที่ไร้เมล็ดส่วนดอกที่ออกระหว่างเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ จะมีเมล็ด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการปฏิสนธิในเดือนตุลาคมถึงเดือนพฤศจิกายน ไม่เกิดขึ้นหรือมีอุปสรรคเช่น เกสรเพศผู้หรือเกสรเพศเมียไม่สามารถทำงานได้ เป็นต้นสภาพที่ไร้เมล็ด (seedless) ของผลไม้ที่ออวูล (ovule) ได้รับการปฏิสนธิแต่ไข่เจริญได้เพียงเล็กน้อยแล้วแท้งหรือตายไป (abortion) ทำให้ผลมีเมล็ดลีบลักษณะอ่อนนุ่ม

รูปร่างผิดปกติสภาพเช่นนี้ ไม่ถือว่าเป็นผลที่เกิดจากผลลม แต่เรียกว่า stenospermocarp เช่น พบในองุ่นพันธุ์ Sultanina (Thompson seedless) การที่เป็นเช่นนี้อาจเกิดจากปัจจัยภายนอกบางอย่าง เช่น อุณหภูมิเย็นหลังจากติดผลแล้ว หรือเกิดจากการขาดธาตุอาหารไนโตรเจนบางชนิดเอ็มบริโอฝ่อหรือแห้งไป ในระยะใดก็ตามผลจะร่วงก่อนแก่เต็มที่

1.3 ผลที่มีเมล็ดลีบ (stenospermocarp) ในการศึกษาความมีชีวิตและความงอกของเรณูองุ่นพันธุ์ไวท์มะละกาและแบล็คโพลที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส เพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเรณูองุ่น ทดสอบความมีชีวิตในอาหารสังเคราะห์ความเข้มข้นน้ำตาล 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าทุกอุณหภูมิส่งผลให้เรณูองุ่นมีความมีชีวิต และความงอกลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น ที่อุณหภูมิห้องสามารถรักษาความงอกของละอองเกสรองุ่นได้เพียง 1 วัน ในขณะที่อุณหภูมิและ -20 องศาเซลเซียสสามารถรักษาความงอกของเรณูองุ่นได้นานถึง 2 และ 8 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสสามารถคงความมีชีวิตและความงอกของเรณูสูงกว่าที่อุณหภูมิอื่นๆ ในทุกช่วงระยะเวลาของการเก็บรักษา เช่น ในองุ่นไร้เมล็ดมี 3 แบบคือ

1.3.1 stimulative parthenocarp เกสรเพศผู้ตกบนยอดเกสรเพศเมีย (stigma) งอกลงไปตามหลอดเรณู (pollen tube) แต่ไม่มีการปฏิสนธิจะได้ผลที่ไร้เมล็ด เนื่องจากเอ็มบริโอไม่สมบูรณ์ หลังดอกบานออวุลจึงไม่พัฒนา เช่น พันธุ์ Black Corinth ต้องการการปฏิสนธิ แต่ไม่มีการสร้างออกซินผลจึงเล็กมาก

1.3.2 stenospermocarp มีการถ่ายเรณูและมีการปฏิสนธิแต่เอ็มบริโอจะฝ่อไปหลังปฏิสนธิ 2-4 สัปดาห์ ซึ่งยังคงเหลือเมล็ดขนาดเล็ก (seed traces) เช่น พันธุ์ Thompson seedless, Marroo seedless, Crimpson seedless เป็นต้น (เป็นพันธุ์ส่วนใหญ่ที่ปลูกเป็นการค้าในเมืองไทย) ผลจึงเล็กแต่ใหญ่กว่า Black Corinth (ไข่มุก) เพราะมีการสร้างออกซินแบบจำกัด

1.3.3 empty-seededness มีการถ่ายเรณูองุ่นและมีการปฏิสนธิไซโกตพัฒนาจนมีเปลือกเมล็ด (seed coat) แล้วเมล็ดก็ฝ่อแห้งไป เหลือเมล็ดเล็กลีบ เนื่องจากมีการสร้างออกซินมาก ลูกจึงใหญ่กว่า 2 แบบแรกเกิดขึ้น ได้ทั้งโดยยีนและสภาพแวดล้อม

พันธุ์ดั้งเดิมที่ไร้เมล็ด พบว่ามีถิ่นกำเนิดแถวเขตรอบคอเคเชียยุโรปและชายฝั่งทะเลเมดิเตอร์เรเนียน อัฟกานิสถาน อิหร่าน อินเดียตอนบนเห็นได้จากชื่อพันธุ์ Suntana ซึ่งเป็นสายพันธุ์ต้นกำเนิดของพันธุ์ Thompson seedless ในอเมริกา พันธุ์ดั้งเดิมอีกพันธุ์คือ Monuka นักผสมพันธุ์จะใช้พันธุ์เก่าแก่ เป็นยีนดั้งต้นในการพัฒนาองุ่นไร้เมล็ด ค่อมามีชีวิตที่เป็นทรินพลอยด์แต่ละโครโมโซมประกอบด้วยโครโมโซมคู่เหมือน 3 แท่ง ดังนั้นในระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสโครโมโซมคู่เหมือนทั้งสามควรจะมาจับคู่กันเป็นไตรวาเลนซ์ แต่โดยทั่วไปแล้วโครโมโซมคู่

เหมือนทั้งสามจะไม่เข้าสู่แนบชิดกันตลอดความยาว สายโครโมโซมเหมือนกันกับการจับคู่แบบโซมาติกแพริ่ง (somatic pairing)

สารโคลชิซีน (colchicine)

โคลชิซีนหรือ acetyltrimethylcolchicinic acid: [(S)-N-(5,6,7,9-tetrahydro-1,2,3,10-tetramethoxy-9-oxobenzo (a) heptalen-7-yl)] acetamide น้ำหนักโมเลกุล 399.43 และมีสูตรเคมี: $C_{22}H_{25}NO_6$ (กรมควบคุมมลพิษ, 2544) สารเคมีนี้เป็นผลิตผลจากธรรมชาติสกัดได้จากพืชที่มีชื่อว่า *Colchicum* หรือทั่วไปเรียกว่า Autumn crocus (*Chochicum autumnale* L.) และการใช้โคลชิซีนควรใช้อย่างระมัดระวังสารโคลชิซีนมีคุณสมบัติพิเศษในการละลายน้ำได้ดี และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเซลล์พืชแม้ใช้ในระดัความเข้มข้นต่ำ สามารถสร้างพืชสายพันธุ์ใหม่ (George, 2000) วิทยา (2527) ได้กล่าวถึงการใช้โคลชิซีนให้ได้ ผลดีมีข้อควรพิจารณาในการใช้โคลชิซีนดังนี้

1. โคลชิซีนจะอยู่ในรูปใดก็ตามต้องแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อเจริญ (meristematic tissues) ถ้าหากไม่สามารถแทรกซึมเข้าไปถึงเนื้อเยื่อเจริญได้โคลชิซีนจะไม่เกิดผลแต่อย่างใดในทางปฏิบัติทำได้ 2 วิธีคือ

1.1 ใช้ชักนำในพืชระยะที่ต้นอ่อน (seedling treatment) กระทำได้โดยการจุ่มต้นอ่อนแฮพลอยด์ในสารโคลชิซีนนาน 3-24 ชั่วโมง โดยจุ่มเฉพาะส่วนปลายลำต้นลงในสารละลายส่วนรากให้ชี้ขึ้นข้างบนหรืออาจนำต้นกล้าหลายต้นมัดรวมกัน นำสำลีสูดน้ำห่อหุ้มส่วนปลายราก ส่วนปลายยอดให้จุ่มลงในสารโคลชิซีน นำต้นอ่อนที่ผ่านการแช่ในสารโคลชิซีนแล้วไปปลูกในกระถางหรือในแปลงจนกระทั่งออกดอก ตรวจสอบว่าต้นใดบ้างที่ติดเมล็ดแสดงว่าเป็นดิพลอยด์ส่วนต้นใดที่ไม่ติดเมล็ดจัดว่าเป็นแฮพลอยด์ข้อควรระวังไม่ควรให้รากจุ่มลงไปในการละลาย

1.2 ใช้ชักนำบริเวณตาหรือยอดที่กำลังเจริญเติบโต (treatment of growing shoots or buds) กระทำได้โดยการหยดสารละลายโคลชิซีนลงบนยอดหรือตาข้างของต้น haploid ในกรณีจะใช้โคลชิซีนความเข้มข้น 0.5-1.0 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับลาโนลิน (lanolin) แล้วนำไปหยดหรือป้ายลงบนส่วนยอดหรือตาข้าง ควรทำซ้ำ 2-3 ครั้ง ต่อสัปดาห์ หรืออาจทำได้อีกวิธีหนึ่งโดยการจุ่มส่วนปลายยอดหรือตาข้างลงในสาร ซึ่งได้ผลดีเช่นเดียวกันยอดที่แตกออกมาใหม่จะมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า เมื่อนำไปปลูกสามารถออกดอกติดเมล็ดได้

1.2.1 การใช้สารโคลชิซิน ต้องใช้กับเนื้อเยื่อหรือเซลล์ที่กำลังเจริญเติบโตและสมบูรณ์เท่านั้น จึงสามารถแสดงผลได้ แต่ถ้าเนื้อเยื่อหรือเซลล์ที่เป็นหมันหรืออยู่ในระยะพักตัวไม่ได้ผล

1.2.2 สภาพแวดล้อมต้องเหมาะสม สภาพแวดล้อมดังกล่าวได้แก่ อุณหภูมิ แสงสว่าง ความชื้น เป็นต้น

1.2.3 ระยะเวลาและความยาวนานของการให้สาร ใช้ระยะเวลานานเท่าใดนั้น ขึ้นอยู่กับชีพจักร (cycle) ของการแบ่งตัวของเซลล์ของพืช ที่ทำการให้สาร ระยะเวลาที่ทำการให้สาร ถ้าน้อยเกินไปโคลชิซินที่ใช้อาจไม่ได้ผล แต่ถ้านานเกินไปโคลชิซินจะแสดงผลมากเกินไป พืชที่ได้จากการให้สารมีจำนวนโครโมโซมมากเกินไประดับที่ต้องการ โดยทั่วไประยะเวลาที่ใช้ประมาณ 1-24 ชั่วโมง

1.2.4 ความเข้มข้นที่ใช้ต้องอยู่ในระดับที่พอเหมาะ หากเจือจางเกินไปโคลชิซินไม่สามารถแสดงผลได้ แต่ถ้าเข้มข้นเกินไปโคลชิซินจะแสดงผลมากเกินไปต้องการ โดยปกติความเข้มข้นที่ใช้ได้ผลประมาณ 0.06-1.00 เปอร์เซ็นต์ สารนี้ยังมีประโยชน์ในด้านการศึกษเกี่ยวกับพันธุศาสตร์ของเซลล์ เนื่องจากมีรายงานและการทดลองทั้งในและต่างประเทศ พบว่ามีการใช้โคลชิซินซึ่งเป็นสารเคมีประเภทอัลคาลอยด์ที่มีผลต่อกระบวนการแบ่งเซลล์ โดยทำหน้าที่ในการยับยั้งการพัฒนาของสปินเดิลไฟเบอร์ (spindle fiber) ทำให้โครโมโซมไม่สามารถแยกออกจากกันไปอยู่ในแต่ละด้านของเซลล์ จึงส่งผลให้เซลล์นั้นไม่สามารถแยกโครโมโซมออกจากกันได้ โดยคุณสมบัตินี้ได้นำมาใช้ในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีจำนวนชุดของโครโมโซมเพิ่มเป็น 2 เท่าได้ (ประภา, 2534)

ความแปรปรวนในจำนวนชุดของโครโมโซม

โดยปกติสิ่งมีชีวิตดิพลอยด์มีจำนวนโครโมโซมเฉพาะเจาะจง และคงที่ในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด และเมื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์จะมีจำนวนโครโมโซมเป็นครึ่งหนึ่ง ($n=x$) ของโครโมโซมเซลล์ร่างกาย ($2n=2x$) จำนวนโครโมโซมทั้งหมดในเซลล์สืบพันธุ์จัดว่าเป็นโครโมโซมพื้นฐานของสิ่งมีชีวิต และจำนวนโครโมโซมพื้นฐานนี้ คือจีโนมหนึ่งหรือโครโมโซมชุดหนึ่ง เช่น ข้าวโพดที่เป็นดิพลอยด์ มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน 2 ชุด ($2n=2x=20$) แต่ละชุดมีจำนวนโครโมโซม 10 แท่ง ($x=10$) และโครโมโซมทั้งสองชุดนั้นเป็นจีโนมเดียวกัน (AA) แต่ข้าวสาลีที่ใช้ทำขนมปัง (bread wheat) ซึ่งเป็นพืชเฮกซะพลอยด์ (hexaploid) มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน 6 ชุด

($2n=6x=42$) แต่ละชุดมีโครโมโซม 7 แท่ง ($x=7$) และโครโมโซมทั้ง 6 ชุดนี้ประกอบด้วยจีโนมที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ จีโนม A, B, และ D (AABBDD) ในบางครั้งพบว่าพืชและสัตว์หลายชนิดมีความแปรปรวนในจำนวนโครโมโซม กล่าวคือ มีการเพิ่มหรือลดจำนวนโครโมโซมจากจำนวนปกติ ของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ ความแปรปรวนในจำนวนโครโมโซมซึ่งแบ่งได้ 2 (ประเภท, 2534) พวกใหญ่ๆ ดังนี้

1. euploid คือ พืชที่มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มหรือลดลงเป็นชุดจากสภาพดิพลอยด์ ได้แก่ โมนอพลอยด์ (monoploid) หรือแฮพลอยด์ซึ่งมีโครโมโซมพื้นฐานชุดเดียว (x) ทริพลอยด์ซึ่งมีอยู่ 3 ชุด ($3x$) เทตระพลอยด์ ซึ่งมีอยู่ 4 ชุด ($4x$) หรือเฮกซะพลอยด์ ซึ่งมีอยู่ 6 ชุด ($6x$) เป็นต้น พืชที่มีจำนวนโครโมโซมมากกว่า 2 ชุด ขึ้นไปเรียกว่าพอลิพลอยด์ยังแบ่งย่อยออกไปได้อีกเป็น 2 พวกขึ้นอยู่กับชนิดของจีโนมที่เป็นองค์ประกอบของพืชนั้นๆ

1.1 autopolyploid คือ พอลิพลอยด์ที่มีโครโมโซมมาจากจีโนมเดียวกัน เช่น autotriploid (AAA), autotetraploid (AAAA) และ autohexaploid (AAAAAA) เป็นต้น

1.2 allopolyploid คือ พอลิพลอยด์ที่มีจีโนมแตกต่างกันตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป เช่น allotriploid (AAB) allopolyploid (AABBC) และ allohexaploid (AABBCC) เป็นต้น

2. aneuploid คือ พืชที่มีโครโมโซมเพิ่มขึ้นมาหรือขาดหายไปเป็นบางแท่ง แต่ไม่ใช่การเพิ่มหรือลดจำนวนโครโมโซมเป็นชุดแอนนวลพลอยด์ ยังแบ่งออกได้หลายชนิด เช่น nullisomic ($2x-2$), monosomic ($2x-1$), trisomic ($2x+1$) และ tetrasomic ($2x+2$) เป็นต้น

แฮพลอยด์ (haploid)

ต้นพืชที่เจริญมาจากเซลล์สืบพันธุ์ที่ได้รับการผสมและมีจำนวนเป็นครึ่งหนึ่งของโครโมโซมเซลล์ร่างกาย เรียกว่าต้นแฮพลอยด์หรือ โมนอพลอยด์ แตกต่างตรง โมนอพลอยด์เกิดจากเซลล์สืบพันธุ์ของพวก diploid เช่น ข้าวโพดพวกที่เป็นดิพลอยด์ ($2n=2x=20$) เมื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์มีโครโมโซมเพียงชุดเดียว ($n=x=10$) ส่วนแฮพลอยด์นั้นเกิดจากพืชที่เป็นดิพลอยด์หรือพอลิพลอยด์ เช่น ข้าวสาลีที่เป็นเฮกซะพลอยด์ (hexaploid) ($2n=6x=42$) ประกอบด้วยโครโมโซม 6 ชุด (AABBDD) เมื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์จะมีโครโมโซม 3 ชุด (ABD) และมีจำนวนโครโมโซม $n=3x=21$ ซึ่งความจริงแล้วเซลล์สืบพันธุ์นี้มีสภาพเป็นทริพลอยด์ ดังนั้นเซลล์สืบพันธุ์ที่เป็นทริพลอยด์ โครโมโซมนี้นี้หากสามารถเจริญเป็นต้นข้าวสาลีได้เรียกว่าแฮพลอยด์ เรียกให้ถูกต้องคือ allotriploid จะเรียก โมนอพลอยด์ไม่ได้เพราะมีโครโมโซมถึง 3 ชุด ที่แตกต่างกัน ข้าวโพดที่เป็น

ดิพลอยด์เมื่อเซลล์สืบพันธุ์ ($n=x=10$) เจริญเป็นต้นเรียกว่าแฮพลอยด์ได้เช่นกัน แต่ถ้าชัดเจนขึ้นเรียกว่า โมโนแฮพลอยด์ (monohaploid) เนื่องจากมีพืชหลายชนิดที่ยังไม่ทราบถึงสภาพการเป็นดิพลอยด์หรือพอลิพลอยด์ จึงนิยมใช้คำว่าแฮพลอยด์เป็นคำที่ใช้กับโมโนพลอยด์

Froelicher *et al.* (2007) ได้ทดลองการชักนำให้เกิดแฮพลอยด์ในส้มแมนดาริน โดยการผสมเกสรกับการฉายรังสีเรณูของมะนาวฝรั่ง การผสมเกสรมี 3 จีโนไทป์ ของส้มแมนดาริน กับ 4 ระดับ ในการฉายรังสีของเรณู (150, 300, 600, และ 900 Gray) พบว่า คือลักษณะของเมล็ดมีขนาดเล็ก วิธี Embryos rescued ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีโครโมโซมหลายระดับของพืชต้นใหม่ โดยใช้ flow cytometry analysis เป็นตัวสังเกต แฮพลอยด์ ดิพลอยด์ ทริพลอยด์ การไม่ได้รับการผสมแบบดั้งเดิมของแฮพลอยด์ใช้ microsatellite marker analysis ในการนับจำนวนโครโมโซม ส่วนดิพลอยด์และทริพลอยด์ใช้ในการผสมระหว่างส้มแมนดารินและมะนาวฝรั่ง

กำเนิดของแฮพลอยด์ในธรรมชาติหรือโดยการชักนำให้เกิด

กำเนิดของแฮพลอยด์ในธรรมชาติหรือโดยการชักนำให้เกิดมีหลายวิธีดังนี้

1. การผสมข้ามระหว่างพืชต่างชนิดหรือต่างสกุลกัน (interspecific or intergeneric hybridization)
2. การใช้รังสีหรือสารเคมี (irradiation and chemical treatment)
3. การคัดเลือกต้นแฮพลอยด์จากต้นกล้าแฝด (selection of twin seedling) โดยปกติเมล็ดจะงอกให้ต้นกล้า 1 ต้น แต่ในพืชบางชนิดเมล็ดอาจงอกให้ต้นกล้า 2 ต้น ต้นกล้าแฝดที่เกิดจากเมล็ดที่มีหลายเอ็มบริโอ (polyembryony)
4. การใช้ไซโทพลาสซึมจากแหล่งอื่น (alien cytoplasm)
5. การคัดเลือกต้นแฮพลอยด์ ภายหลังการผสมเกสรด้วยละอองเกสรหรือเมล็ดพันธุ์ที่ได้จากผลหลังการผสมมีเครื่องหมายทางพันธุกรรม (marker)
6. การเพาะเลี้ยงอับเรณูหรือเรณู (anther and pollen culture)
7. การกำจัดโครโมโซม (chromosome elimination)

ลักษณะทั่วไปของพืชแฮพลอยด์

ลักษณะทั่วไปของพืชโมโนแฮพลอยด์หรือโมโนพลอยด์ ที่เจริญมาจากเซลล์สืบพันธุ์ของแฮพลอยด์โดยปกติพืชโมโนพลอยด์ จะมีขนาดเล็กและอ่อนแอกว่าพวกดิพลอยด์ นอกจากนั้นดอกเป็นหมันเซลล์และนิวเคลียสมีขนาดเล็ก จึงทำให้ผิวใบด้านล่างมีจำนวนปากใบ (stomata) ต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่มากกว่าดิพลอยด์ในข้าวโพด พบว่าปากใบในระยะต้นกล้ามีขนาดเล็ก และอยู่ชิดกันมากกว่าพวกดิพลอยด์ โมโนพลอยด์ ของข้าวโพดลูกผสมหัวนุบ (dent corn) มีใบคก และตั้งตรงมีฝักคกแต่ฝักมีขนาดเล็ก ช่อดอกตัวผู้เป็นหมันแต่ก็มีบางส่วนที่ผลิตเรณูปกติในข้าวฟ่างไข่มุก (pearl millet) พวกโมโนพลอยด์ มีขนาดเล็กกว่าดิพลอยด์ในด้านความสูง การแตกกอ จำนวนข้อ ขนาดข้อ ขนาดลำต้น ความกว้างและยาวของใบ นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราการติดเมล็ดแตกต่างกันไปตั้งแต่ไม่มีเมล็ดจนถึงมีเมล็ด 502 เมล็ดต่อต้น

พฤติกรรมกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของพืชแฮพลอยด์

กระบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสจะดำเนินไปอย่างปกติได้โครโมโซมจะต้องอยู่เป็นคู่ๆ ตามจำนวนโครโมโซมทั้งหมดของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ แต่สิ่งมีชีวิตพวกโมโนพลอยด์มีโครโมโซมชุดพื้นฐานเพียงชุดเดียว (x) กล่าวคือโครโมโซมจะอยู่เดี่ยวๆ ไม่มีคู่จึงทำให้พฤติกรรมของโครโมโซมในระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสผิดปกติ เนื่องจากโครโมโซมไม่มีการจับคู่กัน อย่างไรก็ตามพบว่าการจับคู่กันระหว่างโครโมโซมของพวกโมโนแฮพลอยด์ด้วยตนเอง (intragenomic pairing) ในข้าว ข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์ และมะเขือเทศ การจับคู่ดังกล่าวอาจเกิดขึ้นระหว่างโครโมโซม 2 เส้น (bivalent) 3 เส้น (trivalent) 4 เส้น (quadrivalent) หรือหลายเส้น (multivalent) การจับคู่กันของโครโมโซมในพวกโมโนพลอยด์ เชื่อว่าเกิดจากการที่โครโมโซมมีชิ้นส่วนเพิ่มขึ้น (duplication) หรือซ้ำกัน (genetic redundancy) อย่างไรก็ตาม โครโมโซมส่วนใหญ่ยังอยู่ในสภาพที่เป็นโครโมโซมเดี่ยวๆ ในระยะอะนาเฟส 1 โครโมโซมจะสุ่มเคลื่อนที่เข้าสู่ขั้วเซลล์ เมื่อสิ้นสุดการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสเซลล์สืบพันธุ์ที่ได้ จึงมีจำนวนโครโมโซมไม่ครบชุด และมักจะตาย ดังนั้นพืชพวกโมโนแฮพลอยด์ จึงมักเป็นหมัน อย่างไรก็ตามในบางครั้ง โมโนแฮพลอยด์อาจมีเมล็ดได้ เนื่องจากโครโมโซมเดี่ยวๆ ทั้งหมดอาจเคลื่อนที่เข้าสู่ขั้วเซลล์เดียวกันจึงทำให้ได้เซลล์สืบพันธุ์ที่สมบูรณ์สามารถผสมพันธุ์ได้ (ประภา, 2534)

การผลิตพืชดิพลอยด์จากแฮพลอยด์

การใช้ประโยชน์พืชแฮพลอยด์ในการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งการสร้างพืชสายพันธุ์แท้ (homozygous diploid) จากต้นแฮพลอยด์จำเป็นต้องเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมของต้นแฮพลอยด์เป็นสองเท่า (chromosome doubling) ซึ่งมีวิธีการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมเป็นสองเท่าสามารถกระทำได้หลายวิธีดังนี้

1. การตัดยอด (decapitation) การตัดยอดและการขจัดตาข้างออกไปแล้วทำให้รอยตัดได้รับความชื้นสูงๆ โดยการห่อหุ้มด้วยพีทมอสส์ (peat moss) ทำให้ต้นอ่อนที่ตรงบริเวณรอยตัดมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า วิธีนี้ใช้ได้ผลในกะหล่ำปลี

2. การใช้ความร้อน (heat treatment) การทำให้ต้นแฮพลอยด์ได้รับความร้อนสูงประมาณ 38-45 องศาเซลเซียส โดยการห่อหุ้มยอด หรือต้นแฮพลอยด์ด้วยแผ่นผ้าที่ร้อน หรือนำต้นแฮพลอยด์ไปไว้ในห้อง ที่มีอุณหภูมิคงที่กล่าวอาจทำให้ยอดที่งอกออกมาใหม่มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าได้ วิธีกรรมนี้ได้ถูกนำมาใช้เป็นผลสำเร็จในข้าว ข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์ และข้าวไรย์

3. การใช้สารเคมี (chemical treatment) สารเคมีที่สามารถชักนำให้จำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่ามีหลายชนิดเช่น โคลชิซิน เป็นสารเคมีที่นิยมมากไม่ว่าจะใช้ในรูปแบบใดก็ตามต้องพยายามให้สารนี้แทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อเจริญ (meristematic tissues) ให้ได้จึงสามารถแสดงผลได้

4. การเพาะเลี้ยงอับเรณู (anther culture) การเพาะเลี้ยงอับเรณูนอกจากจะได้ต้นแฮพลอยด์แล้วยังมีต้นดิพลอยด์เกิดขึ้นด้วย ในบางกรณีต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณูอาจพัฒนามาจากเนื้อเยื่อของอับละอองเกสรที่เป็นดิพลอยด์ หรือมาจากเรณูที่ไม่มีการลดจำนวนโครโมโซม (unreduced microspore) อย่างไรก็ตาม ต้นดิพลอยด์ส่วนใหญ่พัฒนามาจากเรณู ซึ่งสามารถทราบได้โดยการวิเคราะห์ทางพันธุกรรมของต้นดิพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณูของลูกผสมชั่วที่ 1 พบว่าต้นดิพลอยด์ที่ได้มีลักษณะหลายๆ อย่างแตกต่างไปจากต้นแม่ซึ่งเป็นลูกผสมชั่วที่ 1 และเมื่อทดสอบลูกของต้นดิพลอยด์เหล่านี้ พบว่ามีความสม่ำเสมอในระหว่างลูกที่ได้มาจากต้นดิพลอยด์เดียวกัน ต้นดิพลอยด์และพอลิพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณูเกิดขึ้น เนื่องมาจากการรวมตัวกันระหว่างนิวเคลียส 2 อัน ของเรณู (nuclear fusion) หรือเกิดจากเรณูที่มีการแบ่งเซลล์ผิดปกติแบบเอนโดไมโทซิสทำให้โครโมโซมเพิ่มขึ้นหลายเท่าโดยไม่มีการแบ่งนิวเคลียส

5. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเซลล์ร่างกาย (somatic cell) ของต้นพืชแฮพลอยด์โดยการนำเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของต้นพืชที่เป็นแฮพลอยด์ เช่น ราก ลำต้น และใบมาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ เพื่อชักนำให้เกิดต้น ต้นพืชที่ได้รับมีทั้งต้นแฮพลอยด์และดิพลอยด์ (ประภา, 2534)

การใช้ประโยชน์แฮพลอยด์ในการปรับปรุงพันธุ์พืช

1. เพื่อสร้างพืชสายพันธุ์แท้จากพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 วัตถุประสงค์ที่สำคัญของนักปรับปรุงพันธุ์พืชในการผลิตพืชแฮพลอยด์ เพื่อใช้ในการสร้างพืชสายพันธุ์แท้ให้ได้ภายในระยะเวลาอันสั้น เนื่องจากพืชพวกแฮพลอยด์ขึ้นทุกตัวจะอยู่เดี่ยวๆ ไม่มีคู่ของมัน (alleles) ดังนั้น ถ้าสามารถเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซมขึ้นอีกชุดหนึ่ง ขึ้นทุกตัวจะเข้าสู่สภาพ homozygosity อย่างสมบูรณ์ทันทีภายใน 2 ชั่ว ชั่วแรกเป็นการผลิตต้นแฮพลอยด์และชั่วที่สองเป็นการเพิ่มจำนวนโครโมโซม ทำให้ได้พืชสายพันธุ์แท้ ดังนั้นการสร้างพืชสายพันธุ์แท้จากแฮพลอยด์จึงใช้เวลาสั้นมากเมื่อเปรียบเทียบกับ การสร้างสายพันธุ์แท้โดยวิธีการปรับปรุงพันธุ์ปกติ (conventional breeding) ต้องควบคุมให้พืชผสมตัวเอง 5-6 ชั่ว พืชจึงเข้าสู่สภาพ homoszygosity
2. ช่วยในการผลิตสายพันธุ์แท้จากพืชที่ไม่สามารถผสมตัวเองได้ (self incompatibility) เช่น เทอร์นิป (turnip) เรฟ (rape) และ กะหล่ำปลี (*Brassica oleracea*) หรือใช้กับพืชที่ออกดอกตัวผู้และตัวเมียอยู่แยกกันคนละต้น (dioecious plant) เช่น มะละกอ
3. ช่วยขจัดปัญหาการเกิดความเสื่อมถอยของลักษณะอันเนื่องจากการผสมตัวเองของพืช (inbreeding depression) โดยปกติการผสมตัวเองติดต่อกันหลายๆ ครั้ง ของพืช โดยเฉพาะพืชที่มีพื้นฐานทางพันธุกรรมแตกต่างกันมากๆ
4. ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือก ทั้งนี้เพราะนักปรับปรุงพันธุ์พืชสามารถนำสายพันธุ์แท้ไปทดสอบได้รวดเร็วขึ้นภายใน 2 ชั่ว ของการสร้างพืชสายพันธุ์แท้จากต้นแฮพลอยด์
5. ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากเฮตเทอโรซิส (heterosis) เป็นที่ทราบกันดีว่าสายพันธุ์แท้ ที่ได้จากการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมของต้นแฮพลอยด์ มีความเป็นโฮโมไซโกซิติสูงกว่าสายพันธุ์แท้ ที่ได้จากการผสมตัวเองของต้นดิพลอยด์ ดังนั้นเมื่อนำสายพันธุ์แท้ที่มีความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมสูงๆ เหล่านี้มาผสมพันธุ์กันเพื่อผลิตลูกผสม ลูกผสมที่ได้มีเฮตเทอโรซิสสูงสุด กล่าวคือ มีความสม่ำเสมอความแข็งแรงและให้ผลผลิตสูงสุด

6. ดันแฮพลอยด์มีประโยชน์ในการศึกษาการกลายพันธุ์ของพืช (mutagenesis) เนื่องจากดันแฮพลอยด์มีโครโมโซมเพียงชุดเดียว ยีนแต่ละตำแหน่งจะอยู่ในสภาพยีนเดี่ยวไม่มีคู่ของมัน ดังนั้นเมื่อมีการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของยีน เช่น การทำให้ยีนเด่นเปลี่ยนแปลงเป็นยีนด้อย ลักษณะที่ถูกควบคุมโดยยีนนั้นจะแสดงออกมาทันที ทำให้สามารถคัดเลือกลักษณะที่ต้องการได้ตั้งแต่ในระยะที่เป็นแฮพลอยด์ ซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือกอีกวิธีหนึ่ง

พอลิพลอยด์ (polyploid)

พอลิพลอยด์ คือสิ่งมีชีวิตที่มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานมากกว่า 2 ชุดขึ้นไป ($3x$, $4x$, $6x$, etc.) ส่วนมากพบในอาณาจักรพืช ชั้นสูงมีพอลิพลอยด์ประมาณ 30-35 เปอร์เซ็นต์ ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวพบพอลิพลอยด์มากที่สุดประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพืชใบเลี้ยงคู่พบพอลิพลอยด์จำนวนมากในวงศ์ *Crassulaceae*, *Malvaceae*, *Polygonaceae*, และ *Rosaceae* พอลิพลอยด์พบมากในพืชแต่พบน้อยในสัตว์ซึ่งมีสัตว์เพียงไม่กี่ชนิดที่พบพอลิพลอยด์

วิธีการทำให้เกิดพอลิพลอยด์

การเกิดพอลิพลอยด์อาจเกิดขึ้นได้ 2 ทาง คือเกิดขึ้นเองในธรรมชาติ (natural polyploidy) หรือเกิดโดยมนุษย์ทำขึ้นมา (artificial or induce polyploidy) เช่น การใช้สารเคมี (วิทยา, 2527)

1. การเกิดตามธรรมชาติอาจเกิดจากปรากฏการณ์ธรรมชาติเช่น ฟ้าร้อง ฟ้าผ่า พายุ สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนและรูปร่างของโครโมโซมได้ซึ่งพบว่ามีพืช polyploidy ใน angiosperm มาตั้งแต่โบราณพอลิพลอยด์ที่พบมีทั้งออโตพอลิพลอยด์และอัลโลพอลิพลอยด์ เช่น กลั้วหอมมีลักษณะจีโนม AAA เกิดมาจากกลั้วป่าในแถบมาเลเซีย กลั้วเหล่านี้มีบรรพบุรุษมาจากกลั้วป่า *Musa acuminata* Colla ซึ่งมีจีโนม AA ส่วนกลั้วที่เป็นอัลโลพอลิพลอยด์ ดังเช่น กลั้วกล้วย (AAB) กลั้วน้ำว้า (ABB) กลั้วหักมุก (ABB) กลั้วเทพรส (ABBB) เกิดพอลิพลอยด์หลังจากเกิดการผสมของกลั้วป่า *M. acuminata* Colla มีจีโนม AA กับกลั้วตานี *M. balbisiana* Colla ที่มีจีโนม BB ซึ่งอยู่แถบอินเดียและต่อมาได้มีการเคลื่อนย้ายไปปลูกในประเทศต่างๆ การที่กลั้วพอลิพลอยด์สามารถมีชีวิตอยู่ได้นี้ส่วนใหญ่ เป็นเพราะพืชดังกล่าว

สามารถขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ ดังเช่นในกล้วยสามารถแยกหน่อไปปลูกได้ จึงทำให้มีการกระจายพันธุ์แบบไม่กลายพันธุ์ไปยังที่ต่างในเวลาต่อมา (เบญจมาศ, 2545)

2. การสร้างขึ้นมาโดยมนุษย์สามารถทำให้สิ่งที่มีชีวิตมีจำนวนโครโมโซมได้หลายชุดด้วย วิธีการดังต่อไปนี้

2.1 การใช้ความร้อนสูงอย่างรวดเร็ว ส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นได้กับพืชที่มีการเปลี่ยนแปลงได้ง่าย

2.2 การใช้รังสี รังสีสามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในสิ่งที่มีชีวิตได้ ซึ่งบางครั้งอาจเกิดพอลิพลอยด์ได้เช่นกัน

2.3 การใช้สารเคมีเป็นวิธีที่ใช้กันมาก สารเคมีทำให้เกิดพอลิพลอยด์ได้ เนื่องจากการเกิดการยับยั้งการเกิดผนังเซลล์กันในช่วงของการแบ่งเซลล์ ทำให้จำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นเท่าตัวสารเคมีที่นิยมใช้กันมากได้แก่ โคลชิซิน นอกจากนี้ยังมีไนตรัสออกไซด์ (nitrous oxide) Oryzalin amiprophos methyl และ Podophylin ซึ่งมีตัวอย่างวิธีการใช้สารเคมีกับส่วนของพืช

2.3.1 การแช่เมล็ดทำการแช่เมล็ดลงในสารละลายที่มีความเข้มข้นและระยะเวลาที่พอเหมาะล้างน้ำแล้วนำไปเพาะ

2.3.2 ใช้กับต้นพืชโดยตรงซึ่งใช้ได้ตั้งแต่ต้นกล้าหมายถึงต้นเล็กที่เกิดจากการเพาะเมล็ดหรือกิ่งหรือส่วนที่กำลังเจริญเช่น ปลายยอดโดยการหดยอดสารละลายที่มีความเข้มข้นที่พอเหมาะลงที่ยอดที่มีใบอ่อนประมาณ 2-3 โดยใช้สำลีป้อนเป็นก้อนขนาดเล็กวางตรงจุดที่จะหดยอดสารละลาย จากนั้นหดยอดสารละลายบนสำลีให้สารละลายค่อยๆ ซึมผ่านสำลีลงไปที่ยอด

2.3.3 ใช้กับดินอ่อนของพืชในสภาพปลอดเชื้อหรือในสภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำดินอ่อนของพืชมาตัดบริเวณส่วนปลายออกแล้วนำมาแช่ในสารละลาย ซึ่งอยู่ในสภาพปลอดเชื้อระยะเวลาในการแช่ จะต้องทำการศึกษาก่อนเพื่อให้ได้เวลาที่เหมาะสม จากนั้นจึงล้างด้วยน้ำกลั่นในตู้ที่ปลอดเชื้อแล้วนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมต่อไป การที่พืชเกิดเป็นลักษณะพอลิพลอยด์หรือไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นระยะเวลา และความถี่ในการให้สารเคมีนั้นๆ ตัวอย่างลักษณะพอลิพลอยด์ของตำลึงทำได้โดยใช้โคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ แช่เมล็ดหรือกรณีหดยอดที่ยอดใช้โคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ เช่น หดยอดหลายครั้งในกล้วยที่อยู่ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่าโคลชิซินที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ แช่ดินนาน 5-7 ชั่วโมง และใช้สาร Oryzalin ที่ความเข้มข้น 45 ไมโครโมล (μM) นาน 2-5 ชั่วโมง จะได้ต้นที่มีลักษณะเป็นเทตระพลอยด์

ประเภทของพอลิพลอยด์

ประเภทของพอลิพลอยด์จำแนกได้ดังนี้

1. ออโตพอลิพลอยด์ (autopolyploid) คือ พอลิพลอยด์ที่มีชุดโครโมโซมหรือจีโนมทุกชุดเหมือนกัน (homologous) เช่น AAAA ดังนั้น ในระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส โครโมโซมคู่เหมือนทุกชุดจีโนมจับคู่แนบชิดติดกันตลอดความยาวโครโมโซม ออโตพอลิพลอยด์ที่พบในธรรมชาติส่วนใหญ่เป็นออโตทริพลอยด์ ออโตเทตระพลอยด์ ออโตเพนตะพลอยด์ และออโตเฮกซะพลอยด์ ซึ่งมีจำนวนชุดโครโมโซมเป็น 3, 4, 5 และ 6 ชุด ต่อเซลล์ ตามลำดับ
2. เซกเมนทอล อัลโลพอลิพลอยด์ (segmental allopolyploid) เป็นพอลิพลอยด์ที่มีโครโมโซมบางชุดเหมือนกันเช่น A_1A_1 แต่แตกต่างจากโครโมโซมชุดอื่น (non homologous) หรือเหมือนกับโครโมโซมชุดอื่นเพียงบางส่วน (partially homologous หรือ homologous) เช่น A_2A_2
3. จีโนม อัลโลพอลิพลอยด์ (genome allopolyploid) เกิดจากการผสมข้ามระหว่างพ่อแม่ที่มีจีโนมแตกต่างกันมาก เช่น A และ B ในระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส โครโมโซมไม่สามารถเข้าคู่กันได้ ลูกผสมชั่วแรกมักเป็นหมันแต่เมื่อโครโมโซมเพิ่มขึ้นอีกเท่าตัวทำให้ลูกชั่วต่อมาไม่เป็นหมัน และกลายเป็นจีโนมอัลโลพอลิพลอยด์ (AABB) จีโนมอัลโลพอลิพลอยด์ อาจมีจำนวนชุดโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นมานับตั้งแต่อัลโลทริพลอยด์ (allotriploid; AAB) อัลโลเทตระพลอยด์ (allotetraploid; AABB) เป็นต้น
4. ออโตอัลโลพอลิพลอยด์ (autoallopolyploid) เป็นพอลิพลอยด์ที่ประกอบด้วยจีโนมมากกว่า 2 จีโนม โดยจีโนมหนึ่งเป็นออโตพอลิพลอยด์ เช่น AAAABB เห็นได้ว่าจีโนม A มี 4 ชุด และจีโนม B มี 2 ชุด ดังนั้นการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส โครโมโซมมีการจับคู่กันเป็นไบวาเลนต์ และมัลติวาเลนต์

ลักษณะทั่วไปของพืชพอลิพลอยด์

1. โดยทั่วไปพืชพอลิพลอยด์จะมีส่วนประกอบต่างๆ ที่มีขนาดใหญ่เช่น ลำต้น กิ่ง ใบ ดอก และรากเนื่องจากเซลล์มีขนาดใหญ่อวบอ้วนน้ำมากขึ้น เมื่อสังเกตที่ใบจะพบใบหนาและมีสีเขียวเข้มขึ้น เช่นข้าวโพดที่เป็นเทตระพลอยด์ใบจะหนากว่าดิพลอยด์ เซลล์ปากใบมีขนาดใหญ่ แต่จำนวนปากใบต่อหน่วยพื้นที่ลดลง เรณูมีขนาดใหญ่ อย่างไรก็ตาม การเพิ่มขนาดของเซลล์ตามการเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซมมีขอบเขตจำกัดพืชแต่ละชนิด มีจำนวนชุดโครโมโซมที่

เหมาะสมที่สุดเกิดขึ้นจำกัดจะเป็นผลเสีย ทำให้สิ่งมีชีวิตอ่อนแอเป็นหมัน ฯลฯ พืชหลายชนิดการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมไม่ได้ทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้น

2. พอลิพลอยด์ส่วนใหญ่ก็มีอัตราการเจริญเติบโตช้า เนื่องจากมีอัตราการแบ่งเซลล์ช้ากว่าปกติ เช่น พวกออโตเทตระพลอยด์มีอัตราการเจริญเติบโตช้ากว่าพวกดิพลอยด์ ซึ่งมีผลทำให้ออโตพอลิพลอยด์ออกดอกช้าและบางทีดอกอาจร่วงช้ากว่าพวกดิพลอยด์ นอกจากนี้ในพืชหลายชนิดอาจมีกิ่งก้านน้อยกว่า

3. ความสมบูรณ์พันธุ์ของเรณู (pollen fertility) ของพวกพอลิพลอยด์มักจะต่ำ ทำให้เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดลดลง

4. พอลิพลอยด์มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูงกว่าดิพลอยด์ เนื่องจากเมื่ออยู่ในสภาพที่เป็นเฮตเทอโรไซโกตแล้วการลดเฮตเทอโรไซโกตเกิดขึ้นน้อยกว่าและช้ากว่าดิพลอยด์

5. พอลิพลอยด์มีการถ่ายทอดลักษณะและพันธุกรรมที่ซับซ้อนกว่าดิพลอยด์ เนื่องจากในแต่ละตำแหน่งมีหลายซ้ำและการจับตัวของโครโมโซมมีหลายแบบ

6. พอลิพลอยด์ทนทานต่อการเพิ่มหรือการขาดหายไปของโครโมโซมมากกว่าดิพลอยด์

7. อัตราการกลายพันธุ์ที่ตรวจสอบได้ในพอลิพลอยด์ต่ำกว่าดิพลอยด์ เนื่องจากมีการกลายพันธุ์ของยีนใดๆ ถ้าการกลายพันธุ์นั้นเป็นลักษณะด้อย ต้องมีการกลายพันธุ์ของยีนหลายตัวหรือต้องผสมพันธุ์หลายชั่ว จนกว่าจะพบต้นที่เป็นพันธุ์แท้ของยีนคู่่นั้นๆ

ออโตพอลิพลอยด์ (autopolyploid)

ออโตพอลิพลอยด์ (autopolyploid) คือสิ่งมีชีวิตที่มีจำนวนโครโมโซมมากกว่า 2 ชุดขึ้นไป แต่ละชุดโครโมโซมจะเหมือนกันทุกประการ เช่นออโตเทตระพลอยด์มีชุดโครโมโซมเป็น AAA และออโตเทตระพลอยด์เป็น AAAA เป็นต้น ความถี่ของพวกออโตพอลิพลอยด์ที่พบในธรรมชาติมักไม่แน่นอน เนื่องจากนักวิทยาศาสตร์บางท่านได้รวมเอาพวกเซกเมนทอล อัลโลพอลิพลอยด์ไว้ด้วยกันกับออโตพอลิพลอยด์ จึงกล่าวว่ามีออโตพอลิพลอยด์เป็นจำนวนมากในพืช

กำเนิดออโตพอลิพลอยด์

ในธรรมชาติพอลิพลอยด์เกิดจากการแบ่งตัวที่ผิดปกติของเซลล์สืบพันธุ์ ทำให้ได้เซลล์สืบพันธุ์ที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับเซลล์ร่างกาย (unreduced gamete, $n=2x$) เซลล์สืบพันธุ์แบบนี้เมื่อผสมกันเองได้พืชที่เป็นออโตเทตระพลอยด์ ($2n=4x$) แต่เมื่อผสมกับเซลล์สืบพันธุ์ปกติ ($n=x$) ได้พืชที่เป็นออโตทริพลอยด์ ($2n=3x$) ในอีกกรณีหนึ่งอาจเกิดจากการแบ่งตัวที่ผิดปกติของเซลล์ร่างกายแบบเอนโดไมโตซิส กล่าวคือโครโมโซมมีการเพิ่มจำนวนขึ้นเป็นสองเท่าแต่ไม่มีการแบ่งไซโทพลาสซึมทำให้เซลล์มีจำนวนโครโมโซมเป็น 4 ชุด ($2n=4x$) เซลล์นี้หากอยู่ในส่วนที่เจริญเป็นดอกจะสร้างเรณูและไข่ที่มีโครโมโซม 2 ชุด ($2n=2x$) ดังนั้นเมื่อผสมตัวเองจะให้ลูกที่เป็นออโตเทตระพลอยด์ ($2n=4x$) พืชประเภทไม้ดอกไม้ประดับที่เป็นออโตพอลิพลอยด์ส่วนใหญ่มีกำเนิดมาจากวิธีนี้

วิธีการผลิตพืชออโตพอลิพลอยด์

การผลิตพืชออโตพอลิพลอยด์หรือออโตพลอยด์ (autoploid) ทำได้หลายวิธีดังนี้

1. การตัดยอด (decapitation) และการชักนำให้เนื้อเยื่อเจริญเป็นแคลลัส (callus) โดยการกระตุ้นด้วยออกซิน (auxin) ชื่ออินโดลอะเซติก แอซิด (indolacetic acid) หรือ IAA การกระตุ้นด้วยอินโดลอะเซติก แอซิด สามารถชักนำให้ได้ต้นพืชที่เป็นออโตพลอยด์
2. การเกิดต้นกล้าแฝด (twin seedling) เป็นวิธีการหนึ่งในการผลิตต้นออโตพลอยด์ในระยะแรกๆ จะพบต้นกล้าแฝดในอัตราที่ต่ำมากในระหว่างต้นกล้าปกติที่งอกออกจากเมล็ดต้นกล้าแฝดดังกล่าวเป็นเฮเทอโรพลอยด์ (heteroploid) ประกอบด้วยต้นพืชปกติและต้นพืชที่มีความผิดปกติในจำนวนโครโมโซมซึ่งอาจเป็นต้นออโตพอลิพลอยด์ ทำให้เราสามารถคัดเลือกต้นที่เป็นออโตพลอยด์ได้
3. การใช้อุณหภูมิสูงๆ (heat treatment) เป็นเวลาสั้นๆ สามารถชักนำให้เกิดต้นพอลิพลอยด์ได้
4. การใช้สารเคมี (chemical treatment) สารเคมีบางชนิดสามารถชักนำให้เกิดต้นพืชที่เป็นพอลิพลอยด์ได้ เช่น โคลชิซินซึ่งเป็นสารพวกอัลคาลอยด์สามารถยับยั้งการทำงานของสปีนเดิลไฟเบอร์ในระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส ทำให้คู่ของโครมาติดของโครโมโซมไม่แยกออกจากกันจึงมีผลทำให้จำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นหลายๆ เท่า ของโครโมโซมปกติ

ประโยชน์ของออโตพอลิพลอยด์ในการปรับปรุงพันธุ์พืช

ออโตพอลิพลอยด์มีประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์พืช เนื่องจากพืชที่เป็นออโตพอลิพลอยด์มักมีส่วนต่างๆ ที่มีขนาดใหญ่ เช่น ราก ใบ ดอก ผล และ เมล็ดในพวงไม้ดอกไม้ประดับการมีดอกขนาดใหญ่และบาน ทนย่อมเป็นที่ต้องการของตลาดเช่น ต้นลิ้นมังกร (snapdragon) ที่เป็นเทตระพลอยด์ ($2n=32$) มีช่อดอกขนาดใหญ่กว่าดิพลอยด์ ($2n=16$) ในอาหารสัตว์ที่มีใบขนาดใหญ่ย่อมเป็นประโยชน์ต่อสัตว์เลี้ยงในรัฐพืช เมื่อเมล็ดมีขนาดใหญ่โตขึ้นอาจช่วยให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น

อย่างไรก็ตาม พืชที่เป็นออโตพอลิพลอยด์ มีข้อเสีย ซึ่งเป็นตัวจำกัดการใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์โดยพืชพอลิพลอยด์ มักเป็นหมันผลิตรีบได้น้อย จึงทำให้เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดต่ำ ซึ่งจัดว่าเป็นลักษณะที่ไม่ต้องการในรัฐพืชที่เราปลูกเอาเมล็ดเป็นผลผลิตหรือในพืชที่ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

ทริพลอยด์ (triploid)

ต้นพืชที่เป็นทริพลอยด์อาจมีกำเนิดมาจาก

1. การผสมข้ามระหว่างต้นพืชเทตระพลอยด์กับดิพลอยด์
2. การผสมระหว่างไข่ที่ไม่มีการลดจำนวนโครโมโซม ($n=2x$) กับเรณูปกติ ($n=x$)
3. การผสมระหว่างไข่ปกติ ($n=x$) กับสเปิร์ม ($n=x$) 2 ตัวที่เรียกว่าไดสเปิร์มมี (dispermy)

การใช้ประโยชน์ทริพลอยด์ในการปรับปรุงพันธุ์พืช

พืชที่มีลักษณะทริพลอยด์ส่วนใหญ่มักจะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่เป็นหมัน พืชที่นิยมเพิ่มโครโมโซมให้เป็นทริพลอยด์มีการแข่งขันที่สำคัญในการผลิตและคัดเลือกพันธุ์ที่ไร้เมล็ด (Zhu *et al.*, 2009) เราสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์พืชบางชนิดให้ไร้เมล็ดได้ เช่น

กล้วย ลักษณะทริพลอยด์ ($2n=33$) ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติมีความแข็งแรงมาก และไร้เมล็ดซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาด กล้วยที่เป็นทริพลอยด์ (AAA) ได้แก่ กล้วยหอมทอง กล้วยเขียว

กล้วยนา และกล้วยไข่ เบญจมาศ (2538) กล่าวว่ากล้วยที่มีโครโมโซม 3 ชุด ที่มีถิ่นกำเนิดจาก *M. acuminata* จะมีความแข็งแรงใกล้เคียงกับโครโมโซม 4 ชุด แต่มากกว่าโครโมโซม 2 ชุด ส่วนกล้วยที่เป็นพอลิพลอยด์มากถึง 6x และ 7x ความแข็งแรงจะลดลงอาจเจริญได้ในระยะแรกเท่านั้น กล้วยถูกผสมที่มาจากกล้วยตานีและมีโครโมโซมเป็น 3 และ 4 ชุด มีความแข็งแรงมากกว่าโครโมโซม 5 ชุด ขนาดของรังไข่ของกล้วยที่มีโครโมโซม 3 และ 4 ชุด ใหญ่กว่าโครโมโซม 2 ชุด ประมาณสองเท่าการเจริญจะมีมากกว่า ส่วนจำนวนผลต่อเครืออาจไม่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ แต่มีแนวโน้มของกล้วยที่มีจำนวนชุดโครโมโซมมากก็จะมีจำนวนผลต่อเครือมากด้วย

แอปเปิล เป็นทริพลอยด์ ($2n=51$) ที่เกิดขึ้นเองในธรรมชาติมีความแข็งแรงและมีผลขนาดใหญ่กว่าพวกดิพลอยด์แต่ผลิตเรณูได้น้อยมาก จึงมีเมล็ดน้อยในการปลูกแอปเปิลให้ได้ผลผลิตสูงจะต้องปลูกต้นดิพลอยด์สลับกับต้นทริพลอยด์ เพื่อเรณูจากต้นดิพลอยด์จะช่วยกระตุ้นให้ไข่ของต้นทริพลอยด์พัฒนาเป็นผล

ฝรั่งเป็นทริพลอยด์ ($2n=33$) Rajan *et al.* (2008) และ Shamsudin *et al.* (2005) และได้ศึกษาลักษณะความหวานของฝรั่งจะลดลงเมื่อจำนวนเมล็ดภายในผลฝรั่งลดลง ยังพบว่าจำนวนเมล็ดมีความสัมพันธ์กับขนาดของผล ความแตกต่างของลักษณะเมล็ด จำนวนเมล็ดต่อผล จากการศึกษาลักษณะรวมกันทางตรงและทางอ้อมจำนวนเมล็ดต่อผล โดยคัดเลือกต้นฝรั่งจากต้นกำเนิดและเก็บรักษาพันธุ์กรรมพืชการศึกษาเมล็ด สีของเมล็ด วิเคราะห์ผลกระทบทางตรงและทางอ้อมของความแตกต่างจากจำนวนเมล็ดในผล ลักษณะของยีนและลักษณะภายนอกของจำนวนเมล็ดต่อผลมีความสำคัญและสัมพันธ์กันกับน้ำหนักเมล็ดต่อผล ลักษณะของยีนและลักษณะภายนอกแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงศึกษาจากจำนวนเมล็ดต่อผล มีผลตอบสนองโดยตรง น้ำหนักเมล็ดต่อผลและผลต่อเมล็ดมีความสัมพันธ์กันกับค่าสัมประสิทธิ์ การมีเมล็ดเล็กหรือไร้มวลเลขอุณหภูมิยังมีความสัมพันธ์กับความหวานของผลฝรั่งด้วยเช่นกัน

แตงโม ที่เป็นดิพลอยด์มีเมล็ดจำนวนมากไม่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค นักปรับปรุงพันธุ์พืชจึงมีขั้นตอนการผลิตดังนี้

1. คัดเลือกพันธุ์แตงโมที่เป็นดิพลอยด์ ($2n=2x$) นำมาปลูกในเรือนกระจกที่ระยะกล้า หยอดสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.2-0.4 เปอร์เซ็นต์ ลงบนยอดหรือจุดเจริญของต้นกล้าวันละ 1 หยด เป็นเวลา 4 วันติดต่อกัน เพื่อชักนำให้ได้ต้นแตงโมที่เป็นเทตระพลอยด์ ($2n=3x$)

2. ผสมพันธุ์ระหว่างต้นดิพลอยด์กับเทตระพลอยด์ โดยการนำเรณูจากต้นดิพลอยด์ผสมกับเกสรตัวเมียของต้นเทตระพลอยด์ ภายหลังจากผสมเมล็ดที่ได้จะเป็นทริพลอยด์ ($2n=3x$) ในการผสมพันธุ์ถ้าหากใช้ต้นเทตระพลอยด์เป็นพ่อและดิพลอยด์เป็นแม่จะได้ต้นเมล็ดสืบ

3. เมล็ดพันธุ์แดงโมที่เป็นทรिพลอยด์ จะมีเปลือกหุ้มเมล็ดหนากว่าเมล็ดดิพลอยด์ปกติ ทำให้งอกช้าและเปอร์เซ็นต์ความงอกค่อนข้างต่ำ จึงต้องแก้ไข โดยการตัดส่วนปลายของเมล็ดเล็กน้อยก่อนนำไปเพาะในกระบะทรายที่มีความชื้นปานกลาง เมื่อเมล็ดเริ่มงอกจึงย้ายไปปลูกในดินที่บรรจุในถุงกระดาษหรือถุงพลาสติก เมื่อดันกล้าแข็งแรงและมีใบจริง 3-4 ใบ จึงย้ายลงดินในแปลงปลูกได้

4. ปลูกต้นแดงโมทริพลอยด์สลัดต้นหรือแถวคู่กับต้นแดงโมดิพลอยด์ ในอัตราส่วน 4:1 ถึง 5:1 เพื่อให้เกษตรกรผู้จากต้นดิพลอยด์ไปกระตุ้นให้ผลของต้นแดงโมทริพลอยด์เจริญเติบโต เนื่องจากเกษตรกรผู้ของต้นทริพลอยด์เป็นหมัน

เทตระพลอยด์ (tetraploid)

พืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิดเป็นอโตเทตระพลอยด์ เช่น มันฝรั่ง กาแฟ ถั่วลิสง นอกจากนี้ยังพบในพืชอาหารสัตว์หลายชนิด เช่น อัลฟาฟา หญ้าไรย์ ในไม้ดอกไม้ประดับ และผลไม้ เช่น องุ่น ลิ้นมังกร และลิลลี่ เป็นต้น อโตเทตระพลอยด์ในธรรมชาติมีกำเนิดมาจากการที่โครโมโซมเพิ่มจำนวนจากสภาพดิพลอยด์เป็นเทตระพลอยด์ สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น เย็นจัด ร้อนจัดหรือสารเคมีบางชนิด มีผลทำให้โครโมโซมเพิ่มจำนวนขึ้นได้

พฤติกรรมของเทตระพลอยด์ในระหว่างการแบ่งเซลล์

สิ่งมีชีวิตอโตพอลิพลอยด์จะมีโครโมโซม 4 ชุด เหมือนกัน (AAAA) แต่ละโครโมโซมประกอบด้วยโครโมโซมคู่เหมือน 4 แท่ง ในทางทฤษฎีโครโมโซมคู่เหมือนทั้งสี่มีโอกาสที่จะจับคู่กันได้เท่าๆ กัน แต่ในความเป็นจริงโครโมโซมคู่เหมือนทั้งสี่มักจะมาจับกันแบบสองต่อสองทำให้ได้ไบวาเลนต์ 2 คู่ แต่ถ้ามีการจับกันของโครโมโซมคู่เหมือนทั้งสี่ก็จะได้โครโมโซมแบบควอควิวาเลนต์ (quadrivalent) หรือเทตระวาเลนต์ (tetraivalent) ในระยะอะไคเนซิส โครโมโซมจะมีการจัดเรียงตัวในรูปแบบต่างๆ ขึ้นอยู่กับลักษณะการจับคู่และไคแอสมาที่เกิดขึ้นบนโครโมโซม

พันธุกรรมของเทตระพลอยด์

การถ่ายทอดลักษณะของพวกเทตระพลอยด์ สลับซับซ้อนมากกว่าดิพลอยด์ เพราะเทตระพลอยด์มีชุดโครโมโซมถึง 4 ชุด (4x) ยีนในแต่ละตำแหน่งจะมี 4 อัลลีล แทนที่เป็น 2 อัลลีล หรือหนึ่งคู่ดัง เช่น ในพวกดิพลอยด์ ดังนั้น เทตระพลอยด์จึงมีจีโนไทป์ได้ถึง 5 แบบ ซึ่งมีชื่อเรียกตามจำนวนยีนเด่นดังนี้

AAAA	เรียกว่า ควอดรุเพล็กซ์ (quadruplex)	มียีนเด่น 4 ตัว
AAAa	เรียกว่า ทริเพล็กซ์ (triplex)	มียีนเด่น 3 ตัว
AAaa	เรียกว่า ดิเพล็กซ์ (duplex)	มียีนเด่น 2 ตัว
Aaaa	เรียกว่า ซิมเพล็กซ์ (simplex)	มียีนเด่น 1 ตัว
aaaa	เรียกว่า นัลลิเพล็กซ์ (nulliplex)	ไม่มียีนเด่น

การแสดงออกของยีนในพวกเทตระพลอยด์จะผันแปรไปเช่นเดียวกับพวกดิพลอยด์ กล่าวคือถ้าเป็นยีนข่มสมบูรณ์ (complete dominance) จีโนไทป์ที่เป็นเฮเทอโรไซกัส (AAAa, AAaa และ Aaaa) จะแสดงลักษณะเหมือนกับจีโนไทป์ที่เป็นโฮโมไซกัส (AAAA) ถ้าเป็นยีนข่มไม่สมบูรณ์ (incomplete dominance) จีโนไทป์เป็นเฮเทอโรไซกัส (AAAa, AAaa และ Aaaa) จะแสดงลักษณะออกมาอยู่ระหว่างควอดรุเพล็กซ์ (AAAA) และนัลลิเพล็กซ์ (aaaa)

การแยกตัวของยีนออกจากกันในการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสเพื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์นั้นขึ้นอยู่กับตำแหน่งของยีนว่าอยู่ใกล้หรือไกลจากเซนโตรเมียร์ ถ้ายีนอยู่ใกล้กับเซนโตรเมียร์ การแยกตัวของยีนจะเป็นไปตามการแยกตัวของโครโมโซมทั้งสี่ (chromosome segregation) ซึ่งเกิดขึ้นอย่างสุ่มถ้ายีนอยู่ห่างไกลจากเซนโตรเมียร์ กระทั่งมีการแลกเปลี่ยนส่วนโครมาติดกันขึ้น การแยกตัวออกจากกันของยีนจะขึ้นอยู่กับ การแยกตัวของโครมาติด (chromatid segregation) ไม่ใช่โครโมโซม

1. การแยกตัวแบบโครโมโซม ในการแยกตัวแบบนี้โครมาติดทั้งสองของแต่ละโครโมโซมต่างก็แยกตัวไปยังเซลล์สืบพันธุ์ทั้งสอง โดยไม่มีไคแอสมาเกิดขึ้นระหว่างโครมาติดทั้งสอง จึงทำให้คล้ายกับว่าโครมาติดทั้งสองของแต่ละโครโมโซม มีพฤติกรรมเหมือนเป็นโครโมโซมแท่งเดียว เช่นเทตระพลอยด์ที่มีจีโนไทป์เป็นดิเพล็กซ์สำหรับยีน A (AAaa)

2. การแยกตัวแบบโครมาติด ในระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสโครโมโซมคู่เหมือนทั้งสี่แต่ละโครโมโซมจะประกอบด้วย 2 โครมาติด ดังนั้นเมื่อโครโมโซมทั้งสี่มาเข้าคู่แนบชิดกันในระยะไซโกทีน จะประกอบด้วย 8 โครมาติด ภายหลังการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนโครมาติดแต่ละอันมีโอกาสเท่ากันในการไปรวมกับโครมาติดอีกอันหนึ่ง เพื่อประกอบกันเป็นเซลล์สืบพันธุ์ใน

บางครั้งโครมาติดทั้งสองของโครโมโซมเดียวกัน อาจมารวมกันอาจรวมในเซลล์สืบพันธุ์เดียวกัน ซึ่งปรากฏการณ์ทำให้อัตราส่วนของเซลล์สืบพันธุ์ที่มีลักษณะด้อยเพิ่มขึ้นมา เรียกว่า ดับเบิล รีดักชัน (double reduction) (ประภา, 2534)

ประโยชน์ของเทพระพลอยด์ทางการเกษตร

โดยปกติพืชที่เป็นเทพระพลอยด์ มักจะมีส่วนประกอบต่าง ๆ เช่น ลำต้น ใบ ดอก ผล เมล็ด และราก มีขนาดใหญ่กว่าพวกดิพลอยด์ แต่มักมีจำนวนเมล็ดน้อยกว่าพวกดิพลอยด์ การใช้ประโยชน์จากพืชที่เป็นเทพระพลอยด์ทางการเกษตร จึงขึ้นอยู่กับว่ามนุษย์เรานำส่วนใดของพืชนั้นมาใช้ประโยชน์

แอนนวลพลอยด์ (aneuploid)

คือพืชที่มีโครโมโซมเพิ่มขึ้นมาหรือขาดหายไปเป็นบางแท่ง แต่ไม่ใช่การเพิ่มหรือลดจำนวนโครโมโซมเป็นชุด แอนนวลพลอยด์แบ่งออกได้หลายชนิด เช่น nullisomic ($2x-2$), monosomic ($2x-1$), trisomic ($2x+1$), และ tetrasomic ($2x+2$) เป็นต้น (ประภา, 2534)

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

การวิจัยความถี่และการเกิดพอลิพลอยดีในฝรั่งพันธุ์จินจูหลังได้รับสารโคลชิซิน
แยกรายงานเป็นสถานที่ดำเนินงานวิจัย อุปกรณ์และวิธีการทดลอง ตลอดจนการจัดแบ่งการทดลอง
ออกเป็น 2 การทดลอง

สถานที่ดำเนินการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้ได้ทำการวิจัย ณ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้
จังหวัดเชียงใหม่

วัสดุอุปกรณ์

1. พืชที่ใช้ทดลอง: ต้นฝรั่งพันธุ์จินจูอายุ 5 ปี จำนวน 66 ต้น (เพราะสายพันธุ์นี้เป็นที่นิยมของผู้บริโภค)
2. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง : สารโคลชิซิน Fluka 97 % (HPLC)
3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการให้สารกับกิ่งฝรั่ง : Pipet หรือ Dropper จานเพาะเชื้อ (Petri dish) สำลี ถูมือ อลูมิเนียมฟอยล์ เชือกหรือด้าย ขวดสีชา ถังพลาสติก และป้าย
4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดความหนาของใบ : เวอร์เนียแคลิเปอร์ส
5. อุปกรณ์ในการเพาะเมล็ด : กระดาษทิชชู กระบอกฉีดยา ปากกิบ จานเพาะเชื้อ และถาดเพาะ
6. อุปกรณ์ในการส่องกล้องจุลทรรศน์ : กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (Olympus รุ่น CH30), ปากกิบ, สีย้อมโครโมโซม, สไลด์, cover glass, 1N HCl, มีด, และขวดเก็บตัวอย่างพืชขนาดเล็ก (vial)
7. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาจำนวนโครโมโซม : เจ็ม, น้ำกลั่น, สไลด์, 0.002 Mol. 8-hydroxyquinoline, 1NHCl, 45% acetic acid, cover glass, และ lactopropionic aceto-orcein, iodine, potassium iodide

8. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการศึกษานิวคลีโอไล: น้ำกลั่น, น้ำแข็งแห้ง, โบมีด โกลน slide, 1NHCl, 45% acetic acid, cover glass, desiccator, silver nitrate, glass chambers, hot air oven, และ incubator

9. อุปกรณ์สำหรับจดบันทึก : ไม้บรรทัด คินสอ ปากกา และสมุดบันทึก

วิธีการดำเนินงาน

การทดลองที่ 1 การเพิ่มโครโมโซมเป็น 4 ชุด ของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังได้รับสารโคลชิซินต่าง ความเข้มข้น

ในการผลิตต้นกล้าฝรั่งให้มีโครโมโซม 4 ชุด ได้จากการวางแผนการทดลองแบบ 5x5 Factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 10 เมล็ด รวมทั้งหมด 1,500 เมล็ด โดยวิธีการคือ

1. ทำการคัดเลือกผลฝรั่งพันธุ์เงินจูที่มีความอุดมสมบูรณ์จากการผสมเปิด ทำความสะอาดผลและผ่าเอาเมล็ดทำการขลิบ (trimmed 750 เมล็ด) เปรียบเทียบกับไม่ขลิบเมล็ด (untrimmed 750 เมล็ด) และนำไปแช่ในสารโคลชิซินในความเข้มข้นและเวลาที่แตกต่างกัน ดังต่อไปนี้

2. ปัจจัย A กำหนดให้ความเข้มข้นสาร โคลชิซิน ที่ต่างกันคือ

control ไม่แช่สาร

โคลชิซินความเข้มข้น 0.02%

โคลชิซินความเข้มข้น 0.04%

โคลชิซินความเข้มข้น 0.06%

โคลชิซินความเข้มข้น 0.08%

3. ปัจจัย B กำหนดให้กรรมวิธีเป็นระยะเวลา คือ

กรรมวิธีที่ 1 แช่สารโคลชิซิน 5 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 2 แช่สารโคลชิซิน 15 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 3 แช่สารโคลชิซิน 30 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 4 แช่สารโคลชิซิน 45 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 5 แช่สารโคลชิซิน 60 ชั่วโมง

การทดลองที่ 2 การผลิตต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูให้มีโครโมโซม 3 ชุด จากเรณูของดอกฝรั่งที่มีโครโมโซม 2 ชุด ผสมเกสรสลับกับเรณูจากดอกฝรั่งที่มีโครโมโซม 4 ชุด หลังได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้นต่างกัน

ในการผลิตต้นกล้าให้มีโครโมโซม 3 ชุด วางแผนการทดลองแบบ 5x5 Factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ ด้วยวิธีต่อไปนี้

1. เลือกกิ่งฝรั่งที่มีความสมบูรณ์และตัดกิ่งให้เหลือความยาว 10 เซนติเมตร
2. ปักจี้ A ความเข้มข้นสารโคลชิซิน ที่แตกต่างกันคือ

control ไม่ใส่สาร

โคลชิซินความเข้มข้น 0.04%

โคลชิซินความเข้มข้น 0.06%

โคลชิซินความเข้มข้น 0.08%

โคลชิซินความเข้มข้น 0.1%

3. ปักจี้ B กำหนดกรรมวิธีเป็นระยะเวลาโดยหุ้มบนตาและกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู คือนำสาร โคลชิซินความเข้มข้นแต่ละกรรมวิธี หยดใส่ลำกิ่งพอชุ่มแล้วนำไปหุ้มกับกิ่งที่เตรียมไว้ พันด้วยพลาสติกใส มัดหัวท้ายด้วยเชือกฟางให้แน่น แล้วห่อด้วย aluminum foil เพื่อกันแสงแดด โดยมีระยะเวลาต่างกันดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ให้สารพันทีหลังตัดแต่งกิ่ง

กรรมวิธีที่ 2 ให้สารหลังตัดแต่งกิ่ง (5 วัน)

กรรมวิธีที่ 3 ให้สารระยะเริ่มแทงยอด (15 วัน)

กรรมวิธีที่ 4 ให้สารระยะใบเพสลาด คือลักษณะของใบฝรั่งพันธุ์เงินจูที่ไม่อ่อนหรือแก่จนเกินไป (30 วัน)

กรรมวิธีที่ 5 ให้สารระยะเริ่มแทงช่อดอก (45 วัน)

4. ก่อนดอกบาน 1 วัน มีการเตรียมดอกโดยดึ่งเกสรเพศผู้ (emasculation) เพื่อผสมในตอนเช้า หลังจากดึ่งเกสรเพศผู้ออก จากนั้นใช้กระดาษเคลือบไขคลุมดอกไว้ป้องกันการผสม

การผสมเกสรและการติดผลที่เกิดจากดอกเพศผู้และดอกเพศเมียที่ได้รับสารโคลชิซิน

1. เตรียมดอกโดยทำการกำจัดเกสรเพศผู้ออก ให้เหลือเฉพาะเพศเมีย จากนั้นเก็บเกสรเพศผู้ไว้ในอุณหภูมิห้องในสภาพถ่ายเทสะดวก และผึ้งไว้ 1 คืน เพื่อให้เกสรแห้ง เณจะหลุด/

แตก ออกจากอับเรณู พร้อมผสมเกสรช่วงเวลา 6.00-8.00 น. จากนั้นใช้ cotton bud จุ่มเรณูแต่ละบนยอดเกสรเพศเมีย และใช้กระดาษเคลือบไขคลุมดอก หลังจาก 5 วัน จึงเอาออก เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเรณูต่างๆ และการปฏิสนธิจากดอกอื่น การผสมจะสลับกัน กล่าวคือเรณูจากดอกที่ได้รับสารผสมกับดอกเพศเมียไม่ได้รับสาร (control) และเพศเมียที่ได้รับสารผสมกับเพศผู้ไม่ได้รับสาร (control)

2. จากข้อที่ 1 นำอับเรณูที่เหลืมาเก็บข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) และวัดขนาดเรณู ซึ่งมีเรณูที่ไม่ได้รับสาร (control) เป็นตัวเปรียบเทียบการกำหนดหาขนาดของเรณู คือ เรณูขนาดปกติ เรณูขนาดใหญ่ เรณูไม่สมบูรณ์ ความกว้าง และความยาวเรณู การตรวจหาเรณูใน 1 สไลด์ นับ 5 ตัวอย่าง และหาเปอร์เซ็นต์ความงอกของเรณู

3. บันทึกข้อมูลใบ ได้แก่ จำนวนใบ ขนาดความกว้าง-ยาวของใบ และบันทึกจำนวนปากใบที่ตำแหน่งกลางใบ

4. บันทึกที่มาของเรณูที่ผสมกับดอกเพศเมีย สังเกตการณ์เจริญเติบโตของผล เปรียบเทียบการผสมติดของผล และห่อผลเมื่อผลมีขนาดเท่าผลมะนาว หรือประมาณ 1 เดือน โดยใช้กระดาษห่อชั้นแรก ต่อมาใช้ถุงพลาสติกห่ออีกครั้ง เพื่อป้องกันแมลง ประมาณ 2-3 เดือน หลังดอกบานสามารถเก็บผลได้

5. หลังเริ่มการเก็บเกี่ยว บันทึกข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อผล น้ำหนักผล และขนาดผล (กว้าง x ยาว) จากนั้นนำเมล็ดไปเพาะเพื่อศึกษาอัตราการงอกและการเจริญเติบโต

การบันทึกข้อมูล

วัดขนาดของกิ่งและใบ

การทดลองนี้เริ่มเมื่อฝรั่งเริ่มออกดอก โดยมีการบันทึกขนาดของกิ่งและขนาดของใบ วัดขนาดความยาวของกิ่งที่ได้รับสาร โดยวัดกิ่งที่แตกใหม่ ส่วนการวัดเมื่อสังเกตเห็นตาดอกของฝรั่ง ซึ่งการวัดในระยะนี้ เนื่องจากพืชชะลอการเจริญเติบโตทางกิ่งและพัฒนาทางอวัยวะสืบพันธุ์ต่อไปคือ

1. วัดความกว้างและยาวใบ
2. ความหนาใบ
3. รูปร่างใบ

การศึกษาขนาดต่างๆ ของเรณูฝรั่ง

1. เก็บอับเรณูฝรั่งที่เตรียมไว้หลังจากการผสมดอก
2. ทำการสุ่มเลือกอับเรณูประมาณ 5 อับเรณู ต่อ 1 สไลด์
3. หยด 1N HCl ลงบนอับเรณูทิ้งไว้ประมาณ 5-10 นาที เพื่อให้อับเรณูอ่อนนุ่ม
4. ซับ 1N HCl ออก จากนั้นหยด orcein 1-2 หยด แล้วบดอับเรณูและนำกากอับ

เรณูออก

5. ปิดทับด้วย cover glass
6. บันทึกลักษณะและขนาดของเรณู ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ โดย

บันทึกการวัดขนาด และความผิดปกติของเรณู

การบันทึกข้อมูล

การศึกษาเรณูโดยการวัดขนาด

1. เรณูขนาดปกติ (normal pollen grains)
2. เรณูขนาดกลาง (medium pollen grains)
3. เรณูขนาดใหญ่ (big pollen grains)
4. เรณูไม่สมบูรณ์ (imperfect) โดยมีมุมใดมุมหนึ่งหรือทุกมุมเว้าแหว่ง
5. ความกว้างและความยาวเรณู

การศึกษาปากใบของฝรั่ง

1. เลือกใบที่แก่ ทำความสะอาดใบด้วยการเช็ดเบาๆ เพื่อกำจัดฝุ่นผงที่ผิวได้ใบ
2. ใช้ enamel polish ทาบนผิวใบบริเวณกลางใบระหว่างกึ่งกลางขอบใบและเส้น

ใบ ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 นาที

3. ลอกส่วนผิวที่ทำ enamel polish ออกวางบนแผ่นสไลด์ที่มีน้ำประมาณ 1-2 หยด แล้วปิดด้วย cover glass นำมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อบันทึกจำนวนและขนาดของปากใบ

การศึกษาจำนวนคลอโรพลาสต์

1. เลือกใบฝรั่งระยะเพสลาดมาทำความสะอาด นำไปใส่ลงใน fixing agent (ethanol and acetic acid = 3:1) จนสีใบเปลี่ยนจากเขียวเป็นขาว

2. ย้อมสีด้วย iodine potassium iodide (iodine: potassium iodide = 1:2) นาน 30 นาที
3. ปิดด้วย cover glass นำมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อศึกษาจำนวนของคลอโรพลาสต์

การตรวจนับจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายราก

เซลล์เป็นหน่วยที่เล็กที่สุดของสิ่งมีชีวิต ภายในเซลล์มีอวัยวะที่เรียกว่าโครโมโซม ซึ่งมีรูปร่างคล้ายเส้นด้ายและทำหน้าที่สืบทอดลักษณะจากพ่อแม่ไปยังลูกหลาน ปกติภายในเซลล์ของพืชแต่ละชนิดจะมีโครโมโซมที่แน่นอนในเรื่องจำนวนลักษณะและพฤติกรรมเนื่องจากโครโมโซมเป็นตัวสำคัญในการจัดเรียงลำดับของยีนของพืชแต่ละชนิดให้เป็นหมวดหมู่การศึกษาเกี่ยวกับโครโมโซมของพืชที่ต่างสายพันธุ์กันจึงสามารถนำมาเปรียบเทียบเพื่อจำแนกพืชเหล่านั้นได้ (กฤษฎา, 2519)

ขั้นตอนการศึกษาทางเซลล์พันธุศาสตร์พืช วิธีการศึกษาจำนวนโครโมโซมโดยใช้วิธีการของ Love and Love (1975) มีวิธีการดังนี้

1. ตัดปลายรากยาวประมาณ 5-10 มิลลิเมตร pretreatment ปลายรากใน 0.002 M. 8-hydroxyquinoline ที่ 15 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง เพื่อยับยั้งการทำงานของสปีนเดิลไฟเบอร์ ทำให้โครโมโซมที่อยู่ในระยะเมตาเฟสมีการหดตัวได้
2. ล้างด้วยน้ำกลั่น 3-4 ครั้ง
3. นำรากไปแช่ใน fixing agent นาน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อเป็นการหยุดการทำงานของเซลล์ (fixation) คือการใช้สารเคมีหยุดปฏิกิริยาเมตาโบลิซึมภายในเซลล์ เพื่อรักษาสภาพของเนื้อเยื่อและเซลล์ให้อยู่ในสภาพที่สมบูรณ์ที่สุด
4. ล้างด้วยน้ำกลั่น 3-4 ครั้ง
5. การเก็บรักษาเนื้อเยื่อ (storage) ก่อนจะเก็บรักษาเนื้อเยื่อไว้ต้องล้างกรดอะซิติก ออกให้หมดด้วยแอลกอฮอล์ 70% แล้วจึงเก็บเนื้อเยื่อไว้ในเอทิลแอลกอฮอล์ 70% ที่อุณหภูมิห้อง หรือเก็บในตู้เย็น สามารถเก็บไว้ได้นานประมาณ 6-12 เดือน โดยไม่ทำให้เซลล์เหี่ยวหรือสูญเสียอย่างไรก็ตาม การเก็บเนื้อเยื่อไว้นานเกินไปจะมีผลต่อการย้อมสี ซึ่งได้ผลไม่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อใหม่ๆ ควรใช้เนื้อเยื่อใหม่จะได้ผลดีกว่า
6. นำรากที่เตรียมไว้วางบนสไลด์ ตัดปลายรากยาวประมาณ 1-2 มิลลิเมตร

7. หยด 1N HCl 1-2 หยด นาน 15-30 นาที เพื่อให้เนื้อเยื่อของรากอ่อนตัว ควรทดสอบได้โดยใช้ปลายเข็มกดที่ราก หากยังคงความแข็งให้เพิ่มระยะเวลาในการแช่ 1N HCl ให้มากขึ้น เมื่อรากนิ่มแล้วให้ซับ 1N HCl ออก

8. หยดด้วยสีย้อม Lactopropionic aceto-orcein (2%) นาน 20 นาที

9. การย้อมสีและการบดเนื้อเยื่อ (staining and squashing) เป็นขั้นตอนการนำเนื้อเยื่อที่ผ่านการย่อยแยกแล้วมาวางบนสไลด์ที่หยดสี Lacto-propionic-orcein (Chen, 1992) แล้วใช้ปลายเข็มเขี่ยเนื้อเยื่อให้แยกออกจากกันเกาะกระแทงไม่เห็นกลุ่มเซลล์ที่ติดสีด้วยตาเปล่าซึ่งแสดงว่าเซลล์กระจายดี หลังจากนั้นนำแผ่นสไลด์ไปตรวจวัดโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

การศึกษานิวคลีโอลิ [Nicleoli, Nucleolar Organizer Regions (NORs)] จากเซลล์
ปลายราก

การหานิวคลีโอลิเพื่อหาจำนวนชุดของโครโมโซมของพืช มีขั้นตอนดังนี้

1. ตัดปลายรากยาวประมาณ 10 มิลลิเมตร
2. แช่รากใน fixing agent ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นาน 1-1.5 ชั่วโมง
3. ล้างรากด้วยน้ำกลั่น โดยนำรากออกจากการ fixation แล้วนำมาแช่ในน้ำกลั่นประมาณ 10 มิลลิลิตร ต่อราก เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยล้าง 3-4 ครั้ง ด้วยน้ำกลั่นและซับน้ำส่วนเกินให้แห้ง
4. ทำให้ปลายรากนิ่มโดยการนำรากไปแช่ใน 1N HCl ผสมกับ 45 % ของกรดน้ำส้ม (acetic acid) อัตราส่วน 2:1 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 20 วินาที
5. นำรากมาล้างด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตรต่อราก โดยล้าง 3-4 ครั้ง นานประมาณ 1 ชั่วโมง
6. ตัดรากเฉพาะส่วนที่มีสีเขียวช้ำนำมาวางบนสไลด์ ปิดทับด้วย cover glass กดทับด้วยหัวแม่มือให้เซลล์กระจายเป็น single layer มากที่สุด
7. นำสไลด์ที่เป็น single layer มาวางบนน้ำแข็งแห้งจนเป็นเกล็ดน้ำแข็ง และมีไอน้ำขึ้น ใช้ใบมีดจัด cover glass ออก แล้วเก็บไว้ใน desiccator นาน 3 วัน
8. นำสไลด์ออกจาก desiccator หยดด้วย 50 % silver nitrate 1-2 หยด แล้วปิดทับด้วย cover slip จึงนำไปใส่ใน glass chambers และ incubate ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 3-4 ชั่วโมง นำสไลด์มาตรวจจำนวนนิวคลีโอลิด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

9. เอา cover glass ออกโดยการใช้น้ำผ่านบริเวณด้านหลังของสไลด์จน cover slip หลุดออก แคร่ระวังอย่าให้น้ำเข้าด้านบริเวณเนื้อเยื่อพืช จากนั้นนำไปเก็บใน desiccators นาน 3 วัน

10. ปิดทับด้วย cover glass อีกครั้งหลังหยดด้วย emulsion oil 1-2 หยด จึงนำไปศึกษาเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

วิธีการเตรียมสีย้อมโครโมโซม (Lacto-propionic-orcein)

สารเคมี

ขี้สาร Orcein	=	2 กรัม
Propionic acid	=	23 มิลลิลิตร
Lactic acid	=	23 มิลลิลิตร

เติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร

วิธีการ ผสม propionic acid กับ lactic acid ให้เข้ากันใส่ orcein แล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปแช่และกรองแยกเอาตะกอนทิ้ง และเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น

การเตรียมสารละลายความเข้มข้นสูง (Stock solution)

สารละลายที่นำไปใช้งานมีความเข้มข้นต่ำมากการเตรียมสารละลายที่มีความเข้มข้นต่ำมากๆ นั้น มีปัญหายุ่งยากหลายประการนับตั้งแต่เครื่องชั่งจะต้องเป็นเครื่องชั่งชนิดละเอียดหรือเครื่องมือที่ใช้ดวงต้องเป็นเครื่องมือที่มีความละเอียดมาก และมีความแม่นยำสูง ทำให้เกิดความผิดพลาดขึ้นในระหว่างการชั่งหรือดวง เนื่องจากสารละลายที่เจือจางมาก ไม่เหมาะที่จะเก็บไว้ใช้งานเป็นระยะเวลายาวนานเพราะเสื่อมสภาพได้ง่ายจึงควรเตรียมสารละลายที่มีความเข้มข้นสูงกว่าสารละลายที่ต้องการซึ่งเรียกสารละลายนี้ว่า สารละลายความเข้มข้นสูง (stock solution) และเมื่อต้องการใช้ก็ทำให้เจือจางลง

โดยใช้สูตร

$$N_1 V_1 = N_2 V_2$$

แทนให้

N1	=	ความเข้มข้นของสารละลายความเข้มข้นสูง
V1	=	ปริมาตรของสารละลายความเข้มข้นสูง
N2	=	ความเข้มข้นที่ต้องการ
V2	=	ปริมาตรที่ต้องการ

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ ANOVA โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ SAS 9.0



บทที่ 4

ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 การเพิ่มโครโมโซมเป็น 4 ชุด ของต้นกล้าฝรั่ง พันธุ์เงินจูหลังได้รับสารโคลชิซินต่างความเข้มข้น

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจูด้วยสาร โคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ นาน 0, 15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง และเพาะเมล็ดในเรือนเพาะชำ หลังขลิบและไม่ขลิบเมล็ดนาน 6 เดือน พบลักษณะแตกต่างของต้นกล้าหลังการศึกษาจำนวนโครโมโซมและตรวจสอบจำนวนชุดของโครโมโซมด้วยเครื่อง flow cytometry

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจูในสารโคลชิซินต่างความเข้มข้นและเวลาหลังการขลิบเมล็ดมีผลดังต่อไปนี้

ความสูงของต้นกล้า

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการขลิบเมล็ดในสาร โคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ พบว่าต้นกล้าจากเมล็ดที่ไม่แช่สาร มีความสูงต้นกล้ามากที่สุดคือ 19.33 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้น 0.06, 0.04 และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ มีความสูงต้นกล้าเท่ากับ 15.07, 14.72 และ 14.48 เซนติเมตร ตามลำดับ และความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ มีความสูงต้นกล้าน้อยที่สุดคือ 12.07 เซนติเมตร (ตาราง 1) ส่วนการแช่สารโคลชิซินในเวลาที่แตกต่างกัน (0, 15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง) พบว่าการแช่ที่เวลา 0, 30 และ 45 ชั่วโมง มีความสูงของต้นกล้าคือ 17.13, 15.97 และ 15.78 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับเวลา 15 และ 60 ชั่วโมง (14.13 และ 12.65 เซนติเมตร) ตามลำดับ (ตาราง 1) และมีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างการได้รับสารโคลชิซินต่างความเข้มข้นและเวลาในการแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจู (ตาราง 1 และตารางผนวก 1) คือ เมล็ดที่ไม่แช่สาร มีความสูงต้นกล้ามากที่สุด 19.33 เซนติเมตร และแช่ทันที (17.13 เซนติเมตร)

จำนวนใบ

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการขลิบเมล็ดในสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมล็ดที่ไม่แช่สารมีจำนวนใบมากที่สุดคือ 21.41 ใบ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับความเข้มข้น 0.06 และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ (17.84 และ 17.57 ใบ) และมีความแตกต่างกันกับความเข้มข้น 0.02 และ 0.04 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนใบคือ 13.76 และ 11.97 ใบ (ตาราง 1) ส่วนการแช่สารโคลชิซินในเวลาที่แตกต่างกัน (0, 15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง) พบว่าการแช่สารนาน 15 และ 0 ชั่วโมง (18.34 และ 17.65 ใบ) ทำให้มีจำนวนใบมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับเวลา 30, 45 และ 60 ชั่วโมง (16.31, 15.68 และ 14.56 ใบ) ตามลำดับ (ตาราง 1 และตารางผนวก 2) แต่ไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างการให้สารโคลชิซินต่างความเข้มข้นและเวลาในการแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจู

ความกว้างใบ

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการขลิบเมล็ดในสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความเข้มข้น 0.06, 0.04, 0.02, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ มีความกว้างใบคือ 2.22, 2.18, 1.98, และ 1.97 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับ 0.00 มีความกว้างใบน้อยที่สุดคือ 1.62 เซนติเมตร (ตาราง 1) ส่วนการแช่สารโคลชิซินในเวลาที่แตกต่างกัน (0, 15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง) พบว่าไม่มีผลต่อความกว้างใบ (ตาราง 1) และไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างการได้รับสารโคลชิซินต่างความเข้มข้นและเวลาในการแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจู (ตาราง 1 และตารางผนวก 3)

ความยาวใบ

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการขลิบเมล็ดในสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความเข้มข้น 0.00, 0.04 และ 0.06 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวใบคือ 3.95, 3.28 และ 3.12 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้น 0.08 และ 0.02 เปอร์เซ็นต์ (2.93 และ 2.09 เซนติเมตร) ตามลำดับ (ตาราง 1) ส่วนการแช่สารโคลชิซินในเวลาที่แตกต่างกัน (0, 15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง) พบว่าไม่มีผลต่อความยาวใบ และไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างการได้รับสารโคลชิซินต่างความเข้มข้นและเวลาในการแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจู (ตาราง 1 และตารางผนวก 4)

จำนวนปากใบ

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการขลิบเมล็ดในสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความเข้มข้น 0.00, 0.06 และ 0.02 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนปากใบคือ 135.13, 132.27 และ 129.07 ปากใบ/field ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้น 0.02 และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนปากใบคือ 105.67 และ 103.04 ปากใบ/field (ตาราง 1) ส่วนการแช่สารโคลชิซินในเวลาที่แตกต่างกัน (0, 15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง) พบว่าไม่มีผลต่อจำนวนปากใบ (ตาราง 1) แต่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างความเข้มข้นของสารโคลชิซินและเวลาในการแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจู (ตาราง 1 และตารางผนวก 5) มีปากใบมากที่สุดคือ เมล็ดที่ไม่แช่สาร 129.13 ปากใบ/field และเพาะเมล็ดทันทีคือ 135.13 ปากใบ/field

ความกว้างปากใบ

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการขลิบเมล็ดในสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ ทำให้มีความกว้างปากใบมากที่สุดคือ 7.24 ไมโครเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้น 0.02, 0.06, 0.08, และ 0.00 เปอร์เซ็นต์ (6.58, 5.97, 5.97, และ 5.35 ไมโครเมตร) ตามลำดับ (ตาราง 1) ส่วนการแช่สารโคลชิซินในเวลาที่แตกต่างกัน (0, 15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง) พบว่าไม่มีผลต่อความกว้างปากใบ (ตาราง 1 และตารางผนวก 6) และไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างความเข้มข้นของสารโคลชิซินและเวลาในการแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจู

ความยาวปากใบ

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการขลิบเมล็ดในสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความเข้มข้น 0.04 และ 0.06 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวปากใบคือ 8.71 และ 8.28 ไมโครเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้น 0.08 และ 0.02 เปอร์เซ็นต์ (8.20 และ 7.91 ไมโครเมตร) ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันกับเมล็ดที่ไม่แช่สาร มีความยาวปากใบน้อยที่สุดคือ 6.51 ไมโครเมตร (ตาราง 1) ส่วนการแช่สารโคลชิซินที่เวลานานแตกต่างกัน (0, 15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง) พบว่าการแช่ที่เวลา 45 และ 60 ชั่วโมง มีความยาวปากใบคือ 8.28 และ 8.17 ตามลำดับ มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับเวลา 30, 0 และ 15 ชั่วโมง (7.82, 7.68 และ 7.64 ไมโครเมตร) ตามลำดับ (ตาราง 1) และมีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างการได้รับสารโคลชิซินต่างความเข้มข้น และเวลาในการแช่เมล็ดฝรั่ง

พันธุ์เงินจู (ตาราง 1 และตารางผนวก 7) ทำให้มีความยาวปากใบมากที่สุด คือความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ (8.71 ไมโครเมตร) นาน 45 ชั่วโมง (8.28 ไมโครเมตร)



ตาราง 1 ลักษณะต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูได้จากเมล็ดแช่ในสารโคลชิซิน ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน

ปัจจัย	สารเข้มข้นเวลา	ต้นกล้าสูง (ซม.)	จำนวนใบ (ใบ)	ขนาดใบ		จำนวนปากใบ (ปากใบ/field)	ขนาดปากใบ	
				ความกว้าง (ซม.)	ความยาว (ซม.)		ความกว้าง (μm)	ความยาว (μm)
ความเข้มข้น สารโคลชิซิน (%) (A)	0.00 (control)	19.33a	21.41a	1.62b	3.59a	135.13a	5.35d	6.51c
	0.02	12.07c	13.76c	1.98a	2.09b	129.07a	6.58b	7.91b
	0.04	14.72b	11.97c	2.18a	3.28ab	105.67b	7.24a	8.71a
	0.06	15.07b	17.84b	2.22a	3.12ab	132.27a	5.97c	8.28ab
	0.08	14.48b	17.57b	1.97ab	2.93b	103.04b	5.97c	8.20b
	F-test	**	**	*	*	*	**	**
เวลา (ชม.) (B)	0	17.13a	17.65ab	1.81	3.10	129.13	5.99	7.68c
	15	14.13bc	18.34a	2.01	3.16	123.60	6.32	7.64c
	30	15.97ab	16.31bc	2.01	3.12	111.62	6.20	7.82bc
	45	15.78ab	15.68c	2.07	3.10	116.13	6.25	8.28a
	60	12.65c	14.56c	2.07	3.34	124.69	6.36	8.17ab
	F-test	**	**	ns	ns	ns	ns	**
Interaction (A x B)	F-test	**	ns	ns	ns	*	ns	**

หมายเหตุ ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันมีตัวอักษรกำกับเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ $P > 0.05$

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $P \leq 0.05$

** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ $P \leq 0.01$

การประเมินผลผู้รับทุนการศึกษานี้มีผลดังต่อไปนี้

ความสูงของต้นไม้

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์จินจูโดยไม่กลีบเมล็ดในสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความเข้มข้น 0.04, 0.08 และ 0.00 เปอร์เซ็นต์ มีความสูงต้นของกล้าคือ 15.07, 14.49 และ 14.39 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเกี่ยวกับความเข้มข้น 0.06 และ 0.02 เปอร์เซ็นต์ มีความสูงต้นกล้า คือ 11.86 และ 10.89 เซนติเมตร (ตาราง 2) ส่วนการแช่สารโคลชิซินที่เวลานานแตกต่างกัน (0, 15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง) พบว่าไม่มีผลต่อความสูงของต้นกล้า (ตาราง 2 และตารางผนวก 8) และไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างการใช้สารโคลชิซินต่างความเข้มข้นและเวลาในการแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์จินจู

จำนวน

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินงูโดยไม่ขลิบเมล็ดในสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ พบว่าต้นกล้าจากเมล็ดที่ไม่แช่สาร มีจำนวนใบมากที่สุดคือ 23.65 ใบ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้น 0.04 และ 0.02 เปอร์เซ็นต์ (20.64 และ 19.02 ใบ) และมีความแตกต่างกับความเข้มข้น 0.06 และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ ที่มีจำนวนใบคือ 13.13 และ 12.67 ใบ (ตาราง 2) ส่วนการแช่สารโคลชิซินที่เวลานานแตกต่างกัน (0.15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง) พบว่าไม่มีผลต่อจำนวนใบ (ตาราง 2) แต่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างการได้รับสารโคลชิซินต่างความเข้มข้นและเวลาในการแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินงู (ตาราง 2 และตารางผนวก 9) มีจำนวนใบมากที่สุดคือ เมล็ดที่ไม่ได้รับสารเท่ากับ 23.65 ใบ และการแช่สารทันที (18.66 ใบ)

ความกว้างและความยาวใบ

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจู โดยไม่ขลิบเมล็ดในสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ และการแช่สารโคลชิซินที่เวลานานแตกต่างกัน (0, 15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง) พบว่าความเข้มข้นสารและเวลาในการแช่เมล็ดไม่มีผลต่อความกว้างและความยาวใบ และไม่มีปฏิกิริยสัมพันธ์กันระหว่างการให้สารโคลชิซินต่างความเข้มข้นและเวลาในการแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจู (ตาราง 2 ตารางผนวก 10 และ 11)

จำนวนปากใบ

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์จินจูโดยไม่กลีบเมล็ดในสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความเข้มข้น 0.06 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนปากใบมากที่สุดคือ 148.56 ปากใบ/field ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้น 0.04, 0.00, 0.02, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ (122.33, 121.89, 120.67, และ 107.82 ปากใบ/field) ตามลำดับ (ตาราง 2) ส่วนการแช่สารโคลชิซินที่เวลานานแตกต่างกัน (0, 15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง) พบว่าไม่มีผลต่อจำนวนปากใบ (ตาราง 2) แต่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างการได้รับสารโคลชิซินต่างความเข้มข้นและเวลาในการแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์จินจู (ตาราง 2 และตารางผนวก 12) ทำให้มีจำนวนปากใบมากที่สุดคือ ความเข้มข้น 0.06 เปอร์เซ็นต์ (148.56 ปากใบ/field) นาน 45 วัน (135.89 ปากใบ/field)

ความกว้างปากใบ

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์จินจูโดยไม่กลีบเมล็ดในสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ และการแช่สารโคลชิซินนาน 0, 15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง พบว่าไม่มีผลต่อความกว้างปากใบ และไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างการได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้นและเวลาในการแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์จินจู (ตาราง 2 และตารางผนวก 13)

ความยาวปากใบ

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์จินจูโดยไม่กลีบเมล็ดในสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวปากใบคือ 9.11 ไมโครเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้น 0.00, 0.02 และ 0.06 เปอร์เซ็นต์ (8.68, 8.62 และ 8.33 ไมโครเมตร) ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันกับความเข้มข้น 0.08 เปอร์เซ็นต์ ที่มีความยาวปากใบคือ 8.17 ไมโครเมตร (ตาราง 2) ส่วนการแช่สารโคลชิซินที่เวลานานแตกต่างกัน (0, 15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง) พบว่าเวลา 60, 30, 45, และ 0 ชั่วโมง มีความยาวปากใบคือ 8.80, 8.79, 8.57, และ 8.46 ไมโครเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับเวลา 15 ชั่วโมง ที่มีความยาวปากใบคือ 8.28 ไมโครเมตร (ตาราง 2) และมีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างการได้รับสารโคลชิซินต่างความเข้มข้นและเวลาในการแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์จินจู (ตาราง 2 และตารางผนวก 14) มีความยาวปากใบมากที่สุดคือ 0.04 เปอร์เซ็นต์ (9.11 ไมโครเมตร) นาน 60 วัน (8.80 ไมโครเมตร)

ตาราง 2 ลักษณะต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูได้จากเมล็ดที่แช่ในสารโคลชิซินความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน

ปัจจัย	สารเข้มข้น/ เวลา	ต้นกล้าสูง (ซม.)	จำนวนใบ (ใบ)	ขนาดใบ		จำนวนปากใบ (ปากใบ/field)	ขนาดปากใบ	
				กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)		กว้าง (μm)	ยาว (μm)
ความเข้มข้น สารโคลชิซิน (%) (A)	0.00 (control)	14.39a	23.65a	1.91	2.39	121.89b	5.06	8.68b
	0.02	10.89b	19.02b	1.90	2.31	120.67b	5.31	8.62b
	0.04	15.07a	20.64b	1.84	2.48	122.33b	5.24	9.11a
	0.06	11.86b	13.13c	1.87	2.36	148.56a	5.19	8.33bc
	0.08	14.49a	12.67c	2.00	2.44	107.82b	5.31	8.17c
	F-test	**	**	ns	ns	*	ns	**
เวลา (ซม.) (B)	0	13.84	18.66	1.74	2.29	126.80	5.11	8.46ab
	15	13.54	18.27	1.9	2.34	131.40	5.4	8.28b
	30	13.83	17.63	2.01	2.47	115.60	5.17	8.79a
	45	13.50	17.65	1.83	2.31	135.89	5.13	8.57ab
	60	12.00	16.89	2.03	2.57	111.58	5.31	8.80a
	F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**
Interaction (A x B)	F-test	ns	*	ns	ns	*	ns	**

หมายเหตุ ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันมีตัวอักษรกำกับเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ $P > 0.05$

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $P \leq 0.05$

** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ $P \leq 0.01$

ตาราง 3 จำนวนต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูที่ได้จากการขลิบเมล็ดเชในสารโคลชิซินและระยะเวลาแตกต่างกัน

ชนิดเมล็ด	โคลชิซิน (%)	เวลา (ชม.)	จำนวนเมล็ดที่ได้รับ สารโคลชิซิน	การรอดชีวิต (%)	จำนวนชุดโครโมโซม	
					2 ชุด (%)	4 ชุด (%)
ขลิบเมล็ด	0.04	0	30	30.00 (100%)	30.00 (100%)	-
		15	30	20.00 (66.67%)	18.00 (90.00%)	2.00 (10.00%)
		30	30	27.00 (90.00%)	27.00 (100%)	-
		45	30	25.00 (83.33%)	25.00 (100%)	-
		60	30	23.00 (76.67%)	23.00 (100%)	-
	0.06	0	30	30.00 (100%)	30.00 (100%)	-
		15	30	25.00 (83.33%)	23.00 (92.00%)	2.00 (8.00%)
		30	30	25.00 (83.33%)	25.00 (100%)	-
		45	30	23.00 (56.67%)	23.00 (100%)	-
		60	30	21.00 (70.00%)	20.00 (95.24%)	1.00 (4.76%)

การศึกษาจำนวนชุดและจำนวนโครโมโซมต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังได้รับสารโคลชิซิน

หลังการศึกษาจำนวนชุดนิวคลีโอลีและจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจู จากจำนวนต้นกล้า 1,360 ต้น พบว่าต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูที่มีจำนวนโครโมโซมจำนวน 2 ชุด หรือ 22 โครโมโซม ($2n=2x=22$) จำนวน 1,355 ต้น และมีโครโมโซมจำนวน 4 ชุด หรือ 44 โครโมโซม ($2n=4x=44$) จำนวน 5 ต้น (ตาราง 4 ภาพ 1 และ 2) จากเมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจูที่ผ่านการกลีบกเมล็ดทั้งหมด หลังแช่สารโคลชิซิน 0.04 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 ชั่วโมง จำนวน 2 ต้น และที่ความเข้มข้น 0.06 เปอร์เซ็นต์ นาน 60 ชั่วโมง จำนวน 3 ต้น (ตาราง 3 และภาพ 3) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาจำนวนคลอโรพลาสต์จากปากใบของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูอายุ 6 เดือน พบว่ามีจำนวนเพิ่มขึ้นตามจำนวนของโครโมโซม (ตาราง 5 และภาพ 4) และยังวิเคราะห์โดยเครื่อง flow cytometry จากใบของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจู พบว่ามีความแตกต่างกันกับต้นกล้าที่มีโครโมโซม $2n=2x=22$ กับต้นกล้าที่มีโครโมโซม $2n=4x=44$ (ภาพ 5) ซึ่งสามารถยืนยันก่อนนำไปใช้พ่อแม่พันธุ์ในโครงการปรับปรุงพันธุ์

ตาราง 4 จำนวนนิวคลีโอลีจากเซลล์ปลายรากของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังได้รับสาร โคลชิซินต่างความเข้มข้น

จำนวนต้นกล้า	จำนวนโครโมโซม	จำนวนนิวคลีโอลี (%)		
		Nucleolus	2 Nucleoli	4 Nucleoli
1,355	22	897,000 (71.22)	362,500 (28.28)	-
5	44	2,675 (71.91)	1,005 (27.01)	40 (1.08)

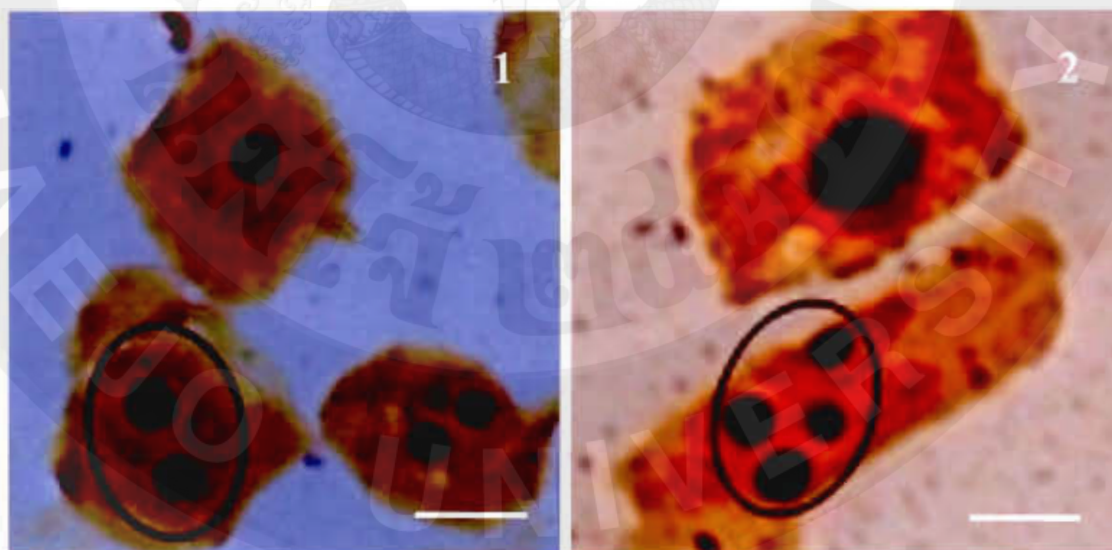
ตาราง 5 จำนวนปากใบ ความยาว ความกว้างปากใบและจำนวนคลอโรพลาสต์ในปากใบต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังได้รับสาร โคลชิซินต่างความเข้มข้นและเวลาในการแช่เมล็ด

จำนวนต้นกล้า	จำนวนโครโมโซม	จำนวนปากใบ (ใบปากใบ/field)	ขนาดปากใบ		คลอโรพลาสต์/ปากใบ
			กว้าง (μm)	ยาว (μm)	
20	22	340	7.50	10.50	8
5	44	100	10.00	15.30	20



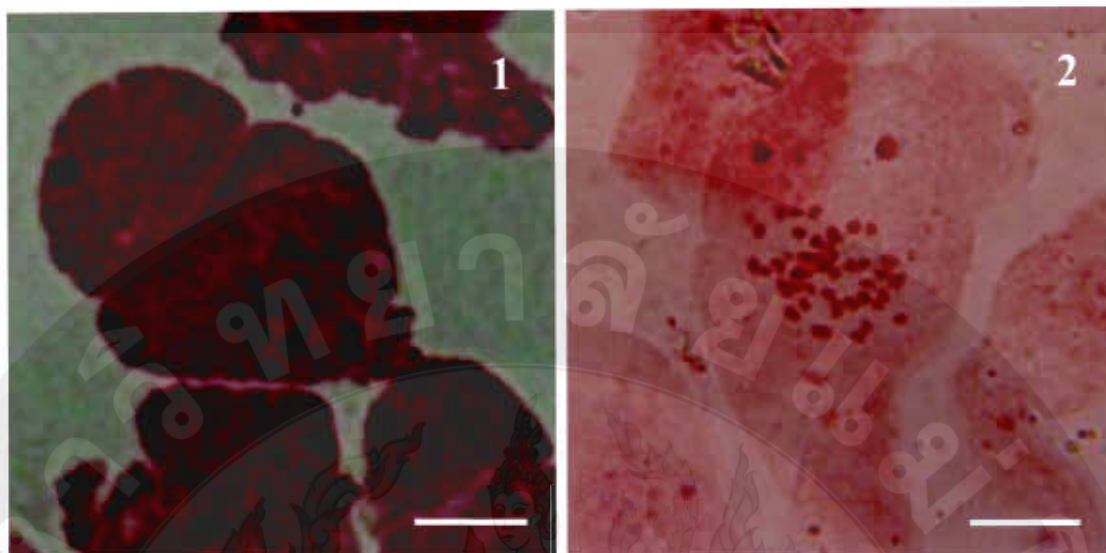
ภาพ 1 ลักษณะใบและต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูอายุ 6 เดือน หลังได้รับสารโคลชิซิน

- 1) มีโครโมโซม $2n=2x=22$ (ซ้าย) และ ขวา $2n=4x=44$ (Bar = 2 เซนติเมตร) และ
- 2) มี $2n=2x=22$ (ซ้าย) และ ขวา $2n=4x=44$ (Bar = 5 เซนติเมตร)



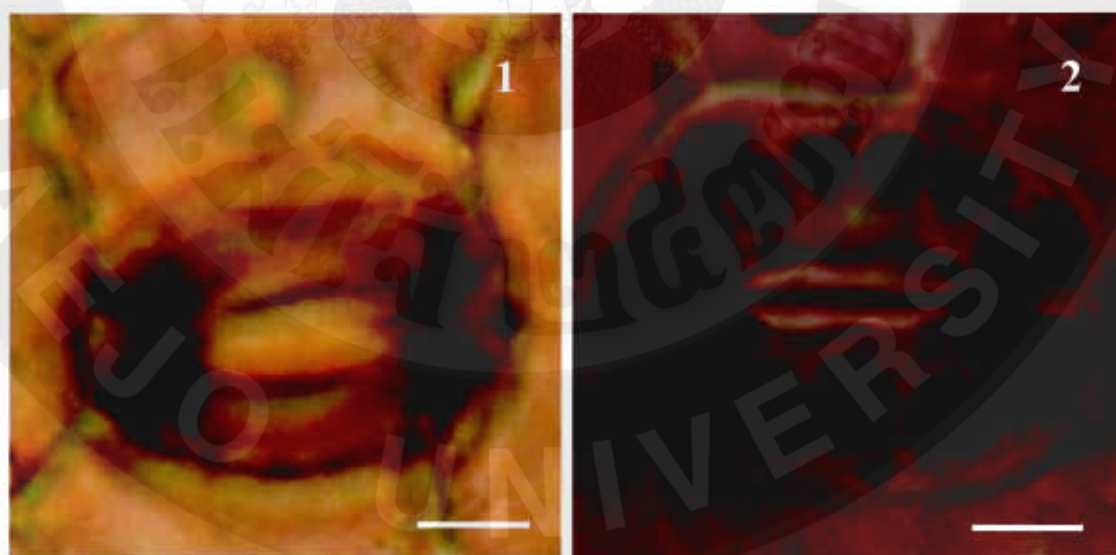
ภาพ 2 ลักษณะและจำนวนนิวคลีโอลัสจากเซลล์ปลายรากต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูอายุ 6 เดือน

- 1) $2n=2x=22$
- 2) $2n=4x=44$ (Bar=10 μ m)



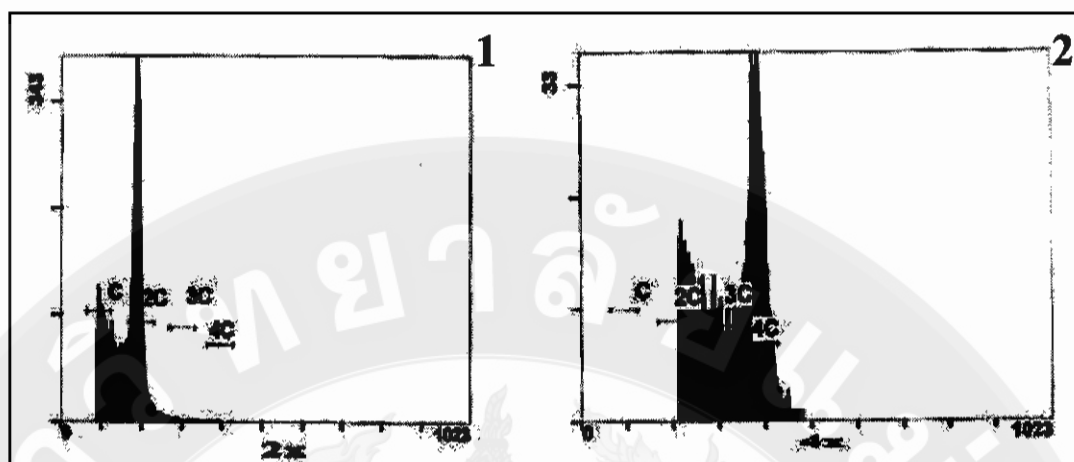
ภาพ 3 ลักษณะและจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูอายุ 6 เดือน

- 1) $2n=2x=22$
- 2) $2n=4x=44$ (Bar=10 μ m)



ภาพ 4 ลักษณะและจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์ปากใบต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูอายุ 6 เดือน

- 1) $2n=2x=22$
- 2) $2n=4x=44$ (Bar=10 μ m)



ภาพ 5 แผนภูมิจากเครื่อง flow cytometry ของใบต้นกล้วยพันธุ์จินจูอายุ 6 เดือน

1) $2n=2x=22$

2) $2n=4x=44$

การทดลองที่ 2 การผลิตต้นกล้วยพันธุ์จินจูให้มีโครโมโซม 3 ชุดจากเรณู
ของดอกกล้วยที่มีโครโมโซม 2 ชุด ผสมเกสรสลับกับเรณูจากดอกกล้วย
ที่มีโครโมโซม 4 ชุด หลังได้รับสารโคลชิซิน
ความเข้มข้นแตกต่างกัน

การเจริญเติบโตของกิ่งและใบ (Vegetative growth)

ลักษณะสัณฐานวิทยาของกิ่งและใบกล้วยพันธุ์จินจูหลังได้รับสาร โคลชิซินต่าง
ความเข้มข้นและเวลาหลังการตัดปลายกิ่งให้เหลือยาว 10 เซนติเมตร ได้แก่ จำนวน ความยาว ความ
กว้าง ความหนาใบ ปากใบ ความยาวและความกว้างปากใบ ดังนี้

จำนวนใบ

จากการหุ้มสาร โคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.04, 0.06, 0.08, และ 0.10
เปอร์เซ็นต์ บนตาและกิ่งกล้วยพันธุ์จินจู พบว่าความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้จำนวนใบ
มากที่สุดคือ 15.30 ใบ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้น 0.08, 0.00,
0.04, และ 0.06 เปอร์เซ็นต์ (8.26, 7.66, 7.40, และ 7.06 ใบ) ตามลำดับ (ตาราง 6) ส่วนการ
เจริญเติบโตของกิ่งกล้วยพันธุ์จินจูไม่มีผลต่อการตัดปลายกิ่งในเวลาที่แตกต่างกัน (0, 5, 15, 30, และ

45 วัน) และไม่มีปฏิสัมพันธ์ กันระหว่างความเข้มข้นของสาร โคลชิซินและเวลาเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งต่อการเจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู (ตาราง 6 และตารางผนวก 15)

ความกว้างใบ

จากการหุ้มสาร โคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.04, 0.06, 0.08, และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ บนตาและกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู พบว่าความเข้มข้น 0.08 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ความกว้างใบมากที่สุด 5.53 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับความเข้มข้น 0.06, และ 0.10 มีความกว้างใบคือ 4.37 และ 4.26 เซนติเมตร และมีความแตกต่างกันกับความเข้มข้น 0.00 และ 0.04 เปอร์เซ็นต์ มีความกว้างใบคือ 4.05 และ 3.97 เซนติเมตร (ตาราง 6) ส่วนการเจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูไม่มีผลต่อการตัดปลายกิ่งในเวลาที่แตกต่างกัน (0, 5, 15, 30, และ 45 วัน) แต่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่ใช้กับเวลาเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งต่อการเจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู (ตาราง 6 และตารางผนวก 16) มีความกว้างใบมากที่สุดคือ ความเข้มข้น 0.08 เปอร์เซ็นต์ (5.53 เซนติเมตร) นาน 5 วัน (4.66 เซนติเมตร)

ความยาวใบ

จากการหุ้มสาร โคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.04, 0.06, 0.08, และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ บนตาและกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู พบว่าความเข้มข้น 0.08 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ความยาวใบมากที่สุด 8.88 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับความเข้มข้น 0.10 (7.81 เซนติเมตร) และมีความแตกต่างกันกับความเข้มข้น 0.00, 0.06 และ 0.04 เปอร์เซ็นต์ (7.08, 7.06 และ 6.61) ตามลำดับ (ตาราง 6) ส่วนการเจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูไม่มีผลต่อการตัดปลายกิ่งในเวลาที่แตกต่างกัน (0, 5, 15, 30, และ 45 วัน) แต่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่ใช้กับเวลาเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งต่อการเจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู (ตาราง 6 และตารางผนวก 17) มีความยาวใบมากที่สุด คือความเข้มข้น 0.08 เปอร์เซ็นต์ (8.88 เซนติเมตร) นาน 5 วัน (8.11 เซนติเมตร)

ความหนาใบ

จากการหุ้มสาร โคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.04, 0.06, 0.08, และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ บนตาและกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู พบว่าความเข้มข้น 0.06, 0.10 และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ มีความหนาใบคือ 0.87, 0.81 และ 0.80 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ (0.73 มิลลิเมตร) และกิ่งที่ไม่ได้รับสารมีความหนาใบ

น้อยที่สุดคือ 0.61 มิลลิเมตร (ตาราง 6) ส่วนการเจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูไม่มีผลต่อการตัดปลายกิ่งในเวลาที่แตกต่างกัน (0, 5, 15, 30, และ 45 วัน) แต่มีปฏิสัมพันธ์ กันระหว่างความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่ใช้กับเวลาเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งต่อการเจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู (ตาราง 6 และตารางผนวก 18) ทำให้ใบมีความหนามากที่สุดคือ ความเข้มข้น 0.06 เปอร์เซ็นต์ (0.87 เซนติเมตร) นาน 45 ชั่วโมง (0.82 มิลลิเมตร)

จำนวนปากใบ

จากการหุ้มสาร โคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.04, 0.06, 0.08, และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ บนตาและกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู พบว่ากิ่งที่ไม่ได้รับสาร มีผลทำให้มีจำนวนปากใบมากที่สุดคือ 163.34 ปากใบ/field ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับความเข้มข้น 0.04, 0.10, 0.08, และ 0.06 เปอร์เซ็นต์ (135.00, 134.20, 133.31, และ 131.60 ปากใบ/field) ตามลำดับ (ตาราง 6) ส่วนการเจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการหุ้มสาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งนานแตกต่างกัน (0, 5, 15, 30, และ 45 วัน) พบว่า 0 และ 30 วัน มีจำนวนปากใบคือ 150.62 และ 140.53 ปากใบ/field ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับเวลา 45, 15 และ 5 วัน (137.22, 134.80 และ 134.26 ปากใบ/field) ตามลำดับ (ตาราง 6) และมีปฏิสัมพันธ์ กันระหว่างความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่ใช้กับเวลาเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งต่อการเจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู (ตาราง 6 และตารางผนวก 19) มีจำนวนปากใบมากที่สุด คือกิ่งที่ไม่ได้รับสาร (163.34 ปากใบ/field) และการตัดปลายกิ่งทันที (150.62 ปากใบ/field)

ความกว้างปากใบ

จากการหุ้มสาร โคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.04, 0.06, 0.08, และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ บนตาและกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู พบว่าความเข้มข้น 0.08 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ปากใบมีความกว้างมากที่สุด 7.55 ไมโครเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับความเข้มข้น 0.04, 0.10 และ 0.06 เปอร์เซ็นต์ (6.93, 6.81 และ 6.48 ไมโครเมตร) ตามลำดับ และกิ่งที่ไม่ได้รับสารมีความกว้างปากใบน้อยที่สุดคือ 4.97 ไมโครเมตร (ตาราง 6) ส่วนการเจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการหุ้มสาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งนานแตกต่างกัน (0, 5, 15, 30, และ 45 วัน) พบว่าเวลา 15 และ 5 วัน มีความกว้างปากใบคือ 7.06 และ 6.71 ไมโครเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับเวลา 30 และ 45 วัน (6.50 และ 6.37 ไมโครเมตร) และการตัดปลายกิ่งทันทีที่มีความกว้างปากใบน้อยที่สุดคือ 6.11 ไมโครเมตร (ตาราง 6) และมีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่ใช้กับเวลาเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งต่อการ

เจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู (ตาราง 6 และตารางผนวก 20) มีความกว้างปากใบมากที่สุด คือ ความเข้มข้น 0.08 เปอร์เซ็นต์ (7.55 ไมโครเมตร) นาน 15 วัน (7.06 ไมโครเมตร)

ความยาวปากใบ

จากการหุ้มสาร โคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.04, 0.06, 0.08, และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ บนตาและกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู พบว่าความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปากใบมีความยาวมากที่สุด 10.11 ไมโครเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับความเข้มข้น 0.08 และ 0.06 เปอร์เซ็นต์ (9.24 และ 9.00 ไมโครเมตร) และมีความแตกต่างกันกับความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ (8.68 ไมโครเมตร) และกิ่งที่ไม่ได้รับสารมีความยาวปากใบน้อยที่สุดคือ 7.96 ไมโครเมตร (ตาราง 6) ส่วนการเจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการหุ้มสาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งนานแตกต่างกัน (0, 5, 15, 30, และ 45 วัน) พบว่าเวลา 30, 45 และ 15 วัน มีความยาวปากใบคือ 9.57, 9.40 และ 9.37 ไมโครเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับเวลา 5 วัน (8.89 ไมโครเมตร) และมีความแตกต่างกันกับการตัดปลายกิ่งทันที มีความยาวปากใบน้อยที่สุดคือ 7.80 ไมโครเมตร (ตาราง 6) และมีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างต่างความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่ใช้กับเวลาเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งต่อการเจริญของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู (ตาราง 27 และตารางผนวก 21) มีความยาวปากใบมากที่สุด คือความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ (10.11 ไมโครเมตร) และนาน 30 วัน (9.57 ไมโครเมตร)

ตาราง 6 ลักษณะของกิ่งฝรั่งพันธุ์จินจูหลังได้รับสาร โคลชิซินความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน

ปัจจัย	สารเข้มข้น/ เวลา	จำนวนใบ (ใบ)	ขนาดใบ			จำนวนปากใบ (ปากใบ/field)	ขนาดปากใบ	
			กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)	หนาใบ (มม.)		กว้าง (μm)	ยาว (μm)
ความเข้มข้น สารโคลชิซิน (%) (A)	0.00 (control)	7.66b	4.05bc	7.08c	0.61c	163.34a	4.97c	7.96d
	0.04	7.40b	3.97c	6.61c	0.73b	135.00b	6.93b	10.11a
	0.06	7.06b	4.37b	7.06c	0.87a	131.60b	6.48b	9.00bc
	0.08	8.26b	5.53a	8.88a	0.80ab	133.31b	7.55a	9.24b
	0.10	15.30a	4.26bc	7.81b	0.81a	134.20b	6.81b	8.68c
F-test		**	**	**	**	**	**	**
เวลา (วัน) (B)	0	8.77	4.41	7.46	0.72	150.62a	6.11c	7.80c
	5	9.53	4.66	8.11	0.76	134.26b	6.71ab	8.89b
	15	9.46	4.46	7.35	0.77	134.80b	7.06a	9.37ab
	30	8.67	4.42	7.14	0.79	140.53ab	6.50b	9.57a
	45	9.26	4.43	7.38	0.82	137.22b	6.37bc	9.40a
F-test		ns	ns	ns	ns	**	**	**
Interaction (A x B)		ns	*	**	*	**	**	**

หมายเหตุ ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันมีตัวอักษรกำกับเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ $P > 0.05$

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $P \leq 0.05$

** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ $P \leq 0.01$

การศึกษาการเจริญพันธุ์ (Reproductive growth) ของดอกฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการให้สารโคลชิซิน

ลักษณะเรณูจากดอกฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการให้สาร โคลชิซินมีดังต่อไปนี้

จำนวนเรณูขนาดปกติ

จากการหุ้มสาร โคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.04, 0.06, 0.08, และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ บนกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูและเวลาการเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งนาน 0, 5, 15, 30, และ 45 วัน พบว่าไม่มีผลต่อจำนวนเรณูขนาดปกติ และไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่ใช้กับเวลาเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งต่อการเจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู (ตาราง 7 และตารางผนวก 22)

จำนวนเรณูขนาดใหญ่

จากการหุ้มสาร โคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.04, 0.06, 0.08, และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ บนกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู พบว่าความเข้มข้นไม่มีผลต่อจำนวนเรณูขนาดใหญ่ ส่วนเวลาการเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งในเวลานานแตกต่างกัน (0, 5, 15, 30, และ 45 วัน) พบว่าเวลา 15, 5, 30, และ 45 วัน มีจำนวนเรณูขนาดใหญ่คือ 4.02, 4.01, 3.64, และ 3.40 เรณู/field ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับการตัดปลายกิ่งทันที มีจำนวนเรณูขนาดใหญ่ น้อยที่สุดคือ 2.88 เรณู/field (ตาราง 7) แต่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่ใช้กับเวลาเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งต่อการเจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู (ตาราง 7 ภาพ 6 และตารางผนวก 23) มีจำนวนเรณูขนาดใหญ่มากที่สุดคือ ความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ (3.99 เรณู/field) และนาน 15 วัน (4.02 เรณู/field)

จำนวนเรณูไม่สมบูรณ์

จากการหุ้มสาร โคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.04, 0.06, 0.08, และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ บนบริเวณกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูที่ใช้กับเวลาเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งนาน 0, 5, 15, 30, และ 45 วัน พบว่าไม่มีผลต่อจำนวนของเรณูไม่สมบูรณ์ และไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่ใช้กับเวลาเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งต่อการเจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจู (ตาราง 7 และตารางผนวก 24)

ความกว้างเรณู

จากการหุ้มสาร โคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.04, 0.06, 0.08, และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ บนกิ่งฝรั่งพันธุ์จินจู พบว่าความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ความกว้างเรณูมากที่สุดคือ 8.86 ไมโครเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้น 0.10 และ 0.06 เปอร์เซ็นต์ (8.20 และ 8.19 ไมโครเมตร) และมีความแตกต่างกันกับความเข้มข้น 0.08 และ 0.00 เปอร์เซ็นต์ มีความกว้างเรณูคือ 7.07 และ 7.06 ไมโครเมตร (ตาราง 7) ส่วนเวลาการเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งในเวลานานแตกต่างกัน (0, 5, 15, 30, และ 45 วัน) พบว่าเวลา 15, 30, 45, และ 5 วัน มีความกว้างเรณูคือ 8.26, 8.13, 8.06, และ 7.93 ไมโครเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับการตัดปลายกิ่งทันทีคือ 7.00 ไมโครเมตร (ตาราง 7) และมีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างต่างความเข้มข้นของสาร โคลชิซินที่ใช้กับเวลาเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งต่อการเจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์จินจู (ตาราง 7 และตารางผนวก 25) ความกว้างเรณูมากที่สุด คือความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ (8.86 ไมโครเมตร) และนาน 15 วัน (8.26 ไมโครเมตร)

ความยาวเรณู

จากการหุ้มสาร โคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.04, 0.06, 0.08, และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ บนกิ่งฝรั่งพันธุ์จินจู พบว่าความเข้มข้น 0.00, 0.04, 0.08, และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวปากใบคือ 8.53, 8.26, 8.20, และ 8.10 ไมโครเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้น 0.06 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวเรณูคือ 7.36 ไมโครเมตร (ตาราง 7) ส่วนเวลาการเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งในเวลานานแตกต่างกัน (0, 5, 15, 30, และ 45 วัน) พบว่าเวลา 30, 45 และ 15 วัน มีความยาวเรณูคือ 8.60, 8.50 และ 8.36, ไมโครเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับเวลา 5 และ 0 วัน มีความยาวเรณูคือ 7.70 และ 7.40 ไมโครเมตร (ตาราง 7) และมีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างต่างความเข้มข้นสาร โคลชิซินที่ใช้กับเวลาเริ่มให้สาร โคลชิซินหลังตัดปลายกิ่งต่อการเจริญเติบโตของกิ่งฝรั่งพันธุ์จินจู (ตาราง 7 และตารางผนวก 26) ความยาวเรณูมากที่สุดคือ กิ่งที่ไม่ได้รับสาร (8.53 ไมโครเมตร) และนาน 30 วัน (8.60 ไมโครเมตร)

ค้นฉบับไม่มีหน้านี้

ตาราง 7 ลักษณะเรณูจากดอกฝรั่งพันธุ์จินจูหลังได้รับสาร โคลชิซินความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน

ปัจจัย	สารเข้มข้น/ เวลา	จำนวนเรณู (%)			ขนาดเรณู	
		ขนาดปกติ	ขนาดใหญ่	ไม่สมบูรณ์	กว้าง (μm)	ยาว (μm)
ความเข้มข้น สารโคลชิซิน (%) (A)	0.00 (control)	14.26 (84.28)	-	2.66 (15.72)	7.06c	8.53a
	0.04	14.26 (66.30)	3.99 (18.54)	3.26 (15.16)	8.86a	8.26a
	0.06	14.26 (68.46)	3.51 (16.85)	3.06 (14.69)	8.19b	7.36b
	0.08	14.26 (69.36)	3.44 (16.73)	2.86 (13.91)	7.07c	8.20a
	0.10	14.47 (69.30)	3.41 (16.33)	3.00 (14.37)	8.20b	8.10a
	F-test	ns	ns	ns	**	**
เวลา (วัน) (B)	0	14.41 (73.71)	2.88b (14.73)	2.26b (11.56)	7.00b	7.40b
	5	14.12 (66.64)	4.01a (18.92)	3.06ab (14.44)	7.93a	7.70b
	15	14.02 (64.02)	4.02a (18.35)	3.86a (17.63)	8.26a	8.36a
	30	14.48 (68.79)	3.64ab (17.29)	2.93b (13.92)	8.13a	8.60a
	45	14.49 (70.27)	3.40ab (16.49)	2.73b (13.24)	8.06a	8.50a
	F-test	ns	**	ns	**	**
Interaction (A x B)	F-test	ns	*	ns	*	**

หมายเหตุ ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันมีตัวอักษรกำกับเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ $P > 0.05$

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $P \leq 0.05$

** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ $P \leq 0.01$

การผสมเกสรฝรั่งพันธุ์เงินจูระหว่างดอกเพศเมียไม่ได้รับสารกับดอกเพศผู้ได้รับสารโคลชิซีน

ผลจากการผสมเกสรฝรั่งพันธุ์เงินจูระหว่างดอกเพศเมียไม่ได้รับสารกับเกสรเพศผู้ได้รับสารโคลชิซีน พบว่ามีจำนวนดอกที่ได้รับการผสม 75 ดอก สามารถเจริญและพัฒนาเป็นผลได้ 44 ผล (86.00 เปอร์เซ็นต์) ฝรั่งพันธุ์เงินจูผลิตเมล็ดได้ 1,890 เมล็ด จำนวนเมล็ดที่สามารถเพาะเป็นต้นกล้าได้ จำนวน 288 ต้น (15.24 เปอร์เซ็นต์) และค่าเฉลี่ยน้ำหนักผลของฝรั่งพันธุ์เงินจูประมาณ 168.10 กรัม / ผล มีขนาดความกว้างและยาวผลประมาณ 7.11 และ 6.13 เซนติเมตร/ผล ต้นกล้าทั้งหมด 288 ต้น (ตาราง 8) ซึ่งมีต้นกล้าที่มีจำนวนโครโมโซม 2 ชุด ($2n=2x=22$) ทั้งหมด 286 ต้น และที่โคลชิซีนความเข้มข้น 0.08 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 ชั่วโมง พบต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูที่มีโครโมโซม 3 ชุด ($2n=3x=33$) จำนวน 2 ต้น (ตาราง 10)

การผสมเกสรฝรั่งพันธุ์เงินจูระหว่างดอกเพศเมียได้รับสารโคลชิซีนกับดอกเพศผู้ไม่ได้รับสาร

ผลจากการผสมเกสรฝรั่งพันธุ์เงินจูระหว่างดอกเพศเมียได้รับสารโคลชิซีนกับเกสรเพศผู้ไม่ได้รับสาร พบว่ามีจำนวนดอกที่ได้รับการผสม 75 ดอก สามารถเจริญและพัฒนาเป็นผลได้ 39 ผล (76.33 เปอร์เซ็นต์) ผลฝรั่งพันธุ์เงินจูทั้งหมดผลิตเมล็ดได้ 1,578 เมล็ด จำนวนเมล็ดทั้งหมดสามารถเพาะเป็นต้นกล้าจำนวน 176 ต้น (11.15 เปอร์เซ็นต์) และค่าเฉลี่ยน้ำหนักของผลฝรั่งพันธุ์เงินจูประมาณ 266.59 กรัม / ผล มีขนาดความกว้างและยาวผลประมาณ 7.09 และ 5.42 เซนติเมตร/ผล (ตาราง 9) จากต้นกล้าทั้งหมด 176 ต้น ซึ่งมีต้นกล้าที่มีจำนวนโครโมโซม 2 ชุด ($2n=2x=22$) ทั้งหมด 175 ต้น และที่โคลชิซีนความเข้มข้น 0.06 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 ชั่วโมง พบต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูที่มีโครโมโซม 3 ชุด ($2n=3x=33$) จำนวน 1 ต้น (ตาราง 10)

จากการศึกษาในครั้งนี้ พบน้ำหนักและขนาดของผลฝรั่งพันธุ์เงินจูที่ได้จากการผสมเกสร พบว่าผลมีขนาดค่อนข้างเล็ก และเมล็ดขนาดเล็กมีจำนวนมากกว่าเมล็ดที่มีขนาดใหญ่ และเมล็ดที่สมบูรณ์ ทำให้ต้นกล้ามีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำ และยังพบเรณูขนาดใหญ่หลังจากกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูได้รับสารโคลชิซีน มีผลต่อการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมก่อนการผสมเกสรแบบสลับ (ภาพ 6)

การศึกษาจำนวนชุดและจำนวนโครโมโซมต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูหลังได้รับสารโคจิจิน

การศึกษาจำนวนชุดนิวคลีโอไทด์และจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจู จากจำนวน 464 ต้น (ตาราง 10 และภาพ 7) พบว่าต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูมีโครโมโซมจำนวน 2 ชุด หรือ 22 โครโมโซม ($2n=2x=22$) จำนวน 461 ต้น และโครโมโซมจำนวน 3 ชุด มีจำนวนนิวคลีโอไทด์ 3 จุดต่อเซลล์ (ภาพ 8) หรือ 33 โครโมโซม ($2n=3x=33$) จำนวน 3 ต้น (ตาราง 11) คือ 2 ต้น ได้จากการผสมเกสรระหว่างดอกเพศเมียไม่ได้รับสารกับดอกเพศผู้ได้รับสารความเข้มข้น 0.08 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 วัน และ 1 ต้น ได้จากการผสมเกสรดอกเพศผู้ไม่ได้รับสารกับดอกเพศเมียได้รับสารความเข้มข้น 0.06 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 วัน ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตได้ดี นอกจากนี้ยังมีการศึกษาจำนวนคลอโรพลาสต์จากปากใบของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจู พบว่ามีจำนวนเพิ่มขึ้นตามจำนวนของโครโมโซม (ตาราง 10 และภาพ 9)

ตาราง 8 การผสมเกสรระหว่างดอกเพศเมียไม่ได้รับสารกับดอกเพศผู้ได้รับสารโคลชิซีนและระยะเวลาแตกต่างกันต่อจำนวนผลและขนาดผล

โคลชิซีน (%)	เวลา (วัน)	จำนวน					ผล		
		ดอก	ผล (%)	เมล็ด	เมล็ด/ผล	ต้นกล้า (%)	หนัก (กรัม)	กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)
0.00 (control)	0	3	3 (100)	135	45	20 (14.81)	150.00	6.80	7.25
	5	3	2 (66.67)	76	38	17 (22.37)	120.00	6.43	5.46
	15	3	3 (100)	150	50	28 (18.67)	120.00	6.39	5.53
	30	3	3 (100)	132	44	19 (14.39)	170.00	7.06	6.20
	45	3	3 (100)	93	31	25 (26.88)	200.00	7.52	6.42
0.04	0	3	3 (100)	210	70	30 (14.29)	165.55	6.23	5.44
	5	3	2 (66.67)	82	41	11 (13.41)	236.50	8.25	7.04
	15	3	-	-	-	-	-	-	-
	30	3	-	-	-	-	-	-	-
	45	3	-	-	-	-	-	-	-
0.06	0	3	3 (100)	156	52	18 (11.54)	205.50	7.60	5.37
	5	3	3 (100)	108	36	8 (7.41)	229.00	8.02	6.95
	15	3	3 (100)	105	35	6 (5.71)	177.25	7.25	6.50
	30	3	1 (33.33)	24	24	6 (25.00)	130.00	6.97	5.14
	45	3	2 (66.67)	78	39	6 (7.69)	122.50	6.67	5.60
0.08	0	3	3 (100)	126	42	12 (9.52)	180.00	7.52	5.52
	5	3	-	-	-	-	-	-	-
	15	3	-	-	-	-	-	-	-
	30	3	3 (100)	147	49	38 (20.61)	132.00	6.66	5.68
	45	3	-	-	-	-	-	-	-
0.10	0	3	3 (100)	165	55	34 (20.61)	175.00	7.33	8.02
	5	3	-	-	-	-	-	-	-
	15	3	1 (33.33)	31	31	5 (16.13)	171.00	7.51	6.43
	30	3	-	-	-	-	-	-	-
	45	3	3 (100)	72	24	5 (6.94)	173.40	6.70	5.63
Total		75	44	1890	706	288	2857.70	120.91	104.18
$\bar{X}$		3	2.58 (86.00)	111.18	41.53	16.94 (15.24)	168.10	7.11	6.13

ตาราง 9 การผสมเกสรระหว่างดอกเพศเมียได้รับสารโคลชิซินกับดอกเพศผู้ไม่ได้รับสารและ
ระยะเวลาแตกต่างกันต่อจำนวนผลและขนาดผล

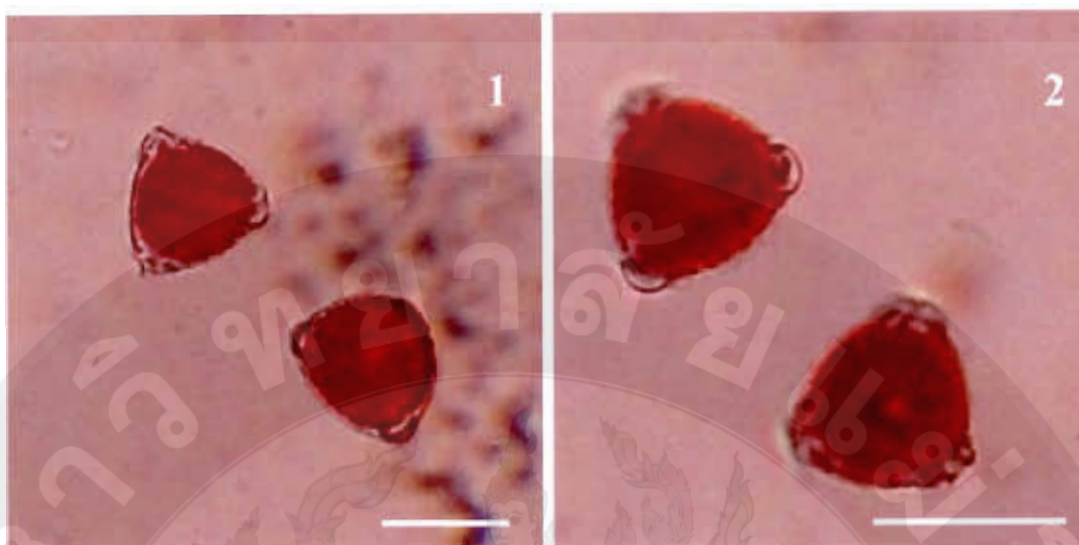
โคลชิซิน (%)	เวลา (วัน)	จำนวน					ผล		
		ดอก	ผล (%)	เมล็ด ผล	เมล็ด/ ผล	ต้นกล้า (%)	หนัก (กรัม)	กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)
0.00 (control)	0	3	3 (100)	126	42	10 (0.79)	360.00	8.00	4.10
	5	3	3 (100)	117	39	15 (12.82)	390.96	7.50	4.06
	15	3	3 (100)	135	45	20 (14.81)	394.65	6.89	3.89
	30	3	3 (100)	180	60	12 (6.67)	285.90	6.23	3.31
	45	3	3 (100)	162	54	8 (4.93)	405.00	6.78	5.98
0.04	0	3	3 (100)	120	40	10 (8.33)	225.50	7.64	4.23
	5	3	2 (66.67)	66	33	3 (4.55)	163.00	5.94	4.92
	15	3	3 (100)	90	30	5 (5.56)	867.75	8.63	7.75
	30	3	-	-	-	-	-	-	-
	45	3	-	-	-	-	-	-	-
0.06	0	3	1 (33.33)	38	38	5 (13.16)	160.00	7.29	6.41
	5	3	3 (100)	84	28	2 (2.38)	211.67	7.60	6.96
	15	3	1 (33.33)	33	33	7 (21.21)	173.50	7.47	6.39
	30	3	2 (66.67)	58	29	6 (10.34)	165.00	7.20	6.61
	45	3	1 (33.33)	30	30	5 (16.67)	108.33	6.03	5.09
0.08	0	3	3 (100)	165	55	20 (12.12)	245.75	7.75	5.42
	5	3	-	-	-	-	-	-	-
	15	3	-	-	-	-	-	-	-
	30	3	1 (33.33)	30	30	3 (10.00)	120.00	6.47	6.17
	45	3	-	-	-	-	-	-	-
0.10	0	3	3 (100)	117	39	43 (36.75)	140.00	6.88	5.69
	5	3	-	-	-	-	-	-	-
	15	3	1 (33.33)	105	35	7 (17.95)	115.00	6.39	5.31
	30	3	-	-	-	-	-	-	-
	45	3	-	-	-	-	-	-	-
Total		75	39	1578	660	176	4532.01	120.69	92.29
$\bar{X}$		3	2.29 (76.33)	92.82	38.82	10.35(11.15)	266.59	7.09	5.42

ตาราง 10 ลักษณะและจำนวนต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังได้รับสารโคลชิซีนและการผสมเกสรแบบสลับ

กลุ่ม	สารเข้มข้น (%)	เวลา (วัน)	จำนวน		อัตราการงอก (%)	จำนวนโครโมโซม	
			เมล็ด	เมล็ด/ผล		2 ชุด (%)	3 ชุด (%)
ดอกเพศเมียไม่ได้รับสาร x ดอกเพศผู้ได้รับสาร	0.08	0	126	42	12 (9.52)	12 (100)	-
		5	-	-	-	-	-
		15	-	-	-	-	-
		30	147	49	38 (20.61)	36 (94.74)	2 (5.63)
		45	-	-	-	-	-
ดอกเพศเมียได้รับสาร x ดอกเพศผู้ไม่ได้รับสาร	0.06	0	38	38	5 (13.16)	5 (100)	-
		5	84	28	2 (2.38)	2 (100)	-
		15	33	33	7 (21.21)	6 (85.71)	1 (14.29)
		30	58	59	6 (10.17)	6 (100)	-
		45	30	30	5 (16.67)	5 (100)	-

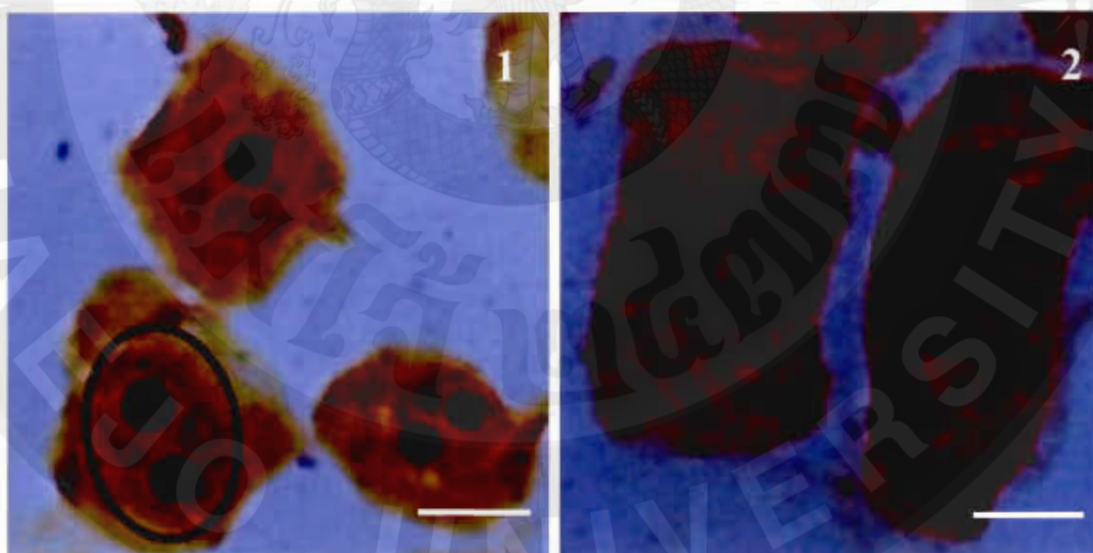
ตาราง 11 จำนวน ขนาดปากใบ และคลอโรพลาสต์จากปากใบของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังได้รับสารโคลชิซีนและการผสมเกสรแบบสลับ

ต้นกล้า	จำนวนโครโมโซม	จำนวนปากใบ	ขนาดปากใบ		คลอโรพลาสต์/ ปากใบ
			กว้าง (μm)	ยาว (μm)	
461 (2x)	22	155	5.23	8.50	8
3 (3x)	33	85	7.52	13.01	14



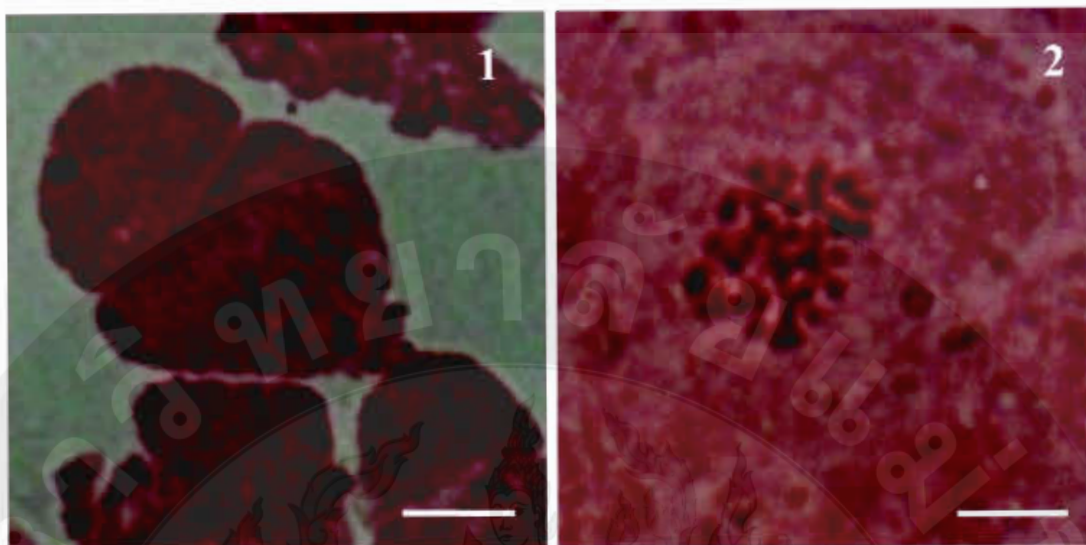
ภาพ 6 ลักษณะเรณูฝรังพันธุ์เงินจูหลังได้รับสาร โคลชิซิน

- 1) ขนาดปกติ
- 2) ขนาดใหญ่ (Bar: 10 μm)



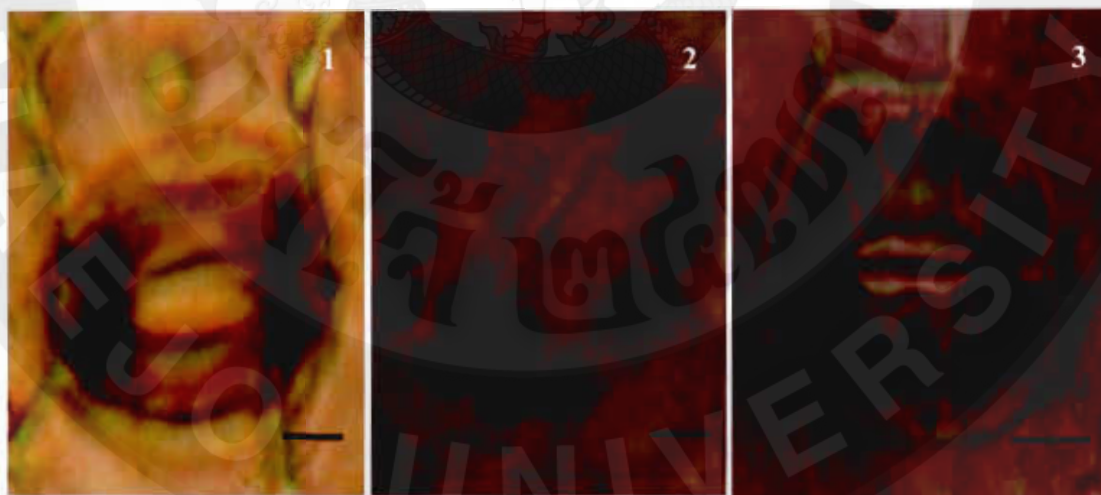
ภาพ 7 ลักษณะและจำนวนนิวคลีโอไลจากเซลล์ปลายรากต้นกล้าฝรังพันธุ์เงินจูอายุ 6 เดือน

- 1) $2n=2x=22$
- 2) $2n=3x=33$ (Bar: 10 μm)



ภาพ 8 ลักษณะและจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูอายุ 6 เดือน

- 1) $2n=2x=22$
- 2) $2n=3x=33$ (Bar=10 μ m)



ภาพ 9 ลักษณะและจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์ปากใบของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูอายุ 6 เดือน

- 1) $2n=2x=22$
- 2) $2n=3x=33$
- 3) $2n=4x=44$ (Bar=10 μ m)

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การเพิ่มโครโมโซมเป็น 4 ชุด ของต้นกล้าฝรั่ง พันธุ์เงินจูหลังได้รับสารโคลชิซินต่างความเข้มข้น

การผลิตต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูให้มีโครโมโซม 4 ชุด หลังได้รับสารโคลชิซินต่างความเข้มข้นพบว่า มีคุณลักษณะต่างๆ ของพืชที่เป็นพอลิพลอยด์

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจูด้วยสาร โคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ นาน 0, 15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง ในเรือนเพาะชำหลังขลิบและไม่ขลิบเมล็ดนาน 6 เดือน พบว่าต้นกล้าจำนวน 1,360 ต้น มีโครโมโซมจำนวน 2 ชุด หรือ 22 โครโมโซม ($2n=2x=22$) จำนวน 1,355 ต้น และโครโมโซมจำนวน 4 ชุด หรือ 44 โครโมโซม ($2n=4x=44$) จำนวน 5 ต้น จากเมล็ดฝรั่งพันธุ์เงินจูที่ผ่านการขลิบเมล็ดทั้งหมด หลังแช่สาร โคลชิซิน 0.04 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 ชั่วโมง จำนวน 2 ต้น และที่ความเข้มข้น 0.06 เปอร์เซ็นต์ นาน 60 ชั่วโมง จำนวน 3 ต้น ซึ่งสาร โคลชิซินเป็นสารเคมีสังเคราะห์ขึ้น สามารถใช้ในชักนำการเกิดพอลิพลอยด์ในพืช (Mehra, 1946) อัมรา (2546) รายงานไว้ว่าสาร โคลชิซินจะไปอุดตามปลายท่อต่างๆ ของไมโครทิวบูล จนไม่สามารถต่อกันเป็นสปินเดิลไฟเบอร์ในการช่วยดึงโครโมโซมระยะเมทาเฟสได้ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะและมีการเพิ่มขึ้นของโครโมโซม (Dermen, 1940)

Saravat and Nualsri (2007) ได้ทดลองใช้สาร โคลชิซินหุบลำติความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ วางบนปลายยอดมะนาวฝรั่งทำให้เนื้อเยื่อได้สัมผัสสารโดยตรง สามารถชักนำการเพิ่มชุดจำนวนโครโมโซมจำนวน 2 ต้น เมื่อสารสัมผัสกับเนื้อเยื่อบริเวณยอดอ่อนของพืชขณะมีการแบ่งเซลล์ และสาร โคลชิซินมีผลยับยั้งการสร้างเส้นใยสปินเดิล ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมและการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสต่อไป เช่นงานของ Nukaya *et al.* (2009) กับส้มไมวาคัมควอทโดยใช้สาร โคลชิซินชักนำกับ nucellar embryos พบว่าต้นที่มีโครโมโซม 4 ชุด ผลมีน้ำหนักมากกว่าต้นที่มีโครโมโซม 2 ชุด แต่ส่วนของผนังผลจะเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่มีโครโมโซม 2 ชุดทั้งปริมาณน้ำตาลในผนังผลได้เพิ่มขึ้นด้วยเช่นเดียวกัน แต่ปริมาณกรดอินทรีย์ยังมีปริมาณใกล้เคียงกัน จึงสรุปได้ว่าต้นส้มไมวาคัมควอทที่มีโครโมโซม 4 ชุด มีลักษณะต่างๆ คือ ผลมีขนาดใหญ่กว่า มีผนังผลหนากว่าและปริมาณน้ำตาลสูงกว่า และยังวิเคราะห์โดยเครื่อง flow cytometry โดยวิธีดัดแปลงของ Takami *et al.* (2004) จากใบของต้น

กล้าฝรั่งพันธุ์จีนจู พบว่ามีความแตกต่างกันกับต้นกล้าที่มีโครโมโซม $2n=2x=22$ กับต้นกล้าที่มีโครโมโซม $2n=4x=44$ ดังรายละเอียดอื่นๆ ต่อไปนี้ คือการเจริญเติบโตของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จีนจู มีลักษณะสัณฐานวิทยาเพื่อเปรียบเทียบต้นที่มีโครโมโซม 4 ชุด กับโครโมโซม 2 ชุด มีความแตกต่างกัน เช่น ความสูงของต้นกล้า จำนวนใบ ขนาดของใบ จำนวนปากใบ จำนวนราก และความยาวรากลดลง ซึ่งความสูงของต้นที่มีโครโมโซม 4 ชุด มีความสูงน้อยกว่าต้นที่มีโครโมโซม 2 ชุด เนื่องจากมีความยาวข้อของลำต้นสั้นกว่าจึงทำให้ต้นสูงน้อยกว่าและการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นปกติที่มีโครโมโซม 2 ชุด สอดคล้องกับ วีรภัทรา (2552) ได้ใช้โคลชิซินชักนำกล้วยไม้เอื้องดินใบหมากให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซม ($2n=2x=40$ เป็น $2n=4x=80$) และในมังกุด (สมปอง และราตรี, 2542) ซึ่งมีผลทำให้การเจริญเติบโตของต้น ความยาวใบ จำนวนใบลดลง เช่นเดียวกับการศึกษาในฝรั่ง (Chen, 2008) ใบมีลักษณะกลมคล้ายรูปหัวใจจึงทำให้ความยาวใบลดลง

นอกจากนี้ยังพบในต้นสาบแร้งสาบกา หรือ *Ageratum conyzoides* (Gaonkar and Torne, 1991) ส้มโอ (Kashihara and Komatsu, 2005) ส้มโอพันธุ์ Banpeiyu (Masaki et al., 2005) และ *Salvia hains* (Mohammad et al., 2011) มีผลทำให้ใบมีลักษณะกลม ป้าน และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน (Samala and Te-chato, No date) มีผลทำให้ความหนาแน่นของปากใบลดลง (สถาพร, 2555; ศิริจันทร์, 2554)

แต่ จรัสศรี (2548) นคร และ จรัสศรี (2550) และ สมปอง และ ราตรี (2542) รายงานไว้ว่าหลังการวัดขนาดปากใบ และเมื่อคลอโรพลาสต์หรือจำนวนคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น ใบมีสีเขียวเข้มขึ้น จำนวน ploidy levels เพิ่มขึ้น เป็นวิธีการหนึ่งของการตรวจสอบพืชที่มีขนาดปากใบใหญ่และยาวกว่าปกติ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษากด้วยพันธุ์กล้วย (เบญจมาศ, 2538) กล้วยไม้สกุลหวาย (เพ็ญพิมพ์ และคณะ, 2551) กล้วยไข่พันธุ์กล้วย (ภาสันต์, 2540) กล้วยไม้เอื้องเงิน (รัชณี, 2552) กล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก (วีรภัทรา, 2552) Alfalfa (Bingham, 1968) ฝ้าย (Chaudhari and Barrow, 1975) บัวบก (Chulalaksanukul and Chimnoi, 1999) *Vicia villosa* (Elradi and Unal, 2010) *Bromus inermis* (Geok-Yong and Dunn, 1975) *Hedychium muluense* (Hamidou, 2009) กว๊าก (Leslaw et al., 1988) กาแฟ (Mishra, 1997) แดงโม (Muhammad et al., 2005) *Hordeum* sp. *Secale* sp. และ *Triticum* spp. (Rajendra et al., 1978) กล้วยไม้ (Silva et al., 2000) *Alocasia x amazonica* (Thao et al., 2004) และในพืช *Pseudostellaria heterophylla* (Zuyun et al., 2009) ที่มีโครโมโซม 4 ชุด พบว่าใบมีความกว้างและหนา ขนาดความยาวของปากใบเพิ่มขึ้นซึ่งแตกต่างกันตามจำนวนชุดโครโมโซมที่เพิ่มขึ้น ในก๊วยฟรุตมีจำนวนโครโมโซมจำนวนมาก ($2n=2x=170$) Leslaw et al. (1988) จึงใช้วิธีการวัดความยาวปากใบเพื่อจำแนกเบื้องต้นระหว่าง ploidy levels ต่างๆ ทั้งยังใช้เวลาที่สั้นกว่าและยังมีความจำเป็นต้อง

ตรวจสอบจำนวนโครโมโซมเพื่อยืนยันความถูกต้องจากต้นพืชที่มีความยาวปากใบเพิ่มขึ้น แต่ความสูงของต้น muskmelon กลับพบว่าต้นที่มีจำนวนโครโมโซม 4 ชุด มีความสูง (ความยาวเถา) มากกว่าต้นที่มีจำนวนโครโมโซม 2 ชุด (Wenqian *et al.*, 2010)

หลังการศึกษาค้นคว้าพบจำนวนนิวคลีโอไลที่มีจำนวน 4 ชุดต่อเซลล์ เป็นผลจากการย้อมกลุ่ม nucleolar proteins ด้วย silver สามารถระบุ ploidy levels ได้ เพราะการย้อมด้วย silver nitrate ส่วนที่เป็นโปรตีนคิดเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือน้ำตาลดำ (Howard *et al.*, 1979 และ Trere, 2000) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในมนุษย์ สัตว์ และพืช ได้แก่ โรค Down Syndrome ในมนุษย์ (Ajit *et al.*, 2011) ใก้ที่มีโครโมโซมเป็น aneuploid (Donna *et al.*, 1985) และในพืชเช่นในฝรั่งพันธุ์จินจู (Myint, 2011) Toolapong (1999) ได้ศึกษาสัมฤทธิ์ผลโดยมีความสัมพันธ์กันระหว่างจำนวนของนิวคลีโอไล และ ploidy levels ในส้ม พบว่าจำนวนนิวคลีโอไลมีสัมพันธ์กับต้นส้มที่เป็นแฮพลอยด์ ดิพลอยด์ และเทริพลอยด์ ตามลำดับ ซึ่งขนาด จำนวนและความถี่ของนิวคลีโอไลมีความแตกต่างกันตาม ploidy levels

การทดลองที่ 2 การผลิตต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูให้มีโครโมโซม 3 ชุดจากเรณู ของดอกฝรั่งที่มีโครโมโซม 2 ชุด ผสมเกสรสลับกับเรณูจากดอกฝรั่ง ที่มีโครโมโซม 4 ชุด หลังได้รับสารโคลชิซิน ความเข้มข้นแตกต่างกัน

หลังการหุ้มสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.04, 0.06, 0.08, และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ บนตาและกิ่งฝรั่งพันธุ์จินจู นาน 0, 5, 15, 30, และ 45 ชั่วโมง พบว่าลักษณะพื้นฐานวิทยาของกิ่งและใบฝรั่งพันธุ์จินจูหลังได้รับสารโคลชิซิน พบว่า จำนวน ความยาว ความกว้าง ความหนาของใบ ปากใบ ความกว้าง ความยาวปากใบ และจำนวนคลอโรพลาสต์มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับพืชที่มีโครโมโซมมากกว่า 2 ชุด มีลักษณะพื้นฐานวิทยาที่แตกต่างกันคือ ขนาด ใบ ดอก หรือ ผล มีขนาดใหญ่ขึ้น หรือมีต้นเตี้ยและการเจริญเติบโตช้ากว่าปกติ (Gaonkar and Torne, 1991) ความกว้างและความยาวใบมากที่สุดโดยเฉพาะความเข้มข้น 0.08 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับงานของ Muhammad *et al.* (2005) พบว่าพื้นที่ใบมีมากขึ้นหลังให้สารโคลชิซินในแตงโมที่มีโครโมโซม 4 ชุด นอกจากนี้ Kashihara and Komatsu (2005) ได้ทดลองในพืชตระกูลส้มที่เป็นแฮพลอยด์โดยใช้สารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.05, 0.10 และ 0.20 เปอร์เซ็นต์ ใส่บริเวณตาข้าง พบลักษณะของยอดที่เกิดใหม่ที่มีอาการผิดปกติ เช่น ใบมีลักษณะกลมสีเขียวเข้ม ใบหนาขึ้น ความหนาของใบหลังการหุ้มสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.06 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีความหนาของใบ

มากที่สุด 0.87 เซนติเมตร และนาน 45 วัน (0.82 เซนติเมตร) ใบมีลักษณะหนาขึ้น มีสีเขียวเข้มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานในมังกุด (สมปอง และ ราตรี, 2542) *Amaranthus caudatus* และ *dubious* (Behera *et al.*, 1974) ฝรั่งเศส (Chen, 2008) สัมโอ (Kashihara and Komatsu, 2005) และ แดงไทย (Wengian *et al.*, 2010) เม็ดคโลโร พลาสต์ หรือ จำนวนคโลโรพลาสต์เพิ่มขึ้น (สมปอง และ ราตรี, 2542) และ หลังการให้สารโคลชิซิน บนตา และกิ่งฝรั่งพันธุ์จินจู พบว่าจำนวนเรณูขนาดใหญ่มีความแตกต่างกันสอดคล้องกับ มขรี (2547) พบว่าขนาดของเรณูตัวเมียมีความสัมพันธ์ของ 1 และดอกที่ได้รับสารโคลชิซินมีขนาดใหญ่ เช่นเดียวกับงานของ Myint (2011) พบว่ามีเรณูขนาดใหญ่ในฝรั่งพันธุ์จินจู หลังได้รับสารไตรฟลูราลิน และ Strivastava and Strivastava (2002) กล่าวว่าเรณูของ *Helianthus annuus* ที่มีจำนวนโครโมโซม 4 ชุด มีขนาดใหญ่กว่าต้นที่มีจำนวนโครโมโซม 2 ชุด

หลังการศึกษาจำนวนนิวคลีโอไทด์จากเซลล์ปลายรากต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูมีโครโมโซม 3 ชุด พบว่ามีจำนวนนิวคลีโอไทด์ 3 ชุดต่อเซลล์ ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึง ploidy levels สอดคล้องกับงานของ เทิดไทย (2552) ในส้มพันธุ์โอเชียนที่มีโครโมโซม 3 ชุด ($2n=27$) มีนิวคลีโอไทด์ 3 ชุดต่อเซลล์ นิมนานรดี (2550) ได้ทำการผสมเกสรส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งโดยดอกเพศเมียได้รับสารสารโคลชิซิน 0.08 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับดอกเพศผู้ไม่ได้รับสาร พบต้นกล้ามีโครโมโซม 3 ชุด จำนวน 2 ต้น และการให้สารไตรฟลูราลิน 0.02 และ 0.06 เปอร์เซ็นต์ ในดอกเพศเมียความเข้มข้นละ 1 ต้น และงานของ ปณิศา (2548) ใช้สารโคลชิซิน 0.08 เปอร์เซ็นต์ กับมะนาวและไมวาควมวอท พบต้นกล้ามีโครโมโซม 3 ชุด ($2n=27$) จากการผสมระหว่างดอกเพศเมียได้รับสารกับเกสรเพศผู้ไม่ได้รับสารอย่างละ 1 ต้น และ สถาพร (2555) ได้ผลิตต้นกล้ามะนาวแป้นทะวายจากดอกเพศเมียได้รับสารโคลชิซิน 0.05 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับเกสรเพศผู้จากดอกมะนาวแป้นทะวายต้นที่ไม่ได้รับสาร มีโครโมโซม 3 ชุด ($2n=27$) ได้ต้นกล้าจำนวน 1 ต้น เช่นเดียวกับส้มลูกผสม (Toolapong, 1999) ฝรั่งพันธุ์จินจู (Myint, 2011) และจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูจากจำนวน 464 ต้น พบว่าต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูมีโครโมโซมจำนวน 2 ชุด หรือ 22 โครโมโซม ($2n=2x=22$) จำนวน 461 ต้น และโครโมโซมจำนวน 3 ชุด หรือ 33 โครโมโซม ($2n=3x=33$) จำนวน 3 ต้น

Kihara (1951) ได้รายงานไว้ในการผลิตแดงโมไรเมล็ดทำได้โดยใช้ต้นแดงโมต้นแม่ที่มีโครโมโซม 4 ชุด ผสมกับต้นแดงโมต้นพ่อที่มีโครโมโซมปกติ เมล็ดที่ได้จากผลของต้นแม่มีโครโมโซม 3 ชุด เมื่อนำเมล็ดที่มีโครโมโซม 3 ชุด ไปปลูกเป็นต้นแม่และใช้ต้นพ่อที่มีโครโมโซมปกติช่วยในการผสมเกสร เพื่อให้เกิดผลเป็นแบบผลผสมซึ่งเป็นผลแดงโมที่ไร้เมล็ด ข้อดีของแดงโมไร้เมล็ดคือมีปริมาณน้ำตาลสูงกว่าและรสชาติดี ซึ่งมีการปลูกแดงโมไร้เมล็ดกันมานานหลายปี จึงมีการแข่งขันและปรับปรุงพันธุ์ให้ตรงตามความต้องการของการตลาดและผู้บริโภคอยู่

เสมอ (David and Napier, 2009; Marr and Gast, 1991; NeSmith, 2001) ในการผลิตพืชไม่มีเมล็ดสามารถทำได้ เช่นเดียวกับงานของ Raman *et al.* (1971) ในฝรั่งพบว่าการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมมีผลต่อสรีรวิทยาและการแสดงออกของลักษณะต่างๆ เช่น การเพิ่มจำนวนของชุดโครโมโซมจาก 2 ชุด เป็น 3 ชุด มีผลทำให้ต้นฝรั่งมีลำต้นที่แข็งแรงกว่า ลักษณะใบมีสีเขียวเข้มและหนาขึ้น ขอบใบเป็นคลื่นมีการบิดเล็กน้อย แต่ Majumder and Makherjee (1972) พบว่าลักษณะของฝรั่งที่มีโครโมโซม 3 ชุด เรณูมีความสามารถในการงอกต่ำ การติดเมล็ดน้อย และความเป็นหมัน 47-60 เปอร์เซ็นต์ ทำให้การติดผลต่ำ ส่วนฝรั่งที่มีโครโมโซม 2 ชุด เรณูเป็นหมันเพียง 3-11 เปอร์เซ็นต์ และมีการงอกของเรณูสูงถึง 82 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุการสลายตัวของเมล็ดในฝรั่งที่มีโครโมโซม 3 ชุด สันนิษฐานว่าเกิดจากความไม่สมดุลของพวกแอนโนวพลอยด์ในส่วนองดูเลมบริโอ เซลล์ไข่ เอมบริโอ และเอนโดสเปิร์ม หรือเกิดจากโครโมโซมของดินแม่ที่ไม่สมดุลกัน (Rangasamy and Das, 1973) และการแยกของโครโมโซมที่เป็นคู่กันในระยะแอนาเฟสไปยังแต่ละขั้วเซลล์เกิดขึ้นในอัตราส่วน 1:1 หรือ 2:1 ซึ่งขึ้นอยู่กับรูปร่างของ trivalent และอาจมีโครโมโซมที่เคลื่อนที่เข้าสู่ขั้วเซลล์ช้ากว่าปกติ จากสาเหตุดังกล่าวทำให้เซลล์สืบพันธุ์ที่ได้มีทั้งเซลล์สืบพันธุ์ปกติและเซลล์สืบพันธุ์แบบแอนโนวพลอยด์ โดยเซลล์สืบพันธุ์แบบแอนโนวพลอยด์เพศผู้ส่วนใหญ่เป็นหมันไม่สามารถทำหน้าที่ได้ ส่วนเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียสามารถทนต่อสภาพแอนโนวพลอยด์ได้ในระดับหนึ่ง ผลไม้ที่เป็นออโตทริพลอยด์จึงมีการเกิดเมล็ดและไม่เกิดเมล็ดซึ่งนำเมล็ดไปเพาะงอกเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (สมศักดิ์, 2538)

และในการผลิตต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูที่มีโครโมโซม 3 ชุด จากการทดลองครั้งนี้พบจำนวนต้นกล้าทั้งหมด 3 ต้น คือ 2 ต้น ได้จากการผสมเกสรระหว่างดอกเพศเมียไม่ได้รับการสารถกับดอกเพศผู้ได้รับการสารถความเข้มข้น 0.08 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 วัน และ 1 ต้น ได้จากการผสมเกสรดอกเพศผู้ไม่ได้รับการสารถกับดอกเพศเมียได้รับการสารถความเข้มข้น 0.06 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 วัน ซึ่งสอดคล้องกับงานของ นิมมานรดี (2550) และ Myint (2011) ได้ผลิตต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูโดยใช้สารไตรฟลูราลิน 0.06 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 และ 45 ชั่วโมง จากการผสมสลับระหว่างดอกเพศเมียไม่ได้รับการสารถกับเพศผู้ได้รับการสารถ และดอกเพศเมียได้รับการสารถกับเพศผู้ไม่ได้รับการสารถ พบว่าได้ต้นกล้าที่มีโครโมโซม 3 ชุด อย่างละ 2 ต้น

บทที่ 6

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

สรุปผล

สรุปผลการทดลองที่ 1 การเพิ่มโครโมโซมเป็น 4 ชุด ของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูหลังได้รับสารโคลชิซินต่างความเข้มข้น

การแช่เมล็ดฝรั่งพันธุ์จินจูด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.00 (control), 0.02, 0.04, 0.06, และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ นาน 0, 15, 30, 45, และ 60 ชั่วโมง ในเรือนเพาะชำหลังขลิบเปรียบเทียบกับไม้ขลิบเมล็ดนาน 6 เดือน พบว่าต้นกล้าจำนวน 1,360 ต้น มีโครโมโซมจำนวน 2 ชุด หรือ 22 โครโมโซม ($2n=2x=22$) จำนวน 1,355 ต้น และโครโมโซมจำนวน 4 ชุด หรือ 44 โครโมโซม ($2n=4x=44$) จำนวน 5 ต้น ได้จากการขลิบเมล็ดทั้งหมดโดยสารโคลชิซิน 0.04 และ 0.06 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 และ 60 ชั่วโมง ได้ 2 และ 3 ต้น ตามลำดับ ตรวจสอบจำนวนนิวคลีโอไทด์จากเซลล์ปลายรากพบว่า มี 4 จุดต่อเซลล์ จำนวนโครโมโซม ($2n=4x=44$) และยังวิเคราะห์จำนวนชุดโครโมโซมโดยเครื่อง flow cytometry จากใบของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจู พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างต้นกล้าที่มีจำนวนโครโมโซม $2n=2x=22$ กับต้นกล้าที่มีจำนวนโครโมโซม $2n=4x=44$ ซึ่งพบความสูงของต้นกล้า จำนวนใบ ความกว้าง ความยาวใบ จำนวนปากใบ ความกว้าง ความยาวปากใบ และจำนวนคลอโรพลาสต์มีความแตกต่างกัน ต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูที่มีจำนวนโครโมโซม 4 ชุด มีลักษณะต้นเตี้ย ใบหนาขึ้น ลักษณะใบคล้ายรูปหัวใจ มีจำนวนปากใบลดลง ขนาดปากใบใหญ่และยาวกว่าปกติ และเมื่อคลอโรพลาสต์หรือจำนวนคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น ส่งผลทำให้ใบมีสีเขียวเข้มด้วย

สรุปการทดลองที่ 2 การผลิตต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูให้มีโครโมโซม 3 ชุด จากเรณูของดอกฝรั่งที่มีโครโมโซม 2 ชุด ผสมเกสรสลับกับเรณูจากดอกฝรั่งที่มีโครโมโซม 4 ชุด หลังได้รับสารโคลชิซินความเข้มข้นต่างกัน

การผลิตต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูให้มีโครโมโซม 3 ชุด ด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.00, 0.04, 0.06, 0.08, และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ กับกิ่งฝรั่งพันธุ์จินจูหลังการตัดปลายกิ่งนาน

0, 5, 15, 30, และ 45 วัน พบว่าลักษณะพื้นฐานวิทยาของกิ่งและใบฝรั่งพันธุ์จินจุหลังได้รับสารโคลชิซิน พบว่า จำนวนใบ ความกว้าง ความยาว ความหนาใบ ปากใบ ความกว้าง ความยาวปากใบ และขนาดเรณูมีไหญ่ความแตกต่างกัน หลังจากการศึกษาจำนวนนิวคลีโอไทด์จากเซลล์ปลายรากมี 3 จุดต่อเซลล์ และจำนวนโครโมโซม 33 แท่ง ($2n=3x$) ได้ต้นกล้าฝรั่งจำนวน 464 ต้น มีโครโมโซมจำนวน 2 ชุด หรือ 22 โครโมโซม ($2n=2x$) จำนวน 461 ต้น และมีโครโมโซมจำนวน 3 ชุด หรือ 33 โครโมโซม ($2n=3x$) จำนวน 3 ต้น โดยผสมเกสรระหว่างดอกเพศเมียไม่ได้รับสารกับดอกเพศผู้ได้รับสารความเข้มข้น 0.08 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 วัน จำนวน 2 ต้น และได้จากผสมเกสรดอกเพศผู้ไม่ได้รับสารกับดอกเพศเมียได้รับสารความเข้มข้น 0.06 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 วัน จำนวน 1 ต้น ลักษณะของต้นกล้าที่มีโครโมโซม 3 ชุด จะมีขอบใบเป็นคลื่นบิดตัวเล็กน้อย จำนวนปากใบลดลง ขนาดปากใบใหญ่ และยาวกว่าปกติ เม็ดคลอโรพลาสต์ หรือจำนวนคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้น และมีการเจริญเติบโตดี

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะ

ผลงานทดลองนี้ควรทำการศึกษาคืบต่อไป เนื่องจากสามารถนำไปพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์กับฝรั่งพันธุ์อื่นๆ เพื่อให้เหมาะสม และตรงกับความต้องการของตลาดและผู้บริโภค

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

1. ในการชักนำต้นฝรั่งพันธุ์จินจุให้มีโครโมโซม 4 ชุด ควรให้สารโคลชิซินความเข้มข้นระหว่าง 0.04-0.06 เปอร์เซ็นต์ ควรขลิบเมือดฝรั่งก่อน เพราะสารโคลชิซินจะสัมผัสเนื้อเยื่อภายในโดยตรงได้ดีกว่าไม่ขลิบเมือด และในการชักนำต้นกล้าฝรั่งให้มีโครโมโซม 3 ชุด ควรให้สารโคลชิซินความเข้มข้นระหว่าง 0.06-0.08 เปอร์เซ็นต์ นาน 15-30 วัน โดยพบว่ามีแนวโน้มในการชักนำให้เกิดกลายพันธุ์มากที่สุด และควรมีการศึกษาต่อเนื่องในการให้สารโคลชิซิน ที่มีความเข้มข้นสูงกว่างานวิจัยครั้งนี้
2. ควรเลือกกิ่งพันธุ์ที่มีขนาดปานกลางและมีความสมบูรณ์ ไม่ควรเลือกกิ่งที่สมบูรณ์เกินไปหรือกิ่งที่เป็นโรค เนื่องจากกิ่งใหญ่มีความสมบูรณ์มากเกินไป ทำให้ไม่มีการออก

ดอก หรือออกช่อกับมากบนกิ่ง ทำให้การเก็บข้อมูลไม่มีความสม่ำเสมอเกิดความคลาดเคลื่อนหรืออาจล้มเหลวได้

3. จากการทดลองพบว่าการผสมดอกในช่วงนี้มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดน้อยมาก จึงควรหลีกเลี่ยงการทำวิจัยในช่วงฤดูฝน

4. จากการศึกษาหาจำนวนและชุดโครโมโซม สามารถหาได้ทั้งที่ปลายรากและปลายยอด ซึ่งจะมีความยากง่ายแตกต่างกัน โดยการหาจากต้นกล้าฝรั่งมีอายุน้อยจะส่งผลกระทบต่อปลายรากทำให้มีขนาดเล็ก และสามารถหาโครโมโซมได้จากส่วนของปลายยอด มีข้อเสียคือเซลล์และโครโมโซมที่ได้มีขนาดเล็กกว่าปลายราก

5. ต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูที่ได้สามารถนำไปใช้พ่อแม่พันธุ์ในโครงการปรับปรุงพันธุ์เพื่อผลิตฝรั่งไร้เมล็ดได้ โดยต้นฝรั่งพันธุ์เงินจูที่มีโครโมโซม 4 ชุด ผสมกับฝรั่งพันธุ์เงินจูหรือพันธุ์การค้าอื่นที่มีโครโมโซม 2 ชุด ได้ฝรั่งลูกผสมที่มีโครโมโซม 3 ชุด

บรรณานุกรม

- กรมควบคุมมลพิษ. 2544. ศูนย์ข้อมูลข้อมูลอันตรายและเคมีภัณฑ์. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://msds.pcd.go.th/pdf/467.pdf>. (12 พฤษภาคม 2554).
- กันขารัตน์ ไชยสุต. 2532. เซลล์พันธุศาสตร์และอนุกรมวิธานพืชสกุล *Zephyranthes*. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 260 น.
- กฤษฎา สัมพันธ์รักษ์. 2519. หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 418 น.
- _____. 2546. ปรับปรุงพันธุ์พืช: พื้นฐาน วิธีการ และแนวคิด. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 237 น.
- จรัสศรี นวลศรี. 2548. การเปลี่ยนแปลงจำนวนชุดโครโมโซมและการปรับปรุงพันธุ์พืช. น. 73-97. ใน เอกสารคำสอนวิชาการปรับปรุงพันธุ์พืชสวน. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.
- ชลธิชา บังเลา. 2547. การสร้างเซลล์สืบพันธุ์. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://student.nu.ac.th/u46410023/lesson%204.htm> (3 พฤษภาคม 2553).
- ชัยฤกษ์ มณีพงษ์. 2525. เซลล์พันธุศาสตร์. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 205 น.
- ทวีศักดิ์ ชัยเรืองยศ. 2548. ทิศทางเกษตร: เชนจูฝรั่งเศสชาติได้หันแต่พ่อ-แม่พันธุ์เป็นสายพันธุ์ฝรั่งจากไทย. เดลินิวส์ 9 พฤศจิกายน: 10.
- ทิพย์วรรณ ดันประเสริฐ. 2542. อิทธิพลของ GA_3 , GA_{4+7} และ $GA_{4+7} + BA$ ต่อการติดผลและลักษณะของผลฝรั่ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 65 น.
- เทิดไทย แก้วทอง. 2552. จำนวนชุดโครโมโซมจากต้นกล้าผสมพันธุ์สายน้ำผึ้งกับผสมพันธุ์โอเชียนจากเมล็ดขนาดเล็กและการเพิ่มชุดโครโมโซมโดยใช้สารเคมีในพืชตระกูลส้ม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 180 น.
- เทียมใจ คมกฤต. 2546. กายวิภาคของพฤษภ. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 308 น.
- นิมมานรดี พรหมทอง. 2550. การสร้างสายพันธุ์ส้มจี๊ด ส้มสายน้ำผึ้งและมะนาวด่านเกวียนไม่มีเมล็ดโดยใช้สารโคลชิซินและไตรฟลูราลิน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 89 น.
- นายเกษตร. 2548. เงินจอร์น้อยกว่าฝรั่งทุกพันธุ์. ไทยรัฐ. 23 พฤศจิกายน: 7.

- นคร สารวัตร และ จรัสศรี นวลศรี. 2550. “การชักนำการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมในมะนาวฝรั่ง (*Citrus limon* (L.) Burm. F.)”. ว. วิชาการเกษตร 25(3): 240-253.
- นพพร คล้ายพงษ์พันธุ์. 2546. เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 261 น.
- นฤมล มานีพพาน. มมป. หนังสือคู่มือการเกษตร การเพาะปลูกและขยายพันธุ์. กรุงเทพฯ: ส่งเสริมอาชีพธุรกิจ. 80 น.
- เบญจมาศ สีลาชัย. 2538. ถั่ว. กรุงเทพฯ: ประชาชน. 290 น.
- _____. 2545. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 373 น.
- ปณิศา กันธาด. 2548. การสร้างสายพันธุ์ส้มจี๊ด มะนาวและคัมควอทไม่มีเมล็ดโดยใช้สารโคลชิซินและไตรฟลูราลิน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 102 น.
- ประทีป ภูมามส. 2542. ท้องโลกพืชสวน. กรุงเทพฯ: บริษัทมติชน จำกัด (มหาชน). 152 น.
- ประภา ศรีพิจิตร. 2534. เซลล์พันธุ์ศาสตร์ที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช. ภาควิชาไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 354 น.
- ประสิทธิ์ศิลป์ ชัยยะวัฒน์โยธิน. 2548. ทำไม้ชื่อฝรั่ง. เทคโนโลยีชาวบ้าน. 18(391): 96 น.
- เพ็ญพิมพ์ ชิดบุรี นันทวรรณ อินต๊ะนำ และ อภิชาติ ชิดบุรี. 2551. ลักษณะปากใบของจำนวนชุดโครโมโซมที่แตกต่างกันในกล้วยไม้หวายลูกผสมบางชนิด. ว. วิชาการเกษตร 24(3): 205-210.
- ไพโรจน์ ผลประสิทธิ์. 2540. รวมกลยุทธฝรั่ง. กรุงเทพฯ: เจริญรัฐการพิมพ์. 95 น.
- ภาสกร สารทูลทัต. 2540. การชักนำให้กล้วยไม้กลายพันธุ์ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วย colchicine และ oryzalin. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 70 น.
- มยุรี แก้วภู. 2547. การชักนำให้เกิดโพลีพลอยดีในถั่วเขียวผิวมันพันธุ์อุทอง 1 โดยการใช้สารโคลชิซินและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยทักษิณ. 137 น.
- รัชนี เพ็ชรช้าง. 2552. ผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการให้โคลชิซินต่อการเจริญและจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้เอื้องเงิน. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. อุดรดิตถ์: มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรดิตถ์. 66 น.
- ลิลลี่ กาวีตะ มาลี ณ นคร และ สุริยา ดันติวิวัฒน์. 2548. พัฒนาการทางลำต้นและสืบพันธุ์. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 261 น.
- วิทยา บัวเจริญ. 2527. หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ: กรุงเทพมหานครการพิมพ์. 72 น.

- วีรภัทร ทิพย์วารี. 2552. ผลของโคลชิซินต่อการเติบโตและชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ของเถียงดิน
ใบหมาก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 82 น.
- ศิรินทร์ จันทโพธิ์. 2554. ความถี่ของการเพิ่มชุดโครโมโซมพื้นฐานในกล้วยไม้บางชนิด.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 156 น.
- สถาพร มณี. 2555. การเพิ่มชุดโครโมโซม และการผลิตต้นกล้าที่มีโครโมโซม 3 ชุดของ
มะนาวน้ำหอม มะนาวแป้นตะวาย และคัมภีรผลโดยการใส่สารโคลชิซิน และสารไตร
ฟลูราลิน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 128 น.
- สมปอง เคชะโต และ ราตรี สุจารีย์. 2542. การชักนำการกลายพันธุ์มั่งคุดโดยใช้สารโคลชิซินกับ
ใช้ตาขอดที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง. ว. สงขลานครินทร์ 21: 155-167.
- สมศักดิ์ อภิสถิธาวิช. 2538. เอกสารประกอบการสอน วิชาพันธุศาสตร์ของเซลล์เบื้องต้น.
กรุงเทพฯ: ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สัมฤทธิ์ เฟื่องจันทร์. 2537. ศรีวิทยาไม้ผล. ขอนแก่น: ภาควิชาไร่นา คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 437 น.
- อมรา คัมภีรานนท์. 2546. พันธุศาสตร์ของเซลล์. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะ
วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 308 น.
- Ajit, K. S., D. Singh and J. Gupta. 2011. "Human acrocentric chromosome and their association
with nucleolar organizer regions in Down Syndrome". **Curr. Pediatr. Res.** 15(1): 15-17.
- Beewar, M. R., P. C. Standwood and K. W. Leonhardt. 1983. "Dehydration effects on freezing
characteristics and survival in liquid nitrogen of desiccation-tolerant and desiccation-
sensitive seeds". **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** 108: 613-618.
- Behera, B. T., A. Tripathy and S. K. Patnaik. 1974. "Histological analysis of colchicine-
induced deformities and cytochimera in *Amaranthus caudatus* and *A. dubious*." **J. Heredity** 65: 179-184.
- Bingham, E. T. 1968. "Stomatal chloroplasts in alfalfa at four ploidy levels". **Crop Science** 8:
509-560.
- Chaudhari, H. K. and J. R. Barrow. 1975. "Identification of cotton haploids by stomatal
chloroplast-count technique". **Crop Science** 15: 760-763.

- Chen, Y. K. 2008. Breeding for seedlessness in guava. **The 5th Taiwan-Thailand bilateral conference, agriculture for improving human life: The international collaboration on tropical agriculture**, Taiwan: NPUST.
- Chen, Z. Y. 1992. **Cytology of Zingiberaceae**. A paper distributed for the training course on cytotaxonomy of *Zingiberaceae* and some selected plants. Songkla: Faculty of science, Prince of Songkla University. 6 p.
- Chulalaksananukul, W. and W. Chimnoi. 1999. "Polyploid induction in *Centella asiatica* (L.) Urban by colchicine treatment". **J. Sci. Res. Chula. Univ.** 24(2): 55-65.
- David, T. and T. Napier. 2009. "Seedless watermelons in the Riverina". **IREC Farmers' Newsletter** 181:19-21.
- Dermen, H. 1940. "Colchicine polyploidy and technique". **Bot. Rev.** 6: 599-635.
- Donna, E. M., V. M. Vogt and S. E. Bloom. 1985. "The ribosomal RNA gene cluster in aneuploid chicken evidence for increased gene dosage and regulation of gene expression". **The Journal of Cell Biology** 101: 1749-1756.
- Elradi, T. and M. Unal. 2010. Production of colchicine induced tetraploid in *Vicia villosa* Roth. **Caryologia** (63)3: 292-303.
- Froelicher, Y. J., B. Bassen, E. Jedidi-Neji, D. Dambier, R. Morillon, G. Bernardini, G. Costantino, and P. Ollitrault. 2007. "Induced parthenogenesis in mandarin for haploid production: Induction procedures and genetic analysis of plantlets". **Plant Cell Rep.** 26: 937-944.
- Gaonkar, R. V. and S. G. Torne. 1991. "Induced autotetraploidy in *Ageratum conyzoides* L.". **Cytologia** 56: 327-331.
- Geok-Yong, T. and G. M. Dunn. 1975. "Stomatal length, frequency and distribution in *Bromus inermis* Leyss". **Crop Science** 15: 283-286.
- George, H. 2000. **Using Colchicine to Create New Plants**. [Online]. Available: <http://www.angelfire.com/ab3/chrysanthemum/growingmethods/colchicine.htm> (3 November 2010)
- Hamidou, F. S. 2009. "Induced polyploidy ornamental ginger (*Hedychium muluense* R. M. Smith) using colchicine and oryzalin". **Hort Science** 44(7): 1809-1814.

- Howard, R. H., L. I. Rothblum and T. C. Hsu. 1979. "Identification of a silver binding protein associated with the cytological silver staining of actively transcribing nucleolar regions". **Cell Biology International Reports** (3)7: 615-622.
- Kashihara, Y. and H. Komatsu. 2005. "Production of a doubled haploid from a haploid pummelo using colchicines treatment of axillary shoot buds". **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** 130(6): 899-903.
- Kihara, H. 1951. "Triploid watermelons". **Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.** 58: 217-230.
- Leslaw, P. K., K. Pandey and P. M. Sanders. 1988. "Length of stomata as an indicator of ploidy level in *Actinidia deliciosa*". **New Zealand Journal of Botany** 26: 179-182.
- Love, A. and D. Love. 1975. **Plant Chromosomes**. Germany: Strauss & Cramer. Gmb H, D-6901 Leutershausen. 184 p.
- Majumder, P. K. and S. K. Makherjee. 1972. "Aneuploidy in guava (*Psidium guajava* L.). I. Mechanism of variation in chromosome number". **Cytologia** 37: 541-548.
- Marr, C. W. and K. L. B. Gast. 1991. "Reactions by consumers in a farmers' market to prices for seedless watermelon and ratings of eating quality". **Hort. Tech.** 1:105-106.
- Masaki, Y., H. Kunitake, T. Yabuya, K. Yamashita, Y. Kashihara, and H. Komatsu. 2005. "Production of a doubled haploid from a haploid pummelo using colchicine treatment of axillary shoot buds". **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** 130(6): 899-903.
- McVaugh, R. 1968. **The genera of American Myrtaceae-an Interim Report**. Taxon: International Association for Plant Taxonomy 17: 354-418.
- Mehra, P. N. 1946. "Colchicine effect on the mitotic division of the body nucleus in the pollen grains of some *Ephedra* spp." **Lahore: Punjab University** 12(7): 333-340.
- Mishra, M. K. 1997. "Stomatal characteristics at different ploidy levels in *Coffea* L." **Annals of Botany** 80:689-692.
- Mishra, M., R. Chandra, R. Pati, and A. Bajpai. 2007. "Micropropagation of Guava (*Psidium guajava* L.)". **Acta. Hort.** 735: 155-158.

- Mohammad, S. H., G. H. Meftahizade, N. Lotfi, V. Rahimi, and B. Baniasadi. 2011. "Doubling the chromosome number of *Salvia hains* using colchicine: Evaluation of morphological traits of recovered plants". **J. Medicinal Plants Research** 5(19): 4892-4898.
- Myint, T. 2011. **Frequency and occurrences of polyploid guava (*Psidium guajava* Linn.) seedling progenies by trifluralin application**. Master's thesis. Maejo University. 91 p.
- Muhammad, J. J., S. W. Kwon and D. H. Kin. 2005. "Flow cytometry of DNA contents of colchicine treated watermelon as a ploidy screening method at M1 stage". **Pak. J. Bot.** 37(3): 685-696.
- NeSmith, D. S. 2001. "Fruit set of triploid watermelons as a function of distance from a diploid pollinizer". **Hort Sci.** 36(1):60-61.
- Nukaya, T., M. Yahata, K. Suzuki, K. Yasuda, H. Kunitake, H. Komatsu, H. Mukai, H. Harada, and T. Takagi. 2009. "Fruit characteristics in autotetraploid meiwa kumquat induced by colchicines treatment to nucellar embryos". **Hort. Environ. Biotech.** 50(3): 188-190.
- Rajan, S. L., P. Yadava, R. Kumar, and S. K. Saxena. 2008. Direct and indirect effects of seed related characters on number of seed in guava (*Psidium guajava* L.) fruits. **Scientia Horticulture** 116: 47-51
- Rajendra, B. R., K. A. Mujeeb and L. S. Bates. 1978. "Relationships between 2x *Hordeum* Sp., 2x *Secale* Sp. and 2x, 4x, 6x *Triticum* Spp. For stomatal frequency, size and distribution". **Environ. and Exper. Botany.** 18: 33-37.
- Raman, V. S., S. R. S. Rangasamy and G. Manimekalai. 1971. "Triploidy and seedlessness in guava (*Psidium guajava* L.)". **Cytologia** 36: 392-399.
- Rangasamy, S. R. S. and L. D. V. Das. 1973. "Seedlessness in triploid guava (*Psidium guajava* L.)-embryological studies". **Can. J. Genet. Cytol.** 15: 331-334.
- Ray, P. K. 2002. **Breeding tropical and subtropical fruits**. Pangbourne: Alpha Science International Ltd. 338 p.
- Rymbai, H. and G. S. N. Reddy. 2011. "Influence of open field and polyhouse nursery on survival characters of rooted layers in guava (*Psidium guajava* L.)". **Life Sciences Leaflets** 21: 996-1002.

- Samala, S. and S. Te-chato. No Date. Effects of colchicines treatments on physiological characteristics of secondary somatic embryos of oil palm in vitro. **Proceedings of the 7th IMT-GT UNINET and the 3rd international PSU-UNS conferences on Bioscience.**
- Saravat, N. and C. Nualsri. 2007. "Induction of polyploids in Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm. F.) by colchicines treatment". **Thai Agricultural Research J.** 25(3): 240-253.
- Seneviratne, K. A., C. N. Krishnarajah, S. A. Wijesundara, and P. W. U. B. Palipane. 2002. "Colchicine-induced floral variation in african violets (*Saintpaulia ionantha* H. Wendl.)". **Annals of the Sri Lanka Department of Agriculture** 4: 227-232.
- Shamsudin, R., I. O. Mohamed and N. K. M. Yaman. 2005. "Thermophysical properties of Thai seedless guava juice as affected by temperature and concentration". **J. of Food Engineering** 66: 395-399.
- Silva, S., C. Jacques and M. H. Zanettini. 2000. "Induction and identification of polyploids in *Cattleya intermedia* Lindl. (Orchidaceae) by in vitro techniques". **Ciencia Rural Santa Maria** 30(1): 105-111.
- Strivastava, R. and G. K. Strivastava. 2002. "Autopolyploids of *Helianthus annuus* L. var. modern". **Cytologia** 67: 213-220.
- Takami, K., A. Matsumara, M. Yahata, T. Imayama, H. Kunitake, and H. Komatsu. 2004. "Production of intergeneric somatic hybrids between round kumquat (*Fortunella japonica* Swingle) and Morita navel orange (*Citrus sinensis* Osbeck)". **J. Plant Cell Rep.** 23: 39-45.
- Thao, N. T., P. K. Ureshino, Y. Ozaki, and H. Okubo. 2004. "Colchicine and Oryzalin-induced tetraploids in ornamental *Alocasia X amazonica* hort". **J. Japanese Society for Horticultural Science** 73(1): 63-65.
- Toolapong, P. 1999. "Relationship between nucleoli numbers and ploidy levels in citrus hybrid progenies". **Thai J. Agri. Sci.** 32(2): 179-185.
- Trere, D. 2000. "AgNOR staining and quantification". **Micron. Oxford** 31(2): 127-131.
- Wenqian, Z., H. Hao, L. Ma, C. Zhao, and X. Yu. 2010. "Tetraploid muskmelon alters morphological characteristics and improves fruit quality". **Scientia Horticulturae** 125: 396-400.

Zhu, S. P., J. K. Song, Z. Y. Hu, B. Tan, Z. Z. Xie, H. L. Yi, and X. X. Deng. 2009. "Ploidy variation and genetic composition of open pollinated triploid citrus progenies".

Botanical Studies 50: 319-324.

Zuyun, Y., Y. Y. Wang and H. Q. Tain. 2009. "Regeneration of plantlets and tetraploidy induction in *Pseudostellaria heterophylla*". **Acta Biologica Cracoviensia Series**

Botanica (51)2: 13-18.







ภาคผนวก ก

ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ

ตารางผนวก 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความสูงของต้นกล้า
ฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังแช่เมล็ดด้วยสารโคลชิซิน (ขลิบเมล็ด)

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	867.48	36.14	6.76**	1.74	2.18
A	4	414.37	103.59	19.38**	2.56	3.72
B	4	183.83	45.95	8.60**	2.56	3.72
A x B	16	269.27	16.82	3.15**	1.85	2.38
Error	50	267.26	5.34			
Total	74	1134.74				

หมายเหตุ C.V. = 15.27 %

ตารางผนวก 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) จำนวนใบของต้น
กล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังแช่เมล็ดด้วยสารโคลชิซิน (ขลิบเมล็ด)

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	1152.02	48.00	6.88**	1.74	2.18
A	4	826.59	206.64	29.64**	2.56	3.72
B	4	137.99	34.49	4.95**	2.56	3.72
A x B	16	187.43	11.71	1.68ns	1.85	2.38
Error	50	348.62	6.97			
Total	74	1500.65				

หมายเหตุ C.V. = 15.99 %

ตารางผนวก 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความกว้างใบของ
ต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังแช่เมล็ดด้วยสาร โคลชิซิน (ขลิบเมล็ด)

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	8.66	0.36	1.37ns	1.74	2.18
A	4	4.76	1.19	4.50**	2.56	3.72
B	4	0.61	0.15	0.58ns	2.56	3.72
A x B	16	3.28	0.20	0.78ns	1.85	2.38
Error	50	13.21	0.26			
Total	74	21.88				

หมายเหตุ C.V. = 23.99 %

ตารางผนวก 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความยาวใบของต้น
กล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังแช่เมล็ดด้วยสาร โคลชิซิน (ขลิบเมล็ด)

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	33.52	1.39	1.02ns	1.74	2.18
A	4	14.92	3.73	2.73*	2.56	3.72
B	4	0.08	0.02	0.02ns	2.56	3.72
A x B	16	18.51	1.15	0.85ns	1.85	2.38
Error	50	68.35	1.36			
Total	74	101.87				

หมายเหตุ C.V. = 33.59 %

ตารางผนวก 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) จำนวนปากใบของ
ต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังแช่เมล็ดด้วยสารโคลชิซิน (ขลิบเมล็ด)

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	40065.23	1669.38	1.74ns	1.74	2.18
A	4	13241.10	3310.27	3.54*	2.56	3.72
B	4	6427.56	1606.89	1.72ns	2.56	3.72
A x B	16	32184.86	2011.55	2.15*	1.85	2.38
Error	50	48030.66	960.61			
Total	74	88095.89				

หมายเหตุ C.V. = 25.60 %

ตารางผนวก 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความกว้างปากใบ
ต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังแช่เมล็ดด้วยสารโคลชิซิน (ขลิบเมล็ด)

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	45.03	1.87	3.33**	1.74	2.18
A	4	30.58	7.64	13.56**	2.56	3.72
B	4	1.23	0.30	0.55ns	2.56	3.72
A x B	16	13.21	0.82	1.46ns	1.85	2.38
Error	50	28.19	0.56			
Total	74	73.20				

หมายเหตุ C.V. = 12.06 %

ตารางผนวก 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความยาวปากใบของ
ต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังแช่เมล็ดด้วยสาร โคกลิซีน (ขลิบเมล็ด)

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	77.41	3.22	9.15**	1.74	2.18
A	4	42.39	10.59	30.05**	2.56	3.72
B	4	5.12	1.28	3.63*	2.56	3.72
A x B	16	29.89	1.86	5.30**	1.85	2.38
Error	50	17.63	0.35			
Total	74	95.04				

หมายเหตุ C.V. = 7.49 %

ตารางผนวก 8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความสูงของต้นกล้า
ฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังแช่เมล็ดด้วยสาร โคกลิซีน (ไม่ขลิบเมล็ด)

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	377.63	15.73	2.07**	1.74	2.18
A	4	204.08	51.02	6.71**	2.56	3.72
B	4	35.37	8.84	1.16ns	2.56	3.72
A x B	16	138.17	8.63	1.14ns	1.85	2.38
Error	50	380.21	7.60			
Total	74	757.85				

หมายเหตุ C.V. = 20.66 %

ตารางผนวก 9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) จำนวนใบของต้น
กล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังแซมเมลิคด้วยสารโคลชิซิน (ไม่กลีบเมลิค)

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	1755.83	73.15	7.01**	1.74	2.18
A	4	1379.07	344.76	33.05**	2.56	3.72
B	4	27.44	6.86	0.66ns	2.56	3.72
A x B	16	349.31	21.83	2.09*	1.85	2.38
Error	50	521.65	10.43			
Total	74	2277.49				

หมายเหตุ C.V. = 18.12 %

ตารางผนวก 10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความกว้างใบของ
ต้นกล้าฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังแซมเมลิคด้วยสารโคลชิซิน (ไม่กลีบเมลิค)

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	4.56	0.19	1.45ns	1.74	2.18
A	4	0.22	0.05	0.42ns	2.56	3.72
B	4	0.88	0.22	1.69ns	2.56	3.72
A x B	16	3.45	0.21	1.64ns	1.85	2.38
Error	50	6.57	0.13			
Total	74	11.13				

หมายเหตุ C.V. = 19.01 %

ตารางผนวก 11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความยาวใบของ
ต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูหลังแช่เมล็ดด้วยสาร โคลชิซิน (ไม่ขลิบเมล็ด)

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	2.30	0.09	1.01ns	1.74	2.18
A	4	0.25	0.06	0.68ns	2.56	3.72
B	4	0.83	0.20	2.21ns	2.56	3.72
A x B	16	1.20	0.07	0.79ns	1.85	2.38
Error	50	4.74	0.09			
Total	74	7.05				

หมายเหตุ C.V. = 12.82 %

ตารางผนวก 12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) จำนวนปากใบของ
ต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูหลังแช่เมล็ดด้วยสาร โคลชิซิน (ไม่ขลิบเมล็ด)

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	51853.52	2160.56	2.31**	1.74	2.18
A	4	13241.10	3310.27	3.54*	2.56	3.72
B	4	6427.56	1606.89	1.72ns	2.56	3.72
A x B	16	32184.86	2011.55	2.15*	1.85	2.38
Error	50	46713.66	934.27			
Total	74	98567.18				

หมายเหตุ C.V. = 24.59 %

ตารางผนวก 13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความกว้างปากใบ
ของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูหลังแช่เมล็ดด้วยสาร โคลชิซิน (ไม่ขลิบเมล็ด)

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	6.28	0.26	1.34ns	1.74	2.18
A	4	0.62	0.15	0.80ns	2.56	3.72
B	4	0.93	0.23	1.20ns	2.56	3.72
A x B	16	4.71	0.29	1.51ns	1.85	2.38
Error	50	9.79	0.19			
Total	74	16.07				

หมายเหตุ C.V. = 8.47 %

ตารางผนวก 14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความยาวปากใบ
ของต้นกล้าฝรั่งพันธุ์จินจูหลังแช่เมล็ดด้วยสาร โคลชิซิน (ไม่ขลิบเมล็ด)

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	4.59	0.19	18.36**	1.74	2.18
A	4	0.57	0.14	13.67**	2.56	3.72
B	4	3.29	0.82	78.99**	2.56	3.72
A x B	16	0.73	0.04	4.38**	1.85	2.38
Error	50	0.52	0.01			
Total	74	5.11				

หมายเหตุ C.V. = 1.38 %

ตารางผนวก 15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) จำนวนใบของกิ่ง
ฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการหุ้มด้วยสาร โคลจิซีน

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	804.62	33.52	11.52**	1.74	2.18
A	4	724.31	181.07	60.75**	2.56	3.72
B	4	9.53	2.38	0.80ns	2.56	3.72
A x B	16	70.77	4.42	1.48ns	1.85	2.38
Error	50	149.04	2.98			
Total	74	953.66				

หมายเหตุ C.V. = 18.88 %

ตารางผนวก 16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความกว้างใบของ
กิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการหุ้มด้วยสาร โคลจิซีน

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	35.80	1.49	5.21**	1.74	2.18
A	4	24.09	6.02	21.03**	2.56	3.72
B	4	1.49	0.37	1.30ns	2.56	3.72
A x B	16	10.21	0.63	2.23*	1.85	2.38
Error	50	14.31	0.28			
Total	74	50.11				

หมายเหตุ C.V. = 12.05 %

ตารางผนวก 17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความยาวใบของ
กิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการหุ้มด้วยสารโคลชิซิน

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	101.21	4.21	4.91**	1.74	2.18
A	4	47.37	11.84	13.78**	2.56	3.72
B	4	8.02	2.00	2.34ns	2.56	3.72
A x B	16	45.80	2.86	3.33**	1.85	2.38
Error	50	42.97	0.85			
Total	74	144.18				

หมายเหตุ C.V. = 12.37 %

ตารางผนวก 18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความหนาใบของ
กิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการหุ้มด้วยสารโคลชิซิน

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	0.92	0.03	5.16**	1.74	2.18
A	4	0.60	0.15	20.15**	2.56	3.72
B	4	0.07	0.01	2.45ns	2.56	3.72
A x B	16	0.24	0.01	2.09*	1.85	2.38
Error	50	0.37	0.01			
Total	74	1.29				

หมายเหตุ C.V. = 11.22 %

ตารางผนวก 19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) จำนวนปากใบของ
กิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการหุ้มด้วยสาร โคลชิซิน

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	20435.72	851.48	7.76**	1.74	2.18
A	4	2691.79	672.94	6.13**	2.56	3.72
B	4	10765.46	2691.36	24.53**	2.56	3.72
A x B	16	6978.47	436.15	3.97**	1.85	2.38
Error	50	5486.46	109.72			
Total	74	25922.19				

หมายเหตุ C.V. = 7.50 %

ตารางผนวก 20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความกว้างปากใบ
ของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการหุ้มด้วยสาร โคลชิซิน

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	107.96	4.49	18.64**	1.74	2.18
A	4	55.50	13.87	57.49**	2.56	3.72
B	4	7.74	1.93	8.02**	2.56	3.72
A x B	16	44.71	2.79	11.58**	1.85	2.38
Error	50	12.06	0.24			
Total	74	120.03				

หมายเหตุ C.V. = 7.49 %

ตารางผนวก 21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ความยาวปากใบของกิ่งฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการหุ้มด้วยสาร โคลชิซิน

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	104.86	4.36	17.06**	1.74	2.18
A	4	30.55	7.63	29.83**	2.56	3.72
B	4	37.08	9.27	36.21**	2.56	3.72
A x B	16	37.22	2.32	9.08**	1.85	2.38
Error	50	12.80	0.25			
Total	74	117.66				

หมายเหตุ C.V. = 5.62 %

ตารางผนวก 22 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) จำนวนเรณูขนาดปกติจากดอกฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการหุ้มกิ่งด้วยสาร โคลชิซิน

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	35.88	1.49	1.24*	1.74	2.18
A	4	10.44	2.61	2.18ns	2.56	3.72
B	4	2.05	0.51	0.43ns	2.56	3.72
A x B	16	23.38	1.46	1.22ns	1.85	2.38
Error	50	60.04	1.20			
Total	74	95.93				

หมายเหตุ C.V. = 7.75 %

ตารางผนวก 23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) จำนวนเรณูขนาดใหญ่จากดอกฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการห่มกึ่งด้วยสารโคลชิซิน

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	19	40.43	2.12	3.09**	1.85	2.39
A	3	3.28	2.70	1.59ns	2.84	4.31
B	4	10.83	2.70	3.93**	2.61	3.83
A x B	12	26.1	2.19	3.18**	2.00	2.66
Error	40	27.57	0.68			
Total	59	68.00				

หมายเหตุ C.V. = 23.11 %

ตารางผนวก 24 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) จำนวนเรณูไม่สมบูรณ์จากดอกฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการห่มกึ่งด้วยสารโคลชิซิน

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	44.00	1.83	1.46ns	1.74	2.18
A	4	4.93	1.23	0.98ns	2.56	3.72
B	4	11.46	2.86	2.29ns	2.56	3.72
A x B	16	27.60	1.72	1.38ns	1.85	2.38
Error	50	62.66	1.25			
Total	74	106.66				

หมายเหตุ C.V. = 35.72 %

ตารางผนวก 25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ขนาดความกว้าง
เรณูจากดอกฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการห่มกิ่งด้วยสาร โคลชิซิน

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	69.25	2.88	6.37**	1.74	2.18
A	4	37.52	9.38	20.69**	2.56	3.72
B	4	15.38	3.84	8.49**	2.56	3.72
A x B	16	16.34	1.02	2.25*	1.85	2.38
Error	50	22.66	0.45			
Total	74	91.92				

หมายเหตุ C.V. = 8.54 %

ตารางผนวก 26 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ขนาดความยาว
เรณูจากดอกฝรั่งพันธุ์เงินจูหลังการห่มกิ่งด้วยสาร โคลชิซิน

Source	df	SS	MS	F-value	F .05	F .01
Treatment	24	53.95	2.24	3.65**	1.74	2.18
A	4	9.38	2.34	3.81**	2.56	3.72
B	4	16.95	4.23	6.87**	2.56	3.72
A x B	16	27.61	1.72	2.80**	1.85	2.38
Error	50	30.83	0.61			
Total	74	84.78				

หมายเหตุ C.V. = 9.67 %



ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวนิสาชล อันเชื้อจีน	
เกิดเมื่อ	5 ตุลาคม 2529	
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2547	ประกาศวิชาชีพ (ปวช.) วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีชุมพร จังหวัดชุมพร
	พ.ศ. 2550	ระดับประกาศวิชาชีพชั้นสูง (ปวส.) วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีชุมพร จังหวัดชุมพร
	พ.ศ. 2552	ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (ไม้ผล) สาขาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่