มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

ฟร ๗๙๗๓๙
๗๒๙

# การใช้โคลชิซีนชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้

# Induction of Polyploid in Inbred Maize (*Zea mays*) by Colchicine.

นงค์นุช เศษรักษา
อารีย์ พิมพิรุด

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

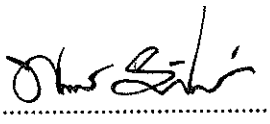
หอสมุดสถาบันราชภัฏมหาสารคาม
วันรับ.....
วันลงทะเบียน 3 ม.ค. 2550
เลขทะเบียน ศ. 372351
เลขเรียกหนังสือ 633.15 น122ก
2550

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
ปี พ.ศ. ๒๕๕๐

ข้าวโพด -- โพลีพลอยด์

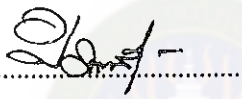
คณะกรรมการสอบได้พิจารณาโครงงานวิจัยฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์ ของมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคามได้

คณะกรรมการสอบ



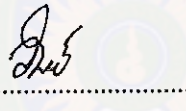
..... ประธาน

(อาจารย์พรณรงค์ สิริปิยะสิงห์)



..... กรรมการ

(อาจารย์ปิยะวดี รักหนองแซง)



..... กรรมการ

(อาจารย์วิลาวัลย์ บุญย์ศุภา)

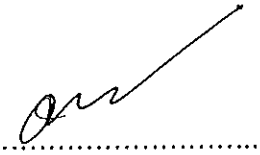
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี อนุมัติให้โครงงานวิจัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยาประยุกต์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

.....

(อาจารย์กรรณิการ์ ทองดอนเปรียง)

หัวหน้าสาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์



.....

( นายสมาน ศรีสะอาด)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. .....

# กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความร่วมมือสนับสนุนและความช่วยเหลือจากผู้มีพระคุณหลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอาจารย์พรณรงค์ สิริปิยะสิงห์ และอาจารย์ปิยะวดี รักหนองแซง เป็นอย่างสูงที่ได้ให้ความกรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยให้คำแนะนำ คำปรึกษาและข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย ตลอดจนการตรวจรายละเอียดต่างๆ ในการแก้ไขงานวิจัยเล่มนี้ให้เสร็จสมบูรณ์ได้ และขอกราบขอบพระคุณอาจารย์วิลาวัลย์ บุณย์ศุภา ที่ช่วยตรวจรูปเล่มของโครงงานวิจัยจนถูกต้องสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทดลอง ขอกราบขอบพระคุณ ดร. ชบา จำปาทอง ที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษา ตลอดจนให้การช่วยเหลือในการทดลองทุก ๆ ด้าน จนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณ ดร. สรรเสริญ จำปาทอง ที่ช่วยสอนวิธีการผสมข้าวโพด ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานวิจัย ขอขอบพระคุณคุณณัฐิณี โปรดเมธี ที่คอยให้คำแนะนำ คำปรึกษา ตลอดจนพี่ ๆ ที่ห้องปฏิบัติการ (อาคารกองร้อย) ที่ให้ความช่วยเหลือในการจัดเตรียมอุปกรณ์ในการทำงานวิจัย

ขอขอบคุณเพื่อนร่วมงานวิจัย ที่คอยให้กำลังใจ ให้คำปรึกษาร่วมฝ่าฟันอุปสรรคด้วยความอดทน จนสามารถประสบความสำเร็จในงานวิจัยฉบับนี้ได้ และที่สำคัญขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และพี่น้องทุกคนที่ได้ให้การสนับสนุนงานวิจัย ตลอดจนผู้มีพระคุณอีกหลายท่านที่ไม่ได้กล่าวนามไว้ ณ ที่นี้

ผลงานวิจัยฉบับนี้หากมีคุณค่าต่อผู้อื่น ผู้วิจัยขอมอบเพื่อบูชาพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ผู้ให้กำเนิดและให้โอกาสทางการศึกษา บูรพาจารย์ผู้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

นงค์นุช เศษรักษา

อารีย์ พิมพิรุด

**ชื่อเรื่อง** การใช้โคลชิซีนชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้

**ผู้วิจัย** นางสาวนงค์นุช เศษรักษา

นางสาวอารีย์ พิมพิรุด

**อาจารย์ที่ปรึกษา** อาจารย์พรณรงค์ สิริปิยะสิงห์

อาจารย์ปิยะวดี รักหนองแซง

อาจารย์วิลาวัลย์ บุณย์ศุภา

**ปริญญา** วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยาประยุกต์)

**สถาบัน** มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

**ปีที่พิมพ์** พ.ศ. 2550

## บทคัดย่อ

ข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ที่ใช้ในการศึกษาคือ สายพันธุ์ Ki 3 และ Ki 46 ทั้งสองสายพันธุ์มีลักษณะทางการเกษตรที่ดี คือ ต้านทานโรคราน้ำค้าง โรคราสนิม และโรคไวรัสใบด่างอ้อย การชักนำข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ให้เป็นโพลีพลอยด์ ทำได้โดยหยดสารละลายโคลชิซีนที่ความเข้มข้น 0.1%, 0.2% และ 0.3% ลงบนยอดต้นกล้าครั้งละ 1 หยด วันละ 3 ครั้ง เวลา 09.00 น., 13.00 น. และ 17.00 น. ในระยะ whorl stage และ first Leaf ทุกๆ ความเข้มข้นจะหยดสารละลายโคลชิซีนเป็นระยะเวลา 2 วัน, 3 วัน และ 4 วัน ตามลำดับ การทดลองในครั้งนี้จะศึกษาจากลักษณะความผิดปกติ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และทางด้านเซลล์วิทยาของปากใบและละอองเรณูหลังได้รับสารละลายโคลชิซีน

จากการศึกษาพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซีนเพิ่มขึ้น ต้นกล้าของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ทั้งสองสายพันธุ์มีความผิดปกติมากขึ้น อัตราการรอดชีวิต ความสูงของลำต้น ความสูงของฝักแรกลดลง แต่จะไม่มีผลต่อจำนวนใบ วันออกดอกช้ากว่าปกติ ปากใบมีขนาดเพิ่มขึ้น ส่วนขนาดละอองเรณูไม่แตกต่างกัน โดยที่สายพันธุ์ Ki 3 มีแนวโน้มที่จะเกิดโพลีพลอยด์ได้ที่ความเข้มข้น 0.3% และ Ki 46 มีแนวโน้มที่จะเกิดโพลีพลอยด์ได้ที่ความเข้มข้น 0.2% และ ช่วงระยะเวลา 3 และ 4 วัน ส่วนระยะการเจริญของต้นกล้าไม่มีผลแตกต่างกันมาก

สถาบันวิทยบริการ มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | Induction of Polyploid in Inbrred Maize (*Zea mays*) by Colchicine. |
| Researchere | Miss.Nongnuch Sedruksa |
| | Miss.Aree Pimpirud |
| Advisors | Mr.Pornarong Siripiyasing |
| | Miss.Piyawadee Ruknongsang |
| | Mis.Wilawan Boonsupa |
| Degree | Bachelor of Science (Applied Biology) |
| Institute | Rajabhat Mahasarakham University |
| Year | 2007 |


## Abstract


This study used inbred maize type Ki 3 and Ki 46 for examination. Both of them had well agriculture characteristic, resistant from Downy mildew, Southern Rust and Cucumber Mosaic. The procedure for inducing inbred maize to polyploid was the using of colchicine solution at 0.1%, 0.2% and 0.3% droping on the peak of inbred maize, 1 drop, 3 times a day every 9 a.m., 1 p.m. and 5 p.m. in whorl stage and first leaf stage. Every concentration will be added with colchicine solution in day $2^{nd}$, $3^{rd}$ and $4^{th}$ respectively. The mornitoring on mistake characteristic, morphology and cytology of stoma and pollen were detected after adding colchicines.

The results shown that colchicine had trend to induce inbred maize to polyploid. When the increasing of colchicines both of inbred maize types had more mistake, there was the decrese of survire rate, the height of stem and the hight of first fruit, nonaffect to number of leaf, less blossom, stoma increase and pollen nondifferent. The inbred maize type Ki 3 made polyploid on concentration of 0.3% and Ki 46 made polyploidy on concentration of 0.2% in days $3^{rd}$ and $4^{th}$. In addition, the duration of inbred maize growth had nondifferent result.


มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

# สารบัญ


| เรื่อง | หน้า |
|---|---|
| **กิตติกรรมประกาศ** | |
| **บทคัดย่อ** | |
| **บทคัดย่อภาษาอังกฤษ** | |
| **สารบัญ** | |
| **สารบัญตาราง** | |
| **สารบัญภาพ** | |
| **สารบัญภาพภาคผนวก** | |
| **บทที่ 1 บทนำ** ..... | 1 |
| ที่มาและความสำคัญ ..... | 1 |
| วัตถุประสงค์ ..... | 2 |
| ขอบเขตของการวิจัย ..... | 2 |
| สถานที่ทำการวิจัย ..... | 2 |
| ระยะเวลาทำการวิจัย ..... | 3 |
| นิยามศัพท์เฉพาะ ..... | 3 |
| ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ ..... | 3 |
| **บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** ..... | **5** |
| การจัดหมวดหมู่ทางอนุกรมวิธาน ..... | 5 |
| พฤกษศาสตร์ของข้าวโพด ..... | 5 |
| การจำแนกชนิดของข้าวโพด ..... | 9 |
| สารเคมีที่ชักนำให้เกิด polyploidy และเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ..... | 11 |
| **บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย** ..... | **18** |
| อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ..... | 18 |
| วิธีดำเนินการศึกษา ..... | 19 |


มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

# สารบัญ (ต่อ)


| เรื่อง | หน้า |
|---|---|
| **บทที่ 4 ผลการวิจัย** | **24** |
| การศึกษาลักษณะผิดปกติและอัตราการรอดชีวิตหลังได้รับสารละลายโคลชิซีน | 24 |
| การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา | 29 |
| การศึกษาเซลล์วิทยาของ $C_0$ generation | 38 |
| **บทที่ 5 อภิปรายผล สรุปและข้อเสนอแนะ** | **47** |
| อภิปราย | 47 |
| สรุป | 50 |
| ข้อเสนอแนะ | 51 |
| **บรรณานุกรม** | **52** |
| **ภาคผนวก** | **54** |
| ภาคผนวก ก | 55 |
| ภาคผนวก ข | 57 |
| ภาคผนวก ค | 58 |


มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

# สารบัญตาราง


**ตารางที่** **หน้า**

ตารางที่ 3.1 การใช้สารละลายโคลชิซีน ..... 21

ตารางที่ 4.1 ลักษณะผิดปกติของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ Ki 3 และ Ki 46 หลังได้รับสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1%, 0.2% และ 0.3% เวลา 1 เดือน..... 25

ตารางที่ 4.2 อัตราการรอดชีวิตของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ Ki 3 และ Ki 46 หลังได้รับสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1%, 0.2%, และ 0.3% ..... 28

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบความสูงของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ Ki 3 และ Ki 46 หลังได้รับสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1%, 0.2%, และ 0.3% ..... 30

ตารางที่ 4.4 แสดงความสูงของตำแหน่งฝักแรกของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ Ki 3 และ Ki 46 หลังได้รับสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1%, 0.2%, และ 0.3% ..... 32

ตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบจำนวนใบของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ Ki 3 และ Ki 46 หลังได้รับสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1%, 0.2%, และ 0.3% ..... 34

ตารางที่ 4.6 แสดงวันออกดอกของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ Ki 3 และ Ki 46 หลังได้รับสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1%, 0.2%, และ 0.3% ..... 36

ตารางที่ 4.7 แสดงขนาดของปากใบของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ Ki 3 และ Ki 46 หลังได้รับสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1%, 0.2%, และ 0.3% ..... 38

ตารางที่ 4.8 ขนาดของละอองเรณูของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ Ki 3 หลังได้รับสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1%, 0.2%, และ 0.3% ..... 42

ตารางที่ 4.9 ขนาดของละอองเรณูของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ Ki 46 หลังได้รับสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1%, 0.2%, และ 0.3% ..... 43


มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM RAJABHAT UNIVERSITY

# สารบัญภาพ


| ภาพที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| ภาพที่ 4.1 | แสดงความผิดปกติของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้หลังได้รับสารละลายโคลชิซีนที่ความเข้มข้น 0.1%, 0.2% และ 0.3% ..... | 26 |
| ภาพที่ 4.2 | ลักษณะของปากใบปกติ..... | 40 |
| ภาพที่ 4.3 | ลักษณะของปากใบผิดปกติ..... | 41 |
| ภาพที่ 4.4 | แสดงลักษณะและการวัดขนาดของละอองเรณูที่กำลังขยาย 10x และ 40x..... | 45 |


มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

# สารบัญภาพภาคผนวก ค


| ภาพที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| ภาพที่ 1 | ลักษณะระยะการเจริญเติบโตที่เลือกทำการทดลอง | 58 |
| ภาพที่ 2 | การคลุมและการเปิดกระถางก่อนและหลังการหยดสารละลายโคลชิซีน | 58 |
| ภาพที่ 3 | ลักษณะความผิดปกติหลังได้รับสารละลายโคลชิซีน | 59 |
| ภาพที่ 4 | ลักษณะฝักออกไหมที่ปลายยอด | 60 |
| ภาพที่ 5 | ลักษณะฝักที่เป็นหมัน | 60 |
| ภาพที่ 6 | ลักษณะต้นที่เป็นหมัน | 60 |
| ภาพที่ 7 | ลักษณะดอกที่ไม่สมบูรณ์ | 60 |
| ภาพที่ 8 | ลักษณะการวัดความสูงของลำต้น | 60 |
| ภาพที่ 9 | ลักษณะการวัดตำแหน่งฝักแรก | 61 |
| ภาพที่ 10 | ลักษณะช่อดอกที่ใช้นับวันออกดอก | 61 |
| ภาพที่ 11 | ลักษณะการนับจำนวนใบ | 61 |
| ภาพที่ 12 | ภาพแสดงการลอกใบเพื่อวัดปากใบ | 62 |
| ภาพที่ 13 | ภาพแสดงการเคาะและเตรียมสไลด์เพื่อวัดขนาดละอองเรณู | 63 |
| ภาพที่ 14 | ภาพแสดงการ fixation ช่อดอกข้าวโพด | 64 |


มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

# บทที่ 1
# บทนำ

## ที่มาและความสำคัญ

ปัจจุบันข้าวโพดเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและภายนอกประเทศ ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ข้าวโพดที่มีคุณภาพ และผลผลิตสูงจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะทำให้สามารถตอบสนองความต้องการของตลาดได้อย่างเพียงพอ การปรับปรุงพันธุ์โดยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยสารเคมีจึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ให้ผลดีและประสบความสำเร็จในพืชหลายชนิดโดยสามารถชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยการเพิ่มจำนวนโครโซมได้ในระยะเวลาอันสั้น สารเคมีที่นิยมใช้กันมากและให้ประสิทธิภาพสูง คือ โคลชิซีน ซึ่งมีคุณสมบัติในการเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซม โดยไม่ทำอันตรายแก่โครโมโซม การชักนำพืชที่เป็น haploid ให้เป็น diploid เพื่อใช้ประโยชน์ในการหาสายพันธุ์แท้ หรือการพัฒนาสายพันธุ์ พืชที่มีจำนวนชุดโครโมโซมเพิ่มขึ้นหรือโพลีพลอยด์ จะมีลักษณะแตกต่างจากพืชปกติ (diploid) คือ มักจะมีใบหนา ใบใหญ่ ลำต้นใหญ่ ช่อดอกใหญ่ มีสีเข้ม และมีความเป็นหมันค่อนข้างมาก การนำสารโคลชิซีนมาใช้กับพืชเพื่อเพิ่มจำนวนโครโมโซม จะต้องใช้กับส่วนของพืชที่กำลังเจริญเติบโต ซึ่งมีอัตราการแบ่งเซลล์สูง ดังนั้นจึงมักใช้กับเมล็ดที่กำลังงอก ตา หรือยอดที่กำลังงอกใหม่ (วิมล, 2527 อ้างโดย กันยารัตน์, 2532)

การศึกษาทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์ เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์ หรือการจัดอนุกรมวิธาน เพราะข้อมูลพันธุกรรม (genetics information) ซึ่งมีส่วนในการกำหนดลักษณะภายนอกจะถูกเก็บรักษา (storage) ถ่ายทอด (transmission) และแสดงออก (expression) โดยผ่านโครโมโซมซึ่งเป็นโครงสร้างพันธุกรรม (heredity structure) โดยทั่วไปศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์จาก ไมโทติกเมทาเฟสโครโมโซม (mitotic metaphase chromosome) ซึ่งได้จาก การนับจำนวนโครโมโซมปลายราก (root tip) สามารถบอกจำนวนโครโมโซมในโซมาติกเซลล์ (somatic number = 2n) (สายสุนีย์, 2535) และการศึกษาจากไมโอติกเมทาเฟสโครโมโซม (meotic mataphase chromosome) ในเซลล์ไมโครสปอร์โรไซต์ (microsporocyte) จากอับละอองเรณู (anther) ซึ่งใช้ศึกษาการจับคู่ที่เหมือนกันหรือทำนายการเจริญพันธุ์ ซึ่งเป็นวิธีที่ดีที่สุดในการตรวจหาลักษณะพืชที่ถูกชักนำให้เกิด polyploid แต่มักจะนิยมใช้กันเป็นวิธีสุดท้ายกับพืชที่เชื่อว่าเป็น polyploid ทั้งนี้เพราะเป็นวิธี

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ที่ต้องใช้เวลามาก สำหรับเกณฑ์แรกๆ ที่ใช้คือการสังเกตลักษณะต่างๆ ได้แก่ รูปร่าง และขนาดของส่วนต่างของพืช เช่น ใบ ดอก ผล และเมล็ด ซึ่งพอจะแยกพืชออกเป็น 2 กลุ่ม คือ พวกที่ตอบสนองต่อสารละลายโคลชิซีน กับพวกที่ไม่ตอบสนองต่อสารละลายโคลชิซีน หรือการวัดขนาดของปากใบ ตลอดจนละอองเกสร ซึ่งจะมีขนาดใหญ่กว่าต้นปกติ (วิมล, 2527 อ้างโดย กันยารัตน์, 2532)

ในการศึกษาครั้งนี้หากสามารถชักนำข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ให้เป็น polyploid โดยการหยดสารละลายโคลชิซีนได้ จะทำให้สามารถประหยัดสารละลายโคลชิซีนได้มากกว่าวิธีอื่น นอกจากจะใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์แล้ว ยังสามารถนำเอาขั้นตอนและวิธีการที่ใช้สารละลายโคลชิซีนชักนำให้เกิด polyploid ในข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ไปประยุกต์ใช้กับพืชชนิดอื่นๆ ได้

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของการใช้สารละลายโคลชิซีนโดยการหยดเพื่อชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้หลังได้รับสารละลายโคลชิซีนที่ความเข้มข้น จำนวนวัน เวลา และระยะของต้นกล้าที่แตกต่างกัน

2. เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเซลล์วิทยาของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้หลังได้รับสารละลายโคลชิซีนโดยการหยดที่ความเข้มข้น จำนวนวัน ช่วงระยะเวลา และระยะของต้นกล้าที่แตกต่างกัน

3. เพื่อศึกษาเทคนิคและวิธีการศึกษาไมโอติกเมทาเฟสโครโมโซมของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้

## ขอบเขตของการวิจัย

### ประชากรที่ใช้ในการศึกษาวิจัย

ข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ Ki 3 และ Ki 46

## สถานที่ทำการทดลอง

ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ ต.กลางดง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30320

ศูนย์วิทยาศาสตร์ (อาคาร 10) มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ต. ตลาด อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

## ระยะเวลาในการวิจัย

เริ่มทำการทดลองตั้งแต่เดือน มิถุนายน 2549 – มีนาคม 2550

## นิยามศัพท์เฉพาะ

1. โครโมโซม (Chromosome) หมายถึง โครงสร้างทางพันธุกรรม (heredity structure) ที่เป็นที่อยู่ของหน่วยกรรมพันธุ์ โครโมโซมทำหน้าที่เก็บรักษา (storage) ถ่ายทอด (transmission) และแสดงออก (expression) ของข้อมูลพันธุกรรม (genetic information) (กันยารัตน์, 2532) ย้อมติดด้วยสีย้อม อยู่ภายในนิวเคลียสของสิ่งมีชีวิตพวกยูคาริโอต เป็นสารประกอบพวกกรดนิวคลีอิกกับโปรตีนหรือนิวคลีโอโปรตีน

2. โคลชิซีน (Colchicine) หมายถึง สารแอลคาลอยด์ซึ่งทำหน้าที่ขัดขวางการแบ่งเซลล์ โดยยับยั้งการสร้างสปินเดิลไฟเบอร์ ที่ทำหน้าที่ดึงเซนโทรเมียร์ไปยังขั้วของเซลล์ โครโมโซมจึงไม่ถูกดึงไปที่ขั้วทั้งสองของเซลล์ ดังนั้น โครโมโซมจึงหยุดอยู่ที่ระยะเมทาเฟส ซึ่งเป็นระยะที่โครโมโซมมีขนาดสั้น (นิตย์ศรี, 2542)

3. ระยะเมทาเฟส (Metaphase stage) หมายถึง ระยะที่โครโมโซมหดตัวสั้นมากที่สุด มองเห็นได้ชัดเจนเป็นอิสระอยู่ในไซโทพลาซึมเคลื่อนที่เข้าสู่ศูนย์กลางของเซลล์ จัดตัวอยู่ในแนวเดียวกัน เรียก metaphase plate (equatorial plate) จะผันแปรจากเซลล์ชนิดหนึ่งไปยังอีกชนิดหนึ่ง แต่จะคงที่สำหรับเซลล์ชนิดนั้นๆ โครโมโซมในระยะนี้ประกอบด้วย โครมาทิดที่พันกันอย่างแน่นหนา โดยมีเซนโทรเมียร์เป็นตัวยึดโครมาทิดทั้งสอง ถ้ามีการแบ่งเซนโทรเมียร์ แต่ละเซนโทรเมียร์จะทำหน้าที่ในแต่ละโครโมโซม สร้างสปินเดิลไฟเบอร์เห็นเป็นรัศมีเชื่อมโยงระหว่างเซนโทรเมียร์กับขั้วเซลล์ (นิตย์ศรี, 2542)

4. โพลีพลอยด์ (Polyploid) หมายถึง จำนวนชุดของโครโมโซมที่มีมากกว่า 2 ชุดขึ้นไป

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อให้ทราบผลของสารละลายโคลชิซีนที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ หลังได้รับสารละลายโคลชิซีนโดยการหยดที่ความเข้มข้น จำนวนวัน ช่วงระยะเวลา และระยะของต้นกล้าที่แตกต่างกัน

2. เพื่อให้ทราบลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางเซลล์วิทยาของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้หลังได้รับสารละลายโคลชิซีนโดยการหยดที่ความเข้มข้น จำนวนวัน ช่วงระยะเวลา และระยะของต้นกล้าที่แตกต่างกัน

3. เพื่อให้ทราบเทคนิคและวิธีการในการศึกษาโครโมโซมของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ โดยวิธีการเตรียมเซลล์แบบ Propionocarmine smear ตามแบบของกันยารัตน์ ไชยสุต

4. เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปประยุกต์ใช้ในการสร้างข้าวโพดสายพันธุ์แท้ (Inbred) ในระยะเวลาสั้น

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

# บทที่ 3
# วิธีการดำเนินการวิจัย

## อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

**1. พืชที่ใช้**

- ข้าวโพดพันธุ์ไร่สายพันธุ์แท้ Ki 3 และ Ki 46

**2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูก**

- กระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 26 ซม.
- ดินชุดดินปากช่อง
- เครื่องมือการเกษตร เช่น ช้อนปลูก
- ป้ายบันทึก ชื่อพันธุ์ข้าวโพด วันเดือนปี ที่ปลูก

**3. อุปกรณ์สำหรับหยดสารละลายโคลชิซีน**

- ขวด droper สีชา ขนาด 30 ml 3 ขวด
- ไมโครปิเปตต์ และทิป
- กระดาษชำระ
- ถุงมือ, ผ้าปิดจมูก และแว่นกันสาร
- ดินสอ
- tag บันทึกการหยดสารละลายโคลชิซีน

**4. สารเคมี**

1. Colchicine 0.1%, 0.2%, และ 0.3%
2. Carnoy's solution
   - Ethyl alcohol "Absolute"
   - Chloroform
   - Glacial acetic acid
3. Aceto carmine
   - Carmine
   - 45% acetic acid (boiling)
   - Ferric acetate

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

4. Ethyl alcohol 70%, 95%
5. Absolute ethylalcohol
6. Canada balsum
7. $FeSo_4 . 7H_2O$
8. 45% Acetic acid

**5. อุปกรณ์สำหรับการศึกษา**

**วัดความสูง**

- ไม้วัดความสูง
- ตารางการจดบันทึก

**วัดปากใบ และวัดขนาดละอองเรณู**

- กล้องจุลทรรศน์
- Oil สำหรับเลนส์กำลังขยาย 100x, กระดาษเช็ดเลนส์
- จานเพาะเชื้อ (Petridish), ปากคีบ, มีดโกน หรือ มีดผ่าตัด
- ขวด droper สีชา ใส่น้ำกลั่น
- แผ่นสไลด์และแผ่นแก้วปิด
- กระดาษชำระ
- ปากกาเขียนข้อความ และป้ายบันทึกชื่อ

**เก็บช่อดอกและศึกษาโครโมโซม**

- ขวดแก้วพร้อมฝาปิดสำหรับ Fix ช่อดอก
- ปากคีบ
- ป้ายชื่อ (tag)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- ปากคีบ, เข็มเขี่ย
- มีดโกน
- ดินสอเพื่อใช้เคาะสไลด์

**อุปกรณ์สำหรับถ่ายภาพ**

- กล้องถ่ายภาพดิจิตอล pentex optio E 10

## วิธีดำเนินการศึกษา

ในการทดลองครั้งนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

1. ศึกษาการให้สารละลายโคลชิซีนและอัตราการรอดชีวิตของต้นกล้า หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซีน

2. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ หลังได้รับสารละลายโคลชิซีน

3. ศึกษาเซลล์วิทยาของ $C_0$ generation

**1. การให้สารละลายโคลชิซีน และอัตราการรอดชีวิต หลังได้รับสารละลายโคลชิซีน**

**1.1 การให้สารละลายโคลชิซีนกับต้นกล้า**

นำเมล็ดข้าวโพดพันธุ์ Ki 3 และ Ki 46 ปลูกลงในกระถางเส้นผ่าศูนย์กลาง 26 เซนติเมตร ซึ่งมีดินชุดดินปากช่องอยู่ กระถางละ 3 เมล็ด รวมทั้งหมด 114 กระถาง โดยแยกเป็นพันธุ์ Ki 3 57 กระถางและพันธุ์ Ki 46 57 กระถาง แบ่งต้นกล้าแต่ละพันธุ์ออกเป็น 18 การทดลอง แต่ละการทดลองใช้ต้นกล้า 6 ต้น (3 กระถาง) และ control พันธุ์ละ 6 ต้น (3 กระถาง) เมื่อต้นกล้ามีอายุได้ 3 วัน ถอนต้นกล้าที่ไม่ดีทิ้งให้เหลือต้นกล้า 2 ต้น/กระถาง หยดสารละลายโคลชิซีนลงบนยอดต้นกล้า (พยายามให้หยดโคลชิซินค้างอยู่) ในระยะ whorl stage และระยะ first leaf ครั้งละ 1 หยด วันละ 3 ครั้ง เวลา 9.00 น., 13.00 น. และ 17.00 น. ทั้งสองพันธุ์ใช้ผังการให้สารละลายโคลชิซีนดังตารางที่ 1

**หมายเหตุ**

1. ควรติดหมายเลขกระถางเรียงตามลำดับ โดยแยกแต่ละพันธุ์ตั้งแต่หมายเลข 1-57

2. หลังการหยดสารละลายโคลชิซีนแต่ละครั้งต้องครอบต้นกล้าด้วยกระถางทุกต้น จนกว่าจะครบเวลาที่กำหนด เนื่องจากในระหว่างการทดลองเป็นช่วงที่ฝนตกชุก ต้องป้องกันไม่ให้น้ำฝนโดนต้นกล้าซึ่งจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซีน และยังช่วยให้สารละลายโคลชิซีนมีประสิทธิภาพดีขึ้นอีกด้วย

3. ก่อนที่จะหยดสารละลายโคลชิซีนเวลา 09.00 น. ควรเปิดกระถางก่อนเวลาหยด 2 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำที่ข้าวโพดคายออกมาระเหยออกไปบ้าง ถ้ามีหยดน้ำอยู่ในยอดต้นกล้าควรใช้ไมโครปิเปตต์ดูดออกให้หมด

4. การหยดสารละลายควรมีตารางตรวจสอบ และ tag ติดอยู่ที่ต้น เพราะแต่ละต้นจะเจริญตามระยะที่เราต้องการไม่เท่ากัน

5. เนื่องจากสารละลายโคลชิซีนเป็นสารที่อันตราย ดังนั้นในการหยดสารละลายทุกครั้งควรใส่ถุงมือ ผ้าปิดจมูกและสวมแว่นตาทุกครั้ง

**ตารางที่ 3.1** การให้สารละลายโคลชิซีน

| ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซีน (เปอร์เซ็นต์) | จำนวนวันที่ต้นกล้าได้รับสารละลายโคลชิซีน | ระยะ | จำนวนหยดของสารละลายโคลชิซีน |
|---|---|---|---|
| 0.1 | 2 | whorl stage | 6 |
| 0.1 | 2 | first leaf | 6 |
| 0.1 | 3 | whorl stage | 9 |
| 0.1 | 3 | first leaf | 9 |
| 0.1 | 4 | whorl stage | 12 |
| 0.1 | 4 | first leaf | 12 |
| 0.2 | 2 | whorl stage | 6 |
| 0.2 | 2 | first leaf | 6 |
| 0.2 | 3 | whorl stage | 9 |
| 0.2 | 3 | first leaf | 9 |
| 0.2 | 4 | whorl stage | 12 |
| 0.2 | 4 | first leaf | 12 |
| 0.3 | 2 | whorl stage | 6 |
| 0.3 | 2 | first leaf | 6 |
| 0.3 | 3 | whorl stage | 9 |
| 0.3 | 3 | first leaf | 9 |
| 0.3 | 4 | whorl stage | 12 |
| 0.3 | 4 | first leaf | 12 |

- ในแต่ละการทดลองมี 3 กระถาง กระถางละ 2 ต้น

**การใส่ปุ๋ย** ใช้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ใส่ปุ๋ยครั้งแรกหลังจากที่ต้นกล้ามีอายุได้ 3 สัปดาห์ และครั้งที่ 2 เมื่อข้าวโพดมีอายุ 2 เดือน

**1.2 อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้า หลังจากได้รับสารละลายโคลชิซีน**

หลังจากหยดสารละลายโคลชิซีน ที่มีความเข้มข้นและปริมาณต่างๆ กันแล้วคอยดูแลรดน้ำให้ต้นกล้าเจริญเติบโตจนมีอายุ 1 เดือน นับอัตราการรอดชีวิตของต้นกล้า $C_0$ generation สังเกตลักษณะที่ผิดปกติทุกสัปดาห์

**2. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (เมื่อข้าวโพดมีอายุได้ 2 เดือน) ได้แก่**

- **ความสูงของลำต้น**

วัดความสูงของลำต้นในระยะที่ช่อดอกบาน โดยวัดจากโคนรากจนกระทั่งถึงข้อใบธง ยกเว้นต้นที่เก็บช่อดอกไปในขณะที่ช่อดอกยังไม่บาน จะวัดถึงข้อใบสูงสุดของต้นนั้นๆ

- **ตำแหน่งของฝักแรก**

วัดความสูงของตำแหน่งฝักแรกจากโคนต้นจนถึงข้อของฝักแรก

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
MAHASARAKHAM UNIVERSITY
173851

- **จำนวนใบ**

นับจำนวนใบตั้งแต่ใบแรกจนถึงใบธง

- **วันออกดอก**

นับจำนวนวันที่ข้าวโพดเริ่มออกดอกได้ประมาณครึ่งช่อ จำนวน 2 ใน 3 ของแต่ละการทดลอง

**3. ศึกษาเซลล์วิทยาของ $C_0$ generation**

**3.1 วัดขนาดของปากใบ**

การวัดขนาดของปากใบ โดยเลือกวัดใบที่ใบคลี่เต็มที่ หรือเห็น ligule ชัดเจน ช่วงของการเก็บใบควรเก็บในช่วงเวลา 09.00 น. – 14.30 น. เพราะเป็นช่วงที่ใบกำลังสังเคราะห์แสงปากใบจึงเปิดเต็มที่ (ช่วงที่ทำการวัดปากใบจะต้องรดน้ำทั้งตอนเช้าและตอนเย็นเพื่อให้ข้าวโพดอิ่มน้ำเต็มที่ปากใบจึงจะเปิดได้ดี) ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ใบที่ 6 ในกรณีที่ปากใบยังเปิดเต็มที่อาจเลื่อนขึ้นเป็นใบถัดไปหรือแช่น้ำทิ้งไว้ประมาณ 10-15 นาที สามารถเตรียมสไลด์ได้โดยตัดใบข้าวโพดมาครึ่งหนึ่งของความยาว ลอกเนื้อเยื่อบริเวณท้องใบใกล้กับบริเวณที่ตัดให้บางมากที่สุด หยดน้ำกลั่นลงบนแผ่นสไลด์ วางเนื้อเยื่อลงไปปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ ระวังอย่าให้มีฟองอากาศเพราะจะทำให้มองเห็นปากใบไม่ชัด วัดขนาดของปากใบทั้งความกว้าง และความยาว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40x โดยใช้ micrometer จำนวน 20 เซลล์ต่อหนึ่งใบ

**3.2 วัดขนาดและศึกษาการมีชีวิตของละอองเรณู**

การวัดขนาดของละอองเรณู โดยเริ่มเก็บละอองเรณูในขณะที่ช่อดอกบานได้ประมาณครึ่งช่อเวลาประมาณ 09.00-12.00 น. หรือมีแสงแดดเพื่อให้ละอองเรณูแตกตัวดี เมื่อเก็บละอองเรณูมาควรวัดให้เสร็จภายใน 3-4 ชั่วโมง เพราะละอองเรณูอาจจะตาย เขี่ยละอองเรณูบนสไลด์ ย้อมด้วย aceto carmine เพื่อให้ละอองเรณูติดสีย้อม ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ ละอองเรณูที่ยังมีชีวิตจะติดสีแดงของ aceto carmine ส่วนละอองเรณูที่ตายแล้วจะไม่ติดสีย้อม ลักษณะจะบิดเบี้ยว มีขนาดเล็ก วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40x โดยใช้ micrometer จำนวน 50 เซลล์ต่อหนึ่งช่อ นับอัตราการมีชีวิตของละอองเรณู

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

**3.3 ศึกษาจำนวนและการจับคู่ของโครโมโซมที่เหมือนกันในไมโครสปอร์โรไซต์ microsporocyte)**

เมื่อต้น $C_0$ generation เจริญเติบโตจนมีดอก ให้ดำเนินการตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

**1. Fixation**

เมื่อข้าวโพดเริ่มแทงช่อดอกขณะที่มีอายุได้ประมาณ 6-7 สัปดาห์ หลังจากนั้นให้เลือกเก็บช่อดอกที่ยังอยู่ในกาบหุ้มกระถางละ 1 ต้น เก็บเวลาประมาณ 14.00 น. เนื่องจากคาดว่าโครโมโซมอยู่ในระยะเมทาเฟสซึ่งเป็นระยะที่สามารถเห็นโครโมโซมได้ชัดเจนที่สุด และสามารถนับจำนวนโครโมโซมได้ง่าย นำมาใส่ในขวดแก้วที่มี Carnoy ' s solution ประมาณ 150 มิลลิลิตร หยดสารละลาย $FeSO_4 .7H_2O$ 3-4 หยด พอให้สารละลายมีสีเหลืองอ่อน ซึ่งจะทำให้โครโมโซมติดสีดีขึ้น ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชม.ที่อุณหภูมิห้อง

**2. Storage material**

เทสารละลาย Carnoy ออก ล้างดอกด้วย 95% ethyl alcohol 2 ครั้งๆ ละ 5 นาที แล้วเก็บช่อดอกใน 70% ethyl alcohol ที่อุณหภูมิห้อง (สามารถเก็บไว้ได้นาน 6-12 เดือน)

**3. Preparation slide**

นำช่อดอกที่อยู่ใน 70% ethyl alcohol มาเขี่ยเอาอับเรณู (anther) วางบนสไลด์หยดสี aceto carmine 1-2 หยด ลงบนอับเรณู ใช้ปากคีบกดให้เซลล์ ( microsporocytes ) หลุดออกจากอับเรณู แล้วเขี่ยผนังของอับเรณูทิ้ง นำสไลด์ไปลนไฟพออุ่นเพื่อให้โครโมโซมติดสีดีขึ้น แล้วหยด 45% acetic acid ลงไป 1 หยด (อาจไม่ใส่ก็ได้) ใช้ปากคีบคนให้เข้ากันแล้วลนไฟอีกครั้งเพื่อช่วยให้ microsporocyte พองและโครโมโซมกระจายตัวมากขึ้น ปิดด้วยแผ่นแก้วปิด ถ้าเซลล์ยังพองตัวไม่เต็มที่จะลนไฟได้อีกแต่ระวังอย่าให้เดือด วางกระดาษซับบนแผ่นแก้วปิด ซับสีที่มากเกินพอออกและกดเบาๆบนกระดาษซับเพื่อให้โครโมโซมอยู่บนระนาบเดียวกัน แล้วนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 100 x เลือกดูเซลล์ที่โครโมโซมอยู่ในระยะ first metaphase ศึกษาการจับคู่ของโครโมโซมที่เหมือนว่าเป็น multivalent, bivalent และ univalent จำนวนเท่าใดบ้าง และนับจำนวนโครโมโซมทั้งหมด

การทำ Pretreatment และ Fixation เพื่อต้องการให้การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสหยุดอยู่ในระยะ metaphase ซึ่งเหมาะในการศึกษาโครโมโซม

มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

# บทที่ 2
# เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## การจัดหมวดหมู่ทางอนุกรมวิธาน

ข้าวโพด ( Corn )

ข้าวโพดเป็นธัญพืชชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญ เนื่องจากข้าวโพดเป็นแหล่งอาหารคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนจึงเหมาะสำหรับนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์และมนุษย์ นอกจากนี้ยังนำข้าวโพดมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ อีกมากมาย เช่น ทำแป้ง น้ำมัน น้ำตาล สบู่ สีทาบ้าน กล้องยาสูบ เครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์ เป็นต้น ซึ่งสามารถจัดจำแนกอนุกรมวิธานของข้าวโพด ดังนี้

Division Spermatophyta

Class Angiospermae

Sub-class Monocotyledonae

Order Graminales

Family Gramineae

Genus Zea

Species Mays

## พฤกษศาสตร์ของข้าวโพด

**ราก** ข้าวโพดมีระบบรากแบบ fibrous root system เมื่อเมล็ดงอก รากอันแรกที่งอกออกจาก radicle เรียกว่า primary root ซึ่งแตกแขนงให้ lateral root ต่อมาจะมีรากที่เรียกว่า seminal root เกิดขึ้นที่บริเวณ scutellar node ของต้นอ่อนจำนวน 3-5 ราก รากเหล่านี้จะทำมุมกับผิวดินประมาณ 25-30 องศา ทั้ง primary root และ seminal root จะมี branch root และ root hair แตกออกมาด้วย ราก 2 ชนิดนี้ทำหน้าที่ดูดน้ำและธาตุอาหารมาเลี้ยงต้นอ่อนในระหว่าง 2-3 สัปดาห์หลังจากงอก และรากเหล่านี้จะตายไป

ทันทีที่ coleoptile โผล่พ้นผิวดิน รากถาวร (permanent root) จำนวน 4-5 ราก จะเกิดขึ้นที่ข้อที่สอง (coleoptilar node) ของต้นอ่อน รากพวกนี้เรียกว่า adventitious root ต่อมาเมื่อข้าวโพดเติบโตขึ้นจะเกิดรากถาวรจากข้อที่ 3 จนถึงข้อที่ 6 หรือ 7 ซึ่งเป็นข้อที่อยู่

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ใต้ดิน ปกติรากถาวรจะมีจำนวนมากกว่า seminal root ประมาณ 10-20 เท่า และจะแผ่กระจายออกรอบลำต้นในรัศมีประมาณ 1 เมตร ส่วนความลึกนั้นอาจจะหยั่งลึกลงไปในดินได้ 2.1-2.4 เมตร

นอกจากรากที่เกิดจากข้อที่อยู่ใต้ดินดังกล่าวแล้ว ยังมีรากที่เกิดจากข้อเหนือผิวดิน เรียกว่า รากอากาศ (brace root, buttress root หรือ aerial root) รากเหล่านี้เมื่อหยั่งถึงพื้นดินจะทำหน้าที่เช่นเดียวกับรากถาวร

**ลำต้น** ลำต้นข้าวโพด เรียกว่า Culm หรือ stalk ความสูงของลำต้นจะมีตั้งแต่ 30 เซนติเมตร จนถึง 7.5 เมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.5-5 เซนติเมตร รูปร่างของลำต้นตรงและค่อนข้างกลมแต่จะเรียวเล็กขึ้นไปทางยอด ประกอบด้วยข้อ (node) และปล้อง (internode) ปล้องแรกของข้าวโพดซึ่งอยู่ระหว่าง scutellar node และ coleoptilar node เรียกว่า mesocotyl mesocotyl นี้จะยืดตัวอย่างรวดเร็วในระยะแรกของการงอกเพื่อส่ง plumule ซึ่งมี coleoptile หุ้มอยู่ขึ้นมาเหนือระดับผิวดิน ปล้องที่อยู่ส่วนโคนของลำต้นมีขนาดสั้นกว่าปล้องที่อยู่ถัดขึ้นไป ปล้องที่ยาวที่สุดคือปล้องซึ่งเป็นที่เกิดของช่อดอกตัวผู้นอกจากนี้ปล้องที่อยู่ส่วนล่างๆ ของลำต้นมักจะเป็นร่อง (groove) ทุกมุมใบหรือที่ฐานของปล้องทุกปล้องยกเว้นปล้องสุดท้ายจะมีตาอยู่ 1 ตา ตาที่อยู่ใต้ดินจะเจริญเป็นหน่อ (tiller) ส่วนตาที่เหนือดินจะเจริญเป็นฝัก (ear shoot)

**ใบ** ใบข้าวโพดประกอบด้วยกาบใบ (leaf sheath) แผ่นใบ (leaf blade) เยื่อกันน้ำ (ligule) และหูใบ

**1. กาบใบ** เป็นส่วนที่เจริญออกมาจากข้อ ทำหน้าที่หุ้มตาและลำต้นตั้งแต่ข้อขึ้นไปจนถึงประมาณครึ่งหนึ่งของความยาวปล้อง แต่ก่อนที่ปล้องจะขยายตัวกาบใบล่างๆจะหุ้มกาบใบที่เกิดจากข้อเหนือขึ้นไป กาบใบค่อนข้างหนาและแข็งแรงกว่าแผ่นใบขณะที่ข้าวโพดยังเล็กอยู่ลำต้นไม่สู้แข็งแรง ความแข็งแรงของลำต้นในระยะนี้ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของกาบใบ

**2. แผ่นใบ** เป็นส่วนที่อยู่ติดกับกาบใบ มีลักษณะเป็นแผ่นเรียว ยาวประมาณ 80 เซนติเมตร กว้าง 9-10 เซนติเมตร ผิวด้านบนจะมีขน (hair) กระจัดกระจายอยู่ทั่วไปและมีปากใบ (stomata)ใหญ่ ผิวใบด้านล่างไม่มีขน มีปากใบเล็กแต่มีจำนวนมากกว่าผิวใบด้านบน

**3. เยื่อกันน้ำ** มีลักษณะเป็นแผ่นเยื่อบางๆ ไม่มี vascular tissue อยู่ตรงรอยต่อระหว่างกาบใบและแผ่นใบ (leaf collar) กล่าวกันว่าเยื่อกั้นน้ำมีหน้าที่ป้องกันไม่ให้น้ำเข้าไปในกาบใบ และนอกจากนั้นยังทำหน้าที่ป้องกันการสูญเสียของน้ำที่จะระเหยออกมาจากช่องว่างระหว่างปล้องกับกาบใบ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

**4. หูใบ** มีลักษณะคล้ายอักษรรูปตัววี (V) เกิดขึ้นที่ฐานของใบทั้งสองข้างเหนือที่ตั้งของเยื่อกั้นน้ำเล็กน้อย เกิดจากส่วนของใบในแถบแกนกลางใบเจริญช้ากว่าทางขอบใบ จึงทำให้ใบข้าวโพดโค้งลงและไม่ฉีกขาดได้ง่ายเมื่อโดนลมพัด

**ดอก** ข้าวโพดเป็นพืชพวก monoecious plant คือมีช่อดอกตัวผู้และช่อดอกตัวเมียอยู่บนลำต้นเดียวกันแต่อยู่คนละแห่ง ช่อดอกตัวผู้จะเกิดขึ้นที่ส่วนยอดของลำต้น ส่วนช่อดอกตัวเมียเกิดจากตาที่ใบล่างๆ

**ช่อดอกตัวผู้** (staminate inflorescence) เรียกว่า tessel เป็นช่อดอกแบบ panicle แกนกลางของช่อดอก (panicle axis) ต่อออกมาจากส่วนยอดของลำต้น ก้านแขนง (panicle branch) ที่แตกออกมาจากแกนกลางเรียงตัวเป็นเกลียว (spiral) ช่อดอกหนึ่งๆ มีประมาณ 300 spikelets spikilet เกิดเป็นคู่ๆ บนก้านแขนงที่แตกออกมา ดอกหนึ่งมีก้าน (pediceeled spikelet) อีกดอกหนึ่งไม่มีก้าน (sesile spikilet) แต่ละดอกถูกหุ้มด้วย glume 2 อัน ซึ่งมีลักษณะเป็นรูปไข่ มีขนเล็กน้อย ดอกหนึ่งๆ ประกอบด้วยดอกย่อย (floret) 2 ดอก floret บน ค่อนข้างเจริญกว่า floret ล่าง แต่ละ floret ถูกหุ้มด้วย lemma และ palea ภายในดอกย่อยหนึ่งๆ ประกอบด้วยเกสรตัวผู้ (stamen) 3 อัน lodicule 2 อัน และเกสรตัวเมียที่ไม่ทำหน้าที่ (rudimentary pistil) อัน ในอับละอองเกสรตัวผู้ (anther) หนึ่งๆ มีจำนวนละอองเกสร (pollen grain) ประมาณ 2,500 ดังนั้นในช่อดอกตัวผู้หนึ่งๆ จะมีละอองเกสรประมาณ 4,500,000 เพื่อที่จะใช้ผสมดอกตัวเมียเพียง 500-1,000 ดอก

ข้าวโพดเริ่มมีช่อดอกตัวผู้เมื่อลำต้นเริ่มยืดตัวถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสม ระยะนี้อาจเป็นระยะหลังจากข้าวโพดงอกแล้วประมาณ 3-4 สัปดาห์ ซึ่งจะมีความสูงประมาณ 15 นิ้ว และมีช่อดอกยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร

**ช่อดอกตัวเมีย** (pistillate inflorescence) เรียกว่า (ear) ฝักอ่อนเกิดจากตาที่มุมใบ กาบเกิดของฝักอ่อน (floral initiation) จะเริ่มจากตาที่ส่วนโคนต้นขึ้นไป โดยทั่วๆไปการพัฒนาของฝัก (ear development) จะเริ่มที่ฝักอ่อน ซึ่งจะเกิดขึ้นประมาณใบที่เจ็ดนับจากใบธงลงมา เมื่อข้าวโพดมีอายุประมาณ 40-45 วันหลังงอก ตาที่อยู่บนลำต้นจะมี prophyllum หุ้มอยู่ prophyllum นี้แตกต่างจากใบธรรมดาคือมีสันสองสัน นอกจากนั้นยังไม่มีแผ่นใบและเยื่อกันน้ำ ในตอนแรกตาที่เจริญเป็นฝักจะมีลักษณะเหมือนกับตาที่เจริญเป็นแขนง แต่ต่อมา prophyllum ของตาที่ควรเจริญเป็นแขนงมักไม่เจริญเติบโต ส่วน prophyllum ของฝักจะเจริญต่อไป และตาที่เจริญเป็นฝักอ่อน สำหรับก้านของฝัก (shank) นั้นจะไม่ยืดตัวจึงทำให้ใบที่

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

เกิดขึ้นมีแต่กาบใบที่กลายเป็นเปลือกหุ้มฝัก (husk) แต่ข้าวโพดบางพันธุ์เปลือกหุ้มฝักจะมีแผ่นใบปรากฏให้เห็นมีขนาดเล็กมาก

ช่อดอกตัวเมีย เป็นแบบ spike มีแกนกลางหรือซัง (cob) ขนาดใหญ่ spikelet เกิดบนแกนกลางเป็นคู่เป็นแถวยาว ดังนั้นจึงทำให้ฝักของข้าวโพดมีแถวของเมล็ดเป็นจำนวนคู่ ก้านของดอก (pedicel) สั้นมาก จึงดูคล้ายๆกับว่าติดกับซังโดยตรง spikelet ถูกหุ้มด้วย glume สั้นๆ 2 อัน spikelet หนึ่งๆ มี 2 floret floret บนเท่านั้นที่เจริญส่วน floret ล่างไม่เจริญ floret บนถูกหุ้มด้วย lemma และ palea ซึ่งรวมเรียกว่า chaff มีขนาดสั้นกว่า glume ภายใน floret ประกอบด้วย 1 pistil 2 lodiculet และ 3 rudimentary stamen

pistil ประกอบด้วย ovary ที่มี ovule มีเส้นไหม (style หรือ silk) ซึ่งมีความยาวตั้งแต่ 10-30 เซนติเมตร ที่ผิวของเส้นไหมจะเหนียวเหนอะหนะเพื่อรับละอองเกสรตัวผู้ โดยปกติเส้นไหมจะมีชีวิตอยู่เพื่อรับละอองเกสรตัวผู้ได้เป็นเวลา 2 สัปดาห์

spikelet ที่อยู่ตอนกลางของฝักจะส่งเส้นไหมออกมาก่อน จึงได้รับการผสมก่อน ส่วน spikelet ที่อยู่ตอนโคนของฝัก แต่ต้องใช้เวลานานกว่าเพื่อที่จะส่งเส้นไหมให้พ้นจากเปลือกหุ้มฝัก ดอกที่อยู่ตอนปลายของฝักเป็นพวกที่เจริญและส่งเส้นไหมออกมาช้าที่สุด จึงทำให้โอกาสที่จะได้รับการผสมมีน้อย ดอกที่ได้รับการผสมก่อนจะได้เปรียบในการสะสมอาหาร ดังนั้นเมล็ดที่อยู่ตอนกลางของฝักจึงมีขนาดใหญ่กว่าเมล็ดที่อยู่ตอนปลายและโคนฝัก

**ผลและเมล็ด** ผลและเมล็ดข้าวโพด เรียกว่า caryopsis เช่นเดียวกับเมล็ดข้าว เมื่อดอกตัวเมียได้รับการผสมจะเจริญเป็นเมล็ด ภายหลังการผสมเกสร 45 วัน เมล็ดจะหยุดการเจริญเติบโต รูปร่างของเมล็ดขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของเมล็ดบนฝัก เมล็ดที่อยู่ส่วนปลายและส่วนโคนจะมีลักษณะค่อนข้างกลม ส่วนเมล็ดที่อยู่ตรงกลางมักจะแบนและมีเหลี่ยม มีมุมที่ฐานของ pedicel จะพบเนื้อเยื่อสีดำเรียกว่า black layer ซึ่งจะปรากฏให้เห็นเมื่อเมล็ดแก่

เมล็ดข้าวโพดประกอบด้วยส่วนต่างๆ จากภายนอกเข้าไป ดังนี้

**1. pericarp** เป็นเยื่อบางๆ หุ้มเมล็ด ไม่มีสี ที่ส่วนยอดของเมล็ดจะมีรอยอันเกิดจากเส้นไหมที่แห้งและหลุดร่วงไปเรียกว่า silk scar

**2. testa** หรือ true seed coat เป็นชั้นที่อยู่ใต้ pericarp testa และ pericarp รวมกันเรียกว่า hull มีองค์ประกอบเป็นพวก cellulose และ hemicellulose เป็นส่วนใหญ่

**3. aleurone layer** เป็นเยื่อบางๆ ที่อยู่ใต้ testa และหุ้มส่วนของ endosperm ทั้งหมด ไม่มีสีจึงยากแก่การสังเกตหรือแยกออกจาก testa หรือ pericarp มีความสำคัญ

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

เกี่ยวข้องกับการงอกของเมล็ด เพราะเป็นที่สังเคราะห์ enzyme สำคัญ ที่ใช้ย่อยอาหารใน endosperm

**4. endosperm** เป็นส่วนที่เก็บสะสมอาหารของเมล็ด มีสีต่างๆ เช่น เหลืองหรือขาว อาหารที่เก็บสะสมใน endosperm ส่วนใหญ่เป็นแป้งซึ่งแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

**4.1 แป้งอ่อน** (soft starch) เป็นแป้งซึ่งรวมอยู่อย่างหลวม โดยมากพบที่ส่วนบนหรือส่วนกลางของเมล็ด สีขาวขุ่น

**4.2 แป้งแข็ง** (hard starch) เป็นแป้งซึ่งรวมกันแน่น พบที่ด้านข้างและด้านบนของเมล็ด มีลักษณะค่อนข้างใส

**5. embryo** ส่วนนี้มีลักษณะมันๆ (oilly portion) อยู่ค่อนไปหาด้านล่างของเมล็ด โดยฝังตัวอยู่ทางด้านหนึ่งของ endosperm ประกอบด้วยแกนกลาง (central axis) ปลายข้างหนึ่งคือ radicle ซึ่งมี coleorhiza หุ้มอยู่ไปทางด้าน pedicel อีกด้านหนึ่งเป็นส่วนของ stem tip ซึ่งมีใบอ่อน (embryonic leaves) ประมาณ 5 ใบ ม้วนติดกันเป็นกรวยและมี coleoptile หุ้ม ด้านข้างของแกนกลางด้านติดกับ endosperm จะพบ scutellum (cotyledon)

## การจำแนกชนิดของข้าวโพด

ข้าวโพดสามารถจำแนกออกได้เป็น 7 ชนิด โดยอาศัยลักษณะของ endosperm และ glume เป็นหลักดังนี้ คือ

**1. Flint corn** *(Zea mays indurata)* ข้าวโพดชนิดนี้มี hart starch อยู่รอบนอกส่วน soft starch ที่อยู่ตอนกลาง เมล็ดนั้นจะมีมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับพันธุ์ การที่ข้าวโพดชนิดนี้มีส่วนของ hart starch มากและอยู่รอบนอกจึงทำให้เมล็ดแข็งมาก เมล็ดจะไม่บุ๋มเมื่อแห้งแต่จะเรียบและกลม

**2. Dent corn** *(Zea mays indentata)* เมล็ดของข้าวโพดชนิดนี้มี soft starch อยู่ส่วนบนของเมล็ด และ hard starch (horny starch หรือ corneous starch) เมื่อเมล็ดแห้งส่วนบนของเมล็ดจะบุ๋มลงไป เนื่องจากการหดตัวไม่เท่ากันของ soft starch และ hard starch ถ้าเปอร์เซ็นต์ของ soft starch มาก เมล็ดก็จะยิ่งบุ๋มมาก

**3. Pop corn** *(Zea mays everta)* ข้าวโพดชนิดนี้มีลักษณะเหมือน flint corn คือ มีเปอร์เซ็นต์ของ hard starch สูง แต่ขนาดของเมล็ดเล็กกว่าและมีลักษณะพิเศษอีกอย่างหนึ่งคือเมื่อเมล็ดถูกความร้อนจะเกิด pressure ขึ้นภายในเมล็ดทำให้เมล็ดระเบิดออก pop corn บางพันธุ์เมื่อคั่วแล้วอาจมีปริมาตรเพิ่มขึ้น 25-30 เท่า

Pop corn มีอยู่ 2 ชนิด คือ

3.1 rice pop corn ลักษณะเมล็ดแหลม

3.2 pearl pop corn ลักษณะเมล็ดกลม

**4. Flour corn** (*Zea mays amylacea*) เมล็ดของข้าวโพดชนิดนี้ประกอบด้วย soft starch เกือบทั้งหมด มี hard starch เป็นชั้นบางๆ อยู่ด้านข้างของเมล็ด ลักษณะคล้ายกับข้าวโพดชนิด flint เมื่อแก่หรือแห้งเล็ดจะหดตัวเท่ากันหมดจึงไม่มีรอยบุ๋ม

**5. Sweet corn** (*Zea mays saccharata*) ข้าวโพดหวานเป็นข้าวโพดที่มีลักษณะแปรปรวนมากกว่าข้าวโพดชนิดอื่น คืออาจจะเกิดมาจากข้าวโพดชนิด dent, flint หรือ flour ก็ได้ ลักษณะของข้าวโพดหวานคือเมื่อแก่เมล็ดจะเหี่ยวย่น (wrinkle) ข้าวโพดชนิดนี้เมื่อมีอายุประมาณ 20 วันหลังจากออกดอกจะมีรสหวานกว่าข้าวโพดชนิดอื่นๆ เพราะมี recesive gene อยู่ ซึ่งทำให้น้ำตาลเปลี่ยนไปเป็นแป้งอย่างช้าๆ

**6. Waxy corn** (*Zea mays ceratina*) เมล็ดของข้าวโพดชนิดนี้จะมีลักษณะขุ่นมัวทั้งเมล็ด (uniformly dull) endosperm ค่อนข้างอ่อนและมีลักษณะเป็นขี้ผึ้ง แป้งของ waxy corn ประกอบด้วย amylopectin ทั้งหมด โมเลกุลของแป้งจับกันแบบ branched chain ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลสูง ส่วนแป้งข้าวโพดชนิดอื่นๆ ประกอบด้วย amylopectin 78 เปอร์เซ็นต์ และ amylose ประมาณ 22 เปอร์เซ็นต์ สำหรับโมเลกุลของ amylose จะจับกันเป็นแบบ straight chain และมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า amylopectin มาก เมื่อทดสอบ endosperm และละอองเกสรตัวผู้ของ waxy corn กับสารละลาย potessium iodide จะเปลี่ยนเป็นสีแดงแทนที่จะเป็นสีน้ำเงินเหมือนข้าวโพดชนิดอื่นๆ

**7. Pod corn** (*Zea mays tunicata*) เมล็ดของข้าวโพดชนิดนี้จะมี glume ที่เจริญเติบโตได้มากกว่า glume ของข้าวโพดชนิดอื่นๆ endosperm ของข้าวโพดชนิดนี้อาจจะมีลักษณะเหมือนชนิดอื่นๆ ตามที่ได้กล่าวมาแล้ว ข้าวโพดชนิดนี้ไม่ปลูกเป็นการค้า ข้าวโพดชนิดนี้เป็นบรรพบุรุษของข้าวโพดปัจจุบัน(พฤกษศาสตร์พืชเศรษฐกิจ, 2527)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

## สารเคมีที่ชักนำให้เกิด polyploidy และเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การใช้สารเคมีที่ชักนำให้เกิด polyploid ในพืช ได้แก่ โคลชิซีน (colchicine), ethylmethane-sulphonate (EMS), N-ethyl-N-nitrosourea (NEU), N-methyl-N-nitro-N-Nitrosoquanidine (NG), benzene paradichlorobenzene, alpha-bromonapthalene, 8-oxyquinoline 5-aqacytidine, nitrogedioxine ($NO_2$), ยาฆ่าแมลงบางชนิดเช่น lindane สารเคมีเหล่านี้มีผลต่อโครโมโซมในด้านโครงสร้าง, รูปร่างและจำนวนเช่น 5-aqacytidine สามารถชักนำให้เกิด tertiary constriction นอกจากนี้ยังมีสาร alkaloid ที่สกัดได้จากพืชบางชนิดซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซม

**การศึกษาในต่างประเทศ**

สารโคลชิซีนยังมีประโยชน์ในด้านการศึกษาเกี่ยวกับพันธุศาสตร์ของเซลล์ เนื่องจากมีรายงาน และการทดลองทั้งในและต่างประเทศ พบว่ามีการใช้สารโคลชิซีนซึ่งเป็นสารเคมีประเภทอัลคาลอยด์ที่มีผลต่อกระบวนการแบ่งเซลล์ โดยทำหน้าที่ในการยับยั้งการพัฒนาของ spindle fiber ทำให้โครโมโซมไม่สามารถแยกออกจากกันไปอยู่ในแต่ละด้านของเซลล์ได้ จึงส่งผลให้เซลล์นั้นไม่สามารถแยกโครโมโซมออกจากกันได้ ซึ่งคุณสมบัตินี้ได้นำมาใช้ในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช ให้มีจำนวนชุดของโครโมโซมเป็น 2 เท่าได้ ดัง Tamura *et al.* (1996) ได้รายงานถึงการเพิ่มชุดของจำนวนโครโมโซม 2 เท่า จากการเพาะเลี้ยงโปรโต-พลาสต์ *Diospyros kaki* cv. Jiro (2n=12x=180)

การชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมด้วยสารโคลชิซีนนั้น ยังใช้ประโยชน์ในด้านการชักนำพืชที่เป็น haploid ให้เป็น diploid เพื่อใช้ประโยชน์ในการหาสายพันธุ์แท้หรือการพัฒนาสายพันธุ์ เช่นการทดลองของ Miyoshi and Asakusa (1996) ในเยอบีร่า (*Gerbera jamesonii*) โดยการเลี้ยงต้นอ่อนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เป็น haploid ซึ่งมี 4-6 ใบ และมีระบบรากที่แข็งแรงแล้ว ในอาหารที่มีส่วนผสมของสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.05% เป็นระยะเวลา 2-6 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นที่เป็น dihaploid ได้ถึง 24.2-34.1%

การปรับปรุงพันธุ์โดยการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะด้วยโคลชิซีนนำมาใช้ในพืชหลายชนิด เช่น ทานตะวัน (Jan และ Chandler, 1989) และกุหลาบ (Ma และคณะ, 1997) ซึ่งพบว่าดอกที่เกิดจากต้นที่ได้รับสารโคลิซีนมีขนาดใหญ่กว่ากลุ่มควบคุม เนื่องจาก

เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมงานวิจัยดังกล่าวให้เห็นแนวโน้มของการนำสารโคลชิซีนมาใช้ในการพัฒนาพันธุ์พืชที่ต้องการดอกที่มีลักษณะใหญ่กว่าปกติได้

Sybengy (1972) พบว่าเมื่อใช้สารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.05% เป็นเวลานานที่อุณภูมิห้องที่อุณหภูมิห้อง จะช่วยเพิ่มจำนวนโครโมโซมได้ดีกว่าใช้ความเข้มข้นสูง แต่ใช้เวลาสั้น อวัยวะของพืชที่นิยมนำมาชักนำให้เกิดเป็นโพลีพลอยด์โดยใช้โคลชิซีน ได้แก่เมล็ด ยอดอ่อน และต้นกล้า

**การศึกษาในประเทศ**

การนำสารโคลชิซีนมาใช้กับพืช เพื่อชักนำให้พืชเพิ่มจำนวนโครโมโซม จะต้องใช้กับส่วนของพืชที่กำลังเจริญเติบโต ซึ่งมีอัตราการแบ่งเซลล์สูง ดังนั้นจึงมักใช้กับเมล็ดที่กำลังงอก ตา หรือยอดที่กำลังงอกใบใหม่ การใช้สารโคลชิซีนกับพืช สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้สารโคลชิซีนกับเมล็ด ดังการทดลองของ

วิมล และอนันต์ (2526) ซึ่งใช้สารโคลชิซีนชักนำให้เกิด polyploid ในพริกไร่ (*Capsicum* sp.) โดยแช่เมล็ดในสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 1% และ 2% นาน 48 และ 24 ชม. ตามลำดับ พบว่าเมล็ดที่แช่ในสารละลาย โคลชิซีน 1% นาน 48 ชม. มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิด polyploid ได้ดีกว่า 2% นาน 24 ชม. ต้นที่เป็น polyploid มีความสูงของลำต้นไม่แตกต่างจากต้น diploid และเกือบทุกต้นที่เป็น polyploid มีใบขนาดใหญ่ หนา สีเขียวเข้ม กิ่งก่อนข้างเปราะ ขนาดของเซลล์ปากใบใหญ่ขึ้น วันออกดอกช้า เปอร์เซ็นต์ความเป็นหมันสูง ขนาดของผล และการติดผลลดลง

ชะบา (2527) ได้ศึกษาการใช้โคลชิซีนชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในแพงพวยฝรั่งสีขาวและสีชมพู (*Catharanthus roseus* G.Don) โดยหยดสารละลายโคลชิซีนที่ความเข้มข้น 0.2%, 0.6% และ 1.0% ลงบนยอดต้นกล้าครั้งละหนึ่งหยด วันละ 3 ครั้ง ทุกความเข้มข้นหยดโคลชิซีนให้ต้นกล้า 6 ครั้ง, 12 ครั้ง และ 18 ครั้ง ตามลำดับ โคลชิซีนมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าและลักษณะภายนอกของต้น ใบ คือทำให้ต้นเตี้ยแคระช่วงลำต้นที่อยู่เหนือใบเลี้ยงมีลักษณะอวบใหญ่ แผ่นใบย่นเนื้อใบหนา รูปร่างใบผิดปกติ บางต้นการเจริญหยุดชะงักและตาย ทุกความเข้มข้นและจำนวนหยดของโคลชิซีนสามารถชักนำแพงพวยฝรั่งทั้งสองสีให้เป็นโพลีพลอยด์ได้โดยพบ tetraploid มากกว่า near octoploid โคลชิซีนเข้มข้น 0.2% 18 หยด สามารถชักนำต้นกล้าสีขาวให้เป็นโพลีพลอยด์สูงสุดคือ 100% ส่วนความเข้มข้น 0.6% จำนวน 12 หยด และ 18 หยด สามารถชักนำต้นกล้าสีชมพูให้เป็นโพลีพลอยด์ได้ 100% เช่นกัน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

นิตย์ศรี และอำไพ (2541) ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดเทราพลอยด์ของหม่อนพันธุ์น้อย คุณไพ และใหญ่บุรีรัมย์ ได้จากข้อหม่อนที่ปลอดเชื้อซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลงในสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.02% - 0.10% ที่เติม DMSO 2% เป็นเวลา 2 – 5 วัน คัดเลือกต้น เทราพลอยด์ได้โดยใช้ลักษณะที่เป็นดัชนีปาชี ได้แก่ ใบหนาและมีสีเขียวเข้ม ขนาดของเซลล์ปากใบและปริมาณคลอโรพลาสต์ในเซลล์ปากใบที่เพิ่มขึ้น แต่จำนวนเซลล์ปากใบต่อหน่วยพื้นที่น้อยกว่าหม่อนดิพลอยด์ จำนวนโครโมโซมของเซลล์รากหม่อนเทราพลอยด์เท่ากับ 56 โครโมโซม หม่อนเทราพลอยด์ที่ได้จากการทดลองนี้จะนำไปสร้างหม่อนทริพลอยด์ได้โดยผสมกับหม่อนดิพลอยด์

วรวุฒิ และวิสา (2542) ทำการศึกษาการชักนำต้นบัวบกชนิดดิพลอยด์ให้เป็นต้นโพลีพลอยด์โดยใช้โคลชิซีน และทำการทดลองชักนำ 2 วิธี คือ หนึ่งใช้สำลีชุบสารละลายโคลชิซีน 1%, 2% กับวุ้นแล้ววางลงบนปลายยอดของต้นอ่อน พบว่าการใช้สำลีชุบสารละลายโคลชิซีน 2%, วางบนต้นอ่อน สามารถทำให้เกิดโพลีพลอยด์ดีที่สุด ในขณะที่การใช้วุ้นผสมโคลชิซีนไม่ว่าจะเป็น 1% หรือ 2% ให้ผลการชักนำไม่ต่างกัน ต้นโพลีพลอยด์ที่เกิดขึ้นแสดงลักษณะที่แตกต่างจากต้นดิพพลอยด์ จำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมและจำนวนโครโมโซมในเซลล์ของต้นโพลีพลอยด์สูงกว่าต้นดิพพลอยด์

วิมล และคณะ (2543) ได้ศึกษาผลของสารละลายโคลชิซีนต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของต้นชวนชม (*Adenium obesum*) สายพันธุ์ฮอลแลนด์ที่ปลูกเลี้ยงในสภาพธรรมชาติ และได้รับสารโคลชิซีนที่มีความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นเวลานาน 1 – 4 ชั่วโมง โดยวิธีการให้สารละลายโคลชิซีนที่ตายอดของต้นกล้าอายุ 30 วัน และป้ายสารละลายโคลชิซีนที่ตาข้างของต้นชวนชมที่โตเต็มที่ พบว่าต้นที่เจริญจากตายอดที่ได้รับสารนาน 2 ชั่วโมง มีอัตราความสูง ความหนาของใบ และขนาดของปากใบเพิ่มขึ้นในลักษณะแปรผันตามระดับความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซีน ส่วนกิ่งที่เจริญจากตาข้างที่ได้รับสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 2% เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าดอกที่มีขนาดใหญ่กว่ากลุ่มควบคุมบางดอกมีลักษณะผิดปกติ คือ มีโคนดอกบิดงอ และกลีบดอกมีลักษณะเป็นเส้นยาวขนาดเล็ก การทดลองนี้ยังดำเนินการต่อไปเพื่อศึกษาลักษณะอื่นๆ ที่คาดว่าจะเป็นผลดีในเชิงพาณิชย์ รวมทั้งการศึกษาจำนวนโครโมโซมเพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

สมปอง และ ราตรี (2543) ได้ทำการทดลองเกี่ยวกับผลของโคลชิซีนที่ให้กับแคลลัสมังคุดต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการนำแคลลัสมังคุดที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพิ่มปริมาณแคลลัสเป็นเวลา 20 วัน มาจุ่มแช่ในสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 5-100

RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

มก/ล ในภาชนะที่เขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 80 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชม และแคลลัสที่วางเลี้ยงในอาหาร 2 ชั้น ชั้นล่างเป็นสูตร WPM (Woody Plant Medium) ที่เติม BA 0.1 มก/ล และ PVP 500 มก/ล หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน จึงเติมอาหารเหลวสูตร MS ที่ลดองค์ประกอบลงครึ่งหนึ่ง โดยเติม NAA 0.06 มก/ล และ BA 0.03 มก/ล และโคลชิซีนความเข้มข้น 500 และ 750 มก/ล วางเลี้ยงต่ออีกเป็นระยะเวลา 21 วัน ภายหลังจากการชักนำด้วยโคลชิซีนแบบต่างๆแล้วจึงนำชิ้นส่วนแคลลัสที่ได้ไปเลี้ยงในอาหารชักนำยอด อาหารส่งเสริมการยืดยาวของยอด และอาหารชักนำราก พบว่ายอดที่พัฒนาจากการจุ่มแช่โคลชิซีนทุกระดับมีปริมาณคลอโรฟิลล์ b เพิ่มขึ้น ขนาดของยอด พื้นที่ใบ และจำนวนใบมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่จำนวนและความยาวรากเพิ่มขึ้น สำหรับการใช้โคลชิซีนความเข้มข้น 500 มก/ล เติมลงในอาหารและเลี้ยงร่วมกับแคลลัส พบว่า ใบจากยอดพัฒนาผิดปกติ มีการสร้างแคลลัสสีน้ำตาล แต่ยอดมีการสร้างรากได้ตามปกติ บางใบสร้างยอดขนาดเล็ก ส่วนความเข้มข้น 750 มก/ล ให้การสร้างรากได้ถึง 5 ราก/ยอด ยอดขนาดเล็กมีการสร้างรากขนาดใหญ่ นอกจากนี้ยังพบมังคุด 3 ใบจาก 1 ข้อด้วย

ทิวา และณัฐา (2547) ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในงาเพื่อใช้เป็นไม้ประดับ พบว่า การให้สารละลายโคลชิซีนที่ความเข้มข้น 0%, 0.25%, 0.05% และ 0.75% โดยการหยดลงบนยอดของต้นกล้าอายุ 1 สัปดาห์ ของต้นงา 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ อำเภอปาย อำเภอพร้าว และ มข.3 พบว่าเปอร์เซนต์การรอดชีวิต ความสูงเฉลี่ยข้อแรกที่ออกดอกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซีนเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม สารละลาย โคลชิซีนไม่มีผลต่อความสูงสุดท้ายเฉลี่ย สีดอก และสีกลีบดอกด้านล่างของงาทั้งสาม สายพันธุ์ รังสีแกรมมาและสารโคลชิซีนทุกระดับไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโม- โซมของงาทุกสายพันธุ์ โดยงามีจำนวนโครโมโซม 2n = 26

ยุพาภรณ์ ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในยางพาราโดยใช้สารโคลชิซีน โดยนำเอาเอมบริโอจากผลสุกไปแช่ในสารละลายโคลชิซีนเข้มข้น 0.00%, 0.1%, 0.5%, 1% และ 2% เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อนำไปเพาะในกระบะชำ พบว่าเอมบริโอที่ได้รับสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้น 0.1%, 0.5% และ 1% นาน 24 และ 48 ชั่วโมงมีการเจริญเฉพาะส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยง ส่วนที่ความเข้มข้น 2% นาน 24 และ 48 ชั่วโมง เอมบริโอไม่มีการเจริญ และเมื่อนำเอ็มบริโอที่ได้จากผลแก่ยางพาราไปแช่ในสารละลายโคลชิซีนเข้มข้น 0.0%, 0.01%, 0.05% และ 0.1% เป็นเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/4MS พบว่าเอมบริโอที่ได้รับสารโคลชิซีนเข้มข้น 0.00%, 0.01%, 0.05% และ

มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

0.1% เป็นเวลา 6 ชั่วโมงมีการเจริญเป็นปกติ 100%, 66067%, 50% และ 0% ตามลำดับ และที่เวลา 12 ชั่วโมง เจริญเป็นปกติ 100%, 50%, 16.67% และ 0% และที่เวลา 24 ชั่วโมงเจริญเป็นต้นปกติ 100%, 33.33%, 0% และ 0% ตามลำดับเมื่อศึกษาโครโมโซมเอมบริโอที่ได้รับโคลชิซีนเข้มข้น 0.05% เป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง เกิดต้นโพลีพลอยด์ 66.67% และ 16.67% ตามลำดับ ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมประมาณ 50 โครโมโซม ที่ความเข้มข้น 0.01% เวลา 6,12 และ 24 ชั่วโมง ไม่พบต้นที่เป็นโพลีพลอยด์

จักรกฤษณ์ และคณะ (2545) ได้ทำการทดลองการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยสารโคลชิซิน ในข้าวโพดหวาน ผักกาดขาวปลี คะน้า และหอมแดง ที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ผลปรากฏว่า สารโคลชิซิน (Colchicine) เป็นสารที่มีความสามารถในการชักนำให้พืชเกิดการกลายพันธุ์ (mutation) แบบ Polyploidy Induction คือ การเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซม แต่ Polyploid ก็ไม่สามารถที่จะเกิดผลดีกับพืชทุกชนิดได้ เช่น จากการทดลองนี้ สารโคลชิซินใช้ได้ผลดีกับกับคะน้าและหอมแดงแต่ล้มเหลวในข้าวโพดหวานและผักกาดขาวปลี

จากผลการทดลองในข้าวโพดหวานพบว่า ต้นข้าวโพดหวานที่เกิดจากเมล็ดที่ถูกแช่ในสารละลายโคลชิซีน 0.1-0.2% เป็นเวลา 1-6 ชั่วโมง จะให้ต้นข้าวโพดหวานที่เจริญเติบโตช้ากว่าปกติ, ใบขนาดเล็กกว่า, ฝักขนาดเล็กกว่า, จำนวนฝักต่อต้นน้อยกว่า, ลำต้นเตี้ยกว่าและระยะเวลาที่ใช้ในการออกในการออกดอกช้ากว่าปกติ (Diploid) ที่เมล็ดไม่ผ่านการแช่สาร
โคลชิซีน โดยจำนวนโครโมโซมข้าวโพดหวาน $2n = 2x = 20$

จากผลการทดลองในผักกาดขาวปลี ผลปรากฏว่า ความเข้มข้นของโคลชิซีนที่ 0.25% แช่เมล็ดผักกาดขาวปลีนาน 6 ชั่วโมง จะมีอัตราการรอดชีวิต 7% แต่ที่ความเข้มข้น 0.25% หรือ 0.5% แช่เมล็ดนาน 24 ชั่วโมง อัตราการรอดชีวิตจะเป็นศูนย์ เนื่องจากว่าอัตราการรอดชีวิตต่ำมาก โอกาสที่จะพบต้นที่กลายพันธุ์จึงมีน้อยลงไปด้วย การทดลองในผักกาดขาวปลีจึงไม่พบต้นที่กลายพันธุ์ หากตรวจนับจำนวนโครโมโซมของผักกาดขาวปลีแล้วจะพบว่า $2n = 2x = 20$

จากผลการทดลองในผักคะน้าพบว่า สามารถชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้สำเร็จโดยใช้สารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.5% แช่เมล็ดนาน 24 ชั่วโมง จะได้ต้น Polyploid ที่มีลักษณะดีเด่นกว่าต้นปกติ (Diploid) ที่ไม่แช่สารโคลชิซีน คือ ใบจะมีสีเขียวเข้มกว่า ขนาดใบใหญ่กว่า จำนวนใบต่อต้นมากกว่าปกติ และออกดอกช้ากว่าปกติ แต่สามารถติดเมล็ดได้

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

อย่างไรก็ดี ขณะนี้อยู่ระหว่างการทดลองรุ่น F2 และกำลังจดทะเบียนพันธุ์พืชในชื่อ "คะน้าพันธุ์มมส." ต่อท่านอธิบดีกรมวิชาการเกษตร จำนวนโครโมโซมของคะน้า 2n = 2x = 18

จากผลการทดลองในหอมแดง ผลปรากฏว่า หอมแดงที่ถูกฉีดด้วยโคลชิซีนความเข้มข้น 0.5% สองครั้งติดต่อกันแต่ฉีดคนละวัน จะให้ต้นคล้ายต้น Polyploid ที่มีลักษณะแตกต่างจากต้นปกติ (Diploid) ที่ไม่ฉีดสารละลายโคลชิซีนเลย กล่าวคือ ต้น Polyploid จะมีใบสีเขียวเข้มกว่า ขนาดหัวสะสมอาหารและใบใหญ่กว่า จากการตรวจนับโครโมโซมพบว่า 2n = 2x =16 และต้น Polyploid 2n = 4x = 32 ซึ่งขณะนี้อยู่ระหว่างทดลองรุ่น F4 และกำลังขอจดทะเบียนพันธุ์พืชในชื่อ "หอมแดงพันธุ์มมส."

**การชักนำ Polyploid ด้วยสารโคลชิซินจะต้องใช้จำนวนตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ หรือต้นพันธุ์ที่มากพอ** จึงจะสามารถพบต้น Polyploid ที่กลายพันธุ์ (Polyploid Mutant) ได้

ต้น Polyploid ที่กลายพันธุ์ (Polyploid Mutant) นี้จะต้องสามารถขยายพันธุ์ได้ (และไม่เป็นหมัน) จึงจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์เชิงพานิชย์ได้ โดยจะต้องมีการปลูกทดสอบพันธุ์ในรุ่นลูกต่อไป (next filial generation) ด้วย

**การตรวจหาลักษณะพืชที่ถูกชักนำให้เกิด polyploid** วิธีที่ดีที่สุด คือการตรวจนับจำนวนโครโมโซม ซึ่งมักจะนิยมใช้กันเป็นวิธีสุดท้าย กับพืชที่เชื่อว่าเป็น polyploid ทั้งนี้เพราะเป็นวิธีที่ต้องใช้เวลามาก สำหรับเกณฑ์แรกๆ ที่ใช้คือการสังเกตลักษณะต่างๆ ได้แก่ รูปร่างและขนาดของส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ใบ ดอก ผล และเมล็ด ซึ่งพอจะช่วยแยกพืชได้เป็น 2 กลุ่ม คือพวกที่ตอบสนองต่อสารโคลชิซีน กับพวกที่ไม่ตอบสนองต่อสารโคลชิซีน หรือการวัดขนาดของปากใบ ตลอดจนขนาดของละอองเกสร ซึ่งจะมีขนาดใหญ่กว่าต้นปกติ (อนันต์ และวิมล, 2526)

**การตรวจนับจำนวนโครโมโซม** มีเทคนิคการตรวจนับอยู่หลายวิธี เช่น การตรวจนับจากดอกอ่อน ซึ่งจากรายงานของ ปรีชา (2538) ตรวจนับจำนวนโครโมโซมในเผือกจีน โดยเตรียมสไลด์เพื่อศึกษาโครโมโซมจาก somatic cell ของปลายรากได้เตรียมสไลด์แบบ feulgen squash ตามวิธีของกันยารัตน์ (2532) จำนวนโครโมโซมของเซลล์ปลายรากมีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกัน คือ เผือกจีนมีจำนวนโครโมโซม 2n = 42 สิ่งที่คล้ายกันคือ เผือกทั้งสองสายพันธุ์มีโครโมโซมขนาดเล็ก มีรายงานว่าพืชสกุล Colocasia มี basic numbe (x) = 14 ดังนั้นผู้วิจัยจึงสรุปว่าเผือกจีนเป็นชนิดดิพพลอยด์ (2n = 2x = 28) และเผือกข้าวก่ำเป็นชนิดทริพพลอยด์ (2n = 2x = 42)

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
MAHASARAKHAM UNIVERSITY

กันยารัตน์ (2532) ทำการศึกษาการแช่ช่อดอกอ่อนของบัวจีนในน้ำยา fixative ที่มีส่วนผสมของ absolute ethyl alcohol 3 ส่วน และ glacial acetic acid 1 ส่วน โดยใส่ ferric chloride 1-2 หยด เพื่อให้เซลล์ติดสีย้อมดีขึ้น หลังจากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 20-24 ชม แล้วล้างออกด้วย ethyl alcohol 95 % 2 ครั้ง แล้วเก็บช่อดอกไว้ใน ethyl alcohol 70 % เตรียมสไลด์แล้วเขี่ยเอาอับเรณูออกจากดอก หยดสีย้อม propionocarmine 1-2 หยด แล้วกดอับเรณูให้แตก ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์อังไฟพออุ่น แล้วนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

นอกจากยังมีการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของมิลเลท 4 สกุล (ธนาทิป, 2535) และศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ข้าวฟ่างพันธุ์ลูกผสม 5 สายพันธุ์ (สายสุนีย์, 2535) โดยใช้วิธีการเตรียมสไลด์แบบ feulgen squash ตามแบบกันยารัตน์ (2532) เช่นกัน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

# บทที่ 4
# ผลการวิจัย

## 1. การศึกษาลักษณะผิดปกติ และอัตราการรอดชีวิต หลังได้รับสารละลายโคลชิซีน

**1.1 ลักษณะของลำต้นและใบที่ผิดปกติ** หลังการหยดสาร ละลายโคลชิซีนพบว่า Ki 3 ที่ความเข้มข้น 0.1% เริ่มมีอาการใบเหลือง ใบลายเป็นริ้ว โดยเฉพาะใบที่ 3 ส่วน Ki 46 มีอาการใบหงิกงอม้วน เริ่มแสดงอาการหลังได้รับสารละลายโคลชิซีน 3 วัน หลังจากนั้นจะเจริญเป็นปกติ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 0.2% Ki 3 มีอาการใบเหลืองในระยะแรก และใบม้วนหยิกงอ แต่จะเจริญเป็นปกติ ส่วน Ki 46 เมื่อหยดสารละลายโคลชิซีนได้ประมาณ 3-4 วัน ยอดจะเจริญช้า ลำต้นแคระเกร็น ใบม้วนหยิกงอ และจะเริ่มตายเมื่ออายุได้ 4 สัปดาห์ และที่ความเข้มข้น 0.3% Ki 3 เมื่อหยดสารละลายโคลชิซีนได้ประมาณ 2-3 วันในระยะ whorl stage จะมีอาการที่เห็นได้ชัด คือ มีใบหยิกงอ ยอดเหี่ยว ใบเหลือง และเจริญช้า ส่วน Ki 46 เมื่อหยดสารละลายโคลชิซีนได้ประมาณ 2 วันในระยะ whorl stage จะมีอาการที่เห็นได้ชัด คือ ใบเหลือง ยอดเริ่มแห้ง หยุดการเจริญเติบโต ต้นแคระเกร็น และตายเมื่ออายุได้ 4 สัปดาห์ แสดงว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซีนมากขึ้น ลักษณะของลำต้นและใบจะยิ่งแสดงความผิดปกติมากขึ้น โดยมีลำต้นเล็ก แคระเกร็น เจริญช้า ใบเหลืองม้วนหยิกงอ หลังจากนั้นก็จะเจริญเป็นปกติ และเมื่อสังเกตลักษณะข้าวโพดเมื่ออายุได้ 1 เดือนจะพบว่าลำต้นอวบ ใบมีขนาดใหญ่และหนา มีลายเป็นริ้ว บางต้นอาจตายเนื่องจากได้รับสารละลายโคลชิซีนในปริมาณที่มากเกินไป ดังผลในตารางที่ 4.1

มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

**ตารางที่ 4.1** ลักษณะผิดปกติของข้าวโพดไร่สายพันธุ์แท้ Ki 3 และ Ki 46 หลังได้รับสารละลายโคลชิซีน 1 เดือน

| ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซีน (เปอร์เซ็นต์) | จำนวนวันที่แช่สาร ละลายโคลชิซีน | ระยะ | Ki 3 | | | | Ki 46 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | จำนวนต้น | จำนวนต้นที่ผิดปกติ | จำนวนต้นที่ตาย | เปอร์เซ็นต์ต้นผิดปกติ | จำนวนต้น | จำนวนต้นที่ผิดปกติ | จำนวนต้นที่ตาย | เปอร์เซ็นต์ต้นผิดปกติ |
| 0 | - | - | 6 | - | - | - | 6 | - | - | - |
| 0.1 | 2 | whorl stage | 6 | 1 | - | 17 | 6 | - | - | - |
| | 2 | first leaf | 6 | 3 | - | 50 | 6 | 1 | - | 17 |
| | 3 | whorl stage | 6 | 2 | - | 33 | 6 | 1 | - | 17 |
| | 3 | first leaf | 6 | 2 | - | 33 | 6 | - | - | - |
| | 4 | whorl stage | 6 | 2 | - | 33 | 6 | 4 | - | 67 |
| | 4 | first leaf | 6 | 3 | - | 50 | 6 | 5 | - | 83 |
| 0.2 | 2 | whorl stage | 6 | 2 | 1 | 40 | 6 | 4 | - | 67 |
| | 2 | first leaf | 6 | - | - | - | 6 | 2 | - | 33 |
| | 3 | whorl stage | 6 | 2 | - | 33 | 6 | 3 | - | 50 |
| | 3 | first leaf | 6 | 3 | - | 50 | 6 | 3 | - | 50 |
| | 4 | whorl stage | 6 | 6 | - | 100 | 6 | 4 | - | 67 |
| | 4 | first leaf | 6 | 4 | - | 67 | 6 | 4 | - | 67 |
| 0.3 | 2 | whorl stage | 6 | 3 | 1 | 60 | 6 | 4 | - | 67 |
| | 2 | first leaf | 6 | 1 | - | 17 | 6 | 1 | - | 33 |
| | 3 | whorl stage | 6 | 2 | 1 | 40 | 6 | 2 | - | 100 |
| | 3 | first leaf | 6 | 3 | - | 50 | 6 | 6 | - | 83 |
| | 4 | whorl stage | 6 | 1 | - | 17 | 6 | 5 | - | 50 |
| | 4 | first leaf | 6 | 6 | - | 100 | 6 | 3 | - | 48 |

RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

**จากตารางจะเห็นได้ว่า**

**Ki 3** ที่ 0.1% นาน 4 วัน ระยะ first leaf มีเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติสูงสุด คือ 50%, ที่ 0.2% นาน 4 วัน ระยะ whorl stage มีเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติสูงสุด คือ 100% และที่ความเข้มข้น 0.3% นาน 4 วัน ระยะ first leaf มีเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติสูงสุด คือ 100%

**Ki 46** ที่ 0.1% นาน 4 วัน ระยะ first leaf มีเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติสูงสุด คือ 83%, ที่ 0.2% นาน 2 วัน ระยะ whorl stage และ 4 วัน ระยะ whorl stage, first leaf มีเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติสูงสุด คือ 67% และที่ 0.3% นาน 3 วัน ระยะ whorl stage มีเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติสูงสุด คือ 100%