บทที่ 3

ผลการทดลอง

ผลของสารโคลชิซีน ต่อ callus, protocorm like body และต้นอ่อนของลูกผสม Dendrobium ชนิดต่างๆ

พบว่า callus, protocorm like body และต้นอ่อนของลูกผสม Dendrobium แต่ละชนิด ได้รับอิทธิพลจากสารโคลชิซีนไม่เท่ากัน (ตารางที่ 5) D. Caesar เลขที่ 1 เป็น triploid ใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน เนื้อเยื่อเหลืองซีดมีสีน้ำตาลเล็กน้อย ปริมาณเนื้อเยื่อตายประมาณ 10 - 15 เปอร์เซ็นต์ D. Desaputra เป็น triploid เหมือนกัน ใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 2 $\frac{1}{6}$ วัน และ 3 วัน เนื้อเยื่อเหลืองซีดมีสีน้ำตาลมากกว่า D. Caesar เลขที่ 1 ปริมาณเนื้อเยื่อตายถึง 40 - 50 เปอร์เซ็นต์ D. Caesar เลขที่ 2 และ 3 เป็น diploid เนื้อเยื่อตายประมาณ 20 - 30 เปอร์เซ็นต์ หลังจากแช่ในสารละลายโคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน D. superbiens เลขที่ 1 เป็น diploid ใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน เท่ากันกับ D. Caesar เลขที่ 2 และ 3 พบว่าเนื้อเยื่อเหลืองซีดมีสีน้ำตาลมาก และปริมาณของเนื้อเยื่อที่ตายมีมากกว่าประมาณ 40 - 50 เปอร์เซ็นต์ ส่วน D. superbiens เลขที่ 2 เป็น diploid หลังจากใช้โคลชิซีน 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน เนื้อเยื่อเป็นสีเขียวมีสีน้ำตาลปนเล็กน้อย ปริมาณเนื้อเยื่อตายเพียง 5 - 10 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น สำหรับ ⊗ D. May Neal เป็น diploid และเพาะจากเมล็ดใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 และ 4 วัน และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน เนื้อเยื่อเหลืองซีดมีสีน้ำตาลเล็กน้อย ปริมาณเนื้อเยื่อตาย 10 - 15 เปอร์เซ็นต์ D. Lim Chong Min × D. formosum เป็น diploid

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณของเนื้อเยื่อที่ตาย และลักษณะทางสัณฐานของเนื้อเยื่อหลังเอาออกจากสารละลายโคลชิซีน 60 วัน

ชนิดของกล้วยไม้	ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซีน(%)	ระยะเวลาที่แช่เนื้อเยื่อในโคลชิซีน(วัน)	ลักษณะ callus, protocorm like body และต้นอ่อน	ปริมาณเนื้อเยื่อที่ตาย (เปอร์เซ็นต์)
D. Caesar เลขที่ 1	0.2	3	เหลืองซีดมีสีน้ำตาลเล็กน้อย	10 - 15
	0.05	10	เหลืองซีดมีสีน้ำตาลเล็กน้อย	10 - 15
D. Caesar เลขที่ 2	0.2	3	เหลืองซีดมีสีน้ำตาลปานกลาง	20 - 30
	0.05	10	เหลืองซีดมีสีน้ำตาลปานกลาง	20 - 30
D. Caesar เลขที่ 3	0.2	4	เหลืองซีดมีสีน้ำตาลปานกลาง	20 - 30
D. superbiens เลขที่ 1	0.2	3	เหลืองซีดมีสีน้ำตาลมาก	40 - 50
D. superbiens เลขที่ 2	0.05	10	เขียวมีสีน้ำตาลเล็กน้อย	5 - 10
D. Desaputra	0.2	$2\frac{1}{6}$	เหลืองมีสีน้ำตาลมาก	40 - 50
	0.2	3	เหลืองมีสีน้ำตาลมาก	40 - 50
D. May Neal	0.2	3	เหลืองมีสีน้ำตาลเล็กน้อย	10 - 15
	0.2	4	เหลืองมีสีน้ำตาลเล็กน้อย	10 - 15
	0.05	10	เหลืองมีสีน้ำตาลเล็กน้อย	10 - 15
D. Majestic	0.2	3	เขียวมีสีน้ำตาลเล็กน้อย	5 - 10
	0.2	4	เขียวมีสีน้ำตาลเล็กน้อย	5 - 10
	0.05	10	เขียวมีสีน้ำตาลเล็กน้อย	5 - 10
D.Lim Chong Min D.formosum	0.2	1	เหลืองซีดมีสีน้ำตาลปานกลาง	20 - 30

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ซึ่งเพาะจากเมล็ดเหมือนกัน ใช้โคลชิซิน 0.2 เปอร์เซ็นต์ เวลา 1 วัน ปริมาณเนื้อเยื่อตายมากกว่า คือประมาณ 20 - 30 เปอร์เซ็นต์ D. Majestic ซึ่งเป็น pentaploid ใช้โคลชิซิน 0.2 เปอร์เซ็นต์ เวลา 3 และ 4 วัน และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน เนื้อเยื่อเป็นสีเขียว มีสีน้ำตาลเล็กน้อย ปริมาณเนื้อเยื่อตายประมาณ 5- 10 เปอร์เซ็นต์

<u>การเจริญเป็นต้นและการออกราก</u>

Callus และ protocorm like body ที่เอาออกจากสารละลายโคลชิซินแล้วนำมาเลี้ยงต่อในวุ้นอาหาร มีเนื้อเยื่อส่วนใหญ่เจริญเป็นต้นตามปกติ แต่บางชนิดมีการเจริญไม่ดี คือ เจริญเป็นต้นและออกรากช้ามาก เมื่อเปรียบเทียบกับชนิดอื่นๆ ซึ่งต้องใช้เวลานานกว่าถึง 1 ปี เช่น ⊗D. May Neal และ D. superbiens เลขที่ 1 ส่วน D.Lim Chong Min × D.formosum รากเจริญไม่ดี และมีขนาดเล็กกว่าชนิดอื่นๆ ลูกผสมทุกชนิดที่มีใบหนา กว้างและยาว มักออกรากช้า และ เจริญไม่ดี เมื่อเปรียบเทียบกับ diploid หรือ tetraploid จากการนับโครโมโซม พบว่าลูกผสมเหล่านี้เป็น heptaploid และ octoploid

<u>ผลการนับจำนวนโครโมโซมจากปลายราก</u>

นับโครโมโซมของลูกผสมทุกชนิดได้รวม 228 ต้น คือ D. Caesar เลขที่ 1 = 29 ต้น D. Caesar เลขที่ 2 = 33 ต้น D. Caesar เลขที่ 3 = 12 ต้น D. superbiens เลขที่ 1 = 10 ต้น D. superbiens เลขที่ 2 = 37 ต้น D. Desaputra 45 ต้น ⊗ D. May Neal 23 ต้น D. Majestic 24 ต้น และ D. Lim Chong Min × D. formosum 15 ต้น ผลการนับโครโมโซมดังแสดงในตาราง ที่ 6 - 12

D. Caesar เลขที่ 2 หลังจากใช้โคลชิซิน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน

นับจำนวนโครโมโซม 11 ต้น เป็น diploid 3ต้น near tetraploid 4 ต้น (71 - 74 โครโมโซม) tetraploid 2ต้น และ near octoploid 2ต้น (153 โครโมโซม) และเมื่อใช้โคลชิซีน 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10วัน พบ diploid 1 ต้น จากจำนวนที่นับทั้งหมด 22ต้น เป็น aneuploid 1 ต้น (67 โครโมโซม) near tetraploid (73 - 78 โครโมโซม) 7 ต้น tetraploid 7 ต้น octoploid 3 ต้น และ near octoploid 3 ต้น (147 - 154 โครโมโซม) (ตารางที่ 6 และภาพที่ 3)

D. Caesar เลขที่ 3 ใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน จาก 12 ต้น พบ tetraploid 2 ต้น near tetraploid 1 ต้น (77 โครโมโซม) octoploid 3 ต้น และ near octoploid 6 ต้น (148 - 153 โครโมโซม) อีก 2 ต้น คือเลขที่ 13 และ 14 เจริญจากเนื้อเยื่อที่ไม่ได้แช่สารโคลชิซีนมีจำนวนโครโมโซมเป็น diploid (ตารางที่ 6)

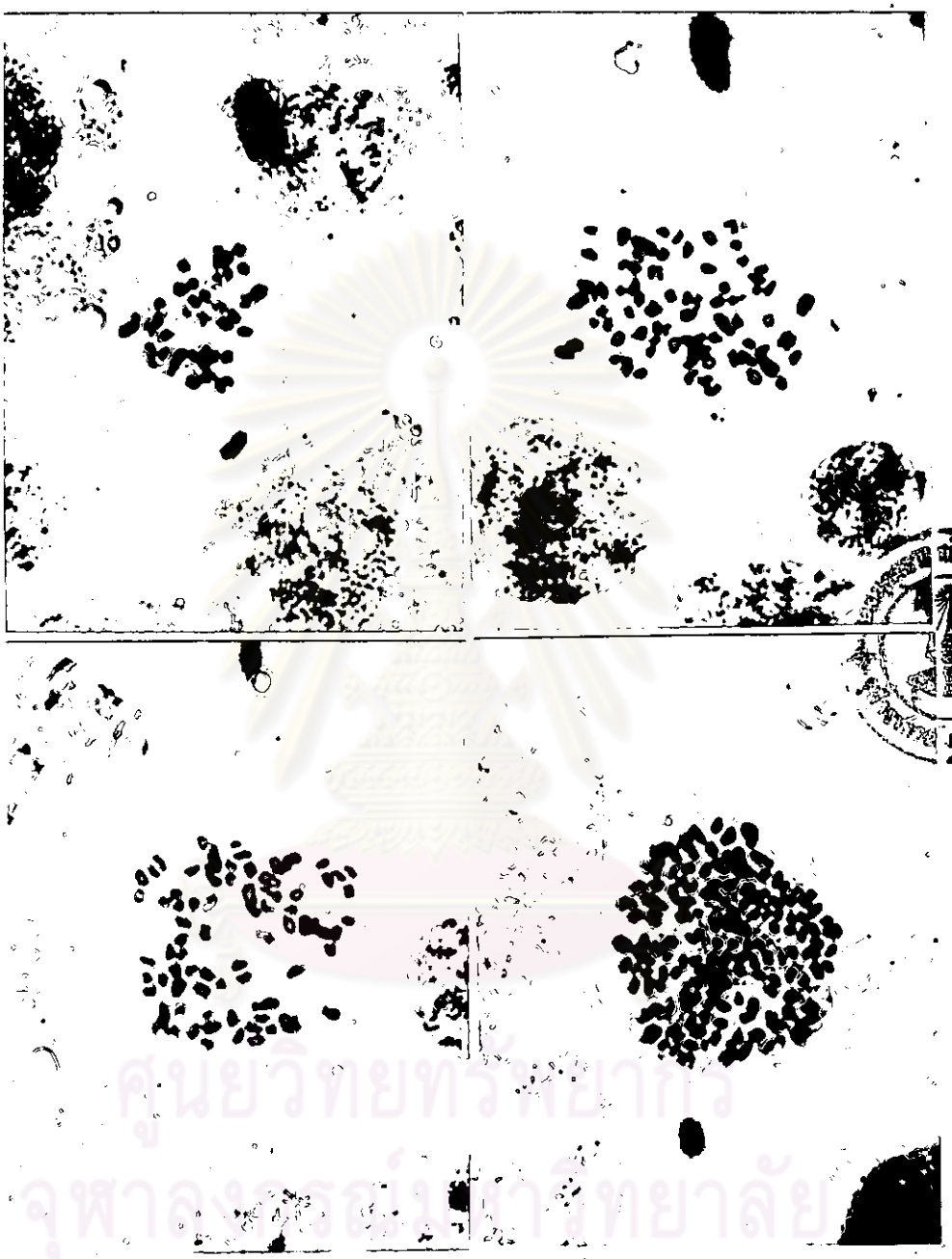
D. superbiens เลขที่ 1 นับโครโมโซม 10 ต้น จากการใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน เป็น diploid 2ต้น near tetraploid(73 - 77 โครโมโซม) 5 ต้น และ tetraploid 3ต้น ไม่พบ octoploid เลย (ตารางที่7 และภาพที่ 4)

D. superbiens เลขที่ 2 ใช้สารโคลชิซีน 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน นับจำนวนโครโมโซมได้ 37 ต้น เป็นdiploid 4ต้น tetraploid 15 ต้น near tetraploid 8 ต้น (74 - 77 โครโมโซม) พบ mixoploid 1ต้น เซลส่วนใหญ่มี 76 โครโมโซม พบที่มี 37โครโมโซม เพียง1 เซลเท่านั้นจากจำนวน 3 รากที่นำมาทำสไลด์ octoploid 3 ต้น และ near octoploid 6ต้น (147 - 154 โครโมโซม) (ตารางที่7 และภาพที่5)

ตารางที่ 6 จำนวนโครโซมของ D. Caesar เลขที่ 2 และ 3 หลังจากใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน

D.Caesar เลขที่ 3		D. Caesar เลขที่ 2					
โคลชิซีน 0.2 % 3 วัน		โคลชิซีน 0.2 % 3 วัน		โคลชิซีน 0.05 % 10 วัน			
ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม	ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม	ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม	ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม
13 *	38	4	38	22	38	12	76
14 *	38	7	38	7	67	20	76
5	76	10	38	8	73	21	76
12	76	2	71 (ตาย)	4	74	6	77
11	77	5	72	13	74	11	78
6	148	6	74	3	75	10	147
2	150	8	74	18	75	14	149
7	150	1	76 (ตาย)	1	76	16	152
8	150	11	76	2	76	17	152
1	151	3	153	5	76	19	152
3	152	9	153	9	76	15	154
4	152						
9	152						
10	153						

* ต้นที่เจริญจากเนื้อเยื่อไม่ได้แช่สารโคลชิซีน



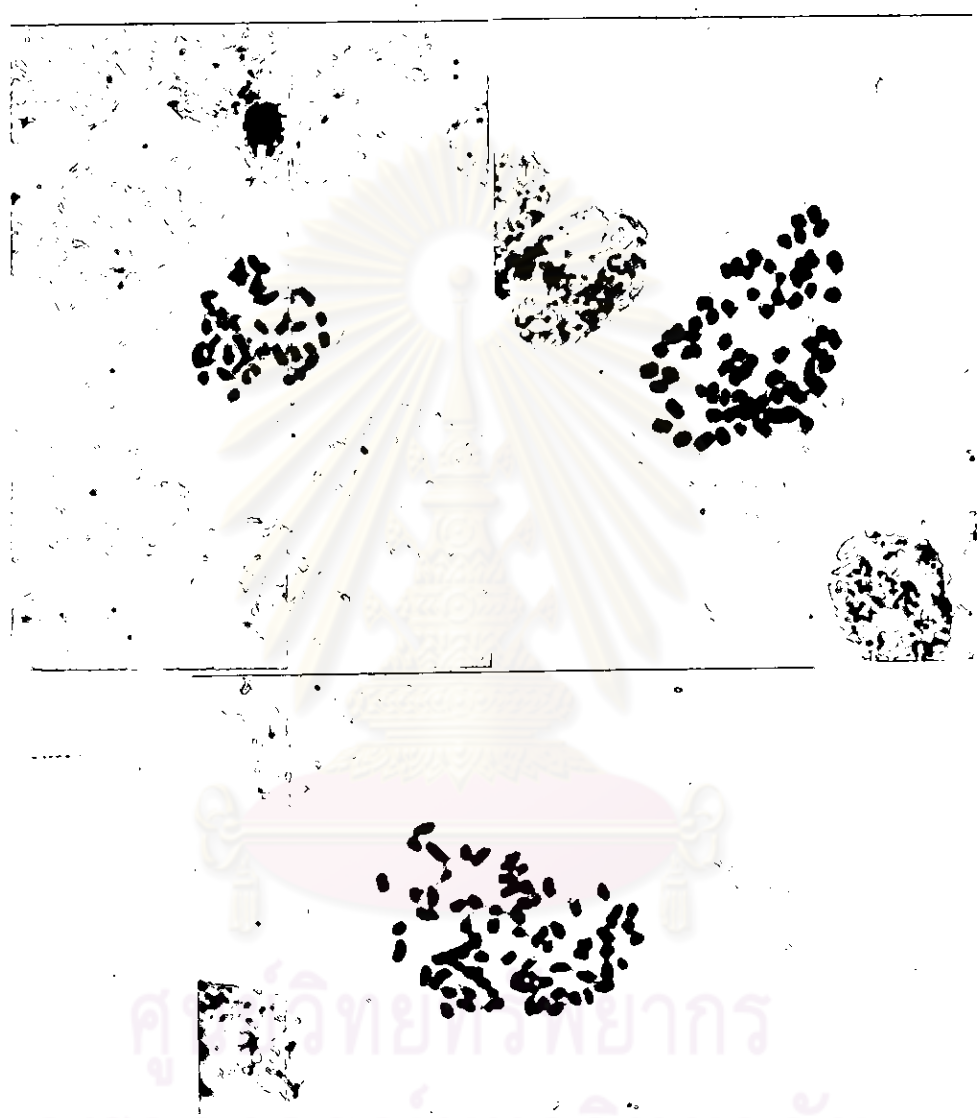
ภาพที่ 3 โครโมโซมของ D. Caesar เลขที่ 2 บนซ้าย diploid (2n = 38) บนขวา aneuploid (2n = 71) ล่างซ้าย tetraploid (2n = 76) และล่างขวา near octoploid (2n = 154) กำลังขยาย 1480 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 จำนวนโครโมโซม ของ D. superbiens เลขที่ 1 และ D.superbiens เลขที่ 2 หลังจากการใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน

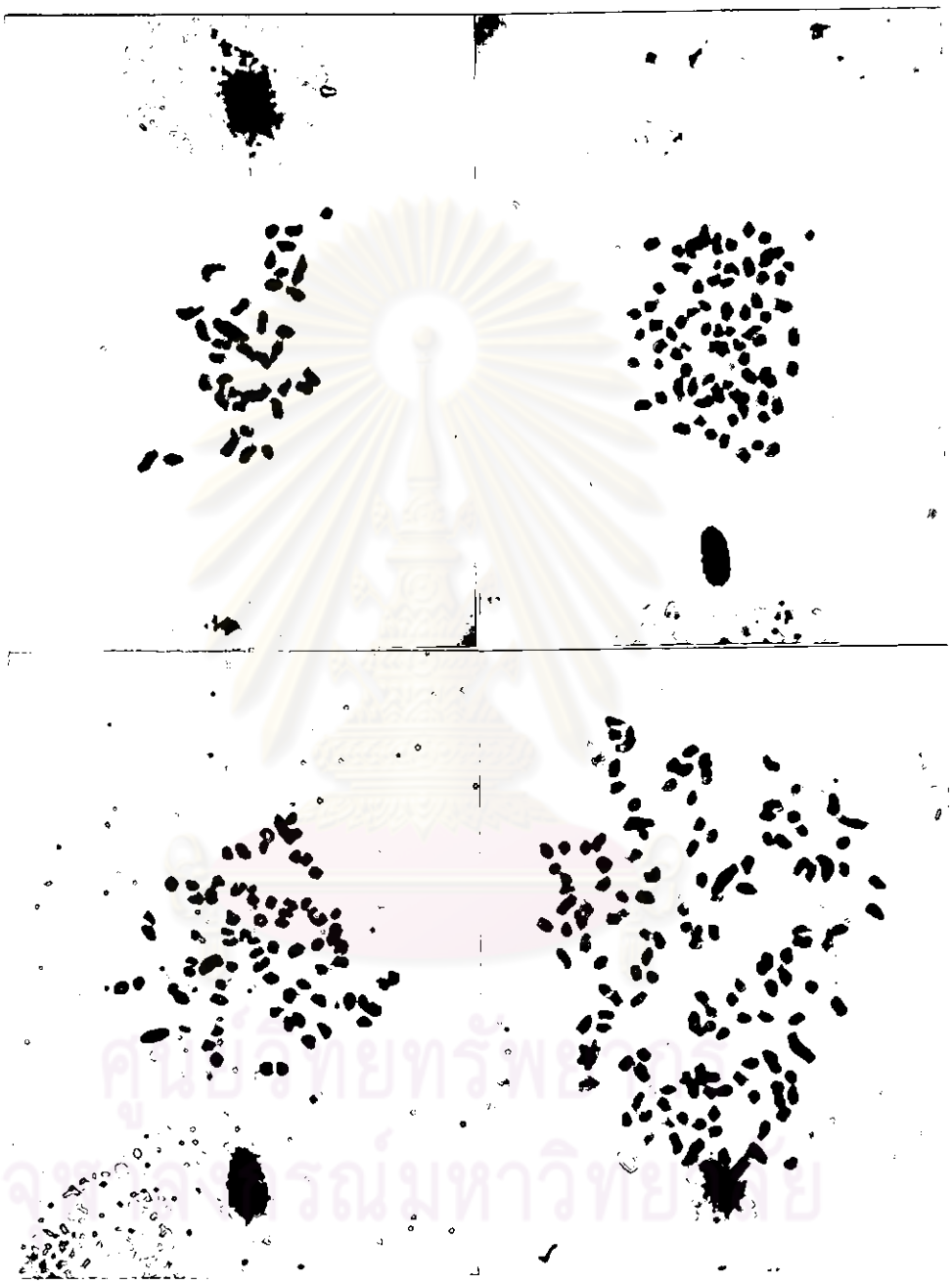
D.superbiens เลขที่ 1 โคลชิซีน 0.2 % 3 วัน		D. superbiens เลขที่ 2 โคลชิซีน 0.05 % 10 วัน					
ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม	ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม	ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม	ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม
8	38	9	38	6	76	7	77 (ตาย)
9	38	13	38	10	76	11	77
1	73	18	38	12	76	14	77
3	75	27	38	15	76	19	77
4	75	21	74	17	76	3	147
6	75	28	74	20	76	23	150
2	76	8	75	22	76	30	150
5	76	32	75	25	76 (ตาย)	31	150
10	76	1	76	26	76	37	151
7	77	2	76	33	76	24	152
		4	76	3	76 , 37 *	29	152
		5	76	35	76	36	152
						16	154

* พบ 76 โครโมโซมเป็นส่วนใหญ่ และพบ 37 โครโมโซม 1 เซล ในจำนวน 3 รากที่นำมานับโครโมโซม



ภาพที่ 4 โครโมโซมของ D. superbiens เลขที่ 1
บนซ้าย diploid (2n = 38) บนขวา aneuploid
(2n = 73) และล่าง tetraploid (2n = 76)
กำลังขยาย 1480 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 5 โครโมโซมของ D. superbiens เลขที่ 2 บนซ้าย diploid (2n = 38) บนขวา tetraploid (2n = 76) ล่างซ้าย near tetraploid (2n = 77) และล่างขวา near octoploid (2n = 154) กำลังขยาย 1480 เท่า

เมื่อใช้โคลชิซีนความเข้มข้น0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 กับ 4 วัน และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน ใน ⊗D. May Neal ส่วนใหญ่ได้ tetraploid และ near tetraploid จากการใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน พบ tetraploid 5 ต้น near tetraploid 4 ต้น (74 - 78 โครโมโซม) near octoploid 1 ต้น (150 โครโมโซม) และเมื่อใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 4 วัน พบ diploid 1 ต้น และ near tetraploid 1 ต้น (77 โครโมโซม) 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน พบ tetraploid 6 ต้น near tetraploid 5 ต้น (74 - 78 โครโมโซม) (ตารางที่ 8 และภาพที่ 6)

D. Lim Chong Min × D. formosum ใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 24 ชั่วโมง นับจำนวนโครโมโซม 15 ต้น พบ diploid 4 ต้น tetraploid 5 ต้น near tetraploid (75 - 77 โครโมโซม) 2 ต้น near pentaploid 100 โครโมโซม 1 ต้น hexaploid 1 ต้น และ near heptaploid (130 - 131 โครโมโซม) อย่างละ 1 ต้น (ตารางที่ 9 และภาพที่ 7)

D. Caesar เลขที่1 เป็น triploid (2n = 57) เมื่อใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน พบ triploid และ near triploid อย่างละ 1 ต้น hexaploid 1 ต้น และ near hexaploid 6 ต้น (106 - 112 โครโมโซม) near pentaploid (100 โครโมโซม) 1 ต้น เมื่อใช้โคลชิซีน 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน นับจำนวนโครโมโซม 19 ต้น เป็น triploid 3 ต้น และnear triploid (55 - 58 โครโมโซม) 4 ต้น hexaploid 3 ต้น near hexaploid 7 ต้น (107 - 112 โครโมโซม) mixoploid 1 ต้น ซึ่งเซลส่วนใหญ่มี 110 โครโมโซม แต่พบ 57 โครโมโซมเพียง 1 เซล near pentaploid 100 โครโมโซม 1 ต้น (ตารางที่ 10 และภาพที่ 8)

ตารางที่ 8 จำนวนโครโมโซมของ ⊗ D. May Neal หลังจากใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 และ 4 วัน และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน

⊗ D. May Neal					
โคลชิซีน 0.2 %3 วัน		โคลชิซีน 0.2 %4 วัน		โคลชิซีน 0.05 %10วัน	
ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม	ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม	ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม
8	74	2	38	1	74
2	76	1	77	6	74
3	76			2	75
4	76			7	75
6	76 (ตาย)			3	76
7	76			4	76
9	77			5	76
1	78			8	76
5	ca 78			9	76
10	150			10	76
				11	78

ภาพที่ 6 โครโมโซมของ ⊗ D. May Neal บนซ้าย diploid (2n = 38) บนขวา near tetraploid (2n = 78) และล่าง near octoploid (2n = 150) กำลังขยาย 1480 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 จำนวนโครโมโซมของ D.Lim Chong Min × D.formosum หลังจากใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 24 ชั่วโมง

โคลชิซีน 0.2 % 24 ชั่วโมง			
ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม	ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม
1	38	9	76
2	38	10	76
3	38	14	77
4	38	15	100
12	75	13	114
5	76	11	130 (ตาย)
6	76	7	131
8	76		

ผลการนับโครโมโซมของ D. Desaputra(2n = 57) เมื่อใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 2 $\frac{1}{6}$ วัน เป็น near triploid 4 ต้น (56 - 58 โครโมโซม) hexaploid 1 ต้น และ near hexaploid 15 ต้น (107 - 118 โครโมโซม) เมื่อใช้ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน จากการนับโครโมโซม 25 ต้น เป็น triploid 1 ต้น near triploid 2 ต้น hexaploid 5 ต้น near hexaploid 15 ต้น (106 - 117 โครโมโซม) นอกจากนี้พบ mixoploid 2 ต้น ต้นแรกมีจำนวนโครโมโซม 113 ปน กับ 57 ส่วนต้นที่ 2 มีจำนวนโครโมโซม 116 ปนกับ 57 ซึ่งทั้งสองต้นนี้พบ 57 โครโมโซมเพียงต้นละ 1 เซล (ตารางที่ 11 และภาพที่ 9)

D. Majestic ซึ่งเป็น pentaploid (2 n = 95) เมื่อใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน จาก 10 ต้น พบ pentaploid และ

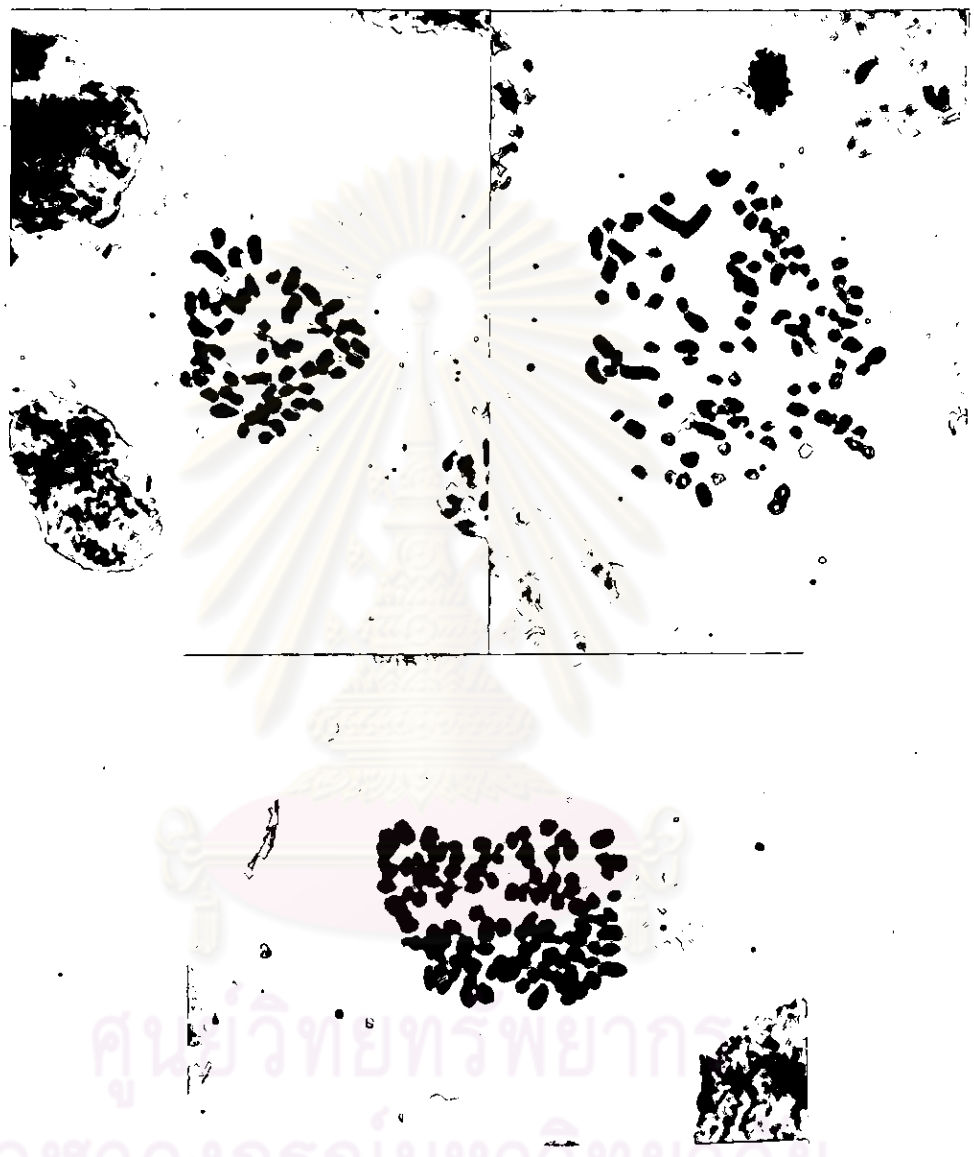
ภาพที่ 7 โครโมโซมของ D. Lim Chong Min × D. formosum บนซ้าย diploid (2n = 38) บนขวา tetraploid (2n = 76) และล่าง near heptaploid (2 n = 131) กำลังขยาย 2091 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 10 จำนวนโครโมโซมของ D. Caesar เลขที่ 1 หลังจากใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน

โคลชิซีน 0.2 % 3 วัน		โคลชิซีน 0.05 % 10 วัน			
ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม	ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม	ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม
5	56	4	55	3	109
6	57	5	55	7	110,57
4	100	6	55	12	112
2	106	1	57	14	112
1	107	9	57	15	112
8	111	10	57	19	112
9	111	11	58	13	114
3	112	2	100	6	114
7	112	17	107	18	114
10	114	8	108		

* ส่วนใหญ่พบ 110 โครโมโซม และ พบ 57 โครโมโซมเพียง 1 เซล



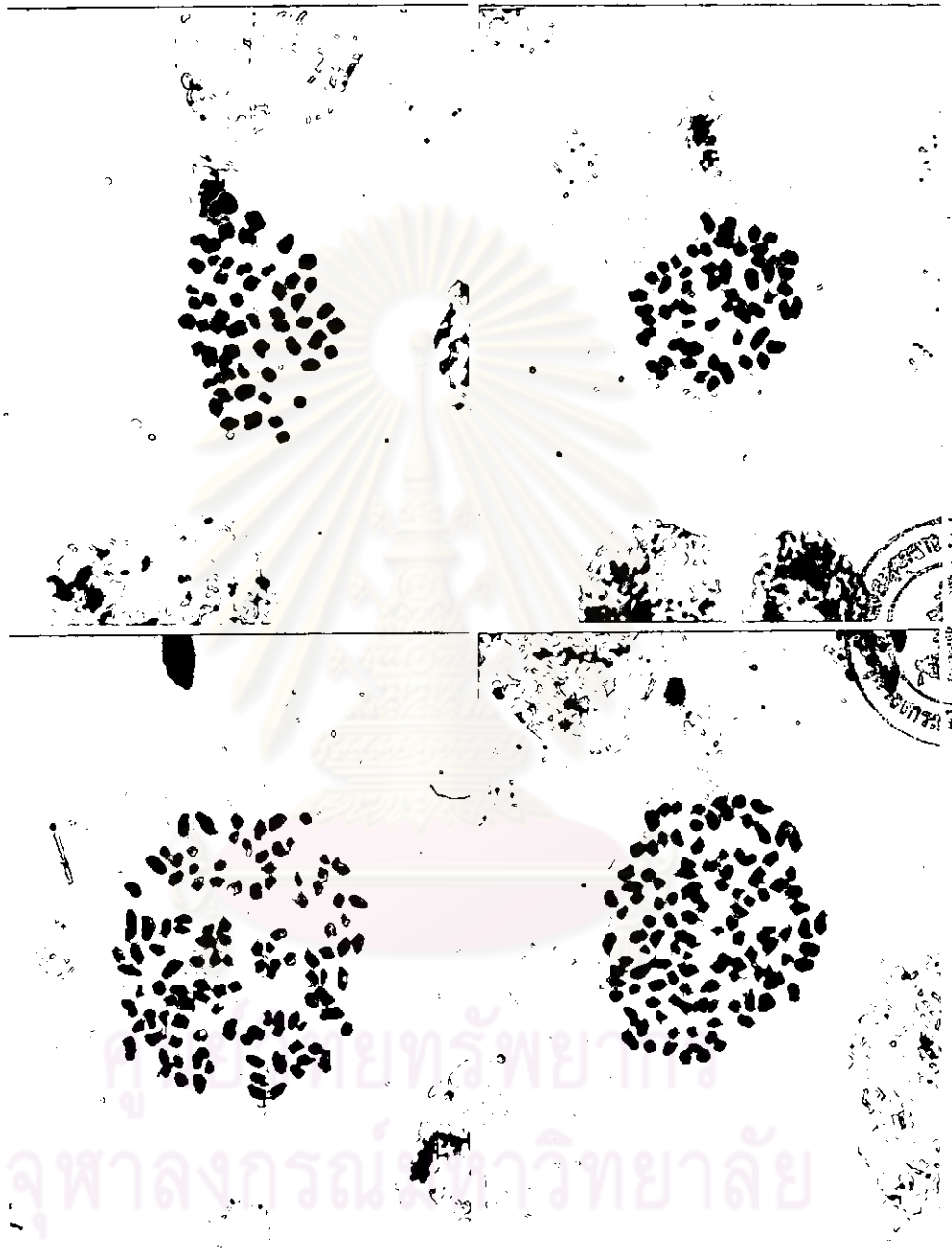
ภาพที่ 8 โครโมโซมของ D. Caesar เลขที่ 1 บนซ้าย triploid (2n = 57) บนขวา near hexaploid (2n = 112) และล่าง hexaploid (2n = 114) กำลังขยาย 1480 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 11 จำนวนโครโมโซมของ D. Desaputra หลังจากใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ $2\frac{1}{6}$ และ 3 วัน

โคลชิซีน 0.2 % $2\frac{1}{6}$ วัน				โคลชิซีน 0.2 % 3 วัน			
ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม	ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม	ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม	ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม
5	56	7	110	11	56	17	112
8	56	2	111	4	57	23	112
9	58	6	111	19	58	13	113, 57 *
15	58	14	111	5	106	18	113
3	107	19	113	6	107	12	114
1	108	18	114	1	108	14	114
4	108	17	116	7	108	16	114
11	108	16	117	9	110	22	114
10	109	20	117	15	111	24	114
13	109	12	118	2	112	25	115
				8	112	3	116, 57 *
				10	112	20	116
						15	117

* พบ 57 โครโมโซมเพียง 1 เซล



ภาพที่ 9 โครโมโซมของ D. Desuputra บนซ้าย triploid (2n = 57) บนขวา near triploid (2n = 58) ล่างซ้ายและขวา near hexaploid (2n = 112 และ 115- ตามลำดับ) กำลังขยาย 1480 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

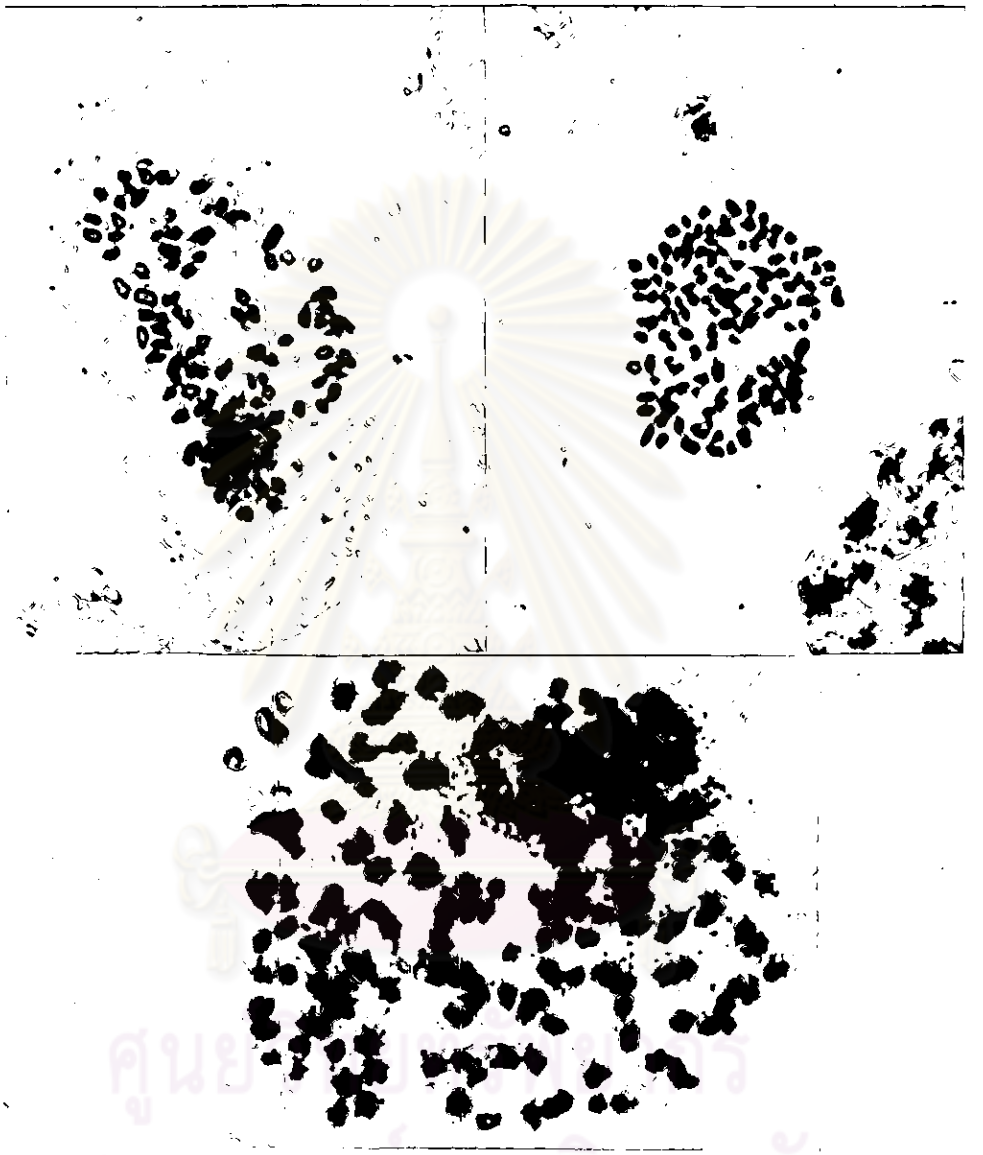
D. Majestic ซึ่งเป็น pentaploid (2n = 95) เมื่อใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน จาก 10 ต้น พบ pentaploid และ near - pentaploid (93 - 96 โครโมโซม) 5 ต้น near heptaploid 2 ต้น (131 - 132 โครโมโซม) near octoploid 3 ต้น (150 - 153 โครโมโซม) พวกที่แช่ในโคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 4 วัน จาก 9 ต้น เป็น pentaploid และ near pentaploid 94 - 97 โครโมโซมทั้งหมด เมื่อแช่โคลชิซีน 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน นับจำนวนโครโมโซม 5 ต้น เป็น pentaploid และ near pentaploid 94 - 98โครโมโซม ทั้งหมด (ตาราง ที่ 12 และภาพที่ 10) เป็นที่น่าสังเกตว่าไม่พบเซลที่เป็น decaploid (2n = 190) เลย

ลูกผสม Dendrobium ชนิดต่างๆซึ่งเดิมเป็น diploid คือ D. Caesar เลขที่ 2 และ 3 D.superbiems เลขที่ 1 และ 2 ⊗ D. May Neal และ D. Lim Chong Min × D. formosum หลังจากใช้โคลชิซีนความเข้มข้นและเวลา ต่างๆกัน นับจำนวนโครโมโซมได้รวม 130 ต้น เป็น diploid 15 ต้น (11.54 เปอร์เซ็นต์) aneuploid 67 โครโมโซม 1 ต้น (0.77 เปอร์เซ็นต์) tetraploid และ near tetraploid 82 ต้น (63.07 เปอร์เซ็นต์) near-pentaploid และ hexaploid อย่างละ1 ต้น (0.77 เปอร์เซ็นต์) near - heptaploid 2 ต้น (1.54 เปอร์เซ็นต์) octoploid และnear octoploid 27 ต้น (20.77 เปอร์เซ็นต์) และ mixoploid 1 ต้น (0.77 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 13)

สำหรับลูกผสม Dendrobium ซึ่งเป็น triploid มี 2 ชนิด คือ D. Caesar เลขที่ 1 และ D. Desaputra นับจำนวนโครโมโซมของต้นซึ่งเกิด จากการใช้สารโคลชิซีนที่มีความเข้มข้นและเวลาต่างกันได้รวม 74 ต้น พบเป็น hexaploid และ near hexaploid 53 ต้น (71.63 เปอร์เซ็นต์) triploid และ near triploid 16 ต้น (21.62 เปอร์เซ็นต์)

ตารางที่ 12 จำนวนโครโมโซมของ D. Majestic หลังจากใช้โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน, 4 วัน และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน

โคลชิซีน 0.2 % 3 วัน		โคลชิซีน 0.2 % 4 วัน		โคลชิซีน 0.05 %10 วัน	
ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม	ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม	ต้นเลขที่	จำนวนโครโมโซม
3	93	2	94	1	94
1	95	4	94	3	95
4	95	3	95	4	95
5	95	5	95	5	96
2	96	7	95	2	98
7	131	8	95		
8	132	1	96		
6	150	6	96		
10	151	9	97		
9	153				



ภาพที่ 10 โครโมโซมของ D. Majestic บนซ้าย pentaploid (2n = 95) บนขวา near heptaploid (2n = 131) และล่าง octoploid (2n = 153) ภาพบนกำลังขยาย 1480 เท่า ภาพล่างกำลังขยาย 2091 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 13 จำนวนโครโมโซมของลูกผสม Dendrobium ซึ่งเดิมเป็น diploid

ชนิดของกล้วยไม้	จำนวนโครโมโซม								
	diploid	aneuploid	tetra-ploid (1)	penta-ploid (1)	hexap-loid (1)	hepta-ploid (1)	octoploid (1)	mixoploid	รวม
D. Caesar เลขที่ 2	4	1	20	-	-	-	8	-	33
D. Caesar เลขที่ 3	-	-	3	-	-	-	9	-	12
D. superbiens เลขที่ 1	2	-	8	-	-	-	-	-	10
D. superbiens เลขที่ 2	4	-	23	-	-	-	9	1	37
D. May Neal	1	-	21	-	-	-	1	-	23
D. Lim Chong Min x D. formosum	4	-	7	1	1	2	-	-	15
รวม จำนวนต้น	15	1	82	1	1	2	27	1	130
เปอร์เซ็นต์	11.54	0.77	63.07	0.77	0.77	1.54	20.77	0.77	100

(1) และจากที่มีจำนวนโครโมโซมใกล้เคียงกัน (+ 5)

near pentaploid 2 ต้น(2.70เปอร์เซ็นต์)) mixoploid 3 ต้น (4.05 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 14)

ส่วน D. Majestic ซึ่งเป็น pentaploid (2n = 95) นับจำนวนโครโมโซมของต้นที่เกิดจากการใช้สารโคลชิซีนที่มีความเข้มข้นและเวลาต่างกันได้รวม 24 ต้น เป็น pentaploid และ near pentaploid 19 ต้น (79.17 เปอร์เซ็นต์) near heptaploid 2 ต้น (8.33 เปอร์เซ็นต์) และ near octoploid 3 ต้น (12.50 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 14)

ผลการวัด guard cell

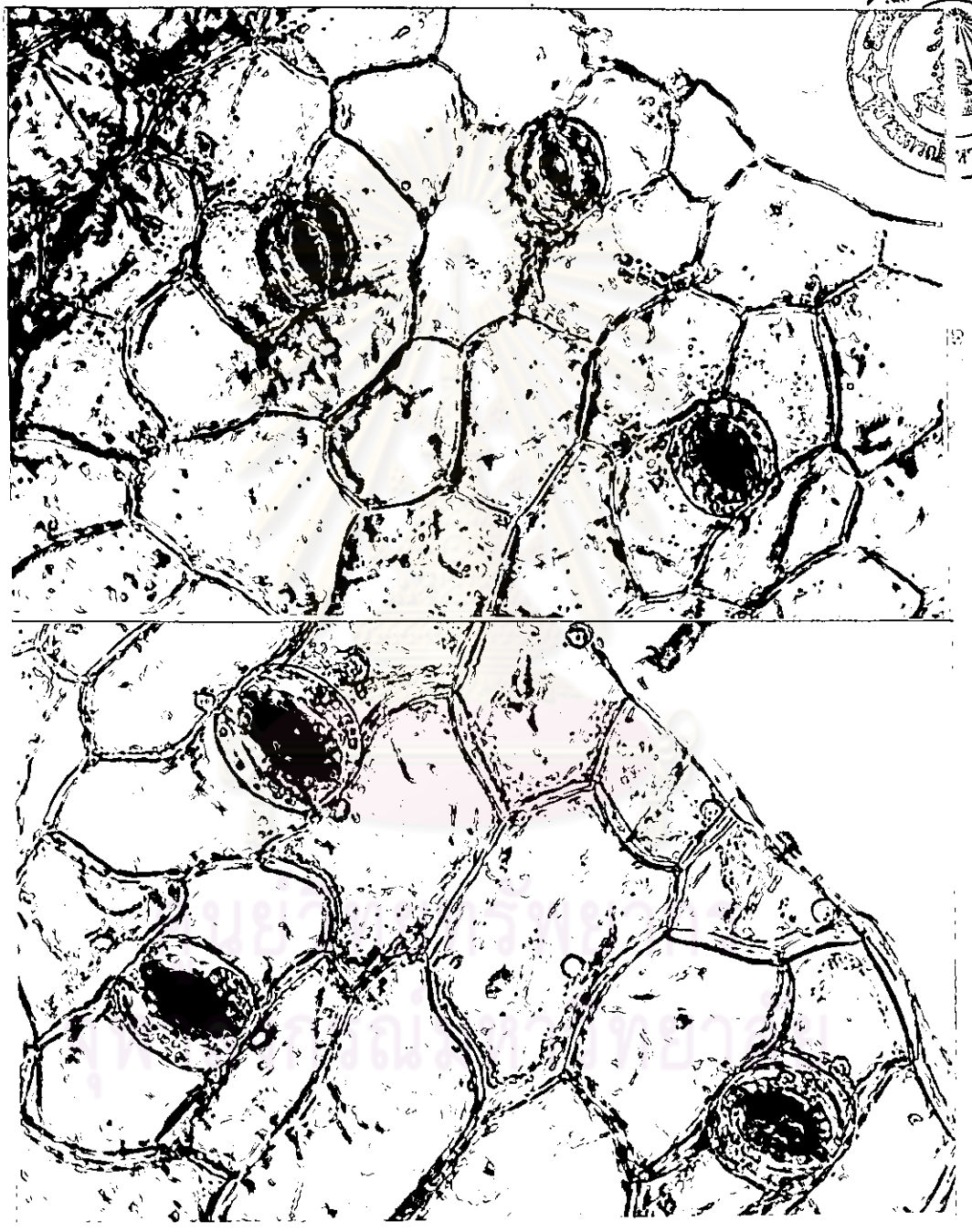
จากการวัด guard cell ของ D. Caesar เลขที่ 2 และ D. May Meal 'Srisobhon'ได้ผลดังนี้คือ D.Caesar เลขที่ 2 ได้ค่าเฉลี่ยความกว้างของคู่ guard cell ที่เป็น diploid และ tetraploid (ภาพที่ 11) เท่ากับ 130.49 และ 162.8 ไมครอน ค่าเฉลี่ยความยาวเท่ากับ 138.46 และ 171.19 ไมครอน ตามลำดับ ส่วน D. May Neal 'Srisobhon' ได้ค่าเฉลี่ยความกว้างของคู่ guard cell ที่เป็น diploid และ tetraploid เท่ากับ 142.18 และ 181.5 ไมครอน ค่าเฉลี่ยความยาวเป็น 138.05 และ 200.48 ไมครอน ตามลำดับ (ตารางที่ 15) เมื่อตรวจสอบทางสถิติโดยใช้ Student's t test พบว่าความกว้างและยาวของคู่ guard cell ที่เป็น diploid และ tetraploid ของ D. Caesar เลขที่ 2 ต่างกันจริงในระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (t ความกว้างและยาวของคู่ guard cell เท่ากับ 4.54 และ 4.04 t ตาราง = 3.182) และ D. May Neal 'Srisobhon' พบว่าความกว้างและยาวของคู่ guard cell ที่เป็น diploid และ tetraploid ต่างกันในระดับความเชื่อมั่น 90 เปอร์เซ็นต์ (t ความกว้างและยาวเท่ากับ 15.89 และ 6.88 ตามลำดับ t ตาราง = 6.314)

ตารางที่ 14 จำนวนโครโมโซมของลูกผสม Dendrobium ซึ่งเดิมเป็น triploid* และ pentaploid**

ชนิดของกล้วยไม้	จำนวนโครโมโซม						
	triploid[1]	pentaploid[1]	hexaploid[1]	heptaploid[1]	octoploid[1]	mixoploid[1]	รวม
D. Caesar เลขที่ 1*	9	2	17	-	-	1	29
D. Desaputra*	7	-	36	-	-	2	45
จำนวนต้นที่นับ	16	2	53	-	-	3	74
เปอร์เซ็นต์	21.62	2.70	71.63	-	-	4.05	100
D. Majestic**	-	19	-	2	3	-	24
เปอร์เซ็นต์	-	79.17	-	8.33	12.50	-	100

1. และพวกที่มีจำนวนโครโมโซมใกล้เคียงกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 11 guard cell ของ diploid และ tetraploid ของ D. Caesar เลขที่ 2 บน diploid guard cell ล่าง tetraploid guard cell

ตารางที่ 15 ค่าเฉลี่ยความกว้างและยาวของ diploid guard cell และ tetraploid guard cell ต้นละ 10 เซล

ชื่อ	เลขที่	ความกว้างของคู่ guard cell (μ)		ความยาวของคู่ guard cell (μ)	
		diploid	tetraploid	diploid	tetraploid
D. Caesar เลขที่ 2	1	124.85	156.2	135.3	165
	2	125.95	163.9	130.9	176.55
	3	148.5	161.7	165	176
	4	122.65	169.4	122.65	167.2
ค่าเฉลี่ย		130.49	162.8	138.46	171.19
D. May Neal 'Srisobhon'					
	1	149.05	185.9	135.3	206.8
	2	135.3	177.1	140.8	194.15
		142.18	181.5	138.05	200,48

จากตารางที่ 16 D. Caesar เลขที่ 1 ได้ค่าเฉลี่ยความกว้างของคู่ guard cell ที่เป็น triploid และ hexaploid เท่ากับ 132.96 และ 171.60 ไมครอน ความยาวเท่ากับ 148.91 และ 185.96 ไมครอน ตามลำดับ เมื่อทดสอบทางสถิติโดยใช้ Student's t test พบว่า ความกว้างและยาวของคู่ guard cell ที่เป็น triploid และ hexaploid ของ D.Caesar เลขที่ 1 ต่างกันจริงในระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ (t ความกว้างและความยาวเท่ากับ 6.987 และ 8.917 t ตาราง = 5.841) ส่วน D.Lady Hamilton × D. May Neal ซึ่งเกิดเป็น high polyploid ขึ้นเองในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้ค่าเฉลี่ยความกว้างของคู่ guard cell ที่เป็น triploid และ hexaploid เท่ากับ 136.95 และ 173.93 ไมครอน ค่าเฉลี่ยความยาวเท่ากับ 150.04 และ 190.63 ไมครอน ตามลำดับ เมื่อทดสอบทางสถิติก็พบว่าความกว้างและยาวของคู่ guard cell ต่างกันในระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ (t ความกว้างและยาวเท่ากับ 6.166 และ 8.243 t ตารางเท่ากับ 4.604 ตามลำดับ)

ผลการวัดความหนาของใบ

จากการวัดความหนาของใบ diploid และ tetraploid ได้ค่าเฉลี่ยความหนาของใบ diploid และ tetraploid ของ D. Caesar เลขที่ 2 เท่ากับ 1.31 และ 1.42 ม.ม. ส่วน D. May Neal 'Srisobhon' เท่ากับ 1.34 และ 2.03 ม.ม ตามลำดับ (ตารางที่ 17) ผลการตรวจสอบทางสถิติโดยใช้ Student's t test พบว่าความหนาของใบ diploid และ tetraploid ของ D. Caesar เลขที่ 2 ต่างกันในระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (t ความหนาใบ = 3.833 t ตาราง = 3.182) ส่วน D. May Neal 'Srisobhon' ความหนาของใบ diploid และ tetraploid ก็ต่างกัน เชื่อถือได้ในระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (t ความหนาใบ = 28.163 t ตาราง = 12.706)

ตารางที่ 16 ค่าเฉลี่ยความกว้างและยาวของ triploid และ hexaploid guard cell ต่อ 10 เซล

ชื่อ	เลขที่	ความกว้างของคู่guard cell		ความยาวของคู่ guard cell	
		triploid	hexaploid	triploid	hexaploid
D. Caesar เลขที่ 1	1	123.20	158.95	144.10	171.05
	2	138.05	166.65	152.35	190.85
	3	127.60	182.05	147.95	194.70
	4	143.00	178.75	151.25	185.90
ค่าเฉลี่ย		132.96	171.60	148.91	185.63
D. Lady Hamilton × D. May Neal	1	121.00	176.00	141.9	200.75
	2	140.80	180.95	152.9	187.55
	3	144.65	164.45	149.05	180.95
	4	143.00	171.60	158.95	193.6
	5	135.30	176.66	147.4	190.3
ค่าเฉลี่ย		136.95	173.93	150.04	190.63

ตารางที่ 17 ค่าเฉลี่ยความหนาของใบ diploid และ tetraploid ได้จากการวัดบริเวณกลางใบทั้งสองด้านของเส้นกลางใบ ของใบกลางลำต้น

ชื่อ	ต้นเลขที่	ความหนาของใบ diploid (ม.ม)		ความหนาของใบ tetraploid (ม.ม)	
		แต่ละใบ	ค่าเฉลี่ย	แต่ละใบ	ค่าเฉลี่ย
D.Caesar เลขที่2(1)	1	1.23 , 1.21	1.22	1.44 , 1.24	1.34
	2	1.41 , 1.27	1.34	1.66 , 1.30	1.48
	3	1.48 , 1.38	1.43	1.38 , 1.54	1.46
	4	1.37 , 1.13	1.25	1.44 , 1.38	1.41
ค่าเฉลี่ย			1.31		1.42
D. May Neal(2) 'Srisobhon'	1	1.26 , 1.28 1.30 , 1.29	1.28	2.02 , 2.02 2.01 , 1.93	1.99
	2	1.31 , 1.45 1.36 , 1.47	1.40	1.9 , 2.07 2.19 , 2.09	2.06
ค่าเฉลี่ย			1.34		2.03

(1) วัดต้นละ 2 ใบ

(2) วัดต้นละ 4 ใบ

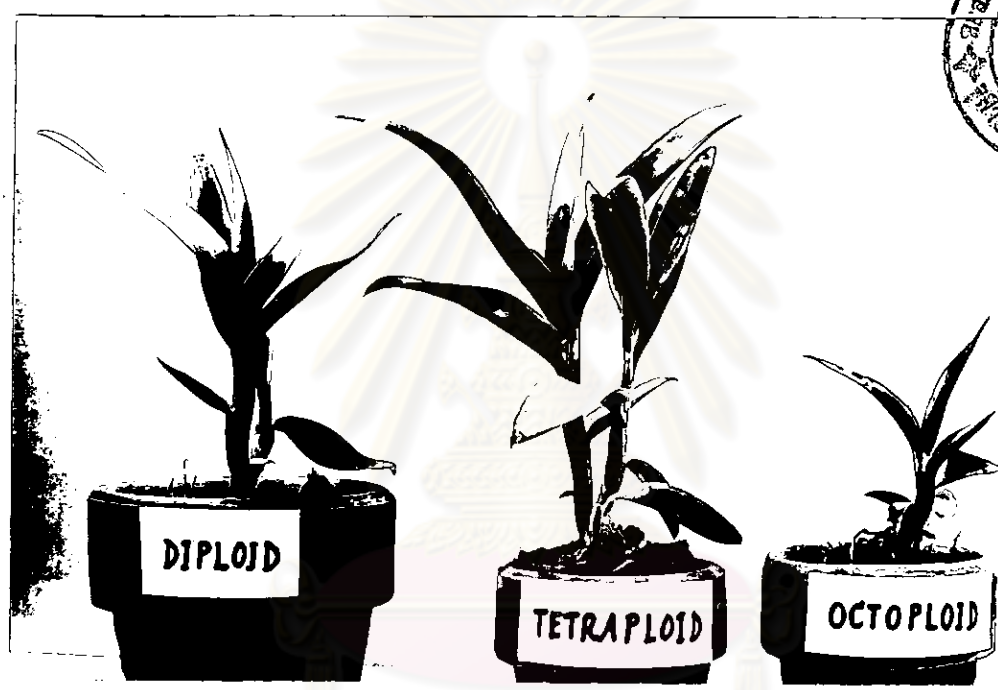
ผลการวัดความหนาของใบ D. Lady Hamilton x D. May Neal ได้ค่าเฉลี่ย ความหนา ของใบ triploid และ hexaploid เท่ากับ 1.19 และ 1.58 ม.ม (ตารางที่ 18)
เมื่อทดสอบทางสถิติ ก็พบว่าความหนาของใบ triploid และ hexaploid ต่างกันในระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ (t ความหนาใบ = 5.873 t ตาราง = 4.604)

ตารางที่ 18 ค่าเฉลี่ยความหนาของใบ triploid และ hexaploid ได้จากการวัดบริเวณกลางใบสองด้านของเส้นกลางใบ ต้นละ 2 ใบ.

ชื่อ	ต้นเลขที่	ความหนาของใบ triploid (ม.ม)		ความหนาของใบ hexaploid (ม.ม)	
		แต่ละใบ	ค่าเฉลี่ย	แต่ละใบ	ค่าเฉลี่ย
D. Lady Hamilton x D. May Neal	1	1.15 , 1.15	1.15	1.58 , 1.56	1.57
	2	1.40, 1.10	1.12	1.67 , 1.65	1.66
	3	1.28 , 1.21	1.25	1.53 , 1.59	1.56
	4	1.34 , 1.26	1.30	1.45 , 1.49	1.47
	5	1.17 , 1.13	1.15	1.59 , 1.75	1.67
ค่าเฉลี่ย			1.19		1.58

ลักษณะทางสัณฐานของกล้วยไม้ที่มีจำนวนโครโมโซมต่างๆกัน

กล้วยไม้ที่มีจำนวนโครโมโซมต่างกัน มีลักษณะของลำต้น ใบ และดอกต่างกันไป diploid กับ tetraploid และ near tetraploid ขณะยังเล็กอยู่ในวุ้นอาหารมีลักษณะคล้ายกันมาก แต่สามารถสังเกตเห็นความแตกต่างได้ คือ tetraploid และ near tetraploid มีใบเขียวเข้มกว่า และหนากว่าเล็กน้อย ส่วนลักษณะของ octoploid และ near octoploid แตกต่างกับ diploid และ tetraploid อย่างเห็นได้ชัด คือ octoploid มีใบหนาและเขียวกว่าและกว้างกว่า diploid และ tetraploid พวก near heptaploid ที่พบในการทดลองนี้มีลักษณะคล้าย octoploid มากจนไม่สามารถสังเกตด้วยตาเปล่าต้องนับจำนวนโครโมโซม การเจริญเติบโตของต้น diploid และ tetraploid คล้ายกัน ส่วน octoploid เจริญได้ช้ากว่ามาก ดังภาพที่ 12 (แสดงต้น diploid tetraploid และ octoploid ของ D. Caesar เลขที่ 2) สำหรับ triploid กับ hexaploid และ near hexaploid ของ D. Caesar เลขที่ 1 และ D. Desaputra พบว่า hexaploid และ near hexaploid เจริญช้ากว่า triploid (ภาพที่ 13 และ 14 ตามลำดับ) ขณะที่เป็นต้นออนอยู่ในวุ้นอาหารสามารถเห็นความแตกต่างของ triploid และ hexaploid ได้ไม่ยากนัก hexaploid มีใบหนากว่ากว้างกว่า และยาวเล็กน้อย ส่วน triploid มีใบเรียบและเขียวอ่อนกว่า เมื่อนำไปปลูกในเรือนต้นไม้ triploid เจริญได้เร็วกว่า hexaploid และ near hexaploid ใบของ hexaploid และ near hexaploid ซึ่งเมื่อเล็กน้อยแต่เดิมเปลี่ยนเป็นใบเรียบ



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 12 D. Caesar เลขที่ 2 ต้น diploid และ tetraploid เจริญได้พอๆกันใบของ tetraploid หนากว่า diploid เล็กน้อย ส่วน octoploid เจริญได้ช้ากว่า tetraploid และใบหนากว่ามาก

ภาพที่ 13 เปรียบเทียบต้น triploid กับ hexaploid ของ D. Caesar เลขที่ 1 อายุประมาณ 1 ปี ซึ่งได้จากการใช้สารโคลชีซีนกับเนื้อเยื่อที่เป็น triploid ต้นซ้ายมือมีจำนวนโครโมโซมเท่าเดิม ส่วนขวามือโครโมโซมเพิ่มเป็นสองเท่า ซึ่งทำให้มีการเจริญช้ากว่าต้น triploid และใบหนากว่าด้วย

ภาพที่ 14 เปรียบเทียบต้น triploid กับ hexaploid ของ D. Desaputra อายุประมาณ 1 ปี ซึ่งได้จากการใช้สารโคลชิซีนกับเนื้อเยื่อที่เป็น triploid ต้นซ้ายมือมีจำนวนโครโมโซมเท่าเดิม ส่วนขวามือโครโมโซมเพิ่มเป็นสองเท่า ซึ่งทำให้มีการเจริญช้ากว่าต้น triploid และใบหนากว่า triploid

ผลการเปรียบเทียบลักษณะของลำต้นและดอกของ diploid กับ tetraploid ของ D. Caesar เลขที่ 3

พบว่า diploid และ near tetraploid ของ D. Caesar เลขที่ 3 มีขนาดของลำต้นแตกต่างกันคือ near tetraploid มีลำต้นอวบกว่า ใบหนากว่า ก้านช่อดอกตั้งตรงและใหญ่กว่าของ diploid สีของ sepal petal และ labellum ของ near tetraploid เข้มกว่าของ diploid เล็กน้อย จำนวนดอกในช่อที่ออกครั้งแรกมีจำนวน 9 ดอกเท่ากัน แต่เนื่องจากต้นยังไม่โตเต็มที่ยังเปรียบเทียบลักษณะนี้ไม่ได้ดีนัก ส่วนลักษณะต่างๆของดอก diploid และ near tetraploid คงจะไม่เปลี่ยนแปลง ภาพที่ 15 และ 16 เปรียบเทียบช่อดอกและขนาดดอกของ diploid และ near tetraploid ตามลำดับ จะเห็นว่าจำนวนดอก diploid เหลือเพียง 7 ดอกเท่านั้น ร่วงไป 2 ดอก เพราะดอก diploid บานก่อน near tetraploidประมาณ 2 สัปดาห์ รายละเอียดของการศึกษาลักษณะต่างๆเปรียบเทียบกัน ระหว่าง diploid กับ near tetraploid แสดงอยู่ในตารางที่ 19 พร้อมด้วยการทดสอบทางสถิติ โดยวิธี Student's - t test ผลการตรวจดู pollen ของ diploid และ near tetraploid พบว่า pollen ของ near tetraploid มีขนาดใหญ่กว่าของ diploid แต่มีลักษณะไม่สมบูรณ์ทั้งคู่ คือชอบของ pollen ไม่เรียบ และเมื่อนำ pollen ของทั้ง diploid กับ near tetraploid ไปใส่ใน stigma ของต้นอื่นเพื่อดูเปอร์เซ็นต์ การงอกของ pollen นั้นพบว่า pollen ของทั้งสองชนิดไม่งอกเลย.

ภาพที่ 15 เปรียบเทียบช่อดอก diploid (ซ้าย) และ near tetraploid (ขวา) ของ D. Caesar เลขที่ 3 จำนวนดอกในช่อมี 9 ดอก เท่ากันแต่ของ diploid จะรวงไป 2 ดอก ก้านช่อดอกของ near tetraploid ตั้งตรงและมีขนาดใหญ่กว่าของ diploid

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 16 เปรียบเทียบขนาดดอก diploid และ near tetraploid (ทางซ้ายและขวามือตามลำดับ) ของ D. Caesar เลขที่ 3 ดอก near tetraploid มีขนาดใหญ่กว่า สีเข้มกว่า diploid และ กลีบดอกเพิ่มขนาดทางด้านกว้างมากกว่าด้านยาวจึงทำให้ดอกกลมขึ้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 19 ค่าเฉลี่ยความกว้างและยาวของ lateral และ dorsal sepal, petal, labellum, mid lobe, ความหนาของ petal (วัด 5 ดอก) เส้นผ่าศูนย์กลางของก้านชอดอก, guard cell (10 เซล) ความหนาของใบ (4 ใบ) และขนาดของ pollen quartet

ลักษณะ	ขนาด (ม.ม)		ผลการทดสอบทางสถิติ	อัตราส่วนความยาว/ความกว้าง	
	diploid	near tetraploid		diploid	near tetraploid
Calyx					
ความกว้างของ lateral - sepal	20.3	22.2	* *	1.73	1.8
ความยาวของ " " "	35.2	40.0	* *		
ความกว้างของ dorsal - sepal	8.3	11.2	* *	3.5	2.96
ความยาวของ " " "	29.0	33.2	* *		
Corolla					
ความกว้างของ petal	12.9	17.2	* *	3.15	2.53
ความยาวของ petal	40.6	43.6	* *		
ความกว้างของ labellum	24.4	28.0	* *	1.3	1.21
ความยาวของ labellum	31.7	33.9	* *		
ความกว้างของ mid lobe	13.0	15.9	* *	1.42	1.2
ความยาวของ mid lobe	18.4	19.1	+		
ความหนาของ petal	0.37	0.58	* *	-	-
ความกว้างของ pollen - quartet	0.097	0.128	* *	1.46	1.40
ความยาวของ pollen - quartet	0.142	0.179	* *		
เส้นผ่าศูนย์กลางของก้านชอดอก	2.16	3.34	(1)	-	-
ความหนาของใบ	1.07	1.49	* *	-	-
ความกว้างของคู guard cell	0.131	0.169	* *	1.10	1.01
ความยาวของคู gurad cell	0.144	0.171	* *		

* * tetraploid แตกต่างกับ diploid ในระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

+ tetraploid แตกต่างกับ diploid ในระดับความเชื่อมั่น 70 เปอร์เซ็นต์

(1) วัดต้นละ 1 ช่อ จึงไม่ทดสอบด้วยสถิติ