

การใช้โคลชิซินซึ้นชักทำให้เกิดโพลีพลอยดีในแพงพวยฝรั่ง (Catharanthus roseus G.Don)



นางสาว ชะบา อ่ำรำไพ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาพฤกษศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

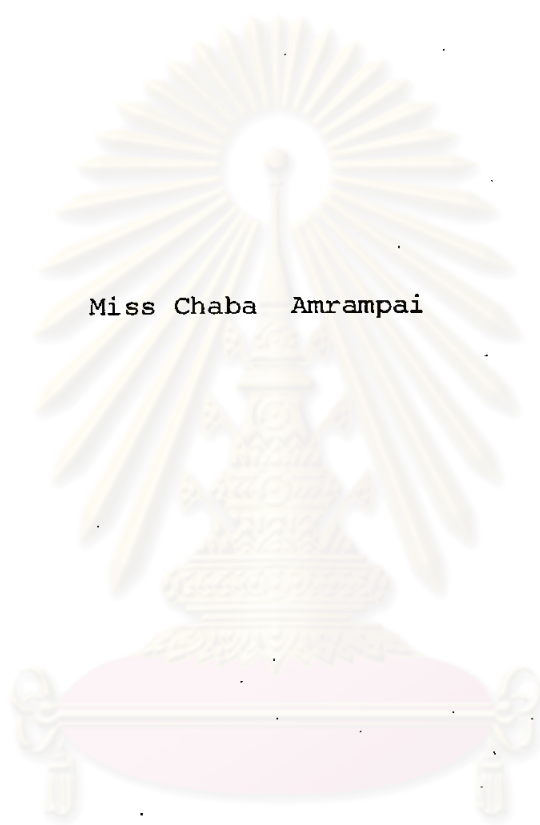
พ.ศ. 2527

ISBN 974-563-978-8

010633

115493902

Induction of Polyploid in Catharanthus roseus G.Don by Colchicine



Miss Chaba Amrampai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science

Department of Botany

Graduate School

Chulalongkorn University

1984

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การใช้โคลชิซินชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในแพงพวยฝรั่ง (Catharanthus roseus G.Don)

โดย นางสาวชะบา อ่ำรำไพ


ภาควิชา พฤกษศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.กัญยรัตน์ ไชยสุต

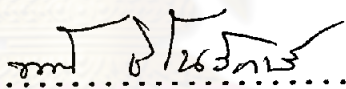
ปีการศึกษา 2527




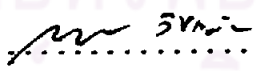
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

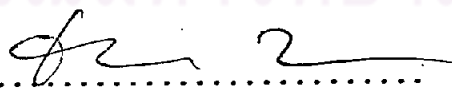

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุประดิษฐ์ บุนนาค)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ พิศัย ชีโนรักษ์)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.กัญยรัตน์ ไชยสุต)


..... กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชรากย์)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชัยฤกษ์ มณีพงษ์)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การใช้โคลชิซินชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในแพงพวยฝรั่ง (Catharanthus roseus G. Don)

ชื่อนิสิต นางสาวชะบา อ่ำรำไพ

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.กันยารัตน์ ไชยสุต

ภาควิชา พฤกษศาสตร์

ปีการศึกษา 2527



บทคัดย่อ

ในการชักนำแพงพวยฝรั่งสีขาวและสีชมพูให้เป็น polyploid ทำได้ โดยหยดสารละลายโคลชิซินที่มีความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์, 0.6 เปอร์เซ็นต์ และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ ลงบนยอดคั่นกลาครั้งละหนึ่งหยด วันละ 3 ครั้ง ทุกความเข้มข้นหยดโคลชิซินให้คั่นกลา 6 ครั้ง, 12 ครั้ง และ 18 ครั้ง ตามลำดับ โคลชิซินมีผลต่อการเจริญเติบโตของคั่นกลาและลักษณะภายนอกของต้น ใบ คือทำให้ต้นเตี้ยแคระช่วงลำต้นที่อยู่เหนือใบเลี้ยงมีลักษณะอวบใหญ่ แผ่นใบขนเนื้อใบหนา รูปร่างใบผิดปกติ บางต้นการเจริญหยุดชะงักและตาย ทุกความเข้มข้นและจำนวนหยดของโคลชิซินสามารถชักนำแพงพวยฝรั่งทั้งสองสีให้เป็น polyploid ได้ โดยพบ tetraploid มากกว่า near octoploid โคลชิซินเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ 18 หยด สามารถชักนำคั่นกลาสีขาวให้เป็น polyploid สูงสุดคือ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 12 หยด และ 18 หยด สามารถชักนำคั่นกลาสีชมพูให้เป็น polyploid ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นกัน

ผลการศึกษาจำนวนโครโมโซมในรากและใน microsporocyte ของแพงพวยฝรั่งทั้งสองสี พบว่าแพงพวยฝรั่งที่เป็น diploid (2x) มีจำนวนโครโมโซม 16 แท่ง ส่วนต้น tetraploid (4x) มีจำนวนโครโมโซม 32 แท่ง เมื่อศึกษาการจับคู่ของโครโมโซมที่เหมือนกันใน microsporocyte ระยะ first metaphase พบว่าโครโมโซมที่เหมือนกันของต้น diploid จับคู่เป็น 8 bivalent โดยเป็น ring bivalent มากกว่า rod bivalent แต่ต้น tetraploid มีการจับคู่ของโครโมโซมที่เหมือนกันส่วนใหญ่เป็น quadrivalent ปนกับ bivalent มีบางเซลล์ที่พบ trivalent และ univalent และบางเซลล์พบแต่ bivalent หรือ quadrivalent เพียงอย่างเดียว

เมื่อเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาของแพงพวยฝรั่งทั้งสองที่เป็น diploid กับ tetraploid พบว่าคน tetraploid มีลำต้นใหญ่ขึ้นแต่เตี้ยกว่าคน diploid ใบ tetraploid มีความกว้างมากกว่าใบ diploid แต่มีความยาวน้อยกว่า แผ่นใบ tetraploid มีลักษณะขนปลายใบกระดกขึ้นไม่เรียบเหมือนใบ diploid ขนาดดอก tetraploid ไม่แตกต่างจากดอก diploid แต่กลีบดอก tetraploid มีขนาดใหญ่ขึ้นทำให้ไม่มีช่องว่างระหว่างกลีบดอก ละอองเรณู tetraploid ใหญ่กว่าละอองเรณู diploid และมีช่องเปิด 4 ช่อง ส่วน diploid มี 3 ช่อง การมีชีวิตของละอองเรณู tetraploid ต่ำกว่าของ diploid ผัก tetraploid สั้นกว่า diploid ส่วนใหญ่ไม่มีเมล็ดหรือมีเมล็ดฝ่อสืบเมล็ดที่สามารถเจริญพันธุ์ได้มีขนาดใหญ่กว่า diploid แต่จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อฝักน้อยกว่า diploid ดังนั้นการขยายพันธุ์คน tetraploid จึงควรใช้กิ่งปักชำดีกว่าใช้เมล็ด



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Thesis Title Induction of Polyploid in Catharanthus roseus G.Don
 by Colchicine

Name Miss Chaba Amrampai

Thesis Advisor Associate Professor Kanyarat Chaiyasut, Docteur de 3^{eme} cycle

Department Botany

Academic Year 1984



Abstract

Induced polyploid in Catharanthus roseus G.Don variety albus and variety roseus was made by application of aqueous colchicine solution of 0.2 percent, 0.6 percent and 1.0 percent to diploid seedling apical meristem. Each concentration was applied in drops, i.e., 6 drops, 12 drops and 18 drops, one drop per time three drops per day. The effect of colchicine on growth of seedling and morphology of stem and leaves are such as dwarf stem with large stem circumference above the cotyledon, rough, distorted and thick leaves, abnormal leaf shape. Some seedling stopped growing and die. All treatments could induce polyploid but tetraploid were found more frequently than near octoploid. Eighteen drops of 0.2 percent colchicine could induce 100 percent polyploid in C.roseus var.albus and 12 drops and 18 drops of 0.6 percent colchicine could induce 100 percent polyploid in var.roseus.

The study of chromosome number in root tip and microsporocyte showed that diploid (2X) had 16 chromosomes and tetraploid (4X) had 32 chromosomes. The study of meiotic configuration of microsporocyte at first metaphase showed that diploid homologous chromosomes were forming 8 bivalents, of which ring bivalent were more frequently seen than rod bivalents. In tetraploid, quadrivalents and bivalents were

more frequently seen than rod bivalents. In tetraploid, quadrivalents and bivalents were found in most cells, trivalents and univalent were found in few cells, and in a few cells, only bivalents or quadrivalents were found.

In comparing tetraploid and diploid morphology, tetraploid stems were larger but shorter than diploid stems, while leaves were broader, shorter, thicker and more distorted, with the leaf tips curled upward. Tetraploid flowers were the same size as the diploid flowers, but larger petals such that the petal gaps were absent. Pollen grains were larger with 4 pores but were of lower fertility, fruits of tetraploid were shorter than diploid, seed were normally sterile, those few which were fertile were larger than diploid but had poor seed setting. This makes the tetraploid suitable for propagation by stem cutting than seed.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



กิตติกรรมประกาศ

ในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. กัญยรัตน์ ไชยสุต ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาและผู้ควบคุมการวิจัยที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำข้อคิดอันเป็นประโยชน์ และช่วยแก้ไขปัญหาคงจนอุปสรรคต่าง ๆ อย่างใกล้ชิด กราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชรากัญ รองศาสตราจารย์พรณี ชีโนรักษ์ และ รองศาสตราจารย์ ดร.ชัยฤกษ์ มณีพงษ์ ที่กรุณาช่วยตรวจและแก้ไขวิทยานิพนธ์ ทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรีดา บุญหลง ที่กรุณาเอื้อเฟื้อเอกสารประกอบการวิจัยและให้คำแนะนำต่าง ๆ ขอขอบพระคุณ อาจารย์สง่า ดวงรัตน์ และขอขอบคุณ คุณพวงเพชร พูลทรัพย์ ที่ช่วยเหลือเกี่ยวกับการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นอกจากนี้ขอขอบคุณ คุณจินตนา ธันวานิวัฒน์ คุณลาวัลย์ ตันสกุลรุ่งเรือง คุณสมชาย ธารังชัยสกุล คุณคณิต ประยูรวินิจฉัย คุณนเรศ เวชวงศ์วาน และ คุณองอาจ อ่ำรำไพ ตลอดจนเพื่อน ๆ และรุ่นน้องทุกคน ที่ช่วยเหลือในการทำเพลงทดลอง ปลุ๊กและบิวร์รักษาต้นแพงพวยฝรั่ง รวมทั้งเก็บผลการทดลอง ซึ่งทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลงด้วยดี อนึ่งค่าใช้จ่ายในการทำวิจัยครั้งนี้ส่วนหนึ่งได้รับทุนสนับสนุนจาก เงินทุนสมเด็จพระมหิตลาธิเบศร อดุลยเดชวิกรม พระบรมราชชนก ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จึงขอขอบคุณไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
กิตติกรรมประกาศ	ช
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญรูป	เ
สารบัญกราฟ	ฉ
บทที่	
1 บทนำ	1
2 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง	18
3 ผลการทดลอง	25
4 อภิปรายผลการทดลอง	70
5 สรุปผลการทดลองและขอเสนอแนะ	77
เอกสารอ้างอิง	80
ภาคผนวก	85
ประวัติผู้เขียน	101

รายการตารางประกอบ

ตารางที่		หน้า
1	Polyploid ของพืชสกุลต่าง ๆ ที่สร้างขึ้นโดยใช้สารโคลชิซิน	10
2	รายชื่อ indole-indoline alkaloid ที่ใช้รักษามะเร็ง	16
3	แสดงความเข้มข้น, จำนวนหยดและจำนวนวันที่ต้นกล้าได้รับสารละลายโคลชิซิน	20
4	แสดงจำนวนต้นกล้าแพงพวยฝรั่งสีขาวยและสีชมพูที่รอดชีวิตหลังจากได้รับโคลชิซิน 3 เดือน	30
5	แสดงเปอร์เซ็นต์ของต้นแพงพวยฝรั่งสีขาวยและสีชมพูที่เป็น diploid, tetraploid และ near octoploid ใน C ₀ generation	33
6	เปรียบเทียบการจับคู่ของโครโมโซมที่เหมือนกันใน microsporocyte ของแพงพวยฝรั่งสีขาวยและสีชมพู (C ₀ generation) ที่เป็น diploid tetraploid และ near octoploid	38
7	เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของขนาดละอองเรณูและเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของละอองเรณูในแพงพวยฝรั่งสีขาวยและสีชมพู (C ₀ generation) ที่เป็น diploid, tetraploid และ near octoploid	42
8	เปรียบเทียบการจับคู่ของโครโมโซมที่เหมือนกันใน microsporocyte ของแพงพวยฝรั่งสีขาวยและสีชมพู (C ₁ generation) ที่เป็น diploid กับ tetraploid ซึ่งเกิดจากโคลชิซินในระดับความเข้มข้นและปริมาณต่าง ๆ กัน	45
9	เปรียบเทียบการจับคู่ของโครโมโซมที่เหมือนกันใน microsporocyte ที่เป็น diploid และ tetraploid ของแพงพวยฝรั่งสีขาวยและสีชมพู (C ₁ generation)	46

10	แสดงค่าเฉลี่ยขนาดละอองเรณูและความแตกต่างของค่าเฉลี่ยซึ่งทดสอบโดยวิธี DMRT, เปอร์เซนต์การมีชีวิตของละอองเรณูที่เป็น diploid และ tetraploid ในแพงพวยฝรั่งสีขาวและสีชมพู (C ₁ generation)	51
11	เปรียบเทียบความสูงเฉลี่ย (เซนติเมตร) ของต้นแพงพวยฝรั่งที่เป็น diploid และ tetraploid เมื่ออายุ 4,5,6,7 เดือน ..	54
12	แสดงค่าเฉลี่ยความสูงของต้น diploid และ tetraploid เมื่ออายุ 7 เดือน และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยซึ่งทดสอบโดยวิธี DMRT	59
13	แสดงค่าเฉลี่ยความกว้างของใบ, ค่าเฉลี่ยความยาวของใบ, ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางดอกและความแตกต่างของค่าเฉลี่ยซึ่งทดสอบโดยวิธี DMRT ของแพงพวยฝรั่งสีขาวและสีชมพูที่เป็น diploid และ tetraploid ใน C ₁ generation	61
14	แสดงจำนวนต้นที่เจริญพันธุ์ได้และจำนวนเมล็ดเฉลี่ยของ diploid และ tetraploid ใน C ₁ generation ของแพงพวยฝรั่งสีขาวและสีชมพู	66
15	เปรียบเทียบจำนวน univalent, bivalent, trivalent และ quadrivalent, ค่าเฉลี่ยของขนาดและเปอร์เซนต์การมีชีวิตของละอองเรณูและจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อฝักของแพงพวยฝรั่งสีขาวและสีชมพูที่เป็น diploid และ tetraploid (C ₁ generation)	68
ผ.1	เปรียบเทียบการจับคู่ของโครโมโซมที่เหมือนกันใน microsporocyte ของแพงพวยฝรั่งสีขาว (C ₀ generation) ที่เป็น diploid, tetraploid และ near octoploid ซึ่งเกิดจากสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นและปริมาณต่าง ๆ กัน	86

ผ.2	เปรียบเทียบการจับคู่ของโครโมโซมที่เหมือนกันใน microsporocyte ของเพศพวยฝรั่งสีชมพู (C_0 generation) ที่เป็น diploid, tetraploid และ near octoploid ซึ่งเกิดจากสารโคลชิซิน ที่ระดับความเข้มข้นและปริมาณต่าง ๆ กัน	87
ผ.3	เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของขนาดและเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของละอองเรณูในเพศพวยฝรั่งสีขาว (C_0 generation) ที่เป็น diploid, tetraploid และ near octoploid	88
ผ.4	เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของขนาดและเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของละอองเรณูในเพศพวยฝรั่งสีชมพู (C_0 generation) ที่เป็น diploid, tetraploid และ near octoploid	89
ผ.5	แสดงค่าเฉลี่ยขนาดละอองเรณู diploid และ tetraploid ใน C_1 generation ของเพศพวยฝรั่งสีขาว	90
ผ.6	เปรียบเทียบผลต่างระหว่าง treatment means กับค่า LSR ที่คำนวณได้	94

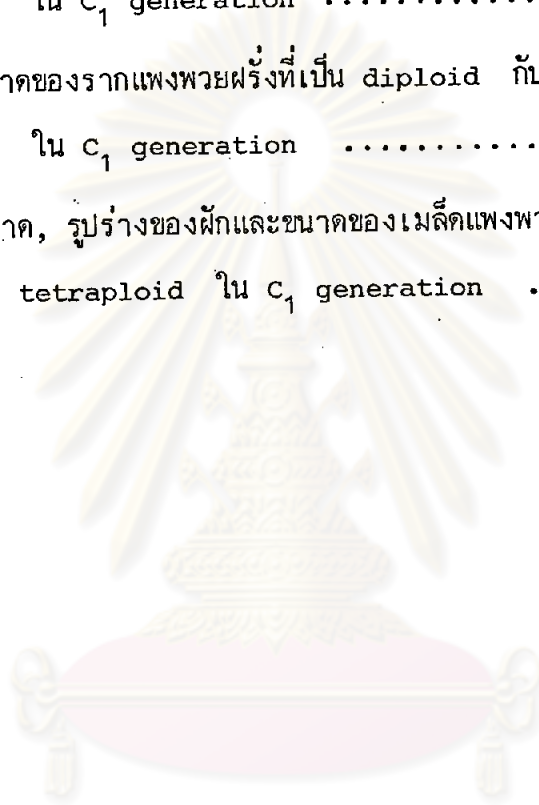
รายการรูปประกอบ

รูปที่		หน้า
1	แสดงการจับคู่ของ 4 homologous chromosome และตำแหน่ง chiasma ใน tetraploid ทำให้เห็นรูปร่างโครโมโซมแบบต่าง ๆ คือ quadrivalent, trivalent, bivalent และ univalent	2
2	แสดงการจับคู่ของ 3 homologous chromosome และตำแหน่งของ chiasma ใน triploid ทำให้เกิด trivalent แบบต่าง ๆ	3
3	แสดงส่วนประกอบของดอกแพงพวยฝรั่ง	14
4	ต้นกล้าที่มีลักษณะผิดปกติ หลังจากได้รับโคลชิซิน 3 เดือน	26
5	ต้นกล้าที่มีใบแยกเป็น 2 แฉก (รูปบน) และแผ่นใบรูปถ้วย(รูปล่าง) หลังจากได้รับโคลชิซิน 3 เดือน	27
6	ต้นกล้าที่มีลำต้นแยกเป็น 2 กิ่ง หลังจากได้รับโคลชิซิน 3 เดือน	28
7	ต้นกล้าที่ได้รับโคลชิซินแล้วไม่มีการเจริญให้ใบแต่สามารถมีอายุอยู่ได้ 3 เดือน	29
8	เปรียบเทียบขนาดและลักษณะละอองเรณูที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต ของแพงพวยฝรั่งที่เป็น diploid, tetraploid และ near octoploid	41
9	somatic metaphase ที่เป็น diploid (2X=16) และ tetraploid (4X=32)	43
10	แสดง ring bivalent และ rod bivalent ที่พบใน microsporocyte ของแพงพวยฝรั่งที่เป็น diploid (2X=16)	47
11	แสดง quadrivalent, trivalent, bivalent และ univalent ที่พบใน microsporocyte ของแพงพวยฝรั่งที่เป็น tetraploid (4X = 32)	49

รูปที่

หน้า

12	ละอองเรณูแพลงพวยฝรั่ง diploid (มีช่องเปิด 3 ช่อง) และละอองเรณู tetraploid (มีช่องเปิด 4 ช่อง)	50
13	ลักษณะของใบ, ดอกแพลงพวยฝรั่งสีขาวและสีชมพูที่เป็น diploid และ tetraploid ใน C_1 generation	60
14	เปรียบเทียบขนาดของรากแพลงพวยฝรั่งที่เป็น diploid กับ tetraploid ใน C_1 generation	64
15	เปรียบเทียบขนาด, รูปร่างของฝักและขนาดของเมล็ดแพลงพวยฝรั่งที่เป็น diploid กับ tetraploid ใน C_1 generation	65



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการกราฟประกอบ

กราฟที่	หน้า
1	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและจำนวนหยดของโคลชิซินกับ เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นกล้าแพงพวยฝรั่งสีขาวยและสีชมพู หลัง จากได้รับโคลชิซิน 3 เดือน 32
2	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ต้นแพงพวยฝรั่งสีขาวยที่เป็น diploid tetraploid และ near octoploid (C_0 generation) หลังจากได้รับโคลชิซินความเข้มข้นและปริมาณต่าง ๆ กัน 35
3	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ต้นแพงพวยฝรั่งสีชมพูที่เป็น diploid tetraploid และ near octoploid (C_0 generation) หลังจากได้รับโคลชิซินความเข้มข้นและปริมาณต่าง ๆ กัน 37
4	เปรียบเทียบ ความสูงเฉลี่ยของต้น diploid และ tetraploid ใน C_1 generation ของแพงพวยฝรั่งสีขาวย ... 55
5	เปรียบเทียบ ความสูงเฉลี่ยของต้น diploid และ tetraploid ใน C_1 generation ของแพงพวยฝรั่งสีชมพู ... 56
6	เปรียบเทียบ ความสูงเฉลี่ยของต้น diploid และ tetraploid ใน C_1 generation ของแพงพวยฝรั่งสีขาวยและ สีชมพู 57