

ศึกษาปริมาณความเข้มข้นของโคลชิซินที่มีผล
ต่อการชักนำให้เกิดโพลีพลอยดีในแมงโมพันธุ์ ชูการ์ เบบี้ในหลอดทดลอง



นายพีรฤกษ์ บุญมีรอด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาคตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาพฤกษศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2536

ISBN 974-582-921-8

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

019731

1478559.24

STUDY ON COLCHICINE CONCENTRATION FOR POLYPLOID INDUCTION
IN WATERMELON (*Citrullus lanatus* MATS. & NAKAI) CV. SUGAR BABY IN VITRO



Peerayuth Boonmeero

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

Department of Botany

Graduate School

Chulalongkorn University

1993

ISBN 974-582-921-8



พิชญธร มุญมืรอด : ศึกษาปริมาณความเข้มข้นของโคลชิซินที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์
ในแตงโมพันธุ์ซูการ์เบบี้ในหลอดทดลอง (STUDY ON COLCHICINE CONCENTRATION FOR
POLYPLOID INDUCTION IN WATERMELON (Citrullus lanatud) MATS. & NAKAI.)
CV. SUGAR BABY IN VITRO) อ.ที่ปรึกษา รศ.สุมิตรา คงชื่นสิน. อ.ที่ปรึกษาร่วม
ผศ.พัชรา ลิ้มปะนะเวช. 71 หน้า ISBN: 974-582-921-8.

การเลี้ยงเนื้อเยื่อของต้นกล้าแตงโม ในอาหารสูตร MS ดัดแปลง รวม 20 สูตร พบว่าเนื้อ
เยื่อใบเลี้ยงถูกชักนำให้เกิดแคลลัส รากและยอดได้ แคลลัสที่พบมี 3 ชนิด คือแคลลัสสีขาว เกิดที่ผิว
ของใบเลี้ยงในอาหารเกือบทุกสูตร แคลลัสสีเหลืองเกิดที่บริเวณรอยตัดในอาหารสูตร MS + IAA
1-2 mg/l + BAP 10 mg/l และสามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้ในอาหารสูตร MS + IAA 1 mg/l
+ BAP 10 mg/l ส่วนการเกิดรากจากเนื้อเยื่อใบเลี้ยงพบว่าเกิดได้ในอาหารสูตร MS + IAA หรือ
NAA 1-2 mg/l ซึ่งไม่มี BAP อยู่เลยและรากที่เกิดในอาหารที่ใส่ IAA แม้จะมีจำนวนน้อยกว่าแต่มี
ความยาวและแตกแขนงได้ดีกว่ารากที่เกิดในอาหารที่ใส่ NAA เนื้อเยื่อ hypocotyl ถูกชักนำให้เกิด
แคลลัสได้ 2 ชนิดคือแคลลัสสีเหลืองและแคลลัสสีเขียว แต่ไม่พบว่าเกิดแคลลัสสีขาวใส ยอดและราก
ส่วนเนื้อเยื่อปลายยอดเจริญยึดตัวได้ดีที่สุด และเกิดรากได้ดีที่สุดในอาหารสูตร MS + IAA 1 mg/l

ศึกษาการเกิดพอลิพลอยด์ของแตงโม: ที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นต่าง
ต่างกัน คือ 0.5 0.1 0.05 และ 0.01 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 24 และ 48 ชั่วโมง ในน้ำกลั่น
หรืออาหารเหลวสูตร MS โดยการวัดขนาดของเซลล์คุม จำนวนคลอโรพลาสต์ ความยาวราก และ
จำนวนโครโมโซมพบว่าต้นแตงโมที่แช่ในสารละลายโคลชิซิน 0.05 เปอร์เซ็นต์ เวลา 12 ชั่วโมง
อาหารเหลว MS + โคลชิซิน 0.05 เปอร์เซ็นต์ เวลา 12 ชั่วโมง อาหารเหลว MS + โคลชิซิน
0.05 เปอร์เซ็นต์ เวลา 24 ไร่ และในอาหารเหลว MS + โคลชิซิน 0.01 เปอร์เซ็นต์ เวลา
12 ชั่วโมง มีขนาดของเซลล์คุม และจำนวนคลอโรพลาสต์ แตกต่างทางสถิติกับต้นควบคุม ส่วนความ
ยาวรากไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับต้นควบคุม เทคนิคการเตรียมเซลล์ปลายรากแตงโมจากหลอด
ทดลองเพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซม ยังไม่สามารถทำได้ในการทดลองครั้งนี้

ภาควิชา พฤกษศาสตร์
สาขาวิชา พันธุศาสตร์
ปีการศึกษา 2535

ลายมือชื่อนิสิต พิจญธร มุญมืรอด
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา สุมิตรา คงชื่นสิน
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม พัทธนา ลิ้มปะนะเวช



** C125392:: MAJOR GENETIC

KEY WORD: COLCHICINE / POLYPLOID / WATER MELON / IN VITRO

PEERAYUTH BOONMEEROD : STUDY ON COLCHICINE CONCENTRATION FOR POLYPLOID INDUCTION IN WATERMELON (Citrullus lanatus MATS. & NAKAI.) CV. SUGAR BABY IN VITRO. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. SUMITRA KONGCHUENSIN. THESIS COADVISOR. ASST. PROF. -PACHRA LIMPANAVECH. 71 pp.. ISBN 974-582-921-8.

In vitro culture of three parts of watermelon seedling was carried out on 20 modified MS media. The cotyledonous tissue was induced to produce callus, root and shoot. Three types of callus were found. The translucent white callus was formed on the cotyledon surface in almost every medium formula used. The yellowish callus grew from cut surface of the cotyledonous tissue in the media MS + 1-2 mg/l IAA + 10 mg/l BAP and could differentiate into a shoot in medium MS + 1 mg/l IAA + 10 mg/l BAP. Root formation from cotyledonous tissue was found in the media MS + 1-2 mg/l IAA or NAA without BAP. Although less number of root was produced but better growth of root was found in the medium containing of root was found in the medium containing NAA. Two types of callus : yellowish and greenish were produced from the hypocotyl. However, formation of white callus, shoot and root were found in hypocotyl culture. In shoot tip culture, the shoot grew, elongated and rooted best in the medium MS + IAA 1 mg/l.

Polyploid induction of watermelon in different concentration of colchicine; 0.5, 0.1, 0.05 and 0.01% in water and in liquid culture medium MS treated 12, 24 and 48 hours were studied from the size of guard cell, number of chloroplast, root length and chromosome number. As a result, watermelon plantlets treated with 0.05% colchicine solution for 12 hours, liquid medium MS + 0.05% colchicine for 12 hours, liquid medium MS + 0.05% colchicine for 24 hours and liquid medium MS + 0.01% colchicine for 12 hours, showed statistical difference in size of guard cells and number of chloroplast but root length has no significant difference to the control. The technique of cell preparation from in vitro watermelon root tip for chromosome number study is not successful in this experiment.

ภาควิชา..... พฤษศาสตร์
สาขาวิชา..... พันธุศาสตร์
ปีการศึกษา..... 2535

ลายมือชื่อนิสิต..... ภิรมพร วัฒนสาร
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... ภิรมพร วัฒนสาร
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... ภิรมพร วัฒนสาร

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลงด้วยความช่วยเหลือเป็นอย่างดียิ่ง ของรองศาสตราจารย์ สุมิตรา คงชื่นสิน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ นิชรา ลิ้มปะนะเวช อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ซึ่งท่านทั้งสองได้กรุณาให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่าง ๆ และเอาใจใส่ด้วยดี มาตลอด จึงขอกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ และกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ นาถฉलय หลายชูไทย และ รองศาสตราจารย์ มุกดา คูหิรัญ ที่ได้กรุณาตรวจแก้ไข และให้คำแนะนำต่าง ๆ ที่ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เรณู ถาวโรฤทธิ และรองศาสตราจารย์ สุกฤษฎาพรณ ตวีรัตน์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้อุปกรณ์การศึกษาบางอย่าง และขอขอบคุณ คุณ ทรงศักดิ์ สำราญสุข ที่ช่วยเหลือทางด้านภาพถ่าย

ขอขอบคุณ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ ที่สนับสนุนการศึกษาค้นคว้า และขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัยที่ได้ช่วยเหลือทางด้านเงินทุนส่วนหนึ่ง

สุดท้าย ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ซึ่งให้การสนับสนุนในด้านการเงิน และให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยตลอดมาจนสำเร็จ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. การสำรวจเอกสาร.....	3
3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการศึกษา.....	11
4. ผลการศึกษา.....	19
5. อภิปรายผลการศึกษา.....	46
6. สรุปผลการศึกษา.....	57
เอกสารอ้างอิง.....	60
ภาคผนวก.....	65

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแดงโม..... 14
2	ความเข้มข้นของสารโคลชิซินและระยะเวลาที่ใช้ในการแพร่ปลายยอดแดงโม..... 16
3	การเกิดแคลลัส การเกิดราก และการเกิดยอด จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อใบเลี้ยงในอาหาร 20 สูตร ในเวลา 8 สัปดาห์..... 24
4	การเกิดแคลลัส เมื่อเวลา 8 สัปดาห์ จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ hypocotyl ในอาหาร 20 สูตร..... 30
5	ค่าเฉลี่ยความสูงของปลายยอด จำนวนยอดเฉลี่ย และจำนวนรากเฉลี่ยที่เกิดจากปลายยอดแดงโมในอาหาร 20 สูตร อายุ 8 สัปดาห์..... 32
6	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปลายยอดแดงโมในสารละลายโคลชิซิน 24 treatment ในเวลา 8 สัปดาห์..... 37
7	ค่าเฉลี่ยของขนาดเซลล์คุม จำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม และความยาวรากของต้นแดงโมที่รอดชีวิต จากการแช่ในสารละลายโคลชิซินเมื่อมีอายุได้ 8 สัปดาห์..... 39

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า
8	เปอร์เซ็นต์ของดินแดงโมที่คาดว่าจะเป็นผลผลิตอศ์จากการแ้ สารละลายโคลทึน.....42
9	สารเคมีและเวลาในการ fixative hydrolyze และ staining ของรากแดงโมจากหลอดทดลอง ด้วยวิธีเตรียมเซลล์ เพื่อตรวจนับโครโมโซมในรากพืชที่ได้จากหลอดทดลอง.....44
10	สารเคมีและเวลาในการ pretreatment fixative hydrolyze และ staining ของรากแดงโมจากหลอดทดลอง ด้วยวิธีเตรียมเซลล์เพื่อตรวจนับโครโมโซมในรากพืชทั่วไป.....45

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แคลลัสสีขาวใสที่เกิดจากผิวใบเลี้ยง มีการเรียงตัวของเซลล์ อย่างหลวม ๆ อายุ 6 สัปดาห์.....	20
2	แคลลัสสีเหลืองที่เกิดจากรอยตัดของใบเลี้ยง มีการเรียงตัว ของเซลล์ค่อนข้างแน่น อายุ 6 สัปดาห์.....	20
3	แคลลัสสีเขียวที่เกิดจากรอยตัดของใบเลี้ยง มีการเรียงตัว ของเซลล์แน่น อายุ 6 สัปดาห์.....	22
4	รากที่เกิดจากอาหารสูตรที่ให้สารควบคุมการเจริญ IAA พบเป็น จำนวนน้อยเป็นรากขนาดสาว มีการแตกแขนง และมีสีเขียว.....	22
5	รากที่เกิดจากอาหารสูตรที่ให้สารควบคุมการเจริญ NAA พบเป็น จำนวนมากเป็นขนาดรากสั้น ไม่มีการแตกแขนงและมีสีเขียวเหลือง....	23
6	การเกิดรากร่วมกับการเกิดแคลลัสที่พบในอาหาร MS ที่เติม IAA 1-2 mg/l หรือ NAA 1 mg/l ร่วมกับ BAP 0.5-1 mg/l.....	23
7	ยอดที่สมบูรณ์ที่พัฒนาจากแคลลัสเขียวจากเนื้อเยื่อใบเลี้ยง เมื่อเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์.....	26

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่	หน้า
8	ยอดที่สมบูรณ์ที่พัฒนาจากแคลลัสสีเขียวจากเนื้อเยื่อใบเลี้ยง เมื่อเวลาผ่านไป 6 สัปดาห์.....27
9	แคลลัสสีเหลืองที่เกิดจากเนื้อเยื่อ hypocotyl มีการเรียงตัว ของเซลล์ค่อนข้างแน่น อายุ 6 สัปดาห์.....28
10	แคลลัสสีเขียวที่เกิดจากเนื้อเยื่อ hypocotyl มีการเรียงตัว ของเซลล์แน่นมาก อายุ 6 สัปดาห์.....28
11	ต้นแดงโม่ที่มียอดและรากสมบูรณ์ในอาหารสูตรที่ 2 (MS + IAA 1 mg/l) อายุ 3 สัปดาห์.....31
12	ก. ต้นแดงโม่ที่ไม่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซิน (ต้นควบคุม) ข. ต้นแดงโม่ที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซินที่มีการเกิด ยอดจากตาข้าง ค. ต้นแดงโม่ที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซินที่มีลำต้นและ ใบหนา แข็ง เพราะ.....36
13	ขนาดของเซลล์คุมจากผิวใบของต้นแดงโม่ที่ไม่ผ่านการแช่สาร ละลายโคลชิซิน (ต้นควบคุม) กำลังขยาย 1000 เท่า.....41
14	ขนาดของเซลล์คุมจากผิวใบของต้นแดงโม่ที่ผ่านการแช่สาร ละลายโคลชิซิน กำลังขยาย 1000 เท่า.....41

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
15	กราฟแสดงค่าเฉลี่ยความสูงของปลาชอดแดงโม (เซนติเมตร) ในอาหาร 20 สูตร เมื่อเวลา 8 สัปดาห์.....50
16	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดรากที่เกิดจากการเลี้ยงปลาชอดแดงโมในอาหาร 20 สูตรเมื่อเวลา 8 สัปดาห์.....50
17	กราฟแสดงค่าเฉลี่ยจำนวนรากที่เกิดจากการเลี้ยงปลาชอดแดงโมในอาหาร 20 สูตร เมื่อเวลา 8 สัปดาห์.....51
18	กราฟแสดงค่าเฉลี่ยจำนวนยอดที่เกิดจากการเลี้ยงปลาชอดแดงโมในอาหาร 20 สูตร เมื่อเวลา 8 สัปดาห์.....51
19	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปลาชอดแดงโมที่ผ่านการแช่ในสารละลายโคลชิซิน 24 treatment แล้วย้ายมาเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 2 เมื่อเวลา 8 สัปดาห์.....54

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย