การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์จากเนื้อเยื่อมันเทศประดับด้วยสารละลายโคลชิซีนชนิดเม็ดในสภาพปลอดเชื้อ

Induce Polyploid Ornamental Sweet Potato *In Vitro* by Colchicine Tablet

นุชรัฐ บาลลา* และธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์

ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

ธีระชัย ธนานันต์

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Nutcharat Balla* and Thunya Taychasinpitak

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkhen Campus,

Ladyao, Chatuchak, Bangkok, 10900

Theerachai Thanananta

Department of Biotechnology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,

Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

ปัจจุบันความนิยมใช้ไม้ตัดดอก ไม้ดอกกระถาง และไม้ตัดใบมีเพิ่มมากขึ้น เพราะสามารถให้ความสวยงามแก่สถานที่ต่าง ๆ เพิ่มขึ้น และส่งผลให้เกิดความเย็นแก่สถานที่ปลูกอีกด้วย มันเทศประดับเป็นพืชอยู่ในวงศ์ผักบุ้ง (Convolvulaceae) มีใบรูปทรงต่าง ๆ มากมาย และสีสันที่สวยงามสะดุดตา แตกต่างจากมันเทศทั่วไปที่มีสีเขียวเพียงอย่างเดียว โดยจุดประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ เพื่อศึกษาผลของสารโคลชิซีนที่ทำให้มันเทศประดับในสภาพปลอดเชื้อเกิดการเปลี่ยนแปลงระดับพลอยดี โดยนำตาข้างของมันเทศประดับพันธุ์ใบหยัก (MTL) และใบหยักลึก (MTDL) มาฟอกฆ่าเชื้อและเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ และสับแยกเนื้อเยื่อ แล้วแช่ตาข้างในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสารละลายโคลชิซีนเข้มข้น 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1, 2 และ 3 วัน ตามลำดับ พบว่าระยะเวลาและความเข้มข้นที่ใช้แช่โคลชิซีนมีผลต่อการเกิดโพลีพลอยด์ (polyploid) หลังจากนั้นจึงย้ายตัวอย่างลงอาหารแข็งสูตร MS เมื่อเพาะเลี้ยง 30 วัน นำไปทดสอบความเป็นโพลีพลอยด์ด้วยยวิธี flow cytometry ผลการทดลองพบว่ามันเทศประดับ MTL ที่แช่โคลชิซีนความเข้ม 2.5 มิลลิรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 2 วัน และ MTDL ที่โคลชิซีนระดับความเข้ม 5 มิลลิรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 2 วัน สามารถชักนำให้เกิด mixoploid

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** nutcharat.b@gmail.com

DOI 10.14456/tstj.2017.22

คำสำคัญ : มันเทศประดับ; วงศ์ผักบุ้ง; โคลชิซีน; โพลีพลอยด์

Abstract

The flowering plant is famous at present, these plants made magnificent place. The ornamental sweet potato is in Convolvulaceae family. It different sweet potato, has shape and beautiful color. The objective was to study the effect of colchicine for polyploid on ornamental sweet potato *in vitro*. In this experiment, the axillary buds of ornamental sweet potatoes, lobe leaf (MTL) and deep lobe leaf (MTDL) cultivars, were used for explants in clean culture. After 8 weeks of culturing on MS medium. The explants were treated in MS broth medium supplemented with colchicine 2.5, 5 and 10 mg/L at 1, 2 and 3 days, respectively. After that, transfer explant to MS medium and cultured for 30 days. The culture would be screened the polyploid with flow cytometry. The results revealed that the MTL which was treated 2.5 mg/L colchicine for 2 days and MTDL which was treated 5 mg/L for 2 days were mixoploid.

Keywords: ornamental sweet potato; Convolvulaceae; colchicine; polyploid

1. บทนำ

ปัจจุบันความนิยมใช้ไม้ตัดดอก ไม้ดอกกระถาง และไม้ตัดใบได้เพิ่มมากขึ้น เนื่องมาจากวิถีการดำรงชีวิตที่เปลี่ยนแปลงไป จากที่เคยมีที่พักอาศัยที่มีบริเวณและสามารถปลูกต้นไม้ดอกไม้ได้ เป็นการอาศัยอยู่ในอาคารชุดหรือบ้านจัดสรรที่มีพื้นที่ค่อนข้างจำกัด คนไทยยังได้นำเอาวัฒนธรรมของโลกตะวันตกเข้ามาใช้ในชีวิตประจำวันหลายประการ เช่น การกินการอยู่ และการมอบดอกไม้ให้แก่ผู้ที่ตนเคารพในหลาย ๆ โอกาส

มันเทศประดับ (ornamental sweet potato) เป็นพืชอยู่ในวงศ์ผักบุ้ง (Convolvulaceae) ลักษณะลำต้นของมันเทศประดับมีลักษณะทั้งตั้งตรงและเลื้อย ใบมีลักษณะคล้ายหัวใจและใบแฉกคล้ายใบเมเปิ้ลหรือใบไอวี่ ทนแล้งได้เป็นอย่างดี จึงเหมาะในการใช้เป็นพืชคลุมดิน (bedding plant) และปลูกเป็นไม้แขวนร่วมกับไม้ดอกชนิดอื่น [1]

การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยการเพิ่มจำนวนของโครโมโซมเป็นโพลีพลอยด์ (polyploid) เนื่องจากพวกออโตโพลีพลอยด์ (autopolyploid) มักมีขนาดของดอกและเมล็ดใหญ่ขึ้น แต่มีการแตกกิ่งก้านสาขาหรือแตกกอน้อยลง มีอายุนานขึ้น และมีจำนวนเมล็ดน้อยลง สำหรับสาเหตุของการเกิดโพลีพลอยด์นั้นโดยทั่วไปเกิดจากการที่โครโมโซมไม่มีการแยกออกจากกัน (non-disjunction) ในระยะแอนาเฟส (anaphase) ของการแบ่งแบบไมโอซิส (meiosis) อันเป็นผลสืบเนื่องมาจากการควบคุมของสารพันธุกรรม นอกจากการเกิดโพลีพลอยด์ในสภาพธรรมชาติแล้ว นักปรับปรุงพันธุ์พืชยังสามารถสร้างพืชโพลีพลอยด์ขึ้นโดยใช้สารโคลชิซีน (colchicine) ในการเพิ่มชุดของจำนวนโครโมโซม การชักนำให้ เกิดโพลีพลอยด์ในพืชถือได้ว่าเป็นการชักนำให้ เกิด chromosome mutation ซึ่งเป็นประโยชน์ทั้งในด้านการปรับปรุงพันธุ์และเพื่อศึกษาการพัฒนาส่วนต่าง ๆ ของพืชจากชั้นของเซลล์ meristem [2]

สารโคลชิซีน (colchicine) สกัดได้จากเมล็ดและหัวของต้นดองดึง ชื่อวิทยาศาสตร์ *Colchicum*

autumnale เป็นสารประเภท alkaloid ในอดีตสามารถสกัดได้จาก Colchicumn (*Colchicum autumnale*) ซึ่งเป็นพืชป่าแถบทะเลเมดิเตอเรเนียน มีสารอัลคาลอยด์ 20 ชนิด พบในส่วนของหัวและเมล็ด สารอัลคาลอยด์ส่วนใหญ่ คือ สารโคลชิซีน ซึ่งลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีเหลืองอ่อน โคลชิซีนบริสุทธิ์มีสูตรโครงสร้างทางเคมี $C_{22}H_{25}NO_6$ ลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มไม่มีสี ละลายได้ง่ายในแอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม และน้ำเย็น มีประโยชน์ทางการแพทย์ใช้ในการรักษาโรคเก๊าท์ [3]

ในการปรับปรุงพันธุ์พืชนั้น นิยมนำโคลชิซีนบริสุทธิ์มาใช้ในการเพิ่มชุดโครโมโซม แต่เนื่องจากความเป็นพิษของโคลชิซีนส่งผลอันตรายต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงใช้ยารักษาโรคเก๊าที่มีโคลชิซีนเป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย ทั้งนี้เพื่อลดความอันตรายต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม

วัตถุประสงค์ของการทดลองครั้งนี้ เพื่อศึกษาผลของโคลชิซีนที่ได้จากยารักษาโรคเก๊าที่ทำให้มันเทศประดับเกิดโพลีพลอยด์ในสภาพปลอดเชื้อ

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมชิ้นส่วนพืช

ฟอกฆ่าเชื้อตาข้างของมันเทศประดับด้วย Clorox® เข้มข้น 20 % นาน 10 นาที และ Clorox® เข้มข้น 10 % นาน 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง และแช่ใน 70 % เอทธิลแอลกอฮอล์ เป็นเวลา 2 นาที เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS โดยไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (PGR) เป็นระเวลาประมาณ 8 สัปดาห์ ภายใต้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,600 ลักษ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

2.2 การเตรียมสารละลายโคลชิซีน

นำยารักษาโรคเก๊ายี่ห้อ colchicine ที่มีปริมาณโคลชิซีน 0.6 % ละลายน้ำให้ได้ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร กรองสารละลายโคลชิซีนเพื่อทำให้สารละลายโคชิซีนปลอดเชื้อ (ขั้นตอนนี้ต้องทำในตู้ปลอดเชื้อ) โดยใช้ฟิลเตอร์ขนาด 0.2 ไมโครเมตร

2.3 การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์

ย้ายต้นมันเทศประดับ (subculture) และนำตาข้างของมันเทศประดับในสภาพปลอดเชื้อจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ นำมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสารละลายโคลชิซีนที่ระดับความเข้มข้น 2.5, 5 และ 10 mg/L เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ทีไม่เติม PGR แล้วตรวจวัดอัตราการรอดและบันทึกผลการการเจริญเติบโต เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

2.4 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD, completely randomized design) แบ่งเป็น 12 treatment จำนวน treatment ละ 10 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น และวิคราะห์ผลการทดลองด้วย SPSS 17.0

2.5 การบันทึกผล

2.5.1 นับจำนวนต้นที่รอดชีวิตหลังด้รับสารโคลชิซีน

2.5.2 นำต้นที่ได้รับสารโคลชิซีนไปเช็คจำนวนชุดโครโมโซมด้วยวิธี flow cytometry

2.5.3 นับจำนวนปากใบต่อพื้นที่

2.5.4 วัดขนาดของเซลล์คุมของต้นที่เกิดโพลีพลอยด์

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

เมื่อนำตาข้างของมันเทศประดับที่อยู่ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมสารละลายโคลชิซีน (ในที่นี้ใช้ยารักษาโรคเก๊าที่มีส่วนผสมของสารโคลชิซีน 0.6 % ต่อเม็ด) ที่ระดับความเข้มข้น 2.5, 5 และ 10 mg/L เป็นระยะเวลา 24,

48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากครบเวลาตามที่กำหนดจึงย้ายข้อไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่เติม PGR พบว่าต้นมันเทศประดับทั้งพันธุ์ MTL และ MTDL ที่ไม่ได้รับสารโคลชิซีนมีอัตราการรอด 100 % และพบว่าต้น MTL และ MTDL ที่ได้รับสารโคลชิซีนเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการรอดต่ำที่สุด คือ 20 และ 30 % ตามลำดับ (ตารางที่1)

ตารางที่ 1 อัตราการรอดของมันเทศประดับที่เลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร MS หลังจากที่ได้รับสารโคลชิซีนที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ปริมาณโคลชีน (mg/L)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	อัตราการรอด (%)	
		MTL	MTDL
0 (control)	24	100	100
	48	100	100
	72	100	100
2.5	24	100	90
	48	80	70
	72	60	60
5	24	100	90
	48	50	60
	72	20	60
10	24	80	90
	48	40	40
	72	20	30

พบว่าต้นที่ได้รับโคลชิซีนที่ปริมาณสูงขึ้นจะมีอัตราการรอดจะลดลง โดยสอดคล้องกับระยะเวลาที่ได้รับสารโคลชิซีนที่เมื่อได้รับสารโคลชิซีนเป็นเวลานาน ถึงแม้ความเข้มข้นของสารโคลชิซีนจะน้อยก็พบว่าต้นมันเทศประดับยังมีการตาย ซึ่งปริมาณความเข้มข้นของสารโคลชิซีนและระยะเวลาที่ใช้ในการแช่ต้นพืชเมื่อปริมาณความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะส่งผต่ออัตราการรอดของพืช [4] หลังจากเลี้ยงต้นมันเทศประดับที่ได้รับสารโคลชิซีนเป็นระยะเวลา 30 วัน จึงคัดเลือกต้นที่คาดว่าจะเกิดลักษณะโพลีพลอยด์ไปตรวจสอบด้วยวิธี flow cytometry ซึ่งวิธีการสังเกตุต้นมันเทศประดับที่คาดว่าจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครโมโซมในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมี ดังนี้

3.1 ใบมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้น control

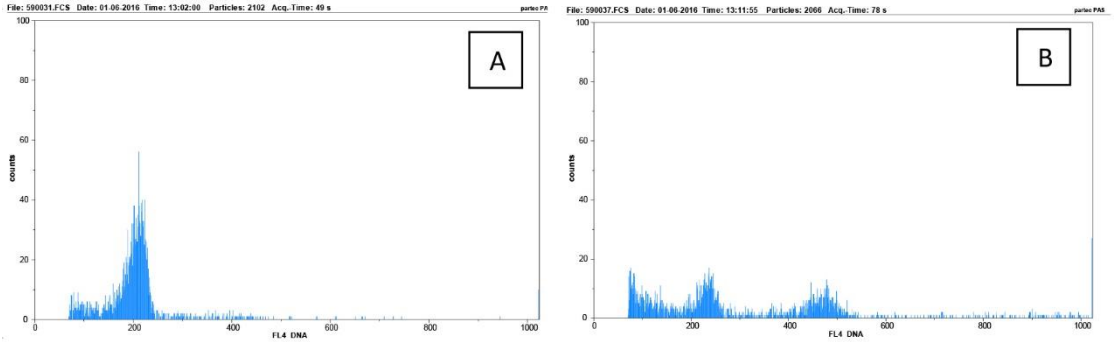
3.2 ลักษณะข้อมีขนาดสั้นลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับต้น control

3.3 ขนาดของลำต้นมีขนาดใหญ่ขึ้น

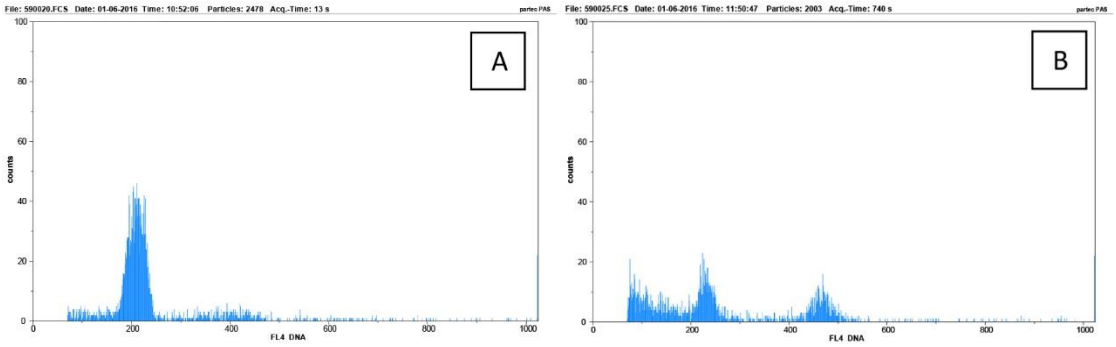
3.4 ขนาดของรากเมื่อเปรียบเทียบกับต้น control มีขนาดใหญ่ขึ้น

ผลของสารโคลชิชินที่มีต่อพืชนั้นนอกจากทำให้อัตราการรอดของพืชลดลงแล้ว ลักษณะที่เกิดขึ้นของพืช คือ ลำต้นของพืชมีขนาดสั้นลง การเจริญเติบโตของต้นและข้อปล้องช้า ใบที่เกิดใหม่มีลักษณะผิดไปจากปกติ เช่น มีลักษณะหงิก [5]

เมื่อนำต้นมันเทศประดับไปทดสอบด้วยวิธี flow cytometry พบว่ามันเทศประดับพันธุ์ MTL และ MTDL ที่ได้รับสารโคลชิซีนสามารถเกิด mixoploid ได้ (รูปที่ 1 และ 2) แต่ไม่พบว่ามี treatment ใดเกิด tetraploid หรือ hexaploid (ตารางที่ 2) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Nilanthi และ Yang [6] ที่ได้ศึกษาระยะเวลาและปริมาณของโคชิซีนที่เหมาะสมต่อการเกิด octaploid ของ *Echinacea purpurea* L. พบว่าเมื่อนำตัวอย่างพืชแช่ในโคลชิซีนปริมาณ 100-1,000 mg/L เป็นระยะเวลา 1-5 วัน ในสภาพปลอดเชื้อพบว่าไม่มี tetraploid เกิดขึ้น แต่เกิดเพียงไคเมอร์รา (chimera) เท่านั้น และระยะเวลาในการได้รับสารโคลชิซีนเป็นปัจจัยสำคัญในการทำให้เกิดโพลีพลอยด์ และเมื่อระดับความเข้มข้นของโคลชิซีนมีความเข้มข้นสูงจะส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตของพืชนั้น ๆ [7]



รูปที่ 1 กราฟแสดงลักษณะพลอยดีของมันเทศประดับพันธุ์ MTL ที่ได้จาก flow cytometry โดย (A) คือ control diploid และ (B) คือ mixoploid



รูปที่ 2 กราฟแสดงลักษณะพลอยดีของมันเทศประดับพันธุ์ MTDL ที่ได้จาก flow cytometry โดย (A) คือ control diploid และ (B) คือ mixoploid

เมื่อตรวจนับจำนวนปากใบของต้นมันเทศประดับที่ต้นเกิด mixoploid พบว่ามันเทศประดับพันธุ์ MTL ที่ได้รับโคลชิซีนเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง มีจำนวนปากใบน้อยที่สุด คือ 3.0±1.0 และ MTDL ที่ได้รับโคลชิซีนเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนปากใบน้อยที่สุด คือ 3.66±0.66 ซึ่งเมื่อนำทั้งสองพันธุ์มาเปรียบเทียบกับจำนวนปากใบของต้นควบคุมพบว่าต้นควบคุมพันธุ์ MTL และ MTDL มีจำนวนปากใบ 9.0±0.57 และ 8.33±1.85 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จำนวนปากใบต่อพื้นที่เฉลี่ยมีจำนวนลดลงเมื่อเทียบกับปากใบของมันเทศประดับที่ไม่ได้รับสารโคลชิซีน (ตารางที่ 3) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Nilanthi และ Yang [6] ที่ชักนำให้เกิด octaploid ใน *Echinacea purpurea* L. โดยใช้สารโคลชิซีน 30, 60, 120 และ 240 มิลลิ กรัมต่อลิตร พบว่าพืชที่เกิดออกต้าพลอยด์จะมีขนาดของปากใบที่ใหญ่ขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อวัดขนาดของเซลล์คุมทั้งด้านกว้างและด้านยาว พบว่าเมื่อต้นมันเทศประดับได้รับโคลชิซีนในปริมาณที่มากขึ้นหรือระยะเวลานานขึ้นจะทำให้ขนาดของเซลล์คุมมีขนาดที่แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้รับสารโคลชิซีน (ตารางที่ 4) ซึ่งสารโคลชิซีนทำให้โครโมโซมไม่เกิดการแยกตัวในระยะแอนนาเฟส ทำให้มีผลต่อพืช

โดยทำให้มีลักษณะของการ์ดเซลล์ (guard cell) มีขนาดที่ใหญ่ขึ้นและจำนวนของปากใบต่อพื้นที่ลดลง [8]

ตารางที่ 2 การเกิดโพลีพลอยด์ของมันเทศประดับที่เลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร MS หลังจากที่ได้รับสารโคลชิซีนที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน หลังจากย้ายลงอาหารสูตร MS เป็นระยะเวลา 30 วัน

ปริมาณโคลชีน (mg/L)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ระดับพลอยด์ดี	
		MTL	MTDL
0 (control)	24	diploid	diploid
	48	diploid	diploid
	72	diploid	diploid
2.5	24	diploid	diploid
	48	diploid	diploid
	72	mixoploid	diploid
5	24	diploid	diploid
	48	mixoploid	mixoploid
	72	mixoploid	mixoploid
10	24	mixoploid	diploid
	48	mixoploid	diploid
	72	mixoploid	mixoploid

4. สรุป

การศึกษาในครั้งนี้พบว่าโคลชิซีนที่ได้จากยารักษาโรคเก๊าสามารถทำให้ตาข้างของมันเทศประดับที่ได้รับสารโคลชิซีนเกิด mixoploid ได้ แต่ไม่พบว่าเกิด tetraploid หรือ octaploid เนื่องจากปริมาณความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซีนที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ต่ำเกินไป แต่สามารถนำหลักการนี้ไปปรับใช้ในพืชชนิดอื่นได้ โดยไม่ต้องใช้โคลชิซีนบริสุทธิ์ซึ่งมีผลข้างเคียงที่เป็นอันตรายที่ส่งผลต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม โดยอาจปรับระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซีนหรือระยะเวลาที่ได้รับสารให้เหมาะสมในแต่ละพืช ในการสร้างโพลีพลอยด์ของมันเทศประดับนั้นอาจเปลี่ยนชนิดชิ้นพืชที่ใช้ในการทดลอง เช่น ใช้ส่วนของรากสะสมอาหารมาแช่สารโคลชิซีน หรือเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารโคลลชิซีน หรือลดระยะเวลาในการแช่ชิ้นพืช

ตารางที่ 3 จำนวนปากใบต่อพื้นที่ของมันเทศประดับที่เกิดลักษณะ mixoploid

ปริมาณโคลชีน (mg/L)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	จำนวนปากใบต่อพื้นที่	
		MTL	MTDL
0 (control)	-	9.0 ± 0.57^{b}	8.33 ± 1.85^{b}
2.5	72	3.0 ± 1.0^{a}	-
5	48	5.5 ± 0.5^{a}	5 ± 1.0^{a}
	72	6.5 ± 1.5^{a}	3.66 ± 0.66^{a}
10	24	5.5 ± 1.5^{a}	-
	48	4.0 ± 2.0^{a}	-
	72	5.0 ± 0.5^{a}	4.0 ± 0.57^{a}
F-test		*	*

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนประเภทบัณฑิตศึกษา จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2557

6. รายการอ้างอิง

[1] Ornamental Sweet Potatoes: How To Grow An Ornamental Sweet Potato Plant By Nikki Phipps (Author of The Bulb-o-licious Garden), Available Source: http://

ตารางที่ 4 ขนาดการ์ดเซลล์ของมันเทศประดับที่เกิดลักษณะ mixoploid

ปริมาณโคลชิซีน (mg/L)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ความกว้างของการ์ดเซลล์		ความยาวของการ์ดเซลล์	
		MTL	MTDL	MTL	MTDL
0 (control)	-	22.28±1.97^{b}	15.41±1.18^{a}	34.42±1.22^{b}	31.42±1.57^{b}
2.5	72	30.47±3.07^{b}	-	36.26±3.66^{b}	-
5	48	30.13±0.58^{c}	26.49±1.71^{c}	32.20±0.60^{b}	23.10±1.70^{a}
	72	25.58±1.45^{ab}	22.75±1.33^{b}	31.35±1.17^{b}	34.13±0.66^{b}
10	24	27.89±1.78^{ab}	-	34.06±1.79^{b}	-
	48	9.43±0.30^{a}	-	9.22±0.53^{a}	-
	72	25.58±1.4^{ab}	13.75±0.86^{a}	31.35±1.16^{b}	25.07±1.86^{a}
F-test		*	*	*	*

www.gardeningknowhow.com/edible/vegetables/sweet-potato/grow-sweet-potato-plant.htm, May 5, 2016.

[2] อดิศร กระแสชัย, 2539, การปรับปรุงพันธุ์ไม้ดอกโดยวิธีการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์, เอกสารประกอบการสอนวิชาการปรับปรุงพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับ, ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

[3] Popovic, M. and Gasic, O., 1993, Alkaloids form wild growing plant, Hemijshi Pregled 34: 50-53.

[4] Pio, L.A.S., Pasqual, M., e Silva, S.d.O., Rocha, H.S., Magalhães, H.M. and Santos-Serejo, J.d.A., 2014, Inducing and identifying artificially-induced polyploidy in bananas, Afr. J. Biotechnol. 13: 3748-3758.

[5] Guofeng, L., Zhineng, L. and Manzhu, B., 2007, Colchicine-induce chromosome doubling in *Platanus acerifolia* and its effect on plant morphology, Euphytica 157: 145-154.

[6] Nilanthi, D. and Yang, Y.S., 2013, *In vitro* induction of octaploid from colchicine-treated tetraploid petiole explant of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.), Trop. Agric. Res. Extens. 16: 25-30.

[7] Derman, H., 1940, Colchicine polyploidy and technique, Bot. Rev. 6: 599-635.

[8] Chakraborti, S.P., Vijayan, K., Roy, B.N. and Qadri, S.M.H., 1998, *In vitro* induction of tetraploidy in mulberry (*Morus alba* L.), Plant Cell Rep. 17: 799-803.