การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของแคคตัสยิมโนคาไลเซียม มิฮาโนวิชิอายโดยใช้สารโคลชิซีน

วิทยานิพนธ์
ของ
ณัฏฐกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์
กรกฎาคม 2566

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของแคคตัสยิมโนคาไลเซียม มิฮาโนวิชิอายโดยใช้สารโคลชิซีน

วิทยานิพนธ์
ของ
ณัฏฐกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์
กรกฎาคม 2566

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Induced Mutation in Cactacea (*Gymnocalycium mihanovichii*) using Colchicine

Natthakitti Boonyawiwat

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of Requirements
for Master of Science (Agriculture)
July 2023
Copyright of Mahasarakham University

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนายณัฏฐกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์ แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

....ประธานกรรมการ
(ผศ. ดร. ประภัสสร บุษหมั่น)

....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผศ. ดร. เกรียงศักดิ์ บุญเที่ยง)

....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผศ. ดร. ชฎาพร เสนาคุณ)

....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผศ. ดร. ธนภร สิริตระกูลศักดิ์)

....กรรมการ
(รศ. ดร. สุรพล แสนสุข)

....กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(ผศ. ดร. ปริญดา แข็งขัน)

มหาวิทยาลัยอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

....	....
(ผศ. ดร. สุมลวรรณ ชุ่มเชื้อ)	(รศ. ดร. กริสน์ ชัยมูล)
คณบดีคณะเทคโนโลยี	คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของแคคตัสยิมโนคาไลเซียม มิฮาโนวิชิอายโดยใช้สารโคลชิซีน
ผู้วิจัย ณัฎฐกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกรียงศักดิ์ บุญเที่ยง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชฎาพร เสนาคุณ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนภร สิริตระกูลศักดิ์
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต **สาขาวิชา** เกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม **ปีที่พิมพ์** 2566

บทคัดย่อ

แคคตัสเป็นหนึ่งในไม้ประดับเศรษฐกิจที่มีมูลค่าผันแปรไปตามกระแสตลาดที่มักให้ความสนใจเป็นพิเศษกับลักษณะที่แปลกใหม่เมื่อเปรียบเทียบกับพืชพันธุ์เดิมที่มีความนิยมลดลง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเทคนิคการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *Gymnocalycium mihanovichii* โดยใช้สารใช้สารโคลชิซินและเพื่อศึกษาเทคนิคทางเซลล์พันธุศาสตร์ในการระบุจำนวนโครโมโซม โดยแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้ การทดลองที่ 1 วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของสารโคลชิซีน 3 ระดับ ได้แก่ 0, 0.25 และ 0.50 เปอร์เซ็นต์ ปัจจัยที่ 2 ศึกษาระยะเวลาในการจุ่มแช่สาร เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง รวม 6 กรรมวิธีๆ 5 ซ้ำ การทดลองที่ 2 การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ด้วยการศึกษาจากการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสและไมโอซิสเพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซม นอกจากนี้ยังศึกษากายวิภาคศาสตร์เนื้อเยื้อผิวชั้นนอกของพืชทดลอง ผลการศึกษาพบว่าพืชที่ได้รับโคลชิซีนเข้มข้น 0.50 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีความสูงของ ลำต้นเฉลี่ย 4.60 เซนติเมตร และมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 5.72 เซนติเมตร ส่วนพืชที่ได้รับโคลชิซีนเข้มข้น 0.50 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เกิดลักษณะใหม่เป็นแคคตัสไร้หนาม ทั้งนี้ความเข้มข้นของสารและระยะเวลาที่พืชได้รับไม่มีผลต่อจำนวนพูต่อต้น อย่างไรก็ตามพืชที่ได้รับโคลชิซีนเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีขนาดเซลล์ปากใบเฉลี่ย 23.25 ไมโครเมตร ส่วนพืชที่ได้รับสารเข้มข้นเท่ากันเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีจำนวนเซลล์ปากใบเฉลี่ย 14.75 เซลล์ ต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร

คำสำคัญ : แคตัสยิมโนคาไลเซียม มิฮาโนวิชิอาย, โคลชิซีน, สัณฐานวิทยา, แคคตัสไร้หนาม, เซลล์พันธุศาสตร์, กายวิภาคศาสตร์เนื้อเยื้อชั้นผิว

TITLE Induced Mutation in Cactacea (*Gymnocalycium mihanovichii*)
using Colchicine
AUTHOR Natthakitti Boonyawiwat
ADVISORS Assistant Professor Kriangsak Boontiang , Ph.D.
Assistant Professor Chadaporn Sanakoon , Ph.D.
Assistant Professor Tanapon Siritrakulsak , Ph.D.
DEGREE Master of Science **MAJOR** Agriculture
UNIVERSITY Mahasarakham University **YEAR** 2023

ABSTRACT

CCacti are economic ornamental plants whose value varies with market trends. Recently, cacti with new morphologies were becoming more popular than the original ones. This research investigated the effect of colchicine on morphological and cytogenetic techniques anatomical traits in *Gymnocalycium mihanovichii* and to characterize the shape Matching and number of chromosomes of 10 genera of cactus family cultivated in Thailand. It was divided into 2 experiments as follows: Experiment 1 used a two-factor factorial design. The first factor was the colchicine concentration at 0, 0.25 and 0.5%. and the second factor was the duration of the dipped stem at 24 h and 48 h for a total of 6 methods with 5 repartitions. Experiment 2 was a study of cell genetics by examining the number of chromosomes in mitosis and miosis stages. The results indicated that G. *mihanovichii* treated with 0.25% colchicine for 24 h. and average height at 4.60 cm., and average diameter at 5.72 cm. *G. mihanovichii* treated with 0.50% colchicine for 48 h developed a new morphological trait called spineless cactus. However, the concentration and the duration of exposure were no effect on the number of ribs. Occurrences of larger sized stomata with lower frequency per unit area were statistically significantly different after treatment with 0.25% colchicine for 24 h. with average stomata cell was 23.25 µm. Also, the plants treated with the same concentration for 48 h. had an average stoma at 14.75 µm. /1 mm^2.

Keyword : gymnocalycium mihanovichii, colchicine, morphological trait, spineless, genetics, epidermis anatomy

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณา และความช่วยเหลืออย่างสูงยิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประภัสสร บุษหมั่น ประธานกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกรียงศักดิ์ บุญเที่ยง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชฎาพร เสนาคุณ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนพร สิริตระกูลศักดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รองศาสตราจารย์ ดร. สุรพล แสนสุข กรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปริญดา แข็งขัน กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

ขอขอบคุณบุคลากร คณาจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีเกษตร คณะเทคโนโลยี ทุกท่านที่อบรมสั่งสอนและเมตราต่อศิษย์ ขอขอบคุณทางสถาบันวิจัยวลัยรุกเวช มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่ได้อนุเคราะห์สถานที่ อุปกรณ์ และองค์ความรู้ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกรียงศักดิ์ บุญเที่ยง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ที่เปิดโอกาศให้ผู้วิจัยได้สามารถแสดงศักยภาพของตัวเองออกมาอย่างเต็มที่ ถึงแม้ว่าจะมีข้อจำกัดหลายๆด้าน แต่ท่านอาจารย์ก็คอยให้กำลังใจและให้คำปรึกษาตลอดจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้สำเร็จตามเป้าหมาย และวัตถุประสงค์ของผู้วิจัย

ขอขอบคุณเพื่อนร่วมรุ่น รวมทั้งท่านอาจารย์เมษา อุทัยรัตน์ อาจารย์ประจำหลักสูตรศิลปะการละคร คณะศิลปกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ

การเชิญชวนไปทำละครเพื่อบำบัดภาวะความเครียดของผู้วิจัย อีกทั้งยังให้คำปรึกษาและเป็นกำลังใจตลอดมา

ประโยชน์และคุณค่าจากงานวิจัยเล่มนี้ ขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณบิดา – มารดาและครู - อาจารย์ ที่มีส่วนให้ชีวิตและปัญญาแก่ผู้วิจัยจนประสบผลสำเร็จ

ณัฏฐกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย .... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .... ฉ

กิตติกรรมประกาศ .... ซ

สารบัญ .... ฌ

สารบัญตาราง .... ฏ

สารบัญภาพ .... ฐ

บทที่ 1 1

บทนำ 1

- 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย 1
- 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 3
- 1.3 ขอบเขตของการวิจัย 3
- 1.4 สมมติฐานของการวิจัย 3
- 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3
- 1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ 3

บทที่ 2 5

ปริทัศน์เอกสารข้อมูล 5

- 2.1 พืชวงศ์แคคตัส 5
  - 2.1.1 การจำแนกพืชวงศ์แคคตัสตามหลักอนุกรมวิธานมีลายละเอียดดังนี้ 5
  - 2.1.2 ถิ่นกำเนิด ความหลากชนิด และการกระจายพันธุ์ของแคคตัส 6
  - 2.1.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชวงศ์แคคตัส 7
  - 2.1.4 พืชวงศ์แคคตัสที่นิยมปลูกเลี้ยงในประเทศไทย 15

2.1.5 การขยายพันธุ์และการปลูกเลี้ยงแคคตัส 19

2.2 การกลายพันธุ์ในพืช 22

2.3 การศึกษาโครโมโซมพืช....................23

2.3.1 รูปร่างและลักษณะของโครโมโซม 24

2.4 การเกิดพอลิพลอยด์....................25

2.5 โคลชิซินและการประยุกต์ใช้ประโยชน์....................26

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง....................28

2.6.1 การศึกษาจำนวนโครโมโซมพืชวงศ์แคคตัส 28

บทที่ 3 43

วิธีดำเนินการวิจัย....................43

การทดลองที่ 1 การชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ใน *G. mihanovichii* 43

3.1 การเตรียมพืชตัวอย่าง 43

3.1.1 สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ....................44

3.1.2 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยสารโคลชิซินในต้นอ่อน *G. mihanovichii* 45

การทดลองที่ 2 การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของพืชใน *G. mihanovichii*....................46

3.2 การเตรียมพืชตัวอย่าง 46

3.2.1 สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ....................46

3.2.2 การศึกษาการแบ่งเซลล์แบบไมโทซีส (Mitosis)....................46

3.2.3 ศึกษาโครโมโซมจากเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์....................48

3.2.3 การศึกษากายวิภาคศาสตร์เนื้อเยื่อชั้นผิว 50

บทที่ 4 51

ผลการทดลอง....................51

4.1 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *G. mihanovichii* 51

4.1.2 อัตราการรอดชีวิต....................51

4.1.3 การศึกษาการเจริญเติบโตของ *G. mihanovichii*......51

4.2 การตรวจสอบลักษณะการชักนำให้กลายพันธุ์ด้วยลักษณะกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อชั้นผิวลำต้นของ *G. mihanovichii*......55

4.2.1 ผลต่อจำนวนและขนาดโครโมโซมของ *G. mihanovichii* 58

บทที่ 5 60

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 60

5.1 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *G. mihanovichii* 60

5.3 ข้อเสนอแนะ 61

บรรณานุกรม 62

ประวัติผู้เขียน 71

พหูน ปญฺญาโต ชีเว

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ขนาด รูปร่าง และสีของเปลือกหุ้มเมล็ดแคคตัส 14

ตารางที่ 2 การศึกษาจำนวนโครโมโซมพืชวงศ์แคคตัส 29

ตารางที่ 3 พอลิพลอยด์และโครโมโซมของ *Opuntia* 6 ชนิด 32

ตารางที่ 4 จำนวนโครโมโซมของ *Echinocereus* 2 ชนิด 34

ตารางที่ 5 จำนวนโครโมโซมของ *Pachycereus pringlei* ในถิ่นอาศัย 37

ตารางที่ 6 จำนวนโครโมโซมของ *Echinocereus*, *Grusonia*, *Cylindropuntia* และลูกผสม 39

ตารางที่ 7 การวัดลักษณะดอกของ *Pachycereus pringlei.* 41

ตารางที่ 8 อัตราการรอดชีวิตของ *G. mihanovichii* ที่ได้รับสารโคลชิซีนในระดับความเข้มของสารและระยะเวลาการแช่สารที่ต่างกัน หลังปลูกเลี้ยง 60 วัน 51

ตารางที่ 9 ผลของความระดับของเข้มข้นสารโคลชิซีนและระยะการแช่สารที่ส่งผลต่อลักษณะสัณฐานวิทยาของ *G. mihanovichii* 53

ตารางที่ 10 ผลของความระดับของเข้มข้นสารโคลชิซีนและระยะการแช่สารที่ส่งผลต่อความยาวและขนาดเซลล์ปากใบของ *G. mihanovichii* 56

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แผนภูมิสายพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชวงศ์แคคตัสและการจำแนกวงศ์ย่อย 6

ภาพที่ 2 การกระจายพันธุ์ของแคคตัส 7

ภาพที่ 3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแคคตัส *G. mihanovichii*.. 8

ภาพที่ 4 ลักษณะรูปทรงลำต้นของแคคตัส.. 9

ภาพที่ 5 ลักษณะหนามของแคคตัส 10

ภาพที่ 6 ลักษณะของแคคตัสที่ไม่มีหนาม 11

ภาพที่ 7 ลักษณะดอกของแคคตัส... 12

ภาพที่ 8 ส่วนประกอบต่างๆของดอกแคคตัส.. 13

ภาพที่ 9 ผลและเมล็ดของแคคตัสใน *Gymnocalycium* 15

ภาพที่ 10 แคคตัสจำนวน 9 สกุล... 18

ภาพที่ 11 ลักษณะลำต้นของ *Gymnocalycium*.. 19

ภาพที่ 12 การขยายพันธุ์แคคตัสด้วยวิธีเพาะเมล็ด.. 20

ภาพที่ 13 การขยายพันธุ์แคคตัสด้วยวิธีต่อยอด.. 21

ภาพที่ 14 กระบวนการวิวัฒนาการ.. 23

ภาพที่ 15 การกำเนิดโครโมโซม 24

ภาพที่ 16 รูปทรงของโครโมโซม 4 แบบ 25

ภาพที่ 17 การแบ่งเซลล์ร่างกายปกติ... 26

ภาพที่ 18 สูตรโมเลกุลของโคลชิซีน 27

ภาพที่ 19 จำนวนโครโมโมโซม *Opuntia* 6 ชนิด.. 31

ภาพที่ 20 โครโมโซมในระยะเมทาเฟสของ *Pachycereus pringlei.* 36

ภาพที่ 21 จำนวนโครโมโมโซมในระยะเมทาเฟสของแคคตัส 3 ชนิด 38

ภาพที่ 22 แผนภาพแสดงการแบ่งส่วนลำต้นของ *Melocactus*......40

ภาพที่ 23 Diagrams ของ *Pachycereus pringlei*......42

ภาพที่ 24 ต้นอ่อนของ *G. mihanovichii*......44

ภาพที่ 25 ลูกศรชี้ปลายรากแคคตัสที่ใช้ในการศึกษาแบ่งเซลล์แบบไมโทซีส......47

ภาพที่ 26 ลูกศรชี้ดอกอ่อนขนาดแตกต่างกันของ *G. mihanovichii* ที่ใช้ในการศึกษาแบ่งเซลล์แบบไมโอซีส......49

ภาพที่ 27 ผลของความเข้มข้นของโคลชิซีนและระยะเวลาในการรักษาต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *G. mihanovichii*......54

ภาพที่ 28 ผลของความเข้มข้นของโคลชิซีนและระยะเวลาในการรักษาต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *G. mihanovichii*......55

ภาพที่ 29 ผลของความเข้มข้นของโคลชิซีนและระยะเวลาที่ส่งผลต่อลักษณะปากใบของ G. mihanovichii......57

ภาพที่ 30 ผลของความเข้มข้นของโคลชิซีนและระยะเวลาที่ส่งผลต่อชนิดของ ปากใบใน *G. mihanovichii*......58

ภาพที่ 31 ผลของความเข้มข้นของโคลชิซีนและระยะเวลาที่ส่งผลต่อโครโมโซมของ *G. mihanovichii*......59

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

แคคตัสหรือพืชวงศ์กระบองเพชร (Cactaceae) จัดเป็นหนึ่งในกลุ่มพืชที่มีความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐานวิทยาสูง โดยพบรายงานทั่วโลกจำนวน 127 สกุล ประมาณ 1,430-2,000 ชนิด (Hunt et al., 2006; Arakaki et al., 2011; Hernández et al., 2011) ส่วนใหญ่พบการกระจายพันธุ์หนาแน่นในทวีปอเมริกาใต้ โดยเฉพาะในเม็กซิโก และในทวีปอเมริกาเหนือ ได้แก่ สหรัฐอเมริกาและแคนาดา (Anderson, 2001) แคคตัสประมาณ 641 ชนิด (Goettsch et al. 2015) ถูกนำมาปลูกเลี้ยงเป็นไม้ประดับเศรษฐกิจที่มีมูลค่าทางการตลาดสูง (ศรัณย์ บุญยัง, 2561) อีกทั้งยังมีการนำแคคตัสบางสกุลมาใช้เป็นพืชอาหารและรับประทานในรูปผลไม้ และใช้เป็นพืชในอุตสาหกรรมอาหารเลี้ยงปศุสัตว์ (Brutsch and Scott, 1991) อีกด้านหนึ่ง Roth (2000) และ Janick (2005) ได้กล่าวถึงการนำผลสุกของแคคตัสมารับประทานคล้ายผลของแก้วมังกร [*Hylocereus* undatus (Haw) Britt. & Rose] ใช้เป็นวัตถุดิบในการประกอบเมนูอาหารหรือใช้ทำอาหารแปรรูป รวมทั้งพืชดังกล่าวยังเป็นส่วนหนึ่งของวิถีชีวิตและวัฒนธรรมโดยคนท้องถิ่นในประเทศเม็กซิโกนิยมเลี้ยงนกฮัมมิ่งเบิร์ด (*Mellisuga helenae*) ไว้ช่วยผสมเกสรของแคคตัสเพื่อเพิ่มอัตราการติดผลสำหรับนำมาใช้ประโยชน์ด้านความมั่นคงของแหล่งอาหารของคนพื้นเมือง อย่างไรก็ตามแคคตัสจัดอยู่ในกลุ่มพืชโตช้า แต่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณพื้นที่แห้งแล้งในเขตทะเลทรายจนถูกยกให้เป็นตัวแทนของต้นไม้แห่งทะเลทรายที่มีความสวยงามที่สุดของโลก

แคคตัสมีคุณลักษณะพิเศษ มีเอกลักษณ์เฉพาะตัวคือมีลักษณะสัณฐานวิทยาส่วนลำต้นอวบน้ำ รูปทรงกลม ทรงกระบอก หรือหยักเป็นพูซึ่งมีการเจริญเติบโตทั้งแบบลำต้นเดี่ยวลำต้นแตกกอ โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนของใบที่มีการวิวัฒนาการกลายเป็นหนามเพื่อลดการคายน้ำของพืช อีกทั้งมีลักษณะที่มีความหลากหลายสูง เช่น มีหนามแบบเข็ม หนามแบบซี่ หนามแบบกระดาษ และหนามแบบขน นอกจากนี้แคคตัสยังเป็นพืชที่มีดอกสวยงามหลากหลายรูปทรง เช่น ดอกรูปทรงกรวย (Funnel-shaped) รูปทรงระฆัง (Bell-shaped) รูปจาน (Dish-like) และรูปหลอด (Tubular) รวมทั้งมีลำต้นและดอกหลากหลายสีสัน เช่น สีเหลือง สีม่วง สีชมพู สีแดง สีขาว สีครีม เป็นต้น (Cota-Sánchez and Croutch, 2008; Almeida et al.,2012) ด้วยคุณลักษณะเด่นเฉพาะดังกล่าวทำให้แคคตัสกลายเป็นหนึ่งในไม้ประดับเศรฐกิจที่ได้รับความนิยมเพาะปลูกในที่พักอาศัยและสถานที่ทำงานอย่างแพร่หลายส่งผลให้แคคตัสมีการนำเข้าและส่งออก 130 ชนิด ใน 182 ประเทศจำแนกตามส่วนแบ่งการตลาดดังนี้ สหรัฐอเมริกา (51.3%) สวิตเซอร์แลนด์ (14.3%) เนเธอร์แลนด์ (9.8%) เยอรมนี (8.7%) จีน (8.3%) และประเทศอื่น ๆ รวมกัน (7.6%) ตามลำดับ (Galili et al. 2015; Novoa et al. 2016) โดยมีมูลค่าทางการตลาดเฉลี่ยสูงถึง11-60 พันล้านดอลลาร์สหรัฐต่อปี และมีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องทุกปี (Heywood, 2001; Walters et al. 2011) ในประเทศไทย แคคตัสเป็นหนึ่งในไม้ประดับที่ได้รับความนิยมปลูกเลี้ยง อย่างแพร่หลาย

โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Gymnocalycium mihanovichii* (Frič & Gü rke) Britton & Rose หรือยิมโนคาไลเซียม มิฮาโนวิชิอายเป็นหนึ่งในสกุลยิมโนคาไลเซียม วงศ์แคคตัส ที่ได้รับความนิยมสูงเป็นลำดับต้น (เฉลี่ยร้อยละ 55) ในกลุ่มผู้นิยมปลูกเลี้ยงแคคตัส (Cactus lovers) เปรียบเทียบกับแคคตัสชนิดอื่นๆ (ร้อยละ 45) มีมูลค่าโดยรวมสูงถึง 2 ล้านบาท (ศรัณย์ บุญยัง, 2561) ทั้งนี้เนื่องจากพืชดังกล่าวมีคุณลักษณะเด่นเฉพาะของลำต้น สีของลำต้น ลักษณะของหนาม รูปทรงและสีสันของดอกที่มีความหลากหลายสูงนั่นเอง

แนวโน้มด้านการตลาด (Market trends) ของพืชในวงศ์แคคตัสและพืชในกลุ่มไม้ประดับมักผันแปรไปตามกระแสนิยมผู้บริโภค (ผู้ซื้อ) ที่มักให้ความสนใจเป็นพิเศษกับพืชพันธุ์ใหม่ซึ่งมีความโดดเด่นของลักษณะเฉพาะแตกต่างจากพืชพันธุ์เดิม ส่งผลให้พืชพันธุ์ใหม่นั้นมีมูลค่าทางการตลาดเพิ่มขึ้นหลายเท่าตัวโดยเฉพาะอย่างยิ่งลักษณะใหม่ที่พบในแคคตัสที่ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด (ไม้เมล็ด) (Fensinger, 1983; Bond, 1994 and Fleming et al. 1996) ด้วยเหตุนี้ผู้ปลูกเลี้ยงจึงพยายามพัฒนาแคคตัสที่มีลักษณะแปลกใหม่เพื่อคงระดับมูลค่าทางการตลาดหรือสร้างมูลค่าเพิ่มแก่พืชนี้อย่างต่อเนื่องทดแทนพืชเดิมที่มีมูลค่าลดลง การชักนำให้พืชเกิดการกลายพันธุ์ในแคคตัสเป็นเทคนิคการชักนำให้พืชเกิดลักษณะแปลกใหม่ เช่น ลักษณะลำต้นไร้หนาม (Spinless) ลักษณะลำต้นด่าง (Variegated) หรือลักษณะลำต้นเป็นสันหยักคล้ายตัวหนอน หรือคริสตาต้า (Cristata) ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี อาทิ การชักนำให้พืชมีโครโมโซมเพิ่มขึ้น 2 ชุด หรือมากกว่า เทคนิคดังกล่าวทำได้โดยการใช้สารโคลชิซิน (*Colchicine*) ดังเช่น รายงานการศึกษาในกล้วยไม้ (*Dendrobium chrysotoxum*) โดย Atichart (2013), แกลดิโอลัส (*Gladiolus grandifloras*) 'White Prosperity' โดย Manzoor et al., (2018) และเบญจมาศ (*Chrysanthemum carinatum*) โดย Kushwah et al., (2018) หรือวิธีนำส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชไปฉายรังสีแกมมา (Gamma ray) เช่น รายงานการศึกษาในเก็กฮวย (*Dendranthema grandiflora*) โดย Kaul et al., (2011), ดาวเรือง (*Tagetes erecta*) โดย Adeel et al., (2017) และเบญจมาศ (*Chrysanthemum* spp.) โดย Susila et al., (2019) เป็นต้น อย่างไรก็ตามมีรายงานผลการวิจัยด้านดังกล่าวในพืชวงศ์แคคตัสน้อยมาก กล่าวคือ กรณีศึกษาใน *Melocactus* Link and Otto โดย Torres-Silva et al. (2020) เช่นเดียวกับการศึกษาด้านเซลล์พันธุศาสตร์ที่พบรายงานจำนวนโครโมโซมของพืชวงศ์แคคตัสเพียง 62 สกุล (ประมาณ 360 ชนิด) ปรากฏบนฐานข้อมูล Index to Plant Chomosome Number จากพืชวงศ์แคคตัส จำนวน 127 สกุล (ประมาณ 1,430-2,000 ชนิด) ที่พบแพร่กระจายอยู่ตามภูมิภาคต่าง ๆ ของโลก (Hunt et al., 2006; Arakaki et al., 2011 and HernándezHernández et al., 2011)

การศึกษาเทคนิคการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์เพื่อก่อให้เกิดลักษณะใหม่ใน *G. mihanovichii* จะเป็นแนวทางการพัฒนา ที่ก่อให้เกิดการเพิ่มมูลค่าทางการตลาดให้แก่แคคตัสจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง ดังนั้นการศึกษาด้านเซลล์พันธุศาสตร์เพื่อระบุลักษณะและจำนวนโครโมโซมของพืชวงศ์แคคตัสที่ปลูกเลี้ยงในประเทศไทย

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาเทคนิคการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *G. mihanovichii* โดยใช้สารโคลชิซิน

1.2.2 เพื่อศึกษาเทคนิคทางเซลล์พันธุศาสตร์และกายวิภาคศาสตร์ เพื่อระบุลักษณะรูปร่าง การจับคู่และจำนวนโครโมโซมของ *G. mihanovichii*

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาเทคนิคการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของ *G. mihanovichii* เพื่อกระตุ้นให้พืชเกิดลักษณะใหม่และทำการศึกษาเทคนิคทางเซลล์พันธุศาสตร์และกายวิภาคศาสตร์

1.4 สมมติฐานของการวิจัย

1.4.1 การใช้สารโคลชิซินกับส่วนใดส่วนหนึ่งของ *G. mihanovichii* สามารถชักนำให้พืชเกิดการกลายพันธุ์และเกิดลักษณะใหม่ได้

1.4.2 จำนวนและขนาดของเซลล์ปากใบที่เพิ่มขึ้น สามารถบ่งชี้พืชโพลีพลอยด์ได้

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ทราบเทคนิคการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *G. mihanovichii* โดยวิธีใช้สารโคลชิซิน

1.5.2 การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา จำนวน และขนาดของเซลล์ปากใบที่พบใน *G. mihanovichii* สามารถใช้เป็นดัชนีชี้วัดการการกลายพันธ์ของพืชนี้ได้

1.5.3 ได้ต้น *G. mihanovichii* ที่มีลักษณะใหม่ เช่น แคคตัสไร้หนาม และแคคตัสที่มีจำนวนพูต่อต้นมากขึ้นหรือลดลง

1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.6.1 *Gymnocalycium mihanovichii* (Frič & Gü rke) Britton & Rose หมายถึง แคคตัสยิมโนคาไลเซียม มิฮาโนวิชิอาย จัดอยู่ในสกุลยิมโนคาไลเซียม มีลักษณะเด่น คือ รูปทรงของลำต้นเดี่ยวหรือแตกกอ ลักษณะของหนามแหลมมีจำนวน 3 - 9 หนาม และสีของดอกที่หลากหลาย

1.6.2 สารโคลชิซิน (Colchicine) มีคุณสมบัติช่วยป้องกันการเกิดเส้นใยสปินเดอร์ไฟเบอร์ (Spinder fiber) ส่งผลให้โครโมโซมเดิมและโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นอีกเท่าตัว

1.6.3 แคคตัสไร้หนาม (Spineless) หมายถึง ลักษณะต้นแคคตัสที่บริเวณเนินหนามนั้นไม่ปรากฎหนาม

1.6.4 ปากใบ (Stoma) ประกอบด้วย guard cell และช่องเปิดที่อยู่ระหว่างคู่ของ guard cell เรียก stomatal pore (รูปากใบ)

1.6.5 โครโมโซม (Chromosome) เป็นแหล่งจัดเก็บหน่วยพันธุกรรม ปรากฏอยู่ในนิวเคลียสของเซลล์จำนวน 2 ชุด (2n) ทำหน้าที่ควบคุมลักษณะการแสดงออกทางพันธุกรรม

บทที่ 2

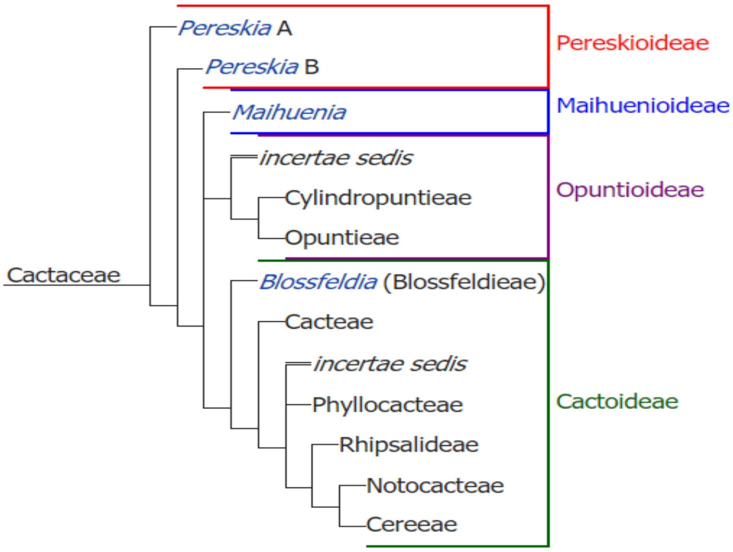
ปริทัศน์เอกสารข้อมูล

2.1 พืชวงศ์แคคตัส

2.1.1 การจำแนกพืชวงศ์แคคตัสตามหลักอนุกรมวิธานมีลายละเอียดดังนี้

อาณาจักร (Kindom) : พืช (Plante)
อาณาจักร (Subkingdom) : พืชมีท่อลำเลียง (Vascular plants)
หมวด (Division) : พืชไม้ดอกมีท่อลำเลียง (Magnoliophyta)
ชั้น (Class) : พืชใบเลี้ยงคู่ (Dicotyledonae)
อันดับ (Order) : พืชมีดอก (Caryophyllales)
วงศ์ (Family) : กระบองเพชร (Cactaceae)

พืชวงศ์แคคตัส (Cactaceae) เป็นพืชที่มีความหลากหลายของชนิดเป็นอย่างมาก จึงทำให้ International Cactaceae Systematics Group (ICSG) จำแนกออกเป็นวงศ์ย่อย 4 วงศ์ ดังนี้ วงศ์ย่อยที่หนึ่ง Pereskioideae มี 1 สกุล โดยแบ่งจากลักษณะของก้านใบ (Petiolate) เช่น *Aculeata* พบมากในทวีปอเมริกาใต้ ในส่วนของวงศ์ย่อยที่สอง *Maihuenioideae* มีเพียงสกุล *Maihuenia* เดียวเท่านั้น มีถิ่นกำเนิดในประเทศอาร์เจนตินาและประเทศชิลี จัดว่าเป็นวงศ์ย่อยที่มีจำนวนสกุลน้อยที่สุด ในวงศ์ย่อยที่สาม *Opuntioideae* มีประมาณ 15 สกุล โดยแบ่งจากลักษณะของหนาม ได้แก่ หนามทรงแหลม และหนามขน มีถิ่นกำเนิดในอเมริกาเหนือและประเทศแคนาดา และวงศ์ย่อยที่สี่ *Cactoideae* มีประมาณ 112 สกุล เป็นวงศ์ย่อยที่มีขนาดใหญ่มากที่สุด มีการกระจายพันธุ์สู่ในแถบอเมริกาใต้ เช่น *Mammillaria, Coryphantha* เป็นต้น (ภาพที่1)

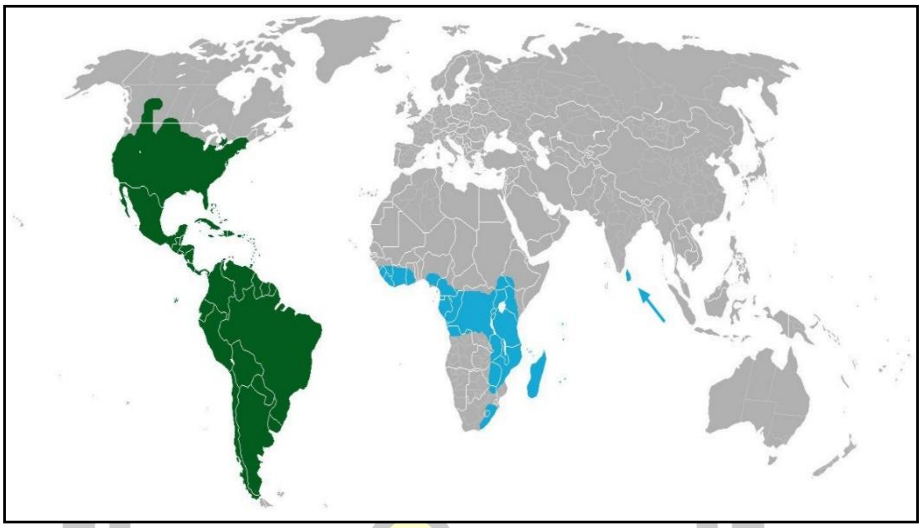

Pereskia A
Pereskia B
Maihuenia
incertae sedis
Cylindropuntieae
Opuntieae
Cactaceae
Blossfeldia (Blossfeldieae)
Cacteae
incertae sedis
Phyllocacteae
Rhipsalideae
Notocacteae
Cereeae
Pereskioideae
Maihuenioideae
Opuntioideae
Cactoideae

ภาพที่ 1 แผนภูมิสายพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชวงศ์แคคตัสและการจำแนกวงศ์ย่อย

ที่มา : ดัดแปลงจาก Nyffeler and Eggli (2010)

2.1.2 ถิ่นกำเนิด ความหลากชนิด และการกระจายพันธุ์ของแคคตัส

แคคตัส หรือ “กระบองเพชร” เป็นพืชในวงศ์ *Cactaceae* มีถิ่นกำเนิดในพื้นที่แห้งโดยเฉพาะในทะเลทราย (Bravo-Hollis and S-inchezMejorada, 1978) ทั้งนี้ได้มีการรายงานสกุลและชนิดออกเป็น 125-139 สกุล (ประมาณ 1430-2,000 ชนิด) (Hunt et al., 2006; Fleming et al., 2011; Hernández et al., 2011) นอกจากนี้ Fleming et al. (1996) ได้รายงานการกระจายพันธ์ของแคคตัสเป็น 3 ส่วน ดังนี้ ส่วนที่หนึ่ง ทางทิศใต้ของ ประเทศสหรัฐอเมริกาถึงประเทศเม็กซิโก ในส่วนที่สอง เทือกเขาแอนดิส ได้แก่ ประเทศเปรู โบลิเวีย อาร์เจนติน่า และส่วนที่สาม ทางทิศตะวันออกของประเทศบราซิล นอกจากนี้ในสกุล *Rhipsalis baccifera* ถูกพบในพื้นที่เขตร้อนของทวีปแอฟริกา (ภาพที่2) พบการรายงานว่าแพร่กระจายโดยเมล็ดพันธุ์โดยนกที่ทำการอพยพถิ่นฐาน (Cota-sanchez and Bomfim-fatricio, 2010; Anderson, 2001) ได้กล่าวถึงการกระจายพันธุ์ของแคคตัสไปในแหล่งธรรมชาติทั่วโลกของสกุล *Opuntia* เกิดจากคนเดินเรือสมัยโบราณนิยมตัดเก็บผลและใบไว้เพื่อบริโภคเพราะสามารถเก็บรักษาได้นานโดยไม่ต้องใช้เครื่องมือในการเก็บรักษาใดๆ ในอีกด้านการกระจายพันธุ์มาในประเทศไทยเริ่มจากการติดต่อความสัมพันธ์ทางการค้าของไทยกับประเทศทางตอนใต้ของยุโรปในอดีตมีผลให้ แคคตัสเดินทางข้ามซีกโลกและกลายเป็นไม้ประดับเศรษฐกิจที่มีราคาสูง



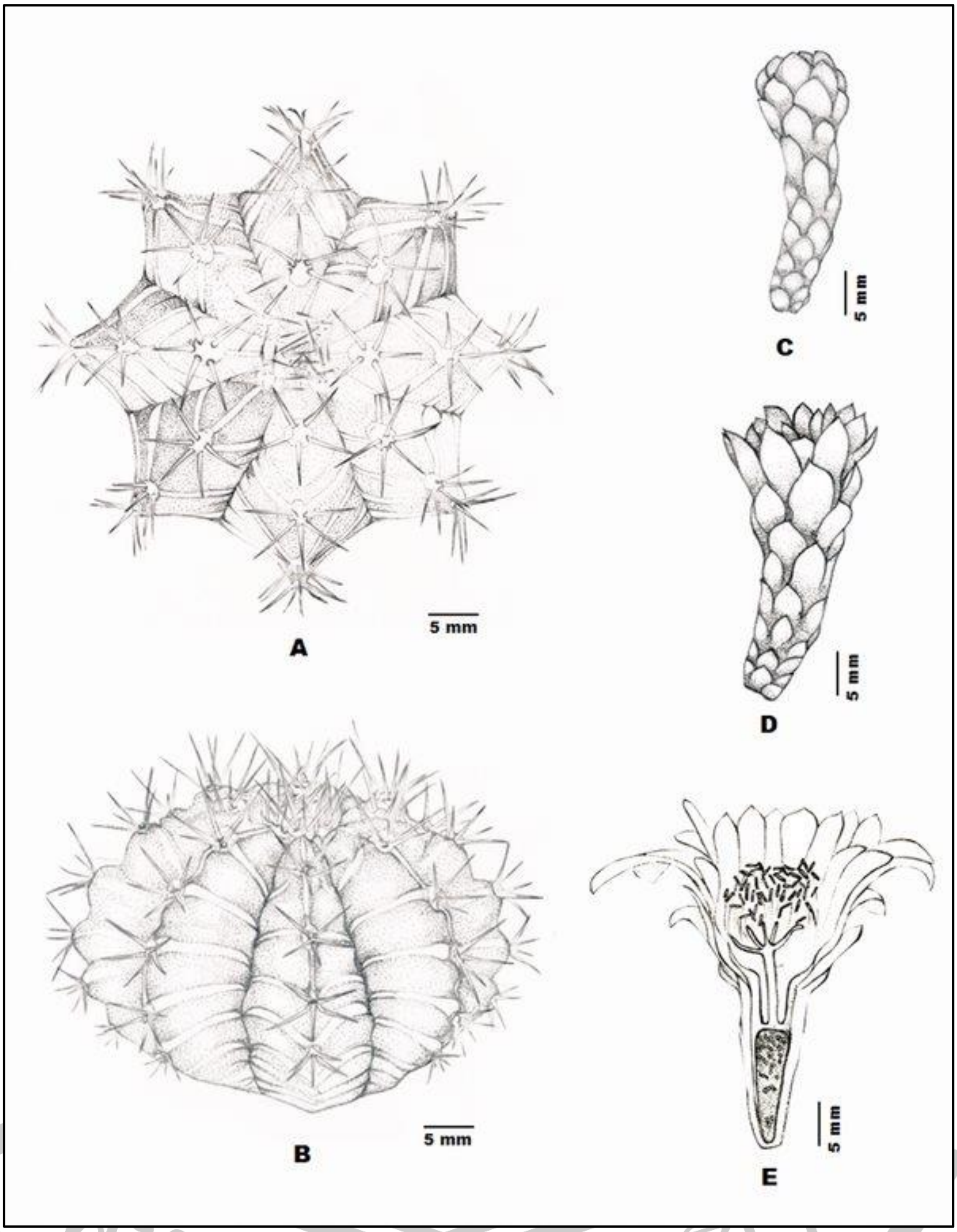
ภาพที่ 2 การกระจายพันธุ์ของแคคตัส

สีเขียว = แคคตัสจำนวน 139 สกุล, สีฟ้า =สุกล *Rhipsalis baccifera*

ที่มา : Cactaceae distrib kz plus arrow.jpg

2.1.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชวงศ์แคคตัส

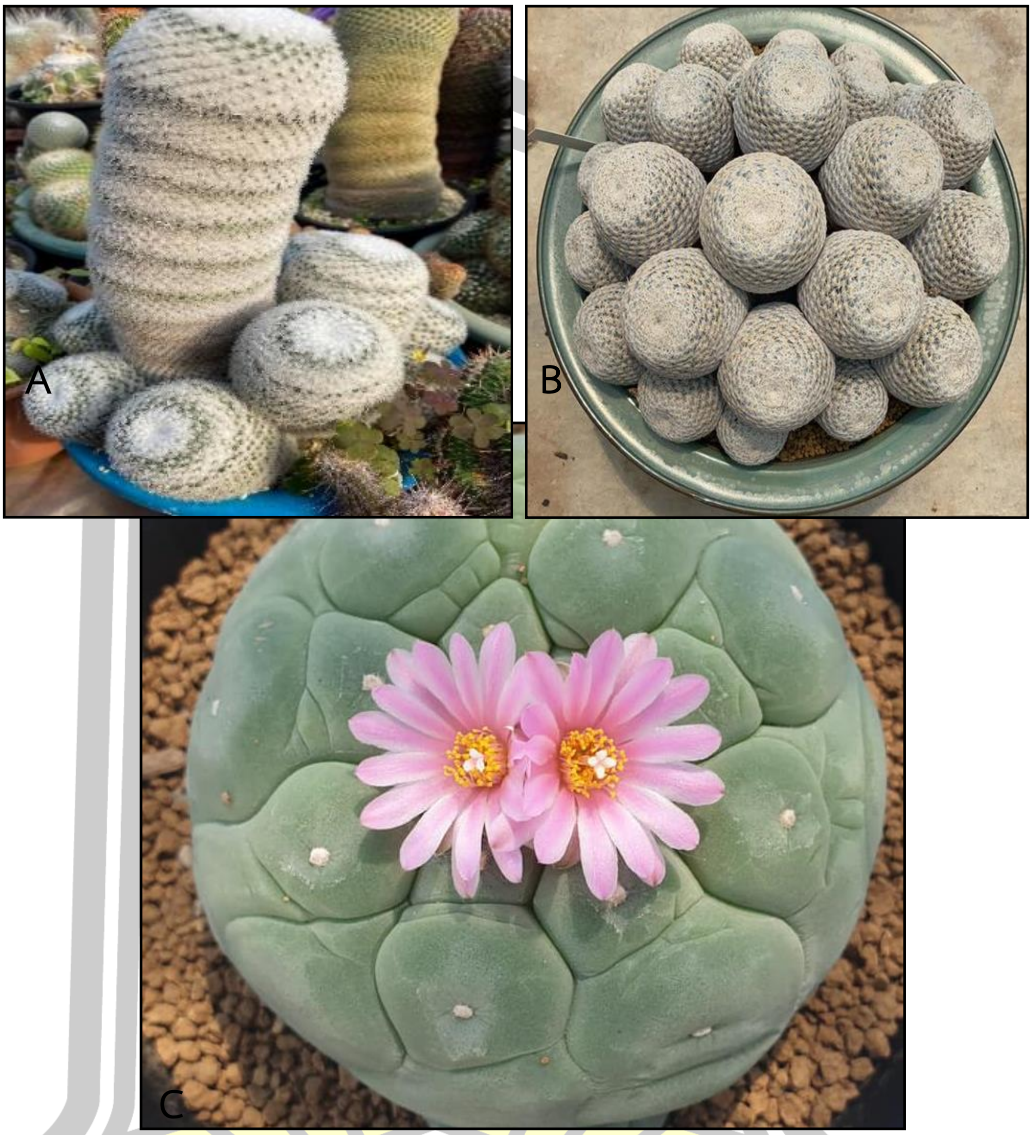
ลักษณะลำต้น (Stem) ค่อนข้างอวบ มีผิวเรียบเป็นมันคล้ายกับเคลือบด้วยขี้ผึ้ง (ภาพที่ 3) ทำหน้าที่กักเก็บน้ำไว้ภายในและมีหลากหลายรูปทรง (ภาพที่4) ได้แก่ ลำต้นเดี่ยวทรงกลม ทรงกระบอกสูง และแตกกิ่งก้านเป็นฟอร์มกอ (ภาพที่ 4 B) มีสันต้นหยักเป็นพู บางชนิดมีรูปร่างคล้ายใบหรือเป็นแท่งกลมไร้หนาม (ภาพที่ 4 C) สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นเดี่ยวหรือแตกกอได้ตั้งแต่ขนาดเล็ก 3-5 เซนติเมตร


C
5 mm
5 mm
A
D
5 mm
5 mm
B
5 mm
E

ภาพที่ 3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแคคตัส *G. mihanovichii*

(A) ลักษณะลำต้นด้านบน, (B) ลักษณะลำต้นด้านข้าง, (C) ลักษณะดอกตูม,
(D) ลักษณะดอกอ่อน และ (E) ภาพตัดตามขวางเห็นโครงสร้างของสร้างของดอก

ที่มา : ณัฏฐกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์ (2564)



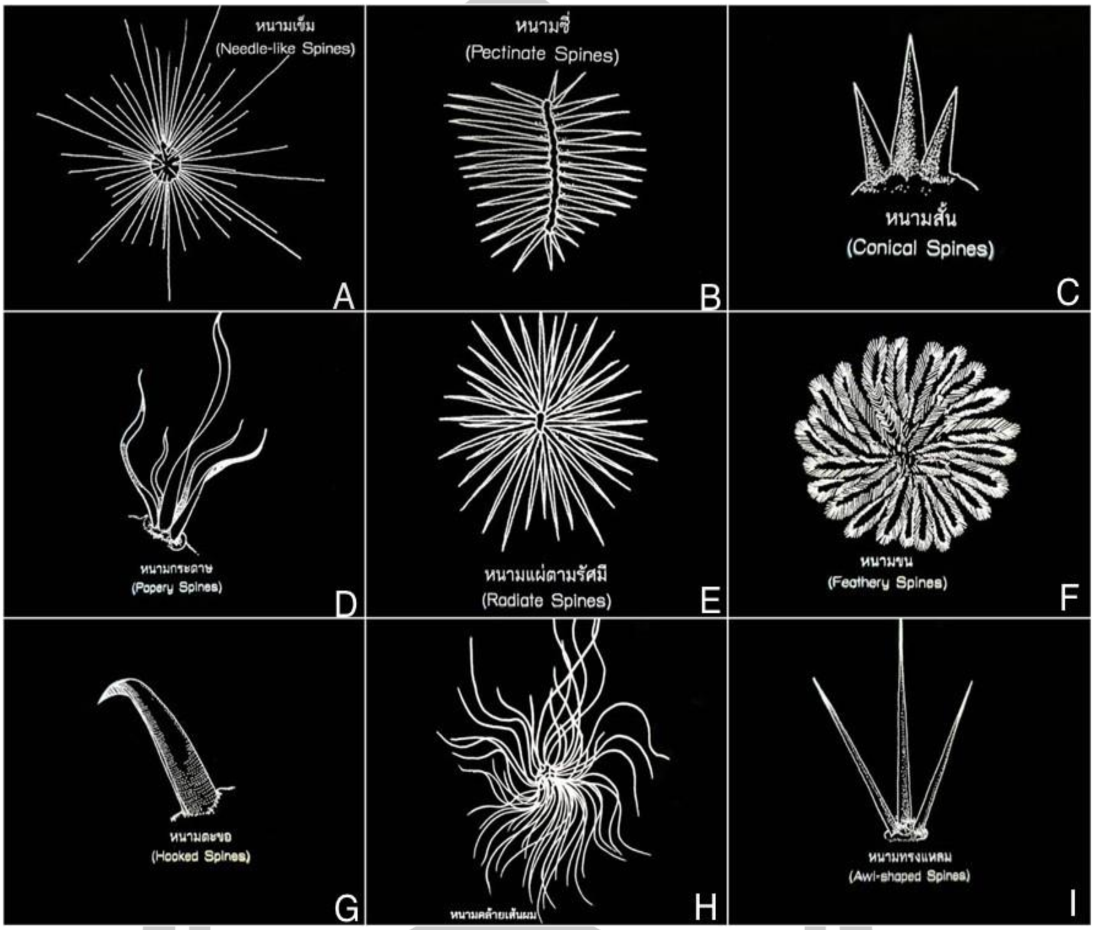
ภาพที่ 4 ลักษณะรูปทรงลำต้นของแคคตัส

(A) ลักษณะลำต้นทรงกระบอกสูงใน *Mammillaria*, (B) ลักษณะลำต้นแตกกิ่งก้าน *Mammillaria* และ (C) ลักษณะลำต้นเดี่ยวใน *Lophophola*

ที่มา : ณัฏฐกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์ (2564)

หนาม (Spine) ของแคคตัสแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ หนามกลาง (Central spine) และหนามข้าง (Radial spine) ทั้งนี้หนามกลางจะมีขนาดใหญ่ที่สุด และหนามข้างจะเป็นหนามที่ล้อมรอบส่วนปลายเนินหนาม มีหลากหลายรูปทรง (ภาพที่ 5) บางชนิดอาจมีหนามกลางหรือหนามข้างเพียงอย่างเดียว และมีสีที่แตกต่างกันเช่น สีขาว แดง ส้ม เหลือง ขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์

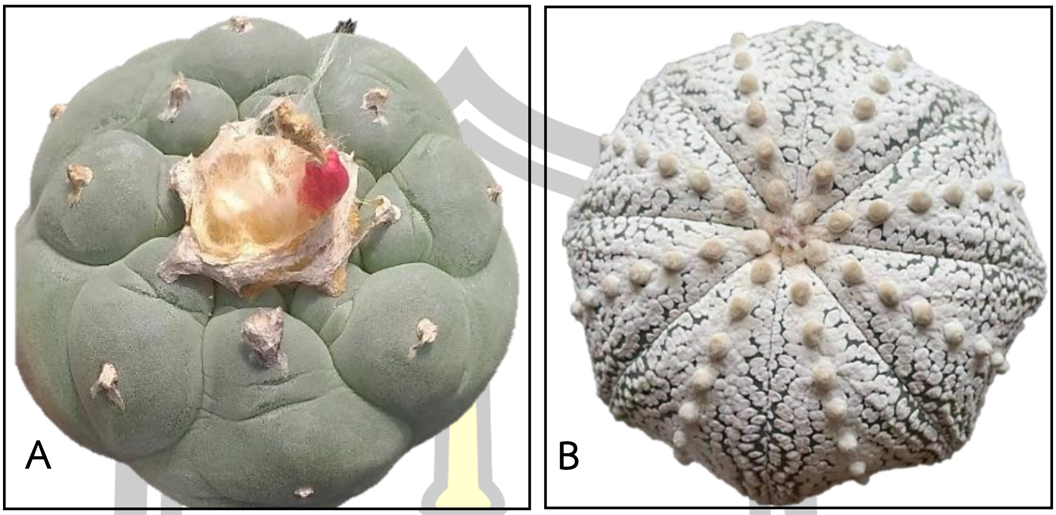
บางครั้งยังเปลี่ยนไปตามปริมาณของแสงที่ได้รับ นอกจากนี้ยังพบว่าในบางสกุลของแคคตัสไม่มีหนาม เช่น บางชนิด *Lophocereus* (A. Berger) Britton & Rose และ *Astophytum* Lem. (ภาพที่ 6)


หนามเข็ม
(Needle-like Spines)
A
หนามซี่
(Pectinate Spines)
B
หนามสั้น
(Conical Spines)
C
หนามกระดาษ
(Popery Spines)
D
หนามแผ่ตามรัศมี
(Radiate Spines)
E
หนามขน
(Feathery Spines)
F
หนามตะขอ
(Hooked Spines)
G
หนามคล้ายเส้นผม
H
หนามทรงแหลม
(Awi-shaped Spines)
I

ภาพที่ 5 ลักษณะหนามของแคคตัส

(A) หนามเข็ม (Needle-like Spines), (B) หนามซี่ (PectinateSpines), (C) หนามสั้น (Conical Spines), (D) หนามกระดาษ (Popery Spines), (E) หนามแผ่ตามรัศมี (Radiate Spines), (F) หนามขน (Feathery Spines), (G) หนามตะขอ (Hooked Spines), (H) หนามคล้ายเส้นผม (Hair-like Spines) และ (I) หนามทรงแหลม (Awi-shaped Spines)

ที่มา : ภวพล ศุภนันทนานนท์ (2563)

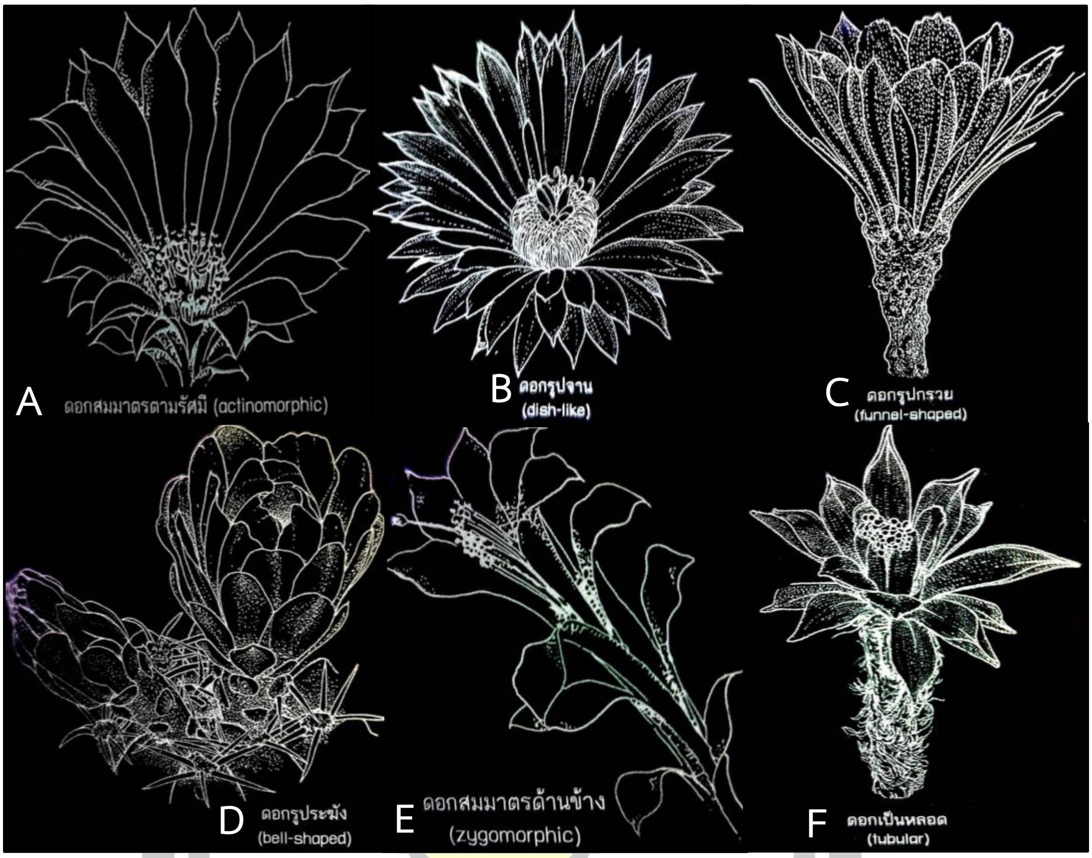


ภาพที่ 6 ลักษณะของแคคตัสที่ไม่มีหนาม

(A) *Lophophora* และ (B) *Astophytum asterias*

ที่มา : ณัฎฐกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์ (2564)

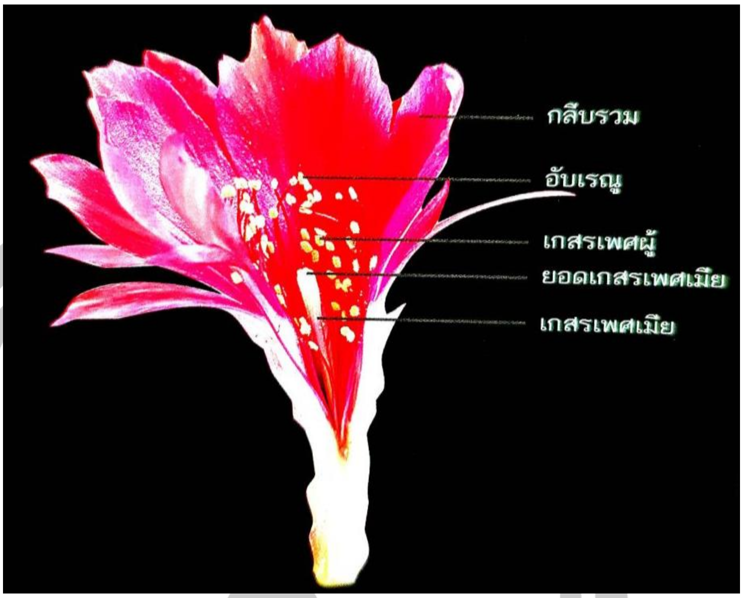
ดอก (Flower) เป็นดอกสมบูรณ์เพศ ดอกเดี่ยว กลีบเลี้ยงบางชนิดมีขนบางชนิดไม่มีขน มีจำนวน 4 – 10 กลีบ (ภาพที่7) กลีบรวมหรือกลีบดอกมีลักษณะสีแดง ขาว เหลือ และชมพู มีจำนวน 6 – 15 กลีบ ก้านดอกมีความยาวประมาณ 2 – 5 เซนติเมตร เกสรเพศผู้มีจำนวนมาก บางสกุลเช่น *Mammillaria* พบว่าเกสรเพศผู้ยาวกว่าเกสรตัวเมีย บางสกุลเช่น *Gymnocalycium* พบว่าเกสรเพศเมียยาวกว่าเกสรเพศผู้ รังไข่รูปทรงกลม ทรงรี หรือทรงกระบอก (ภาพที่ 8) ดอกบริเวณใกล้กับยอด แต่บางชนิดอาจพบว่าเกิดบริเวณซอกเนินหนามส่วนปลายของเนินหนาม หรือตุ่มหนาม อีกทั้งยังพบว่าดอกสามารถออกบริเวณปลายยอดที่เรียกว่าเซฟาเลียม (Cephalium) เช่นสกุล *Melocactus* และ *Discocactus* เป็นต้น ดอกของแคคตัสมีทั้งบานกลางวันและบานกลางคืนบางชนิดพบว่ามีกลิ่นหอมแต่บางชนิดมีกลิ่นเหม็นที่รุนแรง (คล้ายซากสัตว์) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในชนิดที่อาศัยอยู่บริเวณพื้นที่ทะเลทราย เพื่อใช้เรียกแมลงวันในการผสมเกสร


A ดอกสมมาตรตามรัศมี (actinomorphic)
B ดอกรูปจาน (dish-like)
C ดอกรูปกรวย (funnel-shaped)
D ดอกรูประฆัง (bell-shaped)
E ดอกสมมาตรด้านข้าง (zygomorphic)
F ดอกเป็นหลอด (tubular)

ภาพที่ 7 ลักษณะดอกของแคคตัส

(A) ดอกสมมาตรตามรัศมี (Actinomarphic), (B) ดอกรูปจาน (Dish-like), (C) ดอกรูปทรงกรวย (Funnel-shaped), (D) ดอกรูปทรงระฆัง (Bell-shaped), (E) ดอกสมมาตรด้านข้าง (Zygomorphic) และ (G) ดอกรูปหลอด (Tubular)

ที่มา: ภวพล ศุภนันทนานนท์ (2563)



ภาพที่ 8 ส่วนประกอบต่างๆของดอกแคคตัส

ที่มา: ภวพล ศุภนันทนานนท์ (2563)

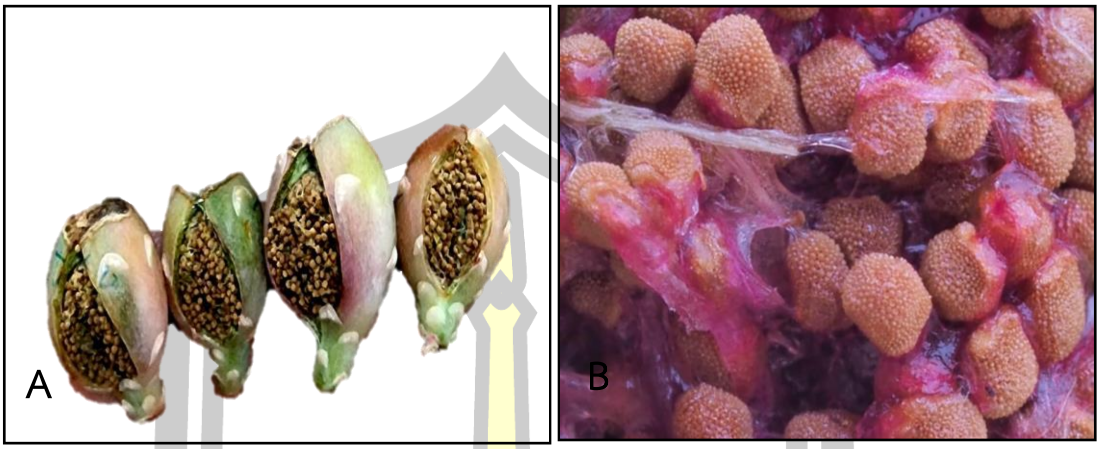
ผล (Fruit) รูปทรงรีหรือทรงกลม ผิวเรียบเป็นมันบางชนิดมีขนหรือหนามปกคลุม (ภาพที่ 9 A) ลักษณะของผลเนื้อนุ่มหลายเมล็ด (Berry) เมื่อผลสุกจะเปลี่ยนสีและปริแตก บางชนิดมีเนื้อมากและสามารถนำมารับประทานได้เนื่องจากอุดมไปด้วยคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และวิตามิน นอกจากนี้มีการรายงานถึงถึงสรรพคุณของผลแคคตัสที่สามารถช่วยรักษาอาการปวด การกระตุ้นภูมิคุ้มกันและป้องกันมะเร็งบางชนิดอีกด้วย

เมล็ด (Seed) จำนวนเมล็ดของแคคตัสบางชนิดในผลเดียวอาจจะมีมากถึง 1000 เมล็ด (ภาพที่ 9 B) เช่น *Cereus*, *Discocactus*, *Echinocereus* และ *Opuntia* เป็นต้น และยังพบการรายงานจำนวนของเมล็ดแคตัสบางชนิดในผลเดียวมีเพียง 1 – 10 เช่น *Astophytum*, *Lophophora*, และ *Uebelmannia pectinifera* นอกจากนี้ยังพบว่าเมล็ดแคคตัสยังมีขนาด รูปทรงและสีของเปลือกหุ้มเมล็ดที่มีความหลากหลายดังรายละเอียดในตารางที่ 1 (ตารางที่1)

ตารางที่ 1 ขนาด รูปร่าง และสีของเปลือกหุ้มเมล็ดแคคตัส

Characteristic		Examples
Form	Reinform	*Mammillaria meyranii* var. *michoacana,*
		Neobuxbaumia macrocephala, *Ferocatus*
	Globular	*flavovirens*
	Priiform	*Echinocereus grandis, Turbinicapus*
	Hat-like	*lophophoroides*
	Ovoid	*Echinocereus pulchellus, Mammilaria*
		varieaculeata
	Mussel	*Lophophora williamsii, Astrophytum*
	Lens	*capricorne*
		Ariocarpus kotschoubryanus, *Ferocatus*
		haematacanthus
		Selenicereus wittii
		Pereskia
Colour and appearance	Black to brown colour	Most seeds, *Neobuxbaumai* spp, *Peniocereus castellae*
	Reddish black	*Carnegiea gigantea*
	Reddish brown	*Pelecyphora stobiliformis*
	White (with atil)	*Opuntia*
	Tan	*Pterocactus*
	shiny	*Bergerocatus*, *Neobuxbaumia*, *Disocactus kimnachii*
	Opaque	*Stenocereus chrysocarous*, *Matucanna formosa*
Size	≤ 0.5 mm	*Blossfeldia*, *Strombocactus*
	≥ 5.0 mm	*Nyctocereus*, *Opuntia*
	Intermediate sizes	*Mammillaria magnimamma*, *Epiphyllum phyllanthus*, *Selenicereus megalanthus*

ที่มา : ดัดแปลงจาก Rojas-Arechiga. (2000)



ภาพที่ 9 ผลและเมล็ดของแคคตัสใน *Gymnocalycium*

(A) ผลที่สุกของแคคตัส และ (B) เมล็ดของแคคตัส

ที่มา : ณัฎฐกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์ (2564)

2.1.4 พืชวงศ์แคคตัสที่นิยมปลูกเลี้ยงในประเทศไทย

2.1.4.1 *Astophytum asterias (*Zucc.*)* Lem. มีถิ่นกำเนิดในประเทศเม็กซิโกและทางตะวันตกเฉียงใต้ของสหรัฐอเมริกา (Anderson, 2001) พบจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *A. asterias, A. astrophytum caput medusae, A. acoahuilense, A. myriostigma* และ *A. ornatum* ลำต้นเป็นทรงกลมหรือกระบอก มีทั้งชนิดที่มีหนามและไม่มีหนาม ดอกมี สีเหลืองขนาดใหญ่ให้ดอกบริเวณยอด (Bravo-Hollis and Sánchez-Mejorada, 1991) นอกจากนี้ในชนิด *Astrophytum caput medusae* เป็นชนิดเดียวที่พบการรายงานว่าเนินหนามถูกพัฒนาให้กลายเป็นเส้นชี้ขึ้นปกคลุมด้วยเกล็ดสีน้ำเงิน และลำต้นมีลักษณะเป็นโขดอยู่ใต้ดิน (Velazco and Nevárez, 2002) (ภาพที่ 10 A)

2.1.4.2 *Cereus* มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้แถบประเทศอาร์เจนตินา โบลิเวีย บราซิล และปารากวัย เจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมที่หลากหลายตั้งแต่ระดับน้ำทะเลไปจนถึงความสูง 3,200 เมตร พบการรายงานถึง 33 ชนิด (Freire, 2009) มีขนาดลำต้นใหญ่ แตกเป็นกิ่งหรือกอสามารถสูงได้ถึง 12 เมตร หนามแหลม ดอกมีสีขาวขนาดใหญ่ บานตอนกลางคืนมีกลิ่นหอม (Meiado et al., 2010) ในประเทศไทยพบว่าส่วนมากนำมาใช่เป็นต้นตอต่อยอดให้กับแคคตัสชนิดอื่นๆ (ภาพที่ 10 B)

2.1.4.3 *Discocactus* มีถิ่นกำเนิดในประเทศบราซิลและกระจายพันธ์ไปยังทิศตะวันออกของประเทศโบลิเวียรวมถึงทางทิศเหนือของประเทศปารากวัย พบการรายงาน 7 ชนิด (Barthlott et al., 2015) ลำต้นกลมแป้น หนามมีความหลากหลายสูง ได้แก่หนามสั้น หนามถี่สานเข้าด้วยกันดูคล้ายรังนก ดอกมีสีขาว และบานเฉพาะตอนกลางคืนอีก

ทั้งยังบานเพียงแค่ 1 วันเท่านั้น ทั้งนี้ยังพบการรายงานว่าในปัจจุบันเป็นพืชที่หาได้ยากในธรรมชาติ ใกล้สูญพันธ์จึ่งได้รับการคุ้มครองจากอนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศซึ่งชนิดและพืชป่าที่ใกล้สูญพันธ์ (CITES) (ภาพที่ 10 C)

2.1.4.4 *Echinocereus* มีถิ่นกำเนิดในทิศตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศสหรัฐอเมริกาไปจนถึงตอนกลางของประเทศเม็กซิโก พบการายงานถึง 77 ชนิด (Taylor, 1985; Blum et al., 1998 and Hunt et al., 2006) ลำต้นเดี่ยวหรือแตกกอ มีทั้งเป็นกิ่งยาวและทรงกระบอก หนามมีลักษณะหนามสั้น และหนามยาว ทั้งนี้ดอกมีขนาดใหญ่ หลากหลายสี เช่น สีม่วง ส้ม เหลือง และชมพู เป็นต้น (Taylor, 1985) (ภาพที่ 10 D)

2.1.4.5 *Gymnocalycium* Pfeiff. มีแหล่งกำเนิดที่ประเทศ ปารากวัย และทางตอนใต้ของบราซิล (Cullmann et al., 1986) พืชชนิดนี้เจริญเติบโตตามโขดหินกระจัดกระจายอยู่ในป่าดิบชื้น ลำต้นเดี่ยวหรือแตกหน่อจากตุ่มหนาม มีลักษณะทรงกลมและทรงกระบอก มีความสูงประมาณ 3-5 เซนติมเมตร และมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5-6 เซนติมเมตร ดอกออกจากตุ่มหนามบริเวณยอด แต่ละดอกบานได้ 3-4 วัน มีหลากสี เช่น สีขาว เขียว ขมพู และเหลือง ดอกบานช่วงเวลากลางวัน ผลรูปทรงรี เมื่อสุกจะมีสีแดง ภายในผลมีเมล็ดจำนวนมาก ปัจจุบันได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในการปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากมีลักษณะของสีที่หลากหลาย (ด่าง) ที่ไม่มีคลอโรฟิลล์หลงเหลืออยู่ทำให้ผิวมีสีส้ม แดง ชมพู หรือสีเหลือง แต่พบว่าไม่สามารถสังเคราะห์แสงและสร้างอาหารได้ จึงนิยมนำไปต่อยอดบนตอแคคตัสชนิดอื่น จนเป็นที่รู้จักในนาม “ยิมโนหัวสี” (ภาพที่ 11)

2.1.4.6 *Lobivia* มีถิ่นกำเนิดในประเทศโบลิเวีย โดยชื่อสกุลนี้มาจากการสลับเปลี่ยนคำของชื่อประเทศดังกล่าว ซึ่งเป็นสถานที่พบ พบการรายงานถึง 30 ชนิด (Kiesling, 1999) ลำต้นเป็นหัวเดี่ยวทรงกลมแป้น หนามแผ่โค้งออกหรือชี้ออก เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่สามารถแตกกอโดยมีต้นใหญ่อยู่ตรงกลาง ดอกรูปทรงกรวย โดยออกดอกจากตุ่มหนามมีสีเหลือง และแดง นอกจากนี้ยังเป็นพืชที่นิยมปลูกเลี้ยงเพื่อชื่นชมความสวยงามของดอก (Britton and Rose, 1922) (ภาพที่ 10 E)

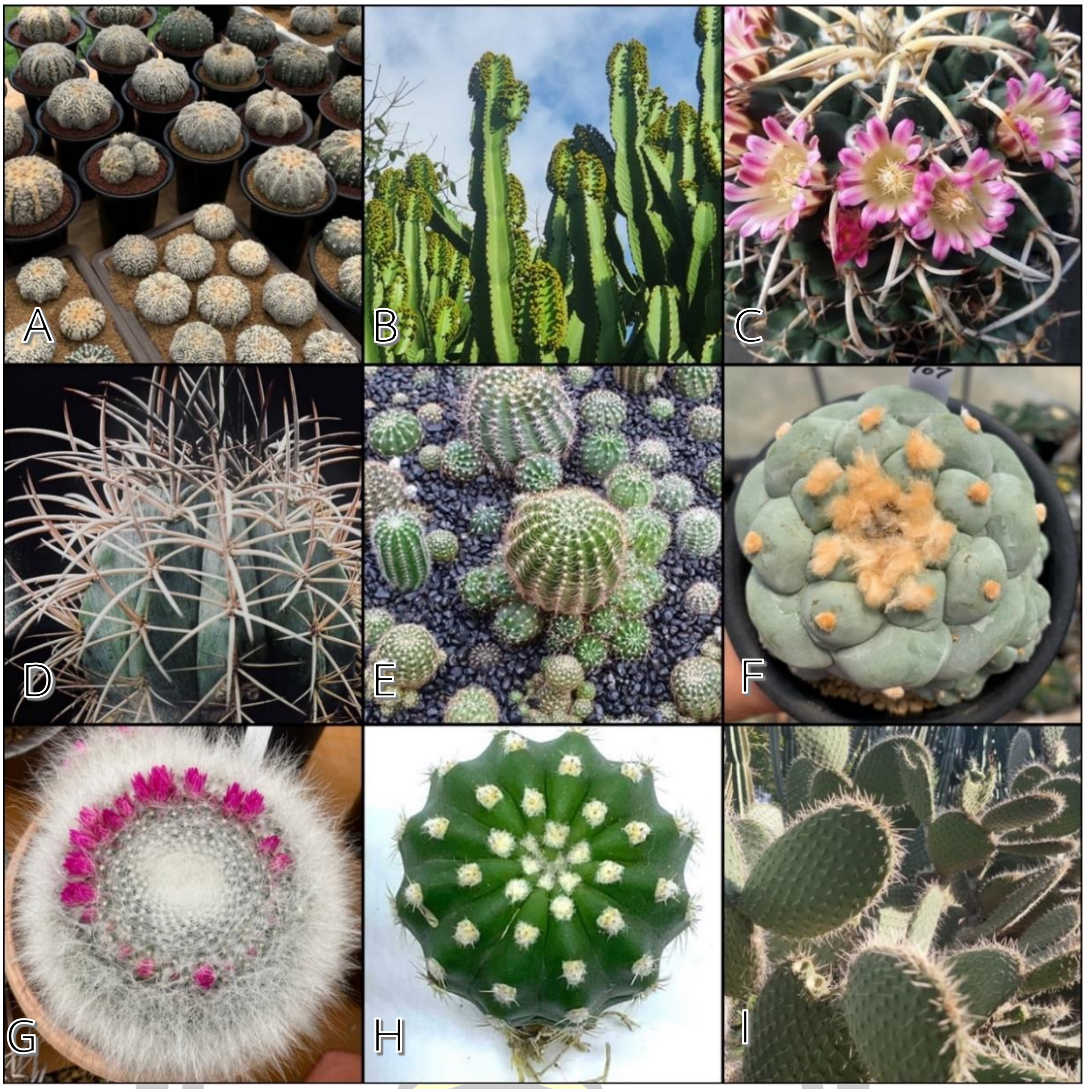
2.1.4.7 *Lophophora* มีถิ่นกำเนิดทางตอนใต้ในรัฐเท็กซัสของประเทศสหรัฐอเมริกา และทางทิศตะวันออกของประเทศเม็กซิโก พบการรายงาน 5 สกุล (Anderson, 1996) ลำต้นกลมเตี้ย ผิวเรียบด้านมีสีเขียวอมฟ้า รากขนาดใหญ่ใช้ในการสะสมอาหารใต้ดิน เป็นแคคตัสชนิดที่ไม่มีหนามแต่มีปุยสีขาวขนาดเล็กตามตุ่มหนาม บางชนิดปุยขาวปกคลุมทั่วลำต้น ดอกมีขนาดเล็กออกจากตุ่มบริเวณกลางยอด นอกจากนี้ยังมีการรายงานในชนิด *Lophophora williamsii* ซึ่งพบว่ามีสารอัลคาลอยด์ (Alkaloid) อยู่ที่ลำต้น หากรับประทานเข้าไปจะส่งผลให้เกิดภาพหลอน ทั้งนี้พบการนำไปใช้โดยชนพื้นเมืองสำหรับ

การประกอบพิธีกรรมต่างๆและใช้เป็นยาในการรักษามากว่า 6,000 ปี (Terry et al., 2006) (ภาพที่ 10 F)

2.1.4.8 *Mammillaria* มีถิ่นกำเนิดทางทิศตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศสหรัฐอเมริกา, ประทศเม็กซิโก และประเทศแถบหมู่เกาะแคริเบียน พบการรายงานมากถึง 400 ชนิด จัดเป็นแคคตัสที่มีความหลากหลายสูง (Buckler et al., 1997; Baker et al., 2000; Hartmann et al., 2001; Mayol and Rosselo, 2001; Andreasen and Baldwin, 2003) ลำต้นเป็นหัวเดี่ยวหรือแตกกอ มีหลากหลายรูปทรง เช่น ทรงกลม ทรงกระบอก นอกจากลักษณะของหนามยังแตกต่างกันออกไป ได้แก่ หนามคล้ายเส้นผม หนามตะขอ และหนามแหลม ดอกออกตามซอกหนาม มีสีขาว เหลือง ส้ม แดง ชมพู และม่วง มักจะผลิบานพร้อมกัน ทั้งนี้ลักษณะของดอกมีทั้งดอกรูประฆังหรือรูปกรวย มีกลิ่นหอม (ภาพที่ 10 G)

2.1.4.9 *Melocactus* มีถิ่นกำเนิดในประเทศบราซิลและหมู่เกาะเวสต์อินดีสที่ระดับความสูง 2,200 เมตรเหนือน้ำทะเล พบการรายงานประมาณ 50 ชนิด (Anderson, 2001) ลำต้นเป็นทรงกลมและขึ้นเป็นต้นเดี่ยว หนามมีหลายสี เช่น สีขาว น้ำตาล แดง และเหลือง ลักษณะของดอกมีขนาดเล็กสีชมพู จะออกบริเวณเซฟาเลียมส่วนยอด (Taylor, 1991) (ภาพที่ 10 H)

2.1.4.10 *Opuntia* ถิ่นกำเนิดที่เมือง Opus ในประเทศกรีซ กระจายพันธ์เป็นวงกว้างตั้งแต่ประเทศแคนาดาไปจนถึงประเทศเวเนซุเอลา และหมู่เกาะกาลาปาโกส พบการรายงานพืชชนิดนี้ถึง 400 ชนิด ลำต้นเป็นทรงรีหรือกลม โดยส่วนใหญ่มักเป็นแผ่นแบนต่อกันเป็นชั้น ลักษณะของหนามมีหลายรูปแบบ เช่น หนามคล้ายเข็ม และหนามเป็นกระจุกอยู่ตามตุ่มหนาม ทั้งนี้ดอกของพืชชนิดนี้มีขนาดใหญ่ สีขาว เหลือง และแดง นอกจากนี้บางชนิดนิยมนำมารับประทานผล ประกอบอาหาร และเป็นอาหารสัตว์ (Pe´rez de Paz and Herna´ndez Padro´n, 1999) โดยส่วนมากคนไทยรู้จักในชื่อ “ใบเสมา” (ภาพที่ 10 I)

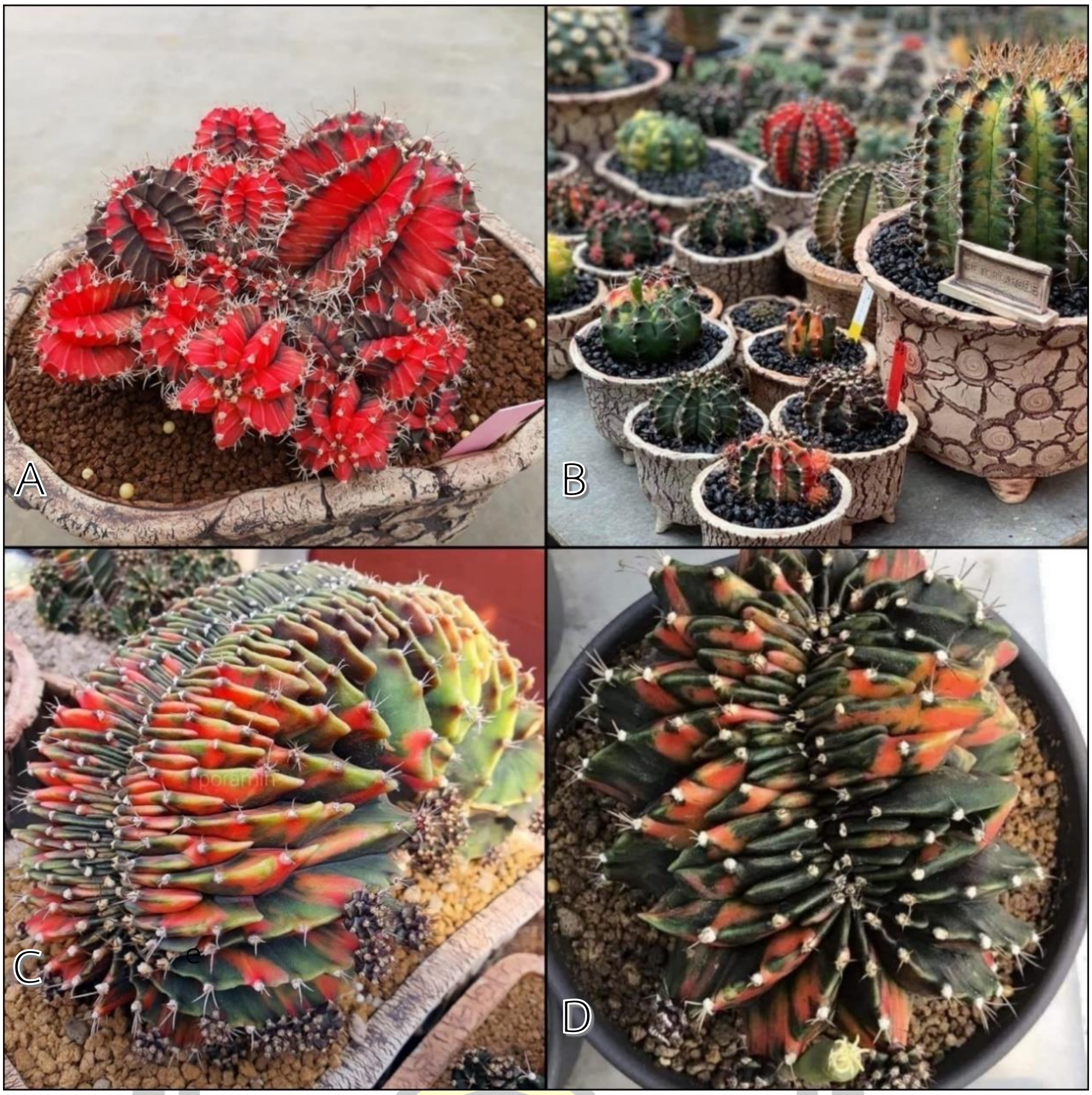


ภาพที่ 10 แคคตัสจำนวน 9 สกุล

(A) *Astophytum*, (B) *Cereus*, (C) *Discocactus*, (D) *Echinocereus*, (E) *Lobivia*, (F) *Lophophora*, (G) *Mammillaria*, (H) *Melocactus* และ (I) *Opuntia*

ที่มา : ภาพ A, B, C, E, F, G, H และ I ณัฏฐกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์ (2565) และภาพ D ภวพล ศุภนันทนานนท์ (2563)

พหูน ปณ ฑิต ชีเว



ภาพที่ 11 ลักษณะลำต้นของ *Gymnocalycium*

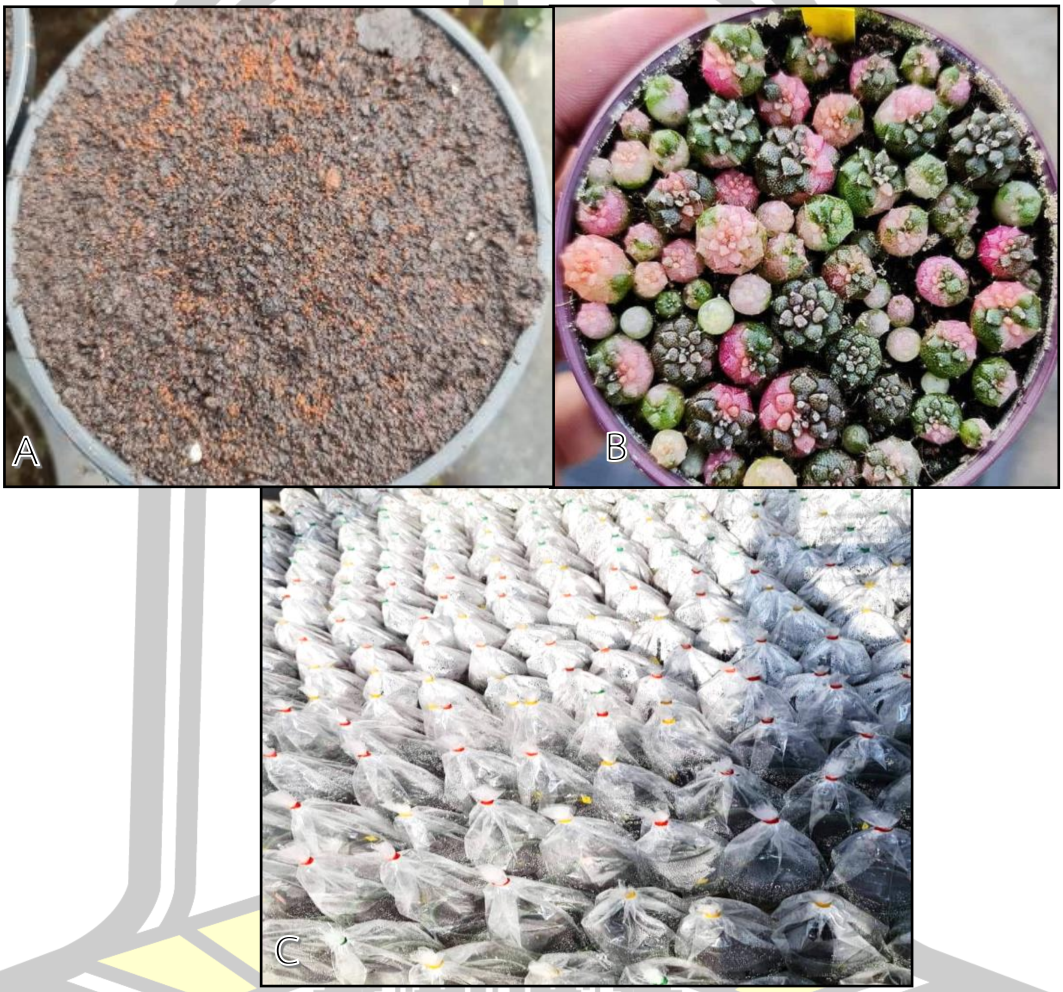
(A) ลักษณะแบบกอและมีลักษณะด่าง, (B) ลักษณะแบบลำต้นเดี่ยว,
(C) ลักษณะแบบคริสตาต้าด้านข้าง และ (D) ลักษณะแบบคริสตาต้าด้านบน

ที่มา : ณัฏฐกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์ (2564)

2.1.5 การขยายพันธุ์และการปลูกเลี้ยงแคคตัส

การขยายพันธุ์ของแคคตัสสามารถทำได้ 3 วิธีดังนี้

การเพาะเมล็ด (Seedling) นำผลที่สุกจากต้นมาล้างออกน้ำเปล่า โดยใส่ในกระชอนขนาด 6.5 นิ้ว จากนั้นใช้นิ้วมือค่อยๆนำเนื้อที่ติดกับเมล็ดออกให้หมด แล้วผึ่งลมให้แห้งในที่ร่ม และจึงนำไปเก็บในที่ร่ม 3-7 วันก่อนนำไปเพาะ จากนั้นโรยเมล็ดที่เก็บไว้ลงไปถาดเพาะที่ทำการแช่สารป้องกันและกำจัดเชื้อราไว้แล้ว จากนั้นปิดปากถุงด้วยถุงพลาสติกใสให้แน่นเพื่อรักษาความชื้นให้สม่ำเสมอ (ภาพที่ 12)



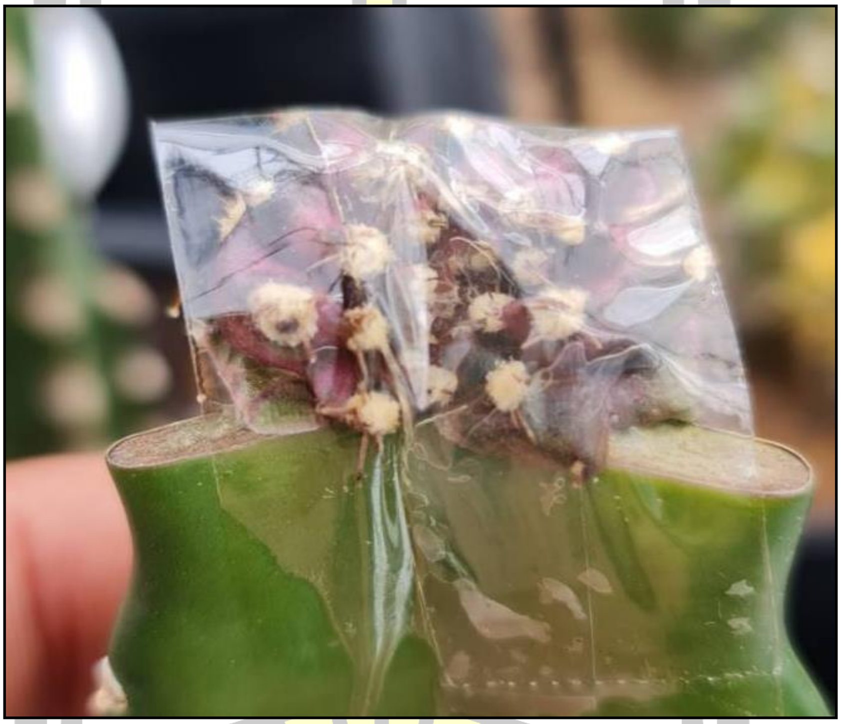
ภาพที่ 12 การขยายพันธุ์แคคตัสด้วยวิธีเพาะเมล็ด

(A) วัสดุเพาะเมล็ดแคคตัส, (B) ต้นอ่อนที่เพาะด้วยเมล็ดระบบปิดเป็นเวลา 6 เดือน และ(C) การเพาะแบบเปียกในถุงพลาสติก

ที่มา : ณัฏฐกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์ (2564)

การปักชำ (Cutting) โดยการเด็ดหน่อหรือตัดกิ่งจากต้นที่ต้องการทาด้วยฮอร์โมนเร่งรากที่รอยตัด วางผึ่งให้แผลแห้งจากนั้นนำไปปลูกในวัสดุที่เตรียมไว้ งดการให้น้ำ 3-4 วัน และวางในที่มีแดดรำไร

การต่อยอด (Grafting) แคคตัสหลายชนิดใช้เวลาในการเจริญเติบโตหลายปีรวมถึงการให้ดอกและการติดเมล็ด วิธีการนี้จะช่วยลดระยะเวลาดังกล่าวได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งยังช่วยเพิ่มจำนวนต้นได้เป็นอย่างดี เหมาะสำหรับการขายพันธุ์เพื่อการค้า โดยเริ่มจากการใช้มีดที่สะอาดปาดยอดต้นตอให้แผลเรียบ (ต้นที่ใช้ในการส่งอาหาร) จากนั้นปาดโคนต้นพันธุ์โดยไม่ให้แผลเกิดการช้ำ นำไปวางบนต้นตอที่เตรียมไว้และใช้ด้ายหรือเทปใสพันต้นตอและต้นพันธุ์เข้าด้วยกัน หลังจากนั้น 1-2 สัปดาห์ นำด้ายหรือเทปใสออกอย่างระมัดระวัง (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 การขยายพันธุ์แคคตัสด้วยวิธีต่อยอด

ที่มา : ณัฎฐกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์ (2564)

พหูนํ ปญฺญา ชีเว

การปลูกเลี้ยงแคคตัส วัสดุปลูกของแคคตัสเน้นที่ความโปร่งของดินและสามารถระบายน้ำได้ดี ในปัจจุบันมีการเลือกใช้วัสดุปลูกที่หลากหลายแต่ที่เป็นที่นิยมมากที่สุด ได้แก่ ใบก้ามปูหมัก หินภูเขาไฟ และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1 (เชิงปริมาตร) ร่วมกับปุ๋ยละลายช้าสูตร 14-14-14 อัตรา 5 กรัม บรรจุลงในกระถางพลาสติก

2.2 การกลายพันธุ์ในพืช

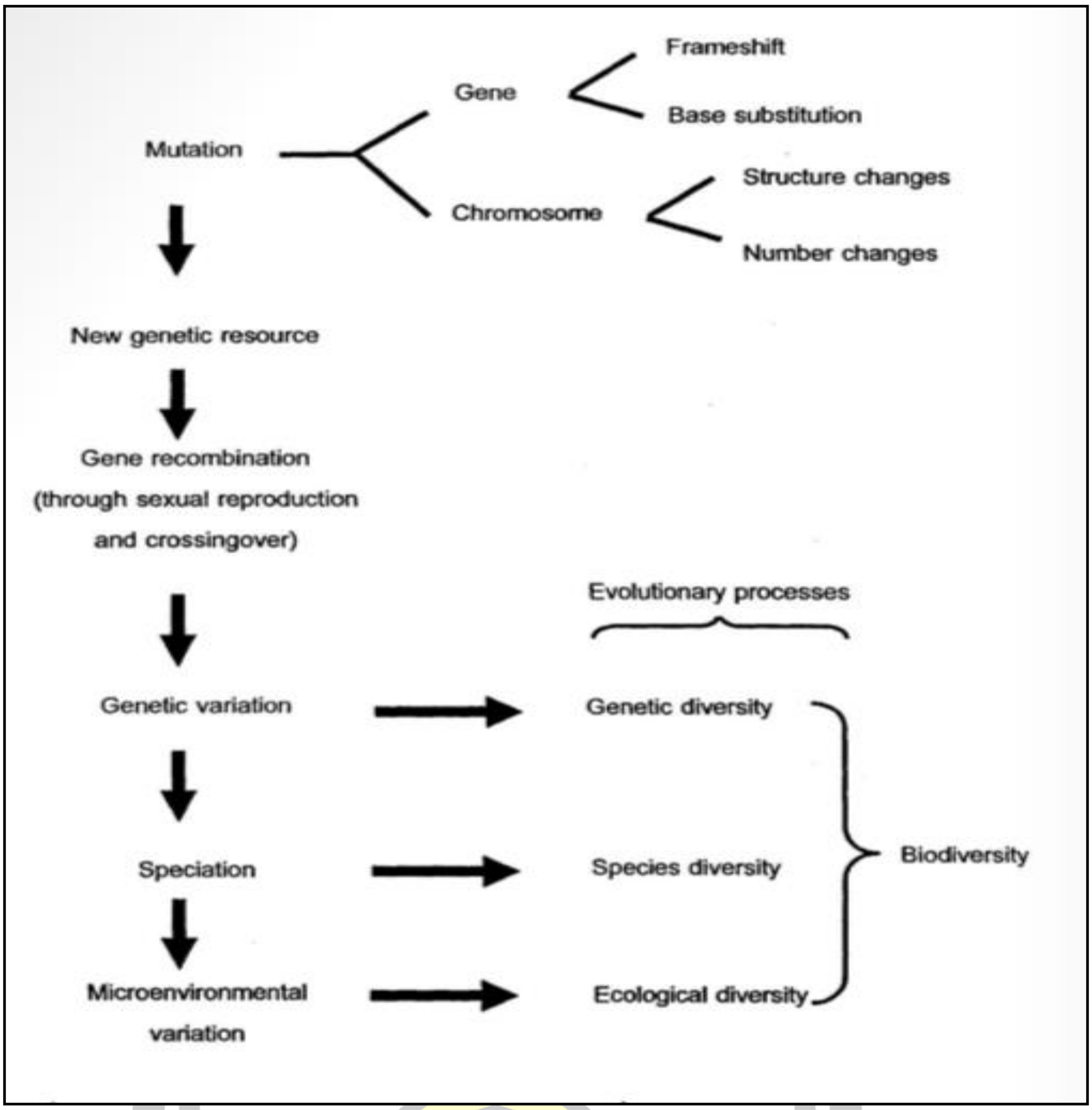
การกลายพันธุ์ (Mutation) คือการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรม (genetic material) หรือดีเอ็นเอ (DNA) ที่ไม่ได้เกิดจากการรวมตัวและแยกตัวของสารพันธุกรรมแบบปกติ และยังสามารถถ่ายทอดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในการขยายพันธุ์และดำรงชีวิตรอด ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจากสารพันธุกรรมนั้นแสดงออกได้หลายรูปแบบ เช่น ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphological mutation) ลีทัลมิวเตชัน (lethal mutation) และทางชีวเคมี (biochemical mutation) เป็นต้น (ภาพที่14) (อรุณี วงศ์ปิยะสถิต, 2549) นอกจากนี้การกลายพันธุ์สามารถแบ่งอออกได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ การกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) และการกลายจากการเหนี่ยวนำ (induced mutation)

การกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ คือการถูกคัดเลือกจากธรรมชาติ (natural selection) เป็นขั้นตอนการแปรผันทางพันธุ์กรรมของพืชท้องถิ่น (genetic variability) ส่งผลให้เกิดการวิวัฒนาการของพืชมาเป็นระยะเวลายาวนาน ในการกลายพันธุ์เช่นนี้ส่งผลให้เกิดความหลากหลายของยีนเพราะเป็นปรากฏการณ์แบบสุ่ม (random event) โดยที่ยีนตัวมีหน้าที่ควบคุมขั้นตอนของปฏิกิริยายาทางเคมีที่สำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่าการเกิด crossing over ทำให้มีการรวมตัวกันอย่างอิสระของสารพันธุกรรม

การกลายจากการเหนี่ยวนำ คือการเพิ่มอัตราการกลายพันธุ์สารเคมี เช่น ethyl methanesulphonate (EMS), ethyleneimine (EI) และ colchicine นอกจากนี้ยังมีการใช้รังสีก่อไอออน (ionizing radiation) เช่น รังสีเอกซ์, รังสีแกรม่า และรังสีนิวตรอน เป็นต้น

นอกจากนี้การกลายพันธุ์ยังสามารถแบ่งการกลายพันธุ์ด้วยการควบคุมของยีนได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ แมโครมิวเทชัน (macromutation) และ ไมโครมิวเทชัน (micromutation) กล่าวคือ แมโครมิวเทชัน หมายถึง การเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางพันธุกรรมที่ควบคุมด้วยยีนน้อยคู่ โดยการแสดงออกของยีนจะไม่แปรผันไปตามสภาพของสิ่งแวดล้อม แต่จะเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมไปตามฟีโนไทป์ เช่น ขนาดของลำต้น สีของลำต้นและดอก

ไมโครมิวเทชัน หมายถึง การเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางพันธุกรรมที่ควบคุมด้วยยีนหลายคู่ (polygenes) โดยการแสดงออกของยีนแต่ละคู่จะแสดงผลออกมาน้อย และแปรผันไปตามสิ่งแวดล้อม ส่งผลให้ฟีโนไทป์ที่ปรากฏจะมีความแตกต่างและไม่เด่นชัด และยังพบว่ามีการกระจายตัวของฟีโนไทป์จึงไม่สามารถจัดเป็นหมวดหมู่ได้ ทำให้การวัดความแตกต่างของฟีโนไทป์จำเป็นต้องใช้วิธีทางสถิติมาในใช้ในการวิเคราะห์ ทั้งนี้การกลายพันธุ์แบบไมโครมิวเทชันเป็นลักษณะการกลายพันธุ์ที่มีการควบคุมลักษณะทางปริมาณ (quantitative traits) เช่น ผลผลิต เป็นต้น


Frameshift
Gene
Base substitution
Mutation
Structure changes
Chromosome
Number changes
New genetic resource
Gene recombination
(through sexual reproduction
and crossingover)
Evolutionary processes
Genetic variation
Genetic diversity
Speciation
Species diversity
Biodiversity
Microenvironmental
variation
Ecological diversity

ภาพที่ 14 กระบวนการวิวัฒนาการ

ที่มา : อรุณี วงศ์ปิยะสถิต (2549)

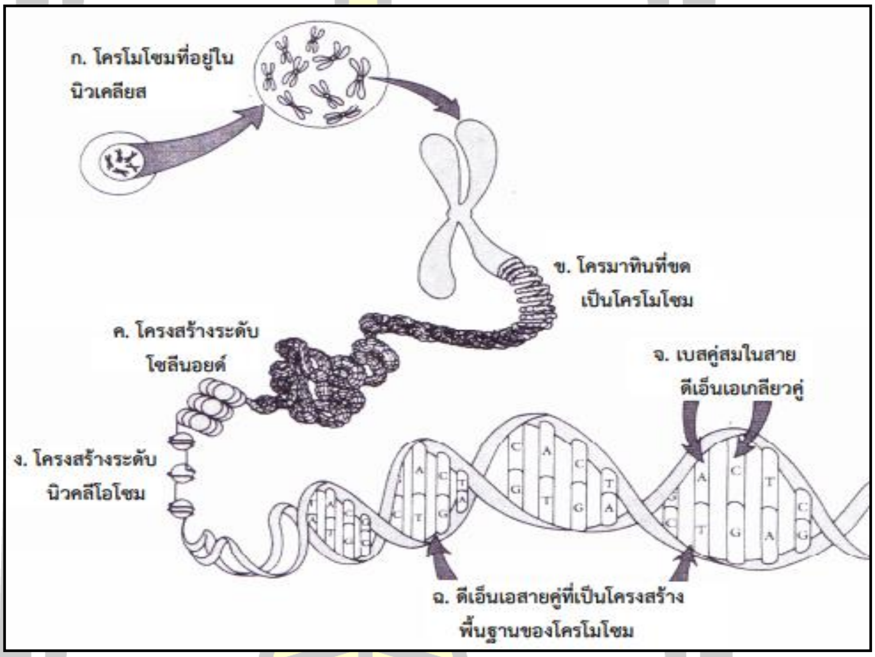
พหุ ปณฺ ติ ตา ชีเว

2.3 การศึกษาโครโมโซมพืช

โครโมโซม (Chromosome) เป็นแหล่งจัดเก็บหน่วยพันธุกรรม ปรากฏอยู่ในนิวเคลียสของเซลล์จำนวน 2 ชุด (2n) โดยทำหน้าที่เก็บรักษา (storage) ถ่ายทอด (transmission) และแสดงออก (expression) ของข้อมูลพันธุกรรม (genetic information) นอกจากนี้โครโมโซมยังสามารถจำแนกสิ่งมีชีวิตต่างๆ โดยอาศัยข้อมูลทางพันธุกรรมของดีเอ็นเอ (DNA) (อมรา คัมภิรานนท์, 2546) (ภาพที่15) ทั้งนี้การแบ่งตัวของโครโมโซมมี 2 วิธี คือการแบ่งตัวแบบ ไมโตซีส (mitosis) เป็นการแบ่งเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนของเซลล์ของร่างกายในการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์หรือเพื่อสืบพันธุ์

ในสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว โดยเมื่อสิ้นสุดการแบ่งเซลล์จะได้เซลล์ใหม่ทั้งหมดจำนวน 2 เซลล์ ที่มีจำนวนของโครโมโซมเท่ากัน พบบริเวณเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด ปลายราก ของพืช

การแบ่งตัวแบบไมโอซีส (meiosis) คือเป็นการแบ่งตัวของนิวเคลียสเพื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตที่สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยมีการแบ่งจำนวน 2 ครั้ง ได้แก่ ไมโอซิส 1 (meiosis I) และไมโอซิส 2 (meiosis II) ทั้งนี้เมื่อสิ้นสุดการแบ่งเซลล์จะ ได้เซลล์ใหม่ทั้งหมดจำนวน 4 เซลล์ แต่ละเซลล์มีจำนวนของโครโมโซมลดเหลือครึ่งหนึ่งของเซลล์เดิม ระยะไมโอซิส 2 (meiosis II) พบว่าเซลล์บางชนิดจะเกิดระยะอินเตอร์เฟสขึ้นเป็นช่วงเวลาสั้นๆ แต่จะไม่มีการสร้างดีเอ็นเอขึ้น ดังนั้นการแบ่งนิวเคลียสในไมโอซิส 2 จะมีความคล้ายกับไมโทซิสมาก โดยเมื่อสิ้นสุดกระบวนการแบ่งเซลล์ จะมีจำนวนของเซลล์ใหม่ทั้งหมด 4 เซลล์ แต่ละเซลล์มีจำนวนของโครโมโซมลดลงครึ่งหนึ่งของเซลล์เดิม

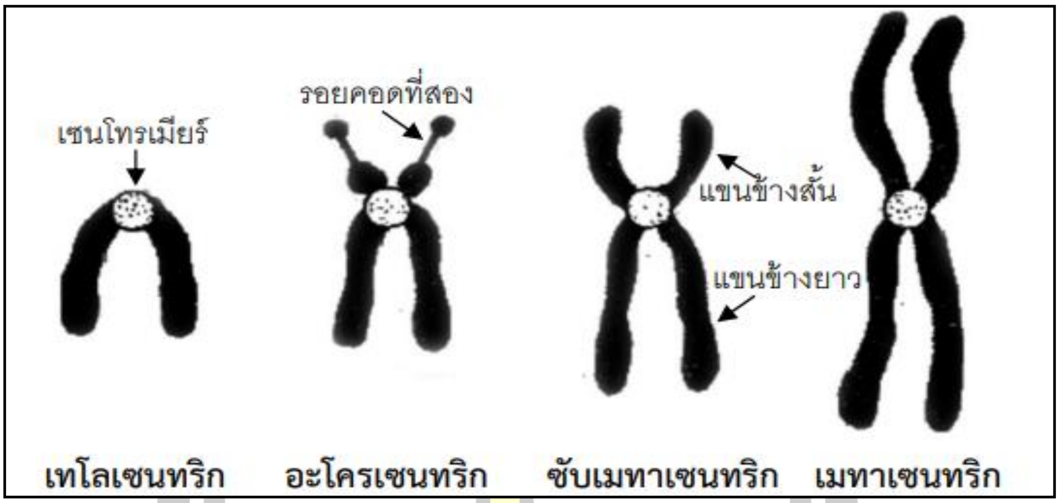

ก. โครโมโซมที่อยู่ใน
นิวเคลียส
ข. โครมาทินที่ขด
เป็นโครโมโซม
ค. โครงสร้างระดับ
โซลีนอยด์
จ. เบสคู่สมในสาย
ดีเอ็นเอเกลียวคู่
ง. โครงสร้างระดับ
นิวคลีโอโซม
ฉ. ดีเอ็นเอสายคู่ที่เป็นโครงสร้าง
พื้นฐานของโครโมโซม

ภาพที่ 15 การกำเนิดโครโมโซม

ที่มา : ดัดแปลงจาก อลงกลด แทนออมทอง (2554)

2.3.1 รูปร่างและลักษณะของโครโมโซม

โครโมโซมจะมีการเปลี่ยนแปลงไปตามระยะต่างๆในการแบ่งเซลล์ แต่พบว่าในระยะเมทาเฟส (Metaphase) เป็นระยะที่สามารถมองเห็นได้ชัดเจน เนื่องจากโครโมโซมจะหดตัวสั้นที่สุดและมีขนาดใหญ่ ทั้งนี้ชนิดของโครโมโซมสามารถแบ่งได้เป็น 4 ชนิด โดยดูจากตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ในการแยกเป็นหลัก ดังนี้ เมทาเซนทริก (Metacentric) ซับเมทาเซนทริก (Submetacentric), อะโครเซนทริก (Acrocentric) และ เทโลเซนทริก (Telocentric) (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 16 รูปทรงของโครโมโซม 4 แบบ

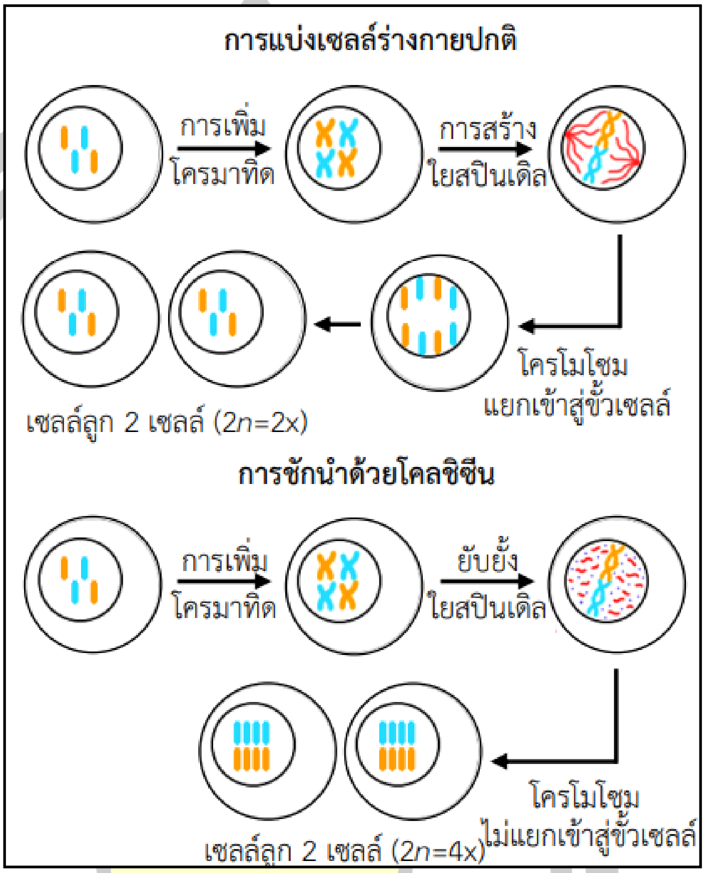
ที่มา : ดัดแปลงจาก อลงกลด แทนออมทอง (2554)

2.4 การเกิดพอลิพลอยด์

การเกิดพอลิพลอยด์ (Polypoid) คือ การที่สิ่งมีชีวิตมีจำนวนของโครโมโซม (จีโนม) มากกว่า 2 ชุด ขึ้นไป กล่าวคือ ชุดโครโมโซมแทนสัญลักษณ์ด้วย “x” ทั้งนี้พืชที่มีจำนวนโครโมโซม 2 ชุด ดิพลอยด์ (Diploid, $2n=2x$), 3 ชุด ทริพลอยด์ (Triploid, $2n=3x$) และ 4 ชุด เททระพลอยด์ (Tetraploid, $2n=4x$) นอกจากนี้การเกิดพอลิพลอยด์เป็นกระบวนการที่สำคัญสำหรับพืชที่ใช้ในการวิวัฒนาการ โดยพืชดอก (Angiospem) เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ (Dicotyledon) เกิดพอลิพลอยด์ประมาณ 43 เปอร์เซ็นต์ (ประมาณ 12,000 ชนิด) ในส่วนของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (Monocotyledon) เกิดพอลิพลอยด์ประมาณ 58 เปอร์เซ็นต์ และพบพืชพอลิพลอยด์ส่วนมากอยู่ในพืชวงศ์ผักไผ่ (Polygonaceae) วงศ์กุหลาบหิน (Cassilaceae) และมอส (Moss) เป็นต้น

ทั้งนี้พอลิพลอยด์มีความสำคัญกับการวิวัฒนาการของพืชทำให้พบการรายงานความก้าวหน้าด้านงานด้านดังกล่าวได้มีการเผยแพร่อย่างต่อเนื่องโดยพบการรายงาน Gomiirgen (2000), Sarathum (2010), Rameshsing (2015) กรณีศึกษาพอลิพลอยด์ในแคคตัสได้เริ่มต้นในพืชสกุล *Opuntia* โดย Pinkava and McLeod (1971), Pinkava et al. (1973), Baker and Pinkava (1987), Baker et al. (2009) และ Majure et al. (2012) ในแคคตัส *Blossfeldia liliputana* โดย Ross (1981) ในสกุล *Echinocereus* โดย Cota (1991), Cota and Wallace (1995) สกุล *Mammillaria* โดย Ross (1981) สกุล *Hylocereus* และในแคคตัส *Rhipsalis baccifera* โดย Cota-Sánchez and Bomfim-Patrício (2010) นอกจากนี้การชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ ในแคคตัสเพื่อส่งเสริมให้พืชมีการแสดงออกของลักษณะที่แปลกใหม่ (Cota and Philbrick, 1994) สามารถ

นำไปสู่การสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่พืชนี้และสร้างกระแสตลาดแคคตัสพันธุ์ใหม่ทดแทนพืชพันธุ์เดิมที่ตลาดมักจะให้ความสำคัญลดลง (ภาพที่17)


การแบ่งเซลล์ร่างกายปกติ
การเพิ่มโครมาทิด
การสร้างใยสปินเดิล
โครโมโซมแยกเข้าสู่ขั้วเซลล์
เซลล์ลูก 2 เซลล์ (2n=2x)
การชักนำด้วยโคลชิซีน
การเพิ่มโครมาทิด
ยับยั้งใยสปินเดิล
โครโมโซมไม่แยกเข้าสู่ขั้วเซลล์
เซลล์ลูก 2 เซลล์ (2n=4x)

ภาพที่ 17 การแบ่งเซลล์ร่างกายปกติ

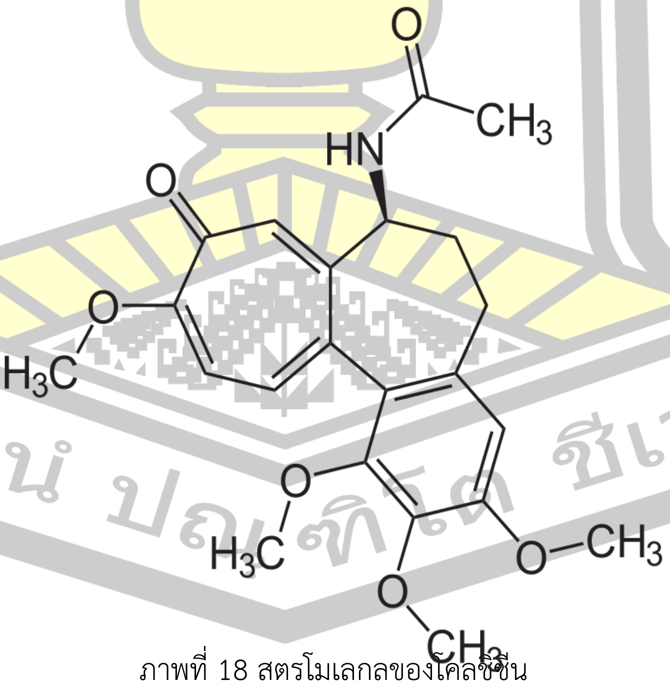
ที่มา : อลงกลด แทนออมทอง (2554)

2.5 โคลชิซินและการประยุกต์ใช้ประโยชน์

โคลชิซีน (Colchicine) เป็นสารอัลคาลอยด์ (Alkaloid) ที่มีชื่อเรียกว่าอะเซทิลไตรเมธิลโคลชิซีน (Acetyltrimethyl Colchicines) โดยมีสูตรโมเลกุล $C_{22}H_{25}No_6$ (ภาพที่18) ลักษณะของสารเป็นผง มีสีเหลืองหรือสีขาว สามารถละลายน้ำหรือแอลอฮอล์ได้ดี โดย Webber (1940) ได้ค้นพบสารเคมีที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนโครโมโซมที่ถูกสกัดจากต้น Autum crocus (*Chochicum autumnale* L.) เรียกสารนี้ว่า โคลชิซีน มีคุณสมบัติช่วยป้องกันการเกิดเส้นใยสปินเดอร์ไฟเบอร์ (Spinder fiber) ส่งผลให้โครโมโซมเดิมและโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นอีกเท่าตัวก็จะอยู่ในเซลล์เดียวกันทำให้เกิดเป็นพอลิพลอยด์พบการรายงานการศึกษาในกล้วยไม้ (*Dendrobium chrysotoxum*) โดย Atichart (2013) นำเมล็ดของพืชทดลองมาเพาะเลี้ยงในอาหารปลอดเชื้อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นย้ายไปในอาหารเพาะเลี้ยงปลอดเชื้อที่ผสมสารโคลชิซินเข้มข้นที่ระดับ 0.00, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน บันทึกผลการทดลองที่ 50 วัน พบว่าพืชทดลองได้รับสารโคลชิซินเข้มข้นและระยะเวลาที่นานขึ้นส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตลดลง นอกจากนี้

ยังพบว่าพืชที่ได้รับสารโคชิซินเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 1 และ 2 วัน พบพืชที่เป็นเตตระพอลยด์ (2n=4x) ส่งผลให้มีการเจริญเติบโตที่สูงขึ้น และมีจำนวนการสร้างตาหน่อสูงถึง 0.5 หน่อ

ทั้งนี้ยังการรายงานใน แกลดิโอลัส (*Gladiolus grandifloras*) ‘White Prosperity’ โดย Manzoor et al., (2018) โดยนำส่วรเหง้าของพืชทดลองจุ่มแช่สารโคลชิซินเข้มข้น 0.1, 0.2 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าพืชทดลองได้รับสารโคลชิซินเข้มข้นและระยะเวลาที่นานขึ้นส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าพืชที่รับสารโคลชิซินเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ มีอายุการปักแจกันสูงที่สุดถึง 10.7 วัน ในขณะที่พืชที่รับโคลชิซินเข้มข้น 0.3เปอร์เซ็นต์ มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางดอกสูงถึง 8.9 เซนติเมตร อนอกจากนี้ยังพบว่าขนาดและความหนาแน่นของเซลล์ปากใบที่เพิ่มขึ้นของพืชทดลองสามารถชี้วัดพืชพอละลอยด์โดยพบในพืชทอดลองทีได้รับสารโคลชิซินเข้มข้น 0.2 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 18 สูตรโมเลกุลของโคลชิซีน

ที่มา : อลงกลด แทนออมทอง (2554)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.6.1 การศึกษาจำนวนโครโมโซมพืชวงศ์แคคตัส

การศึกษาโครโมโซมพืชวงศ์แคคตัสใช้เป็นหลักฐานเพื่อใช้บ่งชี้ถึงความแตกต่างด้านสัณฐานวิทยาของพืชกลุ่มดังกล่าวที่มีความสัมพันธ์กับปัจจัยด้านภูมิศาสตร์ของถิ่นอาศัย (Rebman and Pinkava, 2001) การศึกษาชุดโครโมโซมในพืชเริ่มต้นขึ้นโดย Mendel (1860) ได้ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของต้นถั่วลันเตา *(Pisum sativum L.)* หลังจากนั้น Sutton (1889) ได้รายงานการค้นพบโครโมโซม ที่มีลักษณะเป็นเส้นใยอยู่ภายในและเทคนิคการย้อมสีโครโมโซม ต่อมาความก้าวหน้าของงานด้านดังกล่าวได้มีรายงานเผยแพร่อย่างต่อเนื่องโดย Cota and Philbrink (1994), Dekker et al. (2002), Cremer et al. (2010) *เป็นต้น ทั้งนี้*การศึกษาโครโมโซมในแคคตัสเริ่มต้นในพืชสกุล *Opuntia* โดย Pinkava et al., (1973), Pinkava et al. (1997), และ Mazzola et al. (1988) สกุล *Pyrrhocactus* โดย Berger (1929) จากการศึกษาจำนวนโครโมโซมในฐานข้อมูล Index of plant chromosome number พบรายงานการศึกษาพืชวงศ์แคคตัส ตามละเอียดอันที่ปรากฏในตารางที่ 1

ตารางที่ 2 การศึกษาจำนวนโครโมโซมพืชวงศ์แคคตัส

Genus Species	Chromosome	
	N	2N
Acanthorhipsalis monacantha (Griseb.) Britton & Rose.		22
Ancistrocactus brevihamatus (Engelm.) Britton & Rose.	11	
A. scheeri (Salm-Dyck) Britton & Rose.	11	22
A. tobuschii (W.T. Marshall)	11	
Ariocarpus fissuratus (Engelm.) K. Schum.		22
Astrophytum asterias (Zucc.) Lem.		22
A. capricorne (A. Dietr.) Britton & Rose.	11	22
A. myriostigma Lem.		22
A. ornatum (DC.) Britton & Rose.		22
Bergerocactus Britton & Rose *emoryi*	22	
Blossfeldia liliputana	33	
Carnegiea gigantea Britton & Rose.	11	
Cereus cochal Orcutt.	11	
C. moryi Engelm.	22	
Chamaecereus silvestrii (Speg.) Britton & Rose		22/20
Cleistocactus baumannii Lem.		22
Coryphantha clavata (Scheidw.) Backeb.	11	
C. cornifera (DC.) Lem.	11	22
C. dasyacantha (Engelm.) Orcutt.	11	22
C. hesteri Y. Wright.		22
Disocactus alatus (Sw.) Kimnach.		22
D. amazonicus (K. Schum.) D.R. Hunt.		22
D. biformis (Lindl.) Lindl.		22

ตารางที่ 1 การศึกษาจำนวนโครโมโซมพืชวงศ์แคคตัส (ต่อ)

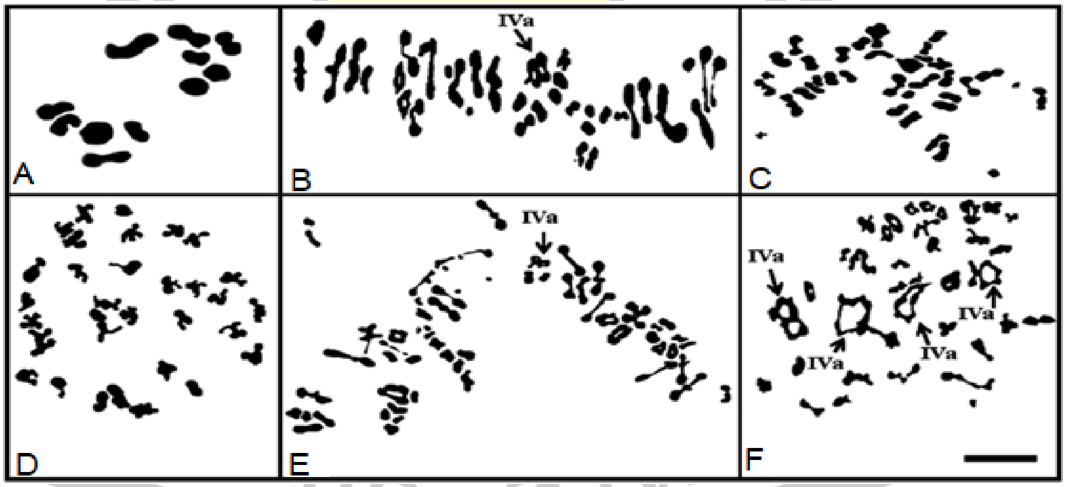
Genus Species	Chromosome	
	N	2N
Echinocereus arizonicus Rose ex Orcutt.	11	
E. blanckii (Poselger) Palmer.	11	
E. canyonensis Clover & Jotter	22	
E. engelmannii Lem.	22	44
E. stolonifer W.T. Marshall		22
Lophocereus Schottii (Engelm.) Britton & Rose.	11	
Mammillaria albilanata Backeb.	22	
M. bocasana Poselg.	11	22
M. candida Scheidw.	11	
M. carmenae Castañeda.	11	22
M. herrerae Werderm.		22
M. sempervivi DC.	11	22
M. zeilmanniana Boed.	11	22
Melocactus brederooianus Buining		44
M. oreas Miq.		44
Opuntia abyssi Hester.	11	22
O. dulcis Engelm.	33	
O. ganderi (C.B. Wolf) Rebman & Pinkava.	11	
O. nicholii L.D. Benson.	33	66
O. tapona Engelm. ex J.M. Coult.	11	

N = Gametophytic Count, 2N= Sporophytic Count

ที่มา : Index of plant chromosome number (2021)

Palomino et al. (2016) ได้รายงานระดับพอลิพลอยด์ของแคคตัสสกุล *Opuntia* 6 ชนิด คือ *O. heliabravoana, O. joconostle, O. matudae, O. oligacantha, O. hyptiacantha* และ *O. tomentosa* เริ่มต้นโดยเก็บพืชตัวอย่างที่ขึ้นในพื้นที่ธรรมชาติในเมือง Pachuca ในรัฐ Hidalgo และในเขตอนุรักษ์พันธุ์ไม้ The Pedregal of San Angel ทำการทดลองโดยนำ

ตัวอย่างดอกอ่อนของต้นพืชแต่ละสกุลมาแช่ใน ethanol 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมตัวอย่างตามขั้นตอนการศึกษาโครโมโซม อีกด้านหนึ่งใช้สำหรับศึกษาระดับพอลิพลอยด์ (Polyploidy) ด้วยเทคนิค Flow cytometry ตามวิธีของ Tepakum et al. (1998) ผลการศึกษาพบว่าพืชตัวอย่างที่ขึ้นในพื้นที่ธรรมชาติมีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกัน กล่าวคือ *O. heliabravoana* มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน 2n = 22 โครโมโซมมีลักษณะแบบกลม และเป็นแท่งยาว ในส่วนของ *O. joconostle* มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน 2n = 66 ลักษณะของโครโมโซมเป็นแบบกลม แบบแท่ง และแบบคู่ 1 คู่ เรียงตัวกันอยู่ในนิวเคลียส ทั้งนี้ *O. matudae* มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน 2n = 66 โครโมโซมมีลักษณะกลม และเป็นแท่งยาวกระจายตัวอยู่ในนิวเคลียส ใน *O. oligacantha* และ *O. hyptiacantha* มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน 2n = 66 แต่ลักษณะของโครโมโซมแตกต่างกัน *O .oligacantha* โครโมโซมมีลักษณะกลม และเป็นแท่งยาวกระจายตัวอยู่ในนิวเคลียส (ภาพที่ 19) และใน *O. hyptiacantha* มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน 2n = 88, โครโมโซมมีลักษณะกลม แท่งยาว และแบบคู่ 4 คู่ กระตัวกันอยู่ใน ผลการศึกษาพอลิพลอยด์ในพืชสกุล *Opuntia* 6 ชนิด พบชุดโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ (Diploid) 2n = 2x คือ *O. heliabravoana* จากตัวอย่างที่ถูกเก็บในพื้นที่ธรรมชาติของรัฐ Hidalgo เมือง Pachuca พบพืชที่มีชุดโครโมโซมเป็นเฮกสะพลอยดี (Hexaploidy) 2n = 6x คือ *O.joconostle, O. matudae,* และ *O. oligacantha* จากตัวอย่างที่ได้จากการเพาะปลูกในรัฐ Mexico เมือง Otumba และพบพืชที่มีชุดโคโมโซมเป็นออกตะพลอยด์ (Octaploidy) 2n = 8x คือ *O. hyptiacantha* จากตัวอย่างพืชที่เพาะปลูกในรัฐ Mexico เมือง Otumba และ *O. tomentosa* จากตัวอย่างที่ถูกเก็บในพื้นที่ธรรมชาติในเขตอนุรักษ์พันธุ์ไม้ The Pedregal of San Angel (ตารางที่ 2)



ภาพที่ 19 จำนวนโครโมโมโซม *Opuntia* 6 ชนิด

Note: Scale bar equals 10 μm.

ที่มา **:** ดัดแปลงจาก Palomino et al. (2016)

ตารางที่ 3 พอลิพลอยด์และโครโมโซมของ *Opuntia* 6 ชนิด

Species	2n	Ploidy level	Origin of Plant	Location
O. heliabravoana	22	2x	Wild	Mexico, Hidalgo State, Pachuca.
O. joconostle	66	6x	Cultured	Mexico. Mexico State, Otumba, Belen.
O. matudae	66	6x	Cultured	Mexico. Mexico State, Otumba, Belen.
O. hyptiacantha	88	8x	Cultured	Mexico. Mexico State, Otumba, Belen.
O. oligacantha	66	6x	Cultured	Mexico. Mexico State, Tepotzotlan.
O. tomentosa	88	8x	Wild	Ecological Reserve of the Pedregal of San Angel

ที่มา : ดัดแปลงจาก Palomino et al. (2016)

Wellard (2017) ได้รายงานผลการศึกษาโครโมโซมของ *Echinocereus* ซึ่งเป็นแคคตัสที่มีความโดดเด่นด้านความหลากของลักษณะสัณฐานวิทยาของพืชแต่ละชนิดที่อยู่ในสกุลเดียวกัน ลักษณะสัณฐานวิทยาโดยรวมของพืชในสกุลนี้ คือ เป็นลำต้นเดี่ยวลักษณะอวบ หนามมีสีขาวหรือสีชมพูอมแดงแนบไปกับลำต้น ไม่มีหนามกลาง ดอกมีขนาดใหญ่สีชมพูสด มีถิ่นกำเนิดทางภาคใต้ของประเทศสหรัฐอเมริกาและเม็กซิโก พบขึ้นกระจายตัวหนาแน่นบริเวณทิศตะวันตกเฉียงเหนือของรัฐ Utah และทางทิศเหนือของรัฐ Arizona งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบจำนวนโครโมโซมของพืชในสกุล 2 ชนิด คือ *E. engelmannii* และ *E. relictus* เริ่มต้นโดยการเก็บพืชตัวอย่างที่ขึ้นในพื้นที่ธรรมชาติตามแนวภูเขาและทะเลทรายของทิศตะวันตกเฉียงเหนือของรัฐ Utah และ Arizona ซึ่งตั้งอยู่ทางตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศ นำตัวอย่างมาแช่ในสารละลาย 1.0 เปอร์เซ็นต์ Indole 3 Butyric acid และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ 1-Naphthaleneacetic จากนั้นเตรียมเนื้อเยื่อส่วนปลายรากของพืชตัวอย่างในตอนเช้าเวลา 09.00-10.00 นาฬิกา ตามขั้นตอนการศึกษาโครโมโซมดังที่กล่าวมาข้างต้น วางตัวอย่างบนสไลด์ หยด 60 เปอร์เซ็นต์ Acetic acid (2-3 หยด) ทำการอุ่นด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์ ซับส่วนเกินด้วยกระดาษ Bibu-lous กดสไลด์ 5 วินาที นำสไลด์วางบนน้ำแข็งแห้งเป็นเวลา 10 นาที และอุ่นด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์อีกครั้ง จากนั้นย้อมสีตัวอย่างด้วย Giemsa 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12-20 นาที นำสไลด์มาตรวจนับโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100x เพื่อนับจำนวนโครโมโซมและบันทึกภาพ

ผลการศึกษาพบว่าพืชในสกุล *Echinocereus* ทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ *E. engelmanii* และ *E. relictus* ที่ขึ้นในสภาพธรรมชาติต่างพื้นที่มีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกัน กล่าวคือ *E. engelmanii* ที่พบในถิ่นอาศัยย่อยของ รัฐ Utah ทั้ง 5 พื้นที่ ได้แก่ ทางหลวง La Verkin Overlook, Hueeicane

Cliffs, Fort Pearce, Beaver Dam Wash และพื้นที่ทางตอนเหนือของ Sullivan’s knoll มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน 2n= 44 ส่วน *E. relictus* ที่ขึ้นในพื้นที่ของรัฐ Utah ทั้ง 5 พื้นที่ ได้แก่ ด้านทิศตะวันตกของทางหลวงหมายเลข 18 ด้านทิศตะวันออกของ Gunlock Reservoir ด้านทิศตะวันออกเฉียงเหนือของ Cinder Cone ด้านทิศตะวันตกเฉียงใต้ของ Gunlock Cone, lvins near Kayenta และรัฐ Arizona อีก 5 แห่ง ได้แก่ พื้นที่ในเขต Black Rock Canyon, ด้านทิศใต้ของถนน Black Rock พื้นที่ในเขตทางแยกของภูเขา Low ภูเขา Wolf Hole และ พื้นที่ในเขต Black Rock มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน 2n= 22 (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 4 จำนวนโครโมโซมของ *Echinocereus* 2 ชนิด

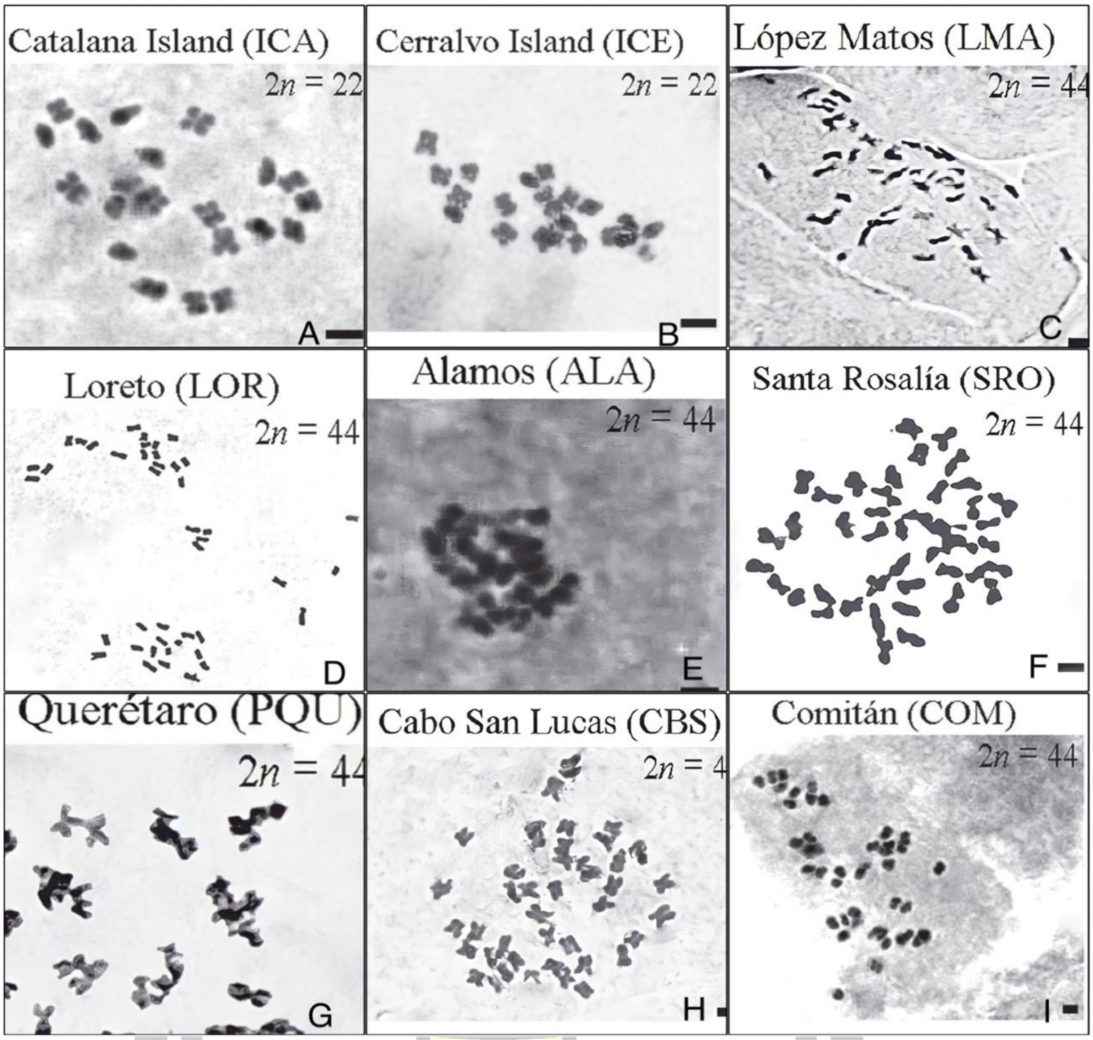
Taxon	Location	Chromosome Number
E. engelmanii	Utah,Washiongton Co.,La Verkin Overlook Road	2n = 44
E. engelmanii	Utah,Washiongton Co.,Hueeicane Cliffs	2n = 44
E. engelmanii	Utah,Washiongton Co., Fort Pearce	2n = 44
E. engelmanii	Utah,Washiongton Co., Beaver Dam Wash	2n = 44
E. engelmanii	Utah,Washiongton Co., N of Sullivan's knoll	2n = 44
E. relictus	Utah,Washiongton Co., W of Highway 18	2n = 22
E. relictus	Utah,Washiongton Co., E of Gunlock Reservoir	2n = 22
E. relictus	Utah,Washiongton Co., NW of Cinder Cone	2n = 22
E. relictus	Utah,Washiongton Co., NW of Gunlock Cone	2n = 22
E. relictus	Utah,Washiongton Co., Ivins near Kayenta	2n = 22
E. relictus	Arizona, Mohave Co., Black Rock Canyon	2n = 22
E. relictus	Arizona, Mohave Co., S on Black Rock Road	2n = 22
E. relictus	Arizona, Mohave Co., Junction to Low Mountain	2n = 22
E. relictus	Arizona, Mohave Co., Wolf Hole Mountain	2n = 22
E. relictus	Arizona, Mohave Co., Black Rock	2n = 22

ที่มา : ดัดแปลงจาก Wellard. (2017)

Gutiérrez-Flores et al. (2017) ได้รายงานผลการศึกษาโครโมโซมของ *Pachycereus pringlei* ซึ่งเป็นแคคตัสที่มีความโดดเด่นในด้านสัณฐานวิทยา กล่าวคือ ลำต้นมีลักษณะอวบใหญ่ แตกกิ่งได้มาก (มากกว่า 30 กิ่ง) ดอกมีสีแดงและผลขนาดใหญ่ พืชนี้มีถิ่นกำเนิดในประเทศสหรัฐอเมริกา พบขึ้นกระจายตัวหนาแน่นบริเวณชายฝั่งของรัฐ California และรัฐ Arizona โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการกระจายทางภูมิศาสตร์และจำนวนโครโมโซมของพืชชนิดนี้ เริ่มต้นโดยการเก็บผลสุกของพืชตัวอย่างที่ขึ้นในพื้นที่ธรรมชาติตามแนวชายฝั่งในเขต Catalana Island, Cerralvo Island, El Rosario, Cabo San Luca, El Comtian, Lopez Mateos, Loreto, Puente Queretaro, Santa Rosalia, Bahia de Los Angeles, San Felip และ Alamos ของรัฐ California และในเขต Catalana Island, Cerralvo Island และ El Rosario ซึ่งตั้งอยู่บนเกาะห่างจากชายฝั่งและมีลักษณะส่วนใหญ่ของพื้นที่เป็นภูเขา ส่วนพื้นที่เก็บตัวอย่างในเขต Cabo San Lucas, El Comtian, Lopez Mateos, Loreto, Puente Queretaro, Santa Rosalia, Bahia de Los Angeles, San Felipe และ Alamos ทั้ง 9 แห่งนี้มีลักษณะทางกายภาพเป็นพื้นที่ทะเลทรายเกือบทั้งหมด นำผลสุกของพืชที่เก็บจากแต่ละพื้นที่มาแยกเมล็ดออกจากผล ล้างด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 10 เปอร์เซ็นต์ (NaClO) แล้วนำไปเพาะบนกระดาษในจานเพาะ (Plastic disk) วางจานเพาะเมล็ดไว้ในโรงเรือนจนกระทั่งเมล็ดงอก (ใช้เวลาประมาณหนึ่งสัปดาห์) นำเนื้อเยื่อส่วนปลายรากของตัวอย่างที่งอกจากเมล็ดมาแช่ในสารโคลชิซิน (Colchicine) 0.2 เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 - 4 ชั่วโมง จากนั้นเตรียม

ตัวอย่างตามขั้นตอนการศึกษาโครโมโซมดังที่กล่าวข้างต้น ย้อมสีตัวอย่างด้วย Aceto-orcein แล้วนำตัวอย่างวางบนกลางของสไลด์ ปิดด้วยแผ่นแก้วและกดบีบตัวอย่างให้แตก ตรวจนับโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100x พร้อมกับบันทึกภาพ (ภาพที่ 17 A – I)

ผลการศึกษาพบว่า *Pachycereus pringlei* ที่ขึ้นในสภาพธรรมชาติต่างพื้นที่มีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกัน คือ พืชตัวอย่างที่ขึ้นในพื้นที่ Catalana Island, Cerralvo Island และ El Rosario มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน 2n = 22 ส่วนพืชตัวอย่างที่ขึ้นในพื้นที่ Cabo San Lucas, El Comtian, Lopez Mateos, Loreto, Puente Queretaro, Santa Rosalia, Bahia de Los Angeles, San Felipe และ Alamos มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน2n = 44 (ตารางที่ 4) แม้ว่าโครโมโซมของพืชที่พบขึ้นในพื้นที่ Catalana Island กับ Cerralvo Island จะมีลักษณะคล้ายกันคือตัวหนาและสั้นอยู่รวมกันเป็นกลุ่มในนิวเคลียส (ภาพที่ 17 A – *B*) ส่วนพืชตัวอย่างที่ขึ้นในพื้นที่เขต Lopez Mateos และ Loreto มีความแตกต่างกัน คือ มีลักษณะเป็นแท่งยาวและหนากระจายตัวอยู่ในนิวเคลียส (ภาพที่ 17 C - D) ทั้งนี้โครโมโซมของพืชตัวอย่างที่พบขึ้นในเขต Alamos มีลักษณะเป็นรูปรีและหนาอยู่รวมกันเป็นกลุ่มในนิวเคลียส (ภาพที่ 19 E) ส่วนโครโมโซมของพืชตัวอย่างที่พบขึ้นในเขต San Felipe, Puente Queretaro และ Cabo San Lucas มีลักษณะคล้ายกันคือเป็นแท่งยาวและหนากระจายตัวกันอยู่ในนิวเคลียส (ภาพที่ 17 F – H) และโครโมโซมของพืชตัวอย่างที่พบขึ้นในเขต El Comtian มีลักษณะเป็นรูปรีและบางส่วนมีลักษณะเป็นแท่งสั้นและหนากระจายตัวในนิวเคลียส ตามลำดับ (ภาพที่ 17 I)


Catalana Island (ICA)
2n = 22
A
Cerralvo Island (ICE)
2n = 22
B
López Matos (LMA)
2n = 44
C
Loreto (LOR)
2n = 44
D
Alamos (ALA)
2n = 44
E
Santa Rosalía (SRO)
2n = 44
F
Querétaro (PQU)
2n = 44
G
Cabo San Lucas (CBS)
2n = 4
H
Comitán (COM)
2n = 44
I

ภาพที่ 20 โครโมโซมในระยะเมทาเฟสของ *Pachycereus pringlei*.

ที่มา : ดัดแปลงจาก Gutiérrez-Flores et al. (2017)

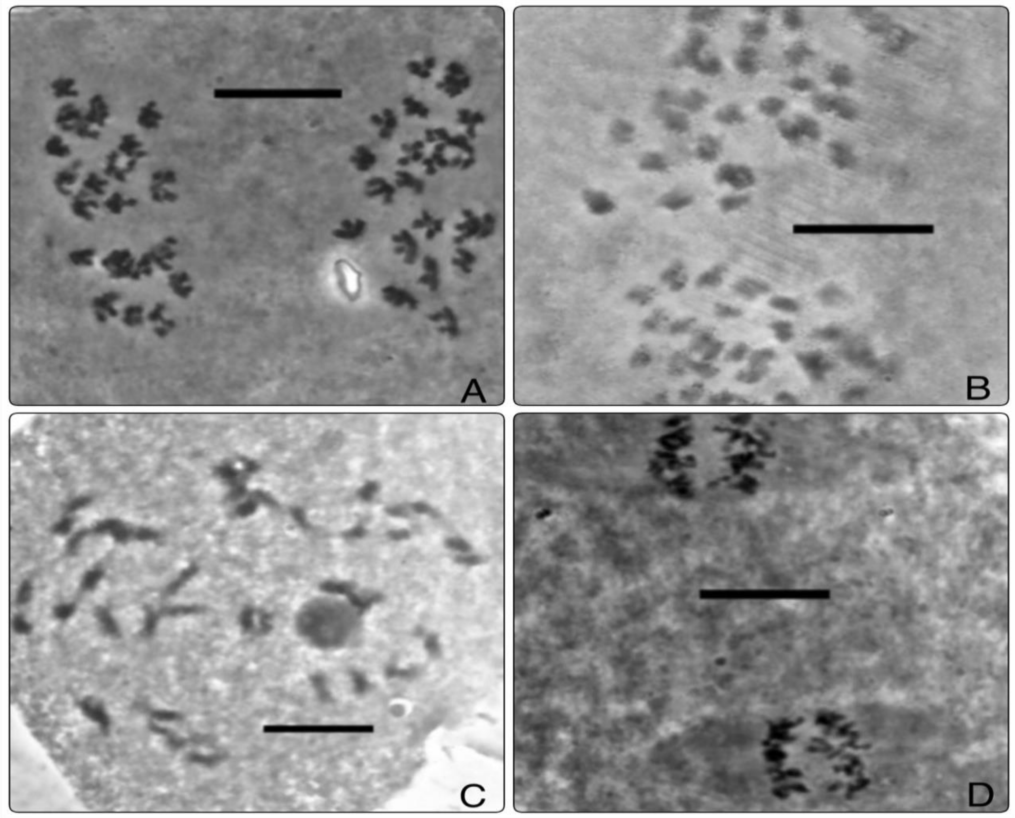
ตารางที่ 5 จำนวนโครโมโซมของ *Pachycereus pringlei* ในถิ่นอาศัย

Locality	Code	Latitude	Longitude	Chromosome Number
Catalana Island	ICA	25.6768°	-110.8087°	2n = 22
Cerralvo Island	ICE	24.18686°	-109.8775°	2n = 22
El Rosario	ROS	30.0861°	-115.6795°	2n = 22
Cabo San Lucas	CBS	22.9438°	-109.9905°	2n = 44
El Comitan	COM	24.1332°	-110.4317°	2n = 44
Lopez Mateos	LMA	25.2726°	-111.8942°	2n = 44
Puente	PQU	22.3508°	-111.6094°	2n = 44
Loreto	LOR	25.8918°	-111.4698°	2n = 44
Santa Rosalia	SRO	27.2408°	-112.3615°	2n = 44
Bahia de Los	BAN	28.9164°	-113.5541°	2n = 44
San Felipe	SFE	30.3716°	-114.8537°	2n = 44
Alamos	ALA	26.8978°	-109.4578°	2n = 44

ที่มา : ดัดแปลงจาก Gutiérrez-Flores et al. (2017)

Baker and Pinkava (2018) ได้รายงานผลการศึกษาโครโมโซมและพอลิพลอยด์ของแคคตัสสกุล *Cylindropuntia, Echinocereus* และ *Grusonia* ซึ่งพบขึ้นกระจายตัวอย่างหนาแน่นในเขตพื้นที่ภาคตะวันตกเฉียงเหนือของประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งบริเวณดังกล่าวตั้งอยู่แนวชายฝั่งแปซิฟิก มีพื้นที่ประมาณ 1,009,688 ตารางไมล์ (2,615,080 ตารางกิโลเมตร) สภาพแวดล้อมโดยรวมลักษณะภูมิอากาศแบบทุ่งหญ้ากึ่งทะเลทราย (Steppe climate) คือ มีสภาพอากาศร้อนแห้งแล้ง ฤดูหนาวอากาศหนาวจัด มีปริมาณฝนเฉลี่ย 254-381 มิลลิเมตร/ปี พืชพรรณธรรมชาติที่ขึ้นในพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นทุ่งหญ้าเรียก ทุ่งหญ้าสเตปป์ (Steppe) ทำการทดลองโดยเก็บตัวอย่างดอกอ่อนของต้นพืชแต่ละสกุลมาแช่ใน ethanol 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมตัวอย่าง โดยนำเนื้อเยื่ออับเรณูวางบนสไลด์โดย แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกใช้เข็มกดบนผนังอับเรณูและเขี่ยผนังอับเรณูทิ้ง หยดสี Acetocarmine 1-2 หยด คนเบาๆ 30 วินาที จากนั้นหยดสาร Hoyer 1 หยดลงบนสไลด์ ผสมให้เข้ากันแล้วปิดสไลด์ด้วยแผ่นแก้ว นำสไลด์ลนไฟด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์ แล้วใช้กระดาษซับวางบนแก้ว ใช้นิ้วรีดบนกระดาษซับ นำสไลด์มาตรวจนับโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้เลนส์วัตถุกำลังขยาย 100x เพื่อนับจำนวนโครโมโซมและบันทึกภาพ ส่วนตัวอย่างที่สองใช้สำหรับศึกษาพอลิพลอยด์ (Polyploidy) ด้วยเทคนิค Flow cytometry ตามวิธีของ Tepakum et al. (1998) พบว่าพืชตัวอย่างที่ขึ้นในพื้นที่ธรรมชาติมีจำนวนโครโมแตกต่างกัน กล่าวคือ *C. whipplei* var. whipplei มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน 2n = 22 จำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม มี 3 แท่งและ 4 แท่งอยู่รวมกัน (ภาพที่ 18 A) ในส่วนของ *C. chuckwallensis* มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน 2n = 66 กระจายตัวในนิวเคลียส (*ภาพที่ 18 B*) ทั้งนี้ *E. Coccineus* มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน 2n = 22 ลักษณะของโครโมโซมเป็นแท่งยาวกระจายตัวอยู่ในนิวเคลียส (ภาพที่ 20 C) ส่วน *O. Basilaris*

มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน 2n = 22 จำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม มีขนาดเล็กและหนา (ภาพที่ 18 A – D)



ภาพที่ 21 จำนวนโครโมโมโซมในระยะเมทาเฟสของแคคตัส 3 ชนิด

(A) *C. whipplei* var. *whipplei* 2n = 22 (B) *C. chuckwallensis*. 2n = 66

(C) *E. coccineus* 2n = 22. (D) *O. basilaris*. 2n = 22

ที่มา : ดัดแปลงจาก Baker and Pinkava (2018)

กรณีศึกษาระดับพอลิพลอยด์ (polyploidy) ในแคคตัสด้วยเทคนิค Flow cytometry ในพืชวงศ์แคคตัส 3 สกุล พบว่าพืชตัวอย่างในสกุล *Echinocereus* ที่มีชุดโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ (Diploid) 2n = 2x ได้แก่ *E. Chloranthus* จำนวน 20 ต้น *E. Davisii* 1 ต้น พบพืชที่มีชุดโครโมโซมเป็นเตตะพลอยด์ (Tetraploidy) 2n = 4x ใน *E. engelmannii* จำนวน 130 ต้น และพบในพืชลูกผสมระหว่าง *E. lloydii* จำนวน 5 ต้น นอกจากนี้ยังพบชุดโครโมโซมเป็นเพนตะพลอยด์ (Pentraploid) 2n = 5x ในพืชลูกผสมระหว่าง *E. coccineus* x *E. yavapaiensis* จำนวน 1 ต้น ในส่วนพืชสกุล *Grusonia* ที่มีชุดโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ (Diploid) 2n = 2x คือ *G. aggeria* จำนวน 52 ต้น, *G. clavate* จำนวน 5 ต้น พบพืชที่มีชุดโครโมโซมเป็น

เตตะพลอยด์2n = 4x ใน *G. agglomerate* จำนวน 4 ต้น และ *G. wrightiana* จำนวน 4 ต้น นอกจากนี้ยังพบชุดโครโมโซมเป็นเพนตะพลอยด์ (Pentraploid) 2n = 5x ใน *G. schottii* จำนวน 4 ต้น และพืชในสกุล *Cylindropuntia* มีชุดโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ (Diploid) 2n = 2x ในพืชลูกผสมระหว่าง *C. abyssi × C. acanthocarpa var. acanthocarpa* จำนวน 1 ต้น *C. echinocarpa × munzii* 2 ต้น, *C. multigeniculata × C. whipplei* จำนวน 1 ต้น *C. leptocaulis × C. whipplei* จำนวน 8 ต้น และพบชุดโครโมโซมเฮกสะพลอยดี (hexaploidy) 2n = 6x ในพืชลูกผสมระหว่าง *C. anteojoensis (Pinkava) × C. leptocaulis* จำนวน 10 ต้น (ตารางที่ 6)

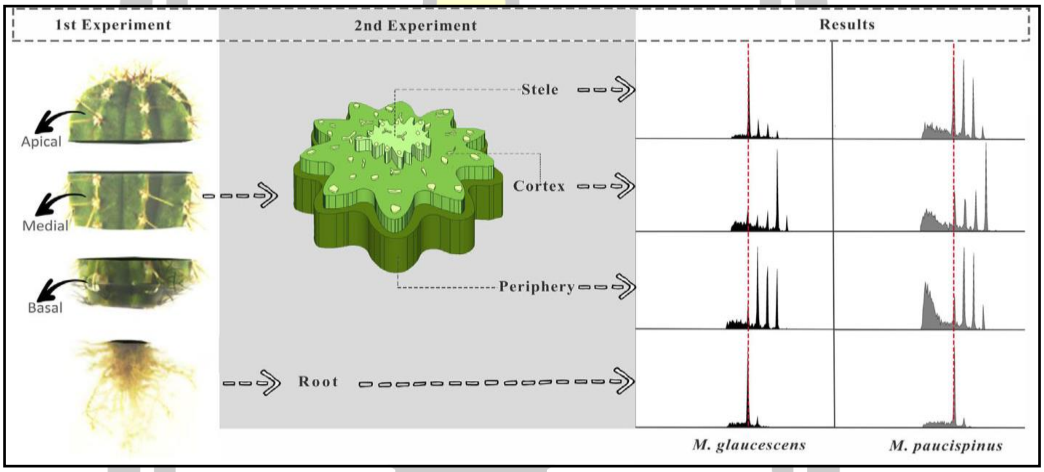
ตารางที่ 6 จำนวนโครโมโซมของ *Echinocereus*, *Grusonia*, *Cylindropuntia* และลูกผสม

Taxon	2x	3x	4x	5x	6x
E. chloranthus	20				
E. coccineus subsp. *coccineus × E. yavapaiensis*				1	
E. davisii	1				
E. engelmannii Rümpler subsp. *engelmannii*			130		
E. xlloydii			5		
G. aggeria	52				
G. agglomerata			4		
G. schottii					4
G. wrightiana			4		
G. clavata	5				
C. abyssi × C. acanthocarpa var. acanthocarpa	1				
C. anteojoensis (Pinkava) *× C. leptocaulis*					10
C. echinocarpa × munzii	2				
C. multigeniculata × C. whipplei	1				
C. leptocaulis × C. whipplei	8				

ที่มา : ดัดแปลงจาก Baker and Pinkava (2018)

Torres-Silva et al. (2020) ศึกษาพอลิพลอยด์ของ*Melocactus* 2 ชนิด คือ *M. glaucescens* และ *M. Paucispinus* เริ่มต้นด้วยการเก็บผลสุกของพืชตัวอย่างที่ขึ้นในพื้นที่ธรรมชาติตามแนวชายฝั่งในรัฐ Bahia ของประเทศเม็กซิโก ซึ่งบริเวณดังกล่าวตั้งอยู่บนแนวชายฝั่งทางทิศตะวันออกเฉียงเหนือติดกับมหาสมุทรแอตแลนติกและป่าแอตแลนติก มีพื้นที่ประมาณ 218,029 ตารางไมล์ (564,692 ตารางกิโลเมตร) สภาพแวดล้อมโดยรวมมีลักษณะภูมิอากาศแบบป่าฝนเขตร้อน มีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 101-203 มิลลิเมตร/ ปี ทำการทดลองโดยนำพืชตัวอย่างที่

เพาะเลี้ยงไว้เป็นเวลาอย่างน้อย 4 ปี มาตัดตามขวางเพื่อแยกออกเป็น 4 ส่วน คือ ส่วนยอด (Apical) ส่วนกลางลำต้น (Medial) ส่วนโคนต้น (Basal) และส่วนราก (Root) นำเนื้อเยื่อส่วนกลางลำต้นของพืชตัวอย่างไปศึกษาระดับพอลิพลอยด์ด้วยเทคนิค Flow cytometry ตามวิธีของ Tepakum et al. (1998) เปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อส่วนราก (Root) พบว่า เนื้อเยื่อชั้นในสุด (Stele) ของลำต้น *M. glaucescens* ปรากฏพีค (Peak) ในตำแหน่งเดียวกันกับพีคที่ปรากฏในเนื้อเยื่อส่วนราก อย่างไรก็ตามพบพีคของในเนื้อเยื่อชั้นกลาง (Cortex) ปรากฏในตำแหน่งที่ต่างจากพีคของเนื้อเยื่อส่วนราก 1 พีค และพบพีคของเนื้อเยื่อชั้นนอก (Periphery) ของลำต้นปรากฏในตำแหน่งที่ต่างจากพีคของเนื้อเยื่อส่วนราก 3 พีค ในส่วนของ *M. pancispinus* ปรากฏพีค (Peak) ในตำแหน่งเดียวกันกับพีคที่ปรากฏในเนื้อเยื่อส่วนราก อย่างไรก็ตามพบพีคของในเนื้อเยื่อชั้นใน (Stele) ปรากฏในตำแหน่งที่ต่างจากพีคของเนื้อเยื่อส่วนราก 1 พีค ในส่วนของเนื้อเยื่อชั้นกลาง (Cortex) ปรากฏในตำแหน่งที่ต่างจากพีคของเนื้อเยื่อส่วนราก 1 พีค และพบพีคของเนื้อเยื่อชั้นนอก (Periphery) ของลำต้นปรากฏในตำแหน่งที่ต่างจากพีคของเนื้อเยื่อส่วนราก 2 พีค (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 22 แผนภาพแสดงการแบ่งส่วนลำต้นของ *Melocactus*

ที่มา : ดัดแปลงจาก Torres-Silva et al. (2020)

ผลการเปรียบเทียบองค์ประกอบด้านสัณฐานวิทยาของดอก *Pachycereus pringlei* พบว่ามีความกว้างของวงกลีบดอก (Corolla) ความยาวดอก (Floral) ความยาวของต่อมน้ำต้อย (Nectary) ความยาวเกสร (Stamen) ความยาวกลีบดอก (Tepals) ขนาดความกว้างกลีบดอก จำนวนกลีบดอก ความยาวเกสรเพศเมีย (Pistil) และความยาวยอดเกสรเพศเมีย (Stigma) ของพืชตัวอย่างที่มีชุดโครโมโซมดิพพลอยด์ที่พบขึ้นในบนเกาะ Cerralvo และ Catalana เปรียบเทียบกับพืชตัวอย่างที่มีชุดโครโมโซมพอลิพลอยด์ที่พบในพื้นที่ Cabo San Lucas ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ทั้งนี้ความกว้างของต่อมน้ำต้อย สัดส่วนเรณูและออวุล (Ovules) ต่อดอก (P:O ratio) และจำนวนออวุลของพืชตัวอย่างที่มีชุดโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ที่ขึ้นในพื้นที่ Cerralvo และ Catalana ไม่มีความแตกต่าง

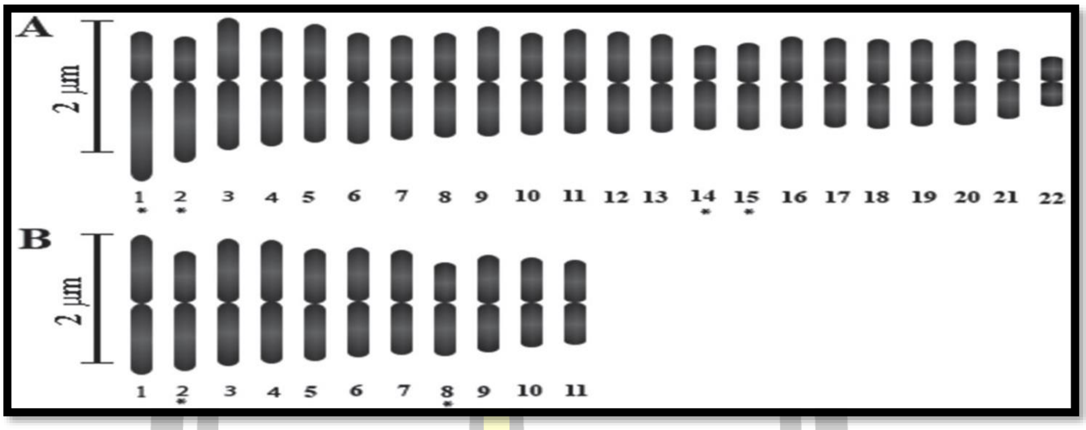
ในทางสถิติ แต่พบความแตกต่างทางสถิติของขนาดต่อมน้ำต้อยของดอกพืช ที่มีชุดโครโมโซมดิพพลอยด์และพอลิพลอยด์ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 7 การวัดลักษณะดอกของ *Pachycereus pringlei.*

Floral trait	Diploid		Polyploid		
	ICE	ICA	CBS	South	North
	n = 50	n = 35	n = 7	n = 20	n = 38
Corolla width (mm)	33.3 ± 0.7	36.2 ± 0.9	29.4 ± 1.2	33.1 ± 1.0	36.0 ± 0.7
Floral length (mm)	90.7 ± 1.2	86.8 ± 0.4	76.4 ± 2.8	85.1 ± 2.1	96.2 ± 1.5
Nectary length (mm)	12.9 ± 0.3	13.0 ± 0.3	9.2 ± 0.4	11.9 ± 0.4	13.0 ± 0.3
Nectary width (mm)	11.1 ± 0.2^{b}	10.7 ± 0.3^{b}	8.7 ± 0.5^{a}	9.3 ± 0.2^{a}	9.9 ± 0.3^{a}
No. of pollen grains (x10^{6})	2.8 ± 0.3^{c}	2.3 ± 0.2^{cb}	1.0 ± 0.2^{a}	1.3 ± 0.2^{a}	1.6 ± 0.2^{ab}
No. of stamens (in 0.5 cm^{2})	48.6 ± 1.0^{ab}	43.0 ± 1.8^{a}	49.0±3.14^{ab}	53.4 ± 1.9^{b}	51.6 ± 2.0^{b}
No. of tepals	49.9 ± 0.6	46.7 ± 1.2	44.3 ± 1.6	47.9 ± 1.4	49.9 ± 0.8
P:O ratio (x10^{3})	2337± 255^{b}	2638± 307^{b}	1178 ± 289^{a}	911 ± 117^{a}	2166± 203^{a}
Stamen length (mm)	10.0 ± 0.2	10.2 ± 0.2	11.9 ± 0.7	10.0 ± 0.2	10.9 ± 0.2
Tepal length (mm)	23.0 ± 0.4	23.5 ± 0.4	19.0 ± 0.6	20.4 ± 0.6	23.0 ± 0.5
Tepal width (mm)	7.7 ± 0.3	8.1 ± 0.3	5.9 ± 0.3	8.0 ± 0.3	9.1 ± 0.2
Ovary length (mm)	14.0 ± 0.4	9.4 ± 0.4	8.3 ± 0.7	13.4 ± 0.7	15.5 ± 0.5
Ovary width (mm)	8.9 ± 0.3	7.9 ± 0.3	8.1 ± 0.5	8.7 ± 0.4	9.6 ± 0.3
Pistil length (mm)	44.6 ± 0.7	47.1 ± 0.9	43.8 ± 1.2	47.9 ± 1.4	51.0 ± 0.9
Stigma length (mm)	9.8 ± 0.3	8.8 ± 0.3	7.7 ± 0.5	8.9 ± 0.3	10.7 ± 0.4
No. of ovules (mm)	1550 ± 66^{b}	907 ± 40^{a}	849 ± 115^{a}	1505± 118^{b}	1614± 112^{b}
Stamen-stigma (mm)	0.5 ± 0.5^{a}	2.0 ± 0.6^{ab}	1.5 ± 1.1^{ab}	4.2 ± 1.0^{bc}	5.4 ± 0.6^{c}

ที่มา : ดัดแปลงจาก Gutiérrez-Flores et al. (2017)

ผลการศึกษาแบบจำลองโครโมโซมของแคคตัส *Pachycereus pringlei* พบโครโมโซมของพืชเตตะพลอยด์ (n = 22) มีจุดเซนโทรเมียร์อยู่บริเวณกึ่งกลางของแขนทั้งสองข้าง (Metacentric) จำนวน 18 แท่ง และพบโครโมโซมที่เซนโทรเมียร์อยู่ในตำแหน่งค่อนข้างไปทางด้านใดด้านหนึ่ง (Submeta centric) (Figure 6A) เปรียบเทียบกับพืชดิพพลอยด์ (n = 11) ซึ่งพบโครโมโซมที่มีจุดเซนโทรเมียร์อยู่บริเวณกึ่งกลางของแขนทั้งสองข้าง (metacentric) จำนวน 9 แท่ง อยู่รวมกับโครโมโซมที่ที่มีเซนโทรเมียร์ค่อนข้างไปทางด้านใดด้านหนึ่งทำให้แขนของโครโมโซมยาวไม่เท่ากัน (ภาพที่ 23)


A
2 µm
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22
B
2 µm
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

ภาพที่ 23 Diagrams ของ *Pachycereus pringlei*

(A) Tetraploid และ (B) Diploid

เครื่องหมาย (*) หมายถึง Submetacentric

ที่มา: ดัดแปลงจาก Gutiérrez-Flores et al. (2017)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของพืชในวงศ์แคคตัส และการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *Gymnocalycium mihanovichii* (Frič ex Gùrke) Brittlon & Rose.

แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *G. mihanovichii* โดยใช้สารโคชิซีน

การทดลองที่ 2 การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ใน *G. mihanovichii*

โดยมีวิธีการดำเนินการวิจัยตามลำดับขั้น ดังนี้

1. การเตรียมพืชตัวอย่าง
2. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี
3. การดำเนินการทดลอง
4. การวิเคราะห์ข้อมูล และสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

การทดลองที่ 1 การชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ใน *G. mihanovichii*

เป็นการศึกษาเพื่อชักนำทำให้พืชมีโครโมโซมเพิ่มขึ้นมากกว่า 2 ชุด ด้วยสารเคมีก่อกลายพันธุ์ ได้แก่ สารโคลชิซีน โดยมีขั้นตอนการศึกษา ดังนี้

3.1 การเตรียมพืชตัวอย่าง

คัดเลือกต้นอ่อนของ *G. mihanovichii* อายุ 1 ปี (มีความสูงและมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 2.5 และ 2 เซนติเมตร) (ภาพที่ 24) ที่เพาะปลูกโดยใช้วัสดุปลูกประกอบด้วยใบก้ามปูหมัก หินภูเขาไฟ และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1 (เชิงปริมาตร) ร่วมกับปุ๋ยละลายช้าสูตร 14-14-14 อัตรา 5 กรัม บรรจุลงในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 นิ้ว จำนวน 30 กระถาง กระถางละ 1 ต้น และกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 นิ้ว จำนวน 15 กระถาง กระถางละ 10 ต้น และจัดวางไว้ในโรงเรือนควบคุมสภาพแวดล้อมแบบปิดขนาดพื้นที่ 3 x 3 เมตร ของห้างหุ้นส่วน นัตตะ แคคตัส ตั้งอยู่ ณ บ้านเลขที่ 394 หมู่ 12 ตำบลเกิ้ง อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม

ภาพที่ 24 ต้นอ่อนของ *G. mihanovichii*
Scale bar = 1 cm.
ที่มา : ณัฏฐกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์

3.1.1 สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ

3.1.1.1 สารละลายโคลชิซิน (Colchicine)
3.1.1.2 เอทานอล (Ethanol)
3.1.1.3 กรดแอซิติก (Acetic acid)
3.1.1.4 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)
3.1.1.5 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 250 มิลลิลิตร
3.1.1.6 กระบอกตวง (Measuring cylinder) ขนาด 100 มิลลิลิตร
3.1.1.7 ช้อนตักสาร (Spatula stainless)
3.1.1.8 ไมโครเซนติฟิวส์ ทิว (Microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
3.1.1.9 หลอดทดลอง (Test tube) ขนาด 12 x 110 มิลลิเมตร
3.1.1.10 ตะแกรงวางหลอดทดลอง (Rack)
3.1.1.11 เวอร์เนียคาร์ลิปเปอร์ (Vernier Calipers) รุ่น Cd-6”,Mitutoyo Japan
3.1.1.12 เครื่องวัดสี (Color Meter) รุ่น Mini Scan Plus , Hunter Lap U.SA.
3.1.1.13 ตู้ดูดควัน (Fume Hood)
3.1.1.14 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance)
3.1.1.15 เครื่อง Mark-I Gamma irradiation

3.1.2 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยสารโคลชิซินในต้นอ่อน *G. mihanovichii*

3.1.2.1 วางแผนการทดลองเพื่อศึกษาความเข้มข้นของสารโคลชิซินที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *G. mihanovichii* โดยเพาะปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 นิ้ว จำนวน 15 กระถางโดยจัดกรรมวิธีทดลอง (Treatment) ร่วมกับหน่วยทดลอง (Experimental units) แบบ 3 x 2 Factorial in Completely Randomized Design เพื่อศึกษาอิทธิพลร่วม (Interaction) ระหว่าง 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 ระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซิน แตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 0, 0.25, 0.50 เปอร์เซ็นต์ และปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาการให้สารด้วยวิธีการแช่ราก แตกต่างกัน 2 ระดับ ได้แก่ 24 และ 48 ชั่วโมง กรมวิธีละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น

3.1.2.2 ทำการทดสอบความเข้มข้นของสารโคลชิซินที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *G. mihanovichii* ตามที่กำหนดในแผนการทดลอง เพาะปลูกพืชทดลองลงในวัสดุปลูกประกอบด้วย ใบก้ามปูหมัก หินภูเขาไฟ และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1 (เชิงปริมาตร) ร่วมกับปุ๋ยละลายช้าสูตร 14-14-14 อัตรา 5 กรัม บรรจุลงในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 นิ้ว จัดวางไว้ในโรงเรือนควบคุมสภาพแวดล้อมแบบปิด ขนาดพื้นที่ 3 x 3 เมตร ที่อุณหภูมิประมาณ 27-34 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 40-49 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณแสง 300-500 ลักซ์ และให้น้ำด้วยการเทจากบีกเกอร์อย่างช้าๆ ปริมาณ 200 มิลลิลิตร ต่อกระถาง ทุก 7 วัน

3.1.2.3 บันทึกผลการทดลอง

บันทึกผลอัตราการรอดชีวิต(%) ของ *G. mihanovichii* หลังการปลูก 15, 30, 45 และ 60 วัน โดยคำนวณจากสูตร

$$\text{อัตราการรอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนต้นที่รอดชีวิต}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$$

และบันทึกข้อมูลด้านการเจริญเติบโตของพืชทดลอง ได้แก่ ความสูงลำต้น (เซนติเมตร) เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น (เซนติเมตร) จำนวนหนามต่อเนินหนาม ความยาวของรากรวม (เซนติเมตร) หรือจำนวน พูต่อต้น หลังการปลูกทุกๆ 15 วัน เป็นเวลา 60 วัน

3.1.2.5 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 22 แสดงผลในรูปแบบของตาราง ANOVA เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2 การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของพืชใน *G. mihanovichii*

3.2 การเตรียมพืชตัวอย่าง

นำตัวอย่างพืชทดลองที่ผ่านการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในการทดลองที่ 1 มาเพาะปลูก โดยใช้วัสดุปลูกประกอบด้วยใบก้ามปูหมัก หินภูเขาไฟ และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1 (เชิงปริมาตร) ร่วมกับปุ๋ยละลายช้าสูตร 14-14-14 อัตรา 5 กรัม บรรจุลงในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 นิ้ว โดยควบคุมอุณหภูมิประมาณ 27-34 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 40-49 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณแสง 300-500 ลักซ์ และให้น้ำด้วยการเทจากบีกเกอร์อย่างช้าๆ ปริมาณ 200 มิลลิลิตร ทุกๆ 7 วัน และจัดวางไว้ในโรงเรือนควบคุมสภาพแวดล้อมแบบปิดขนาดพื้นที่ 3 x 3 เมตร ของห้างหุ้นส่วน นัตตะ แคคตัส ตั้งอยู่ ณ บ้านเลขที่ 394 หมู่ 12 ตำบลเกิ้ง อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม

3.2.1 สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ

3.2.1.1 แอลกอฮอล์ (Alcohol) 95 เปอร์เซ็นต์
3.2.1.2 แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์
3.2.1.3 8-ไฮดรอกซีควิโนลีน (Hydroxyquinoline)
3.2.1.4 กรดแอซิติก (Acetic acid)
3.2.1.5 แอลกอฮอล 100 เปอร์เซ็นต์
3.2.1.6 น้ำกลั่น (Distilled water)
3.2.1.7 สีย้อมอะซีโตออซีน (Aceto orcein)
3.2.1.8 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)
3.2.1.9 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 250 มิลลิลิตร
3.2.1.10 กระบอกตวง (Measuring cylinder) ขนาด 100 มิลลิลิตร
3.2.1.11 สไลด์ (Slide)
3.2.1.12 กระจกปิดสไลด์ (Cover glass)
3.2.1.13 ปากคีบ (Forceps)
3.2.1.14 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Burner)
3.2.1.15 ตู้เย็น (Refrigerator)
3.2.1.16 ตู้ดูดควัน (Fume Hood)
3.2.1.17 กล้องถ่ายภาพ Canon รุ่น DS126311

3.2.2 การศึกษาการแบ่งเซลล์แบบไมโทซีส (Mitosis)

เริ่มจากศึกษาโครโมโซมจากเซลล์ร่างกาย (Somatic cell) ของพืชตัวอย่าง โดยนำเนื้อเยื่อส่วนปลายรากพืชที่มีการแบ่งเซลล์ (Root apical meristem) และเนื้อเยื่อเจริญ (Meristematic tissue) ส่วนอื่น ได้แก่ ตาอ่อน ใบอ่อน ที่มีการแบ่งเซลล์ โดยมีขั้นตอนการศึกษาดังต่อไปนี้

3.2.2.1 การเตรียมสาร (Pretreatment)

โดยคัดเลือกเนื้อเยื่อส่วนปลายราก (Root tip) พืชตัวอย่างที่มีความสมบูรณ์จากต้นแคคตัส (ภาพที่ 25) ซึ่งปลูกเลี้ยงในโรงเรือนแบบปิด โดยคัดเลือกเอาเฉพาะส่วนปลายรากที่มีสีขาว และมีความยาวประมาณ 1-2 เซนติเมตร จากนั้นนำตัวอย่างไปแช่ในสารละลายอิ่มตัว 8-Hydroxyquinoline เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-24 ชั่วโมง (ขึ้นกับชนิดของพืช) เพื่อให้ชิ้นส่วนพืชที่นำมาศึกษาหยุดการแบ่งเซลล์ในระยะที่ต้องการ

ภาพที่ 25 ลูกศรชี้ปลายรากแคคตัสที่ใช้ในการศึกษาแบ่งเซลล์แบบไมโทซีส

ที่มา : ณัฏฐกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์ (2564)

3.2.2.2 การตรึงตัวอย่าง (Fixation sample)

นำเนื้อเยื่อส่วนปลายรากที่เตรียมไว้ ออกจากสารละลาย 8-Hydroxyquinoline โดยวิธีเทสารทิ้ง แล้วเติมน้ำยาฟิกส์ตัวอย่างที่มีส่วนผสมของ Ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ และ Acetic acid อัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร (Volumen-volumen: v/v) แช่ปลายรากทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 30 นาที หรืออุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-12 ชั่วโมง เพื่อตรึงเซลล์ให้หยุดการแบ่งเซลล์ในระยะเมทาเฟส (Metaphase)

3.2.2.3 การเก็บรักษา

นำรากที่ฟิกส์ตัวอย่างไว้ล้างด้วย Ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่างไว้ใน Ethanol 70 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บรักษาเนื้อเยื่อ

3.2.2.4 การเตรียมสไลด์

เตรียมสไลด์ตัวอย่างด้วยเทคนิค Aceto-orcein squash technique เริ่มจากนำเนื้อเยื่อส่วนปลายรากของพืชตัวอย่างที่เก็บไว้ ใน Alcohol 70 เปอร์เซ็นต์ มาล้างด้วยน้ำกลั่น 2–3 ครั้ง แล้วนำชิ้นส่วนพืชมาทำให้เซลล์มีความอ่อนนุ่ม โดยวิธีการ Hydrolysis ด้วยสารละลาย 1 N HCL ที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 5-10 นาที (ระวังอย่าให้รากแห้ง) หลังจากนั้นเลือกตัดเอาเฉพาะเนื้อเยื่อส่วนปลายรากให้มีความยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร ส่วนที่เหลือเอาทิ้ง ล้างกรดออกให้หมดด้วยน้ำกลั่น วางตัวอย่างบนสไลด์แล้วขยี้ให้เซลล์กระจาย แล้วย้อมสีตัวอย่างด้วย Aceto-orcein นาน 10-15 นาที ผ่านเปลวไฟ เล็กน้อย ระวังอย่าให้เดือด ปิดสไลด์ด้วยกระจกปิดสไลด์ (Cover slip) แล้วกดด้วยหัวแม่มือ (Squash)

3.2.2.5 การบันทึกผลทดลอง

นำสไลด์ไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (รุ่น) กำลังขยายเลนส์วัตถุ 10 เท่า และ 40 เท่า ตามลำดับ เมื่อพบเซลล์ที่ต้องการ ในระยะเมทาเฟส (Metaphase) บันทึกภาพโครโมโซมพืชตัวอย่าง กำลังขยายเลนส์วัตถุ 100 เท่า พร้อมกับนับจำนวนโครโมโซม

3.2.3 ศึกษาโครโมโซมจากเซลล์กำเนิดไมโครสปอร์

3.2.3.1 การเตรียมเนื้อเยื่อพืชจากส่วนดอกอ่อน

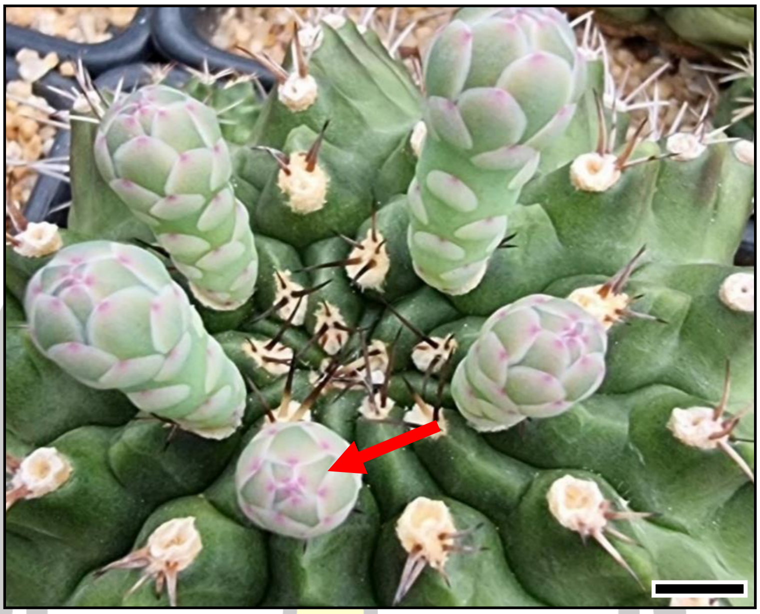
คัดเลือกดอกอ่อนของพืชตัวอย่างขนาดแตกต่างกัน จาก *G. mihanovichii* (ภาพที่ 26) ซึ่งปลูกเลี้ยงในโรงเรือนแบบระบบปิด

3.2.3.2 การตรึงตัวอย่าง (Sample Fixation)

แช่ดอกอ่อนของพืชใน Ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ และ Acetic acid อัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร (Volumen-volumen: v/v) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

3.2.3.3 การเก็บรักษาตัวอย่าง (Storage)

นำดอกอ่อนที่แช่ในสารละลาย Ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ และ Acetic acid อัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร มาล้างด้วย Ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ 2 ครั้ง (ครั้งละ 5 นาที) จากนั้นเก็บตัวอย่างไว้ใน Ethanol 70 เปอร์เซ็นต์ ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 26 ลูกศรชี้ดอกอ่อนขนาดแตกต่างกันของ *G. mihanovichii*
ที่ใช้ในการศึกษาแบ่งเซลล์แบบไมโอซีส
Scale bar = 1 cm.
ที่มา : ณัฏฐกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์ (2564)

3.2.3.4 การเตรียมสไลด์

นำดอกของพืชตัวอย่างที่แช่ใน Ethanol 70 เปอร์เซ็นต์ มาละลายด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำประปา แกะส่วนกลีบเลี้ยงและกลีบดอกของดอกอ่อนออก จากนั้นใช้ปากคีบดึงเอาเฉพาะอับเรณู จำนวน 1-3 อัน วางบนแผ่นสไลด์ ใช้ปากคีบหรือเข็มเขี่ยกดอับเรณูเพื่อให้ไมโครสปอร์หลุดออกมา ใช้เข็มเขี่ยผนังอับเรณูทิ้งไป แล้วหยดสีย้อม Aceto-orcein 1-2 หยด ทิ้งไว้ 30 วินาที ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วนำไปผ่านเปลวไฟ

3.2.3.5 บันทึกผลการทดลอง

นำสไลด์ไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยายเลนส์วัตถุ 10 เท่า และ 40 เท่า ตามลำดับ เมื่อพบเซลล์ที่ต้องการ ในระยะโปรเฟสตอนปลาย คือ ระยะไดอะไคนีซีส (Diakinesis) ระยะเมทาเฟส (Metaphase) หรือระยะแอนาเฟส (Anaphase) พร้อมกับนับจำนวนโครโมโซมจากภาพที่บันทึกด้วยกล้อง Canon รุ่น DS126311

3.2.3 การศึกษากายวิภาคศาสตร์เนื้อเยื่อชั้นผิว

ทำการศึกษาขนาดและความหนาแน่นเซลล์ปากใบของ *G. mihanovichii* โดยเริ่มจากการลอกผิวใบ (peeling method) ของพืชทดลองจากนั้นตัดแบ่งชิ้นตัวอย่างบริเวณสันพู 1 ชิ้น ดึงหนามบริเวณเนินหนามออก ใช้ใบมีดโกนสแตนเลสส์ 2 คม ขูดเนื้อเยื่อบนชิ้นตัวอย่างออกเบาๆ แล้วนำตัวอย่างไปแช่ในคอลรอกซ์ 30% (chlorox) เป็นเวลา 5 นาที ใช้ใบมีดโกนขูดเนื้อเยื่อจนได้ความใสที่ต้องการ จากนั้นใช้พู่กันปลายแบบแข็งปัดเบาๆ และตัดแต่งเนื้อเยื่อให้ได้ขนาดกว้างและยาว 1 เซนติเมตร วางตัวอย่างบนสไลด์และผลึกสไลด์ด้วยน้ำกลั่น นำสไลด์ไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (รุ่น) กำลังขยายเลนส์วัตถุ 10 เท่า และ 20 เท่า

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *G. mihanovichii*

4.1.2 อัตราการรอดชีวิต

แคคตัส *G. mihanovichii* ที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้นที่ต่างกัน (ตารางที่) พบว่าพืชที่รับสารโคลชิซีน 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง มีอัตราการรอดชีวิต 80 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่พืชที่รับสารโคลชิซีน 0.50 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง มีอัตราการรอดชีวิต 40 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 8 อัตราการรอดชีวิตของ *G. mihanovichii* ที่ได้รับสารโคลชิซีนในระดับความเข้มของสารและระยะเวลาการแช่สารที่ต่างกัน หลังปลูกเลี้ยง 60 วัน

Colchicine concentration (%)/Duration time (h)	Survival rate (%)
0.00 % colchicine for 24 h	100
0.00 % colchicine for 48 h	100
0.25 % colchicine for 24 h	80
0.25 % colchicine for 48 h	60
0.50% colchicine for 24 h	40
0.50 % colchicine for 48 h	40

4.1.3 การศึกษาการเจริญเติบโตของ *G. mihanovichii*

แคคตัส *G. mihanovichii* ที่ได้รับสารโคลชิซีนเข้มข้น 0.50 เปอร์เซ็นต์ มีความสูงของลำต้นโดยเฉลี่ยมากที่สุด 4.12 เซนติเมตร แตกต่างกับพืชที่ได้รับสารเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ด้านขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นพบว่า พืชที่ได้รับสารโคลชิซีนเข้มข้น 0.25 และ 0.50 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นเฉลี่ย 4.55 และ 4.49 เซนติเมตร แตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนพืชที่ได้รับสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.50 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนพูต่อต้นเฉลี่ย 9.40 พู แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น นอกจากนี้ ชุดควบคุมให้จำนวนหนามเฉลี่ย 5.50 หนาม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น อย่างไรก็ตามความยาวของรากพืชชุดควบคุมมีความยาวเฉลี่ย 7.04 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ด้านอิทธิพลของระยะเวลาที่พืชได้รับสารต่อการเปลี่ยนแปลงด้านการเจริญเติบโตพบว่า พืชที่ได้รับสารเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีความสูงของลำต้นเฉลี่ย 3.96 เซนติเมตร มีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นเฉลี่ย 5.11 เซนติเมตร และมีจำนวนหนามต่อต้น 4.00 หนาม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพืชที่ได้รับสารเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ส่วนพืชที่ได้สารเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีความยาวรากเฉลี่ย 6.24 เซนติเมตร แตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทาง

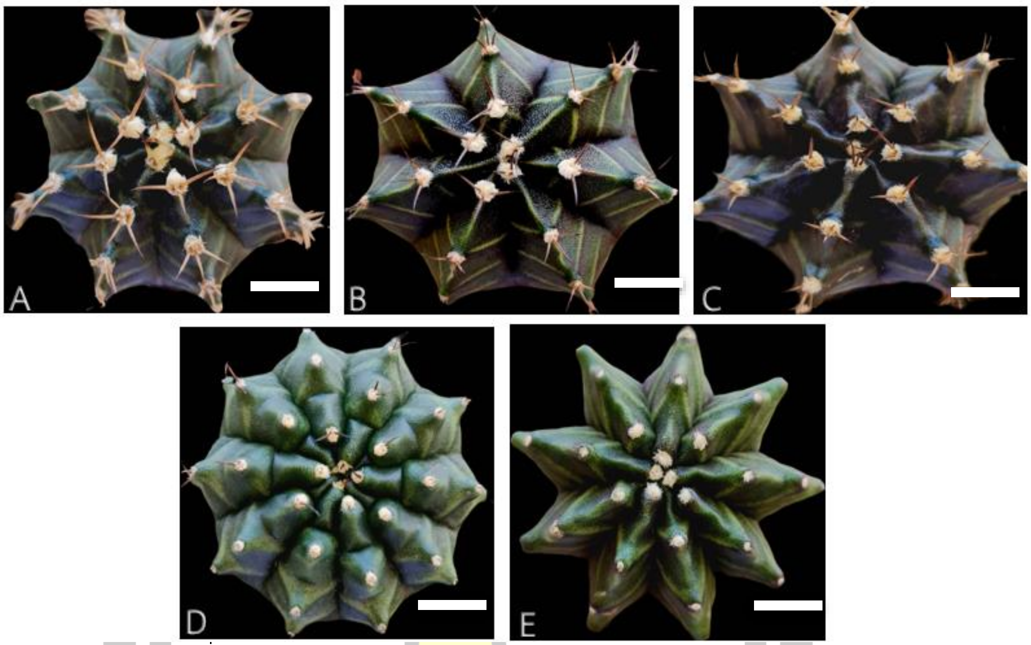
สถิติกับพืชที่ได้รับสารเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามจำนวนพูต่อต้นของพืชที่ได้รับสารเป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ หากพิจารณาถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารโคลชิซีนและระยะเวลาที่พืชได้รับสารพบว่า พืชที่รับโคลชิซีนเข้มข้น 0.50 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีความสูงของลำต้นเฉลี่ยมากที่สุด 4.60 เซนติเมตร แตกต่างอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติกับพืชที่ได้สารเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ที่มีความสูงเฉลี่ย 4.12 เซนติเมตร และพืชที่ได้สารโคลชิซีนเข้มข้น 0.50 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีความสูงเฉลี่ย 3.64 เซนติเมตร ส่วนพืชที่ได้สารโคลชิซีนเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง และชุดควบคุมมีความสูงเฉลี่ย 3.24 และ 3.18 เซนติเมตร ตามลำดับ ด้านขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นพบว่า พืชที่ได้รับโคลชิซีนเข้มข้น 0.50 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นเฉลี่ยมากที่สุด 5.72 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น (ภาพที่ 27) ส่วนพืชชุดควบคุมมีจำนวนหนามต่อเนินหนามเฉลี่ย 5.60 หนาม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่นๆ (ภาพที่ 28) พืชที่ได้รับสารโคลชิซีนเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง และชุดควบคุมมีความยาวของรากมากที่สุดเฉลี่ย 7.12, 7.06 และ 7.02 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ทั้งนี้พืชทดลองในทุกกรรมวิธีมีจำนวนพูต่อต้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 9 ผลของความระดับของเข้มข้นสารโคลชิซีนและระยะการแช่สารที่ส่งผลต่อลักษณะสัณฐานวิทยาของ *G. mihanovichii*

Factor	Parameter				
	Plant Height (cm)	Plant Diameter (cm)	No. of Rib	No. of Spine	Root Length (cm)
Colchicine (%)					
0.00	3.01^{c}	4.06^{b}	8.50^{b}	5.50^{a}	7.04^{a}
0.25	3.68^{b}	4.55^{a}	6.30^{c}	3.80^{b}	6.66^{b}
0.50	4.12^{a}	4.49^{a}	9.40^{a}	1.60^{c}	3.79^{c}
F-test	**	**	**	**	**
Duration time (h)					
24	3.96^{a}	5.11^{a}	8.13	4.00^{a}	5.42^{b}
48	3.24^{b}	3.62^{b}	8.00	3.26^{b}	6.24^{a}
F-test	**	**	ns	**	**
Colchicine X Duration time					
0.00 %, 24 h	3.18^{d}	4.06^{c}	8.60	5.40^{a}	7.02^{a}
0.00 %, 48 h	2.84^{e}	4.06^{c}	8.40	5.60^{a}	7.06^{a}
0.25 %, 24 h	4.12^{b}	5.56^{b}	6.40	4.20^{b}	7.12^{a}
0.25 %, 48 h	3.24^{d}	3.54^{d}	6.20	3.40^{c}	6.20^{b}
0.50 %, 24 h	4.60^{a}	5.72^{a}	9.40	2.40^{d}	2.12^{d}
0.50 %, 48 h	3.64^{c}	3.26^{e}	9.40	0.80^{e}	5.46^{c}
F-test	**	**	ns	**	**
C.V. (%)	1.90	2.23	6.60	14.21	1.44

Means within treatment combination not sharing small letter in common are significantly difference by DMRT.

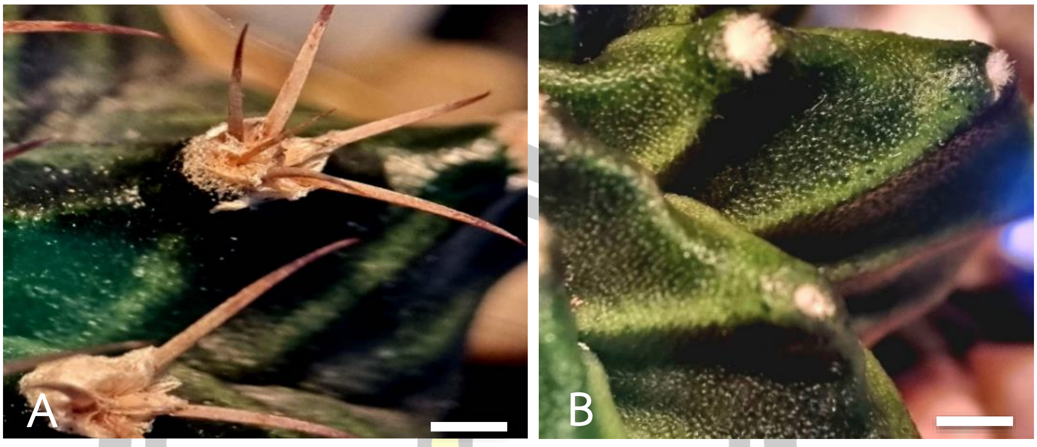
ns = non-significant; ** significant difference ($P \leq 0.01$)



ภาพที่ 27 ผลของความเข้มข้นของโคลชิซีนและระยะเวลาในการรักษาต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *G. mihanovichii*

(A) ชุดควบคุม; (B) ความเข้มข้นของโคลชิซีน 0.25 เปอร์เซ็นต์ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง; (C) ความเข้มข้นของโคลชิซีน 0.25 เปอร์เซ็นต์ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง; (D) ความเข้มข้นของโคลชิซีน 0.50 เปอร์เซ็นต์ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง และ (E) ความเข้มข้นของโคลชิซีน 0.50 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง

Scale bar = 1 cm.



ภาพที่ 28 ผลของความเข้มข้นของโคลชิซีนและระยะเวลาในการรักษาต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *G. mihanovichii*

(A) ชุดควบคุมปรากฏหนาม 5-6 หนาม, และ (B) ลักษณะไร้หนามของพืชทดลองที่ได้รับสารโคลชิซีน 0.50 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 48 ชม.

Scale bar = 1 cm.

4.2 การตรวจสอบลักษณะการชักนำให้กลายพันธุ์ด้วยลักษณะกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อชั้นผิวลำต้นของ *G. mihanovichii*

พืชที่ได้รับโคลชิซีนเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีขนาดเซลล์ปากใบเฉลี่ย 50.33 ไมโครเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น (ภาพที่ 29) ส่วนความหนาแน่นของเซลล์ปากใบ พบว่าพืชที่ได้รับโคลชิซีนเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีจำนวนเซลล์ปากใบเฉลี่ย 23.25 เซลล์ ต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น (ตารางที่ 9)

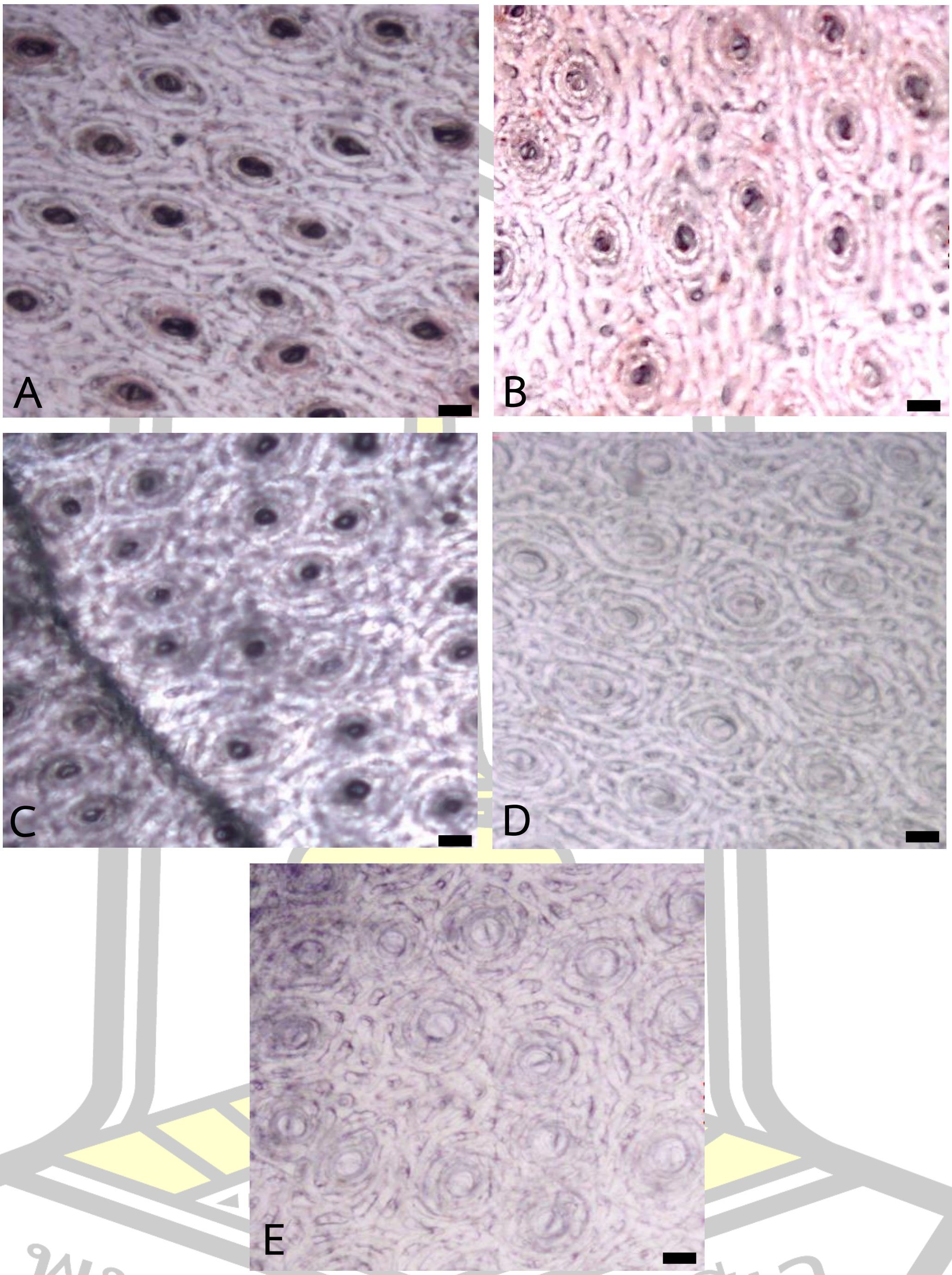
นอกจากนี้ *G. mihanovichii* ที่ได้รับสารโคลชิซีนทุกความเข้มข้นยังพบการเปลี่ยนแปลงของลักษณะเซลล์ปากใบ (stoma) เป็น 2 แบบคือ ปากใบแบบ Anisocytic เป็นปากใบที่มี subsidiary cell 3 เซลล์ 1 ใน 3 เซลล์ เล็กกว่าอีก 2 เซลล์ และปากใบแบบ Paracytic คือปากใบที่มี subsidiary cell 1 เซลล์ หรือมากกว่า อยู่ในตำแหน่งขนานกับตำแหน่งของเซลล์คุม เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 30)

ตารางที่ 10 ผลของความระดับของเข้มข้นสารโคลชิซีนและระยะการแช่สารที่ส่งผลต่อความยาวและขนาดเซลล์ปากใบของ *G. mihanovichii*

Colchicine (%)	Duration time (h)	Guard cell Length (µm)	Density of guard cell (mm^2)
0 (control)	24	36.28 ^{d} (±2.56)	21.30 ^{b} (±2.66)
	48	37.08^{d} (±2.76)	21.70 ^{b} (±2.13)
0.25	24	50.33 ^{a} (±2.11)	13.85 ^{c} (±3.25)
	48	36.72 ^{d} (±3.42)	23.25 ^{a} (±1.85)
0.50	24	48.06 ^{b} (±2.15)	13.70 ^{c} (±2.96)
	48	41.19 ^{c} (±3.88)	14.75 ^{c} (±3.19)
F-test		**	**
C.V. (%)		14.99	27.22

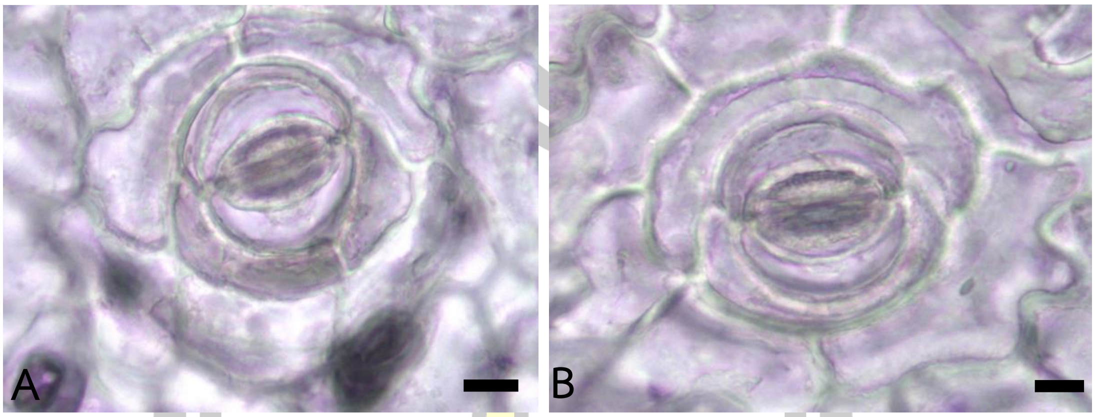
Means within treatment combination not sharing small letter in common are significantly difference by DMRT.

ns = non-significant; ** significant difference (P ≤ 0.01)



ภาพที่ 29 ผลของความเข้มข้นของโคลชิซีนและระยะเวลาที่ส่งผลต่อลักษณะปากใบของ G. mihanovichii

(A) ชุดควบคุม; (B) ความเข้มข้นของโคลชิซีน 0.25 เปอร์เซ็นต์ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง; (C) ความเข้มข้นของโคลชิซีน 0.25 เปอร์เซ็นต์ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง; (D) ความเข้มข้นของโคลชิซีน 0.50 เปอร์เซ็นต์ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง และ (E) ความเข้มข้นของโคลชิซีน 0.50 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง (Scale bar = 20 µm.)



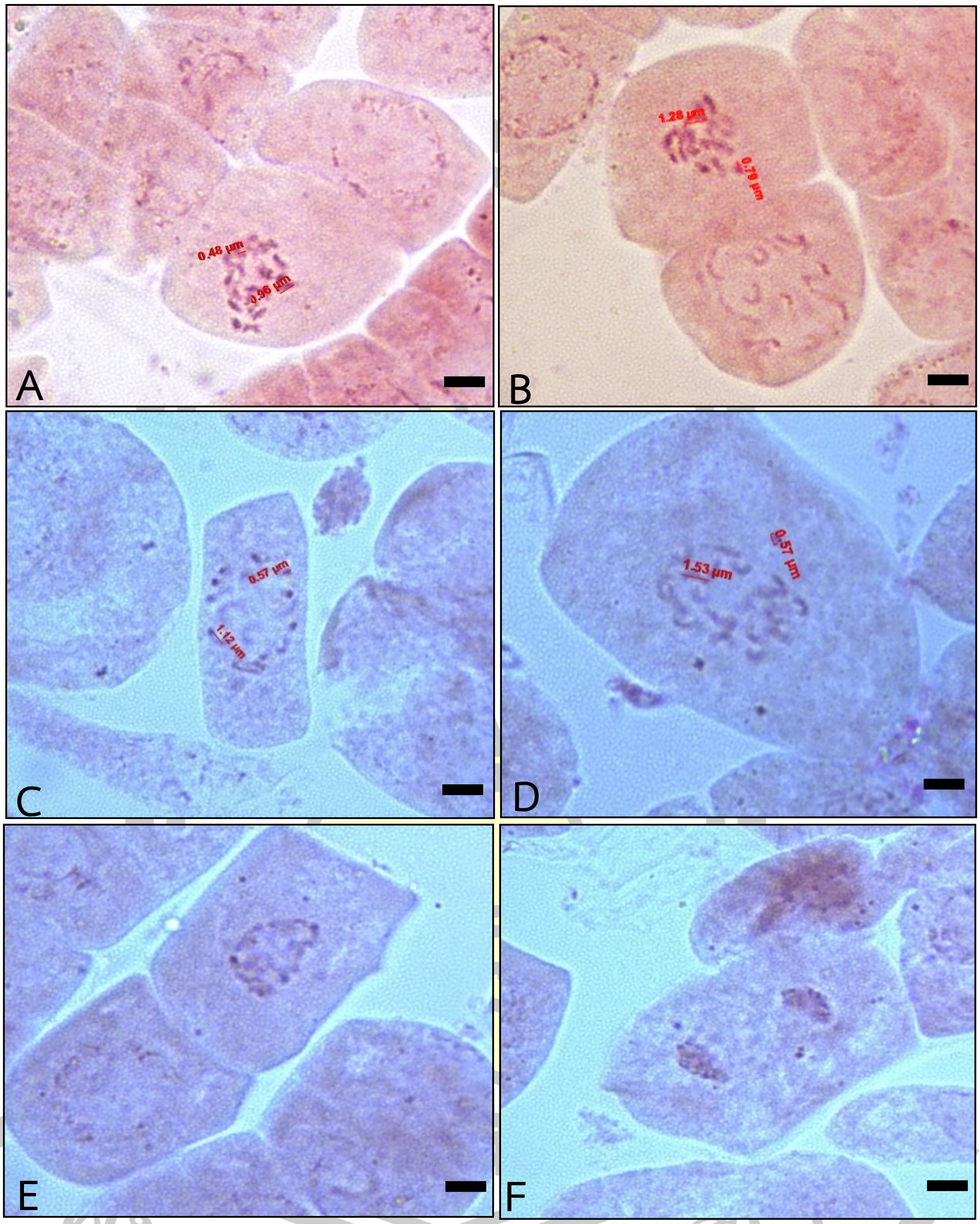
ภาพที่ 30 ผลของความเข้มข้นของโคลชิซีนและระยะเวลาที่ส่งผลต่อชนิดของปากใบใน *G. mihanovichii*

(A) แอนนิโซไซติก และ (B) พาราไซติก.

Scale bar = 10 µm.

4.2.1 ผลต่อจำนวนและขนาดโครโมโซมของ *G. mihanovichii*

จำนวนโครโมโซมของพืชทดลองในชุดควบคุมกับพืชที่ได้รับสารโคลชิซีนเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงพบว่ามีจำนวนของโครโมโซมเท่ากัน คือ 2x = 22 นอกจากนี้ยังพบว่าขนาดของโครโมโซมของพืชทดลองในชุดควบคุม 24 ชั่วโมง มีขนาดเล็กที่สุด 0.48 ไมโครเมตร และใหญ่ที่สุด 0.96 ไมโครเมตร ส่วนชุดควบคุม 48 ชั่วโมง มีขนาดของโครโมโซมเล็กที่สุด 0.76 ไมโครเมตร และใหญ่ที่สุด 1.28 ไมโครเมตรส่วนพืชที่ได้รับสารโคลชิซีนเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีขนาดของโครโมโซมเล็กที่สุด 0.57 ไมโครเมตร และใหญ่ที่สุด 1.12 และ พืชที่ได้รับสารโคลชิซีนเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ขนาดของโครโมโซมเล็กที่สุด 0.57 ไมโครเมตร และใหญ่ที่สุด 1.53 ไมโครเมตร (ภาพที่) ทั้งนี้พืชได้รับสารโคลชิซีน 0.50 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ไม่สามารถตรวจสอบโครโมโซมได้เนื่องจากขนาดรากที่สั้น และการเจริญเติบโตที่ช้ากว่าปกติ


0.48 µm
0.96 µm
A
1.28 µm
0.79 µm
B
0.57 µm
1.12 µm
C
1.53 µm
0.57 µm
D
E
F

ภาพที่ 31 ผลของความเข้มข้นของโคลชิซีนและระยะเวลาที่ส่งผลต่อโครโมโซมของ *G. mihanovichii* (A) ชุดควบคุม 48 ชั่วโมง, (B) ชุดควบคุม 48 ชั่วโมง, (C) ความเข้มข้นของสารโคลชิซีน 0.25 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 24 ชั่วโมง, (D) ความเข้มข้นของสารโคลชิซีน 0.25 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 48 ชั่วโมง, (E) ความเข้มข้นของสารโคลชิซีน 0.50 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และ (F) ความเข้มข้นของสารโคลชิซีน 0.50 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 48 ชั่วโมง (Scale bar = 1 µm.)

บทที่ 5
สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *G. mihanovichii*

จากผลการศึกษาการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน *G. mihanovichii* พบว่า ตัวอย่างพืชที่ได้รับสารโคลชิซีน 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง มีอัตราการรอดชีวิต 80 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่พืชที่รับสารโคลชิซีน 0.50 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง มีอัตราการรอดชีวิต 40 เปอร์เซ็นต์ กรณีการใช้โคลชิซีนความสูงส่งผลต่อการมีชีวิตรอดของ *G. mihanovichii* แม้ว่าแคคตัสจะเป็นพืชที่มีความทนทาน ต่อสภาพแวดล้อมสูง แต่เมื่อได้รับสารที่มีความเข้มข้นสูงเกินไปส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิต เนื่องจากโคลชิซีนมีอิทธิพลต่อการยับยั้งการสร้างใยสปินเดิลในกระบวนการแบ่งเซลล์พืช จึงเป็นเหตุให้เซลล์ของพืชตาย ในกรณีที่ได้รับสารความเข้มข้นสูง สอดคล้องกับรายงานในไม้ประดับอื่นๆ เช่น อัญญาณี และสมปอง (2553) ได้ชักนำพืชให้กลายพันธุ์ในหน้าวัว (*Anthurium andraeanum*) พันธุ์ Micky Mouse ด้วยโคลชิซีนเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ส่งผลให้พืชมีอัตราการรอดชีวิตลดลง 58 เปอร์เซ็นต์

กรณีของ *G. mihanovichii* ที่ได้รับโคลชิซีน นั้นส่งผลให้มีความสูง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น จำนวนหนาม และความยาวราก แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ *G. mihanovichii* ที่ได้รับสารโคลชิซีนเข้มข้น 0.50 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีจำนวนพูต่อต้น จำนวนหนาม และความยาวของรากลดลงอย่างมีเฉลี่ย 0.80 หนาม ต่อตุ่มหนาม เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีจำนวนหนามเฉลี่ย 5.40 หนามต่อตุ่มหนาม นอกจากนี้ยังพบว่าพืชที่ได้รับสารโคลชิซีนเข้มข้น 0.50 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบลักษณะใหม่ที่เรียกว่า ไร้หนาม (spinless) การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เป็นผลมาจาการชักนำให้เกิด polyploidization ด้วยสารโคลชิซีน (Boonyawiwat et al., 2023) ซึ่งในกรณีการขยายใหญ่และเพิ่มจำนวนที่มากขึ้นของเซลล์พืชเนื่องจากมีผลมาจากปริมาณของ DNA ที่เพิ่มขึ้น เรียกว่า “gigas effect in polyploid” (Eng and Ho, 2019)

การศึกษากายวิภาคศาสตร์เนื้อเยื่อชั้นผิวของลำต้นโดยเฉพาะขนาดของเซลล์คุมปากใบและความหนาแน่นอนเซลล์ปากใบนั้นพบการเปลี่ยนแปลงของขนาดจำนวนของเซลล์คุมปากใบ และความหนาแน่นของเซลล์ปากใบ โดยมีความยาวของเซลล์คุมปากใบเฉลี่ย 36.26 – 50.33 ไมโครเมตร และมีความหนาแน่นของเซลล์ปากใบเฉลี่ย 13.70 – 23.25 ไมโครเมตร มีความยาวของเซลล์คุมปากใบสูงที่สุด 50.33 ไมโครเมตร เมื่อเทียบกับชุดควบคุม 36.28 ไมโครเมตร ในขณะที่พืช ที่ได้รับสารโคลชิซีน 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าความหนาแน่นของเซลล์ปากใบสูงที่สุดแตกต่างกับวิธีอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการเปลี่ยนแปลงความยาวและความหนาแน่นของเซลล์ปากใบที่เปลี่ยนแปลงหลังจากได้รับสารโคลชิซีนที่ค้นพบในการศึกษานี้เป็นอีกหนึ่งที่สามารถบ่งชี้ถึงระดับของพลอยดิ (Ploidy) ของพืชที่รับสารโคลชิซีน 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 24

ชั่วโมง จากเดิมที่มีชุดโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ (Diploid) คือ 2n = 2X เปลี่ยนเป็น โพลีพลอยด์ (Polyploid) คือ 2n มากกว่า 2X สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tel-Zur et al., (2011) ที่รายงานผลการศึกษาในแก้วมังกรที่ได้รับโคลชิซีนเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 4 วัน ส่งผลให้พืชมีการเปลี่ยนแปลงชุดโครโมโซมเป็นพอลิพลอยด์ซึ่งส่งผลต่อการชักนำให้เกิดลักษณะใหม่เกิดขึ้นในพืช คือมีความหนาแน่นของเซลล์ปากใบมากกว่าพืชที่เป็นดิพลอยด์ 50 เปอร์เซ็นต์ อีกด้านหนึ่งของ ผลการศึกษาโครโมโซมของชุดควบคุมกับพืชที่ได้รับสารโคลชิซีนเข้มข้น 0.25 เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง มีจำนวนของโครโมโซม 2n = 22 แต่พบว่ามีขนาดของโครโมโซมต่างกัน นอกจากนี้พืชที่ได้รับสารโคลชิซีนเข้มข้น 0.50 เป็นเวลา24 และ 48 ชั่วโมง ไม่สามารถนับจำนวนโครโมโซมได้เนื่องจากความแข็งแรงของพืชทดลอง และอัตราการโตที่ช้ากว่าวิธีอื่นๆ ส่วนนี้เกิดขึ้นเนื่องจากสารโคลชิซีน มีคุณสมบัติในการยับยั้งกระบวนการพอลิเมอไรเซชั่นจับกับโปรตีนทูบูลิน (tubulin) ในโครโมโซมของพืชอีกทั้งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเพิ่มของโปรตีนทูบูลินส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของรูปร่าง จำนวนโครโมโซม และการเจริญเติบโต

แคคตัสไร้หนาม (Spineless) ที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้นด้วยโคลชิซีนซึ่งเป็นลักษณะใหม่ที่กำลังอยู่ในกระแส (Trends) ต้องการของตลาด เห็นได้ว่าการชักนำให้เกิดลักษณะใหม่นี้ ด้วยการให้สารโคลชิซีนเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง กับ *G. mihanovichii* ช่วยสร้างมูลค่าเพิ่มทางการตลาดให้แก่พืชทั้งในเชิงไม้ประดับและเพื่อการบริโภคในรูปพืชอาหารของทั้งมนุษย์และปศุสัตว์ได้โดยระยะเวลาสั้น (Chapman, 2002) เปรียบเทียบกับการชักนำให้เกิดลักษณะใหม่โดยใช้วิธีการผสมพันธุ์พืช (Conventional breeding) และการปล่อยให้พืชเกิดการกลายพันธุ์โดยธรรมชาติ (Natural mutation) ซึ่งใช้เวลานาน

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 การประยุกต์ใช้สารโคลชิซีนกับแคคตัสสกุลอื่นๆ เพื่อขยายผลในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ อันจะเป็นการเพิ่มมูลค่าทางการตลาดให้กับแคคตัสต่อไป

5.3.2 แนวทางเพิ่มโอกาสการเกิดลักษณะใหม่ที่หลากหลายในพืชวงศ์แคคตัสด้วยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้รังสีหรือสารเคมีอื่นๆ

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

พีรนุช จอมพุก. (2560). การปรับปรุงพืชโดยการเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์. เอกสารประกอบการเรียน. ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

ภวพล ศุภนันทนานนท์. (2563). แคคตัส. กรุงเทพฯ: บ้านและสวน.

ศรัณย์ บุญยัง. (2561). แผนธุรกิจเพื่อสร้างธุรกิจใหม่สวนกระบองเพชร SB. การค้นคว้าอิสระ. มหาวิทยาลัยกรุงเทพมหานคร. กรุงเทพมหานคร.

อมรา คัมภิรานนท์. (2546). พันธุศาสตร์มนุษย์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: เท็กซ์แอนด์เจอร์นัล พับลิเคชั่น.

อลงกลด แทนออมทอง. (2554). พันธุศาสตร์เซลล์. พิมพ์ครั้งที่ 1. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อัญชลี จาละ. (2556). การชักนำให้เกิดการกลายในหม้อข้าวหม้อแกงลิงในสภาพปลอดเชื้อด้วยรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน. ว.วิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี. 21(4): 1-10.

อัญญาณี จันทร์ ภักดี และสมปอง เตชะโต. (2553). ผลของสารโคลชิซินต่ออัตราการรอดชีวิต ลักษณะ ทางสรีรวิทยา และสัณฐานวิทยาของหน้าวัวพันธุ์ Micky Mouse. วารสารเกษตร. 26(1): 15-25.

Adeel, S., Gulzar, T., Azeem, M., Saeed, M., Hanif, I., and Iqbal, N. (2017). Appraisal of marigold flower based lutein as natural colourant for textile dyeing under the influence of gamma radiations. Radiation Physics and Chemistry, 130, 35-39.

Anderson, E. F. (1996). *Peyote: The divine cactus*. University of Arizona Press.

Anderson, E. F. (2001). The Cactus Family Timber Press. *Portland, Oregon*.

Andreasen, K., and Baldwin, B. G. (2003). Nuclear ribosomal DNA sequence polymorphism and hybridization in checker mallows (Sidalcea, Malvaceae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 29(3), 563-581.

Anitha, K., Jawaharlal, M., Joel, J., and Surendranath, R. (2017). Induction of polyploids and isolation of ploidy variants through stomatal parameters in bougainvillea (Bougainvillea spp.). *Int. J. Agric. Sci. Res*, *7*(1), 451-458.

Arakaki, M., Christin, P. A., Nyffeler, R., Lendel, A., Eggli, U., Ogburn, R. M., ... and Edwards, E. J. (2011). Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(20), 8379-8384.

Atichart, P. (2013). Polyploid induction by colchicine treatments and plant regeneration of Dendrobium chrysotoxum. *Thai Journal of Agricultural Science*, *46*(1), 59-63.

Baker, W. J., Hedderson, T. A., and Dransfield, J. (2000). Molecular phylogenetics of subfamily Calamoideae (Palmae) based on nrDNA ITS and cpDNA rps16 intron sequence data. *Molecular phylogenetics and evolution*, *14*(2), 195-217.

Baker, M. A., and Pinkava, D. J. (1987). A cytological and morphometric analysis of a triploid apomict, Opuntia xKelvinensis (subgenus Cylindropuntia, Cactaceae). *Brittonia*, 387-401.

Baker, M. A., and Pinkava, D. J. (2018). Chromosome numbers in some cacti of Western North America—IX. *Haseltonia*, *2018*(25), 5-29.

Baker, M. A., Rebman, J. P., Parfitt, B. D., Pinkava, D. J., and Zimmerman, A. D. (2009). Chromosome numbers in some cacti of western North America-VIII. *Haseltonia*, *2009*(15), 117-134.

Barthlott, W., Burstedde, K., Geffert, J. L., Ibisch, P. L., Korotkova, N., Miebach, A., ... and Mutke, J. (2015). *Biogeography and biodiversity of cacti*. Universitätsverlag Isensee.

Berger, A. 1929. Kakteen. Stuttgart: Ulmer.

Blum, W., Lange, M., Rischer, W., and Rutow, J. (1998). Echinocereus, Monographie. *Aachen: Selbstverlag*.

Boonyawiwat N, Siritrakulsak T, Senakun C and Boontiang K. (2023). Effect of Colchicine on Morphological and Anatomical Traits of *Gymnocalycium mihanovichii* (Frič & Gürke) Britton & Rose. (Doctoral dissertation, Mahasarakham University). (Accepted).

Bond, W. J. (1994). Do mutualisms matter? Assessing the impact of pollinator and disperser disruption on plant extinction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *344*(1307), 83-90.

Bravo-Hollis, H., & Sánchez-Mejorada, R. (1991). Tribu V Cacteae. *Las cactáceas de México*, *2*, 102-122.

Britton, N L and Rose, J N. (1922). The Cactaceae 3: 213. The Carnegie Institution, Washington.

Brutsch, M. O., and Scott, M. B. (1991). Extending the fruiting season of spineless prickly pear (Opuntia ficus-indica). *Journal of the South African Society for Horticultural Science*, *1*, 73-76.

Buckler IV, E. S., Ippolito, A., and Holtsford, T. P. (1997). The evolution of ribosomal DNA divergent paralogues and phylogenetic implications. *Genetics*, *145*(3), 821-832.

Christian, D. A., Palomino, G., García, A., & Mendez, I. (2006). Nuclear genome size and karyotype analysis in Mammillaria species (Cactaceae). *Caryologia*, *59*(2), 177-186.

Cisneros, A., Garcia, R. B., & Tel-Zur, N. (2011). Ovule morphology, embryogenesis and seed development in three Hylocereus species (Cactaceae). *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, *206*(12), 1076-1084.

Cota-Sánchez, J. H., and Bomfim-Patrício, M. C. (2010). Seed morphology, polyploidy and the evolutionary history of the epiphytic cactus Rhipsalis baccifera (Cactaceae). *Polibotánica*, (29), 107-129.

Cota-Sánchez, J. H., and Croutch, D. S. (2008). Notes on the floral biology of Praecereus euchlorus subsp. euchlorus (Cactaceae). *Schumannia*, *5*, 98-103.

Cota, J.H. (1991). Karyotype evolution in the genus Echinocereus (Cactaceae). M.Sc. Thesis, Claremont, CA, USA: The Claremont Graduate School, 89 pp

Cota, J. H., and Philbrick, C. T. (1994). Chromosome number variation and polyploidy in the genus Echinocereus (Cactaceae). *American Journal of Botany*, *81*(8), 1054-1062.

Cota, J. H., and Wallace, R. S. (1995). Karyotypic studies in the genus Echinocereus (Cactaceae) and their taxonomic significance. *Caryologia*, *48*(2), 105-122.

Cremer, T., and Cremer, M. (2010). Chromosome territories. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, *2*(3), a003889.

Cullmann, W., Gotz , E., and Groner, G. (1986). The Encyclopedia of Cacti. Alphabooks, Sherborne, Dorset, England, p. 266.

de Almeida, O. J. G., Paoli, A. A. S., and Cota-Sánchez, J. H. (2012). A macro-and micromorphological survey of floral and extrafloral nectaries in the epiphytic cactus Rhipsalis teres (Cactoideae: Rhipsalideae). *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, *207*(2), 119-125.

Dekker, J., Rippe, K., Dekker, M., and Kleckner, N. (2002). Capturing chromosome conformation. *science*, *295*(5558), 1306-1311.

Eng, W. H., and Ho, W. S. (2019). Polyploidization using colchicine in horticultural plants: A review. *Scientia horticulturae*, *246*, 604-617.

Feinsinger, P. (1983). Variable nectar secretion in a Heliconia species pollinated by hermit hummingbirds. *Biotropica*, 48-52.

Fleming, T. H., Tuttle, M. D., & Horner, M. A. (1996). Pollination biology and the relative importance of nocturnal and diurnal pollinators in three species of Sonoran Desert columnar cacti. *The Southwestern Naturalist*, 257-269.

FREIRE, F. (2009). Patógenos associados ao mandacaru (Cereus jamacaru Dc.) no Estado do Ceará.

Galili, T. (2015). dendextend: an R package for visualizing, adjusting and comparing trees of hierarchical clustering. *Bioinformatics*, *31*(22), 3718-3720.

Goettsch, B., Hilton-Taylor, C., Cruz-Piñón, G., Duffy, J. P., Frances, A., Hernández, H. M., ... and Gaston, K. J. (2015). High proportion of cactus species threatened with extinction. *Nature plants*, *1*(10), 1-7.

Gömürgen, A. N. (2000). Cytological effect of the herbicide 2, 4-D isooctylester 48% on root mitosis of Allium cepa. *Cytologia*, *65*(4), 383-388.

Gutiérrez-Flores, C., Cota-Sánchez, J. H., León-de la Luz, J. L., and García-De León, F. J. (2017). Disparity in floral traits and breeding systems in the iconic columnar cactus Pachycereus pringlei (Cactaceae). *Flora*, *235*, 18-28.

Hartmann, S., Nason, J. D., and Bhattacharya, D. (2001). Extensive ribosomal DNA genic variation in the columnar cactus Lophocereus. *Journal of molecular evolution*, *53*, 124-134.

Hernández‐Hernández, T., Hernández, H. M., De‐Nova, J. A., Puente, R., Eguiarte, L. E., and Magallón, S. (2011). Phylogenetic relationships and evolution of growth form in Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). *American journal of* *botany*, *98*(1), 44-61.

Heywood, V. (2001, November). Conservation and sustainable use of wild species as sources of new ornamentals. In *International Symposium on Sustainable Use of Plant Biodiversity to Promote New Opportunities for Horticultural Production 598* (pp. 43-53).

Hunt, D. R., Taylor, N. P., and Charles, G. (2006). *New cactus lexicon*. dh books.

Janick, J. (2005). The origins of fruits, fruit growing, and fruit breeding. In *Plant breeding reviews, volume 25* (pp. 255-320). Oxford, UK: Wiley & Sons.

Kaul, A., Kumar, S., Thakur, M., and Ghani, M. (2011). Gamma ray induced in-vitro mutations in flower colour in Dendranthema grandiflora Tzelev. *Floriculture and Ornamental Biotechnology*, *5*(1), 71-73.

Kiesling R. (1999) Cactaceae. In: Zuloaga FO, Morrone (eds) Cata´logo de las Plantas Vasculares de la Repu´blica Argentina II. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard., vol 74, Missouri Bot Garden Press, St Louis, pp 423–489.

Kushwah, K. S., Verma, R. C., Patel, S., and Jain, N. K. (2018). Colchicine induced polyploidy in Chrysanthemum carinatum L. *Journal of Phylogenetics & Evolutionary Biology*, *6*(1), 2.

Li Q., Guan X., Wu P., Wang X., Zhou L., Tong Y., et al. (2020) Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. N Engl J Med. DOI: 10.1056/NEJMoa2001316.

Li, Z., and Ruter, J. M. (2017). Development and Evaluation of diploid and polyploid Hibiscus moscheutos. *HortScience*, *52*(5), 676-681.

Majure, L. C., Judd, W. S., Soltis, P. S., & Soltis, D. E. (2012). Cytogeography of the Humifusa clade of Opuntia ss Mill. 1754 (Cactaceae, Opuntioideae, Opuntieae): correlations with pleistocene refugia and morphological traits in a polyploid complex. *Comparative Cytogenetics*, *6*(1), 53.

Manzoor, A., Ahmad, T., Bashir, M. A., Baig, M. M. Q., Quresh, A. A., Shah, M. K. N., and Hafiz, I. A. (2018). Induction and identification of colchicine induced polyploidy in ‘White Prosperity’. Folia Horticulturae, 30(2), 307-319.

Mayol, M., and Rosselló, J. A. (2001). Why nuclear ribosomal DNA spacers (ITS) tell different stories in Quercus. Molecular Phylogenetics and Evolution, 19(2), 167-176.

Mazzola, P., S. Romano and P. Fici. (1988). Contributo alla conoscenza del genere Opuntia Miller. Dati cariologici e distributivi delle specie spontaneizzate e coltivate in Sicilia. Naturalista Siciliano IV 12: 159–168.

Meiado, M. V., de Albuquerque, L. S. C., Rocha, E. A., ROJAS‐ARÉCHIGA, M. A. R. I. A. N. A., and Leal, I. R. (2010). Seed germination responses of Cereus jamacaru DC. ssp. jamacaru (Cactaceae) to environmental factors. Plant Species Biology, 25(2), 120-128.

Novoa A, Rodŕıguez J, Lopez-Nogueira A, Richardson DM, Gonzalez L. (2016). Seed characteristics in Cactaceae: Useful diagnostic features for screening species for invasiveness South African Journal of Botany 105:61–65

Nyffeler, R., and Eggli, U. (2010). An up-to-date familial and suprafamilial classification of succulent plants. Bradleya, 2010(28), 125-144.

Palomino, G., Martínez, J., Méndez, I., Muñoz-Urías, A., Cepeda-Cornejo, V., and Pimienta-Barrios, E. (2016). Nuclear genome size, ploidy level and endopolyploidy pattern in six species of Opuntia (Cactaceae). Caryologia, 69(1), 82-89.

Pérez de Paz, P. L., & Hernández Padrón, C. E. (1999). Plantas medicinales o útiles en la flora canaria.

Pinkava, D. J., and McLeod, M. G. (1971). Chromosome numbers in some cacti of western North America. Brittonia, 23, 171-176.

Pinkava, D. J., McLeod, M. G., McGill, L. A., and Brown, R. C. (1973). Chromosome numbers in some cacti of western North America—II. Brittonia, 25, 2-9.

Pinkava, D. J., and Parfitt, B. D. (1982). Chromosome numbers in some cacti of western North America. IV. Bulletin of the Torrey Botanical Club, 121-128.

Rameshsing, C. N., Hegde, S. N., and Vasundhara, M. (2015). Enhancement of steviol glycosides in stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) through induction of polyploidy. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, *9*(2), 141-146.

Rebman, J. P., and Pinkava, D. J. (2001). Opuntia cacti of North America: an overview. Florida Entomologist, 474-483.

Roth, M. (2000). The laws of Hammurabi. In W. W. Hallo [ed.], The contextof scripture, 2: 335–353. Brill, Boston, Massachusetts, USA.

Ross, R. (1981). Chromosome counts, cytology, and reproduction in the Cactaceae. American Journal of Botany, 68(4), 463-470.

Sarathum, S., Hegele, M., Tantiviwat, S., and Nanakorn, M. (2010). Effect of concentration and duration of colchicine treatment on polyploidy induction in Dendrobium scabrilingue L. *European Journal of Horticultural Science*, *75*(3), 123-127.

Sutton, J. B. (1889). Imperforate ileum. *The American Journal of the Medical Sciences (1827-1924)*, *98*(5), 457.

SUSILA, E., SUSILOWATI, A., and YUNUS, A. (2019). The morphological diversity of Chrysanthemum resulted from gamma ray irradiation. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, *20*(2), 463-467.

Taylor, N. P. (1985) The genus Echinocereus. Colling ridge, for Royal Botanic Gardens, Kew.

Taylor, N. P. (1991). The genus Melocactus (Cactaceae) in Central and South America. Bradleya, 1991(9), 1-80.

Terry, M., Pepper, A. E., and Manhart, J. R. (2006). Development and characterization of microsatellite loci in endangered Astrophytum asterias (Cactaceae). Molecular Ecology Notes, 6(3), 865-866.

Torres-Silva, G., Matos, E. M., Correia, L. F., Fortini, E. A., Soares, W. S., Batista, D. S., ... and Otoni, W. C. (2020). Anatomy, flow cytometry, and X-ray tomography reveal tissue organization and ploidy distribution in long-term in vitro cultures of Melocactus species. Frontiers in Plant Science, 11, 1314.

Tuwo, M., and Indrianto, A. (2016). Improvement of orchid Vanda hybrid (Vanda limbata Blumex Vanda tricolor Lindl. var. suavis) by colchicines treatment in vitro. *Modern Applied Science*, *10*(11), 83-89.

Van Harten, A. M. (1998). *Mutation breeding: theory and practical applications* (Vol. 1). Cambridge University Press.

Velazco-Macıas, C., and Nevarez, M. (2002). Digitostigma caput-medusae (Cactaceae) una nueva especie para Nuevo Leon, Mexico. Cactaceas y Suculentas Mexicanas, 47, 76-86.

Walters M, Figueiredo E, Crouch NR, Winter PJD, Smith GF, Zimmermann HG and Mashope BK. (2011). Naturalised and invasive succulents of southern Africa. Abc taxa. Vol. 11. Belgium Development Corporation, Brussel.

Webber, J. M. (1940). Polyembryony. *Botanical Review*, *6*(11), 575-598.

Wellard, B. H. (2017). A New Ancestral Diploid Species of *Echinocereus* endemic to Southwestern Utah and Northern Arizona (Doctoral dissertation, The University of Utah).

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	ณัฐฎกิตติ์ บุญญาวิวัฒน์
วันเกิด	13 สิงหาคม พ.ศ 2532
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	394 หมู่12 คุ้มบัวขาว ซอย1 ตำบลเกิ้ง อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม
ตำแหน่งหน้าที่การงาน	กรรมการผู้จัดการ
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	หจก.นัตตะ แคคตัส
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2544 มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนเตรียมอุดมศึกษาพัฒนาการยานนาเวศ จังหวัดกรุงเทพมหานคร พ.ศ. 2547 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเตรียมอุดมศึกษาพัฒนาการยานนาเวศ จังหวัดกรุงเทพมหานคร พ.ศ. 2551 ปริญญาศิลปกรรมศาสตรบัณฑิต (ศป.บ) ศิลปะการแสดง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ 2563 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วบ.ม.) สาขาเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ทุนวิจัย	ทุนอุดหนุนงานวิจัย ประเภทส่งเสริมการตีพิมพ์สำหรับนิสิตระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ผลงานวิจัย	Boonyawiwat N, Siritrakulsak T, Senakun C and Boontiang K. (2023) Effect of Colchicine on Morphological and Anatomical Traits of Gymnocalycium mihanovichii (Frič & Gürke) Britton & Rose. Trends in sviences; 20(8):6597