ผลของโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานและสรีรวิทยาที่สัมพันธ์กับต้นเททระพลอยด์ของแตงโม

Effects of colchicine application on morphological and physiological characters correlated with tatraploid watermelon

วุฒิกร เหลี่ยมสุทธิพันธุ์[1] และกิตติ สัจจาวัฒนา[1*]

Wutikorn Liamsutipan[1] and Kitti Satjawattana[1*]

บทคัดย่อ: การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาและวิธีการให้โคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐาน และลักษณะทางสรีรวิทยาในแตงโมที่สัมพันธ์ต่อการเกิดต้นเททระพลอยด์ของแตงโม ดำเนินการที่บริษัทเจียไต๋ จำกัด วางแผนการทดลองแบบ split-split plot นำต้นกล้าแตงโมที่มีอายุ 5 วันมาทดลองหยดด้วยสารโคลชิซินที่ยอดจำนวน 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.2 % 0.4% และ 0.6% โดยแบ่งช่วงเวลาการหยดสารเป็นหยดสาร 1 ครั้งต่อวัน (07.00 08.00 09.00 และ 10.00 น.) และหยดสาร 2 ครั้งต่อวัน (07.00+17.00 08.00+17.00 09.00+17.00 และ 10.00+17.00 นาฬิกา) โดยหยดติดต่อกัน 3 วัน และ 5 วัน บันทึก ลักษณะทางสัณฐาน และจำนวนต้นเททระพลอยด์ ผลที่ได้พบว่า ต้นแตงโมมีลักษณะความสูงและความกว้างใบที่แปรปรวนแตกต่างกันในแต่ละทรีทเมนต์ ทำการประเมินผลของโคลชิซินต่อลักษณะทางสัณฐานและจำนวนต้นเททระพลอยด์จากขนาดเซลล์คุม และจำนวนคลอโรพลาสต์ หลังจากนั้นยืนยันด้วยการนับจำนวนโครโมโซมจากปลายราก พบว่า การหยดสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ 1 ครั้งต่อวัน ช่วงเวลา 8 นาฬิกา ติดต่อกัน 5 วัน ให้จำนวนต้นเททระพลอยด์สูงสุด โดยจำนวนต้นเททระพลอยด์มีความสัมพันธ์ในทางบวกกับวันดอกเพศเมียบาน ความยาวใบ ความกว้างใบและขนาดรอยแผล แต่มีความสัมพันธ์ในทางลบกับความสูง

คำสำคัญ: แตงโมไร้เมล็ด ลักษณะทางสัณฐาน เททระพลอยด์ สหสัมพันธ์

Abstract: The objective of this research was to study the effects of time and methods of colchicine application on morphological and physiological characters that correlated with tatraploid in watermelon. The experiment was conducted at the Chia Tai Co., Ltd, using split-split plot design. Three different concentrations of colchicine, 0.2%, 0.4% and 0.6%, were applied on the apex of the 5-day-old watermelon seedlings; 1) once a day, at 7.00, 8.00, 9.00 or 10.00 a.m.) and 2) twice a day at 7.00 a.m. + 5 p.m., 8.00 a.m. + 5 p.m., 9.00 a.m. + 5 p.m. or 10.00 a.m. + 5 p.m. for three and five consecutive days. The morphological characters and number of tetraploidy were recorded. The results showed that treated watermelons had the characteristics of high stalk and wide leaves that varied accordingly to the different treatment. The impact of colchicine

[1]คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา

School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao, Thailand

* Corresponding author: k_satjawattana@hotmail.com

application on morphological characters and the number of tetraploidy watermelons was estimated from the size of guard cell and the amount of chloroplast. The confirmation of the result was done by counting the amount of chromosome from root tips of tetraploid watermelons. The result revealed that the application of colchicine at 0.4% at 08.00 a.m. in five consecutive days provided the highest numbers of tetraploid watermelons in which the numbers of tetraploid watermelons were positively correlated with the flowering day of female flowers, leaf length, leaf width and blossom ends' size, but they were negatively correlated with the height of watermelons.

Keywords: seedless watermelon, morphological character, tetraploidy, correlation

บทนำ

แตงโมเป็นพืชที่มีปริมาณการบริโภคทั่วโลกเพิ่มขึ้นทุกปี จะเห็นได้จากการขยายพื้นที่ปลูกแตงโมในจีน ซึ่งเป็นผู้ผลิตแตงโมรายใหญ่ที่สุดของโลก ปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกประมาณ 2 ล้านเฮกแตร์ (12.5 ล้านไร่) จากพื้นที่ปลูกทั่วโลกประมาณ 3.7 ล้านเฮกแตร์ (23 ล้านไร่) และมีปริมาณผลผลิตประมาณ 67 ล้านตัน สำหรับในประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกแตงโมประมาณ 2 แสนไร่ มีผลผลิตประมาณ 5 แสนตัน โดยพื้นที่ผลิตกระจายอยู่ทั่วประเทศ แต่แหล่งผลิตที่สำคัญอยู่ในจังหวัดนครพนม ชัยภูมิ และมุกดาหาร

แตงโมไร้เมล็ดเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคมาก เนื่องจากคุณภาพเนื้อผลดี และเป็นที่ชื่นชอบมากกว่าแตงโมปกติ (Marr and Gast, 1991) สามารถผลิตได้โดยทำการ double chromosome ในแตงโมปกติ (2n=2x=22) โดยนิยมใช้สาร colchicine เทคนิคการผลิตและเพาะปลูกก็มีส่วนสำคัญในการปลูกแตงโมไร้เมล็ดให้ได้ผลสำเร็จ (มณีฉัตร, 2542; นิพนธ์, 2551) ปัจจุบันในแง่ของอุตสาหกรรมการผลิตแตงโมไร้เมล็ดของประเทศไทยยังพบว่าการผลิตเมล็ดพันธุ์แตงโมไร้เมล็ดประสบปัญหาการผลิตที่ไม่มีขั้นตอนและวิธีการที่เหมาะสมแน่นอน ถึงแม้ว่าในหลายๆ ประเทศจะมีการวิจัยและพัฒนาเกี่ยวกับการผลิตแตงโมไร้เมล็ดอย่างมากแต่ข้อมูลวิธีการผลิตในระดับแปลงปลูกของต่างประเทศเมื่อนำมาปรับใช้กับสภาพแวดล้อมในเมืองไทยที่แตกต่างกัน ทั้งสภาพอากาศ และความรู้ความสามารถของคนงาน ทำให้ประสบปัญหาต้นทุนการผลิตสูง และเมล็ดพันธุ์ที่ได้มีปริมาณที่ไม่แน่นอน การทดลองนี้จึงมีเป้าหมายที่จะพัฒนาวิธีการผลิตเมล็ดพันธุ์แตงโมไร้เมล็ดที่ง่าย สะดวก รวดเร็ว และได้เมล็ดพันธุ์จำนวนมากในระดับแปลงปลูก โดยได้ร่วมมือกับบริษัทเจียไต๋จำกัดในการแก้ปัญหาดังกล่าว การทดลองนี้เป็นการทดลองเบื้องต้นที่มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาผลของระยะเวลาและวิธีการให้โคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐาน และ ลักษณะทางสรีรวิทยาในแตงโมที่สัมพันธ์กับการเพิ่มชุดโครโมโซมเพื่อการสร้างเป็นแม่พันธุ์ในการผลิตแตงโมไร้เมล็ดต่อไป

วิธีการศึกษา

วิธีการดำเนินงาน

ใช้เมล็ดพันธุ์แตงโมปกติ (2n=2x=22) จากบริษัท เจียไต๋ จำกัด เพาะลงกระดาษเพาะเมล็ด ทิ้งไว้ 2 คืน จากนั้นนำไปปลูกลงกระบะเพาะ หยอดหลุมละ 1 เมล็ดแล้วกลบบางๆ หลังจากเพาะเมล็ดลงกระบะแล้วประมาณ 5-6 วัน (cotyledon stage) นำต้นที่ได้มาทดลองหยดด้วยสารโคลชิน ติดต่อกัน 3 วัน และ 5 วัน โดยแบ่งเวลาการหยดเป็น 1 ครั้งต่อวัน (07.00 08.00 09.00 และ 10.00 น.) และหยดสาร 2 ครั้งต่อวัน (07.00+17.00 08.00+17.00 09.00+17.00 และ 10.00+17.00 น.) ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.2 % 0.4% และ 0.6% หลังจากแตงโมอายุ 15 วันจึงย้ายไป

ปลูกยังโรงเรือน ทำการบันทึก ลักษณะทางสัณฐาน ได้แก่ ความสูง จำนวนวันดอกตัวเมียบาน ความยาวใบ ความกว้างใบ และ รอยแผล

วิธีการประเมินต้นเททระพลอยด์

ภายหลังการหยดโคลชิซินที่ยอดแตงโมที่ความเข้มข้นต่างๆ กันประมาณ 30 วัน ทำการตรวจสอบต้นที่คาดว่าเป็นจะเป็นเททระพลอยด์เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้หยดสารโคลชิซิน บันทึกจำนวนต้นที่คาดว่าเป็นเททระพลอยด์ ทำการผสมดอกภายในต้นแตงโมแล้วเก็บเมล็ดพันธุ์ นำไปปลูกทดสอบและตรวจสอบจำนวนโครโมโซม บันทึกต้นที่เป็นเททระพลอยด์

การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล

การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบ split-split plot โดยกำหนดให้ main plot คือ จำนวนวันการหยดสาร 3 วัน และ 5 วัน sub plot คือ ช่วงเวลาการหยดสาร 8 ช่วงเวลา และ sub-sub plot คือ ความเข้มข้นของสารโคลชิซิน 3 ระดับความเข้มข้น แต่ละทรีทเมนต์ทำ 3 ซ้ำ ใช้ต้นอ่อนจำนวน 15 ต้นต่อซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนในแต่ละทรีทเมนต์โดยใช้โปรแกรม Microsoft office excel และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD วิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของลักษณะทางสัณฐานต่างๆ กับจำนวนต้นที่คาดว่าเป็นเทเททระพลอยด์

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของสารโคลชิซินต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดเททระพลอยด์และลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ภายหลังการหยดสารโคลชิซินตามทรีทเมนต์ต่างๆ ลงบนยอดของแตงโม พบว่าลักษณะทางสัณฐานเปลี่ยนไปโดยมีขนาดใบ ลำต้น และดอก ใหญ่กว่าต้นปกติที่ไม่ได้หยดสาร ต้นที่มีการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เมื่อนำไปตรวจสอบขนาดเซลล์คุม จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์และนับจำนวนโครโมโซมที่ปลายรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์ก็พบว่ามีขนาดเซลล์คุม และจำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ต่อเซลล์คุมใหญ่กว่าต้นปกติที่ไม่ได้หยดสาร (**Figure 1A, B**) เมื่อนำเมล็ดที่ได้ไปปลูกทดสอบและนำปลายรากมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์นับจำนวนโครโมโซมได้ 22 คู่ ในต้นปกติ และ 44 คู่ ในต้นเททระพลอยด์ (**Figure 1C, D**) ต้นเททระพลอยด์ปรากฏขึ้นแตกต่างกันในแต่ละความเข้มข้นสาร จำนวนวันหยดสาร และช่วงเวลาการหยดสารโคลชิซิน โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0.01 – 13.33 เปอร์เซ็นต์ ความแปรปรวนของลักษณะทางสัณฐานที่เกิดขึ้นอาจมาจากอิทธิพลของสารโคลชิซินที่ไปชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับโครโมโซมของแตงโม ทำให้ต้นที่ผ่านการทรีตสารมีความแตกต่างของลักษณะทางสัณฐานวิทยาเกิดขึ้น ซึ่งจากรายงาน ที่ผ่านมาพบว่าแตงโมเททระพลอยด์มักมีขนาดลำต้น ใบ ดอก ขนาดเซลล์คุม จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์ ที่ใหญ่และมากกว่าต้นปกติที่เป็นดิพลอยด์ (สิทธิพงษ์และธีระ, 2552, Muhammad et al., 2005) ลักษณะต่างๆ เหล่านี้สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดจำนวนโครโมโซมได้ (Compton et al., 1996) โดยทรีทเมนต์ที่ให้ผลที่ดีในการชักนำต้นเทเทระพลอยด์คือ การหยดสารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.4% ในช่วงเวลา 8.00 น. โดยหยดติดต่อกัน 5 วัน (D2xT2xC2) (**Table 1)**

ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางสัณฐานกับการเพิ่มชุดโครโมโซมในแตงโม

จากการประเมินค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (**Table 2**) พบว่าจำนวนต้นที่คาดว่าเป็นเททระพลอยด์มีความสัมพันธ์ในทางบวกกับจำนวนวันดอกตัวเมียบาน ความยาวใบ ความกว้างใบและขนาดรอยแผล แต่มีความสัมพันธ์ในทางลบกับค่าความสูง แสดงว่าต้นที่เป็นเททระพลอยด์จะสังเกตได้จากมีจำนวนวันดอกตัวเมียบานช้า ใบยาวและความกว้างใบและขนาดรอยแผลใหญ่ ความสูงของต้นแตงโมจะลดลง

สรุป

การวิจัยในครั้งนี้สามารถชักนำให้แตงโมเกิดต้นเททระพลอยด์ได้ ในระยะที่ใบเลี้ยงเริ่มกางออก การหยดสารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 8 นาฬิกา ติดต่อกันเป็นเวลา 3 วัน จะทำให้เกิดจำนวนต้นเททระพลอยด์ได้มากที่สุด ซึ่งสามารถตรวจสอบได้จากขนาดของปากใบที่ใหญ่ขึ้นและมีปริมาณเม็ดคลอโรพลาสต์ต่อเซลล์คุมมากกว่าต้นดิพพลอยด์ปกติ โดยจำนวนต้นเททระพลอยด์มีความสัมพันธ์ในทางบวกกับวันดอกตัวเมียบาน ความยาวใบ ความกว้างใบและขนาดรอยแผล แต่มีความสัมพันธ์ในทางลบกับค่าความสูง ข้อมูลเหล่านี้จะช่วยให้นักปรับปรุงพันธุ์หรือผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์สามารถใช้เป็นสิ่งบ่งชี้ในการคัดเลือกต้นเททระพลอยด์ได้โดยสังเกตจากลักษณะสัณฐานเปรียบเทียบกับต้นดิพพลอยด์ปกติ ซึ่งเป็นประโยชน์มากสำหรับนักปรับปรุงพันธุ์หรือผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์แตงโมไร้เมล็ดเพื่อการค้าที่จำเป็นต้องยืนยันผลแบบรวดเร็วเพื่อประหยัดเวลาและต้นทุนการผลิต อย่างไรก็ตามการใช้ลักษณะดังกล่าวเป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกต้นเททระพลอยด์ต้องใช้ประสบการณ์และความชำนาญของผู้ประเมินประกอบด้วย

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภายใต้โครงการเชื่อมโยงภาคการผลิตกับงานวิจัย ทุน สกว. – อุตสาหกรรม ขอขอบคุณ ไร่ชนม์เจริญฟาร์ม บริษัทเจียไต๋ จำกัด ที่สนับสนุน ด้านเมล็ดพันธุ์ และสถานที่วิจัย ตลอดจนให้คำแนะนำ ในการปฏิบัติงานจนทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงผ่านไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

นิพนธ์ ไชยมงคล. 2551. เทคนิคการผลิตเมล็ดแตงโมไร้เมล็ด (Seedless Watermelon). ค้นข้อมูลจาก http://www.agricprod.mju.ac.th/vegetable/File_link/seedless%20wmelon.pdf เมื่อวันที่ 1 มีนาคม 2551

มณีฉัตร นิกรพันธุ์. 2542. การผลิตเมล็ดพันธุ์ผักลูกผสม. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

Compton, M.E., D.J. Gray and G.W. Elmstrom. 1996. Identification of tetraploid regenerants from cotyledons of diploid watermelon cultured *in vitro*. Euphytica 87:165–172.

Marr, C.W. and K.L.B. Gast. 1991. Reactions by consumers in a ‘farmers’ market to prices for seedless watermelon and ratings of eating quality. HortTechnology 1:105–106.

Muhammad, J.J, W. Sung and H. K. Dae. 2005. Comparative study on vegetative, reproductive and qualitative traits of seven diploid and tetraploid watermelon lines. Euphytica 145:259–268.

Viehmannova, I., E.F. Cusimamani, M. Bechyne, M. Vyvadilova and M. Greplova. 2009. *In vitro* induction of polyploidy in yacon (*Smallanthus sonchifolius*). Plant Cell Tissue and Organ Culture 97:21-25.

Table 1 Mean of some agronomic characters of watermelon and tetraploid plants received from different treatments.

Treatments	Plant height (cm)	Days to female flowering	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Blossom ends' size (cm)	Tetraploid Plant (%)
D1xT1xC1	1.36	19.40	22.00	14.60	0.51	2.22
D1xT1xC2(check)	1.33	19.40	20.67	14.67	1.21	2.22
D1xT1xC3	0.70	26.67	29.67	24.23	0.37	6.67
D1xT2xC1	1.44	16.60	17.33	12.40	0.32	0.01
D1xT2xC2	1.00	23.33	24.37	20.03	1.15	11.11
D1xT2xC3	1.05	22.07	23.73	17.40	0.51	8.89
D1xT3xC1	1.34	19.07	21.83	15.53	0.45	4.44
D1xT3xC2	1.44	16.60	16.67	11.33	0.32	0.01
D1xT3xC3	1.11	22.53	24.33	19.40	0.97	4.45
D1xT4xC1	1.35	20.20	24.67	19.10	0.31	4.45
D1xT4xC2	1.21	17.95	25.33	18.63	0.92	8.89
D1xT4xC3	1.10	23.67	28.67	22.17	0.67	6.67
D1xT5xC1	1.30	19.37	24.00	18.03	1.07	6.67
D1xT5xC2	1.29	19.73	21.67	14.70	0.36	4.44
D1xT5xC3	0.83	24.11	25.83	21.13	0.48	11.11
D1xT6xC1	1.33	18.73	22.00	15.33	1.55	2.22
D1xT6xC2	0.80	24.00	28.50	20.27	2.13	6.67
D1xT6xC3	1.44	16.60	17.67	12.27	0.32	0.01
D1xT7xC1	1.05	21.67	25.17	17.73	0.51	4.45
D1xT7xC2	0.90	24.33	28.03	21.53	0.93	6.67
D1xT7xC3	1.10	21.70	25.83	20.20	0.61	6.67
D1xT8xC1	0.97	26.67	28.67	22.13	1.07	6.67
D1xT8xC2	0.89	23.37	25.00	18.40	0.79	6.67
D1xT8xC3	1.28	17.23	20.87	16.13	0.85	4.44
D2xT1xC1	1.28	20.87	25.33	18.03	0.54	4.45
D2xT1xC2	1.06	19.40	21.47	15.87	0.35	2.22
D2xT1xC3	1.44	16.60	18.33	13.73	0.32	0.01
D2xT2xC1	1.15	11.53	26.17	18.30	0.64	4.45
D2xT2xC2	0.54	24.50	28.40	21.57	2.09	13.33
D2xT2xC3	1.05	21.53	24.53	18.23	0.62	4.45
D2xT3xC1	1.01	22.87	24.67	19.17	0.48	6.67
D2xT3xC2	1.23	20.03	24.33	17.30	0.47	6.67
D2xT3xC3	1.33	17.93	20.17	14.43	0.61	2.22
D2xT4xC1	0.82	24.00	27.27	21.03	1.48	11.11
D2xT4xC2	1.44	16.60	17.67	12.33	0.32	0.01
D2xT4xC3	0.99	19.40	21.67	14.03	0.65	2.22
D2xT5xC1	1.03	20.40	21.33	16.20	0.41	2.22
D2xT5xC2	0.83	22.70	25.33	17.87	1.06	6.67
D2xT5xC3	1.44	18.23	18.00	13.13	0.32	0.01
D2xT6xC1	1.15	21.20	25.83	19.33	0.37	6.67
D2xT6xC2	0.88	22.53	24.33	17.87	1.74	4.45
D2xT6xC3	1.44	16.60	17.33	13.70	0.32	0.01
D2xT7xC1	1.31	18.90	22.00	14.67	0.75	4.44
D2xT7xC2	0.71	22.20	24.93	17.77	0.41	4.45
D2xT7xC3	0.99	19.40	21.00	14.40	0.58	6.67
D2xT8xC1	1.13	18.23	21.00	14.67	0.43	6.67
D2xT8xC2	0.88	23.70	24.60	17.93	0.52	6.67
D2xT8xC3	0.99	20.40	22.23	15.03	0.45	2.22
F-test	ns	ns	ns	*	*	ns
LSD 0.05	-	-	-	6.78	1.05	-

ns = non significantly. Days of colchicines dropping (D): D1 = 3 days, D2 = 5 days. Treated time (T): T1, T2, T3, T4 = 7, 8, 9 and 10 a.m., respectively. Colchicines concentration (C): C1, C2, C3 = 0.2%, 0.4%, 0.6% respectively.

Table 2. Correlation coefficient between number of tetraploid plant and morphological characters of watermelon.

Characters	Plant height	Days to female flowering	Leaf length	Leaf width	Blossom ends' size	Tetraploid plant
Plant height	1	-0.76	-0.74 **	-0.71 **	-0.45 **	-0.69**
Days to female flowering		1	0.75 **	0.78 **	0.38 **	0.64**
Leaf length			1	0.95 **	0.46 **	0.77 **
Leaf width				1	0.41 **	0.77 **
Blossom ends' size					1	0.47 **
Plant height						1

** Significantly different at $p \leq 0.01$

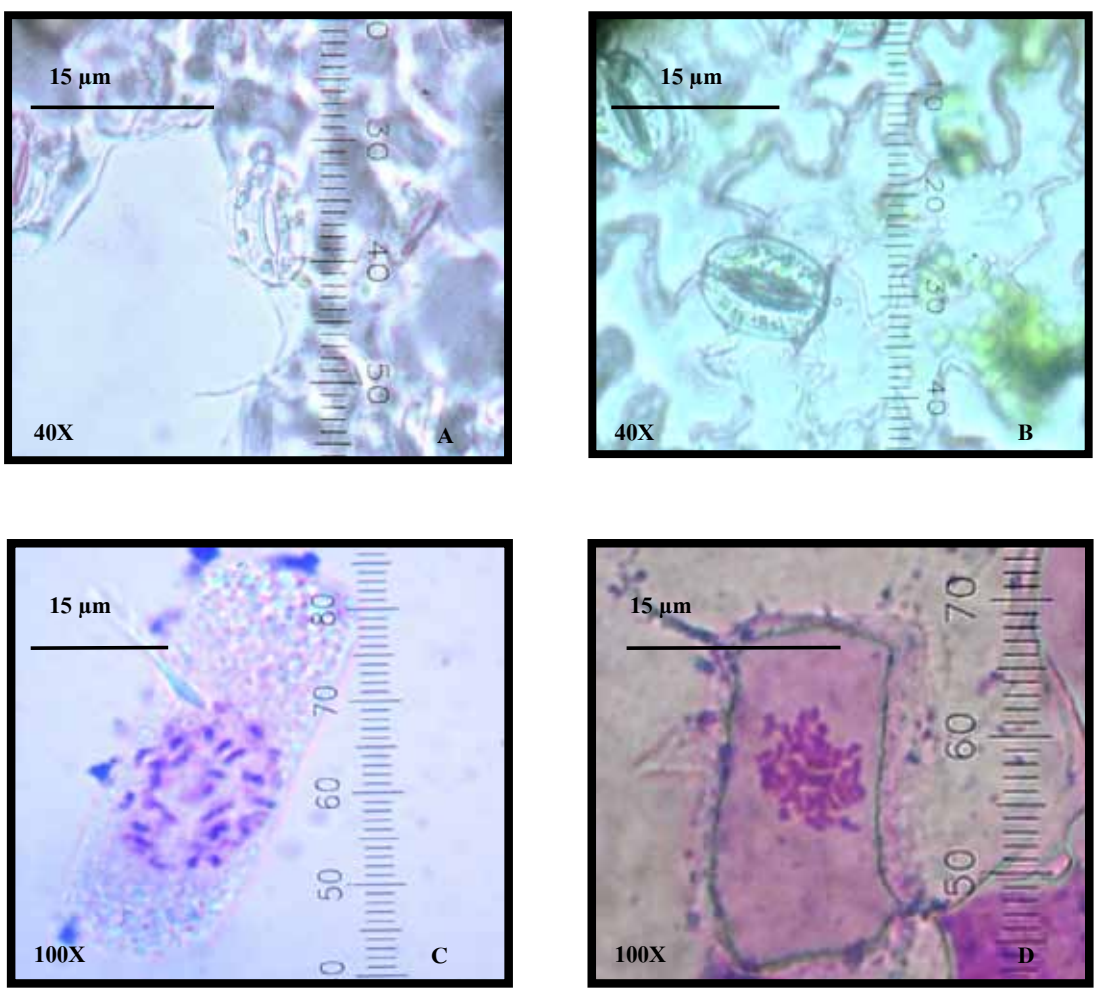

Figure 1. Guard cell of diploid (A), tatraploid (B) and chromosome of diploid (C) and tatraploid (D)