RMUTP Research Journal Special Issue
The 5th Rajamangala University of Technology National Conference

ผลของสารโคลชิซีนต่อลักษณะทางสัณฐานของสบู่ดำ

Effect of Different Colchicine Concentrations on the Morphology of Physic Nut (*Jatropha curcas* L.)

อรวรรณ รักสงฆ์[1*] อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์[2] และ ธีรพันธ์ บัญญัติรัชต[1]

[1]ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน จังหวัดกาฬสินธุ์ 46000

[2]ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี 34190

บทคัดย่อ

สบู่ดำเป็นพืชพลังงานชนิดหนึ่งที่ให้ผลผลิตค่อนข้างต่ำ เนื่องจากมีฐานพันธุกรรมแคบ การกลายพันธุ์โดยการเพิ่มชุดโคมโมโซม เป็นวิธีหนึ่งที่สามารถชักนำให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมให้กับประชากร โดยการใช้สารโคลชิซีนความเข้มข้น 0, 0.05, 0.15 และ 0.20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง ทำการทดลอง 2 วิธี คือ การใช้เมล็ดสบู่ดำที่แช่ในน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วแช่ในสารละลายโคลชิซีน และวิธีการแช่ต้นกล้าที่มีอายุ 3 วันในสารละลายโคลชิซีน ผลการทดลองพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ สบู่ดำมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดเฉลี่ย 67.15 และ 93.93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อนำต้นที่รอดชีวิตไปทำการตรวจสอบปริมาณ DNA โดยวิธี flow cytomctey พบว่าวิธีการแช่ต้นกล้าที่มีอายุ 3 วันในสารโคลชิซีนความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ นาน 48 ชั่วโมง สามารถชักนำให้ได้ต้นที่มีจำนวนชุดโครโมโซมเป็นแบบเททระพลอยด์ (tetraploid) และมิโซพลอยด์ (mixoploid) ได้มากที่สุด และได้ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ระยะการออกดอกชุดแรก พบว่า ต้นปกติ (diploid) มีค่าเฉลี่ยของความสูงต้น จำนวนกิ่งแรกต่อต้น จำนวนดอกย่อยต่อช่อดอก สัดส่วนดอกตัวผู้ต่อตัวเมีย ขนาดของแผ่นใบ (กว้าง x ยาว) และขนาดของปากใบ (กว้าง x สูง) เป็น 249.5 เซนติเมตร 15.7 กิ่ง 214.7 ดอก 24.8 : 1 14.8 x 13.2 เซนติเมตร และ 52.1 x 81.8 ไมโครเมตร ตามลำดับ ขณะที่ต้นกลายพันธุ์มีค่าเฉลี่ย 180.6 เซนติเมตร 9.8 – 13 กิ่ง 37.9 – 175.3 ดอก 19.3 – 42.8 : 1 27.8 x 50.2 เซนติเมตร และ 61.0 – 70.5 x 103.3 – 116.1 ไมโครเมตร ตามลำดับ เห็นได้ว่าต้นกลายพันธุ์มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยสรุปที่ดีกว่าต้นปกติ แต่กลับพบว่าหลังการผสมเกสรผลไม่พัฒนา มีการร่วงหล่นและแห้งตายในที่สุด

Abstract

Physic Nut (*Jatropha curcas* L.) was a narrow genetic based plant, resulting in low productivity. Colchicine application was a mutation technique that could induce genetic variability for plant improvement. In this study the 24 hour soaked physic nut seeds and the 3 – day physic nut seedlings were treated with 0, 0.05, 0.15 and 0.20% of colchicine for 48 hours and there were soaked for 24 hours to induce polyploidy. The results showed that the survival rates were 67.15 and 93.93 % at the 0.05% of colchicine. DNA content in the survived seedlings was detected by flow cytometry. The number of tetraploid and mixoploid were increased in the 3-day seedlings treated with 0.05% of colchicine. The morphology characteristics at the first flowering stage were follows; the diploid had average height, branch numbers, spikelets per head, ratio of male and female flowes, leaf size (W x L) and stomata size (W x H) were 249.50 cm., 15.7, 214.7, 24.8 :1, 14.8 x 13.2 cms and 7.88 x 50.25 micrometers respectively, while the mutant had the average of 180.6 - 21.54 cm. 9.8 - 13.0, 37.9 - 17.53, 19.3 : 1, 42.8 : 1, 17.0 - 14.4 cms and 61.0 - 70.5 x 103.33 - 116.1

micrometers respectively. so The mutant had better characteristics, but their fruits could not mature.

คำสำคัญ : การกลายพันธุ์ โพลีพลอยด์ สบู่ดำ สารโคลชิซีน

Keywords : Mutation, Polyploidy, Physic Nut, Colchicine

**ผู้นิพนธ์ประสานงานไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ orawan_raksong@yahoo.com โทร. 08 4792 2507*

1. บทนำ

สบู่ดำ เป็นพืชทนแล้วมีอายุหลายปีอยู่ในตระกูล Euphorbiaceas มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Jatropha curcas* L. ชื่อสามัญ Physic Nut เป็นพืชมีถิ่นกำเนิดแถบอเมริกากลาง ชาวโปรตุเกสนำเข้ามาปลูกในประเทศไทย สมัยกรุงศรีอยุธยา (ชำนาญ และคณะ ; 2549) การปลูกในอดีตใช้ทำรั้วบ้านและใช้เป็นพืชสมุนไพรมาช้านาน เมล็ดสบู่ดำสามารถสกัดน้ำมันได้ประมาณ 34-35 เปอร์เซ็นต์ การสกัดน้ำมันในรูปการค้าเกิดขึ้นครั้งแรกที่เมืองลิสลบอน ประเทศโปรตุเกส (Gubitz และคณะ ; 1999) น้ำมันจากเมล็ดสบู่ดำมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล (พรชัย, 2549) สามารถใช้เป็นพืชทดแทนพลังงานเชื้อเพลิงได้ดีในภาวะการขาดแคลนน้ำมันที่อาจเกิดขึ้นในอนาคต กรมวิชาการเกษตรได้รวบรวมพันธุ์สบู่ดำในประเทศไทย พบว่ามี 42 แหล่ง ซึ่งให้ผลผลิตค่อนข้างต่ำ ไม่แตกต่างทางสถิติ และมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ไม่มีความแตกต่างเช่นกัน (Sukarin et al, 1987) สายพันธุ์ที่พบในประเทศไทยให้ผลผลิตเฉลี่ยอยู่ในระดับต่ำประมาณ 343 ต่อไร่ ด้วยศักยภาพทางพันธุกรรมสบู่ดำที่ให้ผลผลิตค่อนข้างต่ำ การศึกษาครั้งนี้จึงได้มีการนำเอาสารโคลชิซีน (colchicine) ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงชุดโครโมโซม เพื่อเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซม ซึ่งอาจส่งผลต่อการให้ผลผลิตของสบู่ดำ โคลชิซีนเป็นสารเคมีที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ microtuleule ทำให้ไม่เกิดการสร้าง spindle fiber ในช่วงการแบ่งเซลล์ ทำให้จำนวนชุดของโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าหรือมากกว่า ทั้งนี้ขึ้นกับระยะเวลาที่ให้ (วัชรินทร์, 2544) สารโคลชิซีนถูกนำมาใช้ในการเพิ่มชุดโครโมโซมของพืชหลายชนิดเช่นในกล้วยเล็บมือนางโดยวิธีการ แช่ต้นของอ่อนกล้วยไข่ ใช้ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ นาน 7.5 ชั่วโมง ได้ต้นเททราพลอยด์ที่มีใบใหญ่และ ลำต้นใหญ่ (saradhuldhal and silayoi, 2001) นอกจากนี้ยังมีการนำไปใช้ในแตงกวา โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 6-8 ชั่วโมง เป็นช่วงที่เหมาะสมในการเกิดเททราพลอยด์ โดยวิธีการแช่เมล็ด (Walters and Wehner, 2002) ดังนี้ การทดลองครั้งนี้ได้นำสารโคลชิซีนเพื่อหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสบู่ดำที่มีการกลายพันธุ์ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อปริมาณผลผลิต

2. วิธีการศึกษา

2.1 อุปกรณ์และวิธีการ

วิธีดำเนินการ การชักนำสบู่ดำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยวิธีการเพิ่มชุดโครโมโซมโดยใช้สารโคลชิซีน ดำเนินการโดยนำเมล็ดสบู่ดำที่มีลักษณะสมบูรณ์ ขนาดสม่ำเสมอซึ่งได้มาจากสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขต 3 ต.ท่าพระ อ.เมือง จ.ขอนแก่น ทำการทดลองที่แผนกพืชไร่ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตกาฬสินธุ์ ระยะเวลา 1 ปี เริ่มเดือนเมษายน 2551 ถึง กันยายน 2552 ดำเนินการทดลอง 2 รูปแบบคือ

1. วิธีการแช่เมล็ดพันธุ์สบู่ดำในน้ำเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมงเพื่อกระตุ้นการงอกให้เกิดขึ้นเบื้องต้นจากนั้นแช่เมล็ดในสารละลายโคลชิซีนที่ระดับความเข้มข้น 0 (control), 0.05, 0.15 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง และนำเมล็ดไปแช่ในน้ำอีกครั้งโดยวิธีการปล่อยให้น้ำไหลผ่านเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเมล็ดไปเพาะในขุยมะพร้าวเป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ และย้ายลงปลูกในถุงชำปกติ นำต้นกล้าที่มีอายุ 1 เดือนไปปลูกในแปลงทดสอบโดย

ใช้ระยะปลูก 2x2 เมตร วางแผนการทดลองแบบ RCBD จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 25 ต้น เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตโดยทั่วๆ ไป

2. วิธีการแช่ต้นกล้าสบู่ดำที่มีอายุได้ 3 วัน ในสารละลายโคลชิซีนที่ระดับความเข้มข้น 0 (Control), 0.05, 0.15 และ 0.20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง และนำต้นกล้าไปแช่น้ำให้น้ำไหลผ่านเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ต้นกล้าลงปลูกในกระบะที่ใช้ขุยมะพร้าวนาน 2 สัปดาห์ แล้วจึงย้ายต้นกล้าลงปลูกในถุงชำปกติ และเมื่อต้นกล้ามีอายุได้ 1 เดือนจึงนำต้นกล้าลงปลูกในแปลงทดสอบ เช่นเดียวกับวิธีการที่ 1

วิธีการตรวจสอบการกลายพันธุ์ที่เกิดจากการเพิ่มชุดโครโมโซมโดยทำการวัดปริมาณ DNA โดยวิธี flow cytometry ด้วยเครื่อง Partec flow cytometry รุ่น PAII ที่มีการวิเคราะห์แบบ one step ด้วยสารละลายทดสอบ (kit) cystain UV ploidy-05-5001 นำเฉพาะต้นที่ผ่านการทดสอบไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่อาจมีผลต่อการให้ผลผลิตของสบู่ดำเมื่อเปรียบเทียบกับต้นปกติ

3. ผลการศึกษาและอภิปรายผล

3.1 ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของสารโคลชิซีนต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาในสภาพถุงชำ

ผลของสารโคลชิซีนต่อการเจริญเติบโตโดยทั่วๆ ไปของสบู่ดำ

วิธีการแช่เมล็ด พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซีน 0.05 เปอร์เซ็นต์ สบู่ดำมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดเฉลี่ย 67.15 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้น 0.20 เปอร์เซ็นต์ สบู่ดำไม่สามารถอยู่รอดได้ (ตารางที่ 1) และเมื่อพิจารณาต้นกล้าที่ตายแล้ว พบว่า สบู่ดำไม่สามารถคลี่กางใบเลี้ยงได้เนื่องจากมีเนื้อเยื่อสีขาวแห้งติดกับใบเลี้ยงอย่างเหนียวแน่น และแห้งตายในที่สุด (รูปที่ 1 และ 2)

วิธีการแช่ต้นกล้า พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์สบู่ดำมีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุดคือ 93.93 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ สบู่ดำไม่สามารถอยู่รอดได้ (ตารางที่ 2) โดยพบว่าต้นกล้าที่ได้รับสารโคลชิซีนที่ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นมีลักษณะอ่อนแอและแห้งตายในที่สุด

ระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซีนที่เหมาะสมในการก่อให้เกิดการกลายพันธุ์

วิธีการแช่เมล็ด ทุกระดับความเข้มข้นไม่พบต้นที่มีลักษณะการกลายพันธุ์

วิธีการแช่ต้นกล้า พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ แช่ต้นกล้านาน 48 ชั่วโมงเป็นวิธีการที่เหมาะสมที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ดีที่สุด โดยพบทั้งต้นที่มีลักษณะเป็นเททระพลอยด์ (tetraploid) และมิกโซพลอยด์ (mixoploid) (ตารางที่ 3 และรูปที่ 5) สำหรับการตรวจสอบจำนวนชุดโครโมโซมด้วยวิธี flow cytometry วิธีนี้ถูกนำไปใช้เพื่อตรวจสอบระดับการกลายพันธุ์ในพืชหลายชนิด เช่น Kaewoo and Te-chato (2010) ได้นำไปใช้เพื่อจำแนกต้นสบู่ดำชนิด diploid tetraploid และ mixoploid นอกจากนี้ยังสามารถใช้ได้กับพืชชนิดอื่นๆ อีกเช่น ปาล์มน้ำมัน (Madon et al, 2005) และแตงโม

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นปกติ และต้นที่กลายพันธุ์

ด้านสัณฐานวิทยาของต้นปกติ พบว่า มีความสูงต้นที่ระยะออกดอก จำนวนกิ่งแรกต่อต้นและจำนวนดอกย่อยต่อช่อดอก มีค่าโดยเฉลี่ยมากกว่าต้นที่กลายพันธุ์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 249.5 เซนติเมตร 15.7 กิ่ง และ 214.7 ดอก ตามลำดับ แต่ขนาดของแผ่นใบ และขนาดของปากใบ กลับมีค่าน้อยกว่าต้นที่กลายพันธุ์โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากัน 14.9 x 12.1 เซนติเมตร และ 52.17 x 81.81 ไมโครเมตร ขณะที่ต้นกลายพันธุ์มีค่าเฉลี่ย 27.8 x 50.2 เซนติเมตร และ 61.0 - 70.5 x 103.3 - 116.1 ไมโครเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4 และรูปที่ 4) เช่นเดียวกับสถาพรและคณะ (2554) ซึ่งได้ทดลองใช้สารโคลชิซีนเพื่อเพิ่มชุดโครโมโซมของมะนาวน้ำหอมและมะนาวแป้น พบว่า ต้นที่ได้รับสารโคลชิซีนทุกความเข้มข้นมีขนาดใหญ่กว่าต้นควบคุมและเมื่อทำการตรวจสอบระดับ DNA โดยวิธี fliow cytometry พบว่าที่ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ดีที่สุดในรูปแบบการแช่ต้นกล้าที่มีอายุ 3 วัน

องค์ประกอบผลผลิต

องค์ประกอบผลผลิต พบว่าต้นที่มีการกลายพันธุ์มีปริมาณดอกตัวผู้มากกว่าดอกตัวเมีย มีการแห้งของช่อดอก การติดผลเกิดขึ้นน้อยมาก และเมื่อติดผลแล้วก็ไม่สามารถพัฒนาเป็นผลที่สมบูรณ์ได้ มีการร่วงหล่นก่อนกำหนด จนไม่สามารถเก็บผลผลิตได้เลย (รูปที่ 3) การทดลองในครั้งนี้แม้ว่าจะไม่ประสบผลสำเร็จในแง่การเพิ่มผลผลิตก็ตาม แต่มีแนวโน้มว่าลักษณะทางสัณฐานอื่น เช่น ขนาดของแผ่นใบจากต้นกลายพันธุ์ซึ่งใหญ่กว่าต้นปกติอย่างเด่นชัด หากนำไปใช้สำหรับการผลิตไม้ใบน่าจะให้ผลดีกว่าพืชที่ใช้เมล็ด ดังเช่นงานทดลองของ อัญญานี และสมปอง (2553) ซึ่งใช้สารโคลชิซีนกับดอกหน้าววัพันธุ์มิกกี้เม้า (Micky Mouse) พบว่าดอกที่ได้จากต้นที่เพิ่มชุดโครโมโซมมีขนาดของปากใบและแผ่นใบใหญ่กว่าต้นปกติ โดยเพิ่มตามระยะเวลาการแช่

4. สรุป

การใช้สารโคลชิซีนสามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มชุดโครโมโซมในสบู่ดำได้ โดยใช้การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น เช่น ขนาดปากใบ ขนาดแผ่นใบ ความยาวก้านใบ ขนาดของดอกตัวผู้และดอกตัวเมีย ซึ่งต้นที่มีการเพิ่มชุดโครโมโซม ลักษณะต่างๆ จะมีขนาดใหญ่กว่าต้นปกติและเพื่อเป็นการยืนยันผลอีกครั้งจำเป็นต้องตรวจสอบปริมาณ DNA อีกครั้งด้วยวิธี flow cytometry สำหรับความเข้มข้นที่เหมาะสมในครั้งนี้คือ 0.05 เปอร์เซ็นต์ และวิธีการแช่ต้นกล้าที่มีอายุ 3 วันเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งอาจมีเหตุผลมาจากต้นกล้ากำลังเจริญเติบโต และมีโอกาสสัมผัสกับสารโคลชิซีนได้โดยตรง อย่างไรก็ตามเนื่องจากจำนวนกิ่งกลายพันธุ์เกิดปริมาณน้อยมากจึงไม่เพียงพอที่จะจัดลงในแผนการทดลองเพื่อทดสอบผลผลิตตามแผนที่วางไว้ได้

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของสบู่ดำโดยเฉลี่ยเมื่อนำเมล็ดแช่ในสารละลายโคลชิซีน

ความเข้มข้น (%)	จำนวนต้นที่งอกในถุงชำ	จำนวนต้นที่อยู่รอดในแปลง	อัตรารอดชีวิต (%)
0 (control)	86.00a	80.25a	93.31a
0.05	34.25b	23.00b	67.15b
0.15	14.75b	7.40c	50.16b
0.20	0.00c	0.00c	0 c

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของสบู่ดำโดยเฉลี่ยเมื่อนำต้นกล้าที่มีอายุ 3 วันแช่ในสารละลายโคลชิซีน

ความเข้มข้น (%)	จำนวนต้นที่งอกในถุงชำ	จำนวนต้นที่อยู่รอดในแปลง	อัตรารอดชีวิต (%)
0	96.25 a	95.00 a	98.75 a
0.05	41.25 b	38.75 b	93.93 a
0.10	0 c	0 c	0 b
0.15	0 c	0 c	0 b
0.20	0 c	0 c	0 b

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 3 จำนวนต้นสบู่ดำที่มีลักษณะการกลายพันธุ์ ซึ่งผ่านการตรวจสอบปริมาณ DNA โดย flow cytometry

ลำดับที่	รหัสต้น	ระดับความเข้มข้นของสารโคลชิซีน (%)	วิธีการ	จำนวนชุดโครโมโซม
1	23x23x1	0.05	แช่ต้นกล้า	4n
2	23x14x1	0.05	แช่ต้นกล้า	Mixoploid
3	23x20x1	0.05	แช่ต้นกล้า	Mixoploid
4	23x23x2	0.05	แช่ต้นกล้า	4n
	ควบคุม	0	แช่ต้นกล้า	2n

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสบู่ดำต้นปกติ และต้นที่มีการกลายพันธุ์จากการแช่ต้นกล้าที่มีอายุ 3 วัน ในสารละลายโคลชิซีนเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะการออกดอกครั้งแรก

ระดับความเข้มข้นของโคลชิซีน (%)	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนกิ่งแรกต่อต้น	จำนวนดอกย่อยต่อช่อดอก	สัดส่วนดอกตัวผู้ : ตัวเมีย	ขนาดแผ่นใบ (กxย) ซม.	ขนาดปากใบ (กว้างxสูง) ไมโครเมตร
0 (control)	249.5	15.7	214.7	24.8 : 1	14.9x12.1	52.1x81.8
0.05	180.6-215.4	9.8-13.0	37.9-175.3	19.3-42.8 : 1	27.8x50.2	61.0-70.5 x 103.3-116.1

รูปที่ 1 ลักษณะเนื้อเยื่อสีขาว ***(endosperm)*** ที่เหนียวยึดติดแน่นกับใบเลี้ยง

รูปที่ 2 ใบเลี้ยงไม่สามารถคลี่กางได้ทำให้ต้นแห้งตาย

ผลจากต้นปกติ

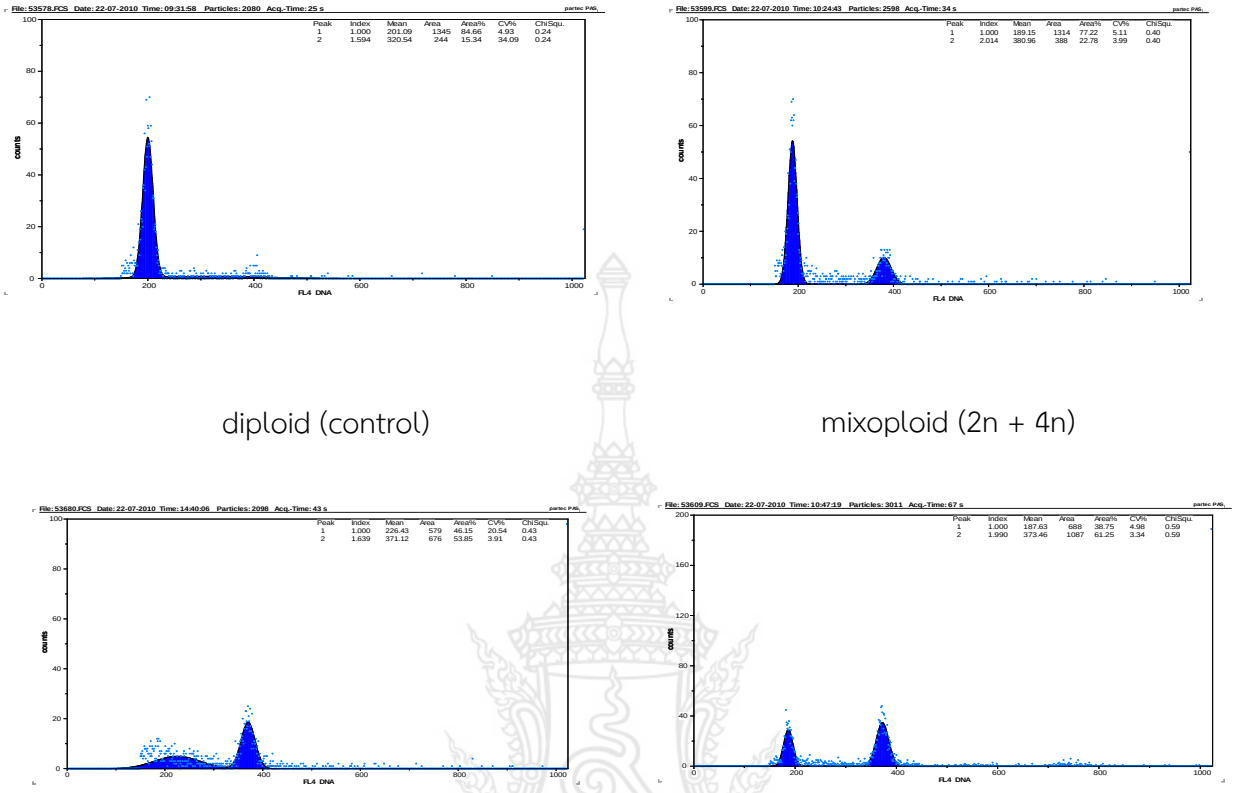
ผลจากต้นกลายพันธุ์

การร่วงหล่นของผลก่อนกำหนดจากต้นกลายพันธุ์

รูปที่ 3 ดอกและผลจากต้นปกติและต้นกลายพันธุ์

ความสูง **A** 92.5 µm. **B** 125 µm. **C** 120 µm **D** 135 µm. **E** 115 µm.

รูปที่ 4 ลักษณะและขนาดของปากใบสบู่ดำ A (diploid), B tetraploid (4n), C,D และ E Mixoploid (2n+4n)



ภาพที่ 5 ผลการตรวจวัดปริมาณ DNA ของสบู่ดำ
A diploid (2n)
B tatraploid (4n)
C และ D mixoploid (2n + 4n)

5. กิตติกรรมประกาศ

ในการวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน และได้รับการสนับสนุนด้านสถานที่ แปลงทดลอง เครื่องมือ และอุปกรณ์จากมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร นักวิจัยขอขอบคุณหน่วยงานทั้งสอง และทีมนักวิจัย เจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความร่วมมืออำนวยความสะดวกทุกอย่างในการวิจัยครั้งนี้

6. เอกสารอ้างอิง

ชำนาญ ฉัตรแก้ว, กรึก นฤทุม, ชาญวิทย์ ม่วงมิตร, กิตติเดช โพธิ์นิยม, ประโยชน์ ตันติเจริญยศ, ไพบูลย์ ประพฤติธรรม, ทวี เก่าศิริ, อวบ สารถ้อย, จีรชนม์ ศรีสวัสดิ์เล็ก และบำรุง ไตรมนตรี 2549. **สบู่ดำพืชพลังงาน.** กรุงเทพ:ห้างหุ้นส่วนจำกัดฟันนี่พับบลิชชิ่ง.

พรชัย เหลืองอาภาพงษ์. 2549. **สบู่ดำเพื่อไบโอดีเซล.** กรุงเทพ: สำนักพิมพ์มติชน.

วัชรินทร์ รัตนพันธ์. 2544. **การเพิ่มจำนวนโครโมโซมของขมิ้นชันและขมิ้นอ้อยด้วยโคลชิซีนในสภาพปลอดเชื้อ.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สถาพร มณี, สห ตุลพงษ์, สุรีพร เจิรญประเสริฐ และเศรษฐา ศิริพินท. 2544. **การเพิ่มชุดโครโมโซมและการผลิตต้นกล้าที่มีโครโมโซม 3 ชุดของมะนาวน้ำหอม มะนาวแป้นทวาย และคัมควอท โดยการใช้สารโคลชิซีนและสาร ไตรฟลูราลิน**. The 12th Khon kcan University 2011 Graduate Research Conference.

อัญญานี จันทร์ภักดี และสมปอง เตชะโต. 2553. ผลของสารโคลชิซีนต่ออัตราการรอดชีวิต ลักษณะทางสรีรวิทยาและสัณฐานวิทยาของหน้าวัวพันธุ์ Micky Mouse. **วารสารเกษตร.**26 (1) : 15-25 (2553)

Gubitz, G.M.Mittelbach, M. and Trabi, M. 1999. Exploitation of the tropical oil seed plant. Jatropha curcas L. **Bioresource Technology**. 67 : 73 – 82.

Kaewpoo, M. and S. Te – chato. 2010. Study on ploidy level of micropropagate *Jatropha curcas* L. via flow cytometry. **J. Agr**. Tech 6 : 391 – 400.

Madon, M., M.M. Clyde, H. Hashim, Y.M.Yusuf, H.Mat and S.saratha. 2005 Ployploidy induction of oil palm through colchicine and oryzalin treatment. **J.Palm Res**. 17 : 110 – 123.

Saradhal, P. and Silayoi, B. 2001. Some chemical Treatments on kluai khai Through Tissue Culture for Mutation Breeding. **Kasetsart Journal (Natural Science).** 35 : 231 – 241.

Sukarin W., Y. Yamada and S. Sakaguchi. 1987. Characteristics of physic nut, *Jatropha curcas* L. as a new biomass crop in the Tropics. **Jpn. Agric. Res. Quart. (Japan)** 20: 302-303.

Walter, S.A. and Wehner, T.C. 2002. Imcompatibility in diploid and tetraploid crosses of cucumis satius and cucumis metyliferus. **Euphytica**. 128 : 371 – 374.

Yang, X.M., Cao, Z.Y., An, L.Z., Wang, Y.M. and Fang, X. W. 2006. **In vitro induction via colchicines treatment from diploid somatic embryos in grapevine (*Vitis viniferra* L.) TAG Theoretical and Applied.**