สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

การศึกษาจำนวนโครโมโซมของแตงโม

Watermelon (*Citrullus vulgaris*) Chromosome Investigation

โดย

นายสุกฤษฎิ์ พาชีรัตน์

เสนอ

ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (พืชสวน)

พุทธศักราช 2548

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 73523
วัน,เดือน,ปี 20 ก.ค. 2550

b.11794432x
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาพืชสวน

เรื่อง

การศึกษาจำนวนโครโมโซมของแตงโม

Watermelon (*Citrullus vulgaris*) Chromosome Investigation

โดย

นายสุกฤษฎิ์ พาชีรัตน์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

.....

(อาจารย์มณทินี ธีรารักษ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

วันที่ 26 เดือน ต.ค. พ.ศ. 2549

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รศ.ดร.สมชาย กล้าหาญ)

หัวหน้าภาควิชาพืชสวน

วันที่ 26 เดือน ต.ค. พ.ศ. 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง : การศึกษาจำนวนโครโมโซมของแตงโม
โดย : นายสุกฤษฎิ์ พาชีรัตน์
สาขาวิชา : พืชสวน
ภาควิชา : พืชสวน
คณะ : เทคโนโลยีการเกษตร
: สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา: อาจารย์มณทินี ธีรารักษ์

บทคัดย่อ

การทดลองในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อการพัฒนาเทคนิคสำหรับการนับจำนวนโครโมโซมจากปลายรากของแตงโม (*Citrullus vulgaris*) ในระยะไมโทซิส ทำการศึกษาโดยใช้เวลาช่วงต่างๆ คือ 9.00 – 10.30 นาฬิกา หยุดวงชีพเซลล์ด้วย 8-hydroxyquinoline เข้มข้น 0.002 M นาน 0, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง รักษาสภาพเซลล์ด้วยแอลกอฮอล์ และกรดอะซิติก ในอัตราส่วน 3 : 1 ย้อมด้วยสี alcoholic-hydrochloric-acid carmine สังเกตภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเวลาที่เหมาะสมสำหรับการตัดราก คือ 10.30 นาฬิกา หยุดวงชีพเซลล์ด้วย 8-hydroxyquinoline นาน 24 ชั่วโมง สังเกตพบเซลล์อยู่ในระยะโปรเมทาเฟส ซึ่งโครโมโซมมีลักษณะหนาและหดสั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	:	Watermelon (*Citrullus vulgaris*) Chromosome Investigation
By	:	Mr. Sukrit Bhasherat
Major	:	Horticulture
Department	:	Horticulture
Faculty	:	Agricultural Technology
	:	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Advisor	:	Miss Montinee Teerarak

Abstract

The aim of this experiment was to develop technique for mitotic chromosome counts from root tips of watermelon (*Citrullus vulgaris*). For mitotic chromosome counts, root tips were collected using time of 9.00 – 10.30 a.m. and pretreated with 0.002 M 8-hydroxyquinoline for 0, 3, 6, 12 and 24 hours. Root tips were fixed in ethanol : acetic acid (3:1) and stained by alcoholic-hydrochlolic-acid carmine. The chromosomes were observed under light microscope at 1000 magnification. The results showed that the suitable time of cutting off root tips was 10.30 a.m. and pretreatment with 8-hydroxyquinoline for 24 hours since some cell were observed at prometaphase stage. Prometaphase chromosome had thickened and shortened chromosome.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับการสนับสนุนช่วยเหลือจากหลายฝ่ายด้วยกัน ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์มณทินี ธีรารักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่ช่วยกรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ ติดตามความก้าวหน้าและช่วยแก้ไขปัญหา อุปสรรค และข้อบกพร่อง ทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ผศ.ดร.จำรูญ เล้าสินวัฒนา ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำต่างๆ

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่คอยเป็นกำลังใจ ส่งเสริมในทุกๆ ด้านมาโดยตลอด ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ ที่คอยช่วยเหลือ และขอขอบคุณภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งเป็นสถานศึกษาและมีส่วนช่วยให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จเรียบร้อยด้วยดี

สุกฤษฎิ์ พาชีรัตน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญภาพ	II
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	1
ตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	14
ผลและวิจารณ์	17
สรุปผลการทดลอง	24
เอกสารอ้างอิง	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	เนื้อเยื่อเจริญปลายรากแตงโมที่ไม่แช่สาร 8-hydroxyquinoline และเก็บราก ที่เวลาต่างๆ (กำลังขยาย 1000x)	19
2	เนื้อเยื่อปลายรากแตงโมที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และเก็บรากที่เวลาต่างๆ (กำลังขยาย 1000x)	20
3	เนื้อเยื่อปลายรากแตงโมที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และเก็บรากที่เวลาต่างๆ (กำลังขยาย 1000x)	21
4	เนื้อเยื่อปลายรากแตงโมที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และเก็บรากที่เวลาต่างๆ (กำลังขยาย 1000x)	22
5	เนื้อเยื่อปลายรากแตงโมที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเก็บรากที่เวลาต่างๆ (กำลังขยาย 1000x)	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

หลักฐานทางประวัติศาสตร์ได้ชี้ให้เห็นชัดว่าแตงโม (*Citrullus vulgaris*) เป็นผลไม้ที่มนุษย์รู้จักมานานแสนนาน จากภาพวาดที่ปรากฏตามผนังพีระมิดแสดงให้เห็นว่า ชาวอียิปต์โบราณรู้จักปลูกแตงโมมาตั้งแต่สมัยฟาโรห์ คำว่า "แตงโม" ในภาษาอารบิก สันสกฤต และสเปน มิได้มีรากศัพท์เดียวกันเลย ความจริงข้อนี้สื่อให้เราเห็นว่า แตงโมเป็นพืชที่แพร่หลาย และมีคนนิยมปลูกมากมายทั่วโลกมาตั้งแต่สมัยโบราณแล้ว

การศึกษาโครโมโซมของพืชเริ่มมีมาตั้งแต่ศตวรรษที่ 20 โดยเริ่มจากการศึกษาโครโมโซมพืชและแมลงผู้ที่สนใจคือ Muller เป็นนักวิทยาศาสตร์คนแรกที่ศึกษาโครโมโซมในระยะการแบ่งเซลล์ไมโอซิสของข้าวโพด จนได้รับรางวัลโนเบลในปี ค.ศ.1983 การศึกษาโครโมโซมของพืชได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช นับตั้งแต่ G.J. Mendel ได้พบกฎทางพันธุกรรมเมื่อต้นคริสต์ศตวรรษนี้ นักวิทยาศาสตร์ได้ใช้ผลการค้นพบของ Mendel สร้างความหลากหลายทางชีวภาพในปัจจุบันมากมาย เช่นเมื่อเร็วๆ นี้ D. Gray นักวิทยาศาสตร์จากมหาวิทยาลัย Florida ในประเทศสหรัฐอเมริกาประกาศว่าเขาได้พัฒนาวิธีปลูกแตงโมที่ไร้เมล็ดได้สำเร็จแล้ว แตงโมไร้เมล็ดที่ว่านี้มีคุณค่าสูงกว่าแตงโมมีเมล็ดมาก เพราะนอกจากจะมีชีวิตที่ยืนนานกว่า ติดผลมากกว่าแล้ว ยังสะดวกต่อการบริโภคดีกว่าอีกด้วย

แตงโมเป็นผักที่เรานิยมทานผลที่แก่มารับประทานสดเหมือนผลไม้ เพราะมีสีแดงและมีรสหวาน ทั้งยังมีปริมาณน้ำมาก ทำให้ชวนรับประทานแก้กระหายน้ำ ส่วนผลอ่อนสามารถนำมาทำกับข้าวได้ เช่น ต้ม แกง ผัด เม็ดแตงที่แก่สามารถนำมาอบและใช้รับประทานเป็นของขบเคี้ยวได้ จากประโยชน์ของแตงโมในหลายๆ ด้านและการเพิ่มขึ้นของประชากรอย่างรวดเร็วจึงต้องมีการค้นคว้าหาวิธีผลิตอาหารให้เพียงพอสำหรับคนจำนวนมหาศาล จึงควรที่จะได้รับการพัฒนาเทคโนโลยี โดยเฉพาะทางด้านผลผลิตและคุณภาพ การศึกษาโครโมโซมของแตงโมนี้จึงเป็นแนวทางสำคัญในการวิจัยเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของแตงโมในช่วงเวลาต่างๆ ตั้งแต่ 9.00 – 10.30 นาฬิกาโดยใช้สาร 8-hydroxyquinoline เพื่อหยุดวงชีพเซลล์ เป็นเวลา 0, 3, 6, 12 และ24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

ชื่อวิทยาศาสตร์	*Citrullus vulgaris*
วงศ์	Cucurbitaceae
ชื่อสามัญ	Watermelon
	แตงโม (ภาคกลาง)
	มะเต้า (ภาคเหนือ)
	หมากโม (อีสาน)
	แตงจีน (ภาคใต้)
ถิ่นกำเนิด	แอฟริกาเขตร้อน

แตงโมมีถิ่นกำเนิดในแถบทะเลทรายตอนเหนือของทวีปแอฟริกา ซึ่งมีภูมิอากาศร้อนและแห้งแล้ง หลังจากนั้นได้รับการพัฒนาพันธุ์และปลูกในตอนภาคกลางและภาคใต้ของทวีปเอเชีย ศตวรรษที่11 เริ่มมีการปลูกในประเทศจีน หลังจากนั้นในศตวรรษที่ 16 เริ่มปลูกในแถบทะเลเมดิเตอร์เรเนียนของทวีปยุโรปและในศตวรรษที่ 17 ได้รับการปลูกและพัฒนาพันธุ์ในประเทศสหรัฐอเมริกา ปัจจุบันแตงโมเป็นที่นิยมบริโภคในเขตร้อน และเขตอบอุ่น

แตงโมเป็นผักที่เรานิยมทานผลที่แก่มารับประทานสดเหมือนผลไม้ เพราะมีสีแดงและมีรสหวาน ทั้งยังมีปริมาณน้ำมาก ทำให้ชวนรับประทานแก้กระหายน้ำ ส่วนผลอ่อนสามารถนำมาทำกับข้าวได้ เช่น ต้ม แกง ผัด เม็ดแตงที่แก่สามารถนำมาอบและใช้รับประทานเป็นของขบเคี้ยวได้

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของแตงโม

ลำต้น เป็นไม้เถาเนื้ออ่อน ลำต้นเลื้อยทอดไปตามพื้นดิน มีการเจริญเติบโตของกิ่งหลักไปประมาณ 30 – 45 เซนติเมตร จึงแตกกิ่งแขนง เถามีสีเขียว ยาว 3 – 6 เมตร

ใบ เป็นใบเดี่ยว ขอบใบเว้าลึก 3 - 7 แฉก ใบกว้าง 5 - 18 เซนติเมตร ยาว 8 - 20 เซนติเมตร ก้านใบยาว ทั้งเถาและใบมีสีเขียวและมีไขมันเคลือบผิวใบเป็นผงสีขาว เป็นมันมาก มีขนออกตามข้อเถา ใบมีลาย สีขาวประทั่ว โคนใบ กว้าง ปลายใบ แหลมเล็ก ริบขอบใบมีหยักเว้าลึกแบบ deeply lobed หรือ deeply pinnative

ดอก เป็นดอกเดี่ยว แยกเป็นดอกตัวผู้และดอกตัวเมียแต่อยู่บนต้นเดียวกัน (monoecious type) ดอกเพศผู้เกิดก่อนดอกเพศเมียและมีจำนวนมากกว่า แต่มีบางพันธุ์โดยเฉพาะสายพันธุ์แม่ที่ใช้ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม มักมีดอกกระเทยหรือดอกสมบูรณ์เพศ ที่มีทั้งเกสรเพศผู้และเพศเมียอยู่ภายในดอกเดียวกันร่วมกับดอกเพศผู้และดอกเพศเมียแยกดอกและอยู่ภายในต้นเดียวกัน (andromonoecious type) ลักษณะดอกเพศเมียประกอบด้วยส่วนของรังไข่มีลักษณะกลมยาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประมาณ 2 – 3 เซนติเมตร มีห้องรังไข่ 3 ห้อง ส่วนยอดเกสรตัวเมียมีลักษณะเป็นร่องหยัก 3 พู กลีบดอกและกลีบเลี้ยงมี 5 กลีบ กลีบดอกสีเหลือง ออกตรงส่วนยอดของเถา กลีบเลี้ยงมีสีเขียว ดอกสีเหลือง ขนาดเท่าหัวแม่มือ ดอกมีขนาดกว้าง 2 เซนติเมตร ยาว 3 เซนติเมตร กลีบดอกบาน 180 องศา ระยะดอกบานเป็นระยะที่เหมาะสมในการผสมเกสร ดอกบานในตอนเช้าและหุบภายในวันนั้น ดอกเพศผู้มีลักษณะคล้ายดอกเพศเมียแต่ไม่มีส่วนของรังไข่ มีเพียงกลีบดอก กลีบเลี้ยง อับละอองเกสรตัวผู้ 3 – 5 อัน และก้าน ก้านชูดอกสั้น ส่วนดอกกระเทยมีลักษณะทั่วไปคล้ายดอกเพศเมีย แต่มีส่วนของอับละอองเกสรตัวผู้ 3 อับ แทรกอยู่ระหว่างยอดเกสรตัวเมีย

ผล ผลกลมหรือกลมยาวเป็นทรงกระบอก ผลมีขนาดใหญ่ เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 25 เซนติเมตร ผิวเรียบ สีเขียวแก่หรือสีเขียวอ่อน หรือเขียวแก่และอ่อนสลับกัน เปลือกแข็ง เปลือกสีเขียวเข้ม บาง ชนิดเปลือกเป็นลาย เมื่อยังอ่อนเนื้อในเป็นสีขาว เมื่อพอแก่จะมีสีแดง มีรสหวาน น้ำหนักผลระหว่าง 1 – 50 กิโลกรัม

เมล็ด รูปไข่ แบน เปลือกแข็ง ผิวเรียบ ขนาดเมล็ดมีตั้งแต่เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศถึงฟักทอง เมล็ดมีสีขาว ดำ แดง เขียว น้ำตาล และสีตกกระ

พันธุ์แตงโมที่นิยมปลูก

พันธุ์แตงโมที่นิยมปลูก สามารถแยกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. แตงโมพันธุ์ธรรมดา

1.1 Sugar Baby ผสมเปิด, เป็นพันธุ์เบา อายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 68 วัน หลังจากงอก ผลกลมสีเขียวเข้ม ขนาดไม่ใหญ่มาก ผิวผลสีเขียวแก่จนดูดำเนื้อแดง รสหวาน เมล็ดเล็ก น้ำหนักผลเฉลี่ยประมาณ 4 – 6 กิโลกรัม คุณภาพในการขนส่งและเก็บรักษาดีมาก เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกมาก

1.2 Charleston Gray ผสมเปิด, เป็นพันธุ์หนัก อายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 85 วัน หลังจากงอก ผลมีลักษณะยาวรี สีเขียวนวล เนื้อสีชมพู รสหวาน เปลือกหนา เมล็ดมีขนาดใหญ่ คุณภาพในการขนส่งดี

1.3 Sweet Marvel ลูกผสม, ลักษณะทุกอย่างคล้ายพันธุ์ Sugar Baby คุณภาพดีมาก ทนทานโรคต่างๆ ได้ดี เช่น แอนแทรคโนส, ฟิวซาเรียม, ใบไหม้, ราน้ำค้าง

1.4 Sugar Belle ลูกผสม, ลักษณะทุกอย่างคล้ายพันธุ์ Sugar Baby ต้นแข็งแรง และต้านทานโรคแอนแทรคโนส, ฟิวซาเรียม ดีกว่า

1.5 Yellow baby hybrid ลูกผสม, อายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 70 – 75 วัน หลังจากงอก ผลกลม สีเขียวอ่อน ลายเขียวเข้มสลับ เนื้อสีเหลือง ผิวบางแต่เหนียว

1.6 Bush Sugar Baby ผสมเปิด, ลักษณะคล้ายพันธุ์ Sugar Baby แต่ต้นเป็นพุ่มเล็ก ลำต้นทอดยาวเพียง 1 เมตร ให้ผล 2 ผลต่อต้น ขนาดผล 4 – 6 กิโลกรัม เนื้อแดงจัด หวานและรสชาติดี

2. พันธุ์ไม่มีเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1 Jupiter ลูกผสม, ลักษณะคล้ายพันธุ์ Sugar Baby คุณภาพเนื้อดี ขนส่งได้ดี ต้องการต้นป๊อนเกสรตัวผู้ 10 %

2.2 Orchid Sweet ลูกผสม, เนื้อสีเหลือง ผลกลม ขนาดปานกลาง (4 กิโลกรัม) เปลือกสีเขียวอ่อนมีแถบสีเขียวเข้มพาด

2.3 Fengshan No.1 Hybrid เป็นพันธุ์ไม่มีเมล็ด ผลกลมผิวสีเขียว มีลายสีเขียวเข้มพาด ผลหนักประมาณ 7 กิโลกรัม เนื้อสีแดง หวานและแน่น คุณภาพในการเก็บรักษาดี เป็นพันธุ์ดีของได้หวันที่ขายส่งตลาดฮ่องกง

2.4 Farmer Wonderful Hybrid เป็นพันธุ์ไม่มีเมล็ด มีเถาสั้น ผลกลม ผิวมีสีเขียว และมีลายเขียวเข้ม ผลหนักประมาณ 9 กิโลกรัม เนื้อสีแดง หวานกรอบ มีเมล็ดอ่อนลีบๆ บางสีขาว ให้ผลผลิตสูง ในการปลูกพันธุ์ไม่มีเมล็ดนี้ ต้องปลูกพันธุ์ธรรมดาสลับควบคู่กันไปด้วย เพื่อช่วยในการติดผล

3. พันธุ์เมล็ด

3.1 Red Luck ลูกผสม ให้เมล็ดสีแดง ติดผลเร็ว ผลดก ใบและลำต้นเล็ก เหมาะต่อการปลูกแถวชิด ใน 1 ผลมีประมาณ 400 เมล็ด จำนวนเมล็ด 5,000 เมล็ด/กิโลกรัม

3.2 Wanli F_2 Hybrid ลูกผสม F_2 ผลกลม เนื้อขาวให้เมล็ดสีดำ ผลหนัก 3 กิโลกรัมต้นแข็งแรง เจริญเร็ว ใน 1 ผลมีประมาณ 400 เมล็ด จำนวนเมล็ด 5,000 เมล็ด/กิโลกรัม

3.3 Red Coat Hybrid เป็นพันธุ์ที่ปลูกเพื่อผลิตเมล็ด ผลกลม เนื้อขาวหมด เมล็ดมีสีแดง

ความแตกต่างของแตงโมชนิดต่างๆ

Cogniaux และ Harms 1924 แยกแตงโมออกเป็น 4 ชนิด ซึ่งแตงโมทั้ง 4 ชนิดมีแหล่งกำเนิดในแอฟริกาและมีลักษณะแตกต่างกันดังนี้

C. *vulgaris* Schrad (ปัจจุบันเปลี่ยนเป็น C. *lanatus* (Thunb.) Mansf.) พืชล้มลุกมีแหล่งกำเนิดในแอฟริกาใต้ (หรืออาจเป็นแอฟริกากลาง) มีการปลูกกระจายตั้งแต่ประเทศอียิปต์ เอเชียใต้ เอเชียตะวันตก และเอเชียกลาง เป็นพืชที่มีใบเขียวเข้มใหญ่ ลักษณะกลมหรือสามเหลี่ยมรูปไข่ ใบอาจมีลักษณะขอบเรียบไปจนถึงแบ่งออกเป็น 3 – 5 แฉก ผลมีขนาดกลางจนถึงใหญ่ เปลือกหนา เนื้อแน่นฉ่ำน้ำ เนื้ออาจมีสีแดง เหลือง หรือขาว เมล็ดมีลักษณะรูปไข่หรือกลมรีและแบน มีเปลือกเมล็ดสีขาวหรือน้ำตาล

C. *colocynthis* (L.) Schrad เป็นพืชค้างปีมีแหล่งกำเนิดในแอฟริกาเหนือ แตกต่างจากชนิดแรกอย่างเห็นได้ชัดตรงขนาดของส่วนต่างๆ ของพืช ใบมีขนาดเล็กแบ่งเป็นร่องเล็กๆ ใบมีขนออกสีเขียวหม่น ดอกตัวผู้และดอกตัวเมียแยกกัน แต่อยู่ภายในต้นเดียวกันมีขนาดเล็ก ออกดอกในช่วงกลางวันสั้น เมล็ดมีขนาดเล็กสีน้ำตาล ผลมีขนาดเล็ก มีเส้นผ่าศูนย์กลางโตไม่เกิน 3 นิ้ว เนื้อมีรสขม

C. *ecirrhosus* Cogn และ C. *naudinianus* (Sond.) Hook ทั้งคู่เป็นพืชค้างปี มีแหล่งกำเนิดในเขตทะเลทรายของแอฟริกาตะวันตกเฉียงใต้ ลักษณะทั่วไปของพวก C. *naudinianus* แตกต่างจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แตงโมชนิดอื่นๆ คือ มีร่องกลางใบลึก มีขนอ่อนขึ้นหนาแน่น มีมือเกาะเหยียดตรงยาว หรือโค้งงอเล็กน้อยตรงปลาย ต้นตัวผู้และต้นตัวเมียแยกกัน จะออกดอกเมื่ออายุ 2 ปี ผลกลมมีขนาดกลางถึงผลโต มีเปลือกบาง เนื้อนิ่มและฉ่ำน้ำ เมล็ดสีขาวมีการพักตัวสูง C. *ecirrhosus* มีลักษณะใกล้เคียงกับ C. *colocynthis* แต่ใบจะแบ่งเป็นส่วนๆ อย่างเห็นได้ชัด มีขนอ่อนปกคลุมหนาแน่น ขอบใบม้วนขึ้น ไม่มีมือเกาะ ผลมีลักษณะกลม เนื้อสีขาว มีรสขม จะออกดอกเมื่ออายุ 2 ปี

สำหรับชนิดที่ 5 ที่กำลังอยู่ในขั้นศึกษา คือ C. *fistulosus* มีลักษณะใกล้ไปทางพืชในวงศ์แตงกวา *Cucumis spp.* จึงมีผู้เสนอให้จัดกลุ่มใหม่ เนื่องจาก C. *fistulosus* ไม่สามารถที่จะผสมกับพืชทั้งสี่ชนิดข้างต้นได้ นอกจากนี้ยังมีจำนวนโครโมโซมไม่เท่ากันอีกด้วย สำหรับ *Citrullus spp.* ทั้งสี่ชนิดสามารถผสมข้ามกันได้อย่างดี ให้ลูกผสม F_1 ที่งอกได้ เจริญเติบโตเป็นปกติ ให้ผลและติดเมล็ดอย่างปกติ

Cogniaux และ Harms 1924 ให้ข้อสรุปว่าพวกที่มีรสขมของ C. *vulgaris* เป็นบรรพบุรุษของพันธุ์ปลูกในปัจจุบัน แตงโมทั้งสี่ชนิด C. *lanatus* (vulgaris), C. *colocynthus*, C. *ecirrhosus*, C. *naudininus* ต่างก็มีโครโมโซม 2n = 22

โครโมโซม (Chromosome)

โครโมโซม (Chromosome) ประกอบด้วย กรดนิวคลีอิกพวก DNA (deoxyribonucleic acid) และโปรตีนพวกฮิสโตน (histone) และโปรตามีน (protamine) ฮิสโตนนั้นอาจพบในโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตทั่วๆไป ส่วนโปรตามีนจะพบในโครโมโซมของสัตว์จำพวกนก ในขณะที่นิวเคลียสแบ่งตัวในระยะ metaphase หรือ anaphase นั้น โครโมโซมมีขนาดใหญ่และหดสั้น และสามารถส่องเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา เนื่องจากมีการพับไปมาจนเกิดเป็นเส้นสายขนาดใหญ่และจากการย้อมสีโดยใช้สารเคมีพบว่าภายในนิวเคลียสมีร่างแหซึ่งติดทึบอยู่ทั่วไป เรียกส่วนที่เป็นร่างแหว่า โครมาทิน (chromatin) เมื่อเซลล์แบ่งตัว (อมรา, 2540) ร่างแหนี้จะปรากฏเป็นเส้นใยเล็กๆ เกิดจากการเรียงตัวของท่อเล็กที่เรียกว่า microtubule กลายเป็นเส้นใยยาวเรียกว่า สายสปินเดิล (spindle fiber) สายสปินเดิลจะมีปลายข้างหนึ่งยึดติดกับเซนทริโอล และปลายอีกข้างหนึ่งยึดเซนโทรเมียร์ (centromere) ของโครโมโซม สายสปินเดิลจะช่วยดึงโครโมโซมให้เคลื่อนตัวได้ในขณะมีการแบ่งเซลล์สิ่งมีชีวิตซึ่งอยู่ใน Species เดียวกันจะมีโครโมโซมเท่ากันเสมอ เช่น คน มีจำนวนโครโมโซม 2n = 46 กระต่าย 2n = 44 หนู 2n = 42 และข้าวโพด 2n = 20 เป็นต้น ในเซลล์ร่างกายมักมีโครโมโซมในสภาพ 2n คือ โครโมโซมแต่ละชนิดจะมีอยู่เป็นคู่ๆ ซึ่งอาจพูดว่ามีโครโมโซมอยู่ 2 ชุด หรือ diploid ส่วนหน่วยสืบพันธุ์ (gamete) นั้น มักจะมีโครโมโซม 1 ชุด ซึ่งเรียกว่า haploid (n) พืชหลายชนิดอาจมีโครโมโซมเกิน 2 ชุดก็ได้ คือ อาจมีโครโมโซม 3 ชุด (3n, triploid), 4 ชุด (4n, tetraploid), 5 ชุด (5n, pentaploid) เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พฤติกรรมของโครโมโซมพืชในระยะไมโทซิส

การทำการศึกษาโครโมโซมพบว่า ระยะของไมโทซิสช่วงเวลาเดียวของวัฏจักรเซลล์ที่โครโมโซมมีรูปร่างเห็นได้ชัดเจนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ระยะต่างๆ ของการแบ่งเซลล์ในไมโทซิส คือ ระยะแรก เรียกว่า โพรเฟส (prophase) ระยะต้นของโพรเฟสนั้น โครโมโซมปรากฏเห็นได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์มีขนาดยาว โดยแต่ละเส้นประกอบด้วยสายใยเป็นคู่ เรียกว่า sister chromatid ในตอนปลายระยะนี้โครโมโซมจะหดสั้นมาก แต่ละโครโมโซมจะมีรอยคอดติดสีจาง เรียกว่า เซนโทรเมียร์ ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการเกาะติดของสายสปินเดิลเพื่อช่วยแยกโครโมโซมออกจากการแบ่งเซลล์จากเซนโทรเมียร์ ไปจนถึงปลายโครโมโซมข้างใดข้างหนึ่ง เรียกว่า แขน (arm) เมื่อสิ้นสุดระยะโพรเฟส จะพบว่าผนังนิวเคลียสเกิดการสลายตัว กลายเป็นส่วนประกอบของเอนโดพลาสมิดเรติคิวลัม (endoplasmic reticulum) และเริ่มเข้าสู่ระยะแบ่งเซลล์ เรียกว่า เมทาเฟส (metaphase) โครโมโซมหดตัวหนาขึ้น สังเกตเห็นโครโมโซม 1 แท่ง ประกอบด้วย โครมาทิด 2 แท่ง จากนั้น เซนโทรเมียร์จะแบ่งตัวเป็นสองแล้วเคลื่อนย้ายไปอยู่คนละเซลล์ พร้อมสร้างสายใยสปินเดิล ระยะนี้มีความสำคัญมาก คือโครโมโซมจะหดสั้นสุด และเป็นระยะที่เหมาะสมอย่างยิ่งในการนำโครโมโซมมาศึกษาทางไซโตจีเนติค (cytogenetic) เช่น นับจำนวน ตรวจดูรูปร่างและนำมาย้อมสีแบบต่างๆ ต่อมาเริ่มเคลื่อนย้ายมาอยู่ตรงกลางของเซลล์เซนโทรเมียร์ของแต่ละโครโมโซม มีการแบ่งครึ่งเพื่อทำการแยกโครมาทิด ระยะต่อมา คือ ระยะแอนนาเฟส (anaphase) โครโมโซมแยกออกจากกัน และเคลื่อนย้ายไปอยู่กันคนละขั้วของเซลล์ จะปรากฏโครโมโซมแยกเป็น 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับจำนวน diploid ของสปีชีส์นั้นๆ ระยะสุดท้ายของไมโทซิส คือ เทโลเฟส โครโมโซมที่แยกไปอยู่คนละขั้วเริ่มคลายการหดตัวและขยายยาว เริ่มเห็นผนังนิวเคลียสสร้างขึ้นล้อมแต่ละกลุ่มของโครโมโซม ภายหลังเมื่อมีการแบ่งของนิวเคลียสแล้วเริ่มแบ่งไซโตพลาสซึมในเซลล์สัตว์พบว่าผนังเซลล์จะคอดตรงกลางแล้วแยกออกเป็นสองเซลล์ สำหรับเซลล์พืชจะมีการสร้างผนังเซลล์ (cell plate) มีลักษณะเป็นผนังบางกั้นตรงกลางสำหรับเซลล์ ซึ่งเวลาต่อมาจะมีสาร cellulose มาสะสมจนเปลี่ยนสภาพเป็นผนังเซลล์ที่แข็งแรง เรียกว่า cell wall เมื่อสิ้นสุดการแบ่งเซลล์ จะได้เซลล์แม่เริ่มต้น 1 เซลล์ แบ่งได้เป็นเซลล์ลูกจำนวน 2 เซลล์ (อมรา, 2540)

การเตรียมโครโมโซมจากปลายรากพืช

ในปลายรากพืชที่ได้จากการเพาะเมล็ดหรือปลูกพืช รากที่นำมาใช้ต้องสดและมีสุขภาพดี เพื่อให้ได้เซลล์ที่มีอัตราการแบ่งมากๆ นิยมใช้รากชนิดรากแขนง (lateral root) ลักษณะรากที่ดีมีความเปราะโปร่งแสงและมีสีขาว ส่วน tip หรือปลายรากมีสีขาวอมครีม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนการเตรียมพืชเพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซม

1. Pretreatment

ล้างรากพืชให้สะอาด ตัดรากตามยาวจากปลายรากขึ้นมาประมาณ 1 เซนติเมตร แช่ในสารละลาย Pretreatment เพื่อให้เซลล์หยุดการแบ่งไมโทซิสที่ระยะเมทาเฟส เป็นเวลา 4 – 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง หรือเก็บไว้ในที่เย็น อุณหภูมิต่ำกว่า 18 องศาเซลเซียส ภาชนะที่ใช้ต้องสะอาดปราศจากสารเคมีหรือผงซักฟอก ระหว่างแช่ควรเขย่าภาชนะเพื่อให้อากาศแทรกในน้ำยา เมื่อสิ้นสุดเวลานำรากออกมาแช่ในน้ำยา fixative ต่อไป

การทำ Pretreatment กับรากพืชเพื่อที่จะทำให้เซลล์หยุดการแบ่งเซลล์ไมโทซิสในระยะเมทาเฟส สารที่ใช้ทำ Pretreatment มีหลายชนิด มีผลต่อเซลล์เหมือนกันคือ ทำให้ spindle fiber ของเซลล์ไม่สามารถสร้างขึ้นมาได้

การทำ pretreatment มีวัตถุประสงค์หลัก 3 ประการ คือ

1. ทำส่วนอื่นภายในเซลล์นอกเหนือจากนิวเคลียสให้ใส เพื่อไม่ให้บดบังหรือเป็นอุปสรรคต่อการศึกษาโครโมโซม

2. แยก middle lamella ออกจากเซลล์ เพื่อให้เนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม ง่ายต่อการทำให้เซลล์แยกออกจากกัน

3. ทำเซนโทรเมียร์และรอยคอดอื่นให้เห็นชัดเจนยิ่งขึ้น

2. Fixation

เลือกรากที่มีลักษณะดี (โปร่งแสงและมีสีขาว ส่วน tip หรือปลายรากมีสีขาวอมครีม) แช่ในน้ำยา fixation นานอย่างน้อย 15 นาที ถ้าต้องการเก็บไว้เป็นเวลานานก่อนนำมาศึกษาโครโมโซม ให้เปลี่ยนแปลงจากแช่น้ำยา fixative มาเป็น ethanol 70 % และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 0 – 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะศึกษาต่อไป

การคงสภาพเซลล์เป็นกระบวนการตรึงเนื้อเยื่อและองค์ประกอบภายในเซลล์ให้หยุดอยู่ในระยะการแบ่งเซลล์หรือสภาพนั้นๆ หรือเป็นการฆ่าเซลล์หรือเนื้อเยื่อนั่นเอง วิธีคงสภาพเซลล์โดยทั่วไปคือการแช่แข็ง แต่สามารถใช้สารเคมีคงสภาพเซลล์ได้ น้ำยาที่เป็น Fixing หรือ Killing นี้ใช้เพื่อทำให้เซลล์พืชคงสภาพเดิม เหมือนเช่นการดองสัตว์ให้คงสภาพไม่เน่าเปื่อย น้ำยาประเภทนี้จำต้องเตรียมใหม่ๆ แล้วใช้ทันที

การทำ Fixation (การตรึงเซลล์) เป็นการฆ่าเซลล์อย่างทันทีทันใดเพื่อให้เซลล์คงอยู่ในสภาพที่มีการแบ่งเซลล์ระยะต่างๆ แต่บางครั้งการศึกษารูปร่างของโครโมโซมให้เห็นชัดเจนนั้นจะต้องให้เซลล์ส่วนใหญ่ต้องอยู่ในระยะเมทาเฟส หรือโครโมโซมขดตัวเป็นแท่งชัดเจน

3. Maceration

วางปลายรากบนแผ่นสไลด์แล้วหยด 1 N HCl เป็นเวลา 5 นาที (ควรทำที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส) แล้วล้างรากด้วยน้ำสะอาด ถ้าทำรากจำนวนมากอาจแช่ในน้ำที่ใส่ในหลอดแก้วแล้วปิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปากหลอดด้วยผ้าขาวบาง ปล่อยให้น้ำผ่านเข้าออกและสามารถเก็บรากไว้ในน้ำนาน 1 – 2 วัน นำรากขึ้นจากน้ำเพื่อศึกษาขั้นต่อไป

การทำ Maceration (การทำให้เซลล์นิ่ม) เป็นวิธีที่ย่อยสลาย pectin ซึ่งเป็น cell wall ในชั้น middle lamella ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่ตรงกลางระหว่างเซลล์ในส่วนของ primary wall ทำหน้าที่ต่อเชื่อมเซลล์ในลักษณะคล้ายคลึงกับซีเมนต์ที่ใช้ยึดแผ่นอิฐสองแผ่นเข้าด้วยกัน โดยปกติแล้ว middle lamella มีขนาดยาวมากและไม่อาจเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ทั่วๆ ไป การทำ Maceration มีวัตถุประสงค์เพื่อลดจำนวนเซลล์ที่จะอยู่ซ้อนกันหลายๆ ชั้น จึงช่วยทำให้เซลล์ที่ปลายรากพืชสามารถแยกตัวออกมาเป็นเซลล์เดี่ยวๆ ได้ สารเคมีที่ใช้ทำ Maceration คือ HCl

4. Stain

นำรากขึ้นจากน้ำ วางปลายรากบนแผ่นสไลด์ซับน้ำส่วนเกินออก ย้อมด้วยสี Alcoholic-hydrochloric-acid carmine ใช้มีดตัดเอาส่วนของปลายราก ขยี้ให้แบนด้วยเข็มเขี่ยปลายแบน ผ่านสไลด์ไปบนเปลวไฟ (ใช้ตะเกียงแอลกอฮอล์) ปิดด้วย cover slip ย้อมสีนานประมาณ 5 – 10 นาที ทำ squash technique ตรวจดูเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ทำสไลด์ให้เซลล์คงอยู่ชั่วคราวโดยปิดขอบ cover slip ด้วยน้ำยาทาเล็บ

การทำ Stain เป็นการย้อมสีเพื่อทำให้เห็นโครโมโซมชัดเจน สีที่ใช้ย้อมจึงเป็นประเภทที่ย้อมติดส่วนที่เป็น nucleoprotein หรือนิวเคลียส ในการศึกษาโครโมโซมพืชทั้งจากเซลล์ปลายรากและเซลล์ Microsporocyte นั้นนิยมใช้สี acetocarmine และโดยเฉพาะมีส่วนของสนิมเหล็กปนอยู่ด้วยแล้ว มีผลทำให้โครโมโซมติดสีดีขึ้น อาจเรียกเทคนิคนี้ว่า iron - acetocarmine

การเตรียมสารเคมีในการศึกษาโครโมโซม (อมรา, 2540 ; Adrian, 1979 ; Kamemoto and Sagrik, 1976)

1.สารที่ใช้ในการทำ Pretreatment มีดังนี้

1. Colchicines เป็นสารที่สกัดจากรากของ Colchicum autumnale สูตรเคมีอย่างง่ายคือ $C_{22}H_{25}O_6N$ พืชพื้นเมืองของไทยที่สร้างสารโคลชิซินคือดองดึง (*Gloriosa superba*) โคลชิซินมีประสิทธิภาพทั้งอัญรูป (amorphous) และผลึก (crystalline) สามารถละลายน้ำได้ดี ความเข้มข้นที่นิยมใช้คือ 0.01 – 1.0 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร และเก็บในสภาพเย็นที่อุณหภูมิ 8 – 16 องศาเซลเซียส สารละลายโคลชิซินช่วยให้เซลล์พืชอยู่ในระยะเมทาเฟสโดยยับยั้งการสร้างสายสปินเดิล การใช้โคลชิซินกับเซลล์พืชทำได้หลายวิธี เช่น แช่ราก พอกเนื้อเยื่อด้วยโคลชิซินผสมกับลาโนลิน (lanolin) หรือฉีดเข้าพืชโดยตรง

Colchicines ใช้ความเข้มข้น 0.2% W/V ในน้ำ แช่ปลายรากนานประมาณ 1 - 2 ชั่วโมง จากนั้นจึง fix รากในน้ำยา fixative

2. 8-Hydroxyquinoline เตรียมที่ความเข้มข้น 0.002 M ในน้ำ เพื่อให้ละลายน้ำได้ดีใช้วิธีอุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใน 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 - 12 นาที บางครั้งอาจนานถึง 1 ชั่วโมง จึงจะละลายหมด

3. Paradichlorobenzine เตรียมจาก 5 - 10 กรัม Paradichlorobenzine ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ใส่สารละลายนี้ไว้ในขวดที่ปิดจุก และเก็บไว้ในตู้อบ 60 องศาเซลเซียส นานตลอด 1 คืน จึงนำมาใช้ การแช่รากอาจแช่อยู่นาน 15 นาที - 4 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำรากมาทำการฆ่าเซลล์อย่างทันทีทันใด

4. α-bromo-napthalene ใช้ในรูปสารละลายที่มีความเข้มข้น 1% ที่เตรียมจาก 1 มิลลิลิตร α-bromo-napthalene ใน 100 มิลลิลิตร ของ absolute ethanol เป็นเวลาครึ่งชั่วโมง

2.สารที่ใช้ในการทำ Fixative solution หรือ Killing solution โดยมีสูตรต่างๆ ดังนี้

1. Carnoy's fluid ประกอบด้วย absolute ethanol หรือ methanol: glacial acetic acid ในอัตราส่วน 3: 1

2. Farmer's fluid ประกอบด้วย absolute ethanol: glacial acetic acid ในอัตราส่วน 6: 3: 1

3.สารที่ใช้ในการทำ Stain มีดังนี้

1. Acetocarmine

อุ่น 45% acetic acid ที่ร้อนละลายสี carmine ลงไปโดยใช้อัตราส่วน 1 กรัม carmine ในกรด acetic 200 มิลลิลิตร ต้มเดือดนาน 1-2 นาที จนกระทั่งสีแดงของ Carmine เปลี่ยนเป็นสีแดงเข้มขึ้น จากนั้นปล่อยให้เย็นแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง อาจใช้วิธีต้มเดือดให้ระเหยเห็นไอ แล้วกลั่นเป็นหยดน้ำใน reflux condenser นาน 1 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นแล้วกรอง เก็บสารละลายนี้ในที่เย็นและมืด

2. สี Lacto-propionic orcine

ใช้สี Lacto-propionic orcine แทน acetocarmine วิธีเตรียม โดยใช้ 1 กรัมของ orcine ละลายใน lactic acid 50 มิลลิลิตร ทำที่อุณหภูมิห้อง ปล่อยให้ผง Orcine ละลายใช้เวลาตลอดคืนแล้วกรอง เตรียม working solution: เจือจาง stock solution ให้ได้ 45% - 60% ของ stock solution ในน้ำกรอง เก็บสีในที่เย็นและมืด สามารถใช้ได้เป็นเวลานานหลายเดือน

3. การเตรียมสี Aceto - orcine

อุ่น Glacial acetic acid แล้วละลายสี orcine ลงไป 2.2 กรัม ใน glacial acetic acid 100 มิลลิลิตร จากนั้นปล่อยให้สีเย็นแล้วเก็บเป็น Stock solution ก่อนจะใช้ต้องทำกรดให้เจือจางเป็น 45% ในน้ำกรอง และนิยมใช้สีนี้ย้อมเซลล์สัตว์

4. การเตรียมสี Alcoholic - hydrochloric - acid carmine

Alcoholic - hydrochloric - acid carmine ย้อมเซลล์พืชโดยจะให้ความแตกต่างระหว่างไซโตพลาสซึมและโครโมโซมได้ชัดเจน วิธีเตรียมทำโดย ผสมกรด HCl เข้มข้น 1 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร และชั่ง Carmine 4 กรัมละลายในสารละลายกรด จากนั้นนำสารละลายสีและกรดตั้งไฟให้ร้อนจนเดือดเบาๆ นาน 11 นาที ปล่อยให้เย็นจึงเติม 95 มิลลิลิตร ของ 85% แอลกอฮอล์ลงไปกรองสีก่อนใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การย้อมโดย Feulgen technique

Feulgen reaction เป็นปฏิกิริยาที่ใช้ชี้ให้เห็นว่าส่วนใดเป็น DNA และส่วนใดไม่ใช่ DNA เทคนิคนี้ทำให้เฉพาะส่วนของโครโมโซมติดสี แต่ cytoplasm และ nucleolus จะไม่ติดสี

วิธีการเตรียมคือ เทน้ำกลั่นที่เดือดแล้วปริมาตร 200 มิลลิลิตร ลงในสี Basic fuchsin จำนวน 1 กรัม เขย่าภาชนะที่ใส่สารละลายสีนาน 5 นาที ทำให้เย็นจนถึง 50 องศาเซลเซียส กรองใส่ไว้ในขวดฝาปิดสีชา เติม 30 มิลลิลิตร ของกรด HCl ลงไป จากนั้นเติม 3 กรัม ของ sodium หรือ potassium metabisulphase เก็บสีไว้ในที่เย็นและมืด ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีแดงแสดงว่าสีเก่าเกินไปไม่มีผลต่อการย้อมต้องเตรียมใหม่

วิธีการย้อมสีเซลล์ Feulgen technique นำปลายรากที่ fix ไว้เรียบร้อยร้อยแล้วมาแช่ใน 10% HCl (เตรียม HCl conc : น้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 9) ที่เย็นคอยจนกว่ารากจะจมจึงย้ายมาแช่ใน 10% HCl ที่ 60 องศาเซลเซียส ปล่อยให้ hydrolyze นาน 25นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แช่ปลายรากใน Feulgen solution นาน 20 - 30 นาที แล้วใช้วิธี squash technique

ปัจจัยที่มีผลต่อขนาดของโครโมโซมและมีบทบาทต่อการศึกษาทางพันธุศาสตร์ของเซลล์ (นิตย์ศรี, 2541)

1. โคลชิซิน (colchicine) เป็นสารแอลคาลอยด์ซึ่งทำหน้าที่ขัดขวางการแบ่งเซลล์ โดยยับยั้งการสร้าง spindle fiber ทำหน้าที่ดึงเซนโทรเมียร์ไปยังขั้วของเซลล์ โครโมโซมจึงหยุดอยู่ที่ระยะเมทาเฟสซึ่งเป็นระยะที่โครโมโซมหดสั้นที่สุด แต่ไม่มีผลต่ออัตราการแบ่งของโครโมโซม จึงเป็นสารที่นิยมทำหน้าที่เป็น pretreat ในการศึกษาโครโมโซม

2.สารเคมีที่ใช้ในการทำ pretreatment อีกประเภทหนึ่งที่ทำให้โครโมโซมหดตัวจากการแช่ตัวอย่างพืช เช่น ราก สาร pretreat ในกลุ่มนี้ ได้แก่ α-bromonapthalene, 8-hydroxyquinoline มีผลคล้ายโคลชิซิน

3.การลดปริมาณของสารที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์โครมาทินอาจจะมีผลต่อขนาดของโครโมโซม เซลล์ที่ได้จากการแบ่งตัวค่อนข้างถี่จะมีโครโมโซมเล็กกว่าเซลล์ที่มีระยะอินเตอร์เฟสค่อนข้างยาว

4. สารอาหารต่างๆ ที่ใช้เพาะเลี้ยงเซลล์ มีผลต่อขนาดของโครโมโซมด้วย เช่น ฟอสเฟต ที่ความเข้มข้นสูง ๆ จะทำให้โครโมโซมมีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซมที่เลี้ยงในน้ำหรือมีฟอสเฟตน้อย

5. อุณหภูมิ มีผลต่อขนาดของโครโมโซมเช่นกัน เซลล์ที่มีการแบ่งตัวในที่มีอุณหภูมิต่ำๆ จะมีขนาดสั้น และมีการหดตัวของโครโมโซมมากกว่าเซลล์ที่มีการแบ่งตัวในที่มีอุณหภูมิสูงๆ

ในการเตรียมสไลด์เพื่อศึกษารูปร่างและจำนวนโครโมโซม จำเป็นต้องทำให้โครโมโซมมีขนาดสั้นและมีการกระจายของโครโมโซม โดยทั่วไปนิยมใช้สารเคมีในการทำ pretreatment ร่วมกับการบ่มที่อุณหภูมิต่ำ ๆ ด้วย จะช่วยลดระยะเวลาที่ต้องแช่สารเคมีสั้นลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ดิเรก (2537) ศึกษาผลของจำนวนโครโมโซมต่อลักษณะทางสัณฐานของเยอบีร่า พันธุ์ขาวใบจักร เทอร์รานีวาลิส เทอร์รามอนซา และเทอร์ราพาเรด ในอาหาร MS ที่ผสมโคลชิซิน 0, 0.2, 0.4 และ 0.6 % ปรากฏว่าต้อนอ่อนที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีโคลชิซินผสมอยู่ 0.4 % เป็นเวลา 5 วัน ทำให้เยอบีร่ามีโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นเท่าตัว คือ 2n = 4n = 100 ต้นเยอบีร่าที่มีโครโมโซมเพิ่มขึ้นจะมีใบหนา สีเขียวเข้ม และขนาดของปากใบใหญ่กว่าปกติ แต่เจริญเติบโตไม่ค่อยดี แตกหน่อได้น้อย ดอกมีสีเข้มขึ้น กลีบดอกกว้างและยาวกว่าปกติ ขนาดวงดอกชั้นใน และฐานช่อดอกใหญ่ขึ้น แต่ก้านช่อดอกสั้นและอ้วน

สาริณี (2537) ได้ทำการทดลองนับโครโมโซมรากของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย *Dendrobium superbiens* ดิพลอยด์และออลโลเตตราพลอยด์ โดยนับโครโมโซมของรากต้นละ 10 เซลล์ หยุดวงชีพเซลล์ด้วย1-bromonapthalene นาน 5 – 6 ชั่วโมง แช่ด้วย hydrolyse ในกรด HCl 1 N นาน 10 นาที ย้อมด้วยสี aceto orcein พบว่าต้นดิพพลอยด์มีจำนวนโครโมโซม 2n = 38 และออลโลเตตราพลอยด์มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 76 โครโมโซม

ผ่องพรรณ และคณะ (2538) ศึกษาจำนวนโครโมโซมของมะตูมโดยการย้อมสีออร์ซีน (orcine) เก็บรากตัวอย่างเมื่อเวลา 10.30 น. สังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่ามีจำนวนโครโมโซมทั้งหมด 2n = 14 รูปร่างโครโมโซมเป็นแบบ เมทาเซตริก (metacentric chromosome) คือ มีเซนโทเมียร์อยู่บริเวณกึ่งกลางทำให้แขนของโครโมโซมสองข้างมีความเท่ากัน

ลัดดา และกัญญา (2538) ศึกษาโครโมโซมพืชวงศ์ขิงจำนวน 10 ชนิด จากปลายราก (2n) ศึกษาโดยใช้วิธี feulgen squash หยุดวงชีพเซลล์ใน paradichlorobenzene (PDB) นาน 4 ชั่วโมงแช่ด้วย HCl 1 N นาน 4 นาที ย้อมด้วยสี carbon fuchsin นาน 2 ชั่วโมง จากการศึกษาพบจำนวนโครโมโซมดังนี้ *Boesenbergia rotunda*, 2n = 36, B. *curtisii* (ก้านขาว), 2n = 24, *Hedychium coronarium*, 2n = 34, H. *flavescens*, 2n = 50, *Curcuma thorelii*, 2n = 36, *Curcuma sp.*, 2n = 42, *Costus speciosus* (ใบปกติ), 2n = 18, C. *speciosus* (ใบลาย), 2n = 36, *Kampferia marginata*, 2n = 55 และ K. *rotunda*, 2n = 33 โดยจำนวนโครโมโซมของ K. *rotunda* แตกต่างจากที่มีผู้เคยศึกษามาก่อน ส่วน *Boesenbergia* ทั้งสองชนิด และ K. *marginata* ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน

พิมพ์ใจ และคณะ (2539) ศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชกลุ่มกระเจียวไทย 17 ชนิดพบว่าโครโมโซมดิพพลอยด์ (2n) จากเซลล์ปลายราก และแฮพพลอยด์ (n) จากเซลล์ในอับละอองเกสรตัวผู้ของพืชกลุ่มกระเจียวไทย 17 ชนิด มีจำนวนโครโมโซมจำแนกได้เป็น 5 กลุ่ม โดยเก็บตัวอย่างพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10 ต้น/ชนิด ศึกษาโดยใช้วิธี squash หยุดวงชีพเซลล์ใน para - dichlorobenzene นาน 4 - 6 ชั่วโมง แช่ด้วย HCl 1 N นาน 4 นาที ย้อมด้วยสี carbon fuchsin นาน 1 คืน สามารถจำแนกพืชกลุ่มกระเจียวไทยได้เป็น 5 กลุ่มตามจำนวนโครโมโซม คือ กลุ่มที่มีโครโมโซม 2n = 42 และ 2n = 21 ได้แก่ ขมิ้นแดง หรือกระเจียวส้ม (*Curcuma roscoeana* Wall.) เพชรเชียงใหม่ (C. *petiolata* Wall.)ขมิ้นขาวหัวเล็ก (*Curcuma sp.*) กลุ่มที่มีโครโมโซม 2n = 63 ได้แก่ ขมิ้นอ้อย (C. *zedoaria* Roxb.) ว่านชักมดลูก (C. *xanthorrliza* Roxb.) พลอยชมพู (C. *elata* Roxb.) และว่านมหาเมฆ (C. *aeruginosa* Roxb.) กลุ่มกระเจียวดอกขาว ได้แก่ *Curcuma attenuata* Wall. และ *Curcuma sp.* มีโครโมโซม 2n = 84 และ n = 42 กลุ่มที่มีโครโมโซม 2n = 32 และ n = 16 ได้แก่ เกล็ดหอย (Curcuma sp.) บัวลาย (Curcuma sp.) และปทุมมาพันธุ์คัดเลือก (C. *alismatifolia* Gagnep.) กลุ่มที่มีโครโมโซมแตกต่างกันไป ได้แก่ บัวโกเมน (*Curcuma sp.*) 2n = 24 และ n = 12 และที่มีจำนวนโครโมโซมหลายแบบ ได้แก่ เทพรำลึก (C. *thorelii* Gagnep) มีโครโมโซม 2n = 34, 36 และ n = 17, 18 และหิ่งห้อยหรือกระเจียวขาว (C. *parviflora* Wall.) 2n = 28, 34, 36 และ 56 และ n = 14, 17, 18 และ 28 จากการศึกษาพบว่าโครโมโซมของพืชสกุลนี้มีขนาดเล็กมากประมาณ 0.5 – 0.2 ไมโครเมตร

ศิริพรและฉันทนา (2540) การศึกษาโครโมโซมของว่านมหาลาภจากเซลล์ปลายราก พบว่าวิธีการที่ได้ผลดีคือ การเก็บตัวอย่างรากเวลา 9.00 นาฬิกา หยุดวงชีพเซลล์ด้วย para-dichlorobenzene นาน 4 ชั่วโมงครึ่ง แช่เซลล์ใน HCl 1 N นาน 5 นาที แล้วย้อมด้วยสี carmine fuchsin นาน 1 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ว่านมหาลาภมีจำนวนโครโมโซม 2n = 68

ศิริศักดิ์ (2542) การตรวจสอบโครโมโซมปลายรากบัวหลวงพันธุ์สัตตบุศย์โดยใช้ acetocarmine squash method เก็บตัวอย่างในช่วงเวลา 8.30 - 11.00 นาฬิกา หยุดวงชีพเซลล์ใน 8-hydroxyquinoline นาน 7 ชั่วโมง แช่ด้วย 1 N HCl นาน 20 นาที ย้อมด้วยสี aceto orcine นาน 5 นาที พบว่าโครโมโซมที่นับได้คือ 2n = 16

สุณิสา และคณะ (2543) วิเคราะห์สัณฐานวิทยาของโครโมโซมและจำนวนโครโมโซมข้าว 5 พันธุ์ โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มข้าวขาว (ข้าวเหนียวสันป่าตองและหอมมะลิ 105) กับกลุ่มข้าวเหนียวดำ (ดำดอยสะเก็ด, CMUcol.2 และ CMUcol.3) โดยมีวิธีการศึกษาโดยการหยุดวงชีพเซลล์รากด้วย para - dichlorobenzene ล้างด้วยน้ำกลั่น นำรากแช่ไว้ในน้ำยารักษาสภาพเซลล์ (ethyl alcohol 95 % และ acetic acid เข้มข้น ในอัตรา 3 : 1) 5 นาที แยกเซลล์ออกจากกัน แช่รากในกรด HCl 1 N ที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที และย้อมด้วยสี carbon fuchsin นาน 5 นาทีพบว่าข้าวทั้ง 5 พันธุ์มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ 2n = 24 แต่มีขนาดและชนิดของโครโมโซมเป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Grant (1995) ได้ทำการศึกษาจำนวนโครโมโซมของ Lotus พบว่า *Lotus hamatus*, L. *haydonii*, L. *hinoniorum*, L. *mearnsii* และ L. *utahensis* มีโครโมโซมเท่ากันคือ 2n = 14 และอีก 6 varieties ได้แก่ L. *argophyllus* var.argenteus, L. *dendroideus* var.traskiae, L. *heermanii* var. orbicularis, L. *unceus* var. biolettii, L. *strigosus* var. hirtellus, L. *strigosus* var. Tomentellus พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 14 เช่นกัน ส่วน L. *uliginosus* subsp. Vestitus มีจำนวนโครโมโซม 2n = 12

Roy *et al.* (1999) การศึกษา Karyomorphorphological ในจีนัส Curcuma Linn. และจากการตรวจนับโครโมโซมปลายรากโดยการย้อมสีด้วย aceto orcein squash หยุดวงชีพเซลล์ใน paradichlobenzene และ 8 – hydroxyquinoline ในอัตราส่วน 1 : 1 นาน 3 – 4 ชั่วโมง แช่ด้วย HCl 1 N นาน 5 นาที ย้อมสีด้วยสี aceto orcein นาน 1 คืน พบว่าทั้ง 6 สปีชี่ส์ คือ *Curcuma comasa* Roxb, C. *haritha Mangaly* and Subu และ C. *malabarica* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 42 ขณะที่ C. *aerugenosa*, C. *caesia* และ C. *raktacanta* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 63 มีความยาวโครโมโซมในช่วง 0.24 – 0.99 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

1. เมล็ดแตงโม
2. วัสดุปลูก
    2.1 ถาดหลุมสำหรับเพาะเมล็ด
    2.2 วัสดุชำ ขี้เถ้าแกลบ ดิน
3. สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาโครโมโซม
    3.1 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002 M
    3.2 alcohol 95 %
    3.3 alcohol 70 %
    3.4 glacial acetic acid
    3.5 1 N HCl
    3.6 สีย้อม alcoholic-hydrochloric-acid carmine
    3.7 น้ำกลั่น
4. มีด
5. ตะเกียงแอลกอฮอล์
6. ขวดเก็บตัวอย่าง
7. คีมปลายแหลม (forceps)
8. เข็มเขี่ยปลายแหลม, แบน 2 อัน
9. กระดาษทิชชู่
10. แผ่นสไลด์ และ coverslips
11. กล้องจุลทรรศน์ MICROSCOPE ยี่ห้อ Olympus รุ่น BH-2
12. กล้องดิจิตอล ยี่ห้อ Kodak รุ่น CX7430

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

การเตรียมน้ำยาสำหรับตรวจนับโครโมโซม

1. pretreatment คือ การทำให้เซลล์พืชหยุดการแบ่งไมโทซีสในระยะเมทาเฟส ในการทดลองนี้ใช้ 8-hydroxyquinoline เข้มข้น 0.002 M โดยชั่ง 8-hydroxyquinoline จำนวน 0.145 กรัม ละลายน้ำ 500 มิลลิลิตร เพื่อให้ละลายน้ำได้ดีขึ้น ใช้วิธีอุ่นที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10-15 นาที

2. fixation and storage คือ การทำให้เซลล์พืชคงสภาพเดิมโดยใช้ glacial acetic acid และ alcohol 95% ในอัตราส่วน 1 : 3

3. สีย้อม alcoholic-hydrochloric-acid carmine เตรียมโดยผสมกรด HCl (เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร) ในน้ำกลั่น 7.5 มิลลิลิตร และ carmine 2 กรัม ละลายลงในกรด จากนั้นนำสารละลายสีและกรด ตั้งไฟให้ร้อนจนเดือดเบา ๆ นาน 10 นาที ปล่อยให้เย็น เติม 47.5 มิลลิลิตร ของ 95% แอลกอฮอล์ กรองสีก่อนใช้

การเตรียมรากแตงโมและการตรวจนับโครโมโซม

1. เพาะเมล็ดแตงโมในถาดหลุมที่เตรียมไว้ เมื่อแตงโมอายุ 10 วัน นำมาตัดปลายรากยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ที่ช่วงเวลา 10.00 นาฬิกา ถึง 12.00 นาฬิกา

2. นำปลายรากที่ตัดแช่ใน 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002 M นาน 0, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง

3. นำรากที่ไม่ได้แช่สาร และแช่สาร 8-hydroxyquinoline แช่ในสาร Fixation ประกอบด้วย glacial acetic acid และ alcohol 95 % ในอัตราส่วน 1 : 3 โดยแช่ในสารละลายเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

4. นำปลายรากมาแช่ในสารละลาย HCl 1 N ในระหว่างการแช่รากใน HCl ต้องให้ปลายรากแช่ในน้ำที่มีอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างรากด้วยน้ำสะอาด

5. นำรากขึ้นจากน้ำวางปลายรากบนแผ่นสไลด์ ซับน้ำส่วนเกินออก

6. ใช้มีดตัดเอาเฉพาะเยื่อเจริญ (apical meristem) หยดสี alcoholic-hydrochloic-acid carmine อุ่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส กดปลายรากให้เยื่อเจริญกระจายทั่วบนแผ่นสไลด์

7. ผ่านสไลด์บนเปลวไฟ

8. ปิดสไลด์ด้วย coverslip ใช้เวลาย้อมสีเซลล์ 5-10 นาที

9. วางกระดาษซับบริเวณเหนือและใต้ของสไลด์ ใช้นิ้วหัวแม่มือกดแรงพอประมาณ (squash technique) เพื่อให้เซลล์กระจายออก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10.นำแผ่นสไลด์ไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลือกเซลล์ที่มีการแบ่งเซลล์ในระยะเมทาเฟสที่มีการกระจายตัวของโครโมโซม แล้วบันทึกผลการทดลองภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ถ่ายรูปที่บันทึกผลได้ด้วยกล้องที่ติดอยู่กับกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า

เวลาและสถานที่

เวลา	เริ่มการทดลอง	เดือน	กันยายน	2548
	สิ้นสุดการทดลอง	เดือน	พฤษภาคม	2549
สถานที่	ห้องปฏิบัติการกลาง ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลและวิจารณ์

จากการศึกษาเนื้อเยื่อเจริญที่บริเวณปลายรากแตงโม เมื่อเก็บเนื้อเยื่อเจริญที่ 9.00 – 10.30 นาฬิกา และนำมาแช่สาร 8–hydroxyquinoline นาน 0, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง แสดงพฤติกรรมของโครโมโซมพืชในการแบ่งเซลล์แบบไมโตซิสที่เวลาต่างๆ ดังต่อไปนี้

จากการเก็บเนื้อเยื่อรากพืช เวลา 9.00 – 9.30 นาฬิกา โดยไม่แช่สาร 8-hydroxyquinoline ผลปรากฏว่า เซลล์เนื้อเยื่อรากพืชส่วนใหญ่อยู่ในระยะอินเตอร์เฟส นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ (ภาพที่ 1a และ 1b) เมื่อเก็บรากที่ช่วงเวลา 10.00 – 10.30 นาฬิกา การเตรียมเนื้อเยื่อพืชในขั้นตอน Maceration คือการ hydrolyse ในกรดใช้เวลาน้อย ทำให้เซลล์ไม่แยกจากกันเป็นเซลล์เดี่ยวและมีการซ้อนทับกันของเซลล์พืช ทำให้เห็นโครโมโซมไม่ชัดเจน (ภาพที่ 1c และ 1d)

ส่วนเนื้อเยื่อปลายรากของแตงโมที่เก็บเวลา 9.00 – 9.30 นาฬิกา และหยุดวงชีพเซลล์ด้วยสาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ เซลล์ส่วนใหญ่อยู่ในระยะอินเตอร์เฟส สังเกตได้จากนิวเคลียสมีขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์ (ภาพที่ 2a และ 2b) ต่อมาเก็บรากที่เวลา 10.00 นาฬิกา นำมาแช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 3 ชั่วโมงเช่นเดียวกัน ผลที่ได้ คือ เซลล์มีการติดสีส้มแดงของ alcoholic-hydrochloric-acid carmine อย่างเด่นชัด เนื่องจากน้ำสีที่ย้อมโครโมโซมไปอุ่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จึงทำให้เซลล์และนิวเคลียสติดสีชัดเจนขึ้น และเซลล์ก็ยังคงมีการแบ่งตัวในระยะอินเตอร์เฟส เช่นเดิม (ภาพที่ 2c) ต่อมาทำการเก็บรากที่เวลา 10.30 นาฬิกา ปรากฏว่าเซลล์เริ่มมีการแบ่งตัวในระยะโพรเฟส (ภาพที่ 2d)

เมื่อเก็บเนื้อเยื่อปลายรากของแตงโมที่เก็บเวลา 9.00 นาฬิกา และนำมาแช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ผลที่ได้คือ เซลล์มีการแบ่งตัวในระยะอินเตอร์เฟส นิวเคลียสมีขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์ (ภาพที่ 3a) ต่อมาทำการศึกษาโครโมโซมปลายรากที่เก็บเวลา 9.30 นาฬิกา และ 10.00 นาฬิกา เซลล์รากที่นำมาศึกษาไม่แยกเป็นเซลล์เดี่ยวๆ ทำให้เห็นนิวเคลียสไม่ชัดเจน เนื่องจากในขั้นตอน maceration ด้วย HCl ใช้เวลาน้อยเกินไป ทำให้มองเห็นระยะการแบ่งเซลล์ไม่ชัดเจน (ภาพที่ 3b และ3c)

จากการเก็บเนื้อเยื่อปลายรากพืชที่เวลา 10.00 นาฬิกา หยุดวงชีพเซลล์ด้วย 8-hydroxyquinoline นาน 12 ชั่วโมง พบว่าเซลล์มีการแบ่งตัวอยู่ในระยะต้นโพรเฟส และไม่พบการแบ่งเซลล์ในระยะอื่น (ภาพที่ 4a) ในเวลาต่อมาได้เก็บรากที่เวลา 10.30 นาฬิกา แล้วหยุดวงชีพเซลล์ด้วย 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่า เซลล์มีการแบ่งตัวอยู่ในระยะต้นโพรเฟส คือเห็นวงนิวเคลียสอยู่ตรงกลางเซลล์ และยังไม่เห็นการแบ่งเซลล์ในระยะอื่น จากภาพจะเห็นว่าการกระจายตัวของเซลล์ยังไม่ดีเท่าที่ควร เนื่องจากในการทำเทคนิค squash ยังไม่ดี จึงไม่สามารถทำให้เซลล์แผ่กระจายออกมาเป็นเซลล์เดี่ยวๆ ได้ (ภาพที่ 4b)

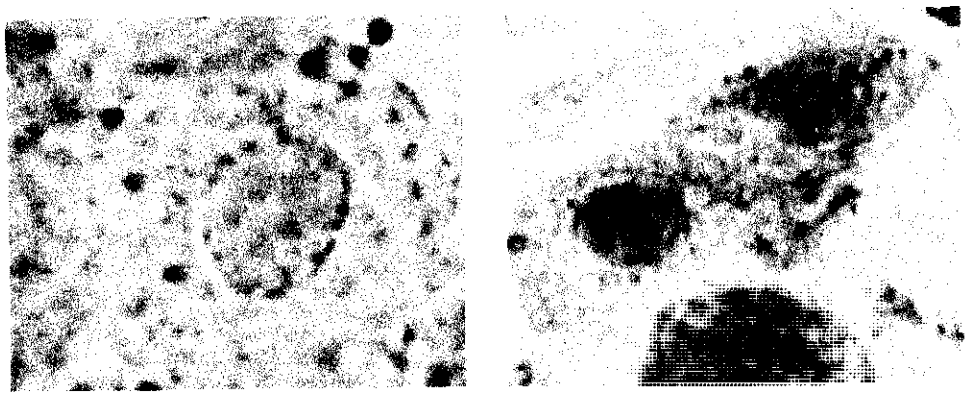
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

73523

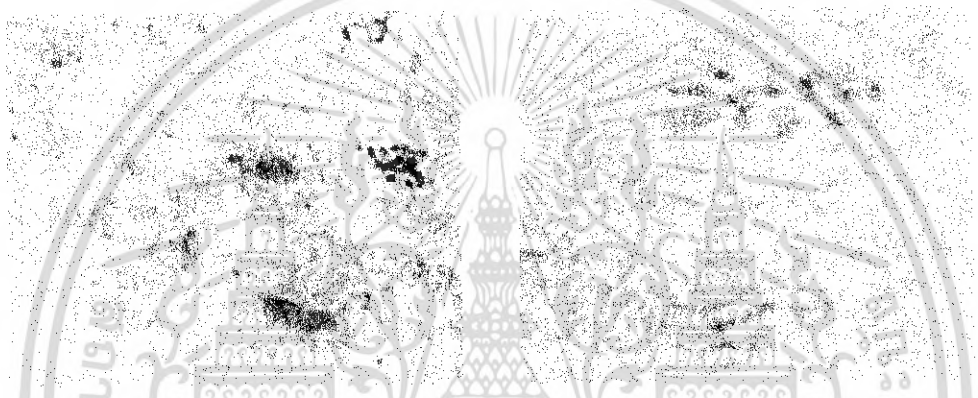
เมื่อทำการเก็บเนื้อเยื่อปลายรากที่เวลา 9.30 นาฬิกา และนำรากแดงโมแช่ด้วยสาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรากฏว่า เซลล์มีการแบ่งตัวที่ระยะโพรเฟสเพียงอย่างเดียว โดยไม่เห็นการแบ่งตัวในระยะเมทาเฟส (ภาพที่ 5a) อาจเนื่องมาจากเวลาที่เก็บรากเร็วเกินไป ต่อมาทำการเก็บรากที่เวลา 10.00 นาฬิกา เซลล์มีการซ้อนทับกันและเซลล์ก็ยังคงมีการแบ่งตัวในระยะโพรเฟสเหมือนเดิม (ภาพที่ 5b) และสุดท้ายได้ทำการเก็บรากที่เวลา 10.30 นาฬิกา หยุดวงชีพเซลล์ด้วย 8-hydroxyquinoline ประมาณ 24 ชั่วโมง เซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะโปรเมทาเฟส โครโมโซมไม่เรียงอยู่กลางเซลล์ เนื่องจากคุณสมบัติของสาร 8-hydroxyquinoline จะไปยับยั้งการสร้าง spindle fiber ทำให้เซลล์ที่เห็นจากภาพยังไม่ชัดเจนเท่าที่ควร (ภาพที่ 5c)

จากการเก็บเนื้อเยื่อบริเวณปลายราก ณ ช่วงเวลา 9.00 – 10.30 นาฬิกา นำมาแช่สาร 8-hydroxyquinoline นาน 0, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ปรากฏว่าส่วนใหญ่จะพบเซลล์ในช่วงอินเตอร์เฟส และบางครั้งการเตรียมเนื้อเยื่อพืชในขั้นตอน Maceration ไม่ดีพอ ทำให้เซลล์ไม่แยกเป็นเซลล์เดี่ยวๆ และมีการซ้อนทับกันของเซลล์พืช และเนื่องจากคุณสมบัติของสาร 8-hydroxyquinoline จะไปยับยั้งการสร้าง spindle fiber ทำให้เซลล์ที่เห็นจากภาพยังไม่ชัดเจนเท่าที่ควร นอกจากนี้ปัญหาที่พบอีกประการหนึ่ง คือ เนื้อเยื่อรากพืชที่นำมาศึกษาเป็นเนื้อเยื่อที่มีการเจริญเติบโตและพัฒนามาเต็มที่แล้ว ซึ่งเป็นเขตเซลล์แก่ (region of cell maturation) ของเซลล์บริเวณปลายราก ซึ่งเป็นบริเวณที่อยู่เหนือขึ้นไปจากเขตเซลล์ยืดตัว จึงทำให้ไม่พบการแบ่งเซลล์เซลล์แบบไมโทซิสของพืชในระยะต่างๆ ส่วนใหญ่สังเกตเห็นเนื้อเยื่อเจริญที่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นท่อลำเลียงน้ำและอาหาร มีลักษณะคล้ายขดสปริง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(a) (b)



(c) (d)

าพที่ 1 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากแตงโมที่ไม่แช่สาร 8-hydroxyquinoline และเก็บรากที่เวลาต่างๆ (กำลังขยาย 1000x)

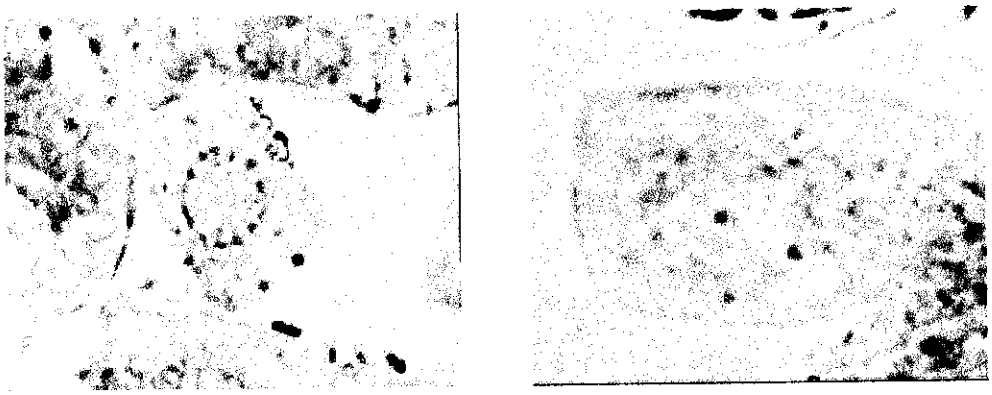
a) รากที่เก็บเมื่อเวลา 9.00 นาฬิกา

b) รากที่เก็บเมื่อเวลา 9.30 นาฬิกา

c) รากที่เก็บเมื่อเวลา 10.00 นาฬิกา

d) รากที่เก็บเมื่อเวลา 10.30 นาฬิกา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(a) (b)

(c) (d)

ภาพที่ 2 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากแตงโมที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline 3 ชั่วโมง และเก็บรากที่เวลาต่างๆ (กำลังขยาย 1000x)

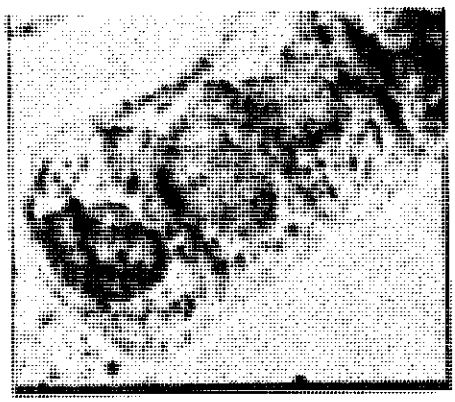
a) รากที่เก็บเมื่อเวลา 9.00 นาฬิกา

b) รากที่เก็บเมื่อเวลา 9.30 นาฬิกา

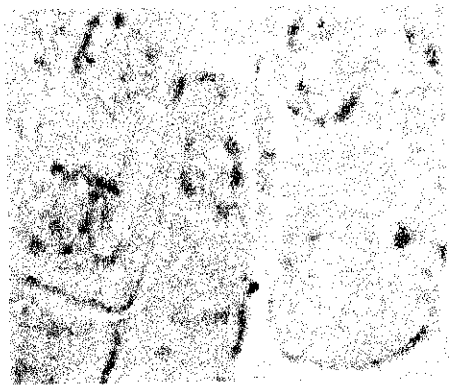
c) รากที่เก็บเมื่อเวลา 10.00 นาฬิกา

d) รากที่เก็บเมื่อเวลา 10.30 นาฬิกา

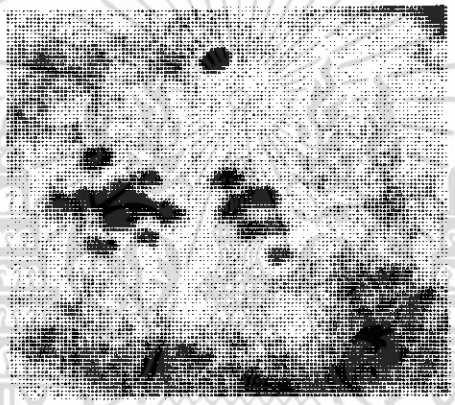
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(a)



(b)



(c)

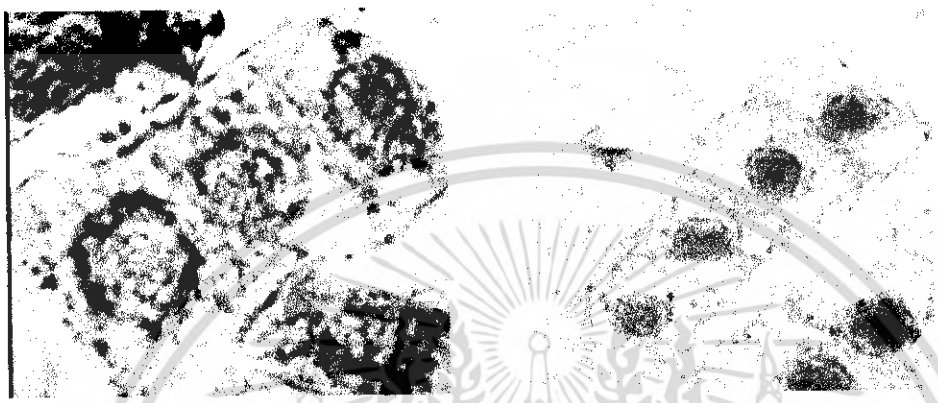
ภาพที่ 3 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากแตงโมที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline 6 ชั่วโมง และเก็บรากที่เวลาต่างๆ (กำลังขยาย 1000x)

a) รากที่เก็บเมื่อเวลา 9.00 นาฬิกา

b) รากที่เก็บเมื่อเวลา 9.30 นาฬิกา

c) รากที่เก็บเมื่อเวลา 10.00 นาฬิกา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



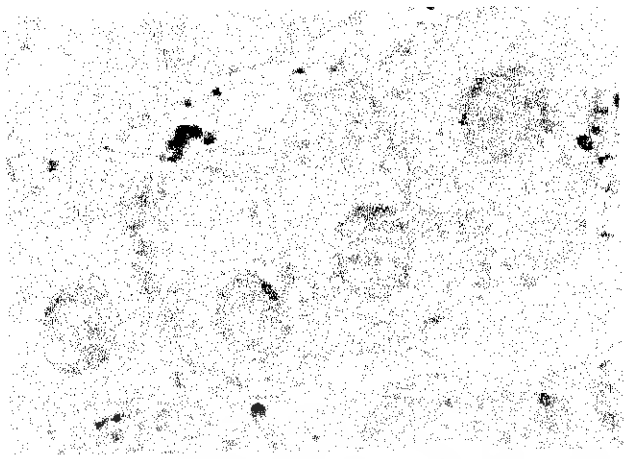
(a) (b)

ภาพที่ 4 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากแตงไมที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline 12 ชั่งโมง และเก็บรากที่เวลาต่างๆ (กำลังขยาย 1000x)

a) รากที่เก็บเมื่อเวลา 9.00 นาฬิกา

b) รากที่เก็บเมื่อเวลา 9.30 นาฬิกา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(a)

(b) (c)

ภาพที่ 5 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากแตงโมที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline 24 ชั่งโมง และเก็บรากที่เวลาต่างๆ (กำลังขยาย 1000x)

a) รากที่เก็บเมื่อเวลา 9.30 นาฬิกา

b) รากที่เก็บเมื่อเวลา 10.00 นาฬิกา

c) รากที่เก็บเมื่อเวลา 10.30 นาฬิกา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาโครโมโซม โดยเริ่มต้นจากการตัดปลายรากประมาณ 0.5 เซนติเมตร ตั้งแต่เวลา 9.00 – 10.30 นาฬิกา แช่ในสาร 0.002 M 8 hydroxyquinoline นาน 0, 3, 6, 12, 24 ชั่วโมง ย้อมสีด้วย alcoholic-hydrochloric-acid carmine อุ่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ใช้วิธี squash technique ศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเซลล์จากปลายรากที่เก็บรากเวลา 10.30 นาฬิกา และแช่ในสาร 0.002 M 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะโปรเมทาเฟส โครโมโซมไม่เรียงอยู่กลางเซลล์ ซึ่งมีลักษณะหนาและหดสั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จานุลักษณ์ ขนบดี. 2535. การผลิตเมล็ดพันธุ์ผัก. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล, กรุงเทพฯ. 183 หน้า.

ดาวรุ่ง กังวานพงศ์. 2539. วิทยาการทันสมัยในการตรวจวินิจฉัยโครโมโซมและยีน. ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 518 หน้า.

ดิเรก ตนพยอม. 2537. ผลของจำนวนชุดโครโมโซมต่อลักษณะสัณฐานวิทยาของเยอบีร่า. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 51 หน้า.

ธวัช ลวะเปารยะ. 2502. การศึกษาลักษณะประจำพันธุ์และเปรียบเทียบผลผลิตของแตง (muskmelon) พันธุ์ต่างๆ. วิทยานิพนธ์ (กส.บ.), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ผ่องพรรณ จรัสจินดารัตน์, วีรินทร์ อันทะแยก และอุดมลักษณ์ นิลศิริ. 2538. งานวิจัยเรื่องจำนวนโครโมโซมมะตูม. วิทยาลัยเกษตรกรรมมหาสารคาม, มหาสารคาม.

พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์, ถกลวรรณ ศิริสวัสดิ์, พวงเพ็ญ ศิริลักษณ์ , พิศิษฐ์ วรอุไร และฉันทนา สุวรรณธาดา. 2539. การศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชในกลุ่มกระเจียวไทย 17 ชนิด ในรายงานการประชุมวิชาการไม้ดอกไม้ประดับแห่งชาติ ครั้งที่ 2. เชียงใหม่.

เมืองทอง ทวนทวี และสุรัตน์ ปัญญาโตนะ. 2532. ผักบ้านเรา. กลุ่มหนังสือเกษตร, กรุงเทพฯ. 438 หน้า.

ลัดดา เอกสมทราเมษฐ์ และกัญญา บุญธรรม. 2538. การนับจำนวนโครโมโซมของพืชวงศ์ขิง. วารสารสงขลานครินทร์ 17 (3) : 291 – 297.

ศิริพร หาญนันทวิวัฒน์ และฉันทนา สุวรรณธาดา. 2541. การศึกษาโครโมโซมว่านมหาลาภ. วารสารเกษตร 14 (3) : 250 – 254.

ศิริศักดิ์ สุนทรยาตร. 2542. ผลของรังสีต่อการกลายพันธุ์ของบัวหลวงพันธุ์สัตตบุตย์ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

สาริณี ไชยเจริญ. 2538. การศึกษาจำนวนโครโมโซมลักษณะดอกและความสมบูรณ์ในการสืบพันธุ์ของกล้วยไม้หวาย *Dendrobium superbiens* ดิพพลอยด์และออลโลเตตราพลอยด์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุฉิสา สุนะรินทร์, ดำเนิน กาละดี และฉันทนา สุวรรณธาดา. 2543. สัณฐานวิทยาของโครโมโซมข้าว 5 พันธุ์. วารสารเกษตร 16 (1) : 46 – 52.

สุเทวี สุขประการ. 2523. ผักฤดูร้อน. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 170 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อรสา แสงอุทัย. 2527. เอกสารประกอบการสอนวิชาพืชผัก. ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยรามคำแหง, กรุงเทพฯ. 250 หน้า.

อมรา คัมภิวานนท์. 2540. พันธุศาสตร์ของเซลล์. เท็กซ์แอนด์เจอร์นัลพับลิเคชั่น, กรุงเทพฯ. 253 หน้า.

Adrian, F. Dyer and D. Phil. 1979. Investigating Chromosome. London. 138 p.

Blake, L. W. 1981. Early acceptance of watermelons by Indians in the United States. Journal of Ethnobiology 1 : 193 - 199.

Haytowitz, D. B. and R. H. Matthews. 1984. Composition of foods, vegetables and vegetable products. U.S. Department of Agriculture Handbook, 8 - 11.

Kamemoto, H. and R. Sagarik. 1967. Chromosome numbers of Dendrobium species of Thailand. OSA Bull. 36 (10) : 889.

Maynard, D. N. 1996. Growing seedless watermelons. University of Florida, Gainesville.

Roy J., T. Josph and J. Jose. 1999. Karyomorphological Studies in the Genus Cucurma Linn. Cytolgia 64 : 313 – 317.

Sauer, J.D. 1993. Historical geography of crop plants - a select roster. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Zhang, J. 1996. Breeding and production of watermelon for edible seed in China. Cucurbit Genetics Cooperative Report 19 : 66 - 67.

Zohary D. and M. Hopf. 1988. Domestication of plants in the Old World : The origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe, and the Nile Valley Oxford.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้