สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

การศึกษาจำนวนโครโมโซมจากปลายรากของคะน้า

The Study of Chromosome Number in Root Tips of Chinese Kale

โดย

นางสาวกันดิมา เอื้อนยศ

เสนอ

ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (พืชสวน)

พุทธศักราช 2548

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....73524
วัน,เดือน,ปี.....20 ก.ค. 2550

b.11794318
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชา พืชสวน

เรื่อง

การศึกษาจำนวนโครโมโซมจากปลายรากของคะน้า

The Study of Chromosome Number in Root Tips of Chinese Kale

โดย

นางสาวกันติมา เอื้อนยศ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

.....

(อาจารย์มณทินี ธีรารักษ์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

(25 / พค / 2547)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รศ.ดร.สมชาย กล้าหาญ)

หัวหน้าภาควิชาพืชสวน

(26 / พค / 47)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง : การศึกษาจำนวนโครโมโซมจากปลายรากของคะน้า
โดย : นางสาวกันติมา เอื้อนยศ
สาขาวิชา : พืชสวน
ภาควิชา : พืชสวน
คณะ : เทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์มณทินี ธีรารักษ์

บทคัดย่อ

ผักใบเขียวที่มีความสำคัญและนิยมบริโภคมากที่สุด คือ ผักที่อยู่ในจีนัส Brassica คะน้า (*Brassica oleracea* var. alboglabra) จัดเป็นผักในเขตร้อนซึ่งอยู่ในจีนัส Brassica มีแหล่งผลิตในทวีปเอเชีย มีรสชาติอร่อยและมีคุณค่าทางอาหารสูง ในหลายๆ ประเทศแถบเอเชีย นิยมนำคะน้ามาเป็นส่วนประกอบของอาหารในแต่ละมื้อ การศึกษาจำนวนโครโมโซมของคะน้าเป็นเพียงส่วนหนึ่งของการเริ่มต้นในการปรับปรุงพันธุ์คะน้า ดังนั้นการศึกษานี้มีจุดประสงค์พัฒนาเทคนิคการหาโครโมโซมระยะไมโทซีสในช่วงเมทาเฟส โดยเริ่มจากการเพาะเมล็ดคะน้าในกระถางและปลูกในโรงเรือนทดลอง เมื่อรากของคะน้ามีความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร เก็บตัวอย่างรากที่เวลา 7.00-9.00 น. หยุดวงชีพเซลล์ด้วย 8-hydroxyquinoline ที่ความเข้มข้น 0.002 M นาน 0, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่า เวลาที่ดีที่สุดที่พบระยะโปรเมทาเฟส คือ 7.00 น. ในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากคะน้าเพื่อหาโครโมโซมในช่วงของการแบ่งตัวไมโทซีสนั้นเป็นการยากมาก เนื่องจากโครโมโซมของคะน้ามีขนาดเล็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title : The Study of Chromosome Number in Root Tips of Chinese Kale

By : Miss Kantima Auenyot

Major : Horticulture

Department : Horticulture

Faculty : Agricultural Technology

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Advisor : Miss Montinee Teerarak

Abstract

Several important and very popular vegetables especially leafy vegetable belong to Genus Brassica. Chinese kale (*Brassica oleracea* var. alboglabra), a number of which , is an important leafy vegetable in the tropical region with product regions in Aisa. It is highly valuable for its delicious. In addition, chinese kales are major components of daily meal in many countries in Asia. The study of chromosome number of chinese kale is part of plant breeding program. The study was aimed at developing efficient chromosome preparation technique for mitotic division at metaphase stage. Seeds of Chinese kale were planted into pots and maintained in a greenhouse. After reaching a length of 2 cm, the roots were collected using sampling time of 7.00-9.00 a.m. and incubated with 0.002 M 8-hydroxyquinoline for 0, 3, 6, 12 and 24 hours. The results showed that the most suitable time for root tips collecting was 7.00 a.m. since some cells of root tips were observed at prometaphase stage. Chromosome preparation for mitotic division of chinese kale was difficult due to the small size of chromosome.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สามารถเสร็จสมบูรณ์ได้ เนื่องจากได้รับการสนับสนุนช่วยเหลือจากหลายฝ่ายด้วยกัน ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณอาจารย์มณทินี ธีรารักษ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาช่วยกรุณาให้คำแนะนำ คำปรึกษาตลอดจน การตรวจสอบแก้ไข แนะนำในสิ่งที่ถูกต้อง จนการทดลองสำเร็จไปด้วยดี และขอขอบคุณอาจารย์ทุกๆ ท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือมาโดยตลอด ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอขอบพระคุณภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้การศึกษาและสถานที่ปฏิบัติงาน

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ คุณน้า และคุณย่า ที่ช่วยเหลือในทุกๆ เรื่อง อีกทั้งยังคอยเป็นกำลังใจให้ในยามท้อแท้ และสุดท้ายนี้ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ ที่ช่วยร่วมแรงร่วมมือและสนับสนุนตลอดมาจนปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นางสาวกันติมา เอื้อนยศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	i
สารบัญตาราง	ii
สารบัญภาพ	iii
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	1
ตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	13
ผลและวิจารณ์	16
สรุป	23
เอกสารอ้างอิง	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนชุดโครโมโซมของพืชในสกุล Brassica 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากคะน้า (*Brassica oleracea* var. alboglabra) ที่ไม่แช่สาร 8-hydroxyquinoline ที่ตัดรากในเวลาต่างกัน (กำลังขยาย 1000x) 18

ภาพที่ 2 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากคะน้า (*Brassica oleracea* var. alboglabra) ที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่ตัดรากในเวลาต่างกัน (กำลังขยาย 1000x) 19

ภาพที่ 3 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากคะน้า (*Brassica oleracea* var. alboglabra) ที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่ตัดรากในเวลาต่างกัน (กำลังขยาย 1000x) 20

ภาพที่ 4 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากคะน้า (*Brassica oleracea* var. alboglabra) ที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่ตัดรากในเวลาต่างกัน (กำลังขยาย 1000x) 21

ภาพที่ 5 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากคะน้า (*Brassica oleracea* var. alboglabra) ที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ตัดรากในเวลาต่างกัน (กำลังขยาย 1000x) 21

ภาพที่ 6 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากคะน้า (*Brassica oleracea* var. alboglabra) ที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline ที่ตัดรากในเวลาต่างกัน (กำลังขยาย 1000x) 22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

คะน้า (*Brassica oleracea* var. alboglabra) เป็นผักที่ปลูกเพื่อบริโภคส่วนของใบและลำต้น จัดเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในหลายประเทศของเอเชีย เช่น ไทย จีน ไต้หวัน ฮ่องกง มาเลเซีย ในประเทศไทยคะน้าเป็นพืชที่เกษตรกรนิยมปลูกกันมาก เพราะปลูกง่าย ขึ้นได้ในสภาพดินเกือบทุกชนิด และปลูกได้ตลอดปี มีผู้นิยมบริโภคกันมาก เนื่องจากมีรสชาติอร่อย ราคาถูก อีกทั้งยังมีคุณค่าทางอาหารสูง ประกอบไปด้วยวิตามินหลายชนิด เช่น วิตามินเอ วิตามินซี นอกจากนี้คะน้ายังมีสารอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต โปรตีน แร่ธาตุ พวกแคลเซียม และฟอสฟอรัสสูงอีกด้วย

การศึกษาโครโมโซมของพืช เป็นสิ่งที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช เนื่องจากในปัจจุบันนี้ได้มีการนำเอาพืชป่ามาผสมกับพืชปลูกเพื่อให้ได้สายพันธุ์ใหม่ที่ดีขึ้น ด้วยเหตุนี้เอง การศึกษาโครโมโซมของคะน้า จึงเป็นแนวทางเริ่มต้นในการวิจัยเพื่อปรับปรุงพันธุ์คะน้าให้สามารถเจริญเติบโต ให้ผลผลิตที่สูง มีความต้านทานโรค แมลง และสภาพแวดล้อมได้ในทุกท้องถิ่นที่ปลูก เพื่อตอบสนองต่อความต้องการของผู้บริโภคที่เพิ่มสูงขึ้นในทุกท้องถิ่น นอกจากนี้ยังอาจจะได้ลักษณะของคะน้าพันธุ์ดีที่สามารถขยายพันธุ์เพื่อเป็นการค้าต่อไปในอนาคต อย่างเช่น การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยการผสมข้ามจีนัสกันระหว่าง *Diplotaxis catholica* ซึ่งมีโครโมโซมเท่ากับ 18 แท่ง กับ *Brassica juncea* ซึ่งมีโครโมโซมเท่ากับ 36 แท่ง หลังจากที่ได้เมล็ดพันธุ์ผสมมาแล้ว ก็นำกลับไปผสมข้ามกับ *Brassica juncea* อีกครั้งหนึ่ง ปรากฏว่าลูกผสมที่ได้เมื่อนำไปปลูกลงแปลงแล้ว จะสามารถต้านทานต่อโรคใบจุดดำได้

วัตถุประสงค์

ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมโครโมโซมของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายรากคะน้า เพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของคะน้า

ชื่อสามัญ	ผักคะน้า (Kaailaan)
ชื่อวิทยาศาสตร์	*Brassica oleracea* var. alboglabra
ชื่อวงศ์	Cruciferae
ประเภทผัก	อายุสองปี (biennial) แต่ปลูกเป็นผักอายุปีเดียว (annual)
อายุปลูก	ตั้งแต่หว่านหรือหยอดเมล็ดจนถึงเก็บเกี่ยว 45-55 วัน
ขนาด	ต้นสูงประมาณ 35-50 เซนติเมตร
ผลผลิต	ประมาณ 950-2,000 กิโลกรัมต่อไร่ เฉลี่ย 1,150 กิโลกรัมต่อไร่
ฤดูปลูก	ปลูกได้ตลอดปี แต่ปลูกได้ผลดีที่สุดในช่วงเดือนตุลาคม-เมษายน
ประเภทดิน	แทบทุกชนิดที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง
ความเป็นกรดเป็นด่าง	ช่วงที่พอเหมาะ 5.5-6.8
ความชื้น	ในดินสูง สม่ำเสมอ
แสง	แสงแดดเต็มที่
อุณหภูมิ	ช่วงที่เหมาะสม 20-25 องศาเซลเซียส (เมืองทองและสุรัตน์, 2525)

ในประเทศไทยนิยมปลูกเป็นคะน้าดอกขาวซึ่งสั่งเมล็ดจากต่างประเทศเข้ามาปลูกและปรับปรุงพันธุ์แยกพันธุ์ที่มีอยู่ในประเทศไทยได้ 2 พันธุ์ คือ คะน้าพันธุ์ใบและคะน้าพันธุ์ก้าน คะน้าพันธุ์ใบจะมีลักษณะใบใหญ่ ส่วนคะน้าพันธุ์ก้านจะมีลักษณะใบเล็ก ผู้บริโภคส่วนใหญ่นิยมบริโภคพันธุ์ก้านมากกว่าพันธุ์ใบ (อุดม, 2529)

คะน้ามีลักษณะใบเป็นใบเดี่ยวมีการเรียงตัวแบบ alternate ไม่มีหูใบ ดอกมีช่อแบบ raceme หรือ panicle มีดอกสมบูรณ์เพศ กลีบเลี้ยงมีสีเขียวหรือสีเขียวปนเหลือง มี 4 กลีบ กลีบดอกมีสีขาวและสีเหลือง มี 4 กลีบ กลีบดอกเวลาบานกางออกเป็น 4 แฉก รูปกากบาทหรือไม้กางเขน (cruciform) เกสรตัวผู้เป็นแบบ tetradynamous มี 6 อัน ยาว 4 อัน และสั้น 2 อัน เกสรตัวเมียเป็นแบบ compound รังไข่เป็นแบบ superior ovary มี 2 เซลล์ ดอกเป็นแบบ indeterminate เริ่มบานจากดอกข้างล่างในช่อขึ้นไป ผลเป็นแบบ silicle หรือ silique เมื่อผลแห้งจัดจะเริ่มแตกตรงรอยตะเข็บ (suture) เมล็ดคะน้ามีลักษณะกลมเล็ก เมื่อแก่เต็มที่จะมีสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ (ไฉน, 2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถิ่นกำเนิด

พืชในสกุล Brassica มักจะมีคำว่า mustard รวมอยู่ในชื่อสามัญด้วย หมายถึง พืชที่มีขอบใบเป็นจัก ดอกสีเหลือง เมล็ดมีรสเผ็ดจัด กลิ่นฉุน ปลูกเพื่อเอาเมล็ดมาสกัดน้ำมันใช้เป็นเครื่องปรุงรส และนอกจากนั้นยังใช้ประโยชน์จากใบได้อีก ซึ่งพืชสกุลนี้มีปลูกกระจัดกระจายทั่วโลกและมีถิ่นกำเนิดแตกต่างกัน ได้แก่

1. พวกที่มีถิ่นกำเนิดแถบยุโรป ได้แก่

- *Brassica alba* Rabh. (white mustard, n=12) ปัจจุบันจัดเป็น *Sinapis alba* เป็นพวกที่ใช้ประโยชน์จากใบและเมล็ด

- *Brassca nigra* Koch. (black mustard, n=8) ใช้เมล็ดเป็นเครื่องปรุงรสโดยทำเป็นผง ครีม และน้ำมัน

- *Brassica arvensis* Rabh. (wild mustard, n=9) เป็นพืชป่า

2. พวกที่มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชีย ได้แก่

- *Brassica juncea* Czen & coss. (n=18) มีทั้งใช้ประโยชน์จากเมล็ดเป็นเครื่องปรุงรสและใช้ประโยชน์จากใบ

- *Brassica campestris* L. (n=10) เป็นพืชพื้นเมืองที่พบในเขตเอเชียไมเนอร์จนถึงอินเดีย ใช้ประโยชน์จากใบและถือว่าเป็นต้นกำเนิดของผักกาดกวางตุ้ง (*Brassica chinensis*) (เกษม, 2524)

จำนวนโครโมโซมของพืชในสกุล Brassica

สามารถแบ่งพืชในสกุล Brassica ตามจำนวนโครโมโซม ได้เป็น 7 กลุ่ม ตามตารางที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 จำนวนชุดโครโมโซมของพืชในสกุล Brassica

ชื่อวิทยาศาสตร์	จำนวนโครโมโซม
B. alba Rabh (*Sinapis alba* L.)	12
B. nigra koch (*S. nigra* L)	8
B. arvensis Rabh. (*S. arvensis* L.)	9
B. oleracea Dc. (all known varieties)	9
B. campestris L. (all known varieties)	10
B. pekinensis Rupr. (many varieties)	10
B. narinosa Bailey.	10
B. nipposinica Bailey.	10
B. rapa L. (many varieties)	10
B. carinata Braun.	17
B. juncea Czern & coss (many varieties)	18
B. napus L. (many varieties)	19

Genus ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ

Tsumoda, *et. al* (1980) ได้แบ่งพืชในวงศ์ครูซิเฟอร์ออกเป็น 13-15 tribes โดยอาศัยลักษณะใบเลี้ยงในเมล็ด สำหรับพวกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากที่สุด คือ tribes Brassiceae ซึ่งรวม genus ต่างๆ ที่สำคัญ มีดังนี้

1. Brassica คือ ผักกาดและผักกะหล่ำ
2. Raphanus คือ พวกผักกาดหัว ได้แก่ *R. sativus* (แรดิช), *R. sativus* var. longipinnatus (ผักกาดหัว), *R. sativus* var. caudatus (ผักขี้หูด)
3. Sinapis คือ พวกมัสตาร์ด ได้แก่ *S. alba* (white mustard), *S. arvensis* (Charlock)
4. Crambe ได้แก่ *C. maritime* (Seakale)

ส่วน genus อื่นๆที่มิได้จัดอยู่ใน Brassiceae ที่สำคัญ มีดังนี้

1. *Armoracea rusticana* คือ horse radish
2. *Nasturtium officinale* คือ water cress
3. *Lepidium sativum* คือ garden cress
4. *Rorippa indica* คือ ผักกาดนก (ดอกเหลือง)
5. *Cardamine hirsuta* คือ ผักกาดนก (ดอกขาว) (อำภา, 2517)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครโมโซม

โครโมโซมประกอบขึ้นด้วยกรดนิวคลีอิคพวก DNA (deoxyribonucleic acid) และโปรตีนพวกฮิสโตน (histone) และโปรตามีน (protamine) ฮิสโตนนั้นอาจพบในสิ่งมีชีวิตทั่วๆไป ส่วนโปรตามีนจะพบในโครโมโซมของสัตว์จำพวกนก ในขณะที่นิวเคลียสแบ่งตัวในระยะ metaphase หรือ anaphase นั้น โครโมโซมมีขนาดใหญ่และหดตัวสั้น สามารถส่องเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา เพราะมีการพับไปพับมาจนเกิดเป็นเส้นสายขนาดใหญ่

สิ่งมีชีวิตซึ่งอยู่ใน species เดียวกัน จะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันเสมอ เช่น ข้าวหอมมะลิ 105 มีจำนวนโครโมโซม 24 แท่ง มะตูมมีจำนวนโครโมโซม 14 แท่ง สละมีจำนวนโครโมโซม 32 แท่ง ข้าวโพดมีจำนวนโครโมโซม 20 แท่ง เป็นต้น ในเซลล์ร่างกาย (somatic cell) มักมีโครโมโซมในสภาพ 2n คือ โครโมโซมแต่ละชนิดจะมีอยู่เป็นคู่ๆ มีโครโมโซมอยู่ 2 ชุด หรือ diploid ส่วนหน่วยสืบพันธุ์ (gamete) นั้นมักมีโครโมโซม 1 ชุด ซึ่งเรียกว่าอยู่ในสภาพ haploid (n) พืชหลายชนิดอาจมีโครโมโซมเกิน 2 ชุดก็ได้ คือ อาจมีโครโมโซม 3 ชุด (3x, triploid), 4 ชุด (4x, tetraploid), 5 ชุด (5x, pentaploid) (ไพศาล, 2535)

การศึกษาโครโมโซมระยะไมโทซีสในพืช

อินเตอร์เฟส (interphase)

เป็นระยะเริ่มแรกของการแบ่งเซลล์ ในระยะนี้จัดจำแนกได้โดยดูลักษณะของนิวเคลียส เห็นนิวคลีโอลัสซึ่งเป็นกลุ่มก้อนของอาร์เอ็นเอได้ค่อนข้างชัดเจน สังเกตเห็นโครโมโซมเป็นเส้นยาวพันๆ กัน และมีการหดตัวยังไม่มากพอที่จะเห็นนิวเคลียสได้ชัดเจน จะเห็นเป็นเส้นบางๆ เรียกโครมาทิน มีการสร้างดีเอ็นเอและฮิสโตน รวมทั้งสะสมพลังงานต่างๆ ที่จำเป็นต่อการแบ่งเซลล์และมีกระบวนการต่างๆ ที่สามารถเห็นได้ เช่น การเพิ่มปริมาตรของนิวเคลียส กิจกรรมของอาร์เอ็นเอในนิวเคลียส ความหนืดของไซโทพลาสซึมจะเป็นตัวบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ โครโมโซมที่อยู่ในสภาพของโครมาทิดมีลักษณะค่อนข้างบางและยาวติดสีจาง เนื่องจากกรดนิวคลีอิกของโครโมโซมมีการกระจายมากเพื่อที่จะดูดซับสี ในระยะนี้นิวเคลียสไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัด

โพรเฟส (prophase)

โครโมโซมเริ่มมีการขดตัว แต่ละโครโมโซมประกอบด้วย 2 โครมาทิด โดยจะมีการบิดตัวไปทางเดียวกันเรียก relational coiling ต่อมาโครโมโซมจะสั้นและหนามองเห็นได้ชัดเจนขึ้น ไม่มีการเข้าคู่ของโครโมโซม แต่จะมีการกระจายของโครโมโซมตามปกติ อาจมีบางโครโมโซมเกาะอยู่กับเยื่อหุ้มนิวเคลียส ในระยะปลายของโพรเฟส เริ่มเกิดสปินเดิลไฟเบอร์และออร์แกเนลล์ขนาดใหญ่เริ่มเคลื่อนที่ออกจากบริเวณตรงกลางเซลล์ นิวคลีโอลัสลดขนาดลงและสลายไปก่อนเข้าสู่เมทาเฟส การสลายของนิวคลีโอลัสอาจเป็นเพราะว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. สารที่อยู่ในนิวคลีโอลัสเคลื่อนที่ไปยังโครโมโซมและได้มีส่วนร่วมในพฤติกรรมไมโทติกและสามารถถ่ายทอดไปยังนิวเคลียสของลูก

2. สารที่อยู่ในนิวเคลียสบางส่วนหรือทั้งหมด จะมีส่วนช่วยในการสร้างสปินเดิลไฟเบอร์

3. มีการแลกเปลี่ยนสารพวกไรโบนิวคลีโอโปรตีนและอื่นๆ ที่อยู่ระหว่างนิวเคลียสกับไซโทพลาสซึมในไมโอซีส นิวคลีโอลัสเป็นสิ่งที่จำเป็นต่อการแบ่งเซลล์

เมทาเฟส (metaphase)

โครโมโซมในระยะนี้จะหดตัวสั้นที่สุด มองเห็นได้ชัดเจนเป็นอิสระอยู่ในไซโทพลาสซึม เคลื่อนเข้าสู่ศูนย์กลางของเซลล์ จัดตัวอยู่ในแนวเดียวกัน เรียก metaphase plate (equatorial plate) จะผันแปรจากเซลล์ชนิดหนึ่ง แต่จะคงที่สำหรับเซลล์ชนิดนั้นๆ โครโมโซมระยะนี้ประกอบด้วย 2 โครมาทิดที่พันกันอย่างหนาแน่น โดยมีเซนโทรเมียร์เป็นตัวยึดโครมาทิดทั้งสอง ถ้ามีการแบ่งเซนโทรเมียร์ แต่ละเซนโทรเมียร์จะทำหน้าที่ในแต่ละโครโมโซมสร้างสปินเดิลไฟเบอร์เห็นเป็นรัศมีเชื่อมโยงระหว่างเซนโทรเมียร์กับขั้วเซลล์

ลักษณะเด่นอีกอย่างหนึ่งของเมทาเฟสที่เห็นได้ชัด คือ การเรียงตัวของโครโมโซมอยู่ในแนวเดียวกัน โดยมีแนวกึ่งกลางระหว่างขั้วทั้งสอง เรียกแนวนี้ว่า equator หรือ equatorial plate ในระยะเริ่มแรกของเมทาเฟส โครโมโซมจะอยู่ภายใต้อิทธิพลของแรงจากขั้ว แต่ละเซนโทรเมียร์จะถูกดึงไปที่แต่ละขั้วโดยแรงซึ่งมีขนาดเป็นสัดส่วนกับระยะทางเริ่มแรกระหว่างเซนโทรเมียร์กับขั้วนั้น ความสมดุลของแรงที่มีทิศทางตรงข้ามที่กระทำต่อเซนโทรเมียร์ของ sister chromatid จะทำให้โครโมโซมอยู่กึ่งกลางของขั้วทั้งสอง แสดงว่าโครโมโซมอยู่ในสมดุลที่ equator โดยมีแรง 2 พวกที่กระทำอย่างต่อเนื่อง (แรงหนึ่งยึดโครมาทิดทั้งสองเข้าด้วยกัน อีกแรงหนึ่งจะดึงโครมาทิดทั้งสองไปยังขั้ว) จนกระทั่งโครมาทิดเริ่มแยกออกจากกัน ก็เป็นการเสียสมดุล และในที่สุดโครมาทิดจะถูกดึงไปที่ขั้วทั้งสอง

แอนาเฟส (anaphase)

ลักษณะเด่นของระยะนี้ คือ การที่โครมาทิดแยกไปที่ขั้วทั้งสองของเซลล์ ความเร็วของการเคลื่อนที่ของโครมาทิดผันแปรได้จาก 0.2-0.5 ไมครอน/วินาที ที่อุณหภูมิปกติ โครมาทิดของแต่ละโครโมโซมจะแยกไปที่แต่ละขั้วของเซลล์ด้วยอัตราเร็วที่เท่ากัน ไม่ได้ขึ้นอยู่กับขนาดของโครโมโซม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลไกการเคลื่อนที่ของโครมาทิดในระยะแอนาเฟส

- การเพิ่มความยาวของสปินเดิลไฟเบอร์ จะทำให้โครมาทิดเคลื่อนที่ออกจากกัน
- การเคลื่อนที่ของโครมาทิดไปยังแต่ละขั้วนั้น ดูเหมือนว่าสปินเดิลไฟเบอร์มีความแข็งแรงพอที่จะดึงโครมาทิดไปยังขั้ว ในขณะที่ตัวเองมีความยาวเพิ่มขึ้น

การเคลื่อนที่ของโครโมโซมไปยังที่ขั้วเกิดจากสปินเดิลไฟเบอร์หดตัวสั้นเข้า ในการสังเกตการเคลื่อนที่ของโครโมโซมที่เกิดขึ้นจริงๆ ดังนี้

- โครมาทิดแต่ละโครมาทิดเคลื่อนที่ไปยังขั้ว มีการเคลื่อนที่เป็นกลุ่มได้ตามปกติแต่ละโครมาทิดอาจจะเคลื่อนที่ด้วยเวลาและอัตราความเร็วที่แตกต่างกัน
- ถ้า sister chromatid มีการแยกออกจากกัน จะเคลื่อนไปที่คนละขั้ว
- เซนโทรเมียร์จะเป็นส่วนของโครโมโซมที่มีความสำคัญในการเคลื่อนที่ อย่างน้อยจะต้องมีสองขั้วสำหรับการเคลื่อนที่ของโครโมโซม ถ้ามีเพียงขั้วเดียวโครโมโซมจะไม่มีการเคลื่อนที่

สารพวกไฟเบอร์ที่เชื่อมระหว่างขั้วไปยังเซนโทรเมียร์ chromosomal spindle fiber อาจจะพบ continuous fiber ซึ่งเชื่อมโยงระหว่างขั้วหนึ่งไปยังอีกขั้วหนึ่งได้ สปินเดิลไฟเบอร์ที่ได้มาจากสารที่อยู่ในไซโทพลาสซึมก่อนที่จะมีการสลายของเยื่อหุ้มนิวเคลียส chromosomal spindle fiber อาจมีต้นกำเนิดมาจากนิวเคลียสหรือไซโทพลาสซึมก็ได้ ไมโทซีสที่เกิดโดยตรงจะเกิดขึ้นได้เมื่อมี continuous fiber

ทีโลเฟส (telophase)

ในระยะเริ่มต้นของทีโลเฟสจะมีการเคลื่อนที่ของนิวเคลียสทั้งสองกลุ่มไปยังเซลล์ลูก โครโมโซมได้สูญเสียสภาพของการหดตัวและการติดสี โครโมนีมาตาที่ม้วนเป็นเกลียวจะมีการคลายเกลียว ในที่สุดจะเข้าสู่สภาพนิวเคลียสของอินเตอร์เฟส มีจำนวนและตำแหน่งของนิวคลีโอไลคงที่เหมือนกับเซลล์ของพ่อแม่ จากการใช้สีย้อมเฉพาะอาร์เอ็นเอและศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนยืนยันได้ว่า สารพวกนิวคลีโอลาร์จะมารวมตัวอยู่ตามความยาวและระหว่างโครโมโซมในแอนาเฟส จะมารวมตัวเป็นกลุ่มของนิวคลีโอไลในทีโลเฟส ผนังของเซลล์ลูกถูกสร้างขึ้นใหม่และเกิดเนื้อเยื่อหุ้มนิวเคลียส เชื่อว่าเป็นผลมาจากการรวมของสารต่างๆ ของเอนโดพลาสมิกเรทิคิวลัมรอบๆ โครโมโซมนั้น

การจำลองออร์แกเนลล์ในไซโทพลาสซึม ก่อนที่จะมีการแบ่งไซโทพลาสซึม สิ่งต่างๆ ที่จำเป็นในไซโทพลาสซึมจะมีการจำลองตัวเอง และแยกไปสู่เซลล์ลูกซึ่งอยู่ภายใต้การควบคุมของนิวเคลียส เซลล์ลูกสามารถสร้างไรโบโซมขึ้นมาใหม่ รวมทั้งส่วนประกอบของเยื่อหุ้ม เช่น เอนโดพลาสมิกเรทิคิวลัม โทโนพลาสต์ พลาสมาเลมมา และกอลจิคอมเพล็กซ์ จะเพิ่มขึ้นในช่วงที่มีการแบ่งไซโทพลาสซึม การจำลองตัวของออร์แกเนลล์จะเป็นแบบกึ่งอัตโนมัติ และอยู่ภายใต้การควบคุมของนิวเคลียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแบ่งตัวของไซโทพลาสซึม การจำลองตัวของออร์แกเนลล์ในไซโทพลาสซึมเสร็จสมบูรณ์แล้ว การแบ่งไซโทพลาสซึมมักจะตามด้วยการแบ่งโพรโทพลาสต์ออกเป็น 2 ส่วน การแบ่งไซโทพลาสซึมเป็นกระบวนการที่จำเป็นต่อการเปลี่ยนสภาพของเซลล์และการเกิดของผนังเซลล์ซึ่งเป็นทางที่ใช้ลำเลียงสารต่างๆ เข้ามารวมกัน ปรากฏการณ์แรกที่จะนำไปสู่การแบ่งไซโทพลาสซึมได้แก่ การรวมกลุ่มของเอนโดพลาสมิกเรทิคิวลัม หรือกอลจิคอมเพล็กซ์ อยู่ใกล้ๆ อีเควเตอร์ของสปินเดิล การสร้างเยื่อหุ้มล้อมรอบเวสิเคิล มีการรวมกลุ่มและเรียงอยู่บนแนวอีเควเตอร์ ในที่สุดจะเชื่อมต่อกันเป็นเซลล์เพลต (cell plate) กระบวนการนี้เริ่มจากศูนย์กลางของสปินเดิลไฟเบอร์และกระจายไปจนถึงผนังหุ้มเซลล์ชั้นนอก เมื่อมีการสร้างเซลล์เพลตเกิดขึ้นยังคงมีช่องเล็กๆ เป็นระยะตามแนวของเซลล์เพลตซึ่งต่อมาจะเป็นพลาสโมเดสมาตา (plasmodesmata) ใช้เป็นเส้นทางในการเคลื่อนที่ของสารบางชนิดจากเซลล์หนึ่งไปยังอีกเซลล์หนึ่ง นอกจากนี้พลาสโมเดสมาตาอาจจะกีดขวางการแลกเปลี่ยนสารอื่นๆ ได้ จะพบพลาสโมเดสมาตาในเซลล์ทุกเซลล์ของพืชมีดอก แต่จะไม่พบในเซลล์ของไข่และสเปิร์ม (นิตย์ศรี, 2541)

การเตรียมโครโมโซมจากรากพืช

ในปลายรากพืชที่ได้จากการเพาะเมล็ดหรือปลูกพืช รากที่นำมาใช้ต้องสดและมีสุขภาพดี เพื่อให้ได้เซลล์ที่มีอัตราการแบ่งตัวที่มาก นิยมใช้รากชนิดรากแขนง (lateral root) ลักษณะรากที่ดีมีความเปราะ โปร่งแสงและมีสีขาว ส่วน tip หรือปลายรากมีสีขาวอมครีม ถ้าไม่สามารถหารากได้อาจใช้เนื้อเยื่ออื่น ๆ ที่เป็น meristematic tissue เช่น จากปลายใบอ่อน หรือส่วนของดอก เช่น ผนังรังไข่ หรือเมล็ดอ่อน ซึ่งวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับราก (อมรา, 2540)

การเตรียมสารเคมีชนิดต่าง ๆ ในการศึกษาโครโมโซม

1. Pretreatment

การทำ Pretreatment กับรากพืชเพื่อจะทำให้เซลล์หยุดการแบ่งไมโทซีสในระยะเมทาเฟส ซึ่งระยะนี้โครโมโซมจะมีขนาดสั้นมากที่สุด ทำให้การนับและการศึกษารูปร่างของโครโมโซมได้ชัดเจน สารที่ใช้ทำ Pretreatment มีหลายชนิด แต่ละชนิดมีผลต่อเซลล์เหมือนกันคือ ทำให้ spindle fiber ของเซลล์ไม่สามารถสร้างขึ้นมาได้ การทำ Pretreatmant จะทำก่อนที่จะ fix เซลล์ สารที่ใช้ทำ Pretreatment มีดังนี้

1.1 Colchicine:ใช้ในรูปของสารละลายที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.01-0.2% W/V อุณหภูมิไม่ควรสูงกว่า 10 องศาเซลเซียส

1.2 8-hydroxyquinoline:เตรียมที่ความเข้มข้น 0.002M (0.29 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร) เพื่อให้ละลายดีใช้วิธีอุ่นใน 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10-15 นาที บางครั้งอาจนานถึง 1 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 Paradichlorobenzine:เตรียมให้ถึงระดับ ใช้เตรียมจาก 5-10 กรัม Paradichlorobenzine ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ใส่สารละลายนี้ไว้ในขวดที่ปิดจุก และเก็บไว้ในตู้อบ 60 องศาเซลเซียส นานตลอด 1 คืน จึงนำมาใช้ การแช่รากอยู่นาน 15 นาที ถึง 4 ชั่วโมง จากนั้นจึง fix ราก

1.4 α-bromo-napthalene:ใช้ในรูปสารละลายที่มีความเข้มข้น 1% ที่เตรียมจาก 1 มิลลิลิตร α –bromo-napthalene ใน 100 มิลลิลิตร ของ absolute ethanol เป็นเวลาครึ่งชั่วโมง

2. Fixative solution หรือ Killing solution

จุดประสงค์ของการใช้น้ำยาดังกล่าวก็เพื่อที่จะหยุดการทำงานของเซลล์ให้เร็วที่สุด โดยที่เซลล์ดังกล่าวจะต้องมีสภาพเหมือนกับเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ เนื่องจาก fixative ไปมีผลทำให้โปรตีนเกิดการเสื่อมสภาพขึ้น ดังนั้นอาจมีผลทำให้โครงสร้างของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปได้บ้าง ซึ่งน้ำยาประเภทนี้จำเป็นต้องเตรียมใหม่ ๆ แล้วใช้ทันที มีสูตรการผสมแบบต่าง ๆ กัน ดังนี้

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

2.2 Farmer's fluid ประกอบด้วย absolute ethanol:chloroform:glacial acetic acid ในอัตรา ส่วน 6:3:1

3. Maceration

เป็นวิธีที่ย่อยสลาย pectin ที่อยู่ในชั้น middle lamella ของผนังเซลล์ซึ่งทำหน้าที่ต่อเชื่อมเซลล์ในลักษณะคล้ายคลึงกับซีเมนต์ที่ใช้ยึดแผ่นอิฐ 2 แผ่น เข้าด้วยกัน เพื่อเป็นการลดจำนวนเซลล์ที่จะอยู่ซ้อนกันหลาย ๆ ชั้น จึงช่วยทำให้เซลล์ที่ปลายรากพืชสามารถแยกตัวออกมาเป็นเซลล์เดี่ยวๆ ได้ สารเคมีที่ใช้ทำ maceration คือ HCl

4. Stain (สีย้อมเซลล์)

ในการศึกษาโครโมโซมพืชทั้งจากเซลล์ปลายรากและเซลล์ microsporocyte นั้น นิยมใช้สี acetocarmine และโดยเฉพาะมีส่วนของสนิมเหล็กปนอยู่ในสีด้วยแล้ว จะทำให้โครโมโซมติดสีเข้มมากขึ้น อาจเรียกเทคนิคนี้ว่า iron-acetocarmine วิธีเติมเหล็กให้กับสีใช้เข็มเขี่ยปลายสนิมจุ่มในน้ำสีก็มีผล นอกจากสี acetocarmine แล้วยังมีสีประเภทอื่น ๆ ใช้ย้อมเซลล์พืชได้ ดังนี้

4.1 สี acetocarmine

การย้อมเซลล์พืชด้วยสี acetocarmine จะให้ความแตกต่างระหว่างโครโมโซมกับไซโทพลาสซึม โดยโครโมโซมจะติดสีแดงเข้มของ acetocarmine ส่วนไซโทพลาสซึมจะไม่ติดสี

4.2 สี Lacto-propionic orcein

4.3 สี aceto-orcein

4.4 สี alcoholic-hydrochloric-acid carmine

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การย้อมเซลล์พืชด้วยสี alcoholic-hydrochloric-acid carmine นี้จะให้ความแตกต่างระหว่างไซโตพลาสซึมและโครโมโซมอย่างชัดเจน

4.5 การย้อมสีโดย Feulgen technique

Feulgen reaction เป็นปฏิกิริยาที่ว่าส่วนใดเป็น DNA และส่วนใดมิใช่ DNA จากเทคนิคนี้ทำให้เฉพาะส่วนของโครโมโซมติดสี แต่ cytoplasm และ nucleolus จะไม่ติดสี งานทดลองนี้ทำโดย Feulgen และ Rossenbeck ในปี 1924 (อมรา, 2540; Adrian, 1979; Kamemoto and Sagrik, 1967)

ปัจจัยที่มีผลต่อขนาดของโครโมโซมและมีบทบาทต่อการศึกษาทางพันธุศาสตร์ของเซลล์

โคลชิซิน (colchicine) เป็นสารแอลคาลอยด์ซึ่งทำหน้าที่ขัดขวางการแบ่งเซลล์ โดยยับยั้งการสร้าง spindle fiber ทำหน้าที่ดึงเซนโทรเมียร์ไปยังขั้วของเซลล์ โครโมโซมจึงหยุดอยู่ที่ระยะเมทาเฟสซึ่งเป็นระยะที่โครโมโซมหดสั้นที่สุด แต่ไม่มีผลต่ออัตราการแบ่งของโครโมโซม จึงเป็นสารที่นิยมทำหน้าที่เป็น pretreat ในการศึกษาโครโมโซม ส่วนสารอีกประเภทหนึ่งที่ทำให้โครโมโซมหดตัวจากการแช่ตัวอย่างพืช เช่น ราก สาร pretreat ในกลุ่มนี้ ได้แก่ α-bromonapthalene, 8-hydroxyquinoline มีผลคล้ายโคลชิซิน นอกจากนี้การลดปริมาณของสารที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์โครมาทิน สารอาหารต่างๆ ที่ใช้เพาะเลี้ยงเซลล์ และอุณหภูมิ ก็จะมีผลต่อขนาดของโครโมโซมด้วยเช่นกัน (นิตย์ศรี, 2541)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ประวัติ (2526) ได้ทำการศึกษาโครโมโซมจากปลายรากกล้วย ทั้งกล้วยป่าและกล้วยปลูก จำนวน 30 พันธุ์ โดยวิธี squash พบว่า กล้วยป่าเบอร์ 1 กล้วยป่าเบอร์ 3 กล้วยป่าเบอร์ 22 กล้วยอ่างขาง กล้วยไข่ กล้วยไข่โบราณ กล้วยตานี กล้วยทองขี้แมว กล้วยไลและกล้วยหมาก มีจำนวนโครโมโซม 2n=22 กล้วยกุ้ง กล้วยกุ้งเขียว กล้วยคร้าว กล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำกาบดำ กล้วยน้ำกล้วยตีบ กล้วยตีบตำ กล้วยเล็บช้างกุ กล้วยขมเบา กล้วยขมหนัก กล้วยน้ำว้าเหลือง กล้วยน้ำว้าค่อม กล้วยคลองจัง กล้วยพม่าแหกคุก กล้วยนางกลาย กล้วยหอมเตี้ยและกล้วยไข่บอง มีโครโมโซม 2n=33 กล้วยเทพรส มีโครโมโซม 2n=44 ขนาดความยาวโครโมโซมในระยะเมทาเฟส มีตั้งแต่ 1.22 ถึง 3.93 ไมครอน

วาสนา (2527) จากการศึกษาลักษณะภายนอกและภายใน การเจริญเติบโต จำนวนโครโมโซม และลักษณะเรณูของพืชในสกุลบัวหลวง และผลจากการศึกษาจำนวนโครโมโซมพบว่า โครโมโซมของบัวหลวง 6 พันธุ์ คือ บุณฑริก ปทุม สัตตบุษย์ สัตตบงกช ปักกิ่งขาว และปักกิ่งชมพู มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ 2n=16

อัมพิกา (2527) ศึกษาชีววิทยาของดอกและจำนวนโครโมโซมของท้อเก้าพันธุ์ เก็บตัวอย่างระหว่างเวลา 9.00-10.00 น. หยุดวงชีพเซลล์ด้วย 8-hydroxyquinoline นาน 4-6 ชั่วโมง และหยุดกิจกรรมของเซลล์ด้วยสารละลายของ Carnoy ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส นาน 20 ชั่วโมง จากนั้นนำมา hydrolyse ด้วยสารที่ประกอบด้วย ethyl alcohol 95% และ hydrochloric acid อัตราส่วน 1:1 นาน 8 นาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แช่เซลล์ใน acetic acid 45% ย้อมด้วยสี aceto-orcein พบว่าโครโมโซมของท้อเก้าพันธุ์มีโครโมโซมเป็น diploid เท่ากับ 16 แท่ง โครโมโซมมีขนาดเล็กมาก จนไม่สามารถแยกความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาของท้อแต่ละพันธุ์ได้อย่างเด่นชัด

องอาจ (2544) การศึกษาโครโมโซมจากปลายรากบัวสวรรค์ (*Zephyranthes sp.*) เก็บตัวอย่างเมื่อ 8.00-8.30 และ 9.00-9.30 น. โดยพบว่าช่วงที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างนี้ คือ เวลา 8.00-8.30 น. ตัดบริเวณปลายรากประมาณ 0.3-0.5 ซม. พบว่าเห็นจำนวนโครโมโซมได้ชัดเจน หยุดวงชีพด้วย 0.002 M 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง นำไปแช่ในสารเคมีรักษาสภาพเซลล์ด้วยสารที่ประกอบด้วย ethyl alcohol 95% และ hydrochloric acid อัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำปลายรากแช่ใน 1 N HCl นาน 5 นาที ในอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยใช้สีย้อม acetocarmine เป็นเวลา 5-10 นาที และพบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=48

เอกชัย (2544) การศึกษาโครโมโซมของเงินไหลมาจากเซลล์ปลายราก โดยเก็บตัวอย่างราก หยุดวงชีพเซลล์ใน 0.002 M 8-hydroxyquinoline นาน 4-6 ชั่วโมง รักษาสภาพเซลล์ในสารเคมีรักษาสภาพเซลล์ (alcohol 95%:acetic acid; 3:1) นาน 5 นาที จากนั้นแช่ต่อในสารละลาย HCl นาน 5 นาที พบว่า เวลาที่เห็นโครโมโซมชัดสุด คือ 9.00-10.00 น. และมีจำนวนโครโมโซม 2n=24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปาริชาติ และคณะ (2546) ได้ทำการศึกษาการใช้สารโคลชิซินเพิ่มจำนวนโครโมโซมให้กับถั่วเขียวพันธุ์ปลูกเพื่อให้มีโครโมโซมเท่ากับถั่วป่า โดยใช้สารโคลชิซิน ความเข้มข้น 0.2 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลทำให้ดอกตูมและรากที่เกิดจากยอดที่ได้รับสารโคลชิซินโดยตรงมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็น 4x=44 และการให้สารโคลชิซินแก่ถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 36 เพื่อเพิ่มโครโมโซมให้กับถั่วป่าก่อนการผสม จะทำให้สามารถผสมข้ามชนิดระหว่างถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 36 กับถั่วป่าได้สำเร็จ

Moore (1972) ได้ทำการรวบรวมผลงานวิจัยจำนวนโครโมโซมของพืชชนิดต่าง ๆ โดยแบ่งเป็น division และศึกษาเฉพาะบางพันธุ์ของพืช พบว่าพืชในตระกูล Araceae ซึ่งเป็นตระกูลของ Syngonium มีผู้วิจัยไว้ว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=24

Mohammad *et al* (1990) ได้เพาะเลี้ยงรังไข่ที่เป็นพันธุ์ผสมระหว่าง *B. oleracea* กับ *R. sativus* ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าพืชที่จะนำมาผสมพันธุ์กันนี้จะต้องเป็นพืช biennial ที่อยู่ในเขตร้อน และมีโอกาสน้อยมากที่จะนำ *B. oleracea* กับ *R. sativus* มาผสมกัน ลูกผสมที่ได้จะมีลักษณะที่แสดงออกมาระหว่างพ่อและแม่ ยกเว้น สีของดอกยังคงเป็นสีขาวอยู่ ซึ่งจะต่างจากพ่อกับแม่ออกไป และจำนวนโครโมโซมที่ได้จากพันธุ์ผสมนี้เท่ากับ 18 แท่ง ซึ่งประกอบไปด้วยจีโนมของ C และ R

Kalpanna and Tripathi (2003) ได้ทดลองชักนำเพิ่มจำนวนโครโมโซมของถั่ว pigeon โดยใช้สารโคลชิซิน พบว่าต้นถั่วที่เป็น autotetraploid มีความแข็งแรงในทางสัณฐานบางลักษณะ เช่น ใบ ตอก และละอองเรณู มากกว่าต้นพืชปกติ พืช autotetraploid มีการติดผลน้อยกว่าพืช diploid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

1. เมล็ดคะน้า
2. วัสดุปลูก
    2.1 ถาดหลุมสำหรับเพาะเมล็ด
    2.2 วัสดุชำ ขี้เถ้าแกลบ ดิน
3. สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาโครโมโซม
    3.1 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002M
    3.2 alcohol 95%
    3.3 alcohol 70%
    3.4 glacial acetic acid
    3.5 1N HCl
    3.6 สีย้อม alcoholic-hydrochloric-acid carmine
    3.7 น้ำกลั่น
4. มีด, กรรไกร
5. ตะเกียงแอลกอฮอล์
6. ขวดเก็บตัวอย่าง
7. คีมปลายแหลม (forcep)
8. เข็มเขี่ยปลายแหลม, แบน 2 อัน
9. กระดาษทิชชู่
10. แผ่นสไลด์ และ coverslip
11. กล้องจุลทรรศน์ MICROSCOPE ยี่ห้อ Olympus รุ่น BH-2
12. กล้องถ่ายรูปดิจิตอล ยี่ห้อ Kodak รุ่น cx7430

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

การเตรียมน้ำยาสำหรับตรวจนับโครโมโซม

1. pretreatment คือ การทำให้เซลล์พืชหยุดการแบ่งไมโทซีสในระยะเมทาเฟส ในการทดลองนี้ใช้ 8-hydroxyquioline เตรียมได้ดังนี้

- เตรียมสาร 8-hydroxyquinoline เข้มข้น 0.002M โดยชั่ง 8-hydroxyquinoline จำนวน 0.145 กรัม ละลายน้ำ 500 มิลลิลิตร เพื่อให้ละลายน้ำได้ดีขึ้น ใช้วิธีอุ่นที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10-15 นาที

2. fixation and storage คือ การทำให้เซลล์พืชคงสภาพเดิม

- โดยใช้ glacial acetic acid และ alcohol 95% ในอัตราส่วน 1:3

3. สีย้อม alcoholic-hydrochloric-acid carmine เตรียมได้ดังนี้

- ผสมกรด HCl (เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร) ในน้ำกลั่น 7.5 มิลลิลิตร และ carmine 2 กรัม ละลายสีในกรด จากนั้นนำสารละลายสีและกรดนี้ตั้งไฟให้ร้อนจนเดือดเบาๆ นาน 10 นาที ปล่อยให้เย็น เติม 47.5 มิลลิลิตร ของ 85% แอลกอฮอล์ กรองสีก่อนใช้

การเตรียมรากคะน้าและการตรวจนับโครโมโซม

1. เพาะเมล็ดคะน้าในถาดหลุม เมื่อคะน้าอายุ 2 สัปดาห์ นำมาตัดปลายรากยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ที่เวลา 7.00-9.00 น.

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 และ alcohol 95% ในอัตราส่วน 1:3 โดยแช่ในสารละลายที่เตรียมใหม่เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

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

5. นำรากขึ้นจากน้ำวางปลายรากบนแผ่นสไลด์ ซับน้ำส่วนเกินออก

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

7. ปิดสไลด์ด้วย coverslip ใช้เวลาย้อมสีเซลล์ 5-10 นาที กดปลายรากให้เยื่อเจริญกระจายทั่ว

8. วางกระดาษซับบริเวณเหนือและใต้ของสไลด์ ใช้นิ้วหัวแม่มือกดแรงพอประมาณ (squash technique) เพื่อให้เซลล์กระจายออก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. นำแผ่นสไลด์ไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เลือกเซลล์ที่มีการแบ่งเซลล์ในระยะเมทา-เฟสที่มีการกระจายตัวของโครโมโซม แล้วบันทึกผลการทดลองภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000x ถ่ายรูปที่บันทึกผลได้ด้วยกล้องที่ติดอยู่กับกล้องจุลทรรศน์

เวลาและสถานที่

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลและวิจารณ์

จากการศึกษาเนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายรากคะน้า เมื่อเก็บเนื้อเยื่อเจริญที่ 7.00-9.00 น. และนำมาแช่สาร 8-hydroxyquinoline นาน 0, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง แสดงพฤติกรรมของโครโมโซมพืชในการแบ่งเซลล์แบบไมโทซีส ที่เวลาต่างๆ ดังต่อไปนี้

จากการเก็บเนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายรากคะน้า ที่เวลาต่างๆ โดยไม่ทำการแช่สาร 8-hydroxyquinoline ผลปรากฏว่า รากที่เก็บเมื่อเวลา 7.00 น. การแบ่งตัวของเซลล์ยังคงอยู่ในระยะอินเตอร์เฟส สังเกต ได้จากโครมาทิดเริ่มหดสั้น นิวเคลียสกระจุกตัวเป็นก้อนกลมๆ อยู่กลางเซลล์ (ภาพที่ 1a) ส่วนเนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายรากคะน้า ที่เก็บเมื่อเวลา 8.30 น. นั้น เริ่มมองเห็นการแบ่งเซลล์ในระยะเมทาเฟส คือ โครโมโซมเรียงตัวอยู่ในแนวเดียวกันตามแนวกึ่งกลางของเซลล์ (ภาพที่ 1b) ส่วน ภาพที่ 1c นั้น เห็นการแบ่งตัวของเซลล์ในระยะทีโลเฟส คือ โครมาทิดแยกไปอยู่ที่ขั้วทั้งสองของเซลล์

เมื่อเก็บรากคะน้าที่ช่วงเวลา 7.00-8.15 น. และนำรากมาแช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ผลปรากฏว่า รากที่เก็บเมื่อเวลา 7.00 น. เซลล์ส่วนมากมีการแบ่งตัวในช่วงของระยะอินเตอร์เฟส ยังไม่เข้าสู่ระยะเมทาเฟส จึงทำให้ไม่เห็นการกระจายตัวของโครโมโซม และบางเซลล์ยังมองเห็นวงของนิวเคลียสไม่ชัดเจน เซลล์และนิวเคลียสมีการติดสีดี เนื่องจากได้นำปลายรากคะน้าที่แช่อยู่ในสี alcoholic-hydrochloric-acid carmine ไปอุ่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ทำให้การติดสีเข้มขึ้นก่อนที่จะทำการ squash (ภาพที่ 2a, 2b, 2c และ 2d)

จากการนำรากมาแช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง โดยเก็บเนื้อเยื่อบริเวณปลายราก เมื่อเวลาต่างๆ ผลปรากฏดังนี้ รากที่เก็บเมื่อเวลา 7.00 น. และ 7.15 น. เซลล์มีการแบ่งตัวในระยะโปรเมทาเฟส สังเกต ผนังของนิวเคลียสค่อยๆ จางหายไป โครโมโซมเริ่มหดตัวสั้นลง ยังไม่สามารถนับจำนวนโครโมซมได้ (ภาพที่ 3a และ 3b) ในเวลาต่อมา เมื่อเก็บรากที่เวลา 7.30 น. ปรากฏว่า เซลล์มีการแบ่งตัวในช่วงระยะโพรเฟส สังเกต นิวเคลียสเริ่มมีขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์ ผนังของนิวเคลียสค่อยๆ เริ่มจางหายไป (ภาพที่ 3c) จากนั้นเมื่อเก็บเนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายรากที่เวลา 8.15 น. เซลล์กลับเข้าสู่การแบ่งตัวในระยะอินเตอร์เฟสอีกครั้งหนึ่ง คือ มีการกระจุกตัวกันของนิวเคลียส และเยื่อหุ้มนิวเคลียสปรากฏให้เห็นชัดเจน (ภาพที่ 3d)

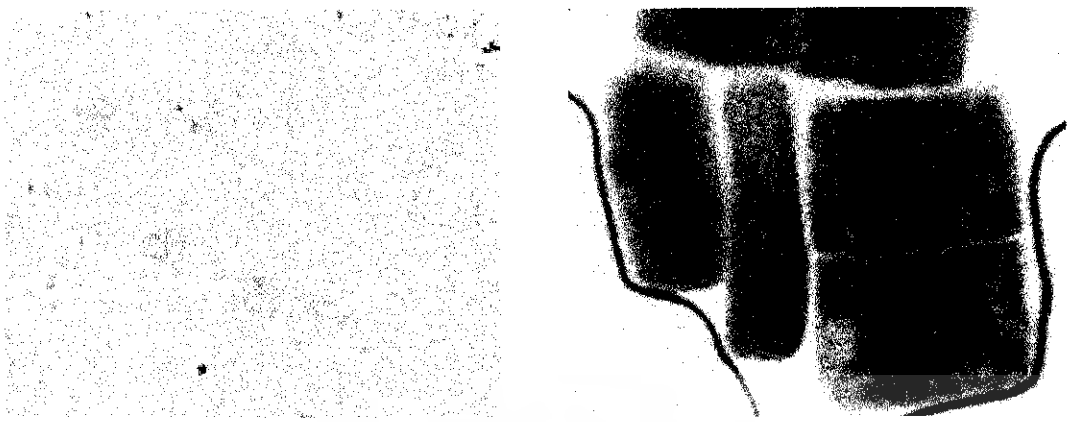
จากการเก็บเนื้อเยื่อบริเวณปลายรากคะน้า ที่เวลา 7.00 น. และ 8.00 น. นำรากมาแช่ในสาร 8-hydroxyquinoline นาน 12 ชั่วโมง ผลปรากฏว่า เซลล์ของเนื้อเยื่อบริเวณปลายรากคะน้า มีการแบ่งตัวในระยะอินเตอร์เฟสเหมือนเดิม ที่เกิดลักษณะเช่นนี้อาจเป็นเพราะเก็บตัวอย่างรากคะน้าเร็วเกินไป ทำให้ไม่พบวงชีวิตในการแบ่งเซลล์ในระยะเมทาเฟส และไม่สามารถนับจำนวนโครโมโซมได้ (ภาพที่ 4a และ 4b)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

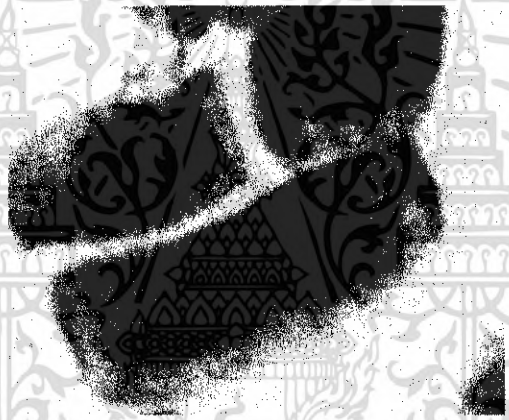
เมื่อเก็บเนื้อเยื่อบริเวณปลายรากคะน้าที่ช่วงเวลา 7.00 น. และ 8.00 น.นำมาแช่ในสาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลปรากฏว่า รากคะน้าที่เก็บเมื่อเวลา 7.00 น. สังเกต พบเซลล์เริ่มมีการแบ่งตัวในช่วงของระยะโปรเมทาเฟส คือ โครโมโซมเริ่มมีการขดตัวสั้นและหนา มองเห็นได้ชัดเจนขึ้นกระจายตัวอยู่ภายในเซลล์ ไม่มีการเรียงตัวของโครโมโซมที่บริเวณกลางเซลล์ เป็นผลเนื่องจาก สาร 8-hydroxyquinoline มีผลต่อการยับยั้งสปินเดิลไฟเบอร์ (ภาพที่ 5a) ส่วนรากคะน้าที่เก็บเมื่อเวลา 8.00 น. ปรากฏว่า เซลล์กลับเข้าสู่การแบ่งตัวในระยะอินเตอร์เฟสอีกครั้ง (ภาพที่ 5b)

จากการเก็บเนื้อเยื่อบริเวณปลายรากคะน้าที่ช่วงเวลาต่างๆ นำมาแช่สาร 8-hydroxyquinoline ในระยะเวลาที่ต่างกัน ปรากฏว่าการเตรียมโครโมโซมพืชในบางสไลด์ เซลล์มีการซ้อนทับ ไม่กระจายตัวออกมาเป็นเซลล์เดี่ยวๆ เนื่องจากในขั้นตอน maceration ด้วยกรด HCl ใช้เวลาน้อยเกินไป (ภาพที่ 6a) และบางครั้งในการเตรียมเนื้อเยื่อราก ส่วนของรากพืชที่นำมาใช้ศึกษาจำนวนโครโมโซมอยู่บริเวณ elongation zone เป็นบริเวณอยู่ถัดขึ้นไปจากบริเวณเนื้อเยื่อเจริญ ซึ่งไม่ใช่ส่วนของปลายรากที่เป็นบริเวณเนื้อเยื่อเจริญจึงทำให้ไม่เห็นลักษณะของการแบ่งเซลล์ (ภาพที่ 6b) นอกจากนี้ยังพบว่าภายในเซลล์ยังเกิดเป็นจุดสีแดงขึ้นซึ่งเป็นลักษณะของการเกิดตะกอนสี เนื่องจากรากคะน้าแช่สี alcoholic-hydrochloric-acid carmine นานเกินไป ทำให้เกิดตะกอนสีขึ้นภายในเซลล์ ในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากคะน้าเพื่อหาโครโมโซมในช่วงของการแบ่งตัวไมโทซีสนั้นเป็นการยากมาก เนื่องจากโครโมโซมของคะน้ามีขนาดเล็ก อัตราส่วนของแขนโครโมโซมใกล้เคียงกัน การใช้เทคนิค Fluorescence *in situ* Hybridization (FISH) จะทำให้การศึกษาจำนวนโครโมโซมของคะน้าง่ายและสะดวกขึ้น (Hasterok *et al.*, 2001)

73524
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(a) (b)



(c)

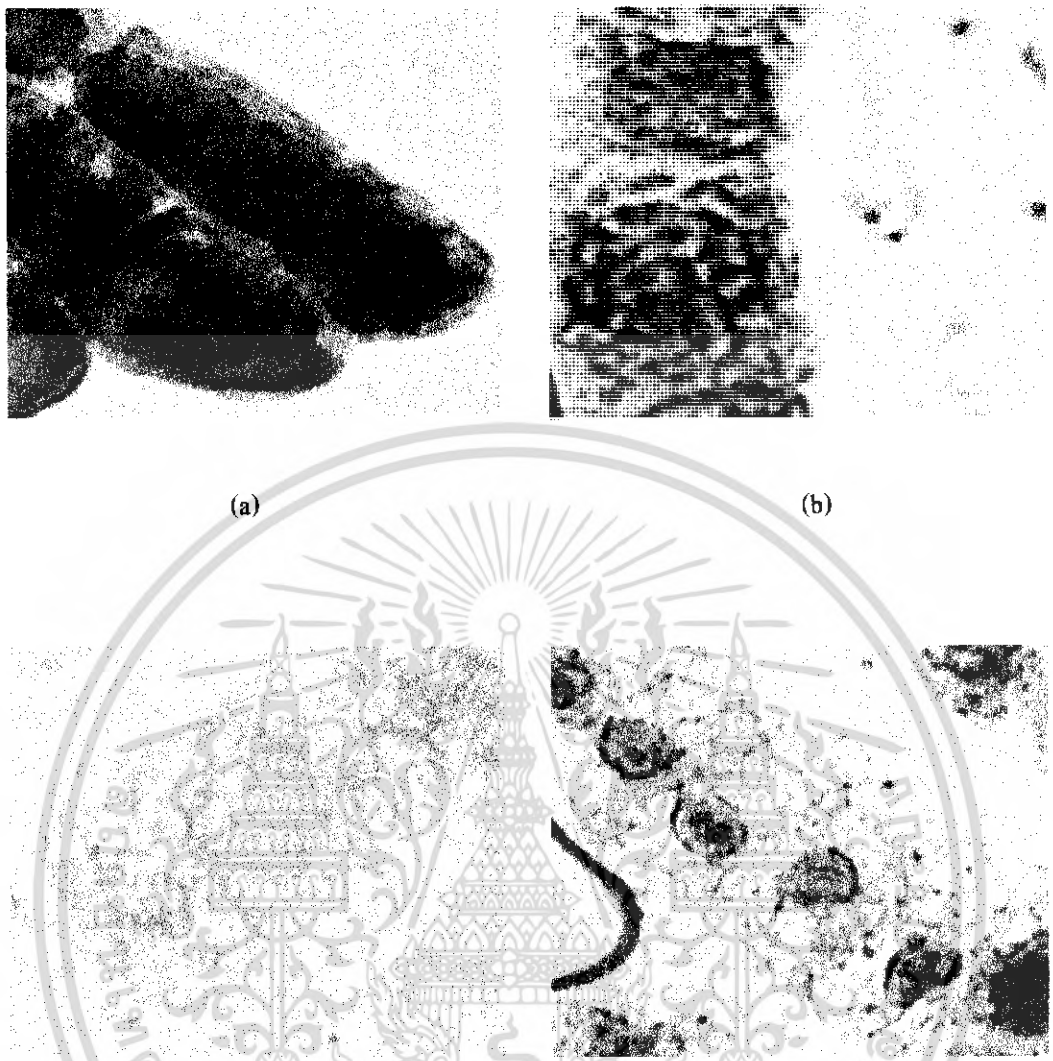
ภาพที่ 1 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากคะน้า (*Brassica oleracea* var. alboglabra) ที่ไม่แช่สาร 8-hydroxyquinoline ที่ตัดรากในเวลาต่างกัน (กำลังขยาย 1000x)

a) รากที่เก็บเมื่อเวลา 7.00 น.

b) รากที่เก็บเมื่อเวลา 8.30 น.

c) รากที่เก็บเมื่อเวลา 8.30 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากคะน้า (*Brassica oleracea* var. alboglabra) ที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่ตัดรากในเวลาต่างกัน (กำลังขยาย 1000x)

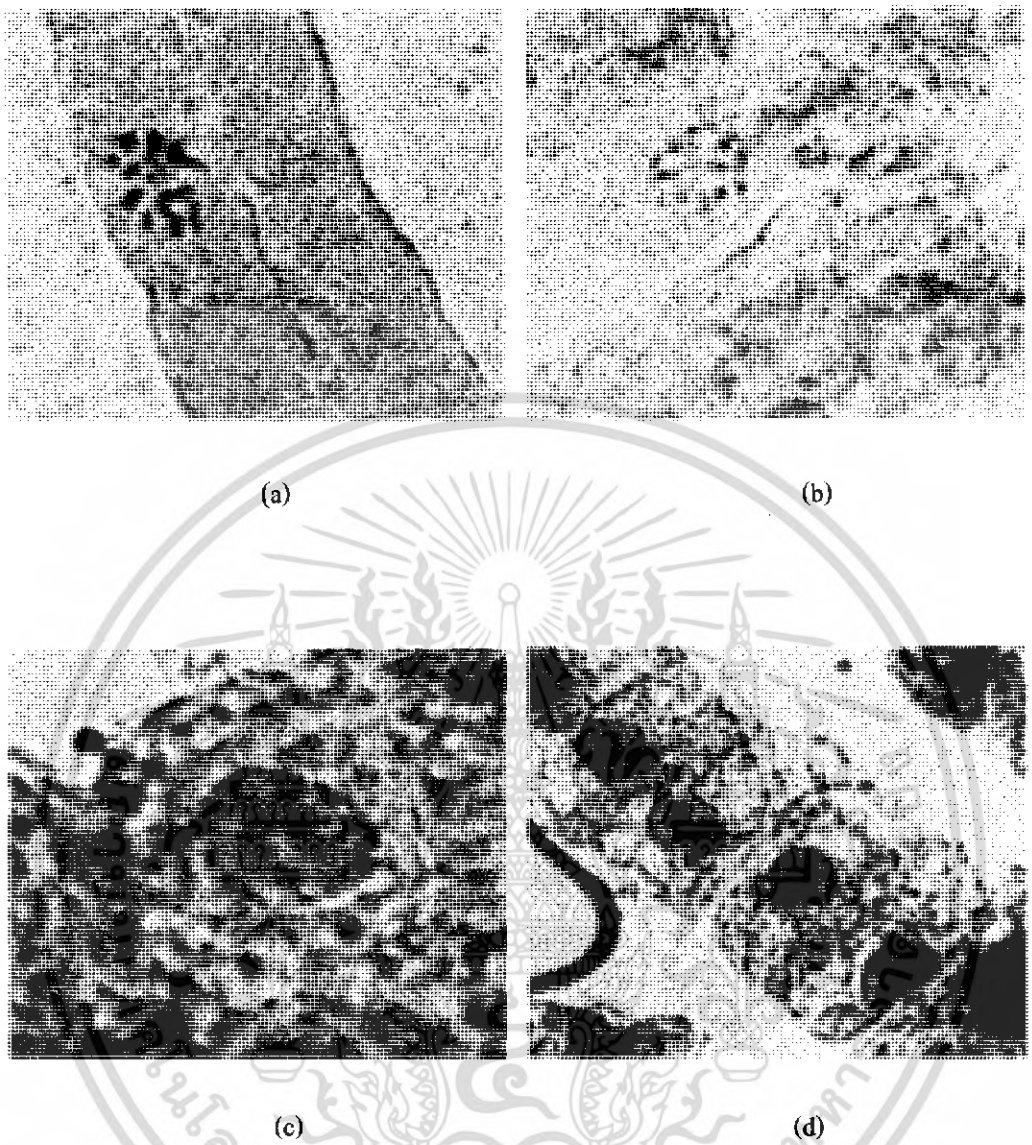
a) รากที่เก็บเมื่อเวลา 7.00 น.

b) รากที่เก็บเมื่อเวลา 7.45 น.

c) รากที่เก็บเมื่อเวลา 8.00 น.

d) รากที่เก็บเมื่อเวลา 8.15 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากคะน้า (*Brassica oleracea* var. alboglabra) ที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่ตัดรากในเวลาต่างกัน (กำลังขยาย 1000x)

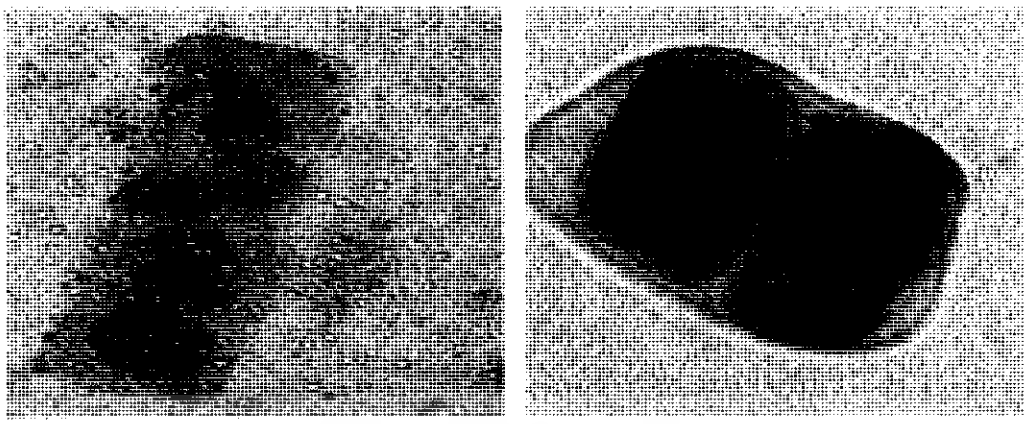
a) รากที่เก็บเมื่อเวลา 7.00 น.

b) รากที่เก็บเมื่อเวลา 7.15 น.

c) รากที่เก็บเมื่อเวลา 7.30 น.

d) รากที่เก็บเมื่อเวลา 8.15 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

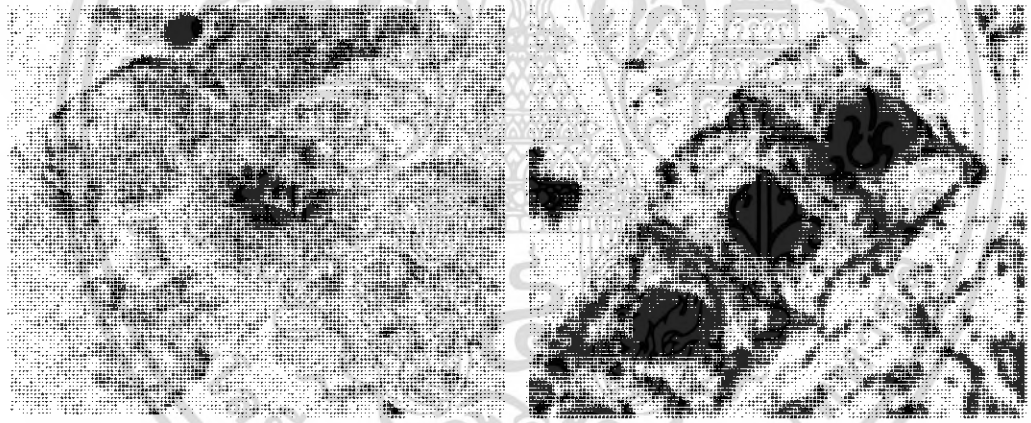


(a) (b)

ภาพที่ 4 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากคะน้า (*Brassica oleracea* var. alboglabra) ที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่ตัดรากในเวลาต่างกัน (กำลังขยาย 1000x)

a) รากที่เก็บเมื่อเวลา 7.00 น.

b) รากที่เก็บเมื่อเวลา 8.00 น.



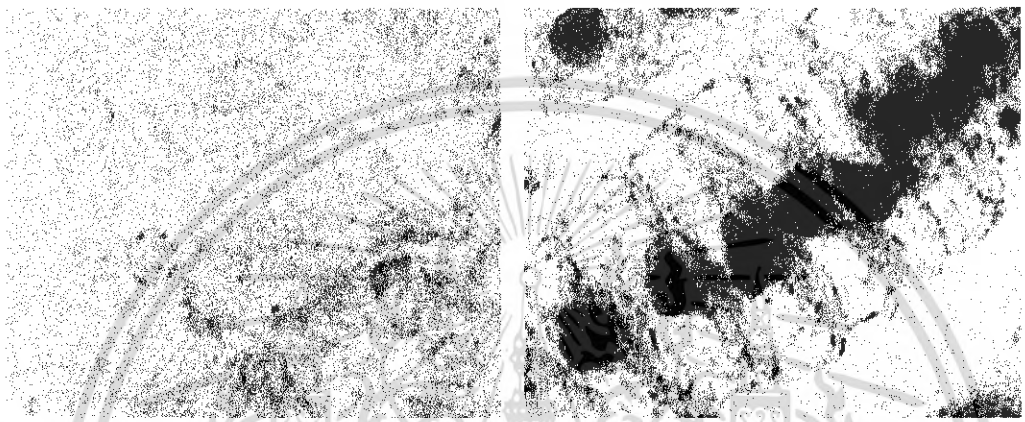
(a) (b)

ภาพที่ 5 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากคะน้า (*Brassica oleracea* var. alboglabra) ที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ตัดรากในเวลาต่างกัน (กำลังขยาย 1000x)

a) รากที่เก็บเมื่อเวลา 7.00 น.

b) รากที่เก็บเมื่อเวลา 8.00 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(a) (b)

ภาพที่ 6 เนื้อเยื่อเจริญปลายรากคะน้า (*Brassica oleracea* var. alboglabra) ที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline ที่ตัดรากในเวลาต่างกัน (กำลังขยาย 1000x)

a) การย่อยเซลล์ที่ไม่ดี

b) การแบ่งเซลล์ส่วน elongation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากการศึกษาเนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายรากคะน้า เมื่อเก็บเนื้อเยื่อเจริญที่ 7.00-9.00 น. และนำมาแช่สาร 8-hydroxyquinoline ที่ความเข้มข้น 0.002 M นาน 0, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง แล้วย้อมสีด้วย alcoholic-hydrochloric-acid carmine นาน 5 นาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ทำให้นิวเคลียสติดสีเข้มขึ้น และนำสไลด์ที่เตรียมได้ตรวจหาโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า เซลล์จากปลายรากคะน้าที่แช่สาร 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่เก็บรากเมื่อเวลา 7.00 น. เซลล์มีการแบ่งตัวในระยะโปรเมทาเฟส คือโครโมโซมเริ่มมีการขดตัวสั้นและหนามองเห็นได้ชัดเจนขึ้น กระจายตัวอยู่ภายในเซลล์ ไม่มีการเรียงตัวของโครโมโซมที่บริเวณกลางเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

เกษม พิลึก. 2524. ผักกาดและผักกะหล่ำ. ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 96 หน้า.

ไฉน ยอดเพชร. 2542. พืชผักในตระกูลครูซิเฟอร์. สำนักพิมพ์รั้วเขียว, กรุงเทพฯ. 355 หน้า.

นิตย์ศรี แสงเดือน. 2541. พันธุศาสตร์พืช. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 295 หน้า.

ประวัติ สมเป็น. 2526. จำนวนและรูปร่างของโครโมโซมของกล้วยบางชนิดในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ. 40 หน้า.

ปาริชาติ ไผผักแว่น, ประสิทธ์ ใจศิลป์, สุวิทย์ เลาหศิริวงศ์ และรัช อรรคแสง. 2546. การใช้สารโคลชิซินเพื่อแก้ปัญหาการผสมไม่ติดของลูกผสมข้ามชนิดระหว่างถั่วเขียวพันธุ์ปลูกกับถั่วป่า. การประชุมสัมมนาวิชาการประจำปี 2546, 27-28 มกราคม 2546. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2535. พันธุศาสตร์. ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพฯ. 342 หน้า.

เมืองทอง ทวนทวี และสุรัตน์ ปัญญาโตนะ. 2525. สวนผัก. กลุ่มหนังสือเกษตร, กรุงเทพฯ. 324 หน้า.

วาสนา มิตรานนท์. 2527. การศึกษาลักษณะของพฤกษศาสตร์ของพืชในสกุลบัวหลวง (*Nelumbo* Adans.) ในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชาพฤกษศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

องอาจ รุจิระจินดา. 2544. การศึกษาจำนวนโครโมโซมของบัวสวรรค์. ปัญหาพิเศษ. ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

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

อัมพิกา ปุนนจิต. 2527. ชีววิทยาของดอกและจำนวนโครโมโซมของท้อเก้าพันธุ์. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เอกชัย ตุ้มทอง. 2544. การศึกษาจำนวนโครโมโซมของเงินไหลมา (*Syngonium podophyllum*). ปัญหาพิเศษ. ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

อุดม โกสัยสุก. 2529. การปลูกผักกินใบ. ห้างหุ้นส่วนจำกัด อักษรบัณฑิต, กรุงเทพฯ. 34 หน้า.

อำภา คำนวณตา. 2517. การศึกษาสัณฐานวิทยาและเซลล์วิทยาของพืชในสกุลครูซิเฟอร์ 4 พันธุ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

Hasterok, G. Jenkins, T. Langdon, R.N. Jones and J. Maluszynska. 2001. Ribosomal DNA is an effective marker of *Brassica oleracea* RFLP maps. Genome 41:226-235.

Kalpanna, S. and S.N. Tripaithi. 2003. Colchicine induced autotetraploid of pigeon pea (*Cajanus cajan*). Proceeding of the National Academy of Science India. Section B, Biological Science 73(2):187-193.

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

Mohammad M.H., I. Haruhiza and A. Tadashi. 1990. In vitro ovule culture of intergenetic hybrids between *B. oleracea* and *Raphanus sativus*. Scientia Horticulturae 41(3):181-188.

Moore, R.J. 1972. Index to plant chromosome number for 1972. Utrechi Netherlands.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้