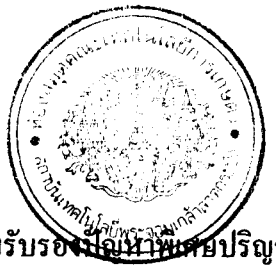


ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาพืชสวน

เรื่อง

การศึกษาจำนวนโครโมโซมของบัวหลวง

Studies on Chromosome Number of *Nelumbo nucifera*

โดย

นางสาวศิริลักษณ์ ตรากิจธรกุล

ได้รับความเห็นชอบจาก

.....

(อาจารย์ กัญจนา แซ่เตียว)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รศ. สมภพ ฐิตะวสันต์)

หัวหน้าภาควิชาพืชสวน

วันที่ 26 เดือน ธ.ค. พ.ศ. 64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาพืชสวน

เรื่อง

การศึกษาจำนวนโครโมโซมของบัวหลวง

Studies on Chromosome Number of *Nelumbo nucifera*

โดย

นางสาวศิริลักษณ์ ตรากิจธรกุล

ได้รับความเห็นชอบจาก

.....

(อาจารย์ กัญจนา แซ่เตียว)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รศ. สมภพ ฐิตะวสันต์)

หัวหน้าภาควิชาพืชสวน

วันที่ 26 เดือน 12 พ.ศ. 64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาจำนวนโครโมโซมของบัวหลวง

Studies on Chromosome Number of *Nelumbo nucifera*

โดย

นางสาวศิริลักษณ์ ตรากิจธรกุล

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ กัญจนา แซ่เตียว

ลน.
ล484ก
2543
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 41716
วัน, เดือน, ปี 27 ก.พ. 2545

.b.....
.i.....

เสนอ

ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต(เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง	การศึกษาจำนวนโครโมโซมของบัวหลวง
	Studies on Chromosome Number of *Nelumbo nucifera*
โดย	นางสาวศิริลักษณ์ ตรากิจธรกุล
ภาควิชา	พืชสวน
สาขาวิชา	พืชสวน
คณะ	เทคโนโลยีการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์กัญจนา แซ่เตียว

บทคัดย่อ

การนับจำนวนโครโมโซมปลายรากบัวโดยใช้วิธี squash technique ของบัวหลวง 3 พันธุ์ คือ บุณฑริก, ปทุม, สัตตบงกช และต้นที่มีลักษณะคล้ายบุณฑริกที่เรียกว่า แหลมแก้วและต้นลูกผสม ช่วงเวลาที่เหมาะสมคือ 9.00-10.00 น. ที่สามารถเห็นโครโมโซมได้ชัดเจนสุด หยุดวงชีพด้วย 0.002M 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 6 ชั่วโมง นำไปแช่ในน้ำยา fixation(alcohol 95% : acetic acid ; 3:1)เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำปลายรากแช่ใน 1N HCl นาน 5 นาที ในอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และล้างด้วยน้ำสะอาด เมื่อทำการศึกษาให้ตัดบริเวณปลายรากประมาณ 0.3-0.5 ซม. จะมีโครโมโซมอยู่มาก แล้วย้อมสี acetocarmine เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง และจากการนับจำนวนโครโมโซมพบว่าบัวหลวงทั้ง 5 พันธุ์มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ 2n=16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Studies on Chromosome Number of *Nelumbo nucifera*
By	Miss Sirilak Trakittonkun
Major	Horticulture
Department	Horticulture
Faculty	Agriculture Technology
Advisor	Miss Kanjana Saetiew

ABSTRACT

Studies on chromosome number from root tips 3 cultivars (Buntarik, Pathum, Satabankacha) and variant thought to have originated from Buntarik called Lamkaew and suspected hybrid between Buntarik and Satabut . The suitable time root tip samples were taken at 9.00-10.00 am. The tissue was pretreated in 0.002M 8-Hydroxyquinoline for 6 hours prior to fixation in alcahol 95% : acetic acid ration 3: 1 for 5 minutes after that maceration in 1N HCl solution for 5 minutes .The tissues were standied in acetocarmine for 2-3 hours. The result showed the chromosome number of 2n=16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษเล่มนี้สามารถเสร็จสมบูรณ์ได้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์กัญจนา แซ่เตียว อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษและกรุณาให้คำแนะนำ ติดตามความก้าวหน้า และช่วยแก้ไขปัญหาอุปสรรคจนสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่เป็นกำลังใจและให้คำแนะนำต่างๆ

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อคุณแม่ และคุณป้าที่คอยเป็นกำลังใจตลอดมา รวมทั้งพี่ๆและเพื่อนๆที่คอยช่วยเหลือ และขอขอบคุณภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งเป็นสถานศึกษาและมีส่วนช่วยให้ปัญหาพิเศษของข้าพเจ้าสำเร็จเรียบร้อยด้วยดี

ศิริลักษณ์ ตรากิจธรกุล

เมษายน 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญตาราง	(ก)
สารบัญภาพ	(ข)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	14
ผลการทดลอง	17
สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	26
เอกสารอ้างอิง	27
ภาคผนวก	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตาราง **หน้า**

ตารางบันทึกผลที่ 1 การนับจำนวนโครโมโซมปลายรากของบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก 18
ตารางบันทึกผลที่ 2 การนับจำนวนโครโมโซมปลายรากของบัวหลวงพันธุ์ปทุม 18
ตารางบันทึกผลที่ 3 การนับจำนวนโครโมโซมปลายรากของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช 19
ตารางบันทึกผลที่ 4 การนับจำนวนโครโมโซมปลายรากของบัวหลวงพันธุ์แหลมแก้ว 19
ตารางบันทึกผลที่ 5 การนับจำนวนโครโมโซมปลายรากของบัวหลวงพันธุ์ลูกผสม 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพ **หน้า**

ภาพที่ 1 บัวที่ใช้ในการศึกษาโครโมโซมจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 16
ภาพที่ 2 แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก ที่กำลังขยาย 1000 เท่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 16 21
ภาพที่ 3 แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากบัวหลวงพันธุ์ปทุม ที่กำลังขยาย 1000 เท่ามีจำนวน โครโมโซม 2n = 16 22
ภาพที่ 4 แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช ที่กำลังขยาย 1000 เท่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 16 23
ภาพที่5 แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากบัวหลวงพันธุ์แหลมแก้วที่กำลังขยาย 1000 เท่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 16 24
ภาพที่ 6 แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากบัวหลวงพันธุ์ลูกผสม ที่กำลังขยาย 1000 เท่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=16 25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาจำนวนโครโมโซมของบัวหลวง

Studies on Chromosome Number of *Nelumbo nucifera*

คำนำ

บัวหลวงเป็นไม้ดอกที่นิยมมากในเมืองไทย โดยนำส่วนของดอกมาประดับแจกัน หรือถวายพระ และสามารถนำส่วนต่างๆ มาทำประโยชน์ได้แทบทุกส่วน ไม่ว่าจะนำมาปรุงอาหารคาวหวานรวมทั้งเป็นยาสมุนไพร ซึ่งในปัจจุบัน(สุชาดา,2542)เกษตรกรที่อยู่รอบกรุงเทพฯ รอบนอกจนถึง จ. นครปฐม นนทบุรี ปทุมธานี นิยมปลูกบัวหลวงเพื่อตัดดอกแทนการทำนาข้าวหรือปลูกสลับกับการปลูกข้าวและนอกจากการตัดดอกขายแล้วยังนำส่วนต่างๆ เช่น ใบ เหง้า ฝัก กลีบดอก สามารถเก็บส่งขายได้ราคาดีด้วยโดยบัวหลวงที่นิยมปลูกคือ บุณฑริก รองลงมาคือ สัตตบงกช และสัตตบุษย์

ในการทำนาบัวนั้น เมื่อเจริญเติบโตเกิดการผสมพันธุ์กันตามธรรมชาติ ทำให้บางครั้งจะได้ลักษณะที่แปลกออกไปจากเดิมโดยตัวอย่างจาก เกษตรกรนาบัวที่ อ. ศาลายา จ.นครปฐม ได้เก็บตัวอย่างบัวที่มีลักษณะกลายพันธุ์มา 2 ชนิด คือ แหลมแก้ว และพันธุ์ลูกผสม แต่ทั้งนี้คงเป็นเพราะอาจจะสับสนเรื่องสัณฐานวิทยา และการเรียกชื่อ จึงได้นำตัวอย่างในการศึกษาจำนวนโครโมโซมพร้อมกับบัวหลวงอีก 3 พันธุ์ คือ บุณฑริก สัตตบงกช และปทุม โดยใช้วิธี squash technique เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาโครโมโซมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

บัวหลวงเป็นไม้หัวชนิดหนึ่งที่มีรากและลำต้นเจริญอยู่ในดินใต้น้ำ (อุไร,2542)ใบและดอกชูสูงขึ้นเหนือน้ำ(Emerged Plants) (ศิริศักดิ์,2542) เป็นพืชที่สามารถสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกเลี้ยงได้เป็นอย่างดี มีมูลค่าการส่งออกภายในประเทศถึง 28 ล้านบาทในปี 2531

บัวหลวงเป็นพืชที่อยู่ในสกุล (genus) *Nymphaceae* Adans.(Backer and Bakhuizen, 1963) วงศ์(Family) Nymphaceae (สุชาดา,2530)ซึ่งเป็นวงศ์ของพืชล้มลุกที่มีอายุหลายปีที่เป็นพืชน้ำทั้งหมด(ณพพร ,2530) ในพืชวงศ์นี้มี 8 สกุล 50 ชนิด (สมพล,2532)แต่ที่นักพฤกษศาสตร์สามารถแยกบัวได้ 3 สกุลใหญ่ด้วยกัน คือ

สกุล **Nelumbo**

- ปทุมชาติ
- บัวหลวง

สกุล **Nymphaed**

- อุบลชาติ
- บัวสาย

สกุล **Victoria**

- บัวกระด้ง
- บัววิคตอเรีย

แต่ละสกุล(genus) แยกออกเป็นอีกหลายชนิด (species) แต่ละชนิด ก็แยกออกเป็นอีกหลายพันธุ์ (variety)ทั้งพันธุ์แท้และพันธุ์ผสม(hybrid) (กสิน,2500) สำหรับในประเทศไทยตามรายงานมีเพียงชนิดเดียว คือ *Nelumbo nucifera* Gaerin . ซึ่งเรียกโดยทั่วไปว่าบัวหลวงหรือปทุมชาติ (จารีย์,2519)สามารถเจริญได้ดีในน้ำจืดที่มีสภาพเป็นน้ำนิ่งแต่มีการไหลถ่ายเทอากาศได้และมีความลึกประมาณ 72.5-106.5 ซม. pH ของน้ำประมาณ 7.45 และงอกงามเมื่อไม่มีวัชพืชน้ำปะปน จากรายงานของวาสนา(2527) พบว่าบัวหลวงมีหลายพันธุ์ซึ่งอาจแยกออกตามลักษณะ รูปร่าง และสีของดอกดังต่อไปนี้

พันธุ์ที่ 1 ดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ปลายเรียว ดอกสีชมพู มีชื่อเรียกว่า บัวหลวงชมพู ปทุม ปัทมา หรือ โกกระณต

พันธุ์ที่ 2 ดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่เหมือนพันธุ์ที่ 1 ดอกสีขาว มีชื่อว่า บัวหลวงขาว บุณฑริก หรือ ปุณฑริก

พันธุ์ที่ 3 ดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ป้อม ดอกสีชมพู มีชื่อว่า บัวหลวงชมพูซ้อน สัตตบงกชหรือ บัวฉัตรชมพู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ที่ 4 ดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่เหมือนพันธุ์ที่ 3 สีขาว มีชื่อว่า บัวหลวงขาวซ้อน สัตตบุษย์ หรือบัวฉัตรขาว

พันธุ์ที่ 5 ดอกขนาดเล็ก ดอกตูมเป็นรูปไข่เหมือนพันธุ์ที่ 1 ดอกสีขาว มีชื่อว่า บัวเข็มขาว บัวปักกิ่งขาว หรือบัวหลวงจีนขาว

พันธุ์ที่ 6 ดอกขนาดเล็ก ดอกตูมเป็นรูปไข่เหมือนพันธุ์ที่ 5 ดอกสีชมพู มีชื่อว่า บัวเข็มชมพู บัวปักกิ่งชมพู หรือ บัวหลวงจีนชมพู

นอกจากนี้สามารถจำแนกได้ตามสีได้ 2 สี คือ บัวหลวงสีขาว และบัวหลวงสีชมพู(เสริมลาภ,2538)

1. บัวหลวงสีขาว มี 2 พันธุ์คือ

-ดอกมีขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ ปลายเรียว ดอกรา (ชั้นเดียว)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Nelumbo nucifera* Gaerin

ชื่อสามัญ HINDU LOTUS

ชื่อไทย บัวหลวงขาว, บุณฑริก, ปุณฑริก, บัวแหลมขาว

-ดอกมีขนาดใหญ่ ดอกตูมทรงป้อม กลีบดอกซ้อนมาก

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Nelumbo nucifera* 'Album Plenum'

ชื่อสามัญ MAGNOLIA LOTUS, ALBUM PLENUM (ภาษาลาติน)

ชื่อไทย บัวหลวงขาวซ้อน, สัตตบุษย์, บัวฉัตรขาว, บัวป้อมขาว, บัวฉัตรขาว

2. บัวหลวงสีชมพู มี 3 ชนิด คือ

-ดอกมีขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ ปลายเรียว ดอกรา

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Nelumbo nucifera* Gaerin

ชื่อสามัญ EAST INDIAN LOTUS

ชื่อไทย บัวหลวงชมพู, ปทุม, ปัทมา, โกกระณต, บัวหลวงแดง, บัวแหลมแดง

-ดอกมีขนาดใหญ่ ดอกตูมทรงป้อม กลีบดอกซ้อนมาก

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Nelumbo nucifera* 'Roseum Plenum'

ชื่อสามัญ ROSEUM PLENUM(ภาษาลาติน)

ชื่อไทย สัตตบงกช, บัวหลวงป้อมแดง, บัวฉัตรแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-ดอกมีขนาดเล็ก ดอกตูมเรียวเป็นรูปไข่ ดอกรา

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Nelumbo nucifera* var. penkinese (China)

ชื่อสามัญ -

ชื่อไทย บัวเข็มชมพู, บัวปักกิ่งชมพู, บัวหลวงจีนชมพู, บัวไต้หวัน

บัวหลวงพันธุ์แหลมแก้วและบัวหลวงพันธุ์ลูกผสม

จากการเก็บตัวอย่างบัวจากเกษตรกรนาบัว อ. ศาลายา จ. นครปฐม พบว่ามีบัวอยู่ชนิดหนึ่ง ซึ่งเกษตรกรเรียกว่า บัวหลวงพันธุ์แหลมแก้ว โดยเชื่อว่าเป็นพันธุ์ดั้งเดิม ลักษณะของกลีบดอกเป็นสีขาวชั้นเดียว ปัจจุบันไม่นิยมปลูกเนื่องจากลักษณะไม่ตรงตามที่ตลาดต้องการเท่าที่ควร จากการสันนิษฐานลักษณะภายนอกทางสัณฐานวิทยาว่าบัวหลวงพันธุ์แหลมแก้วมีลักษณะเหมือนบัวหลวงบุณฑริก ซึ่งมีชื่อเรียกหลายชื่อตามท้องถิ่นต่างๆ

บัวหลวงอีกหนึ่งชนิดคือ บัวหลวงพันธุ์ลูกผสมซึ่งเกษตรกรนาบัวได้เก็บตัวอย่างเมล็ดของบัว จากคำบอกกล่าว บัวชนิดนี้เป็นบัวหลวงพันธุ์ลูกผสม ซึ่งจากสัณฐานวิทยานั้นมีลักษณะเป็นบัวหลวงสีขาวแต่มีกลีบดอกกึ่งซ้อน คือ ลักษณะของกลีบดอกจะอยู่ระหว่างบัวหลวงสัตตบุษย์และบุณฑริก จึงนำมาเลี้ยงโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อทำการศึกษา ซึ่งจะศึกษาเกี่ยวกับจำนวนโครโมโซมต่อไป

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของบัวหลวง(อุไร,2542)

ใบ รูปกลมใหญ่ เส้นผ่าศูนย์กลาง 15-40 เซนติเมตร สีเขียว และมีนวลเคลือบ ก้านใบชูขึ้นเหนือน้ำและมีหนามเล็กๆ

ดอก มีหลายพันธุ์ ทั้งดอกชั้นเดียวและดอกซ้อน มีสีขาวและสีชมพู กลีบดอกใหญ่ห่อหุ้มกลางดอกมีฐานรังไข่และเกสรจำนวนมากปลายอับเรณูมีระยางค์คล้ายกระบองเล็กๆมีกลิ่นหอมอ่อนๆ ตอนเช้าหรือกลางคืน ก้านดอกชูยาวเหนือน้ำ และมีหนามเล็กๆ

ราก เป็นระบบรากฝอยเกิดตรงบริเวณส่วนข้อของลำต้น รากอ่อนมีสีขาว และหมวกรากใหญ่ เมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

ผลและเมล็ด(วาสนา,2527) ผลเป็นกลุ่มซึ่งมักเรียกว่า ฝัก ประกอบด้วยผลย่อย มีเปลือกหนาสีเขียว พอแก่เปลือกเป็นสีดำและแห้ง เรียกว่า เมล็ดบัว เนื้อด้านในเป็นสีขาวและมีเปลือกหุ้มบางๆ ภายในมีใบเลี้ยงหนา มีสีขาวนวล 2 ใบไม่มี endosperm ต้นอ่อนมีสีเขียวเข้มมักเรียกว่า ดีบัว

การเจริญเติบโต

หลังจากเมล็ดงอกเป็นต้นอ่อนแล้ว(สมพล,2532) ต้นอ่อนจะเจริญเติบโต ด้วย ไหล ไปตามแนวใต้ผิวดินเมื่อได้จังหวะจะตั้งขึ้นใบโผล่จากพื้นดินชูขึ้นเหนือน้ำ ส่วนไหลเดิมจะชอนไช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไปตามผิวดินและตั้งข้อขึ้น ใบดอกไปเรื่อยๆ จนไหลแตกแขนงแผ่ออกคล้ายตาข่ายอยู่ใต้ดินจนเต็มพื้นที่นั้นในธรรมชาติ เมื่อน้ำแห้งลงไหลเหล่านี้มีอายุมากขึ้นจะสร้างอาหารสะสมไว้แปรสภาพเป็นเหง้าฝังจมอยู่ใต้ดิน จนเมื่อน้ำมาดินชุ่มชื้นจึงแตกต้นหรือไหลเจริญเติบโตอีกครั้ง พบเห็นได้ตามหนอง บึง ทั่วไป

การขยายพันธุ์

การขยายพันธุ์ของบัวหลวง(เสริมลาภ,2526)สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 วิธีคือ

1. **การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ**(Reproductive propagation) ซึ่งเป็นวิธีที่จะได้พันธุ์ใหม่ขึ้นมา โดยธรรมชาติแล้วบัวหลวงจัดเป็นพืชผสมข้ามทั้งนี้เพราะเกสรตัวผู้จะแก่พร้อมที่จะผสมพันธุ์ได้ในวันที่สองหลังจากดอกเริ่มบาน ซึ่งในธรรมชาติจะมีลมและแมลงช่วยในการผสมเกสร

วิธีการปลูก

1. เตรียมดินเหนียวที่ไม่มีวัชพืชและรากอื่นปะปนอยู่ ใส่ดินลงในภาชนะที่มีความลึกอย่างน้อย 10 เซนติเมตร ส่วนขนาดของความกว้างนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณบัวที่จะเพาะ

2. เติมน้ำลงในภาชนะ แล้วกดดินให้เหลวเป็นเนื้อเดียวกันให้แน่นและน้ำให้สูงจากพื้นดินประมาณ 7-8 เซนติเมตร

3. นำเมล็ดบัวหลวงที่จะปลูกกดลงให้จมดิน ค่อยเติมน้ำให้สูงจากผิวดิน 15 เซนติเมตร

4. นำภาชนะที่เพาะไปวางในบริเวณที่ถูกแดดในช่วงเช้า หรือได้รับแดดในช่วงบ่ายได้เล็กน้อยไม่ควรให้ได้รับแดดทั้งวัน เพราะจะทำให้น้ำร้อนมากเมล็ดและต้นอาจตายได้ หรือ(อุไร,2542) อาจปลูกในกระถางเล็กและวางลงในอ่างที่มีขนาดใหญ่ก็ได้ สิ่งที่สำคัญคือ อย่าปล่อยให้น้ำแห้งเพราะจะทำให้กล้าบัวแห้งตายได้ ถ้ามีส่วนใดส่วนหนึ่งของต้นแห้งต้นนั้นจะตายในทันที

หลังจากปลูกได้ 1 เดือนเมล็ดบัวที่สมบูรณ์จะออกเป็นต้นเตี้ยๆ แล้วแตกใบขึ้นเหนือน้ำตั้งแต่ 2ใบขึ้นไปจึงย้ายปลูกต่อไป

2. **การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ** (Vegetative propagation) เป็นวิธีที่นิยมมากเนื่องจากมีความสะดวกรวดเร็ว สามารถทำได้ง่ายโดยการตัดแยกต้นอ่อนที่เจริญขึ้นมาใหม่ จากส่วนของลำต้นของต้นแม่ที่ใช้เป็นส่วนในการขยายพันธุ์มีดังนี้

2.1 การขยายพันธุ์จากส่วนของไหล (stolon) แยกไหลที่กำลังแตกยอดเจริญอย่างน้อย 2 ข้อมาปลูก โดยทำร่องลึกประมาณ 3-4 เซนติเมตร ตามแนวยาวของไหลในภาชนะปลูกแล้ววางไหลในแนวร่อง กลบไหลและข้อแต่ให้ยอดเจริญโผล่พ้นดินเพราะถ้ายอดอยู่ใต้ดินจะตาย วิธีป้องกันไหลลอย คือ ใช้กิ่งไม้ไผ่สดขนาดเท่าตะเกียบ ยาวประมาณ 18 เซนติเมตร หักพับไม่ให้ขาดเสียบค่อมทับไหลบัวที่ข้อฝังอยู่ในโคลนแต่ไหลที่แยกจากต้นแม่ควรมีใบผลิลอยเหนือน้ำ 2-3 ใบ ในระยะนี้สามารถตัดแยกไหลนำไปขยายพันธุ์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การขยายพันธุ์โดยใช้ส่วนของเหง้า (Rhizome) เหง้าจัดเป็นส่วนของลำต้นที่ฝังอยู่ใต้ดิน การเจริญเติบโตของเหง้าจะเจริญทั้งในแนวนอนใต้ผิวดิน และขยายออกรอบทิศ เมื่อเหง้าแก่จะขยายออก และมีการสะสมอาหารจากนั้นตาก็จะแตกออกเป็นต้นเจริญขึ้นให้ตัดเหง้าที่ต้นอ่อนเจริญขึ้นมาโดยให้มีส่วนของเหง้าเดิมติดไป 2-3 นิ้ว เหง้าเดิมที่ตัดไปจะมีอาหารสะสมไว้เหลือพอสำหรับการสร้างใบและรากเจริญเป็นต้นใหม่

ประโยชน์ บัวหลวงในประเทศไทยสามารถใช้ประโยชน์ได้หลายทาง(เสริมลาภ,2538)เช่น

1. ใช้เป็นไม้ตัดดอกเพื่อนำมาบูชา

2. นำใบมาห่อของแทนใบตอง นำกลีบดอกมาใช้ม้วนบุหรี่ หรืองานประดิษฐ์ต่างๆ ได้

3. จากวิเคราะห์เมล็ดบัวหลวงพบว่า มีแป้งและน้ำตาล 62 % โปรตีน 18% ไขมัน 2 % ความชื้น 12 % ดังนั้น จึงนำเมล็ดบัวมาประกอบอาหารคาวและหวาน

4. นำมาประกอบอาหาร ดังนี้

- ส่วนของใบอ่อน นำมารับประทานเป็นผักจิ้มกับน้ำพริก

- ไหล นำมาประกอบอาหารคาว อาทิ แกงส้ม แกงเลียง หรือผัดเผ็ด เป็นผลิตภัณฑ์บรรจุกระป๋องส่งขายต่างประเทศได้

- เหง้าหรือที่เรียกว่ารากบัว นำมาต้มน้ำตาล รับประทานเป็นอาหารได้

5. ใช้เป็นยาสมุนไพร เช่น

- เกสรตัวผู้ ชาวจีนใช้เป็นยาขับปัสสาวะหรือใช้เป็นเครื่องสำอาง และเป็นยาสมานแผลทำให้เย็น

- กลีบดอกชั้นใน ชาวมาเลเซียใช้ตำพอกแก้โรคซิฟิลิส ชาวชวาใช้เป็นยาแก้ท้องร่วง เป็นต้น

- ก้านใบ ในประเทศอินเดียใช้เป็นยาแก้ท้องร่วงได้

6. นำมาทำยา เช่น ยาหอม ยาแก้ไอ ยาธาตุ ยาฟอกโลหิต เป็นต้น

7. ใช้เป็นเชื้อเพลิงหรือจุดไล่ยุง เช่น ก้านใบ-ดอกแห้ง ใบ-ดอกตากแห้ง หรือเปลือกฝักบัวแห้ง เป็นต้น

การศึกษาลักษณะและความเปลี่ยนของสิ่งมีชีวิตนั้นมีความสัมพันธ์กับโครโมโซม (อมรา,2540) เนื่องจากโครโมโซมเป็นตำแหน่งที่อยู่ของยีนซึ่งเป็นตัวควบคุมพฤติกรรมต่างๆ ของสิ่งมีชีวิต ถ้าสิ่งมีชีวิตใดมีจำนวนโครโมโซมเปลี่ยนไปจากเดิมย่อมก่อให้เกิดผลต่างๆ ตามมา การศึกษารูปร่างและลักษณะของโครโมโซมจึงเป็นสิ่งที่สำคัญยิ่ง สิ่งมีชีวิตแต่ละสปีชีสมีจำนวนโครโมโซมและลักษณะของโครโมโซมคงที่ สิ่งมีชีวิตที่สืบพันธุ์โดยใช้เพศมีจำนวนโครโมโซม 2 แบบในเซลล์ต่างชนิดกัน เซลล์ร่างกายมีเป็นแบบดิพพลอยด์(2n) และเซลล์สืบพันธุ์เป็นแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แฮพลอยด์(n) สิ่งมีชีวิตที่สืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศมีเพียงแบบเดียว คือ อาจเป็นดิพลอยด์ หรือแฮพลอยด์ก็ได้ขึ้นกับวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ

โครโมโซม(Chorosome)ประกอบด้วย(ไพศาล,2535)กรดนิวคลีอิคพวกDNA (deoxyribonucleic acid)และโปรตีนพวกฮิสโตน (histone) และโปรตามีน(protamine) ฮิสโตนนั้นอาจพบโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตทั่วๆ ไป ส่วนโปรตามีนจะพบในโครโมโซมของสัตว์จำพวกนก ในขณะที่นิวเคลียสแบ่งตัวในระยะmetaphaseหรือ anaphase นั้นโครโมโซมมีขนาดใหญ่และหดสั้น และสามารถส่องเห็นด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา เหตุที่โครโมโซมมีขนาดใหญ่เช่นนี้ก็เพราะว่า มีการพับไปพับมาจนเกิดเป็นเส้นสายขนาดใหญ่นั้นเอง และจากการย้อมโดยใช้สีเคมี พบว่าภายในนิวเคลียสมีร่างแหซึ่งติดทึบอยู่ทั่วไป เรียกส่วนที่เป็นร่างแหว่า โครมาทิน(chromatin)เมื่อเซลล์แบ่งตัว(อมรา,2540) ร่างแหนี้จะปรากฏเป็นเส้นใยเล็กๆ อันเกิดจากการเรียงตัวของท่อเล็กที่เรียกว่า microtubule กลายเป็นเส้นใยยาวเรียกว่า สายสปินเดิล (spindle fiber) สายสปินเดิลจะมีปลายข้างหนึ่งยึดติดกับเซนทริโอลและปลายอีกข้างหนึ่งยึดเซนโทรเมียร์(centromere)ของโครโมโซมสายสปินเดิลจะช่วยดึงโครโมโซมให้เคลื่อนตัวได้ในขณะมีการแบ่งเซลล์

สิ่งมีชีวิตซึ่งอยู่ใน species เดียวกัน (ไพศาล,2535)จะมีโครโมโซมเท่ากันเสมอ เช่น คนมีจำนวนโครโมโซม 2 n= 46 หนู 2n = 42 กระต่าย2n =44 และข้าวโพด2n = 20 เป็นต้น ในเซลล์ร่างกายมักมีโครโมโซมในสภาพ 2n คือ โครโมโซมแต่ละชนิดจะมีอยู่เป็นคู่ๆ ซึ่งอาจพูดว่ามีโครโมโซมอยู่ 2 ชุด หรือ diploid ส่วนหน่วยสืบพันธุ์(gamete)นั้นมักจะมีโครโมโซม 1 ชุด ซึ่งเรียกว่า haploid (n)พืชหลายชนิดอาจมีโครโมโซมเกิน 2 ชุดก็ได้ คือ อาจมีโครโมโซม 3 ชุด หรือ triploid , 4ชุด (4n, tetraploid), 5ชุด (5n, pentaploid) เป็นต้น

การทำการศึกษาโครโมโซมพบว่า(อมรา,2540) ระยะของไมโทซิสช่วงเวลาเดียวของวัฏจักรเซลล์ที่โครโมโซมมีรูปร่างเห็นได้ชัดเจนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ระยะต่างๆ ของการแบ่งเซลล์ในไมโทซิส คือ ระยะแรกเรียกว่าโพรเฟส(prophase)ระยะต้นของโพรเฟสนั้นโครโมโซมปรากฏเห็นได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ มีขนาดยาว โดยแต่ละเส้นประกอบด้วยสายใยเป็นคู่ เรียกว่า sister chromatid ในตอนปลายระยะนี้โครโมโซมจะหดสั้นมาก แต่ละโครโมโซมจะมีรอยคอดติดสีจางเรียกว่า เซนโทรเมียร์ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการเกาะติดของสายสปินเดิลเพื่อช่วยแยกโครโมโซมออกจากการแบ่งเซลล์ระยะ โครโมโซมจากเซนโทรเมียร์ ไปถึงปลายโครโมโซมข้างใดข้างหนึ่งเรียกว่าแขน(arm)เมื่อสิ้นสุดระยะโพรเฟสจะพบว่าผนังนิวเคลียสเกิดการสลายตัวกลายเป็นส่วนประกอบของเอนโดพลามิคเรติคูลลัม (endoplasmis reticulum) และเริ่มเข้าสู่ระยะแบ่งเซลล์เรียกว่า เมทาเฟส (metaphase)โครโมโซมหดตัวหนาขึ้น สังเกตเห็นโครโมโซม 1 แท่งประกอบด้วยโครมาทิด 2 แท่ง จากนั้นเซนโทเมียร์จะแบ่งตัวเป็นสองแล้วเคลื่อนย้ายไปอยู่คนละเซลล์ พร้อมสร้างสายใยสปินเดิล ระยะนี้มีความสำคัญมาก คือโครโมโซมจะหดสั้นสุด และเป็นระยะที่เหมาะสมอย่างยิ่งในการนำโครโมโซมมาศึกษาทางไซโตจินิติด เช่น นับจำนวน ตรวจดูรูปร่างและนำมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ย้อมสีแบบต่างๆต่อมาเริ่มเคลื่อนย้ายมาอยู่ตรงกลางของเซลล์เซนโทรเมียร์ของแต่ละโครโมโซมมีการแบ่งครึ่งเพื่อทำการแยกโครมาทิด ระยะต่อมาคือ ระยะแอนาเฟส(anaphase)โครโมโซมแยกออกจากกัน และเคลื่อนย้ายไปอยู่กันคนละขั้วของเซลล์จะปรากฏโครโมโซมแยกเป็น 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับจำนวนดิพลอยด์ของสปีชีส์นั้นๆ ระยะสุดท้ายของไมโทซิส คือ เทโลเฟส โครโมโซมที่แยกไปอยู่คนละขั้วเริ่มคลายการหดตัวและขยายยาว เริ่มเห็นผนังนิวเคลียสสร้างขึ้นล้อมแต่ละกลุ่มของโครโมโซม ภายหลังเมื่อมีการแบ่งของนิวเคียสแล้วเริ่มแบ่งไซโตพลาสซึมในเซลล์สัตว์พบว่าผนังเซลล์จะคอดตรงกลางแล้วแยกออกเป็นสองเซลล์ สำหรับเซลล์พืชจะมีการสร้างผนังเซลล์ (cell plate)มีลักษณะเป็นผนังบางกั้นตรงกลางสำหรับเซลล์ ซึ่งเวลาต่อมาจะมีสาร cellulose มาสะสมจนเปลี่ยนสภาพเป็นผนังเซลล์ที่แข็งแรง เรียกว่า cell wall เมื่อสิ้นสุดการแบ่งเซลล์จะได้เซลล์แม่เริ่มต้น 1 เซลล์ แบ่งได้เป็นเซลล์ลูกได้จำนวน 2 เซลล์ (ภาคผนวก)

ความสนใจในการศึกษาจำนวนโครโมโซม(อมรา,2540)เริ่มมีมาตั้งแต่ต้นศตวรรษที่ 20 โดยเริ่มจากการศึกษาโครโมโซมพืชและแมลง ผู้ที่สนใจคือ Muller เขาทำการเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมโดยใช้รังสี McClintock เป็นคนแรกทำศึกษาโครโมโซมในระยะการแบ่งเซลล์ไมโอซิสของข้าวโพด จนได้รับรางวัลโนเบลในปีค.ศ. 1983

การเตรียมโครโมโซม

1. **การเตรียมโครโมโซมจากรากพืช** (จากระยะไมโทซิส)(อมรา, 2540)

ในปลายรากพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดหรือปลูกพืชรากที่นำมาใช้ต้องสดและมีสุขภาพดีเพื่อให้ได้เซลล์ที่มีอัตราการแบ่งมากๆ นิยมใช้รากชนิดรากแขนง(lateral root) ลักษณะรากที่ดีมีความเปราะโปร่งแสงและมีสีขาวส่วน tip หรือ ปลายรากมีสีขาวอมครีม ถ้าไม่สามารถหารากได้อาจใช้เนื้อเยื่ออื่นๆ ที่เป็น meristemmatic tissuse เช่น จากใบอ่อน หรือส่วนของดอก เช่น ผนังรังไข่ และเมล็ดอ่อน ซึ่งใช้วิธีเตรียมเช่นเดียวกับราก

Pretreatement ล้างรากพืชให้สะอาด ตัดรากให้ตามยาวจากปลายรากขึ้นมาประมาณ 1 ซม. แช่ในสารละลาย Pretreatement เพื่อให้เซลล์หยุดการแบ่งไมโทซิสที่ระยะเมทาเฟส(โดยใช้สารละลาย colchicine ตามหัวข้อ 2) เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องหรือเก็บไว้ในที่เย็นอุณหภูมิต่ำกว่า 18 องศาเซลเซียส ภาชนะที่ใช้ต้องสะอาดปราศจากสารเคมีหรือผงซักฟอง ระหว่างแช่ควรเขย่าภาชนะเพื่อให้อากาศแทรกในน้ำยา (ในกรณีที่มีรากจำนวนมากอาจใช้เครื่องปั๊มอากาศที่ใช้กับตู้ปลาก็ได้) เมื่อสิ้นสุดเวลานำรากออกมาแช่ในน้ำยา fixative ต่อไป

Fixation เลือกรากที่มีลักษณะที่ดี (โปร่งใสและ tip มีสีขาวขุ่น) แช่ในน้ำยา Fixation นานอย่างน้อย 15 นาที ถ้าต้องการเก็บไว้เป็นเวลานานก่อนนำมาศึกษาโครโมโซม ให้เปลี่ยนแปลงเป็นแช่ปลายรากจาก Fixative มาเป็น ethanol 70% และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะศึกษาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Maceration (การทำให้เซลล์นิ่ม) วางปลายรากบนแผ่นสไลด์แล้วหยด 1 M HCl เป็นเวลา 5 นาที (ควรทำที่อุณหภูมิ 60°C) แล้วล้างรากด้วยน้ำสะอาด ถ้าทำรากจำนวนมาก อาจแช่ในน้ำที่ใส่ในหลอดแก้วแล้วปิดปากหลอดด้วยผ้าขาวบาง ปล่อยให้น้ำผ่านเข้าออกและสามารถเก็บรากไว้ในน้ำนาน 1-2 วัน นำรากขึ้นจากน้ำเพื่อศึกษาขั้นต่อไป

Cell suspension นำรากขึ้นจากน้ำ วางปลายรากบนแผ่นสไลด์ซับน้ำส่วนเกินออก ย้อมด้วยสี acetocarmine จำนวน 1 หยด ใช้มีดตัดเอาส่วนของหมวกราก ขยี้รากให้แบนด้วยเข็มเขี่ยปลายแบน ผ่านสไลด์ไปบนเปลวไฟ (ใช้ตะเกียงแอลกอฮอล์) ปิดด้วย coverslip ย้อมสีนานประมาณ 5-10 นาที ทำ squash technique (ภาคผนวก) ตรวจดูเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ทำสไลด์ให้เซลล์คงอยู่ชั่วคราวโดยปิดขอบ coverslip ด้วยน้ำยาทาเล็บหรือพาราฟิน ที่หลอมแล้ว

2. การเตรียมสารเคมีในการศึกษาโครโมโซม

Pretreatement

การทำ Pretreatement กับรากพืชเพื่อที่จะทำให้เซลล์หยุดการแบ่งเซลล์ไมโทซีสในระยะเมทาเฟส สารที่ใช้ทำ Pretreatement มีหลายชนิดมีผลต่อเซลล์เหมือนกันคือ ทำให้ spindle fiber ของเซลล์ไม่สามารถสร้างขึ้นมาได้ สารที่ใช้ทำ Pretreatement มีดังนี้

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

2. 8-hydroxyquinoline เตรียมที่ความเข้มข้น 0.002 M ในน้ำ เพื่อให้ละลายน้ำดีใช้วิธีอุ่นใน 60°C เป็นเวลานาน 10-12 นาที บางครั้งอาจนานถึง 1 ชั่วโมงจึงจะละลายหมด

3. Paradichlorobenzine เตรียมจาก 5-10 กรัม. Paradichlorobenzine ในน้ำกลั่น 500 มล. ใส่สารละลายนี้ไว้ในขวดที่ปิดจุก และเก็บไว้ในตู้อบ 60°C นานตลอด 1 คืน จึงนำมาใช้ การแช่รากอาจแช่อยู่นาน 15 นาที-4 ชั่วโมง จากนั้นจึง fix ราก

Fixative soloution หรือ Killing solution

น้ำยาที่เป็น fixing หรือ killing นี้ใช้เพื่อทำให้เซลล์พืชคงสภาพเดิม เหมือนเช่นการดองสัตว์ให้คงสภาพไม่เน่าเปื่อย น้ำยาประเภทนี้จำต้องเตรียมใหม่ๆ แล้วใช้ทันที โดยมีสูตรต่างๆ ดังนี้

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Stain (สีย้อม)

ในการศึกษาโครโมโซมพืชทั้งจากเซลล์ปลายรากและเซลล์ microsporocyte นั้นนิยมใช้สี acetocarmine และโดยเฉพาะมีส่วนของสนิมเหล็กปนอยู่ด้วยแล้วมีผลทำให้โครโมโซมติดสีดีขึ้น อาจเรียกเทคนิคนี้ว่า iron – acetocarmine นอกจากนี้ยังมีสีประเภทอื่นๆ ที่ใช้ย้อมเซลล์พืช มีดังนี้

1. acetocarmine

อุ่น 45 % acetic acid ที่ร้อนละลายสี carmine ลงไปโดยใช้อัตราส่วน 1 กรัม carmine ในกรด acetic 200 มล. ต้มเดือดนาน 1-2 นาที จนกระทั่งสีแดงของcarmine เปลี่ยนเป็นสีแดงเข้มขึ้น จากนั้นปล่อยให้เย็นแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง อาจใช้วิธีต้มเดือดให้ระเหยเห็นไอแล้วกลั่นเป็นหยดน้ำใน reflux condenser นาน 1 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นแล้วกรอง เก็บสารละลายนี้ในที่เย็นและมืด

2. สี Lacto-propionic orcine

ใช้สี Lacto-propionic orcine แทน acetocarmine วิธีเตรียม โดยใช้ 1 กรัมของ orcine + ส่วนผสมของ lactic acid 50 มล. และ propionic acid 50 มล. ทำที่อุณหภูมิห้อง ปล่อยให้ผง orcine ละลายใช้เวลาตลอดคืนแล้วกรอง เตรียม working solution : เจือจาง stock solution ให้ได้ 45%-60 %ของ stock solution ในน้ำแล้วกรอง เก็บสีในที่เย็นและมืด สามารถใช้ได้เป็นเวลานานหลายเดือน

3. การเตรียมสี aceto- orcine

อุ่น glacial acetic acid แล้วละลายสี orcine ลงไป 2.2 กรัม ในกรด 100 มล. จากนั้นปล่อยให้สีเย็นแล้วเก็บเป็น stock solution ก่อนจะใช้ต้องทำกรดให้เจือจางเป็น 45 % ในน้ำกรอง และนิยมใช้สีนี้ย้อมเซลล์สัตว์

4. การเตรียมสี alcoholic-hydrochloric-acid carmine

alcoholic - hydrochloric – acid carmine ย้อมเซลล์พืชโดยจะให้ความแตกต่างระหว่างไซโตพลาสซึมและโครโมโซมได้ชัดเจน วิธีเตรียมทำโดย ผสมกรด HCl (เข้มข้น 1 มล.)ในน้ำกลั่น 15 มล. แล้วใช้ 4 กรัมของ carmine ละลายลงในน้ำกรดนี้ จากนั้นนำสารละลายสีและกรดนี้ตั้งไฟให้ร้อนจนเดือดเบาๆ นาน 10 นาที ปล่อยให้เย็นจึงเติม 95 มล. ของ 85% แอลกอฮอล์ลงไป กรองสีก่อนใช้

5. การย้อมโดย Feulgen technique

Feulgen reaction เป็นปฏิกิริยาที่ใช้ชี้ให้เห็นว่าส่วนใดเป็น DNA และส่วนใดไม่ใช่ DNA เทคนิคนี้ทำให้เฉพาะส่วนของโครโมโซมติดสี แต่ cytoplasm และ nucleolus จะไม่ติดสี วิธีการเตรียมคือ เทน้ำกลั่น ที่เดือดแล้วปริมาตร 200 มล. ลงในสี basic fuchsin จำนวน 1 กรัม แล้วเขย่าภาชนะที่ใส่สารละลายสีนี้นาน 5 นาที ทำให้เย็นจนถึง 50° C แล้วกรองใส่ไว้ในขวดที่แสงผ่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่ได้หรือขวดฝาปิดสีชา เติม 30 มล. ของกรด HCl ลงไป จากนั้นเติม 3 กรัม ของ sodiumหรือ potassium metabisulphite เก็บสีไว้ในที่เย็นและมืด ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีแดงแสดงว่าสีเก่าเกินไปไม่มีผลต่อการย้อมต้องเตรียมใหม่

วิธีการย้อมสีเซลล์ Feulgen technique นำปลายรากที่ fix ไว้เรียบร้อยแล้วมาแช่ใน 10% HCl ที่เย็นคอยจนกว่ารากจะจม จึงย้ายมาแช่ใน 10 % HCl ที่ 60° C ปล่อยให้ hydrolyze นาน 25 นาที แล้วจึงล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แช่ปลายรากใน Feulgen solution นาน 20-30 นาที แล้วใช้วิธี squash technique

ปัจจัยที่มีผลต่อขนาดของโครโมโซมและมีบทบาทต่อการศึกษาทางพันธุศาสตร์ของเซลล์(นิตย์ศรี, 2541)

1.โคลซิซีน (colchicine) เป็นสารแอลคาลอยด์ซึ่งทำหน้าที่ขัดขวางการแบ่งเซลล์โดยยับยั้งการสร้างสปินเดิลไฟเบอร์ซึ่งทำหน้าที่ดึงเซนโทรเมียร์ไปยังขั้วของเซลล์ โครโมโซมจึงหยุดอยู่ที่ระยะเมทาเฟสซึ่งเป็นระยะที่โครโมโซมหดสั้นสุด แต่ไม่มีผลต่ออัตราการแบ่งของโครโมโซม จึงเป็นสารที่นิยมทำหน้าที่เป็น pretreat ในการศึกษาโครโมโซม

2.สารเคมีที่ใช้ในการทำ pretreatment อีกประเภทหนึ่ง ที่ทำให้โครโมโซมหดตัว แช่ตัวอย่างพืช เช่น ราก ในสาร pretreat กลุ่มนี้ได้แก่ α -bromonapthalene, 8-hydroxyquinoline มีผลคล้ายโคซิซีน

3.การลดปริมาณของสารที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์โครมาทินอาจจะมีผลต่อขนาดของโครโมโซม เซลล์ที่ได้จากการแบ่งตัวค่อนข้างถี่จะมีโครโมโซมขนาดเล็กกว่าเซลล์ที่มีระยะอินเตอร์เฟสค่อนข้างยาว

4.สารอาหารต่างๆ ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ มีผลต่อขนาดโครโมโซมด้วย เช่น ฟอสเฟตที่ความเข้มข้นสูงๆ จะทำให้โครโมโซมมีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซมที่เลี้ยงในน้ำหรือมีฟอสเฟตน้อย

5.อุณหภูมิ มีผลต่อขนาดโครโมโซมเช่นกัน เซลล์ที่มีการแบ่งตัวในที่มีอุณหภูมิต่ำๆ จะมีขนาดสั้น และมีการหดตัวของโครโมโซมมากกว่าเซลล์ที่มีการแบ่งตัวในที่มีอุณหภูมิสูงๆ

ในการเตรียมสไลด์เพื่อการศึกษารูปร่างและจำนวนโครโมโซม จำเป็นต้องทำให้โครโมโซมมีขนาดสั้นและมีการกระจายของโครโมโซม โดยทั่วไปนิยมใช้สารเคมีในการทำ pretreatment ร่วมกับการบ่มที่อุณหภูมิต่ำๆ ด้วย จะช่วยลดระยะเวลาที่ต้องแช่สารเคมีสั้นลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ประวัติ(2526)ได้ทำการศึกษาโครโมโซมจากปลายรากกล้วยทั้งกล้วยป่าและกล้วยปลูก จำนวน 30 เชื้อพันธุ์ โดยวิธี squash พบว่ากล้วยป่าเบอร์ 1 กล้วยป่าเบอร์ 3 กล้วยอ่างขาง กล้วยแข้ กล้วยไข่ กล้วยตานี กล้วยไข่โบราณ กล้วยทองขี้แมว กล้วยป่าเบอร์ 22 กล้วยไลและกล้วยหมาก มีโครโมโซม 2n = 22 กล้วยครั้ว กล้วยนิ้วมือนาง กล้วยน้ำกาบดำ กล้วยกุ้งเขียว กล้วยน้ำ กล้วยตีบ กล้วยเล็บช้างกุ กล้วยตีบดำ กล้วยขมเบา กล้วยขมหนัก กล้วยน้ำหว้าเหลือง กล้วยกุ้ง กล้วยคลองจัง กล้วยคลองจัง กล้วยพม่าแหกคุก กล้วยนางกลาย กล้วยหอมเตี้ย กล้วยน้ำว้าค่อมและไข่บอง มีโครโมโซม 2n = 33 กล้วยเทพรส มีโครโมโซม 2n = 44

วาสนา(2527)จากการศึกษาลักษณะภายนอกและภายใน การเจริญเติบโต จำนวนโครโมโซมและลักษณะเรณูของพืชในสกุลบัวหลวงและผลจากการศึกษาจำนวนโครโมโซมพบว่าโครโมโซมของบัวหลวง 6 พันธุ์คือ บุณฑริก ปทุม สัตตบุษย์ สัตตบงกช ปักกิ่งขาว และปักกิ่งชมพู มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ 2n = 16

อุษณีย์(2531) ศึกษาลักษณะทางชีววิทยาของดอก และจำนวนโครโมโซมของกีวีฟรุต 6 พันธุ์ ประกอบด้วยเพศผู้ 2 พันธุ์คือ Tomuri และ Matua เพศเมีย 4 พันธุ์ คือ Brouno, Abbott, Monty และ Hayward ที่ปลูก ณ สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง อ.ฝาง จ. เชียงใหม่ โครโมโซมของกีวีฟรุตที่ทำการศึกษาพบว่า กีวีฟรุตทั้ง 6 พันธุ์ มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือประมาณ 2n = 166 โดยมีขนาดเล็กมาก จนไม่สามารถจำแนกความแตกต่างทางสันฐานวิทยาออกจากกันได้

ดิเรก(2537) ผลของจำนวนโครโมโซมต่อลักษณะทางสัณฐานของเยอบีร่า พันธุ์ขาวใบจักร เทอร์รานีวาลิส เทอร์รามอนซา และเทอร์ราพาเรด ในอาหาร MS ปรากฏว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีโคลซิซินผสมอยู่ 0.4 เปอร์เซนต์เป็นเวลา 5 วัน ทำให้เยอบีร่ามีโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นเท่าตัว คือ 2n =4n = 100 ต้นเยอบีร่าที่มีโครโมโซมเพิ่มขึ้นจะมีใบหนา สีเขียวเข้ม และขนาดของปากใบใหญ่กว่าปกติ แต่เจริญเติบโตไม่ค่อยดี แตกหน่อน้อย ดอกมีสีเขียวเข้ม กลีบดอกกว้างและยาวกว่าปกติ

ศิริศักดิ์(2542)การตรวจสอบโครโมโซมปลายรากบัวหลวงพันธุ์สัตตบุษย์โดยใช้ accetocarmine squash methods เก็บตัวอย่างในช่วงเวลา 8.30-11.0 นาฬิกา หยุดวงชีพเซลใน 8-hydroxyquinoline นาน 7 ชั่วโมง แช่ด้วย 1N HCl นาน 20 นาที ย้อมด้วยสี aceto ocein นาน 5 นาที พบว่าโครโมโซมที่นับได้คือ 2n=16

ศิริพรและฉันทนา(2540)การศึกษาโครโมโซมของว่านมหาลาภจากเซลล์ปลายราก พบว่าวิธีการที่ได้ผลดี คือ การเก็บตัวอย่างรากเวลา 9.00 นาฬิกา หยุดวงจรชีพด้วย para-dichorobenzene นาน 4 1/2 ชั่วโมง แยกเซลล์ใน 1 N HCl นาน 5 นาที แล้วย้อมด้วยสี carmine fuchsin นาน 1 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าว่านมหาลาภมีจำนวนโครโมโซม 2n= 68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผ่องพรรณและคณะ(2538) ศึกษาจำนวนโครโมโซมของมะตูมโดยการย้อมสีออร์ซีน (orcine) เก็บรากตัวอย่างเมื่อเวลา 10.30 น. สังเกตกล้องจุลทรรศน์ พบว่ามีจำนวนโครโมโซมทั้งหมด 2n=14 รูปร่างโครโมโซมเป็นแบบ เมทาเซนตริก (metacentric chromosome) คือ มีเซนโทเมียร์อยู่บริเวณกึ่งกลางทำให้แขนของโครโมโซมสองข้างมีความเท่ากัน

สาริณี(2537) ได้ทำการทดลองนับโครโมโซมรากของต้นกล้วยไม้หวาย Dendrobium superbiens ดิพลอยด์และออลโลเตตราพลอยด์ ต้นละ 10 เซลล์ หยุดวงชีพเซลล์ด้วย 1-bromonathlene นาน 5-6 ชั่วโมง แช่ด้วย hydrolyse ในกรดเกลือ 1N นาน 10 นาที ย้อมด้วยสี aceto orcein พบว่าดิพลอยด์มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 38 และออลโลเตตราพลอยด์มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 76

อัมพิกา(2527)ได้ศึกษาโครโมโซมของท้อ 9 พันธุ์ พบว่ามีจำนวนโครโมโซมเป็นดิพลอยด์เท่ากับ 16 โครโมโซมมีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถแยกความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาแต่ละพันธุ์ได้อย่างชัดเจน

สุณิสา และคณะ(2543) จากการวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของโครโมโซมข้าว 5 พันธุ์ โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มข้าวขาว(ข้าวเหนียวสันป่าตองและหอมมะลิ 105)กับกลุ่ม ข้าวเหนียวดำ (ดำดอยสะเก็ด , CMUcol.2 และ CMUcol.3)พบว่าข้าวทั้ง 5 พันธุ์มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ 2n=24 แต่มีขนาดและชนิดของโครโมโซมเป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละพันธุ์ โดยมีวิธีการศึกษาโดยการหยุดวงชีพของเซลล์รากด้วย para-dicrorobezene ล้างด้วยน้ำกลั่นนำรากแช่ไว้ในน้ำยารักษาสภาพเซลล์(ethnyl alcohol 95% และ acetic acid เข้มข้น ในอัตรา 3:1) 5นาที แยกเซลล์ออกจากกันแช่รากในกรดไฮโดรลิก 1N ที่ 60° นาน 10 นาที และย้อมด้วยสี carbol funchsin นาน 5 ชั่วโมง

ปกขวัญและคณะ(2530)ได้ทำการศึกษาโครโมโซมและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชในสกุล *Ocimum* 3 ชนิด คือ แมงลักไทย (*Ocimum americanum* Linn. Syn.), O.*americanum* Linn. และ *O.canum* ims จากอินโดนีเซียพบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=64, 2n=72 และ2n=66 ตามลำดับ

Grant,W.F.(1995)ได้ทำการศึกษาจำนวนโครโมโซมพืชสกุล Lotus จากจำนวน 108 species และ 38 varieties โดยเจาะลึกเป็นรายงานว่า 5 species ได้แก่ *Lotus hamatus*, L.*haydonii*, L.*hinoniorum*, L.*mearnsii* และ L.*utahensis* โดยทั้งหมดมีโครโมโซมเท่ากันคือ 2n=14 และอีก 6 พันธุ์ (varieties) ได้แก่ L.*argophyllus* var. argenteus, L.*dendroideus* var. traskiae, L.*heermanii* var. orbicularis, L.*junceus* var. biolettii, L. *strigosus* var. hirtellus, L. *strigosus* var. tomentellus พบว่ามีจำนวนโครโมโซมจำนวน 2n=14 เช่นกัน และ L.*uliginosus* subsp. vestitus มีโครโมโซม 2n=12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. บัวหลวงที่นำมาศึกษาจำนวน 5 พันธุ์ จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ(ภาพที่ 1)คือ
   - บุณฑริก
   - ปทุม
   - สัตตบงกช
   - แหลมแก้ว
   - พันธุ์ลูกผสม
2. สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาโครโมโซม
   - 8-hydroxyquine เข้มข้น 0.002 M
   - Alcohol 95%
   - glaical acetic acid
   - สี carmine
   - น้ำกลั่น
3. กล้องจุลทรรศน์(microscope)ยี่ห้อ Olympus รุ่น BH-2 (สไลด์, กระจกปิดสไลด์, oil immertion และกระดาษเช็ดเลนส์)
4. อุปกรณ์ถ่ายภาพ

วิธีการ

1. การเตรียมน้ำยาสำหรับตรวจนับโครโมโซม

1.1 pretreatment เตรียมโดยชั่งสาร 8-hydroxyquine เข้มข้น 0.002 M (0.145 กรัม ละลายน้ำ 500 มิลลิลิตร) เพื่อให้ละลายน้ำได้ดีขึ้นใช้วิธีอุ่นที่ 60°C เป็นเวลานาน 10-15 นาที บางครั้งอาจต้องใช้เวลานานถึง 1 ชั่วโมงจึงละลายหมด

1.2 fixation and storage โดยใช้ alcohol 95% และ glacial acitic acid ในอัตราส่วน 3:1

1.3 สีย้อม acetocarmine

- carmine	1 กรัม
- glacical acitic acid	50 มิลลิลิตร
- น้ำกลั่น	50 มิลลิลิตร

วิธีการทำโดยใช้ glacical acitic acid 50 มิลลิลิตร ตั้งไฟให้เดือดใส่สี carmine 1 กรัม ลงไปคนช้าๆ อย่าตั้งไฟนานเพราะจะทำให้ระเหยได้ ยกลงจากเตาแล้วทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จนอุณหภูมิลดลง 50°C เติมน้ำกลั่นลงไป 50 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรองใส่ขวดสีชาเก็บไว้ในตู้เย็น (ศิริศักดิ์,2542) ขณะต้มถ้าใช้เหล็กสนิมลงไปแกว่งหรือหยด ferric acetic 1-2 หยด จะทำให้สีเข้มขึ้น ติดโครโมโซมได้ชัดเจนขึ้น สีที่เก็บไว้นานจะมีตะกอนควรกรองบ่อยๆ ก่อนใช้

2. การเตรียมรากบัวสำหรับตรวจนับโครโมโซม

ตัดปลายรากบัวหลวงทั้ง 5 พันธุ์ ที่ทำการเพาะเลี้ยงไว้ เลือกรากมีสีขาวลักษณะแข็งแรงสมบูรณ์ มีขนาดความยาวประมาณ 0.5-1 ซม. ตั้งแต่ช่วงเวลา 8.00-11.00 น. ทำการ pretreatment โดยนำส่วนของปลายรากที่ตัดไว้แช่ใน 8-hydroxyquine เข้มข้น 0.002 M ที่เตรียมไว้เก็บที่ในอุณหภูมิ 10-14 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง เพื่อหยุดวงชีพเซลล์ จากนั้นนำปลายรากไปแช่ต่อในน้ำยา fixation เป็นการรักษาสภาพเซลล์นานประมาณ 5-10 นาที แล้วไปแช่ใน 1M HCl ที่อุณหภูมิ 60°C เวลา 5 นาที จะทำให้เซลล์นิ่มผนังเซลล์อ่อนตัว จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาดโดยใช้ผ้าขาวบางปิดปากขวดแล้วให้น้ำไหลผ่านเข้าและออก รากที่ดีจะมีสีขาวใส เก็บรากแช่ไว้ในน้ำเพื่อทำการศึกษาต่อไป

3. การตรวจนับโครโมโซม

นำปลายรากที่ได้จากข้อ 2 ตัดส่วนเฉพาะที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญ (apical meristem) ประมาณ 0.3-0.5 เซนติเมตร จากปลายรากเข้ามา หยดสี acetocarmine 2-3 หยด ใช้เข็มปลายแบนเขี่ยให้เซลล์กระจาย ทิ้งไว้ 10-15 นาที ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ใช้กระดาษซับสีส่วนเกินนำไปลนไฟอ่อนๆ เพื่อให้ติดสีดีขึ้น จากนั้นใช้ปลายดินสอเคาะเบาๆ หรือใช้วิธี squash technique จะทำให้เซลล์กระจายไปทั่วนำสไลด์ไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์เลือกเซลล์ที่มีการแบ่งนิวเคลียสชัดเจนในระยะเมทาเฟส ถ่ายภาพพร้อมบันทึกผลการทดลอง

4. การบันทึกผลการทดลอง

ทำการบันทึกผลจากจำนวนโครโมโซมที่นับได้จำนวน 10 เซลล์ในแต่ละราก ทั้งหมด 3 ราก ต่อ 1 ต้น ในบัวหลวงแต่ละพันธุ์ทั้งหมด 10 ต้น ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า และทำการบันทึกภาพ

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มทำการทดลอง เดือนตุลาคม 2543
สิ้นสุดการทดลอง เดือนมีนาคม 2544

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลาง ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 1 บัวที่ใช้ในการศึกษาโครโมโซมจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลการทดลอง

จากการทดลองศึกษาจำนวนโครโมโซมของบัวหลวง 5 พันธุ์คือ บุณฑริก, ปทุม, สัตตบงกช, แหลมแก้วและพันธุ์ลูกผสม จากปลายรากโดยเลือกรากที่มีลักษณะขาวใสเมื่อย้อมสี acetocarmine แล้วบริเวณปลายรากที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญจะติดสีเข้มสุด เวลาที่เหมาะสมในการศึกษาจำนวนโครโมโซมคือ เวลาประมาณ 9.00-10.00น. (ตารางบันทึกผลที่ 1-5)และเมื่อนำปลายรากแช่ในเวลาใน acetocarmine 2-3 ชั่วโมงโครโมโซมจะติดสีดีขึ้นแล้วใช้วิธี squash technique เพื่อให้เซลล์กระจายตัวไม่ซ้อนทับกันง่ายต่อการตรวจนับ

ในการนับจำนวนโครโมโซม ทำการทดลองโดยการตัดปลายรากของบัวแต่ละพันธุ์เป็นจำนวน 3 ราก ต่อ 1 ต้นทั้งหมด 10 ต้นและในแต่ละรากจะพบเซลล์ระยะเมทาเฟสทั้งหมด 10 เซลล์เพื่อใช้ยืนยันผลการทดลองได้จำนวนทั้งหมด 300 เซลล์ต่อบัว 1 พันธุ์ หลังจากนั้นทำการบันทึกภาพโครโมโซมภายใต้ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000เท่าผลของการตรวจนับโครโมโซมปลายรากของบัวหลวงทั้ง 5 พันธุ์นั้นพบว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากันทั้งหมดคือ2n=16 และขนาดของโครโมโซมมีขนาดเล็ก(ภาพที่ 2-6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
41716

ตารางบันทึกผลที่ 1 การนับจำนวนโครโมโซมปลายรากของบัวหลวงพันธุ์มุณฑริก

ต้นที่	เวลา	รากที่	จำนวนโครโมโซมที่นับได้ (2n)
1	9.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
2	9.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
3	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
4	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
5	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
6	9.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
7	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
8	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
9	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
10	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16

ตารางบันทึกผลที่ 2 การนับจำนวนโครโมโซมปลายรากของบัวหลวงพันธุ์ปทุม

ต้นที่	เวลา	รากที่	จำนวนโครโมโซมที่นับได้ (2n)
1	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
2	9.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
3	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
4	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
5	9.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
6	9.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
7	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
8	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
9	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
10	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางบันทึกผลที่ 3 การนับจำนวนโครโมโซมปลายรากของบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกช

ต้นที่	เวลา	รากที่	จำนวนโครโมโซมที่นับได้ (2n)
1	9.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
2	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
3	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
4	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
5	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
6	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
7	9.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
8	9.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
9	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
10	9.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16

ตารางบันทึกผลที่ 4 การนับจำนวนโครโมโซมปลายรากของบัวหลวงพันธุ์แหลมแก้ว

ต้นที่	เวลา	รากที่	จำนวนโครโมโซมที่นับได้ (2n)
1	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
2	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
3	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
4	9.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
5	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
6	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
7	9.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
8	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
9	9.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
10	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางบันทึกผลที่ 5 การนับจำนวนโครโมโซมปลายรากของบัวหลวงพันธุ์ลูกผสม

ต้นที่	เวลา	รากที่	จำนวนโครโมโซมที่นับได้ (2n)
1	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
2	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
3	9.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
4	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
5	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
6	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
7	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
8	9.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
9	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16
10	10.00	1,2,3	16,16,16,16,16,16,16,16,16,16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2 แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากบัวหลวงพันธุ์บุณฑริกที่กำลังขยาย 1000 เท่า มีจำนวนโครโมโซม 2n = 16

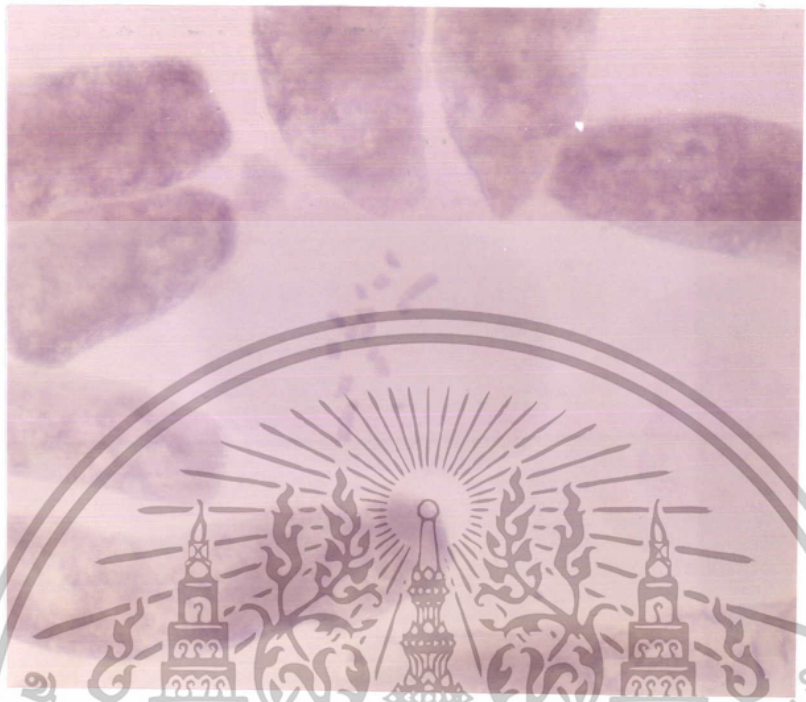
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3 แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากบัวหลวงพันธุ์ปทุมที่กำลังขยาย 1000 เท่า มีจำนวนโครโมโซม 2n = 16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4 แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากบัวหลวงพันธุ์สัตตบงกชที่กำลังขยาย 1000 เท่า มีจำนวนโครโมโซม 2n=16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากบัวหลวงพันธุ์แหลมแก้วที่กำลังขยาย 1000 เท่า มีจำนวนโครโมโซม 2n = 16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 6 แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากบัวหลวงพันธุ์ลูกผสมที่กำลังขยาย 1000 เท่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากที่ทำการศึกษาโครโมโซมโดยการคัดเลือกเวลาตั้งแต่ 8.00-11.00 น. เวลาที่ดีที่สุดในการศึกษานับจำนวนโครโมโซมคือ 9.00-10.00 น. เมื่อใช้เข็มเขี่ยปลายรากให้กระจายและลองทำการย้อมสี acetocarmine เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมงจะช่วยให้โครโมโซมติดสีได้ดีและเห็นชัดกว่าย้อมในเวลาสั้น จากนั้นใช้ปลายดินสอเคาะเบาๆ บนกระจกปิดสไลด์มีผลทำให้เซลล์กระจายทั่วแผ่นง่ายต่อการศึกษา และบางครั้งเมื่อใช้วิธี squash technique ผู้ทำการทดลองอาจยังไม่มีความชำนาญใช้นิ้วกดแรงเกินไปทำให้เซลล์แตกจึงต้องระวังเรื่องน้ำหนักมือ และภาพถ่ายที่ได้พบว่าโครโมโซมมีขนาดเล็กติดสีชัดเจน แต่มีบางแท่งของโครโมโซมที่ซ้อนทับกันจึงต้องอาศัยเทคนิคในการปรับโฟกัสของกล้องจุลทรรศน์เพื่อช่วยในการนับโดยใช้แสงประมาณ 5-7 เนื่องจากถ้าใช้แสงต่ำหรือสูงกว่านี้จะทำให้เห็นโครโมโซมไม่ชัดเจน และในการเตรียมสไลด์ต้องไล่ฟองอากาศออกให้หมดก่อนทำการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์

ในการทดลองนับจำนวนโครโมโซมปลายรากบัวหลวงทั้ง 5 พันธุ์ คือ บุณฑริก ปทุม สัตตบงกช แหลมแก้ว และพันธุ์ลูกผสม รากที่มีใช้ต้องมีสุขภาพดีสดมีสีขาว ตัดปลายรากยาวประมาณ 1 ซม. แช่ในน้ำยา 0.002M 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อหยุดวงชีพ จากนั้นนำไป fixative (alcohol 95 % : acetic acid ; 3:1) เป็นเวลา 5 นาที แช่ต่อใน 1N HCl 5 นาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เซลล์รากจะนิ่มขึ้น แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด ถ้าจะนำมาศึกษาก็นำรากขึ้นมาจากน้ำ วางปลายรากบนแผ่นสไลด์ตัดบริเวณปลายราก 0.3-0.5 ซม. ย้อมด้วยสี acetocarmine 2-3 หยด หรือแช่รากในสีย้อมเป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง โครโมโซมจะติดสีดีขึ้น ปิดสไลด์ด้วยกระจกปิดสไลด์และเคาะเบาๆ ด้วยปลายดินสอหรือใช้วิธี squash technique ศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย1000เท่าพบว่าบัวหลวงทั้ง 5 พันธุ์มีโครโมโซมเท่ากันคือ 2n = 16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กสิน สุวดะพันธุ์.2530. **บัวนานาพันธุ์ : พฤกษชาติ (1).โรงพิมพ์รุ่งเรือง, กรุงเทพฯ**

คณิตา เลขะกุล. 2536. **บัว ราชินีแห่งไม้น้ำ: มูลนิธิสวนหลวง ร.9 . ด่านสุทธาการพิมพ์, กรุงเทพฯ**

จารีย์ หอยทอง.2519. **การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของบัวบางชนิดในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ.**

ฉพพร ดำรงศิริ . 2530. **พฤกษนุกรมวิธาน.** ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง , กรุงเทพฯ.

ดิเรก ตนพยอม. 2537. " ผลของจำนวนชุดโครโมโซมต่อลักษณะสัณฐานวิทยาของเยอบีร่า " . วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิตย์ศรี แสงเดือน. 2541. **พันธุศาสตร์พืช.** ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพฯ.

ปกขวัญ หุตางกูร,บุศบรรณ ณ สงขลา และสุมิตรา คงชื่นสิน. 2530. " การตรวจสอบจำนวนโครโมโซมใน *Ocium* spp.บางชนิดเพื่อการศึกษาทางอนุกรมวิธาน ". **รวมผลงานวิชาการสัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 5** . มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, หาดใหญ่.

ประวัติ สมเป็น. 2526. "โครโมโซมของปลายรากกล้วย ". วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ผ่องพรรณ จรัสจินดารัตน์ ,วีรินทร์ อันทะแยก เละอดุมลักษณ์ นิลศิริ . 2538. **งานวิจัยเรื่องจำนวนโครโมโซมมะตูม.** วิทยาลัยเกษตรมหาสารคาม.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2536. **พันธุศาสตร์.** ไทยวัฒนาพาณิช, กรุงเทพฯ.

วาสนา มิตรานนท์. 2527. "การศึกษาลักษณะของพฤกษาศาสตร์ของสกุลบัวหลวง(*Nelumbo* Adans.)ในประเทศไทย ".วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิสุทธิ์ ใบไม้. 2536. **พันธุศาสตร์.** เจ้าพระยาการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

ศิริพร หาญนันทวิวัฒน์ และฉันทนา สุวรรณธาดา. 2540. " การศึกษาโครโมโซมว่านมหาลาภ ". **วารสารเกษตร, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.**

ศิริศักดิ์ สุนทรยาตร. 2542. " ผลของรังสีต่อการกลายพันธุ์ของบัวหลวงพันธุ์สัตตบุษย์ในสภาพปลอดเชื้อ ". วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน , สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สมพล จันทรจุลเจิม. 2532. " การปลูกบัวและดูแลรักษา ". **ข่าวสารไม้ประดับ ปีที่** 14(16);13-16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมสุข มัจฉาชีพ. 2536. **ไม้ดอกไม้ประดับ.** แพร่วิทยา, กรุงเทพฯ.

สาริณี ไชยเจริญ. 2537. **"การศึกษาจำนวนโครโมโซม ลักษณะดอกและความสมบูรณ์ในการสืบพันธุ์ของกล้วยไม้หวาย" วารสารเกษตร(วิทย)** 29: 150-157 , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุณิสา สุนะรินทร์, ดำเนิน กาละดี และฉันทนา สุวรรณธาดา. 2543 . **" สัณฐานวิทยาของโครโมโซมข้าว 5 พันธุ์ ". วารสารเกษตร** 16(1): 46-52.

สุชาดา ศรีเพ็ญ. 2542. **พรรณไม้น้ำในประเทศไทย.** อัมรินทร์พริ้นติ้ง&พลับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ.

เสริมลาภ วสุวัต. 2538. **บัว: ไม้ดอกไม้ประดับ.** อัมรินทร์พริ้นติ้ง&พลับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ.

อมรา ดับภิวานนท์. 2540. **พันธุศาสตร์ของเซลล์.** เท็กซ์แอนเจอร์นัลพับลิเคชั่น, กรุงเทพฯ

อัมพิกา ปุนนจิต. 2527. **"ชีววิทยาของดอกและจำนวนโครโมโซมของท้อเก้าพันธุ์".** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุไร จิรมงคลการ. 2542. **พรรณไม้น้ำ.** บ้านและสวน, กรุงเทพฯ.

อุษณีย์ ปักษาศร.2531. **"การศึกษาลักษณะทางชีววิทยาของดอกและจำนวนโครโมโซมของกีวีฟรุต ".** วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Backer, C.A. and R.C. Bakhuizen.1963. **Folra of Java** . Netherland(Groningen): N.V.P. Noodhoff.

Grant ,W.F. 1995. "A chromosome atlas and interspecific- intergenic index for Lotus and tetragonolobus(Fabaceae)". **Journal of Botany** .

Perter J. Russell. 1996. **Genetice Forurth Edition.** Harpercolling College Publishers., New York.

Snustand , D. Peter ,and Michael J . Simmas. 1997. **Priniciples of Genetics : Second edition** . John Wiley Sons,Inc., New York..

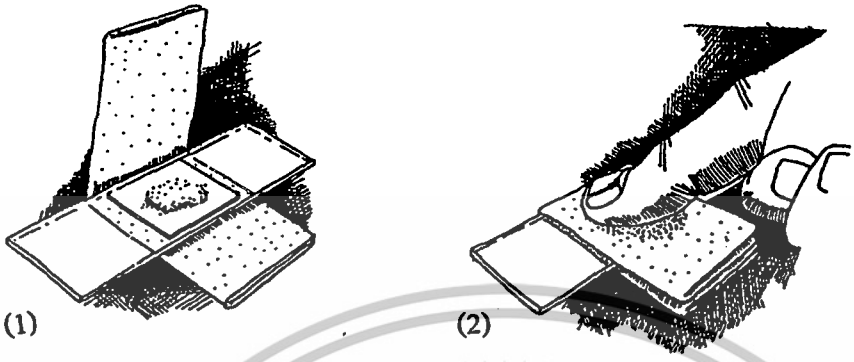
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ภาพที่ ก การแบ่งเซลล์ระยะ mitosis ของปลายรากหอม : (a) Interphase; (b) Prophase; (c) Metaphase; (d) Anaphase; (e) Telophase

ที่มา : Peter J. Russell. 1996.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ข แสดงวิธีทำ squash technique : (1) วางกระดาษซับบริเวณส่วนเหนือและใต้ของสไลด์
(2) ใช้นิ้วหัวแม่มือกดแรงพอประมาณเพื่อให้เซลล์กระจายออก

ที่มา : อมรา คัมภิวานนท์.2540.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้