ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี
ภาควิชา พืชสวน

เรื่อง

การศึกษาจำนวนโครโมโซมของดองดึง

The study of chromosome number of *Gloriosa superba* Linn.

โดย

นายสิทธิรัตน์ รัตนคเชนทร์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

.....

อาจารย์กัญจนา แซ่เตียว

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(20/ม.ค./44)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รศ. สมภพ ฐิตะวสันต์)

หัวหน้าภาควิชาพืชสวน

(20/ม.ค./44)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

b11178540

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

การศึกษาจำนวนโครโมโซมของดองดึง

The study of chromosome number of *Gloriosa superba* Linn.

โดย

นายสิทธิรัตน์ รัตนคเชนทร์

เสนอ

ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร

ส/w.
ส7231
เลขหมู่ 2543
เลขทะเบียน 41680
วัน, เดือน, ปี 27 ก.พ. 2545

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

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง	:	การศึกษาจำนวนโครโมโซมของดองดึง
โดย	:	นายสิทธิรัตน์ รัตนคเชนทร์
สาขาวิชา	:	พืชสวน
ภาควิชา	:	พืชสวน
คณะ	:	เทคโนโลยีการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษา	:	อาจารย์กัญจนา แซ่เตียว

บทคัดย่อ

การศึกษาโครโมโซมของดองดึงจากเซลล์ปลายราก ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่าง คือ ช่วงเวลา 8.00-8.30 น. ตัดปลายรากยาวประมาณ 1 ซม. หยุดวงชีพเซลล์โดยแช่ในสารละลาย 8 – hydroxyquinoline นาน 4 –6 ชั่วโมง รักษาสภาพเซลล์โดยแช่ในสารละลาย alcohol : aectic acid ในอัตราส่วน 3:1 นานประมาณ 5 นาที การย่อยสลาย (Macerating fluid) แช่ในสารละลาย 1 M HCl ที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที โดยใช้สีย้อม aceto-carmine นานประมาณ 5 –10 นาที จากการศึกษาโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากของดองดึงมีจำนวนโครโมโซม $2n = 22$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	:	The study of chromosome number of *Gloriosa superba* Linn.
By	:	Mr. Sittirat rattanakachan
Major	:	Horticulture
Department	:	Horticulture
Faculty	:	Agricultural Technology
Advisor	:	Miss Kanjana Saetiew

Abstract

Somatic chromosome investigation of *Gloriosa superba* Linn. from root tip tissue. The suitable time root tip samples were taken at 8.00-8.30 am. Cut root tip sample about 1 centimeter. The tissue was pretreated in 8-hydroxyquinoline for 4-6 hour. Fixation in alcohol solution : acetic acid ratio 3:1 for 5 minute. Maceration in 1 M HCl at 60 ^{0} C for 5 minute. The tissue were then stained in acetocarmine for 5-10 minute. The result showed the chromosome number 2n=22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับการสนับสนุนช่วยเหลือจากหลายฝ่ายด้วยกัน อาจารย์กัญจนา แซ่เตียว เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ซึ่งช่วยกรุณาให้คำแนะนำปรึกษาตลอดจนการตรวจสอบแก้ไข จนการทดลองสำเร็จไปได้ด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ช่วยเหลือในเรื่องต่างๆ ทั้งทรัพย์สินเงินทองที่ส่งเสียให้เล่าเรียน และขอบคุณเพื่อนๆ ที่ช่วยเหลือด้านข้อมูลต่างๆจนทำให้การทดลองนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

สิทธิรัตน์ รัตนคเชนทร์

มีนาคม 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

การศึกษาโครโมโซมของพืช เป็นสิ่งที่กำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืชซึ่งในที่นี้เป็นการศึกษาโครโมโซมของดองดึง ดองดึงเป็นพืชที่ดอกมี สี สรรสวยงามและจัดเป็นพืชสมุนไพรอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งส่วนต่างๆของดองดึงยังมีสรรพคุณในการรักษาโรค จากประโยชน์ของดองดึงในหลายๆด้าน จึงควรที่จะได้รับการพัฒนาเทคโนโลยี โดยเฉพาะทางด้านผลผลิต และคุณภาพ ซึ่งในปัจจุบันกำลังได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก รวมทั้งในตอนนี้มีผู้สนใจในไม้ดอกชนิดนี้มากขึ้น มีทั้งการสั่งนำเข้าดอกดองดึงเพื่อนำมาจัดกระเช้ารวมกับดอกไม่ชนิดอื่นๆ และในอนาคตดองดึงอาจจะเป็นไม้ดัดดอกที่สำคัญ ซึ่งการศึกษาโครโมโซมของดองดึงนี้ จึงเป็นแนวทางสำคัญในการวิจัยเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

สิทธิรัตน์ รัตนคเชนทร์

มีนาคม 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

บทคัดย่อ

Abstract

สารบัญตาราง (ก)

สารบัญภาพ (ข)

ตรวจเอกสาร 1

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 2

การศึกษาการแบ่งเซลล์แบบ mitosis 6

การศึกษาระยะต่างๆของการแบ่งเซลล์โดยใช้วิธี squashing 8

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 13

อุปกรณ์และวิธีทำการทดลอง 16

การบันทึกผลการทดลอง 18

ผลการทดลอง 19

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 25

เอกสารอ้างอิง 26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 แสดงเวลาที่เหมาะสมและจำนวนโครโมโซมที่นับได้ 20
ตารางที่ 2 แสดงเวลาที่เหมาะสมและจำนวนโครโมโซมที่นับได้ 21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 แสดงเวลาที่เหมาะสมและจำนวนโครโมโซมที่นับได้ 20
ตารางที่ 2 แสดงเวลาที่เหมาะสมและจำนวนโครโมโซมที่นับได้ 21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ 1 Somatic chromosome *Gloriosa superba* Linn. 22
ภาพที่ 2 Somatic chromosome *Gloriosa superba* Linn. 22
ภาพที่ 3 Somatic chromosome *Gloriosa superba* Linn. 23
ภาพที่ 4 Somatic chromosome *Gloriosa superba* Linn. 23
ภาพที่ 5 Somatic chromosome *Gloriosa superba* Linn. 24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

ชื่อวิทยาศาสตร์	*Gloriosa superba* Linn.
วงศ์	LILIACEAE
ชื่อสามัญ	ก้ามปู (ชัยนาท)
	คมขวาน บ้องขวาน หัวขวาน (ชลบุรี)
	พันมหา (โคราช)
	ดองดึง ดองดึงส์ ว่านก้ามปู (ภาคกลาง)
	มะขาโก้ง (ภาคเหนือ)
	Climbing lily, Flame lily, Gloriosa lily, Glory lily,
	Creeping lily, Turk's cup
ถิ่นกำเนิด	เอเชียเขตร้อน อินเดีย และอาฟริกา

ในประเทศไทยพบชนิด *Gloriosa superba* อยู่ทั่วไปตามที่ราบชายทะเล พบมากทางภาคใต้และภาคตะวันออก พบประปรายทางสระบุรี เชียงใหม่ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ดองดึงเจริญเติบโตได้ดีในดินร่วนปนทรายโดยเฉพาะในดินที่มีการระบายน้ำดี ขึ้นได้ดีทั้งในที่ร่ม แดดรำไร หรือในที่แจ้ง ที่ระดับน้ำทะเลปานกลางไปจนถึงระดับสูงกว่าน้ำทะเล 1,500-3,000 เมตร การขยายพันธุ์ของดองดึงจะใช้เมล็ดหรือหัวใต้ดินก็ได้

ประโยชน์ของดองดึงจะเกี่ยวข้องกับการรักษาโรคเพราะดองดึงมีคุณสมบัติเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งของไทย หัวใต้ดินและเมล็ด มีสารจำพวกอัลคาลอยด์ ชื่อ colchicine , superbine gloriosine, methlcolchicine ฯลฯ เฉพาะ colchicine ใช้ในยาแผนปัจจุบัน แก้โรคปวดข้อ และฆ่าเซลล์มะเร็งบางชนิด ยาพื้นบ้าน แก้โรคเรื้อน คุดทะราด บาดแผล แก้เสมหะ ฝนทาแก้พิษสัตว์กัดต่อย ให้สัตว์กินเพื่อถ่ายพยาธิ ส่วนโทษของดองดึงก็มีถ้ารับประทานมากอาจจะคลื่นไส้ อาเจียน และอาจถึงตายได้

(นันทิรา,2533) ดองดึงเป็นพืชล้มลุกประเภทไม้เลื้อย มีลำต้นใต้ดินรูปทรงกระบอกยาว อวบน้ำ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.5-2.0 เซนติเมตร หัวเป็นชนิด tuber หัวดองดึงจะเจริญออกไปสองข้าง มีลักษณะคล้ายรูปตัวแอล ข้างหนึ่งสั้นข้างหนึ่งยาว บางครั้งพบว่าความยาวใกล้เคียงกัน หัวใต้ดินมีจุดเจริญ 2 จุด อยู่ตรงปลายทั้งสองด้านของหัว ซึ่งเป็นจุดกำเนิดต้นใหม่ เมื่อพ้นระยะพักตัวจุดเจริญดังกล่าวจะเจริญขึ้นไปเป็นลำต้นเหนือดินเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม ถ้าจุดเจริญดังกล่าวหักหรือหลุดไป หัวดองดึงจะไม่งอกและไม่สามารถใช้ขยายพันธุ์ต่อไปได้อีก ในระยะที่มีการงอกส่วนปลายใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านจะมีการพัฒนาแบ่งเซลล์ดันออกมาภายนอกทำให้เห็นเป็นตุ่มสีขาวและจะพัฒนาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น ต้นที่เกิดใหม่เหนือพื้นดินจะมีข้อปล้องเห็นเด่นชัด มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร สูงประมาณ 1-3 เมตร มีการแตกกิ่งก้านสาขา ปกติแล้วมีประมาณ 3-5 แขนง และแขนงจะเกิดขึ้นเมื่อต้นมีความสูงประมาณ 75-100 เซนติเมตร

ราก ใช้ในการหาอาหารและน้ำ มีลักษณะเป็นรากฝอยเกิดขึ้นที่โคนของลำต้นตรงจุดกำเนิดเหนือหัวเก่า รากนี้จะแผ่กระจาย และสลายตัวไปเมื่อลำต้นเหนือพื้นดินเหี่ยวแห้งตายไป

หัว เป็นส่วนของลำต้นที่เปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เก็บสะสมอาหารและขยายพันธุ์มีลักษณะรูปตัวแอล ข้างหนึ่งสั้นข้างหนึ่งยาว มีจุดเจริญ 2 จุดที่ปลายหัวทั้งสองด้าน หัวด้านยาวจะงอกเร็วกว่าด้านสั้น บางครั้งพบว่าหัวงอกออกมาเป็น 3-4 แง่ง หัวใหม่ที่เกิดขึ้นจะมีสีขาว เจริญทันทีที่ต้นใหม่เริ่มงอกอยู่บริเวณเหนือหัวเก่าเหนือจุดกำเนิดราก เมื่อลำต้นเหนือพื้นดินเหี่ยวเฉาจนตายจะทิ้งร่องรอยของลำต้นที่สร้างหัวไว้ หัวใหม่ที่เกิดขึ้นก็จะพักตัว ผิวเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลส่วนหัวเก่าจะแห้งตายไปทิ้งร่องรอยที่ต่อเชื่อมกับหัวเก่าที่แห้งและหลุดออกจากหัวใหม่

ใบ ดองดึงเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ใบจริงมีลักษณะรูปใบหอก ออกที่ข้อของลำต้นข้อละ 1-3 ใบ มีการจัดเรียงของใบแบบสลับ แบบตรงข้ามกันหรือแบบวนรอบ (Spiral) ข้อใดที่มีดอกจะมีเพียงใบเดียว ถ้าลำต้นมีการแตกแขนงใบจะมีการจัดเรียงแบบ whole มี 3 ใบ ความยาวของใบประมาณ 5-20 เซนติเมตร กว้าง 2-4 เซนติเมตร ไม่มีก้านใบ(sessile leaf) ไม่มีกาบหุ้มใบ (leaf sheath) ใบมีสีเขียวเป็นมัน มีเส้นกลางใบเห็นชัดเจน (วิทย์, 2530) ฐานใบกว้างแล้วเรียวยาวขึ้นปลายใบเปลี่ยนรูปไปเป็นมือเกาะ (tendril) ทำหน้าที่ยึดเกาะพยุงลำต้นให้เลื้อยไปตามยอดหญ้าหรือพุ่มไม่เล็กๆ (ปริทรรศน์ และคณะ, 2529)

ปล้อง (Internode) มีความยาวประมาณ 5-8 เซนติเมตร ความยาวปล้องนับจากในแรกถึงจุดที่เริ่มแตกแขนง จะมีความยาวปล้องยาวสลับสั้น

ดอก ดอกของดองดึงมีสีสรรแปลกตา เป็นดอกเดี่ยว มีขนาดใหญ่ห้อยแขวนจากก้านดอกที่ยาวและแข็งแรงออกตามซอกใบ (Leaf axil) เมื่อดอกตูมกลีบดอกจะมีสีเขียวรูปร่างคล้ายกระดิ่ง กลีบดอก (perianth)มี 6 กลีบ ไม่ซ้อนกัน ค่อนข้างแข็ง ลักษณะของกลีบดอก ปลายจะเรียวแหลม ขอบกลีบพริ้วเป็นคลื่น ขณะที่ดอกออกใหม่ๆกลีบดอกจะมีสีเขียวอ่อนๆ แล้วจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ต่อมาปลายกลีบเริ่มมีสีแดงและค่อยๆเข้มขึ้นจนเป็นสีแดงเข้ม ส่วนโคนกลีบดอกและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขอบกลีบเป็นสีเหลืองเมื่อดอกบาน กลีบดอกเวลาบานจะค่อยๆยกลู่ไปทางด้านหลังจนกระทั่งปลายกลีบเกือบจรดกัน จากนั้นกลีบดอกจะค่อยๆงุ้มกลับลงมาอยู่ในแนวระนาบจนกระทั่งเหี่ยวไป ขณะที่ดอกแสดงอาการงุ้มกลับนั้นกลีบดอกจะเริ่มมีสีแดงแผ่ลามไปยังบริเวณโคนกลีบที่มีสีเหลืองเรื่อยๆ จนกระทั่งกลีบดอกเปลี่ยนเป็นสีแดงทั้งหมด (Swarup,1967) ดอกดองดึงมีเกสรตัวผู้ (stamen) 6 อัน ทั้งหมดกางเกือบขนานกับพื้นเมื่อดอกบาน มีก้านชูเกสรตัวผู้ (filament) ที่มีปลายติดตรงกลางของอับเรณู (anther) ทำให้อับเรณูหมุนไปมาได้ (versatile anther) อับเรณูมีลักษณะรูปทรงยาวรี กว้าง 1-2 มิลลิเมตร ยาว 1 เซนติเมตร เกสรตัวเมีย (pistil) อยู่ตรงกลางของดอกมีก้านเกสรตัวเมีย (style) ยาวประมาณ 4-5 เซนติเมตร แยกเป็น 3 แฉกที่ปลายโคนตรงจุดรอยต่อของรังไข่ จะพับตั้งฉากกับรังไข่ (ovary) ตำแหน่งของรังไข่เป็นแบบ superior ovary คือมีรังไข่อยู่เหนือส่วนต่างๆของดอก รังไข่มี 3 ห้อง (locules) แต่ละห้องจะมีไข่ (ovule) จำนวนมาก ภายในรังไข่นั้นไข่จะติดกับรังไข่แบบ axile placenta (De Silva, 1945) ดอกได้รับการผสมเกสรแล้วจะติดฝัก (ผล)

ผล ลักษณะผลเป็นแคปซูล (capsule) มี 3 พู หรือ 3 กระเปาะ ยาวประมาณ 4-7 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 2-2.5 ซ.ม. แต่ละพูมีเมล็ดจำนวนมาก ลักษณะของผลเป็นแบบ septicidal capsule แตกตามรอยเชื่อมประสานของเยื่อกั้น carpel ผลรูปไข่ สีเขียวเป็นมัน เมื่อแก่จะมีสีน้ำตาล ผลแก่เมื่อมีสีน้ำตาลผิวของผลย่นและจะแตกออกตามแนวยาวทำให้เมล็ดร่วงออก

เมล็ด มีลักษณะกลม มี 30-50 เมล็ดใน 1 ฝัก เมล็ดเมื่อยังอ่อนจะมีสีขาวและค่อยๆเปลี่ยนเป็นสีส้ม เมื่อสุกแก่เต็มที่จะเป็นสีแดงสด เมล็ดมีสีส้มแดงลักษณะเมล็ดเป็นทรงกลมขนาด 2-3 มิลลิเมตร มีเนื้อหนาหุ้ม ถ้าเมล็ดอ่อนอยู่จะมีสีขาวฉ่ำน้ำ

ลักษณะทางกายวิภาค

Baijnath (1988) ทำการศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของใบดองดึงโดยเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่นในวงค์เดียวกัน เช่น *Sandersonia aurantiaca* , *Littonia modesta* และ *Hexacyrtis dickiana* ลักษณะที่ศึกษาได้แก่ wax layer , cuticle , outer epidermal wall การปรากฏและไม่ปรากฏชั้นของ hypodermis และการกระจายตัวของ vascular bundles เป็นเครื่องมือในการตัดสินความแตกต่าง

Vaikos and Pai (1986) ทำการศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของดอกดองดึง เปรียบเทียบความใกล้ชิดกันกับ *Tricrytis* sp. โดยพืชทั้งสองชนิดนี้มี tepals อยู่ 3 traced และ extrorse stamens มี 1 traced แนวการติดกันของรังไข่เป็นแบบ parietal ที่ฐานของ tepal ทั้ง 6 อันของดอกดองดึง และ outer tepals ของ *Tricrytis* เป็นต่อมน้ำหวานที่มีลักษณะเหมือนกัน คือเป็นพวง หรือเป็นถุง การเพิ่มสาขาของ traced ที่ฐานของ outer tepals ใน *Tricrytis* และ tepal ทั้ง 2 วงของดอกดึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีความใกล้ชิดกันในเรื่องการพัฒนาของต่อมน้ำหวาน จากการศึกษาของพืชทั้งสองสกุลพบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด (พรพรหม ,2535)

การขยายพันธุ์

การขยายพันธุ์ของดองดึงนั้นทำได้โดยการขยายพันธุ์จากเมล็ดและหัวใต้ดิน แต่การขยายพันธุ์จากเมล็ดมักประสบปัญหาที่เมล็ดงอกช้าและไม่สม่ำเสมอ ดังนั้นจึงต้องกระตุ้นการงอกของเมล็ดก่อนนำไปเพาะ โดยการแช่เมล็ดดองดึงในน้ำที่อุณหภูมิ 50° C นาน 2 ชั่วโมงแล้วลอกเอาเนื้อหุ้มเมล็ดออกก่อนเพาะ จะช่วยให้เมล็ดงอกได้เร็วขึ้น โดยมีเปอร์เซ็นการงอกของเมล็ด 81.5 ในขณะที่วิธีอื่นๆได้แก่ การแช่เมล็ดในน้ำไหล อบเมล็ดด้วยความร้อนชื้น 50° C นาน 2 ชั่วโมง แช่เมล็ดในน้ำที่อุณหภูมิห้องมีเปอร์เซ็นการงอกเพียง 25 , 20 และ 3.5 เปอร์เซ็นตามลำดับ หรือแม้แต่การใช้สารละลาย KNO_3 Thourea BA ในอัตราความเข้มข้นต่างๆกันก็ให้เปอร์เซ็นการงอกที่ต่ำมาก (มาน์ศรี , 2531)

นอกจากนี้การเพาะจากเมล็ดต้องใช้ระยะเวลานานกว่าจะได้หัวที่สามารถให้ดอกและผลผลิต (เมล็ด) โดยอัตราในการเพิ่มขนาดจากเมล็ดไปเป็นหัวที่ให้ผลผลิตได้ใช้เวลานานถึง 4 ปี ทั้งนี้เนื่องจากในสภาพธรรมชาติ ดองดึงมีการเจริญเติบโตเพียงปีละครั้งคือในช่วงฤดูฝน พอถึงฤดูแล้งหัวใต้ดินก็จะพักตัว และจะเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ในฤดูฝนในปีถัดไป และดองดึงมีอัตราการขยายพันธุ์จากหัวไม่เกิน 2 เท่าของจำนวนต้นที่เจริญเติบโตได้ในปีก่อนๆ เนื่องจากแต่ละหัวมีจุดเจริญเพียง 2 จุดเท่านั้น

วิธีการขยายพันธุ์ดองดึงทำได้หลายวิธี (กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช ,2542)

1. *การเพาะเมล็ด* เมล็ดของดองดึงจะเกิดจากการผสมเกสร โดยส่วนใหญ่จะผสมข้ามดอกหรือข้ามต้นก็ได้พบว่าดอกดองดึงจะมีการผสมเกสรในช่วง9.00-12.00น.(สุมิตราและพรทิพย์,2533) โดยปกติการปลูกดองดึงในแปลงใหญ่จะปล่อยให้มีการถ่ายละอองเกสรตามธรรมชาติดองดึงที่ปลูกด้วยเหง้าขนาดใกล้เคียงกันจะมีการเจริญเติบโตของต้น และการทะยอยออกดอกใกล้เคียงกัน จึงทำให้การถ่ายละอองเกสรมีมาก การติดฝักตลอดจนการให้เมล็ด จะมากกว่าแปลงที่ใช้เหง้าขนาดต่างกันปลูก ส่วนการปลูกในแปลงย่อย หรือในกระถางสามารถช่วยผสมเกสรได้ โดยช่วยผสมในดอกที่บานในช่วงเช้า จะใช้ไม้จิ้มฟันที่สะอาดขูดละอองเกสรของต้นพ่อพันธุ์มาแตะที่ปลายยอดเกสรตัวเมียทำทุกดอกจนครบ หลังจากนั้นสังเกตดูการติดฝักการให้ผลผลิตซึ่งจะสังเกตเห็นชัดในช่วง 1 เดือนหลังจากการผสมเกสร และจากช่วงติดฝักถึงฝักแก่พร้อมเก็บเกี่ยวได้ จะใช้เวลาประมาณ 55 วัน (สมสุข, 2541)

การเพาะเมล็ด ควรผึ่งเมล็ดในที่ร่มประมาณ 3 เดือน เพื่อให้เมล็ดพ้นจากระยะพักตัว และก่อนเพาะเมล็ดควรแช่เมล็ดในน้ำประมาณ 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงสงเมล็ดขึ้นจากน้ำ แล้วนำไปขัดด้วยทรายหยาบจนเปลือกหุ้มเมล็ดหลุด(เมล็ดที่ขัดแล้วจะมีสีขาว) แล้วจึงนำเมล็ดไปเพาะในกะบะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรจุทรายผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 โดยให้เมล็ดจมในวัสดุปลูกประมาณ 1 ซม. เพาะประมาณ 7-10 วัน เมล็ดจะเริ่มงอก เจริญเติบโตและสร้างเหง้าในช่วงแรกจะใช้เวลาประมาณ 6-8 เดือน (ขึ้นอยู่กับการให้น้ำ ถ้าให้น้ำมากดองดึงจะเจริญจนถึง 8 เดือน จึงเก็บเกี่ยวเหง้าได้) ปกติการปลูกดองดึงจากเมล็ดในช่วงแรกจะได้เหง้า นำเหง้านี้ไปปลูก 2-3 ครั้งซึ่งจะใช้เวลาประมาณ2-3ปี ดองดึงจึงจะให้ช่อดอกและผลิตเหง้าพันธุ์ได้ (เกศรินทร์ , 2526)

2. *การแยกเหง้า* การแยกเหง้าเป็นวิธีที่นิยมใช้มากกว่าการเพาะเมล็ด เพราะให้ดอกเร็วกว่า ต้นที่ได้ก็จะมีลักษณะคงเดิมเหมือนต้นแม่พันธุ์ และเป็นการประหยัดท่อนพันธุ์ที่ใช้ เนื่องจากดองดึงมีจุดเจริญสองจุดอยู่ตรงปลายทั้งสองด้านของเหง้า ซึ่งมีลักษณะเป็นตุ่มสีขาวๆ ถ้าตุ่มนี้หักหรือหลุดไปเหง้านี้จะไม่งอกอีก และจะใช้ส่วนนี้ขยายพันธุ์อีกไม่ได้ ก่อนปลูกนำเหง้าที่มีจุดเจริญนี้มาตัดแบ่งโดยจะตัดตรงรอยแยกของแง่ง หรือจะตัดห่างจากจุดเจริญ 3 นิ้วก็ได้ เมื่อตัดแบ่งเหง้าแล้วควรใช้ปูนแดงทาปิดปากแผล เพื่อกันเชื้อราไม่ให้เข้าทำลายบริเวณปากแผล แล้วจึงนำไปปลูกในหลุมลึก 5 ซม. โดยวางเหง้าในแนวราบกับดินให้จุดเจริญอยู่ด้านบน แล้วจึงใช้ดินกลบ รดน้ำให้ชุ่มหลังจากนั้นประมาณ 9-10 วัน ลำต้นใต้ดินของดองดึงจึงโผล่พ้นดิน การขยายพันธุ์วิธีนี้จะใช้ 1 เหง้าปลูกได้ 2 ต้น ดองดึงจะให้ดอกภายใน 2-3 เดือน และดอกจะทะยอยบานติดต่อกันประมาณ 2-3 เดือนเช่นกัน การปลูกวิธีนี้นับจากการปลูกจนถึงติดฝักและเก็บเกี่ยวจะใช้เวลาประมาณ 7 เดือน

3. *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ* เป็นวิธีการเพิ่มปริมาณต้นพืชให้มากในเวลาอันสั้น และส่วนที่ใช้ขยายพันธุ์วิธีนี้ก็คือ ส่วนที่จะเป็นจุดเจริญ ละอองเกสร รังไข่และเมล็ด โดยนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige และ Skoog (1962) ที่ดัดแปลงโดยเติมฮอร์โมนเร่งราก และเร่งการเจริญเติบโต การขยายพันธุ์โดยวิธีนี้จะได้ต้นพืชจำนวนมากและเมื่อนำต้นกล้าไปปลูกในเรือนเพาะชำ ต้นกล้าเหล่านี้จะใช้เวลาประมาณ 2 ปี จึงจะให้ดอก และหัวพันธุ์ได้ (เกศรินทร์ , 2526)

สรรพคุณทางด้านสมุนไพร

หัว รสร้อนเมา แก้โรคเรื้อน คุดทะราด แก้โรคปวดข้อ(gout) แก้กามโรค แก้พิษแมลงสัตว์กัดต่อย ขับผายลม มีสารที่รักษาโรคมะเร็งได้ หัวสด

<u>ตำพอกหรือทา</u> แก้ปวดข้อ แก้พิษแมลงสัตว์กัดต่อย

<u>ตำผสมทำยาประคบ</u> แก้ปวดข้อ แก้ปวดเมื่อยตามกล้ามเนื้อ แก้ข้ออักเสบฟกบวม

<u>หัวแห้ง</u> ปรุงเป็นยารับประทาน รักษาโรคเรื้อน มะเร็งคุดทะราด โรคปวดข้อ แก้กามโรค ขับภายลม จะต้องใช้ในปริมาณน้อย ถ้าเกินขนาดอาจเกิดพิษได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ราก รสร้อนเมา แก้ลมจุกเสียด แก้เสมหะ ทาแก้โรคผิวหนัง แก้ปวดข้อ

ตำพอกหรือทา แก้โรคผิวหนัง เรื้อน มะเร็ง คุดทะราด แก้ปวดข้อ

ต้มดื่ม แก้จุกเสียด แก้เสมหะ แก้ปวดข้อ แก้โรคผิวหนัง ต้องใช้ปริมาณน้อย และเจือจางถ้าเข้มข้นเกินไปอาจเกิดพิษถึงตายได้

การศึกษาการแบ่งเซลล์แบบ Mitosis

mitosis เป็นการเพิ่มจำนวนเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทั้งหลาย โดยเซลล์ใหม่ที่ได้จะมี โครงสร้างทางพันธุกรรมและระดับโครโมโซมเหมือนกับเซลล์เดิมทุกประการ เว้นแต่ในกรณีที่เกิดการกลายพันธุ์ขึ้นแบ่งระยะของการแบ่งเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนออกกได้เป็น 2 ระยะใหญ่ๆได้ดังนี้(อดิศร,2539)

1. **Interphase** เป็นระยะการแบ่งเซลล์ที่ยาวที่สุด ประมาณ 90 % ของระยะการแบ่งเซลล์ทั้งหมด ยกเว้นในเอมบริโอบางชนิด เนื่องจากว่ามีระยะที่ยาวนานจึงทำให้พบเซลล์ในระยะอินเตอร์เฟสนี้ได้มาก เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ระยะเวลาของการแบ่งเซลล์ทั้งหมดจะแปรผันไปตามชนิดของสิ่งมีชีวิต ซึ่งส่วนใหญ่ก็เนื่องมาจากความสั้นยาวของระยะอินเตอร์เฟสนั่นเอง ระยะเวลาของรอบการแบ่งเซลล์จะสั้น ในสิ่งมีชีวิตที่มีนิวเคลียสขนาดเล็ก ในเอมบริโอและในเนื้อเยื่อเจริญทั้งหลาย

ในพืชนั้นพวกที่เป็น diploid ระยะเวลาของรอบการแบ่งเซลล์จะเพิ่มขึ้นเมื่อเซลล์มีปริมาณ DNA เพิ่มมากขึ้น และสำหรับในปริมาณ DNA หนึ่งๆ นั้น พวก dicotyledons, พวกที่เป็น annuals และพวกที่มีระดับโครโมโซมเป็น diploid จะมีระยะเวลาของรอบการแบ่งเซลล์สั้นกว่าในพวก monocotyledons พวกที่เป็น perennials และพวกที่มีระดับโครโมโซมเป็น polyploids นั่นก็คือ พวก annual ที่มีอายุสั้นๆและมี nucleus ขนาดเล็กจะมีรอบของการแบ่งเซลล์สั้นที่สุด และจะยาวที่สุดในพวกที่เป็น perennials ที่มี nucleus ขนาดใหญ่

ในเซลล์ต่างๆ จากปลายรากอันเดียวกันอาจจะมีความแตกต่างกันเป็นอย่างมากในด้านระยะของการแบ่งเซลล์ ถึงแม้ว่าจะอยู่ห่างกันเพียงไม่กี่ไมครอน และมีข้อมูลบางอย่างที่ชี้ให้เห็นว่าไซโตพลาสซึมมีส่วนควบคุมการแบ่งเซลล์

Interphase เป็นระยะการแบ่งเซลล์ที่มีความสำคัญ เนื่องจากว่าเป็นระยะที่เกิด DNA replication ขึ้น ซึ่งแบ่งออกเป็นระยะย่อยได้ 3 ระยะ

- (G_1) คือระยะการเจริญของเซลล์ก่อน DNA synthesis
- (S) คือระยะการเกิด DNA synthesis
- (G_2) คือระยะการเจริญของเซลล์หลังจากการเกิด DNA synthesis

2. **Mitosis** เป็นระยะของการเกิดการแบ่งเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครโมโซม(Chorosome) ประกอบด้วย (ไพศาล,2535) กรดนิวคลีอิคพวก DNA (deoxyribonucleic acid) และโปรตีนพวกฮิสโตน (histone) และโปรตามีน(protamine) ฮิสโตนนั้นอาจพบโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตทั่วๆ ไป ส่วนโปรตามีนจะพบในโครโมโซมของสัตว์จำพวกนก ในขณะที่นิวเคลียสแบ่งตัวในระยะ metaphaseหรือ anaphase นั้นโครโมโซมมีขนาดใหญ่และหดสั้น และสามารถส่องเห็นด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา เหตุที่โครโมโซมมีขนาดใหญ่เช่นนี้ก็เพราะว่า มีการพับไปพับมาจนเกิดเป็นเส้นสายขนาดใหญ่นั้นเอง และจากการย้อมโดยใช้สีเคมีพบว่าภายในนิวเคลียสมีร่างแหซึ่งติดทึบอยู่ทั่วไป เรียกส่วนที่เป็นร่างแหว่า โครมาทิน (chromatin) เมื่อเซลล์แบ่งตัว(อมรา,2540) ร่างแหนี้จะปรากฏเป็นเส้นใยเล็กๆ อันเกิดจากการเรียงตัวของท่อเล็กที่เรียกว่า microtubule กลายเป็นเส้นใยยาวเรียกว่า สายสปินเดิล (spimdle fiber) สายสปินเดิลจะมีปลายข้างหนึ่งยึดติดกับเซนทริโอล และปลายอีกข้างหนึ่งยึดเซนโทรเมียร์ (centromere) ของโครโมโซมสายสปินเดิลจะช่วยดึงโครโมโซมให้เคลื่อนตัวได้ในขณะมีการแบ่งเซลล์

สิ่งมีชีวิตซึ่งอยู่ใน species เดียวกัน 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 แต่ละโครโมโซมจะมีรอยคอดติดสีจาง เรียกว่า เซนโทรเมียร์ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการเกาะติดของสายสปินเดิลเพื่อช่วยแยกโครโมโซมออกจากการแบ่งเซลล์ระยะ โครโมโซมจากเซนโทรเมียร์ ไปถึงปลายโครโมโซมข้างใดข้างหนึ่งเรียกว่าแขน(arm)เมื่อสิ้นสุดระยะโพรเฟส จะพบว่าผนังนิวเคลียสเกิดการสลายตัวกลายเป็นส่วนประกอบของเอนโดพลามิคเรติคูลลัม (endoplasmis reticulum) และเริ่มเข้าสู่ระยะแบ่งเซลล์เรียกว่า เมทาเฟส (metaphase)โครโมโซมหดตัวหนาขึ้น สังเกตเห็นโครโมโซม 1 แท่งประกอบด้วยโครมาทิด 2 แท่ง จากนั้นเซนโทเมียร์จะแบ่งตัวเป็นสองแล้วเคลื่อนย้ายไปอยู่คนละเซลล์ พร้อมสร้างสายใยสปินเดิล ระยะนี้มีความสำคัญมาก คือโครโมโซมจะหดสั้นสุด และเป็นระยะที่เหมาะสมอย่างยิ่งในการนำโครโมโซมมาศึกษาทางไซโตจินิติด เช่น นับจำนวน ตรวจดูรูปร่างและนำมาย้อมสีแบบต่างๆ ต่อมาเริ่มเคลื่อนย้ายมาอยู่ตรงกลางของเซลล์เซนโทรเมียร์ของแต่ละโครโมโซมมีการแบ่งครึ่งเพื่อทำการแยกโครมาทิด ระยะต่อมาคือ ระยะแอนาเฟส(anaphase)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครโมโซมแยกออกจากกัน และเคลื่อนย้ายไปอยู่กันคนละขั้วของเซลล์จะปรากฏโครโมโซมแยกเป็น 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับจำนวน diploid ของสปีชีส์นั้นๆ ระยะสุดท้ายของไมโทรซิส คือ เทโลเฟส โครโมโซมที่แยกไปอยู่คนละขั้วเริ่มคลายการหดตัวและขยายยาว เริ่มเห็นผนังนิวเคลียสสร้างขึ้นล้อมแต่ละกลุ่มของโครโมโซม ภายหลังเมื่อมีการแบ่งของนิวเคียสแล้วเริ่มแบ่งไซโตพลาสซึมในเซลล์สัตว์พบว่าผนังเซลล์จะคอดตรงกลางแล้วแยกออกเป็นสองเซลล์ สำหรับเซลล์พืชจะมีการสร้างผนังเซลล์ (cell plate)มีลักษณะเป็นผนังบางกั้นตรงกลางสำหรับเซลล์ ซึ่งเวลาต่อมาจะมีสาร cellulose มาสะสมจนเปลี่ยนสภาพเป็นผนังเซลล์ที่แข็งแรงเรียกว่า cell wall เมื่อสิ้นสุดการแบ่งเซลล์จะได้เซลล์แม่เริ่มต้น 1 เซลล์ แบ่งได้เป็นเซลล์ลูกได้จำนวน 2 เซลล์

ความสนใจในการศึกษาจำนวนโครโมโซม(อมรา,2540) เริ่มมีมาตั้งแต่ต้นศตวรรษที่20 โดยเริ่มจากการศึกษาโครโมโซมพืชและแมลง ผู้ที่สนใจคือ Muller เขาทำการเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมโดยใช้รังสี McClintock เป็นคนแรกทำศึกษาโครโมโซมในระยะการแบ่งเซลล์ ไมโอซิสของข้าวโพด จนได้รับรางวัลโนเบลในปีค.ศ. 1983

การศึกษาระยะต่างๆ ของการแบ่งเซลล์โดยวิธี Squashing (Dyer , 1979)

1. **ตัวอย่างพืช**

เพื่อความสะดวกในการศึกษาเบื้องต้น ควรเลือกใช้พืชที่มีโครโมโซมขนาดใหญ่ และมีจำนวนน้อย เช่น *Vicia fiba* 2n = 12x , *Pisum sativa* 2n = 14 , *Allium cepa* 2n = 16 เป็นต้น

เพาะเมล็ดให้งอกในกระดาษที่ใช้ทดสอบการงอกของเมล็ดหรือวัสดุที่ใกล้เคียงกันเพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อราและบักเตรีที่ติดมากับเมล็ด การนำเมล็ดแช่ใน 10% clorox สลับกับการเขย่าเป็นเวลา 10 นาที ก่อนนำไปเพาะจะช่วยได้มาก เมล็ดที่มีขนาดใหญ่และแข็ง การแช่เมล็ดค้างคืนจะทำให้การงอกเร็วขึ้น ควรเพาะล่วงหน้า 7-10 วันก่อนวันที่ต้องการใช้ ส่วนหอมหัวใหญ่นั้นกระตุ้นการงอกของรากได้โดยการนำไปวางบนวัสดุที่ชื้น เช่น ขี้เถ้าแกลบ ขุยมะพร้าว หรือนำไปวางให้ส่วนล่างๆ ของหัวแช่อยู่ในน้ำ ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 3-5 วัน

หลีกเลี่ยงการเพาะเมล็ดหรือตัวอย่างพืชอื่นๆ ในวัสดุที่มีดิน ทราย เป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย เพราะเมล็ดทรายที่อาจติดมากับรากพืชจะทำให้ cover slip แตกในระหว่างการกด cover slip หรือไม่ก็ต้องแน่ใจก่อนว่าไม่มีเม็ดทรายติดมา

รากพืชที่จะนำมาศึกษาโครโมโซม จะต้องเป็นรากที่กำลังมีการเจริญ โดยจะสังเกตจากรากที่มีสีขาวและปลายรากมีสีขาวขุ่นเล็กน้อย รากที่มีปลายรากสีคล้ำถือว่าเป็นรากที่ไม่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. สารเคมี

2.1 น้ำยาที่ใช้เตรียมเซลล์เพื่อการศึกษาจำนวนโครโมโซมหรือเพื่อการศึกษา Karyotype (Pre-treating agents)

ในการศึกษาจำนวนโครโมโซมหรือการศึกษารูปร่างของโครโมโซมนั้นจำเป็นที่จะต้องใช้สารเคมีบางชนิดที่จะมีผลต่อการยับยั้งการเกิด spindle fibre จะทำให้โครโมโซมซึ่งประกอบขึ้นด้วย 2 โครมาติดไม่ถูกดึงไปแต่ละขั้วของเซลล์ และจะกระจายตัวอยู่ๆ ไปภายในเซลล์ภายหลังจากถูก squash โครโมโซมในระยะดังกล่าวจะหดตัวอย่างเต็มที่ จึงทำให้ง่ายต่อการศึกษาจำนวนและรูปร่างของโครโมโซม

Pre-treating agents ที่สำคัญได้แก่

ก. *Colchicine* ใช้ในรูปของสารละลายที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.01 – 0.2 % w/v colchicine มีลักษณะเป็นผงและจะละลายในน้ำ หลังจากการเตรียมเสร็จแล้วควรเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิไม่ควรสูงกว่า 10 ° C

ข. *8-hydroxyquioline* ใช้ในรูปสารละลายในน้ำที่มีความเข้มข้น 0.002 M (0.29 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร)

ค. *p-dichlorobenzene* ใช้ในรูปของสารละลายอิ่มตัวในน้ำ โดยชั่งสาร 10 กรัมต่อน้ำ 500 ml การแช่สารน้ำไว้ในน้ำค้างคืนโดยใช้ magnetic stirrer จะช่วยทำให้การละลายของสารนี้ดีขึ้น การนำไปตั้งบน hot plate ที่ 60 ° C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก็จะช่วยทำให้สารนี้ละลายได้มากขึ้นเช่นกัน

ง. *α-bromo-naphthalene* ใช้ในรูปสารละลายที่มีความเข้มข้น 1% ที่เตรียมจาก 1 ml α-bromo-naphthalene ใน 100 ml ของ absolute ethanol เป็นเวลาครึ่งชั่วโมง

วิธีการปฏิบัติ

ตัดรากพืชให้มีความยาวประมาณ 1 ซม. แล้วนำไปแช่ในสารละลายดังกล่าวนาน 4-6 ชม. เก็บไว้ในที่มีอุณหภูมิประมาณ 15 ° C และไม่ควรเกิน 18 ° C ในระหว่างนี้รากพืชยังประกอบขึ้นด้วยเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ ดังนั้นเครื่องแก้วที่ใช้จะต้องปราศจากสารเคมีต่างๆ เช่น น้ำยาล้างเครื่องแก้ว ซึ่งอาจจะเป็นอันตรายต่อเซลล์พืช

2.2 น้ำยารักษาสภาพเซลล์ (Fixative)

จุดประสงค์ของการใช้น้ำยาดังกล่าวก็เพื่อที่จะหยุดการทำงานของเซลล์ให้เร็วที่สุด โดยที่เซลล์ดังกล่าวจะต้องมีสภาพเหมือนกับเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ เนื่องจาก fixative ไปมีผลทำให้ protein เกิด denature ขึ้น ดังนั้นอาจมีผลทำให้โครงสร้างของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปได้บ้าง Fixative ที่ใช้ได้ผลดียกตัวอย่างเช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

Acetic-alcohol fixative ประกอบด้วยส่วนผสมของ 1 ส่วนของ glacial acetic acid กับ 3 ส่วนของ absolute ethanol ควรเตรียมน้ำยานี้ก่อนใช้ และให้พอกับการใช้ครั้งๆหนึ่งเท่านั้น เพราะกรดจะทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์กลายเป็น ester

Fixative อื่นๆ เช่นที่ได้แนะนำโดย Dyer (1979) ได้แก่ส่วนผสมของ

absolute ethanol	10 ส่วน
chloroform	2 ส่วน
glacial acetic acid	2 ส่วน
formalin	1 ส่วน
(40% formaldehyde ในน้ำ)	

อย่างไรก็ตามภายหลังจากการใช้น้ำยาชนิดนี้กับตัวอย่างพืชแล้ว ควรล้างตัวอย่างพืชด้วย 70% ethanol ให้สะอาดก่อนการนำตัวอย่างไปแช่ใน 1 M. HCl ซึ่งเป็นขั้นตอนต่อไป เนื่องจากว่า formaldehyde สามารถที่จะทำปฏิกิริยากับไอของ HCl เกิดเป็นสาร bis-chloromethyl ester ซึ่งเป็นสารมีพิษ และมีรายงานว่าทำให้เกิดมะเร็งในหนู ในสูตรน้ำยาดังกล่าวอาจจะยกเว้นการใช้ formalin ได้แต่หากเป็นโครโมโซมที่มีขนาดใหญ่ อาจได้ผลไม่ดีนัก

จะแช่รากไว้ใน fixative ประมาณ 5 นาที หากต้องการเก็บรวบรวมพืชที่ fix แล้วให้นำรากพืชไปแช่ไว้ใน 70% ethanol แต่อาจมีผลทำให้การย้อมสีต่อมาภายหลังลดลง

2.3 น้ำยาย่อยสลาย (Macerating fluid)

ในการศึกษาโครโมโซมของพืชนั้นต้องการที่จะให้เซลล์ที่ปลายรากพืชแยกตัวออกมาเป็นเซลล์เดี่ยวๆ ให้มากที่สุดเพื่อเป็นการลดจำนวนเซลล์ที่จะอยู่ซ้อนกันหลายๆ ชั้น ดังนั้นจึงต้องใช้กรดช่วยทำลายที่ยึดระหว่างเซลล์ ชนิดกรดและความเข้มข้นที่ใช้คือ 1 M HCl ที่ 60 ° C ซึ่งอาจจะใช้ water bath หรือ oven ก็ได้ สามารถที่จะเก็บตัวอย่างพืชที่ผ่านการ macerate มาแล้วไว้ได้ประมาณ 2 วัน โดยนำไปแช่ในน้ำแล้วเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 10-15 ° C

2.4 สี (อมรา,2540)

ในการศึกษาโครโมโซมพืชทั้งจากเซลล์ปลายรากละเซลล์ microsporocyte นั้น นิยมใช้สี acetocarmine และโดยเฉพาะมีส่วนของสนิมเหล็กปนอยู่ในสีด้วยแล้วจะทำให้โครโมโซมติดเข้มมากขึ้น อาจเรียกเทคนิคนี้ว่า iron-acetocarmine วิธีเติมเหล็กให้กับสีใช้เข็มเขี่ยปลายสนิมจุ่มในน้ำสีก็มีผล นอกจากสี acetocarmine แล้วยังมีสีประเภทอื่น ๆ ใช้ย้อมเซลล์พืชได้ในการเตรียมสีดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สี aceto-carmine

อุ่น 45% acetic acid ที่ร้อนละลายสี carmine ลงไป โดยใช้อัตราส่วน 1 กรัมของ carmine ในกรด acetic 200 มล. ต้มให้เดือดนาน 1-2 นาที หรือ จนกระทั่งสีแดงของ carmine เปลี่ยนเป็นสีแดงเข้มขึ้น จากนั้นปล่อยให้เย็นแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง อาจใช้วิธีต้มให้เดือดระเหยเป็นไอแล้วกลั่นตัวเป็นหยดน้ำใน reflux condenser นาน 1 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นแล้วกรอง เก็บสารละลายนี้ในที่เย็นและมืด

สี Lacto-propionic orcein

ใช้สี Lacto-propionic orcein แทน aceto-carmine ได้เช่นกัน วิธีเตรียม ผสม 1 กรัมของ orcein + ส่วนผสมของ lactic acid 50 มล. และ propionic acid 50 มล. ทำที่อุณหภูมิห้อง ปล่อยให้ผง orcein ละลายใช้เวลาตลอดคืนแล้วกรอง เตรียม working solution : เจือจาง ให้ได้ 45%-60 % ของ stock solutionในน้ำแล้งกรอง เก็บสีไว้ในที่เย็นและมืดสามารถใช้ได้เป็นเวลาหลายเดือน

สี aceto-orcein

อุ่น glacial acetic acid แล้วละลายสี orcein ลงไปใช้ 2.2 กรัม ในน้ำ 100 มล. จากนั้นปล่อยให้สีเย็นแล้วเก็บเป็น stock solution ก่อนจะใช้ต้องทำกรดให้เจือจางเป็น 45% ในน้ำแล้งกรอง นิยมใช้สี aceto-orcein ย้อมเซลล์สัตว์

สี alcoholic-hydrochloric-acid carmine

alcoholic-hydrochloric-acid carmine ย้อมเซลล์พืชโดยจะให้ความแตกต่างระหว่างไซโตพลาสซึมและโครโมโซมอย่างชัดเจน วิธีการเตรียมดังนี้ ผสมกรด HCl (เข้มข้น 1 มล.) ในน้ำกลั่น 15 มล. แล้วใช้ 4 กรัมของ carmine ละลายลงไปในน้ำกรดนี้ จากนั้นนำสารละลายสีและกรดนี้ตั้งไฟให้ร้อนจนเดือดเบา ๆ นาน 10 นาที ปล่อยให้เย็นจึงเติม 95 มล. ของ 85% แอลกอฮอล์ลงไป กรองสีก่อนใช้

การย้อมสี Feulgen technique

Feulgen reaction เป็นปฏิกิริยาที่ชี้ว่าส่วนใดเป็น DNA และส่วนใดมิใช่ DNA จากเทคนิคนี้ทำให้เฉพาะส่วนของโครโมโซมติดสี แต่ cytoplasm และ nucleolus จะไม่ติดสี งานทดลองนี้ทำโดย Feulgen และ Rossenbeck ในปี 1924 วิธีการเตรียมสีย้อมมีดังนี้ เทน้ำกลั่นที่เดือดแล้วขนาด 200 มล. ลงในสี basic fuhsinจำนวน 1 กรัม แล้วเขย่าภาชนะที่ใส่สารละลายสีนี้นาน 5 นาที ทำให้เย็นจนถึง 50 แล้ว กรองใส่ขวดที่แสงผ่านไม่ได้หรือขวดฝาปิดสีชา เติม 30 มล. ของกรด HCl ลงไป จากนั้นเติม 3 กรัมของ sodium หรือ potassium metabisulphite ($Na_2S_2O_5$or $K_2S_2O_5$) เก็บสีไว้ ในที่เย็นและมืด ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีแดงแสดงว่าสีเก่าเกินไปไม่เกิดผลในการย้อม fuchsin solution ที่เตรียมได้ใหม่จะไม่มีสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การย้อมสีเซลล์ด้วย Feulgen reaction

นำปลายรากที่ fix ไว้เรียบร้อยแล้วมาแช่ใน 10% HCl ที่เย็น (เตรียม HCl conc :น้ำกลั่นใน อัตราส่วน 1 :9) ดอยจนส่วนของรากจมในกรดดังกล่าว จึงย้ายมาแช่ใน 10% HCl ที่อุ่น 60°C ปล่อยให้ hydrolyze นาน 25 นาที แล้วจึงล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แช่ปลายรากใน fuchsin solution นาน 20-30 นาที เมื่อต้องการจะตรวจดูโครโมโซมให้เตรียมรากบนสไลด์ หยด 40% acetic acid ลงไป แล้วบดขยี้เซลล์ให้แบนราบ

3. อุปกรณ์อื่น ๆ

3.1 Slide

3.2 Cover slip

3.3 เข็มเขี่ยขนาดเล็ก 2 อัน

3.4 Forcep ขนาดเล็ก ที่มีปลายแหลม 1 อัน

3.5 กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยาย 1000 เท่า

4. การเตรียม Slide

นำรากที่ผ่านการ macerate แล้วมาวางบน slide โดยที่ต้องระวังอย่างให้รากแห้งในทุกๆ ขั้นตอน ใช้เข็มเขี่ยตัดเฉพาะส่วนปลายรากไว้ประมาณ 1 มม. เอาส่วนที่เหลือทิ้งไป หยดสี หยดเล็กๆที่ปลายรากดังกล่าว โดยที่ก่อนหยดสีถ้าหากว่าหยดน้ำที่ส่วนของปลายรากพืชดังกล่าว ให้ใช้กระดาษทิชชูซับเอาหยดน้ำออกก่อน ถ้าสีที่หยดมีขนาดใหญ่เกินไปก็ให้ใช้กระดาษทิชชูซับออกบ้าง จากนั้นให้ใช้เข็มเขี่ย 2 อัน เขี่ยแยกเนื้อปลายรากให้ออกจากกันแล้วใช้ด้ามของเข็มเขี่ยค่อยๆ เคาะบนเนื้อเยื่อ เพื่อให้เซลล์หลุดออกจากกันเป็นเซลล์เดี่ยวๆ แล้วค่อยๆ วาง cover slip บนหยดสี โดยที่ก่อนวาง cover slip ถ้าหากเห็นว่ามีส่วนของเนื้อเยื่อที่ไม่แยกออกจากกันซึ่งจะมองเห็นได้อย่างชัดเจนแล้ว ก็ให้ใช้ forcep คีบออกเสียก่อน จากขั้นตอนนี้ก็สามารถนำไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้ทันทีว่ามีเซลล์ที่ต้องการหรือไม่และติดสีดีเพียงใด หากว่าสียังติดไม่ดีพอก็ให้ทิ้งไว้สักครู่หนึ่ง ขั้นตอนนี้สามารถที่จะทำให้เซลล์กระจายตัวออกจากกันให้มากยิ่งขึ้น โดยการใช้ด้ามของเข็มเขี่ยค่อยๆ เคาะด้านบนของ cover slip หลายๆ ครั้ง การ squash เพื่อทำให้เซลล์แบนเป็นระนาบเดียวกัน ทำได้โดยการนำกระดาษกรองหรือกระดาษทิชชูซึ่งพับไว้หลายๆ ชั้น วางบน cover slip แล้วค่อยๆ ใช้หัวแม่มือกดลงตรงๆ โดยที่ต้องระวังไม่ให้ cover slip เคลื่อนที่ไปทางด้านข้างได้ แล้วในไปตรวจดูภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัยที่มีผลต่อขนาดของโครโมโซมและมีบทบาทต่อการศึกษาทางพันธุศาสตร์ของเซลล์(นิตย์ศรี, 2541)

1. โคลซิซีน (colchicine) เป็นสารแอลคาลอยด์ซึ่งทำหน้าที่ขัดขวางการแบ่งเซลล์โดยยับยั้งการสร้างสปินเดิลไฟเบอร์ ทำหน้าที่ดึงเซนโทรเมียร์ไปยังขั้วของเซลล์ โครโมโซมจึงหยุดอยู่ที่ระยะเมทาเฟสซึ่งเป็นระยะที่โครโมโซมหดสั้นสุด แต่ไม่มีผลต่ออัตราการแบ่งของโครโมโซม จึงเป็นสารที่นิยมทำหน้าที่เป็น pretreatment ในการศึกษาโครโมโซม

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

3. การลดปริมาณของสารที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์โครมาทิน อาจจะมีผลต่อขนาดของโครโมโซม เซลล์ที่ได้จากการแบ่งตัวค่อนข้างถี่จะมีโครโมโซมขนาดเล็กกว่าเซลล์ที่มีระยะอินเตอร์เฟสค่อนข้างยาว

4. สารอาหารต่างๆ ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ มีผลต่อขนาดโครโมโซมด้วย ตัวอย่างเช่น ฟอสเฟต ที่ความเข้มข้นสูงๆ จะทำให้โครโมโซมมีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซมที่เลี้ยงในน้ำหรือมีฟอสเฟตน้อย

5. อุณหภูมิ มีผลต่อขนาดโครโมโซมเช่นกัน เซลล์ที่มีการแบ่งตัวในที่มีอุณหภูมิต่ำๆ จะมีขนาดสั้น และมีการหดตัวของโครโมโซมมากกว่าเซลล์ที่มีการแบ่งตัวในที่มีอุณหภูมิสูงๆ

ในการเตรียมสไลด์เพื่อการศึกษารูปร่างและจำนวนโครโมโซม จำเป็นต้องทำให้โครโมโซมมีขนาดสั้นและมีการกระจายของโครโมโซม โดยทั่วไปนิยมใช้สารเคมีในการทำ pretreatment ร่วมกับการบ่มที่อุณหภูมิต่ำๆ ด้วย จะช่วยลดระยะเวลาที่ต้องแช่สารเคมีสั้นลง

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ประวัติ(2526) ได้ทำการศึกษาโครโมโซมจากปลายรากกล้วย ทั้งกล้วยป่าและกล้วยปลูก จำนวน 30 เชื้อพันธุ์ โดยวิธี squash พบว่ากล้วยป่าเบอร์ 1 กล้วยป่าเบอร์ 3 กล้วยอ่างขาง กล้วยแข้ กล้วยไข่ กล้วยตานี กล้วยไข่โบราณ กล้วยทองขี้แมว กล้วยป่าเบอร์ 22 กล้วยไลและกล้วยหมาก มีโครโมโซม 2n = 22 กล้วยคร้าว กล้วยนิ้วมือนาง กล้วยน้ำกาบดำ กล้วยกุ้งเขียว กล้วยน้ำ กล้วยตีบ กล้วยเล็บช้างกุ กล้วยตีบคำ กล้วยขมเบา กล้วยขมหนัก กล้วยนำหว้าเหลือง กล้วยกุ้ง กล้วยคลองจัง กล้วยคลองจัง กล้วยพม่าแหกคุก กล้วยนางกลาย กล้วยหอมเตี้ย กล้วยน้ำว้าค่อม และไข่บอง มีโครโมโซม 2n = 33 กล้วยเทพรส มีโครโมโซม 2n = 44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วาสนา(2527) จากการศึกษาลักษณะภายนอกและภายในการเจริญเติบโต จำนวนโครโมโซมและลักษณะเรณูของพืชในสกุลบัวหลวง และผลจากการศึกษาจำนวนโครโมโซมพบว่า โครโมโซมของบัวหลวง 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) การตรวจสอบโครโมโซมปลายรากบัวหลวงพันธุ์สัตตบุตย์โดยใช้ accetocarmine squash methods เก็บตัวอย่างในช่วงเวลา 8.30-11.0 นาฬิกา หยุดวงชีพเซลล์ใน 8-hydroxyquinoline นาน 7 ชั่วโมง แช่ด้วย 1M 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 HCl 1 N นาน 5 นาที แล้วย้อมด้วยสี carmine fuchsin นาน 1 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าว่านมหาลาภมีจำนวนโครโมโซม 2n= 68

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัมพิกา(2527) ได้ศึกษาโครโมโซมของท้อ 9 พันธุ์ พบว่ามีจำนวนโครโมโซมเป็นดิพลอยด์เท่ากับ 16 โครโมโซมมีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถแยกความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาแต่ละพันธุ์ได้อย่างชัดเจน

สุณิสา,ดำเนินและฉันทนา(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) 5 นาที แยกเซลล์ออกจากกันแช่รากในกรดไฮโดรลิก 1N ที่ 60°C นาน 10 นาที และย้อมด้วยสี carbol funchsin นาน 5 ชั่วโมง

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

Grant-WF(1995) ได้ทำการศึกษาจำนวนโครโมโซมของ Lotus จากจำนวน 108 species และ 38 varieties โดยเจาะลึกเป็นรายงานว่า 5 species ได้แก่ L.*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

อุปกรณ์และวิธีทำการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

1. หัวดองดึง 20 หัว

2. วัสดุปลูก
   - ตะกร้าพลาสติก กระถางพลาสติก
   - วัสดุชำ ทราย ขุยมะพร้าว

3. สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาโครโมโซม
   (1) 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002 M
   (2) alcohol 95 %
   (3) ethyl alcohol 95 %
   (4) acetic acid 40 %
   (5) glacial acetic acid
   (6) สีย้อม acetocarmine

4. กล้องจุลทรรศน์ MICROSCOPE ยี่ห้อ Olympus รุ่น BH-2

5. แผ่นสไลด์และcoverslips

6. กล้องถ่ายรูป และฟิล์ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

วิธีทำการทดลอง

การเตรียมน้ำยาสำหรับตรวจนับโครโมโซม

1.1 pretreatment เตรียมโดยชั่งสาร 8-hydroxyquinoline 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 acetic acid ในอัตราส่วน 3:1

1.3 สีย้อม acetocarmine

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

วิธีการทำโดยใช้ glacical acetic acid 50 มิลลิลิตร ตั้งไฟให้เดือดใส่สี carmine 1 กรัม ลงไปคนช้าๆ อย่าตั้งไฟนานเพราะจะทำให้ระเหยได้ ยกลงจากเตาแล้วทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จนอุณหภูมิลดลง 50 ° C เติมน้ำกลั่นลงไป 50 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรองใส่ขวดสีชาเก็บไว้ในตู้ เย็น (ศิริศักดิ์,2542) ขณะต้มถ้าใช้เหล็กสนิมลงไปแกว่งหรือหยด ferric acetic 1-2 หยด จะทำให้สีเข้มขึ้น ติดโครโมโซมได้ชัดเจนขึ้น สีที่เก็บไว้นานจะมีตะกอนควรกรองบ่อยๆ ก่อนใช้

การเตรียมรากดองดึงและการตรวจนับโครโมโซม

1. ปลูกต้นดองดึงในตระกร้าพลาสติก ที่มีวัสดุปลูกเป็นทรายและขุยมะพร้าว ในอัตราส่วน 1:1 รอจนหัวของดองดึงงอกใช้เวลาประมาณ 1 สัปดาห์
2. นำต้นดองดึงที่เกิดเป็นต้นแล้วนำมาตัดปลายราก ให้ปลายรากที่ได้ยาวประมาณ 1 ซม.
3. นำปลายรากมาแช่ใน 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002 M. นาน 4-6 ชั่วโมง
4. จากนั้นเปลี่ยนมาแช่ในสาร Fixation คือ alcohol 95% : ethanol ในอัตราส่วน 3:1 โดยแช่ในสารละลายเป็นเวลา 5 นาที
5. แล้วก็นำปลายรากมาแช่ในสารละลาย HCl 1 M. ในระหว่างการแช่รากใน HCl ต้องในปลายรากแช่ในน้ำที่มีอุณหภูมิ 60 ° C
6. นำปลายรากมาตัดเอาเฉพาะเนื้อเยื่อเจริญ (apical meristem) หยดสี acetocarmine กดปลายรากให้เยื่อจะเจริญกระจายทั่ว ปิดด้วย cover slip ใช้ปลายดินสอเคาะบนสไลด์เบา ๆ เพื่อที่จะให้เซลล์ที่จะศึกษากระจายไปทั่ว
7. นำแผ่นสไลด์ไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เลือกเซลล์ที่มีการแบ่งเซลล์ ในระยะเมตาเฟสที่มีการกระจายตัวของโครโมโซม แล้วบันทึกผลการทดลอง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ถ่ายรูปที่บันทึกผลได้ด้วยกล้องที่ติดอยู่กับกล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

41680

การบันทึกผลการทดลอง

บันทึกผลโดยการเก็บผลจากจำนวนโครโมโซมที่นับได้แต่ละรากให้ได้จำนวน 10 เซลล์ ต่อ 1 ราก และนับโครโมโซมของปลายรากต้นดองดึง 3 รากต่อต้นดองดึง 1 ต้น โดยนับโครโมโซมจำนวน 10 ต้น ที่กำลังขยาย 1000 เท่า บันทึกภาพโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มการทดลอง เดือน พฤษภาคม 2543
สิ้นสุดการทดลอง เดือน ธันวาคม 2543

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลาง ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

การศึกษาโครโมโซมของดองดึงจากเซลล์ปลายรากโดยเก็บตัวอย่างในช่วงเวลา 8.00 น. ลักษณะของรากอวบ ไม่ผอมมากเกินไป มีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร

ผลของการตรวจนับจำนวนโครโมโซมดองดึงที่ทำการศึกษาได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 และตารางที่ 2 ในการนับจำนวนโครโมโซมดองดึงในการศึกษาครั้งนี้ ปรากฏว่ามองเห็นโครโมโซมได้อย่างชัดเจนและทำการนับได้สะดวก ลักษณะและจำนวนโครโมโซมของดอกดึงที่ ทำการศึกษาจำนวน 10 ต้น ได้ทำการบันทึกภาพไว้ โดยแสดงไว้ในภาพที่ 1 –5 การเลือกบันทึกภาพเฉพาะบางต้นที่มีลักษณะการเห็นโครโมโซมที่ชัดเจนและมีการกระจายตัวของโครโมโซมอย่างดี ส่วนบางต้นที่ไม่ได้บันทึกภาพเนื่องจากลักษณะของโครโมโซมที่เห็นจากกล้องจุลทรรศน์นั้นไม่ชัดเจนพอที่บันทึกภาพได้ ซึ่งเกิดการซ้อนทับกันและการกระจายของโครโมโซมอยู่ต่างระดับกัน ซึ่งเกิดจากการนำปลายรากมาเขี่ยบนสไลด์มากเกินไป เมื่อนำมาขยี้บนสไลด์ทำให้ เซลล์ของปลายรากไม่กระจายซึ่งทำให้ไม่สามารถบันทึกภาพได้ แต่ในขณะส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์สามารถที่จะปรับภาพบริเวณที่กล้องจุลทรรศน์ให้เคลื่อนขึ้นลง ทำให้มองเห็นโครโมโซมอย่างชัดเจนพอที่จะนับได้ จำนวนของโครโมโซมดองดึงที่นับได้โดยมีจำนวนเท่ากันทุกต้น คือ $2n = 22$ ลักษณะของโครโมโซมที่ทำการศึกษาโครโมโซมมีการหดตัวสั้น มีบางแท่งเท่านั้นที่ยังหดตัวสั้นไม่สุดแต่ก็สามารถมองเห็นได้ชัดเจน (ภาพที่ 1-5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงเวลาที่เหมาะสมและจำนวนโครโมโซมที่นับได้

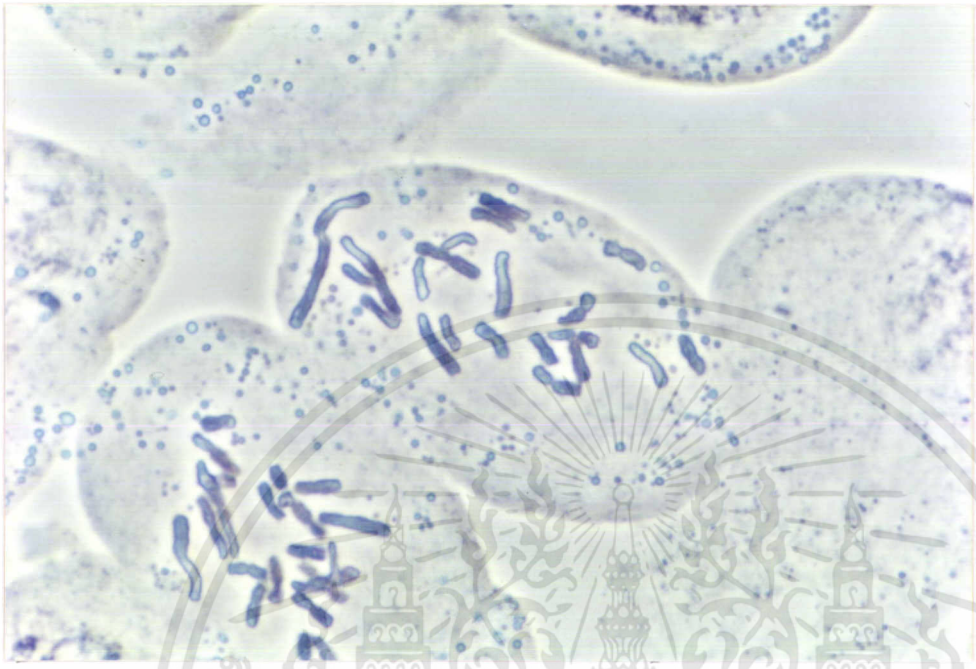
ต้นที่	เวลาเก็บ	รากที่	จำนวนที่นับได้
ต้นที่ 1	8.00-8.30	1	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	2	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	3	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
ต้นที่2	8.00-8.30	1	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	2	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	3	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
ต้นที่ 3	8.00-8.30	1	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	2	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	3	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
ต้นที่ 4	8.00-8.30	1	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	2	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	3	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
ต้นที่ 5	8.00-8.30	1	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	2	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	3	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

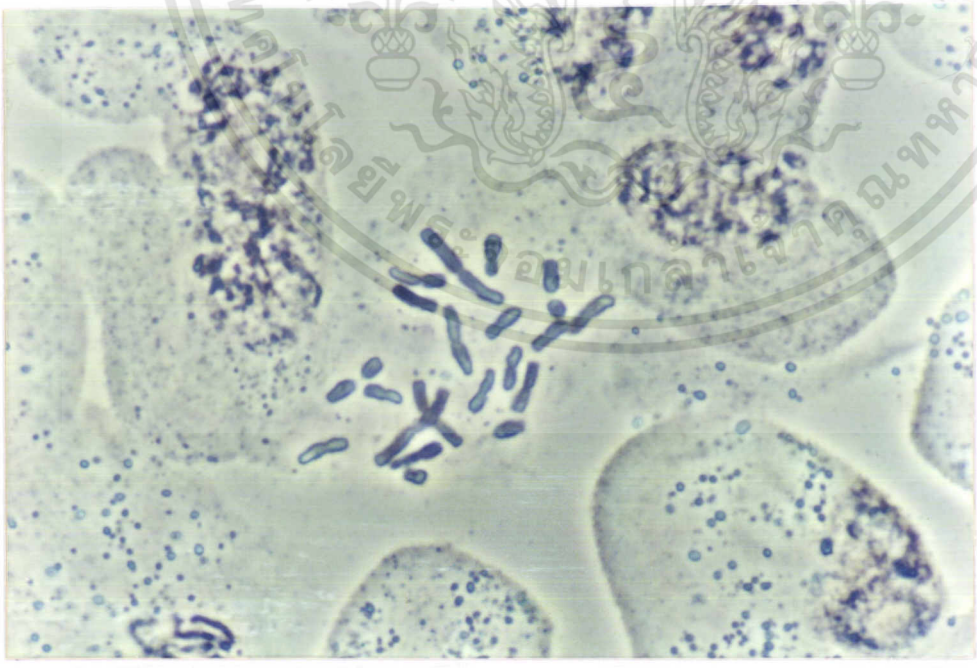
ตารางที่ 2 แสดงเวลาที่เหมาะสมและจำนวนโครโมโซมที่นับได้

ต้นที่	เวลาที่เก็บ	รากที่	จำนวนที่นับได้
ต้นที่ 6	8.00-8.30	1	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	2	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	3	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
ต้นที่ 7	8.00-8.30	1	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	2	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	3	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
ต้นที่ 8	8.00-8.30	1	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	2	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	3	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
ต้นที่ 9	8.00-8.30	1	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	2	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	3	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
ต้นที่ 10	8.00-8.30	1	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	2	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22
	8.00-8.30	3	22,22,22,22,22,22,22,22,22,22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

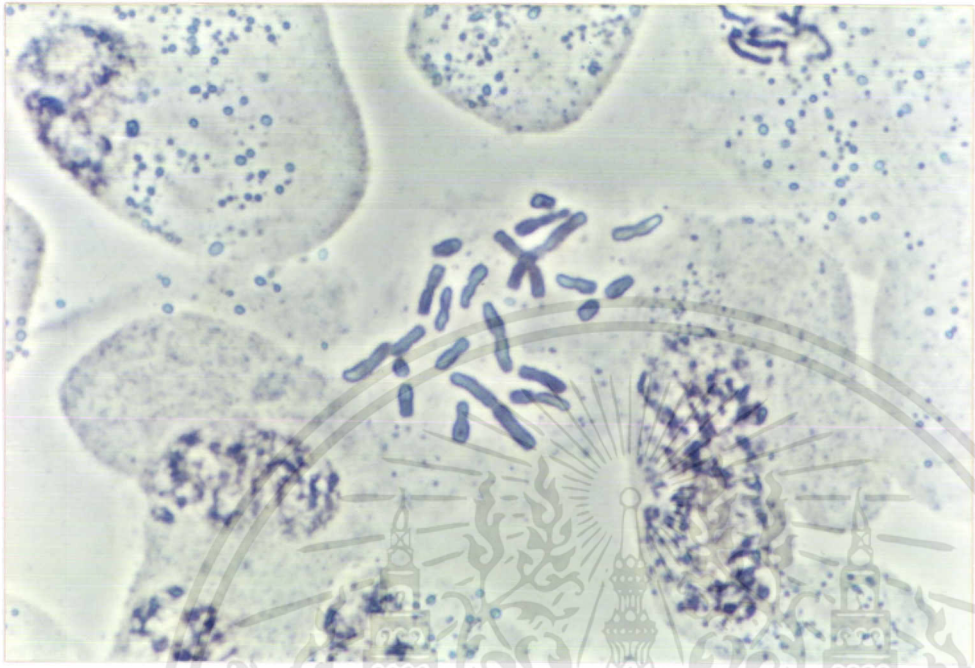


ภาพที่ 1 Somatic chromosome of *Gloriosa superba* Linn. (2n = 22) (1,000x)

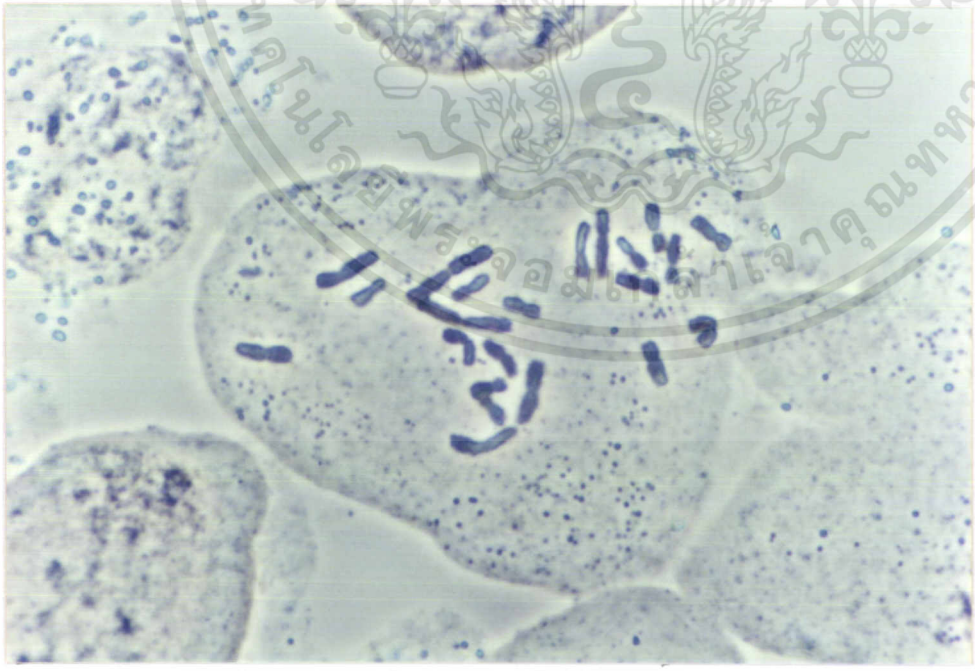


ภาพที่ 2 Somatic chromosome of *Gloriosa superba* Linn. (2n = 22) (1,000x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

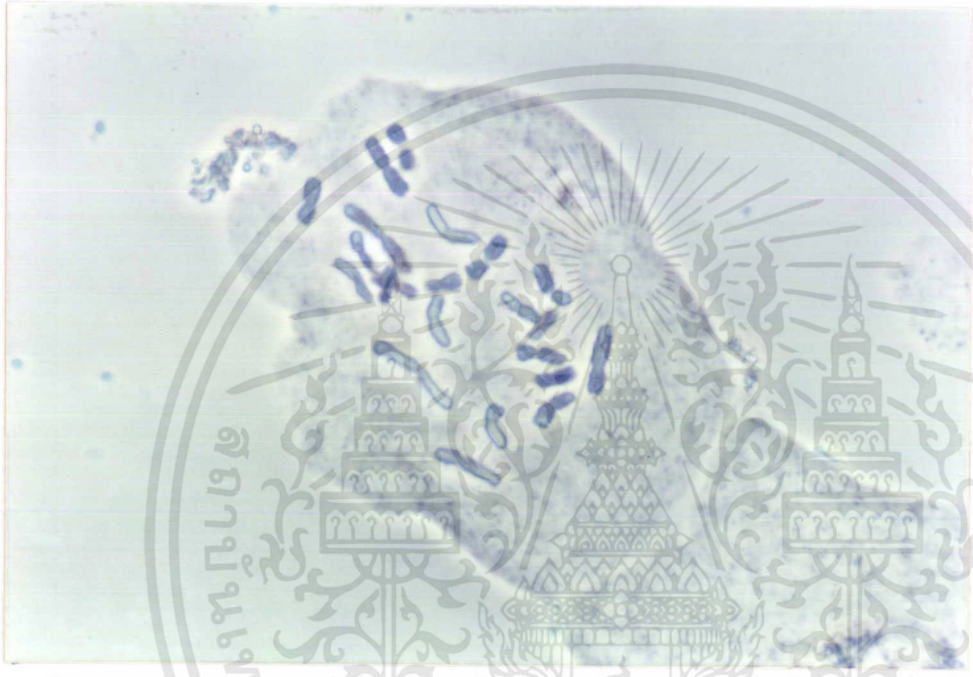


ภาพที่ 3 Somatic chromosome of *Gloriosa superba* Linn. (2n = 22) (1,000x)



ภาพที่ 4 Somatic chromosome of *Gloriosa superba* Linn. (2n = 22) (1,000x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 Somatic chromosome of *Gloriosa superba* Linn. (2n = 22) (1,000x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาจำนวนโครโมโซม ช่วงเวลาที่เหมาะสมกับการแบ่งเซลล์เพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซม คือเวลา 8.00 นาฬิกาการหยุด วงชีพเซลล์ในสารละลาย 8-hydroxyquinoline ที่ความเข้มข้น 0.002 M ควรแช่รากไว้นานประมาณ 4-6 ชั่วโมง การรักษาสภาพเซลล์ในน้ำยาควรใช้เวลาประมาณเพียง 5 นาที การแยกเซลล์ในสารละลาย HCI ใช้เวลา 5 นาที เช่นกัน การย้อมสีเนื้อเยื่อปลายรากพบว่าการแช่ปลายรากในสีย้อมacetocarmine เป็นเวลาประมาณ 10 นาที จะช่วยให้เนื้อเยื่อปลายรากติดสีเข้มและทำให้โครโมโซมติดสีเข้มสามารถเห็นโครโมโซมได้ชัดเจน การแช่ปลายรากในสีย้อมนั้นอาจจะต้องแช่ให้นานกว่าสำหรับปลายรากที่ติดสียาก

การศึกษาโครโมโซมของดองดึงซึ่งเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่อายุยืน มีหัวอยู่ใต้ดิน มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียเขตร้อน อินเดีย และอาฟริกา ดองดึงที่นำมาศึกษาเป็นชนิด *Gloriosa superba* เป็นชนิดที่พบในประเทศไทย ได้นำมาจากภาคใต้ จำนวนโครโมโซมที่นับได้เป็น 2n = 22

จำนวนโครโมโซมของต้นดองดึง (*Gloriosa superba* 2n = 22) ที่ศึกษาที่ได้นำมาจากภาคใต้มีจำนวนเท่ากันกับโครโมโซมของดองดึง (*Gloriosa superba* 2n = 22) ที่ได้มีการศึกษามาแล้วจากต่างประเทศ(*Gloriosa superba* 2n = 22) ส่วนดองดึงที่ศึกษาได้อีกชนิดก็คือ *Gloriosa rothschildiana* มีจำนวน โครโมโซมเท่ากับ 2n = 66 (Vijayalli and Mathew , 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช. 2542. **ดองดึงไม้สารพัดประโยชน์.** กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

เกศรินทร์ ภูมิศรีแก้ว. 2526. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดองดึงเพื่อการเร่งการขยายพันธุ์.** วิทยานิพนธ์ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร. 31 หน้า

ดิเรก ตนพยอม. 2537. **" ผลของจำนวนชุดโครโมโซมต่อลักษณะสัณฐานวิทยาของเยอบีร่า. "** วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

นันทิรา เมฆอรุณกมล. 2533. **การเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตดองดึง.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. ภาควิชาพืชสวน, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

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

ประวัติ สมเป็น. 2526. **"โครโมโซมของปลายรากกล้วย "**. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปริทรรศน์ ไตยสนธิ, รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล, พร้อมจิต ศรลัมพ์, เสาวณี สุริยาภาณานนท์, ธนา คุณจิฬุศิลจุล และ วงศ์สถิตย์ ฉัวสกุล. 2529. **พืชสมุนไพร : ลักษณะพรรณไม้.** คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล. 173 น.

ผ่องพรรณ จรัสจินดารัตน์ และคณะ. 2538. **งานวิจัยเรื่องจำนวนโครโมโซมมะตูม.** วิทยาลัยเกษตรมหาสารคาม.

พรพรหม พรหมเมศร์. 2535. **การศึกษาสันฐานวิทยาและกายวิภาคของดองดึง.** ปัญหาพิเศษปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

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

มาน์ศรี มาลีวงศ์. 2531. **การกระตุ้นการงอกของเมล็ดดองดึง.** เอกสารสมทบการประชุมเมล็ดพันธุ์พืช. เชียงใหม่. 10 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2530. **พจนากรมไม้ดอกไม้ประดับในเมืองไทย เล่ม1**. โอเอพริ้นติ้งเฮาส์, กรุงเทพฯ.

ศิรพร หาญนันทวิวัฒน์ และฉันทนา สุวรรณธาดา. 2541. **การศึกษาโครโมโซมของว่ามหาลาภ.** วารสารเกษตร วารสารวิชาการของคณะเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. ปีที่ 14 ฉบับที่ 3 ตุลาคม 2541.

ศิริศักดิ์ สุนทรยาตร. 2542. **" ผลของรังสีต่อการกลายพันธุ์ของบัวกลวงพันธุ์สัตตบุตย์ในสภาพปลอดเชื้อ "**. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน , สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สมสุข ศรีจักรวาฬ และปราโมทย์ เกิดศิริ. 2541. **การพัฒนาของดอกดองดึงเมื่อปลูกในช่วงเวลาต่างๆ.** วารสารวิชาการเกษตร. ปีที่ 16 ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน. หน้า 42-48

สาริณี ไชยเจริญ. 2537. **"การศึกษาจำนวนโครโมโซมกล้วยไม้หวาย"** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

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

เสงี่ยม พงษ์บุญรอด. 2522. **ไม้เทศเมืองไทย สรรพคุณยาเทศและยาไทย.** เกษมบรรณกิจ, กรุงเทพฯ. 596 น.

สุมิตรา คงชื่นสิน และพรทิพย์ เศรษฐาวิวัฒน์. 2533. **การถ่ายละอองเกสรในดองดึง.** วารสารเกษตร 23 (3-4) : 132-142

อดิศร กระแสชัย. 2539. **บทปฏิบัติการ Cytogenetics in Agriculture.** ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. หน้า 11-18.

อมรา คัมภิวานนท์. 2540. **พันธุศาสตร์ของเซลล์.** เท็กซ์แอนด์เจอร์นัลพับพิเคชั่น. กรุงเทพฯ.

อัมพิกา ปุนนจิต. 2527. **"ชีววิทยาของดอกและจำนวนโครโมโซมของท้อเก้าพันธุ์"**. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

Baijnath, H. 1988. **A contribution to the leaf anatomy of some southern frican Epigenieae (Colchcaceae).** South African Journal of Botany. : 265-272.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

De Silva , B.L.T. 1945. **A contribution of life history of *Gloriosa superba* L.** Ceylon J Sci. 11 (3)154-159.

Dyer ,A.F. 1979. **Investigating Chromosomes.** Edwand Arnold, London.

Grant-WF. 1995. **"A chromosome atlas and interspecific- intergenic index for Lotus and Tetragonolobus (Fabaceae)".** Journal of Botany .

Vijiyavalli and Mathew. 1992 . **Cytology of species *Gloriosa* Linn..** Nucleus-calcutta

Swasup , V. 1967. **Garden Flower.** National Book Trust, New Delhi, India. 217 p.

Vaikos , N.P. and R.M. pai. 1986. **The floral anatomy of *Gloriosa superba* L. and *Tricyrtis pitosa* Wall. (Liliaceae).** Proceedings of the Indian Academy of Science(plant science). 96(3):233-239

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้