ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การศึกษาจำนวนโครโมโซมของหญ้าปักกิ่ง

Studies on Chromosome Number of *Murdannia loriformis*(Hassk.) Rolla Rao et Kammathy

โดย
นางสาวอุไร กรุณรัมย์

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบโดย

.....
(อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ์)
อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

.....
(รศ.ดร.สมยศ เตชภิรัตนมงคล)
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
วันที่ 19 เดือน ม.ค. พ.ศ. 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

การศึกษาจำนวนโครโมโซมของหญ้าปักกิ่ง

Studies on Chromosome Number of *Murdannia loriformis*(Hassk.) Rolla Rao et Kammathy

T109072

โดย

นางสาวอุไร กรุณรัมย์

สาขาวิชาพืชไร่

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ

มพ.
@857ก
2544

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 109072
วัน,เดือน,ปี..... -4 ส.ค. 2553

b..12230b49..
i.....

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต(เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษเรื่อง การศึกษาจำนวนโครโมโซมของหญ้าปักกิ่งเสร็จสมบูรณ์ได้ด้วย อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำในการค้นหาข้อมูล และขั้นตอนในการปฏิบัติการตลอดจนตรวจทานปัญหาพิเศษเล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณอาจารย์สนธิชัย จันทร์เปรม อาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา และเอื้อเฟื้อสารเคมีบางชนิด

ขอขอบคุณ ผศ.ดร.วิรัตน์ ภูวิวัฒน์ อาจารย์ภาควิชาพืชสวน ที่ได้กรุณาให้ความอนุเคราะห์การใช้กล้องจุลทรรศ์ และให้คำแนะนำตลอดจนช่วยเหลือในการถ่ายภาพ และขอขอบคุณพี่อาร์ท (นักศึกษาปริญญาโทภาควิชาพืชสวน)ที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการใช้กล้องจุลทรรศ์

ขอบคุณพี่อู๊ด เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สาขาวิชาพืชไร่ ที่ได้กรุณาติดต่อประสานงานในการยืมอุปกรณ์ให้ และขอบคุณเพื่อน ๆ ทุกท่านที่ให้กำลังใจตลอด ในการทำปัญหาพิเศษ

ขอบพระคุณสูงสุด บิดา มารดา ผู้ที่เห็นความสำคัญของการศึกษาได้ให้โอกาส ให้กำลังใจ และให้ทุนสนับสนุนในการศึกษา การทำปัญหาพิเศษตลอดรายการให้สำเร็จด้วยดี

นางสาวอุไร กรุณรัมย์

เมษายน 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง	การศึกษาจำนวนโครโมโซมของหญ้าปักกิ่ง
	Studies on Chromosome Number of *Murdannia loriformis*
	(Hassk.) Rolla Rao et Kammathy
โดย	นางสาวอุไร กรุณรัมย์
ภาควิชา	เทคโนโลยีการผลิตพืช
สาขาวิชา	พืชไร่
คณะ	เทคโนโลยีการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนะพงศ

บทคัดย่อ

การศึกษาจำนวนโครโมโซมของหญ้าปักกิ่งจากปลายรากโดยใช้วิธี squash technique ช่วงเวลาที่เหมาะสมคือ 8.00-9.00 นาฬิกา ที่สามารถเห็นโครโมโซมในระยะเมทาเฟสได้ชัดเจนที่สุด และสามารถนับจำนวนโครโมโซมได้ ทำการหยุดวงชีพด้วยสารละลาย 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำไปแช่ในน้ำยา fixation (glacial acetic : alcohol 95%;1:3) เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำปลายรากแช่ใน 1N HCl นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด เมื่อนำมาศึกษาให้ตัดบริเวณปลายรากประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ซึ่งจะมีโครโมโซมอยู่มาก แล้วย้อมสีด้วย acetocarmine เป็นเวลา 10 นาที จากการนับจำนวนโครโมโซมของหญ้าปักกิ่งพบว่า มีจำนวนโครโมโซม 2n=16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ABSTRACT

Studied chromosome number of Yaa Pak King (*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy) were determined in root tips by squash technique. The suitable time for the best clarity metaphase could be counting chromosome number at 8.00-9.00 am. Root tips were pretreated in 0.002M aqueous solution of 8-hydroxyquinoline for 4 hours. Then, fixation in glacial acetic : alcohol 95% ratio 1:3 for 5 minutes after that maceration in 1N HCl solution for 15 minutes at 60 °C. Roots tips were stained in acetocarmine for 10 minutes. The chromosome number of Yaa Pak King (*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy) was 2n=16.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ก
สารบัญภาพ	ข
สารบัญภาคผนวก	ค
คำนำ	ง
วัตถุประสงค์	จ
การตรวจเอกสาร	1
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	17
เวลาและสถานที่	19
ผลการทดลอง	20
วิจารณ์ผลการทดลอง	29
สรุปผลการทดลอง	30
เอกสารอ้างอิง	31
ภาคผนวก	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

1. บันทึกผลการศึกษาและการตรวจนับจำนวนโครโมโซม
ของหญ้าปักกิ่งครั้งที่ 1 21

2. บันทึกผลการศึกษาและการตรวจนับจำนวนโครโมโซม
ของหญ้าปักกิ่งครั้งที่ 2 21

3. บันทึกผลการศึกษาและการตรวจนับจำนวนโครโมโซม
ของหญ้าปักกิ่งครั้งที่ 3 22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

1. แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากหญ้าปักกิ่ง (*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy) ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า 23

2. แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากหญ้าปักกิ่ง (*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy) ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า 24

3. แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากหญ้าปักกิ่ง (*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy) ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า 25

4. แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากหญ้าปักกิ่ง (*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy) ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า 26

5. แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากหญ้าปักกิ่ง (*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy) ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า 27

6. แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากหญ้าปักกิ่ง (*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy) ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า 28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาคผนวก

หน้า

ภาพภาคผนวกที่

1. แสดงวิธีทำ squash technique 33

2. แสดงการแบ่งเซลล์แบบ mitosis ของปลายรากหอม 34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

หญ้าปักกิ่ง(*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy) หรือหญ้าเทวดา ชาวจีนเรียก เล้งจือเฉ้า (วุฒิ,2540) เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศจีนตอนใต้แถบสิบสองปันนามีการนำเข้าและปลูกทั่วไปในประเทศไทย (วีณา,2542) เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรค เนื่องจากเป็นพืชสมุนไพรใช้ในการรักษาอาการของโรคมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งในเม็ดโลหิต ลำคอ ตับ มดลูก และลำไส้ (วุฒิ,2540) ในปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยในด้านของสรรพคุณทางสมุนไพรของหญ้าปักกิ่งเพิ่มมากขึ้น ซึ่งการศึกษาในปัจจุบันจะพบมากในการศึกษาด้านองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของหญ้าปักกิ่ง ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าหญ้าปักกิ่งมีความสำคัญและบุคคลทั่วไปให้ความสนใจเพิ่มมากขึ้นทั้งในด้านของการรักษาโรค และจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการประกอบอาชีพของเกษตรกรผู้สนใจในการปลูกหญ้าปักกิ่งเพื่อการค้า

ในการศึกษาจำนวนโครโมโซมจากปลายรากของหญ้าปักกิ่งโดยใช้วิธี squash technique เป็นเทคนิคการกดและขยี้เซลล์ทำให้เซลล์อยู่ในลักษณะแบนราบและโครโมโซมเรียงตัวอยู่ในระดับเดียวกัน (อมรา,2540) เพื่อทำการศึกษาและนับจำนวนโครโมโซมของหญ้าปักกิ่งในระยะเมทาเฟส การศึกษาจำนวนโครโมโซมของหญ้าปักกิ่งนั้นยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน การศึกษาในครั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาโครโมโซมและการศึกษาวิจัยหญ้าปักกิ่งทางด้านอื่น ๆ ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชสมุนไพรหญ้าปักกิ่ง
2. เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาและวิจัยพืชสมุนไพรหญ้าปักกิ่งเพื่อประโยชน์ทางด้านอื่นๆต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

หญ้าปักกิ่ง (วีณา,2542)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy

วงศ์ COMMELLINACEAE

ชื่อสามัญ หญ้าปักกิ่ง , หญ้าเทวดา , เล้งจือเฉ้า(จีน) (วุฒิ,2540)

ถิ่นกำเนิด ในประเทศจีนตอนใต้ แถบสิบสองปันนา

หญ้าปักกิ่งเป็นพืชล้มลุกขนาดเล็ก เจริญได้ดีในดินร่วนหรือดินปนทราย และในที่ที่มีแดดรำไรไม่ต้องการน้ำมาก สามารถปลูกได้ง่ายไม่ต้องการพื้นที่มาก

ประโยชน์ของหญ้าปักกิ่งในการรักษาโรค ยาจีนใช้หญ้าปักกิ่งในโรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจ ในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ.2527 มีผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งดื่มน้ำคั้นสดจากหญ้าปักกิ่งเพื่อรักษาและบรรเทาอาการจากโรคมะเร็งหรือใช้หญ้าปักกิ่งร่วมกับการรักษาแผนปัจจุบัน (หน่วยบริการฐานข้อมูลสมุนไพร,มปพ.) จากการรวบรวมผู้ป่วยโรคมะเร็งที่ใช้หญ้าปักกิ่งรักษาตนเองโดยณรงค์ สุทธิกุลพานิช (อ้างโดย วีณา,2542) ได้แก่ มะเร็งปอด มะเร็งกระเพาะอาหาร มะเร็งมดลูก มะเร็งโพรงจมูก มะเร็งตับ มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งเต้านม เนื้องอกในสมอง มะเร็งม้าม มะเร็งปากมดลูก มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งต่อมน้ำเหลือง มะเร็งกระดูก เป็นต้น หรือใช้ในการแก้อักเสบ บวม ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกัน ลดน้ำตาลในเลือด (พรรณิภา,2542) โดยชาวจีนที่อพยพมาจากแถบสิบสองปันนา ใช้หญ้าปักกิ่งในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของคนไข้โรคเบาหวาน (เอื้อพร,2538)

งานวิจัยของวีณาและคณะ,2540 (อ้างโดยวีณา,2542) เพื่อแยกสารที่แสดงคุณสมบัติต้านมะเร็ง พบว่าหญ้าปักกิ่งประกอบด้วยสารกลุ่มต่าง ๆ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน กลัยโคไซด์ ฟลาโวนอยด์ และอะกลัยโคน ในกลุ่มกลัยโคไซด์ทำการแยกส่วนได้ 2 ชนิด คือ ไฟโตสเตรียรีล และกลัยโคสฟิงโกไลปิดส์ ซึ่งกลัยโคสฟิงโกไลปิดส์แสดงฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ นอกจากนี้หญ้าปักกิ่งยังเพิ่มปริมาณเอนไซม์ DT diaphorase (นันทวัน,2543) ซึ่งมีคุณสมบัติด้านการก่อกลายพันธุ์ ย่อยสลายสารพิษ และลดการเกิดอะนุมูลอิสระ แต่ขณะเดียวกันหญ้าปักกิ่งอาจเหนี่ยวนำให้เกิดเอนไซม์อื่นที่เร่งการก่อกลายพันธุ์ได้เช่นกัน (วีณา,2542)

อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ยืนยันว่าสามารถรักษามะเร็งได้และอยู่ในระหว่างการศึกษาวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (วีณา,2542)

ลำต้น ลำต้นสูงประมาณ 7-10 เซนติเมตรหรืออาจสูงที่สุดได้ถึง 20 เซนติเมตร ลำต้นอวบน้ำเล็กน้อย มีสีขาวหรือสีเขียว

ใบ ใบเป็นใบเลี้ยงเดี่ยวรูปขอบขนานคล้ายใบไผ่ (วุฒิ,2540) ความยาวไม่เกิน 10 เซนติเมตร ออกเรียงสลับซ้อนกันรอบลำต้น ใบที่โคนต้นกว้าง 1.5 เซนติเมตร ยาว 10-12 เซนติเมตร ใบส่วนบนสั้นกว่าใบที่โคนต้น ลักษณะแบนเป็นรูปแถบ ปลายใบแหลม เนื้อใบหนาเล็กน้อย ผิวใบเรียบทั้ง 2 ด้าน เป็นสีเขียวเข้ม เมื่อใบดกจะเป็นพุ่มแผ่กางออก

ดอก ดอกช่อออกที่ปลายยอด รวมกันเป็นกระจุกแน่น มีใบประดับย่อยสีเขียวอ่อน และบางใสค่อนข้างกลม (นันทวัน,2543) ยาวประมาณ 4 มิลลิเมตร เรียงซ้อนกันเป็นตับ ๆ ซึ่งใบประดับนี้ร่วงได้ง่าย กลีบดอกรูปไข่เป็นสีฟ้าหรือสีม่วงอ่อน จำนวน 4 กลีบ แต่ละกลีบแยกเป็นอิสระกันปลายกลีบดอกตัดและงุ้มเข้าหากัน เป็นดอกรวมเพศมีเกสรตัวผู้ที่สมบูรณ์ 2 อัน เกสรตัวเมียที่ไม่สมบูรณ์ 3 อัน ก้านเกสรมีขน รังไข่รูปขอบขนาน ยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร ก้านเกสรตัวเมียยาวประมาณ 3 มิลลิเมตร

ผล รูปไข่เป็นสามเหลี่ยม ปลายแหลมยาว 3-4 มิลลิเมตร ภายในมีเมล็ด 2 เมล็ดมีลายเป็นรัศมี เมื่อเป็นผลแห้งสามารถแตกได้

วิธีการปลูกและดูแลรักษา

หญ้าปักกิ่งเป็นพืชที่เจริญได้ดีในดินทราย ต้องการแดดรำไร วิธีปลูกให้นำต้นเล็กที่มีรากมาปลูกหรือใช้เมล็ด อาจปลูกแบบพืชคลุมดินให้ต้นไม้ใหญ่ ปลูกในกระบะหรือกระถาง (วีณา,2542) และหญ้าปักกิ่งนั้นสามารถขยายพันธุ์โดยการใช้ไหล (เอื้อพร,2538) หรือการแยกหน่อ (วุฒิ,2540)

เสน่ห์ (2542) รายงานการปลูกหญ้าปักกิ่งว่า ปลูกได้ทั้งในร่มไม้หรือกลางแจ้ง แต่ถ้าเป็นกลางแจ้งจะโตไว และได้น้ำหนักกว่า ดินควรเป็นดินร่วนไม่แน่นทึบและข้อสำคัญในการปลูกก็คือต้องมีน้ำรดตลอด การเตรียมดินเริ่มแรกจะใช้รถไถเดินตามไถดินให้ลึก 20-30 เซนติเมตร แล้วใช้จอบสับพรวนดินให้ร่วน รดน้ำให้ชุ่มใช้กิ่งหรือแขนงยาว 5-10 เซนติเมตร โดยวางระยะระหว่างแถวและระหว่างต้นไม่เกิน 1 คืบ แล้วคอยดูแลรดน้ำทุกวันให้ชุ่ม หลังจากปลูกไปแล้ว 10 วันให้ใส่ปุ๋ยยูเรียอัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ และต่อจากนั้นให้ปุ๋ยทุก ๆ 15 วันในอัตราและสูตรเดียวกัน

ชมรมหญ้าปักกิ่งต้านมะเร็ง (มปพ.) รายงานการปลูกหญ้าปักกิ่งโดยใช้เมล็ดโดยเอาเมล็ดจากดอกที่แก่แล้วมาขยี้ให้แตก แล้วโรยลงดินที่เตรียมไว้ประมาณ 12-15 วันเมล็ดจะงอก หญ้าปักกิ่งที่ปลูกด้วยวิธีแยกต้นนำมาใช้เป็นยาควรปลูกไม่ต่ำกว่า 3 เดือนขึ้นไปและถ้าวิธีเพาะเมล็ดต้องไม่ต่ำกว่า 5 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรรพคุณทางด้านสมุนไพร (วีณา,2542)

ใช้ทั้งต้นหรือส่วนเหนือดิน โดยต้นที่นำมาทำเป็นยา ควรมีอายุ 3-4 เดือน ยาจีนใช้หญ้าปักกิ่งรักษาโรคในระบบทางเดินหายใจหรือเจ็บคอ ในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2527 มีผู้ป่วยโรคมะเร็งดื่มน้ำคั้นสดจากหญ้าปักกิ่งเพื่อรักษาและบรรเทาอาการจากโรคมะเร็งประเภทต่าง ๆ บางรายใช้ร่วมกับการรักษาแผนปัจจุบันเพื่อลดผลข้างเคียงและใช้หญ้าปักกิ่งในการลดระดับน้ำตาลในเลือด หรือใช้ตำพอกแก้อักเสบ บวม นอกจากนั้นยังช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกัน

วิธีเตรียมน้ำคั้น

1. รักษาอาการเจ็บคอและมะเร็ง นำหญ้าปักกิ่งน้ำหนัก 100-120 กรัม หรือจำนวน 6 ต้น ล้างน้ำให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ และโขลกในครกที่สะอาด หรือปั่นให้แหลกเติมน้ำ 4 ช้อนโต๊ะ (60 มิลลิลิตร) กรองผ่านผ้าขาวบาง ดื่มน้ำคั้น 2 ช้อนโต๊ะ(30 มิลลิลิตร)วันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น ก่ออาหารเช้าครึ่งชั่วโมง และก่อนนอน (หน่วยบริการฐานข้อมูลสมุนไพร,มปพ.)

2. ลดระดับน้ำตาลในเลือด นำหญ้าปักกิ่ง 10 ต้นล้างน้ำให้สะอาดต้มกับน้ำ 1 ขวด ที่อุณหภูมิต่ำนาน 6 ชั่วโมง กรองเอากากออก ดื่มวันละ 2 ครั้ง ๆ ละ 1 ถ้วยแก้วก่อนอาหารเช้าครึ่งชั่วโมงและก่อนนอน ติดต่อกันนาน 12 สัปดาห์ (เอื้อพร,2538)

เสน่ห์ (2542) รายงานว่า หญ้าเทวดาเป็นสมุนไพรของจีนมีสรรพคุณรักษาได้หลายโรค เช่น แก้โรคมะเร็ง เบาหวาน น้ำเหลือง แก้ไอ แผลชนิดต่าง ๆ เป็นยาครอบจักรวาล โดยใช้ใบสด 7 ใบ ตำหรือปั่นให้ละเอียดแล้วนำน้ำสะอาดผสมประมาณ 10 ซีซี บีบเอากากออก ดื่มเฉพาะน้ำที่คั้นช่วงก่อนอาหาร 30 นาที โดยงดดื่มน้ำ 10 นาทีจะได้ผลประมาณ 1 สัปดาห์ส่วนกากที่เหลือนำมาต้มดื่มแทนน้ำจะทำให้เบาหวานลด แผลที่เกิดจากมะเร็งที่มีน้ำเหลือง น้ำเหลืองจะแห้งรับประทาน 2 ครั้งก่อนอาหารเช้า-เย็น แก้แผลที่เกิดในช่องปากให้นำต้นและใบมาล้างแล้วตากแดดให้แห้ง สนิทนำใบบดละเอียดให้ได้น้ำหนัก 100 กรัมใช้พิมเสน 5 กรัมบดรวมใบใช้ใส่แผลในช่องปาก

วุฒิ (2540) รายงานว่า ใบและต้นหญ้าปักกิ่งมีรสจืดเย็นใช้ต้มน้ำดื่มแก้เจ็บคอ รักษามะเร็งในเม็ดโลหิต มะเร็งในที่ต่าง ๆ เช่น ในลำคอ ตับ มดลูกและลำไส้ เป็นต้น สามารถใช้รักษามะเร็งได้ในระดับหนึ่งและอยู่ในระหว่างการศึกษาวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแบ่งเซลล์

สิ่งมีชีวิตทุกชนิดจะต้องมีการสืบพันธุ์เพื่อดำรงสายพันธุ์ของตนเองไว้ตลอดไป

การสืบพันธุ์มี2แบบคือ

1. การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศได้แก่การแตกหน่อ (budding) การสร้างสปอร์ (sporulation) การแบ่งตัวจาก 1 เป็น 2 (fission) ชิ้นส่วนย่อยของร่างกายเดิมสามารถเจริญเป็นสิ่งมีชีวิตตัวใหม่ (fragmentation) ตลอดจนการปักชำ ติดตา ทาบกิ่งในพืช การสืบพันธุ์ประเภทนี้จะต้องอาศัยการแบ่งแบบไมโทซิส (mitosis) ซึ่งลูกหลานที่เกิดใหม่จะเหมือนกับพ่อแม่เดิมทุกประการ

2. การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสิ่งมีชีวิตจำเป็นต้องมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ได้แก่การสร้างสเปิร์ม (spermatogenesis) และการสร้างไข่ (oogenesis) ในสัตว์ การสร้าละอองเรณู (microsporogenesis) และการสร้างไข่ (megasporogeesis) ในพืช การสร้างเซลล์สบพันธุ์จะต้องมีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (meiosis) ซึ่งจะมีการลดจำนวนโครโมโซมลงครึ่งหนึ่ง เซลล์สืบพันธุ์จึงมีโครโมโซมเป็นแฮพลอยด์ เมื่อเซลล์สืบพันธุ์ของฝ่ายพ่อและแม่รวมกันจะทำให้ลูกที่เกิดขึ้นมีจำนวนโครโมโซมเท่าเดิม (ประดิษฐ์,2541)

การศึกษาการแบ่งเซลล์แบบ Mitosis

mitosis เป็นการเพิ่มจำนวนเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทั้งหลาย โดยเซลล์ใหม่ที่ได้จะมี โครงสร้างทางพันธุกรรมและระดับโครโมโซมเหมือนกับเซลล์เดิมทุกประการ เว้นแต่ในกรณีที่เกิดการกลายพันธุ์ขึ้นแบ่งระยะของการแบ่งเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนออกได้เป็น 2 ระยะใหญ่ ๆ ได้ดังนี้

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

ในพืชนั้นพวกที่เป็น dipliod ระยะเวลาของรอบการแบ่งเซลล์จะเพิ่มขึ้นเมื่อเซลล์มีปริมาณ DNA เพิ่มมากขึ้น และสำหรับในปริมาณ DNA หนึ่ง ๆ นั้น พวก dicotyledon, พวกที่เป็น anuals และพวกที่มีระดับโครโมโซมเป็น dipliod จะมีระยะเวลาของการแบ่งเซลล์สั้นกว่าในพวก monocotyledon พวกที่เป็น perennials และพวกที่มีระดับโครโมโซมเป็น polypliods นั่นก็คือ พวก annual ที่มีอายุสั้น ๆ และมี nucleus ขนาดเล็กจะมีรอบของการแบ่งเซลล์สั้นที่สุดและจะยาวที่สุดใน พวกที่เป็น parennials ที่มี nucleus ขนาดใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเซลล์ต่าง ๆ จากปลายรากอันเดียวกันอาจจะมีความแตกต่างกันเป็นอย่างมากในด้านระยะของการแบ่งเซลล์ ถึงแม้ว่าจะอยู่ห่างกันไม่กี่ไมครอน และมีข้อมูลบางอย่างที่ชี้ให้เห็นว่าไซโตพลาสซึมมีส่วนควบคุมการแบ่งเซลล์

Interphase เป็นระยะการแบ่งเซลล์ที่มีความสำคัญ เนื่องจากว่าเป็นระยะที่เกิด DNA replication ขึ้น ซึ่งแบ่งออกเป็นระยะย่อยได้ 3 ระยะย่อยดังนี้ (อดิศร,2539)

1. ระยะ G_1 เป็นระยะที่มีการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ (RNA)และโปรตีนต่าง ๆ เพื่อการจำลองตัวของแต่ละโครโมโซม

2. ระยะ S เป็นระยะที่มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA synthesis) โมเลกุลใหม่ และแต่ละโครโมโซมจำลองตัวเองเพิ่มจากหนึ่งเป็นสองโครมาทิด

3.ระยะG_2เป็นระยะที่มีการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอและโปรตีนที่จำเป็นสำหรับการแบ่งนิวเคลียส

เมื่อเซลล์มีการสร้างสารต่าง ๆ เรียบร้อยแล้ว จึงจะเกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส ซึ่งเขียนเป็นขั้นตอนตามลำดับดังนี้ คือ G_1-S-G_2-ไมโทซิส เมื่อได้เซลล์ลูกเกิดขึ้นก็จะเข้าสู่วงจรนี้อีก เรียกวงจรนี้ว่า วัฏจักรเซลล์(cell cycle) (ประดิษฐ์,2541)

2. Mitosis เป็นระยะของการเกิดการแบ่งเซลล์แบ่งออกเป็นระยะต่าง ๆ ดังนี้

Prophase โครโมโซมเริ่มมีการหดตัว เกิดขึ้นโดยการที่เส้นสายโครโมโซมม้วนในลักษณะการพันเกลียว(coiling)ระยะนี้จะเห็นโครโมโซมเป็น 2 โครมาทิดระยะ prophase จะกินเวลาประมาณครึ่งหนึ่งของ Mitosis

Metaphase เป็นระยะสั้น ๆ เป็นระยะที่ centromeres มาเรียงตัวกันบริเวณ equator โดยที่ daughter centromeres จะยังคงติดกันอยู่ แขนของโครโมโซมจะลู่ไปทางขั้วเซลล์ เนื่องจากการเคลื่อนตัวมายัง equator ของโครโมโซม การหดตัวของ chromatids จะเสร็จสิ้นสมบูรณ์และพันตัวกันอยู่ ก็จะแยกออกจากกัน

Anaphase เป็นระยะที่สั้นที่สุดของ mitosis การแบ่ง centromere จะสิ้นสุดพร้อมกันและ centromere ของแต่ละโครโมโซมจะเคลื่อนที่ออกจากกันไปยังขั้วตรงกันข้ามในอัตราประมาณ 0.2-0.4 um/นาที ทำให้แขนโครโมโซมลู่ไปข้างหลัง ถ้าโครโมโซมมีขนาดยาวจะทำให้ centromere เคลื่อนตัวผ่านแขนโครโมโซมออกไป การเคลื่อนตัวของโครโมโซมจะหยุดลงเมื่อ centromere ไปรวมตัวกันที่ขั้วเซลล์โดยมีแขนของโครโมโซมลู่ไปข้างหลัง

Telophase เกิดเยื่อหุ้มนิวเคลียสขึ้นโดยจะเกิดทางด้านขั้วเซลล์ก่อน จากนั้นจะเกิดรอบ ๆแขนของโครโมโซม และล้อมรอบในที่สุด (อดิศร,2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสำคัญของไมโทซิส (นิตย์ศรี,2541)

การแบ่งแบบไมโทซิสยังคงรักษาคุณสมบัติทั้งทางปริมาณและคุณภาพของโครโมโซมไว้อย่างคงที่ การแบ่งตามความยาวของโครโมโซมได้เป็นโครมาทิด การแยกของโครมาทิดไปยังเซลล์ลูก ทำให้เซลล์ลูกมีส่วนประกอบทางพันธุกรรมเหมือนกับพ่อแม่ ดังนั้นใช้ไมโทซิสเป็นเครื่องมือสำหรับส่งต่อหน่วยทางพันธุกรรมที่มีอยู่เป็นจำนวนมากบนโครโมโซมไปยังเซลล์ลูกได้อย่างถูกต้องแม่นยำ การแบ่งเซลล์ในพืชชั้นสูงต่อจากไซโกตเป็นขั้นตอนที่สำคัญต่อการแปรสภาพของเซลล์ เนื่องจากนิวคลีโอไลทั้งหมดของพืชชั้นสูงที่มีข้อมูลทางพันธุกรรมเช่นเดียวกับไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิภายในถุงเอมบริโอ ทุก ๆ เซลล์จะมีศักยภาพเหมือนไซโกตที่สามารถจะเจริญเติบโตเป็นต้นพืชได้ ความสามารถของเซลล์ใดเซลล์หนึ่งหรือเนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ ของพืชจะเจริญเติบโตไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ เรียก totipotecy ซึ่งพบได้ตามปกติในการเพาะเลี้ยงเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชชนิดต่าง ๆ ดังนั้น จะพบว่าไมโทซิสเป็นกระบวนการที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตและการเตรียมพร้อมที่จะเกิดการสืบพันธุ์ได้

โครโมโซม(Chromosome) ประกอบด้วย กรดนิวคลีอิคพวก DNA (deoxyribonucleic acid) และโปรตีนพวกฮิสโตน (histone) และโปรตามีน(protamine) ฮิสโตนนั้นอาจพบโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตทั่ว ๆ ไป ส่วนโปรตามีนจะพบในโครโมโซมของสัตว์จำพวกนก ในขณะที่นิวเคลียสแบ่งตัวในระยะ metaphase หรือ anaphase นั้นโครโมโซมมีขนาดใหญ่และหดสั้น และสามารถส่องเห็นด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา เหตุที่โครโมโซมมีขนาดใหญ่เช่นนี้ก็เพราะว่า มีการพับไปพับมาจนเกิดเป็นเส้นสายขนาดใหญ่นั่นเอง และจากการย้อมโดยใช้สีเคมี พบว่าในนิวเคลียสมีร่างแหซึ่งติดทึบอยู่ทั่วไป เรียกส่วนที่เป็นร่างแหว่า โครมาทิน (chromatin) (ไพศาล,2535) เมื่อเซลล์แบ่งตัวร่างแห นี้จะปรากฏเป็นเส้นใยเล็ก ๆ อันเกิดจากการเรียงตัวของท่อเล็ก ที่เรียกว่า microtubule กลายเป็นเส้นใยยาวเรียกว่า สายสปินเดิล (spindle fiber) สายสปินเดิลจะมีปลายข้างหนึ่งยึดติดกับเซนทริโอล และปลายอีกข้างหนึ่งยึดเซนโตรเมีย (centromere) ของโครโมโซม สายสปินเดิลจะช่วยดึงโครโมโซมให้เคลื่อนตัวได้ในขณะมีการแบ่งเซลล์ (อมรา,2540)

สิ่งมีชีวิตที่อยู่ใน species เดียวกันจะมีโครโมโซมเท่ากันเสมอ เช่น คนมีจำนวนโครโมโซม 2n = 46 หนู 2n = 42 กระต่าย 2n = 44 และข้าวโพด 2n = 20 เป็นต้น ในเซลล์ร่างกายมักมีโครโมโซมในสภาพ 2n คือ โครโมโซมแต่ละชนิดจะมีอยู่เป็นคู่ ๆ ซึ่งอาจพูดว่ามีโครโมโซมอยู่ 2 ชุด หรือ diploid ส่วนหน่วยสืบพันธุ์ (gamete) นั้นมักจะมีโครโมโซม 1 ชุด ซึ่งเรียกว่า haploid (n)พืชหลายชนิดอาจมีโครโมโซมเกิน 2 ชุดก็ได้ คือ อาจมีโครโมโซม 3 ชุด (triploid), 4 ชุด(tetraploid), 5 ชุด(pentaploid) เป็นต้น ในขณะที่เซลล์แบ่งตัวนั้นรูปร่างของโครโมโซมค่อย ๆ เปลี่ยนแปลงไป เช่น ในระยะ metaphase หรือ anaphase ของการแบ่งตัวแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโตซิส โครโมโซมปรากฏเป็นแท่งยาว ๆ แต่ละโครโมโซมมีลักษณะของมันเอง ไม่ว่าจะเป็นเรื่องของขนาด ความยาว และตำแหน่งที่ตั้งของจุดเซนโตรเมีย โครโมโซมต่างคู่กันมีตำแหน่งที่อยู่ของจุดเซนโตรเมียต่างกัน จากการถือเอาตำแหน่งที่อยู่ของจุดเซนโตรเมียเป็นหลักนี้อาจแยกโครโมโซมออกเป็น 4 พวกคือ Metacentric chromosome คือ โครโมโซมที่จุดเซนโตรเมียอยู่ตรงกลางแขนทั้งสองข้างมีความยาวเท่ากัน Submetacentric chromosome คือ โครโมโซมที่จุดเซนโตรเมียตั้งอยู่ค่อนไปทางใดทางหนึ่ง Acrocentric chromosome คือ โครโมโซมที่จุดเซนโตรเมียตั้งอยู่ใกล้ปลายสุดทางใดทางหนึ่ง Telocentric chromosome คือ โครโมโซมที่จุดเซนโตรเมียตั้งอยู่ตรงปลายสุดทางใดทางหนึ่ง โครโมโซมพวกต่าง ๆ เหล่านี้มีลักษณะคงที่ และโครโมโซมที่เป็นคู่กันมีที่ตั้งของจุดเซนโตรเมียตรงกัน (ไพศาล,2535)

การทำการศึกษาโครโมโซมพบว่า ระยะของไมโทซิสช่วงเวลาเดียวของวัฏจักรเซลล์ที่โครโมโซมมีรูปร่างเห็นได้ชัดเจนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ระยะต่าง ๆ ของการแบ่งเซลล์ในไมโทซิส คือ ระยะแรกเรียกว่าโพรเฟส(prophase) ระยะต้นของโพรเฟสนั้นโครโมโซมปรากฏเห็นได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ มีขนาดยาว โดยแต่ละเส้นประกอบด้วยสายใยเป็นคู่ เรียกว่า sister chromatid ในตอนปลายระยะนี้โครโมโซมจะหดสั้นมาก แต่ละโครโมโซมจะมีรอยคอดติดสีจางเรียกว่า เซนโทรเมียร์ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการเกาะติดของสายสปินเดิลเพื่อช่วยแยกโครโมโซมออกจากการแบ่งเซลล์ระยะ โครโมโซมจากเซนโตรเมีย ไปถึงปลายโครโมโซมข้างใดข้างหนึ่ง เรียกว่าแขน(arm)เมื่อสิ้นสุดระยะโพรเฟส จะพบว่าผนังนิวเคลียสเกิดการสลายตัวกลายเป็นส่วนประกอบของเอนโดพลาสมิคเรติคูลัม (edoplasmis reticulum) และเริ่มเข้าสู่ระยะแบ่งเซลล์เรียกว่า เมทาเฟส(metaphase)โครโมโซมหดตัวหนาขึ้น สังเกตเห็นโครโมโซม 1 แท่งประกอบด้วยโครมาทิด 2 แท่ง จากนั้นเซนโตรเมียจะแบ่งตัวเป็นสองแล้วเคลื่อนย้ายไปอยู่คนละเซลล์ พร้อมสร้างสายใยสปินเดิล ระยะนี้มีความสำคัญมาก คือโครโมโซมจะหดสั้นสุด และเป็นระยะที่เหมาะสมอย่างยิ่งในการนำโครโมโซมมาศึกษาทางไซโตจินิติค เช่น นับจำนวน ตรวจดูรูปร่างและนำมาย้อมสีแบบต่าง ๆ ต่อมาเริ่มเคลื่อนย้ายมาอยู่ตรงกลางของเซลล์เซนโทรเมียร์ของแต่ละโครโมโซมมีการแบ่งครึ่งเพื่อทำการแยกโครมาทิด ระยะต่อมาคือ ระยะแอนาเฟส(anaphase) โครโมโซมแยกออกจากกัน และเคลื่อนย้ายไปอยู่กันคนละขั้วของเซลล์จะปรากฏโครโมโซมแยกเป็น 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับจำนวน diploid ของสปีชีส์นั้น ๆ ระยะสุดท้ายของไมโทซิส คือ เทโลเฟส(telophase) โครโมโซมที่แยกไปอยู่คนละขั้วเริ่มคลายการหดตัวและขยายยาวเริ่มเห็นผนังนิวเคลียสสร้างขึ้นล้อมแต่ละกลุ่มของโครโมโซม ภายหลังเมื่อมีการแบ่งของนิวเคลียสแล้วเริ่มแบ่งไซโทพลาสซึมในเซลล์สัตว์พบว่าผนังเซลล์จะคอดตรงกลางแล้วแยกออกเป็นสองเซลล์ สำหรับเซลล์พืชจะมีการสร้างผนังเซลล์ (cell plate)มีลักษณะเป็นผนังบางกั้นตรงกลางสำหรับเซลล์ ซึ่งเวลาต่อมาจะมีสาร cellulose มาสะสมจนเปลี่ยนสภาพเป็นผนังเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่แข็งแรง เรียกว่า cell wall เมื่อสิ้นสุดการแบ่งเซลล์จะได้เซลล์แม่เริ่มต้น 1 เซลล์ แบ่งเป็นเซลล์ลูกได้จำนวน 2 เซลล์ (อมรา,2540)

ประโยชน์ของการศึกษาโครโมโซมในโซมาติกเซลล์ คือ ใช้บอกจำนวนโครโมโซมในสิ่งมีชีวิตได้คือ บอกจำนวน somatic number =2n เมื่อรู้จำนวนโซมาติกนัมเบอร์แล้วสามารถหาจำนวนโครโมโซมในเซลล์สืบพันธุ์ (gametic number = n) ซึ่งเท่ากับครึ่งหนึ่งของโซมาติกนัมเบอร์เสมอ นอกจากศึกษาจำนวนโครโมโซมแล้วยังนำโครโมโซมมาจัดคาริโอไทป์ ดูบี-โครโมโซม ศึกษาการแบ่งนิวเคลียสแบบไมโทซิส การนับจำนวนโครโมโซมมีความสำคัญต่อการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ การปรับปรุงพันธุ์พืช อนุกรมวิธานและวิวัฒนาการ (กันยารัตน์,2532)

การศึกษาระยะต่าง ๆ ของการแบ่งเซลล์โดยวิธี Squashing

Squash technique เป็นเทคนิคของการกด และขยี้เซลล์(โดยใช้หัวแม่มือ หรือวัสดุอื่น ๆ กดลงบนเซลล์) ทำให้เซลล์อยู่ในลักษณะแบนราบ และโครโมโซมเรียงตัวอยู่ในระดับเดียวกัน อันเป็นการง่ายต่อการจัดโฟกัส ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นอกจานั้นแรงกดยังทำให้โครโมโซมกระจายออกจากกัน ง่ายต่อการนับจำนวน (อมรา,2540)

1. **ตัวอย่างพืช** (อดิศร,2539)

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

เพาะเมล็ดให้งอกในกระดาษที่ใช้ทดสอบการงอกของเมล็ดหรือวัสดุที่ใกล้เคียงกัน เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อราและบักเตรีที่ติดมากับเมล็ด การนำเมล็ดแช่ใน 10% clorox สลับกับการเขย่าเป็นเวลา 10 นาที ก่อนนำไปเพาะจะช่วยได้มาก เมล็ดที่มีขนาดใหญ่และแข็ง การแช่เมล็ดค้างคืนจะทำให้การงอกเร็วขึ้น ควรเพาะล่วงหน้า 7-10 วันก่อน วันที่ต้องการใช้ ส่วนหอมหัวใหญ่นั้นกระต้นการงอกของรากได้โดยการนำไปวางบนวัสดุที่ชื้น เช่น ขี้เถ้าแกลบ ขุยมะพร้าว หรือนำไปวางให้ส่วนล่าง ๆ ของหัวแช่อยู่ในน้ำ ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 3-5 วัน

หลีกเลี่ยงการเพาะเมล็ดหรือตัวอย่างพืชอื่น ๆ ในวัสดุที่มีดิน ทราย เป็นส่วนประกอบอยู่ด้วยเพราะเมล็ดทรายที่ติดมากับรากพืชอาจจะทำให้ cover slip แตกในระหว่างการกด cover slip หรือไม่ก็ต้องแน่ใจก่อนว่าไม่มีเม็ดทรายติดมา

รากพืชที่นำมาศึกษาโครโมโซม จะต้องเป็นรากที่กำลังมีการเจริญ โดยจะสังเกตรากที่มีสีขาวและปลายรากมีสีขาวขุ่นเล็กน้อย รากที่มีปลายรากสีคล้ำถือว่าเป็นรากที่ไม่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. สารเคมี

2.1 น้ำยาที่ใช้เตรียมเซลล์เพื่อการศึกษาจำนวนโครโมโซม หรือเพื่อการศึกษา Karyotype (Pre-treating agents)

ในการศึกษาจำนวนโครโมโซมหรือการศึกษารูปร่างของโครโมโซมนั้นจำเป็นที่จะต้องใช้สารเคมีบางชนิดที่จะมีผลต่อการยับยั้งการเกิด spindle fibre จะทำให้โครโมโซมซึ่งประกอบขึ้นด้วย 2 โครมาทิดไม่ถูกดึงไปแต่ละขั้วของเซลล์และจะกระจายตัวอยู่ๆ ไปภายในเซลล์ภายหลังจากถูก squash โครโมโซมในระยะดังกล่าวจะหดตัวอย่างเต็มที่ จึงทำให้ง่ายต่อการศึกษาจำนวนและรูปร่างของโครโมโซม

Pre-treating agent ที่สำคัญได้แก่

ก. Colchicine ใช้ในรูปของสารละลายที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.01-0.2% w/v colchicine มีลักษณะเป็นผงและจะละลายในน้ำ หลังจากการเตรียมเสร็จแล้วควรเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิไม่ควรสูงกว่า 10 $^{\circ}$C

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

ค. p-dichlorobenzene (PDB) ใช้ในรูปสารละลายอิ่มตัวในน้ำโดยชั่งสาร 10 กรัมต่อน้ำ 500 ml การแช่สารไว้ในน้ำค้างคืนโดยใช้ magnetic stirrer จะช่วยทำให้การละลายของสารนี้ดีขึ้น การนำไปตั้งบน hot plate ที่ 60 $^{\circ}$C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก็จะช่วยทำให้สารนี้ละลายได้มากขึ้นเช่นกัน

ง. α-bromo-naphthalene ใช้ในรูปสารละลายที่มีความเข้มข้น 1% ที่เตรียมจาก 1 ml α-bromo-naphthalene ใน 100 ml ของ absolute ethanol เป็นเวลาครึ่งชั่วโมง (อดิศร,2539) ซึ่งจะใช้ได้ดีกับการศึกษาโครโมโซมของข้าวสาลีและข้าวบาร์เลย์ (Singh,1993)

วิธีการปฏิบัติ

ล้างรากพืชให้สะอาด ตัดรากพืชให้มีความยาวประมาณ 1 ซม. แล้วนำไปแช่ในสารละลาย Pre-treating agent เพื่อให้เซลล์หยุดการแบ่งไมโทซิสที่ระยะเมทาเฟส (อมรา, 2540) เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง เก็บไว้ในที่มีอุณหภูมิประมาณ 15 $^{\circ}$C และไม่เกิน 18 $^{\circ}$C ในระหว่างนี้รากพืชยังประกอบขึ้นด้วยเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ ดังนั้นเครื่องแก้วที่ใช้ต้องปราศจากสารเคมีต่างๆเช่น น้ำยาล้างเครื่องแก้ว ซึ่งอาจจะเป็นอันตรายต่อเซลล์พืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 น้ำยารักษาสภาพเซลล์ (Fixative)

จุดประสงค์ของการใช้น้ำยารักษาสภาพเซลล์ เพื่อที่จะหยุดการทำงานของเซลล์ให้เร็วโดยที่เซลล์ดังกล่าว จะต้องมีสภาพเหมือนกับเซลล์ที่ยังมีชีวิตดังนั้นอาจมีผลทำให้โครงสร้างของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปได้บ้าง Fixative ที่ใช้ได้ผลดียกตัวอย่างเช่น

1. Farmer 's Solution หรือ McClintock Solution ประกอบด้วย เอธิลแอลกอฮอล์สัมบูรณ์ (absolute ethyl alcohol) 3 ส่วนและกรดน้ำส้มเข้มข้น(glacial acetic acid) 1 ส่วน

2. Carnoy's Solution ประกอบด้วย เอธิลแอลกอฮอล์สัมบูรณ์ 6 ส่วน คลอโรฟอร์ม (chloroform) 3 ส่วนและกรดน้ำส้มเข้มข้น 1 ส่วน

ทั้งแอลกอฮอล์และกรดน้ำส้ม ทำให้ส่วนประกอบต่าง ๆของเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกโปรตีนเกิดการจับกันเป็นตะกอน นอกจากนี้แอลกอฮอล์ ยังช่วยดึงน้ำออกจากเซลล์และเนื้อเยื่อจึงทำให้เนื้อเยื่อมีความแข็งและกรดน้ำส้มทำให้เนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม

น้ำยาคงสภาพเซลล์ทั้งสองชนิด ต้องเตรียมสารเคมีแยกส่วนกันเมื่อได้รากมาแล้วจึงค่อยผสมสารเคมีเข้าด้วยกัน (คณาจารย์ภาควิชาพันธุศาสตร์, 2544) เนื่องจากน้ำยานี้เมื่อเก็บไว้ ณ อุณหภูมิห้อง จะเกิดปฏิกิริยาสร้างเอสเทอร์ขึ้นอย่างรวดเร็วการใช้น้ำยานี้ควรจะใช้สารละลาย ที่เตรียมขึ้นใหม่ ๆ จึงจะได้ผลดี (ชัยฤกษ์,2525)

3. Navashin 's Fluid ประกอบด้วย

Solution A

โครมิคแอนไฮไดรด์	1.5 กรัม
กรดน้ำส้มเข้มข้น	10 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	90 มิลลิลิตร

Solution B

สารละสายฟอร์มอลดีไฮด์	40 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	60 มิลลิลิตร

โดยทำการผสม Solution A และ Solution B ตามอัตราส่วนดังกล่าวข้างต้น แช่รากพืชไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งหลังจากที่ทำการ fixation ด้วย Navashin 's Fluid แล้ว ต้องล้างผ่านน้ำไหลเป็นเวลา 3 ชั่วโมง (Dnyansagar,1982)

Fixation อื่น ๆที่ได้แนะนำโดย Dyer (1979) ได้แก่ส่วนผสมของ

Absolute ethanol	10 ส่วน
Chloroform	2 ส่วน
Glacial acetic acid	2 ส่วน
Formalin	1 ส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(40% formaldehyde ในน้ำ)

อย่างไรก็ตามภายหลังจากการใช้น้ำยาชนิดนี้กับตัวอย่างพืชแล้ว ควรล้างตัวอย่างพืชด้วย 70% ethanol ให้สะอาดก่อนการนำตัวอย่างไปแช่ใน 1 M HCl ซึ่งเป็นขั้นตอนต่อไป เนื่องจากว่า formaldehyde สามารถที่จะทำ ปฏิกิริยากับไอของ HCl เกิดเป็นสาร bis-chloromethyl ester ซึ่งเป็นสารมีพิษ และมีรายงานว่าทำให้เกิดมะเร็งในหนู ในสูตรน้ำยาดังกล่าวอาจจะยกเว้นการใช้ formalin ได้ แต่หากเป็นโครโมโซมที่มีขนาดใหญ่อาจได้ผลไม่ดีนัก

วิธีการปฏิบัติ

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

2.3 น้ำยาย่อยสลาย(Macerating fluid)

ในการศึกษาโครโมโซมของพืชนั้นต้องการที่จะให้เซลล์ที่ปลายรากพืชแยกตัวออกมาเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ ให้มากที่สุด เพื่อเป็นการลดจำนวนเซลล์ที่จะอยู่ซ้อนกันหลาย ๆ ชั้น ดังนั้นจึงต้องใช้กรด ช่วยทำลายที่ยึดระหว่างเซลล์ ชนิดกรดและความเข้มข้น คือ 1 N HCl ที่ 60 ° C เป็นเวลา 6-12 นาที (Sybenga,1992) ซึ่งจะใช้ water bath หรือ oven ก็ได้ สามารถที่จะเก็บตัวอย่างพืชที่ผ่านการ mecerate (การทำให้เซลล์นิ่ม) มาแล้วไว้ได้ประมาณ 2 วัน โดยนำไปแช่ในน้ำแล้วเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 10-15 ° C

2.4 สีย้อมเซลล์(Stain) (อมรา,2540)

ในการศึกษาโครโมโซมพืชทั้งจากเซลล์ปลายรากและเซลล์ microsporocyte นั้นนิยมใช้สี acetocarmine และโดยเฉพาะมีส่วนของสนิมเหล็กปนอยู่ในสีด้วยแล้ว จะทำให้โครโมโซมติดเข้มมากขึ้น เรียกเทคนิคนี้ว่า iron-acetocarmine วิธีเติมสนิมเหล็กให้กับสีใช้เข็มเขี่ยปลายสนิมจุ่มในน้ำสีก็มีผล นอกจากสี acetocarmine แล้วยังมีสีประเภทอื่น ๆ ใช้ย้อมเซลล์พืชได้ในการเตรียมสีดังนี้

1. 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 codenser นาน 1 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นแล้วกรองเก็บสารละลายนี้ในที่เย็นและมืด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. สี Lacto-propioic orcein

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

3. สี aceto-orcein

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

4. สี alcoholic-hydrocloric-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% แอลกอฮอล์ลงไปกรองสีก่อนใช้

5. การย้อมสี Feulgen technique

Feulgen reaction เป็นปฏิกิริยาที่ชี้ว่าส่วนใดเป็น DNA และส่วนใดมิใช่ DNA จากเทคนิคนี้ทำให้เฉพาะส่วนของโครโมโซมติดสี แต่ cytoplasm และ nucleolus จะไม่ติดสี วิธีการเตรียมสีย้อมมีดังนี้ เทน้ำกลั่นที่เดือดแล้วขนาด 200 มล. ลงในสี basic fuhsin จำนวน 1 กรัม แล้วเขย่าภาชนะที่ใส่สารละลายสีนี้นาน 5 นาที ทำให้เย็นจนถึง 50 $^{\circ}$ C แล้ว กรองใส่ขวดที่แสงผ่านไม่ได้ หรือขวดฝาปิดสีชา เติม 30 มล. ของกรด HCl ลงไปจากนั้นเติม 3 กรัมของ sodium หรือ potassium metabisulphite ($Na_2S_2O_2$or $K_2S_2O_5$) เก็บสีไว้ในที่เย็นและมืด ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีแดงแสดงว่าสีเก่าเกินไปไม่เกิดผลในการย้อม ต้องเตรียมใหม่

วิธีการย้อมสีเซลล์ด้วย Feulgen techniqe นำปลายรากที่ fix ไว้เรียบร้อยแล้วมาแช่ใน 10% HCl ที่เย็น(เตรียม HCl conc : น้ำกลั่นในอัตราส่วน 1: 9) คอยจนส่วนของรากจม จึงย้ายมาแช่ใน 10% HCl ที่อุณหภูมิ 60 $^{\circ}$ C ปล่อยให้ hydrolyze นาน 25 นาที แล้วจึงล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แช่ปลายรากใน Feulgen solution นาน 20-30 นาที เมื่อต้องการจะตรวจดูโครโมโซมให้เตรียมรากบนสไลด์ หยด 40% acetic acid ลงไป แล้วบดขยี้เซลล์ให้แบนราบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. **อุปกรณ์อื่น ๆ** (อดิศร,2539)

3.1 Slide

3.2 Cover slip

3.3 เข็มเขี่ยขนาดเล็ก 2 อัน

3.4 Forcep ขนาดเล็ก ที่มีปลายแหลม 1 อัน

3.5 กล้องจุลทรรศ์ที่มีกำลังขยาย 1000 เท่า

4. **การเตรียม Slide** (อดิศร,2539)

นำรากที่ผ่านการ macerate แล้วมาวางบน slide โดยที่ต้องระวังอย่าให้รากแห้งในทุก ๆ ขั้นตอน ใช้เข็มเขี่ยตัดเฉพาะส่วนปลายรากไว้ประมาณ 1 มม. เอาส่วนที่เหลือทิ้งไป หยดสีหยดเล็ก ๆ ที่ปลายรากดังกล่าว โดยที่ก่อนหยดสีถ้าหากว่าหยดน้ำตรงส่วนที่ปลายรากพืชดังกล่าวให้ใช้กระดาษทิชชูซับเอาหยดน้ำออกก่อน ถ้าสีที่หยดมีขนาดใหญ่เกินไปให้ใช้กระดาษทิชชูซับออกบ้าง จากนั้นให้ใช้เข็มเขี่ย 2 อัน เขี่ยแยกเนื้อปลายรากให้ออกจากกันแล้วใช้ด้ามของเข็มเขี่ยค่อย ๆ เคาะบนเนื้อเยื่อ เพื่อให้เซลล์หลุดออกจากกันเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ แล้วค่อยวาง cover slip บนหยดสี โดยที่ก่อนวาง cover slip ถ้าหากเห็นว่ามีส่วนของเนื้อเยื่อที่ไม่แยกออกจากกันซึ่งจะมองเห็นได้อย่างชัดเจนแล้ว ก็ให้ใช้ forcep คีบออกเสียก่อน จากขั้นตอนนี้ก็สามารถนำไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศ์ได้ทันทีว่ามีเซลล์ที่ต้องการหรือไม่และติดสีดีเพียงใด หากว่าสียังติดไม่ดีพอก็ให้ทิ้งไว้สักครู่หนึ่ง ขั้นตอนนี้สามารถที่จะทำให้เซลล์กระจายตัวออกจากกันให้มากยิ่งขึ้น โดยการใช้ด้ามของเข็มเขี่ยค่อย ๆ เคาะด้านบนของ cover slip หลาย ๆ ครั้ง การ squash เพื่อทำให้เซลล์แบนเป็นระนาบเดียวกัน ทำได้โดยการนำกระดาษกรองหรือกระดาษทิชชูซึ่งพับไว้หลาย ๆ ชั้น วางบน cover slip แล้วค่อย ๆ ใช้หัวแม่มือกดลงตรง ๆ โดยที่ต้องระวังไม่ให้ cover slip เคลื่อนที่ไปตามทางด้านข้างได้ แล้วให้ไปตรวจดูภาพภายใต้กล้องจุลทรรศ์ต่อไป

5. **การเก็บรักษา Slide** (ชัยฤกษ์,2525)

สไลด์ซึ่งเตรียมโดยวิธี squash technique สามารถเก็บรักษาไว้ชั่วคราวได้โดยการยาขอบของ cover slip ด้วยขี้ผึ้งพาราฟิน วิธียาขอบใช้เข็มเขี่ยที่สะอาดเผาไฟให้ร้อน นาบลงไปบนขี้ผึ้งพาราฟินแล้วนำมายารอบขอบของ cover slip สารผสมของพาราฟินหนึ่งส่วนกับ gum mastic หนึ่งส่วนผสมกันอุ่นให้เข้ากันดีแล้วทำให้เย็นอย่างรวดเร็วใช้ได้ผลดีกับวิธีเก็บรักษาสไลด์ไว้ชั่วคราว ยาทาเล็บหรือยางลบกระดาษไขก็ใช้ได้เช่นกัน สไลด์ที่ย้อมด้วยสี orcein หรือ carmine สามารถเก็บไว้ได้หลายอาทิตย์ถ้าเก็บสไลด์ที่ยาขอบแล้วในจานแก้วมีฝาปิดมีกระดาษกรองชุบกรด acetic 45% รองก้นจะเก็บไว้ได้นานกว่าธรรมดา สไลด์ที่ย้อมด้วยวิธี Feulgen เก็บไว้ได้ชั่วคราวชั่วระยะเวลา 2-3 ชั่วโมง เพราะสีเสื่อมสลายได้รวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัยที่มีผลต่อขนาดของโครโมโซม (นิตย์ศรี,2541)

ในระยะต่าง ๆ ของวัฏจักรเซลล์ รูปร่างและขนาดของโครโมโซมแตกต่างกันโดยเฉพาะในระยะต่าง ๆ ของการแบ่งเซลล์ ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อขนาดของโครโมโซมคือ ปัจจัยทางฟิสิกส์และเคมี ซึ่งจะใช้ปัจจัยเหล่านี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาขนาดของโครโมโซมและมีบทบาทต่อการศึกษาทางพันธุศาสตร์ของเซลล์ ปัจจัยหรือสารเคมีเหล่านี้ได้แก่

1. โคลซิซิน (colchicine) เป็นสารแอลคาลอยด์ซึ่งทำหน้าที่ขัดขวางการแบ่งเซลล์โดยยับยั้งการสร้างสปินเดิลไฟเบอร์ ทำหน้าที่ดึงเซนโตรเมียไปยังขั้วของเซลล์ โครโมโซมจึงหยุดอยู่ที่ระยะเมตาเฟสซึ่งเป็นระยะที่โครโมโซมหดสั้นที่สุด แต่ไม่มีผลต่อการแบ่งของโครโมโซม จึงเป็นสารที่นิยมทำหน้าที่เป็น pretreatment ในการศึกษาโครโมโซม

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

3. การลดปริมาณของสารที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์โครมาทิน อาจจะมีผลต่อขนาดของโครโมโซม เซลล์ที่ได้จากการแบ่งตัวค่อนข้างถี่ จะมีโครโมโซมขนาดเล็กกว่า เซลล์ที่มีระยะอินเตอร์เฟสค่อนข้างยาว

4. สารอาหารต่าง ๆ ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ มีผลต่อขนาดของโครโมโซมด้วย ตัวอย่าง เช่น ฟอสเฟต ที่ความเข้มข้นสูงๆ จะทำให้โครโมโซมมีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซมที่เลี้ยงในน้ำหรือมีฟอสเฟต น้อย

5. อุณหภูมิ มีผลต่อขนาดโครโมโซมเช่นกัน เซลล์ที่มีการแบ่งตัวในที่มีอุณหภูมิต่ำๆ จะมีขนาดสั้น และมีการหดตัวของโครโมโซมมากกว่าเซลล์ที่มีการแบ่งตัวในที่มีอุณหภูมิสูงๆ

ในการเตรียมสไลด์เพื่อการศึกษารูปร่างและจำนวนโครโมโซม จำเป็นต้องทำให้โครโมโซมมีขนาดสั้นและมีการ กระจายของโครโมโซม โดยทั่วไปนิยมใช้สารเคมีในการทำ pretreatment ร่วมกับการบ่มที่อุณหภูมิต่ำ ๆ ด้วย จะช่วยลดระยะเวลาที่ต้องแช่สารเคมีสั้นลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เมธานีและคณะ (2544) ศึกษาลักษณะรูปร่างของโครโมโซมในปรงเพศผู้และเพศเมียโดยศึกษาโครโมโซมจากใบอ่อนที่มีลักษณะม้วนงอแช่ใน 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002% เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 4 °C แล้วตรึงเซลล์นาน 24 ชั่วโมง ทำให้เซลล์อ่อนนุ่มด้วย 1 N HCl เป็นเวลา 5 นาที ย้อมโครโมโซมด้วยสี orcien 2% จากการศึกษาโครโมโซมและการจัดคาร์ริโอไทป์ปรงเพศผู้และเพศเมียมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน(2n=2x=22)แต่รูปร่างโครโมโซมผันแปรเพียงเล็กน้อย การทดลองนี้พบความแตกต่างในปรงเพศเมียมีโครโมโซมคู่ที่ 4,5,6,7 และ 8 มี satellite chromosome เพียง 2 โครโมโซมของโครโมโซมคู่ที่ 4

ลัดดาและคณะ (2539) ศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชวงศ์ขิงในประเทศไทย จากปลายรากจำนวน 10 ชนิดจาก 4 สกุลที่อยู่ใน tribe Hedychieae พบว่า *Boesenbergia curtisii* (Baker) Schltr.(ก้านดำ) มีจำนวนโครโมโซม 2n=24, *B. plicata*(Ridl.) Holtt. (ดอกเหลือง),*B. plicata* var. *lurida*(Ridl.)Holtt.(ดอกแดง) และ *B. prainiana* (Baker)Schltr. มีจำนวนโครโมโซม 2n=20, *Kaempferia angustifolia* Rosc. 2n=33, ส่วน *K. roscoeana* Wall., *K. pulchra* Ridl. และ K. parviflora Wall. ทั้งสามชนิดมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ 2n=22,*Curcuma harmandii* Gegnep.2n=20, *C. roscoeana* Wall.2n=42 และ *Curcumorpha longgiflora*(Wall.) Roa & Verma 2n=20 โดยพบว่า *K. angustifolia* Rosc. และ *Curcumorpha longiflora*(Wall.)Roa & Verma มีจำนวนโครโมโซมแตกต่างจากที่เคยมีผู้ศึกษามาก่อน

ลัดดาและกัญญา (2538) ศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชวงศ์ขิงจำนวน 10 ชนิด จากปลายราก (2n) พบว่า มีจำนวนโครโมโซม ดังนี้คือ *Boesenbergia rotunda* 2n=36, *B. curtisii*(ก้านขาว) 2n=24, *Hedychium coronarium* 2n=34, *H. flavescens* 2n=50, *Curcuma thorelii* 2n=36, *Curcuma* sp. 2n=42, *Costus speciosus* (ใบปกติ) 2n=18, *C. speciosus* (ใบลาย) 2n=33 โดยจำนวนโครโมโซมของ *K. rotunda* แตกต่างจากที่มีผู้เคยศึกษามาก่อน ส่วน *Boesenbergia* ทั้งสองชนิด และ *K. marginata* ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน

ดิเรก (2537) ศึกษาผลของจำนวนดครโมโซมต่อลักษระทางสัณฐานของเยอบีร่าพันธุ์ขาวใบจักร เทอร์รานีวาลิส เทอร์รามอนซา และเทอร์ราพาเรด ในอาหาร MS ปรากฏว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีโคลซิซินผสมอยู่ 0.4 เปอร์เซนต์เป็นเวลา 5 วันทำให้เยอบีร่ามีโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นเท่าตัว คือ 2n=4n=100 ต้นเยอบีร่าที่มีโครโมโซมเพิ่มขึ้นจะมีใบหนา สีเขียวเข้มและขนาดของปากใบใหญ่กว่าปกติ แต่เจริญเติบโตไม่ค่อยดี แตกหน่อน้อย ดอกมีสีเขียวเข้มกลีบดอกกว้างและยาวกว่าปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติ (2526) ศึกษาโครโมโซมจากปลายรากกล้วย 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 กล้วยพม่าแหกคุก กล้วยนางกลาย กล้วยหอมเตี้ย กล้วยน้ำว้าค่อม และไข่บอง มีโครโมโซม 2n=33 กล้วยเทพรส มีโครโมโซม 2n=44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. หญ้าปักกิ่ง
2. สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาโครโมโซม
   (1) 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002 M
   (2) alcohol 95%
   (3) glacial acetic acid
   (4) กรดเกลือ (hydrochloric acid) ความเข้มข้น 5% และ 1 N
   (5) สีย้อม acetocarmine
3. เข็มเขี่ยปลายแบน
4. ปากคีบ (forcep) ขนาดเล็กปลายแหลม
5. แผ่นสไลด์และ coverslips
6. ตะเกียงแอลกอฮอล์
7. กล้องจุลทรรศน์ (microscope)
8. oil immertion และกระดาษเช็ดเลนส์
9. กล้องถ่ายรูปและฟิล์ม

วิธีทำการทดลอง

การเตรียมน้ำยาสำหรับตรวจนับโครโมโซม

1. น้ำยาสำหรับทำ pretreatment เตรียมโดยชั่งสาร 8-hydroxyquinoline เข้มข้น 0.002 M (0.058 กรัม) ละลายน้ำ 200 มิลลิลิตร เพื่อให้ละลายได้ดีขึ้นใช้วิธีอุ่นที่ 60 ° C เป็นเวลา 10-15 นาที บางครั้งอาจต้องใช้เวลานานถึง 1 ชั่วโมงจึงละลายหมด

2. น้ำยาสำหรับ fixation โดยใช้ glacial acetic acid และ alcohol 95% ในอัตราส่วน 1:3

3. สีย้อม acetocarmine ประกอบด้วย
   - สีคาร์มีน (carmine) 1 กรัม
   - glacial acetic acid 50 มิลลิลิตร
   - น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร

วิธีการทำโดย นำกรด glacial acetic acid 50 มิลลิลิตร ตั้งไฟให้เดือดใส่สีคาร์มีนลงไป คนช้าๆ จนละลายหมดหยดกรด เฟอร์ริกอซิเตท (ferric acetate) 1-2 หยด หรือใช้เหล็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
109072

ตะปูที่เป็นสนิมลงไปแกว่งเพื่อช่วยให้สีเข้มขึ้น ประมาณ 10 นาที อย่าตั้งไฟนานเพราะจะทำให้ระเหยได้ ยกลงจากเตาไฟ แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องให้อุณหภูมิลดลง 50 °C จึงเติมน้ำกลั่นลงไป 50 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรองใส่ขวดสีชา ปิดฝา นำไปเก็บในตู้เย็น(ภูวดล, 2528)

การเตรียมรากหญ้าปักกิ่งและการตรวจนับโครโมโซม

1. ตัดรากของหญ้าปักกิ่งซึ่งปลูกอยู่ในโรงเพาะชำ โดยตัดให้ปลายรากมีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร

2. นำปลายรากมาแช่ในสารละลาย 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002 M นาน 4-6 ชั่วโมง

3. จากนั้นนำมาแช่ในสารละลาย Fixation คือ glacial acetic acid : alcohol 95% ในอัตราส่วน 1:3 โดยแช่ในสารละลายเป็นเวลา 5 นาที

4. นำปลายราก จากข้อ3 มาแช่ในสารละลาย HCl ความเข้มข้น 5% หรือ 1 N ที่อุณหภูมิ 60 °C นานประมาณ 5 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาดใช้กระดาษซับน้ำออก

5. นำปลายราก จากข้อ4 มาตัดเอาเฉพาะส่วยปลายรากสีขาวขุ่น ยาวประมาณ 2-3 มิลลิเมตร วางบนสไลด์ที่สะอาด ส่วนของปลายรากสีขาวขุ่นเป็นบริเวณที่มีเนื้อเยื่อเจริญ (apecal meristem) อยู่เป็นจำนวนมาก เซลล์บริเวณนี้มีการแบ่งเซลล์ไมโทซิสตลอดเวลา

6. หยด สีย้อม acetocarmine ลงไปที่ปลายราก 1-2 หยด ใช้เข็มเขี่ยขยี้ปลายรากให้ละเอียด เพื่อทำให้เซลล์แยกออกจากกันได้มากที่สุด ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ใช้ปลายดินสอเคาะบนสไลด์เบาๆ เพื่อที่จะให้เซลล์ที่จะศึกษากระจายไปทั่ว

7. นำสไลด์ผ่านบนเปลวไฟ (พออุ่นๆขนาดที่ทนได้เมื่อแตะกับหลังมือ) เพื่อให้เซลล์ของปลายราก ติดกับสไลด์ และโครโมโซมแผ่กระจายดีขึ้น

8. นำแผ่นสไลด์ไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เลือกเซลล์ที่มีการแบ่งเซลล์ในระยะเมตาเฟสที่มีการ กระจายตัวของโครโมโซม แล้วบันทึกผลการทดลองภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ถ่ายรูปที่บันทึกผลได้ด้วยกล้องที่ติดอยู่กับกล้องจุลทรรศน์

บันทึกผลการทดลอง

บันทึกผลโดยการเก็บผลจากจำนวนโครโมโซมที่นับได้ โดยนับโครโมโซมปลายราก ของหญ้าปักกิ่ง ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า บันทึกภาพโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มทำการทดลอง เดือนตุลาคม 2544

สิ้นสุดการทดลอง เดือนเมษายน 2545

สถานที่ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สาขาวิชาพืชไร่

ชั้น 4 ห้อง 2407 คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

จากการศึกษาจำนวนโครโมโซมในระยะเมทาเฟสจากปลายรากของหญ้าปักกิ่ง โดยใช้ HCl ซึ่งเป็นน้ำยาย่อยสลายเซลล์ 2 ความเข้มข้นคือ ที่ความเข้มข้น 5% และความเข้มข้น 1 N ใช้อุณหภูมิ 60 ° C เป็นเวลา 15 นาทีเท่ากันในช่วงเวลาตั้งแต่ 7.00-10.00 น. (แสดงในตารางที่ 1-3) พบว่า ช่วงเวลาที่สามารถเห็นโครโมโซมในระยะเมทาเฟสได้อย่างชัดเจนและสามารถนับจำนวนโครโมโซมได้ คือ ช่วงเวลา 8.00-9.00 น. ใน HCl ความเข้มข้น 1 N และมีบางเซลล์ที่เริ่มมีการคลายตัวของโครโมโซม (ภาพที่ 2-3) ส่วนช่วงเวลา 8.00-9.00 น. ความเข้มข้น 5% นั้นภาพของโครโมโซมในระยะเมทาเฟสไม่ชัดเจนลักษณะของโครโมโซมยังพันกันอยู่ตรงกลางเซลล์ ซึ่งไม่สามารถนับจำนวนโครโมโซมได้ ส่วนช่วงเวลาที่เหลือนั้นพบเซลล์มีการแบ่งตัวในระยะเมทาเฟสบ้างแต่มีน้อยมาก และไม่ชัดเจนโดยในช่วงเวลา 7.00-8.00 น. นั้นจะพบการแบ่งเซลล์ในระยะอินเตอร์เฟสมาก และในช่วงเวลา 9.00-10.00 น.พบการแบ่งเซลล์ในระยะแอนาเฟสมาก ทั้งใน HCl ความเข้มข้น 5% และ 1 N

ผลของการตรวจนับจำนวนโครโมโซมของหญ้าปักกิ่งโดยใช้กล้องจุลทรรศ์กำลังขยาย 1000 เท่า ได้จำนวนโครโมโซม 2n=16 ขนาดของเซลล์และโครโมโซมของหญ้าปักกิ่งมีขนาดเล็ก (ภาพที่ 1-6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 บันทึกผลการศึกษาและการตรวจนับจำนวนโครโมโซมของหญ้าปักกิ่งครั้งที่ 1

ความเข้มข้นของ HCl	ช่วงเวลา	ผลการศึกษาและการตรวจนับจำนวนโครโมโซม
5%	7.00-8.00 8.00-9.00 9.00-10.00	พบเซลล์ที่อยู่ในระยะอินเตอร์เฟสมาก ภาพของโครโมโซมไม่ชัดเจนลักษณะของโครโมโซมพันกัน อยู่ตรงกลางเซลล์ไม่สามารถนับจำนวนโครโมโซมได้ พบเซลล์ระยะแอนาเฟสหลายเซลล์
1N	7.00-8.00 8.00-9.00 9.00-10.00	พบเซลล์ที่อยู่ในระยะอินเตอร์เฟสมาก ภาพของโครโมโซมชัดเจน พบเซลล์ในระยะเมทาเฟสมาก สามารถนับจำนวนโครโมโซมได้ 2n=16 พบเซลล์ในระยะแอนาเฟสหลายเซลล์และระยะเมทาเฟสบ้างบางเซลล์และนับจำนวนโครโมโซมได้ 2n=16

ตารางที่ 2 บันทึกผลการศึกษาและการตรวจนับจำนวนโครโมโซมของหญ้าปักกิ่งครั้งที่ 2

ความเข้มข้นของ HCl	ช่วงเวลา	ผลการศึกษาและการตรวจนับจำนวนโครโมโซม
5%	7.00-8.00 8.00-9.00 9.00-10.00	พบเซลล์ที่อยู่ในระยะอินเตอร์เฟสหลายเซลล์ พบเซลล์ในระยะเมทาเฟส แต่ยังมีการซ้อนทับกันของเซลล์มากไม่สามารถนับจำนวนโครโมโซมได้ พบเซลล์ระยะแอนาเฟสหลายเซลล์
1N	7.00-8.00 8.00-9.00 9.00-10.00	พบเซลล์ที่อยู่ในระยะอินเตอร์เฟสมาก และบางเซลล์เห็นการแบ่งตัวในระยะเมทาเฟสแต่ไม่สามารถนับจำนวนโครโมโซมได้ พบเซลล์ในระยะเมทาเฟสหลายเซลล์ โครโมโซมกระจายตัวดีนับจำนวนโครโมโซมได้ 2n=16พบเซลล์ในระยะแอนาเฟสหลายเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 บันทึกผลการศึกษาและการตรวจนับจำนวนโครโมโซมของหญ้าปักกิ่งครั้งที่ 3

ความเข้มข้นของ HCl	ช่วงเวลา	ผลการศึกษาและการตรวจนับจำนวนโครโมโซม
5%	7.00-8.00	พบเซลล์ที่อยู่ในระยะอินเตอร์เฟสหลายเซลล์และมีบางเซลล์ที่โครโมโซม
	8.00-9.00	พบเซลล์ในระยะเมทาเฟสมากแต่ไม่สามารถนับจำนวนโครโมโซมได้
	9.00-10.00	พบเซลล์ระยะแอนาเฟสหลายเซลล์
1N	7.00-8.00	พบเซลล์ที่อยู่ในระยะอินเตอร์เฟสหลายเซลล์
	8.00-9.00	พบเซลล์ในระยะเมทาเฟสหลายเซลล์ และมีบางเซลล์ที่เริ่มมีการคลายตัวของโครโมโซมสามารถนับจำนวนโครโมโซมได้ 2n=16
	9.00-10.00	พบเซลล์ในระยะแอนาเฟสหลายเซลล์และพบบางเซลล์อยู่ในระยะเมทาเฟสแต่โครโมโซมไม่ค่อยกระจายตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 1 แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากหญ้าปักกิ่ง (*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy) ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2 แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากหญ้าปักกิ่ง (*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy) ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3 แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากหญ้าปักกิ่ง (*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy) ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4 แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากหญ้าปักกิ่ง (*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy) ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 5 แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากหญ้าปักกิ่ง (*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy) ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 6 แสดงจำนวนโครโมโซมจากปลายรากหญ้าปักกิ่ง (*Murdannia loriformis* (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy) ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทำการทดลองเพื่อศึกษาโครโมโซมของหญ้าปักกิ่ง ในการเก็บรากของหญ้าปักกิ่งควรนำไปแช่ในสารละลาย 8-hydroxyquinoline ทันทีเนื่องจากเซลล์ปลายรากมีการแบ่งตัวตลอดเวลา การรักษาสภาพเซลล์นั้นถ้าใช้เวลานานเกินไปจะมีผลต่อการย้อมสีของเซลล์ ทำให้เซลล์และโครโมโซมติดสีจาง ๆ และการทำให้เซลล์นิ่มโดยใช้ HCl ความเข้มข้น 1N ที่อุณหภูมิ 60 ° C เป็นเวลา 15 นาที จะทำให้มีการกระจายตัวเห็นโครโมโซมได้ใช้ชัดเจนกว่าการใช้ HCl ความเข้มข้น 5% ที่อุณหภูมิ 60 ° C เป็นเวลา 15 นาทีเมื่อนำรากมาย้อมสีด้วย acetocarmine จะต้องล้างกรดออกด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้งแล้วซับน้ำออกให้หมดเพราะจะมีผลต่อการย้อมสีของเซลล์ การนำรากมาศึกษาบนสไลด์แต่ละแผ่นไม่ควรใช้จำนวนรากมากเกินไปเพราะจะทำให้เซลล์เกิดการซ้อนทับกันยากต่อการศึกษาโครโมโซมทำให้ไม่สามารถมองเห็นโครโมโซมได้อย่างชัดเจนและควรคีบเอาส่วนที่ไม่ต้องการศึกษาออกบ้างเพื่อง่ายต่อการศึกษาจำนวนโครโมโซมแล้วนำสไลด์ผ่านเปลวไฟเพื่อเป็นการไล่ฟองอากาศออก

ในการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศ์ใช้กำลังขยาย 1,000 เท่า อาจไม่มีความชัดเจนเนื่องจากเซลล์และโครโมโซมของหญ้าปักกิ่งมีขนาดเล็ก ในการถ่ายภาพนั้นให้ทำการปรับความละเอียดของภาพและใช้ปริมาณแสงให้เหมาะสม จากการนับจำนวนโครโมโซมของหญ้าปักกิ่งภายใต้กล้องจุลทรรศ์ได้จำนวนโครโมโซม 2n=16 ซึ่งจากการตรวจเอกสารยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาโครโมโซมในระยะเมทาเฟสจากเซลล์ปลายรากของหญ้าปักกิ่ง เวลาที่เหมาะสมที่สุดในการศึกษาจำนวนโครโมโซม คือ ช่วงเวลา 8.00-9.00 น. ในการหยุดการแบ่งเซลล์ไมโทซิสที่ระยะเมทาเฟสควรแช่รากหญ้าปักกิ่งในสารละลาย 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002M เป็นเวลา 4 ชั่วโมงจากนั้นทำการรักษาสภาพเซลล์ด้วย glacial acetic : alcohol 95% ในอัตราส่วน 1:3 เป็นเวลา 5 นาที และการทำให้เซลล์นิ่มโดยใช้ HCl ความเข้มข้น 1N ที่อุณหภูมิ 60 $^{\circ}$C เป็นเวลา 15 นาที ให้เซลล์แยกตัวออกมาเดี่ยว ๆ ไม่เกิดการซ้อนทับของเซลล์สามารถเห็นโครโมโซมได้อย่างชัดเจน และนับจำนวนโครโมโซมได้ การย้อมสีโดยใช้ acetocarmine ใช้เวลาในการย้อม 10 นาที ทำให้เซลล์และโครโมโซมติดสีได้ดีขึ้น การกดและขยี้เซลล์ต้องใช้แรงที่พอเหมาะแล้วนำสไลด์ผ่านเปลวไฟเพื่อไล่ฟองอากาศออกหรือใช้ปลายดินสอที่มียางลบเคาะเบา ๆ ที่สไลด์สลับกับการผ่านเปลวไฟ นำสไลด์ไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์นับจำนวนโครโมโซมของหญ้าปักกิ่งได้ 2n=16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กันยารัตน์ ไชยสุต. 2532. **เซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์อนุกรมวิธานของพืชสกุล ZEPHYRANTHES.** ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 260 หน้า.

คณาจารย์ภาควิชาพันธุศาสตร์. 2544. **พันธุศาสตร์ปฏิบัติการ.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 113 หน้า.

ชมรมหญ้าปักกิ่งต้านมะเร็ง. มปพ. หญ้าปักกิ่ง. เอกสารเผยแพร่หญ้าปักกิ่ง.

ชัยฤกษ์ มณีพงษ์. 2525. **เซลล์พันธุศาสตร์. ภาควิชาพืชไร่นา** คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพฯ. 205หน้า.

ดิเรก ตนพยอม. 2537. "ผลของจำนวนชุดโครโมโซมต่อลักษณะสัณฐานวิทยาของเยอบีร่า". วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 51 หน้า.

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

นันทวัน บุณยะประภัศรและอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2543. "หญ้าปักกิ่ง". **ข้อมูลสมุนไพร..ไม้พื้นบ้าน เล่มที่** 5 . คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.หน้า 31.

ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. 2541. **พันธุศาสตร์. ภาควิชาพันธุศาสตร์** คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพฯ. 398 หน้า.

ประวัติ สมเป็น. 2526. "โครโมโซมปลายรากกล้วย". วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย,มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 76 หน้า.

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

พรรณิภา ชุมศรี. 2542. "หญ้าปักกิ่ง". **สวนนานาพฤกษาสมุนไพร.** โครงการวิจัยปลูกและรวบรวมพันธุ์พืชสมุนไพรเภสัช-มหิดล คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.หน้า 184.

ภูวดล บุตรรัตน์. 2528. **เทคนิคทางพฤกษาศาสตร์.** ภาควิชาวิทยาศาสตร์ และคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี.

เมธานี เตาะสกุล,วิภา หงษ์ตระกูลและนิตย์ศรี แสงเดือน. 2544. "การศึกษาโครโมโซมเพื่อบ่งชี้เพศในปรง". **สัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่** 12 **พันธุศาสตร์ยุคปฏิบัติยีน.**เท็กซ์แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น,กรุงเทพฯ.หน้า 181-184.

ลัดดา เอกสมทราเมษฐ์และกัญญา บุญธรรม. 2538. "การนับจำนวนโครโมโซมของพืชวงศ์ขิง". **วารสารมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์** 17(3) : 291-297.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลัดดา เอกสมทราเมษฐ์, พวงเพ็ญ ศิริรักษ์และสุธรรม มะยะกูล. 2539. "จำนวนโครโมโซมพืชวงศ์ขิงบางชนิดของไทย". **วารสารมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์** 18(2) :153-159.

วีณา จิรัจฉริยากูล. 2542. "สารต้านมะเร็งจากหญ้าปักกิ่ง". **จุลสารข้อมูลสมุนไพร**.สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 16(3) :10-13.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2540. "หญ้าปักกิ่ง". **สารานุกรมสมุนไพร รวมหลักเภสัชกรรมไทย**.สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. หน้า 463.

หน่วยบริการฐานข้อมูลสมุนไพร. มปพ. **หญ้าปักกิ่ง**. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.(เอกสารเผยแพร่)

เสน่ห์ แสงคำ. 2542. "หญ้าเทวดารักษาความจน". **มติชนบท เทคโนโลยีชาวบ้าน** 12(224) :18.

อดิศร กระแสชัย. 2539. **บทปฏิบัติการ** Cytogenetic in Agricuture.ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 149 หน้า.

อมรา คัมภิรานนท์. 2540. **พันธุศาสตร์ของเซลล์**. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพฯ. 253 หน้า.

เอื้อพร ไชยวรรณ, สุวรรณา เวชอภิกุล, วิรัตน์ นิวัฒนนันท์และกนกพร นิวัฒนนันท์. 2538. "การศึกษาฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดของส่วนสกัดจากหญ้าปักกิ่ง". **เชียงใหม่เวชสาร** ปีที่ 34 ฉบับที่ 3(เสริม) กันยายน.

Dnyansagar,V.R. 1982. **Cytology and Genetics**. Tata McGraw Hill, Publishing Company Limited. India. 404 pp.

Dyer,A.F. 1979. **Investigating Chromosomes**. Edward Arnold (Publishers) Ltd., London. 138 pp.

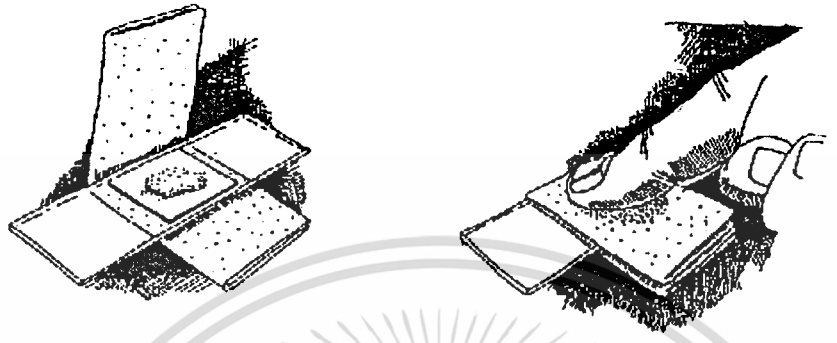
Peter,J.R. 1996. **Genetics Fourth Edition**.HarperCollins College Publishers.,New York. 784 pp.

Singh,R.J. 1993. **Plant Cytogenetics**. CRC Press, Inc. U.S.A. 391 pp.

Sybenga,J. 1992. **Cytogenetic in plant breeding**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.Germany.469 pp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

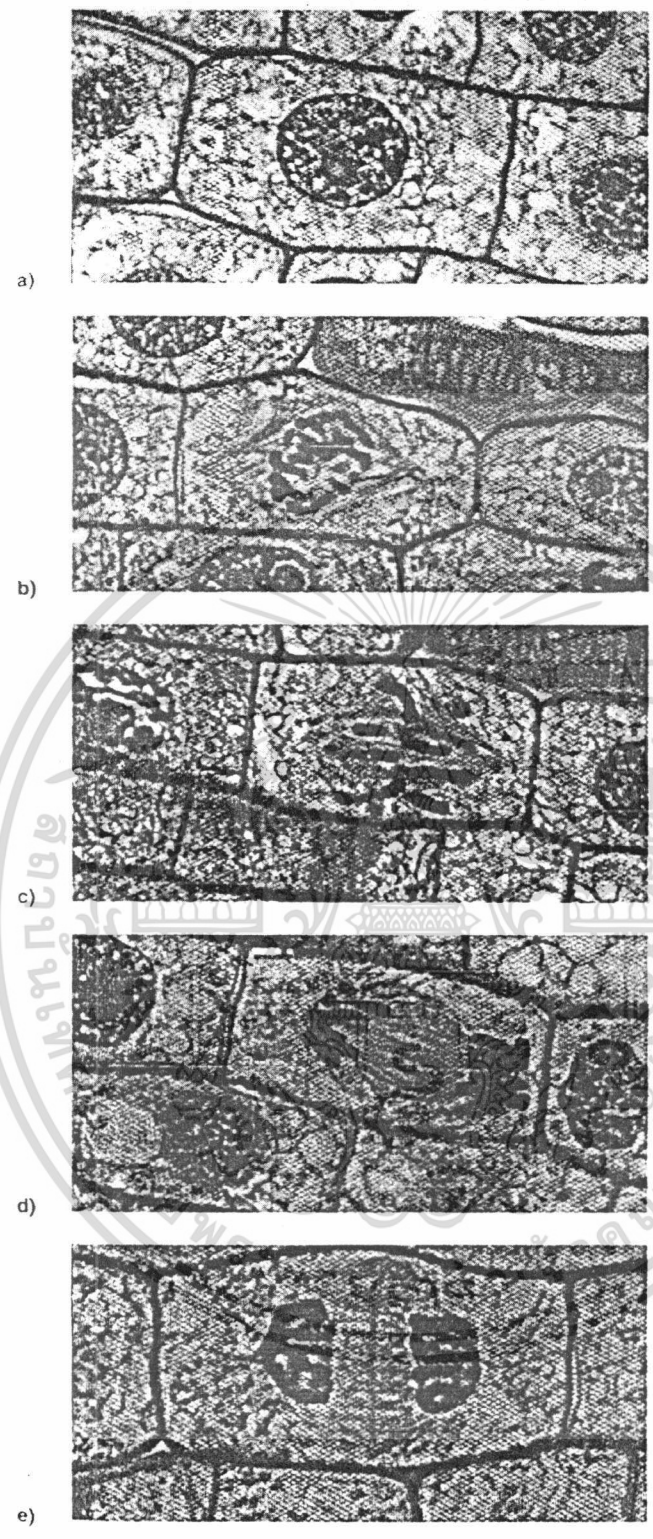
ภาคผนวก



ภาพที่ 1 แสดงวิธีทำ squash technique

ที่มา : อมรา คัมภิรานนท์.2540.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 แสดงการแบ่งเซลล์แบบ mitosis ของปลายรากหอม (a) Interphase, (b) Prophase, (c) Metaphase, (d) Anaphase (e) Telophase

ที่มา : Peter,J.R.1996.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้