บทที่ 4

ผลการทดลอง

การศึกษาลักษณะและการเพิ่มจำนวนโครโมโซมของเอื้องใบไผ่ แบ่งออกเป็น 3 การทดลอง คือ **การทดลองที่ 1** ศึกษาการเจริญเติบโตของตะเกียงในสภาพธรรมชาติและการเจริญเติบโตของต้นกล้าในสภาพปลอดเชื้อ **การทดลองที่ 2** ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา กายวิภาควิทยา และจำนวนโครโมโซม **การทดลองที่ 3** ศึกษาวิธีการเพิ่มจำนวนโครโมโซมด้วยสารละลายโคลชิซินในสภาพปลอดเชื้อ ผลการศึกษาการทดลองมีดังนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาการเจริญเติบโตของตะเกียงในสภาพธรรมชาติและการเจริญเติบโตของต้นกล้าในสภาพปลอดเชื้อ

จากผลการศึกษาพบว่าเอื้องใบไผ่มีลักษณะการเจริญของต้นโดยไม่มีการพักตัวอย่างเห็นชัดเจน หลังออกดอก มีเพียงใบบริเวณโคนต้นที่หลุดร่วง ลำต้นเป็นหัวแบบคอร์มอยู่บริเวณผิวดิน การเจริญเป็นแบบแตกกอจำนวนมาก การศึกษาการเจริญเติบโตของตะเกียงเอื้องใบไผ่ในสภาพธรรมชาติและศึกษาการงอกของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ โดยบันทึกผลการเจริญเติบโตในช่วงเวลาตั้งแต่การเกิดตะเกียงจนถึงออกดอก และการเจริญเติบโตทางลำต้นของต้นกล้าจากในสภาพปลอดเชื้อ

การเจริญเติบโตของตะเกียงบนต้น

การศึกษาการเจริญเติบโตของตะเกียงของเอื้องใบไผ่ที่เจริญเติบโตเต็มที่ ตั้งแต่การเกิดตะเกียงบนต้นจนถึงช่วงเวลาการออกดอก โดยเริ่มสังเกตจากการเกิดตุ่มตาดอกบริเวณเหนือข้อของลำต้นจนถึงระยะการบานดอกและแตกหน่อใหม่จากตะเกียงเดิมเป็น 1 ช่วงของการเจริญเติบโต

ต้นเอื้องใบไผ่ที่ใช้ทำการศึกษาเป็นต้นที่ปลูกอยู่ที่องค์การสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ฯเชียงใหม่ ซึ่งได้รวบรวมกล้วยไม้เอื้องไผ่จากหลายแหล่งภายในประเทศมาปลูกในสภาพเดียวกัน ที่ระดับความสูงประมาณ 920 เมตร เหนือระดับน้ำทะเล พืชตัวอย่างที่นำมาศึกษา เป็นต้นที่ปลูกเลี้ยงในสภาพกึ่งธรรมชาติ เนื่องจากเป็นการปลูกเพื่อตกแต่งภูมิทัศน์ และบางส่วนปลูกในกระถางมังกรขนาดใหญ่ ผลการศึกษามีดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตะเกียงเอื้องใบไผ่ที่เกิดในสภาพธรรมชาติมีช่วงเวลาการเกิดตะเกียง และการบานดอกที่แตกต่างกัน ดังนั้นต้องทำการวัดการเจริญเติบโตเริ่มต้นของแต่ละตะเกียงก่อนนำมาศึกษา และติดตามการเจริญเติบโต ใช้ระยะเวลาในการศึกษาประมาณ 210 วัน เริ่มทำการศึกษาตั้งแต่วันที่ 3 กรกฎาคม 2549 ถึงวันที่ 27 มกราคม 2550 ต้นเอื้องใบไผ่ มีการเจริญเติบโตโดยที่ไม่มีการพักตัวอย่างเห็นชัด หลังดอกร่วงจนหมดทั้งต้น ซึ่งมีลักษณะที่แตกต่างไปจากกล้วยไม้ดินทั่วไป เอื้องใบไผ่สร้างตายอดหรือตาที่เป็นตะเกียงบริเวณข้อของลำต้นใกล้ปลายยอด ซึ่งในบางครั้งอาจเกิดเป็นตาดอกในภายหลังได้ โดยที่ตาดอกนี้มีการเจริญของใบที่มีลักษณะคล้ายตะเกียงก่อนแล้วจึงแทงช่อดอกจากเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด มีความยาวของช่อใหม่ใกล้เคียงกับก้านช่อดอกแรก ใบของตะเกียงมีลักษณะเรียวแคบกว่าใบปกติ มีสีเขียวและแข็ง ในเดือนแรกตายอดเริ่มเกิดและแทรกตัวอยู่ภายในกาบใบสีเขียวสด หรือบางครั้งอาจเกิดการแทงผ่านกาบที่มีใบสีน้ำตาลแห้ง เมื่อแผ่นใบร่วงจนหมดแล้วยังคงเหลือเพียงส่วนของกาบใบที่หุ้มลำต้นไว้ ต่อมากาบใบเริ่มปริแตกออกตามแนวยาวของลำลูกกล้วย ตาของตะเกียงที่เกิดใหม่นั้นมีกาบใบที่มีลักษณะแข็งหุ้มปลายยอดไว้ ในเดือนต่อมาตะเกียงเจริญทางด้านความสูงโดยมีใบจำนวน 2-3 ใบหุ้มส่วนโคนของตะเกียงเอาไว้ และใบที่ 4 ขยายแผ่ออกให้เห็นเป็นใบจริง มีสีเขียวอ่อนแต่มีขนาดสั้นกว่าใบปกติ (ภาพที่ 1) ในเดือนที่ 3 เกิดใบที่ 5 และใบที่ 6 ในขณะที่ใบที่ 1 บริเวณฐานของตะเกียงเริ่มปริแตกออกและมีสีน้ำตาลติดอยู่กับฐานของตะเกียง และตะเกียงเริ่มมีการเจริญเติบโตทางด้านข้างบริเวณฐานของตะเกียงขยายออกลักษณะพองกลมเฉพาะส่วนโคนตะเกียง และเรียวยาวไปทางปลายยอด ในบางตะเกียงที่เกิดจากต้นที่มีความสมบูรณ์น้อย ให้ตะเกียงผอมเรียวยาวกว่าในต้นที่สมบูรณ์ ต้นที่มีตะเกียงเพียง 1 ตะเกียงสามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็วกว่าต้นที่มีตะเกียงจำนวนมาก ในเดือนที่ 4 เกิดให้เห็นใบที่ 7 และ 8 จากนั้นตะเกียงเริ่มเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตเต็มที่ และเกิดตาดอกบริเวณเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) บริเวณฐานตะเกียงเริ่มเกิดราก สีขาวสั้นขนาดเล็ก มีลักษณะแข็งที่โคนตะเกียง ในเดือนที่ 5 เกิดใบที่ 9 และ 10 โผล่ให้เห็นส่วนของช่อดอกอ่อนที่อยู่ในซอกใบใกล้ปลายยอด มีลักษณะสีเขียวอ่อน (ภาพที่ 2) ในเดือนที่ 6 ช่อดอกมีการเจริญยืดยาวขึ้น มีดอกประมาณ 5 ถึง 6 ดอกต่อช่อ และส่วนฐานของตะเกียงเริ่มแห้งและตาย ต้องนำเอาตะเกียงมาเพาะในวัสดุชำ (ภาพที่ 3) ที่มีส่วนผสมของ ขี้เถ้าแกลบและทรายละเอียดในอัตราส่วน 1:1 หลังชำตะเกียงนาน 1 เดือน เริ่มเกิดรากแทงออกมาจากฐานของตะเกียงที่มีข้อถี่และสั้น และตาดอกที่ติดมากับตะเกียงแต่ยังมองไม่เห็นเริ่มทยอยกันบานเป็นดอก ที่สมบูรณ์เต็มที่ ในช่วงที่ดอกเหล่านี้บานเริ่มมีการสร้างหน่อใหม่ขึ้นจากข้อบริเวณฐานของตะเกียงที่ชำไว้ การเกิดหน่อใหม่ สามารถเกิดหน่อมากกว่า 2 หน่อในบางต้น หน่อใหม่ที่เกิดขึ้นเจริญอย่างรวดเร็วและเกิดใบจริงที่มีขนาดใหญ่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กว่าใบเดิมที่เกิดจากตะเกียง มีความสูงต้นและจำนวนใบมากกว่า 12 คู่ใบ จึงให้ดอก ซึ่งตะเกียงในแต่ละต้นมีการเจริญเติบโตไม่เท่ากันจึงมีช่วงเวลาการเกิดดอกที่แตกต่างกัน

ภาพที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตะเกียงเอื้องใบไผ่เมื่อเริ่มแทงออกมาจากลำลูกกล้วยเก่า อายุ 60 วัน

ภาพที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตะเกียงเอื้องใบไผ่ อายุ 150 วัน

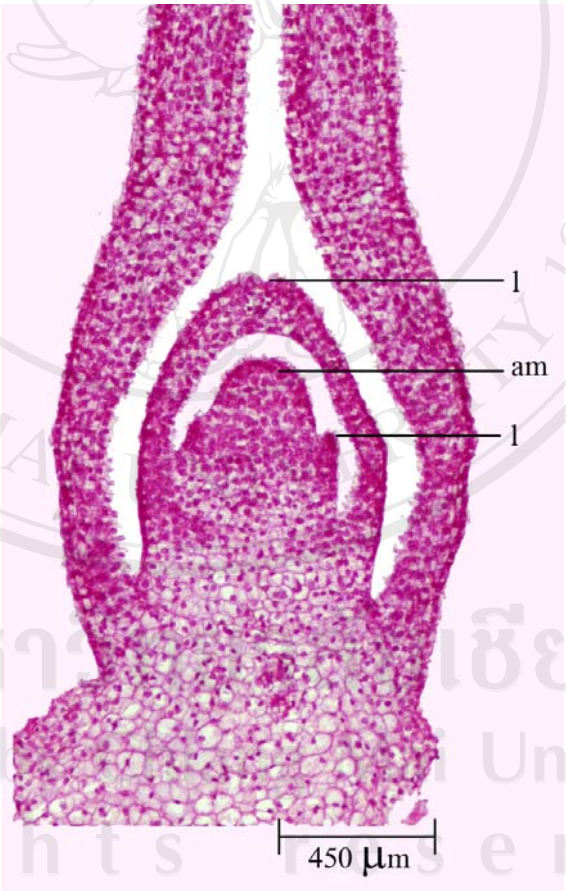
ภาพที่ 3 ตะเกียงของเอื้องใบไผ่ อายุ 150 วัน ที่ปลูกในวัสดุชำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การศึกษาลักษณะกายวิภาคของช่อดอกภายในตะเกียง

การศึกษาลักษณะกายวิภาคของตะเกียง ใช้ตะเกียงเอื้องใบไผ่ที่มีใบจริงจำนวน 6 7 8 9 และ 10 ใบ ที่เกิดในช่วงเดือนกรกฎาคม มาทำการศึกษาการพัฒนาของตาดอก โดยนำมาตัดดูเนื้อเยื่อตามความยาว โดยวิธีการศึกษาเนื้อเยื่อแบบ Paraffin embedding ของ Johansen (1940) ซึ่งผลการศึกษาตะเกียงมีลำดับการพัฒนาตาดอกดังนี้

ตะเกียงที่มีจำนวน 6 ใบ เมื่อนำมาตัดตามความยาวของยอด ให้ชิ้นส่วนพืชมีความหนา 13 ไมโครเมตร พบว่าเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (apical meristem) มีลักษณะเป็นรูปโดมเตี้ย มีเซลล์ที่กำลังแบ่งตัวจำนวนมาก สังเกตได้จากการย้อมเซลล์เนื้อเยื่อปลายยอดติดสีเข้มมากกว่าส่วนอื่นๆ และมีใบจริง (leaf) เจริญออกจากจุดกำเนิดใบจริงด้านข้าง สามารถเห็นการเจริญของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดและใบจริงเกิดเป็นแบบสลับ (alternate) ทางด้านข้างของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (ภาพที่ 4)

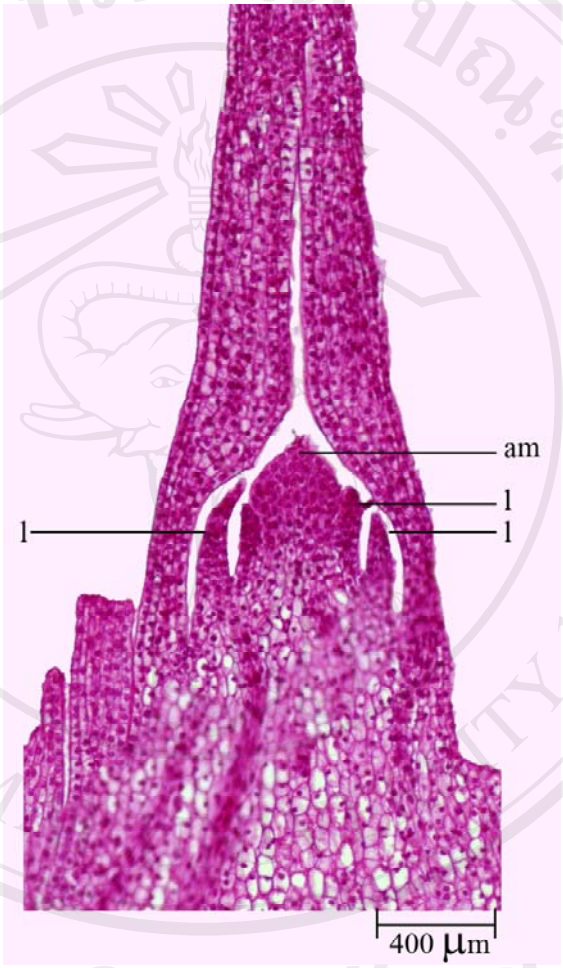


ภาพที่ 4 ภาพตัดขวางของยอดตะเกียงเอื้องใบไผ่ที่มีจำนวน 6 ใบ

am = apical meristem ; l = leaf

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตะเกียงที่มีจำนวน 7 ใบ พบว่ามีการเจริญเพิ่มขึ้นในส่วนของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดและใบจริง เนื้อเยื่อเจริญมีการยืดยาวขึ้นเป็นโดมนูนสูงและมีใบจริงยืดยาวมากกว่าตะเกียงที่มีจำนวน 6 ใบ บริเวณถัดจากเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดลงมาเกิดการขยายตัวขึ้น พร้อมกับสร้างท่อน้ำท่ออาหารเชื่อมต่อแต่ละจุดที่มีการพัฒนาตลอดเวลา (ภาพที่ 5)

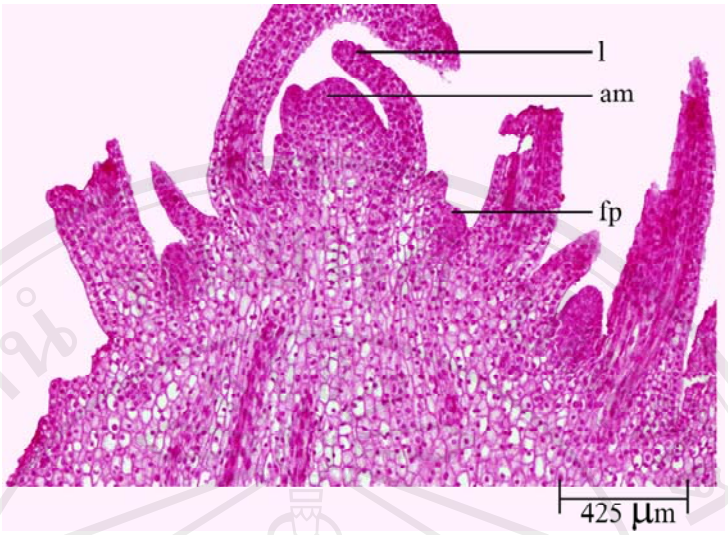


ภาพที่ 5 ภาพตัดขวางของยอดตะเกียงเอื้องใบไผ่ที่มีจำนวน 7 ใบ

am = apical meristem ; l = leaf

ตะเกียงที่มีจำนวน 8 ใบ พบว่าโดมมีลักษณะสูงขึ้น นอกจากนี้ในตำแหน่งด้านข้างของยอดหรือซอกใบจริง เริ่มมีกลุ่มเซลล์ที่มีการแบ่งตัวจำนวนมากเจริญอยู่หนาแน่น และกลุ่มเซลล์นี้เป็นเนื้อเยื่อเริ่มต้นของการเกิดจุดกำเนิดดอก (floral primordium) แทรกตัวอยู่ตามซอกใบ สลับตามข้อของลำต้นใกล้ปลายยอด เนื้อเยื่อเจริญของจุดกำเนิดตาดอกยืดยาวแหลมขึ้น บริเวณถัดจากเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นมีเซลล์เพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 6)

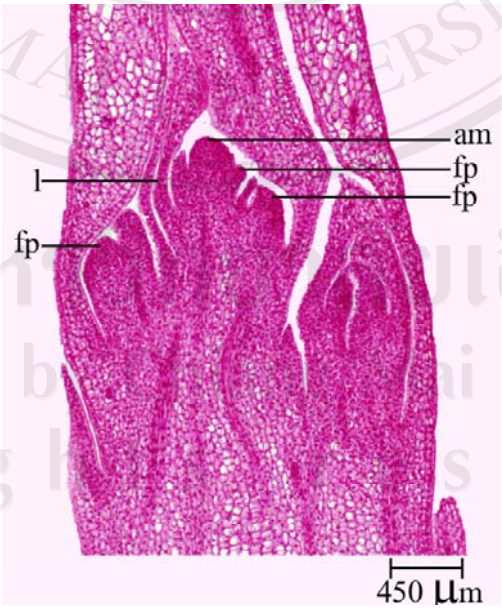
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 6 ภาพตัดขวางของยอดตะเกียงเอื้องใบไผ่ที่มีจำนวน 8 ใบ

am = apical meristem ; fp = floral primordial ; l = leaf

ตะเกียงที่มีจำนวน 9 ใบ พบว่าเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดมีการเจริญเป็นโดมนูนสูงขึ้นเห็นเป็นลักษณะช่อดอก บริเวณด้านข้างของช่อดอกมีการเจริญของจุดกำเนิดดอกเกิดเป็นโดมขนาดเล็กและถัดลงมาจากปลายยอดช่อดอกเป็นจุดกำเนิดดอกขนาดใหญ่ แต่ยังไม่มีการเจริญของส่วนประกอบของดอก ในจุดกำเนิดดอกที่มีขนาดใหญ่มีใบจริง 2 ใบหุ้มปิดมิด ใบจริงภายนอกมีขนาดใหญ่กว่าใบจริงที่อยู่ภายในช่อดอก (ภาพที่ 7)

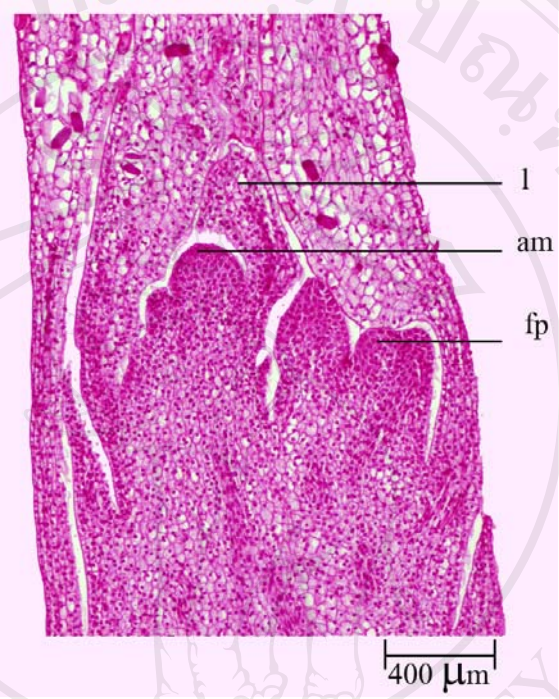


ภาพที่ 7 ภาพตัดขวางของยอดตะเกียงเอื้องใบไผ่ที่มีจำนวน 9 ใบ

am = apical meristem ; bt = bract ; fp = floral primordial; l = leaf

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตะเกียงที่มีจำนวน 10 ใบ พบว่าเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดซึ่งเป็นจุดกำเนิดของช่อดอกเจริญยืดยาวแยกออกจากจุดกำเนิดดอกทางด้านข้างที่ถัดลงมา จุดกำเนิดดอกด้านข้างเริ่มเจริญและพัฒนา พบว่าในบางตะเกียงสามารถเกิดช่อดอกได้มากกว่า 2 ช่อในตะเกียงเดียว แต่ช่อดอกหลักบริเวณปลายยอดมีการเจริญที่รวดเร็วกว่าช่อดอกทางด้านข้าง (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 ภาพตัดขวางของยอดตะเกียงเอื้องใบไผ่ที่มีจำนวน 10 ใบ
am = apical meristem ; bt = bract ; fp = floral primordial; l = leaf

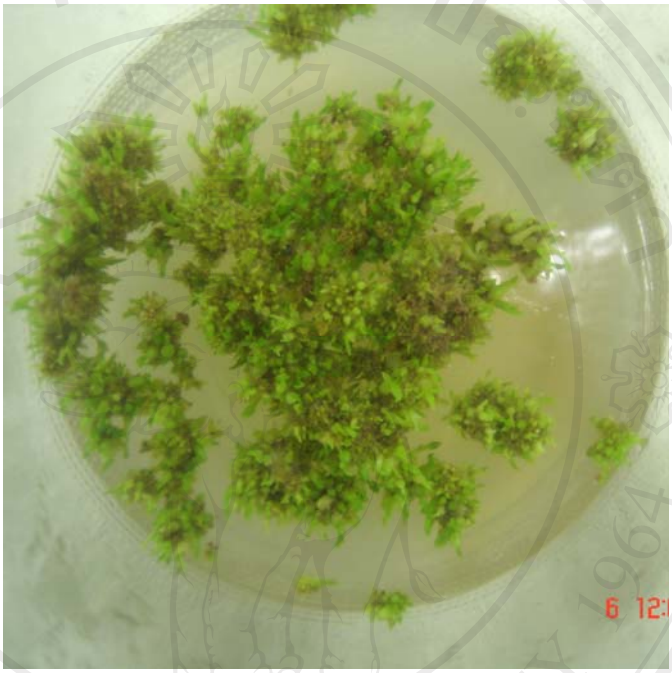
1.2 การศึกษาการเจริญของต้นกล้าในสภาพปลอดเชื้อ

การนำฝักเอื้องใบไผ่มาเพาะเมล็ดภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และบันทึกการเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูงต้น ความยาวใบ ของส่วนประกอบของต้นที่เจริญเติบโตเต็มหลังย้ายปลูกนาน 6 เดือน ได้แก่ ใบ ดอก ราก และลำต้น ผลการทดลองมีดังต่อไปนี้

นำฝักของเอื้องใบไผ่ที่ได้จากการผสมตัวเองเป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ มาเพาะลงบนอาหารสังเคราะห์สูตรดัดแปลง CMU 1 ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลานานประมาณ 6 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดเริ่มงอกเป็นโปรโตคอร์มสีขาวให้เห็นบนอาหารวุ้นและโปรโตคอร์มมีอัตราการงอกประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้น 15 วัน นำมาวางบนชั้นวางเพื่อให้ได้รับแสงต่อเนื่องเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส ต้นอ่อนเริ่มพัฒนาเกิดเป็นใบจริงที่มีสีเขียว (ภาพที่ 9) ทำการย้ายไปเลี้ยงบนอาหารใหม่ที่บรรจุในหลอดทดลอง พบว่าการเจริญเติบโตของต้นอ่อนในเดือนแรกมีความสูงเฉลี่ย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1.38 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 5.71 ใบ ความยาวใบ 1.76 เซนติเมตร จำนวนราก 4.15 ราก ในเดือนที่ 2 ย้ายลงในสูตรอาหารใหม่ในหลอดทดลอง ต้นอ่อนเริ่มเจริญทางด้านความสูงต้น จำนวนใบ และความยาวใบอย่างต่อเนื่อง ในเดือนที่ 3 มีการเพิ่มการเจริญทางด้านความยาวใบ และจำนวนราก แต่ความสูงต้นเท่าเดิม หลังจากนั้นเดือนที่ 4 ต้นมีการเจริญเติบโตเต็มที่สามารถย้ายออกปลูกได้ (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 9 การเจริญของต้นอ่อนหลังจากเพาะเมล็ดในอาหารวุ้น อายุ 45 วัน

ภาพที่ 10 การเจริญของต้นกล้าเอื้องใบไผ่ในสภาพปลอดเชื้อ อายุ 180 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา กายวิภาควิทยา และการศึกษาจำนวนโครโมโซม

การทดลองย่อยที่ 2.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

2.1.1 ราก

เป็นรากดินระบบรากฝอย มีขนาดและความยาวไล่เลี่ยกัน เจริญออกมาจากข้อบริเวณโคนและฐานของลำลูกกล้วย มีทั้งกระจายอยู่รอบข้างและแทรกตัวลงในดิน รากมีลักษณะกลม เรียวยาว สีขาวขุ่น มี 25 - 42 รากต่อกอ รากยาว 4.5 - 21.5 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางราก 0.02 - 0.18 เซนติเมตร (ภาพที่ 11)

ภาพที่ 11 รากของเอื้องใบไผ่ที่มีการเจริญอยู่ในดิน

2.1.2 ลำต้นและลำลูกกล้วย

ลำต้นเป็นหัวแบบคอร์มหรือหัวที่มีลักษณะคล้ายหัวเผือก เจริญเติบโตอยู่ระดับผิวดิน ลำลูกกล้วยมีรูปร่างบวมพองบริเวณโคนลำและเรียวยาวออกไปทางปลายลำ มีข้อและปล้องชัดเจน ลำลูกกล้วยสูง 75 - 185 เซนติเมตร กว้าง 1.7 - 2.5 เซนติเมตร จำนวนข้อและปล้องของแต่ละต้นมีจำนวนไม่เท่ากันผิวลำลูกกล้วยเรียบ มีสีเขียวอ่อนจนถึงสีเขียวเข้มและสีเหลือง ในลำลูกกล้วยที่มีอายุมากมีสีซีดลงจางลง มีเยื่อของกาบที่มีสีเทาปกคลุม โคนลำแบบบางใส ส่วนเหนือโคนลำขึ้นมาเมื่อมีการทิ้งใบยังคงให้เหลือเพียงแต่ส่วนของกาบใบที่มีสีน้ำตาลหุ้มลำต้นเท่านั้น (ภาพที่ 12)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 12 ลำต้นและลำลูกกล้วยของเอื้องใบไผ่

2.1.3 ใบ

ใบเป็นใบเดี่ยว เจริญออกจากเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด ใบมีสีเขียว เรียงตัวแบบสลับตามข้อของลำลูกกล้วย ใบเรียวยาวรูปหอก โคนใบสอบและม้วนเป็นกาบห่อหุ้มส่วนของลำลูกกล้วยไว้ ขอบใบเรียบ ปลายใบแหลมคม แผ่นใบบาง ผิวใบเรียบเกลี้ยง เส้นกลางใบอยู่ต่ำกว่าผิวใบด้านบน ผิวใบด้านล่างมีสีเขียวอ่อนกว่าด้านบน เส้นใบขนานตามความยาว ใบยาว 12.5 - 32.7 เซนติเมตร กว้าง 1.3 - 2.5 เซนติเมตร (ภาพที่ 13)

ภาพที่ 13 ใบของเอื้องใบไผ่ที่เจริญในสภาพปลูก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1.4 ช่อดอก

ช่อดอกเกิดจากเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดและเนื้อเยื่อเจริญของตาข้างลำต้นใกล้ปลายยอด ช่อดอกแบบกระจะและในบางครั้งอาจแตกแขนงได้เมื่อต้นสมบูรณ์เต็มที่ (ภาพที่ 14 และ 15) มี 1 - 3ช่อต่อลำลูกกล้วย ก้านช่อดอกมีสีเขียวอ่อนหรือสีเขียวปนเหลือง มีลักษณะแข็งผิวก้านช่อดอกเรียบ ตั้งตรง มีข้อและปล้องชัดเจนความกว้างก้านช่อดอก 0.2 - 0.3 เซนติเมตร ยาว13 - 23.7 เซนติเมตร กาบหุ้มโคนช่อดอกมี 1 ใบ มีลักษณะหนาและแข็ง ดอกย่อยมี 8 - 15 ดอก ดอกย่อยทยอยบานจากโคนช่อไปยังปลายช่อ แต่ละดอกย่อยมีอายุการบานนานประมาณ 7 - 16 วัน จากนั้นดอกเริ่มเหี่ยวและร่วงไป แต่ละดอกบนช่อเดียวกันบานไม่พร้อมกัน

ภาพที่ 14 ช่อดอกของเอื้องใบไผ่แบบกระจะ

ภาพที่ 15 ช่อดอกของเอื้องใบไผ่ที่แตกแขนง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1.5 ดอก

ดอกสมบูรณ์เพศเป็นแบบสมมาตรด้านข้าง ก้านดอกย่อยมีสีเขียวอ่อน มีความกว้าง 0.2 - 0.3 เซนติเมตร ความยาว 2.8 - 3.5 เซนติเมตร รังไข่มีลักษณะเรียวยาวรูปกรวย มีขนาด 0.3 - 0.5 เซนติเมตร ความยาว 3.8 - 4.5 เซนติเมตร อยู่ในตำแหน่งที่ต่ำกว่าวงกลีบดอก ดอกย่อยมีขนาดกว้าง 2.3 - 3.6 เซนติเมตร ยาว 3.8 - 4.2 เซนติเมตร มี 6 กลีบ ประกอบด้วยกลีบเลี้ยง (sepal) 3 กลีบ กลีบดอก (petal) 3 กลีบ กลีบเลี้ยง ประกอบด้วย กลีบเลี้ยงด้านบน 1 กลีบ อยู่ในตำแหน่งหลังเส้าเกสร มีลักษณะเป็นรูปหอก ปลายกลีบแหลมคม กว้าง 0.3 - 0.32 เซนติเมตร ยาว 3.8 - 4.5 เซนติเมตร และกลีบเลี้ยงด้านล่างมี 2 กลีบ มีลักษณะเป็นรูปหอก ปลายกลีบแหลม กลีบกว้าง 0.33 - 0.35 เซนติเมตร ยาว 4.0 - 4.6 เซนติเมตร ส่วนกลีบดอก ประกอบด้วยกลีบดอกด้านข้าง 2 กลีบ มีลักษณะเป็นรูปไข่ ปลายกลีบแหลม กลีบกว้าง 2.3 - 3.7 เซนติเมตร ยาว 3.6 - 4.8 เซนติเมตร กลีบปากมีจำนวน 1 กลีบ มีขนาดใหญ่และมีลักษณะเด่นกว่ากลีบอื่นๆ โคนกลีบเป็นหลอดห่อหุ้มส่วนของเส้าเกสร ปลายขอบกลีบหยักเว้าเป็นคลื่น มีสีเข้มกว่าส่วนอื่นๆ ปลายกลีบมีรอยเว้าเท่ากัน 2 ด้าน กลีบปากมีขนาดกว้าง 2.8 - 3.2 เซนติเมตร ยาว 4.2 - 4.7 เซนติเมตร (ภาพที่ 16) ดอกที่บานสมบูรณ์เต็มที่มีสีสด เมื่อดอกเริ่มเข้าสู่ระยะชราภาพ สีดอกซีดลง กลีบเลี้ยงและกลีบดอกมีตั้งแต่สีขาว ชมพู ชมพูม่วงจนถึง สีม่วงแดง (ภาพที่ 17) กลีบปากมีสีเข้มกว่ากลีบเลี้ยงและกลีบดอก โดยเฉพาะปลายปากมีสีเข้มกว่าส่วนอื่น กลางปากมีสีเหลืองอ่อน มีขนปกคลุม มีสันกลางปาก 3 สัน บริเวณโคนกลีบปากมีจุดประสีม่วงแดง เส้าเกสรมีสีขาว มีขนาดเล็กรูปร่างเรียวยาว กว้าง 0.1 - 0.2 เซนติเมตร ยาว 3.2 - 3.6 เซนติเมตร กลุ่มเรณูมี 2 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ก้อน มีสีเหลืองอ่อน ก้านชูกลุ่มเรณูสั้น เกสรเพศเมียมีลักษณะเป็นแอ่งขนาดเล็กอยู่ด้านหน้าเส้าเกสร (ภาพที่ 16)

ภาพที่ 16 ส่วนประกอบของดอกเอื้องใบไผ่

co = column ; l = labellum ; ped = peduncle ; pet = petal ; sep = sepal

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

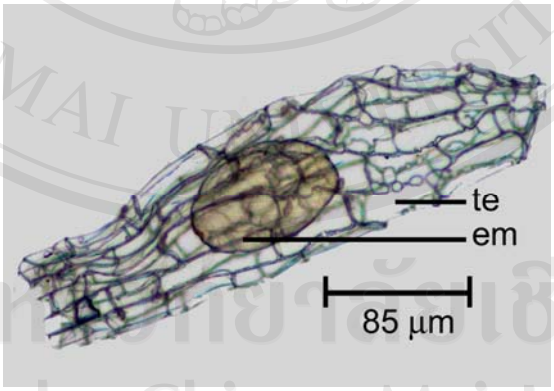
ภาพที่ 17 ดอกของเอื้องใบไผ่ มีลักษณะรูปทรงและสีของดอกที่แตกต่างกันในสภาพธรรมชาติ

2.1.6 ฝักและเมล็ด

ฝักเป็นผลแบบแห้งแล้วแตก รูปขอบขนานแกมรูปไข่ มีสีเขียวอ่อน บางต้นพบมีสีม่วงเข้ม ในช่องระหว่างแนวตะเข็บ ฝักมีความกว้าง 1.6-2.8 เซนติเมตร ยาว 4.7-5.2 เซนติเมตร (ภาพที่ 18) ก้านผลสั้น ฝักที่แก่เต็มที่แตกออกตามแนวตะเข็บ เมล็ดภายในฝักมีจำนวนมาก ขนาดเล็กคล้ายแป้งหรือฝุ่น เมล็ดในฝักอ่อนมีสีเหลืองอ่อน และเมื่อฝักแก่เต็มที่เมล็ดมีสีเหลืองเข้ม เมื่อศึกษาดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเปลือกหุ้มเมล็ด (testa = te) มีลักษณะคล้ายถุงตาข่าย มีเอมบริโอ (embryo) บรรจุอยู่ด้านใน (ภาพที่ 19)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 18 ฝักของเอื้องใบไผ่ อายุ 30 วัน



ภาพที่ 19 เมล็ดของเอื้องใบไผ่ เมื่อโตเต็มที่สามารถนำไปเพาะได้

em = embryo ; te = testa

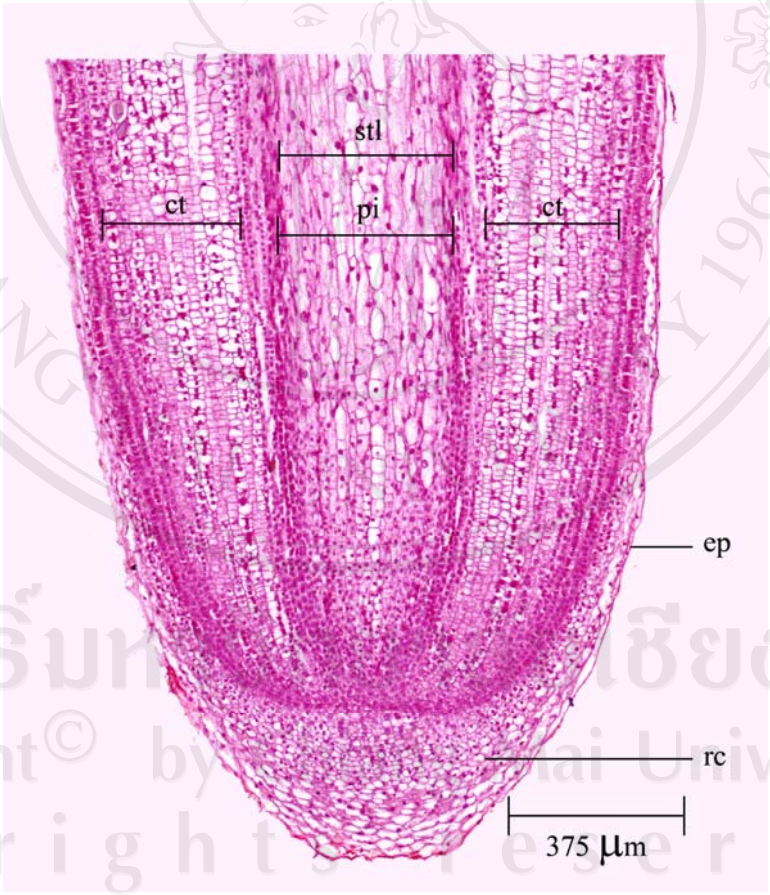
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองย่อยที่ 2.2 การศึกษาลักษณะกายวิภาควิทยา

2.2.1 ราก

ศึกษาลักษณะกายวิภาควิทยาของรากกล้วยไม้เอื้องใบไผ่ โดยนำรากจากต้นที่เจริญเติบโตสมบูรณ์เต็มที่มาตัดตามยาวและตามขวาง พบว่าส่วนประกอบของรากมีลักษณะต่างๆดังต่อไปนี้ คือ

หมวกราก (root cap : rc) จากภาคตัดตามยาวของปลายรากปรากฏเนื้อเยื่อหมวกรากที่บริเวณปลายสุดของราก หมวกรากประกอบด้วยเซลล์แพเรงคิมา (parenchyma) รูปร่างหลายเหลี่ยม มีหลายชั้นเซลล์ เซลล์ด้านนอกมีขนาดใหญ่กว่าและมีลักษณะเหี่ยวย่นกว่าเซลล์ด้านใน เป็นเซลล์ที่ไม่มีการแบ่งตัวอีก แต่ยังคงส่วนของโครงสร้างเซลล์เอาไว้ (ภาพที่ 20)

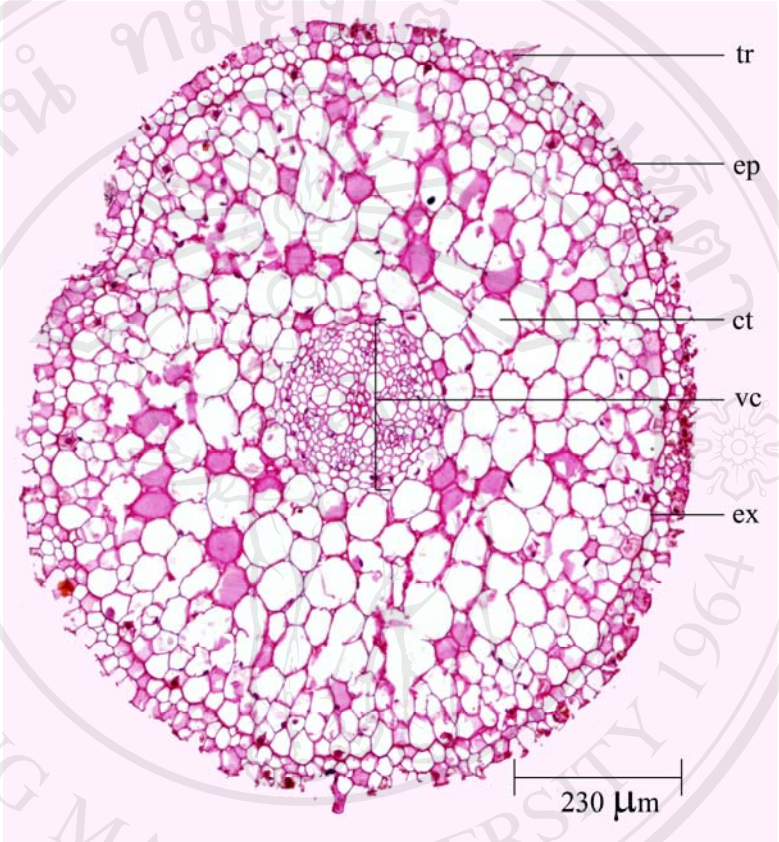


ภาพที่ 20 ภาคตัดตามยาวปลายรากของเอื้องใบไผ่

ct = cortex ; ep = epidermis ; pi = pith ; : rc = root cap ; stl = stele

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เนื้อเยื่อชั้นผิว (epidermis : ep) เนื้อเยื่อชั้นผิวของรากเมื่อดูจากภาคตัดตามขวาง พบว่าประกอบด้วยเซลล์ 2 ชั้น เซลล์ผิวชั้นนอก มีรูปร่างสี่เหลี่ยมขนาดเล็กเรียงตัวกันแน่นเป็นแถวชัดเจน ในบางเซลล์ของเซลล์ผิวมีการแปรรูปไปเป็นเซลล์ที่มีขนแบบต่อม (trichome : tr) (ภาพที่ 21)



ภาพที่ 21 ภาคตัดตามขวางของรากเอื้องใบไผ่

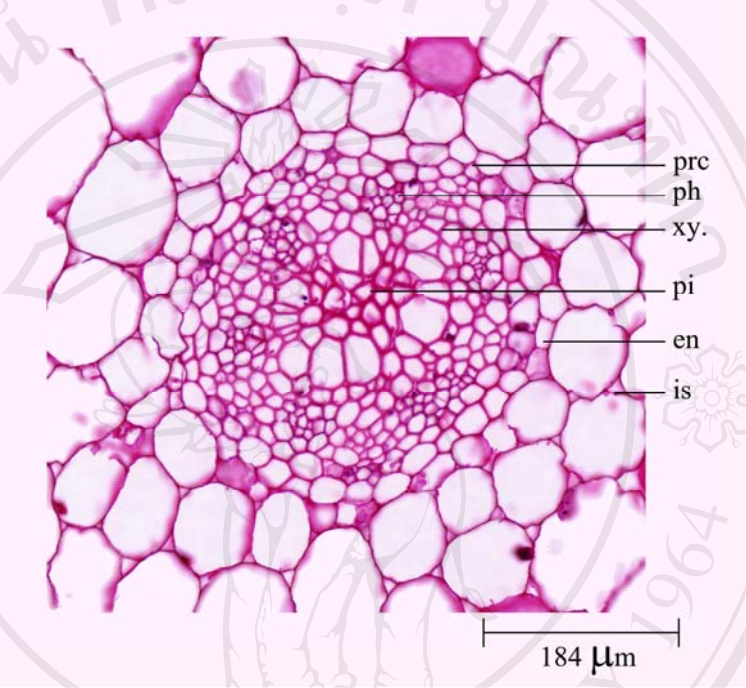
ct = cortex ; ep = epidermis : ex = exodermis ; vc = vascular cylinder; tr = trichome

เนื้อเยื่อชั้นนอกของคอร์เท็กซ์ (exodermis : ex) จากภาคตัดตามขวาง ประกอบด้วยเซลล์ 1 ชั้นเซลล์อยู่ใต้เนื้อเยื่อผิว เป็นเซลล์ที่มีผนังบางเรียงตัวกันแน่น ไม่มีช่องว่างระหว่างเซลล์ (intercellular space : is) เซลล์มีรูปร่างสี่เหลี่ยม หลายเหลี่ยม หรือค่อนข้างกลม มีหลายขนาดและเซลล์มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ผิว (ภาพที่ 21)

คอร์เท็กซ์ (cortex : ct) จากภาคตัดตามขวาง เป็นเนื้อเยื่อพื้น ที่อยู่ระหว่างเนื้อเยื่อผิวกับเนื้อเยื่อลำเลียง (ภาพที่ 21) ประกอบด้วยเซลล์พื้นที่เป็นเซลล์แพรงคิมาขนาดไม่แน่นอน มีรูปร่างหลายเหลี่ยมจนถึงค่อนข้างกลม เป็นเซลล์ที่มีผนังบาง เรียงตัวกันหลวมๆ มีช่องว่างระหว่างเซลล์จำนวนมาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เอ็นโดเดอมิส (endodermis : en) เป็นเนื้อเยื่อชั้นในสุดของคอร์เท็กซ์ จากภาคตัดตามขวางของเนื้อเยื่อรากของเอื้องไผ่ พบว่าเซลล์ชั้นในเป็นเซลล์ที่มีรูปร่างเรียวเกือบกลม ขนาดค่อนข้างสม่ำเสมอ เรียงตัวกันแน่น ไม่มีช่องว่างระหว่างเซลล์ เรียงตัวชั้นเดียวรอบกระบอกท่อลำเลียง (vascular cylinder : vc) บางครั้งพบว่าแยกไม่ออกจากเซลล์เพอริไซเคิล ที่อยู่ด้านใน (ภาพที่ 22)



ภาพที่ 22 ภาคตัดตามขวางแสดงชั้นเนื้อเยื่อของรากเอื้องใบไผ่

en = endodermis ; is = intercellular space ; prc = pericycle ; pi = pith ; xy = xylem ; ph = phloem

เพอริไซเคิล (pericycle : prc) เป็นเนื้อเยื่อชั้นนอกสุดของสตีล (stele : stl) ประกอบด้วยเซลล์แพเรงคิมาที่มีรูปร่างหลายเหลี่ยม ขนาดไม่สม่ำเสมอ มีเซลล์ขนาดเล็กกว่าเซลล์เอนโดเดอมิส จากรูปที่แสดงไม่สามารถมองเห็นขอบเขตของเซลล์ได้ชัดเจน ไม่พบช่องว่างระหว่างเซลล์ เรียงตัวชั้นเดียวรอบกระบอกท่อลำเลียง (ภาพที่ 22)

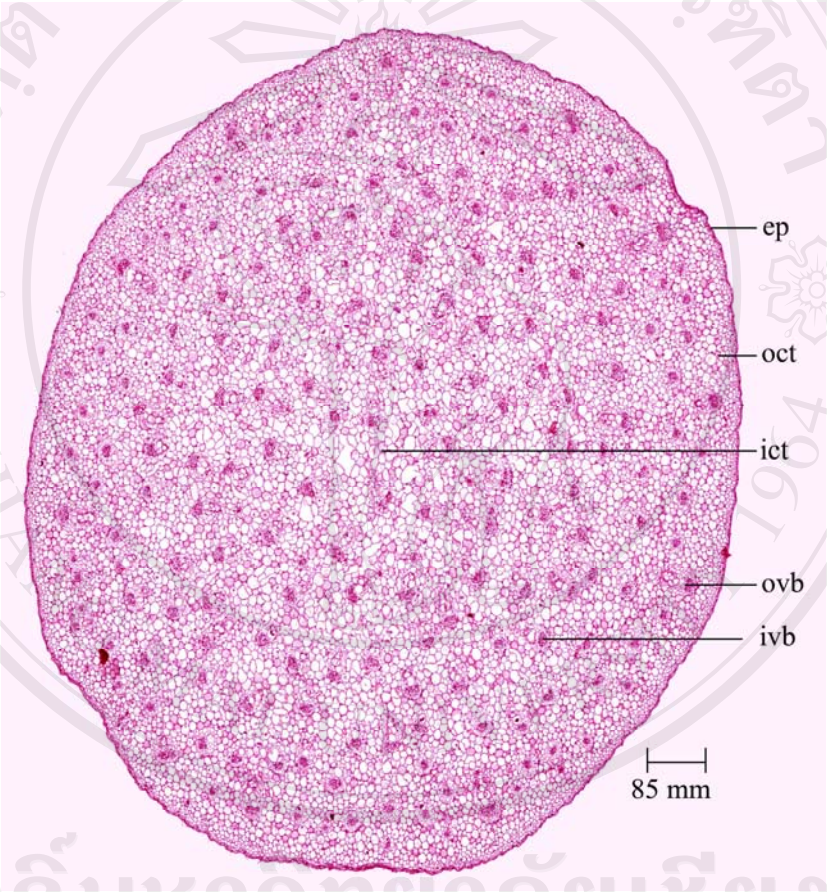
กระบอกท่อลำเลียง (vascular cylinder : vc) เนื้อเยื่อชั้นนี้ประกอบด้วยเซลล์ที่เป็นส่วนประกอบของเซลล์ไซเล็ม (xylem : xy) เรียงตัวสลับกับเซลล์ที่เป็นส่วนประกอบของเซลล์โฟลเอ็ม (phloem : ph) กระจายอยู่รอบเซลล์แพเรงคิมาที่เป็นส่วนประกอบของเซลล์แกนราก (pith : pi) แบบรัศมีกลุ่มของเซลล์เนื้อเยื่อที่เป็นส่วนประกอบของเซลล์ไซเล็ม เป็นเซลล์ที่มีผนังหนา รูปร่างเกือบกลม เจริญเบียดกับเซลล์ด้านนอกของสตีล และกลุ่มของเซลล์เนื้อเยื่อที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นส่วนประกอบของเซลล์โฟลเอ็ม เป็นกลุ่มขนาดเล็ก รูปร่างหลายเหลี่ยม เป็นเซลล์ที่มีผนังบาง ติดสีเข้มกว่าเซลล์ไซเล็ม (ภาพที่ 22)

2.2.2 ลำต้น

เมื่อตัดลำต้นตามขวาง พบว่าลำต้นมีส่วนประกอบของเนื้อเยื่อทั้ง 3 ระบบ โดยมีรายละเอียดดังนี้(ภาพที่ 23)



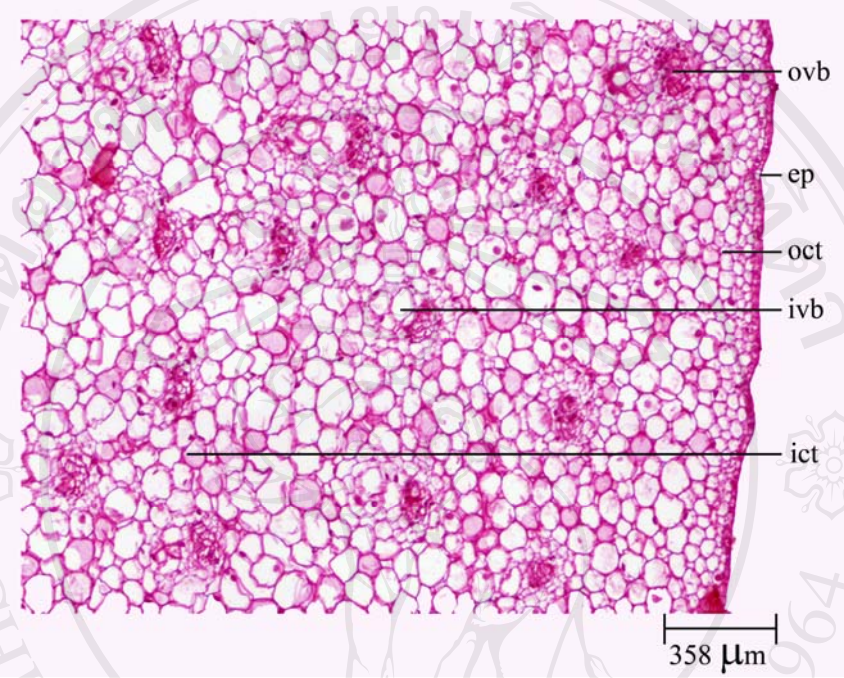
ภาพที่ 23 ภาคตัดตามขวางของลำต้นเอื้องใบไผ่

ep = epidermis ; ict = inner cortex ; ivb = inner vascular bundle ; oct = outer cortex ;

ovb = outer vascular bundle

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เนื้อเยื่อชั้นผิว (ep) เป็นเนื้อเยื่อชั้นนอกสุด ประกอบด้วยเซลล์แพเรงคิมาที่มีขนาดเล็กมาก รูปร่างสี่เหลี่ยม เรียงต่อกันเป็นแถวยาว อยู่ 1 ชั้นเซลล์ เนื้อเยื่อชั้นนี้เคลือบด้วยคิวทินหนา ติดสีเข้ม ผิวลำต้นไม่เรียบ (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 24 ภาคตัดตามขวางของลำต้นเอื้องใบไผ่

ep = epidermis ; ict = inner cortex ; ivb = inner vascular bundle ; oct = outer cortex ; ovb = outer vascular bundle

คอร์เท็กซ์ (ct) เป็นเนื้อเยื่อพื้นประกอบด้วยเซลล์แพเรงคิมาที่มีผนังบาง มีรูปร่างไม่แน่นอน มีตั้งแต่รูปร่างกลม รูปสี่เหลี่ยมไปจนถึงรูปหลายเหลี่ยม นอกจากนี้ยังมีขนาดแตกต่างกันด้วย เซลล์คอร์เท็กซ์ชั้นนอกและเซลล์คอร์เท็กซ์ชั้นในไม่แยกออกจากกัน มีขอบเขตไม่ชัดเจน มีทั้งกลุ่มของเซลล์ท่อลำเลียงกระจัดกระจายอยู่ทั่วไป ขนาดของเซลล์แพเรงคิมาด้านในกลางลำต้นมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์แพเรงคิมาด้านนอกที่ติดกับเซลล์ผิว (ภาพที่ 24)

มัดท่อลำเลียง (vascular bundle : vb) ท่อลำเลียงในลำต้นเป็นแบบท่อลำเลียงเคียงข้างที่มีเซลล์ไซเล็มอยู่ด้านในหันเข้าหากลางลำต้น และเซลล์โฟลเอ็มอยู่ด้านนอกหันเข้าหาเซลล์ผิว เรียงตัวกระจัดกระจายอยู่ทั่วไป มัดท่อลำเลียงรอบนอกของลำต้น (outer vascular bundle : ovb) ซึ่งอยู่ใกล้กับชั้นของเซลล์คอร์เท็กซ์ด้านนอก มีขนาดเล็ก ส่วนมัดท่อลำเลียงที่อยู่ด้านในเข้าไป (inner vascular bundle : ivb) มีขนาดใหญ่กว่า (ภาพที่ 24)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.3 ใบ

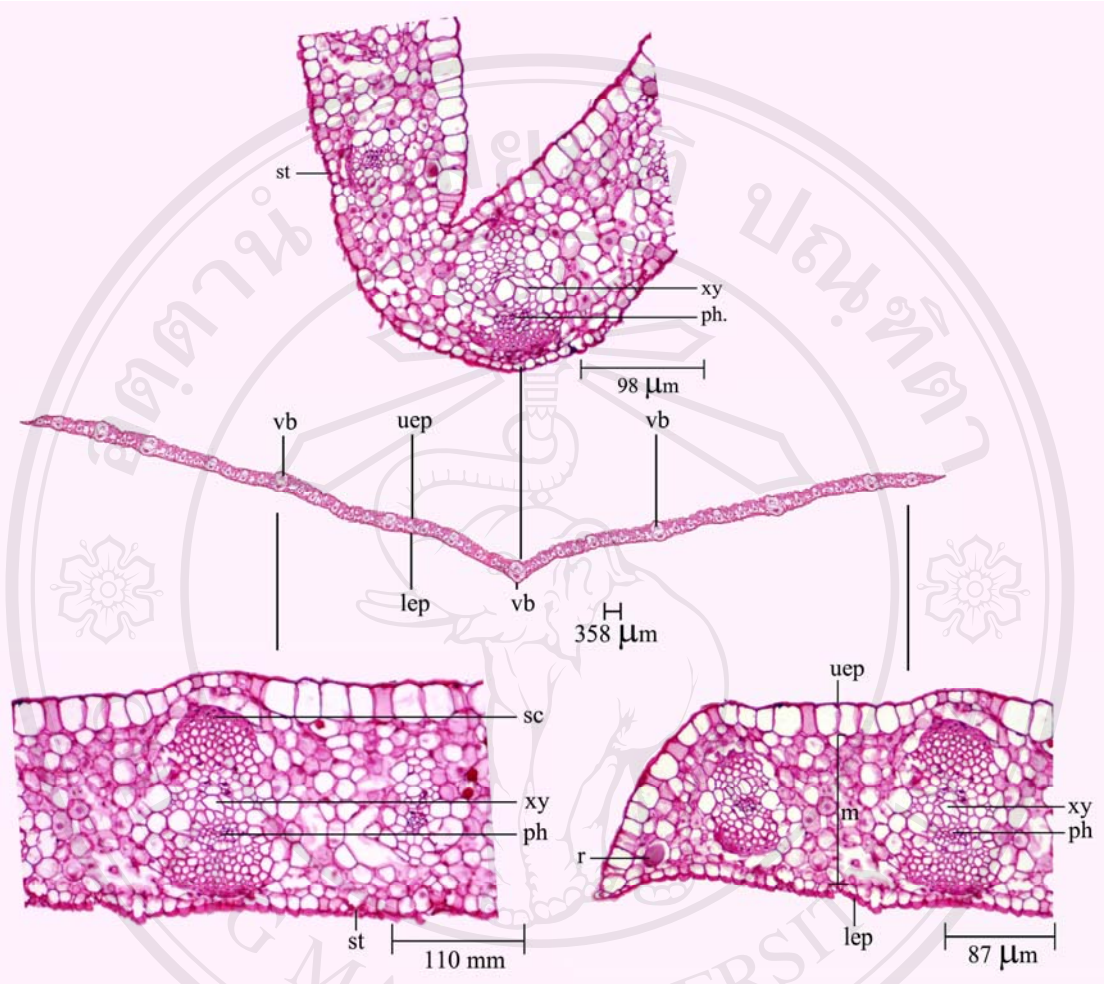
ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของใบเอื้องใบไผ่โดยการนำใบที่สมบูรณ์ มีสีเขียวไม่เหนียวมากเกินไป มาตัดตามขวาง พบว่าใบของเอื้องไผ่ประกอบด้วยเนื้อเยื่อระบบต่างๆเหมือนในราก และลำต้น ซึ่ง ได้แก่ เนื้อเยื่อผิว เนื้อเยื่อพื้น และเนื้อเยื่อลำเลียง (ภาพที่ 25)

อิพิเดอมิส (epidermis : ep) เป็นเนื้อเยื่อชั้นผิว ประกอบด้วยเซลล์แพเรงคิมาเรียงต่อกันเป็นแถว ด้านบนใบ (upper epidermis : uep) มี 1 ชั้น และด้านล่างใบ (lower epidermis : lep) 1 ชั้นเซลล์เช่นกัน ผิวใบด้านบน เซลล์มีรูปร่างสี่เหลี่ยมจนถึงเกือบกลม มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ผิวด้านล่างใบ เซลล์ผิวใบด้านบนมีคิวทินเคลือบหนากว่าเซลล์ผิวใบด้านล่าง เซลล์คุม (guard cell : gc) เป็นรูปไต อยู่ระนาบเดียวกับเซลล์ผิวใบ ไม่มีเซลล์ข้างเซลล์คุม ช่องว่างใต้ปากใบมีขนาดใหญ่ ขยายออกทางด้านข้าง

มีโซฟิลล์ (mesophyll : m) เป็นเนื้อเยื่อพื้นที่อยู่ระหว่างชั้นเซลล์ผิวด้านบนใบและชั้นเซลล์ผิวด้านล่างใบ ในชั้นนี้เซลล์มีโซฟิลล์ (mesophyll cell : mc) ไม่แบ่งเป็นชั้นแพลิเซดเซลล์และสปอนจีเซลล์ พบว่าเซลล์แพเรงคิมามีรูปร่างหลายเหลี่ยมจนถึงค่อนข้างกลมหรือกลมรี มีขนาดไม่แน่นอน เรียงตัวกันแน่น มีช่องว่างระหว่างเซลล์จำนวนมาก ในเซลล์มีโซฟิลล์บางเซลล์พบผลึกรูปเข็ม (raphides : r) ขนาดใหญ่

มัดท่อลำเลียง (vascular bundle : vb) เป็นท่อลำเลียงแบบเคียงข้าง มีเซลล์ไซเล็มอยู่ติดกับเซลล์ผิวด้านบนใบ และเซลล์โฟลเอ็มอยู่ติดกับเซลล์ผิวด้านล่างใบ ขนาดเซลล์มัดท่อลำเลียงของเส้นกลางใบมีจำนวนมาก และมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์มัดท่อลำเลียงของเส้นใบ มีเซลล์สเกอเรงคิมา (sclerenchyma) มีเซลล์ขนาดเล็ก อยู่ด้านบนเซลล์ไซเล็ม ติดสีเข้ม เรียงตัวกันแน่น (ภาพที่ 25)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 25 ภาคตัดตามขวางของใบเอื้องใบไผ่

lep = lower epidermis; m = mesophyll; ph = phloem; r = raphides; st = stomata; uep = upper epidermis; xy = xylem

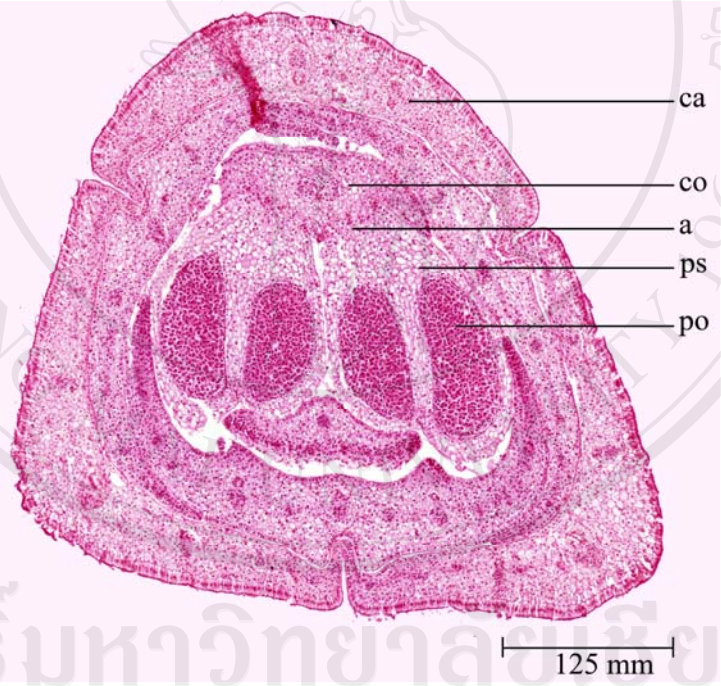
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.4 ดอก

ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของดอกเอื้องใบไผ่ โดยการนำดอกอ่อนที่มีความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร มาตัดตามยาวและตามขวาง พบว่าดอกของต้นพืชที่ศึกษามีลักษณะทางกายวิภาควิทยา ดังนี้ คือ พบว่าดอกเป็นแบบสมมาตรด้านข้าง มีรังไข่ (ovary : o) อยู่ใต้ส่วนประกอบอื่นๆ ของดอก ส่วนประกอบของดอกมีครบทั้ง 4 วง วงของกลีบเลี้ยง (calyx : ca) มีกลีบเลี้ยง (sepal :sp) จำนวน 3 กลีบ และวงของกลีบดอก (corolla : co) มีกลีบดอก (petal :pt) จำนวน 3 กลีบ วงของเกสรเพศผู้ (androecium : an) และวงของเกสรเพศเมีย (gynoecium : gy)

แสดงให้เห็นว่าก้านชูเกสรทั้ง 2 เพศ เชื่อมติดกันเป็นเส้าเกสร (column : c) ซึ่งส่วนปลายของเส้าเกสรนี้แยกเป็นเกสรเพศเมีย (stigma : sti) ซึ่งเว้าเป็นแอ่ง และก้านกลุ่มเรณู (caudicle : cd) อับเรณู (anther : a) มีเรณูที่อัดแน่นในลักษณะกลุ่มเรณู (pollinia : p) อยู่ภายใน ส่วนในรังไข่มีออวุล (ovule : ov) บรรจุอยู่ (ภาพที่ 27 และ 28)

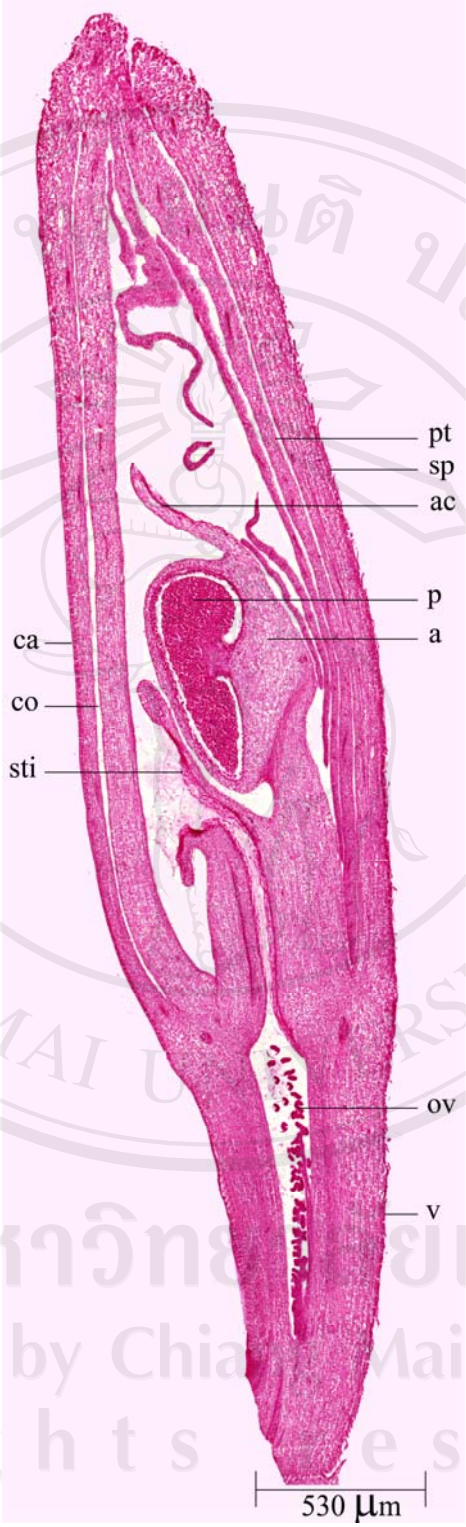
ระบบเนื้อเยื่อของส่วนประกอบของดอก ประกอบด้วยเนื้อเยื่อชั้นผิว เนื้อเยื่อพื้น และเนื้อเยื่อลำเลียงเช่นกัน โดยที่เมื่อดูจากภาคตัดขวางของกลีบดอก และกลีบเลี้ยง (ภาพที่27) พบว่าเนื้อเยื่อชั้นผิวเป็นเนื้อเยื่อของเซลล์พาเรงคิมา รูปร่างหลายเหลี่ยม หรือรูปร่างเกือบกลมเรียงตัวกันแน่น เซลล์มีขนาดไม่แตกต่างกับเซลล์พื้นมากนักเนื้อเยื่อพื้นเป็นเซลล์พาเรงคิมาที่มีรูปร่างกลม กลมรี หรือค่อนข้างเหลี่ยม ขนาดไม่แน่นนอน เรียงตัวกันแน่น มัดท่อลำเลียงมีลักษณะเดียวกันกับมัดท่อลำเลียงของใบ เรียงตัวตามแนวยาวเป็นแถวเดี่ยว



ภาพที่ 26 ภาคตัดตามขวางของดอกเอื้องใบไผ่

a = androecium; ca = calyx; co = corolla; po = pollen; ps = pollen sac

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



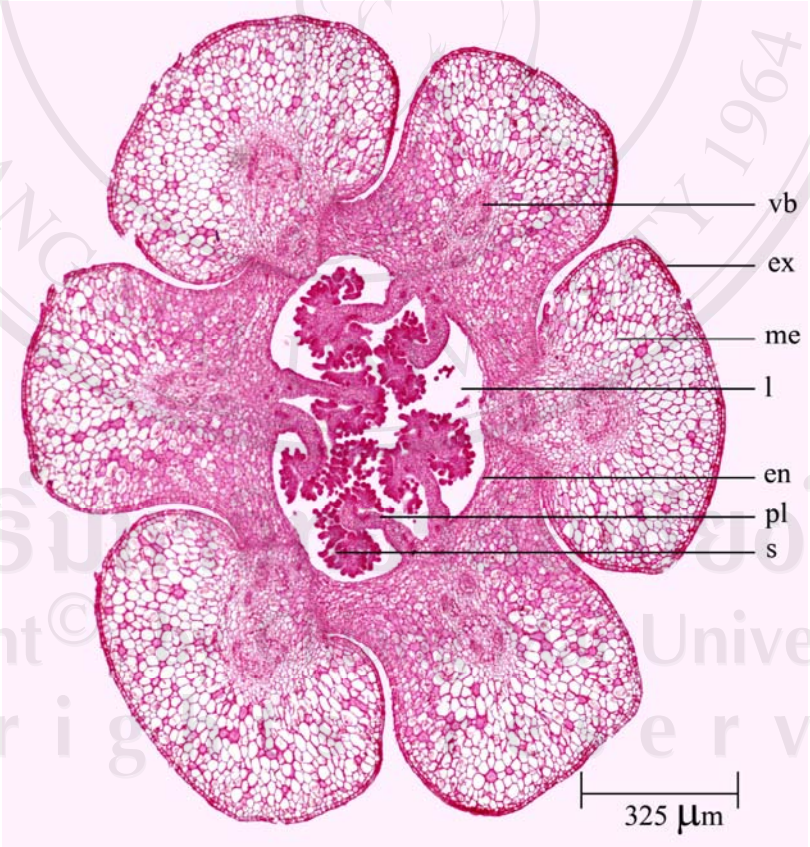
ภาพที่ 27 ภาคตัดตามยาวของดอกเอื้องใบไผ่

a = anther; ac = anther cap; ca = calyx; co = corolla; o = ovary; ov = ovule; p = pollinia; sti = stigma cavity ; pt = petal; sp = sepal

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.5 ฝัก

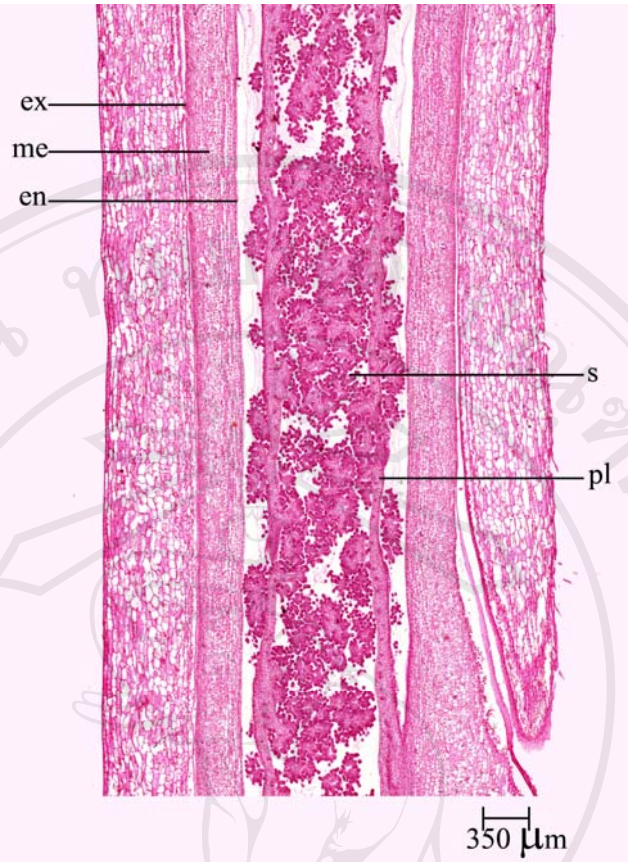
ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของเอื้องใบไผ่โดยการนำฝักอ่อนที่มีอายุ 1 สัปดาห์ ของพืชทดลองมาตัดตามขวางและตามยาว พบว่าผลการศึกษาของฝักของพืชที่ศึกษามีลักษณะทางกายวิภาคดังนี้ คือ ฝักเป็นผลแบบผลแห้งแล้วแตก เมื่อดูจากภาคตัดตามขวาง (ภาพที่ 28) เห็นรังไข่มีลักษณะเป็นพู มี 6 พู ประกอบด้วยพูขนาดใหญ่ 3 พู และพูขนาดเล็ก 3 พู เรียงสลับกัน ช่องว่างภายในผลมี 1 ช่อง (locule : l) 3 คาร์เพล ภายในช่องดังกล่าวมีเมล็ด (seed :s) ที่ยังอ่อนอยู่ติดกับผนังของผลแบบพลาเซนตาตามแนวตะเข็บ สำหรับเนื้อเยื่อของผลอ่อนนั้น (ภาพที่ 29) ชั้นนอกสุดเป็นชั้นของผนังผลชั้นนอก (exocarp : ex) ประกอบด้วยเซลล์พาเรงคิมาขนาดเล็กรูปร่างสี่เหลี่ยมจนถึงรูปหลายเหลี่ยมเรียงตัวชิดกัน 1 ชั้นเซลล์ บางเซลล์แปรรูปเป็นขนแบบต่อม ถัดเข้าไปเป็นผลชั้นกลาง (mesocarp : me) ประกอบด้วยเซลล์พาเรงคิมาที่มีรูปร่างและขนาดไม่แน่นอน มีหลายชั้นเซลล์และชั้นในสุดเป็นผนังผลชั้นใน (endocarp : en) ซึ่งประกอบด้วยเซลล์รูปร่างสี่เหลี่ยมขนาดเล็ก มี 1 แถวเซลล์ของชั้นนี้มีขนาดเล็กกว่าเซลล์ของผนังผลชั้นนอก เมล็ดอ่อนที่อยู่ภายในผลมีขนาดเล็กมาก



ภาพที่ 28 ภาคตัดตามขวางของฝักเอื้องใบไผ่

en = endocarp; ex = exocarp; me = mesocarp; pl = placenta; s = seed; vb = vascular bundle

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 29 ภาคตัดตามยาวของฝักเอื้องใบไผ่

en = endocarp; ex = exocarp; me = mesocarp; pl = placenta; s = seed

การทดลองย่อยที่ 2.3 การศึกษาจำนวนโครโมโซม

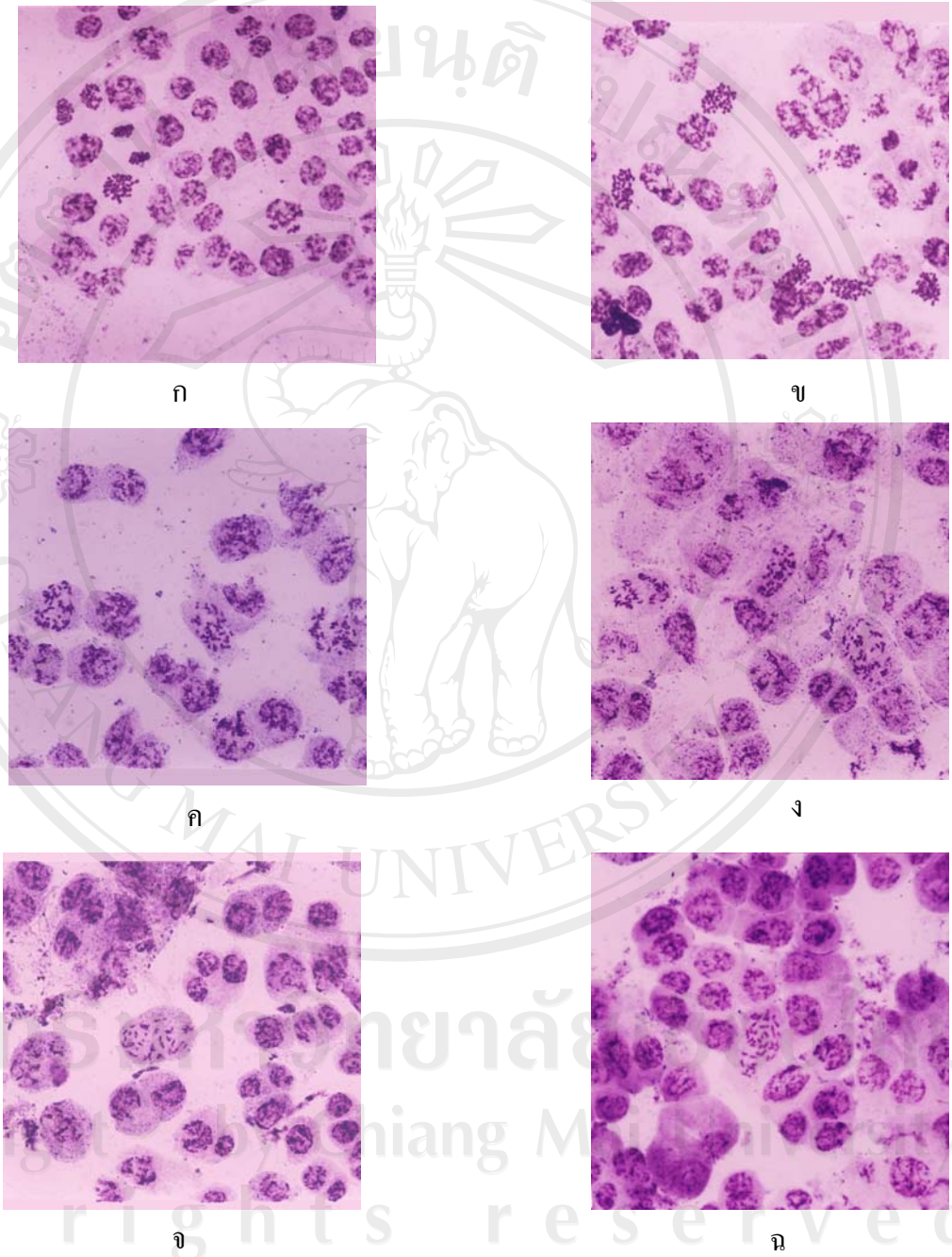
การศึกษาหาวิธีการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากเพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซมของเอื้องใบไผ่ โดยการเก็บตัวอย่างปลายรากในช่วงเวลาแตกต่างกันเพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสม ที่เซลล์ปลายรากมีการแบ่งเซลล์ในระยะเมตาเฟสของการแบ่งเซลล์แบบไมโตซิส การหาช่วงเวลาในการหยุดวงชีพเซลล์ เพื่อได้เซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นสามารถตรวจนับได้อย่างชัดเจน การหาช่วงเวลาในการแช่รากในสารละลายสีย้อมโครโมโซมเพื่อได้โครโมโซมที่ติดสีชัดเจน และหาจำนวนโครโมโซมของพืชทดลอง ได้ผลการศึกษาดังนี้

2.3.1 การเก็บตัวอย่างปลายราก

การเก็บตัวอย่างปลายรากของพืชทดลองในเวลา 07.00 08.00 09.00 10.00 11.00 และ 12.00 น. และนำปลายรากที่เก็บในแต่ละกรรมวิธีมาผ่านขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซม จากนั้นนำไปตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า กรรมวิธีที่เก็บปลายรากในช่วงเวลา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

08.00 – 10.00 น. นั้นมีจำนวนเซลล์ที่มีการแบ่งตัวในระยะเมตาเฟส และโครโมโซมหดสั้นมากที่สุด สามารถตรวจนับได้ง่ายมากที่สุด ส่วนกรรมวิธีที่เก็บปลายรากในเวลา 07.00 11.00 และ 12.00 น. พบว่ามีเซลล์ที่แบ่งตัวในระยะเมตาเฟสในจำนวนที่น้อยกว่า



ภาพที่ 30 โครโมโซมจากเซลล์ปลายรากที่เก็บตัวอย่างในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน

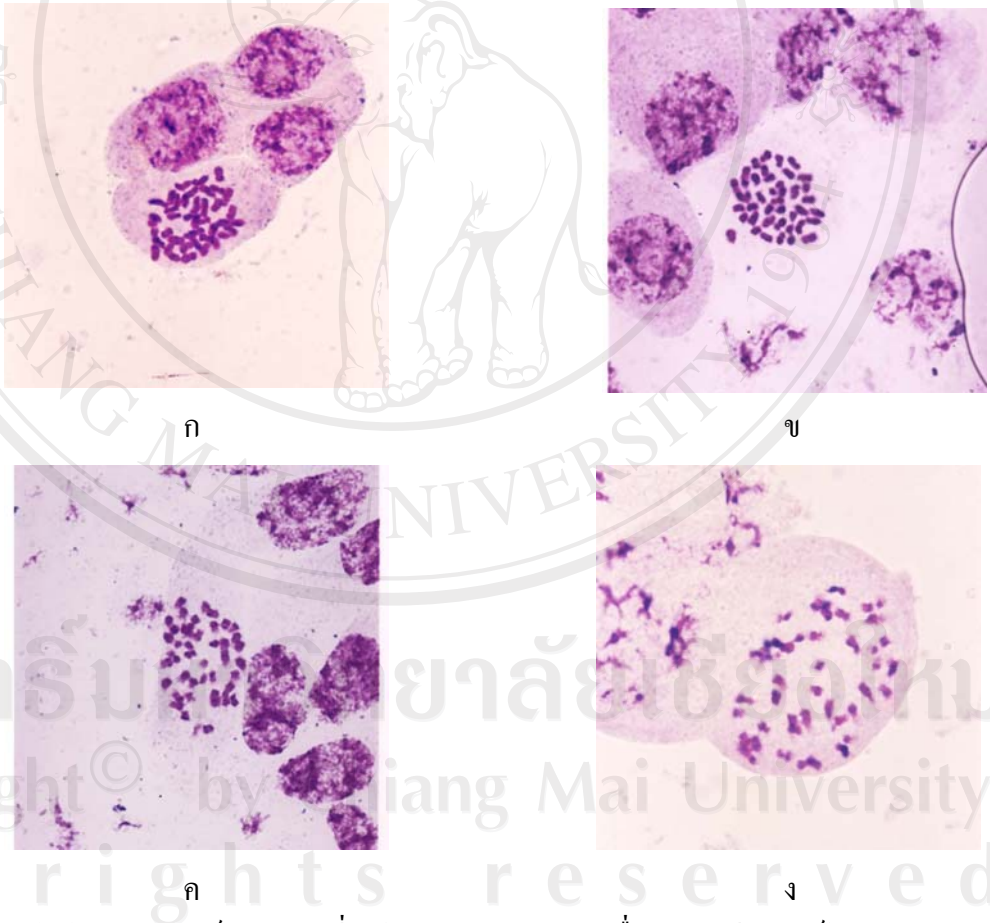
ก = 7.00 น. (1228 ×) ; ข = 8.00 น. (1226 ×) ; ค = 9.00 น. (1226 ×)

ง = 10.00 น. (1228 ×) ; จ = 11.00 น. (1226 ×) ฉ = 12.00 น. (1228 ×)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3.2 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการหยุดวงชีพเซลล์

การศึกษาการหยุดวงชีพของเซลล์ โดยทำการเก็บตัวอย่างปลายรากในเวลาที่เหมาะสมซึ่งเป็นกรรมวิธีที่ได้จากข้อ 4.1 แล้วนำตัวอย่างปลายรากมาแช่ลงในสารละลาย PDB เก็บที่อุณหภูมิประมาณ 15 องศาเซลเซียส นานเป็นช่วงเวลาที่แตกต่างกันคือ 1 3 5 และ 7 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างเนื้อเยื่อปลายรากไปผ่านขั้นตอนต่างๆของกรรมวิธีการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซม และนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่ากรรมวิธีที่ผ่านการหยุดวงชีพเซลล์ 3 และ 5 ชั่วโมง ทำให้โครโมโซมหดสั้นและกระจายออกจากกันทั่วทั้งเซลล์จนสามารถเห็นรูปร่างของโครโมโซมชัดเจนสามารถนับจำนวนได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ ส่วนกรรมวิธีที่แช่ในสารละลาย PDB นาน 7 ทำให้โครโมโซมหดสั้นมากเกินไป และเมื่อแช่เพียง 1ชั่วโมง โครโมโซมยังไม่หดสั้นพอที่ทำให้สามารถนับจำนวนโครโมโซมที่สะดวก



ก ข

ค ง

ภาพที่ 31 โครโมโซมจากเซลล์ปลายรากที่แช่ในสารละลาย PDB เพื่อหยุดวงชีพเซลล์ในระยะเวลาที่ต่างกัน

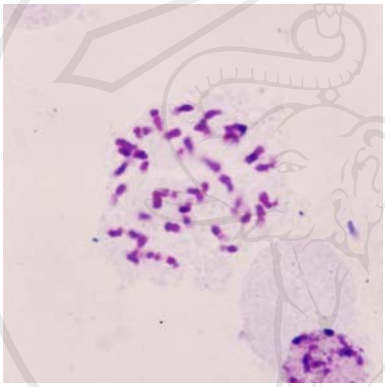
ก = กรรมวิธีควบคุม (1285 ×) ; ข = 3 ชั่วโมง (1197 ×) ; ค = 5 ชั่วโมง (1226 ×)

ง = 7 ชั่วโมง (1285 ×)

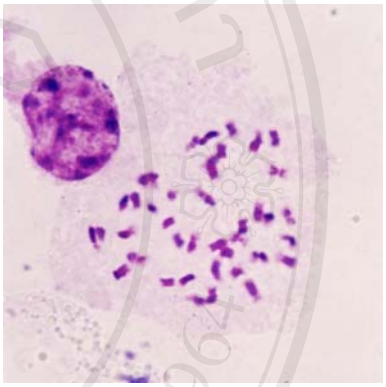
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3.3 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการย้อมสีโครโมโซม

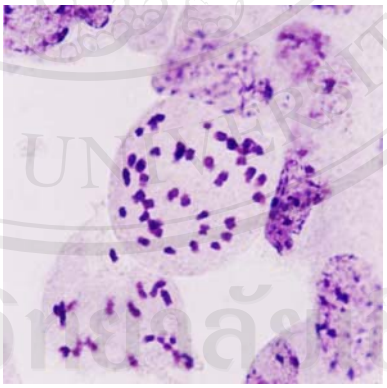
การศึกษาความยาวนานของการแช่ปลายรากในสีย้อมโครโมโซม โดยนำตัวอย่างปลายรากที่เก็บในช่วงเวลา 08.00 – 10.00 น. มาผ่านขั้นตอนของการหยุดวงชีพเซลล์ในสารละลาย PDB นาน 3 ชั่วโมง ตามผลการทดลองที่ได้จากข้อ 4.1 และ 4.2 จากนั้นนำเนื้อเยื่อปลายรากไปย้อมด้วยสี carbol fuchsin นาน 30 นาที 1 และ 2 ชั่วโมง พบว่า เซลล์ของทุกกรรมวิธีให้เซลล์ปลายรากที่มีโครโมโซมติดสีเข้มสม่ำเสมอ โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ย้อมเนื้อเยื่อเซลล์ปลายรากด้วยสี carbol fuchsin นาน 1 ชั่วโมงเป็นวิธีการที่เหมาะสม



ก



ข

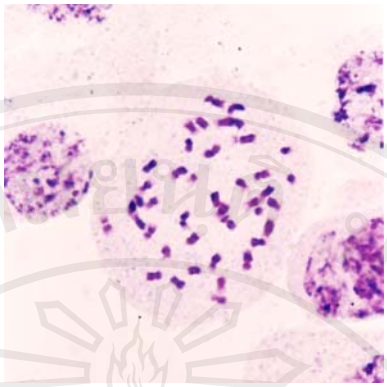


ค

ภาพที่ 32 โครโมโซมจากเซลล์ปลายรากที่แช่ในสาร carbol fucshin เพื่อการย้อมสีในระยะเวลาที่ต่างกัน

ก = 30 นาที (1285 ×) ; ข = 1 ชั่วโมง (1212 ×) ; ค = 2 ชั่วโมง (1285 ×)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 33 โครโมโซมเซลล์ปลายรากของเอื้องใบไผ่ 2n = 2x = 40 (1284 ×)

จากการตรวจนับจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ที่เห็นโครโมโซมชัดเจนและกระจายตัวเต็มที่ จำนวน 10 เซลล์ พบว่า ทุกเซลล์มีจำนวนโครโมโซม 2n = 2x = 40

การทดลองที่ 3 ศึกษาวิธีการเพิ่มจำนวนโครโมโซมด้วยสารละลายโคลชิซินในสภาพปลอดเชื้อ

การศึกษาวิธีการในการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมของเอื้องใบไผ่ จากโปรโตคอร์มที่ได้มาจากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ โดยคัดโปรโตคอร์มที่มีขนาดเท่ากันนำมาเลี้ยงลงในอาหารเหลวสังเคราะห์ร่วมกับสารละลายโคลชิซินเป็นระยะเวลา 10 วัน โดยทดสอบกับความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน 5 ระดับ คือ 0 0.01 0.025 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารละลายโคลชิซินมีผลต่อการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมและอัตราการรอดของโปรโตคอร์ม ดังนี้

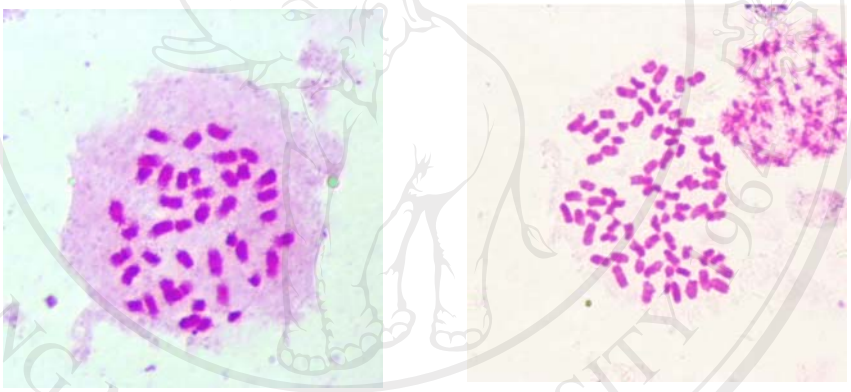
โปรโตคอร์มที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน มีอัตราการรอดลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินเพิ่มมากขึ้น โปรโตคอร์มที่ไม่ได้รับสารละลายโคลชิซิน มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอด 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน ในขณะที่โปรโตคอร์มที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน 0.01 0.025 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ให้ความมีชีวิตรอด 79 59.33 49.66 และ 37.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

นอกจากนั้นแล้วสารละลายโคลชิซินมีผลต่อความสูงต้น จำนวนใบ และจำนวนรากในทุกกรรมวิธี โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ได้รับสารละลายโคลชิซินเข้มข้น 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เกิดความสูงต้นลดลง ต้นมีการเจริญเติบโตทางด้านความสูง น้อยกว่ากรรมวิธีที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน 0.01 และ 0.025เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้มีผลต่อการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมเป็น 2 เท่า คือ 2n = 4x = 80 (ภาพที่ 34)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 1 อัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตของต้นกล้าในสภาพปลอดเชื้อ ภายหลังได้รับสารละลายโคลชิซิน

ความเข้มข้นของโคลชิซิน (%)	ความสูงต้น (ซม)	จำนวนใบ	จำนวนราก	อัตราการรอดตาย (%)
0	2.40 ± 0.33 [a]	4.15 ± 1.15 [a]	4.65 ± 0.96 [a]	100 ± 0.00 [a]
0.01	1.03 ± 0.59 [b]	2.55 ± 0.49 [b]	2.35 ± 0.72 [b]	79 ± 1.87 [b]
0.025	0.6 ± 0.14 [c]	2.00 ± 0.80 [c]	1.00 ± 0.51 [c]	59.33 ± 2.56 [c]
0.05	0.70 ±0.26 [c]	4.00 ± 1.22 [c]	2.00 ± 0.78 [c]	49.66 ± 3.05 [cd]
0.1	0.54 ±0.05 [c]	0.00 ± 0.00 [c]	0.00 ± 0.00 [c]	37.66 ± 3.00 [d]



2n = 2x = 40 2n = 4x = 80

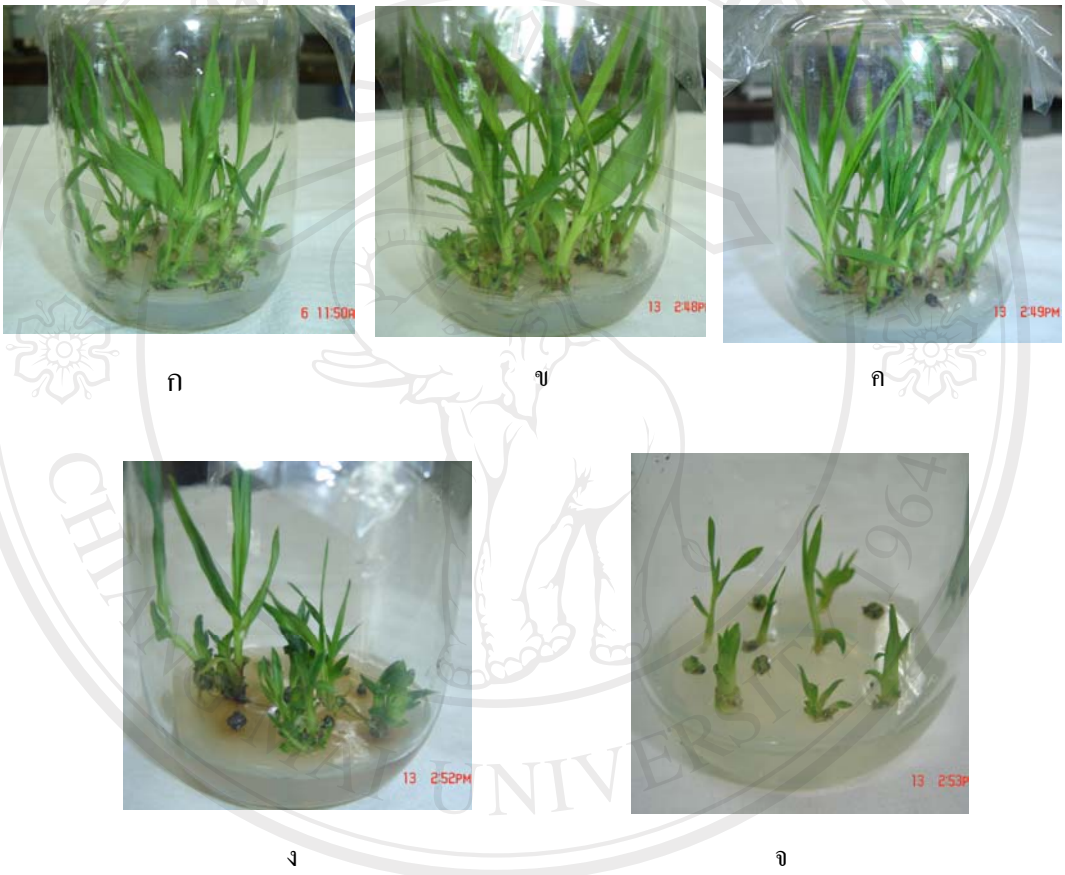
ก ข

ภาพที่ 34 จำนวนโครโมโซมจากปลายรากของเอื้องใบไผ่ที่ไม่ได้รับสารละลายโคลชิซิน และต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน 0.01 เปอร์เซ็นต์ ก = ต้นปกติ (1380 ×); ข = ต้นเตราพลอยด์ (1284 ×)

ผลของสารละลายโคลชิซินระดับต่างๆที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าเอื้องใบไผ่ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าสารละลายโคลชิซินมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นเอื้องใบไผ่ คือ ต้นกล้าที่เจริญจากโปรโตคอร์มที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน มีการเจริญเติบโตที่ช้ากว่าต้นที่เจริญมาจากโปรโตคอร์มที่ไม่ได้รับสารละลายโคลชิซิน โดยเฉพาะต้นที่เจริญมาจากโปรโตคอร์มที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ เจริญเติบโตช้ามาก และบางต้นหยุดการเจริญเติบโตมีเพียงแต่ก้อนโปรโตคอร์มสีเขียว (ภาพที่ 35)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในกรรมวิธีที่ได้รับสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นสูงทำให้ต้นหยุดการเจริญเติบโต ส่วนในกรรมวิธีที่ได้รับสารละลายโคลชิซินในความเข้มข้นต่ำ ทำให้ต้นเจริญแตกกอเป็นกระจุก เกิดใบที่ขึ้นซ้อนกันแน่น มีลักษณะหนาแข็ง สีเขียวเข้ม มีทั้งที่เป็นใบหดสั้น และใบเรียวยาว ปลายใบมีหยักเว้า แผ่นใบแนบติดกับปลายยอด ไม่แผ่ออก ส่วนการเกิดรากเป็นไปในทำนองเดียวกันกับการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น



ก ข ค

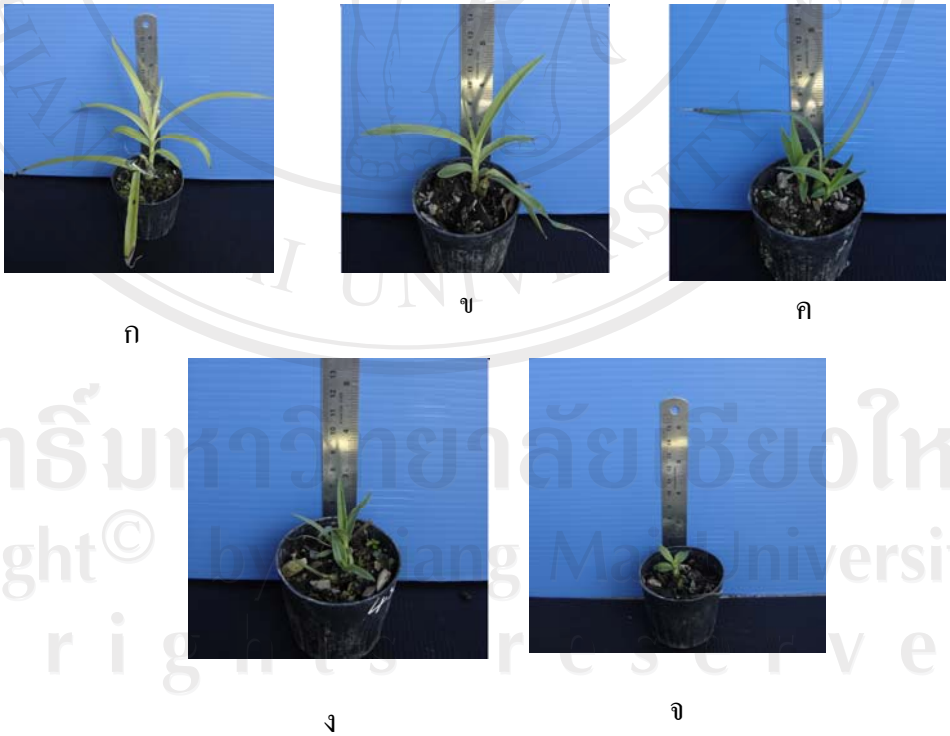
ง จ

ภาพที่ 35 ผลของสารละลายโคลชิซินที่ความเข้มข้นระดับต่างๆที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าเอื้องใบไผ่ในสภาพปลอดเชื้อ กรรมวิธีควบคุม (ก); กรรมวิธีที่ได้รับสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.01 % (ข); 0.025 % (ค); 0.05 % (ง); 0.1 % (จ)

เมื่อย้ายต้นกล้าออกปลูก ต้นกล้าของกรรมวิธีที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ หยุดชะงักการเจริญเติบโต ใบมีสีเหลือง อวบน้ำและตายในที่สุด ในกรรมวิธีที่ได้รับสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.01 และ 0.025 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญของต้นและใบรวดเร็วกว่าในกรรมวิธีที่ให้โคลชิซินความเข้มข้น 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ผลของสารละลายโคลชิซินเข้มข้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

0.01 และ 0.025 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลต่อการเกิดหน่อใหม่บริเวณโคนต้น แต่มีผลต่อการเจริญของหน่อใหม่ในระยะแรกที่มีการเจริญค่อนข้างช้า ลักษณะเหมือนอาการแกร็นของต้น พบเพียงการเจริญของใบเท่านั้น เมื่อเข้าสู่ระยะการให้ดอก ต้นมีการเจริญที่รวดเร็ว ลำลูกกล้วยเกิดการเจริญยืดยาว มีใบขนาดสั้นจนถึงขนาดใหญ่เท่าต้นปกติ ใบหนา ช่วงของกาบใบสั้น (ภาพที่36) หลังจากย้ายออกปลูก 270 วัน จึงเริ่มให้ดอก พบว่าดอกที่ได้จากต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดกลีบกลีบเลี้ยงและกลีบดอกใหญ่กว่าต้นปกติ มีเส้นขีดสีชมพูบนกลีบเลี้ยงและกลีบดอกมากกว่า กลีบดอกหนา กลิ่นหอมมากขึ้น กลีบปากมีสีสันสดใส แผ่กว้างออก มีต่อมขนที่เห็นได้ชัดเจนจำนวนมาก ก้านช่อดอกสั้น ดอกบานผึ่งผาย มี 8-12 ดอกต่อช่อ (ภาพที่ 37) ซึ่งแตกต่างจากต้นที่ไม่ได้รับสารละลายโคลชิซิน ที่ใช้เวลาตั้งแต่ปลูกจนออกดอก 1 ปี กับ 60 วัน มีลักษณะของ ลำลูกกล้วยเจริญยืดยาว ใบเรียวยาว ก้านช่อดอกยาว ดอกมีขนาดเล็ก สีสันไม่สดใส และในกรรมวิธีที่ได้รับสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อขนาดและจำนวนปากใบของเอื้องใบไผ่ กล่าวคือ ขนาดของปากใบของต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซินมีขนาดใหญ่ขึ้นกว่าปากใบของต้นปกติ ต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซินมีจำนวนปากใบลดลงกว่าต้นปกติเมื่อเปรียบเทียบในขนาดของพื้นที่ใบเท่ากัน (ภาพที่38)



ก ข ค ง จ

ภาพที่ 36 การเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของต้นดิพลอยด์และเตตราพลอยด์

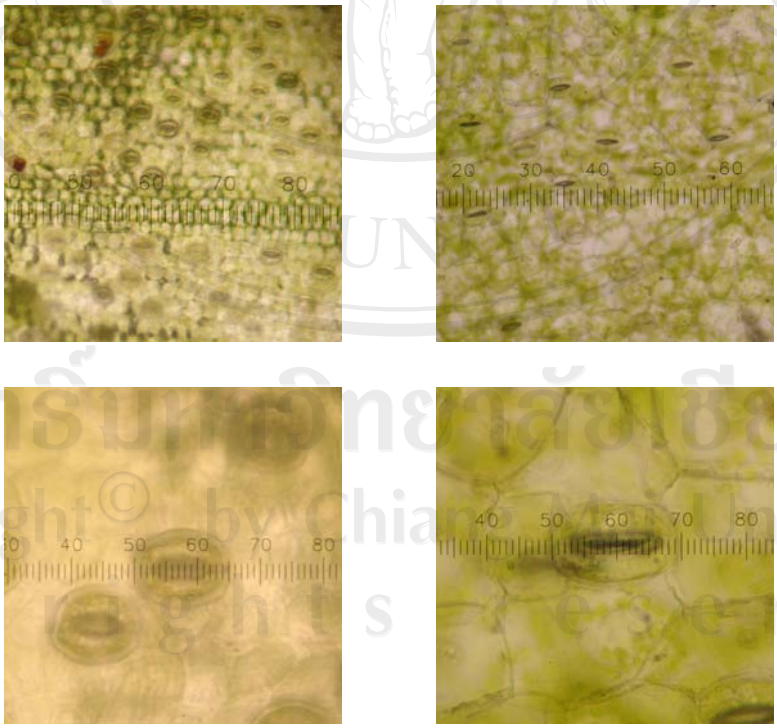
ก = กรรมวิธีควบคุม (ก); กรรมวิธีที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน 0.01 % (ข); 0.025 % (ค); 0.05 % (ง); 0.1 % (จ)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ก ข

ภาพที่ 37 สัณฐานวิทยาของดอกต้นดิพลอยด์ (ก) และต้นเตตราพลอยด์ (ข)

ผลของสารละลายโคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ มีการเกิดต้นเตตราพลอยด์เท่ากับ 46 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำปลายรากของต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซินมาตรวจนับจำนวนโครโมโซม พบว่า 2n = 4x = 80



ก ข

ภาพที่ 38 ขนาดและจำนวนปากใบของต้นดิพลอยด์ (ก) และต้นเตตราพลอยด์ (ข)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved