บทที่ 4

ผลการทดลอง

การศึกษาลักษณะของแผ่นดินเย็นรหัส HKRC01 และ HKRC02 ที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ แบ่งออกเป็น 3 การทดลอง คือ **การทดลองที่ 1** การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา กายวิภาควิทยา เซลล์วิทยา และรูปแบบไอโซไซม์ **การทดลองที่ 2** การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโต **การทดลองที่ 3** การศึกษาการผสมเกสร การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากตาใบ ผลการทดลองมี ดังนี้

การทดลองที่ 1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา กายวิภาควิทยา เซลล์วิทยา และรูปแบบไอโซไซม์

1.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

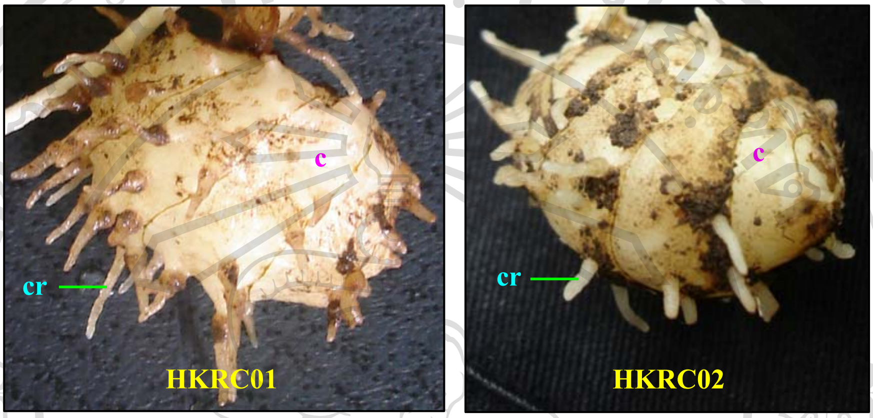
การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของส่วนประกอบของแผ่นดินเย็น ได้แก่ ราก หัว ลำต้น ใบ ดอก และ ฝัก โดยบันทึกในระยะที่ส่วนต่าง ๆ ของต้นเจริญเติบโตเต็มที่จากต้นพืชตัวแทนรหัสละ 5 ต้น พบว่ามีลักษณะคล้ายกัน ได้ผลดังบรรยายไว้ข้างล่าง โดยมีภาพประกอบเป็นภาพถ่ายและภาพวาดทางพฤกษศาสตร์ของส่วนประกอบดังกล่าว แสดงไว้ในภาพที่ 1-14 ดังต่อไปนี้

1.1.1 ราก (root : r) รากเป็นแบบรากดิน มี 2 ชุด รากชุดแรก เจริญออกมาจากตุ่มราก (root initial : ri) ที่กระจายอยู่บนหัว มีจำนวนมาก รากชุดนี้ (corm root : cr) มีลักษณะกลม สั้นกุด สีขาว เมื่อยังอ่อนมีขนรากเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 1 และ 2) เมื่อมีอายุมากขึ้นขนรากเหล่านี้หลุดร่วงไป รากชุดนี้เป็นรากชุดที่มีอายุสั้น ซึ่งจะตายไปเมื่อมีรากชุดที่ 2 ออกมาจากปล้องของลำต้นที่อยู่ใต้ผิวดิน ซึ่งเป็นรากที่มีความยาวมากกว่ารากชุดแรก แต่ไม่ยาวมากเหมือนกับรากของพืชโดยทั่วไป รากชุดที่ 2 (stem root : sr) นี้เป็นรากเส้นบาง เรียว เมื่อบันทึกจำนวนและขนาดของรากชุดแรกในระยะแรกที่ต้นพืชมีการเจริญเติบโต พบว่าพืชทดลอง 2 รหัสมีจำนวนรากต่อหัวแตกต่างกันคือ HKRC01 มีราก 27-62 รากต่อหัว รากยาว 1.90-2.00 ซม เส้นผ่าศูนย์กลางราก 0.05-0.09 ซม ส่วน HKRC02 มีราก 19-44 รากต่อหัว รากยาว 0.80-1.10 ซม เส้นผ่าศูนย์กลางราก 0.06-0.08 ซม (ภาพที่ 1-5)

1.1.2 หัว (corm : c) หัวของแผ่นดินเย็นเป็นหัวแบบคอร์ม (c) เจริญเติบโตอยู่ใต้ดิน หัวมีรูปทรงค่อนข้างกลม มีข้อและปล้องเห็นได้ชัดเจน(ภาพที่ 1, 2 และ 6) ตาที่อยู่เหนือข้อของแต่ละปล้องมีขนาดเล็กมาก มีสีขาวค่อนข้างใสเหมือนสีของหัว ตาเหล่านี้สังเกตเห็นได้ยาก ต้นพืช

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

HKRC01 มีความกว้าง × ความยาวของหัวเป็น 2.66-3.93 × 1.90-3.60 ซม หัวแต่ละหัวมีปล้อง 4-5 ปล้อง ต้นพืช 1 ต้นสร้างหัวใหม่ (daughter corm : dc) 1-6 หัว ส่วน HKRC02 มีความกว้าง × ความยาวของหัวเป็น 1.52-2.57 × 1.53-2.59 ซม หัวแต่ละหัวมีปล้อง 4-5 ปล้อง และต้นพืช 1 ต้นสร้างหัวใหม่ 1-3 หัวต่อต้น



ภาพที่ 1 หัวและรากของ HKRC01 และ HKRC02

c = corm ; cr = corm root

1.1.3 ลำต้น (stem : s) ลำต้นของแผ่นดินเย็นเจริญออกมาจากตาของปล้องที่อยู่ปลายสุดของหัว ปล้องนี้อยู่ตรงกันข้ามกับปล้องที่อยู่โคนสุดของหัวซึ่งอยู่ติดกับปลายไหล ตาดังกล่าวเป็นตาที่จะมีการเจริญเติบโต (growth bud : gb) หลังจากที่หัวผ่านพ้นระยะพักตัวไปแล้ว ตานี้งอกออกมาเป็นหน่อที่มีปล้องหลายปล้องซ้อนกันถี่ (stubbed internode : si) และตายอดของหน่อซึ่งอยู่ที่ปล้องสุดท้ายเจริญไปเป็นตาดอก ในระยะแรกหน่อนี้ยังไม่มีการยืดตัวของปล้องจึงดูเหมือนเป็นหน่อใบ (ภาพที่ 2) แต่ต่อมาหน่อยืดตัวรวดเร็วและปล้องยืดตัว โดยที่ปล้องที่อยู่ส่วนปลายของหน่อจำนวน 3-4 ปล้องยืดยาวออก และปล้องสุดท้ายกลายเป็นก้านช่อดอก โดยมีช่อดอกเกิดที่ปลาย (ภาพที่ 3) ปล้องที่ยืดยาว (elongated internode : ei) เหล่านี้เป็นปล้องที่อยู่เหนือดิน ส่วนปล้องอื่น ๆ ที่อยู่ต่ำลงไปไม่ยืดตัวมาก ยังคงเป็นปล้องสั้นถี่ หลายปล้องอยู่ใต้ดิน เป็นส่วนของลำต้นใต้ดินและเป็นที่เกิดของรากชุดที่ 2

สำหรับโครงสร้างของลำต้นอีกส่วนหนึ่งเจริญออกมาทางด้านข้างของลำต้นที่มีปลายเป็นช่อดอก โดยการเจริญของตาข้าง (lateral growth bud : lgb) ซึ่งอยู่ที่ปล้องเกือบโคนสุดของลำต้นใต้ดินลำนั้น (ภาพที่ 3) ตานี้เริ่มเจริญในระยะที่ช่อดอกเริ่มมีการแทงออกมา ตาข้างนี้เจริญออกมาเป็นหน่อใบ ซึ่งหน่อนี้ประกอบด้วยปล้องหลายปล้องต่อกันเป็นกิ่งข้าง (lateral stem : ls) ในลักษณะเดียวกับหน่อแรก คือมีปล้องหลายปล้องซ้อนถี่และอยู่ใต้ดิน มีรากชุดที่ 2 งอก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright by Chiang Mai University
All rights reserved

ออกมาจากปล้องเหล่านั้นด้วย ปล้องที่อยู่ปลายสุดยืดตัว และ ตาที่อยู่ปลายปล้องเจริญเป็นใบ (leaf : l) 1 ใบ ห่อตัวอยู่ เมื่อใบเจริญเติบโตปล้องนั้นจึงยืดเป็นก้านใบ (petiole : pe) ดังเห็นได้จากภาพที่ 4 และ 5

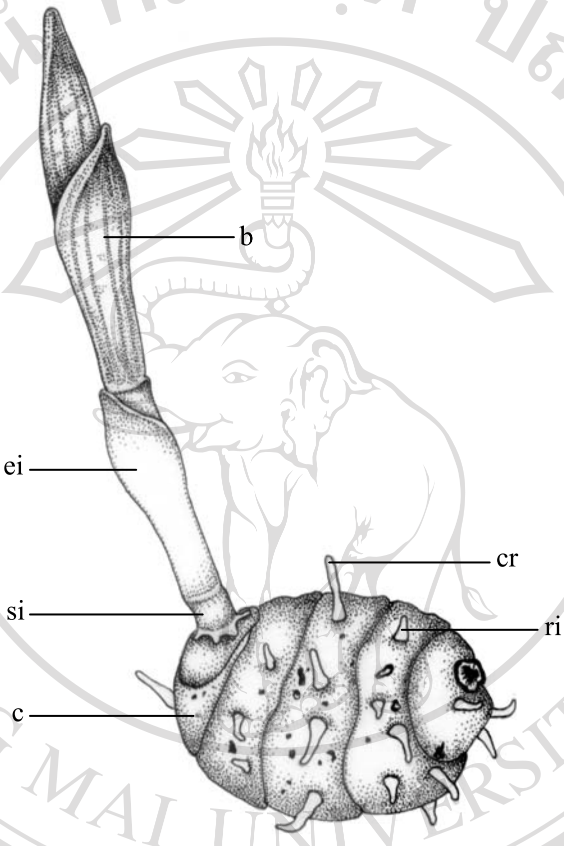
1.1.4 ไหล (stolon : st) ไหลคือลำต้นแปรรูป มีลักษณะเป็นเส้นเรียวยาว เจริญออกมาจากข้อของลำต้นหรือกิ่งข้างส่วนที่อยู่ใต้ดิน ยืดตัวยาว เจริญในแนวดิ่ง ไหลดังกล่าวมีรูปทรงเป็นทรงกระบอกเรียว ยาว มีสีขาว สามารถแตกแขนงออกทางด้านข้างได้ ไหลนี้มีราก (stolon root : sr) งอกออกมาได้ ซึ่งเป็นรากขนาดเล็กเรียว บาง (ภาพที่ 6) HKRC01 มีจำนวนไหลต่อต้น 2-3 เส้น เส้นผ่าศูนย์กลาง × ความยาว คือ 0.24-0.36 × 4.00-42.00 ซม มีไหลแขนง (lateral stolon : lst) จำนวน 1-11 เส้น ส่วน HKRC 02 นั้นมีจำนวนไหลต่อต้น 2-4 เส้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง × ความยาว คือ 0.16-0.30 × 13.00-30.00 ซม มีไหลแขนง 2-5 เส้น

1.1.5 ใบ ใบเป็นใบเดี่ยว ใบมีสีเขียว แผ่นใบ (lamina : l) พับจีบ หยักเป็นคลื่นเล็กน้อยรูปหัวใจหรือคล้ายใบโพธิ์ ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ แผ่นใบบาง เส้นใบแบบขนาน ก้านใบยาว กลม ผิวมันเรียบ มีสีเขียวอมม่วง ก้านใบเป็นร่องตามแนวยาวของก้าน ใบมี 1 ใบ ใบของ HKRC01 กางออกค่อนข้างมากทำให้มีลักษณะคล้ายกับร่ม ใบกว้าง 14.50-16.50 ยาว 14.20-17.30 ซม มีเส้นผ่าศูนย์กลางของก้านใบ 0.49-0.57 ซม ก้านใบยาว 12.00-14.50 ซม ส่วนใบของ HKRC02 กางไม่มากนักทำให้มีลักษณะเป็นทรงกรวยตื้น ใบกว้าง 8.20-10.00 ซม ยาว 8.40-9.10 ซม เส้นผ่าศูนย์กลางของก้านใบ 0.39-0.44 ซม ก้านใบยาว 5.00-6.60 ซม

1.1.6 ช่อดอก (inflorescence : in) ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นพืชทดลอง 2 รหัสนี้ การบันทึกลักษณะของช่อดอกและดอก กระทำได้เพียงรหัสเดียวคือ HKRC02 เพราะต้นพืชออกดอกเป็นปกติ ส่วนต้นพืชรหัส HKRC01 ออกดอกช้ากว่า HKRC02 ประมาณ 1 เดือน ดังนั้นการบันทึกลักษณะของช่อดอกและดอกของ HKRC02 จึงเสร็จสิ้นสมบูรณ์ไปก่อน หลังจากนั้นได้เกิดฝนตกหนักก่อนฤดูกาลปกติ มีผลให้ต้นพืช HKRC01 ที่เตรียมไว้เป็นตัวแทนเพื่อนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานนั้นไม่มีการแทงช่อดอกเกิดการแทงหน่อใบออกมาตั้งแต่ต้นฤดูกาลเจริญเติบโตเลย โดยข้ามช่วงของการเจริญเติบโตทางดอกไป ดังนั้นจึงไม่สามารถเสนอข้อมูลเกี่ยวกับดอกของรหัส HKRC01ได้ คงมีเพียงข้อมูลของรหัส HKRC02 เท่านั้น แต่อย่างไรก็ตามต้นพืชทั้ง 2 รหัส มีรูปร่างและลักษณะของช่อดอกและดอกคล้ายคลึงกันมาก เพียงแต่ช่อดอกของ HKRC01 นั้นยาวกว่าของ HKRC02 มาก และมีจำนวนดอกต่อช่อมากกว่า HKRC02 ดังนั้นสำหรับการศึกษาในปีปัจจุบัน จึงเสนอเพียงข้อมูลของ HKRC02 ดังนี้ ช่อดอกเป็นแบบช่อกระจะ (raceme) มีช่อดอก 1 ช่อต่อต้น ก้านช่อดอกมีสีเขียวอ่อน ผิวเรียบเป็นมัน ก้านช่อดอกค่อนข้างกลม เป็นเหลี่ยมเล็กน้อยมีลักษณะแข็ง ช่อตั้งตรงมีเส้นผ่าศูนย์กลาง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ของก้านช่อดอกเป็น 0.30-4.10 ซม ยาว 18.00-18.50 ซม มีกาบหุ้มโคนก้านดอก 3 อัน (ภาพที่ 10 และ 13)

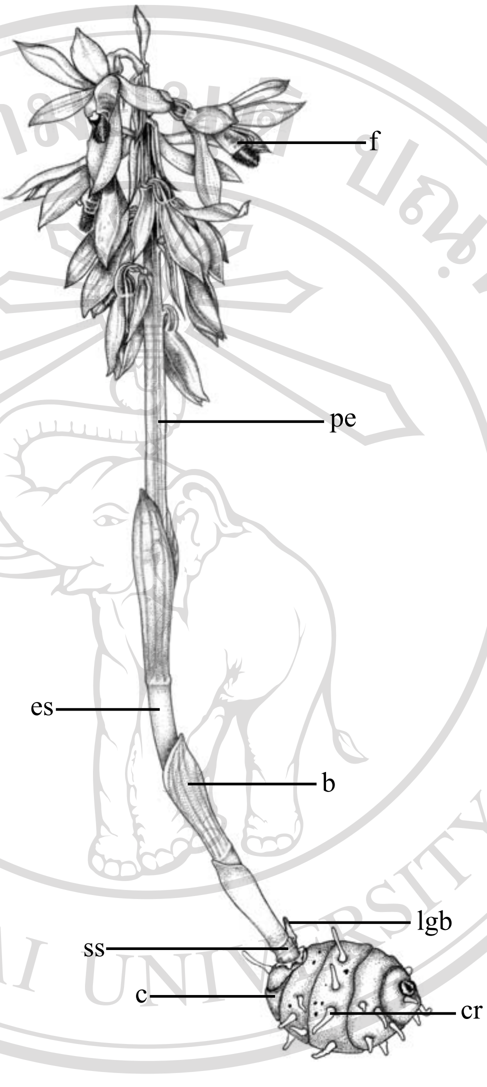


ภาพที่ 2 ภาพวาดแสดงหน่อแรกที่เกิดจากหัวในช่วงแรกของวงจรการเจริญเติบโต

b = bract ; c = corm ; cr = corm root ; ei = elongated internode ; ri = root initial ;

si = stubbed internode

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

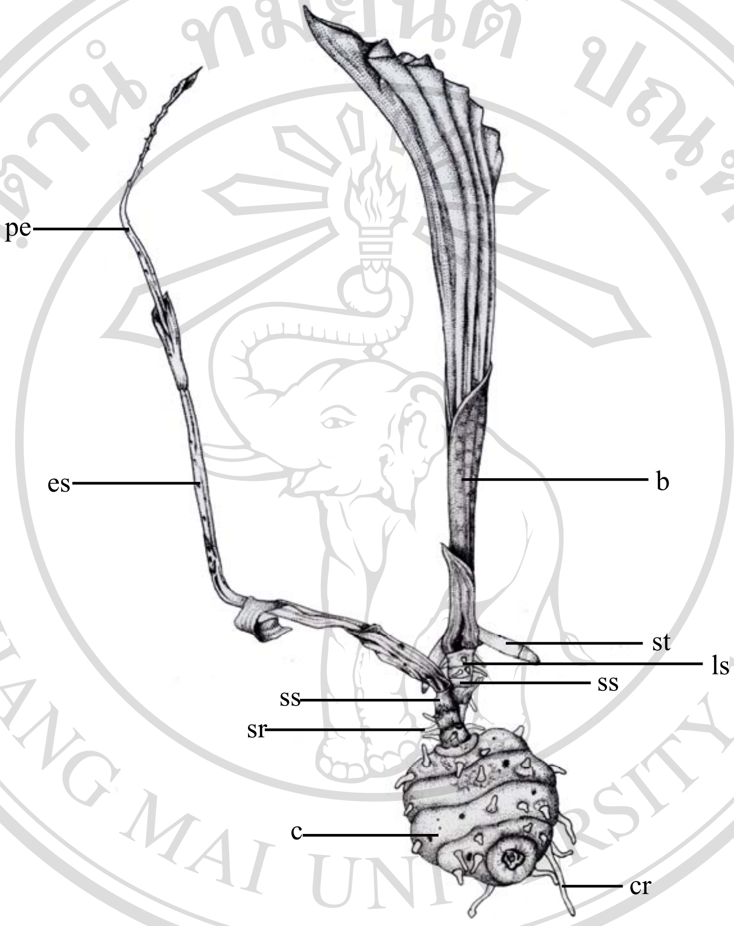


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 3 ภาพวาดแสดงช่อดอกที่ปลายยอดของหน่อแรก

b = bract ; c = corm ; cr = corm root ; es = elongated stem ; f = floret ;

lgb = lateral growth bud ; pe = peduncle **;** ss = stubbed stem

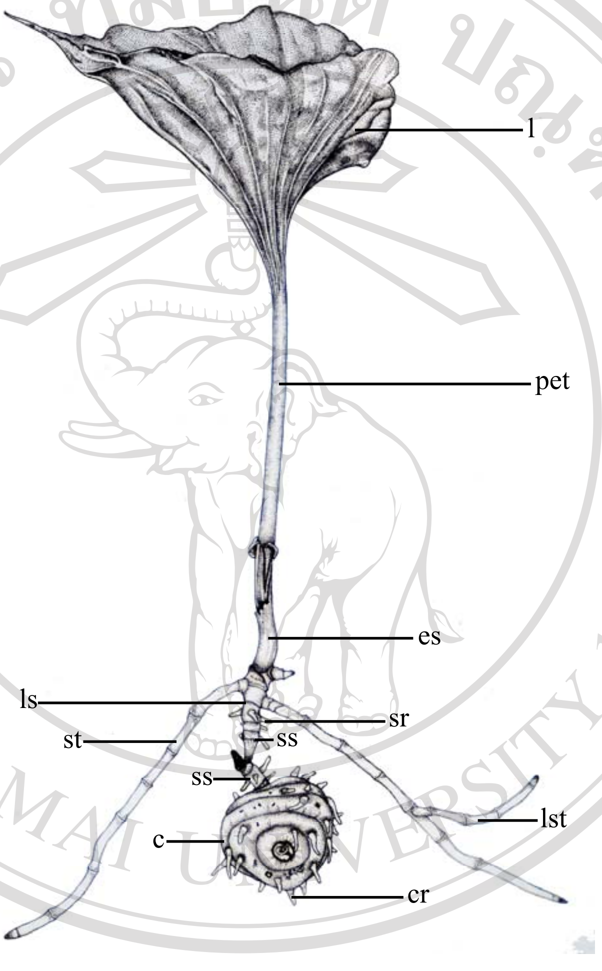


ภาพที่ 4 ภาพวาดแสดงหน่อใบของแผ่นดินเย็น

b = bract ; c = corm ; cr = corm root ; es = elongated stem ; ls = lateral stem ; pe = peduncle ;

sr = stem root ; ss = stubbed stem ; st = stolon

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

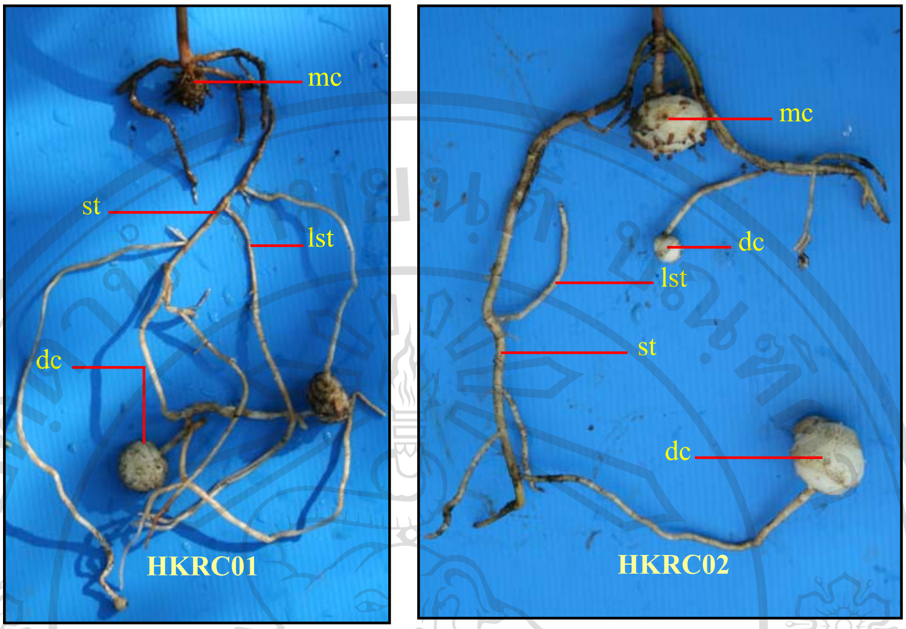


ภาพที่ 5 ภาพวาดแสดงไหลของแผ่นดินเย็น

c = corm ; cr = corm root ; es = elongated stem ; l = lamina ; ls = lateral stem ;

lst = lateral stolon ; pet = petiole ; sr = stem root ; ss = stubbed stem ; st = stolon

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 6 ไหล และ หัวใหม่ของ HKRC01 และ HKRC02

dc = daughter corm ; lst = lateral stolon ; mc = mother corm ; st = stolon

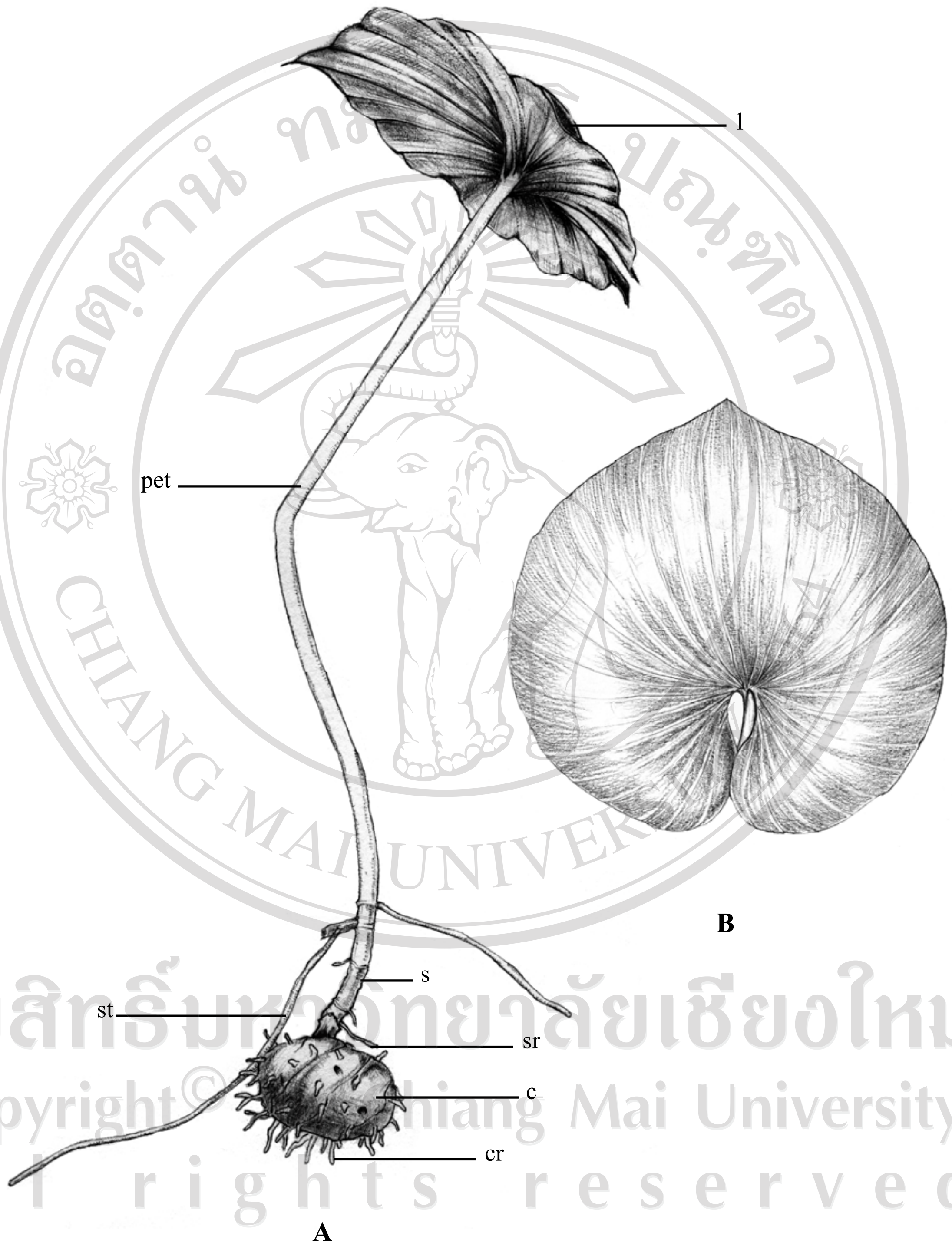
ภาพที่ 7 ด้านหน้าและด้านข้างของใบแผ่นดินเย็นรหัส HKRC01 และ HKRC02

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.1.7 ดอก (floret : f) ดอก (ภาพที่ 10 และ 13) เป็นดอกสมบูรณ์เพศแบบสมมาตรด้านข้าง ดอกของ HKRC02 มีก้านดอกย่อยสีเขียว ใส เป็นร่องตื้น บิดเป็นเกลียว ความกว้าง × ความยาวของก้านดอกย่อยเป็น 0.08-0.11 × 0.70-0.80 ซม รังไข่ (ovary : o) มีลักษณะกลมรี มีสันนูนแบนเป็นปีก 6 อัน ขนาดกว้าง × ยาว เป็น 0.28-0.35 × 0.50-0.70 ซม อยู่ในตำแหน่งที่ต่ำกว่าวงของกลีบดอก ดอกย่อยมีขนาดกว้าง × ยาว เป็น 1.40-1.90 × 1.90-2.20 ซม ดอกมี 6 กลีบ ประกอบด้วยกลีบเลี้ยง 3 กลีบ และกลีบดอก 3 กลีบ กลีบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน ใส ผิวเป็นมัน ประกอบด้วยกลีบเลี้ยงด้านบน (dorsal sepal : ds) 1 กลีบ มีรูปร่างเป็นรูปใบหอกกลับปลายแหลม กว้าง 0.40-0.50 ซม ยาว 1.60 - 1.80 ซม และกลีบเลี้ยงด้านข้าง (lateral sepals : lp) 2 กลีบ มีรูปร่างเป็นรูปใบหอกกลับ ปลายแหลม กลีบกว้าง 0.55- 0.60 ซม ยาว 1.70-1.80 ซม ส่วนกลีบดอกประกอบด้วยกลีบดอกด้านข้าง 2 กลีบ เป็นรูปไข่กลับ ปลายกลีบแหลม กลีบกว้าง 0.45-0.50 ซม ยาว 1.40-1.50 ซม มีสีเหมือนกับกลีบเลี้ยง กลีบปาก (lip : li) มี 1 กลีบ รูปคล้ายรูปไข่ กลีบกว้าง 0.85-0.90 ซม ยาว 1.10-1.20 ซม สีพื้นของกลีบมีสีขาวครีม บริเวณกลางปากมีสันนูนเป็นเส้นทอดจากโคนกลีบไปยังปลายกลีบ บนสันปกคลุมไปด้วยขนละเอียดสีขาวจำนวนมาก ส่วนปลายสุดของกลีบปากปกคลุมด้วยขนละเอียดสีม่วงแดง ครึ่งหนึ่งของส่วนปลายของกลีบปากฉาบด้วยสีม่วงแดงและมีเส้นสีขาวครีมอยู่ที่กลีบปากด้านข้าง ข้างละ 4 ขีด เส้นนี้เชื่อมติดกับเส้นนูนกลางกลีบปาก เส้าเกสรสีขาว มีส่วนโคนเรียวเล็กเป็นทรงกระบอกและป่องออกทางปลายตรงตำแหน่งของเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมีย เส้าเกสรกว้าง 0.24-0.25 ซม ยาว 0.90 ซม ฝาครอบกลุ่มเรณูมีลักษณะโค้งนูน มีสีเขียวใส กว้าง 0.20-0.24 ซม ยาว 0.18-0.20 ซม กลุ่มเรณูแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 2 ก้อน มีสีเหลือง กลุ่มเรณูเกาะกันอย่างหลวม ๆ เกสรเพศเมียมีลักษณะเป็นแอ่งขนาดเล็กอยู่ด้านหน้าเส้าเกสร ผิวถูกฉาบด้วยน้ำหวานที่มีลักษณะใสและเหนียว

1.1.8 ฝักและเมล็ด ฝักเป็นผลแบบแห้งแตก (ภาพที่ 11) รูปคล้ายไข่ มีสีเขียวใส ฝักมีสันแบนเป็นกลีบ จำนวน 6 กลีบ ฝักที่เจริญเติบโตเต็มที่มีความกว้าง 0.86-1.16 ซม ยาว 1.49-1.76 ซม เมื่อฝักแก่ ฝักแตกออกตามแนวตะเข็บ เมล็ดภายในฝักมีจำนวนมาก มีขนาดเล็กคล้ายฝุ่นหรือแป้ง มีสีขาวครีม เมื่อนำไปตรวจสอบดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เมล็ดดังกล่าว มีลักษณะคล้ายกับถุงตาข่ายที่บรรจุเอ็มบริโออยู่ภายใน (ภาพที่ 12)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

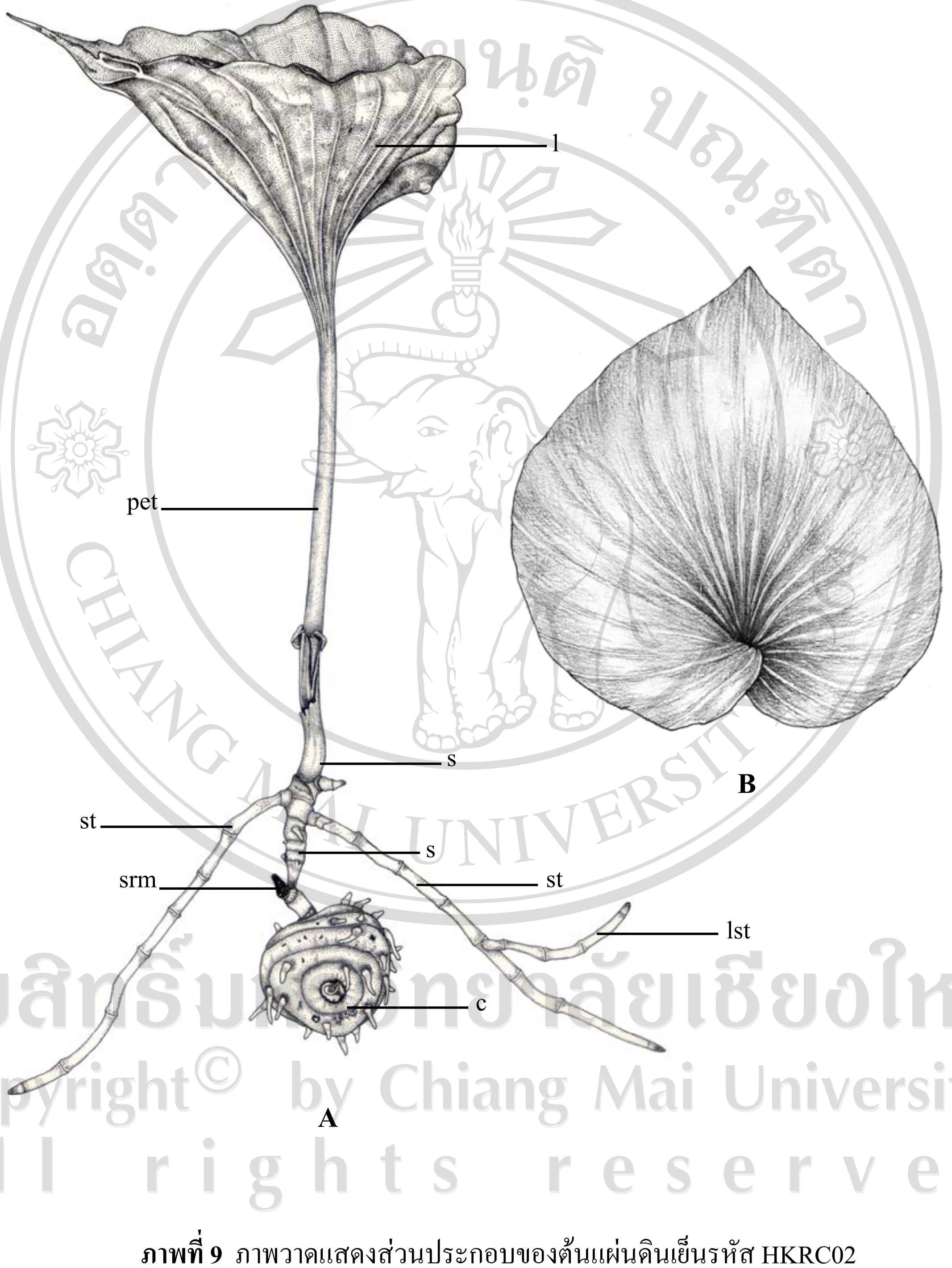


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 8 ภาพวาดแสดงส่วนประกอบของต้นแผ่นดินเย็นรหัส HKRC01

A = ใบและหัว ; B = แผ่นใบมองจากด้านบน

c = corm ; cr = corm root ; l = lamina ; pet = petiole ; s = stem ; sr = stem root ; st = stolon



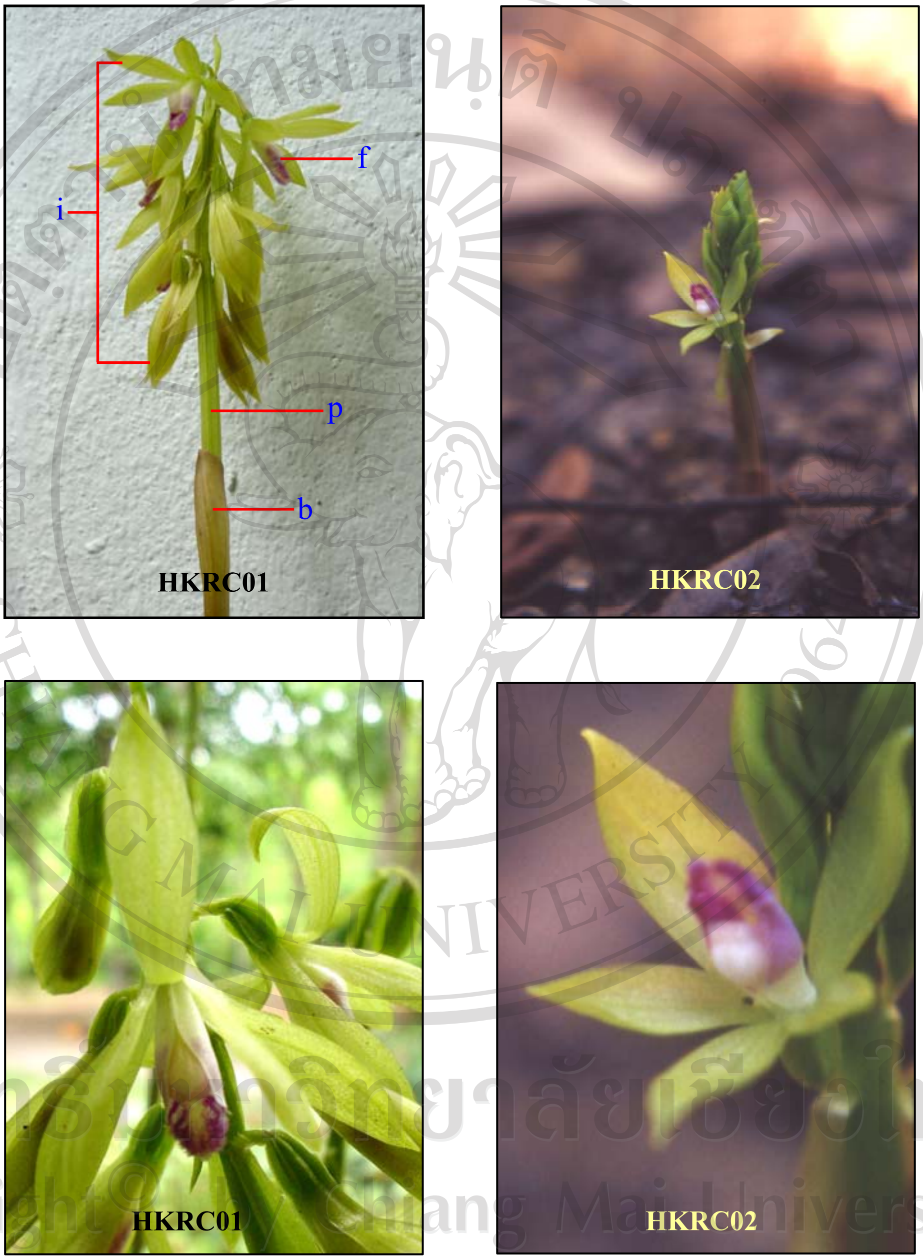
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 9 ภาพวาดแสดงส่วนประกอบของต้นแผ่นดินเย็นรหัส HKRC02

A = ใบและหัว ; B = แผ่นใบมองจากด้านบน

c = corm ; l = lamina ; lst = lateral stolon ; pet = petiole ; s = stem ; srm = stem remnant ;

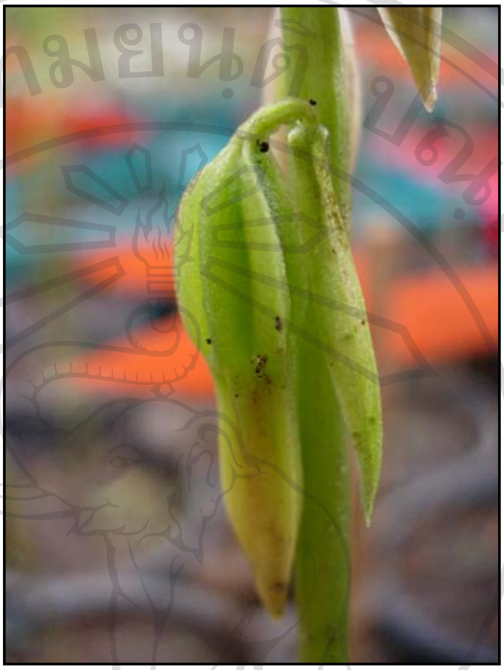
st = stolon



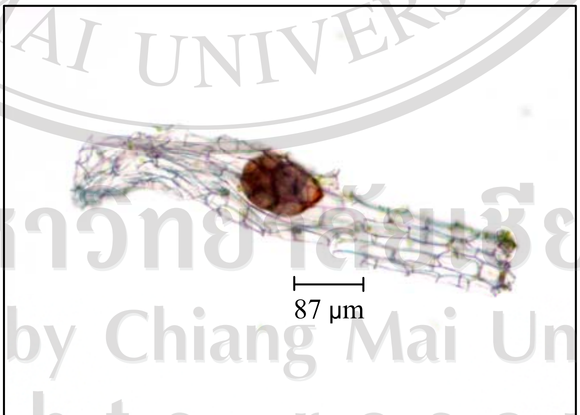
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 10 ช่อดอกและดอกของแผ่นดินเย็นรหัส HKRC01 และ HKRC02

b = bract ; f = floret ; i = inflorescence ; p = peduncle ; s = stem

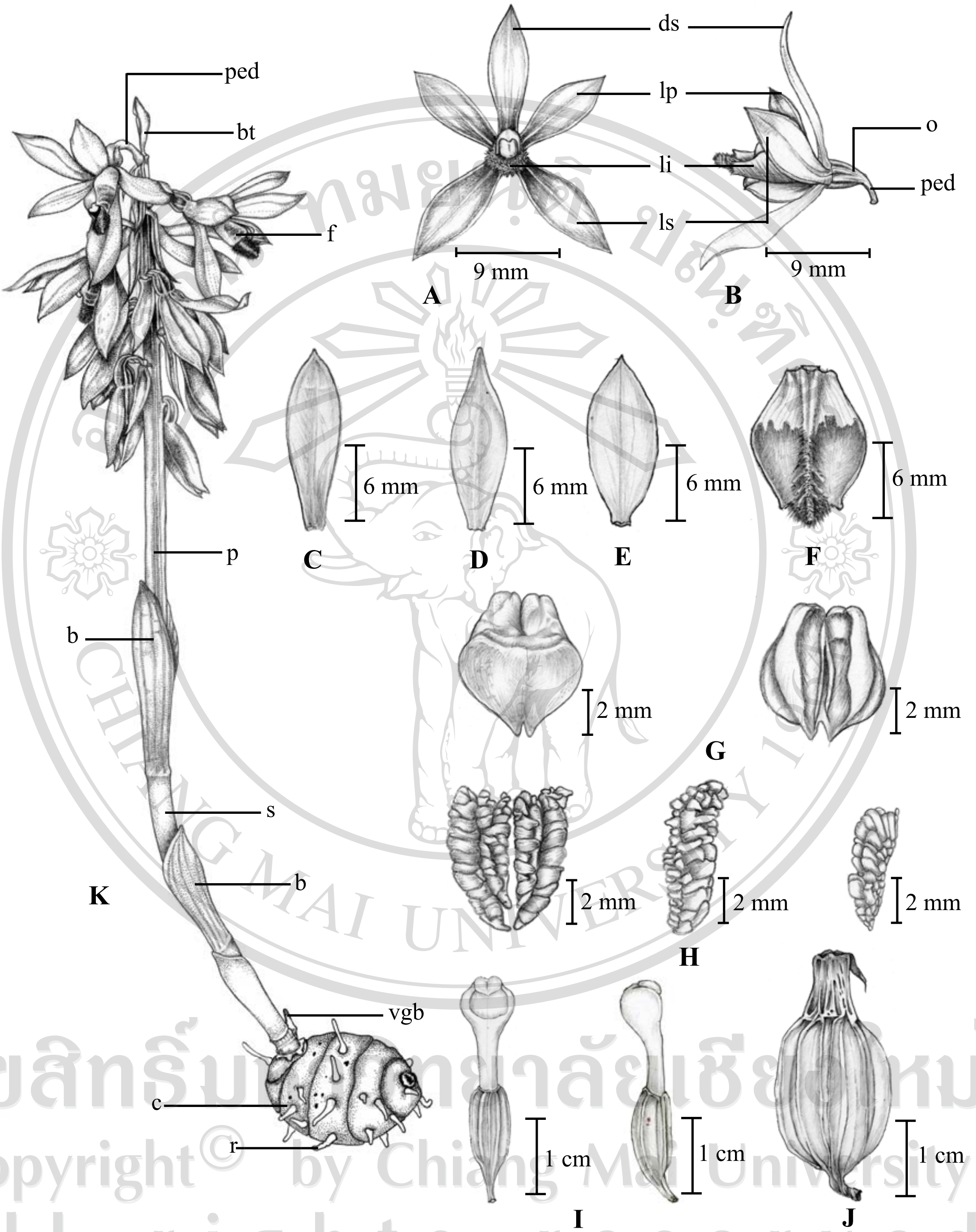


ภาพที่ 11 ฝักอ่อนของแผ่นดินเย็นรหัส HKRC02



ภาพที่ 12 เมล็ดของแผ่นดินเย็นรหัส HKRC02

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 13 ภาพวาดแสดงส่วนประกอบของช่อดอกและดอกแผ่นดินเย็นรหัส HKRC02

A = ดอกด้านหน้า : B = ดอกด้านข้าง ; C = กลีบเลี้ยงด้านบน ; D = กลีบเลี้ยงด้านข้าง ; E = กลีบดอกด้านข้าง ;

F = กลีบปาก ; G = ฝาครอบกลุ่มเรณู ; H = กลุ่มเรณู ; I = เส้าเกสร ; J = ผล ; K = หัวและช่อดอก

b = bract ; bt = bracteole ; c = corm ; ds = dorsal sepal ; f = floret ; li = lip ; lp = lateral petal ; ls = lateral sepal

o = ovary ; p = peduncle ; ped = pedicel ; r = root ; s = stem ; vgb = vegetative growth bud

1.2 การศึกษาลักษณะทางกายวิภาค

การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของพืชทดลองเป็นการศึกษากับส่วนประกอบของต้นพืช คือ ราก ลำต้น ใบ ดอก และฝัก โดยศึกษาจากการตัดเนื้อเยื่อในภาคตัดตามขวางและตามยาวในอวัยวะดังกล่าว แล้วนำไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากผลการศึกษาพบว่าต้นพืชทั้ง 2 รหัส มีส่วนประกอบทางกายวิภาคที่คล้ายคลึงกัน และบางชิ้นส่วนมีรายละเอียดแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1.2.1 ราก

จากการตัดตามยาวและตามขวางของรากพืชทดลอง 2 รหัส พบว่ารากประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ระบบ คือ ระบบเนื้อเยื่อผิว (dermal tissue system) ระบบเนื้อเยื่อลำเลียง (vascular tissue system) และระบบเนื้อเยื่อพื้น (ground tissue system) โดยมีเนื้อเยื่อของระบบต่าง ๆ เรียงอยู่เป็นชั้นดังแสดงในภาพที่ 14-17

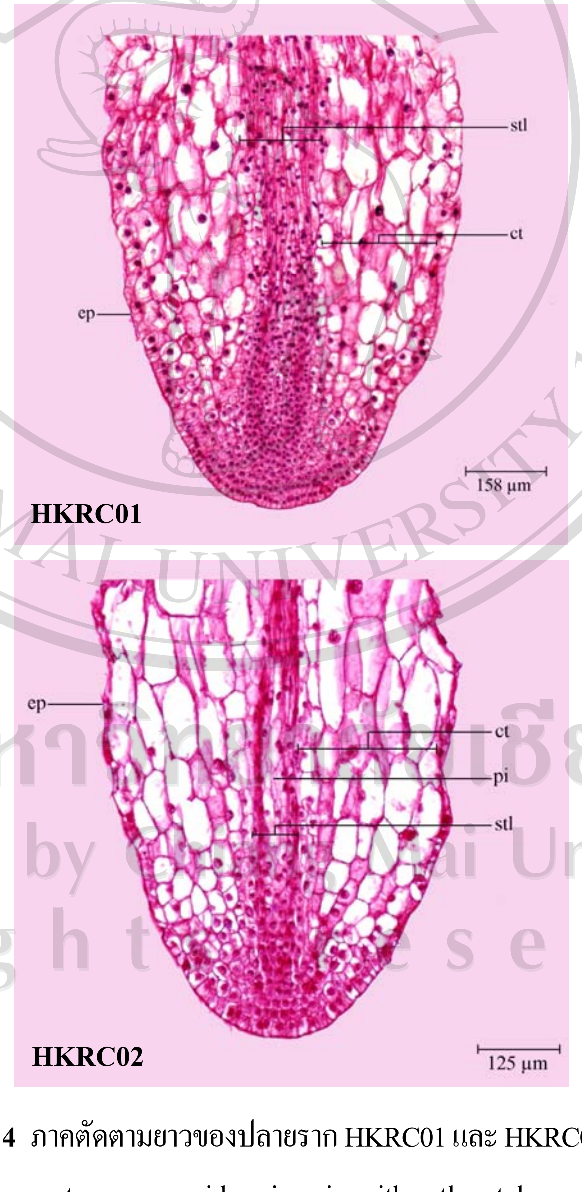
1.2.1.1 เนื้อเยื่อชั้นผิว (epidermis : ep) จากการศึกษาเนื้อเยื่อปลายรากในภาคตัดตามยาวและตัดตามขวางดังแสดงในภาพที่ 1 - 3 พบว่า เนื้อเยื่อผิวของพืชทั้ง 2 รหัสมีความแตกต่างกัน กล่าวคือ เนื้อเยื่อผิวของ HKRC01 มีเซลล์ที่มีรูปร่าง และขนาดไม่แน่นอน เรียงตัวกันมากกว่า 1 ชั้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในระบบนี้มีเนื้อเยื่อใต้ชั้นผิว (supepidermis : sep) อยู่ด้วยอีก 2 – 3 ชั้นเซลล์ (ภาพที่ 15-16) เซลล์ผิวซึ่งเรียงตัวอยู่ด้านนอกสุด มีรูปร่างไม่แน่นอน และมีขนาดไม่สม่ำเสมอ เรียงตัวไม่เรียบร้อยทำให้ผิวด้านนอกของราก เป็นคลื่นขรุขระ ในขณะที่เนื้อเยื่อผิวของ HKRC02 มีเซลล์ชั้นผิวเพียง 1 ชั้น เรียงตัวค่อนข้างเป็นระเบียบ เซลล์มีรูปร่างค่อนข้างสี่เหลี่ยมเรียงตัวชิดกัน ผิวด้านนอกค่อนข้างเรียบ ไม่มีเซลล์ชั้นใต้เซลล์ผิว

1.2.1.2 คอร์เทกซ์ (cortex : ct) เป็นเนื้อเยื่อพื้นที่อยู่ระหว่างกระบอกท่อลำเลียงกับเนื้อเยื่อผิว เนื้อเยื่อในชั้นนี้ประกอบไปด้วยเซลล์พาเรงคิมาที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่ รูปร่างหลายเหลี่ยมค่อนข้างกลม ผนังเซลล์บาง มีช่องว่างระหว่างเซลล์ เซลล์บางเซลล์มีการสะสมสารไว้ภายในเซลล์ เซลล์เหล่านี้เมื่อดูจากเนื้อเยื่อ HKRC01 จะเห็นว่าเซลล์มีขนาดใหญ่ไล่เลี่ยกันทั่วชั้นของคอร์เทกซ์ และมีเซลล์เป็นจำนวนมากที่มีการสะสมสารไว้ภายในเซลล์จนเกือบเต็มเซลล์ เห็นได้ชัดเจนเนื่องจากติดสีเข้มมาก ส่วนในเนื้อเยื่อของ HKRC02 นั้นจะเห็นว่าเซลล์พื้นด้านนอกมีขนาดค่อนข้างเล็ก ส่วนเซลล์ที่อยู่ด้านในมีขนาดใหญ่ ภายในเซลล์ขนาดใหญ่เหล่านี้มีการสะสมสารบ้างแต่มีเพียงไม่มีกี่เซลล์ (ภาพที่ 15 และ 16) สำหรับเซลล์ชั้นนอกสุดของคอร์เทกซ์ (exodermis : ex) นั้น ใน HKRC01 พบว่าเซลล์ชั้นนี้เห็นไม่ชัดเจน ในขณะที่เซลล์ชั้นนี้ของ HKRC02 เห็นได้ชัดเจนกว่า ว่าเป็นชั้นของเซลล์ที่มีเซลล์รูปร่างหลายเหลี่ยมจนถึงกลม ขนาดไม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แน่นอน เรียงตัว 1 ชั้นเซลล์ โดยที่มีบางบริเวณถูกเนื้อเยื่อชั้นคอร์เทกซ์เบียดจนเห็นไม่ชัดเจน สำหรับเซลล์ชั้นในสุดของคอร์เทกซ์ (endodermis : en) และเซลล์ชั้นนอกสุดของสตีล (stele : stl) คือ เพอริไซเคิลนั้นไม่พบว่า เรียงตัวเป็นชั้นให้เห็นเป็นขอบเขตชัดเจนในทั้ง 2 รหัส

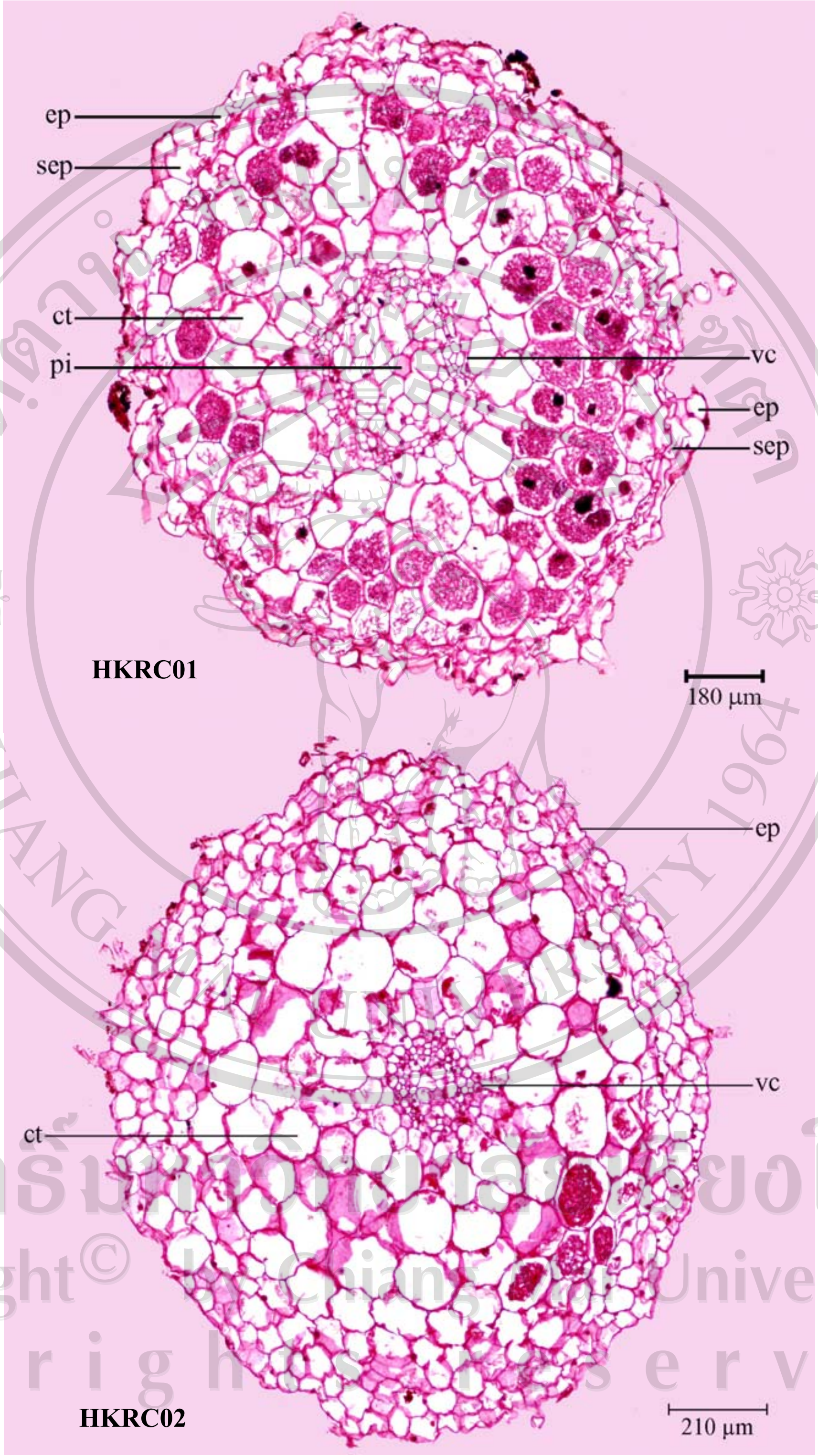
1.2.1.3 **เนื้อเยื่อลำเลียง** มีลักษณะเป็นกระบอกท่อลำเลียง (vascular cylinder : vc) เป็นเนื้อเยื่อที่ ประกอบด้วยเซลล์ไซเล็ม (xylem : xy) และ เซลล์โฟลเอ็ม (phloem : ph) เรียงตัวสลับแบบรัศมี ทำให้เกิดลักษณะท่อลำเลียงรูปทรงกระบอก เนื้อเยื่อในชั้นนี้ล้อมรอบเนื้อเยื่อแกนกลาง (pith : pi) เอาไว้ เนื้อเยื่อแกนกลางนี้ประกอบด้วยเซลล์พาเรงคิมารูปร่างค่อนข้างกลมเรียงตัวอัดกันแน่น ดังแสดงในภาพที่ 17 และเมื่อดูจากภาพที่ 15 จะเห็นว่ารากของ HKRC02 มีขนาดของกระบอกท่อลำเลียงและขนาดของเซลล์สมาชิกเล็กกว่าของ HKRC01



ภาพที่ 14 ภาคตัดตามยาวของปลายราก HKRC01 และ HKRC02

ct = cortex ; ep = epidermis ; pi = pith ; stl = stele

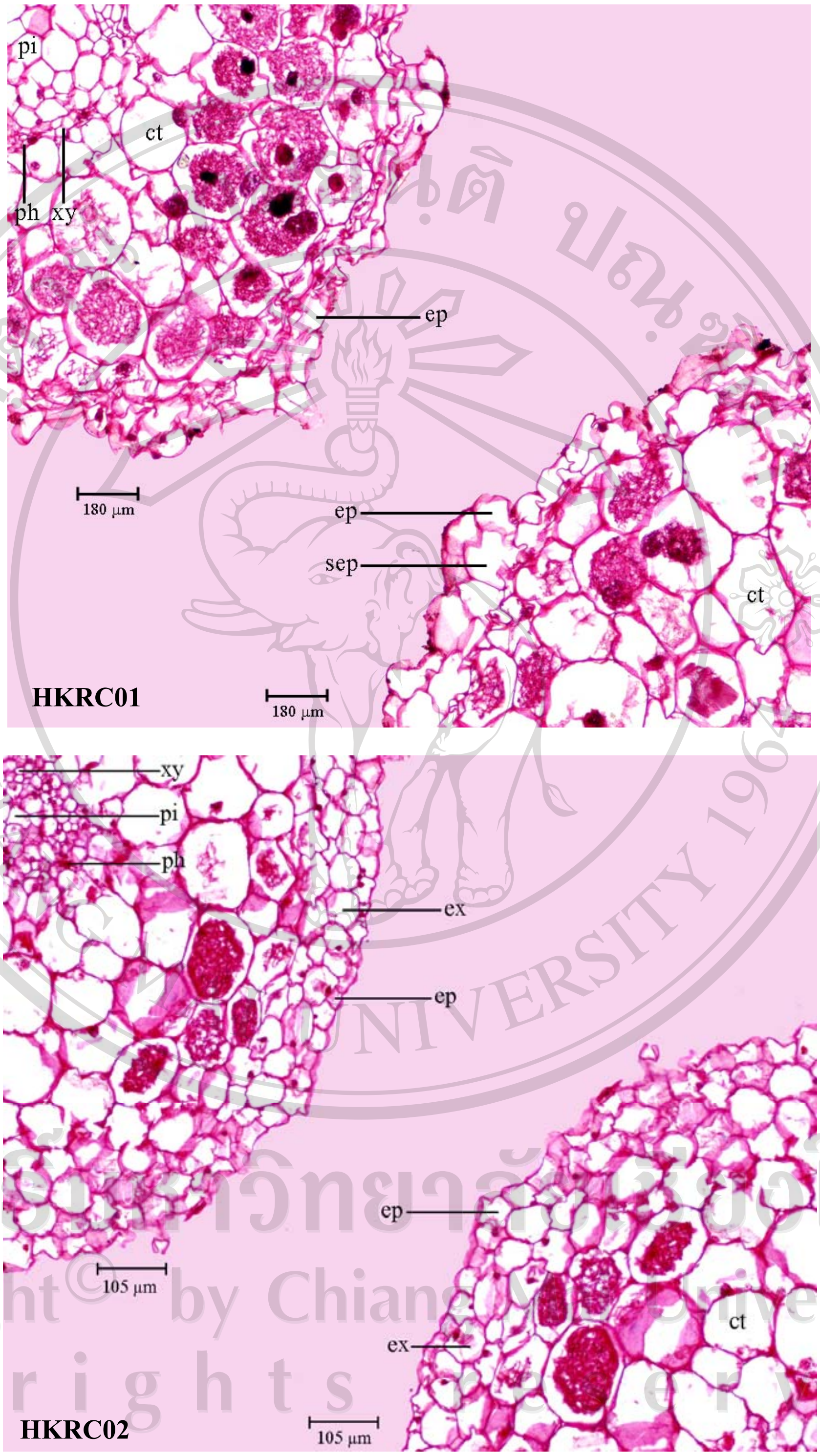
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 15 ภาคตัดขวางของรากของ HKRC01 และ HKRC02

ct = cortex ; ep = epidermis ; pi = pith ; sep = subepidermis ; vc = vascular cylinder

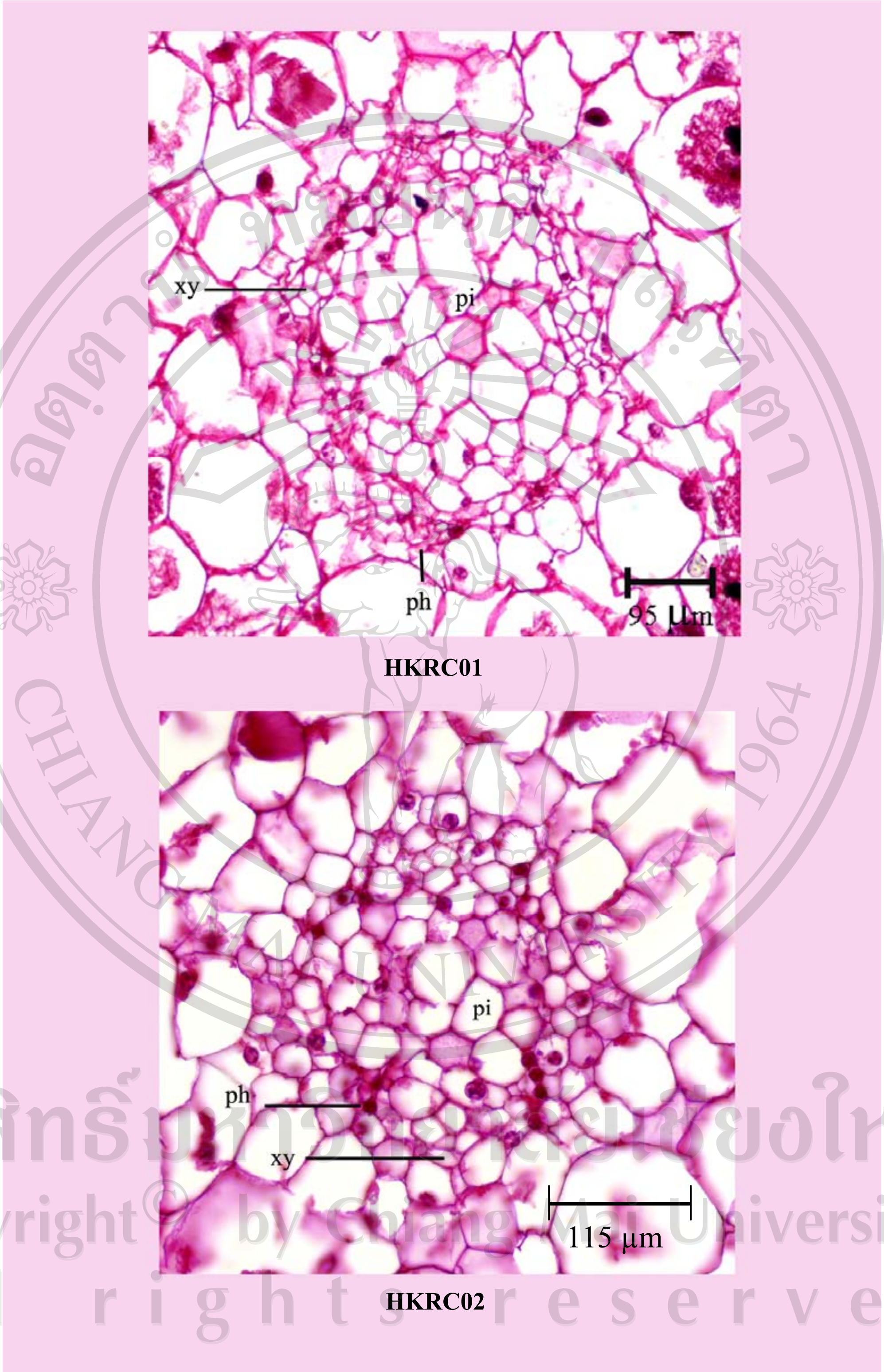
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 16 ภาคตัดตามขวางแสดงชั้นของเนื้อเยื่อของปลายรากแผ่นดินเย็นรหัส HKRC01 และรหัส HKRC02

ct = cortex ; ep = epidermis ; ph = phloem ; pi = pith ; sep = subepidermis ; xy = xylem

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 17 ภาคตัดตามขวางแสดงกระบอกท่อลำเลียงของรากแผ่นดินเย็นรหัส HKRC01 และ HKRC02

ph = phloem ; pi = pith ; xy = xylem

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2.2 ลำต้น

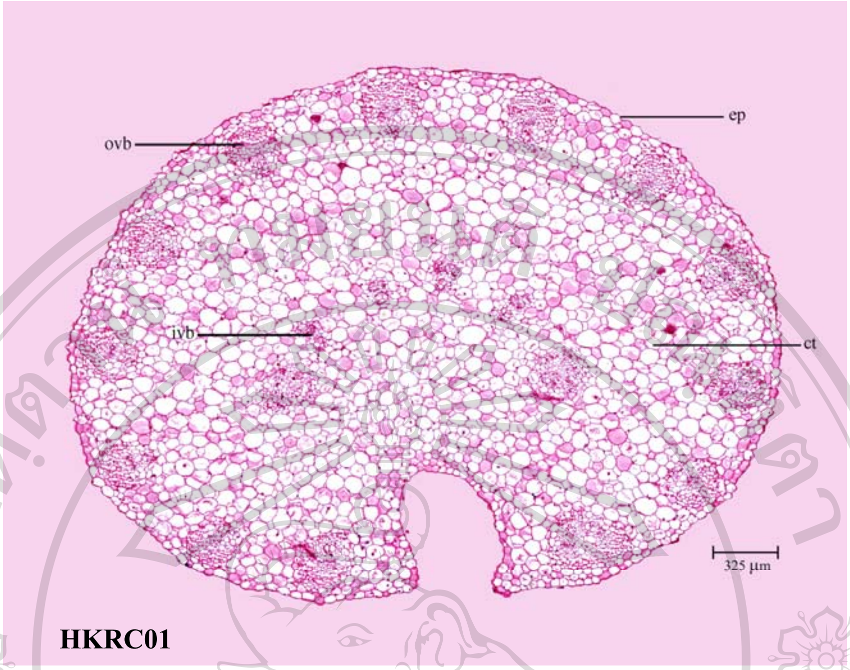
การศึกษาเนื้อเยื่อของลำต้นของพืชทดลองนั้น ด้วยเหตุที่ลำต้นของพืชทั้ง 2 รหัสเป็นเนื้อเยื่อที่ค่อนข้างแข็ง ทำให้การตัดไม่ประสพผลสำเร็จเท่าที่ควรและเนื้อเยื่อไม่สมบูรณ์ จึงได้นำก้านใบของพืชทั้ง 2 รหัสมาตัดตามขวางและศึกษาระบบเนื้อเยื่อแทนส่วนของลำต้น เนื่องจากเป็นส่วนของกิ่งก้าน จึงควรที่จะมีโครงสร้างเดียวกันกับเนื้อเยื่อของลำต้น จากการศึกษาพบว่าชิ้นส่วนตัดขวางของก้านใบของพืชทั้งสองแสดงระบบเนื้อเยื่อครบทั้ง 3 ระบบคล้ายคลึงกัน ดังแสดงในภาพที่ 18-21 ดังนี้

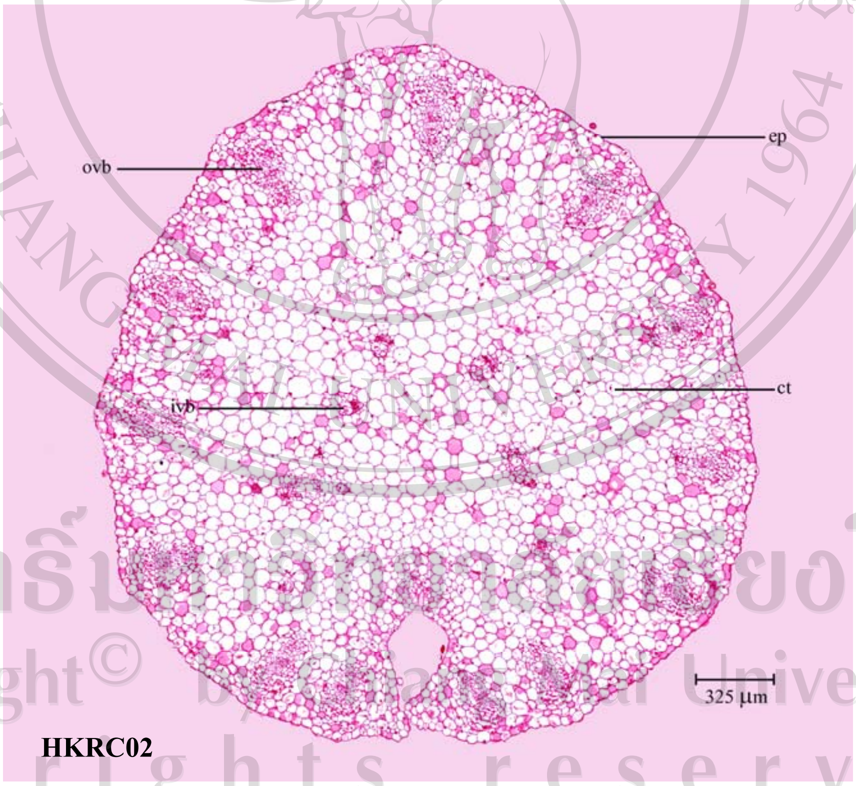
1.2.2.1 เนื้อเยื่อชั้นผิว (ep) เป็นเนื้อเยื่อชั้นนอกสุดของก้านใบ มี 1 ชั้นเซลล์ เรียงตัวโดยรอบเป็นแถวยาว (ภาพที่ 18 และ 19) ประกอบด้วยเซลล์พาเรงคิมาขนาดเล็ก มีรูปร่างหลายเหลี่ยม จนถึงค่อนข้างกลม เซลล์ในชั้นนี้มีปากใบซึ่งมีเซลล์คุม (guard cell : gc) ช่องว่างใต้ปากใบ (stomatal chamber : sc) ขนาดเล็ก (ภาพที่ 20) เซลล์คุมและเซลล์ข้างเซลล์คุม (subsidiary cell : suc) มีขนาดเล็กกว่าเซลล์ผิว จากการสังเกตลักษณะของเซลล์ผิว พบว่า ในชั้นเซลล์ผิวของก้านใบ HKRC01 มีเซลล์ผิวที่มีขนาดใหญ่กว่าของ HKRC02 และรูปร่างของเซลล์ผิวส่วนใหญ่เป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้าที่มีลักษณะแคบและค่อนข้างยาว ส่วน HKRC02 มีรูปร่างของเซลล์ค่อนข้างกลมจนถึงหลายเหลี่ยมเรียงกันแน่น

1.2.2.2 คอร์เทกซ์ (ct) เป็นเนื้อเยื่อพื้น ที่ประกอบด้วยเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ รูปร่างของเซลล์หลายเหลี่ยมจนถึงค่อนข้างกลม มีช่องว่างระหว่างเซลล์ เซลล์ที่อยู่รอบนอกมีขนาดเล็กกว่าเซลล์ที่อยู่ด้านใน (ภาพที่ 18 และ 19)

1.2.2.3 มัดท่อลำเลียง (vascular bundle ; vb) ท่อลำเลียงในก้านใบเป็นแบบท่อลำเลียงเคียงข้าง มีเซลล์ไซเล็ม (xy) อยู่ด้านในและโฟลเอ็ม (ph) อยู่ด้านนอก การเรียงตัวของมัดท่อลำเลียงด้านที่อยู่รอบนอกใกล้กับชั้นเซลล์ผิวเรียงตัวในแนวรัศมี และมีขนาดใหญ่ ส่วนมัดท่อลำเลียงด้านที่อยู่ถัดเข้าไปจนถึงด้านในมีขนาดเล็กกว่า และขนาดของมัดไม่สม่ำเสมอ เรียงตัวไม่เป็นระเบียบ กระจัดกระจายไปทั่วเนื้อเยื่อพื้น จากการศึกษาเนื้อเยื่อก้านใบของต้นพืชทั้ง 2 รหัส พบว่า มัดท่อลำเลียงของต้นพืช HKRC01 ไม่ว่าจะเป็นที่ตำแหน่งรอบนอกหรือด้านในมีขนาดใหญ่กว่าของ HKRC02 ดังแสดงในภาพที่ 19 มัดท่อลำเลียงด้านนอกของ HKRC01 มีเซลล์สเคลอเรงคิมาอยู่ค่อนข้างมาก พบทั้งในเนื้อเยื่อของไซเล็มและโฟลเอ็ม โดยที่พบในเนื้อเยื่อโฟลเอ็มมากกว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

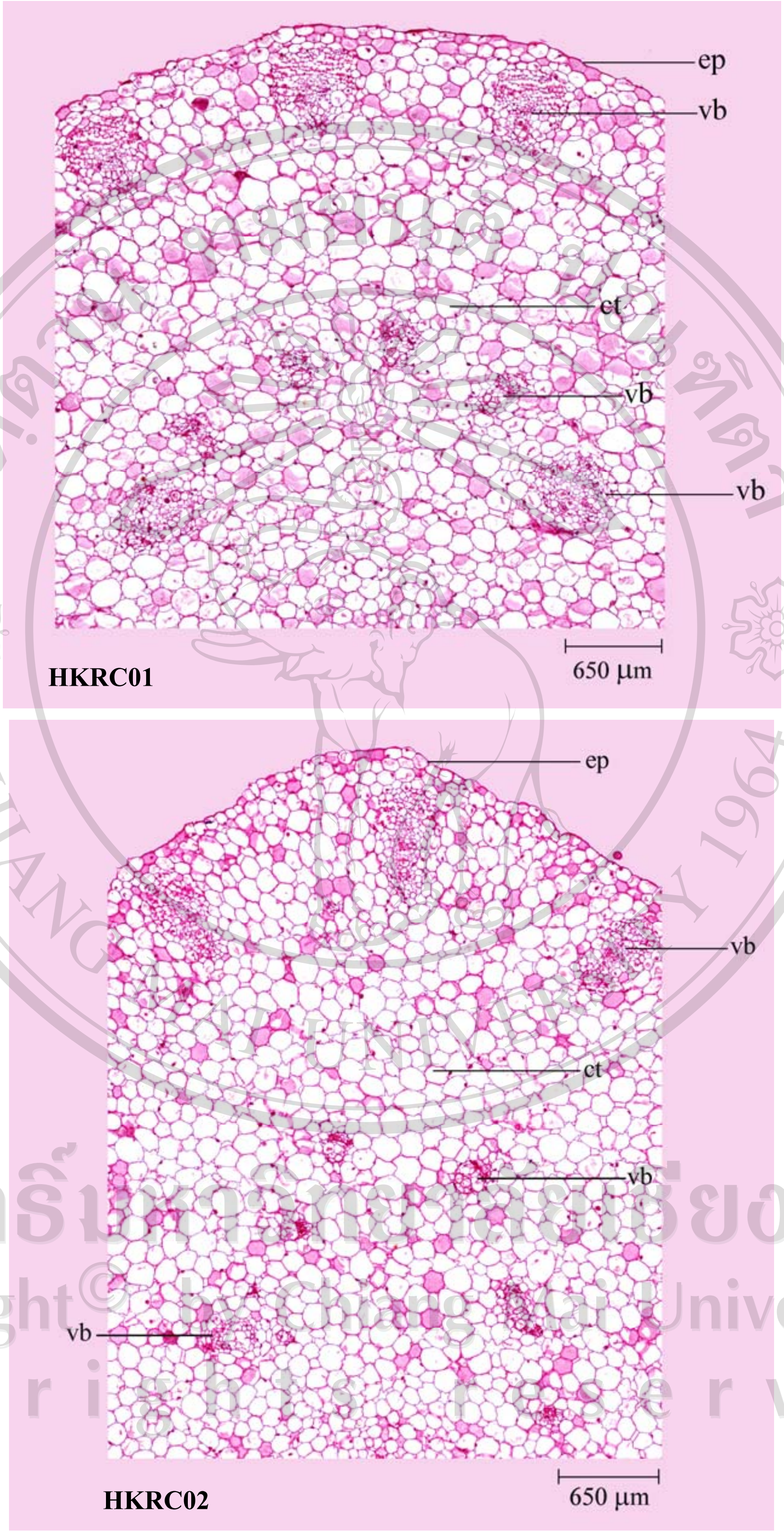




ภาพที่ 18 ภาคตัดขวางของก้านใบ HKRC01 และ HKRC02

ep = epidermis ; ct = cortex ; ivb = inner vascular bundle ; ovb = outer vascular bundle

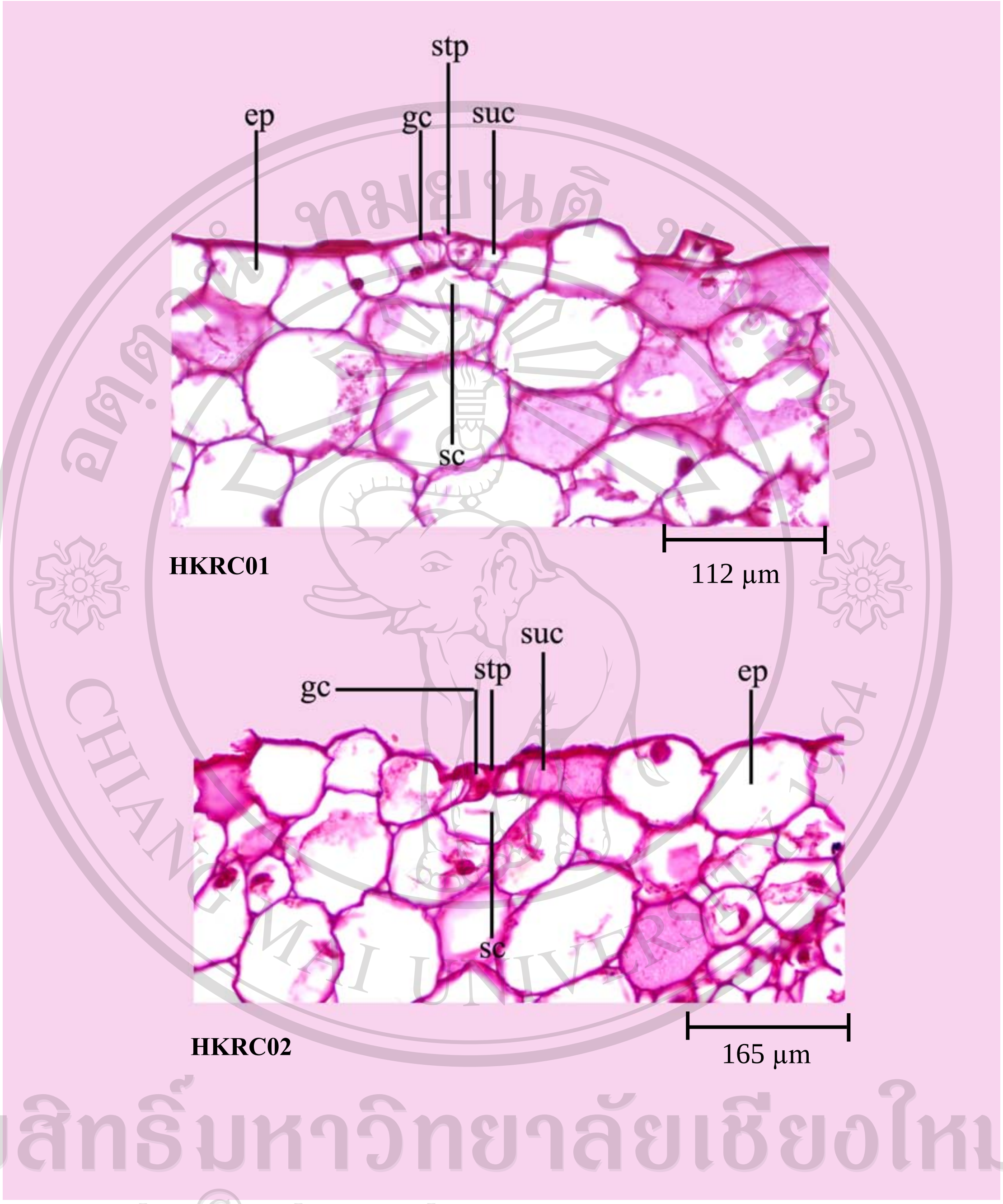
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 19 ภาคตัดขวางของก้านใบแสดงชั้นของเนื้อเยื่อของ HKRC01 และ HKRC02

ep = epidermis ; ct = cortex ; vb = vascular bundle

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

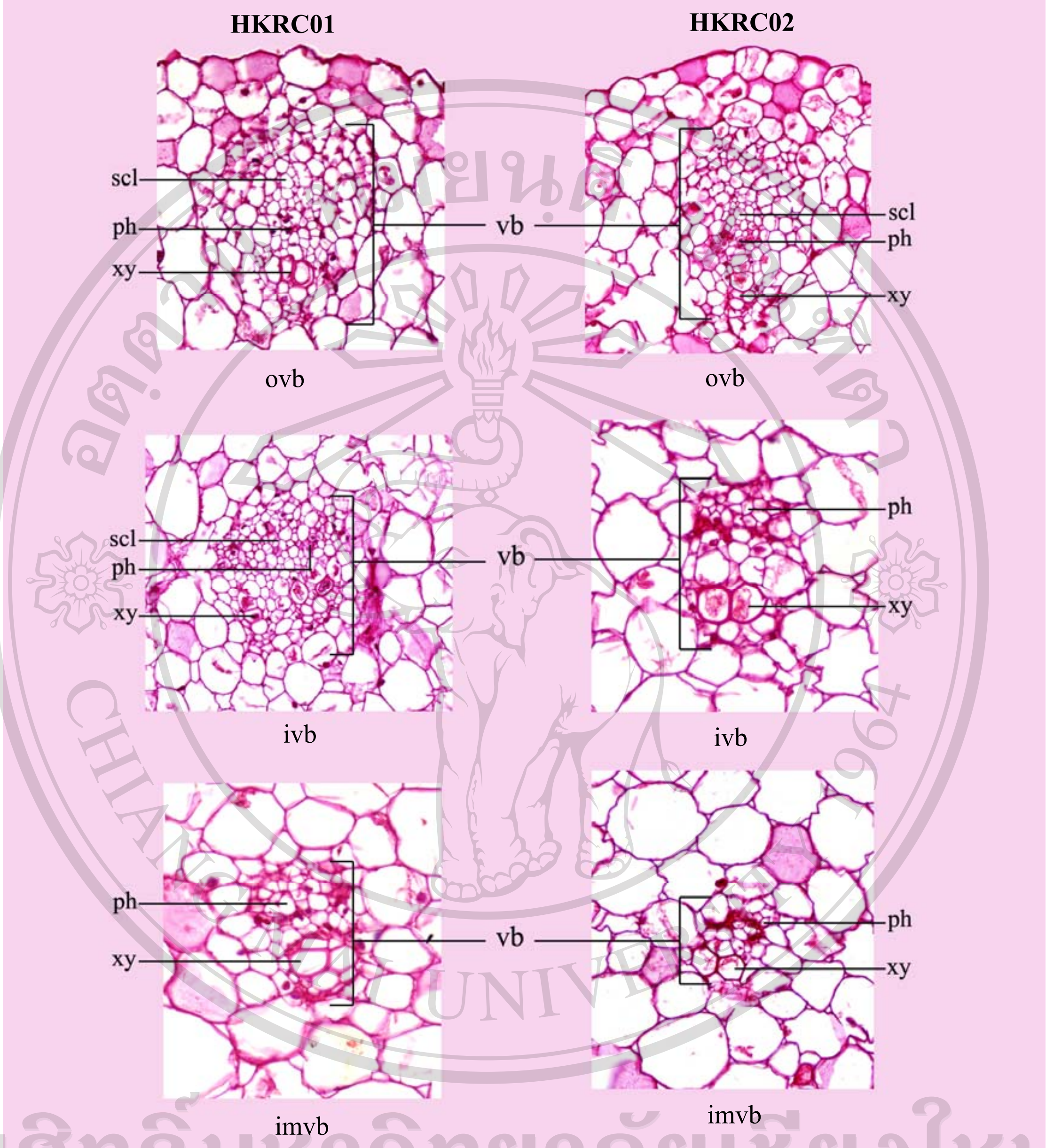


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 20 ภาคตัดขวางของก้านใบ HKRC01 และ HKRC02 แสดงปากใบ

ep = epidermis ; gc = guard cell ; sc = substomatal chamber ;

stp = stomatal pore ;suc = subsidiary cell



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 21 มัดท่อลำเลียงในตำแหน่งต่าง ๆ ของก้านใบ HKRC01 และ HKRC02

ph = phloem ; scl = sclerenchyma ; vb = vascular bundele ; xy = xylem

ovb = outer vascular bundle

ivb = inner vascular bundle

imvb = innermost vascular bundle

1.2.3 ใบ

ใบประกอบด้วยระบบเนื้อเยื่อหลัก 3 ระบบเช่นกัน และเมื่อศึกษาจากภาคตัดขวางของใบพืชทดลองทั้ง 2 รหัส ดังแสดงในภาพที่ 9-12 พบว่า พืชทั้ง 2 รหัสมีส่วนประกอบของเนื้อเยื่อคล้ายคลึงกันดังนี้

1.2.3.1 เนื้อเยื่อผิว (ep) ประกอบด้วยเซลล์พาเรงคิมา เรียงต่อกันเป็นแถวอยู่ด้านบนและด้านล่างของใบ มีด้านละ 1 ชั้นเซลล์ เนื้อเยื่อผิวด้านใต้ใบมีปากใบ (st) ปรากฏอยู่เป็นจำนวนมาก เซลล์ผิวของ HKRC01 และ HKRC02 มีรูปร่างของเซลล์แตกต่างกันดังเห็นได้จากภาพที่ 22-25 โดยที่เซลล์ของ HKRC01 มีรูปร่างเป็นเซลล์สี่เหลี่ยมขนาดใหญ่เห็นชัดเจน ในขณะที่ของ HKRC02 รูปร่างเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้าที่แคบและยาว และมีขนาดค่อนข้างเล็ก เซลล์ผิวด้านบนของ HKRC01 มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ด้านใต้ใบ แต่ของ HKRC02 ขนาดของเซลล์ผิวทั้ง 2 ด้านไม่แตกต่างกันมากนัก เซลล์คุม (gc) ของปากใบและเซลล์ข้างเซลล์คุม (suc) มีขนาดใกล้เคียงเซลล์ผิว (ภาพที่ 24-25) ช่องว่างใต้ปาก (sc) ใบมีขนาดไม่ใหญ่นัก

1.2.3.2 มีโซฟิลล์ (mesophyll ; me) เป็นเนื้อเยื่อพื้นของใบ อยู่ระหว่างเนื้อเยื่อผิวทั้ง 2 ด้าน ประกอบด้วยเซลล์พาเรงคิมาเรียงตัวอัดกันแน่น เซลล์มีขนาดใหญ่ รูปร่างค่อนข้างกลม พบช่องว่างระหว่างเซลล์บ้างในบางบริเวณ เนื้อเยื่อในชั้นนี้ไม่แบ่งเป็นชั้นของแพลิเซดและสปอนจี

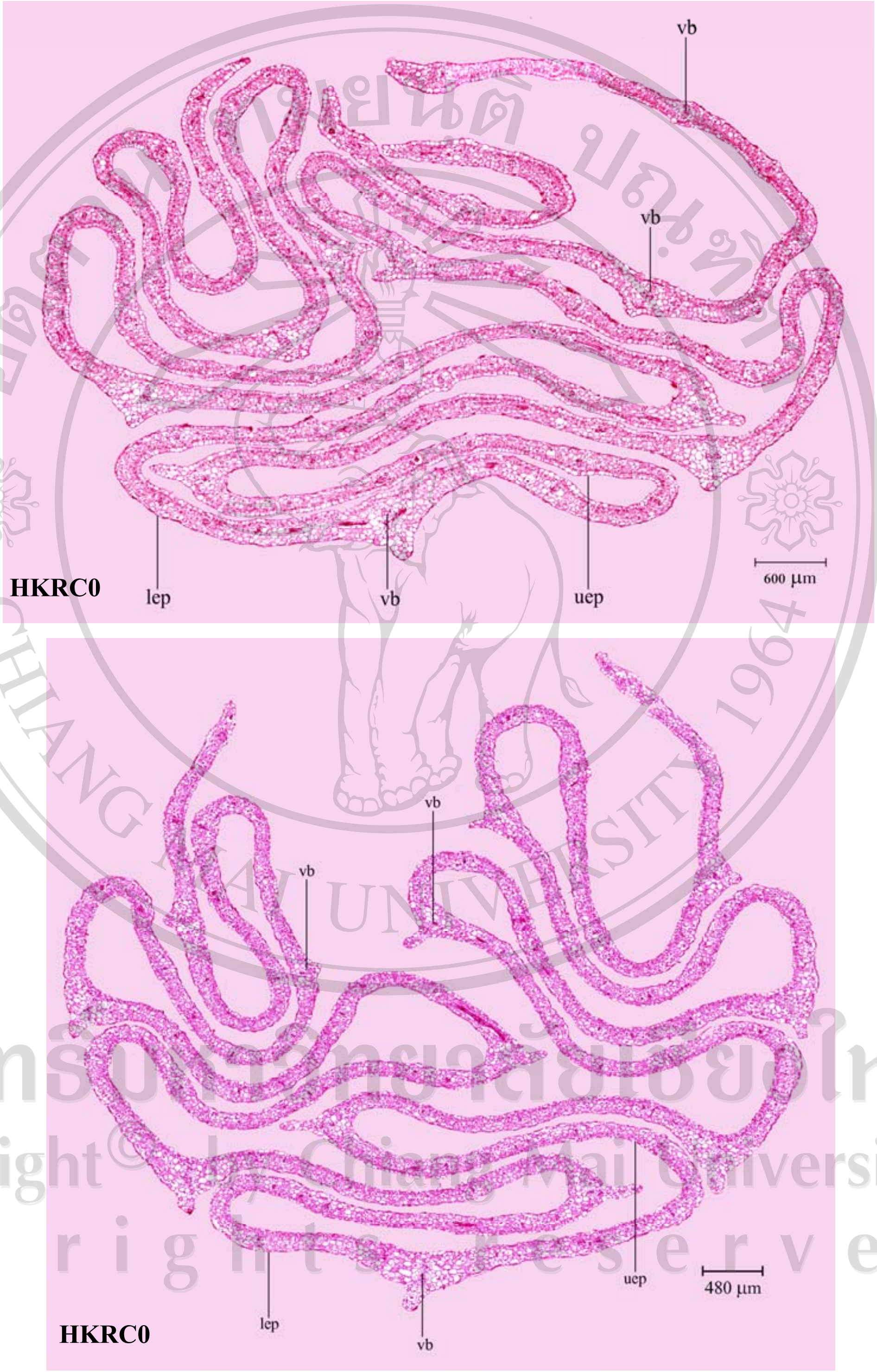
1.2.3.3 มัดท่อลำเลียง (vascular bundle ; vb) มีลักษณะเป็นท่อลำเลียงเคียงข้าง มีเซลล์ไซเล็ม (xy) อยู่ด้านผิวใบด้านบน และเซลล์โฟลเอ็ม (ph) อยู่ด้านผิวใบด้านล่าง เส้นกลางใบมีขนาดใกล้เคียงกับเส้นใบตำแหน่งอื่นๆ สันนูนของเส้นใบปรากฏแบบสลับ

1.2.4 ดอก

ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของดอกพืชทดลองโดยใช้ดอกอ่อนที่มีความยาวประมาณ 1.3 ซม มาตัดตามยาว(ภาพที่ 26) และตัดตามขวาง(ภาพที่ 27) เพื่อศึกษาส่วนประกอบของดอกและระบบเนื้อเยื่อต่าง ๆ ในการศึกษานี้ทำได้เฉพาะดอกของ HKRC02 เนื่องจาก HKRC01 ไม่มีดอก พบว่า ดอกมีส่วนประกอบครบทั้ง 4 วง คือ มีกลีบเลี้ยง (sepal : sp) 3 กลีบ กลีบดอก (petal : pt) 3 กลีบ เกสรเพศผู้ (pollinia : po) เกาะเป็นก้อนหลวม ๆ อยู่ภายในอับเรณู (anther : a) ในตำแหน่งปลายของเส้าเกสร (column : c) ส่วนปลายยอดของเกสรเพศเมีย (stigma : sti) มีลักษณะเป็นแอ่งเว้าอยู่ด้านใต้เส้าเกสร ภายในรังไข่ (ovary : o) มีออวุล (ovule : ov) บรรจุอยู่เป็นจำนวนมาก และจากการศึกษาระบบเนื้อเยื่อดังกล่าวพบว่า ส่วนของกลีบเลี้ยง และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

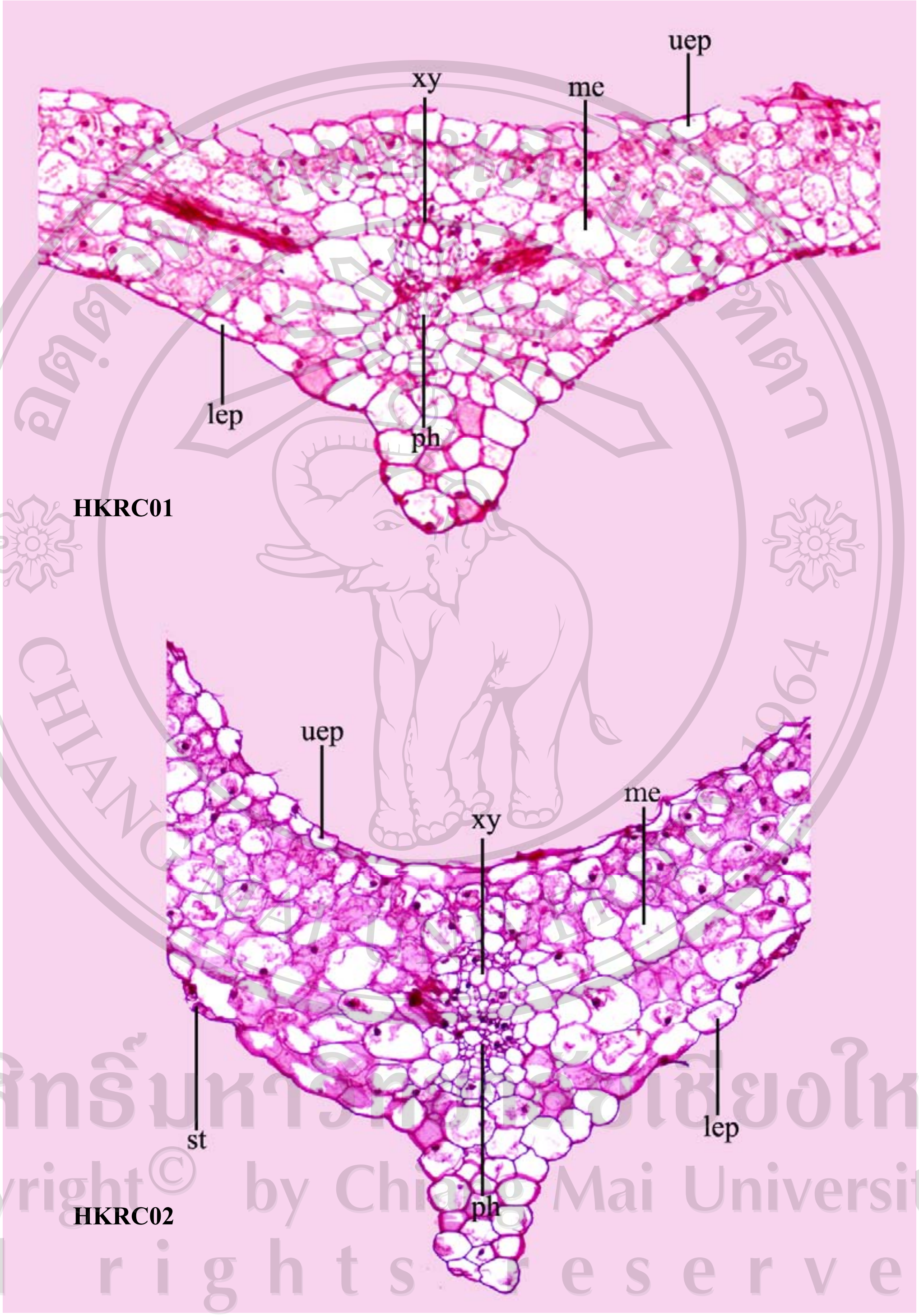
กลีบดอกประกอบด้วยเนื้อเยื่อผิว เนื้อเยื่อพื้น และเนื้อเยื่อลำเลียง สำหรับเนื้อเยื่อผิว (ep) นั้นเป็นเซลล์พาเรงคิมา มีขนาดเล็ก



ภาพที่ 22 ภาคตัดขวางของใบ HKRC01 และ HKRC02

lep = lower epidermis ; uep = upper epidermis ; vb = vascular bundle

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

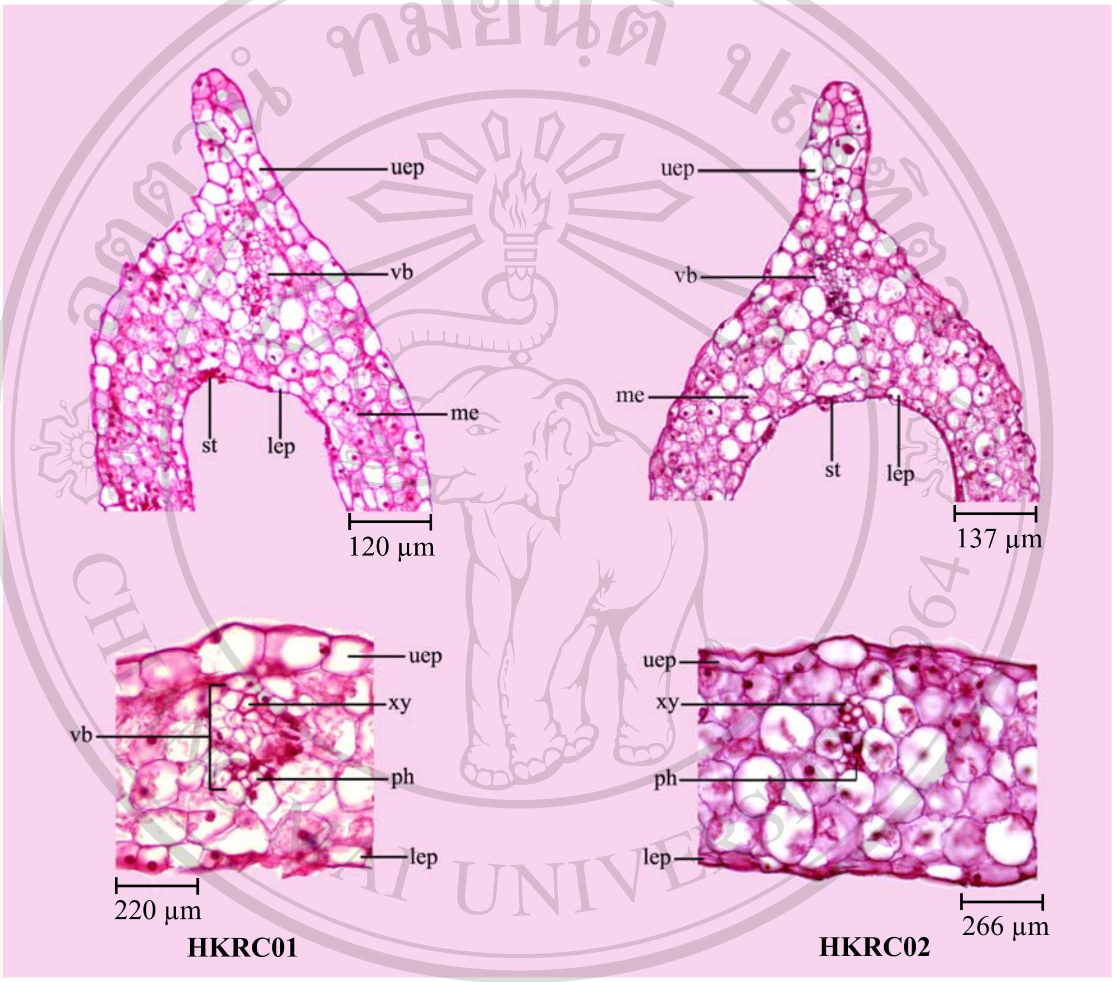


ภาพที่ 23 ภาคตัดขวางของใบ HKRC01 และ HKRC02 แสดงมัดท่อลำเลียงของเส้นกลางใบ

lep = lower epidermis ; me = mesophyll ; ph = phloem ; st = stomata

uep = upper epidermis ; xy = xylem

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

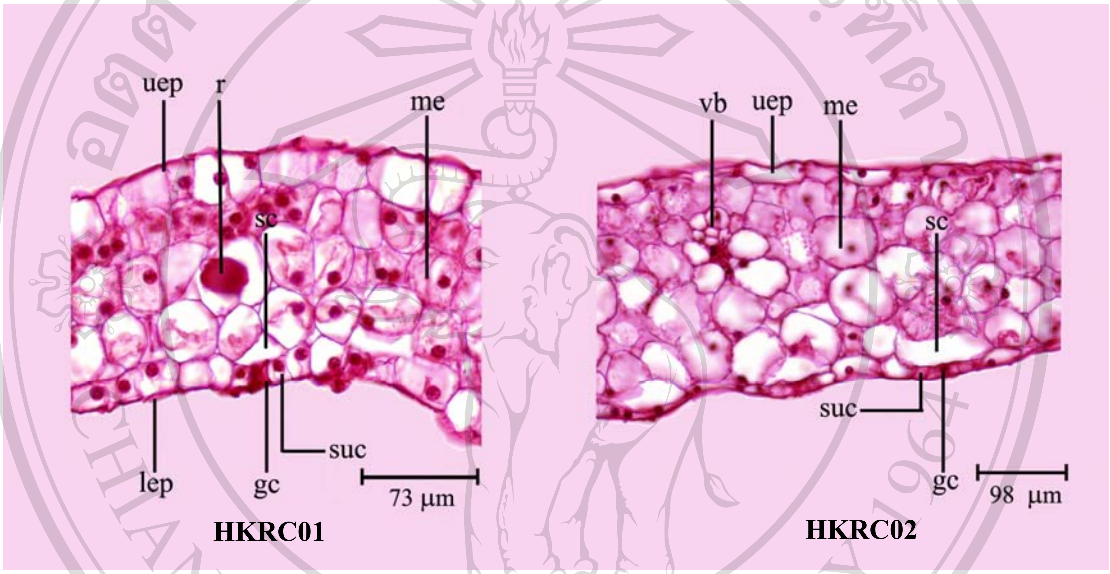


ภาพที่ 24 ภาคตัดขวางของใบ HKRC01 และ HKRC02 แสดงมัดท่อลำเลียงของเส้นใบ

lep = lower epidermis ; me = mesophyll ; ph = phloem ; st = stomata ; uep = upper epidermis

vb = vascular bundle ; xy = xylem

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 25 ภาคตัดขวางของใบ HKRC01 และ HKRC02 แสดงปากใบ

gc = guard cell ; lep = lower epidermis ; me = mesophyll ; r = raphides ; sc = substomatal chamber ; suc = subsidiary cell ; st = stomata ; uep = upper epidermis ; vb = vascular bundle

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รูปร่างค่อนข้างกลม เรียงเป็นแถวยาว เนื้อเยื่อพื้นประกอบด้วยเซลล์พาเรงคิมา ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ผิวเรียงตัวกันแน่น เนื้อเยื่อในชั้นนี้พบมัดท่อลำเลียงปรากฏอยู่ การเรียงตัวของท่อลำเลียงคล้ายกับใบ แต่มีขนาดเล็กกว่า ดังแสดงในภาพที่ 28 ส่วนก้านชูเกสรเพศผู้พบมัดท่อลำเลียง 1 กลุ่ม อยู่บริเวณแกนกลางของก้าน มีขนาดใหญ่กว่ามัดท่อลำเลียงอื่น ๆ ของดอก (ภาพที่ 27)

1.2.5 ฝัก

ลักษณะทางกายวิภาควิทยาของฝักหรือผลของ HKRC02 เมื่อดูจากภาคตัดขวาง (ภาพที่ 30) พบว่าฝักมีลักษณะเป็นกลีบมีสันแหลมคล้ายแฉกดาว ภายในฝักแบ่งออกเป็น 3 คาร์เพล มีไข่อ่อน (ov) ติดกับผนังของรังไข่ (o) แบบพลาเซนตาตามแนวตะเข็บ เนื้อเยื่อของฝักคล้ายกับผลของพืชอื่น ๆ ทั่วไป ประกอบด้วยชั้นนอกสุดของผลเป็นชั้นของผนังผลชั้นนอก (exocarp : exp) ถัดเข้าไปเป็นผนังผลชั้นกลาง(mesocarp : mec) ประกอบด้วยเซลล์พาเรงคิมาที่มีขนาดใหญ่ มีรูปทรงค่อนข้างกลมเรียงตัวแน่น ในเนื้อเยื่อชั้นนี้มีมัดท่อลำเลียงปรากฏอยู่ ส่วนชั้นในสุดเป็นผนังผลชั้นใน (endocarp : enc) มี 1 ชั้นเซลล์ เรียงตัวเป็นแถวเดี่ยว เซลล์มีขนาดเล็กรูปร่างสี่เหลี่ยม มีขนาดค่อนข้างสม่ำเสมอ ภายในฝักมีเมล็ด (seed : s) ที่ยังอ่อนอยู่เป็นจำนวนมาก ติดอยู่กับผนังผลตามแนวตะเข็บแบบ พลาเซนตา ดังแสดงในภาพ ที่ 29 และ 30

1.3 การศึกษาเซลล์วิทยา

การทดลองนี้มีจุดประสงค์ในการศึกษาเทคนิคของการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากเพื่อศึกษาโครโมโซมของแผ่นดินเย็น HKRC01 และ HKRC02 โดยสุ่มเก็บปลายรากในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน เพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมที่เซลล์ปลายรากของพืชทดลองมีการแบ่งเซลล์อยู่ในระยะเมตาเฟสมากที่สุด หาระยะเวลาที่เหมาะสมในการหยุดวงชีพเซลล์ และหาความยาวนานในการแช่ปลายรากในสารละลายสีที่ใช้สำหรับย้อมโครโมโซม เพื่อให้ได้โครโมโซมที่ติดสีเข้ม เพิ่มความแม่นยำในการตรวจนับจำนวนโครโมโซม จากผลการทดลองพบว่า พืชทดลองทั้ง 2 รหัสตอบสนองต่อกรรมวิธีที่คล้ายกันดังนี้

1.3.1 การเก็บตัวอย่างปลายราก

การเก็บตัวอย่างปลายรากของพืชทดลองในช่วงเวลา 7.00 น. 8.00 น. 9.00 น. 10.00 น. และ 11.00 น. แล้วนำไปผ่านขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซม ผลปรากฏว่า การเก็บตัวอย่างรากของ HKRC01 เวลา 11.00 น. ได้จำนวนเซลล์ที่แบ่งตัวอยู่ในระยะเมตาเฟสมากที่สุด และมีการกระจายตัวของโครโมโซมดี (ภาพที่ 31) ส่วนกรรมวิธีอื่น ๆ พบเซลล์ที่อยู่ในระยะเมตาเฟสค่อนข้างน้อย โครโมโซมไม่กระจายตัว เกาะรวมกันเป็นก้อน ส่วน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

พันธุ์ HKRC02 พบว่า กรรมวิธีที่เก็บปลายรากเวลา 7.00 น. ได้ผลดีกว่าการเก็บปลายรากในกรรมวิธีอื่น ๆ (ภาพที่ 32)

1.3.2 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการหยุดวงชีพเซลล์

กรรมวิธีการหยุดวงชีพเซลล์ในสารละลาย PDB นาน 30 นาที 1 และ 2 ชั่วโมง พบว่า กรรมวิธีทั้งสามให้ผลดีทัดเทียมกันทั้งใน HKRC01 และ HKRC02 (ภาพที่ 33 และ 34)

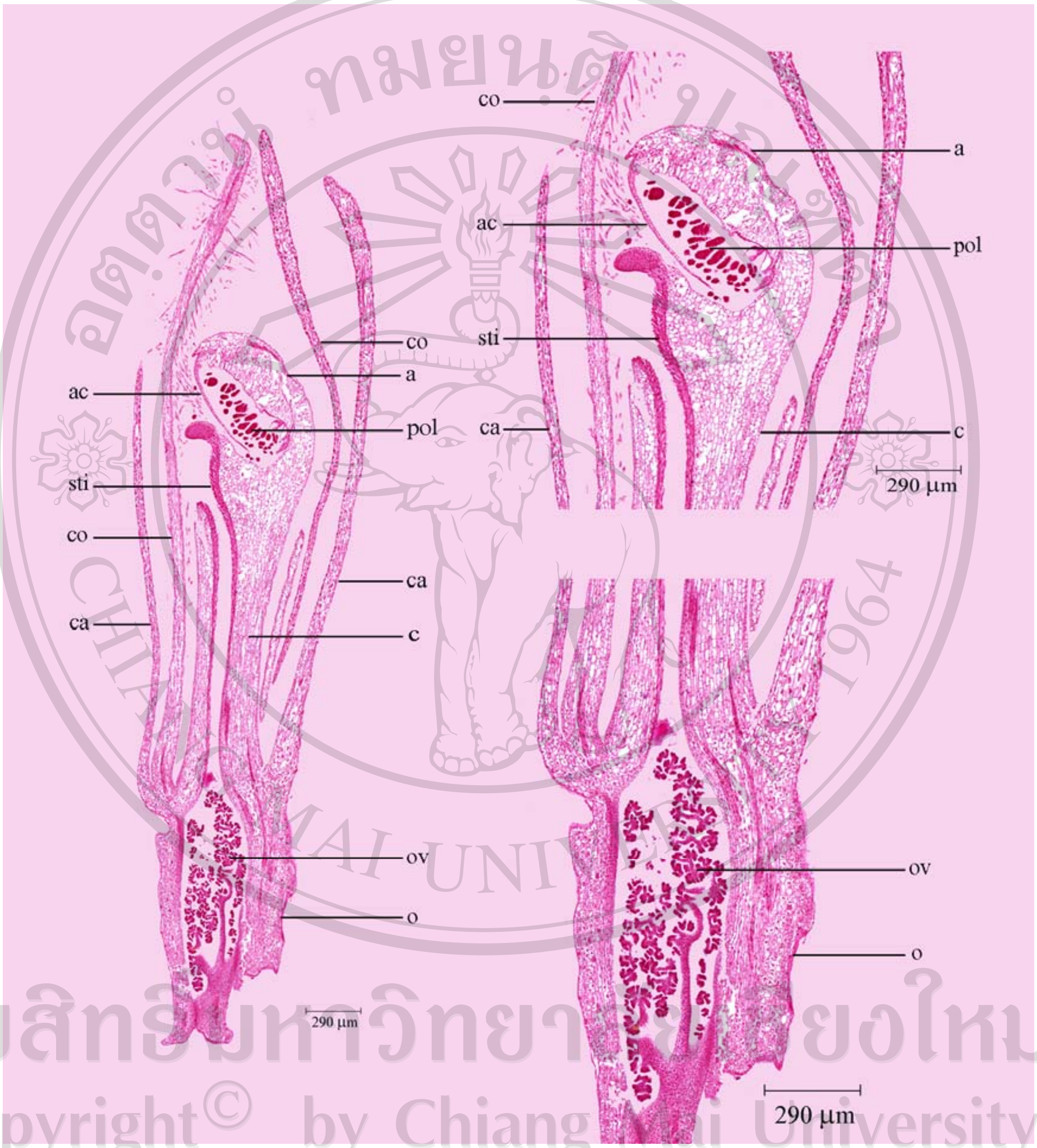
1.3.3 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการย้อมสีโครโมโซม

ในการทดลองย้อมสีของโครโมโซมในสารละลายสี carbol fuchsin นาน 30 นาที และ 1 ชั่วโมงนั้น พืชทดลองทั้ง 2 รหัสตอบสนองต่อกรรมวิธีเหมือนกันคือ การย้อมสีทั้ง 2 กรรมวิธีให้ผลดีในการย้อมสีเหมือนกัน ได้โครโมโซมที่ติดสีเข้มสม่ำเสมอเหมือนกัน (ภาพที่ 35)

จากการทดลองการศึกษาเทคนิคในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายราก เพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชทดลอง HKRC01 และ HKRC02 ในครั้งนี้ สามารถสรุปเทคนิคการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากที่เหมาะสมดังนี้ สำหรับต้นพืชรหัส HKRC01 ควรเก็บปลายรากของพืชทดลองในเวลา 11.00 น.หยุดวงชีพเซลล์ในสารละลาย PDB นาน 1 ชั่วโมง แช่ในสีย้อมนาน 30 นาที ส่วน HKRC02 เก็บปลายรากของพืชทดลองในเวลา 7.00 น. หยุดวงชีพเซลล์ในสารละลาย PDB นาน 1 ชั่วโมง และแช่ในสีย้อมนาน 30 นาที

จากการศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชทดลองทั้ง 2 รหัส โดยใช้เทคนิคการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น พบว่า แผ่นดินเย็นรหัส HKRC01 มีจำนวนโครโมโซม 2n = 144 ส่วนแผ่นดินเย็นรหัส HKRC02 มีจำนวนโครโมโซม 2n = 72 (ภาพที่ 36)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

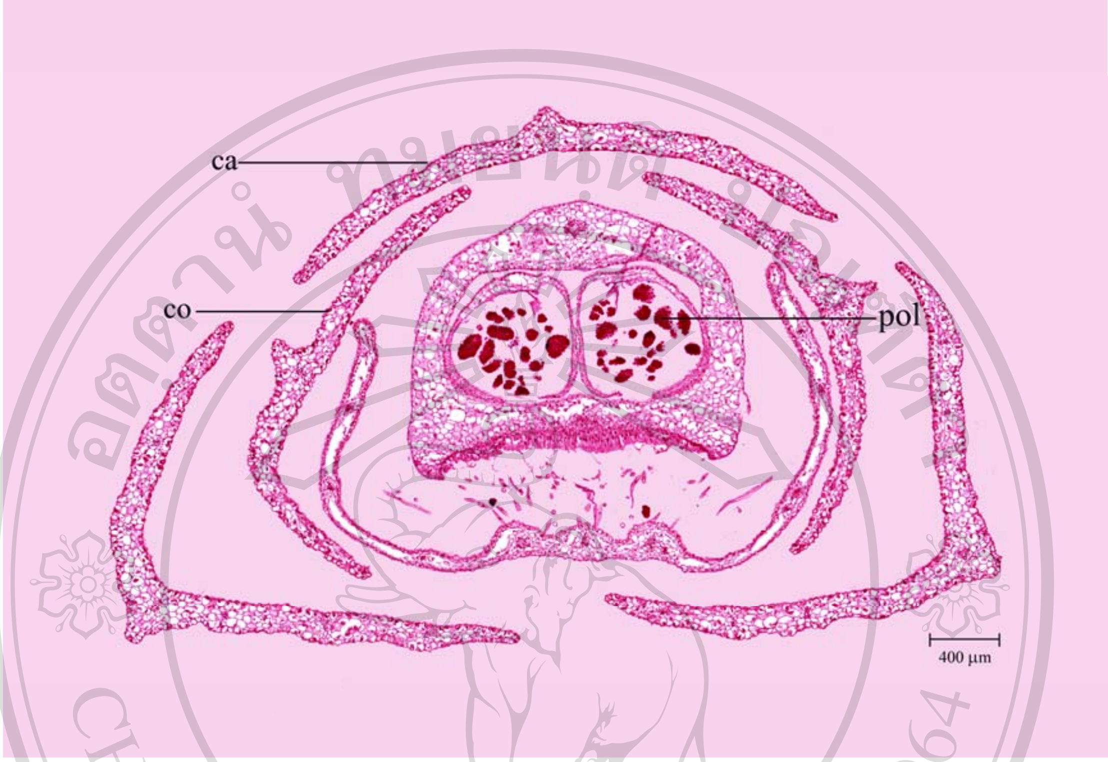


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 26 ภาคตัดตามยาวของดอก HKRC02 ที่มีความยาว 1.3 ซม

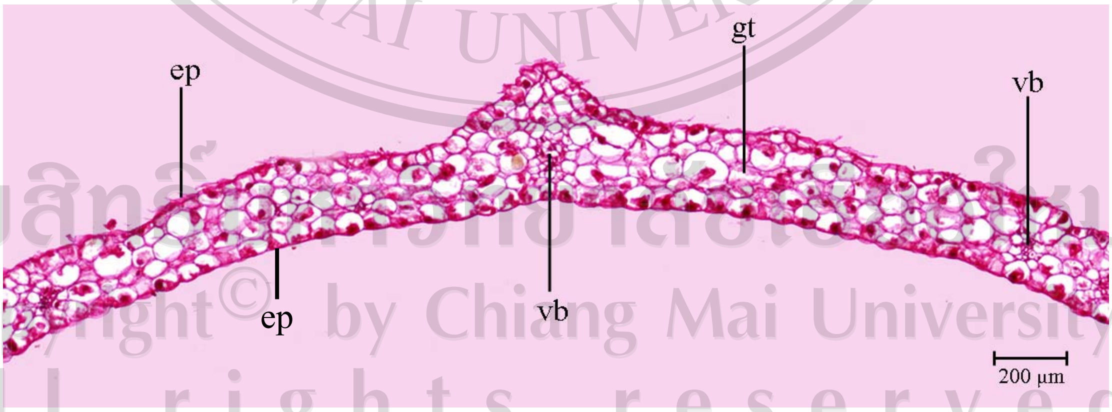
a = anther ; ac = anther cap ; c = column ; ca = calyx ; co = corolla ; o = ovary

ov = ovule ; pol = pollen ; sti = stigma



ภาพที่ 27 ภาคตัดขวางของดอก HKRC02 ที่มีความยาว 1.3 ซม

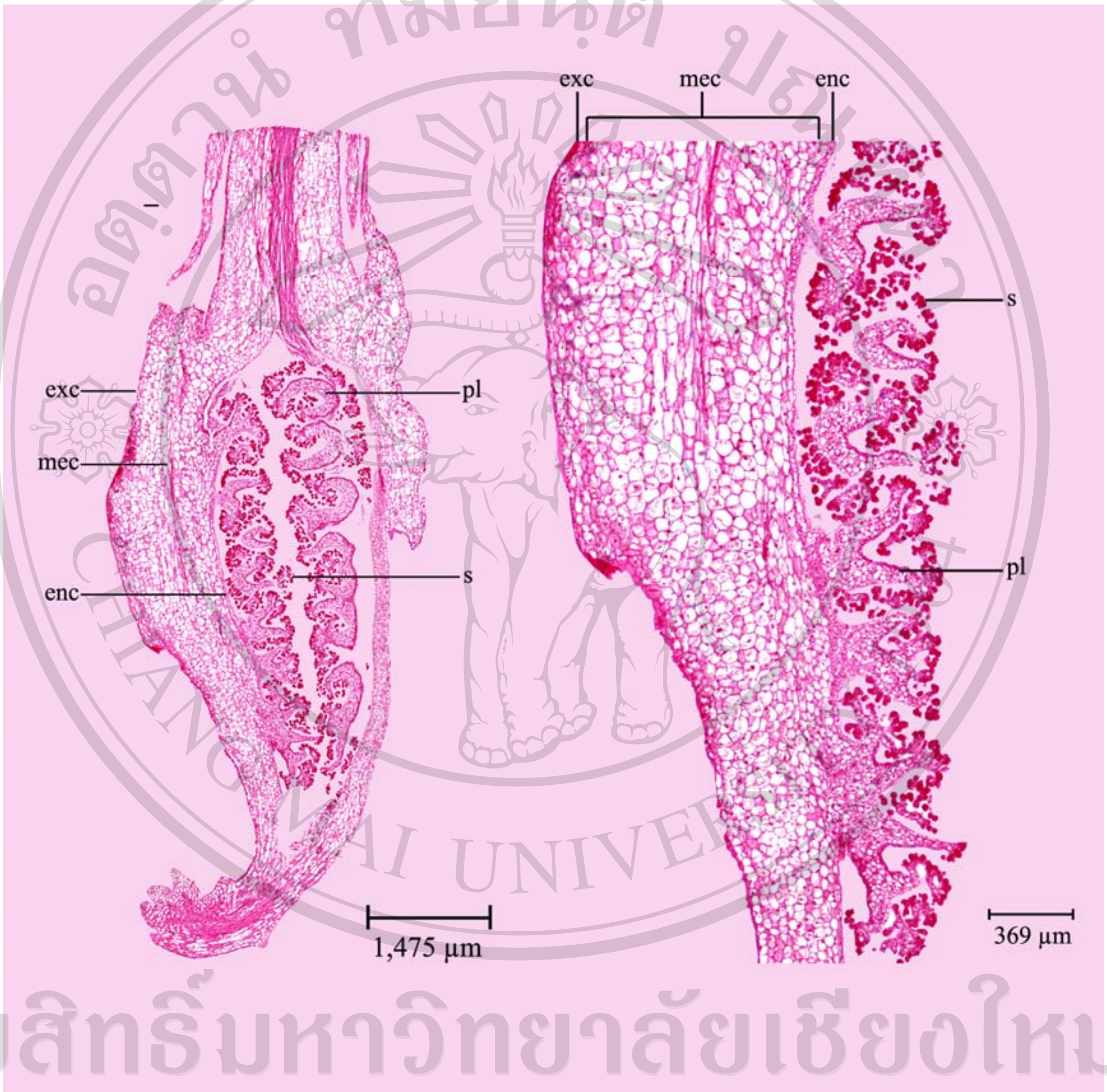
ca = calyx ; co = corolla ; pol = pollen



ภาพที่ 28 ภาคตัดขวางของกลีบเลี้ยงของดอก HKRC02

ep = epidermis ; gt = ground tissue ; sp = sepal ; vb = vascular bundle

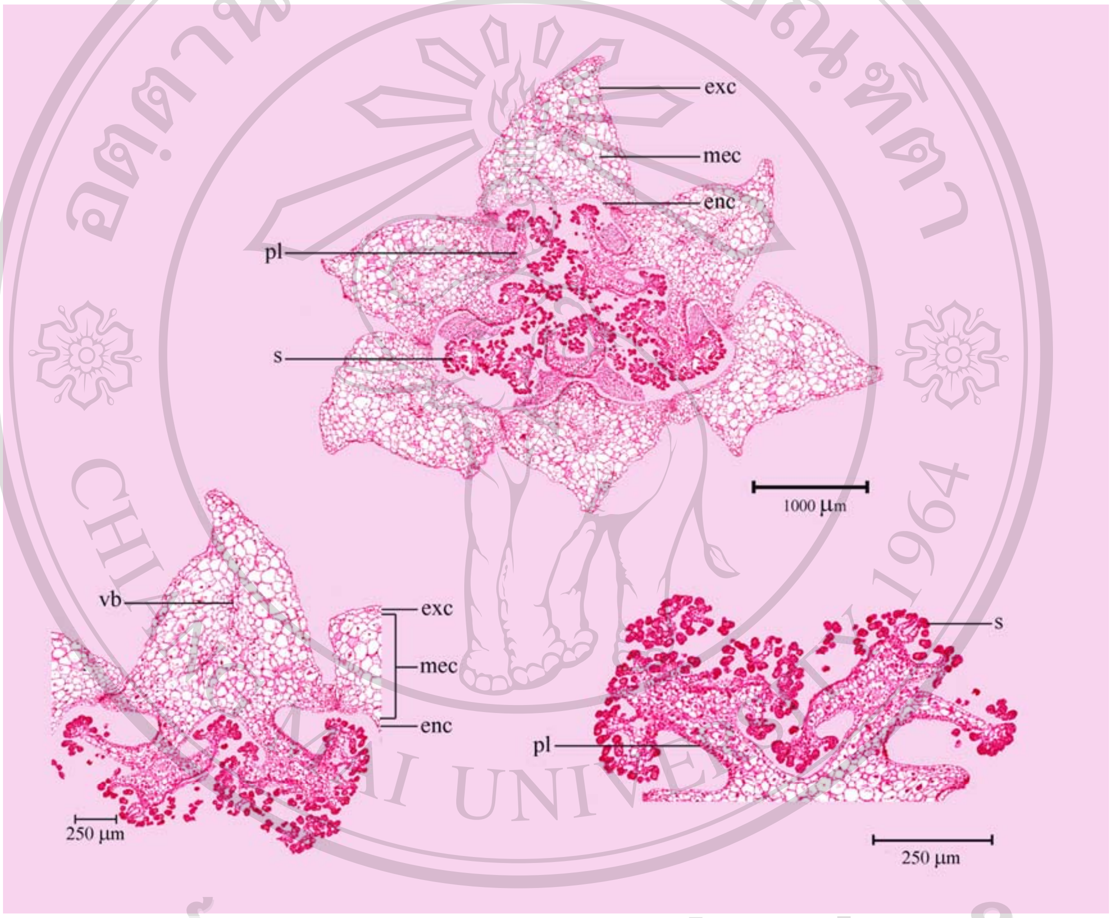
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 29 ภาคตัดตามยาวของฝัก HKRC02

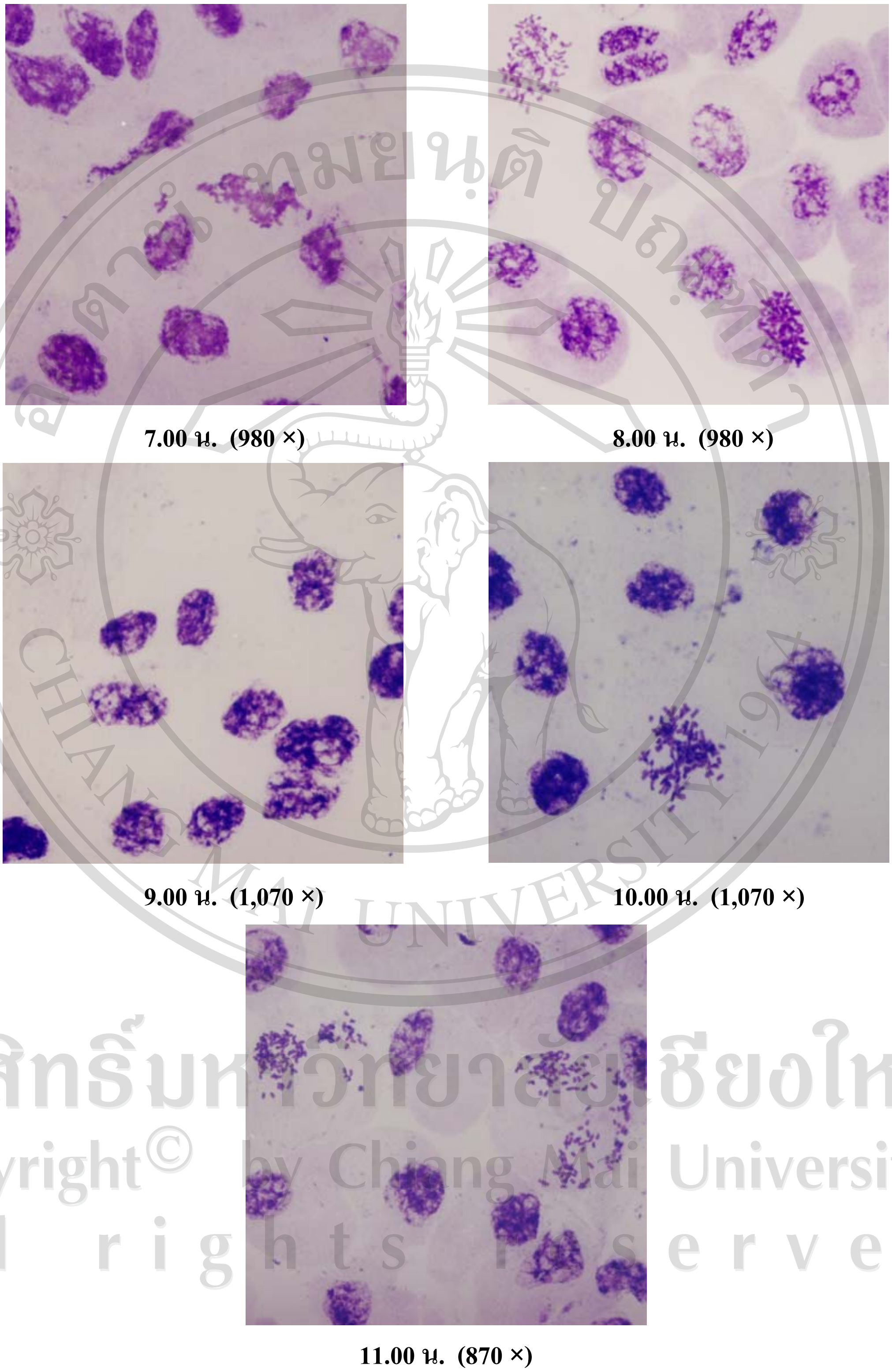
enc = endocarp ; exc = exocarp ; mec = mesocarp ; pl = placenta ; s = seed



ภาพที่ 30 ภาคตัดขวางของฝัก HKRC02

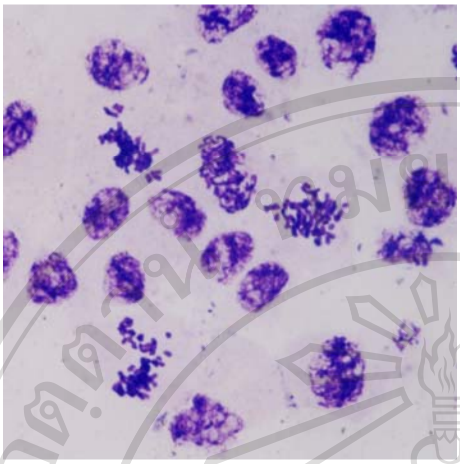
enc = endocarp ; exc = exocarp ; mec = mesocarp ; pl = placenta ; s = seed ; vb = vascular bundle

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

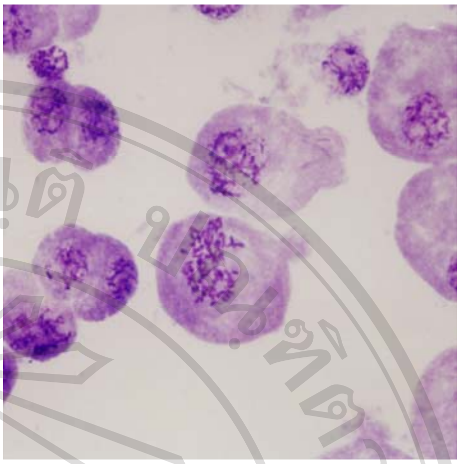


ภาพที่ 31 โครโมโซมของเซลล์ปลายราก HKRC01 ในกรรมวิธีการเก็บตัวอย่างต่างกัน

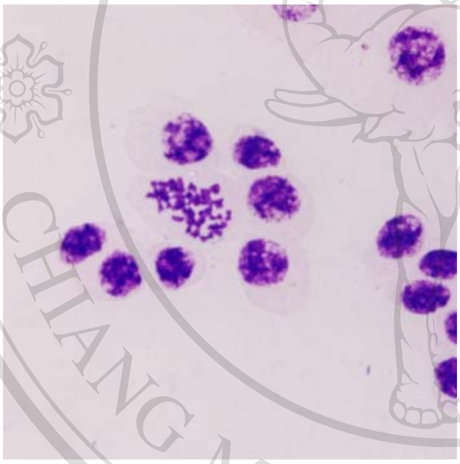
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



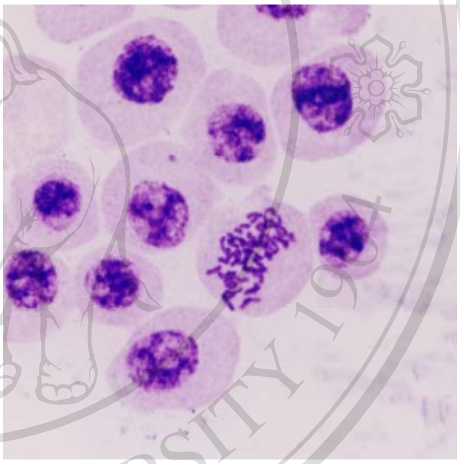
7.00 น. (1,010 ×)



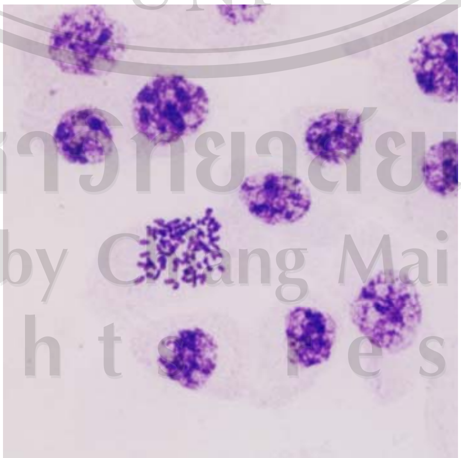
8.00 น. (970 ×)



9.00 น. (1,055 ×)



10.00 น. (1,070 ×)

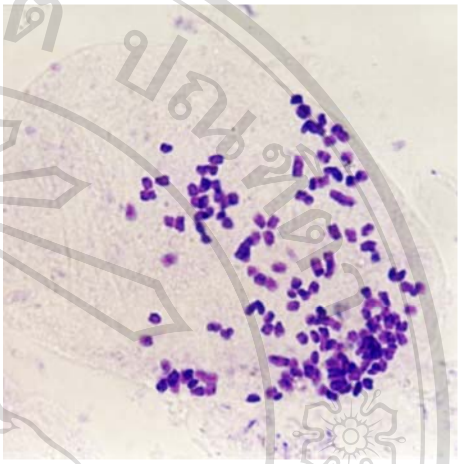


11.00 น. (1,040 ×)

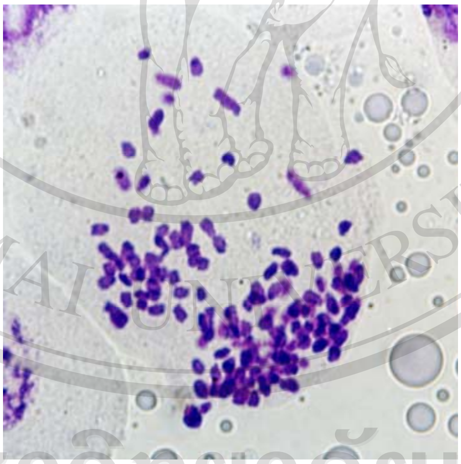
ภาพที่ 32 โครโมโซมของเซลล์ปลายรากของ HKRC02 ในกรรมวิธีการเก็บตัวอย่างต่างกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

30 นาที (830 ×)



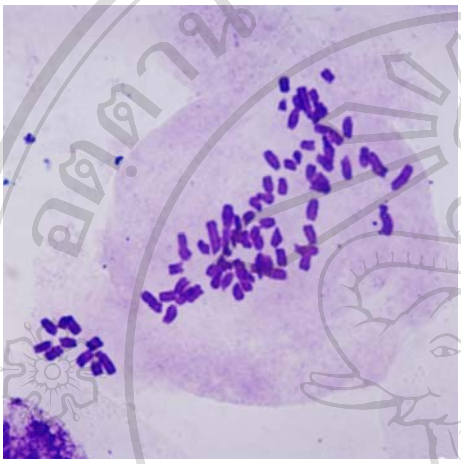
1 ชั่วโมง (840 ×)



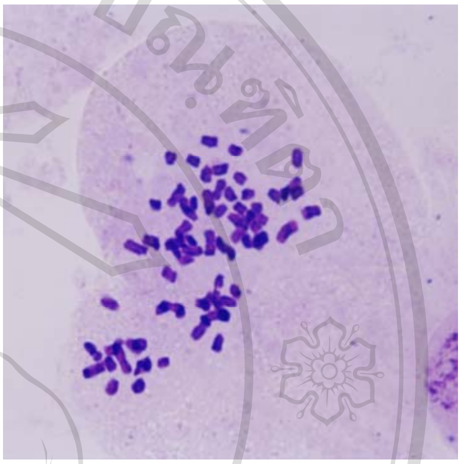
2 ชั่วโมง (830 ×)

ภาพที่ 33 โครโมโซมของเซลล์ปลายราก HKRC01 ในกรรมวิธีการหยุดวงชีพเซลล์ต่างกัน

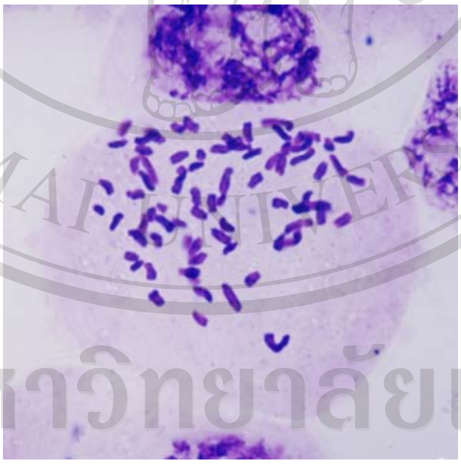
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



30 นาที (860 ×)



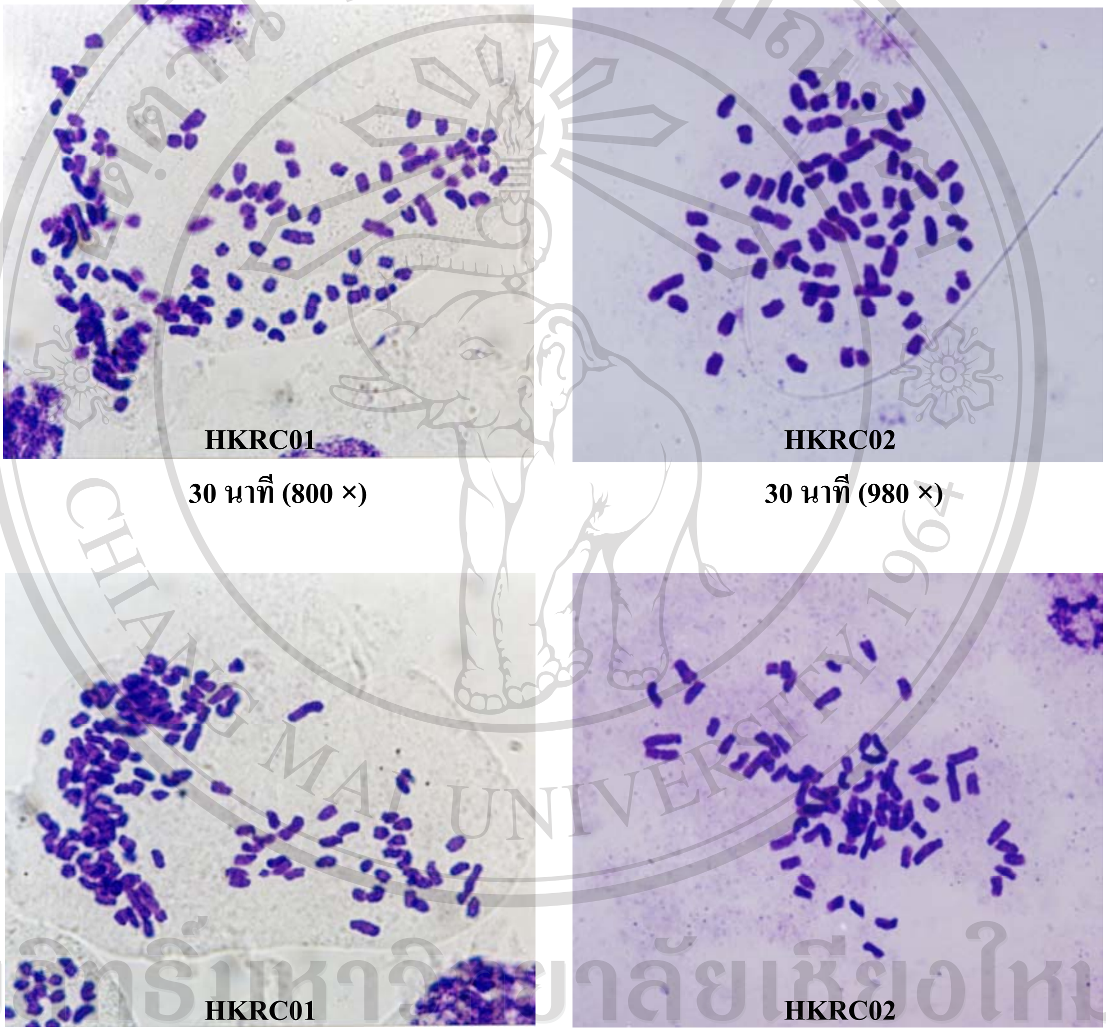
1 ชั่วโมง (850 ×)



2 ชั่วโมง (920 ×)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 34 โครโมโซมของเซลล์ปลายรากของ HKRC02 ในกรรมวิธีการหยุดวงชีพเซลล์ต่างกัน

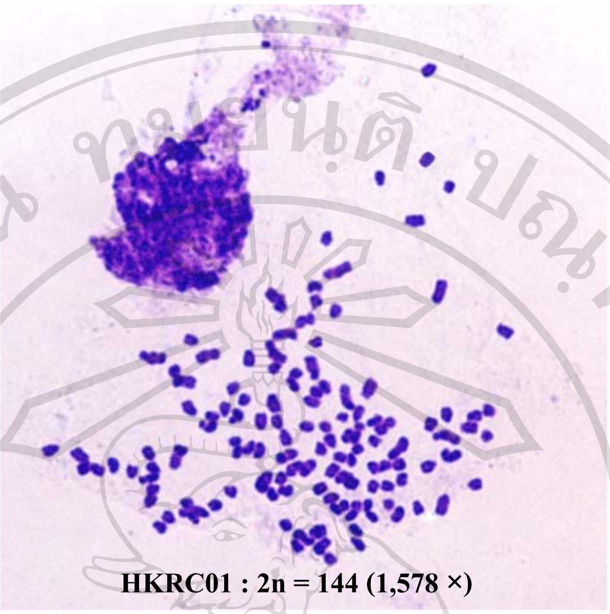


30 นาที (800 ×) 30 นาที (980 ×)

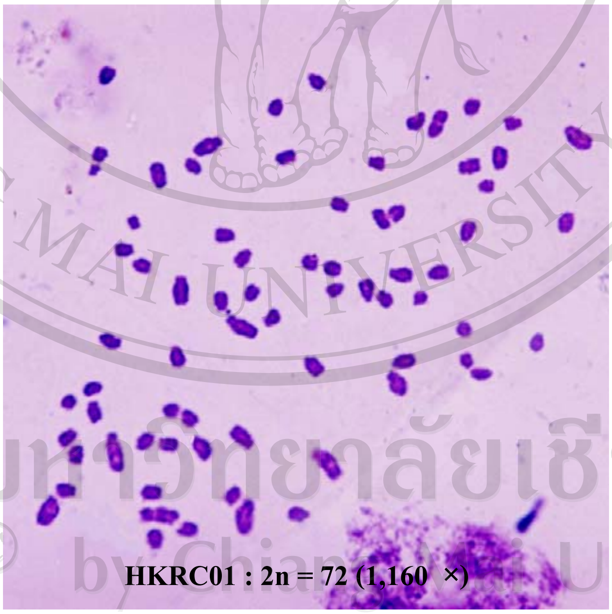
1 ชั่วโมง (800 ×) 1 ชั่วโมง (1,115 ×)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 35 โครโมโซมของเซลล์ปลายรากในกรรมวิธีการย้อมสีนานต่างกัน



ก



ข

ภาพที่ 36 จำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายราก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.4 การศึกษารูปแบบไอโซไซม์

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์โดยการทำโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส ใช้เอนไซม์ 10 ระบบ ได้แก่ acid phosphatase (ACP), diaphorase (DIA), esterase (EST), glucose dehydrogenase (GDH), glutamate-oxaloacetate transminase (GOT), leucine aminopeptidase (LAP), malate dehydrogenase (MDH), peroxidase (POX), shikimate dehydrogenase (SKD) และ superoxide dismutase (SOD) โดยศึกษาจากใบของแผ่นดินเย็น 2 รหัส คือ HKRC01 (ต้นที่1 - 4) และ HKRC02 (ต้นที่5 - 10) ได้ผลดังนี้

1.4.1 ACP

จากผลการศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ ACP โดยใช้สารสกัดเอนไซม์ที่ได้จากใบของพืชทดลองรหัส HKRC01 และ HKRC02 จากประชากรทั้งหมด 10 ต้น พบว่าเอนไซม์นี้มีการแสดงออกของตำแหน่ง ความหนา และจำนวนในการเกิดแถบสีแตกต่างกัน มีการแสดงออกของแถบสีทั้งหมด 34 แถบ โดย HKRC01 แสดงแถบสี 12 แถบ มีรูปแบบของแถบสี 1 รูปแบบ รูปแบบนี้มีแถบสี 3 แถบ มีค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.51-0.83 ส่วน HKRC02 แสดงแถบสีทั้งหมด 22 แถบ และมีรูปแบบของแถบสีที่แตกต่าง 6 รูปแบบ รูปแบบที่ 1-2 มีแถบสี 3 แถบ และรูปแบบที่ 3-6 มีแถบสี 4 แถบ มีค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.46 - 0.88 (ภาพที่ 37)

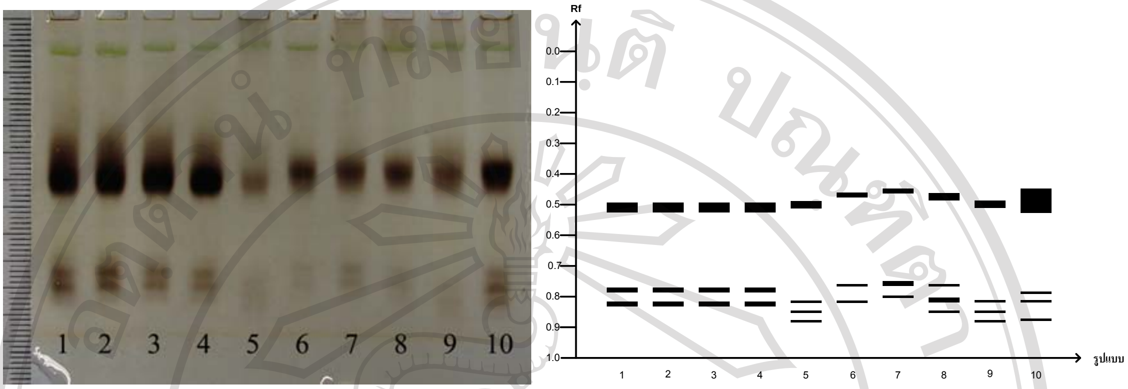
1.4.2 DIA

การศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ DIA พบว่า มีการแสดงออกโดยปรากฏแถบสีแตกต่างกัน มีการแสดงออกของแถบสีทั้งหมด 35 แถบ โดย HKRC01 แสดงแถบสีทั้งหมด 16 แถบ มีรูปแบบของแถบสี 1 รูปแบบ รูปแบบนี้มีแถบสี 4 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.15-0.4 ส่วน HKRC02 แสดงแถบสีทั้งหมด 19 แถบ และมีรูปแบบของแถบสีที่แตกต่างกัน 3 รูปแบบ รูปแบบที่ 1-2 มีแถบสี 3 แถบ และรูปแบบที่ 3 มีแถบสี 4 แถบ มีค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.21 - 0.50 (ภาพที่ 38)

1.4.3 EST

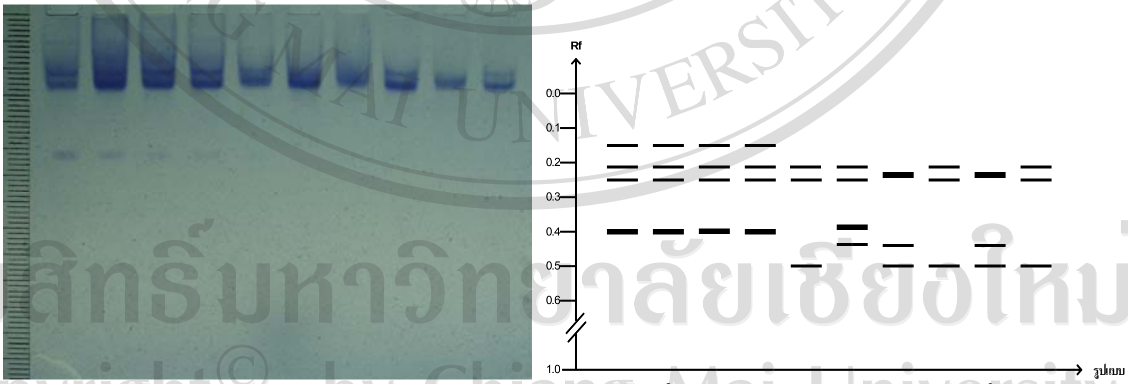
ผลการศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ EST พบว่า เอนไซม์นี้มีการเกิดแถบสีที่แตกต่างกันออกไป มีการแสดงออกของแถบสีทั้งหมด 49 แถบ โดย HKRC01 แสดงแถบสี 24 แถบ มีรูปแบบของแถบสี 1 รูปแบบ รูปแบบนี้มีแถบสี 6 แถบ มีค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.53-1.00 ส่วน HKRC02 แสดงแถบสีทั้งหมด 25 แถบ และมีรูปแบบของแถบสีที่แตกต่างกัน 3 รูปแบบ โดยรูปแบบที่ 1 มีแถบสี 3 แถบ รูปแบบที่ 2 มีแถบสี 6 แถบ และรูปแบบที่ 3 มีแถบสี 7 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.26 - 0.79 (ภาพที่ 39)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ก ข

ภาพที่ 37 แถบสีที่ปรากฏในเอนไซม์ ACP (ก) และแผนภาพไซโมแกรมของ ACP (ข) ใน HKRC01 (1-4) และ HKRC02 (5-10)



ก ข

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 38 แถบสีที่ปรากฏในเอนไซม์ DIA (ก) และแผนภาพไซโมแกรมของ DIA (ข) ใน HKRC01 (1-4) และ HKRC02 (5-10)

1.4.4 GOT

ผลการศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ GOT พบว่า เอนไซม์นี้มีการแสดงออกของแถบสีทั้งหมด 23 แถบ โดย HKRC01 แสดงแถบสีทั้งหมด 8 แถบ มีรูปแบบของแถบสีที่แตกต่างกัน 3 รูปแบบ โดยทุกรูปแบบมีแถบสี 2 แถบ มีค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.20-0.47 ส่วน HKRC02 แสดงแถบสีทั้งหมด 15 แถบ มีรูปแบบของแถบสีที่แตกต่างกัน 4 รูปแบบ โดยรูปแบบที่ 1-2 มีแถบสี 2 แถบ และรูปแบบที่ 3-4 มีแถบสี 3 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.24-0.46 (ภาพที่ 40)

1.4.5 LAP

การศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ LAP พบว่า มีการแสดงออกและเกิดแถบสีแตกต่างกัน 14 แถบ โดย HKRC01 แสดงแถบสีทั้งหมด 4 แถบ มีรูปแบบของแถบสี 1 รูปแบบ รูปแบบละ 1 แถบ มีค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ที่ 0.62 ส่วนHKRC02 แสดงแถบสีทั้งหมด 12 แถบ และมีรูปแบบของแถบสี 1 รูปแบบ ซึ่งมีแถบสี 2 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ที่ 0.51 และ 0.60 (ภาพที่ 41)

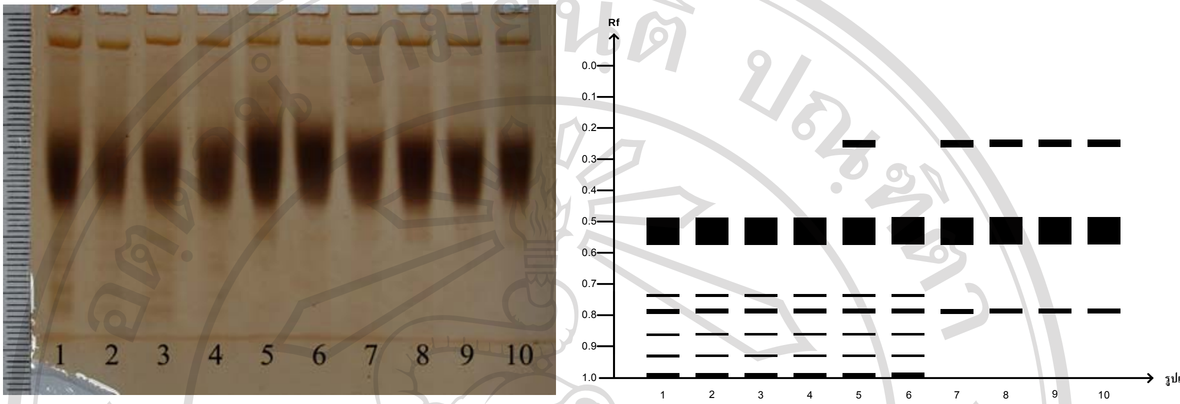
1.4.6 POX

ผลการศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ POX พบว่า เอนไซม์นี้มีการเกิดแถบสีแตกต่างกัน มีการแสดงออกของแถบสีทั้งหมด 22 แถบ โดย HKRC01 แสดงแถบสีทั้งหมด 8 แถบ มีรูปแบบของแถบสี 1 รูปแบบ ซึ่งมีแถบสี 2 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ที่ 0.12 และ 0.45 ส่วน HKRC02 แสดงแถบสีทั้งหมด 15 แถบ มีรูปแบบของแถบสีที่แตกต่าง 4 รูปแบบ โดยรูปแบบที่ 1-3 มีแถบสี 2 แถบ และ รูปแบบที่ 4 มีแถบสี 3 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.10-0.45 (ภาพที่ 42)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

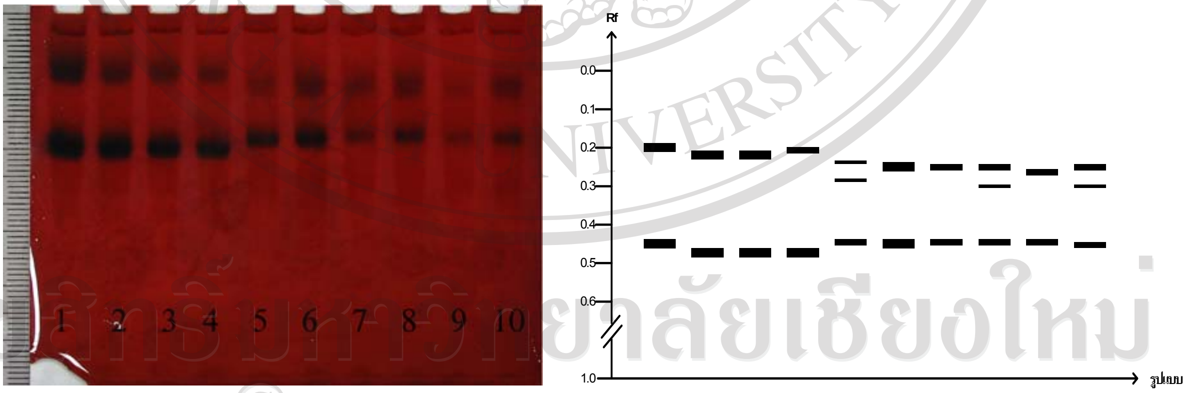
1.4.7 SKD

การศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ SKD พบว่า เอนไซม์นี้มีการเกิดแถบสีที่แตกต่างกัน มีการแสดงออกของแถบสีทั้งหมด 13 แถบ โดย HKRC01 แสดงแถบสีทั้งหมด 12 แถบ มีรูปแบบของแถบสี 1 รูปแบบ ซึ่งมีแถบสี 3 แถบ มีค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.5-0.59 ส่วน HKRC02 แสดงแถบสีทั้งหมด 1 แถบ 1 รูปแบบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ที่ 0.51 (ภาพที่ 43)



ก ข

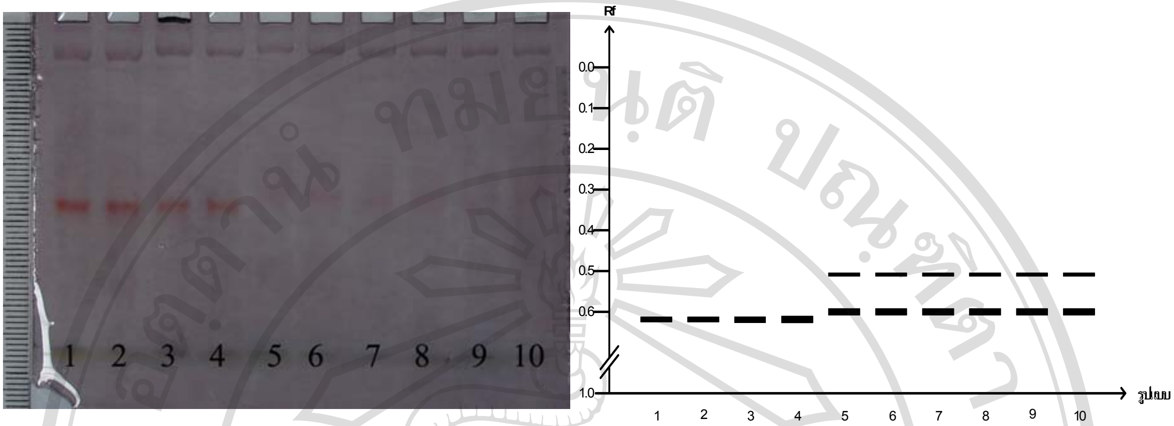
ภาพที่ 39 แถบสีที่ปรากฏในเอนไซม์ EST (ก) และแผนภาพไซโมแกรมของ EST (ข) ใน HKRC01 (1-4) และ HKRC02 (5-10)



ก ข

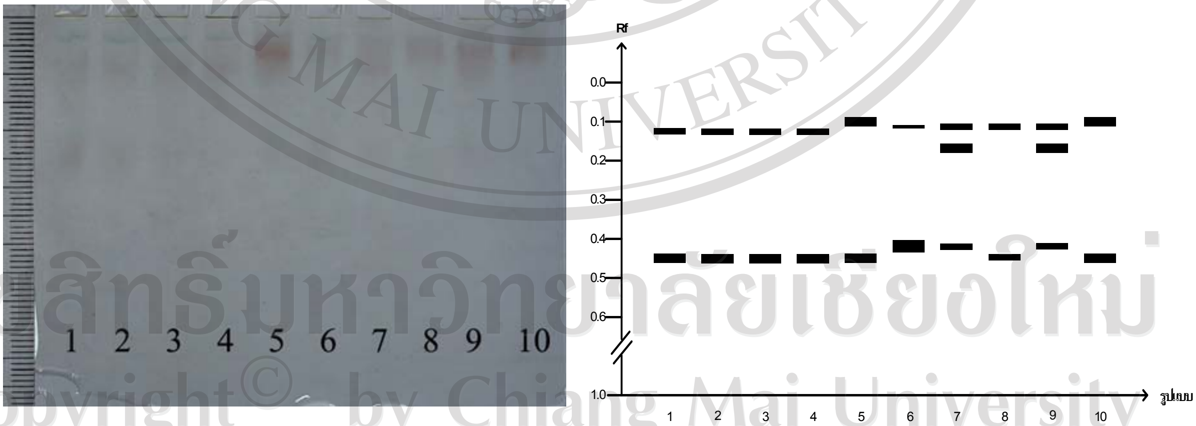
ภาพที่ 40 แถบสีที่ปรากฏในเอนไซม์ GOT (ก) และแผนภาพไซโมแกรมของ GOT (ข) ในแผ่นดินเย็นพันธุ์ HKRC01 (1-4) และ HKRC02 (5-10)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ก ข

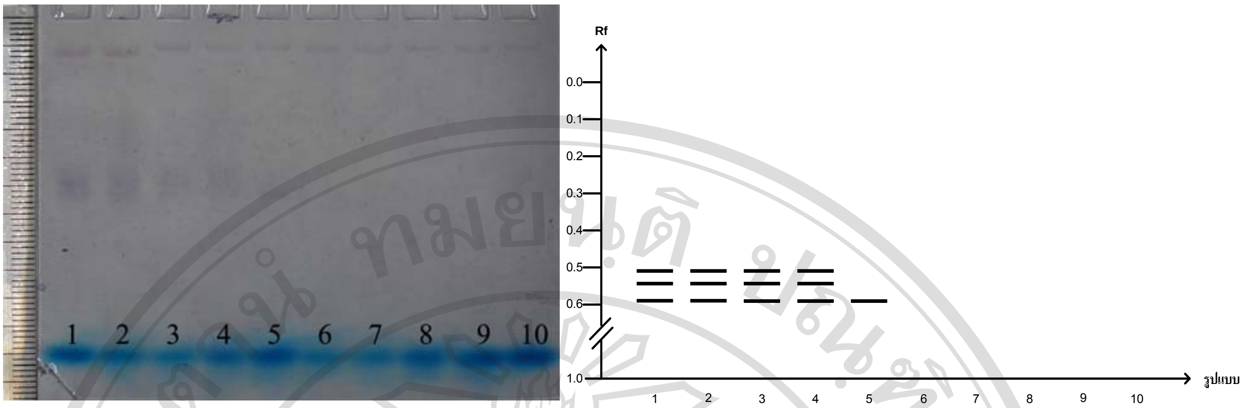
ภาพที่ 41 แถบสีที่ปรากฏในเอนไซม์ LAP (ก) และแผนภาพไซโมแกรมของ LAP (ข) ใน HKRC01 (1-4) และ HKRC02 (5-10)



ก ข

ภาพที่ 42 แถบสีที่ปรากฏในเอนไซม์ POX (ก) และแผนภาพไซโมแกรมของ POX (ข) ใน HKRC01 (1-4) และ HKRC02 (5-10)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

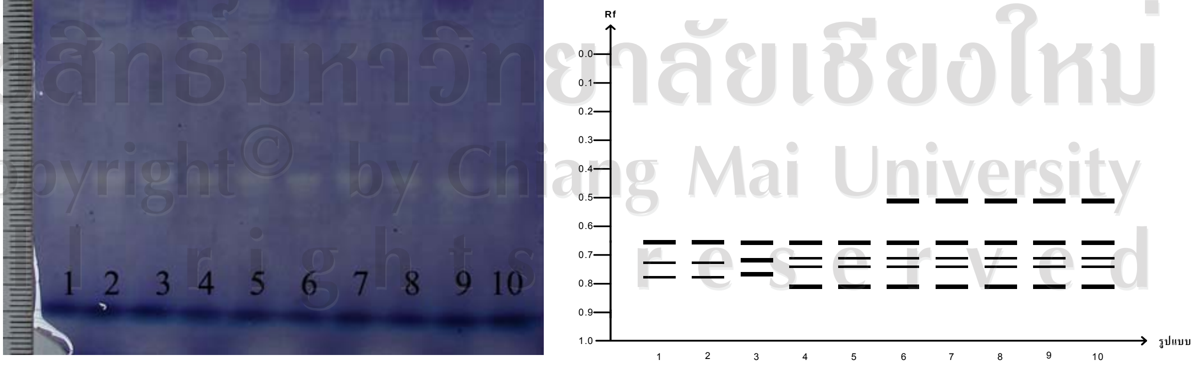


ก ข

ภาพที่ 43 แถบสีที่ปรากฏในเอนไซม์ SKD (ก) และแผนภาพไซโมแกรมของ SKD (ข) ใน HKRC01 (1-4) และ HKRC02 (5-10)

1.4.8 SOD

การศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ SOD พบว่า เอนไซม์นี้มีการเกิดแถบสีแตกต่างกัน มีการแสดงออกของแถบสีทั้งหมด 42 แถบ โดย HKRC01 แสดงแถบสีทั้งหมด 13 แถบ มีรูปแบบของแถบสีที่แตกต่างกัน 3 รูปแบบ โดยรูปแบบที่ 1-2 มีแถบสี 3 แถบ และรูปแบบที่ 3 มีแถบสี 4 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ใน ช่วง 0.66-0.81 ส่วน HKRC02 แสดงแถบสีทั้งหมด 29 แถบ และมีรูปแบบของแถบสีที่แตกต่างกัน 2 รูปแบบ โดยรูปแบบที่ 1 มีแถบสี 3 แถบ และรูปแบบที่ 2 มีแถบสี 4 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.51-0.81 (ภาพที่ 44)

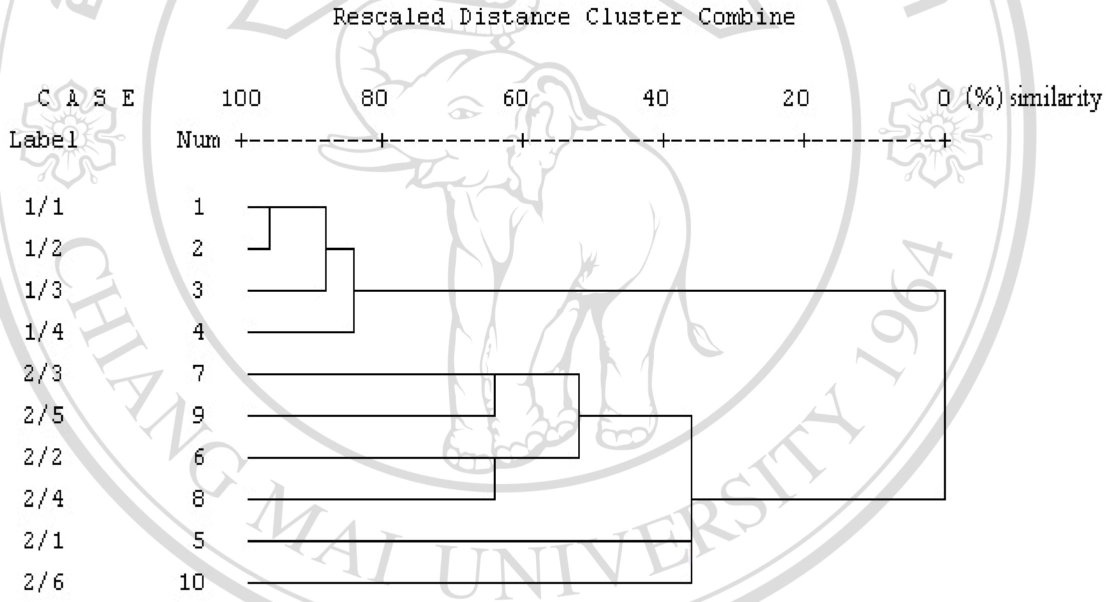


ก ข

ภาพที่44 แถบสีที่ปรากฏในเอนไซม์ SOD (ก) และแผนภาพไซโมแกรมของ SOD (ข) ใน HKRC01 (1-4) และ HKRC02 (5-10)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแผ่นดินเย็นทั้ง 2 รหัส จากรูปแบบไอโซไซม์ 10 ชนิด ด้วย UPGMA cluster analysis โดยใช้โปรแกรม SPSS แล้วแสดงในรูปแบบเดนโดรแกรม (ภาพที่ 45) พบว่าที่ค่าความคล้ายคลึงกัน 30 % สามารถแยกกลุ่มพืชทดลองได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่1 ประกอบด้วยประชากรของ HKRC01 ต้นที่1 - 4 และ กลุ่มที่2 ประกอบด้วยประชากรของ HKRC02 ต้นที่ 5 -10 แต่ที่ระดับความคล้ายคลึงกันสูงขึ้นจะได้กลุ่มย่อยเพิ่มมากขึ้นตามลำดับความคล้ายคลึง เช่นที่ 80% แบ่งได้เป็น 7 กลุ่มย่อย เป็นต้น



ภาพที่ 45 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแผ่นดินเย็น HKRC01 (1-4) และ HKRC02 (5-10)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโต

จากการสังเกตการเจริญเติบโตของแผ่นดินเย็นทั้ง 2 รหัส พบว่า มีลักษณะของการเจริญเติบโตเป็นไปในลักษณะเดียวกันกับไม้ดอกประเภทหัวโดยทั่วไป คือมีการเจริญเติบโตสลับกับการพักตัวเป็นปี ๆ ไป จึงติดตามการเจริญเติบโตของพืชทดลองในลักษณะของวงจรปี ในช่วงของการเจริญเติบโตทางใบและทางดอกตลอดจนช่วงพักตัว จนครบ 1 วงจร สำหรับพืชทดลองรหัส HKRC02 นั้นเป็นต้นพืชที่ออกดอกเป็นปกติในปีที่บันทึกการเจริญเติบโต จึงสามารถเสนอผลของการติดตามการเจริญเติบโตได้ครบวงจรปี ส่วนรหัส HKRC 01 นั้นด้วยเหตุที่เกิดความผิดปกติในการออกดอกอันเป็นผลมาจากฝนตกหนักนอกฤดูกาลทำให้ต้นพืชไม่ออกดอกมีแต่การเจริญเติบโตของใบดังกล่าวแล้วในผลการทดลองที่ 1 จึงทำให้ไม่สามารถบันทึกการเจริญเติบโตจนครบวงจรปีได้ จึงเสนอเพียงช่วงของการเจริญเติบโตของใบ

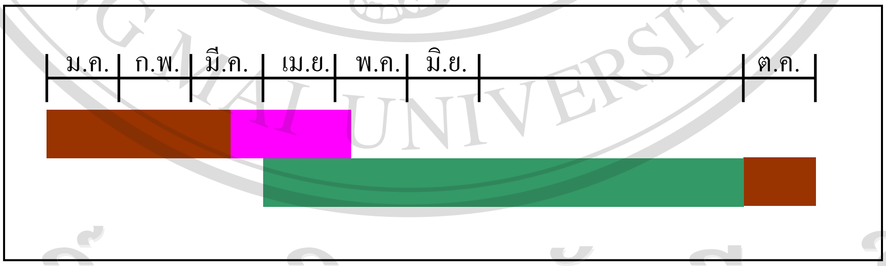
2.1 วงจรการเจริญเติบโต

วงจรการเจริญเติบโตของ HKRC02 เป็นวงจรปี ประกอบด้วยช่วงการเจริญเติบโตของดอกสลับกับการเจริญเติบโตทางใบ และ มีการพักตัว ระยะเวลาของวงจร 1 วงจรครอบคลุมเวลา 1 ปี ดังแสดงไดอะแกรมของวงจรการเจริญเติบโต 1 วงจรปีไว้ในภาพที่ 46 และภาพวาดในภาพที่ 48 ซึ่งต้นพืชเริ่มวงจรการเจริญเติบโตในเดือนมีนาคม ในช่วงนี้หัวอยู่ในดินในสภาพธรรมชาติและผ่านพ้นช่วงของการพักตัวในหน้าแล้งแล้ว หัวนี้มีการงอกของตาซึ่งอยู่ที่ปลายของหัวเจริญออกมาเป็นหน่อที่มีลำต้นสั้นในช่วงกลางเดือนมีนาคม ระยะนี้เป็นระยะที่เริ่มมีการเจริญเติบโตหัวดังกล่าวจึงมีสภาพเป็นหัวแม่ซึ่งให้กำเนิดต้นพืชในวงจรการเจริญเติบโตปัจจุบัน ลำต้นสั้นของหน่อนี้ประกอบด้วยปล้องสั้นซ้อนกันถี่อยู่หลายปล้องที่บริเวณโคน ต่อมาหน่อยืดตัวอย่างรวดเร็วแต่เป็นการยืดตัวเฉพาะปล้องที่ส่วนปลายจำนวน 3-4 ปล้อง ยืดยาวขึ้นเหนือดิน ปล้องที่ยืดยาวเหล่านี้มีใบที่ลดรูปเป็นกาบใบในลักษณะของใบประดับห่อหุ้มอยู่โดยรอบ ต่อมาปล้องที่อยู่ปลายสุดยืดตัวยาวขึ้นมากกว่าปล้องที่อยู่ต่ำลงไป และมีช่อดอกอ่อนแทงพ้นใบประดับที่ห่อหุ้มอยู่ออกมาเจริญเป็นช่อดอกที่สมบรูณ์ 1 ช่อ ในช่วงกลางเดือนเมษายน ในระยะนี้ตุ่มรากที่อยู่รอบ ๆ หัวมีการเจริญงอกออกมาเป็นราก รากนี้ประกอบด้วยรากขนอ่อนเป็นจำนวนมาก หลังจากที่ช่อดอกโผล่ออกมาได้ประมาณ 7 วัน ตาข้างของปล้องที่อยู่บริเวณโคนของลำต้นสั้น บริเวณใกล้กับหัว เริ่มมีการเจริญเติบโตออกมาเป็นหน่อใบ หน่อใบนี้เจริญเติบโตไปเป็นกิ่งข้าง มีการเจริญของปล้องออกมาเป็นปล้องสั้นจำนวนหนึ่งและปล้องยาวจำนวนหนึ่ง ในระยะนี้ช่อดอกมีการเจริญเติบโตมากแล้วและดอกเริ่มโรย เริ่มหมดอายุ กิ่งข้างเจริญมากขึ้นและเจริญเร็วขึ้น ช่อดอกบานเต็มที่ในระยะกลางเดือนเมษายนและโรยในเดือนพฤษภาคม ใบอ่อนซึ่งแทงออกมา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากส่วนปลายของหน่อข้างนั้นเริ่มคลี่ตัวในช่วงกลางเดือนพฤษภาคม และคลี่แผ่นใบออกเป็นใบแบบพับจีบในเดือนมิถุนายน ในช่วงที่ใบเริ่มคลี่มีการสร้างไหลออกมาจากปล้องของลำต้นใต้ดิน ไหลพวกนี้มีมากกว่า 1 ไหล เจริญเติบโตในแนวดิ่ง มีการแตกแขนงของไหลออกมาตามข้อของไหลหลัก เมื่อใบคลี่แผ่นใบเต็มที่ในช่วงเดือนตุลาคมจึงมีการสร้างหัวที่ส่วนปลายของไหลแต่ละอันและแปรรูปเป็นหัวที่มีปล้องสั้นถี่ หัวมีรูปร่างกลม เป็นหัวใหม่หรือเรียกว่า หัวลูก ซึ่งสะสมอาหาร และ เป็นส่วนที่จะเจริญเป็นต้นใหม่ในวงจรการเจริญเติบโตถัดไป เมื่อหัวขยายขนาดเต็มที่แล้ว ใบจึงเริ่มเปลี่ยนสีจากสีเขียวไปเป็นสีเหลืองและเหี่ยวแห้งตายไปพร้อมกับหัวแม่ในช่วงปลายของเดือนตุลาคม เหลือเพียงหัวที่เกิดใหม่หรือหัวลูกอยู่ใต้ดินพร้อมที่จะเข้าสู่ระยะพักตัว

ส่วนต้นพืชรหัส HKRC01 นั้น หัวเริ่มการเจริญเติบโตโดยการแทงตาใบออกมาเป็นหน่อ และเจริญไปเป็นใบในลักษณะเดียวกันกับต้นพืชรหัส HKRC02 แต่ต้นพืชรหัส HKRC01 พักตัวช้ากว่า คือ พักตัวในช่วงเดือนพฤศจิกายนแทนที่จะเป็นเดือนตุลาคม โดยแสดงภาพวาดของการเจริญเจริญเติบโตใน 1 วงจรปีของ HKRC01 ไว้ในภาพที่ 47



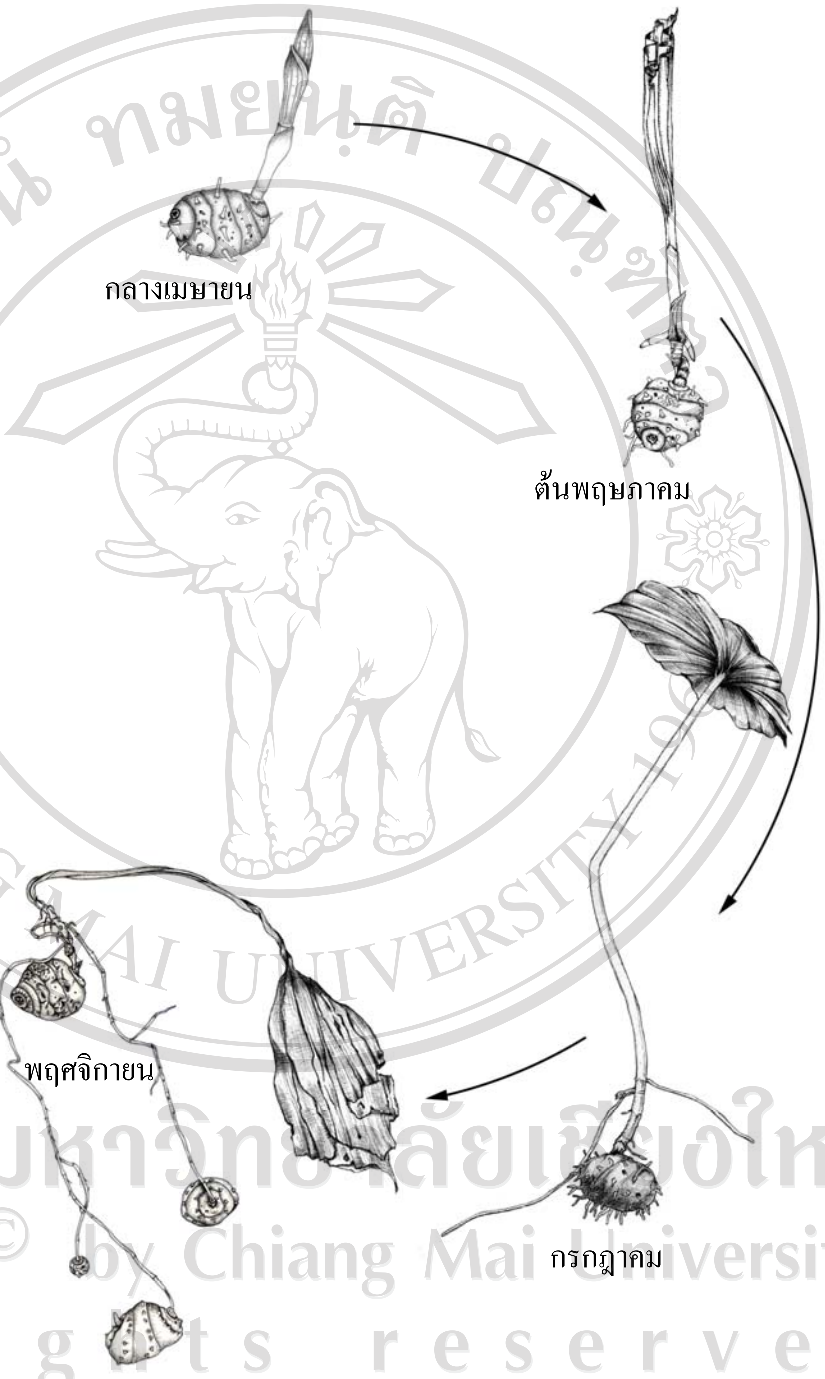
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 46 ไดอะแกรมแสดงช่วงการเจริญเติบโตของแผ่นดินเย็นรหัส HKRC02 ใน 1 วงจรปี

= ช่วงพักตัว (ตุลาคม - กลางมีนาคม)

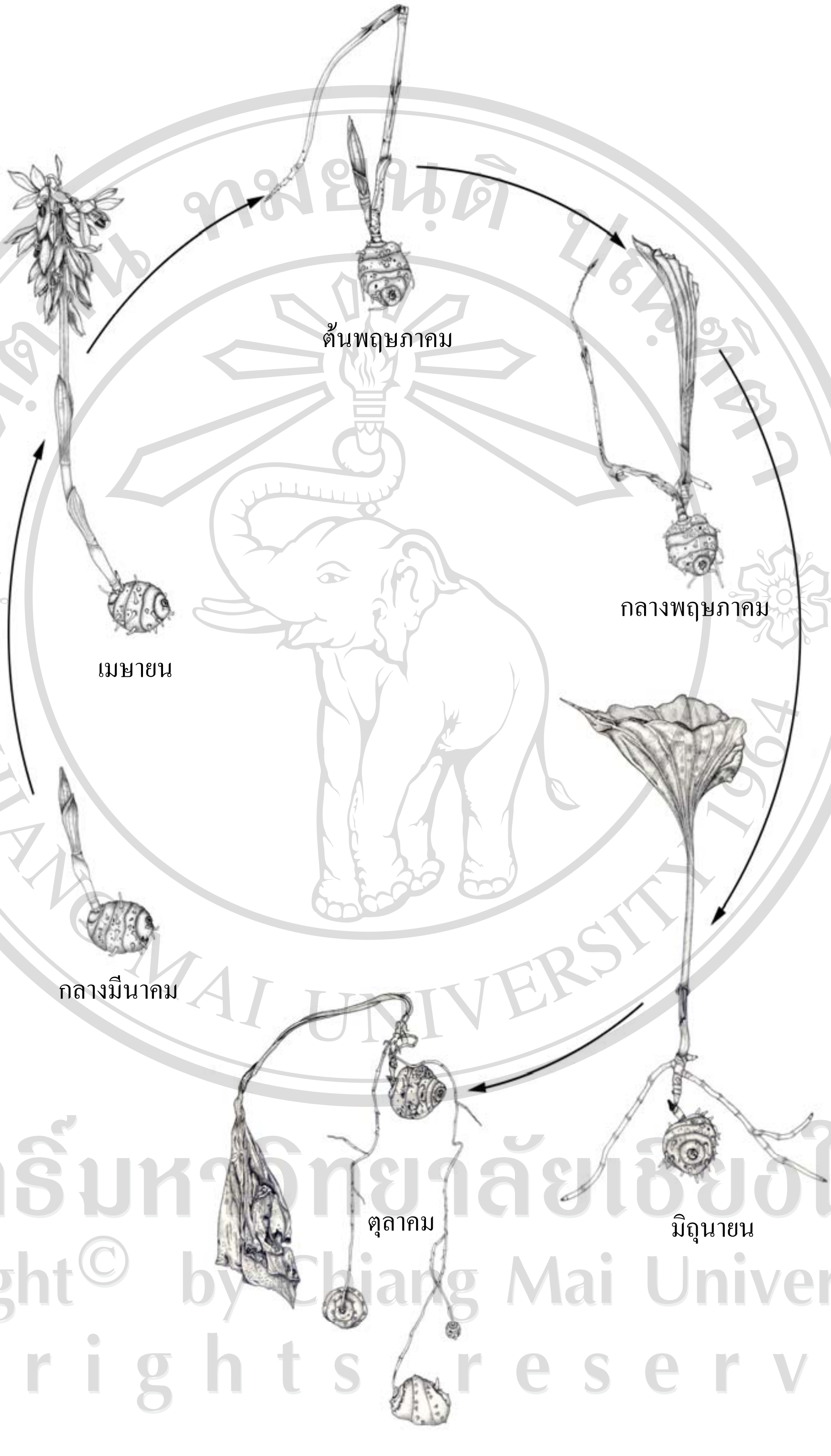
= ช่วงที่มีการเจริญเติบโตทางดอก (กลางมีนาคม - ต้นพฤษภาคม)

= ช่วงที่มีการเจริญเติบโตทางใบ (เมษายน - ตุลาคม)



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 47 ภาพวาดแสดงการเจริญเติบโตทางใบของแผ่นดินเย็นรหัส HKRC01 ในวงจรการเจริญเติบโต 1 วงจรปี



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 48 ภาพวาดแสดงวงจรการเจริญเติบโตของแผ่นดินเย็นรหัส HKRC02 ในวงจรการเจริญเติบโต 1 วงจรปี

2.2 การเจริญเติบโตใน 1 วงจรปี

การศึกษาการเจริญเติบโตของต้นพืชทดลองโดยบันทึกขนาดของส่วนประกอบของต้นพืชในช่วงที่ต้นพืชมีการเจริญเติบโตในแต่ละช่วงของการเจริญเติบโตนั้นเป็นการบันทึกค่าเฉลี่ยจากต้นพืชทดลองจำนวน 5 ต้น จากผลการบันทึกของแผ่นดินเย็นรหัส HKRC02 พบว่าต้นพืชมีจำนวนช่อดอกต่อหัว 1 ช่อ มีเส้นผ่าศูนย์กลางของหน่อแรก ซึ่งบันทึกในช่วงเดือนมีนาคมเป็น 0.60 ซม หน่อสูง 2.20 ซม ช่อดอกซึ่งบันทึกในช่วงเดือนเมษายน คือ ช่อดอกยาว 14.70 ซม เส้นผ่าศูนย์กลางของช่อ 4.20 ซม และเส้นผ่าศูนย์กลางของก้านช่อ 0.37 ซม มีดอกต่อช่อเฉลี่ย 11.5 ดอก เมื่อวัดขนาดของดอกในระยะที่ดอกบานเต็มที่ พบว่าดอกมีความกว้าง × ความยาว 1.70×2.20 ซม

การบันทึกการเจริญเติบโตของใบ พบว่า แผ่นดินเย็นทั้ง 2 รหัส มีจำนวนใบต่อต้น 1 ใบ โดย HKRC02 มีเส้นผ่าศูนย์กลางและความยาวของหน่อใบ ซึ่งวัดในช่วงเดือนเมษายนเป็น 0.36× 1.73 ซม ส่วนขนาดของใบที่เจริญเติบโตเต็มที่ ในช่วงเดือนมิถุนายน มีความกว้าง × ความยาวของแผ่นใบเป็น 11.57 × 16.60 ซม โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางและความยาวของก้านใบเฉลี่ยเป็น 0.45 × 8.70 ซม และมีจำนวนหัวใหม่ต่อต้นเป็น 1.67 หัว โดยหัวมีขนาดความกว้าง × ความยาวของหัวเป็น 2.50 × 2.10 ซม

ส่วนการเจริญเติบโตทางใบของ HKRC01 นั้น พบว่า ในช่วงเดือนเมษายน มีขนาดของหน่อใบ 0.34 × 4.70 ซม หน่อใบนี้มีขนาดใหญ่เต็มที่ในช่วงเดือนกรกฎาคม ความกว้างของแผ่นใบคือ 18.50 ซม ยาว 18.00 ซม และ ความยาวของก้านใบเฉลี่ยเป็น 12.83 ซม เส้นผ่าศูนย์กลางของก้านใบคือ 0.51 ซม ต้นพืชมีหัวใหม่ 3.25 หัวต่อต้น และมีขนาดของหัวเป็น 2.62 × 2.31 ซม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การทดลองที่ 3 การศึกษาการผสมเกสร การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากตาใบ

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.1 การผสมเกสร

การศึกษาความเป็นไปได้ในการผสมพันธุ์แผ่นดินเย็นรหัส HKRC01 และ HKRC02 โดยการถ่ายละอองเกสรด้วยมือ เพื่อให้เกิดการผสมเกสรภายในดอกเดียวกัน แล้วติดตามผลการทดลองโดยการบันทึกดอกที่ผสมติด และติดตามการเจริญเติบโตของฝักตั้งแต่ระยะติดฝักจนถึงฝักแก่ โดยแบ่งเวลาผสมออกเป็น4 ช่วงเวลาด้วยกัน คือ 7.00-8.00 น. 8.00-9.00 น.

9.00-10.00 น. และ 10.00-11.00 น. กระทำได้แต่เพียงในรหัส HKRC02 ส่วนในรหัส HKRC01 ทำไม่ได้ เนื่องจากแผ่นดินเย็นรหัสนี้ไม่ออกดอกดังได้กล่าวถึงเหตุผลไปแล้วในขั้นต้น ผลการทดลองคือ ดอกของ HKRC02 ที่ได้รับการผสมเกสรสามารถติดฝักได้ในทุกกรรมวิธี และฝักสามารถเจริญเติบโตได้จนถึงระยะฝักแก่ มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดเป็น 100 % ในทุกกรรมวิธี

สำหรับการติดตามการเจริญเติบโตของฝัก พบว่า หลังจากผสมเกสรไปแล้ว 3 ชั่วโมง กลีบดอกจะเริ่มหุบ ฝักเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และฝักแก่ภายใน 15 วันนับจากวันผสมเกสร ฝักแตกเมื่อฝักมีอายุ 17 วันหลังผสมเกสร ขนาดของฝักเมื่อแก่เต็มที่ มีขนาดเฉลี่ย 0.95 × 1.76 ซม.

3.2 การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

ในการศึกษาการขยายพันธุ์ของแผ่นดินเย็นในสภาพปลอดเชื้อโดยการเพาะฝักอ่อนนั้นเป็นการนำเมล็ดจากฝักของ HKRC02 ที่มีอายุแตกต่างกัน คือ 3, 5, 10 และ 15 วันหลังจากผสมเกสรมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลง (CMU 1) ก่อนที่จะนำเมล็ดมาเพาะ ได้ตรวจสอบลักษณะของเมล็ดจากฝักในกรรมวิธีต่าง ๆ ก่อน โดยดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ฝักที่มีอายุ 3 วันนั้น เมล็ดยังไม่มีการเจริญเติบโต เซลล์ที่อยู่ภายในฝักยังมีสภาพเป็นเซลล์ในระยะไซโกตอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวที่มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ ดังแสดงในภาพที่ 49 A สำหรับฝักที่มีอายุ 5 และ 10 วันนั้นภายในมีไข่อ่อนบรรจุอยู่มากมายเกาะกันอยู่เป็นกลุ่ม (ภาพที่ 49 B และ 49 C) ส่วนเมล็ดจากฝักที่อายุ 15 วัน ซึ่งเป็นฝักที่แก่เต็มที่นั้น เมล็ดที่อยู่ภายในฝักเป็นเมล็ดที่เจริญเต็มที่แล้ว มีเอ็มบริโอที่มีลักษณะกลมรีสีน้ำตาลเข้มบรรจุอยู่ภายในเปลือกหุ้มเมล็ดที่มีลักษณะคล้ายร่างแห (ภาพที่ 49 D)

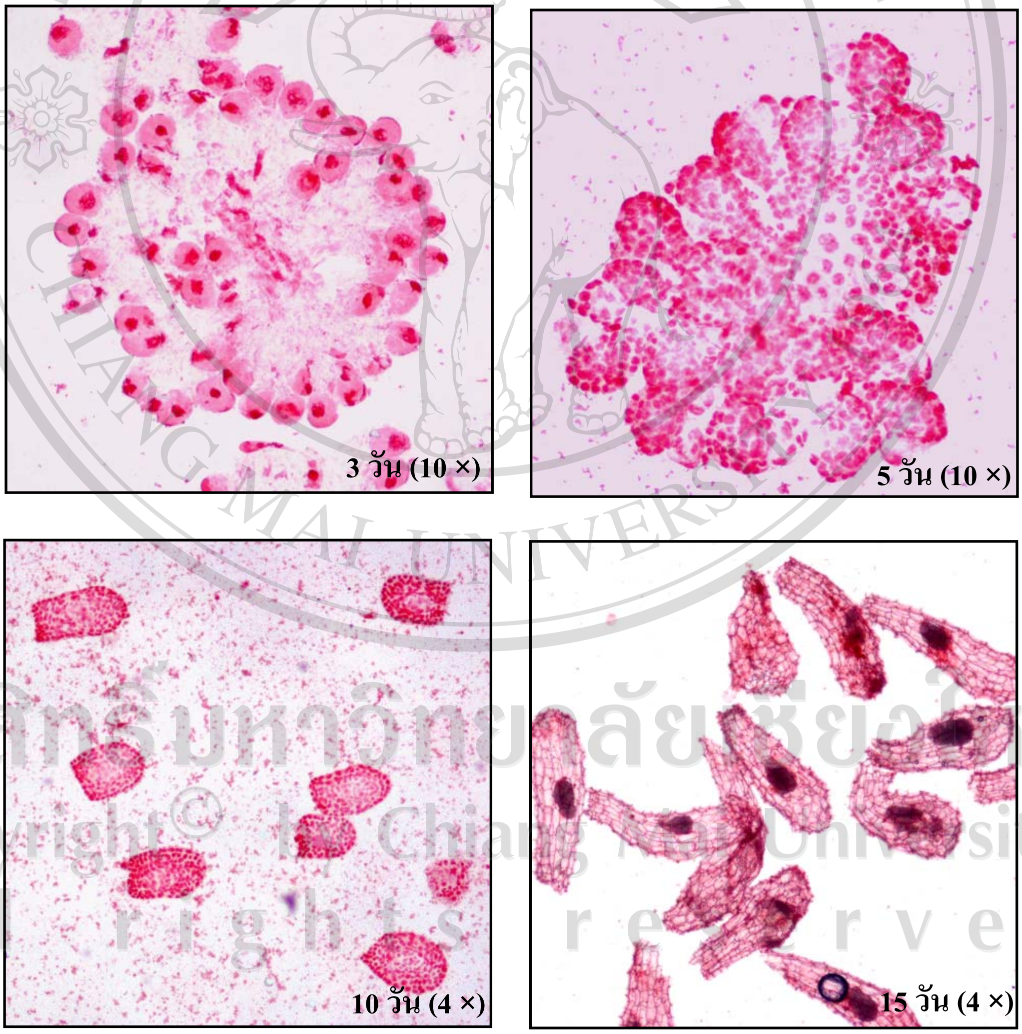
เมื่อนำเอาเมล็ดหรือเซลล์ที่มีอายุแตกต่างกันจากฝักอายุต่าง ๆ ไปเพาะเลี้ยง แล้วติดตามการเจริญ พบว่าภายในเวลา 9 เดือนของการเพาะเลี้ยง ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงที่บ่งบอกถึงการเจริญของเมล็ดและเนื้อเยื่อเหล่านั้น จึงสุ่มเมล็ดภายในขวดที่เพาะเลี้ยงไปตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ด โดยการย้อมเมล็ดเหล่านั้นด้วย 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride (TTC) แล้วนำเมล็ดไปตรวจสอบความมีชีวิตภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากการตรวจสอบพบว่าเมล็ดของพืชทดลองไม่ติดสี ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมล็ดเหล่านั้นเป็นเมล็ดที่ไม่มีชีวิต ดังแสดงในภาพที่ 50

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากตาใบ

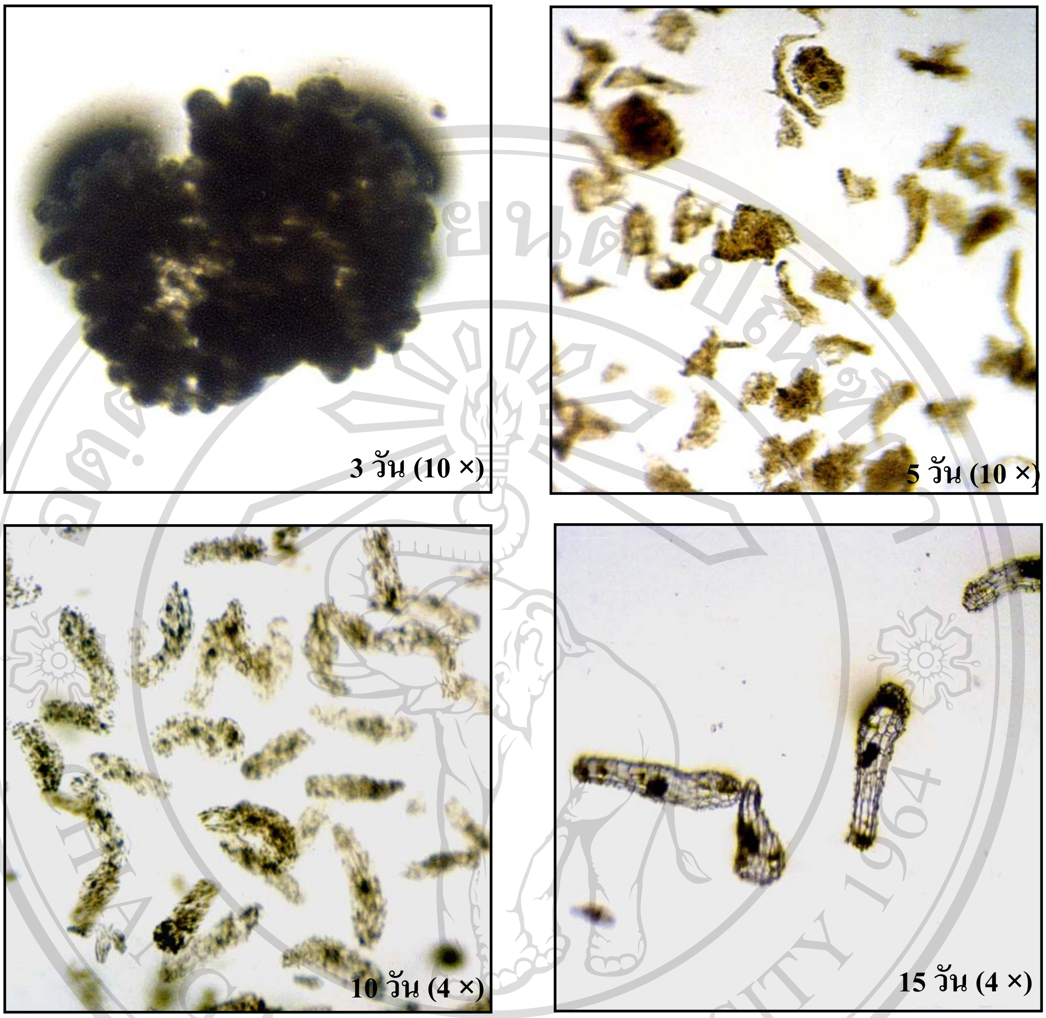
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนตาใบเป็นการเพาะเลี้ยงที่นำตาใบของพืชทดลองรหัส HKRC02 มาจากต้นพืชทดลองที่ปลูกเลี้ยงในสภาพธรรมชาติ เมื่อตัดตายอดมาจากต้นพืชแล้วนำมาทำความสะอาดเบื้องต้นโดยล้างเนื้อเยื่อด้วยน้ำยาล้างจานเจือจาง พร้อมทั้งแปรงเศษดินที่ติดอยู่ออกให้หมด จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยา clorox ความเข้มข้น 15% นาน 15 นาที ก่อน

นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร VW ดัดแปลง (CMU1) จากการเพาะเลี้ยงดังกล่าวพบว่า หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ เนื้อเยื่อตายอดในหลอดเพาะเลี้ยงทั้งหมดเกิดการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์คิดเป็น 100 % ดังนั้นจึงได้ทดลองซ้ำ โดยการเก็บตัวอย่างมาอีกครั้งแล้วเพิ่มระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อเป็น 20 และ 25 นาที จากการติดตามพบว่า การเพิ่มระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อดังกล่าวสามารถช่วยลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้ และการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ลดลงเหลือเพียง 40 % แต่อย่างไรก็ตามเนื้อเยื่อของตาใบที่เพาะเลี้ยงและไม่เกิดการปนเปื้อนนั้นก็ไม่สามารถเจริญต่อในอาหารเพาะเลี้ยงได้ เนื้อเยื่อดังกล่าวมีลักษณะซีดและเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหลังจากเพาะเลี้ยงไปได้ 4 สัปดาห์ ดังแสดงลักษณะของเนื้อเยื่อตาใบดังกล่าวในภาพที่ 52

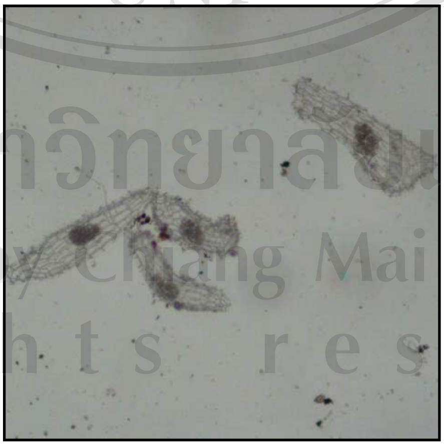


ภาพที่ 49 เมล็ดของ HKRC02 จากฝักที่มีอายุฝักต่างกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

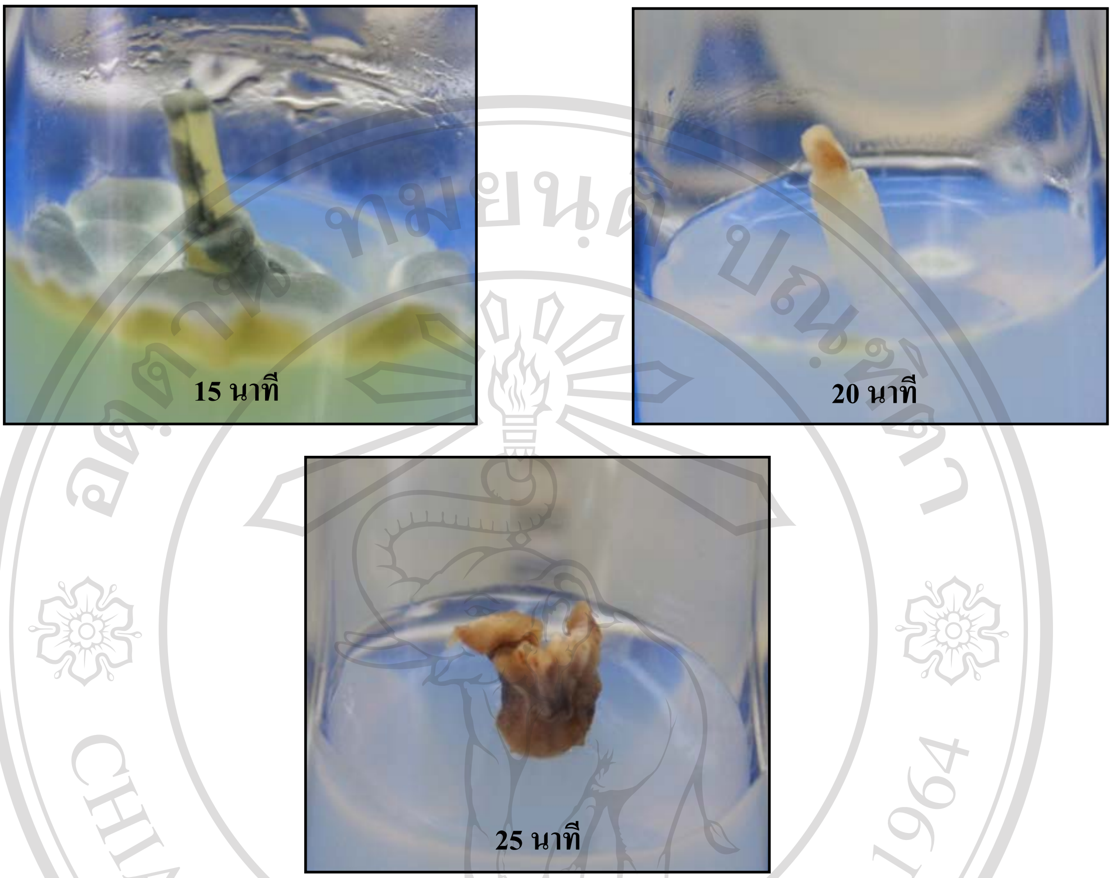


ภาพที่ 50 เมล็ดของ HKRC02 จากฝักที่มีอายุต่างกันเพาะเลี้ยงได้ 9 เดือน



ภาพที่ 51 เมล็ดของ HKRC02 จากฝักอายุ 15 วันหลังจากย้อมสี TTC

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 52 เนื้อเยื่อตาใบในกรรมวิธีการฆ่าเชื้อก่อนเพาะเลี้ยงเป็นเวลานานแตกต่างกัน

ด้วยเหตุที่เกิดปัญหาเรื่องการปนเปื้อนซึ่งจะต้องแก้ไขโดยการปรับวิธีการทำความสะอาดชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อก่อนการเพาะเลี้ยงดังกล่าวแล้วนั้น การวางแผนการทดลองเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวพบว่า จะต้องใช้ตาใบของพืชทดลองอีกจำนวนหนึ่ง ซึ่งต้นพืชที่ปลูกเลี้ยงในสภาพธรรมชาตินั้นมีไม่เพียงพอจึงได้ปรับวิธีการทดลองโดยเปลี่ยนตำแหน่งของเนื้อเยื่อที่จะนำมาเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อกิ่งก้านเช่นกัน คือชิ้นส่วนของปลายไหลของต้นพืชซึ่งน่าจะทำความสะอาดก่อนการเพาะเลี้ยงได้ง่ายกว่า จึงใช้เนื้อเยื่อปลายไหลของต้นพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นวัสดุทดลองแทนตาใบ ปลายไหลที่ใช้นี้เป็นปลายไหลของต้นพืชรหัส HKRC02

วิธีการทดลองคือ ตัดชิ้นส่วนปลายไหลมาทำความสะอาดตามขั้นตอนเดียวกันกับที่กระทำกับตาใบ แล้วนำไปเลี้ยงลงบนอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลง (CMU1) ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิดได้แก่ 2, 4-D และ TDZ โดยให้ความเข้มข้นของ 2, 4-D เป็น 0, 0.5, 1 และ 2 มล/ล และความเข้มข้นของ TDZ คือ 0, 1 และ 2 มล/ล หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 17 สัปดาห์ พบว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชิ้นส่วนปลายไหลที่เลี้ยงลงบนอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลง (CMU1) ที่เติมเฉพาะ 2, 4-D นั้น พบว่า ความเข้มข้นของ 2,4-D ที่แตกต่างกันมีผลทำให้จำนวนของไหลและความกว้างไหลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 9) โดยที่เมื่อพิจารณ ความเข้มข้นของ 2, 4-D ที่เพิ่มมากขึ้นมีผลทำให้ค่าเฉลี่ยของจำนวนไหลลดลง และเมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ 2, 4-D กลับพบว่ามีจำนวนไหลเฉลี่ยเกิดขึ้นมากที่สุดคือ 17 ไหล และการตอบสนองในด้านคุณภาพของไหลในลักษณะของความยาวของไหลนั้นเป็นไปในทิศทางเดียวกัน ถึงแม้ว่าผลการวิเคราะห์จะแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม แต่มีแนวโน้มให้เห็นว่าการไม่ใส่ 2, 4-D ได้ไหลยาวกว่า ส่วนการตอบสนองต่อความเข้มข้นของ 2, 4-D นั้น พบว่า ถ้าใส่มากความยาวของไหลสั้นลงกว่าเมื่อใส่ในความเข้มข้นต่ำ สำหรับผลของสารที่มีต่อความกว้างของไหลนั้นพบว่า 2, 4-D มีผลและให้ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติคือ การใส่สารให้ผลดีกว่าการไม่ใส่ และถ้าใส่ในความเข้มข้นต่ำจะให้ผลดีกว่า สำหรับผลของ TDZ นั้น พบว่า ความเข้มข้นของ TDZ ไม่มีผลต่อจำนวนไหล ต่อชิ้นส่วน ความกว้างและความยาวของไหลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 9)

ส่วนความสัมพันธ์ของ 2, 4-D กับ TDZ พบว่า จำนวน ความกว้าง และ ความยาวของไหล มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งหมด โดยที่ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิดมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของไหลไปในทิศทางเดียวกันโดยที่ TDZ เมื่ออยู่ในอาหารเพาะเลี้ยงโดยไม่เติม 2,4-D นั้นไม่แสดงผลที่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่ออยู่ร่วมกับ 2,4-D กลับมีผลแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญไปในทิศทางที่ส่งเสริมผลของ 2,4-D

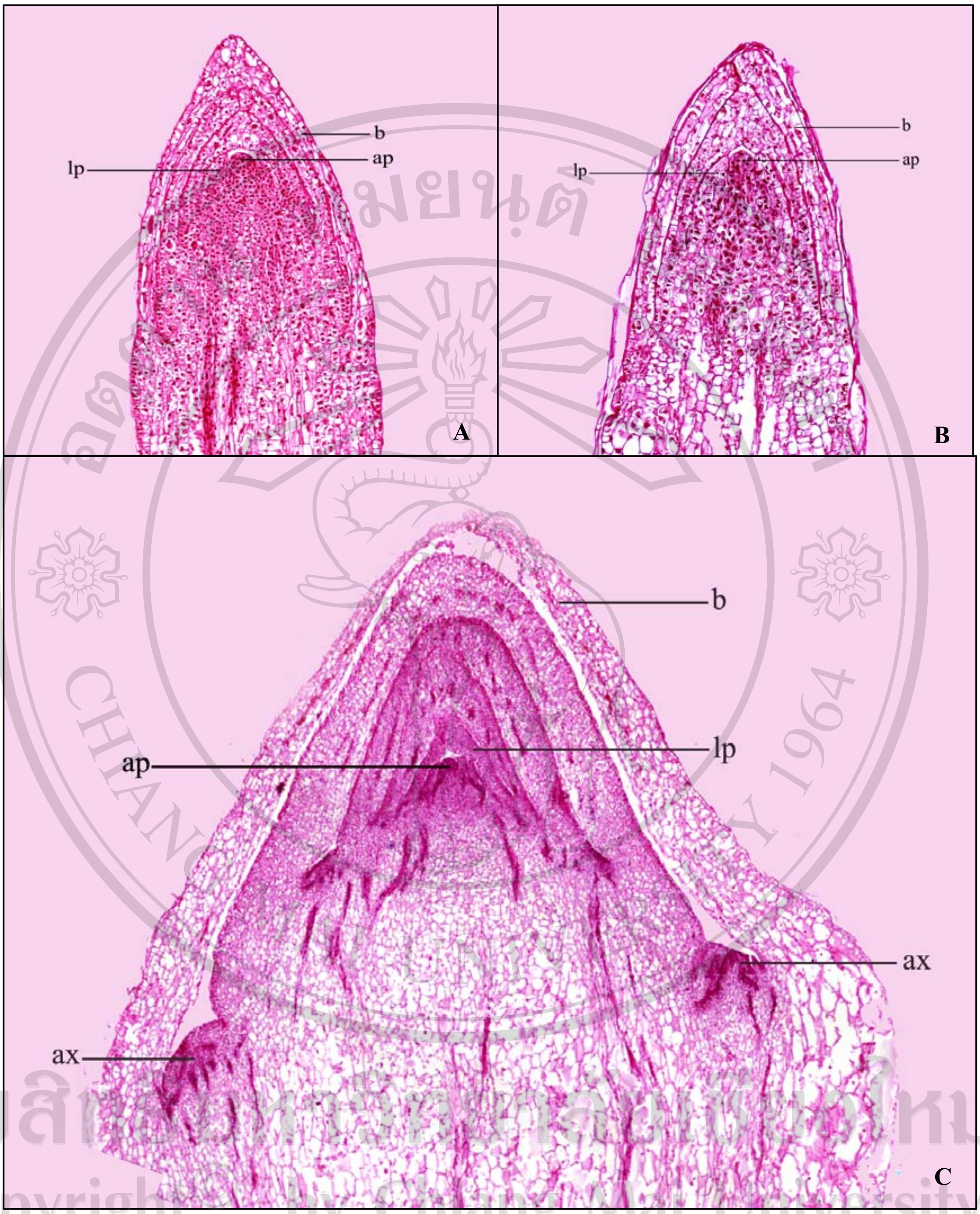
จากการสังเกตลักษณะของการเจริญของไหล พบว่า กรรมวิธีทุกกรรมวิธีไม่มีผลในการชักนำเนื้อเยื่อปลายไหลให้เจริญไปเป็นหน่อหรือต้นอ่อน จึงนำเนื้อเยื่อของชิ้นส่วนปลายไหลที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งเป็นเวลา 17 สัปดาห์ไปศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยา และจากชิ้นส่วนที่นำไปตัดตามยาวนั้นเห็นว่าเนื้อเยื่อปลายไหลของกรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่มีการใส่ 2, 4-D และ TDZ มีลักษณะเป็นเนื้อเยื่อปลายยอดที่ไม่มีการแตกยอด และมีลักษณะคล้ายคลึงกับเนื้อเยื่อปลายยอดของไหลซึ่งไม่ได้ผ่านกรรมวิธีใด ๆ (ภาพที่ 53 A และ B) แต่เมื่อดูจากเนื้อเยื่อปลายไหลตัดตามยาวของกรรมวิธีที่มีการใส่ 2, 4-D และ TDZ (0.5 + 2) พบว่า ปลายไหลมีการขยายขนาดออกทางด้านข้าง ปลายยอดยังคงมีลักษณะเป็นตาใบซึ่งมีเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดที่สมบูรณ์ แต่พบว่ามีการแตกตาข้างที่ซอกของกาบใบที่หุ้มตายอดด้วย ในจำนวนที่มากกว่า 1 ตา (ภาพที่ 53 C)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 9 จำนวนไหลต่อชิ้นส่วน ความกว้างของไหล และ ความยาวของไหล ของHKRC02 ที่นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลง (CMU1) ซึ่งเติม 2, 4-D และ TDZ ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

ปัจจัย (factor)		จำนวนไหลต่อชิ้นส่วน	ความกว้างของไหล	ความยาวของไหล
2,4-D (มล/ล)				
0		17.00a	0.22c	2.36
0.5		4.00bc	0.394b	0.39
1		7.60b	0.55ab	0.66
2		3.60c	0.62a	0.71
F-test		*	*	ns
TDZ (มล./ล) (B)				
0		17.00	0.22	2.36
1		10.00	0.25	1.42
2		4.80	0.34	1.98
F-test		ns	ns	ns
Interaction A × B				
2,4-D (มล.)	TDZ (มล.)			
0	0	17.00^{a}	0.22^{e}	2.36^{a}
0	1	10.00^{b}	0.25^{de}	1.42^{abc}
0	2	4.80^{cd}	0.34^{cde}	1.98^{ab}
0.5	0	4.00^{cd}	0.39^{cde}	0.39^{c}
0.5	1	6.20^{bcd}	0.68^{ab}	0.96^{bc}
0.5	2	3.00^{d}	0.70^{a}	0.98^{b}
1	0	7.60^{bc}	0.55^{abc}	0.66^{c}
1	1	9.40^{b}	0.51^{abc}	0.62^{c}
1	2	3.20^{d}	0.46^{bcd}	0.44^{c}
2	0	3.60^{cd}	0.62^{ab}	0.71^{c}
2	1	6.2^{bcd}	0.68^{ab}	0.72^{c}
2	2	3.80^{cd}	0.68^{ab}	0.68^{c}
F-test		*	*	*
CV (%)		52.18	34.55	84.86

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



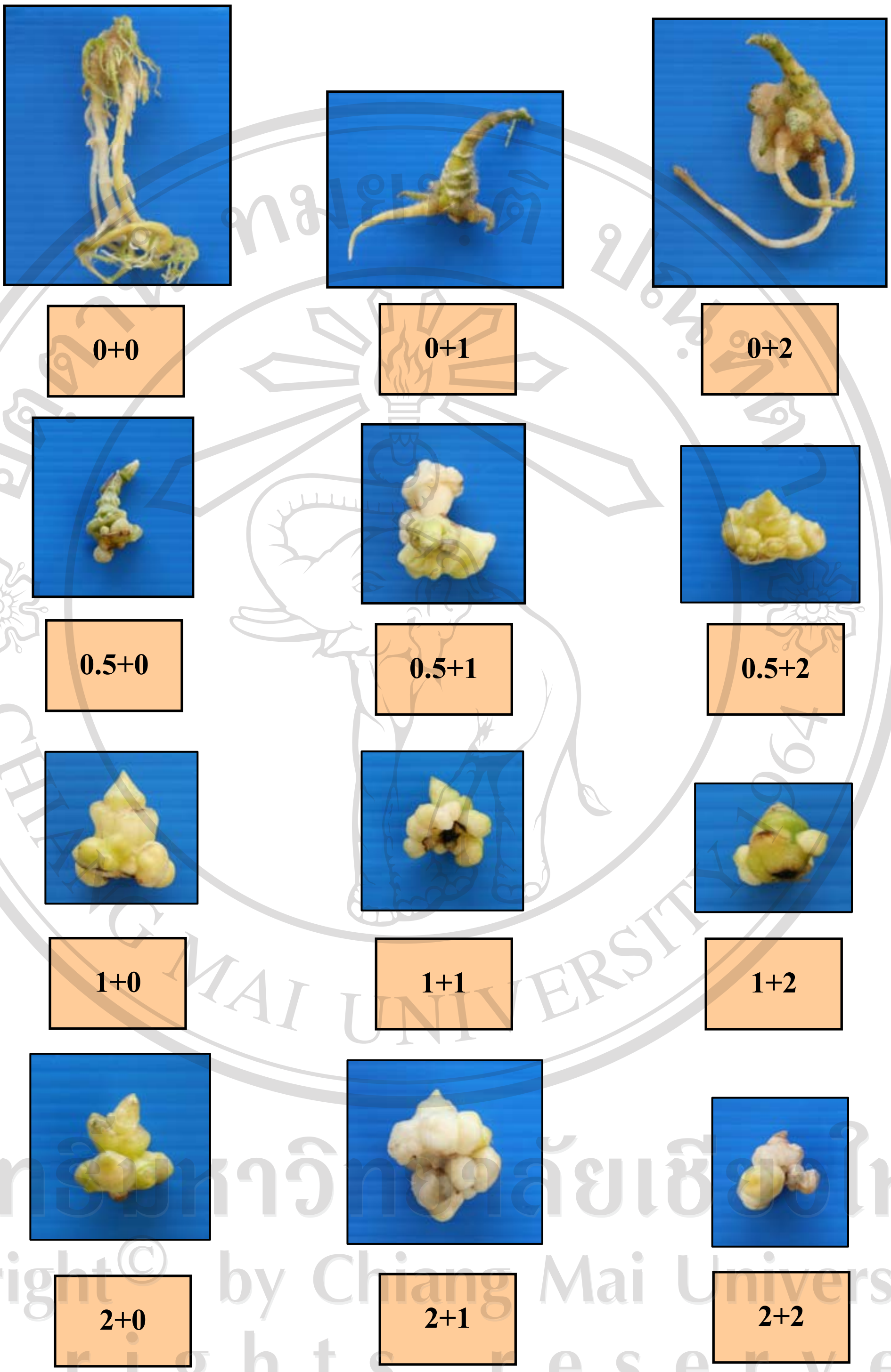
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 53 ภาคตัดตามยาวของชิ้นส่วนปลายไหลที่เลี้ยงบนอาหารแข็งนาน 17 สัปดาห์

A = ปลายไหลก่อนเพาะเลี้ยง B = ปลายไหลในกรรมวิธีควบคุม

C = ปลายไหลในกรรมวิธี 2, 4-D + TDZ (0.5 + 2)

ap = apical meristem ; ax = axillary bud ; b = bract ; lp = leaf primodia



ภาพที่ 54 ลักษณะของชิ้นส่วนของปลายไหลที่มีการเจริญเติบโตแตกต่างกันในกรรมวิธีการทดสอบผลของ 2, 4-D และ TDZ (ตัวเลขในวงเล็บคือความเข้มข้นเป็น มล/ล ของ 2, 4-D + TDZ)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved