บทที่ 3

ผลการทดลอง

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

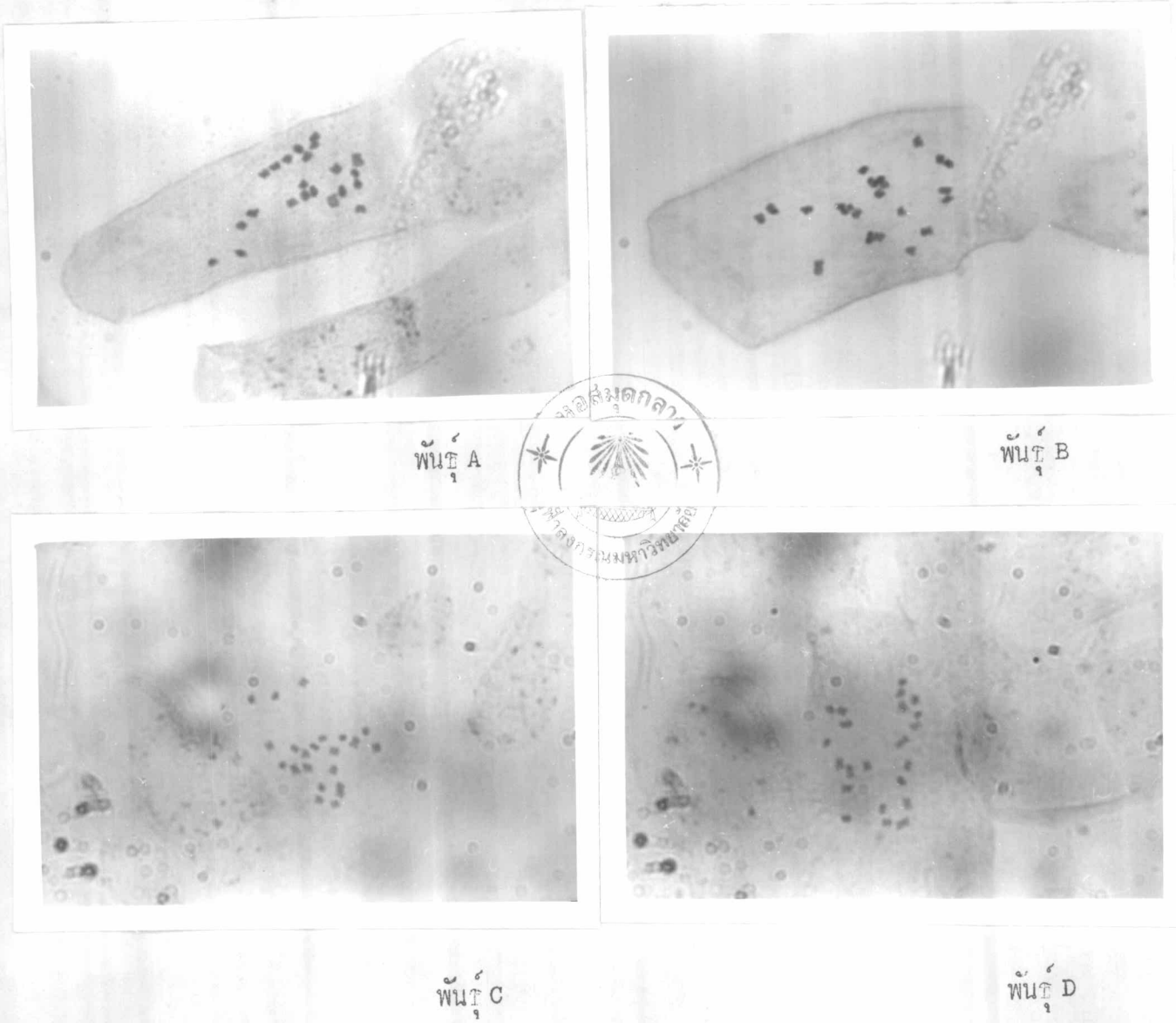
1. การศึกษาทางด้านไซโตเจเนติค

การนับโครโมโซมจากปลายราก

การศึกษาโครโมโซมในถั่วฝักยาว (Vigna sesquipedalis) พันธุ์ A, B C และ D ถั่วนั่ง (Vigna sinensis) พันธุ์ L และ V และในลูกผสม 16 คู่นั้น ค่อนข้างยาก เนื่องจากมีขนาดเล็ก จำนวนที่นับได้พบว่าเท่ากันหมด คือ มี 22 แท่ง ดังภาพที่ 3 ถึง 9 ลักษณะโครโมโซมของถั่วฝักยาว ถั่วนั่งและลูกผสมคล้ายคลึงกันมาก คือ โครโมโซมแต่ละแท่งเป็นแบบ submetacentric chromosome โดยมี centromere แบบ submedian มีโครโมโซมใหญ่อยู่ 2 แท่ง นอกนั้นเป็นขนาดกลางและขนาดเล็ก (ภาพที่ 5 หน้า 13)

การจับคู่ของโครโมโซมใน microsporocyte

การศึกษาโครโมโซมในระยะต่าง ๆ ของ meiosis ในถั่วฝักยาวพันธุ์ A, B, C และ D กับถั่วนั่งพันธุ์ L และ V และในลูกผสม 16 คู่ พบว่าการเข้าคู่ของโครโมโซมที่เหมือนกันเป็นไปอย่างปกติ คือ มี 11 bivalent ดังภาพที่ 10 ถึง 15 แต่พฤติกรรมของการเข้าคู่กันเป็น ring bivalentและ rod bivalent แตกต่างกันไปตามพันธุ์ดังตารางที่ 1 และ 2 จากตาราง 1(หน้า 24) พันธุ์ A และ C มีจำนวน ring bivalent เฉลี่ย 5.80 และ 5.72 ตามลำดับ rod bivalent เฉลี่ย 5.20 และ 5.28 แต่มีจำนวน chiasmata ต่อ bivalent เท่ากันคือ 1.52 พันธุ์ B มีจำนวน ring bivalent เฉลี่ย 5.64 rod bivalent เฉลี่ย 5.28 และ chiasmata ต่อ bivalent เท่ากับ 1.51 ส่วนพันธุ์ D มีจำนวน ring bivalent เฉลี่ยต่ำกว่าถั่วฝักยาวพันธุ์อื่น มี rod bivalent เฉลี่ยสูงกว่า คือเท่า



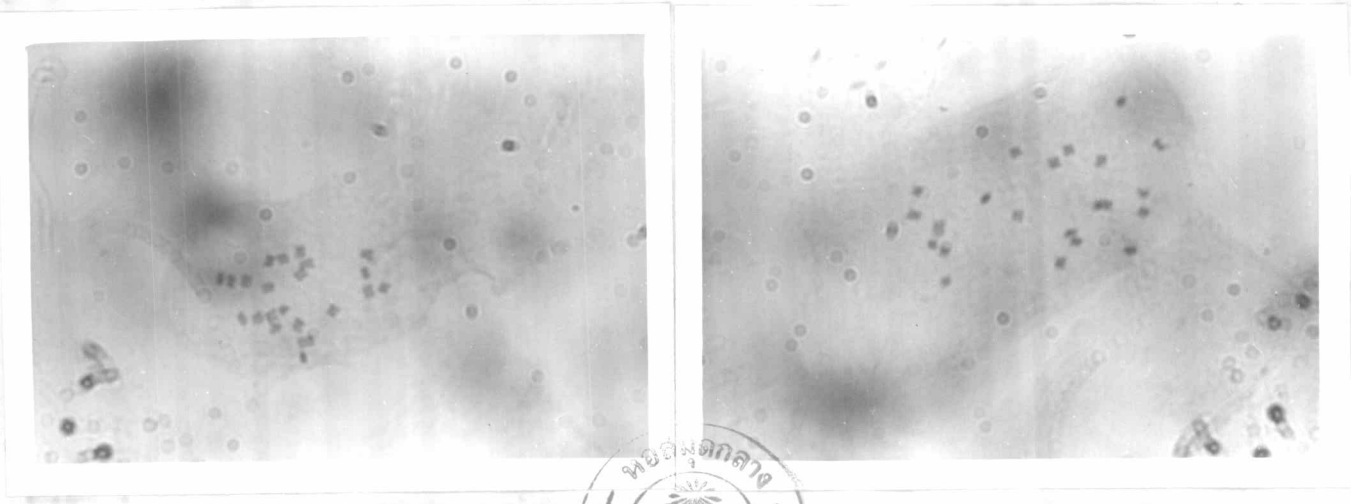
พันธุ์ A

พันธุ์ B

พันธุ์ C

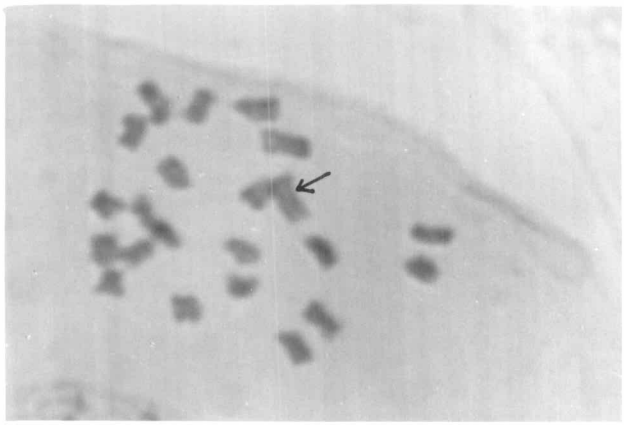
พันธุ์ D

ภาพที่ 3 จำนวนโครโมโซมระยะ metaphase จากเซลปลายรากของถั่วฝักยาว ทั้ง 4 พันธุ์ (2n = 22) (X 2500)

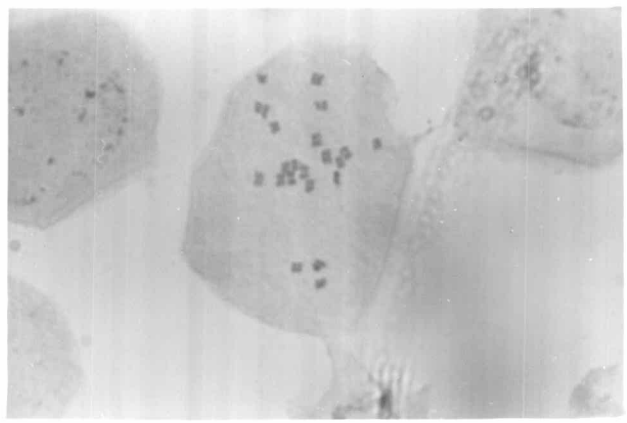


พันธุ์ L พันธุ์ V

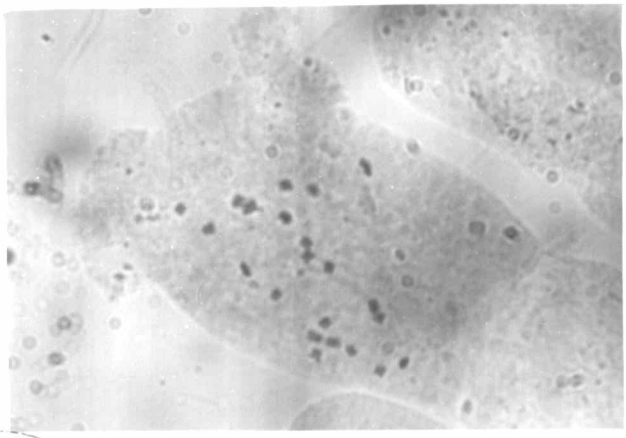
ภาพที่ 4 จำนวนโครโมโซมระยะ metaphase จากเซลปลายรากของถั่วนั่งพันธุ์ L และ V (2n = 22) (X 2500)



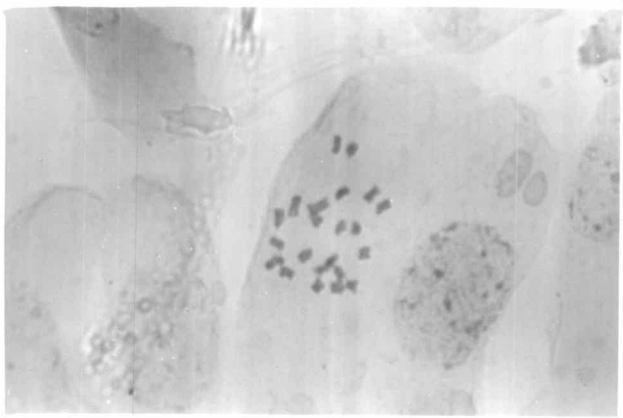
ภาพที่ 5 ลักษณะของโครโมโซมระยะ metaphase จากเซลปลายรากแสดงตำแหน่ง centromere แบบ submedian (X 5500)



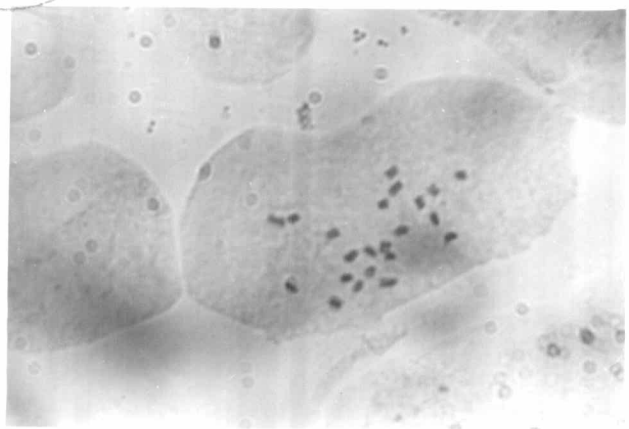
AXL



AXV



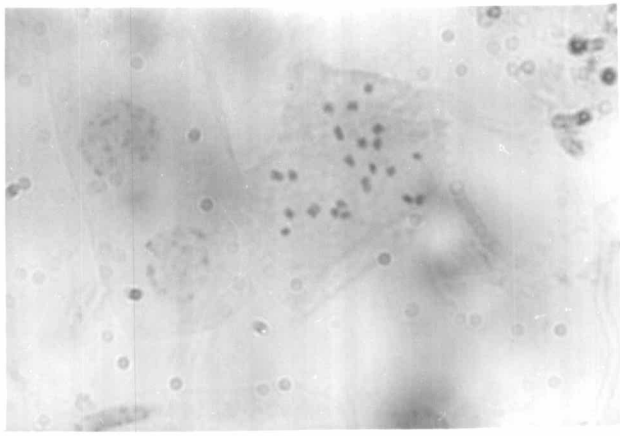
BXL



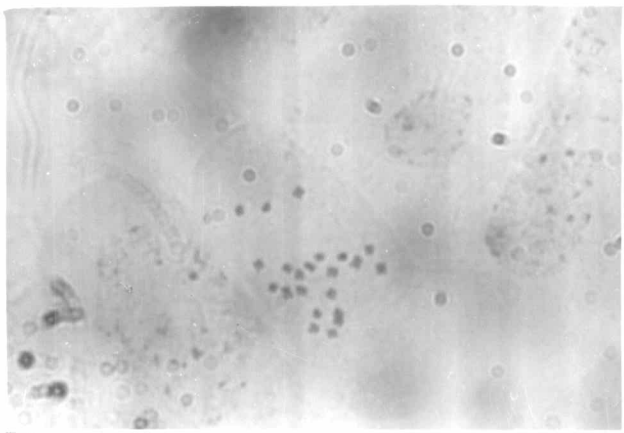
BXV

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 6 จำนวนโครโมโซมระยะ metaphase จากเซลปลายรากของลูกผสม AXL, AXV, BXL และ BXV (2n = 22) (X 2500)

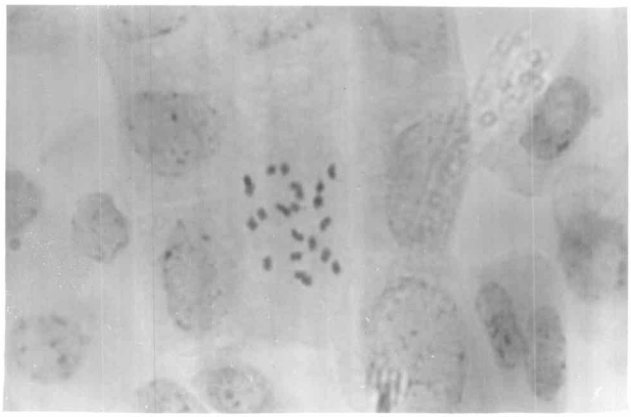


CXL

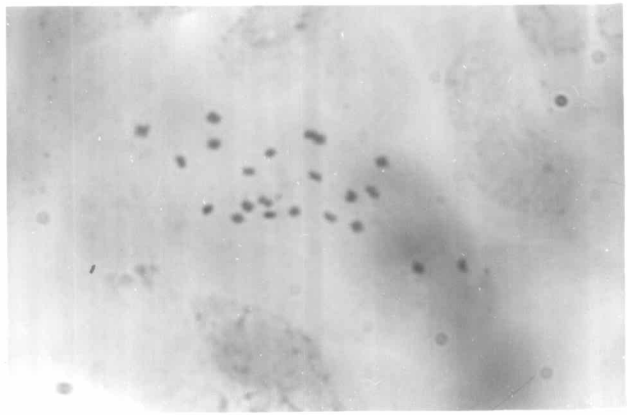


CXV

หอสมุดกลาง
จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย
001531



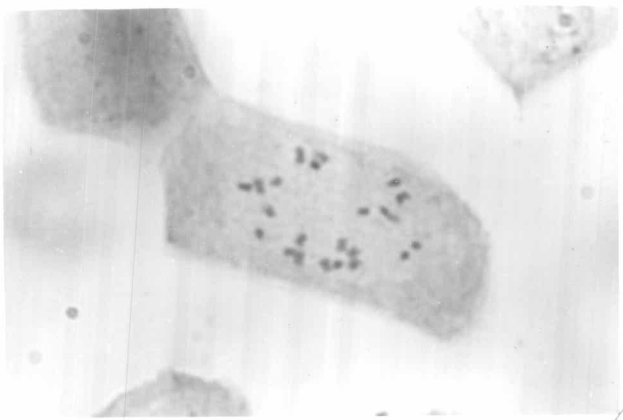
DXL



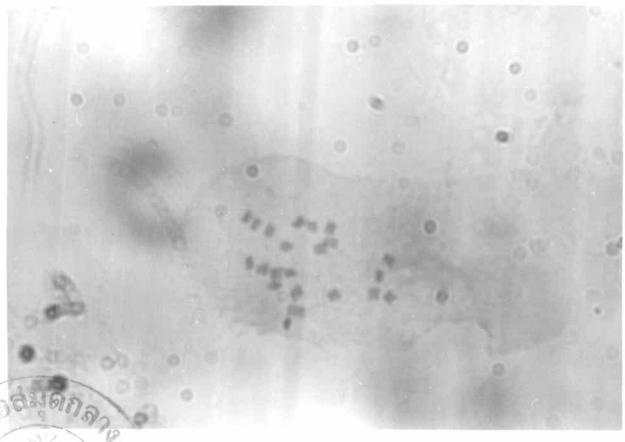
DXV

ภาพที่ 7 จำนวนโครโมโซมระยะ metaphase จากเซลปลายรากของลูกผสม CXL, CXV, DXL และ DXV (2n = 22) (X 2500)

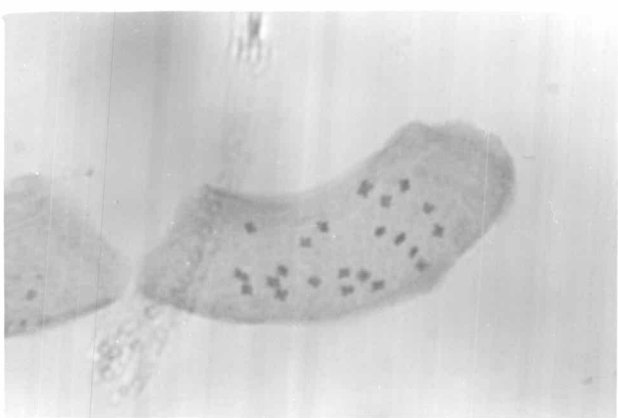
i 17237798



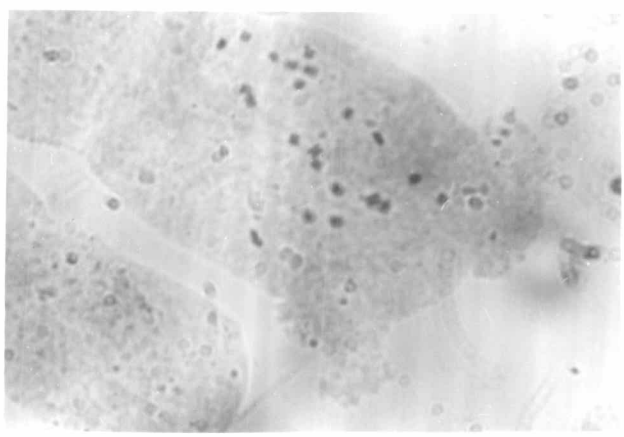
LXA



LXB



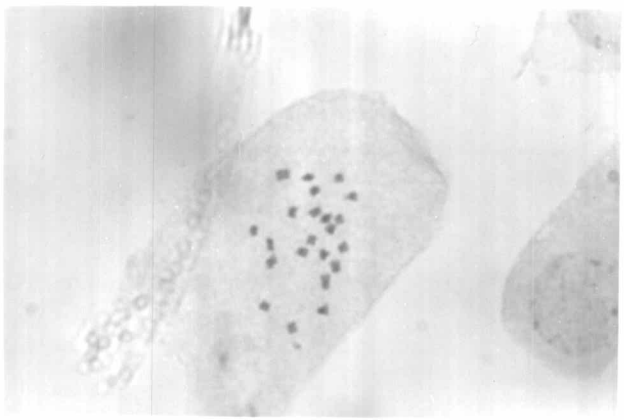
LXC



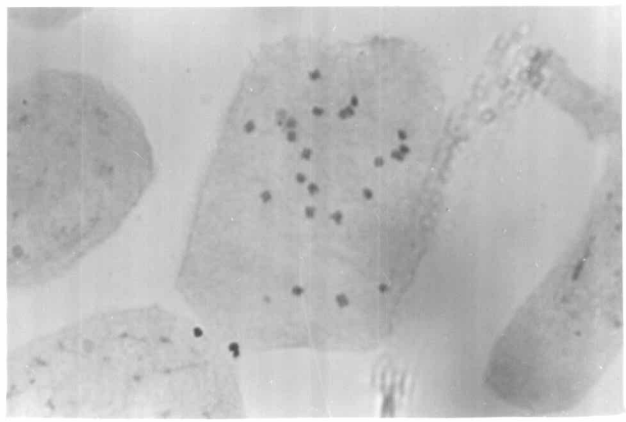
LXD

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

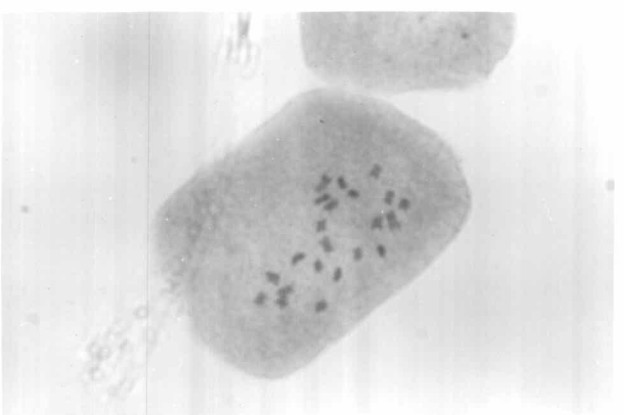
ภาพที่ 8 จำนวนโครโมโซมระยะ metaphase จากเซลปลายรากของลูกผสม LXA, LXB, LXC และ LXD (2n = 22) (X2500)



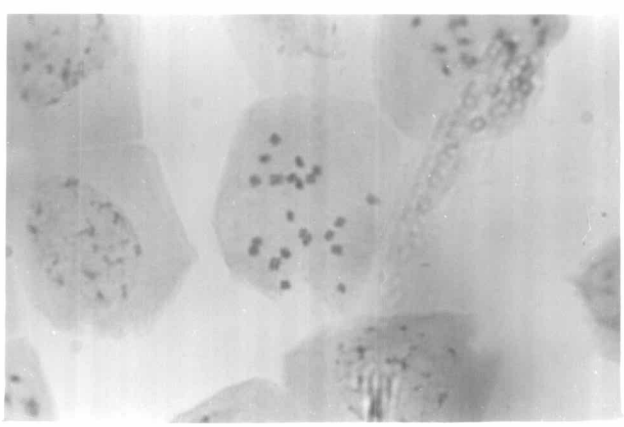
VXA



VXB

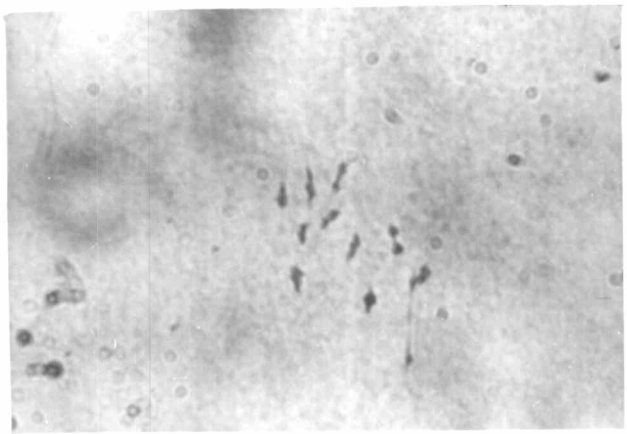


VXC

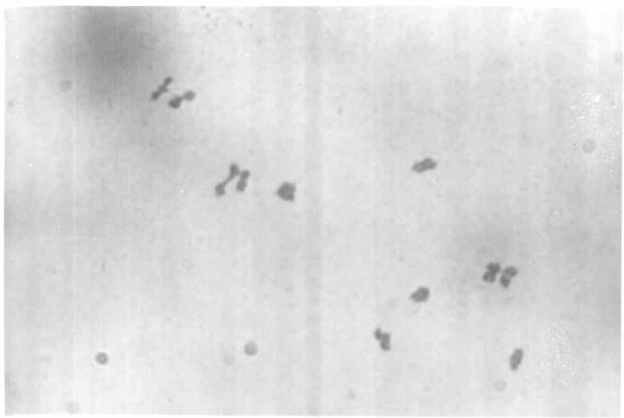


VXD

ภาพที่ 9 จำนวนโครโมโซมระยะ metaphase จากเซลปลายรากของลูกผสม VXA, VXB, VXC และ VXD (2n = 22) (X2500)

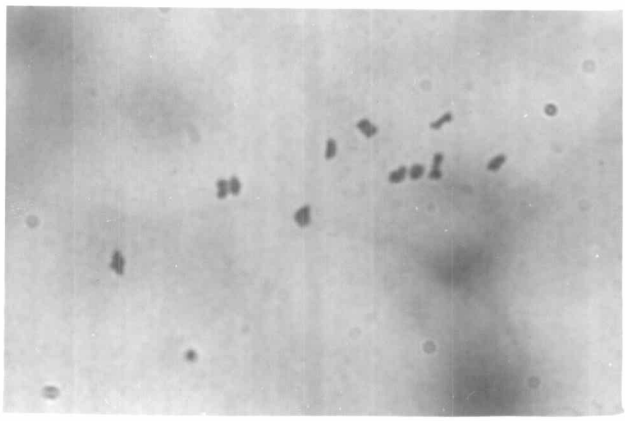


10.1



10.2

10.3



10.4

ภาพที่ 10 Microsporocyte ในระยะ first metaphase ของถั่วฝักยาวทั้ง 4 พันธุ์ (X 2500)

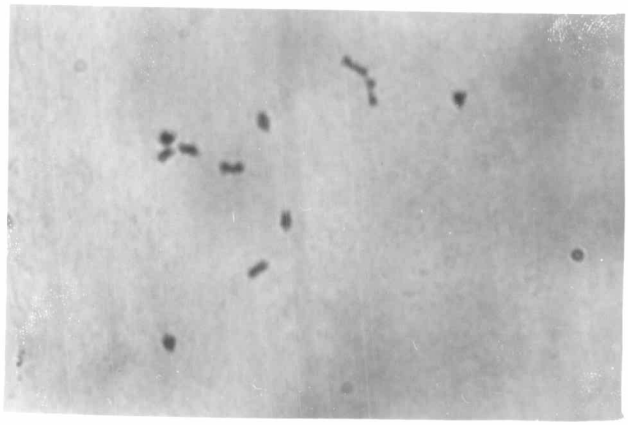
10.1 11 bivalents (5 II ring + 6 II rod) ของพันธุ์ A

10.2 11 bivalents (6 II ring + 5 II rod) ของพันธุ์ B

10.3 11 bivalents (6 II ring + 5 II rod) ของพันธุ์ C

10.4 11 bivalents (5 II ring + 6 II rod) ของพันธุ์ D

11.1



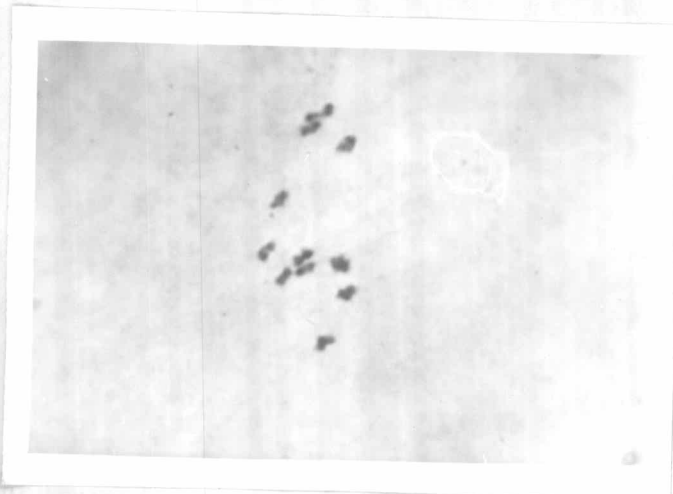
11.2

ภาพที่ 11 Microsporocyte ในระยะ first metaphase ของถั่วนั่ง 2 พันธุ์

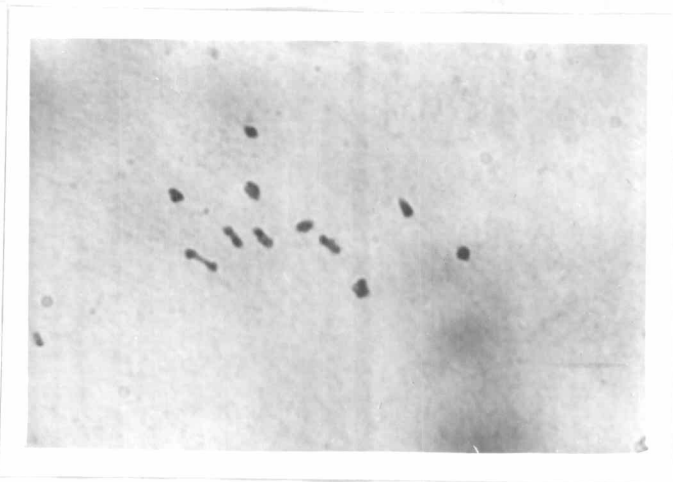
11.1 11 bivalents (6 II ring + 5 II rod) ของพันธุ์ L

11.2 11 bivalents (4 II ring + 7 II rod) ของพันธุ์ V

(X 2500)

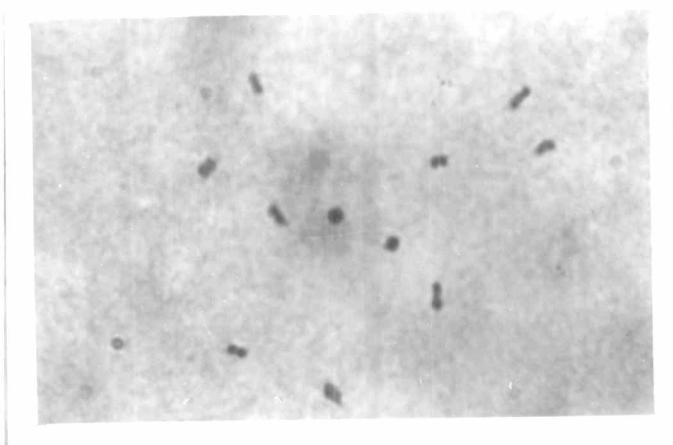


12.1



12.2

12.3



12.4

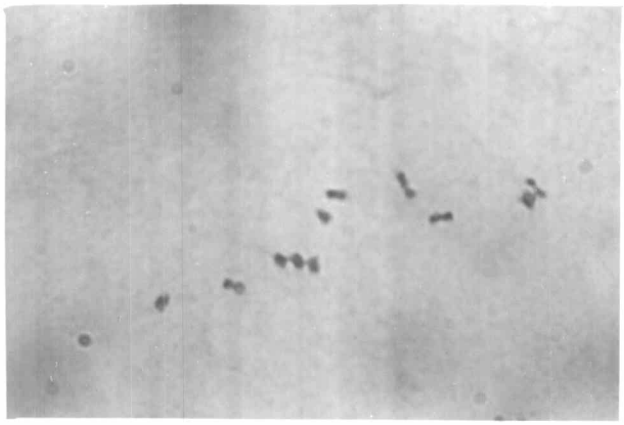
ภาพที่ 12 Microsporocyte ในระยะ first metaphase ของลูกผสม (X 2500)

12.1 11 bivalents (5 II ring + 6 II rod) ของ AXL

12.2 11 bivalents (6 II ring + 5 II rod) ของ AXV

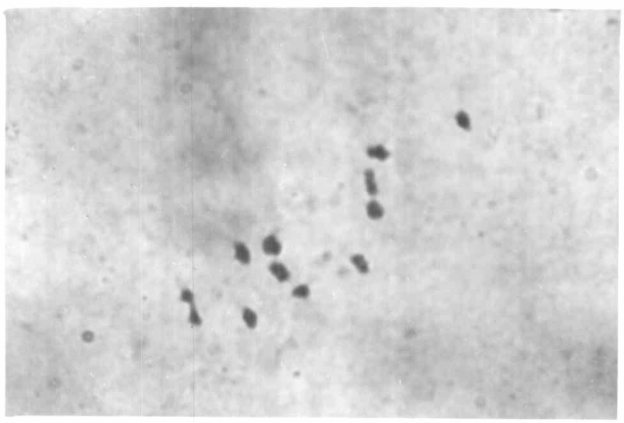
12.3 11 bivalents (5 II ring + 6 II rod) ของ BXL

12.4 11 bivalents (5 II ring + 6 II rod) ของ BXV



13.1

13.2



13.3

13.4

ภาพที่ 13 Microsporocyte ในระยะ first metaphase ของลูกผสม (X 2500)

13.1 11 bivalents (5 II ring + 6 II rod) ของ CXL

13.2 11 bivalents (6 II ring + 5 II rod) ของ CXV

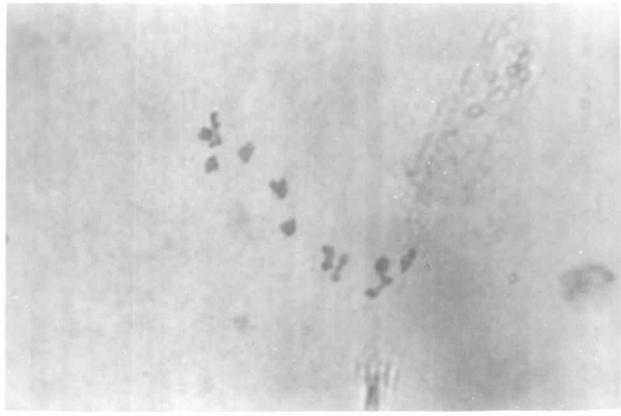
13.3 11 bivalents (6 II ring + 5 II rod) ของ DXL

13.4 11 bivalents (5 II ring + 6 II rod) ของ DXV

14.1

14.2

14.3



14.2

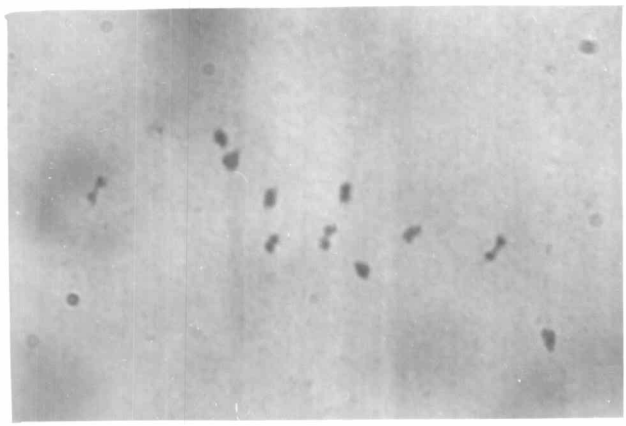
ภาพที่ 14 Microsporocyte ในระยะ first metaphase ของลูกผสม (X 2500)

14.1 11 bivalents (5 II ring + 6 II rod) ของ LXA

14.2 11 bivalents (5 II ring + 6 II rod) ของ LXB

14.3 11 bivalents (5 II ring + 6 II rod) ของ LXC

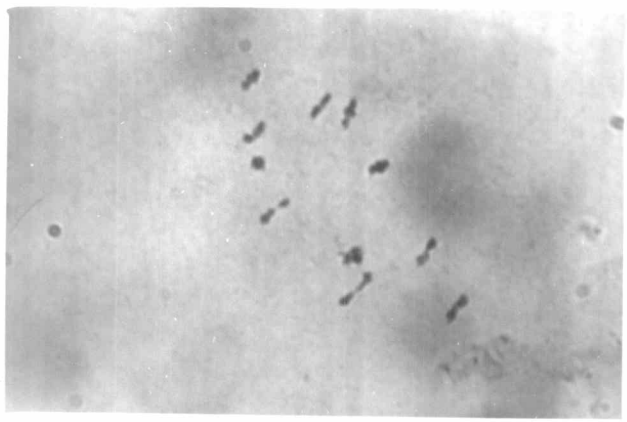
14.4 11 bivalents (5 II ring + 6 II rod) ของ LXD



15.1

15.2

15.3



15.4

ภาพที่ 15 Microsporocyte ในระยะ first metaphase ของลูกผสม (X 2500)

15.1 11 bivalents (6 II ring + 5 II rod)ของ VXA

15.2 11 bivalents (5 II ring + 6 II rod)ของ VXB

15.3 11 bivalents (4 II ring + 7 II rod)ของ VXC

15.4 11 bivalents (4 II ring + 7 II rod)ของ VXD

ตารางที่ 1 ลักษณะการเข้าคู่ของโครโมโซมและจำนวน chiasmata ต่อ bivalent ในระยะ first metaphase ของ microsporocyte ของถั่วฝักยาว (Vigna sesquipedalis) และถั่วนั่ง (Vigna sinensis) (จาก 25 เซล)

	bivalent ต่อเซล				รวม, biva-lent	chiasmata ต่อเซล		chiasmata ต่อ bivalent
	ring		rod					
	range	mean	range	mean		range	mean	
ถั่วฝักยาวพันธุ์ A	4-8	5.80	3-7	5.20	11	15-19	16.80	1.52
B	3-7	5.64	4-8	5.36	11	14-18	16.64	1.51
C	4-8	5.72	3-7	5.28	11	15-19	16.72	1.52
D	3-6	5.28	5-8	5.72	11	14-17	16.28	1.48
ถั่วนั่งพันธุ์ L	4-7	5.40	4-7	5.60	11	15-18	16.40	1.49
V	4-7	5.24	4-7	5.76	11	15-18	16.24	1.48

ตารางที่ 2 ลักษณะการเข้าคู่ของโครโมโซมและจำนวน chiasmata ต่อ bivalent ในระยะ first metaphase ของลูกผสม 16 คู่ (จาก 25 เซล)

	bivalent ต่อเซล				รวม bivalent	chiasmata ต่อเซล		chiasmata ต่อ bivalent
	ring		rod					
	range	mean	range	mean		range	mean	
ถั่วฝักยาว x ถั่วนั่ง								
A X L	5-8	6.04	3-6	4.96	11	16-19	17.04	1.55
A X V	5-7	6.16	4-6	4.84	11	16-18	17.16	1.56
B X L	4-7	5.84	4-7	5.16	11	15-18	16.84	1.53
B X V	4-6	5.84	5-7	5.52	11	15-17	16.44	1.49
C X L	5-7	6.00	4-6	5.00	11	16-18	17.00	1.54
C X V	4-7	5.16	4-7	5.84	11	15-18	16.16	1.46
D X L	6-7	6.48	4-5	4.52	11	17-18	17.48	1.59
D X V	5-7	6.24	4-6	4.76	11	16-18	17.24	1.56
ถั่วนั่ง x ถั่วฝักยาว								
L X A	5-6	5.80	5-6	5.20	11	16-17	16.80	1.52
L X B	5-6	5.20	5-6	5.80	11	16-17	16.20	1.47
L X C	5-7	6.04	4-6	4.96	11	16-18	17.04	1.54
L X D	4-7	5.40	4-7	5.60	11	15-18	16.40	1.49
V X A	5-7	5.96	4-6	5.04	11	16-18	16.96	1.54
V X B	3-7	5.88	4-8	5.12	11	14-18	16.84	1.53
V X C	4-6	5.36	5-7	5.64	11	15-17	16.36	1.48
V X D	4-5	4.24	6-7	6.76	11	15-16	15.24	1.38

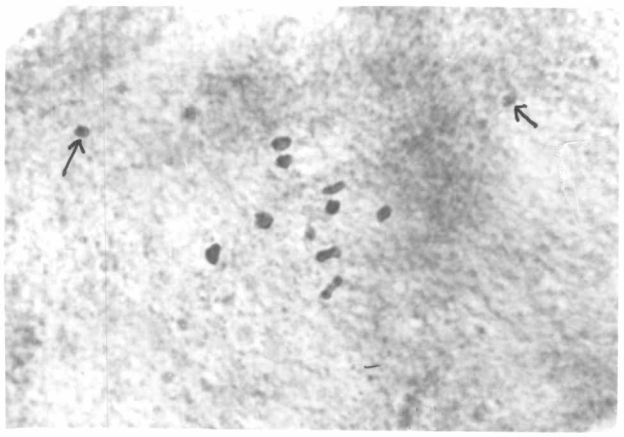
กับ 5.28 และ 5.72 ตามลำดับ จำนวน chiasmata ต่อ bivalent ต่ำที่สุดคือเท่ากับ 1.48 ส่วนถั่วนั่งพันธุ์ L และ V มี ring bivalentเฉลี่ย 5.40 และ 5.24 มี rod bivalent 5.60 และ 5.76 ตามลำดับ ส่วน chiasmata ต่อ bivalent ใกล้เคียงกัน (1.49, 1.48)

จากตารางที่ 2 (หน้า 25) ลูกผสมแต่ละอันมีลักษณะการเข้าคู่ของโครโมโซมเป็น ring bivalent และ rod bivalent แตกต่างกันไป ลูกผสม DXL มี ring bivalent สูงสุดคือ 6.48 รองลงไปคือ DXV (6.24) ลูกผสมที่มี ring bivalent มากกว่า 6.0 แต่ต่ำกว่าที่กล่าวมาแล้ว ได้แก่ AXL, AXV, และ LXC ส่วน CXL เท่ากับ 6.0 ที่เหลือนอกนั้นมีค่าต่ำกว่า 6.0 และที่ต่ำที่สุดคือ VXD มีค่าเพียง 4.24 แต่มี rod bivalent สูงสุดคือ 6.76 ส่วน DXL มี rod bivalent ต่ำสุดคือ 4.52 และเมื่อดูค่า chiasmata ต่อ bivalent ก็จะพบว่า DXL มีค่าสูงสุดคือ 1.59 และ VXD มีค่าต่ำสุดคือ 1.38

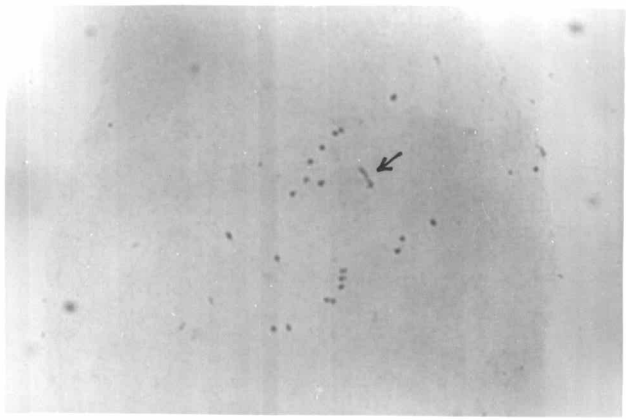
จากการศึกษาโครโมโซมในระยะอื่น ๆ พบว่าระยะ first anaphaseมีการผละจากกันของโครโมโซมที่เหมือนกันเป็นแบบปกติเสียส่วนใหญ่ได้ข้างละ 11 แท่ง พบมี 1-2 เซลในแต่ละพันธุ์จะมีอยู่ 1 bivalent ที่แยกตัวออกจากกันเร็ว และ 1 bivalent ที่แยกตัวช้า ดังภาพที่ 16 ส่วนในระยะsecond anaphase โครมาติดจะแยกไปตามปกติได้ 4 กลุ่ม ๆ ละ 11 โครโมโซม ดังภาพที่ 16 (หน้า 27)

2. การผสมพันธุ์

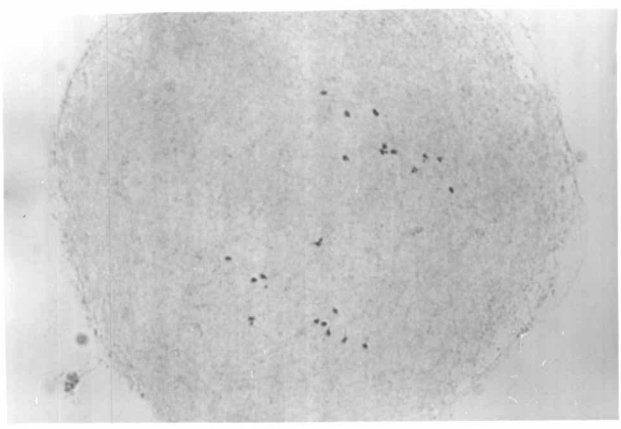
หลังจากทำการผสมแล้ว 2 วัน ถ้าไม่มีการผสมเกิดขึ้นดอกก็ร่วง แต่ถ้าการผสมได้ผลก็จะเห็นติดฝักเล็ก ๆ สีเขียว ประมาณ 3 สัปดาห์ ฝักจะแก่ ผลของการผสมข้ามแสดงไว้ในตารางที่ 3 และ 4 จากตารางที่ 3 (หน้า 28) การผสมระหว่าง AXL, BXL และ CXL จะให้เปอร์เซ็นต์ติดฝัก 51.1, 53.3 64.1 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการผสมระหว่าง AXV, BXV, CXV ที่ให้เปอร์เซ็นต์ติดฝักเพียง 39.1, 44.0 และ 28.3 ตามลำดับ ส่วนการผสมกับพันธุ์ D นั้น ปรากฏ



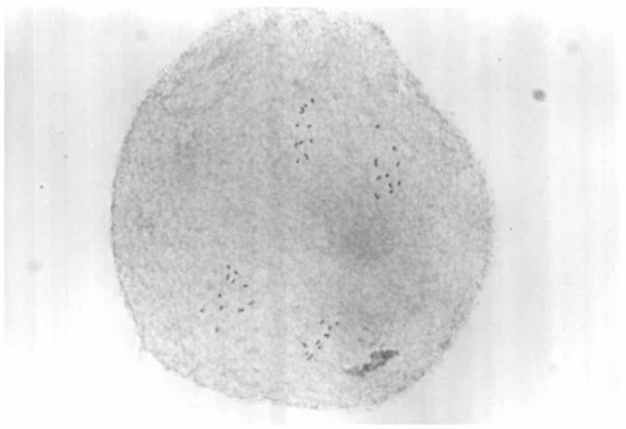
16.1



16.2



16.3



16.4

ภาพที่ 16 โครโมโซมระยะ first metaphase, first anaphase และ second anaphase

16.1 แสดงโครโมโซมระยะ first metaphase มี 1 bivalent ที่แยกตัวเร็ว (ศรชี้) (X 2500)

16.2 แสดงโครโมโซมระยะ first anaphase มี 1 bivalent ที่แยกตัวช้า (ศรชี้) (X 1000)

16.3 แสดงโครโมโซมระยะ first anaphase ปกติได้โครโมโซมข้างละ 11 (X 1000)

16.4 แสดงโครโมโซมระยะ second anaphase ปกติมีการแยกของโครมาติดได้ 4 กลุ่ม ๆ ละ 11 โครโมโซม (X 1000)

ตารางที่ 3 ผลของการผสมข้ามเมื่อถั่วฝักยาวเป็นต้นแม่และถั่วนั่งเป็นต้นพ่อ

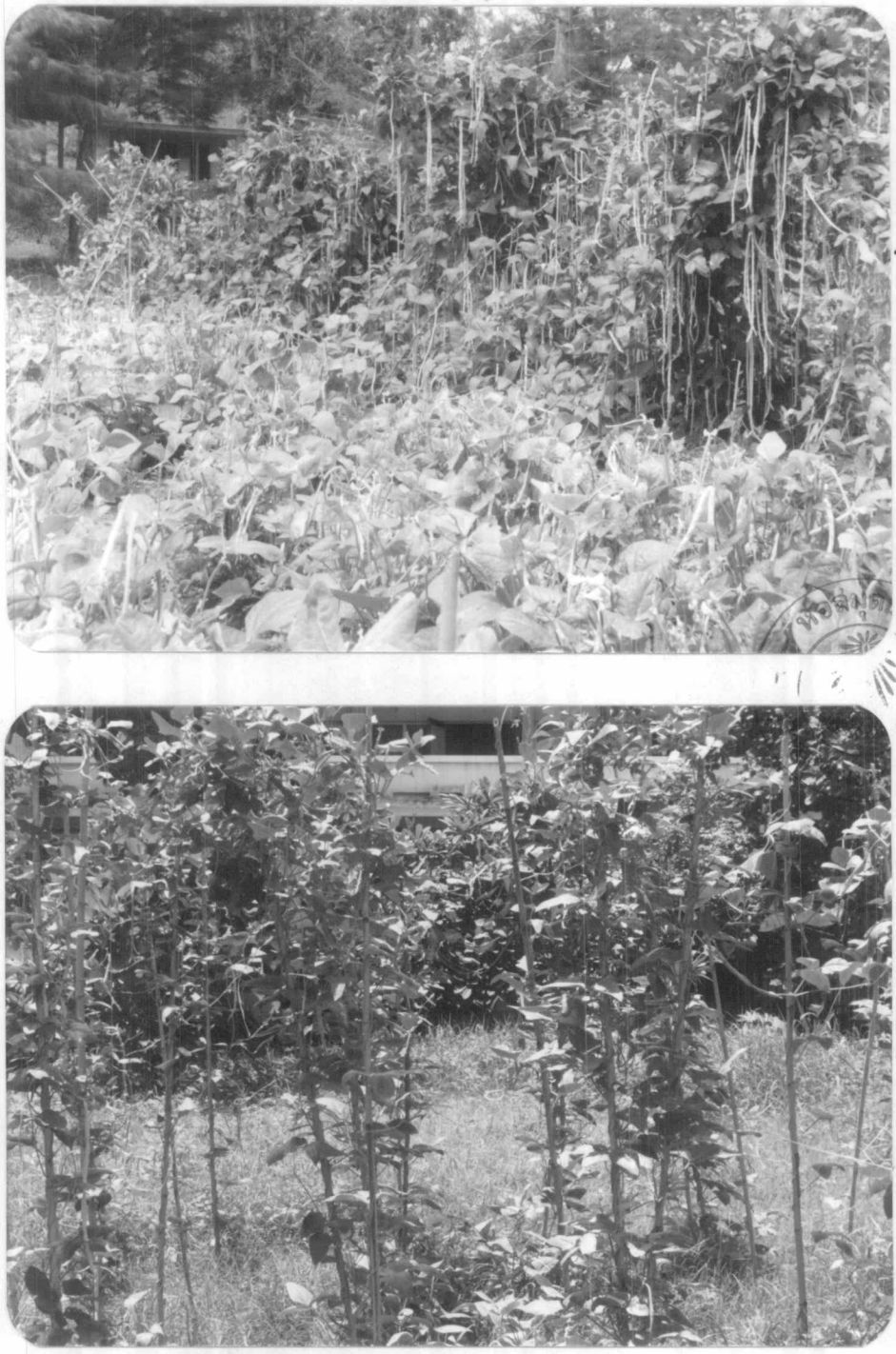
คู่ผสม	จำนวนดอกที่ผสม	จำนวนฝักที่ติด	จำนวนเมล็ด	เปอร์เซ็นต์ติดฝัก	จำนวนเมล็ดต่อฝัก
A X L	47	24	258	51.1	10.7
A X V	64	25	276	39.1	11.0
B X L	45	24	245	53.3	10.2
B X V	50	22	235	44.0	10.6
C X L	39	25	284	64.1	11.3
C X V	46	13	192	28.3	14.7
D X L	60	18	212	30.0	11.8
D X V	83	33	386	39.8	11.7

ตารางที่ 4 ผลของการผสมข้ามเมื่อถั่วนั่งเป็นต้นแม่และถั่วฝักยาวเป็นต้นพ่อ

คู่ผสม	จำนวนดอกที่ผสม	จำนวนฝักที่ติด	จำนวนเมล็ด	เปอร์เซ็นต์ติดฝัก	จำนวนเมล็ดต่อฝัก
L X A	23	5	42	21.7	8.4
L X B	22	2	14	9.1	7.0
L X C	19	2	26	10.5	13.0
L X D	19	2	22	10.5	11.0
V X A	21	10	72	47.6	7.2
V X B	19	6	35	31.6	5.8
V X C	9	3	30	33.3	10.0
V X D	19	1	9	5.3	9.0

ว่า DXV(39.8)ให้เปอร์เซ็นต์ติดฝักสูงกว่า DXL (30.0) การผสมระหว่าง CXL จะให้เปอร์เซ็นต์การติดฝักสูงสุดคือ 64.1 % แต่เมื่อ CXV จะต่ำสุดคือ 28.3 % สำหรับจำนวนเมล็ดต่อฝักนั้นส่วนใหญ่ มีจำนวนเมล็ดใกล้เคียงกันประมาณ 11 เมล็ดต่อฝัก ยกเว้น CXV จะให้จำนวนเมล็ดต่อฝักมากถึง 14.7 ในตารางที่ 4 (หน้า 28) เปอร์เซ็นต์ติดฝักของลูกผสมที่ใช้พันธุ์ V เป็นแม่จะสูงกว่าเมื่อใช้พันธุ์ L เป็นแม่ ยกเว้นในการผสมระหว่าง VXD ที่ให้เปอร์เซ็นต์ต่ำกว่า การผสมระหว่าง VXA นั้นให้ผลดีกว่าอันอื่น คือมีเปอร์เซ็นต์ติดฝักสูงถึง 47.6 % รองลงไปคือ VXC (33.3%) และ VXB (31.6%) ส่วน LXB ให้เปอร์เซ็นต์การผสมติดต่ำคือ 9.1% แต่ที่มีเปอร์เซ็นต์ติดฝักต่ำสุดได้แก่ VXD มีเพียง 5.3% จำนวนเมล็ดต่อฝักปรากฏว่าแตกต่างกันมาก LXC ให้จำนวนเมล็ดต่อฝักมากที่สุดคือ 13 เมล็ด รองลงไปคือ LXD (11 เมล็ด) ที่น้อยที่สุดคือ VXB มีเพียง 5.8 เมล็ดต่อฝัก

เมล็ดที่ได้จากการผสมนี้เรียก F_1 seed พบว่าสีเมล็ดจะเหมือนสีเมล็ดของต้นแม่ในทุกคู่ผสม และเมื่อนำไปปลูกได้ F_1 plant ปรากฏว่าเมล็ดที่ได้จากถั่วฝักยาวเป็นต้นแม่ จะให้ F_1 plant ที่มีลำต้นเลื้อยพันหลักทุกต้นเช่นเดียวกับต้นแม่ ฝักที่ได้จะมีความยาวน้อยกว่าถั่วฝักยาว แต่ยาวกว่าถั่วนั่ง แต่ถ้าเป็น F_1 plant ที่ได้จากถั่วนั่งเป็นต้นแม่แล้ว ในระยะแรกลักษณะตามต้นแม่แล้วต่อมายอดจะเจริญเลื้อยพันหลัก แต่ก็มีบางต้นที่ไม่แสดงอาการเลื้อย ดังภาพที่ 17 ฝักที่ได้มีความยาวอยู่ระหว่างถั่วฝักยาวกับถั่วนั่ง เมื่อเก็บเมล็ด F_2 seed จะได้ผลตามตารางที่ 5 (หน้า 31) ปรากฏว่ามีเมล็ดที่แปลกออกไปจากพ่อแม่ คือ ลูกผสม BXL, BXV, LXB และ VXB ที่ให้เมล็ดสีต่างระหว่างน้ำตาลแดงกับขาวอย่างละครึ่ง ดังภาพที่ 18 (หน้า 32)



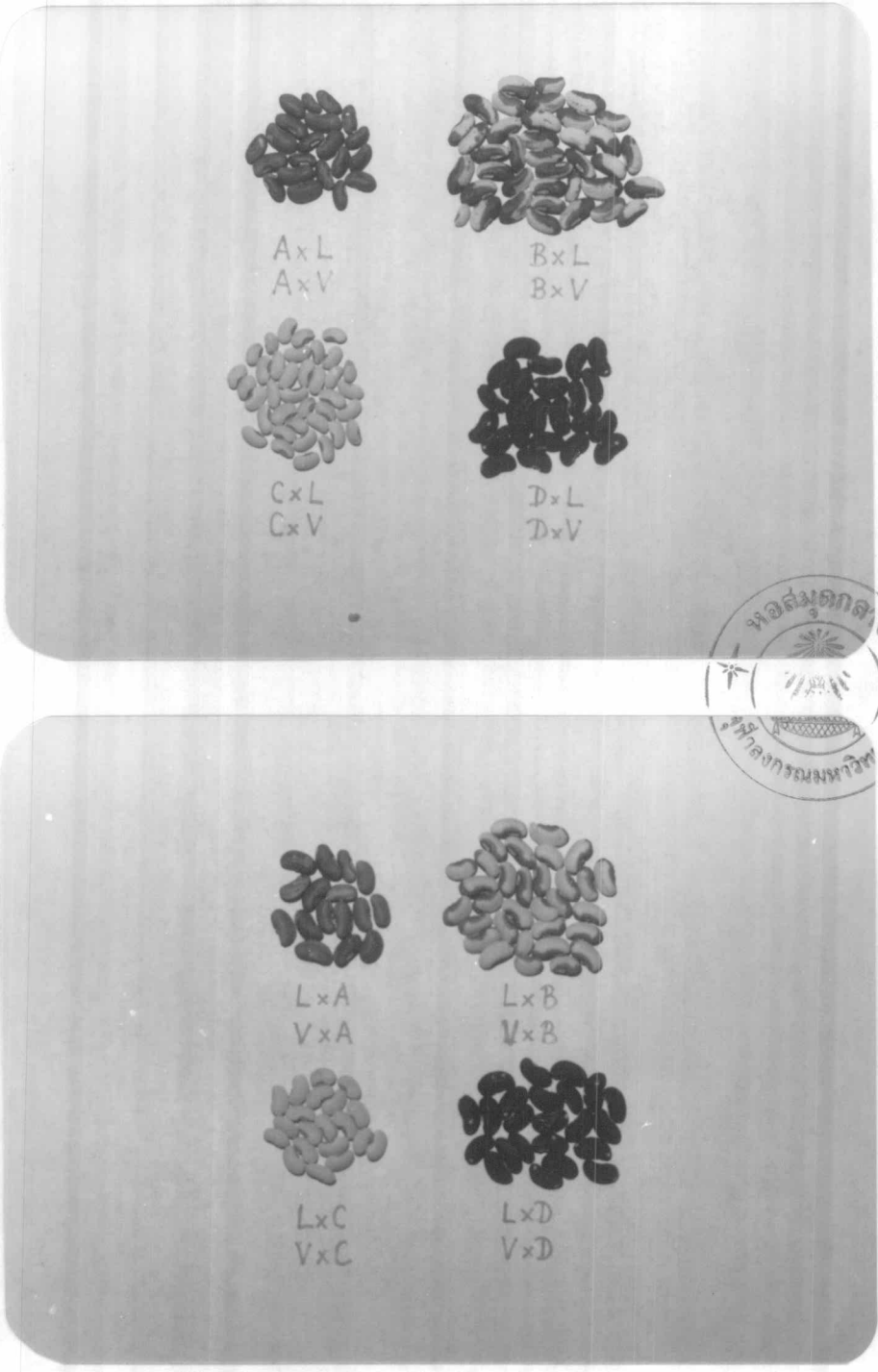
หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์

ภาพที่ 17 ลักษณะต้นถั่วฝักยาว ถั่วนั่ง และลูกผสม

1. ถั่วฝักยาว
2. ถั่วนั่ง
3. ลูกผสม

ตารางที่ 5 สีเมล็ดของลูกผสม (F_2 seed)

ลูกผสม	จำนวนฝัก	จำนวนเมล็ด	จำนวนเมล็ดต่อฝัก	สีเมล็ด
A X L	12	118	9.8	น้ำตาลแดง
A X V	9	92	10.2	น้ำตาลแดง
B X L	15	143	9.5	น้ำตาลแดงด่างขาวอย่างละกึ่ง
B X V	11	108	9.8	น้ำตาลแดงด่างขาวอย่างละกึ่ง
C X L	8	100	12.5	ขาว
C X V	9	104	11.6	ขาว
D X L	7	73	10.4	ดำ
D X V	10	96	9.6	ดำ
L X A	6	53	8.8	น้ำตาลแดง
L X B	7	57	8.1	น้ำตาลแดงด่างขาวอย่างละกึ่ง
L X C	5	42	8.4	ขาว
L X D	8	73	9.1	ดำ
V X A	9	91	10.1	น้ำตาลแดง
V X B	4	42	10.5	น้ำตาลแดงด่างขาวอย่างละกึ่ง
V X C	10	107	10.7	ขาว
V X D	2	21	10.5	ดำ



หอสมุดกลาง
จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

ภาพที่ 18 เมล็ดลูกผสม (F_2 seed)