
การศึกษาโครโมโซมกล้วยไข่

A study of Chromosome number, *Musa acuminata*

‘Kluai Khai’, Kamphaengphet

โดย ผศ.รัตนกรณ์ จงไพจิตรสกุล*

บทคัดย่อ

การศึกษาโครโมโซมกล้วยไข่กำแพงเพชร ตำบลสระแก้ว อำเภอเมือง จังหวัดกำแพงเพชร พบว่า ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาโครโมโซมกล้วยไข่กำแพงเพชรที่เหมาะสมคือ ช่วงเวลาการเก็บราก 9.30 น. – 10.30 น. ในขณะที่มีแสงแดด สารละลายสำหรับการกระตุ้นเซลล์ให้อยู่ในระยะเมตาเฟสของการแบ่งเซลล์ (pretreatment) ควรใช้ Colchicine 0.2 % นาน 30 นาที – 1 ชั่วโมง หรือ สารละลาย paradichlorobenzene อิ่มตัวนาน 30 นาที – 1 ชั่วโมง หรือ สารละลาย 1 – Bromonaphthalene 0.1 % นาน 12 ชั่วโมง น้ำยาฟิกซ์เซลล์ที่เหมาะสมคือ Acetic alcohol โดยฟิกซ์ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที และทำสไลด์โดยเทคนิค Aceto – orcein squash technique

ABSTRACT

A study about Chromosome number of *Musa* (AA group) ‘Kluai Khai’ or *Musa acuminata* ‘Kluai Khai’ in Ban Huay Pak, Tum-bon Sra-Kauw, Muang District, Kamphaengphet Province, found that the optimum time for sample root tip is 09.30 – 10.30 am. Pretreatment used Colchicine 0.2 % or Paradichlorobenzene 0.1% in 30 minutes – 1 hour, or 1 – Bromonaphthalene 0.1% in 12 hours. The Chromosome number of *Musa* (AA group) ‘Kluai Khai’ Kamphaengphet has $2n = 22$ (Diploid, $2n = 22$)

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กล้วยไข่เป็นพืชล้มลุกขนาดใหญ่ มีลำต้นเทียมสูงไม่เกิน 2.5 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 16 เซนติเมตร กาบลำต้นด้านนอกสีเขียวปนเหลือง มีประดำหนา ด้านในสีชมพูแดง

* อาจารย์ประจำคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร

กล้วยไข่จัดอยู่ในสายพันธุ์ *Acuminata* cultivars สกุล *Musa* ในหมู่ *Eumusa* กลุ่ม AA (AA group) ‘Kluai Khai’ กลุ่มย่อย *Sucrier* ชื่ออื่นๆ กล้วยกระ ชื่อสามัญ *Pisang Mas* มีจำนวนโครโมโซม 2 ชุด (Diploid, $2n=22, n=11$)

การศึกษาโครโมโซมของกล้วยไข่ สามารถใช้เนื้อเยื่อเจริญปลายรากหรือปลายยอด ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อที่อยู่ในระหว่างการแบ่งเซลล์ระยะต่างๆ รากที่เหมาะสมจะนำมาศึกษาโครโมโซม ต้องเป็นรากที่มีสีขาว และปลายรากมีสีขาวขุ่นเล็กน้อย ควรเก็บรากในระหว่างเวลา 9.00 – 10.30 นาฬิกา ในขณะที่มีแสงแดด

ในการศึกษาจะต้องใช้สารเคมีบางชนิด เพื่อหยุดวัฏจักรเซลล์ให้อยู่ในระยะ Metaphase ซึ่งเป็นระยะที่โครโมโซมหดสั้นเห็นรายละเอียดชัดเจน โดยสารเคมีเหล่านั้น จะไปยับยั้งการเกิด Spindle fiber จากนั้นต้องมีการ Fixative เพื่อหยุดการทำงานของเซลล์ ทำการย่อยสลายราก และทำการย้อมสี เพื่อศึกษาโครโมโซม

วัตถุประสงค์การศึกษา

1. เพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไข่
2. เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการศึกษาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไข่กำแพงเพชร

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ข้อมูลจำนวนโครโมโซมของกล้วยไข่กำแพงเพชร
2. ได้ข้อมูลเกี่ยวกับปัจจัยที่เหมาะสมต่อการศึกษาจำนวนโครโมโซม
3. ผลที่ได้จากการศึกษาสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาการคัดเลือกสายพันธุ์ การปรับปรุงสภาพแวดล้อมและเทคนิคการปลูกกล้วยไข่ให้เหมาะสมต่อไป

วัสดุอุปกรณ์สำหรับการศึกษา

1. สารเคมี : Colchicine, 1- Bromonapthalene, Paradichlorobenzene
2. Fixative : Acetic – alcohol
3. 70 % alcohol
4. 1 N HCl
5. aceto – orcein
6. Slide
7. Cover slip
8. เข็มเย็บขนาดเล็ก 2 อัน
9. Forceps ขนาดเล็กที่มีปลายแหลม 1 อัน
10. กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยาย 1,000 เท่า

วิธีการศึกษา

1. การเก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้

เก็บรากกล้วยไม้จากรั้วของเกษตรกรในตำบลสระแก้ว โดยเก็บในเวลา 9.00 น. ถึง 10.30 น. และเลือกเอาเฉพาะรากที่มีสีขาวและปลายรากมีส่วนขาวเล็กน้อย นำมาล้างด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด

2. การ Pretreatment

รากที่ล้างสะอาดจากข้อที่ 1. นำมาดำเนินการดังนี้

- 2.1. รากส่วนที่ 1 แบ่งเป็น 5 กลุ่มตัวอย่าง แช่ในสารละลาย Colchicine 0.2 % ตัวอย่างละ 15 นาที , 30 นาที , 1 ชั่วโมง , 1.30 ชั่วโมง และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ
- 2.2. รากส่วนที่ 2 แบ่งเป็น 5 กลุ่มตัวอย่าง แช่ใน 1-Bromonapthalene ตัวอย่างละ 15 นาที , 30 นาที , 1 ชั่วโมง , 1.30 ชั่วโมง และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ
- 2.3. รากส่วนที่ 3 แช่ในสารละลายอิมมิดัว Paradichlorobenzene 15 นาที , 30 นาที , 1 ชั่วโมง , 1.30 ชั่วโมง และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ

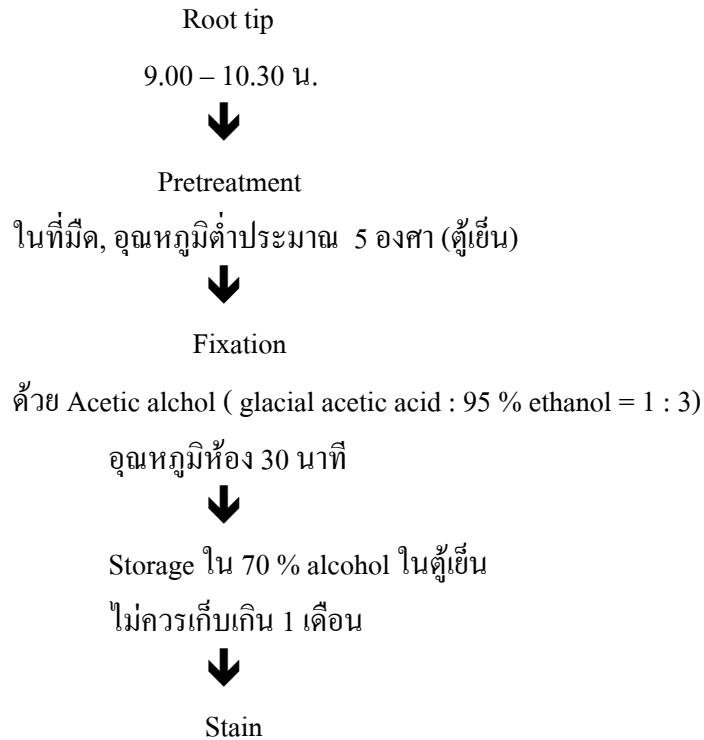
3. การ Fixation

นำปลายรากที่ผ่านการ Pretreatment ในข้อ 2. มาแช่ใน Acetic alcohol ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที

4. การเก็บรักษารากไว้ศึกษา

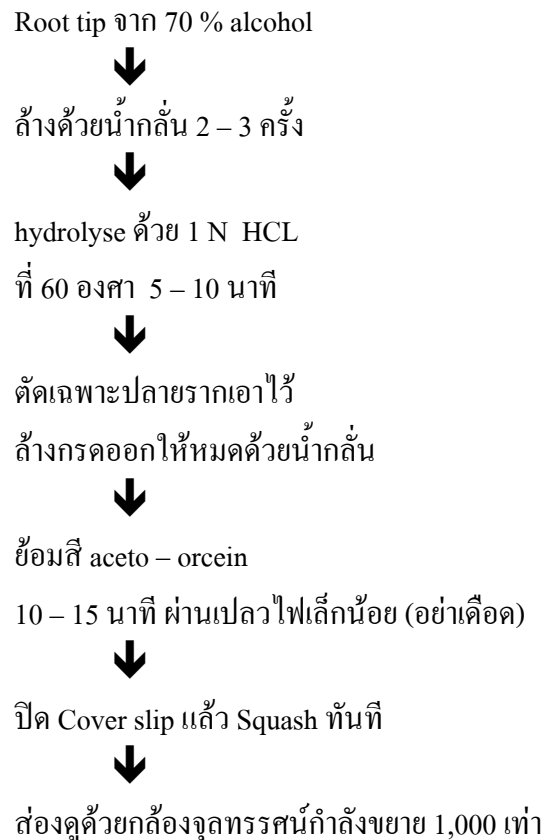
นำปลายรากที่ผ่านการ Fixation เก็บไว้ใน 70 % alcohol แช่ไว้ในตู้เย็นที่ 10 °C

ขั้นตอนการศึกษาโครโมโซม



5. การเตรียมสไลด์

การเตรียมสไลด์โดยเทคนิค Aceto – orcein squash technique นำรากที่เก็บไว้ใน 70 % alcohol มาล้างด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง แล้ว Hydrolyse ด้วย 1 N HCL ที่ 60 °C นาน 5-10 นาที ระวังอย่าให้รากแห้ง ตัดเฉพาะปลายรากไว้ประมาณ 1 มิลลิเมตร เอาส่วนที่เหลือทิ้งไป ล้างกรดออกให้หมดด้วยน้ำกลั่น แล้วย้อมสี aceto – orcein นาน 10-15 นาที ผ่านเปลวไฟ เล็กน้อย ระวัง อย่าให้เดือด ปิด Cover slip แล้ว Squash ทันที นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1,000 เท่า



ผลการศึกษา

จากการศึกษาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไข่กำแพงเพชรที่บ้านห้วยปักษ์ ตำบลสระแก้ว อำเภอเมือง จังหวัดกำแพงเพชร พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการศึกษาโครโมโซมกล้วยไข่ คือ ช่วงเวลา 09.30 น. – 10.30 น. ขณะที่แสงแดดเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บราก การกระตุ้นเซลล์ ให้อยู่ในระยะเมตาเฟส (Pretreatment) ควรใช้สารละลาย Colchicine 0.2 % หรือสารละลาย Paradichlorobenzene อิมดัว นาน 30 นาที – 1 ชั่วโมง หรือ สารละลาย 1-Bromonaphthalene 0.1 % นาน 12 ชั่วโมง ถ้าใช้เวลา Pretreatment นานเกินกว่านี้จะทำให้โครโมโซมหดสั้นเห็นเป็นก้อนสั้นๆ โครโมโซมกล้วยไข่กำแพงเพชรมีขนาดเล็ก จำนวนโครโมโซมนับได้อยู่ระหว่าง 21 ถึง 22 แท่ง ($2n = 22$) ดังภาพ



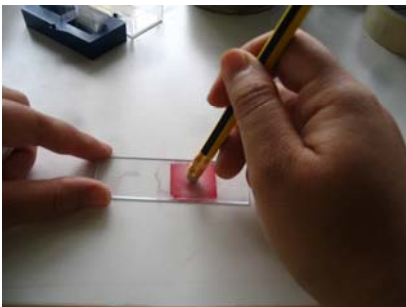
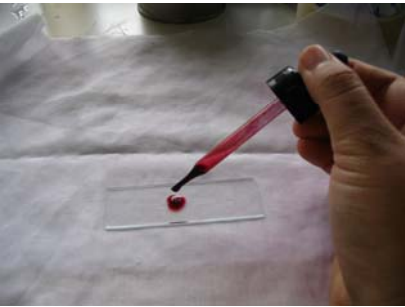
ภาพที่ 1 จำนวนโครโมโซมกล้วยไข่กำแพงเพชร ($2n = 22$) ที่ปลูกในบ้านห้วยปึกษ์
ต.สระแก้ว อ.เมือง จ.กำแพงเพชร



ภาพที่ 2 ขั้นตอนการเก็บราก



ภาพที่ 3 ขั้นตอนการ Fixation, Pretreatment และ Storage



ภาพที่ 4 ขั้นตอนการย้อมสีและส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์

ข้อเสนอแนะ

1. ในการศึกษาโครโมโซมของกล้วยไข่สามารถใช้สารละลาย วินโป้ (Winpo) อิมัลชันแทนสารละลาย Colchicine 0.2% หรือ 1 – Bromonaphthalen 0.1 % ได้ ทั้งนี้เพราะในสารละลาย วินโป้ (Winpo) อิมัลชัน มีสารประกอบพวก Paradichlorobenzene ที่มีฤทธิ์ไปยับยั้งการสร้าง spindle fiber ทำให้การแบ่งเซลล์หยุดอยู่ในระยะเมตาเฟส

สารละลาย วินโป้ (Winpo) อิมัลชัน สามารถเตรียมได้ง่าย มีราคาถูก และสามารถให้ได้ผลดีพอ ๆ กันสารละลาย Colchicine และ 1 – Bromonaphthalene ที่มีราคาแพงมาก

2. ควรจะมีการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA printing) และลำดับยีน (Gene sequence) ของกล้วยไข่กำแพงเพชร

บรรณานุกรม

- กมลศักดิ์ สุระดม . (2546) . การวิเคราะห์เศรษฐกิจการผลิตและการตลาดกล้วยไข่ของเกษตรกร
จังหวัด. วิทยานิพนธ์เกษตรศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .
- กรมส่งเสริมการเกษตร. (2537) . การปลูกกล้วย คำแนะนำที่ 12 กรมส่งเสริมการเกษตร .
- จิตรา ตระกูลน้ำเลื่อมใส . (2541) . การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการตกกระของกล้วยไข่ .
วิทยานิพนธ์เกษตรศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .
- จิรพันธ์ ศรีทองกุล . (2546) . ลักษณะความคงตัวและสายพิมพ์ DNA ของกล้วยไข่พันธุ์กล้วย
5 พันธุ์. วิทยานิพนธ์เกษตรศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ .
- เบญจมาศ ศิลาชัย . (2545) . กล้วย . กรุงเทพฯ ฯ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .
- นิชสาคร จันทร์ประภามาส . (2539) . สภาพพื้นฐานทางเศรษฐกิจและสังคม ความรู้ในการผลิต
และการตลาดของเกษตรกรในอำเภอเมือง จังหวัดกำแพงเพชร . วิทยานิพนธ์
เกษตรศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .
- ศุภลักษณ์ สุขสม . (2543) . ผลของรังสีแกมมาที่มีต่อลักษณะสัณฐานวิทยาของกล้วยไข่ .
วิทยานิพนธ์เกษตรศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .
- ส่งเสริมการเกษตร , กรม . (2545) . การปลูกกล้วยไข่ [Online] , <http://www.doe.ac.th>
- สุทัศน์ แดงศรี . (2548) . การศึกษาเทคโนโลยีการปลูกกล้วยไข่ของเกษตรกรจังหวัดกำแพงเพชร
. สำนักงานเกษตรจังหวัดกำแพงเพชร .
- สุภา สุขเกษม , ดารา พวงสุวรรณ และณรงค์ ทองธรรมชาติ . (2531) . การศึกษาการชะลอ
ความสุกของกล้วยไข่เพื่อการส่งออก . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .
- สุเมตทิพย์ บุนนาค . (2548) . การศึกษาโครโมโซมพืช . มหาวิทยาลัยขอนแก่น .
- Constantine, David . 2005 . **The Musaceae** , [Online] , <http://www.users.globalnet.co.uk>
- Pat Heslop-Harrison and Trude Schwarzacher . 2006 . **Genetics, Molecular Cytogenetics,**
Chromosomal and Genome Organization, [Online] , <http://www.le.ac.uk>