บทที่ 3

ผลจากการสังเกต
(OBSERVATIONS)

ได้แบ่งเขียนผลจากการสังเกต (Observations) ที่เกี่ยวกับการเจริญเติบโต เปลี่ยนแปลง (Development) ของ embryo sacs ของคนทิสอทะเล (Vitex trifolia Linn. var. simplicifolia Cham.) และบางส่วนที่เกี่ยวข้องออกเป็นตอน ๆ มีทั้งหมด 4 ตอน คือ

ก. ลักษณะทั่ว ๆ ไปของรังไข่ (Ovary)

ข. การเจริญเติบโตเปลี่ยนแปลง (Development) ของ ovule

ค. Megasporogenesis และบางส่วนของ ovule ที่มีการเปลี่ยนแปลง

ง. การเจริญเติบโตเปลี่ยนแปลง (Development) ของ embryo sac หรือ megagametogenesis

ลักษณะทั่ว ๆ ไปของรังไข่

รังไข่ของคนทิสอทะเลเป็นแบบ superior ovary ซึ่งเกิดจาก carpels ม้วนตัว (involute) เอาขอบ (Margin) ของ carpels เข้าหากัน ด้านหลัง (Abaxial surface) ของ carpels แตะกัน (contact) และรวมตัว (fuse) เป็นเนื้อเดียวกัน กลายเป็น placenta ส่วนขอบของ carpels แยกออกจากกัน และเจริญยื่นออกไปเล็กน้อย ซึ่งเป็นส่วนที่สร้าง ovule Funiculus มี placentation เป็นแบบ axile placentation ที่มี funiculus ค่อนข้างสั้น ลักษณะของ ovule เป็นแบบ hemianatropous type (ภาพที่ 3) ในแต่ละรังไข่มี ovule อยู่ 4 อัน (ภาพที่ 4) เมื่อ embryo sac เจริญเติบโตเต็มที่ รังไข่จะมีความกว้างประมาณ 1242.5 μ และมีความสูงประมาณ 1352.5 μ

การเจริญเติบโตเปลี่ยนแปลง (Development) ของ ovule

ที่บริเวณขอบของ carpel มี archesporium (Sporangial initial) อยู่ที่ตำแหน่งใต้ชั้น epidermis (Hypodermal position) 1 เซลล์ เซลล์นี้เป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียง มีขนาดความกว้างประมาณ 10 μ ความยาวประมาณ 12.5 μ นอกจากนี้แล้วก็ยังสังเกตเห็น cytoplasm เข้มข้นกว่าเซลล์ใกล้เคียงเล็กน้อย ในระยะนี้เริ่มสังเกตเห็นเซลล์ของ integument ที่เพิ่งเกิดขึ้นที่ฐานของ ovule primordium มีลักษณะเป็นตุ่ม (Protuberance) เซลล์มีขนาดใหญ่เป็น integument ชั้นเดียว (ภาพที่ 5) ต่อมา archesporium จะแบ่งตัวตามแนว periclinal division ได้ daughter cells 2 เซลล์ คือ daughter cell ด้านนอกเป็น primary parietal cell ส่วน daughter cell ด้านใน เป็น primary sporogenous cell (ภาพที่ 6) ซึ่งมักจะพบในดอกพวกที่ 1 ซึ่งกว้าง ยาว 1 มม. (ตารางที่ 1) หลังจากที่ archesporium แบ่งตัวได้ primary sporogenous cell และ primary parietal cell แล้ว Primary sporogenous cell จะมี differentiation ไปเป็น sporogenous cell ทันที เพราะสังเกตเห็น cytoplasm เข้มข้นและเต็มเซลล์ นิวเคลียสก็มีขนาดใหญ่สังเกตเห็นได้ชัด ส่วน primary parietal cell ยังไม่มี differentiation ที่สังเกตได้ ต่อมา primary parietal cell มีการแบ่งตัวทั้งในแนว periclinal division และ anticlinal division อย่างรวดเร็วได้เซลล์จำนวนมาก คือ nucellar cells แต่การแบ่งตัวในแนว anticlinal division เกิดขึ้นเร็วกว่าการแบ่งตัวในแนว periclinal division มาก เพราะสังเกตเห็นเซลล์ในแนวขนานกับ epidermal cells มีเพียง 2–3 แถว เท่านั้น (ภาพที่ 7)

Nucellar cells ซึ่งมีจำนวนมากและห้อมล้อม sporogenous cell อยู่นี้ ทำให้ sporogenous cell อยู่ลึกเข้าไปบริเวณกลาง ๆ ของ ovule Ovule แบบนี้จึงเป็นแบบ crassinucellate type เนื่องจาก primary parietal cell มีการเจริญและแบ่งตัวทางด้าน anticlinal division อย่างรวดเร็วทำให้ด้านปลายหรือ

ด้านที่ควรจะเป็น micropylar end ของ ovule ห้อยลงด้านฐาน (Base) ของรังไข่ Ovule ของคนทิสอทะเลจึงตั้งอยู่ในแนวดิ่ง โดยเอาด้านที่ควรจะเป็น micropylar end ลงสู่ฐานของรังไข่ และเอียงเข้าหา axis เล็กน้อย (ภาพที่ 3)

Megasporogenesis และส่วนของ ovule ที่มีการเปลี่ยนแปลง

ระยะนี้ megaspore mother cell ซึ่งเป็นเซลล์ที่ได้เจริญมาจาก sporogenous cell ได้มีการเจริญเติบโตอย่างเต็มที่ คือมีขนาดใหญ่ขึ้นมาก มีความกว้างประมาณ 26 μ มีความยาวประมาณ 40 μ มี vacuole ค่อนข้างใหญ่เห็นได้ชัดเจน มีนิวเคลียส (Nucleus) ขนาดใหญ่ รูปร่างกลม มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 8 μ นิวคลีโอลัส (Nucleolus) ก็ย้อมติดสีสังเกตเห็นได้ชัดเจน มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 μ (ภาพที่ 8) รังไข่ที่มี megaspore mother cell เจริญอย่างเต็มที่แล้วนี้จะมีขนาดความกว้างประมาณ 562.5 μ และมีความสูงประมาณ 450 μ ซึ่งมักจะพบในดอกพวกที่ 2 ขนาดกว้าง 1 มิลลิเมตร ยาว 2 มิลลิเมตร (ตารางที่ 1)

ต่อมา megaspore mother cell มีการแบ่งตัวแบบ meiosis ระยะ meiosis I ตามแนว periclinal division ได้ daughter cell 2 เซลล์ (Dyads) ซึ่งระยะแรกของการแบ่งนิวเคลียสของทั้งสองเซลล์ยังอยู่ชิดกัน ผนังเซลล์ยังไม่เกิดขึ้น (ภาพที่ 9) ต่อจากนั้นจึงเกิดผนังเซลล์มากั้นเซลล์ทั้งสองเอาไว้กลายเป็น dyad cells อย่างสมบูรณ์ (ภาพที่ 10) จะพบ dyad cells ในรังไข่ที่มีความกว้างประมาณ 550 μ และมีความสูงประมาณ 517.5 μ ซึ่งมักจะพบในดอกพวกที่ 2 (ตารางที่ 1) เช่นกัน

ต่อมา dyad cells ทั้งสองมีการแบ่งตัวอีกครั้งหนึ่ง ซึ่งเป็นการแบ่งตัวในระยะ meiosis II จากการสังเกตในครั้งนี้ พบว่าเซลล์ที่อยู่ทางด้าน micropylar end แบ่งตัวก่อนตามแนว periclinal division ได้เป็น 2 เซลล์ที่มีขนาดเล็กและมีขนาดเท่า ๆ กัน ส่วนเซลล์ของ dyads ที่อยู่ทางด้าน chalazal end จะแบ่งตัวทีหลังตามแนว periclinal division เช่นเดียวกันกับเซลล์ของ dyads ที่อยู่ทางด้าน

micropylar end ซึ่งได้เป็น 2 เซลล์ ที่มีขนาดใหญ่และมีขนาดเท่า ๆ กัน ที่ทราบได้ว่าเซลล์ของ dyads ที่อยู่ทางด้าน micropylar end แบ่งตัวก่อนเซลล์ของ dyads ที่อยู่ทางด้าน chalazal end ก็เพราะสังเกตเห็นเซลล์ของ dyads ที่อยู่ทางด้าน micropylar end แบ่งตัวตามแนว periclinal division มีผนังเซลล์เกิดขึ้นแล้ว แต่เซลล์ของ dyads ที่อยู่ทางด้าน chalazal end เพิ่งจะแบ่งนิวเคลียสเสร็จ กำลังสร้างผนังเซลล์มากั้นระหว่าง daughter cells ทั้งสอง ทำให้เห็นเป็นเซลล์ขนาดใหญ่มีนิวเคลียสอยู่ 2 อัน (ภาพที่ 11) เนื่องจาก dyad cells ทั้งสองเซลล์มีการแบ่งตัวตามแนว periclinal division จึงทำให้เซลล์ที่ได้ทั้ง 4 เซลล์ (Megaspore tetrads) จากการแบ่งเซลล์แบบ meiosis อยู่เรียงกันเป็นเส้นตรง (Linear tetrads) ตามแนวด้าน chalazal end และ micropylar end (ภาพที่ 12) ซึ่งมักจะพบในดอกพวกที่ 1– 2คือมีขนาดกว้าง 1 มิลลิเมตร ยาว 1-2 มิลลิเมตร(ตารางที่ 1)

หลังจาก dyads แบ่งตัวได้เป็น 4 เซลล์ (Megaspore tetrads) ต่อมาเซลล์ที่ 1, เซลล์ที่ 2 และเซลล์ที่ 4 นับจากด้าน micropylar end จะเริ่มฝ่อ คือเป็น non-functional megaspore 3 เซลล์ ที่ทราบได้เพราะว่าเซลล์มีขนาดเล็ก cytoplasm มีสีจาง นิวเคลียส มีขนาดเล็กและผนังเซลล์มีรอยย่น ส่วนเซลล์ที่ 3 จะมี differentiation มีขนาดใหญ่ขึ้น มี cytoplasm เข้ม มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ คือมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางยาวประมาณ 7 μ เซลล์ที่สามนี้จะเจริญต่อไป เป็น functional megaspore (ภาพที่ 13) หลังจากนั้น non-functional megaspores ทั้ง 3 อันจะฝ่อไปมากขึ้นจนเกือบมองไม่เห็น ส่วน functional megaspore ในระยะนี้จะมี differentiation จนมีขนาดใหญ่ขึ้น คือมีขนาดความกว้างประมาณ 15 μ มีความยาวประมาณ 40 μ นิวเคลียสก็ขยายใหญ่ขึ้น คือมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 8 μ นิวคลีโอลัสก็ย้อมติดสีเข้มเห็นชัดเจน มีเส้นผ่าศูนย์กลางยาวประมาณ 3 μ และมี vacuole เกิดขึ้นใน embryo sac บริเวณข้าง ๆ เซลล์พอสังเกตได้ แต่มีขนาดเล็ก Cytoplasm ยังเห็นค่อนข้างเต็มเซลล์ (ภาพที่ 14) Megaspore ระยะนี้จะพบในรังไข่ ที่มีขนาดความกว้างประมาณ 720 μ มีความสูงประมาณ 500 μ หรือในดอกพวกที่ 2 (ตารางที่ 1)

เพราะว่า megaspore ของคนทิสอทะเลอันเดียวเท่านั้นที่เจริญไปเป็น embryo sac จึงนับได้ว่า embryo sac เป็นแบบ monosporic embryo sac

การเจริญเติบโตเปลี่ยนแปลง (Development) ของ embryo sac หรือ megagametogenesis

004396

เมื่อ functional megaspore คือ megaspore อันที่สามนับจากด้าน micropylar end มี differentiation จนเต็มที่แล้ว ก็เจริญเติบโตไปเป็น embryo sac โดยการแบ่งนิวเคลียสแบบ mitosis ครั้งหนึ่ง ได้เป็น 2 นิวเคลียส (ภาพที่ 15) ซึ่งระยะนี้ non-functional megaspore ได้ฝ่อไปหมดแล้ว ระยะนี้นับว่าเป็นระยะเริ่มแรกของ female gametophyte (Embryo sac) นิวเคลียสทั้งสองที่ได้จากการแบ่งในครั้งนี้มีขนาดเท่า ๆ กัน ระยะนี้เรียกว่าระยะ 2 นิวเคลียส (Two-nucleate embryo sac) ซึ่งมักจะพบในดอกพวกที่ 2 – 3 คือขนาดกว้าง 1 มิลลิเมตร ยาว 2 – 3 มิลลิเมตร เมื่อ functional megaspore แบ่งตัวครั้งแรกเสร็จแล้ว นิวเคลียสทั้งสองจะเริ่มเคลื่อนที่ออกจากกัน (ภาพที่ 16) โดยเคลื่อนไปอยู่ทางด้าน micropylar end 1 นิวเคลียสและเคลื่อนไปอยู่ทางด้าน chalazal end 1 นิวเคลียส ระยะนี้จะเกิด embryo sac ขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจนแล้ว ซึ่งมีรูปร่างรี วัดความกว้างได้ประมาณ 20 µ และมีความยาวประมาณ 50 µ พบอยู่ในรังไข่ที่มีขนาด ความกว้างประมาณ 730 µ และมีความสูงประมาณ 670 µ หรือในดอกพวกที่ 2 – 3 คือดอกที่มีขนาดกว้าง 1 มิลลิเมตร ยาว 2 – 3 มิลลิเมตร (ตารางที่ 1) นอกจากนี้ยังสังเกตเห็น vacuole เกิดขึ้นใน embryo sac ระยะนี้แล้ว แต่ยังมีขนาดเล็กอยู่ Nucellar cells ได้แบ่งเซลล์ตามแนว periclinal division เพิ่มขึ้น ทำให้เห็นมีหลายชั้นขึ้น ซึ่งทางด้าน micropylar end มีความหนาประมาณ 75 µ นิวเคลียสสองอันที่แยกออกจากกันและเริ่มเคลื่อนไปยังด้าน micropylar end และด้าน chalazal end ด้านละ 1 นิวเคลียส (ภาพที่ 16) จนไปอยู่บริเวณปลาย ๆ ของ embryo sac คือด้าน micropylar end และด้าน chalazal end (ภาพที่ 17 และภาพที่ 18) ภาพที่ 17 และภาพที่ 18 เป็นภาพที่ได้ถ่ายจาก section เดียวกันและ embryo sac เดียวกัน แต่เนื่องจาก section มีความหนา 15µ

i 17169549

และ embryo sac มีขนาดใหญ่ขึ้นทำให้เห็นนิวเคลียสทั้งสองชัดไม่พร้อมกัน คือเห็นชัด plane ละ 1 นิวเคลียส ภาพที่ 17 เห็นนิวเคลียสด้าน micropylar end ชัด ส่วนภาพที่ 18 เห็นนิวเคลียสด้าน chalazal end ชัด เมื่อนับรวมกันก็ได้ 2 นิวเคลียส ซึ่งเมื่อปรับกล้องจุลทรรศน์ให้เห็นทั้งสองนิวเคลียสพร้อม ๆ กัน จะทำให้เห็นไม่ชัด (ภาพที่ 19) ระยะนี้นิวเคลียสทั้งสองมี cytoplasmic strand ห้อมล้อมอยู่และเชื่อมโยงระหว่างนิวเคลียสทั้งสอง Embryo sac ได้ขยายขนาดใหญ่ขึ้น มีรูปร่างรี แต่ด้านยาวเพิ่มมากขึ้นกว่าด้านกว้าง คือมีความกว้างประมาณ 21 μ มีความยาวประมาณ 82 μ

ต่อมานิวเคลียสทั้งสองแบ่งตัวแบบ mitosis อีกครั้งหนึ่งได้เป็น 4 นิวเคลียส ใน embryo sac คืออยู่ทางด้าน micropylar end 2 นิวเคลียส และอยู่ทางด้าน chalazal end 2 นิวเคลียส (ภาพที่ 20, ภาพที่ 21 และภาพที่ 22) ภาพที่ 20, ภาพที่ 21 และภาพที่ 22 เป็นภาพที่ได้จาก embryo sac อันเดียวกัน แต่ได้จาก 2 sections ที่ต่อเนื่องกัน เนื่องจากระยะนี้ embryo sac มีขนาดใหญ่ขึ้นมาก มีรูปร่างคล้ายดัมเบลล์ (Dumbbelled shape) คือขยายขนาดใหญ่ออกทั้งทางด้าน micropylar end และทางด้าน chalazal end ส่วนบริเวณกลาง ๆ ยังมีขนาดเล็กอยู่ ขนาดของ embryo sac ในระยะนี้วัดความกว้างที่ส่วน chalazal end ได้ประมาณ 50 μ ส่วนทางด้าน micropylar end มีความกว้างประมาณ 60 μ สำหรับบริเวณกลาง ๆ ของ embryo sac ซึ่งเป็นส่วนที่แคบ มีความกว้างประมาณ 15 μ ความยาวของ embryo sac ตลอดอันประมาณ 310 μ ทำให้เห็นนิวเคลียสทั้ง 4 อยู่คนละ plane และคนละ section คือเห็น 2 นิวเคลียส ที่อยู่ทางด้าน micropylar end ติดอยู่ใน section แรก และเห็นทั้งสองนิวเคลียส อยู่ใน plane เดียวกัน (ภาพที่ 20) และอีก 2 นิวเคลียส ทางด้าน chalazal end ติดอยู่ใน section ถัดไป แต่อยู่คนละ plane เห็น plane ละ 1 นิวเคลียส (ภาพที่ 21 และภาพที่ 22) เมื่อนับรวมทั้งสอง sections จึงได้ 4 นิวเคลียส จะพบ embryo sac ที่เจริญถึงระยะนี้ในดอกที่รังไข่มีความกว้างประมาณ 890 μ มีความสูงประมาณ 910 μ ซึ่งมักจะเป็นดอกพวกที่ 3 มีขนาดกว้าง 1 มิลลิเมตร ยาว 3 มิลลิเมตร (ตารางที่ 1)

ในระยะต่อมา นิวเคลียสทั้งสี่อันแบ่งตัวแบบ mitosis อีกครั้งหนึ่งได้เป็น

8 นิวเคลียส โดยอยู่ทางด้าน micropylar end 4 นิวเคลียส และอยู่ทางด้าน chalazal end 4 นิวเคลียส Embryo sac ระยะนี้เรียกว่า eight - nucleate embryo sac แล้วนิวเคลียสจากทางด้าน micropylar end และด้าน chalazal end เริ่มเคลื่อนที่เข้าสู่บริเวณกลาง ๆ ของ embryo sac ด้านละ 1 นิวเคลียส ในระยะนี้นิวเคลียส ที่อยู่ทางด้าน micropylar end อันที่จะมีการเปลี่ยนแปลง (Differentiation) ไปเป็น egg ก็เริ่มมีการเปลี่ยนแปลง โดยขยายขนาดใหญ่ขึ้นกว่านิวเคลียสข้างๆ อีก 2 อัน และมีนิวเคลียสใหญ่เห็นได้ชัดเจน วัดความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางได้ประมาณ 9 μ นิวคลีโอลัสก็มีขนาดใหญ่ ติดสีเข้มเห็นได้ชัดเจน วัดความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางได้ประมาณ 3 μ (ภาพที่ 23) ในระยะนี้จะมี cytoplasmic strand ห้อมล้อมนิวเคลียส ทั้ง 8 อันอยู่ และโยงยึดนิวเคลียสทั้ง 8 อันกับผนังของ embryo sac Embryo sac ระยะนี้ได้ขยายใหญ่ขึ้น วัดความกว้างที่ส่วน chalazal end ได้ประมาณ 50 μ ส่วนที่ด้าน micropylar end มีความกว้างประมาณ 65 μ สำหรับบริเวณกลาง ๆ ของ embryo sac ซึ่งเป็นส่วนที่แคบมีความกว้างประมาณ 25 μ ความยาวตลอด embryo sac ประมาณ 340 μ (ภาพที่ 24, ภาพที่ 25, ภาพที่ 26 และภาพที่ 27) ภาพที่ 24, ภาพที่ 25, ภาพที่ 26 และภาพที่ 27 เป็นภาพถ่ายที่ได้จาก embryo sac อันเดียวกัน และ section เดียวกัน เนื่องจากระยะนี้ embryo sac มีขนาดใหญ่และมีความยาวมาก นิวเคลียสทั้ง 8 อันใน embryo sac จึงอยู่ห่างกันมากไม่สามารถ focus ให้เห็นพร้อมกันได้ และเนื่องจาก section ที่ตัดมีความหนา 15 μ จึงทำให้เห็นนิวเคลียส อยู่กันคนละ plane ทำให้เห็นชัดไม่พร้อมกัน คือทางด้าน micropylar end เห็น egg 1 เซลล์ ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ cytoplasm เข้มข้น มีนิวเคลียสและนิวคลีโอลัสขนาดใหญ่เห็นได้ชัด ส่วน synergids ทั้งสองนั้นสังเกตเห็นว่ากำลังฝ่อไป เพราะเห็นนิวเคลียสไม่ชัด ผนังเซลล์ก็มีลักษณะย่น และติดสีคล้ำ (ภาพที่ 24) ส่วนภาพที่ 25 เป็นภาพบริเวณกลาง ๆ หรือส่วนที่แคบของ embryo sac ซึ่งเห็น 2 นิวเคลียสที่กำลังเคลื่อนที่มาจากด้าน micropylar end และด้าน chalazal end ด้านละ 1 นิวเคลียส สำหรับภาพที่ 26 และภาพที่ 27 เป็นภาพของ antipodal cells ที่อยู่ทางด้าน chalazal

end แต่อยู่คนละ plane ภาพที่ 25 เห็น antipodal cells 2 เซลล์ที่กำลังฝ่อ เพราะสังเกตเห็น cytoplasm และนิวเคลียสย้อมติดสีจางและมีขนาดเล็ก ส่วนภาพที่ 26 เห็น antipodal cell 1 เซลล์ ซึ่งเป็น antipodal cell อันที่ยังไม่ฝ่อ เพราะ cytoplasm และนิวเคลียสย้อมติดสีเข้มเห็นได้ชัดเจน ซึ่งเมื่อถ่ายรูปด้วยกำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์ต่ำ ๆ คือ 12 x 20 เท่า จะเห็น 8 นิวเคลียส อยู่ใน embryo sac เดียวกัน แต่เห็นไม่ชัด เพราะนิวเคลียสแต่ละอันเห็นขนาดเล็กมาก (ภาพที่ 28) Embryo sac ระยะนี้จะพบในดอกที่มีรังไข่ที่มีความกว้างประมาณ 870 μ และมีความสูงประมาณ 900 μ หรือดอกพวกที่ 4 **ซึ่งกว้าง 1 1/2 มิลลิเมตร ยาว 5 มิลลิเมตร (ตารางที่ 1)**

ต่อมานิวเคลียสทั้งสองที่กำลังเคลื่อนที่มาจากด้าน micropylar end และด้าน chalazal end จะเคลื่อนที่มาอยู่บริเวณกลาง ๆ ของ embryo sac ซึ่งเป็นบริเวณที่แคบ โดยปกติจะพบนิวเคลียสทั้งสองอยู่ชิดกันและอยู่ระดับเดียวกัน เรียกนิวเคลียสทั้งสองว่า polar nuclei หรือ central nuclei (ภาพที่ 29) ในขณะที่ polar nuclei เคลื่อนที่อยู่นั้น egg cell ซึ่งอยู่ทางด้าน micropylar end ก็มีการ differentiation มีขนาดใหญ่ขึ้นมาก นิวเคลียสย้อมติดสีเข้มเห็นชัด มี vacuole ขนาดใหญ่ ส่วน synergids ทั้งสองเซลล์นั้นก็ยังสังเกตได้อยู่ ทางด้าน micropylar end ของ embryo sac ที่เจริญเติบโตเต็มที่จึงประกอบด้วย 1 egg และ 2 synergids (ภาพที่ 30) ซึ่งจะพบในดอกพวกที่ 5 **ซึ่งกว้าง** 2 มิลลิเมตร ยาว 5 มิลลิเมตร (ตารางที่ 1)

การจัดตัว (Configuration) ของ egg cell และ synergids อยู่ใน embryo sac ของคนทิสอทะเลไม่มีลักษณะเฉพาะ คือในบาง embryo sac จะพบ egg อยู่สูงหรือห่างจากด้าน micropylar end มากกว่า synergids ส่วน synergids จะอยู่ใกล้ด้าน micropylar end มาก (ภาพที่ 30) แต่ในบาง embryo sac egg cell และ synergids จะอยู่ในระดับเดียวกัน โดยจัดตัวให้ egg cell อยู่ตรงกลาง ส่วน synergids อยู่ 2 ข้าง (ภาพที่ 31) ในบาง embryo sac synergids จะอยู่ด้านล่างของ egg cell (ภาพที่ 32) ในบาง embryo sac จะพบ egg cell อยู่ด้านข้างของ synergids ทั้งสอง แต่อยู่ในระดับที่สูงกว่า synergids ทั้งสองเล็กน้อย (ภาพที่ 33) ส่วนการจัดตัวของ antipodal cells ก็ไม่มีลักษณะเฉพาะ เพราะ

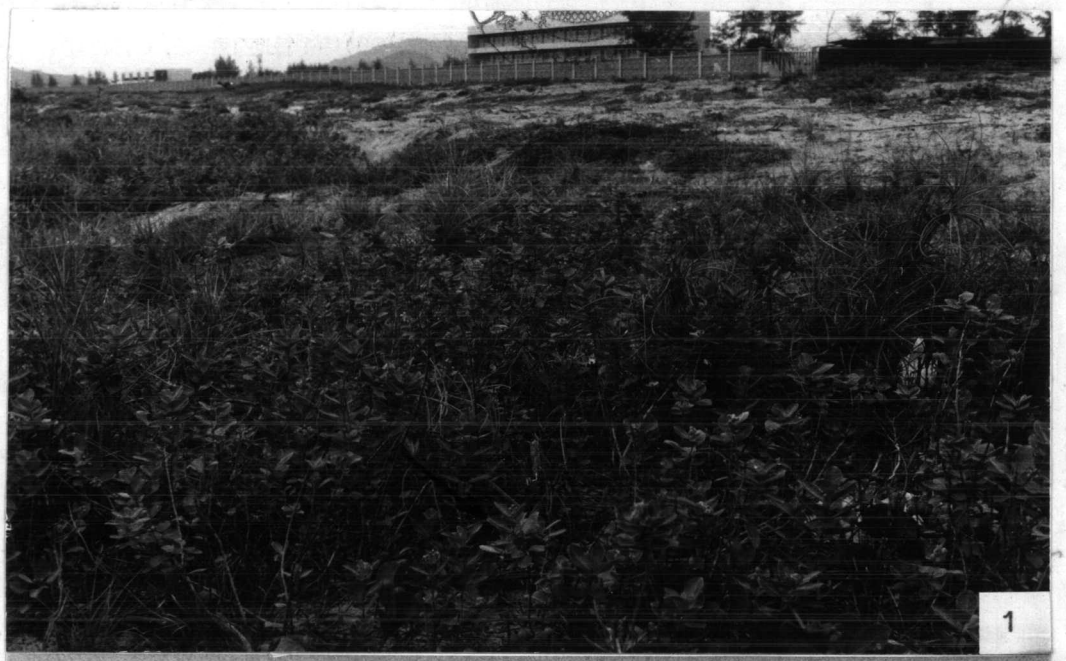
สังเกตพบว่า antipodal cells ในแต่ละ embryo sac จัดตัวไม่เหมือนกัน antipodal cells แต่ละอันจะอยู่ที่ส่วนใดก็ได้ในบริเวณที่ embryo sac เจริญขยายขนาดใหญ่ออกที่บริเวณด้าน chalazal end ซึ่งมี cytoplasmic strand ห้อมล้อมอยู่และโยงยึดเอาไว้กับผนังของ embryo sac Embryo sac ที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้วนี้มีความยาวประมาณ 440 μ มีความกว้างที่บริเวณ chalazal end ประมาณ 67.5 μ มีความกว้างที่บริเวณ micropylar end ประมาณ 75 μ และมีความกว้างที่บริเวณกลาง ๆ embryo sac ประมาณ 30 μ เมื่อ embryo sac เจริญเติบโตเต็มที่ประกอบด้วย antipodal cells 3 เซลล์, polar nuclei 2 นิวเคลียส, synergids 2 เซลล์ และ egg cell 1 เซลล์ ซึ่งนิวเคลียสทั้งหมดนี้ยังห้อมล้อมและโยงยึดกับผนังของ embryo sac ด้วย cytoplasmic strand ซึ่งมักจะพบในดอกพวกที่ 6 ซึ่งมีขนาดกว้าง 2 มิลลิเมตร ยาว 5 มิลลิเมตร (ตารางที่ 1)

Ovule ของคนทิสอทะเลเป็นแบบ hemianatropous หรือ hemitropous เพราะว่า nucellus อยู่ในตำแหน่งเกือบตั้งฉากกับ funiculus Embryo sac ตามที่ได้สังเกตและบรรยายมาเป็นแบบ polygonum type เพราะว่า embryo sac เกิดจาก megaspore เพียงอันเดียว ซึ่ง megaspore อันนี้ได้มีการแบ่งตัวของนิวเคลียสได้เป็น 8 นิวเคลียส เมื่อ embryo sac ได้เจริญเติบโตเต็มที่

ภาพที่ 1 ถึงภาพที่ 33 เป็นภาพของคนทิสอทะเล (Vitex trifolia Linn. var. simplicifolia Cham.)

ภาพที่ 1. แสดงต้นคนทิสอทะเล (ลูกศรชี้) ที่เจริญอยู่ตามธรรมชาติ บริเวณริมหาดทรายชายทะเล เป็นภาพที่ได้ถ่ายจากบริเวณหาดทราย อ. เมือง จ. สงขลา

ภาพที่ 2. แสดงดอกคนทิสอทะเลพวก (ขนาด) ต่าง ๆ ทั้ง 6 พวก ที่นำมาศึกษาการเจริญเติบโตเปลี่ยนแปลงของ embryo sacs และบางส่วนของ ovules จากช้ายดอกที่อ่อนที่สุด และแก่ขึ้นตามลำดับไปทางขวา จนถึงดอกที่แก่ที่สุดอยู่ขวาสุด



1

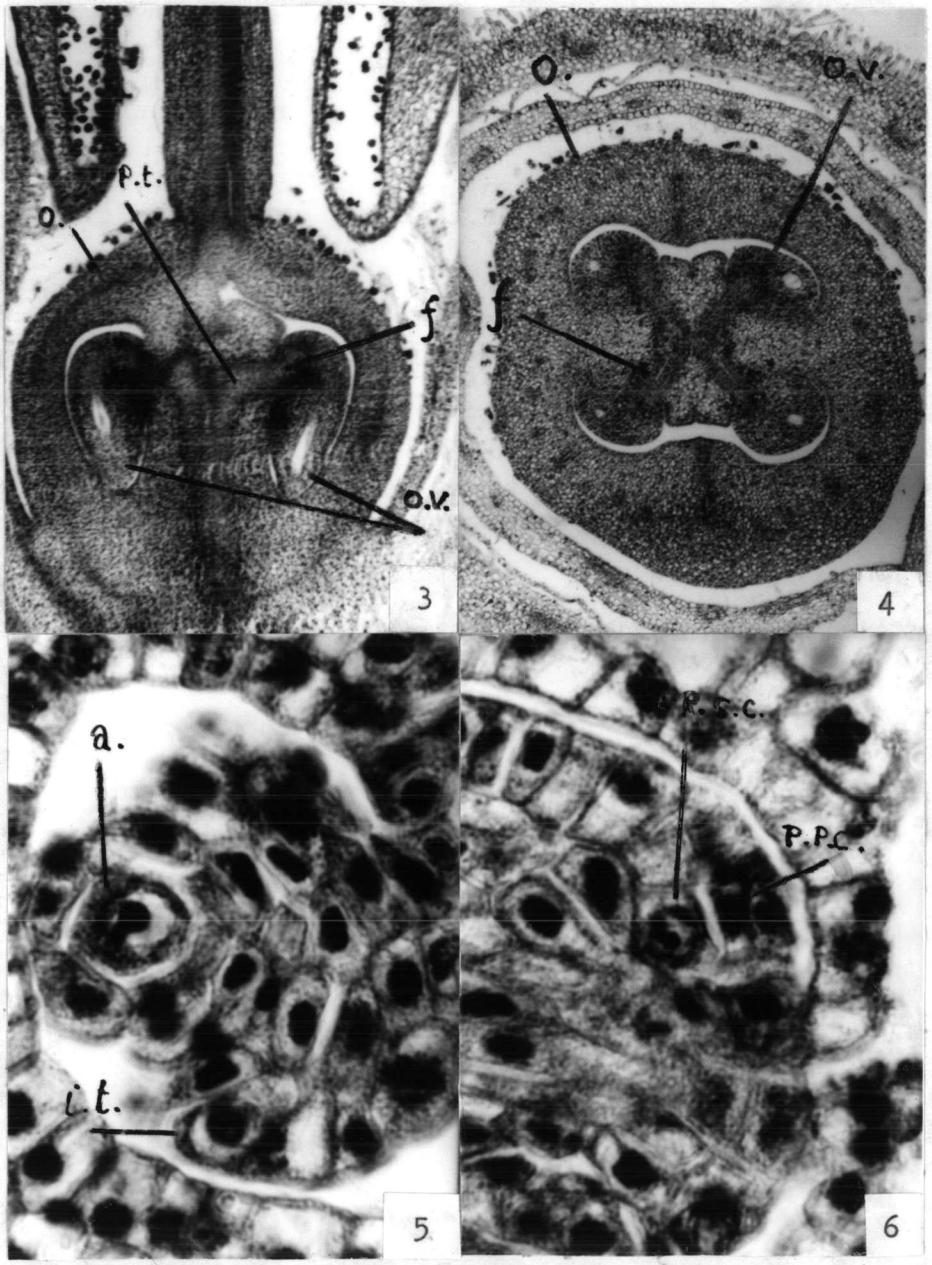
2

ภาพที่ 3. เป็นภาพจาก section ที่เป็น median l.s. ของรังไข่ (o.) ผ่าน 2 ovules (ov.) ในแนว l.s. Ovulesเป็นแบบ hemianatropous มี funiculus (f) สั้น มี placentation แบบ axile placentation (p.t.)

ภาพที่ 4. เป็นภาพจาก section ที่เป็น x.s. ของ ovary (o.) ผ่าน ovules (ov.) ในแนว x.s. ทั้ง 4 อัน

ภาพที่ 5. เป็นภาพจาก section ที่เป็น x.s. ของรังไข่ ผ่าน ovule primordium ในแนว x.s. เพื่อแสดง archesporium (a.) อยู่ที่ชั้น hypodermal position และเห็นเซลล์ที่เป็น integument initial (i.t.) ที่ฐานของ ovule primordium

ภาพที่ 6. เป็นภาพจาก section ที่เป็น x.s. ของรังไข่ ผ่าน ovules ในแนว x.s. แสดง primary parietal cell (p.p.c.) และ primary sporogenous cell (p.s.c.) ที่ได้จากการแบ่งตัวตามแนว periclinal division ของ archesporium

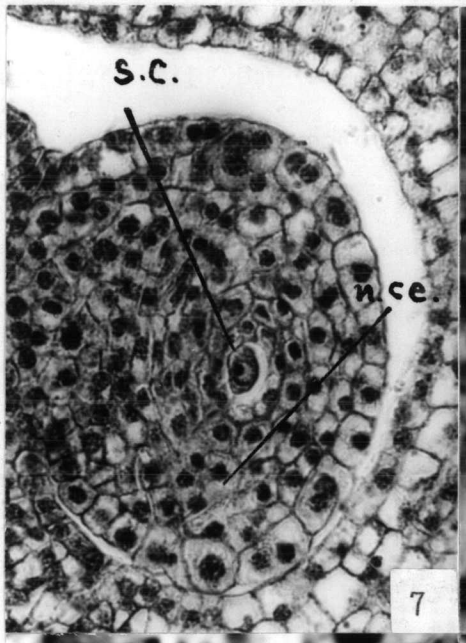

O.
P.t.
f
O.V.
3
O.
O.V.
f
4
a.
i.t.
5
P.P.C.
P.P.C.
6

ภาพที่ 7. เป็นภาพจาก section ที่เป็น x.s. ของรังไข่ ผ่าน ovule ในแนว x.s. เพื่อแสดง sporogenous cell (s.c.) ของ ovule แบบ crassinucellate type ซึ่งมี nucellar cells (n.ce.) ห้อมล้อม sporogenous cell

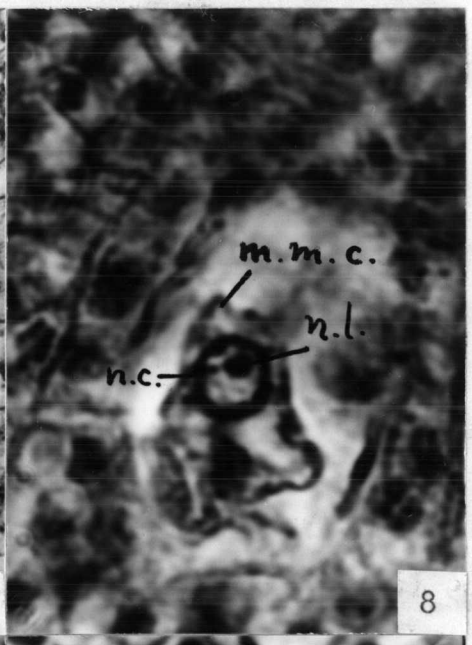
ภาพที่ 8. เป็นภาพจาก section ที่เป็น median l.s. ของรังไข่ ผ่าน ovule ในแนว l.s. แสดง sporocyte หรือ megaspore mother cell (m.m.c.) ซึ่งเป็นขนาดใหญ่ มีนิวเคลียส (n.c.) ใหญ่ มีนิวคลีโอลัส (n.l.) ใหญ่เห็นได้ชัด

ภาพที่ 9. เป็นภาพ l.s. ของ ovule เพื่อแสดงการแบ่งตัวของ megaspore mother cell ในระยะ meiosis I ในระยะแรกคือ เพิ่งแบ่งนิวเคลียสได้เป็น 2 นิวเคลียส (n.c.) ผนังเซลล์ยังเห็นไม่ชัด

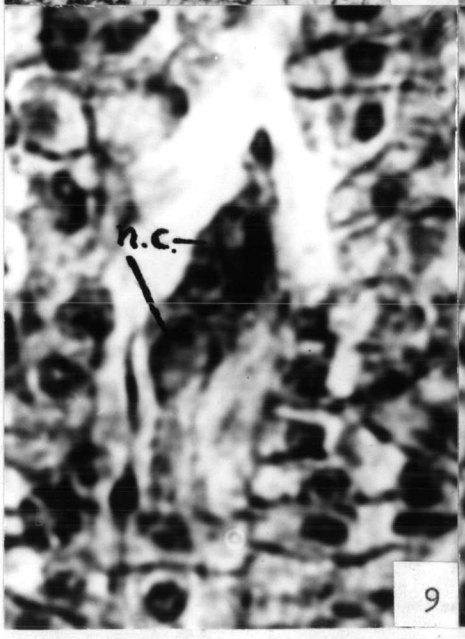
ภาพที่ 10. เป็นภาพจาก section ที่เป็น median l.s. ของ ovule ในระยะที่แก่กว่าภาพที่ 9 เล็กน้อย เพื่อแสดงผนังเซลล์ที่เกิดขึ้นแล้ว กลายเป็น dyads (d.) อย่างสมบูรณ์



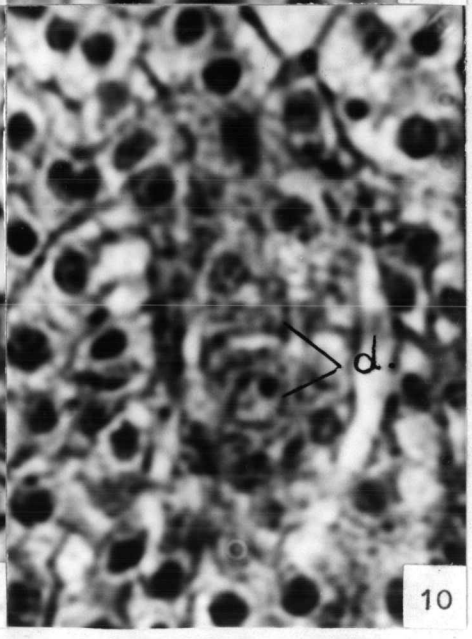
7



8



9



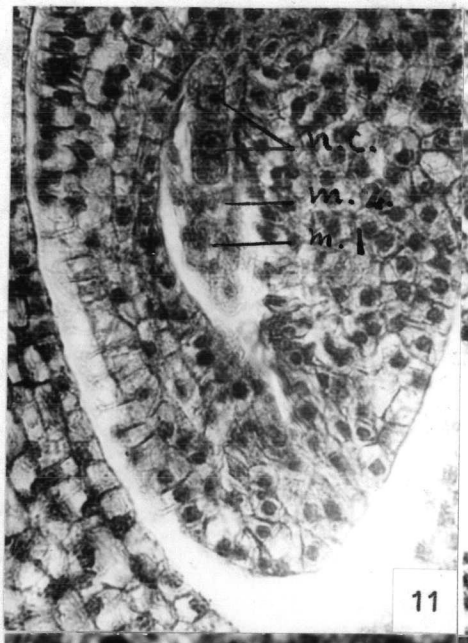
10

ภาพที่ 11. เป็นภาพจาก section ที่เป็น l.s. ของ ovule เพื่อแสดง dyads ที่มีการแบ่งตัวแบบ meiosis II Dyad ด้าน micropylar end แบ่งตัวก่อนได้เป็น 2 megaspores(m_1, m_2) ที่มีขนาดเล็กเท่า ๆ กัน แล้ว dyad ด้าน chalazal end แบ่งทีหลัง ยังเห็นผนังเซลล์ไม่ชัด เห็นนิวเคลียส 2 อัน ขนาดใหญ่ (n.c.) อยู่ในเซลล์เดียวกัน

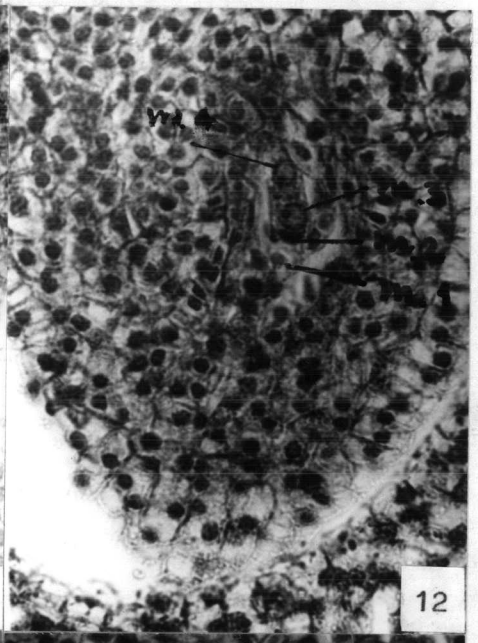
ภาพที่ 12. เป็นภาพจาก section ที่เป็น l.s. ของ ovule แสดง megaspore tetrads แบบ linear tetrads (m_1, m_2, m_3, m_4)

ภาพที่ 13. เป็นภาพจาก section ที่เป็น median l.s. ของ ovule แสดง megaspore อันที่ 1, อันที่ 2, และอันที่ 4 นับจากด้าน micropylar end ที่กำลังฝ่อคือเป็น non-functional megaspore (n.f.m.) และ megaspore อันที่ 3 เป็น functional megaspore (f.m.) ซึ่งมีนิวเคลียส (n.c.) และนิวคลีโอลัส (n.l.) ใหญ่

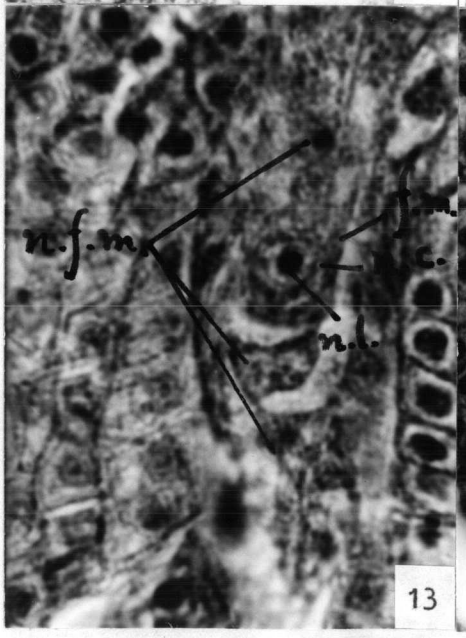
ภาพที่ 14. เป็นภาพจาก section ที่เป็น l.s. ของ ovule แสดง functional megaspore (f.m.) หลังจากที่ non-functional megaspore ฝ่อไปหมดแล้ว และ functional megaspore เริ่มเห็น vacuole (v.) เกิดขึ้นเล็กน้อย



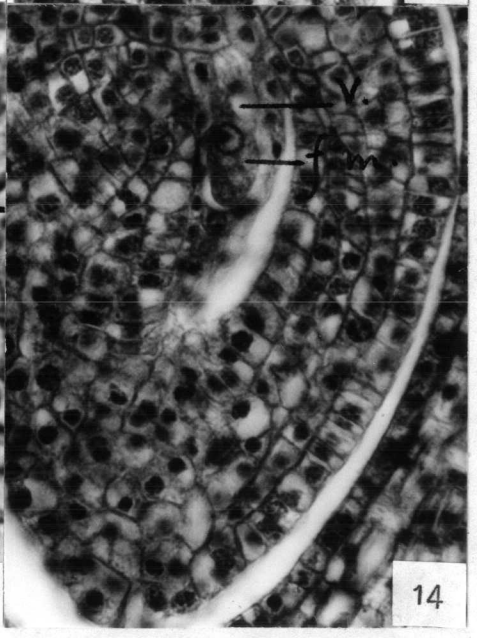
11



12



13



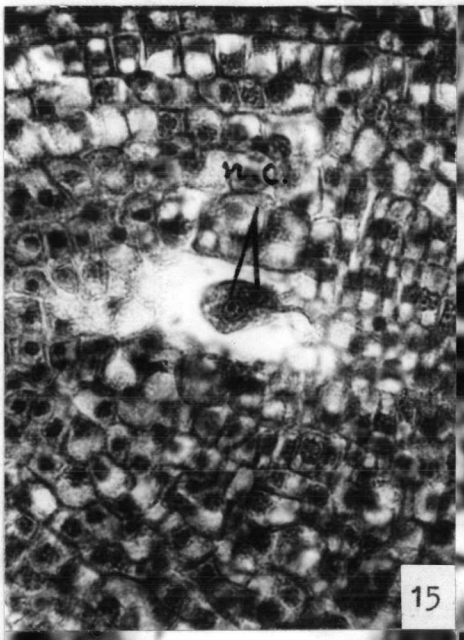
14

ภาพที่ 15. เป็นภาพจาก section ที่เป็น l.s. ของ ovule แสดง embryo sac ระยะ two-nucleate embryo sac ในระยะเริ่มแรก ซึ่งเพิ่งเจริญมาจาก fu nctional megaspore โดยเพิ่งแบ่งเป็น 2 นิวเคลียส (n.c.) ยังไม่มีการเคลื่อนที่ของ 2 นิวเคลียสนี้

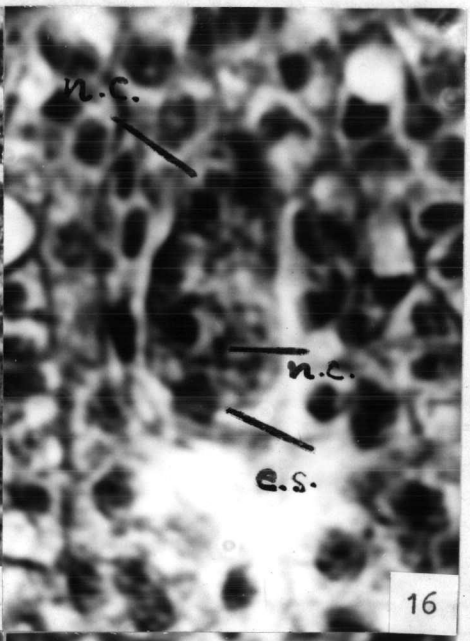
ภาพที่ 16. เป็นภาพจาก section ที่เป็น median l.s. ของ ovule แสดง embryo sac (e.s.) ระยะ two-nucleate embryo sac ซึ่งนิวเคลียส (n.c.) ทั้งสองเริ่มเคลื่อนที่ออกจากกัน

ภาพที่ 17. เป็นภาพจาก section ที่เป็น median l.s. ของ ovule แสดง enbryo sac ระยะ two-nucleate embryo sac ที่นิวเคลียสทั้งสองเคลื่อนที่เสร็จแล้ว เป็นภาพของนิวเคลียส (n.c.) ทางด้าน micropylar end ที่เคลื่อนที่มาอยู่ทางปลายของ embryo sac ทางด้าน micropylar end ซึ่งห้อมล้อมและโยงยึดกับผนังของ embryo sac ด้วย cytoplasmic strand (c.s.)

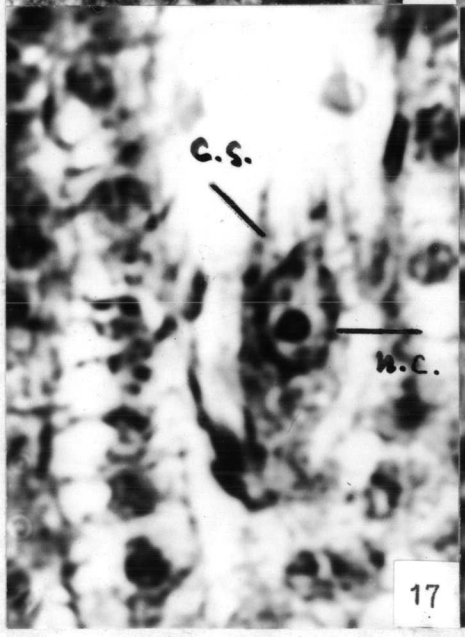
ภาพที่ 18. เป็นภาพจาก section และ ovule เดียวกันกับภาพที่ 17 แต่แสดงนิวเคลียส (n.c.) ทางด้าน chalazal end ซึ่งอยู่คนละ plane กันกับนิวเคลียสของภาพที่ 17



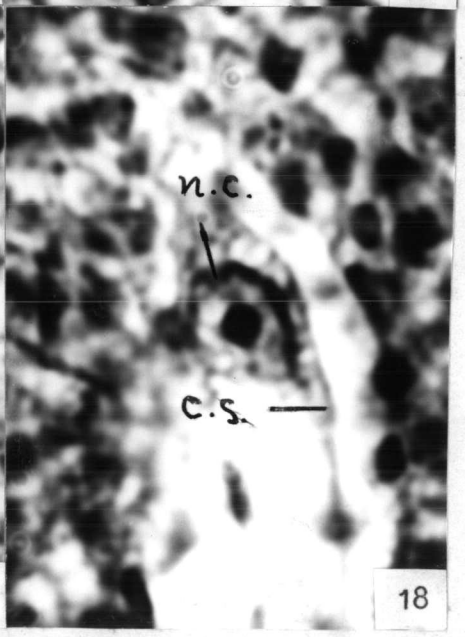
15



16



17



18

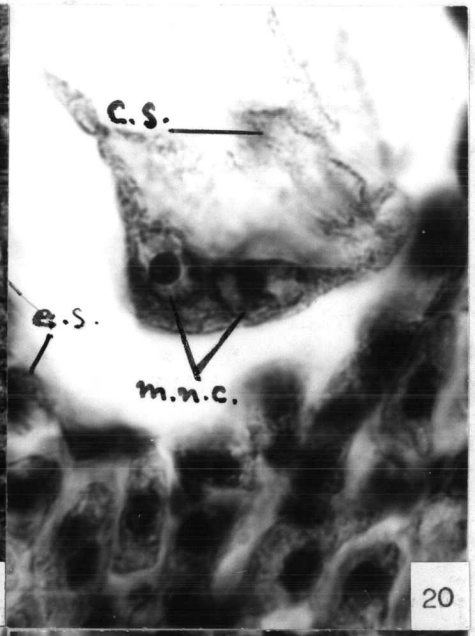
ภาพที่ 19. เป็นภาพจาก section เดียวกันกับภาพที่ 17 และภาพที่ 18 แต่ถ่ายด้วยกำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์ที่ต่ำกว่า เพื่อแสดงนิวเคลียสทั้งสองคือ นิวเคลียสทางด้าน micropylar end (m.n.c.) และนิวเคลียสทางด้าน chalazal end (c.n.c.) ในภาพเดียวกัน แต่เห็นนิวเคลียสทางด้าน chalazal end ไม่ชัด เพราะอยู่คนละ plane กัน ใน embryo sac (e.s.) เดียวกัน ซึ่งตรงกลาง embryo sac มี vacuole ขนาดใหญ่ (v.)

ภาพที่ 20. เป็นภาพจาก section ที่เป็น l.s. ของ ovule แสดง 2 นิวเคลียสทางด้าน micropylar end (m.n.c.) ของ embryo sac (e.s.) ระยะ four-nucleate embryo sac ซึ่งห้อมล้อมและโยงยึดกันด้วย cytoplasmic strand (c.s.)

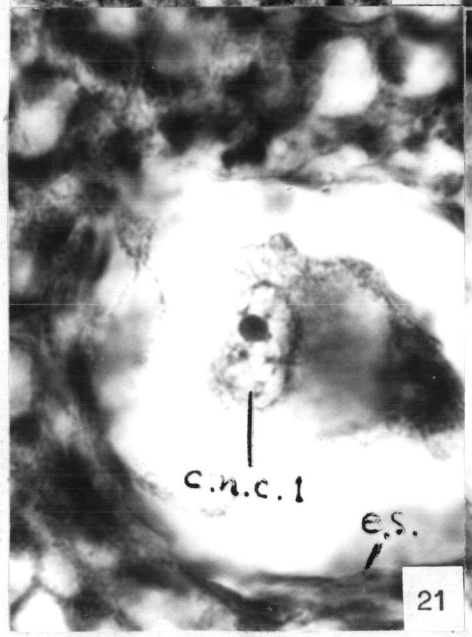
ภาพที่ 21. เป็นภาพของ section ถัดไปจากภาพที่ 20 แต่เป็น section ของ embryo sac เดียวกันกับในภาพที่ 20 เห็น 1 นิวเคลียสทางด้าน chalazal end (c.n.c.1) ของ embryo sac (e.s.) ระยะ four-nucleate embryo sac ได้ชัด อีก 1 นิวเคลียสเห็นไม่ชัด

ภาพที่ 22. เป็นภาพจาก section และ embryo sac เดียวกันกับภาพที่ 21 แต่คนละ plane กัน แสดงอีก 1 นิวเคลียสทางด้าน chalazal end (c.n.c.2) ของ embryo sac (e.s.) ระยะ four-nucleate embryo sac ที่เห็นไม่ชัดในภาพที่ 21 ให้เห็นชัดขึ้น

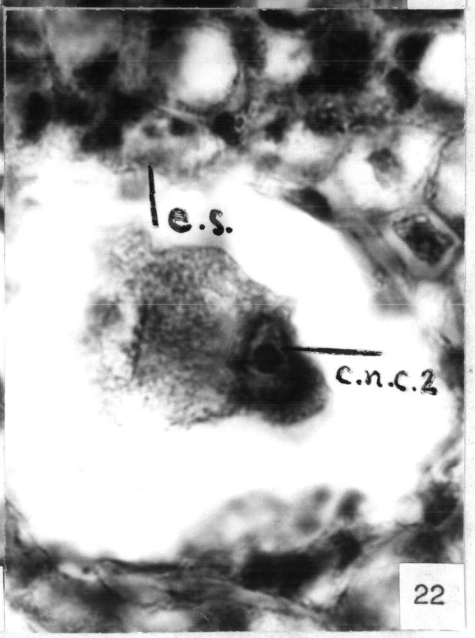
19



20



21



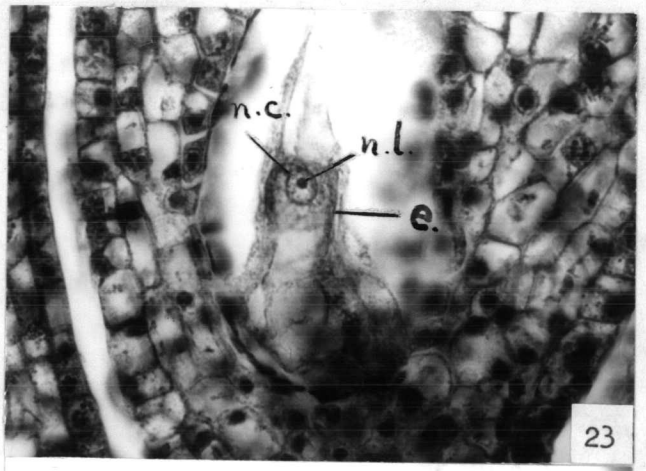
22

ภาพที่ 23. เป็นภาพจาก section ที่เป็น l.s. ของ ovule เพื่อแสดงนิวเคลียส 1 อันทางด้าน micropylar end ที่เจริญเปลี่ยนแปลงไปเป็น egg cell (e.) ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ มีนิวเคลียส (n.c.) และนิวคลีโอลัส (n.l.) ขนาดใหญ่เห็นชัด

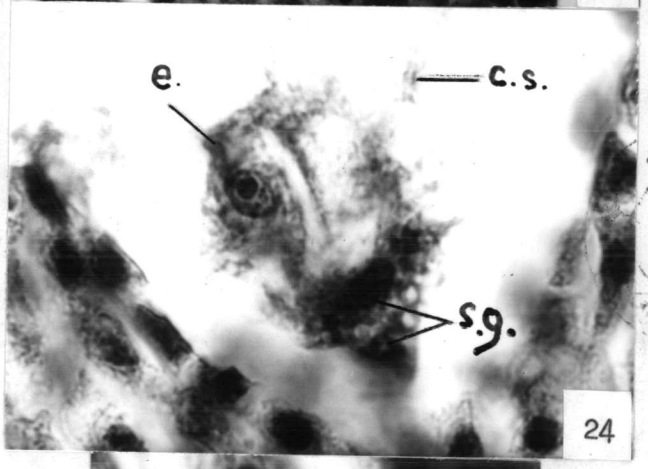
ภาพที่ 24, ภาพที่ 25, ภาพที่ 26 และภาพที่ 27 เป็นภาพจาก section เดียวกัน ที่เป็น median l.s. ของ ovule เดียวกัน เพื่อแสดง embryo sac ระยะ eight-nucleate embryo sac แต่เนื่องจาก embryo sac ในระยะนี้มีขนาดใหญ่ จึงแยกถ่ายภาพเป็นส่วน ๆ เพื่อให้เห็นนิวเคลียสของแต่ละส่วนได้ชัดเจน คือ

ภาพที่ 24. แสดง 3 นิวเคลียส ทางด้าน micropylar end ซึ่งประกอบด้วย 1 egg cell (e.) และ 2 synergids (s.g.) ซึ่งยังมี cytoplasmic strand (c.s.) ห้อมล้อมอยู่

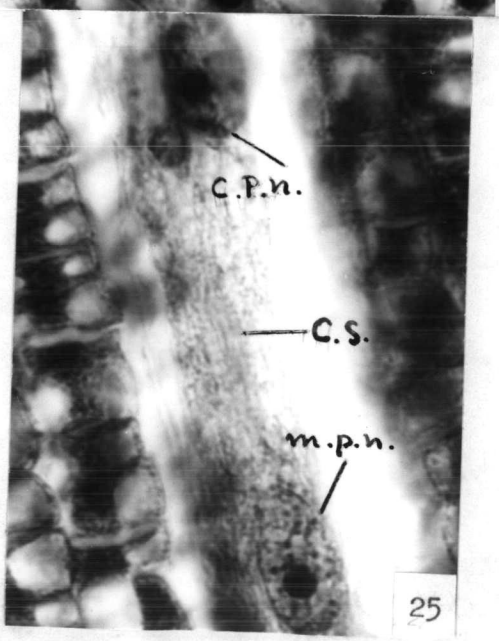
ภาพที่ 25. แสดง 2 นิวเคลียส ของ polar nuclei ซึ่งกำลังเคลื่อนที่มาจากด้าน micropylar end 1 นิวเคลียส (m.p.n.) จากด้าน chalazal end 1 นิวเคลียส (c.p.n.) ซึ่งห้อมล้อมด้วย cytoplasmic strand (c.s.)



23



24

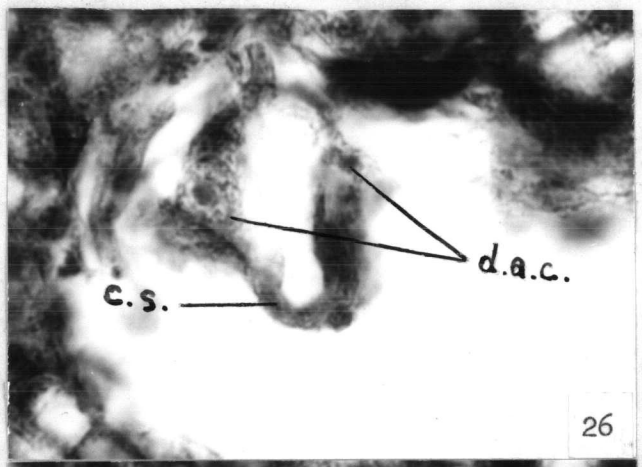


25

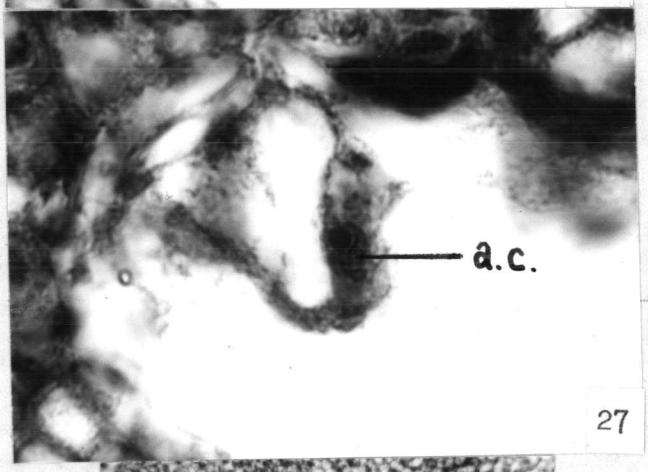
ภาพที่ 26. แสดง antipodal nuclei 2 นิวเคลียส ซึ่งอยู่ทางด้าน chalazal end และกำลังฝ่อ (d.a.c.) ซึ่งมี cytoplasmic strand (c.s.) ห้อมล้อมอยู่

ภาพที่ 27. แสดง antipodal nucleus อีก 1 นิวเคลียส ซึ่งอยู่คนละ plane กับภาพที่ 26 ซึ่งเป็น antipodal nucleus ที่ยังไม่ฝ่อ (a.c.)

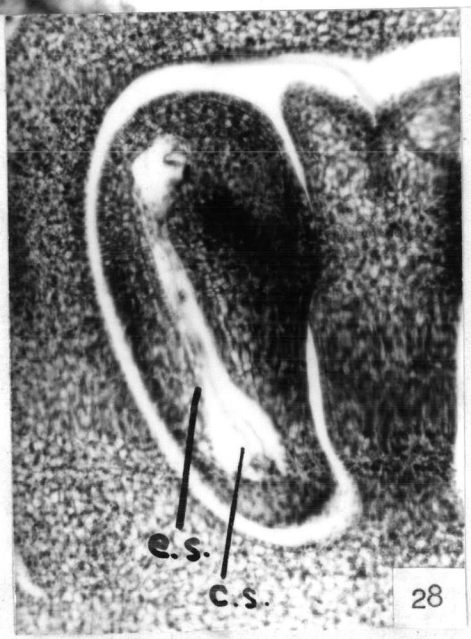
ภาพที่ 28. เป็นภาพจาก section เดียวกันและ ovule เดียวกันกับภาพที่ 24. ภาพที่ 25, ภาพที่ 26 และภาพที่ 27 แต่ถ่ายจากกำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์ที่ต่ำ เพื่อแสดง embryo sac (e.s.) รูปดัมเบลล์ (Dumbbelled shape) ทั้งอัน เห็น cytoplasmic strand (c.s.) ห้อมล้อมและโยงยึดนิวเคลียสทั้ง 8 อยู่



26



27



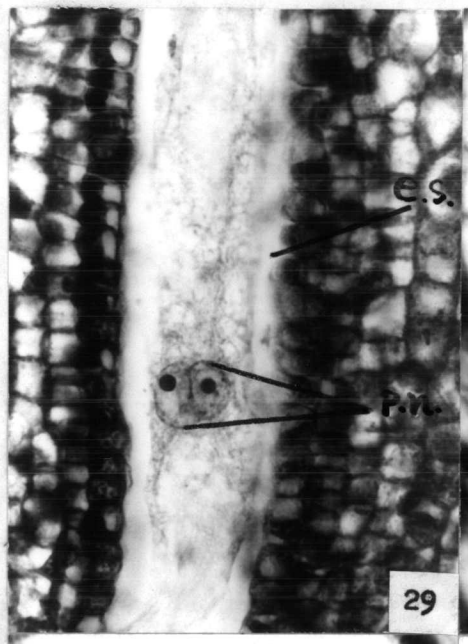
28

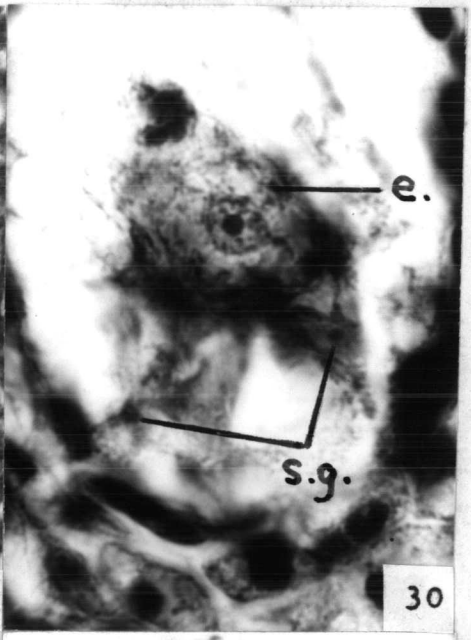
ภาพที่ 29. เป็นภาพจาก section ที่เป็น l.s. ของ ovule แสดง polar nuclei (p.n.) ที่อยู่ชิดกันและอยู่ในระดับเดียวกันที่บริเวณกลาง ๆ ของ embryo sac (e.s.)

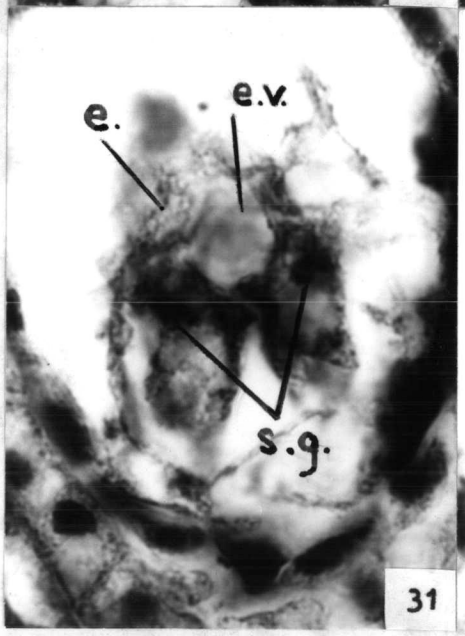
ภาพที่ 30. เป็นภาพจาก section ที่เป็น l.s. ของ ovule แสดงการจัดตัวของ egg cell และ egg apparatus โดย egg cell (e.) อยู่ทางด้านไกลจาก micropylar end และ synergids (s.g.) อยู่ทางด้านใกล้ micropylar end มากกว่า

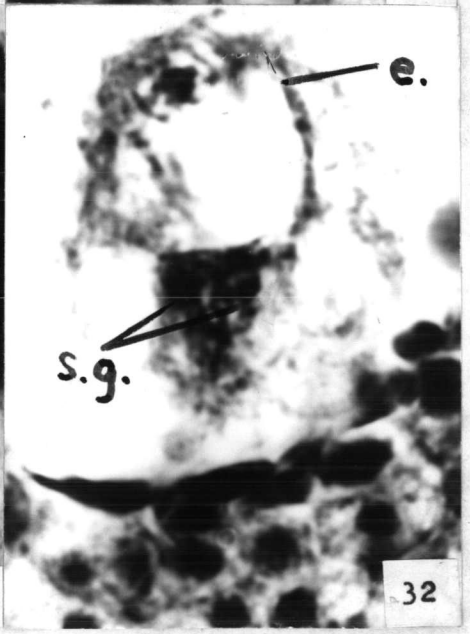
ภาพที่ 31. เป็นภาพจาก section ที่เป็น l.s. ของ ovule แสดงการจัดตัวของ egg cell และ egg apparatus โดย egg cell (e.) และ synergids (s.g.) อยู่ในระดับเดียวกัน แต่ egg cell อยู่กลาง egg cell มี vacuole (e.v.) ใหญ่

ภาพที่ 32. เป็นภาพจาก section ที่เป็น l.s. ของ ovule แสดงการจัดตัวของ egg cell และ egg apparatus โดย egg cell (e.) อยู่สูงกว่า synergids (s.g.) และ synergids อยู่ติดกับผนังเซลล์ด้านล่างของ egg cell

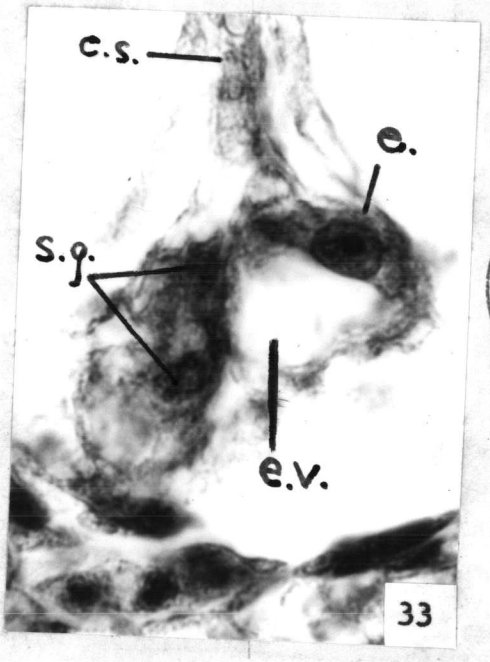

e.s.
P.N.
29


e.
s.g.
30


e.
e.v.
s.g.
31


e.
s.g.
32

ภาพที่ 33. เป็นภาพจาก section ที่เป็น l.s. ของ ovule แสดงการจัดตัวของ egg cell และ egg apparatus โดย egg cell (e.) อยู่ทางด้านข้างด้านหนึ่ง ในระดับที่สูงกว่า และ synergids (s.g.) อยู่อีกข้างหนึ่ง เห็น vacuole (e.v.) ของ egg cell ขนาดใหญ่ มี cytoplasmic strand (c.s.) ห้อมล้อมอยู่


c.s.
e.
s.g.
e.v.
33

family Malvaceae, Rubiaceae และ Compositae มีอยู่ 2–3 เซลล์ ซึ่งเกิดจากการแบ่งเซลล์ของ sporogenous cell อันเดิม และ sporogenous cell ทุกเซลล์สามารถเจริญไปเป็น megaspore tetrads ได้ทุกเซลล์

Parietal cell ของคนทิสอทะเลมีการแบ่งเซลล์ทั้งทางด้าน periclinal division และทางด้าน anticlinal division ให้ nucellar cells จำนวนมาก ทำให้ megaspore mother cell อยู่ลึกเข้าไปใน ovule Ovule จึงเป็นแบบ crassinucellate type อย่างแท้จริง ซึ่งจะพบ ovule แบบนี้ในพืชอย่างอื่น เช่น Acer saccharium (Haskell and Postlethwait, 1971), Quisqualis, Zizyphus (Maheshwari, 1950) แต่ในพืชบางชนิด parietal cell แบ่งตัวไม่มากนัก Megaspore mother cell จึงอยู่ใน ovule ไม่ลึกมากนัก ทำให้ ovule เป็นแบบกึ่งกลางระหว่างแบบ crassinucellate type และแบบ tenuinucellate type ได้แก่ Canna edulis (คำรงธรรม, 2512), Oryzopsis miliacea (Maze et al., 1969) ส่วนพืชพวก Sympetalae ยกเว้น Order Plumbaginales และบาง genera ของ family Convolvulaceae จะไม่มี parietal cell ซึ่งลักษณะที่ไม่มี parietal cell นี้เป็นลักษณะที่มีวิวัฒนาการสูง (Maheshwari, 1950) Maheshwari (1950) กล่าวถึง Häfliger ซึ่งรายงานในปี 1943 ว่า ไม่ยอมรับข้อสรุปอันนี้ เพราะ Häfliger พบว่าแม้ในพืชที่ค่อยในด้านวิวัฒนาการบางชนิด เช่น family Ranunculaceae ก็ไม่มี parietal cell

Ovules ของคนทิสอทะเลมี funiculus สั้นแบบเดียวกับของ Acer saccharinum (Haskell and Postlethwait, 1971) ซึ่งเขาได้เรียก funiculus ที่สั้นแบบนี้ว่า " Stout Funiculus" ลักษณะของ ovules ของคนทิสอทะเลระยะที่เป็น ovule primordium จะพบ l.s. ของ ovules ใน section ที่เป็น x.s. ของรังไข่ เมื่อ embryo sac เจริญเติบโตเต็มที่แล้วเป็นแบบ hemianatropous type ซึ่งมีผู้พบ ovule แบบ hemianatropous type แล้ว เช่น Acer saccharinum (Haskell and Postlethwait, 1971), Oryzopsis miliacea (Maze et al.,