ผลจากการสังเกต (OBSERVATIONS)

จากการที่ได้นำ ovary ของดอกพุทธรักษาที่มีอายุหลังการถ่ายละอองเรณู ตั้งแต่ศูนย์วันถึงสิบวัน มา fix ในน้ำยาจำพวก fixative สองชนิดคือ FAA และ Petrunkevitsch's Fluid นั้น พบว่า ovary ที่ fix ในน้ำยา FAA เมื่อทำเป็น section มักจะมีบางส่วนภายใน ovule และ embryo sac ยุบหรือขาดหายไป อาจจะเนื่องจากน้ำยา fixative ซึมเข้าไปไม่ถึงเนื้อเยื่อชั้นที่อยู่ข้างในจึงไม่อาจรักษา (preserve) ส่วนที่อยู่ข้างในให้สภาพคงเดิมไว้ได้ ทำให้ไม่สามารถศึกษาการเจริญเติบโตที่ติดกันไปเป็นระยะได้ จึงได้เปลี่ยนเป็นใช้ Petrunkevitsch's Fluid ส่วนต่างๆ เช่น ovule และส่วนภายใน embryo sac อยู่ในสภาพดีกว่า สามารถศึกษาการเจริญเติบโตเปลี่ยนแปลงที่ติดต่อกันเป็นระยะได้ดี ดังนั้นการศึกษาการเจริญเติบโตเปลี่ยนแปลงใน ovary ที่มีอายุหลังการถ่ายละอองเรณูนานวันกว่านี้ คือตั้งแต่ 12 วันเป็นต้นไปจนถึง 25 วัน จึงได้เลือกใช้ Petrunkevitsch's Fluid เป็นน้ำยา fixative นอกจากนี้การศึกษาใน embryo ที่เจริญเต็มที่โดยแกะเอาแต่ส่วน embryo จาก ovary ของพุทธรักษาที่มีอายุหลังการถ่ายละอองเรณู 22 วันและ 25 วัน มา fix ในน้ำยาจำพวก fixative สองชนิดคือ Petrunkevitsch's Fluid และ Modified Navashin Fluid นั้น พบว่า embryo ที่ fix ใน Modified Navashin Fluid สามารถนำมาศึกษาส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญ (meristematic tissue) ได้ดีกว่า embryo ที่ fix ใน Petrunkevitsch's Fluid ดังนั้นในระยะที่ embryo เริ่มงอกเป็น seedling (ต้นอ่อน) เล็กๆ การศึกษาบางส่วนของ embryo ที่กำลังงอก เช่น ส่วนปลายรากและปลายยอด จึงเลือกใช้ Modified Navashin Fluid เป็นน้ำยา fixative ทั้งหมด

ในการที่ได้ลองย้อมสีหลายๆวิธีเพื่อเปรียบเทียบกัน คือ ใน ovary ที่ย้อมสองสีคือ safranin และ fast green พบว่าเห็นส่วนต่างๆภายในไม่ชัดเจน ส่วนที่เป็นนิวเคลียสของเซลล์ไม่ค่อยติดสีแดงของ safranin และ cell wall

ก็ไม่ติดสีเขียวของ fast green จึงไม่สะดวกที่จะตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จึงเลิกใช้สี safranin กับ fast green เสียตั้งแต่ในตอนแรกๆ การย้อมสองสีคือ Heidenhain's Iron Hematoxylin และ safranin จะสามารถเห็นนิวเคลียสของเซลล์ติดสี hematoxylinได้ดี ส่วนการย้อมสามสีซึ่งมี orange G เพิ่มขึ้นมาด้วยนั้นทำให้สามารถดูส่วนต่างๆได้ชัดเจนมากขึ้น เพราะ orange G เป็นสีที่ช่วยย้อมติด cytoplasmได้ดี ได้ใช้ย้อมใน ovary อายุถึง 12 วันเท่านั้น เพราะระยะนี้ส่วนต่างๆใน embryo sac เพิ่งเริ่มโตเปลี่ยนแปลงมา ค่อนข้างยากต่อการเข้าใจ จะได้ใช้สีเป็นเครื่องชี้ว่าส่วนใดเป็นอะไรด้วย

ในรายงานนี้จะบรรยายผลจากการสังเกตการเจริญเติบโตเปลี่ยนแปลง (development) ตั้งแต่ระยะที่เป็นzygote จนถึงระยะที่เป็น embryo (คัพภะ) ที่เติบโตเต็มที่ในพุทธรักษา (Canna edulis Linn.) และส่วนที่เกี่ยวข้องคือ endosperm เป็นหลักสำคัญ ส่วนการเปลี่ยนแปลงอื่นๆของ ovule จะอธิบายเพียงโดยย่อหรือเท่าที่จำเป็น

จากดอกพุทธรักษาที่ovary มีความสูง[1] 5 มิลลิเมตรหรือในระยะที่รอการผสมและยังไม่ได้ทำการถ่ายละอองเรณู หรือที่เรียกว่า ovary ที่มีอายุศูนย์วันหลังการถ่ายละอองเรณู Embryo sac (megagametophyte) คงเหลือ egg และ central cell (secondary nucleus) หนึ่งฉัน Egg ในระยะนี้มีรูปร่างค่อนข้างกลม Egg อยู่ใกล้ทางด้าน micropyle (ภาพที่ 1) นิวเคลียสอยู่ทางด้านปลาย (distal end) หรือทางทิศสู่ chalaza (chalazal end) Vacuole มีขนาดใหญ่อยู่ทางด้านฐาน (basal end)ของเซลล์ด้านที่อยู่ชิด micropyle และ cytoplast ของ eggมีลักษณะข้นอยู่ทำแหน่งรีมๆ

---

[1] ความสูงในที่นี้วัดจากฐานถึงปลายบนของ ovary

(peripheral position) ของนิวเคลียส ขนาดของ egg วัดตามเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยได้ 20 μ(micron)(ตารางที่ 1) Central cell มักจะอยู่ตรึงทางระหว่าง micropylar end กับ chalazal end ของ embryo sac แต่อาจจะอยู่ชิดไปทางขอบข้างหนึ่งของ embryo sac ในทิศใกล้ funiculus รูปร่างของ central cell ค่อนข้างกลมมีขนาดใหญ่ วัดขนาด central cell ตามแนวเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยได้ประมาณ 15 μ (ตารางที่ 1) Cytoplast ของ central cell เข้มข้นแล้วมีเป็นสายๆโยงกับ cytoplasm ทั่วไปของ embryo sac Nucellus ที่อยู่ระหว่าง embryo sac กับ integument ด้านใกล้ micropyle ประกอบด้วยเซลล์จำนวนสองแถว รูปร่างเซลล์ในบริเวณนี้ค่อนข้างยาวกว่าเซลล์ในบริเวณอื่นๆของ ovule เซลล์พวก nucellus แถวในสุดคือแถวที่อยู่ชิด embryo sac ตรงตำแหน่งใกล้ micropyle มีขนาดยาวกว่าส่วนอื่นๆทั้งหมดโดยมีดยาวออกในแนวรัศมี (radial) วัดความยาวเฉลี่ยได้ประมาณ 17.5 μ เซลล์ในชั้น nucellus ที่อยู่ตรงขั้วของ embryo sac ทางด้านใกล้ chalaza (chalazal end) กลุ่มหนึ่งประมาณ 6-7 เซลล์มีลักษณะเป็นเซลล์ผนังหนา ซึ่งสังเกตได้จากการที่ติดสีเข้มกว่าเซลล์ในชั้นอื่นๆในบริเวณใกล้เคียง Embryo sac ในระยะนี้มีรูปร่างเป็นรูปไข่ค่อนข้างยาวแบบ obovate-lanceolate (ภาพที่ 1) วัดความยาวซึ่งอยู่ขนานกับแกนยาวของ ovule ได้ 212.5 μ ความกว้างไม่เท่ากันตลอดคือส่วนกว้างที่สุดของ embryo sac อยู่ค่อนไปทาง micropyle วัดค่าเฉลี่ยได้ 80 μ และวัดความกว้างตรงส่วนโป่งสุดทางด้าน chalaza เฉลี่ยได้ประมาณ 70 μ(ตารางที่ 1) Ovule ในระยะนี้เมื่อดูในแนวผ่ากลางตามยาว (median-longitudinal view) เป็นรูป ovate วัดส่วนยาวซึ่งจะหมายถึงส่วนจากปลายสุดทางด้าน micropyle ถึงปลายสุดทางด้านchalaza ได้ประมาณ 385 μ และขนาดตามความกว้างซึ่งจะหมายถึงส่วนกว้างที่สุดซึ่งอยู่ค่อนมาทาง chalaza ได้ประมาณ 312.5 μ (ตารางที่ 1)

ดอกพุทธรักษาที่ ovary มีความสูง 5 มิลลิเมตรซึ่งได้ดึงอับเรณูออกและทำการถ่ายละอองเรณูแล้ว สังเกตลักษณะภายนอกได้ว่าส่วนต่างๆของดอกที่อยู่เหนือ ovary ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้น จะบานในวันรุ่งขึ้น และบานอยู่จนถึงวันที่ห้าตอนบ่าย ในระยะนี้ส่วนต่างๆที่อยู่เหนือ ovary ยังไม่หลุดร่วงไป เมื่อศึกษาส่วนภายในจาก section ส่วน ovule และ embryo sac เปลี่ยนแปลงไปบ้างจากในดอกที่เริ่มต้นนำมาทดลอง กล่าวคือ egg มีขนาดโตขึ้นกว่าเดิม ขนาดของ egg วัดตามแนวเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยเรียงตามลำดับวันหลังการถ่ายละอองเรณูคือ 1,2,3,4 และ 5 วันได้ดังนี้ 25,27.5,30.6,35, และ 42.5 µ ตามลำดับ(ตารางที่ 1) ค่าเฉลี่ยนี้เฉลี่ยจาก embryo sac จำนวน 3,7,6,4 และ 10 อันตามลำดับ Central cell ใน embryo sac หลังการถ่ายละอองเรณูตั้งแต่หนึ่งวันจนถึงห้าวันมีรูปร่างค่อนข้างกลม และมี cytoplast มาพอกรอบนิวเคลียสมากขึ้นทำให้ทั้งเซลล์ดูมีขนาดใหญ่ขึ้นคือวัดเส้นผ่าศูนย์กลางทั้งเซลล์เฉลี่ยเรียงตามลำดับวันหลังการถ่ายละอองเรณู คือ 1,2, 3,4 และ 5 วันได้ดังนี้ 17,17.5,19.5,27 และ 32.5 µ ตามลำดับ(ตารางที่ 1) แต่นิวเคลียสคงมีขนาดใกล้เคียงกับขนาดเดิม กลุ่มเซลล์ในบริเวณ nucellus ที่อยู่ตรงขั้วของ embryo sac ทางด้าน chalaza ซึ่งเดิมเป็นเซลล์ผนังหนาทึบ เริ่มได้ยืดยาวยื่นเข้าไปใน embryo sac กลุ่มเซลล์นี้คือ hypostase Embryo sac มีขนาดใหญ่ขึ้นรูปร่างยาวออกไปกว่าเดิม ปลาย embryo sac ทั้งสองข้างคือปลายทางด้าน micropyle และปลายทางด้าน chalaza พองออกกว่าบริเวณกลางๆของ embryo sac เล็กน้อย วัดความยาวของ embryo sac เฉลี่ยเรียงตามลำดับวันหลังการถ่ายละอองเรณูคือ 1,2,3,4 และ 5 วันได้ 213.3,256,322,330 และ 333.7 µ ตามลำดับ วัดความกว้างที่สุดทางด้านใกล้ micropyle เฉลี่ยได้ 85,116,122,125.7 และ 130 µ ตามลำดับ และวัดส่วนกว้างที่สุดทางด้านใกล้ chalaza เฉลี่ยได้ 70,72,80,120 และ 122.3 µ ตามลำดับ(ตารางที่ 1) Ovule โตขึ้นบ้างวัดความยาวเฉลี่ยเรียง

ตามลำดับวันหลังการถ่ายละอองเรณูคือ 1,2,3,4 และ 5 วันได้ 440,744,850, 880 และ 900 μ ตามลำดับ และที่ความกว้างที่สุดตรงส่วนที่คอนมาทาง chalaza เฉลี่ยเรียงตามลำดับวันได้ 360,680,700,782 และ 800 μ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ดอกพุทธรักษาที่มีอายุหลังการถ่ายละอองเรณูหกวันpetaloid staminode และกลีบดอกได้เริ่มเหี่ยวแล้วหลุดร่วงไปในวันต่อๆมาคือในราววันที่แปดหลังการถ่ายละอองเรณู กลีบเลี้ยงก็เหี่ยวเช่นเดียวกันแต่ยังติดอยู่เหนือ ovary และติดอยู่จนกระทั่ง ovary แก่เต็มที่ ดอกพุทธรักษาที่มีอายุหลังการถ่ายละอองเรณูหกวันนี้ embryo sac อยู่ในระยะถูกผสม (fertilization) กล่าวคือละอองเรณูได้เจริญต่อมาและสร้าง pollen tube ลงมาตามก้านชูเกสรตัวเมีย (style) เมื่อมาถึง ovary ส่วนที่เป็น pollen tube จะเข้าสู่ ovule ผ่าน micropyle เข้าสู่ embryo sac (ภาพที่ 2,3) Pollen tube ที่เจริญเข้ามาในหนึ่ง ovule อาจจะมีมากกว่าหนึ่งอัน เช่นได้พบสอง pollen tube (ภาพที่ 3) เมื่อ egg ถูกผสมได้เป็น zygote (ภาพที่ 4) Secondary nucleus (central cell) ซึ่งเกิดจากการรวมกันของสอง polar nuclei ได้ถูกผสมเช่นเดียวกันได้เป็น primary endosperm nucleus หรือ endosperm mother cell (ภาพที่ 5) ลอยอยู่ประมาณครึ่งทางระหว่าง micropylar end กับ chalazal end ของ embryo sac แต่อาจจะอยู่ชิดมาทางขอบหนึ่งของ embryo sac ทางทิศใกล้ funiculus Zygote มีรูปร่างค่อนข้างกลม (ภาพที่ 4) ประกอบด้วยนิวเคลียสใหญ่และ cytoplast เข้มข้นกว่าเมื่อเป็น egg เห็นได้จากย้อมติดสี fast green เมื่อย้อมด้วยสองสีคือsafranin และ fast green หรือติดสี orange G เมื่อย้อมด้วยสามสีคือHeidenhain's iron hematoxylin, safranin และ orange G ซึ่งสี fast green และ orange G เป็นสีที่ย้อมติด cytoplasm ได้ดี Vacuoleขนาดใหญ่ซึ่งเคยมีอยู่ทางด้านล่าง (micropylar end) ของ egg หายไป วัดขนาดของ

zygote ตามแนวเส้นผ่าศูนย์กลางโดยวัดตามแกนยาวคือจากทิศ micropylar end ไปยัง chalazal end ได้ประมาณ 57 μ และวัดตามแกนที่ตั้งฉากกับแกนยาวได้ประมาณ 45 μ (ตารางที่ 2) Primary endosperm nucleus รูปร่างคล้ายรูปไตมีขนาดประมาณ 40 x 30μ และนิวคลีโอลัส ของprimary endosperm nucleus มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10 μ Cytoplast ที่หุ้มรอบ primary endosperm nucleus มีสีเข้มอยู่รอบนิวเคลียสแล้วมีเป็นสายๆ พาดโยงกับ cytoplasm ทั่วไปของ embryo sac เซลล์ชั้นในสุดของ nucellus ที่อยู่ทางด้าน micropyle ยืดยาวขึ้นถึกและเริ่มจะยืดยาวในทิศมาสู่ embryo sac วัดตามยาวหรือในทิศมาสู่ embryo sac ได้ประมาณ 25 μ Nucellus ที่อยู่ทางด้าน chalaza กลุ่มหนึ่งซึ่งยืดเข้ามาใน embryo sac ที่เรียกว่า hypostase นั้นยืดยาวเข้ามาใน embryo sac มากขึ้นกว่าเดิม Embryo sac ขยายขนาดและยืดยาวขึ้น วัดขนาดตามความยาวได้ประมาณ 384.6 μ ตามความกว้างทางด้าน micropyle ได้ประมาณ 130 μ และวัดขนาดตามความกว้างทางด้าน chalaza ได้ประมาณ 128 μ (ตารางที่ 2) Ovule เจริญเติบโตขึ้น มีขนาดที่วัดได้ตามยาวเฉลี่ยประมาณ 933.3μ และวัดได้ตามความกว้างประมาณ 803 μ (ตารางที่ 2)

ในระยะเจ็ดวันหลังการถ่ายละอองเรณู zygote ได้ยืดยาวขึ้นแล้วเจริญเติบโตต่อไปโดยมีการแบ่งเซลล์ครั้งแรกแบบตามขวาง(transverse division) ได้เป็นสองเซลล์เรียก proembryo[1] ระยะสองเซลล์

---

[1] Proembryo หมายถึงกลุ่มเซลล์ที่เกิดจากการเจริญเติบโตของ zygote ในระยะต้นๆ รูปร่างยังไม่คล้ายคลึงกับ embryo ที่เจริญเต็มที่ แต่ต่อไปก็จะเจริญเป็น embryo

(two-celled proembryo) ที่มีขนาดประมาณว่าเท่ากันทั้งสองเซลล์ (ภาพที่ 8,47 B) เซลล์ที่อยู่ติดกับ micropyle เรียกว่า basal cell เซลล์ที่อยู่ไกลจาก micropyle เรียกว่า terminal cell Proembryo ระยะสองเซลล์มีขนาดที่วัดตามความยาวตั้งแต่โคน basal cell ถึงปลาย terminal cell ได้ประมาณ 60 µ และวัดตามความกว้างตรงส่วนที่กว้างที่สุดได้ประมาณ 46 µ (ตารางที่ 2) Primary endosperm nucleus เจริญเติบโตไปพร้อมๆกับ zygote โดยการแบ่งตัวแบบไม่มีการสร้างผนังเซลล์ (free nuclear division) ได้เป็น endosperm nucleus จำนวนสองนิวเคลียส (ภาพที่ 7) ลอยหรือโยงอยู่กับ cytoplast Endosperm nucleus ในตอนแรกรูปร่างคล้ายรูปไต ขนาดไล่เรี่ยกับ primary endosperm nucleus คือวัดขนาดตามความยาวและความกว้างของนิวเคลียสได้ประมาณ 40และ20ไมครอน ลำดับ ต่อมา endosperm nucleus จะเปลี่ยนรูปร่างเป็นรูปกลม ขนาดนิวเคลียสวัดตามแนวเส้นผ่าศูนย์กลางได้ประมาณ 30 µ เซลล์ในบริเวณ nucellus ที่อยู่ทางด้าน micropyle แถวในสุดได้ยืดตัวยาวขึ้นอย่างรวดเร็วยื่นเข้าไปใน embryo sac (ภาพที่ 6)ปลายสุดของเซลล์ที่ยื่นเข้าไปนี้มีลักษณะโค้งมน ส่วนนี้จะเรียกว่า nucellar extension พบว่า nucellar extension อยู่ใกล้กับ proembryo มากจนบางครั้งมีบางส่วนของ proembryo ไว้ใน section Nucellar extension ติดสีเข้มกว่า proembryo มากแต่มีขนาดเล็กกว่า proembryo คือวัดขนาดตามความยาวจากที่ยื่นเข้าใน enbryo sac แล้วเฉลี่ยได้ประมาณ 35 µ และวัดขนาดตามความกว้างได้ประมาณ 17.5 µ (ตารางที่ 3) จำนวน nucellar extension ที่พบใน embryo sac มีประมาณ 1-3 อัน (ภาพที่ 6,8,9 และ 10) จากการตรวจใน 18 ovary หรือ 162 ovuleพบว่ามี nucellar extension หนึ่งอันต่อหนึ่ง embryo sac ยกเว้นสอง embryo sac ที่พบ nucellar extension สองอัน(ภาพที่ 9)และอีกสอง embryo sac ที่พบ nucellar extensionสาม

ตารางที่ 1. แสดงขนาดของ egg central cell embryo sac และ ovule ใน ovary ของดอกพุทธรักษา (Canna edulis Linn.) ที่มีอายุหลังการถ่ายละอองเรณูตั้งแต่ศูนย์ (0) ถึงห้าวัน

อายุหลังการถ่ายละอองเรณู(วัน)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ egg(μ)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ central cell (μ)	ขนาดของ embryo sac			ขนาดของ ovule	
			ความยาว (μ)	ความกว้างทาง micropyle(μ)	ความกว้างของ chalaza (μ)	ความยาว (μ)	ความกว้าง (μ)
0	20	15	212.5	80	70	385	312.5
1	25	17	213.3	85	70	440	360
2	27.5	17.5	256	116	72	744	680
3	30.6	19.5	322	122	80	850	700
4	35	27	330	125.7	120	880	782
5	42.5	32.5	333.7	130	122.3	900	800

ตารางที่ 2 แสดงขนาดของ zygote zygotic embryo embryo sac และ ovule ใน ovary ของดอกพุทธรักษา (Canna edulis Linn.) ที่มีอายุหลังการถ่ายละอองเรณูตั้งแต่ หกวันจนถึง 25 วัน

อายุหลังการถ่ายละอองเรณู (วัน)	ขนาดของ zygote และ zygotic embryo		ขนาดของ embryo sac			ขนาดของ ovule	
	ความยาว(μ)	ความกว้าง(μ)	ความยาว (μ)	ความกว้างทาง micropyle(μ)	ความกว้างทาง chalaza(μ)	ความยาว (μ)	ความกว้าง (μ)
6	57	45	384.6	130	128	933.3	803
7	60	46	403	132	130	950	804
8	70	46.3	450	135	190	1106	884
9	70	46.3	585.5	137	206	1130	975
10	88.8	46	700	144	244	1240	1007
12	143	49	820	154	250	1274	1044
14	160	68	904	168	256	1588	1300
16	720	440	3700	800	1075	4150	3278
18	920	580	5075	875	1500	8250	6300
20	1400	690	5175	1625	2000	8350	7550
22	3525	1200	6000	2125	2625	8500	8000
25	5500	1375	6500	2550	2750	9000	8250

ตารางที่ 3 แสดงขนาดของ nucellar extension

อายุหลังการถ่ายละอองเรณู (วัน)	ขนาดของ nucellar extension	
	ความยาว (μ)	ความกว้าง (μ)
7	35	17.5
8	35	17.5
9	43	17.5
10	47.5	16.3
12	40	16.6

อัน (ภาพที่ 10) Hypostase ยื่นเข้ามาใน embryo sac ยาวมากขึ้นกว่าเดิม Embryo sac ขยายขนาดโตขึ้นจากเดิม วัดขนาดความยาวเฉลี่ยได้ 403 µ วัดขนาดตามความกว้างทางด้าน micropyle ได้ 132 µ และวัดขนาดตามความกว้างทางด้าน chalaza ได้ 130 µ (ตารางที่ 2) Ovule มีขนาดโตขึ้นวัดขนาดตามความยาวได้ประมาณ 950 µ และวัดส่วนกว้างซึ่งอยู่ค่อนไปทาง chalaza ได้ประมาณ 804 µ (ตารางที่ 2)

หลังการถ่ายละอองเรณูประมาณแปดวัน Petaloid staminode และกลีบดอกร่วงไป Terminal cell ของ proembryo ได้ยืดตัวยาวออกไป และอาจพบว่าบางเซลล์กำลังแบ่งนิวเคลียสได้สองนิวเคลียส (ภาพที่ 11) หรือมี cytokinesis ตามมาโดยการสร้างผนังเซลล์ในแนวตามแกนยาวของ proembryo (ภาพที่ 12, 47 c) จัดว่าเป็นการแบ่งตัวตามยาว (longitudinal division) รวมได้เป็น proembryo ระยะสามเซลล์ (three-celled proembryo) Proembryo ได้ขยายขนาดใหญ่ขึ้น คือวัดขนาด proembryo ในระยะนี้ตามแกนยาวจากโคน basal cell ถึงปลาย terminal cell ได้ 70 µ และขนาดของ proembryo ตามความกว้างตรง terminal cell ได้ 46.3 µ (ตารางที่ 2) Terminal cell ขยายขนาดได้มากกว่า basal cell Endosperm ในระยะนี้ส่วนมากมีจำนวนคงที่คือมีสองนิวเคลียส จากที่ตรวจ 18 ovary หรือ 162 ovule มีเพียงสี่ embryo sac เท่านั้นที่ endosperm ได้แบ่งตัวไปจนถึงขั้นที่มีจำนวนสามหรือสี่นิวเคลียส Nucellar extension ในระยะนี้มักจะได้แบ่งตัวแล้วให้เป็นสองเซลล์ขนาดทั้งหมดยังคงเท่าเดิม (ตารางที่ 3) Embryo sac ระยะนี้มีขนาดใหญ่ขึ้นอย่างเห็นได้ชัดคือยาวขึ้นกว่าเดิม วัดตามความยาวได้ 450 µ ตามความกว้างทางด้าน micropyle ได้ 135 µ แต่ความกว้างทางด้าน chalaza ได้พองออกมากกว่าวัดได้ 190 µ (ตารางที่ 2) Ovule ก็มีขนาดโตขึ้นกว่าเดิม วัดขนาด Ovule ตามความยาวได้ 1,106 µ และความกว้างได้ 884 µ (ตารางที่ 2)

ใน ovule ระยะเก้าวันหลังการถ่ายละอองเรณู ส่วนต่างๆคล้ายคลึงกับที่พบในระยะแปดวันดังกล่าวข้างบน ยกเว้นส่วน terminal cell มักจะแบ่งตัวตามยาว (longitudinal division) แล้ว คือเป็น proembryo ระยะสามเซลล์เกือบจะทั้งหมด ขนาดของ proembryo ก็ไม่แตกต่างจากเดิม (ตารางที่ 2) ส่วน nucellar extension ยังคงพบเป็นสองเซลล์เช่นเดียวกับในระยะแปดวันหลังการถ่ายละอองเรณูแต่ได้ยืดยาวออกไป เฉลี่ยความยาวได้ 43 μ ส่วนความกว้างคงเท่าเดิม (ตารางที่ 3) ขนาดของ embryo sac ใหญ่ขึ้น วัดขนาดตามความยาวเฉลี่ยได้ 585.5 μ ตามความกว้างทางด้าน micropyle เฉลี่ยได้ 137 μ และขนาดตามความกว้างทางด้าน chalaza เฉลี่ยได้ 206 μ (ตารางที่ 2) Ovule มีขนาดใหญ่ขึ้นเพียงเล็กน้อย วัดเส้นผ่าศูนย์กลางตามความยาวและความกว้างได้ 1130 และ 975 μ ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ในระยะสิบวันหลังการถ่ายละอองเรณู terminal cell ได้ยืดตัวออกแล้วแบ่งตัวตามขวาง (ภาพที่ 13,14) เซลล์ลูก (daughter cell) ที่อยู่ทางด้านปลายหรือทิศ chalazal end มีขนาดเล็ก (แถว u ในภาพที่ 13,14) ในบาง ovule ที่เจริญมาเร็วกว่าจะพบว่าเซลล์ที่เกิดใหม่ (แถว u) ของ terminal cell ที่แบ่งนี้ได้ยืดยาวออก จนมีขนาดเท่ากับเซลล์แถว t ถัดลงมา (ภาพที่ 15,16) Basal cell มักจะแบ่งตัวให้เป็นสองเซลล์ในที่นี้จะเรียก basal cell และ derivative (b_1, b_2 ในภาพที่ 14,16 และ 45 ก) Proembryo ใหญ่ขึ้นจนตัดติด section มาไม่หมดใน section เดียวกัน(ภาพที่ 13,15) ส่วนฐานคือ basal cell กับ derivative ของมันอาจจะติดไปกับอีก section หนึ่ง Proembryo ในระยะนี้วัดขนาดทางด้านยาวได้ประมาณ 88.8 μ และวัดตามความกว้างตรงส่วนกว้างที่สุดตรงส่วน terminal cell ได้ประมาณ 46 μ (ตารางที่ 2) การที่ส่วนกว้างลดลงอาจจะเนื่องจาก proembryo กำลังยืดตัวออกไปทางส่วนยาวก็ได้ จึงทำให้ส่วนกว้างเล็กลง Nucellar extension ยังเจริญคือยู่ ขนาดยาวขึ้นเล็กน้อยคือยาวประมาณ

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

47.5 μ แต่ส่วนกว้างสังเกตว่าเล็กลง วัดเฉลี่ยได้ 16.3 μ (ตารางที่ 3) Embryo sac มีขนาดใหญ่ขึ้นมากแล้ว วัดตามความยาวได้ประมาณ 700μ ตามความกว้างทางด้าน micropyle ได้ประมาณ 144 μ และวัดขนาดตามความกว้างทางด้าน chalaza ได้ประมาณ244 μ (ตารางที่ 2) Ovule ในระยะนี้มีขนาดใหญ่ขึ้นด้วย คือวัดขนาดตามความยาวได้ 1240 μ และขนาดตามความกว้างตรงส่วนกว้างที่สุดได้ประมาณ 1007 μ (ตารางที่ 2)

ใน ovule อายุ 12 วันหลังการถ่ายละอองเรณู ได้พบว่ามีการแบ่งตัวหลายครั้งเกิดขึ้นระหว่างวันที่สิบเอ็ด และวันที่ 12 คือเซลล์แถวปลายที่เพิ่งแบ่งตัวมา (แถว u ในภาพที่ 16 เดิม) ได้แบ่งตัวในแนวตามยาวแต่ตั้งฉากกับแนวเดิมได้เซลล์แถว u รวมเป็นสี่เซลล์ แต่จาก section จะเห็นสองเซลล์ทับอยู่บนอีกสองเซลล์ (ภาพที่ 47 E) ทราบจากการที่ได้เห็นนิวเคลียสของเซลล์ล่างที่ถูกทับอยู่ข้างๆ หรือเมื่อปิด coverglass กดเคลื่อนที่แรงไปทำให้เซลล์ที่ถูกทับอยู่อาจจะเคลื่อนที่ออกมาเรียงให้เห็นเป็นสี่เซลล์ในบาง section เซลล์แถว t ในระยะนี้ยังไม่ค่อยเห็นว่าแบ่งตัวตามยาวอีกครั้งได้สี่เซลล์เหมือนแถว u แต่จะเกิดอย่างนี้ในวันต่อๆไปหรือระยะต่อไป นอกจากนั้นได้มีการแบ่งเซลล์อีกหลายครั้งตามขวางอย่างน้อยสองครั้ง แต่ผนังใหม่ค่อนข้างทะแยงเฉียงๆ (diagonal wall หรือ obligue wall ภาพที่ 17,18 และ 47 F) รวมขณะนี้ terminal cell (t) ดั้งเดิมที่เห็นจากภาพที่ 8 ได้เจริญจนให้เซลล์สี่แถว คือ t,u,v,w ที่ label ไว้ในภาพที่ 18 จะเห็นว่าผนังระหว่างเซลล์ u กับ v และ v กับ w เป็นผนังที่เรียงในแนวเฉียง ที่ปลาย (chalazal end) ของ proembryo เซลล์ซีกซ้ายเริ่มแบ่งตัวใหม่อีกครั้งหนึ่งได้เซลล์ที่ label อักษร x ในภาพที่ 18 จะสังเกตว่าผนังเซลล์ที่สร้างใหม่ก็อยู่ในแนวเฉียงเช่นกัน นอกจากนั้นมีการแบ่งเซลล์ตามยาวด้วย Proembryo ขณะนี้รูปร่างกลมรี มีขนาดที่วัดตามยาวได้ประมาณ 143 μ และวัดตามความกว้างได้ประมาณ 49 μ (ตารางที่ 2) Basal cell และ derivative ไม่มีการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้น

Endosperm หลังจากที่ได้หยุดการเจริญเติบโตมาชั่วขณะหนึ่ง ได้เจริญเติบโตต่อไปโดยแบ่งนิวเคลียสได้เป็นสามนิวเคลียส (ภาพที่ 21) หรือสี่นิวเคลียส (ภาพที่ 22) รูปร่างของ endosperm nucleus ยังคงเป็นรูปกลม และมีขนาดที่ประมาณว่าเท่าเดิม ไม่มีการสร้างผนังตามมา Endosperm เป็น free nuclei จัดประเภทได้ว่าเป็น nuclear endosperm (nuclear type of endosperm) Nucellar extension ส่วนใหญ่มักจะเริ่มฝ่อ ดังจะเห็นได้จากการที่ตรงปลายสุดของเซลล์ที่อยู่ทางทิศ chalazal end ไม่ได้โค้งมนอย่างเดิม แต่จะหยักเว้าลงมา (ภาพที่ 19) เมื่อย่อมจะติดสีจางลงและขนาดก็เล็กลงกว่าเดิมด้วย คือวัดขนาดตามยาวได้ประมาณ 40 µ และวัดตามความกว้างได้ประมาณ 16.6µ (ตารางที่ 3) Hypostase ซึ่งเป็นกลุ่มเซลล์ในชั้น nucellus ทาง chalazal end ที่เคยยื่นเข้าไปใน embryo sac นั้น ในระยะนี้ไม่ปรากฏให้เห็นอีก Embryo sac ใหญ่ขึ้นกว่าเดิมมาก คือยาวขึ้นและปลายทางด้าน chalaza พองออกมากกว่าเดิมจน embryo sac มีรูปร่างคล้าย dumbbell (ภาพที่ 20) ขนาดของ embryo sac ที่วัดได้ตามความยาวประมาณ 820 µ วัดตามความกว้างทางด้าน micropyle ได้ประมาณ 154 u และวัดตามความกว้างทางด้าน chalaza ได้ประมาณ 250 µ (ตารางที่ 2) Ovule ในระยะนี้มีขนาดใหญ่กว่าเดิมอย่างเห็นได้ชัด วัดขนาด ovule ตามยาวได้ประมาณ 1274 µ และ วัดขนาดตามความกว้างตรงส่วนกว้างที่สุดซึ่งอยู่ค่อนไปทาง chalaza ได้ประมาณ 1044 µ (ตารางที่ 2)

ใน ovule ที่มีอายุ 14 วันหลังการถ่ายละอองเรณู กลุ่มเซลล์ตรงปลายของ proembryo หรือเซลล์ลูกที่เกิดมาจาก terminal cell ทั้งหมด (เซลล์แถว t ถึง x ในภาพที่ 18) ได้แบ่งตัวต่อมาเร็วทั่วทุกส่วนยกเว้นด้านข้าง จนได้ proembryo เป็นรูปยาวรี ตรงกลางเล็กคล้ายรูปซอน (spatulate outline, ภาพที่ 23,24) Basal cell และ derivative ของมัน (b_1, b_2) หรือ suspensor ไม่ค่อยเจริญต่อ คือ b_1 ไม่มีการแบ่งเซลล์แต่ b_2

แบ่งตามยาวขนานกับแกนยาวของ proembryo (ภาพที่ 24 และ 47 G) ส่วนนี้อาจจัดได้ว่าเป็น suspensor และเป็น suspensor ที่ไม่ค่อยเจริญ ขนาดของ proembryo ในระยะนี้วัดตามเส้นผ่าศูนย์กลางแกนยาวโดยวัดรวม suspensor ด้วยได้ 160 µ และวัดตามความกว้างได้ 68 µ (ตารางที่ 2) Nucellar extension ฝ่อหายไปจนไม่พบอีกเลย Endosperm มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น คือมีการแบ่งตัวได้จำนวนมากขึ้น (ภาพที่ 23) และรูปร่างของนิวเคลียสยังคงเป็นรูปกลมรีอยู่ ได้สังเกตเห็นว่า endosperm nucleus หลายอันที่อยู่ใกล้ proembryo จะยื่นผนังนิวเคลียสพองออกมาสู่ทิศของ proembryo และสังเกตว่าการย้อมติดสีของ endosperm nucleus อันที่กล่าวนี้ย้อมติดสีจางลง อาจจะเนื่องมาจากการที่อาหารได้ถูก proembryo ดูดไปใช้ Endosperm ทั้งหมดยังไม่มีการสร้างผนัง ยิ่งแสดงให้เห็นชัดเจนว่าเป็นประเภท free nuclei ไม่มีผนังเซลล์กั้นหรือเป็น nuclear endosperm Embryo sac ขยายใหญ่ขึ้นมากคือยืดยาวขึ้น วัดความยาวได้ประมาณ 904 µ และปลาย embryo sac ทางด้าน chalaza พองออกมากขึ้นกว่าปลายทางด้าน micropyle วัดตามความกว้างทางด้าน micropyle ได้ประมาณ 168 µ และวัดตามความกว้างทางด้าน chalaza ได้ประมาณ 256 µ (ตารางที่ 2) Ovule ก็ขนาดโตขึ้นมาก วัดความยาวของ ovule ได้ประมาณ 1588 µ และวัดความกว้างตรงส่วนกว้างที่สุดได้ประมาณ 1300 µ (ตารางที่ 2)

Ovule ที่มีอายุ 16 วันหลังการถ่ายละอองเรณู เข้าใจว่าส่วนปลายเหนือรอยคอดของ proembryo รูปซ่อน หรือส่วนที่เทียบเท่ากับปลายตักของซ่อนในภาพ proembryo ภาพที่ 23,24 ได้เติบโตใหญ่ขึ้นมากและกลม ส่วนนี้จะเรียกว่า globular embryo proper (ภาพที่ 25,26) ซึ่งจะเจริญให้เป็นส่วนต่างๆของ embryo ที่จะพบในขั้นที่เจริญเต็มที่ต่อไป และที่ส่วนล่างหรือฐานซึ่งเทียบเท่ากับด้ามซ่อนในภาพที่ 24 ไม่ค่อยเจริญมาก ไม่ค่อยแบ่งตามขวางจึงประกอบด้วยเซลล์เพียง 3-4 แถวเท่านั้น (ภาพที่ 26,47 H) Proembryo ได้

เจริญเติบโตขึ้นกว่าเดิมมาก วัดขนาดของ proembryo ในระยะนี้ตามความยาว รวมทั้ง suspensor ด้วยได้ประมาณ 720 μ และวัดขนาดตามความกว้างตรงส่วนที่กว้างที่สุดได้ประมาณ 440 μ (ตารางที่ 2) Proembryo ในระยะนี้เห็นเซลล์ชั้นนอกสุดเรียงอยู่เป็นหนึ่งแถวชัดเจน คล้ายเป็น epidermis ของ embryo Proembryo จะเริ่มยืดยาวออกไปในทิศสู่ chalaza เห็นด้านหนึ่งของ proembryo เริ่มหยักเว้าเข้าไปเล็กน้อย (ภาพที่ 26) นอกจากนั้นการที่ embryo proper โตเร็วทำให้ดูส่วนก้านสั้นมาก (ภาพที่ 25,26 และ 47 H) Endosperm เจริญเติบโตได้ดีกว่าเดิมมาก มีการแบ่งตัวจนได้จำนวนเซลล์มากขึ้น (ภาพที่ 27) ยังคงเป็น free nuclei ยังไม่มีการสร้างผนังเซลล์ ลอยอยู่อย่างอิสระใน cytoplasm ที่มีลักษณะเป็นสายของ embryo sac นับจำนวน endosperm cell ในระยะนี้ได้ประมาณ 75 อัน Embryo sac ขยายขนาดขึ้นกว่าเดิมมาก วัดขนาดตามความยาวได้ประมาณ 3700 μ วัดขนาดตามความกว้างทางด้าน micropyle ได้ประมาณ 800 μ และวัดขนาดตามความกว้างทางด้าน chalaza ได้ประมาณ 1075 μ (ตารางที่ 2) Ovule ใหญ่ขึ้นมากแล้ว มีรูปร่างค่อนข้างกลมรีแบบรูปไข่ วัดขนาด ovule ตามแนวเส้นผ่าศูนย์กลางตามยาวได้ประมาณ 4150 μ และวัดขนาดตามความกว้างตรงส่วนที่กว้างที่สุดได้ประมาณ 3278 μ (ตารางที่ 2)

ใน ovule ที่มีอายุ 18 วันหลังการถ่ายละอองเรณู เนื้อเยื่อของ globular embryo proper ได้เจริญเติบโต โดยการแบ่งเซลล์มากมายแต่เจริญทางส่วนยาวมากกว่า ทำให้ embryo เป็นก้อน embryo ที่ยาวออกไปและคอดเหนือกึ่งกลางขึ้นไปเล็กน้อย (ภาพที่ 28,47 I) รอยคอดนี้พบอยู่เป็นบริเวณเดียว ถ้าตัดผ่านแบบ median longitudinal section ของ embryo จะพบรูปร่างคล้ายรองเท้าแตะ (ภาพ 29) เกือบทั้งหมดของ embryo ขณะนี้ได้พบในภายหลังว่าต่อไปจะเจริญเป็น cotyledon ยกเว้นเนื้อเยื่อใกล้ๆรอยคอด (m. ในภาพที่ 28) จะเจริญเป็นส่วนอื่น เช่นยอดของลำต้นใน embryo

suspensor ไม่ได้เจริญเติบโตเพิ่มขึ้นในขณะที่ embryo ได้เจริญขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ไม่เห็น suspensor อีก ขนาดของ proembryo ในระยะนี้วัดความยาวได้ประมาณ 920 μ และวัดความกว้างตรงส่วนที่กว้างที่สุดได้ประมาณ 580 μ (ตารางที่ 2) Endosperm ในระยะนี้ยังคงเป็น free nuclei อยู่ ยังไม่มีการสร้างผนังเซลล์ ลอยอยู่อย่างอิสระใน cytoplasm ของ embryo sac Embryo sac ขยายขนาดใหญ่ขึ้นมากกว่าเดิมอย่างเห็นได้ชัด วัดความยาวของ embryo sac ได้ประมาณ 5075 μ ความกว้างทางด้าน micropyle ได้ประมาณ 875 μ และวัดความกว้างทางด้าน chalaza ได้ประมาณ 1500 μ (ตารางที่ 2) Ovule ก็มีขนาดใหญ่มากขึ้น วัดความยาวได้ประมาณ 8250 μ และวัดความกว้างตรงส่วนโป่งที่สุดได้ประมาณ 6300 μ (ตารางที่ 2)

ในระยะ 20 วันหลังการถ่ายละอองเรณู embryo ได้เจริญเติบโตใหญ่ขึ้น (ภาพที่ 30) ทางด้านปลายบนของ embryo ได้เจริญเป็น cotyledon ได้ขยายขนาดทางด้านกว้างหรือยื่นออกไปทางด้านข้างมาก และส่วนยาวก็เพิ่มขึ้น ระยะนี้เห็นส่วนที่จะเป็น embryonic shoot หรือ shoot primordium ได้ differentiate และเจริญยื่นยาวออกมาอีกเล็กน้อยในทิศตรงข้าม shoot primordium ลงมาทางปลายด้านหรือทิศ micropylar end ได้เห็นเนื้อเยื่อกลุ่มหนึ่งเริ่มมี differentiation อยู่เป็นแนวโค้ง ส่วนนี้คือส่วนที่จะเจริญให้ราก (root initial หรือ root primordium ของ embryo หรือ radicle primordium) ส่วนดังกล่าวนี้ย้อมติดสีได้ชัดเจน บริเวณระหว่าง shoot primordium กับ root primordium หรือ radicle - plumular axis เนื้อเยื่อยังคงเป็น meristematic cell ธรรมดาซึ่งไม่มี protoplast เข้มข้นนัก Embryo ในระยะนี้มีขนาดที่วัดตามความยาวได้ประมาณ1400μ และวัดตามความกว้างตรงส่วนที่กว้างที่สุดได้ 690 μ (ตารางที่ 2) Endosperm ได้มีการสร้างผนังขึ้นได้เป็นเซลล์รูปร่างคอนข้างเป็นเหลี่ยม

(ภาพที่ 31) เซลล์เหล่านี้เรียงกันอยู่ใน cytoplasm บริเวณรอบนอก (peripheral) ตรงขอบๆของ embryo sac บริเวณที่ถัดจาก endosperm ที่เป็นเซลล์รูปเหลี่ยม (cellular endosperm) เข้าไปข้างใน endosperm ยังคงเป็นนิวเคลียสรูปกลมลอยอยู่อย่างอิสระ (free nuclear endosperm) Embryo sac เพิ่มขนาดขึ้น วัดตามความยาวได้ 5175 μ ตามความกว้างทางด้าน micropyle ได้ 1625 μ และตามความกว้างทางด้าน chalaza ได้ 2000 μ (ตารางที่ 2) Ovule มีขนาดโตขึ้นมาก คือมีขนาดที่วัดตามความยาวได้ประมาณ 8350 μ และวัดตามความกว้างของส่วนที่กว้างที่สุดได้ประมาณ 7550 μ (ตารางที่ 2)

ในระยะ 22วันหลังการถ่ายละอองเรณู Embryo (ภาพที่ 32,33 และ 34) มีส่วนต่างๆครบเหมือน embryo ที่พบในระยะ 25 วันหลังการถ่ายละอองเรณู หรือที่อยู่ในเมล็ดที่เติบโตเต็มที่ใน ovary ที่แห้งเหี่ยวอยู่กับต้น เพียงแต่ขนาดเล็กกว่า embryo ใน ovule อายุ 25 วันหลังการถ่ายละอองเรณู วัดได้ยาว 3525 μ (3.5 มิลลิเมตร) และความกว้างตรงส่วนที่กว้างที่สุดได้ 1200 μ (ตารางที่ 2) Embryo ประกอบด้วยส่วนสำคัญของ embryo ครบสี่ส่วน คือส่วนที่หนึ่งเป็น cotyledon ซึ่งมีเพียงหนึ่งอันอาจจะเรียกว่า scutellum Cotyledon เป็นส่วนที่ใหญ่ที่สุด แล้วมีส่วนอื่นอีกสามส่วนของ embryo แทรกอยู่ Cotyledon เป็นท่อนยาว ขอบเขต (outline) ในแนวตัดตามขวางค่อนข้างกลม (ภาพที่ 35,36,37) ยกเว้นส่วนปลายของ cotyledon ที่ค่อนไปทางปลายบนสุดของ embryo (chalazal end) มีลักษณะหยักเว้าเป็นสองลอน (ภาพที่ 39) ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากการถูกเบียดอยู่กับ nucellus ใน cotyledon หรือ scutellum มีเยื่อ procambium ซึ่งต่อไปจะเป็นเยื่อนำน้ำและอาหารกระจายอยู่เป็นหย่อมๆ เห็นได้ชัดเจนในภาพที่ 36,38 ส่วนที่สองเป็น embryonic bud หรือ plumule ซึ่งเจริญเปลี่ยนแปลงมาจากส่วนที่เรียก shoot primordium ในภาพที่ 30 เจริญต่อมา Plumule ประกอบด้วย shoot apex และ leaf primordium หรือ

plumular leaf ในภาพ 32,33 จะเห็นส่วน leaf primordium ที่จะเจริญเป็น first foliage leaf และใบถัดมาได้ชัดเจน Shoot apex ของ plumule มี apical meristem เป็นรูปโค้ง (ภาพที่ 33)และมีleaf primordium เกิดขึ้นหลายอันแล้ว (ภาพที่ 33,36) Leaf primordium อันเล็กที่เกิดขึ้นใหม่สุดอยู่ใกล้ shoot apex (ภาพที่ 33) ส่วนที่สามอยู่ใต้ลงมาจาก shoot apex เป็นบริเวณลำต้นของ embryo (embryonic stem) หรือศัพท์ทั่วไปเรียกว่า caulicle (Youngken,1951) ในที่นี้ควรเรียกmesocotyle เพราะส่วนนี้มีใบอยู่ต่ำกว่า cotyledon เมื่องอก และนอกจากนี้ส่วนนี้เป็นส่วนที่เชื่อมโยงด้วยกันกับ cotyledon ถือว่าอยู่ในระดับเดียวกัน นอกจากนั้น mesocotyl ยังใช้ในความหมายที่ถือว่าเป็นปล้อง (internode) อันแรกของพืช (Maheshwari,1950) ส่วน mesocotyl เห็นได้ชัดเจนในภาพที่ 33 มี procambium ที่จะเป็นเนื้อเยื่อนำน้ำและอาหารใน mesocotylและยังมีที่แยกเข้าไปยังใบด้วย(leaf trace) Procambium ในใบก็ปรากฏขึ้นแล้วในใบแรก(first foliage leaf หรือ plumular leaf) ปรากฏอยู่หลายหยอม (ภาพที่ 36) First foliage leaf นี้มีการม้วนตัวของใบออกนอกลำเป็นแบบ convolute คือม้วนจากขอบใบข้างหนึ่งมายังอีกข้างหนึ่ง(ภาพที่ 36)ส่วนที่สี่คือรากของ embryo ซึ่งประกอบด้วย radicle และ adventitious root (ภาพที่ 32,33) Adventitious root เกิดมาจากส่วนฐานของmesocotyl Adventitious root มักพบอยู่สั้นกว่า radicle และเกิดขึ้นทีหลัง เล็กน้อย Adventitious root มีหลายอันยื่นออกไปทุกทิศ(ภาพที่ 33,47K) ภาพที่35 เป็นภาพตัดตามขวางของ embryo ผ่านระดับที่มี adventitious root ได้พบ adventitious root**หลายๆอันรอบ** embryo ส่วนนี้ และมี root cap หุ้มอยู่ทุกอันนับจำนวน adventitious root ได้ประมาณ 16 อัน การมี adventitious root ตั้งแต่ใน embryo นับว่าเป็นเรื่องที่แปลกมาก ยังไม่เคย

พบลักษณะเช่นนี้รายงานมาก่อนในพืชใดๆ ข้างล่างถัดจากพวกรากลงไปจะพบเซลล์ของ cotyledon ห้อมล้อมถัดจาก radicle root ลงไปราว 4-5 แถว ภาพที่ 37 เป็นภาพตัดตามขวางของ embryo ในระดับที่ปลาย plumule ยื่นพ้นส่วนอื่นๆออกไปจึงได้ส่วนหนึ่งของ plumule ติดมาต่างหาก Endosperm ปรากฏคล้ายอย่างเดิมคือพบที่เป็นเซลล์รูปเหลี่ยม (cellular endosperm) เรียงกันเพียง 1 ชั้นรอบนอกตามขอบของ embryo sac แต่ตอนในยังคงเป็น free nuclear endosperm Nucellus ซึ่งไม่ค่อยเสื่อมสลายไประหว่างการเจริญเติบโตของ embryo แต่เซลล์ได้ยืดยาวออกในทิศมาสู่ embryo sac อาจเรียกได้ว่าเป็น perisperm (ภาพที่ 34) Embryo sac ได้ขยายขนาดเพิ่มขึ้น คือวัดขนาดความยาวได้ประมาณ 6000 μ วัดตามความกว้างทางด้าน micropyle ได้ประมาณ 2125 μ และตามความกว้างทางด้าน chalaza ได้ประมาณ 2625 μ (ตารางที่ 2) Ovule มีขนาดโตขึ้นมาก วัดความยาวได้ประมาณ 8500 μ และวัดความกว้างตรงส่วนโป่งสุดได้ประมาณ 8000 μ (ตารางที่ 2) ในหนึ่ง ovary จะมี ovule ที่เจริญมาถึงขั้นเต็มที่จนได้เป็นเมล็ด (seed) ประมาณ 8-9 อัน **ในระยะนี้เปลือกหุ้มเมล็ดเริ่มเป็นสีน้ำตาล**

เมื่อเขี่ย embryo จาก ovule อายุ 22 วันออกมาดูทั้งอัน เห็น embryo มีรูปร่างเป็นท่อนยาว พบรอยหยักลึกในระยะประมาณหนึ่งในห้าของความยาวทั้งหมดนับจาก micropylar end เมื่อค่อยๆเขี่ยบริเวณหยักลึกนี้ก็พบว่ามีเนื้อเยื่อเป็นแผ่นซึ่งอาจจะเรียกว่า cotyledonary sheath หุ้ม plumule ซึ่งยื่นลำออกมาเล็กน้อย

ในระยะ 25 วันหลังการถ่ายละอองเรณู embryo ไม่ได้เจริญเติบโตเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมมากนัก เพียงแต่เพิ่มขนาดขึ้นเท่านั้น ในระยะนี้ขนาดของ embryo วัดตามยาวได้ประมาณ 5500 μ และวัดตามความกว้างตรงส่วนโป่งที่สุดได้ประมาณ 1375 μ (ตารางที่ 2) วัดความยาวของ cotyledon จากปลายบน (chalazal end) ถึง shoot apex ได้ยาว 4000 μ ขนาด

ของ embryo sac ก็ได้ขยายใหญ่ขึ้นตามขนาดของ embryo ด้วย วัดขนาดของ embryo sac ตามยาวได้ประมาณ 6500 μ ตามความกว้างด้าน micropyle ได้ประมาณ 2550 μ และวัดตามความกว้างทางด้าน chalaza ได้ประมาณ 2750 μ (ตารางที่ 2) Ovule หรือเมล็ดมีขนาดใหญ่ขึ้นรูปร่างเป็นรูปกลมรีขึ้นคือจะมีส่วนกว้างเกือบเท่ากันทุกๆตอน วัดขนาด ovule หรือเมล็ดตามยาวได้ประมาณ 9000 μ และวัดตามความกว้างได้ประมาณ 8250 μ (ตารางที่ 2) Ovule หรือเมล็ดในระยะนี้มีเปลือกหุ้มเมล็ดเป็นสีน้ำตาลทั่วทั้งเมล็ดแล้วและบางเมล็ดก็มีเปลือกหุ้มเมล็ดที่เริ่มเป็นสีดำ

Embryo ที่แกะออกมาจากเมล็ดอายุ 25 วันหลังการถ่ายละอองเรณูแล้วส่องดูด้วย binocular microscope จะเห็น embryo เป็นทอนยาว (ภาพที่ 40, 41) ทางตอนล่างขึ้นไปจากฐานของ embryo (micropylar end) ราวหนึ่งในหาของ embryo ทั้งหมดจะเห็นส่วนที่นูนเป็นสัน ส่วนนี้เป็นส่วนฐานของ mesocotyl ของ embryo ถัดขึ้นไปจะพบส่วนยื่นขึ้นมามีลักษณะเป็นแผ่นคอนข้างแบน คอนข้างหนาแข็งแรงเป็นสามลอน (ภาพที่ 40) ส่วนนี้เป็น cotyledonary sheath ยื่นออกมาจาก cotyledon ตอนล่างขึ้นไปคลุม plumule ของ embryo ไว้มิดชิด เมื่อใช้เข็ม (dissecting needle) คอยๆเขี่ย cotyledonary sheath สามแฉกนี้ออกจะเห็น plumule โค้งยื่นออกมาเล็กน้อย (ภาพที่ 41) Cotyledonary sheath ด้านบนไม่คอยเจริญยื่นออกมาเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (ภาพที่ 41) ส่วน plumule และ cotyledonary sheath อยู่ในทิศที่ใกล้ funiculus

Embryo ที่แกะจากเมล็ดอายุ 38 วันหลังการถ่ายละอองเรณูเมื่อตรวจดูลักษณะภายนอกด้วย binocular microscope พบว่า embryo แตกต่างไปจากเดิมตรงที่มีขนาดใหญ่ขึ้นเท่านั้นนอกนั้นเหมือนเดิม คือ cotyledonary sheath ที่ยื่นออกมาจาก cotyledon ตอนล่างยังคงเป็นแผ่นที่มีสามลอน และ cotyledonary sheath ด้านบนยื่นออกมาเพียงเล็กน้อยเช่นเดิม

การที่ได้เพาะเมล็ดพันธุ์รักษานั้น จุดประสงค์ดั้งเดิมไม่ใช่จะดูเรื่องการงอกหรือการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อภายหลังการงอก ซึ่งจะไม่เกี่ยวกับเรื่องที่กำลังทำการศึกษานี้ แต่ทำเพื่อตรวจสอบส่วนที่บรรยายไว้ข้างบนว่าเป็น adventitious root นั้นถูกต้องหรือไม่ เนื่องจากไม่เคยพบ literature ใดระบุหรือกล่าวถึงการมี adventitious root ตั้งแต่พืชยังเป็น embryo ในเมล็ดเลย

กับที่เห็นในรากธรรมดาของพืชอื่นๆทั่วไป Root cap ตรงปลายสุดของรากมีความหนาของเซลล์หลายชั้น หนากว่าบริเวณถัดๆมา เนื้อเยื่อของ cotyledon ที่อยู่บริเวณตอนล่างจาก radicle เริ่มสลายตัวโดยการถูกเบียดจาก radicle และ adventitious root ที่กำลังงอก และอาหารใน cotyledon ถูกใช้ไป เพราะจะสังเกตว่าเซลล์ยอมติดสีชัดลง

หลังจากนำ embryo ที่กำลังงอกยาว 1.2 เซนติเมตรซึ่งส่วนใหญ่ยังอยู่ภายในเปลือกหุ้มเมล็ดไปเพาะบนสำลีที่ชุ่มด้วยน้ำอยู่เสมอ ในที่ที่มีแสงสว่างเป็นเวลาสี่วัน รวมเป็นเวลาหลังการเพาะได้แปดวัน ส่วนของ embryo ที่สำคัญคือ radicle, mesocotyl ซึ่งมี cotyledon ห้อหุ้มอยู่ได้ถูก cotyledon ดันผลักออกมานอกเมล็ด ส่วน plumule จะถูกผลักดันออกมาด้วยหรือไม่นั้นมองด้วยตาเปล่าจากเมล็ดที่กำลังงอกนั้นไม่ทราบได้แน่นอน Adventitious root เริ่มโผล่ออกมาเป็นปุ่มเล็กๆรวมสองปุ่มตรงฐานของ mesocotyl (ภาพที่ 43)

หลังจากนำ embryo ที่กำลังงอกยาว 1.2 เซนติเมตรแบบเดียวกับข้างบนไปเพาะบนสำลีที่ชุ่มด้วยน้ำอยู่เสมอเป็นเวลาเก้าวัน หรือหลังการเริ่มเพาะรวม 13 วัน Mesocotyl ปรากฏให้เห็นชัดเจนว่าเป็นปล้อง (internode) อันแรกของพืช คือข้อ (node) ล่างสร้างรากออกไป ข้อบนเริ่มมีส่วนยอด (terminal bud) เจริญดันขึ้นมานูนเป็นปุ่มใหญ่ (ภาพที่ 44) ทำให้ mesocotyl ปรากฏเป็นปล้องอันแรกชัดเจนสมจริงตามที่มีผู้ให้คำจำกัดความ (Maheshwari,1950 เล่าถึงงานของ Avery,1930) ว่า mesocotyl คือปล้องอันแรก (first internode) ของพืช Mesocotyl ในขณะนี้มีสีเขียวแก่ Adventitious root เจริญยืดยาวเห็นได้ชัดหลายอัน(ภาพที่ 44)จากการนำต้นอ่อน (seedling) ระยะนี้ 23 ต้นมานับ adventitious root มีจำนวนต่างๆกัน คือตั้งแต่ต้นละ 12 ถึง 21 อัน เฉลี่ยจาก 23 embryo ได้ว่าหนึ่ง embryo มี adventitious root ได้ 15 อัน

หลังการเพาะบนสำลีประมาณ 13 วัน หรือหลังจากเริ่มเพาะรวม 17 วัน

เป็นที่ทราบกันดีว่าเมล็ดของพุทธรักษามักจะไม่งอกเป็นต้นอ่อนออกมาเอง คงจะเป็นเพราะเปลือกหุ้มเมล็ดแข็งมากและไม่มีทางให้น้ำเข้า การปลูกพุทธรักษาเป็นไม้ประดับตามบ้านล้วนแต่ใช้วิธีปลูกด้วยเหง้า (rhizome) เกือบจะทั้งนั้น เมื่อได้พยายามฝานเปลือกออกเล็กน้อย แล้วแช่น้ำไว้หนึ่งคืน แล้วฝานเปลือกหุ้มเมล็ดที่เหลือเป็นแผลหลายๆแห่งอย่างรอยที่เห็นในภาพที่ 43 เพื่อช่วยให้น้ำซึมเข้าไปยังเนื้อเยื่อชั้นที่อยู่ถัดเข้าไปข้างในของเมล็ดได้มากขึ้น แล้วได้แช่น้ำต่อไปอีกสี่วัน รวมเป็นเวลานับจากเริ่มเพาะได้สี่วันไม่นับคืนแรกที่แช่น้ำ Embryo เริ่มงอกและโผล่พ้นออกมานอกเมล็ดประมาณ 5 มิลลิเมตร แล้วจึงแกะเกาแต่ตัว embryo ออกมาวัดเฉพาะ embryo ทั้งอันได้ยาว 1.2 เซนติเมตร ซึ่งจะได้เรียกว่า embryo ที่กำลังงอกยาว 1.2 เซนติเมตร Embryo ระยะดังกล่าวนี้ส่วนต่างๆของ embryo เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมเล็กน้อย คือ cotyledon ได้ยืดตัวยาวขึ้นมาก และเป็นส่วนสำคัญในการดึงหรือผลักส่วนอื่นๆเช่น shoot apex การยืดยาวของ cotyledon นี้ทราบได้จากการวัดจากปลายสุดของ cotyledon ทางด้าน chalazal end มายังระดับ shoot apex ได้ยาวถึง 8000 μ ซึ่งเป็นสองเท่าของค่าที่วัดได้ในอายุ 25 วัน การที่วัดเปรียบเทียบกันเช่นนี้จะได้ทราบจริงๆว่าการยืดตัวของ cotyledon ช่วยให้ embryo ส่วนอื่นๆพ้นเมล็ดออกไปด้วย

Leaf primordium ใน embryo เจริญขึ้น อันแรกที่เห็นในภาพที่ 33 ได้ใหญ่กว่าเดิมมาก (ภาพที่ 42) และยืดตัวยาวขึ้น และ apical meristem เจริญเติบโตแบ่งเซลล์ให้ leaf primordium ใหม่เป็นจำนวนหลายอัน Meristematic tissue ตรงปลาย radicle และ adventitious root มีการแบ่งตัวอย่างมากมาย ทำให้ radicle และก้อนเนื้อเยื่อซึ่งได้เรียก adventitious root ยืดยาวขึ้น มีการเรียงตัวของเซลล์ตรงปลายล่างสุดคล้ายกับ growing point ของรากทั่วๆไป และยังพบ root cap หุ้มอยู่ที่ปลายของ radicle และปลาย adventitious ทุกอันได้ชัดเจนยิ่งขึ้น (ภาพที่ 42) คล้ายๆ

First foliage leaf เจริญโผล่พ้นปลายบนของ mesocotyl ออกไป ใน (first foliage leaf)มีสีเขียวก่อนยังไม่คลี่ (ภาพที่ 45)

หลังจากเพาะบนสำลีประมาณ 18 วัน หรือหลังจากเริ่มเพาะรวม 22 วัน First foliage leaf ได้คลี่แผ่ออกไป (ภาพที่ 46)cotyledon ส่วนปลายบนยังฝังอยู่ข้างในเมล็ด Adventitious root คงเจริญต่อและยืดยาวออกไปกว่าเดิม

สรุปการตรวจด้วยการเพาะเมล็ดนี้แสดงให้เห็นว่าส่วนที่สงสัยว่าเป็น adventitious root ใน embryo ในระยะคล้ายภาพที่ 32 และ33 นั้น เป็น adventitious root จริงๆ เพราะลักษณะก้อนเนื้อเยื่อที่ขยายเป็นปุ่มในอายุ 22 วันนั้นได้ค่อยๆเรียงตัวมีลักษณะเหมือนราก นอกจากนั้นจำนวนของราก adventitious root ที่นับในอายุ 22 วันกับที่งอกนับภายในใน seedling ซึ่งเพาะมาได้ 13 วัน มีค่าใกล้เคียงกันคือ 16 กับ 15 อันตามลำดับ

จากที่บรรยายมาข้างบนจะเห็นได้ว่าเมื่อ zygote แบ่งตัวได้สองเซลล์ เซลล์ลูกที่เรียก basal cell ซึ่งอยู่ใกล้ micropylar end เจริญต่อไปน้อยมาก ได้เพียงสองเซลล์เท่านั้น แต่เซลล์ลูกอีกอันหนึ่งที่อยู่ทาง chalazal end เจริญต่อไปจนในที่สุดให้ลำต้น (mesocotyl)ราก plumule และ cotyledon ก็กล่าวได้ว่า polarity ของ embryo เป็นแบบ endoscopic polarity

ที่ 17130888

ภาพที่ 1 ถึงภาพที่ 47 เป็นภาพของพุทธรักษา (Canna edulis Linn.)

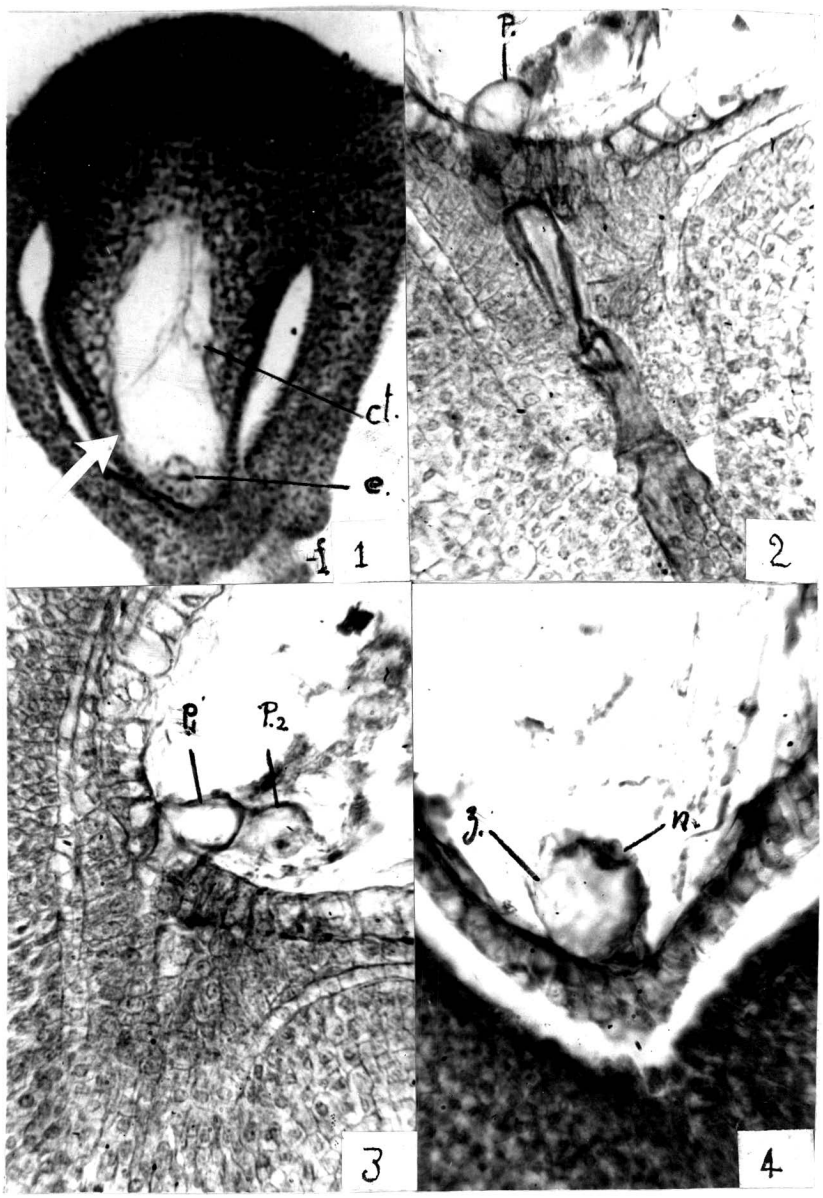
ภาพที่ 1 ถึงภาพที่ 24 ยกเว้นภาพที่ 10 เป็นภาพที่ได้จากการตัดตามขวาง (x.s.) ของ ovary แต่ผ่าน ovule ในแนวตามยาว จึงเท่ากับเป็น l.s. ของ ovule

ภาพที่ 1 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุศูนย์ (0) วันหลังการถ่ายละอองเรณูหรือในระยะที่รอการผสม แสดง embryo sac (ถุงศร) รูปร่างกลมข้างยาว ซึ่งภายในประกอบด้วย egg (e.) และ central cell (ct.) ซึ่งมักจะอยู่กึ่งทางระหว่าง micropylar end กับ chalazal end ของ embryo sac แต่มักจะอยู่ชิดผนัง embryo sac ทิศใกล้ funiculus (f.) (x 190)

ภาพที่ 2 Median l.s. ของ ovule ใน ovary อายุหกวันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง pollen tube (p.) เจริญเข้าสู่ embryo sac ทาง micropyle (x 427)

ภาพที่ 3 Median l.s. ของ ovule ใน ovary อายุหกวันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง pollen tube สองอัน (p.1, p.2) เจริญเข้ามาใน embryo sac (x 480)

ภาพที่ 4 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุหกวันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง zygote (z.) ซึ่งประกอบด้วยนิวเคลียส (n.) ใหญ่อยู่ทางปลายบน (chalazal end) (x 310)

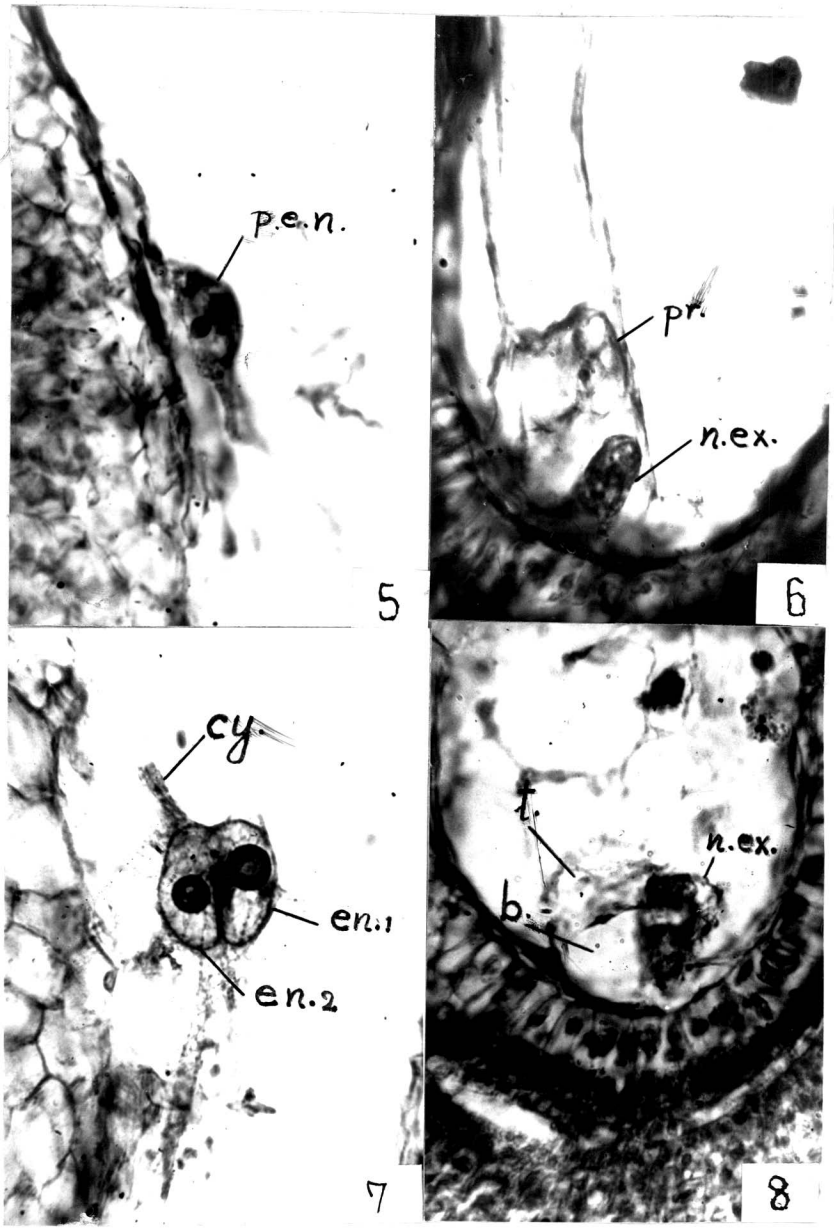

ct.
e.
1
P.
2
P1
P2
3
j.
n.
4

ภาพที่ 5 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุหกวันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง primary endosperm nucleus (p.e.n.) (x 413)

ภาพที่ 6 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุเจ็ดวันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง nucellar extension (n.ex.) ระยะที่มีหนึ่งเซลล์จำนวนหนึ่งอันใน embryo sac อยู่ใกล้หรือทับบน proembryo (pr.) ใน section (x 455)

ภาพที่ 7 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุเจ็ดวันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง endosperm สองนิวเคลียส (en.$_1$, en.$_2$) รูปไต ซึ่งได้จากการแบ่งตัวของ primary endosperm nucleus ลอยหรือโยงอยู่กับ cytoplasm (cy.) ที่อยู่ภายใน embryo sac (x 425)

ภาพที่ 8 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุเจ็ดวันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง proembryo ระยะสองเซลล์ (two-celled proembryo) ที่เพิ่งได้จากการแบ่งตัวตามขวางของ zygote ได้สองเซลล์ขนาดเท่าๆกัน คือ basal cell (b.) และ terminal cell (t.) และถูก nucellar extension (n.ex.) ยื่นเข้ามาบังบางส่วนเอาไว้ (x 393)

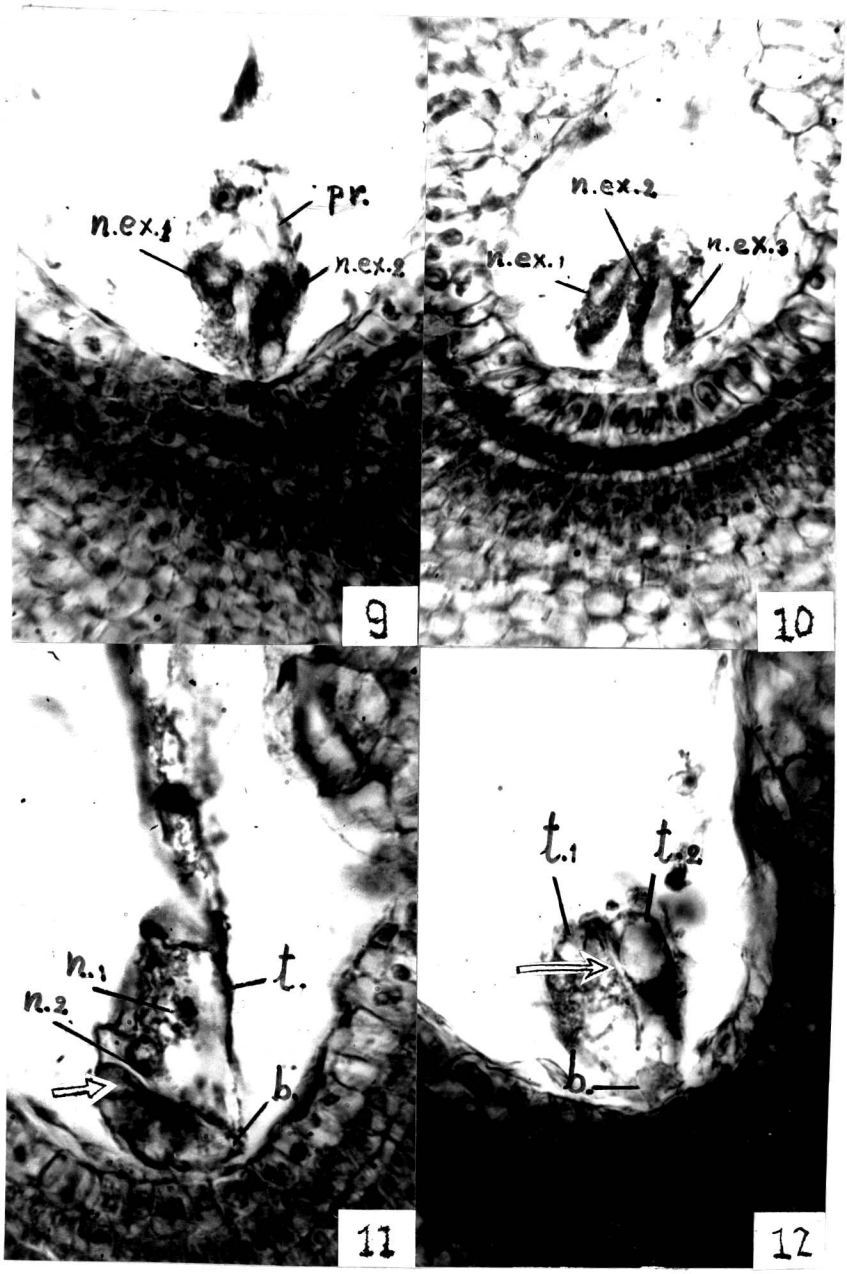

p.e.n.
5
pr.
n.ex.
6
cy.
en.1
en.2
7
t.
n.ex.
b.
8

ภาพที่ 9 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุเจ็ดวันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง nucellar extension จำนวนสองอัน ($n.ex._1$, $n.ex._2$) ทับอยู่บน proembryo (pr.) ใน section (x 400)

ภาพที่ 10 Section ตัดค่อนข้างทะแยงเกือบเป็น x.s. ของ ovule ใน ovary อายุเจ็ดวันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง nucellar extension จำนวนสามอัน ($n.ex._1$, $n.ex._2$ และ $n.ex._3$) ในหนึ่ง embryo sac เห็นได้ชัดว่า nucellar extension อันกลาง ($n.ex._2$) มีฐานที่อยู่ในชั้น nucellus (x 400)

ภาพที่ 11 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุแปดวันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง proembryo ซึ่ง terminal cell (t.) กำลังแบ่งนิวเคลียสออกเป็นสองนิวเคลียส ($n._1$, $n._2$) ยังไม่มีการสร้างผนังและ basal cell (b.) ถูก nucellar extension (ลูกศร)ยื่นเข้ามาบังไว้ส่วนหนึ่ง (x 473)

ภาพที่ 12 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุแปดวันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง proembryo ระยะสามเซลล์ (three-celled proembryo) ที่ terminal cell ได้แบ่งนิวเคลียส และมีผนัง (ลูกศร)มากั้นในแนวตามยาวได้เป็นสองเซลล์ ($t._1$, $t._2$) basal cell(b) ติดมาใน section ด้วย (x 464)


n.ex.1
pr.
n.ex.2
9
n.ex.2
n.ex.1
n.ex.3
10
n.1
n.2
t.
b.
11
t.1
t.2
b.
12

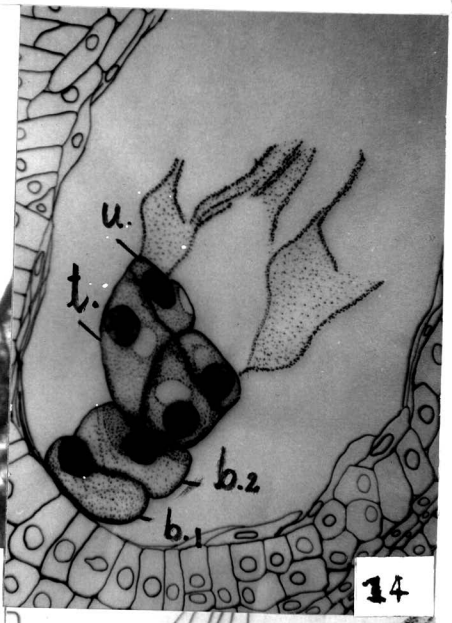
ภาพที่ 13 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุสิบวันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง proembryo ระยะที่ terminal cell เพิ่งแบ่งตัวตามขวางได้ daughter cell (แถว u) สองเซลล์ที่ยังมีขนาดเล็กอยู่ (x 400)

ภาพที่ 14 เป็นภาพเขียนของภาพที่ 13 ที่เขียนจาก camera lucida เป็น reconstruction คือรวบรวมจาก section ในภาพที่ 13 กับอีก section ต่อเนื่องกัน แสดง proembryo ระยะที่ basal cell ได้แบ่งตัวตามขวางแล้วให้สองเซลล์ ($b._1$, $b._2$)และ terminal cell เพิ่งแบ่งตัวมาใหม่ๆได้ daughter cell (u) ที่ยังมีขนาดเล็กอยู่ (x 480)

ภาพที่ 15 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุสิบวันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง proembryo ระยะที่เซลล์แถว u ที่เป็น daughter cell หรือ derivative ของ terminal cell เดิม ได้ยืดยาวจนมีขนาดเท่ากับเซลล์แถวถัดลงมา (t.) (x 520)

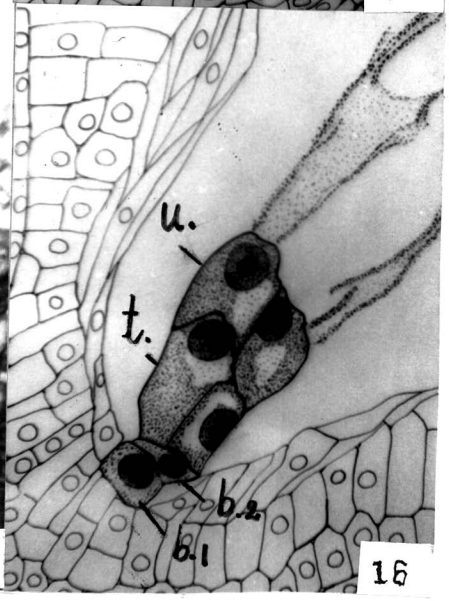
ภาพที่ 16 เป็นภาพเขียนของภาพที่ 15 เขียนจาก camera lucida และรวบรวมจาก section ในภาพที่ 15 กับอีก section ต่อเนื่องกันเป็น reconstruction แสดงเซลล์แถว u เจริญยืดยาวออกเท่ากับแถวล่างถัดลงไป (t) เซลล์สองเซลล์ ($b._1$,$b._2$) ซึ่งได้จากการแบ่งตัวของ basal cellเดิมอย่างในภาพที่ 14 คงเห็นอยู่ (x 640)

13



14

15



16

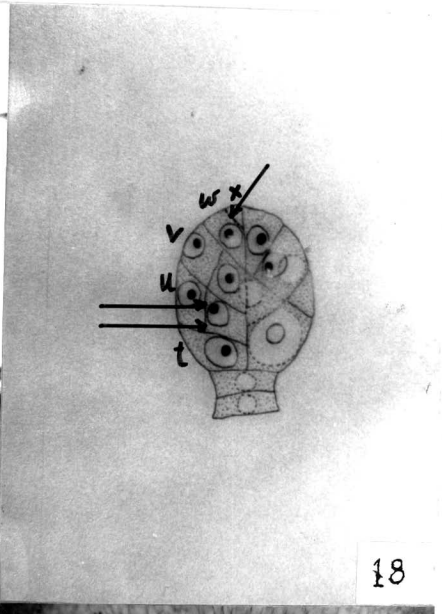
ภาพที่ 17 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุ 12 วัน หลังการถ่าย
ละอองเรณู แสดง proembryo (pr.) ระยะที่ประกอบด้วยเซลล์หลายแถว
ปลายบนสุดไกแบ่งตัวสร้างผนังในแนวเฉียงๆ (ลูกศร) ได้ proembryo ที่ส่วน
ปลายคอนข้างกลมรี (x 480)

ภาพที่ 18 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุ 12 วัน เป็นภาพ
เขียนจาก camera lucida ของภาพที่ 17 โดยรวบรวมเข้ามา (recon-
struction)จาก sectionจำนวนสอง section ซึ่ง basal cell และ
derivative ของมัน ($^{b}1$, $^{b}2$) ติดมาใน section แรก ส่วน proem-
bryo ระยะที่เริ่มติดมาใน section หลัง Proembryo ส่วนปลาย
ประกอบด้วยเซลล์สี่แถวคือแถว t,u,v, และ w ผนัง cell ระหว่างแถว u
กับ v และ v กับ w เป็นผนังที่เรียงในแนวเฉียง ในซีกซ้ายมือในภาพ เซลล์
w เริ่มแบ่งตัวให้เซลล์แถว x ผนังใหม่ (ลูกศร) ก็อยู่ในแนวเฉียง มีการแบ่ง
เซลล์ตามยาวให้ผนังใหม่ตามยาว (ลูกศรคู่)ตาม (x 554)

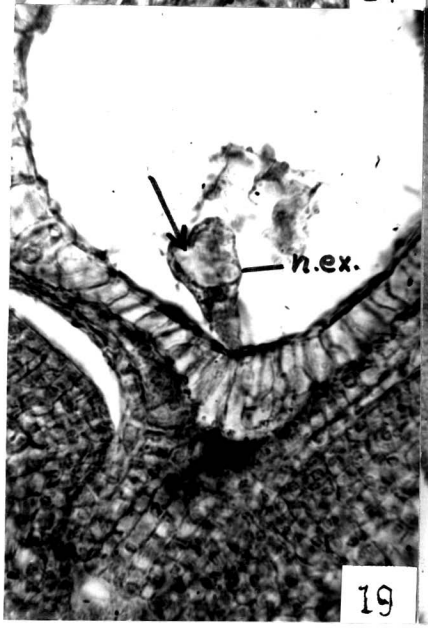
ภาพที่ 19 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุ 12วัน หลังการถ่าย
ละอองเรณู แสดง nucellar extension (n.ex.)ที่เริ่มฝ่อ โดยที่ตรง
ปลายสุดของเซลล์ที่อยู่ทาง chalazal end (ลูกศร) หยักเว้าลงบ้า (x 400)

ภาพที่ 20 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุ 12วัน หลังการถ่าย
ละอองเรณู แสดง embryo sac (ลูกศร) ในระยะที่มีรูปร่างคล้าย dumb-
bell คือปลายทางด้าน micropyle และปลายทางด้าน chalazal ของ
ออกมากกว่าบริเวณตรงกลางๆ (x 400)

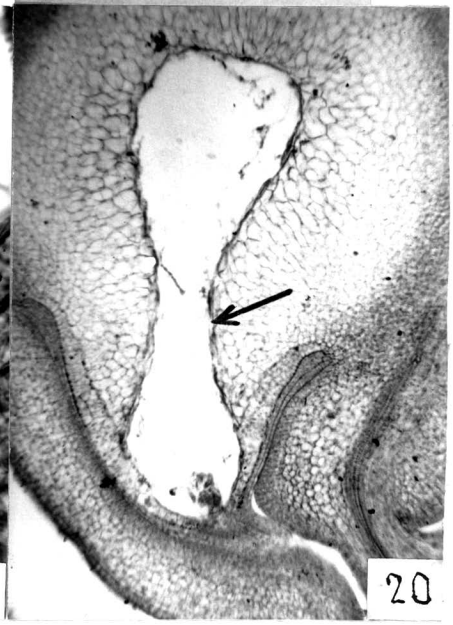
17



18



19



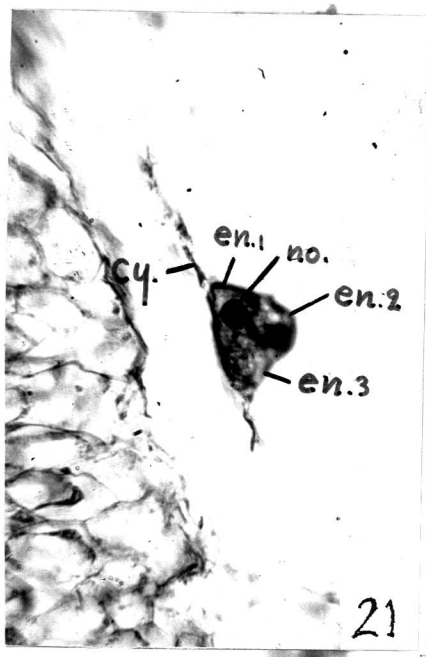
20

ภาพที่ 21 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุ 12 วันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง endosperm ระยะที่มีสามนิวเคลียส ($en._1$, $en._2$, $en._3$) ซึ่งยังอยู่ติดกัน Nucleolus (no.) เห็นได้ชัดเจน โยงอยู่กับ cytoplasm (cy.) ของ embryo sac (x 425)

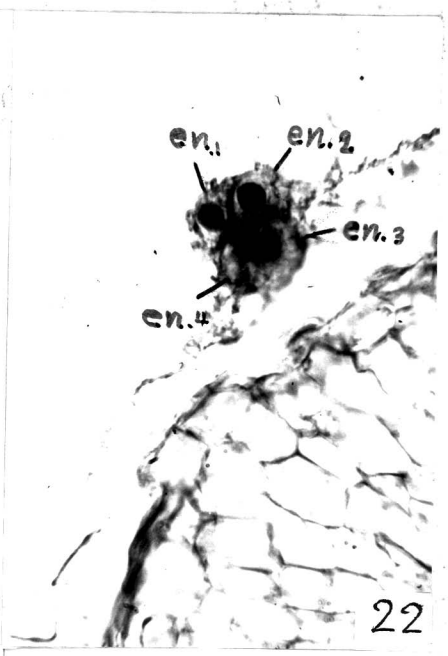
ภาพที่ 22 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุ 12 วันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง endosperm ระยะที่มีสี่นิวเคลียส ($en._1$, $en._2$, $en._3$, $en._4$) และยังติดกันอยู่ (x 425)

ภาพที่ 23 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุ 14 วันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง proembryo (pr.) ที่มีรูปร่างยาวรีตรงกลางคอดคล้ายช้อน (spatulate) มี endosperm เป็นแบบ free nuclei ลอยอยู่ใน cytoplasm ที่ปลายลูกศรชี้คือ endosperm nucleus (x 453)

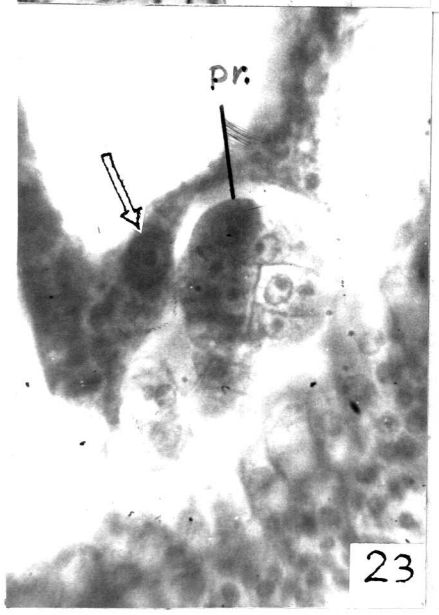
ภาพที่ 24 ภาพ reconstruction ของ proembryo ในภาพที่ 23 เขียนด้วย camera lucida รวมกับอีก section ติดกัน แสดง proembryo ที่มีรูปร่างยาวออกตรงกลางเล็กคอด และ suspensor สองเซลล์หรือ basal cell และ derivative ($b._1$, $b._2$) คงเห็นอยู่ด้วย (x 507)



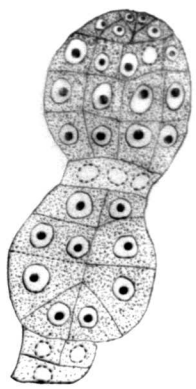
21



22



23



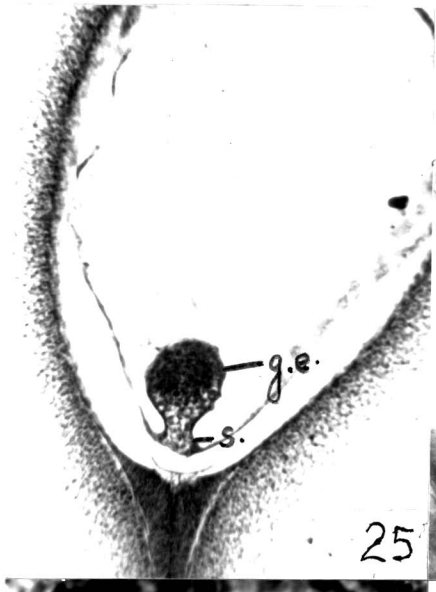
24

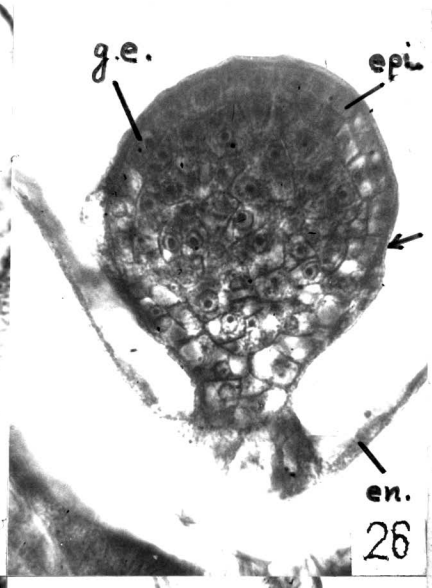
ภาพที่ 25 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุ 16 วันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง embryo ระยะที่มี globular embryo proper (g.e.) (x 129)

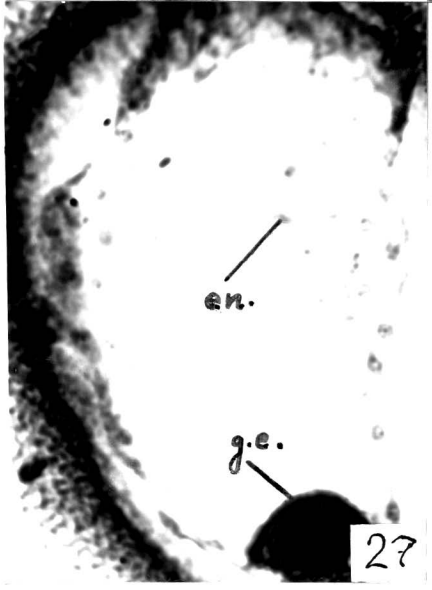
ภาพที่ 26 ภาพขยายของภาพที่ 25 ขยายส่วน globular embryo proper (g.e.) ซึ่งเซลล์แถวนอกเรียงคล้ายเป็น epidermis (epi.) ด้านข้างของ globular embryo proper เริ่มมีรอยคอด (ลูกศร) Endosperm (en.) มักจะโยงมาสัมผัสกับตอนกลางของ embryo (x 460)

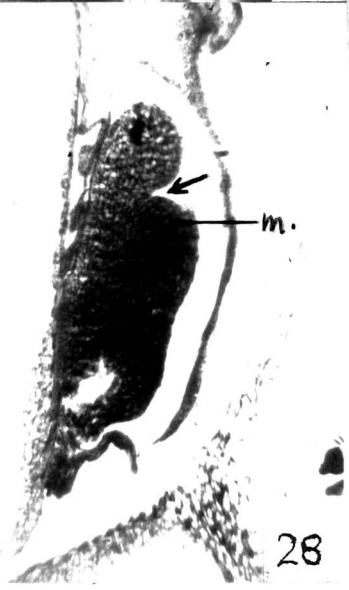
ภาพที่ 27 Embryo sac อันเดียวกันกับในภาพที่ 25 แต่เป็น section ทางด้านริม embryo sac แสดง endosperm nucleus (en.) ซึ่งยังคงเป็น free nuclei ลอยอยู่ใน cytoplasm ใน embryo sac ใน section นี้มีส่วนหนึ่งของ globular embryo proper (g.e.) ติดมาด้วย (x 156)

ภาพที่ 28 l.s. ของ ovule ใน ovary อายุ 18 วันหลังการถ่ายละออง เรณู แสดง embryo ซึ่งคอนข้างยาว มีรอยคอดเหนือกึ่งกลางขึ้นไปเล็กน้อย (ลูกศร) เนื้อเยื่อ (m.) ระยะต่ำกว่ารอยคอดจะเจริญให้ส่วนยอด (x 135)


g.e.
s.
25


g.e.
epi.
en.
26


en.
g.e.
27


m.
28

ภาพที่ 29 Section จาก ovule เดียวกันกับในภาพที่ 28 แต่ตัดผ่าน embryo ในแนว median l.s. Embryo รูปร่างยาวคล้ายรองเท้าแตะตรงกลางคอดเล็กน้อย (x 114)

ภาพที่ 30 l.s. ของ ovule อายุ 20 วันหลังการถ่ายละอองเรณู ขยาย embryo ในแนว l.s. Cotyledon (cot.) ยืดยาวออกไป Embryo เริ่มมีบางตอนยื่นออกมา ส่วนนี้คือ shoot primordium (sh.pr.) และมี root primordium (ลูกศร)เริ่ม differentiate เห็นชัดขึ้น (x 100)

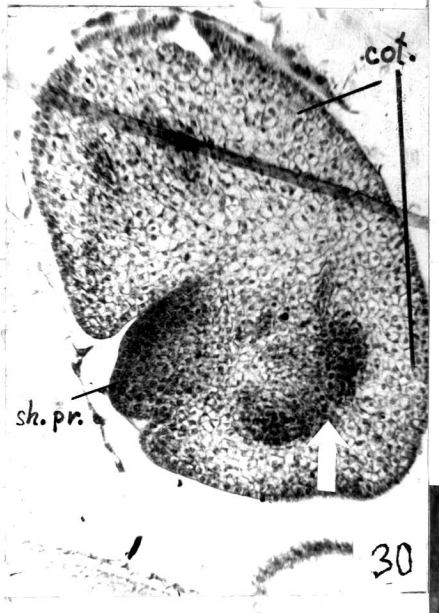
ภาพที่ 31 l.s. ของ ovule อายุ 20 วันหลังการถ่ายละอองเรณู ขยายส่วน endosperm (en.) ระยะที่เริ่มมี cellular endosperm (cel.en.) เซลล์เรียงตัวกันเป็นหนึ่งแถว อยู่ตามขอบ (peripheral) ของ embryo sac แต่ endosperm ถัดเข้าไปข้างในยังเป็น free nuclei (ลูกศร) (x 167)

ภาพที่ 32 l.s. ของ embryo จาก ovule อายุ 22 วันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดง embryo ที่เจริญเกือบเต็มที่ซึ่งประกอบด้วย cotyledon (cot.) หรือ scutellum อยู่เป็นส่วนใหญ่ ในภาพเห็น first foliage leaf (ลูกศร) Adventitious root (ad.r.) เจริญยื่นออกไปหลายอันและส่วน radicle (rd.) เป็นอันที่ยาวที่สุด (x 25)

หมายเหตุ Embryo ใหญ่ขึ้นมากจนถ่ายรูปจากการขยายด้วย low power objective ไม่หมด ได้ถ่ายภาพที่ละตอนรวมสามครั้ง อัดภาพมาติดเรียงกัน แล้วถ่ายภาพซ้ำอีกครั้งหนึ่ง

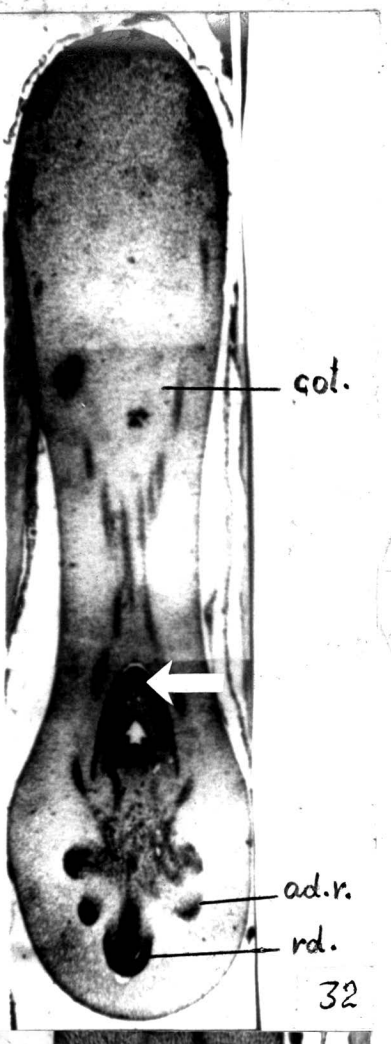
ภาพที่ 33 ภาพเดียวกับภาพที่ 32 แต่ได้ขยายเฉพาะส่วนล่างจากส่วน shoot ลงมา ได้ label เฉพาะที่ไม่ได้ทำไว้ในภาพที่ 32 คือ mesocotyl (mes.) shoot apex (sh.a.) ของ plumule leaf trace (lf.tr.) และ cotyledonary trace (cot.tr.) (x 37.5)

29

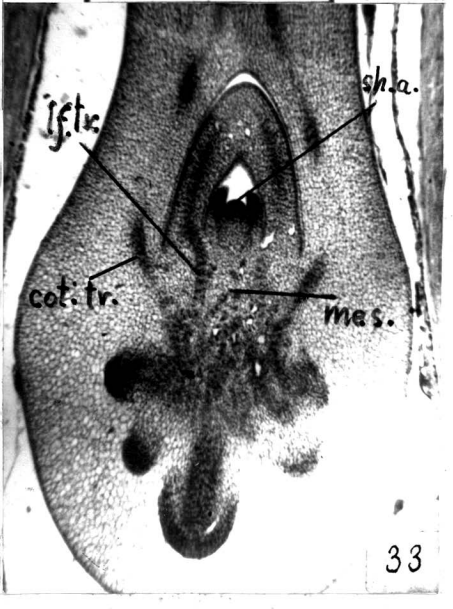


30

31



32



33

ภาพที่ 34 l.s. ovule อายุ 22 วัน หลังการถ่ายละอองเรณู แสดง embryo (em.) ระยะเดียวกับในภาพที่ 33 ข้างๆเห็น endosperm (ลูกศร) เหลืออยู่ และ nucellus (ncl.) หรือ perisperm (x 26)

ภาพที่ 35-39 เป็นภาพ x.s. ของ embryo ใน ovule อายุ 22 วัน หลังการถ่ายละอองเรณู ตัดผ่านระดับต่างๆกัน เรียงจากข้างล่าง (micropylar end ขึ้นไปสู่ทางปลาย

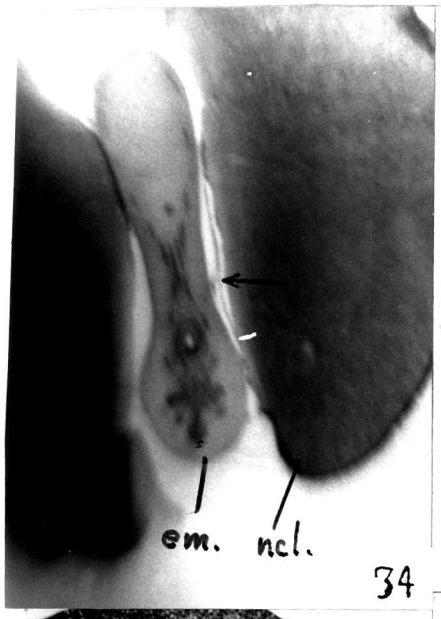
ภาพที่ 35 Section ตัดผ่านระดับที่มี adventitious root (ลูกศร)ที่เจริญออกมาหลายๆอันด้วยกัน เนื้อเยื่อโดยรอบคือ cotyledon ซึ่งมีขอบเขต (outline) กลมข้างกลม (x 35)

ภาพที่ 36 Section ตัดผ่านระดับที่มีใบ Leaf primordium อันแรก (lf.1) ซึ่งจะเป็น first foliage leaf ต่อไปเป็นอันแรก มี vernation เป็นแบบ convolute หุ้ม second foliage leaf (lf.$_2$) First foliage leaf มี procambium เป็นหยอมๆ (ลูกศร)หลายอัน เนื้อเยื่อโดยรอบคือ cotyledon (x 35)

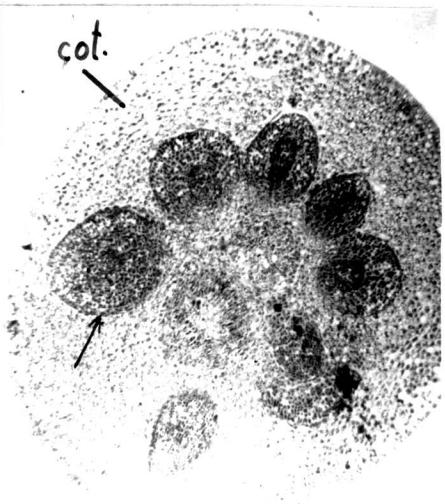
ภาพที่ 37 Section ตัดผ่านบริเวณที่ปลายของembryonic shoot หรือ plumule (plm.) ยื่นออกไปอย่างอิสระไม่ติดกับ cotyledon (cot.)(x33)

ภาพที่ 38 Section ตัดผ่าน cotyledonส่วนๆเหนือฉัตรส่วนของ embryo มี procambium หรือ cotyledonary trace(ลูกศร) (x 33)

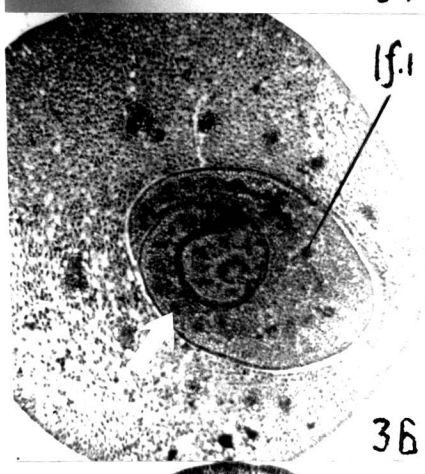
ภาพที่ 39 Section ตัดผ่านใกล้ปลายบนสุดของ embryo มีแต่ cotyledon ซึ่งขอบเขต (outline) ที่มีหยักเว้าเป็นสองลอน (x 53)



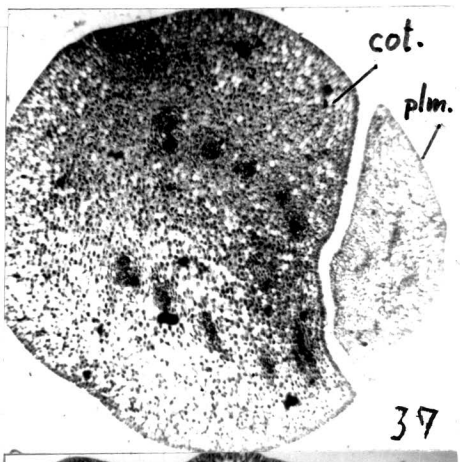
34



35

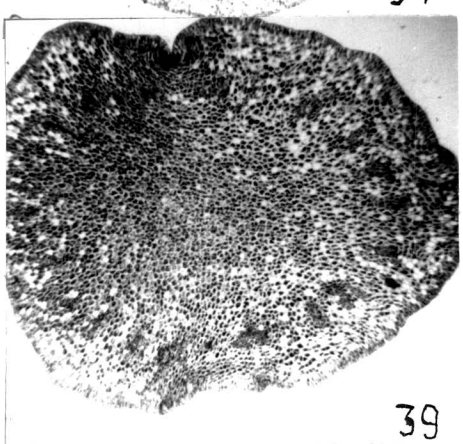


36



37

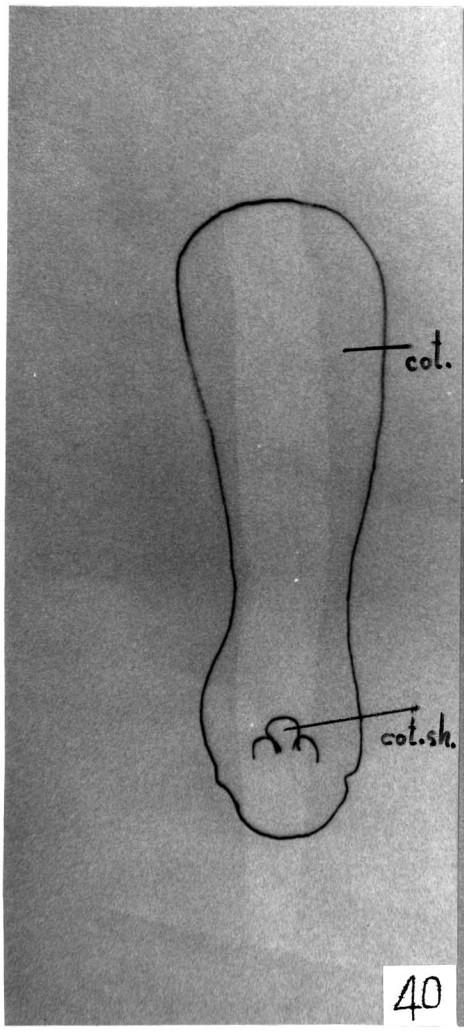
38



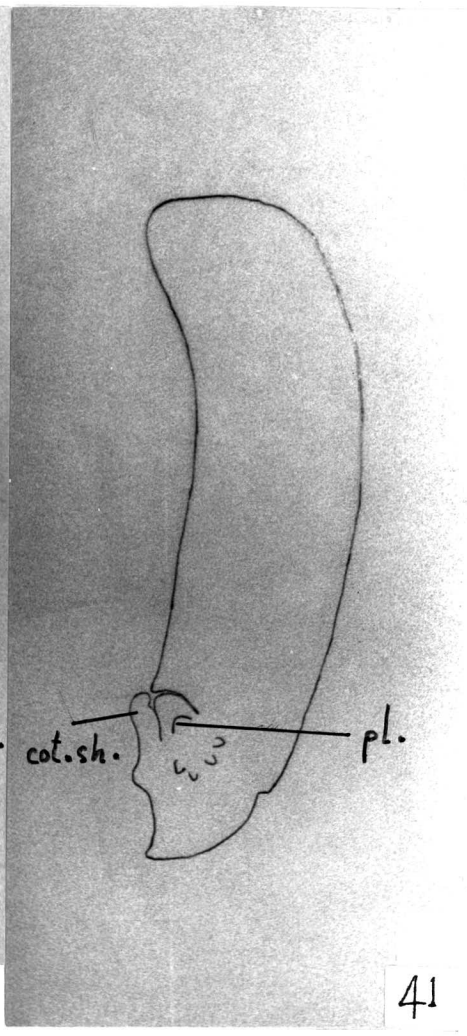
39

ภาพที่ 40 Embryo ทั้งอันเขี่ยออกมาจาก ovule อายุ 25 วันหลังการถ่ายละอองเรณู แสดงด้านข้างหรือด้าน (side view) มี cotyledonary sheath (cot. sh.) ซึ่งมีรูปร่างกลมข้างแผ่แบนคล้ายพัดอยู่เป็นสามลอน Embryo เกือบจะทั้งก้อนประกอบด้วย cotyledon (cot.) เป็นส่วนใหญ่ (x 24)

ภาพที่ 41 Embryoอันเดียวกับข้างบน แสดงภาพด้านบนซึ่งอยู่ในแนว horizontal เมื่อกดๆ เขี่ย cotyledonary sheath (cot. sh.) ออกจะเห็น plumule (pl.)ยื่นโค้งอยู่ข้างใต้ (x 28)



40



41

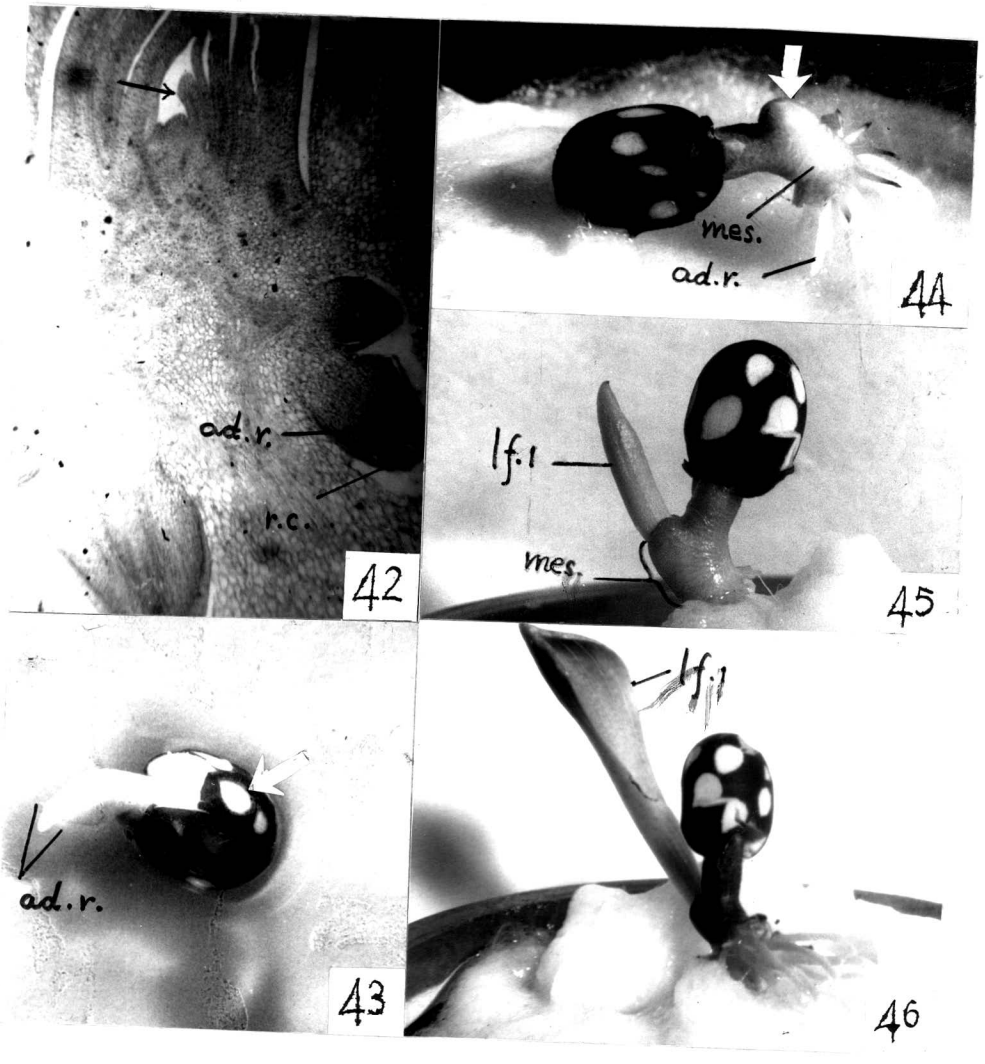
ภาพที่ 42 l.s. ของ embryo ที่กำลังงอกยาว 1.2 เซนติเมตร แสดง leaf primordium (ลูกศร) และ adventitious root (ad.r.) ที่ยืดตัวยาวและใหญ่ขึ้น ในภาพมี adventitious root หลายๆอัน ปลายรากมี root cap (r.c.) (x 40)

ภาพที่ 43 เมล็ดภายหลังการเพาะบนสำลีรวมแปดวัน แสดงเมล็ดที่ cotyledon ได้ยืดตัวผลักส่วนอื่นๆ เช่นส่วนปลายราก ส่วนของ mesocotyl ออกมาพ้นเมล็ด เริ่มเห็น adventitious root (ad.r.) สองอัน รอยขาวๆบนเมล็ด (ลูกศร)เป็นส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ดที่ถูกฝานออกไป (x 3)

ภาพที่ 44 เมล็ดภายหลังจากการเพาะบนสำลีรวม 13 วัน มี mesocotyl (mes.) ที่ถูกส่งออกมาภายนอกเมล็ด และปุ่มซึ่งมี shoot apex (ลูกศร)อยู่ข้างใน Adventitious root (ad.r.) ยื่นยาวออกมาจาก mesocotyl หลายอัน (x 3)

ภาพที่ 45 ภาพ seedling ภายหลังจากการเพาะบนสำลีรวม 17 วัน แสดงพวก terminal bud ซึ่งมี first foliage leaf (lf.1) หุ้มอยู่ และยังไม่คลี่โผล่พ้น mesocotyl (mes.)ขึ้นมา (สำลีคลุมทับ adventitious root อยู่) (x 3)

ภาพที่ 46 ภาพ seedling ภายหลังจากการเพาะบนสำลีรวม 22 วัน แสดง first foliage leaf (lf.1) ที่คลี่ออกไป ภาพนี้ได้เปิดสำลีที่คลุมทับอยู่ออกเพื่อให้เห็น adventitious root (ad.r.) อยู่ตอนล่างของ mesocotyl (x 2)


ad.r.
r.c.
42
mes.
ad.r.
44
lf.1
mes.
45
ad.r.
43
lf.1
46

ภาพที่ 47 ภาพเขียนแบบ diagram สรุประยะต่างๆของการเจริญเติบโตเปลี่ยนแปลงของ zygote จนเป็น embryo (คัพภะ)ที่เติบโตเต็มที่ในพุทธรักษา (Canma edulis Linn.)

ลายุของ zygote proembryo และ embryo มีจากวันทำการกายละอองเรณู ดูจากตัวเลขหน้าอักษร d ที่กำกับไว้ในภาพ

ภาพ A-F (x 100)

A Zygote

B Zygote แบ่งตัวตามขวางแล้วให้ proembryo ระยะสองเซลล์คือ terminal cell (t) และ basal cell (b)

C Terminal cell ของ proembryo ได้แบ่งตัวตามยาวได้สองเซลล์ (t_1 , t_2)

D t_1, , t_2 แบ่งตัวตามขวางให้ daughter cell อีกแถวหนึ่ง (u) Basal cell แบ่งตัวตามขวางได้สองเซลล์ (b_1 , b_2)

E เซลล์แถว u ของ proembryo ได้มีการแบ่งตัวตามยาวประมาณเท่ากับแถว t และแบ่งตัวในแนวตามยาวและตั้งฉากกันแบ่งเป็นเซลล์แถว u รวมทั้งเซลล์

F Proembryo ที่ประกอบด้วยเซลล์หลายแถว คือ t,u,v,w,x, เซลล์แถวใหม่(v,w,x,) สร้างผนังเซลล์ในแนวเอียงๆ

G Prqembryo มีรูปร่างยาวออกคล้ายรูปช้อน(spatulate) ตรงกลางออกเล็ก ส่วนฐาน (suspensor) ยังคงประกอบด้วยเซลล์แถว b_1 และ b_2 (x 168)

H Embryo เริ่มมี globular embryo proper ซึ่งประกอบด้วยส่วนคล้ายกานเจริญจากตอนล่างจากรอยกอดของภาพ G (x 54)

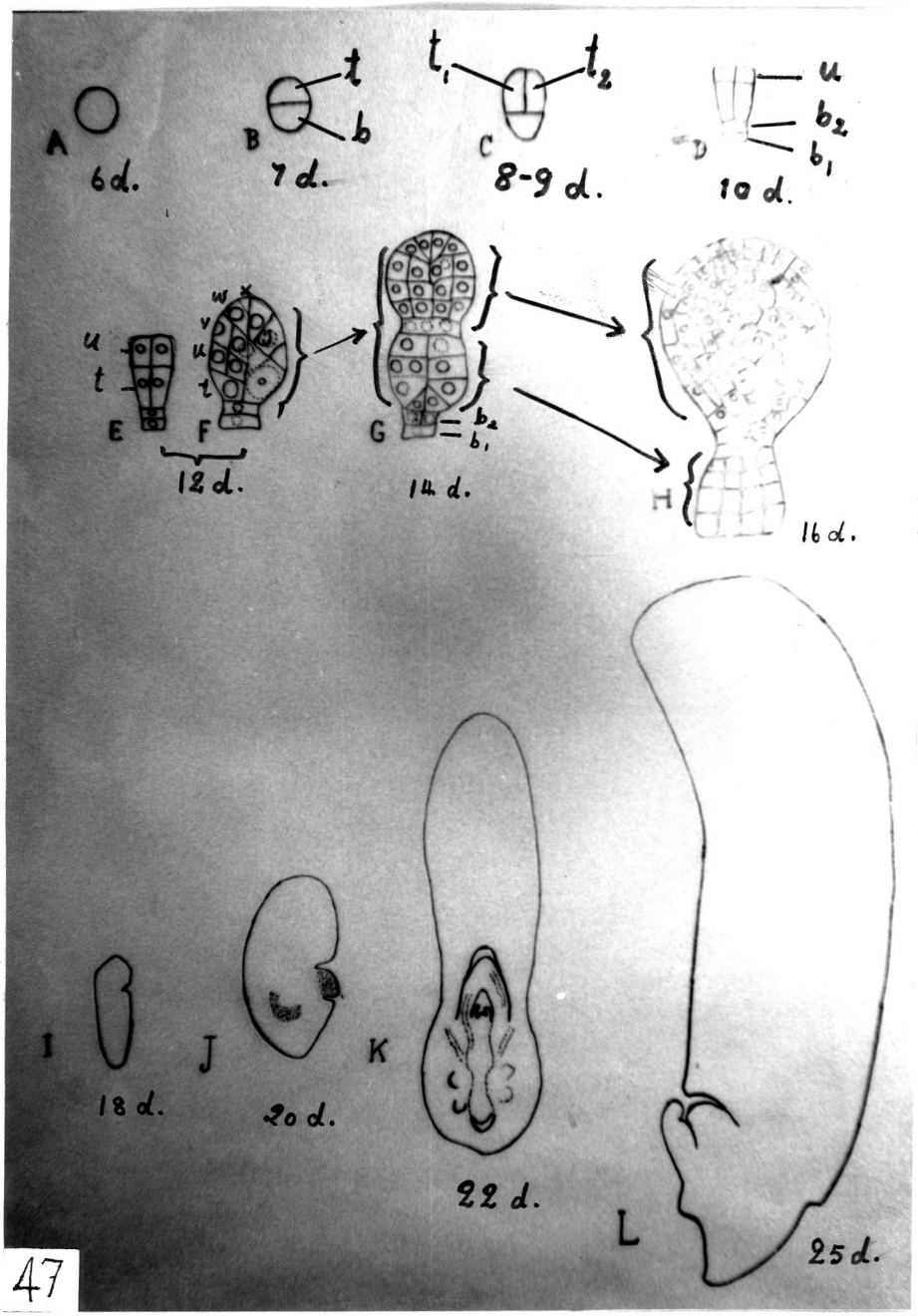
ภาพ I - L (x 17)

I Embryo รูปร่างกลมยาว เกิดจาก globular embryo proper มีรอยกอดเหนือกึ่งกลางเล็กน้อย

J Embryo เริ่มมี shoot primordium และ root primordium differentiate ให้เห็นชัด

K ส่วนตามใน (l.s.) ของ embryo ระยะที่เติบโตเกือบเต็มที่ ประกอบด้วย cotyledon (scutellum) เป็นส่วนใหญ่ Radicle มี 1 อัน และ adventitious root หลายอัน Plumule มี leaf primordium อยู่ภายหลายอัน

L Embryo ทั้งอันระยะที่เติบโตเต็มที่ Cotyledonary sheath หุ้ม plumule ไว้


A
6 d.
B
t
b
7 d.
t1
t2
C
8-9 d.
u
b2
b1
D
10 d.
E
u
t
F
w
v
u
t
12 d.
G
b2
b1
14 d.
H
16 d.
I
18 d.
J
20 d.
K
22 d.
L
25 d.
47