

บทที่ 6

ศึกษาจำนวนโครโนโซมของอนิโกรากัม

6.1 บทนำ

โครโนโซมเป็นส่วนสำคัญของ DNA ที่มีการขาดพันกันเป็นแท่ง เป็นส่วนที่ใช้ในการถ่ายทอดรหัสทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต เมื่อเซลล์มีการแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์หรือสร้างเซลล์สืบพันธุ์ โครโนโซมต้องมีการเพิ่มจำนวนขึ้นมาเพื่อทำหน้าที่ในการถ่ายทอดพันธุกรรมไปยังเซลล์ใหม่ โดยการศึกษาจำนวน ลักษณะ และรูปร่างของโครโนโซมมีส่วนช่วยทำให้สามารถเปรียบเทียบความคล้ายคลึงและความแตกต่างของพืชแต่ละชนิดได้ (รุ่งนภา, 2540) Moret and Galland (1991) ได้ทำการศึกษาจำนวนโครโนโซมของอนิโกรากัม 3 ชนิดที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน คือ *Ornithogalum algeriense* และ *O. kockii* ที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแอฟริกาเหนือ และ *O. umbellatum* ที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในยุโรป พบว่า *O. kockii* มีจำนวนโครโนโซมไกล์เดียวกับ diploid ของ *O. umbellatum* และจำนวนโครโนโซมที่เป็น diploid ของ *O. umbellatum* มีจำนวนโครโนโซมไกล์เดียวกับ polyploid ของ *O. algeriense* ประโยชน์อีกอย่างของการศึกษาจำนวนโครโนโซม คือ สามารถบอกได้ถึงการเข้าคู่กันของโครโนโซมพ่อและแม่ ซึ่งจะให้เห็นถึงโอกาสและความสำเร็จในการผสมข้ามสายพันธุ์หรือชนิดได้ โดยถูกพิสูจน์ว่าได้จากการผสมข้ามสายพันธุ์หรือชนิด อาจมีจำนวนโครโนโซมผันแปรไปจากพ่อและแม่ โดยเกิดจากการรวมตัวของโครโนโซมพ่อและแม่ที่มีความแตกต่างกัน (ชัยฤกษ์, 2525) นอกจากนี้การที่พืชได้รับการฉายรังสีซึ่งเป็นการหักน้ำให้เกิดการกลายพันธุ์ และมีการแสดงออกของลักษณะภายนอกที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมนั้น อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของโครโนโซม เช่น การขาดจากกันของโครโนโซม (สุกันยา และ เกรียงศักดิ์, 2532) โดยได้มีผู้ทำการศึกษาโครโนโซมจากเซลล์ปลายรากของ *O. dubium* ที่ผ่านการฉายรังสีเเก่มมา พบว่ามีจำนวนโครโนโซมเท่ากับ 12 และ 24 ส่วนカリโอไทป์และカリโอแกรมที่ได้จากการข้อมูล Kro Nero ด้วยสี giemsa และ AgNO₃ ทำให้ทราบว่า ต้นที่มีจำนวนโครโนโซมเท่ากับ 24 เป็น autotetraploid ของต้นที่มีจำนวนโครโนโซมเท่ากับ 12 และต้นที่มีจำนวนโครโนโซมเท่ากับ 12 ที่ได้รับปริมาณรังสี 1 หรือ 2 กิโลแรค (KR) บางต้นมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโครโนโซมโดยเกิดการขาด หรือ หักของโครโนโซมบริเวณ satellite (กฤษณา, 2545) ซึ่งการศึกษาจำนวนโครโนโซม มีความสำคัญต่องานปรับปรุงพันธุ์พืช เพราะสามารถนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาไว้ ไปเป็นรากฐานในการปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อให้ได้ลักษณะ

ตามที่ต้องการ จึงได้ทำการศึกษาหาจำนวนโครโน่โชนของต้นพ่อ ต้นแม่ สูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามชนิด และต้นที่มีความผิดปกติซึ่งสูกซักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยรังสีแกมมา

6.2 วัสดุพันธุ์พืชและอุปกรณ์

6.2.1 วัสดุพันธุ์พืช

- 6.2.1.1 ปลายรากของ *O. arabicum*
- 6.2.1.2 ปลายรากของ *O. dubium*
- 6.2.1.3 ปลายรากของ *O. thyrsoides*
- 6.2.1.4 ปลายรากของ *O. umbellatum*
- 6.2.1.5 ปลายรากของสูกผสมอนิโรมากัมที่ใช้จากการผสมข้ามชนิด
- 6.2.1.6 ปลายรากของ *O. arabicum* ที่เกิดความผิดปกติจากการฉายรังสีแกมมา
- 6.2.1.7 ปลายรากของ *O. thyrsoides* ที่เกิดความผิดปกติจากการฉายรังสีแกมมา
- 6.2.1.8 ปลายรากของ *O. umbellatum* ที่เกิดความผิดปกติจากการฉายรังสีแกมมา
- 6.2.2 ขวดเกี้ยวขนาดบรรจุ 1.5 มิลลิลิตร สำหรับเก็บตัวอย่างปลายราก
- 6.2.3 ปากกิน
- 6.2.4 เข็มเขียง
- 6.2.5 ถ้วย
- 6.2.6 กระจาดปิดถ้วย
- 6.2.7 หลอดหายด
- 6.2.8 จุกยาง
- 6.2.9 กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ photomicroscope
- 6.2.10 immersion oil for microscopy
- 6.2.11 กระดาษเช็ดเลนส์
- 6.2.12 สารเคมีที่ใช้ศึกษาหาจำนวนโครโน่โชนโดยใช้เทคนิค Feulgen squash method
ดัดแปลงโดย อศิริ (2539) และนฤมล (2543) (ภาคผนวก ก ข้อ 4)

6.3 วิธีการทดลอง

- 6.3.1 เตรียมปลายราก ตัดเฉพาะส่วนปลายรากที่กำลังเจริญเตบโต เก็บปลายรากที่เวลา 7.30 8.30 9.30 10.30 หรือ 11.30 นาฬิกา

- 6.3.2 หยุดชีพของเซลล์ โดยการแช่ป้ายรากในสารละลาย para-dichlorobenzene (PDB) เป็นเวลา 6 12 18 24 30 และ 36 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส
- 6.3.3 รักษาสภาพเซลล์โดยนำรากออกมาจากสารละลาย PDB แล้วล้างป้ายรากให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น นำป้ายรากไปแช่ในน้ำยา fixative นาน 5 นาที แล้วล้างป้ายรากด้วยน้ำกลั่น
- 6.3.4 แยกเซลล์โดยการแช่ป้ายรากในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 นอร์มอล (N) เป็นเวลา 5-10 นาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วล้างป้ายรากด้วยน้ำกลั่น
- 6.3.5 ข้อมูลในเนื้อเยื่อด้วยสีบ้อม carbol fuchsin โดยใช้สีนาน 24 ชั่วโมง
- 6.3.6 ขี้น霏ื่อเยื่อบนสไลด์ โดยใช้เงินเยี่ยดเนื้อเยื่อป้ายรากให้แยกออกเป็นชิ้นเล็กๆ ปิดด้วยกระดาษปิดสไลด์บริเวณที่มีเนื้อเยื่อ ใช้กระดาษซับวงบันแผ่นสไลด์ บริเวณที่ปิดแผ่นกระดาษปิดสไลด์ ใช้นิวหัวแม่มือกดเพื่อให้เซลล์กระจายและเป็นการซับสีที่มากเกินไปออก
- 6.3.7 นำแผ่นสไลด์ไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เลือกเซลล์ที่มีการแบ่งนิวเคลียส ในระยะ metaphase โดยเลือกเซลล์ที่มีโครโนมโซมกระจายไม่ทับกันและเซลล์ที่ผนังเซลล์ไม่แตก นับจำนวนโครโนมโซมแล้วบันทึกภาพ

6.4 สถานที่ที่ใช้ในการทดลองและรวบรวมข้อมูล

ห้องปฏิบัติการภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

6.5 ผลการทดลอง

6.5.1 เทคนิคในการเตรียมเซลล์เพื่อศึกษาโครโนโซม

การศึกษาโครโนมโซมของอนิโธกาลัม เป็นการศึกษาโดยใช้เนื้อเยื่อป้ายราก วิธีการเตรียมเนื้อเยื่อที่ใช้ได้ผลดี โดยได้เซลล์ที่แบ่งตัวในระยะ metaphase จากการทดลองนี้ พบว่า ต้องเก็บป้ายรากที่กำลังมีการ分裂细胞 โดยเลือกป้ายรากที่มีสีขาวๆ ุน ตัดป้ายรากให้มีความกว้าง 1 เซนติเมตร ซึ่งอนิโธกาลัมแต่ละชนิดมีช่วงเวลาในการแบ่งเซลล์ และระยะเวลาในการแช่สารละลาย PDB เพื่อยุดชีพเซลล์ ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ไม่เท่ากัน (ตาราง 6.1) การทำเช่นนี้ทำให้ได้โครโนมที่หล่อสั้น การแยกเซลล์โดยใช้เนื้อเยื่อป้ายรากในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 N เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และแช่เนื้อเยื่อป้ายรากไว้ในสีบ้อม carbol fuchsin นาน 24 ชั่วโมง ช่วยให้โครโนมติดตัวชัดขึ้น

ตาราง 6.1 ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บราก และระยะเวลาในขั้นตอนต่าง ๆ เพื่อทำจำานวนโครโนไซม์

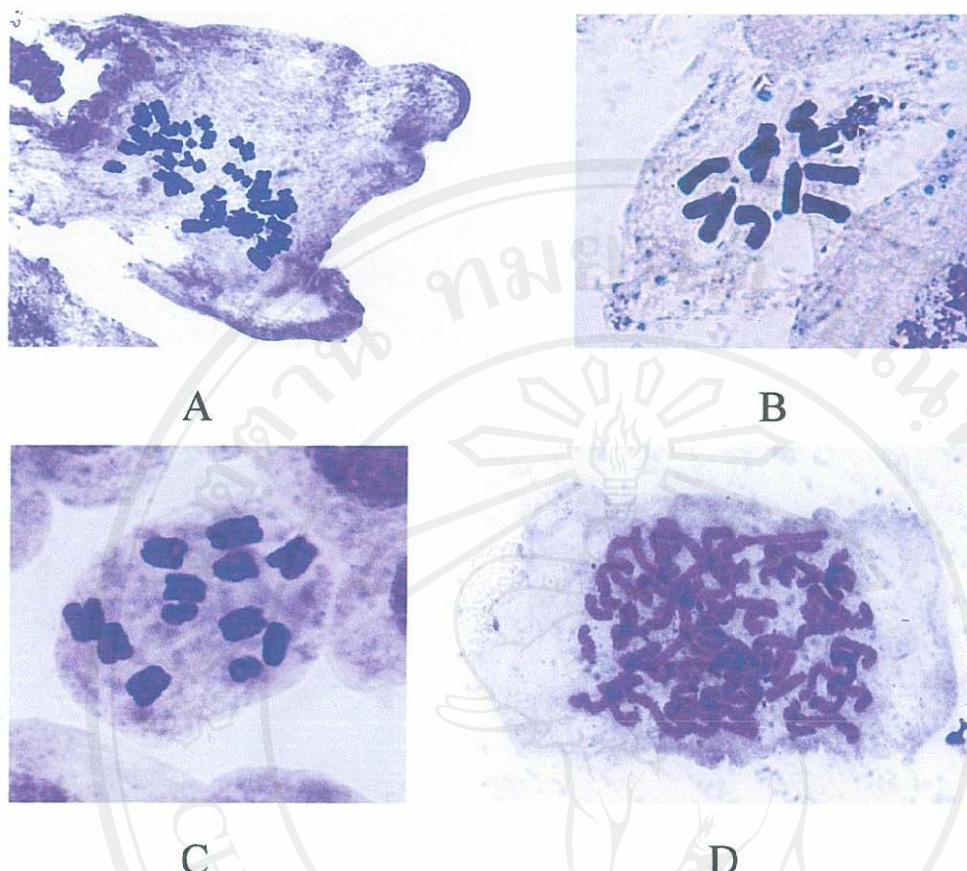
ชนิดของอนิโธกาล้ม	ช่วงเวลาใน การเก็บราก (นาฬิกา)	ระยะเวลาใน การแข่ PDB (ชั่วโมง)	ระยะเวลาใน การแยกเซลล์ (นาที)	ระยะเวลา ในการแข่สี (ชั่วโมง)
<i>O. arabicum</i>	8.30-10.30	36	5	24
<i>O. dubium</i>	7.00-8.00	12	5	24
<i>O. thrysoides</i>	7.30-10.30	12	5	24
<i>O. umbellatum</i>	9.30-11.30	12	5	24

6.5.2 จำนวนโครโนไซม์ของอนิโธกาล้มต้นพ่อแม่พันธุ์ และลูกผสมที่ได้จากการผสมข้าม การนับจำนวนโครโนไซม์จากเซลล์เนื้อเยื่อปลายรากของอนิโธกาล้ม ที่ใช้เป็นต้นพ่อแม่พันธุ์ทั้ง 4 ชนิด และลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามชนิดระหว่าง *O. dubium* × *O. thrysoides* และ *O. thrysoides* × *O. arabicum* พบว่า *O. arabicum* มีจำนวนโครโนไซม์เท่ากับ 50 แท่ง *O. dubium* และ *O. thrysoides* มีจำนวนโครโนไซม์เท่ากับ 12 แท่ง และ *O. umbellatum* มีจำนวนโครโนไซม์เท่ากับ 54 แท่ง (ตาราง 6.2 และ ภาพ 6.1) ส่วนลูกผสมที่ได้จากการผสมข้าม ไม่ได้ทำการศึกษาหาจำนวนโครโนไซม์เนื่องจากยังอยู่ในขั้นตอนการเพาะเลี้ยงไว้อ่อนเพื่อพัฒนาไปเป็นคัพภะและต้น

ตาราง 6.2 จำนวนโครโนไซม์ของอนิโธกาล้มต้นพ่อแม่พันธุ์ จำนวน 4 ชนิด

กรรมวิธี	จำนวน โครโนไซม์ที่นับได้				mode	$\bar{X} \pm S.D$
	จำนวนเซลล์ที่นับได้					
<i>O. arabicum</i>	46	50	51	-	50	49.93 ± 1.21
	1	10	3	-		
<i>O. dubium</i>	12	13	14	15	12	12.88 ± 1.22
	10	2	2	3		
<i>O. thrysoides</i>	11	12	13	14	12	12.44 ± 0.89
	1	10	2	3		
<i>O. umbellatum</i>	50	52	54	55	54	53.50 ± 1.34
	1	4	10	3		

หมายเหตุ (ตารางภาคผนวก จ 1 -4)



ภาพ 6.1 ลักษณะและจำนวนโครโน่โชนของต้นพ่อแม่พันธุ์อนิโตรากลัมทั้ง 4 ชนิด A = *O. arabicum* (764 \times) B = *O. dubium* (1062 \times) C = *O. thrysoides* (1265 \times) D = *O. umbellatum* (784 \times) (วิธีคำนวณกำลังขยายในภาคผนวก ข ข้อ 2)

6.5.3 จำนวนโครโน่โชนของอนิโตรากลัมที่เกิดความผิดปกติจากการฉายรังสีแคมมา

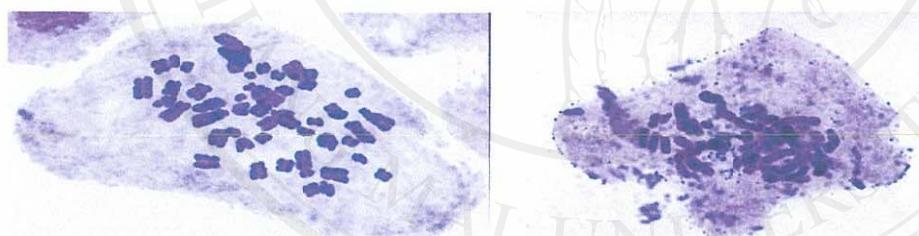
การนับจำนวนโครโน่โชนจากเนื้อเยื่อเซลล์ปลายรากของอนิโตรากลัม ที่เกิดความผิดปกติจากการฉายรังสีแคมมาทั้ง 3 ชนิด ในการทดลองไม่สามารถเก็บรากได้ทุกกรรมวิธี เนื่องจากหัวที่ผ่านการฉายรังสี เกิดการฟ่อหลังจากการทดลองปลูกเพื่อศึกษาผลของการฉายรังสีแคมมาที่มีต่อลักษณะภายนอกที่แสดงออก โดย *O. arabicum* และ *O. umbellatum* สามารถเพาะและเก็บรากได้ 3 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีที่ไม่ได้รับรังสี (กรรมวิธีควบคุม) 500 และ 1000 R ส่วน *O. thrysoides* สามารถเพาะและเก็บรากได้ 1 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีที่ได้รับปริมาณรังสี 0 R พบว่า *O. arabicum* ทุกกรรมวิธีที่สามารถเก็บรากเพื่อศึกษาจำนวนโครโน่โชนได้มีจำนวนโครโน่โชนเท่ากับ 50 แห่ง (ตาราง 6.3 และภาพ 6.2) ส่วน *O. thrysoides* ในกรรมวิธีที่สามารถเก็บรากได้ มีจำนวนโครโน่โชนเท่ากับ 12 แห่ง (ตาราง 6.4 และภาพ 6.3) และ *O. umbellatum* ทุกกรรมวิธีที่สามารถ

เก็บรากเพื่อศึกษาจำนวนโครโนไซม์ได้มีจำนวนโครโนไซม์เท่ากับ 54 แท่ง แต่จำนวนโครโนไซม์มีความแปรปรวนตั้งแต่ 43-90 แท่ง (ตาราง 6.5 และภาพ 6.4)

ตาราง 6.3 จำนวนโครโนไซม์ของต้น *O. arabicum* ที่เกิดความผิดปกติจากการฉายรังสีแกมมา

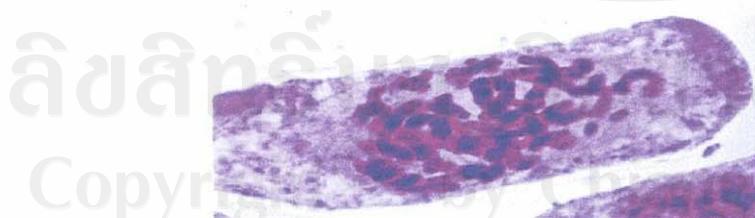
กรรมวิธี	จำนวนโครโนไซม์ที่นับได้				mode	$\bar{X} \pm S.D$
	จำนวนเซลล์ที่นับได้					
0 Rad	46	48	50	51	50	49.27 ± 1.53
	2	2	10	1		
500 Rad	46	48	50	51	50	48.84 ± 1.89
	1	3	10	1		
1000 Rad	46	48	50	51	50	49.40 ± 1.30
	1	3	10	1		

หมายเหตุ (ตารางภาคผนวก ช 5 -7)



A

B



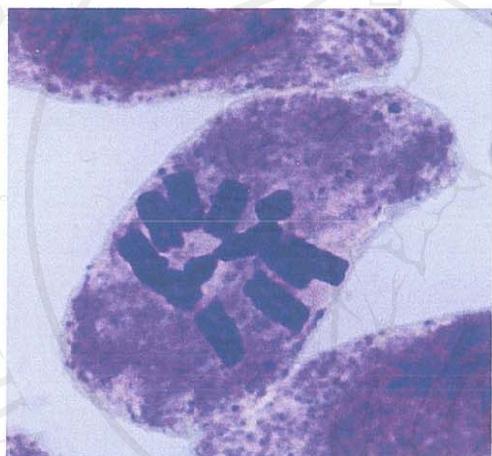
C

ภาพ 6.2 ลักษณะและจำนวนโครโนไซม์ของต้น *O. arabicum* ที่เกิดความผิดปกติจากการฉายรังสีแกมมา A = กรรมวิธีที่ได้รับปริมาณรังสี 0 R (908 \times) B = กรรมวิธีที่ได้รับปริมาณรังสี 500 R (710 \times) C = กรรมวิธีที่ได้รับปริมาณรังสี 1500 R (1081 \times) (วิธีคำนวณกำลังขยายในภาคผนวก ข ข้อ 2)

ตาราง 6.4 จำนวนโครโนไซมของต้น *O. thrysoides* ที่เกิดความผิดปกติจากการฉายรังสีแกมมา

กรรมวิธี	จำนวนโครโนไซมที่นับได้			mode	$\bar{X} \pm S.D$
	จำนวนเซลล์ที่นับได้				
0 Rad	12	13	14	12	12.40 ± 0.63
	10	4	1		

หมายเหตุ (ตารางภาคผนวก ข 8)

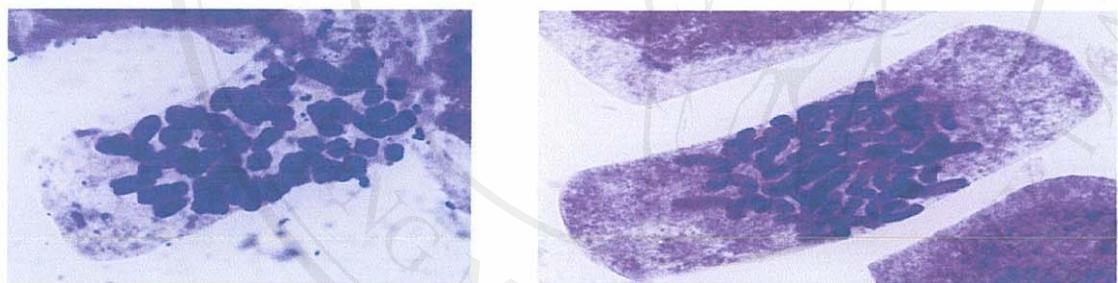


ภาพ 6.3 ลักษณะและจำนวนโครโนไซมของต้น *O. thrysoides* ที่เกิดความผิดปกติจากการฉายรังสีแกมมา ในกรรมวิธีที่ได้รับปริมาณรังสี 0 R (1587 \times) (วิธีคำนวณกำลังขยายในภาคผนวก ข ข้อ 2)

ตาราง 6.5 จำนวนโครโนไซมของต้น *O. umbellatum* ที่เกิดความผิดปกติจากการฉายรังสีแกมมา

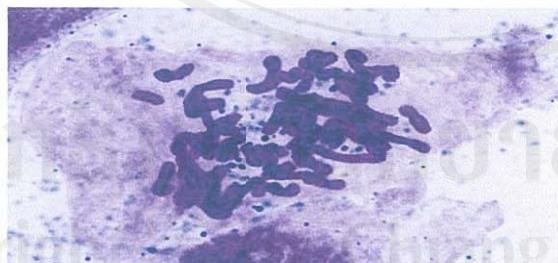
กรรมวิธี	จำนวนโครโนไซมที่นับได้						mode	$\bar{X} \pm S.D$
	จำนวนเซลล์ที่นับได้							
0 Rad	50	52	54	55	57	-	54	53.73 ± 1.53
	1	2	10	1	1	-		
500 Rad	52	54	55	60	72	90	54	58.22 ± 9.91
	2	10	2	1	2	1		
1000 Rad	43	47	54	56	67	-	54	53.79 ± 5.13
	1	1	10	1	1	-		

หมายเหตุ (ตารางภาคผนวก ข 9-11)



A

B



C

ภาพ 6.4 ลักษณะและจำนวนโครโนไซมของต้น *O. umbellatum* ที่เกิดความผิดปกติจากการฉายรังสีแกมมา A = กรรมวิธีที่ได้รับปริมาณรังสี 0 R (986×) B = กรรมวิธีที่ได้รับปริมาณรังสี 500 R (917×) C = กรรมวิธีที่ได้รับปริมาณรังสี 1500 R (871×)
(วิธีคำนวณกำลังขยายในภาคผนวก ข ข้อ 2)

6.6 วิจารณ์ผลการทดลอง

ข้อกฤษ (2525) ได้กล่าวไว้ว่าพืชหลายชนิดมีช่วงระยะเวลาที่มีการแบ่งเซลล์จำนวนมาก แตกต่างกัน ถ้าทราบช่วงระยะเวลาดังกล่าวมักเป็นผลดีต่อการเก็บตัวอย่างพืช ทำให้ได้เซลล์จำนวนมากที่อยู่ในกระบวนการแบ่งเซลล์ และเมื่อมีการศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อป้ายรากเพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซมของอนิโธกาลัม พบว่า เทคนิคที่ใช้ในการเตรียมเนื้อเยื่อป้ายรากของอนิโธกาลัมแต่ละชนิด มีความแตกต่างกันไปทั้งเวลาในการเก็บตัวอย่างป้ายราก *O. arabicum* ควรเก็บเวลา 8.30-10.30 นาฬิกา *O. dubium* ควรเก็บเวลา 7.30-10.30 นาฬิกา *O. thrysoides* ควรเก็บเวลา 9.30-11.30 นาฬิกา และ *O. umbellatum* และระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่PDB เพื่อหยุดวงซีพเซลล์ คือ 12 ชั่วโมง ใน *O. dubium*, *O. thrysoides* และ *O. umbellatum* ขณะที่ *O. arabicum* ใช้ระยะเวลา 36 ชั่วโมงเพื่อทำให้โครโมโซมติดสีดีขึ้น ระยะเวลาในการข้อมสี carbol fuchsin คือ ประมาณ 24 ชั่วโมง

จากการศึกษาจำนวนโครโนโซมของอนิโธกาลัมในต้นพ่อแม่และลูกที่ได้จากการผสมข้ามชนิด พบว่า ต้นที่ใช้เป็นพ่อและแม่พันธุ์มีจำนวนโครโนโซมแตกต่างกัน คือ *O. arabicum* มีจำนวนโครโนโซมเท่ากับ 50 แท่ง เช่นเดียวกับการรายงานของ Goldblatt and Johnson (1990) ที่พบว่ามีจำนวนโครโนโซมเท่ากับ 36, 46 และ 50 แท่ง แต่การศึกษาของ Pastor and Diosolado (1994) พบว่าจำนวนโครโนโซมของ *O. arabicum* เท่ากับ $2n = 51$ แท่ง ในขณะที่ *O. dubium* และ *O. thrysoides* มีจำนวนโครโนโซมเท่ากับ 12 แท่ง เช่นเดียวกับการรายงานของ Griesbach *et al.* (1993) และ Goldblatt and Johnson (1996) ที่พบว่ามีจำนวนของโครโนโซมเท่ากับ 12 แท่ง และ *O. umbellatum* มีจำนวนโครโนโซมเท่ากับ 54 แท่ง เช่นเดียวกับการรายงานของ Darlington (1973); Goldblatt (1984); Goldblatt (1985); Goldblatt and Johnson (1990) พบว่ามีจำนวนของโครโนโซมเท่ากับ 54 แท่ง

การศึกษาจำนวนโครโนโซมจากเนื้อเยื่อป้ายรากของอนิโธกาลัมที่ผ่านการฉายรังสี ที่แสดงอาการภายนอกที่ผิดปกติของต้น พบว่าใน *O. arabicum* และ *O. thrysoides* ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโนโซม แต่ใน *O. umbellatum* มีจำนวนโครโนโซมที่แปรปรวนตั้งแต่ 43-90 แท่ง ซึ่งอาจเกิดจากผลของการรังสีแคมมาที่ทำให้โครโนโซมขาดหายไปหรือเพิ่มขึ้นเพียง 1 หรือ 2 แท่ง และอาจมีการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของโครโนโซมทั้งชุด (อรุณี, 2539) ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของกันยารัตน์ (2532) ที่ศึกษาผลของการรังสีแคมมาต่อน้ำรังน พนว่า ต้นที่ได้รับปริมาณรังสี 4 และ 6 KR มีจำนวนของโครโนโซมแตกต่างกันมาก นอกจากการเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโนโซมแล้ว ความผิดปกติที่แสดงออกอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างของโครโนโซม เช่น การขาดจากกันของโครโนโซม (สุกันยา และ เกรียงศักดิ์, 2532) เช่นเดียวกับการศึกษาผลของ

รังสีแคนมาที่มีต่อถั่ว (Pea) สายพันธุ์ Little Marvel ที่ได้รับการฉายรังสีแคนมาปริมาณ 0-15 KR พนว่าเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของโครโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโน้ม (Badawai, 1978)

6.7 สรุปผลการทดลอง

ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเนื้อเยื่อปลายรากของอนิโกรากล้มแต่ละชนิดแตกต่างกัน คือ *O. arabicum* ควรเก็บเวลา 8.30-10.30 นาฬิกา *O. dubium* ควรเก็บเวลา 7.30-10.30 นาฬิกา *O. thrysoides* ควรเก็บเวลา 9.30-11.30 นาฬิกา และ *O. umbellatum* และระยะเวลาที่เหมาะสมในการหยุดวงซีพเชลด์เท่ากับ 36 ชั่วโมง ใน *O. arabicum* และ 12 ชั่วโมง ใน *O. dubium*, *O. thrysoides* และ *O. umbellatum* เพื่อทำให้โครโน้มติดสีติดยิ่งขึ้น ระยะเวลาในการบ่มด้วย carbol fuchsin คือ ประมาณ 24 ชั่วโมง และพบว่าจำนวนโครโน้มของ *O. arabicum* เท่ากับ 50 แท่ง *O. dubium* และ *O. thrysoides* เท่ากับ 12 แท่งและ *O. umbellatum* เท่ากับ 54 แท่ง ผลจากการฉายรังสีให้แก่อนิโกรากล้ม พนว่า ปริมาณรังสีไม่มีผลต่อจำนวนโครโน้มใน *O. arabicum*, และ *O. thrysoides* แต่มีผลทำให้จำนวนโครโน้มของ *O. umbellatum* มีความแปรปรวนตั้งแต่ 43-90 แท่ง