

ลักษณะปากใบของจำนวนชุดโครโมโซมที่แตกต่างกันใน กล้วยไม้หวายลูกผสมบางชนิด

Stomatal Characteristics of Different Ploidy Levels in Some *Dendrobium* Hybrids

เพ็ญพิมพ์ ชิดบุรี^{1/} นันทวรรณ อินตะนำ^{1/} และอภิชาติ ชิดบุรี^{2/}
Piengpim Chidburee^{1/}, Nantawan Intanum^{1/} and Aphichat Chidburee^{2/}

Abstracts: Four *Dendrobium* hybrids at different ploidy levels were studied. It was found that there was no significantly different in terms of stem diameter. There was no relation between flower size and ploidy level whereas leaf area and leaf width varied according to ploidy level. However, number of stomatal cells and epidermal cells per area were less whereas the sizes of those were bigger when plant ploidy level increased. There was a positive correlation between number of stomatal cells and stomatal index, $r = 0.85$ whereas a negative correlation between number of stomatal cells, number of epidermal cells per area and stomatal cell length, $r = -0.88$ and -0.94 , respectively. Accuracy of using stomatal cell length to predict number of stomatal cells and epidermal cells was 77 and 88 %, respectively.

Keywords: Orchid, stomatal cell, epidermal cell, ploidy

^{1/} สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนาลำปาง จ. ลำปาง 52000

^{2/} สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา จ. ลำปาง 52000

^{1/} Department of Science, Faculty of Agricultural Science and Technology, Rajamangala University of Technology Lanna, Lampang 52000, Thailand

^{2/} Lampang Agricultural Research and Training Center, Rajamangala University of Technology Lanna, Lampang 52000, Thailand

บทคัดย่อ: จากการศึกษากล้วยไม้หวายลูกผสม 4 สายพันธุ์ พบว่า ลูกผสมแต่ละสายพันธุ์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของลำลูกกล้วยไม้แตกต่างกัน ขนาดของดอกไม่มีความสัมพันธ์กับจำนวนชุดของโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นขณะที่ขนาดพื้นที่ใบและความกว้างใบเปลี่ยนแปลงตามจำนวนชุดของโครโมโซมที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามจำนวนเซลล์ปากใบและเซลล์ผิวใบต่อพื้นที่ใบมีจำนวนเซลล์ลดลงขณะที่ขนาดเซลล์ปากใบและเซลล์ผิวใบมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อมีจำนวนชุดของโครโมโซมเพิ่มขึ้น จากการศึกษาพบความสัมพันธ์กันในเชิงบวกของจำนวนเซลล์ปากใบต่อพื้นที่กับดัชนีของเซลล์ปากใบโดยมีค่า $r = 0.85$ ขณะเดียวกันก็มีความสัมพันธ์ในเชิงลบระหว่างจำนวนเซลล์ปากใบ จำนวนเซลล์ผิวใบต่อพื้นที่กับความยาวของเซลล์ปากใบโดยมีค่า $r = -0.88$ และ -0.94 ตามลำดับ ค่าความแม่นยำในการใช้ความยาวของเซลล์ปากใบนำไปทำนายหาจำนวนเซลล์ปากใบและเซลล์ผิวใบต่อพื้นที่ได้โดยมีค่า 77 และ 88 % ตามลำดับ

คำสำคัญ: กล้วยไม้ เซลล์ปากใบ เซลล์ผิวใบ และจำนวนชุดโครโมโซม

คำนำ

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว อยู่ในวงศ์ Orchidaceae ประกอบด้วยกล้วยไม้ประมาณ 13 สกุล และ 25,000 ชนิด โดยในแต่ละสกุลของกล้วยไม้มีจำนวนโครโมโซมที่แตกต่างกัน เช่น จำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้ในสกุลหวายส่วนมาก มีจำนวนโครโมโซม $2n = 38$ บางครั้งอาจพบ $2n = 39, 41$ และ 43 กล้วยไม้สกุลหวายที่เป็นโพลีพลอยด์มีจำนวนโครโมโซมมากกว่า 2 ชุด สามารถเกิดได้ตามธรรมชาติ โดยที่จำนวนและรูปลักษณะของโครโมโซมของพันธุ์ไม้หรือกล้วยไม้แต่ละชนิด มีความแตกต่างกัน แต่จะสอดคล้องกับระดับการจัดจำแนกพันธุ์ในด้านลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ซึ่งใช้รูปลักษณะภายนอกเป็นพื้นฐาน (ระพี, 2546) ซึ่งพันธุ์กล้วยไม้ตัดดอกที่ปลูกเป็นการค้าส่วนใหญ่มักเป็นลูกผสมข้ามชนิด (species) หรือผสมข้ามสกุล (genus) และมีจำนวนโครโมโซมที่มากกว่า 2 ชุด ($2n$) เรียกเป็นพืชพอลิพลอยด์ (polyploidy) มีผลทำให้ลักษณะของต้นและดอกเปลี่ยนแปลง เช่น ลำต้นจะอวบใหญ่ ปล้องสั้นและต้นเตี้ยลง ลำต้นอาจจะแข็งแรงหรือโตเร็วกว่าใบมีขนาดกว้างขึ้น หนาขึ้นและเขียวเข้มขึ้น ส่วนดอกมีขนาดใหญ่ขึ้นและสีเข้มขึ้น (ครรชิต, 2541) แต่เนื่องจากการใช้ลักษณะภายนอกหรือด้านรูปวิธานนั้นต้องอาศัยความชำนาญและทักษะจากผู้ที่มีประสบการณ์ค่อนข้างมาก และบางครั้งอาจมีข้อผิดพลาดได้ ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการศึกษาลักษณะ

อื่นของต้นพืชเพื่อนำมาใช้ในการจำแนกลักษณะของต้นที่เป็นโพลีพลอยด์นั้น คือ ลักษณะของปากใบ (stomata characteristics) โดย Krishnaswamy and Andal (1978) ได้กล่าวว่า ลักษณะของปากใบ ได้แก่ จำนวนของปากใบ ความยาวของ guard cell และปริมาณของเซลล์ epidermal สามารถนำมาใช้ในการจำแนกลักษณะโพลีพลอยด์ของต้นพืชหลายชนิด ทำให้มีการศึกษาเพิ่มเติมมากขึ้น ดังรายงานของ Mishra (1997) พบว่า ปริมาณของปากใบที่เพิ่มมากขึ้นมีความสัมพันธ์กับลักษณะของโพลีพลอยด์ที่สูงขึ้นในต้นกาแฟ และ Przywara *et al.* (1988) รายงานว่า ความยาวของปากใบต้น kiwifruit สามารถนำมาใช้ในการจำแนกลักษณะของโพลีพลอยด์ได้ เช่นเดียวกับการทดลองของ Kim *et al.* (2003) พบว่า จากของก้อนโปรโตคорм (Protocorm-like bodies) ในต้นกล้วยไม้สกุล *Cymbidium* ที่มีลักษณะของโพลีพลอยด์ที่มากขึ้นขนาดความกว้างและความยาวของปากใบที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้มีจำนวนของปากใบต่อพื้นที่เพิ่มมากขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

ศึกษากล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมจำนวน 4 สายพันธุ์ คือ ซีซาร์ (*Dendrobium* Caesar; $2n = 2x = 38$), ปีกาซัส (*D. Pegasus*; $2n = 3x = 57$), บอมโจ (*D. Sonia* 'Bom Joe-Red'; $2n = 4x = 76$) และบุรณะเจด (*D. Burana* Jade; $2n = 4x = 76$) โดยใช้ชนิดละ

10 ตัวอย่าง ทำการบันทึกลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นกล้วยไม้ ได้แก่ ลักษณะของใบ (ความกว้าง ความยาวและความหนา) ลักษณะของดอก (ความกว้าง ความยาวและความหนา) เส้นผ่าศูนย์กลางของลำลูกกล้วย และพื้นที่ใบวัดด้วยเครื่อง Delta area meter (MK2) หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างใบกล้วยไม้ในแต่ละสายพันธุ์จำนวน 5 ใบ เพื่อศึกษาลักษณะของเซลล์ปากใบ แล้วนำมาถ่ายภาพภายใต้กล้อง fluorescent (รุ่น Axio Imager Upright Microscope) หลังจากนั้นนำไปหาค่าจำนวนเซลล์ปากใบต่อพื้นที่ (S) จำนวนเซลล์ผิวใบ (epidermis) ต่อพื้นที่ (E) โดยการใช้โปรแกรม AxioVision LERel เพื่อคำนวณหาค่า Stomatal index (SI) จากสูตร $SI = S/(E+S) \times 100$ และค่า Correlation coefficients (Salisbury, 1927) และความยาวของปากใบ (โดยทำการสุ่มจากตัวอย่างเซลล์ปากใบจำนวน 25 เซลล์)

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมจำนวน 4 สายพันธุ์ที่มีจำนวนชุดโครโมโซมแตกต่างกัน ได้แก่ ซีซาร์ (*Dendrobium Caesar*), ปีกาซัส (*D. Pegasus*), บอมโจ (*D. Sonia 'Bom Joe-Red'*) และบุรณะเจด (*D. Burana Jade*) พบว่า ลักษณะของใบและดอกกล้วยไม้สกุลหวายแต่ละสายพันธุ์ (ภาพที่ 1) มีขนาดของความกว้างและพื้นที่ใบมีความแตกต่างกันมีนัยสำคัญตามจำนวนชุดโครโมโซมที่เพิ่มขึ้น แต่ความยาวของใบ ความหนาของใบ ดอกและขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 1) จากลักษณะภายนอกของกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม พบว่า ขนาดของดอกและลำต้นไม่มีความสัมพันธ์กับจำนวนชุดโครโมโซมที่เพิ่มขึ้น มีเพียงขนาดพื้นที่ใบและความกว้างของใบที่เพิ่มขึ้นตามจำนวนชุดโครโมโซมที่เพิ่มขึ้น เมื่อศึกษาลักษณะของเซลล์ปากใบและเซลล์ผิวใบพบว่า เซลล์ปากใบของกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 4 สายพันธุ์มีรูปแบบเดียวกันคือ เป็นแบบ paracytic ซึ่งมี subsidiary cell 2 เซลล์แนบขนานกับ

เซลล์ปากใบ (ภาพที่ 2) ขนาดของเซลล์ผิวใบและเซลล์ปากใบมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีจำนวนเซลล์ต่อพื้นที่ลดลงตามจำนวนชุดโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 2) และจากขนาดความยาวของเซลล์ปากใบที่ต่างกันตามจำนวนชุดของโครโมโซมนี้ และการใช้ขนาดของเซลล์ปากใบและจำนวนเซลล์ต่อพื้นที่สามารถนำมาจำแนกจำนวนชุดโครโมโซมที่เพิ่มขึ้น ในกล้วยไม้สกุลหวายได้อย่างมีนัยสำคัญ โดย Krishnaswamy and Andal (1978) ได้กล่าวว่า ลักษณะของปากใบ ได้แก่ จำนวนของปากใบ ความยาวของเซลล์ปากใบ และปริมาณของเซลล์ผิวใบนำมาใช้ในการจำแนกลักษณะโพลีพลอยด์ ของต้นพืชหลายชนิด ทำให้มีการศึกษาเพิ่มเติมมากขึ้นได้แก่ Mishra (1997) ได้ทำการศึกษาหาความสัมพันธ์ของปากใบกับลักษณะของโพลีพลอยด์ ในต้นกาแฟ พบว่า ปริมาณของปากใบที่เพิ่มมากขึ้นจะมีความสัมพันธ์กับลักษณะของโพลีพลอยด์ ที่สูงขึ้นต่อมา Przywara *et al.* (1988) รายงานว่า ความยาวของปากใบในต้น kiwifruit เป็นเทคนิคที่รวดเร็วและสามารถบ่งชี้ในการจำแนกลักษณะของโพลีพลอยด์ นอกจากนี้ลักษณะของปากใบในการกำหนดเป็นดัชนีชี้วัดลักษณะจำนวนชุดโครโมโซมของกล้วยไม้ พบว่า มีความสัมพันธ์กันอย่างมากระหว่างความยาวของปากใบเฉลี่ยต่อพื้นที่กับดัชนีปากใบมีค่า $r = 0.85$ และมีความสัมพันธ์กันในเชิงลบระหว่างจำนวนปากใบเฉลี่ย และจำนวนเซลล์ผิวใบเฉลี่ยต่อพื้นที่กับความยาวเซลล์ปากใบเฉลี่ย โดยมีค่า $r = -0.88$ และ $r = -0.94$ (ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นว่าเมื่อเซลล์ปากใบมีความยาวมากขึ้นทำให้มีจำนวนเซลล์ปากใบและเซลล์ผิวใบลดลง ซึ่งได้เคยมีการศึกษาในต้นกาแฟ การทดลองของ Mishra (1997) กล่าวว่า จำนวนเซลล์ผิวใบและเซลล์ปากใบต่อพื้นที่ที่มีความสัมพันธ์เชิงลบกันกับความยาวของเซลล์ปากใบ และการทดลองในต้น *Aegilops neglecta* ของ Aryavand *et al.* (2003) พบว่า จำนวนปากใบต่อพื้นที่ และขนาดของเซลล์ปากใบมีความสัมพันธ์ในเชิงลบอย่างสูงกับจำนวนชุดโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นเป็นเพราะมีจำนวนเซลล์ปากใบน้อยลงแต่มีขนาดของเซลล์ใหญ่ สำหรับค่า r^2 values สามารถนำไปใช้ในการหาจำนวนเซลล์ปากใบหรือเซลล์ผิวใบต่อ

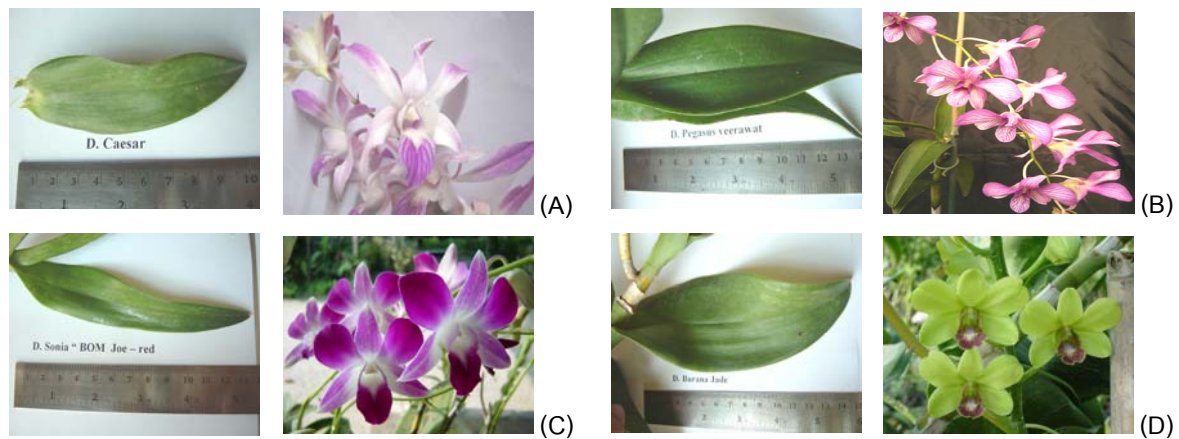


Figure 1 Characteristics of leaves and flowers at different ploidy levels in *Dendrobium* Caesar (A), *D. Pegasus* (B), *D. Sonia* 'Bom Joe-Red' (C) and *D. Burana Jade* (D).

Table 1 Characteristics of leaf, stem and flower at different ploidy levels in *Dendrobium* hybrids.

Type of species	Leaf (cm)			Leaf area (cm ²)	Diameter of stem (cm)	Flower (cm)		
	Length	Width	Thick			Length	Width	Thick
<i>D. Caesar</i> (Diploid)	3.35 ^{b1/}	10.37 ^b	0.10 ^c	31.50 ^c	1.10	7.01 ^a	5.11 ^d	0.44 ^c
<i>D. Pegasus</i> (Triploid)	3.74 ^b	15.85 ^a	0.13 ^b	39.25 ^{bc}	0.96	4.80 ^d	4.25 ^c	0.61 ^{ab}
<i>D. Sonia</i> 'Bom Joe-Red' (Tetraploid)	2.85 ^c	13.46 ^a	0.11 ^c	49.75 ^b	0.93	6.10 ^b	5.96 ^a	0.58 ^b
<i>D. Burana Jade</i> (Tetraploid)	6.38 ^a	14.12 ^a	0.25 ^a	75.00 ^a	1.40	5.60 ^c	3.80 ^d	0.63 ^a

^{1/} Mean within the same column followed by different letter were significantly different between treatments at P<0.05

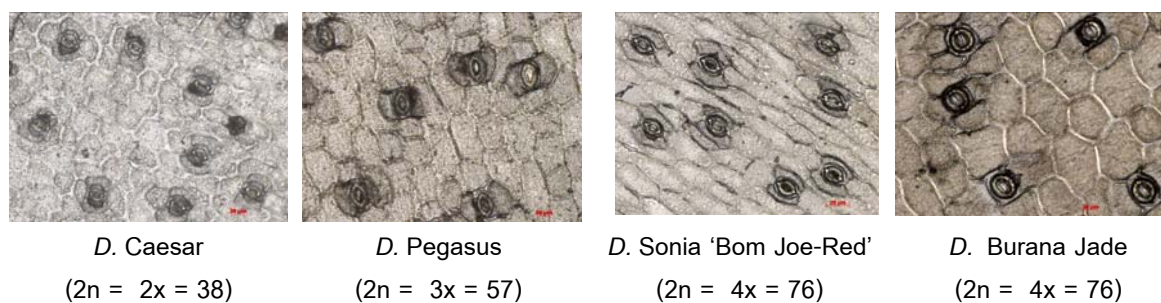


Figure 2 Characteristics of stomata and epidermis at different ploidy levels in *Dendrobium* hybrids.

Table 2 Stomatal features at different ploidy levels *Dendrobium* hybrids.

Type of species	Mean number of stomatal cell per area (15 mm ²) (S)	Mean number of epidermal cell per area (15 mm ²) (E)	Stomatal index (SI)	Mean stomatal length (μm)
<i>D. Caesar</i> (Diploid)	116.67 ^{a1/}	1160.00 ^a	9.19	35.44 ^d
<i>D. Pegasus</i> (Triploid)	80.00 ^b	720.00 ^b	9.97	49.41 ^c
<i>D. Sonia</i> 'Bom Joe-Red' (Tetraploid)	73.33 ^b	820.00 ^b	8.27	46.12 ^b
<i>D. Burana Jade</i> (Tetraploid)	46.67 ^d	496.67 ^c	8.59	52.95 ^a

^{1/} Mean within the same column followed by different letter were significantly different between treatments at P<0.05

Table 3 Correlation coefficients among stomatal features in *Dendrobium* hybrids.

Sl. no.	Features	1	2	3	4	5	6
1	Stomatal frequency	1.000	0.345	0.852**	-0.878**	-0.655**	-0.752**
2	Epidermal cell frequency	-	1.000	-0.180	-0.942**	-0.688**	0.529**
3	Stomatal index	-	-	1.000	0.029	-0.010	-0.206
4	Stomatal guard cell length	-	-	-	1.000	0.697 **	0.603*
5	Epidermal cell length	-	-	-	-	1.000	0.529*
6	Leaf area	-	-	-	-	-	1.000

* P < 0.05, ** P < 0.01

พื้นที่ได้เมื่อทราบความยาวของเซลล์ปากใบกล้วยไม้โดยมีความแม่นยำประมาณ 77 และ 88 % เมื่อใช้จำนวนเซลล์ปากใบและเซลล์ผิวใบ ตามลำดับ ซึ่ง Mishra (1997) ใช้ในต้นกาแฟสามารถนำไปใช้ในการคำนวณมีความแม่นยำประมาณ 83 และ 87 % ในเซลล์ปากใบและเซลล์ผิวใบตามลำดับเช่นกัน

สรุป

ลักษณะของเซลล์ปากใบของกล้วยไม้สกุลหวายมีความสัมพันธ์กับจำนวนชุดโครโมโซมที่ต่างกัน โดยความยาวของเซลล์ปากใบและเซลล์ผิวใบมีขนาดใหญ่ขึ้นตามจำนวนโครโมโซมที่เพิ่มขึ้น แต่จำนวน

เซลล์ปากใบและ เซลล์ผิวใบต่อพื้นที่ลดลง สอดคล้องกับความหนาและพื้นที่ใบ ความหนาของกลีบดอกเพิ่มขึ้นตามจำนวนชุดโครโมโซม ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นตัวชี้วัดในการจำแนกลักษณะของต้นกล้วยไม้ที่มีลักษณะเป็นโพลีพลอยด์

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง ที่ได้สนับสนุนงบประมาณในการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- ควรชิต ธรรมศิริ. 2541. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้.
อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ.
230 หน้า.
- ระพี สาคริก. 2546. การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้เพื่อ
ประโยชน์ทางการค้า. หน้า 291-295. ใน: การ
ปลูกกล้วยไม้เป็นการค้าและการพัฒนาบน
พื้นฐานความมั่นคง. สำนักพิมพ์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Aryavand, A., B. Ehdaie, B. Tran and J.G. Waines.
2003. Stomatal frequency and size
differentiate ploidy levels in *Aegilops
neglecta*. Genetic Resources and Crop
Evolution 50 (2): 175 – 182.
- Kim, M., J. Kim and J. Eun. 2003. Chromosome
doubling of a *Cymbidium* hybrid with
colchicine treatment in meristem culture.
pp. 37 – 40. In: Proceedings of NIOC.
Nagoya, Japan.
- Krishnaswami, R. and R. Andal. 1978. Stomatal
chloroplast number in diploids and
polyploids of *Gossypium*. pp. 109-112. In:
Proceedings of the Indian Academy of
Science 87B (Plant Science), Bangalore,
India.
- Mishra, M.K. 1997. Stomatal characteristics at
different ploidy levels in *Coffea* L. Annals
of Botany 80: 689-692.
- Przywara, L., K.K. Pandey and P.M. Sanders. 1988.
Length of stomata as an indicator of ploidy
level in *Actinidia deliciosa*. New Zealand
Journal of Botany 26: 179-182.
- Salisbury, E.J. 1927. On the causes and ecological
significance of stomatal frequency with
special reference to the woodland floral.
Philosophical Transactions of the Royal
Society B 216: 1-65.
-