

การศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้เอื้องจัตรมรกตและสิกุลคล

Chromosome Investigation of *Liparis siamensis* Rolfe ex Downie and *Malaxis latifolia* J. E. Sm.

อมรพรรณ ฟุปัญญา^{1/} และ จันทนา สุวรรณธาดา^{1,2/}

Amornphan Fupunya^{1/} and Chuntana Suwanthada^{1,2/}

Abstract: Root-tip chromosome investigations were carried out in *Liparis siamensis* Rolfe ex Downie and *Malaxis latifolia* J. E. Sm., aiming at finding suitable durations of root-tip sampling, pre-treatment and staining. It was found that suitable times of root-tip sampling were at 11.00 am in *L. siamensis* and 7.00 am in *M. latifolia* while that of pre-treatment was 1 hour and 1 hour 30 minutes in *L. siamensis* and *M. latifolia* respectively. As for staining, the duration was best at 30 minutes in both species. Chromosome counts revealed $2n = 42$ in *L. siamensis* and $2n = 40$ in *M. latifolia*.

Keywords: *Liparis siamensis* Rolfe ex Downie, *Malaxis latifolia* J. E. Sm., chromosome

บทคัดย่อ: ศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้เอื้องจัตรมรกตและสิกุลคลจากเนื้อเยื่อปลายรากโดยการหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างปลายราก การหยุดวงจรเซลล์ และความยาวนานในการย้อมสี ผลปรากฏว่า ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างปลายรากของเอื้องจัตรมรกตคือเวลา 11.00 น. ของสิกุลคลคือเวลา 7.00 น. การหยุดวงจรเซลล์ที่เหมาะสมสำหรับเอื้องจัตรมรกตคือการใช้ระยะเวลา 1 ชั่วโมง ในขณะที่สิกุลคลเป็น 1 ชั่วโมง 30 นาที ในการย้อมสีปลายรากนั้น การย้อมสีนาน 30 นาทีให้ผลดีที่สุดทั้งในเอื้องจัตรมรกตและสิกุลคล และจากผลการนับจำนวนโครโมโซมพบว่า เอื้องจัตรมรกตมีจำนวนโครโมโซม $2n = 42$ และสิกุลคล $2n = 40$

คำสำคัญ: เอื้องจัตรมรกต สิกุลคล โครโมโซม

^{1/}ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

^{2/}ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ. ดอยสะเก็ด จ. เชียงใหม่ 50220

^{1/}Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

^{2/}Huai Hong Khrai Royal Development Study Centre, Doi Saket, Chiang Mai 50220, Thailand

คำนำ

กล้วยไม้ดินสกุล *Liparis* และสกุล *Malaxis* ที่พบในป่าทางภาคเหนือของประเทศไทยมีหลายชนิด ส่วนใหญ่พบเจริญเติบโตในพื้นที่ลาดชันบนภูเขาสูง โดยเฉพาะสกุล *Liparis* มักพบในบริเวณที่สูงกว่าระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 1,000 เมตรขึ้นไป (อบจันท์, 2544) กล้วยไม้ดินดังกล่าวในชนิดเอื้องฉัตรมรกต (*L. siamensis* Rolfe ex Downie) และสีกันคล (*M. latifolia* J. E. Sm.) เป็นชนิดที่พบเจริญเติบโตในพื้นที่เสี่ยง กล่าวคือ ในพื้นที่ลาดชันของภูเขาสูงที่มีการชะล้างพังทลายของดินค่อนข้างสูง จึงได้มีการเก็บรวบรวมจากพื้นที่เจริญเติบโตในธรรมชาติมาอนุรักษ์พันธุ์กรรมไว้ที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้ อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ. ดอยสะเก็ด จ. เชียงใหม่ และได้มีการศึกษาลักษณะของกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิดนี้ การศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้ทั้งสองเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาลักษณะดังกล่าว เพื่อได้ข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ในการศึกษาต่อเนื่องต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ศึกษาโครโมโซมของเอื้องฉัตรมรกต (ภาพที่ 1) และสีกันคล (ภาพที่ 2) จากเซลล์ของเนื้อเยื่อปลายรากด้วยวิธี Feulgen's squash ดัดแปลงโดยดวงทิพย์ (2539) ทดสอบการเก็บตัวอย่างปลายรากของพืชทดลองในเวลา 7.00, 8.00, 9.00, 10.00 และ 11.00 น. หยดวงซีฟของเซลล์ในสารละลาย para-dichlorobenzene (PDB) ที่อิ่มตัวในน้ำเป็นเวลา 30 นาที, 1 ชั่วโมง, 1 ชั่วโมง 30 นาที, 2, 3 และ 5 ชั่วโมง หยดการทำงานของเซลล์ โดยแช่ในน้ำยาคาร์บอนนาน 5 นาที ย่อยแยกเซลล์ด้วย 1 N HCl ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที ย้อมสีเนื้อเยื่อใน carbol fuchsin นาน 30 นาที, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง ขยี้ปลายรากแล้วศึกษาเซลล์ใต้กล้องจุลทรรศน์

ผลการศึกษา

การเก็บตัวอย่างราก

เนื้อเยื่อปลายรากของเอื้องฉัตรมรกตและสีกันคลที่เก็บตัวอย่างมาทดสอบในทุกช่วงเวลาที่กำหนดนั้นเนื้อเยื่อในทุกกรรมวิธีมีเซลล์ที่แบ่งตัวในระยะเมตาเฟส โดยเนื้อเยื่อของเอื้องฉัตรมรกตที่เก็บมาในเวลา 11.00 น. มีจำนวนเซลล์ที่แบ่งตัวในระยะเมตาเฟสมากที่สุด ส่วนของสีกันคลเป็นเวลา 7.00 น. ดังแสดงเซลล์ที่มีโครโมโซมอยู่ในระยะดังกล่าวไว้ใน ภาพที่ 3

การหยดวงซีฟเซลล์

เซลล์ของเอื้องฉัตรมรกตในกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธี 30 นาทีที่มีโครโมโซมที่ยังไม่หดตัว เมื่อเพิ่มเวลาการหยดวงซีฟเป็น 1 ชั่วโมง พบว่าได้เซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นและกระจาย ส่วนการเพิ่มระยะเวลาให้นานขึ้นเป็น 2, 3 และ 5 ชั่วโมง ทำให้โครโมโซมหดสั้นเกินไปจนมีลักษณะเกือบเป็นจุดสังเกตเห็นได้จาก ภาพที่ 4

เซลล์ของสีกันคลที่ไม่ผ่านการหยดวงซีฟมีโครโมโซมอยู่ในลักษณะเป็นเส้นยาว เมื่อผ่านการหยดวงซีฟเป็นเวลานาน 30 นาทีและ 1 ชั่วโมง พบว่าโครโมโซมหดสั้นลง เมื่อเพิ่มเวลาให้เป็น 1 ชั่วโมง 30 นาที ได้เซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้น กระจาย ส่วนการเพิ่มระยะเวลานานขึ้นเป็น 2, 3 และ 5 ชั่วโมง พบว่าโครโมโซมหดสั้นเกินไปดังแสดงใน ภาพที่ 5

การย้อมสีโครโมโซม

การย้อมสีโครโมโซมของเอื้องฉัตรมรกตและสีกันคลในทุกกรรมวิธี ให้เซลล์ที่มีโครโมโซมติดสีเข้มสม่ำเสมอและเห็นชัดเจน ดังแสดงใน ภาพที่ 6 และ ภาพที่ 7

จำนวนโครโมโซม

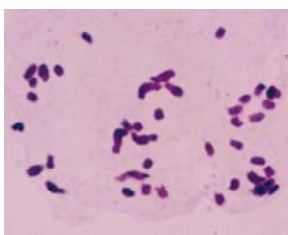
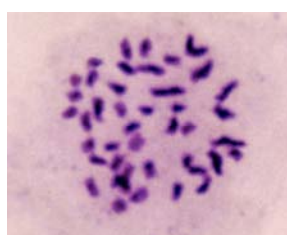
จากการนับโครโมโซมพบว่าเอื้องฉัตรมรกตมีจำนวนโครโมโซมเป็น $2n = 42$ และสีกันคลมี $2n = 40$ (ภาพที่ 8)



Figure 1 Inflorescence of *Liparis siamensis* Rolfe ex Downie.



Figure 2 Inflorescence of *Malaxis latifolia* J. E. Sm.



Liparis siamensis Rolfe ex Downie *Malaxis latifolia* J. E. Sm.

Figure 3 Root-tip cells at metaphase.

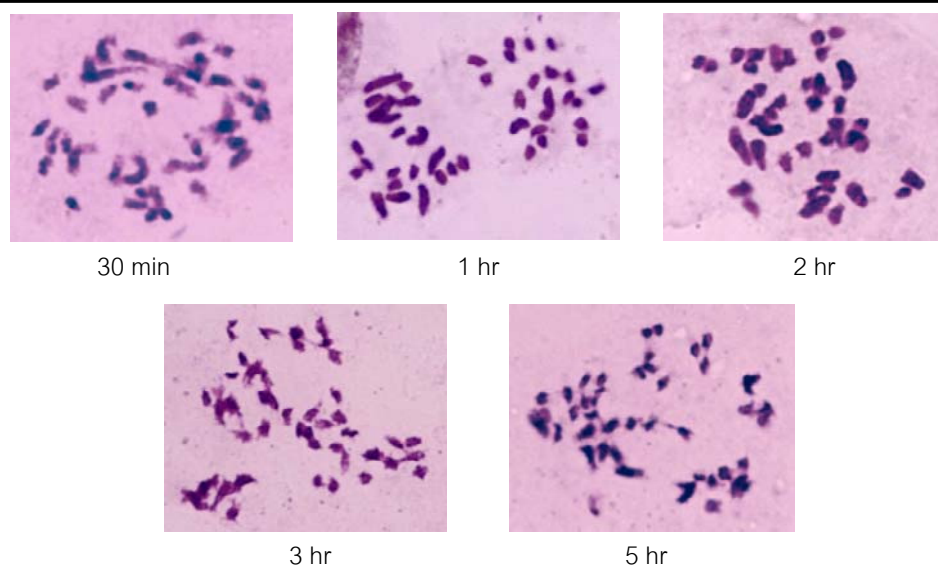


Figure 4 Root-tip chromosomes of *Liparis siamensis* Rolfe ex Downie pretreated at different durations.

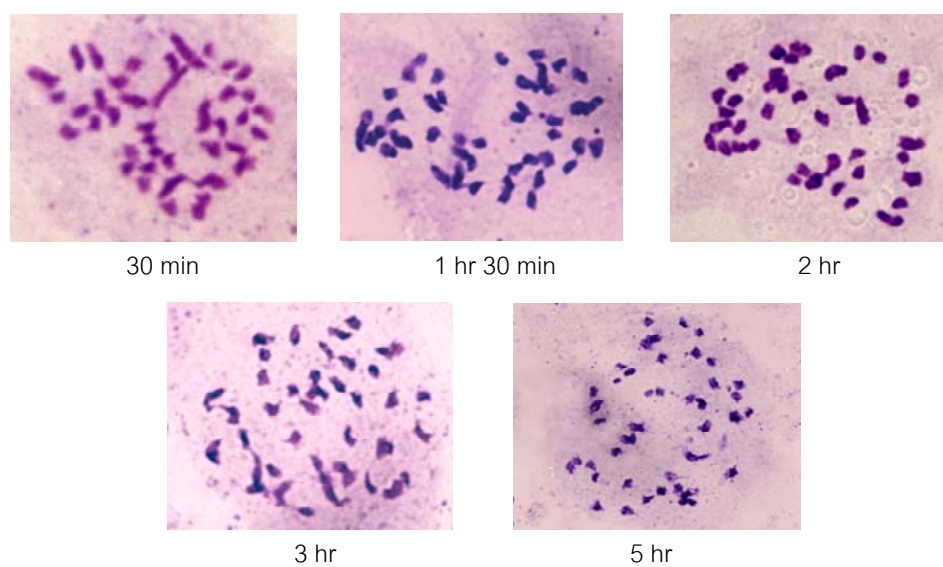


Figure 5 Root-tip chromosomes of *Malaxis latifolia* J. E. Sm. pretreated at different durations.

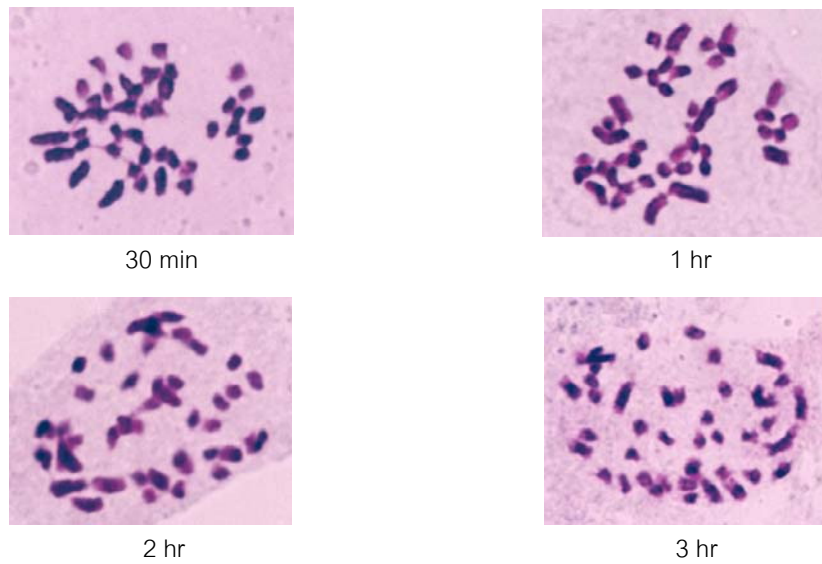


Figure 6 Root-tip chromosomes of *Liparis siamensis* Rolfe ex Downie from different staining durations.

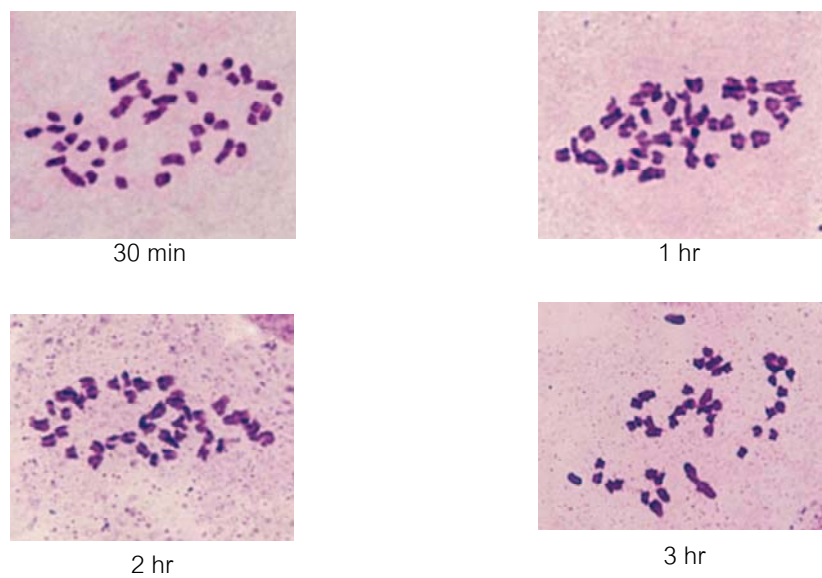
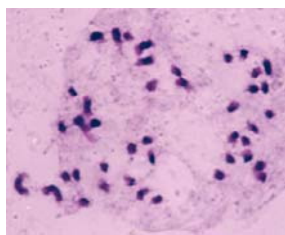


Figure 7 Root-tip chromosomes of *Malaxis latifolia* J. E. Sm. from different staining durations.



Liparis siamensis Rolfe ex Downie
 $2n = 42$



Malaxis latifolia J. E. Sm.
 $2n = 40$

Figure 8 Somatic chromosomes.

วิจารณ์

เทคนิคที่ได้จากการศึกษาโครโมโซมของเอื้องฉัตรมรกตและสีกุลคลครั้งนี้เป็นประโยชน์ในการใช้ศึกษาจำนวนโครโมโซมและคาร์ิโอไทป์ของกล้วยไม้ทั้งสองชนิดที่กระจายพันธุ์ในสภาพทางนิเวศวิทยาที่แตกต่างกันและสามารถนำไปดัดแปลงใช้กับ *Liparis* และ *Malaxis* ชนิดอื่นๆ ด้วยเพื่อประโยชน์ในการใช้จำนวนโครโมโซมเป็นข้อมูลเสริมเพื่อช่วยในการวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชในกลุ่มดังกล่าวหรือเพื่อประโยชน์ในการวางแผนการผสมพันธุ์ข้ามชนิดในกลุ่มพืชเหล่านั้น

สรุป

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ได้เทคนิคที่เหมาะสมในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากเพื่อศึกษาโครโมโซมของเอื้องฉัตรมรกตและสีกุลคลตามวิธีการยี่เซลล์ โดยที่เอื้องฉัตรมรกตนั้นเก็บตัวอย่างปลายรากในเวลา 11.00 น. หยดวุ้นซีพเซลล์นาน 1 ชั่วโมง ย้อมสีนาน 30 นาที ส่วนสีกุลคล

เก็บตัวอย่างปลายรากในเวลา 7.00 น. หยดวุ้นซีพเซลล์นาน 1 ชั่วโมง 30 นาที และย้อมสีนาน 30 นาที จากการนับจำนวนโครโมโซมของพืชทดลองทั้งสองพบว่า เอื้องฉัตรมรกตมีจำนวนโครโมโซมเป็น $2n = 42$ และสีกุลคลมี $2n = 40$

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ที่สนับสนุนงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- ดวงทิพย์ วิทย์ศักดิ์. 2539. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา กายวิภาควิทยาและเซลล์วิทยาของว่านสีทิศ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 105 หน้า.
- อบฉันท ไททอง. 2544. กล้วยไม้เมืองไทย. อัมรินทร์พรินต์ติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ. 461 หน้า.