

การศึกษาคาริโอไทป์ของว่านสีทศพันธุ์พื้นบ้าน

Karyotypic Studies of Local Amaryllis

ทิพสุคนธ์ ขวฤทธิ^{1/} และ ฉันทนา สุวรรณชาติ^{1/}

Thipsukhon Chawalid^{1/} and Chuntana Suwanthada^{1/}

Abstract : Karyotypic studies of 3 varieties of local amaryllis, i.e. red-flowered (R), pink-flowered (P) and orange-flowered (O), revealed the same chromosome number of the varieties, being $2n=2x=22$. The karyotypic formulae of varieties were as follows ; R : $2n=L_{10}^a+L_2^{sm}+M_2^a+M_2^{sm}+S_4^m+S_2^{sm}$, P : $2n=L_2^{sm}+L_8^a+M_4^a+S_6^{sm}+S_2^m$ and O : $2n=L_4^{sm}+L_{10}^a+M_2^m+S_6^m$

บทคัดย่อ: การศึกษาคาริโอไทป์ของว่านสีทศพันธุ์พื้นบ้าน 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์พื้นบ้านดอกสีแดง (R) พันธุ์พื้นบ้านดอกสีชมพู (P) และพันธุ์พื้นบ้านดอกสีส้ม (O) พบว่า จำนวนโครโมโซมของพืชทดลองทุกพันธุ์เท่ากัน คือ $2n=2x=22$ และจากการศึกษาคาริโอไทป์ของพืชทดลองทั้ง 3 พันธุ์ สรุปสูตรคาริโอไทป์ได้คือ พันธุ์ R : $2n=L_{10}^a+L_2^{sm}+M_2^a+M_2^{sm}+S_4^m+S_2^{sm}$, พันธุ์ P : $2n=L_2^{sm}+L_8^a+M_4^a+S_6^{sm}+S_2^m$ และพันธุ์ O : $2n=L_4^{sm}+L_{10}^a+M_2^m+S_6^m$

Index words: ว่านสีทศ คาริโอไทป์
 Amaryllis, Karyotype

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

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

คำนำ

ว่านสีทิส (*Amaryllis* spp. หรือ *Hippeastrum* spp.) เป็นไม้ดอกประเภทหัวการค้าในต่างประเทศมาเป็นเวลานาน มีชนิดและพันธุ์ที่เกิดจากการปรับปรุงพันธุ์ออกสู่ตลาดอย่างต่อเนื่อง (Okubo, 1993) การใช้ประโยชน์ว่านสีทิสในประเทศไทยนั้นใช้เป็นไม้สนามและไม้แนวรั้วเป็นส่วนใหญ่ โดยใช้พันธุ์พื้นบ้านที่มีดอกสีแดง สีม่วง และสีส้ม ส่วนการใช้เป็นไม้กระถางนิยมใช้พันธุ์พื้นบ้านที่เจริญเติบโตได้ดีในสภาพกลางแจ้ง เช่น พันธุ์รางเงิน รางทอง และรางนาก หรือใช้พันธุ์ลูกผสมดอกใหญ่ซึ่งนำเข้าจากต่างประเทศ ปัจจุบันเริ่มมีการผสมพันธุ์ว่านสีทิสมากขึ้นในประเทศไทยโดยใช้พ่อแม่พันธุ์ที่เป็นพันธุ์พื้นบ้าน และพันธุ์ต่างประเทศ การศึกษาครั้งนี้ซึ่งเป็นการศึกษาคาร์ิโอไทป์ของว่านสีทิสพื้นบ้าน 3 พันธุ์ จึงเป็นการศึกษาข้อมูลพื้นฐานประจำพันธุ์ดังกล่าวเพื่อเป็นประโยชน์ในการวางแผนการผสมพันธุ์ว่านสีทิสที่ใช้พันธุ์เหล่านั้นเป็นพ่อแม่พันธุ์

อุปกรณ์และวิธีการ

พืชทดลอง คือ ว่านสีทิสพื้นบ้าน 3 พันธุ์ คือ พันธุ์ดอกสีแดง (R) สีม่วง (P) และสีส้ม (O) ศึกษาคาร์ิโอไทป์ของพืชทดลองทั้ง 3 พันธุ์ โดยใช้เทคนิคการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากเพื่อศึกษาโครโมโซมด้วยวิธี Feulgen's squash ดัดแปลงโดยดวงทิพย์ (2539) และประภัสสร (2543) โดยเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อปลายรากจากหัวที่เพาะไว้ในกระบะ-

ทราย เก็บปลายรากให้มีความยาว 3-5 มิลลิเมตร (มม) ในเวลา 9.30-10.00 น ล้างรากให้สะอาด แล้วนำไปแช่ไว้ในสารละลาย para-dichlorobenzene (PDB) ที่อุณหภูมิ 15 ถึง 18 องศาเซลเซียส (°ซ) นาน 36-48 ชั่วโมง หลังจากนั้นล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง จากนั้นนำไปแช่ใน 95 % ethyl alcohol และ glacial acetic acid ในอัตราส่วน 3:1 นาน 5 นาที ล้างรากให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นอีกครั้งแล้วจึงย่อยแยกเซลล์ด้วย 1 N HCl ที่ 60 °ซ เป็นเวลา 5-10 นาที ล้างปลายรากด้วยน้ำกลั่นแล้วนำไปย้อมด้วยสี carbol fuchsin เป็นเวลา 24 ชั่วโมงเป็นอย่างต่ำ แล้วนำไปวางบนแผ่นกระจกสไลด์ ใช้มีดผ่าตัดตัดเฉพาะส่วนปลายรากยาวประมาณ 1 มม เชียส่วนเกินทิ้งไป หยดสี carbol fuchsin ลงไป 1 หยด ขยี้เนื้อเยื่อให้เซลล์กระจาย ปิดแผ่นกระจกปิดสไลด์ นำแผ่นกระจกสไลด์ไปศึกษาโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นับจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ที่มีนิวเคลียสที่แบ่งตัวอยู่ในระยะเมตาเฟส บันทึกภาพโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ศึกษาคาร์ิโอไทป์จากภาพของเซลล์ที่เห็นโครโมโซมชัดเจน ตามวิธีการที่บรรยายโดย กันยารัตน์ (2532) ดังนี้ จัดคู่โครโมโซม ให้หมายเลขโครโมโซม วัดความยาวของโครโมโซมโดยวัดความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (L1) และความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) โดยใช้ตำแหน่งเซนโทรเมียร์เป็นหลัก นำค่า L1 และ Ls มาคำนวณหาค่า relative length (RL) และค่า centromeric index (CI) โดยคำนวณจากสูตร ดังนี้

$$\text{Relative length (RL)} = \frac{\text{ความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (LT = L1 + Ls)}}{\text{ความยาวทั้งหมดของโครโมโซมทุกคู่ (\sum LT)}}$$

$$\text{Centromeric index (CI)} = \frac{\text{ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (LI)}}{\text{ความยาวของแขนโครโมโซมแต่ละแท่ง (LT)}}$$

นำค่า CI มาใช้ในการกำหนดชนิดของโครโมโซม ดังนี้ โครโมโซมที่มีค่า CI ระหว่าง 0.5 - 0.599 จัดเป็น metacentric chromosome ค่า CI ระหว่าง 0.6 - 0.699 จัดเป็น submetacentric chromosome ค่า CI ระหว่าง 0.7 - 0.899 จัดเป็น acrocentric chromosome ค่า CI ตั้งแต่ 0.9 - 1.0 จัดเป็น telocentric chromosome แล้วจัดขนาดของโครโมโซม โดยกำหนดให้โครโมโซมคู่ที่ 1 เป็นคู่ที่ใหญ่ที่สุด (Large ; L) โครโมโซมขนาดกลาง (Medium ; M) ได้แก่ โครโมโซมที่มีค่าความยาวน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมที่ใหญ่ที่สุดรวมกับโครโมโซมที่เล็กที่สุด $M < 1/2$ (LT เฉลี่ยคู่ที่ 1 + LT เฉลี่ยคู่สุดท้าย) ส่วนโครโมโซมขนาดเล็ก (Small ; S) ได้แก่ โครโมโซมที่มีความยาวน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ที่ใหญ่ที่สุด $S < 1/2$ (LT เฉลี่ยคู่ที่ 1) แล้วสรุปสูตรคาร์ิโอไทป์ของแต่ละพันธุ์

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาคาร์ิโอไทป์ของว่านสีทศพันธุ์พื้นบ้าน 3 พันธุ์ โดยการศึกษาจากเซลล์เนื้อเยื่อปลายรากครั้งนี้ พบว่า การเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากเพื่อศึกษาโครโมโซมโดยวิธีการของ ควงทิพย์ (2539) และ ประภัสสร (2543) ซึ่งดัดแปลงวิธีการมาจากวิธี Feulgen's squash นั้นประสบความสำเร็จ ได้เซลล์ที่อยู่ในระยะเมตาเฟสของการแบ่งตัวและเห็นโครโมโซมชัดเจน สามารถนับจำนวนโครโมโซมได้แม่นยำ โดยที่ทั้ง 3 พันธุ์ มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ $2n=22$ (ภาพที่ 1) และพืชทดลองทั้ง 3 พันธุ์น่าจะเป็นดิพลอยด์ เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนโครโมโซมชุดพื้นฐานของพืชในสกุล *Amaryllis* ซึ่ง Khaleel and Siemsen (1989) รายงานไว้ว่า $x=11$ แล้วนั้นจะเห็นว่าโครโมโซมร่างกายของพืชทดลองเป็น $2n=2x=22$

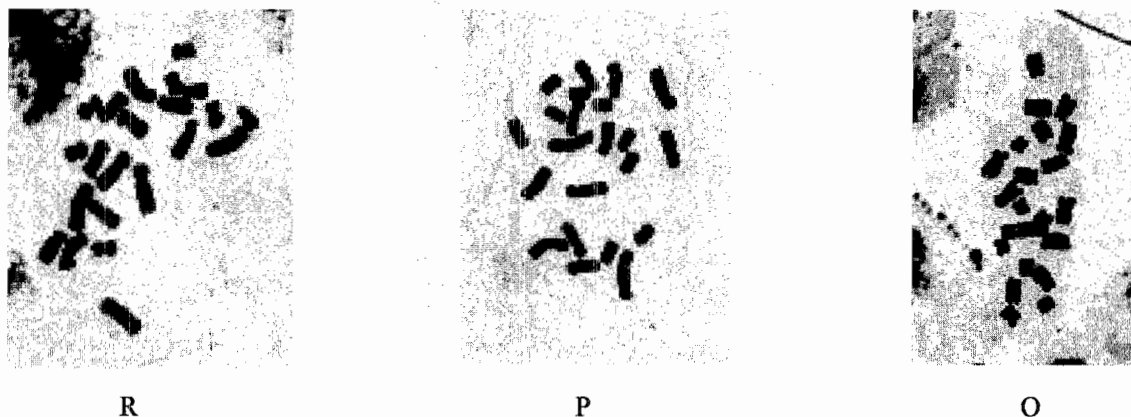


Figure 1 Somatic chromosomes of local amaryllis : $2n=22$ (1,180X)

R = red-flowered var. ; P = pink-flowered var. ; O = orange-flowered var.

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานของโครโมโซมของพืชทดลองแต่ละพันธุ์ มีดังนี้

1. ว่านสีทศพันบ้านพันธุ์ R

โครโมโซมในชุดดิพลอยด์ ($2n = 22$) ของพันธุ์ R (ภาพที่ 2) ประกอบด้วยโครโมโซม 3 ขนาด เป็นโครโมโซมขนาดใหญ่ (ความยาวระหว่าง 8.694-6.086 ไมครอน) จำนวน 6 คู่ แบ่งเป็น acrocentric chromosome 5 คู่ เมื่อเรียงลำดับในอิดิโอแกรมแล้ว คือโครโมโซมคู่ที่ 1, 3, 4, 5 และ 6 และเป็น submetacentric chromosome 1 คู่ คือโครโมโซมคู่ที่ 2 ส่วนโครโมโซมขนาดกลาง (ความ-

ยาวระหว่าง 6.085 - 4.348 ไมครอน) มีจำนวน 2 คู่ แบ่งเป็น acrocentric chromosome 1 คู่ คือโครโมโซมคู่ที่ 7 และคู่ที่ 8 เป็น submetacentric chromosome และ โครโมโซมขนาดเล็ก (ความยาวระหว่าง 4.347-3.478 ไมครอน) มีจำนวน 3 คู่ แบ่งเป็น metacentric chromosome 2 คู่ คือ โครโมโซมคู่ที่ 9 และ คู่ที่ 10 และเป็น submetacentric chromosome 1 คู่ คือ คู่ที่ 11 (ตารางที่ 1 และ 2) สรุปสูตรการโอโทไปได้ดังนี้

$$\text{ว่านสีทศพันพันธุ์ R } (2n=22) = L_{10}^a + L_2^{sm} + M_2^a + M_2^{sm} + S_4^m + S_2^{sm}$$

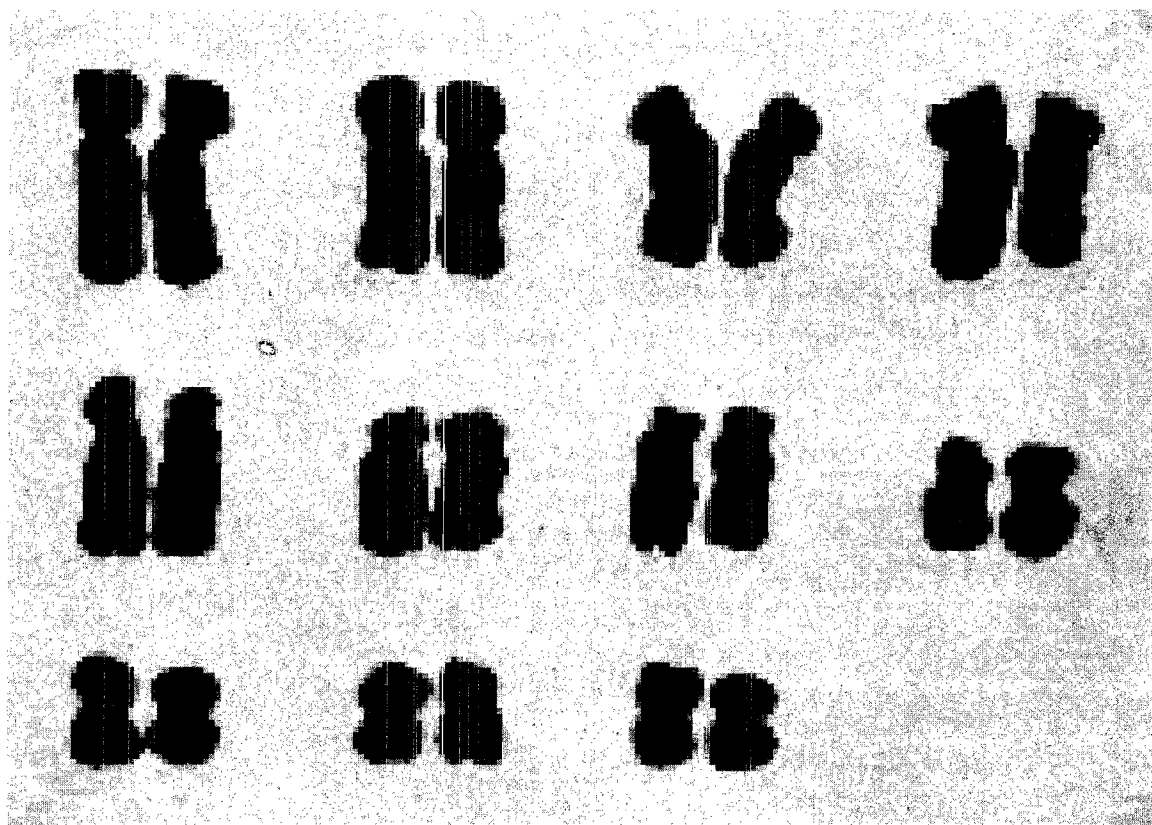


Figure 2 Diploid set of chromosomes of red-flowered variety.

Table 1 Chromosome size and type of red-flowered variety.

Large chromosome (av. LT 8.694-6.086 μ)	Medium chromosome (av. LT 6.085-4.348 μ)	Small chromosome (av. LT 4.347-3.478 μ)
# 1 acrocentric	# 7 acrocentric	# 9 metacentric
# 2 submetacentric	# 8 submetacentric	# 10 metacentric
# 3 acrocentric		# 11 submetacentric
# 4 acrocentric		
# 5 acrocentric		
# 6 acrocentric		

Table 2 Average length of short arms (Ls) and long arms (Ll), chromosome length (LT), relative length (RL) and centromeric index (CI) of red-flowered variety.

Number	Ls(μ)	Ll(μ)	LT(μ)	RT	CI
1	2.434	6.260	8.694	0.132	0.720
2	2.434	5.390	7.824	0.119	0.689
3	1.739	5.738	7.477	0.113	0.767
4	1.913	5.390	7.303	0.111	0.738
5	1.391	5.390	6.781	0.103	0.795
6	1.739	4.347	6.086	0.092	0.714
7	1.043	4.695	5.738	0.087	0.818
8	1.739	2.956	4.695	0.071	0.630
9	1.739	2.260	3.999	0.061	0.565
10	1.739	2.087	3.826	0.058	0.545
11	1.391	2.087	3.478	0.053	0.600

2. ว่านสีทึบพันธุ์พื้นบ้านพันธุ์ P

โครโมโซมชุดดิพลอยด์ ($2n=22$) ของพันธุ์ P (ภาพที่ 3) ประกอบด้วยโครโมโซมขนาดใหญ่ (ความยาวระหว่าง 7.476-5.388 ไมครอน)

จำนวน 5 คู่ ซึ่งเมื่อศึกษาอิดิโอแกรมแล้ว พบว่าเป็น submetacentric chromosome 1 คู่ คือคู่ที่ 1 และเป็น acrocentric chromosome 4 คู่ คือคู่ที่ 2, 3, 4 และ 5 โครโมโซมขนาดกลาง (ความยาวระหว่าง

5.389-3.739 ไมครอน) มีจำนวน 2 คู่ เป็น acrocentric ทั้ง 2 คู่ คือคู่ที่ 6 และ 7 โครโมโซมขนาดเล็ก (ความยาวระหว่าง 3.738-3.303 ไมครอน) มีจำนวน 4 คู่ เป็น submetacentric chromosome 3 คู่ คือคู่ที่

8, 9 และ 11 และเป็น metacentric chromosome 1 คู่ คือคู่ที่ 10 (ตารางที่ 3 และ 4) สูตรคาริโอไทป์มีดังนี้ ว่านสีทศพันธุ์ P ($2n=22$) = $L_2^{sm} + L_8^a + M_4^a + S_6^{sm} + S_2^m$



Figure 3 Diploid set of chromosomes of pink-flowered variety.

Table 3 Chromosome size and type of pink-flowered variety.

Large chromosome (av. LT 7.476-5.388 μ)	Medium chromosome (av. LT 5.389-3.739 μ)	Small chromosome (av. LT 3.738-3.303 μ)
# 1 submetacentric	# 6 acrocentric	# 8 submetacentric
# 2 acrocentric	# 7 acrocentric	# 9 submetacentric
# 3 acrocentric		# 10 metacentric
# 4 acrocentric		# 11 submetacentric
# 5 acrocentric		

Table 4 Average length of short arms (Ls) and long arms (Ll), chromosome length (LT), relative length (RL) and centromeric index (CI) of pink-flowered variety.

Number	Ls(μ)	Ll(μ)	LT(μ)	RT	CI
1	2.434	5.042	7.476	0.136	0.674
2	1.739	5.042	6.781	0.123	0.744
3	1.739	4.347	6.086	0.110	0.714
4	1.043	4.695	5.738	0.104	0.818
5	1.217	4.347	5.564	0.101	0.781
6	1.391	3.825	5.216	0.095	0.733
7	0.870	3.825	4.695	0.085	0.815
8	1.391	2.087	3.478	0.063	0.600
9	1.391	2.087	3.478	0.063	0.600
10	1.391	1.913	3.304	0.060	0.579
11	1.043	2.260	3.303	0.060	0.684

3. ว่านสีทศพันธุ์พื้นบ้านพันธุ์ O

โครโมโซมชุดดิพลอยด์ ($2n=22$) ของพันธุ์ O (ภาพที่ 4) ประกอบด้วยโครโมโซมขนาดใหญ่ (ความยาวระหว่าง 6.608-4.781 ไมครอน) จำนวน 7 คู่ ซึ่งเมื่อศึกษาจากอิดิโอแกรมแล้วพบว่า เป็น submetacentric chromosome 2 คู่ คือคู่ที่ 1 และ 5 และเป็น acrocentric chromosome 5 คู่ คือคู่ที่ 2, 3, 4, 6 และ 7 โครโมโซมขนาดกลาง (ความยาวระหว่าง 4.782-3.305 ไมครอน) มี 1 คู่ เป็น metacentric chromosome คือคู่ที่ 8 โครโมโซมขนาดเล็ก (ความยาวระหว่าง 3.304-2.956 ไมครอน) คือคู่ที่ 9, 10 และ 11 เป็น metacentric ทั้ง 3 คู่ (ตารางที่ 5 และ 6) สูตรคาร์ิโอไทป์คือ

$$\text{ว่านสีทศพันธุ์ O } (2n=22) = L_4^{sm} + L_{10}^a + M_2^m + S_6^m$$

จากผลการทดลองที่กล่าวมาแล้วข้างต้นจะเห็นว่าว่านสีทศพันธุ์พื้นบ้านทั้ง 3 พันธุ์ มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ $2n=22$ และทั้ง 3 พันธุ์เป็นพืชดิพลอยด์เนื่องจากมีโครโมโซม 2 ชุดของชุดพื้นฐาน ($2n=2x=22$) แต่เมื่อเทียบรูปร่างลักษณะของโครโมโซมในชุดดิพลอยด์ (ภาพที่ 2-4) แล้วจะเห็นว่าโครโมโซมของทั้ง 3 พันธุ์ มีความแตกต่างกันโดยที่โครโมโซมของพันธุ์ P มีความหนาน้อยกว่าอีก 2 พันธุ์ ส่วนพันธุ์ R และ O มีขนาดใกล้เคียงกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรคาร์ิโอไทป์และความยาวของโครโมโซม (ตารางที่ 7) แล้วจะเห็นว่าทั้ง 3 พันธุ์ มีความแตกต่างกันในเรื่องของขนาดโครโมโซมและความยาวของโครโมโซม ซึ่งข้อมูลเอกลักษณ์ของโครโมโซมและสูตรคาร์ิโอไทป์ของทั้ง 3 พันธุ์ น่าจะถือเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการวางแผนการปรับปรุงพันธุ์ของพืชดังกล่าวได้

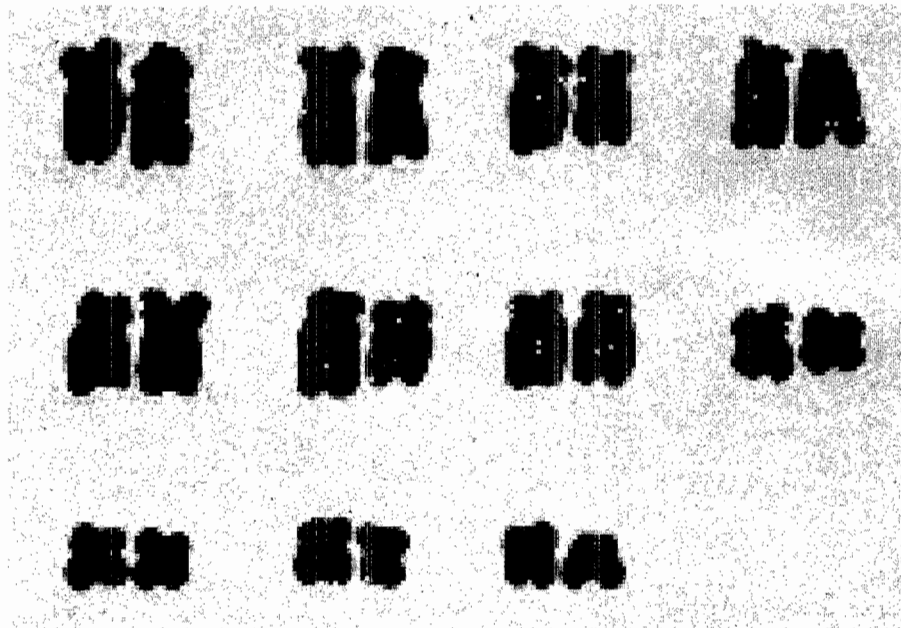


Figure 4 Diploid set of chromosomes of orange-flowered variety.

Table 5 Chromosome size and type of orange-flowered variety.

Large chromosome (av. LT 6.608-4.781 μ)	Medium chromosome (av. LT 4.782-3.305 μ)	Small chromosome (av. LT 3.304-2.956 μ)
# 1 submetacentric	# 8 metacentric	# 9 metacentric
# 2 acrocentric		# 10 metacentric
# 3 acrocentric		# 11 metacentric
# 4 acrocentric		
# 5 submetacentric		
# 6 acrocentric		
# 7 acrocentric		

Table 6 Average length of short arms (Ls) and long arms (Li), chromosome length (LT), relative length (RL) and centromeric index (CI) of orange-flowered variety.

Number	Ls(μ)	Li(μ)	LT(μ)	RT	CI
1	2.087	4.521	6.608	0.128	0.684
2	1.739	4.173	5.912	0.114	0.706
3	1.565	3.651	5.216	0.101	0.700
4	1.043	4.173	5.216	0.101	0.800
5	1.913	3.651	5.564	0.108	0.656
6	1.391	3.825	5.216	0.101	0.733
7	1.217	3.825	5.042	0.098	0.759
8	1.565	2.087	3.652	0.071	0.571
9	1.391	1.565	2.956	0.057	0.529
10	1.391	1.913	3.304	0.064	0.579
11	1.217	1.739	2.956	0.057	0.588

Table 7 Karyotype formulae, average length of individual chromosome and total chromosome length of 3 varieties.

Variety	Karyotype formulae	Individual chromosome length (μ)	Total chromosome length (μ)
Red-flowered	$2n = L_{10}^a + L_2^{sm} + M_2^a + M_2^{sm} + S_4^m + S_2^{sm}$	3.478-8.694	65.901
Pink-flower	$2n = L_2^{sm} + L_8^a + M_4^a + S_6^{sm} + S_2^m$	3.303-7.476	55.119
Orange-flower	$2n = L_4^{sm} + L_{10}^a + M_2^m + S_6^m$	2.956-6.608	51.642

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาคาร์ิโอไทป์ของว่านสี่ทิศพื้นบ้าน 3 พันธุ์ คือ พันธุ์ดอกสีแดง สีม่วง และสีส้ม พบว่า พืชทดลองมีจำนวนโครโมโซมร่างกายเท่ากัน คือ $2n=2x=22$ ทุกพันธุ์มีเอกลักษณ์ของลักษณะทางสัณฐานของโครโมโซมโดยพิจารณาได้จากภาพของโครโมโซมในชุดดิพลอยด์และสูตรคาร์ิโอไทป์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอคอยสะแกด จังหวัดเชียงใหม่ และศูนย์บริการการพัฒนาและขยายพันธุ์ไม้ดอกไม้ผลบ้านไร่อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ ที่สนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กันยรัตน์ ไชยสุต. 2532. เซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์อนุกรมวิธานของพืชสกุล *Zephyranthes*. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 259 น.
- ดวงทิพย์ วิทย์ศักดิ์. 2539. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา กายวิภาควิทยา และเซลล์วิทยาของว่านสี่ทิศ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 105 น.
- ประภัสสร อารยะกิจเจริญชัย. 2543. การขยายพันธุ์ว่านสี่ทิศ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 110 น.
- Khaleel, T.F. and D. Siemsen. 1989. Cytoembryology of *Amaryllis* hybrids. Hort. Abstr. 59(11) : 1,059.
- Okubo, H. 1993. *Hippeastrum*. p.321-334. In The Physiology of Flower Bulbs. A. A. de Hertogh and M. le Nard. Eds., Elsevier, Amsterdam.