

การศึกษาโครโมโซมของว่านมหาลาก

Eucrosia Chromosome Investigation

ศิริพร หาญนันท์วิวัฒน์¹ และ ชันทนา สุวรรณธาดา²

Siriporn Hannantavivat¹ and Chuntana Suwanthada²

Abstract : Somatic chromosome investigation of *Eucrosia* sp. via squash method revealed suitable technique of root tip tissue preparation. Root tip samples were taken at 9.00 a.m. The tissue was pretreated in para-dichlorobenzene for 4½ hour prior to maceration in 1 N HCl solution for 5 minutes. The tissue were then stained in carbol fuchsin for 1 hour before squashing. The result showed the chromosome number of $2n = 68$.

บทคัดย่อ : การศึกษาโครโมโซมของว่านมหาลากจากเซลล์ปลายราก พบว่า วิธีการที่ได้ผลดี คือ การเก็บตัวอย่างราก เวลา 9.00 น. หยดวางชิ้นเซลล์ใน para-dichlorobenzene นาน 4½ ชั่วโมง แยกเซลล์ใน HCl 1 N นาน 5 นาที แล้วย้อมด้วยสี carbol fuchsin นาน 1 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ว่านมหาลากมีจำนวนโครโมโซม $2n = 68$

Index words : ว่านมหาลาก โครโมโซม

Eucrosia, *Eucrosia* sp., chromosome, somatic chromosome

บทนำ

ว่านมหาลาก (*Eucrosia* sp.) เป็นไม้ประดับประเภทหัวที่ได้รับความนิยมมานาน นิยมปลูกเป็นไม้กระถางใช้ประดับตามอาคาร บ้านเรือนและปลูกเป็นไม้สนามได้ร่มเงาและ กลางแจ้งได้ดี (ปรีดี, 2526) ไม้ประดับชนิดนี้ให้ดอกสวยงาม มีลักษณะแปลกตา สีสด และก้านช่อดอกยาว มีแนวโน้มที่จะใช้เป็นไม้ตัดดอกได้ดี

(เรวดี, 2533) และปัจจุบันได้รับความสนใจในการพัฒนาให้เป็นไม้ดอกไม้ประดับชนิดใหม่ ในเชิงการค้าในต่างประเทศ (Roh and Meerow, 1992)

ด้วยเหตุที่ว่านมหาลากมีแนวโน้มที่จะเป็นไม้ดอกไม้ประดับที่ได้รับความสนใจมากขึ้นในอนาคต จึงได้มีการศึกษาในแง่ต่างๆ เกี่ยวกับการเจริญเติบโต การขยายพันธุ์ การใช้เป็น

¹ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

² Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

ไม้ตัดดอก (พิบูล, 2539; เรวดี, 2533 ; สุพจน์, 2537) และการศึกษาการเก็บรักษาหัวพันธุ์เพื่อการผลิตดอกนอกฤดู (ฉันทนาและคณะ, 2540 ก, ข; พิสิษฐ์และคณะ, 2536; สุพจน์, 2537)

จากข้อจำกัดที่ว่านมहालाหไม่มีการติดเมตต์โดยธรรมชาติ และการผสมพันธุ์ด้วยมือไม่ประสบผลสำเร็จ จึงน่าที่จะมีการศึกษาข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ต่อการวางแผนการปรับปรุงพันธุ์พืชชนิดนี้ในอนาคต เพื่อการผลิตพันธุ์ใหม่ ดังเช่นที่ได้มีการศึกษาวิจัยการปรับปรุงพันธุ์ *Eucrosia* ในต่างประเทศ ดังรายงานของ Meerow *et al.* (1992) ที่ได้ศึกษาการผสมข้ามชนิดใน *Eucrosia* 7 ชนิดและการผสมข้ามสกุล *Eucrosia* กับพืชที่ใกล้เคียง คือ *Rauhia* spp.

การศึกษานี้เป็นการศึกษาโครโมโซมของว่านมหาลากจากเซลล์ปลายรากเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษา เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ว่านมหาลากในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. อุปกรณ์

- 1.1 พืชทดลอง คือ ว่านมหาลากเตรียมพืช ทดลองโดยการนำหัวว่านมหาลากมาตัดรากเก่าทิ้งแล้วนำหัวไปชำในกระบะที่บรรจุวัสดุเพาะประมาณ 2-3 วัน รากจะงอกออกมาจากฐานของหัว
- 1.2 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาทางเซลล์วิทยา
 - 1.2.1 สารเคมีที่ใช้สำหรับการหยุดวงจรเซลล์ ได้แก่ paradichlorobenzene (PDB)

- 1.2.2 สารเคมีที่ใช้สำหรับเตรียมน้ำยาในการรักษาสภาพเซลล์ คือ ethyl alcohol 95 เปอร์เซ็นต์ และ glacial acetic acid อัตราส่วน 3 : 1

- 1.2.3 สารเคมีที่ใช้สำหรับเตรียมน้ำยาแยกเซลล์ ได้แก่ hydrochloric acid (HCl) 1 N

- 1.2.4 สี carbol fuchsin

2. วิธีการ

การศึกษาโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากของว่านมหาลากทำตามวิธี squash ของ Chen (1992) โดยมีขั้นตอน ดังต่อไปนี้

- 2.1 เตรียมรากว่านมหาลากโดยการเก็บตัวอย่างรากจากหัวที่นำไปชำไว้ทำการเก็บตัวอย่างรากในช่วงเวลา 8.00 -11.00 น.
- 2.2 หยุดวงจรชีวิตของเซลล์โดยนำปลายรากที่ได้มาแช่ในน้ำยา PDB ที่อุณหภูมิในน้ำ แช่รากไว้นาน 2-5 ชั่วโมง
- 2.3 รักษาสภาพเซลล์โดยนำรากที่แช่ไว้ในสารละลาย PDB มาล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นแล้วนำปลายรากไปแช่ในน้ำยารักษาสภาพเซลล์ นาน 5-10 นาที จากนั้นล้างรากด้วยน้ำกลั่น
- 2.4 แยกเซลล์โดยการแช่รากลงในสารละลาย HCl เข้มข้น 1 N ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-10 นาที แล้วล้างรากด้วยน้ำกลั่น
- 2.5 ย้อมสีเนื้อเยื่อรากด้วยสี carbol fuchsin แช่ตัวอย่างรากในสีนาน ½ - 2 ชั่วโมง
- 2.6 เตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาโครโมโซมโดยการนำปลายรากที่แช่สีแล้ววาง

บนแผ่นสไลด์ที่สะอาดใช้เข็มเขี่ย
ปลายราก แล้วหยดสี carbol fuchsin
ลงไป 1 หยด ที่บริเวณที่มีปลายราก
แล้วใช้เข็มเขี่ยเกาะเนื้อเยื่อปลายราก
ให้เซลล์กระจาย ใช้ปากคีบคีบส่วน
ของรากที่ไม่ต้องการออก ปิดแผ่น
กระจกปิดสไลด์บนบริเวณที่มี
เนื้อเยื่อใช้จุกยางเกาะบนแผ่น
กระจกปิดสไลด์ เพื่อให้เซลล์กระจาย
มากขึ้น ซับสีที่ไม่ต้องการออกด้วย
กระดาษซับ

- 2.7 นำแผ่นสไลด์ไปศึกษาภายใต้
กล้องจุลทรรศน์ เลือกเซลล์ที่มีการ
แบ่งนิวเคลียส ในระยะเมตาเฟสที่มี
การกระจายตัวของโครโมโซม
นับจำนวนโครโมโซม แล้วบันทึก
ภาพ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ผลการทดลอง

การศึกษาโครโมโซมของวุ้นมหาลาภ
จากเซลล์ของเนื้อเยื่อปลายรากโดยวิธีการ squash
พบว่า การเก็บตัวอย่างปลายรากนั้น ปลายราก
ที่สามารถจะนำไปศึกษาโครโมโซมได้สำเร็จ คือ
ปลายรากที่เพิ่งงอกออกมาจากหัว มีความยาว
ไม่มากนัก ปลายรากที่พบว่ามี การแบ่งตัวของ

เซลล์เป็นปลายรากที่มีสีขาวขุ่น บริเวณที่มีการ
แบ่งเซลล์คือบริเวณจากปลายรากเข้ามา 3-5 มิลลิเมตร
ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่าง
ปลายรากเพื่อศึกษาโครโมโซม คือ เวลา 9.00 น.
การหยุดวงจรเซลล์ในสารละลาย PDB ควรแช่ราก
ไว้นาน $4\frac{1}{2}$ ชั่วโมง การรักษาสภาพเซลล์ในน้ำยา
ควรใช้เวลาเพียง 5 นาที การแยกเซลล์ในสารละลาย
HCl ใช้เวลา 5 นาที เช่นกัน การย้อมสีเนื้อเยื่อ
พบว่าการแช่ปลายรากในสี carbol fuchsin เป็นเวลา
1 ชั่วโมง จะช่วยให้เนื้อเยื่อปลายรากติดสีเข้ม
และทำให้โครโมโซมติดสีเข้มสามารถเห็นโครโมโซม
ได้ชัดเจน

ในการศึกษาโครโมโซม เมื่อพบเซลล์ที่มี
การแบ่งตัว เลือกเซลล์ที่มีรูปร่างปกติ เห็นขอบเขต
ของเซลล์ชัดเจน เป็นเซลล์ที่อยู่ห่างไกลจากเซลล์
ข้างเคียงและมีโครโมโซมกระจายตัวไม่ซ้อนทับกัน
นับจำนวนโครโมโซมซึ่งอยู่ในระยะเมตาเฟสของ
การแบ่งเซลล์ ใช้จำนวนเซลล์เพื่อยืนยันอย่างน้อย 10
เซลล์ต่อราก และทำการศึกษาจากปลายรากหลายๆ
ราก ให้ได้จำนวนเซลล์ที่ศึกษาจำนวน 30 เซลล์
หลังจากนั้นบันทึกภาพโครโมโซมภายใต้กล้อง
จุลทรรศน์ ผลการตรวจนับจำนวนโครโมโซม
ปลายรากของวุ้นมหาลาภ พบว่ามีจำนวน
โครโมโซม $2n = 68$ (ภาพที่ 1)



Figure 1 Somatic chromosome of *Eucrosia* sp. ($2n = 68$) (1,180X).

สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

จากผลการทดลองทำให้ได้เทคนิคในการศึกษาโครโมโซม จากเซลล์ปลายรากของว่านมหาลาก ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการศึกษาในอนาคตในการปรับปรุงพันธุ์ว่านมหาลาก

การศึกษาโครโมโซม พบว่าว่านมหาลาก ซึ่งเป็นพืชที่นำเข้ามาปลูกเลี้ยงในประเทศไทยมาเป็นเวลานานแล้ว จนกระทั่งกลายเป็นไม้ประดับพื้นบ้านของไทยในปัจจุบันนี้ มีจำนวนโครโมโซมเป็น $2n = 68$ ซึ่งเท่ากับจำนวนโครโมโซมของ *Eucrosia bicolor* ($2n = 68$) ซึ่งเป็น *Eucrosia* ชนิดหนึ่งใน 7 ชนิดที่เป็นพืชพื้นเมือง *Eucrosia aurantiaca* และ *Eucrosia eucrosioides* มี $2n = 46$ (Meerow *et al.*, 1992)

จากภาพที่ 1 จะเห็นว่าโครโมโซมของว่านมหาลาก คัดสีชัดเจนและแสดงรูปร่างตลอดจนตำแหน่งของ centromere ก่อนข้างชัดเจน จึงน่าจะมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อศึกษา idiogram ซึ่งน่าจะบอกได้ถึงระดับ ploidy ของว่านมหาลากที่ปลูกเลี้ยงในประเทศไทยได้ เพื่อประโยชน์ในการพิจารณานำไปผสมพันธุ์กับ *Eucrosia* ชนิดอื่นๆ จากประเทศ หรือพืชสกุลอื่นที่มีความใกล้เคียงกัน ดังที่ Meerow *et al.* (1992) ได้ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์ *Eucrosia* จากการผสมข้ามชนิดและข้ามสกุลกับ *Rauhia* spp. และรายงานว่าการผสมผลสำเร็จในบางกลุ่มผสมซึ่งมีระดับ ploidy เดียวกัน ส่วนในกลุ่มผสมที่มีระดับ ploidy ต่างกันผสมไม่สำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

- ฉันทนา สุวรรณธาดา, พิมพ์ใจ อาภาวิชรุฒม์ และพิศิษฐ์ วรอุไร. 2540 ก. การสร้างดอกของไม้ดอกประเภท หัว. รายงานการประชุมวิชาการ ไม้ดอกไม้ประดับ แห่งชาติ ครั้งที่ 3. ธันวาคม 2540. เชียงใหม่. หน้า 1-6.
- ฉันทนา สุวรรณธาดา, พิมพ์ใจ อาภาวิชรุฒม์ และพิศิษฐ์ วรอุไร. 2540 ข. การสร้างหัวของไม้ดอกประเภท หัว. 1. การสร้าง corm และ tunicate bulb. รายงานการประชุมวิชาการ ไม้ดอกไม้ประดับ แห่งชาติ ครั้งที่ 3. ธันวาคม 2540. เชียงใหม่. หน้า 7-11.
- ปรีดี เอกะวิภาต. 2526. ว่านมหาลาภ. วารสารพืชสวน 18(2) : 43-47.
- พิกุล สุพรไพบุลย์. 2539. การสร้างหัวของว่านมหาลาภ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน มหาวิทยาลัย เชียงใหม่, เชียงใหม่. 175 น.
- พิศิษฐ์ วรอุไร, ฉันทนา สุวรรณธาดา และพิมพ์ใจ อาภาวิชรุฒม์. 2536. การบังคับต้น ไม้ดอกประเภท หัวบางชนิดให้ออกดอกนอกฤดูกาล. จดหมายข่าว สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 1(3) : 6.
- เรวดี วุฒิจำนงค์. 2533. การศึกษาการพัฒนาของดอก ว่านมหาลาภ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน มหาวิทยาลัย เชียงใหม่, เชียงใหม่. 95 น.
- สุพจน์ เพ็ชรบุรี. 2537. การศึกษาขนาดของหัวพันธุ์ การเก็บรักษาหัวพันธุ์และการปรับปรุงคุณภาพ หลังการเก็บเกี่ยวดอกว่านมหาลาภ. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชา พืชสวน มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 175 น.
- Chen, Z.Y. 1992. Cytology of Zingiberaceae, a paper distributed for the training course on Cytotaxonomy of Zingiberaceae and Some Selected Plants. Faculty of Sciences, The Prince of Songkla University, Songkla. 6 p.
- Meerow, A. W., M. Roh and R.S. Lawson. 1992. Breeding of *Eucrosia* (Amaryllidaceae) for cut flower and pot plant production. Acta Hort. 325 : 555-560.
- Roh, M.S. and A.W. Meerow. 1992. Flowering of *Eucrosia* influenced by bulb size and watering frequency. Hort. Sci. 27(11) : 1,227.