Research Article

Received: October 4, 2019; Accepted: May 8, 2020

ชนิดเซลล์คุมและความผันแปรของเซลล์เสริมของปากใบกล้วยป่าและกล้วยปลูกบางชนิดในประเทศไทยเพื่อบ่งชี้ความจำเพาะต่อกลุ่มจีโนม

Types of Guard Cell and Subsidiary Cell Variation of Wild and Some Cultivated Banana Stomata in Thailand to Indicate Genome Groups

ณัฐพงศ์ โกสิทธิ์ และพฤทธิ์ ราชรักษ์*

ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

Nattapong Kosith and Phruet Racharak*

Department of Forest Biology, Faculty of Forestry, Kasetsart University, Bangkhen Campus, Ladyao, Chatuchak, Bangkok, 10900

บทคัดย่อ

กล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสมรับประทานได้เป็นสมาชิกของสกุล *Musa* วงศ์ Musaceae ถูกจัดจำแนกออกเป็นกลุ่มจีโนม AA, AAA, AAB, ABB, BBB และ BB โดยจีโนม A มาจากกล้วยป่า (*M. acuminata*) และจีโนม B มาจากกล้วยตานี (*M. balbisiana*) ซึ่งเป็นบรรพบุรุษของกล้วยปลูกรับประทานได้ในปัจจุบัน ตัวอย่างกล้วยทั้ง 34 ชนิด ที่เป็นตัวแทนในแต่ละกลุ่มจีโนม นำมาศึกษาชนิดของปากใบและความผันแปรของเซลล์เสริมเพื่อหาลักษณะและความจำเพาะต่อกลุ่มจีโนม พบว่ากล้วยตัวอย่างทุกชนิดมีปากใบแบบ tetracytic type ซึ่งเป็นชนิดที่มีเซลล์เสริมล้อมรอบเซลล์คุม 4 เซลล์ การจัดเรียงตัวของเซลล์เสริมของปากใบกล้วยพบความผันแปร 2 ลักษณะ คือ (1) เซลล์เสริมที่วางตัวขนานเซลล์คุม 2 เซลล์ มีความยาวจนปิดหัวท้ายเซลล์เสริมอีก 2 เซลล์ ที่วางตัวตั้งฉากกับเซลล์คุม และ (2) เซลล์เสริมทั้ง 4 เซลล์ เรียงชิดจรดกันล้อมรอบเซลล์คุม ซึ่งลักษณะความผันแปรของเซลล์เสริมนี้สามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างกล้วยออกจากกัน คือ กลุ่มกล้วยที่มีจีโนม A เป็นองค์ประกอบ คือ กล้วยกลุ่มจีโนม AA, AAA และกลุ่มกล้วยที่มีจีโนม B เป็นองค์ประกอบ คือ กล้วยกลุ่มจีโนม BB และ BBB ส่วนกล้วยกลุ่มที่มีจีโนม AAB และ ABB มีการแสดงออกของลักษณะเซลล์เสริมทั้ง 2 ลักษณะ ส่วนความยาวของเซลล์คุมพบว่ากล้วยกลุ่มจีโนม BB มีแนวโน้มของความยาวของเซลล์คุมมากที่สุด และกล้วยกลุ่มจีโนม BBB พบมีความหนาแน่นของปากใบสูงที่สุด

คำสำคัญ : ปากใบ; กล้วย; กล้วยป่า; กล้วยปลูก; จีโนม

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** fforprr@ku.ac.th

Abstract

Wild and cultivated bananas which are the member of genus *Musa*, family Musaceae have been classified to genome groups including AA, AAA, AAB, ABB, BBB and BB. The A and B genome consisting group are from *M. acuminata* and *M. Balbisiana*, respectively. Both of them are ancestor of cultivated bananas. All samples represented in different genome groups were thoroughly studied in the stomata type and the variation of subsidiary cell in order to determine their characteristics and to indicate to genome group. The results indicated that a type of all banana stomata were tetracytic type which included 4 subsidiary cells around the guard cells. The arrangement of the subsidiary cells causes the variation within types of stomata. Firstly, 2 subsidiary cells which were parallel with the guard cell had the cell length covered the other 2 subsidiary cells which were perpendicular to the guard cell. Secondly, all 4 subsidiary cells were valvate arrangement together. These variations of the subsidiary cells among different genome groups could be used for separation all samples into A and B genome group, especially in genome group of AA, AAA genomes, and subsequently BB and BBB genomes. In contrast, cultivated bananas in AAB and ABB genomes showed unclearly arrangement of the subsidiary cells in their genomes. Besides, the cultivated bananas, BB genome showed the longest guard cell, while that BBB genome, revealed the highest density of stomata.

Keywords: stomata; banana; wild banana, cultivated banana; genome

1. บทนำ

กล้วยเป็นพืชล้มลุก อยู่ในอันดับ Zingiberales ในวงศ์ Musaceae ซึ่งมีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ กัมพูชา ลาว พม่า รวมทั้งประเทศไทย ซึ่งส่วนใหญ่กล้วยที่มีแหล่งกำเนิดในเขตนี้จะเป็นกล้วยป่า (*Musa acuminata*) ซึ่งพบรายงานการแพร่กระจายในประเทศไทย 4 ชนิดย่อย คือ *M. acuminata* ssp. *malaccensis*, *M. acuminata* ssp. *microcarpa*, *M. acuminata* ssp. *burmanica* และ *M. acuminata* ssp. *siamea* และกล้วยที่มีถิ่นกำเนิดในเอเชียใต้ในประเทศอินเดีย เช่น กล้วยตานี (*M. balbisiana*) และกล้วยปลูกลูกผสมรับประทานได้ (edible banana) กล้วยในสกุล *Musa* ซึ่งสมาชิกส่วนใหญ่เป็นกล้วยป่า (wild banana) และกล้วยปลูกลูกผสมถูกจัดจำแนกออกเป็น 5 หมู่ (section) ตามลักษณะของปลี กาบใบ เนื้อผล และจำนวนโครโมโซม คือ Australimusa, Callimusa, Rhodochlamys, Ingentimusa และ Eumusa ซึ่งหมู่ Eumusa เป็นกลุ่มของกล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสมซึ่งพบมีการแพร่กระจายอยู่หลายชนิดและหลากหลายสายพันธุ์ [1] ดังนั้นในกลุ่มกล้วยปลูกลูกผสมจึงได้มีการจัดจำแนกออกเป็นกลุ่มจีโนมตามวิธีการของ Simmonds และ Shepherd [2] ซึ่งเป็นการให้คะแนนเพื่อบ่งชี้กลุ่มจีโนมโดยยึดจากลักษณะภายนอก 15 ลักษณะของกล้วยที่เป็นบรรพบุรุษ 2 ชนิด คือ กล้วยป่า (*M. acuminata*) ให้เป็นตัวแทนจีโนม A และ กล้วยตานี (*M. balbisiana*) ให้เป็นตัวแทนจีโนม B ผลจากการให้คะแนนสามารถแบ่งกลุ่มกล้วยปลูกลูกผสมออกเป็น 8 กลุ่มจีโนม คือ

AA, AAA, AAB, AB, ABB, ABBB, BBB และ BB [3] โดยคะแนนมาจากลักษณะของกล้วยป่าเด่นชัดจะให้ 1 คะแนน และมาจากกล้วยตานีเด่นชัดจะให้ 5 คะแนน ถ้าลักษณะอยู่ระหว่างทั้ง 2 ชนิด คะแนนจะลดหลั่นไปเป็น 2, 3 และ 4 แล้วแต่ว่าลักษณะนั้นๆ มีแนวโน้มว่าจะเป็นทางใด

การจำแนกกล้วยปลูกลูกผสมด้วยลักษณะภายนอกทั้ง 15 ลักษณะ สามารถแบ่งกลุ่มของลักษณะภายนอกที่ใช้ได้เป็น 2 กลุ่ม [4] คือ (1) กลุ่มที่ใช้ลักษณะของใบ ประกอบด้วย 2 ลักษณะ คือ สีของกาบใบ และร่องของกาบใบ และ (2) กลุ่มที่ใช้ลักษณะของดอกและช่อดอก ประกอบด้วย 13 ลักษณะ คือ ก้านช่อดอก ก้านดอก โอวุล (ไข่) ไหล่ของกาบปลี การม้วนของกาบปลี รูปร่างของกาบปลี ปลายของกาบปลี การซีดของกาบปลี รอยแผลของกาบปลี กลีบรวมเดี่ยว สีของดอกตัวผู้ สีของดอกตัวเมีย และสีของกาบปลี ซึ่งจะเห็นได้ว่าลักษณะที่ใช้เพื่อให้คะแนนเพื่อบ่งชี้กลุ่มจีโนมของกล้วยปลูกส่วนใหญ่เป็นลักษณะของดอกและช่อดอก ซึ่งจำเป็นต้องอาศัยระยะเวลาการออกดอกจึงจะให้คะแนนลักษณะภายนอกได้ชัดเจน ดังนั้นจึงมีข้อจำกัดในกล้วยที่มีอายุยังน้อยหรือหน่อกล้วยที่ไม่สามารถให้คะแนนลักษณะดังกล่าว ประกอบกับการให้คะแนนลักษณะดังกล่าวมีหลายลักษณะและยังต้องอาศัยความชำนาญ [5] เนื่องจากบางลักษณะมีความก้ำกึ่งและมีลักษณะที่ไม่เด่นชัดทำให้ระบุคะแนนที่ชัดเจนยาก ดังนั้นการมีข้อมูลเพียงบางลักษณะ เช่น สีของกาบใบ ร่องของกาบใบ รวมทั้งลักษณะของปากใบ (stomata) ซึ่งมีลักษณะจำเพาะในแต่กลุ่มพืช [6] อาจจะช่วยในการระบุกลุ่มจีโนมของกล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสมที่รับประทานได้ เนื่องจากเป็นลักษณะที่พบได้ทุกช่วงอายุและทุกช่วงการเจริญเติบโต [7] เป็นการลดข้อจำกัดในการระบุคะแนนด้วยดอกและช่อดอกซึ่งต้องรอระยะเวลาการเจริญเติบโต ดังนั้นการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาลักษณะปากใบกล้วยในกลุ่มกล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสมบางชนิดเพื่อช่วยในการจัดจำแนกกลุ่มกล้วยในระดับจีโนม ซึ่งอาจจะช่วยให้การจัดจำแนกได้ถูกต้อง รวดเร็ว และใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดจำแนกร่วมกับข้อมูลการจัดจำแนกด้วยลักษณะภายนอก 15 ลักษณะ ซึ่งอาจช่วยให้การจัดจำแนกกลุ่มกล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสมในระดับกลุ่มจีโนมมีความถูกต้องสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

2. อุปกรณ์และวิธีการ

คัดเลือกตัวอย่างกลุ่มกล้วยป่า กลุ่มกล้วยตานี และกลุ่มกล้วยปลูกลูกผสมบางชนิดที่ระบุชนิดชัดเจนเพื่อใช้เป็นตัวแทนในแต่ละกลุ่มจีโนม รวมทั้งสิ้น 34 ชนิด (ตารางที่ 1) จากนั้นเก็บใบกล้วยในช่วงใบที่ 3-5 จากใบยอดที่แทงใหม่ที่สมบูรณ์ และเลือกเก็บตัวอย่างเนื้อใบ 3 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งปลายใบ กลางใบ และโคนใบ ขนาด 5x5 เซนติเมตร เก็บตัวอย่างใบละ 3 ซ้ำ และแช่น้ำแข็งทันที

เตรียมตัวอย่างสไลด์ถาวรตามวิธีการของประศาสตร์ [8] และ Jain [9] โดยนำตัวอย่างใบกล้วยมาทำความสะอาดและใช้ใบมีดตัดใบกล้วยออกเป็นชิ้นขนาด 1x1 เซนติเมตร จำนวน 5 ชิ้น ต้มใบกล้วยใน 30% hydrogen peroxide และ acetic acid ในอัตราส่วน 1:1 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นล้าง 2-3 ครั้ง และแช่ใบกล้วยในน้ำสะอาด ใช้พู่กันลอกผิวของใบกล้วยออกให้เหลือเฉพาะชั้นผิวด้านนอกของใบ ล้างด้วยน้ำให้สะอาดและนำไปแช่ไว้ในสี Safranin O 5 นาที แล้วดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อชั้นผิวด้วยแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้น 50, 70, 95 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และแช่ต่อในกลีเซอรอล 15 นาที จากนั้นนำไปวางบนสไลด์และปิดโคฟเวอร์สไลด์ ทาน้ำยารอบ ๆ แผ่นโคฟเวอร์สไลด์ ทิ้งไว้ให้แห้ง

Table 1 The list of species, genome groups and types of samples represented in each genomes

No.	Local names	Botanical names	Genomes	Types of
1	กล้วยป่าปลีสีส้ม	*Musa acuminata*	AA	Wild banana
2	กล้วยป่าหลังสวน	*Musa acuminata*	AA	Wild banana
3	กล้วยป่าคลองแม่	*Musa acuminata*	AA	Wild banana
4	กล้วยป่าปางสีดา	*Musa acuminata*	AA	Wild banana
5	กล้วยป่าดอย	*Musa acuminata*	AA	Wild banana
6	กล้วยหอมสั้น	*Musa* (AA) “Kluai Hom San”	AA	Cultivated
7	กล้วยไข่ทองเงย	*Musa* (AA) “Kluai Khai Thong Ngei	AA	Cultivated
8	กล้วยสา	*Musa* (AA) “Kluai Sa”	AA	Cultivated
9	กล้วยไข่	*Musa* (AA) “Kluai Khai”	AA	Cultivated
10	กล้วยเล็บมือนาง	*Musa* (AA) “Kluai Lep Mue Nang”	AA	Cultivated
11	กล้วยหอม	*Musa* (AAA) “Kluai Hom”	AAA	Cultivated
12	กล้วยนาก	*Musa* (AAA) “Kluai Nak”	AAA	Cultivated
13	กล้วยไข่พระ	*Musa* (AAA) “Kluai Khai Phra Ta Bong”	AAA	Cultivated
14	กล้วยหอมทิพย์	*Musa* (AAA) “Kluai Hom Thip”	AAA	Cultivated
15	กล้วยหอม	*Musa* (AAA) “Kluai Hom Karen”	AAA	Cultivated
16	กล้วยนิ้วมือนาง	*Musa* (AAB) “Kluai Niu Mue Nang”	AAB	Cultivated
17	กล้วยไข่โบราณ	*Musa* (AAB) “Kluai Khai Bo Ran”	AAB	Cultivated
18	กล้วยหวาน	*Musa* (AAB) “Kluai Wan”	AAB	Cultivated
19	กล้วยนิ้วจระเข้	*Musa* (AAB) “Kluai Niu Jorakhe”	AAB	Cultivated
20	กล้วยร้อยหวี	*Musa* (AAB) “Kluai Roiwi”	AAB	Cultivated
21	กล้วยหักมุกส้ม	*Musa* (ABB) “Kluai Hak Muk Som”	ABB	Cultivated
22	กล้วยตีบกุ	*Musa* (ABB) “Kluai Tib Ku”	ABB	Cultivated
23	กล้วยหักมุกทอง	*Musa* (ABB) “Kluai Hak Muk Thong”	ABB	Cultivated
24	กล้วยน้ำว้าไส้	*Musa* (ABB) “Kluai Namwa Sai Lueang”	ABB	Cultivated
25	กล้วยน้ำว้าไส้แดง	*Musa* (ABB) “Kluai Namwa Sai Dang”	ABB	Cultivated
26	กล้วยเล็บช้างกุด	*Musa* (BBB) “Kluai Lep Chang Kud”	BBB	Cultivated
27	กล้วยพม่าแหกคุก	*Musa* (BBB) “Kluai Phama Heak Kuk”	BBB	Cultivated
28	กล้วยหิน	*Musa* (BBB) “Kluai Hin”	BBB	Cultivated
29	กล้วยเทพพนม	*Musa* (BBB) “Kluai Thepanom”	BBB	Cultivated
30	กล้วยตานี	*Musa balbisiana*	BB	Wild Banana
31	กล้วยตานีใต้	*Musa balbisiana*	BB	Wild Banana
32	กล้วยตานีดำ	*Musa balbisiana*	BB	Wild Banana
33	กล้วยตานีกีบม้า	*Musa balbisiana*	BB	Wild Banana
34	กล้วยตานีไร้เมล็ด	*Musa balbisiana*	BB	Wild Banana

Genome groups were classified as following Silayoi [3] and all samples collected from Queen Sirikit Park, Ladyao, Chatuchak, Bangkok, Thailand.

ศึกษาลักษณะและรูปแบบเนื้อเยื่อชั้นผิวใบของใบกล้วยโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound light microscope และถ่ายภาพ โดยศึกษาลักษณะและจำนวนของปากใบ ขนาดและจำนวนของเซลล์คุม (guard cell) ที่พบต่อ 1 ตารางมิลลิเมตร ลักษณะเซลล์เสริม และหาค่าเฉลี่ยความยาวเซลล์คุม และวิเคราะห์ความแปรปรวนโดย ANOVA analysis และหาความแตกต่างของความยาวเซลล์คุมในแต่ละจีโนมโดยใช้ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 คำนวณหาความหนาแน่นของปากใบและเซล์ผิว (epidermal cell) คำนวณหาค่าดัชนีปากใบ (stomatal index) จากสูตรของ Salisbury [10] และวิเคราะห์ผลการทดลอง

3. ผลและวิจารณ์ผล

3.1 จำนวนปากใบกล้วย

การศึกษาปากใบกล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสมที่รับประทานได้ 34 ชนิด ที่เป็นตัวแทนในแต่ละกลุ่มจีโนม AA, AAA, AAB, ABB, ABBB, BB และ BBB พบว่าจำนวนปากใบกล้วยทางด้านหลังใบมีจำนวนน้อยกว่าปากใบทางด้านท้องใบ ซึ่งเป็นไปตามรายงานของ ประวัติ [11] ที่ศึกษาในกลุ่มกล้วยที่เป็นตัวแทนในแต่ละจีโนม 15 ชนิด และพบว่าจำนวนปากใบทางด้านท้องใบและหลังใบมีความผันแปรมากในแต่ละชนิดของกล้วย และไม่สามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการจัดจำแนกกล้วยออกเป็นกลุ่มจีโนมต่าง ๆ เมื่อพิจารณาถึงอายุของตัวอย่างใบกล้วยต่อจำนวนและรูปแบบของปากใบกล้วย พบว่าอายุของใบกล้วยมีผลต่อจำนวนปากใบกล้วย โดยในใบอ่อนมีแนวโน้มของจำนวนปากใบน้อยกว่าในใบแก่ และยังพบว่าในอายุใบที่เท่ากันมีความผันแปรในจำนวนปากใบค่อนข้างมาก ส่วนรูปแบบของปากใบ (stomata complex) พบว่าความแก่อ่อนของใบกล้วยไม่มีผลต่อรูปแบบหรือชนิดของปากใบ [1,12]

3.2 ลักษณะและชนิดปากใบกล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสมรับประทานได้

ผลการศึกษาปากใบกล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสมที่รับประทานได้ พบว่าสามารถจำแนกลักษณะปากใบกล้วยโดยใช้ลักษณะรูปร่างของปากใบเป็นชนิด tetracytic type คือ มีเซลล์เสริม (subsidiary cell) 4 เซลล์ ล้อมรอบเซลล์คุม (guard cell) โดยอยู่ทางด้านข้างขนานกับเซลล์คุม 2 เซลล์ และอยู่ที่ขั้วหัวท้ายเซลล์คุมอีก 2 เซลล์ [6,13] แต่เมื่อพิจารณาลักษณะของเซลล์เสริม พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มกล้วยที่มีจีโนม A และ B เป็นองค์ประกอบ โดยสามารถแยกความแตกต่างของเซลล์เสริมของปากใบกล้วยแบบ tetracytic type เป็น 2 ลักษณะ คือ ลักษณะที่ 1 พบเซลล์เสริมล้อมรอบเซลล์คุม 4 เซลล์ โดย 2 เซลล์ วางตัวตั้งฉากกับเซลล์คุมที่ตำแหน่งปลายทั้งสองด้านของเซลล์คุมด้านละ 1 เซลล์ และเซลล์เสริมอีก 2 เซลล์ วางตัวขนานกับเซลล์คุมด้านละ 1 เซลล์ โดยเซลล์เสริมที่วางตัวขนานกับเซลล์คุมจะมีความยาวครอบคลุมไปจนปิดหัวท้ายของเซลล์เสริมที่วางตัวตั้งฉากกับเซลล์คุมหรือมีความยาวจนเลยเซลล์เสริมที่วางตัวตั้งฉากกับเซลล์คุม ซึ่งพบเซลล์เสริมลักษณะนี้ได้ในกล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสมในกลุ่มจีโนม A เป็นองค์ประกอบหลัก กล่าวคือ กล้วยป่าคลองแม่กระสาและกล้วยป่าดอยมูเซอร์เป็นสมาชิกของกลุ่มกล้วยป่า (wild banana) กล้วยหอมผลสั้นและกล้วยสาเป็นสมาชิกของกล้วยปลูกจีโนม AA กล้วยหอมและกล้วยไข่พระตะบองเป็นสมาชิกของจีโนม AAA และกล้วยบางชนิดในกลุ่มจีโนม AAB เช่น กล้วยไข่โบราณ (รูปที่ 1) ส่วนเซลล์เสริมลักษณะที่ 2 พบเซลล์เสริมล้อมรอบเซลล์คุม 4 เซลล์ โดย 2 เซลล์ วางตัวตั้งฉากกับเซลล์คุมที่ตำแหน่งปลายทั้งสองด้านของเซลล์คุมด้านละ 1 เซลล์ และเซลล์เสริมอีก 2 เซลล์ วางตัวขนานกับเซลล์คุมด้านละ 1 เซลล์ โดยเซลล์เสริมทั้ง 4 เซลล์ วางตัว

จรดชิดกันและไม่มีส่วนใดวางตัวซ้อนทับหรือซ้อนเหลื่อมกันดูคล้ายเป็นกรอบสี่เหลี่ยมล้อมรอบเซลล์คุม และเซลล์เสริมที่วางตัวขนานกับเซลล์คุมส่วนใหญ่มักจะมีลักษณะบางกว่าเซลล์เสริมที่วางตัวตั้งฉากกับเซลล์คุม (รูปที่ 1) ซึ่งพบได้ในกล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสมกลุ่มจีโนม B เป็นองค์ประกอบหลัก เช่น กล้วยตานีและกล้วยตานีกีบม้าที่เป็นสมาชิกของกลุ่มกล้วยป่า กล้วยหินและกล้วยพม่าแหกคุกที่เป็นสมาชิกของจีโนม BBB กล้วยหักมุกสีทองและกล้วยน้ำว้าไส้เหลืองที่เป็นสมาชิกของจีโนม ABB จากลักษณะความผันแปรของเซลล์เสริมดังกล่าว พบว่ากล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสมกลุ่มจีโนม AA และ AAA ทุกชนิดสามารถพบปากใบที่มีเซลล์เสริมในลักษณะที่ 1 ทั้งหมด ส่วนกล้วยปลูกลูกผสมในกลุ่มจีโนม AAB พบบางชนิดแสดงลักษณะเซลล์เสริมลักษณะที่ 1 เช่น กล้วยไข่โบราณ ส่วนกล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสมกลุ่มจีโนม BB และ BBB พบปากใบที่มีเซลล์เสริมในลักษณะที่ 2 ทั้งหมดทุกชนิดเช่นกัน ส่วนกล้วยปลูกลูกผสมกลุ่มจีโนม ABB ส่วนใหญ่พบเซลล์เสริมในลักษณะที่ 2 ยกเว้นกล้วยหักมุกส้มที่แสดงลักษณะก้ำกึ่งระหว่างเซลล์เสริมลักษณะที่ 1 และ 2 ซึ่งความผันแปรของลักษณะเซลล์เสริมดังกล่าว น่าจะสามารถนำไปใช้ประกอบในการจัดจำแนกกลุ่มจีโนมของกล้วยปลูกควบคู่กับลักษณะทางสัณฐานวิทยาอื่น ๆ รวมทั้งข้อมูลขนาดและจำนวนของปากใบตามรายงานของ เบญจมาศ [1]

3.3 ลักษณะปากใบกล้วยปลูกลูกผสมรับประทานได้กลุ่มจีโนม AAB และ ABB

ลักษณะปากใบกล้วยปลูกลูกผสมที่มีจีโนม AAB และ ABB พบว่าปากใบกล้วยบางชนิดแสดงลักษณะเซลล์เสริมก้ำกึ่งอยู่ระหว่างเซลล์เสริมลักษณะที่ 1 และ 2 ตามผลการทดลองข้างต้น โดยปากใบที่มีเซลล์เสริมที่วางตัวขนานกับเซลล์คุมด้านละ 1 เซลล์จะมีเซลล์ใดเซลล์หนึ่งยืดยาวไปจนครอบคลุมปิดหัวหรือท้ายของเซลล์เสริมที่วางตัวตั้งฉากกับเซลล์คุม (รูปที่ 2) โดยกล้วยปลูกลูกผสมที่มีจีโนม AAB จะพบปากใบที่มีลักษณะเซลล์เสริมดังกล่าวและมักพบร่วมกับปากใบที่มีลักษณะเซลล์เสริมที่มีความยาวครอบคลุมไปจนปิดหัวท้ายของเซลล์เสริมที่วางตัวตั้งฉากกับเซลล์คุม (เซลล์เสริมลักษณะที่ 1) ที่พบในกล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสมที่มีจีโนม AA และ AAA ซึ่งลักษณะดังกล่าวพบในกล้วยนิ้วจระเข้ กล้วยนิ้วมือนาง และกล้วยหวาน (รูปที่ 2A, 2B และ 2C) และในทำนองเดียวกันกล้วยปลูกลูกผสมที่มีจีโนม ABB จะพบปากใบที่มีลักษณะเซลล์เสริมดังกล่าวที่มีเซลล์ใดเซลล์หนึ่งยืดยาวไปจนครอบคลุมปิดหัวหรือท้ายของเซลล์เสริมที่วางตัวตั้งฉากกับเซลล์คุม แต่จะพบร่วมกับเซลล์เสริมลักษณะที่ 2 ที่พบได้ในกล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสมที่มีจีโนม BB และ BBB ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้พบในกล้วยหักมุกส้ม (รูปที่ 2D) ลักษณะการวางตัวของเซลล์เสริมดังกล่าวสอดคล้องกับข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใช้เป็นลักษณะคะแนนในการจัดจำแนกกลุ่มกล้วยปลูกลูกผสมออกเป็นจีโนมต่าง ๆ [14] โดยกลุ่มจีโนม AAB มีสัดส่วนของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยป่า *M. acuminata* หรือลักษณะจีโนม A มากกว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยป่า *M. balbisiana* หรือลักษณะจีโนม B จึงส่งผลให้ปากใบกล้วยปลูกลูกผสมกลุ่มจีโนม AAB เซลล์เสริมมีลักษณะและการวางตัวคล้ายคลึงหรือใกล้เคียงกับกล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสมที่มีจีโนม AA และ AAA เป็นองค์ประกอบ ส่วนลักษณะเซลล์เสริมของปากใบกล้วยปลูกลูกผสมกลุ่มจีโนม ABB ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยป่า *M. balbisiana* (จีโนม B) มากกว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยป่า *M. acuminata* (จีโนม A) สามารถอธิบายลักษณะเซลล์เสริมได้ในทำนองเดียวกัน อย่างไรก็ตาม การศึกษารูปแบบของปากใบกล้วยไม่สามารถชี้ชัดรูปแบบที่เป็นลักษณะเด่นจำเพาะ

ของกล้วยที่มีจีโนม AAB และ ABB อย่างชัดเจน ซึ่งอาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมหรือพบรูปแบบปากใบชนิดอื่นเพิ่มเติม [15] แต่การศึกษาลักษณะปากใบกล้วยครั้งนี้สามารถแยกตัวอย่างกล้วยในกลุ่มจีโนม AA และ BB ออกจากกันอย่างชัดเจน โดยใช้ลักษณะความผันแปรของเซลล์เสริม โดยกล้วยที่มีจีโนม AA และ AAA จะมีลักษณะคล้ายคลึงกัน และกล้วยกลุ่มจีโนม AAB มีความคล้ายคลึงกับกลุ่มจีโนมที่มี A เป็นองค์ประกอบมากกว่ากลุ่มจีโนม B เป็นองค์ประกอบ และกล้วยกลุ่มจีโนม BB, BBB และ ABB ปากใบมีลักษณะการวางตัวของเซลล์เสริมที่คล้ายคลึงและใกล้เคียงกัน ซึ่งเป็นไปตามลักษณะสัณฐานวิทยา [2]

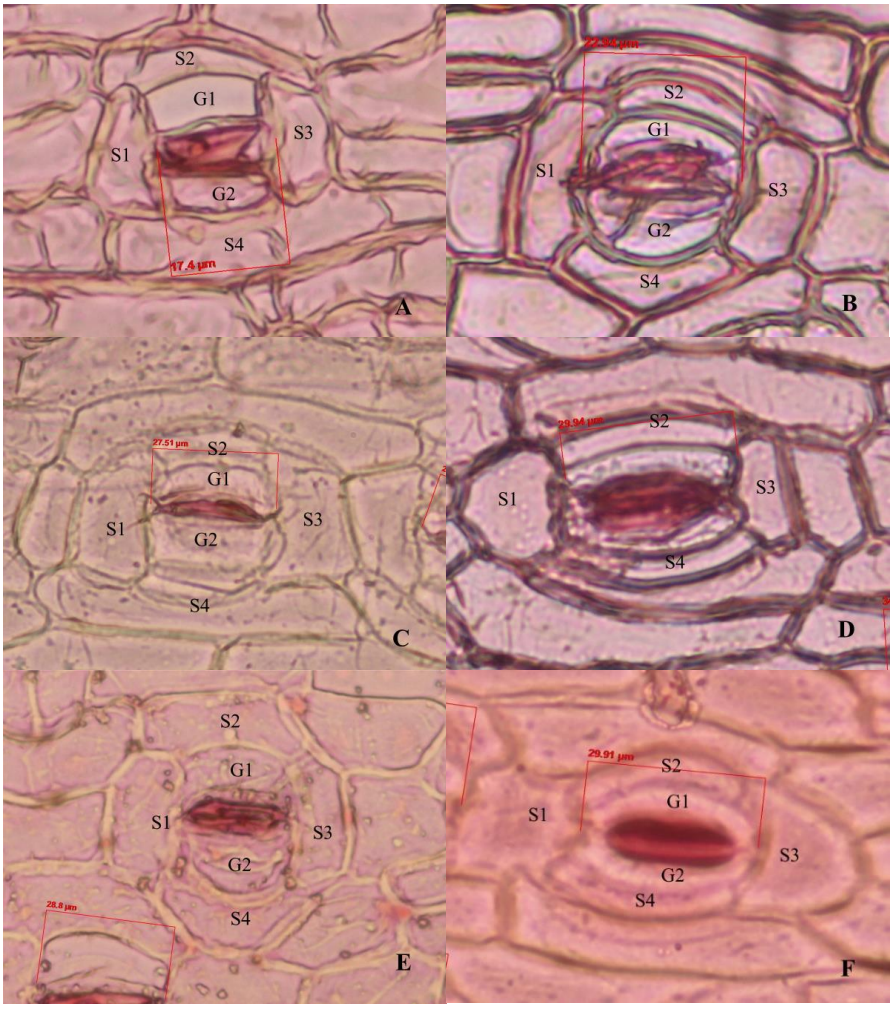

Figure 1 Tetracytic type of some wild and cultivated banana stomata with subsidiary cell type 1 which included *Musa acuminata* (1A), *Musa* (AAA) “Kluai Hom” (1C) and *Musa* (AAB) “Kluai Khai Bo Ran” (1E), and subsidiary cell type 2 that showed in *Musa balbisiana* (1B), *Musa* (BBB) “Kluai Hin” (1D) and *Musa* (ABB) “Kluai Namwa Sai Lueang”(1F). G1 and G2 indicated guard cells, and S1, S2, S3 and S4 indicated subsidiary cells. All pictures were under stereomicroscope at 40x magnification.

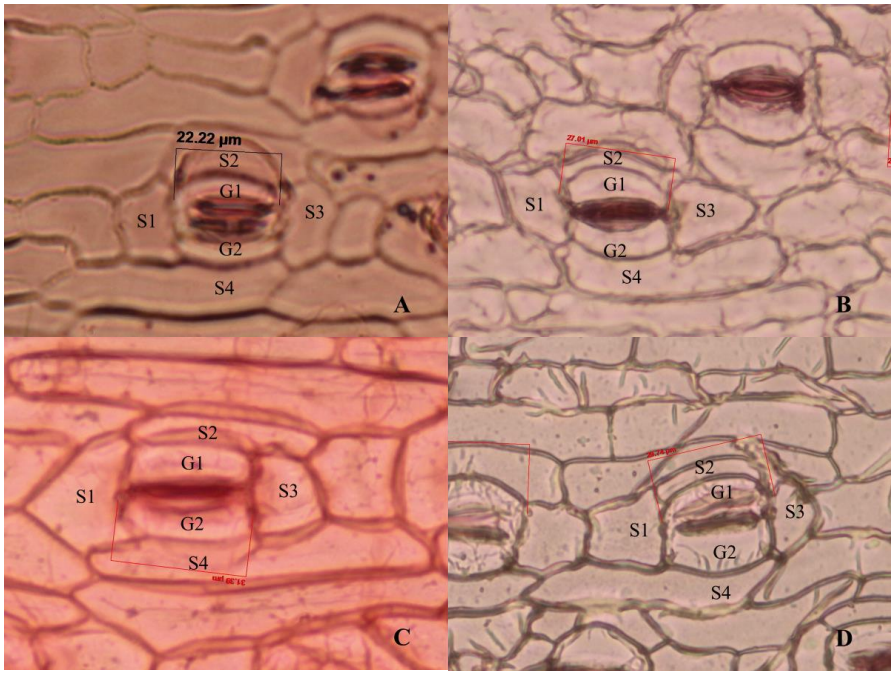

Figure 2 The variation of subsidiary cell of cultivated bananas in AAB and ABB genome; *Musa* (AAB) "Kluai Niu Jorakhe" (2A), *Musa* (AAB) "Kluai Niu Mue Nang" (2B), *Musa* (AAB) "Kluai Wan" (2C) and *Musa* (ABB) "Kluai Hak Muk Som" (2D); revealed the difference of subsidiary cell characteristic. G1 and G2 were guard cells, and S1, S2, S3 and S4 indicated subsidiary cell. All pictures were under stereomicroscope at 40x magnification.

3.4 ความยาวของเซลล์คุมและความหนาแน่นของปากใบกล้วย

ตัวอย่างปากใบกล้วยทั้ง 34 ชนิด เมื่อวัดขนาดความยาวของเซลล์คุมของแต่ละชนิดและหาความหนาแน่น พบว่าเซลล์คุมของกลุ่มกล้วยป่ากล้วยตานีมีแนวโน้มขนาดความยาวของเซลล์คุมน้อยกว่ากล้วยในกลุ่มจีโนมอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และกลุ่มกล้วยที่มีจีโนม B เป็นองค์ประกอบ พบว่ามีแนวโน้มของขนาดความยาวของเซลล์คุมมากกว่ากลุ่มกล้วยที่มีจีโนม A เป็นองค์ประกอบ (รูปที่ 3) ในกลุ่มกล้วยที่มีจีโนมหรือโครโมโซม 3 ชุด (3X, triploid) ได้แก่ AAA, AAB, ABB และ BBB พบว่ามีความยาวของเซลล์คุมยาวมากกว่ากลุ่มกล้วยที่มีจีโนมหรือโครโมโซม 2 ชุด (2X, diploid ได้แก่ AA และ BB และพบว่ากล้วยปลูกลูกผสมกลุ่มจีโนม BBB, ABB และ AAB มีความยาวของเซลล์คุมมากที่สุด คือ 29.338±0.40, 28.589±0.29 และ 27.063±3.44 ไมครอน ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ขนาดความยาวของเซลล์คุมของกลุ่มกล้วยที่มีโครโมโซม 3 ชุด นั้น สอดคล้องกับข้อมูลการศึกษากับกลุ่มกล้วยที่มีโครโมโซม 2X, 3X และ 4X ของ ภาสันต์ [16] ที่พบว่าขนาดของปากใบกล้วยที่มีจำนวนโครโมโซมหลายชุดจะมีขนาดใหญ่กว่าหรือยาวกว่ากล้วยที่มีจำนวนโครโมโซมปกติ (2X) และขนาดเซลล์ของกลุ่มพืชเททระพลอยด์ (tetraploid) และพอลิพลอยดี (polyploidy) จะมีขนาดเซลล์ใหญ่กว่าปกติ ส่งผลให้มีขนาดใบ ดอก และผล ที่มีขนาด

ใหญ่กว่ากลุ่มพืชปกติ [17] ซึ่งขนาดความยาวของเซลล์คุมที่พบในกลุ่มกล้วยตัวอย่างที่ศึกษาไม่สามารถใช้ระบุแยกชนิดกลุ่มจีโนมของกล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสมออกเป็นกลุ่มจีโนมต่าง ๆ ความหนาแน่นของปากใบกล้วยพบว่ามีความผันแปรมากในแต่ละชนิดและแต่ละกลุ่มจีโนมและไม่สามารถระบุความจำเพาะต่อกลุ่มกล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสม โดยพบความหนาแน่นของปากใบตั้งแต่ 182.50±27.66 ถึง 254.48±38.07 ตารางมิลลิเมตร ในกล้วยปลูกลูกผสมกลุ่มจีโนม AAA และ BBB ตามลำดับ ส่วนดัชนีปากใบมีความผันแปรภายในชนิดและกลุ่มจีโนมเช่นกัน โดยพบมีค่าตั้งแต่ 11.56±3.03 ถึง 18.45±2.83 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม กล้วยปลูกลูกผสมกลุ่มจีโนมที่มี B เป็นองค์ประกอบ คือ จีโนม BB และ BBB พบว่ามีค่าความหนาแน่นของปากใบและความยาวของเซลล์คุมสูงที่สุด คือ (254.48±38.07 ตารางมิลลิเมตร และ 29.338± 0.40 ไมครอน ตามลำดับ

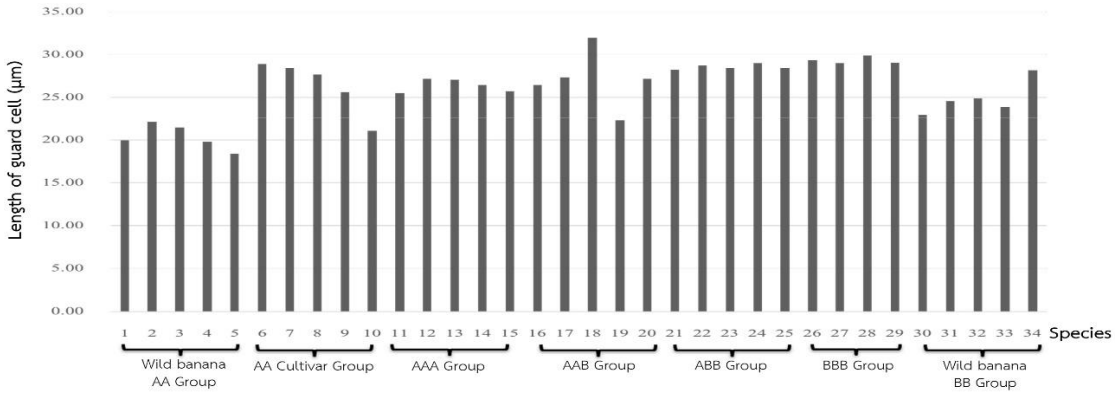

Figure 3 The guard cell length of all wild and cultivated banana samples represented in different genome groups. The list of sample names are following (1) *M. acuminata* (กล้วยป่าปลีสีส้ม), (2) *M. acuminata* (กล้วยป่าหลังสวน), (3) *M. acuminata* (กล้วยป่าคลองแม่กระสา), (4) *M. acuminata* (กล้วยป่าปางสีดา), (5) *M. acuminata* (กล้วยป่าดอยมูเซอร์), (6) *M.* (AA) “Kluai Hom San”, (7) *M.* (AA) “Kluai Khai Thong Ngei, (8) *M.* (AA) “Kluai Sa”, (9) *M.* (AA) “Kluai Khai”, (10) *M.* (AA) “Kluai Lep Mue Nang”, (11) *M.* (AAA) “Kluai Hom”, (12) *M.* (AAA) “Kluai Nak”, (13) *M.* (AAA) “Kluai Khai Phra Ta Bong”, (14) *M.* (AAA) “Kluai Hom Thip”, (15) *M.* (AAA) “Kluai Hom Karen”, (16) *M.* (AAB) “Kluai Niu Mue Nang”, (17) *M.* (AAB) “Kluai Khai Bo Ran”, (18) *M.* (AAB) “Kluai Wan”, (19) *M.* (AAB) “Kluai Niu Jorakhe”, (20) *M.* (AAB) “Kluai Roiwi”, (21) *M.* (ABB) “Kluai Hak Muk Som”, (22) *M.* (ABB) “Kluai Tib Ku”, (23) *M.* (ABB) “Kluai Hak Muk Thong”, (24) *M.* (ABB) “Kluai Namwa Sai Lueang”, (25) *M.* (ABB) “Kluai Namwa Sai Dang”, (26) *M.* (BBB) “Kluai Lep Chang Kud”, (27) *M.* (BBB) “Kluai Phama Heak Kuk”, (28) *M.* (BBB) “Kluai Hin”, (29) *M.* (BBB) “Kluai Thepanom”, (30) *M. balbisiana* (กล้วยตานี), (31) *M. balbisiana* (กล้วยตานีใต้), (32) *M. balbisiana* (กล้วยตานีดำ), (33) *M. balbisiana* (กล้วยตานีกีบม้า), (34) *M. balbisiana* (กล้วยตานีไร้เมล็ด).

Table 2 Guard cell length, stomata density and stomata index in different groups of banana genomes

No.	Genome group	Number of samples	Guard cell length average (μm)	Stomatal density (mm^2)	Stomatal index (%)
1	AA	5	20.344±1.49 [a]	218.75±35.72	13.52±4.10
2	cultivated AA	5	26.348±3.22 [c]	194.37±30.48	13.56±2.53
3	BB	5	24.910±1.97 [b]	254.48±38.07	14.28±1.66
4	AAA	5	26.401±0.76 [c]	182.50±27.66	11.56±3.03
5	BBB	4	29.338±0.40 [e]	247.40±43.11	18.45±2.83
6	AAB	5	27.063±3.44 [d]	224.58±101.52	17.00±6.77
7	ABB	5	28.589±0.29 [e]	196.46±32.55	13.88±0.65

4. สรุป

การศึกษาปากใบกล้วยป่าและกล้วยปลูกลูกผสม 34 ชนิด ที่เป็นตัวแทนของจีโนม AA, AAA, AAB, ABB, BBB และ BB พบว่าสามารถจัดจำแนกปากใบกล้วยออกได้เป็นชนิด tetracytic type และพบความผันแปรของเซลล์เสริม 2 ลักษณะ คือ เซลล์เสริมด้านขนานกับเซลล์คุมจะยืดยาวจนครอบคลุมเซลล์เสริมอีกสองเซลล์ที่วางตัวตั้งฉากกับเซลล์คุม พบในกล้วยกลุ่มจีโนม AA และ AAA และลักษณะที่ 2 เซลล์เสริมที่มีลักษณะเซลล์เรียงชิดจรดกันดูคล้ายเป็นกรอบสี่เหลี่ยม พบในกล้วยกลุ่มจีโนม BB และ BBB ซึ่งสามารถใช้ลักษณะเซลล์เสริมดังกล่าวในการแบ่งกลุ่มจีโนม AA และ BB ออกจากกันอย่างชัดเจน ส่วนกล้วยในกลุ่มจีโนม AAB และ ABB พบเซลล์เสริมมีลักษณะก้ำกึ่งระหว่างเซลล์เสริมสองลักษณะดังกล่าว ความยาวของเซลล์คุม ความหนาแน่นของปากใบ และดัชนีของปากใบ พบว่ามีความผันแปรมากระหว่างชนิดและระหว่างกลุ่มจีโนม กลุ่มกล้วยที่มีจีโนม B เป็นองค์ประกอบพบมีแนวโน้มความยาวของเซลล์คุมและความหนาแน่นของปากใบสูงที่สุด

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการและสนับสนุนทุนในการวิจัย

6. References

[1] เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2558, กล้วย, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 512 น.

[2] Simmonds, N.W. and Shepherd, K., 1955, The taxonomy and origins of the cultivated bananas, J. Linn. Soc. (Bot.) 55: 302-312.

[3] Silayoi, B. and Babpraserth, C, 1983, Banana Genetic Resource Exploration in Thailand, Report Submitted to IBPGR, Kasetsart University, Bangkok.

[4] กรมวิชาการเกษตร, 2561, กล้วยกินได้ของกรมวิชาการเกษตร, เกินคุ้ม มีเดีย, นนทบุรี, 240 น.

[5] อภิชาติ ศรีสอาด และศุภวรรณ์ ใจแสน, 2556, สารพัดกล้วยยอดนิยม, สำนักพิมพ์นาคาอินเตอร์

มีเดียร์ จำกัด, กรุงเทพฯ, 138 น.

[6] Zarinkamar, F., 2007, Stomatal observations in dicotyledons, PJBS 10: 199-219.

[7] พวงผกา สุนทรชัยนาคแสง, 2557, กายวิภาคและสัณฐานวิทยาของพืชมีดอก, สำนักพิมพ์ท้อป จำกัด, กรุงเทพฯ, 380 น.

[8] ประศาสตร์ เกื้อมณี, 2551, เทคนิคเนื้อเยื่อพืช, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพฯ, 289 น.

[9] Jain, K.K., 1976, Hydrogen peroxide and acetic acid for preparing epidermal peels from conifer leaves, Stain Technol. 51: 202-204.

[10] Salisbury, E.J., 1928, On the causes and ecological significance of stomatal frequency, with special reference to the woodland flora, Trans. R. Soc. London B 216: 1-65.

[11] ประวัติ สมเป็น, 2526, การศึกษาลักษณะสัณฐานบางประการของกล้วยที่มีจำนวนโครโมโซมต่างกัน, ปัญหาพิเศษปริญญาโท, ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 42 น.

[12] Simmonds, N.W., 1977, Bananas, In Evolution of crop plants, Longman, London.

[13] เทียมใจ คมกฤส, 2549, กายวิภาคของพฤกษ์, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 308 น.

[14] Simmonds, N.W., 1986, Classification and breeding of the banana, In Proceedings of ACAIR.

[15] Arjcharoen, A., Silayoi, B., Wanichkul, K., and Apisitwanich, S., 2010, Variation of B genome in *Musa* accessions and their new identifications, ANRES 44: 392-400.

[16] ภาสันต์ ศาลทูลทัต, 2540, การชักนำให้กล้วยไข่กลายพันธุ์ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วย colchicine และ oryzalin, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 70 น.

[17] Ravan, P.H., Berg L.R. and Hassenzahl, D.M, 2008, Environment, The McGraw-Hill, New York, 315 p.