

เอกสารอ้างอิง

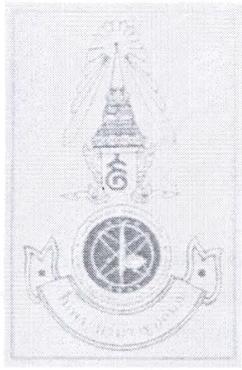
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2542. กล้วยไม้ตัดดอกเพื่อการส่งออก. ใน อะเมซิงไม้ดอกเมืองร้อน. น. 46-50
กรมส่งเสริมการเกษตร, กรุงเทพฯ.
- กาญจนา รุ่งรัชกานนท์ ศรีประไพ ธรรมแสง วรงค์ นัยวินิจ ภาคภูมิ สืบบุญการณ์ และอุทัย อันพิมพ์.
2543. รายงานผลการวิจัยเรื่องการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้แดงอุบลและศึกษาการเจริญเติบโต
ของต้นอ่อนในโรงเรือน. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 46 น.
- ครรชิต ธรรมศิริ. 2547. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. อัมรินทร์พรินตังแอนพับลิชชิง จำกัด, กรุงเทพฯ.
283 น.
- จารุภัทร ประราศรี และฉันทนา สุวรรณธาดา. 2549. การศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้ดินช้างผสม
โหลง. วารสารเกษตร 22(3): 188-193.
- ฐิติพร พิทยาอุรวินิจ. 2544. การสำรวจกล้วยไม้ป่าในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจาก
พระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯสยามมกุฎราชกุมารี พื้นที่โคกภูตา อำเภอกุเวียง
จังหวัดขอนแก่น. ศูนย์ศึกษาค้นคว้าและพัฒนาเกษตรกรรม ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คณะ
เกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 5 น.
- นภาพร วงศ์ศรีทา. 2548. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคศาสตร์บางประการของ
กล้วยไม้แดงอุบล. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.
22 น.
- ไพบูลย์ ไพรีพ่ายฤทธิ์. 2521. ตำรากล้วยไม้สำหรับผู้เริ่มต้น. ห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคลอาหารการ
พิมพ์, กรุงเทพฯ. 432 น.
- ไพบูลย์ มงคลถาวรชัย และนิยะดา ท่อนาค. ม.ป.ป. รายงานการวิจัยเรื่องการศึกษาโครโมโซมของ
กล้วยไม้สกุลช้าง. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 8 น.
- ระพี สาคริก. 2549. หอมกลิ่นกล้วยไม้ : สกุลต่อไรทิส. คม ชัด ลึก วันอาทิตย์ที่ 7 พฤษภาคม
ระพี สาคริก. 2517. การเพาะปลูกกล้วยไม้ในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย. ชวนพิมพ์,
กรุงเทพฯ. 850 น.
- ศรีประไพ ธรรมแสง กาญจนา รุ่งรัชกานนท์ ภาคภูมิ สืบบุญการณ์ และอุทัย อันพิมพ์. 2542. รายงาน
ผลการวิจัยเรื่อง การเก็บรวบรวมกล้วยไม้แดงอุบลและการศึกษาการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะ
เมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 43 น.
- ศรีประไพ ธรรมแสง กาญจนา รุ่งรัชกานนท์ วรงค์ นัยวินิจ และภาคภูมิ สืบบุญการณ์. 2544. รายงาน
ผลการดำเนินโครงการทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม โครงการอนุรักษ์กล้วยไม้แดงอุบล. คณะ
เกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 70 น.
- ศิริพร เชื้อจิ้น. 2546. การศึกษาทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์และความสมบูรณ์พันธุ์ของกล้วยไม้สกุลหวาย
บางพันธุ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2548. สรีระวิทยาของพืช. จามจุรีโปรดักท์, กรุงเทพฯ. 237 น.
- สมศักดิ์ รักไพบูลย์สมบัติ. 2535. ทำเนียบกล้วยไม้ไทย. สุริวงศ์บุ๊คเซนเตอร์, เชียงใหม่.
- Kamemoto, H., R. Tanaka and K. Kosaki. 1961. Chromosome numbers of orchids in Hawaii.
Univ. Hawaii Agr. Exp. Sta. Bull. 127:1 - 28.

- Mondin, M., J.A. Santos-Serejo and M. L.R. Aguiar-Perecin. 2006. Karyotype characterization of *Crotalaria juncea* (L.) by chromosome banding and physical mapping of 18S-5.8S-26S and 5S rRNA gene sites. Departamento de Genetica, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de Sao Paulo, Piracicaba, SP, Brazil.
- Preeda, N., T. Yanagi, K. Sone, S. Taketa and N. Okuda. 2007. Chromosome observation method at metaphase and pro-metaphase stages in diploid and octoploid strawberries. Faculty of Agriculture, Kagawa University, Ikenobe 2393, Miki-choKitagun, Kagawa 761-0795, Japan.
- Rungruchkanont, K. 1996. Studies on Seed Germination and Plant Growth Development of Thai Wild Orchid, *Aerides houlletiana* and *Acampe rigida*. M.S. Thesis, University of Mahidol, Bangkok.
- Swanson, C.P. 1957. Cytological and Cytogenetic. Prentice Hall, Inc., New Jersey. 596 p.
- Tanaka, R. and H. Kamemoto. 1984. Chromosome in orchids : Counting and numbers, p.323-410. In : J. Arditti (ed.). Orchid Biology Reviews and Perspectives, III. Cornell Univ. Press, New York.
- www.copernicusproject.ucr.edu/.../chromosome.gif
- www.sc.chula.ac.th/.../text3/subtext3/a_3-1.gif

ภาคผนวก

บทความที่ได้รับการนำเสนอในวารสารวิชาการและการประชุมวิชาการ

1. การศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้สกุลม้าวีง นำเสนอในการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 7
2. การศึกษาโครโมโซมกล้วยไม้สกุลม้าวีงจากดอกอ่อนและปลายราก นำเสนอในการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 8
3. พฤติกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสในกล้วยไม้สกุลม้าวีงและสายพันธุ์ลูกผสม นำเสนอในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48



วารสาร

ISSN 0125-0369

วิทยาศาสตร์เกษตร

AGRICULTURAL SCIENCE JOURNAL

ปีที่ 39 ฉบับที่ 3 (พิเศษ) กันยายน - ธันวาคม 2551
Vol.39 No.3 (Suppl.) September - December 2008

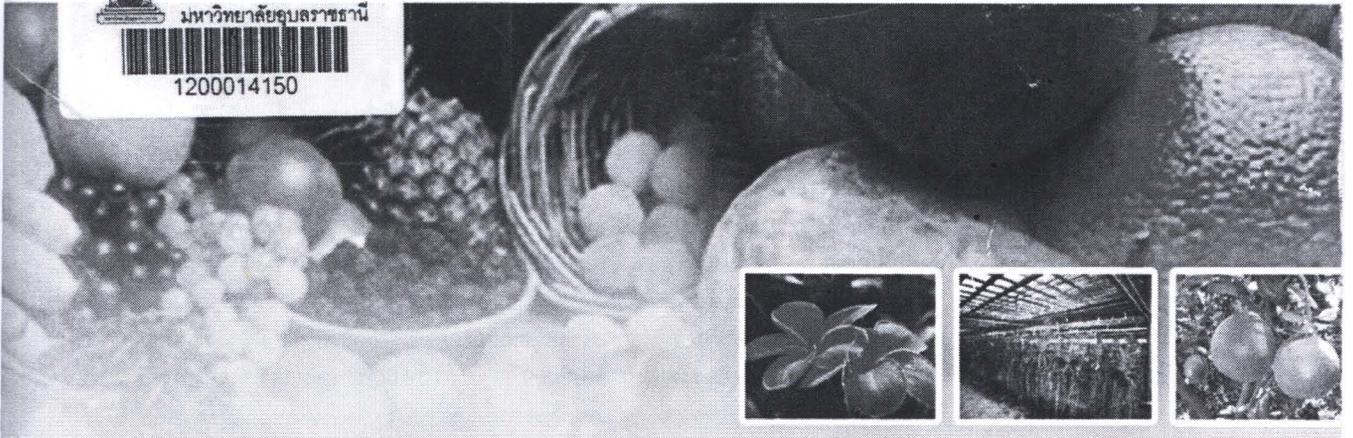


คณะเกษตรศาสตร์

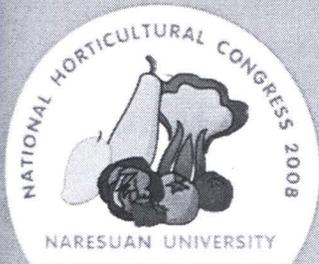
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี



1200014150



พืชสวนไทย ใต้ร่มพระบารมี



การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 7
THE 7th NATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS 2008
วันที่ 26 - 30 พฤษภาคม 2551 ณ โรงแรมอมรินทร์ลากูน อ.เมือง จ.พิษณุโลก

ภาคโปสเตอร์

จัดโดย

คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร

การศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้สกุลม้าวิง Chromosome study on *Doritis* orchid

กาญจนา รุ่งรัชกานนท์¹ ศรีประไพ ธรรมแสง¹ และ แสงเดือน พลเยี่ยม¹
Karnchana Rungruchkanont¹ Sriprapai Thummasaeng¹ and Sangdaun Phonyiam¹

Abstract

Several appropriate techniques were examined on preparation root-tip for somatic chromosome investigation of *Doritis* orchids. The experiments were 1) duration time for root-tip sampling at 7.00, 8.00, 9.00, 10.00, 11.00 and 12.00 am. 2) suitable time for root-tip sampling at 9.15, 9.30 and 9.45 am. 3) pre-treatment duration in 0.002 M 8-hydroxyquinoline of 1, 2, 3, 4, 5, 6, and 7 hours. The most suitable technique of root-tip preparation for chromosome investigation was a duration time for root-tip sampling between 9.00 – 10.00 am. The most suitable time during this period was 9.15 am. and the root-tip should be fix in 8- hydroxyquinoline at least 1 hour. Chromosome numbers from root-tip of *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana* are $2n = 76$.

Keyword: Chromosome, *Doritis* orchid, Root-tip

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากของกล้วยไม้สกุลม้าวิงเพื่อศึกษาลักษณะโครโมโซม โดยการทดลองประกอบด้วย 1) การหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างปลายราก ทำการทดลองเก็บตัวอย่างปลายรากเวลา 7.00, 8.00, 9.00, 10.00, 11.00, และ 12.00 น. 2) การหาเวลาที่เหมาะสมที่สุดระหว่าง 9.00 น. ถึง 10.00 น. ทำการทดลองเก็บปลายรากเวลา 9.15, 9.30, และ 9.45 น. 3) การหาความยาวนานที่เหมาะสมในการหยุดวงซีเทิลโดยแช่ปลายรากในสารละลาย 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002 M นาน 1, 2, 3, 4, 5, 6, และ 7 ชั่วโมง จากผลการทดลองสามารถสรุปวิธีปฏิบัติที่เหมาะสมในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากของกล้วยไม้สกุลม้าวิงเพื่อศึกษาโครโมโซม พบว่า ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างปลายรากคือเวลา 9.00 น. ถึง 10.00 น. และเวลาที่เหมาะสมที่สุดคือเวลา 9.15 น. ส่วนความยาวนานที่เหมาะสมในการหยุดวงซีเทิลด้วยสารละลาย 8-hydroxyquinoline ควรแช่อย่างน้อย 1 ชั่วโมง จากการตรวจนับจำนวนโครโมโซม พบว่า เซลล์ปลายรากของกล้วยไม้แดงอุบล มีจำนวนโครโมโซม $2n = 76$
คำสำคัญ: กล้วยไม้สกุลม้าวิง, โครโมโซม, ปลายราก

คำนำ

กล้วยไม้สกุลม้าวิง (*Doritis*) เป็นกล้วยไม้ที่ขึ้นอยู่ตามพื้นดิน ขอกหินและแอ่งหิน ที่มีอินทรีย์วัตถุทับถม ลักษณะต้นจะสั้น ใบแบนค่อนข้างหนา ใบมีสีเขียวหรือสีเขียวอมม่วง ช่อดอกตั้ง ช่อดอกยาวแข็งและตรง ดอกมีสีแดงอ่อนๆไปจนถึงสีแดงอมม่วง ดอกจะทยอยบานขึ้นไปเรื่อยๆจนถึงปลายช่อดอก (ระพี, 2549) กล้วยไม้สกุลม้าวิงที่พบกระจายพันธุ์ในประเทศไทยมี 4 สายพันธุ์คือ ม้าวิง (*Doritis pulcherrima*) พบทั่วไปทั้งในภาคกลาง ภาคใต้ ภาคเหนือ ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แดงอุบล (*Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana*) พบในแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดอุบลราชธานี ศรีสะเกษ ม้าบิน (*Doritis pulcherrima* var. *chumpornensis*) พบที่ภาคใต้ เช่น จังหวัดชุมพร และ *Doritis pulcherrima* var. *coerulea* (ไม่มีชื่อพื้นเมือง) พบทั่วไปในภาคเหนือ ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (สมศักดิ์, 2535) ซึ่งกล้วยไม้สายพันธุ์ม้าวิงและแดงอุบลจะมีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก แต่แดงอุบลจะมีขนาดดอก ลำต้นและใบ ใหญ่กว่าม้าวิง การที่กล้วยไม้มีสวนต่างๆใหญ่ขึ้น เนื่องจากมีโครโมโซมมากกว่าปกติ ระพี (2517) กล่าวว่า กล้วยไม้พันธุ์แดงอุบลนี้เป็นเตตระพลอยด์ มีจำนวนโครโมโซม $2n = 76$ แต่กล้วยไม้ม้าวิงเป็นดิพลอยด์ มีโครโมโซม $2n = 38$ ซึ่งเป็นจำนวนปกติ สันนิฐานว่าพันธุ์แดงอุบลที่เป็นเตตระพลอยด์นี้น่าจะกลายพันธุ์มาจากม้าวิง ในการวิจัยครั้งนี้ต้องการศึกษาลักษณะโครโมโซมของกล้วยไม้ในสกุลม้าวิงโดยเฉพาะม้าวิงและแดงอุบล เพื่อหาความสัมพันธ์ทางด้านอนุกรมวิธานและเป็นประโยชน์ในด้านการ

¹ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จ. อุบลราชธานี 34190

¹ Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ubon Rajathane University, Ubon Ratchathani 34190

ปรับปรุงพันธุ์ โดยในเบื้องต้นจะทำการศึกษาด้านเทคนิคที่เหมาะสมในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากของกล้วยไม้สกุลม้าวิ่ง เนื่องจากเป็นวิธีการพื้นฐานที่จะนำไปใช้ศึกษาจำนวนโครโมโซมและลักษณะของโครโมโซม

วิธีการทดลอง

ศึกษาโครโมโซมจากปลายรากอ่อนของต้นกล้วยไม้สกุลม้าวิ่งสายพันธุ์แดงอุบลที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ เลือกรากที่กำลังมีการเจริญโดยสังเกตจากรากที่มีสีเขียวใสและปลายรากมีสีขาวขุ่นเล็กน้อย ขึ้นต้นศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างรากโดยทำการเก็บตัวอย่างปลายรากอ่อนในเวลา 7.00, 8.00, 9.00, 10.00, 11.00, และ 12.00 น. และศึกษาเวลาที่เหมาะสม โดยเก็บปลายรากอ่อนในเวลา 9.15, 9.30 และ 9.45 น. ทำการตัดส่วนปลายของรากมา 1-2 มิลลิเมตร แล้วหยดวงซีฟของเซลล์เนื้อเยื่อปลายรากในสารละลาย 8- hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002 M เป็นเวลานาน 3-5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส แล้วเท 8- hydroxyquinoline ออก ล้างด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง จากนั้นตรึงเซลล์ในน้ำยาคาร์นอย (Carnoy's solution) สูตรดัดแปลงโดย Kamemoto *et al.*, 1961 แล้วแช่ในตู้เย็น อย่างน้อย 1 ชั่วโมง แต่ไม่เกิน 1 เดือน เพื่อให้สภาพโครโมโซมคงที่ ล้างปลายรากให้สะอาดก่อนนำไปย้อมแยกเซลล์ใน 1 N HCl ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 2-3 นาที ล้างน้ำ 4-5 ครั้ง เก็บตัวอย่างรากในกรดน้ำส้ม 45 % อย่างน้อย 1 ชั่วโมง แต่ไม่เกิน 1 เดือน นำปลายรากวางบนแผ่นสไลด์ ตัดเฉพาะปลายรากยาวประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร (ต้องเขียนหมายเลข root cap ออกเสียก่อน) หยดสี orcein 1-2 หยด แล้วใช้ปลายเข็มแยกเซลล์ของปลายรากออกจากกันให้มากที่สุดแล้วทิ้งไว้ 5-10 นาทีในกล่องชื้นซึ่งอ้อมด้วยเอกรดน้ำส้ม 45 % เพื่อให้โครโมโซมติดสี นำแผ่นสไลด์ มาปิดด้วย cover slip แล้วผ่านเปลวไฟจากตะเกียงแอลกอฮอล์ พยายามวางสไลด์ บนแผ่นกระดาษซับใช้แผ่นกระดาษซับอีกแผ่นวางทับด้านบน ใช้นิ้วหัวแม่มือค่อยวางบนกระดาษซับกดลงไปแนวตั้งฉากเพื่อให้เซลล์แบนที่สุดเท่าที่จะทำได้ ซับสีส่วนเกินออก นำแผ่นสไลด์ ไปศึกษาเซลล์ปลายรากใต้กล้องจุลทรรศน์เลือกเซลล์ที่นิวเคลียสมีการแบ่งตัวอยู่ในระยะเมตาเฟส นับจำนวนโครโมโซม แล้วบันทึกภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อได้เวลาที่เหมาะสมคือ 9.15 น. แล้วจึงทำการศึกษาค้นหาความยาวของโครโมโซมในกรณีของเซลล์ ด้วยสารละลาย 8- hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002 M นาน 1, 2, 3, 4, 5, 6, และ 7 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส ตามด้วยขั้นตอนต่างๆในการศึกษาโครโมโซมปลายรากดังที่กล่าวมาข้างต้น

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาด้านเทคนิคในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากของกล้วยไม้สกุลม้าวิ่งเพื่อศึกษาโครโมโซมครั้งนี้เป็นการนำวิธีการศึกษาโครโมโซมจากเนื้อเยื่อพืชโดยวิธีซีฟ โดยการแบ่งระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างและความยาวนานในการหยดวงซีฟเซลล์ที่แตกต่างกัน เพื่อได้วิธีที่เหมาะสมที่สุดในการปฏิบัติ ผลการทดลองมีดังนี้

1. ช่วงเวลาที่เหมาะสมที่สุดตั้งแต่ 7.00 น. ถึง 12.00 น.

การเก็บตัวอย่างปลายรากในช่วงเวลา 7.00, 8.00, 9.00, 10.00, 11.00, และ 12.00 น. แล้วนำแต่ละวิธีไปผ่านขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากเพื่อศึกษาโครโมโซมนั้น พบว่าการเก็บปลายรากที่เวลา 7.00 น. ได้เซลล์ปลายรากที่อยู่ในระยะโพรเฟส การเก็บปลายรากที่เวลา 8.00 น. นั้นได้เซลล์ปลายรากที่อยู่ในระยะเริ่มต้นของเมตาเฟส โครโมโซมมีการหดตัวเล็กน้อย แท่งโครโมโซมมีลักษณะบางและยาว ส่วนการเก็บปลายรากในช่วงเวลา 9.00 น. ได้เซลล์ที่มีโครโมโซมหดตัวสั้นเป็นแท่งเห็นได้ชัดเจน สามารถตรวจนับจำนวนของโครโมโซมได้ แต่เซลล์ที่อยู่ในระยะนี้ยังมีจำนวนไม่มากนัก ที่ช่วงเวลา 10.00 น. ภายในเซลล์เริ่มมีการแยกตัวของโครโมโซมไปที่ขั้วเซลล์ทั้งสองด้าน และการเก็บที่เวลา 11.00 น. เซลล์ส่วนใหญ่อยู่ในระยะแอนาเฟสคือมีการแบ่งกลุ่มออกเป็น 2 กลุ่มที่ขั้วเซลล์ทั้งสองด้าน การเก็บปลายรากที่เวลา 12.00 น. พบว่าเซลล์ส่วนใหญ่อยู่ในระยะเทโลเฟส เริ่มมีการสร้างผนังเซลล์กันระหว่างเซลล์ทำให้สามารถมองเห็นได้ชัดเจนว่าแยกเป็น 2 เซลล์ (Figure 1, A - F)

2. ช่วงเวลาที่เหมาะสมที่สุดระหว่าง 9.00 น. ถึง 10.00 น.

การทดลองนี้เป็นทดลองที่สืบเนื่องมาจากข้อ 1 โดยเก็บตัวอย่างปลายรากที่เวลา 9.15, 9.30 และ 9.45 น. ผลการทดลองปรากฏว่าที่เวลา 9.15 น. พบเซลล์ที่อยู่ในระยะเมตาเฟสจำนวนมาก รูปร่างของโครโมโซมมีลักษณะเป็นแท่งหัดสั้นเห็นได้ชัดเจน สามารถตรวจนับจำนวนโครโมโซมได้ ส่วนที่เวลา 9.30 น. เซลล์ที่พบส่วนใหญ่มีลักษณะหัดสั้น แต่ไม่กระจายตัวรวมเป็นกระจุกเห็นโครโมโซมไม่ชัดเจน และที่เวลา 9.45 น. โครโมโซมมีลักษณะหัดตัวสั้น เซลล์ส่วนใหญ่เริ่มเข้าสู่อานาเฟสเริ่มมีการดึงโครโมโซมไปที่ขั้วเซลล์ของด้านตรงข้าม (Figure 1, G - I) การหาเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างรากของกล้วยไม้มีความสำคัญอย่างยิ่ง เนื่องจากจะได้เซลล์ของพืชที่นิวเคลียสมีการแบ่งตัวอยู่ในระยะเมตาเฟสเป็นจำนวนมาก ทำให้ง่ายต่อการศึกษาโครโมโซม ในกล้วยไม้แต่ละชนิดมีเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างรากที่แตกต่างกัน เช่น กล้วยไม้ดินช้าง

ผสมไข่ ควรเก็บปลายรากเวลา 11.00 น.(จารุภัทร และฉันทนา, 2549) กุหลาบเหลืองโคราซและข้างสารภี ควรเก็บตัวอย่าง รากเวลา 8.30-9.00 น.(Rungruchkanont, 1996) กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมควรเก็บตัวอย่างช่วงระหว่าง 7.00 – 10.00 น. (ศิริพร, 2546)

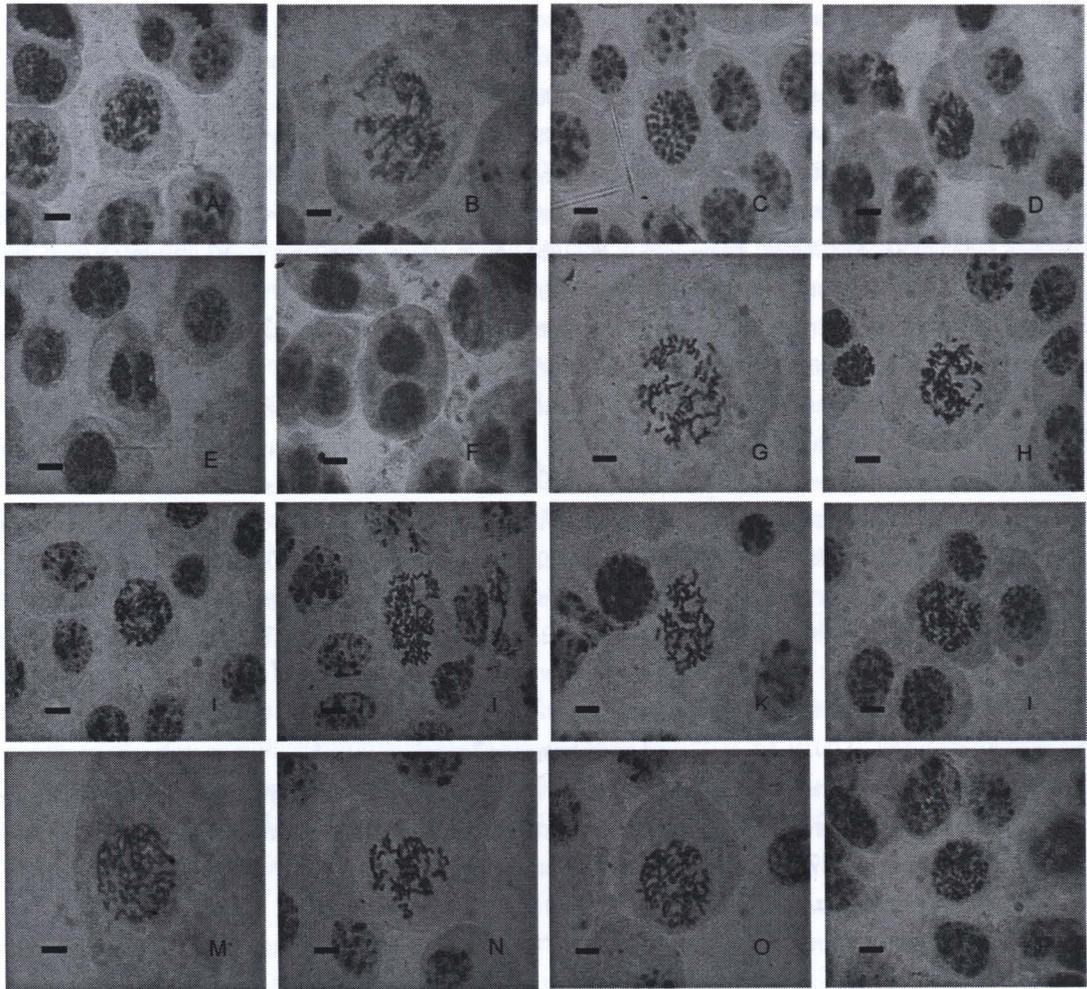


Figure 1 Somatic chromosome of *Doritis* root-tip cells:

(A – F) sampling at different duration of time; (A) 7.00 am. chromosomes in prophase, (B) 8.00 am. chromosome in early metaphase, (C) 9.00 am. chromosomes in metaphase, (D) 10.00 am. chromosome in early anaphase, (E) 11.00 am. chromosomes in anaphase, (F) 12.00 am. chromosomes in telophase
 (G – I) sampling between 9.00 – 10.00 am.; (G) 9.15 am. most chromosomes in metaphase , (H) 9.30 am. chromosomes in late metaphase, (I) 9.45 am. chromosomes in early anaphase
 (J – P) treated root- tip in 0.002 M 8 – hydroxyquinoline at different duration time; (J) 1 hour, (K) 2 hours, (L) 3 hours, (M) 4 hours, (N) 5 hours, (O) 6 hours, (P) 7 hours

Bar = 10 μ m

3. ความยาวนานที่เหมาะสมในการหยุดวงซีเฟลลล์

การทดลองหยุดวงซีเฟลลล์ในสารละลาย 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002 M ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส นาน 1, 2, 3, 4, 5, 6, และ 7 ชั่วโมง โดยใช้ปลายรากที่เก็บเวลา 9.15 น. พบว่าให้ผลที่ไม่แตกต่างกันคือ ภายในเซลล์มีโครโมโซมที่หดตัวสั้น เห็นรูปร่างของโครโมโซมได้ชัดเจน (Figure 1, J - P) ดังนั้นจึงเป็นวิธีการที่ดีที่ช่วยลดเวลาในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากโดยที่ไม่ต้องใช้เวลาในการหยุดวงซีเฟลลล์เป็นเวลานานก็สามารถเห็นโครโมโซมชัดเจนและตรวจนับจำนวนได้ ถ้าทำการเก็บตัวอย่างรากในเวลาที่เหมาะสม ซึ่งตามวิธีการมาตรฐานของ Tanaka และ Kamemoto (1984) ใช้เวลานานตอนนี้นาน 3-5 ชั่วโมง

4. จำนวนโครโมโซม

การศึกษาโครโมโซมจากเซลล์ปลายราก พบว่า กล้วยไม้แดงอุบลมีจำนวนโครโมโซม $2n = 76$ (Figure 2) ซึ่งผลการศึกษานี้ได้สอดคล้องกับที่ Tanaka และ Kamemoto (1984) ได้รายงานว่ากล้วยไม้แดงอุบลมีจำนวนโครโมโซม $2n = 76$

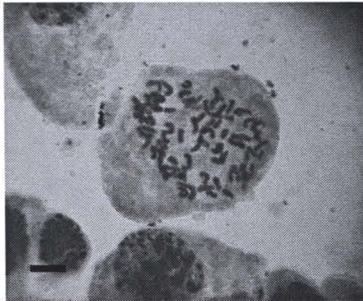


Figure 2 Chromosome numbers of *Doritis pulcherrima* var. *buissonianana*, $2n = 76$, Bar = 10 μ m

สรุป

การทดลองเพื่อหาเทคนิคที่เหมาะสมในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากของกล้วยไม้สกุลม้าวิง เพื่อศึกษาโครโมโซมพบว่าวิธีที่เหมาะสมที่สุดคือ การเก็บตัวอย่างปลายรากที่เวลา 9.15 น. แซ่ตัวอย่างปลายรากเพื่อหยุดวงซีเฟลลล์ในสารละลาย 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002 M นาน 1 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำไปผ่านขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อปลายราก และจากการตรวจนับจำนวนโครโมโซม พบว่า เซลล์ปลายรากของกล้วยไม้แดงอุบล มีจำนวนโครโมโซม $2n = 76$

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย และคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้การสนับสนุนด้านสถานที่ อุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ

เอกสารอ้างอิง

- จารุภัทร ประวาศรี และฉันทนา สุวรรณธาดา. 2549. การศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้ดินช้างผสมไขลิง. วารสารเกษตร 22(3): 188-193.
ระพี สาคริก. 2549. หอมกลิ้งกล้วยไม้ : สกุลตลอดโรหิต. คม ชัด ลึก วันอาทิตย์ที่ 7 พฤษภาคม
ระพี สาคริก. 2517. การเพาะปลูกกล้วยไม้ในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย. ชวนพิมพ์. กรุงเทพฯ.
ศิริพร เชื้อจีน. 2546. การศึกษาทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์และความสมบูรณ์พันธุ์ของกล้วยไม้สกุลหวายบางพันธุ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
สมศักดิ์ รักไพบูลย์สมบัติ. 2535. ทำเนียบกล้วยไม้ไทย. สุริวงค์บุ๊คเซนเตอร์, เชียงใหม่.
Kamemoto, H., R. Tanaka and K. Kosaki. 1961. Chromosome numbers of orchids in Hawaii. Univ. Hawaii Agr. Exp. Sta. Bull. 127:1 - 28.
Rungruchkanont, K. 1996. Studies on Seed Germination and Plant Growth Development of Thai Wild Orchid, *Aerides houlletiana* and *Acampe rigida*. M.S. Thesis, University of Mahidol.
Tanaka, R. and H. Kamemoto. 1984. Chromosome in orchids : Counting and numbers, p.323-410. In : J. Arditti (ed.). Orchid Biology Reviews and Perspectives, III. Cornell Univ. Press, New York.

การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 7
THE 7th NATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS 2008



ขออวยไปประกาศเกียรติคุณรางวัลชมเชย

ในการนำเสนอผลงานภาคโปสเตอร์ สาขา ไม้ดอก ไม้ประดับ
ประเภทนักวิจัย

ให้แก่

คุณกนกษา รุ่งรัศมีกานนท์

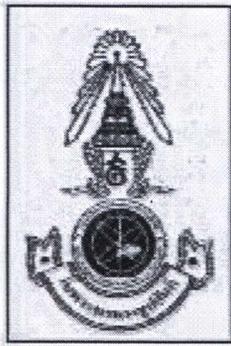
มอบให้ไว้ ณ วันที่ 29 พฤษภาคม พ.ศ. 2551

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิระศักดิ์ ฉายประสาท)

คณบดีคณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ว จังหวัดพิษณุโลก

NARESUAN UNIVERSITY



วารสาร

ISSN 0125-0369

วิทยาศาสตร์เกษตร

AGRICULTURAL SCIENCE JOURNAL

ปีที่ 40 ฉบับที่ 3 (พิเศษ) กันยายน - ธันวาคม 2552

Vol.40 No.3 (Suppl.) September - December 2009



“พืชสวนไทยบนเส้นทางสู่ความยั่งยืน”



การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ ๘

THE 8th NATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS 2009

6-9 พฤษภาคม 2552 ณ โรงแรม ดิ เอ็มเพรส เชียงใหม่

จัดโดย คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ภาคโปสเตอร์

การศึกษาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงจากดอกอ่อนและปลายราก
Study on Chromosome Numbers of *Doritis* Orchid from Flower Buds and Root Tips

กาญจนา รุ่งรัชกานนท์¹
Karnchana Rungruchkanont¹

Abstract

Chromosome numbers of three *Doritis* orchid varieties, *Dor. pulcherrima* var. *buyssonianana*, *Dor. pulcherrima* and *Dor. pulcherrima* var. *chumpornnensis* were investigated during meiotic and mitotic cell division. Meiotic chromosome numbers from flower buds of $n = 38$ were reported for *Dor. pulcherrima* var. *buyssonianana*; and $n = 19$ for *Dor. pulcherrima* and *Dor. pulcherrima* var. *chumpornnensis*. Somatic chromosome numbers from root tips of *Dor. pulcherrima* var. *buyssonianana*, *Dor. pulcherrima*, and *Dor. pulcherrima* var. *chumpornnensis* were $2n = 76$, $2n = 38$ and $2n = 38$ respectively.

Keywords: Chromosome, *Doritis* spp., Orchid

บทคัดย่อ

การศึกษาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้สกุลม้าวิง 3 สายพันธุ์ คือ กล้วยไม้แดงอุบล กล้วยไม้ม้าวิง และกล้วยไม้ม้าบิน ได้ทำการศึกษานับจำนวนโครโมโซมเมื่อมีการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์จากดอกอ่อนและเมื่อมีการแบ่งเซลล์ร่างกายจากปลายราก ผลการศึกษาพบว่า จำนวนโครโมโซมจากดอกอ่อนของกล้วยไม้แดงอุบล $n = 38$ กล้วยไม้ม้าวิง $n = 19$ และกล้วยไม้ม้าบิน $n = 19$ ส่วนจำนวนโครโมโซมจากปลายรากของกล้วยไม้แดงอุบล $2n = 76$ กล้วยไม้ม้าวิง $2n = 38$ และกล้วยไม้ม้าบิน $2n = 38$

คำสำคัญ: กล้วยไม้ โครโมโซม สกุลม้าวิง

คำนำ

การศึกษาจำนวนโครโมโซมสามารถทำได้ขณะที่พืชมีการแบ่งเซลล์ ทั้งเซลล์ร่างกาย (mitotic cell division) และเซลล์สืบพันธุ์ (meiotic cell division) mitotic cell division หรือ mitosis เป็นการแบ่งเซลล์ร่างกายเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ให้มากเป็นทวีคูณ ทำให้สิ่งมีชีวิตเจริญเติบโตและถ่ายทอดลักษณะพันธุกรรมไปยังเซลล์ลูก โดยมีสารพันธุกรรม (genetic material) เหมือนเซลล์เดิมทุกประการ การศึกษาจำนวนโครโมโซมโดยการแบ่งเซลล์แบบ mitosis จึงนิยมทำในส่วนของปลายรากที่กำลังเจริญ จำนวนโครโมโซมที่ได้คือ $2n$ เท่ากับเซลล์ตั้งต้น ส่วน meiotic cell division หรือ meiosis เป็นการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์ที่มีการลดจำนวนโครโมโซมลงครึ่งหนึ่งของเซลล์ตั้งต้น จำนวนโครโมโซมที่ได้คือ n นิยมศึกษาโครโมโซมจากส่วนของ pollen mother cell (PMC) ในอับเรณู เพราะมีจำนวนมาก (นิตยศิริ, 2542) การศึกษาโครโมโซมนิยมศึกษาจากเซลล์ร่างกายเนื่องจากเห็นรูปร่างได้ชัดเจนกว่า ทำให้นับจำนวนโครโมโซมได้ง่าย และสามารถศึกษา kariotype เพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ ศึกษาอนุกรมวิธานและวิวัฒนาการ การศึกษาโครโมโซมจาก PMC ในดอกอ่อนใช้ในการศึกษาการจับคู่ของโครโมโซมที่เหมือนกันหรือทำนายการเจริญพันธุ์ การนับจำนวนโครโมโซมทำได้ง่ายกว่าในด้านของจำนวน เนื่องจากนับจำนวนโครโมโซมขณะที่โครโมโซมคู่เหมือนจับคู่แบบชิดกันเป็น bivalent ในระยะ diakinesis ทำให้เห็นจำนวนโครโมโซมลดลงครึ่งหนึ่ง นอกจากนั้นการศึกษาโครโมโซมจากดอกอ่อน *Arabidopsis thaliana* ในระยะ pachytene ยังสามารถใช้ในการศึกษารูปร่าง จำแนกโครโมโซมโดยการติดสีบนโครโมโซมด้วยวิธี Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) (Schubert *et al.*, 2001)

กล้วยไม้สกุลม้าวิงเป็นกล้วยไม้สกุลเล็กๆ ที่มีการกระจายพันธุ์ในประเทศไทย ที่นิยมปลูกเลี้ยงและนำมาใช้ในการเป็นพ่อแม่พันธุ์คือ กล้วยไม้แดงอุบล (*Doritis pulcherrima* var. *buyssonianana*) กล้วยไม้ม้าวิง (*Doritis pulcherrima*) และกล้วยไม้ม้าบิน (*Doritis pulcherrima* var. *chumpornnensis*) มีรายงานการศึกษานับจำนวนโครโมโซมจากปลายราก กล้วยไม้แดงอุบล $2n = 76$ กล้วยไม้ม้าวิง $2n = 38$ และจำนวนโครโมโซมจากดอกอ่อนกล้วยไม้ม้าวิง $n = 19$ (กาญจนา และคณะ,

¹ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อุบลราชธานี 34190

² Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani, Thailand 34190

* Corresponding author: rungruchk@hotmail.com

2551; Tanaka and Kamemoto, 1984) แต่ยังไม่มียารายงานจำนวนโครโมโซมกล้วยไม้ม้าบิน หรือการศึกษาโครโมโซมจากเซลล์สืบพันธุ์ของกล้วยไม้แดงอุบลและกล้วยไม้ม้าบิน และการศึกษาลักษณะคาร์ิโอไทป์ของกล้วยไม้สกุลนี้ จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความโดดเด่นของดอกที่แตกต่างกันในกล้วยไม้สกุลม้าวิ่ง ทำให้ผู้วิจัยสนใจศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของกล้วยไม้สกุลนี้ การศึกษาโครโมโซมจากดอกอ่อนและปลายรากครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้สกุลม้าวิ่งแต่ละชนิด เพื่อเป็นพื้นฐานในการศึกษารูปร่างและจำแนกโครโมโซม รวมทั้งพฤติกรรมการจับคู่ของโครโมโซม อันจะเป็นประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์และศึกษาด้านวิวัฒนาการในอนาคต

วิธีการทดลอง

การศึกษาโครโมโซมกล้วยไม้สกุลม้าวิ่งจากดอกอ่อนและระยะการแบ่งเซลล์แบบ meiosis

เลือกดอกตูมของกล้วยไม้สกุลม้าวิ่ง 3 สายพันธุ์ คือ แดงอุบล ม้าวิ่ง และม้าบิน ที่มีขนาดประมาณ 1 ใน 4 ของดอกตูมใกล้บาน เก็บดอกในช่วงเวลา 9.00-10.00 น. ผ่าดอกและแกะก้อนเรณู (pollinia) จำนวนเล็กน้อยวางบน slide หยด acetic acid 45% ที่อุณหภูมิ 10°C เป็นเวลา 5 นาที ซับกรด acetic acid ออกแล้วย้อมด้วยสี aceto-orcein 1-2 หยด เป็นเวลา 2-3 นาที ปิด cover slip แล้วให้ความร้อน หลังจากนั้นใช้ปลายดินสอเคาะเบาๆ เพื่อให้โครโมโซมกระจายตัว ซับสีส่วนเกินออก เลือกเซลล์ที่มีการแบ่งตัวในระยะ diakinesis จำนวน 10 เซลล์ เพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซม และเลือกเซลล์อื่นๆ เพื่อศึกษาระยะต่างๆ ของการแบ่งเซลล์ pollen mother cell (PMC) ทำการบันทึกภาพได้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า

การศึกษาโครโมโซมกล้วยไม้สกุลม้าวิ่งจากปลายราก

ศึกษาโครโมโซมจากปลายรากอ่อนของต้นกล้วยไม้สกุลม้าวิ่ง 3 สายพันธุ์ โดยใช้รากกล้วยไม้แดงอุบลและกล้วยไม้ม้าวิ่งที่อยู่ในโรงเรือนสภาพธรรมชาติ และรากกล้วยไม้ม้าบินที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ เลือกรากที่กำลังมีการเจริญโดยสังเกตจากรากที่มีสีเขียวใสและปลายรากมีสีขาวขุ่นเล็กน้อย ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างรากโดยทำการเก็บตัวอย่างปลายรากอ่อนในช่วงเวลา 9.00 น. ถึง 10.00 น. ทำการตัดส่วนปลายของรากมา 1-2 มิลลิเมตร แล้วหุ่ยดวงซีพของเซลล์เนื้อเยื่อปลายรากในสารละลาย 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002 M เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 10°C แล้วเท 8-hydroxyquinoline ออก ล้างด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง จากนั้นตรึงเซลล์ในน้ำยาคาร์นอย (Carnoy's solution) แล้วแช่ในตู้เย็น อย่างน้อย 1 ชั่วโมง ล้างปลายรากให้สะอาดก่อนนำไปย่อยแยกเซลล์ใน 1 N HCl ที่อุณหภูมิ 60°C นาน 2-3 นาที ล้างน้ำ 4-5 ครั้ง เก็บตัวอย่างรากใน acetic acid 45 % อย่างน้อย 1 ชั่วโมง นำปลายราก วางบนแผ่น slide ตัดเฉพาะปลายรากยาวประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร หยดสี aceto-orcein 1-2 หยด แล้วให้ปลายเติมเขี่ยแยกเซลล์ของปลายรากออกจากกันให้มากที่สุดแล้วทิ้งไว้ 5-10 นาที ในกล่องขึ้นซึ่งอ้อมตัวด้วยไอ acetic acid 45 % นำแผ่น slide มาปิดด้วย cover slip แล้วผ่านเปลวไฟจากตะเกียง alcohol พออุ่นวาง slide บนแผ่นกระดาษซับใช้แผ่นกระดาษซับอีกแผ่นวางทับด้านบน ใช้นิ้วหัวแม่มือค่อยวางบนกระดาษซับกดลงไปในแนวตั้งฉากเพื่อให้เซลล์แบนที่สุดเท่าที่จะทำได้ นำแผ่น slide ไปศึกษาเซลล์ปลายรากได้กล้องจุลทรรศน์เลือกเซลล์ที่นิวเคลียสมีการแบ่งตัวอยู่ในระยะ metaphase จำนวน 10 เซลล์ นับจำนวนโครโมโซมแล้วบันทึกภาพได้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาโครโมโซมกล้วยไม้สกุลม้าวิ่งจากดอกอ่อนและระยะการแบ่งเซลล์แบบ meiosis

การศึกษาจำนวนโครโมโซมจากดอกอ่อนและระยะการแบ่งเซลล์แบบ meiosis ของกล้วยไม้สกุลม้าวิ่ง พบว่าในดอกตูมที่มีขนาดเล็กเป็นระยะที่เหมาะสมในการศึกษาการแบ่งเซลล์แบบ meiosis เรณูแต่ละเรณูที่กำลังแบ่งเซลล์จะมีระยะการแบ่งเซลล์ที่แตกต่างกัน แต่เนื่องจากเรณูมีจำนวนมากและการแบ่งเซลล์เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วจึงทำให้สามารถเห็นระยะการแบ่งเซลล์ prophase metaphase anaphase telophase และการแบ่ง meiosis ระยะที่สอง จนได้ microspore quartet (Figure 1) กล้วยไม้ส่วนใหญ่มีการแบ่งเซลล์ของ PMC เกิดขึ้นพร้อมกัน แต่ในกล้วยไม้สกุลม้าวิ่งพบการแบ่งเซลล์ของ PMC เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเหมือนกล้วยไม้บางชนิดในสกุล Paphiopedilum Selenipedium และ Cypridium (Yeung, 1987) การนับจำนวนโครโมโซมจากเซลล์สืบพันธุ์ในระยะ diakinesis ของการแบ่งเซลล์แบบ meiosis ใน PMC เป็นการนับขณะที่โครโมโซมดูเหมือนจับคู่และแนบชิดกันทำให้เห็นจำนวนโครโมโซมลดลงครึ่งหนึ่ง โดยพบว่ากล้วยไม้แดงอุบลมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 38 ส่วนกล้วยไม้ม้าวิ่งและม้าบิน มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 19 (Figure 2) การนับโครโมโซมจากเซลล์สืบพันธุ์มีประโยชน์มากในกรณีที่มีพืชนั้นมีจำนวนโครโมโซมมาก ซึ่งทำให้การนับง่ายขึ้นและความผิดพลาดน้อยกว่าการนับจำนวนโครโมโซมแต่ละแท่งจากเซลล์ร่างกาย (Tyagi, 2002)

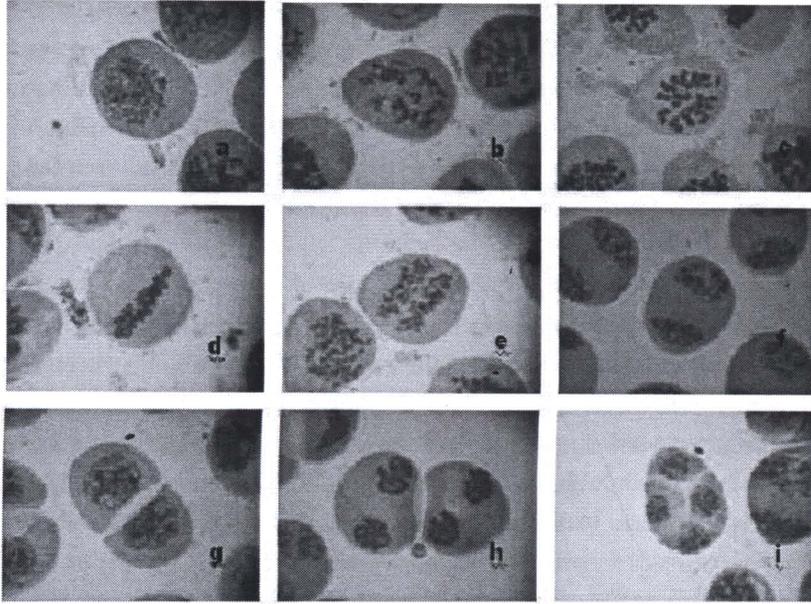


Figure 1 Different stages of meiotic cell division from *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana* flower buds (a) zygotene, (b) pachytene, (c) diakinesis, (d) metaphase I, (e) anaphase I, (f) telophase I, (g) prophase II, (h) telophase II, (i) microspore quartet

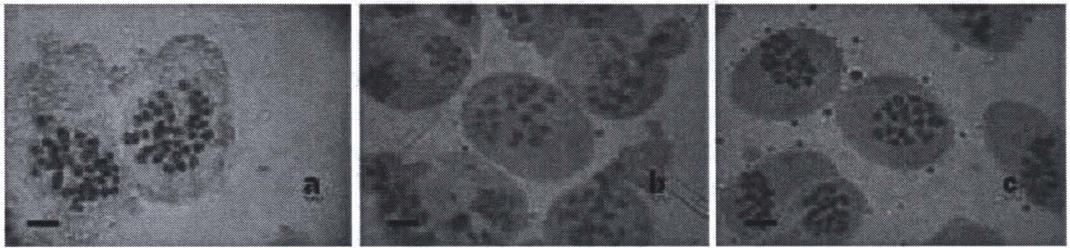


Figure 2 Meiotic chromosome numbers from *Doritis* flower buds, Bar = 10 μ m

(a) *Dor. pulcherrima* var. *buyssoniana*, 2n (bivalent) = n = 38

(b) *Dor. pulcherrima*, 2n (bivalent) = n = 19

(c) *Dor. pulcherrima* var. *chumpornnensis*, 2n (bivalent) = n = 19

การศึกษาโครโมโซมกล้วยไม้สกุลม้าวิงจากปลายราก

การเก็บตัวอย่างปลายรากจากต้นที่อยู่ในโรงเรือนนั้น จะทำการเก็บตัวอย่างปลายราก 2 สายพันธุ์ คือ แดงอุบลและม้าวิง พบว่าเวลาที่เหมาะสมในการเก็บหรือเวลาที่สามารถพบเซลล์ที่มีการแบ่งตัวในระยะ metaphase ของทั้งสองสายพันธุ์ จะแตกต่างกันคือ แดงอุบลเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างราก 9.30 น. ส่วนม้าวิงเวลา 9.45 น. ซึ่งเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างรากจากต้นที่อยู่ในโรงเรือนจะช้ากว่าการเก็บตัวอย่างรากจากต้นที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ กาญจนา และคณะ (2551) รายงานเวลาที่เหมาะสมสำหรับเก็บรากแดงอุบลในสภาพปลอดเชื้อ คือ เวลา 9.15 น. ม้าวิงในสภาพปลอดเชื้อควรเก็บรากเวลา 9.30 น. ส่วนการศึกษาจำนวนโครโมโซมจากรากม้าวิงที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าเวลาที่เหมาะสมคือ 9.30 น. ซึ่งเป็นช่วงเวลาเดียวกันกับม้าวิง และจากการตรวจนับจำนวนโครโมโซม พบว่า แดงอุบล มีจำนวนโครโมโซม $2n = 76$ ม้าวิง มีจำนวนโครโมโซม $2n = 38$ และม้าวิงมีจำนวนโครโมโซม $2n = 38$ (Figure 3) เท่ากับในรายงานของ Tanaka and Kamemoto (1984) ที่รายงานว่ากล้วยไม้แดงอุบล มีจำนวนโครโมโซม $2n = 76$ และม้าวิง $2n = 38$ จากจำนวนโครโมโซมที่เท่ากันของม้าวิงและม้าวิง $2n = 38$ และเป็นครึ่งหนึ่งของแดงอุบล $2n = 76$ มีความสอดคล้องกับลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นและดอก โดยขนาดของต้น ใบ และดอกกล้วยไม้ม้าวิงและม้าวิงมีขนาดใกล้เคียงกัน ส่วนกล้วยไม้แดงอุบลมีขนาดของต้น ใบ และดอกใหญ่กว่าม้าวิงและม้าวิงเกือบเท่าตัว

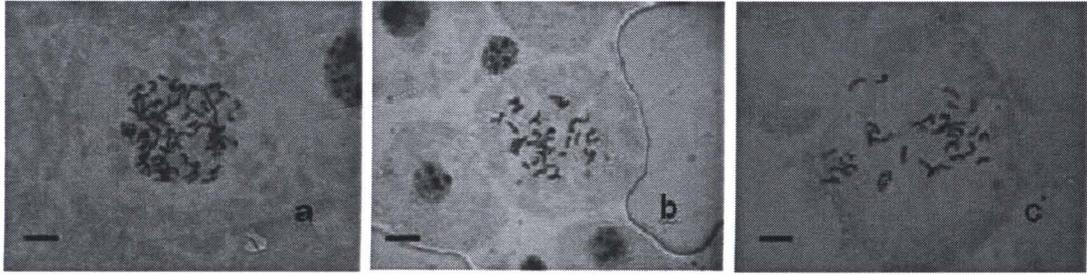


Figure 3 Somatic chromosome numbers from *Doritis* root tips, Bar = 10 μ m

(a) *Dor. pulcherrima* var. *buyssoniana*, $2n = 76$

(b) *Dor. pulcherrima*, $2n = 38$

(c) *Dor. pulcherrima* var. *chumpornnensis*, $2n = 38$

สรุป

จำนวนโครโมโซมจากดอกอ่อนของกล้วยไม้แดงอุบล $n = 38$ กล้วยไม้ม้าวิ่ง $n = 19$ และกล้วยไม้ม้าบิน $n = 19$ ส่วนจำนวนโครโมโซมจากปลายรากของกล้วยไม้แดงอุบล $2n = 76$ กล้วยไม้ม้าวิ่ง $2n = 38$ และกล้วยไม้ม้าบิน $2n = 38$

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้การสนับสนุนด้านสถานที่ อุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ และคุณแสงเดือน พลเยี่ยม ผู้ช่วยในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กาญจนา รุ่งรักษานนท์, ศรีประไพ ธรรมแสง และแสงเดือน พลเยี่ยม. 2551. การศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้สกุลม้าวิ่ง (บทคัดย่อ). การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 7 จังหวัดพิษณุโลก 26-30 พฤษภาคม 2551. น 151.

นิตยศรี แสงเดือน. 2542. พันธุศาสตร์พืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 265 น.

Schubert, I., P.F. Fransz, J. Fuchs and J.H. de Jong. 2001. Chromosome painting in plants. *Methods in Cell Science*. 23: 57-69.

Tanaka, R. and H. Kamemoto. 1984. Chromosomes in orchids: counting and numbers. *In* J. Arditti. *Orchid Biology reviews and perspectives*, III. Cornell University Press, London. p. 323-410.

Tyagi, A.P. 2002. Cytogenetics and reproductive biology of some BELE (*Abelmoschus manihot* Linn., Medic sub-species *manihot*) cultivars. *S. Pac. J. Nat. Sci.* 20: 4-8.

Yeung, E.C. 1987. Development of pollen and accessory structures in orchids. *In* J. Arditti. *Orchid Biology reviews and perspectives*, IV. Cornell University Press, London. p.193-226 .

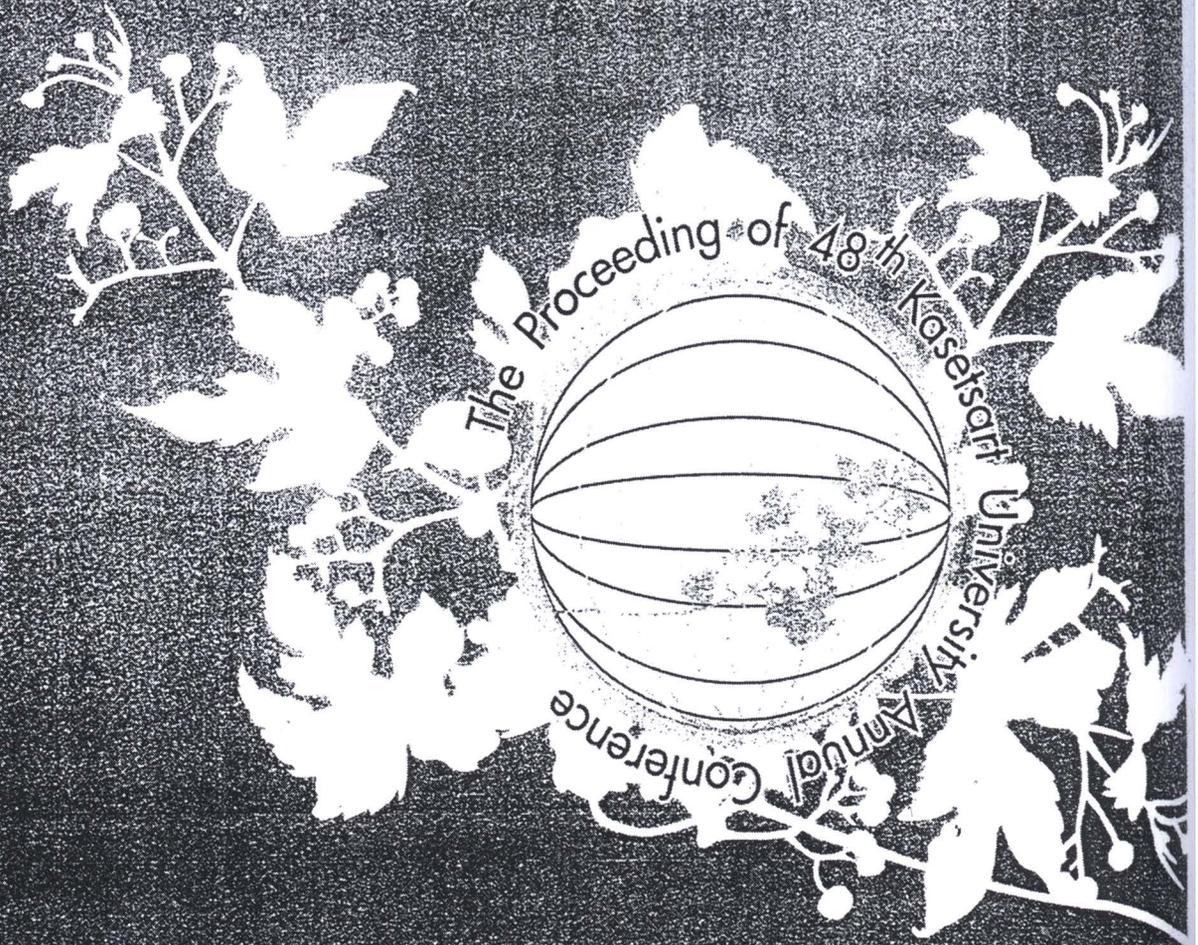




เรื่องเติมการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๔๘ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เล่มที่ 1 สาขาพืช

(Subject: Plants)



พันธเศรษฐกิจชาติ เกษตรศาสตร์กู้วิกฤต พิชิตโลกร้อน

The Roles of Agriculture Science in Fueling Economic Revival, Resolving the Crisis and Battling Global Warming





มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ขอรับรองว่าผลงานวิจัย

เรื่อง

พฤติกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสในกล้วยไม้สกุลม้าวีง
และสายพันธุ์ลูกผสม

โดย

กาญจนา รุ่งรัชกานนท์ แสงเดือน พลเยี่ยม
และสมศักดิ์ อภิสิตธิวาณิช

ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ

สาขาพืช

และได้นำเสนอในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48
ระหว่างวันที่ 3 - 5 กุมภาพันธ์ 2553

(รองศาสตราจารย์ ดร.พินิต เข้มทอง)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

ประธานคณะกรรมการดำเนินงานจัดประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 48

เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 48 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
The Proceeding of 48th Kasetsart University Annual Conference

เล่มที่ 1 สาขาพืช
(Subject: Plants)

จัดโดย (Organized by)

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (Kasetsart University)

ร่วมกับ (in cooperation with)

สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (Commission of Higher Education)

กระทรวงศึกษาธิการ (Ministry of Education)

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (Ministry of Agriculture and Cooperatives)

กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (Ministry of Science and Technology)

กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

(Ministry of Natural Resource and Environment)

กระทรวงเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร

(Ministry of Information and Communication Technology)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (National Research Council of Thailand)

และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (The Thailand Research Fund)

3 - 5 กุมภาพันธ์ 2553 (3 - 5 February 2010)

ISBN 978-616-7262-31-4

พฤติกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสในกล้วยไม้สกุลม้าวิงและสายพันธุ์ลูกผสม

Meiotic Behavior in *Doritis* spp. and *Doritis* Hybrids

แสงเดือน พลเยี่ยม¹ กาญจนา รุ่งรัชกานนท์¹ และสมศักดิ์ อภิลิทธิวานิช²

Sangdaun Phonyiam¹ Karnchana Rungruchkanont¹ and Somsak Apisitwanich²

บทคัดย่อ

จากการศึกษาพฤติกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสในกล้วยไม้สกุลม้าวิงและสายพันธุ์ลูกผสม โดยศึกษาลักษณะการเข้าคู่กันของโครโมโซมและการสร้างไมโครสปอร์ในกล้วยไม้แดงอุบล ม้าวิง และสายพันธุ์ลูกผสม พบว่า กล้วยไม้แดงอุบลและม้าวิงมีการเข้าคู่กันของโครโมโซมในระยะ diakinesis ปกติ คือ โครโมโซมมีการเข้าคู่กันเป็น bivalent จำนวน 38 และ 19 คู่ ตามลำดับ ส่วนในสายพันธุ์ลูกผสมแดงอุบล x ม้าวิงบลู และลูกผสมม้าบิน x แดงอุบล มีการเข้าคู่กันของโครโมโซมที่ผิดปกติ คือ พบทั้งแบบ univalent, bivalent และ trivalent โดยพบโครโมโซมที่เข้าคู่กันเป็น bivalent จำนวน 19.6 และ 19.55 คู่ ตามลำดับ จากความผิดปกติของการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสในลูกผสมทำให้มีเปอร์เซ็นต์ของโครโมโซมที่เคลื่อนไปสู่ขั้วเซลล์ช้ากว่าปกติ (chromosome lagging) และโครโมโซมที่มีโครงสร้างคล้ายสะพาน (chromosome bridge) สูง ทำให้มีการสร้างไมโครสปอร์ที่เป็นปกติ (tetrad) เพียง 56 และ 73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกล้วยไม้แดงอุบลและม้าวิง มีการสร้างไมโครสปอร์ที่เป็นปกติ (tetrad) สูงถึง 99 เปอร์เซ็นต์ พฤติกรรมที่เกิดขึ้นนี้แสดงถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างกล้วยไม้แดงอุบลกับม้าวิงและม้าบินซึ่งจัดอยู่ในสกุลเดียวกัน

ABSTRACT

Meiotic behavior of *Doritis* spp. and *Doritis* hybrids were investigated. It was found that *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana* and *Doritis pulcherrima* had normal synapsis of bivalent meiotic chromosomes in diakinesis with the number of 38 and 19 pairs of bivalents, respectively. In two hybrids, *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana* x *Doritis pulcherrima* and *Doritis pulcherrima* var. *chumpornensis* x *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana*, chromosome synapsis were abnormal. The univalent, bivalents and trivalents were observed. The bivalent chromosome number of both hybrids were 19.6 and 19.55, respectively. Because of abnormally meiotic configuration, the high percentage of chromosome lagging and chromosome bridge were found in both hybrids, consequently both hybrids had normal tetrad microspores only 56 and 73 percent, respectively. Normally, *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana* and *Doritis pulcherrima* had high percentage of normal tetrad microspores upto 99 percent. This meiotic behavior revealed the genetic differences among *Doritis* spp.

Key Words : meiotic behavior, *Doritis*, hybrid

K. Rungruchkanont : rungruch@hotmail.com

¹ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ubonratchathane University

² ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Department of Genetics, Faculty of Science, Kasetsart University

คำนำ

กล้วยไม้สกุลม้าวีง (*Doritis*) เป็นกล้วยไม้ที่ขึ้นบนดินหรือเป็นกล้วยไม้อิงอาศัยบนหิน (terrestrial plant หรือ lithophytic plant) ในสภาพธรรมชาติพบเกิดขึ้นเป็นกลุ่มตามพื้นทราย ซอกหินหรือบนหิน หรือในแหล่งที่มี อินทรีย์วัตถุทับถมและตามป่าโปร่ง (อบฉันท, 2545) กล้วยไม้สกุลม้าวีงเป็นกล้วยไม้สกุลเล็กๆ ที่มีเพียงไม่กี่ชนิด ในโลก ประเทศไทยเป็นแหล่งกำเนิดทางธรรมชาติของกล้วยไม้สกุลนี้ ซึ่งประกอบด้วย กล้วยไม้ม้าวีง (*Doritis pulcherrima* Lindl.) กล้วยไม้แดงอุบล (*Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana*) และกล้วยไม้ม้าบิน (*Doritis pulcherrima* var. *chumpornensis*)

การศึกษาพฤติกรรมกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสเป็นการศึกษาข้อมูลพื้นฐานที่มีความสำคัญในด้านการ การปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสเป็นการแบ่งเซลล์เพื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งจะแสดง ลักษณะหรือพฤติกรรมการเข้าคู่กันของโครโมโซมในระหว่างที่มีการแบ่งเซลล์ ทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ ทางด้านพันธุศาสตร์ของต้นพ่อและต้นแม่ที่ทำการผสม โดยเฉพาะในลูกผสมที่เกิดจากการผสมข้ามระหว่างชนิด หรือระหว่างสกุลของพืชสองชนิดที่มีจีโนมแตกต่างกัน ซึ่งจะมีผลต่อการเข้าคู่กันของโครโมโซมในระหว่างที่มีการ แบ่งเซลล์แบบไมโอซิสและการรวมตัวของยีน หากลักษณะจีโนมของสายพันธุ์พ่อและแม่แตกต่างกันมาก จะ เกิดการเข้าคู่กันไม่ได้ของโครโมโซมคู่เหมือน (Winston *et al.*, 2001 ; Ruualcaba-Ruiz and Rodriguez-Garay, 2002) ทำให้เกิดความผิดปกติในระหว่างการแบ่งเซลล์หรือเมื่อสิ้นสุดการแบ่งเซลล์ ส่งผลให้เกิดความเป็นหมัน หรือความสมบูรณ์พันธุ์ลดลงในลูกผสม Swanson (1957) ได้รายงานว่า ต้นพืชเมื่อสิ้นสุดการแบ่งเซลล์และมีการ สร้างไมโครสปอร์ที่ผิดปกติมักจะมีความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำ โดยปกติในกล้วยไม้มีไมโครสปอร์เป็น 4 เซลล์ ติดกัน หรือที่เรียกว่าเทแทรก (ศิริพร, 2546) ซึ่งลักษณะไมโครสปอร์ที่แตกต่างจากปกติแสดงถึงระดับของความ สมบูรณ์พันธุ์ในลูกผสม ดังนั้นการศึกษาพฤติกรรมกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสจึงมีความสำคัญ สามารถอธิบาย สาเหตุของความเป็นหมันตลอดจนคาดคะเนจำนวนโครโมโซมในลูกผสมรุ่นต่อไปได้ (Kamemoto *et al.*, 1961)

วิธีการทดลอง

ลักษณะการเข้าคู่กันของโครโมโซมในกล้วยไม้สกุลม้าวีงและสายพันธุ์ลูกผสม

เลือกดอกตูมของกล้วยไม้สกุลม้าวีงสองสายพันธุ์คือแดงอุบลและม้าวีง ส่วนสายพันธุ์ลูกผสมคือ แดงอุบล x ม้าวีงบลู และ ม้าบิน x แดงอุบล ที่มีขนาดดอกประมาณ 1 ใน 4 ของดอกตูมใกล้บาน ทำการผ่าดอก และแกะก้อนเรณู (pollinia) จำนวนเล็กน้อยวางบนสไลด์ หยด acetic acid 45 เปอร์เซ็นต์ 1-2 หยด ลงบนก้อน เรณู วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 10 °ซ เป็นเวลา 5 นาที ซับ acetic acid ออก แล้วย้อมด้วยสี aceto orcein 1-2 หยด เป็นเวลา 2-3 นาที ปิด cover slip แล้วให้ความร้อน (ครรชิต, 2547) หลังจากนั้นใช้ปลายดินสอเคาะเบาๆเพื่อให้ โครโมโซมกระจายตัว ซับสีส่วนเกินออก เลือกเซลล์ที่มีการแบ่งตัวในระยะ diakinesis เพื่อศึกษาลักษณะการเข้า คู่กันของโครโมโซมในแบบต่างๆ (univalent, bivalent, trivalent และ quadrivalent) และความผิดปกติที่เกิดขึ้น ในระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสในระยะ anaphase I และ telophase I แล้วบันทึกภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ ใช้กำลังขยาย 1,000 เท่า

การสร้างไมโครสปอร์ของกล้วยไม้สกุลม้าวิงและสายพันธุ์ลูกผสม

เลือกดอกตูมของกล้วยไม้สกุลม้าวิงสองสายพันธุ์คือแดงอุบลและม้าวิง ส่วนสายพันธุ์ลูกผสมคือแดงอุบล x ม้าวิงบลู และ ม้าบิน x แดงอุบล ที่มีขนาดดอกประมาณ 1 ใน 3 ของดอกตูมใกล้บาน ทำการผ่าดอกและแกะก้อนเรณู จำนวนเล็กน้อยวางบนสไลด์ หยด acetic acid 45 เปอร์เซ็นต์ 1-2 หยด ลงบนก้อนเรณู วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 10 °ซ เป็นเวลา 5 นาที ซับ acetic acid ออก แล้วย้อมด้วยสี aceto orcein 1-2 หยด เป็นเวลา 2-3 นาที ปิด cover slip แล้วให้ความร้อน หลังจากนั้นใช้ปลายดินสอเคาะเบาๆ เพื่อให้เซลล์กระจายตัว ซับสีส่วนเกินออก ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ ใช้กำลังขยาย 1,000 เท่า ทำการตรวจนับลักษณะการสร้างไมโครสปอร์ จำนวน 300 เซลล์ และหาค่าเฉลี่ยของไมโครสปอร์แบบต่างๆ (monad, dyad, triad และ tetrad) ที่พบในแต่ละสายพันธุ์

ผลการทดลอง

ลักษณะการเข้าคู่กันของโครโมโซมในกล้วยไม้สกุลม้าวิงและสายพันธุ์ลูกผสม

จากการศึกษาพฤติกรรมกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของกล้วยไม้สกุลม้าวิงและสายพันธุ์ลูกผสม พบว่าพฤติกรรมกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของกล้วยไม้ทั้งแดงอุบลและม้าวิงซึ่งเป็นพันธุ์แท้มีความเป็นปกติ คือ มีการเข้าคู่กันของโครโมโซมแบบ bivalent ในระยะ diakinesis เฉลี่ย 38 และ 19 คู่ ตามลำดับ ส่วนในลูกผสมทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า การเข้าคู่กันของโครโมโซมผิดปกติ คือ พบทั้ง univalent, bivalent และ trivalent โดยในลูกผสมสายพันธุ์แดงอุบล x ม้าวิงบลู และม้าบิน x แดงอุบล พบลักษณะการเข้าคู่ที่เป็น bivalent เพียง 19.6 และ 19.55 คู่ ตามลำดับ (Fig. 1 และ 2)

นอกจากลักษณะการเข้าคู่กันของโครโมโซมแล้ว ยังพบว่าในระยะ anaphase I ของลูกผสมทั้งสองสายพันธุ์มีโครโมโซมบางแท่งเคลื่อนที่เข้าสู่ขั้วเซลล์ได้ช้ากว่าโครโมโซมอื่น (chromosome lagging) หรือโครโมโซมคู่เหมือนไม่แยกออกจากกันหรือแยกจากกันไม่สมบูรณ์ ทำให้เกิดเป็นโครงสร้างคล้ายสะพาน (chromosome bridge) เกิดขึ้น ความผิดปกติดังกล่าวส่งผลให้เกิดการขาดหายไปหรือการเพิ่มขึ้นของโครโมโซมในรุ่นลูก โดยในลูกผสมแดงอุบล x ม้าวิงบลู มีเปอร์เซ็นต์การเกิด chromosome lagging และ chromosome bridge คิดเป็น 77 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนในลูกผสมม้าบิน x แดงอุบล มีเปอร์เซ็นต์การเกิด chromosome lagging และ chromosome bridge สูงถึง 95.33 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Fig. 3) และในระยะ telophase I ทั้งในกล้วยไม้แดงอุบล ม้าวิง และสายพันธุ์ลูกผสม พบว่าในกล้วยไม้แดงอุบลและม้าวิงมีลักษณะของเซลล์ปกติสูงถึง 99.66 และ 99.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนลักษณะเซลล์ที่เกิด micronucleus พบเป็นส่วนน้อยคือ 0.33 และ 0.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ในลูกผสมทั้งสองสายพันธุ์พบลักษณะเซลล์ที่เกิด micronucleus สูงขึ้น โดยพบว่า ในลูกผสมแดงอุบล x ม้าวิงบลู มีเซลล์ที่พบ micronucleus คิดเป็น 19.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในลูกผสมม้าบิน x แดงอุบล พบเซลล์ที่เกิด micronucleus คิดเป็น 93.32 เปอร์เซ็นต์ (Fig. 4)

จากเปอร์เซ็นต์การเกิดความผิดปกติของโครโมโซมที่สูงในลูกผสมทั้งสองสายพันธุ์ที่ได้จากการศึกษา อาจจะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สามารถใช้อธิบายสาเหตุของความไม่สมบูรณ์พันธุ์ที่เกิดขึ้นในกล้วยไม้พันธุ์ลูกผสมได้ ซึ่งมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาต่อไป

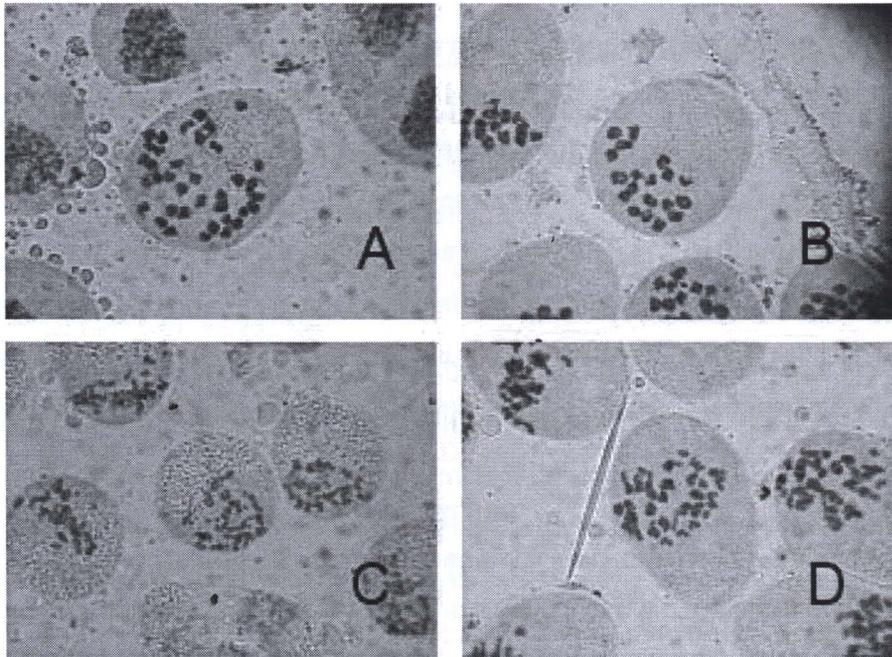


Figure 1 A synopsis of meiotic chromosomes in diakinesis.

A *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana* (38 pairs of bivalents)

B *Doritis pulcherrima* (19 pairs of bivalents)

C *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana* x *Doritis pulcherrima* (univalents, bivalents and trivalents)

D *Doritis pulcherrima* var. *chumpomensis* x *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana* (univalents, bivalents and trivalents)

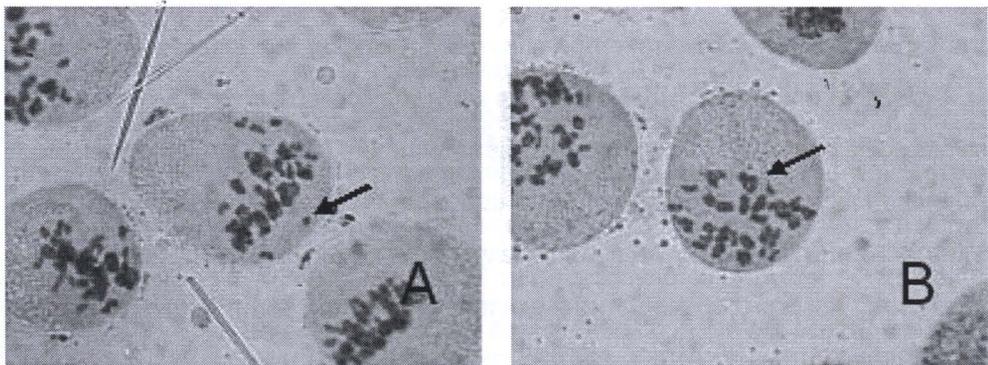


Figure 2 A synopsis of meiotic chromosome in diakinesis of *Doritis pulcherrima* var. *chumpomensis* x *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana*.

A Univalent chromosome (arrow indicated)

B Trivalent chromosome (arrow indicated)

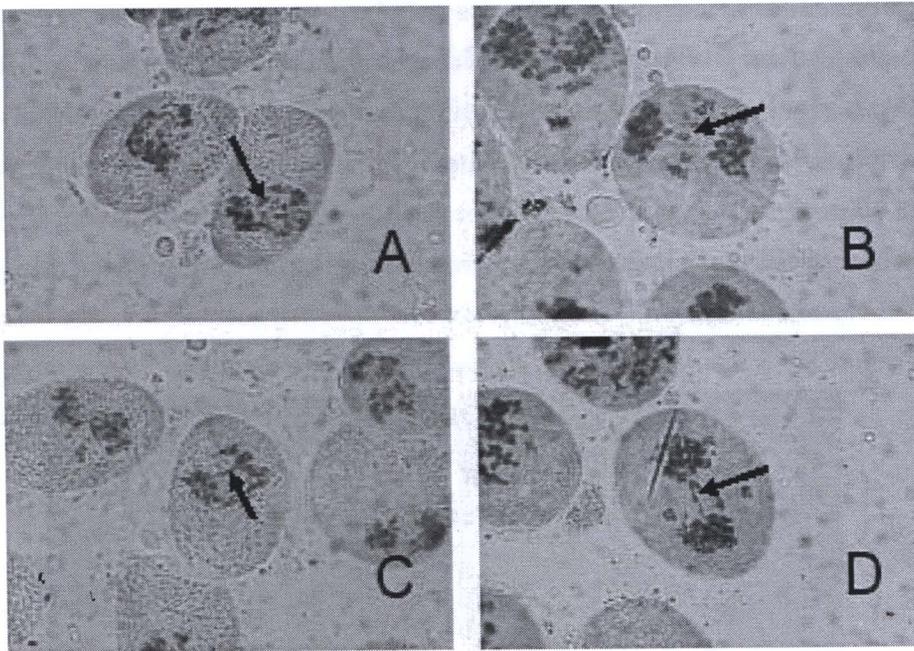


Figure 3 The formation of chromosome lagging and chromosome bridge in anaphase I of *Doritis* hybrids
 A Chromosome lagging of *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana* x *Doritis pulcherrima* (arrow indicated)
 B Chromosome lagging of *Doritis pulcherrima* var. *chumpornensis* x *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana* (arrow indicated)
 C Chromosome bridge of *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana* x *Doritis pulcherrima* (arrow indicated)
 D Chromosome bridge of *Doritis pulcherrima* var. *chumpornensis* x *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana* (arrow indicated)

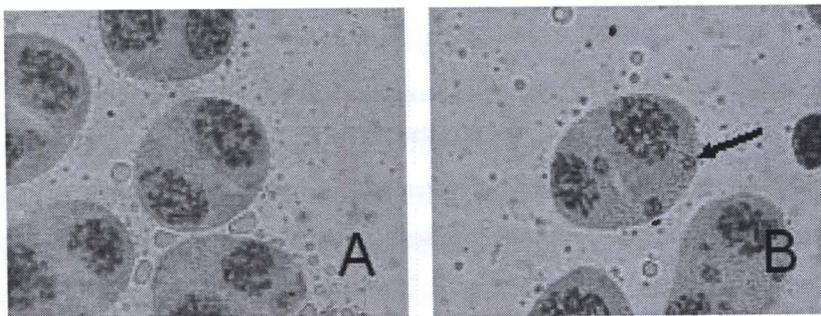


Figure 4 Abnormal cell division in telophase I of *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana* x *Doritis pulcherrima* .
 A Normal cell division
 B Abnormal cell division with micronucleus formation (arrow indicated)

การสร้างไมโครสปอร์ของกล้วยไม้สกุลม้าวิงและสายพันธุ์ลูกผสม

ลักษณะการสร้างไมโครสปอร์ของกล้วยไม้แดงอุบล ม้าวิง และสายพันธุ์ลูกผสม พบว่า ในกล้วยไม้แดงอุบลและม้าวิง สร้างไมโครสปอร์ที่เป็น tetrad ในเปอร์เซ็นต์ที่สูงคือ 99.22 และ 99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนในลูกผสมสองสายพันธุ์ พบว่าในลูกผสมแดงอุบล x ม้าวิงบลู สร้างไมโครสปอร์ที่ผิดปกติมากที่สุดคือ พบทั้ง dyad (3.77 เปอร์เซ็นต์), triad (5.11 เปอร์เซ็นต์) และ tetrad (56 เปอร์เซ็นต์) ส่วนในลูกผสมม้าบิน x แดงอุบล การสร้างไมโครสปอร์มีความผิดปกติเช่นเดียวกัน โดยพบทั้ง dyad (1.33 เปอร์เซ็นต์), triad (2 เปอร์เซ็นต์) และ tetrad (73.11 เปอร์เซ็นต์) (Fig. 5)

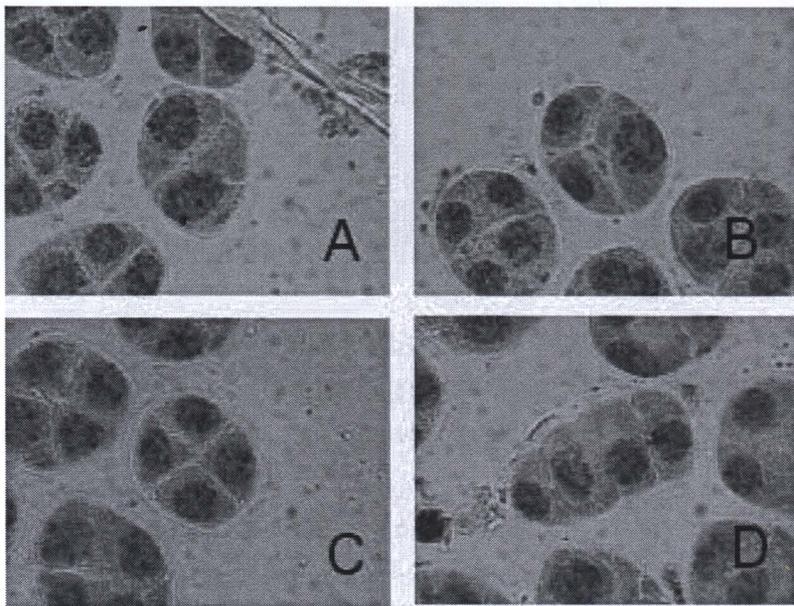


Figure 5 Microspore formation on *Doritis pulcherrima* var. *chumpomensis* x *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana*.

dyad (A), triad (B), tetrad (square) (C) and tetrad (linear) (D)

วิจารณ์ผลการทดลอง

พฤติกรรมกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสใน pollen mother cell ของกล้วยไม้แดงอุบล ม้าวิง และสายพันธุ์ลูกผสม มีการเข้าคู่กันของโครโมโซมที่แตกต่างกัน โดยในกล้วยไม้แดงอุบลและม้าวิงซึ่งเป็นสายพันธุ์แท้ มีการเข้าคู่กันของโครโมโซมเป็นแบบ bivalent ทั้งหมด ทำให้ระยะต่างๆในการแบ่งเซลล์เป็นปกติ เมื่อสิ้นสุดการแบ่งเซลล์จะพบ ไมโครสปอร์ที่เป็น tetrad สมบูรณ์ ส่งผลให้มีความสมบูรณ์พันธุ์สูง

ส่วนในลูกผสมทั้งสองสายพันธุ์ คือ แดงอุบล x ม้าวิงบลู และม้าบิน x แดงอุบล การเข้าคู่กันของโครโมโซมมีความแปรปรวนคือพบทั้ง univalent, bivalent และ trivalent จากความผิดปกติในการเข้าคู่กันของโครโมโซมในระยะ diakinesis ที่เกิดขึ้น ส่งผลให้การแบ่งเซลล์ในระยะ anaphase I พบความผิดปกติแบบ chromosome lagging และ chromosome bridge ซึ่งจะมีผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ สอดคล้องกับรายงานของ Ruualcaba-Ruiz and Rodriguez-Garay (2002) ที่ได้ศึกษาพฤติกรรมกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสใน *Agave*

tequilana Weber var. azul และพบความผิดปกติแบบ chromosome lagging และ chromosome bridge ในระยะ anaphase I ในอัตรา 3 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยความผิดปกติดังกล่าวส่งผลให้ละอองเรณูเป็นหมันสูงถึง 42 เปอร์เซ็นต์ ในลูกผสมม้าบิน x แดงอุบล มีความถี่ในการเกิด chromosome lagging สูงถึง 95.33 เปอร์เซ็นต์ และเกิด chromosome bridge ต่ำกว่าในลูกผสมแดงอุบล x ม้าวิ่งบลู เมื่อสิ้นสุดการแบ่งเซลล์พบไมโครสปอร์ที่มีไซแต่เฉพาะ tetrad คือพบทั้ง dyad, triad และ tetrad ในลูกผสมทั้งสองสายพันธุ์ ในลูกผสมม้าบิน x แดงอุบล ซึ่งมีความผิดปกติในการแบ่งไมโอซิส I มากกว่าในลูกผสมแดงอุบล x ม้าวิ่งบลู แต่มีเปอร์เซ็นต์การสร้างไมโครสปอร์ที่เป็น tetrad สูงกว่าในลูกผสมแดงอุบล x ม้าวิ่งบลู ดังนั้น ในกล้วยไม้ลูกผสมม้าบิน x แดงอุบล น่าจะมีแนวโน้มของความสมบูรณ์พันธุ์สูงกว่าลูกผสมแดงอุบล x ม้าวิ่งบลู ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากล้วยไม้สกุลม้าวิ่ง หรือ *Doritis* นี้มีความแตกต่างทางพันธุกรรมอย่างเห็นได้ชัดเจน

สรุป

จากการศึกษาพฤติกรรมกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของกล้วยไม้สกุลม้าวิ่งและสายพันธุ์ลูกผสม พบว่ากล้วยไม้แดงอุบลและม้าวิ่ง มีการเข้าคู่กันของโครโมโซมแบบ bivalent ในระยะ diakinesis เฉลี่ย 38 และ 19 คู่ ตามลำดับ ส่วนในสายพันธุ์ลูกผสมแดงอุบล x ม้าวิ่งบลู และม้าบิน x แดงอุบล พบการเข้าคู่กันของโครโมโซมแบบ bivalent เพียง 19.6 และ 19.55 คู่ ตามลำดับ นอกจากนี้การแบ่งเซลล์ในระยะ anaphase I และ telophase I ของสายพันธุ์ลูกผสมทั้งสองยังพบ chromosome lagging, chromosome bridge และ micronucleus เกิดขึ้น จากลักษณะการสร้างไมโครสปอร์ ในกล้วยไม้แดงอุบลและม้าวิ่ง พบว่าส่วนใหญ่สร้างไมโครสปอร์ที่เป็น tetrad สูงถึง 99 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในลูกผสมทั้งสองสายพันธุ์การสร้างไมโครสปอร์ที่เป็น tetrad จะลดลงเป็น 56 และ 73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากพฤติกรรมกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสและลักษณะการสร้างไมโครสปอร์ ที่ได้จากการศึกษาเบื้องต้นจะเป็นข้อมูลที่สามารถคาดคะเนได้ว่าความสมบูรณ์พันธุ์ที่เกิดขึ้นในลูกผสมทั้งสองสายพันธุ์อาจจะลดลงเมื่อเทียบกับกล้วยไม้แดงอุบลและม้าวิ่งซึ่งแสดงให้เห็นว่ากล้วยไม้สกุลม้าวิ่ง หรือ *Doritis* นี้มีความแตกต่างทางพันธุกรรมอย่างเห็นได้ชัดเจน

เอกสารอ้างอิง

ศิริพร เชื้อจีน. 2546. การศึกษาทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์และความสมบูรณ์พันธุ์ของกล้วยไม้สกุล

หวายบางพันธุ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ครุฑชิต ธรรมศิริ. 2547. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์ดิสทริบิวชัน, กรุงเทพมหานคร.

อบจันท์ ไทยทอง. 2545. กล้วยไม้เมืองไทย. สำนักพิมพ์บ้านและสวน, กรุงเทพมหานคร.

Kamemoto, H., R. Tanaka and K. Kosaki. 1961. Chromosome numbers of orchids in Hawaii.

Hawaii Agric. Expt. Stat. Bull. 127 : 5-11.

Ruualcaba-Ruiz, D. and B. Rodriguez-Garay. 2002. Aberrant meiotic behavior in *Agave tequilana* Weber var. azul. *BMC plant biology*. 2(10) : 1-4.

Swanson, C.P. 1957. *Cytology and Cytogenetics*. Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey.

Winston, C.C.W., A. Thame and Y.M. Wing. 2001. A cytogenetical study of the fertility of three local orchid hybrids. In Proceedings of the 14th Science Research Congress, Singapore.

กิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการนำผลจากโครงการไปใช้ประโยชน์

1. โครงการบริการวิชาการแก่ชุมชนประจำปี 2552 การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้เชิงพาณิชย์
2. โครงการบริการวิชาการแก่ชุมชนประจำปี 2553 ค่ายอนุรักษ์กล้วยไม้แดงอุบล
3. โครงการวันวิทยาศาสตร์ประจำปี 2553 “แดงอุบล” กล้วยไม้งามของจังหวัดอุบลราชธานี
4. การนำเสนอผลงานวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2553 “แดงอุบล : แหล่งพันธุกรรมการพัฒนาและการอนุรักษ์พืชท้องถิ่นอย่างยั่งยืน

ภาพกิจกรรม โครงการบริการวิชาการแก่ชุมชนประจำปี 2552 การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้เชิงพาณิชย์

กล่าวเปิดการอบรมโดย คณบดีคณะเกษตรศาสตร์
รศ.ดร.วัชรพงษ์ วัฒนกุล

ผู้เข้าร่วมการอบรมถ่ายภาพร่วมกัน



ผศ.ดร. กาญจนา รุ่งรัชกานนท์ บรรยายหัวข้อ ส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้
การจำแนกประเภทกล้วยไม้และการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้แดงอุบล



ภาพกิจกรรม โครงการบริการวิชาการแก่ชุมชนประจำปี 2553 ค่ายอนุรักษ์กล้วยไม้แดงอุบล



ภาพกิจกรรม โครงการวันวิทยาศาสตร์ประจำปี 2553 “แดงอุบล” กล้วยไม้งามของจังหวัด
อุบลราชธานี

นักเรียนที่เข้าร่วมกิจกรรมวันวิทยาศาสตร์
ชมนิทรรศการกล้วยไม้แดงอุบล



นักเรียนร่วมกิจกรรมตอบคำถามความรู้เกี่ยวกับกล้วยไม้แดงอุบล
เพื่อรับของรางวัล



ภาพกิจกรรม การนำเสนอผลงานวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2553
 “แดงอุบล : แหล่งพันธุกรรม การพัฒนาและการอนุรักษ์พืชท้องถิ่นอย่างยั่งยืน”





สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)
National Research Council of Thailand (NRCT)

ขอมอบเกียรติบัตรฉบับนี้ แก่

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา รุ่งรัชภาณุ

เพื่อแสดงความขอบคุณที่ให้ความร่วมมือในการนำผลงานวิจัย เรื่อง

แดงอุบล : แหล่งพันธุกรรมการพัฒนาและการอนุรักษ์พันธุ์พืชท้องถิ่นอย่างยั่งยืน

ร่วมนำเสนอในงาน “การนำเสนอผลงานวิจัยแห่งชาติ ๒๕๕๓” (Thailand Research Expo 2010)

ในโอกาสวันที่ ๓๐ สิงหาคม ๒๕๕๓

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์สุรสิทธิ์ ชาติสัมพันธ์)

เลขาธิการคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผนและที่ดำเนินการ

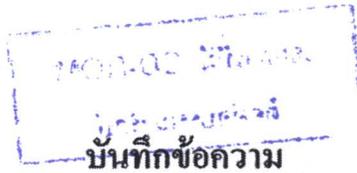
วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1) เพื่อเก็บรวบรวมสายพันธุ์กล้วยไม้สกุลม้าวิงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง
- 2) เพื่อศึกษาเซลล์วิทยาของกล้วยไม้สกุลม้าวิง
- 3) เพื่อศึกษาพฤติกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสในกล้วยไม้สกุลม้าวิง

เปรียบเทียบการดำเนินงานที่เสนอไว้ในแผนงานวิจัยกับงานวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้ว

กิจกรรม (ตามแผน)	ผลที่คาดว่าจะได้รับ (ตามแผน)	ผลการดำเนินงาน	หมายเหตุ *
1. รวบรวมเชื้อพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวีง	1. ได้เชื้อพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลม้าวีง เก็บรักษาที่โรงเรือน	1. เป็นไปตามแผน	-
2. ศึกษาวิธีที่เหมาะสมในการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาโครโมโซม	2. ได้วิธีหรือเทคนิคที่เหมาะสมในการเตรียมเนื้อเยื่อ เพื่อศึกษาโครโมโซม	2. เป็นไปตามแผน	-
3. ศึกษาจำนวนโครโมโซมในปลายรากของกล้วยไม้สกุลม้าวีง	3. ได้จำนวนโครโมโซมในปลายรากของกล้วยไม้สกุลม้าวีง	3. เป็นไปตามแผน	-
4. ศึกษาจำนวนโครโมโซมในดอกอ่อนของกล้วยไม้สกุลม้าวีง	4. ได้จำนวนโครโมโซมในดอกอ่อนของกล้วยไม้สกุลม้าวีง	4. เป็นไปตามแผน	-
5. เพิ่มปริมาณกล้วยไม้สกุลม้าวีงโดยการเพาะเมล็ดและอนุบาลต้นอ่อน	5. ได้ลูกกล้วยไม้สกุลม้าวีงปริมาณมากในเรือนอนุบาล	5. เป็นไปตามแผน	-
6. ศึกษาพฤติกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสในกล้วยไม้พันธุ์แท้และลูกผสม	6. ทราบพฤติกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสในกล้วยไม้พันธุ์แท้และลูกผสม	6. เป็นไปตามแผน	-
7. ศึกษารูปร่างโครโมโซมของกล้วยไม้สกุลม้าวีง	7. ได้รูปร่างโครโมโซมของกล้วยไม้มาบิณ	7. เป็นไปตามแผน	-





งานวิจัยประจำปี 2552

ส่วนราชการ งานการเงิน สำนักงานคณบดี คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี โทร. 3516-18
ที่ ศธ 0529.6.1/ 12266 วันที่ ๕ ต.ค. 2553
เรื่อง ส่งใบสำคัญ

เรียน อธิการบดี ผ่านรองอธิการบดีฝ่ายวิจัยและบริการ

ตามที่คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ได้รับอนุมัติงบประมาณสนับสนุนจากแผนงานงบประมาณ : สนับสนุนด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี วิจัยและนวัตกรรม ผลผลิต : ผลงานวิจัยเพื่อสร้างองค์ความรู้ ประจำปีงบประมาณ 2552 โครงการ “การเก็บรวบรวมและการศึกษาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้สกุลไม้วิ้งในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง” โดยมี นางสาวกาญจนา รุ่งรักษานนท์ เป็นหัวหน้าโครงการ งบประมาณที่ได้รับ จำนวน 153,100.-บาท (หนึ่งแสนห้าหมื่นสามพันหนึ่งร้อยบาทถ้วน) นั้น

บัดนี้โครงการดังกล่าวได้เสร็จสิ้นเรียบร้อยแล้ว โดยมีค่าใช้จ่ายเงิน ดังนี้

1. ค่าตอบแทน	20,000.-	บาท
- ค่าตอบแทนนักวิจัย	20,000.-	บาท
2. ค่าใช้สอย	121,540.-	บาท
- ค่าจัดบริการ(ทำรูปเล่ม, ผู้ช่วยวิจัย)	121,540.-	บาท
3. ค่าวัสดุ	2,661.-	บาท
- ค่าวัสดุทุกประเภท	2,661.-	บาท
4. ค่าสาธารณูปโภค	13,912.66	บาท
- ค่าสาธารณูปโภคสำหรับหน่วยงานต้นสังกัด	13,912.66.-	บาท
รวมเงินทั้งสิ้น	<u>158,113.66.-</u>	บาท

ดังนั้น ขออนุมัติและเบิกจ่ายค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานเท่ากับจำนวนงบที่ได้รับ เป็นเงิน 153,100.-บาท (หนึ่งแสนห้าหมื่นสามพันหนึ่งร้อยบาทถ้วน)

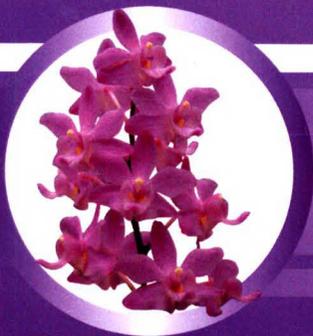
จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ



ได้ตรวจสอบเอกสารแล้ว
ถูกต้อง เป็นควรมติ

ผู้
คณบดี


ศาสตราจารย์ ดร. (นาย) ...
คณบดี คณะเกษตรศาสตร์



Germplasm Collections and Cytological Investigation of
Local Thai Doritis Germplasm in North-East of Thailand