รายงานผลงานวิจัย

เรื่อง

การศึกษาโครโมโซมของพืชวงศ์ขิง

(Chromosome Studies of the Zingiberaceae)

โดย

ลัดดา เอกสมทราเมษฐ์

สุวรพร เรืองเลิศปัญญากุล

สุธรรม มะยะกูล

จวงจันทน์ วิฬาประไพ

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วิทยาเขตหาดใหญ่

พ.ศ. 2537

สมอ

เลขหมู่ QK495.Z65 T64 2537 ฉ 1

เลขทะ .....

..... / 6 ต.ค. 2537 .....

Order Key 980

BIB ... 59614

บทคัดย่อ

ศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชวงศ์ขิงในประเทศไทยจากปลายรากจำนวน 13 ชนิด พบว่า *Kaempferia parviflora* และ *K. pulchra* มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน 2n = 22, *K. angustifolia* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 33 *Boesenbergia plicata* var. lurida (ดอกสีแดง), *B. plicata* (ดอกสีเหลือง) และ *B. prainiana* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 20 เท่ากันทั้ง 3 ชนิด, *B. curtisii* (ก้านขาว) 2n = 26, *B. curtisii* (ก้านดำ) 2n = 24, *Curcuma roscoeana* 2n = 42 และ *C. harmandii* 2n = 20, *Costus speciosus* (ใบปกติ) 2n = 18 ขณะที่ *C. speciosus* (ใบด่าง) 2n = 36, *Curcumorpha longiflora* 2n = 20 โดยพบว่า *K.. angustifolia* และ *C. longiflora* มีจำนวนโครโมโซมแตกต่างจากที่เคยมีคนศึกษามาในอดีต นอกจากนี้จำนวนโครโมโซมของ *K. parviflora*, *B. curtisii* (ก้านขาว), *B. curtisii* (ก้านดำ), *C. roscoeana* และ *C. harmandii* ยังไม่เคยรายงานมาก่อน

Abstract

Chromosome numbers of 13 species of Thai Zingiberaceae were determined in root tip. The chromosome numbers of these following species are *Kaempferia parviflora* and *K. pulchra* 2n = 22, *K. angustifolia* 2n = 33, *Boesenbergia plicata* var. lurida (red petal), *B. plicata* (yellow petal) and *B. prainiana* 2n = 20, *B. curtisii* (white petiole) 2n = 26, *B. curtisii* (black petiole) 2n = 24, *Curcuma roscoeana* 2n = 42 and *C. harmandii* 2n = 20, *Costus speciosus* (normal leaf) 2n = 18 while *C. speciosus* (mosaic leaf) 2n = 36, *Curcumorpha longiflora* 2n = 20. Chromosome numbers of *K. angustifolia* and *C. longiflora* differ from those previously studied. *K. parviflora*, *B. curtisii* (white petiole), *B. curtisii* (black petiole), *C. roscoeana* and *C. harmandii* have not been recorded before.

สารบัญ

สารบัญเนื้อเรื่อง	หน้า
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	1
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง	5
อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	5
วิธีดำเนินการทดลอง	6
ผลการทดลอง	10
วิจารณ์ผล	17
สรุปผล	20
เอกสารอ้างอิง	21

สารบัญตาราง	หน้า
ตารางที่ 1 จำนวนโครโมโซมในพืช 13 ชนิด	10

สารบัญรูป	หน้า
รูปที่ 1 *Kaempferia parviflora*	13
รูปที่ 2 *K. pulchra*	13
รูปที่ 3 *K. angustifolia*	13
รูปที่ 4 *Boesenbergia plicata* var. lurida (ดอกสีแดง)	14
รูปที่ 5 *B. plicata* (ดอกสีเหลือง)	14
รูปที่ 6 *B. prainiana*	14
รูปที่ 7 *B. curtisii* (ก้านขาว)	14
รูปที่ 8 *B. curtisii* (ก้านดำ)	14
รูปที่ 9 *Curcuma roscoeana*	15
รูปที่ 10 *C. harmandii*	15
รูปที่ 11 *Costus speciosus* (ใบปกติ)	15
รูปที่ 12 *C. speciosus* (ใบด่าง)	15
รูปที่ 13 *Curcumorpha longiflora*	16

บทนำ

โดยทั่วไปการศึกษาทางด้านอนุกรมวิธาน (taxonomy) อาศัยความแตกต่างของลักษณะรูปร่างทางสัณฐานวิทยา (morphology) ของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ ต่อมาเมื่อมีความรู้ทางเซลล์พันธุศาสตร์ (cytogenetic) เพิ่มขึ้นทำให้ทราบว่าสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีจำนวนและรูปร่างโครโมโซมคงที่ ดังนั้นปัจจุบันการศึกษาทางอนุกรมวิธานโดยอาศัยจำนวนและรูปร่างโครโมโซม (cytotaxonomy) จึงร่วมด้วยกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา เกี่ยวกับโครโมโซมพืชมีการศึกษามาแล้วเป็นจำนวนมาก เช่น สกุล *Phaseolus* (Sarbhoy, 1980) สกุล *Zephyranthes* (กันยารัตน์, 2532) และสกุล *Carex* (Halkka, 1992) เป็นต้น ข้อมูลโครโมโซมนอกจากช่วยในการจำแนกสิ่งมีชีวิตแล้วอาจนำมาใช้อธิบายเกี่ยวกับความผันแปรของลักษณะรวมทั้งทำให้ทราบถึงสายสัมพันธ์ทางด้านวิวัฒนาการด้วย เช่น ศึกษาในพืชสกุล *Fritillaria* (Zeharof, 1989) และ สกุล *Zephyranthes* (บุษกร, 2529)

ในประเทศไทยมีพืชวงศ์ขิงอยู่จำนวนมากกว่า 200 ชนิด เฉพาะบริเวณภาคใต้ตามที่ได้สำรวจและมีรายงานว่าพบ 11 สกุล และ 44 ชนิด (พวงเพ็ญ, 2532) ปัจจุบันได้มีการศึกษาพืชวงศ์ขิงของประเทศไทย และสำเร็จไปแล้วหลายสกุล คือ สกุล *Boesenbergia* (Sirirugsa, 1992) สกุล *Hedychium* (Sirirugsa, 1991) และ สกุล *Kaempferia* (Sirirugsa, 1992) นอกจากนี้ยังพบพืชวงศ์ขิงชนิดใหม่ในสกุล *Schaphochlamys* (Sirirugsa และ Larsen, 1991) และ สกุล *Boesenbergia* (sirirugsa, 1987, Larsen, 1993.)

การศึกษาโครโมโซมพืชวงศ์ขิงในประเทศไทยยังมีไม่กว้างขวาง จึงนับว่าล้าหลังกว่าประเทศเพื่อนบ้านใกล้เคียง เช่นประเทศมาเลเซียได้ศึกษาและบันทึกข้อมูลไว้หลายชนิดโดย Beltran และ Yee Kiew (1984) ส่วนประเทศจีนศึกษาโดย Chen และคณะ (1990) ในการศึกษาครั้งนี้จะนับจำนวนโครโมโซมของพืชวงศ์ขิงบางชนิดของไทยเพื่อสนับสนุนการศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานของพืชวงศ์นี้

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาโครโมโซมของพืชวงศ์ขิงเท่าที่พบได้ในภาคใต้และการแลกเปลี่ยนจากภาคอื่นๆ ของประเทศ โดยการนับจำนวนโครโมโซมที่แบ่งเซลล์ไมโทซิสจากเนื้อเยื่อเจริญปลายรากซึ่งเป็นดิพลอยด์(2n) และแบ่งเซลล์ไมโอซิสของไมโครสปอร์มาเธอร์เซลล์ (microspore mother cell) ในอับเรณูของดอกซึ่งเป็นแฮพลอยด์ (n)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ข้อมูลจำนวนโครโมโซมที่ได้จากเนื่อเยื่อเจริญปลายรากหรือจากดอก สามารถนำมาสนับสนุนการศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานพืช บอกความแตกต่างและความสัมพันธ์ของชนิดต่างๆในวงศ์นี้ นอกจากนี้ข้อมูลนี้จะเป็นประโยชน์ทางด้านการผสมพันธุ์เพื่อปรับปรุงพันธุ์ อธิบายเกี่ยวกับความผันแปรของพืช การกระจัดกระจายพันธุ์พืช รวมทั้งวิวัฒนาการของพืช และ สามารถนำมาอ้างอิงประกอบการเรียนการสอนในสาขาพฤกษศาสตร์ต่อไปด้วย

การตรวจเอกสาร

พวงเพ็ญ (2532) ได้เก็บรวบรวมพืชวงศ์ขิงในบริเวณภาคใต้ของไทยและรายงานไว้จำนวน 44 ชนิด ใน 11 สกุล คือ *Alpinia* 7 ชนิด *Amomum* 6 ชนิด *Elettariopsis* 3 ชนิด *Etlingera* 3 ชนิด *Globba* 2 ชนิด *Boesenbergia* 5 ชนิด *Curcuma* 3 ชนิด *Hedychium* 1 ชนิด *Kaempferia* 4 ชนิด *Scaphochlamys* 2 ชนิด และ *Zingiber* 8 ชนิด

Beltran และ Yee Kiew (1984) ศึกษาจำนวนโครโมโซมในไมโครสปอร์มาเธอร์เซลล์ของพืชวงศ์ Zingiberaceae ที่พบประเทศมาเลเซียจำนวน 33 ชนิด พบว่า *Zingiber* ทั้ง 13 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n = 2x = 22 (basic number, x = 11) โดยพบว่าระยะเมทาเฟส I มี 11 ไบวาเลนต์ *Boesenbergia plicata* และ *B. prainiana* มี 2n = 2x = 20 (x = 10) *Curcuma* มี n = 21 *Hedychium* มี n = 17 *Scaphochlamys* มีทั้ง n = 13 และ 14 *Achasma* มี n = 24 *Amomum* มี n = 24 *Hornstedtia* มี n = 24 และ *Nicolaia* มี n = 24 [ทั้ง *Achasma* และ *Nicolaia* ปัจจุบันจัดอยู่ในสกุล *Etlingera* (Burtt และ Smith, 1986)] จะเห็นว่าพืชในวงศ์นี้มีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกันมาก

Sirirugsa (1992) ศึกษาอนุกรมวิธานของพืชวงศ์ขิงสกุล *Kaempferia* ในประเทศไทย พบว่าพืชสกุลนี้มีทั้งหมด 15 ชนิด คือ *K. spoliata, K. larsenii, K. fallax, K. filifolia, K. elegans, K. parviflora, K. rotunda, K. angustifolia, K. siamensis, K. marginata, K. galanga, K. pulchra, K. glauca, K. roscoeana* และ *K. laotica* และได้จัดทำรูปวิธาน (key) พร้อมทั้งคำบรรยายของพืชแต่ละชนิด

Sirirugsa (1992) ศึกษาอนุกรมวิธานของพืชวงศ์ขิงสกุล *Boesenbergia* ในประเทศไทย พบว่าพืชสกุลนี้มีทั้งหมด 13 ชนิด คือ *B. basispicata, B. prainiana, B. curtisii, B. petiolata, B. xiphostachya, B. thorelii, B. longipes, B. rotunda, B. plicata, B. acuminata, B. parvula*

และ *B. pulcherrima* และได้จัดทำรูปวิธาน พร้อมทั้งคำบรรยายของพืชแต่ละชนิดเกี่ยวกับการกระจาย, นิเวศวิทยา และ ชื่อพื้นเมือง

Darlington และ Wylie (1950) ได้รายงานเกี่ยวกับจำนวนโครโมโซมในวงศ์ Zingiberaceae ดังนี้ *Costus* มี basic number (x) = 9 *Zingiber* x = 11, 12 *Kaempferia* x = 9, 11, 12 *Alpinia* x = 12 *Amomum* x = 12 *Eletteria* x = 12 *Globba* x = 12 *Phaeomeria* x = 12 *Curcuma* x = 16, 21 *Brachychilus* x = 16 และ *Hedychium* x= 9, 16, 17 ส่วนพืชวงศ์ขิงชนิดต่างๆในประเทศไทยไม่ปรากฏในรายงานนี้

Persson และ Persson (1992) พบพืชชนิดใหม่ในประเทศตรุกี คือ *Hyacinthella lazulina* ซึ่งพืชนี้มีลักษณะคล้ายกับ *H. heldreichii* แต่จำนวนโครโมโซมในพืชทั้งสองแตกต่างกัน คือ *H. lazulina* 2n = 22 ในขณะที่ *H. heldreichii* 2n = 18 นอกจากนี้พบว่าพืชชนิดอื่นๆ ในสกุล Hyacinthella มีจำนวนโครโมโซม 2n = 18, 22 และ 24 ด้วย

Sarbhoy (1980) ตรวจนับโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากและศึกษาคารีโอไทพ์ของพืชสกุล *Phaseolus* L. จำนวน 15 ชนิด พบว่าทั้ง 15 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม 2n = 2x = 22 โดยมีลักษณะคารีโอไทพ์แตกต่างกันด้วย นอกจากนี้พืชชนิดเดียวกันแต่ต่าง variety พบว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากันและคารีโอไทพ์เหมือนกัน คือ *P. vulgaris* var. *Climbing* และ *P. vulgaris* var. *Dwarf* มี 2n = 2x = 22 โดยคารีโอไทพ์ประกอบด้วย metacentric chromosome ขนาดยาว 4 คู่, ขนาดกลาง 4 คู่ และ submetacentric chromosome ขนาดกลาง 3 คู่

Luque (1992) ศึกษาโครโมโซมจากปลายรากและตาดอกของพืชวงศ์ Boraginaceae Tribe Eritrichieae ที่พบที่ประเทศสเปน ทั้งหมด 4 สกุล คือ *Asperugo, Rochelia, Myosotis* และ *Lappula* พบว่าจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ร่างกาย (2n) และเซลล์สืบพันธุ์ (n) มีดังนี้คือ *Asperugo procumbens* 2n = 48, n = 24 (x = 12), *Rochelia disperma* 2n = 22 (x = 11) ซึ่งแตกต่างจากที่พบในรัสเซีย 2n = 20, *Myosotis* ทั้งหมด 11 ชนิด มีจำนวนโครโมโซมตั้งแต่ 2n = 24 ถึง 72 (x = 8, 12) โดยบางชนิดอาจมีจำนวนโครโมโซมแตกต่างจากที่พบที่ประเทศอื่น และ *Lappula* 4 ชนิด มี 2n = 22 และ 48 (x = 11, 12)

Zaharof (1989) ศึกษาคารีโอไทพ์ของพืชสกุล *Fritillaria* 2 ชนิด คือ *F. graeca* และ *F. davisii* ที่พบที่ประเทศกรีก พบว่า *F. graeca* มีทั้งหมด 5 subspecies คือ subspecies *graeca, guicciardii, ionica, thessala* และ *othria* โดยพืชทั้ง 5 มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ 2n = 24 แต่มีลักษณะคารีโอไทพ์แตกต่างกัน ภายใน subspecies *thessala* เดียวกันแต่ต่างประชากรกันอาจพบว่ามีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกันเนื่องจากมี B-โครโมโซมเกินมา ส่วน *F. davisii* มี 2n = 24 และมีคารีโอไทพ์แตกต่างกับ *F. graeca* จากการศึกษาทางเซลล์วิทยา

และลักษณะรูปร่างภายนอกรวมทั้งการกระจายทางภูมิศาสตร์ของพืชแต่ละชนิด พบว่า *F. graeca* และ *F. davisii* มีความสัมพันธ์กันโดยเฉพาะ *F. davisii* อาจเกี่ยวข้องกับ *F. graeca* subsp. *guicciardii*

Stergianou และ Harberd (1989) ศึกษาโครโมโซมทั้งเซลล์ร่างกายและไมโครสปอร์มาเธอร์เซลล์ รวมทั้งคารีโอไทพ์ของพืชสกุล *Pleione* D. Don พบว่า *P. bulbocodioides, P. humilis, P. yunnanensis, P. forrestii* และ *P. hookeriana* มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ 2n = 40 และคารีโอไทพ์ของพืชทั้งห้ามีความแตกต่างกัน ขณะที่ *P. bulbocodioides, P. formosana* และ *P. limprichtii* มี 2n = 40 แต่มีคารีโอไทพ์คล้ายกัน คือประกอบด้วย metacentric chromosome 11 คู่ submetacentric chromosome 4 คู่ และ subtelocentric chromosome 5 คู่ นอกจากนี้พืชที่เป็นโพลีพลอยด์ เช่น *P. speciosa, P. limprichtii* มี 2n = 4x = 80 และ *P. bulbocodioides* 2n = 6x = 120 พบว่าจำนวนชุดโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นเป็นชนิดเดียวกับชุดเดิม แสดงว่าเป็นชนิดออโตโพลีพลอยด์

Larsen (1963) ศึกษาจำนวนโครโมโซมวงศ์ Gramineae ที่พบตามภูเขาในประเทศไทย พบว่าพืชวงศ์นี้มีทั้งที่เป็นดิพลอยด์และโพลีพลอยด์ โดยมีจำนวนโครโมโซมตั้งแต่ 2n = 14 (*Hackelochloa granularis*) จนถึง 2n = 108 (*Echinochloa stagnina*, พืชนี้ที่อินเดียเคยนับจำนวนโครโมโซมได้ 2n = 54) พืชชนิดเดียวกันแต่เจริญคนละสถานที่พบว่ามีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกัน เช่น *Panicum notatum* เก็บจากภูกระดึง 2n = 36 (4x) ขณะที่เก็บจากดอยสุเทพ 2n = 82 - 84 นอกจากนี้ยังได้ศึกษาพืชวงศ์อื่นๆด้วย เช่นวงศ์ Liliaceae พบว่าพืชต่างชนิดกันอาจมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน เช่น *Ophiopogon intermedius, O. malcolmsii* และ *O. reptan* มีจำนวน 2n = 36

Chen และคณะ (1990) ศึกษาจำนวนโครโมโซมในพืชหลายวงศ์จำนวน 50 ชนิด โดยพืชบางชนิดยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน ส่วนพืชที่เคยศึกษามาแล้ว พบว่ามีหลายชนิดที่จำนวนโครโมโซมไม่ตรงกับที่เคยรายงาน เช่นวงศ์ Compositae ชนิด *Arctium lappa* L. 2n = 36 ซึ่งมีผู้เคยรายงานว่าพืชนี้ 2n = 32 เป็นต้น

Akiyama และคณะ (1992) ศึกษาจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากของพืชสกุล *Impatiens* ที่พบที่ภูเขาหิมาลายัน จำนวน 16 ชนิด พบว่าส่วนใหญ่จะมีจำนวนโครโมโซม 2n = 18 (x = 9) และอาจพบ 2n = 14 และ 20 ด้วย บางชนิดอาจมีจำนวนโครโมโซม 2 ค่า คือ *I. serrata* 2n = 14, 15 และ *I. cymbifera* 2n = 18, 19 โดยแท่งที่เกินมาอาจเป็น B-โครโมโซม

บุษกร (2529) ศึกษาสายสัมพันธ์ของบัวจีน 2 ชนิด คือบัวจีนดอกชมพูเล็ก *Zephyranthes rosea* (2n = 24) และบัวจีนดอกชมพูใหญ่ *Z. grandiflora* (2n = 48) โดยทำการ

ทดลองผสมสลับระหว่างบัวจีนทั้งสอง พบว่าได้ลูกผสมจำนวน 12 ต้น มีเพียงต้นเดียวที่เกิดจากแม่ที่เป็นบัวจีนดอกชมพูเล็ก และอีก 11 ต้น มีบัวจีนดอกชมพูใหญ่เป็นแม่ ลูกผสมที่มีแม่เป็นดอกชมพูเล็กมีจำนวนโครโมโซม 2n = 35 ส่วนลูกผสมที่มีแม่เป็นดอกชมพูใหญ่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันทั้ง 11 ต้น คือ 2n = 48 การที่บัวจีนดอกชมพูเล็กสามารถผสมสลับกับบัวจีนดอกชมพูใหญ่และได้ลูกผสมที่มีดอกได้แสดงว่าบัวจีนทั้งสองชนิดมีสายสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน

Halkka (1992) ศึกษาโครโมโซมขณะที่มีไมโอซิสของพืชสกุล *Carex* ทั้งหมด 6 ชนิด และลูกผสมอีก 1 ชนิด พบว่า *C. flava* มีจำนวนโครโมโซม n = 30, *C. jemtlandiea* n = 34, *C. viridula* var. *viridula* n = 35 และ var. *pulchella* n = 35 เช่นกัน, *C. bergrothii* n = 35, *C. kotilaini* n = 34 และ ลูกผสมระหว่าง *C. flava* x *C. kotilaini* พบว่าการจับคู่ของโครโมโซมในระยะไมโอซิสหนึ่งมีทั้ง univalent, bivalent และ multivalent

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1 ตัวอย่างพืชวงศ์ขิงที่เก็บรวบรวมไว้ที่เรือนเพาะชำของภาควิชาชีววิทยา และจากการ เก็บจากธรรมชาติในป่าบริเวณภาคใต้

2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกและตัดราก

- 2.1 กระถาง
- 2.2 ดินผสม
- 2.3 เครื่องมือการเกษตร
- 2.4 ป้ายสำหรับบันทึก
- 2.5 ปากคีบ จาน ขวดมีฝา

3 สารเคมีและอุปกรณ์สำหรับศึกษาโครโมโซม

- 3.1 paradichlorobenzene (PDB)
- 3.2 ethanol 3 : acetic acid 1
- 3.3 ethanol 70, 95 และ 100 เปอร์เซนต์
- 3.4 1 N hydrochloric acid
- 3.5 Carbol Fuchsin
- 3.6 xylene
- 3.7 canada balsum
- 3.8 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

3.9 oil immersion

3.10 แผ่นสไลด์ แผ่นแก้วปิด ใบมีดโกน

3.11 เข็มเขี่ย ดินสอ ตะปู

3.12 Hoyer's medium

4 อุปกรณ์สำหรับถ่ายภาพ

4.1 กล้องจุลทรรศน์พร้อมกล้องถ่ายภาพ

4.2 ฟิล์มถ่ายรูป

วิธีดำเนินการทดลอง

1 พืชที่ใช้ในการทดลอง

พืชที่นำมาศึกษาได้มาจากป่าของประเทศไทยโดย ศ. พวงเพ็ญ ศิริรักษ์ ได้เก็บและรวบรวมไว้ที่เรือนเพาะชำของภาควิชาชีววิทยา รวมทั้งอาจได้จากการแลกเปลี่ยนจากภาคอื่นๆของประเทศ

1.1 พืชที่ใช้ในการศึกษาเซลล์ปลายราก ทั้งหมด 5 สกุล มีจำนวน 13 ชนิด คือ

- สกุล *Kaempferia*

K. parviflora Wall.

K. pulchra Ridl.

K. angustifolia Rosc.

- สกุล *Boesenbergia*

B. plicata var. *lurida* (Ridl.) Holtt. (ดอกสีแดง)

B. plicata (Ridl) Holtt. (ดอกสีเหลือง)

B. prainiana (Baker) Schltr.

B. curtisii (Baker) Schltr. (ก้านขาว)

B. curtisii (Baker) Schltr. (ก้านดำ)

- สกุล *Curcuma*

C. roscoeana Wall.

C. harmandii Gagnep.

- สกุล Costus

C. speciosus (D. Koenig) Sm. (ใบปกติ)

C. speciosus (D. Koenig) Sm. (ใบด่าง)

- สกุล *Curcumorpha*

C. longiflora (Wall.) Rao & Verma

1.2 พืชที่ใช้ในการศึกษาเซลล์จากดอก ทั้งหมด 4 สกุล จำนวน 6 ชนิด คือ

- สกุล *Kaempferia*

K. pulchra Ridl.

K. angustifolia Rosc.

- สกุล *Boesenbergia*

B. curtisii (Baker) Schltr. (ก้านขาว)

B. curtisii (Baker) Schltr. (ก้านดำ)

- สกุล *Zingiber*

Z. zerumbet Smith

- สกุล *Hedychium*

H. flavescens Caray ex Rosc. Monandr. Plt. (ดอกเหลือง)

2 ศึกษาจำนวนโครโมโซมจากปลายรากและคารีโอไทพ์

ศึกษาโครโมโซมในเซลล์ร่างกายของปลายรากโดยเตรียมสไลด์แบบ Feulgen Squash ซึ่งมีวิธีการดังนี้

2.1 การเตรียมราก (pretreatment)

เลือกรากที่กำลังแบ่งเซลล์โดยสังเกตรากที่มีลักษณะขาวใส ปลายขุ่นเล็กน้อย ตัดมาประมาณ 1-2 เซนติเมตร แช่ในสารละลายอิ่มตัว paradichlorobenzene (PDB) ที่อุณหภูมิตู้เย็นประมาณ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง โดยระยะเวลาที่เหมาะสมในการตัดรากคือเวลา 9.00 - 10.00 น.

2.2 การฟิกส์ราก (fixation)

นำรากที่เตรียมไว้ในข้อ 2.1 มาเทสารละลาย PDB ทิ้ง แล้วใส่น้ำยาฟิกส์รากคือ ส่วนผสมของ ethanol 3 : acetic acid 1 แช่รากทิ้งไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็นคือประมาณ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.3 การเก็บราก (storage)

นำรากที่ฟิกส์ไว้ในข้อ 2.2 มาล้างด้วย ethanol 95 เปอร์เซนต์ 2 ครั้ง แล้วเก็บรากไว้ใน ethanol 70 เปอร์เซนต์ ที่อุณหภูมิตู้เย็น เมื่อต้องการจะศึกษาโครโมโซมจึงนำรากที่เก็บไว้มาทำการทดลองต่อไป

2.4 ไฮโดรไลซิส (hydrolysis)

นำรากข้อ 2.3 มาล้างน้ำ แล้วนำมาไฮโดรไลซิสโดย 1 Normal hydrochloric acid เป็นเวลา 4-10 นาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

2.5 การย้อมสีและการเตรียมสไลด์

หลังจากไฮโดรไลซิส นำรากมาล้างน้ำ 2 ครั้ง ซับด้วยกระดาษทิชชู แล้งจึงนำมาย้อมสีด้วย Carbol Fuchsin นานประมาณ 1 ชั่วโมง สังเกตว่าปลายรากติดสีม่วงแดงดีแล้วจึงนำปลายรากเฉพาะบริเวณติดสีม่วงแดงซึ่งประกอบด้วยเนื้อเยื่อเจริญมาวางบนสไลด์ หยดสี Carbol Fuchsin 1-2 หยด ปิดด้วยแผ่นแก้วปิด แล้วเคาะปลายรากด้วยปลายดินสอให้เซลล์กระจายดี หลังจากนั้นใช้นิ้วหัวแม่มือกดทับบนแผ่นแก้วปิดเพื่อให้เซลล์อยู่ในระนาบเดียวกัน นำสไลด์มาตรวจดูโครโมโซมด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้เลนส์วัตถุ (objective lens) กำลังขยาย 40 เท่า เพื่อหาเซลล์ระยะเมทาเฟสที่มี โครโมโซมกระจายไม่ซ้อนกัน นับจำนวนโครโมโซมโดยใช้เลนส์วัตถุกำลังขยาย 100 เท่า แล้วนำเซลล์ที่เลือกได้ว่าโครโมโซมกระจายดีและสามารถนับจำนวนได้ไปถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายของเลนส์วัตถุ 100 เท่า หลังจากถ่ายภาพแล้วเก็บสไลด์ไว้ในตู้เย็นที่ช่องแช่แข็งก่อนที่จะนำไปทำสไลด์อย่างถาวร เมื่อต้องการทำสไลด์ถาวร ให้ใช้ใบมีดโกนแซะแผ่นแก้วปิดขึ้น แล้วผ่านสไลด์และแผ่นแก้วปิดใน ethanol 100 เปอร์เซนต์ 2 ครั้ง และ xylene 1 ครั้ง เมื่อนำสไลด์ออกจาก xylene แล้วหยด canada balsum 1 หยด ลงตรงบริเวณที่มีเซลล์รากแล้วปิดแผ่นแก้วปิด อบสไลด์ให้แห้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

การศึกษาคารีโอไทพ์ ถ่ายภาพเซลล์ทั้งหมด 20 เซลล์ นำฟิล์มไปล้าง แล้วนำฟิล์มที่ได้มาขยายด้วยเครื่องอัดภาพ วาดภาพขยายของโครโมโซมลงบนกระดาษเพื่อนำมาวัดความยาวของโครโมโซมทุกแท่งโดยใช้ตำแหน่งเซนโทรเมียร์เป็นหลัก ความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่ง (LT) ประกอบด้วยความยาวแขนข้างยาว (long arm, LI) และความยาวแขนข้างสั้น (short arm, Ls) กรณีโครโมโซมมีสองโครมาติด ต้องวัดความยาวของโครมาติดทั้งสองแล้วหาค่าเฉลี่ย นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า Relative length (RL) และ Centromeric index (CI) ของโครโมโซมทุกแท่งในแต่ละเซลล์ตามวิธีของ Turpin และ Lejeune

$$CI = LI / LT$$

$$RL = LT / \Sigma LT$$

การจัดคู่ของโครโมโซมโดยการนำภาพวาดและภาพถ่ายของโครโมโซมมาให้หมายเลขเรียงลำดับจากโครโมโซมคู่ที่ยาวที่สุดไปหาคู่ที่สั้นที่สุดโดยอาศัยความยาวและตำแหน่งของเซนโทรเมียร์เป็นหลัก โครโมโซมที่เหมือนกัน (homologous chromosome) ย่อมมีค่า RL

และ CI เท่ากันหรือใกล้เคียงกัน นำค่า Ls, LI, LT, RL และ CI ของทั้งหมด 20 เซลล์มาหาค่าเฉลี่ย, ค่า standard deviation และ standard error เมื่อจัดคู่โครโมโซมได้แล้ว เลือกฟิล์มที่มีโครโมโซมกระจายดีที่สุด 1 เซลล์ นำมาอัดขยายภาพเพื่อนำมาจัดคาริโอแกรม โดยตัดโครโมโซมแต่ละแท่งมาเรียงคู่จากโครโมโซมคู่ที่ยาวที่สุดไปยังคู่ที่สั้นที่สุดโดยเรียงให้เซนโทรเมียร์อยู่ในแนวเดียวกัน

3 ศึกษาจำนวนโครโมโซมจากการแบ่งเซลล์ของไมโครสปอร์มาเธอร์เซลล์

ศึกษาจำนวนโครโมโซมจากไมโครสปอร์มาเธอร์เซลล์โดยวิธี Acetoorcein smear ซึ่งมีวิธีการดังนี้คือ เลือกดอกที่ยังอ่อนมาใส่ในสารละลาย ethanol 3 : acetic acid 1 ประมาณ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำดอกอ่อนมาล้างด้วย ethanol 95 เปอร์เซนต์ 2 ครั้งๆละ 5 นาที และเก็บดอกไว้ใน ethanol 70 เปอร์เซนต์ ที่อุณหภูมิตู้เย็น เมื่อต้องการศึกษาโครโมโซม นำดอกที่เก็บไว้มาแกะเอาเฉพาะอับเรณูทั้งหมดมาวางบนสไลด์ ใช้เข็มเขี่ยแบ่งอับเรณูออกเป็น 2 ส่วน แล้วใช้เข็มเขี่ยกดบนผนังอับเรณูเพื่อให้ไมโครสปอร์มาเธอร์เซลล์หลุดออกมา เขี่ยผนังอับเรณูทิ้ง หยดสี acetoorcein 1-2 หยด ใช้ปลายตะปูคนเบาๆ เพื่อช่วยให้โครโมโซมติดสีดียิ่งขึ้นประมาณ 30 วินาที หลังจากนั้นใช้ปลายเข็มเขี่ย หยดสารละลาย Hoyer 1 หยด ลงบนสไลด์ เมื่อสีและสารละลาย Hoyer ผสมเข้ากันได้ดีแล้วจึงปิดสไลด์ด้วยแผ่นแก้วปิด นำสไลด์ที่ได้ไปลนไฟให้ร้อนพอที่หลังมือทนได้ การลนไฟเพื่อให้เซลล์พองตัวและโครโมโซมติดสีดียิ่งขึ้น หลังจากนั้นเอากระดาษซับวางบนแผ่นแก้วปิด แล้วใช้นิ้วรีดบนกระดาษซับบริเวณแผ่นแก้วปิด เพื่อให้โครโมโซมอยู่ในระนาบเดียวกัน นำสไลด์ไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายของเลนส์วัตถุ 10 เท่า เลือกหาเซลล์ที่มีการแบ่งนิวเคลียสแบบไมโอซิส

ผลการทดลอง

1 ผลการศึกษาจำนวนโครโมโซมจากปลายรากและคารีโอไทพ์

จากการนำสไลด์ปลายรากที่เตรียมโดยวิธี Feulgan squash เลือกเซลล์ในระยะเมทาเฟส แล้วนับจำนวนโครโมโซมในพืชแต่ละชนิดซึ่งเป็นจำนวนดิพลอยด์(2n) พร้อมทั้งเปรียบเทียบกับจำนวนโครโมโซมที่เคยศึกษามาก่อน ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนโครโมโซมในพืช 13 ชนิด

รูปที่	ชนิด	ผลการศึกษาครั้งนี้	ศึกษามาก่อนโดยผู้อื่น			
		2n	n	2n	แหล่ง	โดย
1	*Kaempferia parviflora* Wall.	22	-	-	-	-
2	*K. pulchra* Ridl.	22	11	22	Thailand	Mahanty, 1970 (อ้างโดย Beltran and Yee Kiew, 1984)
3	*K. angustifolia* Rosc.	33	-	54 22	India	Sharma & B., 1959 Mahanty, 1970 (อ้างโดย Beltran and Yee Kiew, 1984)
4	*Boesenbergia plicata* var. lurida (Ridl.) Holtt. (ดอกสีแดง)	20	10	-	Waterfall Garden, Penang	Beltran and Yee Kiew, 1984

ตารางที่ 1 (ต่อ)

รูปที่	ชนิด	ผลการศึกษาครั้งนี้	ศึกษามาก่อนโดยผู้อื่น			
		2n	n	2n	แหล่ง	โดย
5	*B. plicata* (Ridl.) Holtt. (ดอกสีเหลือง)	20	10	-	Taman Negara, Pahang	Beltran and Yee Kiew, 1984
6	*B. prainiana* (Baker) Schltr.	20	10	-	Kuala Rompin, Johore	Beltran and Yee Kiew, 1984
7	*B. curtisii* (Baker) Schltr. (ก้านขาว)	26	-	-	-	-
8	*B. curtisii* (Baker) Schltr. (ก้านดำ)	24	-	-	-	-
9	*Curcuma roscoeana* Wall.	42	-	-	-	-
10	*C. harmandii* Gagnep.	20	-	-	-	-
11	*Costus speciosus* (D. Koenig) Sm. (ใบปกติ)	18	-	18	India	Sato, 1948 (อ้างโดย Darlington และ Wylie, 1950)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

รูปที่	ชนิด	ผลการศึกษาครั้งนี้	ศึกษามาก่อนโดยผู้อื่น			
		2n	n	2n	แหล่ง	โดย
12	*Costus speciosus* (D. Koenig) Sm. (ใบด่าง)	36	-	36	Malaya	Raghavan & V., 1943 (อ้างโดย Darlington และ Wylie, 1950)
13	*Curcumorpha longiflora* (Wall.) Rao & Verma	20	25	-	Nepal	Ramachandran, 1969 (อ้างโดย Beltran and Yee Kiew, 1984)

ศึกษาสกุล *Kaempferia* 3 ชนิด ปรากฏว่า *K. parviflora* และ *K. pulchra* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 เท่ากัน ส่วน *K. angustifolia* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 33

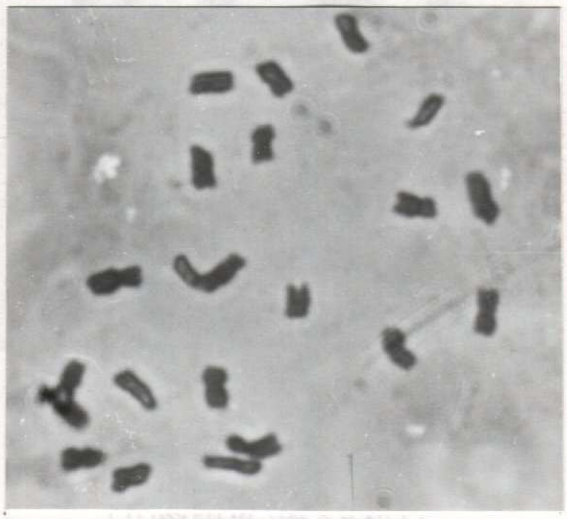
ศึกษาสกุล *Boesenbergia* 5 ชนิด ปรากฏว่า *B. plicata* var. lurida (ดอกสีแดง) และ *B. plicata* (ดอกสีเหลือง) มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน 2n = 20 และมี satellite chromosome เหมือนกัน *B. prainiana* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 20, *B. curtisii* (ก้านขาว) มีจำนวนโครโมโซม 2n = 26, และ *B. curtisii* (ก้านดำ) มีจำนวนโครโมโซม 2n = 24 - 26

ศึกษาสกุล *Curcuma* 2 ชนิด ปรากฏว่า *C. roscoeana* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 42 ลักษณะโครโมโซมมีขนาดเล็กแยกตำแหน่งเซนโทรเมียร์ไม่ชัดเจน และ *C. harmandii* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 20

ศึกษาสกุล *Costus* 2 ชนิด ปรากฏว่า *C. speciosus* (ใบปกติ) มีจำนวนโครโมโซม 2n = 18 และ *C. speciosus* (ใบด่าง) มีจำนวนโครโมโซม 2n = 36

ศึกษาใน *Curcumorpha longiflora* ปรากฏว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 20

พืชสกุล *Kaempferia*



รูปที่ 1 *Kaempferia parviflora* 2n = 22
(กำลังขยาย 100 x 5 เท่า)

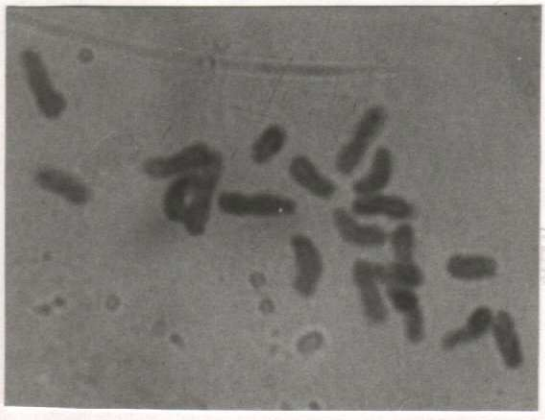
รูปที่ 2 *K. pulchra* 2n = 22
(กำลังขยาย 100 x 3.3 เท่า)

รูปที่ 3 *K. angustifolia* 2n = 33
(กำลังขยาย 100 x 3.3 เท่า)

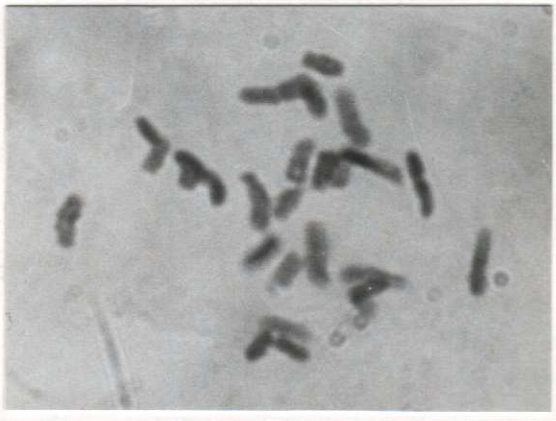
พืชสกุล *Boesenbergia*

รูปที่ 4 *Boesenbergia plicata* var. lurida (ดอกสีแดง) 2n = 20 (กำลังขยาย 100 x 5 เท่า)

รูปที่ 5 *B. plicata* (ดอกสีเหลือง) 2n = 20 (กำลังขยาย 100 x 5 เท่า)



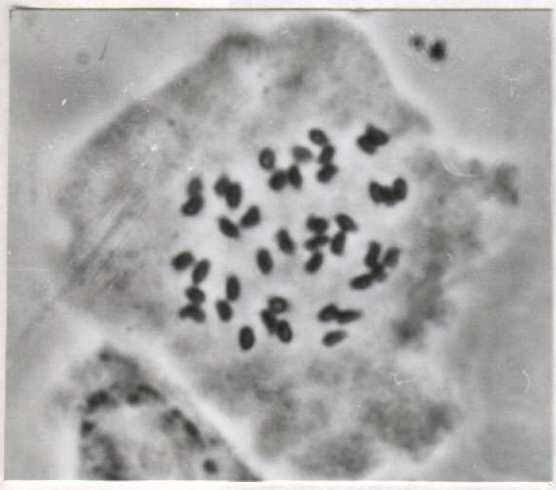
รูปที่ 6 *B. prainiana* 2n = 20 (กำลังขยาย 100 x 5 เท่า)



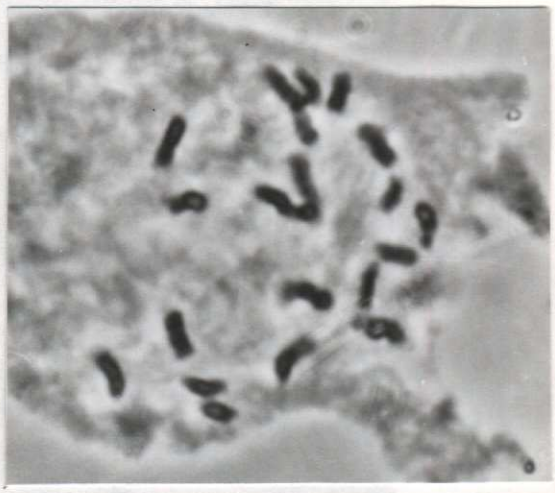
รูปที่ 7 *B. curtisii* (ก้านขาว) 2n = 26 (กำลังขยาย 100 x 5 เท่า)

รูปที่ 8 *B. curtisii* (ก้านดำ) 2n = 24 (กำลังขยาย 100 x 5 เท่า)

พืชสกุล *Curcuma*

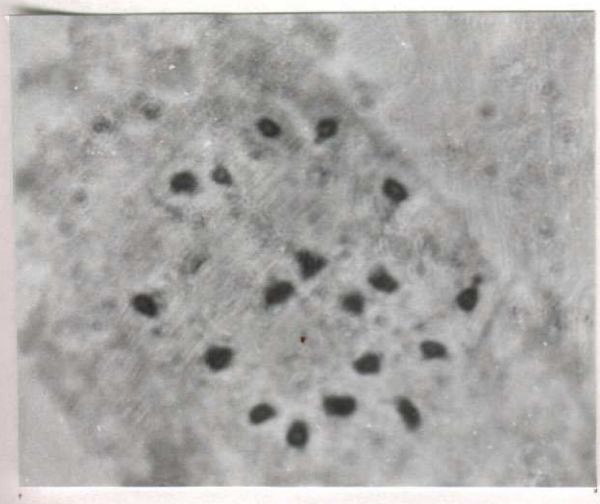


รูปที่ 9 *Curcuma roscoeana* 2n = 42
(กำลังขยาย 100 x 5 เท่า)



รูปที่ 10 *C. harmandii* 2n = 20
(กำลังขยาย 100 x 5 เท่า)

พืชสกุล *Costus*



รูปที่ 11 *Costus speciosus* (ใบปกติ) 2n = 18
(กำลังขยาย 100 x 5 เท่า)

รูปที่ 12 *C. speciosus* (ใบด่าง) 2n = 36
(กำลังขยาย 100 x 5 เท่า)

พืชสกุล *Curcumorpha*

รูปที่ 13 *Curcumorpha longiflora* 2n = 20

(กำลังขยาย 100 x 5 เท่า)

2 ผลการศึกษาจำนวนโครโมโซมจากไมโครสปอร์มาเธอร์เซลล์

นำตัวอย่างพืชมาศึกษาทั้งหมด 4 สกุล จำนวน 6 ชนิด โดยเตรียมสไลด์ด้วยวิธี Acetoorcein smear จากการศึกษาพบว่าไมโครสปอร์มาเธอร์เซลล์บางเซลล์อยู่ในระยะอินเตอร์เฟสก่อนที่จะเข้าสู่ไมโอซิสดังนั้นระยะนี้จึงมองเห็นโครโมโซมไม่ชัดเจน บางเซลล์ไมโครสปอร์มาเธอร์เซลล์แบ่งไมโอซิสเสร็จสิ้นเรียบร้อยแล้วได้สปอร์จำนวนมากมายซึ่งระยะนี้โครโมโซมคลายเกลียวเป็นเส้นด้ายทำให้นับโครโมโซมไม่ได้ เนื่องจากระยะของไมโอซิสที่เหมาะสมในการนับจำนวนโครโมโซมคือเมทาเฟสหนึ่ง ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงไม่ได้ข้อมูลเกี่ยวกับจำนวนโครโมโซมที่เป็นแฮพลอยด์ (n)

วิจารณ์ผล

1 ศึกษาจำนวนโครโมโซมจากปลายรากและคารีโอไทพ์

1.1 สกุล *Kaempferia* จากการนับจำนวนโครโมโซมของพืช 3 ชนิด คือ *K. parviflora*, *K. pulchra* และ *K. angustifolia* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 22, 22 และ 33 ตามลำดับ แสดงว่ามี basic number x = 11 ซึ่งสอดคล้องกับ Beltran และ Yee Kiew (1984) ที่ได้รายงานว่าพืชสกุลนี้ส่วนใหญ่พบแถบเอเชีย จัดเป็นดิพลอยด์ 2n = 22 โดยมี x = 11 ส่วน *K. angustifolia* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 33 แสดงว่าเป็นทริพลอยด์ แต่จากการศึกษาพืชนี้ที่พบที่อินเดียโดย Sharma & B. (1959) พบว่ามีจำนวน 2n = 54 และ Mahanty (1970) พบว่ามีจำนวน 2n = 22 (อ้างโดย Beltran และ Yee Kiew, 1984) สำหรับ *K. pulchra* ที่พบในประเทศไทยและศึกษาโดย Mahanty (1970) พบว่ามีจำนวน 2n = 22 เช่นกัน (อ้างโดย Beltran และ Yee Kiew, 1984) สำหรับ *K. parviflora* เป็นพืชที่จัดว่าเป็นข้อมูลใหม่สำหรับประเทศไทยที่ยังไม่เคยบันทึกมาก่อน (พวงเพ็ญ, 2532) และมีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 ซึ่งสอดคล้องกับสมาชิกในสกุลเดียวกัน ผลจากการทดลองในครั้งนี้น่าจะยืนยันได้ว่า basic number พืชสกุลนี้คือ 11

1.2 สกุล *Boesenbergia* ศึกษา 5 ชนิด คือ *B. plicata* var. *lurida* (ดอกสีแดง) และ *B. plicata* (ดอกสีเหลือง) มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน 2n = 20 *B. prainiana* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 20 เช่นกัน แสดงว่า *Boesenbergia* ทั้ง 3 ชนิดมีค่า x = 10 ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Bertran และ Yee Kiew (1984) ได้นับจำนวนโครโมโซมจากดอกของ *B. plicata* พบว่าขณะที่มีไมโอซิส ในระยะโปรเฟสหนึ่งมีการจับคู่ของโครโมโซมที่เหมือนกันทั้งหมด 10 ไบวาเลนต์ และ *B. plicata* var. *lurida* ในระยะเมทาเฟสสองมีจำนวน n = 10 นั่นคือ *Boesenbergia*

ทั้ง 2 ชนิดมีจำนวนโครโมโซม n = 10 หรือ 2n = 20 โดยมี x = 10 และ *B. prainiana* มีจำนวน n = 10 เช่นกัน จะเห็นว่า *Boesenbergia* ต่างชนิดกันอาจมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันได้ ซึ่งคล้ายกับการศึกษาในพืช *Phaseolus* โดย Sarbhoy (1980) พบว่าพืชต่างกันทั้งหมด 15 ชนิด มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ 2n = 22 และพืชชนิดเดียวกันแต่ต่าง variety กัน อาจมีคารีโอไทพ์เหมือนกันได้ ส่วน *B. curtisii* มี 2 ชนิด คือ *B. curtisii* (ก้านขาว) และ *B. curtisii* (ก้านดำ) พบว่า *B. curtisii* (ก้านขาว) มีจำนวนโครโมโซม 2n = 26 ขณะที่ *B. curtisii* (ก้านดำ) มีจำนวนโครโมโซม 2n = 24, 25 และ 26 ซึ่งพืชชนิดนี้ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน แต่จากการพิจารณาเห็นว่าจำนวนโครโมโซมของพืชทั้งสองที่ไม่เท่ากันอาจเนื่องจาก *B. curtisii* (ก้านขาว) มี B-โครโมโซมเกินมา 2 อัน ซึ่งคล้ายกับการศึกษาโดย Zaharof (1989) ในพืชสกุล *Fritillaria* ที่อยู่ใน subspecies เดียวกันแต่ต่างประชากรกัน พบว่าจำนวนโครโมโซมอาจแตกต่างกัน เนื่องจากมี B-โครโมโซมเกินมา ขณะเดียวกัน *B. curtisii* (ก้านดำ) พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 24, 25 และ 26 ซึ่งคล้ายกับที่ Akiyama และคณะ (1992) พบว่า *Impatiens serata* 2n = 14, 15 และ *I. cymbifera* 2n = 18, 19 โดยแท่งที่เกินมาอาจเป็น B-โครโมโซม นอกจากนี้การที่จำนวนแตกต่างกันอาจเนื่องจากปลายรากมีการแบ่งเซลล์ไมโทซิสที่ผิดปกติ มีผลทำให้มีจำนวนโครโมโซมเกินมาหรือขาดหายไปได้และ เนื่องจาก *B. curtisii* (ก้านดำ) บางเซลล์โครโมโซมยืดยาว บางเซลล์มองเห็นเซนโทรเมียร์ไม่ชัดเจนและมีโครโมโซมที่โค้งงอเหล่านี้จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้มีการผิดพลาดในการนับจำนวนได้ ดังนั้นจำนวนโครโมโซมของ *B. curtisii* ทั้งก้านขาวและก้านดำนี้ จะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมอีกต่อไป

1.3 <u>สกุล *Curcuma*</u> ศึกษา 2 ชนิด คือ *C. roscoeana* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 42 จากการศึกษาพืชสกุลนี้แต่ต่างชนิดกัน พบว่าพืชสกุลนี้มีจำนวนโครโมโซมส่วนใหญ่ 2n = 42 (n = 21) และอาจพบบ้าง 2n = 32, 62, 63 และ 64 (Beltran และ Yee Kiew, 1984) และพืชชนิดนี้ยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับจำนวนโครโมโซมเลย ส่วน *C. harmandii* จำนวนโครโมโซม 2n = 20 ซึ่งจำนวนโครโมโซมแตกต่างจากพืชชนิดอื่นในสกุลนี้มาก ถ้าหากว่าพืชนี้เป็นแฮพลอยด์ คือจำนวนโครโมโซม n = 21 ดังนั้นเมื่อศึกษาการแบ่งเซลล์ไมโอซิสจากดอกก็จะพบว่าการจับคู่ของโครโมโซมเป็นแบบ univalent แต่เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ข้อมูลจากการศึกษาโครโมโซมจากไมโครสปอร์มาเธอร์เซลล์จึงยังไม่สามารถสรุปได้ว่า *C. harmandii* มีจำนวนโครโมโซมเป็นแฮพลอยด์หรือดิพลอยด์ นอกจากนี้ถ้า *C. harmandii* เป็นพืชแฮพลอยด์ของสกุล *Curcuma* จริง ดังนั้นการที่จำนวนโครโมโซมลดลงเป็น 20 แท่ง อาจเนื่องจากในช่วงวิวัฒนาการอาจเกิดการแบ่งเซลล์ผิดปกติจึงทำให้มีจำนวนโครโมโซมลดลงได้

1.4 สกุล *Costus* พบว่าจำนวนโครโมโซม *C. speciosus* (ใบปกติ) 2n = 18 และ *C. speciosus* (ใบด่าง) 2n = 36 แสดงว่า *C. speciosus* (ใบด่าง)อาจเป็นเททระพลอยด์ของ *C. speciosus* (ใบปกติ) จากการศึกษาโดย Sato ในปี 1948 และ Raghavan & V. ในปี 1943 พบว่า *C. speciosus* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 18 และ 36 เช่นกัน (Darlington, 1950)

1.5 *Curcumorpha longiflora* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 20 ซึ่งผลการศึกษาแตกต่างจาก Ramachandran (1969) (อ้างโดย Beltran และ Yee Kiew, 1984) ศึกษาพืชชนิดนี้ที่พบที่เนปาล พบว่ามีจำนวนโครโมโซม n = 25 นั่นคือ 2n = 50 ซึ่งคล้ายกับการศึกษาโดย Larsen (1963) ในพืช *Panicum notatum* ที่เก็บจากฎกระดึงมีจำนวน 2n = 36 ขณะที่เก็บจากดอยสุเทพมีจำนวน 2n = 82 - 84 อย่างไรก็ตามเดิม *Curcumorpha longiflora* เคยจัดอยู่ในสกุล *Boesenbergia* ชนิด *B. longiflora* ซึ่งต่อมาได้จัดใหม่ให้อยู่ในสกุล *Curcumorpha* (Bertran และ Yee Kiew, 1984) ดังนั้นถ้ามีการศึกษาทางเซลล์อนุกรมวิธานเพิ่มเติมมากขึ้นก็อาจจะช่วยในการจำแนกพืชชนิดนี้ได้ถูกต้องดียิ่งขึ้น

ในการศึกษาคารีโอไทพ์ของพืชนั้นจะเลือกเซลล์พืชที่อยู่ในระยะเมทาเฟสที่โครโมโซมมีการกระจายโดยส่วนเซนโทรเมียร์ไม่ซ้อนทับกัน โครโมโซมจะต้องไม่ยืดยาว และมีการขดตัวที่พอเหมาะสำหรับที่จะนำมาวัดความยาวของโครโมโซมแต่ละแท่งจากตำแหน่งเซนโทรเมียร์ไปยังปลายแท่งของโครโมโซม กรณีโครโมโซมที่มีขนาดเล็กมากและมองเห็นเซนโทรเมียร์ไม่ชัด เช่น *Curcuma roscoeana* และ *Costus speciosus* จะไม่สามารถนำมาจัดทำคารีโอไทพ์ นอกจากนี้เซลล์ที่จะนำมาศึกษาคารีโอไทพ์มีทั้งหมด 20 เซลล์ ซึ่งเป็นจำนวนที่มากและกว่าจะได้จำนวนเซลล์ครบต้องใช้ระยะเวลานานเนื่องจากในการศึกษาครั้งนี้บางเซลล์โครโมโซมมีการกระจายดีแต่โครโมโซมยืดยาว บางเซลล์โครโมโซมขดตัวมาก มีขนาดเล็ก ไม่สามารถแยกตำแหน่งเซนโทรเมียร์ได้ชัดเจนซึ่งเหมาะสำหรับนับจำนวนโครโมโซม แต่ไม่เหมาะที่จะศึกษาคารีโอไทพ์ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงไม่ได้ศึกษาคารีโอไทพ์ของพืชวงศ์ขิงเลย

2 ศึกษาจำนวนโครโมโซมจากการแบ่งเซลล์ของไมโครสปอร์มาเธอร์เซลล์

การศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ข้อมูลจำนวนโครโมโซมจากไมโครสปอร์มาเธอร์เซลล์ อาจเนื่องจากขนาดของดอกที่เลือกมาไม่เหมาะสม กรณีที่ดอกอ่อนเกินไปไมโครสปอร์มาเธอร์เซลล์ในอับเรณูกำลังเตรียมตัวอยู่ในระยะอินเตอร์เฟสซึ่งยังไม่พร้อมที่จะมีไมโอซิส ส่วนดอกที่แก่เกินไปเซลล์จะเสร็จสิ้นไมโอซิสเรียบร้อยแล้ว ถึงแม้ว่าดอกที่เพิ่งโผล่พ้นดินและยังมีขนาดเล็กอยู่ เช่น *B. curtisii* พบว่าเซลล์แบ่งไมโอซิสเสร็จได้สปอร์จำนวนมากแล้ว หรือ *Hedychium* เก็บ

PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY

ขณะที่ดอกยังตูมมีกาบใบสีเขียวหุ้มอยู่ ปรากฏว่าดอกยังอ่อนอยู่ ดังนั้นการเลือกขนาดของดอกที่เหมาะสมอาจจะต้องเลือกดอกที่ยังไม่โผล่พ้นดิน ซึ่งวิธีการเก็บดอกที่ยังไม่โผล่พ้นดินนี้อาจเป็นปัญหาทำความเสียหายแก่ต้นได้ หรืออาจจะเก็บช่อดอกที่ยังไม่มีดอกใดดอกหนึ่งบาน เพราะถ้ามีดอกใดดอกหนึ่งในช่อดอกบาน ดอกตูมที่เหลือก็จะพบว่าอับเรณูจะมีเซลล์ที่มีไมโอซิสขั้นที่สองแล้ว (กันยารัตน์, 2532) นอกจากนี้การออกดอกของพืชวงศ์ขิงมีช่วงเวลาที่จำกัดด้วยจึงมีผลทำให้ไม่มีดอกที่จะนำมาศึกษา

สรุปผล

การนับจำนวนโครโมโซมของพืชวงศ์ขิงที่พบในประเทศไทยครั้งนี้จำนวน 13 ชนิด พบว่า มีหลายชนิดที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน คือ

1 *Kaempferia parviflora* 2n = 22

2 *Boesenbergia curtisii* (ก้านขาว) 2n = 26

3 *B. curtisii* (ก้านดำ) 2n = 24

4 *Curcuma roscoeana* 2n = 42

5 *C. harmandii* 2n = 20

และมี 2 ชนิดที่ผลการศึกษาแตกต่างจากที่เคยศึกษามาก่อน คือ *K. angustifolia* 2n = 33 และ *Curcumorpha longiflora* 2n = 20

เนื่องจากเวลาในการศึกษามีจำกัด ดังนั้นผลการศึกษาครั้งนี้จึงได้เพียงแต่นับจำนวนโครโมโซม ถ้าหากมีการศึกษาทางเซลล์วิทยาของพืชวงศ์ขิงเหล่านี้ต่อไปอีกก็คงจะทำให้ได้ข้อมูลที่จะไปช่วยทางด้านอนุกรมวิธานรวมทั้งวิวัฒนาการของพืชวงศ์ขิงได้สมบูรณ์มากขึ้น

Order ... 980
BIB ... 59614

เอกสารอ้างอิง

กันยารัตน์ ไชยสุต. 2532. เซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์อนุกรมวิธานของพืชสกุล *Zephyranthes*. ภาควิชาพฤษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

บุษกร อารยากูร. 2529. การศึกษาสายสัมพันธ์ของบัวจีนดอกชมพูเล็ก (*Zephyranthes rosea* Lindl.) และบัวจีนดอกชมพูใหญ่ (*Zephyranthes grandiflora* Lindl.). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาพฤษศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พวงเพ็ญ ศิริรักษ์. 2532. การสำรวจพืชวงศ์ขิงในบริเวณภาคใต้ของไทย. รายงานการวิจัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Akiyama, S., Wakabayashi, M. and Hideaki Ohba, F.L.S. 1992. Chromosome evolution in *Himalayan Impatiens* (Balsaminaceae). Botanical Journal of the Linnean Society. 109 : 247 - 257.

Beltran, I.C. and Kam, Yee Kiew. 1984. Cytotaxonomic studies in the Zingiberaceae. Notes RBC Edinb. 41 (3) : 541 - 559.

Burtt, B.L. and Smith, R.M. 1986. Etlingera : The inclusive name for *Achasma*, *Geanthus* and *Nicolaia* (Zingiberaceae). Notes RBG Edinb. 43 (2) : 235 - 241.

Chen, S. et al. 1990. Fifty Taxa Chromosome Counts. Guihaia. 10 (1) : 33 - 37.

Darlington, C.D. and Wylie, A.P. 1950. Chromosome Atlas. Ruskin House Museum Street, London. pp. 345 - 346.

Halkka, L., Toivonen, H. Saario, S. and Pykala, J. 1992. Chromosome counts in the *Carex flava* complex (Cyperaceae) in Finland. Nord. J. Botany. 12 (6) : 651 - 655.

Larsen, K. 1963. Studies in the flora of Thailand 14. Copenhagen. pp. 216 - 267.

Larsen, K. 1993. *Boesenbergia tenuispicata* (Zingiberaceae): a new species from Thailand. Nord. J. Botany. 13 (3) : 281 - 283.

Luque, T. 1992. Karyological studies on Spanish Boraginaceae. VI Contribution to the tribe Eritrichieae. Botanical J. of the Linnean Society. 110 : 77 - 94.

Mahanty, H.K. 1970. A cytological study of the Zingiberales with special reference to their taxonomy. Cytologia. 35 : 13 - 49.

Persson, K. and Persson, J. 1992. A new species and additional chromosome counts of *Hyacinthella* in Turkey. Nord. J. Botany. 12 (6) : 615 - 620.

Sarbhoy, R.K. 1980. Karyological studies in the genus *Phaseolus*, Linn. Cytologia. 45 : 363 - 373.

Sharma, A.K. & Bhattacharyya, N.K. 1959. Cytology of several members of Zingiberaceae and a study of the inconstancy of their chromosome complement. La Cellule. 59 : 299 - 346.

Sharma, A.K. and Sharma, A. 1980. Chromosome techniques : Theory and Practice. 3rd ed. Butterworths & Co. Ltd. London. pp. 9 - 27.

Sirirugsa, P. 1987. Three new species and one new combination in *Boesenbergia* (Zingiberaceae) from Thailand. Nord. J. Botany. 7 (4) : 421 - 425.

Sirirugsa, P. 1991. The genus *Hedychium* (Zingiberaceae) in Thailand. Department of Biology, Faculty of Science, Prince of Songkhla University.

Sirirugsa, P. 1992. A revision of the genus *Boesenbergia* Kuntze (Zingiberaceae) in Thailand. Nat. Hist. Bull. Siam Soc. 40 : 67 - 90.

Sirirugsa, P. 1992. Taxonomy of the genus *Kaempferia* (Zingiberaceae) in Thailand. Thai For. Bull. 19 : 1 - 15.

Sirirugsa, P. and Larsen, K. 1991. A new species of *Scaphochlamys* (Zingiberaceae) from Thailand. Nord. J. Botany. 11 (1) : 93 - 95.

Stergianou, K. and D.J. Harberd, F.L.S. 1989. A cytotaxonomic study of some species of *Pleione* D. Don (Orchidaceae). Botanical J. of the Linnean Soc. 101 : 213 - 228.

Zaharof, E. Karyotype variation of *Fritillaria graeca* and *F. davisii* from Greece. Nord. J. Botany. 9 (4) : 367 - 373.