



ความสัมพันธ์ทางสัณฐานวิทยาและแคโรไทป์ ในกล้วยไม้สกุลม้าวิงและสายพันธุ์ลูกผสม

Relation of Morphology and Karyotype in *Doritis* spp. and Their Hybrid

กาญจนา รุ่งรัชกานนท์^{1*} แสงเดือน พลเยี่ยม¹ และ ถาวร สุภาพรม²

บทคัดย่อ

กล้วยไม้ม้าวิง ม้าบิน แดงอุบล และสายพันธุ์ลูกผสมแดงอุบล x ม้าวิง มีลักษณะทางสัณฐานของต้นและใบคล้ายคลึงกัน แตกต่างกันเด่นชัดที่ลักษณะดอก แคโรไทป์ของกล้วยไม้ม้าวิงและกล้วยไม้ม้าบินคล้ายคลึงกัน มีจำนวนโครโมโซม $2n = 2x = 38$ กล้วยไม้ม้าวิงมีรูปแบบโครโมโซม 6 เมตาเซนทริก 24 ซับเมตาเซนทริก และ 8 อะโครเซนทริก ($6M + 24Sm + 8A$) กล้วยไม้ม้าบินมีรูปแบบโครโมโซม 8 เมตาเซนทริก 22 ซับเมตาเซนทริก และ 8 อะโครเซนทริก ($8M + 22Sm + 8A$) ส่วนกล้วยไม้แดงอุบล มีจำนวนโครโมโซม $2n = 4x = 76$ มีรูปแบบโครโมโซม 12 เมตาเซนทริก 48 ซับเมตาเซนทริก และ 16 อะโครเซนทริก ($12M + 48Sm + 16A$) สายพันธุ์ลูกผสมแดงอุบล x ม้าวิง มีจำนวนโครโมโซม $2n = 3x = 57$ มีรูปแบบโครโมโซม 9 เมตาเซนทริก 36 ซับเมตาเซนทริก และ 12 อะโครเซนทริก ($9M + 36Sm + 12A$) จากลักษณะโครโมโซมและพฤติกรรมการเข้าสู่ของโครโมโซมที่เป็นปกติในไมโอซิสของกล้วยไม้แดงอุบล แสดงว่ากล้วยไม้แดงอุบลมีลักษณะทางพันธุกรรมเป็นแบบอัลโลเทตระพลอยด์

¹ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ. อุบลราชธานี 34190

²ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ. อุบลราชธานี 34190

*Corresponding Author, E-mail: rungruch@hotmail.com

ABSTRACT

Doritis pulcherrima, *Dor. pulcherrima* var. *chumpornensis*, *Dor. pulcherrima* var. *buyssoniana* and a hybrid of *Dor. pulcherrima* var. *buyssoniana* x *Dor. pulcherrima* had the same morphology of leaves and stems but a difference in morphology of flowers. The karyotypes of *Dor. pulcherrima* and *Dor. pulcherrima* var. *chumpornensis* were similar with chromosome numbers of $2n = 2x = 38$ with chromosome patterns of $6M + 24Sm + 8A$ and $8M + 22Sm + 8A$, respectively. *Dor. pulcherrima* var. *buyssoniana* was a tetraploid ($2n = 4x = 76$) with a chromosome pattern of $12M + 48Sm + 16A$. The hybrid *Dor. pulcherrima* var. *buyssoniana* x *Dor. pulcherrima* was a triploid ($2n = 3x = 57$) with a chromosome pattern of $9M + 36Sm + 12A$. Normal bivalents in meiosis of *Dor. pulcherrima* var. *buyssoniana* showed that it was an allotetraploid species.

คำสำคัญ: กล้วยไม้สกุลม้าวิ่ง แคริโอไทป์ โครโมโซม ลูกผสม

Keywords: *Doritis* spp., Karyotype, Chromosome, Hybrid

บทนำ

กล้วยไม้เป็นไม้ดอกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ มีความสวยงามและมีความหลากหลายของพันธุ์ตามธรรมชาติ โดยมีจำนวนมากกว่า 800 สกุล และประมาณ 22,500 ชนิดทั่วโลก (กาญจนา, 2555; จิตราพรรณ และปราโมทย์, 2553) กล้วยไม้สกุลม้าวิ่ง (*Doritis* spp.) เป็นกล้วยไม้ที่มีการกระจายพันธุ์ในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในธรรมชาติ พบบนหินหรือบนพื้นดินที่มีอินทรีย์วัตถุ กล้วยไม้สกุลนี้มีการเจริญเติบโตทางยอด ลักษณะลำต้นสั้น ใบเขียวหนา และอวบน้ำ เรียงซ้อนกัน รากเป็นรากอากาศ ดอกออกเป็นช่อยาว ตั้งตรง จากลักษณะดอกที่มีความสวยงามและสภาพที่อยู่อาศัยที่แตกต่างจากกล้วยไม้อื่น ๆ จึงเป็นที่สนใจและนิยมนำไปปลูกเลี้ยงอย่างแพร่หลาย (Averyanov, 2009) กล้วยไม้สกุลม้าวิ่งสามารถนำไปผสมข้ามกับกล้วยไม้สกุลอื่น ๆ เพื่อสร้างลูกผสมได้หลายชนิด ทำให้ได้ลักษณะกล้วยไม้ที่

สวยงามและแปลกตา กล้วยไม้สกุลม้าวิ่งชนิดที่พบกระจายพันธุ์ในประเทศไทย ได้แก่ *Doritis pulcherrima*, *Dor. gibbosa* และ *Dor. regnieriana* (จิตราพรรณ และปราโมทย์, 2553) *Dor. pulcherrima* เป็นกล้วยไม้ชนิด (species) เดียวที่รู้จักกันทั่วไปและนิยมปลูกเลี้ยง โดยกล้วยไม้ชนิดนี้แบ่งย่อยเป็นพันธุ์ (variety) เช่น กล้วยไม้ม้าวิ่ง (*Dor. pulcherrima*) กล้วยไม้แดงอุบล (*Dor. pulcherrima* var. *buyssoniana*) กล้วยไม้ม้าบิน (*Dor. pulcherrima* (peloric form) คือ กล้วยไม้ม้าวิ่งที่มีลักษณะแปลกออกไปจากปกติ บางตำราใช้ชื่อ *Dor. pulcherrima* var. *chumpornensis* (สมศักดิ์, 2535; Averyanov, 2009)

ดังที่กล่าวมาข้างต้นกล้วยไม้ม้าวิ่ง กล้วยไม้แดงอุบล และกล้วยไม้ม้าบิน มีความใกล้ชิดกันมากโดยถูกจัดให้อยู่ในชนิด (species) เดียวกัน แต่กล้วยไม้ทั้ง 3 พันธุ์มีลักษณะของดอกที่มีความแตกต่างกัน มี

การศึกษาจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากและจากดอกอ่อนของกล้วยไม้ม้าวิ่ง ม้าบิน และแดงอุบล พบว่ากล้วยไม้ม้าวิ่งและม้าบิน มีจำนวนโครโมโซมของเซลล์ร่างกาย $2n = 2x = 38$ และมีจำนวนโครโมโซมในเซลล์สืบพันธุ์ $n = x = 19$ ส่วนกล้วยไม้แดงอุบลมีจำนวนโครโมโซมของเซลล์ร่างกาย $2n = 4x = 76$ และมีจำนวนโครโมโซมในเซลล์สืบพันธุ์ $n = 2x = 38$ (ระพี, 2516; กาญจนนา, 2552; Tanaka and Kamemoto, 1984) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษาลักษณะแคริโอไทป์ (karyotype) ของโครโมโซมกล้วยไม้ในสกุลม้าวิ่ง การศึกษาลักษณะโครโมโซมของกล้วยไม้เป็นการศึกษาข้อมูลพื้นฐานทางหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์ การจัดจำแนกชนิดและหาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของกล้วยไม้สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีลักษณะที่เป็นเอกลักษณ์คือลักษณะแคริโอไทป์ ที่แสดงถึงจำนวน ขนาด และรูปร่างของโครโมโซมที่เฉพาะเจาะจง การศึกษาลักษณะแคริโอไทป์ในกล้วยไม้มีรายงานไม่มากนัก เนื่องจากกล้วยไม้ส่วนใหญ่มีจำนวนโครโมโซมมากและมีขนาดเล็ก ทำให้ยากต่อการศึกษา มีรายงานการศึกษาลักษณะแคริโอไทป์ในกล้วยไม้บางชนิดเท่านั้น เช่น *Paphiopedilum* sp. (Kamemoto et al., 1963), เผ่าย่อย Sarcanthine (Shindo and Kamemoto, 1963), วงศ์ย่อย Cyprripodiodeae (Cox et al., 1998), *Cymbidium* sp. (Sharma et al., 2010) และ *Bulbophyllum auricomum* (Than et al., 2011) ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและรูปร่างโครโมโซมของกล้วยไม้สกุลม้าวิ่งและสายพันธุ์ลูกผสม เพื่อประเมินความสัมพันธ์ของกล้วยไม้พันธุ์แท้ในสกุลม้าวิ่งและสายพันธุ์ลูกผสม

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ม้าวิ่ง ม้าบิน แดงอุบล และสายพันธุ์ลูกผสม

ศึกษาลักษณะต้นและดอกของกล้วยไม้ม้าวิ่ง กล้วยไม้แดงอุบล ในเรือนเพาะชำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี กล้วยไม้ม้าบินและสายพันธุ์ลูกผสมแดงอุบล $\times$ ม้าวิ่ง จากโรงเรือนผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ในจังหวัดอุบลราชธานี บันทึกภาพลักษณะต้นและดอก

2. ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและปากใบของกล้วยไม้ที่มีระดับพลอยดิต่างกัน

เลือกต้นกล้วยไม้ม้าวิ่ง กล้วยไม้แดงอุบล และสายพันธุ์ลูกผสมม้าบิน $\times$ แดงอุบล ที่มีลักษณะต้นสมบูรณ์ ระยะเวลาให้ดอก ซึ่งปลูกเลี้ยงในเรือนเพาะชำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ที่มีระดับพลอยดิแตกต่างกันคือ กล้วยไม้ม้าวิ่งมีระดับพลอยดิเป็นดิพลอยด์ ($2n = 2x$) กล้วยไม้แดงอุบลมีระดับพลอยดิเป็นเทตระพลอยด์ ($2n = 4x$) และสายพันธุ์ลูกผสมม้าบิน $\times$ แดงอุบลมีระดับพลอยดิเป็นทริพลอยด์ ($2n = 3x$) โดยวัดความสูงต้น ขนาดใบ ขนาดปากใบ จำนวนปากใบต่อพื้นที่ และศึกษาลักษณะของใบ เก็บข้อมูลระดับพลอยดิละ 10 ต้น ขนาดของปากใบและจำนวนปากใบต่อพื้นที่ศึกษาจากเซลล์เนื้อเยื่อชั้นผิว (epidermis) ด้านล่างของใบ วัดความกว้างและความยาวของปากใบโดยใช้ окуลาร์ไมโครมิเตอร์ (ocular micrometer) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า และนับจำนวนปากใบต่อพื้นที่ 0.25 ตารางเซนติเมตร ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

3. ศึกษาลักษณะโครโมโซมของกล้วยไม้ม้าวัง ม้าบิน แดงอุบล และสายพันธุ์ลูกผสม

ทำการตรวจนับจำนวนโครโมโซมเซลล์ร่างกายจากปลายรากโดยเก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้ม้าวัง ม้าบิน แดงอุบล และสายพันธุ์ลูกผสมแดงอุบล × ม้าวัง ที่กำลังมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 9:00–10:00 น. ทำการตัดปลายของรากประมาณ 1-2 มิลลิเมตร แล้วหยดวุ้นพืชของเซลล์เนื้อเยื่อปลายรากในสารละลาย 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002 M เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เท 8-hydroxyquinoline ออก ล้างด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง จากนั้นตรึงเซลล์ในน้ำยาคาร์นอย (Carnoy's solution) แล้วแช่ในตู้เย็นอย่างน้อย 1 ชั่วโมง ล้างปลายรากให้สะอาดก่อนนำไปย่อยแยกเซลล์ใน 1 N HCl ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 2-3 นาที ล้างน้ำ 4-5 ครั้ง เก็บตัวอย่างรากในกรดน้ำส้ม 45% อย่างน้อย 1 ชั่วโมง นำปลายรากวางบนแผ่นสไลด์ ตัดเฉพาะปลายรากยาวประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร หยดสียอะซีโตออร์ซิน 1-2 หยด แล้วใช้ปลายเข็มเปียกแยกเซลล์ของปลายรากออกจากกันให้มากที่สุด แล้วทิ้งไว้ 5-10 นาทีในกล่องขึ้นซึ่งอ้อมด้วยโอกรดน้ำส้ม 45% นำแผ่นสไลด์มาปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ วางสไลด์บนแผ่นกระดาษซับใช้แผ่นกระดาษซับอีกแผ่นวางทับด้านบน ใช้นิ้วหัวแม่มือวางบนกระดาษซับกดลงไปในแนวตั้งฉากเพื่อให้เซลล์แบนมากที่สุด นำแผ่นสไลด์ที่ได้ไปศึกษาเซลล์ปลายรากภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เลือกเซลล์ที่นิวเคลียสมีการแบ่งตัวอยู่ในระยะเมตาเฟส จำนวน 10 เซลล์ นับจำนวนโครโมโซมแล้วบันทึกภาพใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า และนำภาพโครโมโซมมาจัดเรียงแคโรไทป์ด้วยโปรแกรม Apply Spector Imagine Printing Detail To Light จำแนกรูปร่างของโครโมโซมตามวิธีของ

Levan et al. (1964) โดยใช้ตำแหน่งของเซนโทรเมียร์และค่าอัตราส่วนของเซนโทรเมียร์ (centromeric ratio :CR) ซึ่งคำนวณได้จากความยาวของโครโมโซมแขนข้างยาวต่อความยาวของโครโมโซมแขนข้างสั้น นำค่าอัตราส่วนที่ได้จากการคำนวณมาใช้เทียบเพื่อจำแนกรูปร่างของโครโมโซม โดย Levan ได้จำแนกรูปร่างของโครโมโซมเป็น 4 แบบ ดังนี้ เมตาเซนตริก (M) มีค่า CR = 1.00–1.67 ซับเมตาเซนตริก (Sm) มีค่า CR = 1.68–3.00 อะโครเซนตริก (A) มีค่า CR = 3.01–7.00 และเทโลเซนตริก (T) มีค่า CR = 7.01 - ∞ ส่วนขนาดของโครโมโซมแต่ละแท่งของกล้วยไม้แต่ละชนิดได้มาจากการคำนวณค่าความยาวสัมพัทธ์ (relative length) ซึ่งคำนวณจากความยาวของโครโมโซมที่ศึกษา $\times 100$ ต่อผลรวมความยาวของโครโมโซมทั้งหมดในแฮพลอยด์ (haploid) และทำการจัดเรียงโครโมโซมที่มีขนาดใหญ่สุดไปจนถึงโครโมโซมที่มีขนาดเล็กสุดของแต่ละคู่

4. ศึกษาพฤติกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของกล้วยไม้ม้าวัง แดงอุบล และสายพันธุ์ลูกผสม

เลือกดอกตูมของกล้วยไม้ม้าวัง แดงอุบล สายพันธุ์ลูกผสมแดงอุบล × ม้าวัง และสายพันธุ์ลูกผสมม้าบิน × แดงอุบล ที่มีขนาดของดอกประมาณ 1 ใน 4 ของตูมใกล้บาน ฝาดอกและแกะก้านเรณูจำนวนเล็กน้อยวางบนสไลด์ หยดกรดน้ำส้ม 45% ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นซับกรดน้ำส้มออก แล้วย้อมสีด้วยอะซีโตออร์ซิน ความเข้มข้น 1% เป็นเวลาประมาณ 3 นาที ในกล่องที่มีกรดน้ำส้ม 45% ที่อ้อมตัว ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วให้ความร้อน จากนั้นใช้นิ้วหัวแม่มือหรือปลายดินสอกดลงในแนวตั้งฉาก เพื่อให้เซลล์กระจาย ศึกษาการเข้าคู่กันของโครโมโซมในระยะไดอะคิเนซิส (diakinesis) ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า

ผลการวิเคราะห์

1. ศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาของกล้วยไม้ม้าวิ่ง ม้าบิน แดงอุบล และสายพันธุ์ลูกผสม

จากการศึกษาลักษณะของต้นและดอกของกล้วยไม้ม้าวิ่ง ม้าบิน แดงอุบล และสายพันธุ์ลูกผสม แดงอุบล $\times$ ม้าวิ่ง พบว่า ลักษณะต้นของกล้วยไม้ม้าวิ่ง ม้าบิน และสายพันธุ์ลูกผสมแดงอุบล $\times$ ม้าวิ่ง มีลำต้นขนาดสั้น ใบซ้อนเรียงชิดกัน ใบหนาและค่อนข้างอวบ น้ำ กล้วยไม้แดงอุบลมีลักษณะของลำต้นและใบเหมือนกับกล้วยไม้ทั้ง 3 พันธุ์ แต่มีขนาดของลำต้นและใบใหญ่กว่ากล้วยไม้ทั้ง 3 พันธุ์ (รูปที่ 1 ก ค จ และ ข) ส่วนลักษณะดอกพบว่า กล้วยไม้ทั้ง 4 พันธุ์ มีลักษณะของดอกแตกต่างกัน คือ กล้วยไม้ม้าวิ่งมีดอกขนาดเล็ก กลีบเลี้ยงและกลีบดอกกลูไปทางด้านหลัง ทำให้เห็นเส้าเกสรและปากโดดเด่น ปลายกลีบปากมีลักษณะโค้งลง (รูปที่ 1ข) สีของดอกมีความหลากหลายมีตั้งแต่สีขาวไปจนถึงสีม่วงเข้ม กล้วยไม้ม้าบินดอกมีขนาดใกล้เคียงกับกล้วยไม้ม้าวิ่ง มีลักษณะเด่น คือ บริเวณขอบทั้ง 2 ข้างของกลีบดอกมีส่วนที่ยื่นออกมาและหยักเป็นคลื่นเล็กน้อยทำให้กลีบดอกมีรูปร่างคล้ายปีก ส่วนที่คล้ายปีกนี้อาจมีสีที่แตกต่างออกไปจากกลีบดอก และมักมีสีเดียวกับหูด้านข้างทั้ง 2 ข้าง (รูปที่ 1ง) สีของดอกตั้งแต่ขาวไปจนถึงม่วงเข้ม ส่วนกล้วยไม้แดงอุบลดอกมีขนาดใหญ่กว่ากล้วยไม้ม้าวิ่งเกือบเท่าตัว ลักษณะของดอกผิวยาว ปลายกลีบปากมีลักษณะโค้งขึ้น (รูปที่ 1ฉ) สีของดอกมีตั้งแต่สีม่วงอ่อนจนถึงสีม่วงเข้ม และสายพันธุ์ลูกผสมแดงอุบล $\times$ ม้าวิ่ง มีขนาดของดอกเล็กกว่ากล้วยไม้แดงอุบลและใหญ่กว่ากล้วยไม้ม้าวิ่ง สีของดอกเป็นสีม่วงอ่อน กลีบปากแผ่ยาวออกไปทางด้านหน้า หูกลีบปากแผ่อกไม่ตั้งขึ้น ปลายกลีบปากมีลักษณะเหมือนกับกล้วยไม้ม้าวิ่ง (รูปที่ 1ซ)

2. ศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาและปากใบของกล้วยไม้ที่มีระดับพลอยติต่างกัน

จากการศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาของกล้วยไม้ที่มีระดับพลอยติแตกต่างกัน คือ กล้วยไม้ม้าวิ่ง มีระดับพลอยติเป็นดิพลอยด์ ($2n = 2x$) กล้วยไม้แดงอุบลมีระดับพลอยติเป็นเทตระพลอยด์ ($2n = 4x$) และสายพันธุ์ลูกผสมม้าบิน $\times$ แดงอุบล มีระดับพลอยติเป็นทริพลอยด์ ($2n = 3x$) พบว่า กล้วยไม้แดงอุบลมีความสูงต้นมากที่สุดคือ 21.1 เซนติเมตร และแตกต่างทางสถิติจากกล้วยไม้ทั้ง 2 พันธุ์ ในขณะที่กล้วยไม้ม้าวิ่งและสายพันธุ์ลูกผสมม้าบิน $\times$ แดงอุบล มีความสูงต้น 12.9 และ 9.5 เซนติเมตร ตามลำดับและไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1) ส่วนขนาดของใบ พบว่า กล้วยไม้แดงอุบลมีความกว้างของใบมากที่สุดคือ 5.5 เซนติเมตร และความยาวใบมากที่สุด คือ 16.3 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากสายพันธุ์ลูกผสมม้าบิน $\times$ แดงอุบล ขนาดของปากใบในกล้วยไม้แดงอุบลและสายพันธุ์ลูกผสมม้าบิน $\times$ แดงอุบล มีความกว้างของปากใบมากที่สุดคือ 38.8 ไมครอน ส่วนความยาวของปากใบกล้วยไม้แดงอุบลมีความยาวมากที่สุด 44.5 ไมครอน ในกล้วยไม้ม้าวิ่งที่มีความกว้างและความยาวของปากใบน้อยที่สุดคือ 34.0 และ 37.8 ไมครอนตามลำดับ เมื่อนับจำนวนปากใบต่อพื้นที่ พบว่ากล้วยไม้ม้าวิ่งมีจำนวนปากใบต่อพื้นที่มากที่สุดคือ 631.0 ปากใบ ในขณะที่สายพันธุ์ลูกผสมม้าบิน $\times$ แดงอุบลและกล้วยไม้แดงอุบลมีจำนวนปากใบต่อพื้นที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติคือ 503.7 และ 479.3 ปากใบตามลำดับ (ตารางที่ 1) ส่วนลักษณะของใบของกล้วยไม้ทั้ง 3 พันธุ์ พบว่า กล้วยไม้ม้าวิ่ง แดงอุบล และสายพันธุ์ลูกผสมม้าบิน $\times$ แดงอุบล มีการเรียงตัวของใบแบบเรียงสลับซ้อนกัน ปลายใบเรียวแหลม ขอบใบเรียบ โคนใบมีลักษณะมนหรือป้าน สีของใบเป็นสีเขียว

เหมือนกัน แต่จะแตกต่างกันคือ กล้วยไม้ม้าวิ่งจะมีรูป
ใบที่เรียวแหลม ส่วนกล้วยไม้แดงอุบลและสายพันธุ์

ลูกผสมม้าบิน x แดงอุบลมีใบแผ่กว้างและเป็นรูปขอบ
ขนาน



รูปที่ 1 ลักษณะต้นและดอกของกล้วยไม้สกุลม้าวิ่งและสายพันธุ์ลูกผสม: กล้วยไม้ม้าวิ่ง (ก และ ข) กล้วยไม้ม้าบิน
(ค และ ง) กล้วยไม้แดงอุบล (จ และ ฉ) และกล้วยไม้ลูกผสมแดงอุบล x ม้าวิ่ง (ช และ ซ)

ตารางที่ 1 ลักษณะสัณฐานวิทยาและปากใบของกล้วยไม้ม้าวิ่ง แดงอุบล และสายพันธุ์ลูกผสมม้าบิน x แดงอุบล

พันธุ์/สายพันธุ์	ความสูงต้น (ซม.)	ขนาดใบ		ขนาดปากใบ		จำนวนปากใบต่อพื้นที่ (0.25 cm ²)
		ความกว้าง (ซม.)	ความยาว (ซม.)	ความกว้าง (ไมครอน)	ความยาว (ไมครอน)	
ม้าวิ่ง (2x)	12.9 b	3.1 b	11.4 b	34.0 b	37.8 c	631.0 a
ม้าบิน x แดงอุบล (3x)	9.5 b	4.4 ab	16.1 a	38.8 a	39.8 b	503.7 b
แดงอุบล (4x)	21.1 a	5.5 a	16.3 a	38.8 a	44.5 a	479.3 b
F-test	**	**	**	**	**	*

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเปรียบเทียบด้วยวิธี LSD ($P < 0.05$)

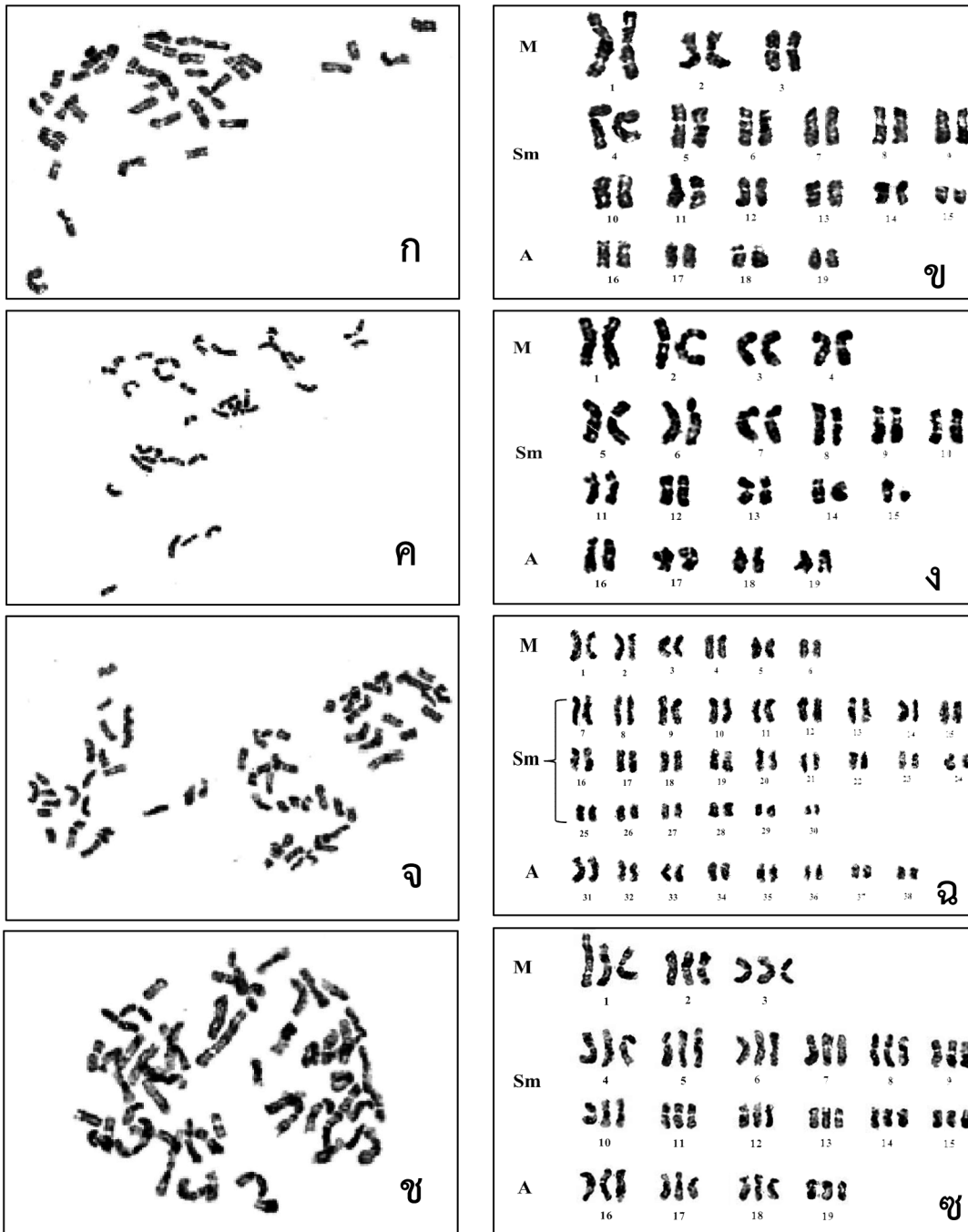
*แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, **แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

3. ศึกษาลักษณะโครโมโซมของกล้วยไม้ม้าวิ่ง ม้าบิน แดงอุบล และสายพันธุ์ลูกผสม

จากการศึกษาลักษณะโครโมโซมจากเซลล์ปลายราก พบว่า กล้วยไม้ม้าวิ่งและม้าบินมีจำนวนโครโมโซม $2n = 2x = 38$ (รูปที่ 2ก และ 2ค) ส่วนกล้วยไม้แดงอุบลมีจำนวนโครโมโซม $2n = 4x = 76$ (รูปที่ 2จ) และสายพันธุ์ลูกผสมแดงอุบล x ม้าวิ่ง มีจำนวนโครโมโซม $2n = 3x = 57$ (รูปที่ 2ข) และเมื่อศึกษาลักษณะรูปร่างของโครโมโซมในระยะเมตาเฟสโดยใช้ตำแหน่งเซนโทรเมียร์ในการจำแนกและนำมาจัดเรียงแคริโอไทป์ พบว่า กล้วยไม้ม้าวิ่งมีรูปแบบของแคริโอไทป์เป็น 6 เมตาเซนทริก 24 ซับเมตาเซนทริก และ 8 อะโครเซนทริก ($6M + 24Sm + 8A$) (รูปที่ 2ข) ส่วนกล้วยไม้ม้าบินมีรูปแบบของแคริโอไทป์เป็น 8 เมตาเซนทริก 22 ซับเมตาเซนทริก และ 8 อะโครเซนทริก ($8M + 22Sm + 8A$) (รูปที่ 2ง) กล้วยไม้แดงอุบลมีรูปแบบของแคริโอไทป์ คือ 12 เมตาเซนทริก 48 ซับเมตาเซนทริก และ 16 อะโครเซนทริก ($12M + 48Sm + 16A$) (รูปที่ 2ฉ) และสายพันธุ์ลูกผสมแดงอุบล x ม้าวิ่ง มีรูปแบบของแคริโอไทป์เป็น 9 เมตาเซนทริก 36 ซับเมตาเซนทริก และ 12 อะโครเซนทริก ($9M + 36Sm + 12A$) (รูปที่ 2ข)

ขนาดและรูปร่างของโครโมโซมในแต่ละแท่งของกล้วยไม้แต่ละชนิดได้มาจากการคำนวณค่าความ-

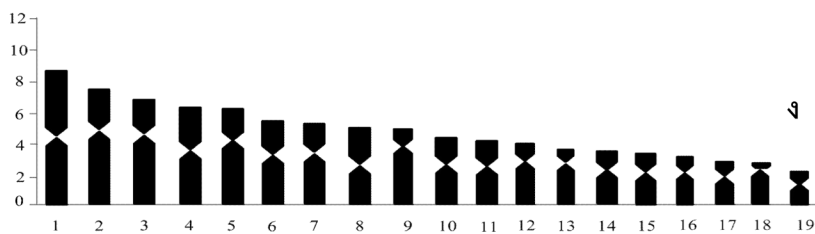
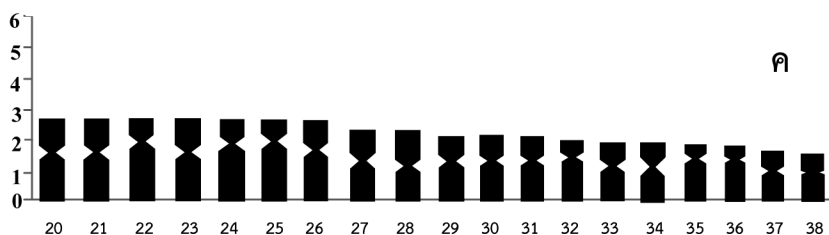
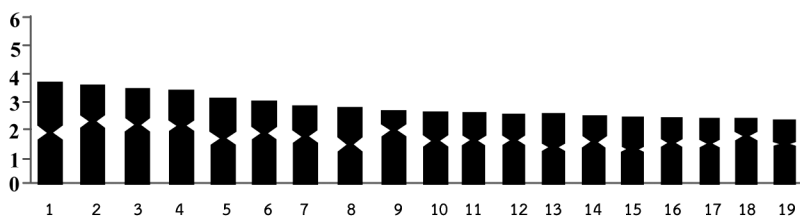
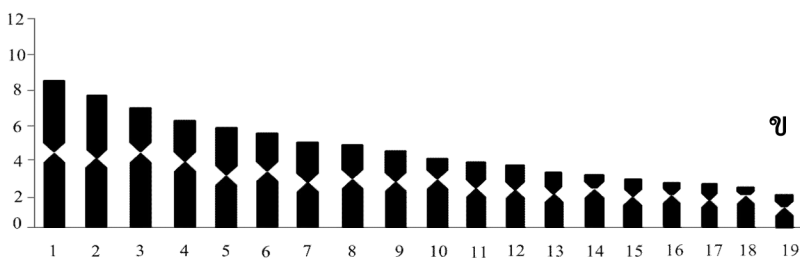
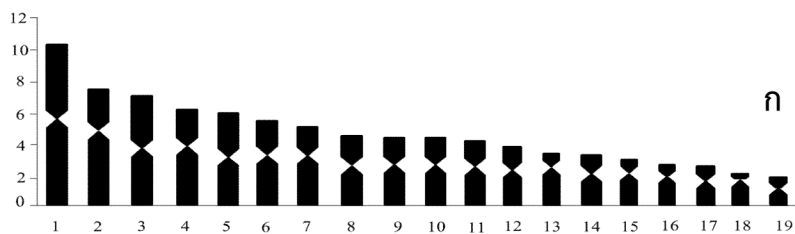
ยาวสัมพัทธ์ และค่าอัตราส่วนของเซนโทรเมียร์ เมื่อนำโครโมโซมมาจัดเรียงตามขนาดจากขนาดใหญ่สุดไปจนถึงขนาดเล็กสุด ในจำนวนโครโมโซม 1 ชุด (haploid) จะได้ลักษณะของ idiogram ที่เป็นลักษณะเฉพาะของกล้วยไม้แต่ละชนิด จากการศึกษาพบว่า กล้วยไม้ม้าวิ่งมีโครโมโซมคู่ที่ 1 มีรูปร่างเป็นเมตาเซนทริกขนาดใหญ่ที่สุดและมีโครโมโซมคู่ที่ 19 มีรูปร่างเป็นซับเมตาเซนทริกขนาดเล็กที่สุด ที่มีค่าความยาวสัมพัทธ์เท่ากับ 10.3% และ 2.5% ตามลำดับ (รูปที่ 3ก) ส่วนกล้วยไม้ม้าบินมีโครโมโซมคู่ที่ 1 มีรูปร่างเป็นเมตาเซนทริกขนาดใหญ่ที่สุดและมีโครโมโซมคู่ที่ 19 มีรูปร่างเป็นซับเมตาเซนทริกขนาดเล็กที่สุด ที่มีค่าความยาวสัมพัทธ์เท่ากับ 8.2% และ 2.7% ตามลำดับ (รูปที่ 3ข) กล้วยไม้แดงอุบลมีโครโมโซมคู่ที่ 1 มีรูปร่างเป็นเมตาเซนทริกขนาดใหญ่ที่สุดและมีโครโมโซมคู่ที่ 38 มีรูปร่างเป็นซับเมตาเซนทริกขนาดเล็กที่สุด ที่มีค่าความยาวสัมพัทธ์เท่ากับ 3.7% และ 1.6% ตามลำดับ (รูปที่ 3ค) และสายพันธุ์ลูกผสมแดงอุบล x ม้าวิ่ง มีโครโมโซมคู่ที่ 1 มีรูปร่างเป็นเมตาเซนทริกขนาดใหญ่ที่สุดและมีโครโมโซมคู่ที่ 19 มีรูปร่างเป็นซับเมตาเซนทริกขนาดเล็กที่สุด ที่มีค่าความยาวสัมพัทธ์เท่ากับ 8.6% และ 3.1% ตามลำดับ (รูปที่ 3ง)



รูปที่ 2 ลักษณะโครโมโซมและลักษณะแคริโอไทป์ของกล้วยไม้สกุลม้าวิงและสายพันธุ์ลูกผสม: กล้วยไม้ม้าวิง (ก และ ข) กล้วยไม้ม้าบิน (ค และ ง) กล้วยไม้แดงอุบล (จ และ ฉ) กล้วยไม้ลูกผสมแดงอุบล × ม้าวิง (ช และ จู)

หมายเหตุ: M = เมตาเซนทริก, Sm = ซับเมตาเซนทริก และ A = อะโครเซนทริก; รูป ก ค จ และ ช ถ่ายภาพที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

ความยาวสัมพันธ์ (%)



หมายเลขจำนวนโครโมโซม

รูปที่ 3 idiogram ของกล้วยไม้สกุลม้าวีงและสายพันธุ์ลูกผสม: กล้วยไม้ม้าวีง (ก) กล้วยไม้ม้าบิน (ข) กล้วยไม้แดง-อุบล (ค) และกล้วยไม้ลูกผสมแดงอุบล × ม้าวีง (ง)

ตารางที่ 2 การเข้าคู่กันของโครโมโซมในกล้วยไม้สกุลม้าวิงและสายพันธุ์ลูกผสม

พันธุ์/สายพันธุ์	ลักษณะการเข้าคู่กันของโครโมโซม ^{1/}			
	Univalent	Bivalent	Trivalent	Quadrivalent
ม้าวิง	-	19	-	-
แดงอุบล	-	38	-	-
แดงอุบล × ม้าวิง	7.6	19.6	2.53	-
ม้าบิน × แแดงอุบล	5.44	19.55	3.22	-

หมายเหตุ: ^{1/} ค่าเฉลี่ยจากจำนวนเซลล์ที่ตรวจนับ 25 เซลล์ต่อพันธุ์หรือสายพันธุ์

4. ศึกษาพฤติกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของกล้วยไม้ม้าวิง แแดงอุบล และสายพันธุ์ลูกผสม

จากการศึกษาพฤติกรรมไมโอซิสของกล้วยไม้ม้าวิง แแดงอุบล และสายพันธุ์ลูกผสมทั้งสองสายพันธุ์พบว่า กล้วยไม้ม้าวิงและแดงอุบลซึ่งเป็นพันธุ์แท้มีพฤติกรรมไมโอซิสเป็นปกติ คือ มีการเข้าคู่กันของโครโมโซมแบบ bivalent ในระยะไดอะคิเนซิส เฉลี่ย 19 และ 38 คู่ตามลำดับ ส่วนในลูกผสมทั้งสองสายพันธุ์ พบว่าการเข้าคู่กันของโครโมโซมมีความผิดปกติ คือ พบโครโมโซมที่ไม่มีการเข้าคู่กัน (univalent) และโครโมโซมที่มีการเข้าคู่กันแบบ bivalent และ trivalent โดยในสายพันธุ์ลูกผสมแดงอุบล × ม้าวิง และสายพันธุ์ลูกผสมม้าบิน × แแดงอุบล พบลักษณะการเข้าคู่กันที่เป็นปกติ (bivalent) เพียง 19.6 และ 19.55 คู่ ตามลำดับ ส่วนลักษณะการเข้าคู่กันที่ผิดปกติที่พบในลูกผสมแดงอุบล × ม้าวิง พบว่ามีโครโมโซมที่ไม่มีการเข้าคู่กัน 7.6 univalent และโครโมโซมที่มีการเข้าคู่กันผิดปกติ 2.53 trivalent ในขณะที่ลูกผสมม้าบิน × แแดงอุบล มีโครโมโซมที่ไม่มีการเข้าคู่กัน 5.44 univalent และโครโมโซมที่มีการเข้าคู่กันผิดปกติ 3.22 trivalent ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

บทสรุปและวิจารณ์

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและปากใบของกล้วยไม้ที่มีระดับพลอยดิต่าง ๆ กัน กล่าวได้ว่ากล้วยไม้ที่มีระดับพลอยดิเพิ่มขึ้นจะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใหญ่ขึ้น เช่น ในกล้วยไม้แดงอุบลที่เป็นเทตระพลอยด์ จะมีความสูงต้น ขนาดใบ ขนาดปากใบใหญ่กว่ากล้วยไม้ม้าวิงที่เป็นดิพลอยด์ ในขณะที่สายพันธุ์ลูกผสมที่เป็นทริพลอยด์มีลักษณะระหว่างดิพลอยด์และเทตระพลอยด์ โดยบางลักษณะไม่แตกต่างจากกล้วยไม้ม้าวิง เช่น ความสูงต้น และบางลักษณะเช่น ขนาดใบ ขนาดปากใบ และจำนวนปากใบต่อพื้นที่ไม่แตกต่างจากกล้วยไม้แดงอุบล (ตารางที่ 1) กล้วยไม้ม้าวิง ม้าบิน แแดงอุบล และสายพันธุ์ลูกผสมแดงอุบล × ม้าวิง มีลักษณะทางสัณฐานของต้นและใบคล้ายคลึงกัน แตกต่างกันเด่นชัดที่ลักษณะดอก จากการศึกษาแคโรโอไทป์ พบว่า โครโมโซมส่วนใหญ่มีรูปร่างคล้ายคลึงกันเป็นแบบซับเมตาเซนตริก บางส่วนเป็นแบบเมตาเซนตริก และแบบอะโครเซนตริก แต่ไม่พบโครโมโซมที่มีรูปร่างเป็นแบบเทโลเซนตริก (รูปที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบแคโรโอไทป์ระหว่างกล้วยไม้ม้าวิงและกล้วยไม้ม้าบินซึ่งถูกจัดให้เป็นชนิดเดียวกัน แต่กล้วยไม้ม้าบินมีลักษณะแปลกออกไปจากปกติโดยขอบกลีบเลี้ยง 2 ข้างมีลักษณะหยัก เห็นได้ว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน ($2n = 38$) ขนาดโครโมโซมใกล้เคียงกัน ความแตกต่างที่เห็นเด่นชัด คือ กล้วยไม้ม้าบินมีโครโมโซมที่มี

รูปร่างแบบเมตาเซนทริกมากกว่ากล้วยไม้ม้าวิง 1 คู่ จึงทำให้มีโครโมโซมที่มีรูปร่างแบบซับเมตาเซนทริกน้อยกว่ากล้วยไม้ม้าวิง 1 คู่ ความแตกต่างนี้ น่าจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซมแบบ inversion ของกล้วยไม้ม้าวิง จากโครโมโซมที่มีรูปร่างแบบซับเมตาเซนทริกไปเป็นแบบเมตาเซนทริก ส่วนแคโรไทป์ของกล้วยไม้แดงอุบลแตกต่างจากกล้วยไม้ม้าวิง ทั้งจำนวนโครโมโซมที่มีมากกว่า 2 เท่า ($2n = 76$) และขนาดโครโมโซมที่เล็กกว่า แต่รูปร่างคล้ายคลึงกัน (รูปที่ 2 และ 3) ความแตกต่างของแคโรไทป์กล้วยไม้พันธุ์แท้ทั้ง 3 พันธุ์ในสกุลม้าวิง คล้ายคลึงกับรายงานของ Kao et al. (2001) ที่ศึกษาแคโรไทป์ในกล้วยไม้ *Phalaenopsis* พันธุ์แท้ 9 ชนิด และ *Doritis pulcherrima* พบว่า มีความแตกต่างของแคโรไทป์ในด้านขนาดและรูปร่างของโครโมโซม และโครโมโซมที่มีขนาดใหญ่จะมีปริมาณเฮเทอโรโครมาทิน (heterochromatin) มากกว่าในโครโมโซมที่มีขนาดเล็ก โดยความแตกต่างของปริมาณเฮเทอโรโครมาทินเป็นสาเหตุสำคัญทำให้มีความแตกต่างของแคโรไทป์ในกล้วยไม้ *Phalaenopsis* พันธุ์แท้ จากการศึกษาแคโรไทป์ของกล้วยไม้ม้าวิงในการทดลองนี้มีความสอดคล้องกับ Kao et al. (2001) ในด้านจำนวนโครโมโซม ($2n = 38$) และขนาดโครโมโซมที่มีขนาดใหญ่ มีโครโมโซมคู่ที่ 1 เป็นแบบเมตาเซนทริกที่มีขนาดใหญ่ที่สุด แต่ไม่สอดคล้องในด้านรูปร่างโครโมโซม ซึ่งจากรายงานของ Kao et al. (2001) โครโมโซมกล้วยไม้ม้าวิงส่วนใหญ่มีรูปร่างแบบเมตาเซนทริก ความแตกต่างด้านความยาวและรูปร่างของโครโมโซมอาจเกิดขึ้นได้ เนื่องจากในแต่ละเซลล์พืชมีความสามารถในการแทรกซึมของสารที่ทำหน้าที่หยุดวงซิปจักรเซลล์และมีระยะเมตาเฟสแตกต่างกัน (Kamemoto et al., 1963) และเกิดมาจากการทดตัว

ของโครโมโซมแต่ละแท่งใน chromosome complement มิไม่เท่ากัน ในกรณีแคโรไทป์ของสายพันธุ์ลูกผสมแดงอุบล $\times$ ม้าวิง จำนวนโครโมโซม ($2n = 57$) โครโมโซมแต่ละชุดของลูกผสม มีโครโมโซมที่มีลักษณะเหมือนกับกล้วยไม้แดงอุบลอยู่ 2 แท่ง และมีโครโมโซมที่มีลักษณะเหมือนกับกล้วยไม้ม้าวิงอยู่ 1 แท่ง โครโมโซมมีรูปร่างเป็นเมตาเซนทริกขนาดใหญ่ในคู่ที่ 1 เช่นเดียวกับกล้วยไม้ม้าวิงและแดงอุบล (ภาพที่ 2) แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ลูกผสมแดงอุบล $\times$ ม้าวิงเป็น ทริพลอยด์ (triploid) ที่เกิดจากกล้วยไม้ม้าวิงที่เป็นดิพลอยด์ผสมกับกล้วยไม้แดงอุบลที่เป็นเทตระพลอยด์

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา แคโรไทป์ และพฤติกรรมการแบ่งเซลล์ของกล้วยไม้พันธุ์แท้ในสกุลม้าวิง ทำให้ทราบว่า กล้วยไม้ม้าวิงและกล้วยไม้มาบินมีความคล้ายคลึงกันมาก ส่วนกล้วยไม้แดงอุบลมีความแตกต่างจากกล้วยไม้ม้าวิง โดยกล้วยไม้แดงอุบลเป็นเทตระพลอยด์ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบอัลโลเทตระพลอยด์ (allotetraploid) โดยมีเหตุผลสนับสนุนจากพฤติกรรมการเข้าคู่กันของโครโมโซมที่เป็นปกติและมีความสม่ำเสมอในกล้วยไม้แดงอุบล หากเป็นออโตเทตระพลอยด์ (autotetraploid) การเข้าคู่ของโครโมโซมจะผิดปกติ และจากการวิจัยของแสงเดือนและคณะ (2553) กล้วยไม้แดงอุบลมีพฤติกรรมไมโอซิสและการสร้างไมโครสปอร์ที่ปกติ และมีความสมบูรณ์พันธุ์สูง ซึ่งสนับสนุนพฤติกรรมการเข้าคู่กันของโครโมโซมที่เป็นปกติของกล้วยไม้แดงอุบลในการทดลองนี้ ดังนั้นกล้วยไม้แดงอุบลจึงไม่ได้เกิดมาจากกล้วยไม้ม้าวิงที่เป็นดิพลอยด์เพิ่มจำนวนโครโมโซมขึ้น (ออโตเทตระพลอยด์) ดังที่ระพี (2516) ได้สันนิษฐานไว้ ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้จึงเป็น

แนวทางในวางแผนการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลม้าวัง
และสร้างลูกผสมใหม่ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

- กาญจนา รุ่งรักษานนท์. (2555). กล้วยไม้ : เทคโนโลยีและการ
ประยุกต์ใช้งาน. อุบลราชธานี: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัย
อุบลราชธานี. หน้า 42-51.
- กาญจนา รุ่งรักษานนท์. (2552). การศึกษาโครโมโซมกล้วยไม้
สกุลม้าวังจากดอกอ่อนและปลายราก. วิทยาศาสตร์
เกษตร 40(3) พิเศษ: 291-294.
- จิตรพรพรณ เทียมปโยธร และ ปราโมทย์ ไตรบุญ. (2553). การ
จำแนกกล้วยไม้. ใน: พัชรียา บุญกอบแก้ว. บัญชีรายการ
ทรัพยากรชีวภาพกล้วยไม้ไทย. สำนักงานพัฒนา
เศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ (องค์การมหาชน). หน้า
157-175.
- ระพี สาคริก. (2516). การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ในสภาพแวดล้อมของ
ประเทศไทย. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ชวนพิมพ์. หน้า
681-687.
- สมศักดิ์ รักไพบูลย์สมบัติ. (2535). ทำเนียบกล้วยไม้ไทย.
เชียงใหม่: สุริวงศ์บุ๊คเซนเตอร์.
- แสงเดือน พลเยี่ยม กาญจนา รุ่งรักษานนท์ และสมศักดิ์ อภิ
สิทธิ์วานิช. (2553). พฤติกรรมการแบ่งเซลล์แบบไม
โอซิสในกล้วยไม้สกุลม้าวังและสายพันธุ์ลูกผสม. ใน:
การประชุมวิชาการครั้งที่ 48 สาขาพืช
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 47-53.
- Averyanov, L.V. (2009). *Doritis pulcherrima* var.
apiculata (Orchidaceae): A new variety from
southern Vietnam and conditions of its
natural habitat. Orchids 78 (12): 9-16.
- Cox, A.V., Abdelnour, G.J., Bennett, M.D. and Leitch, I.J.
(1998). Genome size and karyotype
evolution in the slipper orchids
(Cypripedioideae: Orchidaceae). American
Journal of Botany 85(5): 681-687.
- Kamemoto, H., Sagarik, R. and Dieutrakul, S. (1963).
Karyotypes of *Paphiopedilum* species of
Thailand. The Kasetsart Journal 3(2): 69-78.
- Kao, Y.Y., Chang, S.B., Lin, T.Y., Hsieh, C.H., Chen, Y.H.,
Chen, W.H. and Chen, C.C. (2001).
Differential accumulation of
heterochromatin as a cause for karyotype
variation in *Phalaenopsis* orchid. Annals of
Botany 87: 387-395.
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A.A. (1964).
Nomenclature for centromeric position on
chromosome. Hereditas 52: 201-220.
- Sharma, S.K., Rajkumari, K., Kumaria, S., Tandon, P. and
Rao, S.R. (2010). Karyo-morphological
characterization of natural genetic variation
in some threatened *Cymbidium* species of
northeast India. Caryologia 63(1): 99-105.
- Shindo, K. and Kamemoto, H. (1963). Karyotype
analysis of some Sarcanthine orchids.
American Journal of Botany 50(1): 73-79.
- Tanaka, R. and Kamemoto, H. (1984). Chromosomes in
orchids: counting and numbers. In: Arditti, J.
Orchid Biology reviews and perspectives, III.
London: Cornell University Press. pp. 323-
410.
- Than, M.M.M., Pal, A. and Jha, S. (2011). Chromosome
number and modal karyotype in a
polysomatic endangered orchid,
Bulbophyllum auricomum Lindl., the royal
flower of Myanmar. Plant Systematics and
Evolution 294: 167-175.

