

**เซลล์พันธุศาสตร์ของกล้วยไม้บางชนิดในเขตอนุรักษ์พันธุกรรมพืช  
พื้นที่โคกภูตากา อำเภอกุเวียง จังหวัดขอนแก่น**  
**Cytogenetics of Some Orchid Species in Plant Genetics Conservation  
at Khok Phu Ta Ka, Amphoe Phu Wiang, Khon Kaen**

สุนันทิพย์ บุนนาค (Sumontip Bunnag)<sup>1\*</sup>  
ปิยะดา ธีระกุลพิศุทธิ์ (Piyada Theerakulpisut)<sup>1</sup>

### บทคัดย่อ

ทำการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของกล้วยไม้ในเขตพื้นที่โคกภูตากา อำเภอกุเวียง จังหวัดขอนแก่น โดยใช้เทคนิค Aceto-orcein squash and Feulgen stain techniques โดยใช้ชิ้นส่วนปลายรากของกล้วยไม้ ทำการตรวจนับจำนวนโครโมโซม โดยศึกษาการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส สามารถศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชวงศ์กล้วยไม้ ได้ 15 ชนิด พบว่ากล้วยไม้ 10 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 38$  กล้วยไม้ 2 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 40$  กล้วยไม้ 2 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 42$  และกล้วยไม้ 1 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 26$

### Abstract

Cytogenetics of some orchids at Khok Phu Ta Ka, Amphoe Phu Wiang, Khon Kaen were investigated. Aceto-orcein squash and Feulgen stain techniques were used for staining mitotic chromosomes. The numbers of somatic chromosomes from root tip tissue of plants were counted. Chromosome numbers of fifteen species of orchids were investigated. The results showed that the chromosome numbers for 10 species of orchids consisted of chromosome numbers  $2n = 38$ . Two species had chromosomes with  $2n = 40$ , two species had chromosome numbers  $2n = 42$  and one species had chromosomes with  $2n = 26$ .

**คำสำคัญ:** เซลล์พันธุศาสตร์ กล้วยไม้

**Keywords:** Cytogenetics, Orchids

<sup>1</sup>รองศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ และศูนย์อนุรักษ์มรดกประยูกต์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

\*corresponding author, e-mail: [sumbun@kku.ac.th](mailto:sumbun@kku.ac.th)

## บทนำ

โคกภูตากา เป็นที่สาธารณประโยชน์ ประเภท  
พลเมืองใช้ร่วมกัน ตั้งอยู่ในเขตบ้านเมืองเก่า หมู่ที่ 3  
ตำบลเมืองเก่าพัฒนา อำเภอภูเวียง จังหวัดขอนแก่น  
ห่างจากตัวจังหวัดขอนแก่น ประมาณ 83 กิโลเมตร ติดกับ  
อุทยานแห่งชาติภูเวียง เดิมเป็นป่าสาธารณะมีพื้นที่  
ทั้งหมด 694 ไร่ 58 ตารางวา สภาพโดยรวมเป็นภูเขาหิน  
มีพันธุ์ไม้เดิมอายุประมาณ 30-40 ปี ด้านเหนือเป็นที่  
ลุ่มมีฝายน้ำล้นใช้เก็บกักน้ำ ด้านใต้เป็นป่าไม้เบญจพรรณ  
และด้านตะวันออกเป็นป่ากุง ไม้เด่น ได้แก่ พันธุ์ไม้  
วงศ์ยาง และมีพันธุ์ไม้พื้นล่างเป็นพวกหญ้าแพ็ก เดิม  
พื้นที่ในเขตโคกภูตากาอยู่ในความครอบครองของ  
ประชาชน ต่อมาประชาชนในเขตพื้นที่ได้น้อมเกล้า  
ถวายที่สาธารณประโยชน์นี้แก่สมเด็จพระเทพรัตนราช  
สุดาฯ สยามบรมราชกุมารี เพื่อเข้าร่วมในโครงการ  
อนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

มีการสำรวจและศึกษาพรรณไม้ต่างๆ ในเขตนี้แล้ว  
แต่ยังไม่มีการศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชในพื้นที่นั้น  
การจำแนกชนิดพืชโดยทั่วไปจะใช้ลักษณะทาง  
สัณฐานวิทยา เป็นข้อมูลเพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์หา  
ชื่อวิทยาศาสตร์และจำแนกพืชแต่ในกลุ่มพืชที่มีความ  
ใกล้เคียงกันจะมีรูปร่างลักษณะคล้ายคลึงกันอาจทำให้เกิด  
ความสับสนในการวิเคราะห์หาชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง  
ปัจจุบันการจำแนกชนิดพืชได้อาศัยลักษณะอื่นๆ ร่วมด้วย  
เช่น จำนวนโครโมโซม แคริโอไทป์ และใช้เทคนิค  
ทางด้านชีวโมเลกุล เช่น การทำไอโซไซม์ เป็นต้น

โครโมโซมเป็นแหล่งบรรจุสารพันธุกรรมของ  
สิ่งมีชีวิตซึ่งโดยทั่วไปในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตจะมีจำนวน  
โครโมโซมคงที่ ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตพวกยูแคริโอต  
(eukaryote) โครโมโซมมีคุณสมบัติเฉพาะ คือ สามารถ  
ทำปฏิกิริยากับสีย้อมที่เป็นเบส (basic dye) เช่น เมธิลกรีน  
(methyl green) สีมาทอกโซลิ้น (hematoxylin) เบสิก  
ฟัชซิน (basic fuchsin) คาร์มีน (carmin) และ  
ออร์ซีน (orcein) การศึกษาจำนวนโครโมโซมศึกษาได้  
จากส่วนเนื้อเยื่อเจริญของเซลล์ร่างกาย (somatic cell)  
เช่น บริเวณปลายยอด ปลายราก ซึ่งมีโครโมโซม 2 ชุด

(diploid) มีการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis)  
เรียกจำนวนโครโมโซมของเซลล์ร่างกายนี้ว่า  
โซมาติกนัมเบอร์ (somatic number; 2n)

เนื่องจากยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับโครโมโซมของ  
กล้วยไม้ในเขตพื้นที่โคกภูตากา คณะผู้วิจัยจึงสนใจ  
ศึกษาหาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้บางชนิด  
ในเขตพื้นที่โคกภูตากา เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับ  
นำไปใช้ในการอนุรักษ์พันธุกรรมกล้วยไม้ ซึ่งคาดว่า  
เมื่อการวิจัยเสร็จสิ้นจะได้นำข้อมูลนั้นมาใช้ประโยชน์ใน  
การปรับปรุงพันธุ์พืชและนำไป ใช้ประโยชน์ในงานวิจัย  
ขั้นสูงต่อไป

## วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ ของกล้วยไม้ใน  
เขตอนุรักษ์พันธุกรรมพืชโคกภูตากา โดยการนับจำนวน  
โครโมโซม

## วิธีการศึกษา

### 1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างกล้วยไม้ จากเขตอนุรักษ์พันธุกรรม  
พืชโคกภูตากา ตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ แล้วเก็บ  
ตัวอย่างแห้งไว้ที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น หลังจากนั้นนำตัวอย่างพืชที่  
เก็บมาได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS  
(Murashige and Skoog, 1962) ในห้องปฏิบัติการ และ  
นำตัวอย่างบริเวณปลายรากมาศึกษาโครโมโซม (ทั้งนี้  
เนื่องจากตัวอย่างที่เก็บมาไม่เพียงพอในการศึกษา)

### 2. การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์

การศึกษาหาจำนวนโครโมโซมใช้ปลายรากของ  
กล้วยไม้ วิธีการศึกษาใช้วิธี Aceto-orcein squash และ  
Feulgen techniques โดยการนำปลายรากของกล้วยไม้  
มาแช่ใน 0.2% colchicine เพื่อกระตุ้นให้เซลล์อยู่ใน  
ระยะ metaphase (Shaw, 1973) แล้ว fix ตัวอย่างใน  
acetic alcohol ความเข้มข้น 90% หลังจากนั้นเก็บชิ้น  
ตัวอย่างไว้ในแอลกอฮอล์ 70% แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น  
อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อจะศึกษาหาจำนวน

โครโมโซม นำตัวอย่างที่แช่ไว้ในแอลกอฮอล์ 70% มาล้างด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง จนแน่ใจว่าล้างแอลกอฮอล์ออกหมดแล้ว hydrolyse ด้วย 1 N HCl ที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 5-10 นาที แล้วย้อมด้วยสี Aceto-orcein ความเข้มข้น 45% นาน 10-15 นาที ใช้เข็มเขี่ยตัวอย่างให้กระจาย ลงไฟเล็กน้อย แล้ว seal กระจกปิดด้วยยาทาเล็บ ตรวจสอบเซลล์ที่มีโครโมโซมอยู่ในระยะ metaphase นับจำนวนโครโมโซม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า ถ่ายรูปเพื่อวิเคราะห์ผลการศึกษา

## ผลการศึกษา

จากการศึกษาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้ที่เก็บรวบรวมจากบริเวณเขตอนุรักษ์พันธุกรรมพืชโคกภูตากา สามารถศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้จำนวน 12 สกุล (genus) 15 ชนิด (species) ผลแสดงดังตารางที่ 1 และรูปที่ 1-15

## สรุปและวิจารณ์

จากการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของกล้วยไม้ที่พบในเขตพื้นที่โคกภูตากา พบว่ากล้วยไม้ 15 ชนิด มีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกัน อยู่ในช่วง  $2n = 26-42$  ซึ่งกล้วยไม้จำนวน 10 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 38$ , กล้วยไม้ 2 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 40$ , กล้วยไม้ 2 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 42$  ส่วนอีก 1 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 26$

ผลการศึกษาในครั้งนี้ถือเป็นการรายงานการศึกษาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้ในเขตพื้นที่โคกภูตากาเป็นครั้งแรก ซึ่งกล้วยไม้ทั้งหมดที่ศึกษามีชุดของโครโมโซมแบบ  $2n$  หรือ Diploid และกล้วยไม้ส่วนใหญ่มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 38$  ซึ่งจากรายงานจำนวนโครโมโซมที่ศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ Sau and Sharma (1983); Storey (1952) ที่ตรวจสอบจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้ในสกุล *Aerides*, *Cleisostoma*, *Dendrobium* และ *Vanda* บางชนิด ซึ่งมีจำนวนโครโมโซม  $2n = 38$  สำหรับจำนวนโครโมโซม

ของกล้วยไม้ดินสกุล *Eulophia* ซึ่งในการศึกษาค้นครั้งนี้พบ 1 ชนิด คือ หมวกลิง (*E. andamanensis*) มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 42$  สอดคล้องกับการรายงานของ Felix and Guerra (2000) ที่พบว่าจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้สกุล *Eulophia* แตกต่างกันไปตั้งแต่  $2n = 32-66$  นอกจากนี้การศึกษาในร่องเท้านารี (*Paphiopedilum concolor*) มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 26$ , และนางอ้วนน้อย (*Habenaria dentate*) มีจำนวนโครโมโซม  $2n = 38$  ซึ่งผลการศึกษาค้นครั้งนี้ได้ตรวจสอบกับ Chromosome atlas of flowering plants (Darlington and Wylie, 1955; Moore, 1974) พบว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน

จากผลการศึกษาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้พบว่ากล้วยไม้ในเขตพื้นที่โคกภูตากา มีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกันเนื่องจากกล้วยไม้มีความหลากหลายของชนิด (Bernardos et al., 2003) ซึ่งการทราบจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้ในแต่ละสกุลจะสามารถนำข้อมูลที่ได้อธิบายความหลากหลายของจำนวนโครโมโซมที่พบในแต่ละกลุ่มหรือแต่ละสกุลได้ (Felix and Guerra, 2000) นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้อาจนำมาทำนายจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้ในสกุลอื่นๆ ได้ อย่างไรก็ตามจำนวนโครโมโซมอาจไม่ได้ขึ้นอยู่กับลักษณะทางพันธุกรรมเพียงอย่างเดียว อาจแปรผันตามสภาพแวดล้อมหรือภูมิประเทศได้ ซึ่งลักษณะทางกายภาพจะมีผลชักนำให้เกิดปรากฏการณ์ polyploid ในพืชได้ (Stebbins, 1966 อ้างตาม Felix and Guerra, 2000)

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ศูนย์อนุกรมวิธานประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ และมหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนทุนวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

Bernardos, S., Amich, F. And Gallego, F. 2003. Karyological and taxonomic notes on *Ophrys*

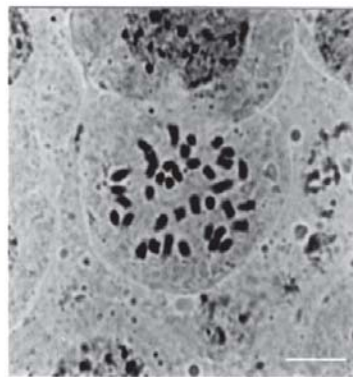
- (Orchidoideae, Orchidaceae) from the Iberian Peninsula. **Botanical Journal of the Linnean Society** 142: 395–406.
- Darlington, C.D. and Wylie, A.P. 1955. 2<sup>nd</sup> ed. **Chromosome Atlas of flowering plants**. London: Georg Allen and Unwin.
- Felix, P.L. and Guerra, M. 2000. Cytogenetics and cytotaxonomy of some Brazilian species of cymbidioid orchids. **Genetics and Molecular Biology** 23(4): 957–978.
- Moore, R.J., editor. 1974. **Index to plant chromosome numbers for 1972**. Netherland: Oosthoek, Scheltema & Holkema.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol Plant** 15: 473–497.
- Sau, H. and Sharma, A.K. 1983. Chromosome evolution and affinity of certain genera of Orchidaceae. **Cytologia** 48: 368–372.
- Shaw, W.G. 1973. **Chromosome studies**. London: Heinemann Education Book Ltd.
- Storey, W.B. 1952. Chromosome numbers of some *Vanda* species and hybrids. **Am Orchid Soc Bull** 21: 801–806.

ตารางที่ 1 แสดงสกุล ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ และ somatic number (2n) ของตัวอย่างกล้วยไม้บางชนิด ในเขตอนุรักษพันธุกรรมพืชโคกภูตาคา

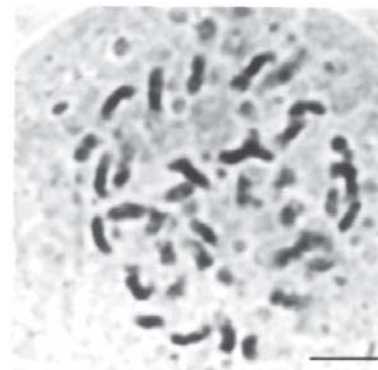
สกุล	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	somatic number (2n)
<i>Aerides</i>	กุหลาบกระเป่าเปิด	<i>Aerides falcata</i> Lindl.	38
	กุหลาบกระเป่าปิด	<i>A. odorata</i> Laur	38
	มาลัยแดง หรือเอื้องพวงมาลัย	<i>A. multiflora</i> Roxb.	38
<i>Cleisostoma</i>	เขาพะยะ	<i>Cleisostoma areitinum</i> (Rchb.f.)Garay	38
	ก้างปลา	<i>C. fuerstenbergianum</i> F. Kranz	38
<i>Cymbidium</i>	กะเหรกร้อน	<i>Cymbidium simulans</i> Rolfe.	40
<i>Dendrobium</i>	เอื้องดอกมะขาม หรือ เอื้องข้าวเหนียวลิ้ง	<i>Dendrobium delacourii</i> Guill.	38
<i>Doritis</i>	ม้าวิ่ง	<i>Doritis pulcherima</i> Lindl.	38
<i>Eulophia</i>	หมูกลิ้ง	<i>Eulophia andamanensis</i> Rchb.f.	42
<i>Geodorum</i>	ว่านจุงนาง	<i>Geodorum citrinum</i> Jack	40
<i>Habenaria</i>	นางอ้วน้อย	<i>Habenaria dentata</i> (Sw.) Schltr.	38
<i>Paphiopedilum</i>	รองเท้านารี	<i>Paphiopedilum concolor</i> (Lindl.) pfilz.	26
<i>Pecteilis</i>	นางอ้วน	<i>Pecteilis susannae</i> L. Raf	42
<i>Rhyncostylis</i>	ช้างกระ	<i>Rhyncostylis gigantea</i> (Lindl.) Ridl.	38
<i>Vanda</i>	เข็มขาว	<i>Vanda lilacina</i> Teijsm. & Binnend.	38



รูปที่ 1 แสดงลักษณะของกุหลาบกระเป่าเปิด (*Aerides falcata*) และโครโมโซม  $2n = 38$  สเกล = 5 ไมโครเมตร

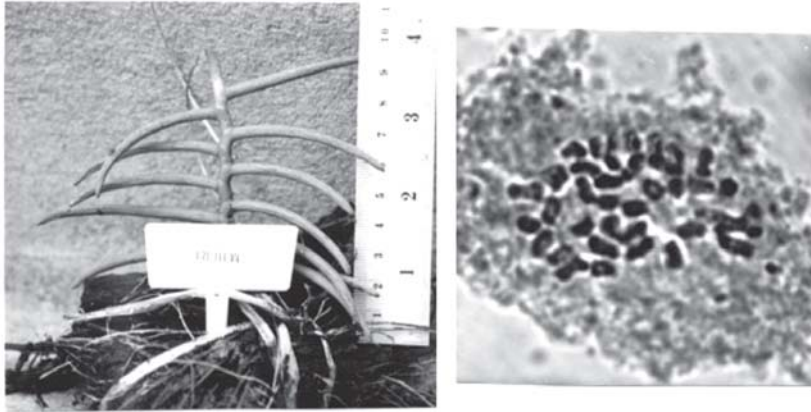


รูปที่ 2 แสดงลักษณะของกุหลาบกระเป่าปิด (*Aeride odorata*) และโครโมโซม  $2n = 38$  สเกล = 5 ไมโครเมตร

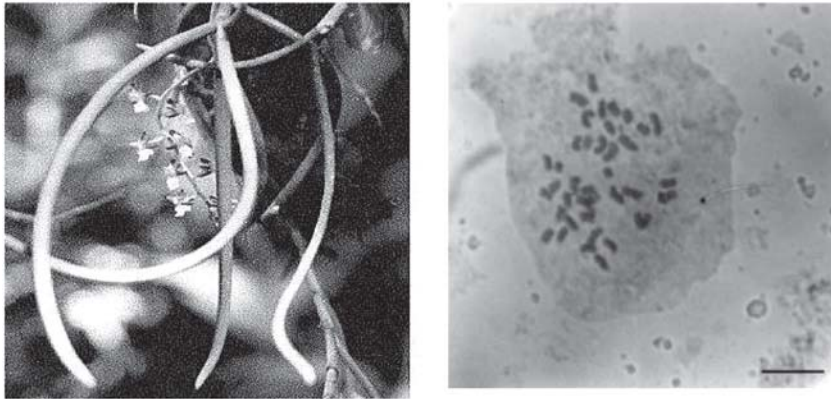


รูปที่ 3 แสดงลักษณะของมัลลัดง หรือเอื้องพวงมัลลัดง (*Aerides multiflora*) และโครโมโซม  $2n = 38$  สเกล = 5 ไมโครเมตร

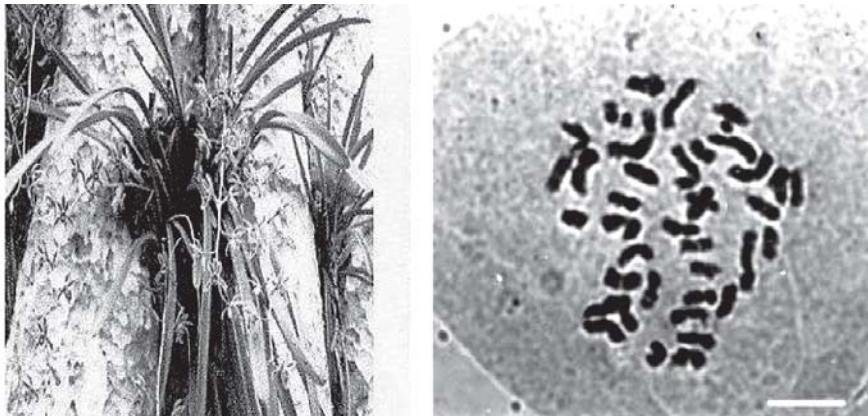




รูปที่ 4 แสดงลักษณะของเขาแพะ (*Cleisostoma areitinum*) และโครโมโซม  $2n = 38$  สเกล = 10 ไมโครเมตร



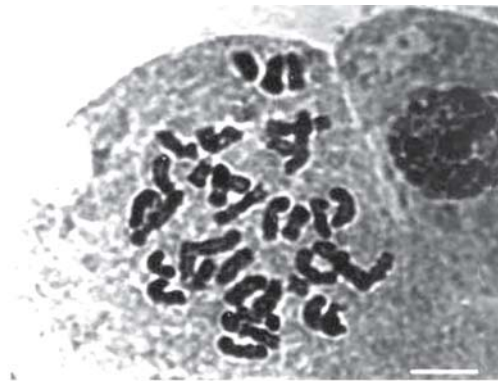
รูปที่ 5 แสดงลักษณะของก้านปลา (*Cleisostoma fuerstenbergianum*) และโครโมโซม  $2n = 38$  สเกล = 10 ไมโครเมตร



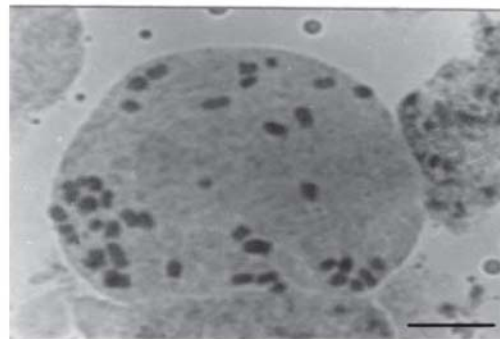
รูปที่ 6 แสดงลักษณะของกะเรกะร้อน (*Cymbidium simulans*) และโครโมโซม  $2n = 40$  สเกล = 5 ไมโครเมตร



รูปที่ 7 แสดงลักษณะของเอื้องดอกมะขาม หรือเอื้องข้าวเหนียวลิง (*Dendrobium delacourii*) และโครโมโซม  $2n = 38$  สเกล = 10 ไมโครเมตร



รูปที่ 8 แสดงลักษณะของม้าวัง (*Doritis pulcherima*) และโครโมโซม  $2n = 38$  สเกล = 5 ไมโครเมตร



รูปที่ 9 แสดงลักษณะของหมูกิ่ง (*Eulophia andamanensis*) และโครโมโซม  $2n = 42$  สเกล = 10 ไมโครเมตร



รูปที่ 10 แสดงลักษณะของว่านจุงนาง (*Geodorum citrinum*) และโครโมโซม  $2n = 40$  สเกล = 10 ไมโครเมตร

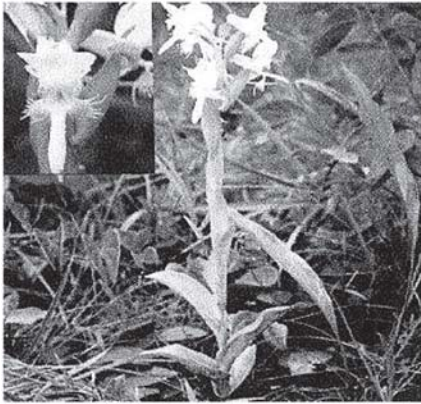


รูปที่ 11 แสดงลักษณะของนางอ้วน้อย (*Habenaria dentata*) และโครโมโซม  $2n = 38$  สเกล = 10 ไมโครเมตร

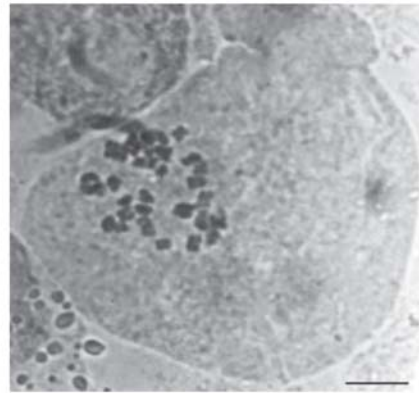
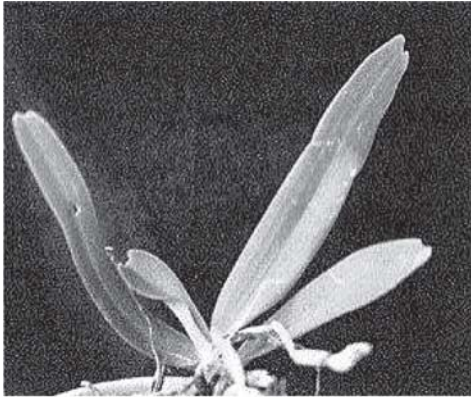


รูปที่ 12 แสดงลักษณะของรองเท้านารีเหลืองอุดร (*Paphiopedilum concolot*) และโครโมโซม  $2n = 26$  สเกล = 5 ไมโครเมตร

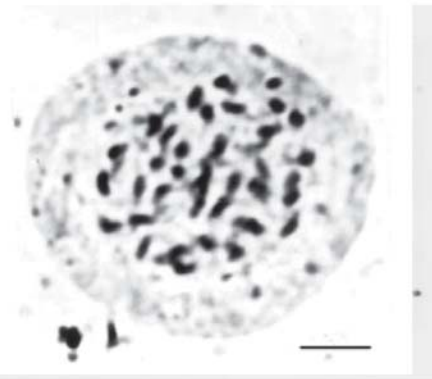




รูปที่ 13 แสดงลักษณะของนางอ้ว (*Pecteilis susannae*) และโครโมโซม  $2n = 42$  สเกล = 5 ไมโครเมตร



รูปที่ 14 แสดงลักษณะของช้างกระ (*Rhynchosstylis gigantea*) และโครโมโซม  $2n = 38$  สเกล = 10 ไมโครเมตร



รูปที่ 15 แสดงลักษณะของเข็มขาว (*Vanda lilacina*) และโครโมโซม  $2n = 38$  สเกล = 5 ไมโครเมตร