บทที่ 1

บทนำ

พืชสมุนไพร ตามความหมายในพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตสถานหมายถึง พืชที่ใช้ทำเป็นเครื่องยา (พนิดา กาญจนภี 2525) มนุษย์รู้จักใช้พืชสมุนไพรมานานกว่า 4000 ปี ในประเทศอินเดีย และ จีนยังคงใช้พืชสมุนไพรควบคู่ไปกับการแพทย์แผนปัจจุบัน ในประเทศไทยมีบันทึกประวัติการใช้สมุนไพรมาตั้งแต่สมัยกรุงสุโขทัย ในระยะสมัยรัชกาลที่ 4 แห่งกรุงรัตนโกสินทร์ การแพทย์แบบตะวันตกเข้ามาแทนที่ สมุนไพรถูกละเลยมาเป็นเวลานาน เพิ่งจะเริ่มมีการฟื้นฟูพืชสมุนไพรขึ้นในปี 2525 (มณฑิรา ตันท์เกยูร และ โสภิต ธรรมอารี 2525)

พืชสมุนไพรมีความสำคัญในแง่เป็นยารักษาโรค บำรุงร่างกาย เป็นยาปราบศัตรูพืช และเป็นสินค้าออก ในปัจจุบันสามารถแยกและสกัดสารเคมีบริสุทธิ์ได้จากพืช สารเหล่านี้เป็นตัวกำหนดสรรพคุณของพืชสมุนไพรนั้น ๆ นักวิทยาศาสตร์ได้จำแนกสารเคมีที่สกัดได้จากพืชเป็น 2 ประเภทคือ primary metabolite และ secondary metabolite (นิจศิริ เรืองรังสี และพยอม ตันติวัฒน์ 2532)

Primary metabolite เป็นผลผลิตที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง เช่น คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน และไขมัน เป็นต้น

Secondary metabolite เป็นผลผลิตจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของพืช เช่น อัลคาลอยด์ (alkaloid) กลัยโคไซด์ (glycoside) และ แทนนิน (tannin) สารเหล่านี้ในพืชแต่ละชนิดจะแตกต่างกันตามสารเริ่มต้น ซึ่งอาจเป็นกรดอะมิโนแอซีเตด (amino acetate), เมวาโลเนต (mevalonate) เป็นต้น นอกจากนั้นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) ของพืชแต่ละชนิดยังเป็นแฟคเตอร์สำคัญที่ทำให้ secondary metabolite ต่างกันด้วย สาเหตุที่แท้จริงในการสร้างสาร secondary metabolite ในพืชยังไม่ทราบแน่ชัดแต่พบว่าเกิดจากการที่พืชพยายามปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป primary metabolite และ secondary metabolite ของพืชที่นำมาเป็นยารักษาโรคนั้นจำแนกเป็น 9 กลุ่ม (นิจศิริ เรืองรังสี และพยอม ตันติวัฒน์ 2532)

1. คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)
2. อัลคาลอยด์ (Alkaloid)
3. กลัยโคไซด์ (Glycoside)

4. น้ำมันระเหย (Volatile oil)
5. ไขมัน (Lipid)
6. เรซิน (Resin)
7. วิตามิน (Vitamin)
8. สเตอรอยด์ (Steroid)
9. ยาปฏิชีวนะ (Antibiotic)

ในแผนพัฒนาประเทศฉบับที่ 5 (พ.ศ.2525-2529) กระทรวงสาธารณสุข ได้เล็งเห็นความสำคัญของพืชสมุนไพร ซึ่งเป็นแหล่งยาธรรมชาติที่มีในประเทศ จึงมีนโยบายเน้นการส่งเสริมให้มีการค้นคว้าทางวิชาการเพื่อนำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ แต่ต้องมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยอาศัยความร่วมมือจาก นักวิทยาศาสตร์สาขาต่าง ๆ ได้แก่ สาขาพฤกษศาสตร์ สาขาเภสัชพฤกษศาสตร์ สาขาเภสัชเวท สาขาเภสัชวิทยา สาขาพิษวิทยา สาขาแพทย์ศาสตร์ สาขาเคมี สาขาเกษตรศาสตร์ และ สาขานิเวศน์วิทยา (วิชิต แวดวงธรรม 2526)

การวิจัยพืชสมุนไพรในประเทศไทย ของหน่วยงานต่าง ๆ ซึ่งรวบรวมระหว่างปี 2525-2531 (กองวิชาการ สำนักงานปลัดทบวง 2531) มีดังนี้

กิตติพันธ์ ตันตระรุ่งโรจน์ ศึกษาการใช้ประโยชน์ของบอระเพ็ด

กฤษณา ภูตะคาม วิเคราะห์หาปริมาณเซนโนไซด์ (senoside) ทั้งหมดในใบและฝักมะขามแขก ที่เพาะปลูกในสภาวะแวดล้อมและเก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน

กฤษณา ภูตะคาม ศึกษาต้นพระจันทร์ครึ่งซีกทางพฤกษศาสตร์และทางเภสัชวิทยา

ศศิธร วสุวัต ศึกษาการพัฒนาอุตสาหกรรมยาถ่ายจากมะขามแขก

กมลพรรณ นามวงพรหม ศึกษาการคัดเลือกสายพันธุ์เซลล์ที่ผลิต colchicine ปริมาณสูงจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของดองดึง

สุมิตรา คงชื่นสิน ศึกษาพันธุศาสตร์ในพืชสมุนไพรบางชนิด

สุมาลี เหลืองสกุล ศึกษาคุณสมบัติของเทียนดอกในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

นันทวัน บุณยประภัศร และคณะ ทดลองใช้ว่านหางจระเข้ในการรักษาแผลไฟไหม้และแผลเรื้อรัง

วรนุช เกียรติพงษ์ถาวร และ มยุรี แก้วจัน ศึกษาผลของการทำแผลด้วยวุ้นว่านหางจระเข้

สถาบันวิจัย วิทยาศาสตร์ และคณะแพทย์ศาสตร์ศิริราช ศึกษาพัฒนายาว่านหางจระเข้และผลิตภัณฑ์ครีมว่านหางจระเข้

ชัยฤกษ์ สงวนทรัพย์ ศึกษาการใช้บุกซึ่งให้สาร Diosgenin ปลูกทดแทนฝิ่นในพื้น

ที่บนเขาทางภาคเหนือของประเทศไทย

จันทรา พูนศิริ ศึกษาสมุนไพรโกฏจุฬาลัมพา

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ ศึกษาสรรพคุณทางยาของสารสกัดจากบัวหลวง

จากการวิจัยค้นคว้า สมุนไพรในด้านต่าง ๆ ที่กล่าวมานั้น ยังขาดการศึกษาทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์ (Cytogenetics) โดยเฉพาะด้านโครโมโซม เช่นจำนวนโครโมโซม (chromosome number) คารีโอไทป์ (karyotype) และ meiotic configuration ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลในการจำแนกชนิดของพืชสมุนไพรให้ถูกต้อง เพราะพืชสมุนไพรส่วนใหญ่เก็บมาจากสภาพธรรมชาติ เช่น จากป่า การเรียกชื่อในแต่ละท้องถิ่นจึงแตกต่างกันไป ทำให้ได้สมุนไพรที่ผิดความต้องการง่าย นอกจากนี้การศึกษาโครโมโซมยังเป็นข้อมูลที่จะใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์พืชสมุนไพรต่อไป

<u>โครโมโซม</u> (chromosome) คือโครงสร้างทางพันธุกรรม (heredity structure) ที่เป็นที่อยู่ของหน่วยกรรมพันธุ์ ทำหน้าที่เก็บรักษา (storage) ถ่ายทอด (transmission) และแสดงออก (expression) ของข้อมูลพันธุกรรม (genetic information) โครโมโซมพบครั้งแรกโดย Strasburger ในปี ค.ศ. 1870 ต่อมาในปี ค.ศ.1888 Waldeyer ได้ให้ความหมายของโครโมโซม ซึ่งหมายถึงโครงสร้างที่ประกอบด้วยโครมาตินที่ติดสีย้อมที่เป็นเบส (basic dye) เนื่องจากโครมาตินดังกันแน่นระหว่างที่มีการแบ่งนิวเคลียส โดยเฉพาะระยะเมทาเฟส (metaphase) ทำให้เห็นรูปร่างโครงสร้างโครโมโซมชัดเจน (กันยารัตน์ ไชยสุต 2532)

ส่วนประกอบทางเคมีที่สำคัญของโครโมโซมได้แก่ กรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ชนิดดีเอ็นเอ และ โปรตีน ปัจจุบันแบบจำลองโครโมโซมที่ยอมรับกันคือโครงสร้างที่ Oudet เสนอในปี 1974 ว่า โครโมโซมประกอบด้วยหน่วยย่อย ๆ ที่เรียกนิวคลีโอโซม (nucleosome) แต่ละนิวคลีโอโซมมีโปรตีนฮีสโตน 4 ชนิด คือ H_2A H_2B H_3 และ H_4 อยู่ในสภาพ Octamer และมีโมเลกุล ดีเอ็นเอ พันบนแกนโปรตีนสองรอบ มีโปรตีน H_1 เป็น linker ดีเอ็นเอที่พันรอบโปรตีน ทำหน้าที่นำข้อมูลพันธุกรรม เมื่อสายของนิวคลีโอโซมพันกันทำให้เกิดเป็นโซลีนอยด์ (Solenoid) ซึ่งแต่ละโซลีนอยด์ประกอบด้วย 6 นิวคลีโอโซมเป็นอย่างน้อย การเกิดโซลีนอยด์นี้ฮีสโตน H_1 มีบทบาททำให้โครมาตินมาอัดรวมกันหรือทำให้โครมาตินยืดออกเป็นเส้นได้ (กันยารัตน์ ไชยสุต 2532)

สามารถศึกษาโครโมโซมได้ทั้งใน โซมาติกเซลล์ (somatic cell) และเจิร์มไลน์เซลล์ (germ line cell) โซมาติกเซลล์ ที่นำมาศึกษาโครโมโซมได้ ได้แก่ เซลล์

เจริญปลายราก ใบประดับ (bract) เตรียมโดยวิธี Feulgen squash (ภาพที่ 1) เยิมร์ไลน์ที่นำมาศึกษาโครโมโซม ได้แก่ ไมโครสปอร์โรไซต์ (microsporocyte) ไมโครสปอร์ (microspore) และ ละอองเรณู (pollen grain) ดังภาพที่ 2 เตรียมโดยวิธี propiono - carmine smear method (กันยารัตน์ ไชยสุต 2532)

โครโมโซมที่นับได้จากเซลล์ปลายราก หรือใบประดับ หรือ ไมโครสปอร์โรไซต์ บอกจำนวนโครโมโซมในโซมาติกเซลล์ (somatic number = 2n) ส่วนการศึกษาโครโมโซมในไมโครสปอร์ และละอองเรณูบอกจำนวนโครโมโซมของเซลล์สืบพันธุ์ (gametic number = n) ซึ่งมีจำนวนเป็นครึ่งหนึ่งของจำนวนโครโมโซมในโซมาติกเซลล์ของสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันเสมอ (กันยารัตน์ ไชยสุต 2532)

จำนวนโครโมโซม (chromosome numbers) ของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด (species) จะคงที่ รวมทั้ง รูปร่าง และโครงสร้างเฉพาะเช่น ตำแหน่งเซนโทรเมียร์ (centromere) NOR (nucleolar organizer region) จำนวนโครโมโซมที่พบทั้งหมดภายในเซลล์เรียกว่า โครโมโซมคอมพลีเมนต์ (chromosome complement) ส่วนชุดของโครโมโซมที่มีจำนวนน้อยที่สุดและมีลักษณะรูปร่าง ขนาดไม่เหมือนกันเลยเรียกว่าเบสิคนัมเบอร์ (basic number) (Darlington 1966)

Moore (1976) ศึกษาโครโมโซมของพืชดอกพบว่าโซมาติกนัมเบอร์อยู่ระหว่าง 4-264 และ เบสิค นัมเบอร์ มีค่า 7-13 ค่าเบสิคนัมเบอร์ของพืชในสกุล หรือ วงศ์เดียวกันอาจเท่ากัน เช่น พืชที่อยู่ใน family Festucoidaceae มีเบสิคนัมเบอร์เท่ากับ 7 แต่พืชบางสกุลอาจมีจำนวนเบสิคนัมเบอร์ได้หลายค่าเช่นสกุล Crepis ในวงศ์ Compositae มีเบสิคนัมเบอร์เท่ากับ 6, 5, 4 และ 3 จำนวนเบสิคนัมเบอร์ของสิ่งมีชีวิตสกุลหนึ่งสามารถนับได้จากสิ่งมีชีวิตหลายสปีชีส์ที่อยู่ในสกุลเดียวกัน เช่น Tahara(1915) ศึกษาโครโมโซมในสกุล Chrysanthemum พบว่า 2n=18,36,54,72,และ90 ดังนั้นพืชสกุลนี้มีค่าเบสิคนัมเบอร์เท่ากับ 9 (อ้างตาม Brown 1969)

การทราบเบสิคนัมเบอร์ ช่วยในการจำแนกระดับพลอยดี (ploidy) ของสิ่งมีชีวิต เช่น Triticum aestivum มีโซมาติกนัมเบอร์ 2n=42 เบสิคนัมเบอร์เท่ากับ 7 ข้าวสาลีพันธุ์ปลูกนี้จัดเป็นเฮกซาพลอย (hexaploid 6x) (Darlington 1966)

ระยะของการแบ่งนิวเคลียสที่ใช้นับจำนวนโครโมโซมในโซมาติกเซลล์คือระยะเมทาเฟส (mitotic metaphase) เนื่องจากโครโมโซมมีการหดตัวดี มีความหนามากสามารถสัง

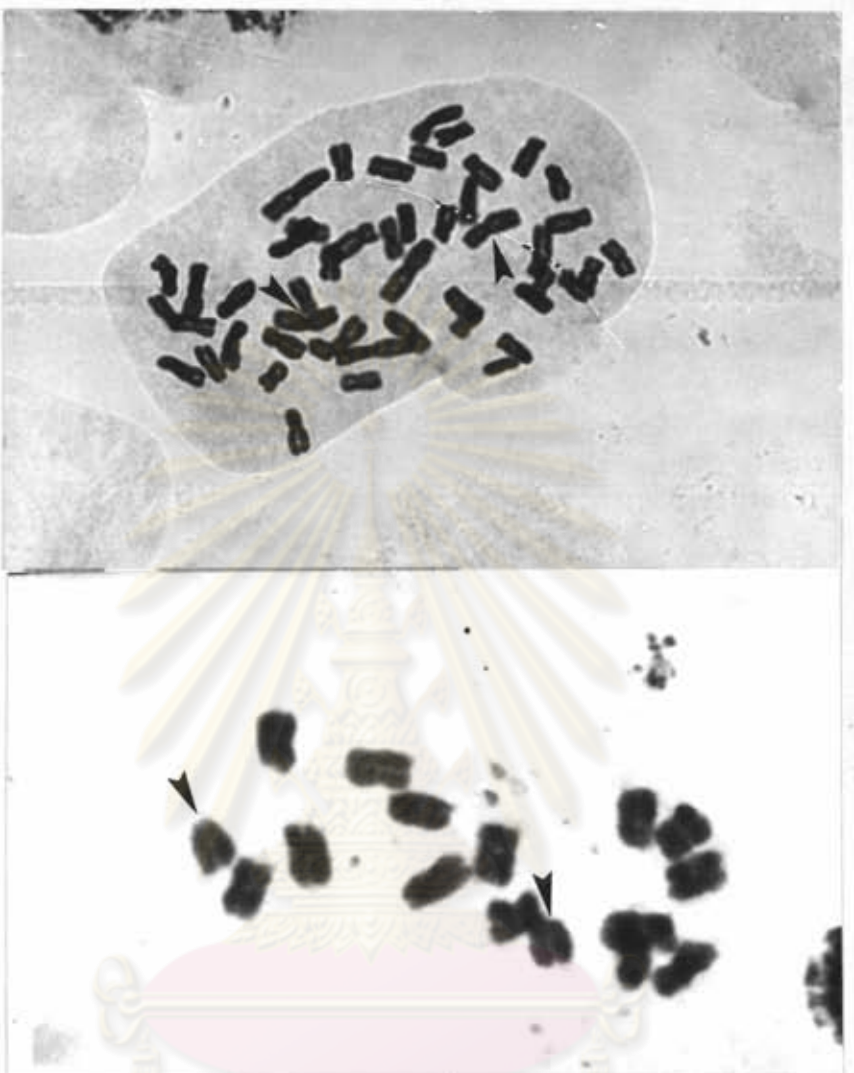
เกตเห็นเซนโทรเมียร์ได้ชัดเจน (Stebbins 1971) แต่ละโครโมโซมในระยะเมทาเฟส ประกอบด้วยสองโครมาติด (chromatid) เชื่อมติดกันด้วยเซนโทรเมียร์ ใช้ตำแหน่งเซนโทรเมียร์แบ่งชนิดของโครโมโซม ดังภาพที่ 3 โครโมโซมที่มีเซนโทรเมียร์อยู่บริเวณเกือบปลายสุดโครโมโซมเรียกว่า acrocentric chromosome โครโมโซมที่มีเซนโทรเมียร์อยู่ตรงกลางของโครโมโซมเรียกว่า metacentric chromosome ส่วนโครโมโซมที่มีเซนโทรเมียร์อยู่ถัดกึ่งกลางระหว่างปลายของแขนโครโมโซมทั้งสองข้างเรียกว่า submetacentric chromosome และโครโมโซมที่มีลักษณะเป็นแท่งมีเซนโทรเมียร์อยู่ปลายสุดเรียกว่า telocentric chromosome ลักษณะอื่นๆที่สังเกตได้ในไมโทติกโครโมโซมได้แก่ ตำแหน่ง nucleolar organizer region (NOR) ซึ่ง Longwell และ Svihla (1960) พบว่ามักจะอยู่ที่แขนสั้น (short arm) ของโครโมโซม และ secondary constriction ตำแหน่งทั้งสองนี้พบเฉพาะบน satellite chromosomne ในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด (อ้างตาม Brown 1969)

การศึกษาโครโมโซมใน เยิร์มไลน์เซลล์ ของไม้ดอกนิยมใช้อับเรณูเพราะภายในอับเรณูมี pollen mother cell (PMC) จำนวนมากซึ่งมีการแบ่งนิวเคลียสระยะต่างๆ เพื่อสร้างไมโครสปอร์ (microspore) ระยะที่ใช้นับจำนวนโครโมโซมได้คือเมทาเฟสแรกของไมโครสปอร์โรไซต์ โดยดูการจับคู่ของโครโมโซมที่เหมือนกัน (sysnapsis of homologous chromosome) ในระยะนี้โครโมโซมคู่เหมือนจะจับกันเป็น bivalent (ถ้ามีคู่เหมือน 2 แท่ง) หรืออาจพบว่ามีโครโมโซมจับกันเป็น multivalent ชนิด trivalent (มีคู่เหมือน 3 แท่ง) หรือ quadrivalent (มีคู่เหมือน 4 แท่ง) ในกรณีที่ไม่มีโครโมโซมคู่เหมือน โครโมโซมแต่ละแท่งจะอยู่ในสภาพของ univalent (ภาพที่ 4) ลักษณะของ bivalent ที่ปรากฏพบได้สองแบบคือ rod bivalent และ ring bivalent rod bivalent ปกติมี chiasmata เกิดขึ้นที่แขนข้างยาวของโครโมโซม ring bivalent มี chiasmata เกิดขึ้นบนแขนทั้งสองข้างของโครโมโซม ถ้าโครโมโซมที่เหมือนกันจับคู่กันเป็น rod bivalent โครโมโซมนั้นอาจเป็นชนิด acrocentric หรือ telocentric หรือ submetacentric chromosome ส่วนที่เป็น ring bivalent นั้นพบว่ามาจาก metacentric หรือ submetacentric chromosome จากการศึกษารูปร่างโครโมโซมในระยะเมทาเฟสแรกสามารถบอกได้ว่าพืชนั้นเป็น ดิพลอยด์ (diploid) หรือ พอลีพลอยด์ (poly ploid) นอกจากนี้ยังใช้ทำนายการเจริญพันธุ์ (fertility) ได้ พืชที่มีการเจริญพันธุ์ดีจะมี meiotic configuration แบบ regular คือโครโมโซมที่เหมือนกันจับคู่กันเป็น bivalent ทั้งหมดหรือมี multivalent ที่โครโมโซมแยกแบบ determinate disjunction ทำให้เซลล์สืบพันธุ์ที่ได้แต่ละเซลล์มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันและเป็นครึ่งหนึ่ง (haploid) ของโซมาติกเซลล์ ถ้าการเจริญพันธุ์นั้นมีความสัมพันธ์กับโครโมโซม ทำให้พืชชนิด

นั้นมีการเจริญพันธุ์ดี

นอกจากนี้ยังใช้ไมโครสปอร์โรไซต์ที่มีการแบ่งนิวเคลียสแบบไมโอซีสระยะอื่นๆมานับจำนวนโครโมโซม ได้แก่ระยะ diakinesis ในระยะนี้โครโมโซมคู่เหมือนจับคู่เป็น bivalent มีนิวคลีโอลัสปรากฏให้เห็น หรืออาจใช้ระยะแอนาเฟสแรก (first anaphase) บอกจำนวนโครโมโซมได้เช่นกันแต่ไม่ได้รายละเอียดของ meiotic configuration ส่วนจำนวนโครโมโซมที่นับจากไมโตซีสของไมโครสปอร์คือค่าของ gametic number

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

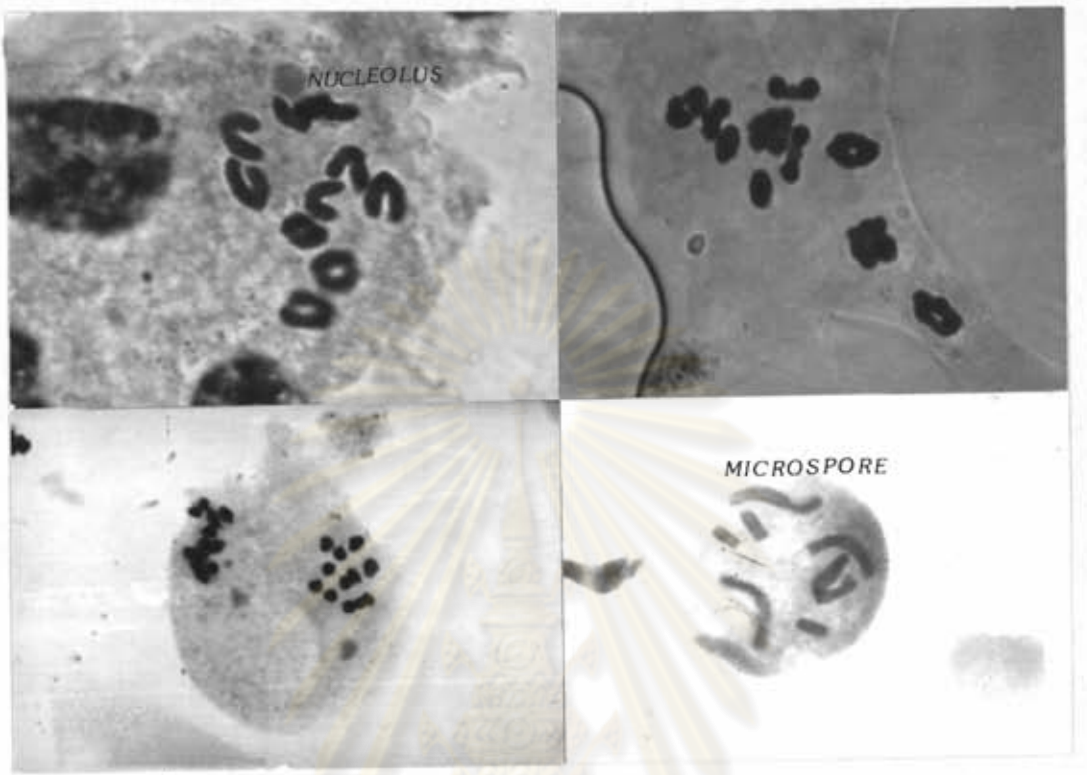


ภาพที่ 1 ชนิดของ somatic cell ที่ใช้นับจำนวนโครโมโซม

ภาพบน เซลล์ปลายรากในระยะเมทาเฟสของบัวจีนสีเหลืองเข้ม (Zephyranthes citrina baker.) 2n=48 สังเกตโครโมโซมแต่ละแท่งของโซมาติกเมทาเฟสประกอบด้วยสองโครมาติคที่ยึดติดกันด้วยเซนโทรเมียร์ (ลูกศรชี้) แบบ median และ submedian กำลังขยาย 1200 เท่า

ภาพล่าง เซลล์ผนังอับเรณูระยะเมทาเฟสของราตรี (Cestrum nocturnum Linn.)2n=16 มีโครโมโซมแบบ acrocentric 1 คู่ (ลูกศรชี้) กำลังขยาย 1750 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



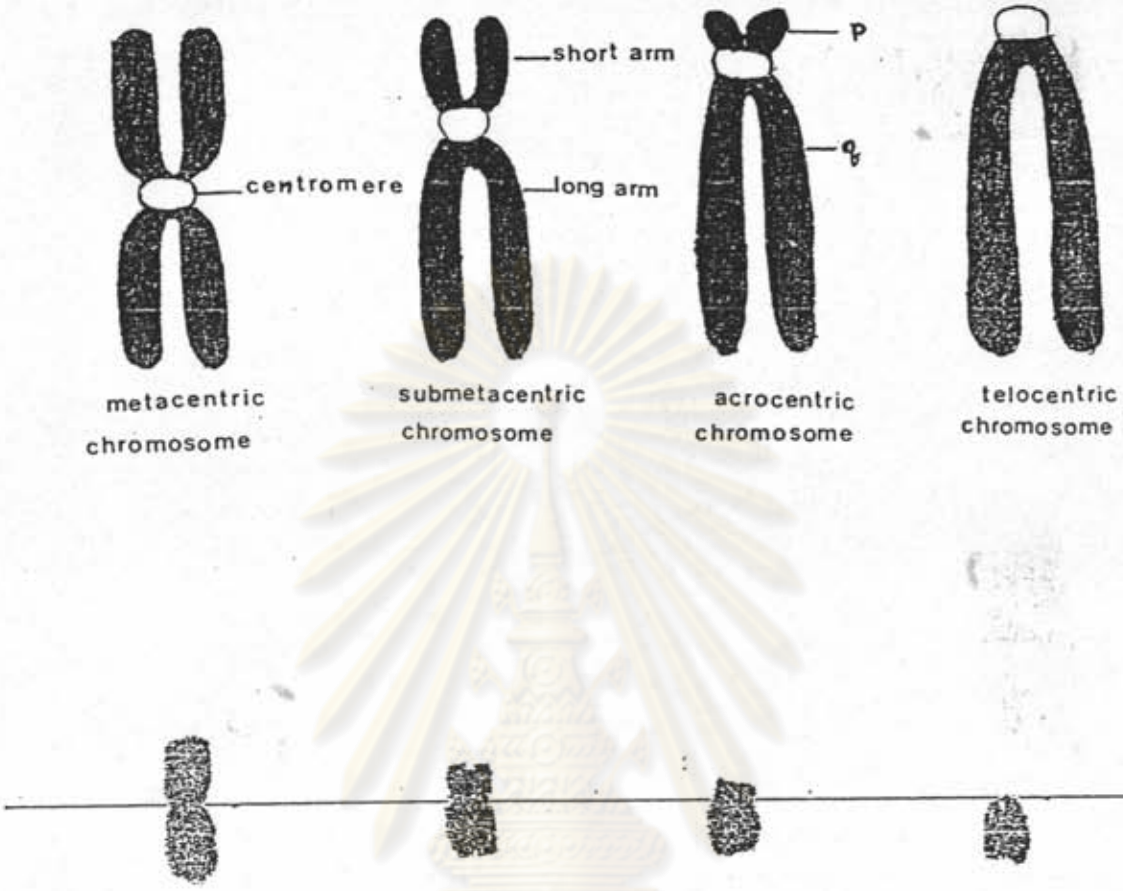
ภาพที่ 2 แสดงโครโมโซมของไมโครสปอร์โรไซต์ (ภาพบนและภาพล่างซ้าย) และไมโครสปอร์ (ภาพล่างขวา) ที่เตรียมได้จากดอกอ่อนโดยวิธี smear method

ภาพบนซ้าย โครโมโซมระยะ diakinesis ของแปะตำปิง (Gynura procumbens Merr.) เห็นโครโมโซมที่เหมือนกันจับคู่เป็น bivalent ทั้งหมด 10 คู่ (2n=20) ในระยะนี้ nucleolus ยังปรากฏให้เห็น (ลูกศรชี้)

ภาพบนขวา โครโมโซมในระยะ first metaphase ของดองดึง (Gloriosa superba Linn.) โครโมโซมที่เหมือนกันจับคู่กันเป็น bivalent ทั้งหมด 11 bivalent เป็น 8 ring bivalent กับ 3 rod bivalent (2n=22)

ภาพล่างซ้าย โครโมโซมในระยะ first anaphase ของพริกฝักทอง (Capsicum sp.) สังเกตเห็นแต่ละขั้วเซลล์มี 12 โครโมโซม (n=12)

ภาพล่างขวา โครโมโซมในระยะเมทาเฟสของไมโครสปอร์ของ ว่านหางจระเข้ (Aloe barbadensis Mill.) n=7 กำลังขยาย 1200 เท่า



ภาพที่ 3 ชนิดต่างๆของโครโมโซมซึ่งใช้เซนโทรเมียร์เป็นหลักในการแบ่ง

แถวบน ไดอะแกรมของโครโมโซมในไมโทติกเมทาเฟส แต่ละโครโมโซมประกอบด้วยสองโครมาติดซึ่งยึดติดกันด้วยเซนโทรเมียร์ที่ตำแหน่งต่างๆ แบ่งแขนของโครโมโซมออกเป็นสองส่วนคือ long arm (q) และ short arm (p)

แถวล่าง แสดงโครโมโซมชนิด metacentric , submetacentric , acrocentric และ telocentric ที่พบในพืชสมุนไพร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 4 แสดงรูปร่างของ homologous chromosome ที่จับคู่กันในระยะเมทาเฟสแรกของพืชสมุนไพรชนิดต่างๆที่นำมาศึกษา (กำลังขยาย 1750)

แถวที่ 1 univalent

แถวที่ 2 ring bivalent

แถวที่ 3 rod bivalent

แถวที่ 4 trivalent (a) และ quadrivalent (b)

ประโยชน์การศึกษาจำนวนโครโมโซม

การศึกษาจำนวนโครโมโซมนั้น เป็นการศึกษาลักษณะเฉพาะอย่างทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต การเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมทั้งโครงสร้างและจำนวน มีผลต่อการแสดงออกของจีโนไทป์ (genotype) และฟีโนไทป์ (phenotype) ของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ จึงสามารถนำความรู้เกี่ยวกับจำนวนโครโมโซมไปใช้ได้หลายทาง เช่น

1. <u>เซลล์อนุกรมวิธาน</u> (Cytotaxonomy) Stebbins กล่าวว่าในกรณีที่พืชสองชนิดมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกันมากสามารถใช้จำนวน รูปร่างลักษณะของโครโมโซมมาช่วยจำแนกสปีชีส์ได้ถูกต้องยิ่งขึ้น (อ้างตาม Jones และ Luchsinger 1987)

2. <u>ศึกษาสายสัมพันธ์</u> (Phylogenetic) เป็นการหาสายสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตตั้งแต่สองสปีชีส์ขึ้นไปที่มี ลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางลักษณะคล้ายคลึงกัน เพื่อจะได้ทราบว่าสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นมี วิวัฒนาการมาจากบรรพบุรุษร่วมกันหรือต่างกัน

บุษกร อารยางกูร (2529) ศึกษาสายสัมพันธ์ระหว่างบัวจีนดอกชมพูเล็ก (<u>Zephyranthes rosea</u> Lindl.) และบัวจีนดอกชมพูใหญ่ (<u>Zephyranthes grandiflora</u> Lindl.) บัวจีนทั้งสองชนิดนี้ มีลักษณะใบ ดอกและสีดอก คล้ายคลึงกันมาก แต่บัวจีนดอกชมพูเล็กมีขนาดใบและดอก เล็กกว่าบัวจีนดอกชมพูใหญ่ และ เมื่อศึกษาโครโมโซม พบว่าบัวจีนดอกชมพูเล็กมีจำนวนโครโมโซม 2n = 24 ส่วนบัวจีนดอกชมพูใหญ่มีโครโมโซม 2n = 48 คารีโอไทป์ของบัวจีนทั้งสองชนิดเป็นแบบ asymmetrical karyotype นำบัวจีนดอกชมพูเล็กมาผสมแบบสลับ (reciprocal cross) กับบัวจีนชมพูใหญ่ ลูกผสมที่มีบัวจีนดอกชมพูเล็กเป็นแม่ มีโครโมโซม 2n=35 ส่วนลูกผสมที่มีบัวจีนดอกชมพูใหญ่เป็นแม่ มีโครโมโซม 2n=48 ซึ่งเท่ากับโครโมโซมของบัวจีนดอกชมพูใหญ่ แต่ลูกผสมกลุ่มนี้มีลักษณะของอวัยวะบางลักษณะแตกต่างจากดอกบัวจีนชมพูใหญ่ (แม่) และบัวจีนดอกชมพูเล็ก (พ่อ) คือ บางต้นมี tepal สีอ่อนกว่าพ่อ แม่ และมียอดเกสรตัวเมียสีขาว บางต้นมี tepal สีเข้มกว่าพ่อ แม่ ขนาดดอกใหญ่กว่าพ่อแต่เล็กกว่าแม่ และยอดเกสรตัวเมียมีการแยกของแฉกตื้นกว่าพ่อ แม่ จากการที่บัวจีนดอกชมพูเล็กและบัวจีนดอกชมพูใหญ่สามารถ ผสมสลับได้ลูกผสมที่ออกดอกได้ แสดงว่าบัวจีนทั้งสองชนิดมีสายสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน

3. <u>การปรับปรุงพันธุ์</u> ความรู้ทางด้านโครโมโซมสามารถช่วยในการคัดเลือกพันธุ์ที่มีลักษณะดีตามต้องการ เพื่อไว้ขยายพันธุ์ การคัดเลือกพันธุ์โดยวิธีสังเกตลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียว พันธุ์ที่คัดเลือกไว้อาจมีความแข็งแรง ต้านทานโรค แต่ให้ผลผลิตต่ำ และรุ่นต่อไปลักษณะดีที่คัดไว้อาจหายไปได้ มีเทคนิคการปรับปรุงพันธุ์โดยสร้าง addition

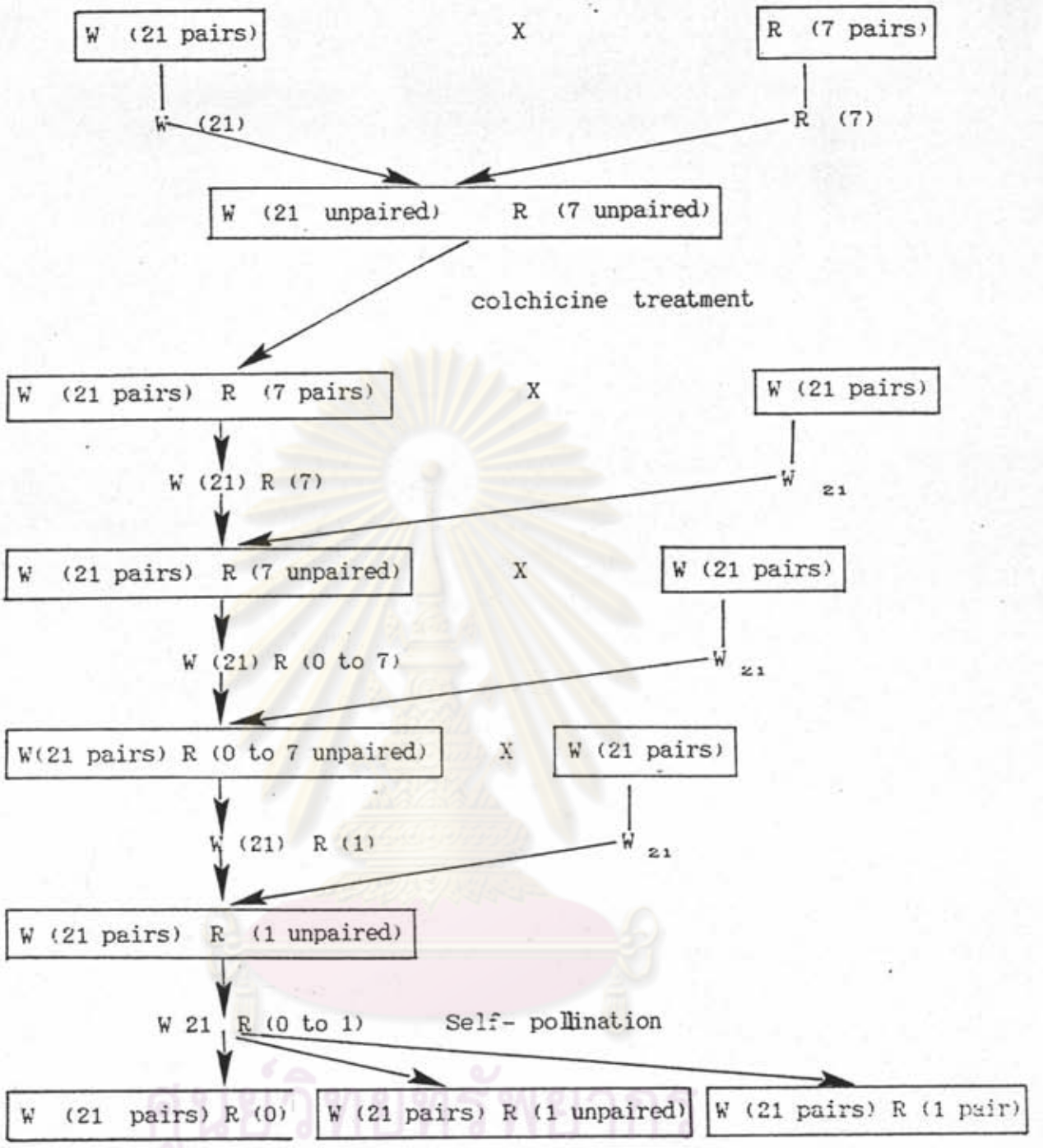
line หรือ substitution line เพื่อนำลักษณะที่ดีซึ่งผ่านทางการผสมพันธุ์ได้ยาก การสร้าง addition line และ substitution line นิยมทำในพืชที่เป็น amphidipliod (Sybenga 1972)

Sybenga (1972) กล่าวว่า addition line หมายถึง การถ่ายทอดโครโมโซมบางแท่ง ของสปีชีส์หนึ่งไปให้อีกสปีชีส์หนึ่ง เพื่อนำลักษณะที่ดีบางประการที่อยู่บนโครโมแต่ลักษณะนี้ผ่านทางการผสมพันธุ์แบบธรรมดาได้ยาก เช่น ลักษณะการต้านทานโรค การทำ addition line มีพืชที่เป็นตัวรับ และ ตัวให้โครโมโซม เช่นการสร้าง addition line ของข้าวสาลี (Triticum aestivum 2n=42) มีข้าวไรน์ (Secale cereal 2n=14) เป็นตัวให้โครโมโซม เมื่อผสมข้าวสาลี (ต้นแม่) กับข้าวไรน์ (ต้นพ่อ) ลูกในชั่วที่หนึ่ง (F1) มีโครโมโซม เท่ากับ 28 ซึ่งประกอบด้วยโครโมโซมของข้าวสาลี 21 แท่ง และข้าวไรน์ 7 แท่ง จากนั้นนำต้นกล้าในชั่วที่หนึ่ง มาเพิ่มจำนวนโครโมโซมโดยใช้โคลชิซีนจะได้ต้นข้าวสาลีที่มีโครโมโซมคู่เหมือน ของข้าวสาลี 21 คู่ และ ข้าวไรน์ 7 คู่ แล้วจึงนำไปผสมกลับ กับ ข้าวสาลีปกติที่มีโครโมโซม 2n =42 สามครั้งจนได้ต้นข้าวที่มีโครโมโซมของข้าวสาลี 21 คู่ และโครโมโซมของข้าวไรน์ 1 แท่ง จากนั้นจึงให้ลูกชั่วนี้ ผสมตัวเองเพื่อให้มีการเพิ่มโครโมโซมของข้าวไรน์ขึ้นมาอีก 1 แท่ง ข้าวสาลีที่มีโครโมโซมของข้าวสาลี 21 คู่ กับโครโมโซมของข้าวไรน์ 1 คู่ (2n=44) คือต้น addition line ที่ต้องการและข้าวสาลีต้นนี้จะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่มีจำนวนโครโมโซมสมดุลย์กัน โครโมโซมของข้าวไรน์ที่เพิ่มเข้ามาในข้าวสาลีจะมีความเสถียร แล้วสามารถถ่ายทอดไปได้ทุกๆชั่ว (ดังแผนภาพที่ 1)

จากผลของการสร้าง addition line สามารถนำมาสร้าง substitution line ได้ สำหรับหลักการสร้าง ก็คือการนำเอาโครโมโซมของพืชสายพันธุ์หนึ่งไปแทนที่โครโมโซมของพืชอีกสายพันธุ์หนึ่ง โครโมโซมที่เข้าไปแทนที่นั้นควรจะเป็นโครโมโซมคู่เหมือน (homologous chromosome) ทำให้ substitution line ที่ได้มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับพันธุ์เริ่มต้น เช่น substitution line ของข้าวสาลี 2n=42 (โครโมโซมของข้าวสาลี 20 คู่ + โครโมโซมของข้าวไรน์ 1 คู่ 2n=42) การสร้าง substitution line แสดงไว้ดังแผนภาพที่ 2

นอกจากนี้อาจจะปรับปรุงพันธุ์พืชได้โดยการชักนำให้เกิดพอลีพลอยด์ได้ด้วยวิธีการต่าง ๆ เช่น การใช้สารเคมี การใช้อุณหภูมิ ลักษณะของพอลีพลอยด์ที่ได้ จะมีดอกใหญ่ กลีบดอกหนา ใบกว้างใหญ่ และปริมาณสารเคมีเพิ่มขึ้น ตัวอย่างเช่น Singh (1989) ได้ชักนำ Petunia ที่เป็น diploid (2X=14) ให้เป็น tetraploid (4X=28) ซึ่งมีต้นสูงขึ้น ขนาดดอกใหญ่ขึ้น จำนวนดอกต่อต้นมากขึ้น

จากประโยชน์ทั้งหมดที่ได้กล่าวมาข้างต้น จำเป็นต้องใช้พื้นฐานการตรวจนับจำนวนโครโมโซมทั้งในโซมาติกเซลล์ และเยิร์มไลน์เซลล์ โครโมโซมที่พบในโซมาติกเซลล์มีความ

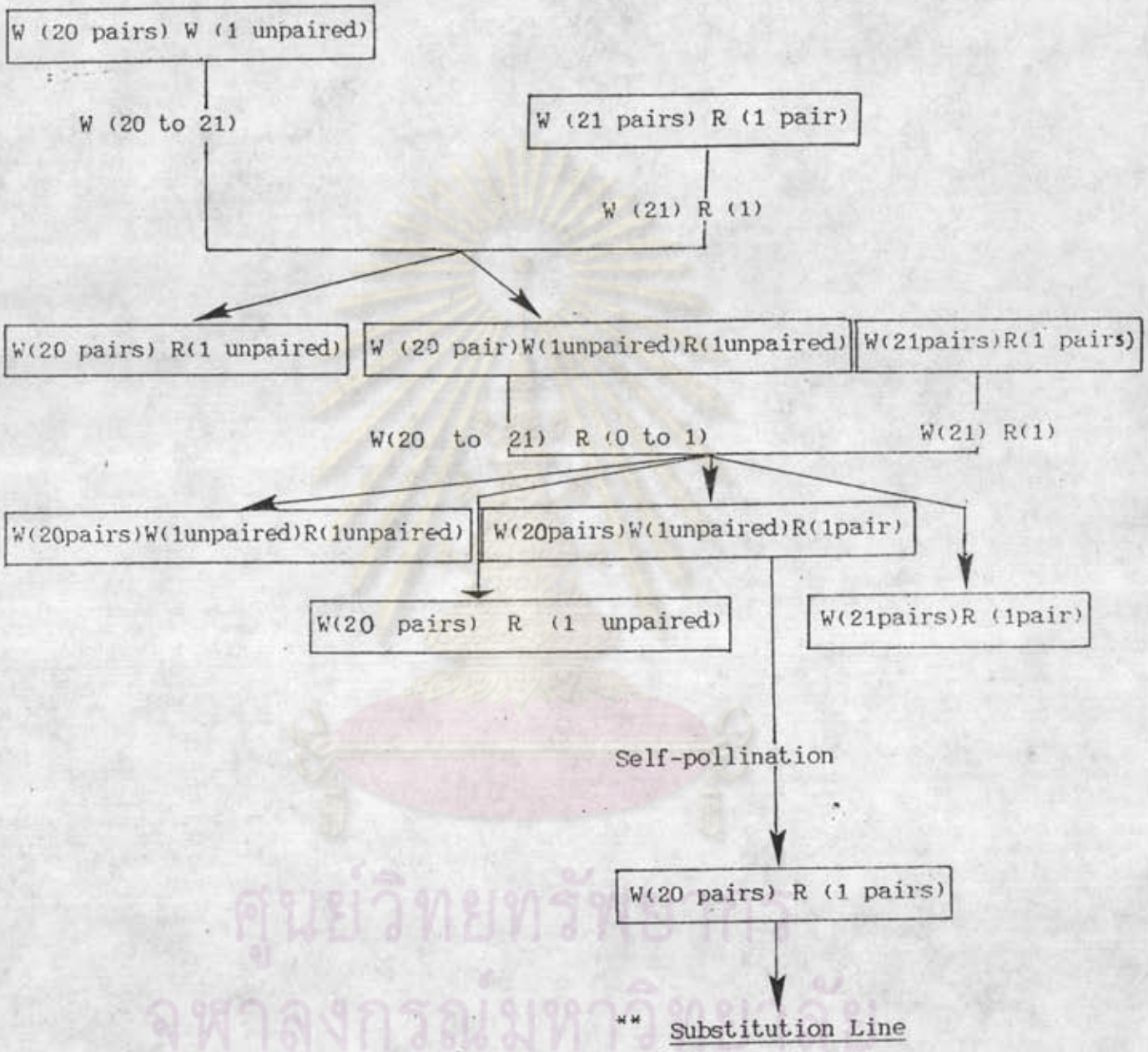


W = Wheat chromosomes

R = Rye chromosome

Addition line **

แผนภาพที่ 1 แสดงการสร้าง addition line ของข้าวสาลี (กันยารัตน์ ไชยสุต 2530)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนภาพที่ 2 แสดงการสร้าง substitution line ของข้าวสาลี (กันยาวัตน์ ไชยสุต 2530)

เหมาะสมในการนำมาจัดคารีโอไทป์ ส่วนโครโมโซมที่พบในไมโครสปอร์โรไซต์ใช้ดูการจับคู่ของโครโมโซมคู่เหมือน สิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน หรือ ที่มีวิวัฒนาการมาใกล้เคียงกัน โครโมโซมก็จะจับคู่กันได้

วัตถุประสงค์ในการศึกษา

1. เพื่อทราบจำนวนโครโมโซมของพืชสมุนไพรไทยบางชนิด
2. เพื่อจัดทำ chromosome atlas ของพืชสมุนไพรไทย

ประโยชน์ที่คาดว่าได้รับ

ทราบจำนวนโครโมโซมของพืชสมุนไพรไทย เพื่อเป็นความรู้พื้นฐานให้แก่งานวิจัยด้านอื่น ๆ ต่อไป เช่นการปรับปรุงพันธุ์โดยการสร้างสายพันธุ์ที่เป็นพอลีพลอยด์ (polyloid) ซึ่งอาจจะมีปริมาณตัวยาเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นยังช่วยนักอนุกรมวิธานในการจำแนกชนิดพืชสมุนไพรโดยใช้โครโมโซมประกอบ ในกรณีที่พืชมีลักษณะสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกันมาก หรือ ใช้ศึกษาวิวัฒนาการของพืชในสกุลเดียวกันได้ การแพทย์ในปัจจุบันหันมาให้ความสำคัญกับพืชสมุนไพรมากขึ้น ดังนั้นการศึกษาทางด้านโครโมโซมจะเป็นความรู้อีกแง่หนึ่งที่ให้คุณค่าเนื่องจากพืชสมุนไพรไทยมีความสำคัญในการพัฒนาทางด้านสาธารณสุขพื้นฐานของประชาชน

สำรวจเอกสาร

ในปี ค.ศ.1964 Koul ศึกษาโครโมโซมของ Artemisia vulgaris Linn. ในประเทศอินเดียรายงานว่าจำนวนโครโมโซมในไมโครสปอร์โรไซต์ 2n=18 โดยโครโมโซมคู่เหมือนจับกันเป็น 9 bivalent

ในปี ค.ศ. 1968 Datta และ Maiti ศึกษาโครโมโซมของ Adhatoda vasica Nees. ในประเทศอินเดียแถบตะวันออก พบค่าของโซมาติกนัมเบอร์ต่างกันเป็น 2n=34 ,40 , 46 และ 50

ในปี ค.ศ. 1973 Chennaveeraiah และ Habib ศึกษาโครโมโซมของ Capsicum annuum Linn. พบต้น diphoid (2X) มี โซมาติกนัมเบอร์ 2n=24 ส่วนต้น triploid (3X) มีโซมาติกนัมเบอร์ 2n=36

ในปี ค.ศ. 1975 Krishnappa และ Chennaveeraiah ศึกษาโครโมโซมของ Solanum indicum Linn. ในประเทศอินเดียตอนใต้ โดยนำรากมานับจำนวนโครโมโซมได้โซมาติกนัมเบอร์ 2n=24 พร้อมทั้งนำโครโมโซมมาจัดเรียงคารีโอไทป์

016975

ในปี ค.ศ. 1975 Sapre ศึกษาไมโอซีสของไมโครสปอร์โรไซต์และไมโตซีสของไมโครสปอร์ของ Aloe barbadensis Mill. รายงานว่า โซมาติกนัมเบอร์ 2n=14 (7 bivalent) มี satellite chromosome 1 คู่ และมี gametic number n=7 เป็นอะโครเซนตริกโครโมโซมทั้งหมด

ในปี ค.ศ. 1976 Bhatt และ Dasgupta ศึกษาโครโมโซมในโซมาติกเซลล์ของพืชวงศ์ Malvaceae สกุล Hibiscus, Azanza และ Urena รายงานโซมาติกนัมเบอร์ดังนี้ Hibiscus vitifolius L. 2n=34 , H. sabdariffa L. 2n=23, 72 H. cannabinus Linn.2n=36, H.lobatus Kuntze.2n=36,72, H.pandurasformis 2n=24, Azanza lampas Alof, 2n=28,Urena sinuata Linn. 2n=28

ในปี ค.ศ. 1982 Madhu และ Chaudhary ศึกษาโครโมโซมของพืชใบเลี้ยงเดี่ยววงศ์ Liliaceaeได้แก่ Drimiopsis kirkii Bak. โซมาติกนัมเบอร์ 2n=60, Gasteria armstrongii Schnl. 2n=14, Haworthia fascita (Willd) Haw.2n=14, H.limifolia var.marlothiana Res. 2n=28
วงศ์ Araceae ได้แก่ Anithurium acaule (Jacq) Schostt. 2n=30+2-5B Deffenbachia picta Schott. 2n=34
วงศ์ Amaryllidaceae ได้แก่ Crinum asiaticum Linn. 2n=22 , Zephyranthes candida Herb. 2n=38, Z.grandiflora Lindl. 2n=50 , Z.sulphurea Hort. 2n=48
วงศ์ Iridaceae ได้แก่ Belamcanda chinensis Dc. 2n=32 และวงศ์ Agavaceae ได้แก่ Agave americana L. 2n=60, Polyanthes tuberosa L. 2n=60

ในปี ค.ศ. 1982 Srivastav และ Raina ศึกษาโครโมโซมของ Clitorea ternatea Linn. รายงานว่าโซมาติกนัมเบอร์ 2n=16 (8 bivalent) พร้อมทั้งชักนำให้เกิด พอลีพลอยด์

ในปี ค.ศ. 1982 Choudhary และ Roy ศึกษาโครโมโซมของสปอร์โรไซต์ของพืชวงศ์ Verbenaceae สกุล Clerodendrum ได้แก่ Clerodendrum thomsonae Balfour. 2n=50 (25 bivalent) C.speciosum D.Ombrain. 2n=48 (24 bivalent),C. infortunatum Geartn. 2n=52 (26 bivalent),C.siphonanthus R.Br.,2n=52 (26 bivalent) และ C.inerme Gaertn. 2n=46 (23 bivalent)

ในปี ค.ศ.1989 Limaye และ Patil ศึกษาโครโมโซมของสกุล Capsicum และ รายงานผลการศึกษาดังนี้ C.annuum Linn. 2n=24 ,C.baccatum Linn. 2n=24, C.chacoense Linn. 2n=24, C.chinese Linn. 2n=24, C. frutescens Linn. 2n=24, C. microcapum Linn. 2n=24, C.pendulum Linn.2n=24,C.pubescens Linn. 2n=24 และC.testiculatum Linn. 2n=24

ในปี ค.ศ.1989 Beg และ Khan ศึกษาโครโมโซมของ Solanum nigrum L. พบว่ามี โซมาติกนัมเบอร์ 2N=72 (36 bivalent)

พวงผกา อัมพันธ์จันทร์ (2533) ศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชดอกบางชนิดในบริเวณจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 8 วงศ์ 26 สกุล 43 ชนิด ศึกษาโดยวิธี Feulgen squash และ propiono-carmine smear จากเซลล์ปลายรากและดอกอ่อน สรุปผลการศึกษาไว้ดังนี้

วงศ์ Amaryllidaceae ศึกษา 5 สกุล 6 ชนิด (2n=18-46)

วงศ์ Bignoniaceae ศึกษา 6 สกุล 7 ชนิด (2n=26-40)

วงศ์ Caesalpiniaceae ศึกษา 5 สกุล 18 ชนิด (2n=24-56)

วงศ์ Convolvulaceae ศึกษา 1 สกุล 1 ชนิด (2n=18)

วงศ์ Liliaceae ศึกษา 3 สกุล 5 ชนิด (2n=14-28)

วงศ์ Malpighiaceae ศึกษา 3 สกุล 3 ชนิด (2n=18-26)

วงศ์ Moringaceae ศึกษา 1 สกุล 1 ชนิด (2n=28)

วงศ์ Fabaceae ศึกษา 2 สกุล 2 ชนิด (2n=24-42)

จากการศึกษาทั้งหมดพบว่าพืชใบเลี้ยงเดี่ยวโครโมโซมมีขนาดใหญ่และติดสีดีกว่าพืชใบเลี้ยงคู่ พืชในวงศ์ Bignoniaceae โครโมโซมติดสียากกว่าพืชใบเลี้ยงคู่วงศ์อื่นๆ ส่วนพืชที่มีเนื้อไม้มีจำนวนโครโมโซมโดยเฉลี่ยมากกว่า แต่โครโมโซมมีขนาดเล็กกว่าไม้ล้มลุก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย