หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

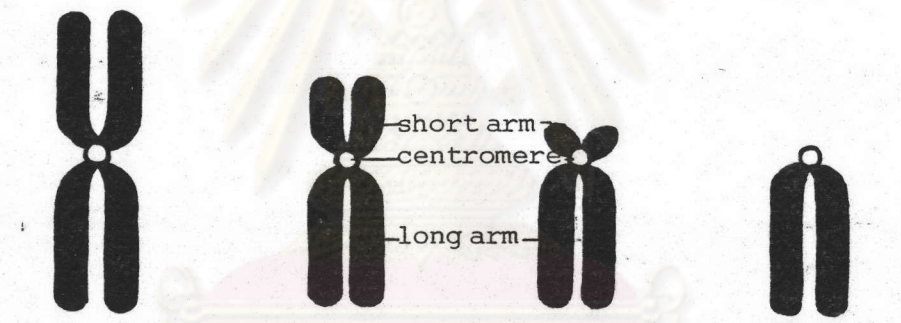
บทที่ 1

บทนำ

Phylogenetic study เป็นการศึกษาสายสัมพันธ์ในทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตตั้งแต่สองชนิด (species) ขึ้นไปที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) บางลักษณะคล้ายคลึงกัน เพื่อจะได้ทราบว่าสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นมีวิวัฒนาการมาจากบรรพบุรุษร่วมกันหรือต่างกัน

ในการศึกษาวิวัฒนาการของกลุ่มสิ่งมีชีวิตนั้น ถ้าสามารถศึกษาทั้งวิทยาเซลล์ (cytology) และเซลล์พันธุศาสตร์ (cytogenetics) เปรียบเทียบร่วมกับสัณฐานวิทยาของสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นแล้ว จะทำให้เข้าใจวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้การใช้เซลล์พันธุศาสตร์ศึกษาเปรียบเทียบชุดของโครโมโซม (genome) ของสิ่งมีชีวิตที่มีความสัมพันธ์กันนั้นเป็นวิธีดีที่สุดวิธีหนึ่งที่ใช้หาความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่ระดับอนุกรมวิธานต่าง ๆ (De Robertis and De Robertis, 1980)

สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีจำนวนและรูปร่างลักษณะของโครโมโซมเฉพาะสิ่งมีชีวิตนั้น ฉะนั้นการศึกษาโครโมโซมจึงช่วยในการจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตได้ถูกต้องขึ้น การศึกษารายละเอียดของโครโมโซมแต่ละแท่งจากโครโมโซมทั้งหมดในเซลล์ (chromosome complement) เรียกว่า คาริโอไทป์ (karyotype) ซึ่งประกอบด้วยการวิเคราะห์จำนวน ขนาด และรูปร่างลักษณะของโครโมโซม การศึกษารูปร่างลักษณะของโครโมโซมนี้สามารถใช้ตำแหน่งบนโครโมโซม (chromosome marker) ในบริเวณต่าง ๆ ซึ่งเป็นตำแหน่งคงที่ในโครโมโซมแต่ละแท่ง ตัวอย่างของตำแหน่งบนโครโมโซม ได้แก่ เซนโทรเมียร์ (centromere) หรือ primary constriction secondary constriction satellite และ knob primary constriction และ secondary constriction ประกอบด้วยโครมาทินที่ยืดตัว ไม่พันกันเป็นเกลียว ทำให้เห็นโครโมโซมบริเวณเหล่านี้คอดเข้าไป เซนโทรเมียร์เป็นตำแหน่งที่พบบนโครโมโซมทุกแท่งในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ตำแหน่งของเซนโทรเมียร์นี้จะแตกต่างกันสำหรับโครโมโซมแต่ละแท่ง จึงใช้ตำแหน่งเซนโทรเมียร์แบ่งโครโมโซมออกเป็นสี่ชนิดคือ metacentric submetacentric acrocentric และ telocentric chromosome ดังภาพที่ 1

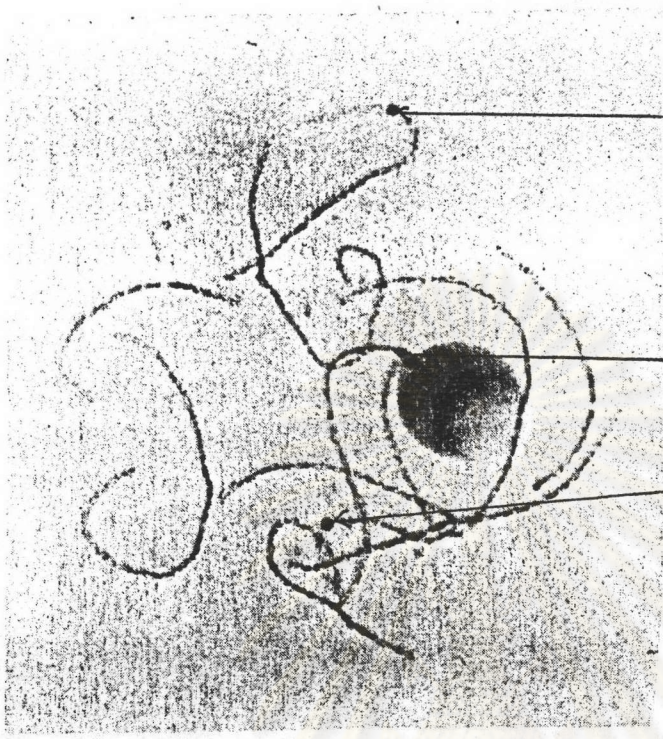


ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 1 แสดงชนิดของโครโมโซมจำแนกโดยใช้ตำแหน่งเซนโทรเมียร์เป็นหลัก

metacentric chromosome เป็นโครโมโซมที่มีเซนโทรเมียร์อยู่ที่กึ่งกลางหรือเกือบกลางแท่งโครโมโซม เวลาโครโมโซมเคลื่อนที่ไปยังขั้วของเซลล์ขณะแบ่งนิวเคลียสจะเห็นเป็นรูปอักษรวี (V) submetacentric chromosome มีเซนโทรเมียร์อยู่ค่อนไปทางข้างใดข้างหนึ่งของแท่งโครโมโซม ทำให้แขนของโครโมโซมมีความยาวต่างกัน เห็นเป็นแขนข้างสั้น (short arm = p) และแขนข้างยาว (long arm = q) เวลาโครโมโซมชนิดนี้เคลื่อนที่จะเห็นเป็นรูปอักษรแอล (L) acrocentric chromosome เป็นโครโมโซมที่มีเซนโทรเมียร์อยู่ถัดจากปลายข้างใดข้างหนึ่งของแท่งโครโมโซมเข้ามา เวลาโครโมโซมเคลื่อนที่จะเห็นเป็นรูปอักษรเจ (J) และ telocentric chromosome มีเซนโทรเมียร์อยู่ที่ปลายข้างใดข้างหนึ่งของแท่งโครโมโซมจึงเห็นโครโมโซมเป็นท่อน (I) สำหรับ secondary constriction นั้น พบที่บริเวณห่างจากเซนโทรเมียร์และใกล้ปลายแท่งโครโมโซมด้านใดด้านหนึ่ง ซึ่งพบบนโครโมโซมบางแท่งเท่านั้น ส่วน satellite และ knob เป็นตำแหน่งบนโครโมโซมที่พบได้ในบางแท่งของโครโมโซม โดยโครมาทินที่พบบริเวณ satellite และ knob ไม่คลายเกลียว ประกอบด้วยกรดดีออกซิไรโบนิวคลิอิก (deoxyribonucleic acid เรียกย่อว่า DNA) ที่มีลำดับของไนโทรจีนัสเบส (nitrogenous base) ซ้ำ ๆ กัน (constitutive heterochromatin) satellite เป็นส่วนของโครโมโซมที่อยู่ถัดจาก nucleolus organizer ไปจนถึงปลายแท่งโครโมโซม satellite จะปรากฏชัดเจนเมื่อโครโมโซมอยู่ในระยะเมทาเฟส (metaphase) เช่น ในข้าวโพด (*Zea may* L.) พบ satellite ที่โครโมโซมคู่ที่ 6 ข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) พบ satellite ที่โครโมโซมคู่ที่ 1 10 14 และ 18 สำหรับ knob จะเห็นได้ชัดเมื่อโครโมโซมอยู่ในระยะ pachytene ของโพรเฟสครั้งแรก (first prophase) ในข้าวโพดมี knob ที่โครโมโซมคู่ที่ 5 และ 7 ดังภาพที่ 2

ในการศึกษาคาริโอไทป์นั้นนอกจากอาศัยตำแหน่งต่าง ๆ บนโครโมโซม จำนวนและขนาดของโครโมโซม เพื่อช่วยศึกษารายละเอียดของโครโมโซมแต่ละแท่งแล้ว ยังมีวิธีอื่นที่ใช้ศึกษาคาริโอไทป์ได้ ทำให้นักวิทยาศาสตร์สามารถแยกประเภทคาริโอไทป์ได้หลายวิธี วิธีแรกใช้การเรียงตัวของยีน (gene) บนโครโมโซมที่เหมือนกัน (homologous chromosome) เป็นหลักแยกคาริโอไทป์ออกเป็นสองประเภทคือ homokaryotype และ heterokaryotype homokaryotype เป็นคาริโอไทป์ที่พบว่ายีนบนโครโมโซมที่



ภาพที่ 2 โครโมโซมข้าวโพด (2n = 20) ระยะ pachytene แสดงให้เห็น knob และ nucleolus (Swanson *et al.*, 1981)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เหมือนกันเรียงตัวมีลำดับเหมือนกัน ส่วน heterokaryotype เป็นคาริโอไทป์ที่พบว่าโครโมโซมที่เหมือนกันมีลำดับของยีนต่างกัน ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโครโมโซม เช่น ยีนย้ายที่อยู่ และการเกิด heterozygous inversion เป็นต้น วิธีที่สองใช้วิวัฒนาการแบ่งคาริโอไทป์ออกเป็นสองประเภทคือ fundamental karyotype และ derived karyotype fundamental karyotype เป็นคาริโอไทป์ที่ได้จากสิ่งมีชีวิตโบราณ ส่วน derived karyotype ได้จากสิ่งมีชีวิตที่มีวิวัฒนาการมานานแล้วโดยมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโครโมโซม เช่น inversion หรือ translocation เป็นต้น ส่วนวิธีสุดท้ายจำแนกประเภทคาริโอไทป์ โดยดูจากขนาดของโครโมโซมและชนิดของโครโมโซมเป็นหลัก ซึ่ง Stebbins (1950) ได้จำแนกคาริโอไทป์ออกเป็นสองประเภทคือ symmetrical และ asymmetrical karyotype symmetrical karyotype เป็นคาริโอไทป์ที่ประกอบด้วย metacentric และ submetacentric chromosome เท่านั้น และโครโมโซมทั้งหมดมีขนาดใกล้เคียงกัน ส่วน asymmetrical karyotype ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดใดก็ได้จากโครโมโซมทั้งสี่ชนิด และโครโมโซมมีขนาดแตกต่างกันมาก ปัจจุบันนี้การศึกษาคาริโอไทป์นิยมแยกประเภทคาริโอไทป์ตามวิธีของ Stebbins นี้มากกว่าวิธีอื่น symmetrical karyotype พบมากในพืช เช่น ข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) ข้าวไรย์ (*Secale cereale* L.) และข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum murinum* L.) เป็นต้น ส่วน asymmetrical karyotype พบมากในสัตว์ สำหรับพืชพบในทานตะวัน (*Helianthus annuus* L.) เป็นต้น

ช่วงเวลาที่สิ่งมีชีวิตมีวิวัฒนาการมานั้น อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและจำนวนของโครโมโซม โดยเกิดความผิดปกติที่โครงสร้างและการเพิ่มหรือลดจำนวนของโครโมโซม ความผิดปกติที่โครงสร้างโครโมโซมมีหกชนิดคือ การที่เนื้อโครโมโซมบางส่วนหายไป (deletion) เนื้อโครโมโซมบางส่วนเพิ่มขึ้นมา (duplication) ยีนมีลำดับกลับกับลำดับเดิม (inversion) การแลกเปลี่ยนส่วนของโครโมโซมที่ไม่ได้เป็นคู่กัน (translocation) การเกิดโครโมโซมใหม่ที่แต่ละแขนมียีนเหมือนกันและแขนยาวเท่ากัน (isochromosome) และการแลกเปลี่ยนโครมาทิดภายในโครโมโซมแท่งเดียวกัน (sister chromatid exchange) สำหรับความผิดปกติของจำนวนโครโมโซมมีสองชนิดคือ การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของโครโมโซมบางแท่ง เรียก aneuploidy และ การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของ

โครโมโซมทั้งชุด เรียก euploidy euploid ชนิดที่มีการเพิ่มขึ้นของโครโมโซมทั้งชุดนั้นมีความสำคัญต่อวิวัฒนาการของพืชดอกมาก Stebbins (1971) ประมาณว่าพืชดอกที่มี basic chromosome number ตั้งแต่ 12 ขึ้นไป ทุกวงศ์ (family) มีรากฐานของวิวัฒนาการเป็น euploid [ซึ่ง Stebbins เรียกว่า โพลิพลอยด์ (polyploid)] ตัวอย่างเช่น พืชวงศ์ Magnoliaceae Winteraceae Fagaceae Juglandaceae Salicaceae Ericaceae และ Oleaceae เป็นต้น (Dobzhansky, Ayala, Stebbins and Valentine, 1977)

มีสาเหตุสามประการที่ทำให้โพลิพลอยด์ (ซึ่งในที่นี้คือ euploid) มีบทบาทสำคัญต่อวิวัฒนาการของพืชดอก ประการแรกพืชที่เป็นโพลิพลอยด์มีบางลักษณะดีกว่าดิพลอยด์ (diploid) เช่น ดอกใหญ่กว่า กลีบดอกแข็งกว่าและเมล็ดใหญ่กว่าดิพลอยด์ ประการที่สองพืชที่เป็นโพลิพลอยด์ โดยเฉพาะพืชที่มีวิวัฒนาการมาจากลูกผสมของพืชต่างสายพันธุ์กันแต่เป็นพืชชนิด (species) เดียวกัน จะมีส่วนประกอบของยีนเป็นเฮเทอโรไซกัสมากขึ้น เนื่องจากในธรรมชาติประชากรดิพลอยด์ที่อยู่ในสภาพสมดุลจะมีจีโนไทป์ (genotype) สามแบบคือ AA Aa aa ความถี่ตามกฎของ Hardy-Weinberg เป็นดังนี้ AA : Aa : aa = p^2 : 2pq : q^2 อัตราส่วน 1 : 2 : 1 โดยที่อัตราส่วนของเฮเทอโรไซโกต (heterozygote) ต่อโฮโมไซโกต (homozygote) คือ 1 : 1 แต่ประชากรเททระพลอยด์ (tetraploid) ที่สมดุลมีจีโนไทป์ห้าแบบคือ

AAAA : AAAa : AAaa : Aaaa : aaaa ซึ่งมีความถี่ตามลำดับดังนี้

p^4 : $4p^3q$: $6p^2q^2$: $4pq^3$: q^4 มีอัตราส่วนเป็น

1 : 4 : 6 : 4 : 1 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกันแล้วจะได้อัตราส่วนของเฮเทอโรไซโกตต่อโฮโมไซโกต คือ 7 : 1

ถ้าในสภาพธรรมชาติเฮเทอโรไซโกตมีความสามารถปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ได้ดีกว่าโฮโมไซโกตแล้ว เททระพลอยด์ย่อมมีโอกาสถูกเลือกเอาไว้มากกว่าดิพลอยด์ ประการสุดท้ายโพลิพลอยด์มีส่วนช่วยให้มีการแลกเปลี่ยนยีนระหว่างพืชต่างชนิดกันที่มีสายพันธุ์ค่อนข้างห่างไกล (เฉพาะพวก allopolyploid) เช่น พืชดิพลอยด์สองชนิด ชนิดแรกมีชุดของโครโมโซมเป็น AA ชนิดหลังมีชุดของโครโมโซมเป็น BB เมื่อผสมข้าม

(cross-pollination) ดิพลอยด์ทั้งสองได้ลูกผสมดิพลอยด์ที่เป็นหมันมีชุดของโครโมโซมเป็น AB เนื่องจากโครโมโซมของพ่อแม่ดิพลอยด์เริ่มต้นมีความแตกต่างกันมาก แต่ถ้าเพิ่มจำนวนโครโมโซมของลูกผสมดิพลอยด์ขึ้นหนึ่งเท่าตัวได้ allotetraploid ที่มีชุดของโครโมโซมเป็น AABB ซึ่งสามารถสืบพันธุ์ให้ลูกหลานได้เพราะโครโมโซมของลูก allotetraploid สามารถจับคู่กันได้ระหว่างชุดของโครโมโซมที่เหมือนกันคือ โครโมโซมชุด A จับคู่กับโครโมโซมชุด A และโครโมโซมชุด B จับคู่กับโครโมโซมชุด B ทำให้ไมโอซิส (meiosis) ระยะเมทาเฟสครั้งแรก (first metaphase) ของลูก allotetraploid มีแต่ bivalent เท่านั้น จึงสามารถเจริญพันธุ์ได้ดีขึ้นและเมื่อนำกลับไปผสมกับดิพลอยด์พ่อหรือแม่ หรือกับ allopolyploid อื่นได้ดี เช่น AABB × AA หรือ AABB × BB หรือ AABB × CC ได้โพลิพลอยด์ที่เจริญพันธุ์ได้บ้างสามารถถ่ายทอดยีนต่อไปได้ จึงมีโอกาสที่ได้พืชที่มีจีโนไทป์ประกอบด้วยยีนที่ได้จากบรรพบุรุษดิพลอยด์หลายชนิด เรียกว่า Comphilospecies (De Wet and Harlan, 1966 ; Dobzhansky *et al.*, 1977)

ในการศึกษาวิวัฒนาการของพืชต้องศึกษาแนวโน้มของวิวัฒนาการของสัณฐานวิทยาของพืช และแนวโน้มของวิวัฒนาการของคาริโอไทป์ของพืชนั้นด้วย โดยพบว่าวิวัฒนาการในทางสัณฐานวิทยาของพืชดอกนั้นมีแนวโน้มที่จะสร้างอวัยวะต่าง ๆ เช่น ดอก ผลที่มีขนาดเล็กลงและมีลักษณะพิเศษเฉพาะตัวมากขึ้น เปลี่ยนแปลงนิสัย (habit) จากพืชยืนต้นมีเนื้อไม้ (woody plant) ไปเป็นพืชล้มลุก (herbaceous plant หรือ herb) เปลี่ยนช่วงอายุขัย จากพืชอายุยืนหลายฤดูปลูก (perennial) ไปเป็นพืชสองฤดูปลูก (biennial) และหนึ่งฤดูปลูก (annual) เปลี่ยนแปลงจากพืชที่ต้องการสภาพแวดล้อมชุ่มชื้นปานกลาง (mesophyte) ไปเป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ในสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้ง (xerophyte) และเปลี่ยนแปลงฤดูกาลเจริญเติบโต (growing season) ให้สั้นลง (Swanson *et al.*, 1981)

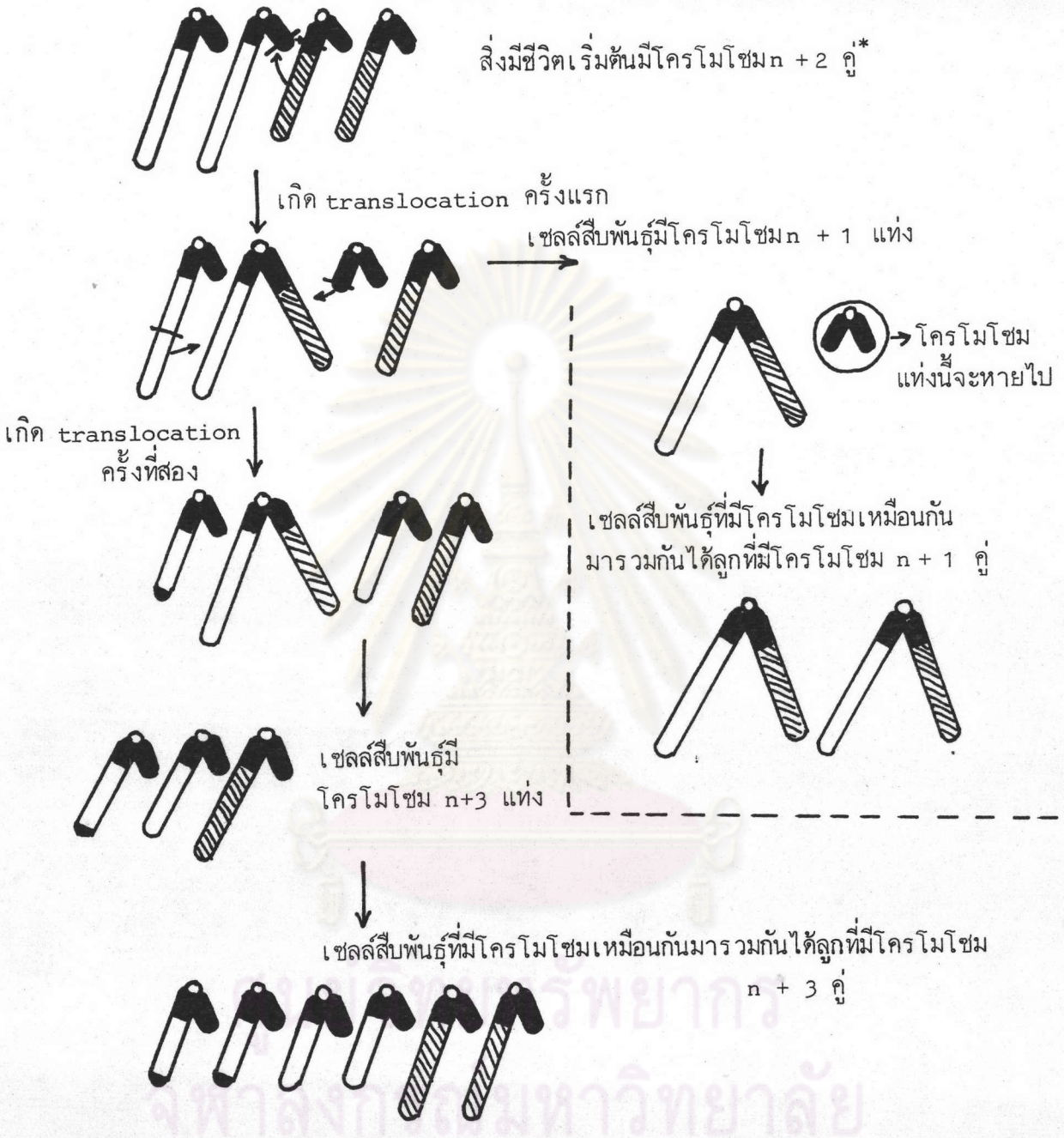
ส่วนแนวโน้มวิวัฒนาการของคาริโอไทป์ของพืชนั้นมีสี่แบบ (Stebbins, 1950) คือ

1. เปลี่ยนแปลง basic chromosome number เนื่องจากเกิด unequal reciprocal translocation หนึ่งหรือสองครั้ง ดังภาพที่ 3 ถ้าเกิด translocation เพียงครั้งเดียวจะทำให้จำนวนโครโมโซมลดลงหนึ่งแท่ง แต่ถ้าเกิด translocation สองครั้ง จะได้จำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นหนึ่งแท่ง ในธรรมชาติพบวิวัฒนาการแบบลด basic number (X) มากกว่าแบบเพิ่ม basic number ดังตารางที่ 1

Babcock (1947) ศึกษาโครโมโซมของ *Crepis* พบว่า *Crepis* ชนิดโบราณคือ *C. kashmirica* และ *C. mungieri* มี basic number X = 6 วิวัฒนาการมาเป็น *C. sibirica* และ *C. leontodontoides* ซึ่งมี basic number ลดลงเป็น X = 5 และวิวัฒนาการต่อไปเป็น X = 4 (*C. conyzaefolia* และ *C. suffreniana*) และ X = 3 (*C. capillaris* และ *C. fuliginosa*) (Stebbins, 1950) ดังภาพที่ 4

2. เปลี่ยนแปลงรูปร่างของโครโมโซม มีแนวโน้มที่จะเปลี่ยนจาก symmetrical karyotype ไปเป็น asymmetrical karyotype เนื่องจากเกิด unequal translocation หรือ pericentric inversion Levitzky (1931) ศึกษาพืชในวงศ์ Ranunculaceae พบว่าพืชสกุลที่โบราณ เช่น *Helleborus* มี symmetrical karyotype ส่วนสกุลที่มีวิวัฒนาการมากแล้ว เช่น *Aconitum* และ *Delphinium* มี asymmetrical karyotype และใน *Delphinium* ต่างชนิดกันก็พบว่าชนิดที่โบราณคือ *D. staphysagria* มี metacentric chromosome และ submetacentric chromosome จำนวนมากกว่าชนิดที่เกิดจากวิวัฒนาการมามากแล้ว เช่น *D. ajacis* และ *D. consolida* เป็นต้น (Stebbins, 1950) ในธรรมชาติพืชส่วนมากมีแนวโน้มของวิวัฒนาการจาก symmetrical karyotype ไปเป็น asymmetrical karyotype เช่น *Crepis* *Lactuca* *Vicia* *Yucca* และ *Agave* เป็นต้น

3. เปลี่ยนแปลงจำนวน ตำแหน่งของ nucleolus organizer และขนาดของ satellite Stebbins (1950) สันนิษฐานว่าระหว่างที่พืชเกิดวิวัฒนาการนั้นอาจเกิดการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของจำนวนและขนาดของ satellite ซึ่งเกี่ยวข้องกับ



ภาพที่ 3 แสดง unequal reciprocal translocation หนึ่งหรือสองครั้ง ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลง basic chromosome number (Stebbins, 1950)

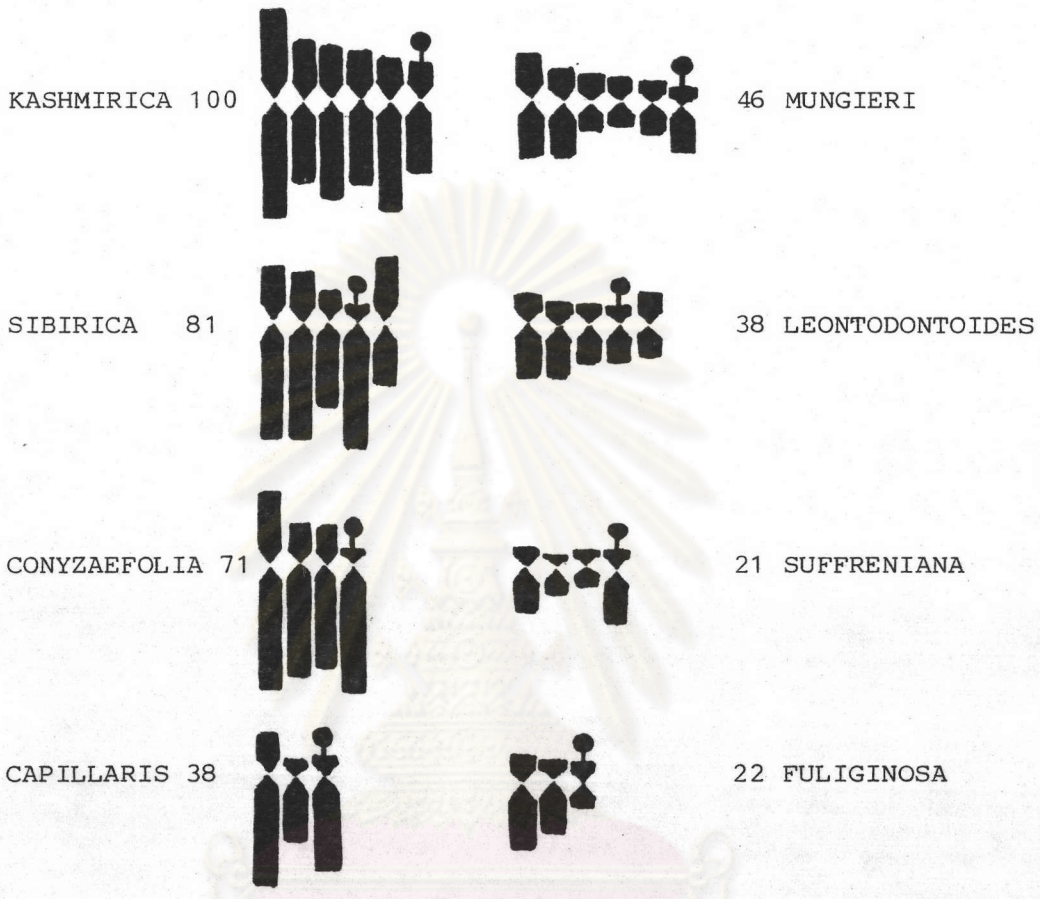
---

* ในที่นี้แสดงแต่เฉพาะโครโมโซมแท่งที่เกี่ยวข้องกับ translocation เท่านั้น และโครโมโซมส่วนที่เป็นสีดำถือว่าเป็นส่วนที่ไม่มียีน (inert)

ตารางที่ 1 ชนิดของการเปลี่ยนแปลง basic chromosome number ในพืชชั้นสูง (Stebbins, 1950)

ชนิดของการเปลี่ยนแปลง basic chromosome number และชื่อสกุล (genus) ของพืช	นิสัยของพืช (growth habit) P = perennial A = annual	จำนวน basic chromosome number (X) ช่วงที่เกิดเปลี่ยนแปลง ค่าเดิม-ค่าใหม่	ชื่อผู้ที่ศึกษาและปีที่พิมพ์ผลงาน
แบบลด basic number			
Dorstenia	P	14-12	Krause,1931
Primula	P	12-9	Bruun,1932
Plantago	P-A	6-4	McCullagh, 1934
Nicotiana	P-A	12-9	Goodspeed, 1934; 1945
Youngia	P	8-5	Babcock and Stebbins,1937
Arabis	P	8-6	Rollins,1941
Crepis	P-A	6-3	Babcock,1947
แบบเพิ่ม basic number			
Dorstenia	P	14-16	Krause,1931
Allium	P	7-9	Levan,1932; 1935
Fritillaria	P	12-13	Darlington, 1936

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 4 ไอดิโอแกรม แสดงวิวัฒนาการของคาริโอไทป์ *Crepis* แบบลด basic number (จากบนลงล่าง) แบบลดความยาวของโครโมโซมทั้งหมด (จากซ้ายไปขวา) และแบบลด symmetry ของโครโมโซม (จากซ้ายไปขวา) (ตัวเลขกำกับโครโมโซมคือ ความยาวของโครโมโซมทั้งหมดใน chromosome complement) (Stebbins, 1950)

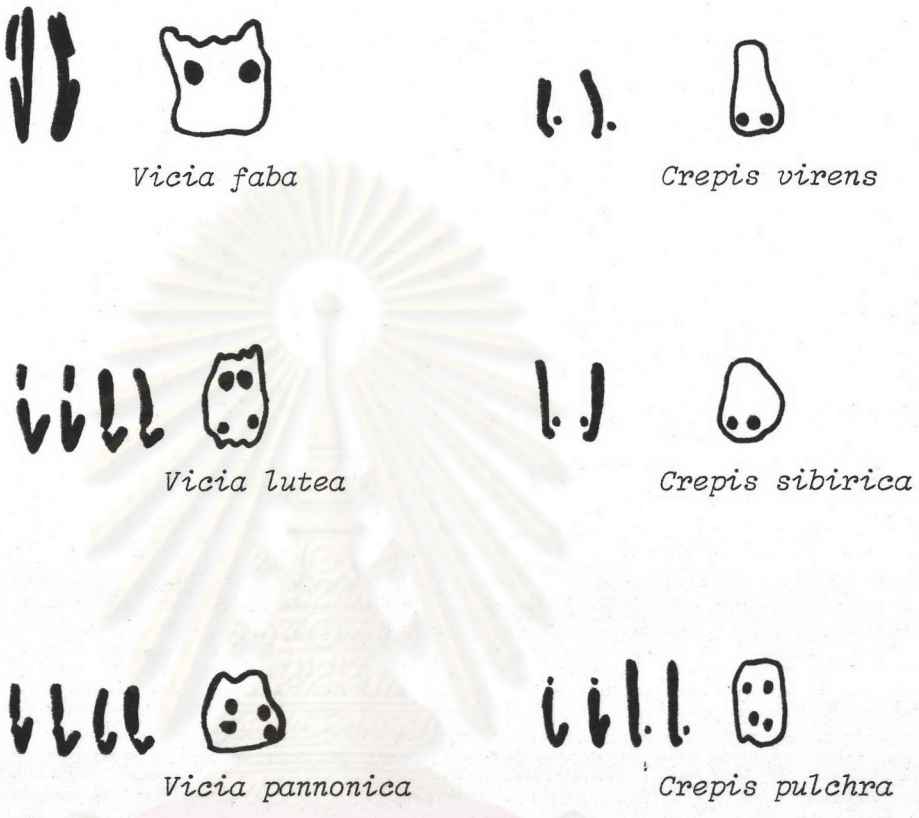
จำนวนของนิวคลีโอลัสด้วย Navashin (1934) สังเกตพบว่าชุดโครโมโซมของ *Crepis capillaris* จะไปยับยั้งการทำงานของ nucleolus organizer ในเซลล์ลูกผสมระหว่าง *C. capillaris* กับ *C. alpina* หรือ *C. dioscorides* หรือ *C. neglecta* หรือ *C. tectorum* ทำให้เซลล์ลูกผสมสร้างนิวคลีโอลัสได้จำนวนน้อยกว่าผลรวมของนิวคลีโอลัสของเซลล์พ่อแม่ (Brown, 1972) และ Heitz (1931) พบว่า *Vicia* และ *Crepis* ชนิดต่าง ๆ มีจำนวนและขนาดของ satellite รวมทั้งจำนวนนิวคลีโอลัสแตกต่างกัน (Stebbins, 1950) ดังภาพที่ 5

4. <u>เปลี่ยนแปลงขนาดของโครโมโซมทั้งหมดในเซลล์</u> ซึ่งมีทั้งแบบลดขนาดและแบบเพิ่มขนาดของโครโมโซม วิวัฒนาการแบบลดขนาดโครโมโซมพบในพืชวงศ์ Liliaceae สกุล *Muscari* และวงศ์ Compositae สกุล *Crepis* *Youngia* *Ixeris* *Taraxacum* และ *Sonchus* Delaunay (1926) พบว่า *Muscari* ชนิดที่โบราณ เช่น *M. longipes* มีโครโมโซมขนาดใหญ่กว่าชนิดที่เกิดภายหลัง เช่น *M. tenuiflorum* *M. caucasicum* และ *M. monstrosum* ส่วนใน *Crepis* Babcock (1947) พบว่า *C. kashmirica* มีโครโมโซมใหญ่กว่า *C. mungieri* (ภาพที่ 4) เป็นต้น (Stebbins, 1950)

สำหรับวิวัฒนาการแบบเพิ่มขนาดของโครโมโซม มักพบกับพืชวงศ์ Graminae ที่อยู่ในเขตอากาศหนาวเย็น Avdulov (1931) พบว่า หญ้าโบราณ เช่น Tribe Bambuseae มีโครโมโซมขนาดเล็ก ส่วนหญ้าที่มีวิวัฒนาการมากกว่าและอยู่ในเขตอบอุ่นหรือเขตหนาว เช่น *Hordeum* มีโครโมโซมขนาดใหญ่ (Stebbins, 1950)

Stebbins (1950) ศึกษาพืชดอกต่าง ๆ แล้วสรุปว่า พืชดอกที่มีเนื้อไม้ (woody plant) มีโครโมโซมจำนวนมากแต่โครโมโซมมีขนาดเล็ก ส่วนพืชดอกที่เป็นพืชล้มลุก (herbaceous plant) มีจำนวนโครโมโซมน้อยแต่โครโมโซมมีขนาดใหญ่

เนื่องจากในการศึกษาวิวัฒนาการของพืชนั้น ต้องศึกษาแนวโน้มของวิวัฒนาการทางสัณฐานวิทยาและแนวโน้มของวิวัฒนาการของคาริโอไทป์ประกอบกัน ซึ่ง Babcock (1947) พบว่าในพืชสกุล *Crepis* มีวิวัฒนาการทางสัณฐานวิทยาร่วมกับวิวัฒนาการของคาริโอไทป์ เช่น *Crepis* ชนิดที่มี basic number X = 6 มีผลขนาดใหญ่ รังไข่



ภาพที่ 5 แสดงจำนวน ขนาดของ satellite และจำนวนนิวคลีโอลัสของ *Crepis* และ *Vicia* ชนิดต่าง ๆ (Stebbins, 1950)

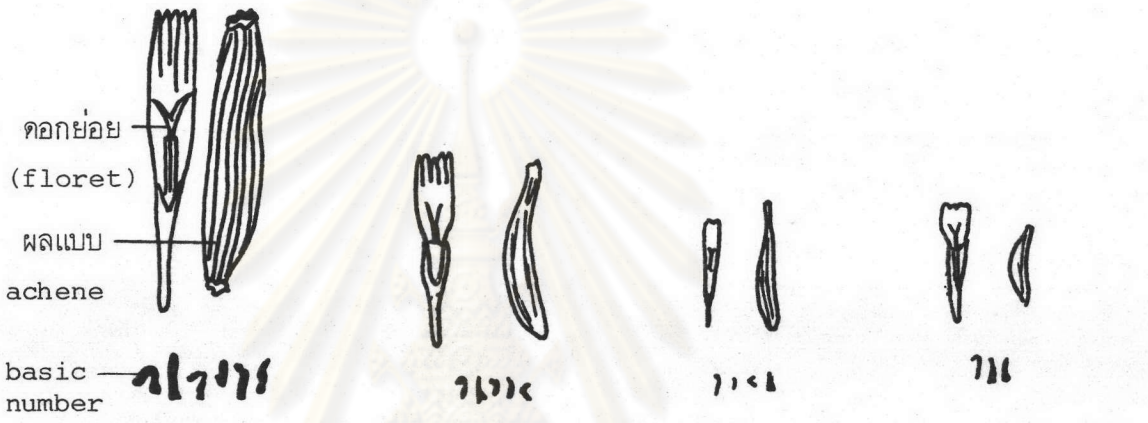
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขนาดใหญ่และเป็น perennial เมื่อคาริโอไทป์มีวิวัฒนาการแบบลด basic number ลงเป็น X = 5 4 3 ดอก ผลและรังไข่ก็มีขนาดลดลงด้วยและเปลี่ยนนิสัยเป็น annual (ภาพที่ 6) (Swanson *et al.*, 1981)

ผลงานศึกษาวิวัฒนาการของพืชชนิดต่าง ๆ มีดังต่อไปนี้

Webber (1935) ศึกษาสายสัมพันธ์ระหว่างฝ้ายกลุ่มต่าง ๆ โดยการสร้างลูกผสมแล้วศึกษาไมโอซิสระยะเมทาเฟสครั้งแรกของ microsporocyte ของต้นลูกผสมรุ่นแรก (F_1) พบว่า ฝ้ายกลุ่มที่มีจำนวนโครโมโซมของเซลล์สืบพันธุ์ (gametic number) เป็น n = 13 มี 2 กลุ่ม คือ ฝ้ายกลุ่มอเมริกาพันธุ์ป่า เช่น *Gossypium armourianum* Kearney และฝ้ายกลุ่มเอเชียพันธุ์ปลูก เช่น *G. arboreum* L. รวมทั้งพืชป่าสกุลใกล้ชิดกับฝ้ายซึ่งขึ้นอยู่ในสหรัฐอเมริกา คือ *Thurberia thespesioides* A. Gray ซึ่งก็มี gametic number n = 13 เช่นเดียวกันนั้น พืช 3 กลุ่มนี้มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันและเป็นบรรพบุรุษของฝ้ายกลุ่มอเมริกาพันธุ์ปลูก (n = 26) เช่น *G. hirsutum* L. ซึ่งเป็น allotetraploid (2n = 4X = 52) ส่วนฝ้ายกลุ่มออสเตรเลียพันธุ์ป่า ซึ่งก็มี gametic number เป็น n = 13 นั้น ไม่มีความสัมพันธ์กับพืช 4 กลุ่ม ข้างต้นเลย

Whitaker และ Thompson (1941) ศึกษาวิวัฒนาการของผักกาดหอม (*Lactuca*) ชนิดต่าง ๆ โดยศึกษาวิทยาเซลล์ของลูกผสมข้ามชนิด (interspecific hybrid) ของ *Lactuca* 9 คู่ผสม คือ 3 คู่ผสมระหว่าง *Lactuca* ที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ n = 9 4 คู่ผสม เกิดขึ้นระหว่าง *Lactuca* ชนิดที่มี n = 9 และ n = 17 และอีก 2 คู่ผสม เกิดขึ้นระหว่าง *Lactuca* ชนิดที่มี n = 17 เมื่อวิเคราะห์การจับคู่ของโครโมโซมลูกผสมจากระยะไดอะไคเนซิส (diakinesis) และการแยกตัวของโครโมโซมที่ระยะแอนาเฟสครั้งแรก (first anaphase) ในไมโอซิสของ microsporocyte ของลูกผสม พบว่าสามารถแยก *Lactuca* ออกเป็น 3 กลุ่ม 2 กลุ่มแรกมี n = 9 เหมือนกัน แต่ไม่สามารถผสมพันธุ์ข้ามกลุ่ม โดยกลุ่มแรกประกอบด้วยผักกาดหอมพันธุ์ปลูก *Lactuca sativa* L. และ *L. virosa* L. กลุ่มที่สอง ได้แก่ *L. indica* L. *L. raddeana* Maxim และ *L. tatarica* (L.)C.A. Mey.



Crepis kashmirica X = 6 | *C. leontodontoides* X = 5 | *C. suffreniana* X = 4 | *C. fulignosa* X = 3

ภาพที่ 6 เปรียบเทียบวิวัฒนาการทางสัณฐานวิทยาและวิวัฒนาการแบบลด basic number ของ *Crepis* ชนิดต่าง ๆ (Swanson *et al.*, 1981)

012011

ส่วนกลุ่มที่สามประกอบด้วย *Lactuca* ชนิดที่มีจำนวนโครโมโซมเป็น n = 17 ได้แก่ *L. floridana* (L.) Gaertn. *L. graminifolia* Michx. และ *L. canadensis* L. เมื่อศึกษา microsporocyte ของลูกผสมในกลุ่มที่ 3 นี้พบว่า โครโมโซมจับคู่กันได้เป็น bivalent ปกติและลูกผสมมีการเจริญพันธุ์ดี สันนิษฐานว่า *Lactuca* ในกลุ่มที่สามนี้มีวิวัฒนาการมาจากบรรพบุรุษร่วมกันซึ่งเป็น allotetraploid (2n=4X=36)

Parthasarathy (1948) ศึกษาสายสัมพันธ์ของอ้อยพันธุ์ปลูก (*Saccharum officinarum* L.) กับพืชสกุลเดียวกันและสกุลใกล้เคียง โดยทดลองสร้างลูกผสมข้ามสกุล (intergeneric hybrid) หรือข้ามชนิด แล้วทำการผสมกลับ (backcross) ไปหาพ่อแม่เดิม ก็พบว่า *S. officinarum* L. ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมเป็น 2n=8X=80 และ *Sclerostachya fusca* A. Camus ซึ่งมีจำนวนโครโมโซม 2n=3X=30 เป็นพืชป่าสกุลใกล้ชิดอ้อยมากที่สุดนั้น มีบรรพบุรุษร่วมกันกับอ้อยโดยพืชสองสกุลนี้มี basic number ค่าเดียวกันคือ X = 5 และก่อนหน้านี้ Parthasarathy (1941) ได้ศึกษาวิวัฒนาการของอ้อยพันธุ์อินเดีย โดยอาศัยสัณฐานวิทยาและเซลล์พันธุศาสตร์แล้วเขาสรุปว่าอ้อยพันธุ์อินเดีย (*S. barbari* Jesw.) มีวิวัฒนาการมาจากลูกผสมระหว่าง *S. officinarum* L. กับ *S. spontaneum* L. (ซึ่งเป็นพืชป่าชนิดที่ใกล้ชิดอ้อยพันธุ์อินเดีย)

Das (1970) ศึกษาวิวัฒนาการของข้าวโพดโดยวิเคราะห์การจับคู่ของโครโมโซมข้าวโพด (*Zea may* L.) ที่ระยะเมทาเฟสครั้งแรกของ microsporocyte ของข้าวโพดดิพลอยด์ (2n=2X=20) ตามธรรมชาติ และของ autotetraploid (2n=4X=40) ที่เขาสร้างขึ้น พบว่าในดิพลอยด์โครโมโซมจับคู่กันเป็น 10 bivalent และ bivalent เหล่านี้มักอยู่รวมกันเป็น 2-5 กลุ่ม บางครั้ง 2 bivalent มาเกาะกันเป็น quadrivalent ส่วนใน autotetraploid โครโมโซมจัดตัวกันเป็น quadrivalent อาจพบได้มากถึง 10 quadrivalent และ quadrivalent เหล่านี้มักอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม 2-5 กลุ่ม และบางครั้ง 2 quadrivalent ก็เกาะตัวกันกลายเป็น octavalent จากหลักฐานเหล่านี้ Das ได้สันนิษฐานว่า ข้าวโพดมีวิวัฒนาการมาจากลูกผสมระหว่างพืช 2 สกุล ที่มีสายสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมาก โดยมี basic number ค่าเดียวกันคือ X = 5 และพืชแต่ละสกุลนี้มีจำนวนโครโมโซมเป็น 2n = 20

Subhashini (1975) ศึกษาสายสัมพันธ์ระหว่างยาสูบ 2 ชนิด คือ *Nicotiana megalosiphon* (2n=4x=40) และ *N. umbratica* (2n=2x=46) โดยทำการผสมข้าม *N. megalosiphon* × *N. umbratica* ได้ลูกผสมรุ่นแรก (F_1) มีจำนวนโครโมโซม 2n=43 และเป็นหมัน จึงนำมาศึกษาไมโอซิสระยะเมทาเฟสครั้งแรกของ microsporocyte พบว่า มี bivalent น้อยและ univalent มาก ลูกผสมนี้มีสัณฐานวิทยาคล้ายต้นแม่ (คือ *N. megalosiphon*) หลังจากนั้น Subhashini ใช้โคลชิซีน (colchicine) ชักนำให้ลูกผสม F_1 มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าของเดิมได้ amphiploid (2n=6x=86) ที่มีการเจริญพันธุ์ใกล้เคียงกับพ่อแม่ เมื่อศึกษาเมทาเฟสครั้งแรกของ microsporocyte ของ amphiploid พบว่ามี 43 bivalent การที่ *N. megalosiphon* และ *N. umbratica* สามารถผสมพันธุ์กันได้ลูกผสมที่เป็นหมัน แต่เมื่อทำลูกผสมให้เป็น amphiploid แล้วสามารถเจริญพันธุ์ได้ดี แสดงว่ายาสูบสองชนิดนี้ไม่มีสายสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน

สำหรับการศึกษาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในวิทยานิพนธ์นี้ ศึกษาจากบัวจีน ซึ่งเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่อยู่ในวงศ์ Amaryllidaceae และอยู่ในสกุล *Zephyranthes* ซึ่งมีประมาณ 53 ชนิด เป็นพืชพื้นเมืองในเขตอบอุ่นของทวีปอเมริกา (Bailey, 1930) มีชื่อเรียกหลายชื่อ เช่น บัวสวรรค์ บัวดิน บัวฝรั่งและบัวจีน เป็นต้น (ประเสริฐ ยมมรคา, 2522) บัวจีนเป็นพืชล้มลุกแบบ perennial herb มีลำต้นใต้ดินชนิด tunicated bulb โดยมีใบเรียงตัวรอบแกนหรือเรียงตัวเป็น 2 แถว อยู่ตรงข้ามกัน ใบมีลักษณะเป็นแผ่นแบน เรียว ยาว ขอบใบทั้งสองข้างขนานกัน ไม่ทิ้งใบขณะมีดอก ดอกออกจากด้านข้างของลำต้นใต้ดิน เป็นช่อดอกที่ 1 ช่อดอกมีเพียง 1 ดอกย่อย ก้านช่อดอก (scape) เป็นท่อกลม กลวงและยาว ดอกย่อยเป็นดอกสมบูรณ์เพศ รูปทรงกรวย มี 6 กลีบ เรียงตัวสับหว่างเป็น 2 ชั้น ๆ ละ 3 กลีบ แต่ละกลีบมีรูปร่างรีและสีเหมือนกันหมด เรียกว่า tepal สีของ tepal อาจเป็นสีชมพู เหลืองหรือขาว ตามชนิดของบัวจีน เกสรตัวผู้ (stamen) มี 6 อัน ประกอบด้วยอับเรณู (anther) ติดกับก้านเกสรตัวผู้ (filament) แบบ versatile มีเกสรตัวเมีย 1 อัน ประกอบด้วยยอดเกสรตัวเมีย (stigma) แยกเป็น 3 แฉก (trifid) หรือเป็นตุ่มกลม (capitate) ก้านเกสร

ตัวเมีย (style) ยาวเรียว และรังไข่ (ovary) แบบ inferior มี 3 พู ผล เป็นชนิด capsule ค่อนข้างกลมมี 3 พู เมื่อผลแก่จัดจะแตกตามแนวกลางพู (loculicidal) หนึ่งผลมีหลายเมล็ด เมล็ดมีลักษณะกลม ค่อนข้างแบน สีดำ (ภาพที่ 7) (Bailey, 1930; Walker, 1976)

ในประเทศไทยนิยมปลูกบัวจีนเป็นไม้ประดับตามขอบสนามหรือเป็นไม้กระถาง เพราะบัวจีนปลูกง่ายและดอกมีสีสวยงาม (ประเสริฐ ยมมรคา, 2522) สำหรับบัวจีนที่ปลูกในประเทศไทยมี 6 ชนิด คือ บัวจีนดอกขาว (*Zephyranthes candida* Herb. และ *Z. tubispatha* Herb.) บัวจีนดอกเหลืองอ่อน (*Z. ajax* Sprenger) บัวจีนดอกเหลืองเข้ม (*Z. citrina* Baker) บัวจีนดอกชมพูเล็ก (*Z. rosea* Lindl.) และบัวจีนดอกชมพูใหญ่ (*Z. grandiflora* Lindl.)

Raina และ Khoshoo (1972) ศึกษาลักษณะของเกสรตัวเมียและเกสรตัวผู้ ร่วมกับการผสมพันธุ์ของบัวจีนชนิดต่าง ๆ พบว่า วิธีการผสมพันธุ์ของบัวจีนมีความสัมพันธ์กับความแตกต่างของระดับยอดเกสรตัวเมียกับอับเรณู Raina และ Khoshoo อาศัยความแตกต่างของระดับยอดเกสรตัวเมียกับอับเรณูนี้ แบ่งบัวจีนออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มแรกมียอดเกสรตัวเมียอยู่สูงกว่าอับเรณู 0.50-1.50 เซนติเมตร และในสภาพธรรมชาติพบแต่การผสมข้าม (cross-pollination) เท่านั้น ไม่พบการผสมตัวเอง (self-pollination) บัวจีนกลุ่มนี้ได้แก่ *Z. rosea* Lindl. และ *Z. grandiflora* Lindl. เป็นต้น กลุ่มที่สองมียอดเกสรตัวเมียอยู่ระดับเดียวกับอับเรณู และสามารถผสมเกสรได้ทั้งผสมข้ามและผสมตัวเอง บัวจีนที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ *Z. candida* Herb. และกลุ่มที่สามมีอับเรณูอยู่สูงกว่ายอดเกสรตัวเมีย 0.30-0.70 เซนติเมตร มีการผสมเกสรได้เหมือนกลุ่มที่สอง บัวจีนที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ *Z. lancasteri* Traub. *Z. citrina* Baker และ *Z. ajax* Sprenger เป็นต้น

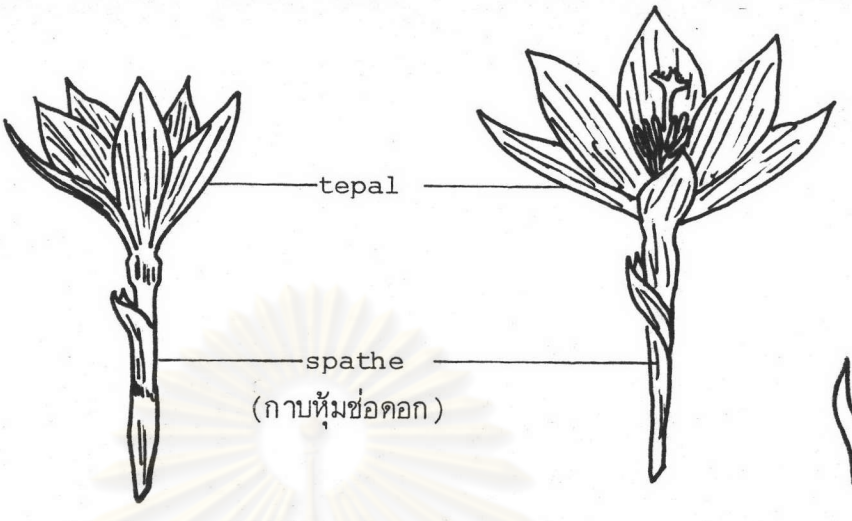
สำหรับการศึกษาครั้งนี้ใช้บัวจีน 2 ชนิด คือ บัวจีนดอกชมพูเล็กและบัวจีนดอกชมพูใหญ่ บัวจีนทั้งสองชนิดนี้มีลักษณะภายนอกบางลักษณะต่างกันคือ บัวจีนดอกชมพูเล็ก (*Z. rosea* Lindl.) มีก้านดอกย่อยยาวกว่ากาบหุ้มช่อดอก (spathe) กาบหุ้มช่อดอกยาว 1.25-1.87 เซนติเมตร และ tepal ยาว 2.50-5.00 เซนติเมตร บัวจีนชนิด

นี้มีถิ่นเดิมอยู่ในคิวบา ส่วนบัวจีนดอกชมพูใหญ่ (*Z. grandiflora* Lindl.) มีก้านดอกย่อยสั้นกว่ากาบหุ้มช่อดอก กาบหุ้มช่อดอกยาว 3.75-5.00 เซนติเมตร และtepal ยาว 6.25-7.50 เซนติเมตร ถิ่นเดิมอยู่ในจาไมกา คิวบา เม็กซิโกและกัวเตมาลา (Bailey, 1930) สำหรับลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายกันของบัวจีนดอกชมพูเล็กและบัวจีนดอกชมพูใหญ่คือ บัวจีนทั้งสองชนิดมีช่อดอกและดอกย่อยที่ตั้งตรง มีกาบหุ้มช่อดอกลักษณะบางโปร่งแสงที่ตรงโคนเชื่อมกันเป็นหลอด ตรงปลายแยกเป็น 2 แฉก (Bailey, 1930) tepal สีชมพู ยอดเกสรตัวเมียเป็น 3 แฉก และยอดเกสรตัวเมียมีระดับสูงกว่าอับเรณูมาก (ภาพที่ 7)

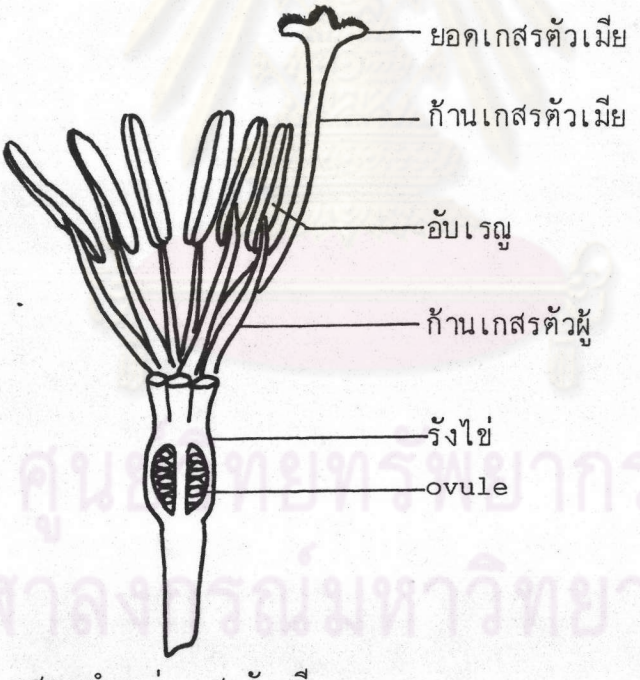
นักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้ศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์และวิทยาเซลล์ของบัวจีนไว้ดัง Bhattacharyya (1972) รวบรวมผลการศึกษาจำนวนโครโมโซมของบัวจีนไว้หลายชนิด ซึ่งเขาพบว่าจำนวนโครโมโซมของบัวจีนอยู่ในช่วง 2n=12-120 และจำนวนโครโมโซมมักเป็นจำนวนเท่าของ 6 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2 Bhattacharyya จึงสรุปว่า บัวจีนมี basic chromosome number X = 6

Raina และ Khoshoo (1972a) ศึกษาการเจริญพันธุ์ของละอองเรณู (โดยย้อมละอองเรณูด้วยสี propiono carmine) ของบัวจีนชนิดต่าง ๆ ที่มีระดับพลอยดี้ต่างกัน พบว่าละอองเรณูมีการเจริญพันธุ์เพิ่มขึ้นตามระดับพลอยดี้ที่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 8) เนื่องจากโพลิพลอยด์ระดับสูงมีสารพันธุกรรมมากพอที่จะทำให้มีการเจริญพันธุ์สูงซึ่งพบสูงได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์

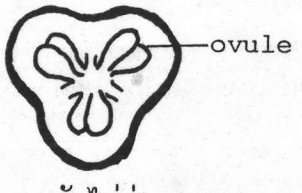
Flagg และ Flory (1962) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโครโมโซมกับการผสมพันธุ์ของบัวจีนที่อยู่ในทวีปอเมริกาเหนือ พบว่ามีแนววิวัฒนาการได้ 2 ทาง คือ บัวจีนที่มีจำนวนโครโมโซมน้อยคือ somatic number 2n=18-32 เช่น *Z. rosea* Lindl. (2n=24) ธรรมชาติจะคัดเลือกให้ผสมข้าม (cross-pollination) โดยมียอดเกสรตัวเมียอยู่สูงกว่าอับละอองเรณูมาก ส่วนบัวจีนชนิดที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=48 ขึ้นไป มีการเจริญพันธุ์ดี เช่น *Z. citrina* Baker (2n=48) ถูกคัดเลือกตามธรรมชาติให้ผสมตัวเอง (self-pollination) เพราะว่ามียอดเกสรตัวเมียอยู่ที่ระดับต่ำกว่าอับละอองเรณู ยกเว้น *Z. cardinalis* C.H. Wright (2n = 66) และ



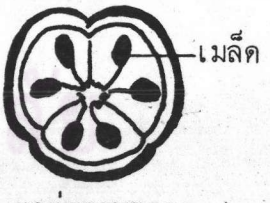
1 ดอกบัวจีนมองจากด้านข้าง 2 3 กาบหุ้มช่อดอก



4 แสดงตำแหน่งเกสรตัวเมีย
การติดของเกสรตัวผู้และ
รังไข่ผ่าตามยาว

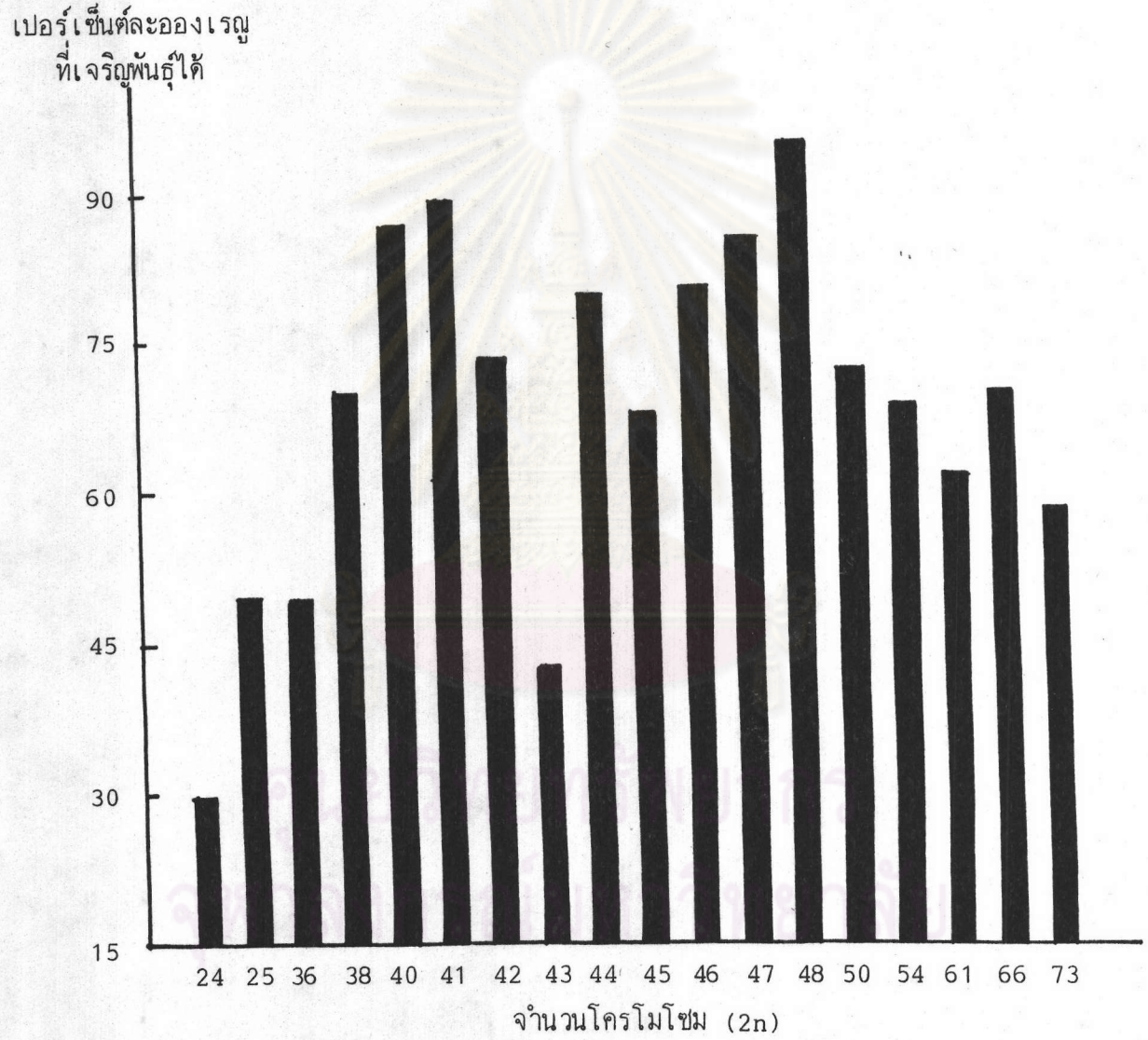


5. รังไข่ผ่าตามขวาง



6 ผลผ่าตามขวาง

ภาพที่ 7 แสดงส่วนประกอบต่าง ๆ ของดอกและผลบัวจีน
(Benson, 1959)



ภาพที่ 8 เปอร์เซ็นต์ละอองเรณูที่เจริญพันธุ์ได้ของบัวจีนที่มีจำนวนโครโมโซมต่างกัน (Raina and Khoshoo, 1972a)

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนโครโมโซมของบัวจีนชนิดที่ปลูกในประเทศไทย (Bhattacharyya, 1972; Vij *et al.*, 1982)

ชนิดของบัวจีน	จำนวนโครโมโซม(2n)	ชื่อผู้ศึกษาและปีที่พิมพ์ผลการศึกษา
Zephyranthes rosea Lindl.	24	Sharma & Ghosh(1954); Flory (1959a); Sharma & Nandy(unpub.)
Z. tubispatha Herb.	24	Tandon & Mathur(1965)
	25	Flory(1958)
Z. candida Herb.	24	Sharma & Nandy(unpub.)
	36	Sharma & Nandy (unpub.)
	38	Nagao & Takusagawa(1932); Inariyama(1937); Sato(1938); Yokouchi (1963, 1965); Sharma & Nandy(unpub.)
	38, 40	Tandon & Mathur(1965)
	42, 49	Sharma & Nandy(unpub.)
Z. grandiflora Lindl. (*Z. carinata* Herb.)	24	Kapoor & Tandon (1963)
	48	Inariyama(1937); Coe(1954); Flory (1959a)
	48, 49, 46-54	Flory, in Flagg (1961)
	46-51	Flory & Flagg (unpub.)
	50	Vij *et al.* (1982)
[*Z. carinata* Herb. (*Z. grandiflora* Lindl.)]	48	Nagao & Takusagawa(1932); Sato (1938); Flory(1959a); Yokouchi (1964)
Z. ajax Spreng.	42	Sato (1942)
	43	Flory (1940)
	48	Tandon & Kapoor(1962); Tandon & Mathur (1965)
Z. citrina Baker	48	Flory (1959a)

Z. grandiflora Lindl. (2n=48) มียอดเกสรตัวเมียอยู่สูงกว่าอับละอองเรณูมาก บัวจีนทั้งสองชนิดนี้ไม่ค่อยติดเมล็ดและมีการกระจายพันธุ์ได้จำกัดในธรรมชาติ Flagg และ Flory สรุปว่า บัวจีนที่สามารถกระจายพันธุ์ในธรรมชาติได้มากที่สุด มักเป็นโพลิพลอยด์ที่มีการผสมตัวเองได้ดี

ส่วนการศึกษาคาริโอไทป์และการจับคู่ของโครโมโซมในระยะเมทาเฟสครั้งแรกของ microsporocyte ได้รวบรวมไว้ในตารางที่ 3

Sharma และ Ghosh (1954) ศึกษาคาริโอไทป์และโครโมโซมระยะเมทาเฟสครั้งแรกของ microsporocyte ของ *Z. rosea* Lindl. (2n = 24) พบว่า คาริโอไทป์ประกอบด้วย metacentric chromosome 3 คู่ และ submetacentric chromosome 9 คู่ และที่ระยะเมทาเฟสครั้งแรกพบว่าโครโมโซมจับคู่กันเป็น bivalent ทั้งหมดคือมี 12 bivalent เนื่องจากบัวจีนชนิดนี้แม้ว่าโครโมโซมจะจับคู่กันเป็น bivalent ทั้งหมด แต่มีเปอร์เซ็นต์การเจริญพันธุ์ของละอองเรณูต่ำมากคือประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น Sharma และ Ghosh จึงสรุปว่า *Z. rosea* Lindl. นี้เป็น allotetraploid (Raina and Khoshoo, 1972a)

ส่วน *Z. grandiflora* Lindl. นั้น Tandon และ Mathur (1965) ศึกษาโครโมโซมที่ระยะเมทาเฟสและแอนาเฟสครั้งแรกของ microsporocyte และศึกษาคาริโอไทป์ จากการนับจำนวนโครโมโซมของ *Z. grandiflora* Lindl. พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2 ค่า (2 cytotype) คือ 2n=24 และ 2n=48 ในการศึกษาโครโมโซมของ microsporocyte ที่ระยะเมทาเฟสครั้งแรกพบว่า *Z. grandiflora* Lindl. cytotype ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=24 นั้น ประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ของเซลล์ทั้งหมดมี 12 bivalent ปกติ ส่วนเซลล์ที่เหลือพบ bivalent และ multivalent ระดับ trivalent quadrivalent ทั้งแบบวง (ring) และแบบลูกโซ่ (chain) และพบ 6 โครโมโซมเกาะกันเป็นวงแหวนแบบเปิด (open ring) ส่วน *Z. grandiflora* Lindl. cytotype 2n=48 พบเซลล์ที่มีทั้ง bivalent multivalent chromatin bridge lagging chromosome และมี bivalent ที่ไม่เรียงตัวใน metaphase plate สำหรับ multivalent ที่พบนั้นมีทั้ง

ตารางที่ 3 แสดงคาริโอไทป์ การจับคู่ของโครโมโซมที่เหมือนกันและชนิดของโพลิพลอยด์ของบัวจีนที่ปลูกในประเทศไทย (Raina and Khoshoo, 1972a; Tandon and Mathur, 1965; Vij *et al.*, 1982; ลัดดา ชิโนณะวณิก, 2524)

ชนิดของบัวจีน	จำนวนโครโมโซม (2n)	คาริโอไทป์	การจับคู่ของโครโมโซมที่เหมือนกันที่ระยะเมทาเฟสครั้งแรก (first metaphase) multivalents	interchange complexes	ชนิดของโพลิพลอยด์	ผู้ศึกษาและปีที่พิมพ์ผลงาน (ค.ศ.)
Z. rosea Lindl.	24	6V* +18L*	ไม่มี	-	allotetraploid	Sharma and Ghosh (1954)
Z. tubispatha Herb.	24	12V +12L	ไม่มี	-	allotetraploid	Tandon and Mathur (1965)
Z. grandiflora Lindl.	24	8V +16L	มี	4 หรือ 6 โครโมโซม	segmental allopolyploid	Tandon and Mathur (1965)
	48	-	มี	4 โครโมโซม	segmental allopolyploid	Inariyama (1937)
	48	14V +34L	มี	3,4,5,6หรือมากกว่า8โครโมโซม	segmental allopolyploid	Tandon and Mathur (1965)
	50	5V+26L+19J*	-	-	-	Vij, *et al.* (1982)
Z. candida Herb.	38	-	2 bivalent เกาะกันเกิด secondary association	-	segmental allopolyploid	Inariyama (1937)
	38	12V +26L	-	4 หรือ 6 โครโมโซม	segmental allopolyploid	Tandon and Mathur (1965)
	38	38L	-	4, 6 หรือ 8 โครโมโซม	segmental allopolyploid	Yokouchi (1965)
	38	6V+26L+6J	-	-	-	Vij, *et al.* (1982)
Z. ajax Spreng	48	22V +26L	มี	4 โครโมโซม	segmental allopolyploid	Tandon and Mathur (1965)
Z. citrina Baker	48	8V+24L+16J	-	-	-	ลัดดา ชิโนณวณิก (2524)**

*V = metacentric chromosome
L = submetacentric chromosome
J = acrocentric chromosome

** พ.ศ. 2524 ตรงกับปี ค.ศ. 1981

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

trivalent quadrivalent (จำนวน quadrivalent มีตั้งแต่ 1-7 quadrivalent ต่อเซลล์) pentavalent hexavalent และ multivalent ที่มีโครโมโซมมากกว่า 8 แท่งขึ้นไป ที่ระยะแอนาเฟสครั้งแรกพบว่า *Z. grandiflora* Lindl. cytotype 2n=24 ประมาณ 72 เปอร์เซ็นต์ ของเซลล์ทั้งหมดมีการแยกตัวของโครโมโซมปกติคือ โครโมโซมแยกไปยังขั้วทั้งสองข้างละเท่า ๆ กัน ส่วนเซลล์ที่เหลืออีก 28 เปอร์เซ็นต์ พบ chromosome bridge และ lagging chromosome ส่วน cytotype 2n=48 นั้น พบว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ของเซลล์ทั้งหมดมีการแยกตัวของโครโมโซมปกติ เซลล์ที่เหลืออีก 75 เปอร์เซ็นต์ มี chromosome bridge และ fragment โครโมโซมแยกไป 2 ขั้ว ไม่เท่ากัน หรือเซลล์มี 3 ขั้ว และพบ lagging chromosome จากการที่พบ multivalent และ chromosome bridge กับ fragment ทำให้ Tandon และ Mathur สรุปว่า *Z. grandiflora* Lindl. ทั้ง 2 cytotype เป็น segmental allopolyploid สำหรับการศึกษาคาริโอไทป์ของ *Z. grandiflora* Lindl. ทั้ง 2 cytotype นั้น คาริโอไทป์ของ cytotype 2n=24 ประกอบด้วย metacentric chromosome 4 คู่ และ submetacentric chromosome 8 คู่ ส่วน cytotype 2n=48 มีคาริโอไทป์ที่ประกอบด้วย metacentric chromosome 7 คู่ และ submetacentric chromosome 17 คู่

Vij และคณะ (1982) ได้นับจำนวนโครโมโซมและศึกษาคาริโอไทป์จากเซลล์ปลายรากของ *Z. grandiflora* Lindl. พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=50 ประกอบด้วยโครโมโซมปกติ 48 แท่ง และ B chromosome 2 แท่ง โครโมโซม 48 แท่ง นั้นเป็น metacentric chromosome 5 แท่ง submetacentric chromosome 24 แท่ง และ acrocentric chromosome 19 แท่ง ส่วน B chromosome ทั้ง 2 แท่งนั้นเป็น submetacentric chromosome ที่มีขนาดเล็กกว่าโครโมโซมแท่งอื่นอย่างมาก คือ B chromosome มีความยาว 2.84 ไมครอน (micron ย่อว่า μ) ในขณะที่โครโมโซมอีก 48 แท่งนั้น มีความยาวอยู่ในช่วง 9.84-4.10 ไมครอน นอกจากนี้ Vij และคณะ ยังได้ศึกษา microsporocyte ในระยะเมทาเฟสครั้งแรก พบ multivalent ปริมาณมาก และได้ละอองเรณูที่เป็นปกติปนกับที่มีจำนวนโครโมโซมลดลง

(hypoploid) และที่มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นจากเดิม (hyperploid) เมื่อย้อมละอองเรณูเหล่านี้ด้วย glycero-carmine พบว่าละอองเรณูเหล่านี้ติดสีได้ดีไม่แตกต่างกัน และเมื่อทดลองผสมตัวเองก็ติดเมล็ดดี Vij และคณะ สันนิษฐานว่าโครโมโซมของ *Z. grandiflora* Lindl. นี้คงมีความเหมือนกันในบางส่วน จึงสามารถจับคู่กันได้ และมีการเจริญพันธุ์ดี คือ *Z. grandiflora* Lindl. เป็น segmental allopoly-ploid

สำหรับการศึกษาครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อหาสายสัมพันธ์ระหว่าง *Z. rosea* Lindl. และ *Z. grandiflora* Lindl. ซึ่งมีสีและลักษณะของดอกคล้ายกันมาก แต่มีขนาดดอกต่างกันมาก นอกจากนี้ *Z. grandiflora* Lindl. ยังมีจำนวนโครโมโซมเป็น 2 เท่าของ *Z. rosea* Lindl. ในการศึกษาสายสัมพันธ์นี้จะเปรียบเทียบคาริ-โอไทป์ของบัวจีนทั้งสองชนิดและลูกผสมที่ได้จากการผสมสลับ (reciprocal cross) ระหว่างบัวจีนทั้งสองชนิด ร่วมกับการศึกษาสัณฐานวิทยาเพื่อจะได้สรุปว่าบัวจีนทั้งสองชนิดนี้มีวิวัฒนาการมาจากบรรพบุรุษร่วมกัน หรือมาจากบรรพบุรุษต่างกัน หรือ *Z. grandiflora* Lindl. มีวิวัฒนาการมาจาก *Z. rosea* Lindl. (โดยการเพิ่มจำนวนโครโมโซม) หรือ *Z. rosea* Lindl. มีวิวัฒนาการมาจาก *Z. grandiflora* Lindl. (โดยการลดจำนวนโครโมโซม) ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการศึกษาครั้งนี้คือ ทำให้ทราบสายสัมพันธ์ระหว่าง *Z. rosea* Lindl. และ *Z. grandiflora* Lindl. ว่าบัวจีนทั้งสองชนิดมีสายสัมพันธ์ใกล้ชิดกันหรือห่างไกลกันในทางวิวัฒนาการ นอกจากนี้ยังได้ความรู้ทางเซลล์พันธุศาสตร์ของบัวจีนทั้งสองชนิดนี้ และอาจได้ลูกผสมที่มีลักษณะบางประการดีกว่าพ่อแม่เดิม เช่น ดอกใหญ่กว่า *Z. rosea* Lindl. มีสีดอกสวยกว่าและรูปทรงของดอก (form) สวยกว่า *Z. grandiflora* Lindl. รวมทั้งอาจมีการเจริญพันธุ์ดีกว่าพ่อแม่เดิม ตลอดจนได้ข้อมูลซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการสร้างลูกผสมของบัวจีนชนิดอื่นต่อไป