

การศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้ดินชนิดข้างผสมโคลง (*Eulophia graminea* Lindl.)

กลุ่มงานศึกษาและพัฒนาเกษตรกรรมแบบประณีต
ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ

บทคัดย่อ

ข้างผสมโคลง (*Eulophia graminea* Lindl.) เป็นกล้วยไม้ดินชนิดหนึ่งที่มีรายงานว่าพบได้ในบริเวณป่าโปร่งหรือป่าผลัดใบทั่วประเทศไทย ในปัจจุบันไม่ค่อยพบกล้วยไม้ชนิดนี้ในธรรมชาติ เนื่องด้วยสาเหตุหลายประการ อาทิ การนำต้นพืชออกจากป่าไปใช้ประโยชน์โดยที่อัตราการกระจายพันธุ์ตามแหล่งอาศัยในป่ามีน้อยกว่าอัตราการนำออกไปจากป่า รวมทั้งการที่พื้นที่ซึ่งเป็นแหล่งอาศัยของกล้วยไม้ดินชนิดนี้มีสภาพทางภูมิศาสตร์ที่มักเกิดภัยธรรมชาติให้ต้นกล้วยไม้สูญหายไปได้ง่าย เป็นต้นว่า มีการไหลไปกับการพัดพาของดินที่เกิดจากการชะล้างพังทลายโดยน้ำ เนื่องจากหัวของข้างผสมโคลงอยู่ในระดับผิวดิน ทำให้ต้นเกาะยึดดินได้ไม่แน่น จึงเคลื่อนที่ไปกับดินเมื่อดินถูกกัดเซาะและพัดพาโดยน้ำได้ง่าย และ มีการสูญเสียโดยถูกไฟป่าเผาไหม้ตายไปทั้งต้นและหัว แตกต่างจากกล้วยไม้ดินชนิดอื่น ๆ ที่อยู่ในแหล่งอาศัยเดียวกันหรือคล้ายคลึงกัน แต่สามารถอยู่รอดได้เพราะหัวของกล้วยไม้เหล่านั้นฝังลึกลงในดิน ต้นกล้วยไม้จึงถูกพัดพาไปกับน้ำได้ยากกว่า หัวสามารถอยู่รอดจากการเผาของไฟป่าได้มากกว่า

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอคอยสะแก จังหวัดเชียงใหม่ มีพื้นที่เป็นป่าโปร่งประเภทผลัดใบในบริเวณกว้าง ในพื้นที่นี้มีกล้วยไม้ดินชนิดต่าง ๆ เจริญเติบโตอยู่เป็นหย่อม ๆ ตามสภาพทางนิเวศวิทยาที่เหมาะสมกับกล้วยไม้ดินแต่ละชนิดเหล่านั้น สำหรับกล้วยไม้ดินชนิดข้างผสมโคลงไม่พบว่ามีอัตราการกระจายพันธุ์อยู่ในป่าดังกล่าวนี้มาก่อนจนกระทั่งมีการสำรวจพบในปี พ.ศ. 2543 ว่ามีมาเติบโต 1 กอ ประกอบด้วยต้นพืช 6 ต้น อยู่ในป่าโปร่งบริเวณพื้นที่ปลูกรักษาพันธุ์กรรมพืช อพ.สร. ข้างผสมโคลงกอนี้เจริญอยู่ด้วยกันเป็นกลุ่มและให้ดอกตามฤดูกาล แต่ต้นพืชทั้งหมดที่เติบโตอยู่ด้วยกันตายหมดในปีที่สามหลังจากที่พบเป็นครั้งแรกจากสาเหตุของความแห้งแล้ง หัวที่เคยผ่านฤดูแล้งโดยการทิ้งใบแล้วหัวพักตัวหนีแล้งนั้นเกิดฝ่อแล้วยุบแห้งไปจนหมด แต่เมื่อสำรวจในเวลาต่อมาในพื้นที่ใกล้เคียง พบว่ามีประชากรของข้างผสมโคลงเจริญเติบโตอยู่เป็นกลุ่มในบริเวณป่าไผ่ที่อยู่ห่างออกไปจากที่เดิม ต้นพืชเหล่านี้มีขนาดเล็กและเห็นได้ชัดเจนว่าเป็นต้นที่เจริญเติบโตมาจากเมล็ด ซึ่งอาจจะปลิวมาจากต้นแม่ที่ตายไป มาเกิดเป็นกลุ่มของต้นพืชที่เจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณในนิเวศที่มีสภาพที่เหมาะสม ในแหล่งอาศัยใหม่ในป่าผสมผลัดใบ/ไผ่ภายในศูนย์ฯ และมีการเจริญเติบโต สืบสายพันธุ์กันต่อมา

กล้วยไม้ดินชนิดข้างผสมโคลงมีความใกล้ชิดกับกล้วยไม้ดินอีกชนิดหนึ่งในสกุลเดียวกัน คือ ชนิดหัวข้าวต้ม (*E. andamanensis* Rchb.f.) โดยพืชทั้งสองชนิดนี้มีลักษณะของหัวเป็นแบบเดียวกัน มีโครงสร้างเดียวกัน แต่มีขนาดแตกต่างกัน มีลักษณะของช่อดอกและดอกย่อยใกล้เคียงกัน แต่แตกต่างกันที่สีของดอกและลักษณะกลีบปากของดอก จึงมีแนวโน้มว่ากล้วยไม้ดิน 2 ชนิดนี้น่าจะผสมกันได้แล้วเกิดเป็นกล้วยไม้ดินชนิดใหม่ที่มีลักษณะแปลกไปกว่าเดิม ทำให้เกิดแนวคิดในการศึกษาความเป็นไปได้ในการสร้างลูกผสมจากกล้วยไม้ดิน 2 ชนิดนี้

ในการผสมพันธุ์แบบผสมข้ามชนิด (interspecific hybridization) และข้ามสกุล (intergeneric hybridization) ของพืชต่าง ๆ นั้นมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาด้านพื้นฐานของพืชที่เกี่ยวข้อง ไม่ว่าจะเป็นด้านชีววิทยา สรีรวิทยา และด้านเซลล์พันธุศาสตร์ เพื่อเป็นความรู้และข้อมูลจำเพาะที่จะช่วยให้การผสมพันธุ์ข้ามชนิดหรือข้ามสกุลของพืชเหล่านี้สำเร็จได้ตามวัตถุประสงค์ สำหรับข้างผสมโคลงนั้นการศึกษาด้านเซลล์พันธุศาสตร์เป็นงานที่ดำเนินการเป็นหัวข้อแรก เริ่มต้นจาก การศึกษาโครโมโซม โดยมีจุดมุ่งหมายในการได้วิธีการที่เหมาะสมเพื่อการศึกษาแคโรไทป์ของพืชชนิดนี้ งานในขั้นต้นจึงประกอบด้วยการศึกษาเทคนิคในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากเพื่อศึกษาโครโมโซมโดยวิธีซีเซลล์ตามวิธีการของ Feulgen ด้วยการผันแปรกรรมวิธีในการเตรียมเนื้อเยื่อในขั้นตอนของการเก็บตัวอย่างปลายราก การหยุดวงซีเซลล์ และการย้อมสีโครโมโซม

ผลการศึกษารกรรมวิธีต่าง ๆ ในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากของข้างผสมโคลง รายงานได้ คือ 1) การเก็บตัวอย่างปลายรากในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน 5 ช่วง คือ เก็บที่ 8.00, 9.00, 10.00, 11.00 และ 12.00 น. นั้น พบว่าการเก็บตัวอย่างที่เวลา 11.00 น. ได้ผลดีที่สุด เนื่องจากได้เซลล์ที่อยู่ในระยะเมตาเฟส (metaphase) ของการแบ่งตัวแบบไมโทซิส (mitosis) มากที่สุด 2) การหยุดวงซีเซลล์นาน 30 นาที, 1, 2 หรือ 3 ชั่วโมง พบว่ากรรมวิธีการหยุดวงซีเซลล์ทุกกรรมวิธีได้ผลดีเท่าเทียมกัน คือ ทำให้โครโมโซมหดสั้นช่วยให้เห็นรูปร่างของโครโมโซมได้ชัดเจน และนับจำนวนโครโมโซมได้แม่นยำ และ 3) การย้อมสีโครโมโซมนานเป็นเวลาแตกต่างกัน คือ นาน 1, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง พบว่าทุกกรรมวิธีได้ผลดีเท่ากัน ได้โครโมโซมที่ติดสีเข้มและเห็นรูปร่างได้ชัดเจนเหมือนกัน

เมื่อพิจารณาวิธีการที่ได้ผลดีจากกรรมวิธีการทดลองที่รายงานไว้เพื่อสรุปเป็นวิธีการต้นแบบของการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากเพื่อศึกษาโครโมโซมของข้างผสมโคลงอันเป็นวิธีการที่ได้ผลชัดเจน แม่นยำ และประหยัดทั้งเวลาและทรัพยากร นั้น สามารถระบุ ได้ดังนี้ เก็บตัวอย่างปลายรากของต้นพืชที่เวลา 11.00 น. แล้วหยุดวงซีเซลล์โดยการแช่ปลายรากเหล่านั้นไว้ในสารละลายอิมมัลชันของ paradichlorobenzene เป็นเวลานาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จากนั้นล้างรากให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นแล้วนำไปแช่ในน้ำยาคาร์นอย (carney solution) เป็นเวลา 5 นาทีเพื่อรักษาสภาพของเซลล์ แล้วล้างอีกครั้งด้วยน้ำกลั่นก่อนจะนำไปย่อยแยกเซลล์ในสารละลาย HCl เข้มข้น 1 นอร์มอล ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำรากไปย้อมในสีคาร์บอลฟูคซิน (carbol fuchsin) นาน 1 ชั่วโมง แล้วตัดเฉพาะปลายรากไปวางบนแผ่นกระจกสไลด์ ขยี้เนื้อเยื่อ ปิดทับด้วยกระจกปิดแผ่นสไลด์ กดด้วยกระดาษซับเพื่อขับสีที่มากเกินไปออก ตรวจสอบใต้กล้องจุลทรรศน์ การตรวจสอบโครโมโซมของข้างผสมโคลงด้วยวิธีต้นแบบดังกล่าว นั้น พบว่า ข้างผสมโคลงมีจำนวนโครโมโซมเป็น $2n=56$

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ได้เทคนิคต้นแบบในการศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้ดินชนิดข้างผสมโคลงซึ่งน่าจะเป็นวิธีที่ใช้ได้ผลกับกล้วยไม้ดินชนิดหัวข้าวต้มเช่นกัน ซึ่งจะได้ทดสอบต่อไปเพื่อเปรียบเทียบกับโครโมโซมของข้างผสมโคลงในการวิเคราะห์และวางแผนการผสมพันธุ์แบบข้ามชนิดระหว่างกล้วยไม้ดินทั้งสองในอนาคต