

# 3

## พันธุกรรมของเบญจมาศ

จากการสังเกตของผู้ปลูกเบญจมาศ (Garden Chrysanthemum) ในช่วงที่ผ่านมา พบว่าเบญจมาศสามารถเกิดรูปร่างดอกชนิดใหม่ทั้งจากเมล็ดและจากการกลายพันธุ์ (Sports หรือ Somatic mutation) โดยเฉพาะทางด้านการกลายพันธุ์ ซึ่งสาเหตุของการเกิดกลายพันธุ์นั้น Dowrick (1953) สรุปว่า การเกิด Sports มีความเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม ซึ่งสาเหตุของการที่มีจำนวนโครโมโซมต่างกันนั้นเนื่องจากความผิดปกติในการแบ่งเซลล์ (Mitotic abnormality) ซึ่งได้แก่ Chromosome non-disjunction, Lagging และ Stickiness ในระยะ anaphase ซึ่งการเกิด Chromosome non-disjunction และ Lagging จะทำให้จำนวนโครโมโซมเปลี่ยนไป ส่วนการเกิด Stickiness นั้น ทำให้โครโมโซมเกิดแตกหักและทำให้เกิด fragment ขึ้น โดยทั่วไป เบญจมาศมีจำนวนโครโมโซม  $2n = 6x = 54$  แต่อย่างไรก็ตาม จำนวนโครโมโซมของเบญจมาศ ไม่จำเป็นจะต้องเป็นจำนวนเท่าของ basic set เสมอไป เช่น Shimotomai (1933) พบว่า จำนวนโครโมโซมของเบญจมาศสายพันธุ์ญี่ปุ่นที่ทำการศึกษา 60 สายพันธุ์ มีตั้งแต่  $2n = 53-67$  และ Dowrick (1953) พบว่าในสายพันธุ์อังกฤษนั้น  $2n$  มีตั้งแต่ 47-63 โดยที่ส่วนใหญ่จะมีจำนวนโครโมโซมอยู่ระหว่าง  $2n = 54-56$  Walker (1955) และ Sampson et al. (1958) พบว่าสายพันธุ์อเมริกันมีจำนวนโครโมโซม  $2n = 45-64$  Shimotomai ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโครโมโซมกับขนาดของดอกในเบญจมาศพันธุ์ญี่ปุ่น โดยพบว่าต้นที่มีดอกใหญ่จะมีจำนวนโครโมโซมมากคือ  $2n = 56-67$  ส่วนพวกที่มีดอกเล็กจะมีจำนวนโครโมโซมต่ำกว่า คือ  $2n = 53-55$

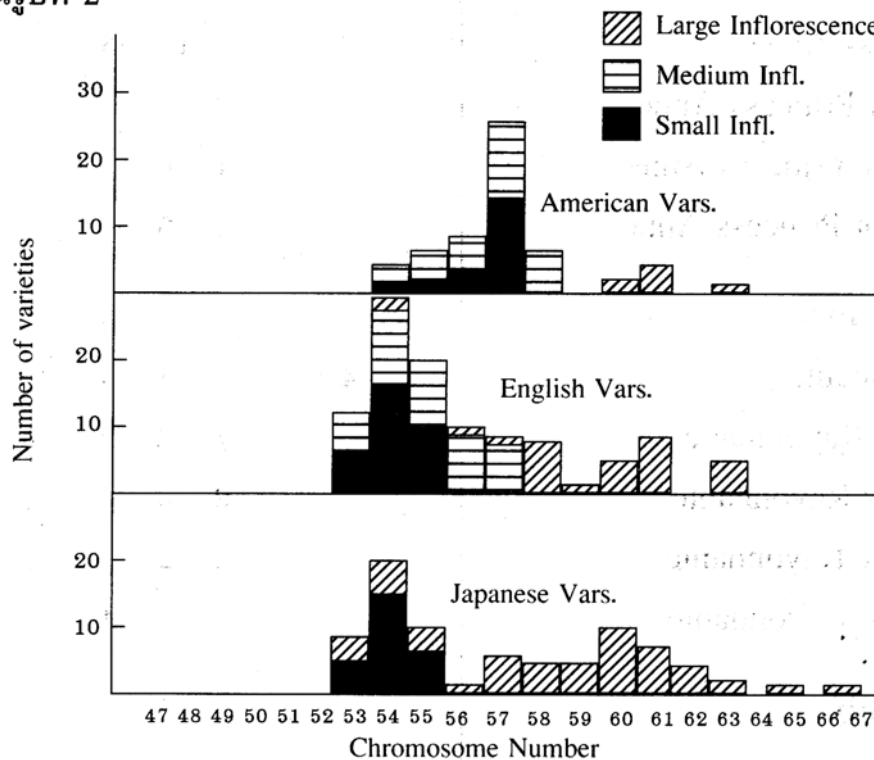
จากการศึกษาจำนวนโครโมโซมของ Garden Varieties ของเบญจมาศจำนวน 27 สายพันธุ์ ซึ่งใน 24 สายพันธุ์ เป็น sport ของ 6 Family โดย Dowrick และ Bayoumi (1966) ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 จำนวนโครโมโซมของเบญจมาศ 24 สายพันธุ์

	จำนวนเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซม										
	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
<b>Fred Shoesmith family</b>											
Fred Shoesmith					8		6	2	4		
Apricot Fred Shoesmith							5	8	15		
Florence Fred Shoesmith					2			2	3		
Yellow Fred Shoesmith								3	3		
Golden Fred Shoesmith							7	2	2		
<b>Brenda Talbot family</b>											
Brenda Talbot							3				
Incurved rose Brenda Talbot					5	4					
Bronze Brenda Talbot			3	3							
Incurving Brenda Talbot					2	3					
<b>Princess Anne family</b>											
Princess Anne		3			15	3					
Cream Princess Anne					2						
Yellow Princess Anne					4	6					
Apricot Princess Anne					2	3					
<b>Rayonnante family</b>											
Rayonnante		4			4	5		3			
White Rayonnante					7	2	2				
Amber Rayonnante					2	3					
Yellow Rayonnante					2	2					
Bronze Rayonnante							4				
<b>My Lady Family</b>											
My Lady					3	2					

	จำนวนเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซม										
	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
Red My Lady					3						
Apricot My Lady					4	4					
<b>Favourite family</b>											
Deep Pink Favourite					2	3					
Golden Favourite					4	1					
<b>Individual varieties</b>											
Bellona									3	3	
Ronald					3		5				
Harmony					2	1		3			

โครโมโซมทั้ง 9 แท่งของ basic set นั้นเป็น medium หรือ submedian centromeres พบ Secondary constriction ในพันธุ์ Harmony และพบ SAT-chromosome ในพันธุ์ Ronald Fred Shoesmith และ Apricot และยังได้พบถึงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดดอกกับจำนวนโครโมโซมด้วย ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 2



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโครโมโซมกับขนาดของดอก

Dowrick (1953) ยังพบว่าการแปรปรวนของจำนวนโครโมโซมนั้นเกิดกับเซลล์ต่างๆ ภายในปลายรากอันเดียวกันของสายพันธุ์เดียวกันด้วย ส่วนบางสายพันธุ์ก็มีจำนวนที่คงที่ดังแสดงในตารางที่ 3 ซึ่งประกอบด้วยพันธุ์ของต้นที่อยู่ใน Sweetheart Family ซึ่งมีดอกขนาดเล็ก, Favourite Family, Loveliness Family ซึ่งมีดอกขนาดกลาง Majestic Family ซึ่งมีดอกขนาดใหญ่และสายพันธุ์อื่นๆ ตารางที่ 3 ความถี่ของจำนวนโครโมโซมต่างๆ ในเบญจมาศ Family และพันธุ์ต่างๆ

พันธุ์	จำนวนราก	จำนวน Mitotic cell จำแนกตามจำนวนโครโมโซม													
		46	47	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	
Sweetheart Family															
Apricot	2					-	-	7	-						
Egerton	2					-	-	16	-						
Golden	2					-	-	-	10						
Peach	2					-	-	8	-						
Pearl	3					-	-	13	-						
Red	3					-	-	19	-						
Bronze	2					-	11	1	-						
Sweetheart	3					-	3	18	-						
Salmon	2					1	10	-	2						
Orange				1	-	-	1	18	6	-	-	1			
Favourite Family															
Bronze	4					-	-	19	-						
Fav. Supreme	2					-	8	-	-						
Deep Pink	2					-	10	-	-						
Primrose	2					-	-	-	7						
Red Bronze	2					-	-	10	-						
White	4					2	-	20	-						
Shuffil's	4	2	-	-	-	-	-	-	-	-					
Golden	2					4	14	2	2	1					

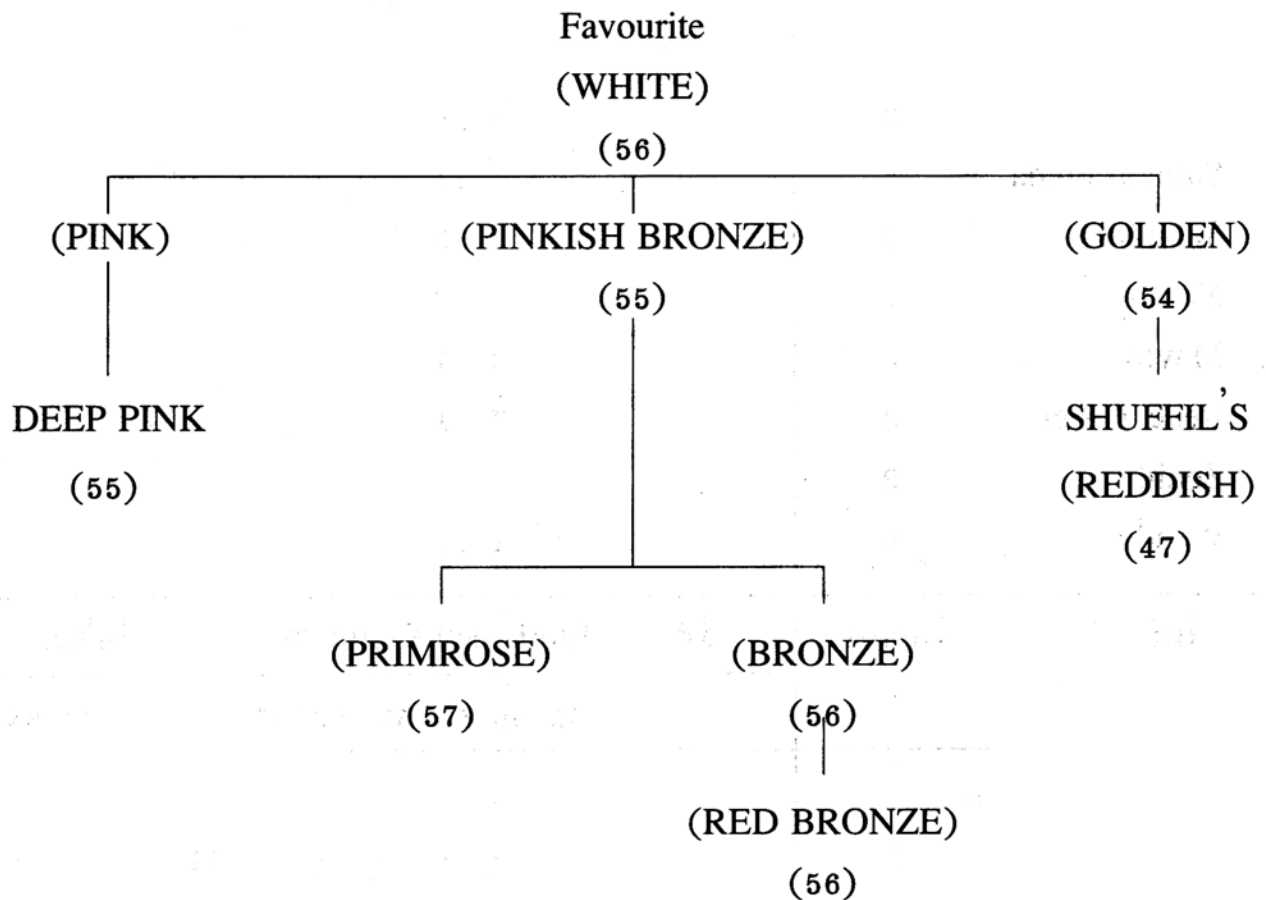
พันธุ์	จำนวนราก	จำนวน Mitotic cell จำแนกตามจำนวนโครโมโซม													
		46	47	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	
Loveliness Family															
Amber	2						-	-	7	-					
Apricot	2						-	-	10	-					
Loveliness	2						-	-	11	-					
Primrose	2						-	-	11	-					
Purple	2						-	-	9	-					
Salmon	4						-	-	13	-					
Salmon Bronze	3						-	-	8	-					
White	2						-	-	10	2					
Bronze	3				3	-	11	-	-	-					
Lilac	3						5	-	-	13					
Majestic Family															
Red Majestic	3							-	-	8	-	-	-	-	
Yellow Majestic	3							-	-	-	-	-	1	10	
Florence Reed	3							-	-	-	-	-	8	1	
พันธุ์อื่นๆ ชนิดดอกเล็ก															
Anastasia	4						10								
Apollo	2						8								
Autumn Gold	2						12								
Bronze Freda	2						11								
Cascade	2						15								
Charm	2						18								
Conqueror	2						7								
Finale	3						13								
Harvester	3						11								
Honeydew	2						12								
Imperial Yellow	2					8	-								

พันธุ์	จำนวนราก	จำนวน Mitotic cell จำแนกตามจำนวนโครโมโซม												
		46	47	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
Ivory	2							8						
Jante Wells	3					10	-							
Market Gold	3						-	10						
Marland Flame	3						9							
Red Planet	3					8	-							
Salmon Freda	4						11							
Snowfal	3						9							
Youth	2						8							
Mayford Red	3					8	1							
Irene Torrence	3					7	1							
Zenith	2					1	7							
Wendy	2			1	-	1	10							

พันธุ์	จำนวนราก	จำนวน Mitotic cell จำแนกตามจำนวนโครโมโซม											
		55	56	57	58	59	60	61	62	63	64		
พันธุ์อื่นๆ ชนิดดอกใหญ่													
Canada	4	-	-	-	-	-	-	11	-	-	-		
Duchess of Kent	3	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-		
Golden Coralie	3	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Goliath	3	-	-	-	-	-	-	9	-	-	-		
James Bryant	3	-	-	-	-	-	-	9	-	-	-		
Louis Barthou	3	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-		
Mrs. H. Wells	3	-	-	-	-	9	-	-	-	-	-		
Birmingham	2	-	-	-	-	-	-	-	-	9	1		
Rice of Day	2	-	-	-	-	-	2	12	-	-	-		
Mrs. R.C. Pulling	3	-	11	-	1	-	-	-	-	-	-		
Friendly Rival	3	10	-	1	-	-	-	-	-	-	-		

สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างความแปรปรวนของจำนวนโครโมโซม กับการเกิด Sports นั้น Dowrick (1953) ได้ติดตามการเกิด Sports ของเบญจมาศของ Favourite Family ที่เกิดติดต่อกันมา 7 ครั้งด้วยกัน ผลการศึกษาแสดงให้เห็นในแผนภูมิต่อไปนี้

แผนภูมิการเกิด Sports ของเบญจมาศพันธุ์ Favourite



หมายเหตุ XXXX = ชื่อพันธุ์

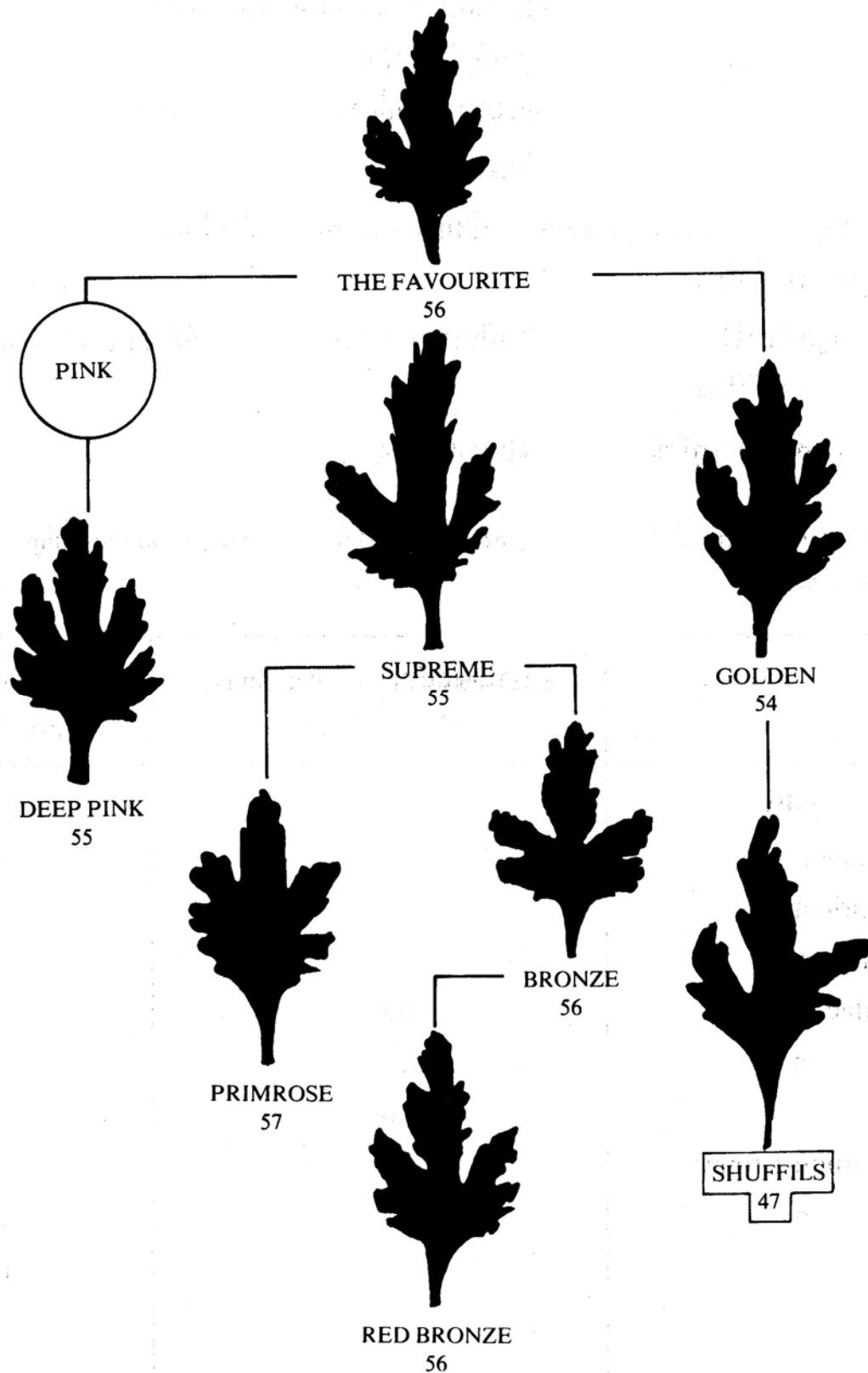
( ) = สีดอก

( ) = จำนวนโครโมโซม

ในการศึกษาจำนวนโครโมโซมของพันธุ์ Favourite ซึ่งเป็นต้นกำเนิดจำนวน 22 เซลล์ พบว่า 20 เซลล์มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 56 อีกสองเซลล์มีจำนวนเท่ากับ 54 Sports ของ Favourite คือ Golden Favourite ซึ่ง  $2n = 54$  นั้นยังพบเซลล์ที่มีโครโมโซมจำนวนอื่นๆ อีกคือ 53, 54, 55, 56 และ 57 และสำหรับ Shuffil's Favourite ซึ่ง  $2n = 47$  นั้น พบว่าการที่โครโมโซมขาดหายไปจำนวน 6 คู่ ทำให้ต้นผิดปกติ และไม่แข็งแรง และพบเซลล์หลายเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 46 ด้วย

สำหรับ Genealogy ของ Bud sports ของ Family Favourite แสดงในรูปที่ 3

รูปที่ 3 Genealogy ของ Bud sports ของ Family Favourite



นอกจากรูปร่างของใบและสีดอกแล้วยังมีรายงานว่า Sports มีผลต่อความสูงและความสามารถในการต้านทานต่อโรค



ในการพยายามศึกษาถึงสาเหตุของความแปรปรวนของจำนวนโครโมโซมที่เกิดขึ้น โดยคาดว่า ส่วนหนึ่งของความแปรปรวนน่าจะมีสาเหตุมาจากสภาพแวดล้อม โดยที่อุณหภูมิอาจเป็นปัจจัยที่สำคัญ Dowrick (1953) ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความผิดปกติของการแบ่งเซลล์ โดยศึกษา Longitudinal section ของทั้งรากและยอดเบญจมาศ โดยเลี้ยงต้นที่ทำการศึกษาในอุณหภูมิต่างๆ กันดังนี้

1. อุณหภูมิ  $11.6^{\circ}\text{C}$  ตลอดการศึกษา
2. ปลูกลีงไว้ที่อุณหภูมิ  $23.5^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 3 วัน แล้วย้ายไปยัง  $3.5^{\circ}\text{C}$  แล้วเก็บตัวอย่าง เมื่อครบ 24 และ 48 ชั่วโมง
3. ปลูกลีงไว้ที่อุณหภูมิ  $3.5^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 3 วัน แล้วย้ายไปยัง  $23.5^{\circ}\text{C}$  แล้วเก็บตัวอย่าง เมื่อครบ 24 และ 48 ชั่วโมง

ผลการศึกษาของหัวข้อที่ 1 แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 อัตราการเกิดความผิดปกติของการแบ่งเซลล์ของเบญจมาศสายพันธุ์ต่างๆ 3 Families ที่ปลูกลีงไว้ที่อุณหภูมิ  $11.6^{\circ}\text{C}$  ตลอด

	จำนวนเซลล์ในระยะ Anaphase ที่ทำการศึกษา	จำนวนเซลล์ที่แสดง ความผิดปกติ
<b>Loveliness Family</b>		
Amber	54	1
Apricot	135	2
Bronze	112	1
Lilac	88	1
Loveliness	274	3
Purple	20	0
Salmon Bronze	42	0
Salmon	59	0
White	53	1
<b>Sweetheart Family</b>		
Egerton	151	1
Golden	118	1

	จำนวนเซลล์ในระยะ Anaphase ที่ทำการศึกษา	จำนวนเซลล์ที่แสดง ความผิดปกติ
Pearl	192	3
Red	46	0
<b>Favourite Family</b>		
Red Bronze	217	4
White	53	0
รวม	1,614	18

ในการศึกษาหัวข้อที่ 2 นั้นไม่มีจำนวนตัวอย่างพอเพียงสำหรับการวิเคราะห์ ส่วนผลการศึกษาในหัวข้อที่ 3 แสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 อัตราการเกิดความผิดปกติของโครโมโซมในระยะ Anaphase ของต้นที่ปลูกเลี้ยงที่อุณหภูมิ 3.5 °C เป็นเวลา 3 วัน แล้วย้ายไปยัง 23.5 °C แล้วเก็บตัวอย่างเมื่อครบ 24 และ 48 ชั่วโมง (Temperature Shock) เปรียบเทียบกับการปลูกเลี้ยงที่อุณหภูมิคงที่ 11.6 °C ของเบญจมาศสายพันธุ์ต่าง ๆ ของ Loveliness Family

พันธุ์	อุณหภูมิคงที่ 11.6 °C			อุณหภูมิสลับ		
	จำนวนเซลล์ ที่ศึกษา	จำนวนเซลล์ ที่ผิดปกติ	% ความ ผิดปกติ	จำนวนเซลล์ ที่ศึกษา	จำนวนเซลล์ ที่ผิดปกติ	% ความ ผิดปกติ
<b>Loveliness Family</b>						
Amber	54	1	1.85	55	1	1.82
Bronze	112	1	0.89	121	2	1.57
Loveliness	274	3	1.09	71	1	1.3
Purple	20	-	-	86	2	2.3
Salmon Bronze	42	-	-	63	-	-
รวม	502	5	0.99	396	6	1.51

ผลของ Temperature Shock ทำให้เปอร์เซ็นต์ของความผิดปกติของการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นเป็น 1.51% เมื่อเปรียบเทียบกับการได้รับอุณหภูมิคงที่ 11.6 °C ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของการแบ่งเซลล์เท่ากับ 0.99% ดังนั้น สภาพแวดล้อมจึงมีผลต่อความผิดปกติของการแบ่งเซลล์

สำหรับรูปแบบของความผิดปกติของการแบ่งเซลล์ในระยะ Anaphase และจำนวนเซลล์ที่แสดงลักษณะดังกล่าว แสดงให้เห็นในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 จำนวนเซลล์และรูปแบบของความผิดปกติของการแบ่งเซลล์ที่เป็นผลเนื่องจากอุณหภูมิ

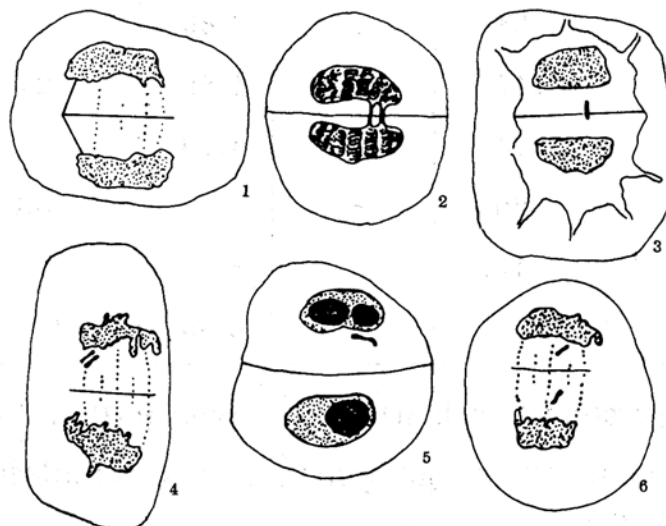
	จำนวนเซลล์		
	Non-disjunction	Laggard chromosomes	Sister reunion and fragments
อุณหภูมิคงที่	6	8	4
Temperature Shock	2	4	0

ความผิดปกติของการแบ่งเซลล์ที่ตรวจพบค่อนข้างมาก คือ การเกิด non-disjunction ของโครโมโซมคู่หนึ่ง ซึ่งมีผลทำให้ daughter nucleus มีโครโมโซมเพิ่มขึ้นมา 1 เซลล์ และขาดไป 1 เซลล์ ถ้าหากว่าโครโมโซมที่ไม่แยกออกจากกันนั้น เคลื่อนที่ไปยังขั้วเซลล์หนึ่งเซลล์ใดซ้ำมากก็อาจจะสูญหายได้

นอกจากนี้การเกิด non-disjunction ยังเกิดขึ้นได้กับโครโมโซมมากกว่า 1 คู่ Daughter chromosomes อาจะยังมีการเชื่อมกันอยู่ ถึงแม้ว่าจะเกิด cell wall ขึ้นมาใหม่แล้ว ในบางกรณีโครโมโซมอาจจะติดกันที่ส่วนปลายของโครโมโซม ซึ่งอาจแยกออกจากกันอย่างปกติได้ หรืออาจทำให้เกิด dicentric chromatid ขึ้นได้ การเกิด acentric fragments นั้นอาจเกิดขึ้นได้ เนื่องจากการที่ centromeres เกิดขาดในระยะ Anaphase

ความผิดปกติของการแบ่งเซลล์แสดงให้เห็นในรูปที่ 4

รูปที่ 4 ความผิดปกติของการแบ่งเซลล์ เซลล์ 1, 2 และ 3 แสดงให้เห็นการที่โครโมโซมไม่แยกออกจากกันและการเกิด Stickiness เซลล์ 4, 5 และ 6 แสดงให้เห็น lagging ของโครโมโซม และการเกิด Non-disjunction x 900



## Meiosis ของเบญจมาศ

โดยทั่วไปแล้วในระยะ Metaphase I นั้นสายพันธุ์ที่มี 54 โครโมโซม จะเกิด 27 bivalents ทำให้ได้ pollen ที่มี 27 โครโมโซม สาเหตุของการเกิด unbalance ก็เนื่องจากการเกิด univalent ใน Metaphase I ของสายพันธุ์ที่มี 53 โครโมโซม คือ เกิดเป็น 26 bivalent และ 1 univalent ส่วนพวกที่มี 55 โครโมโซมนั้นจะมี 27 bivalent และ 1 univalent โดยทั่วไปการเกิด trivalent และ quadrivalent นั้นมีน้อย

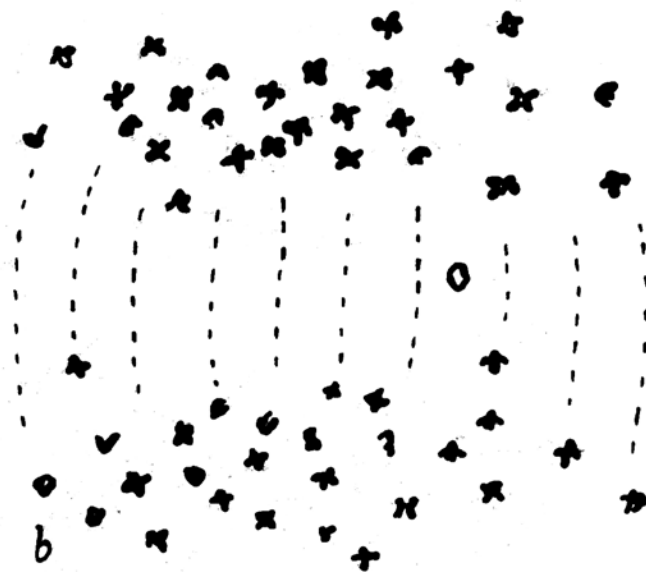
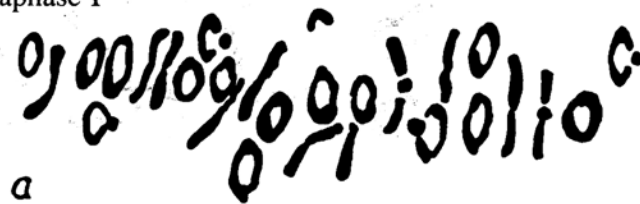
การเกิด univalent นั้นในระยะ Anaphase I อาจจะรวมอยู่ใน pollen หรือไม่ก็ได้ ซึ่งจะทำให้ pollen มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 27 หรือ 28

ตัวอย่างของการแบ่งเซลล์แบบ Meiosis แสดงในรูปที่ 5

รูปที่ 5 การแบ่งเซลล์แบบ Meiosis ของเบญจมาศพันธุ์ Market Gold  $2n = 55$

a) Metaphase I

b) Anaphase I



## ขนาดของโครโมโซม

ในระดับโครโมโซมหนึ่งๆ ของแต่ละ Species จะมีขนาดของโครโมโซมที่ใกล้เคียงกัน ใน species ที่เป็น diploid โครโมโซมจะยาว 6-8 ไมครอน เมื่อมีระดับโครโมโซมสูงขึ้นเช่นใน *C. lacustre* ( $2n = 198$ ) โครโมโซมจะมีความยาวเฉลี่ยสั้นกว่า 3 ไมครอน

ความแปรปรวนของจำนวนโครโมโซมใน species หนึ่งๆ นั้นพบได้ในหลาย species เช่น

*C. frutescens*  $2n = 18, 27$

*C. balsamita*  $2n = 18, 54$

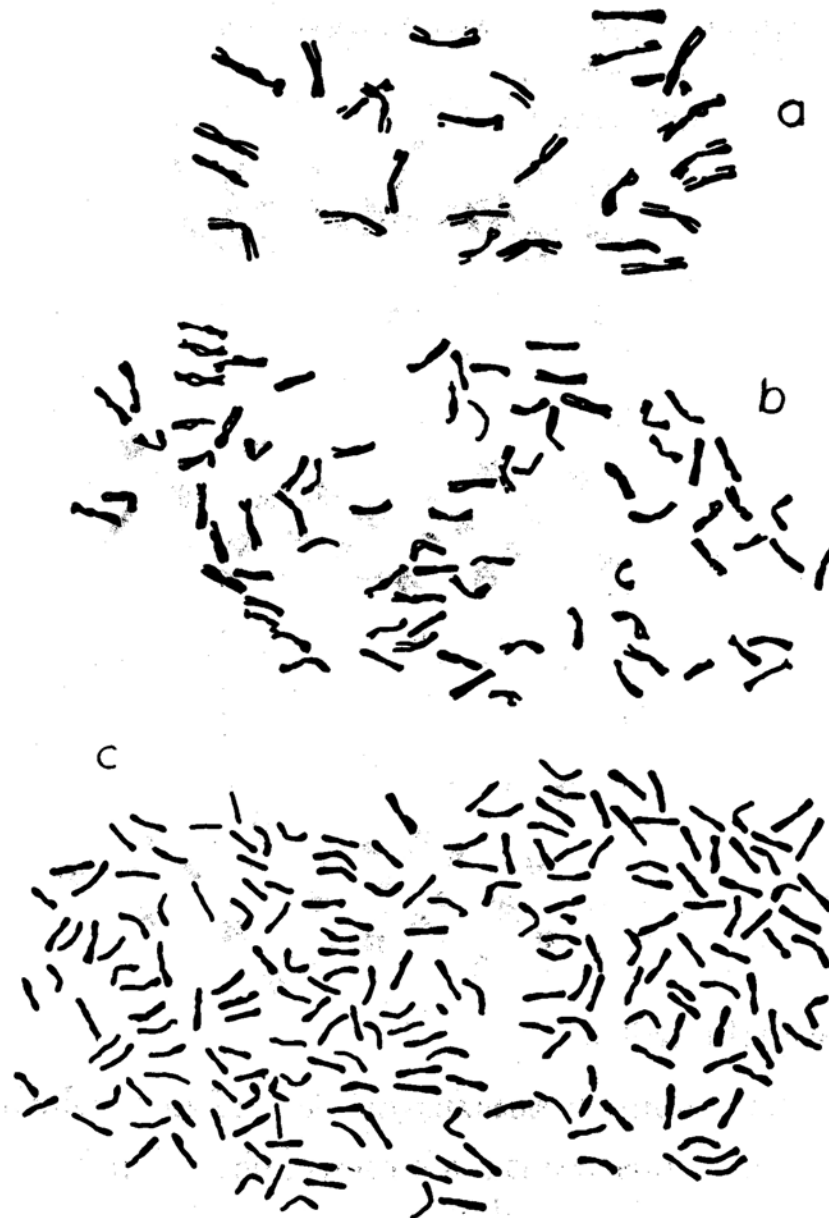
*C. atratum*, *C. corybosum*, *C. segetum*  $2n = 18, 56$

*C. indicum*, *C. leucanthemum*  $2n = 36, 54$

ใน species ต่างๆ ที่มีระดับโครโมโซมต่างกันนั้นไม่มีความแตกต่างกันในด้านรูปร่าง แต่พวกที่มีระดับโครโมโซมสูงจะมีขนาดใหญ่กว่าและมีอัตราการเจริญที่ดีกว่า

ใน *C. maximum* ซึ่งมีจำนวนโครโมโซม = 90 นั้นพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมแตกต่างกันค่อนข้างมาก จากการศึกษานับจำนวนโครโมโซมใน 7 ต้น พบว่า  $2n = 85, 90, 126, 148, 154, 160$  และ 171

รูปที่ 6 แสดง Somatic Chromosome ของ (a) *C. frutescens*,  $2n = 27$  (b) *C. sonare*,  $2n = 80$ , (c) *C. lacustre*,  $2n = 198$



## ปริมาณของ DNA ใน Nucleus

จากการศึกษาการวัดปริมาณของ DNA โดยวิธี Photometry ของ species ต่างๆ ของเบญจมาศจำนวน 28 species โดย Dowrick และ Bayoumi (1969) พบว่ามีความแตกต่างค่อนข้างมากในปริมาณของ DNA ถึงแม้ว่าจะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันก็ตาม ปริมาณของ DNA ของ species ที่เป็น polyploidy ที่มีอยู่ในธรรมชาติจะไม่เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนเท่า เมื่อเปรียบเทียบกับพวกที่เป็น diploid ของ species เดียวกัน ส่วนพวกที่เป็น polyploid ที่เกิดจากการเพิ่มโดยการใช้ colchicine นั้น ปริมาณของ DNA จะเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนเท่า และได้พบถึงความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและปริมาตรของจำนวนโครโมโซมกับ DNA content ซึ่งสาเหตุของความแตกต่างในด้าน DNA content นั้นอาจเนื่องมาจากความแตกต่างกันทางด้านปริมาณของ inactive DNA ที่มีอยู่ในโครโมโซม