หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ ๔

อภิปรายผลการทดลอง

จากการศึกษาพริกทั้ง ๔ พันธุ์ใน Capsicum annuum L. พบว่ามีลักษณะร่วมที่จะใช้เป็นลักษณะพื้นฐานของพริกชนิดนี้ ๓ ลักษณะด้วยกันคือ ๑. จำนวนดอกต่อข้อเท่ากับหนึ่ง ๒. สีของดอกที่กำลังบานจะเป็นสีขาวใส หรือขาวนวล ๓. ก้านของผลมักสั้นกว่าความยาวของผล แต่ลักษณะนี้ยังเชื่อถือไม่ได้นัก เพราะพบว่าพันธุ์ CA # 2 มีก้านของผลยาว ๒.๓๘ เซนติเมตร และผลยาว ๒.๒๕ เซนติเมตร ส่วนอีก ๓ พันธุ์คือ CA # 1 CA # 3 CA # 4 พบว่าก้านของผลจะสั้นกว่าความยาวของผล

ส่วนพริก Capsicum chinense Jacq. Hort. ๒ พันธุ์ที่ศึกษา พบว่ามีลักษณะร่วมกัน ๔ ลักษณะคือ ๑. จำนวนดอกต่อข้อมี ๑-๔ ดอกต่อข้อ ๒. กลีบดอกเป็นสีขาวแกมเขียว ๓. ใบเป็นรูปไข่กว้าง ๔. มีรอยคอดเป็นวงแหวนระหว่างก้านดอกและกลีบเลี้ยง

ดังนั้นลักษณะภายนอกที่สามารถใช้แยก Capsicum annuum L. และ Capsicum chinense Jacq. Hort. คือ

๑. จำนวนดอกต่อข้อ ซึ่งพบว่าใน Capsicum annuum L. มี ๑ ดอกต่อหนึ่งข้อ ส่วนพริก Capsicum chinense Jacq. Hort. มี ๑-๔ ดอกต่อหนึ่งข้อ

๒. สีของกลีบดอกขณะบานในพริก Capsicum annuum L. มีสีขาว ส่วนในพวก Capsicum chinense Jacq. Hort. จะมีสีขาวแกมเขียว

๓. รูปร่างของใบในพวก Capsicum annuum L. มีใบเป็นรูปหอก ส่วนพวก Capsicum chinense Jacq. Hort. จะมีใบเป็นรูปไข่และขนาดกว้างกว่า

๔. ใน Capsicum chinense Jacq. Hort. มีรอยคอดเป็นวงแหวนระหว่างก้านดอกและกลีบเลี้ยงเห็นชัด ส่วนใน Capsicum annuum L. ไม่มีหรือถ้ามีก็เป็นเพียงรอยย่น เนื่องจากการขยายตัวของผลมากกว่า

ลักษณะที่ใช้แยกพริก ๒ ชนิด ออกจากกันตามที่กล่าวมาก็เป็นไปตามที่ Smith & Heiser (1957) ได้เสนอไว้

ส่วนลักษณะภายนอกของลูกผสมหลังจากการผสมข้ามระหว่างพันธุ์ CA # 2 และ CC # 1 พบว่าลูกผสมที่ได้มีลักษณะต่าง ๆ กันคือ ลักษณะที่เหมือนต้นแม่ ได้แก่ ลักษณะมีขนแต่น้อยกว่า จำนวนดอกต่อข้อเท่ากับหนึ่ง และลักษณะกลีบเลี้ยงที่หุ้มฐานของผล ส่วนลักษณะที่เหมือนในต้นพ่อ ได้แก่สีของก้านเกสรตัวผู้ คือมีสีม่วงอ่อน นอกจากนี้ยังพบลักษณะที่อยู่ระหว่างพ่อและแม่ ได้แก่ขนาดของใบและขนาดของดอก และลักษณะที่เหมือนทั้งพ่อและแม่ คือลักษณะที่มีผลตั้งขึ้นและห้อยลง ดอกสีขาว และขาวแกมเขียว แต่มีลักษณะหนึ่งที่ไม่พบทั้งในพ่อและแม่ซึ่งปรากฏในลูกคือ สีของก้านเกสรตัวเมียเป็นสีม่วง ส่วนในพ่อแม่ไม่มีสี

เนื่องจากไม่ได้ทำ reciprocal cross จึงไม่อาจสรุปได้ว่า ลักษณะที่พบในลูกผสมถูกควบคุมด้วยยีนภายในนิวเคลียสหรือยีนนอกนิวเคลียส หรือเป็นปฏิกริยาร่วมระหว่างยีนทั้งสอง แต่มีบางลักษณะที่ได้มีผู้ศึกษาและรายงานไว้คือ Barrios & Mosokar (1972) ได้ศึกษาในพริก Capsicum frutescens L. พบว่าดอกที่ออกเป็นกลุ่มต่อข้อจะถูกควบคุมด้วยยีนด้อย ส่วนลักษณะที่มีดอกเดียวต่อข้อ จะถูกควบคุมด้วยยีนเด่น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษานี้

เมื่อศึกษา microsporocyte ในระยะ first metaphase ของพริกพันธุ์ต่าง ๆ ซึ่งเกิดจากการผสมตัวเองทั้งใน Capsicum annuum L. และ Capsicum chinense Jacq. Hort. พบว่าทุกพันธุ์มีการเข้าคู่ของโครโมโซมเป็น

ปกติ คือโครโมโซมทั้ง ๒๔ แท่งมาจับคู่กันเป็น ๑๒ bivalent และเป็น ring bivalent มากกว่า rod bivalent ซึ่งตรงกับลักษณะ centromere ของโครโมโซมที่ศึกษาจากปลายรากพบว่าโครโมโซมส่วนใหญ่เป็น metacentric และ submetacentric การจับคู่ของโครโมโซมในลูกผสมซึ่งเกิดจากการผสมข้ามระหว่าง CA # 2 ซึ่งเป็นพันธุ์หนึ่งของ Capsicum annuum L. กับ CC # 1 ซึ่งเป็นพันธุ์หนึ่งของ Capsicum chinense Jacq. Hort. พบว่าเป็นเช่นเดียวกับในพันธุ์พ่อแม่คือมี ๑๒ bivalent ไม่พบ univalent หรือ multivalent อื่น ๆ เลย ซึ่งเป็นตัวชี้ว่า genome จากพ่อและแม่มีสายสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน แต่เมื่อศึกษาจำนวน chiasma ต่อ bivalent ในลูกผสมเทียบกับพ่อแม่ (ตารางที่ ๘ หน้า ๔๑) พบว่าจำนวน chiasma ต่อ bivalent ในลูกผสมลดลง คือในพันธุ์ CA # 2 เท่ากับ ๑.๘๐ และ CC # 1 เท่ากับ ๑.๘๒ ส่วนในลูกผสมลดลงเหลือ ๑.๗๒ ซึ่ง Sinha & Acharia (1975)กล่าวว่า การจับคู่ของโครโมโซมที่มี genotype แตกต่างกัน จะมีผลทำให้จำนวน chiasma แตกต่างกันด้วย ทำให้ทราบว่า genome ทั้งจากพ่อและแม่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน แต่มีบาง genotype แตกต่างกัน ความแตกต่างระหว่าง genome ทั้งสองนี้เรียกว่า "cryptic structural difference" ซึ่งไม่มีผลต่อการเข้าคู่ของโครโมโซม (Stebbins1950)

เมื่อดูรูปร่างของโครโมโซมที่ระยะ metaphase จากเซลปลายรากของพริกพันธุ์ CA # 2 CC # 1 และลูกผสม พบว่าทั้ง ๓ พันธุ์มีรูปร่างของโครโมโซมคล้ายกัน และต่างก็มีจำนวนโครโมโซม 2n = 24 โครโมโซมขนาดใหญ่เห็น centromere ชัด อย่างน้อยมี satellite ๒ คู่ เป็น acrocentric ๑ คู่ อีก ๑ คู่ เป็น submetacentric ส่วนที่เหลือมี centromere แบบ median แต่ขนาดของโครโมโซมมีการหดตัวต่างกัน จึงยากต่อการเปรียบเทียบขนาดของโครโมโซม การศึกษาสายสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืช ศึกษาได้จากการจับคู่ของโครโมโซมในลูกผสม ทำให้ทราบถึงโครงสร้างของยีนในโครโมโซม และ mitotic chromosome ซึ่งบอกถึงรูปร่างลักษณะภายนอกของโครโมโซมว่าเหมือนกันหรือต่างกันอย่างไร แต่ไม่สามารถบอกถึงความแตกต่าง

ทางโครงสร้างได้แน่นอน ดังนั้นพริก Capsicum annuum L. และ Capsicum chinense Jacq. Hort. ซึ่งมีการเข้าคู่ของโครโมโซมในลูกผสมปกติจึงมีสายสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกัน และจากข้อเสนอของ Lawrence (1974)ที่กล่าวว่า ลูกผสมระหว่างชนิด (species) ที่ไม่มีสายสัมพันธ์ทางอนุกรมวิธานใกล้ชิดกัน มีแนวโน้มที่จะเป็นหมันมากกว่าลูกผสมระหว่างชนิด (species) ที่มีสายสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน จากแนวความคิดนี้ทำให้คาดการณ์ได้ว่า ถ้าสร้างลูกผสมระหว่างพันธุ์ของพริก Capsicum annuum L. หรือ Capsicum chinense Jacq. Hort. คงไม่มีอุปสรรค เพราะพันธุ์ต่าง ๆ ในพริกชนิดเดียวกัน ย่อมมีความสัมพันธ์ทางอนุกรมวิธานมากกว่าพริกคนละชนิดกัน ด้วยเหตุผลทางพันธุกรรมและอนุกรมวิธานตามที่กล่าวมา การจัดจำแนกพริกออกเป็นชนิดต่าง ๆ จึงไม่ควรยึดถือลักษณะทางพฤกษศาสตร์เคร่งครัดนัก เพราะพริกเป็นพืชเพาะปลูก การคัดเลือกพันธุ์และการผสมพันธุ์ย่อมมีผลต่อการกำเนิดพันธุ์หรือชนิดต่าง ๆ ขึ้น ซึ่งในทางพฤกษศาสตร์แล้วถือว่าเป็น horticultural species มากกว่าจะเป็น natural species ทั้งนี้เพราะยังไม่เคยพบ Capsicum annuum L. ที่เป็น wild species เลย (Bailey 1942) ที่พบเป็น wild species นั้นเป็นพริก Capsicum frutescens L. (Burkill 1935) และพริก Capsicum chinense Jacq. Hort. ก็แยกมาจาก Capsicum frutescens L. (Smith & Heiser 1957) ดังนั้นในทางพฤกษศาสตร์จึงควรยอมรับเฉพาะ Capsicum frutescens L. เท่านั้นว่าเป็น natural species ส่วนชนิดอื่น ๆ น่าจะเป็น horticultural species เท่านั้น หรือเป็นชนิดที่มีวิวัฒนาการมาจาก Capsicum frutescens L. มากกว่า

ความสามารถเจริญพันธุ์ การเข้าคู่ของโครโมโซมใน Capsicum annuum L. Capsicum chinense Jacq.Hort. และลูกผสมในระยะ first metaphaseเป็นปกติคือโครโมโซมที่เหมือนกันจับคู่กันเป็น bivalent ทั้งหมด จึงคาดหมายว่าควรจะมี regular meiosisปกติ แต่เมื่อตรวจวิเคราะห์ microspore quartet พบว่ามีทั้งปกติและผิดปกติ แต่เซลปกติมีจำนวนสูงกว่าเซลผิดปกติ นอกจากนี้ยังพบการเคลื่อนที่โครโมโซมไปยังขั้วทั้งสองของเซลไม่เท่ากัน ในพริก Capsicum

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

annuum L. พบว่ามีเปอร์เซนต์ปกติสูงกว่า ๙๕ เปอร์เซนต์ ส่วน Capsicum chinense Jacq. Hort. มีเปอร์เซนต์ปกติสูงถึง ๘๓ เปอร์เซนต์ แต่ในลูกผสม microspore quartet ปกติกลับลดลงเหลือ ๖๑ เปอร์เซนต์ ความผิดปกติของ microspore quartet พันธุ์ต่าง ๆ เป็นผลจากการแบ่งนิวเคลียสของ pollen mother cell บางเซลที่ผิดปกติ ซึ่งอาจเกิดหลังจาก first metaphase ดังภาพ ๒๑ หน้า ๕๓ และจากการศึกษาของ Raman และคณะ (1964) พบว่าความผิดปกติของ meiosis จะมีผลต่อการเจริญพันธุ์และความอยู่รอดของต้นอ่อน แบบของความผิดปกติในพันธุ์ต่าง ๆ คล้ายกัน แตกต่างกันที่จำนวน ความผิดปกติที่พบระหว่างการแบ่งตัวแบบ meiosis ของพริก มีได้หลายแบบคือ

๑. ที่ระยะ first metaphase มีบาง bivalent แยกตัวเร็ว ซึ่งโครโมโซมที่แยกตัวออกไปก่อนนั้น อาจจะไปรอรวมเป็น daughter nuclei ที่ขั้วของเซล หรือไม่รวมแต่กลายเป็น micronucleus bivalent ที่แยกตัวเร็วนี้ Stebbins(1950) เชื่อว่าน่าจะมี cryptic structural difference ระหว่าง genome ในพืชที่เป็น diploid แต่ Raman และคณะ (1964) เชื่อว่ามีความแตกต่างระหว่าง genome ทำให้มีchiasma น้อย โครโมโซมจึงเคลื่อนตัวออกจากกันเร็ว แต่จากภาพที่ ๑๗ หน้า ๔๒ ของพริกพันธุ์ CA # 2 พบว่าโครโมโซมที่แยกตัวออกจากกันเร็วเป็น ring bivalent ซึ่งจะขัดแย้งกับข้อเสนอของ Raman และคณะที่กล่าวว่า "bivalent ที่แยกตัวเร็วจะเป็นพวก rod bivalent"

๒. โครโมโซมที่แยกตัวช้า (delayed separation) และเคลื่อนตัวช้า (lagging chromosome) โครโมโซมที่แยกตัวช้าจะเห็น chromatin bridge แต่ไม่มี fragment ลักษณะเช่นนี้ Magoon และคณะ (1958) เสนอว่าเป็นเพราะการเคลื่อนตัวของ chiasma ช้า เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมที่เข้าคู่กัน ส่วนโครโมโซมที่เคลื่อนตัวช้า (lagging chromosome) จะถูกกันออกไปไม่รวมกับ daughter nuclei และกลายเป็น micronucleus Sapre (1978)

กล่าวว่า การเกิด chromatin bridge และ laggards ระหว่างการแบ่งตัวแบบ meiosis จะเป็นเหตุหนึ่งที่ทำให้การเคลื่อนตัวของโครโมโซมไปที่ขั้วของเซลไม่เท่ากัน มีผลทำให้เซลสืบพันธุ์เป็นหมัน

๓. ที่ first anaphase โครโมโซมเคลื่อนตัวออกมากกว่า ๒ กลุ่ม สาเหตุอาจเนื่องมาจากความผิดปกติของเส้นใย ทำให้พบ pollen mother cell มีจำนวน nuclei ต่าง ๆ กัน

๔. ความผิดปกติของการแบ่งไซโตพลาสซึม (cytokinesis) โดยปกติการแบ่งไซโตพลาสซึมจะอยู่ในแนวตั้งฉากกัน แต่พบว่าพริกทุกพันธุ์ยกเว้นพันธุ์ CA # 3 มี polyspore โดยเฉพาะอย่างยิ่งในลูกผสมมีเปอร์เซนต์ของ polyspore สูงถึง ๒๔.๘๓ เปอร์เซนต์ ซึ่งแสดงว่ามีความผิดปกติของการแบ่งไซโตพลาสซึมสูงมาก นอกจากความผิดปกติทั้ง ๔ แบบที่ได้กล่าวมาแล้ว ในลูกผสมยังพบบาง pollen mother cell เกิด chromatin stickiness และเห็นเป็นวงแหวน (ภาพที่ ๒๑.๒๒ หน้า ๔๓) ซึ่ง Novák & Betlach (1970) กล่าวว่า เป็นผลเนื่องมาจากเกิดการสลายตัวของโครโมโซมแล้วจับตัวกันเป็นก้อนในระยะ pachytene นับเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ความสามารถเจริญพันธุ์ในลูกผสมลดลง

สาเหตุของความผิดปกติเหล่านี้ Shopova (1966) เสนอว่า เนื่องจากพริกเป็นพืชที่ผสมตัวเองมานาน (inbreeding) จึงมี meiosis ผิดปกติเกิดขึ้นได้เสมอและพบได้ทุกพันธุ์ แต่สิ่งเหล่านี้ไม่มีผลต่อความสามารถเจริญพันธุ์ของพริก ส่วน Raman และคณะ (1964) เชื่อว่า ความผิดปกติที่เกิดขึ้นนี้เนื่องมาจากสภาพของการเป็นลูกผสม (hybridity) ซึ่งมีผลต่อการเกิดพริกพันธุ์ใหม่ ๆ ขึ้น รวมทั้งมีผลถึงความสามารถเจริญพันธุ์ของพริกด้วย microspore ที่มีจำนวนโครโมโซมขาดหายไป จะไม่สามารถเจริญไปเป็นละอองเรณูที่เจริญพันธุ์ได้ ทั้งนี้จากผลของการศึกษาและรายงานของ Smith & Heiser (1951) ที่ทำการศึกษาจำนวนโครโมโซมในพริกชนิดและพันธุ์ต่าง ๆ รายงานว่าพริกมี somatic number เท่ากับ ๒๔ ซึ่งเป็นข้อสนับสนุนได้ว่าเซลสืบพันธุ์ที่มี gametic number เป็น ๑๐, ๑๑ และ ๑๓, ๑๔.....จะไม่มี

โอกาสได้ผสมพันธุ์ หรืออาจสลายไปก่อนที่จะกลายเป็นละอองเรณู จำนวนเมล็ดต่อผลในพริกแต่ละพันธุ์ (ยกเว้นพันธุ์ CC # 2 ซึ่งเกิดเพียงผลเดียว ทั้งที่มีความสามารถเจริญพันธุ์ของละอองเรณูสูงถึง ๗๙.๕๐ เปอร์เซนต์ สาเหตุอาจเนื่องมาจากพริกพันธุ์ CC # 2 เป็น partially self-incompatibility) จะเป็นตัวชี้ถึงความสามารถเจริญพันธุ์ของ ovule ต่อดอกได้ ถ้า pollen mother cell ในดอกหนึ่งมี meiosis ผิดปกติบ้าง ก็ยังมีละอองเรณูมากพอที่จะผสมกับ ovule ให้เกิดเมล็ดได้ เช่นเดียวกับที่ Shopova (1966) เสนอว่า ความผิดปกติของ meiosis ไม่มีผลต่อความสามารถเจริญพันธุ์ของละอองเรณู แต่คาดว่าเมื่อ pollen mother cell มีการแบ่งนิวเคลียสผิดปกติมาก megaspore mother cell คงมีการแบ่งนิวเคลียสผิดปกติเช่นเดียวกัน จึงเป็นข้อสนับสนุนถึงสาเหตุที่ลูกผสมมีจำนวนเมล็ดต่อผลลดลง ซึ่งพบว่า microspore quartet ในลูกผสมมีความผิดปกติเฉลี่ยสูงถึง ๓๙ เปอร์เซนต์ ในพันธุ์ CA # 2 ต้นแม่มี microspore quartet ผิดปกติเพียง ๖.๗๕ เปอร์เซนต์ และในพันธุ์ CC # 1 ต้นพ่อมีความผิดปกติ ๘.๑๗ เปอร์เซนต์

เมื่อหาความสัมพันธ์ร่วมระหว่าง microspore quartet ปกติ ละอองเรณูที่เจริญพันธุ์และจำนวนเมล็ดต่อผลของพริก Capsicum annuum L. ๔ พันธุ์ Capsicum chinense Jacq. Hort. ๒ พันธุ์ และลูกผสม (CA # 2 x CC # 1) พบว่าลักษณะทั้งสามมีแนวโน้มหรือทิศทางของการเปลี่ยนแปลงไปในทางบวก คือการเปลี่ยนแปลงจะเป็นไปในทำนองเดียวกันเช่น จำนวน microspore quartet ปกติลดลง จำนวนละอองเรณูที่เจริญพันธุ์จะลดลง และจำนวนเมล็ดก็ลดลงด้วย แต่ค่าสหสัมพันธ์ระหว่าง microspore quartet และจำนวนเมล็ดของลูกผสมเป็นลบ ส่วนสหสัมพันธ์ระหว่าง microspore quartet กับละอองเรณู และละอองเรณูเทียบกับจำนวนเมล็ด พบว่ามีค่าเป็นบวก ซึ่งตีความได้ว่า microspore quartet และจำนวนเมล็ดในลูกผสม จะมีความสัมพันธ์ไปในทางเดียวกัน แต่จากการศึกษาครั้งนี้ไม่พบ อาจเนื่องมาจากในลูกผสมมีความผิดปกติมากกว่าพันธุ์อื่น ดังนั้นจำนวนต้นที่ศึกษาควรมากกว่าพันธุ์อื่น จึงจะทำให้เห็นทิศทางของความสัมพันธ์ได้ชัดเจนขึ้น

จากการศึกษาความสามารถเจริญพันธุ์ของพริกพันธุ์ต่าง ๆ ทำให้เชื่อว่าละอองเรณูที่เป็นหมันเป็นผลมาจากขาดความสมดุลย์ของโครโมโซมมากกว่าความเป็นหมันที่เนื่องจากยีน ซึ่งแตกต่างจากผลการศึกษาในพริก Capsicum annuum L. ของ Shifriss & Frankel (1969) พบว่า pollen mother cell มีการแบ่งตัวของนิวเคลียสปกติ และเกิด microspore quartet ปกติ แต่เมื่อถึงระยะดอกบานจะไม่พบละอองเรณูที่เจริญพันธุ์ เพราะ microspore ได้สลายไปก่อนที่ดอกจะบาน เนื่องจากมียีนเกี่ยวกับ male-sterile ซึ่งเป็น recessive gene ควบคุมเกี่ยวกับความเป็นหมันของละอองเรณู