บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ทั่วไป

พืชตระกูล Amaryllidaceae เป็นตระกูลใหญ่ตระกูลหนึ่งของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวพบอยู่ทั่วโลก พบมากในแถบเมืองร้อน และ ใกล้เขตร้อน ประกอบด้วย 85 สกุล 1,100 ชนิด จัดเป็นพืชล้มลุกที่มีอายุยืน ลำต้นอาจเป็นเหง้า (rhizome) หรือเป็นหัวคล้ายหัวหอม (bulb) หรือเป็นหัวชนิดที่มีข้อและปล้องชัดเจน (corm) (กันยารัตน์, 2532)

ว่านนางคุ้ม

ว่านนางคุ้ม ผู้เฒ่าเฝ้าบ้าน ว่านนกคุ้ม บัวเงิน หรือ Brisbane lily จัดอยู่ในตระกูล Amaryllidaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Eurycles amboinensis* Lindl. มีถิ่นกำเนิดในแหลมมาลายูจนถึงตอนเหนือของประเทศออสเตรเลีย (กาญจนา, 2543) จากการทดลองครั้งนี้ได้ตรวจหาจำนวนโครโมโซมพบว่าว่านนางคุ้มมีจำนวนโครโมโซม $2n = 20$

หัว เป็นแบบ tunicate bulb มีลักษณะคล้ายหอมหัวใหญ่รูปกลมยาว (pear-shaped) (Hessayon, 1995) กลีบหัวของว่านนางคุ้มแปรรูปมาจากส่วนของโคนใบอย่างเดียวมีลักษณะอวบน้ำมีชื่อเรียกเฉพาะว่า scale โดยมีลักษณะที่เชื่อมติดกันเรียกว่า concentric ทำหน้าที่เป็นแหล่งสะสมอาหาร เพื่อใช้ในช่วงที่หัวเข้าสู่การพักตัวและช่วงการเจริญเติบโตในช่วงแรก ๆ (Hessayon, 1995) วงนอกสุดของโคนใบแปรรูปมีลักษณะแห้งเป็นแผ่นบาง ๆ เรียกว่า tunic ทำหน้าที่ป้องกันการระเหยน้ำและป้องกันไม่ให้กลีบหัวหรือกาบใบที่อยู่ภายในเป็นอันตราย (ปาริชาต และ พิมพ์ใจ, 2540)

ลำต้น ลำต้นของว่านนางคุ้มแปรรูปไปเป็นส่วนของ basal plate มีลักษณะหดสั้นอัดกันแน่นและขยายตัวออกทางด้านข้างทำให้เกิดปล้องที่ถี่มากซ้อนกันเป็นชั้น ๆ ซึ่งเป็นที่เกาะตัวของ scale หรือ modified leaf (ปาริชาต และ พิมพ์ใจ, 2540 ; Hessayon, 1995)

ราก รากเป็นระบบรากฝอย (fibrous root system) ซึ่งเจริญมาจากส่วนโคนของ basal plate

ใบ ว่านนางคุ้มมีใบค่อนข้างกลมมน ลักษณะใบกว้างและหนา ก้านใบยาว สีเขียวแก่ เส้นกลางใบขนานตามยาวเต็มแผ่นใบ ซึ่งเชื่อมกันด้วยเส้นใบเล็ก ๆ ในหนึ่งต้นมี 7-8 ใบ

ดอก ช่อดอกของว่านนางคุ้ม (ภาพ 1) เป็นแบบ umbel ก้านช่อดอกสูงตรง มีลักษณะอวบน้ำ ตรงกลางกลวง ยาว 1-2 ฟุต ผิวก้านช่อดอกมีไขเคลือบ มีดอกย่อยออกมาจากจุดเดียว ดอกมีสีขาว แต่ละดอกประกอบด้วย 6 กลีบ ขนาดของกลีบดอกเกือบเท่ากัน ตรงโคนของดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด ดอกย่อยมีความยาวในรัศมีเท่า ๆ กัน ดอกเป็นแบบสมบูรณ์เพศ (ปาริชาต และ พิมพ์ใจ, 2540 ; กาญจนา, 2542 ; Alfred, 1982)

ว่านนางคุ้มมีเกสรตัวผู้ (stamen) สีเหลืองจำนวน 6 อัน ก้านชูละอองเกสรตัวผู้แต่ละอันมีตำแหน่งกลางกลีบดอก อับละอองเกสรมีรอยแตกเป็น 2 ส่วน เกสรตัวเมียประกอบด้วย รังไข่ 3 ช่อง (Chittenden, 1965)

ภาพ 1 ลักษณะดอกว่านนางคุ้ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ว่านมหาลาภ

ว่านมหาลาภเป็นพันธุ์ไม้ประดับประเภทหัว มีชื่อวิทยาศาสตร์ ว่า *Eucrosis* spp. มีชื่อสามัญว่า Queen lily จัดอยู่ในตระกูล Amaryllidaceae เป็นพืชดั้งเดิมในเอควาดอร์และเปรู (พิกุล, 2539) มีจำนวนโครโมโซม 2n = 68 (Meerow *et al.*, 1992 อ้างจาก ศิริพร, 2541)

หัว หัวว่านมหาลาภเป็นหัวประเภท tunicate bulb ที่ประกอบด้วยกาบใบ (scale) ซึ่งแปรรูปมาจากส่วนโคนของใบซ้อนกันหลาย ๆ ชั้น ส่วนโคนของกาบใบแต่ละใบจะติดอยู่กับปล้องแต่ละปล้องของ basal plate ชั้นนอกของกาบใบมีลักษณะบางคล้ายกระดาษห่อหุ้มหัวเอาไว้ เพื่อช่วยรักษาความชื้นภายในหัวและป้องกันอันตรายจากโรคและแมลง (พิกุล, 2539)

ลำต้น ว่านมหาลาภมีลำต้นเป็นลำต้นใต้ดินแปรรูป มีลักษณะตั้งตรง ข้อปล้องสั้นมากอัดกันแน่น อยู่ที่บริเวณส่วนล่างของหัวซึ่งมีชื่อเรียกเฉพาะว่า basal plate (เรวดี, 2533)

ราก ระบบรากของว่านมหาลาภเป็นระบบรากฝอย เจริญออกมาจากส่วนของลำต้นใต้ดินที่แปรรูป รากมีสีขาวอวบน้ำ มีลักษณะกลมเรียวเล็กไปทางปลายราก (เรวดี, 2533)

ใบ เป็นใบแบบใบเดี่ยวมีก้านใบ รูปร่างใบเป็นแบบรูปไข่ กล่าวคือ ส่วนฐานใบและปลายใบแคบเล็ก บริเวณกลางใบกว้างออก มีสีเขียวนวล ขอบใบเรียบ ใบจะปรากฏให้เห็นหลังจากออกดอกไปแล้ว (พิกุล, 2539) มีเส้นกลางใบเป็นร่อง 1 เส้น ใบที่ยังอ่อนอยู่ม้วนตัวไปทางด้านใต้ใบทั้งสองข้าง (เรวดี, 2533)

ดอก ว่านมหาลาภมีดอกแบบ umbel (ภาพ 2) ตาดอกพัฒนามาจากตาข้าง ดอกอยู่ปลายก้านช่อดอก มีประมาณ 5-13 ดอก ดอกมีสีแดงอมส้ม กลีบดอกมี 6 กลีบ ด้านล่างของกลีบดอกเชื่อมกันเป็นกรวยยาวประมาณ 1 เซนติเมตร

ว่านมหาลาภมีเกสร ตัวผู้ 6 อัน มีสีเขียวอ่อนหรือสีเขียวเข้ม ก้านชูเกสรตัวผู้มีสีเหลืองอ่อน มีเกสรตัวเมีย 1 อัน ก้านชูยื่นยาวออกมา 6-7 เซนติเมตร มีลักษณะโค้งขึ้นด้านบน รังไข่แบ่งเป็น 3 ช่อง แต่ละช่องประกอบด้วยไข่อ่อนจำนวนมาก (พิกุล, 2539)

ภาพ 2 ลักษณะดอกว่านมหาลาภ

ว่านแสงอาทิตย์ (วิชัย, 2521 ; วิทย์, 2536 ; เอกรัตน์, 2543)

ว่านแสงอาทิตย์ ว่านตะกร้อ หรือ Blood lily จัดอยู่ในตระกูล Amaryllidaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Haemanthus multiflorus* Martyn. มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบร้อนของทวีปแอฟริกา (เอกรัตน์, 2543) มีจำนวนโครโมโซม 2n = 18 (Lakshmi, 1980 อ้างจาก ศิริพร, 2541)

หัว ว่านแสงอาทิตย์มีหัวเป็นแบบ tunicate bulb มีลักษณะกลม ประกอบด้วย กาบใบ (scale) ซึ่งเป็นโคนใบแปรรูป มีสีขาวถึงสีน้ำตาลอ่อน เรียงซ้อนกันเป็นวงอยู่บนฐานหัว

ลำต้น ลำต้นเป็นลำต้นแปรรูป มีข้อปล้องสั้นและซ้อนถี่มาก มีการขยายตัวออกทางด้านข้างเป็นส่วนของฐานหัว (basal plate)

ราก มีระบบรากเป็นระบบรากฝอย (fibrous root system) มีสีขาวอวบน้ำ

ใบ ใบเป็นแบบใบเดี่ยว ลักษณะคล้ายใบกล้วยขนาดเล็ก ขอบใบเรียบปลายใบแหลม ยาวประมาณ 8 นิ้ว เส้นกลางใบเว้าลึกลงไปในแผ่นใบ มีเส้นกลางใบขนาดใหญ่ 1 เส้น พื้นใบเป็นสีเขียวมันและเหลือบด้วยสีเทา หรือสีปรอท ส่วนด้านหลังของใบรวมทั้งก้านใบของต้นที่สมบูรณ์มีสีแดง

ดอก ช่อดอกของว่านแสงอาทิตย์เป็นแบบ umbel (ภาพ 3) ประกอบด้วยดอกย่อยจำนวนมาก ดอกติดกันแน่นเป็นช่อใหญ่ทรงกลม มีเส้นผ่าศูนย์กลางช่อดอก 10-15 เซนติเมตร ดอกบานติดต้นนาน 7-10 วัน ก้านช่อดอกมีลักษณะกลม หรือเป็นสามเหลี่ยมเรียวเล็กสีเขียวอ่อนส่วนโคนของก้านช่อดอกมีสีขาวและมีจุดสีแดงกระจาย ดอกมีขนาดเล็ก กลีบดอกมีสีแดง จำนวน 6 กลีบ โคนกลีบเชื่อมติดกันส่วนปลายกลีบดอกแยกออกจากกัน

ดอกของว่านแสงอาทิตย์มีเกสรตัวผู้ 6 อัน ก้านชูเกสรตัวผู้มีสีแดง ติดอยู่บนกลีบดอกแต่ละกลีบ อับละอองเกสรสีเหลือง เมื่อแก่เต็มที่แตกตามยาว เกสรตัวเมีย มี 1 อันมีสีแดง รังไข่เป็นแบ่งเป็น 3 ช่อง แต่ละช่องมีไข่อ่อน 1 อัน ผลกลมเกลี้ยงสีเขียว เมื่อแก่จัดมีสีแดงส้ม ภายในมี 3 เมล็ด แต่เจริญได้เพียง 1 เมล็ด

ภาพ 3 ลักษณะดอกว่านแสงอาทิตย์

ว่านสี่ทิศ (วิชัย, 2521 ; สุปราณี, 2540 ; ประภัสสร, 2543)

ว่านสี่ทิศเป็นไม้ดอกไม้ประดับประเภทหัวในตระกูล Amaryllidaceae มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้และทางตอนใต้ของทวีป Africa มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Hippeastrum* spp. เต็ม (2523) ได้รายงานว่า ว่านสี่ทิศที่พบเจริญอยู่ทั่วไปในประเทศไทยมีอยู่ 3 ชนิด คือ *Hippeastrum johnsonii* Bury. (Bangkok) *Hippeastrum equestre* Herb. (Bangkok) และ *Hippeastrum puniceum* Ktze. (Bangkok) Huxley *et al.* (1992) และ Alfred (1982) ได้รายงานว่า *Hippeastrum equestre* และ *Hippeastrum puniceum* เป็นชนิดเดียวกัน *Hippeastrum equestre* / *Hippeastrum puniceum* มีเส้นผ่าศูนย์กลางของหัว 5 เซนติเมตร ใบรูปหอกกว้าง 2-5 เซนติเมตร ดอกย่อยยาว 10-13 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางของดอกบาน 10-12 เซนติเมตร ก้านดอกย่อยยาว 5 เซนติเมตร ดอกมีสี แดง สีแดงส้ม และ สีชมพู ศิริพร (2541) กล่าวว่า Roberts (1985) ได้ศึกษาจำนวนโครโมโซมของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง พบว่า 2n = 22

หัว ว่านสี่ทิศมีหัวเป็นแบบ tunicate bulb ประกอบด้วยกาบใบ (scale) ที่ส่วนโคนใบแปรรูปทำหน้าที่เก็บสะสมอาหาร กาบใบแต่ละอันเชื่อมติดกันเป็นวง เรียงซ้อนประกอบกันขึ้นมาเป็นหัวที่มีลักษณะกลม กาบใบชั้นนอกสุดแห้ง ป้องกันอันตรายจากภายนอกและการระเหยน้ำของเนื้อเยื่อภายใน

ลำต้น เป็นลำต้นใต้ดินแปรรูป มีข้อปล้องสั้นอัดกันแน่นอยู่บริเวณส่วนล่างของหัว เรียกว่าฐานหัว (basal plate)

ราก ว่านสี่ทิศมีรากเป็นระบบรากฝอย เจริญมาจากฐานหัว มีลักษณะกลมเรียวไปทางปลายเล็กน้อย มีขนาดเท่ากัน ๆ รากทำหน้าที่สะสมอาหารด้วย

ใบ ใบของว่านสี่ทิศเป็นใบเดี่ยว มีลักษณะเรียวยาวรูปหอก ยาวประมาณ 20-25 เซนติเมตร ขอบใบเรียบ ปลายใบแหลม อวบน้ำ มีเส้นกลางใบขนานตามยาว ใบเจริญออกมาจากตายอดทำหน้าที่ปรุงอาหารส่งไปเก็บสะสมที่หัว ใบมีสีเขียวเข้มยกเว้นบางพันธุ์จะมีสีครีมหรือสีแดงเข้มตามขอบหรือปลายใบ โดยเฉพาะพันธุ์ที่มีดอกสีแดงเข้มจะแสดงลักษณะสีที่ใบ ในหนึ่งหัวมีประมาณ 3-10 ใบ

ดอก ว่านสี่ทิศมีช่อดอกแบบ umbel (ภาพ 4-6) มีดอกย่อย ตั้งแต่ 2-15 ดอก แตกต่างกันตามพันธุ์และความสมบูรณ์ของหัว ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศมีขนาดกว้างประมาณ 7 เซนติเมตร มีกลีบดอก 6 กลีบ แบ่งเป็น 2 ชั้น ชั้นนอกมีขนาดใหญ่กว่าชั้นในเล็กน้อย กลีบดอกเกิดจากการรวมตัวกันของ sepal และ petal เรียก tepal มีการเรียงตัวเป็นแบบสลับ บริเวณโคนเชื่อมติดกัน ส่วนปลายแยกจากกันรูปร่างเป็นรูปปากแตร ก้านช่อดอกอวบน้ำ ขนาดใหญ่และบางชนิดมีก้านดอกกลวง (scape) มีเขียวอ่อนหรือเข้มแตกต่างไปตามพันธุ์

เกสรตัวผู้มีสีเหลือง มีจำนวน 6 อัน ก้านชูเกสรตัวผู้เชื่อมรวมกันที่บริเวณโคนว่านสี่ทิศมียอดเกสรตัวเมียแยกเป็น 3 แฉก รังไข่มี 3 ช่อง ภายในมีไข่อ่อนเกาะติดแบบ exile placentation โดยเรียงเป็น 2 แถวในแต่ละช่อง ผลเป็นแบบ capsule เมล็ดมีขนาดใหญ่และแบน เมื่อแก่จัดมีสีดำ

ภาพ 4 ลักษณะดอกว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีชมพู

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาพ 5 ลักษณะดอกว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีแดง

ภาพ 6 ลักษณะดอกว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นเมืองสีส้ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University

บัวดิน (วิชัย, 2521 ; กัญญารัตน์, 2532)

บัวดิน บัวฝน บัวสวรรค์ หรือ Rain lily มีถิ่นกำเนิดในเขตอบอุ่นของซีกโลกตะวันตก คือ อเมริกากลางและหมู่เกาะอินเดียตะวันตก จัดอยู่ในตระกูล Amaryllidaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Zephyranthes* spp.

หัว เป็นแบบ tunicate bulb สีขาว มีเยื่อบาง ๆ คลุมอยู่และลอกออกได้ ขนาดหัวแตกต่างกันตามพันธุ์

ลำต้น ลำต้นแปรรูปไปเป็นส่วนของ basal plate อยู่ใต้ดิน มีข้อถี่และปล้องสั้นมาก

ราก บัวดินมีรากเป็นระบบรากฝอย เจริญออกมาจากส่วนฐานของหัว

ใบ มีลักษณะเป็นแถบยาวแผ่นใบแคบ ปลายมน ขอบใบขนาน จำนวนใบต่อต้นมี 3-11 ใบ ยาวประมาณ 20-38 เซนติเมตร

ดอก บัวดิน (ภาพ 7-10) ออกดอกเป็นช่อ แต่เจริญเพียงหนึ่งดอกในหนึ่งช่อดอก เป็นดอกสมบูรณ์เพศ มีรูปร่างเหมือนกรวย (funnel form) กลีบเลี้ยงและกลีบดอกรวมกันเรียกกลีบรวม (tepal) โคนของกลีบรวมติดกันเป็นวงส่วนปลายของวงแยกเป็นกลีบคล้ายปากแตร กลีบดอกมี 6 อัน แต่ละกลีบเท่ากันหรือต่างกันเล็กน้อย ก้านช่อดอกเรียวและกลวง บัวดินมีเกสรตัวผู้ที่ตั้งตรงหรือโค้งไปข้างหน้าเล็กน้อย เชื่อมติดอยู่กับกลีบรวมชั้นในบริเวณคอ หรือที่โคนของกลีบดอก มี 6 อัน อาจมีลักษณะ 3 อันยาว 3 อันสั้น หรือ ยาวเท่ากันทั้ง 6 อัน เกสรตัวเมียมี 1 อัน รังไข่อยู่ใต้วงอื่น ๆ ของดอก มี 3 ช่อง ภายในรังไข่มีไข่อ่อนจำนวนมากยอดเกสรตัวเมีย มี 3 แฉก ผลเป็นแบบ capsule แบ่งเป็น 3 ห้อง (locule) เมื่อผลแก่แปลือกแห้งและแตกตามแนวกลางของแต่ละห้อง เมล็ดแบน เมื่อแก่มีสีดำ

บัวดินสีชมพูดอกเล็ก *Z. rosea* Lindl.

ดอกมีสีชมพู เส้นผ่าศูนย์กลางของดอกบานประมาณ 2.9-4.5 เซนติเมตร ยอดเกสรตัวเมียอยู่สูงกว่าอับละอองเกสร ความยาวของก้านชูเกสรตัวผู้ยาวเท่ากันทั้งหมด 6 อัน มีจำนวนโครโมโซม 2n = 24

บัวดินสีชมพูดอกใหญ่ *Z. grandiflora* Lindl.

ดอกมีสีชมพู เส้นผ่าศูนย์กลางของดอกบานประมาณ 6.2-7.4 เซนติเมตร ยอดเกสรตัวเมียอยู่สูงกว่าอับละอองเกสร ความยาวของก้านชูเกสรตัวผู้ยาวเท่ากันทั้งหมด 6 อัน มีจำนวนโครโมโซม 2n = 48

บัวดินสีเหลือง *Z. citrina* Baker.

ดอกมีสีเหลือง เส้นผ่าศูนย์กลางของดอกบานประมาณ 2.4-3.2 เซนติเมตร ยอดเกสรตัวเมียอยู่ต่ำกว่าอับละอองเกสร ความยาวของก้านชูเกสรตัวผู้ 3 ยาว 3 อันสั้น มีจำนวนโครโมโซม 2n = 48

บัวดินสีเหลืองอ่อน *Z. ajax* Sprenger.

ดอกมีสีเหลืองอ่อนเส้นผ่าศูนย์กลางของดอกบานประมาณ 2.3-2.6 เซนติเมตร ยอดเกสรตัวเมียอยู่สูงกว่าอับละอองเกสร ความยาวของก้านชูเกสรตัวผู้ 3 อันยาว 3 อันสั้น มีจำนวนโครโมโซม 2n = 44

ภาพ 7 ลักษณะดอกบัวดินสีชมพูดอกใหญ่

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ภาพ 8 ลักษณะดอกบัวดินสีชมพูดอกเล็ก

ภาพ 9 ลักษณะดอกบัวดินสีเหลือง

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ภาพ 10 ลักษณะดอกบัวดินสีเหลืองอ่อน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

การปรับปรุงพันธุ์พืช

การปรับปรุงพันธุ์พืช เป็นการคัดเลือกเอาพืชที่มีลักษณะที่ต้องการออกมาจากพืชพวกที่มีลักษณะที่ไม่ต้องการ การปรับปรุงพันธุ์พืชมิได้มีความหมายอยู่แต่การผสมพันธุ์ และคัดเลือกพันธุ์ในระหว่างพืชชนิดเดียวกันเท่านั้น แต่ยังรวมถึงการผสมพันธุ์ข้ามชนิด (interspecific hybridization) และ การผสมพันธุ์ข้ามสกุล (intergeneric hybridization) ด้วย (นิตย์ศรี, 2541) ไม้ดอกไม้ประดับที่ได้รับความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์มีหลายชนิด เช่น กล้วยไม้ รักเร่ แกลดิโอลัส กุหลาบ และทิวลิป ส่วนตัวอย่างพืชที่ได้รับความสำเร็จจากการผสมข้ามชนิด ได้แก่ มันฝรั่ง มันเทศ และพืชที่ผสมข้ามสกุลได้ง่ายได้แก่ กล้วยไม้ เป็นต้น (สุทัศน์, 2538)

จุดมุ่งหมายของการผสมพันธุ์พืชข้ามข้ามชนิดหรือข้ามสกุล มีหลายด้านได้แก่

1 เพื่อถ่ายทอดลักษณะบางอย่างที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น ความต้านทานต่อโรค ดังได้ทำการผสมข้ามสกุลระหว่าง *Sinapis alba* L. ที่มีความต้านทานต่อโรค black spot กับ *Brassica napus* L. (Ripley and Arnison, 1990)

2 เป็นการเพิ่มลักษณะใหม่ที่ไม่เคยปรากฏในพืชพันธุ์พ่อ แม่ ซึ่งมีประโยชน์อย่างมากในพืชไม้ดอกไม้ประดับ เช่น ลักษณะสีของดอกที่แตกต่างออกไปของลูกผสมระหว่าง *Zephyranthes grandiflora* × *Z. rosea* (กันยารัตน์, 2532)

3 เพื่อสร้างพืช amphidiploid ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างพืชที่มีโครโมโซมต่างชุดกัน ลูกผสมที่ได้จะเป็นหมัน ซึ่งแก้ปัญหาโดยใช้ colchicine เพื่อเพิ่มจำนวนโครโมโซมเป็นสองเท่า เช่น การผลิตกล้วยไม้ สกุล Dendrobium และ Cattleya ซึ่งพืช amphidiploid ที่ได้อาจเป็นพืชชนิดใหม่ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ

4 เพื่อศึกษาวิวัฒนาการการกำเนิดของพืชบางชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกที่เป็น polyploid โดยศึกษาจากการผสมติดหรือไม่ติดและการผสมแล้วให้ของลูกผสมชั่วที่ 1 เป็นหมันซึ่งพืชชนิดใดที่สามารถผสมพันธุ์กันได้และลูกผสมชั่วที่ 1 ปกติ สามารถสืบพันธุ์ได้ตามปกติ แสดงว่าพืชนั้นมีโครโมโซมชุดเดียวกันหรือเหมือนกัน (นิตย์ศรี, 2541)

ปัญหาที่เกิดจากการผสมพันธุ์พืชข้ามข้ามชนิดหรือข้ามสกุล (กฤษฎา, 2528; สุทัศน์, 2538)

1 ละอองเกสรของพืชชนิดหนึ่งไม่สามารถเข้าไปผสมกับพืชอีกชนิดหนึ่งได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสาเหตุหลายประการ เช่น ช่วงการบานของดอกไม่พร้อมกัน

2 เกสรตัวผู้ไม่สามารถงอกเข้าไปผสมกับไข่ได้

3 เมื่อมีการผสมระหว่างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้กับเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย และมีการพัฒนาเป็นคัพภะ แต่คัพภะไม่สามารถเจริญและพัฒนาต่อเป็นเมล็ดได้

4 เมล็ดไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นพืชต่อไปได้ เช่น การผสมระหว่างว่านสี่ทิศกับรางนาค พบว่า สามารถติดเมล็ดได้แต่ฝักเหี่ยวภายใน 12 วันหลังการผสมเกสร เมื่อนำเมล็ดอ่อนมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเมล็ดอ่อนสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นพืชได้ (สุชาดา และ อรดี, 2540)

เนื่องจากการผสมพันธุ์พืชข้ามชนิดและการผสมพันธุ์พืชข้ามสกุล เป็นวิธีหนึ่งที่จะสร้างพืชชนิดใหม่ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม (van Tuyl, 1991 ; Agnihotri, 1993) แต่เนื่องจากสาเหตุหลายประการที่มักทำให้ ลูกผสมที่ได้เป็นหมัน คัพภะฝ่อ หรือ เกิดการเข้ากันไม่ได้ของพันธุกรรม ของพ่อ แม่ ดังนั้นจึงมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้เป็นเครื่องมือช่วยให้ได้รับลูกผสมที่สามารถพัฒนาและเจริญเป็นต้นพืชได้ (บุญยืน, 2541) เทคนิคต่าง ๆ ที่นำมาใช้ คือ

1 การเพาะเลี้ยงรังไข่หรือชิ้นส่วนของรังไข่ (ovary culture)

การผสมพันธุ์พืชบางชนิดที่ฝักมักร่วงไปก่อนที่จะแก่เต็มที่ หากนำรังไข่ที่ผสมแล้วมาเพาะเลี้ยงก่อนก็อาจได้เมล็ด การเพาะเลี้ยงรังไข่ที่ได้รับการผสมแล้วมีเมล็ดที่สมบูรณ์สามารถเจริญเติบโตได้ แต่มีจำนวนเมล็ดต่อฝักน้อยกว่าเมล็ดที่ได้จากฝักที่แก่จากต้น (บุญยืน, 2541) เทคนิคการเพาะเลี้ยงรังไข่ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้กับพืชหลายชนิด (species) ได้มีการตัดรังไข่ของ *Lilium* ที่มีอายุ 7-10 วันหลังผสมเกสรข้ามชนิด โดยนำมาล้างฟอกฆ่าเชื้อ จากนั้นเฉือนให้หนา 2 มิลลิเมตร เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อสามารถเกิดลูกผสมพันธุ์ใหม่ได้ นอกจากนี้ยังใช้กับการผสมข้ามของ *Nerine* และ *Tulip* (van Tuyl, 1997) และ การผสมระหว่าง *Brassica* spp. × *Crambe abyssinica* (YouPing and Peng, 1998)

2 การเพาะเลี้ยงไข่ (ovule culture)

การเพาะเลี้ยงไข่เป็นการเพาะเลี้ยงไข่ก่อนที่จะเกิดมีคัพภะในขนาดที่เหมาะสม ไข่สามารถแยกมาเพาะเลี้ยงได้หลังจากเกิดการถ่ายละอองเกสรแล้ว 2-3 วัน ในขณะที่ไซโกต (zygote) ยังไม่แบ่งตัว การเลี้ยงไข่อ่อนที่ได้รับการผสมแล้วของ *Zephyrathes* เพื่อให้เจริญเป็นเมล็ดที่สมบูรณ์นั้นต้องให้อาหารเสริม เช่น น้ำมะพร้าว (บุญยืน, 2541) หรือ เคซีนไฮโดรไลเสท (casein hydrolysate) ที่ช่วยกระตุ้นให้คัพภะเจริญและพัฒนาเร็วขึ้น (Cameron-Mills and Duffus, 1980) เทคนิคนี้มีรายงานการใช้กับ *Alstromeria, Lily, Nerine* และ *Tulip* (van Tuyl, 1997)

3 การเพาะเลี้ยงคัพภะ (embryo culture)

การเพาะเลี้ยงคัพภะ เป็นเทคนิคที่ใช้แก้ปัญหาลูกผสมของพืช ที่เมื่อมีการผสมเกสรแล้ว มีปัญหาเกี่ยวกับการพัฒนาของคัพภะ โดยที่หลังจากผสมเกสรแล้วคัพภะอาจไม่มีการพัฒนาต่อและฝ่อไปในที่สุด จึงได้นำคัพภะออกมาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ก่อนที่จะฝ่อไป ความสำเร็จส่วนใหญ่พบว่าคัพภะที่ใช้เลี้ยงอยู่ในระยะ globular หรือเมื่อนำคัพภะที่เจริญเต็มที่แล้วแต่มีขนาดเล็กกว่าปกติไปเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่ประกอบด้วยเกลือแร่และน้ำตาล คัพภะสามารถเจริญเติบโตได้ ในขณะที่คัพภะที่ยังไม่มีการเจริญเปลี่ยนแปลงไปเป็นส่วนต่าง ๆ นั้น คัพภะที่นำไปเลี้ยงมีความต้องการอาหารมากขึ้น อาจต้องเติมน้ำมะพร้าว หรือ เพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเป็น 8-12 เท่า การให้ฮอร์โมนพวกออกซินและไซโตไคนินในปริมาณที่เหมาะสมก็ช่วยให้คัพภะเจริญได้ (บุญยืน, 2541; van Tuyl, 1997)

สุชาดา และ อรดี (2540) ได้รายงานเกี่ยวกับการสร้างลูกผสมว่านสี่ทิศกับรางนาค โดยการผสมแบบสลับพ่อสลับแม่ระหว่างว่านสี่ทิศพันธุ์ดอกสีชมพูกับรางนาค พบว่าในคู่ผสมรางนาค × ว่านสี่ทิศ มีการเจริญเติบโตของผลเฉลี่ยเพียง 12 วัน หลังจากนั้นก้านผลเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง จึงต้องเก็บเกี่ยวผลก่อนผลแก่ ได้เมล็ดอ่อนทั้งหมด 19 เมล็ด เมื่อนำเมล็ดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร เมล็ดลูกผสมไม่สามารถงอกเป็นต้นได้ สำหรับคู่ผสมว่านสี่ทิศ × รางนาค มีการติดผล 100 เปอร์เซ็นต์ อายุผลแก่เฉลี่ย 21.31 วัน ได้เมล็ดลูกผสมทั้งหมด 46 เมล็ด เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรเดิม เมล็ดลูกผสมมีการงอกเฉลี่ย 17.39 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลาในการงอกเฉลี่ย 51.50 วันได้ต้นลูกผสมทั้งหมด 8 ต้น ลูกผสมทุกต้นมีแถบเส้นกลางใบเหมือนรางนาค ด้านหลังใบส่วนโคนสีม่วงแดงเหมือนกับว่านสี่ทิศ และลักษณะโดยทั่วไปของลูกผสมคล้ายรางนาคมากกว่าว่านสี่ทิศ

Kho and Baer (1971) ได้ศึกษาการผสมข้ามชนิดในทิวลิป (*Tulipa*) ระหว่างทิวลิป 4 ชนิด (species) โดยทำการผสมเกสรดอกที่ปลูกในโรงเรือนและควบคุมอุณหภูมิที่ 10, 14 และ 17 องศาเซลเซียส จากนั้นนำดอกที่ได้รับการผสมเกสรมาตรวจสอบการงอกของหลอดละอองเกสรในก้านชูเกสรตัวเมีย พบว่า ในคู่ผสมที่สามารถผสมกันได้ อุณหภูมิมีผลต่อการติดฝักของดอกทิวลิป โดยที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส มีการติดฝักดีที่สุดและเมล็ดที่ได้มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงที่สุดด้วย ส่วนในบางคู่ผสมที่ไม่สามารถผสมกันได้ เมื่อนำมาตรวจการงอกของละอองเกสรพบว่า หลอดละอองเกสรไม่สามารถงอกไปในรังไข่ได้ ซึ่งมีสาเหตุมาจาก หลอดละอองเกสรถูกยับยั้งให้งอกอยู่เพียงบริเวณปลายยอดเกสรตัวเมียเท่านั้น

Pickering (1987) รายงานการผสมข้ามสกุลข้าวบาร์เลย์ระหว่าง *Hordeum vulgare* 2 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ "Vada" และ "Emer" เป็นต้นแม่ *Psathyrostachya fragilis* เป็นต้นพ่อ โดยเพาะเลี้ยงคัพภะที่มีขนาด 1-1.5 มิลลิเมตรบนอาหารสูตร B5 (1968) ดัดแปลง ในสภาพไม่ได้รับแสง จากนั้นย้ายคัพภะมาเลี้ยงบนอาหารสูตร B5 (1968) ดัดแปลง ที่เติม 2,4 - D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่มืดเพื่อชักนำให้เกิดการสร้างแคลลัส แล้วย้ายแคลลัสไปเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมแต่ไม่เติม 2,4 - D เพื่อชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นพืช พบว่า ต้นลูกผสมจากคู่ผสมที่ใช้พันธุ์ "Vada" เป็นแม่มีการเจริญและแตกกอเป็นต้นพืชปกติ และหลังปลูกนาน 6 เดือน ได้เปรียบเทียบลักษณะของช่อดอก พบว่าช่อดอกของลูกคล้ายลักษณะช่อดอกของ *P. fragilis* ส่วนต้นลูกผสมที่ได้จากคู่ผสมที่ใช้พันธุ์ "Emer" เป็นแม่มีลักษณะต้นแคระ ใบด่างและตายภายใน 3-4 สัปดาห์หลังจากย้ายปลูก

Agnihotri *et al.* (1990) ได้รายงานการผสมพันธุ์พืชข้ามสกุลระหว่าง *Eruca sativa* กับ *Brassica campestris* สำเร็จได้โดยการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจากการนำรังไข่ที่ได้รับการผสมแล้ว 4 และ 5 วัน หลังการถ่ายละอองเกสร มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่ประกอบด้วย kinetin 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, napthalene acetic acid (NAA) 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร, gibberellic acid (GA_3) 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ casein hydrolysate (CH) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้น 2 สัปดาห์นำไข่อ่อนมาเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส จากนั้น 4 สัปดาห์ ย้ายแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมที่เพิ่มน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ แคลลัสสามารถสร้างคัพภะ ย้ายคัพภะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ เขย่า 60 รอบต่อวินาที นาน 3-4 วัน จากนั้นย้ายคัพภะมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 1 เปอร์เซ็นต์ คัพภะพัฒนาเป็นต้นพืชภายใน 3 สัปดาห์ พบว่าลูกผสมที่ได้มีทั้ง amphidiploid และ allotetraploid ลูกผสมที่ได้มีลักษณะบางอย่าง เช่น ขนาด รูปร่าง ของใบ

และฝักคล้ายลักษณะของทั้งพ่อและแม่ และเมื่อนำต้นลูกผสมมาตรวจ DNA พบว่า รูปแบบ DNA ของต้นลูกผสมมีแถบ DNA ที่ตรงกับแถบ DNA ของพ่อและแม่

Agnihotri *et al.* (1990) ได้ทำการผสม Oilseed rape (*Brassica napus*) กับ แรชดิช (*Raphanus sativa*) แล้วตัดรังไข่ของ *B. napus* อายุ 5 วันหลังการถ่ายละอองเกสร มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่ประกอบด้วย kinetin 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร napthalene acetic acid 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร gibberellic acid (GA_3) 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ casein hydrolysate (CH) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้น 2 สัปดาห์ ผ่าเอาคัพภะออกมาเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมนาน 2-3 สัปดาห์ แล้วย้ายคัพภะมาเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมแต่ ลดปริมาณฮอร์โมนเหลือเพียง 1/10 เพื่อชักนำให้คัพภะพัฒนาเป็นต้นพืช พบว่า เมื่อตรวจสอบการเป็นลูกผสมด้วยวิธี DNA analysis รูปแบบของลูกผสมมีส่วนของรูปแบบ DNA ที่เหมือนกับรูปแบบ DNA ของทั้งพ่อและแม่

Mathias *et al.* (1990) ได้รายงานว่า เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชช่วยให้ได้ลูกผสมที่เกิดจากการผสมพันธุ์พืชข้ามชนิดระหว่าง *Cuphea paucipetala greenwoodii* กับ *C. laminuligera* โดยนำไข่อ่อนจากฝักที่มีอายุ 5-6 วันหลัง การถ่ายละอองเกสร ผ่าไข่อ่อนออกเป็น 2 ส่วนแล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลักและวิตามินของสูตร NN (Nitsch and Nitsch, 1967) ธาตุอาหารรองของสูตร MS (1962) FeNaEDTA 40 มิลลิกรัมต่อลิตร glutamine 800 มิลลิกรัมต่อลิตร serine 100 มิลลิกรัมต่อลิตร glutamine 30 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร thidiazurone 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร และ activated charcoal 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยเลี้ยงแบบอาหารแข็ง/อาหารเหลว (solid/liquid double layer) หลังจากนั้น 10-12 วัน ผ่าเอาคัพภะยาว 1-3 มิลลิเมตร มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรเดิม จากนั้น 5-10 วัน ย้ายคัพภะมาเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมที่ประกอบด้วย glutamine 400 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 20 เปอร์เซ็นต์ และ วุ้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อคัพภะมีขนาด 5-10 มิลลิเมตรย้ายมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร activated charcoal 0.5 เปอร์เซ็นต์ วุ้น 1.25 เปอร์เซ็นต์ พบว่าต้นพืชลูกผสมมีลักษณะที่แตกต่างจากต้นพ่อและต้นแม่อย่างชัดเจน เช่น จำนวน สี ของกลีบดอก และลูกผสมที่ได้เป็นหมัน

Shao and Taira (1990) ได้รายงานเกี่ยวกับการผสมข้ามชนิดระหว่าง ข้าวบาร์เลย์ *Triticum durum* Desf. var *hordeiforme* (2n = 4x = 28) โดยใช้เป็นต้นแม่ ผสมกับต้นพ่อ คือ *Secale cereale* L. cv. 'Prolific'(2n = 2x = 14) โดยนำคัพภะที่ได้จากไข่ที่มีอายุ 15 วันหลังจากผสมเกสร มาเลี้ยง

บนอาหารสังเคราะห์ตามวิธีของ Tiara and Larter. (1978) เพื่อชักนำให้เป็นต้นพืชโดยผ่านแคลลัส ในบางคู่ผสมที่คัพภะไม่สามารถเจริญได้ในอาหารสูตรเดิม ก็นำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร B5 (Gamborg *et al.*, 1968) ที่ประกอบด้วย 4- fluorophenoxyacetic acid (4-FA) 40 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส เมื่อย้ายแคลลัสไปเลี้ยงในอาหารใหม่และเลี้ยงในที่มืดนาน 5 เดือน จากนั้นย้ายแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมแต่ไม่เติม 4-FA เมื่อนำไปเลี้ยงในที่สว่างและมืดนาน 2 เดือน พบว่า เทคนิคการเพาะเลี้ยงคัพภะช่วยให้คัพภะเจริญและพัฒนาเป็นต้นพืช ลูกผสมที่ได้มีความผิดปกติสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ จำนวนโครโมโซมมีความแตกต่างกันออกไป พบว่า เป็น polyploid (2n = 3x = 21) 69.8 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อให้แสงกับคัพภะนานติดต่อกัน 1 สัปดาห์ เกิดจุดเขียวเกิดขึ้น 66.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจุดเขียวนี้พัฒนาไปเป็นยอด 41.8 เปอร์เซ็นต์ แต่ยอดที่เกิดในที่มืดมีเพียง 22.5 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น

van Ripley and Arnison (1990) ได้ผสมพันธุ์พืชข้ามสกุลระหว่างผักกาด *Sinapis alba* L. (White.mustard) กับ *Brassica napus* L. (Oilseed rape) เพื่อถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อโรค โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงคัพภะ จากคัพภะที่มีอายุ 10-15 วัน โดยนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร NN (Nitsch and Nitsch, 1967) เมื่อคัพภะงอก ย้ายมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลักสูตร MS ธาตุอาหารรองสูตร NN วิตามินสูตร B5 (Gamborg *et al*, 1968) น้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ BA 1.15 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร และ วุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเจริญเป็นต้นพืชก็ย้ายเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร NN ที่ไม่มีฮอร์โมน พบว่าลูกผสมที่ได้เป็นหมัน (male sterile) มีจำนวนโครโมโซม 2 แบบ คือ 2n = 31 และ 2n = 43 เมื่อทำการผสมกลับระหว่างลูกชั่วที่ 1 กับ *B. napus* ซึ่งมีจำนวนโครโมโซม 2n = 38 พบว่าลูกที่ได้ไม่เป็นหมัน และมีจำนวนโครโมโซม 2n = 50

van Tuyl *et al.* (1991) ได้รายงานว่า การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาประยุกต์ใช้กับการผสมข้ามชนิดของ *Lilium* และก่อนทำการถ่ายละอองเกสรก็ใช้วิธี ตัดก้านชูเกสรตัวเมีย และเมื่อถ่ายละอองเกสรแล้ว นำรังไข่อายุ 5-8 วัน มาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ 2 สูตร คือ สูตร B5 (1968) ดัดแปลง ที่ประกอบด้วย glutamine 400 มิลลิกรัมต่อลิตร asparagine 50 มิลลิกรัมต่อลิตร serine 50 และ100 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ และเพิ่ม NAA และ 2,4-D อย่างละ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์ และ วุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ และสูตร MS (1962) ดัดแปลง ที่ประกอบด้วย NAA 1 ไมโครกรัม/ลิตร และ 1.O มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์, 5 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ และ วุ้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ พบว่า อาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่ประกอบ

ด้วย NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ส่วนวิธีการ การตัดยอดเกสรตัวเมีย และ การต่อก้านเกสรตัวเมียไม่มีผลต่อการผสมติด

Singh *et al.* (1992) รายงานว่าการนำรังไข่และไข่อ่อนขององุ่นไม่มีเมล็ด *Vitis vinifera* L. สายพันธุ์ Perlette ที่ได้จากการผสมตัวเองและนำไข่อ่อน (ovule) ที่ได้รับการผสมแล้ว อายุ 10-40 วัน หลังการถ่ายละอองเกสร มาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า อาหารสูตร Nitsch (1969) และ White (1954) ที่ประกอบด้วย L- asparagine 10 มิลลิโมล และ L- cysteine 10 มิลลิโมล ช่วยให้ไข่อ่อนที่มีอายุ 30 วันหลังจากการถ่ายละอองเกสร ขยายขนาดใหญ่ที่สุด และ อาหารสูตร MS (1962) ช่วยให้ไข่อ่อนมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายสูงที่สุด แต่พบว่า ไข่อ่อนที่ได้รับการผสมแล้วที่รอดตายไม่มีการเจริญของคัพภะ มีเพียงเนื้อเยื่อส่วน outer integument เท่านั้นที่มีจุดสีเขียวเกิดขึ้น และมีการสร้างแคลลัสขึ้นมา ซึ่งเขาสรุปว่า อาจเป็นเพราะว่าใช้ฮอร์โมนพืชความเข้มข้นสูงเกินไป

Lazaridou *et al.* (1993) พบว่า การผสมพันธุ์พืชข้ามชนิดระหว่างถั่ว 2 ชนิด คือ *Vicia faba* กับ *Vicia narbonensis* โดยนำไข่อ่อนที่ได้รับการผสมแล้วมาเลี้ยงบนอาหาร 5 สูตร คือ สูตร B5-S หรือ B5 (1968) ดัดแปลง โดย Newell and Hymowitz (1982) สูตร MS (1962) ดัดแปลง โดย Mok *et al.* (1978) สูตร SH (Beasley and Ting) ดัดแปลง Stewart and Hsu (1977) สูตร BN (Bourgin and Nitch) ดัดแปลง และ สูตร PC (Phillips and Nitsch) ดัดแปลง โดย McCoy and Smith (1986) พบว่า ในอาหารสูตร B5 ดัดแปลง คัพภะสามารถเจริญได้ อายุฝักที่เหมาะสมที่นำไข่อ่อนมาเลี้ยงใน *Vicia faba* คือ 11 วันหลังจากการถ่ายละอองเกสร และ *Vicia narbonensis* คือ 4 วันหลังจากการถ่ายละอองเกสร

van Creij *et al.* (1997) ได้ทำการผสมข้ามชนิด ระหว่าง *Tulipa* 5 ชนิด และได้ใช้วิธีการในการแก้ไขปัญหาอันเกิดเนื่องจากการผสมกันไม่ได้ตามธรรมชาติ 4 วิธีการ คือ

1 การใช้ฮอร์โมนกับรังไข่ โดยใช้ BAP (6-Benzylamino purine) 0.1 เปอร์เซ็นต์ 1 เปอร์เซ็นต์ และ NAA (O′-naphthalenacetic acid) 1.0 เปอร์เซ็นต์ ละลายใน lanolin กับ น้ำ ในอัตราส่วน 3 : 1 แล้วนำสารละลายที่ได้ไปทาบริเวณส่วนล่างของรังไข่ของดอกที่ได้รับการผสมเกสรมาแล้ว 12 วัน หลังจากนั้น 9 สัปดาห์ นำรังไข่มาผ่าและตัดไข่ออกมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าคู่ผสมระหว่าง *T. gesneriana* × *T. agenensis* เมื่อทารังไข่ด้วย 0.1 เปอร์เซ็นต์ BAP ทำให้มีการติดเมล็ดได้ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับรังไข่ที่ไม่ทา 1 เปอร์เซ็นต์ BAP หรือ 1 เปอร์เซ็นต์ NAA และยังพบว่าเมื่อทารังไข่ของทิวลิปบางชนิดด้วย 1 เปอร์เซ็นต์ BAP รังไข่

เหี่ยวก่อนปกติ ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากความเข้มข้นของ BAP ที่อาจไม่เหมาะสม ส่วนการทารังไข่ด้วย NAA เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่า มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดลดลง

2 การตัดก้านชูเกสรตัวเมียให้สั้น (Cut-style method) ให้รอยตัดอยู่เหนือรังไข่เล็กน้อย จากนั้นใช้ละอองเกสรแตะบริเวณรอยตัดทันที พบว่า การตัดก้านชูเกสรตัวเมียให้สั้นลงไม่มีผลต่อการงอกของหลอดละอองเกสรให้เข้าไปผสมกับไข่ (egg) ได้เร็วขึ้น

3 การตัดต่อรังไข่ (Graft-ovary method) โดยการตัดยอดเกสรตัวเมีย (pistil) ของต้นแม่ออก ¾ ส่วน แล้วตัดส่วนปลายของเกสรตัวเมียของต้นพ่อที่ได้รับการถ่ายละอองเกสรแล้วโดยตัดให้ยาว ¼ ส่วน จากนั้นนำส่วนบนของต้นพ่อที่ตัดออกมาต่อกับส่วนล่างของต้นแม่วิธีการนี้ทำในสภาพปลอดเชื้อ หลังจากนั้น 7 สัปดาห์ ผ่าเอาไข่อ่อนออกมาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ พบว่า มีเพียงบางคู่ผสมเท่านั้นที่สามารถติดเมล็ดได้

4 การผสมเกสรดอกที่อยู่ในระยะพร้อมที่รับการผสม หลังจากนั้น 1 วัน ตัดรังไข่ออกมาทำการฟอกฆ่าเชื้อแล้วผ่ารังไข่ตามยาวให้ได้ 6 ชิ้น ซึ่งในแต่ละชิ้นมีไข่อ่อนติดอยู่ จากนั้นนำละอองเกสรมาแตะบริเวณสายรก (placenta) วิธีนี้เรียกว่า placental pollination ต้องทำในสภาพปลอดเชื้อ ผลการทดลองพบว่า บางคู่ผสมเท่านั้นที่มีการพัฒนาของเมล็ด

การตรวจสอบการงอกของละอองเกสรด้วยวิธี fluorescence microscope

การตรวจสอบการงอกของหลอดละอองเกสรในก้านชูเกสรตัวเมียหรือรังไข่ สามารถนำคุณสมบัติการเรืองแสง (fluorescence) เนื่องจากผนังหลอดละอองเกสร (pollen tube wall) ของพืชส่วนใหญ่ เป็นสารประกอบพวก callose ซึ่งสารประกอบนี้ไม่พบในเนื้อเยื่อของก้านชูเกสรตัวเมีย รูปร่างของหลอดละอองเกสรจะเป็นไปตามการเรียงตัวของสารประกอบพวก callose สารประกอบพวก callose เมื่อจับกับ anilene blue และได้รับแสงสีน้ำเงิน หรือแสงอัลตราไวโอเลต ก็จะเรืองแสงสีเหลืองหรือ เขียว ออกมา

วิธีนี้ไม่ได้เป็นวิธีการใหม่ เพราะ Linskens and Esser (1957) ได้นำมาใช้ในการศึกษาลักษณะการเข้ากันไม่ได้ (incompatibility) ของพิทูเนีย และเทคนิคนี้ก็ได้นำมาใช้เพื่อศึกษาการถ่ายละอองเกสรในการปรับปรุงพันธุ์พืช (อ้างจาก Kho and Baer, 1968)

Kho *et al.* (1980) ได้รายงานเกี่ยวกับการผสมพันธุ์พืชข้ามชนิดของพืชตระกูลแตง *Cucumis* L. 12 ชนิด เพื่อถ่ายทอดลักษณะการต้านทานต่อโรคและแมลง พบว่าการผสมข้ามชนิด

กันตามวิธีมาตรฐานไม่สามารถติดเมล็ดได้ และได้นำดอกที่ได้รับการถ่ายละอองเกสรแล้ว 3 วัน มาตรวจสอบการงอกของหลอดละอองเกสรโดยใช้เทคนิค UV microscope ตามวิธีการของ Kho and Baer, 1968 รวมทั้งได้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงคัพภะมาใช้เพื่อให้ได้เมล็ดจากคู่ผสมที่ไม่สามารถให้เมล็ดตามการผสมแบบวิธีมาตรฐานได้

ในปี ค.ศ. 1988 Franken *et al.* ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการงอกของหลอดละอองเกสรของพืชตระกูลแตง *Cucumis sativa* และ *Cucumis metuliferus* โดยศึกษาที่อุณหภูมิ 20, 23 และ 26 องศาเซลเซียส พบว่า ที่อุณหภูมิ 23 และ 26 องศาเซลเซียส หลอดละอองเกสรสามารถงอกลงไปในรังไข่ได้ ส่วนที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ละอองเกสรงอกอยู่บริเวณปลายยอดเกสรตัวเมียเท่านั้น แต่ในการทดลองนี้ไม่ได้ลูกผสม เนื่องจากคัพภะไม่มีการเจริญและฝ่อไปในระยะ globular stage

อิเล็กโตรโฟริซีส ในการศึกษารูปแบบของไอโซไซม์

อิเล็กโตรโฟริซิสเป็นเทคนิคการแยกวิเคราะห์สารหรือโมเลกุลที่มีประจุ โดยให้สารเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้า อัตราการเคลื่อนที่จะขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของประจุ ในการแยกสารให้เกิดการแยกจากกันได้ผลดี จะต้องใส่สารตัวอย่างในลักษณะแถบแคบ ๆ ให้ห่างในระยะพอเหมาะกับขั้วอิเล็กโทรด วิธีนี้เรียกว่าzone electrophoresis เมื่อเปิดสนามไฟฟ้า สารที่มีความหนาแน่นประจุต่างกันจะเคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วต่างกัน โดยสารที่มีประจุลบเคลื่อนที่ไปสู่ขั้วอิเล็กโทรดบวก และค่อยๆ แยกออกจากกันเป็นแถบเมื่อมีระยะการเคลื่อนที่พอเหมาะ การแยกนี้เกิดขึ้นในสารละลายบัฟเฟอร์บนตัวกลางค้ำจุนที่เป็นแผ่นหรือเป็นแท่ง (supporting medium) (ดวงพร, 2538) สารค้ำจุนที่นิยมใช้กันทั่วไปในการแยกโปรตีน ได้แก่ starch, polyacrylamide, agarose gel และ กระดาษ cellulose acetate ในการแยกโปรตีนประเภทเอนไซม์ นิยมใช้ polyacrylamide gel เป็นสารค้ำจุนที่มีประสิทธิภาพในการแยกสูงสุด เนื่องจาก polyacrylamide gel เป็นตัวค้ำจุนที่เฉื่อยต่อสารเคมีในระหว่างเกิดกระบวนการแยก จึงทำให้ลดการแพร่และป้องกันการนำพา ดังนั้นในการแยกจึงได้แถบสีที่คมชัด รวมทั้งเป็นตัวกลางที่มีรูพรุนที่สม่ำเสมอและสามารถเลือกขนาดของรูพรุนให้เหมาะสมกับขนาดโมเลกุลของสารตัวอย่างได้ ซึ่งการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบ acrylamide gel เรียกย่อ ๆว่า PAGE (Polyacrylamide Gel Electrophoresis) (อาภัสรา, 2537)

การใช้เทคนิคอิเล็กโตรโฟริซีสเพื่อศึกษาไอโซไซม์ มีหลักการ คือ ไอโซไซม์เป็นสายโพลีเปปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนต่าง ๆเรียงกันอยู่ ลำดับกรดอะมิโนนี้แปลมาจากรหัสพันธุกรรม

บนสายนิวคลีโอไทด์ ไอโซไซม์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่แตกต่างกันย่อมมีประจุไฟฟ้ารวม ขนาด และรูปร่างโมเลกุลไม่เหมือนกัน ซึ่งเมื่อนำมาแยกในตัวกลางที่เหมาะสมในสนามไฟฟ้า โมเลกุลจะเคลื่อนที่ในอัตราต่าง ๆ กัน เมื่อนำมาย้อมสีด้วยสารที่ทำปฏิกิริยาจำเพาะสำหรับไอโซไซม์แต่ละชนิด ก็เห็นแถบสีของไอโซไซม์รูปแบบต่างกัน สามารถนำมาจำแนกพันธุ์พืช หรือ ตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสายต้น (clone) ของพืชชนิดเดียวกัน หรือต่างชนิดกัน (ชวนพิศ, 2538) Mckee (1973) (อ้างจาก กัญจนา, 2539) กล่าวว่า การใช้เทคนิคทางอิเล็กโตรโฟรีซิสในการจำแนกสายพันธุ์โดยการใช้ระบบของเอนไซม์ (isozyme system) นั้น ถ้าหากทำหลายระบบจะทำให้การระบุและจำแนกสายพันธุ์มีผลการวินิจฉัยที่มีประสิทธภาพยิ่งขึ้น ซึ่งการใช้ระบบของเอนไซม์เพียง 2-3 ชนิดอาจเพียงพอ ถ้าจำนวนสายพันธุ์ที่ต้องการทดสอบไม่มากนัก แต่ถ้ามีจำนวนมากควรเพิ่มจำนวนระบบไอโซไซม์ในการศึกษามากขึ้นหรือใช้ลักษณะอื่น ๆ มาช่วยในการตัดสินใจ

McMillin (1983) ได้กล่าวถึงความเป็นมาของงานทางด้านเอนไซม์ไว้ว่า ในช่วงต้นปี 1950 มีการศึกษาและพบว่าเอนไซม์มีลักษณะของรูปแบบโครงสร้างที่แตกต่างกัน ในปี 1955 Smithies ได้พัฒนาเทคนิคการแยกวิเคราะห์สารหรือโมเลกุลที่มีประจุ โดยให้ที่ในสนามไฟฟ้าระหว่างขั้วบวกและขั้วลบ (electrophoresis) โดยใช้แป้งเจลเป็นสารตัวกลาง ในปี 1956 Markert และ Moller ได้ให้คำจำกัดความของเอนไซม์ที่มีรูปแบบโครงสร้างโมเลกุลที่ต่างกันว่า isozyme และ Hunter and Markert (1957) ได้เรียกรูปแบบของแถบสีไอโซไซม์ที่ปรากฏ (isozyme pattern) ว่า ไซโมแกรม (zymogram)

ในระยะ 5 ทศวรรษมานี้ได้มีรายงานการใช้ไอโซไซม์ช่วยจำแนกพันธุ์ กลุ่มพันธุ์ กับพืชหลายชนิด เช่น กลุ่มไม้ผล กลุ่มพืชผัก รวมทั้งกลุ่มไม้ดอก ดังมีรายงานการศึกษาดังนี้

<u>กลุ่มไม้ผล</u>

Byrne and Littleton (1989) ได้ใช้ไอโซไซม์เป็นเครื่องมือในการตรวจสอบลูกผสม plumcot ที่ได้จากการผสมระหว่าง plum × apricot โดยวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ 6 ชนิด คือ malate dehydrogenase (MDH), phosphoglucomutase (PGM), phosphoglucoisomerase (PGI), phosphogluconate dehydrogenase (PGD), peroxidase (POX) และ leucine amino-peptidase (LAP) เมื่อใช้ชิ้นส่วนจากใบอ่อน พบว่า POX สามารถแสดงความแตกต่างของไอโซไซม์ที่ชัดเจน คือ ให้แถบสีทั้งหมด 2 แถบที่มาจาก plum 1 แถบสี และมาจาก apricot 1 แถบสี

กลุ่มไม้ดอก

กัญจนา และ พิมพ์ใจ (2540) ได้รายงานเกี่ยวกับ การวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ 7 ชนิด ได้แก่ esterase (EST), shikimate dehydrogenase (SKD), malic enzyme (ME), malate dehydrogenase (MDH) และ glutamate dehydrogenase (GLD) จากเนื้อเยื่อส่วนของ หัว รากสะสมอาหาร และ ดอก ของปทุมมา 2 พันธุ์ คือ พันธุ์กลีบริ้วประดับกว้าง และ พันธุ์กลีบริ้วประดับแคบ พบว่า เนื้อเยื่อของยอดให้รูปแบบไอโซไซม์ที่ชัด และ จำนวนแถบสี มากกว่าส่วนอื่นจากไอโซไซม์ชนิดเดียวกัน ในปทุมมาพันธุ์กลีบริ้วประดับกว้าง และพบว่าเอนไซม์ EST เพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่แสดงความแตกต่างของแถบสีที่ปรากฏในส่วนต่าง ๆ ของปทุมมาได้ ส่วนไอโซไซม์ชนิดอื่น ให้แถบสีที่เหมือนกัน แตกต่างกันเฉพาะความเข้มของแถบสี ซึ่งพบว่าเนื้อเยื่อของยอดให้แถบสีคมชัดที่สุด

ศิริลักษณ์ และ นิยะดา (2540) ได้รายงานการศึกษาการจำแนกสายพันธุ์เข็ม 12 ชนิด โดยใช้ตัวอย่างจากส่วนของ ดอก ใบอ่อน และ ใบแก่ ใช้เอนไซม์ 4 ชนิด คือ esterase (EST), peroxidase (POX), acid phosphatase (ACP) และ alcohol dehydrogenase (ADH) ใช้ extraction buffer 2 ชนิด คือ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และ ทริสบัฟเฟอร์ พบว่าระบบของ peroxidase ให้รูปแบบที่ชัดเจน และแยกความแตกต่างของเข็มสายพันธุ์ต่าง ๆ ได้ โดยมีจำนวนแถบสี 2-7 แถบ มีค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ อยู่ระหว่าง 0.61-0.81 จัดอยู่ในกลุ่มเคลื่อนที่เร็วอาจเนื่องมาจากมีน้ำหนักโมเลกุลน้อยหรือมีประจุสุทธิเป็นลบ ส่วนของดอกบานให้แถบสีที่คมชัดมากกว่าส่วนของใบอ่อนและใบแก่ อาจเป็นเพราะในส่วนของดอกมีปริมาณและกิจกรรมของ peroxidase ที่มากกว่าส่วนอื่น และ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.5) มีผลในการให้แถบสีที่คมชัดและครบถ้วนในเข็มทุกสายพันธุ์ ส่วนทริสบัฟเฟอร์มีสภาพ pH ที่เป็นเบสค่อนข้างสูง จึงไม่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์ของเข็ม

ประทุมพร (2542) ได้รายงานการศึกษาแบบแผนไอโซไซม์ในกล้วยไม้สกุลหวายชนิดช้างน้าวจาก 5 แหล่งในพื้นที่ จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดลำปางและประเทศพม่า ใช้ใบในการสกัดเอนไซม์ ใช้เอนไซม์ในการศึกษา 9 ชนิด คือ esterase (EST), shikimate dehydrogenase (SKD), leucine aminopeptidase (LAP), malate dehydrogenase (MDH), glutamate dehydrogenase (MDH), glutamate dehydrogenase (GLD), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH), superoxide dismutase (SOD), NAD-glucose dehydrogenase (HPD) และ malic enzyme (ME) พบว่า เอนไซม์แต่ละชนิดให้รูปแบบแถบสีไอโซไซม์และความถี่ของแถบสีที่แตกต่างกันไอโซไซม์แต่ละชนิด

สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ชนิดของช้างน้าวและความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมได้โดยเปรียบเทียบจากจำนวนแถบสีไอโซไซม์ และรูปแบบของแถบสีไอโซไซม์

รัติกาล (2543) ได้รายงานการแยกกลุ่มเอื้องแซะ (*Dendrobium scabrilingue* Lindl.) โดยการวิเคราะห์รูปแบบแถบสีไอโซไซม์ ใช้เนื้อเยื่อส่วนใบของเอื้องแซะจาก 4 แหล่ง คือ จากอ. แม่สะเรียง อ. ปางมะผ้า อ. เชียงดาว ดอยขุนตาล ร่วมกับ เอื้องแซะ และเอื้องเงินแดง ใช้เอนไซม์ 6 ชนิด คือ esterase (EST), malate dehydrogenase (MDH), glutamate oxaloacetate dehydrogenase (GOT), shikimate dehydrogenase (SKD), glucose-6-phosphate isomerase (GPI) และ leucine aminopeptidase (LAP) พบว่า EST GOT MDH และ SKD สามารถแสดงความแตกต่างของรูปแบบแถบสีไอโซไซม์ได้ ส่วน GPI และ LAP ไม่สามารถแสดงความแตกต่างได้เนื่องจากแสดงผลไม่ชัดเจนและมีบางตัวอย่างไม่ปรากฏแถบสี การนำเอนไซม์ EST GOT MDH และ SKD มาวิเคราะห์ร่วมกัน พบว่า สามารถจำแนกตัวอย่างทั้งหมดออกเป็น 6 กลุ่ม คือ เอื้องแซะดอยปุย 1 กลุ่ม เอื้องเงินแดง 1 กลุ่ม และประชากรเอื้องแซะ 4 กลุ่ม แบ่งตามแหล่งที่มา โดยภายในกลุ่มเดียวกันของเอื้องแซะสามารถแยกความแตกต่างของแต่ละอย่างออกจากกันได้

Kim and Byne (1996) ได้รายงานว่า การยืนยันการเป็นลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามชนิดกุหลาบ โดยใช้เอนไซม์ 3 ชนิด คือ acid phosphatase (ACP), malate dehydrogenase (MDH) และ phosphoglucoisomerase (PGI) กับสารสกัดจากชิ้นส่วนของใบ พบว่า การยืนยันการเป็นลูกผสมมีข้อจำกัดในกรณีที่ลูกผสมที่ได้นั้นมาจากพ่อหรือแม่ที่มีความซับซ้อนทางสายพันธุ์ หรือพ่อแม่ที่ไม่สามารถตรวจสอบที่มาของพันธุกรรมได้

Obara-Okeyo *et al.* (1998) ได้รายงานการจำแนกพันธุ์โดยการศึกษาความแตกต่างของรูปแบบแถบสีไอโซไซม์ของพืชสกุล *Cymbidium* spp. 12 ชนิด จากเนื้อเยื่อส่วนใบ เอนไซม์ที่ใช้ 8 ชนิด คือ aspartate aminotransferase (AAT), phosphoglucose isomerase (PGI), malate dehydrogenase (MDH), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH), alkaline phosphatase (AP), esterase (EST), leucine aminopeptidase (LAP) และ phosphoglocomutase (PGM) พบว่าเอนไซม์ทั้ง 8 ชนิด สามารถแสดงความแตกต่างของรูปแบบแถบสีไอโซไซม์ของกล้วยไม้สกุล *Cymbidium* spp. ทั้ง 12 ชนิด โดย EST แสดงจำนวนแถบสีมากที่สุด

Apavatjrut *et al.* (1999) รายงานว่า ในการจำแนกชนิดของปทุมมาโดยการศึกษารูปแบบไอโซไซม์จากชิ้นส่วนของใบอ่อน โดยวิเคราะห์ไอโซไซม์ทั้งหมด 21 ชนิด พบว่าไอโซไซม์ที่สามารถแสดงความแตกต่างและจำแนกเป็นกลุ่มชนิดของปทุมมาได้มีเพียง 8 ชนิดเท่านั้น คือ phosphoglucomutase (PGM), glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), diaphorase (DIA), aconitate hydratase (ACO), esterase (EST), shikimate dehydrogenase (SKD), leucine amino-peptidase (LAP) และ isocitate dehydrogenase (IDH)

Hannan และ Orick (2000) ได้รายงานการจำแนกพืช 2 ชนิด *Iris cristata* ซึ่งในธรรมชาติเจริญอยู่ได้ทั่วไปในแถบตะวันออกเฉียงเหนือของอเมริกาและ *Iris lacusyris* ที่เจริญอยู่เฉพาะแถบชายฝั่งทะเลสาบเท่านั้น โดยการศึกษาความแตกต่างของรูปแบบไอโซไซม์ พบว่า *Iris cristata* มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงกว่า *Iris lacusyris* โดย *Iris cristata* ให้จำนวนแถบสี 15 แถบสี มีความแตกต่างของตำแหน่งแถบสี 15 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *Iris lacusyris* ให้จำนวนแถบสี 18 แถบสี แต่ไม่มีความแตกต่างของตำแหน่งแถบสีเลย

พืชกลุ่มอื่น ๆ

ป่าน (2539) ได้รายงานการศึกษาความแตกต่างระหว่างพันธุ์ข้าวนาดำและความสัมพันธ์กับข้าว japonica ของชุมชนกะเหรี่ยง โดยสกัดเอนไซม์จากเนื้อเยื่อส่วนใบ ใช้เอนไซม์ 6 ชนิด คือ malate dehydrogenase (MDH), esterase (EST), peroxidase (POX), superoxide dismutase (SOD), acid phosphatase (ACP) และ aldehyde oxidase (AOX) พบว่า เอนไซม์ MDH EST POX และ SOD ให้รูปแบบแถบสีไอโซไซม์ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน และเอนไซม์ EST สามารถจำแนกพันธุ์ได้ถึง 13 กลุ่ม เนื่องจากมีลักษณะของ polymorphic ที่มีจำนวนแถบสีมาก ในขณะที่เอนไซม์ POX SOD และ MDH มีจำนวนตำแหน่งที่เกิดแถบสีได้น้อยกว่า

ปณิตา (2540) ได้รายงานการศึกษาความแตกต่างทางไอโซไซม์และการแสดงออกทางผลผลิตของข้าวไร่พันธุ์พื้นเมือง 70 สายพันธุ์ โดยสกัดเอนไซม์จากต้นกล้าอายุ 7 วัน ที่ตัดส่วนรากทิ้ง ใช้เอนไซม์ 5 ชนิด คือ esterase (EST), malate dehydrogenase (MDH), glutamate oxaloacetate dehydrogenase (GOT), leucine aminopeptidase (LAP) และ malate dehydrogenase (ME) พบว่าเอนไซม์ ทั้ง 5 ชนิด แสดงความแตกต่างของรูปแบบไอโซไซม์ได้ ทำให้สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ได้ แต่ความชัดของแถบสีจากการย้อมของแต่ละเอนไซม์แตกต่างกัน โดยเอนไซม์ ME แสดงผลการย้อมสีได้ชัดเจนที่สุด คือ มีสีน้ำเงินเข้ม และมีแถบสีมากที่สุด ส่วนเอนไซม์ MDH

แสดงสีน้ำเงินแต่แสดงแถบสีน้อยที่สุด การใช้เอนไซม์ 5 ชนิด ก็เพียงพอต่อการจำแนกข้าว 70 ตัวอย่าง

นงนุช (2542) ได้รายงานการศึกษาความแปรปรวนทางไอโซไซม์ สัณฐานวิทยา ผลผลิต และคุณภาพการหุงต้มของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ โดยรวบรวมตัวอย่างข้าวขาวดอกมะลิจากหลายจังหวัดรวม 76 ตัวอย่าง ใช้เอนไซม์ 6 ชนิด คือ esterase (EST), malate dehydrogenase (MDH), glutamate oxaloacetate dehydrogenase (GOT), malic enzyme (ME), isocitrate dehydrogenase (IDH) และ leucine aminopeptidase (LAP) พบว่า เอนไซม์ทั้ง 5 ชนิดมีแถบสีที่ชัดเจนและสามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างข้าวขาวดอกมะลิออกเป็น 55 กลุ่มพันธุ์ รูปแบบแถบสีของไอโซไซม์ที่แตกต่างกันเป็นผลมาจากความแปรปรวนทางพันธุกรรม

Corts and Martinez (2000) รายงานเกี่ยวกับ ยีนที่ควบคุมการทำงานของเอนไซม์ PGM และ IDHใน *Medicago sativa* spp. (หญ้า alfafa) พบว่า PGM มี 2 รูปแบบ มียีนควบคุมอยู่ 2 ตำแหน่ง คือ *Pgm -1* และ *Pgm-2* ส่วน IDH มีเพียง 1 รูปแบบ และถูกควบคุมโดยยีน 1 ตำแหน่ง ส่วนความแตกต่างของสายพันธุ์เป็นไปตามอัลลีลและตำแหน่งของยีน

Dansi *et al.* (2000) ได้รายงานการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ เพื่อจำแนกสายพันธุ์ของ (หญ้า) Guinea yam 462 สายพันธุ์ที่รวบรวมจากหลายแห่งใน Benin โดยใช้เอนไซม์ 7 ชนิด คือ aspatate aminotransferase (AAT), esterase (EST), glucose-6-phosphate dehydrogenase (GPD), isocitrate dehydrogenase (IDH), phosphoglucomutase (PGM), phosphoglucoisomerase (PGI) [glucose-6-phosphate isomerase] และ shikimate dehydrogenase (SKD) พบว่าเอนไซม์ทั้ง 7 แสดงรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกันถึง 62 รูปแบบ และแสดงความแตกต่างได้ 227 สายพันธุ์ เมื่อนำมาวิเคราะห์โดย Cluster analysis สามารถจำแนก Guinea yam ออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ *Dioscorea cayenensis* และ *Dioscorea rotundata*

Garkava *et al.* (2000) ได้รายงานความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Chaenomeles* 4 ชนิด คือ และลูกผสมของ *Chaenomeles* โดยศึกษาจากความแตกต่างกันของรูปแบบไอโซไซม์ 6 ชนิด ได้แก่พบว่า มีความแตกต่างกันของรูปแบบไอโซไซม์ถึง 108 รูปแบบ เมื่อนำมาวิเคราะห์โดย cluster analysis เพื่อแบ่งกลุ่มของ *Chaenomeles* ทั้ง 4 ชนิด ตามความใกล้ชิดทางพันธุกรรม พบว่า *C. japonica* และ *C. cathayensis* มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมน้อยสุด ส่วน *C. speciosa* และลูก

ผสมของ *C. japonica* และ *C. cathayensis* มีความสัมพันธ์อยู่ระหว่าง *C. japonica* และ *C. cathayensis*

Isshiki *et al.* (2000) ได้รายงานการนำรูปแบบไอโซไซม์มาใช้ในการยืนยันการเป็นลูกผสมที่ได้จากการผสมระหว่าง scarlet eggplant (*Solanum integrifolium*) × eggplant (*Solanum melongena*) โดยศึกษาจากรูปแบบไอโซไซม์ 4 ชนิด คือ phosphogluconate dehydrogenase (PGD), isocitate dehydrogenase (IDH), phosphoglucomutase (PGM) และ shikimate dehydrogenase (SKD) จากเมล็ดที่งอกแล้ว พบว่า รูปแบบไอโซไซม์ที่มี 1 แถบสี มี 2 รูปแบบ และรูปแบบไอโซไซม์ที่มี 3 แถบสีมี 3 รูปแบบ และจำนวนแถบสีของแต่ละรูปแบบไอโซไซม์มีความสัมพันธ์กับตำแหน่งของยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์นั้น

Nanthakumar *et al.* (2000) ได้รายงานการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Sesamum* spp. 7 ชนิด โดยศึกษาความแตกต่างของรูปแบบไอโซไซม์ พบว่า จากรูปแบบไอโซไซม์ที่ได้สามารถนำมาจำแนกพืชสกุล *Sesamum* spp. (งา) ทั้ง 7 ชนิด ออกได้เป็น 4 กลุ่ม นอกจากนั้นยังพบว่าจากความสัมพันธ์หรือความใกล้ชิดทางพันธุกรรมทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ที่ใช้เป็นข้อมูลความเป็นไปได้ในการผสมข้ามชนิดเพื่อให้ได้ลูกผสมชนิดใหม่

Ramos *et al.* (2000) ได้รายงานการจำแนกพืชในสกุล *Saccobolus* (หญ้า) 10 ชนิด จากความแตกต่างของรูปแบบไอโซไซม์พบว่า esterase (EST) ให้รูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกัน 45 รูปแบบและสามารถแสดงความแตกต่างของพืชชนิดเดียวแต่เจริญเติบโตอยู่ในสภาพภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกันได้ จากรูปแบบแถบสีไอโซไซม์ที่แตกต่างกันสามารถแบ่งพืชทั้ง 10 ชนิดออกเป็น 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีความใกล้เคียงกันทั้งลักษณะสัณฐานวิทยา และสรีรวิทยา

Sen *et al.* (2000) ได้รายงานการจำแนกพืชในสกุล *Camellia* spp. (ชา) 3 ชนิด ทั้งหมด 7 สายต้น (clone) โดยศึกษาจากความแตกต่างของรูปแบบไอโซไซม์ ใช้ไอโซไซม์ 3 ชนิด คือ tetrazolium, oxidase aspartate aminotransferase และ alpha-amylase พบว่าเอนไซม์ tetrazolium oxidase ให้แถบสีที่คมชัดและแสดงความแตกต่างของแถบสีไอโซไซม์ได้มากที่สุด จากรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกันสามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างชนิดและสายต้นของพืชในสกุล *Camellia* spp. ได้

Stuber and Khanna (2000) ได้รายงานการนำเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสโดยศึกษารูปแบบไอโซไซม์ ใช้ในการจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรม และในการปรับปรุงพันธุ์พืชสามารถนำความแตกต่างของรูปแบบไอโซไซม์มาใช้ในการตรวจสอบการเป็นลูกผสมได้

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University