

## บทที่ 2

### ตรวจเอกสาร

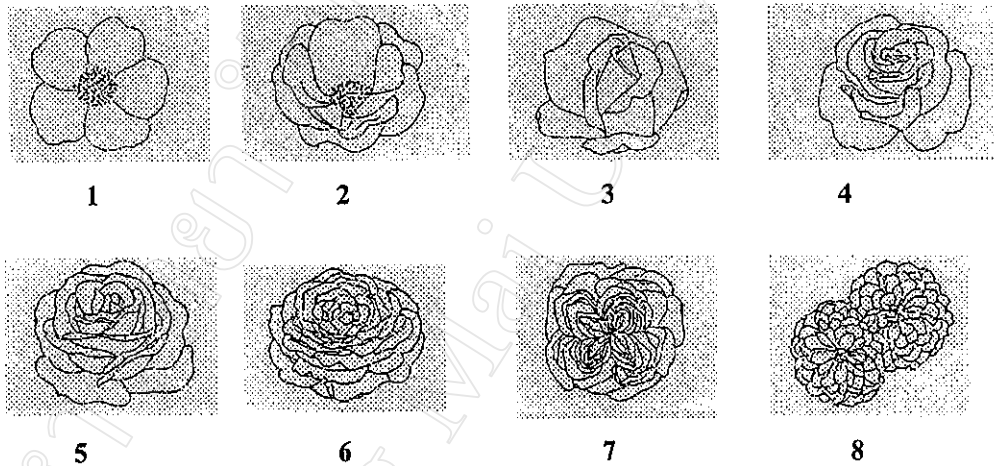
กุหลาบอยู่ในตระกูล Rosaceae สกุล *Rosa* การจำแนกชนิดกุหลาบนั้นบางครั้งทำได้ยาก เนื่องจากเกิดการผสมข้ามระหว่างชนิด และมีจำนวนกุหลาบที่ใช้ปลูกกันเป็นจำนวนมากทั้งจำนวนลูกผสมที่ผสมขึ้นมา (รัญญะและสุธานี, 2538 ; อติสร, 2540) (สกุลนี้มีชนิดต่างๆมากกว่า 150 ชนิดประมาณ 95 ชนิดมีถิ่นกำเนิดในเอเชีย อีก 18 ชนิดมีถิ่นกำเนิดในสหรัฐอเมริกา ที่เหลือมีถิ่นกำเนิดในยุโรปและตะวันตกเฉียงเหนือของทวีปอเมริกา กุหลาบมีการกระจายพันธุ์อยู่มากทางซีกโลกเหนือตั้งแต่อลาสก้า ไชบีเรีย เม็กซิโก อินเดียตอนใต้ และเกาะฟิลิปปินส์) การใช้ประโยชน์ของกุหลาบมีตั้งแต่การใช้กลีบดอกทำนุหงาและน้ำหอม เช่นกลีบของ *Rosa gallica*, *Rosa damascena* (กุหลาบมอญ) ฝักของ *Rosa moschata*, *Rosa canina*, *Rosa rugosa*, *Rosa villosa* ใช้ทำแยมหรือเยลลี่ซึ่งเป็นแหล่งวิตามินซี นอกจากนี้ยังนำมาปลูกประดับเพื่อตกแต่งสวนหรือตัดดอกเป็นการค้า (รัญญะและสุธานี, 2538)

#### 2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกุหลาบ

กุหลาบ (*Rosa* spp.) เป็นไม้พุ่มมีขนาดความสูงของต้นตั้งแต่ 10-20 เซนติเมตรจนถึงเป็นเมตร มีทั้งที่เป็นไม้เลื้อยและลำต้นตั้งตรง ลำต้นและกิ่งมีหนาม ใบออกสลับกันเป็นใบแบบขนนก (pinnate) ขอบใบหยัก ลักษณะดอกเป็นดอกเดี่ยวหรือมากกว่า 100 ดอกใน 1 ช่อ (รัญญะและสุธานี, 2538) กลีบเลี้ยงมีสีเขียวติดกับฐานรองดอกปกติมี 5 กลีบ กลีบดอกมีสีต่างๆตามสีของดอก จำนวนกลีบมากน้อยแล้วแต่ว่าเป็นพันธุ์กลีบดอกชั้นเดียว (5 กลีบ) มีกลีบดอกซ้อน (20 กลีบหรือมากกว่า) และกลีบแบบกึ่งซ้อน (5-20 กลีบ) Moody and Harkness, (1992) ได้จำแนกลักษณะดอก แบ่งได้ 8 ลักษณะ ดังแสดงในภาพที่ 1 ดังนี้

1. Flat ลักษณะดอกมีกลีบแผ่แบนออก กลีบดอกมีชั้นเดียว 5 กลีบ เป็นลักษณะของกุหลาบพันธุ์ป่า
2. Cupped ลักษณะดอกมีส่วนปลายกลีบโค้งออกด้านนอกทำให้เห็นส่วนเกสรตัวผู้ชัดเจน กลีบดอกมีชั้นเดียว กึ่งซ้อนและซ้อน
3. Pointed ลักษณะดอกทรงสูง คล้ายเจกัน ตรงกลางป่อง กลีบดอกกึ่งซ้อนจนถึงดอกซ้อนเป็นกุหลาบประเภท Hybrid Tea ซึ่งเป็นลักษณะพันธุ์ตัดดอกส่วนใหญ่
4. Urn-shape ลักษณะดอกทรงสูงเช่นเดียวกับแบบ Pointed แต่ปลายกลีบดอกโค้งแผ่ออก กลีบดอกกึ่งซ้อนจนถึงดอกซ้อน

5. Rounded ลักษณะดอกมีกลีบดอกเรียงซ้อนกันเป็นทรงกลม กลีบดอกซ้อนจนถึง  
ซ้อนมาก
6. Rosette ลักษณะดอกทรงค่อนข้างแบน กลีบดอกซ้อนจนถึงซ้อนมาก
7. Quartered ลักษณะดอกทรงค่อนข้างแบน กลีบดอกด้านในพับเรียงซ้อนกันเป็นกลุ่ม  
4 ส่วน กลีบดอกซ้อนจนถึงซ้อนมาก
8. Pompon ลักษณะดอกเล็ก ทรงกลม ขนาดกลีบดอกเท่ากันเรียงซ้อนกัน กลีบดอก  
ซ้อนจนถึงซ้อนมาก



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของดอกกุหลาบ

- |            |            |              |                |
|------------|------------|--------------|----------------|
| 1. Flat    | 2. Cupped  | 3. Pointed   | 4. Urn- shaped |
| 5. Rounded | 6. Rosette | 7. Quartered | 8. Pompon      |

เกสรตัวผู้ประกอบด้วยก้านเกสรตัวผู้และอับละอองเกสรซึ่งเกิดรอบๆเกสรตัวเมีย เมื่อ  
ดอกบานจะเห็นละอองเกสรเป็นสีเหลืองจำนวนมาก เกสรตัวเมียประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วน  
คือ ปลายยอดเกสรตัวเมีย ก้านชูเกสรตัวเมีย และรังไข่ เกสรตัวเมียอยู่รวมกันเป็นกระจุกกลาง  
ดอก ปกติอยู่ต่ำกว่าเกสรตัวผู้เสมอ ฝัก (hip) เป็นส่วนที่เจริญมาจากรังไข่ทำหน้าที่ห่อหุ้มไข่ที่ได้  
รับการผสมแล้ว เมื่อติดเมล็ดมีขนาดพอโตเมื่อฝักแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหรือส้มหรือน้ำตาล  
ในแต่ละฝักมีเมล็ดตั้งแต่ 2 จนถึงมากกว่า 10 เมล็ด (ชัยชนะและสุธานี, 2538)

## 2.2 การปรับปรุงพันธุ์กุหลาบ

การปรับปรุงพันธุ์โดยการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์และการผสมพันธุ์ เป็นโอกาสที่พืชแต่ละชนิดเกิดลักษณะใหม่ๆ ได้ตั้งแต่หนึ่งลักษณะหรือมากกว่า การกลายพันธุ์ในพืชชนิดต่างๆ มีทั้งที่เกิดได้เองตามธรรมชาติ เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของยีนได้ตั้งแต่ 1 ยีน ผลที่ได้จะทำให้เกิดลักษณะต่างๆ เช่น ดอกซ้อน ลักษณะแคะแกระนและมีความหลากหลายของสีดอก สามารถชักนำให้เกิดได้โดยใช้รังสี เช่น รังสีเอ็กซ์หรือรังสีแกมมา ในปัจจุบันการผสมพันธุ์และการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีดอก, รูปร่างดอก และลักษณะอื่นๆ ปัจจุบันมีพันธุ์กุหลาบหลายพันธุ์ได้มาจากการฉายรังสี (Datta, 1998)

การผสมพันธุ์กุหลาบครั้งแรกเกิดขึ้นที่ยุโรปในศตวรรษที่ 18 ทำให้เกิดการพัฒนากุหลาบพันธุ์ใหม่ๆ โดยนำกุหลาบจากซีกโลกตะวันออกคือ *Rosa chinensis* จากจีน และ *Rosa gigantea* จากพม่า ที่ออกดอกได้ตลอดทั้งปีผสมกับกุหลาบของยุโรปได้แก่ *Rosa damascena* ที่มีกลิ่นหอมและออกดอกมากกว่าปีละครั้ง *Rosa gallica* (กุหลาบฝรั่งเศส) ที่มีสีแดงอ่อนไปจนถึงสีแดงเข้ม สีชมพู สีขาว และลายต่าง กุหลาบชนิดนี้ทนอุณหภูมิต่ำได้ดีมาก เจริญเติบโตแข็งแรง ทั้งมีแนวโน้มที่จะกลายพันธุ์หรือผสมกับกุหลาบพันธุ์อื่นๆ ได้ง่าย แต่ออกดอกปีละ 1 ครั้ง ได้พันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะเด่น ได้แก่ พันธุ์ที่ใช้สำหรับปลูกประดับเช่น Bourbon, Portland, Noisette, Hybrid Perpetual และพันธุ์ตัดดอก เช่น Tea Rose ซึ่งเป็นต้นพันธุ์ของกุหลาบในยุคปัจจุบัน (รัชญะและสุรานันท์, 2538 ; Swarup, 1986 )

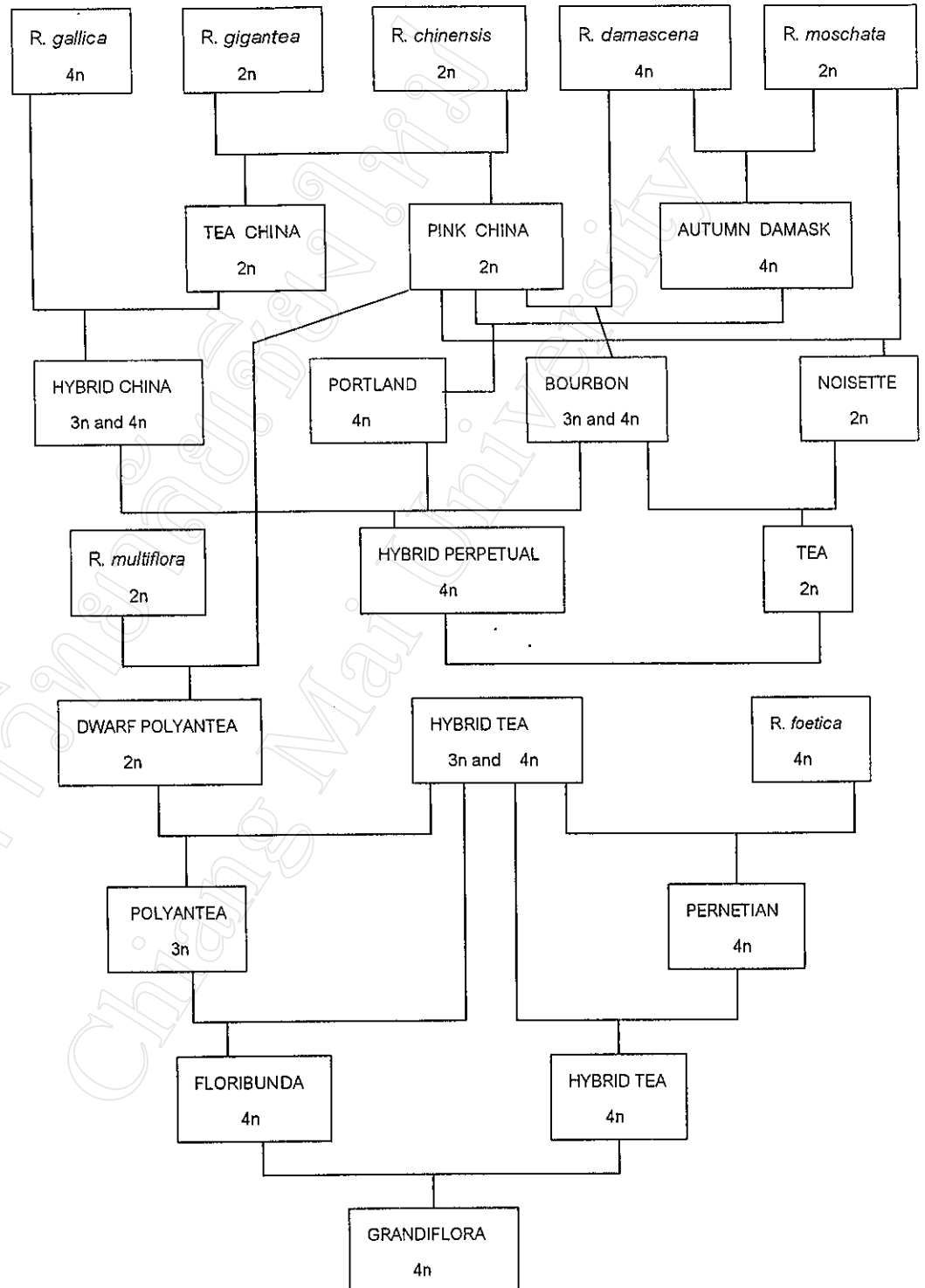
### 2.2.1 การผสมพันธุ์กุหลาบ

สกุล *Rosa* มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 7 มีขนาดโครโมโซมเล็กกว่า 3 ไมโครเมตร พบทั้งชนิดที่เป็น dipliod และ polypliod ที่มีตั้งแต่ tripliod ไปจนถึง octapliod (Yan and Junyu, 1995) พันธุ์กุหลาบที่เป็นการค้าในปัจจุบันเกือบทั้งหมดเป็น tetrapliod คือ  $2n = 4x = 28$  มี 2-3 ชนิดเท่านั้นที่เป็น dipliod ตลอดระยะเวลาของการผสมพันธุ์กุหลาบจึงเป็นการผสมระหว่างชนิดที่เป็น dipliod และ tetrapliod (Kim and Byrne, 1996) Stewart (1969) อ้างโดย De Vries and Dubois (1995) ได้แสดงแผนผังระดับของโครโมโซมกุหลาบที่มีการผสม (ภาพที่ 2) การผสมระหว่างลูกผสม 24 พันธุ์ จำนวน 69 คู่ ที่มีจำนวนโครโมโซมต่างกัน ตั้งแต่  $2n = 14, 28, 35$  และ 42 พบว่า คู่ผสมของ *R. arvensis* และ *R. rugosa* ซึ่งเป็น dipliod ให้ลูกผสมที่มีลักษณะของต้นพ้อมากกว่าต้นแม่ ส่วนการผสมระหว่าง  $4n \times 4n$  ผสมกันได้ดีแต่ติดเมล็ดน้อย (Jicinska, 1982)

Ueda *et al.* (1995) พบว่ากุหลาบ *R. rugosa* ที่ผสมตัวเองไม่ติดเมล็ดเป็นเพราะละอองเกสร

ไม่สามารถงอกถึงฐานของก้านเกสรตัวเมีย ส่วนการผสมข้ามเกิดการติดเมล็ด 62.4 เปอร์เซ็นต์ เพราะละอองเกสรสามารถงอกถึงฐานของก้านชูเกสรตัวเมียได้แสดงถึงการผสมไม่ติดแบบ gametophytic system เช่นเดียวกับพืชชนิดอื่นๆ ในสกุล Rosaceae การผสมข้ามและการผสมกลับ (backcross) ระหว่างกุหลาบในกลุ่ม wild Chinese rose กับลูกผสมอื่นๆ ซึ่งส่วนใหญ่เป็น triploid และ tetraploid จำนวน 227 คู่ผสม จำนวนดอกผสม 6,001 ดอก พบว่าได้เมล็ด 2,149 เมล็ด แต่เพาะงอกเป็นต้นได้เพียง 313 ต้นเท่านั้น และพบว่าการผสมเกสรซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้งใน 24 ชั่วโมง จะช่วยให้การติดเมล็ดดีขึ้น (Yan and Junyu, 1995) De Vries and Dubois (1987) รายงานว่าการผสมพันธุ์กุหลาบ Hybrid tea พันธุ์ Sonia ที่ใช้ละอองเกสร พันธุ์ Ilona ผสมซ้ำ 1 - 5 ครั้งในรอบ 24 ชั่วโมง จะเพิ่มการติดผล จาก 12 เป็น 23 ผล/จำนวน 200 ดอก และ เมื่อผสมซ้ำ 3 และ 5 ครั้งทำให้น้ำหนักเมล็ด และจำนวนเมล็ดเพิ่มขึ้นแต่การผสมซ้ำ 6 - 7 ครั้งไม่ช่วยให้การติดผลเพิ่มขึ้น Voyiatzi (1995) ได้ศึกษาการงอกของละอองเกสรของกุหลาบ 5 พันธุ์ โดยวิธีการเลี้ยงในอาหารเพื่อหาว่าพันธุ์ใดเหมาะสมสำหรับใช้เป็นแหล่งของละอองเกสร พบว่าอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสอย่างเดียวนั้นละอองเกสรจะงอกน้อยมาก การเพิ่มกรดบอริกทำให้การงอกเพิ่มขึ้น อาหารที่ดีควรประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 15 - 20 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ กรดบอริก 50 - 100 ส่วนต่อล้าน พบว่าละอองเกสร จะงอกได้ดีที่อุณหภูมิ 20 - 30 องศาเซลเซียส

การศึกษาถึงผลอุณหภูมิ 5 ระดับตั้งแต่ 10 - 26 องศาเซลเซียส ที่มีผลต่อการผสมติด การติดเมล็ด และการงอกของลูกผสมระหว่างพันธุ์ Sonia และ Hadley พบว่าถ้าต้นแม่ Sonia ปลูกในอุณหภูมิสูงขึ้น จะทำให้มีการผสมติด และมีจำนวนเมล็ดมากขึ้น โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการแก่ของผลคือ 18 องศาเซลเซียส สำหรับการงอกของเมล็ดคือ 22 องศาเซลเซียส (De Vries and Dubois, 1987) รัชญะและสุรานันท์ (2538) กล่าวว่าหลังจากทำการผสมเกสรกุหลาบหรือที่เกิดการผสมตามธรรมชาติกุหลาบจะติดผล โดยเมล็ดจะอยู่ในผลเรียกว่า Hip เมล็ดในผลจะสุกเมื่อผลเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีเหลืองหรือแดง เมล็ดกุหลาบจะไม่สามารถงอกได้ทันทีที่อุณหภูมิห้องปกติ แต่ต้องผ่านอุณหภูมิต่ำระยะเวลาหนึ่งถึงจะงอก Jim *et al.* (1995) ได้ศึกษาการพักตัวของเมล็ดกุหลาบพันธุ์ Crimson Glory โดยวิธีการนำคัพภะและเมล็ดที่มีเปลือกหุ้มไปเลี้ยงในอาหารที่อุณหภูมิ 23 - 27 องศาเซลเซียส พบว่าการเลี้ยงคัพภะจะงอก 100 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 8 วัน ส่วนเมล็ดที่มีเปลือกหุ้มจะไม่งอกแม้เวลาผ่านไป 22 วันการที่เมล็ดกุหลาบงอกได้ช้าและพักตัวนั้น พบสาเหตุจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (ABA) ที่มีอยู่ในเปลือก และยังเกิดจากเปลือกหุ้มเมล็ดเหนียวและหนามาก การแช่เมล็ดในกรดไฮโดรคลอริกเป็นเวลา 2 ชั่วโมงทำให้เปลือกหุ้มเมล็ดอ่อนนุ่มโดยไม่เป็นอันตรายต่อคัพภะ



ภาพที่ 2 แสดงระดับโครโมโซมของกุหลาบ

## 2.2.2 การกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์

การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์ ได้รับการยอมรับและมีความจำเป็นมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อไม่อาจหาลักษณะที่ต้องการจากธรรมชาติได้เร็วพอ ลักษณะใหม่ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ที่เกิดจากการกลายพันธุ์มีทั้งลักษณะทรงต้น การต้านทานโรคและแมลง สีดอก และอื่นๆ ลักษณะเหล่านี้อาจใช้ประโยชน์เพื่อเป็นพันธุ์ใหม่ได้โดยตรงหรือผสมกับพันธุ์อื่นๆ เพื่อพัฒนาพันธุ์ใหม่ต่อไป (ไพศาลและอารีย์, 2540) การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติหรือจากการฉายรังสี มีผลทำให้สีดอกเปลี่ยนแปลง ซึ่งวิธีฉายรังสีได้รับความนิยมจากนักปรับปรุงพันธุ์เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็ว และได้พันธุ์ใหม่ที่เป็นการค้ามากมายโดยมีสีที่ต่างไปจากพันธุ์เดิม Arnold *et al.* (1998) กล่าวว่าโดยทั่วไปพันธุ์กุหลาบจำนวน 20 เปอร์เซนต์ มาจากการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ และอีก 15 เปอร์เซนต์ มาจากการฉายรังสี การฉายรังสีแกมมาปริมาณ 50, 100 และ 200 Gy กับกุหลาบหนู (miniature) พันธุ์ Potluck, Blue Blood, Dark Red Mountie และ Mountie ซึ่งมีสีแดง พบว่าทุกพันธุ์ให้จำนวนดอกลดลง และได้สีที่เปลี่ยนไปจากเดิมคือส้ม ม่วง ขาว แต่พันธุ์ Mountie ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสี ปริมาณรังสีที่มากขึ้นทำให้จำนวนกลีบดอกลดลง การฉายรังสีแกมมาปริมาณ 3, 4 และ 5 Krad กับพันธุ์ Junior Miss ที่มีสีชมพูแล้วนำตาไปติดตามต้นตอ *Rosa indica* พบว่าปริมาณรังสี 3 Krad ไม่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของสีเกิดขึ้นในปีแรก แต่พบการกลายพันธุ์เป็นสีขาวในปีที่ 2 หลังจากที่มีการตัดแต่งกิ่งแล้วเมื่อนำไปขยายพันธุ์โดยวิธีติดตาพบว่าดอกมีเส้นผ่าศูนย์กลางและขนาดกลีบดอกลดลงแต่จำนวนกลีบดอกเพิ่มขึ้น (Datta, 1982)

การฉายรังสีแกมมาให้กับกุหลาบพันธุ์ Contempo ที่มีสีส้มที่โคนกลีบสีเหลือง โดยใช้ปริมาณรังสี 3, 4, และ 5 Krad แล้วนำตาไปติดบนต้นตอพันธุ์ *Rosa indica* ได้สีที่เปลี่ยนไปจากเดิม 3 สี คือ เหลือง ชมพู และส้ม (Datta and Dubuis, 1983) Lata (1981) พบว่าการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 3, 4, และ 5 Krad กับกุหลาบประเภท Hybrid Tea และ Floribunda ได้สีที่เปลี่ยนจากเดิม 5 สี การอยู่รอด ( $LD_{50}$ ) ของสีขาวและสีม่วงมีน้อยกว่า สีเหลือง สีแดง และสีชมพู ส่วนการแตกกิ่ง ความยาวกิ่ง จำนวนดอก กลีบดอก และความมีชีวิตของละอองเกสรตัวผู้ ลดลง การใช้รังสีไอซ์ปริมาณ 25 และ 60 Gy กับกุหลาบพันธุ์ Ilseta ในระยะต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง พบว่าการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเป็นการกลายพันธุ์เกี่ยวกับ สี ขนาดดอกและจำนวนกลีบดอก 75 เปอร์เซนต์ ด้านการเจริญเติบโต 14 เปอร์เซนต์ ปริมาณรังสี 60 Gy จะชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์จำนวนมากและการกลายพันธุ์จะเพิ่มตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น (Walther and Sauer, 1987) การฉายรังสีแกมมาปริมาณ 2, 4, 6 และ 8 Krad กับกิ่งตัดชำกุหลาบพันธุ์

Gruss an Bullin, Super Star และ John Strong พบว่าปริมาณรังสี 6 Krad และการกลายพันธุ์ของสีดอกจะแสดงให้เห็นหลังจากฉายรังสีแล้ว 6 เดือน (Guo, 1984) การกลายพันธุ์ตามธรรมชาติที่เกิดขึ้นกับดากุหลาบ dwarf polyantha ทำให้ความยาวกิ่ง พื้นที่ใบ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางดอกและจำนวนดอกต่อต้น เพิ่มขึ้น เมื่อนำตามาดิบบนต้นตอ *Rosa multiflora* สามารถติดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ลักษณะกลายพันธุ์ยังคงอยู่และละอองเกสรไม่เป็นหมัน สามารถติดเมล็ดมีการพัฒนาของผล ได้ต้นกลายพันธุ์ที่มี epidermal cell ขยายใหญ่และพื้นที่ใบเพิ่มขึ้น 2 เท่าแสดงให้เห็นถึงการเพิ่มจำนวนโครโมโซม (Murogesen *et al.*, 1997) การฉายรังสีแกมมาในปริมาณ 500 - 1000 Gy กับละอองเกสรตัวผู้ ของ *R. hybrida* ก่อนนำไปถ่ายละอองเกสรทำให้ประสิทธิภาพการออกของละอองเกสรตัวผู้ลดลง และปริมาณรังสีที่สูงขึ้นทำให้การติดเมล็ดลดลง (Meynet *et al.*, 1997)

### 2.3 สภาพแวดล้อมและวิธีการปลูกกุหลาบ

ความเข้มแสงมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการออกดอกของกุหลาบโดยเฉพาะในฤดูหนาวที่มีความเข้มแสงต่ำในเวลากลางวันทำให้ได้ผลผลิตต่ำในประเทศเขตหนาว เนื่องจากต้นชะงักการเจริญเติบโต และไม่เกิดตาดอก (Zieslin and Mor, 1990) การให้ปริมาณแสง 12 ชั่วโมง/วันในฤดูหนาวซึ่งมีอุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส กับกุหลาบพันธุ์ Dallis ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 18 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าต้นที่ไม่ได้รับแสง โดยต้นอายุ 2 และ 4 ปีให้จำนวนดอก 2.59 / ต้น และ 4.55 / ต้น ต่อปี ตามลำดับ (Farina and Veruggio, 1995) การรักษาระดับอุณหภูมิในเวลากลางคืนในช่วงฤดูหนาวไว้ตั้งแต่ 14 องศาเซลเซียส จนถึง 18 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิในเวลากลางวัน 20 องศาเซลเซียส ให้แก่กุหลาบพันธุ์ Sonia และ Ilona ทำให้ความยาวกิ่งเพิ่มขึ้น และให้จำนวนดอก 5.9-12.7 / ต้นต่อปี (Berg and Van, 1982)

#### 2.3.1 วิธีการปลูก

การปฏิบัติต่อต้นเพื่อรักษาทรงต้นของกุหลาบให้สะดวกต่อการเก็บเกี่ยวและเพื่อให้เกิดผลดีต่อปริมาณและคุณภาพของดอกผู้ปลูกใช้วิธีการหลายวิธีร่วมกัน ได้แก่การตัดดอกบางส่วน การโน้มกิ่ง และการหักกิ่ง มีหลายปัจจัยที่ได้รับการพัฒนาเพื่อไ้ระบบการผลิตและผลผลิตมีคุณภาพดีขึ้น การผลิตกุหลาบตัดดอกเพื่อให้ได้คุณภาพจะต้องปรับปรุงวิธีปลูก การใช้วิธีโน้มกิ่งเพื่อให้เกิดการแตกกิ่งที่เรียกว่า Arching Cultivation Technique (ACT) เป็นเทคนิคที่ใช้กับการปลูกบนชั้นที่ยกขึ้นเหนือดิน หลังจากปลูกแล้วต้นที่แตกออกมาใหม่ทุกๆกิ่งจะถูกโน้มลงเป็นระยะเวลานึงเพื่อรอให้กิ่งจากโคนต้น (basal shoot) แตกออกมา และเฉพาะกิ่งที่แตกจากโคนต้นเท่า

นั้นจะถูกตัดเป็นไม้ตัดดอก ถึงแม้ว่าผลผลิตจะน้อยกว่าวิธีการเด็ดยอดก็ตาม แต่น้ำหนักและความยาวของก้านดอกจะมาก (อดิศร, 2540) Ohkawa (1999) รายงานว่าการปลูกกุหลาบตัดดอกในวัสดุปลูกที่เป็น rockwool ร่วมกับการ โน้มกิ่งลง กิ่งแรกที่ได้จะเกิดจากตาส่วน โคน (basal shoot) เป็นกิ่งที่ยาวและแข็งแรง ได้ดอกที่มีคุณภาพ การเปรียบเทียบวิธี โน้มกิ่งและตัดแต่งกิ่งกับกุหลาบพันธุ์ Mercedes และ Frisco พบว่าวิธี โน้มกิ่ง ทำให้ทั้ง 2 พันธุ์มีผลผลิตและคุณภาพดอกเพิ่มขึ้น และมีจำนวนกิ่งที่ไม่เกิดตาดอกน้อยกว่าวิธีตัดแต่งกิ่ง การ โน้มกิ่งหรือตัดแต่งกิ่งที่ไม่เกิดตาดอกออกไม่ มีผลกับพันธุ์ Frisco แต่มีผลกับพันธุ์ Mercedes ทำให้ก้านดอกยาวขึ้น ได้คุณภาพตามที่ตลาด ต้องการ (Sarkka and Rita, 1999) การปลูกโดยใช้กิ่งชำจากกิ่งที่บ้านดอกแล้วเปรียบเทียบกับกิ่งที่ไม่เกิดตาดอกพบว่าจะเกิดราก 70 เปอร์เซ็นต์ และ 81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วิธีตัดชำได้ต้นอยู่รอด 92.1 % มีจำนวนกิ่งและดอกมากกว่าวิธีติดตา การนำตาที่ได้จากกิ่งที่บ้านดอกแล้ว ไปติดบนต้นตอ *Rosa canina* พบว่าให้การเจริญเติบโตและการอยู่รอดมากกว่าตาจากกิ่งที่ไม่เกิดตาดอก (Bredmose and Hansen, 1995) การเปรียบเทียบวัสดุปลูกระหว่าง rockwool และดิน พบว่า กุหลาบพันธุ์ Carl Red ที่ปลูกใน rockwool ให้ดอกที่มีก้านยาว 61 เซนติเมตร ไม่ต่างจากการปลูกในดินซึ่งให้ดอกที่มีก้านยาว 65.9 เซนติเมตร แต่ในปีที่ 2 การปลูกในดินให้ดอกที่มีก้านยาวลดลงเป็น 57 เซนติเมตร พันธุ์ Golden Emblem ที่ปลูกใน rockwool ทั้งปีที่ 1 และ 2 ให้ดอกที่มีก้านยาวมากกว่าการปลูกในดิน พันธุ์ Tenike และ Dolres ที่ปลูกใน rockwool ในปีที่ 1 ให้ดอกที่มีก้านสั้น ทุกพันธุ์ให้ดอกก้านยาวลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อปลูกในดิน (Chung *et al.*, 1998) กุหลาบตัดดอกพันธุ์ Sonia และ Laser ที่ปลูกในขุยมะพร้าว ให้ดอกที่มีก้านยาวมากกว่า 30 เซนติเมตรมากกว่าการปลูกใน rockwool 15.6 เปอร์เซ็นต์ และมีน้ำหนักดอกมากกว่า 18 เปอร์เซ็นต์ การเปรียบเทียบระหว่างการ โน้มกิ่งที่อ่อนแอและไม่ได้คุณภาพ และการตัดแต่งกิ่งโดยตัดแต่งนับจากโคนกิ่งขึ้นมา 3 เซนติเมตร หรือนับคู่ใบที่ 1 และ 2 ที่มี 5 ใบย่อย พบว่าการ โน้มกิ่งให้ดอกที่มีก้านยาวมากกว่า 45 เซนติเมตร แต่มีจำนวนดอกที่ขายได้น้อยกว่าการตัดแต่งกิ่ง (Blom, 1999) การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของกิ่งที่ทำการ โน้มลง โดยกิ่งมีอายุตั้งแต่ 14 - 42 วัน โดย โน้มครั้งแรกเมื่อกิ่งเริ่มเกิดตาดอก (เส้นผ่าศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร) พบว่าการ โน้มกิ่งที่มีอายุ 28 วันทำให้กิ่งที่เกิดจากตาบริเวณโคนต้น (basal shoot) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางและน้ำหนักดอกเพิ่มขึ้น และตาที่อยู่เหนือกิ่งจะยับยั้งการเกิด basal shoot การปลิดตาเหล่านี้จะช่วยเพิ่มปริมาณกิ่งที่เกิดจากโคนต้น (Kool and Lenssen, 1997)



## 2.4 การจำแนกความแตกต่างของพันธุ์พืชโดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส

อิเล็กโทรโฟรีซิส เป็นเทคนิคการจำแนกวิเคราะห์สารหรือโมเลกุลที่มีประจุโดยให้สารเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าระหว่างขั้วบวกและขั้วลบ อัตราการเคลื่อนที่จะขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของประจุ ซึ่งเป็นอัตราส่วนของประจุต่อน้ำหนักของสารหรือโมเลกุลนั้น โดยทั่วไปการแยกจะเกิดขึ้นในสารละลายบัฟเฟอร์บนสารตัวกลางที่เป็นแผ่นหรือแท่ง เพื่อช่วยลดผลกระทบจากความร้อนที่มักทำให้แถบตัวอย่างโค้ง สารตัวกลางที่นิยมใช้ในการแยกโปรตีนได้แก่ polyacrylamide gel ซึ่งมีลักษณะเป็นรูพรุนที่สม่ำเสมอ ไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นได้ง่าย มีความคงตัวในช่วงกว้างต่อสภาพ pH อุณหภูมิ และ ionic strength การแยกโมเลกุลจะอาศัยสภาพของเนื้อเจลและขนาดช่องของเนื้อเจลที่เตรียมให้อยู่ในระดับความเข้มข้นต่างกัน โดยทั่วไปความเข้มข้นเจลที่ใช้อยู่ระหว่าง 2 - 20 % เมื่อเปิดสนามไฟฟ้า โมเลกุลจะเคลื่อนที่บนตัวกลางดังกล่าว ด้วยอัตราเร็วที่ต่างกันตามชนิด ขนาดและรูปร่างของโมเลกุล โดยสารที่มีประจุลบจะเคลื่อนไปสู่ขั้วอิเล็กโทรดบวก และจะค่อยๆ แยกจากกันเป็นแถบเมื่อมีระยะเวลาการเคลื่อนที่พอเหมาะ (ดวงพร, 2538; ขวนพิศ, 2538) Kim and Byrne 1996 (อ้างโดย มนตร์ระวี, 2544) รายงานความสัมพันธ์ของกุหลาบลูกผสม 23 พันธุ์ โดยใช้เอนไซม์ 3 ชนิดคือ acid phosphatase (ACP), malate dehydrogenase (MHD) และ phosphoglucoisomerase (PGI) เป็นการขึ้นชั้นลูกผสมในกรณีที่ถูกผสมมาจากพ่อแม่ที่มีความซับซ้อนทางสายพันธุ์ หรือพ่อแม่ที่ไม่สามารถตรวจสอบที่มาของพันธุกรรมได้

Cubero *et al.* (1995) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของกุหลาบ 5 พันธุ์ได้แก่ Cardinal, Sonia, Carta Blanca, Laser และ Carta de Oro โดยใช้เอนไซม์ phosphoglucoisomerase (PGI), leucine aminopeptidase (LAP), triosephosphate (TPI), malic enzyme (ME), esterase (EST), acid phosphatase (ACP) และ isocitrate dehydrogenase (IDH) พบว่ามีเพียง PGD ให้แถบไอโซไซม์แตกต่าง ในพันธุ์ Cardinal ซึ่งแสดงแถบไอโซไซม์แตกต่าง จากพันธุ์อื่นที่ให้แถบสีไม่แตกต่างกัน Kuhns and Fretz (1978) ได้ศึกษาวิธีและระยะเวลาการเก็บตัวอย่างของสารสกัดจากใบกุหลาบว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มแถบสีในแต่ละเอนไซม์ จากการศึกษาเอนไซม์ 16 ชนิดและ anionic protein กับกุหลาบ 8 พันธุ์ พบว่ามีเพียง anionic protein, peroxidase, esterase, malate dehydrogenase, cytochrom oxidase, phenoloxidase และ polyphenoloxidase ที่สามารถแยกความแตกต่างของพันธุ์กุหลาบได้ โดยใช้ใบตำแหน่งที่ 3 นับจากยอดซึ่งให้แถบไอโซไซม์ชัดเจน

## 2.5 การศึกษาจำนวนโครโมโซม

Hong and Shanwu (1995) ศึกษาจำนวนโครโมโซมจากปลายรากอ่อนที่งอกใหม่ของกุหลาบในกลุ่ม Floribunda เพื่อการวางแผนผสมข้ามระหว่าง ploidy ที่ต่างกันพบว่ามีการแบ่งโครโมโซมแบ่งออกได้ 3 กลุ่ม ได้แก่ diploid ( $2n=2x=14$ ), triploid ( $2n=3x=21$ ) และ tetraploid ( $2n=4x=28$ ) เพื่อเลือก triploid ( $2n=3x=21$ ) ที่มีข้อดีคือติดฝักน้อย เมื่อดอกบานร่วงได้เองโดยไม่ต้องตัดแต่งกิ่ง ให้ดอกมาก สามารถออกดอกตลอดปี ทนต่อโรค เหมาะสำหรับใช้ตกแต่งสวน Salaria (1967) ได้ศึกษาจำนวนโครโมโซมของกุหลาบจำนวน 102 พันธุ์พบว่า 4 พันธุ์ เป็น diploid ( $2n=2x=14$ ) 4 พันธุ์เป็น triploid และที่เหลือทั้งหมดเป็น tetraploid ( $2n=4x=28$ )