บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การปรับปรุงพันธุ์คาร์เนชั่น

1.1 การผสมพันธุ์และการคัดเลือก

การผสมตัวเองของคาร์เนชั่นดอกเดี่ยว 3 สายพันธุ์ ได้แก่ Omeggio, Leopardi และCasper พบว่าผสมไม่ติด การผสมข้ามระหว่างกลุ่มดอกเดี่ยวและกลุ่มดอกช่อโดยเฉพาะในคู่ผสมที่ใช้คาร์เนชั่นดอกเดี่ยวพันธุ์ Leopardi Omeggio Sahara และ Casper เป็นแม่พันธุ์ ทำให้การผสมไม่สำเร็จ และจากการผสมข้ามระหว่างกลุ่มดอกช่อที่ใช้คาร์เนชั่นดอกช่อพันธุ์ Lior และ White Ashley เป็นแม่พันธุ์พบว่าไม่สามารถผสมติดได้เช่นกัน โดยสาเหตุของการผสมไม่ติดนี้ อาจเนื่องมาจากสาเหตุของ ละอองเกสรเพศผู้เป็นหมัน หรือการจัดเวลาในการผสมไม่เหมาะ และลักษณะทางสรีรวิทยาเป็นตัวขัดขวาง เช่นสารเคมีที่ยับยั้งการงอกของหลอดละอองเรณู (นพพร, 2543) หรืออาจมีสาเหตุดังเช่นรายงานของ Tejaswini and Bhat (1996) ที่กล่าวว่า ในการผสมพันธุ์ระหว่างคาร์เนชั่นต่างชนิด พบว่ากะเปาะของละอองเกสรคาร์เนชั่นดอกเดี่ยวที่ใช้ผสม จะเปิดในช่วงเย็น ทำให้ไม่สามารถกำหนดระยะเวลาที่เหมาะสมในการเจริญพัฒนาของกะเปาะละอองเกสรได้ จึงทำให้ไม่มีละอองเกสรที่ใช้เป็นพ่อพันธุ์สำหรับการผสมพันธุ์ ในทำนองเดียวกัน วนนท์ (2544) ศึกษาการผสมพันธุ์ว่านสี่ทิศ 3 สายพันธุ์ ผลปรากฏว่า การผสม R⊗ O⊗ และ P⊗ ผสมไม่ติดเนื่องจากดอกที่ได้รับการผสม ถึงแม้จะติดฝักได้ แต่ฝักก็ฝ่อไปก่อนที่จะเจริญเติบโตเป็นฝักแก่ เมื่อนำฝักอ่อนที่เกิดจากการผสมตัวเองและมีการเจริญเติบโตในระยะก่อนที่ฝักจะฝ่อลีบไปมาศึกษาเนื้อเยื่อของไข่อ่อน พบว่ามีการสลายตัวของเนื้อเยื่อของไข่อ่อน ก่อนที่ไข่อ่อนจะเจริญเติบโตไปเป็นเมล็ดที่สมบูรณ์นั้น อาจเป็นสาเหตุให้ฝักฝ่อและลีบไป

ลักษณะการเกิดสีดอกของคาร์เนชั่น จากการศึกษาสันนิษฐานว่ายีนที่ควบคุมการเกิดสีมีมากกว่า 1 คู่ และยีนแต่ละคู่แสดงอาการข่มไม่สมบูรณ์ สังเกตจากคู่ผสม Poker × RPF-CAR-6 ให้ลูกผสมที่มีสี ถึง 11 ระดับสี โดยมีกลุ่มสีแดง 4 สี (Red 42A, Red 47C, Red 52A และ Red 53A) กลุ่มสีม่วง 3 สี (Red-Purple 60A, Red-Purple 61A, Red-Purple 67A) ชมพู (Red 55A) ส้ม (Orange 29B) และให้ลักษณะของกลีบดอกที่มีขลิบสีตรงปลายกลีบ 2 สี คือ เหลืองขลิบชมพู (Yellow 13C ขลิบ Red 55A) และ ส้มอ่อนขลิบชมพู (Orange 28D ขลิบ Red 55A) โดยมี สีชมพู (Red 55A) ซึ่งเป็นสีกึ่งกลางระหว่างสีขาวและสีแดง และเกิดขลิบสีขึ้นในบางต้น ซึ่งยีนที่ควบคุมการเกิดสีของพ่อและแม่ อาจทำปฏิกิริยากันแบบบวกสะสม ความแปรปรวน ของลูกผสมที่ได้ อาจ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เกิดจากปฏิกิริยาของยีนที่แสดงออกมา ยีนแต่ละคู่อาจแสดงผลอย่างอิสระ แต่เมื่อรวมกันแล้วอาจทำให้เกิดลักษณะใหม่ ๆ เกิดขึ้น โดยการถ่ายทอดพันธุกรรมของสีดอก Mehlquist (1954) อ้างโดย นันทิยา (2533) ได้ทำงานวิจัยส่วนประกอบของพันธุกรรมสำหรับการถ่ายทอดสีดอกโดยแบ่งจีโนไทป์ ของสีพื้นคาร์เนชั่นออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ Acynic, Transition group และ Cyanic group โดยทั้ง 3 กลุ่ม มียีนที่ควบคุมการเกิดสี มากกว่า 1 คู่ และมียีนที่ควบคุมการเกิดสีจำนวนมาก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Nieuwhof *et al.* (1990) ที่กล่าวถึงสีของดอกทิวลิป (*Tulipa* L.) ว่ามีความสัมพันธ์กับเม็ดสี โดยทำการศึกษาจากลูกผสมชั่วที่ 1 พบว่าการถ่ายทอดลักษณะสีดอกถูกควบคุมโดยยีนหลายยีน (polygene) และยังมีรายงานถึงการถ่ายทอดลักษณะเฉพาะของสีดอกพิทูเนียที่เป็นการถ่ายทอดรวมกันของสาร anthocyanin และค่า pH ในแวคิวโอล โดยการถ่ายทอดสาร anthocyanin ถูกควบคุมโดยยีนหลายยีน ที่เป็นอิสระต่อกัน (*Hf* และ*Mf*) ส่วนการถ่ายทอดค่า pH มียีน 2 ตัวที่ทำงานร่วมกัน (*Ph1* และ *Ph2*)(Griesbach, 1996) Nasser and Tilney-bassett (1992) ศึกษาการถ่ายทอดลักษณะของสีดอก Zonal Pelargonium พบว่า การแสดงออกของสีถูกควบคุมโดยยีนเด่น 4 ยีนได้แก่ *Ba/ba, Ce/ce* หรือ *Pi/pi* และ *Ve/ve* ซึ่งควบคุมลักษณะของรอยขีดสีเล็กๆ รอยจุดเล็กๆ บริเวณปลายกลีบดอก และการมีสี บริเวณเส้น Vein ของกลีบดอก

การคัดเลือกลูกผสม ภายหลังการผสมพันธุ์ ได้มีการคัดเลือกครั้งแรกจาก 4,171 ต้นได้ 94 หมายเลข และทำการคัดเลือกซ้ำในรอบที่ 2 จาก 94 หมายเลข ได้ 8 หมายเลข โดยการคัดเลือกซ้ำ 2 ครั้งเพราะ ในการปรับปรุงพันธุ์คาร์เนชั่นต้องมีระบบการคัดเลือกซ้ำ (reselection) เนื่องจากคาร์เนชั่นมียีนที่เป็น heterozygous มากและมีโอกาสกลายพันธุ์ ได้บ่อยและมักจะกลายพันธุ์ในลักษณะที่ไม่ดี มีการเจริญเติบโตที่แย่ลง และมีลักษณะดอกที่ไม่เหมือนเดิม โดยลักษณะทั้ง 2 มักจะเกิดขึ้นบ่อยกว่า การกลายพันธุ์ของสีดอก และลักษณะที่ดีก็จะหมดไปหากไม่มีระบบการคัดเลือกซ้ำอย่างสม่ำเสมอ และควรขยายพันธุ์จากต้นที่ให้ดอกที่มีคุณภาพดีที่สุด (นันทิยา, 2533)เช่นในการปรับปรุงพันธุ์อายุการปักแจกันคาร์เนชั่น Takashi *et al.* (2001) นำคาร์เนชั่น 6 สายพันธุ์ที่มีอายุการปักแจกันนานที่สุดมาผสมระหว่างต้นพ่อแม่ได้จำนวนต้น 195 ต้นและทำการคัดเลือกรอบแรกจำนวน 53 สายต้น คัดเลือกซ้ำในรอบที่ 2 เหลือ 12 สายต้น(สายต้นที่คัดเลือกในรุ่นพ่อแม่พันธุ์) แล้วทำการผสมระหว่าง 12 สายต้นได้จำนวน 309 ต้น คัดเลือกรอบแรกได้ 82 สายต้น และคัดเลือกรอบที่ 2 ได้ 17 สายต้น (สายต้นที่ทำการคัดเลือกในรุ่นแรก) และทำการผสม 9 คู่จาก 17 สายต้น ที่มีอายุการปักแจกันนานที่สุด ได้จำนวนต้น 163 ต้น คัดเลือกได้ 158 สายต้น (สายต้นที่ทำการคัดเลือกในรุ่นที่ 2) ผลจากการคัดเลือกพบว่า 14 สายต้นมีอายุการปักแจกัน 15-17 วันโดยอายุการปักแจกันยาวนานกว่าพ่อแม่พันธุ์ทั้ง 6 เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับพันธุ์ White sim และสายพันธุ์ที่คัดเลือกในรุ่นที่ 2 มีอายุการปักแจกันยาวนานกว่า 3.2 เท่าของพันธุ์ White sim โดยปราศจากการให้สารเคมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการปรับปรุงพันธุ์คาร์เนชั่นและการคัดเลือกที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ ทำการศึกษาที่สถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์ โดยทำการผสมพันธุ์ในช่วงเดือนตุลาคม 2544- กุมภาพันธ์ 2545 และใช้เวลาในการเพาะเมล็ดจนกระทั่งต้นเจริญเติบโตพร้อมที่จะทำการคัดเลือก ในช่วงเดือนธันวาคม 2545 – กุมภาพันธ์ 2546 และได้ทำการคัดเลือกและขยายพันธุ์เพื่อให้ได้จำนวนต้นในปริมาณมาก เพื่อใช้ปลูกทดสอบดูคุณลักษณะอื่นเช่น ความแข็งแรงของพันธุ์ ความต้านทานต่อโรคและแมลง อายุการปักแจกัน จำนวนวันที่ใช้ในการออกดอกเมื่อปลูกในฤดูต่างๆ ควบคู่กันไป แต่จากการศึกษาในเรื่องการผสมพันธุ์ ควรปลูกคาร์เนชั่นในช่วงเดือน สิงหาคม และกันยายน ดอกจะบานในช่วงเดือน มกราคม- กุมภาพันธ์ โดยดอกที่ได้จะมีคุณภาพที่ดี จากข้อมูลที่ได้สามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการปลูกเลี้ยงคาร์เนชั่น เพื่อการค้าต่อไป

1.2 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพ่อแม่และลูกผสมโดยวิธีวิเคราะห์ไอโซไซม์

จากผลการศึกษาการแสดงออกของเอนไซม์ EST และ PER จากรูปแบบของ ไอโซไซม์ EST ของต้นพ่อแม่ และลูกผสมต้น 1-8 โดยรูปแบบที่ได้ สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพ่อและแม่ได้ รูปแบบแถบไอโซไซม์ ในต้นลูกผสมต้นที่ 2 มีรูปแบบคล้ายกับต้นแม่และพ่อ อาจกล่าวได้ว่า ได้รับยีนบางส่วนมาจากต้นแม่และพ่อ ส่วนลูกผสมต้นที่ 1, 3, 4, 5, 6, 7, และ 8 มีรูปแบบแถบที่เหมือนกับต้นพ่อพันธุ์ซึ่งอาจเนื่องมาจากมียีนที่ได้รับมาจากต้นพ่อมีการแสดงออกเด่นกว่ายีนจากต้นแม่ จากรูปแบบของไอโซไซม์ ที่ได้สามารถบอกความสัมพันธ์ ระหว่างพ่อแม่และลูกผสมที่ทดลองได้ ส่วนเอนไซม์ PER แถบที่ปรากฏ ไม่ชัดเจนและมีค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ ในต้นพ่อแม่และต้นลูกผสมต้นที่ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 มีค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ 2 แถบ เท่ากันคือ 0.5 และ 0.3 จากข้อมูลที่ได้ไม่สามารถจำแนกความแตกต่างของต้นพ่อแม่พันธุ์ จึงไม่สามารถใช้ PER เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างลูกผสมและพ่อแม่ได้ การผสมพันธุ์ทำให้มีการกระจายตัวของยีนจากพันธุ์แม่และพันธุ์พ่อ แบบสุ่มไปสู่ต้นลูก ทำให้บางต้นมีลักษณะทาง จีโนไทป์เหมือนกันหรือคล้ายคลึงกันมาก (ปราโมทย์, 2544) หรือลักษณะที่ได้ถูกควบคุมด้วยยีนจึงมีลักษณะการแสดงออกได้ตามปกติ ดังนั้นการเปรียบเทียบความแตกต่างจึงขึ้นอยู่กับ ปัจจัยหลายอย่างที่ทำให้ผลการวิเคราะห์ เปลี่ยนแปลงไปเช่น จำนวนลูกผสมที่ทำการวิเคราะห์ อายุของพืช ความเครียดที่เกิดขึ้นกับต้นพืช หรือการซ่อมแซมเซลล์ที่ผิดปกติ (Birecka *et al.*, 1975)

การย้อมสีเอนไซม์ GDH MDH และ ME พบว่าไม่ปรากฏแถบสี การไม่ปรากฏแถบสี อาจเนื่องมาจาก สภาพต่างๆ ในขั้นตอนการสกัดไม่เหมาะสม เช่นปริมาณของโปรตีน ชนิดของการสกัด ความเข้มข้นของสารตัวกลาง pH ของบัฟเฟอร์ จนถึงการย้อมสีของเอนไซม์ (ไพลิน, 2546) และตัวอย่างพืชที่นำมาสกัดอาจมีปริมาณและที่อยู่ของเอนไซม์ต่างกัน เช่นการศึกษาของ Yoneda *et al.* (1993) ใช้เอนไซม์ peroxidase ที่สกัดจากใบแก่ จำแนกความแตกต่างของกุหลาบ 33 พันธุ์พบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ว่า *R. multiflora* และ *R. xiwara* มีแถบสีเหมือนกัน แต่ระหว่าง *R. wichuraian, R. damascene* และ *R. alba* มีแถบสีต่างกัน และในลูกผสมที่ต่างกัน ได้แถบสีที่ต่างกัน จากตำแหน่งใบ ที่ใช้สกัด และพันธุ์ที่ต่าง อาจมีปริมาณโปรตีนและที่อยู่เอนไซม์ที่ต่างกัน จากการสกัดตัวอย่างคาร์เนชั่นใช้ใบอ่อนจากปลายยอดเพื่อจำแนกความแตกต่าง พ่อแม่และลูกผสม แต่รูปแบบและการเกิดของแถบสีเอนไซม์ EST และ PER ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ชัดเจน จากการตรวจสอบโปรตีนสะสมหรือไอโซไซม์ ยังมีข้อจำกัดเนื่องจากจำนวนยีนที่ตรวจสอบมีไม่มากต้องมีการแสดงออกของยีนที่ศึกษา จึงต้องเลือกเนื้อเยื่อ และระยะเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ การเปรียบเทียบต้องใช้เนื้อเยื่อชนิดเดียวกันและระยะการเจริญเติบโตอยู่ในระยะเดียวกันเท่านั้น นอกจากนี้สภาพแวดล้อมภายนอกบางอย่างก็อาจมีผล ต่อการแสดงออกของยีนด้วย การตรวจสอบในระดับดีเอ็นเอ มีข้อได้เปรียบคือ สามารถวิเคราะห์ จากส่วนใดของพืชก็ได้ โดยไม่ขึ้นกับเนื้อเยื่อหรือระยะการเจริญเติบโตและสภาพแวดล้อม (สุรินทร์, 2540) การนำเทคนิคอิเลคโตรโฟรีซีส มาใช้แสดงความสัมพันธ์ พ่อแม่และลูกผสม ได้หรือไม่นั้น จะเป็นข้อมูล ที่เป็นประโยชน์ สำหรับงานวิจัยในอนาคตต่อไป

1.3 การศึกษาจำนวนโครโมโซมคาร์เนชั่นพ่อแม่พันธุ์และลูกผสม

การศึกษาในครั้งนี้ได้เทคนิคสำหรับการเตรียมเนื้อเยื่อปลายราก เพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซมของคาร์เนชั่น คือ การเก็บเวลา 8:30 - 9:00 น. ได้เซลล์ที่เห็นจำนวนโครโซมอย่างชัดเจนและสามารถนับจำนวนโครโมโซมได้ การหยุดวงชีพเซลล์ ใช้เวลา 4 ชั่วโมง ซึ่งถ้าใช้ระยะเวลาน้อยกว่า 4 ชั่วโมง โครโมโซมที่เห็นจะเป็นลักษณะเส้นยาว และซ้อนทับกัน จึงไม่สามารถนับจำนวนได้ ส่วนการย้อมสีโครโมโซม ใช้เวลา 24 ชั่วโมง โครโมโซมมีการติดสีดี โดยเทคนิคการเก็บปลายรากที่ได้ แตกต่างจากเทคนิคของ Melanine *et al.*(1998) ที่ศึกษาจำนวนโครโมโซม ของคาร์เนชั่นชนิดต่างๆ โดยใช้เวลาในการหยุดวงชีพเซลล์ 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4°ซ. และแช่น้ำยารักษาสภาพเซลล์ (fixative) ที่ประกอบด้วย ethanol : acetic acid (3:1) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาช่วงเวลาที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างที่ต่างกัน อาจทำให้ได้ผลที่ต่างกันออกไปด้วยและในการศึกษาจำนวนโครโมโซมของคาร์เนชั่นในครั้งนี้ทำการศึกษาในช่วงเดือน พฤษภาคม – มกราคม ซึ่งเป็นช่วงที่มีอากาศเย็น และถ้าเปลี่ยนช่วงระยะการศึกษาใน ช่วงที่อากาศร้อน อาจจะต้องใช้เวลาในการเก็บปลายรากต่างกันออกไป เช่นรายงานของ กิตติกานต์ (2545) ศึกษาจำนวนโครโมโซมของฟิวเชียโดยเก็บตัวอย่างปลายรากในฤดูกาลที่ต่างกันช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บปลายรากอาจแตกต่างกันได้ทำการทดลองในฤดูกาลที่ต่างกัน โดยกิตติกานต์ ศึกษาในช่วงฤดูหนาวที่มีอุณหภูมิต่ำอาจเป็นผลทำให้พืชมีการแบ่งเซลล์ได้ช้า แต่การศึกษาครั้งนี้ทำในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนตุลาคมซึ่งมีอุณหภูมิสูงกว่าในฤดูหนาว การแบ่งเซลล์อาจเกิดได้เร็วขึ้น ดังนั้นแม้ว่าเป็นพืชชนิดเดียวกันถ้า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เก็บตัวอย่างปลายรากในฤดูกาลที่ต่างกัน ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บปลายรากอาจแตกต่างกันได้

จากการศึกษาจำนวนโครโมโซมคาร์เนชั่นพันธุ์ Leopardi, Poker, RPF-CAR-5 และ RPF-CAR-6 ที่ใช้เป็นต้นพ่อแม่พันธุ์ และลูกผสม ระหว่าง Poker × RPF-CAR-5 และ Poker × RPF-CAR-6 พบว่าลูกผสมที่ได้มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันกับพ่อแม่พันธุ์คือ 2n = 30 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Melanine *et al.*(1998) ศึกษาจำนวนโครโมโซม ของคาร์เนชั่น(*Dianthus caryophyllus*) พบว่ามีจำนวนโครโมโซมชุดพื้นฐาน 2n = 2x = 30 เช่นเดียวกับงานทดลองของ Runstanius *et al.*(1991) ที่ศึกษาจำนวนโครโมโซมของ *Alstroemeria ligu* สีต่างๆ จำนวน 5 สายพันธุ์ พบว่าลูกผสมทั้งหมดมีจำนวนโครโมโซมชุดพื้นฐานเป็น 2n = 2x = 16 และจากการศึกษา karyotype พบว่าในโครโมโซมคู่ที่ 2 3 5 และ 8 มี satellites

เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้ต้องการทราบเพียงจำนวนโครโมโซมเพื่อใช้เป็นพื้นฐานสำหรับงานวิจัยการปรับปรุงพันธุ์ จึงมิได้ศึกษาถึงลักษณะของ karyotype แต่ข้อมูลเบื้องต้นที่ได้จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการศึกษา karyotype ต่อไป ทั้งนี้เพราะรูปร่าง และขนาดของโครโมโซมสามารถช่วยในการจำแนกความแตกต่างของพืชชนิดนั้นได้ โดยเฉพาะการเปรียบเทียบภายในพืชชนิดเดียวกัน หรือระหว่างพืชต่างชนิดกัน (นิตย์ศรี, 2542)

2. ผลของรังสีเอกซ์ต่อการเจริญเติบโตและการกลายพันธุ์

การฉายรังสีเอกซ์ 4 ระดับคือ 0 10 15 และ 20 Gy ที่อัตรารังสี 1.2 Gy/min พบว่าในสายพันธุ์ Poker ที่ปริมาณรังสี 10 Gy ทำให้จำนวนคู่ใบและจำนวนกิ่งแขนงต่อต้นลดลง และในสายพันธุ์ Splendid ทำให้จำนวนกิ่งแขนงต่อต้นลดลง และทำให้ดอกมีขนาดใหญ่ ขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากรังสีไปทำให้การทำงาน และการแบ่งเซลล์ที่จุดเจริญผิดปกติ เช่นรายงานของ Arunyanart and Soonronyatara (2000) กล่าวว่าผลของรังสีเอกซ์ที่ระดับ 3 Krad ทำให้ใบบัว มีลักษณะผิดปกติ ก้านใบยาวขึ้น และทำให้การเจริญเติบโตของตาข้างหยุดชะงัก ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของมนต์ระวี (2544) ที่พบว่าการฉายรังสีเอกซ์ที่ปริมาณสูง คือ 15 และ 20 Gy ทำให้ต้นอังกาบแดระแกร็น ข้อปล้องสั้น และมีจำนวนใบต่อต้นน้อยกว่า ต้นควบคุม

นอกจากนี้ การฉายรังสีเอกซ์ปริมาณ 25 และ 60 Gy กับกุหลาบพันธุ์ Ilseta ในระยะต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลอง พบว่าการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเป็นการกลายพันธุ์ที่เกี่ยวกับสี ขนาดดอก และจำนวนกลีบดอก โดยมีการเปลี่ยนแปลงของสีดอก 75 เปอร์เซ็นต์ ด้านการเจริญเติบโต 14 เปอร์เซ็นต์ และที่ปริมาณรังสี 60 Gy จะชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ จำนวนมาก และการกลายพันธุ์ จะเพิ่มตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น (Walther and Sauer, 1987)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลการฉายรังสีแก่กิ่งชำคาร์เนชั่นพบว่าทั้ง 2 สายพันธุ์ ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี และความสูงอาจเนื่องมาจาก ปริมาณรังสีที่ใช้สำหรับการทดลองครั้งนี้ ใช้ปริมาณรังสีในการฉายน้อยเกินไปอาจไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในส่วนของสีดอกโดยเป็นลักษณะที่สนใจมากที่สุดจากการรายงานของ Farestveit (1969) อ้างโดยนันทิยา (2533) กล่าวว่าปริมาณรังสีที่พอเหมาะสำหรับการทำให้เกิดการเรียงตัวใหม่ (rearrangement) ของเนื้อเยื่อคือ 5-6 Krad และถ้าใช้ในปริมาณ 6-12 Krad จะทำให้เกิดการกลายพันธุ์มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ ทิวา (2546) ที่ฉายรังสีแก่เมล็ดงา 7 สายพันธุ์ โดยฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 4 ระดับ คือ 0 30 60 และ 90 Gy ในรุ่น M1 พบว่าปริมาณรังสีไม่มีผลต่อความสูงข้อแรกที่ออกดอก เช่นเดียวกับ Murty (1980) นำเมล็ดงาสายพันธุ์ N 62-63 ฉายรังสีแกมม่าที่ปริมาณ รังสี 500 Gy พบว่า ความสูงของรุ่นลูกไม่มีความแตกต่างจากรุ่นพ่อและแม่

การฉายรังสีแก่กิ่งชำคาร์เนชั่นโดยใช้อัตรารังสี 1.2 Gy/min ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อส่วนต่างๆ เพียงเล็กน้อย และแสดงออกมาให้เห็นเพียงบางส่วนเท่านั้น ทั้งนี้การที่จะฉายรังสีแล้วประสบความสำเร็จต้องอาศัยปัจจัยหลายอย่าง จากรายงานของ Mehlquist (1956) อ้างโดยนันทิยา (2533) ที่อธิบายถึงเทคนิคการฉายรังสีแก่คาร์เนชั่น โดยสรุปวิธีการใช้รังสี ดังนี้คือ 1. รังสีแกมมาและรังสีเอกซ์ เป็นวิธีการที่สะดวกไม่ว่าส่วนที่กลายพันธุ์ ไปนั้น จะเป็นเซลล์ที่ไม่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ หรือเซลล์สืบพันธุ์ในธรรมชาติ 2. การนำต้นกล้า มาจากเมล็ดของต้นที่มีลักษณะการกลายพันธุ์ได้ดี มาฉายรังสีเพื่อให้ได้ พันธุ์กลายที่มีจีโนไทป์เปลี่ยนไปทั้งหมด ก่อนที่ขยายและส่งจำหน่ายเป็นการค้า และ 3. การฉายรังสีอาจทำให้ การกลายพันธุ์เกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยสังเกตได้ด้วยตาเปล่า จากรูปร่างของกลีบ จำนวนกลีบ สีที่สวยขึ้น อัตราการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น มีอายุการบาน ของดอกนานขึ้น

3. การศึกษาผลของความยาววันที่มีต่อการเจริญเติบโต

จากการศึกษาข้อมูลในเรื่องของการปรับปรุงพันธุ์ สำหรับการผสมพันธุ์ และการปลูกจนกระทั่งถึงการคัดเลือกต้นลูกผสมต้องใช้ระยะเวลานาน และระยะเวลาที่ใช้สำหรับการศึกษาและทำการวิจัย ก็มีอย่างจำกัด จึงทำให้ไม่สามารถนำต้นลูกผสมที่ได้จากการคัดเลือกมาทำการศึกษาในเรื่องของความยาววัน และผลการใช้สารชีวภัณฑ์ *Trichoderma* sp. ต่อการลดการเกิดโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* sp. f. *dianthi* *แต่เพื่อเป็นแนวทางสำหรับการศึกษาผลของความยาววันในครั้งต่อไป* จึงได้นำต้นพ่อแม่พันธุ์ ที่ใช้สำหรับการผสม มาทำการศึกษาในหัวข้อดังกล่าว และนำผลข้อมูลที่ได้จากการทดลอง มาใช้เป็นฐานข้อมูลอ้างอิงสำหรับการวิจัยในครั้งต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อดิศร (2539) กล่าวว่าคาร์เนชั่นจัดอยู่ในกลุ่มของพืชที่สามารถให้ดอกได้ทั้งในสภาพวันยาวและวันสั้น แต่ถ้าได้รับวันยาวจะออกดอกได้เร็วยิ่งขึ้น (facultative longday plant) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Blake (1955) อ้างโดยนันทิยา (2533) ที่จัดคาร์เนชั่นเป็นพืชวันยาว ถ้าให้วันสั้นจะเกิดดอกช้า และเมื่อได้รับวันยาว จะกระตุ้นให้เกิดตาดอก และการให้วันสั้น 8 ชั่วโมง จะทำให้เกิดกิ่งดอก ที่มีจำนวนข้อมากขึ้น และการออกดอกจะช้าออกไป เมื่อเริ่มเกิดตาดอกจนดอกบานก็ช้าไปด้วย การเพิ่มชั่วโมงแสงเพื่อให้วันยาว จะทำให้จำนวนข้อปล้องยาวขึ้น และคล้ายกับผลการศึกษากับคาร์เนชั่นในครั้งนี้ คือการให้วันยาว 24 และ16 ชั่วโมงมีการเจริญเติบโตทางด้านความสูงมากกว่าต้นที่ได้รับ วันสั้น 8 ชั่วโมง โดยจำนวนวันที่ใช้ในการออกดอกของคาร์เนชั่นทุกสายพันธุ์ ที่ใช้ทดลองก็ลดลงเช่นกันกับ Kresten (1997) ที่ให้ความยาววันแก่คาร์เนชั่น พันธุ์ Lilipot พบว่า การเพิ่มความยาววันทำให้เวลาที่ใช้ในการเกิดตาดอก ถึงระยะที่เป็นดอกสมบูรณ์ เร็วขึ้นกว่าต้นที่ได้รับวันสั้น และวันยาวทำให้ข้อปล้องยาวมากขึ้น แต่วันสั้นไม่มีการเพิ่มของความยาวข้อปล้องเนื่องจากถูกชักนำให้เกิดกิ่งแขนงเพิ่มมากขึ้น เช่นการทดลองของ Koike *et al.* (2000) กล่าวว่าผลของความยาววันต่อการออกดอกของ *Lathyrus latifolius* L. โดยการให้แสง 14 ชั่วโมงทำให้เกิดการชักนำให้เกิดตาดอก แต่จำนวนวันที่ใช้ในการสร้างตาดอกและออกดอกใช้เวลานานกว่า ต้นที่ปลูกภายใต้สภาพแสง 16 ชั่วโมง ในพืชตระกูล Antirrhinum มีการเจริญและตัดดอกได้เพียง ครั้งเดียวใน 1 ปี แต่เมื่อให้ได้รับสภาพวันยาว 14 ชั่วโมงจะชักนำให้เกิดการออกดอกได้เร็วขึ้น และการให้แสง 12 ชั่วโมงร่วมกับความเข้มแสงที่เพิ่มมากขึ้นก็สามารถที่ชักนำให้เกิดดอกได้เร็วขึ้นเช่นกัน Harbaugh (1995) ให้ความยาววันแก่ต้นกล้า *Eustoma grandiflorum* โดยให้วันสั้น 12 ชั่วโมง และวันยาว 18 ชั่วโมง พบว่าต้นที่ได้วันยาว สามารถเจริญเติบโตและออกดอกได้เร็ว แต่การได้รับวันสั้น มีการเจริญเติบโตทางลำต้นแต่ไม่สามารถออกดอกได้ Runkle *et al.*(1999) ศึกษาอิทธิพลของความยาววันต่อการออกดอกของ *Phlox paniculata* พบว่าเมื่อเพิ่มความยาววันจาก 14 ถึง 24 ชั่วโมง ทำให้เปอร์เซ็นต์การออกดอกเพิ่มมากขึ้น จาก 20 เป็น 90 เปอร์เซ็นต์

จากการศึกษาผลของความยาววันในครั้งนี้ เป็นประโยชน์ ต่อการผลิตคาร์เนชั่นตัดดอก โดยสามารถนำมาใช้ปลูกเพื่อให้ผลผลิตในเชิงการค้าได้ เพราะการให้ความยาววัน 24 และ 16 ชั่วโมงสามารถทำให้คาร์เนชั่นออกดอกได้เร็วขึ้น แต่ควรมีการศึกษาต่อไป ถึงการปรับลดจำนวนชั่วโมงที่ใช้ในการศึกษาเพื่อให้เหมาะสมต่อต้นทุนสำหรับการผลิตในเชิงการค้าต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. ผลการใช้สารชีวภัณฑ์ *Trichoderma* sp. ต่อการลดการเกิดโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* sp. f. *dianthi*

การควบคุมโรคโดยชีววิธี คือการลดปริมาณประชากรของโรคพืช หรือลดกิจกรรมของเชื้อโรคอันก่อให้เกิดโรคโดยอาศัยสิ่งมีชีวิต (organism) ซึ่งรวมถึงพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ที่เป็นปฏิปักษ์ (antagonistic microorganisms) (เกษม, 2532) สารชีวภัณฑ์ *Trichoderma* sp. เป็น antagonist fungus ที่มีประสิทธิภาพสูงในการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุของโรคพืช โดยลักษณะการเข้าทำลายเชื้อราอื่นของสารชีวภัณฑ์ *Trichoderma* sp. เป็นการเจริญเข้าคู่แนบชิดกับเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ แล้วรัดพันเจริญทะลุผ่านเส้นใย ของเชื้อสาเหตุ (Hader and Harnis, 1979) จากการใช้สารชีวภัณฑ์ *Trichoderma* sp. เพื่อศึกษาผลต่อการลดการเกิดเชื้อโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* sp. f. *dianthi* สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ในระดับที่มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ ชนิดของพันธุ์ที่นำมาทดสอบด้วย เช่นในพันธุ์ Omeggio การใส่สารชีวภัณฑ์ *Trichoderma* sp. ร่วมกับ ดินอบสามารถลดการเกิดโรคได้และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตในระดับ 50-80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ Poker ที่ปลูกในดินไม่อบฆ่าเชื้อ ทำให้เปอร์เซ็นต์ การรอดชีวิตลดลงเหลือเพียง 37 เปอร์เซ็นต์ โดยที่พันธุ์ Splendid มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต อยู่ในระดับที่สูงตั้งแต่ 50-75 เปอร์เซ็นต์ จากลักษณะการเข้าทำลาย ของเชื้อราอื่น ได้มีผู้ศึกษาการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ ในการควบคุมเชื้อ *Fusarium* sp. *Alternaria* sp. และ *Pythium* sp. (Gromovykh *et al.*, 1999) ดังเช่นในรายงานของ Martinez and Pinzon (1999) ที่ใช้สารชีวภัณฑ์ *Trichoderma* sp. เพื่อควบคุมการเกิดโรค ในคาร์เนชั่นดอกช่อ พบว่าสามารถป้องกัน การเกิดเชื้อในดินได้อย่างรวดเร็ว เมื่อใช้สารหลังการอบดินด้วยไอน้ำ หรือใช้ร่วมกับสารเคมี

ผลจากการศึกษาครั้งนี้อาจจะทำให้เห็นความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตระหว่างการอบดินเพื่อฆ่าเชื้อ *Fusarium oxysporum* sp. f. *dianthi* ภายในดินด้วยไอน้ำ และดินที่ไม่ได้อบฆ่าเชื้อ เห็นได้ว่า การปลูกด้วยดินอบเพียงอย่างเดียวให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต สูงกว่าดินที่ไม่ได้อบ และสูงกว่าต้นที่ปลูกด้วยดินอบร่วมกับการใส่สารชีวภัณฑ์ *Trichoderma* sp. โดยสอดคล้องกับงานของ Guda (1986) ที่เปรียบเทียบการทำงานของเชื้อ *Trichoderma* spp. กับเชื้อ *Penicilium* spp. ต่อความต้านทานต่อเชื้อ *Fusarium oxysporum* sp. f. *dianthi* โดยการใส่เชื้อ *F. oxysporum* sp. ลงในดินไม่อบ (สภาพดินธรรมชาติ) และดินที่อบด้วยไอน้ำ พบว่า เชื้อ *Trichoderma* spp.ให้การควบคุมโรคได้ไม่ดี โดยที่ *Penicilium* spp. สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่ไม่ปลอดเชื้อ และลดความรุนแรงของเชื้อ *F. oxysporum* sp. ได้ดี

จากรายงานต่างๆ ที่กล่าวมา สำหรับการปลูกคาร์เนชั่นให้ได้ผลดี อาจต้องใช้สารชีวภัณฑ์ *Trichoderma* sp. ร่วมกับสารเคมีบางชนิด เพื่อให้ประสิทธิภาพ ในการลดการเกิดเชื้อดีที่สุดเช่นราย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

งานของ Sharman (2000) ใช้สารชีวภัณฑ์ *Trichoderma* sp. ร่วมกับวัสดุปลูกก่อนการย้ายปลูก 14-15 วัน ช่วยลดการเกิดโรคได้ 76-78 เปอร์เซ็นต์ และมีผลผลิตเพิ่มมากขึ้น เพื่อให้ประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคดีขึ้น ควรใช้ *Trichoderma* sp. ร่วมกับ carbendazim ภายหลังการปลูก 45 วัน และใส่ซ้ำอีกครั้งเมื่อ 90 วัน บางครั้งการอบด้วยไอน้ำอาจต้องใช้อุปกรณ์ และใช้ต้นทุนสูง สำหรับการกำจัดเชื้อโรคต่างๆ เพื่ออบฆ่าเชื้อโรคในดินโดยการใช้แสงแดด (solarization) ร่วมกับการใช้เชื้อ *Trichoderma* sp. หรือสารเคมี ก็เป็นอีกทางหนึ่ง เพื่อลดต้นทุนในการผลิตได้ เช่นงานของ Elena and Tjamos (1997) สามารถควบคุมโรค Fusarium wilt ทำได้โดย หลังการปลูกคาร์เนชั่น 5 เดือนใช้ dazomet ร่วมกับ soil solarlization เพื่อลดอาการโรคและเชื้อ Fusarium ที่เจริญและขยายพันธุ์ที่เกิดขึ้นในดิน ทำให้ลดการเกิดโรคและสามารถควบคุมเชื้อได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved