บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

ข้าวโพด (*Zea mays* Linn.) อยู่ในวงศ์ Gramineace มีชื่ออื่น ๆ เช่น ข้าวสาลี สาลี โพด คง บือเคเส่ะ และมีชื่อสามัญที่ใช้เรียกกันทั่วไปว่า Maize หรือ Corn ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าวโพด

ราก ข้าวโพดมีระบบรากแบบรากฝอย (fibrous roots system) ซึ่งเจริญมาจาก 2 ส่วน คือ รากที่เจริญมาจากคัพภะ เรียกว่า primary root หรือ first seedling root เป็นรากที่มีการพัฒนามาจากแรดิเคิล และมีรากแขนงแตกออกมาเรียกว่า secondary root หรือ lateral root นอกจากนี้ยังมีรากที่เกิดขึ้นที่ scutellar node เรียกว่า seminal root รากทั้งหมดนี้มีการเจริญเติบโตในระยะเวลาสั้น ๆ ขณะข้าวโพดเป็นต้นกล้า และจะตายไปเมื่อต้นข้าวโพดโตขึ้น รากส่วนที่สองคือรากที่เจริญมาจากลำต้น เรียกว่า adventitious root มีจุดกำเนิดรากที่ข้อส่วนล่างของลำต้น ข้อแรกที่เกิดรากชนิดนี้คือ coleoptilar node รากเหล่านี้จะเจริญเติบโตอยู่ตลอดชีวิตของข้าวโพดสามารถเจริญแผ่กระจายรอบลำต้นมีรัศมีประมาณ 1 เมตร และหยั่งลึกลงไปในดินได้ 2.1-2.4 เมตร

ลำต้น (culm หรือ stalk) ประกอบด้วยข้อและปล้อง บริเวณข้อมีเนื้อเยื่อเจริญ จุดกำเนิดราก ตา และรอยกาบใบ มีความสูงตั้งแต่ 30 เซนติเมตร จนถึง 7.5 เมตร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้น 2.5-5.0 เซนติเมตร

ใบ ประกอบด้วยกาบใบ และแผ่นใบ กาบใบจะหุ้มลำต้น ส่วนแผ่นใบแผ่กางออก มีเส้นกลางใบเรียกว่า mid rib ข้าวโพดที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ให้ทนต่ออัตราการปลูกสูงมักจะมีลักษณะใบตั้ง แผ่นใบด้านบนมีขนเพื่อเพิ่มพื้นที่ในการรับแสง ส่วนแผ่นใบด้านล่างจะเรียบและมีปากใบจำนวนมาก

ดอก ข้าวโพดเป็นพืชที่มีช่อดอกตัวผู้และช่อดอกตัวเมียอยู่บนต้นเดียวกัน แต่อยู่คนละตำแหน่ง เรียกว่า monoecious plant ช่อดอกตัวผู้ (staminate inflorescence) เป็นแบบ panicle เรียกทั่วไปว่า tassel แกนกลางของช่อดอกเรียกว่า rachis หรือ panicle axis กิ่งที่แตกจาก rachis เรียกว่า primary branch และกิ่งที่แตกจากส่วนของ primary branch เรียกว่า secondary branch กลุ่มดอกย่อย (spikelet) เกิดเป็นคู่บนก้านแขนง มีก้านดอก (pedicelled spikelet) และไม่มีก้านดอก (sessile spikelet) กลุ่มดอกย่อยตัวผู้ (staminate spikelet) มีกลีบหุ้ม 2 กลีบ ได้แก่ กลีบดอกด้านนอก (outer glume) และกลีบดอกด้านใน (inner glume) แต่ละกลุ่มดอกย่อยมีดอกย่อย (floret) 2 ดอกถูก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

หุ้มด้วย lemma และ palea ภายในมีเกสรตัวผู้ (stamen) เยื่อรองรังไข่ (lodicule) และเกสรตัวเมียที่ไม่ทำหน้าที่ (rudimentary pistil) ช่อดอกตัวเมีย (pistillate inflorescence) ช่อดอกเป็นแบบ spike เรียกทั่วไปว่าฝัก (ear) ใบที่รองรับช่อดอกตัวเมีย เรียกว่า subtending leaf กลุ่มดอกย่อยตัวเมีย (pistillate spikelet) เกิดเป็นคู่เรียงบนแกนกลางช่อดอกที่เรียกว่า ซัง (cob) ดอกย่อยถูกหุ้มด้วย lemma และ palea เรียกรวมว่า chaff ดอกย่อยแต่ละดอกมีเกสรตัวเมีย (pistil) เยื่อรองรังไข่ (lodicule) และเกสรตัวผู้ที่เป็นหมัน (rudimentary stamen) ส่วนของเกสรตัวเมียที่รับละอองเกสรตัวผู้เรียกว่า ไหม (silk)

ผลและเมล็ด ผลเป็นแบบ caryopsis ที่มีเยื่อหุ้มผล (pericarp) ติดอยู่กับส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) มีลักษณะเป็นเยื่อบาง ๆ ใสไม่มีสี เยื่อหุ้มผลและเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดรวมเรียกว่า hull ข้าวโพดจะสะสมแป้งไว้ในส่วนของเอนโดสเปิร์ม การสะสมแป้งจะสิ้นสุดเมื่อข้าวโพดเจริญเติบโตถึงระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา โดยจะปรากฏแผ่นเยื่อสีดำ หรือน้ำตาลดำ (black layer) ที่บริเวณโคนของเมล็ด

ประเภทของพันธุ์

ประเภทของพันธุ์ข้าวโพดตามระบบการผสมพันธุ์แบ่งได้เป็น พันธุ์ผสมเปิด (open-pollinated) พันธุ์สังเคราะห์ (synthetic) พันธุ์แท้ (inbred line) และพันธุ์ลูกผสม (hybrid) พันธุ์ลูกผสมยังจำแนกได้เป็นพันธุ์ลูกผสมเดี่ยว (single cross) พันธุ์ลูกผสมคู่ (double cross) และลูกผสมสามทาง (three way cross)

ประเภทของข้าวโพด

ประเภทของข้าวโพดสามารถจำแนกได้หลายชนิดโดยใช้ลักษณะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1. จำแนกตามคุณสมบัติของแป้งในเมล็ด ภายในเมล็ดข้าวโพดประกอบด้วยแป้ง 2 ชนิด คือ แป้งแข็ง (hard starch) และแป้งอ่อน (soft starch) จึงสามารถจำแนกโดยอาศัยตำแหน่งของแป้งแต่ละชนิด และลักษณะของเปลือกหุ้มเมล็ด ได้เป็น 7 ชนิด คือ

1. ข้าวโพดป่า (pod corn) เป็นข้าวโพดที่ปลูกในบริเวณถิ่นกำเนิดแถบอเมริกากลางและใต้ เมล็ดข้าวโพดป่าทุกเมล็ดจะมีเปลือกหุ้มเมล็ดอย่างมิดชิดเหมือนกับเมล็ดหญ้า เมล็ดมีสีต่าง ๆ หรือเป็นลาย ลักษณะที่กล่าวมานี้ถูกควบคุมด้วยยีน TU อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 4 จัดอยู่ในสกุลย่อย (sub-species) tunicata
2. ข้าวโพดคั่ว (pop corn) เป็นข้าวโพดที่เมล็ดมีแป้งแข็งที่อัดกันแน่นมาก มีแป้งอ่อนเป็นองค์ประกอบเล็กน้อย ลักษณะรูปร่างเมล็ดแบ่งเป็น 2 พวก คือ พวกที่มีรูปร่างเรียว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

แหลมคล้ายเมล็ดข้าวเรียกว่า rice pop corn และพวกที่มีลักษณะเมล็ดกลมเรียกว่า pearl pop corn เมื่อเมล็ดข้าวโพดชนิดนี้ได้รับความร้อนระดับหนึ่งแป้งจะขยายตัวสร้างความดันขึ้นภายในจนกระทั่งเปลือกหุ้มเมล็ดที่หนาแตกออก ปริมาตรของแป้งจะเพิ่มขึ้น 25-30 เท่า จัดอยู่ในสกุลย่อย everta

3. ข้าวโพดหัวแข็ง (flint corn) เป็นข้าวโพดที่ด้านบนของเมล็ดมีแป้งแข็งเป็นองค์ประกอบ ส่วนแป้งอ่อนจะอยู่ภายในตรงกลางเมล็ดหรืออาจไม่มีเลย เมื่อเมล็ดแห้งจะไม่มีรอยบุบด้านบน ลักษณะดังกล่าวนี้ถูกควบคุมด้วยยีน Fl บนโครโมโซมคู่ที่ 2 เมล็ดมีสีต่าง ๆ เช่น เหลือง เหลืองส้ม ขาว และดำ จัดอยู่ในสกุลย่อย indurata
4. ข้าวโพดหัวบุบ (dent corn) เป็นข้าวโพดที่มีส่วนของแป้งอ่อนอยู่ด้านบนของเมล็ด ส่วนแป้งแข็งจะอยู่ด้านล่างและด้านข้าง เมื่อข้าวโพดแก่เมล็ดสูญเสียความชื้นทำให้แป้งอ่อนด้านบนหดตัวเมล็ดจึงเกิดรอยบุบ จัดอยู่ในสกุลย่อย indentata
5. ข้าวโพดแป้ง (flour corn) เป็นข้าวโพดที่มีองค์ประกอบเป็นแป้งอ่อนเกือบทั้งหมด มีแป้งแข็งเป็นชั้นบาง ๆ อยู่ด้านในเมล็ด เมื่อข้าวโพดแก่การหดตัวของแป้งในเมล็ดจะเท่ากัน ๆ ทำให้เมล็ดมีรูปร่างเหมือนข้าวโพดหัวแข็ง แต่มีลักษณะทึบแสง (opaque) ลักษณะนี้ถูกควบคุมด้วยยีนด้อย fl ซึ่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 2 จัดอยู่ในสกุลย่อย amylacea
6. ข้าวโพดหวาน (sweet corn) เป็นข้าวโพดที่น้ำตาลในเมล็ดเปลี่ยนไปเป็นแป้งไม่สมบรูณ์ เมล็ดจึงมีความหวานมากกว่าข้าวโพดชนิดอื่น ๆ เมล็ดเมื่อแก่จะเหี่ยวย่น ลักษณะของข้าวโพดหวานถูกควบคุมด้วยยีนด้อยหลายกลุ่ม เช่น sugary (su) อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 4 shrunken 2 (sh2) อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 3 และยีน brittle (bt) อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 5 จัดอยู่ในสกุลย่อย saccharata
7. ข้าวโพดข้าวเหนียว (waxy corn) เมล็ดประกอบด้วยแป้งอ่อนที่มีความเหนียวเนื่องจากองค์ประกอบของแป้งส่วนใหญ่เป็นอะมิโลเปกติน (amylopectin) เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนของอะมิโลเปกตินกับอะมิโลส (amylase) มีประมาณร้อยละ 73:27 ลักษณะนี้ถูกควบคุมด้วยยีน wx บนโครโมโซมคู่ที่ 9 จัดอยู่ในสกุลย่อย ceratina

pod corn pop corn flint corn dent corn flour corn sweet corn

รูป 1 ตำแหน่งของแป้งอ่อน (สีอ่อน) และแป้งแข็ง (สีดำ) ในเมล็ดข้าวโพดชนิดต่าง ๆ (ที่มา: ราเชนทร์, 2539)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. จำแนกตามองค์ประกอบทางเคมีในเมล็ด

1. ข้าวโพดแป้ง (field corn หรือ starchy corn) เป็นข้าวโพดที่ใช้ประโยชน์จากแป้งในเมล็ดได้แก่ ข้าวโพดหัวแข็ง ข้าวโพดหัวบุบ และข้าวโพดแป้ง
2. ข้าวโพดน้ำมันสูง (high oil corn) เป็นข้าวโพดที่มีปริมาณน้ำมันในส่วนของคัพภะสูง ซึ่งพันธุ์ปกติจะมีร้อยละ 1.2-5.0 พันธุ์ที่มีปริมาณน้ำมันในเมล็ดสูงกว่านี้จัดเป็นข้าวโพดน้ำมันสูง
3. ข้าวโพดคุณภาพโปรตีนสูง (high lysine corn) โปรตีนในเมล็ดข้าวโพดปกติมีร้อยละ 7-10 แต่ข้าวโพดชนิดนี้จะมีการสังเคราะห์ไลซีนให้ได้ปริมาณสูงกว่าปกติ ลักษณะจะเป็นแป้งอ่อนและทึบแสง เชื้อราและแมลงเข้าทำลายเมล็ดได้ง่าย มักมีน้ำหนักเมล็ดเบา

3. จำแนกตามอายุการเก็บเกี่ยว ข้าวโพดเขตอากาศร้อน (tropical maize) โดยเฉพาะที่ปลูกในพื้นที่ราบจะแบ่งตามอายุเก็บเกี่ยวได้ 4 พวก คือ

1. พันธุ์อายุสั้นมาก (extremely early variety) เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 80-90 วัน
2. พันธุ์อายุสั้น (early variety) เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 90-100 วัน
3. พันธุ์อายุปานกลาง (intermediate variety) เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 100-110 วัน
4. พันธุ์อายุยาว (late variety) เก็บเกี่ยวเมื่ออายุมากกว่า 110 วัน

4. จำแนกตามเขตภูมิอากาศ

1. ข้าวโพดในเขตอบอุ่น (temperate maize) ข้าวโพดชนิดนี้เจริญเติบโตได้ดีในเขตเส้นรุ้งที่สูงกว่า 30 องศาเหนือและใต้ อุณหภูมิอากาศในฤดูปลูกค่อนข้างต่ำและได้รับแสงช่วงยาว ข้าวโพดในกลุ่มนี้ได้แก่ ข้าวโพดที่ปลูกในประเทศสหรัฐอเมริกา ยุโรป และจีน เมื่อนำข้าวโพดกลุ่มนี้มาปลูกในเขตร้อนจะออกดอกเร็วและให้ผลผลิตต่ำ
2. ข้าวโพดในเขตกึ่งเขตร้อนชื้น (subtropical maize) เป็นข้าวโพดที่ปลูกในระหว่างเส้นรุ้ง 20-30 องศาเหนือและใต้ อุณหภูมิของอากาศไม่สูงมากนัก
3. ข้าวโพดในเขตร้อน (tropical maize) เป็นข้าวโพดที่ปลูกบริเวณตั้งแต่เส้นศูนย์สูตรจนถึงเส้นรุ้งที่ 20 องศาเหนือและใต้ บริเวณที่ปลูกข้าวโพดชนิดนี้ได้แก่ แอฟริกา อเมริกาใต้ และเอเชีย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. จำแนกตามระยะการเจริญเติบโต

1. ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ (vegetative stage) เริ่มตั้งแต่ coleoptile โผล่พ้นผิวดิน จนถึงระยะออกดอกตัวผู้ รวมเวลา 45-55 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมของการเจริญเติบโตโดยเฉพาะอย่างยิ่งอุณหภูมิ
2. ระยะออกดอก (flowering stage) คือ ระยะที่มีการสะสมแป้งในเมล็ด เริ่มตั้งแต่ดอกตัวผู้บานจนถึงระยะไหมโผล่พ้นกาบหุ้มฝัก รวมทั้งระยะการผสมเกสรด้วยรวมเวลา 5-15 วัน
3. ระยะสะสมน้ำหนักเมล็ด (grain stage) คือ ระยะที่มีการสะสมแป้งในเมล็ดเริ่มตั้งแต่ระยะน้ำนม (early milk และ late milk stage) และระยะแป้งอ่อน (dough stage) จนถึงระยะที่เมล็ดสิ้นสุดการพัฒนา รวมเวลาทั้งสิ้นประมาณ 35-45 วัน
4. ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา (physiological maturity) เป็นระยะที่มีชั้นเนื้อเยื่อสีดำ (black layer) ปรากฏที่ส่วนโคนของเมล็ด การสะสมน้ำหนักแห้งสิ้นสุดลงและมีน้ำหนักแห้งสูงสุด
5. ระยะสุกแก่และเก็บเกี่ยว (harvesting maturity) คือ ระยะที่ต้น ใบ และกาบหุ้มฝักแห้ง ความชื้นในเมล็ดเริ่มลดลงตามอุณหภูมิและความชื้นของบรรยากาศ

6. จำแนกตามวัตถุประสงค์ของการใช้ประโยชน์ สามารถจำแนกได้ 4 ประเภท คือ

1. ใช้เมล็ดสุกแก่ เป็นข้าวโพดที่เก็บเกี่ยวเมล็ดแก่มาใช้ประโยชน์เพื่อการบริโภคทั้งมนุษย์ และสัตว์ หรือใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตแป้งหรือน้ำมัน
2. ใช้บริโภคฝักสด คือ ข้าวโพดที่ปลูกเพื่อเก็บเกี่ยวฝักที่ยังอ่อนไปใช้ประโยชน์ต่าง ๆ ได้แก่ ข้าวโพดฝักอ่อน ข้าวโพดหวาน และข้าวโพดข้าวเหนียว
3. ใช้เป็นพืชอาหารสัตว์ คือ ปลูกข้าวโพดแล้วตัดต้นในระยะก่อนแก่ เพื่อนำทั้งต้นไปทำหญ้าสด (fodder) หญ้าหมัก (silage) หรือหญ้าแห้ง (hay)
4. ปลูกเพื่อใช้ฝักสำหรับประดับ (ornamental corn) ข้าวโพดที่เมล็ดบนฝักเดียวกันมีหลากสีเนื่องจากการสะสมสารสี (pigment) ที่แตกต่างกัน สามารถนำฝักไปประดับตกแต่งได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

คุณภาพของเมล็ดพันธุ์

เมล็ดพันธุ์พืชที่มีคุณภาพสูงนับว่าเป็นปัจจัยแรกที่มีความสำคัญที่สุดในการเพิ่มผลผลิตของพืชนั้น การปลูกพืชโดยใช้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพสูงย่อมทำให้การผลิตพืชนั้น ประสบความสำเร็จ เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพดีจะต้องมีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูง ต้นอ่อนแข็งแรงดี ปราศจากโรคและแมลง และประการที่สำคัญจะต้องเป็นเมล็ดพันธุ์ที่ตรงตามพันธุ์ ซึ่งจะช่วยส่งเสริมให้ได้ผลผลิตที่สูง และยังลดต้นทุนในการผลิตอีกด้วย คุณภาพที่ดีของเมล็ดพันธุ์เป็นหลักประกัน และสร้างความเชื่อมั่นแก่เกษตรกร นอกจากคุณภาพทางด้านกายภาพ และสรีระจะดีแล้ว คุณภาพความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของเมล็ดพันธุ์ต้องมีปริมาณสูงสุดหรือมีความตรงตามพันธุ์มากที่สุด (วันชัย, 2542)

การตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของเมล็ดพันธุ์ในประเทศไทย ดำเนินการโดยศูนย์วิจัยและสถานีทดลองต่าง ๆ ซึ่งอยู่ในความควบคุมดูแลของนักวิชาการและเจ้าหน้าที่ที่ทำงานเกี่ยวข้องกับการผลิตเมล็ดพันธุ์ ซึ่งจะต้องผลิตเมล็ดพันธุ์ให้มีความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์ถูกต้องตรงตามพันธุ์ กล่าวคือ เมล็ดพันธุ์ที่ผลิตขึ้นมานั้นต้องมีลักษณะถูกต้องตรงตามพันธุ์ที่นักปรับปรุงพันธุ์พืชได้สร้างขึ้นมา โดยจะต้องมีลักษณะความบริสุทธิ์ทั้งภายในและภายนอก

ความบริสุทธิ์ภายใน คือความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมหรือความถูกต้องตรงตามพันธุ์ (genetic purity) หมายความว่า เมล็ดพันธุ์ที่ผลิตได้ เมื่อนำไปปลูกจะต้องให้ต้นพืชที่มีลักษณะต่าง ๆ ตรงตามพันธุ์ที่ระบุไว้ ไม่มีลักษณะผิดเพี้ยนไปจากลักษณะประจำพันธุ์ ไม่มีต้นของพันธุ์อื่นปะปน สำหรับความบริสุทธิ์ภายนอกหรือความบริสุทธิ์ทางกายภาพ (physical purity) หมายถึง ความบริสุทธิ์ของเมล็ดพันธุ์ที่ปราศจากสิ่งเจือปนมากับเมล็ดพันธุ์ เช่น ไม่มีเมล็ดพันธุ์วัชพืช ไม่มีเมล็ดพืชชนิดอื่น ไม่มีกรวด หิน ดิน ทราย รวมถึงจะต้องไม่มีโรค แมลงติดมากับเมล็ดพันธุ์

ดังนั้นเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพดี จะต้องประกอบไปด้วยคุณลักษณะหลายประการดังนี้ (ชยพร, 2546)

- เป็นเมล็ดพันธุ์ที่บริสุทธิ์ทางสายพันธุ์
- ไม่มีเมล็ดพันธุ์ชนิดอื่นปน
- ไม่มีสิ่งเจือปน
- ปราศจากโรค แมลงศัตรูพืช
- มีความงอกสูง
- มีความชื้นต่ำ
- มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

มาตรฐานเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด

หลังการเก็บเกี่ยว คัดฝัก ตาก กะเทาะเมล็ด และทำความสะอาดแล้ว ต้องทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดไปตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ เมล็ดพันธุ์ที่ผ่านมาตรฐานเท่านั้นจึงจะนำไปใช้ได้ ทั้งนี้เพื่อให้ได้เมล็ดพันธุ์ที่มีความบริสุทธิ์ ตรงตามพันธุ์ มีความงอกที่สูง เมื่อปลูกแล้วจะให้ผลผลิตสูงและคุณภาพดี มาตรฐานเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดของประเทศไทยประกาศโดยกระทรวงเกษตรและสหกรณ์นั้นต้องประกอบด้วยเปอร์เซ็นต์การงอกและเมล็ดพันธุ์บริสุทธิ์ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 75 และ 98 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใช้ในการจำแนกพันธุ์ข้าวโพด

1. ลักษณะของใบ เช่น ใบตั้งตรง (erect) และใบโค้งลง (not erect)
2. วันออกไหม เช่น ออกไหมเร็ว (early) ออกไหมปานกลาง (medium) และออกไหมช้า (late)
3. สีของไหม เป็นสีของ anthocyanin ในไหม (silk) แบ่งเป็นสีอ่อน (weak) และสีแก่ (strong)
4. วงแหวนของ anthocyanin ที่ฐานของ glume ของช่อดอกตัวผู้ (closed anthocyanin ring at base of glume on tassel) บางพันธุ์มี บางพันธุ์ไม่มี
5. ความสูงของต้น (รวมช่อดอกตัวผู้)
6. ความยาวของก้านช่อดอกตัวผู้เมื่อต้นแก่
7. สีของต้นกล้า
8. การหุ้มฝักของเปลือกหุ้มฝักเมื่อฝักแก่ (ear coverage at maturity) มองเห็นปลายฝักหรือไม่
9. สีของโคนเมล็ด (colour of tip of grain) และสีเมล็ด อาจมีสีขาว เหลือง ส้ม แดง และดำ
10. สีของ anthocyanin ของ glume ของฝัก มีสีหรือไม่มีสี
11. ความยาวฝักเมื่อแก่
12. รูปร่างของฝัก ทรงกระบอก หรือเรียวโค้ง
13. จำนวนแถวของเมล็ดบนฝัก น้ำหนักเมล็ด
14. ความทนทานต่อโรคและศัตรูพืช

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การตรวจสอบพันธุ์และชนิดพืช

การตรวจสอบพันธุ์และชนิดพืช (verification of species and cultivar) เป็นการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ ที่มีความสำคัญมากทางการเกษตรทั้งในด้านการค้าและการเพาะปลูก ผลการตรวจสอบใช้ประกัน และรับรองคุณภาพสินค้า ซึ่งวิธีการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ควรเป็นวิธีที่ง่าย ไม่ยุ่งยากเกินไป เที่ยงตรง แม่นยำ และเป็นสากล การตรวจสอบพื้นฐานโดยทั่วไปสามารถเปิดคู่มือและปฏิบัติตามกฎสากลการตรวจสอบของสมาคมระหว่างประเทศ ISTA หรือ AOSA ได้

การตรวจสอบพันธุ์มีวัตถุประสงค์เพื่อการรับรองเมล็ดพันธุ์คือ การตรวจสอบว่าพันธุ์บริสุทธิ์หรือไม่ มีพันธุ์อื่นปนหรือไม่ ในบางกรณีการตรวจสอบพันธุ์อาจมุ่งหมายเพื่อยืนยันว่าพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการปรับปรุงเป็นพันธุ์ใหม่ที่แท้จริง ไม่ใช่พันธุ์เดิมที่เคยมีอยู่แล้วหรือพันธุกรรมซ้ำกับพันธุ์ที่เคยมีอยู่ ซึ่งการตรวจสอบพันธุ์ตามความมุ่งหมายนี้นับวันจะยิ่งสำคัญขึ้นเพราะสามารถรับรองกฎหมายคุ้มครองพันธุ์พืช ได้แก่ การจดทะเบียนพันธุ์ และสิทธิบัตรพันธุ์พืชได้

การตรวจสอบที่ถูกต้อง ต้องมีตัวอย่างของเมล็ดพันธุ์นั้น ๆ ที่ตรงตามพันธุ์และเชื่อถือได้เพื่อนำมาเป็นมาตรฐานในการเปรียบเทียบ ลักษณะที่ใช้ในการเปรียบเทียบเพื่อจำแนกพันธุ์ได้แก่ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphological characters) ลักษณะทางสรีรวิทยา (physiological characters) ลักษณะทางเซลล์วิทยา (cytological characters) และลักษณะทางองค์ประกอบทางเคมี (chemical characters)

การเปรียบเทียบทางด้านลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphological characteristic) เป็นวิธีการพื้นฐานสำหรับประเมินความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรม อย่างไรก็ตามวิธีนี้ใช้ระยะเวลานาน มีค่าใช้จ่ายสูง และยังให้ผลไม่แน่นอน โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่สามารถให้ข้อมูลความบริสุทธิ์ของคุณสมบัติความเฉพาะเจาะจงของลักษณะทางพันธุกรรมที่สัมพันธ์กับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ ดังนั้นการค้นคว้าวิจัยเพื่อหาเทคนิคที่รวดเร็ว มีประสิทธิภาพและไม่แพงจนเกินไปจึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมากโดยเฉพาะวิธีทางชีวเคมี

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชแต่เดิมจะเน้นวิธีการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นหลัก ซึ่งวิธีดังกล่าวยังคงมีความสำคัญในการจำแนกพันธุ์พืชที่ระดับสกุล (genus) และชนิด (species) แต่การใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยามีความผันแปรตามสภาพแวดล้อม ทำให้ขาดความแม่นยำ ปัจจุบันการตรวจสอบพันธุ์และการจำแนกพันธุ์มีความสำคัญมากขึ้น และได้มีการพัฒนาเทคนิคในการตรวจสอบให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นเรื่อย ๆ โดยการใช้ biochemical marker และ molecular marker ความก้าวหน้าที่รวดเร็วเกิดจากการใช้ Polyacrylamide Gel Electrophoresis (PAGE) ในการวิเคราะห์ไอโซไซม์ ซึ่งไอโซไซม์เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีคุณลักษณะไม่ผันแปรตามสภาพแวดล้อมและมีความจำเพาะกับเนื้อเยื่อ ระยะการเจริญเติบโต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

และชนิดของสิ่งมีชีวิตทำให้สามารถจำแนกพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (อัญชลี, 2536) ในการจำแนกพันธุ์พืชในระดับ ดีเอ็นเอนั้นมีหลายวิธีด้วยกัน เช่น Restriction Fragment Length (RFLP), Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) วิธีดังกล่าวสามารถจำแนกพันธุ์พืช และใช้ในการตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของพืชหลายชนิด เช่น ข้าวโพด (Welsh and Clelland, 1991; Phupromphan *et al*. 1995) บล็อกโคลี และกะหล่ำดอก (Hu and Quiros, 1991) มันฝรั่ง (Baird *et al*., 1992) มะเขือเทศ (Klein-Lankhorst *et al*., 1991) อย่างไรก็ตามการตรวจสอบในระดับดีเอ็นเอนั้นเป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายสูง ใช้ระยะเวลานาน เทคนิคยุ่งยาก เครื่องมือและอุปกรณ์ต้องมีเพียงพอ และผู้ที่ทำการตรวจสอบต้องมีความรู้และความชำนาญเป็นอย่างดี (วันชัย, 2542) สำหรับกฎสากลการตรวจสอบและจำแนกพันธุ์ของสมาคมระหว่างประเทศ ISTA ได้บัญญัติให้ใช้โปรตีนที่อาหารสำรองในเมล็ดมาตรวจสอบ ด้วยวิธีทาง electrophoresis นั้นมีวิธีการสกัดโปรตีนที่ยากเนื่องจากต้องใช้โปรตีนที่เป็นอาหารสำรองในเมล็ดซึ่งพบในปริมาณที่น้อยมาก แต่การสกัดไอโซไซม์จากต้นกล้านั้นพบไอโซไซม์ในปริมาณมากกว่า ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงใช้ไอโซไซม์มาช่วยในการตรวจสอบความตรงตามพันธุ์ เนื่องจากเป็นวิธีที่ไม่แพง ทั้งยังสามารถทดสอบกับพืชได้จำนวนมากอย่างรวดเร็ว โดยการใช้ชิ้นส่วนพืชเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และยังให้ผลแม่นยำได้เช่นกัน (Moore and Collins, 1983)

การใช้เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสในการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์

อิเล็กโทรโฟรีซิสเป็นคำที่ใช้อธิบายการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่มีประจุไฟฟ้า พอลิเมอร์ทางชีวภาพ (biological polymer) ส่วนใหญ่มีประจุจึงสามารถเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าได้ จึงอาศัยคุณสมบัติดังกล่าวนี้ เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสจึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ ของแมคโครโมเลกุล (macromolecule) หรือสารชีวโมเลกุล อาทิเช่น มวลโมเลกุลของโปรตีนเอนไซม์ ความแตกต่างของโมเลกุลในแง่ประจุสุทธิ รวมทั้งการแยกโมเลกุลที่มีปริมาณประจุต่างกันด้วย (อาภัสสรา, 2537)

ไอโซไซม์ หรือไอโซเอนไซม์ (isozyme หรือ isoenzyme) หมายถึง เอนไซม์ที่มีโครงสร้างได้หลายแบบ (multiple molecular forms) ในสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน ในเซลล์หรือในเนื้อเยื่อชนิดเดียวกัน ซึ่งต่างก็ควบคุมปฏิกิริยาเคมีชนิดเดียวกัน มีความเฉพาะเจาะจงต่อ substrate ตัวเดียวกัน แต่มีโครงสร้างของโมเลกุล สมบัติทางเคมี ทางฟิสิกส์ และการเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าแตกต่างกัน จึงสามารถใช้เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสในการแยกโครงสร้างแบบต่าง ๆ ได้ (หทัยรัตน์ และคณะ, 2535)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การศึกษาไอโซไซม์เพื่อการตรวจสอบพันธุ์และจำแนกชนิดพืชโดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส อาศัยหลักการที่สำคัญคือ ไอโซไซม์เป็นสายโพลีเปปไทด์ (polypeptide) ซึ่งประกอบด้วยลำดับของกรดอะมิโน (amino acid) เรียงกันอยู่ ลำดับของกรดอะมิโนประกอบด้วยกรดอะมิโนต่างกันจะมีประจุ ขนาด และรูปร่างของโมเลกุลแตกต่างกันด้วย เมื่อนำไอโซไซม์มาแยกบนตัวกลางที่เหมาะสมด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส โมเลกุลของเอนไซม์จะเคลื่อนที่ในอัตราที่ต่างกัน หลังจากทำการย้อมสีด้วยปฏิกิริยาจำเพาะสำหรับไอโซไซม์แต่ละชนิดจะเห็นแถบสีของเอนไซม์รูปแบบต่าง ๆ (isozyme banding patterns) (อาภัสสรา, 2537 ; Bailey, 1983) หรือเรียกว่า Zymogram (Vallejos, 1983) ซึ่งสามารถนำไปใช้จำแนกพันธุ์หรือบ่งชี้ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเช่นเดียวกับการจำแนกพันธุ์พืชโดยใช้ลักษณะการแสดงออก(phenotype) (Shields *et al*., 1983)

เอนไซม์ที่ใช้เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรม (genetic marker) เพื่อการจำแนกพันธุ์พืช โดยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสสามารถแยกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ specific enzyme ได้แก่ amylase (AMY) malate dehydrogenase (MDH) alcohol dehydrogenase (ADH) และ phosphoglucomutase (PGM) และ non-specific enzyme ได้แก่ esterase (EST) peroxidase (PER) catalase (CAT) acid phosphatase (ACP) และ alkalinephosphatase (ALP) (ชวนพิศ, 2538)

การแยกสารชีวโมเลกุลโดยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสนั้นต้องอาศัยตัวกลางในการเคลื่อนที่ เช่น กระดาษ, cellulose acetate, starch gel, agarose gel และ polyacrylamide gel สำหรับตัวกลางที่นิยมใช้ในการแยกโปรตีนหรือเอนไซม์โดยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสคือ polyacrylamide gel เนื่องจากมีคุณสมบัติเฉื่อยต่อสารเคมีในระหว่างเกิดกระบวนการแยกจึงสามารถลดการแพร่ และป้องกันการเกิดการพาทำให้การแยกได้แถบที่คมชัด รวมทั้งเป็นตัวกลางที่มีรูพรุนซึ่งทำหน้าที่เป็นตะแกรงร่อนโมเลกุลได้เมื่อปรับขนาดของโมเลกุลให้เหมาะสมโดยการเตรียมเจลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ polyacrylamide gel เป็นสารที่เฉื่อยต่อสารเคมีและมีความเสถียรที่ช่วง pH อุณหภูมิ ค่า ionic strength ที่กว้าง และยังโปร่งใส ด้วยเหตุนี้ polyacrylamide gel จึงเป็นตัวกลางที่นิยมใช้ในการแยกโปรตีนและเอนไซม์โดยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส (พิณทิพ, 2536 ; อาภัสสรา, 2537 ; Shields *et al*., 1983)

การวิเคราะห์ไอโซไซม์เป็นการวิเคราะห์โปรตีนรูปแบบหนึ่งโดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส ซึ่งเป็นวิธีการที่ไม่แพง ทั้งยังสามารถทสอบกับพืชได้จำนวนมากอย่างรวดเร็ว โดยการใช้ชิ้นส่วนพืชเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ทำให้สามารถแยกความแตกต่างระหว่างชนิดตลอดจนหาความสัมพันธ์ใกล้ชิดระหว่างชนิด และยังสามารถใช้ยืนยันการเป็นลูกผสมได้ (Moore and Collins, 1983)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สำหรับการวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของลูกผสมหรือการยืนยันการเป็นลูกผสมโดยการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์นั้นต้องทำการเปรียบเทียบรูปแบบไอโซไซม์ของพันธุ์แม่ พันธุ์พ่อกับลูกผสมเพื่อหา marker bands หนึ่งแถบหรือมากกว่า ที่ปรากฏอยู่ในลูกผสม เนื่องจากยีนที่ควบคุมการแสดงออกของแถบสีไอโซไซม์จะแสดงปฏิกิริยาแบบข่มร่วม (codominant) และน้อยมากที่มีการแสดงแบบข่มข้ามคู่ (epistasis) ดังนั้นเมื่อมีการผสมระหว่างแถบที่ต่างกัน ลูกผสมจะมีแถบของพ่อแม่ปรากฏอยู่พร้อมกัน และมีแถบที่เป็นแถบลูกผสม (hybrid band) เกิดขึ้น จึงสามารถเลือกแถบลูกผสมที่เกิดขึ้นเป็นเครื่องหมาย (marker) ในการแยกระหว่างพันธุ์ (homozygous) และพันธุ์ทาง (heterozygous) ได้ (ชวนพิศ, 2538 ; Bailey, 1983)

การจำแนกพันธุ์พืชโดยใช้ระบบไอโซไซม์มีประโยชน์อย่างมากเช่นเดียวกับเครื่องบ่งชี้ทางชีวเคมี (biochemical marker) ในการแก้ปัญหาด้านการแบ่งกลุ่มพืช และตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรม (Galeuchet, 2002) ได้มีการประยุกต์ใช้ไอโซไซม์ในงานทดลองเกี่ยวกับพืชหลายชนิดทั้งไม้ดอก ไม้ผล ผัก และพืชเศรษฐกิจอื่น ๆ ดังเช่น Nakagahra *et al*. (1974) ศึกษาไอโซไซม์ esterase ในข้าวพันธุ์พื้นเมือง 776 พันธุ์ เพื่อติดตามความแปรปรวนทางพันธุกรรม และการกระจายของยีนตามแหล่งปลูกของข้าวพันธุ์พื้นเมืองของไทยในประเทศแถบเอเชีย โดยใช้วิธี horizontal agar gel thin layer electrophoresis พบว่ารูปแบบของแถบไอโซไซม์ปรากฏขึ้นต่างกัน 9 แบบ ต่อมา Nakagahra (1985) ศึกษาพบว่าจากแบบแผนของไอโซโซไซม์ esterase บ่งชี้ว่าบริเวณแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้น่าจะเป็นศูนย์กลางการกระจายตัวของพันธุกรรม (center of genetic diversity) ของข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ปลูกอยู่ทั่วโลก

ในการจำแนกความหลากหลายทางสายพันธุ์พืชในระบบนิเวศของดอกคำฝอย (safflower) โดยการสกัดเอนไซม์จากยอด และวิเคราะห์รูปแบบของแถบไอโซไซม์ พบว่าเอนไซม์ acid phosphatase และ peroxidase ใช้ในการจำแนกพันธุ์นำเข้า 9 พันธุ์ พันธุ์พื้นเมือง 5 พันธุ์ ที่มีนิเวศวิทยา 7 แหล่งของดอกคำฝอยป่าได้ (Bassiri, 1977)

Quiros (1980) ศึกษาการจำแนกถั่วอัลฟัลฟ่า (*Medicago sativa* L.) พันธุ์แม่จำนวน 21 พันธุ์ ด้วยวิธี starch gel electrophoresis โดยการวิเคราะห์รูปแบบของไอโซไซม์ peroxidase, esterase และ acid phosphatase ที่สกัดจากเนื้อเยื่อส่วนใบสามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ได้

Wu *et al*. (1984) สามารถจำแนกพันธุ์ Kentucky blue grass โดยวิธี starch gel electrophoresis ในการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ esterase และ phosphoglucomutase

Wilkinsion *et al.* (1985) ศึกษาการจำแนกพันธุ์ยาสูบโดยการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ esterase, catalase, malate dehydrogenase และ peroxidase พบว่ารูปแบบของแถบไอโซไซม์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

esterase และ malate dehydrogenase ไม่แสดงความแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ ในขณะที่ peroxidase และ catalase นั้นสามารถจำแนกพันธุ์ยาสูบได้

Durham *et al.* (1987) รายงานว่ารูปแบบไอโซไซม์มีประโยชน์ในการใช้เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรม (genetic marker) ในการจำแนกต้นท้อ (*Prunnus persica* L.)

Quiros *et al*. (1987) ศึกษาเซเลอรี่ 17 พันธุ์ พบว่าเมื่อแยกโปรตีน โดยวิธี SDS-PAGE สามารถจำแนกเซเลอรี่ได้เป็น 7 กลุ่ม และเมื่อใช้รูปแบบไอโซไซม์สามารถจำแนกได้ละเอียดขึ้นเป็น 11 กลุ่ม

Sakar and Bose (1987) ได้ศึกษาพบว่าโปรตีน albumin และ globulin ในเนื้อเยื่อสะสมอาหารในเมล็ด (endosperm) ของข้าวที่ตรวจสอบได้ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส สามารถใช้ศึกษาความสัมพันธ์ของพันธุกรรมข้าวลูกผสมชนิดต่าง ๆ ได้

Byrne and Littleton (1988) ศึกษาไอโซไซม์ในต้นพลัมญี่ปุ่นจำนวน 29 พันธุ์ โดยวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ 8 ชนิด พบว่า esterase, malate dehydrogenase, peroxidase, phosphoglucoisomerase, phosphoglucomutase สามารถแสดงความหลากหลายของไอโซไซม์ซึ่งการใช้ลักษณะทางไอโซไซม์สามารถจำแนกพันธุ์ได้

Parfitt and Arulsekar (1989) จากการศึกษาโดยวิธี starch gel electrophoresis โดยสกัดเอนไซม์จากใบอ่อนของต้นองุ่น 145 พันธุ์ (*Vitis vinifera* L. และ *Vitis* spp.) โดยวิเคราะห์ไอโซไซม์ 4 ชนิด คือ glucosephosphate isomerase, phosphoglucomutase, alkalinephosphatase และ aspatate aminotransferase พบว่าสามารถแยกพันธุ์องุ่นได้ 52 กลุ่ม โดยใช้ไอโซไซม์ glucosephosphate isomerase และ phosphoglucomutase

Nehra *et al*. (1991) ใช้รูปแบบไอโซไซม์ leucin aminopeptidase, esterase phosphoglucomutase และ glucosephosphate isomerase ร่วมกันสามารถแยกสตรอเบอรี่ 8 พันธุ์ออกจากกันได้โดยสามารถใช้ได้ทั้งชิ้นส่วนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และจากการปลูกเลี้ยงในสภาพโรงเรือน

Maass *et al*. (1993) ศึกษาการจัดจำแนกพันธุ์ถั่วปิ่นโต (*Arachis pintoi* Karp.) ด้วยวิธี Polyacrylamide Gel Electrophoresis (PAGE) ทำการเปรียบเทียบรูปแบบไอโซไซม์ esterase, acid phosphate, glutamate oxaloacetate transaminase และ diaphorase สามารถจำแนกพันธุ์ถั่วปิ่นโตได้ 4 กลุ่ม

Avadhya *et al*. (1994) ศึกษาความสัมพันธ์ของสับปะรดพันธุ์ปลูก และพันธุ์ป่าจำนวน 161 พันธุ์ ใน 4 ชนิดของ Ananas และ 1 ชนิดของ Pseudananas โดยศึกษารูปแบบไอโซไซม์ 5 ชนิด ได้แก่ alcohol dehydrogenase, phosphoglucoisomerase, shikimate dehydrogenase และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

triphosphate isomerase พบว่าวิธีการดังกล่าวสามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสับปะรดพันธุ์ปลูก และพันธุ์ป่าได้

Dansi *et al*. (2000) ได้รายงานการศึกษารูปแบบไอโซไซม์เพื่อจำแนกพันธุ์ของ Guinea yam จำนวน 462 พันธุ์ ที่รวบรวมจากหลายแหล่งใน Benin โดยใช้เอนไซม์ 7 ชนิดคือ asparatate aminotransferase, esterase, glucose-6-phosphate, isocitrate dehydrogenase, phosphoglucomutase, phosphoglucose isomerase และ shikimate dehydrogenase พบว่าเอนไซม์ทั้ง 7 ชนิด แสดงรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกันถึง 62 รูปแบบ และแสดงความแตกต่างได้ 227 สายพันธุ์ เมื่อนำมาวิเคราะห์โดย cluster analysis สามารถจำแนก Guinea yam ออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ *Dioscorea cyensis* และ *Dio. rutundata*

Eeswara *et al*. (2001) ศึกษาการจำแนกพันธุ์ถั่วเขียวจำนวน 16 พันธุ์ ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเหมือนกัน โดยวิธี starch gel electrophoresis พบว่ารูปแบบของไอโซไซม์ esteras, malate dehydrogenase, malic enzyme และ diaphorase สามารถจำแนกพันธุ์ถั่วเขียวทั้ง 16 พันธุ์ได้

Galeuchet *et al*. (2002) รายงานว่าการวิเคราะห์ไอโซไซม์โดยใช้สารสกัดจากใบของ *Typha minima* พบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมอยู่น้อยในกลุ่มประชากร และพบว่าจำนวนเฉลี่ยของ allele ต่อ locus แตกต่างกันอยู่ในช่วง 1 ถึง 18 โดยเพิ่มขึ้นตามขนาดกลุ่มประชากร

Vanijajiva *et al*. (2003) ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ในใบ Boesenbergia จากภาคใต้ของประเทศไทย ใช้รูปแบบไอโซไซม์ 8 ชนิด ได้แก่ peroxidase, SOD, GDH, malate dehydrogenase, shikimate dehydrogenase, esterase, acid phosphatase และ alkaline phosphatase พบว่ารูปแบบไอโซไซม์ 4 ชนิดแรกสามารถนำมาใช้เป็น molecular marker ในการจำแนกลักษณะพันธุ์ได้

หทัยรัตน์ และคณะ (2535) ได้ใช้ไอโซไซม์ช่วยในการพิจารณาความแตกต่างของพันธุ์ข้าวกลุ่ม กข และข้าวขาวดอกมะลิ 105 จำนวน 20 พันธุ์ สามารถใช้รูปแบบของไอโซไซม์ 5 ชนิดคือ phosphoglucose isomerase, shikimic acid, isocitrate dehydrogenase, acid phosphatase และ esterase จำแนกความแตกต่างของพันธุ์ข้าวกลุ่ม กข และข้าวขาวดอกมะลิ 105 ได้

วันชัย และคณะ (2536) ทดลองใช้วิธีตรวจสอบเอนไซม์ peroxidase ที่เยื่อหุ้มเมล็ดและเอนไซม์ยูริเอสในเมล็ดร่วมกับวิธีทางสัณฐานวิทยา เพื่อการจำแนกพันธุ์ถั่วเหลือง 18 พันธุ์ เปรียบเทียบกับการตรวจสอบในแปลงปลูก พบว่าวิธีทางชีวเคมีนี้สามารถจำแนกถั่วเหลืองทั้ง 18 พันธุ์นั้นออกได้เป็น 13 กลุ่ม ซึ่งดีกว่าวิธีตรวจสอบในแปลงซึ่งจำแนกได้เพียง 10 กลุ่ม เป็นที่น่าสังเกตว่าสายพันธุ์ที่ไม่สามารถจำแนกได้ไม่ว่าจะใช้เทคนิคทางชีวเคมี หรือตรวจสอบในแปลงปลูกคือ พันธุ์ สจ.4 กับสายพันธุ์ CM 001-1 สายพันธุ์ KUSL 20043 กับ KUSL 20050

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ธีระพล (2536) ได้นำเอาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางพืชไร่ร่วมกับการวิเคราะห์ไอโซไซม์ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส มาใช้ในการจำแนกพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์ส่งเสริม และพันธุ์เด่น 7 พันธุ์ พบว่ามี 14 ลักษณะที่สามารถใช้จำแนกพันธุ์ถั่วเขียวได้ เช่น สีของไฮโปคอททิล, สีของข้อแรก, สีของก้านใบ, สีของกลีบเลี้ยง และรูปร่างของใบประกอบ เป็นต้น รวมถึงการวิเคราะห์ไอโซไซม์ esterase, alkaline phosphatase และ acid phosphatase สามารถใช้จำแนกพันธุ์ถั่วเขียวกลุ่มนี้ได้ แต่การวิเคราะห์ไอโซไซม์ peroxidase และ amylase นั้นยังใช้จำแนกพันธุ์ไม่ได้ผล เนื่องจากรูปแบบของแถบสีไม่ชัดเจน ซึ่งจะต้องปรับปรุงวิธีการให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

เสาวนี (2538)ได้ตรวจสอบพันธุ์มะขามเปรี้ยวและมะขามหวานที่ปลูกจากแหล่งต่าง ๆ โดยใช้ไอโซไซม์ 3 ชนิด คือ peroxidase, esterase และ acid phosphatase พบว่าไอโซไซม์ peroxidase สามารถจำแนกมะขามออกเป็น 5 กลุ่มใหญ่ ในขณะที่ esterase และ acid phosphatase แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์น้อยมาก

ศิริลักษณ์ และนิยะดา (2540) ได้รายงานการศึกษาการจำแนกพันธุ์เข็ม 12 ชนิด โดยให้ตัวอย่างจากส่วนของดอก ใบอ่อน และใบแก่ ใช้เอนไซม์ 4 ชนิด คือ esterase, peroxidase, acid phosphatase และ alcohol dehydrogenase ใช้น้ำยาสกัด 2 ชนิด คือ Phosphate buffer และ Tris buffer พบว่าระบบของ peroxidase ให้รูปแบบที่ชัดเจน และแยกความแตกต่างของเข็มพันธุ์ต่าง ๆ ได้ โดยมีจำนวนแถบสี 7-2 แถบ มีค่าการเคลื่อนที่อยู่ระหว่าง 0.8-0.61 จัดอยู่ในกลุ่มที่เคลื่อนที่เร็ว อาจเนื่องมาจากมีน้ำหนักโมเลกุลน้อย ส่วนของดอกบานให้แถบสีที่คมชัดมากกว่าส่วนอื่นและ Phosphate buffer pH 7.5 ให้แถบสีที่คมชัดและครบถ้วนในเข็มทุกพันธุ์ส่วน Tris buffer มีสภาพ pH ที่เป็นเบสค่อนข้างสูงจึงไม่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์จากเข็ม

สุเทวี (2543) รายงานผลการจำแนกพันธุ์ผักด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส โดยใช้ความแตกต่างของแถบสีไอโซไซม์ สำหรับมะเขือเทศควรใช้ใบพืชอายุ 7 วัน กระเจี๊ยบเขียวควรใช้ใบเลี้ยงอายุ 10 วัน สกัดด้วย Tris buffer และตรวจสอบโดยเอนไซม์ esterase และ peroxidase นอกจากนี้ในการตรวจสอบความแตกต่างระหว่างพันธุ์ของหมากสง (*Areca catechu* L.) สามารถใช้ไอโซไซม์ esterase และ acid phosphatase ได้

วิชญา (2544) ศึกษารูปแบบของไอโซไซม์เพื่อจำแนกความแตกต่างของพืช 10 ชนิดใน 5 สกุล คือ *Eurycle*, *Eucrosia*, *Heamenthus*, *Hippeastrum* และ *Zephyranthes* โดยสกัดเอนไซม์จากส่วนของใบอ่อน และวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ 6 ชนิดได้แก่ alcohol dehydrogenase, diaphorase, esterase, glutamate oxaloacetate transaminase, leucin aminopeptidase และ malate dehydrogenase พบว่ารูปแบบของแถบสีไอโซไซม์ทั้ง 6 ชนิด แสดงความแตกต่างของพืชทั้ง 10 ชนิด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชวนพิศ และคณะ (2546) ได้ประเมินพันธุกรรมสายพันธุ์ฝรั่ง ด้วยแบบแผนของไอโซไซม์ เพื่อบ่งชี้ลักษณะความแตกต่างทางพันธุกรรมประจำพันธุ์ ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส โดยสกัดเอนไซม์จากใบอ่อน พบว่าสามารถจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยอาศัยรูปแบบของไอโซไซม์ esterase ได้

นอกจากนี้ยังสามารถใช้ไอโซไซม์เป็นเครื่องหมายทางโมเลกุล (molecular marker) สำหรับการจำแนกพันธุ์ลูกผสมได้ (Heidrich-Sobrinho, 1982; Cardy and Kannenberg, 1982; Arus and Orton, 1983; Grossi *et al*., 1997) ซึ่งมีประโยชน์อย่างมากกับงานทางด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช และงานทางด้านเทคโนโลยีการผลิตเมล็ดพันธุ์ ในเรื่องการควบคุมคุณภาพความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของเมล็ดพันธุ์ ดังเช่น การจำแนกลูกผสมของพลัม (*Prunus salicina*) กับท้อ (*P. persica*) สามารถใช้รูปแบบของไอโซไซม์ phosphoglucomutase และ glucosephosphate isomerase ในการจำแนกได้ (Parfitt and Arulsekar, 1985)

การปรับปรุงพันธุ์อินทผลัม (*Phoenix dactylifera* L.) สามารถใช้รูปแบบของไอโซไซม์ซึ่งสกัดจากใบช่วยในการแยกต้นเพศผู้ และเพศเมียออกจากกันได้ ซึ่งโดยปกติจะต้องรอให้ต้นอินทผลัมออกดอกจึงจะแยกเพศได้ ซึ่งอาจใช้เวลา 4-7 ปี จึงจะทราบว่าเป็นต้นเพศผู้หรือเพศเมีย (Torres and Tisserat, 1980)

Murphy and Phillips (1993) ศึกษาความผันแปรของไอโซไซม์ในพันธุ์ข้าวโอ๊ต พบว่าความหลากหลายของไอโซไซม์สามารถช่วยในการคัดเลือกพันธุ์ได้

Kim and Byrne (1996) รายงานว่าสามารถใช้รูปแบบไอโซไซม์ 3 ชนิด คือ acid phosphatase, malate dehydrogenase และ glucosephosphate isomeraseในการยืนยันการเป็นลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามชนิดของกุหลาบ โดยสกัดเอนไซม์จากใบ แต่การยืนยันการเป็นลูกผสม มีข้อจำกัดในกรณีที่ลูกผสมนั้นมาจากพ่อหรือแม่ที่มีความซับซ้อนทางสายพันธุ์ หรือพ่อแม่ที่ไม่สามารถตรวจสอบที่มาของพันธุกรรมได้

Zheng and Huang (1998) ได้ทำการทดสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของพริกหวาน F1 hybrid โดยเอนไซม์ peroxidase และสารละลายโปรตีน ด้วยวิธี Polyacylamid Gel Electrophoresis (PAGE) เพื่อประเมินความบริสุทธิ์ของเมล็ด โดยในพันธุ์พ่อ แม่ มีความแตกต่างกับ F1 hybrid อยู่ 2 ตำแหน่งของเอนไซม์ peroxidase คือในตำแหน่ง (PRX-1, PRX-2) และ 1 ตำแหน่งของสารละลายโปรตีน การประเมินความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์ถูกประเมินอยู่ในช่วง 8-99%

Maass (1998) ได้ทำการแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมในยอดของหอมหัวใหญ่ *Allium x proliferum* (Alliaceae) วิเคราะห์โดยใช้รูปแบบของไอโซไซม์ esterase พบแถบของไอโซไซม์อยู่ 5 ตำแหน่ง เมื่อนำแถบไอโซไซม์ ไปเปรียบเทียบกับ *A. x wakegi, A.* x *cepa,*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

*A.*x *fistulosum, A.* x *altaicum* และลูกผสมสลับพ่อแม่ระหว่างแต่ละพันธุ์พบ 1 ชนิด ของยอดหอมหัวใหญ่ และพันธุ์ลูกผสม 1 พันธุ์ที่เหมือนกับพันธุ์พ่อแม่

Gonzalez (1999) ได้ทำการจำแนกพันธุ์ asparagus จำนวน 50 พันธุ์ โดยใช้ตำแหน่งของไอโซไซม์ เอนไซม์ที่ใช้มี 3 ชนิด คือ malate dehydrogenase, phosphoglucomutase และ shikimate dehydrogenase พันธุ์ทั้ง 50 พันธุ์นี้ได้มาจากประเทศสหรัฐอเมริกา, เนเธอร์แลนด์, ฝรั่งเศส, สเปน, อิตาลี, เยอรมัน, นิซีแลนด์, เดนมาร์ค, และญี่ปุ่น พบรูปแบบของไอโซไซม์ malate dehydrogenase 9 แบบ, shikimate dehydrogenase 4 แบบ, phosphoglucomutase 9 แบบ และสามารถแบ่งเป็น 7 กลุ่ม โดยอาศัยแบบแผนจากไอโซไซม์ shikimate dehydrogenase

Sharma and Jone (1999) ทำการทดสอบกล้วยไม้ที่สงสัยว่าเป็นลูกผสมข้ามชนิดตามธรรมชาติระหว่าง *Pterostylis alveata* และ *Pter. Ophioglossa* จาก Fingal Point, New South Wales, Australia ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยากึ่ง ๆ ระหว่างพันธุ์พ่อแม่ โดยใช้สารสกัดจากใบ พบว่าเอนไซม์ GPI, UDP, malic enzyme และ leucine amino peptidase แสดงให้เห็นว่าพืชที่นำมาทดสอบเป็นลูกผสม

Shuda *et al*. (1999) พบว่าการใช้เอนไซม์ alcohol dehydrogenase, esterase, glutamate oxaloacetate transaminase, isocitrate dehydrogenase และ peroxidase สามารถจำแนกลูกผสมของอ้อยญี่ปุ่น (Japanese sugarcane) 24 พันธุ์ออกจากกันได้

Kumar (2001) ใช้เทคนิค SDS-PAGE ในการจำแนกพันธุ์และตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของเมล็ดพันธุ์ทานตะวัน พบว่า เมล็ดพันธุ์ทานตะวันลูกผสมมีจำนวนและขนาดของแถบโปรตีนที่แตกต่างกัน รวมทั้งค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบโปรตีนที่มีลักษณะเฉพาะแต่ละพันธุ์ จึงสามารถจำแนกสายพันธุ์และตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของเมล็ดทานตะวันได้

บุณฑริกา และคณะ (2538) ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ และไกลโคโปรตีนที่มีกลูโคส-แมนโนสเป็นองค์ประกอบที่รากและใบของต้นกล้าข้าวโพดจำนวน 26 พันธุ์ ซึ่งเลี้ยงในตัวกลางที่มี pH เป็นกรด พบว่า 15 พันธุ์ สามารถเติบโตได้ดีในตัวกลางที่มี pH 6.0 และ 7 พันธุ์ เติบโตได้ดีในตัวกลางที่ pH ลดลงถึง 5.5 นำรากและใบของต้นกล้าอายุ 6 วัน ของข้าวโพดพันธุ์ที่เติบโตได้ดีในตัวกลางที่เป็นกรด มาศึกษารูปแบบไอโซไซม์ peroxidase, esterase, malate dehydrogenase และ acid phosphatase และศึกษารูปแบบไกลโคโปรตีนที่มีกลูโคส-แมนโนส เป็นองค์ประกอบ พบว่า esterase activity ที่รากของต้นกล้าที่เติบโตในตัวกลางที่มี pH 5.5 สูงกว่า pH 6.0 อย่างชัดเจน ดังนั้น esterase น่าจะเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวเคมีที่เหมาะสมในการคัดเลือกข้าวโพดที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพดินกรด แต่ไม่พบความแตกต่างของรูปแบบไกลโคโปรตีน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

อริยา และคณะ (2539) ศึกษาการจำแนกพันธุ์มะนาวและลูกผสมระหว่างมะนาวกับมะกรูดด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสในการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ พบว่าสารสกัดจากใบที่ได้จากต้นอ่อนอายุ 3 เดือน และต้นอายุ 1 ปี มีแถบสีของไอโซไซม์เหมือนกัน แถบสีของไอโซไซม์ peroxidase ในมะนาวทุกพันธุ์ที่นำมาทดสอบและมะกรูดไม่แตกต่างกัน ส่วนแถบสีของไอโซไซม์ esterase ให้ผลในการจำแนกที่ดีกว่าจึงใช้จำแนกพันธุ์ และตรวจสอบลูกผสม

ณภัทร (2543) ศึกษาการจำแนกผักกาดขาวปลีพันธุ์ลูกผสมจากพันธุ์พ่อแม่ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในการวิเคราะห์รูปแบบของไอโซไซม์ peroxidase, acid phosphatase และ esterase พบว่าการใช้รูปแบบไอโซไซม์ esterase และ acid phosphatase เหมาะสมสำหรับการจำแนกพันธุ์ผักกาดขาวปลีลูกผสมจากพันธุ์พ่อแม่มากที่สุด

ปราโมทย์ และเกศินี (2544) จำแนกพันธุ์สตรอเบอรี่ลูกผสมที่ได้จากการผสมพันธุ์และศึกษาความสัมพันธ์ของพันธุ์แม่ พ่อ และลูกผสมชั่วที่ 1 โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและศึกษารูปแบบไอโซไซม์ด้วยวิธี Polyacrylamide Gel Electrophoresis โดยใช้สารสกัดจากใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ วิเคราะห์เอนไซม์ 3 ชนิด ได้แก่ esterase, leucin aminopeptidase และ shikimate dehydrogenase พบว่าการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยการสังเกต และวัดค่าทางปริมาณรวมทั้งคุณภาพของโครงสร้างใบ ดอก และผล ทำให้แยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ได้ชัดเจน และเมื่อใช้รูปแบบไอโซไซม์ พบว่าสามารถจำแนกลูกผสมบางหมายเลขออกจากพันธุ์พ่อหรือพันธุ์แม่ หรือระหว่างพันธุ์ลูกผสมด้วยกันออกจากกันได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved