บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 อนุกรมวิธาน

งา เป็นไม้เนื้ออ่อนฤดูเดียว ซึ่งพบในเขตร้อน (Theepicentre, 2005) ชื่อสามัญภาษาอังกฤษว่า sesame หรือ simsim (อนันต์, 2526) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Sesamum indicum* Linn. อยู่ในวงศ์ Pedaliaceae (ทรงศักดิ์, 2539) สันนิษฐานกันว่าถิ่นกำเนิดของงาอยู่แถบบริเวณประเทศเอธิโอเปียในทวีปแอฟริกา ต่อมาแพร่กระจายมาทางตะวันออก เข้ามาสู่แถบประเทศอินเดียและจีน งาพันธุ์ปลูกมีจำนวนโครโมโซม 2n = 26 (รังสฤษดิ์ และคณะ, 2541)

2.2 ลักษณะทางพฤษศาสตร์

ราก

งามีระบบรากแบบรากแก้ว (tap root system) ที่ยาว (กฤษฎา, 2528) และสามารถหยั่งลึกลงไปในดินมากกว่า 90 เซนติเมตร และมีรากฝอยแผ่ขยายหาอาหารไปในแนวราบเป็นจำนวนมาก (วัชรี, 2542)

ลำต้น

งามีลำต้นที่ตั้งตรง ไม่มีแก่น มีลักษณะเป็นเหลี่ยม และเป็นร่องตามยาวของลำต้น (กฤษฎา, 2528) ลำต้นสูง 0.5 – 2 เมตร อวบน้ำ มีขนอ่อนปกคลุมมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับพันธุ์ ลำต้นมีสีเขียวเข้มและอาจมีสีม่วงปน มีทั้งชนิดที่แตกกิ่งและไม่แตกกิ่ง พันธุ์ที่มีอายุสั้นมักแตกกิ่งน้อย พันธุ์ที่มีอายุยาวมักแตกกิ่งมาก (วัชรี, 2542)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

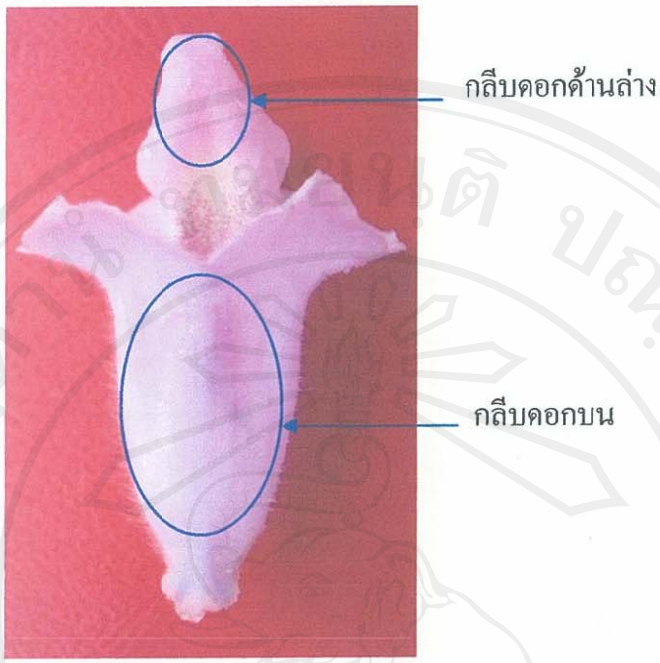
ใบ

ลักษณะรูปร่างของใบ ขอบใบหยัก ไม่มีหูใบ ใบอาจเป็นใบเดี่ยวหรือใบประกอบแบบ 3 ใบ (ทรงศักดิ์, 2539) ใบยังมีลักษณะต่างๆ กัน เช่น ยาวเป็นรูปใบหอก (lanceolate) หรือกลมรี (ovate) ใบเป็นแฉก ขอบใบเป็นจัก ปลายใบแหลม สีของใบมีตั้งแต่เขียวอ่อนจนถึงเข้ม บางพันธุ์มีสีเหลือง อาจมีขนทั้งด้านบนใบและใต้ใบ และลักษณะใบแตกต่างกันตามตำแหน่งที่อยู่ คือใบคู่แรกเกิดแบบตรงกันข้าม (opposite) แผ่นใบเป็นรูปไข่ ใบที่อยู่ถัดขึ้นไปในงาเกือบทุกพันธุ์มีลักษณะใบเป็นสามแฉก มีขนาด 8 – 15 x 6 - 10 เซนติเมตร ก้านใบยาวประมาณ 5 เซนติเมตร ใบส่วนบนของลำต้นมีการเรียงตัวแบบสลับ (alternate) หรือแบบตรงกันข้าม (opposite) ขึ้นอยู่กับพันธุ์ แผ่นใบเรียวกว่าใบล่าง เป็นรูปใบหอกขนาด 5 – 13 x 1 - 3 เซนติเมตร ใบที่อยู่ขึ้นไปด้านบนมีก้านใบสั้นลง ใบคู่บนยาว 1 – 2 เซนติเมตร (วัชรี, 2542)

ดอก

ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) ดอกส่วนมากเป็นดอกเดี่ยว มีจำนวน 1 - 3 ดอก ต่อมุมใบ ขึ้นอยู่กับพันธุ์ ดอกยาว 1.5 – 4.0 เซนติเมตร ประกอบด้วยกลีบเลี้ยงซึ่งส่วนฐานเชื่อมติดกันเป็นรูปถ้วย ส่วนปลายแยกเป็น 5 แฉก โดยมี 4 แฉก อยู่ด้านบน และ 1 แฉก ที่มีขนาดใหญ่กว่าอยู่ด้านล่าง (ภาพ 1) กลีบดอกมี 5 กลีบ เชื่อมติดกันเป็นท่อยาวคล้ายระฆัง กลีบดอกมีสีเขียวอ่อนในขณะที่ยังไม่บาน ดอกบานมีสีขาว ชมพู ม่วงอ่อน หรือพื้นขาวจุดม่วง ขึ้นอยู่กับพันธุ์ ดอกเริ่มบานจากส่วนล่างของลำต้นขึ้นสู่ส่วนยอด (รังสฤษดิ์ และคณะ, 2541) ภายในดอกมีเกสรตัวผู้ 2 คู่ คู่หนึ่งมีก้านชูเกสรสั้น อีกคู่หนึ่งยาว อับละอองเกสรสีเหลืองอ่อนแตกออกตามยาวเพื่อสลัดละอองเกสรซึ่งมีสีเหลืองอ่อน รังไข่อยู่สูงกว่าฐานกลีบเลี้ยงและกลีบดอก (superior ovary) แบ่งออกเป็น 4 – 8 ช่อง ก้านเกสรตัวเมียยาว 1.5 - 2 เซนติเมตร ยอดเกสรตัวเมียแยกเป็น 2 - 4 แฉก ดอกเริ่มบานจากส่วนล่างของ ลำต้นขึ้นไป โดยบานในตอนเช้า และร่วงในตอนเย็นของวันเดียวกัน (วัชรี, 2542) เริ่มออกดอกเมื่อปลูกต้นไปได้ 6 - 8 สัปดาห์ และมีช่วงการให้ดอกต่อเนื่องไปได้อีกหลายสัปดาห์ (Oplinger *et al.*, 1997)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 1 ลักษณะดอกงา

ฝักหรือผล

ฝักหรือผลแห้งแตก (capsule) มีรูปร่าง และขนาดผันแปรตามพันธุ์ เช่น ค่อนข้างกลม ป้อม รูปทรงกระบอก หรือแบน ฝักยาว 2 - 3 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร รูปร่างของฝักแบ่งออกเป็นแบบ 2 คาร์เพล (bicarpellate) 3 คาร์เพล (tricarpellate) 4 คาร์เพล (tetracarpellate) พันธุ์งาที่ปลูกส่วนมากเป็นแบบ 2 - 4 คาร์เพล ในแต่ละ คาร์เพลมี 2 ช่อง ฝักมีขนสั้นๆ ปกคลุม ปลายฝักมีจะงอยแหลม เมื่อฝักแก่ปลายฝักแตก ทำให้เมล็ดร่วงหลุดออกได้ ฝักงาแก่จากส่วนโคนต้นไปสู่ส่วนยอด (วัชรี, 2542)

เมล็ด

งามีเมล็ดเป็นรูปไข่เกาะติดกับผนังรังไข่ส่วนกลาง มีขนาดเล็กเรียงซ้อนกันอยู่ภายในฝัก 70 - 100 เมล็ดต่อฝัก เปลือกหุ้มเมล็ดมีหลายสีขึ้นอยู่กับพันธุ์ ตั้งแต่สีขาว ขาวอมเหลือง น้ำตาล น้ำตาลแก่ เทา และดำ น้ำหนักของเมล็ด 1,000 เมล็ด อยู่ระหว่าง 2 - 4 กรัม มีปริมาณน้ำมันประมาณ 35 – 37 เปอร์เซ็นต์ และมีโปรตีน 17 - 25 เปอร์เซ็นต์ (วัชรี, 2542) หลังจากเกิดการผสมเกสรไปแล้ว 4 - 6 สัปดาห์ เมล็ดเริ่มเข้าสู่ระยะสุกแก่ (Oplinger *et al.*, 1997)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3 สภาพภูมิอากาศและภูมิประเทศที่เหมาะสมต่อการปลูกงา

อุณหภูมิ

งาเป็นพืชเขตร้อนชอบอากาศร้อน และแดดจัด อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต 25 - 33 องศาเซลเซียส (กรมวิชาการเกษตร, 2545) และอุณหภูมิดินที่เหมาะสมกับการงอกของเมล็ด คือ 25 - 32 องศาเซลเซียส งาไม่ชอบอากาศหนาวเย็น ถ้าหากอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส ทำให้การงอกและการเจริญเติบโตในระยะต้นกล้าช้า หากอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส มีผลยับยั้งการเจริญเติบโต แต่ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส ทำให้การผสมเกสรติดยาก การสร้างฝักเป็นไปได้ช้า (วัชรี, 2542)

ดิน

งาสามารถขึ้นได้ดีในดินแทบทุกชนิด แต่เจริญเติบโตได้ดีที่สุดในดินร่วนปนทรายที่มีความอุดมสมบูรณ์พอสมควร มีการระบายน้ำดีและมีความเป็นกรดด่าง ระหว่าง 6.0 - 6.5 ไม่ทนต่อสภาพน้ำขัง ถ้าปลูกในดินเค็มรากของงาชะงักการเจริญเติบโต ทำให้ผลผลิตของงาลดลง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2545)

น้ำ

งาเป็นพืชที่ค่อนข้างทนแล้ง ปลูกได้ในเขตที่มีปริมาณน้ำฝน 300-1,000 มิลลิเมตร งาสามารถเจริญเติบโตอยู่ได้ถ้าฝนแล้งในช่วงสั้น ๆ อัตราการใช้น้ำของงาหลังจากงอกเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงช่วงระยะออกดอกเป็นช่วงที่งาใช้น้ำมากที่สุด หลังจากระยะออกดอกจนถึงเก็บเกี่ยวแล้ว อัตราการใช้น้ำลดลง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2545)

ช่วงแสงและความเข้มของแสง

โดยธรรมชาติงาเป็นพืชที่ไวต่อช่วงแสง ช่วงแสงที่มีผลต่อการออกดอกของงา คือ ประมาณ 11 ชั่วโมง (วัชรี, 2542) ต้นงาเจริญเติบโตได้ดีภายใต้ช่วงแสง 12 ชั่วโมง ถ้าช่วงแสงลดลงต่ำกว่า 10 ชั่วโมงต่อวัน มีผลทำให้ออกดอกช้า เนื่องจากการเติบโตของพืชถูกจำกัด (อานนท์, 2533) นอกจากนี้ความเข้มของแสงมีผลต่อการสร้างลักษณะ รูปร่าง การเจริญเติบโตและการออกดอกด้วย (วัชรี, 2542) ซึ่งโดยปกติงาออกดอกเมื่ออายุประมาณ 42 - 45 วัน หลังจากปลูก หากช่วงแสงยาวขึ้นทำให้งาออกดอกช้าลง แต่ความสูงเพิ่มขึ้น (อนันต์, 2526)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ธาตุอาหาร

งาต้องการธาตุอาหารทั่วไปเหมือนกับพืชชนิดอื่น ๆ อัตราการดูดธาตุอาหารหลักของงาผันแปรไปตามอายุการเจริญเติบโตของงา อัตราการใช้ธาตุอาหาร ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ของงาเพิ่มสูงขึ้นในระยะแรกจนถึงอายุประมาณ 60 วัน จากนั้นความต้องการธาตุโพแทสเซียมลดลง และเพิ่มขึ้นอีกในระยะติดฝัก ส่วนความต้องการธาตุไนโตรเจนเริ่มลดลงในระยะติดฝัก สำหรับความต้องการธาตุฟอสฟอรัสนั้น พบว่างามีความต้องการในปริมาณที่สูงตลอดฤดูปลูก (พรรณทิพา และคณะ, 2529)

2.4 ฤดูปลูก (กรมวิชาการเกษตร, 2537)

วันปลูกมีอิทธิพลต่องามาก เพราะเกี่ยวข้องกับความเข้มของแสง ความยาวของช่วงแสง อุณหภูมิ การกระจายของฝน และการระบาดของโรคและแมลง ช่วงปลูกที่เหมาะสม แบ่งเป็น 2 ช่วง คือ

1. ต้นฤดูฝน ปลูกกลางเดือนมีนาคม – กลางเดือนเมษายน
2. ปลายฤดูฝน ปลูกกลางเดือนกรกฎาคม – กลางเดือนสิงหาคม

สำหรับฤดูปลูกงาของเกษตรกรตามภาคต่าง ๆ ในประเทศไทยมีดังนี้

ภาคเหนือ

สภาพนา ก่อนปลูกข้าว ที่เพชรบูรณ์และนครสวรรค์ ปลูกเดือนมีนาคม – เมษายน เก็บเกี่ยว เดือนมิถุนายน – สิงหาคม

สภาพไร่ ปลูกเดือนมิถุนายน – สิงหาคม เก็บเกี่ยวเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

สภาพนา ก่อนปลูกข้าว ปลูกเดือนกุมภาพันธ์ – เมษายน เก็บเกี่ยวเดือน มิถุนายน – กรกฎาคม

สภาพไร่ ปลูกเดือนกุมภาพันธ์ – เมษายน เก็บเกี่ยวเดือนมิถุนายน – กรกฎาคม และปลูกเดือนกรกฎาคม – สิงหาคม เก็บเกี่ยวเดือน พฤศจิกายน – ธันวาคม

ภาคตะวันออก

ปลูกเดือนกรกฎาคม – สิงหาคม เก็บเกี่ยวเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม

ภาคตะวันตก

ปลูกเดือนกรกฎาคม – สิงหาคม เก็บเกี่ยวเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.5 การเตรียมดิน (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2545)

การเตรียมดินเป็นปัจจัยที่สำคัญในการปลูกงาเนื่องจากเมล็ดงามีขนาดเล็ก ควรมีการเตรียมดินให้ร่วนซุย ช่วยให้งางอกได้ดีและมีความสม่ำเสมอ การไถพรวนมากหรือน้อยครั้งขึ้นอยู่กับโครงสร้างและชนิดของเนื้อดิน ถ้าเป็นดินร่วนปนทราย ไถ 1 - 2 ครั้ง ส่วนดินเหนียวต้องไถมากครั้งกว่าดินร่วน โดยไถ 2 - 3 ครั้ง เพื่อย่อยดินให้ละเอียดให้ผลผลิตสูงกว่าไถเพียงครั้งเดียว

2.5.1 วิธีการปลูกและระยะปลูก

การปลูกงา มี 2 วิธี คือ

1. การปลูกแบบหว่าน เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมปลูกงาด้วยวิธีนี้ โดยหลังจากเตรียมดินดีแล้ว ใช้เมล็ดงาหว่านให้กระจายสม่ำเสมอ ในแปลงปลูก แล้วคราดกลบทันทีเพราะถ้ารอจนหน้าดินแห้ง หรือเมล็ดถูกแดดเผานานๆ เมล็ดงาจะตกมัน ทำให้ไม่งอกหรืองอกไม่สม่ำเสมอ สำหรับเมล็ดพันธุ์ที่หว่านใช้ประมาณ 1 - 2 กิโลกรัมต่อไร่ ในการหว่านอาจใช้ทรายละเอียด ขี้เถ้า แกลบ หรือมูลสัตว์ ผสมในอัตรา 1:1 เพื่อช่วยให้เมล็ดงากระจายสม่ำเสมอมากขึ้น

2. การปลูกแบบโรยเป็นแถว ในการทำร่องสำหรับโรยเมล็ด ส่วนใหญ่คราดแถว ช่วยให้ทำแถวปลูกได้เร็วขึ้น ระยะปลูก 50 x 10 เซนติเมตร หลังจากปลูกแล้ว 15 - 20 วัน ให้ทำการถอนแยกให้ได้ระยะต้นตามความต้องการ อัตราเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ประมาณ 2 - 3 กิโลกรัมต่อไร่ การปลูกด้วยวิธีนี้ใช้เมล็ดพันธุ์มากกว่าวิธีหว่าน เสียเวลาและแรงงานมากต้องกำจัดวัชพืชระหว่างแถวปลูก แต่สะดวกในการพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช การปลูกแบบเป็นแถวนี้ให้ผลผลิตสูงกว่าการปลูกด้วยวิธีหว่าน

2.5.2 การใส่ปุ๋ย

ปุ๋ยเคมีที่ใช้กับงา ในดินทรายหรือดินร่วนปนทรายที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ให้ใช้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ในอัตรา 20 - 30 กิโลกรัม/ไร่ สำหรับดินร่วนปนดินเหนียว ใช้ปุ๋ยสูตร 20-20-0 ในอัตรา 20-25 กิโลกรัม/ไร่ การใส่ปุ๋ยในโตรเจน ควรใส่ขณะที่งาจะให้ดอกในปริมาณที่ไม่มากเกินไป เพราะปุ๋ยในโตรเจนทำให้งาแก่ช้าและปริมาณน้ำมันในเมล็ดลดลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.6 การพัฒนาการของงา (วีรณา และคณะ, 2539)

ข้อมูลพื้นฐานทางด้านการพัฒนาการของงา นอกจากเป็นประโยชน์ในการใช้เป็นมาตรฐานเดียวกันของนักวิจัยงาแล้ว ยังสามารถใช้เป็นตัวกำหนดเพื่อให้เกิดความสะดวกในการปฏิบัติการต่างๆ ได้อีกด้วย เช่น การใส่ปุ๋ย การกำจัดวัชพืช และการเก็บเกี่ยว เป็นต้น ตลอด

ระยะเวลาที่ผ่านมา ยังไม่มีการจัดระยะการเจริญเติบโตและพัฒนาการของงา (growth and development stage) ในประเทศไทย วีรณา และคณะ (2539) ได้ศึกษาเพิ่มเติมจาก บุญเกื้อ และ สมพงษ์ (2539) ได้จัดระยะการเจริญเติบโตและพัฒนาการของงาออกเป็น 11 ระยะ เป็นระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น 5 ระยะ และระยะการเจริญเติบโตทางดอกและผล 6 ระยะ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตาราง 1 ระยะการเจริญเติบโตและพัฒนาการของงา

ระยะ	ลักษณะที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า
VE	เมื่อต้นกล้างอกพ้นผิวดิน และใบเลี้ยงคลี่ออก
V1	เมื่อใบจริงคู่ที่ 1 ยาว 1.5 ซม.
V2	เมื่อใบจริงคู่ที่ 2 ยาว 1.5 ซม.
V3	เมื่อใบจริงคู่ที่ 3 ยาว 1.5 ซม.
V4	เมื่อใบจริงคู่ที่ 4 ยาว 1.5 ซม.
R0	เมื่อมองเห็นตาดอกแรก
R1	เมื่อมองเห็นตาดอกแรก 50 % ของประชากร
R2	เมื่อดอกแรกบาน
R3	เมื่อดอกแรกบาน 50 % ของประชากร
R4	เมื่อฝักแรกแก่
R5	เมื่อดอกสุดท้ายบาน

2.7 แนวทางการปรับปรุงพันธุ์งา

งาเป็นพืชน้ำมันที่สำคัญทางเศรษฐกิจพืชหนึ่งของประเทศ และมีความสำคัญขึ้นทุกปี เนื่องจากเป็นพืชที่มีศักยภาพในการผลิตและการตลาดสูง สามารถปลูกขึ้นง่าย ลงทุนน้อย ทนต่อสภาพความแห้งแล้งได้ดี เกษตรกรนิยมปลูกงาก่อนและหลังการทำนา หรือหลังจากการเก็บเกี่ยวพืชหลัก การปลูกงามีทั้งในสภาพไร่และสภาพนา ขึ้นอยู่กับสภาพพื้นที่ของแต่ละท้องถิ่น เมล็ดงาและน้ำมันงามีคุณค่าทางด้านโภชนาการสูง เมล็ดงาประกอบด้วยน้ำมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน และแร่ธาตุต่าง ๆ ที่จำเป็นหลายชนิด ในเมล็ดงามีน้ำมันงาประมาณร้อยละ 47 - 60 มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง จึงเหมาะสำหรับนำมาใช้บริโภคเพราะช่วยกันรักษาระดับโคเลสเตอรอลใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ร่างกาย ป้องกันไม่ให้เกิดหลอดเลือดแข็งตัวหรือเส้นเลือดอุดตัน ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของโรคหัวใจขาดเลือด การผลิตงาของประเทศไทย พบว่ามีพื้นที่ปลูกงาประมาณ 381,000 ไร่ ผลผลิตรวม 35,000 ตัน โดยผลผลิตส่วนใหญ่ร้อยละ 55 ส่งออกไปต่างประเทศมูลค่าประมาณ 400 ล้านบาท ส่วนที่เหลืออีกร้อยละ 45 ใช้ภายในประเทศ การผลิตงาของประเทศไทยยังไม่เพียงพอกับความต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ ซึ่งมีความต้องการเพิ่มมากขึ้นทุกปี (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2545)

การปรับปรุงพันธ์งาของกรมวิชาการเกษตรเน้นปรับปรุงพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง แต่งานวิจัยตั้งแต่ปี 2530 เป็นต้นมา การปรับปรุงพันธุ์มุ่งเน้นผลผลิตสูง คุณภาพเมล็ดดี และด้านทานโรคที่สำคัญ รวมไปถึงให้เหมาะสมกับการใช้เครื่องจักรกลด้วย (สายสุนีย์ และ คณะ, 2539)

2.7.1 ประวัติการปรับปรุงพันธุ์งา

งานปรับปรุงพันธุ์งาของกรมวิชาการเกษตร ได้เริ่มดำเนินการมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2491 โดยศึกษาการปลูกงาของเกษตรกรในจังหวัดสุโขทัย ซึ่งส่วนมากเป็นการรวบรวมและศึกษาพันธุ์ รวมทั้งการเปรียบเทียบพันธุ์ จากทั้งในและต่างประเทศ ต่อมาได้มีการเปรียบเทียบพันธุ์งาพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์ต่างประเทศที่สถานีกสิกรรมศรีสำโรง ในปี พ.ศ. 2502 สถานีกสิกรรมบางเขนได้รวบรวมพันธุ์งาจากไต้หวันจำนวน 11 พันธุ์ และจากสหรัฐอเมริกาจำนวน 8 พันธุ์ เพื่อปลูกเปรียบเทียบผลผลิตกับพันธุ์พื้นเมืองของไทย ปรากฏว่า พันธุ์ต่างประเทศส่วนใหญ่ยังให้ผลผลิตด้อยกว่าพันธุ์พื้นเมือง จนกระทั่งปี พ.ศ. 2520 ได้เริ่มปรับปรุงพันธุ์งาขาวร้อยเอ็ด 1 โดยวิธีคัดเลือกหมู่ (mass selection) และได้รับการรับรองพันธุ์ในปี พ.ศ. 2527 เป็นงาที่มีอายุเก็บเกี่ยวสั้น ให้ผลผลิตสูง ต่อมาในปี พ.ศ. 2528 ได้รวบรวมพันธุ์งาที่มีอยู่ทั้งหมดที่เก็บรวบรวมไว้ที่สถานีทดลองพืชไร่มหาสารคามมาไว้ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี ซึ่งทำหน้าที่เป็นสถานีหลักในการวิจัยโดยตรง (ทักษิณา, 2539) ต่อมาในปี พ.ศ. 2530 ได้งาขาวพันธุ์มหาสารคาม 60 มีเมล็ดใหญ่ และให้ผลผลิตสูง สีและขนาดเมล็ด ตรงตามความต้องการของตลาด ในปี พ.ศ. 2536 ได้งาแดงพันธุ์อุบลราชธานี 1 ที่มีผลผลิตสูง ฝักไม่แตกง่าย เมล็ดใหญ่ และทนทานต่อแมลงศัตรูพืช และในปี พ.ศ. 2545 ได้งาขาวพันธุ์อุบลราชธานี 2 ที่ให้ผลผลิตสูง (กรมวิชาการเกษตร, 2545)

2.7.2 ลักษณะของพันธุ์งาที่ดีเพื่อใช้ประโยชน์ในเชิงพืชไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2537)

ในทัศนะของนักปรับปรุงพันธุ์แล้ว พันธุ์งาที่ดีควรมีลักษณะดังนี้ คือ

1. เป็นงาขาวหรืองาดำที่มีขนาดเมล็ดใหญ่ โดยงาขาวควรมีเมล็ดขาวสะอาด และงาดำควรมีเมล็ดดำสนิท

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. เป็นพันธุ์ที่ฝักไม่แตกง่ายเมื่อแก่ ซึ่งในสภาพการผลิตของเกษตรกรไทยในปัจจุบัน ต้องการพันธุ์ที่แตกเฉพาะตรงปลายฝักเมื่อแก่เต็มที่ แต่ไม่ต้องการพันธุ์ที่แตกอ้าทั้งฝัก
3. เป็นพันธุ์ที่มีอายุเก็บเกี่ยวสั้น ไม่ไวต่อช่วงแสง และถ้าเป็นไปได้ควรเป็นพันธุ์ที่ออกดอกในเวลาใกล้เคียงกันหรือออกดอกพร้อม ๆ กัน
4. เป็นพันธุ์ที่ไม่แตกกิ่ง หรือแตกกิ่งน้อย และมีฝักดกอย่างน้อย 3 ฝักต่อหนึ่งซอกใบ โดยฝักเกิดตั้งแต่ระดับโคนต้น
5. เป็นพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์น้ำมันสูงหรือมีโปรตีนสูง
6. เป็นพันธุ์ที่ทนแล้งและโตเร็ว สามารถขึ้นแข่งกับวัชพืชได้ดี
7. เป็นพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคที่สำคัญบางชนิด เช่น โรคโคนเน่า โรคยอดฝอย โรคต้นเหี่ยว เป็นต้น
8. เป็นพันธุ์ที่ต้านทานแมลงศัตรูที่สำคัญบางชนิด เช่น หนอนห่อยอด หนอนผีเสื้อหัวกะโหลก เป็นต้น
9. ผลิตเป็นพันธุ์ลูกผสม (hybrid) โดยใช้ประโยชน์จากการเป็นหมันของงาแบบ genetic male sterility ซึ่งพบว่า พันธุ์งาที่มีลักษณะที่เป็นหมันนั้น มียีนตรวจสอบ (marker gene) ที่ใช้ตรวจสอบการเป็นหมันได้ คือ ต้นที่เป็นหมันมีอับเรณูสีเขียวอ่อนเห็นได้ชัดเจนตั้งแต่ก่อนดอกบาน 3 – 4 วัน จึงสามารถใช้ประโยชน์จากการเป็นหมันแบบนี้ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมได้ แม้ว่าประสิทธิภาพไม่ดีเท่ากับกับการเป็นหมันแบบ cytoplasmic genetic male sterility (ยังไม่มีรายงานว่าพบในงา) แต่ช่วยเพิ่มผลผลิตและใช้ในการสร้างความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genetic variability) และการปรับปรุงประชากร (population improvement) เพื่อประโยชน์ในการคัดสายพันธุ์บริสุทธิ์ต่อไปได้อีกด้วย

2.7.3 ลักษณะทางพันธุกรรมของงา

ในการปรับปรุงพันธุ์งานั้น ถ้านักปรับปรุงพันธุ์ ทราบถึงพันธุกรรมของลักษณะที่ต้องการปรับปรุงก็ช่วยให้การดำเนินงานประสบความสำเร็จตามวัตถุประสงค์ได้แน่นอนยิ่งขึ้น ลักษณะทางพันธุกรรมบางประการทั้งที่มีความสัมพันธ์และไม่มีความสัมพันธ์กับองค์ประกอบของผลผลิต ซึ่งถูกควบคุมด้วยยีนเพียงคู่เดียว และสามารถใช้เป็นยีนตรวจสอบสำหรับตรวจสอบลูกผสม ได้แก่

1. ลักษณะฝักแตกเมื่อแก่ข่มฝักไม่แตกเมื่อแก่ ซึ่งพันธุ์ที่ฝักแตกปรากฏร่วมกับลักษณะใบติ่ง (leaf enation) หรือใบรูปถ้วย (cup-shaped leaf)
2. ลักษณะใบมีขนข่มใบไม่มีขน
3. ดอกสีม่วงข่มดอกสีชมพูและขาว เช่นเดียวกับดอกสีแดงข่มดอกสีขาว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. ลักษณะกลีบดอกเปิด ข่มลักษณะกลีบดอกปกติ
5. ลักษณะแตกกิ่ง ข่มลักษณะไม่แตกกิ่ง
6. ลักษณะมี 1 ฝักต่อซอกใบ ข่มลักษณะ 3 ฝักต่อซอกใบ
7. ลักษณะฝัก 4 พู ข่ม 8 พู
8. เมล็ดผิวขรุขระข่มเมล็ดผิวเรียบ
9. เมล็ดมีสีข่มเมล็ดสีขาว
10. ลักษณะใบเรียบข่มใบย่น
11. ลักษณะทอดยอด (indeterminate) ข่มลักษณะไม่ทอดยอด (determinate)

นอกจากนี้แล้วยังมีลักษณะทางพันธุกรรมที่นักปรับปรุงพันธุ์งาควรทราบอีก ได้แก่ จำนวนพูของฝักงาเท่ากับจำนวนแฉกของยอดเกสรตัวเมีย งาที่มีเมล็ดสีดำมีดอกสีม่วง และลำต้นกับก้านใบอาจมีสีแดงอีกด้วย งาที่มีลักษณะต้นแบนถูกควบคุมโดยยีนด้อย และการเป็นหมันในงาถูกควบคุมโดยยีนด้อยเพียงคู่เดียว โดยมีลักษณะการเป็นหมันแบบ genetic male sterility ซึ่งมียีนตรวจสอบการเป็นหมันได้คือ ต้นที่เป็นหมันมีอับเรณูสีเขียวอ่อนและใส

2.7.4 การปรับปรุงพันธุ์งา

งาเป็นพืชผสมตัวเอง ดังนั้นวิธีการปรับปรุงพันธุ์พืชที่ใช้กับพืชผสมตัวเองทั่ว ๆ ไปสามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์งาได้ แต่เนื่องจากวิธีการปรับปรุงพันธุ์ผสมตัวเองนั้นมีหลายวิธี การเลือกใช้วิธีไหนนั้นอาจต้องพิจารณา ให้เหมาะสมกับลักษณะที่ต้องการปรับปรุง เช่น

1. ถ้าต้องการทำให้เมล็ดพันธุ์บริสุทธิ์ มีความสม่ำเสมอของสายพันธุ์มากขึ้น ควรใช้วิธีการคัดเลือกพันธุ์บริสุทธิ์ (pure line selection)
2. ถ้าต้องการปรับปรุงพันธุ์งาให้ต้านทานโรคหรือแมลง ควรหาแหล่งพันธุกรรมของงาที่ต้านทานต่อโรคหรือแมลงชนิดนั้น ๆ เมื่อหามาได้อาจใช้เป็นพันธุ์ให้ (donor parent) ในการผสมพันธุ์โดยวิธีการผสมกลับ (backcrossing) นอกจากนี้อาจใช้วิธีนี้ในการปรับปรุงลักษณะทางคุณภาพ (ลักษณะที่ถูกควบคุมโดยยีนน้อยคู่) บางอย่างได้ เช่น อายุเก็บเกี่ยว ความสูง และสีเมล็ด เป็นต้น
3. การปรับปรุงพันธุ์งาเพื่อเพิ่มผลผลิตของงาให้สูงขึ้น ในกรณีนี้อาจใช้วิธีการคัดเลือกพันธุ์แบบรู้ประวัติ (pedigree method) หรือ การคัดเลือกพันธุ์แบบหนึ่งเมล็ดต่อต้น (single seed descent)
4. การปรับปรุงพันธุ์งาโดยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutation breeding) โดยใช้สารเคมีหรือรังสีชนิดต่าง ๆ เพื่อสร้างสายพันธุ์ใหม่ ๆ ขึ้นมา หรือสร้างความแปรปรวนทางพันธุกรรมเพื่อใช้ในการคัดเลือกพันธุ์โดยวิธีปกติต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.8 การปรับปรุงพันธุ์โดยการกระตุ้นให้เกิดการกลายพันธุ์

การที่พืชมีลักษณะทางพันธุกรรมเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมหรือที่เรียกว่า พืชกลายพันธุ์ สามารถเกิดขึ้นได้ใน 2 รูปแบบ คือ 1) เนื่องจากการผสมข้าม ทำให้ลักษณะพันธุกรรมเปลี่ยนไป 2) เกิดจากการเหนี่ยวนำ (genetic induction) ให้รหัสพันธุกรรม (genetic code) ของยีน เปลี่ยนไปจากของเดิม ซึ่งอาจเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (spontaneous) หรือถูกทำให้เกิดขึ้น (artificial) การกลายพันธุ์เนื่องจากการเหนี่ยวนำพันธุกรรม เรียกว่า mutation (กฤษฎา, 2546) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสิ่งมีชีวิตอย่างฉับพลัน อันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรม และลักษณะที่เปลี่ยนสามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลานได้ การเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรม หมายถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างยีน รูปร่างหรือจำนวนโครโมโซม (นพพร, 2543) การกลายพันธุ์อาจนำไปสู่การได้พันธุ์ดี แม้ว่าส่วนใหญ่แล้วมักได้ลักษณะที่ไม่พึงประสงค์ก็ตาม ซึ่งการกลายพันธุ์จึงมีประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์พืช (สุทัศน์, 2528)

2.8.1 ชนิดของการกลายพันธุ์ (กฤษฎา, 2546)

การกลายพันธุ์เนื่องจากการเหนี่ยวนำพันธุกรรม แบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม

1. การเปลี่ยนแปลงลำดับของหน่วยพันธุกรรม (nucleotide) เรียกว่าการกลายพันธุ์เฉพาะจุด (point mutation) เป็นการเปลี่ยนแปลงรหัสพันธุกรรม

2. การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซม (chromosome mutation หรือ chromosome aberration) ทำให้ ตำแหน่งของยีนบนโครโมโซมเปลี่ยนแปลง สามารถเกิดได้ 4 แบบด้วยกัน คือ ชิ้นส่วนของโครโมโซมขาดหายไป (deletion) มีการเพิ่มชิ้นส่วนของโครโมโซมขึ้นมา (insertion) เส้นโครโมโซมเกิดจากการสร้างห่วงหรือมีการวกกลับของเส้นโครโมโซม (inversion) และ เกิดการขาดของส่วนโครโมโซมที่จุดหนึ่ง แล้วมีการเคลื่อนย้ายชิ้นส่วนของโครโมโซมไปทั้งชุด (translocation) (ณัฐา และคณะ, 2545)

3. การเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม (ploidy mutation) โดยอาจเพิ่มขึ้นเป็น 2 หรือหลายเท่า ซึ่งทำให้พืชมีขนาดใหญ่ขึ้น หรือลดลงเหลือครึ่งหนึ่ง (n) ซึ่งสามารถนำไปเพิ่มโครโมโซมเป็น 2 เท่า (2n) เพื่อสร้างสายพันธุ์แท้ (pure line) หรือสายพันธุ์บริสุทธิ์ (inbred line) ได้ (นพพร, 2543)

การเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์ สามารถทำได้ ด้วยกระบวนการทางกายภาพและทางเคมี ในทางกายภาพ ได้แก่การใช้รังสีต่างๆ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ 1) รังสีที่ก่อไอออน (ionizing radiation) 2) รังสีที่ไม่ก่อไอออน (non-ionizing radiation) (กฤษฎา, 2546)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.8.2 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยสารเคมี (กฤษฎา, 2546)

สารเคมีที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์มีอยู่เป็นจำนวนมาก แต่ละชนิดให้ผลที่แตกต่างกัน โดยทั่วไปสารเคมีทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยีน มากกว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซมเมื่อเทียบกับการใช้รังสี

มีสารเคมีอยู่ 4 กลุ่ม ที่ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวาง มีผลกระทบต่อสารพันธุกรรม ได้แก่

1. สารเคมีที่มีโมเลกุลคล้ายกับฐานของหน่วยพันธุกรรม (base analogues) เช่น 5-bromouracil (5-BU) ซึ่งมีลักษณะคล้าย thymine สารดังกล่าว สามารถจับคู่ได้กับ adenine (A) และ guanine (G) จึงสามารถเปลี่ยนคู่ฐานของหน่วยพันธุกรรม (base pair) จาก AT ⟶ A – 5 – BU ⟶ GC ในทางกลับกัน 5-BU ก็สามารถเปลี่ยน GC ⟶ AT ส่วนพวก 2-aminopurine สามารถเข้าทดแทน adenine และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคู่ฐานของหน่วยพันธุกรรมเช่นกัน

2. กลุ่มทำปฏิกิริยาโดยตรงกับฐานของหน่วยพันธุกรรม (adenine, guanine, thymine และ cytosine) เช่น nitrous acid (HNO_2) สามารถให้ออกซิเจนเข้าแทนที่ amino group ของพวก adenine, cytosine และ guanine ที่ carbon atom 6 เป็นผลให้ adenine ทำหน้าที่คล้าย guanine และเกิดการเปลี่ยนแปลงจาก AT ⟶ GC ถ้าเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ cytosine ทำให้มีคุณสมบัติคล้าย thymine จะเกิดการเปลี่ยนแปลงจาก GC ⟶ AT

3. alkylating agents ที่สามารถเข้าแทนที่ purine ในสายนิวคลีโอไทด์ เช่น ethyl ethanesulfonate (EES) และ ethyl methanesulfonate (EMS) สามารถเสริม alkyl group (ethyl และ methyl) ในตำแหน่งต่างๆ ของสายนิวคลีโอไทด์ ทำให้การจับคู่ของฐานของหน่วยพันธุกรรมเปลี่ยนไป EES และ EMS เข้าทำปฏิกิริยาโดยตรงกับ guanine โดยเสริม ethyl หรือ methyl group เข้ากับ carbon 7 ทำให้ guanine หลุดออกจากสายนิวคลีโอไทด์ และขึ้นอยู่กับว่าฐานของหน่วยพันธุกรรมตัวไหนเข้าไปแทนที่ ทำให้ลำดับของหน่วยพันธุกรรม (nucleotide) เปลี่ยนไป

4. acridine dyes มีคุณสมบัติในการลด (deletion) หรือเพิ่ม (addition) ฐานของหน่วยพันธุกรรมในเส้นใยพันธุกรรม โดยเข้าแทรกตัวระหว่างฐานของหน่วยพันธุกรรม ในขณะที่สายนิวคลีโอไทด์ถอดแบบตัวเอง เกิดการหลุดหายหรือเพิ่มขึ้นของฐานของหน่วยพันธุกรรม สารเคมีที่สำคัญในกลุ่มนี้ เช่น proflavine และ ethidium bromide

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.8.3 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยสารโคลชิซิน

สารโคลชิซิน (colchicine) เป็นสาร alkaloid ชนิดหนึ่งซึ่งพบในหัว เมล็ด ดอก และเนื้อเยื่ออื่นๆของ autumn crocus *(Colchicum autumnale)* (มานิตา, 2548) ซึ่งอยู่ในตระกูล

Liliaceae พบในบริเวณ Mediterranean และเอเชียกลาง นอกจากนี้ยังมีการพบสารกลุ่ม alkaloid หรือโคลชิซินในพืชอื่นๆ เช่นใน *Gloriosa superba* (Liliaceae) (อดิศร, 2533) โคลชิซิน มีผลต่อการทำงานของสายสปินเดิล คือ สายสปินเดิลไม่ดึงโครโมโซมไปยังขั้วของการแบ่งเซลล์ โครโมโซมไม่เคลื่อนที่ไปที่แนวกลางเซลล์ หลังจากนั้น โครมาติดแยกจากกันทำให้โครโมโซมเพิ่มขึ้นอีก 1 เท่า ภายในนิวเคลียสเดิม ถ้ายังให้โคลชิซินต่อไปอีก การเพิ่มจำนวนโครโมโซมเกิดขึ้นได้อีกต่อไปเรื่อยๆ จนกระทั่งมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมากในนิวเคลียสอันเดิม (นลินี, 2526)

สารโคลชิซินนี้มีผู้นำมาใช้ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืชอย่างกว้างขวางเนื่องจาก

1. ไม่ทำอันตรายต้นพืช แม้จะใช้ในอัตราสูง เพราะเป็นสารที่สกัดมาจากพืช
2. เคลื่อนย้ายไปตามส่วนต่างๆของพืช โดยยังรักษารูปเดิมและทำหน้าที่ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้เป็นเวลานาน
3. ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกับโครงสร้างของยีน

มีประสิทธิภาพสูง จากการนำไปทดลองกับพืชหลายชนิด(นพพร, 2543)

โคลชิซิน เป็นผงละลายในน้ำให้สารละลายมีสีเหลืองอ่อน วิธีการใช้โคลชิซินมีหลายวิธี ดังนี้ (อดิศร, 2533)

1. จุ่มส่วนของต้นพืชในสารละลาย
2. ใช้ผสมกับวุ้นแล้วนำไปให้สัมผัสกับต้นพืชในขณะที่ยังไม่แข็งตัว เช่น เมื่อยังอุ่นๆ อยู่
3. โดยใช้ capillary string
4. หยดสารละลายลงบนส่วนของพืช
5. โดยการพ่นให้ถูกกับส่วนของต้นพืชเป็นระยะๆ
6. ผสมกับลาโนลิน
7. แช่เมล็ดในสารละลาย

สำหรับความเข้มข้นและระยะเวลาที่ใช้ผันแปรไปตามชนิดพืชและส่วนของพืช

การชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมโดยสารโคลชิซิน อาจพบความผิดปกติในลักษณะแตกต่างกันออกไปจากการเพิ่มจำนวนชุดของจำนวนโครโมโซม กฤษฎา (2519) ได้กล่าวว่า ความผิดปกติแบบ chimera ซึ่งเกิดจากพืชที่ถูกชักนำให้เกิดเป็น polyploid เพียงบางส่วนของเนื้อเยื่อ มักพบในสองลักษณะคือ sectorial ploid-chimera คือ การเกิดการเปลี่ยนแปลงเพียงบางส่วน แต่ส่วนอื่น ๆ ยังคงปกติ และความผิดปกติแบบ periclinal ploid-chimera เกิดจากเซลล์ชั้นของ epidermis และเซลล์ชั้นในมีจำนวนโครโมโซมที่แตกต่างกัน ผลที่ได้อาจส่งผลให้เซลล์ปากใบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ซึ่งเจริญมาจากเซลล์ชั้นนอกแสดงผลเป็น polyploid คือ มีลักษณะใหญ่กว่าต้นปกติ แต่ขนาดของละอองเรณู เจริญมาจากเซลล์ชั้นในมีลักษณะปกติ

วิมล (2527) ได้กล่าวว่า การตรวจหาลักษณะพืชที่ถูกชักนำให้เกิด polyploid วิธีที่ดีที่สุด คือ การตรวจนับจำนวนโครโมโซม ซึ่งมักนิยมใช้กัน ฉะนั้นในการศึกษาดูจำนวนโครโมโซมควรมีการสังเกตลักษณะทางกายภาพร่วมกันไปด้วย เช่น รูปร่าง และขนาดของส่วน ต่าง ๆ ของพืช เช่น ใบ ดอก ผลและเมล็ด ซึ่งอาจช่วยแยกพืชได้เป็น 2 กลุ่ม คือ พวกที่ตอบสนองต่อสารโคลชิซินกับพวกที่ไม่ตอบสนอง ต่อมาพิจารณาดูขนาดละอองเกสร รูปร่างใบ ขนาดของเซลล์คุม ตลอดจนเปอร์เซ็นต์ความเป็นหมัน พืชต้นใดที่เข้าเกณฑ์ว่าเป็น polyploid จึงทำการนับจำนวนโครโมโซม

เนื่องจากการปรับปรุงพันธุ์งา เพื่อใช้ประโยชน์ในทางไม้ดอกไม้ประดับยังเป็นแนวทางใหม่ที่ยังไม่ค่อยมีงานวิจัยศึกษามาก่อน มีแต่งานวิจัยที่เกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์งาเพื่อใช้ประโยชน์ในเชิงเศรษฐกิจอื่น ๆ ซึ่งเป็นการปรับปรุงพันธุ์โดยการใช้รังสีและสารเคมีเพื่อชักนำให้งามีลักษณะต่าง ๆ กันออกไป อย่างเช่นงานทดลองดังต่อไปนี้

Kamala and Sasikala (1985) ทำการศึกษาฉายรังสีแกมมากับงา 2 สายพันธุ์ ได้แก่ TMV5 และ IS 103 พบว่าการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้รังสีแกมมาทำให้เมล็ดและปริมาณน้ำมันมากกว่าต้นพ่อ แม่ โดยที่การใช้สารละลายโคลชิซิน มีผลทำให้ผลอ่อนและฝักเหนียวขึ้น ผลผลิตเมล็ดต่ำ ปริมาณน้ำมันและโปรตีนน้อยลง ต่อมาในปี 1996 Cargigan ได้ทำการทดลองฉายรังสีแกมมากับเมล็ดงา turkish โดยนำเมล็ดงาสายพันธุ์ Muganlii-57, Ozberk-82, Camdibi และ Golmarmara ไปฉายรังสีที่ปริมาณ 150, 300, 450, 600 และ 750 Gy พบว่า การเพิ่มปริมาณรังสีสูงขึ้นมีผลทำให้การมีชีวิตรอดของต้น และความสูงลดลง ตลอดจนอายุการออกดอกของงาล่าช้าลงด้วย สรุปได้ว่าปริมาณรังสีที่ 300 และ 450 Gy มีผลเป็นอย่างมากในการชักนำที่ทำให้เกิดความเสียหายในทางสรีรวิทยาในงา รุ่น M1 ของงา turkish ทั้ง 4 สายพันธุ์ และ Govindarasu *et al.* (2001) ได้ศึกษาความผันแปรเนื่องมาจากการกลายพันธุ์ การผสมพันธุ์ และการผสมพันธุ์ร่วมกับการใช้สิ่งที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในงา โดยใช้ งาลูกผสม 9 สายพันธุ์ ซึ่งได้จากการผสมระหว่าง TMV3, TMV4 และ TMV6 กับ UCR82, RJS199 และSi3315/11 นำเมล็ดงาลูกผสมที่ได้นี้ไปฉายรังสีแกมมาที่ 200 Gy พบว่า กรณีที่เป็นการผสมพันธุ์ร่วมกับการใช้รังสีนี้จะเกิดประสิทธิภาพในการปรับปรุงพันธุ์งาได้ดีกว่าการผสมพันธุ์ หรือการกลายพันธุ์เพียงอย่างเดียว จะทำให้ความสูงของต้น จำนวนกิ่ง จำนวนฝัก ความยาวของฝัก และจำนวนเมล็ดต่อฝัก มีคุณภาพดีขึ้น นอกจากนั้นแล้ว สรศักดิ์ และคณะ (2544) ปรับปรุงสายพันธุ์งาเพื่อไม่ตอบสนองต่อช่วงแสง ในปี พ.ศ. 2542 โดยนำงาเมืองเลย มาฉายรังสี gamma rays ในอัตรา 400, 500, 600 และ 700 Gy ทำการคัดเลือกต้นรุ่น M2 ในปี พ.ศ. 2543 พบว่ามีสายพันธุ์งาจำนวน 20 สายพันธุ์ที่มี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แนวโน้มการออกดอกได้เร็วขึ้นกว่าพันธุ์พื้นเมืองเมื่อปลูกในช่วงต้นฤดูฝนประมาณ 4 วัน และทิวา (2546) ได้มีการศึกษาการชักนำการกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมา กับเมล็ดงาจำนวน 7 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ SM 73 line MKS-II-82128-1, SM 73 R line MKS-II-82128-1, SM 74 line MKS-I-82186, SM 74 line NS 214, อำเภอปาย, อำเภอพร้าว และ มข. 3 ไปฉายรังสีแกมมา ที่ปริมาณรังสี 0, 30, 60 และ 90 Gy พบว่า รังสีแกมมามีผลต่อสีดอก ความสูง และระยะเวลาในการออกดอก ทั้งนี้ผลของรังสีที่ใช้มีผลต่อสายพันธุ์งาชนิดต่าง ๆแตกต่างกันออกไป ปริมาณรังสีที่ 30, 60 และ 90 Gy มีผลต่อสีดอกของงาสายพันธุ์ SM 73 line MKS-II-82128-1, SM 74 line MKS-I-82186, อำเภอปาย และ มข. 3 ปริมาณรังสี 90 Gy มีผลต่อความสูงเฉลี่ยของงาสายพันธุ์ SM 74 line MKS-I-82186 และปริมาณรังสีที่ 30, 60 และ 90 Gy มีผลต่อระยะเวลาในการออกดอกของงา สายพันธุ์ SM 73 line MKS-II-82128-1, SM 73 R line MKS-II-82128-1, SM 74 line NS 214 และมข.3 และยังมีผลทำให้สีดอกและสีกลีบดอกด้านล่างของงาสายพันธุ์อำเภอปาย มีสีดอกที่หลากหลายขึ้น และได้ศึกษาผลของโคลชิซินที่มีต่อการกลายพันธุ์ของงา พบว่า การให้สารละลายโคลชิซินที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.50 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ โดยการหยอดลงบนยอดของต้นกล้าอายุ 1 สัปดาห์ ของต้นงา 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์อำเภอปาย อำเภอพร้าว และ มข. 3 พบว่า เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต และความสูงเฉลี่ยข้อแรกที่ออกดอกมีแนวโน้มลดลง ระยะเวลาในการออกดอกแรกนานมากกว่าเดิม และขนาดดอกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน เพิ่มขึ้น

การใช้สารเคมีให้มีการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมในงาได้มีรายงานของ Haiyang *et al.* (2001) ได้ทดลองแช่เมล็ดงาที่เป็น diploid ในสารละลายโคลชิซิน ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ที่ความเข้มข้น 0.3 – 0.5 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถชักนำให้เกิด autotetraploid ได้ โดยมีลักษณะการแสดงออก คือ มีลำต้นที่เหนียวขึ้น ใบและดอกใหญ่ขึ้น เมล็ดใหญ่ อัตราการเจริญเติบโตช้าเมื่อเทียบกับต้นที่เป็น diploid Suzuki *et al.* (1986) ได้รายงานว่าตามปกติพืช autopolyploid มีโครโมโซมขนาดใหญ่กว่าพืช diploid ซึ่งสัมพันธ์กับการเพิ่มขนาดต่างๆ ของพืช กล่าวคือ พืชชนิดนี้มีขนาดเซลล์ ขนาดของผล ขนาดของปากใบ และขนาดของลักษณะอื่นๆ ขนาดใหญ่กว่าพืชปกติ นอกจากนั้น ทิวา (2546) ได้ศึกษาผลของรังสีแกมมาและสารโคลชิซินต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม พบว่า การให้สารโคลชิซิน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.25, 0.50 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ แก่งา สายพันธุ์ อำเภอปาย อำเภอพร้าว และ มข.3 ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมของงาทุกสายพันธุ์ โดยงามีจำนวนโครโมโซม 2n = 26 และต่อมา รุ่งนภา (2547) ได้นำเมล็ดงาสายพันธุ์อำเภอปาย มาทดลองให้ได้รับสารละลายโคลชิซิน ที่ระดับ 0.0, 0.25, 0.50 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ โดยให้ได้รับสารใน ทุกวัน ทุก 3 วัน และทุก 5 วัน ผลการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ทดลอง พบว่า จำนวนวันของการออกดอกแรกช้าลง เมื่อได้รับสารละลายโคลชิซิน ที่ระดับ 0.75 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่ามีการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซิน และจำนวนวันต่อครั้งที่ใส่สาร เมล็ดที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน ทุกวันในทุกความเข้มข้นไม่มีต้นใดรอดชีวิต จำนวนโครโมโซมของงาเพิ่มขึ้นจาก $2n = 2x = 26$ เป็น $2n = 4x = 52$ เมื่อใช้สารละลายโคลชิซิน ที่ 0.50 เปอร์เซ็นต์ ทุก 5 วัน สารละลายโคลชิซินที่ให้ไม่มีผลต่อสีดอกของงา แต่ขนาดดอกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซินเพิ่มขึ้น

งานทดลองการใช้สารเคมีชักนำให้มีการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมในงามีการทำกันน้อยจึงขอกล่าวถึงการศึกษาการใช้สารเคมีชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมของพืชอื่นๆ ดังเช่น การศึกษาการใช้สารเคมีชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมในไม้ดอก Ramachandran (1982) ได้ศึกษาการชักนำให้เกิด polyploidy ใน Ginger *(Zingiber officinale* Rosc.) โดยใช้สารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ ป้ายที่ยอดอ่อน 90 ต้น พบว่า มี 11 ต้น เท่านั้นที่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไป ได้ต้นที่มีจำนวนโครโมโซม $2n = 44$ ที่เป็นพวก tetraploids มีใบหนา สีเขียวเข้ม ลำต้นใหญ่และแข็งแรง ดอกมีขนาดใหญ่กว่า diploids ขนาดของเซลล์ใหญ่ขึ้น โดยดูจากขนาดของเซลล์คุม (gard cell) และ ละอองเรณู ที่มีขนาดเพิ่มขึ้น

Alejandro *et al.* (2005) ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ สกุล *Scoparia* ให้มีคุณภาพดียิ่งขึ้น โดยการชักนำให้เกิด polyploidy โดยใช้ *S. montevidiensis* var. *montevidiensis*, *S. motevidiensis* var. *glandulifera*, *S. nudicaulis*, *S. hasleriana* และ *S. dulcis* เพาะเลี้ยงในโรงเรือนกระจก ใช้อาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS และเติม BAP 0.25 mg/l พบว่า *S. hasleriana* มีอัตราการแทงยอดมากกว่าพันธุ์อื่นอยู่ในช่วง 10 – 12 ยอด/ต้น จากนั้นมีการให้สารโคลชิซิน กับ *S. montevidiensis* ที่ความเข้มข้น 0.0, 0.1, 0.05, 0.01 และ 0.001 เปอร์เซ็นต์ (24 และ 48 ชั่วโมง) ได้ต้นพืชมา 364 ต้น พบว่าได้ต้นที่เป็น tetraploid 4 ต้น และต้นที่เกิด chimera 16 ต้น และยังพบว่า ขนาดของดอก ใบ และเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น ในต้นที่เป็น tetraploid มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม

ในไม้ดอกประเภทหัวได้มีการทดลองชักนำให้มีการเพิ่มจำนวนโครโมโซมด้วยสารละลายโคลชิซิน โดยมีการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมของ *Gladiolus* 3 ชนิด คือ *G. priorii*, *G. tristis* และ *G. virescens* โดยใช้สารโคลชิซินชักนำแคลลัส (callus) ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA และ 2,4-D ลงไป พบว่า callus ในกรรมวิธีที่เติม BA มีลักษณะเปราะ และ callus ในกรรมวิธีที่เติม 2,4-D มีลักษณะ อัดรวมกันแน่น ซึ่งการเพิ่มชุดโครโมโซมโดยการใช้สารโคลชิซิน 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ซึ่ง callus เริ่มแทงยอดเป็นต้น ต้นพืชใหม่ที่ได้มีโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า (Suzuki *et al.*, 2005) นอกจากนั้นแล้ว ได้มีการศึกษาวิธีการเพิ่มจำนวนชุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โครโมโซมใน waxflower ด้วยสารโคลชิซินที่ โดยนำยอดมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่ใส่สารโคลชิซินความเข้มข้น 0.0005, 0.005, 0.05 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นเพาะเลี้ยงจนได้พืชต้นใหม่ แล้วตัดส่วนของลำต้นมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ใส่สารโคลชิซิน ที่ความเข้มข้น 0.002, 0.001, 0.005 และ 0.025 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นโคลชิซิน ที่สูงทำให้ต้นพืชเกิดอันตราย ความเข้มข้นโคลชิซินที่ 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่เหมาะสม ทำให้ได้ต้นพืชที่เป็น tetraploid 2n = 4x = 44 มีลักษณะใบใหญ่ กว้าง ปากใบใหญ่กว่า ต้น diploid (Guijun Y., 2001) และได้มีการทดลองทำใน saffron โดย Zaffar *et al.* (2005) ศึกษาการชักนำให้เกิดความแปรปรวนใน saffron *(Crocus sativus* L.) โดยใช้สารโคลชิซิน ซึ่งชักนำให้เกิด polyploidy โดยใช้สารโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้สำลีหุ้มที่หัวของ saffron เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (หุ้มต่อเนื่องกัน 12 ชั่วโมง ใน 4 วันแรก) และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะทางกายวิภาควิทยาของใบ ในรุ่น C0 และ C1 พบว่า ต้นในรุ่น C1 มีการออกดอก และใบช้า ใบหนาและสั้น แบน มีความหยาบ และมีสีเขียวเข้มขึ้น จำนวนปากใบลดลงแต่มีขนาดของปากใบเพิ่มขึ้น ลักษณะดอกไม่เหมือนกัน และมีจำนวนกลีบดอกเพิ่มขึ้น และได้มีการทดลองหยอดสารละลายโคลชิซินที่ยอดของต้นดาวเรือง โดยใช้โคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ ให้ต้นอ่อนได้รับสารทุก 3 วัน และทุก 6 วัน พบว่า การใช้สารละลาย โคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ให้ทุก 6 วัน ทำให้ดาวเรืองมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางดอกขณะดอกบานเต็มที่มีขนาดดอกใหญ่ที่สุด และมีขนาดดอกใหญ่กว่ากรรมวิธีควบคุม และสารละลายโคลชิซินไม่มีผลต่อลักษณะใบและสีของดอก (มานิตา, 2548)

นอกจากการชักนำให้มีการเพิ่มจำนวนโครโมโซมของไม้ดอกแล้วยังได้มีการทดลองใช้ในพืชไร่ เช่น การเพิ่มจำนวนโครโมโซมให้กับลูกผสมที่เกิดจากการผสมระหว่างถั่วลิสงพันธุ์ป่า 2 ชนิด (Simpson *et al.*, 2002) โดยการใช้สารโคลชิซิน ซึ่งพันธุ์ป่าทั้ง 2 ชนิด (*A.cardenasii* x *A.chacoensis*) มีจำนวนโครโมโซม เท่ากับ 2x = 20 ทำให้ลูกผสมมีจำนวนโครโมโซมเป็น 4x = 40 หลังจากนั้นเมื่อนำลูกผสมดังกล่าวมาผสมกับ *A. hypogaea* (4x = 40) ทำให้ได้ลูกผสมที่มีจำนวนโครโมโซมเป็น 4x = 40 และลูกผสมที่ได้ เมื่อนำละอองเกสรไปตรวจ พบว่า มีความสมบูรณ์ของละอองเกสร โดยเฉลี่ย 31 เปอร์เซ็นต์ และสามารถนำไปผลิตเป็นลูกผสมได้

ในพืชผัก ได้มีการศึกษาวิธีการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมเช่นเดียวกัน เช่น Parakarn *et al.* (2002) จากการทดลองในข้าวโพดหวาน พบว่า ต้นข้าวโพดหวานที่เกิดจากเมล็ดที่ถูกแช่ในสารละลายโคลชิซิน 0.1 - 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 - 6 ชั่วโมง มีการเจริญเติบโตช้ากว่าปกติ ใบขนาดเล็กกว่า ฝักขนาดเล็กกว่า จำนวนฝักต่อต้นน้อยกว่า ลำต้นเตี้ยกว่าและใช้ระยะเวลาในการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ออกดอกช้ากว่าต้นปกติ (diploid) โดยจำนวนโครโมโซม ข้าวโพดหวาน $2n = 2x = 20$ ส่วนในผักกาดขาวปลี พบว่า ความเข้มข้นของโคลชิซินที่ 0.25 เปอร์เซ็นต์ แช่เมล็ดนาน 6 ชั่วโมง มีอัตราการรอดชีวิต 7 เปอร์เซ็นต์ แต่ที่ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ หรือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ แช่เมล็ดนาน 24 ชั่วโมง อัตราการรอดชีวิตเป็นศูนย์ และไม่พบต้นกลายพันธุ์ และจำนวนโครโมโซมของผักกาดขาวปลี เท่ากับ $2n = 2x = 20$ ในผักคะน้าพบว่า สามารถชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้โดยใช้สารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ แช่เมล็ดนาน 24 ชั่วโมง ได้ต้น polyploid ที่มีลักษณะดีเด่นกว่าต้นปกติที่ไม่แช่สารโคลชิซิน คือ ใบมีสีเขียวเข้มกว่า ขนาดใบใหญ่กว่า จำนวนใบต่อต้นใหญ่กว่าปกติ และออกดอกช้ากว่าปกติแต่สามารถติดเมล็ดได้ จำนวนโครโมโซมของคะน้าเท่ากับ $2n = 2x = 18$ และจากการทดลองในหอมแดง ปรากฏว่า หอมแดงที่ถูกฉีดที่หัวด้วยสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ 2 ครั้ง ติดต่อกัน 2 วัน ให้ต้นคล้ายต้นที่เป็น polyploid ที่มีลักษณะแตกต่างจากต้นปกติ กล่าวคือ ต้นที่เป็น polyploid มีใบสีเขียวเข้มกว่า ขนาดหัวและใบใหญ่กว่า จากการตรวจนับจำนวนโครโมโซม พบว่า ในต้น ปกติ $2n = 2x = 16$ และต้น polyploid $2n = 4x = 32$

ในส่วนของไม้ผล ได้มีการศึกษาในทำนองเดียวกัน เช่น Ganga and Chezhiyan (2002) ได้ทดลองใช้สารโคลชิซิน และ oryzalin (3,5-dinitroN4,N4-dipropylsulfanilamide) เพื่อเพิ่มชุดโครโมโซมในกล้วย (*Musa* spp.) โดยเพาะเลี้ยงกล้วยที่เป็น diploid ได้แก่พันธุ์ Sannachenkadali (AA), Anaikombaan (AA), Kunnan (AB) และ Thattilakunnan (AB) จนได้ต้นที่เป็น tetraploid และต้นที่เป็น tetraploid นี้ มีการเจริญที่ช้าลง อัตราการออกยอดลดลง และการเกิดรากลดลง เมื่อตรวจสอบ พบว่า จำนวนชุดจำนวนโครโมโซมมีการเพิ่มชุดจาก 2x เป็น 4x

2.9 การทำอิเล็กโทรโฟรีซีสใช้หลักการของไอโซไซม์

การจำแนกพันธุ์พืชโดยทั่วไปพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืช ในปัจจุบันมีลูกผสมต่างๆ เกิดขึ้นมากมาย ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แสดงออกมักมีความแตกต่างจากต้นพ่อแม่เล็กน้อย ทำให้เกิดความไม่ชัดเจนในการจำแนก จึงได้มีการนำเทคนิคหรือวิธีการอื่นมาช่วยในการจำแนกลูกผสมหรือสายพันธุ์ (สุรินทร์, 2545) Larson (1986) พบว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่พืชแสดงออกให้เห็นในธรรมชาติมีความแตกต่างกันในทางชีวเคมีด้วย ซึ่งการใช้เครื่องหมายทางโปรตีนโดยการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการศึกษา และวิจัยทางด้านพันธุศาสตร์ สามารถนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์กับงานทางด้านชีวเคมี โดยอาศัยเทคนิคทางอิเล็กโทรโฟรีซีส (สมิต และประวิทย์, 2533)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไอโซไซม์ หมายถึง เอนไซม์ในพืชที่มีโครงสร้างโมเลกุลหลายรูปแบบ (multiple molecular form) ซึ่งต่างก็ควบคุมปฏิกิริยาชีวเคมีเดียวกัน มีความจำเพาะต่อ substrate ตัวเดียวกัน (หทัยรัตน์ และคณะ, 2539) อิเล็กโทรโฟรีซีสเป็นคำที่ใช้อธิบายการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่มีประจุในสนามไฟฟ้า พอลิเมอร์ทางชีวภาพ (biological polymer) ส่วนใหญ่มีประจุจึงสามารถเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าได้ อาศัยคุณสมบัติดังกล่าวนี้ เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซีสจึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ของโมเลกุลขนาดใหญ่ (macromolecule) เช่น มวลโมเลกุลของโปรตีน ความแตกต่างของโมเลกุลในแง่ประจุสุทธิ รวมทั้งการแยกโมเลกุลที่ต่างกันด้วย (อาภัสสรา, 2537) การแยกสารชีวโมเลกุลโดยอิเล็กโทรโฟรีซีสนั้น อาศัยตัวกลางในการเคลื่อนที่ ซึ่งต้องมีคุณสมบัติเฉื่อย อาจเป็น Starch, Polyacrylamide, Agar และ Agarose ที่ใช้กันมากสำหรับอิเล็กโทรโฟรีซีสเกือบทุกวิธีในปัจจุบัน คือ Polyacrylamide (สุพัตรา, 2547)

อิเล็กโทรโฟรีซีสแบบโพลีอคริลาไมด์เจล (Polyacrylamide Gel Electrophoresis; PAGE) เป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในงานวิเคราะห์โปรตีนและสารละลายโปรตีนผสม ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีตัวกลางค้ำจุนเป็นโพลีอคริลาไมด์เจล ซึ่งเฉื่อยต่อสารเคมีในระหว่างเกิดกระบวนการแยก สามารถลดการแพร่และป้องกันการเกิดการพา ทำให้การแยกได้แถบที่คมชัด รวมทั้งเป็นตัวกลางที่มีรูพรุน ซึ่งทำหน้าที่เป็นตะแกรงร่อนโมเลกุลได้เมื่อปรับขนาดรูพรุนให้เหมาะสม เพราะฉะนั้นการแยกโปรตีนโดยใช้ตัวกลางค้ำจุนเป็นเจล จึงขึ้นกับความหนาแน่นของประจุและขนาดของสารที่ต้องการแยก ด้วยเหตุนี้โปรตีน 2 ชนิดที่มีขนาดแตกต่างกัน แต่มีความหนาแน่นของประจุเท่ากันจึงถูกแยกออกจากกันได้ เมื่อใช้เทคนิค PAGE ที่มีขนาดรูพรุนของเจลที่เหมาะสมมีผลทำให้อัตราการเคลื่อนที่ของโปรตีนขนาดใหญ่ช้าลงกว่าการเคลื่อนที่ของโปรตีนขนาดเล็ก

ในการจำแนกพันธุ์พืชหากทำอิเล็กโทรโฟรีซีสในสภาวะที่เหมาะสมและมีการย้อมเอนไซม์ที่ดี ช่วยให้เกิดรูปแบบของแถบที่ง่ายต่อการวิเคราะห์ ซึ่งรูปแบบของแถบ จำนวน และค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ที่มีความแปรปรวนระหว่างต้นพืชสามารถนำไปใช้จำแนกพันธุ์พืชหรือชี้บ่งความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Shields *et al.*, 1983)

การศึกษาโมเลกุลของโปรตีนหรือเอนไซม์ภายในต้นพืชเป็นวิธีการหนึ่งที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างต้นพืชได้ว่าเหมือนหรือแตกต่างกัน ซึ่งความแตกต่างหรือความคล้ายคลึงของเอนไซม์เป็นตัวบ่งชี้ถึงความแตกต่างหรือความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม พืชที่มีแบบแผนของการเรียงของแถบไอโซไซม์เหมือนกันอาจมีพันธุกรรมเหมือนกัน แต่ถ้ามีข้อแตกต่างกันแสดงว่าพืชชนิดนั้นมีพันธุกรรมต่างกัน หรือไม่ก็เกิดจากสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน ทำให้กระบวนการทางชีวเคมีในการสร้างเอนไซม์หรือไอโซไซม์แตกต่างกันได้ (เสาวณี, 2538)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การประยุกต์ใช้ไอโซไซม์พบในงานทดลองเกี่ยวกับพืชหลายชนิด ทั้งไม้ดอก ไม้ผล ผัก และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ซึ่งการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ในงาได้มีรายงานของ Isshiki and Umezaki (1997) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของไอโซไซม์งาพันธุ์ปลูก จำนวน 68 accessions จาก 3 ประเทศ คือ ญี่ปุ่น 12 accessions เกาหลี 15 accessions และไทย 41 accessions ศึกษาจากเอนไซม์ 7 ระบบ ได้แก่ aspartate aminotransferase (AAT), glucose dehydrogenase (GDH), glucose-6-phosphate isomerase (GPI), isocitrate dehydrogenase (IDH), malate dehydrogenase (MDH), phosphogluconate dehydrogenase (PGD) และ phosphoglucomutase (PGM) พบว่า มีเพียงระบบเอนไซม์ IDH ที่สามารถแยกความแปรปรวนทางพันธุกรรมได้ ซึ่งเอนไซม์ IDH ถูกควบคุมด้วย single locus (*Idh*) กับ 2 alleles นอกจากนี้ Diaz and Layrisse (2000) ทำการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในสายพันธุ์งา พันธุ์ Turn และ Arawaca โดยศึกษารูปแบบไอโซไซม์จากเอนไซม์ 6 ระบบ ที่มีรูปแบบเดียว ได้แก่ 6-phosphogluconate dehydrogenase (6PGD), PGM, GDH, aconitase (ACO), acid phosphatase (ACP) และ phosphoglucoisomerase (PGI) และที่มีหลายรูปแบบ คือ IDH และ shikimate dehydrogenase (SKD) พันธุ์ Turn มี ไอโซไซม์รูปแบบเดียว และมี locus เป็น *Sdh*1 allele ที่เป็น predominant คือ *Idh*1-b (Turn) และ *Idh*1-a และ *Sdh*1 (Arawaca) และในปี ค.ศ. 2002 Diaz and Layrisse ได้ศึกษาระบบเอนไซม์ที่ใช้ในการวิเคราะห์พันธุกรรมงา 2 ระบบ คือ IDH และ SKD พบว่าเอนไซม์ IDH ถูกควบคุมโดย 2 loci คือ *Idh*1 และ *Idh*2 ในขณะที่เอนไซม์ SKD ถูกควบคุมเพียง Loci เดียว คือ *Sdh*1 ทั้ง *Idh*1 และ *Sdh*1 มี 3 รูปแบบ ซึ่งตรงกันกับกฎการแยกตัวของ Mendel 1: 2:1

งานทดลองการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ในงาได้มีรายงานกันน้อยจึงขอกล่าวถึงการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ที่ได้มีรายงานของพืชอื่นๆ ดังเช่น ในไม้ดอกประเภทหัวได้มีการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ โดย Protopapadakis and Yannitsaros (1994) ได้ศึกษาเอนไซม์ 2 ระบบ คือ esterase (EST) และ malate dehydrogenase (MDH) ในทิวลิป 9 ประชากร ที่รวบรวมจากส่วนต่างๆ ของประเทศกรีก และจากแหล่งธรรมชาติใน Crete โดยใช้สารสกัดจากละอองเกสร ทำโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซีส พบว่า การวิเคราะห์รูปแบบแถบสีของ EST แสดงให้เห็นความแตกต่างของประชากรอย่างชัดเจน ส่วนแถบสีของ MDH มีสีจางแต่เมื่อนำไปใช้ร่วมกับเอนไซม์อื่นๆ สามารถช่วยแยกความแตกต่างของประชากรได้ นอกจากนั้นแล้วได้มีการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของ ลิลลี่ 29 พันธุ์ โดยวิธี Starch Gel Electrophoresis ซึ่งใช้ Histidine-citrate buffer ที่ pH 8 ค่า และใช้ extraction buffer 4 สูตร พบว่าใช้ extraction buffer สูตร 2 (Eb-2) และใช้ระบบ buffer pH 7.7 ใช้เอนไซม์ 8 ระบบ ได้แก่ catalase (CAT), EST, MDH, malic

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

enzyme (MAL), peroxidase (POX), PGM, PGI และ PGD ผลการทดลองพบว่า สามารถแยกพันธุ์ลิลลี่ออกจากสปีชีส์อื่นๆ ของ *Lilium* ได้ ยกเว้น 2 พันธุ์ คือ *L.* x *formonlogi* : Hakuba และ Hakuko (Arzate-Fernandez *et al.*, 2005) และได้มีการวิเคราะห์แบบแผนของไอโซไซม์จากเนื้อเยื่อยอด หัว ราก และดอกของปทุมมากลีบกว้างและกลีบแคบ โดยศึกษากับไอโซไซม์ 7 ชนิด ได้แก่ EST, glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), leucine amino peptidase (LAP), SKD, MAL, MDH และ glucose dehydrogenase (GLD) พบว่าเนื้อเยื่อยอดให้แบบแผนไอโซไซม์ ที่ชัดเจนกว่าเนื้อเยื่ออื่น และปทุมมากลีบกว้างมีแบบแผนของแต่ละไอโซไซม์เหมือนกันหมดในทุกเนื้อเยื่อพืชที่ทดสอบ จึงสรุปได้ว่าเป็นสายต้นเดียวกัน ส่วนปทุมมากลีบแคบให้แบบแผนไอโซไซม์ที่แตกต่างกัน (กัญจนา, 2539) ในกล้วยไม้มีการแยกกลุ่มเอื้องแซะ (*Dendrobium scabrilingue* Lindl.) โดยการวิเคราะห์รูปแบบแถบสีไอโซไซม์ โดยใช้เนื้อเยื่อส่วนใบของเอื้องแซะจาก 4 แหล่ง ได้แก่ อำเภอแม่สะเรียง และ อำเภอปางมะผ้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ และดอยขุนตาลใน เขตจังหวัดลำปาง ร่วมกับเอื้องเงินแดง และเอื้องแซะดอยปุยด้วยระบบเอนไซม์ 6 ชนิด คือ esterase (EST), GOT, malate dehydrogenase (MDH), shikimate dehydrogenase (SKD), Glucose phosphate isomerase (GPI) และ LAP พบว่า EST, GOT, MDH และ SKD แสดงแถบสีหลายรูปแบบสามารถนำมาแยกความแตกต่างของประชากรเอื้องแซะออกจากเอื้องเงินแดง และเอื้องแซะดอยปุยได้อย่างชัดเจน และสามารถแยกกลุ่มตัวอย่างของเอื้องแซะออกเป็น 4 กลุ่มตามแหล่งที่มา แต่ไม่สามารถแยกบางตัวอย่างของเอื้องแซะภายในกลุ่มตัวอย่างเดียวกันออกจากกันได้ สำหรับ GPI และ LAP ไม่แสดงแถบสีในบางตัวอย่างของเอื้องแซะจาก อำเภอเชียงดาวและดอยขุนตาล และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบไอโซไซม์ และรูปแบบที่ได้จากวิธี Randomly Amplified Polymerphic DNA (RAPD) สามารถพิสูจน์ได้ว่า กลุ่มตัวอย่างของเอื้องแซะจาก อำเภอแม่สะเรียง อาจมีแหล่งกำเนิดเดียวกับกลุ่มตัวอย่างของเอื้องแซะจาก อำเภอปางมะผ้า และกลุ่มตัวอย่างของเอื้องแซะจาก อำเภอเชียงดาว อาจจะมีแหล่งกำเนิดเดียวกับกลุ่มตัวอย่างของจากดอยขุนตาล (รัติกาล, 2543) นอกจากนั้นแล้ว จารุภัทร และคณะ (2548) ได้ศึกษารูปแบบไอโซไซม์เพื่อหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ดินช้างผสมโขลงและหมูกลิ้ง จากเนื่อเยื่อใบอ่อนหรือใบที่เจริญเติบโตเต็มที่ โดยใช้เทคนิคโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซีส ทดสอบเอนไซม์ 3 ระบบ คือ POX, ACP และ EST พบการแสดงออกของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด โดยที่ POX และ ACP แสดงออกชัดเจนเมื่อทดสอบกับเนื้อเยื่อของใบที่เจริญเติบโตเต็มที่ ส่วน EST แสดงออกชัดเจนเมื่อทดสอบกับเนื้อเยื่อของใบอ่อน การวิเคราะห์และจัดกลุ่มตัวอย่างตามการกระจายของแถบสีทั้งหมดสามารถแยกกลุ่มกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด ออกจากกันได้อย่างชัดเจน และได้มีการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ เพื่อจำแนก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ความแตกต่างของไม้ดอกประเภทหัว 10 ชนิด ใน 5 สกุล คือ *Eurycles*, *Eucrosia*, *Haemanthus*, *Hippeastrum* และ *Zephyranthes* โดยใช้ตัวอย่างจากส่วนของใบอ่อนกับเอนไซม์ 6 ชนิด คือ ADH, dihydrolipoamiddehydrogenase (DIA), EST, GOT, LAP และ MDH พบว่า รูปแบบแถบสีไอโซไซม์ของเอนไซม์ ทั้ง 6 ชนิด แสดงความแตกต่างของพืชทั้ง 10 ชนิดได้ (วิชญา, 2544)

นอกจากการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ในไม้ดอกแล้วยังได้มีการศึกษาในพืชไร่ เช่นจำแนกความแตกต่างของข้าวบาร์เลย์พันธุ์ Robust มาจากรัฐ Montana และ Morex มาจากรัฐ South Idaho โดยการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ โดยวิธี Starch Gel Electrophoresis ซึ่งใช้สีย้อมเอนไซม์ EST พบว่าเอนไซม์ EST มี 15 รูปแบบ ซึ่งแบ่งแยกออกเป็น 5 กลุ่ม (Hoston and Lewis, 1988) และได้มีการวิเคราะห์ไอโซไซม์ของถั่ว Arachis และลูกผสมข้าม เปรียบเทียบรูปแบบไอโซไซม์ในส่วนดอกและเมล็ด พบว่า แตกต่างกันในระบบเอนไซม์ GOT, IDH, LAP, MDH และ PHI ซึ่ง IDH และ MDH มีรูปแบบแตกต่างกันในเมล็ด ส่วน GOT มีรูปแบบแตกต่างกันในดอกมากกว่าในเมล็ด (Lacks *et al.*, 1993) นอกจากนั้นแล้ว Reis and Frederico (2005) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ cowpea พันธุ์ต่างๆ ได้แก่ *Vigna unguiculata* spp. cv. *gr. unguiculata*, cv. *gr. sesquipedalis* และ cv. *gr. biflora* ที่ได้มาจากหลายประเทศ โดยวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ ด้วยเทคนิคโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซีส ศึกษาจากเอนไซม์ 8 ระบบ พบว่า cowpea ไม่ค่อยมีความหลากทางพันธุกรรม ในทุกพันธุ์มีเพียง locus เดียว ยกเว้นระบบเอนไซม์ EST ที่สามารถใช้แยกความแตกต่างของพันธุ์ออกจากกันได้

ในพืชผัก เช่น ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของลูกผสม F_1 *Brassica juncea* โดยวิธีโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซีส ใช้สีย้อมเอนไซม์ EST เพื่อหาความบริสุทธิ์ของพันธุ์ลูกผสม จากรูปแบบไอโซไซม์ แสดงให้เห็นว่ามีแถบที่เพิ่มขึ้นจากสายพันธ์พ่อแม่ (Pandey *et al.*, 2005) และได้มีการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อไซโมแกรมของเอนไซม์ ACP ในการตรวจสอบความบริสุทธิ์พันธุ์ของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศลูกผสม พบว่าปริมาณไอโซไซม์ที่เตรียมจากส่วนต่างๆ ของมะเขือเทศมีความแตกต่างกัน โดยที่ส่วนของรากอายุ 15 วัน หลังเพาะเมล็ดให้ปริมาณไอโซไซม์ สูงกว่าส่วนอื่นๆ ของพืช สารสกัดโปรตีนที่เหมาะสมสำหรับสกัดไอโซไซม์ ACP คือ สารละลาย sodium acetate pH 5.4 ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ให้ความสูงของแถบไซโมแกรมดีที่สุด ส่วนเงื่อนไขในการทำเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ โพลีอคริลาไมด์ เจล 8.5% ปริมาตรสารตัวอย่าง 15 ไมโครลิตร ให้ความชัดเจนและความละเอียดของแถบไซโมแกรมได้ดีกว่าที่ระดับความเข้มข้นสูงๆ นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มแสงและอุณหภูมิขณะเพาะเมล็ดมีผลต่อความคมชัดของแถบไซโมแกรม โดยที่ความเข้มแสง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5,761 ลักซ์ อุณหภูมิ 30 องสาเซลเซียส ให้แถบไซโมแกรมที่มีความคมชัดมากที่สุด (รุ่งฤดี และคณะ, 2548)

ในไม้ผลมีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ Peach palm *(Bactris gasipaes* K.) ด้วยเทคนิคโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซีส วิเคราะห์เอนไซม์ 12 ระบบ ได้แก่ POX, EST, ACP, DIA, glucose-6-phosphogluconate dehydrogenase (G6PDH), ME, MDH, GOT, ADH, PGI, PGM และ superoxidase dismutase (SOD) กับ Peach palm 5 พันธุ์ คือ Temb hapare (Bolivia-Bo), Par Belew (Brasil-Bra), Utillis Gu les (Costa Rica-CR), Tuira-Dari (Panama) และพันธุ์ลูกผสมตามธรรมชาติ คือ Yurimaguas (Per-Pe) พบว่าสามารถจัดกลุ่มทั้ง 5 พันธุ์ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่1 Par และ Temb กลุ่มที่2 Utilis และ Tuira และกลุ่มที่3 คือ พันธุ์ลูกผสม Yurimaguas (Rojas *et al.*, 1999) นอกจากนั้นแล้วมีการจำแนกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์พืชสกุลส้ม (*Citrus junos* Sieb. ex Tanaka) โดยใช้สารสกัดจากใบแก่ของพันธุ์ Yuzu และพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดกันรวมทั้งหมด 27 สายพันธุ์ ด้วยเทคนิค โพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซีส วิเคราะห์เอนไซม์ 2 ชนิด คือ GOT และ SKD พบว่า ส้ม 16 พันธุ์ มีรูปแบบไอโซไซม์ที่เฉพาะตัว สามารถแยกออกจากพันธุ์อื่นๆ ได้ ที่เหลืออีก 11 พันธุ์ จำแนกได้ 4 กลุ่ม แต่ละกลุ่มประกอบด้วย 2 - 4 พันธุ์ ส่วนพันธุ์ที่มีจุดกำเนิดมาจากการกลายพันธุ์ของพันธุ์เดิม ไม่สามารถแยกออกมาได้ด้วยเทคนิคนี้ (Rahman *et al.*, 2001) และได้มีการจำแนกลำไย จำนวน 16 พันธุ์ และพันธุ์คอ 8 สายต้น โดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซีส สกัดไอโซไซม์จากใบแก่ด้วยน้ำยาสกัด 0.05 M Tris-HCL buffer, pH 8.4 ย้อมด้วยเอนไซม์ POX, ACP และ EST พบว่า ลำไย 16 สายพันธุ์ สามารถจำแนกออกจากกันได้ด้วยเอนไซม์ทั้ง 3 ระบบ และเมื่อนำไปจำแนกลำไยพันธุ์คอ 8 สายต้น พบว่า สามารถจำแนกออกจากกันได้ทั้งหมดด้วยเอนไซม์ 2 ระบบ คือ POX และ ACP (ปนัดดา และเกศิณี, 2541)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved