บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมพันธุ์

จากการรวบรวมเทียนพันธุ์ป่าที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติจาก 2 พื้นที่ ได้แก่ ดอยเชียงดาว และดอยอินทนนท์ โดยดอยเชียงดาว เลือกพื้นที่ บริเวณเชิงเขาหินปูนใกล้เขตหมู่บ้านห้วยลึก ตำบลปิงโค้ง อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ ที่มีอากาศร้อนเกือบตลอดปี เทียนที่รวบรวมมีทั้งหมด 3 หมายเลข โดยที่ 2 ใน 3 เป็นพืชที่เจริญข้ามปี ซึ่งจะผลัดใบในช่วงที่อุณหภูมิต่ำและความชื้นสัมพัทธ์ต่ำลักษณะคล้ายกับการพักตัวของพืชทั่วไป และจะผลิใบใหม่อีกครั้งเมื่อเข้าสู่ช่วงฤดูร้อนหรือปลายเดือนมีนาคม เมื่อนำเทียนพันธุ์ป่าทั้ง 3 ชนิดไปปลูกบนที่สูงซึ่งระดับต่างกันถึง 600 เมตร พบว่า สามารถปรับตัวและเจริญเติบโตได้ สำหรับบริเวณยอดดอยอินทนนท์ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่สูงที่สุดในประเทศไทยและบริเวณน้ำตกสิริภูมิ เขตอำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ พบเทียนจำนวน 5 หมายเลข เมื่อนำเมล็ดมาเพาะในโรงเรือน เมล็ดใช้เวลางอกนานมาก คาดว่าเมล็ดอาจจะมีระยะการพักตัว และยังพบว่าเมื่อเริ่มมีการเจริญทางลำต้นเฉลี่ยความสูงที่ 10 – 15 ซม. ต้นค่อนข้างจะอ่อนแอและเน่าง่าย แต่มี 2 หมายเลข ซึ่งรวบรวมจากบริเวณที่ชุ่มชื้นสามารถเจริญเติบโตและบานดอกได้

2. สัณฐานวิทยาและการเจริญเติบโต

2.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเทียนพันธุ์ป่าจำนวน 8 หมายเลข

2.1.1 รอบเจริญเติบโตของพืชแบ่งได้ 2 แบบ คือพืชฤดูเดียวบริเวณดอยอินทนนท์ ได้แก่ หมายเลข IN-RD1หมายเลข IN-RD2 หมายเลข IN-SP1 และยังพบบริเวณดอยเชียงดาวได้แก่ หมายเลข CD-HL1 ส่วนพืชที่มีการเจริญข้ามปีพบในบริเวณที่ชื้นแฉะได้แก่ หมายเลข IN-SP2 และหมายเลข IN-SP3 บริเวณดอยอินทนนท์ และยังมีอีก 2 หมายเลขบริเวณเชิงเขาหินปูนได้แก่ หมายเลข CD-HL2 และ CD-HL3

2.1.2 ตามลักษณะของลำต้นแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่มีลำต้นเป็นพุ่มได้แก่ หมายเลข IN-RD1หมายเลข IN-RD2 หมายเลข IN-SP1 และ CD-HL 1 กลุ่มที่ลำต้นเดี่ยวตั้งตรงได้แก่ หมายเลข หมายเลข CD-HL2 และ CD-HL3 กลุ่มสุดท้ายเป็นกลุ่มที่มีลักษณะของลำต้นแบบทอดชูยอดและหรือเลื้อยเป็นเทียนป่าที่เจริญได้ในที่ชื้น และพบเฉพาะในบริเวณที่มีอากาศเย็นได้แก่ หมายเลข IN-SP 2 และ IN-SP 3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1.3 รูปร่างดอกและสมมาตรดอก เนื่องจากพืชป่าเหล่านี้มีลักษณะสัณฐานของดอกที่แตกต่างไปจากชนิดของดอกไม้โดยทั่วไป ความน่าสนใจจึงอยู่ที่การให้ชื่อลักษณะดอกแต่ละหมายเลขเช่นในหมายเลข IN-RD1 , IN-RD2 , IN-SP2 , IN-SP3 และ CD-HL1 ,CD-HL3 ที่รูปเป็นแบบปากเปิด รูปคล้ายนก รูปดอกที่มีสมมาตรด้านข้าง และยังมีรูปกลีบรองดอกคล้ายกับจงอยปากนกแก้ว ดอกรูปลิ้นได้แก่หมายเลข CD-HL2 รูปดอกเป็นแบบกงล้อ ที่มีดอกสมมาตรตามรัศมี คือ หมายเลข IN-SP1

2.2. การเจริญเติบโตและการพัฒนาดอกภายใต้สภาพโรงเรือน

เมื่อนำเทียนพันธุ์ป่าทั้ง 8 หมายเลขทั้งจากดอยอินทนนท์ (สูง 1,200 - 2,500 เมตร) และจากดอยเชียงดาว (สูง 600 เมตร) มาปลูกเลี้ยงในสภาพโรงเรือนวิจัยที่ระดับความสูง 1,200 เมตร พบว่า ต้นที่รวบรวมได้จากพื้นที่ที่มีอากาศเย็นและอากาศร้อน ทั้งหมดสามารถปรับตัวได้เป็นอย่างดี โดยต้นที่ได้จากเมล็ดสามารถพัฒนาทางลำต้นจนถึงระยะบานดอกได้ พบว่าเทียนที่พบบริเวณน้ำตกสิริภูมิหมายเลข IN-SP1. มีความสูงมากที่สุดคือ 79.1 ซม. สำหรับพันธุ์ที่มีความสูงน้อยที่สุดคือ หมายเลข CD-HL1 คือ 21.8 ซม.จากบริเวณดอยเชียงดาวสำหรับข้อมูลด้าน จำนวนใบ ซึ่งเป็นข้อมูลที่สามารถชี้วัดความสมบูรณ์ของต้น พบว่าเทียนพันธุ์ป่าที่ได้จากแหล่งน้ำตกสิริภูมิซึ่งเป็นเทียนพื้นที่ที่มีอากาศเย็น หมายเลข IN- SP3 ให้จำนวนใบต่อต้นมากที่สุดคือ 421.2 ใบ ส่วนที่พบจากดอยเชียงดาว เช่น หมายเลข CD-HL1 มีจำนวนใบต่อต้นเพียง 58 .0 ใบ และเป็นที่น่าสังเกตว่าเมื่อนำต้นเทียนจากที่ระดับ 600 เมตร นำมาปลูกทดสอบที่ระดับ 1,200 เมตรพบว่า พืชสามารถปรับตัวได้ค่อนข้างดี ข้อมูลที่น่าสนใจอีกชุดหนึ่งคือ คุณภาพและจำนวนดอก พบว่าจำนวนดอกต่อต้นของเทียนจากพื้นที่ ที่มีอากาศเย็น ทั้ง 5 หมายเลขที่สำรวจจากแหล่งดอยอินทนนท์ ให้จำนวนดอกต่อต้นมาก ได้แก่หมายเลข IN-RD1 รองลงมาคือหมายเลข IN-RD2 ที่ให้ดอกถึง 216.8 ดอกเมื่อเปรียบเทียบกับเทียนป่าของเขตร้อน ที่ทุกหมายเลขให้จำนวนดอกต่อต้นน้อยกว่า (ตารางที่ 3)

2.3 ช่วงเวลาในการออกดอก จากการศึกษาสังเกตการเจริญเติบโตและการออกดอกตลอดชีพจักรของ เทียนพันธุ์ป่าทั้ง 8 หมายเลขในระยะ 1 ปี สามารถจำแนกออกได้เป็น 3 ช่วงเวลา คือออกดอกตลอดปี 1 หมายเลข IN-SP1 ออกดอกในช่วงฤดูฝน 6 หมายเลข และออกดอกในฤดูหนาว 1 หมายเลขได้แก่ หมายเลข IN-SP2 (ตารางที่ 6) สำหรับระยะเวลาตั้งแต่ปลูกถึงระยะฝักแก่ในระยะที่ 7 พบว่า หมายเลขที่ใช้จำนวนวันนานที่สุดได้แก่หมายเลข IN-SP2 คือ 253.3 วัน รองลงมาคือหมายเลข CD-HL1 โดยมีอายุการถือฝักแก่ที่ยาวนานถึง 222.4 วัน และสายพันธุ์ที่ใช้เวลาในการถือฝักแก่น้อยที่สุดได้แก่ พันธุ์หมายเลข IN-SP3 คือ 121.8วัน สำหรับในระยะฝักแก่นี้พบว่ามีเทียนพันธุ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ป่าอีก **3** หมายเลขที่ผลอ่อนหลุดร่วงไม่สามารถพัฒนาเป็นเมล็ดได้ภายใต้การปลูกในโรงเรือนได้แก่ หมายเลข IN-RD1 CD-HL2 หมายเลข IN-RD2 และ CD-HL3 ซึ่งผลอ่อนเริ่มหลุดร่วงในระยะเริ่มถือฝักระยะที่ 6 (ตารางที่ 8) สำหรับจำนวนวันตั้งแต่ปลูกจนถึงระยะการเก็บเมล็ด พบว่า มีเพียง 4 หมายเลข โดยมีอายุการถือฝักนานที่สุด 261.1 วันได้แก่ หมายเลข IN- SP2 รองลงมาคือ หมายเลข CD-HL1 229.7 วัน และ หมายเลข IN-SP3 สำหรับหมายเลขที่เก็บเมล็ดได้เร็วที่สุด คือหมายเลข IN-SP1 คือ 129.2 วัน(ตารางที่ 8) จากศักยภาพของพืชและปัจจัยแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเทียนป่าหลายหมายเลข สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในแง่ของการตกแต่งภูมิทัศน์ในลักษณะของการเลียนแบบธรรมชาติ เช่นในหมายเลข IN-SP2 ที่สามารถเจริญในสภาพน้ำไหล และหมายเลข CD-HL2 , CD-HL3 ที่มีลักษณะดอกที่สวยงามเหมาะที่จะนำมาปลูกเป็นไม้กระถางเพื่อการค้า

3. การศึกษากายวิภาคศาสตร์

พบว่าโครงสร้างเนื้อเยื่อพื้นฐานของเทียนพันธุ์ป่าทั้ง 8 หมายเลขมีลักษณะคล้ายกัน ซึ่งสามารถจำแนกพอสังเขปดังนี้

รากในระยะแรกเจริญ ประกอบด้วยเนื้อเยื่อชนิดต่างๆ ได้แก่ epidermis, cortex , endodermis และกลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียง (xylem และ Phloem) สำหรับในลำต้นเนื่องจากเทียนเป็นพืชที่มีการเจริญแบบปฐมภูมิ โครงสร้างเนื้อเยื่อโดยรวมจึงมีลักษณะคล้ายคลึงกัน ทั้งนี้พบแต่ความแตกต่างของระบบท่อลำเลียงที่บางหมายเลขมีของท่อลำเลียงแบบสลับ และบางหมายเลขเป็นแบบข้างเคียง ทั้งนี้ Watson and Dallwitz (2006) กล่าวว่า โครงสร้างภายในของ *Impatien*s *balsamina* ประกอบด้วยเนื้อเยื่อท่อลำเลียงชั้นแรกประกอบด้วยเนื้อเยื่อที่เป็นรูปวงแหวน ดังนั้นท่อลำเลียงชั้นนอกการเรียงตัวจึงเป็นแบบวงรอบ เนื้อเยื่อท่อลำเลียงชั้นถัดมาค่อนข้างหนาขึ้น ท่อน้ำประกอบด้วยเวสเซลล์ ที่มีรูปร่างเป็นขีดคล้ายเซลล์ตะแกง (sieve – tube) ที่เป็นรูปตัว S สำหรับ เนื้อเยื่อใบ ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเซลล์ผิว ซึ่งเนื้อเยื่อส่วนนี้จะทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แสงถัดเข้าไปเป็นชั้นของ มีโซฟิลล์ที่มีส่วนของ พาลิเสดเซลล์ สปอนจีเซลล์ และกลุ่ม เนื้อเยื่อท่อลำเลียง ซึ่ง Watson and Dallwitz (1992) กล่าวว่า *Impatien*s *balsamina* เป็นพืชที่มีปากใบ โดยบริเวณขอบใบมีช่องเปิดสำหรับคายน้ำ (hydratodes) บางชนิดผิวมีขนเล็กๆ ภายในเมโซฟิลล์ของใบมีผลึกของ calcium oxalate ที่เป็นรูปเข็ม เส้นแขนงของใบพบตามเนื้อเยื่อของมัดท่อลำเลียงอาหาร (phloem) รูใบพบได้ทั่วใบ พบปากใบแบบแอนไอโซไซติก โดยทั่วไปมักไม่พบขนผลึกของ มีโซฟิลล์ เส้นใบย่อยเป็นทางของท่อลำเลียงอาหารสู่เซลล์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลการศึกษาดอกเทียนทุกหมายเลขพบว่า โครงสร้างของดอกครบทั้ง 4 ส่วนได้แก่ วงกลีบเลี้ยงหรือกลีบรองดอก(calyx) วงกลีบดอก(corolla) วงเกสรเพศผู้ (androecium) และวงเกสรเพศเมีย (gynoecium) และจัดว่าเป็นดอกสมบูรณ์ (complete flower) โดยเป็นดอกที่มีทั้งเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียอยู่ภายในดอกเดียวกัน (perfect flower) เนื่องจากพืชชนิดนี้เกสรเพศผู้หุ้มเกสรเพศเมียในทุกหมายเลข ซึ่งสามารถจำแนกความแตกต่างได้จากตำแหน่งการครอบของเกสรเพศผู้ ที่เป็นแบบตั้งตรง 1 หมายเลข(ภาพที่ 51) และอีก 7 หมายเลขที่การครอบทำมุมเอียง 35 - 45 ° และเนื่องจากพืชในสกุลเทียนเป็นพืชที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ ดอกจะผสมตัวเองก่อนที่จะบาน (clasmogamy) ซึ่งจากลักษณะดังกล่าวส่งผลให้โอกาสในการถ่ายละอองเกสรภายในสูงมาก ซึ่งถ้าพิจารณาในแง่ของการเตรียมดอกเพื่อการถ่ายละอองเกสรเพื่อการพัฒนาพันธุ์ พืชชนิดนี้มีโอกาสของการปนเปื้อนค่อนข้างสูง ดังนั้นการศึกษาโครงสร้างเนื้อเยื่อภายในของดอกและระยะการพัฒนาของดอกจึงถือว่ามีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง เพื่อใช้เป็นแนวทางในการวางแผนการเตรียมดอกเพศเมียในระยะก่อนการผสม เนื้อเยื่อที่ศึกษาส่วนสุดท้ายคือผล ซึ่งประกอบด้วย ผนังผล (fruit wall) หรือ pericarp ซึ่งเจริญและเปลี่ยนแปลงมาจากผนังรังไข่ โดยแบ่งเนื้อเยื่อออกเป็น 3 ชั้น คือ exocarp ถัดเข้ามาคือชั้น mesocarp ที่พบเนื้อเยื่อที่มีลักษณะคล้ายเนื้อเยื่อท่อลำเลียงอย่างชัดเจนในหมายเลขIN-RD2 ชั้นในสุดคือ endocarp สำหรับรกหรือ พลาเซนตาเป็นแบบรอบแกนร่วม (axile placentation) คือไข่อ่อนสัมผัสส่วนที่ใกล้ศูนย์กลางรังไข่ตรงจุดที่ช่องรังไข่มาพบกัน ส่วนตำแหน่งไข่อ่อน อยู่ในรังไข่แบบคว่ำ (anatropous)คือไข่อ่อนห้อยลง โดยก้านไข่อ่อนโค้งงอ และจากการตัดเนื้อเพื่อศึกษาโครงสร้างตามขวางพบว่าผลเทียนพันธุ์ป่าทั้งหมดมี 5 คาร์เพล และ 5 ช่อง (locule)

4. การศึกษาเซลล์วิทยา

จากการศึกษาจำนวนโครโมโซมในระยะเมตตาเฟสจากเซลล์ปลายรากเทียนพันธุ์ป่าจำนวน 10 เซลล์ของแต่ละหมายเลขพบว่า ทั้ง 8 หมายเลขมีจำนวนโครโมโซมที่แตกต่างกันตั้งแต่ 2n = 12 - 36 ได้แก่ หมายเลข IN-RD1 2n = 18 , IN-RD2 2n = 18 , IN-SP1 2n = 12 , IN-SP2 2n = 16 IN- SP3 2n = 14 , CD-HL1 2n = 32 , CD-HL2 2n = 36 และหมายเลข CD-HL3 2n = 32 โดยสามารถ จำแนกเป็นกลุ่มได้ดังนี้ กลุ่มที่ 1 เทียนพันธุ์ป่าที่รวบรวมจากพื้นที่สูงจำนวน 5 หมายเลข ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมผันแปรตั้ง 2n = 12 - 18 หรือ x = 6 , 7 , 8 และ 9 สำหรับกลุ่มที่ 2 ซึ่งเป็นที่เทียนป่าที่รวบรวมได้จากพื้นที่ต่ำจำนวน 3 หมายเลข สามารถจัดกลุ่มของจำนวนโครโมโซมที่ผันแปรตั้งแต่ 2n = 32 - 36 หรือ x = 8 และ 9 ซึ่ง Song *et al.* (2003) ได้ศึกษาศึกษาการจำแนกชนิดและจำนวนโครโมโซมของ *I. balsamina* ตามสภาพลักษณะทางภูมิศาสตร์ พบว่ามีความผันแปรของจำนวนโครโมโซม โดยที่ x = 7 และ 8 พบในอัฟริกา x = 7 , 8 และ 10 พบในอินเดียตอนใต้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

และ ศรีลังกา x = 7 , 9 และ 10 พบในหิมาลัย x = 7 , 8 , 9 และ 10 พบทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ x =10 พบในตอนเหนือของเอเชีย ยุโรป และอเมริกาเหนือ ศรีสกุล (2539) รายงานจำนวนโครโมโซมของบีโกเนีย 6 ชนิดว่า *Begonia acetosella B. acetosella* และ *B. acetosella* มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ 2n = 20 *B. garettii* Craib. และ *B.integrifolia* Dalz. มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ 2n = 18 ส่วน *B. yunannensis* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 28 อุไรวรรณ (2548) รายงานว่าดอกรัก 2 พันธุ์ มีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 สำหรับการศึกษาครั้งนี้พบว่าในการเก็บตัวอย่างราก ควรอยู่ในช่วงเวลา 8.30 – 9.00 น.อุณหภูมิประมาณ 28-29 ° ซ โดยพบว่ามีเซลอยู่ในระยะการแบ่งตัวเป็นจำนวนมากทำให้สามารถเห็นโครโมโซมที่ชัดเจนและนับจำนวนได้อย่างแม่นยำ โดย เนตรวิไล (2548) กล่าวว่า ศึกษาโครโมโซมปลายรากของหงส์เหิน 10 ชนิด พบว่าช่วงเวลาที่เหมาะในการเก็บตัวอย่างคือ 8.00 - 9.30 น.

5. การสร้างลูกผสม

การผสมพันธุ์เทียน 2 กลุ่มคือ กลุ่มเทียนพันธุ์ป่า และกลุ่มเทียนพันธุ์การค้า โดยแบ่งรูปแบบการผสมออกเป็น 2 แบบคือผสมภายในกลุ่ม และการผสมข้าม ผลการผสมภายในกลุ่ม 5 หมายเลข เป็นการถ่ายละอองเกสรตามธรรมชาติ ได้แก่ IN-SP1 , IN-SP2 , IN- SP3 , CD-HL1 และ CD-HL3 พบว่า สำเร็จ 4 หมายเลข โดย IN-SP1 ผสมติดสูงที่สุด คิดเป็นร้อยละ 45.3 รองลงมาคือ IN-SP3 คิดเป็นร้อยละ 39.7 สำหรับหมายเลข CD -HL 1 มีอัตราการผสมติดต่ำที่สุดเพียงร้อยละ 8.5 ในบางหมายเลขที่ดอกไม่สามารถผสมตัวเองได้ โดยดอกจะหลุดร่วงไปหลังบานดอกได้ 3 - 4 วัน ซึ่งในสภาพธรรมชาติเทียนพันธุ์ป่าเหล่านี้สามารถผสมตัวเอง และเมล็ดพัฒนาได้จนถึงการเก็บเกี่ยวหรือดีดกระจายแพร่ขยายจำนวนไปตามธรรมชาติได้ ซึ่งสอดคล้องกับตามที่ กฤษฎา(2544) ได้กล่าวว่า พัฒนาการของดอกและโครงสร้างของดอกลักษณะของดอกที่ไม่ยอมบาน (cleistogamy) ทำให้เกิดการผสมตัวเองได้ร้อยเปอร์เซ็นต์ หรือละอองเรณูตกลงบนยอดเกสรตัวเมียก่อนดอกบาน (chasmogymy) หรือดอกบานก่อนการผสมเกสรแต่ยอดเกสรตัวเมียถูกห่อหุ้มด้วยเกสรตัวผู้ทำให้เกิดการผสมตัวเองเช่นกัน แต่ก็พบว่าอัตราการติดเมล็ดในบางหมายเลขต่ำ เนื่องจากพบดอกหลุดร่วงในเวลาต่อมา และในบางหมายเลขที่ดอกไม่สามารถผสมตัวเองได้ โดยดอกหลุดร่วงไปหลังบานดอกได้ 3 - 4 วันเช่น หมายเลข CD-HL2 ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยภายในบางประการ โดยชยาพร (2542) กล่าวถึง การผสมตัวเองไม่ติด (self-sterility) ว่ามีสาเหตุจากละอองเกสรตัวผู้ไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ อาจเกิดจากการที่ไม่สามารถงอกหรืองอกแล้วแต่ไม่สามารถผ่านยอดเกสรตัวเมียไปได้ หรือมีอัตราการงอกช้าจนเลยเวลาที่จะมีการปฏิสนธิเกิดขึ้น ซึ่ง ลิลลี่ (2546) ได้กล่าวว่า พืชชั้นสูงหลายชนิดไม่สามารถผสมตัวเอง(self – incompatible) เนื่องจากเนื้อเยื่อส่วนเพศเมียปฏิเสธการรับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ละอองเกสรเพศผู้ของพืชชนิดเดียวกัน ในขณะที่ความสามารถผสมตัวเอง (self–compatible) เกิดจากการเข้ากันได้ระหว่างละอองเกสรเพศผู้และยอดชูเกสรเพศเมียเกิดขึ้น กล่าวคือน้ำจะถูกดูดเข้าอย่างรวดเร็วโดยละอองเกสรเพศผู้ และมีการยืดตัวของท่อนำละอองเกสรเพศผู้เกิดขึ้นภายใน 2 ชั่วโมง ในกรณีที่ผสมตัวเองไม่ติด การดูดน้ำนี้จะเกิดขึ้นช้ามากและละอองเกสรเพศผู้จะไม่สามารถสร้างท่อนำละอองเรณู ถึงมีการสร้างท่อนี้ก็จะเจริญไม่ดีและไม่สามารถแทงเข้าไปในเนื้อเยื่อของก้านช่อชูเกสรเพศเมีย หรือถ้าแทงเข้าไปได้ส่วนปลายก็จะพองบวมหรือแตกออก ซึ่งการผสมตัวเองของเทียนพันธุ์ป่าทั้ง 5 หมายเลขที่อัตราการผสมติดต่างกันหรือไม่ติดผลเลย อาจเนื่องมาจากสาเหตุหลายๆ ประการดังที่กล่าวมาข้างต้น ทั้งนี้ปัจจัยที่น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการผสมตัวเองไม่ติดอาจจะเป็นผลมาจาก สภาพแวดล้อมภายในโรงเรือนที่ไม่เหมาะสม อุณหภูมิ ความชื้น ความเข้มแสง และ สภาพที่พืชเครียด ทำให้เนื้อก้านช่อดอกหรือขั้วผลอ่อนหลุดร่วงได้ในที่สุด(ตารางที่ 11)

การผสมข้ามระหว่างเทียนพันธุ์ป่าจำนวน 6 คู่ผสมได้แก่ IN-SP2 x IN- SP3 , IN-SP2 x CD-HL1 , IN- SP3 x IN-SP1 , IN-SP1 x IN-SP2 , IN- SP1 x IN-RD1 และIN-RD1 x IN -SP2 โดยพบว่าทั้ง 6 คู่ ผสมนี้ผสมไม่ติด ดอกหลุดร่วงหลังการถ่ายละอองเรณู 3-4 วัน สาเหตุการผสมไม่ติดนี้อาจเนื่องมาจากสาเหตุ ช่วงเวลาไม่เหมาะสม และลักษณะทางสรีรวิทยาเป็นตัวขัดขวาง เช่นเกิดสารเคมีที่ยับยั้งการงอกของของหลอดละอองเรณู (นพพร , 2543) โดย Tian *et al.*(2004) ได้กล่าวถึงปัจจัยสำคัญที่น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องว่า นิเวศวิทยาที่มีผลต่อการถ่ายละอองเกสรของพืชสกุลเทียน ซึ่งเปรียบเทียบระหว่างเทียนของประเทศจีนกับเทียนที่อยู่ในหมู่เกาะสุมาตรา โดยพบว่าความมีชีวิตของละอองเกสรของเทียนจะสูงที่สุดในวันที่อับเรณูเริ่มเปิด และหลังจากนั้นความมีชีวิตของละอองเรณูจะลดลงเรื่อยๆ ตามอัตราส่วนของการติดเมล็ดอยู่ระหว่าง 0.857 ถึง 0.873เปอร์เซ็นต์ จากจำนวนโครโมโซมของเทียนพันธุ์ป่าทั้ง 6 คู่ผสม มีทั้งหมายเลขที่จำนวนโครโมโซมเท่ากันและแตกต่างกันเล็กน้อยจนถึงแตกต่างกันมาก ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของการผสมไม่ติดเนื่องมาจากการทำงานและปฏิสัมพันธ์ของยีนและการเข้าคู่กันของจำนวนโครโมโซมที่แตกต่างกัน ซึ่งปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมเช่นแหล่งอาศัยเดิมก็น่าจะส่งผลต่อเนื่อง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองต่อมาของ Tian *et al.* (2004) ที่ศึกษาเกี่ยวกับ ความมีชีวิตของละอองเรณูในเทียนชนิด *I. raptans* โดยการผสมข้ามพบว่า มีข้อจำกัดในด้านถิ่นกำเนิด ช่วงความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมที่แคบ มีเปอร์เซ็นต์การงอกของละอองเรณูที่ต่ำ ทั้งนี้ จินดา (2542) ได้กล่าวถึงการผสมข้ามชนิดว่าการผสมข้ามระหว่างชนิดนั้น มักจะไม่ประสบความสำเร็จ อาจจะเกิดจากสาเหตุต่างๆ เช่น นิวเคลียสของละอองเรณูไม่สามารถงอกลงไปผสมกับไข่ของเกสรเพศเมีย หรืออาจมีการผสมข้ามกันได้แล้ว แต่ไข่ที่ได้รับการผสมข้าม ที่เรียกว่าไซโกท (zygote) ไม่สามารถเจริญเป็นต้นอ่อนได้ หรือ ต้นอ่อนไม่อาจเจริญเติบโตต่อไป เนื่องจากความไม่สมดุลกับอาหารหรือเนื้อในเมล็ด (endosperm)ซึ่งกฤษฎา (2528) ยังได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กล่าวว่า ในการผสมข้ามชนิด มักจะมีปัญหาของการผสมไม่ติดหรือเป็นหมันอยู่เสมอ เช่นการผสมข้ามของปอไทยกับปอคิวบา โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกที่มีจำนวนโครโมโซมไม่เท่ากัน ซึ่งอาจเป็นเพราะความไม่สมดุลในเนื้อในเมล็ด

ต่อมาได้ทดลองผสมข้ามอีกครั้งโดยเลือกเทียนพันธุ์การค้าเป็นต้นแม่ และใช้พันธุ์ป่าเป็นแหล่งละอองเรณูจำนวน 6 หมายเลข 18 คู่ผสม พัฒนาเป็นผลอ่อน 15 คู่ผสมซึ่งในระยะแรก ของการถ่ายละอองเรณู พบปัญหาคือในระยะแรกผลมีการพัฒนาขนาดและบวมพอง ประมาณ 3 - 4 สัปดาห์ต่อมาเมื่อทำการตรวจสอบภายในผลพบว่าเมล็ดจะฝ่อลีบและผลหลุดร่วง โดยลิลลี่ (2546) กล่าวถึง ปฏิกิริยาสัมพันธ์กับยีนที่เป็นผลิตผลของเนื้อเยื่อของเกสรเพศเมีย และถูกควบคุมโดยยีนเพียง 1 ตำแหน่งและให้ชื่อว่า S locus การศึกษาทางพันธุกรรมทราบว่าถ้าอัลลีย์ S ในละอองเกสรเพศผู้เป็นชนิดเดียวกับที่มีในเนื้อเยื่อของต้นแม่แล้ว ท่อนำละอองเรณูจะไม่สามารถงอกและหรือพัฒนาได้ตามปกติ ทั้งนี้ Van Went (1981) ศึกษาด้านเซลล์วิทยาและกายวิภาคศาสตร์ พบว่าสามารถบ่งชี้ถึงการเป็นหมันของ *I. wallerana* ได้โดยที่ลักษณะเป็นหมัน และลักษณะปกติ มีความแตกต่างกันระหว่างเกสรที่มีความสมบูรณ์กับเกสรที่เป็นหมัน ในเซลล์ต้นกำเนิดของละอองเรณูและ เซลล์ที่พัฒนาเป็นเกสรเพศผู้ ตั้งแต่การแบ่งตัวจากระยะ Tetrad ไปเป็นละอองเรณู ซึ่ง

กฤษฎา (2528 .) กล่าวว่า สามารถแก้ไขโดยการช่วยชีวิตต้นอ่อน (embryo rescue) โดยการนำไปเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่ง นิตย์ศรี (2541) กล่าวว่า การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอที่เป็นลูกผสมจากการผสมข้ามชนิดหรือข้ามสกุลที่มีการปฏิสนธิเกิดขึ้น เอ็มบริโอมักจะสลายไป เซลล์ที่สร้างมาจากไซโกตของลูกผสมจะมีแวคคิวโอและออร์แกนเนลล์บางชนิด การสลายของเอ็มบริโอมักจะเกิดขึ้นควบคู่ไปกับการสลายตัวของเอนโดสเปิร์ม สำหรับการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอลูกผสมเทียนในสภาพปลอดเชื้อเพื่อช่วยชีวิตต้นอ่อน (embryo rescue) จำนวน 15 คู่ผสม สามารถพัฒนาได้จำนวน 4 คู่ผสม และเจริญเป็นใบเลี้ยงได้ 2 คู่ผสม โดยพบว่าอายุเอ็มบริโอที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 2 และ 3 สัปดาห์ ซึ่ง สามารถพัฒนาเป็นใบเลี้ยงได้ โดยสูตรอาหารที่เอ็มบริโอสามารถเจริญและพัฒนา เป็นใบเลี้ยงได้คือ MS ดัดแปลงที่ประกอบด้วย MS + 1 ส่วนต่อล้าน BA + 1 ส่วนต่อล้าน IAA + น้ำมะพร้าว 10 % + วุ้น 6 กรัม + น้ำตาล 30 กรัม และ MS + 0.5ส่วนต่อล้าน BA + 1 ส่วนต่อล้าน IAA + น้ำมะพร้าว10 % + วุ้น 6 กรัม + 30 กรัมน้ำตาล โดยผันแปรปริมาณการใช้ BA ที่ 0.5-1 ส่วนต่อล้าน ทั้งนี้ ดาวรุ่ง (2546) กล่าวว่า การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในหลอดแก้ว (Embryo culture) เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์ในการสร้างลูกผสมข้ามชนิดหรือข้ามสกุล ในบางครั้งสามารถผสมข้ามระหว่างพืชต่างสปีชีส์หรือต่างสกุลได้ แต่เอ็มบริโอลูกผสมไม่เจริญและฝ่อตายไป ได้มีการแยกเอ็มบริโอลูกผสมดังกล่าวมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้อาหารที่เหมาะสม เอ็มบริโอสามารถเจริญเติบโตได้เป็นต้นพืช แม้เป็นหมันก็อาจขยายพันธุ์ได้ด้วยการปักชำหรือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และสอดคล้องกับงาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ทดลองของ มนต์ระวี (2544) ที่ได้รายงานผลการศึกษาการผสมตัวเองของอังกาบ 2 ชนิด 4 สายพันธุ์ คือสีม่วง สีขาว สีม่วงแถบขาว และสีแดง จำนวน 16 คู่ผสม พบว่าพันธุ์สีแดงเท่านั้นที่ผสมตัวเองได้ สำหรับการผสมข้ามต้องใช้พันธุ์สีแดงเป็นต้นพ่อเท่านั้นและต้องใช้วิธีเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ เนื่องจากฝักฝ่อหลังการพัฒนาไปได้เพียง 24 วัน ลูกผสมให้สีดอกในรูป non memdelian inheritance และรูปแบบการเจริญในลักษณะต่างๆ Sangduen *et al.*(1983)กล่าวถึง ศึกษาการพัฒนาเอ็มบริโอของอัลฟัลฟา(*M. sativa x M. scutellata*) โดยการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา พบว่าเนื้อเยื่อของแม่ที่อยู่รอบๆถุงเอ็มบริโอกับเอ็มบริโอลูกผสมมีช่วงเวลาที่ไม่เหมาะสมหรือไม่ประสานกันในการเกิดเมตาบอลิซึมของลิปิด แป้งและผลึกต่างๆ ต่อมา Mathias *et al.*(1990) ไม่ประสบผลสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอลูกผสม Cuphea species เนื่องจากเอ็มบริโอที่นำมาเลี้ยงมีขนาดเล็กเกินไป สำหรับเอ็มบริโอของเทียนลูกผสมที่ได้จากการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อซึ่งสามารถพัฒนาไปเป็นแคลลัสและใบเลี้ยงนั้น อาจจะต้องมีการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของเนื้อเยื่อต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved