บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

โป๊ยเซียน (Crown of Thorns) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Euphorbia splendens* Bojer ex Hook.f. มีถิ่นกำเนิดในเกาะ มาดากัสการ์ (มาลากาซี) แถบแอฟริกา อบิสซิเนีย หมู่เกาะคานารีและแถบอเมริกา (อรดี, 2534) โป๊ยเซียนมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่น เช่น ในกรุงเทพฯ เรียกไม้รับแขก เชียงใหม่เรียกระวิงระไว พระเจ้ารอบโลกหรือว่านเข็ม พระยาอินทร์ ส่วนแม่ฮ่องสอนเรียก ว่านมุงเมือง (ไชยาและลาวัลย์, 2534)

พืชในตระกูล Euphorbiaceae โดยทั่วไปมีลักษณะเป็นไม้พุ่ม พบอยู่หลายประเทศในเขตร้อนมีไม่ต่ำกว่า 300 สกุล (genus) แต่ละสกุลมีราว 6,550 - 7,650 ชนิด โป๊ยเซียนจัดอยู่ในสกุล *Euphorbia* ไม้ที่จัดอยู่ในสกุลเดียวกันนี้มีประมาณ 2,000 ชนิด รวมทั้งพวกสลัดได กระบองเพชรบางชนิด ลักษณะสำคัญของพืชสกุลนี้ก็คือ ลำต้นอวบน้ำ มียางสีขาวซึ่งเป็นพิษ หากถูกผิวหนังที่เป็นแผลหรือเข้าตา จะเป็นอันตรายได้ บางชนิดใช้เป็นประโยชน์ทางการแพทย์ บางชนิดใช้สกัดน้ำมัน บางชนิดมีหนามแหลมคม เป็นพืชที่ทนความแห้งแล้งได้ดี (อรดี, 2534)

2.1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโป๊ยเซียน

อุทัยและสวัสดิ์ (2526) กล่าวว่า ถ้าเพาะจากเมล็ด โป๊ยเซียนจะมีรากแก้วและแตกแขนง มีรากขนอ่อน มีลักษณะเป็นไม้กึ่งอวบน้ำ ลำต้นมีขนาดเล็กหรือใหญ่แล้วแต่พันธุ์หรือชนิด แต่ทุกชนิดจะมีหนามแหลม ลำต้นบางทีแตกเป็นร่องหรือกลมหรือเป็นเหลี่ยม สี่เหลี่ยมถึงหกเหลี่ยม ลำต้นเมื่อมีอายุนานพอสมควรแล้วจะเป็นไม้เนื้อแข็ง (woody) แต่ไม่มีแก่นแข็งเหมือนไม้ยืนต้นทั่วไป ลำต้นบางชนิดอวบอ้วน ตั้งตรง แข็งแรง บางชนิดแตกกิ่งเป็นพุ่ม บางชนิดลำต้นเอนห้อย ลำต้นโป๊ยเซียนแต่ละชนิดจะมีสีแตกต่างกันได้ ซึ่งนอกจากจะขึ้นอยู่กับ แสง อาหาร ความชุ่มชื้นแล้วยังขึ้นอยู่กับลักษณะประจำพันธุ์ประจำชนิดด้วย สีของลำต้นอาจมีสีน้ำตาล สีน้ำตาลอมเหลือง สีน้ำตาลอมเทา สีน้ำตาลอมดำ หรือสีดำ

หนามโป๊ยเซียนอาจมีฐานใหญ่ปลายแหลม หรือเรียวแหลมหรือแหลมโค้งปลายเล็กน้อย การแตกหนามก็อาจมีทั้งแตกเดี่ยว ๆ แตกเป็นคู่หรือเป็นกระจุก เป็นกลุ่ม หนามอาจจะชี้ขึ้น ชี้ตรง ๆ หรือชี้ลง ปลายหนามบางชนิดโค้งงอน การเรียงตัวของหนามบางชนิดเรียงตัว

เป็นแถวขึ้นไปตามลำต้น บางชนิดก็เรียงตัวบิดเวียนเป็นเกลียวไปรอบค้าน หนามอาจมีได้หลายสี เช่น สีขาว สีน้ำตาล สีน้ำตาลอมเทา สีดำ ฐานสีคล้ำปลายยาวและหนามสีดำ (อุทัยและสวัสดิ์, 2526)

โป๊ยเซียนส่วนใหญ่จะมีใบสีเขียว บางชนิดสีเขียวแก่ เขียวอมเทา เขียวคล้ำ สีเขียวเลื่อม สีเงินหรือสีเขียวมีนวลตอง สีแดง และสีแดงเข้ม ลักษณะใบมีหลายรูปแบบเป็นต้นว่า รูปใบพายปลายมน รูปใบหอกปลายแหลม ปลายใบมนโคนสอบ รูปยาวรี รูปหัวใจกลับ กลางใบมีเส้นกึ่งกลางแบ่งตลอดเป็นแนวสองข้าง เส้นกึ่งกลางมีเส้นแบ่งคล้ายกระดูกขึ้นเป็นลอน บางชนิดมีขอบใบเรียบ บางชนิดมีขอบใบเป็นคลื่นเล็กน้อย (วิชัย, 2537)

ลักษณะดอกโป๊ยเซียน ออกดอกเป็นช่อ ช่อหนึ่ง ๆ จะมีดอกย่อยออกเป็นคู่ ๆ เช่น 4 คู่ 8 คู่ 16 คู่ จนถึง 56 คู่ ก้านส่งดอกส่วนมากจะมีสีเขียว แดงอมดำและสีแดง แดงเข้ม ตั้งขึ้นแบะออกแนวราบหรือห้อยลู่ลง ทั้งนี้หากก้านส่งดอกอวบใหญ่จะแข็งแรงสามารถรับน้ำหนักของดอกได้จำนวนหลายดอก ดอกมี 2 เพศ (perfect flower) ดอกประกอบด้วยกลีบเลี้ยง (cyathophylls) 2 กลีบมีลักษณะกลมใหญ่มีสีสรรต่าง ๆ กัน ปลายกลีบเว้าหรือมน ที่กึ่งกลางกลีบอาจมีรอยพับเป็นร่องทำให้เกิดเป็นติ่งแหลมเล็ก ๆ ขึ้น บางชนิดมีดอกชั้นเดียวแต่บางชนิดมีดอกถึง 6 ชั้น ซ้อนกันเรียงขึ้นไปตามแนวตั้ง ตรงใจกลางดอกมีเกสรตัวเมีย (pistil) ซึ่งจะบานก่อนเกสรตัวผู้ประมาณ 3 วัน ที่ปลายจะแยกเป็น 3 แฉก ปลายจะโป่งเล็กน้อยเป็นเส้าเกสร (stigma) มีลักษณะเหนียว ๆ เมื่อพร้อมที่จะผสม ส่วนล่างของเกสรตัวเมียที่ติดกับกลีบเลี้ยงจะเป็นกระเปาะรังไข่ (ovary) มี 3 พูหลังจากดอกบานแล้ว 2-3 วัน เกสรตัวผู้จึงจะเจริญโผล่ขึ้นมาให้เห็นมีประมาณ 5-7 อัน ที่ปลายยอดแต่ละอันจะมีอับละอองเกสร (anther sac) เมื่อแก่จะปล่อยละอองเกสร (pollen) สีเหลืองเป็นขุยออกมา (อรดี, 2534)

โป๊ยเซียนมีเมล็ดคล้ายเมล็ดโกสนแต่เล็กกว่า มีสีขาวเมื่อแก่เป็นสีน้ำตาล และจะดีดกระเด็นออกไปได้ไกลประมาณ 1 ฟุต (อุไร, 2538)

2.2. การผลิตโป๊ยเซียน

การผลิตโป๊ยเซียนที่มีประสิทธิภาพมีผลทำให้ได้ต้นที่แข็งแรง สมบูรณ์ และช่อดอกที่มีคุณภาพ และปริมาณตามความต้องการ ในการผลิตควรคำนึงถึงปัจจัยหลายประการ ทั้งที่เป็นปัจจัยเกี่ยวกับต้นพืช และสภาพแวดล้อม ได้แก่

1. แสง

ไชยาและลาวัลย์ (2534) ให้คำแนะนำว่าควรปลูกในบริเวณที่มีการพรางแสงให้เหลือประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 6 - 8 ชั่วโมงต่อวัน หรือหากถูกแสงแดดตลอดวันจะทำให้ดอกสีเข้มขึ้น ต้นแข็งแรง ดอกดก ได้สีดอกที่แท้จริงแต่ดอกจะเล็กกว่าเดิมและใบไหม้เกรียม ส่วนต้นที่อยู่ในร่มดอกจะโตกว่า สีดอกไม่เข้ม ต้นไม่แข็งแรง

2. การขยายพันธุ์

อรดี (2534) กล่าวว่า โป๊ยเซียนมีวิธีการขยายพันธุ์หลายวิธี คือ การเพาะเมล็ด การปักชำกิ่ง การเสียบยอดและการตอน อุดร (2537) พบว่า สามารถนำส่วนของดอกไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้

3. การปลูกเลี้ยง

วิชัย (2537) แนะนำให้ใช้ดินปลูกที่มีคุณภาพดี นอกจากนั้นยังต้องรดน้ำ พรวนดิน และให้ปุ๋ยอย่างสม่ำเสมอ หากปลูกในกระถางควรจัดให้เป็นหมวดหมู่และอย่าวางให้ชิดติดกันจนเกินไป สิ่งที่ต้องคำนึงถึงคือ ควรวางกระถางปลูกโป๊ยเซียนให้ได้รับแสงแดดอย่างน้อยครึ่งวันจะเป็นช่วงเช้าหรือบ่ายก็ได้ ถ้าหากเจริญเติบโตมีกิ่งก้านสาขาแตกออกมามาก ๆ ควรตัดแต่งกิ่งเพื่อไม่ให้กิ่งแย่งอาหารกันและเป็นการรักษาทรงพุ่มให้แลดูสวยงาม นอกจากนั้น ถ้าผสมดินปลูกด้วยปุ๋ยมูลสัตว์ต่าง ๆ ควรเปลี่ยนดินปลูกทุก 1 ปี และสำหรับผู้ที่ให้ปุ๋ยเคมีให้เปลี่ยนทุก ๆ 6 เดือน

4. วัสดุปลูก

วัสดุปลูกที่เหมาะสมสำหรับโป๊ยเซียนควรโปร่ง ระบายน้ำดี สะอาด ไม่เน่าเปื่อยผุพังเร็วจนเกินไป มีปริมาณเกลือต่ำ มีความเป็นกรดเป็นด่าง ระหว่าง 6.5 - 7.0 และมีธาตุอาหารที่จำเป็นต่อพืชครบและเพียงพอ (วิชัย, 2537) วัสดุปลูกที่ใช้ได้ดีสำหรับปลูกโป๊ยเซียน ควรเป็นดินผสมตามอัตราส่วนโดยปริมาตรดังนี้คือ ดิน 2 ส่วน ปุ๋ยหมักหรือปุ๋ยคอก 1 ส่วน เปลือกถั่วลิสง 1 ส่วน แกลบดิบหรือแกลบเผา 1 ส่วน วัสดุปลูกที่ผสมแล้วปริมาตร 1 ลูกบาศก์เมตร ผสมด้วยหินฟอสเฟต 2 กิโลกรัม (วิสันต์, 2538)

5. การให้น้ำและการให้ปุ๋ย

โป๊ยเซียนเป็นไม้ที่ทนทานต่อสภาพดินฟ้าอากาศที่แห้งแล้ง ไม่ชอบน้ำมาก (อุทัยและสวัสดิ์, 2526) ปริมาณน้ำในเครื่องปลูกจะต้องมีเพียงพออย่างสม่ำเสมอ ถ้าเครื่องปลูกขาดน้ำจะทำให้การเจริญเติบโตและการออกดอกไม่สมบูรณ์ การขาดน้ำของโป๊ยเซียนดูได้จากการเหี่ยว

ของใบ ลำต้นลู่เอนลง ก้านช่อดอกตกลงมา ถ้าขาดมากขอบใบจะไหม้ ใบเหลืองและร่วงหล่น ลำต้นอาจจะเน่า ควรให้น้ำทุกครั้ง เมื่อเห็นว่าเครื่องปลูกจากระดับความลึกประมาณ 1 นิ้วจากผิวเริ่มแห้ง

การให้ปุ๋ยโป๊ยเซียน ในช่วงการเจริญเติบโตก่อนออกดอกให้ใช้ปุ๋ยที่มีระดับไนโตรเจน : ฟอสฟอรัส : โปแตสเซียม ในอัตรา 3 : 2 : 1 ในช่วงระยะออกดอกจะให้ระดับไนโตรเจน : ฟอสฟอรัส : โปแตสเซียม ในอัตรา 2 : 1 : 3 (วิสันต์, 2538)

6. ศัตรูของโป๊ยเซียน

ชาตรี (2538) ; นิวัฒ (2538) ; อุไร (2538) และไสว (2538) ได้รายงานว่าศัตรูที่พบว่าเกิดขึ้นกับโป๊ยเซียนมีหลายชนิดคือแมลง ได้แก่ เพลี้ยไฟ หนอนคืบ แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้ง หนอนสมอฝ้าย ไรแดง ไส้เดือนฝอย และเชื้อรา ได้แก่ Damping- off, Botrytis leaf blight (*Botrytis* sp.) Gray mold blight (*Amphobotrys ricini* Hannebert, *Botrytis ricini* Buchw, *Botrytis bifureata* Miller Giddens & Foster, *Botryotinia ricini* (Godfrey) Whetz และ *Sclerotinia ricini* Godfrey)

2.3. การศึกษาจำนวนโครโมโซม

1. จำนวนโครโมโซมของพืช

การศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชมีความสำคัญต่อนักผสมพันธุ์พืช เพราะสามารถนำเอาข้อมูลที่ได้จากการค้นคว้านี้ไปเป็นรากฐานในการปรับปรุงพันธุ์และผสมพันธุ์พืชให้ได้ลักษณะตามที่ต้องการ ซึ่งจากจำนวนโครโมโซม ลักษณะ และรูปร่างของโครโมโซมนี้ทำให้สามารถเปรียบเทียบความคล้ายคลึงและความแตกต่างของพืชแต่ละชนิดที่นำมาศึกษาได้ ดวงทิพย์ (2539) พบว่าว่านสี่ทิศ (*Amaryllis*) ซึ่งอยู่ในตระกูล *Amaryllidaceae* พันธุ์พื้นบ้านสีแดงมีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 ; พันธุ์ Apple Blossom, Orange Sovereign และ Telstar มี 2n = 44 และพันธุ์ Red Lion มี 2n = 43 แสงแก้ว (2537) รายงานว่าจำนวนโครโมโซมของมะไฟจีน (*Clausena lansium* Skeels) ทั้งกลุ่มผลกลมและกลุ่มผลรีมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ 2n = 18 Lugade and Hegde (1994) รายงานว่าจำนวนโครโมโซมของ ดองดึง (*Gloriosa lutea*) เป็น 2n = 22 Bhattarai and Malla (1994) ได้ศึกษาความแตกต่างของจำนวนโครโมโซมของกะเรกะร่อน (*Cymbidiun cyperifolium* Lindl.) จำนวน

ต้นที่เป็น diploid 5 ต้น พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 36 จำนวน 1 ชนิด และ 2n = 40 จำนวน 4 ชนิด และ Iwatsubo and Naruhashi (1994) ศึกษาจำนวนโครโมโซมจาก เนื้อเยื่อเจริญของปลายรากของ *Stephanandra tanakae* และ *S. incisa* ใน microsporocytes พบว่าจำนวนโครโมโซมของพืชทั้ง 2 ชนิด เป็น 2n = 18

2. การศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชตระกูล Euphorbiaceae

การศึกษาโครโมโซม เป็นการศึกษาจำนวนโครโมโซมในเซลล์พืชที่กำลังแบ่งตัวแบบไมโตซีสและไมโอซีสแล้วแต่ความเหมาะสม และศึกษาในช่วงที่อยู่ในระยะเมตาเฟส ซึ่งเป็นช่วงที่โครโมโซมหดตัวมากที่สุด ทำให้เห็นโครโมโซมชัดเจนและสามารถนับจำนวนได้ถูกต้องแม่นยำ

การศึกษาโครโมโซมของต้น ใช้เซลล์ที่มาจากเนื้อเยื่อเจริญอาจเป็นปลายยอดหรือปลายรากซึ่งเป็นบริเวณที่มีเซลล์แบ่งตัวแบบไมโตซีส ส่วนการศึกษาโครโมโซมในเซลล์สืบพันธุ์ศึกษาจากเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้จากอับละอองเกสร (ภูวดล, 2528 ; วิสุทธิ์, 2536)

ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับจำนวนโครโมโซมของพืชในตระกูล Euphorbiaceae พบว่ามีจำนวนตั้งแต่ 2n = 14 จนถึง 2n = 168 เช่น พืชในสกุล หางกระรอกแดง (*Acalypha*) มีจำนวนโครโมโซมตั้งแต่ 2n = 20 จนถึง 2n = 168 พืชสกุล *Andrachne* มีตั้งแต่ 2n = 22 จนถึง 2n = 78 พืชในสกุลผักหวานด่าง (*Breynia*) มีตั้งแต่ 2n = 28 จนถึง 2n = 52 พืชในสกุล *Caperonia* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 44 พืชในสกุล *Chorozophora* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 22 พืชในสกุลโกศล (*Codiaeum* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 80 พืชสกุลโป๊ยเซียนหรือน้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia*) มีตั้งแต่ 2n = 14 จนถึง 2n = 80 พืชสกุล *Micrococca* มีตั้งแต่ 2n = 20 จนถึง 2n = 60 พืชสกุลหญ้าใต้ใบ (*Phyllanthus*) มีตั้งแต่ 2n = 26 จนถึง 2n = 104 และพืชสกุล หานแตน (*Tragia*) มีตั้งแต่ 2n = 80 จนถึงมากกว่า 110 (Moore, 1972)

3. ความผันแปรในจำนวนโครโมโซมในตระกูล Euphorbiaceae

ความผันแปรในจำนวนโครโมโซม มีผลต่อการแสดงออกทางรูปร่างลักษณะและนิสัยของพืช ซึ่งมีผลต่อการผันแปรของชนิดและพันธุ์ ความผันแปรของจำนวนโครโมโซมต้นของพืชพบใน 2 ลักษณะใหญ่ ๆ ด้วยกันคือ euploidy ซึ่งเป็นการผันแปรในลักษณะของ

การลดหรือการเพิ่มของโครโมโซมเป็นชุดจากสภาพ diploidy และ aneuploidy ซึ่งเป็นการลดหรือเพิ่มโครโมโซมเป็นจำนวนแท่งจากสภาพ diploidy

Moore and Lindsay (1953) ได้อ้างอิงผลการตรวจชุดโครโมโซม Rutland (1941) และ Perry (1943) ที่ได้ศึกษาจำนวนโครโมโซมของ *Euphorbia cyparissias* L. ที่เก็บจาก แถบตะวันออกของรัฐออนตาริโอ และใกล้ ๆ กับ รัฐควิเบคของประเทศแคนาดา บางต้นมีจำนวนโครโมโซม 2n = 20 (diploid) และบางต้นมีจำนวนโครโมโซม 2n = 40 (tetraploid)

Staheviton *et al.*, (1988) รายงานว่า *Euphorbia agraria* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 20 และยังได้อ้างอิงผลการตรวจจำนวนโครโมโซมใน *Euphorbia* ชนิดอื่น ๆ เป็น polyploid โดยนักวิจัยหลายท่านได้แก่ *Euphorbia esula* S.L เป็น hexaploid ; 2n = 30 (Moore, 1958; Pritchard, 1961; Gadella and Kliphius, 1966) *E. virgata* 2n = 20 (Baksay, 1958) ; 2n = 56 (Hurusawa and Shimoyma, 1976) และ 2n = 60 (Pritchard, 1958, 1961)

2.4. การจำแนกพันธุกรรมโดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซีส

วิธีการอิเล็กโทรโฟรีซีส เป็นวิธีการแยกโมเลกุลที่มีความแตกต่างของประจุและน้ำหนักของโมเลกุลโดยอาศัยการเคลื่อนย้ายของโมเลกุลนั้นในตัวกลางที่มีกระแสไฟฟ้าไหลผ่าน ตัวกลางที่ใช้มีทั้งกระดาษแข็ง แป้ง และ polyacrylamide gel ซึ่ง polyacrylamide gel จะมีบทบาทมากที่สุดในการใช้ในการทดลองต่าง ๆ เพราะมีคุณสมบัติในการแยกโมเลกุลหลายขนาดตามแต่ความเข้มข้นของเจล (พิสสวรรณ, 2531) เพิ่มพงษ์ (2531) รายงานว่าการใช้เทคนิคทางอิเล็กโทรโฟรีซีส ในการแยกและวิเคราะห์โปรตีนและเอนไซม์ซึ่งเป็น primary และ secondary product ซึ่งเกิดจากการแสดงออกของยีนจะมีความคงตัวของรูปแบบเสมอจนกว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงใด ๆ เกิดขึ้นที่ nucleotide sequence ของยีน หรือ coding base sequence ซึ่งจะมีผลต่อการสร้างโปรตีนหรือ polypeptide ที่มีโครงสร้างทางโมเลกุลของกรดอะมิโนที่เรียงลำดับแตกต่างกัน และส่งผลไปถึงการมีประจุไฟฟ้ารวม ขนาดและรูปร่างของโมเลกุลที่ไม่เหมือนกัน เมื่อนำมาแยกในตัวกลางที่เหมาะสมตามวิธีทางอิเล็กโทรโฟรีซีส โมเลกุลต่าง ๆ ก็จะเคลื่อนที่ในอัตราที่ต่าง ๆ กัน เมื่อนำมาย้อมสีก็จะเกิดเป็นแถบสีของโปรตีนที่เรียกว่า zymogram ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการจำแนกพันธุ์หรือสายพันธุ์พืชนั้น ๆ ได้

ในการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยทั่วไปประชากรที่จะนำมาปรับปรุงพันธุ์จะต้องมีความแปรปรวนทางด้านพันธุกรรมในลักษณะที่ต้องการปรับปรุง จึงจะทำให้การปรับปรุงพันธุ์มีความก้าวหน้า (ไพศาล, 2535) เช่นเดียวกับไอโซไซม์ในการที่จะนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์พืชหรือนำมาจำแนกพันธุ์ประชากรนั้นจะต้องมีความแปรปรวนในลักษณะของไอโซไซม์จึงจะสามารถนำประโยชน์ของไอโซไซม์มาใช้อย่างมีประสิทธิภาพ Aradhya *et al.* (1995) ได้ศึกษาความหลากหลายของพันธุกรรมของลิ้นจี่ (*Litchi chinensis* Sonn.) 49 ตัวอย่างโดยใช้เอนไซม์ 8 รูปแบบที่พบว่ามีความแปรปรวนทางพันธุกรรมมีตั้งแต่ระดับปานกลางจนถึงระดับสูง และ เสาวณี (2538) ได้รายงานการตรวจวิเคราะห์พันธุ์มะขามทั้งเปรี้ยวและหวานที่ปลูกจากแหล่งต่าง ๆ โดยใช้ลักษณะไอโซไซม์ 3 ชนิดคือ peroxidase, esterase และ acid phosphatase พบว่า รูปแบบไอโซไซม์ esterase และ acid phosphatase แสดงความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์น้อยมากแต่ผลของ รูปแบบไอโซไซม์ peroxidase สามารถจำแนกมะขามออกเป็น 5 กลุ่มใหญ่ Nakagahra *et al.* (1974) ศึกษา nisozyme esterase ในข้าวพันธุ์พื้นเมือง 776 สายพันธุ์ เพื่อดูความแปรปรวนทางพันธุกรรม และการกระจายของยีน ตามแหล่งปลูกของข้าวพันธุ์พื้นเมืองของประเทศในแถบเอเชีย โดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซีสพบว่าแถบของไอโซไซม์ที่เกิดขึ้นสามารถเขียนความแตกต่างได้ 27 แบบ (zymogram pattern)

การใช้เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซีสในการจำแนกสายพันธุ์โดยใช้ชนิดของไอโซไซม์ 1 - 2 ชนิด หรือมากกว่านั้นจะทำให้การบ่งบอกและจำแนกสายพันธุ์มีผลวินิจฉัยที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ซึ่งการใช้ไอโซไซม์เพียง 2 - 3 ชนิดก็เพียงพอ ถ้าจำนวนสายพันธุ์ที่ทำการตรวจสอบมีไม่มากนัก แต่ถ้ามีจำนวนมากจะต้องเพิ่มจำนวนไอโซไซม์ในการศึกษามากขึ้นหรือใช้ลักษณะอื่นเพื่อช่วยในการตัดสินใจ Degani and El-Batsri (1990) แยกลักษณะของมะม่วง (*Mangifera indica* L.) 41 พันธุ์ โดยใช้ระบบ isozyme aconitase, isocitrate dehydrogenase, leucine aminopeptidase, phosphoglucose isomerase, phosphoglucomutase และ triosephosphate isomerase และ Guiros (1980) ศึกษาการจำแนกถั่วอัลฟัลฟา (*Medicago sativa* L.) ที่เป็น mother plant 21 สายพันธุ์โดยใช้เทคนิค starch gel electrophoresis โดยศึกษาจากไซโมแกรมของ isomer peroxidase, esterase และ acid phosphatase จากเนื้อเยื่อใบพบว่าสามารถแยกพันธุ์ถั่วอัลฟัลฟา ได้ Bassiri and Rouhani (1977) ใช้ strach gel electrophoresis ศึกษาความแตกต่างของถั่วปากอ้า (*Vicia faba* L.) 40 พันธุ์ โดยใช้ รูปแบบไอโซไซม์ของ esterase และ peroxidase และจากการศึกษาความ

แตกต่างของดอกหน้าวัว (*Anthurium andreanum*) จำนวน 7 พันธุ์ โดยใช้ รูปแบบไอโซไซม์ เพียง 4 ชนิด คือ phosphoglucose isomerase, peroxidase, malate dehydrogenase และ glutamate oxaloacetate transaminase ก็เพียงพอที่จะใช้แยกความแตกต่างได้ (Kabayashi *et al.*, 1987)

การใช้วิธีอิเล็กโทรโฟรีซีสและการนำรูปแบบของไอโซไซม์มาใช้ทดสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์จะต้องนำตัวอย่างของสายพันธุ์พ่อ สายพันธุ์แม่ และลูกผสม เพื่อศึกษาลักษณะของไอโซไซม์ที่เกิด มงคล (2531) ใช้ความแตกต่างของจำนวนแถบโปรตีนของพันธุ์พ่อแม่และแถบโปรตีนที่เกิดขึ้นใหม่ของลูกผสม ในการจำแนกความแตกต่างของลูกผสมจากพันธุ์พ่อและแม่ได้ Kim and Park (1984) ใช้รูปแบบไอโซไซม์ malate dehydrogenase และ acid phosphatase ของใบเลี้ยงผักกาดหัวที่มีอายุเพียง 2 - 3 วัน จำแนกความแตกต่างของพันธุ์แท้ ลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ Dong *et al.* (1986) ใช้รูปแบบไอโซไซม์ phosphoglucomutase ของใบเลี้ยงฟักทองอายุ 3 วัน จำแนกความแตกต่างของลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 3 ลำดับ และสายพันธุ์แท้อีก 6 ลำดับได้ Lee and Pask (1986) ว่าได้ใช้รูปแบบไอโซไซม์ 6 ชนิดคือ acid phosphatase, malate dehydrogenase, phosphoglucomutase, phosphoglucose isomerase, malic enzyme และ 6 - phosphogluconate dehydrogenase ที่สกัดได้จากใบเลี้ยงแตงกวา ในการจำแนกความแตกต่างของลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 3 ลำดับ และพันธุ์แท้ 6 ลำดับได้ ส่วน John and Whitney (1983) พบว่าสามารถใช้แถบโปรตีน globulins จากคัพภะ จำแนกความแตกต่างของข้าวโพดพันธุ์แท้ Mo 17 กับ B73 และลูกผสม B73xMo17 ได้

อย่างไรก็ตาม การนำเอาเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซีสมาใช้ยังมีข้อจำกัดเพราะ ไอโซไซม์บางชนิดที่นำมาใช้อาจจะไม่สามารถจำแนกความแตกต่างรูปแบบไอโซไซม์ ดังเช่น การศึกษาของ Bringhurst *et al.* (1981) ใช้ความแตกต่างของรูปแบบไอโซไซม์ 3 ชนิด คือ phosphogluco isomerase, leucine aminopeptidase และ phosphoglucomutase ในการจำแนกความแตกต่างของสตรอเบอรี 22 พันธุ์ พบว่าการใช้ความแตกต่างของแบบแผนเอนไซม์ทั้ง 3 แบบ จำแนกได้เพียง 14 พันธุ์เท่านั้น และมงคล (2531) ใช้วิธีทางอิเล็กโทรโฟรีซีสในการจำแนกความแตกต่างของพันธุ์พริกลูกผสมข้ามพันธุ์ และ ข้ามชนิดพบว่าไม่สามารถใช้วิธีอิเล็กโทรโฟรีซีสในการจำแนกความแตกต่างของพริกทั้งหมดได้ แต่สามารถใช้ความแตกต่างของจำนวนแถบโปรตีน

ของพันธุ์พ่อแม่ และแถบโปรตีนที่เกิดขึ้นใหม่ของลูกผสมในการจำแนกความแตกต่างของลูกผสมจากพันธุ์พ่อและแม่ได้

2.5. การปรับปรุงพันธุ์

การปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมพันธุ์ในไม้ดอก พบว่าสภาพแวดล้อมในระหว่างการผสมเกสรที่สำคัญคือ

1. <u>อุณหภูมิและแสง</u>

อุณหภูมิและแสงมีบทบาทสำคัญต่อความสำเร็จในการผสมพันธุ์ Devries and Linwien (1983) รายงานว่าในขณะที่มีแสงแดดจัดในช่วงเวลา 08.00 - 10.00 น. โดยมีอุณหภูมิระหว่าง 20° ถึง 35° ซ เป็นช่วงเวลาที่เหมาะสำหรับการผสมเกสรกุหลาบมาก และ Thomas and Dennis (1982) ยังพบว่า การผสมเกสรของบานชื่นควรทำในช่วงที่อุณหภูมิกลางวันสูงสุดไม่เกิน 27° ซ และอุณหภูมิกลางคืน 21° ซ ส่วน Kho and Baer (1973) รายงานว่าคาร์เนชั่นจะผลิตละอองเกสรได้มากที่สุดที่อุณหภูมิ 23° ซ ส่วนที่อุณหภูมิ 10° ซ และ 17° ซ จะผลิตละอองเกสรได้น้อยมาก และเมื่อผสมเกสรคาร์เนชั่นในช่วงที่อุณหภูมิสูงและมีแสงแดดเต็มที่ จะช่วยให้การผสมเกสรมีความสำเร็จมากขึ้น (Sparnaaij and Beeger, 1973)

2. <u>ความพร้อมผสมของเกสรตัวเมีย</u>

ความพร้อมผสมของเกสรตัวเมียเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการผสมเกสร ปกติเกสรตัวเมียจะมีความพร้อมผสมมากที่สุดในช่วงหลังดอกบานประมาณ 3 วัน ซึ่งสังเกตได้จากก้านเกสรตัวเมียยังสดและที่ยอดเกสรจะมียางเหนียว ๆ เคลือบอยู่ ในกรณีของดอกโป๊ยเซียนจะพบยางเหนียว ๆ ที่ยอดเกสรตัวเมียได้ชัดเจนในระยะที่ดอกเริ่มบาน (วิชัย, 2537) ช่วงเวลาของความพร้อมผสมในแต่ละพืชจะแตกต่างกันไปและมักอยู่ภายใต้อิทธิพลของสภาพแวดล้อมโดยเฉพาะอุณหภูมิและความชื้น ในกรณีพืชไร่บางชนิด เช่น ข้าวสาลี ข้าวไรย์ และลูกผสมของข้าวสาลีและข้าวไรย์ (Triticale) เกสรตัวเมียจะแสดงความพร้อมในการผสมในสภาพอุณหภูมิ 22° ซ และความชื้น 60 % ประมาณ 3 - 4 วัน หลังดอกบาน หลังจากนั้นการติดผลจะเริ่มลดลง (Shivanna and Johri, 1989)

3. การงอกและการเจริญของละอองเกสร

การงอกและการเจริญของละอองเกสรก็มีความสำคัญต่อความสำเร็จของการผสมเกสร การงอกของละอองเกสรจะเร็วหรือช้าขึ้นกับอายุของละอองเกสรและสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้แก่ แสง อุณหภูมิ และความชื้น ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสำหรับการงอกของละอองเกสรและการเจริญของท่อละอองเกสร (pollen tube) จะกว้างมากในพืชแต่ละชนิด (Polito *et al.*, 1991) Chang and Struckmeyer (1976) รายงานว่า อุณหภูมิและอายุของดอกของหัวหอม (*Allium cepa* L.) มีผลกระทบต่ออายุและความมีชีวิตของละอองเกสรเมื่อเก็บดอกสายพันธุ์ที่เป็น male - fertile ทั้ง 2 พันธุ์ที่มีอายุเท่ากันในเวลาที่แตกต่างกันจะมีเปอร์เซ็นต์การงอกของละอองเกสรไม่แตกต่างกัน และที่อุณหภูมิ 24° ซ เกสรตัวเมียแสดงความพร้อมผสมสูงสุดในวันที่ 4 ที่ 35° ซ ในวันที่ 3 และที่ 43° ซ ในวันแรกหลังจาก เกสรตัวผู้พร้อมผสม และยังพบว่าที่อุณหภูมิทั้ง 3 ระดับ ละอองเกสรจะเริ่มงอกเมื่อตกลงบนเกสรตัวเมียครึ่งชั่วโมงและท่อละอองเกสรเจริญเข้าไปในก้านเกสรตัวเมีย 12 ชั่วโมงหลังจากการผสมเกสร El Ahmadi and Stevens (1979) พบว่ามะเขือเทศทนร้อน (*Lycopersicon esculentum* Mill.) พันธุ์ PI 262936 เมื่อได้รับอุณหภูมิสูงมีผลทำให้ ความมีชีวิตของละอองเกสรลดลงมาก แต่ความมีชีวิตของรังไข่ลดลงน้อยแต่ในพันธุ์ BL 6807 ความมีชีวิตของรังไข่จะลดลงมากกว่าความมีชีวิตของละอองเกสร และในถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris* L.) จะสร้างละอองเกสรในปริมาณน้อยเมื่อเจริญในสภาพอุณหภูมิปกติ แต่จะสร้างในปริมาณมากเมื่อเจริญภายใต้สภาพอุณหภูมิที่สูง และพบว่าอุณหภูมิสูงไม่มีผลกระทบต่อความสามารถในการเจริญของท่อละอองเกสรในก้านเกสรตัวเมีย (Halterlein *et al.*, 1980)

ส่วนการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของ Holley and Baker (1963) อ้างโดย สุพัตร (2535) รายงานว่าการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมจากต้นพ่อและแม่เกี่ยวกับสีของดอก ขนาดดอก และ ความสูงของต้นคาร์เนชั่นว่า ถ้าต้องการลูกผสมที่มีดอกสีขาวให้ใช้ต้นพ่อพันธุ์สีขาวผสมกับต้นแม่สีขาว ถ้าต้องการลูกผสมสีชมพูให้เลือกผสมระหว่างต้นพ่อและต้นแม่ที่มีสีชมพูทุกระดับสี อย่างไรก็ตามการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมเกี่ยวกับสีดอกเป็นสิ่งที่ซับซ้อนมาก นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อนำต้นคาร์เนชั่นมาผสมตัวเอง และศึกษาลักษณะที่สามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมจากต้นพ่อและแม่ พบว่าขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางดอกขึ้นอยู่กับความยาวของกลีบดอกแต่ละกลีบและรูปแบบของกลีบรองดอก และยังพบว่าความยาวของกลีบดอกเป็นการถ่ายทอดลักษณะพันธุกรรมทางปริมาณ (quantitative inheritance) ส่วนการผสม

ข้ามระหว่างต้นที่มีกลีบดอกสั้นและกลีบดอกยาว พบว่าลูกรุ่นแรกจะได้ลักษณะที่มีกลีบดอกยาวปานกลาง และ ถ้าผสมคาร์เนชั่นต้นสูงกับต้นเตี้ยลูกที่ได้จะมีความสูงปานกลาง แสดงว่าเป็นการข่มแบบไม่สมบูรณ์ แต่เมื่อผสมตัวเองในต้นเตี้ยในรุ่นต่อไปจะได้ลูกต้นเตี้ยทั้งหมด Almouslem and Richard (1989) รายงานการศึกษา การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของจุดแดงบนกลีบดอกและบนใบ ใน zonal pelargonium พบว่าดอกสีชมพูของ golden - leaved (aurea) zonal pelargonium (*Pelargonium x hortorum* Bailey 'Verona') มีจุดแดงเล็ก ๆ บนผิวใบด้านบน ซึ่งจุดที่เกิดขึ้นมีสาเหตุมาจากเม็ดสีที่ฐานของเส้นขนบนใบ และในบริเวณรอบ ๆ เซลล์ชั้นผิวมีความเข้มมากกว่าบริเวณเส้นขนที่พบบนกลีบดอกที่ไม่มีจุด การวิเคราะห์ทางพันธุกรรมแสดงให้เห็นว่าในพันธุ์ Verona ลักษณะของเส้นขนที่พบบริเวณที่เป็นจุดสีแดงควบคุมโดยยีนที่เป็น heterozygous (Rst/rst) และเป็นลักษณะที่ข่มลักษณะที่ไม่มีจุด การกระจายตัวของยีนที่ควบคุมจุดแดงเป็นอิสระกับยีน aurea (Aur^+/Aur) ซึ่งควบคุมลักษณะใบสีทอง ส่วน Patrick and Erickson (1991) ได้ศึกษาการถ่ายทอดแถบสีของกลีบดอกและสีดอกใน *Salpiglossia sinuata* พบว่าควบคุมโดยยีนด้อย (st) การสร้างเม็ดสีเหลืองควบคุมโดยยีนด้อย (y) ซึ่งเมื่อเป็น homologous เป็น epistatic ต่อยีนที่ควบคุมการสร้างเม็ดสีอื่น ๆ รวมทั้งในการผลิตแอนโธไซยานิน และการสร้างเม็ดสีน้ำเงินเป็นลักษณะด้อยต่อสีแดง น้ำตาลแดง และสีม่วง ต่อมา Secerov - Fiser and Skoric (1993) รายงานเกี่ยวกับการถ่ายทอดลักษณะสีดอกและรูปร่างของดอกทานตะวัน พบว่าประกอบด้วยยีน 2 ยีนที่เป็นอิสระต่อกัน Getinet *et al.* (1994) ได้ศึกษาการถ่ายทอดลักษณะการกลายพันธุ์ของกลีบดอกสีครีมใน Ethiopian mustard (*Brassica carinata*) พบว่าการถ่ายทอดลักษณะการกลายพันธุ์ของกลีบดอกสีครีมควบคุมโดย recessive alleles ซึ่งได้จากการศึกษาในลูกผสมชั่วที่ 1 (F1) ลูกผสมชั่วที่ 2 (F2) และลูกผสมกลับ (backcross) ระหว่างพันธุ์ที่มีกลีบดอกสีครีมและกลีบดอกสีเหลือง ส่วนไชยาและลาวัลย์ (2534) รายงานว่าการผสมตัวเองของโป๊ยเซียนจะทำให้ดอกมีขนาดเล็กลง แต่จากผลการศึกษา พบว่า การผสมตัวเองจะได้ดอกที่มีขนาดแปรปรวน คือ ได้ทั้งดอกที่มีขนาดเล็กและขนาดที่ใหญ่กว่าต้นพ่อแม่