บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ออนิโธกาลัมเป็นชื่อที่มาจากภาษากรีกแปลว่า น้ำนมของนก (The International Flower Bulb Centre, 1986b) โดย ornis แปลว่า นก (bird) และ gala แปลว่า น้ำนม (milk) ซึ่งสีขาวของน้ำนมเหมือนสีดอกของออนิโธกาลัม (Straley and Utech, 2006) ออนิโธกาลัมเป็นไม้ดอกกลุ่มใหญ่ที่มีมากกว่า 200 ชนิด และกระจายตัวอยู่ในยุโรป เอเชีย และแอฟริกา (Eliovson, 1968) โดยในช่วง 20 ปีนี้ทางสถาบัน Agricultural Research Council (ARC) ของแอฟริกาใต้ซึ่งมีออนิโธกาลัมเป็นไม้ดอกประจำถิ่น ได้ทำการพัฒนาและสร้างสายพันธุ์ใหม่โดยการคัดเลือก ผสมพันธุ์ และขยายพันธุ์ จนได้ออนิโธกาลัมชนิดใหม่ที่ใช้เป็นไม้ดอกเศรษฐกิจของแอฟริกาใต้ถึง 60 ชนิด (Janick and Whipkey, 2002)

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์และสัณฐานวิทยา

ออนิโธกาลัมจัดอยู่ในสกุล (genus) *Ornithogalum* วงศ์ (family) Liliaceae (Dole and Harold, 1999) ส่วน Wales and Sanger (2001) และ Pacific Bulb Society (2002) จัดให้ออนิโธกาลัมอยู่ในวงศ์ Hyacinthaceae และอันดับ (Order) Asparagales (Loebenstein *et al.*, 1995 ; Wales and Sanger, 2001) พืชในสกุลนี้มีหัวแบบ tunicate bulb (Dole and Harold, 1999) มีสีภายนอกของหัวเป็นสีขาวจนถึงน้ำตาลอ่อน ใบลักษณะคล้ายใบหญ้าหรือใบพัด (blade linear) จนถึงรูปหอก (lanceolate) ขอบของใบเรียบหรืออาจมีขน (Straley and Utech, 2006) ช่อดอกมีหลายรูปแบบได้แก่ ช่อกระจะ (raceme) ช่อเชิงหลั่น (corymb) และช่อเชิงลด (spike) (Eliovson, 1968) ลักษณะดอกของออนิโธกาลัมเป็นรูปดาว (star-shaped) (Wentzell, 1978) หรือรูปถ้วย (cup-shaped) (Frederic, 1973) มีดอกตั้งแต่ 2 ดอกจนถึงมากกว่า กลีบเลี้ยงสีขาว กลีบดอกมี 6 กลีบ เกสรเพศผู้ 6 อันซึ่งสามารถแบ่งลักษณะของก้านชูอับเรณูได้ 2 แบบคือ ก้านชูอับเรณูแบบธรรมดา (simple) หรือ ก้านชูอับเรณู 3 คู่ ซึ่งพันกันอยู่ (3-dentate) และก้านชูอับเรณูแบบแบน (flattened) อับเรณูเป็นแบบติดด้านหลัง (dorsifixed) หรือแบบหันเข้า (introrse) รังไข่อยู่เหนือวงกลีบดอก (superior) ลักษณะเป็นแบบทรงกระบอก หรือทรงกลม มีช่องรังไข่ 3 ช่อง (locular) สีของรังไข่แตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของออนิโธกาลัมโดยส่วนมากเป็นสีเขียว ยอดเกสรเพศเมียมี 3 พู (lobed) (Straley and Utech, 2006) ดอกของออนิโธกาลัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บางชนิดมีกลิ่นหอม (Wentzell,1978) สีของดอกมีสีขาว เหลือง ส้ม จนถึงส้มแดง (Dole and Harold, 1999) ผลแห้งแตก (capsular, angled, papery, dehiscence loculicidal) เมล็ดมีจำนวนมากลักษณะกลม (globose) จนถึงรูปไข่ (ovoid) มีชุดโครโมโซมพื้นฐาน (x) เท่ากับ 3 5 6 7 8 9 และ 11 (Straley and Utech, 2006)

การปลูกเลี้ยงออนิโธกาลัมควรปลูกในดินที่ระบายน้ำดี แต่ออนิโธกาลัมก็สามารถทนทานกับการปลูกในดินเหนียวได้ (Eliovson, 1968) ความเป็นกรดด่างของดินควรอยู่ระหว่าง 5.5-6.0 ในการปลูกเลี้ยงไม่ควรให้ปุ๋ยและน้ำมากเกินไป (Dole and Harold, 1999) ในช่วงที่อากาศหนาวเย็นควรใช้หญ้าคลุมดินเพื่อให้ความอบอุ่นกับหัวที่ปลูก (Ohms, 1991) ออนิโธกาลัมสามารถปลูกได้ทั้งกลางแจ้งและในร่ม ซึ่งมีรายงานว่าออนิโธกาลัมเป็นพืชที่สามารถปรับตัวได้ง่ายกับทุกสภาพแวดล้อม (The International Flower Bulb Centre, 1986b) ควรปลูกช่วงเดือนกันยายนถึงตุลาคม และให้ดอกอยู่ระหว่างเดือนเมษายนจนถึงพฤษภาคม (Wentzell, 1978) โดยมีการศึกษาถึงอิทธิพลของอุณหภูมิและความถี่ของการให้น้ำ ที่มีผลต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าใน *Ornithogalum longibracteatum* พบว่าการงอกของเมล็ดต่ำมากเมื่อเพาะเมล็ดที่อุณหภูมิต่ำ (10 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิสูงเกินไป (40 องศาเซลเซียส) โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดคือ 22.9 องศาเซลเซียส อัตราความอยู่รอดของต้นกล้าดีมากเมื่อเพาะเลี้ยงต้นกล้าไว้ที่อุณหภูมิระหว่าง 10 จนถึง 25 องศาเซลเซียส จำนวนรากสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของต้นกล้าดีมากเมื่อให้น้ำ 3 ครั้งต่อสัปดาห์เมื่อเทียบกับการให้น้ำ 1 หรือ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ ดังนั้นควรให้น้ำ 3 ครั้งต่อสัปดาห์ร่วมกับการเพาะเลี้ยงต้นกล้าไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อให้ได้ต้นกล้าที่ดีมีคุณภาพก่อนนำลงไปปลูกในแปลง (Kulkarni *et al.*, 2005) ในขณะที่ Suh *et al.* (2000) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ สารเร่งการเจริญเติบโต และการเก็บรักษาหัวพันธุ์ที่มีผลต่อการออกดอกของออนิโธกาลัม ซึ่งพบว่าอุณหภูมิในการเก็บรักษาหัวพันธุ์ของ *O. arabicum* และ *O. dubium* มีผลต่อการกระตุ้นให้ออกดอกได้เร็วขึ้น โดยการเก็บรักษาหัวพันธุ์ของ *O. dubium* ไว้ที่ 13-19 องศาเซลเซียส และ *O. arabicum* ที่ 10-13 องศาเซลเซียส ซึ่งเก็บรักษาไว้ในช่วง 4-6 สัปดาห์ ส่วนอิทธิพลที่มีต่อจำนวนดอก พบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาหัวพันธุ์ของ *O. arabicum* นั้นไม่มีผลต่อจำนวนดอก แต่มีผลกับ *O. dubium* โดยเมื่อยืดระยะเวลาในการเก็บรักษาหัวพันธุ์ไปอีก 2-6 สัปดาห์ ทำให้จำนวนดอกลดลงเมื่อนำไปปลูกเทียบกับกรรมวิธีควบคุม นอกจากนี้ยังมีการทดลองแช่ หรือ พ่นหัวพันธุ์โดยใช้ GA_3 ร่วมกับสารละลาย Promaln ก่อนนำไปปลูกทั้ง *O. arabicum* และ *O. dubium* พบว่าสามารถกระตุ้นให้การออกดอกของ *O. dubium* ได้เร็วขึ้นแต่จำนวนดอกที่ออกลดลงเมื่อปลูกเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ส่วน *O. arabicum* การใช้ GA_3 ร่วมกับสารละลาย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Promaln ไม่มีผลต่อการกระตุ้นให้ออกดอกเร็วขึ้นและจำนวนดอกในการปลูกเลี้ยง ออนิโธกาลัม ปัญหาที่พบคือ ไวรัส นอกจากนี้ยังพบโรคที่เกิดจากเชื้อ *Penicillium* และ *Sclerotinia* ซึ่งทำให้ใบผิดปกติและยอดใบไหม้ ออนิโธกาลัมสามารถนำไปใช้เป็นไม้ตัดดอก ไม้กระถาง ไม้ประดับแปลง ไม้พุ่มประดับ นอกจากนี้ยังนิยมใช้ออนิโธกาลัมในการประดับสวนหินด้วย (Frederic, 1973) และในการใช้ประโยชน์จากไม้ตัดดอกเพื่อประดับแจกัน จิตรา (2539) แนะนำว่าควรตัดความยาวของก้านช่อดอกให้พอดีประมาณ 30 เซนติเมตร แต่ถ้าตัดยาวเกินไปประมาณ 60-90 เซนติเมตร เวลานำไปประดับแจกันมักทำให้ก้านช่อดอกเปื่อยและเหลืองในช่วงเวลาไม่ถึงวัน และการบานของดอกมักเสียทรงหรือบางครั้งดอกอาจไม่บานต่อและเหี่ยวในที่สุดนอกจากนี้ออนิโธกาลัม ยังเป็นที่นิยมของนักออกแบบและนักจัดดอกไม้ในช่วงฤดูใบไม้ผลิของปี 1999 โดยจัดทรงสูงในแจกันสีดำ ขาว โครเมียม หรือแก้ว ถ้าจัดทรงเตี้ยมักจัดในชามตื้นๆ แล้วประดับด้วยลูกแก้วเพื่อความสวยงาม (Coney, 1984) จากที่กล่าวมาแล้ว มีออนิโธกาลัมหลายชนิดซึ่งเป็นไม้ดอกไม้ประดับซึ่งเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไม้ดอกไม้ประดับระดับโลก แต่ออนิโธกาลัมที่นำมาศึกษามีอยู่ 4 ชนิดคือ *O. arabicum*, *O. dubium*, *O. thyrsoides* และ *O. umbellatum*

2.1.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *O. arabicum*

O. arabicum มีชื่อสามัญว่า Star of Bethehem (The International Flower Bulb Centre, 1986b) Arabian Star of Bethlehem (Clark, 1986) Arabian Star flower (Straley and Utech, 2006) หรือ Arab's eye (Eliovson, 1968 ; Wentzell, 1978) (ภาพ 2.1) ซึ่งมีถิ่นกำเนิดอยู่ที่เมดิเตอร์เรเนียน (Dole and Harold, 1999) บริเวณแถบตะวันออกของยุโรป (Schauenberg, 1965) กรุงมอสโกของประเทศรัสเซีย นอกจากนั้นยังพบได้อีกในสหรัฐอเมริกาที่รัฐเทนเนสซี เท็กซัส (Whitinger, 2000) ออเรกอน และวอชิงตัน (Wentzell, 1978) ใบมีลักษณะตั้งตรง (linear) มีสีเขียวซีด (Graf, 1992) จนถึงสีเขียวอมฟ้า ลักษณะคล้ายหนัง (Clark, 1986) และใบยาวหนา (Eliovson, 1968) โดยใบยาว 30-80 เซนติเมตร (Dole and Harold, 1999) กว้าง 2.5 เซนติเมตร (Faucon and Faucon, 1998) ใบมักเอนล้มได้ง่าย (Wentzell, 1978) ช่อดอกเป็นแบบช่อกระจะ (racemes) (Seymour, 1970) ส่วน Eliovson (1968) รายงานว่าช่อดอกของออนิโธกาลัมชนิดนี้เป็นแบบช่อเชิงลด (spike) ดอกสีขาวและลักษณะคล้ายมีขี้ผึ้งเคลือบผิวของกลีบดอก (Wentzell, 1978) หรือดอกสีคล้ายไข่มุก เส้นผ่าศูนย์กลางดอก 5 เซนติเมตร (Schauenberg, 1965) มีจำนวนดอกตั้งแต่ 6-12 ดอกต่อช่อ (Dole and Harold, 1999) มีรังไข่สีดำเป็นมัน (Schauenberg, 1965) หรือสีดำ ดอกของออนิโธกาลัมชนิดนี้มีกลิ่นหอม ก้านช่อดอกยาว 30-60 เซนติเมตร (Graf, 1992) ออกดอกช่วงปลายฤดูใบไม้ผลิหรือ ต้นฤดูร้อน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(Eliovson, 1968) ควรปลูกตั้งแต่ฤดูใบไม้ร่วงจนถึงฤดูหนาว (Wentzell, 1978) และเริ่มพักตัวช่วงกลางฤดูร้อน (Eliovson, 1968) ได้มีผู้ทำการศึกษาการเก็บรักษาหัวพันธุ์หลังการเก็บเกี่ยวไว้เป็นเวลา 16 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส เมื่อนำหัวพันธุ์ไปปลูกพบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดดอกเพิ่มขึ้นทั้งที่เก็บรักษาหัวพันธุ์ไว้ที่ 20 และ 30 องศาเซลเซียส แต่ความยาวก้านช่อดอกลดลงเมื่อเก็บไว้ที่ 20 องศาเซลเซียส ส่วนหัวพันธุ์ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้ความยาวก้านช่อดอกมากขึ้น (Shimada *et al.*, 1995) นอกจากนี้ขนาดของหัวพันธุ์ที่แตกต่างกันมีผลต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของดอก โดยหัวพันธุ์ขนาดใหญ่ (เส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 5 เซนติเมตร) ให้การเจริญเติบโตและคุณภาพของดอกดีกว่าหัวพันธุ์ที่มีขนาดเล็ก (เส้นผ่าศูนย์กลาง 1-5 เซนติเมตร) แต่หัวพันธุ์ขนาดใหญ่ใช้เวลาในการให้ดอกนานกว่าหัวพันธุ์ขนาดเล็ก (จารุฉัตร, 2547) ออนิโธกาลัมชนิดนี้นิยมใช้เป็นไม้ตัดดอก (Wentzell, 1978) เพราะมีอายุการปักแจกันได้นาน (The International Flower Bulb Centre, 1986b ; Schauenberg, 1965) โดยออนิโธกาลัมเป็นที่นิยมของนักออกแบบและนักจัดดอกไม้ในฤดูใบไม้ผลิปี 1999 มีการจัดแบบทรงสูง ทรงเตี้ย และแบบถือ (bouquet) (Coney, 1984) นอกจากนี้ยังใช้เป็นไม้ประดับแปลง หรือขอบแปลงในการจัดสวน (The International Flower Bulb Centre, 1986b) นอกจากประโยชน์ในการใช้ประดับตกแต่งแล้วออนิโธกาลัมชนิดนี้ยังมีโทษคือ ทุกส่วนของต้นออนิโธกาลัมมีสารพิษสะสมอยู่ และเมื่อรับประทานหรือมีการดูดซึมเข้าสู่ร่างกายทำให้เกิดอันตรายได้ (Whitinger, 2000)

ภาพ 2.1 ลักษณะต้นและดอกของ *O. arabicum*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.1.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *O. dubium*

O. dubium มีชื่อสามัญว่า Snake Plant หรือ Yellow Chincherinchee (Whitinger, 2000) Doubtful Lily หรือ Geeltjienkerentjee (De Hertogh and Gallitano, 1997) (ภาพ 2.2) มีถิ่นกำเนิดอยู่ที่บริเวณแหลมของคาบสมุทรแอฟริกาใต้ (Pacific Bulb Society, 2002) นอกจากนั้นยังพบได้อีกในสหรัฐอเมริกาที่รัฐแคลิฟอร์เนีย อิลลินอยส์ เท็กซัส และ เวอร์จิเนีย ใบของออนิโธกาลัมชนิดนี้มีลักษณะอวบน้ำ ยาว 15-30 เซนติเมตร (Whitinger, 2000) ช่อดอกเป็นแบบช่อเชิงหลั่น (corymb) (De Hertogh and Gallitano, 1997) ลักษณะดอกเป็นรูปถ้วย (cup shaped) (Coney, 1984) ดอกสีเหลืองจนถึงสีส้ม (Dole and Harold, 1999) และสีทอง (เหลือง-ส้ม) (Whitinger, 2000) รังไข่สีเขียวเข้มจนถึงสีน้ำตาล (Luria *et al.*, 2002) มีจำนวนดอกตั้งแต่ 25 ดอกต่อช่อและมากกว่าขึ้นไป (Dole and Harold, 1999) ก้านช่อดอกยาว 10-20 เซนติเมตร (Luria *et al.*, 2002) ให้ดอกช่วงปลายฤดูใบไม้ผลิ ส่วน Whitinger (2000) รายงานว่าออนิโธกาลัมชนิดนี้ให้ดอกช่วงปลายฤดูหนาว หรือ ต้นฤดูใบไม้ผลิ ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับขนาดเส้นรอบวงของหัวพันธุ์ *O. dubium* โดยปลูกทดสอบการเจริญเติบโตและการให้ดอกในช่วง 3 ปี พบว่าหัวพันธุ์ที่มีขนาดเส้นรอบวงตั้งแต่ 5 เซนติเมตรขึ้นไป ให้จำนวนช่อดอก 2 ช่อต่อต้น และจำนวนดอกต่อช่อมากกว่า 20 ดอกขึ้นไป และมีการทดสอบเก็บหัวพันธุ์ไว้ที่อุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียส แล้วย้ายหัวพันธุ์ไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 9 และ 17 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปปลูก 4 สัปดาห์ พบว่าหัวพันธุ์ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส ให้ความยาวช่อดอกเป็น 31.3 เซนติเมตร ซึ่งมากกว่าหัวพันธุ์ไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียส จำนวนช่อดอกและวันออกดอกลดลงในหัวพันธุ์ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 9 องศาเซลเซียส (De Hertogh and Gallitano, 1997) และ Luria *et al.* (2002) ได้ทำการศึกษาถึงอิทธิพลของอุณหภูมิที่เก็บรักษาหัวพันธุ์ก่อนนำไปปลูกเช่นกัน โดยทำการเก็บรักษาหัวพันธุ์ไว้ที่อุณหภูมิ 2 9 13 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าหัวพันธุ์ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส มีความยาวก้านช่อดอกมากกว่าทุกกรรมวิธี นอกจากนั้นออนิโธกาลัมชนิดนี้สามารถใช้เป็นได้ทั้งไม้ตัดดอกและไม้กระถาง โดยไม้ตัดดอกเป็นที่นิยมมากใน ยุโรป อเมริกา และอิสราเอล (Ziv and Lilien-kipnis, 1997) ไม้กระถางมีความนิยมมากในยุโรป และอเมริกาเหนือ (Luria *et al.*, 2002) นอกจากประโยชน์ในการใช้ประดับตกแต่งแล้วออนิโธกาลัมชนิดนี้ยังมีโทษคือ ทุกส่วนของต้นออนิโธกาลัมมีสารพิษสะสมอยู่ และเมื่อรับประทานหรือมีการดูดซึมเข้าสู่ร่างกายทำให้เกิดอันตรายได้ (Whitinger, 2000)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 2.2 ลักษณะต้นและดอกของ *O. dubium*

2.1.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *O. thyrsoides*

O. thyrsoides มีชื่อสามัญว่า Wonder flower หรือ Cape Chinicherinchee (Whitinger, 2000) South African Chinkerinchees หรือ Chincherinchees (Eliovson, 1968) The International Flower Bulb Centre (1986a) กล่าวไว้ว่าชื่อของออนิโธกาลัมชนิดนี้ มาจากการเลียนเสียงการแตกของฝักออนิโธกาลัมที่แห้งแล้ว ส่วน Eliovson (1968) กล่าวว่าเป็นเสียงการเสียดสีกันของลำต้น และสามารถเรียกสั้นๆ ว่า Chinks (ภาพ 2.3) ซึ่งมีถิ่นกำเนิดอยู่ที่แอฟริกา บริเวณแหลมของคาบสมุทรแอฟริกา (Graf, 1992) แอฟริกาใต้ (Dole and Harold, 1999) นอกจากนั้นยังสามารถพบได้อีกในสหรัฐอเมริกาที่รัฐแคลิฟอร์เนีย ใบมีลักษณะคล้ายกำมะหยี่สีน้ำเงินเขียว (Whitinger, 2000) รูปหอก (laneolate) (Graf, 1992) Hessayon (1995) รายงานว่าใบมีลักษณะคล้ายหนัง ยาว 30 เซนติเมตร (Seymour, 1970) ใบแคบ (Coney, 1984) ช่อดอกเป็นแบบพีระมิด (pyramid shaped) (The International Flower Bulb Centre, 1986a ; University of Connecticut, 1995) ช่อกระจะ (racemes) (Frederic, 1973) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ามีช่อดอกเป็นแบบช่อเชิงลด (Schauenberg, 1965 ; Eliovson, 1968 ; Hessayon, 1995)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลักษณะดอกเป็นรูปดาว (star shaped) (Wentzell, 1978) ส่วน Schauenberg (1965) และ Frederic (1973) กล่าวว่าดอกมีลักษณะรูปถ้วย (cup shaped) ดอกสีขาว ถ้าเป็นสายพันธุ์ aureum ดอกมีสีเหลืองทอง (Seymour, 1970) Schauenberg (1965) และ Eliovson (1968) ได้รายงานถึงสีของดอกออนิโธกาลัมชนิดนี้อีกหลายสี เช่น สีชมพู น้ำเงิน เขียวน้ำทะเล ซึ่งเกิดจากการแช่ก้านช่อดอกในสารละลายย้อมสี รังไข่สีเขียวน้ำตาล (Wentzell, 1978) หรือสีน้ำตาล (Schauenberg, 1965) ดอกมีกลิ่นหอม (Whitinger, 2000) มีจำนวนดอกตั้งแต่ 12-30 ดอกต่อช่อ (Dole and Harold, 1999) ก้านช่อดอกยาว 30-60 เซนติเมตร (Eliovson,1968) ให้ดอกช่วงต้นฤดูใบไม้ผลิ (Dole and Harold, 1999) ส่วน Eliovson (1968) รายงานว่าออนิโธกาลัมชนิดนี้ให้ดอกช่วงปลายฤดูใบไม้ผลิ หรือ ต้นฤดูร้อน ออนิโธกาลัมชนิดนี้ไม่สามารถทนทานต่อความหนาวเย็นจึงไม่เหมาะสมที่ปลูกลงดินภายนอกโรงเรือนในช่วงฤดูหนาว (University of Connecticut, 1995) แต่ถ้ามีการปลูกลงดินควรนำหญ้ามาคลุมดินบริเวณที่ปลูกเพื่อป้องกันความหนาวเย็นแก่หัวที่ปลูก (Clark, 1986) ออนิโธกาลัมชนิดนี้จึงเหมาะสมต่อการปลูกในโรงเรือน (Whitinger, 2000) ดอกมีอายุการปักแจกันได้นานจึงเหมาะสมในการใช้เป็นไม้ตัดดอก (Faucon and Faucon, 1998) The International Flower Bulb Centre (1986a) ได้จัดออนิโธกาลัมชนิดนี้อยู่ในกลุ่มที่มีจุดเด่นในการมีอายุการปักแจกันได้นาน และถ้าได้เปลี่ยนน้ำในแจกันอย่างสม่ำเสมอสามารถมีอายุการปักแจกันได้นานกว่า 6 สัปดาห์ (Schauenberg, 1965) ในการปลูกเลี้ยงถ้ามีการติดเชื้อไวรัสมักทำให้คุณภาพของดอกลดลงทำให้มูลค่าในการส่งออกลดลงด้วย จึงได้มีการศึกษาเพื่อให้ได้ต้นที่ปราศจากไวรัส โดยเพาะเลี้ยงปลายยอดในสภาพปลอดเชื้อในอาหาร MS (1962) ซึ่งไม่ใส่ฮอร์โมน พบว่าได้ต้นอ่อน 30 เปอร์เซ็นต์ ที่ปราศจากไวรัส เมื่อนำไปปลูกในแปลงที่เคยติดเชื้อไวรัสได้ 4 เดือน ต้นออนิโธกาลัม 35 เปอร์เซ็นต์ กลับมาติดเชื้อไวรัสอีก และเพิ่มเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 8 เดือน (Wangai and Bock, 1996) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการออกดอก โดยเก็บรักษาหัวพันธุ์ไว้ที่อุณหภูมิสูงขึ้นมีผลทำให้การออกดอกชะงักหรือออกดอกช้าลง เมื่อเก็บรักษาหัวพันธุ์ไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 สัปดาห์ พบว่าสามารถกระตุ้นให้ออกดอกเร็วขึ้น (van Vuuren and Holtzhausen, 1993) นอกจากประโยชน์ในการใช้เป็นไม้ตัดดอกแล้ว ออนิโธกาลัมชนิดนี้มีโทษคือ บางส่วนของต้นมีสารพิษสะสมอยู่ และเมื่อรับประทานหรือดูดซึมเข้าสู่ร่างกายทำให้เกิดอันตราย และถ้าผู้ที่แพ้ง่ายเมื่อสัมผัสโดนผิวหนังอาจทำให้เกิดอาการแพ้ได้ (Whitinger, 2000)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 2.3 ลักษณะต้นและดอกของ *O. thyrsoides*

2.1.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *O. umbellatum*

O. umbellatum มีชื่อสามัญว่า Star of Bethlehem (Faucon and Faucon, 1998 ; Whitinger, 2000 ; Wales and Sanger, 2001) Nap at Noon หรือ Snowdrop หรือ Eleven o' clock Lady (Whitinger, 2000) หรือ Summer Snowflake (Graf, 1992) (ภาพ 2.4) ซึ่งมีถิ่นกำเนิดอยู่ที่ เอเชียไมเนอร์ (บริเวณคาบสมุทรเอเชียตะวันตกระหว่างทะเลดำกับทะเลเมดิเตอร์เรเนียน) (Schauenberg, 1965 ; Frederic, 1973 ; De Hertogh *et al*, 1997 ; Faucon and Faucon, 1998) โดยพบบริเวณเทือกเขาหิมาลัยของประเทศอินเดีย ที่ความสูงจากระดับน้ำทะเล 2000 เมตร (Nayak and Sen, 1995) ยุโรป (Frederic, 1973 ; De Hertogh *et al*, 1997 ; Faucon and Faucon, 1998) บริเวณตอนกลางและตอนใต้ของประเทศฝรั่งเศส และสามารถปรับตัวได้ในแถบประเทศอังกฤษตอนใต้ (Schauenberg, 1965) เมดิเตอร์เรเนียน (Graf, 1992 ; Pacific Bulb Society, 2002) และอเมริกาเหนือ (Schauenberg, 1965 ; Frederic, 1973 ; De Hertogh *et al*, 1997 ; Faucon and Faucon, 1998) นอกจากนั้นยังพบได้อีกในรัฐอาลาบามา อิลลินอยส์ อินเดียนา เคนตั๊กกี้ แมรีแลนด์ มิชิแกน นิวยอร์ก แคโรไลนา นอร์ธดาโคตา โอไฮโอ โอกลาโฮมา เพนซิลเวเนีย เกาะโรดไอร์แลนด์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เท็กซัส เวอร์จิเนีย วอชิงตัน และวิสคอนซิน (Whitinger, 2000) ใบมีลักษณะคล้ายหญ้า (Clark, 1986 ; Graf, 1992) หรือกระเทียมป่า สีเขียวอ่อนจนถึงเขียวเข้ม และเส้นกลางใบมีสีขาว ยาว 10-30 เซนติเมตร กว้าง 2-6 มิลลิเมตร เมื่อนำใบไปตัดตามขวางพบว่าใบมีโพรงตรงกลาง (Graban, 2006) ช่อดอกเป็นแบบช่อเชิงหลั่น (corymb) (Straley and Utech, 2006) ดอกด้านในเป็นสีขาวและด้านนอกเป็นริ้วสีเขียวแคบๆ ตามกลีบดอก (Seymour, 1970 ; Wentzell, 1978 ; Clark, 1986) ลักษณะดอกเป็นรูปดาว (Schauenberg, 1965 ; Graf, 1992) ก้านช่อดอกย่อยยาว 2-6 เซนติเมตร (Straley and Utech, 2006) เส้นผ่าศูนย์กลางดอก 3 เซนติเมตร (Faucon and Faucon, 1998) ดอกบานเมื่อได้รับแสงอาทิตย์อย่างพอเพียง (Schauenberg, 1965 ; Frederic, 1973 ; Faucon and Faucon, 1998) แต่เมื่อแสงอาทิตย์ไม่เพียงพอหรือสภาพอากาศมืดมัวดอกมักหุบ (The International Flower Centre, 1986a) และมีการรายงานอีกว่าดอกหุบเมื่อถึงเวลาเที่ยงวัน (Wister, 1964) และตอนกลางคืน (Hessayon, 1995) ให้ดอกช่วงปลายฤดูใบไม้ผลิ หรือ ต้นฤดูร้อน (Whitinger, 2000) ออนิโธกาลัมชนิดนี้มีความสามารถทนทานต่อความแห้งแล้งได้ แต่ในช่วงแรกของการเจริญเติบโตต้องได้รับน้ำอย่างพอเพียง (De Hertogh *et al.*, 1997) จึงนิยมใช้ในการจัดสวนหิน หรือสวนป่า (Reynolds and Meachem, 1967) ไม้ประดับแปลง และประดับขอบแปลง (De Hertogh *et al.*, 1997) นอกจากนี้ยังใช้เป็นไม้กระถาง ซึ่งเป็นไม้ส่งออกที่มีมูลค่าสูงของประเทศอินเดีย จึงมีการศึกษาหาวิธีในการขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ใช้ชิ้นส่วนของข้อปล้องในอาหารสูตร MS (1962) พบว่าเมื่อเลี้ยงในอาหาร MS ร่วมกับ NAA 8 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการพัฒนาชิ้นส่วนเป็นแคลลัส อาหาร MS ร่วมกับ NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการพัฒนาของแคลลัสไปเป็นยอดหลังจากเลี้ยงได้ 2 เดือน และยอดได้มีการพัฒนาไปเป็นต้นได้เมื่อใช้อาหาร MS ร่วมกับ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังพบว่ายอดมีการพัฒนาไปเป็นต้นได้เมื่อใช้อาหารหลัก MS ครึ่งสูตร (Nayak and Sen, 1995) และยังนิยมใช้ปลูกแทนหญ้าประดับสวนเพราะใบของออนิโธกาลัมชนิดนี้มีลักษณะคล้ายหญ้า (The International Flower Centre, 1986a) นอกจากประโยชน์ในการใช้ประดับตกแต่งสวนแล้ว ออนิโธกาลัมชนิดนี้มีโทษคือ บางส่วนของต้นมีสารพิษสะสมอยู่ และเมื่อรับประทานหรือดูดซึมเข้าสู่ร่างกายทำให้เกิดอันตราย (Whitinger, 2000) โดยมีรายงานว่าสารที่พบในออนิโธกาลัมชนิดนี้คือ cardiac glycosides ซึ่งถ้ามีเปอร์เซ็นต์มากเกินไปทำให้เป็นพิษได้ เป็นอันตรายต่อสัตว์ที่กินหญ้า เช่น แพะ แกะ ม้า เป็นต้น เมื่อรับประทานเข้าไปพบอาการปวดท้อง หัวใจเต้นเร็วผิดปกติ และตายได้ (Purdue University, 1963) และยังพบอีกว่าเป็นแหล่งของสารโคลชิซิน (Nayak and Sen, 1995)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 2.4 ลักษณะต้นและดอกของ *O. umbellatum*

2.2 การปรับปรุงพันธุ์พืช

การปรับปรุงพันธุ์พืช (Plant Breeding) หมายถึง การเปลี่ยนแปลงและการปรับปรุงส่วนประกอบทางพันธุกรรมของพืชให้ได้พืชพันธุ์ใหม่ ที่มีลักษณะที่ดีตรงตามความต้องการ (ชยพร, 2544) โดยการปรับปรุงพันธุ์มีหลายวิธีคือ การรวบรวมพันธุ์ การคัดเลือกพันธุ์ การผสมพันธุ์ การทำให้เกิดการกลายพันธุ์ และการใช้เทคโนโลยีชีวภาพ (นพพร, 2543) โดยการศึกษาครั้งนี้ใช้ 2 วิธีคือ การผสมพันธุ์ และการทำให้เกิดการกลายพันธุ์

2.2.1 การผสมพันธุ์

การผสมพันธุ์เป็นการนำพืชตั้งแต่ 2 ชนิดมาผสมกัน เพื่อให้ได้สายพันธุ์ใหม่เรียกว่าลูกผสม โดยลูกผสมอาจมีลักษณะเหมือนหรือแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุกรรมของพ่อแม่ (จิรา, 2541) โดยการนำละอองเรณู (pollen) มาสู่ยอดเกสรเพศเมีย (stigma) ละอองเรณูที่สามารถเจริญงอกหลอดเรณู (pollen tube) ผ่านลงไปในก้านเกสรเพศเมียจนถึงถุงเอ็มบริโอ (embryo sac) เกิดการรวมตัวกันของสเปิร์มนิวเคลียส (sperm nucleus) และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (egg nucleus) ในถุงเอ็มบริโอได้เซลล์ใหม่เป็นไซโกต (zygote) เจริญไปเป็นต้นอ่อนหรือเอ็มบริโอ (embryo)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

และเจริญเติบโตจากต้นอ่อนเป็นต้นพืชที่มีสายพันธุ์ใหม่ การประสบความสำเร็จจากการผสมพันธุ์ต้องทำตามวิธีที่ถูกต้อง ในระยะเวลาที่เหมาะสม โดยการผสมพันธุ์มีทั้งแบบผสมตัวเอง (self-pollinated) โดยละอองเรณูมักแก่พร้อมผสมและอับละอองเรณูแตกในขณะที่กลีบดอกยังไม่บาน แบบผสมข้าม (cross-pollinated) พบน้อยมากในธรรมชาติโดยละอองเรณูที่ปลิวออกมาอาจถูกแมลง หรือลมพัดพาไปผสมกับดอกอื่น แต่ก็มีพืชบางชนิดที่เป็นทั้งพืชผสมตัวเองและพืชผสมข้าม (both self and cross-pollinated) (นพพร, 2543) การปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมข้าม อุปสรรคอย่างหนึ่งที่อาจพบได้เสมอคือ การบานไม่พร้อมกันของดอกจากต้นที่ต้องการใช้เป็นพ่อพันธุ์หรือแม่พันธุ์ ฉะนั้นเทคนิคที่มีส่วนช่วยทำให้การปรับปรุงพันธุ์ทำได้สำเร็จคือ การเก็บรักษาละอองเรณู โดยทั่วไปแล้วละอองเรณูที่เก็บมาจากต้น มักสูญเสียความมีชีวิตได้ง่าย ดังนั้นเมื่อมีการเก็บรักษาละอองเรณู และก่อนนำไปผสมเกสรควรมีการทดสอบความมีชีวิตของละอองเรณู เพื่อนำไปสู่ความสำเร็จในการผสมข้ามอย่างสมบูรณ์

2.2.1.1 ละอองเรณู และการเก็บรักษา

ละอองเรณู (pollen) ถูกเรียกโดย Carolus Linnaeus ซึ่งใช้อธิบายกลุ่มฝุ่นหรือละอองสีเหลืองของพืชที่อยู่ในดอกไม้ทุกชนิดที่บรรจุอยู่ในอับละอองเรณู (anther) เมื่อแก่อับละอองเรณูแตกออกละอองเรณูดอกไม้มักแพร่กระจายไปตามลม น้ำ ค้างคาว นก มนุษย์ และติดตามขาแมลงไปบ้าง โดยละอองเรณูของพืชมีความสำคัญต่อการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ การงอกหลอดเรณูเป็นขั้นตอนที่นำไปสู่การผสมพันธุ์ที่สมบูรณ์ได้ การเก็บรักษาละอองเรณู มีความแตกต่างกันไปตามชนิดของดอกไม้ โดยความมีชีวิตของละอองเรณูขึ้นอยู่กับวิธีการเก็บรักษาด้วยเช่นกัน ซึ่งพบว่าที่อุณหภูมิห้องละอองเรณูของดอกหลายชนิดอยู่ได้ 1-2 ชั่วโมง และอย่างมาก 1-2 วันเท่านั้น การเก็บรักษาละอองเรณูไว้ได้นานควรเก็บไว้ในภาชนะปิดที่ไม่มีอากาศ และมีความชื้นสัมพัทธ์ 5-10 เปอร์เซ็นต์ หรือมีการควบคุมอุณหภูมิตามความเหมาะสมของละอองเรณูแต่ละชนิด ทำให้สามารถเก็บรักษาไว้ได้หลายสิบปี ทั้งยังให้เปอร์เซ็นต์การงอกหลอดเรณูที่ดีด้วย ฉะนั้นนักปรับปรุงพันธุ์พืชจึงมีการทดลองหาวิธีการเก็บรักษาละอองเรณู ทดสอบการงอกหลอดเรณู และการเจริญเติบโตของละอองเรณูเพื่อเป็นพื้นฐานในงานปรับปรุงพันธุ์พืช (ลาวัลย์, 2539) โดย Niimi and Shiokawa (1992) ได้ทำการศึกษาการเก็บรักษาละอองเรณูในหลอดเจลาติน และซองกระดาษเคลือบไข พบว่าความมีชีวิตของละอองเรณูที่เก็บไว้ในหลอดเจลาตินสูงกว่าละอองเรณูที่เก็บในซองกระดาษเคลือบไข เมื่อนำไปผสมเกสร พบว่าสามารถติดเมล็ดได้ดีเท่ากับการใช้ละอองเรณูสด ส่วน Loewus and Loewus (1990) ได้เก็บรักษาละอองเรณูที่แก่เต็มที่ของ *Lilium longiforum* พันธุ์ Nellie, White และ Ace โดยเก็บไว้ในขวด polypropylene (ขนาดไม่เกิน 25 กรัมต่อขวด)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส พบว่าละอองเรณูงอกได้ 70-80 เปอร์เซ็นต์ และมีการเจริญของหลอดเรณูได้ดี แม้เก็บรักษาไว้นาน 12 ปี ใน *Narcissus* พันธุ์ St. Keverene ได้มีการศึกษาถึงวิธีการเก็บรักษาละอองเรณู 3 วิธี คือ เก็บละอองเรณูไว้ในขวดแก้วขนาดเล็กแล้วนำไปวางในโถดูดความชื้นที่ใช้ $CaCl_2$ เป็นสารดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส หรือเก็บในขวดแก้วแล้วนำไปจุ่มในไนโตรเจนเหลว หรือเก็บละอองเรณูโดยหุ้มด้วย polypropylene แล้วจุ่มในไนโตรเจนเหลว พบว่าละอองเรณูจากการเก็บรักษาทั้ง 3 วิธีมีอัตราการงอก 15-16 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อนาน 3 วัน ในขณะที่ละอองเรณูสดมีเปอร์เซ็นต์การงอก 27.4 เปอร์เซ็นต์ ส่วนละอองเรณูที่เก็บรักษาไว้นาน 351 วัน ละอองเรณูชุดที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การงอกเพียง 0.1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำไปผสมเกสรไม่พบการติดเมล็ด ส่วนละอองเรณูที่เก็บไว้ในอีก 2 วิธี พบว่าอัตราการงอกไม่เปลี่ยนแปลงมาก และเมื่อนำไปผสมเกสรดอกสามารถติดเมล็ดได้ใกล้เคียงกับดอกที่ผสมด้วยละอองเรณูสด (Bowes, 1990) วัชราภรณ์ (2544) พบว่าละอองเรณูของดอกว่านนางคุ้มที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สามารถเก็บได้นาน 6 วัน ที่อุณหภูมิห้องเก็บได้นาน 6 วันเช่นกัน แต่มีเปอร์เซ็นต์การงอกหลอดเรณูลดลง ส่วนประภัสสร (2543) ได้ทดลองเก็บละอองเรณูของว่านสี่ทิศพันธุ์พื้นบ้านดอกเล็กสีแดง พันธุ์ดอกใหญ่จากต่างประเทศพันธุ์ Apple Blossom และ Orange Sovereign พบว่าที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เก็บได้นาน 45 วัน ส่วนที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เก็บไว้ได้นาน 6 วัน นอกจากนี้ยังมีการทำ cryogenic method ในแกลดิโอลัส โดยเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลว 48 ชั่วโมง พบว่าเปอร์เซ็นต์การงอกหลอดเรณูไม่มีความแตกต่างกับละอองเรณูสด และเมื่อเก็บรักษาไว้ 1 ปีในพันธุ์ Apsara, Meera และ Nazrana มีเพียง Apsara ที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกหลอดเรณูต่ำกว่าละอองเรณูสด และการเก็บรักษาละอองเรณูของพันธุ์ Jowagenaar ไว้ 10 ปี เมื่อนำมาทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอก พบว่าไม่มีความแตกต่างกับละอองเรณูสด (Rajasekharan *et al.*, 1994) และ Koopowitz *et al.* (1984) ได้เก็บรักษาละอองเรณูของแกลดิโอลัส 5 ชนิด ไว้ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถเก็บรักษาละอองเรณูได้ถึง 730 วัน

2.2.1.2 การงอกของละอองเรณู

การงอกของละอองเรณูเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับ ชนิดของดอกไม้ และอายุของละอองเรณูเมื่อเพาะละอองเรณูในสารละลาย พบว่าการงอกของละอองเรณูขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาล (ลาวัลย์, 2539) โดย อดิศร (2539) กล่าวว่าความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยงละอองเรณูเป็นปัจจัยสำคัญซึ่งส่งผลต่อการงอกของละอองเรณู และความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำตาลนั้นขึ้นกับชนิดของพืช อย่างไรก็ตามความเข้มข้นที่ต่ำเกินไปมีผลให้ละอองเรณูแตกได้ ในขณะที่ความเข้มข้นสูงเกินไปมีผลให้หลอดเรณูไม่เจริญหรือเจริญเติบโตผิดปกติได้ นอกจากนี้ยัง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มีสภาพแวดล้อมอื่นที่เป็นปัจจัยสำคัญในการงอกหลอดเรณู อันได้แก่ ความมืด และอุณหภูมิ เป็นต้น ในขณะที่การงอกของละอองเรณูในสภาพธรรมชาตินั้น ปัจจัยที่สำคัญต่อการงอกหลอดเรณู คือ ระดับขององค์ประกอบของสารเคมีในละอองเรณู โครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อเยื่อของเกสรเพศเมีย ซึ่งเป็นปัจจัยเพื่อการเจริญเติบโตของละอองเรณู จำนวนและชนิดของละอองเรณูที่เจริญเติบโตอยู่ภายใต้เนื้อเยื่อของเกสรเพศเมีย อุณหภูมิ ความชื้น รวมถึงสภาพของสรีรวิทยาของยอดเกสรเพศเมียซึ่งพร้อมผสมพันธุ์ (ลาวัลย์, 2539) ได้มีการทดสอบการงอกของละอองเรณูของ *Amaryllis vittata* ในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ pentaerythriol 2 เปอร์เซ็นต์ ในที่มืด พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงสูตรดังกล่าวเหมาะสมและละอองเรณูของพืชทดลองงอกได้ดี (Sharma *et al.*, 1981) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการงอกของละอองเรณูในแกลดิโอลัสพันธุ์ White Oak พบว่าสามารถงอกหลอดเรณูได้ในอาหารที่มีน้ำตาล 6 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับกรดบอริก 0.1 เปอร์เซ็นต์ แคลเซียมไนเตรท 0.06 เปอร์เซ็นต์ แมกนีเซียมซัลเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์ และโปแตสเซียมไนเตรท 0.1 เปอร์เซ็นต์ และยังสามารถงอกหลอดเรณูในน้ำตาลซูโครสเพียงอย่างเดียวที่ 5 และ 6 เปอร์เซ็นต์ (Mahawer and Misra, 1997) อีกวิธีการศึกษาการงอกหลอดเรณูของพืชชนิดต่างๆ เพื่อเปรียบเทียบอัตราการงอกและความสามารถในการงอกหลอดเรณูโดยการย้อมสีฟลูออเรสเซนต์ (fluorescence) ที่สามารถมองเห็นด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีแสงอัตราไวโอเลต (ลาวัลย์, 2539) ซึ่งใช้ในการตรวจสอบการงอกหลอดเรณูในก้านชูเกสรเพศเมียหรือรังไข่ได้ เนื่องจากผนังหลอดเรณู (pollen tube wall) ของพืชส่วนใหญ่เป็นสารประกอบจำพวก callose ซึ่งสารประกอบนี้เมื่อจับกับ aniline blue แล้วได้รับแสงที่มีสีฟ้าหรือแสงอัลตราไวโอเลต ปรากฏการเรืองแสงให้แสงสีเหลือง หรือสีเขียวออกมา (วิชญา, 2544) ได้มีผู้นำเทคนิคนี้มาใช้ทดสอบการงอกของละอองเรณูในพืชหลายชนิด เช่น ในการผสมข้าม *Pelargonium* ซึ่งเป็นไม้ดอกประดับที่มีกลิ่นหอมระหว่าง *P. appendiculatum* (สีเหลือง) กับ *P.* × *domestricum* "Purple betterfly" (สีชมพู) พบหลอดเรณูของ *P.* × *domestricum* "Purple betterfly" สามารถเจริญลงไปถึงรังไข่ของ *P. appendiculatum* ได้ (พรพรรณ และ คณะ, 2548) ส่วน Franken *et al.* (1988) ได้ทำการศึกษาการงอกหลอดเรณูในพืชตระกูลแตง *Cucumis sativa* และ *C. Metuliferus* ที่อุณหภูมิ 20 23 และ 26 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 23 และ 26 องศาเซลเซียส หลอดเรณูสามารถงอกลงไปในรังไข่ได้ ส่วนที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ละอองเรณูงอกอยู่บริเวณปลายยอดเกสรเพศเมียเท่านั้น แต่ในการทดลองนี้ไม่ได้ลูกผสม เนื่องจากตัวอ่อนไม่มีการเจริญและฝ่อในระยะ globular stage

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.1.3 การผสมข้ามของพืช

การผสมข้ามของพืชไม่ว่าเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติโดยละอองเรณูถูกนำไปยังเกสรเพศเมียโดยลม แมลง หรือ สัตว์ขนาดเล็ก แต่มนุษย์ยังไม่พอใจในลักษณะของพืชที่แสดงออก รวมถึงปริมาณยังไม่พอเพียงต่อความต้องการของมนุษย์ จึงมีการคิดวิธีผสมข้ามของพืชโดยนำลักษณะที่ดีของพืชแต่ละชนิดหรือแต่ละสายพันธุ์มารวมกันเพื่อให้ได้พืชพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะตามต้องการ ซึ่งเรียกการผสมพันธุ์นี้ว่า artificial hybridization (นพพร, 2543) การผสมข้ามของพืชไม่ได้มีเพียงการผสมข้ามสายพันธุ์ (intraspecific hybridization) ยังมีทั้งการผสมข้ามชนิด (interspecific hybridization) และการผสมข้ามสกุล (intergeneric hybridization) เป็นต้น (นิตย์ศรี, 2541) การผสมข้ามชนิดที่ไม่ได้เกิดเองตามธรรมชาติมักเกิดปัญหาหลายอย่าง เช่น ลูกผสมที่ได้เป็นหมัน คัพภะฝ่อ หรือเกิดการเข้ากันไม่ได้ของพันธุกรรมของพ่อและแม่ ดังนั้นจึงมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มาใช้เป็นเครื่องมือช่วยให้ได้ลูกผสมที่สามารถพัฒนาและเจริญเป็นต้นพืชได้ (บุญยืน, 2541) เช่น การเพาะเลี้ยงรังไข่หรือชิ้นส่วนของรังไข่ (ovary culture) ซึ่งนิยมนำในพืชผสมข้ามของ *Lilium*, *Nerine* และ *Tulipa* เป็นต้น โดยต้นอ่อนที่ได้จากกรรมวิธีนี้มักได้จากคัพภะที่มีขนาดเล็กจำนวนมาก การเพาะเลี้ยงไข่ (ovule culture) กรรมวิธีนี้นิยมทำในพืชที่ผสมติดแต่มักมีการเหี่ยวหรือฝ่อของฝักก่อนมีการพัฒนาไปเป็นคัพภะ จึงต้องนำไข่มาเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้คัพภะและต้นอ่อนต่อไป โดยกรรมวิธีนี้ทำได้ง่ายและรวดเร็ว ซึ่งนิยมทำในพืชผสมข้ามของ *Alstroemeria*, *Lilium*, *Nerine* และ *Tulipa* เป็นต้น และการเพาะเลี้ยงคัพภะ (embryo culture) กรรมวิธีนี้นิยมทำในพืชที่คัพภะมีการพัฒนาไปจนถึงระยะ globular stage แต่มีการเหี่ยวหรือฝ่อไปก่อน กรรมวิธีนี้เป็นที่นิยมทำแพร่หลายในไม้ดอกประเภทหัว เพราะมีอัตราความสำเร็จสูง เช่นใน *Allium*, *Alstroemeria*, *Freesia*, *Hippeastrum*, *Lilium*, *Tulipa* และ *Zantedeschia* เป็นต้น (van Tuyl, 1997) ได้มีการศึกษาการผสมข้ามชนิดในทิวลิป 4 ชนิด โดยทำการผสมเกสรดอกที่ปลูกในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิ 10 14 และ 17 องศาเซลเซียส พบว่าการผสมเกสรที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ให้การติดฝักและเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุด (Kho and Bear, 1971) Huang *et al.* (2001) ได้ทำการผสมข้ามและผสมกลับระหว่าง *Polianthes tuberosa* 'Single' และ *P. tuberosa* 'Double' ซึ่งมีสีขาว กับ *P. howardii* ซึ่งมีสีม่วงแดง เมื่อทำการคัดเลือกแล้ว พบว่าได้ลูกผสม 9 สายพันธุ์ที่มีสีแตกต่างกันตั้งแต่สีชมพู ม่วงแดง ม่วง ส้ม และเหลือง van Tuyl *et al.* (1991) รายงานถึงการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงรังไข่มาช่วยในการผสมข้ามชนิดของ *Lilium* โดยนำรังไข่อายุ 5-8 วันมาเพาะเลี้ยงในอาหาร 2 สูตร คือ สูตร B5 (1968) ดัดแปลง และ MS (1962) ดัดแปลง พบว่าอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่ประกอบด้วย NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ โดยการใช้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการเพาะเลี้ยงไข่สามารถใช้ช่วยในคู่ผสมข้ามที่เข้ากันไม่ได้ (cross-incompatible) ส่วนการศึกษาในคู่ผสมข้ามของ *Alstoremeria ligtu* hybrid (LH) กับ *A. pelegrina* var rosea (PR) และทำ reciprocal cross พบว่า คู่ผสมระหว่าง LH กับ PR คัพภะฝ่อเมื่อผ่านการผสมเกสรได้ 28 วัน ส่วนคู่ผสมที่ได้จากการผสมสลับคัพภะฝ่อเมื่อผ่านการผสมเกสรได้ 35 วัน แต่สามารถนำวิธีการเพาะเลี้ยงคัพภะหรือการช่วยชีวิตคัพภะ (embryo rescue) เข้ามาช่วย โดยนำคัพภะมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลง ที่ประกอบด้วย Gelrite-solidified 2 กรัมต่อลิตร และ น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ จากการเพาะเลี้ยงสามารถได้ลูกผสมที่มีลักษณะอยู่ระหว่าพ่อและแม่ (Ishikawa *et al*., 1997) Ishizaka and Uematsu (1995) สร้างลูกผสมของ *Cyclamen* ที่มีกลิ่นหอมจาก *C. persicum* diploid (CPD) และ *C. persicum* tetraploid (CPT) กับ *C. purpurascens* (CP) ซึ่งเป็นพันธุ์ป่า โดยใช้เทคนิค ovule rescue เข้ามาช่วยและเลี้ยงในอาหารสูตร MS (1962) ที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงไว้ในที่มืดอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถได้ลูกผสมที่มีกลิ่นหอมตามที่ต้องการ และการผสมข้ามชนิดในออนิโธกาลัม ระหว่าง *O. thyrsoides* กับ *O. dubium* พบว่าได้ลูกผสมที่มีสีเหลืองอ่อน (RHS 11C) หรือสีส้มอ่อน (RHS 14D) โดยสีของลูกผสมที่ได้แปรผันไปตามต้น *O. thyrsoides*ที่นำมาใช้ (Griesbach *et al*., 1993) นอกจากนี้มีการผสมข้ามระหว่าง *O. dubium* กับ *O. multifolium* ซึ่งได้ลูกผสมที่ให้ดอกตลอดปี ใบยาวหยักเป็นเกลียวซึ่งได้จาก *O. multifolium* สูง 15-20 เซนติเมตร ให้ดอก 25-30 ดอกต่อช่อ เส้นผ่าศูนย์กลางดอก 3 เซนติเมตร มีสีเหลืองสว่าง (RHS 13A) ให้ชื่อว่า 'Chesapeake Sunshine' (Griesbach and Meyer, 1998) ลูกผสมที่ได้มาจากการใช้เทคนิค ovule rescue เข้ามาช่วย โดยนำรังไข่ที่ผ่านการผสมเกสร 10-14 วัน มาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อใช้อาหารครึ่งสูตร MS (1962) (Griesbach *et al*., 1993)

2.2.2 การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์

การกลายพันธุ์ (mutation) ถูกบัญญัติศัพท์โดย Hugo de Vries ซึ่งให้ความหมายว่า เป็นการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสิ่งมีชีวิตอย่างฉับพลัน อันเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรม และลักษณะที่เปลี่ยนแปลงสามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลานได้ การเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมหมายถึง การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยีน รูปร่างหรือจำนวนโครโมโซม การกลายพันธุ์เป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต (นพพร, 2543) โดยสาเหตุของการกลายพันธุ์อาจเกิดได้เองตามธรรมชาติ เช่น ปัจจัยภายในของพืช ได้แก่ องค์ประกอบทางพันธุกรรม สภาพสรีระ ปัจจัยจากสภาพแวดล้อม ได้แก่ อาหาร อุณหภูมิ สารกัมมันตภาพรังสี ในสิ่งแวดล้อม และนอกจากนั้นยัง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สามารถชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ขึ้นได้เรียกว่า induced mutation ซึ่งเป็นการเพิ่มอัตราการกลายพันธุ์ให้สูงกว่าที่สามารถเกิดได้เองตามธรรมชาติ (อรุณี, 2539)

2.2.2.1 ชนิดของการกลายพันธุ์

การเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมแบ่งได้ 3 ประเภท

2.2.2.1.1 การกลายพันธุ์ของยีน (Gene mutation)

การกลายพันธุ์ของยีน เป็นการเปลี่ยนแปลงที่มีขอบเขตอยู่ในยีน คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงบนพื้นที่เล็กๆ ของ DNA โดยครอบคลุมเพียง 1-3 นิวคลีโอไทด์ (nucleotide) เช่น การหลุดหายไปหรือเพิ่มเข้ามาของเบส (เพิ่มหรือหายไปของนิวคลีโอไทด์เพียง 1 หรือมากกว่า) ในเส้นสายของ DNA ทำให้การอ่านรหัสพันธุกรรมผิดไป ซึ่งการกลายพันธุ์ในลักษณะนี้เรียกว่า frameshift mutation หรืออาจเป็นการแทนที่ของคู่เบสในสาย DNA ซึ่งเรียกว่า base pair substitution มีได้ 2 แบบ คือ แทนที่ด้วยเบสชนิดเดียวกัน เรียกว่า transition เช่น แทนที่พิวรีนตัวหนึ่งด้วยพิวรีนอีกตัวหนึ่ง ได้แก่ แทนที่ A T ด้วย G C หรือแทนที่ G C ด้วย A T อีกแบบหนึ่งเป็นการแทนที่เบสชนิดหนึ่งด้วยเบสอีกชนิดหนึ่ง เรียกว่า transversion เช่น แทนที่เบสไพริมีดีนด้วยพิวรีน ได้แก่ แทนที่ A T ด้วย C G หรือแทนที่ A T ด้วย T A เป็นต้น การกลายพันธุ์ของยีนอาจเป็นลักษณะด้อย คือ จาก A เป็น a เรียกว่า recessive mutation หรือเป็นลักษณะเด่นจาก a เป็น A เรียกว่า dominant mutation

2.2.2.1.2 การกลายพันธุ์ของโครโมโซม (Chromosome mutation)

การกลายพันธุ์ของโครโมโซม เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบนโครโมโซม โดยส่วนที่เปลี่ยนแปลงครอบคลุมหลายยีน การเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมสามารถตรวจสอบได้โดยอาศัยกล้องจุลทรรศน์ แบ่งการกลายพันธุ์ของโครโมโซมออกได้เป็น 2 ลักษณะ (อรุณี, 2539)

2.2.2.1.2.1 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซม (Chromosome abberation)

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโครโมโซมเกิดได้หลายแบบ ได้แก่ deficiency, duplication, inversion และ translocation ซึ่งเกิดที่ชิ้นส่วนของโครโมโซมที่มีความยาวต่างๆ กัน การนำพืชต่างชนิดมาผสมกันอาจทำให้เกิดการกลายพันธุ์ประเภทนี้ ซึ่งทำให้เกิดการย้ายลักษณะทางพันธุกรรมระหว่างชนิดขึ้นได้ โดย deficiency หรือ deletion คือการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของโครโมโซม เนื่องจากชิ้นส่วนขาดหายไปโดยอาจเกิดขึ้นกับโครโมโซมแท่งเดียว หรือโครโมโซมทั้ง 2 แท่งที่เป็นคู่กันก็ได้ duplication หรือ addition คือการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากมีชิ้นส่วนโครโมโซมเกินจากสภาพปกติ โครโมโซมส่วนที่เกินมาอาจมาจากโครโมโซมที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นคู่กัน หรืออาจมาจากโครโมโซมต่างคู่กันก็ได้ และชิ้นส่วนของโครโมโซมที่เกินมาอาจอยู่อย่างอิสระโดยไม่ได้เชื่อมต่อกับโครโมโซมใดๆ ก็ได้ ส่วน inversion คือการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากมีชิ้นส่วนของโครโมโซมขาดออกและกลับมาต่อกันใหม่แบบสลับด้าน ซึ่งมีผลทำให้การเรียงลำดับของยีนบนโครโมโซมผิดไปจากเดิม (นพพร, 2543) และ translocation คือการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากเกิดการแตกหักของโครโมโซมแล้วไปต่อกับโครโมโซมที่ไม่ได้เป็นคู่กัน ซึ่งอาจเกิดขึ้นเพียงโครโมโซมเดียวฝ่ายเดียว หรือมีการโยกย้ายแบบสลับซึ่งการโยกย้ายแบบสลับอาจเกิดได้เพียงโครโมโซมเดียวและสลับทั้งคู่ได้

2.2.2.1.2.2 การเปลี่ยนแปลงจำนวนชุดของโครโมโซม (Genome mutation)

จีโนม (Genome) หมายถึง ยีนทุกๆ ยีนที่มีอยู่ในเซลล์พืชพันธุ์ 1 เซลล์ ซึ่งยีนที่มีอยู่ในโครโมโซมที่มีระดับโครโมโซมเป็น haploid การกลายพันธุ์ของจำนวนชุดโครโมโซมมี 2 แบบคือ aneuploid โดยเกิดการแปรปรวนของจำนวนโครโมโซม อาจมีโครโมโซมขาดหายไปหรือเพิ่มขึ้นมาเพียง 1 หรือ 2 โครโมโซม การกลายพันธุ์ของจำนวนชุดโครโมโซมอีกแบบคือ euploid โดยเป็นการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของโครโมโซมทั้งชุด อาจแบ่งได้ 3 พวกใหญ่ คือ monoploid (n), diploid (2n) และ polyploid (ตั้งแต่ 3n ขึ้นไป) (อดิศร, 2533ก) โดยการเพิ่มจำนวนโครโมโซมทั้งชุดโครโมโซมถ้าเกิดจากพืชชนิดเดียวกัน เรียกว่า autopolyploid แต่ถ้าเป็นการเพิ่มขึ้นของโครโมโซมที่มาจากพืชต่างชนิด เรียกว่า allopolyploid (อรุณี, 2539)

2.2.2.1.3 การกลายพันธุ์ในชิ้นส่วนที่นอกเหนือจากนิวเคลียส (Extranuclear mutation)

การกลายพันธุ์ในชิ้นส่วนที่นอกเหนือจากนิวเคลียส เป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นในส่วนของคลอโรพลาสต์ หรือไมโทคอนเดรีย ซึ่งการกลายพันธุ์แบบนี้ส่วนใหญ่ถ่ายทอดได้จากแม่สู่ลูก หรือเรียกว่า cytoplasmic inheritance (ณัฐา และ คณะ, 2545)

2.2.2.2 สารก่อการกลายพันธุ์ (Mutagen หรือ Mutagenic agent)

สารก่อการกลายพันธุ์ที่นิยมใช้กับพืชแบ่งเป็น 2 กลุ่มได้แก่ รังสี (physical mutagens) โดยรังสีประกอบด้วยอนุภาคขนาดเล็กที่เคลื่อนที่ด้วยความเร็วและแรงขนาดต่างๆ กัน เมื่ออนุภาคขนาดดังกล่าวเคลื่อนที่เข้ากระทบสารพันธุกรรม ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกับสารพันธุกรรมนั้น ซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของลักษณะ โดยรังสีที่นำมาใช้ในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์มี 2 ประเภท คือ ionization radiation เป็นรังสีประเภทที่มีอำนาจการทะลุทะลวง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับโครโมโซม รังสีที่มีผู้นิยมใช้ คือ รังสีเอ็กซ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นรังสีที่ใช้มากที่สุด สามารถคำนวณปริมาณรังสีได้ง่าย ใช้ได้ทุกส่วนของพืช รังสีนิวตรอน มี 2 ชนิด คือ ฟาสท์นิวตรอน (fast neutron) และเทอร์มอลนิวตรอน (thermal neutron) ผลของรังสีนิวตรอนเป็นเช่นเดียวกับรังสีเอ็กซ์ แต่ต้องติดตั้งเครื่องปฏิกรณ์ปรมาณูเพื่อทำให้ได้สารกัมมันตภาพรังสีและปล่อยรังสีออกมาได้แก่ รังสีแกมมา รังสีชนิดนี้มีช่วงคลื่นสั้นกว่ารังสีเอ็กซ์ จึงมีพลังงานสูงกว่าและแทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อได้ลึกกว่า และเครื่องมือที่ทำให้เกิดรังสีมีหลายขนาดแล้วแต่จุดประสงค์ในการใช้ ส่วน non-ionization radiation เป็นรังสีที่มีอำนาจในการทะลุทะลวงน้อย มักทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับยีน เช่น รังสีอัลตราไวโอเลต (ultraviolet rays) (นพพร, 2543) สารก่อการกลายพันธุ์อีกกลุ่ม คือ สารเคมี (chemical mutagens) เช่น EMS และ dES เป็นต้น แต่สารเคมีต่างๆ มีผลในการชักนำค่อนข้างน้อย นอกจากนี้การป้องกันอันตรายทำได้ยาก มีความเสี่ยงต่อการใช้สูง เนื่องจากสารเคมีส่วนใหญ่เป็นพิษต่อร่างกาย และเป็นสารก่อมะเร็ง เช่น EMS ดังนั้นผู้ใช้ต้องมีความระมัดระวังและรอบคอบในการปฏิบัติตามขั้นตอนต่างๆ อย่างเคร่งครัด (สิรนุช, 2540) การให้รังสีแก่พืชทั้งต้น หรือส่วนต่างๆของพืช และช่วงระยะการเจริญเติบโต ล้วนมีความสำคัญต่อการกลายพันธุ์แล้วยังต้องถูกคัดเลือกตามวิธีการของการปรับปรุงพันธุ์พืชต่อไป (อดิศร, 2533ก) ได้มีการศึกษาถึงปริมาณรังสี และชิ้นส่วนของพืชที่นำมาชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในไม้ดอกหลายชนิด เช่น อดิศร (2535) ได้นำเอาหัวย่อยของดอกซ่อนกลิ่น (*Polyanthes tuberosa*) มาฉายรังสีแกมมาที่มีปริมาณ 0 5 10 15 20 25 และ 30 กิโลแรด (KR) พบว่าปริมาณรังสี 25 KR ขึ้นไปสามารถยับยั้งการเจริญของหัวย่อย และรังสีแกมมาสามารถชักนำให้เกิดแถบสีขาวที่ใบ แต่ไม่พบการกลายพันธุ์ของสีดอก สิรนุช (2540) ยังรายงานถึงปริมาณรังสีแกมมาที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ต่อชิ้นส่วนต่างๆ ของพืชที่ใช้ฉายรังสี เช่น พุทธรักษาใช้ส่วนเหง้า (Rhizome) ในปริมาณ 400-600 แรด (R) แกลดิโอลัสใช้กับส่วนหัวที่พักตัว ในปริมาณ 4000 R ไฮยาซินใช้ส่วนหัวที่กำลังงอกในปริมาณ 200-500 R นาซิซัสและทิวลิปใช้กับส่วนหัวที่ได้หลังจากเก็บเกี่ยว ในปริมาณ 500-1000 R และ 300-500 R ตามลำดับ และออนิโธกาลัมใช้ชิ้นส่วนที่นำไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในปริมาณ 500-1000 R

ในการศึกษาปริมาณรังสีที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในแกลดิโอลัส โดยนำหัวย่อยของแกลดิโอลัสสายพันธุ์ Traveler มาฉายรังสีแกมมา พบว่ามีการกลายพันธุ์เกิดขึ้นทำให้เกิดความหลากหลายของสีดอก โดยมีก้านช่อดอก 2 ช่อ ที่ด้านหนึ่งมีกลีบดอกสีชมพูและอีกด้านสีชมพูอ่อน จากนั้นได้แยกเอาดอกแต่ละสีมาเพาะเลี้ยงรังไข่ รังไข่ที่ได้จากดอกสีชมพูให้ดอกสีชมพูทั้งหมด ส่วนรังไข่จากดอกสีชมพูอ่อนให้ดอกสีชมพูอ่อน 35 ต้น จากทั้งหมด 52 ต้น โดยอีก 17 ต้น สีของดอกกลับไปเหมือนสีชมพูเหมือนเดิม (Kasumi *et al.*, 1999) การศึกษาปริมาณรังสีแกมมาที่เหมาะสมต่อการสร้างสายพันธุ์ที่เป็นหมันใน *Alstroemeria* โดยให้รับรังสีตั้งแต่ 250 ถึง 10000 R

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

พบว่าปริมาณรังสีที่เหมาะสมอยู่ช่วง 300-600 R ส่วนที่ปริมาณ 1000 R ทำให้ต้นตายถึง 40 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณ 2500 R ทำให้ตายถึง 70-90 เปอร์เซ็นต์ และที่ปริมาณ 5000 R ทำให้ต้นที่ทำการทดลองตายหมด และต้นที่รอดมีลักษณะเป็นที่สนใจถูกจดทะเบียนเป็นพืชสายพันธุ์ใหม่ เช่น Catalina, lnes, Juanita และ Corlota เป็นต้น (Przybyla, 2000) Qinglin *et al.* (1995) ให้รังสีกับชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อของ root iris (*Iris tecorum* Maxim) และ german iris (*I. germanica* L.) โดยให้รังสี 250 500 1000 2000 4000 และ 8000 R ตามลำดับ พบว่าเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดลดลงตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้นใน iris ทั้ง 2 ชนิด ในทิวลิปมีรายงานการให้รังสีแกมมา 300 500 และ 1000 R แก่หัวทิวลิปพันธุ์ Parade และ Oxford ที่มีน้ำหนักของหัวเป็น 11-13 ถึง 44 กรัม พบว่าขนาดหัวที่เล็กมีการตอบสนองกับรังสีได้ดีกว่าหัวที่มีขนาดใหญ่ โดยปริมาณรังสีที่ 300 และ 500 R กระตุ้นให้มีการงอกแต่ต้นไม่สามารถเจริญเติบโตได้ และในปริมาณรังสีที่สูงทำให้หัวที่ได้รับรังสีตายหมด ซึ่งปริมาณรังสีมีผลต่อการเจริญเติบโตในปีที่ 2 หลังการฉายรังสี (Glazurina, 1982) และในพุทธรักษามีการให้รังสีแกมมา 1 5 และ 15 KR พบว่าการเจริญเติบโตและการให้เมล็ดลดลงเมื่อปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น โดยที่ได้รับปริมาณรังสี 15 KR มีการเปลี่ยนแปลงภายนอกมากที่สุด คือ เกิดต้นแคระแกร็น ลายด่าง ช่อดอกบิดเป็นเกลียว สีและรูปร่างของอับละอองเรณูเปลี่ยนไป และทำให้เป็นหมัน ซึ่งลักษณะเหล่านี้สามารถนำไปใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์ต่อไปได้ (Khalaburdin, 1991) นอกจากนั้นยังมีการศึกษาการกลายพันธุ์ที่เกิดจากการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณ 0 1 2 4 6 8 10 12 14 และ 16 KR ใน *O. dubium* พบว่าปริมาณรังสีที่มีผลทำให้การเจริญเติบโตของยอดลงลดเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น โดยปริมาณรังสีตั้งแต่ 4 KR ขึ้นไปยับยั้งการเจริญเติบโตของยอดและตายในที่สุด ลักษณะที่พบภายหลังการฉายรังสีที่ปริมาณ 1 KR ได้แก่ ยอดแคระใบสั้น ยอดแตกเป็นกระจุก ที่ปริมาณรังสี 2 KR ได้แก่ ใบสั้นแคระ ใบลาย และเมื่อนำเซลล์ปลายรากพืชมาวิเคราะห์โครโมโซม พบว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 10 และ 24 ส่วนคาริโอไทป์และคาริโอแกรมที่ได้จากการย้อมสีโครโมโซมด้วยสี giemsa และ $AgNO_3$ ทำให้ทราบว่าต้นที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 24 เป็น autotetraploid ของต้นที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 12 และต้นที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 12 ที่ได้รับปริมาณรังสี 1 หรือ 2 KR บางต้นมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโครโมโซมโดยเกิดการขาด หรือหักของโครโมโซมบริเวณ satellite (กฤษณา, 2545)

2.2.3 การศึกษาจำนวนโครโมโซม

การศึกษาจำนวนโครโมโซม มีความสำคัญต่อนักผสมพันธุ์เพราะสามารถนำข้อมูลที่ได้จากการค้นคว้านี้ไปเป็นรากฐานในการปรับปรุงพันธุ์พืชให้ได้ลักษณะตามที่ต้องการ ซึ่งจำนวน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โครโมโซม ลักษณะ และรูปร่างของโครโมโซมมีส่วนช่วยทำให้สามารถเปรียบเทียบความคล้ายคลึงและความแตกต่างของพืชแต่ละชนิดที่นำมาศึกษาได้ (รุ่งนภา, 2540) โดยโครโมโซมเป็นแหล่งที่เก็บรหัสพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต ในระยะอินเตอร์เฟส (interphase) ของเซลล์ โครโมโซมมีลักษณะเป็นเส้นใยบางๆ กระจายอยู่ทั้งเซลล์ โดยเรียกว่า ใยโครมาทิน (chromotin fiber) โครมาทินประกอบด้วย 2 ส่วนที่สำคัญคือ DNA และ โปรตีน นอกจากนี้ยังอาจพบ RNA บ้าง แต่มีเพียงเล็กน้อยเท่านั้น โปรตีนที่พบในโครมาทินมี 2 ชนิดโดยแบ่งจากคุณสมบัติของกรดอะมิโนที่เป็นเบส คือ ฮีสโทน (histone protein) และ โปรตีนนันฮีสโทน (nonhistone protein) เมื่อเข้าระยะต้นของโพรเฟส (early prophase) ใยโครมาทิน เริ่มหดตัวสั้นขึ้น และกลายเป็นแท่งของโครโมโซมในระยะกลางของโพรเฟส (middle prophase) โครมาทินมีการหดตัวและขดไปมาทำให้ใยโครมาทินหนา เป็น looped domain ขนาดและรูปร่างของโครโมโซมดูได้ชัดเจนที่สุดในระยะเมตาเฟส (metaphase) เพราะโครโมโซมมีการหดสั้นสุด ในระยะนี้เห็นโครโมโซมเป็น 2 โครมาติด เชื่อมติดกันตรงเซนโทรเมียร์ (centromere) ซึ่งเป็นบริเวณที่แคบที่สุดของโครโมโซม (ฉันทนา, 2544) โดยการศึกษาจำนวนโครโมโซมในเซลล์พืช ควรทำในเซลล์ที่กำลังแบ่งตัว สามารถศึกษาได้ทั้งในการแบ่งตัวแบบไมโตซีสและไมโอซีส ซึ่งแล้วแต่ความเหมาะสมในการศึกษา และควรศึกษาในช่วงที่การแบ่งเซลล์อยู่ในระยะเมตาเฟส ซึ่งเป็นช่วงที่มีโครโมโซมหดสั้นมากที่สุด ทำให้เห็นโครโมโซมชัดเจนและสามารถนับจำนวนได้ถูกต้องแม่นยำ การศึกษาโครโมโซมของต้นพืชควรใช้เซลล์ที่มาจากเนื้อเยื่อเจริญอาจเป็นปลายยอด หรือปลายรากซึ่งเป็นบริเวณที่มีเซลล์กำลังแบ่งตัวแบบไมโตซีส ส่วนการศึกษาโครโมโซมที่มีการแบ่งตัวแบบไมโอซีสควรทำในเซลล์สืบพันธุ์ เช่น เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้จากอับละอองเรณู (อดิศร, 2543) การศึกษาจำนวนโครโมโซมนิยมใช้วิธี Squash Technique หรือ Smear Technique ซึ่งสามารถเห็นโครโมโซมในแต่ระยะของการแบ่งตัว จากกล้องจุลทรรศน์ โครโมโซมเป็นวัสดุติดสี เมื่อย้อมสีโครโมโซมแล้วมีบางส่วนที่ติดสีย้อมและบางส่วนไม่ติดสี โดยส่วนที่ย้อมติดเรียกว่า heterochromatin และส่วนที่ย้อมสีไม่ติดเรียกว่า euchromatin ส่วนของโครโมโซมที่ย้อมสีไม่ติด เช่น เซนโทรเมียร์ ทำให้เห็นเป็นรอยคอดกิ่ว เนื่องจากบริเวณนั้นไม่ติดสีย้อมส่งผลให้รู้ถึงตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ (ฉันทนา, 2544) Moret and Galland (1991) ได้ทำการศึกษาจำนวนโครโมโซมของออนิโธกาลัม 3 ชนิด ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน คือ *O. algeriense* และ *O. kochii* ที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแอฟริกาเหนือ และ *O. umbellatum* ที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในยุโรป พบว่า *O. kochii* มีจำนวนโครโมโซมใกล้เคียงกับ diploid ของ *O. umbellatum* และจำนวนโครโมโซมที่เป็น diploid ของ *O. umbellatum* มีจำนวนโครโมโซมใกล้เคียงกับ polyploid ของ *O. algeriense* ขณะเดียวกันการศึกษาจำนวนโครโมโซมของ *O. dubium* Houtt และ *O. thyrsoides* Jacq พบว่ามีจำนวนโครโมโซมแท่งยาว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2n = 2x = 10 และแท่งสั้น 2 แท่ง (Griesbach *et al* ., 1993) ใน *O. arabicum* มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 2n = 51 (Pastor and Diosolado, 1994) ในแกลดิโอลัสมีการศึกษาจำนวนโครโมโซมโดยใช้วิธี Squash Technique โดยทำการเก็บเนื้อเยื่อรากเวลา 9.00-9.30 นาฬิกา ย้อมด้วยสี carbol fuchsin เป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที พบว่าแกลดิโอลัสลูกผสมเบอร์ 913 และ 514 มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 2n = 60 และ 62 ตามลำดับ (นฤมล, 2543) ประโยชน์อีกอย่างของการศึกษาจำนวนโครโมโซม คือสามารถบอกถึงการเข้าคู่กันของโครโมโซมพ่อและแม่ ซึ่งชี้ให้เห็นถึงโอกาสและความสำเร็จในการผสมข้ามสายพันธุ์หรือชนิดได้ โดยลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามสายพันธุ์หรือชนิด อาจมีจำนวนโครโมโซมผันแปรไปจากพ่อและแม่โดยเกิดจากการรวมตัวของโครโมโซมพ่อและแม่ที่มีความแตกต่างกัน (ชัยฤกษ์, 2525) ได้มีการศึกษาโครโมโซมของว่านสี่ทิศพันธุ์ดอกสีแดง (R) พันธุ์ดอกสีส้ม (O) พันธุ์ดอกสีชมพู (P) และลูกผสมระหว่าง R × O, O × R, R × P, P × R, P × O และ O × P พบว่าว่านสี่ทิศต้นพ่อ แม่ และลูกผสมทุกคู่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ 2n = 22 (วนนท์, 2544) ส่วน Ishizaka and Uamatsu (1994)ได้ทำการศึกษาจำนวนโครโมโซมของลูกผสม *Cyclamen* ระหว่าง *C. persicum* (2n = 48) กับ *C. hederifolium* (2n = 34) พบว่าลูกผสมที่ได้มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 2n = 41 ในปีถัดมาได้ทำการผสมข้ามชนิดของ *C. persicum* diploid (CPD) (2n = 2x = 48) และ *C. persicum* tetraploid (CPT) (2n = 4x = 96) กับ *C. purouracens* (CP) (2n = 34) แล้วทำการศึกษาจำนวนโครโมโซม พบว่าลูกผสมของ CPD × CP มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 2n = 41 และลูกผสมของ CPT × CP มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 2n = 65 (Ishizaka and Uamatsu, 1995)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved