# บทที่ 5

## วิจารณ์ผลการทดลอง

**การทดลองที่ 1** จากการศึกษาการผสมพันธุ์กล้วยไม้ดินสกุล *Spathoglottis* โดยใช้พ่อแม่พันธุ์ ที่มี สีหลักเป็นสีล้วนสามสี คือ ชมพูอมม่วง เหลือง และ ขาว ได้ลูกผสมที่มีแตกต่างกัน สามารถวิจารณ์ผลการทดลองตามคู่ผสม แบ่งได้เป็นกลุ่ม ดังนี้

**1. *S. affinis* × *S. plicata***

ลูกผสมจากต้นแม่ที่มีสีเหลืองและต้นพ่อที่มีสีชมพู มีสีของพื้นดอกโทนสีเหลืองทั้งหมด โดยมีความเข้มอ่อนไม่ต่างกันมากนัก ลวดลายบนดอกแบ่งได้สี่กลุ่ม คือ ม่วงอมชมพู ม่วงแดง แดงอมส้ม และส้ม โดยสีโทนส้มและแดงของลูกผสมน่าจะเกิดจากสัดส่วนของคาร์โรทีนอยด์ และฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างกันดังที่ Griesbach (1983) ได้เสนอแนวคิดไว้ว่า สีแดงในลูกผสมเกิดจากสัดส่วนที่เกิดจากการผสมของสีของคาโรทีนอยด์สีเหลืองและฟลาโวนอยด์สีม่วง หรือจากการปรากฏของ ฟลาโวนอยด์สีแดง และการหายไปของ คาร์โรทีนอยด์ และคลอโรฟิลด์

**2. *S. affinis* × *S. plicata* var. *alba* และ *S. plicata* var. *alba* × *S. affinis***

พบว่า เมื่อใช้ *S. affinis* เป็นต้นแม่ลูกผสมที่ได้มีสีของพื้นดอกเป็นสีเหลืองเข้มกว่าเมื่อใช้ *S. plicata* var. *alba* เป็นต้นแม่ ทำให้คาดว่าชนิดของรงควัตถุที่ทำให้เกิดสีเหลืองคาดว่าจะเป็น ชนิดคาร์โรทีนอยด์ และลักษณะการถ่ายทอดสีเหลืองไปสู่ลูกนั้นน่าจะถูกควบคุมโดยยีนส่วนหนึ่งที่อยู่นอกนิวเคลียส เช่น ในคลอโรพลาสต์ หรือ ไมโตคอนเดรีย โดยถ่ายทอดจากแม่สู่ลูกเท่านั้น (maternal effect) ซึ่งรูปแบบการถ่ายทอดคลอโรพลาสต์จีโนมลักษณะนี้พบได้ในกล้วยไม้ฟาแลนนอพซิส (Chang et al. 1999) และจีโนมส่วนนี้เองที่อาจมียีนที่ส่งผลต่อความเข้มของสีเหลืองในดอก อาจเป็นยีนที่ส่งผลโดยตรงต่อการสร้างคาโรทีนอยด์ หรือ เกี่ยวข้องกับการสร้างคลอโรพลาสต์ เนื่องจากเมื่อมีการเปลี่ยนสัดส่วนการเกิดรงควัตถุทั้งสองชนิดที่มีสารตั้งต้นเหมือนกัน ย่อมมีผลต่อความเข้มสีที่เกิดขึ้น ส่วนลักษณะลวดลายบนกลีบดอกของลูกผสมที่เกิดจากการใช้ *S. affinis* เป็นต้นแม่ พบว่า ออกไปในโทนส้ม-แดง มากกว่า เมื่อใช้ *S. plicata* var. *alba* เป็นต้นแม่ ซึ่งแสดงว่าการถ่ายทอดยีนสีเหลืองที่มี mathernal effect ของคาร์โรทีนอยด์จากเหลืองพิสมรที่มากกว่า ทำให้สัดส่วนของ คาร์โรทีนอยด์ต่อฟลาโวนอยด์ในลูกผสมมีมากขึ้น ลูกผสมที่ได้จึงเกิดเป็นโทนสีส้มซึ่งเป็นสีที่เกิดขึ้นใหม่ ในกล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* สีม่วงที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลของ complementary gene แม้จะใช้ *S. plicata* var. *alba* ซึ่งมีสภาพยีนเป็นด้อยทุกตำแหน่งเป็นคู่ผสมแต่

อาจมีสารตั้งต้นของสีม่วงที่สามารถผลิตได้อยู่ เมื่อมารวมกับยีนจากเหลืองพิสมร ได้เกิดสีในสายการผลิตฟลาโวนอยด์ ต้นลูกผสมจึงมียีนที่
สามารถ ผลิตฟลาโวนอยด์ กลีบดอกได้อย่างสมบูรณ์แต่ในปริมาณน้อย เนื่องจากยีนจากต้น *S. plicata* var. *alba* ที่สามารถผลิตสารตั้งต้นของ ฟลาโวนอยด์ ได้น้อยนั่นเอง

**3. คู่ผสม [*S. vanoverburgii* × *S. affinis*] × *S. plicata* var. *alba* และ [*S. vanoverburgii* × *S. affinis*] × *S. plicata***

จากผลการทดลองที่ได้ พบว่าเมื่อใช้ *S. plicata* var. *alba* ต้นแม่ สีของลูกผสมที่ได้คือ สีพื้นเหลือง และลวดลายโทนสีส้มเพียงโทนเดียว ซึ่งแสดงถึง อิทธิพลของต้นที่เป็นโพลีพลอยด์ ซึ่งมีจำนวนยีนสีเหลืองมาก เมื่อนำมาผสม กับ *S. plicata* var. *alba* ซึ่งผลิตฟลาโวนอยด์ได้น้อย จึงทำให้สัดส่วนของคาโรทีนอยด์ต่อฟลาโวนอยด์ มีมาก ลูกผสมทั้งหมดจึงออกมาในโทนสีส้ม แต่เมื่อเปลี่ยนต้น *S. plicata* เป็นต้น สีชมพูอมม่วง พบว่ามีการกระจายตัวไปในทิศทางเดียวกันกับ คู่ผสม *S. affinis* × *S. plicata* แสดงว่าเฉดสีที่หลากหลายนี้ อาจเกิดจากสภาพ heterozygous ภายในยีนของ *S. plicata*

การซีดจางลงของลูกผสมทุกคู่ผสม ตามระยะการบานของดอกอาจเกิดขึ้นได้จากสลายตัวของแอนโทซายยานิน ซึ่งอาจเป็นผลมาจาก แสง การเปลี่ยนแปลง pH ในเซลล์ และอุณหภูมิ ซึ่งในการปรับปรุงพันธุ์พิทูเนีย สีส้มอิฐ โดยการตัดต่อพันธุกรรม พืชตัดต่อพันธุกรรมที่ได้มีสีส้มที่ซีดจางลงเมื่อดอกบาน แต่เมื่อคัดเลือกต่ออีกหลายรุ่นจึงประสบผลสำเร็จได้ต้นที่มีสีที่คงตัว (Tanaka, 2005) ซึ่งใน *Spathoglottis* อาจใช้แนวทางนี้ในการปรับปรุงพันธุ์ได้

พืชที่นำมาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการทดลองครั้งนี้ มีรงควัตถุที่สามารถแบ่งได้สองกลุ่มสี คือ สีเหลือง ได้แก่ [*S. vanoverburgii* × *S. affinis*] และ *S. affinis* ซึ่งสีดอกน่าจะเกิดจากรงควัตถุในกลุ่ม คาร์โรทีนอยด์ ตามการศึกษาโดย Lowry and Keong (1973) อ้างถึงใน Thammasiri (1984) ที่พบว่าสีเหลืองใน *S. aurea* เกิดจากรงควัตถุชนิดนี้ ส่วน chalcone and aurone ซึ่งเป็นฟลาโวนอยด์ที่ให้สีเหลืองในแคทลียานั้นให้สีเหลืองอ่อน (Thammasiri, 1984) เนื่องจากสีเหลืองใน *Spathoglottis* เป็นสีเหลืองที่สดใสน่าจะเป็นรงควัตถุในกลุ่มคาโรทีนอยด์ และรงควัตถุกลุ่มที่สอง คือ กลุ่มสีชมพูอมม่วงใน *S. plicata* น่าจะเป็น ฟลาโวนอยด์ ชนิด ไซยานิดีน และ พีโอนิดีน ดังที่เคยมีการศึกษาใน *Dracula chimaera* (Fossen *et al.* 2003) และในสกุลหวาย พบว่าชนิดของดอกที่มีสีชมพูหรือชมพูอมม่วง พบรงควัตถุส่วนใหญ่เป็น ไซยานิดีน และพบร่วมกับพีโอนิดีนในปริมาณน้อย (Kuehnle *et al.* 1997) โดยการปรากฏของแอนโทซายานิน นั้นใน *Dendrobium* spp. พบทุกชั้นเซลล์ ในดอกสีเข้ม และในดอกสีอ่อนพบเฉพาะเซลล์ อีพิเดอมิส (Mudalige, 2003) โดยต้นสีขาว เป็น *S. plicata* var. *alba* ต้นสีขาวเป็นต้นที่เกิดจากการผสมตัวเองของต้นสีขาว แล้วได้ลูกสี

ขาวทั้งหมดแสดงว่าสภาพยีนที่ควบคุมสีภายในต้น น่าจะอยู่ในสภาพด้อยทุกตำแหน่ง ลูกผสมที่เกิดจากพ่อแม่ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ส่วนหนึ่งมีสีที่แตกต่างจากพ่อแม่เกิดสีใหม่คือกลุ่ม สีแดงและสีส้ม ซึ่งความหลากหลายของสีน่าจะขึ้นอยู่กับยีนของ *S. plicata* เพราะเมื่อใช้ต้นสีขาวเป็นคู่ผสม ลูกผสม มีความหลากหลายต่ำแต่เมื่อใช้ต้นสีม่วงเป็นคู่ผสม ลูกมีการกระจายตัวออกเป็นสีม่วงอมชมพู สีม่วงอมแดง สีแดงอมส้ม และสีส้ม ซึ่งสภาพ heterozygous ของยีนในพืชทดลองโดยเฉพาะ *S. plicata* ซึ่งมีการแสดงออกของยีนควบคุมสีกลีบดอกสองตำแหน่งคือ P และ T ตามที่อธิบายไว้ใน Arditti (1992)

**การทดลองที่ 2** จากการศึกษาจำนวนโครโมโซม ของกล้วยไม้ *Spathoglottis* มีชนิดที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=38 จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *S. hardingiana S. kimballiana* และ *S. vanoverburgii* จำนวนโครโมโซมเท่ากับที่ จุฑาธิป (2551) เคยศึกษาไว้ ส่วน ชนิดที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=40 มี 3 ชนิด ได้แก่ *S. affinis S. plicata* และ *S. petri* จำนวนโครโมโซม ของ *S. plicata.*และ *S. affinis* มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับที่ Lim (1985) รายงานไว้

จากการศึกษาจำนวนโครโมโซมของลูกผสมระหว่าง *S. vanoverburgii* × *S. affinis* ต้นคัดเลือกที่มีสีเหลือง ซึ่งเป็นโคลนที่คาดว่าจะมีระดับชุดโครโมโซมเป็นโพลีพลอยด์ จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น กลีบดอกหนา ก้านสั้น และมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากกว่าค่าเฉลี่ยของประชากรจากคู่ผสมเดียวกัน และเมื่อนับจำนวนโครโมโซมปลายราก พบว่า มีจำนวนโครโมโซม 2n = 4x = 80 ซึ่งเป็นโพลีพลอยด์ เมื่อนำมาผสมกับ *S. plicata* ซึ่งจากการศึกษาพบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n = 2x = 40 ซึ่งเป็นดิพพลอยด์ ได้ลูกผสมเป็น ทริพพลอยด์ มีจำนวนโครโมโซม 2n=3x=60 ซึ่งเป็นไปตามคาดหมายและจากการศึกษาในกล้วยไม้สกุลหวายโดย Kamemoto *et al.* (1999) ที่กล่าวว่าเมื่อผสม ต้นเตตร้าพลอยด์ และต้นดิพพลอยด์ ได้ลูกผสมที่เป็นทริพพลอยด์ทั้งหมด อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาจำนวนโครโมโซม ของ *S. vanoverburgii* ต้นที่ใช้ศึกษา มีจำนวนโครโมโซม 2n = 38 เมื่อผสมกับ *S. affinis* น่าจะได้ ลูกผสมที่มีจำนวนโครโมโซม 2n = 39 ต้นเตตร้าพลอยด์น่าจะมีโครโมโซม 2n = 4x = 78 การที่ต้นที่ศึกษามีโครโมโซม 2n = 4x = 80 อาจเกิดมาจากต้นที่ใช้สร้างคู่ผสมจริง เมื่อปี 2543 ซึ่งเป็นการผสมโดยผู้ทำวิจัยเองอาจใช้ *S. vanoverburgii* ที่มีระดับชุดโครโมโซม 2n = 40 ในการผสม ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้ชนิดนี้ในจำนวนตัวอย่างที่มาก และหลากหลายขึ้นในอนาคต

ลูกผสมสายพันธุ์ ที่มีจำนวนโครโมโซมเป็นเตตร้าพลอยด์ 2n=4x=80 คือ *S. vanoverburgii* × *S. affinis* และ ทริพพลอยด์ 2n = 3x = 60 คือ [*S. vanoverburgii* × *S. affinis*] × *S. plicata* ซึ่งต้นที่เป็น เตตร้าพลอยด์ นั้นเป็นต้นที่มีความสำคัญในการนำไปพัฒนาพันธุ์ต่อ เนื่องจากมีลักษณะดอก

หนา ก้านตรง สีเข้ม จึงเหมาะที่จะนำไปพัฒนาพันธุ์ต่อแต่อย่างไรก็ตามพบว่ากล้วยไม้โคลนนี้ มีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้าเมื่อเปรียบเทียบกับกล้วยไม้ดินที่มีจำนวนโครโมโซม เท่ากับกล้วยไม้ทั่วไป จึงจำเป็นต้องเลือกคู่ผสมที่เหมาะสมมาผสมเพื่อพัฒนาสายพันธุ์โพลีพลอยด์ในกล้วยไม้ดินต่อไป การพัฒนาต้นทริพพลอยด์แสดงให้เห็นว่า ทริพพลอยด์เป็นต้นที่มีสีสันสวยงาม ขนาดดอกโตกว่าพ่อและแม่ เหมาะแก่การนำไปใช้งานในแง่ไม้ประดับ ต่อไป

**การทดลองที่ 3** ในการศึกษาความมีชีวิตของเมล็ด กล้วยไม้ดิน พบว่า กล้วยไม้ดินที่ผสมตัวเองมีเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเมล็ดมากที่สุด และเมื่อนำไปผสมข้ามกับชนิดอื่นค่าเปอร์เซนต์ความมีชีวิตของเมล็ดลดลง และมีค่าความแปรปรวนทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของ *Spathoglottis* ที่นำมาผสมพันธุ์ ยังสามารถให้เมล็ดที่มีชีวิต ที่แตกต่างกัน ที่ 20-45 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง *S. plicata* และ *S. affnis* แม้จะมีจำนวนโครโมโซม 40 เท่ากัน เมื่อนำไปผสมข้ามชนิดกับชนิดที่มีจำนวนโครโมโซม 2n = 40 เหมือนกันกลับให้เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเมล็ดน้อยกว่าเมื่อนำไปผสมข้ามกับชนิดที่มีจำนวนโครโมโซม 2n = 38 ซึ่งแสดงว่า การใช้จำนวนโครโมโซมเป็นเครื่องบอกความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของพืชกล้วยไม้ดินอาจได้ผลต่ำ ดังเช่นที่มีการศึกษาในฟาแลนนอฟซิสโดย Lin *et. al.* 2005 โดยการวัดปริมาณดีเอ็นเอควบคู่กับการศึกษาการเข้าคู่กันของโครโมโซมด้วยเทคนิค Genomic *in situ* hybridization (GISH) พบว่าปริมาณดีเอ็นเอของฟาแลนอพซิสหลายชนิดที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=38 สามารถแบ่งกลุ่มออกได้เป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มที่มีขนาดจีโนมขนาดใหญ่ประมาณ 13-15 พิโคกรัมและขนาดเล็ก ประมาณ 3-5 พิโคกรัม และยังพบว่าฟาแลนอพซิสที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันแต่มีขนาดจีโนมอยู่คนละกลุ่มกันมีการเข้าคู่กันของโครโมโซมที่ผิดปรกติมากกว่าฟาแลนนอฟซิสที่มีขนาดจีโนมใกล้เคียงกัน และจากการผสมพันธุ์กล้วยไม้หลายพันธุ์ในฤดูกาลเดียว เนื่องจาก กล้วยไม้เหลืองพิสมร จะบานในช่วงเดือนตุลาคม – ธันวาคมเท่านั้น ซึ่งกล้วยไม้บางชนิดอาจมีความสมบูรณ์พันธุ์สูงสุดในฤดูกาลอื่นซึ่งมีอากาศที่อบอุ่น หรือความชื้นสูงกว่า อาจให้ผลของการทดลองแตกต่างกันออกไป ซึ่งต้องมีการศึกษา ฤดูกาลที่เหมาะสมในการผสมพันธุ์ หรือการเก็บเกสรกล้วยไม้ดินเพื่อผสมในฤดูกาลอื่นๆ ต่อไป