บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

หน้าวัว (*Anthurium* spp.) เป็นพืชตระกูล Araceae หรือ Arum family เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอย่างหนึ่ง ในปัจจุบันมีการปลูกเป็นการค้าเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก หน้าวัวมีทั้งชนิดไม้ตัดดอก เช่น พันธุ์ทรอปฟิกานา ทรอปิคอล พันธุ์ผกามาศ พันธุ์จักรพรรดิ์ พันธุ์เปลวเทียน ภูเก็ต พันธุ์ดวงสมร และชนิดไม้กระถาง เช่น พันธุ์วาเลนติโน พันธุ์โซเน็ต เป็นต้น (วชิรพงศ์, 2545) ในสายพันธุ์ไทยดอกมีความสวยงามและมีอายุการใช้งานได้นานไม่แพ้สายพันธุ์ต่างประเทศ อีกทั้งยังเหมาะกับสภาพภูมิอากาศในประเทศ การดูแลไม่ยุ่งยาก นับเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจไม่แพ้กัน การขยายพันธุ์หน้าวัวทำได้ทั้งวิธีการใช้เมล็ด การแยกหน่อหรือตัดหน่อ การใช้ส่วนต่างๆ ของลำต้นไปขยายพันธุ์ (วิชิต, 2535) รวมถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งเป็นวิธีที่สามารถผลิตต้นได้จำนวนมากในระยะเวลาสั้น วิธีนี้มักจะใช้กับพันธุ์ที่ผลิตเพื่อการค้า นอกจากนี้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชยังเข้ามามีบทบาทอย่างมากในด้านต่างๆ เช่น การผลิตพืชปลอดโรค การปรับปรุงพันธุ์พืช การผลิตยาและสารเคมีจากพืช การเก็บรักษาพันธุ์พืช เป็นต้น จากประโยชน์เหล่านี้หากสามารถนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื่อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์มาประยุกต์ใช้เพื่อประโยชน์ด้านอื่นจะสามารถพัฒนาอาชีพด้านเกษตรกรรมในประเทศได้อย่างมาก Pierik และคณะ (1974) ได้รายงานการขยายพันธุ์หน้าวัวด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยใช้เอ็มบริโอ และส่วนต่างๆของหน้าวัวที่ยังอ่อนอยู่ คือ ใบ ก้านใบ จานรองดอก และก้านช่อดอก มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ใช้ธาตุอาหารหลักที่มีความเข้มข้นเพียงครึ่งหนึ่ง และเติม BAP (6-(benzylamino)-9-(2-tetrahydropyranyl)-9H-purine) ความเข้มข้น 1 มก/ล เลี้ยงในที่มืด 12-16 สัปดาห์ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี แล้วจึงย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิม แต่เติม BAP ความเข้มข้น 0.1-1 มก/ล เลี้ยงในสภาพที่มีแสงและควบคุมอุณหภูมิ สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ Teng (1997) รายงานว่าปัจจัยที่สำคัญในการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีในการเพาะเลี้ยงหน้าวัว คือ แอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) หากใช้ระดับความเข้มข้นสูง 825 มก/ล จะชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี แต่ใช้ความเข้มข้นระดับต่ำ 206 มก/ล จะชักนำให้เกิดต้น ต่อมา Pierik และคณะ (1979) ได้รายงานว่า การใช้ใบอ่อนที่ยังไม่คลี่ของหน้าวัวเป็นส่วนดีที่สุดในการเพาะเลี้ยง และเนื้อเยื่อจากบริเวณเส้นกลางใบ

สร้างแคลลัสได้ดีกว่าบริเวณริมใบ เนื้อเยื่อจากปลายยอดของใบสร้างแคลลัสดีกว่าฐานใบ จากตัวอย่างการศึกษาเหล่านี้พบว่า มีการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้เหมาะสมต่อการผลิตพืชแต่ละชนิดเรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน จึงนับได้ว่าเป็นเทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพที่น่าสนใจวิธีหนึ่ง หากนำการใช้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนี้มารวมกับกระบวนการชักนำการกลายพันธุ์ในพืชเพื่อส่งเสริมความแปรผันและการผลิตพืชให้ได้ตามลักษณะที่ต้องการก็จะช่วยให้สามารถปรับปรุงพันธุ์ได้สะดวกและรวดเร็วยิ่งขึ้น โดยกระบวนการชักนำการกลายพันธุ์มีหลักการ คือ การนำเอาเซลล์ แคลลัส หรือพืชที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์ มาชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะไปจากเดิมอย่างฉับพลันโดยใช้สิ่งก่อกลายพันธุ์ (mutagens) เช่น รังสีแกมมา รังสีเอ็กซ์ ใช้สาร EMS (ethyl methanesulphonate) ไดเอทิลซัลเฟต (dES: diethyl sulphate) 5-โบรโมยูเรซิล (5-bromouracil) เป็นต้น การใช้สารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการชักนำการกลายพันธุ์ที่นิยมใช้มากที่สุด คือ EMS ตัวอย่างการใช้ EMS ในการชักนำการกลายพันธุ์ในไม้ดอกไม้ประดับ เช่น คาร์เนชั่น (Singh *et al*., 2000) กุหลาบ (Heslot, 1966 อ้างโดย Gottschaik and Wolff, 1983) ไม้ผล เช่น มังคุด (สมปอง และวิทยา, 2542) กล้วย (Bhagwat and Duncan, 1998; Omar *et al.*, 1989) และพืชอื่นๆ เช่น บาร์เลย์ (Zhu *et al*., 2003) *Camelina satina* (L.) (Nothdurft *et al*., 1998) เป็นต้น

ในการทดลองนี้ได้ศึกษาการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้สามารถผลิตหน้าวัวได้เป็นจำนวนมาก โดยเริ่มศึกษาตั้งแต่สูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโต ชิ้นส่วนเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยง การชักนำยอดให้ได้ปริมาณมาก ในหน้าวัว 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์เปลวเทียนภูเก็ต พันธุ์วาเลนติโน และพันธุ์โซเน็ต และการชักนำการกลายพันธุ์โดยใช้ EMS ในหน้าวัวพันธุ์โซเน็ต ควบคู่กับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อความสะดวกและรวดเร็ว ตลอดจนมีการตรวจสอบผลของการกลายพันธุ์โดยใช้เทคนิคไอโซไซม์ เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ประโยชน์ได้จริงในอนาคตและยังเป็นความรู้เบื้องต้นในการพัฒนาและประยุกต์การปรับปรุงพันธุ์ในหน้าวัวและพืชอื่นๆ ต่อไป

ตรวจเอกสาร

หน้าวัว (*Anthurium andraeanum* L.) เป็นพืชที่อยู่ในสกุล *Anthurium.* วงศ์ Araceae (Arum family) ชื่อภาษาอังกฤษคือ Flamingo flower หรือ Tailflower แต่ส่วนใหญ่นิยมเรียกกันว่า Anthurium. (วชิรพงศ์, 2545) หน้าวัวเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ไม่มีเนื้อไม้ มีอายุหลายปี เป็นต้นเดี่ยวหรือแตกกอ ลำต้นสั้น หรือยืดยาวคล้ายเป็นไม้เลื้อย มีทั้งชนิดหน้าวัวดอก และหน้าวัวใบ (วิชิต,

2535) ปรานอม (2517) รายงานจากการศึกษาพฤติกรรมของโครโมโซมในการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีสของหน้าวัว 11 สายพันธุ์ พบว่าหน้าวัวทั้ง 11 สายพันธุ์นี้มีโครโมโซม 2n =2x = 30 ดังนั้นจึงอาจคาดได้ว่าหน้าวัวสายพันธุ์อื่นๆ น่าจะมีจำนวนโครโมโซมเช่นเดียวกัน จากการที่หน้าวัวแต่ละสายพันธุ์มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน จึงสามารถทำการผสมระหว่างพันธุ์ต่างๆได้อย่างกว้างขวาง ดังนั้นจึงได้หน้าวัวลูกผสมพันธุ์ต่างๆ มากมายในปัจจุบัน การปลูกหน้าวัวได้แพร่กระจายเข้ามาในประเทศไทยสมัยรัชกาลที่ 5 ดอกหน้าวัวมีลักษณะพิเศษดีเด่นกว่าไม้ดอกหลายชนิด คือ ออกดอกได้ตลอดปี บานทน มีอายุการใช้งานนาน สีสันสวยงาม บางครั้งเรียกว่า “ดอกไม้พลาสติก” นอกจากนี้ยังเป็นไม้ดอกที่ทำรายได้ให้แก่ประเทศไทยได้เท่าเทียมกล้วยไม้ ปัจจุบันเกษตรกรผู้ปลูกหน้าวัว สามารถสร้างรายได้จากการปลูกได้เกือบ 1 ล้านบาท/ไร่/ปี ดอกมีราคาตั้งแต่ 5–20 บาท/ดอก ใบมีราคา 2–5 บาท/ใบ (องค์การเกษตรกรในอนาคตแห่งประเทศไทย หน่วยเพชรบูรณ์, 2545) การขยายพันธุ์หน้าวัวทำได้ทั้งวิธีการใช้เมล็ด การแยกหน่อ และการใช้ส่วนต่างๆไปขยายพันธุ์ รวมไปถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งเป็นวิธีที่สามารถผลิตต้นได้เป็นจำนวนมาก ในระยะเวลาสั้น นิยมใช้ผลิตกันเพื่อการค้า (วชิรพงศ์, 2545)

1. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

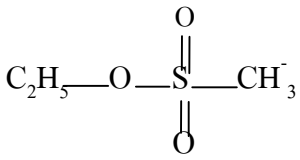
Pierik และคณะ(1974) เริ่มศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของหน้าวัวโดยใช้เอ็มบริโอ และส่วนต่างๆ ที่ยังอ่อนอยู่ เช่น ใบ ก้านใบ จานรองดอก และก้านช่อดอก บนอาหารสูตรดัดแปลง MS เติม BAP ความเข้มข้น 1 มก/ล พบว่า สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี และการใช้ใบอ่อนที่ยังไม่คลี่ ในตำแหน่งบริเวณเส้นกลางใบจะสร้างแคลลัสได้ดีกว่าบริเวณขอบใบ Teng (1997) รายงานว่าแอมโมเนียมไนเตรทเป็นปัจจัยที่สำคัญในการชักนำให้เกิดการแตกหน่อจากแคลลัสของหน้าวัว หากใช้แอมโมเนียมไนเตรท ความเข้มข้น 825 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีและใช้แอมโมเนียมไนเตรท ความเข้มข้น 206 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ดี สมปอง และคณะ (2545) ศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆ คือ ก้านใบ ใบ จานรองดอก และปลีดอกของหน้าวัว 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ทรอปฟิกานา พันธุ์แชมเปญ และพันธุ์ดวงสมร บนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MMS เติม BA ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้นเท่ากัน 0.5 มก/ล พบว่า สายพันธุ์ทรอปฟิกานาสามารถชักนำแคลลัสในทุกชิ้นส่วนเฉลี่ยได้ดีที่สุด 82% จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆ เพื่อชักนำแคลลัส พบว่า ชิ้นส่วนก้านใบให้เปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัสได้สูงสุดคือ 82% รองลงมาคือ แผ่นใบ (57%) ปลีดอก (55%) และจานรองดอก (18%) นอกจากนี้สารควบคุมการเจริญเติบโตยังมีผลต่อลักษณะ

แคลลัสด้วยเช่นกัน ชะอ้อน (2531) อ้างโดย สมปอง และคณะ (2545) รายงานว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของหน้าวัวโดยใช้ใบอ่อนที่ยังไม่คลี่ของหน้าวัวพันธุ์ double spathe บนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS เติม NAA (α-Naphthaleneacetic acid) และ BA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 เดือน พบว่า แคลลัสพัฒนาแตกต่างกันคือ การเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA ได้แคลลัสชนิดร่วน (friable callus) หากเป็นอาหารที่เติม BA แคลลัสจะมีลักษณะแข็งและมีแนวโน้มพัฒนาเป็นยอดต่อไป อรพินและกิตติภัฏ (2543) รายงานจากการศึกษาการเพาะเลี้ยงใบของหน้าวัวบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มก/ล สามารถชักนำยอดได้ดี และหากมีการเติม BA Zeatin และ Kinetin อย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้ง 3 ควบคู่กันในอาหารสูตร MS ที่ระดับความเข้มข้น 1 มก/ล จะส่งเสริมให้เกิดหน่อจากแคลลัสได้ดี หากเติม NAA อย่างเดียวที่ระดับความเข้มข้น 3 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสชนิดร่วน Kuehnle และ Sugii (1991) พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบจานรองดอก และปลีของหน้าวัวบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตคือ 2,4-D และ BA ชักนำให้เกิดกระบวนการโซมาติกเอ็มบริโอเจนีซิส Teng (1997) พบว่า การขยายพันธุ์หน้าวัวโดยการเขย่าเลี้ยงในอาหารเหลว ชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ดีกว่าการเลี้ยงบนอาหารแข็ง

2. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้ EMS

การชักนำการกลายพันธุ์มีหลักการ คือ การนำเอาเซลล์ แคลลัสหรือต้นที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์มาชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะไปจากเดิมอย่างฉับพลันโดยใช้สิ่งก่อกลายพันธุ์ (mutagens) ไม่ว่าจะเป็นวิธีทางฟิสิกส์ หรือการใช้สารเคมี โดยวิธีทางฟิสิกส์ เช่น การใช้รังสีแกมมา รังสีเอ็กซ์ การใช้ความร้อน เป็นต้น หากเป็นการใช้สารเคมี ได้แก่ EMS ไดเอทิลซัลเฟต โบรโมยูเรซิล เป็นต้น การใช้สารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการเหนี่ยวนำการกลายพันธุ์ก็สามารถชักนำการกลายพันธุ์ได้หลากหลายเช่นกัน โดยสารเคมีที่นิยมใช้มากที่สุด คือ EMS

EMS จัดอยู่ในสารพวก alkylating agents เป็นสารที่มีความเป็นพิษน้อยที่สุดมีสูตรทางเคมี คือ $CH_3SO_4OCH_5$ (ภาพที่ 1) (Sega, 1984) ประกอบด้วยหมู่เอทิล 1 กลุ่ม (C_2H_5; ethyl group) เป็นของเหลวใส ไม่มีสี มีความหนาแน่น (ก/มล) 1.203 มีจุดเดือด 85-86°C ที่ความดัน 10 มม ของปรอทมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 124.4 ละลายน้ำประมาณ 8% (สิรนุช, 2540)



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ EMS
ที่มา : สิรนุช (2540)

การเกิดปฏิกิริยา alkylation ของ EMS เกิดโดยหมู่เอทิลของ EMS แลกเปลี่ยนไอออนกับโมเลกุลของนิวคลีโอไทด์ ซึ่งทำปฏิกิริยากับเบสพิวรินและเบสไพริมิดิน ตลอดทั้งหมู่ฟอสเฟต แต่เกิดปฏิกิริยามากที่สุดในตำแหน่งของ N-7 ของเบสกัวนีน หลังทำปฏิกิริยาแล้วกลายเป็น 7-เอทิลกัวนิน (7- ethylguanine) หรือเรียกว่า แอลคิเลเตดกัวนิน (alkylated guanine) นอกจากนี้ EMS ยังก่อให้เกิดความเสียหายต่อนิวคลีโอไทด์ (DNA) ในตำแหน่งต่างๆ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลของการใช้ EMS ต่อความเสียหายของ DNA ภายหลังการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์

ตำแหน่งที่เกิดกระบวนการ Ethylation		การเปลี่ยนแปลงไปของ DNA (%)
เบสกัวนีน		
	N-7	65
	O^6	2
	N-3	0.9
เบสอะดีนีน		
	N-3	4.9
	N-1	1.7
	N-7	1.1
เบสไทมีน		
	O^2	ไม่ทำลาย
	O^4	ไม่ทำลาย
	N-3	ไม่ทำลาย

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ตำแหน่งที่เกิดกระบวนการ Ethylation	การเปลี่ยนแปลงไปของ DNA (%)
เบสไซโทซีน	
N-3	0.6
O^2	ไม่ทำลาย
หมู่ฟอสเฟต	13

ที่มา : Sega (1984)

3. การตรวจสอบทางลักษณะทางสัณฐาน

ในการตรวจสอบความแปรผันจากการกลายพันธุ์ สามารถตรวจสอบได้จากลักษณะทางสัณฐาน (morphology) ซึ่งเป็นข้อมูลแรกที่สามารถสังเกตได้ง่ายและเห็นได้ชัดเจน โดยลักษณะเหล่านี้ถูกถ่ายทอดทางพันธุกรรมผ่านยีนบนโครโมโซมตามกฎของเมนเดลภายหลังการชักนำการกลายพันธุ์ ลักษณะที่ปรากฏเป็นผลที่มาจากการเปลี่ยนแปลงข้อมูลที่เป็นองค์ประกอบทางจีโนไทป์ (genotype) ที่ควบคุมลักษณะนั้นๆ เช่น ลักษณะของลำต้น ใบ ดอก การขาดคลอโรฟิลล์ และลักษณะของผลหรือเมล็ด เป็นต้น Koh และ Davies (2001) ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของ *Tillandsia fasciculate* ที่ผ่านการชักนำการกลายพันธุ์โดยใช้ EMS พบว่า ภายหลังตรวจสอบความแปรผันแสดงอาการด่างทั้งชนิดด่างเป็นบางส่วน (sectorial chimera) และด่างกระจายทั่วใบ (mericlinal) ในหน่วยทดลองที่จุ่มแช่เมล็ดด้วย EMS เข้มข้น 1.2% นาน 22 ชั่วโมง ส่งผลให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีลดลง นอกจากนี้ในการศึกษาของ Latado และคณะ (2004) พบว่า ภายหลังการนำชิ้นส่วนก้านดอกที่ยังอ่อนของดอกเบญจมาศมาจุ่มแช่ในสารละลาย EMS เข้มข้น 0.77% (ปริมาตร/ปริมาตร) นาน 1 ชั่วโมง แล้วนำไปเพาะเลี้ยงต่อมาพบว่า สีของดอกเบญจมาศที่ได้มีอาการด่างและบางดอกมีสีที่เปลี่ยนแปลงไป

ลักษณะทางสัณฐานที่ปรากฏออกมานอกจากเป็นผลของจีโนไทป์ บางลักษณะที่แสดงออกมาอาจเป็นผลร่วมกันระหว่างจีโนไทป์กับสภาพแวดล้อมด้วย นอกจากนี้การใช้วิธีการดังกล่าวในการตรวจสอบต้องใช้เวลานานอาจต้องรอถึงระยะออกดอกหรือติดผล ดังนั้นจึงมีการตรวจสอบความแปรผันด้วยวิธีการอื่นควบคู่ไปด้วยเพื่อเป็นการยืนยัน และร่นระยะเวลาการตรวจสอบความแปรผันให้สั้นลง

4. การตรวจสอบความแปรผันทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคไอโซไซม์

การตรวจสอบทางชีวเคมีหรือการตรวจสอบความแปรผันของโปรตีนและเอนไซม์ โดยสังเกตจากลักษณะของชนิด ตำแหน่ง และโครงสร้างของสารประกอบโปรตีนและเอนไซม์ในพืชนั้น (สมปองและราตรี, 2542) เป็นการตรวจสอบเพื่อยืนยันผลจากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐาน เช่นใบ ดอก ผล รูปร่างลำต้น ขนาดและรูปร่างของปากใบ เป็นต้น ซึ่งลักษณะโครงสร้างดังกล่าวอาจแปรผันไปเนื่องจากปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมของพืชกับสิ่งแวดล้อม (เกศิณี, 2528) Markert และ Moller (1959) ศึกษารูปแบบของเอนไซม์ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิดพบว่า ในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด แต่ละเนื้อเยื่อหรือแต่ละเซลล์นั้นมีรูปแบบของเอนไซม์ที่จำเพาะซึ่งเป็นที่มาของคำว่า ไอโซไซม์

ไอโซไซม์ (isozyme) คือ เอนไซม์ (enzyme) ที่มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้น (subtrate) ตัวเดียวกันจึงเร่งปฏิกิริยาเดียวกัน ในสิ่งมีชีวิตเดียวกัน แต่มีรูปแบบของโมเลกุล และคุณสมบัติบางประการที่ต่างกันโดยมีสาเหตุสำคัญมาจากพันธุกรรมที่แตกต่างกัน (วิไลวรรณและอมรรัตน์, 2533; มนตรีและคณะ, 2542) ความแตกต่างของโมเลกุลในเอนไซม์นี้มีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพการทำงานของไอโซไซม์หรือเอนไซม์ด้วย (Freeling, 1983) ไอโซไซม์เป็นตัวบ่งชี้ตัวหนึ่งที่ใช้ในการศึกษาทางพันธุกรรม วิวัฒนาการ และกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ในสิ่งมีชีวิต โดยด้านพืชสามารถใช้เทคนิคไอโซไซม์เป็นดัชนีระบุความแปรผันทางพันธุกรรม สายพันธุ์ การตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ และการวินิจฉัยโรคพืชต่างๆ (พรรณี, 2543) ในการตรวจสอบความแปรผันทางพันธุกรรมโดยเทคนิคไอโซไซม์ต้องอาศัยการทำอิเลคโตรโฟริซีสซึ่งอาศัยหลักการที่สำคัญคือ ไอโซไซม์เป็นโพลีเพพไทด์ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโนที่เรียงลำดับกัน โดยลำดับอะมิโนนี้ถูกแปลรหัสมาจากหน่วยพันธุกรรมบนสายนิวคลีโอไทด์ที่ถูกชักนำให้เกิดความแปรผันจากการชักนำการกลายพันธุ์เป็นผลให้ไอโซไซม์ประกอบด้วยกรดอะมิโนแตกต่างกันเช่น ขนาดประจุสุทธิ และรูปร่างของโมเลกุล ดังนั้นเมื่อนำไอโซไซม์มาแยกบนตัวกลางที่เหมาะสมภายในสนามไฟฟ้า โมเลกุลของ ไอโซไซม์จึงเคลื่อนที่ในอัตราที่ต่างกัน โดยไอโซไซม์ที่มีประจุสุทธิมากกว่าเคลื่อนที่ได้เร็วกว่าไอโซไซม์ที่มีประจุน้อยกว่า (Doehlert and Duke, 1983) หลังจากนั้นจึงย้อมสีด้วยปฏิกิริยาจำเพาะสำหรับไอโซไซม์แต่ละชนิด ปรากฏแถบสีของเอนไซม์รูปแบบต่างๆ (Russell, 1994) แถบสีที่ปรากฏนี้เรียกว่า รูปแบบของไอโซไซม์ (isozyme petterns) สามารถนำมาเขียนเป็นแผนภาพที่เรียกว่า แถบเอนไซม์ (zymogram) ที่แยกความแตกต่างของพืชนั้นได้ (เพิ่มพงษ์, 2530 อ้างโดย ปราโมทย์และเกศิณี, 2543)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อการขยายพันธุ์ต้นหน้าวัวให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาที่รวดเร็วโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
2. เพื่อชักนำให้เกิดความแปรผันทางพันธุกรรมให้แตกต่างจากสายพันธุ์เดิม จากการใช้สารเคมีในการก่อกลายพันธุ์
3. เพื่อตรวจสอบการกลายพันธุ์โดยเทคนิคไอโซไซม์