บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ผักชีฝรั่ง (Eryngium) เป็นพืชล้มลุกหรือพืชผักที่มีอายุสั้น จัดอยู่ในวงศ์ Umbelliferae (Apiaceae) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Eryngium foetidum* Linn. มีชื่อเรียกตามท้องถิ่นหลายชื่อ เช่น ผักชีฝรั่ง ผักชีดอย หอมป้อมกุลา (ภาคเหนือ) ผักหอมเป (ภาคอีสาน) แมะและเด๊าะ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) เป็นผักพื้นบ้านที่คนไทยนิยมบริโภคและปลูกกันมานาน (กระทรวงสาธารณสุข, 2540) ผักชีฝรั่งเป็นผักพื้นเมืองในเขตร้อนของทวีปอเมริกาและอินเดียตะวันตก แม้ว่าในปัจจุบันจะมีการใช้ผักชีฝรั่งในด้านปรุงอาหารกันอย่างกว้างขวาง อาทิ ในแคริบเบียน ละตินอเมริกา และตะวันออกไกล (เช่น ญี่ปุ่น จีน ไทย เป็นต้น) แต่ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าผักชีฝรั่งมีความสำคัญอย่างไรในอเมริกาและประเทศอื่นๆ และบ่อยครั้งที่มีการเข้าใจผิดและเรียกชื่อผิดว่าเป็น cilantro หรือ coriander (*Coriandrum sativum* L.) เพราะชื่อจะคล้าย ๆ กัน บางครั้งชื่อสามัญก็บ่งบอกถึงลักษณะได้ เช่น Coriander จะมีหนามแหลมหรือเป็นฟันปลา shado beni (Trinidad และ Tobago) chadron benee (Dominica) , coulante (Haiti) , recaa (Puerto Rico) , Fit weed (Guyana) (Ramcharan,1999)

Willis (1960) กล่าวว่า ผักชีฝรั่งมีมากกว่า 20 ชนิดพบในเขตร้อนและเขตอบอุ่น เป็นพืชในกลุ่มสมุนไพร อายุ 2 ปี เป็นพืชล้มลุกที่นิยมปลูกเป็นพืชสวนครัวตามบ้าน

ผักชีฝรั่งเป็นพืชสมุนไพรที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในแคริบเบียน โดยพบว่าเพิ่งเริ่มมีความเกี่ยวข้องกับอาหารอเมริกัน แต่มีการใช้ในตะวันออกไกล ละตินอเมริกา มาอย่างยาวนาน และในเอเชียได้รับความนิยมอย่างมากในไทย มาเลเซีย และสิงคโปร์ โดยเฉพาะในอินเดียและเกาหลี ส่วนใหญ่ใช้เป็นเครื่องปรุงในการประกอบอาหารที่มีผักและเนื้อสัตว์เป็นองค์ประกอบหลัก เป็นเครื่องปรุงรส แม้จะใช้ในปริมาณที่น้อย แต่มีกลิ่นฉุน ทำให้อาหารนั้นมีกลิ่นเฉพาะตัวขึ้น จึงทำให้ผักชีฝรั่งเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคเป็นอย่างมาก

ข้อมูลของกองโภชนาการ กรมอนามัย โดย วรรณภา (2546) ได้วิจัยหาสารอาหารในผักชีฝรั่งพบว่า มีสารอาหารที่ให้พลังงาน 32 กิโลแคลอรี, โปรตีน 2.4 กรัม, ไขมัน 0.4 กรัม คาร์โบไฮเดรต 4.6 กรัม, แคลเซียม 21 มิลลิกรัม, ฟอสฟอรัส 22 มิลลิกรัม, เหล็ก 2.9 มิลลิกรัม, เบต้าแคโรทีน 876.12 RE , วิตามินซี 38 มิลลิกรัม, วิตามินบี1 0.31 มิลลิกรัม, วิตามินบี2 0.21 มิลลิกรัม และ ไนอาซีน 0.7 มิลลิกรัม

Honeychurch (1980) รายงานว่า ผักชีฝรั่งได้ถูกนำมาใช้ในด้านการเป็นยารักษาโรคไข้หวัดและอาการหนาวเย็น การอาเจียน โรคท้องร่วง และในประเทศจาไมก้า ใช้ในการรักษา

อาการชักกระตุกในเด็ก เนื่องจากมีอากาศเย็น ใบและรากสามารถนำมาต้ม ดื่มเฉพาะน้ำจะช่วยรักษาโรคปอดบวม ไข้หวัดใหญ่ โรคเบาหวาน อาการท้องผูก และไข้มาเลเรีย รากสามารถนำมารับประทานดิบ ๆ เพื่อรักษาพิษจากการถูกแมงป่องต่อย สำหรับในประเทศอินเดียนิยมใช้รากของผักชีฝรั่งรับประทานเพื่อบรรเทาอาการโรคกระเพาะอาหาร และใบนำมาใส่อาหารเพื่อเป็นการกระตุ้นให้รับประทานอาหาร

Mahabir (1991) กล่าวถึง ผักชีฝรั่งว่าเป็นพืชสมุนไพรที่เป็นสินค้านำเข้าที่สำคัญของสหรัฐอเมริกา เพราะมีผู้บริโภคเพิ่มมากขึ้น มีการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการปรุงอาหาร และได้มีการวิจัยถึงการป้องกันการออกดอก เพื่อจะเพิ่มผลผลิตทางใบให้ตรงกับความต้องการของตลาด มีการสนับสนุนให้มีการยืดเวลาหลังการเก็บเกี่ยวใบและการเก็บรักษาภายใต้สภาพที่หนาวเย็น เพื่อให้มีการส่งออกเพิ่มมากขึ้น โดยทั่วไปใช้ในการประกอบอาหารเป็นหลัก

จากรายงานของ Bautista *et al* (1988) พบว่า มีการส่งออกผักชีฝรั่งในลักษณะของใบสดจากเมืองทรินิแดดประเทศสเปน โดยจะเป็นการขนส่งสินค้าทางอากาศมากถึง 2.4 ตันต่อสัปดาห์ ไปยังประเทศสหรัฐอเมริกา ในประเทศเปอโตริโก มีการรายงานเกี่ยวกับผลผลิตของผักชีฝรั่งสูงถึง 165,000 กิโลกรัมต่อปี คิดเป็นมูลค่าประมาณ 201,000 ดอลลาร์สหรัฐ

สำหรับในประเทศไทย วรรณภา (2546) กล่าวว่า มีการขยายพื้นที่ปลูกเป็นจำนวนมากในเขตภาคกลางหลายจังหวัด เช่น นครสวรรค์ นครปฐม ราชบุรี โดยเฉพาะที่ อ. นครชัยศรี จ. นครปฐม ปัจจุบันกลายเป็นแหล่งปลูกผักชีฝรั่งและผลิตเมล็ดพันธุ์แหล่งใหญ่ โดยเมล็ดพันธุ์ผักชีฝรั่งขายในกิโลกรัมละ 2,500 บาท ปลูกในพื้นที่ 1 ไร่ สามารถเก็บเมล็ดพันธุ์ได้ 20 กิโลกรัมหรือมีรายได้ประมาณไร่ละ 50,000 บาท ในด้านของผลผลิตผักสดพบว่าพื้นที่ 1 ไร่ สามารถเก็บผลผลิตได้ 1,500-2,000 กิโลกรัม จำหน่ายในราคา 15-42 บาท ในขณะที่ชูสิทธิ์และวรนุช (2544) ได้รายงานเกี่ยวกับราคาของผลผลิตในด้านผักสดของผักชีฝรั่งว่าขึ้นอยู่กับช่วงฤดูกาล โดยจะจำหน่ายได้ราคาสูงในช่วงฤดูหนาว และฤดูฝน คือประมาณเดือนพฤศจิกายน ถึงธันวาคม และช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนมิถุนายน

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ศุภางค์ (2544) ได้กล่าวว่า จากการจำแนกลักษณะทางพฤกษศาสตร์ โดยอาศัยรูปทรงของลำต้นเป็นเกณฑ์ พบว่าผักชีฝรั่งมีการแตกกิ่งก้านสาขาแยกออกไปทีละ 2 กิ่งเท่า ๆ กัน โดยจะแตกกิ่งแยกออกไปทีละ 2 กิ่งเรื่อย ๆ ไป ลำต้น มีลักษณะสั้นอยู่ในระดับผิวดิน

ราก เป็นระบบรากแก้ว (Tap root) มีรากแขนงและรากฝอยเจริญร่วมด้วย

ใบ เป็นใบเดี่ยวเวียนรอบลำต้น ออกเป็นกระจุกแบบกุหลาบซ้อน (rostte) ใบเป็นรูปหอกกลับ (oblanceolate) ขอบใบเป็นหยัก มีหนามแบบฟันเลื่อย (serrate) ส่วนปลายใบแหลม ใบสีเขียว เป็นมันเงา (Rubatzky *et al* , 1999)

ดอก ก้านช่อดอกออกบริเวณกลางกอ ช่อดอกเป็นแบบช่อซี่ร่ม (umbel) มีใบประดับแบบรูปหอก (lanceolate) มีหนามเล็กน้อย กางออกและโค้งพับลงรองรับช่อ ในแต่ละช่อดอกมีดอกย่อยขนาดเล็กจำนวนมาก (floret) ดอกเป็นแบบสมบูรณ์เพศ มีกลีบเลี้ยง 5 แฉก เป็นแบบรูปขอบขนานแกมรูปไข่ (ovate – oblong) ยาว 0.5 – 0.75 มิลลิเมตร สีเขียว กลีบดอกมี 5 กลีบ สีขาว เกสรเพศผู้มี 5 อัน อยู่ห่างจากวงกลีบดอก มีก้านชูอับเรณูสีขาว เกสรเพศเมียเป็นแบบเส้นด้าย มี 2 เส้น ไม่มีฐานเกสรเพศเมีย (de Guzman and Siemonsma, 1999)

ผล เมื่อแห้งเป็นแบบแยกแล้วแตก (schizocarp) ขนาด 1.5 x 0.75 มิลลิเมตร ผิวไม่เรียบ ผลประกอบด้วย 2 ซีก แยกออกจากกันได้เมื่อสุกแก่ ในแต่ละซีกของผลจะมีเมล็ดอยู่ภายใน โดยแต่ละซีกของผลมีขนาดเล็ก โดยมีความยาวมากกว่าความกว้าง (de Guzman and Siemonsma, 1999)

ปัจจัยในการผลิตเมล็ดพันธุ์ผักชีฝรั่ง

1. แสง

แสงเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการเจริญเติบโต และการออกดอก โดยอิทธิพลของแสงที่เกี่ยวข้องคือ ช่วงแสง ความเข้มของแสง และคุณภาพของแสง ซึ่งองค์ประกอบทั้ง 3 ส่วนของแสงมักจะมีผลกระทบต่อการออกดอกอย่างมีปฏิสัมพันธ์กัน (ดนัย, 2539) ช่วงแสงจะมีผลโดยตรงกับการออกดอก ซึ่งการชักนำให้พืชออกดอกโดยแสงนั้น จะต้องได้รับจำนวนรอบชักนำของแสงที่เพียงพอ และพืชแต่ละชนิดต้องการรอบชักนำที่ต่างกัน เมื่อพืชได้รับรอบชักนำของแสงที่มากพอจะมีการสร้างตาดอกขึ้น ถึงแม้ว่าหลังจากนั้นจะได้รับช่วงแสงที่ไม่เหมาะสมก็ตาม การสร้างตาดอกก็จะดำเนินต่อไป (สุรนันต์, 2526: วันชัย, 2542) สำหรับผักชีฝรั่งแม้ว่าจะเจริญได้ดีในที่มีแสงแดดจัด แต่ส่วนใหญ่ที่ใช้เป็นการค้าจะปลูกในพื้นที่ที่มีร่มเงา ทั้งนี้เนื่องจาก พื้นที่ที่มีร่มเงาสามารถทำให้ผักชีฝรั่งมีใบใหญ่ สีเขียวเข้ม มีลักษณะที่ดีและกลิ่นฉุนมากกว่า เป็นที่นิยมของตลาดโดย Santiago-Santos and Cedeno Maldonado (1991) ได้ศึกษาอิทธิพลของความหนาแน่นของแสงต่อการเจริญเติบโตและการออกดอกของผักชีฝรั่งพบว่า ต้นผักชีฝรั่งที่มีการเจริญเติบโตภายใต้ร่มเงาที่มีการพรางแสง 63-73% จะสามารถยืดเวลาในการออกดอกและทำให้น้ำหนักสดของใบเพิ่มขึ้น เสน่ห์ (2542) กล่าวว่าการปลูกผักชีฝรั่งต้องใช้ตาข่ายพรางแสงที่แสงสามารถส่องผ่านได้

60% ถ้าถูกแสงแดดจัด จะทำให้ต้นเหลือง แคระแกร็น ถ้าแสงน้อยจะทำให้ใบยืดยาวผิดปกติ น้ำหนักเบา และมีปัญหาโรคเน่า ส่วน Ramcharan (1999) กล่าวว่า ผักชีฝรั่งมีการเจริญเติบโตและออกดอกเพิ่มมากขึ้นภายใต้สภาพวันยาว ส่งผลให้มีการเจริญเติบโตในด้านของใบลดลง สำหรับการผลิตเมล็ดพันธุ์ควรปลูกในที่ร่มที่คลุมตาข่ายพรางแสงแล้วเปิดตาข่ายพรางแสงในช่วงที่พืชเริ่มออกดอกซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการออกดอกติดเมล็ด มากกว่าสภาพการเพาะปลูกในร่มที่คลุมตาข่ายพรางแสงตลอด ซึ่งมีผลทำให้การออกดอกและติดเมล็ดช้าลง และสภาพการปลูกกลางแจ้งที่ได้รับแสงตลอดวัน มีผลต่อการแทงช่อดอกเร็ว การติดเมล็ดไม่สมบูรณ์ เมล็ดมีน้ำหนักเบา เนื่องจากมีการเจริญเติบโตของต้นไม่สมบูรณ์

2. น้ำหรือความชื้น

น้ำเป็นตัวกลางในการละลายและลำเลียงธาตุอาหาร ฮอร์โมน วิตามิน และสารประกอบต่าง ๆ ทำให้พืชสามารถดูดไปใช้ได้ นอกจากนั้นยังเป็นตัวการที่ทำให้ขบวนการต่าง ๆ เกิดขึ้นเช่น ขบวนการคายน้ำ และขบวนการสังเคราะห์แสง ถ้าให้น้ำในปริมาณมากจะทำให้การเจริญเติบโตดี และทำให้ความเป็นกรดเป็นด่างของดินลดลง (Kong and Li, 1999) แต่ในการปลูกพืชควรจะต้องรู้ถึงความต้องการน้ำของพืช อย่างไรก็ตามในการให้น้ำแก่พืช ควรให้เหมาะสมกับช่วงระยะการเจริญเติบโต โดยในช่วงที่เพาะเมล็ด ควรมีความชื้นสม่ำเสมอ น้ำไม่ท่วมขัง ส่วนในระยะหลังจากย้ายปลูกแล้ว ควรรดน้ำตามทันทีเพื่อไม่ให้ต้นกล้าเหี่ยวเฉา (Laurie *et al.*, 1979) สำหรับในช่วงที่ออกดอก และการพัฒนาของเมล็ดนั้น น้ำมีความจำเป็นและมีความสำคัญมากหากขาดน้ำในระหว่างนี้จะทำให้ผลผลิตเมล็ดพันธุ์ลดลงมาก เนื่องจากเมล็ดมีขนาดเล็กลงเพราะในช่วงที่ขาดน้ำ ทำให้ช่วงเวลาในการสะสมน้ำหนักแห้งในเมล็ดสั้นลง และความชื้นของเมล็ดจะลดลงก่อนที่จะพัฒนาถึงระยะสุกแก่ นอกจากนั้นยังทำให้ความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดลดลง (วันชัย, 2542) สำหรับในผักชีฝรั่ง ควรให้น้ำ 3-5 วันต่อครั้ง ระวังอย่าให้มีน้ำขังหรือท่วม (ผักชีฝรั่ง, 2548ก)

3. สภาพภูมิอากาศ

พื้นที่ที่จะทำการผลิตเมล็ดพันธุ์ ควรจะมีสภาพภูมิอากาศดีเหมาะสมกับการปลูกพืชชนิดนั้น ๆ หลักการสำคัญในการผลิตเมล็ดพันธุ์ จะต้องมีการเตรียมพร้อมและวางแผนไว้อย่างดีเพื่อให้ได้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพดีและได้ปริมาณของผลผลิตสูง โดยเริ่มต้นจากการเลือกสภาพพื้นที่มีภูมิอากาศที่เหมาะสมและช่วงแสงพอเหมาะในการกระตุ้นการออกดอก สภาพอากาศต้องแห้งและมีความชื้นต่ำในช่วงเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์เพื่อให้ได้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพ ซึ่งพืชแต่ละชนิด มี

ความต้องการสภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกันไป แล้วแต่ชนิดพันธุ์และช่วงของการเจริญเติบโต (จวงจันทร์, 2521)

4. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน

ในการปลูกไม้ดอกเพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์นั้น จะใช้เวลาการปลูกนานกว่าการปลูกเพื่อใช้ประโยชน์จากดอก ดังนั้นสภาพดินจะต้องมีความอุดมสมบูรณ์สูง ระบายน้ำดี และมีระดับของน้ำใต้ดินที่เหมาะสม แปลงที่ปลูกพืชไม่ควรมีความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) สูงหรือต่ำเกินไป ก่อนปลูกควรมีการวิเคราะห์ดินทางเคมีก่อน เพื่อให้สามารถจัดการใส่ปุ๋ย และบำรุงดินให้เหมาะสมเนื่องจากดินเป็นปัจจัยสำคัญที่รากพืชเจริญเติบโต เพื่อหาน้ำและอาหาร ตลอดจนสร้างผลผลิต สภาพดินที่มีธาตุไนโตรเจนสูง จะมีผลทำให้การเจริญเติบโตในด้านกิ่งใบและราก การออกดอกช้าและอวบน้ำ (จวงจันทร์, 2529; จานุลักษณ์, 2541) อย่างไรก็ตามแม้ว่าผักชีฝรั่งจะสามารถเจริญเติบโตได้ดีในหลาย ๆ สภาพ แต่ผักชีฝรั่งจะเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ในดินร่วนปนทราย ที่มีอินทรียวัตถุสูง โดยเฉพาะในที่ที่มีแสง มีธาตุอาหารไม่มากเกินไป และควรมีธาตุไนโตรเจนสูงเพื่อส่งเสริมให้ใบมีการเจริญเติบโต

5. ปุ๋ยหรือธาตุอาหาร

ปุ๋ยเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโต และการดำรงอยู่จนครบชีพจักรของพืช และเป็นส่วนประกอบต่าง ๆ ในพืช นอกจากนั้นยังเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในขบวนการต่าง ๆ ทางสรีรวิทยาของพืช ตลอดจนเป็นวัตถุดิบที่พืชนำมาใช้ในการสร้างอาหาร เส้นใย เอ็นไซม์ ฮอร์โมน และวิตามินที่สำคัญทุกชนิด ทั้งทางตรงและทางอ้อม (สมชาย, 2535) ในการผลิตผักชีฝรั่งในประเทศไทย เสน่ห์ (2542) ได้แนะนำว่า หลังจากเมล็ดงอกแล้ว 1 เดือน จะให้ปุ๋ยสูตร 20-20-0 และ 46-0-0 ผสมกันอย่างละเท่า ๆ กัน หว่านให้ทั่วแปลง อัตรา 4-5 กก.ต่อไร่ แล้วรดน้ำตาม จากนั้นใส่ปุ๋ยสูตรเดิมอีกทุก 15 วัน และค่อย ๆ เพิ่มปริมาณต่อไร่ขึ้นเรื่อย ๆ

6. โรคแมลงที่สำคัญ

โรคแมลงที่พบในการปลูกผักชีฝรั่ง มีดังนี้คือ

- โรคไหม้ เกิดในฤดูร้อน ป้องกันโดยใช้สารเคมีพวกเบนเลท อัตรา 6-12 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นบริเวณที่เกิดโรค

- โรคโคนเน่า มักเกิดในฤดูฝน ป้องกันโดย ยกร่องให้สูง เพื่อระบายน้ำ หลังคาควรโปร่งเพื่อให้แสงส่องถึงใช้สารเคมีพวก แอนติโกร 2.1% อัตรา 30-60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดให้ทั่วบริเวณที่เกิดโรค

- หนอนกินใบ หนอนชนิดนี้จะกัดกินใบจนเหลือแต่ก้านใบ ถ้าระบาดมากจะทำความเสียหายทั้งแปลง โดยตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดเล็ก

- หอยทาก ป้องกันโดยใช้ปูนขาวโรยแปลง หรือบริเวณโคนต้น (ผักชีฝรั่ง,2548ข)

การพัฒนาการของดอก และเมล็ด

ในขณะที่มีการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโต จากระยะเจริญทางลำต้น (vegetative growth) ไปเป็นระยะการสืบพันธุ์ (reproductive growth) จะมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นหลายอย่าง โดยมีปัจจัยภายใน และสิ่งแวดล้อมภายนอก เข้ามามีส่วนเกี่ยวข้องมาก (นิตย์, 2541) เช่น การออกดอกของพืชตระกูลหญ้านั้น Gardner และ Loomis (1953) ได้แบ่งขั้นตอนการออกดอกเป็น 3 ระยะ คือ 1) ระยะชักนำ (floral induction) เป็นระยะที่พืชถูกชักนำให้สร้าง flowering stimulus เมื่อพืชได้รับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิ และช่วงแสง เป็นต้น 2) ระยะเกิดตาดอก (floral ignition) เป็นระยะที่ตายอดเปลี่ยนแปลงไปเป็นตาดอก (floral primordial) และ 3) ระยะพัฒนา (floral development) เป็นระยะที่ตาดอกเจริญ และพัฒนาขึ้นเป็นช่อดอกที่มีส่วนต่าง ๆ ครบถ้วนสมบูรณ์ สำหรับพัฒนาการของเมล็ดนั้น เป็นการเปลี่ยนแปลงลักษณะและคุณภาพของเมล็ด ได้แก่ ความชื้น ความงอก ความแข็งแรง น้ำหนัก ขนาด สี รูปร่าง โครงสร้างและส่วนประกอบทางด้านชีวเคมี ซึ่งการพัฒนาของเมล็ด แบ่งได้เป็น 3 ระยะได้แก่ 1) ระยะแบ่งเซลล์ (cell division) เป็นระยะที่คัพภะ และเอนโดสเปิร์มแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว 2) ระยะสะสมอาหาร (food reserve accumulation) เป็นระยะที่มีการสะสมอาหารให้ส่วนเก็บสะสมอาหาร ซึ่งน้ำหนักแห้ง (maximum dry weight) จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งถึงสูงสุด นิยมเรียกจุดนี้ว่า จุดสุกแก่ทางสรีรวิทยา หรือระยะแก่ทางสรีรวิทยา (physiological maturity) และ 3) ระยะเมล็ดแก่ (ripening stage) เป็นระยะที่เมล็ดสิ้นสุดการสะสมอาหาร และความชื้นลดลง ซึ่งเมล็ดพืชแต่ละชนิด ต้องการเวลาการพัฒนาเมล็ดจนถึงจุดสุกแก่ทางสรีรวิทยาต่างกัน แต่มีลักษณะที่แน่นอนทางสายพันธุ์ และสภาพแวดล้อมเดียวกัน โดยเฉพาะความชื้นเมื่อถึงจุดสุกแก่ทางสรีรวิทยา ส่วนใหญ่จะมีความชื้นประมาณร้อยละ 30 – 50 ดังนั้นระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาของเมล็ดจึงสามารถดูได้จาก 1) ระยะที่เมล็ดสะสมอาหารแห้งสูงสุด 2) อายุของเมล็ดหลังการผสมเกสร หรือหลังการออกดอก หรือหลังดอกบาน และ 3) ความชื้นของเมล็ด (วันชัย, 2542) สำหรับการพัฒนาของเมล็ดในพืชทั่วไปนั้น จะ

เริ่มตั้งแต่เกิดการปฏิสนธิ แล้วมีการพัฒนาและเจริญเติบโตเต็มที่ถึงระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา จะใช้เวลาในการพัฒนาที่แตกต่างกันตามชนิดของพืช

สำหรับการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเจริญเติบโต และการพัฒนาเมล็ดนั้น นงลักษณ์ (2528) ได้รายงานไว้ดังนี้

ความชื้นของเมล็ด ในระยะแรกของการพัฒนาไข่ขณะที่พร้อมผสมได้จะมีความชื้นประมาณร้อยละ 80 หลังการผสมแล้ว ในระยะการแบ่งเซลล์และพัฒนาต้นอ่อนจะมีความชื้นประมาณร้อยละ 90 ในระยะ 2 – 3 วันแรก ต่อมาจะค่อย ๆลดลง และจะลดลงในอัตราค่อนข้างรวดเร็วเมื่อเมล็ดพันธุ์กำลังสะสมอาหารจนถึงการสุกแก่ทางสรีรวิทยา ซึ่งตรงกับระยะเวลาที่เมล็ดพันธุ์มีน้ำหนักแห้งสูงสุด จะมีความชื้นประมาณร้อนละ 30 – 50 หลังจากนั้นความชื้นจะลดลงอย่างรวดเร็ว จนมีความชื้นประมาณร้อยละ 14 – 20 ในขณะเก็บเกี่ยว

น้ำหนักแห้งของเมล็ด หลังจากการปฏิสนธิแล้วเมล็ดจะมีน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นและมีอัตราการสะสมน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่ออยู่ในระยะสะสมอาหารจนกระทั่งเมล็ดถึงระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาจะมีน้ำหนักแห้งสูงที่สุด ขณะเดียวกันในระยะที่น้ำหนักแห้งสูงสุดนี้เป็นระยะที่มีการขนย้ายถ่ายเทอาหารจากส่วนต่าง ๆ ของลำต้นมาเก็บสะสมไว้ในเมล็ด ในระยะนี้อัตราการสร้างอาหารเท่ากับอัตราการใช้อาหาร

ขนาดของเมล็ด มีการพัฒนาคล้ายกับน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์ คือมีขนาดใหญ่สุดก่อนการสุกแก่ และมีขนาดเล็กลงเมื่อถึงระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา เนื่องจากเมล็ดมีความชื้นลดลง หลังจากนั้นเมล็ดจะมีการเปลี่ยนแปลงขนาดเมล็ดน้อยมาก

ความงอกหรือความมีชีวิตของเมล็ด หลังปฏิสนธิเมล็ดยังไม่สามารถงอกได้ แต่หลังจากมีการพัฒนาของต้นอ่อนจนได้อวัยวะที่สมบูรณ์แล้ว เมล็ดสามารถงอกได้ มีเปอร์เซ็นต์การงอกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุดก่อนในระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา หลังจากนั้นเปอร์เซ็นต์การงอกจะค่อย ๆ ลดลง โดยอัตราการลดลงของความงอก ขึ้นกับอัตราการเสื่อมคุณภาพ และสิ้นสุดการงอกเมื่อเมล็ดพันธุ์ตาย อย่างไรก็ตามเมล็ดพืชบางชนิด สามารถงอกได้ก่อนที่เมล็ดจะสุกแก่ทางสรีรวิทยา หรือหลังการปฏิสนธิไม่กี่วันเท่านั้น

ความแข็งแรงของเมล็ด สามารถวัดได้เมื่อเมล็ดงอก ดังนั้นจึงมีจุดเริ่มต้นและจุดจบพร้อมกับความงอก แต่ความแข็งแรงจะมีอัตราการเพิ่มขึ้นช้ากว่าอัตราความงอกและถึงจุดสูงสุดที่ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาเนื่องจากเป็นระยะที่มีการสะสมอาหารและสารเคมีที่สมบูรณ์ที่สุด หลังจากระยะนี้ไปแล้วเมล็ดพันธุ์จะเริ่มเสื่อมคุณภาพและมีความแข็งแรงลดลงในอัตราที่เร็วกว่าอัตราความงอก

การสุกแก่ของเมล็ด พืชแต่ละชนิดจะใช้เวลาในการพัฒนาและการสุกแก่ทางสรีรวิทยาแตกต่างกันไป ซึ่งระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนานี้จะเป็นตัวบ่งชี้ถึงระยะเวลาของการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมของพืชแต่ละชนิด ถ้าหากเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ในช่วงที่มีการพัฒนาของเมล็ดที่เหมาะสม คือเมล็ดมีการพัฒนาผ่านระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาแล้ว จะทำให้ได้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพสูง มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูง นอกจากนั้น จวงจันทร์ (2521) รายงานว่า หลังจากที่เมล็ดสุกแก่ทางสรีรวิทยาแล้ว เมล็ดจะเสื่อมคุณภาพลงเรื่อย ๆ จนกระทั่งเมล็ดตาย ซึ่งเป็นระยะที่เมล็ดเสื่อมคุณภาพสูงสุด ส่วนการเสื่อมจะช้าหรือเร็วเพียงใด ขึ้นกับสภาพแวดล้อมต่าง ๆ และตัวเมล็ดพันธุ์

การเก็บเกี่ยวผลผลิตเมล็ดพันธุ์พืช

ในการผลิตเมล็ดพันธุ์พืชโดยทั่วไปนั้น การตัดสินใจเลือกระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์นับว่าเป็นสิ่งที่มีความสำคัญ ทั้งนี้เนื่องจากถ้าเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์เร็วเกินไป จะได้เมล็ดพันธุ์ที่ด้อยคุณภาพ ผลผลิตต่ำ และมีอายุเก็บรักษาสั้น (Harrington, 1972) แต่ถ้าหากเก็บเมล็ดพันธุ์ล่าช้าเกินไป เมล็ดพันธุ์จะร่วงหล่นทำให้ได้ผลผลิตตกต่ำ (Hawthorn and Pollard, 1954) อย่างไรก็ตามระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์คือ ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา ซึ่งเป็นระยะที่เมล็ดมีน้ำหนักแห้งและเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุด (จวงจันทร์, 2529; Copeland, 1984) สำหรับเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวเมล็ด ทราบโดยการตรวจสอบระยะเวลาที่ให้ผลผลิตสูงสุด และได้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพดี อย่างไรก็ตามปัจจัยที่ทำให้เกิดการสุกแก่ของเมล็ดพันธุ์ มีทั้งปัจจัยภายในของพืชเองและปัจจัยจากสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิสูง ความชื้นของดิน และความชื้นสัมพัทธ์ จะเป็นตัวเร่งการสุกแก่ของเมล็ดพันธุ์ และทำให้ระยะการสุกแก่ทางสรีรวิทยาสั้นลง ในขณะที่ถ้าสิ่งแวดล้อมเหล่านี้มีมากกว่าปกติ จะเป็นสาเหตุทำให้ผลผลิตเมล็ดพันธุ์ลดลง และการสุกแก่ทางสรีรวิทยาไม่เหมาะสม George (1985)และ จวงจันทร์ (2521) รายงานว่า เมื่อเมล็ดเจริญและพัฒนาถึงระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา ซึ่งเป็นระยะที่น้ำหนักแห้งสูงที่สุด ถึงแม้ว่าสภาพการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการอาจยังไม่สมบูรณ์ แต่การสะสมองค์ประกอบต่าง ๆ ที่สำคัญ และจำเป็นภายในเมล็ดได้สิ้นสุดลงแล้ว ดังนั้นในทางทฤษฎี จึงสามารถเก็บเกี่ยวได้ตั้งแต่ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาเป็นต้นไป โดยทั่วไปในระยะนี้เมล็ดยังคงมีความชื้นสูง 50 – 60 เปอร์เซ็นต์แล้วแต่ชนิดพืช พันธุ์ และสภาพแวดล้อม นอกจากนั้นเนื้อเยื่อของท่อลำเลียงที่ขั้วเมล็ด ไม่สามารถทำหน้าที่ลำเลียงอาหารได้อีกต่อไป ทำให้ไม่มีอาหารจากต้นแม่เข้ามาสะสมในเมล็ด หลังจากจุดนี้ไป น้ำหนักแห้งของเมล็ดจะคงที่หรือลดลงเล็กน้อย ขึ้นอยู่กับ

ระดับความชื้นของเมล็ดและอุณหภูมิของอากาศ ในทางทฤษฎีการปล่อยเมล็ดให้อยู่บนต้นพืชต่อไป นอกจากผลผลิตจะไม่เพิ่มแล้ว เมล็ดอาจได้รับความเสียหายจากสาเหตุหลายประการ เช่น การแตกหักของฝัก การหักล้ม การงอกของเมล็ดบนต้น การทำลายของนก หนู และศัตรูอื่น ๆ การระบาดของโรค แมลง และสภาพดินฟ้าอากาศที่ไม่เหมาะสม จะเร่งการเสื่อมคุณภาพของเมล็ด ซึ่งการเก็บเกี่ยวที่ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยานี้สามารถหลีกเลี่ยงความเสียหายที่อาจเกิดขึ้นจากสิ่งเหล่านี้ได้ (วันชัย, 2542)

สำหรับผักชีฝรั่งดอกเริ่มบานเมื่อต้นมีอายุ 73-77 วัน และมีจำนวนดอกต่อต้นสูงสุดเมื่ออายุ 117-121 วัน หลังย้ายปลูก เมล็ดมีการสุกแก่ทางสรีรวิทยาที่ 40-50 วัน หลังดอกบาน โดยสีของเมล็ดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำ ส่วนการเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ควรเก็บเกี่ยวตั้งแต่ดอกชุดที่ 1-8 ซึ่งจะให้ปริมาณเมล็ดพันธุ์รวมสูงสุด (บุญส่ง และ สุเทวี, 2548)

คุณภาพของเมล็ดพันธุ์ (Seed Quality)

วัลลภ (2538) ได้อธิบายไว้ว่า คุณภาพของเมล็ดพันธุ์ หมายถึง ผลรวมของลักษณะต่าง ๆ ของเมล็ดทั้งกองและแต่ละเมล็ดที่แสดงออกมาร่วมกัน ได้แก่ ความสะอาด ความบริสุทธิ์และความแท้จริงของสายพันธุ์ ความงอก ความแข็งแรง ความชื้น การปะปนของเมล็ดวัชพืช ความชำรุดเสียหายของเมล็ดพันธุ์ อย่างไรก็ตาม วันชัย (2542) กล่าวว่า คุณภาพของเมล็ดมีความหมายครอบคลุมถึงความมีชีวิตและศักยภาพของเมล็ดพันธุ์ในการงอกและเจริญเติบโต ความมีชีวิตของเมล็ดแสดงออกโดยความงอกภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมและสมบูรณ์ นอกจากนั้นเมล็ดพืชหลังการเจริญเติบโตและพัฒนาถึงจุดที่สมบูรณ์แล้ว ย่อมเสื่อมสภาพและอ่อนแอลงจนกระทั่งตายไปในที่สุด โดยจุดสมบูรณ์สูงสุดของเมล็ดพืชนั้นอยู่ในระยะที่เมล็ดยังอยู่บนต้นแม่ นิยมเรียกว่าระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา ซึ่งระยะนี้เมล็ดจะมีความงอกและมีความแข็งแรงสูงสุดเกิดขึ้นมาจนกระทั่งปรากฏออกมาเป็นอาการต่าง ๆ เช่น การงอกช้าลง อ่อนแอต่อสภาพแวดล้อมระหว่างงอก หรือต้นกล้าที่งอกออกมามีอาการผิดปกติเป็นต้น

นอกจากนั้น วัลลภ (2529) ได้รายงานว่า เมล็ดพันธุ์ที่มีการสุกแก่ทางสรีรวิทยาควรใช้เวลาที่จะให้เมล็ดอยู่ในแปลงสั้นที่สุดเพราะมีความเสี่ยงต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดสูง เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงของความชื้นและอุณหภูมิเสมอ ทำให้เมล็ดมีอัตราการหายใจและใช้อาหารสะสมสูงเป็นการกระตุ้นให้เมล็ดเสื่อมคุณภาพอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้ วีรศักดิ์ (2532) ได้กล่าวว่าการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ จะสังเกตได้จากการแสดงค่าของความงอกที่ต่ำลง สิ่งที่สังเกตได้

ประการแรกได้แก่ ต้นกล้าที่งอกได้ช้ามีการเจริญเติบโต และการพัฒนาช้าลงจนถึงความงอกลดต่ำลง เมื่อเมล็ดเสื่อมคุณภาพลง และจะงอกได้เฉพาะในสภาพแวดล้อมที่จำกัด

การตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

การตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ มีกฎมาตรฐานที่ใช้กันอยู่ 2 ระบบคือกฎสากลในการตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งบัญญัติโดยสมาคมผู้ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (International Seed Testing Association; ISTA) และกฎที่บัญญัติโดยสมาคมผู้ตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ (Association of Seed Analysis; AOSA)

สำหรับการตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในประเทศไทย หน่วยงานบางแห่งได้ยึดกฎของ ISTAเป็นหลัก ในขณะที่หน่วยงานอีกหลาย ๆ แห่งยึดกฎของ AOSA ทั้งนี้ จวงจันทร์ (2521) กล่าวไว้ว่าลักษณะที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ประกอบด้วย ความบริสุทธิ์ของเมล็ดพันธุ์ (physical purity) เป็นองค์ประกอบทางกายภาพของเมล็ด ความงอก (germination) หรือความมีชีวิตของเมล็ด (Seed viability) ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ (Seed moisture content) ความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์ (vareital purity) ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ (Seed vigor) ขนาดและน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์ โรคกับแมลงที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์และความสม่ำเสมอของเมล็ดพันธุ์

การตรวจสอบความชื้นของเมล็ดพันธุ์

ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ เป็นคุณสมบัติที่สำคัญที่มีผลต่อสุขภาพของเมล็ดพันธุ์ เนื่องจากเป็นสาเหตุที่ทำให้เมล็ดพันธุ์เสื่อมคุณภาพ เมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้นสูง จะเสื่อมคุณภาพอย่างรวดเร็วและทำให้เชื้อโรคต่างๆ ในโรงเก็บเจริญได้ดี ซึ่งในการตรวจสอบความชื้นของเมล็ดพันธุ์นั้น มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบถึงระดับความชื้นภายในเมล็ด เพื่อใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงสภาพเมล็ดและการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ ส่วนวิธีการตรวจสอบความชื้นของเมล็ดมักนิยมใช้น้ำหนักสดของเมล็ดเป็นหลัก (จวงจันทร์, 2529)

สำหรับวิธีการตรวจสอบความชื้นของเมล็ดนั้น ทางสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA, 1999) ได้กำหนดไว้ว่าเมล็ดพันธุ์ที่นำส่ง (submitted sample) ควรบรรจุในภาชนะที่ป้องกันความชื้นและอากาศเข้าออกได้ และควรตรวจสอบทันทีหลังจากที่ได้รับตัวอย่างตลอดจนระยะเวลาที่นำเมล็ดพันธุ์ออกจากภาชนะบรรจุเมล็ดพันธุ์นำส่ง จนใส่เมล็ดตัวอย่างปฏิบัติการ (working sample) ลงในภาชนะที่จะเข้าอบ ควรดำเนินการอย่างรวดเร็ว ส่วนการชั่งน้ำหนัก ควรมีหน่วยเป็นกรัมและมีความละเอียดให้ได้ทศนิยม 3 ตำแหน่ง การตรวจสอบความชื้น

ควรทำ 2 ซ้ำ ต่อหนึ่งตัวอย่าง หากเป็นเมล็ดพันธุ์พืชที่มีขนาดใหญ่ จะต้องบดก่อนอบ ยกเว้นพวกที่มีน้ำมันสูง สำหรับการอบนั้นจะตั้งอุณหภูมิที่ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 ± 1 ชั่วโมง ระยะเวลาที่อบให้เริ่มนับตั้งแต่ตู้อบมีอุณหภูมิที่ต้องการ เมื่อครบกำหนดให้ปิดฝาภาชนะแล้วนำเข้าโหลดูดความชื้นเพื่อให้เย็นลง 30 – 45 นาที หลังจากนั้นจึงนำไปชั่งน้ำหนักเพื่อใช้ในการคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้น เป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักสด} - \text{น้ำหนักแห้ง}}{\text{น้ำหนักสด}} \times 100$$

การทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์

เป็นวิธีการที่ใช้ตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ เพื่อให้ทราบถึงจำนวน หรือสัดส่วนของเมล็ดที่มีชีวิตและสามารถงอกให้ต้นอ่อนที่สมบูรณ์ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมะสม (จวงจันทร์, 2529) สำหรับวิธีการทดสอบความงอก ISTA (1999) แนะนำให้เพาะเมล็ดพันธุ์ผักชีโดยใช้วิธีเพาะบนกระดาษเพาะ (top of paper; TP) โดยมีระยะเวลาในการตรวจนับครั้งแรก 4 – 7 วัน มีระยะเวลาในการทดสอบ 14 วัน ส่วนการประเมินผลนั้น ลักษณะที่ประเมินได้แก่

1. ต้นกล้าปกติ (nomal seedlings)
2. ต้นกล้าผิดปกติ (abnomal seedlings)
3. เมล็ดแข็ง (hard seeds)
4. เมล็ดสดไม่งอก (fresh seeds)
5. เมล็ดตาย (dead seeds)

สำหรับการรายงานผล ISTA (1999) ได้แนะนำไว้ดังนี้

1. คำนวณค่าเฉลี่ยการทดสอบความงอกจากจำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด (ในกรณีที่เป็นซ้ำย่อย 50 หรือ 25 เมล็ด ให้รวมเป็น 100 เมล็ดก่อน

2. ผลการทดสอบความงอก ให้รายงานเป็นเปอร์เซ็นต์ จำนวนต้นกล้าปกติโดยคำนวณเป็นจำนวนเลขเต็มมากที่สุด (ค่า 0.5 ปัดขึ้น)

3. การคำนวณ ต้นกล้าผิดปกติ เมล็ดแข็ง เมล็ดตาย ให้คำนวณโดยใช้หลักการเดียวกัน

การรวบรวมพันธุ์พืช (Germplasm collection)

เนื่องจากในปัจจุบันสภาพของธรรมชาติได้ถูกทำลายลงอย่างรวดเร็ว เพราะความเจริญของบ้านเมือง พืชและสัตว์หลาย ๆ ชนิด ได้สูญหายไปจากโลก อันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม นักปรับปรุงพันธุ์พืช ก็ได้สำนึกถึงอันตรายเหล่านี้ เพราะการที่เราจะปรับปรุงลักษณะใด ๆ ของพืช เราก็จำเป็นจะต้องมีพืชที่มีลักษณะนั้น ๆ อยู่ และลักษณะเหล่านั้นส่วนใหญ่แล้ว เราก็มักจะได้มาจากพืชพันธุ์ป่าทั้งหลายซึ่งมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับพืชที่เราปลูกอยู่ ดังนั้นงานที่สำคัญอันดับแรกในการปรับปรุงพันธุ์ก็คือ การรวบรวมพันธุ์พืชต่าง ๆ เพื่อป้องกันการสูญหายของ germplasm บางตัว และจัดลักษณะต่าง ๆ เข้าเป็นหมวดหมู่เพื่อสะดวกในการนำออกมาใช้ ในภายหลัง (กฤษฎา, 2519)

ดำรงค์ และ ธรรมนูญ (2530) ได้สำรวจและรวบรวมพันธุ์ผักพื้นเมืองจากแหล่งต่าง ๆ ของจังหวัดภาคใต้ทุกจังหวัด เก็บรวบรวมส่วนขยายพันธุ์ เช่น เมล็ด กิ่ง ลำต้น ตา ฯลฯ แล้วนำพืชเหล่านี้มาขยายพันธุ์ โดยเพาะลงในกะบะเพาะ หรือปักชำลงในถุงพลาสติก แล้วปลูกลงในแปลง รวบรวมพันธุ์ เพื่อวัตถุประสงค์ในการรวบรวมพันธุ์ และศึกษาลักษณะวันงอก วันออกดอก วันเก็บเกี่ยว สภาพธรรมชาติของพืชนั้น ๆ นอกจากนี้ยังศึกษา ในรายละเอียดของส่วนที่ใช้ประโยชน์ของพืชชนิดนั้น วิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร ต่อจากนั้นก็ทำการขยายการเพาะปลูกและส่งเสริมการใช้ประโยชน์

อำพล (2536) กล่าวว่า ความสำเร็จของการปรับปรุงพันธุ์ที่มีทรัพยากรพันธุ์พืชที่ดีมีความหลากหลายทางพันธุกรรม ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ทั่วโลกที่ทำงานด้านการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุ์พืชกำลังหาวิธีเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืชเหล่านี้โดยการนำมาเก็บนอกแหล่งถิ่นฐานเดิม (*ex situ*) ด้วยวิธีการดังนี้

1. การเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช
2. การเก็บเชื้อพันธุ์ไว้ในแปลงรวบรวมพันธุ์
3. การเก็บเชื้อพันธุ์แบบรวมพันธุ์
4. การเก็บแบบในหลอดแก้ว

การจำแนกพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล

ยงยศ (2545) ได้อธิบายเกี่ยวกับสารพันธุกรรมว่า สิ่งมีชีวิตมีข้อมูลพื้นฐานที่เก็บไว้ในนิวเคลียส ไมโตคอนเดรีย และคลอโรพลาสต์ ข้อมูลทางพันธุกรรมคือดีเอ็นเอ (DNA) มีลักษณะที่สามารถจำลองตัวเองได้อย่างถูกต้องและแม่นยำเพื่อถ่ายทอดลักษณะไปสู่ลูกหลานและคงลักษณะเดิมไว้ แต่ในขั้นตอนการพัฒนาของสิ่งมีชีวิตอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงบางอย่างที่ส่งผลกระทบได้ในระดับโครโมโซม การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้เกิดความหลากหลายในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด จนสามารถกล่าวได้ว่าไม่มีสิ่งมีชีวิตใดมีลำดับเบสของดีเอ็นเอเหมือนกัน ยกเว้นฝาแฝดที่เกิดจากไข่ใบเดียวกัน (monozygotic twins) หรือพืชที่ขยายพันธุ์โดยไม่อาศัยเพศ ในปัจจุบันได้มีการใช้เทคนิคต่าง ๆ ในการตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตโดยอาศัยความแตกต่างในระดับดีเอ็นเอ ได้แก่ restriction fragment length polymorphism (RFLP) และ random amplified polymorphic DNA (RAPD) แต่ในปัจจุบันมีการใช้เทคนิค RAPD อย่างแพร่หลายทั้งนี้เนื่องจากมีข้อดีหลายประการ ทั้งนี้ พรพันธุ์ (2538) กล่าวว่า เป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็ว เพียงสกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนของพืช ไม่ต้องปลูกทดสอบในแปลงปลูก ตัวอย่างพืชที่นำมาทดสอบใช้ในปริมาณน้อย สำหรับปัจจัยทางสภาพแวดล้อมไม่มีผลต่อดีเอ็นเอของพืช อีกทั้งมีวิธีการตรวจสอบไม่ยุ่งยากซับซ้อน สามารถตรวจสอบอย่างไม่จำกัด เพียงแค่เปลี่ยนไพรเมอร์ นอกจากนี้เป็นวิธีที่ไม่ใช้สารกัมมันตภาพรังสี จึงค่อนข้างปลอดภัยเพียงแต่ระวังสารเคมีที่เป็นอันตรายบางชนิด ที่สำคัญยิ่งสามารถตรวจสอบได้ทั้งจีโนมของพืชซึ่งมีระดับความแตกต่างทางพันธุกรรมของแถบดีเอ็นเอ (polymorphism) สูงประมาณการกระจายตัวของพันธุกรรม ตรวจสอบความตรงตามพันธุ์หรือการปลอมปนของพันธุ์ได้อย่างถูกต้อง และค่าใช้จ่ายต่ำเครื่องมืออุปกรณ์มีไม่มาก เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่น ๆ

เทคนิค Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

ในการตรวจแยกสายพันธุ์พืชเทคนิคอาร์เอพีดี สามารถนำไปใช้ประโยชน์หลายด้าน เช่น การสนับสนุนการปรับปรุงพันธุ์การตรวจสอบความแตกต่างของพันธุ์พืช การจำแนกความแตกต่างระหว่างชนิดพืช การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพืชเมื่อมีการผสมข้ามระหว่างชนิดพืชและใช้ในการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพืช เป็นต้น (ภาณี, 2536) ในการตรวจสอบความแตกต่างหรือความหลากหลายของชิ้นดีเอ็นเอ ซึ่งถูกทำให้เพิ่มปริมาณโดยปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) แบบสุ่มในการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของจีโนมที่มีความ

ซับซ้อนอาร์เอพีดีนับเป็นวิธีการที่ง่ายที่สุด โดยการใช้เทคนิคพีซีอาร์เนื่องจากไม่จำเป็นต้องรู้ข้อมูลลำดับเบสของจีโนมที่กำลังศึกษา

ปฏิกิริยาพีซีอาร์

อุไรวรรณ (2540) ได้อธิบายเกี่ยวกับพีซีอาร์ว่า เป็นเทคนิคการเพิ่มขยายปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลอง ซึ่งมีองค์ประกอบและขั้นตอนของปฏิกิริยาดังนี้

องค์ประกอบของปฏิกิริยาพีซีอาร์ ได้แก่

1. ดีเอ็นเอต้นแบบ (Template DNA) ได้มาจากการสกัดจากใบพืชที่ยังอ่อนอยู่ โดยจะใช้ในปริมาณที่ต่ำมาก ประมาณ 10-50 นาโนกรัม

2. ไพรเมอร์ (primer) เป็นดีเอ็นเอสายสั้น ๆ ที่สังเคราะห์ขึ้น ความยาวประมาณ 10 นิวคลีโอไทด์ เพื่อจะใช้เป็นตัวสุ่มจับกับดีเอ็นเอต้นแบบ ตรงตำแหน่งที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกัน ความเข้มข้นของไพรเมอร์ที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 0.1 – 0.5 ไมโคโมลาร์ (μM) ถ้าปริมาณไพรเมอร์มากเกินไปจะทำให้โอกาสการจับคู่ผิดพลาด (mispriming) เพิ่มขึ้น เป็นผลให้เกิดผลผลิตพีซีอาร์ (PCR products) ที่ไม่จำเพาะขึ้นมากมาย และยังเพิ่มโอกาสการเกิด primer-dimer ให้สูงขึ้น เป็นผลให้ผลผลิตพีซีอาร์ที่ต้องการลดลง

3. DNA *Taq* polymerase เป็นเอนไซม์ที่ช่วยให้มีการต่อเชื่อมไพรเมอร์ด้วย dNTPs เพื่อให้เกิดดีเอ็นเอสายใหม่ตลอดแนวของดีเอ็นเอต้นแบบ ช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมของ *Taq* DNA polymerase จะอยู่ในช่วง 1.0-2.5 ยูนิต (units) ต่อ 100 ไมโครลิตร ซึ่งการใช้เอนไซม์ในปริมาณที่สูงเกินไป จะก่อให้เกิดผลผลิตพีซีอาร์ที่ไม่จำเพาะขึ้นได้

4. นิวคลีโอไทด์ (dNTPs) ทั้ง 4 ชนิดประกอบด้วย dATP, dCTP, dGTP และ dTTP ซึ่งใช้ในการเติมสายดีเอ็นเอเพื่อให้เกิดดีเอ็นเอสายใหม่ ความเข้มข้นของ dNTPs แต่ละชนิดจะอยู่ในช่วง 50-200 ไมโครโมล (μ M) ซึ่งเป็นช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการเกิดปฏิกิริยาพีซีอาร์อย่างจำเพาะถูกต้อง การใช้ปริมาณ dNTPs ที่มีความเข้มข้นมากเกินไป อาจก่อให้เกิด mispriming ของไพรเมอร์และ misincorporation ของ dNTPs

5. $MgCl_2$ ซึ่งมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งในปฏิกิริยาพีซีอาร์เนื่องจาก Mg^{2+} มีผลต่อ primer annealing และความถูกต้องในการทำงานของเอนไซม์ (enzyme fidelity) ถ้าความเข้มข้นของ Mg^{2+} มากเกินไปจะก่อให้เกิดผลผลิตพีซีอาร์แบบไม่จำเพาะเกิดขึ้น แต่ถ้าความเข้มข้นของ Mg^{2+} น้อยเกินไป จะทำให้ผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้ลดลง โดยทั่วไปในปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่ใช้ dNTPs แต่ละชนิดในความเข้มข้น 200 ไมโครโมล ความเข้มข้นของ Mg^{2+} ที่ใช้จะอยู่ในช่วง 0.5 -2.5 มิลลิโมลาร์ (mM) แต่ถ้ามีการใช้ dNTPs ในปริมาณที่สูงกว่านี้ต้องปรับความเข้มข้นของ Mg^{2+} ให้

สูงขึ้นด้วย เนื่องจาก dNTPs สามารถจับกับ Mg^{2+} ดังนั้นถ้าปริมาณ dNTPs มากไปจะไปจับกับ Mg^{2+} จนทำให้เหลือ Mg^{2+} ในรูปอิสระไม่เพียงพอสำหรับใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์

6. บัฟเฟอร์มาตรฐาน สำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่นิยมใช้ทั่วไป คือ Tris-HCl pH 8.3-8.8 และมี KCl ที่ความเข้มข้นประมาณ 50 มิลลิโมลาร์ร่วมอยู่ด้วย เนื่องจาก KCl ทำหน้าที่ในการเร่งการเกิด primer annealing แต่ถ้ามีความเข้มข้นของ KCl มากเกินไป จะไปลดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ *Taq* DNA polymerase

ในปฏิกิริยาพีซีอาร์มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องปรับสภาวะขององค์ประกอบต่าง ๆ ที่มีผลต่อปฏิกิริยาให้มีความเหมาะสม เพื่อให้ประสิทธิภาพของการทำพีซีอาร์เกิดขึ้นได้สูงสุด

ขั้นตอนของปฏิกิริยาพีซีอาร์ มีดังนี้

1. แยกดีเอ็นเอสายคู่เป็นสายเดี่ยว (Denaturation) เป็นขั้นตอนการคลายเกลียวคู่ของดีเอ็นเอต้นแบบให้เป็นสายเดี่ยวเกิดขึ้น ณ อุณหภูมิสูงประมาณ 90-95 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 1-2 นาที ซึ่งการตั้งอุณหภูมิต่ำ หรือเวลาสั้นเกินไป จะทำให้ดีเอ็นเอต้นแบบมีการแยกสายที่ไม่สมบูรณ์ เป็นผลให้ปริมาณผลผลิตพีซีอาร์ที่ควรได้ลดลง แต่ถ้าตั้งอุณหภูมิสูง หรือตั้งเวลายาวเกินไป จะทำให้เอนไซม์สูญเสียสภาพเร็วเกินไปโดยเปล่าประโยชน์

2. ไพรเมอร์เข้าไปสุ่มจับกับดีเอ็นเอต้นแบบ (Primer annealing) เป็นขั้นตอนการเกาะติดระหว่างสายของไพรเมอร์กับดีเอ็นเอต้นแบบสายเดี่ยวด้วยการจับคู่ตรงบริเวณลำดับเบสคู่สม ใช้อุณหภูมิต่ำในช่วง 30-50 องศาเซลเซียส การเลือกใช้อุณหภูมิและระยะเวลาในขั้นตอนนี้ขึ้นอยู่กับลำดับเบส ความยาวและความเข้มข้นของ ไพรเมอร์ที่ใช้ตามทฤษฎี อุณหภูมิที่ควรใช้คืออุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิหลอมเหลว (Tm) ของไพรเมอร์ลงไป 5 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปอุณหภูมิที่ใช้ไม่ควรต่ำเกินไปนัก เพราะแม้ว่าจะทำให้การ annealing เกิดได้ดี แต่จะก่อให้เกิด mispriming และ misextension ได้

3. เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ(Primer extension) เป็นขั้นตอนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอให้สมบูรณ์ตลอดสาย ต่อเนื่องจากจุดที่ไพรเมอร์เข้าจับดีเอ็นเอต้นแบบ ซึ่งมีเอ็นไซม์ *Taq* DNA polymerase เป็นตัวสำคัญในการเชื่อมต่อดีเอ็นเอสายใหม่ด้วย dNTPs ที่เติมเข้าไปโดยมี Mg^{2+} เป็น cofactor โดยทั่วไปในขั้นตอนนี้ใช้อุณหภูมิปริมาณ 72 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของ *Taq* DNA polymerase เวลาที่ใช้ในการสร้างสายดีเอ็นเอใหม่นี้จะขึ้นกับความยาว ความเข้มข้น และลำดับเบสของดีเอ็นเอ จากการศึกษาพบว่าที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส อัตราการสร้างสายดีเอ็นเอจะอยู่ในช่วง 35 ถึง 100 นิวคลีโอไทด์ต่อวินาที ดังนั้นการใช้เวลาในขั้นตอนนี้ 1 นาที ที่ 72 องศาเซลเซียส จึงเพียงพอสำหรับการสร้างดีเอ็นเอที่มีขนาดความยาว 2 กิโลเบส (Kb.)

อย่างไรก็ดี การเพิ่มเวลา extension ในรอบแรก ๆ ของการทำพีซีอาร์จะมีประโยชน์ในกรณีที่ปริมาณของดีเอ็นเอต้นแบบมีอยู่น้อย หรือการเพิ่มเวลาในรอบหลัง ๆ เมื่อมีความเข้มข้นของผลผลิตพีซีอาร์สูงกว่าความเข้มข้นของเอนไซม์มาก ๆ

ปฏิกิริยาพีซีอาร์จะหมุนเวียนเป็นวงจร (cycle) จาก denaturation สู่ annealing และ extension ประมาณ 30-40 รอบ ในแต่ละขั้นตอนจะใช้เวลาเพียงสั้น ๆ ประมาณ 1-2 นาที ในรอบสุดท้ายของปฏิกิริยาควรจะเพิ่มเวลาในขั้นตอน extension ให้มากขึ้น เพื่อให้การสังเคราะห์สายดีเอ็นเอทั้งหมดเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ ซึ่งลักษณะการเพิ่มปริมาณของดีเอ็นเอสายใหม่ หรือผลผลิตพีซีอาร์ที่เกิดขึ้นจะเป็นแบบทวีคูณ (exponential) ดังนั้นเมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา จึงได้ปริมาณดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก

เทคนิคอาร์เอพีดีกับการจำแนกสายพันธุ์พืช

เทคนิค อาร์เอพีดี สามารถใช้จำแนกสายพันธุ์พืชได้สำเร็จในพืชหลายชนิด เช่น การใช้เทคนิค อาร์เอพีดี ในการจำแนกสายพันธุ์ข้าว (*Oryza sativa* L.) ของออสเตรเลีย 37 พันธุ์ โดยใช้ไพรเมอร์ขนาด 10 นิวคลีโอไทด์จำนวน 22 ไพรเมอร์ ซึ่งทำให้เกิดการสังเคราะห์ดีเอ็นเอขึ้นทั้งหมด 144 แถบ พบว่า 67% ของแถบดีเอ็นเอสามารถใช้แยกความแตกต่างในสายพันธุ์ทั้งหมดได้ นอกจากนี้เมื่อนำแบบแผนดีเอ็นเอ ของข้าวออสเตรเลีย 37 พันธุ์เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ข้าวในอเมริกา พบว่า มีความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดกันมาก (Ko, *et al.*, 1994)

Wilkie *et al.* (1993) ได้ใช้เทคนิค อาร์เอพีดี จำแนกความแตกต่างระหว่างชนิดของหัวหอม (*Allium cepa*) รวมทั้งพืชในกลุ่ม Allium โดยสุ่มใช้ไพรเมอร์ 20 ไพรเมอร์ พบว่าจำนวน 7 ไพรเมอร์ ทำให้เกิดความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอค่อนข้างชัดเจน สามารถใช้จำแนกความแตกต่างระหว่างชนิดของพืชในกลุ่มนี้ได้

นิตย์ศรี และคณะ (2537) ได้ใช้เทคนิคอาร์เอพีดี เพื่อจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของหญ้าแฝก 10 พันธุ์ โดยอาศัยแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอของหญ้าแฝกแต่ละพันธุ์ไปเปรียบเทียบความเหมือน และความแตกต่างทางพันธุกรรม ผลการทดลองพบว่า สามารถแยกความแตกต่างและความสัมพันธ์ของหญ้าแฝกแต่ละพันธุ์ได้อย่างชัดเจน

Hu and Quiros (1991) ได้จำแนกความแตกต่างของพืชระหว่างบรอกโคลี 14 พันธุ์ และกะหล่ำดอก 12 พันธุ์ โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี พบว่าไพรเมอร์ 4 ชนิดที่สามารถสร้าง DNA fragment ขนาด 300-2,600 bp. จากรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอสามารถระบุได้ว่าพืชทั้ง 2 ชนิดแตกต่างกันอย่างชัดเจน และยังพบว่าต้นกล้าที่ได้จากบริษัทผลิตเมล็ดพันธุ์เดียวกัน มีความแตกต่างของรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอน้อยกว่าต้นกล้าที่ได้จากต่างบริษัทกัน

Yu and Nguyen (1994) ใช้เทคนิคอาร์เอพีดี ในการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genetic variation) ของพันธุ์ข้าว (*Oryza sativa* L.) ผลจากการเคลื่อนที่ของแถบดีเอ็นเอในวิธีการอิเล็คโตรโฟรีซีสพบว่าระหว่างข้าวในชนิด (subspecies) Japonica กับชนิด Indica เกิดความแตกต่างทางพันธุกรรมของแถบดีเอ็นเอหรือ polymorphisms มากกว่าพันธุ์ที่ใช้ปลูกบนที่สูง (upland) และพันธุ์ที่ปลูกในที่ลุ่ม (lowland) ซึ่งอยู่ใน subspecies เดียวกัน

Joshi and Nguyen (1993) ใช้เทคนิคอาร์เอพีดี เพื่อศึกษาพันธุกรรมของข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) จำนวน 15 พันธุ์ โดยใช้ไพรเมอร์ 40 ชนิด พบว่า 80 % ของไพรเมอร์ที่ใช้สามารถทำให้เกิดความแตกต่างทางพันธุกรรมของแถบดีเอ็นเอ และนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลแสดงออกในรูปแผนผังแสดงความใกล้ชิดทางพันธุกรรม (dendrogram) เพื่อบ่งบอกความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (genetic relationships) ของข้าวสาลีได้

จันทร์จีรา (2541) ได้วิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมของลิ้นจี่ 20 พันธุ์โดยเทคนิค อาร์เอพีดี พบว่าไพรเมอร์ 5 ชนิดจากทั้งหมด 69 ชนิด สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่เกิดขึ้นทั้งหมด 60 แถบ ลักษณะเป็นความแตกต่างทางพันธุกรรมของแถบดีเอ็นเอ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ช่วง 200-2,000 bp. จากการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างแถบดีเอ็นเอพบว่า บางพันธุ์มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกัน เช่น พันธุ์โอเฮี๊ยะ และ Haak-Yip และบางพันธุ์มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอคล้ายกัน เช่น พันธุ์แห้ว กับลูกลาย และพันธุ์กวางเจากับจีนหอม นอกจากนี้ได้แสดงความสัมพันธ์ของลิ้นจี่ทั้ง 20 พันธุ์ โดย แผนผังแสดงความใกล้ชิดทางพันธุกรรม พบว่า สามารถแบ่งลิ้นจี่ออกเป็น 2 กลุ่ม และในแต่ละกลุ่มยังแบ่งได้อีกกลุ่มละ 3 กลุ่มย่อย

อุไรวรรณ (2540) ใช้เทคนิคนี้วิเคราะห์พันธุกรรมของพืชกลุ่มกระเจียว 10 ชนิด พบว่าไพรเมอร์ 3 ชนิดจากจำนวนทั้งหมด 48 ชนิด สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ ที่มีลักษณะความแตกต่างทางพันธุกรรมของแถบดีเอ็นเอ จำนวน 37 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุล 200-1,700 คู่เบส เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างแถบดีเอ็นเอสามารถแบ่งกลุ่มกระเจียวออกเป็น 2 กลุ่มโดยมีลักษณะสอดคล้องกับการจำแนกกลุ่มตามพฤติกรรมการออกดอกเร็วหรือช้า

Dwivedi *et al.* (1999) ได้จำแนกความแตกต่างของพันธุกรรมในโหระพา 12 พันธุ์ ปรากฏว่า พันธุ์ Vikarshudha เป็นพันธุ์ให้ปริมาณผลผลิตน้ำมันหอมระเหยสูงสุด เมื่อนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีพบว่ามีไพรเมอร์ 2 ชนิดคือ OPO-9 และ OPO-11 สามารถทำให้เกิด ความแตกต่างทางพันธุกรรมของแถบดีเอ็นเอระหว่างพันธุ์ได้ ทำให้แยกความแตกต่างของลักษณะแถบดีเอ็นเอได้ชัดเจน