บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

บอนสี เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว อยู่ในวงศ์ Araceae พืชในวงศ์นี้ ประกอบด้วยสกุลต่างๆ 105 สกุล และมีสมาชิกมากถึง 1,400-1,500 ชนิด (Lawrence, 1960) บอนสีอยู่ในจีนัส Caladium มีสมาชิกมากมายหลายชนิด ซึ่งจำนวนชนิด (species) ของบอนสี นั้นยังไม่มีการจำแนกชัดเจนโดย Madison (1981) ได้จำแนกบอนสีเป็น 7 ชนิด ส่วน Mayo *et al.* (1997) จำแนกบอนสีเป็น 12 ชนิด ขณะที่ Croat (1994) เชื่อว่าอาจจำแนกบอนสีได้ถึง 17 ชนิด และบอนสีส่วนใหญ่ที่พบอยู่ในชนิด *Caladium bicolor* Vent. ส่วนบอนสีชนิดอื่นๆ ได้แก่ *Caladium humboldtii, Caladium lindenii, Caladium schomburgkii* ฯลฯ

บอนสีมีชื่อสามัญว่า caladium, elephant's-ear, fancy-leaf caladium, Heart-of-Jesus, Angel's wing และ Miniature caladium (Govaerts and Frodin, 2002) มีชื่อพ้อง (synonyms) ว่า *Arum bicolor* Aiton (basionym) และ *Caladium x hortulanum* Birdsey (Birdsey, 1951) มีแหล่งกำเนิดในเขตร้อนของทวีปอเมริกาใต้ ส่วนมากพบในอาณาบริเวณป่าดงดิบ ลุ่มแม่น้ำอเมซอน ในประเทศบราซิล บอนสีในบริเวณนี้มีขนาดเท่าต้น Xanthosoma แต่สีอ่อนกว่า ขนาดของต้นมีความสูงถึงคอใบประมาณ 12-18 นิ้ว และใบมีลักษณะต่างๆ กัน เช่น คล้ายลูกศร (arrow shaped) รูปหัวใจ (heart shaped) และรูปใบกลม (round shaped) สำหรับบอนสีที่พบในหมู่เกาะอินดีสตะวันตกแถบทะเลแคริเบียน เป็นบอนสีรูปใบมน ก้านเล็ก เรียวกว่าที่พบในอเมริกาใต้ ต่อมาเมื่อชาวยุโรปออกแสวงหาอาณานิคมในดินแดนใหม่ราว ศตวรรษที่ 15 ได้นำมาปลูกและเรียกตามลักษณะใบว่า บอนหูช้าง (elephant's ear) (Bailey, 1942; Lawrence, 1960)

ส่วนความเป็นมาของบอนสีในประเทศไทย เข้าใจว่าได้มีผู้นำเข้ามาจากต่างประเทศตั้งแต่สมัยสุโขทัย โดยมากับเรือสำเภาของพ่อค้าจีน และต่อเนื่องจนถึงสมัยกรุงศรีอยุธยา ในรัชสมัยของสมเด็จพระนารายณ์มหาราช ได้มีการติดต่อกับชาวต่างประเทศอย่างกว้างขวางขึ้น เช่น ฝรั่งเศส ฮอลันดา จีน อินเดีย ชวา และเปอร์เซีย แต่ยังหาหลักฐานยืนยันแน่ชัดไม่ได้ว่าบอนสีถูกนำเข้ามาในประเทศไทยมาก ในรัชกาลใดและเมื่อใด แต่ที่พอจะมีหลักฐานยืนยันได้คือสมัยพระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัว (รัชกาลที่ 5) เสด็จพระราชดำเนินประภาสยุโรปและเมื่อพระองค์เสด็จนิวัติพระนคร ได้ทรงนำพันธุ์ไม้จากยุโรปมากมายหลายพันธุ์ และในจำนวนพันธุ์ไม้ต่างๆ นั้นก็มี บอนสี รวมอยู่ด้วยโดยเรียกกันในสมัยนั้นว่า บอนฝรั่ง การปลูกเลี้ยงบอนสีมีมาอย่างต่อเนื่องยาวนาน และในปัจจุบันบอนสีไม่เป็นเพียงไม้ประดับในหมู่ผู้นิยมเท่านั้น ยังเป็นพรรณไม้ที่สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิตติ์ พระบรมราชินีนาถ ทรงมีพระราชเสาวนีย์ ให้อนุรักษ์และให้

ปลูกบอนสีเป็นการค้าเพื่อเสริมรายได้ให้กับประชาชน ซึ่งกรมส่งเสริมการเกษตรรับพระราชเสาวนีย์มาดำเนินการส่งเสริมให้เกษตรกรรวมกลุ่มปลูกบอนสี ซึ่งขณะนี้มีเกษตรกรดำเนินการปลูกบอนสีเพื่อจำหน่ายและผลิตหัวบอนสีส่งไปขายต่างประเทศหลายกลุ่มแล้ว (พิชาน, 2549)

บอนสีจัดอยู่ในอนุกรมวิธานของอาณาจักรพืชโดยมีการจัดเรียงดังนี้

Kingdom Plantae

Division Magnoliophyta

Class Liliopsida

Order Arales

Family Araceae

Genus Caladium Vent.

Species *Caladium bicolor* (Ait.) Vent.

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของบอนสี (Bailey, 1942; Madison, 1981)

ลักษณะวิสัย เป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี อวบน้ำ ดูดซึมและคายน้ำเร็ว ทุกส่วนของลำต้นมีน้ำยางใส เมื่อถูกผิวจะทำให้คัน ชอบขึ้นในที่ร่มชื้นหรือมีน้ำขัง

หัว (tuber) มีลักษณะคล้ายมันฝรั่ง เป็นหัวแบบใต้ดินแบบ tuber มีตา(bud) หรือเขี้ยว (sprout) และเขี้ยวนี้จะแตกเป็นหน่อต่อไป

ราก (root) รากของบอนสีเป็นรากฝอย (adventitious roots) ออกจากหัว (tuber) ด้านบน ระหว่างรอยต่อของหัวกับลำต้น

ลำต้น (stem) ลำต้น คือ บริเวณเหนือหัว (tuber) ขึ้นไป เป็นส่วนระหว่างหัวกับกาบใบซึ่งสั้นมาก เมื่อกาบใบแก่ ร่วงหลุดไปเรื่อยๆ ก็จะเห็นลำต้นสูงขึ้น

ก้านใบ (petiole) คือส่วนที่ติดกับแผ่นใบตรงฐานใบ ตอนโคนของก้านใบหรือ ก้านใบทั้งหมด แผ่เป็นกาบหุ้มลำต้น เรียก กาบใบ (leaf sheath) ก้านใบสั้นบ้างยาวบ้างแล้วแต่ชนิดพันธุ์ บางพันธุ์ก้านมีสันต่างๆ กัน เช่น สีเขียว สีแดง สีดำ สีก้านบัว บางพันธุ์ก้านก็มีเส้นมีจุด (เสี้ยน)

ใบ (leaf) ใบเป็นใบเดี่ยว (simple leaf) คือ ใบมีแผ่นใบเดียวและมีก้านใบเดียว ใบมีสีสันต่างๆ กันแล้วแต่ชนิดของพันธุ์ ซึ่งใบบอนสีในประเทศไทย มีสีชมพูมากที่สุด รองลงมาเป็นสีแดง สีขาว สีม่วง สีเขียวจุดประ และสีเหลือง ตามลำดับ (เชษฐา พยากรณ์, 2524) บางพันธุ์บนแผ่นใบมีจุดประ ด้านท้องใบเป็นสันนูน เส้นใบเป็นร่างแหแบบขนนก (pinnately netted vein)

	และมีสีต่างกัน เช่น สีแดง สีชมพู สีขาว และสีเขียว ฐานของใบมักมีรูปร่างคล้ายหัวใจ ขนาดของใบส่วนมากมีความยาว 6-24 นิ้ว กว้าง 4-5 นิ้ว
ช่อดอก (inflorescences)	เป็นช่อเชิงลดมีกาบ (spadix) มีใบประดับขนาดใหญ่รองรับช่อดอก ดอกเป็นแบบ spike มีการจัดเรียงดอกแบบ raceme คือ ช่อดอกมีก้านแกนเพียงหนึ่งก้าน ดอกแต่ละดอกมีก้านดอกเรียงสลับกัน ดอกที่เกิดก่อนจะอยู่โคนของช่อดอก ดอกที่เกิดทีหลังจะอยู่ที่ปลายช่อ ดอกย่อยอยู่อัดกันมีก้านกลางช่ออยู่เพียงก้านเดียว
ดอก (flower)	เป็นดอกสมบูรณ์เพศ ประกอบด้วยปลีดอกและจานรองดอก คล้ายดอกหน้าวัว บานตอนกลางคืนและมีกลิ่นหอมอ่อนๆ เกสรเพศผู้อยู่ด้านบนและเกสรเพศเมียด้านล่างอยู่บนปลีดอก
ผล (fruit)	แบบมีเนื้อหลายเมล็ด (berry)
เมล็ด (ovule)	ฝังตัวอยู่ในเยื่อเมือก มีเอนโดสเปิร์มขนาดเล็ก เอมบริโอเล็ก

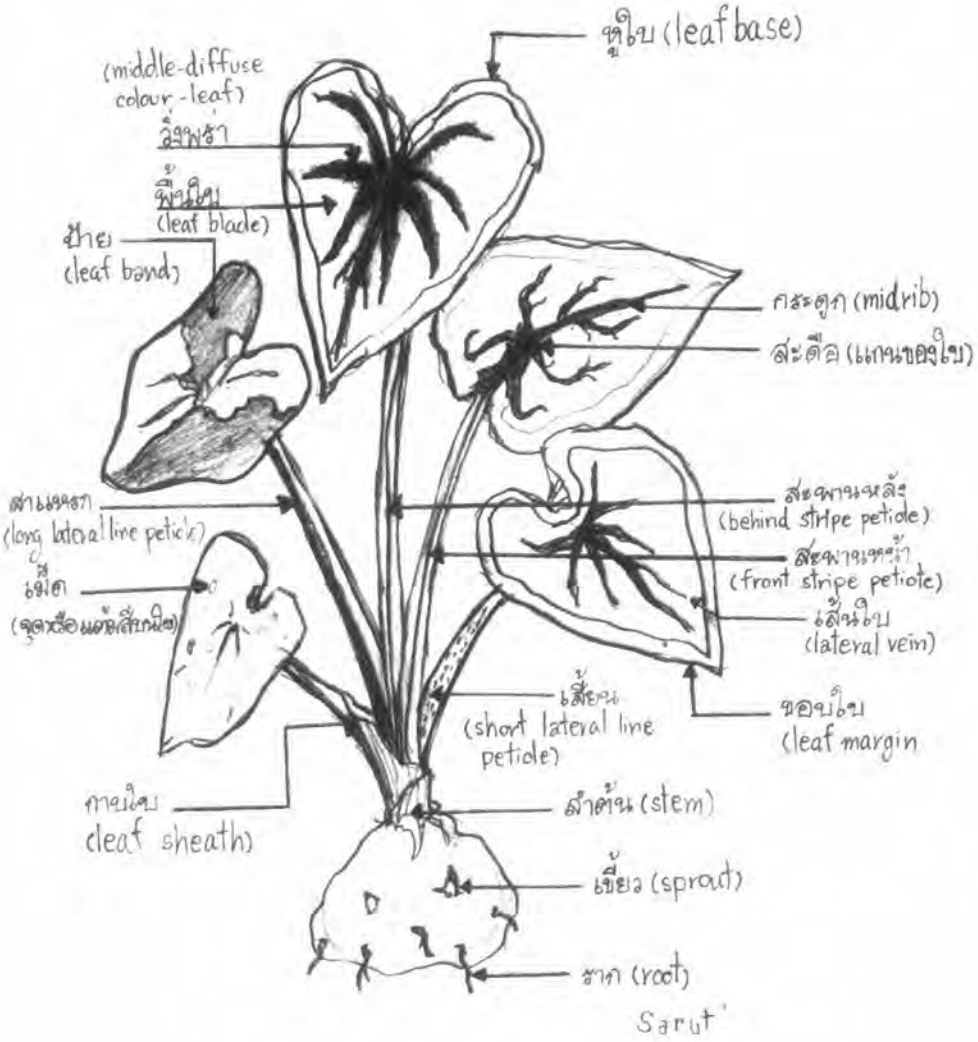
กล่าวโดยสรุปคำศัพท์ที่ใช้เรียกส่วนต่าง ๆ ของบอนสี มีดังนี้

คำศัพท์ทางวิชาการ	**คำศัพท์ในวงการบอนสี**
1.**แผ่นใบ** (leaf blade)	เรียก ส่วนของใบ
2.**ก้าน** (petiole)	เรียก ลักษณะรวมๆ ของก้านใบ รวมทั้งเสี้ยน สาแหรก สะพานหน้า และสะพานหลัง
3.**จุดที่เส้นใบมาจรดกันตรงกลางใบ**	เรียกว่า สะดือ
4.**เส้นกลางใบ** (midrib, costa)	เรียกว่า กระดูก
5.**เส้นใบเล็ก ๆ** (vein)	เรียกเส้นใบเล็กๆ ที่กระจายอยู่ทั่วใบ ว่า เส้น
6.**จุดด่างที่เกิดบนใบ**	เรียกว่า เม็ด

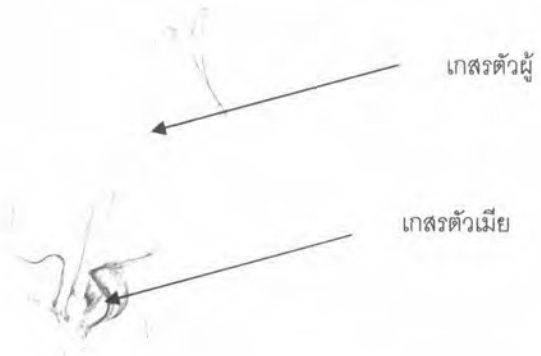
นอกจากลักษณะดังกล่าวแล้ว บอนสียังมีลักษณะเฉพาะตัวหรือเป็นศัพท์เฉพาะที่รู้จักกันโดยทั่วไปในหมู่นักเล่นบอน ซึ่งสามารถนำมาจัดตามวิธีการเรียกที่เป็นสากลโดยดัดแปลงจากคำศัพท์ที่ใช้ในวงการบอนสี (บุญนาค สีสด, 2544; พเยาว์ อินทสุวรรณ, 2548) ให้มีการเรียกคำศัพท์เหล่านี้ให้ตรงตามวิชาการที่ถูกต้อง ดังต่อไปนี้

1. **ขอบใบ** (leaf margin or rim) คือ ส่วนที่อยู่ริมสุดของใบ ถ้าอยู่บนสุดเรียกว่าปลายใบ (apex)
2. **สีพื้นใบหรือแผ่นใบ** (leaf blade or lamina) คือ สีส่วนใหญ่บนใบด้านที่รับแสงที่เรียกว่าหลังใบ (dorsal surface) เช่น ใบส่วนใหญ่สีแดงเรียกว่ามีพื้นใบสีแดง
3. **เส้นกลางใบ** (midrib) **หรือกระดูก** คือ แกนของใบเป็นโครงที่แยกต่อจากก้านไปจนถึงปลายใบ
4. **เส้นแขนงใบ** (lateral vein) **หรือเส้น** คือ โครงใบที่แยกออกจากกระดูกเส้นใบของบอนมักประสานกันเป็นร่างแห
5. **ส่วนกว้างสุดของใบหรือสะโพก** คือ ส่วนกลางใบที่ผายออกอยู่ชิดกับหู
6. **รอยเว้าของฐานใบ** (leaf base) **หรือส่วนเว้าของฐานโคนใบ** คือ ช่วงส่วนล่างของใบที่ยื่นออกจากสะดือใบแยกออกเป็นสองส่วน
7. **จุดกลางใบหรือสะดือ** (midrib) คือ จุดที่เส้นใบจรดกัน และต่อกับก้านใบ (leaf stalk)
8. **เม็ด** คือ จุดหรือแต้มสีบนใบ มีสีต่างจากพื้นใบขึ้นอยู่กับสายพันธุ์
9. **หนุนทราย** (margin-reinfore-leaf) คือ จุดเล็กๆคล้ายเม็ดทรายมองเห็นลางๆ คล้ายสีเหลือบอยู่ใต้สีแท้ของใบ
10. **วิ่งพร่า** (middle-diffuse-colour-leaf) คือ สีที่มองเห็นแตกต่างไปจากสีพื้นของใบที่บริเวณกระดูก (midrib)
11. **ป้าย** (leaf band) คือ แถบสีที่พาดทับบางส่วนของพื้นใบ เช่น พื้นใบสีเขียวมีป้ายสีแดง
12. **สะพาน** คือ เส้นขีดเล็กๆ ยาวจากกาบใบ (leaf sheath) ไปตลอดแนวก้านใบ (petiole) ขึ้นไปจรดคอใบ ถ้าอยู่ด้านหลังเรียกสะพานหลัง
12. **แถบด้านหน้าหรือสะพานหน้า** (front stripe petiole) คือ เส้นที่อยู่ด้านหน้าก้านใบ (petiole) ตรงกับด้านของแผ่นใบที่รับแสงที่เรียกว่า **หลังใบ** (dorsal surface)
13. **แถบด้านหลังสะพานหลัง** (behind stripe petiole) คือ เส้นที่อยู่ด้านหลังก้านใบ (petiole) ตรงกับด้านของแผ่นใบที่ไม่ได้รับแสงที่เรียกว่า **ท้องใบ** (ventral surface)
14. **เส้นข้างก้านใบ** (long lateral line petiole) **หรือสาแหรก** คือ เส้นยาวที่อยู่ระหว่างสะพานหน้าและสะพานหลัง มีสีต่างจากก้านใบ (petiole)
15. **เสี้ยนหรือเส้นก้านใบ** (short lateral line petiole) คือ เส้นขีดสั้นๆ ที่ปรากฏบนก้านใบ
16. **กาบ** (leaf sheath) คือ ส่วนโคนก้านใบที่ติดกับหัว (tuber)

จากลักษณะต่างๆ ดังกล่าวข้างต้น นำมาบันทึกเป็นภาพแสดงลักษณะส่วนต่างๆที่สำคัญของ บอนสี ดังภาพที่ 1



รูปที่ 1. แสดงส่วนต่าง ๆ ของบอนสี



รูปที่ 2. แสดงดอกของบอนสี

รูปที่ 3. แสดงบอนสีที่มีลักษณะเป็นบอนป้าย

ลักษณะรูปทรงของใบบอนสีมีหลายรูปแบบ ดังนี้

1.**บอนใบไทย** (Thai style leaf caladium)

มีรูปร่างใบ (leaf shape) คล้ายหัวใจ (heart-shaped) มี **(ส่วนเว้าของฐานโคนใบ)** ฐานโคนใบยาว (leaf base) ฉีกถึง **(สะดือ)** แกนของใบ (midrib) และก้านใบ (leaf stalk) อยู่กึ่งกลางแผ่นใบ (leaf blade) ปลายใบ (leaf apex) แหลม (acute)หรือมน (obtuse) ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์

2.**บอนใบกลม** (round leaf caladium)

รูปร่างใบ (leaf shape) ค่อนข้างกลมหรือรี orbicular ปลายใบมน มีก้านใบอยู่บริเวณกึ่งกลางใบ

3.**บอนใบกาบ** (sheath leaf caladium)

ก้านใบแผ่แบนตั้งแต่โคนใบจนถึงฐานใบหรือส่วนของก้านใบที่ต่อกับแผ่นใบ (ในตำราบอนสีเก่าเรียกว่า คอใบ) ลักษณะคล้ายใบผักกาด

4.**บอนใบยาว** (long leaf caladium)

รูปใบเรียวหรือป้อม ส่วนเว้าของฐานโคนใบ (ในตำราบอนสีเก่าเรียกว่า หูใบ) สั้นกลมฉีกถึงสะดือก้านใบอยู่ตรงรอยหยักบริเวณโคนใบพอดี บอนใบยาวแบ่งได้ 2 ลักษณะ คือ ใบมีปลายเรียวแหลม ส่วนเว้าของฐานโคนใบยาวกลมคล้ายใบโพธิ์ บางพันธุ์มีส่วนที่กว้างของความกว้างของใบกว้างมาก (ส่วนนี้ในตำราบอนสีเก่า เรียกว่า สะโพก) กว้าง และใบยาวมีใบเรียว ปลายใบเรียวแหลม ส่วนเว้าของฐานโคนใบสั้นหรือบางพันธุ์ไม่มีส่วนเว้าของฐานโคนใบเลย

5.**ใบไผ่** (linear leaf caladium)

มีใบแคบเรียวยาวเป็นเส้น ปลายใบเรียวแหลม ไม่มีส่วนเว้าของฐานโคนใบ มีลักษณะคล้ายใบไผ่

บอนใบไทย **บอนใบกลม** **บอนใบกาบ**

บอนใบยาว **บอนใบไผ่**

รูปที่ 4. แสดงรูปร่างใบ (leaf shape) **ของบอนสี**

ประวัติการรวบรวมพันธุ์บอนสีเท่าที่ปรากฏเป็นหลักฐานอยู่ เริ่มต้นสมัยรัตนโกสินทร์ตอนต้น มีรายงานการรวบรวมบอนสีที่มีชื่ออยู่แล้วมาจัดเป็นกลุ่มที่เรียกว่า ตับ ได้แก่ ตับนก ตับขุนช้างขุนแผน ตับพระอภัยมณี และมีการนำบอนมาตั้งชื่อเพิ่มเติมตับต่างๆ โดยขอชื่อที่บารีไก่ขาว (2474-2475) (อุไร จิรมงคลการ, 2540) ต่อมาเดือนใจและคณะ (2549) ได้รวบรวมข้อมูลบอนสี และจัดแบ่งข้อมูลตามผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและนำเสนอฐานข้อมูลแยกตามกลุ่มและชนิดพันธุ์ซึ่งได้ตัวแทนของพันธุ์บอนสีมากมาย เช่นพันธุ์ในตับขุนช้างขุนแผน ตับวีรชน ตับเจ้าหญิง และตับจังหวัด โดยจัดทำเป็นโปรแกรมฐานข้อมูลในคอมพิวเตอร์เพื่อสะดวกในการค้นคว้าและการศึกษาบอนสีพันธุ์ต่างๆ

การศึกษาสัณฐานวิทยาของพืชในกลุ่มบอนสี มีมานานแล้ว เสรี (2524) รายงานผลการศึกษาสัณฐานวิทยาของพืชในกลุ่ม Araceae ซึ่งรวมถึงบอนสีด้วย โดยเน้นการจำแนกลักษณะจากการติดกันของแผ่นใบ ก้านใบ ตามที่ Bailey (1952) ได้วางแนวทางไห้ นงลักษณ์ อินกองงาม (2527) เน้นศึกษาสัณฐานวิทยาและเซลล์วิทยาของบอนสีโดยใช้ฐานพันธุกรรมจากบอนสีพันธุ์ที่มีอยู่ดั้งเดิมและพันธุ์ที่เกิดจากการผสมและกลายพันธุ์ โดยได้จัดแบ่งตามลักษณะซึ่งพบว่าบอนสีที่พบมีทั้งชนิดใบกลม ใบแคบยาวรูปหอก รูปรี รูปไข่ รูปสามเหลี่ยม รูปกลม และรูปคล้ายช้อน ส่วนใหญ่แผ่นใบเรียบ มีบางพันธุ์เท่านั้นที่แผ่นใบย่น ก้านใบกลมหรือแบน การศึกษาทางเซลล์วิทยาพบว่าบอนสีมีโครโมโซม 2n=30 ในความเป็นจริงแล้วจะพบบอนสีทั้งชนิดที่เป็น diploid และ tetraploid โดยต้น tetraploid ใบจะมีความหนาและขนาดของปากใบจะใหญ่กว่าและมีโครโมโซมเป็น 4n=60

มีรายงานเรื่องของลักษณะพันธุ์ในแต่ละสายพันธุ์ไว้เป็นจำนวนมากจึงมีผู้พยายามจัดกลุ่มให้เป็นระบบและศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องทั้งในเรื่องพันธุ์และสิ่งแวดล้อม Deng *et al.* (2004; 2005) ได้ศึกษาบอนสีในสหรัฐอเมริกา และจำแนกตามลักษณะรูปทรงของใบได้ 3 แบบ คือ ใบไทย (fancy) ใบหอก (lance) และใบไผ่ (strap) นอกจากนี้ได้ศึกษาลักษณะสีของใบ โดยดูจากสีของเส้นใบ (vein) และเม็ดสีที่กระจายตัวอยู่บนใบ พบว่าสีและเม็ดสีที่อยู่บนใบ แปรผันตามสภาพแวดล้อมขณะที่สีของเส้นกลางใบ (main vein) กลับเป็นลักษณะที่คงที่ภายใต้สิ่งแวดล้อมที่ต่างกัน จึงเสนอให้ใช้สีของเส้นใบเป็นเกณฑ์ในการจัดจำแนกบอนสี นอกจากเส้นใบแล้วลักษณะรูปร่างของใบเป็นอีกปัจจัยหนึ่งในการกำหนดความแตกต่างระหว่างพันธุ์

การศึกษาโดยการผสมพันธุ์บอนสีต่างสายพันธุ์ทั้งหมด 10 สายพันธุ์เพื่อดูการถ่ายทอดลักษณะของรูปทรงใบต่างๆ ในรุ่นลูกโดยทำการผสมทั้ง test cross และ reciprocal cross ทำให้สามารถระบุยีนควบคุมสีของเส้นใบได้ โดยเส้นใบสีขาวจะมีลักษณะเด่นเป็นสีเขียวโดยพันธุ์ที่มีเส้นใบสีขาวมีจีโนไทป์เป็น V^wV^w, V^wV^g ขณะที่เส้นใบสีแดงมีจีโนไทป์เป็น V^rV^g, V^rV^w, V^rV^r และเส้นใบสีเขียวมีจีโนไทป์เป็น V^gV^g (Deng *et al.*, 2005) ผลดังกล่าวสอดคล้องกับที่ Wilfet (1986)

ได้ทำการศึกษาลักษณะของยีนเด่นและยีนด้อยที่ควบคุมสีของก้านใบและแสดงให้เห็นว่ายีนที่ควบคุมสีของก้านใบน่าจะเป็น multiple allele Wilfet (1986) ยังได้ศึกษาพันธุกรรมของลักษณะของใบ พบว่าอย่างน้อยมียีน 2 อัลลีลเกี่ยวข้องได้แก่ F และ f สำหรับบอนใบไทย (fancy) และบอนใบหอก (lance) และใบไผ่ (strap) ซึ่งจะมีจีโนไทป์เป็น FF Ff และ ff ตามลำดับ โดยที่ความเบี่ยงเบนในลักษณะที่พบ คาดว่าน่าจะเกิดจากปัจจัยอื่นในระหว่างการพัฒนาการ โดยลักษณะสีของเส้นใบและรูปร่างของใบเป็นลักษณะอิสระที่ไม่ขึ้นต่อกัน

ลักษณะความแตกต่างทางพันธุกรรมเช่นนี้ อาจมีการกำหนดความแตกต่างของพันธุกรรมและลักษณะเฉพาะของแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งเป็นความแตกต่างของดีเอ็นเอที่สามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบพันธุ์ได้ แม้ว่าความหลากหลายของบอนสีที่พบในประเทศมีอยู่มากมายแต่การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเพื่อการตรวจสอบการยืนยันสายพันธุ์ การจำแนกและการนำข้อมูลพันธุกรรมไปใช้ยังมีอยู่น้อยมาก การมุ่งเน้นศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์จะช่วยเป็นกุญแจสำคัญให้การปรับปรุงพันธุ์ไปสู่พันธุ์ที่ดีกว่า ทำได้ง่าย ขณะเดียวกันเป็นการสร้างความเข้าใจในความเป็นมาและความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ ซึ่งเป็นบรรทัดฐานในการปรับปรุงพันธุ์ตรวจสอบและรับรองพันธุ์ ให้เป็นมาตรฐานได้

ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้ เทคนิคทางดีเอ็นเอในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์พืชชนิดต่างๆ โดยอาศัยความแตกต่างกันในลำดับยีนและนิวคลีโอไทด์ในจีโนม เทคนิคเหล่านี้ได้แก่ เทคนิคเอเอฟแอลพี (AFLP) (Vos *et al.*, 1995) เทคนิคอาร์เอพีดีหรือแรพปิด (RAPD) (Wies man, 1998) เทคนิคอาร์เอฟแอลพี (RFLP) (Weber and Helentjaris, 1989) การใช้ประโยชน์จากเอสทีเอส (STS) (Daniel *et al.*, 1998) ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA Fingerprint) (Nyborn *et al.*, 1990) และการวิเคราะห์ตรงไปที่ลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) (Sanger *et al.*, 1977)

ในบรรดาเทคนิคที่ได้กล่าวมา เทคนิคเอเอฟแอลพีเป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมในการตรวจสายพันธุ์พืชมากที่สุด เช่น ข้าว (Mackill *et al.*, 1996), ชา (Paul *et al.*,1997), ถั่วเหลือง (Maughan *et al.*,1996) และเมล็ดข้าวสาลี (Barrett and Kidwell, 1998) เนื่องจากมีความรวดเร็วในการประเมินผลพันธุกรรมของตัวอย่างที่เลือก ให้ผลคงที่เมื่อทำซ้ำ และทำให้เกิด polymorphic band ในจำนวนเปอร์เซ็นต์ที่มากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับการวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค RFLP และ RAPD และด้วย polymorphic band ที่มากกว่านี้เอง จึงทำให้สามารถจำแนกดีเอ็นเอได้ดีกว่าวิธีอื่น เพราะสามารถแสดงความแตกต่างของดีเอ็นเอได้ดีกว่า เทคนิค AFLP อาศัยความจำเพาะของดีเอ็นเอ เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะร่วมกับเทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เลส (PCR) ซึ่งเป็นการรวมความน่าเชื่อถือของเทคนิค RFLP และ PCR เข้าด้วยกัน (Zabear and Vos, 1993) แถบดีเอ็นเอที่ปรากฏที่ต่างกันจะช่วยบ่งบอกว่า

ลักษณะความต่างมีความเกี่ยวข้องกับดีเอ็นเอชนิดใด และยังสามารถนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ได้

ในทางเทคนิค AFLP เป็นวิธีการตรวจสอบชิ้นดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ให้เป็นชิ้นดีเอ็นเอขนาดเล็กๆ เพื่อให้สามารถนำมาเพิ่มจำนวนโดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ได้ดี และมีขนาดเหมาะสมในการแยกบน non-denaturing polyacrylamide gel สำหรับเอนไซม์ที่ใช้ในขั้นตอนการตัด คือ *Eco*RI และ *Mse*I จากนั้นเมื่อตัดดีเอ็นเอต้นแบบเป็นชิ้นดีเอ็นเอขนาดเล็กๆ ได้อย่างสมบูรณ์แล้ว จึงทำการเชื่อมต่อดีเอ็นเอเข้ากับ adaptor ที่ปลายของชิ้นดีเอ็นเอต่อจากตำแหน่งตัดจำเพาะของเอนไซม์ โดย adaptor เป็นดีเอ็นเอที่มีปลายด้านหนึ่งเป็นปลายเหนียว (sticky end) เหมือนกับปลายโมเลกุลของดีเอ็นเอที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะที่เลือกใช้ จึงสามารถเชื่อมต่อกับชิ้นดีเอ็นเอที่ตัดไว้ได้ โดยใช้ปลายเหนียว (sticky end ligation) และจะทำหน้าที่เป็นตำแหน่งจับจำเพาะของไพรเมอร์ ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ซึ่ง adaptor ที่ใช้ ก็คือ *Eco*RI adaptor และ *Mse*I adaptor ขั้นตอนต่อมาคือการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยใช้เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ คือ thermal cycler โดยสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ของเทคนิค AFLP นั้นจำทำสองครั้ง ครั้งแรกเรียกว่า pre-amplification ขั้นตอนนี้เป็นการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยการใช้ไพร์เมอร์ เพิ่มเบสเพื่อคัดเลือก 1 เบสที่ปลาย 3' ส่วนครั้งที่สองเรียกว่า select-amplification ขั้นตอนนี้เป็นการนำเอาผลผลิตที่ได้จากครั้งแรกมาเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอให้มากขึ้น ซึ่งจะใช้ไพร์เมอร์ ที่มีการเพิ่มเบสเข้าไปที่ปลาย 3' เพราะจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่ได้ อาจจะมีปริมาณมากจนไม่สามารถแยกออกจากกันได้ (smear band) ดังนั้นในการสังเคราะห์ไพร์เมอร์ จึงต้องเพิ่มเบสคัดเลือกเข้าไปที่ปลาย 3' ต่อจากเบสที่ตำแหน่งตัดจำเพาะของเอนไซม์ เพื่อให้เลือกจับกับชิ้นดีเอ็นเอ ที่มีลำดับเบสส่วนที่อยู่ต่อจากบริเวณตัดจำเพาะสอดคล้องกับเบสที่เพิ่มเข้าไป ดังนั้นจะทำให้สามารถกำหนดจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่เหมาะสมได้จากจำนวนเบสที่เพิ่มเข้าไป และจะให้จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมาะสมต่อการนำไปศึกษาหรือทดลองต่อ จากนั้นแยกชิ้นดีเอ็นเอที่ผ่านการเพิ่มจำนวนโดยเทคนิค AFLPมาแล้ว โดยการทำ polyacraylamide gel electrophoresis และตรวจสอบแถบดีเอ็นเอทำได้โดยการติดฉลากที่ probe หรือนำมาย้อมด้วย silver nitrate (เอกดนัย กอกิมพงศ์, 2540)

มีผู้นำเทคนิค AFLP มาใช้ในการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ของไม้ดอกไม้ประดับ ทำให้การจัดจำแนก การตรวจสอบและรับรองทำได้เป็นระบบและชัดเจนมากขึ้น Chen *et al.* (2004) ศึกษารูปแบบ AFLP ในอโกลนีมา 54 พันธุ์ และพบแถบดีเอ็นเอที่สามารถให้ค่าคะแนนได้ 449 แบบ และสามารถจัดกลุ่มอโกลนีมาออกได้เป็น 7 กลุ่ม จากข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่ได้นี้ นอกจากอโกลนีมาแล้ว ยังมีผู้นำเทคนิค AFLP มาใช้ในกล้วยไม้รองเท้านารี (จักรพันธ์ วนิชกุลและสุจิตรา จางตระกูล, 2548) ปรง (สจี อิ่มแตง, 2547) ต่อมา Loh *et al.* (1999) ได้นำเทคนิค AFLP

มาใช้ในการศึกษาบอนสี 2 ชนิด *Caladium bicolor* Vent และ *Caladium schomburakii* Schott โดยใช้ไพรเมอร์ 17 คู่ และสามารถจำแนกบอนสีแต่ละกลุ่มออกจากกันได้ โดยในกลุ่ม *Caladium bicolor* สามารถแยกกลุ่มย่อยได้ 6 สายพันธุ์โดยที่แต่ละกลุ่มมีรูปทรงใบแตกต่างกันอย่างสิ้นเชิง ผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาของ Madison (1981) เช่นกัน

Loh *et al.* (2000) วางแผนการทดลองเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของบอนสีในระบบ Intergeneric และ Interspecific ในบอนสีและพืชในวงศ์ Araceae ได้แก่ *Xanthosoma*, *Hapaline*, *Caladium bicolor*, *Caladium humboldtii*, *Caladium schomburgkii* และ *Caladium lindenii* โดยใช้ไพร์เมอร์ 3 คู่ ซึ่งสามารถแยกสมาชิกใน *Caladium humboldtii* ออกจาก *Caladium bicolor* และ *Caladium lindenii* ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพทางเทคนิคในการประยุกต์ใช้ในบอนสี นอกจากนี้การวิเคราะห์ UPGMA แสดงไว้เช่น *Caladium bicolor* และ *Caladium schomburgkii* นั้นมีความคล้ายกันหรือใกล้ชิดกันมาก อย่างไรก็ดีการศึกษาดังกล่าวไม่ได้ลงลึกถึงความหลากหลายในกลุ่ม *Caladium bicolor* และพันธุ์ที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ที่มีอยู่ในประเทศสหรัฐอเมริกา

อย่างไรก็ดี ถึงแม้จะมีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ในบอนสีมาบ้างแล้ว แต่พันธุ์ที่นำมาศึกษาก็ยังคงเป็นพันธุ์ในต่างประเทศและเน้นศึกษาในกลุ่มใบไทยและใบหอกเท่านั้น ขณะที่ยังมีพันธุ์บอนสีในประเทศไทยที่มีความหลากหลาย ทั้งประเภทใบไทย ใบกลม ใบกาบ ใบยาวและใบไผ่ พันธุ์ดังกล่าวยังไม่มีรายงานการศึกษาพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอหรือการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์บอนสีที่พัฒนาขึ้นในประเทศไทยแต่อย่างใด

นอกจากการศึกษารูปแบบความแตกต่างในรูปการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอแล้วยังมีความเป็นไปได้ในการใช้ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่พบในจีโนมเป็นข้อมูลในการศึกษา หากพิจารณาข้อมูลพันธุกรรมซึ่งก็คือข้อมูลจีโนมิกดีเอ็นเอแล้วพบว่าส่วนใหญ่ของข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์เป็นบริเวณที่ไม่ใช่ยีน ซึ่งประกอบด้วยบริเวณเบสซ้ำ (repetitive sequence) บริเวณเบสแทรก (interspersed sequence)

ในพืช จำนวนเบสซ้ำคิดเป็น 50% ของจีโนมทั้งหมด (Pearce *et al.*, 1996) ในกลุ่มของเบสที่ซ้ำที่อาจกระจายตัวมีส่วนหนึ่งที่จัดเป็นทรานสโพซอน (transposon) จากการตรวจสอบพบว่าพืชส่วนใหญ่จะมีบริเวณทรานสโพซอนที่เฉพาะที่เรียกว่า copia like retro element อยู่เป็นจำนวนมากบางพืชมีจำนวนชุดสูงถึง 10^5 ชุด (copies) (Manninen and Schulmem, 1993; Pearce *et al.*, 1996) บางชนิดอาจมีจำนวนชุดเพียง 10^2 ชุด เช่นที่พบในข้าว (Wang *et al.*, 1999) จำนวนชุดของทรานสโพซอนเหล่านี้แทรกกระจายตัวอยู่ทั้งจีโนมของพืชพันธุ์นั้นๆตำแหน่งและรูปแบบการแทรกตัวขึ้นอยู่กับชนิดพันธุ์ของพืช (Brandes *et al.*, 1997; Kumar *et al.*, 1997)

ได้มีผู้อ้างอิงลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ retro transposon มาใช้เป็นเครื่องหมายในการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างถั่ว และข้าวบาร์เลย์ (Ellis *et al.*, 1998; Flavell *et al.*, 1998; Kalendar *et al.*, 1999; Waugh *et al.*, 1997) อย่างไรก็ดียังไม่เคยมีการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ copia like retro transposon มาช่วยในการศึกษาของความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์บอนสีมาก่อนทั้งๆที่เทคนิคการตรวจสอบ copia like transposon ทำได้ไม่ยาก การศึกษาครั้งนี้จึงนำทั้งเทคนิค AFLP และเทคนิคในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางนิวคลีโอไทด์บนพื้นฐานของ copia like transposon มาใช้ในการศึกษาบอนสีตัวแทนของแต่ละกลุ่ม ความสัมพันธ์ที่ได้นอกจากจะช่วยในการจำแนกสายพันธุ์แล้ว ส่วนหนึ่งของข้อมูลดีเอ็นเอที่ได้ยังอาจนำมาใช้ในการรับรองพันธุ์หรือเป็นข้อมูลประกอบสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ได้ นอกเหนือจากการนำวิทยาการใหม่ๆ เข้ามาช่วยในการศึกษาความสัมพันธ์ในระหว่างสายพันธุ์เพื่อการจำแนกและรับรอง

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการปรับปรุงพืช โดยใช้กระบวนการทางพันธุวิศวกรรมจะช่วยให้สามารถสร้างรูปแบบของลักษณะใหม่ๆ ให้กับบอนสีและช่วยในการอนุรักษ์และขยายพันธุ์บอนสีให้ได้เป็นจำนวนมากอีกด้วย

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนสี นอกจากจะช่วยในการเก็บสายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อและช่วยในการขยายพันธุ์บอนสีในภาวะปลอดเชื้อและปลอดจากโรคแล้ว การศึกษาการตอบสนองต่อธาตุอาหารและสารกระตุ้นการเจริญเติบโต ยังเป็นองค์ความรู้ทางสรีรวิทยาของพัฒนาการเจริญเติบโตซึ่ง Sahavacharin (1982) รายงานการศึกษาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนสีโดยใช้ใบอ่อนของบอนสีพันธุ์ไทยไม่ระบุสายพันธุ์ บนสูตรอาหารดัดแปลง Murashige and Skoog (1962) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D 1 ppm และ kinetin 1 ppm ในการชักนำให้เกิดแคลลัสและสำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสเป็นจำนวนมาก ได้เปลี่ยนมาใช้อาหารเหลวสูตร Vacin and Went ที่เติมน้ำมะพร้าว 15% และจะเปลี่ยนอาหารทุก 2 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสสามารถเปลี่ยนเป็นต้นได้บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 1 ppm และ BA 1 ppm

ชุติมา คุณาไทย (2526) รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนสี 4 สายพันธุ์คือ พันธุ์แดงวัว พันธุ์พระเจ้าเดนมาร์ก พันธุ์ทองแก้ว และพันธุ์พันเรือง พบว่าบอนสี 3 พันธุ์แรกเกิดแคลลัสได้ดี ในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 1 mg/L และ BA 1 mg/L ในเวลา 2 เดือน ส่วนพันธุ์พันเรืองเกิดแคลลัสได้ดีในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D 1 mg/L และ kinetin 1 mg/L เมื่อนำแคลลัสไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA, IBA, kinetin, BA หรือน้ำมะพร้าว ในที่สว่างเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าบอนสีมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้นสูงสุดในอาหารแต่ละสูตรที่ไม่เหมือนกันในแต่ละพันธุ์ คือ พันธุ์แดงวัว ตอบสนองได้ดีในอาหารสูตร MS+IBA 0.5 mg/L พันธุ์พระเจ้าเดนมาร์กในสูตร MS+BA 1.5 mg/L พันธุ์ทองแก้วใน

สูตร MS+BA 1.0 mg/L และพันธุ์พันเรืองในสูตร MS+น้ำมะพร้าว 15% และสามารถนำออกปลูกลงดินได้สำเร็จส่วนใหญ่มีลักษณะเหมือนเดิมแต่บางต้นมีลักษณะเปลี่ยนแปลงไป

Yu Zhu *et al.* (1992) รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนสีพันธุ์ (*Caladium X horticulture* Birdsey) CV. "Candidium junior" บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 1 mg/L และ NAA 1 mg/L และสามารถชักนำให้เกิดยอดอ่อนจำนวนมากภายในระยะเวลา 60 วัน หลังจากนั้นนำยอดอ่อนมาเขย่าในน้ำกลั่น 15 วินาทีด้วยความเร็ว 10,000 rpm แล้วกรองด้วยตะแกรง 4 ขนาด (ขนาดของรู 0.1, 0.7, 1.5 และ 4.0 mm) เซลล์ที่ได้จำแนก 3 กลุ่มตามขนาด คือ ขนาด 0.1 - 0.7 mm 0.7 - 1.5 mm 1.5 - 4.0 mm พบว่าเซลล์ที่มีขนาด 0.7 - 1.5 mm เป็นขนาดที่เหมาะสม ที่จะเกิดเป็นต้นใหม่มากที่สุดและเซลล์ clump 1 ชิ้น สามารถเกิดต้น 2-3 ต้น ภายในเวลา 60 วันบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 1 mg/L และ BA 1 mg/L ก็สามารถเกิดต้นใหม่ได้เช่นกัน

Zhu *et al.* (1993) รายงานการนำใบและส่วนของดอกในบอนสี *Caladium bicolor* และ *Caladium hortulanum* มาเลี้ยงบนอาหารสูตร N6 และสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในสูตรดังกล่าวและเมื่อย้ายแคลลัสไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต kinetin และสารควบคุมการเจริญเติบโต auxin ความเข้มข้นต่ำพบว่าสามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนจำนวนมากได้

Mujib *et al.* (2000) รายงานการศึกษาใน Caladium bicolor cv "Bleeding Heart" พบว่าเมื่อนำบอนสีมาเลี้ยงในอาหาร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D, NAA และ BAP ในระดับต่ำสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและรักษาสภาพแคลลัสไว้ได้ เมื่อผ่านไป 6-7 สัปดาห์จึงพบการเปลี่ยนแปลงของตายอดและพบว่าเมื่อย้ายแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ทั้งสภาพแข็งและเหลวสามารถชักนำให้เกิดยอด ตา และแคลลัสจำนวนมาก ส่วนต้นอ่อนที่นำออกปลูกนั้นพบว่าต้นอ่อนมีสีเขียวที่มีรงควัตถุสีแดงอยู่ด้วยมีความแข็งแรงมากกว่าต้นอ่อนแบบอื่นและสามารถเติบโตได้ดีในภาวะนอกหลอดทดลอง

Ahmed *et al.* (2002) ได้รายงานการทดสอบหาความเหมาะสมของตัวอย่างชิ้นส่วนของบอนสีจากส่วนต่างๆ ของต้น เช่น ปลายยอด ใบอ่อนใบที่ 2, 3 และ 4 นับจากยอดตามลำดับ ใบที่ยังไม่ขยายใบ (ใบที่ 5 หรือ 6) ใบที่ขยายตัวแล้ว ก้านใบ มาเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 1 ppm และ BA 1 ppm พบว่าแต่ละเนื้อเยื่อมีความสามารถ regenerated ได้ต่างกัน ดังนี้ 14, 24, 41, 53 และ 70% ตามลำดับ และจากการศึกษาพบว่าพืชที่ regenerated จากใบอ่อนของตาข้างหรือปลายรากทำให้เกิด variation ได้ 12-14% ซึ่งน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนอื่นๆ จึงสรุปได้ว่าเนื้อเยื่ออ่อน (young tissue) เหมาะสมในการนำมาใช้ในการขยายพันธุ์ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Ahmed *et al.* (2002) รายงานการศึกษาบอนสีพันธุ์ Pink Cloud ในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต auxin ชนิดต่างๆ (NAA, IBA, IAA, 2,4-5 T และ 2,4-D) กับสารควบคุมการเจริญเติบโต cytokinin (BA) พบว่าสูตรอาหาร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 0.5 μmol สามารถผลิตต้นพืชที่แข็งแรงที่สุดและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีใบน้อยที่สุด คือ 15% และพบว่าสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D อยู่ในช่วง 0.5-4.5 μmol ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีใบในทุกส่วนของพืช ส่วนในอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตมีเปอร์เซ็นต์การทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีใบต่ำ คือ 5% แต่อัตราในการ regenerated ก็ต่ำมากเช่นเดียวกัน ดังนั้นจึงสรุปว่าสำหรับบอนสีพันธุ์ Pink Cloud นั้น สูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 0.5 μmol และ BA 4.5 μmol เหมาะสมที่สุดในการนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและมีอัตราการกลายของลักษณะสีใบน้อย

จากรายงานวิจัยเกี่ยวกับบอนสีที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ชี้ให้เห็นว่ายังมีความแตกต่างกันของสูตรอาหารที่นำมาชักนำให้บอนสีเกิดแคลลัสและเกิดต้น ทั้งนี้อาจมาจากสาเหตุที่บอนสีที่นักวิจัยนำมานั้นเป็นคนละสายพันธุ์และมาจากหลายแหล่ง จึงอาจกล่าวได้ว่ามีปัจจัยที่กระทบต่อพันธุกรรมทั้งปัจจัยภายนอกและปัจจัยภายในที่ต่างกัน สำหรับในประเทศไทยถึงแม้จะมีผู้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนสีไว้บ้างแล้ว (Sahavacharin, 1982; ชุติมา คุณาไทย, 2526) แต่เนื่องจากความหลากหลายทางสายพันธุ์ที่มีอยู่มากในประเทศไทย การวิจัยและการศึกษาเพิ่มเติมในด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในพันธุ์ที่ต่างไปจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจอย่างยิ่งและอีกประการหนึ่ง เทคนิคในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังเป็นรากฐานที่สำคัญในการศึกษาและวิจัยเชิงลึกต่อยอด เพื่อปรับปรุงพันธุ์บอนสีให้มีลักษณะแปลกใหม่และมีลักษณะที่สามารถเพิ่มผลผลิต และมูลค่าจนสามารถตอบสนองต่อความต้องการของตลาดบอนสีได้ในอนาคต

การวิจัยต่อยอดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในบอนสีได้เริ่มขึ้นในทศวรรษที่ 20 เริ่มจาก Li *et al.* (1994) ได้ถ่ายยีน human growth hormone (hCG) เข้าสู่บอนสี *Caladium bicolor* โดยผ่านทางเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* ด้วยวิธี leaf-dish co-cultivation และวิเคราะห์ด้วยวิธี Southern blot และ Western blot ทำให้ทราบว่า hCG gene ได้เข้าไปในจีโนมของบอนสีจริง และบอนสียังสามารถสังเคราะห์โปรตีนที่เป็นผลิตภัณฑ์ของ hCG gene ขนาด 22-kD ได้ และด้วยเหตุผลทางการค้าจึงไม่มีการเปิดเผยขั้นตอนทางเทคนิคในการถ่ายยีนโดยละเอียดแต่อย่างใด ผลการวิจัยในครั้งนี้ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อาหารเสริมในชื่อ HCG Energizer ซึ่งมีสรรพคุณเทียบเคียงกับ HCG โดยธรรมชาติที่ได้จากการออกกำลังกายและการรับประทานอาหารที่ได้สัดส่วนเช่น กรดอะมิโน arginine, lysine และ ornithine ขายผ่านทาง(www.hghacademy.com)

Li *et al.* (2004) ได้ถ่ายยีน (Leaf color) ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน จากข้าวโพดเข้าสู่บอนสีสายพันธุ์ Jackie Suthers โดยเทคนิค Agrobacterium mediated

transformation พบว่าการแสดงออกของยีน *Lc* ช่วยกระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์รงควัตถุสีแดงในเนื้อเยื่อทุกส่วนที่พบการแสดงออกของยีน *Lc* โดย *Lc* กระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของยีน *dfr* (dihydroflavored 4-reductase) แต่ไม่มีผลต่อการแสดงออกของยีน *chs* (chalcone syntase) และ *chi* (chalcone flavonone isomerase) การศึกษาดังกล่าวทำในบอนสีขาว ทำให้เกิดการสร้างสีออกชมพูแดง โดยปกติการสังเคราะห์รงควัตถุที่ให้สีจะเกี่ยวข้องกับวัฏจักรในการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ซึ่งมีเอนไซม์มากกว่า 4 ชนิดที่เป็นกุญแจสำคัญ โดยเริ่มจากการเปลี่ยนแปลงเชิงโมเลกุลของ phenyl alanine โดย phenyl alanine ammonia lyase ได้ให้ผลิตภัณฑ์ในรูป chalcone จากนั้นจะเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของ chalcone ให้เป็นแอนโทไซยานิน ในท้ายที่สุด ด้วยเอนไซม์ CHS, CHI และ DFR (Koes *et al.*, 1990)

Tanaka Y. *et al.* (1996) สามารถโคลน cDNA เส้นสมบูรณ์ของ flavonoid 3',5'-hydroxylase , dihydroflavonol 4-reductase และ flavonoid 3-glucocyltransferase จากกลีบดอกของดอกเจนเทียน (*Gentina triflora*) ซึ่งได้ sequence นั้น มีความเหมือน (homologus) กับพืชชนิดอื่น flavonoid 3',5'- hydroxylase และ flavonoid 3-glucocyltransferase เป็นเอนไซม์จำเพาะโดยการแสดงออกของ cDNAs ในระบบการแสดงออกแบบ heterologus

dfr เป็นเอนไซม์สำคัญที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางเคมี ในการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน โดยจะเปลี่ยนสารประกอบฟลาวาโนนในรูป 3-OH dihydroflavonols ให้เป็น flavan-3,4,diol และเปลี่ยนเป็นแอนโทไซยานินในท้ายที่สุด การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะทำให้เกิดการสะสมของสีขึ้น (Kaufman *et al.*, 1998)

แม้ที่ผ่านมาจะมีผู้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบอนสีและการถ่ายยีนในบอนสีแต่เนื่องจากการตอบสนองต่อปัจจัยธาตุอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตในแต่ละพันธุ์ไม่เท่ากัน ขณะเดียวกันความยากง่ายในการถ่ายยีนเข้าสู่บอนสีโดยวิธี Agrobacterium co-cultivation ก็ไม่เท่ากันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ดังนั้นการมุ่งเน้นศึกษาการตอบสนองของบอนสีในรูปสูตรอาหารและองค์ประกอบของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เพื่อเป็นประโยชน์ต่อทั้งการขยายพันธุ์อนุรักษ์พันธุ์และเป็นพื้นฐานต่อยอดการปรับปรุงพันธุ์ และการศึกษารูปแบบการถ่ายยีนเข้าสู่บอนสีจึงเป็นสิ่งสำคัญเพื่อเป็นข้อมูลหลัก ในการพิจารณาพันธุ์บอนสีของไทยให้มีศักยภาพในการผลิตเพื่อส่งออกไปในอนาคต