บทที่ 8

เซลล์ผันแปรและพันธุ์กลาย

Variants and Mutants

จากการศึกษาลักษณะที่แสดงออกและถูกถ่ายทอดในต้นพืชที่เติบโตสมบูรณ์แล้ว รวมถึงกระบวนการควบคุมขั้นตอนต่างๆ ที่ค่อนข้างซับซ้อนในการพัฒนาไปเป็นต้นพืชจะนำไปสู่ความเข้าใจระดับโมเลกุลและพื้นฐานทางสรีรวิทยาอย่างลึกซึ้งทำให้เกิดการพัฒนาเทคนิคการเปลี่ยนพันธุกรรมพืชเพื่อนำไปใช้ในการปรับปรุงลักษณะที่มีคุณค่าตามต้องการต่อไป โดยกระบวนการปรับปรุงพันธุ์พืชจำเป็นต้องมีการคัดเลือกอย่างรอบคอบเนื่องจากสายพันธุ์ของเซลล์ที่มีฟีโนไทป์เปลี่ยนแปลงไปนั้นอาจเป็นลักษณะที่เกิดจากสาเหตุที่ไม่ใช่พันธุกรรมแต่เป็นเซลล์ที่มีความผันแปร (variant) ได้เช่นเดียวกับพันธุ์กลาย (mutant) ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรม อย่างไรก็ตามวิธีการที่นิยมปฏิบัติยังคงเป็นการคัดเลือกพันธุ์กลายโดยอาศัยเทคนิคการเพาะเลี้ยงแคลลัสหรือเซลล์แขวนลอยในอาหารที่ใส่สารช่วยในการคัดเลือก (selective agent) เพื่อให้ได้ลักษณะเฉพาะเจาะจงด้วยสารที่เป็นพิษ สารป้องกันกำจัดวัชพืช กรด และเกลือ เป็นต้น หรือการปรับสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงให้มีลักษณะไม่เหมาะสม (selection pressure) เช่น อุณหภูมิ และปริมาณน้ำ เป็นต้น เซลล์ที่รอดชีวิตได้ คือเซลล์ที่เกิดการผันแปรทางพันธุกรรม เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงและชักนำให้พัฒนาเป็นต้นพืชแล้วหากลักษณะความทนทานต่อสารหรือสภาวะในการคัดเลือกยังคงอยู่ก็จะได้พืชพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะตามต้องการ เช่น พืชทนเค็มหรือพืชทนต่อสารป้องกันกำจัดวัชพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้

การผสมข้ามระหว่างพืช

หมายถึง การผสมข้ามพันธุ์ (intervarietal cross) การผสมข้ามชนิด (interspecific cross) การผสมข้ามสกุล (intergeneric cross) เป็นต้น การผสมข้ามทำให้มีโอกาสที่จะเกิดความผันแปรทางพันธุกรรมขึ้นได้ ซึ่งเราสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงและคัดเลือกพันธุ์ที่พึงประสงค์ได้ สำหรับการผสมข้ามตามธรรมชาติของพืชผสมตัวเอง จะมีอัตราการเกิดได้ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากปัญหาที่อาจเกิดขึ้นได้ใน 3 ขั้นตอน ดังนี้

1. การผสมเกสร (Pollination)

ในขั้นตอนของการผสมเกสรอาจเกิดปัญหาได้เนื่องจากคุณภาพหรือการมีชีวิตของอับลองเรณูไม่เหมาะสม นอกจากนี้ยังอาจพบว่าเสปิร์มนิวคลีไอไม่ถูกปล่อยออกมาจากหลอดละอองเรณูหรือละอองเรณูเจริญเข้าไปแล้วเกิดการทำลายส่วนของเซลล์ไข่และโพลาร์นิวคลีไอ เป็นต้น สามารถแก้ปัญหาโดยการตัดส่วนยอดของเกสรตัวเมียออกแล้วเอาแท่งวุ้นและน้ำตาลใส่เข้าไปแทน เพื่อแก้ปัญหาที่ละอองเรณูมีอัตราการงอกช้ากว่าจะงอกลงไปถึงไข่ก็สลายตัวไปแล้ว หรือการใช้สารเร่งการเจริญเติบโตของส่วนเกสรตัวเมีย เช่น naphthalene acetic acid (NAA) ในกรณีที่มีอัตราการเกิดดอกเพศเมียต่ำ

2. การปฏิสนธิ (Fertilization)

เกสรเพศเมียและละอองเรณูไม่เข้ากันเรียกว่า อินคอมแพทิบิลิที (incompatibility) เช่น ในการผสมระหว่าง *Crepis tectorum* และ *C. capillaries* พบว่าไซโกตไม่สามารถพัฒนาได้แต่จะตายในระยะเอ็มบริโออ่อน

3. การพัฒนาของเอ็มบริโอ (Embryogenesis)

ปัญหาของการแบ่งเซลล์ในกระบวนการพัฒนาของเอ็มบริโอ อาหารไม่สามารถลำเลียงไปยัง suspensor หรือเอ็มบริโอไม่สามารถใช้อาหารจากเนื้อเยื่อรอบถุงเอ็มบริโอได้ เป็นต้น สามารถแก้ปัญหาดังกล่าวโดยการแยกเอ็มบริโอออกมาเพาะเลี้ยงในอาหาร

สังเคราะห์ เช่น ลูกผสมที่ได้จากการผสมระหว่าง *Hordeum vulgare* และ *H. bulbosum* สามารถเพิ่มอัตราการอยู่รอดของเอ็มบริโอได้ 10 เปอร์เซ็นต์

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องการผสมข้ามระหว่างพืช

ในการผสมข้ามเพื่อปรับปรุงพันธุ์พืชให้ดีขึ้นหรือมีลักษณะบางอย่างดีขึ้น โดยการเพิ่มยีนหรือให้มียีนที่ควบคุมลักษณะที่ต้องการเพียง 1-2 ยีน จากพืชอื่นที่มีความสัมพันธ์กับพืชปลูกเข้ามาจะต้องอาศัยปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องดังนี้

1. การผสมข้ามอย่างมีประสิทธิภาพระหว่างพืชผู้ให้ (donor variety/parent) และผู้รับ (receiver or recurrent variety/parent)

2. การปฏิสนธิอย่างมีประสิทธิภาพ เช่น การงอกของหลอดเรณู การเจริญเติบโตของหลอดเรณู และการรวมกันของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย

3. ลูกผสมที่สามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้โดยการเลี้ยงเอมบริโออ่อน ต้องสามารถพัฒนาไปเป็นต้นพืชที่มีความสมบูรณ์พันธุ์

4. การเข้าคู่ของโครโมโซมเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากจะมีจุดประสงค์เพื่อการสร้างแอมฟิพลอยด์ (amphiploid) โครโมโซมจากผู้ให้และผู้รับจะต้องเข้าคู่กันและมีการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนเกิดขึ้นได้ ในการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการควรกระทำอย่างรอบคอบเพราะว่าอาจมียีนที่ต้องการติดไปกับยีนที่ไม่ต้องการได้ซึ่งจะทำให้ได้ทั้งลักษณะที่ดีและเลวพร้อมๆ กัน

5. ความคงตัวของยีนที่ย้ายไป เนื่องจากการแสดงออกของยีนบางตัวจะขึ้นกับยีนที่อยู่ข้างเคียงและสภาพพื้นฐานทางพันธุศาสตร์ ยีนที่ย้ายไปต้องคงตัวในการแสดงผล

6. โอกาสในการแสดงออกของอัตราส่วนทางจีโนไทป์และฟีโนไทป์ซึ่งเกี่ยวข้องกับกฎของความน่าจะเป็น

โอกาสในการประสบความสำเร็จของงานด้านการปรับปรุงพันธุ์พืชในปัจจุบันมีแนวโน้มสูงขึ้นเนื่องจากมีความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเซลล์พืชมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการควบคุมระบบการเพาะเลี้ยงเซลล์พืชจำนวนมากเพื่อใช้สำหรับการคัดเลือกเซลล์ที่มีความผันแปรยังมีข้อจำกัดอยู่อีกมากและการควบคุมลักษณะของเซลล์ที่มีความเปลี่ยนแปลงภายใต้สภาวะคัดเลือกก็ยังไม่สามารถดำเนินการได้กับทุกลักษณะที่ต้องการ สำหรับลักษณะความผันแปรของเซลล์พืชที่พบจำแนกได้ดังนี้

ประเภทของความผันแปร

ความผันแปรของเซลล์พืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจำแนกได้เป็น 4 ประเภท ดังนี้

1. เอสเค็พส์ (escapes) ไม่จัดเป็นพวกผันแปรอย่างแท้จริง เนื่องจากเริ่มเกิดอยู่กับพวกเซลล์ผันแปรในระยะแรกแต่จะถูกกำจัดออกไปในขั้นตอนการทดสอบต่อมา จำแนกได้จากการที่ไม่สามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้ในวัฏจักรของการคัดแยกหรือการคัดเลือก มักพบเป็นจำนวนมากในช่วงเริ่มต้น

2. อันสเทเบิล (unstable) เป็นพวกเซลล์ผันแปรที่ไม่คงตัวจะสูญเสียฟีโนไทป์ที่เกิดขึ้นใหม่หลังจากการเติบโตในช่วงหนึ่ง อาจเกิดจากการปรับตัวทางสรีรวิทยาเพื่อให้เข้ากับสภาวะคัดเลือก (selection pressure) ซึ่งเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงชั่วคราวในการแสดงออกของยีนแต่จะเปลี่ยนไปอย่างรวดเร็วเมื่อไม่มีการคัดแยกซ้ำหรือถูกย้ายออกจากสภาวะคัดเลือก เช่น การเลี้ยงเซลล์ยาสูบที่ต้านทานต่อไซโคลเฮกซาไมด์ (cyclohexamide) ลักษณะความต้านทานนี้จะหายไปหลังจากย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสารดังกล่าวเพียงครั้งเดียว

3. อิพิเจนีติก (epigenetic) เป็นลักษณะที่ค่อนข้างจะคงตัวในระหว่างการเลี้ยงเซลล์ที่มีการแบ่งเซลล์แบบไมโทซีส ลักษณะฟีโนไทป์ใหม่ ๆ จะยังคงอยู่หลังจากการเติบโตในสภาพที่ไม่มีการคัดแยกหรือไม่ได้รับสภาวะคัดเลือกอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็

ตามฟีโนไทป์ใหม่ ๆ ที่เกิดขึ้นจะมีการถ่ายทอดอย่างคงที่รวมทั้งมีการแยกของยีนเป็นไปตามกฎของเมนเดลและอาจเป็นจุดกำหนดของการกลายระดับยีน (point mutation)

4. มิวแทนท์ (mutant) เป็นการเปลี่ยนแปลงที่มีสาเหตุมาจากสารพันธุกรรม มีความคงตัวและสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นต่อไปได้

การเกิดพันธุ์กลาย

โดยทั่วไปโอกาสเกิดการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) จะอยู่ในช่วงความถี่ประมาณ 10^{-6} – 10^{-8} เซลล์ ในการใช้สิ่งก่อกลายพันธุ์ (mutagent) ที่มีประสิทธิภาพอาจเพิ่มความถี่ในการเกิดพันธุ์กลายได้ถึง 100 เท่า ซึ่งสิ่งก่อกลายพันธุ์ที่นิยมใช้ คือ รังสีแกมมา (γ-ray) และรังสีเอกซ์ (X-ray) ส่วนที่เป็นสารเคมี คือ ethyl methane sulphonate (EMS) และ methyl methane sulphonate (MMS)

ความเหมาะสมในการกลายพันธุ์มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายประการ เช่น ชนิดพืช สภาพแวดล้อม และปริมาณของสิ่งก่อกลายพันธุ์ ในการคัดเลือกหรือคัดแยกพันธุ์กลายนิยมใช้สิ่งก่อกลายพันธุ์ในปริมาณที่ทำให้พืชมีการรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) หรือมีการเติบโตลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (GR_{50}) อย่างไรก็ตามในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์อาจเป็นการเพิ่มความถี่ของยีนที่ไม่ต้องการซึ่งมักเกี่ยวข้องกับฟีโนไทป์ที่แสดงออก เช่น ความแข็งแรงลดลง ความสมบูรณ์พันธุ์ลดลง เกิดการแยกยีนที่เกี่ยวกับการมีชีวิตรอด (lethal gene) ซึ่งเป็นยีนแฝงในรุ่นถัดมา เป็นต้น

ในการเหนี่ยวนำให้พืชเกิดการกลายพันธุ์ด้วยรังสีหรือสารเคมีนั้นจะประสบความสำเร็จสูงสุดในพืชผสมตัวเองมากกว่าพืชผสมข้าม เนื่องจากพืชผสมข้ามส่วนใหญ่มีการแปรผันทางพันธุกรรมในประชากรค่อนข้างสูงอยู่แล้ว สำหรับการคัดเลือกพันธุ์กลายในพืชผสมตัวเองจะสามารถตรวจสอบได้ครั้งแรกในชั่วที่สอง ส่วนในพืชผสมข้ามจะตรวจพบครั้งแรกในชั่วที่สาม สำหรับพืชที่ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดจะนิยมกระทำในชั่วที่ 2 โดยการ

คัดเลือกต้นที่มีลักษณะตรงตามวัตถุประสงค์ เก็บเกี่ยว แยกต้นแล้วปลูกทดสอบในชั่วที่ 3 และ 4 ต่อไป เช่นเดียวกับการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีการผสมพันธุ์

จุดประสงค์ในการเปลี่ยนพันธุกรรมพืช

1. เพื่อเพิ่มลักษณะที่ต้องการ 1-2 ประการเข้ามาสู่พืชพันธุ์ดีที่มีอยู่เดิม

เมื่อพันธุ์พืชปลูกมีลักษณะที่ดีและเป็นที่ต้องการของตลาดแต่มีข้อเสียบางประการ เช่น ไม่ทนทานต่อโรคระบาดบางชนิดหรืออ่อนแอต่อแมลงศัตรูพืช สามารถใช้การเหนี่ยวนำให้พืชกลายพันธุ์หรือการถ่ายยีนควบคุมลักษณะที่ต้องการนั้นเข้าสู่พืชเพื่อเพิ่มลักษณะที่ดีบางประการนั้น

2. เพื่อรวมลักษณะที่ดีของพืชเข้าด้วยกัน

เป็นการกำหนดลักษณะของพืชพันธุ์ใหม่ให้มีคุณสมบัติตามต้องการซึ่งเป็นการรวมข้อดีของพืชที่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมและไม่สามารถผสมกันได้ตามธรรมชาติ

3. เพื่อปรับปรุงลักษณะบางประการของพืชให้ดีขึ้น

ในกรณีที่พืชเศรษฐกิจบางชนิดมีลักษณะทั่วไปของผลผลิตเป็นที่ต้องการอยู่แล้วแต่ขาดคุณสมบัติบางประการสามารถทำได้โดยการใช้รังสี สารเคมี หรือ การตัดแต่งพันธุกรรม เป็นต้น

4. เพื่อการศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานและวิวัฒนาการของพืช

การใช้พืชที่มีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเพื่อศึกษาด้านอนุกรมวิธานและวิวัฒนาการของพืชเรียกว่า ไฟโลเจนี (Phylogeny) เป็นการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของพืชที่มีความเกี่ยวข้องกันเพื่อการจัดจำแนกชนิดของพืช เช่น การศึกษาไฟโลเจนีของข้าว เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ของข้าวสาลีเฮกซาพลอยด์ จากการศึกษาพบว่า species ต่างๆ ของข้าวสาลีมีกำเนิดมาจาก *triticum aestivum* โดยเกิดการกลายพันธุ์ตาม

ธรรมชาติในช่วงระยะเวลาต่างๆ ของวิวัฒนาการ และนักอนุกรมวิธานได้จัดจำแนกเป็นชนิดใหม่ของข้าวสาลี

5. เพื่อการศึกษาทางพันธุศาสตร์

พืชที่มีพันธุกรรมเปลี่ยนแปลงไปบางชนิดอาจจะไม่มีประโยชน์โดยตรงต่อการนำมาใช้ทางการเกษตรแต่มีความเหมาะสมต่อการศึกษาวิจัยทางพันธุศาสตร์และเซลล์พันธุศาสตร์ เช่น ลักษณะฝักแฝดในถั่วเขียวได้จากการฉายรังสีแกมมากับถั่วเขียวพันธุ์อู่ทอง 1 ในปริมาณรังสี 30 กิโลแรด แยกพันธุ์กลายออกมาได้เป็นครั้งแรกในชั่ว M4 โดยลักษณะฝักมี 2 ฝักติดกันตามความยาวของฝัก เมล็ดมีขนาดใหญ่กว่าพันธุ์อู่ทอง 1 ในแต่ละต้นมีทั้งฝักเดี่ยวและฝักแฝดปนกัน เนื่องจากไม่มีรายงานการเกิดฝักแฝดในถั่วเขียวมาก่อน เมื่อนำพันธุ์กลายมาศึกษาโดยการผสมแบบสลับกับพ่อแม่เพื่อดูการกระจายตัวของลักษณะฝักแฝดในชั่ว F2 พบว่ามีลักษณะการกระจายตัวสอดคล้อยกับสมมุติฐาน 13 : 3 มากที่สุด แสดงว่าลักษณะฝักแฝดควบคุมด้วยยีน 2 คู่ ปฏิกริยาเป็นแบบข่มข้ามคู่ โดยยีนคู่หนึ่งอยู่ในลักษณะข่มและยีนอีกคู่หนึ่งอยู่ในสภาพด้อย จีโนไทพ์เป็นแบบ aaBB และ aaBb (รวม 3/16) โดยจีโนไทพ์ของฝักเดี่ยวเป็นแบบ A_B_ , A_bb และ aabb (รวม 13/16) และเมื่อตรวจสอบทางเซลล์พันธุศาสตร์ไม่พบความผิดปกติในจำนวนโครโมโซมหรือขนาดของโครโมโซม พฤติกรรมของโครโมโซมในการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีสไม่แตกต่างไปจากพันธุ์อู่ทอง 1 จึงคาดว่าเป็นการกลายเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของยีนส์ (สิรนุช, 2536)

การเหนี่ยวนำให้พืชกลายพันธุ์

การเหนี่ยวนำให้พืชกลายพันธุ์จะต้องอาศัยสิ่งก่อกลายพันธุ์ซึ่งแบ่งออกเป็น

1. สิ่งก่อกลายพันธุ์ทางกายภาพ (physical mutagen) ที่นิยมใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ได้แก่ รังสีเอกซ์ (x-ray) และรังสีแกมมา (γ-ray) โดยรังสีจะถ่ายเทพลังงานให้กับโมเลกุลต่างๆ ของเซลล์ ทั้งโดยทางตรงเรียกว่า ไดเรกแอคชัน (direct action) และทางอ้อมเรียกว่า อินไดเรกแอคชัน (indirect action) โดยการส่งถ่ายพลังงานให้กับโมเลกุล

ของน้ำในเซลล์ทำให้โมเลกุลของน้ำแตกตัวเป็นไอออนและฟรีแรดิคอลต่างๆ รวมเรียกว่า เรดิโอไลติกโพรดักส์ (radiolytic product) ผลรวมของรังสีทั้งทางตรงและทางอ้อมทำให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่และทำปฏิกริยาระหว่างกันเกิดเป็นโมเลกุลที่มีคุณสมบัติทางชีวเคมีต่างไปจากเดิมเป็นผลให้ลักษณะฟีโนไทป์เปลี่ยนไป

2. สิ่งก่อกลายพันธุ์ทางเคมี (chemical mutagen) สารเคมีที่เข้าทำปฏิกริยากับดีเอ็นเอทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในสิ่งมีชีวิต สารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มแอลคิเลทิง เอเจนท์ (alkylating agent) ได้แก่ เอธิลมีเทน ซัลโฟเนท (ethylmethane sulphonate; EMS) โซเดียมเอไซด์ (sodium azide; NaN_3) ไดเอธิลซัลเฟต (diethyl sulphate; dES) และเอธิลีนอีไมน์ (ethyleneimine; EI) เป็นต้น

สารเคมีที่นิยมใช้มากที่สุดคือ เอธิลมีเทน ซัลโฟเนท โดยไปมีผลทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้โดยการเข้าแทนที่คู่เบส (single base substitution) ทำให้เกิดการหลุดหายไปของเบสพิวริน (depurination) และการตัดขาดของสายดีเอ็นเอ (single strand or double strand break)

ผลของรังสีหรือสารเคมีทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางชีวเคมีภายในเซลล์ หากผลที่เกิดขึ้นรุนแรงมากเซลล์จะตายในที่สุดแต่หากไม่รุนแรงเซลล์จะยังมีชีวิตอยู่และอาจมีความผิดปกติเกิดขึ้นเนื่องจากเซลล์มีกระบวนการทำหน้าที่ลดอันตรายจากรังสีหรือสารเคมีโดย กระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอ (DNA repair process) ซึ่งความเสียหายที่ไม่รุนแรงมากจะได้รับการซ่อมแซมกับคืนเป็นปกติได้แต่กรณีที่ความเสียหายรุนแรงและซับซ้อนมากไมสามารถซ่อมแซมให้กลับคืนได้อาจเป็นผลให้เซลล์ตาย แต่อย่างไรก็ตามในกระบวนการซ่อมแซมอาจเกิดความผิดพลาดขึ้นเช่น การนำนิวคลีโอไทด์ที่ต่างไปจากเดิมเข้ามาหรือการเชื่อมต่อผิดพลาดทำให้ดีเอ็นเอขาดหายไป (deletion) การเชื่อมต่อสลับที่ (inversion) หรือการเชื่อมต่อของดีเอ็นเอจากต่างโมเลกุล (translocation) ความผิดพลาดต่างๆ เหล่านี้อาจนำไปสู่การกลายพันธุ์ที่สามารถถ่ายทอดลักษณะกลายนั้นไปยังรุ่นต่อไปได้

ผลของสิ่งก่อกลายพันธุ์

การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์นั้นสามารถเลือกกระทำได้กับทุกชิ้นส่วนของพืช โดยมีการจำแนกรุ่นของพืชที่ได้รับการชักนำเพื่อความเข้าใจตรงกันในการคัดเลือกพันธุ์กลายที่เกิดขึ้น เช่น เมล็ดที่ผ่านการฉายรังสีหรือได้รับสารเคมีเรียกว่า เมล็ดเอ็ม 1 (M_1 seed) เมื่อนำเมล็ดเอ็ม 1 ไปปลูกต้นที่ได้เรียกว่า ต้นเอ็ม 1 (M_1 plant) ต้นเอ็ม 1 มีการเจริญเติบโตออกดอก ออกผลจนถึงระยะเก็บเกี่ยวเรียกช่วงเวลาทั้งหมดนี้ว่ารุ่นที่ 1 หรือชั่วที่ 1 (M_1 generation) เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายหลังการฉายรังสีหรือการใช้สารเคมีนั้นมีความรุนแรงแตกต่างกันไปตามชนิดและปริมาณของพืชและสิ่งก่อกลายพันธุ์ จำแนกได้ดังนี้

1. การทำลายทางสรีระ (physiological damage)
2. การกลายพันธุ์ของยีน (gene mutation)
3. การกลายพันธุ์ของโครโมโซม (chromosome mutation)

การเปลี่ยนแปลงทางสรีระจะปรากฏอยู่เฉพาะชั่วที่ 1 เท่านั้นไม่ถ่ายทอดต่อไปยังลูกหลาน เกิดขึ้นเนื่องจากกระบวนการเมทาบอลิซึมถูกขัดขวางทำให้กิจกรรมต่างๆ ของเซลล์ไม่สามารถดำเนินไปตามปกติได้หรือมีประสิทธิภาพลดต่ำลง การเปลี่ยนแปลงทางสรีระอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมหรือไม่ก็ได้ซึ่งการเปลี่ยนแปลงบางชนิดอาจต้องทำการตรวจสอบทางเซลล์วิทยา บางชนิดตรวจวัดได้เช่น ความสูงของต้น ความกว้างของใบ บางชนิดก่อให้เกิดปฏิกิริยากับพืชทั้งต้น เช่น ลักษณะแคระแกรนและติดตามด้วยการตาย เนื่องจากการทำลายทางสรีระที่เสียหายสูงสุด คือ การทำให้เกิดการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงใช้การเปลี่ยนแปลงทางสรีระเป็นจุดกำหนดปริมาณรังสีหรือสารเคมีที่เหมาะสมในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้เกิดการกลายพันธุ์สูงสุดโดยมีอัตราการตายหรือการเป็นหมันต่ำ

การกลายพันธุ์ของยีนหรือโครโมโซมสามารถถ่ายทอดจากชั่วหนึ่งไปยังชั่วต่อไปได้ ลักษณะที่ใช้ในการตรวจวัดอันตรายที่เกิดจากรังสีหรือสารเคมีได้แก่

1. อัตราการงอกของเมล็ด
2. การเจริญเติบโต เช่น ความสูงของต้นกล้า ความยาวของราก
3. อัตราการรอดชีวิต
4. จำนวนดอกและช่อดอก
5. อัตราการติดเมล็ดและผล

การวัดผลทางสรีระที่เกิดขึ้นในชั่วที่ 1 จะใช้วิธีใดก็ได้หรืออาจจะใช้หลายวิธีร่วมกันขึ้นกับชนิดและความสะดวกรวดเร็วและชนิดของพืชด้วย สำหรับความผิดปกติที่พบได้เด่นชัดคือ การเป็นหมัน ไคเมอรา และความผิดปกติของคลอโรฟิลด์ ซึ่งถ้าเป็นการทำลายทางสรีระเพียงอย่างเดียวจะไม่ถ่ายทอดไปยังชั่วที่ 2

การเป็นหมัน (sterility)

ลักษณะที่มักเกิดขึ้นในกระบวนการเหนี่ยวนำให้พืชการกลายพันธุ์ คือ การเป็นหมันซึ่งเป็นผลจากสิ่งต่อไปนี้

1. การเจริญเติบโตหยุดชะงักจนไม่สามารถมีดอกได้
2. มีดอกแต่ขาดโครงสร้างหรือส่วนที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์
3. มีโครงสร้างซึ่งเกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์แต่ละอองเรณูเป็นหมัน
4. มีการปฏิสนธิแต่เอ็มบริโอตายก่อนเจริญเต็มที่
5. อาจมีเมล็ดเกิดขึ้นแต่ไม่สามารถงอกออกมาเป็นต้นหรือตายหลังการงอก

ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์เป็นหมันพบได้มากที่สุดซึ่งอาจเนื่องจากสาเหตุสำคัญ คือ การกลายพันธุ์ของโครโมโซมและสาเหตุอื่นๆ เช่น การกลายพันธุ์ของยีน การกลายพันธุ์ของไซโทพลาซึม หรือผลจากการทำลายทางสรีระ เป็นต้น

ไคเมอรา (chimera)

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากสิ่งก่อกลายพันธุ์นั้นไม่มีความสม่ำเสมออาจจะเกิดเพียงเซลล์ใดเซลล์หนึ่งหรือเกิดกับหลายเซลล์ก็ได้แต่การเปลี่ยนแปลงอาจมีลักษณะแตกต่างกันเรียกว่า ไคเมอรา เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดปัญหาในการคัดเลือกพันธุ์กลาย วิธีการหลีกเลี่ยงปัญหาการเกิดไคเมอรา คือ การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์กับส่วนเนื้อเยื่อเจริญที่ยังอ่อนมากๆ หรือส่วนเนื้อเยื่อที่มีจำนวนเซลล์ไม่มากนัก เช่น ตายอด พืชบางชนิดมีเนื้อเยื่อไม่เกี่ยวกับเพศ (somatic tissue) ที่สามารถเจริญเป็นยอด (adventitious shoot) ต้นที่ได้จากการชักนำลักษณะนี้มักจะเกิดการกลายพันธุ์อย่างแท้จริง (solid mutant) คือ ทุกส่วนของต้นเหมือนกันทั้งหมด

การที่พืชมีเซลล์เริ่มต้นเพียงเซลล์เดียว จีโนไทป์เป็น **AA** และเมื่อเกิดการกลายพันธุ์ได้เซลล์ใหม่ที่มีจีโนไทป์ **Aa** ต้นในชั่วแรกจะเป็นเฮเทอโรไซกัสจึงยังมีลักษณะฟีโนไทป์เหมือนกันทั้งหมดเมื่อมีการสร้างเมล็ดจะได้จีโนไทป์ 3 แบบ คือ **AA : Aa : aa** ต้นลูกที่ได้จึงมีลักษณะฟีโนไทป์ 2 แบบคือ ต้นปกติและต้นกลายพันธุ์ อัตราส่วน 3 : 1 ดังนั้นในการให้สิ่งก่อกลายพันธุ์กับส่วนของพืชที่มีเซลล์เริ่มต้นมากกว่า 1 เซลล์ เมื่อนำส่วนของพืชนั้นไปขยายพันธุ์จึงได้ลักษณะที่แตกต่างกันอยู่ในต้นเดียวกันเรียกว่าเซกเตอร์ (sector) ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ปกติ (non mutated sector) และกลุ่มเซลล์กลายพันธุ์ (mutated sector) เซลล์ที่กลายพันธุ์มักมีความสามารถในการเพิ่มจำนวนได้ช้ากว่าเซลล์ปกติและเมื่อมีการแข่งขันเข้าผสมพันธุ์ระหว่างเซลล์สืบพันธุ์ปกติ (normal gamete) และเซลล์สืบพันธุ์ที่กลาย (mutated gamete) เรณูที่กลายพันธุ์จะมีโอกาสเข้าผสมพันธุ์ได้น้อยกว่าเรณูปกติ เนื่องจากการงอกของหลอดเรณูเข้าไปยังรังไข่ได้น้อยกว่าเรณูปกติเช่นกัน

การกลายของคลอโรฟิลล์ (chlorophyll mutation)

ความผิดปกติของคลอโรฟิลล์แสดงออกในลักษณะใบจุดหรือใบด่างซึ่งอาจเป็นความผิดปกติของโครโมโซมหรือกลไกอย่างอื่นและพบว่าในใบแรกๆ ของต้นเอ็ม 1 ลักษณะจุดจะเล็กกว่าใบถัดไปเนื่องจากความแตกต่างของเซลล์เริ่มต้นที่ให้กำเนิดใบ

การคัดเลือกพันธุ์กลายจากการเหนี่ยวนำ

1. เก็บเกี่ยวในชั่วที่ 1 โดยพิจารณาวิธีการเก็บเกี่ยวให้เหมาะสมกับชนิดพืชและวิธีการคัดเลือก ตลอดจนชั่วที่จะทำการคัดเลือกลักษณะกลายพันธุ์ เมล็ดที่เก็บเกี่ยวได้จากต้นเอ็ม 1 เรียกว่าเมล็ดเอ็ม 2

ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีการแตกหน่อ เช่น พืชตระกูลหญ้าพบว่าหน่อแรกมีอัตรากลายพันธุ์สูงจึงควรเก็บเมล็ดเอ็ม 2 จากหน่อแรก ส่วนพืชใบเลี้ยงคู่โดยเฉพาะพืชผสมตัวเอง เช่น พืชตระกูลถั่ว ทานตะวัน มะเขือเทศ ควรเก็บจากกิ่งแรก (main branch) แต่ถ้าในกิ่งแรกมีเมล็ดจำนวนน้อยเช่น เมล็ดถั่วลันเตาอาจต้องเก็บจากหลายๆ กิ่ง มารวมกันก็ได้

จำนวนเมล็ดที่เก็บอาจจะเพียง 1 เมล็ด หรือ 1 - 2 ฝัก หรืออาจเก็บจำนวนมากจากแต่ละต้นมารวมกันโดยเก็บแต่ละต้นเท่าๆ กัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น ขนาดพื้นที่ แรงงาน และ การดูแลรักษา เป็นต้น

2. การปลูกในชั่วที่ 2 และการคัดเลือกพันธุ์กลาย เนื่องจาก 99 เปอร์เซ็นต์ของการกลายพันธุ์เป็นการกลายจากยีนเด่นเป็นยีนด้อย ดังนั้นการคัดเลือกพันธุ์กลายจึงต้องทำในชั่วที่ 2 เป็นส่วนใหญ่

การคัดเลือกอาจทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับลักษณะที่ต้องการคัดเลือก เช่น

1. การคัดเลือกด้วยสายตา (visual selection) เช่น สี ความต้านทานโรคและแมลง เป็นต้น

2. การใช้เครื่องมือ (mechanical or physical method) เช่น น้ำหนัก ขนาดผล ความสูง เป็นต้น

3. วิธีการอื่นๆ เช่น วิธีทางเคมี ชีวเคมี หรือเคมีฟิสิกส์ เช่น ปริมาณโปรตีน

3. การปลูกในชั่วที่ 3 เพื่อการตรวจสอบลักษณะพันธุ์กลายว่าจะยังคงลักษณะเดิมอยู่หรือไม่ บางลักษณะความถี่ของการกลายพันธุ์ต่ำ จึงต้องให้มีการแยกตัวและรวมตัวกันใหม่ของยีนในชั่วที่ 4 หรือมากกว่านั้น เช่น ลักษณะฝักแฝดที่พบในถั่วเขียวพันธุ์อู่ทอง 1 ตรวจพบครั้งแรกในรุ่นที่ 4 เป็นต้น

เมื่อได้พันธุ์กลายแล้วจะต้องมีการสร้างสายพันธุ์กลาย ดังนี้

1. ปลูกเมล็ดพันธุ์กลายเป็นแถว

2. ทดสอบสายพันธุ์กลายในแต่ละแถวเพื่อให้แน่ใจว่ายังคงลักษณะที่ต้องการอยู่

3. ศึกษาพันธุ์กลายเพื่อตรวจสอบลักษณะที่มีคุณค่าอื่นๆ เช่น ลักษณะและปริมาณของผลผลิต อายุการเก็บเกี่ยว เป็นต้น

การใช้ประโยชน์จากพันธุ์กลาย

จากการตรวจสอบเบื้องต้นจะได้สายพันธุ์กลายจำนวนหนึ่ง นำไปทดสอบผลผลิตในแหล่งเพาะปลูกต่อไป โดยมีพันธุ์มาตรฐานเปรียบเทียบเมื่อได้ผลที่น่าพอใจแล้วจึงคัดเลือกเป็นพันธุ์ใหม่ต่อไป อย่างไรก็ตามการใช้ประโยชน์จากพันธุ์กลายสามารถจำแนกออกได้เป็น 2 วิธี ดังนี้

1. การใช้ประโยชน์โดยตรง

พันธุ์กลายที่มีลักษณะตรงตามวัตถุประสงค์หลักของการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์และมีลักษณะทางการเกษตรอื่นๆ ดีอยู่แล้วสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้โดยตรง คือ นำมาขยายพันธุ์ส่งเสริมได้ทันที ในการใช้ประโยชน์โดยตรงนี้จะใช้เวลาในการสร้างสายพันธุ์ใหม่ค่อนข้างสั้น

2. การใช้ประโยชน์ทางอ้อม

พันธุ์กลายที่ได้อาจมีลักษณะตรงตามวัตถุประสงค์หลักของการปรับปรุงพันธุ์ แต่อาจขาดลักษณะที่ดีทางการเกษตรจึงยังไม่สามารถนำมาขยายพันธุ์ใช้เป็นพันธุ์ส่งเสริมได้โดยตรง แต่อาจนำพันธุ์กลายนี้ไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมเพื่อถ่ายทอดลักษณะไปสู่พืชที่ต้องการปรับปรุงต่อไป เทคนิคนี้ใช้กันอย่างกว้างขวางในพวกธัญพืช ระยะเวลาที่ใช้ในการสร้างพันธุ์ใหม่ไม่แตกต่างจากการปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมตามปกติ

ความแปรปรวนที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (somaclonal variation)

จากคุณสมบัติของพืชที่เซลล์ทุกเซลล์สามารถพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม (totipotency) ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงส่วนเนื้อเยื่อพืชจากเซลล์ที่ไม่เกี่ยวกับเพศ (somatic cell) จึงควรจะได้ต้นพืชที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนต้นเดิมทุกประการเนื่องจากทุกเซลล์มียีนเหมือนกัน (genetically identical) แต่ปัจจุบันพบว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจำนวนมากมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง (dedifferentiated) ของเซลล์หรือเนื้อเยื่อในระหว่างกระบวนการเพาะเลี้ยง ซึ่งต่อมาเมื่อเซลล์ดังกล่าวมีการเพิ่มจำนวนและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์จะก่อให้เกิดลักษณะบางประการที่แตกต่างไปจากเดิม ซึ่งอาจเป็นการเปลี่ยนแปลงที่สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นต่อไปได้ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนั้นบางลักษณะมีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมแต่บางลักษณะก็ไม่ได้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมแต่เป็นผลมาจากการที่ยีนได้รับการกระตุ้นให้แสดงออก (switching-on) ไม่จัดเป็นการกลายพันธุ์อย่างแท้จริง ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าในการจำแนกสาเหตุของการเปลี่ยนแปลงว่าเป็นผลมาจากพันธุกรรมอย่างแท้จริงคือ สามารถถ่ายทอดโดยการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีสรวมทั้งมีความคงตัวของลักษณะการกลายแต่อัตราการเกิดมักเป็นแบบสุ่มและเกิดได้ยาก

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์

ปัจจัยที่มีผลต่อโอกาสและความถี่ในการเกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถจำแนกได้ดังต่อไปนี้

1. เนื้อเยื่อพืชเริ่มต้นที่นำมาเพาะเลี้ยง

ในการเลือกชิ้นส่วนเริ่มต้นเป็นปัจจัยแรกที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับสาเหตุการกลายพันธุ์จากการเพาะเลี้ยง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันหลายประการเช่น การใช้ส่วนเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดหรือตาข้างเมื่อทำการเพาะเลี้ยงก็มักจะได้ต้นพืชที่ลักษณะเหมือนเดิม แต่หากนำส่วนอื่นมาเพาะเลี้ยงและชักนำให้มีการพัฒนาไปเป็นยอดพิเศษ (adventitious shoot) หรือเกิดเป็นโซมาติก เอ็มบริโอ (somatic embryo) แล้วจึงพัฒนาเป็นต้นซึ่งจะต้องมีกระบวนการพัฒนาหลายขั้นตอนจึงมีโอกาสและความถี่สูงในการเกิดความผันแปรจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2. สารควบคุมการเจริญเติบโต

สารควบคุมการเจริญเติบโตหลายชนิดในกลุ่มออกซินและไซโทไคนินมีรายงานว่าส่งผลให้อัตราการกลายพันธุ์ของเซลล์เพาะเลี้ยงสูงขึ้นได้ เช่น 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) napthaleneacetic acid (NAA) และ N6-benzyladenine (BA) เป็นต้น

3. การเจริญเติบโตและพัฒนาของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงไปเป็นต้นพืช

หากกระบวนการเพาะเลี้ยงมีหลายขั้นตอนจะเป็นการเพิ่มโอกาสในการเกิดความผันแปรจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมากขึ้น โดยรูปแบบการพัฒนาของสัณฐานที่เป็นการเจริญแบบทางตรงไม่ต้องมีการชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสก่อน จะมีความผันแปรน้อยกว่า และการพัฒนาเป็นเอมบริออยด์มีความผันแปรน้อยกว่าการเกิดโครงสร้างอวัยวะ สามารถจัดลำดับได้ดังนี้

direct embryogenesis	**น้อย**
direct organogenesis	↓
indirect embryogenesis	
indirect organogenesis	**มาก**

4. ระยะเวลาในการพัฒนาจากเซลล์หรือเนื้อเยื่อไปเป็นต้นพืชหรือจำนวนครั้งในการเปลี่ยนถ่ายอาหาร

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเวลานานๆ หรือมีจำนวนครั้งในการเปลี่ยนถ่ายอาหารมากจะมีโอกาสเกิดความแปรปรวนได้มากขึ้นนอกจากนี้ความสามารถในการพัฒนาเป็นต้นของเซลล์จะลดลงอีกด้วย

การคัดเลือกพันธุ์กลายจากความผันแปรที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การคัดแยก (screening)

การแยกเซลล์ที่มีลักษณะผันแปรเกี่ยวข้องกับการสังเกตหรือหาตัวบ่งชี้ในประชากรขนาดใหญ่ของเซลล์เพาะเลี้ยงแต่ละสายพันธุ์ เซลล์พืชที่ได้จากการชักนำให้เกิดขึ้นโดยผ่านขั้นตอนการคัดเลือกอาจเกิดฟีโนไทป์ใหม่ๆ ขึ้นได้เซลล์ผันแปรลักษณะนี้เรียกว่าโซมาโคลนัล แวริแอนท์ (somaclonal variant) เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ

สำหรับการคัดแยกที่นำมาใช้ในการเลี้ยงเซลล์นิยมใช้เพื่อแยกเซลล์ผันแปรที่มีการสร้างสารชีวเคมีซึ่งมีความจำเพาะในระดับที่แตกต่างจากปกติ หลักการคัดแยกที่มีประสิทธิภาพควรเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณหรือกึ่งปริมาณของลักษณะที่ต้องการ ทดสอบได้ค่อนข้างเร็วในสภาพที่มีเซลล์จากสายยีน

(clone) เดิมต่างๆ อยู่เป็นจำนวนมาก วิธีที่ง่ายที่สุดคือการตรวจดูลักษณะกลุ่มเซลล์และการดูสี เช่น เซลล์ยาสูบที่มีการสร้างสารนิโคทิน (nicotine) ได้ในระดับสูงๆ หรืออาจใช้การคัดแยกด้วยเทคนิคโฟลไซโทเมทริ (flow cytometry) เพื่อคัดแยกเซลล์จำนวนมากโดยอาศัยคุณสมบัติการหักเหของแสง การดูดแสง และการเรืองแสง สามารถประมาณขนาดของเซลล์ ชนิดของรงควัตถุและนอกจากนี้การตอบสนองต่อการติดสีบางชนิดยังใช้เป็นตัวบ่งชี้ความมีชีวิตของเซลล์เหล่านั้นได้

การคัดเลือก (selection)

เป็นการคัดเลือกเซลล์ที่ต้องการโดยควบคุมสภาวะคัดเลือก (selection pressure) กับประชากรของเซลล์ ด้วยวิธีการนี้พืชที่มีฟีโนไทป์เฉพาะเท่านั้นจึงจะสามารถมีชีวิตรอดหรือเติบโตได้

วิธีการคัดเลือกเซลล์ทำได้ 3 วิธี ดังนี้

1. การคัดเลือกโดยทางตรง
2. การคัดเลือกโดยวิธีช่วยชีวิต
3. การคัดเลือกโดยวิธีที่เป็นขั้นตอนทั้งทางบวกหรือทางลบ

1. การคัดเลือกทางตรง มีขั้นตอนเดียว คือการเลี้ยงเซลล์ในสภาวะคัดเลือกแล้วทำการคัดเลือกเซลล์ที่สามารถเติบโตได้และแยกไว้ เป็นวิธีที่นิยมใช้แยกเซลล์ผันแปรที่มีความต้านทานต่อสารต่างๆ เช่น ลักษณะที่ต้านทานต่อสารปราบวัชพืชพิคลอแรม (picloram) โดยการคัดเลือกเซลล์ที่เติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีพิคลอแรม เป็นต้น

2. การคัดเลือกโดยวิธีช่วยชีวิต มี 2 ขั้นตอน คือ

ขั้นแรก ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ในสภาพแวดล้อมหรืออาหารที่มีสารยับยั้งการเติบโตหรือฆ่าสายพันธุ์เดิม (wild type)

ขั้นที่สอง ย้ายเซลล์ลงในอาหารที่ไม่มีสารหรือสภาวะดังกล่าวเพื่อทำให้เซลล์มีชีวิตรอดได้แล้วจึงคัดเลือกเซลล์นั้น

ตัวอย่างเช่น การเลี้ยงเซลล์พริกที่มีความต้านทานความเย็น ณ อุณหภูมิ - 3 ถึง 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน จากนั้นย้ายไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสแล้วคัดเลือกเซลล์ที่สามารถรอดชีวิตอยู่ได้

3. การคัดเลือกโดยวิธีที่เป็นขั้นตอน ใช้ได้ดีกับเซลล์ผันแปรที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของออร์แกเนลล์หรือจากการเพิ่มจำนวนชุดของยีนโดยการค่อยๆ เพิ่ม สภาวะคัดเลือกในช่วงเวลาต่างๆ วิธีการนี้จะช่วยส่งเสริมให้เซลล์เติบโตได้ในสัดส่วนค่อนข้างสูง กรณีพันธุ์กลายที่มีการเปลี่ยนแปลงในส่วนออร์แกเนลล์หรือยีนที่เกิดจากการเพิ่มจำนวนชุดของยีนด้อยจำนวนชุดสูงๆ เช่น การทดลองของ Gengenbach และคณะ (1977) ทดลองเลี้ยงเซลล์ข้าวโพดแล้วเพิ่มความเข้มข้นของพาโธทอกซิน (pathotoxin) ในช่วงการเปลี่ยนอาหาร 5 ครั้ง พบว่าความต้านทานต่อพาโธทอกซินถูกถ่ายทอดไปทางแม่ จากการวิเคราะห์ทางชีวเคมีโดยแยกดีเอ็นเอของไมโทคอนเดรียแสดงให้เห็นว่าความต้านทานดังกล่าวเป็นผลจากพันธุกรรมในจีโนมของไมโทคอนเดรียและการทดลองของ Donn และคณะ (1984) ได้ทำการคัดเลือกเซลล์อัลฟัลฟาที่มีความต้านทานสารปราบวัชพืชแอลฟิโนทริซิน (L-phinotricin) โดยเพิ่มความเข้มข้นของสาร 3 - 7 เท่าในอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์แขวนลอย พบว่าเซลล์ที่รอดชีวิตได้จะมีจำนวนชุดของยีนกลูทามีน ซินเธเทส glutamine synthetase ประมาณ 4 - 11 เท่า เป็นต้น

ปัจจุบันพืชกลายพันธุ์จากกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (somaclonal variation) ที่มีการนำมาใช้ประโยชน์มากกว่า 10 สายพันธุ์ ดังแสดงตัวอย่างในตารางที่ 8.1

ตารางที่ 8.1 ตัวอย่างพืชกลายพันธุ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
(ดัดแปลงจาก Bhojwani และ Razdan, 1996)

ชนิดพืช	ลักษณะใหม่
เจอร์ราเนียม	แข็งแรงและดอกสวยงาม
มันเทศ	สี รูปร่าง และคุณภาพของหัว
อ้อย	ปริมาณผลผลิตและความต้านทานโรค
ข้าวโพด	ปริมาณทริปโตเฟน
มะเขือเทศ	ปริมาณน้ำหนักแห้ง
ข้าว	ความต้านทานโรคและปริมาณผลผลิต
เซเรอรี่	การตัดแต่งและประสิทธิภาพของผลผลิต
บราวน์มัสตาร์ด	ปริมาณผลผลิต