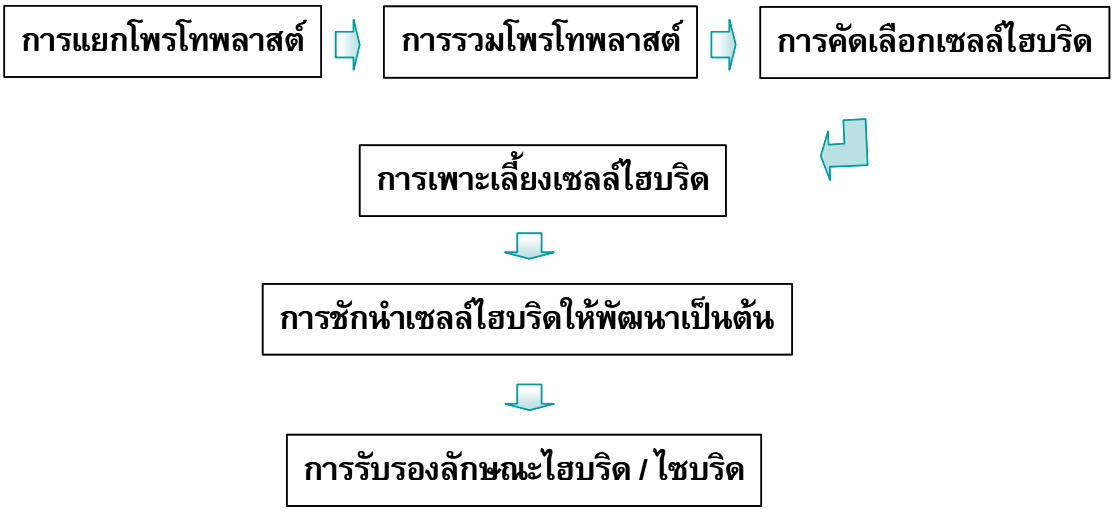
บทที่ 9

โซมาติกไฮบริไดเซชันและไซบริไดเซชัน

Somatic hybridization and Cybridization

ในอดีตเทคนิคการรวมเซลล์ที่ประสบความสำเร็จนั้นพบได้เฉพาะกับเซลล์สัตว์เท่านั้น จนกระทั่งปี ค.ศ. 1959 Cocking แห่งมหาวิทยาลัยนอตติงแฮม ได้พัฒนาเทคนิคการย่อยผนังเซลล์ด้วยเอนไซม์โดยทำการศึกษาเกี่ยวกับระบบต่างๆ ของพืชชั้นสูงเพื่อทำการแยกเซลล์เดี่ยว (single cell) สำหรับใช้ศึกษาด้านสรีรวิทยา ชีวเคมี และพันธุศาสตร์ เนื่องจากประชากรเซลล์เดี่ยวมีความเหมาะสมและให้ผลที่สม่ำเสมอมากกว่าการใช้พืชทั้งต้น ทั้งนี้งานช่วงแรกของ Cocking เกี่ยวข้องกับการแยกเซลล์ด้วยสารเคมีโดยใช้สารพวกคีเลทิง เอเจนต์ (chelating agent) ไปจับกับพวกแคลเซียมในมิดเดิลลาเมลลา (middle lamella) ซึ่งสามารถแยกเซลล์เดี่ยวได้สำเร็จ แต่อย่างไรก็ตามผลของการแยกเซลล์ด้วยวิธีนี้ทำให้สูญเสียคุณสมบัติทางชีวเคมีของเซลล์ ดังนั้น Cocking จึงคิดค้นวิธีการแยกเอาโพรโทพลาสต์ออกมาแทนการแยกเซลล์ โดยได้นำความรู้พร้อมทั้งตัวอย่างเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา *Myrothecium verrucaria* มาจาก Whitaker แห่งเมืองออตตาวา ประเทศแคนาดา จากนั้นมาเทคนิคการแยกโพรโทพลาสต์ก็มีการพัฒนาขึ้นตามลำดับ จึงมีการนำโพรโทพลาสต์มาใช้ประโยชน์เพื่อการศึกษาวิจัยกันอย่างกว้างขวาง เช่น ด้านชีววิทยาของผนังเซลล์ การเข้าสู่เซลล์ของแมคโครโมเลกุล (macromolecules) และไวรัส นอกจากนี้ยังมีการใช้โพรโทพลาสต์เพื่อถ่ายยีนในกระบวนการพันธุวิศวกรรม หรือเพื่อศึกษาการแสดงออกของยีน (gene expression) โพรโทพลาสต์ยังสามารถถูกชักนำให้พัฒนาขึ้นมาเป็นต้นพืชได้จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์พืชที่ต้องการและเทคนิคที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือการรวมโพรโทพลาสต์ (protoplast fusion) เป็นการปรับปรุงพันธุ์ที่สามารถรวมคุณสมบัติของพืชจากต่างชนิด (species) ซึ่งมีความแตกต่างกันมากได้ สำหรับขั้นตอนที่เกี่ยวข้องดังแสดงในภาพที่ 9.1



ภาพที่ 9.1 ขั้นตอนที่นำไปสู่โซมาติกไฮบริไดเซชันและไซบริไดเซชัน (ดัดแปลงจาก Bhojwani และ Razdan, 1996)

การศึกษาโพรโทพลาสต์

โพรโทพลาสต์ คือ เซลล์ที่ไม่มีผนังเซลล์ (naked cell) ในการศึกษาด้านโพรโทพลาสต์ไม่นิยมใช้เซลล์ที่มีการเจริญขั้นที่สอง เนื่องจากมีผนังหนาและมีสารพวกลิกนิน ซูเบอรินและคิวทินซึ่งย่อยยากและเป็นเซลล์ที่ไม่แอกทีฟ เนื้อเยื่อที่เหมาะสมสำหรับใช้ในงานนี้ได้แก่ แผ่นใบ ใบเลี้ยง และเซลล์เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

การแยกโพรโทพลาสต์ ทำได้ 2 วิธี คือ

1. การแยกโดยวิธีกล (mechanical isolation) ทำให้พืชเกิดพลาสโมไลซีส แล้วตัดด้วยมีดผ่าตัดจะทำให้โพรโทพลาสต์หลุดออกมาตรงรอยตัด แต่วิธีนี้จะทำให้เซลล์พืชเกิดความเสียหายมากและได้โพรโทพลาสต์จำนวนน้อยจึงเหมาะสำหรับการแยกโพรโทพลาสต์ของเซลล์ขนาดใหญ่ เช่น เนื้อเยื่อชั้นผิว (epidermis) ของหัวหอม

2. การแยกโดยใช้เอนไซม์ (enzymatic isolation) โครงสร้างของเซลล์พืชจะประกอบด้วยเยื่อหุ้มเซลล์และผนังเซลล์ซึ่งประกอบด้วยสารพวกเซลลูโลส (cellulose) และเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) แต่ละเซลล์เชื่อมกันด้วยมิดเดิลลาเมลลา (middle lamella) ซึ่งเป็นสารประกอบพวกเพกทิน (pectin) ดังนั้นการแยกโพรโทพลาสต์ด้วยเอนไซม์จึงต้องใช้เอนไซม์ 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มสำหรับย่อยมิดเดิลลาเมลลา คือเพกทิเนส (pectinase) และกลุ่มที่ใช้ย่อยผนังเซลล์ คือ เซลลูเลส (cellulase) และ เฮมิเซลลูเลส (hemicellulase)

เนื้อเยื่อพืชเมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์เพกทิเนสแต่ละเซลล์จะหลุดออกจากกันเป็นเซลล์เดี่ยวและเมื่อย่อยด้วยเซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสเซลล์จะเหลือเพียงเยื่อหุ้มเซลล์เท่านั้น รูปร่างของโพรโทพลาสต์จึงมีลักษณะกลมเหมือนกันหมด

การรวมโพรโทพลาสต์

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมโพรโทพลาสต์ที่อยู่ใกล้กันจะเกิดการรวมกันของเยื่อหุ้มเซลล์และไซโทพลาซึมเกิดเป็นโพรโทพลาสต์ขนาดใหญ่เรียกว่าฟิวชันบอดี (fusion bodies) ซึ่งอาจจะมี 2 นิวเคลียสหรือมากกว่า ในสภาพปกติโพรโทพลาสต์จะถูกล้อมรอบด้วยประจุลบจึงมักอยู่กระจายกัน ในการชักนำให้โพรโทพลาสต์ของพืชรวมกันผลรวมที่มาจากพวกเดียวกันที่มีจีโนไทป์เหมือนกันเรียกว่าโฮโมแคริออน (homokaryon) ขณะที่ผลรวมจากจีโนไทป์ต่างกันเรียกว่าเฮเทอโรแคริออน (heterokaryon) ดังภาพที่ 9.2 การรวมของโพรโทพลาสต์แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. สปอนเทเนียส ฟิวชัน (spontaneous fusion) เป็นการรวมกันที่เกิดขึ้นได้เอง เช่น การรวมของหลอดเรณู (pollen tube) กับถุงเอ็มบริโอ (embryo sac) ในระหว่างการปฏิสนธิซึ่งพบได้ไม่บ่อยนัก อย่างไรก็ตามการรวมกันที่เกิดขึ้นจากการไหลไปมาของไซโทพลาซึมและออร์แกแนลที่อยู่ติดกันในระหว่างกระบวนการย่อยผนังเซลล์ซึ่งเป็นการรวมที่เกิดขึ้นเองมีโอกาสในการเกิดน้อยมาก เพียงแค่ประมาณ 0.1 เปอร์เซ็นต์

ของประชากรทั้งหมดในการเพาะเลี้ยง

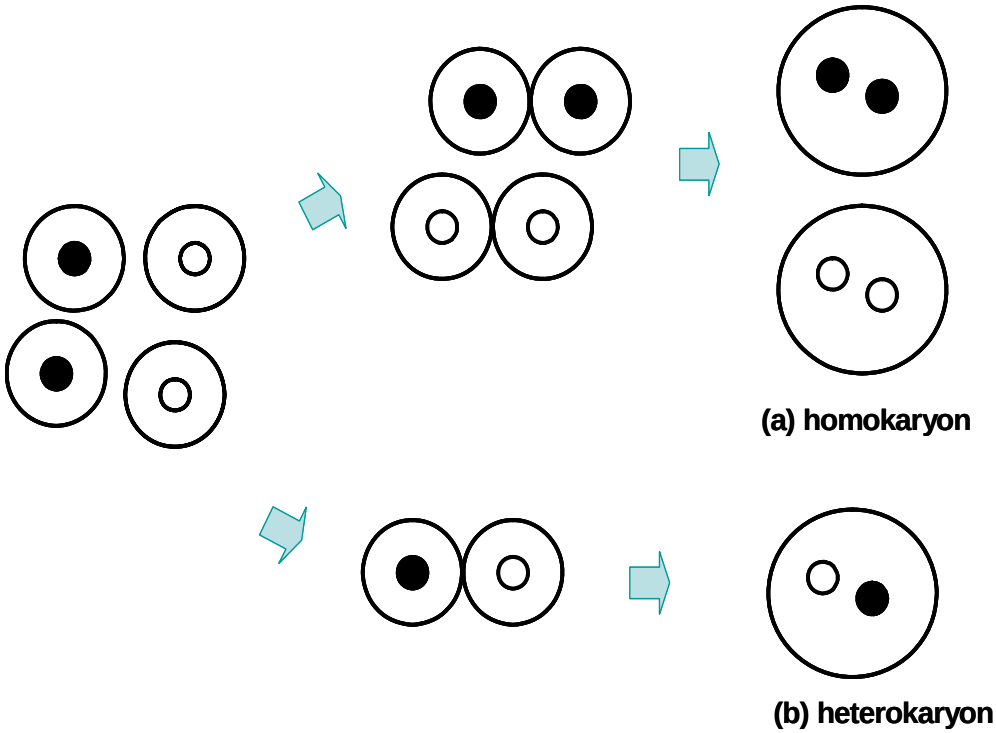
2. อินดิวส์ ฟิวชัน (induced fusion) เป็นการชักนำให้เกิดการรวมกันของโพรโทพลาสต์ ปัจจุบันมีวิธีกระตุ้นให้โพรโทพลาสต์รวมกันได้ 4 วิธี ได้แก่

2.1 การใช้สารเคมี เช่น โพลีเอธิลีน ไกลคอล (polyethylene glycol; PEG)

2.2 การใช้แคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) ในสภาพที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) สูง (High pH/Ca^{2+})

2.3 การใช้สารโพลีเอธิลีน ไกลคอลร่วมกับแคลเซียมอิออนในสภาพที่มีความเป็นกรด-ด่าง สูง (High pH/Ca^{2+})

2.4 การกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า



ภาพที่ 9.2 การรวมโพรโทพลาสต์ได้เป็นโฮโมแคริออนและเฮเทอโรแคริออน

วิธีการรวมโพรโทพลาสต์ที่นิยมใช้ในปัจจุบันคือ การใช้สารโพลิเอธิลีนไกลคอลความเข้มข้น 20 - 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีคุณสมบัติทำให้โพรโทพลาสต์เข้ามารวมกลุ่มกันและเกิดการรวมกันในขั้นตอนการล้างโดยให้อยู่ในสภาพที่มีแคลเซียมอิออนความเข้มข้นสูงและค่า pH สูง โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. นำโพรโทพลาสต์ 2 ชนิด ที่มีความเข้มข้นแต่ละชนิดประมาณ 10^5 - 10^6 โพรโทพลาสต์/มิลลิลิตร มารวมกันในหลอดทดลอง

2. เตรียมสารละลายโพลิเอธิลีน ไกลคอลที่มี pH 5.6 ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้

PEG 1540	33 เปอร์เซ็นต์
$CaCl_2.2H_2O$	3.5 มิลลิโมลาร์
KH_2PO_4	0.7 มิลลิโมลาร์
Glucose	0.1 โมลาร์

3. หยดสารละลายโพลิเอธิลีน ไกลคอลลงในจานแก้ว แล้วหยดสารละลายโพรโทพลาสต์ที่รวมกันไว้ลงไปโดยรอบหยดของสารละลายโพลิเอธิลีน ไกลคอล ทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที

4. ค่อยๆ ผสมโพรโทพลาสต์กับสารละลายโพลิเอธิลีน ไกลคอลให้เข้ากัน แล้วเติมวอชิง มีเดียม (washing medium) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร (pH 10.5) ทิ้งไว้ประมาณ 30 - 50 นาที วอชิง มีเดียม ประกอบด้วย

$CaCl_2$	0.8 โมลาร์
Manitol	0.1 โมลาร์

5. ล้างโพรโทพลาสต์ด้วยวอชิง โซลูชัน (washing solution) ที่มี pH 10.5 ประมาณ 3 - 5 ครั้ง โดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 800 รอบ/นาที ครั้งละ 3 นาที ส่วนประกอบของวอชิง โซลูชัน มีดังนี้

Glycine	0.1 โมลาร์
Sorbitol	0.4 โมลาร์

6. ย้ายโพรโทพลาสต์ที่รวมตัวกันแล้วไปเพาะเลี้ยงในอาหาร

การเพาะเลี้ยงโพรโทพลาสต์

สำหรับวิธีการเพาะเลี้ยงโพรโทพลาสต์สามารถทำได้หลายวิธีดังนี้

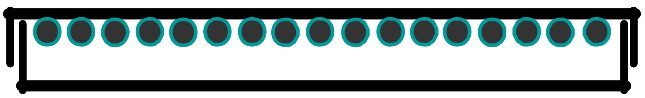
1. การเลี้ยงในอาหารเหลว

1.1 การเลี้ยงแบบดรอบ คัลเจอร์ (drop culture) หรือ แฮงกิง ดรอบ คัลเจอร์ (hanging drop culture) เป็นการเลี้ยงโดยการหยดอาหารเหลวที่มีโพรโทพลาสต์แขวนลอยอยู่ให้มีขนาดของหยดประมาณ 40 - 100 ไมโครลิตร โดยหยดลงบนฝาด้านหน้าของจานแก้ว แล้วคว่ำฝาครอบลงประกบกับจานแก้ว

1.2 การเลี้ยงแบบไมโครแชมเบอร์ คัลเจอร์ (microchamber culture) เป็นการเลี้ยงในช่องเล็กๆ ที่เกิดจากการใช้กระจกปิดสไลด์ 3 แผ่น มาวางทับกันให้เกิดเป็นช่องโดยใช้มิเนอรัลออยล์ (mineral oil) เป็นตัวยึด หรือใช้สไลด์ชนิดที่มีหลุมแล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์

1.3 การเลี้ยงแบบลิควิด คัลเจอร์ (liquid culture) กระทำโดยการเทโพรโทพลาสต์ที่มีความเข้มข้นประมาณ 5 x 10^4 ถึง 5 x 10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ลงในจานแก้วหนาประมาณ 1 มิลลิเมตร ปิดฝาแล้วพันทับด้วยพาราฟิล์ม

1.4 การเลี้ยงแบบมัลทิเปิล ดรอบ อเรย์ เทคนิค (multiple drop aray technique) เป็นวิธีการคล้ายกับแฮงกิง ดรอบ แต่มีจำนวนหยดมากกว่า อาจเลี้ยงได้ถึง 50 หยดต่อจานแก้ว วิธีนี้เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อเปรียบเทียบหาความเหมาะสมของสูตรอาหารหลายๆ สูตร



1.5 การเลี้ยงแบบไมโครดรอบเล็ตส์ คัลเจอร์ (microdroplets culture) เป็นการเลี้ยงโพรโทพลาสต์แบบหยดเล็กปริมาตร 0.25 – 0.5 ไมโครลิตร แต่ละหยดประกอบด้วย 1 โพรโทพลาสต์เท่านั้น

2. การเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว

2.1 การเลี้ยงโพรโทพลาสต์ในอาหารกึ่งแข็งที่มีสารช่วยในการรแข็งตัว เช่น วุ้น (agar) อกาโรส (agarose) อัลจิเนต (alginate) เจลาทิน (gelatin) และโพลีอคริลาไมด์ (polyacrylamide) โดยหลอมอาหารที่อุณหภูมิ 43 – 45 องศาเซลเซียส แล้วผสมอาหารกับโพรโทพลาสต์

2.2 การเลี้ยงในอาหารแข็งร่วมกับอาหารเหลว โดยนำโพรโทพลาสต์ที่อยู่ในอาหารแข็งตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ลงแช่ในอาหารเหลวแล้วนำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่า

2.3 การเลี้ยงแบบฟิลเทอร์ เปเปอร์ ดิสก์ ออน อาการ์ มีเดีย (filter paper disc on agar media) กระทำโดยเทอาหารแข็งไว้ในจานแก้วแล้ววางกระดาษกรองทับบนอาหารเพื่อทำหน้าที่ดูดซับอาหาร จากนั้นจึงหยดโพรโทพลาสต์ลงบนกระดาษกรองเพื่อให้อาหารค่อยๆ ซึมผ่านกระดาษกรองไปยังโพรโทพลาสต์

2.4 การเลี้ยงโดยใช้ฟีเดอร์ เลเยอร์ (feeder layer) เป็นการเลี้ยงโพรโทพลาสต์ด้วยอาหารเหลว โดยใช้กระดาษกรองเป็นสะพานดูดซึมอาหารแล้วจากนั้นจึงหยดโพรโทพลาสต์ไว้บนกระดาษกรองอีกทีหนึ่ง

2.5 การเลี้ยงแบบเนิร์ส คัลเจอร์ (nurse culture) โดยใช้แคลลัสเป็นตัวช่วยในการเจริญของเซลล์ เนื่องจากระยะแรกๆ โพรโทพลาสต์ยังไม่สามารถผลิตสารบางชนิดที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตได้ จึงต้องอาศัยสารเหล่านั้นจากเนื้อเยื่อพี่เลี้ยง (nurse tissue) กระทำโดยการเลี้ยงแคลลัสบนอาหารแข็ง แล้วนำกระดาษกรองวางบนก้อนแคลลัสก่อนจึงค่อยหยดโพรโทพลาสต์ลงบนแผ่นกระดาษกรองอีกทีหนึ่ง

2.6 การเลี้ยงแบบรีเซิฟเวอร์ มีเดีย (reservoir media) เป็นการเลี้ยงโดยให้มีช่องสำหรับเก็บสำรองอาหารเพื่อความสะดวกในการเปลี่ยนอาหาร ไม่ต้องเปลี่ยนอาหารบ่อยๆ

2.7 การเลี้ยงแบบอาการ์ ดรอบ เทคนิค (agar drop technique) โดยการเลี้ยงโพรโทพลาสต์ในอาหารกึ่งแข็งแล้วหยดลงในจานแก้ว จากนั้นนำอาหารที่แข็งกว่ามาหยดลงในหยดโพรโทพลาสต์เดิมเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารสำรอง

การตรวจสอบและคัดเลือกลูกผสม

ในการรวมโพรโทพลาสต์ตามปกติจะได้ลูกที่มีการผสมรวมกันของไซโทพลาซึมเสมอแต่ไม่จำเป็นต้องเกิดการรวมนิวเคลียสเสมอไป เซลล์ที่มีการผสมของไซโทพลาซึมแต่มีนิวเคลียสจากฝ่ายใดฝ่ายหนึ่งเท่านั้นเรียกว่าไซบริด (cybrid) ส่วนเซลล์ที่มีการรวมทั้งนิวเคลียสและไซโทพลาสซึมเรียกว่า ไฮบริด (hybrid) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเกิดการรวมนิวเคลียสในโซมาทิกไฮบริดแล้วมักเกิดความไม่คงตัวของโครโมโซมในการแบ่งเซลล์รุ่นถัดมาจึงทำให้เกิดเซลล์ที่เป็นอนิวพลอยด์ (aneuploid) ในการผสมพืชต่างชนิดได้เสมอ

วิธีการตรวจสอบลูกผสม สามารถทำได้ดังนี้

1. การทำหน้าที่ชดเชย (complementation) ตัวอย่าง เช่น

1.1 การรวมโพรโทพลาสต์แฮพลอยด์ (haploid) ของพวกที่ไม่มีคลอโรฟิลด์กับพวกที่มีความไวต่อแสง การคัดเลือกลูกผสมโดยอาศัยการทำหน้าที่ทดแทนกันได้คือ ลูกผสมที่มีแคลลัสเป็นสีเขียวเข้มและสามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นพืชที่มีใบสีเขียวและทนทานต่อความเข้มแสงสูงๆ ได้

1.2 การรวมโพรโทพลาสต์จากมิวแทนต์ของยาสูบที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ไนเตรทรีดักเตส (nitrate reductase) และอีกพวกไม่สามารถใช้ไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ ถ้าทั้งสองฝ่ายสามารถทำหน้าที่ชดเชยกันได้ ลูกผสมจะสามารถสร้างเอนไซม์ไนเตรทรีดักเตสและใช้ไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนได้

1.3 ลักษณะของลูกผสมที่เกี่ยวข้องกับความต้านทาน เช่น การรวมโพรโทพลาสต์ยาสูบ 2 พวกที่มีความต้านทานต่ออมิโน เอซิด แอนาลอกซ์ (amino acid analogs) ที่แตกต่างกันคือ เอส-2 อมิโนเอธิล-ซิสเทอีน (S-2-aminoethyl-cysteine) และ 5-เมธิล ทริปโทเฟน (5-methyl tryptophane) ลูกผสมที่ได้จะต้องสามารถเติบโตได้ในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีส่วนผสมของสารทั้งสองชนิด

2. การใช้ลักษณะทางกายภาพ (physical characteristic)

ในกรณีที่โพรโทพลาสต์มีความแตกต่างกันในแง่สมบัติทางกายภาพ เช่น ขนาด ความหนาแน่นในการลอยตัว การเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้า สี และ การเรืองแสง เป็นต้น สิ่งเหล่านี้สามารถนำมาใช้ในการจำแนกความแตกต่างของลูกผสมได้

3. ลักษณะอื่นๆ เช่น ความสามารถในการพัฒนาเป็นต้น (regeneratibility) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphological feature) บางครั้งอาจใช้วิธีการต่อเนื่องโดยกำจัดพาเรนทัล สปีชีส์ (parental species) ไปทีละอย่าง

ข้อจำกัดในการรวมโพรโทพลาสต์สำหรับการปรับปรุงพันธุ์พืช คือ การที่ไม่สามารถชักนำให้พัฒนาไปเป็นต้นได้อย่างสม่ำเสมอและยังไม่สามารถกำหนดผลผลิตที่ต้องการได้ อย่างไรก็ตามการรวมโพรโทพลาสต์มีข้อดีกว่าการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิมโดยการผสมกลับ (back cross) คือ

1. สามารถสร้างฐานทางพันธุกรรมได้กว้างกว่าขอบเขตที่จำกัดจากการผสมตามปกติ

2. สามารถย้ายลักษณะได้ใน 1 ชั่วของการผสม แทนที่จะเป็น 7 - 8 ชั่ว ของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

3. สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงจีโนมของออร์แกเนลล์ โดยการเข้าไปแทนที่และเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ (recombination)

ผลทางพันธุกรรมของการรวมโพรโทพลาสต์

เนื่องจากเทคนิคการรวมโพรโทพลาสต์ไม่มีข้อจำกัดในเรื่องความแตกต่างทางพันธุกรรม สามารถชักนำให้เกิดการรวมกันของโพรโทพลาสต์จากต่างชนิด (interspecific) ต่างสกุล (intergeneric) ต่างวงศ์ (interfamily) หรือแม้กระทั่งสิ่งมีชีวิตที่มาจากต่างอาณาจักร (interkingdom) ก็ตาม ดังนั้นจึงเป็นแนวทางที่มนุษย์คาดหวังที่จะสร้างสิ่งมีชีวิตใหม่ๆ ที่มีลักษณะตามความต้องการ

ประเภทของลูกผสม

ลูกผสมที่เกิดจากการรวมโพรโทพลาสต์สามารถจำแนกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ ไฮบริด (hybrid) และไซบริด (cybrid) ดังนี้

1. ไฮบริด

การรวมโพรโทพลาสต์ที่ลูกผสมได้รับทั้งนิวเคลียสและไซโทพลาซึมจากทั้งสองฝ่ายเรียกว่าไฮบริดซึ่ง สามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิดได้แก่ อซิมเมทริก ไฮบริไดเซชัน (asymmetric hybridization) และ ซิมเมทริก ไฮบริดไดเซชัน (symmetric hybridization) โดยทั่วไปการรวมโพรโทพลาสต์ของพืชที่มีความแตกต่างกันนั้นมักมีปรากฏการณ์ที่เกิดตามธรรมชาติเพื่อกำจัดโครโมโซมของฝ่ายใดฝ่ายหนึ่งออกไปซึ่งยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดถึงกลไกการทำงานดังกล่าว ซึ่งโครโมโซมของฝ่ายใดฝ่ายหนึ่งที่มีวัฏจักรของเซลล์สั้นกว่าจะคงอยู่ ลักษณะของลูกผสมที่มีฟีโนไทป์คล้ายไปทางฝ่ายใดฝ่ายหนึ่งเนื่องจากการถูกกำจัดโครโมโซมส่วนเกินออกไปลูกผสมลักษณะนี้เรียกว่าอซิมเมทริกไฮบริไดเซชัน

ในช่วงที่ผ่านมามีความพยายามรวมโพรโทพลาสต์ของพืชสายพันธุ์ป่า (wild species) กับพืชพันธุ์ปลูกที่กำลังได้รับความนิยมเพื่อเพิ่มยีนควบคุมลักษณะต้านทานบางอย่าง การรวมโพรโทพลาสต์ของพืชที่มีความแตกต่างกันและเป็นพวกที่เข้ากันไม่ได้ลูกผสมลักษณะนี้เรียกว่าซิมเมทริก ไฮบริดไดเซชันโดยลูกผสมที่ประสบความสำเร็จและมี

คุณสมบัติที่ดีขึ้นก็สามารถพบได้ ดังแสดงในตารางที่ 9.1

ตารางที่ 9.1 ตัวอย่างโซมาติกไฮบริดที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ (ดัดแปลงจาก Bhojwani และ Razdan, 1996)

ชนิดพืช	คุณสมบัติต้านทาน / พฤติกรรม
Nicotiana tabacum +N. repanda	Tobacco mosaic virus
Solanum tuberosum + *S. ciraceifolium*	Phytophthora, Nematode
Solanum tuberosum + *S. brevidens*	Potato leaf roll virus, Phytophthora, Erwinia
Solanum tuberosum + *S. phureja*	ผลผลิตสูงกว่าปกติ
S. melongena + *S. integrifolium*	Pseudomonas
S. melongena + *S. saintwongsei*	Pseudomonas
Oryza satiwa + *O. officinalis*	โรคไหม้ (blast)
Brassica napus + *B. carinata*	เชื้อรา Phoma
B. napus + *B. juncea*	เชื้อรา Phoma
B. napus + *B. nigra*	เชื้อรา Phoma
B. napus + *B. tournefortii*	เชื้อรา Phoma

2. ไซบริด

ในการรวมโพรโทพลาสต์ที่ลูกผสมได้รับไซโทพลาซึมและออร์แกเนลล์จากทั้งสองฝ่ายโดยมีนิวเคลียสจากฝ่ายใดฝ่ายหนึ่งเท่านั้นเรียกว่าไซบริด เป็นผลให้เกิดลูกผสมที่แสดงลักษณะฟีโนไทป์ซึ่งควบคุมโดยยีนที่อยู่ในพลาสทิดหรือไมโทคอนเดรีย เช่น ลักษณะไซโทพลาสมิกเมลสเตอริลิตี้ (cytoplasmic male sterility) เป็นต้น

ถึงแม้ปัจจุบันเทคนิคพันธุวิศวกรรมจะได้รับความสนใจและมีความพยายามในการศึกษากันอย่างกว้างขวางแต่ก็ยังมีข้อจำกัดอยู่อีกมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งการสร้างพืชที่มีลักษณะต้านทานสภาวะเครียดต่างๆ รวมทั้งการปรับปรุงด้านผลผลิตที่ควบคุมด้วยยีนเดี่ยวซึ่งมีความยากลำบากมากในการค้นหายีนดังกล่าว ดังนั้นเทคนิคการสร้างไซบริดและไฮบริดจึงมีแนวโน้มที่จะประสบความสำเร็จในการสร้างพืชดังกล่าว นอกจากนี้การศึกษาเกี่ยวกับโพรโทพลาสต์ยังมีส่วนช่วยสนับสนุนการส่งถ่ายยีนจากสิ่งมีชีวิตอื่นที่มีประสิทธิภาพอีกวิธีการหนึ่ง