

สารบัญ		หน้า
กิตติกรรมประกาศ		ค
บทคัดย่อภาษาไทย		ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ฉ
สารบัญตาราง		ญ
สารบัญภาพ		ฎ
อักษรย่อและสัญลักษณ์		ณ
บทที่ 1 บทนำ		
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา		1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา		1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร		
2.1 การประยุกต์ใช้ไอออนบีมในงานทางด้านอนุชีววิทยา		3
2.2 การกลายพันธุ์ (mutation)		6
2.3 เทคนิคที่ใช้ในการตรวจสอบสารพันธุกรรมของไม้ดอก		9
2.4 ข้อมูลพันธุ์ไม้ดอก		13
บทที่ 3 วิธีการทดลอง		20
3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี		20
3.2 วิธีการวิจัย		21
บทที่ 4 ผลการวิจัย		32
4.1 คาวเรือง พันธุ์ Marigold ปลูกครั้งที่ 1		32
4.2 คาวเรือง พันธุ์ Marigold ปลูกครั้งที่ 2		41
4.3 ดอกสร้อยไก่ พันธุ์ Yellow castle		44
4.4 ดอกเทียนฝรั่ง พันธุ์ summer scarlet ปลูกครั้งที่ 1		47
4.5 ดอกเทียนฝรั่ง พันธุ์ summer rose ปลูกครั้งที่ 2		48

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.6 ดอกหงอนไก่ พันธุ์ comb mahogany red	49
4.7 ดอกแพงพวย พันธุ์ tropic grape ปลูกรั้งที่ 1	51
4.8 ดอกแพงพวย พันธุ์ tropic coral ปลูกรั้งที่ 2	52
4.9 เฮอร์บีร่า พันธุ์ pot orange ปลูกรั้งที่ 1	54
4.10 เฮอร์บีร่า พันธุ์ pot scarlet dark eye ปลูกรั้งที่ 2	56
บทที่ 5 วิจัยผลการศึกษาวิจัย	58
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย	61
เอกสารอ้างอิง	62
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี	67
ภาคผนวก ข สัญลักษณ์ที่ใช้เป็นตัวแทนของลักษณะ mutant ต่างๆ	70
ภาคผนวก ค ภาพ	71

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 72

Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
3.1	เงื่อนไขที่ใช้ในการชักนำการกลายพันธุ์ของดอกดาวเรืองครั้งที่ 1 โดยเลือกใช้ชนิดของธาตุคือ N ด้วยเงื่อนไขดังตารางต่อไปนี้	21
3.2	เงื่อนไขที่ใช้ในการชักนำการกลายพันธุ์ดาวเยอร์บีร่าโดยเลือกใช้ชนิดของธาตุคือ N ด้วยเงื่อนไขดังตารางต่อไปนี้	21
3.3	เงื่อนไขที่ใช้ในการชักนำการกลายพันธุ์ของดอกเทียนฝรั่ง แพงพวย หงอน-ไก่โดยเลือกใช้ชนิดของธาตุคือ N ด้วยเงื่อนไขดังตารางต่อไปนี้	22
3.4	องค์ประกอบในหลอดทดลองสำหรับปฏิกิริยา PCR ต่อ 1 ปฏิกิริยา	27
4.1	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของดาวเรืองพันธุ์ Marigold ปลูกครั้งที่ 1	31
4.2	แสดงการเจริญเติบโตของต้นดอกดาวเรืองในแต่ละชุดการทดลองและการเปรียบเทียบความสูงกับต้น mutant tall ตั้งแต่เริ่มปลูกจนถึงสัปดาห์ที่ 16	32
4.3	ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของฟีโนไทป์ที่เกิดขึ้นของดาวเรืองพันธุ์ Marigold ปลูกครั้งที่ 1 ซึ่งไม่พบในชุดควบคุมการทดลอง	33
4.4	ลักษณะฟีโนไทป์ของต้นดอกดาวเรืองพันธุ์ Marigold ปลูกครั้งที่ 1 ชุดควบคุมการทดลอง (control)	35
4.5	ลักษณะของต้นดอกดาวเรืองพันธุ์ Marigold ปลูกครั้งที่ 1 ที่มีลักษณะฟีโนไทป์ต่างจากชุดควบคุมการทดลอง	36
4.6	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ของดาวเรือง พันธุ์ Marigold ปลูกครั้งที่ 2	40
4.7	ลักษณะของต้น การเปลี่ยนแปลงของฟีโนไทป์ที่เกิดขึ้นของดาวเรืองพันธุ์ Marigold ปลูกครั้งที่ 2 ซึ่ง ไม่พบในชุดควบคุมการทดลอง	41
4.8	แสดงเงื่อนไขที่ทำให้เกิดลักษณะของการเปลี่ยนแปลงของฟีโนไทป์ ต่างๆ ของดาวเรืองพันธุ์ Marigold ปลูกครั้งที่ 2	41
4.9	ลักษณะของต้นดอกดาวเรืองพันธุ์ Marigold ปลูกครั้งที่ 2 ที่มีลักษณะฟีโนไทป์ผิดปกติในชุดการทดลอง	42

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
 Copyright © by Chiang Mai University  
 All rights reserved

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
4.10	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของดอกสร้อยไก่ พันธุ์ Yellow castle	43
4.11	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของดอกเทียนฝรั่ง พันธุ์ summer scarlet ปลูกรั้งที่ 1	46
4.12	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของดอกเทียนฝรั่ง พันธุ์ summer scarlet ปลูกรั้งที่ 2	47
4.13	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของดอกหงอนไก่ พันธุ์ comb mahogany red	48
4.14	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของดอกแพงพวย พันธุ์ tropic grape ปลูกรั้งที่ 1	50
4.15	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของดอกแพงพวย พันธุ์ tropic grape ปลูกรั้งที่ 2	51
4.16	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเขอร์ปี่รา พันธุ์ pot orange ปลูกรั้งที่ 1	53
4.17	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเขอร์ปี่รา พันธุ์ pot scarlet dark eye ปลูกรั้งที่ 2	55

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 ดอกดาวเรืองพันธุ์จาไมกาโกสต์	13
2.2 ดอกเขอร์บีร่า พันธุ์ Orange Scarlet Dark Eye	15
2.3 ดอกเทียนฝรั่ง พันธุ์ Summer scarlet	17
2.4 ดอกแพงพวย พันธุ์ Tropic Grape	18
2.5 ต้นหงอนไก่ พันธุ์ Comb Mahogany Red	18
2.6 ต้นสร้อยไก่ พันธุ์ Yellow castle	19
3.1 ลักษณะเมล็ดของดาวเรือง, เขอร์บีร่า, หงอนไก่, เทียนฝรั่ง, สร้อยไก่ และแพงพวย ตามลำดับ	22
3.2 การเรียง Holder ของเมล็ดดอกดาวเรือง และเขอร์บีร่า	23
3.3 เครื่อง ion implanter CMU 2 ณ ศูนย์วิจัยนิวตรอนพลังงานสูง ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	23
3.4 การเรียงเมล็ดดอกสร้อยไก่, แพงพวย หงอนไก่ และ ดอกเทียนฝรั่งใน plate	24
3.5 การเตรียมวัสดุเพาะ peat moss	24
3.6 การใส่วัสดุเพาะลงในถาดหลุมขนาด 108 หลุม	24
3.7 ต้นอ่อนของดอกดาวเรืองที่งอกหลังจากผ่านการเพาะเป็นเวลา 10 วัน	25
3.8 ต้นกล้าที่อยู่รอด ทุกอาทิตย์เมื่อครบเวลา 4 สัปดาห์	25
3.9 ลักษณะแปลงปลูกเมื่อทำการเพาะต้นกล้าดอกเขอร์บีร่าและดอกดาวเรือง	25
3.10 การเก็บตัวอย่างใบอ่อนเพื่อนำไปสกัดดีเอ็นเอ	26
4.1 แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดชีวิตกับชุดการทดลองของดอกดาวเรืองพันธุ์ Marigold ปลูกครั้งที่ 1	32
4.2 แสดงการเจริญเติบโตของต้นดอกดาวเรืองในแต่ละชุดการทดลองและการเปรียบเทียบความสูงกับต้น mutant tall ตั้งแต่เริ่มปลูกจนถึงสัปดาห์ที่ 16	34
4.3 ต้น mutant 2-branch ที่ถูกเก็บรักษาสายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเนื่องจากเมล็ด	38

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
4.4	ลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอของดอกดาวเรืองที่มีลักษณะต้นสูงผิดปกติ (MS-Tall) เมื่อเทียบกับต้นควบคุม (control) ด้วย primer OPW16 ซึ่งพบว่าช่อง 1 มีลักษณะของ band ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งต้องทำการ repeat ผลอีกรอบ โดยที่ 1= MS-tall, 2= MF-early, 3-5 =MS-2branch, 6= MS-flat, 7= ML-3cot, 8=ML-1cot, 9=MS-big, 1_2=MS-Tall replicate 2	39
4.5	แสดงการตรวจสอบความแตกต่างของดาวเรืองต้นควบคุม และต้นสูงโดยใช้ primer OPE07,OPO20, OPT13, OPC06 และ OPW09 ตามลำดับ และ M คือ Marker DNA ( $\lambda PstI$ ) ซึ่งยังไม่พบความแตกต่างของแบนที่เกิดขึ้น	39
4.6	ลักษณะของ mRNA ที่สกัดจากต้นที่มีความสูงผิดปกติโดยใช้ส่วนของใบ (MS-Tall-leaf) และข้อ (MS-Tall-node) เทียบกับต้นควบคุมส่วนใบ (C-leaf) และข้อ (C-node)	40
4.7	ลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอของดอกดาวเรืองที่มีลักษณะต้นสูงผิดปกติ (MT-Tall) เมื่อเทียบกับต้นควบคุม (control) ด้วย primer OPJ 07 ซึ่งไม่พบความแตกต่างของแบนที่เกิดขึ้น	40
4.8	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดชีวิตกับชุดการทดลองของดอกดาวเรืองพันธุ์ Marigold ปลูกครั้งที่ 2	41
4.9	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดชีวิตกับชุดการทดลอง ดอกสร้อยไก่พันธุ์ Yellow castle	45
4.10	แสดงลักษณะของต้น mutant ที่เกิดขึ้นซึ่งมีลักษณะแยกออกเป็น 2 ช่อ ซึ่งไม่พบลักษณะแบบนี้ในชุดควบคุมการทดลอง	45
4.11	ลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอของดอกดาวเรืองที่มีลักษณะต้นที่ออกดอก 2 ช่อ เมื่อเทียบกับต้นควบคุม (control) ด้วย primer OPW08 ซึ่งไม่พบความแตกต่างของแบนที่เกิดขึ้น	46

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
4.12	ลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอของดอกดาวเรืองที่มีลักษณะต้นที่ออกดอก 2 ช่อ, ต้นที่ใบผิดปกติ, ต้นที่มีอายุยืนยาว เมื่อเทียบกับต้นควบคุม (control) ด้วย primer OPW16 ซึ่งไม่พบความแตกต่างของแบนที่เกิดขึ้น	46
4.13	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดชีวิตกับชุดการทดลอง ของดอกเทียนฝรั่ง พันธุ์ summer scarlet ปลูกครั้งที่ 1	47
4.14	แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบความสูงเฉลี่ยของต้นกล้าเทียนฝรั่งในแต่ละสัปดาห์	48
4.15	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดชีวิตกับชุดการทดลองของดอกเทียนฝรั่ง พันธุ์ summer scarlet ปลูกครั้งที่ 1	49
4.16	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดชีวิตกับชุดการทดลอง ของดอกหงอนไก่ พันธุ์ comb mahogany red	50
4.17	แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบความสูงเฉลี่ยของต้นกล้าหงอนไก่ในแต่ละสัปดาห์	50
4.18	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดชีวิตกับชุดการทดลอง ของดอกแพงพวย พันธุ์ tropic grape ปลูกครั้งที่ 1	51
4.19	แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบความสูงเฉลี่ยของต้นกล้าแพงพวยในแต่ละสัปดาห์	52
4.20	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดชีวิตกับชุดการทดลอง ของดอกแพงพวย พันธุ์ tropic grape ปลูกครั้งที่ 2	53
4.21	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดชีวิตกับชุดการทดลองของเยอร์บีร่า พันธุ์ pot orange ปลูกครั้งที่ 1	54

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
4.22	แสดงลักษณะของต้น mutant ที่เกิดขึ้นซึ่งมีลักษณะกลีบดอกเป็นสีเหลืองบางกลีบและกลีบที่มีทั้งสีเหลืองและสีแดงอยู่ในกลีบเดียวกัน (M-2color) อีกทั้งพบในกลีบดอกทั้งสามชั้นของเยอร์บีร่าซึ่งไม่พบลักษณะแบบนี้ในชุดควบคุมการทดลอง	54
4.23	แสดงลักษณะกลีบดอกเป็นสีเหลือง (ซ้าย), กลีบที่มีทั้งสีเหลืองและสีแดงอยู่ในกลีบเดียวกัน (กลาง) และกลีบดอกสีแดง (ขวา) ของดอกเยอร์บีร่าที่มีลักษณะกลายพันธุ์	55
4.24	แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดชีวิตกับชุดการทดลองของเยอร์บีร่าพันธุ์ pot scarlet dark eye ปลูกครั้งที่ 2	56
4.25	แสดงลักษณะของต้นเยอร์บีร่าที่มีช่อดอก 2 ดอกในก้านดอกก้านเดียวที่สามารถพบได้ทั่วไป(ซ้าย) เปรียบเทียบกับ ต้น mutant ที่มี 3 ดอกภายในก้านดอกก้านเดียว ซึ่งเป็นสายพันธุ์ใหม่ที่ได้รับการตั้งชื่อว่า “ไตรสยาม”	56
4.26	ต้น mutant M-2 color ที่ถูกเก็บรักษาสายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากเมล็ดลีบเล็กไม่สามารถนำไปขยายพันธุ์ต่อได้ จากชิ้นส่วนของฐานรองดอกซึ่งตัดแบ่งตามแนวตามรัศมี เป็นหกชิ้นส่วน	57
4.27	ลักษณะแคลลัสที่เก็บรักษาไว้ได้ จากส่วนของฐานรอง ดอก ตำแหน่งที่มีกลีบดอกครั้งแดงครั้งเหลือง	57
4.28	ลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอของดอกดาวเยอร์บีร่าที่มีกลีบดอกสองสีในดอกเดียว (M-2color) เมื่อเทียบกับต้นควบคุม (control) ด้วย primer OPH17 ซึ่งยังไม่พบความแตกต่างของ band โดยที่ CT= petal from control, R= red petal from mutant M-2color, R/Y= red-yellow petal from mutant M-2color, M = marker	57



อักษรย่อและสัญลักษณ์

$\mu\text{g}$	=	microgram
$\beta$	=	beta
$\lambda$	=	lamda
$\mu\text{l}$	=	microliter
$\mu\text{M}$	=	micromolar
bp	=	base pair
DNA	=	eoxyribonucleic acid
dNTP	=	deoxyribonucleotide triphosphate
g	=	gram
keV	=	kiloelectronvolt
min	=	minute
ml	=	milliliter
ng	=	nanogram
rpm	=	revolution per minute
sec	=	second
TBE	=	Tris-borate-EDTA
UV	=	ultraviolet

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
 Copyright© by Chiang Mai University  
 All rights reserved