บทที่ 2
ทบทวนเอกสาร

2.1 การประยุกต์ใช้ไอออนบีมในงานทางด้านอณูชีววิทยา

เทคนิค Ion implantation ถูกนำมาใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของงานทางด้านวัสดุศาสตร์ คือ การปรับผิวหน้าวัสดุให้มีสมบัติเชิงกายภาพดีขึ้น เช่น เพิ่มความแข็ง, การสึกหรอ, การเสียดทาน และการเป็นสนิม เป็นต้น (ถิรพัฒน์, 2544)

จากหลักการที่กล่าวว่า การเคลื่อนที่ของลำอนุภาคของธาตุ เช่น ไนโตรเจน, คาร์บอน, อาร์กอน, ฮีเลียม และอื่นๆ จากแหล่งกำเนิดไปตกกระทบบนเป้าหมาย แล้วก่อให้เกิดความเสียหายบนเป้าหมาย ซึ่งจะทำให้คุณสมบัติเชิงกายภาพของเป้าหมายเปลี่ยนแปลงไป ถ้านำมาใช้กับเมล็ดพืช โดยใช้ระดับพลังงาน และปริมาณไอออนต่อพื้นที่ ที่เหมาะสมอนุภาคไอออนจะสามารถทะลุทะลวงไปยังเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการส่งถ่ายยีนจากภายนอกข้าสู่เซลล์ได้ (Anuntalabhochai *et al*., 2001) หรือ หากใช้ปริมาณไอออนที่สูงขึ้นไอออนก็สามารถทะลุเข้าไปถึงนิวเคลียสของเซลล์ และมีผลกระทบต่อดีเอ็นเอ ซึ่งจะชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืชได้ โดยการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นนี้เป็นแบบสุ่ม (random) คือไม่สามารถคาดเดาลักษณะการกลายพันธุ์ที่จะเกิดได้ (Morishita *et al*., 2003)

ในปี 2000 Zengliang Yu ได้ทำการสรุปรวบรวมผลงานในการประยุกต์ใช้เทคนิคทางด้านไอออนบีมกับการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรม ซึ่งกล่าวว่า นักวิทยาศาสตร์ได้เริ่มนำเทคนิคไอออนบีมมาใช้ในงานวิจัยตั้งแต่ปี 1970 กับงานทางด้านวัสดุศาสตร์ หลังจากนั้นอีกประมาณ 10 ปีต่อมาจึงได้นำมาชักนำการกลายพันธุ์ในข้าว ซึ่งการกลายพันธุ์เป็นผลเนื่องมาจากการเกิดบทบาทร่วมกันของ energy absorbtion, mass deposition and charge exchange (Yu *et al*., 1989) ที่เกิดขึ้นในเมล็ดหลังจากได้รับการระดมยิงด้วยลำไอออน การประยุกต์ใช้งานในครั้งนี้ทำให้เกิดมิติใหม่ในการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับเรื่องวิทยาศาสตร์ในสิ่งมีชีวิต เช่น การศึกษาผลของลำไอออนพลังงานต่ำต่อสารเคมีตั้งต้นในการกำเนิดสิ่งมีชีวิตและวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต , ความอันตรายจากรังสีต่างๆ ในสิ่งแวดล้อมต่อสุขภาพของมนุษย์ และ การประยุกต์ใช้เทคนิคทางด้านไอออนบีมกับการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรม (Yu, 2000)

Ion implantation สามารถนำมาปรับปรุงพันธุ์ข้าวตั้งแต่ปี 1986 และนำมาใช้ mutation breeding ในเวลาต่อมาเนื่องจากมีคุณสมบัติที่ดี คือ อัตราการทำลายเนื้อเยื่อต่ำ , อัตราการกลายพันธุ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สูงและ ได้ลักษณะต้นกลายพันธุ์ที่หลากหลาย ทำให้ได้ข้าวสายพันธุ์ใหม่ที่มีคุณภาพดังนี้คือ ให้ผลผลิตในอัตราที่สูง , ต้านทานโรคได้มากขึ้นและ ใช้เวลาในการเจริญเติบโตสั้นแต่ให้ผลผลิตในปริมาณที่สูง (Yu *et al*., 1989) นักวิทยาศาสตร์พยายามหาสาเหตุของการกลายพันธุ์เพื่ออธิบายถึงกระบวนการที่เกิดขึ้นหลังการระดมยิงพืชตัวอย่างด้วยลำไอออน ดังนั้นในปี 2001 Wu and Yu จึงศึกษาการชักนำการกลายพันธุ์โดยใช้ลำไอออนพลังงานต่ำของ Nitrogen ion (N^+) ใน wheat จากการตรวจสอบทาง cytogenetic พบว่า ไอออนบีมสามารถชักนำให้เกิดการแตกหักของโครโมโซม (chromosome aberration) เช่น acentric fragments, chromosome deletions, lagging chromosomes, chromosome bridges และ miconuclei ซึ่งปริมาณความเข้มของไอออนที่สูงมีผลต่อการลดอัตราการงอกและอัตราการรอดของ wheat ทั้ง 3 สายพันธุ์ที่นำมาทดลอง (Wu and Yu, 2001)

ในประเทศไทยได้ริเริ่มนำการใช้ลำไอออนพลังงานต่ำมาใช้ในการส่งถ่ายชิ้นส่วนดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์ โดย Vilaithong *et al.,* (2000) ได้ทดลองส่งถ่าย พลาสมิดเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย และเนื้อเยื่อพืช พบว่าที่พลังงาน15-30 keV โดยใช้ลำไอออนของไนโตรเจนโมเลกุล สามารถทะลุทะลวงเข้าสู่เซลล์ของพืชได้ดี และที่พลังงาน 25 keV โดยใช้ลำไอออนของอาร์กอนในการส่งถ่าย plasmid เข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย โดยการทดลองนี้ ดูผลขององค์ประกอบของเซลล์ด้านนอก และความสามารถในการส่งถ่ายชิ้นส่วนโมเลกุลขนาดใหญ่ของ Trypan Blue (TB) และการรับ พลาส-มิดดีเอ็นเอเข้าไปในเซลล์ ต่อมา Anuntalabhochai *et al*., (2001) ทำการทดลองส่งถ่าย Plasmid เข้าสู่แบคทีเรียสายพันธุ์ *Escherichia coli* และส่งถ่าย *Lac Z* gene โดยใช้ลำไอออนพลังงานต่ำ ของอาร์กอน ได้ประสบผลสำเร็จ และทำการทดสอบประสิทธิภาพการส่งถ่ายคือ ตรวจสอบโดยใช้ Marker gene 3 ชนิด คือ amp^+, *LacZ* and *GFP* gene.โดย amp^+ gene จะต่อต้านต่อแอมพิซิลิน, *LacZ* gene จะผลิตเอนไซม์ที่เรียกว่า Beta-galactose ซึ่งจะไฮโดรไลซ์ X-gal ทำให้ได้รงควัตถุสีน้ำเงินและ *GFP* gene จะผลิตโปรตีนที่เรียกว่า Green fluorescent protein(*GFP*) ซึ่งจะสามารถเรืองแสงสีเขียวเมื่อดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต และการวัดขนาดของดีเอ็นเอที่ทำการส่งถ่ายเข้าไป และ Apavatjrut *et al*., (2003) ได้ทำการทดลองใช้ลำไอออนพลังงานต่ำของอาร์กอน และไนโตรเจน ในการเหนี่ยวนำสี neutral red เข้าสู่โมเลกุลของเซลล์พืช โดยใช้ลำไอออนที่ระดับพลังงาน 15-30 keV และปริมาณไอออนต่อพื้นที่คือ 5×10^{14} - 3×10^{16} ions/cm^2 โดยสังเกตการเคลื่อนที่ของโมเลกุลสี neutral red dye ที่เคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์พืช และ Vilaithong *et al.,* (2000) ทดลองสังเกตลักษณะพื้นผิวของเซลล์ที่ถูกระดมยิงด้วยลำไอออน จากการใช้ scanning and transmission electron microscopy (SEM and TEM) พบว่า เกิดหลุมบนผิวหน้าของเซลล์พืช และเซลล์พืชเกิดการสูญเสียน้ำในภาวะสุญญากาศ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การนำไอออนบีมมาใช้กับพืชผลทางการเกษตรประสบความสำเร็จโดย Anuntalabhochai *et al*., (2003) พบการเปลี่ยนของลักษณะทางฟีโนไทป์ของข้าวก่ำ (*Oryza sativa* var. indica) ที่ระดมยิงด้วยไนโตรเจนไอออน ที่พลังงาน 60 kev โดยความเข้มข้นไอออนที่ 1 x10^{16} ions/cm^2 พบรงควัตถุสีเขียวในใบและลำต้นของข้าวก่ำซึ่งปกติจะมีสีแดงก่ำเท่านั้น ในขณะที่เมล็ดยังคงเป็นสีแดงก่ำเช่นเดิม แสดงให้เห็นว่ายีนที่ควบคุมสีของข้าวก่ำมีหลายกลุ่ม (loci) และเมื่อทดสอบความแตกต่างของต้นที่กลายพันธุ์ด้วยเทคนิค HAT-RAPD ซึ่งใช้ไพร์เมอร์ทั้งหมด 10 ตัว มี 3 ตัวที่สามารถบ่งบอกความแตกต่างได้ คือ OPK14, OPL 10 และOPH15 เมื่อนำแบนขนาด 600 คู่เบสที่ได้จากไพร์เมอร์ OPK14 ไปหาลำดับเบส (sequencing) พบว่า ต้นที่กลายพันธุ์มีโปรตีน OSP450 เป็นองค์ประกอบ ซึ่งคล้ายกับ โปรตีน cytochrome P450 ในพืชทั่วไป ในขณะที่ Phanchaisri *et al*., (2007) สามารถประสบความสำเร็จในการชักนำการกลายพันธุ์ในข้าวหอมมะลิ 105 (KDML 105) ให้กลายเป็นข้าวที่มีลักษณะเมล็ดสีดำซึ่ง เรียกว่า “ ข้าวดำ (BKOS6-M_1) ” โดยใช้ไนโตรเจนไอออน ณ เงื่อนไขพลังงานที่ 60 kev ความเข้มข้นไอออนที่ 2 x10^{16} ions/cm^2 และสามารถบ่งบอกความแตกต่างในระดับพันธุกรรมโดยใช้เทคนิค HAT-RAPD โดยพบว่า จากการใช้ไพร์เมอร์ทั้งหมด 10 ชนิดมี 2 ไพร์เมอร์ คือ OPK10 และ OPH15 ที่สามารถแสดงให้เห็นความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นข้าวดำ (BKOS6-M_1) กับข้าวหอมมะลิ 105 (KDML 105)

สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ของไม้ดอก พบว่ามีการชักนำการกลายพันธุ์ของดอก *Dendrathema grandiflora* สายพันธุ์ Puja โดยรังสีแกมม่า ซึ่งรังสีแกมม่าสามารถทำให้ดอกสายพันธุ์เดิม เปลี่ยนสีกลีบดอกจากสีแดงม่วง รูปร่างเหมือนช้อน เป็น สีเหลืองส้ม รูปร่างแบน และ สีเหลืองส้มที่มีรูปร่างเหมือนท่อและได้นำต้นที่กลายพันธุ์มาเก็บรักษาสายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สูตรอาหารคือ อาหาร MS ที่มีฮอร์โมน1 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA (Datta *et al*., 2001) Yamaguchi *et al*., (2003) ได้นำชิ้นส่วนตาของดอกกุหลาบมาชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยลำไอออนโดยเปรียบเทียบลำไอออนจากสองธาตุคือ คาร์บอนและฮีเลียม กับกุหลาบสายพันธุ์ *Orange Rosamini* พบการเปลี่ยนแปลงของลักษณะต่างๆ ดังนี้คือ จำนวนกลีบดอก ขนาดของดอก รูปร่างและสีของดอก Okamura *et al*., (2003) ได้ศึกษาผลของการชักนำการกลายพันธุ์ในดอกคาร์เนชั่นด้วย ลำไอออนซึ่งใช้ธาตุคาร์บอนที่พลังงาน 220 MeV รังสีเอ็กซ์ และ รังสีแกมม่า พบว่า RBE (Relative biological effectiveness) ของไอออนบีมกับรังสีแกมม่ามีค่า 4 เท่า และในการทดลองได้เสนอว่าการชักนำการกลายพันธุ์ด้วยลำไอออนเมื่อใช้ควบคู่กับการรักษาสายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำให้ได้รับความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจมาก นอกจากนี้ Miyazaki *et al*., (2006) ทำการทดลองชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในลูกผสมของ Torenia และสังเกตการเปลี่ยนแปลงของรงควัตถุโดยใช้ลำไอออนของไนโตรเจน และนีออน ซึ่งจากการทดลองพบว่าลำไอออนทำให้ความถี่การกลายพันธุ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ของสีดอกเพิ่มมากขึ้น โดยเป็นผลเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงใน Anthocyanin pathway สีดอกที่เกิดขึ้นมีทั้งสีชมพูอ่อน และสีฟ้าอ่อน ซึ่งแตกต่างจากต้นปกติ และได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุที่พบในต้นที่กลายพันธุ์เปรียบเทียบกับต้นปกติ โดยดูปริมาณของสารตั้งต้นแต่ละชนิดใน pathway การเกิดสี นอกจากนี้นักวิจัยของประเทศไทยยังได้นำเทคนิคไอออนบีมมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ไม้ดอกเป็นครั้งแรก โดย Krasaechai *et al*., (2009) ได้ทำการชักนำการกลายพันธุ์ในดอกเบญจมาศ, กุหลาบ และ พิทูเนีย ซึ่ง ผลการวิจัยพบว่า ลำไอออนพลังงานต่ำทำให้เกิดลักษณะการเปลี่ยนแปลงของสีดอก, ความเข้มของสีดอก , ลักษณะของดอก รวมทั้ง ขนาดและลักษณะของกลีบดอกด้วย

2.2 การกลายพันธุ์ (mutation)

Mutation ถูกตั้งโดย De Vries หนึ่งในผู้ยืนยันผลงานของเมนเดลและนำมาเสนออีกครั้ง mutation หมายถึง การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยีนหรือโครโมโซม นักวิทยาศาสตร์ได้ทำการทดลองและค้นคว้าเกี่ยวกับการกลายพันธุ์ โดย Muller ได้นำรังสีเอ็กซ์มาชักนำการกลายพันธุ์ในแมลงหวี่ ในปี1927 ซึ่งผลงานชิ้นนี้ของ Muller ทำให้เขาได้รับรางวัลโนเบล (Muller, 1927) ในขณะที่ Stadler ทำการชักนำในข้าวสาลี (Stadler, 1928) จากนั้นในปี 1943 Luria และ Delbruck กล่าวว่า ฟีโนไทป์ที่หลากหลายของแบคทีเรียเกิดจากการกลายพันธุ์ (mutation) มากกว่าที่จะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยา (physiological) หลังจากพบผลการทดลองว่า *E. Coli* สามารถต้านทาน T1 phage แต่พบเซลล์ที่ต้านทานน้อย และเซลล์ที่ต้านทานพบว่า มีการเปลี่ยนแปลงสรีระวิทยาและ metabolism เพียงเล็กน้อยเท่านั้น แต่เซลล์ที่ต้านทานจะมีชีวิตรอดเมื่อเลี้ยงในจานเพาะเชื้อที่มี T1 อยู่ด้วย จากผลงานนี้ทำให้ตั้งสมมติฐานเกี่ยวกับการกลายพันธุ์ขึ้นมา และ พัฒนาเทคนิค Fluctuation test เพื่อนำมาใช้อธิบายการเกิดการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) (Luria and Delbruck, 1943)

Watson และ Crick ได้ชี้ให้เห็นว่า โครงสร้างของเบสใน DNA ไม่คงที่ อะตอมของ hydrogen สามารถเคลื่อนย้ายจากตำแหน่งหนึ่งไปยังอีกตำแหน่งหนึ่งได้ เช่นอาจจะย้ายจากกลุ่ม amino ไปยังวงแหวน nitrogen (tautomeric shift) แม้ว่ากระบวนการนี้จะเกิดได้น้อยแต่มีความสำคัญในกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของ DNA เพราะบางครั้งทำให้ความสามารถในการจับคู่ของเบสเปลี่ยนแปลงไป เช่น thymine และ guanine อาจเปลี่ยนแปลง keto form ไปเป็น enol form หรือ adenine และ cytosine อาจเปลี่ยนแปลงจาก amino form ไปเป็น imino form ที่มีความคงตัวน้อยกว่า แต่ถ้าในระยะสั้นๆนี้ เบสดังกล่าวถูกนำไปสังเคราะห์หรือถูกใช้เป็นแม่แบบในการสังเคราะห์ จะ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นสาเหตุให้เกิดการกลายได้ เนื่องจากรูปแบบที่ไม่คงที่เหล่านี้จะทำให้เกิดการเข้าคู่ของเบสผิดไป กล่าวคืออาจมีการแทนที่คู่เบส A:T ด้วย G:C หรือ G:C ด้วย A:T (Watson,1976)

สิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะแตกต่างไปจากเดิมเมื่อเกิดการกลายพันธุ์ เรียกว่า สายพันธุ์กลาย (Mutant) มี 3 ระดับคือ

1. Point mutation หรือ gene mutation เป็นการกลายพันธุ์ในระดับโมเลกุลหรือยีน ได้แก่ การขาด หาย หรือแทนที่ของเบสเพียง 1-2 เบส

2. Chromosome mutation เป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดกับโครงสร้างของโครโมโซม ได้แก่ inversion translocation insertion และ deletion

3. Genomic mutation เป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดาจกจำนวนโครโมโซมขาดหายไปหรือขึ้นมา ได้แก่ euploidy และ aneuploidy

การกลายพันธุ์ย้อนกลับ

Forward mutation คือการกลายพันธุ์ที่ allele จากที่ปกติกลายเป็น alleleใหม่ที่มีลักษณะกลายพันธุ์จากเดิม แต่บางครั้งพบว่ามีการกลายพันธุ์อีกครั้ง ทำให้ลักษณะที่กลายพันธุ์กลับคืนสู่สภาพ wide type อีกครั้ง เรียกว่า reverse mutation เกิดได้ 2 แบบดังนี้

1. Back mutation คือการกลายพันธุ์ย้อนกลับของยีนตำแหน่งเดิมที่เกิดการ Forward mutation ทำให้ตำแหน่งนั้นกลับมามีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนเดิม และลักษณะ wide type เหมือนเดิมอีกด้วย

2. Suppressor mutation คือการกลายพันธุ์ย้อนกลับของยีนคนละตำแหน่งกับที่เคยเกิด Forward mutation โดยยีนตำแหน่งที่เกิดการกลายพันธุ์นี้ จะกดการแสดงออกของยีนตำแหน่งที่เกิด Forward mutation ทำให้ลักษณะสายพันธุ์กลาย เปลี่ยนกลับไปเป็น wide type อีกครั้ง

Revertant เป็นสิ่งมีชีวิตที่เกิดกลายพันธุ์ย้อนกลับ หากต้องการทราบว่าเป็นการกลายย้อนกลับแบบใด ให้ทำการ back cross ถ้าเป็น back mutation ลูกทั้งหมดที่ได้จากการผสมกลับจะแสดงลักษณะ wide type แต่ถ้าเป็น Suppressor mutation ลูกที่เกิดจากการผสมกลับจะมีลักษณะทั้ง wide type และสายพันธุ์กลาย

สาเหตุของการกลายพันธุ์

1. Spontaneous mutation จะมีความถี่ประมาณ 1 ในล้าน ซึ่งเป็นความถี่ทที่ต่ำกว่าการกลายพันธุ์จากการถูกเหนี่ยวนำ โดยเกิดจากหลายสาเหตุดังนี้

1.1 DNA Replication Machinery เกิดจากการจำลองดีเอ็นเอผิดพลาด หรือกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอผิดพลาด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2 Base-pair Substitution เกิดจากโครงสร้างโมเลกุลของเบสเปลี่ยนจากรูปคีโตนเป็นอีนอลหรือจากรูบอะมิโนเป็นรูปอิมิโน

1.3 Frame shift เกิดจากการขาดหายไปหรือเพิ่มของนิวคลีโอไทด์ ทำให้รหัสพันธุ์กรรมเคลื่อนที่หรือแปลรหัสเปลี่ยนแปลงไป

1.4 Deamination เกิดจากเบสหมู่ C (Cytosine) เสียหมู่อะมิโนไป แล้วมีหมู่คาบอนิลออกซิเจนเข้ามาแทนที่ ทำให้ Cytosine เปลี่ยนเป็น U (Uracil) จึงจับกับ A (Adenine) แทนที่จะจับกับG (Guanine) (Auerbach, 1976)

2. Induced mutation เป็นการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์เพื่อเพิ่มความถี่ของการกลายพันธุ์ ซึ่งมี 2 ชนิด ดังนี้

2.1 รังสี (Radiation) แบ่งเป็น 2 ประเภทคือรังสีที่ทำให้เกิด Ionization ได้แก่รังสีแกมมาและคอสมิก กับรังสีไม่ทำให้เกิด Ionization ได้แก่ (UV) รังสีอัลตร้าไวโอเลต

- รังสีเอกซ์และแกมมา มีพลังงานสูง มีหน่วยเป็น Roentgen (r) พบว่าความถี่ของยีนที่กลายพันธุ์มีสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณรังสี (dose) ที่ใช้ชักนำ การฉายรังสีเอกซ์ให้กับเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ของแมลงหวี่ พบเมื่อเพิ่มปริมาณรังสีขึ้น อัตราการกลายพันธุ์ (mutation rat) จะเพิ่มขึ้นประมาณ 3 % ต่อทุก ๆ 1,000 r แต่อย่างไรก็ตามโอกาสที่จะเกิดการกลายพันธุ์ขึ้นอยู่กับสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดว่ามีประสิทธิภาพในการซ่อมแซมดีเอ็นเอที่ถูกทำลายด้วยรังสีแตกต่างกันแค่ไหน

- รังสีอัลตร้าโอเลต มีระดับพลังงานทะลุทะลวงต่ำ จึงไม่ทำให้เกิด ดังนั้นสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ที่ถูกรังสีนี้จึงได้รับผลเฉพาะเซลล์ผิว แต่จะมีศักยภาพสูงในสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว ดีเอ็นเอจะดูดกลืนรังสีได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ความถี่นี้จะทำให้เกิดการกลายพันธุ์สูงสุดด้วย ซึ่งรังสีนี้จะมีผลตรงกับเบสเกิด Pyrimidine hydrate และ Pyrimidine dimer ทำให้การจับคู่เบสผิดพลาด

2.2 สารเคมี (Chemical) มีหลายชนิดดังนี้

- สารที่มีโครงสร้างคล้ายเบส ไดแก่ 5 BU และ 2AP
- สารที่เปลี่ยนโครงสสร้างทางเคมีและคุณสมบัติของเบส แบ่งเป็น 3 ชนิด คือสารที่ดึงหมู่อะมิโนออก เช่น กรดไนตรัส สารที่เติมหมู่ Hydrocil เช่น Hydrocilamine และสารที่เติมหมู่ alkine เช่น MMS เป็นต้น

สารที่แทรกในโมเลกุลของดีเอ็นเอ ได้แก่ Aclidine, prophavinne และethidium bromide

- ยีนที่เหนี่ยวนำการกลายพันธุ์ (Mutator gene)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อัตราการกลายพันธุ์ของยีนแต่ละตำแหน่งจะต่างกันและไม่คงที่ ขึ้นอยู่กับเพศ ปัจจัยทางสรีระและสิ่งแวดล้อม หรือยีนส่งเสริมการกลายพันธุ์ เช่นยีน Dt อยู่ในโครโมโซมของข้าวโพด สามารถเหนี่ยวนำยีน a ที่อยู่ในโครโมโซมที่ 3 ให้กลายเป็นยีน A ได้ ซึ่งการกลายเป็น A จะทำให้สร้างแอนโทไซยานินได้ ดังนั้น Dt จึงเป็นยีนที่ชักนำให้ยีนอีกตำแหน่งหนึ่งเกิดการกลายพันธุ์เพิ่มขึ้น เรียกว่า mutator gene การกลายพันธุ์จากยีน a ไปเป็น A นี้เกิดขึ้นได้ทั้งเซลล์ร่างกายและเซลล์สืบพันธุ์ จึงพบจุดสีม่วงบนเมล็ด กับแถบสีม่วงบนลำต้นและใบได้ ขนาดจุดสีม่วงที่พบจะใหญ่หรือเล็กขึ้นอยู่กับว่า ช่วงที่เกิดการกลายพันธุ์ของข้าวโพดอยู่ในระยะใดของการพัฒนาเมล็ด แต่จำนวนจุดสีม่วงบนเมล็ดจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับจำนวนยีน Dt การเพิ่มจำนวนยีน Dt ทำให้จุดสีม่วงเพิ่มขึ้นแต่ไม่ได้เป็นสัดส่วนโดยตรงกับจำนวนยีน Dt (Thamarin, 1982)

2.3 เทคนิคที่ใช้ในการตรวจสอบสารพันธุกรรมของไม้ดอก

2.3.1 Polymerase Chain Reaction (PCR)

PCR เป็นวิธีการที่มีประโยชน์อย่างมากในการศึกษาทางอณูชีววิทยา ในการใช้เพิ่มปริมาณ DNA การตรวจสอบ gene ที่ทำการถ่ายฝาก การหาลำดับเบส และการประยุกต์ใช้อื่นๆ ตั้งแต่เริ่มมีการใช้ thermostable DNA polymerase ในปี 1988 (Saiki *et al.*, 1988) PCR ก็มีการใช้อย่างแพร่หลาย วิธีการนี้เป็นการเพิ่มปริมาณ DNA ในหลอดทดลอง (*in vitro*) อาศัย enzyme โดยไม่ต้องพึ่งพา host cell แม้มีปริมาณ DNA เพียงเล็กน้อย แต่จะทำให้ได้ DNA ที่ต้องการในปริมาณมากได้ แต่วิธีการนี้จะใช้ได้อย่างน้อยต้องทราบลำดับเบสสั้นบริเวณปลายทั้ง 2 ข้างของชิ้น DNA ที่ต้องการศึกษา เพื่อใช้สังเคราะห์สายคู่สมสั้นๆ (primer) เข้ามาจับคู่ทำหน้าที่เป็นส่วนเริ่มต้นสำหรับการทำงานของ DNA polymerase (*Taq* polymerase) การทำ PCR จะต้องมีสภาวะการทำที่เหมาะสมจึงจะให้ผลที่ถูกต้องและชัดเจนได้อย่างเหมาะสม โดยทั่วไป PCR จะอาศัยการเพิ่มลดอุณหภูมิ 3 ขั้นตอน คือ denaturation, annealing และ extension วนซ้ำประมาณ 20-50 รอบ โดยในแต่ละครั้งจะต้องมีส่วนผสมในการทำปฏิกิริยาดังนี้

1. Buffer ที่มีส่วนผสมของ Tris-HCl, KCl และ $MgCl_2$ หรืออาจเปลี่ยนแปลงตามความเหมาะสม ขึ้นอยู่กับจุดประสงค์ในการทำ PCR เช่นในการทำ RAPD fingerprint จะใช้ buffer ที่มีส่วนประกอบของ $(NH_4)_2SO_4$ และ $MgCl_2$

2. DNA polymerase ที่จะทำการเติม nucleotide เข้าที่ปลาย 3'-OH ของ primer ที่เข้าจับกับ DNA ต้นแบบ โดยทั่วไปความเข้มข้นของ enzyme จะใช้ประมาณ 1 – 2.5 unit (u) ต่อการทำปฏิกิริยา 100 µl หากมากเกินไปจะทำให้เกิด ชิ้นส่วน DNA ที่ไม่ต้องการขึ้นมา แต่ถ้าหากน้อย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เกินไปจะไม่เพียงพอต่อการทำปฏิกิริยา แต่ทั้งนี้ปริมาตรที่จะใช้จริงจะต้องขึ้นอยู่กับบริษัทที่ผลิตด้วย

3. $MgCl_2$ เพื่อช่วยให้ Taq polymerase เข้าจับกับ DNA template ได้ดีมากขึ้น เนื่องจาก Taq polymerase ต้องการ Mg^+ ในการทำงานร่วมกับ primer และ dNTPs โดยทั่วไปแล้ว ความเข้มข้นของ Mg^+ จะอยู่ในช่วง 0.5 – 2.5 mM แต่ความเข้มข้นนี้จะไม่เท่ากันใน Taq polymerase และ primer แต่ละตัว เพราะความสามารถในการเข้าจับไม่เท่ากัน หากมีความเข้มข้นสูงจะได้ผลผลิตที่ไม่เฉพาะมากเกินไป หากน้อยเกินไปผลผลิตก็จะได้น้อย ไม่เพียงพอต่อการตรวจสอบ จึงต้องมีการทดสอบก่อนที่จะนำไปใช้จริง

4. Deoxynucleotide ทั้ง 4 ชนิด (dNTPs: dATP, dTTP, dGTP และ dCTP) ความเข้มข้นของ dNTP แต่ละชนิดที่ใช้คือ 1 mM สาเหตุที่จะต้องใช้ความเข้มข้นที่เท่ากัน เนื่องจากต้องการลดความผิดพลาดจากการเข้าจับที่ไม่ถูกต้อง หากมีปริมาณ dNTP น้อยเกินไปจะทำให้ได้ผลผลิตที่น้อยลง หากมากเกินไปจะเป็นการสิ้นเปลืองโดยใช่เหตุ ปริมาณของ dNTP ที่จะใช้จึงต้องมีการศึกษาก่อนที่จะใช้จริง เพื่อให้เกิดประโยชน์คุ้มค่าที่สุด

5. Oligonucleotide primer คือ ลำดับ nucleotide สายสั้นๆที่จะเข้าไปจับกับ template ก่อนที่ Taq polymerase จะดึง dNTP เข้ามาต่อที่ปลาย 3'-OH ของ primer โดยทั่วไปใช้ความเข้มข้นระหว่าง 0.1 – 0.5 μM หากมากเกินไปจะทำให้เกิด ชิ้นส่วน DNA ที่ไม่เฉพาะเจาะจงขึ้นมา แต่ถ้าหากน้อยเกินไปจะไม่เพียงพอต่อการทำปฏิกิริยา แต่ทั้งนี้ปริมาตรที่จะใช้จริงจะต้องขึ้นอยู่กับบริษัทที่ผลิตด้วย

6. DNA ต้นแบบ ที่ไม่มีการเจือปนของ DNA แปลกปลอม หรือตัวขัดขวางการเกิดปฏิกิริยา PCR โดยทั่วไปจะใช้ความเข้มข้นประมาณ 20 – 40 ng

ในการทำ PCR ทุกครั้งต้องใช้ mineral oil หรือ PCR tube ที่ฝาปิดเป็นแบบโค้ง (dome tube) เพื่อป้องกันการระเหย และทำการควบแน่นน้ำให้กลับมาอยู่ในหลอด เพื่อรักษาความเข้มข้นภายในหลอดไว้ไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก (Innis and Gelfand, 1990)

การกำหนดสภาวะในการทำปฏิกิริยา PCR เป็นเรื่องที่มีความสำคัญมากเรื่องหนึ่ง เพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดอย่างสมบูรณ์ และได้ผลผลิตตามต้องการ การกำหนดสภาวะจะขึ้นกับ template, primers และองค์ประกอบที่ใช้ โดยใช้หลักเกณฑ์การตั้งสภาวะดังนี้

1. Initial Denaturation Step. ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่สำคัญมาก หากการแยกสายเกิดได้ไม่สมบูรณ์จะทำให้ปฏิกิริยาทั้งหมดเกิดได้ไม่สมบูรณ์ และได้ผลผลิตเพียงเล็กน้อย รวมถึงการขจัดการเกิด primer dimer ด้วย ในขั้นนี้จะใช้อุณหภูมิในการแยกสายที่ 95°C 1-3 min ในกรณีที่ template มี GC content น้อยกว่าหรือเท่ากับ 50% และจะเพิ่มเป็น 10 min หากtemplate เป็นแบบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

GC-rich ในขั้นนี้ถ้าใช้เวลาไม่เกิน 5 min สามารถเติม *Taq* DNA Polymerase ลงไปในส่วนผสมได้เลย แต่หากใช้เวลานาน หรือใช้อุณหภูมิสูงกว่านี้ให้เติม *Taq* DNA Polymerase หลังขั้นตอนนี้ เนื่องจาก enzyme จะเสื่อมสภาพอย่างรวดเร็วหากอุณหภูมิเกิน 95°C.

2. Denaturation Step. ในขั้นนี้โดยทั่วไปจะใช้อุณหภูมิ 94-95°C นาน 0.5-2 min แต่หาก template มี GC content มาก เวลาอาจเพิ่มเป็น 3-4 min ได้

3. Primer Annealing Step. อุณหภูมิที่ใช้ในขั้นตอนนี้จะขึ้นอยู่กับ melting temperature (Tm) ของ primer โดยคำนวนได้จาก Tm = [(number of A+T) × 2°C + (number of G + C) × 4°C] หรือดูจากข้อมูลที่บริษัทแนบมาด้วย แต่การใช้จริงจะใช้อุณหภูมิต่ำกว่า Tm ประมาณ 5 °C นาน 0.5-2 min แต่หากพบว่าได้ผลผลิตที่ไม่เฉพาะเกิดขึ้นให้เพิ่มอุณหภูมิขึ้นครั้งละ 1-2 °C

4. Extending Step. อุณหภูมิในขั้นนี้จะขึ้นอยู่กับ *Taq* DNA Polymerase โดยทั่วไป *Taq* DNA Polymerase จะทำงานได้ดีที่สุดในช่วง 70-75°C เวลาที่ใช้ไม่ควรเกิน 1 min สำหรับการสังเคราะห์ชิ้นส่วนขนาดไม่เกิน 2 kb หาก template ที่ใช้มีขนาดใหญ่ให้เพิ่มเวลาขึ้น 1 min ต่อ 1000 bp

5. จำนวนรอบ จำนวนรอบที่ใช้ทำปฏิกิริยาจะขึ้นกับปริมาณของ template DNA และปริมาณของ PCR product ที่ต้องการ หาก template มีประมาณ 10 copies ให้ทำปฏิกิริยาทั้งหมดประมาณ 40 รอบ แต่หาก template มีมาก การทำปฏิกิริยาเพียง 25-35 รอบ ก็เพียงพอแล้ว

6. Final Extending Step. เมื่อสิ้นสุดกระบวนการในรอบสุดท้าย ควรให้ปฏิกิริยาอยู่ที่ 72°C ประมาณ 5-15 min เพื่อทำให้การสังเคราะห์เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ทั้งเส้น ในขั้นตอนนี้ *Taq* DNA polymerase จะทำการเพิ่ม A nucleotides เข้ายังปลาย 3'-OH ของ PCR products ดังนั้นหากต้องการ clone ชิ้นส่วนที่ได้เข้าใน T/A vectors ควรปล่อยให้ขั้นนี้เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ อาจนานถึง 30 min หากมีปริมาณของ PCR product มาก (John and David, 2003)

สภาวะในการทำ PCR นั้นมีความสำคัญในการที่จะทำให้ได้ผลผลิตที่ถูกต้อง เพื่อหลีกเลี่ยงปรากฏการณ์ที่เรียกว่า Plateau Effect คือเมื่อปฏิกิริยาดำเนินไปจนถึงระยะหนึ่ง ปริมาณ DNA ที่สังเคราะห์ขึ้นได้มีจำนวนมากกว่าจำนวน primers ที่มีเหลือในปฏิกิริยา DNA template จะเข้ามาจับคู่กันเองมากกว่าจับกับ primer ในขณะเดียวกันปริมาณของ dNTP และ primer อาจถูกใช้หมดไปในปฏิกิริยาแต่ละรอบ และ Taq polymerase จะเสื่อมไปตามเวลา (Taq polymerase มีครึ่งชีวิตประมาณ 40 นาที ที่ 90°C) ผลของ plateau effect คือได้ผลผลิตที่ไม่เฉพาะเจาะจง จาก mispriming ที่มาเข้าจับแบบแข่งขันในปฏิกิริยา และเพิ่มจำนวนขึ้น วิธีป้องกันที่ดีที่สุดคือ การปรับตั้งจำนวนรอบในการทำ PCR ให้เหมาะสม สาเหตุของ plateau effect สามารถสรุปได้ดังนี้

1. การใช้ไปของ dNTP และ primer

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ความไม่คงทนของ dNTP และ enzyme
3. End-product inhibition
4. การแข่งขันกันในปฏิกิริยาจากผลผลิตที่ไม่จำเพาะ หรือจาก primer dimmer
5. การเกิด reannealing ของ PCR product
6. การเกิด incomplete denaturation (สุรางค์ นุชประยูร, 2546)

2.3.2 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) เป็นวิธีการที่สามารถใช้ตรวจหาความหลากหลายได้ โดยไม่ต้องรู้ลำดับเบสของเส้น DNA โดยใช้ primer ที่ไม่เฉพาะเจาะจง จะทำให้ได้ DNA ที่มีขนาดต่างๆหลายชิ้นส่วน (Welsh and McClelland, 1990) การค้นพบนี้ทำให้เกิดการพัฒนาด้านการทำ genome mapping และ DNA fingerprinting และได้รับความนิยมมากในการศึกษาเกี่ยวกับ genome ในตอนปลายปี 2003 พบว่ามีงานวิจัยที่กล่าวถึงการใช้ RAPD มากกว่า 9,000 ฉบับ

RAPD เหมาะที่จะนำมาใช้ในการทำ fingerprinting เพราะมีความรวดเร็ว ใช้ทรัพยากรน้อย และวิธีการทำก็ไม่ยุ่งยาก Chalmers *et al.* (1992) ได้นำ RAPD มาใช้ในการตรวจสอบระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในกลุ่มประชากรของพืชตระกูลถั่วพันธุ์พื้นเมืองทาง America กลาง และ Mexico ระหว่าง *Gliricida sepium* และ *G. maculata* พบว่ามีความแตกต่างถึง 10 ใน 11 primer โดยความแตกต่างจะพบในการใช้ primer แตกต่างกัน และโดยเฉพาะกับสายพันธุ์ที่ต่างกัน เมื่อนำมาคำนวนพบว่าทั้งสองสายพันธุ์มีความห่างทางสายพันธุ์ถึง 60%

RAPD ยังเป็นวิธีการที่มีประโยชน์ในการหาความใกล้ -ไกลของสายพันธุ์ โดยอาศัยผลความเหมือนหรือต่างของแต่ละ primer ร่วมกับการทำ dendrogram ที่ใช้ Jaccard's coefficients (Chandrashekhar *et al.*, 1993) แต่อย่างไรก็ตาม RAPD ก็มีข้อเสียตรงความไม่จำเพาะและความสามารถในการเพิ่มปริมาณ โดยพบว่า RAPD นั้นไวมากต่อความเข้มของ DNA ต้นแบบ, ความเข้มข้นของ Mg^{+}, *Taq* polymerase และอุณหภูมิที่ใช้ในแต่ละรอบ (Davin-Regli *et al.*, 1995) RAPD จึงเป็นวิธีที่ใช้ไม่ได้ในบางกรณี ดังที่ Fourre *et al.* (1997) ได้รายงานว่าไม่พบความแตกต่างในการใช้ RAPD วิเคราะห์ embryogenic clones ของ *Picea abies*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3.3 HAT-RAPD Analysis

ในปี 2000 Anuntalabhochai *et al.* ได้ทำการปรับปรุงการทำ RAPD ขึ้น โดยทำการเพิ่มอุณหภูมิในขั้น primer annealing จากเทคนิค RAPD ให้สูงขึ้นไปมากกว่า 10 °C เพื่อให้ primer เข้า

เกาะกับ template DNA ได้จำเพาะเจาะจงมากขึ้น เรียกวิธีนี้ว่า High Annealing Temperature RAPD (HAT-RAPD) ทำให้ได้ DNA polymorphism โดยวิธีการนี้สามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบความหลากหลายของลิ้นจี่ 20 สายพันธุ์ และสามารถพัฒนา Scar marker เพื่อนำไปใช้ในการบ่งบอกพืชหลายชนิดเช่น ลิ้นจี่ (*Litchi chinensis* Sonn.), ลำใย (*Dimocarpus longan* Lour) และปทุมมา (*Curcuma alismatifolia*) เป็นต้น

2.4 ข้อมูลพันธุ์ไม้ดอก

2.4.1 ความรู้เกี่ยวกับดาวเรือง

2.4.1.1 ลักษณะทั่วไปของดาวเรือง (*Tagates erectra*)

ชื่อสามัญ Mariglods

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Tagetes spp*

ชื่อวงศ์ COMPOSITAE

ชื่อท้องถิ่น ดาวเรือง (ภาคกลาง), ดอกคำปู้จู้ (ภาคเหนือ)

(สมเพียร เกษมทรัพย์ และคณะ, 2522)

ดาวเรืองเป็นพืชล้มลุก ลำต้นตั้งตรงแตกกิ่งก้านสาขาเป็นพุ่ม สูงประมาณ 15-120 เซนติเมตร ใบเป็นใบประกอบเรียวยาว ลักษณะดอกเป็นดอกรวม ประกอบด้วยดอกย่อยเล็กๆหลายดอกซ้อนอัดกันบนฐานรองดอก กลีบดอกมีสีเหลือง, ครีม,และขาว ขนาดของดอกมีหลายขนาดแล้วแต่สายพันธุ์ จุดเด่นของดาวเรืองคือ มีกลิ่นเหม็นเมื่อตัดลำต้น กิ่งก้านและใบ และบริเวณรากมีสารแอลฟ่าเทอร์เธียนิล (α-terthienyl) ที่สามารถควบคุมปริมาณไส้เดือนฝอยในดินได้

ภาพ 2.1 ดอกดาวเรืองพันธุ์จาไมกาโกล์ด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.4.1.2 ชนิดของดาวเรือง

ดาวเรืองที่ปลูกกันทั่วไปมี 3 ประเภทใหญ่ๆคือ

1. ดาวเรืองอเมริกัน (American Marigolds) เป็นดาวเรืองที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางตะวันตกเฉียงใต้ของอเมริกา ลำต้นสูง 10-40 นิ้ว ดอกสีเหลือง ส้ม ทองและขาว ขนาดของดอกใหญ่ประมาณ 3-4 นิ้ว ซึ่งดาวเรืองชนิดนี้มีหลายพันธุ์ได้แก่

พันธุ์เตี้ย สูงประมาณ 10-14นิ้ว ได้แก่ พันธุ์ปาปาย่า(Papaya), ไพน์แอปเปิล (Pineaple), ปับพ์กิน (Pumpkin)

พันธ์สูงปานกลาง สูงประมาณ 14-16นิ้ว ได้แก่ พันธุ์อะพอลโล (Apllo), ไวกิ้ง (Viking), มูนช็อต (Moonshot)

พันธุ์สูง สูงประมาณ 16-36 นิ้วได้แก่ พันธุ์ดับเบิล อีเกล (Double Egle), ดับบลูน (Doudloon), ซอฟเวอร์เรน (Sovereign)

2. ดาวเรืองฝรั่งเศส (French Marigolds) เป็นดาวเรืองต้นเล็กเป็นพุ่มเตี้ย สูงประมาณ 6-12 นิ้วดอกสีเหลือง ส้ม ทอง น้ำตาลอมแดงและสีแดงขนาดดอกเล็ก ก้านดอกสั้นจึงนิยมปลูกประดับตามอาคาร ซึ่งมีหลายพันธุ์ ได้แก่

พันธุ์ดอกชั้นเดียว ดอกมีขนาด 1.5-2นิ้ว ได้แก่พันธุ์เรด มาเรตต้า (Red), นอธตี้ ม้าเรตต้า (Naughty Marietta), เอธปานา (Espana) เป็นต้น

พันธุ์ดอกซ้อน ดอกมีขนาดตั้งแต่ 1.5-3นิ้ว ได้แก่พันธุ์ควีน โซเฟีย (Queen Sophia), สการ์เลต โซเฟีย (Scarlet Sopphia), โกลเด้น เกต (Golden Gate) เป็นต้น

3. ดาวเรืองพันธุ์ลูกผสม (Mule Marigolds หรือ Afro American Marigolds) เป็นลูกผสมระหว่างพันธุ์อเมริกันและพันธุ์ฝรั่งเศส เพื่อต้องการลักษณะที่แข็งแรง ดอกใหญ่ และมีกลีบซ้อนกันมากๆของพันธุ์อเมริกัน และต้องการพันธุ์พุ่มเตี้ยของพันธุ์ฝรั่งเศส ซึ่งดาวเรืองพันธุ์ผสมนี้จะให้ดอกเร็วมากหลังจากเพาะเมล็ดได้ 5 สัปดาห์

ดาวเรืองพันธุ์ลูกผสมที่นิยมปลูกมีหลายพันธุ์เช่น พันธุ์นักเก็ต (Nugget), ไฟร์เวิร์ก (Fireworks), เรด เซเว่น สตาร์ (Red Seven Star) และ โชว์โบ๊ต (Showboat)
(วัลลภ พรหมทอง, 2541)

2.4.2 ความรู้เกี่ยวกับเยอร์ร์บีร่า

2.4.2.1 ลักษณะทั่วไปของเยอร์ร์บีร่า

ชื่อสามัญ Gerbera, Barberton daisy, African daisy

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Gerbera jamesonii*

ชื่อวงศ์ COMPOSITAE

ชื่อท้องถิ่น -

(ศรินยา จันทร์เดช, 2548)

ภาพ 2.2 ดอกเยอร์บีร่า พันธุ์ Orange Scarlet Dark Eye

2.4.2.2 พันธุ์เยอร์บีร่า

เยอร์บีร่ามีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบแอฟริกาใต้แต่ไม่ทราบแน่ชัดว่าใครเป็นผู้นำเข้ามาปลูกในประเทศไทย เยอร์บีร่าสามารถแบ่งออกตามลักษณะของดอกได้เป็น 4 ประเภท คือ

1. สายพันธุ์ไทย (Thai Strain) มีดอกย่อยชั้นซ้อนกันหลายชั้น ความยาวของกลีบดอกลดหลั่นกันอย่างเป็นระเบียบจนถึงใจกลางดอก ดอก ชั้นในเป็นหลอดมีจำนวนไม่มาก และเกสรตัวผู้เป็นหมัน ตัวอย่างเยอร์บีร่าพันธุ์ไทยจัดแบ่งตามสีต่างๆ

พันธุ์ดอกสีขาว ได้แก่ ขาวจักรยาว ขาวจักรสั้น ขาวครีม

พันธุ์ดอกสีส้ม ได้แก่ สีอิฐ สุรเสน สร้อยฟ้า

พันธุ์ดอกสีชมพู ได้แก่ ลูกรัก เฉลาแก้ว บัวหลวง

พันธุ์ดอกสีเหลือง ได้แก่ สีดา ทองประสี เหลืองใหญ่

พันธุ์ดอกสีแดง ได้แก่ ขุนแผน แดงใหญ่ แดงพิจิตร

2. สายพันธุ์อเมริกัน (American Strain) มีดอกย่อยชั้นนอก 1-3 ชั้น กลีบดอกเรียวยาวเล็กและบอบบาง มีความยาวเท่า ๆ กัน ดอกย่อยชั้นในเป็นหลอดอยู่เป็นกลุ่มตรงกลางดอก มีเกสรตัวผู้ที่สมบูรณ์เพศเหมาะที่จะเป็นพ่อพันธุ์ แต่มีสายเลือดแรงเมื่อเอาไปผสมกับสายพันธุ์อื่นลูกที่ออกมาจะเป็นพันธุ์อเมริกาเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งไม่เหมาะที่ใช้เป็นพืชตัดดอก แต่เหมาะที่จะปลูกลงแปลงประดับมากกว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. สายพันธุ์ยุโรป (European Strain) มีดอกย่อยชั้นนอก 2-3 ชั้น กลีบดอกกว้าง หนาและแข็ง มีความยาวเท่าๆกัน มีสีสดใส ดอกชั้นในเป็นหลอดอยู่ตรงกลางดอก มีเกสรตัวผู้ที่สมบูรณ์เพศเหมาะที่จะใช้เป็นพ่อพันธุ์ ตัวอย่างเยอร์บีร่าพันธุ์ยุโรปมีดังนี้

พันธุ์ดอกสีขาว ได้แก่ พันธุ์เดลฟี

พันธุ์ดอกสีขาวไส้ดำ ได้แก่ พันธุ์ออลกา

พันธุ์ดอกสีแดง ได้แก่ พันธุ์คลีโอพัทรา, พันธุ์ลินดา

พันธุ์ดอกสีชมพู ได้แก่ พันธุ์บีทริกซ์

พันธุ์ดอกสีส้ม ได้แก่ พันธุ์เบลินดา

พันธุ์ดอกสีดำ ได้แก่ พันธุ์แบร์คฮาร์ท

4. ลูกผสมพันธุ์ไทยและยุโรป (Thai-European Strain) มีดอกย่อยชั้นนอกซ้อนกันหลายชั้นเหมือนพันธุ์ไทย แต่ความยาวของกลีบดอกวงนอกจะเท่ากัน ถัดเข้ามาอีกวงหนึ่งความยาวของกลีบดอกจะลดหลั่นกันไปจนถึงใจกลางดอก กลีบดอกจะหนาและกว้างกว่าพันธุ์ไทยแต่ไม่เท่าพันธุ์ยุโรป ซึ่งพันธุ์นี้จะเป็นพันธุ์ที่ทนร้อน ตัวอย่างพันธุ์ที่ปลูกได้ในประเทศไทยได้แก่

พันธุ์ดอกสีเหลือง ได้แก่ พันธุ์นกขมิ้น

พันธุ์ดอกสีส้ม ได้แก่ พันธุ์จำปา

ส่วนในต่างประเทศก็ได้แก่พันธุ์มาร์ลีน (Marleen) ซึ่งมีดอกสีเหลือง

สำหรับในประเทศไทย สามารถปลูกเยอร์บีร่าสายพันธุ์อเมริกาและยุโรปได้ดีในบริเวณที่มีอากาศหนาว เช่น จ.เชียงใหม่

เยอร์บีร่าสายพันธุ์ไทยมีมากมายหลายชนิด ซึ่งแต่ละพันธุ์จะมีความเหมาะสมกับแต่ละท้องถิ่นที่ไม่เหมือนกัน เนื่องจากสภาพดินฟ้าอากาศที่แตกต่างกัน ในบางครั้งจะทำให้สีของดอกเปลี่ยนแปลงไปบ้าง

2.4.3 ลักษณะทั่วไปของเทียนฝรั่ง

ชื่อสามัญ	Patience plant
ชื่อวิทยาศาสตร์	*Impatiens walleriana*
ชื่อวงศ์	BALSAMINACEAE
ชื่อท้องถิ่น	-

เทียนฝรั่ง (*Impatiens walleriana*) มีลักษณะโดยทั่วไปคือลำต้นอวบน้ำ มีการดำรงชีวิตอยู่ข้ามฤดูได้ แต่นิยมปลูกเพียงฤดูกาลเดียวเพราะจะทำให้ได้ต้นและดอกที่สมบูรณ์ โดยส่วนมากจะผลิตเป็นไม้กระถางและไม้ประดับแปลง มีความสูงประมาณ 30-40 cm.ใบมีลักษณะปลายแหลม ฐานใบเรียว ขอบใบเป็นหยัก มีสีเขียวหรือสีบรอนซ์เหลือบ ดอกมีขนาดเล็กเส้นผ่านศูนย์กลาง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประมาณ 2-3 cm. ออกดอกในช่วงเดือนมิถุนายน -กุมภาพันธ์ เทียนฝรั่งมีดอกหลายสี เช่น ดอกสีชมพู สีแดง สีม่วง สีขาว เป็นต้น พืชชนิดนี้ต้องการแสงปานกลาง อุณหภูมิโดยเฉลี่ย 24 °C ควรให้ความชื้นอย่างสม่ำเสมอเพราะเป็นพืชที่ต้องการน้ำและความชื้นสูง อุณหภูมิต่ำสุดที่สามารถเจริญเติบโตได้โดยเฉลี่ย 13 °C พืชจะชะงักการเติบโตเมื่อขาดน้ำ หากต้องการนำมาประดับตกแต่งภายในอาคาร ควรลดปริมาณการให้น้ำลงก่อนนำมาประดับตกแต่ง เพื่อให้ปรับตัวและทนทานกับสภาพแวดล้อมได้ดี ขยายพันธุ์ได้โดยใช้เมล็ด หรือการปักชำดอก (ชมรมพัฒนาไม้ดอกไม้ประดับ, 2537)

ภาพ 2.3 ดอกเทียนฝรั่ง พันธุ์ Summer scarlet

2.4.4 ลักษณะทั่วไปของแพงพวย

ชื่อสามัญ	Madagascar periwinkle
ชื่อวิทยาศาสตร์	*Catharanthus roseus*
ชื่อวงศ์	APOCYNACEAE
ชื่อท้องถิ่น (เกาะสมุย (ไทยภาคกลาง)	ผักปอดนา (ภาคเหนือ), ผักนมอินทร์ (สุราษฎร์-ธานี), ตับขี้หมู , เกาะพงัน), แพงพวยฝรั่ง, พังพวยฝรั่ง, พังพวยบก

แพงพวย (*Catharanthus roseus*) มีถิ่นกำเนิดที่หมู่เกาะมาดากัสการ์ แพงพวยเป็นไม้ดอกที่มีทรงพุ่มขนาดเล็ก มีอายุหลายปี (perennial) เส้นผ่านศูนย์กลางทรงพุ่มประมาณ 20-30 cm. สูงประมาณ 20-30 cm. ใบสีเขียวมัน เส้นใบสีขาว ดอกเป็นหลอดยาว ดอกมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.5-3 cm. ลักษณะกลีบดอกเป็นแฉกคล้ายรูปดาว จะออกดอกบริเวณส่วนยอด ออกดอกในช่วงเดือนเมษายน-ตุลาคม หลังจากออกดอกแล้วใบจะร่วง เจริญได้ทั้งในที่ร่มรำไรและกลางแจ้ง นิยมใช้ในการปลูกตกแต่งสวน แพงพวยมีดอกหลายสี เช่น ดอกสีขาว ดอกสีขาวกลางดอกสีแดง ดอกสีแดงล้วน เป็นต้น สามารถปลูกได้ทั้งกลางแจ้งและที่มีแสงปานกลาง ต้องการปริมาณน้ำและความชื้นไม่มาก ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด หรือปักชำยอด แพงพวยนั้นทนทานต่อการเปลี่ยนแปลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ของดินฟ้าอากาศ โรค แมลง ตลอดจนสภาพแวดล้อมที่เป็นพิษ สามารถเจริญได้ในอากาศร้อนจัดในฤดูร้อน ชอบแสงแดดปานกลางถึงแสงแดดจัด (ชมรมพัฒนาไม้ดอกไม้ประดับ, 2537)

ภาพ 2.4 ดอกแพงพวย พันธุ์ Tropic Grape

2.4.5 ลักษณะทั่วไปของหงอนไก่ (*Celosia cristata*)

ชื่อสามัญ	Cockscomb
ชื่อวิทยาศาสตร์	*Celosia cristata*
ชื่อวงศ์	AMARANTHACEAE
ชื่อท้องถิ่น	-

หงอนไก่ (*Celosia cristata*) เป็นพืชในวงศ์เดียวกับบานไม่รู้โรย เป็นพืชล้มลุกอายุ 1 ปี ลำต้นตั้งตรง อวบน้ำ มีกิ่งก้านสาขา สูง 1 เมตร ใบเดี่ยวออกสลับกัน ใบรูปหอกปลายแหลมยาว 8-10 cm. ดอกจริงมีขนาดเล็กเป็นละออง แต่จะออกดอกติดกันแน่นเป็นช่อใหญ่ ช่อดอกบิดจีบม้วนไปมาอยู่ในช่อคล้ายกับหงอนไก่ กลีบดอกอาจมีสีขาว แดง ส้ม ผลกลมยาว 3 มิลลิเมตร ภายในมีหลายเมล็ด เมื่อแก่จัดเมล็ดสีดำเป็นมัน ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด มีถิ่นเดิมอยู่ในอเมริกาเขตร้อน นิยมปลูกเป็นไม้ดอกไม้ประดับ หงอนไก่ไทยมีช่อเรียวแหลม ส่วนพันธุ์ลูกผสมใหม่ๆจะมีช่อดอกกลมต้นเตี้ย และมีหลายสีในช่อดอกเดียวกัน (ปิยะ เฉลิมกลิ่น, 2540)

ภาพ 2.5 ต้นหงอนไก่ พันธุ์ Comb Mahogany Red

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.4.6 ลักษณะทั่วไปของสร้อยไก่ (*Celosia plumosa*)

ชื่อสามัญ Celosia, Plumed celosia, Wool flower, Red fox

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Celosia plumosa*

ชื่อวงศ์ AMARANTHACEAE

ชื่อท้องถิ่น -

ภาพ 2.6 ต้นสร้อยไก่ พันธุ์ Yellow castle

ลักษณะทั่วไป (Characteristic): ไม้ดอกล้มลุก มีทั้งพันธุ์เตี้ยและสูง

1. ใบ (Foliage): ใบเดี่ยวเรียงสลับ ใบรูปใบหอกถึงรูปแถบหรือรูปไข่ กว้าง 1-3 เซนติเมตร ยาว 10-15 เซนติเมตร ปลายใบแหลม โคนใบสอบเรียว ขอบใบเรียบ แผ่นใบบางผิวใบด้านบนสีเขียวเข้มหรือเขียวอมเหลือง บางพันธุ์มีขอบใบขลิบสีแดง

2. ดอก (Flower): สีขาวเงิน ออกเป็นช่อแบบช่อกระจุกตามซอกใบและปลายกิ่ง ช่อดอกตั้งขึ้นยาว 10-20 เซนติเมตร ใบประดับเป็นกลีบขนาดเล็กซ้อนกันแน่นเป็นช่อคล้ายเปลวไฟ มีหลายสี เช่น แดง ส้ม ชมพู เหลือง หรือมีหลายสีในช่อเดียวกัน กลีบเลี้ยง 5 กลีบ บางและแห้งแทรกในกลีบประดับ ดอกจริงมีขนาดเล็กมาก

3. ผล (Fruit): ผลแห้ง ทรงรี ผิวค่อนข้างเกลี้ยง ขนาด 3-4 มิลลิเมตร เมล็ดสีดำ (เอื้อมพร, 2540)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved