

การชักนำให้เกิดการกลายในหม้อข้าวหม้อแกงลิงในสภาพปลอดเชื้อ ด้วยรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน

Acute Gamma Radiation Induced Mutation on *Nepenthes mirabilis* (Lour.) Druce *In Vitro*

อัญชลี จาละ*

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต
ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Anchalee Jala*

Department of Biotechnology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,
Rangsit Centre, Klong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

นำต้นอ่อนหม้อข้าวหม้อแกงลิง [*Nepenthes mirabilis* (Lour.) Druce] ขนาด 0.5 ซม. ที่เพาะจากเมล็ดและเพาะเลี้ยง ในอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS ฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 เกรย์ หลังจากฉายรังสี 2 เดือน พบว่าความเข้มข้นของรังสีทุกปริมาณไม่ทำให้ต้นอ่อนตาย ค่าปริมาณรังสีแบบเฉียบพลันที่ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (GR_{50}) มีค่าเท่ากับ 22.5 เกรย์ มีการเปลี่ยนอาหารใหม่รวม 3 ครั้ง แต่แต่ละครั้งห่างกันนาน 2 เดือน จนต้นมีขนาดใหญ่อายุ 6 เดือน นับจากวันที่ได้รับการฉายรังสี พบว่าหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่ได้รับการฉายรังสีใช้ระยะเวลาพัฒนาเป็นต้นนานขึ้น และต้นที่ได้รับรังสีจะมีการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นที่ไม่ได้รับการฉายรังสี และเมื่อเพิ่มปริมาณรังสีมากขึ้นมีผลทำให้ความสูงของต้นลดลง สำหรับลักษณะการเปลี่ยนแปลงหลังจากฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่เกิดขึ้นในรุ่น M_1V_1 สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่น M_1V_3 ได้แก่ ลักษณะขอบใบหยัก ใบแคบ ใบด่าง ใบแผ่ ตลอดจนเกิดแคลลัสที่ยอดกับลำต้น

คำสำคัญ : หม้อข้าวหม้อแกงลิง, รังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน, การเจริญเติบโตลดลง 50 เปอร์เซ็นต์

Abstract

Explants of *Nepenthes mirabilis* which germinated about 0.5 cm were cultured on ½ MS medium, and irradiated with acute gamma radiation in various doses (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40 grays). These explants were subcultured into the same medium for 3 times every 2 months time interval. All of explants were

survived but some of their growth rate were decreased. The amount of acute gamma radiation concentration which decreased growth rate (GR) 50 % was 22.5 grays. Acute gamma radiation was effected on *N. mirabilis*. When increase concentration of radiation, growth rate of plantlets were decreased their height. Their characters were changed since in M_1V_1 and can transferred to M_1V_3 which were curved leaf edge, narrow leaf, variegated leaf, twin leaf and callus occurred on the stem and shoot.

Key words: *Nepenthes mirabilis*, acute gamma radiation, growth rate (GR) 50 %

1. บทนำ

หม้อข้าวหม้อแกงลิงเป็นพืชกินแมลงชนิดหนึ่งที่อยู่ในบัญชีพืชใกล้สูญพันธุ์ แต่ปัจจุบันนิยมนำมาปลูกเลี้ยงเป็นไม้ประดับกันอย่างแพร่หลายมากขึ้น เนื่องจากลักษณะที่โดดเด่นของพืชคือปลายใบพองออกมีลักษณะเป็นถุงคล้ายหม้อ และบางพันธุ์มีสีส้มสวยสะดุดตา ทำให้เป็นที่ชื่นชอบของผู้ปลูกเลี้ยง ดังนั้นจึงเป็นพืชใหม่ที่มีบทบาทเป็นไม้ประดับที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งของไทย จากความต้องการลักษณะที่แปลกใหม่นี้เองจึงเป็นสาเหตุให้มีการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ขึ้น ซึ่งการฉายรังสีก็เป็นวิธีหนึ่งที่ทำให้เกิดการกลาย และในการผลิตพืชเพื่อการค้ามักใช้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้สามารถผลิตได้เพียงพอกับความต้องการของตลาด เนื่องจากองค์ความรู้เกี่ยวกับการปลูกเลี้ยงพืชกินแมลงมีน้อยและจำกัดอยู่ในวงแคบ [1] งานวิจัยนี้จึงพัฒนาวิธีเพื่อให้ได้ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่สามารถนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด ตลอดจนประยุกต์ใช้รังสีแกมมาฉายให้กับต้นอ่อนเพื่อหาลักษณะที่แปลกใหม่ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มจำนวนต้นอ่อนหม้อข้าวหม้อแกงลิงให้ได้จำนวนมากในเวลาอันสั้น

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 ตัวอย่างพืช

2.1.1 เมล็ดหม้อข้าวหม้อแกงลิง [*Nepenthes mirabilis* (Lour.) Druce] จากมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต อ.เมือง จ.ปทุมธานี

2.1.2 ดินปลอดเชื้อของหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่ได้จากการเพาะเมล็ด และเพาะเลี้ยงที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

(1) นำไปฉายรังสีที่ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตบางเขน กรุงเทพฯ

(2) สารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ สารเคมีที่เป็นส่วนประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) สารควบคุมการเจริญเติบโต N_6 -benzyladenine (BA), แอลกอฮอล์ 70 % และ 95 %, HCl เข้มข้น 1.0 N NaOH เข้มข้น 1.0 N, น้ำตาล, ซูโครส, ผงวุ้น, Clorox, กลัวยหอม, มันฝรั่ง และน้ำมะพร้าว

(3) ห้องบ่มเนื้อเยื่อสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อ ห้องควบคุมอุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$

(4) วางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized design) ทำ 25 ซ้ำ เปลี่ยนชิ้นส่วนเนื้อเยื่อลงบนอาหารสูตรเดิมทุก 2 เดือน

3. วิธีการ

3.1 เพาะเมล็ดหม้อข้าวหม้อแกงลิง

เพาะเลี้ยงเมล็ดหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมกล้วยหอม 100 กรัม มันฝรั่ง 50 กรัม และน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร เป็นเวลานาน 3 เดือน และนำขวดทดลองไปไว้ในห้องบ่มเนื้อเชื้อให้ได้รับแสง $37 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน แล้วย้ายต้นอ่อนลงบนอาหารสังเคราะห์สูตร $\frac{1}{2}$ MS

3.2 การศึกษาดันหม้อข้าวหม้อแกงลิงในสภาพปลอดเชื้อ หลังจากการนำไปฉายรังสีแบบเฉียบพลัน

นำต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่ได้จากการเพาะเมล็ด ในสภาพปลอดเชื้อที่เตรียมไว้จากการทดลองที่ 1 ขนาดสูงประมาณ 0.5 ซม. ย้ายลงเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร $\frac{1}{2}$ MS แล้วนำไปให้ได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันในปริมาณที่ต่างกัน (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 เกรย์) และย้ายต้นอ่อนที่ผ่านการฉายรังสีลงอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS ใหม่ นำขวดทดลองที่มีต้นอ่อนนี้ไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเชื้อให้ได้รับแสง $37 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ และทำการย้ายต้นอ่อนนี้อีก 3 ครั้ง ทุก 2 เดือน บันทึกความสูงต้น ความยาวใบ ความกว้างใบ จำนวนใบ จำนวนราก ความยาวราก และลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้น เมื่อต้นพืชที่เพาะเลี้ยงอายุ 6 เดือน

4. ผลการวิจัย

หลังจากย้ายต้นอ่อนหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแล้ว ลงบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS จำนวน 3 ครั้ง ทุก 2 เดือน แล้วบันทึกข้อมูลที่เกิดขึ้น

กับต้นอ่อนดังต่อไปนี้

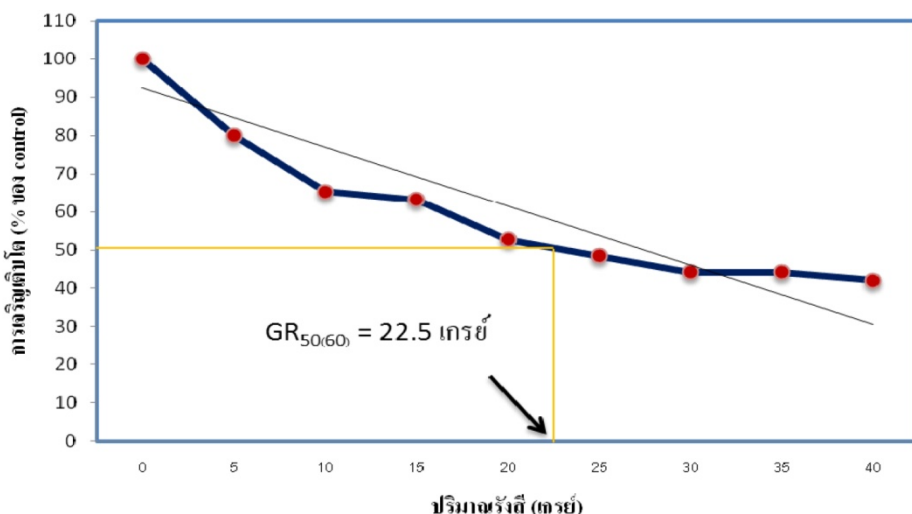
4.1 การหาปริมาณรังสีแกมมาที่มีผลทำให้การเจริญเติบโตลดลง 50 เปอร์เซ็นต์

นำข้อมูลความสูงทรงต้นของหม้อข้าวหม้อแกงลิงของทุกปริมาณรังสี คัดเทียบเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉายรังสี (control) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตของหม้อข้าวหม้อแกงลิงบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS อายุ 6 เดือน หลังการฉายรังสีแกมมาที่ระดับต่าง ๆ

ปริมาณรังสี (เกรย์)	ความสูงต้น (ซม.)	การเจริญเติบโต (%)
0	2.00	100.00
5	1.62	81.00
10	1.67	83.50
15	1.29	64.50
20	1.12	56.00
25	0.81	40.50
30	0.94	47.00
35	1.03	51.50
40	1.24	62.00

เมื่อนำข้อมูลความสูงที่ได้มาสร้างกราฟศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรังสีกับการเจริญเติบโตเพื่อหาค่า GR_{50} (growth rate 50 %) โดยลากเส้นจากจุดการเจริญเติบโตที่ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ให้ตัดกับปริมาณรังสีแกมมาที่ได้รับ พบว่าปริมาณรังสีที่ทำให้ต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงมีค่าการเจริญเติบโตลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 22.5 เกรย์ (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรังสีแกมมากับเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของหม้อข้าวหม้อแกงลิง อายุ 6 เดือน ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร $\frac{1}{2}$ MS และปริมาณรังสีแกมมาที่มีผลทำให้การเจริญเติบโตลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน

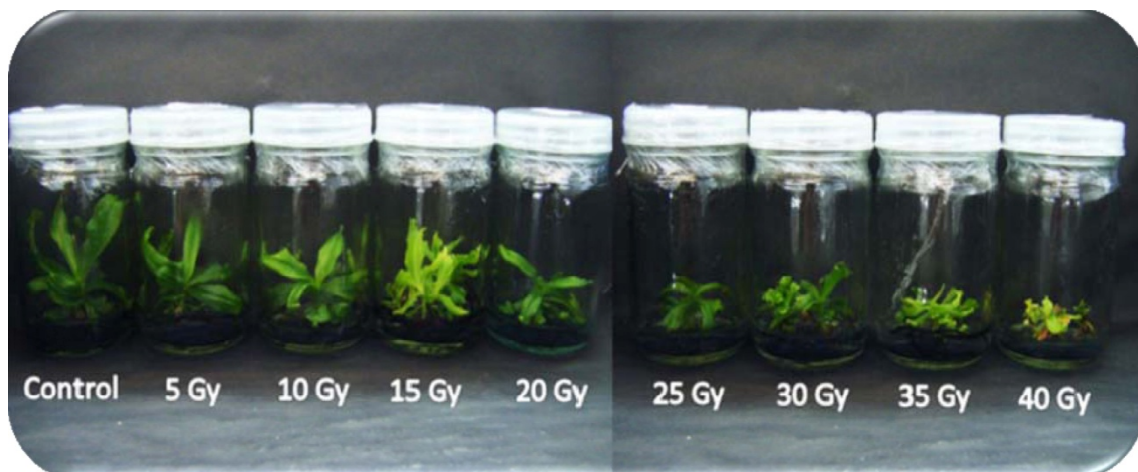
4.2 ผลของรังสีแกมมาต่อการเจริญเติบโตของหม้อข้าวหม้อแกงลิง

หลังการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันให้กับต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงในสภาพปลอดเชื้อและถ่ายเปลี่ยนอาหารใหม่ รวม 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกันนาน 2 เดือน จนได้ต้นมีขนาดใหญ่ รวม 6 เดือน นับจากวันที่ได้รับการฉายรังสี พบว่าต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่ได้รับการฉายรังสีใช้ระยะเวลาพัฒนาเป็นต้นนานขึ้น ทำให้ต้นที่ได้รับรังสีมีการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นที่ไม่ได้รับการฉายรังสี

4.2.1 ความสูง จำนวนราก และความยาวราก ผลจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อจำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่ของต้นอ่อนหม้อข้าวหม้อแกงลิงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าความสูงของต้นมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) คือ ต้นที่ไม่มีการฉายรังสีมีความสูงของต้นมากที่สุด

(2.34 ซม.) และต้นที่ได้รับรังสีแกมมาจะมีความสูงลดลงตามปริมาณรังสีที่ได้รับ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณรังสีที่ระดับต่าง ๆ พบว่าปริมาณรังสี 25 เกรย์ จะมีความสูงลดต่ำลงมากที่สุด (รูปที่ 2) จากนั้นความสูงจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นตามปริมาณรังสีแกมมาที่ได้รับ (ตารางที่ 2)

4.2.2 จำนวนรากต่อต้นและความยาวราก พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และต้นที่ไม่ได้รับรังสีจะมีจำนวนรากและมีรากยาวมากที่สุด แต่ต้นที่ได้รับรังสี 40 เกรย์ ก็ให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากและจำนวนรากไม่แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้รับรังสี (4.80 ซม. และ 4.70 ราก ตามลำดับ) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ได้รับรังสีตั้งแต่ 15, 20, 25, 30 และ 35 เกรย์ พบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนรากและความยาวรากมีค่าใกล้เคียงกันและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 2)



รูปที่ 2 การเปรียบเทียบความสูงของต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงหลังได้รับการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันในปริมาณรังสีต่าง ๆ โดยเฉพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 6 เดือน

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของหม้อข้าวหม้อแกงลิง อายุ 6 เดือน ในด้านความสูง จำนวนราก และความยาวราก หลังได้รับการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน 8 ระดับ

ปริมาณรังสีแกมมา (เกรย์)	ความสูง (ซม.)	จำนวนราก (ราก)	ความยาวราก (ซม.)
0	2.34±0.50 ^c	5.70±0.67 ^d	5.00±0.81 ^c
5	1.66±0.50 ^b	3.60±1.42 ^{abc}	2.36±1.34 ^a
10	1.67±0.42 ^b	5.50±2.17 ^{cd}	2.49±0.68 ^a
15	1.29±0.45 ^{ab}	3.20±1.31 ^{ab}	2.77±0.44 ^{ab}
20	1.21±0.36 ^{ab}	3.40±2.01 ^{ab}	4.25±2.01 ^b
25	0.81±0.32 ^a	3.10±1.28 ^{ab}	2.27±1.47 ^a
30	0.93±0.26 ^a	2.30±0.67 ^a	1.72±0.51 ^a
35	1.03±0.23 ^a	3.50±0.70 ^{ab}	2.76±0.96 ^{ab}
40	1.21±0.33 ^{ab}	4.70±1.15 ^{bcd}	4.80±1.61 ^c

abc ในคอลัมน์เดียวกันเป็นการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Tukey's honest significant difference (Tukey's HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

4.2.3 จำนวนใบต่อต้น ความยาว และความกว้างของใบ หลังจากการฉายรังสีให้ต้นอ่อนหม้อข้าวหม้อ แกงลิงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าต้นที่

ไม่ได้รับการฉายรังสีมีความยาวของใบและความกว้างของใบมากที่สุด และค่าเฉลี่ยจำนวนใบของต้นที่ไม่ได้รับรังสีนั้นจะให้จำนวนใบมากที่สุด 12 ใบ แต่

เมื่อเทียบกับต้นที่ได้รับรังสีที่ปริมาณ 40 เกรย์ จะมีจำนวนใบใกล้เคียงกันและแตกต่างกันทางสถิติ (8.8 ใบ) แต่ใบมีขนาดแคบกว่า (0.66 ซม.) ส่วนความยาว

ใบ ความกว้างใบ และจำนวนใบของต้นที่ได้รับรังสี 5-35 เกรย์ ส่วนใหญ่มีค่าต่ำกว่าต้นที่ไม่ได้รับรังสี (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยความยาวใบ ความกว้างใบ และจำนวนใบต่อต้นของหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลานาน 6 เดือน หลังได้รับการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน 8 ระดับ

ปริมาณรังสี (เกรย์)	ความยาวใบ (ซม.)	ความกว้างใบ (ซม.)	จำนวนใบ (ใบ)
0	3.06±0.51 ^d	1.25±0.29 ^c	12.00±2.05 ^b
5	1.28±0.77 ^{abc}	0.62±0.18 ^{ab}	11.30±4.54 ^{ab}
10	2.77±0.60 ^d	0.77±0.11 ^c	11.10±1.85 ^{ab}
15	1.76±0.41 ^{bc}	0.62±0.07 ^{ab}	9.40±2.06 ^{ab}
20	1.90±0.21 ^c	0.58±0.14 ^{ab}	8.20±2.09 ^{ab}
25	0.98±0.56 ^a	0.40±0.16 ^a	8.30±2.94 ^{ab}
30	0.82±0.13 ^a	0.68±0.33 ^{ab}	8.00±4.71 ^{ab}
35	1.05±0.62 ^{ab}	0.44±0.15 ^a	7.00±3.94 ^a
40	1.51±0.44 ^{abc}	0.66±0.28 ^{ab}	8.80±2.57 ^{ab}

abc ในคอลัมน์เดียวกันเป็นการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Tukey's honest significant difference (Tukey's HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เมื่อนำข้อมูลค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตในลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ ความสูง ความยาวใบ ความกว้างใบ จำนวนใบ จำนวนราก และความยาวรากของต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่ผ่านการฉายรังสีแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 เกรย์ มาหาค่าเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตเทียบกับชุดควบคุม (0 เกรย์) พบว่าค่า GR_{50} ที่หาจากข้อมูลการเจริญเติบโตในส่วนของความสูงเท่ากับ 22.5 เกรย์ และจากกราฟจะเห็นว่าส่วนใหญ่การเจริญเติบโตในลักษณะดังกล่าวจะมีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น แต่จะมีในส่วนของราก จำนวนราก ความยาวราก และจำนวนใบต่อต้นของต้นที่ได้รับรังสี 40 เกรย์ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้รับรังสี โดยเพิ่มขึ้น

ตั้งแต่ปริมาณรังสี 25 เกรย์ เป็นต้นไป

4.3 ลักษณะการกลายหลังได้รับการฉายรังสีแบบเฉียบพลัน

หลังจากย้ายเปลี่ยนอาหารดินอ่อนของหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่ผ่านการฉายรังสีระดับต่าง ๆ อีก 3 ครั้ง ทุก 2 เดือน พบว่าสามารถคัดเลือกพันธุ์กลายในรุ่น M_1V_3 ที่เกิดขึ้น โดยที่ปริมาณรังสี 20-35 เกรย์ เป็นช่วงปริมาณรังสีมีผลต่อการเจริญเติบโต ส่งผลให้เกิดการกลายในรูปแบบต่าง ๆ ได้แก่ ใบหัก ใบด่าง ใบแคบ ใบแผ่ ใบกระจุกตัวเป็นก้อน หม้อไร่ ใบ และแคลลัสที่กลางลำต้น (ตารางที่ 4) เมื่อเปรียบเทียบลักษณะต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นได้ผลดังนี้

ตารางที่ 4 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่พบในรุ่น M_1V_3 อายุ 6 เดือน ที่เกิดขึ้นหลังได้รับการฉายรังสีแบบเฉียบพลัน เป็นเวลา 6 เดือน

ปริมาณรังสี (เกรย์)	ลักษณะผิดปกติ						
	ใบแผ่	ใบแคบ	ใบค่าง	ใบหยัก	ใบกระจุกตัวเป็นก้อน	ต้นเตี้ย	แคลลัส
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10	12.50	12.50	0.00	12.5	0.00	0.00	37.50
15	0.00	0.00	0.00	11.76	0.00	0.00	29.41
20	5.26	10.52	5.26	42.10	15.78	10.52	57.89
25	10.00	30.00	0.00	20.00	20.00	0.00	60.00
30	0.00	0.00	0.00	0.00	40.00	20.00	60.00
35	0.00	83.33	16.67	16.67	33.33	16.67	83.33
40	0.00	25.00	0.00	12.50	37.50	0.00	62.50

หมายเหตุ : ลักษณะผิดปกติอาจพบได้มากกว่า 1 ลักษณะ ใน 1 ต้น

(1) ลักษณะใบแผ่สูงสุด จากปริมาณรังสี 10 เกรย์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดใบแผ่ 12.50 เปอร์เซ็นต์

(2) ลักษณะใบแคบสูงสุด จากปริมาณรังสี 35 เกรย์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดใบแคบ 83.33 เปอร์เซ็นต์

(3) ลักษณะใบค่างสูงสุด จากปริมาณรังสี 35 เกรย์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดใบค่าง 16.67 เปอร์เซ็นต์

(4) ลักษณะใบหยักสูงสุด จากปริมาณรังสี 20 เกรย์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดใบหยัก 42.10 เปอร์เซ็นต์

(5) ลักษณะใบกระจุกตัวเป็นก้อนสูงสุด จากปริมาณรังสี 30 เกรย์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดใบกระจุกตัวเป็นก้อน 40.00 เปอร์เซ็นต์

(6) ลักษณะต้นเตี้ยสูงสุด จากปริมาณรังสี

30 เกรย์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นเตี้ย 20.00 เปอร์เซ็นต์

(7) ลักษณะการเกิดแคลลัสสูงสุด จากปริมาณรังสี 35 เกรย์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดใบหยัก 83.33 เปอร์เซ็นต์

5. วิจัย

หลังจากนำต้นอ่อนขนาด 0.5 ซม. ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันแล้ว และเปลี่ยนอาหารอีก 3 ครั้ง ลงอาหารสูตรเดิมทุก 2 เดือน เมื่อหาปริมาณรังสีที่มีผลทำให้การเจริญเติบโตลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีค่าเท่ากับ 22.5 เกรย์ ซึ่งหลังจากต้นอ่อนหม้อข้าวหม้อแกงลิงได้รับการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 เกรย์ แล้วพบว่าเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

($p < 0.05$) เมื่อได้รับปริมาณรังสีเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งผลการวิจัยดังกล่าวสอดคล้องกับการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันให้กับเบญจมาศ [2] บีโกเนีย [3] ทั้งนี้การเจริญเติบโตที่ลดลงนั้นอาจเป็นผลเนื่องมาจากปริมาณรังสีแกมมาที่ได้รับไม่สูงมากนัก จึงมีผลเพียงทำให้เซลล์เกิดการชะงักการเจริญเติบโต แต่ไม่ถึงกับทำให้เซลล์ที่ได้รับรังสีนั้นตาย และเซลล์เหล่านั้นยังมีความสามารถในการซ่อมแซมตัวเองได้ แต่ถ้าวการซ่อมแซมตัวเองเกิดความผิดพลาด ซึ่งส่งผลก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ [4,5] ส่วนการเจริญเติบโตด้านความสูง ความกว้างทรงพุ่ม และจำนวนกิ่งแขนงของบานชื่นเลื้อยใบต่างที่ได้รับรังสีแกมมาปริมาณต่างๆ พบว่ามีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณรังสีให้สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Mokobia และ Anomohanran [6]

ผลของรังสีแกมมาต่อการเจริญเติบโต

หลังจากต้นอ่อนหม้อข้าวหม้อแกงลิง ขนาด 0.5 ซม. ได้รับการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันสามารถหาค่า $GR_{50(60)}$ ได้ค่าเท่ากับ 22.5 เกรย์ ซึ่งเป็นระดับรังสีที่มีการเปลี่ยนแปลงในการเจริญเติบโตเป็นส่วนมากโดยพบว่าการเจริญเติบโตมีแนวโน้มลดลงเมื่อได้รับรังสีแกมมาในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น โดยสอดคล้องกับข้อมูลที่สืบค้นกล่าวว่า การเจริญเติบโตด้านความสูง ความกว้างทรงพุ่ม และจำนวนกิ่งแขนงของบานชื่นเลื้อยใบต่างที่ได้รับรังสีแกมมาปริมาณต่างๆ มีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณรังสีให้สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Mokobia และ Anomohanran [6] การทดลองของชนะ [7] ที่ฉายรังสีแกมมาปริมาณ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เกรย์ ให้แก่ *Dendrobium Sonia* "Earsakul" ในสภาพปลอดเชื้อพบว่าต้นที่ได้รับการฉายรังสีมีความสูงลำลูกกล้วย ความกว้างทรงต้น ความยาวใบและรากลดลง อีกทั้ง รังนกและคณะ [8] รายงานว่า protocorm ของ

Dendrobium Sonia "Earsakul" ที่ได้รับการฉายรังสีมีการเจริญเติบโตลดลง และ Mazumder และ Bhowmik [9] ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อ protocorm ของ *Spathoglottis plicata* พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับการฉายรังสีมีความยาวใบ ขนาดใบ และจำนวนใบลดลง เช่นเดียวกับการทดลองของ Jala [10] รายงานว่าผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันในปริมาณที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ต้นอ่อนแวนมูราในสภาพปลอดเชื้อมีการเจริญเติบโตลดลง

ลักษณะการกลายหลังได้รับการฉายรังสีแบบเฉียบพลัน

หลังจากย้ายต้นอ่อนหม้อข้าวหม้อแกงลิง ที่ผ่านการฉายรังสีแบบเฉียบพลัน 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 2 เดือน ก็พบว่ามีลักษณะผิดปกติ คือ ใบหัก ใบด่าง ใบแคบ ใบแผ่ ใบกระจุกตัวเป็นก้อน หม้อไร่ ใบ และแคลลัสที่กลางลำต้น ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะพบได้ทุกช่วงความเข้มข้นของปริมาณรังสี ซึ่งสอดคล้องกับการอธิบายของอรุณี [11] ที่ว่าลักษณะที่เปลี่ยนแปลงบางลักษณะอาจเปลี่ยนแปลงกลับไปเป็นลักษณะเดิม ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเกิดจากความเสียหายทางสรีรวิทยาของพืช สำหรับการด่างของใบเกิดขึ้นเนื่องมาจากรังสีไปทำให้การกระจายตัวของคลอโรฟิลล์ไม่สม่ำเสมอ จึงทำให้เกิดลักษณะการด่างขึ้น (chimera) [12] และยังมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในด้านสีใบอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Mandal และคณะ [13] ที่พบว่าภายหลังจากการฉายรังสีแกมมาให้กับเบญจมาศ สีของดอกก็เกิดการเปลี่ยนแปลง และเกิดลักษณะการด่างของใบขึ้น ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับที่ Lamseejan และคณะ [14] ทำกับดอกเบญจมาศเช่นกัน และจากรายงานของเสริมศิริ และคณะ [15] ซึ่งศึกษาผลของรังสีแกมมาปริมาณ 0-6 กิโลเรด ที่ฉายให้กับต้นกล้วยพันธุ์หังโจว พบว่า

ปริมาณรังสี 1-1.5 กิโลเรด ไม่มีผล ดันเก็กฮวยก็มีการเจริญเติบโตเป็นปกติ แต่เมื่อเพิ่มปริมาณรังสีเป็น 2 กิโลเรด มีผลทำให้ต้นแคระแกรน และที่รังสีปริมาณ 3 กิโลเรด ส่งผลให้ต้นเก็กฮวยไม่มีการเจริญเติบโต นอกจากนี้รังสียังทำให้ใบมีลักษณะผิดปกติ เช่นเดียวกับวิชชุดา [16] รายงานว่าผลของรังสีแกมมาทำให้เกิดลักษณะต้นผิดปกติในหน้าวัวพันธุ์ Double Spathe คือ มีใบขนาดเล็ก ลำต้นแคระแกรน ความยาวปล้องและการแตกกิ่งข้างผิดปกติ ซึ่งพบกับต้นที่เกิดจากข้อและแคลลัสที่ได้รับรังสีแกมมาปริมาณ 4-5 เกรย์ นอกจากนี้ Jala [10] พบว่าต้นแวมยาราที่ได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันมีผลต่อจำนวนใบต่อข้อ ขนาดของใบ สีของดอกตลอดจนจำนวนเกสรตัวผู้และรูปร่างของเกสรตัวผู้ผิดปกติ

6. สรุป

ต้นอ่อนหม้อข้าวหม้อแกงลิงที่ได้รับการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันเมื่อย้ายลงเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมพบว่าต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณรังสีที่เหมาะสมในการเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์สำหรับต้นอ่อนปลอดเชื้อของหม้อข้าวหม้อแกงลิงมีค่าเท่ากับ 22.5 เกรย์ โดยพิจารณาจากค่าปริมาณรังสีที่ทำให้เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 2 เดือน

การกลายที่เกิดขึ้นบนต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่พบในรุ่น M_1V_3 คือลักษณะขอบใบหยัก ใบแผด ใบแคบ ใบด่าง ใบกระจุกตัวเป็นก้อน หม้อไร่ใบ และมีแคลลัสขึ้นกลางลำต้นและยอด โดยปริมาณรังสีที่ช่วง 20-35 เกรย์ จะให้ลักษณะกลายมากที่สุด

7. เอกสารอ้างอิง

- [1] พนม สุทธิศักดิ์โสภณ (บรรณาธิการ), 2551, กลยุทธ์ในการผลิตพืชกินแมลง : เชิงการค้าที่ยั่งยืน, โครงการจัดตั้งศูนย์วิจัยและการจัดการความรู้ทางพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, กรุงเทพฯ.
- [2] Misra, P., Datta, S.K. and Chakrabarty, D., 2003, Mutation in flower colour and shape of *Chrysanthemum morifolium* induced by gamma-radiation, *Biologia Plantarum* 47: 153-156.
- [3] Singh, K.P., Singh, B., Raghava, S.P.S., Misra, R.L. and Kalia, C.S., 1999, *In vitro* induction of mutation in carnation through gamma irradiation, *Ornam. Hort.* 2: 107-110.
- [4] สิริสุข ลามศรีจันทร์, 2540, การกลายพันธุ์ของพืช, ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- [5] อรุณี วงศ์ปิยะสกลิตย์, 2550, การกลายเพื่อการปรับปรุงพันธุ์, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 279 น.
- [6] Mokobia, C.E. and Anomohanran, O., 2005, The effect of gamma irradiation on the germination and growth of certain Nigerian Agriculture crops, *J. Rad. Protection* 25:181-183.
- [7] ธนะ กุลมณีวัฒน์, 2548, ผลของรังสีแกมมาต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมบางชนิดในสภาพปลอดเชื้อ, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- [8] รุ่งนภา แก้วทองราช, รักชนก โคโค และเสริมศิริ จันทร์เปรม, 2548, การชักนำกลายพันธุ์ด้วยหวายพันธุ์ “เอียสกุล” ให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้รังสีแกมมา ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, ในกำหนดการประชุมและบทคัดย่อการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 5, โรงแรมเวลคัมจอมเทียนบีช, ชลบุรี.
- [9] Mazumder, P.B. and Bhowmik, G., 1992, *In vitro* multiplication of *Spathoglottis plicata* (Bl.), Malayan Orchid Rev. 26: 36-39.
- [10] Jala, A., 2011, Morphological change due to effects of acute gamma ray on wishbone (*Torenia fourmieri*) *in vitro*, Int. Trans. J. Eng. Manage. Appl. Sci. Technol. 2:101-109.
- [11] อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์, 2530, เอกสารคำสอนวิชารังสีชีววิทยา, ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- [12] อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์, 2539, การใช้รังสีในการปรับปรุงพันธุ์พืช, เอกสารคำสอนวิชาการใช้รังสีและไอโซโทปในการเกษตร, ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- [13] Mandal, A.K.A., Chakrabarty, D., Datta, S.K., 2000, *In vitro* isolation of solid novel flower colour mutants from induced chimeric ray florets of chrysanthemum, Euphytica 114: 9-12.
- [14] Lamseejan, S., Jompuk, P., Wongpiyasatid, A., Deeseepan, S. and Kwanthamachart, P., 2000, Gamma-rays induced morphological changes in chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium*), Kasetsart J. (Nat. Sci.) 34: 417-422.
- [15] เสริมศิริ เอี่ยมแพง, สนธิชัย จันทน์เปรม และอรดี สหวัชรินทร์, 2532, ผลของรังสีแกมมาและโคลชิซินที่มีต่อการกลายพันธุ์ของเก๊กฮวยพันธุ์หังโจว, การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 27, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- [16] วิชชุดา รุ่งเรือง, 2537, ผลของโคลชิซินและรังสีแกมมาที่มีผลต่อการกลายพันธุ์ของหน้าวัวพันธุ์ “Double Spathe” ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.