

ผลของปริมาณไอออนบีมพลังงานต่ำใน การชักนำการกลายพันธุ์ของอัญชัน

Effects of Fluence of Low-energy Ion Beam on Mutation Induction of Butterfly Pea

กฤติยาพร บวรวัฒนะ^{1/} ศิวาพร ธรรมดี^{1/} และ อติสร กระแสชัย^{1/}
Kridtiyaporn Bowornwattana^{1/}, Siwaporn Thumdee^{1/} and Adisorn Krasaechai^{1/}

Abstract: : Mutation induction in butterfly pea by low-energy nitrogen ion beam at 50 keV was conducted by giving ion fluences (dose) of 1×10^{16} , 2×10^{16} , 4×10^{16} , 8×10^{16} , or 12×10^{16} N-ions.cm⁻² to self-pollinated seeds. Survival percentage, growth, and qualitative characters of butterfly pea were recorded. The result showed that ion beams at all fluences did not affect the survival percentage of the seeds. Only the highest fluence treatment caused variegated and deformed leaves in some plants. Increased survival percentage was also observed in the highest fluence treatment compared to the vacuum control. All plants from the highest fluence treatment were grown as M₁ population for further comparison with the wild type population. Lengths of the 2nd internode, the 3rd internode, and mature compound leaf were lower in the M₁ population than in the wild type population. While number of branches was higher in the M₁ population than in the wild type population. Additional deviant characters such as leaflet branching, compound leaf variegation, and petal malformation were observed in the M₁ population. Thus it is possible that there were some mutants in this M₁ population.

Keywords: Ion beam, butterfly pea, mutation induction

^{1/} ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

^{1/} Department of Plant Science and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

บทคัดย่อ: การชักนำการกลายพันธุ์ในอัญชันโดยใช้ไอออนบีมไนโตรเจนพลังงานต่ำ 50 keV ดำเนินการโดยให้เมล็ดที่เกิดจากการผสมตัวเองได้รับปริมาณไอออน 1×10^{16} , 2×10^{16} , 4×10^{16} , 8×10^{16} หรือ 12×10^{16} N-ions.cm⁻² นำเมล็ดมาเพาะแล้วบันทึกอัตราการรอดชีวิต การเติบโต และลักษณะเชิงคุณภาพที่เปลี่ยนแปลง พบว่า ทุกปริมาณไอออนทำให้อัตราการรอดชีวิตของเมล็ดไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ไม่ได้นำเข้าเครื่องยิงไอออน มีเฉพาะปริมาณไอออนสูงสุดที่ให้ต้นที่มีใบด่างและรูปร่างใบที่แตกต่างไปจากปกติ และที่ปริมาณไอออนสูงที่สุดนี้ทำให้อัตราการรอดชีวิตสูงกว่ากรรมวิธีที่ได้รับเฉพาะสภาพสุญญากาศในเครื่องยิงไอออน เมื่อนำประชากรรุ่น M₁ ที่ผ่านการยิงด้วยไอออนปริมาณสูงสุดนี้ ไปปลูกเปรียบเทียบกับลักษณะกับประชากรเดิม (wild type population) พบว่า เมื่อออกดอกประชากรรุ่น M₁ มีความยาวของปล้องที่ 2 ความยาวของปล้องที่ 3 และความยาวของใบสั้นกว่าของประชากรเดิม แต่มีจำนวนกิ่งข้างมากกว่าจำนวนกิ่งข้างของประชากรเดิม และพบลักษณะเชิงคุณภาพที่แตกต่างจากปกติเพิ่มเติม ได้แก่ ใบย่อยมีการแตกแขนง ใบประกอบมีลักษณะด่าง และกลีบดอกที่เปลี่ยนรูปไป จึงเป็นไปได้ว่ามีต้นที่กลายพันธุ์อยู่ในประชากรรุ่น M₁ นี้

คำสำคัญ: ไอออนบีม อัญชัน การชักนำการกลายพันธุ์

คำนำ

การปรับปรุงพันธุ์พืชนอกจากการผสมพันธุ์แล้ว การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง ซึ่งชักนำได้โดย การใช้สารเคมีและรังสี ไอออนบีมจัดเป็นรังสีก่อไอออน (ionizing radiation) ประเภทหนึ่งซึ่งมีประสิทธิภาพในการถ่ายทอดพลังงานแก่ตัวกลางสูง เมื่อเทียบกับรังสีแกมมาและรังสีเอกซ์ (Yamaguchi *et al.*, 2003) โดยมีทั้งมวล ประจุ และพลังงาน (Wu and Yu, 2001) ทำให้เกิดความหลากหลายของการกลายพันธุ์ (mutation spectrum) คือมีการกลายพันธุ์ในลักษณะที่แปลกใหม่ มากกว่าและแตกต่างจากการใช้รังสีอื่น (อรุณี, 2550) นอกจากนี้ไอออนบีมยังไม่ทิ้งสารพิษตกค้างเหมือนการใช้สารเคมีชักนำการกลายพันธุ์ ดังนั้นไอออนบีมจึงเป็นอีกหนึ่งเทคโนโลยีที่มีประสิทธิภาพสูงและปลอดภัยในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืช

การนำเอาไอออนบีมพลังงานสูง ในระดับ MeV มาใช้ในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ประสบผลสำเร็จในพืชหลายชนิด เช่น กุหลาบ (Yamaguchi *et al.*, 2003) แววมยุรา (Miyazaki *et al.*, 2006) และยาสูบ (Kazama *et al.*, 2008) ส่วนการประยุกต์ใช้ไอออนบีมพลังงานต่ำ คือใช้พลังงานต่ำกว่า 100 KeV เพื่อชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืช เริ่มขึ้นที่ประเทศจีนเป็นแห่งแรก โดยทำการทดลองในข้าว (Wu and Yu, 2001) ในประเทศไทย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ได้พัฒนาเครื่องเร่งอนุภาค

และสามารถใช้ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืชหลายชนิด เช่น ข้าวหอมมะลิ (Phanchaisri *et al.*, 2007) พืชเนื้ (Krasaechai *et al.*, 2009) บานชื่น (กนกพร, 2552) และดาวเรือง (จินตนา, 2553)

อัญชัน *Clitoria ternatea* Linn. (Butterfly Pea) เป็นพืชในเขตร้อน อยู่ในวงศ์ Fabaceae เป็นพันธุ์ไม้เลื้อยล้มลุกขนาดเล็ก มีดอกออกตลอดปี (วิชัย, 2532) จัดเป็นพืชดิพลอยด์ (diploid) มีจำนวนโครโมโซม $2n = 16$ (Morris, 2009) เนื่องจากอัญชันเป็นพืชผสมตัวเอง (Morris, 2009) และขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด (วิทย์, 2530) ทำให้โดยทั่วไปมีพันธุ์กรรมเป็น homozygous ซึ่งง่ายต่อการศึกษาผลของการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ นอกจากนี้รังควัตถุสีน้ำเงินอมม่วงในกลีบดอกอัญชัน ที่สร้างความสวยงามให้กับดอกและทำให้สามารถใช้อัญชันเป็นไม้ประดับได้แล้ว รังควัตถุดังกล่าวยังอาจช่วยยับยั้งสารก่อมะเร็งได้ (Morris, 2009) หากมีการปรับปรุงพันธุ์อัญชันให้มีลักษณะดอก สีของดอก และลักษณะการเจริญเติบโตที่แตกต่างไปจากเดิม จะช่วยพัฒนาอัญชันให้ เป็นไม้ประดับหรือพืชให้สีธรรมชาติที่มีศักยภาพทางการค้าได้

ดังนั้นการทดลองนี้จึงศึกษาผลของปริมาณไอออนบีมพลังงานต่ำในการชักนำการกลายพันธุ์ต่อการรอดชีวิต การเติบโต และลักษณะที่เปลี่ยนแปลงของประชากรอัญชัน รุ่น M₁

อุปกรณ์และวิธีการ

นำเมล็ดอัญชันกลีบดอกชั้นเดียวสีน้ำเงินที่ได้จากการควบคุมให้ผสมตัวเอง 2 รุ่น มายิงด้วยไอออนบีมไนโตรเจนพลังงานต่ำ 50 keV ให้ได้รับปริมาณไอออน 1×10^{16} , 2×10^{16} , 4×10^{16} , 8×10^{16} หรือ 12×10^{16} N-ions.cm⁻² เนื่องจากในการยิงไอออนแต่ละครั้งจะต้องมีการลดแรงดันใน target chamber (ภาพที่ 1) จนกระทั่งมีสภาพเป็นสุญญากาศ จึงมีกรรมวิธีที่ได้รับเฉพาะสภาพสุญญากาศในเครื่องยิงไอออน (vacuum control) ซึ่งวางใน target chamber พร้อมกับแต่ละกรรมวิธีที่ได้รับการยิงไอออน (ภาพที่ 1) และมีกรรมวิธีที่ไม่นำเข้าเครื่องยิงไอออน (control) เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ ในทุกกรรมวิธีมีการตัดเปลือกหุ้มเมล็ดบริเวณใกล้ยอดอ่อนของคัพเพาะออกก่อนนำไปยิงด้วยไอออน หลังจากยิงไอออน นำเมล็ดทั้งหมดปลูกในถาดหลุม โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 50 เมล็ด บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเมื่อ 30 วัน หลังเพาะเมล็ด เพื่อหา 50% lethal dose (LD_{50(30d)}) และวัดความสูงของต้นหลังเพาะเมล็ดแล้ว 10 วัน เพื่อหา 50% growth reduction (GR_{50(10d)}) จากนั้น

ย้ายปลูกเฉพาะต้นจากกรรมวิธีที่ไม่นำเข้าเครื่องยิงไอออน (control) หรือเรียกว่าเป็นประชากรเดิม (wild type population) และต้นจากกรรมวิธีที่ให้ผลหรือใกล้เคียง LD_{50(30d)} หรือ GR_{50(10d)} หรือเรียกว่าเป็นประชากรที่ผ่านการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์รุ่นที่ 1 (M₁ population) ปลูกเลี้ยงในโรงเรือนหลังคาพลาสติก ที่ศูนย์วิจัย สาธิต และฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ ตั้งแต่เดือนธันวาคม พ.ศ. 2553 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2554 บันทึกลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative characters) ได้แก่ ความสูงของต้นเมื่อ 70 วัน หลังเพาะเมล็ด เนื่องจากเป็นระยะที่อัญชันมีการออกดอกแล้วและเป็นระยะที่ต้นยังไม่มีกิ่งก้านยืดยาวที่ทำให้ยากต่อการเก็บข้อมูล และลักษณะเชิงปริมาณอื่น ๆ เมื่อเริ่มออกดอก ได้แก่ จำนวนกิ่งข้าง ความยาวปล้อง ขนาดใบ และขนาดดอก และบันทึกลักษณะเชิงคุณภาพ (qualitative characters) ที่เปลี่ยนแปลงไปจากปกติตลอดช่วงที่ปลูกเลี้ยง

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยอัตราการรอดชีวิตและค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกล้าในกรรมวิธีทดลองต่าง ๆ โดยการวิเคราะห์ ANOVA และ Duncan's multiple range test เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนของ

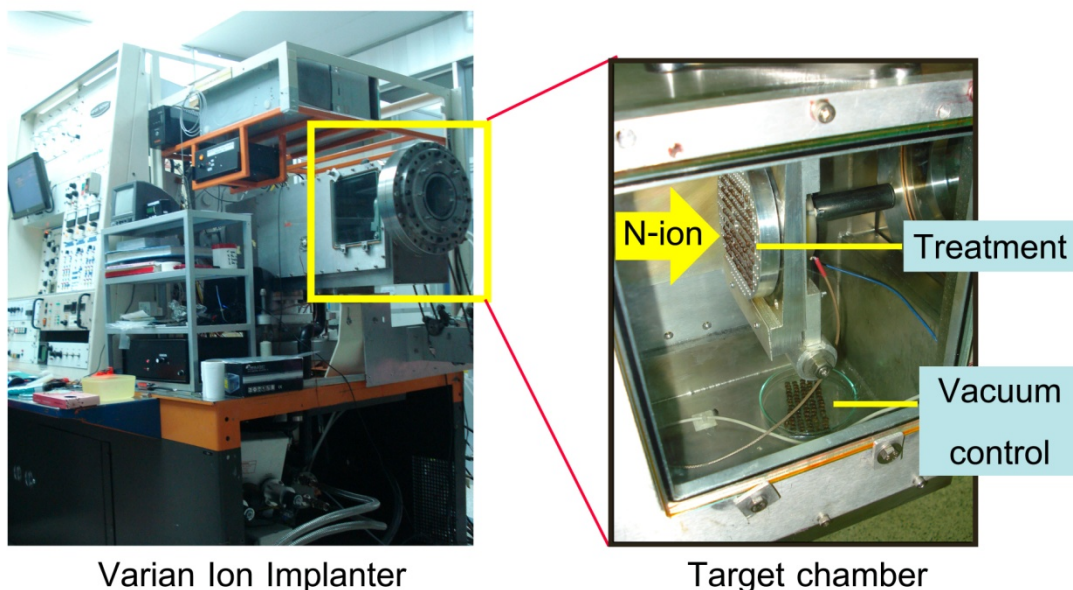


Figure 1 Varian ion implanter and target chamber showing treatment target seeds and vacuum control seeds

ลักษณะเชิงปริมาณ ระหว่างประชากรเดิมและประชากรที่ผ่านการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์รุ่นที่ 1 ด้วย T-test และ F-test ตามลำดับ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม Statistix 8

ผลการทดลอง

หลังจากเมล็ดอัญชันได้รับการยิงด้วยไอออนของไนโตรเจนพลังงานต่ำ บริเวณรอยตัดซึ่งเป็นเป้าหมายในการยิงไอออนมีแนวโน้มเกิดรอยไหม้เพิ่มมากขึ้นเมื่อปริมาณไอออนเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 2) แต่ทุกปริมาณไอออนไม่ทำให้อัตราการรอดชีวิตของเมล็ดเมื่อ 30 วันหลังจากเพาะเมล็ด แตกต่างจากกรรมวิธีที่ไม่นำเข้าเครื่องยิงไอออน (control) (ตารางที่ 1) การให้ไอออนปริมาณ 2, 4 และ 12×10^{16} N-ions.cm⁻² ทำให้อัตราการรอดชีวิตของเมล็ดสูงกว่ากรรมวิธีที่ได้รับเฉพาะสภาพสุญญากาศในเครื่องยิงไอออน (vacuum control) โดยเฉพาะที่ปริมาณไอออน 12×10^{16} N-ions.cm⁻² ซึ่งเป็นปริมาณไอออนที่สูงที่สุดที่ให้แก่เมล็ดอัญชันในการทดลองนี้ (ตารางที่ 1) แม้ว่าต้นกล้าที่เติบโตจากเมล็ดที่ผ่านการยิงด้วยปริมาณไอออน

ตั้งแต่ 2×10^{16} N-ions.cm⁻² ขึ้นไป มีแนวโน้มความสูงเมื่อ 10 วันหลังจากเพาะเมล็ดมากกว่าต้นกล้าจากเมล็ดที่ได้รับเฉพาะสภาพสุญญากาศซึ่งนำเข้าในเครื่องยิงไอออนพร้อมกัน แต่ค่าเฉลี่ยความสูงดังกล่าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ภาพที่ 3) ในช่วงหนึ่งเดือนหลังจากเพาะเมล็ดพบต้นอัญชันที่มีลักษณะเชิงคุณภาพแตกต่างไปจากต้นปกติเฉพาะในกรรมวิธีที่ได้รับปริมาณไอออนสูงที่สุดเท่านั้น ได้แก่ ลักษณะต่างกระจายทั่วพื้นที่ของใบจริงคู่แรก จำนวน 1 ต้น (ภาพที่ 4A) ปลายใบจริงคู่แรกงอ จำนวน 1 ต้น (ภาพที่ 4B) ใบประกอบใบแรกมีรูปร่างที่ต่างไปจากต้นปกติ จำนวน 4 ต้น ได้แก่ ไม่มีก้านใบย่อย (ภาพที่ 5B-F) รูปร่างใบเปลี่ยนเป็นรูปหอกกลับ (ภาพที่ 5C) ขอบใบเป็นลอนคลื่น (ภาพที่ 5D) จำนวนใบย่อยลดลงและขอบใบย่อยงอ (ภาพที่ 5E-F) รวมจำนวนต้นกล้าที่มีลักษณะแตกต่างจากปกติ เป็น 4 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนเมล็ดทั้งหมดที่ผ่านการยิงด้วยปริมาณไอออนสูงที่สุด ดังนั้นจึงเลือกประชากรอัญชันรุ่น M₁ ที่ผ่านการยิงด้วยปริมาณไอออน 12×10^{16} N-ions.cm⁻² ไปปลูกเปรียบเทียบลักษณะกับประชากรเดิม (wild type population) ต่อไป

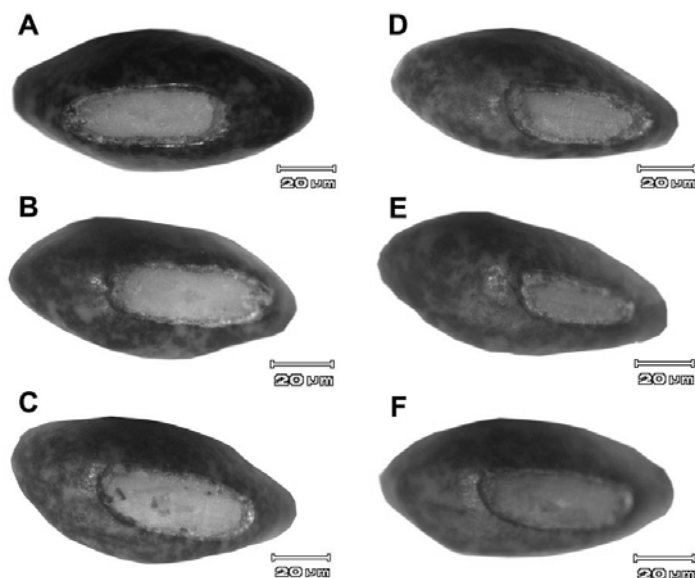


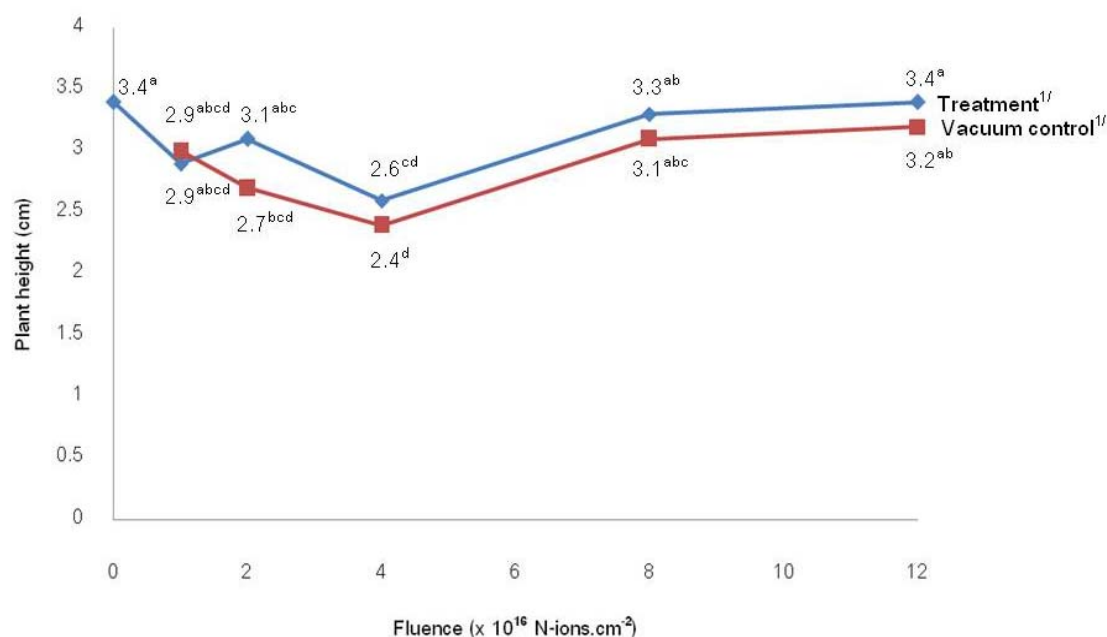
Figure 2 Butterfly pea seeds after ion-beam bombardment

A: control, B: 1×10^{16} N-ions.cm⁻², C: 2×10^{16} N-ions.cm⁻², D: 4×10^{16} N-ions.cm⁻², E: 8×10^{16} N-ions.cm⁻², F: 12×10^{16} N-ions.cm⁻²

Table 1 Survival percentage of ion-beam bombarded butterfly pea seeds at 30 days after sowing

Fluence ($\times 10^{16}$ N-ions.cm ⁻²)	Survival (%) ^{1/}	
	Treatment	Vacuum control
0 (control)	86 ^{ab}	-
1	88 ^{ab}	82 ^{abc}
2	79 ^{bc}	62 ^d
4	79 ^{bc}	64 ^d
8	90 ^a	78 ^{abc}
12	90 ^a	66 ^{cd}

^{1/}Means followed by the same letter were not significantly different by Duncan's multiple range test at 95% confidential level.



^{1/}Means followed by the same letter were not significantly different by Duncan's multiple range test at 95% confidential level.

Figure 3 Plant height of ion-beam bombarded butterfly pea at 10 days after sowing

เมื่อระยะออกดอก ประชากร M₁ มีความยาวของปล้องที่ 2 ความยาวของปล้องที่ 3 และความยาวของใบ สั้นกว่าประชากรเดิม แต่มีจำนวนกิ่งข้างมากกว่าประชากรเดิม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2) และในช่วงที่ปลูกศึกษาลักษณะพบลักษณะเชิงคุณภาพของอัญชันบางต้นในประชากร M₁ ที่แตกต่างไปจากประชากรเดิม ได้แก่ ใบย่อยมีการแตกแขนง จำนวน 1 ต้น (ภาพที่ 6A) รอบขอบใบประกอบมีลักษณะต่าง จำนวน 1 ต้น (ภาพที่ 6B) และบางดอกมีลักษณะการบานที่

แตกต่างไปจากดอกปกติคือบริเวณปลายกลีบดอกไม่ค่อยออกทั้งหมดทำให้เกิดปมหุ้มเกสรเพศผู้ไว้และไม่สามารถติดฝักได้จำนวน 1 ต้น (ภาพที่ 6C) ซึ่งลักษณะเหล่านี้พบเพียงบางส่วนของต้นเท่านั้น ไม่ได้เกิดทั้งต้น รวมจำนวนต้นอัญชันในประชากร M₁ ที่มีลักษณะเชิงคุณภาพแตกต่างไปจากประชากรเดิม เท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนเมล็ดทั้งหมดที่ผ่านการยิงด้วยไอออนปริมาณสูงที่สุด

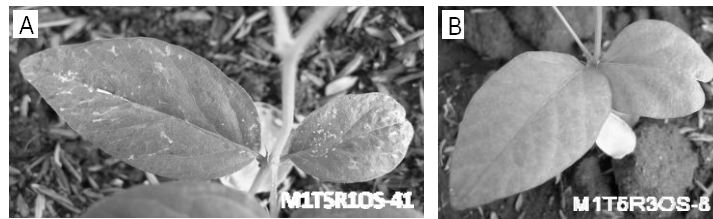


Figure 4 Deviant characters of the first simple leaf of M_1 butterfly pea bombarded with 12×10^{16} N-ions.cm⁻²
A: variegated leaves; B: emarginated leaf apex

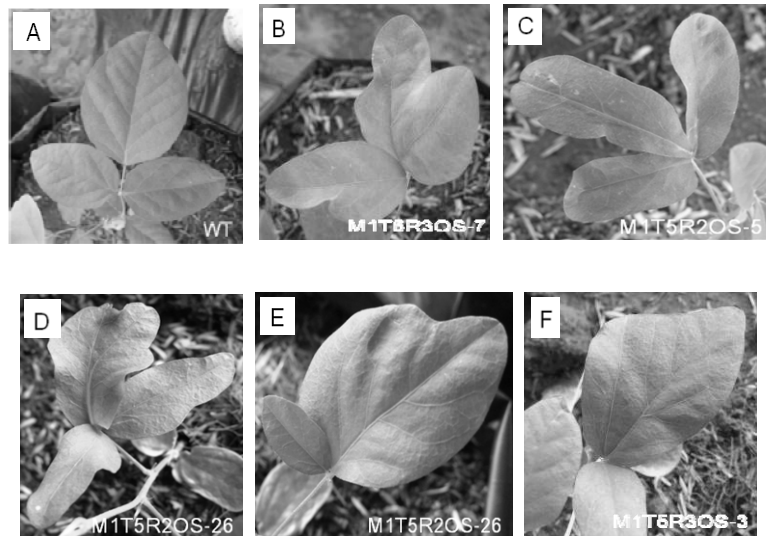


Figure 5 Compound leaf malformation in M_1 butterfly pea bombarded with 12×10^{16} N-ions.cm⁻²

A: control or wild type (wt) plant with 3 leaflets per compound leaf, stalked ovate leaflets, and entire leaflet margin; B: M_1 plant with sessile leaflets and emarginated leaflet margin; C: M_1 plant with sessile oblanceolate leaflets; D: M_1 plant with sessile irregular shaped leaflets and undulate leaf margin; E and F: M_1 plants with 2 leaflets per compound leaf, sessile leaflets, and emarginated leaflet margin.

Table 2 Quantitative characters of M_1 butterfly pea population bombarded with 12×10^{16} N-ions.cm⁻², comparing to wild type population

Characters		Number of plants	Mean ^{1/}	Variances ^{2/}
Plant height at 70 days (cm)	M_1	137	22.9 ^{ns}	176.6 [*]
	Wild type	50	26.8	282.2
Length of 2 nd internode (cm)	M_1	137	3.0 ^{**}	0.36 ^{ns}
	Wild type	50	3.3	0.48
Length of 3 rd internode (cm)	M_1	137	2.7 ^{**}	0.83 ^{ns}
	Wild type	50	3.2	0.64
Length of 4 th internode (cm)	M_1	137	2.3 ^{ns}	0.64 ^{ns}
	Wild type	50	2.4	0.83
Number of branching	M_1	137	9.2 ^{**}	1.10 ^{ns}
	Wild type	50	8.5	0.74
Leaf length (cm)	M_1	137	5.7 [*]	0.56 ^{ns}
	Wild type	50	6.0	0.49
Leaf width (cm)	M_1	137	3.6 ^{ns}	0.16 ^{ns}
	Wild type	50	3.7	0.14
Flower width (cm)	M_1	137	3.5 ^{ns}	0.27 ^{ns}
	Wild type	50	3.6	0.24
Flower length (cm)	M_1	137	3.6 ^{ns}	0.24 ^{ns}
	Wild type	50	3.6	0.20
First blooming (days after sowing)	M_1	137	75 ^{ns}	21.3 ^{ns}
	Wild type	50	74	23.5

^{1/} Means of each character were compared between M_1 and wild type populations by T-Test.

^{2/} Variances of each character were compared between M_1 and wild type populations by F-Test.

^{*} Value of the M_1 population differed from that of the wild type population at 0.05 levels.

^{**} Value of the M_1 population differed from that of the wild type population at 0.01 levels.

^{ns} Value of the M_1 population did not differ from that of the wild type population at 0.05 levels.

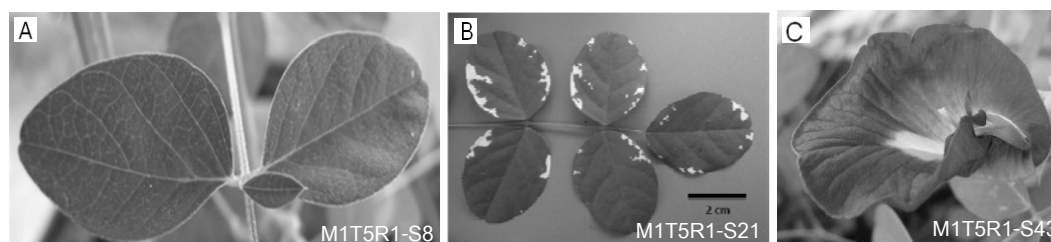


Figure 6 Deviant characters found in some plants of M_1 butterfly pea population bombarded with 12×10^{16} N-ions.cm⁻²

A : branching of leaflet; B: variegated leaf; C: malformed petal

วิจารณ์ผลการทดลอง

ปริมาณไอออนตั้งแต่ 1×10^{16} ถึง 12×10^{16} N-ions.cm⁻² ทำให้อัตราการรอดชีวิตของเมล็ดไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ไม่นำเข้าเครื่องยิงไอออน (ตารางที่ 1) ซึ่งแตกต่างกับรายงานของ Anuntalabhochi *et al.* (2004) และ สุพรรณิ (2549) ที่กล่าวไว้ว่า อัตราการรอดชีวิตของข้าวกล้องเมื่อให้ปริมาณไนโตรเจนไอออนเพิ่มมากขึ้น แต่ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับการศึกษาการยิงไอออนไนโตรเจนพลังงานต่ำแก่เมล็ดบานขึ้น (กนกพร, 2552) และเมล็ดพิทูเนีย (Krasaechai *et al.*, 2009) ที่พบว่าปริมาณไอออนที่ให้ทุกระดับไม่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของเมล็ด คือที่พลังงาน 30 keV ปริมาณไอออน 2 และ 3×10^{16} N-ions.cm⁻² ให้อัตราการรอดชีวิตของเมล็ดบานขึ้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ เทียบกับการใช้ปริมาณไอออน 1×10^{16} N-ions.cm⁻² ที่ให้อัตราการรอดชีวิต 66 เปอร์เซ็นต์ (กนกพร, 2552) และที่ระดับพลังงาน 60 keV การให้ปริมาณไอออน 10×10^{16} N-ions.cm⁻² ทำให้อัตราการรอดชีวิตของเมล็ดพิทูเนียเท่ากับอัตราการรอดชีวิตของเมล็ดที่ได้รับปริมาณไอออน 2×10^{16} N-ions.cm⁻² (Krasaechai *et al.*, 2009) การที่ปริมาณไอออนส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตแตกต่างกันในแต่ละการทดลอง เนื่องจากอัตราการรอดชีวิตภายหลังการยิงด้วยไอออนขึ้นอยู่กับชนิดและพันธุ์พืช ระดับพลังงาน ชนิดและความเข้มข้นของไอออน การหาปริมาณไอออนที่เหมาะสมจากค่า 50% growth reduction (GR_{50(10d)}) ซึ่งเป็นการวัดความเสียหายทางสรีรวิทยาที่เกิดกับต้นกล้าในรุ่น M₁ พบว่า ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นกล้าอายุ 10 วันหลังเพาะเมล็ด (ภาพที่ 3) ของกรรมวิธีที่ได้รับปริมาณไอออน 4×10^{16} N-ions.cm⁻² มีค่าเป็น 76% ของกรรมวิธีที่ไม่นำเข้าเครื่องยิงไอออน ซึ่งใกล้เคียงค่า GR_{50(10d)} มากที่สุด และค่าเฉลี่ยความสูงนี้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากค่าเฉลี่ยความสูงของกรรมวิธีที่ไม่นำเข้าเครื่องยิงไอออน (ภาพที่ 3) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่นำเข้าเครื่องยิงไอออนพร้อมกันแต่ได้รับเฉพาะสภาพสุญญากาศ พบว่าความสูงของต้นกล้าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 3) การเติบโตที่ลดลงของต้นกล้าในกรรมวิธีที่ได้รับปริมาณไอออน 4×10^{16} N-ions.cm⁻² จึงอาจเป็นผลของสภาพ

สุญญากาศในการยิงไอออนที่ทำให้อุณหภูมิโดยรอบลดลงและทำให้เนื้อเยื่อพืชสูญเสียความชื้น (Apavatjirut *et al.*, 2003) จนส่งผลต่อการงอกและการเติบโตมากกว่าผลจากไอออน ดังนั้นจึงไม่สามารถระบุได้ว่าปริมาณไอออนนี้เป็นปริมาณไอออนที่เหมาะสม เมื่อพิจารณาการรอดชีวิตและการเติบโตของต้นกล้าในกรรมวิธีที่ได้รับไอออนปริมาณสูงที่สุด 12×10^{16} N-ions.cm⁻² พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตและมีแนวโน้มการเติบโตสูงกว่ากรรมวิธีที่ได้รับเฉพาะสภาพสุญญากาศในเครื่องยิงไอออน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ จินตนา (2553) ที่ชักนำการกลายพันธุ์ในดาวเรืองด้วยไอออนบีมไนโตรเจนพลังงาน 50 keV แล้วพบว่า ต้นกล้าอายุ 4 สัปดาห์ที่ได้รับปริมาณไอออนสูงที่สุดมีความสูงเพิ่มขึ้น แต่หลังจากสัปดาห์ที่ 5 ความสูงมีแนวโน้มลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม การที่เมล็ดอัญชันที่เคยได้รับปริมาณไอออนตั้งแต่ 2×10^{16} N-ions.cm⁻² ขึ้นไปมีเปอร์เซ็นต์การงอก (หรืออัตราการรอดชีวิต) มากกว่า และมีแนวโน้มให้ต้นกล้าที่สูงกว่าเมล็ดที่เคยได้รับเฉพาะสภาพสุญญากาศในระยะแรก (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 3) และเมล็ดที่เคยได้รับปริมาณไอออน 8 และ 10×10^{16} N-ions.cm⁻² มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่าเมล็ดที่เคยได้รับปริมาณไอออน 2 และ 4×10^{16} N-ions.cm⁻² (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 3) อาจเป็นเพราะไนโตรเจนไอออนได้เข้าไปในเซลล์แล้วมีการเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูปซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ส่งผลให้เมล็ดอัญชันในกรรมวิธีดังกล่าวมีเปอร์เซ็นต์การงอกและการเติบโตสูงกว่าในระยะแรก เมื่อนำผลของอัตราการรอดชีวิตและการเติบโตของต้นกล้าอัญชัน ประกอบกับลักษณะเชิงคุณภาพที่เปลี่ยนแปลงไปนั้นเกิดขึ้นเฉพาะกับประชากรอัญชันที่เคยได้รับปริมาณไอออนสูงที่สุด 12×10^{16} N-ions.cm⁻² (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 3, 4 และ 5) จึงเป็นไปได้ว่ามีต้นในประชากรนี้ได้รับไอออนของไนโตรเจนเข้าไปในเซลล์และอาจเกิดการกลายพันธุ์ จึงได้เลือกประชากรอัญชันที่เคยผ่านการยิงด้วยปริมาณไอออน 12×10^{16} N-ions.cm⁻² ไปปลูกเปรียบเทียบลักษณะกับประชากรอัญชันในกรรมวิธีที่ไม่ได้นำเข้าเครื่องยิงไอออนหรือประชากรเดิม

การเปรียบเทียบลักษณะระหว่างประชากรรุ่น M₁ ที่เคยได้รับปริมาณไอออน 12×10^{16} N-ions.cm⁻² และ

ประชากรเดิม พบว่า ประชากรรุ่น M_1 มีค่าเฉลี่ยความยาวของปล้องที่ 2 ความยาวของปล้องที่ 3 และความยาวของใบสั้นกว่าค่าเฉลี่ยของประชากรเดิม แต่มีค่าเฉลี่ยจำนวนกิ่งข้างมากกว่าค่าเฉลี่ยจำนวนกิ่งข้างของประชากรเดิม (ตารางที่ 2) และเมื่อปลูกต่อไปยังพบลักษณะเชิงคุณภาพที่แตกต่างไปจากประชากรเดิม ซึ่งลักษณะที่เปลี่ยนแปลงในระยะแรกนั้นอาจเกิดจากไอออนไปมีผลต่อเซลล์เป้าหมายในด้านโครงสร้างบนพื้นผิวของเซลล์ที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ (สุพรรณิ, 2549) หรือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา (Wang *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2009) แต่ไอออนที่สามารถทะลุทะลวงไปยังนิวเคลียส อาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงในระดับยีนและแสดงออกในภายหลัง จึงเป็นไปได้ว่ามีต้นที่กลายพันธุ์อยู่ในประชากร M_1 นี้ ซึ่งจะต้องควบคุมต้นในรุ่น M_1 ให้ผสมตัวเอง เพื่อศึกษาลักษณะของประชากรรุ่น M_2 และยืนยันผลต่อไป

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาผลของปริมาณไอออนบีมไนโตรเจนพลังงานต่ำ 50 keV ต่อการรอดชีวิต การเติบโต และลักษณะที่เปลี่ยนแปลงของอัญชัน พบว่า ปริมาณไอออนตั้งแต่ 1×10^{16} ถึง 12×10^{16} N-ions.cm⁻² ให้อัตราการรอดชีวิตของเมล็ดไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ไม่ได้นำเข้าเครื่องยิงไอออน แต่พบว่าเมล็ดที่ผ่านการยิงด้วยไอออนปริมาณสูงสุดมีการรอดชีวิตสูงกว่าเมล็ดในกรรมวิธีที่ได้รับเฉพาะสภาพสุญญากาศที่นำเข้าเครื่องยิงไอออนพร้อมกัน ต้นกล้าที่ได้มีแนวโน้มความสูงเพิ่มขึ้นในระยะแรก และใบปรากฏลักษณะต่างและรูปร่างที่แตกต่างไปจากปกติ เมื่อนำประชากรรุ่น M_1 นี้ไปปลูกเปรียบเทียบลักษณะกับประชากรเดิม พบว่า ประชากรรุ่น M_1 มีความยาวของปล้องที่ 2 ความยาวของปล้องที่ 3 และความยาวของใบลดลง แต่จำนวนกิ่งข้างเพิ่มมากขึ้น และยังพบลักษณะเชิงคุณภาพที่ต่างไปจากประชากรเดิม ได้แก่ การแตกแขนงของใบย่อย ลักษณะต่างในใบประกอบ และการบานของดอกที่แตกต่างจากปกติ จึงเป็นไปได้ว่าภายในประชากรอัญชันที่เคยผ่านการยิงด้วยปริมาณไอออน 12×10^{16} N-ions.cm⁻² จะมีต้นที่เกิดการ

กลายพันธุ์ อย่างไรก็ตามปริมาณไอออนที่เหมาะสมต่อการชักนำการกลายพันธุ์ของอัญชันอาจสูงกว่า 12×10^{16} N-ions.cm⁻² หรืออาจต้องใช้ระดับพลังงานมากกว่า 50 keV

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ Dr. Yu Liang Deng สำหรับความรู้ทางด้านเทคนิคการใช้ไอออนบีมในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืช ศูนย์ความเป็นเลิศด้านฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้เครื่องยิงไอออน ภาควิชาฟิสิกส์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ สำหรับโรงเรือนในการปลูกเปรียบเทียบลักษณะ และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนทุนการวิจัยบางส่วน

เอกสารอ้างอิง

- กนกพร เตชะติ. 2552. ผลของไอออนบีมต่อบานขึ้น. ปัญหาพิเศษปริญญาตรีภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 22 หน้า.
- จินตนา วงศ์ดี. 2553. การชักนำการกลายพันธุ์ในไม้ดอกบางชนิดด้วยลำไอออนพลังงานต่ำ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 72 หน้า.
- วิชัย อภัยสุวรรณ. 2532. ดอกไม้และประวัติไม้ดอกไม้ของไทย. ห้างหุ้นส่วนจำกัดดีแอลแอล, กรุงเทพฯ. 348 หน้า.
- วิทย์ เทียงบุญธรรม. 2530. พจนานุกรมไม้ดอกไม้ประดับเมืองไทย (เล่มที่ 2). โอ.เอส.พรินต์ติ้งเฮาส์, กรุงเทพฯ. 981 หน้า.
- สุพรรณิ พรหมเทพ. 2549. การชักนำการกลายพันธุ์ข้าวเหนียวดำ (*Oryza sativa* var. *intica*) โดยการประยุกต์ลำไอออนพลังงานต่ำ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัย เชียงใหม่, เชียงใหม่. 89 หน้า.

- อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์. 2550. การกลายพันธุ์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 279 หน้า.
- Anuntalabhochi, S., T. Pusadee, L. D. Yu and T. Vilaithong. 2004. Genomic mutation induced by low energy ion beam in rice (*Oryza sativa* var. *indica*) KDML 105. Conference in Genetics and Sustainable Development. 5-7 June 2004. Narasuan University, Pitsanulok.
- Apavatjirut, P., C. Alisi, B. Phanchaisri, L. Yu, S. Anuntalabhochai and T. Vilaithong. 2003. Induction of exogenous molecule transfer into plant cells by ion beam bombardment. *ScienceAsia* 29: 99-107.
- Kazama, Y., H. Saito, M. Miyagai, H. Takehisa, H. Ichida, Y. Miyazawa, K. Mishiba, T. Kanaya, K. Suzuki, C. Bae, K. Miyoshi, M. Mii and T. Abe. 2008. Effect of heavy ion-beam irradiation on plant growth and mutation induction in *Nicotiana tabacum*. *Plant Biotechnol. J.* 25: 105-111.
- Krasaechai, A., L. D. Yu, T. Sirisawad, T. Phomsawatthai, W. Bundithya, U. Taya, S. Anuntalabhochai and T. Vilaithong. 2009. Low-energy ion beam modification of horticultural plants for induction of mutation. *Surface & Coatings Technology* 203: 2525-2530.
- Li, K., S. Jiang, H. Yu, J. Zhao, F. Zhang, C. Carr, J. Zhang and G. Zhang. 2009. Analysis of charge and mass effects on peroxidase expressions and activities in *Arabidopsis thaliana* after low-energy ion irradiation. *Mutation Research* 680: 64-69.
- Miyazaki, K., K. Suzuki, K. Iwaki, T. Kusumi, T. Abe, S. Yoshida and H. Fukui. 2006. Flower pigment mutations induced by heavy ion beam irradiation in an interspecific hybrid of *Torenia*. *Plant Biotechnol. J.* 23: 163-167.
- Morris, J. B. 2009. Characterization of butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) accessions for morphology, phenology, reproduction and potential nutraceutical, pharmaceutical trait utilization. *Genet. Resour. Crop Evol.* 56:421-427.
- Phanchaisri, B., R. Chandet, L. D. Yu, T. Vilaithong, S. Jamjod and S. Anuntalabhochai. 2007. Low-energy ion beam-induced mutation in Thai jasmine rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML 105). *Surface & Coatings Technology* 201: 8024-8028.
- Wang, Y., W. Wang, G. Qui and Y. Huo. 2004. The elementary study on the physiological effect variation of the *Arabidopsis thaliana* implanted by the low energy ion beam. *Acta Agric. Boreali Sin.* 19: 82-85.
- Wu, L. and Z. Yu. 2001. Radiobiological effects of a low-energy ion beam on wheat. *Radiat. Environ. Biophys.* 40: 53-57.
- Yamaguchi, H., S. Nagatomi, T. Morishita, K. Degi, A. Tanaka, N. Shikazono and Y. Hase. 2003. Mutation induced with ion beam irradiation in rose. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 206: 561-564.