ผลของรังสีอัลตราไวโอเลตซี (UV-C) ต่อการกลายพันธุ์ของกล็อกซิเนีย

Effect of Ultraviolet-C (UV-C) on Mutation of Gloxinia (*Sinningia speciosa*)

ยุพาภรณ์ ศิริโสม[1/] และ สมปอง เตชะโต[1/]

Yupaporn Sirisom[1/] and Sompong Te-chato[1/]

Abstract: In this study, *in vitro* leaf explants of gloxinia (*Sinningia speciosa*) were treated with UV-C irradiation at dose 0-9 kJ/m^2, followed by culturing on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 1.0 mg/l indole acetic acid (IAA) and 5.0 mg/l kinetin (KN) for multiple shoots formation. After culture for 28 days, the LD_{50} of UV-C irradiation was calculated to be 4.52 kJ/m^2 and multiple shoots formation in each treatment was significant different. *In vitro* flowering was found from petiole of leaf explants treated with 5.4 kJ/m^2 of UV-C but those flowers were malformed. While leaf laminar produced normal shoots. When each shoot obtained from UV-C irradiation was transferred to induced root on ½ MS medium for 14 days, followed by trasferred to potted soil mixture for further 60 days, plant morphologies were observed. For plants obtained from irradiated leaf explant with UV-C, canopy width, leaf width, leaf length, flower diameter and flower length showed significant different while, stem height was not significant different. For floral morphologies, flower characteristics were altered in terms of petal color and thickness.

Keywords: Gloxinia (*Sinningia speciosa*), UV, mutation

[1/] ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา 90112

[1/] Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand

บทคัดย่อ: จากการนำชิ้นส่วนใบกล็อกซิเนีย (*Sinningia speciosa*) มาฉายรังสี UV-C ปริมาณ 0 - 9 kJ/m^2 จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรชักนำยอดรวม Murashige and Skoog (MS) เติม indole acetic acid (IAA) 1 มล./ล. ร่วมกับ kinetin (KN) 5 มล./ล. หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน พบว่า ที่ระดับรังสี UV-C 4.52 kJ/m^2 ให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนใบลดลงครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) โดยความสามารถในการสร้างยอดรวมในแต่ละชุดทดลองมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบการสร้างดอกในหลอดทดลองจากชิ้นส่วนก้านใบที่ฉายรังสี UV-C ปริมาณ 5.4 kJ/m^2 แต่ดอกพัฒนาไม่สมบูรณ์ ในขณะที่ชิ้นส่วนใบพัฒนาเป็นยอดรวมตามปกติ เมื่อตัดยอดที่ได้จากการฉายรังสี UV-C ปริมาณต่างๆ มาชักนำรากบนอาหารสูตร ½ MS เป็นเวลา 14 วัน แล้วย้ายลงแปลงปลูกเป็นเวลา 60 วัน ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของต้น พบว่า ต้นที่ได้รับการฉายรังสี UV-C มีความกว้างทรงพุ่ม ความยาวและความกว้างใบ เส้นผ่านศูนย์กลางและความยาวดอกมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่ความสูงของลำต้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ สำหรับผลของรังสี UV-C ต่อลักษณะดอกนั้น พบว่า มีลักษณะดอกที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เช่น สีดอกเข้มขึ้นหรืออ่อนลง กลีบดอกหนาสีแดงคล้ายกำมะหยี่ เป็นต้น

คำสำคัญ: กล็อกซิเนีย (*Sinningia speciosa*) รังสีอัลตราไวโอเลต การกลายพันธุ์

คำนำ

กล็อกซิเนียเป็นไม้เนื้ออ่อนที่มีอายุอยู่ได้หลายฤดู จัดอยู่ในวงศ์ Gesneriaceae มีอยู่ด้วยกันหลายชนิด เช่น *Sinningia eumorpha* (Saltao), *S. schiffneri, S. tubiflora* และ *S. speciosa* ซึ่งสายพันธุ์นี้นักปรับปรุงพันธุ์พืชนิยมนำมาใช้เป็นพ่อหรือแม่พันธุ์ ผลิตลูกผสมที่มีลักษณะของต้นและดอกที่สวยงาม แต่ต้องสั่งซื้อเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ เพราะต้นกล็อกซิเนียที่ปลูกโดยทั่วไปเป็นลูกผสมชั่วแรก (F1 hybrid) ไม่เหมาะที่จะเก็บเมล็ดไปใช้ต่อเพราะจะขาดความสม่ำเสมอของลักษณะ และการเพาะเลี้ยงเมล็ดพันธุ์กล็อกซิเนียนั้นต้องใช้เวลาประมาณ 120-140 วันจึงจะออกดอก (ภาณุพงศ์, 2548) ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้เหมาะสมต่อการผลิตพืชแต่ละชนิดเรื่อยมาจนสามารถผลิตพืชได้ปริมาณมาก ในระยะเวลาอันสั้น นอกจากนี้ถ้าใช้ชิ้นส่วนที่ไม่เกี่ยวกับเพศพืชต้นใหม่ที่ได้จะมีความสม่ำเสมอ และมีลักษณะที่ตรงตามพันธุ์สูง อรุณี และสมปอง (2535) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์กล็อกซิเนียโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าการวางเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบ และชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตรมูราชิเกะ และสคุค (MS) ที่เติม Indoleacetic acid (IAA) เข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ Kinetin (KN) เข้มข้น 5 มก./ล. สามารถชักนำยอดรวมได้หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์สูงถึง 94-96 เปอร์เซ็นต์ และได้จำนวนยอดเฉลี่ย 17-25 ยอดต่อชิ้นส่วน ดังนั้นหากนำการใช้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาร่วมกับการชักนำการกลายพันธุ์ในพืช เพื่อส่งเสริมความแปรปรวนและการผลิตพืชให้ได้ลักษณะที่ต้องการ ก็จะช่วยให้สามารถปรับปรุงพันธุ์ได้สะดวก และรวดเร็วยิ่งขึ้น กระบวนการชักนำการกลายพันธุ์มีหลักการ คือ การนำเอาชิ้นส่วนต่างๆของพืชที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์ เช่น ใบ ข้อ แคลลัส มาชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรมไปจากเดิม โดยใช้สิ่งก่อกลายพันธุ์ เช่น สารเคมีก่อกลายพันธุ์ เอธิลมีเทนซัลโฟเนต ไดเอทิลซัลเฟต 5-โบรโมยูเรซิล รังสีแกมมา รังสีเอ็กซ์ รังสีอัลตราไวโอเลต อนุภาคนิวตรอน อนุภาคไอออน เป็นต้น ในการชักนำการกลายพันธุ์โดยใช้รังสี ประสบผลสำเร็จในพืชหลายชนิด และยังสามารถส่งเสริมให้เกิดพืชสายพันธุ์ใหม่ได้อีกด้วย ตัวอย่างการใช้รังสีในไม้ดอก ไม้ประดับ เช่น ในรายงานของ ธนวัฒน์ และเตือนใจ (2549) ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อกล็อกซิเนีย พบว่า ปริมาณรังสี 40 เกรย์ ส่งผลให้ดอกจากปกติที่จะมีสีชมพูทั้งดอกกลับมีสีขอบนอกของกลีบดอกจางลงหรือสีดอกเข้มขึ้นแต่มีขนาดเล็กและรูปทรงดอกต่างไปจากเดิม นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้รังสีแกมมาในไม้ดอกอื่น ๆ เพื่อส่งเสริมให้ สีดอก ลักษณะดอก ขนาด และรูปร่างดอก เปลี่ยนแปลงไป สามารถสร้างเป็นสายพันธุ์ทางการค้าได้ เช่น *Portulaca grandiflora*

(Wongpiyasatid and Hormchan, 2000) คาร์เนชั่น (Okamura *et al*., 2003) กุหลาบ (Ibrahim *et al*., 1998) ในพืชอื่นๆ เช่น องุ่น (Charbaji and Nabulsi, 1999) มันฝรั่ง (Al-Safadi *et al*., 2000) ส่วนการใช้รังสีอัลตราไวโอเลต (UV) พบรายงานในไม้ผล เช่น แพร์ (Pinet-Leblay *et al*., 1992) ในพืชสมุนไพร เช่น ในโรสแมรีมีปริมาณกรด rosmarinic และ carnosic เพิ่มขึ้นเมื่อฉายรังสี UV-B ปริมาณ 5.4 และ 31 kJ/m^2/d (Luis *et al*., 2007) ในพืชผัก เช่น ใบผักกาดหอม เมื่อฉายรังสี UV-B พบว่ามีการสร้างสารแอนไซยานินเพิ่มขึ้น (Park *et al*., 2007) ส่วนการใช้รังสี UV ในไม้ดอก ไม้ประดับ ยังไม่มีรายงานการศึกษา

จากรายงานดังกล่าวข้างต้น เห็นได้ว่าการชักนำการกลายพันธุ์นั้นสามารถสร้างความแปรปรวนในต้นพืช ทำให้เกิดลักษณะใหม่ ๆ ในไม้ดอก ไม้ประดับ ลักษณะใหม่ที่เกิดขึ้นนั้นสามารถเพิ่มคุณค่าทางเศรษฐกิจให้กับพืชชนิดนั้นได้ ดังนั้นในรายงานฉบับนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นถึงผลของรังสี UV ต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะกล็อกซิเนียร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อใช้ประโยชน์ในการสร้างสายพันธุ์ใหม่ในทางการค้าในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุพืช และสิ่งก่อกลายพันธุ์

ในการศึกษานี้ใช้ใบอ่อนกล็อกซิเนีย อายุ 1 เดือนที่ได้จากการชักนำยอดรวมจากชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) เติม indole acetic acid (IAA) 1 มล./ล. ร่วมกับ kinetin (KN) 5 มล./ล. ภายใต้การให้แสง นาน 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสงประมาณ 25 µmol m^{-2} s^{-1} อุณหภูมิ 26 ± 2 °C และสิ่งก่อกลายพันธุ์ที่ใช้คือ รังสี UV- C ที่ได้จากหลอดขนาด 40 วัตต์ ซึ่งใช้ฆ่าเชื้อในตู้ย้ายเลี้ยง

วิธีการ

1. **ศึกษาผลของปริมาณ และระยะเวลาการฉายรังสี UV-C ต่ออัตราการรอดชีวิต**

นำชิ้นส่วนใบกล็อกซิเนีย มาวางบนจานเพาะเลี้ยงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร สูง 2-2.5 เซนติเมตร ใช้อาหารเหลวสูตร MS เติม IAA 1 มล./ล. และ KN 5 มล./ล. หยดเป็นชั้นบาง ๆ เพื่อป้องกันการแห้งของชิ้นส่วนพืช นำมาฉายรังสี UV-C ปริมาณ 0, 1.2, 1.8, 2.4, 3.0, 3.6, 5.4, 7.2 และ 9.0 kJ/m^2 จากนั้น นำชิ้นส่วนใบที่ได้มาซับด้วยกระดาษกรองฆ่าเชื้อจนแห้ง นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติม IAA มล./ล. และ KN 5 มล./ล. เลี้ยงในสภาพที่มืด อุณหภูมิ 26± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน หลังจากนั้นจึงย้ายมาเลี้ยงในที่มีแสง ต่ออีกเป็นเวลา 14 วัน บันทึกอัตราการรอดชีวิต และหาปริมาณรังสีที่ยับยั้งอัตราการรอดชีวิตได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50})

2. **ศึกษาผลของรังสี UV-C ต่อการพัฒนาขอชิ้นส่วนใบกล็อกซิเนีย**

ศึกษาเปรียบเทียบการพัฒนาของชิ้นส่วนใบในแต่ละปริมาณรังสี ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลาประมาณ 30 วัน โดยดูลักษณะ และสีของแคลลัส เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวม และจำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วน

3. **ศึกษาผลของรังสี UV-C ต่อความผิดปกติของลักษณะทางสัณฐานในหลอดทดลอง และในแปลงปลูก**

ศึกษาลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้นในหลอดทดลองจากการย้ายชิ้นส่วนใบ และก้านใบ จากต้นที่ได้รับรังสีปริมาณต่าง ๆ โดยวางเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำยอดรวม MS เติม IAA 1 มล./ล. และ KN 5 มล./ล. และตัดยอดที่ได้จากการฉายรังสีส่วนหนึ่งไปชักนำรากบนอาหารสูตร 1/2MS ภายหลังการเพาะเลี้ยง 14 วัน ย้ายต้นกล้ากล็อกซิเนียไปอนุบาลในวัสดุปลูก เพอร์ไลต์: เวอมิคิวไลต์ (1:1) เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานของต้น และดอก

ในการศึกษาครั้งนี้ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ๆ ละ 15 ใบ โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) เปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี DMRT (Duncan's New Multiple Range Test)

ผลการทดลอง

1. ผลของรังสี UV-C ต่ออัตราการรอดของชิ้นส่วนใบกล็อกซิเนียในหลอดทดลอง

ภายหลังการฉายรังสี UV-C ปริมาณต่าง ๆ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอดรวมเป็นเวลา 14 วัน พบว่า อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนใบลดลงตามปริมาณรังสีที่สูงขึ้น แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อศึกษาระดับปริมาณรังสี ที่ ให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนใบลดลงครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) พบว่า มีค่า 4.52 kJ/m^2 (`ภาพที่ 1) ลักษณะของชิ้นส่วนใบที่รอดชีวิต คือ ใบเกิดการบวม ขอบใบจะม้วน และมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่วนชิ้นส่วนใบที่ตาย สีของใบจะเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ และไม่มีการม้วนของใบ แต่เมื่อวางชิ้นส่วนใบดังกล่าวเป็นเวลาประมาณ 30 วัน พบว่า เริ่มมีการสร้างแคลลัสขนาดเล็กขึ้นบริเวณขอบใบ ลักษณะแคลลัสเกาะตัวกันแน่น มีสีน้ำตาลเข้ม จนดำ และไม่สามารถพัฒนาเป็นยอดรวมได้

2. ผลของรังสี UV-C ต่อการพัฒนาของชิ้นส่วนใบกล็อกซิเนีย

ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลาประมาณ 20 วัน ชิ้นส่วนใบกล็อกซิเนียเริ่มมีการสร้างแคลลัส ลักษณะของแคลลัสเมื่อเริ่มสร้างจะเกาะตัวกันอย่างหลวม ๆ (friable callus) มีสีเขียว ใส มีทั้งที่เกิดขึ้นบริเวณรอบ ๆ ขอบใบ บริเวณที่เกิดบาดแผล และเกิดกระจายทั่วไปบนใบ ซึ่งลักษณะของแคลลัสดังกล่าวจะเริ่มมีการพัฒนาเป็นแคลลัสที่เกาะตัวกันแน่น (compact callus) และมีสีเขียวเข้มมากขึ้น (ภาพที่ 2) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลาประมาณ 30 วัน แคลลัสจากใบที่ได้รับรังสี UV-C ปริมาณ 0, 1.2, 1.8, 2.4, 3.0 และ 3.6 kJ/m^2 สามารถพัฒนาเป็นยอดรวมได้ตามปกติ แต่มีการพัฒนาช้ากว่าชิ้นส่วนใบที่ไม่ได้ฉายรังสี ที่ปริมาณรังสี 5.4, 7.2 และ 9.0 kJ/m^2 แคลลัสมีการเปลี่ยนแปลงจากสีเขียวเข้ม เริ่มเกิดเป็นกลุ่มแคลลัสสีน้ำตาลเข้ม หรือสีดำ และมีการตายของเซลล์บางส่วน แต่กลุ่มแคลลัสดังกล่าวสามารถพัฒนาไปเป็นยอดรวมได้ แต่มีจำนวนยอดรวมน้อย และ มีลักษณะผิดปกติ คือ ยอด และใบมีขนาดเล็ก สีมีสีเขียวอ่อน และซีด (ภาพที่ 3) ส่วนชิ้นส่วนใบที่ไม่ได้ฉายรังสีมีการพัฒนาเป็นยอดตามปกติ ใบมีสีเขียวเข้ม และมีขนาดใหญ่ โดยมีความสามารถในการสร้างยอดรวม 96.67 เปอร์เซ็นต์ และให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ยสูงสุด 21.63 ยอดต่อชิ้นส่วน แตกต่างกับชิ้นส่วนใบที่ฉายรังสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ส่วนที่ปริมาณรังสี 9.0 kJ/m^2 ให้เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวมน้อยที่สุดคือ 13.33 เปอร์เซ็นต์ และให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ย 3.25 ยอดต่อหนึ่งชิ้นส่วน (ตารางที่ 1)

3. ผลของรังสี UV-C ต่อความผิดปกติของลักษณะทางสัณฐานในหลอดทดลอง

เมื่อทำการเลี้ยงชิ้นส่วนใบ และก้านใบจากต้นที่ได้รับรังสีปริมาณต่าง ๆ บนอาหารสูตรชักนำยอดรวม (MS เติม IAA 1.0 มก./ล. และ KN 5.0 มก./ล.) พบว่า ชิ้นส่วนใบ และก้านใบ สามารถเจริญเป็นยอดรวมได้ตามปกติ แต่ลักษณะยอดที่เกิดขึ้นจากต้นที่ฉายรังสี มีใบขนาดใหญ่ และสีเขียวเข้มกว่าปกติ นอกจากนี้ยังพบการเกิดดอกในหลอดทดลอง จากชิ้นส่วนก้านใบจากต้นที่ฉายรังสีปริมาณ 5.4 kJ/m^2 ซึ่งลักษณะดอกที่เกิดขึ้นทั้งหมดเหมือนกัน คือ มีสีเขียว ประกอบด้วยก้านดอก กลีบเลี้ยง 5 กลีบ เมื่อผ่าดอกตามยาวเพื่อศึกษาลักษณะภายในของดอก พบว่า กลีบดอก เกสรตัวผู้ และเกสรตัวเมีย ไม่มีการพัฒนา ส่วนชิ้นส่วนใบมีการพัฒนาเป็นยอดตามปกติ (ภาพที่ 4) เมื่อทำการย้ายดอกดังกล่าวบนอาหารสูตรชักนำยอดรวม โดยการวางทั้งดอก และแยกวางส่วนกลีบเลี้ยง พบว่า เมื่อวางทั้งดอก ส่วนก้านดอกมีการสร้างยอดรวมปกติ แต่ตรงบริเวณดอกเกิดเป็นสีน้ำตาลเข้ม และตาย ส่วนการแยกวางกลีบเลี้ยง ชิ้นส่วนพืช เกิดเป็นสีน้ำตาล และตายเช่นเดียวกัน

4. ผลของรังสี UV-C ต่อลักษณะทางสัณฐานของต้นกล็อกซิเนียภายหลังขยายพันธุ์ในสภาพที่ปลูกภายในแปลงปลูก

จากการนำต้นกล็อกซิเนียที่ไดรับรังสี และไม่ได้รับรังสี มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำราก (1/2 MS) เป็นเวลา 14 วัน และย้ายลงแปลงปลูก หลังจากย้ายปลูกเป็นเวลาประมาณ 60 วัน พบว่า ต้นกล็อกซิเนียที่ได้รับรังสี มีการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นที่ไม่ได้รับรังสี สังเกตได้จาก มีต้นขนาดเล็กกว่า และออกดอกช้ากว่าต้นปกติ ซึ่งต้นปกติมีลักษณะใบใหญ่ หนา สีเขียวเข้ม ขอบใบหยักต้นที่ได้รับรังสี UV-C ปริมาณ 1.2, 1.8 และ 2.4 kJ/m^2

มีลักษณะใบ ขอบใบ และขนาดใบ คล้ายกับต้นปกติ และช่วงเวลาการออกดอกใกล้เคียงกัน แต่ต้นที่ได้รับรังสีในปริมาณสูงคือ 3.0, 3.6 และ 5.4 kJ/m^2 พบว่า บางต้นมีลำต้นมีลักษณะแคระแกร็น ใบมีขนาดเล็กกว่าปกติ บางใบหงิก ใบมีขอบหยักน้อย (ภาพที่ 5) เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานอื่น ๆ พบว่า ความกว้างทรงพุ่ม ความยาวและความกว้างใบ ในแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่ความสูงของลำต้นนั้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 2)

สำหรับผลของรังสี UV-C ต่อการชักนำให้เกิดลักษณะการกลายพันธุ์ของส่วนดอกกล็อกซิเนียนั้น พบว่ามีลักษณะของดอกที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เช่น จากปกติที่จะมีดอกเป็นสีแดงทั้งดอก กลีบดอกบาง กลีบดอกซ้อนกันมากกว่า 3 ชั้น แต่กลับพบว่ามีดอกที่มีสีเข้มขึ้นและมีลักษณะต่างไปจากเดิมหลายประการในต้นที่ได้รับรังสีปริมาณ 5.4 kJ/m^2 คือจากสีแดงปกติ เป็นสีแดงคล้ายกำมะหยี่ และมีกลีบดอกเพียงสองชั้น ดอกมีขนาดเล็กลง กลีบดอกหนา มีบางดอก สีดอกอ่อนลง ขอบดอกหยัก และมีขอบสีขาว ห่างจากปลายกลีบดอกเข้ามาประมาณ 0.3 มิลลิเมตร ในขณะที่ดอกปกติมีขอบขาวเพียงเล็กน้อย หรือกลีบดอก มีสีเขียวตรงปลายกลีบดอกบางส่วน พบประมาณ 3-5 กลีบต่อจำนวนกลีบดอกทั้งหมด ส่วนดอกที่เกิดจากต้นที่ฉายรังสีปริมาณ 1.2, 1.8, 2.4 และ 3.0 kJ/m^2 มีลักษณะทางสัณฐานใกล้เคียงกับดอกปกติ (ภาพที่ 6)

วิจารณ์

จากการศึกษาผลของรังสี UV-C ต่อการกลายพันธุ์ของกล็อกซิเนียในหลอดทดลอง พบว่าชิ้นส่วนใบกล็อกซิเนียที่ได้รับรังสี UV-C จะมีลักษณะเหี่ยวลง เมื่อเทียบกับชิ้นส่วนใบที่ไม่ได้รับรังสีซึ่งมีลักษณะใบเป็นปกติ เมื่อศึกษาถึงปริมาณรังสี UV-C ที่ทำให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนพืช 50% (LD_{50}) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม มีค่าประมาณ 4.52 kJ/m^2 ซึ่ง Leblay *et al.* (1992) ได้ศึกษาการใช้รังสีแกมมา และรังสี UV กับชิ้นส่วนใบแพร์ในหลอดทดลอง พบว่าค่า LD_{50} เมื่อใช้รังสี UV มีค่าประมาณ 125 J/m^2 ชิ้นส่วนใบที่ฉายรังสี UV ขอบใบเกิดการม้วนงอ และใบมีลักษณะเหี่ยวลงเช่นเดียวกับการศึกษานี้ แต่เมื่อพิจารณาถึงค่า LD_{50} พบว่ามีค่าต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากพืชแต่ละชนิด มีการตอบสนองต่อรังสีต่างกัน ถึงแม้ว่าจะเป็นพืชชนิดเดียวกัน แต่มีระยะการพัฒนา ชิ้นส่วนต่างกัน หรือมีอายุที่ต่างกัน การตอบสนองต่อรังสีก็อาจจะต่างกันด้วย เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบดังกล่าวเป็นเวลา 20 วัน ศึกษาลักษณะการพัฒนาของชิ้นส่วนใบ พบว่า ชิ้นส่วนใบที่ฉายรังสี UV-C มีการพัฒนาเป็นแคลลัส มีลักษณะเป็น friable callus มีสีเขียว ใส เกิดขึ้นบริเวณขอบใบ และบริเวณที่มีบาดแผล และมีการพัฒนาเป็น compact callus ซึ่งลักษณะของแคลลัสที่เกิดนั้น อาจเป็นผลมาจากรังสี UV-C โดย Whittle and Johnston (2003) รายงานว่า รังสี UV มีผลทำให้เกิดความเสียหายกับดีเอ็นเอ รวมทั้งการเกิดความผิดปกติของเบสที่เป็นองค์ประกอบของดีเอ็นเอ เช่น การเกิดการจับกันเองของเบสไพริมิดีน (pyrimidine dimer) ในการศึกษานี้รังสี UV-C อาจทำให้เกิดความเสียหายของเซลล์ ทำให้เซลล์อาจเกิดความผิดปกติ เกิดการเจริญเป็นกลุ่มแคลลัสแทนที่จะเจริญเป็นยอดรวมเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอด จากการฉายรังสี UV-C ที่มีปริมาณสูงคือ 5.4, 7.0 และ 9 kJ/m^2 เมื่อเพาะเลี้ยงไปได้ระยะหนึ่งแคลลัสจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม หรือดำ และมีการสร้างสารประกอบฟีโนลิก (phenolic compound) โดยที่สารนี้อาจมีผลยับยั้งหรือส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยที่ไม่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบกล็อกซิเนียที่ไม่ได้รับการฉายรังสี ซึ่ง Park *et al.* (2007) รายงานว่า รังสี UV ส่งเสริมให้เกิดการสร้างสารชีวเคมีทุติยภูมิหลายชนิดเพิ่มขึ้น แต่ถ้าได้รับในปริมาณที่สูง และระยะเวลานานเกินไป อาจจะส่งผลให้เกิดความเป็นพิษภายในเซลล์พืชได้ สอดคล้องกับการศึกษานี้คือ ชิ้นส่วนพืชที่ฉายรังสี UV-C ในปริมาณที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ ทำให้เซลล์บางส่วนตาย รวมทั้งมีผลยับยั้งความสามารถในการสร้างยอดรวม และจำนวนยอดรวมต่อหนึ่งชิ้นส่วน ลดลงด้วย

จากการย้ายเลี้ยงชิ้นส่วนใบ และชิ้นส่วนก้านใบที่ฉายรังสี UV-C ปริมาณต่าง ๆ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอดรวม พบว่า ที่ปริมาณรังสี UV-C 5.4 kJ/m^2 ส่งเสริมให้ชิ้นส่วนก้านใบมีการพัฒนาเป็นดอก

Table 1 Percentage of multiple shoot formation of *Sinningia speciosa* after treating with UV-C radiation and cultured on regeneration medium.

Dose (kJ/m^2)	% Multiple shoot formation	Number of shoot / explant
0	96.67±1.96a[1/]	21.63±1.82a
1.2	80.00±5.32ab	16.50±1.82b
1.8	60.00±4.04cb	16.00±2.01b
2.4	40.00±3.71cd	15.75±1.31b
3.0	33.34±4.19d	11.25±1.35cb
3.6	31.67±3.16d	7.50±2.07cd
5.4	30.00±3.57d	3.50±1.76d
7.2	26.67±2.55d	3.25±0.98d
9.0	13.33±2.90d	3.25±0.98d
F-test	*	*
C.V. (%)	34.56	27.01

[1/]Means within column not sharing letter in common are significantly different by DMRT (P≤0.05)

* Significant difference at P≤0.05

Table 2 Effect of UV-C radiation on plant growing after hardening for 60 days.

Dose (kJ/m^2)	Canopy width (cm)	Stem height (cm)	Leaf width (cm)	Leaf length (cm)	Floral diameter (cm)	Floral length(cm)
0	29.78a[1/]	0.99a	11.48a	14.20a	5.07a	4.15a
1.2	23.08b	0.99a	9.75b	12.40b	4.80a	4.02ab
1.8	22.10b	0.98a	8.23c	11.95c	4.65abc	3.68ab
2.4	20.50bc	0.97a	5.85d	7.73d	4.45abc	3.49ab
3.0	18.85bc	0.95a	5.03de	6.85d	4.18abc	3.50ab
3.6	18.75bc	0.94a	4.43e	6.43d	3.90bc	3.36ab
5.4	15.58c	0.93a	4.33e	6.20d	3.63c	3.23b
F-test	*	ns	*	*	*	*
C.V. (%)	18.75	14.75	10.48	9.26	15.73	13.16

[1/]Means within column not sharing letter in common are significantly different by DMRT (P≤0.05)

*Significant difference at P≤0.05

[ns]Not significant difference

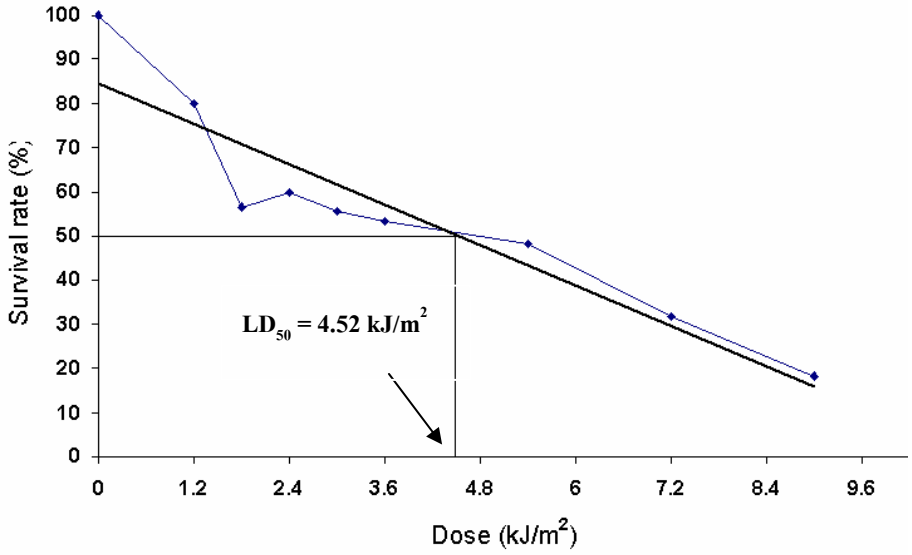

Figure 1 Survival percentage of leaf explants of *Sinningia speciosa* after treating with UV-C radiation for 2 weeks.

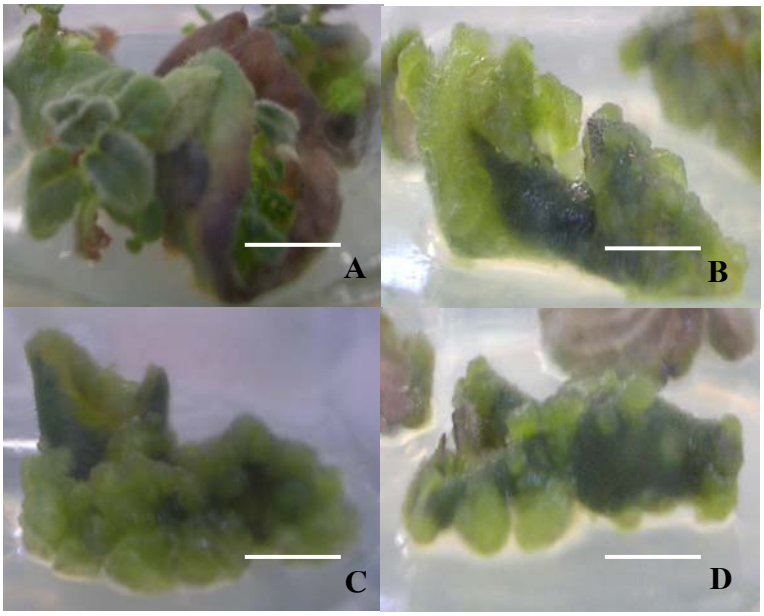

Figure 2 Callus formation from leaf explant after treated with various dose of UV-C radiation.
(A) 0 kJ/m2, (B) 1.8 kJ/m2, (C) 2.4 kJ/m2 and (D) 5.4 kJ/m2 (bar = 1.0 cm)

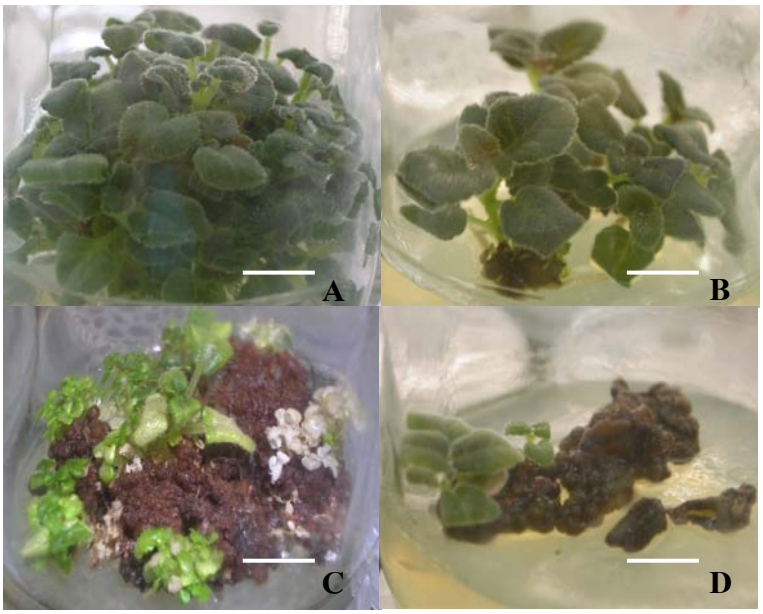

Figure 3 Shoot formation from cultured leaf after treating with various dose of UV-C radiation and cultured for 45 days.
(A) 0 kJ/m^2, (B) 3.6 kJ/m^2, (C) 5.4 kJ/m^2 and (D) 9.0 kJ/m^2 (bar = 1.0 cm)

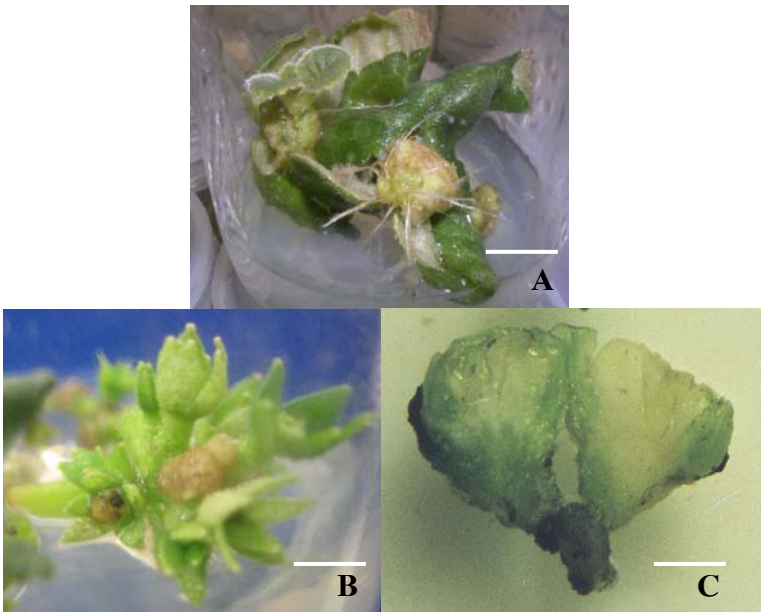

Figure 4 Regeneration of explants after treating with 5.4 kJ/m^2 UV-C radiation.
(A) leaf explant, (B) petiole explant and (C) longitudinal section of flower (bar = 0.5 cm)

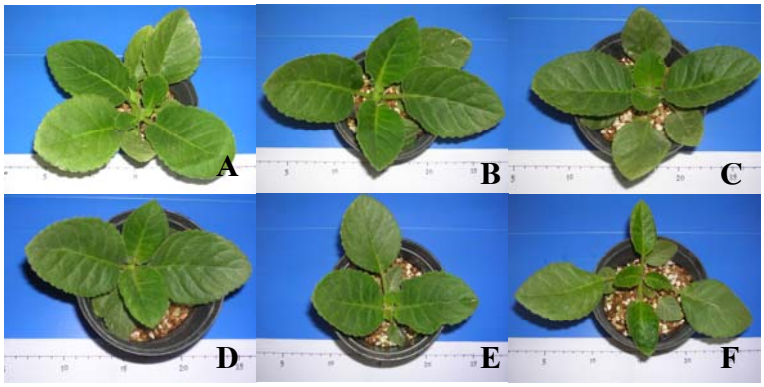

Figure 5 Plants morphology after treated with UV-C radiation and hardening for 60 days. (A) 0 kJ/ m2, (B) 1.8 kJ/m2, (C) 2.4 kJ/ m2, (D) 3.0 kJ/m2, (E) 3.6 kJ/m2 and (F) 5.4 kJ/m2

Figure 6 Different flower mutants.Top row: Parent cv. Quick red (red and double petals). 2nd, 3rd and Bottom row: flower mutants after treating with 3.0, 5.4 and 5.4 kJ/m2 UV-C radiation respectively (bar = 1 cm)

ในขณะที่ชิ้นส่วนใบพัฒนาเป็นยอดรวมปกติ ซึ่งการเกิดดอกของพืชแต่ละชนิดในหลอดทดลอง ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยเช่น ชิ้นส่วนพืช สูตรอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโต รวมถึงสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง แต่ส่วนใหญ่ดอกที่ชักนำให้เกิดในหลอดทดลอง มักมีลักษณะผิดปกติ เช่น ละอองเกสรเป็นหมัน เช่น ในกล้วยไม้เหลืองจันทบูร (ปรัชพรรณ, 2550) ในกล้วยไม้ *Dendrobium* สายพันธุ์ Madame Thong-In ดอกจะมีรูปร่างผิดปกติเมื่อย้ายลงอาหารเหลว (Sim *et al.,* 2007) เช่นเดียวกับการศึกษานี้ ดอกกล็อกซิเนียที่ชักนำได้มีการพัฒนาเพียงส่วนกลีบเลี้ยง แต่กลีบดอก เกสรตัวผู้ และเกสรตัวเมีย ไม่พัฒนา ลักษณะดังกล่าวอาจเนื่องมาจากรังสี UV-C แต่รังสี UV-C ไปมีผลอย่างไรต่อการเกิดดอกในหลอดทดลองนั้น ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่อาจส่งผลให้เซลล์พืชเกิดความผิดปกติ และอาจส่งผลกระทบทางด้านสรีรวิทยา มีส่วนไปกระตุ้นให้ตาดอกมีการพัฒนาได้เร็วขึ้น ซึ่งต้องมีการศึกษาในระดับโมเลกุลต่อไป สำหรับผลของรังสี UV ต่อลักษณะการกลายพันธุ์ของต้นกล็อกซิเนียภายหลังออกปลูกในแปลงนั้น ส่วนใหญ่ต้นที่ได้รับรังสี มีการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นที่ไม่ได้รับรังสี และในต้นที่ได้รับรังสีในปริมาณสูง พบลักษณะต้นแคระแกร็น ใบมีรูปร่างผิดปกติ บางต้นไม่สามารถออกดอกได้ ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจาก ต้นพืชได้รับปริมาณรังสีในปริมาณที่สูงเกินไปจนทำให้เนื้อเยื่อพืชเสียหายมากจนไม่อาจออกดอกได้ (ธนวัฒน์ และเตือนใจ, 2549)

สรุป

การชักนำการกลายพันธุ์ในกล็อกซิเนียจากการใช้ชิ้นส่วนใบฉายรังสี UV-C พบว่า LD_{50} มีค่า 4.52 kJ/m^2 เมื่อตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานที่ผิดปกติในหลอดทดลอง พบว่า ที่ปริมาณรังสี 5.4 kJ/m^2 ชิ้นส่วนก้านใบมีการพัฒนาเป็นดอก แต่ไม่สมบูรณ์ ในขณะที่ชิ้นส่วนใบมีการพัฒนาเป็นยอดรวมตามปกติ เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานของดอกภายในแปลงปลูก พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงหลายลักษณะ เช่น ดอกสีเข้มขึ้นหรืออ่อนลง กลีบดอกหนา กลีบดอกมีขอบสีขาว และบางดอกบริเวณปลายกลีบดอกมีสีเขียว ส่วนลำต้นมีลักษณะคล้ายกับต้นปกติ ทั้งนี้ลักษณะที่มีการเปลี่ยนแปลงหลายๆลักษณะที่เกิดเกิดขึ้นนั้นอาจเป็นผลมาจากรังสีร่วมกับสิ่งแวดล้อม แต่บางลักษณะที่มีการเปลี่ยนแปลงจากเดิมเล็กน้อย เช่น สีดอกเข้มขึ้นหรือจางลงเล็กน้อย อาจเป็นผลมาจากสภาพแวดล้อมภายในแปลงปลูก ดังนั้นควรการตรวจสอบทางด้านชีวเคมี เพื่อศึกษาว่าลักษณะที่กลายพันธุ์นั้นเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงของยีนหรือไม่ เป็นต้น อย่างไรก็ตามมีการลักษณะกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นดังกล่าวอาจจะเป็นลักษณะการกลายพันธุ์ที่ยังไม่คงที่ ซึ่งจะต้องขยายพันธุ์ต่อไปเพื่อให้ได้พันธุ์ที่คงที่ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการสร้างสายพันธุ์ใหม่ในทางการค้าต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ธนวัฒน์ แก่นศักดิ์ศิริ และ เตือนใจ โก้สกุล. 2549. ผลของรังสีแกมมาต่อกล็อกซิเนีย (*Sinningia speciosa*). วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ 5(1): 13-23.

ปรัชพรรณ หนูจีน. 2550. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญ และการออกดอกของกล้วยไม้เหลืองจันทบูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f.) ในหลอดทดลอง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 53 หน้า.

ภาณุพงศ์ ศรีอ่อน. 2548. กล็อกซิเนีย. เอกสารวิชาการ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม. 13 หน้า.

อรุณี ม่วงแก้วงาม และ สมปอง เตชะโต. 2535. การขยายพันธุ์กล็อกซิเนียโดยไม่อาศัยเพศในหลอดทดลอง. วารสารแก่นเกษตร 20(6): 336-342.

Al-Safadi, B, Z. Ayyoubi and D. Jawdat. 2000. The effect of gamma irradiation on potato microtuber production *in vitro* application of chemical mutagen. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding 61(3): 183-187.

Charbaji, T. and I. Nabulsi. 1999. Effect of low doses of gamma irradiation on *in vitro* growth of grapevine. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 57(2): 129-132.

Ibrahim, R., W. Mondelaers and P.C. Debergh. 1998. Effect of X-irradiation on adventitious bud regeneration from *in vitro* leaf explants of *Rosa hybrida*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 54(1): 37-44.

Luis, J.C., R. Matin Perez and F. Valdes Gonzalez. 2007. UV–B radiation effects on foliar concentrations of rosmarinic and carnosic acids in rosemary plants. Food Chemistry 101(3): 1211-1215.

Okamura, M., N. Yasuno, M. Ohtsuka, A. Tanaka, N. Shikazono and Y. Hase. 2003. Wide variety of flower-color and -shape mutants regenerated from leaf cultures irradiated with ion beams. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 206: 574-578.

Park, J.S., M.G. Choung, J.B Kim, B.S. Hahn, J.B. Kim, S.C. Bae, K.H. Roh, Y.H. Kim, C.I. Cheon, M.K. Sung and K.J. Cho. 2007. Genes up-regulated during red coloration in UV-B irradiated lettuce leaves. Plant Cell Reports 26(4): 507-516.

Pinet-Leblay, C., F.X. Turpin and E. Chevreau. 1992. Effect of gamma and ultraviolet irradiation on adventitious regeneration from *in vitro* cultured pear leaves. Euphytica 62(3): 225-233.

Sim, G.E., C.S. Loh and C.J. Goh. 2007. High frequency early *in vitro* flowering of *Dendrobium* Madame Thong-In (Orchidaceae). Plant Cell Reports 26(4): 383-393.

Whittle, C.A. and M.O. Johnston. 2003. Male-biased transmission of deleterious mutations to the progeny in *Arabidopsis thaliana*. PNAS 100(7): 4055-4059.

Wongpiyasatid, A. and P. Hormchan. 2000. New mutants of perennial *Portulaca grandiflora* through gamma radiation. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 34(3): 408-416.