

ผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน
ต่อต้านลินเดอร์เนียในสภาพปลอดเชื้อ
Effect of Acute Gamma Irradiation on
in vitro Culture of *Lindernia* spp.

สุพิชชา สิทินิสัยสุข และธัญญา เตชะศีลพิทักษ์*
ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

พีรณัฐ จอมพุก
ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตบางเขน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

ณัฐพงศ์ จันจุฬา
คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์
ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 13180

Supitcha Sittinisaisuk and Thunya Taychasinpitak*
Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkhen Campus,
Ladyao, Chatuchak, Bangkok, 10900

Peeranuch Jompuk
Department of Applied Radiation and Isotopes, Faculty of Science, Kasetsart University,
Bangkhen Campus, Ladyao, Chatuchak, Bangkok, 10900
Thailand institute of Science and Technological Research, Technopolis,
Khlong Ha, Khlong Luang, Pathum Thani 10220

Nattapong Chanchula
Faculty of Agriculture, Valaya Alongkorn Rajabhat University under Royal Patronage,
Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 13180

บทคัดย่อ

ลินเดอร์เนียเป็นพืชพื้นเมืองของไทย จัดอยู่ในวงศ์ Linderniaceae ปัจจุบันมีการวิจัยเพื่อนำพืชพื้นเมืองมาใช้ประโยชน์เป็นการค้า โดยนำมาปรับปรุงพันธุ์ให้ตรงตามความต้องการของผู้บริโภค งานวิจัยนี้จึงนำต้นลินเดอร์เนียพื้นเมือง 2 ชนิด คือ *Lindernia crustacea* var. *crustacea* และ *Lindernia* sp. มาเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์โดยการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำกิ่งของต้นลินเดอร์เนียทั้ง 2 ชนิด มาฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงขอบนอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/2 MS โดยเพาะเลี้ยงส่วนข้อ และขยายพันธุ์จนได้

จำนวนต้นที่มากพอ นำไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เกรย์ หลังจากฉายรังสี 30 วัน นับจำนวนต้นที่รอดชีวิต พบว่าเมื่อปริมาณรังสีสูงขึ้น *L. crustacea* var. *crustacea* และ *Lindernia* sp. มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลง มีค่า $LD_{50(30)}$ เท่ากับ 98.04 และ 30.81 เกรย์ ตามลำดับ จากนั้นเพิ่มจำนวนจนถึงรุ่น M_1V_4 นำต้นออกปลูกในสภาพโรงเรือน พบว่า *L. crustacea* var. *crustacea* ที่ได้รับปริมาณรังสี 40 เกรย์ มีลักษณะกลาย คือ ขนาดดอกใหญ่ขึ้น ใบ และลำต้นหนาขึ้นกว่าต้นปกติ เมื่อตรวจสอบโดยวิธี flow cytometry พบว่าเป็นต้นเตตระพลอยด์ ส่วน *Lindernia* sp. ที่รอดชีวิต ไม่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา

คำสำคัญ : การปรับปรุงพันธุ์; ลินเดอร์เนีย; แวมยูรา; พืชท้องถิ่น

Abstract

Lindernia, a native plant of Thailand, belongs to the family Linderniaceae. Nowadays, some researches have brought the native plants as commercial by improving their characteristics to meet the needs of consumers. This study induced mutation by acute gamma irradiation through *in vitro* culture of *Lindernia crustacea* var. *crustacea* and *Lindernia* sp. The branches of the *Lindernia* plant were sterilized and single node explants were cultured on ½ MS solid medium. Subculturing was performed to obtain the explants for the experiment. The plants were irradiated at doses of 0, 20, 40, 60, 80 and 100 Gy, respectively. The number of surviving plants was recorded at 30 days after irradiation. The results showed that when the amount of radiation increased, the survival rate was decreased. The 50 percent lethal dose ($LD_{50(30)}$) of *L. crustacea* var. *crustacea* and *Lindernia* sp. were 98.04 and 30.81 Gy, respectively. The irradiated shoots were subcultured every 4 weeks then the M_1V_4 were grown in the greenhouse for mutant selection. Larger flowers, and thicker leaves and stems were found when *Lindernia crustacea* var. *crustacea* were treated with 40 Gy. Then the mutant plant was analyzed the DNA content by flow cytometry. It was found that the DNA contents of the mutant were two times of the normal one, indicating that it was the tetraploid plant. For *Lindernia* sp., morphological changing was not found in the survival plants.

Keywords: plant breeding; *Lindernia*; *Torenia*; local plant

1. คำนำ

ลินเดอร์เนีย (*Lindernia* spp.) เป็นพืชวงศ์ Linderniaceae (APG III, 2009) แต่เดิมอยู่ในวงศ์ Schophulariaceae แต่ถูกแยกออกมา (Fischer *et al.*, 2013) เป็นพืชล้มลุกปีเดียวหรือหลายปี มีทั้งต้นตั้งตรงและทอดนอน ดอกมีขนาดเล็กออกตามซอกใบและยอด ทั่วโลกพบประมาณ 100 ชนิด ใน

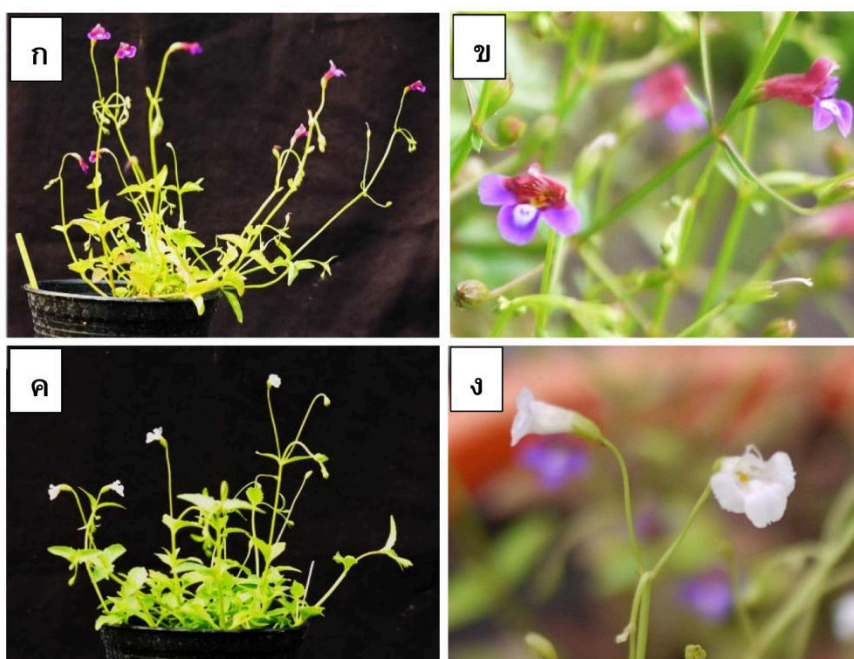
ประเทศไทยพบ 32 ชนิด (Smitinand, 1990) และ ได้ค้นพบชนิดใหม่อีก 2 ชนิด (Sutthisaksopon, 2014) พบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ โดยเฉพาะพื้นที่เป็นดินทราย เป็นพืชทนเค็มและทนแล้งได้ดี มีระยะการออกดอกต่อเนื่องยาวนาน โดยออกดอกมากที่สุดช่วงเดือนกรกฎาคมถึงเดือนมีนาคม (Shinha, 1987) ลินเดอร์เนียจัดอยู่ในวงศ์เดียวกับแวมยูรา

(*Torenia*) (APG III, 2009) มีลักษณะดอกคล้ายกับ แววมยุราซึ่งเป็นไม้ดอกกระถางที่นิยมชนิดหนึ่ง แต่มีดอกขนาดเล็กกว่ามาก ยังไม่เป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย (Sungkaew *et al.*, 2015) สีดอกพบสีขาว และสีม่วง ซึ่งยังไม่หลากหลายเท่าที่ควร และลักษณะต้นโดยเฉพาะระหว่างข้อยืดยาว ปัจจุบันมีการนำรังสีมาใช้สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับอย่างแพร่หลาย โดยการทดลองของ Nagatomi (2000) ฉายรังสีแกมมาที่เบญจมาศสีชมพู ได้ต้นกลายที่มีดอกสีขาว ชมพูอ่อน ชมพูเข้ม ส้ม เหลือง ในแววมยุราพบการกลายจากดอกสีม่วงเป็นสีเหลืองหลังฉายรังสีแกมมาแบบโครนิค (Sawangmee *et al.*, 2011) และมีลักษณะบางส่วน

ที่เปลี่ยนแปลง คือ ก้านเกสรเพศผู้มีขนาดสั้นลง (Jala , 2011) การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาต้นลินเดอร์เนียให้มีความหลากหลาย ทั้งทรงต้นและสีดอก เพื่อพัฒนาพืชสกุลนี้ให้มีศักยภาพเป็นไม้ดอกกระถางต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

ใช้ต้นลินเดอร์เนีย 2 ชนิด คือ ลินเดอร์เนียดอกสีม่วง (*Lindernia crustacea* var. *crustacea*) มีชื่อพื้นเมืองว่าหญ้านาบหายตัวเมีย (รูปที่ 1ก และ 1ข) และลินเดอร์เนียดอกสีขาว (*Lindernia* sp.) (รูปที่ 1ค และ 1ง)



รูปที่ 1 ลักษณะต้น (ก) กับลักษณะดอก (ข) ของ *Lindernia crustacea* var. *crustacea* ลักษณะต้น (ค) กับลักษณะดอก (ง) ของ *Lindernia* sp.

2.1 การฟอกฆ่าเชื้อต้นลินเดอร์เนีย

คัดเลือกต้นลินเดอร์เนียที่สมบูรณ์ ตัดใบออกเหลือเฉพาะส่วนของตาข้างและตายอดล่างให้

สะอาดด้วยน้ำไหล นำชิ้นส่วนพืชมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 60 วินาที และฟอกต่อในสารละลายคลอโรกซ์

(Clorox®) จำนวน 2 ครั้ง โดยครั้งแรกใช้ สารละลาย คลอโรกซ์ 10 เปอร์เซนต์ ร่วมกับ Tween® 20 จำนวน 2-3 หยด เป็นเวลา 10 นาที แล้วย้ายลง ฟอกในสารละลายคลอโรกซ์ 5 เปอร์เซนต์ เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง และตัดแต่งชิ้นส่วนที่ถูกสารเคมีทำลาย โดยให้ แต่ละชิ้นมีความยาวประมาณ 1-1.5 เซนติ เมตร โดยแต่ละชิ้นต้องมีส่วนของตายอดหรือตาข้าง นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่ปราศจากสาร ควบคุมการเจริญเติบโต เลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน และมีความชื้นสัมพัทธ์ 60 เปอร์เซนต์ (Sungkaew *et al.*, 2015)

2.2 ผลของการฉายรังสีแกมมาและคัดเลือกลินเดอร์เนียในสภาพปลอดเชื้อ

เตรียมต้นลินเดอร์เนียทั้ง 2 ชนิด ในสภาพปลอดเชื้อโดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อเพิ่มจำนวนต้นลินเดอร์เนีย จากนั้นนำต้นปลอด เชื้อมาตัดแยกโดยเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารกึ่งแข็ง สูตร ½MS (Sungkaew *et al.*, 2015) นำไปฉายรังสี แกมมาแบบเฉียบพลันด้วยเครื่องฉายรังสี Mark I ณ ศูนย์วิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วางแผนการทดลอง แบบสุ่มสมบูรณ์ แบ่งออกเป็น 6 สิ่งทดลอง สิ่ง ทดลองละ 10 ข้ำ ข้ำละ 2 ต้น โดยสิ่งทดลอง คือ ปริมาณรังสีที่ฉาย 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เกรย์ ซึ่งอ้างอิงจากการทดลองของ Chanchula *et al.* (2015) แต่ละระดับปริมาณรังสีสูงสุดจาก 120 เป็น 100 เกรย์ หลังจากฉายรังสีให้ต้นลินเดอร์เนียแล้ว ย้ายต้นลินเดอร์เนียลงอาหารใหม่ (½MS) ทันที นับ จำนวนต้นที่รอดชีวิตที่ระยะเวลา 30 วัน หลังจาก ฉายรังสี จากนั้นบันทึกผลหาค่าปริมาณรังสีแกมมา ที่ทำให้ลินเดอร์เนียตายลงครึ่งหนึ่ง (LD₅₀) เมื่อ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม บันทึกผลการเจริญ

เติบโต (ความสูงต้น ความยาวปล้อง จำนวนยอด) ตัดย้ายเนื้อเยื่อลงอาหารใหม่ทุก ๆ 30 วัน จนถึงรุ่น M₁V₄

2.3 การออกปลูก

เมื่อเลี้ยงจนถึงรุ่น M₁V₄ ย้ายต้นลินเดอร์ เนียทั้ง 2 ชนิด ออกปลูกในเรือนเพาะชำ ปรับสภาพ โดยนำต้นลินเดอร์เนียที่อยู่ในสภาพเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อเข้าตู้ปรับอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 1 สัปดาห์ และย้ายต้นลินเดอร์เนียลงปลูกใน ถาดหลุม โดยใช้พีทมอสเป็นวัสดุปลูก หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ ย้ายต้นลินเดอร์เนียลงในกระถางขนาด 4 นิ้ว โดยใช้วัสดุปลูก ทราบ: ถ่านแกลบ: ขุยมะพร้าว: ปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 1:1:1:0.5 เป็นเวลา 4 สัปดาห์ สังเกตและคัดเลือกลักษณะกลายที่เกิดขึ้นจากรังสี

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธี flow cytometry

นำใบของต้นลินเดอร์เนียจากต้นชุด ควบคุมและต้นกลายที่คาดว่าเป็นโพลีพลอยด์ โดย สังเกตจากต้นที่มีลักษณะใบ ดอก และลำต้นที่ใหญ่ ขึ้น จำนวนต้นละ 1 ใบ วางลงบนจานเพาะเลี้ยง (plastic petri dish) สับตัวอย่างด้วยใบมีดที่คม หยด สารละลาย extraction buffer 500 ไมโครลิตร (Partec Cy stain UV ploidy, one step DAPI staining solution) จากนั้นกรองเอาส่วนสารละลาย ที่สกัดได้ใส่ใน celltrics disposable filtered ขนาด 30 ไมโครลิตร และนำไปวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอ เพื่อหาระดับพลอยดีโดยวิธี flow cytometry ด้วย เครื่อง Partec PA II ณ ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพ เกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต กำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ผลของรังสีแกมมาต่อการรอดชีวิต ของพืช

เมื่อนำต้นลินเดอร์เนียชนิด *L. crustacea*

var. *crustacea* และ *Lindernia* sp. ที่อยู่ในสภาพ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปฉายรังสีแกมมา ที่ระดับ 20, 40, 60, 80 และ 100 เกรย์ เมื่อระยะเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ (30 วัน) ดังตารางที่ 1 พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของลินเดอร์เนียทั้งสองชนิดมีค่าลดลงเมื่อ ปริมาณรังสีแกมมาเพิ่มสูงขึ้น โดยใน *L. crustacea* var. *crustacea* เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตระหว่าง ปริมาณรังสีที่ 20-60 เกรย์ ไม่มีความแตกต่างจาก กลุ่มควบคุม ในขณะที่ปริมาณรังสีที่ 80 เกรย์ มี

เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตแตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่ไม่แตกต่างไปจากปริมาณรังสีที่ 20-60 เกรย์ และปริมาณรังสีที่ 100 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำที่สุด คือ 35 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง Tien และคณะ (2000) ได้กล่าวว่ารังสีสามารถทำให้เกิดการทำลาย เนื้อเยื่อเจริญ ทำให้พืชที่ได้รับรังสีเกิดการตายได้ นอกจากนี้ Gang และคณะ (2007) ได้ศึกษาใน *Narcissus tazetta* พบว่าพืชได้รับปริมาณรังสีมากขึ้นอัตราการรอดของพืชก็จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ *L. crustacea* var. *crustacea* และ *Lindernia* sp. หลังจากได้รับการฉายรังสีแกมมา และเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน ในสภาพปลอดเชื้อ

ปริมาณรังสี (เกรย์)	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต	
	<i>L. crustacea</i> var. <i>crustacea</i>	<i>Lindernia</i> sp.
0	100 ^a	100 ^a
20	95 ^{ab}	55 ^b
40	95 ^{ab}	50 ^b
60	85 ^{ab}	0 ^c
80	65 ^{bc}	0 ^c
100	35 ^c	0 ^c
F-test	*	*
C.V. (%)	43.55	86.47

หมายเหตุ : *มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %; ¹ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในในสมมติเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบด้วยวิธี Duncan's new multiple range test

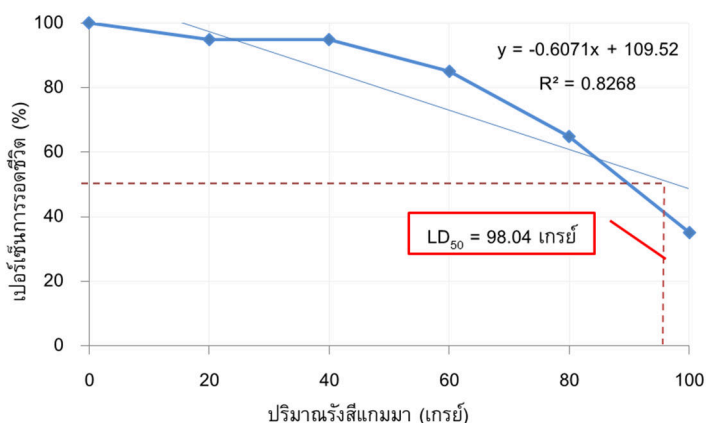
สำหรับ *Lindernia* sp. ปริมาณรังสีที่ 20-40 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุม และปริมาณรังสีตั้งแต่ 60 เกรย์ขึ้นไป ส่งผลให้ต้นลินเดอร์เนียที่ผ่านการฉายรังสีตายทั้งหมด (รูปที่ 5) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Lamseegan และคณะ (2000) ที่ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อต้นเบญจมาศที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าต้นที่ได้รับปริมาณรังสีแกมมาที่ 50 เกรย์ ขึ้นไปไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์

ได้ และตายในที่สุด

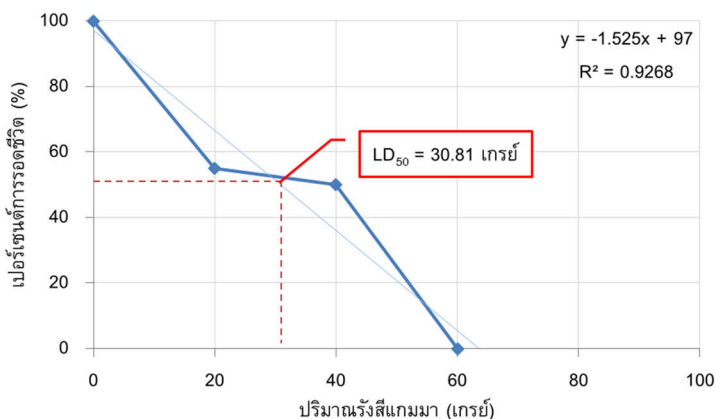
ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรังสีแกมมา และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต โดยใช้สมการเส้นตรง เป็นสิ่งกำหนดค่า LD₅₀ แสดงให้เห็นว่า *L. crustacea* var. *crustacea* มีค่า LD₅₀₍₃₀₎ เท่ากับ 98.04 เกรย์ (รูปที่ 2) ในขณะที่ *Lindernia* sp. มีค่า LD₅₀₍₃₀₎ เท่ากับ 30.81 เกรย์ (รูปที่ 3) ซึ่งค่า LD₅₀ สามารถวัดความไวต่อรังสีของพืชได้ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า *Lindernia* sp. มีความไวต่อรังสีสูง

กว่า *L. crustacea* var. *crustacea* เมื่อเปรียบเทียบกับพืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกัน เช่น แววมยุราลูกผสมระหว่าง *Torenia fournieri* กับ *T. baillonii* มีค่า $LD_{50(30)}$ เท่ากับ 83 เกรย์ (Sawangmee et al., 2011) *T. fournieri* และ *T. fournieri* ที่เป็นต้นโพลีพลอยด์ มีค่า $LD_{50(60)}$ เท่ากับ 63.65 และ 72 เกรย์ ตามลำดับ (Chanchula et al., 2015) ดังนั้น *L. crustacea* var. *crustacea* มีความไวต่อรังสีต่ำกว่าแววมยุรา แต่

Lindernia sp. มีความไวต่อรังสีสูงกว่าพืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกัน และเมื่อเปรียบเทียบกับพืชต่างชนิด เช่น มั่นเทศประดับพันธุ์ HS มีค่า LD_{50} เท่ากับ 95 เกรย์ (กมลทิพย์ และคณะ, 2558) ในขณะที่มั่นเทศประดับพันธุ์ Seki black มีค่า LD_{50} เท่ากับ 82 เกรย์ (คณิงขวัญ, 2556) ซึ่งเป็นพืชชนิดเดียวกันแต่มีระดับความไวต่อรังสีที่ต่างกันอย่างเห็นได้ชัด



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรังสีแกมมาและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของลินเดอร์เนียชนิด *L. crustacea* var. *crustacea* หลังจากได้รับรังสีแกมมาและเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน



รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรังสีแกมมาและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของลินเดอร์เนียชนิด *Lindernia* sp. หลังจากได้รับรังสีแกมมาและเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน

3.2 ผลของรังสีแกมมาต่อจำนวนยอดความสูงต้นและความยาวปล้อง

ผลของรังสีแกมมาต่อจำนวนยอด ความสูงต้น และความยาวปล้องของ *L. crustacea* var. *crustacea* (ตารางที่ 2) พบว่าเมื่อปริมาณรังสี

แกมมาเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ค่าเฉลี่ยจำนวนยอด ความสูงต้น และความยาวปล้องมีแนวโน้มลดลง โดยที่ระดับปริมาณรังสีที่ 20-80 เกรย์ จำนวนยอดไม่แตกต่างจากต้นควบคุม แต่แตกต่างกับปริมาณรังสีที่ 100 เกรย์ ซึ่งมีจำนวนยอดน้อยที่สุด ในส่วน

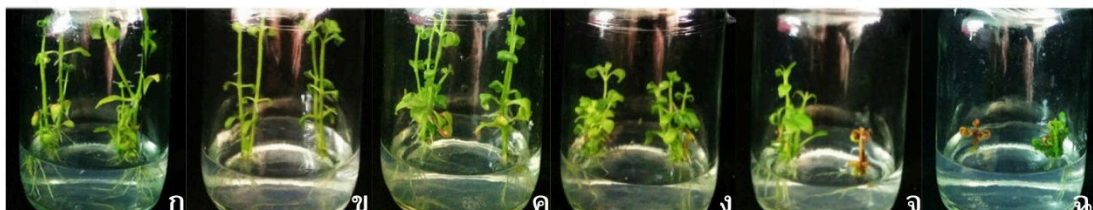
ตารางที่ 2 การเจริญเติบโตด้านจำนวนยอด ความสูงต้น และความยาวปล้องของ *L. crustacea* var. *crustacea* และ *Lindernia* sp. หลังได้รับการฉายรังสีแกมมา 30 วัน ในสภาพปลอดเชื้อ

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนยอด		ความสูงต้น (ซม.)		ความยาวปล้อง (ซม.)	
	<i>L. crustacea</i> var. <i>crustacea</i>	<i>Lindernia</i> sp.	<i>L. crustacea</i> var. <i>crustacea</i>	<i>Lindernia</i> sp.	<i>L. crustacea</i> var. <i>crustacea</i>	<i>Lindernia</i> sp.
0	1.90±0.32 ^{ab}	2.75±1.28	4.87±1.20 ^a	3.92±1.57	1.59±0.40 ^a	1.25±0.41
20	1.90±0.32 ^{ab}	2.40±0.89	4.92±1.11 ^a	3.64±1.44	1.48±0.22 ^a	1.06±0.42
40	1.90±0.57 ^{ab}	1.50±0.58	4.26±1.08 ^a	2.95±0.70	1.22±0.37 ^a	0.90±0.24
60	2.60±0.97 ^a	-	2.48±1.16 ^b	-	0.79±0.32 ^b	-
80	2.60±1.17 ^a	-	2.34±0.80 ^b	-	0.74±0.26 ^b	-
100	1.30±1.63 ^b	-	2.34±1.43 ^b	-	0.55±0.46 ^b	-
F-test	*	ns	*	ns	*	ns
C.V. (%)	47.13	45.01	29.11	38.53	33.06	33.58

หมายเหตุ : *มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %; ^aค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันภายในสัณฐานเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบด้วยวิธี Duncan's new multiple range test

ของความสูงต้นและความยาวปล้องมีผลที่สอดคล้องกันคือ ปริมาณรังสีที่ 20-40 เกรย์ มีความสูงและความยาวปล้องไม่แตกต่างกับต้นควบคุม ในขณะที่ปริมาณรังสีที่ 60-100 เกรย์ มีความสูงและความยาวปล้องที่น้อยกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่ารังสีมีผลต่อการพัฒนาของยอด ความสูง และความยาวปล้องได้ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาในแวมยูลูกผสม (Sawangmee *et al.*, 2011) และมันเทศประดับ (Nwachukwu *et al.*,

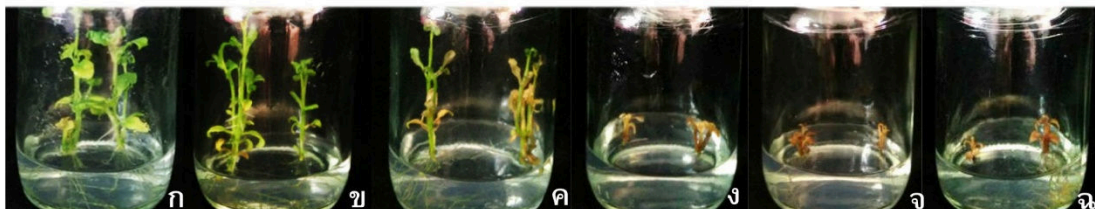
2009) ที่พบว่ารังสีแกมมาทำให้การแทงยอดจากลำต้นใต้ดิน การรอดชีวิต ความสูงต้น และจำนวนข้อลดลง ในขณะที่ *Lindernia* sp. พบว่าปริมาณรังสีที่ 20 และ 40 เกรย์ ไม่ได้ส่งผลให้ค่าเฉลี่ยจำนวนยอด ความสูงต้นและความยาวปล้องแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทั้งนี้เนื่องจากต้นที่ได้รับปริมาณรังสี 60-100 เกรย์ ไม่มีต้นที่รอดชีวิต จึงไม่มีข้อมูลในการเปรียบเทียบ



รูปที่ 4 *Lindernia crustacea* var. *crustacea* หลังได้รับการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันในปริมาณรังสีที่ 0 เกรย์ (ก), 20 เกรย์ (ข), 40 เกรย์ (ค), 60 เกรย์ (ง), 80 เกรย์ (จ) และ 100 เกรย์ (ฉ) ที่ 30 วัน ในสภาพปลอดเชื้อ

โดยทั่วไป รังสีแกมมาในปริมาณสูง ก่อให้เกิดผลกระทบเชิงลบต่อการเจริญเติบโตของพืชสังเกตได้จากรูปที่ 4 และ 5 รังสีแกมมาปริมาณสูงสุดซึ่งในการศึกษานี้คือ 100 เกรย์ ส่งผลให้ต้นลินเดอร์เนียทั้งสองชนิดไม่สามารถเจริญเติบโตได้

หรือชะงักการเจริญเติบโต สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kovalchuk *et al.* (2007) ซึ่งพบว่าผลของรังสีต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาที่มีความผันแปรจากการกระตุ้นที่รังสีปริมาณต่ำ จนถึงสร้างความเสียหายที่รังสีในปริมาณสูง



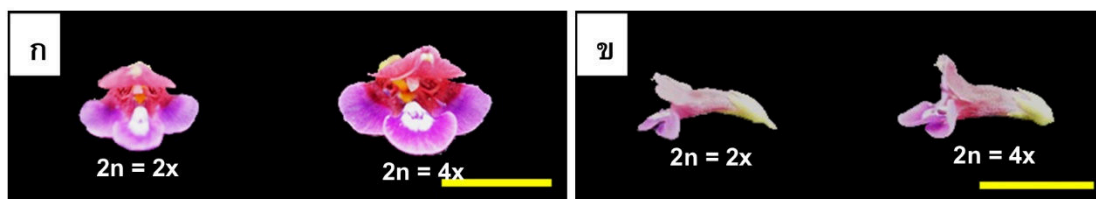
รูปที่ 5 *Lindernia* sp. หลังได้รับการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันในปริมาณรังสีที่ 0 เกรย์ (ก), 20 เกรย์ (ข), 40 เกรย์ (ค), 60 เกรย์ (ง), 80 เกรย์ (จ) และ 100 เกรย์ (ฉ) ที่ 30 วัน ในสภาพปลอดเชื้อ



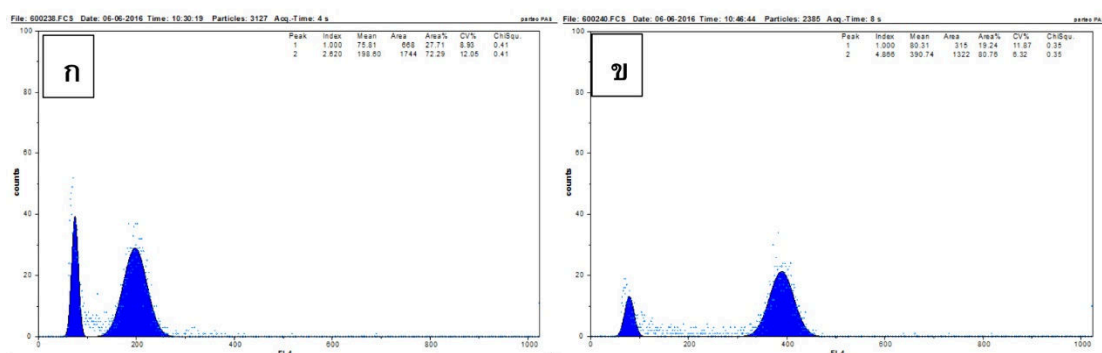
รูปที่ 6 เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *L. crustacea* var. *crustacea* ระหว่างต้นดิพลอยด์ (ก) กับต้นเตตระพลอยด์ (ข)

3.3 การคัดเลือกลักษณะกลาย

หลังจาก subculture ต้นลินเดอร์เนียทั้งสองชนิด จนถึงรุ่น M_1V_4 นาลินเดอร์เนียที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อออกปลูก พบว่าต้น *Lindernia* sp. ที่รอดชีวิตไม่พบการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยา ในขณะที่ *L. crustacea* var. *crustacea* ที่ได้รับรังสีแกมมาที่ระดับ 40 เกรย์ พบต้นที่มีลักษณะคาดว่าจะเป็ต้นเตตระพลอยด์ คือมีใบ และลำต้นหนาขึ้น (รูปที่ 6) จึงนำต้นที่มีลักษณะดังกล่าวไปตรวจสอบโดยการวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธีการ flow cytometry (รูปที่ 8) พบว่าต้นควบคุมหรือดิพลอยด์ ($2n = 2x$) จะมี peak ตำแหน่งสูงสุดที่ 200 ส่วนต้นที่มีระดับพลอยดีเป็นเตตระพลอยด์ ($2n = 4x$) จะมี peak ตำแหน่งสูงสุดที่ 400 ซึ่งเกิดในต้นที่ได้รับปริมาณรังสีที่ 40 เกรย์ ทำให้ได้ดอกลินเดอร์เนียมีขนาดใหญ่ขึ้นกว่าดอกปกติ (รูปที่ 7) สอดคล้องกับการทดลองของ Sawangmee และคณะ (2011) ซึ่งพบการกลายของแววมยุราเป็นต้นเตตระพลอยด์โดยมีดอก ลำต้น ใบ ปากใบใหญ่และหนาขึ้น ที่ปริมาณรังสีที่ 50 เกรย์



รูปที่ 7 เปรียบเทียบลักษณะดอกของ *L. crustacea* var. *crustacea* ระหว่างต้นดิพลอยด์ ($2n = 2x$) และต้นเตตระพลอยด์ ($2n = 4x$) (บาร์ = 1 เซนติเมตร) โดย ก. คือ ลักษณะด้านหน้าของดอก และ ข. คือ ลักษณะด้านข้างของดอก



รูปที่ 8 ฮิสโตแกรม flow cytometry ของ *L. crustacea* var. *crustacea* โดย ก. คือ ต้นดิพลอยด์ และ ข. คือ ต้นเตตระพลอยด์

4. สรุป

การศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่มีผลต่อชิ้นส่วนของลินเดอร์เนียในสภาพปลอดเชื้อ 2 ชนิด คือ *L. crustacea* var. *crustacea* และ *Lindernia* sp. พบว่าปริมาณรังสีแกมมาที่มีผลทำให้ต้นลินเดอร์เนียตายไป 50 % (LD_{50}) ของกลุ่มต้นควบคุม เท่ากับ 98.04 และ 30.81 เกรย์ ตามลำดับใน *Lindernia* sp. ไม่พบลักษณะการกลาย โดยปริมาณรังสีตั้งแต่ 60 เกรย์ ขึ้นไป ทำให้ต้นตายหมด และในต้น *L. crustacea* var. *crustacea* พบการกลายพันธุ์ที่ปริมาณรังสี 40 เกรย์ คือ ต้นลินเดอร์เนียที่มีจำนวนชุดของโครโมโซมเป็นเตตระพลอยด์ มีขนาดดอกใหญ่ขึ้น ใบและต้นหนาขึ้นกว่าต้นปกติ ซึ่งสามารถจัดเป็นอีกหนึ่งพันธุ์ในชุด

เดียวกับพันธุ์เดิม และมีศักยภาพในการพัฒนาให้เป็นไม้ดอกกระถางต่อไปได้สำหรับพืชสกุลนี้

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่มอบทุนวิจัยประจำปีงบประมาณ 2560 สนับสนุนงานวิจัยนี้

6. เอกสารอ้างอิง

กมลทิพย์ แสนสม, รัชฎะ เตชะศีลพิทักษ์, พิรณุช จอมพุก และสุวิสา พัฒนเกียรติ, 2558, การปรับปรุงพันธุ์มันเทศประดับด้วยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้รังสีแกมมา, ว. วิทยาศาสตร์เกษตร 46(3): 239-251.

- คณิงขวัญ วิษุตเวส, 2556, การปรับปรุงพันธุ์มันเทศประดับโดยใช้รังสีแกมมา, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- APG III, 2009, An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG III, Bot. J. Linn. Soc, 161: 105-121.
- Chanchula, N., Taychasinpitak, T., Jala, A., Thanananta, T. and Kikuchi, S., 2015, Radiosensitivity of *in vitro* cultured *Torenia fournieri* Lind. from Thailand by gamma-ray irradiation, Int. Trans. J. Eng. Manag. Appl. Sci. Technol. 6: 157-164.
- Fischer, E., Schaferhoff, B. and Muller, K., 2013, The phylogeny of *Linderniaceae*: The new genus *Lindernialla*, and new combinations within *Bonnaya*, *Craterostigma*, *Lindernia*, *Micranthemum*, *Torenia* and *Vandellia*, Willdenowia 43: 209-238.
- Gang, L., Xiaoying, Z., Yiging, Z., Qingcheng, Z., Xun, X. and Jiashu, C., 2007, Effect of radiation on regeneration of Chinese narcissus and analysis of genetic variation with AFLP and TAPD markers, Plant Cell., Tissue and organ Cult, 88: 319-327.
- Jala, A., 2011, Morphological change due to effects of acute gamma ray on wishbone flower (*Torenia fournieri*) *in vitro*, Int. Trans. J. Eng. Manag. Appl. Sci. Technol., 2: 375-383.
- Kovalchuk, I., Molinier, J., Yao, Y., Arkhipov, A. and Kovalchuk, O., 2007, Transcriptome analysis reveals fundamental differences in plant response to acute and chronic exposure to ionizing radiation, Mutat. Res. 642: 101-113.
- Lamseejan, S., Jompuk, P., Wongpiyasatid, A., Deeseepan, S. and Kwanthammachart, P., 2000, Gamma-rays induced morphological changes in *Chrysanthemum* (*Chrysanthemum morifolium*), Kasetsart J. (Nat. Sci.) 34: 417-422.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962, Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures, Physiologia Plantarum, 15: 473-497.
- Nagatomi, S., 2000, New Approaches for Effective Mutation Induction in Gamma Field, pp. 68-75, Seminar on Methodology for Plant Mutation Breeding for Quality Effective use of Physical/Chemical Mutagens, Hanoi.
- Nwachukwu, E.C., Mbanaso, E.N.A. and Nwosu, K.I., 2009, The Development of New Genotypes of the White Yam by, pp.309-312, Mutation Induction Using Yam Minutubers, Induced Plant Mutations in the Genomics Era, Rome.
- Sawangmee, W., Taychasinpitak, T., Jompuk, P. and Kikuchi, S., 2011, Effects of gamma-ray irradiation in plant morphology of interspecific hybrids between *Torenia fournieri* and *Torenia baillonii*, Kasetsart J. (Nat. Sci) 45: 803-810.
- Shinha, A.R.P., 1987, Colchiploidy in *Lindernia crustacea* (L.) F. Muell, Cytologia 52: 151-155.
- Smitinand, T., 1990, Flora of Thailand Volume

- Five Part Two, The Forest Herbarium, Royal Forest Department, Bangkok.
- Sungkaew, K., Taychasinpitak, T., Wongchaochant, S., Sukprasert, P. and Kikuchi, S., 2015, Radiosensitivity of *In vitro* cultured *Torenia fournieri* Lind. from Thailand by gamma-ray irradiation, Int. Trans. J. Eng. Manag. Appl. Sci. Technol. 6: 191-201.
- Sutthisaksophon, P., Chantaranothai, P. and Simson, D.A., 2014, Two new records in the Linderniaceae for Thailand, Thai For. Bull. (Bot.) 42: 10-15.
- Tien, T.N., Ha, V.T.T., Nu, N.T., Han, T.T., Nhan, N.D. and Dien, D.T., 2000, October: Induction of Flower Mutations in *Chrysanthemum* (*C. morifolium* Ramat) by Jointly Using *In Vitro* Culture Technique and Ionizing Radiation, pp. 9-13), 1: *In Vitro* Shoot Cultures and Gamma-rays, In Seminar on Methodo-logy for Plant Mutation Breeding for Quality Effective Use of Physical/ Chemical Mutagens, Hanoi.