# การชักนำให้เกิดการกลายในต้นพิงกุยคูล่า โดยการฉายรังสีแกมมา

# Mutational Induction in *Pinguicula* sp. by Gamma Irradiation

**ณัฐพงศ์ จันจุฬา***

ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

**อัญชลี จาละ**

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

**Nattapong Chanchula***

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkhen Campus,
Ladyao, Chatuchak, Bangkok 10900

**Anchalee Jala**

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

## บทคัดย่อ

พิงกุยคูล่าเป็นพืชกินแมลงที่มีความสวยงาม ซึ่งมีใบสามารถดักจับแมลงได้ ปัจจุบันมีการนำมาปลูกในเมืองไทยอย่างแพร่หลาย โดยการสร้างความหลากหลายของพันธุ์ใหม่ในพืชสามารถทำได้ด้วยการปรับปรุงพันธุ์ หรือทำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้รังสีชนิดต่าง ๆ หรือสารเคมี ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในต้นพิงกุยคูล่าในสภาพปลอดเชื้อด้วยรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน โดยนำชิ้นส่วนของใบพิงกุยคูล่าเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลานาน 14 วัน มาฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณ 0, 20, 40 และ 60 เกรย์ ผลการศึกษาพบว่าเมื่อปริมาณรังสีแกมมาที่เพิ่มสูงขึ้นจะทำให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนพืชลดต่ำลง คือ ที่ปริมาณรังสี 20, 40 และ 60 เกรย์ มีอัตราการรอดชีวิต 100, 85 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (20, 17 และ 15 ต้น) ที่ปริมาณรังสี 60 เกรย์ พบลักษณะของต้นอ่อนที่เกิดใหม่มีขนาดเล็ก แคระแกร็น และพบลักษณะของต้นกลายทั้งหมด 3 ต้น (จากปริมาณรังสี 20 และ 40 เกรย์) คิดเป็น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีลักษณะใบด่างเป็นแถบขาวตรงบริเวณขอบใบ

**คำสำคัญ :** พิงกุยคูล่า; การกลาย; รังสีแกมมา; บัตเตอร์เวิร์ด

***Corresponding author:** lorchula@gmail.com* *DOI: 10.14456/tjst.2014.6*

**Abstract**

*Pinguicula* sp. is a carnivorous ornamental plant with beautiful leaves. The leaves could trap insects. This plant is widely grown in Thailand. Diversity induction of new line plants could be done by selective breeding or mutation induction using either radiation or chemicals. In this study attempted to induce mutation in *Pinguicula* sp. *in vitro* using acute gamma radiation. The leaves of 14 days old after cultured on MS medium were irradiated with gamma rays at 0, 20, 40 and 60 gray. The result showed that when the amount of gamma radiation increased the survival rate of plant parts decreased and the doses of 20, 40 and 60 gray were survived 100 , 85 and 75 percentage, respectively (20, 17 and 15 above). The dose of 60 gray nature of the emerging seedling looks dwarf and found the appearance of the 3 mutants (from doses of 20 and 40 Gy) were 5 and 10 percentage, respectively . The leaves of mutant was white stripped at the edge of leaves.

**Keywords:** *Pinguicula*; mutation; gamma radiation; Butterworth

## 1. คำนำ

พิงกุยคูล่า (*Pinguicula*) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่ง คือ บัตเตอร์เวิร์ด (Butterworth) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Lentibulariaceae สกุล *Pinguicula* โดยมีสมาชิกในสกุลเดียวกันมากกว่า 80 ชนิด มีการกระจายพันธุ์เกือบทั่วโลก แต่จะพบทางซีกโลกเหนือ แถบเม็กซิโกและยุโรปเป็นส่วนใหญ่ (Legendre, 2002) อย่างไรก็ตาม แม้ว่าพิงกุยคูล่าจะไม่ได้มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทย แต่ก็สามารถนำมาปลูกเลี้ยงได้ในประเทศไทย เนื่องจากในปัจจุบันมีการนำเข้ามาปลูกเลี้ยงและจำหน่ายเป็นไม้ประดับในประเทศไทยแล้ว เช่น ตลาดนัดสวนจตุจักร จากการสำรวจราคาในท้องตลาดพบว่าพืชชนิดนี้มีมูลค่าตั้งแต่หลักสิบถึงหลักพันบาท ซึ่งต้นพิงกุยคูล่ามีลักษณะพิเศษ คือเป็นหนึ่งในกลุ่มของพืชกินแมลงหรือพืชกินสัตว์ที่มีอยู่เพียงไม่กี่ร้อยชนิดบนโลกนี้ ดังนั้นจึงมีความน่าสนใจเป็นอย่างยิ่งที่จะชักนำให้เกิดการกลายในต้นพิงกุยคูล่าด้วยการฉายรังสีแกมมา เพื่อนำไปสู่การสร้างความผันแปรทางพันธุกรรมให้มากขึ้น ซึ่งเป็นการเพิ่มโอกาสในการได้ต้นพิงกุยคูล่าที่มีลักษณะที่ดีกว่าเดิมหรือแตกต่างไปจากต้นปกติ เช่น แผ่นใบมีสีสันสวยงามมากขึ้น มีลักษณะที่ต่าไปจากเดิม และมีความแข็งแรงมากขึ้น

ปัจจุบันมีการใช้รังสีแกมมาในการปรับปรุงพันธุ์ในไม้ดอกไม้ประดับเป็นจำนวนมาก ได้แก่ หม้อข้าวหม้อแกงลิง หงส์เหิน เป็นต้น (อัญชลี, 2556; ณัฐพงศ์, 2556) ซึ่งรังสีจะทำให้เกิดการกลายหรือเกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมของเซลล์ที่เกิดขึ้นกับโมเลกุลของดีเอ็นเอ โดยไม่ได้เกิดจากการรวมตัว (recombination) หรือการแยกตัว (segregation) ของสารพันธุกรรมตามปกติ และสามารถถ่ายทอดลักษณะการเปลี่ยนแปลงนั้นจากเซลล์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงไปยังเซลล์ลูกได้ด้วยกระบวนการแบ่งเซลล์ (พีรนุช, 2553)

การศึกษาครั้งนี้ ได้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการใช้รังสีแกมมามาชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา และนำไปสู่การคัดเลือกพันธุ์กลายในต้นพิงกุยคูล่าต่อไป

## 2. อุปกรณ์และวิธีการ

### 2.1 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช

ต้นพิงกุยคูล่าที่สมบูรณ์แข็งแรง งดการให้น้ำเป็นเวลานาน 3-5 วัน ก่อนทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ (Clorox, 1.4 % sodium hypochlorite) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง หลังจากนั้นตัดแต่งเนื้อเยื่อพืชที่สัมผัสคลอรอกซ์ทิ้ง ย้ายชิ้นส่วนพืชลงสู่อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม BA (6-benzyladenine)เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร วุ้นผง (gelrite) 2.5 กรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดยอดอ่อนจำนวนมาก

**2.2 การเตรียมพืชทดลอง**

นำชิ้นส่วนใบของต้นพิงกุยคูล่าขนาด 2 เซนติเมตร (จากต้นที่เตรียมได้จากข้อ 2.1) เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลานาน 14 วัน ภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60±5 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ (TLD 36W/84 3350 lm Philips Thailand) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ก่อนเริ่มทำการทดลอง

**2.3 การชักนำให้เกิดการกลายโดยใช้รังสีแกมมา**

นำแผ่นใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (จากข้อ 2.2) มาฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ณ ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร ด้วยเครื่อง Mark-I Gamma irradiation โดยมี Cs-137 เป็นแหล่งกำเนิดรังสี ที่ปริมาณรังสี 0, 20, 40 และ 60 เกรย์ และวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD, completely randomized design) โดยแบ่งออกเป็น 4 ทรีตเมนต์ ทรีตเมนต์ละ 20 ซ้ำ และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยโปรแกรม SPSS 16.0

นำชิ้นส่วนพืชที่ผ่านการฉายรังสีทั้งหมดย้ายลงเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร วุ้น (gelrite) 2.5 กรัมต่อลิตร และเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 60 วัน โดยทำการย้ายเปลี่ยนอาหารลงบนอาหารสูตรเดิมอีก 6 ครั้ง ทุก ๆ 4 สัปดาห์ ศึกษาการมีชีวิตรอดของต้นอ่อน จำนวนต้นอ่อนที่เกิดขึ้นต่อชิ้นส่วนใบ จำนวนใบต่อต้น ขนาดความกว้างใบ ความยาวของใบ และสังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น

## 3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

**3.1 ผลของรังสีแกมมาต่อการรอดชีวิตและการกลาย**

หลังจากเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบพิงกุยคูล่าที่ได้รับรังสีแกมมานาน 60 วัน พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณรังสีแกมมาให้สูงขึ้นจะทำให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนพืชลดต่ำลง คือ ที่ปริมาณรังสี 20, 40 และ 60 เกรย์ มีอัตราการอดชีวิต 100, 85 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (20, 17 และ 15 ต้น) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Jala (2011) ที่ทดลองฉายรังสีในแวววยุรา เมื่อปริมาณรังสีที่สูงขึ้นการรอดชีวิตของแวววยุราจะลดต่ำลง และต้นพิงกุยคูล่าที่ได้รับรังสีแกมมาปริมาณ 20 เกรย์ พบต้นกลาย 1 ต้น (คิดเป็น 5 %) และที่ปริมาณรังสี 40 เกรย์ พบว่ามีต้นกลาย 2 ต้น (คิดเป็น 10 %) (ตารางที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Wongpiyasatid (2007) ซึ่งทดลองฉายรังสีแกมมาให้กับใบแอฟริกันไวโอเล็ต พบต้นกลายที่มีสีใบ สีดอก ขนาดใบ ขนาดดอก เปลี่ยนแปลงไป

**3.2 การเจริญเติบโตของต้นพิงกุยคูล่า**

การเจริญเติบโตของต้นพิงกุยคูล่าหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร วุ้น (gelrite) 2.5 กรัมต่อลิตร เป็นเวลานาน 60 วัน ปรากฏว่าการเจริญเติบโตด้านต่าง ๆ (พารามิเตอร์ต่าง ๆ) ที่เกิดขึ้น (ตารางที่ 2) กับเนื้อเยื่อพิงกุยคูล่า

มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (ตารางที่ 2) เนื้อเยื่อต้นพิงกุยคูล่าที่ได้รับรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 20 เกรย์ มีค่าเฉลี่ยจำนวนต้นและจำนวนใบสูงที่สุด (21.40 ต้น และ 8.80 ใบ ตามลำดับ) (รูปที่ 1ข) และค่าเฉลี่ยของความกว้างใบและความยาวใบของต้นควบคุมมีขนาดใหญ่ที่สุด (0.94 และ 1.90 เซนติเมตร ตามลำดับ) (รูปที่ 1ก) แต่ต้นที่ได้รับรังสีแกมมา 60 เกรย์ มีขนาดความกว้างใบและความยาวใบเล็กที่สุด (0.44 เซนติเมตร และ 0.85 เซนติเมตร ตามลำดับ) (รูปที่ 1ง) เนื่องจากรังสีแกมมาส่งผลทำให้อะตอมต่าง ๆ ภายในเซลล์เกิดการแตกตัวเป็นไอออนที่ไวต่อปฏิกิริยา ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีภายในเซลล์ ทำให้กระบวนการสร้างอาร์เอ็นเอและโปรตีนลดต่ำลง องค์ประกอบภายในไซโตพลาสซึมเกิดความเสียหาย และส่งผลทำให้โครโมโซมเกิดความผิดปกติ และการเกิดแบ่งเซลล์อย่างล่าช้า หรือไม่เกิดการแบ่งตัว (สิรินุช, 2540) ลักษณะของต้นอ่อนที่เกิดใหม่จะมีลักษณะแคระแกร็นเมื่อได้รับปริมาณรังสีที่ 40 และ 60 เกรย์ เมื่อเปรียบเทียบลักษณะกับต้นปกติ (รูปที่ 1) และลักษณะของต้นกลายทั้ง 3 ต้น (ปริมาณรังสี 20 และ 40 เกรย์) มีลักษณะใบด่างตรงบริเวณขอบใบ (รูปที่ 2) ซึ่งสอดคล้องกับสุชาดา (2550) และณัฐพงค์ (2556) ที่ทำการทดลองฉายรังสีแกมมาในไทรย้อยใบด่าง และต้นหงส์เหิน ตามลำดับ และหากใช้ปริมาณรังสีที่สูงเกินไปอาจไปพบลักษณะการกลาย แต่อาจทำให้เซลล์หยุดการเจริญเติบโต และอาจส่งผลทำให้เซลล์ที่กำลังเจริญเกิดการตายได้ (Venketeswarns and Partanen, 1966)

**ตารางที่ 1** เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและการกลายของต้นพิงกุยคูล่าหลังได้รับรังสีแกมมา 60 วัน

| ปริมาณรังสี | จำนวนตัวอย่าง | จำนวนต้นที่รอด | % การรอดชีวิต | จำนวนต้นกลาย | % การกลาย |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 20 | 20 | 100 | 0 | 0 |
| 20 | 20 | 20 | 100 | 1 | 5 |
| 40 | 20 | 17 | 85 | 2 | 10 |
| 60 | 20 | 15 | 75 | 0 | 0 |

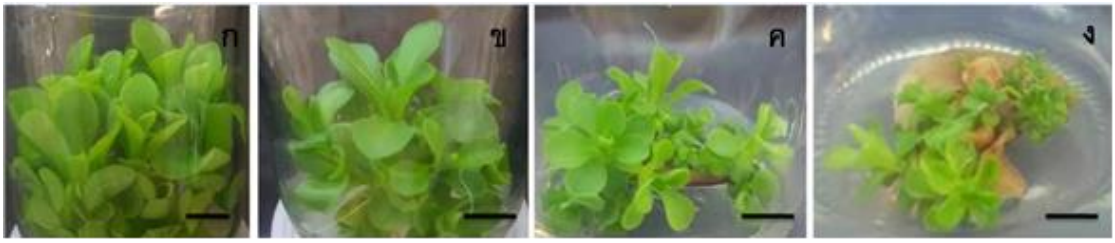
**ตารางที่ 2** การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อต้นพิงกุยคูล่าหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 60 วัน

| ปริมาณรังสี | จำนวนต้น | จำนวนใบ | ความกว้างใบ (ซม.) | ความยาวใบ (ซม.) |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 11.00±1.00 [1/ b2/] | 8.40±0.54$^{ab}$ | 0.94±0.13$^{a}$ | 1.92±0.10$^{a}$ |
| 20 | 21.40±2.9$^{a}$ | 8.80±1.09$^{a}$ | 0.90±0.18$^{a}$ | 1.88±0.10$^{a}$ |
| 40 | 11.40±1.67$^{b}$ | 6.80±1.64$^{b}$ | 0.55±0.11$^{b}$ | 1.08±0.10$^{b}$ |
| 60 | 6.00±1.22$^{c}$ | 7.60±1.14$^{ab}$ | 0.40±0.13$^{b}$ | 0.85±0.13$^{c}$ |
| F-test | ** | ** | ** | ** |
| % C.V. | 12.76 | 14.84 | 20.80 | 8.16 |

**มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test

[1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[2/] ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติ




**รูปที่ 1** ลักษณะของต้นพิงกุยที่ได้รับรังสีที่ปริมาณความเข้มแตกต่างกันหลังย้ายลงอาหารเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 60 วัน (ก) ได้รับปริมาณรังสี 0 เกรย์ (ต้นควบคุม) (ข) ได้รับปริมาณรังสี 20 เกรย์ (ค) ได้รับปริมาณรังสี 40 เกรย์ และ (ง) ได้รับปริมาณรังสี 60 เกรย์ [บาร์มีค่า = 1.0 เซนติเมตร]

**รูปที่ 2** ต้นกลายที่ได้จากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 40 เกรย์

## 4. สรุป

ปริมาณรังสีแกมมาที่เหมาะสมและสามารถชักนำให้เนื้อเยื่อพิงกุยคูล่าเกิดลักษณะเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม มีการกลายเกิดขึ้นที่รังสีแกมมาปริมาณ 20 และ 40 เกรย์ และมีสีสันสวยงาม คือ ใบมีลักษณะด่างขาวบริเวณขอบใบ ซึ่งเป็นแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์ และเพิ่มมูลค่าสินค้าทางการเกษตรในพืชชนิดนี้ได้อีกทางหนึ่ง

## 5. เอกสารอ้างอิง

พีรนุช จอมพุก, 2553, เทคโนโลยีนิวเคลียร์กับการเกษตร, ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ณัฐพงค์ จันจุฬา, 2556, การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในต้นหงส์เหินโดยการฉายรังสีแกมมา, Thai J. Sci. Technol. 2: 45-52.

สิรินุช ลามศรีจันทร์, 2540, การกลายพันธุ์พืช, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุชาดา ศรีบุญเรือง, 2550, การเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในไทรย้อยใบแหลมด่างโดยใช้รังสีแกมมา, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อัญชลี จาละ, 2556, การชักนำให้เกิดการกลายในหม้อข้าวหม้อแกงลิงในสภาพปลอดเชื้อด้วยรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน, ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 21: 1-10.

Jala, A., 2011, Morphological change due to effects of acute gamma ray on wishbone flower (*Torenia fourmieri*) *in vitro*, Int. Trans. J. Eng. Manag. Appl. Sci. Technol. 2: 375-383.

Legendre, L., 2002, The genus *Pinguicula* L. (Lentibulariaceae): An overview, Acta Botanica Gallica 141: 77-95.

Murashige, T. and Skoog, F., 1962, A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture, Physiol. Plant 15: 473-474.

Venketeswarns, S. and Partanen, C.R., 1966, A comparative study of the effect of gamma radiation on organized and disorganized of tobacco, Red. Bot. 6: 13-20.

Wongpirasatid, A., 2007. Effects of acute gamma irradiation on adventitious plantlet regeneration and mutation from leaf cuttings of African Violet (*Saintpaulia ionantha*), Kasetsart J. (Nat. Sci.) 41: 633-640.