

การใช้รังสีแกมมาเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์ในเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงสับปะรดสี “*Tillandsia cyanea*”

Gamma ray - induced *in vitro* mutations in bromeliad:

Tillandsia cyanea

มยุรี ลิมติยะโยธิน¹, ธัญญา เทชะสีลพิทักษ์² และ พีรนุช จอมพุก^{1*}

Mayuree Limtiyayothin¹, Thunya Taychasinpitak² and Peeranuch Jompuk^{1*}

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงสับปะรดสี *Tillandsia cyanea* โดยหาปริมาณรังสีที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดการกลาย และสังเกตลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปหลังจากการฉายรังสี โดยนำเนื้อเยื่อสับปะรดสีพันธุ์ *Tillandsia cyanea* อายุ 2 เดือน ไปฉายรังสีแกมมาแบบ Acute ที่ปริมาณรังสี 0 (control), 10, 20, 30, 40 และ 50 เกรย์ อัตราปริมาณรังสี (dose rate) 3.73 เกรย์ต่ออนาที ณ ศูนย์วิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เก็บข้อมูลจำนวนต้นที่ตาย จำนวนต้นที่รอดชีวิตและจำนวนต้นที่แตกใหม่ ที่ระยะเวลา 60 วัน ภายหลังจากการฉายรังสีเปรียบเทียบกับที่ไม่ได้รับรังสี เพื่อหาค่า LD₅₀₍₆₀₎ และ GR₅₀₍₆₀₎ จากการทดลองพบว่าไม่สามารถหาค่า LD₅₀₍₆₀₎ ได้ เนื่องจากที่ปริมาณรังสีสูงสุดที่ใช้ในการทดลอง มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่า 50% แต่เมื่อพิจารณาจากค่า GR₅₀₍₆₀₎ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 36 เกรย์ ปริมาณรังสีที่เหมาะสมสำหรับการฉายรังสีแกมมาแบบ Acute เพื่อเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์ ควรอยู่ในช่วง 20 – 50 เกรย์ และลักษณะกลายที่คัดเลือกได้ในรุ่น M₁V₃ คือ ลักษณะใบสีเขียวอ่อน ใบลาย ลักษณะต้นแคระ และลักษณะต้นใหญ่กว่าชุดควบคุม โดยลักษณะที่พบมากที่สุดคือลักษณะใบสีเขียวอ่อน ทั้งนี้ลักษณะการกลายที่พบจะต้องทำการขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนต้นและทดสอบความคงตัวในรุ่นต่อไป

คำสำคัญ: รังสีแกมมา, การกลายพันธุ์, สับปะรดสี, *Tillandsia cyanea*.

ABSTRACT: The objective in this experiment was to study the effects of gamma irradiation on tissue culture of Bromeliads, *Tillandsia cyanea* to find appropriate dose for induced mutation and observed the characteristics change after irradiation. Two months old of tissue culture of *Tillandsia cyanea* were acute gamma irradiated at dose of 0 (control), 10, 20, 30, 40 and 50 Gy (dose rate 3.73 Gy/min) at Nuclear Technology Research Center, Kasetsart University. The number of dead, surviving plantlets and the number of new shoots were recorded at 60 days after irradiation and compared with the controls (0 Gy) to calculate the LD₅₀₍₆₀₎ and GR₅₀₍₆₀₎. It was not possible to calculate the LD₅₀₍₆₀₎ because plant survival percentage was 55.29% at the highest radiation dose (50 Gy) while 50% growth reduction of new plantlets (GR₅₀₍₆₀₎) was 36 Gy. It was found that acute gamma irradiation for induced mutation for *Tillandsia cyanea* should be in the range

¹ ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Applied radiation and isotopes, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900

² ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900

* Corresponding author: fsciprk@ku.ac.th

of 20 - 50 Gy. The selected mutants in M_1V_3 generation were light green leave, variegated leave, dwarf and giant. The most common characteristic was light green leave. The selected mutants will be propagated to increase the number of plants and test the stability in the next generation.

Keywords: Gamma irradiation, Mutation, Bromeliad, *Tillandsia cyanea*.

บทนำ

สับปะรดสี (Bromeliads) อยู่ในวงศ์ Bromeliaceae เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวมีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกา สามารถเจริญเติบโตได้ตั้งแต่สภาพป่าดิบชื้นจนถึงอากาศแล้งของทะเลทรายทนทานต่อสภาพแวดล้อม มีลักษณะที่สวยงามแปลกตาทั้งแบบที่มีดอกสวยงาม และแบบที่มีลักษณะใบสีส่นสวยงาม (จารุพันธ์, 2543) สับปะรดสีได้ถูกแบ่งออกเป็นสองกลุ่มใหญ่ ๆ คือ เอพิฟิติก (Epiphytic) เป็นกลุ่มที่เกาะอยู่ตามคาคบไม้ใหญ่แต่เป็นการอาศัยเพื่อรับแสงแดดและน้ำเท่านั้น ไม่ได้เป็นกาฝากที่ยึดรากลงไปบนเนื้อไม้ เพื่อดูดน้ำเลี้ยงอีกกลุ่มคือ แทรเรสเทรียล (Terrestrial) เป็นกลุ่มที่เติบโตได้บนหินและพื้นดิน นอกจากนักพฤกษศาสตร์จะแบ่งไม้ในวงศ์ Bromeliaceae ตามลักษณะการเลือกที่อยู่แล้ว ยังได้จัดหมวดหมู่ ออกได้ประมาณ 57 สกุล (genera) ในปัจจุบันพบว่า มีจำนวนมากกว่า 3,000 ชนิด (species) (อภิรักษ์, 2554)

สับปะรดสีนิยมนำมาใช้เป็นไม้ประดับ เพราะมีทั้งความสวยงามและดูแลรักษาง่าย แต่การเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์เป็นไปได้ช้าจึงทำให้สับปะรดสีบางพันธุ์ที่เป็นที่ต้องการของตลาดนั้นมีราคาสูง ผู้บริโภคมีความต้องการสับปะรดสีพันธุ์ใหม่ ๆ ที่มีลักษณะสวยงามแปลกตามากยิ่งขึ้น จึงถือได้ว่าสับปะรดสีเป็นไม้เศรษฐกิจของหลายประเทศ รวมทั้งประเทศไทย ปัจจุบันได้มีการปรับปรุงพันธุ์สับปะรดสีเพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ที่มีความหลากหลายและสวยงามแปลกตาเพิ่มมากขึ้น การได้มาซึ่งสายพันธุ์ใหม่ ๆ ที่มีความสวยงามส่วนใหญ่ได้มาจากการผสมพันธุ์และการคัดเลือกจากพันธุ์ป่า (Negrelle et al., 2012) และการชักนำให้เกิดการกลายด้วยรังสีแกมมา เป็นอีกหนึ่งวิธีที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์สับปะรดสีให้ได้ลักษณะใหม่ ๆ ที่แตกต่างไปจากเดิม โดยมีการศึกษาการฉายรังสีแกมมาที่เมล็ดสับปะรด

สี *Tillandsia fasciculata* พบลักษณะการกลาย คือ ลักษณะใบสีเหลืองเขียว ใบสีเหลือง ใบด่างขาว และลักษณะเผือก (Yong and Fred, 2000) และการฉายรังสีแกมมาที่แคลลัสสับปะรด (*Ananas comosus* (L.) Merr.) พบลักษณะกลายที่ขอบใบมีจำนวนหนามลดลงและพบลักษณะการกลายของสีใบ ได้แก่ ใบลาย ใบมีสีเขียวเหลือง เป็นต้น (Lapade et al., 1995) ซึ่งลักษณะการกลายใหม่ ๆ ที่พบจะช่วยเพิ่มความหลากหลายให้กับตลาดสับปะรดสีมากยิ่งขึ้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงสับปะรดสี *Tillandsia cyanea* เพื่อหาปริมาณรังสีที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดการกลาย ซึ่งเป็นแนวทางสำคัญเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการปรับปรุงพันธุ์โดยการเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาต่อไป และคัดเลือกลักษณะกลายหลังจากการฉายรังสี สำหรับสับปะรดสี *Tillandsia cyanea* จัดอยู่ในกลุ่มของ เอพิฟิติก (Epiphytic) เป็นพืชอิงอาศัย สามารถเติบโตได้โดยไม่ต้องมีวัสดุปลูก สามารถทนแล้งและแสงแดดได้ดี มีลักษณะใบสีเขียวเรียวยาว ขอบใบเรียบไม่มีหนาม ดอกมีใบประดับสีชมพูลักษณะเป็นกาบซ้อนกันและมีดอกจริงสีม่วง (อุไร, 2554)

วิธีการศึกษา

การเตรียมเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงสับปะรดสี

นำเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงสับปะรดสี *Tillandsia cyanea* มาขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่มีการเติม BAP (6-benzylaminopurine) ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. เพื่อชักนำให้เกิดการแตกหน่อใหม่น้ำตาลทราย 3% เจลไรต์ 2.5 มก./ล. เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดสีให้มีจำนวนมากพอสำหรับนำไปฉายรังสีแกมมา

การฉายรังสีแกมมาแบบ Acute

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) โดยแบ่งออกเป็น 6 ทรีตเมนต์ ตามปริมาณรังสีที่ฉายแต่ละทรีตเมนต์มี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ต้น โดยนำเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงสับปะรดสีอายุ 2 เดือนหลังย้ายเปลี่ยนอาหารมาฉายรังสีแกมมาแบบ Acute ที่ปริมาณรังสี 0 (control), 10, 20, 30, 40 และ 50 เกรย์ ที่อัตราปริมาณรังสี (dose rate) 3.73 เกรย์/นาที่ ด้วยเครื่องฉายรังสีแกมมา มาร์ควิน (Mark I) ณ ศูนย์วิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ หลังจากฉายรังสีแล้วทำการย้ายเนื้อเยื่อสับปะรดสีลงในอาหารใหม่สูตรเดิม เรียกเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงรุ่นนี้ว่า M_1V_1 บันทึกข้อมูลจำนวนต้นที่รอดชีวิต จำนวนต้นที่ตาย และบันทึกการเจริญเติบโตโดยนับจำนวนต้นที่แตกใหม่ที่ระยะเวลา 60 วัน ภายหลังจากการฉายรังสี คำนวณเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโต นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟ เพื่อหาค่าปริมาณรังสีที่ทำให้ต้นที่ผ่านการฉายรังสีตาย 50% ($LD_{50(60)}$) และปริมาณรังสีที่ทำให้การเจริญเติบโตลดลง 50% ($GR_{50(60)}$) เมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสี (control)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference (LSD) โดยใช้โปรแกรม R (ชูศักดิ์, 2555)

การคัดเลือกลักษณะกลาย

เมื่อเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงสับปะรดสีรุ่น M_1V_1 มีการแตกต้นใหม่จะเรียกต้นที่แตกออกมาใหม่ว่ารุ่น M_1V_2 ย้ายต้นรุ่น M_1V_2 ทุกต้นไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมจนแตกต้นใหม่เรียกต้นที่แตกออกมาใหม่ว่ารุ่น M_1V_3 สังเกตลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม คัดเลือกลักษณะกลายที่ดี นำมาขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนเพื่อทดสอบความคงตัว เช่น ลักษณะรูปร่าง ใบ สีใบ ใบลาย ใบต่าง และลักษณะการเจริญเติบโต (ต้นสูง ต้นเตี้ย) ที่แตกต่างไปจากเดิม

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ปริมาณรังสีที่ทำให้เกิดการตาย 50% ($LD_{50(60)}$)

ภายหลังจากการฉายรังสีที่ 60 วัน พบว่าเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงสับปะรดสี *Tillandsia cyanea* มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มมากขึ้น ที่ปริมาณรังสีสูงสุด (50 เกรย์) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตน้อยที่สุด คือ 55.29% ซึ่งการรอดชีวิตมีค่ามากกว่า 50 % จึงไม่สามารถหาค่า $LD_{50(60)}$ ได้ (Figure 1) สอดคล้องกับการทดลองของ มยุรี (2552) ที่ทำการฉายรังสีแกมมาแบบ Acute ปริมาณรังสี 0 – 60 เกรย์ กับเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง *Anubias minima* ด้วยเครื่องฉายรังสีแกมมา มาร์ควิน (Mark I) ณ ศูนย์วิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์พบว่าไม่สามารถหาค่า LD_{50} ได้ เนื่องจากที่ปริมาณรังสีสูงสุด 50 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 66.67 % ซึ่งมีค่ามากกว่า 50% แต่การฉายรังสีเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงสับปะรด (*Ananas comosus* (L.) Merr.) พบว่าสามารถหาค่า LD_{50} ได้เท่ากับ 45 เกรย์ (Osei-Kofi et al., 1996) ส่วนการทดลองฉายรังสีแกมมากับเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง *Typhonium flagelliforme* ที่ปริมาณรังสี 0 – 50 เกรย์ พบว่าสามารถหาค่า LD_{50} ได้เท่ากับ 25 เกรย์ (Sianipar et al., 2013) ซึ่งผลการทดลองที่แตกต่างกันมาจากชนิดของพืชที่นำมาฉายรังสี เนื่องจากพืชต่างชนิดกันมีความไวต่อรังสีแตกต่างกัน ส่งผลให้ปริมาณรังสีที่ใช้กับพืชแต่ละชนิดไม่เท่ากัน เมื่อนำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมาทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสีในทุกปริมาณรังสีมีความแตกต่างกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับรังสี ส่วนที่ปริมาณรังสี 10-30 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ และที่ปริมาณรังสีสูงสุด (50 เกรย์) มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำที่สุด โดยมีความแตกต่างทางสถิติกับทุกปริมาณรังสีและชุดควบคุม (control) (Table 1)

ปริมาณรังสีที่ทำให้การเจริญเติบโตลดลง 50%(GR₅₀₍₆₀₎)

ภายหลังจากการฉายรังสีที่ 60 วัน พบว่าเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงสับปะรดสี *Tillandsia cyanea* มีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตลดลงเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มมากขึ้น ซึ่งให้ผลการตอบสนองต่อรังสีแกมมาเช่นเดียวกับเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต (Figure 2) โดยที่ปริมาณรังสีสูงสุด (50 เกรย์) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตต่ำที่สุด คือ 23.28% (Table 1) สามารถหาค่า GR₅₀₍₆₀₎ ได้เท่ากับ 36 เกรย์ (Figure 1) เช่นเดียวกับการทดลองของ มยุรี (2552) ที่ทำการฉายรังสีแกมมาแบบ Acute ปริมาณรังสี 0 – 60 เกรย์ กับเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง *Anubias minima* พบว่าสามารถหาค่า GR₅₀ ได้เท่ากับ 26.15 เกรย์ โดยปริมาณรังสีที่ฉายไม่สามารถหาค่า LD₅₀₍₆₀₎ ได้ แสดงให้เห็นว่ารังสีที่ฉายมีผลต่อการเจริญเติบโตมากกว่าการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อพืชทั้ง 2 ชนิด และการทดลองของ Lapade et al. (1995) ที่ทำการฉายรังสีแกมมากับเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง

ส่วนแคลลัสของสับปะรด (Ananas comosus (L.) Merr.) ที่ปริมาณรังสี 5 – 50 เกรย์ จากรายงานไม่ได้ระบุค่า GR₅₀ แต่จากผลการทดลองพบว่าปริมาณรังสี 20 เกรย์ แคลลัสสามารถชักนำให้เป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ได้มากที่สุดเกือบ 90% ส่วนที่ปริมาณรังสี 50 เกรย์ แคลลัสทั้งหมดไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ เมื่อนำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสีทุกปริมาณรังสีมีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตแตกต่างกับชุดควบคุม (control) ส่วนที่ปริมาณรังสี 10-30 เกรย์มีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างกับที่ได้รับรังสี 40 และ 50 เกรย์ และที่ปริมาณรังสีสูงสุด (50 เกรย์) มีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตต่ำที่สุดโดยมีความแตกต่างทางสถิติกับทุกปริมาณรังสีและชุดควบคุม (control) (Table 1)

Table 1 Percentage of survival and growth rates of *Tillandsia cyanea* at 60 days after acute gamma irradiation in M₁ V₁ generation

Dose (Gy)	Plantlet survival (as % of control)	Growth rates (as % of control)
0 (control)	100 ^a	100 ^{a1/}
10	84.76 ^{bc}	65.56 ^b
20	88.09 ^b	67.55 ^b
30	83.55 ^{bc}	61.13 ^b
40	79.37 ^c	44.55 ^c
50	55.29 ^d	23.28 ^d
F-test	**	**
LSD _{0.01}	8.71	11.87
C.V. (%)	8.18	16.84

** = significant at 1% level

¹ For data within columns, means followed by a common letter are not significantly different at the 1% level by LSD

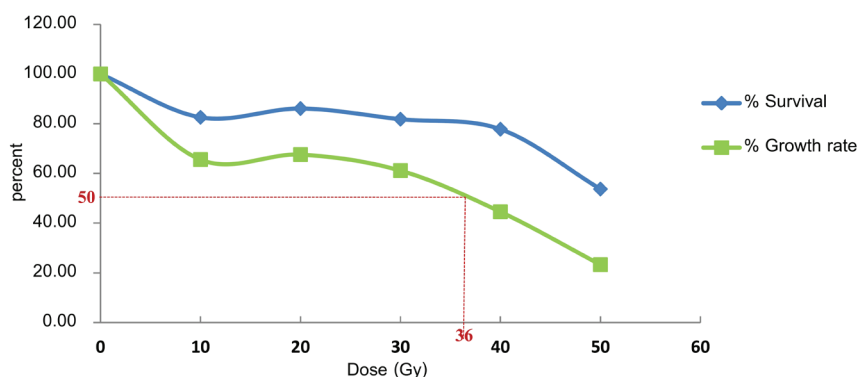


Figure 1 Percentage of survival and growth rates of *Tillandsia cyanea* at 60 days after acute gamma irradiation in M_1V_1 generation

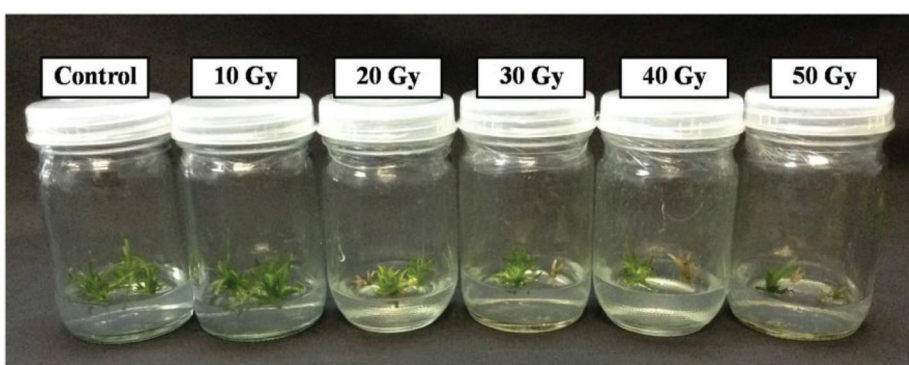


Figure 2 Tissue culture of *Tillandsia cyanea* at 60 days after acute gamma irradiation in M_1V_1 generation compared to a control

ลักษณะกลายที่พบจากการฉายรังสีแกมมา

จากการสังเกตต้นสืบประดสี *Tillandsia cyanea* ในรุ่น M_1V_3 และทำการคัดเลือกลักษณะที่เกิดการเปลี่ยนแปลงไปจากลักษณะเดิม สามารถพบลักษณะการกลายที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมที่ชัดเจนอยู่ 4 ลักษณะ คือ ลักษณะใบสีเขียวอ่อน ใบลาย ลักษณะต้นแคระ และต้นมีขนาดใหญ่ สอดคล้องกับการทดลองฉายรังสีแกมมากับสืบประดสี *Tillandsia fasciculata* พบลักษณะการกลาย คือ ลักษณะใบสีเหลืองเขียว ใบสีเหลือง ใบด่างขาว และลักษณะเผือก (Yong and Fred, 2000) การฉายรังสีแกมมากับไม้ น้ำสกุลอนุเบียงที่พบลักษณะความผิดปกติภายหลังจากการฉายรังสีคือพบลักษณะต้นเตี้ยแคระและใบด่าง (ปกรณ, 2552; มยุรี 2552) นอกจากนี้ยังมีการทดลองฉายรังสีแกมมากับเมล็ดถั่วเขียวพบลักษณะความผิด

ปกติ คือ ลักษณะใบสีเขียวอ่อนและใบลาย (Sangsiri et al., 2005) จากการทดลองลักษณะการกลายที่พบมากที่สุดคือลักษณะใบสีเขียวอ่อน และพบลักษณะการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดที่ปริมาณรังสี 50 เกรย์ (Table 2) โดยที่ปริมาณรังสี 10, 20, 40 และ 50 เกรย์ พบลักษณะกลายที่เหมือนกันคือ ใบสีเขียวอ่อน ลักษณะต้นแคระ และลักษณะต้นขนาดใหญ่ (Figure 3) ส่วนที่ปริมาณรังสี 30 เกรย์ พบลักษณะใบสีเขียวอ่อน ใบลาย ลักษณะต้นแคระ และลักษณะต้นขนาดใหญ่ (Figure 4) เช่นเดียวกับการทดลองของ Lapade et al. (1995) พบการเปลี่ยนแปลงส่วนใบของสืบประด (Ananas comosus (L.) Merr.) ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 5 – 40 เกรย์ คือลักษณะของใบที่แคบลง จำนวนหนามที่ขอบใบลดลง การโค้งงอของใบ และลักษณะใบลายเขียวและเหลือง

Table 2 Percentage of mutation on tissue culture of *Tillandsia cyanea* after acute gamma irradiation in M_1V_3 generation

Dose (Gy)	Types of mutation (%)				Total (%)	Normal plants (%)
	Light green leaves	Dwarf	Giant	Variegated leaves		
0 (control)	-	-	-	-	-	100
10	9.09	13.64	1.76	-	24.49	75.51
20	7.92	19.87	1.32	-	29.11	70.89
30	15.26	14.47	0.54	12.53	42.80	57.20
40	20.75	19.38	1.07	-	41.20	58.80
50	29.33	13.61	4.08	-	47.02	52.98
Total	82.35	80.97	8.77	12.53	184.62	-

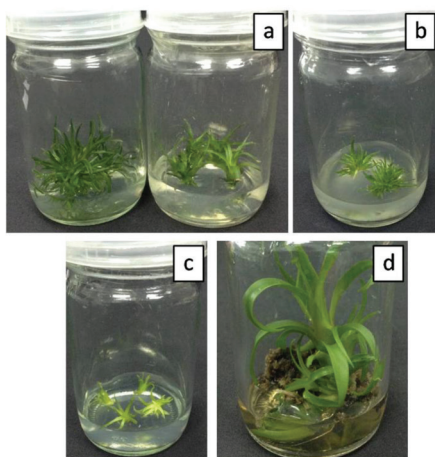


Figure 3 Characteristics of tissue culture of *Tillandsia cyanea* after acute gamma irradiation in M_1V_3 generation at 10, 20, 40 and 50 Gy. (a) Control, (b) Dwarf, (c) Light green leaves and (d) Giant

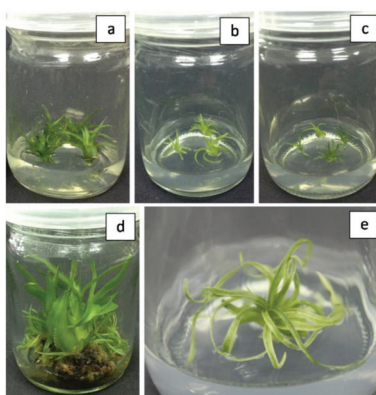


Figure 4 Characteristics of tissue culture of *Tillandsia cyanea* after acute gamma irradiation in M_1V_3 generation at 30 Gy. (a) Control, (b) Light green leaves, (c) Dwarf, (d) Giant and (e) variegated leaf

สรุป

การศึกษาการฉายรังสีแกมมาแบบ Acute กับเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงสับปะรดสี *Tillandsia cyanea* ทำให้ทราบปริมาณรังสีที่เหมาะสมเพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ ควรอยู่ในช่วง 20 – 50 เกรย์ โดยพิจารณาจากค่า GR⁵⁰⁽⁶⁰⁾ ที่มีค่าเท่ากับ 36 เกรย์ ลักษณะการกลายที่สามารถพบได้หลังการฉายรังสีแกมมาแบบ Acute ในรุ่น M₁V₃ คือ ลักษณะใบสีเขียวอ่อน ใบลายลักษณะต้นแคระ และลักษณะต้นใหญ่กว่าชุดควบคุม ซึ่งลักษณะการกลายที่พบมากที่สุดคือ ลักษณะใบสีเขียวอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การกลายรวมสูงที่สุด รองลงมาคือลักษณะต้นแคระ ปริมาณรังสีที่มีเปอร์เซ็นต์การกลายสูงที่สุดคือ 50 เกรย์ ซึ่งเป็นปริมาณรังสีสูงที่สุดของการทดลอง ลักษณะการกลายที่พบควรขยายเพื่อเพิ่มจำนวนต้นให้มีปริมาณมากขึ้น และควรนำต้นสับปะรดสีออกปลูกในสภาพแวดล้อมจริงเพื่อสังเกตลักษณะการกลายที่พบเมื่อเลี้ยงในสภาพแวดล้อมจริง สังเกตลักษณะของดอก สีดอกของต้นสับปะรดสีที่อาจมีการเปลี่ยนแปลงภายหลังจากการฉายรังสี เนื่องจากต้นสับปะรดสีไม่สามารถออกดอกได้ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

คำขอขอบคุณ

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) โครงการวิจัยการปรับปรุงพันธุ์สับปะรดสีโดยการเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาและอิเล็กทรอนิกส์บีเอ็ม (PRP5905020260) และขอขอบคุณศูนย์วิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ในการทำการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- จารุพันธ์ ทองแถม. 2543. บรอมมีเลียด ไม่ประดับ สำหรับคนรุ่นใหม่. อมรินทร์พริ้นติ้ง กรุ๊ป, กรุงเทพฯ.
- ชูศักดิ์ จอมพุท. 2555. สถิติ : การวางแผนการทดลอง และการวิเคราะห์ข้อมูลในงานวิจัยด้านพืชด้วย R, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ปกรณ์ ตั้งปอง. 2552. ผลของการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันและแบบโครนิกต่อเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงอนุเบียส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- มยุรี ลิมตียะโยธิน. 2552. ผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันและแบบโครนิกต่อเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง *Anubias minima*. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อภิรักษ์ กลั่นแก้ง. 2554. สับปะรดสี. อมรินทร์พริ้นติ้ง กรุ๊ป, กรุงเทพฯ.
- อุไร จิรมงคลการ. 2554. มือใหม่หัดปลูกสับปะรดสี. อมรินทร์พริ้นติ้ง กรุ๊ป, กรุงเทพฯ.
- Lapade, A. G., A. M. S. Veluz, and I. S. Santos. 1995. Genetic improvement of the queen variety of pineapple through induced mutation and in vitro culture techniques. pp. 684–687. In: Proceedings of a symposium, Induced Mutations and Molecular Techniques for Crop Improvement, held on 19-23 June 1995. Vienna (Austria): IAEA and FAO.

- Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*. 15: 473-497.
- Osei-Kofi, F., H.M. Amoatey, and Y. Lokko. 1996. Improvement of pineapple (*Ananas comosus* (L) Merr.) using biotechnology and mutation breeding techniques, pp. 23-27, In: Proceedings of FAO/IAEA research coordination meeting on in vitro techniques for selection of radiation induced mutants adapted to adverse environmental conditions, held on 15-19 April 1996, Cairo, Egypt.
- Negrele, R. R. B., D. Mitchell, and A. Anacleto. 2012. Bromeliad ornamental: conservation issues and challenges related to commercialization. *Acta Scientiarum Biological Sciences. Maringa*. 34: 91-100.
- Sangsiri, C., W. Sorajjapinun, and P. Srinivesc. 2015. Gamma radiation induced mutation in Mungbean. *Science Asia* 31: 251-255.
- Sianipar, N., A. Wantho, Rustikawati, and W. Maarisit. 2013. The effects of gamma irradiation on growth response of rodent tuber (*Typhonium flagelliforme* Lodd.) mutant in vitro culture. *HAYATI Journal of Biosciences*. 20: 51-56.
- Yong C. K., and F. T. Davies Jr. 2000. Mutagenesis and in vitro culture of *Tillandsia fasciculata* Swartz var. *fasciculata* (Bromeliaceae). *Scientia Horticulturae*. 87: 225-240.