บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ของต้นกล้าบัวหลวงสายพันธุ์บุณฑริก ในสภาพปลอดเชื้อ

จากการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดบัวด้วยคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ ผสมสารจับใบ 2 หยด นาน 15 นาที และนำไปจุ่มในเอธทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ แล้วเผาด้วยเปลวไฟโดยตรง พบว่าไม่เกิดการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ กนกพร (2544) และ พวงชมพู (2546) ที่เพาะเลี้ยงเอ็มบริโอบัวหลวงสายพันธุ์บุณฑริกและฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีดังกล่าว อาจเนื่องจากคลอรอกซ์มีประสิทธิภาพในการฟอกกำจัดเชื้อได้ดี และการผสมสารจับใบทำให้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อดียิ่งขึ้น (Smith, 1992) นอกจากนี้เอ็มบริโอเป็นส่วนที่อยู่ภายในเมล็ด จึงไม่ได้สัมผัสกับสภาพแวดล้อมโดยตรง โอกาสได้รับเชื้อโรคต่างๆ จึงเป็นไปได้ยาก สำหรับอาหารที่เหมาะต่อการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และเททับด้วยอาหารเหลวสูตรเดียวกันอีกหนึ่งชั้น สอดคล้องกับการทดลองของพวงชมพู (2546) พบว่าการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอบัวหลวงสายพันธุ์บุณฑริก บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เททับด้วยอาหารเหลวสูตรเดียวกัน เอ็มบริโอมีการเจริญเติบโตสูงสุด การที่เป็นเช่นนี้ อาจเป็นเพราะอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเททับด้วยอาหารเหลวอีกหนึ่งชั้น ซึ่งเป็นการเลียนแบบการเจริญ เติบโตของบัวหลวงในสภาพธรรมชาติ จึงทำให้มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด นอกจากนี้ระดับสารควบคุมการเจริญเติบโตตามธรรมชาติที่มีอยู่ในบัวหลวงอาจมีความสมดุลอยู่แล้ว ทำให้มีเพียง พอที่ใช้ในการเจริญเติบโต จึงไม่ต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง

1.1 การชักนำให้เกิดยอดรวมโดยใช้ BA

จากการทดลองโดยใช้ BA ความเข้มข้น 0 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเอ็มบริโอที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และเททับด้วยอาหารเหลวสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตสามารถชักนำให้เอ็มบริโอเกิดยอดรวมได้ดีที่สุด สอดคล้องกับการทดลองของ กนกพร (2544) พบว่าการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอบัวหลวงสายพันธุ์บุณฑริกบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และเททับด้วยน้ำกลั่น อีกหนึ่งชั้นเกิดยอดรวมได้ดี เนื่องจาก BA จัดเป็นไซโทไคนิน ที่มีสมบัติช่วยเร่งการแบ่งตัวของเซลล์ การยืดของยอดและการสร้างยอด (Smith, 1992) ดังนั้นในการทดลองที่ไม่เติม BA จึงไม่มีการเกิดยอดรวม แต่อย่างไรก็ตามปริมาณความเข้มข้นของ BA ที่ใช้ในการชักนำให้เกิดยอด

รวม ต้องมีความเหมาะสมขึ้นกับชนิดพืช ถ้าน้อยเกินไป ดังเช่นการทดลองที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการเกิดยอดน้อยกว่า BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะเดียวกันถ้าความเข้มข้นมากเกินไปคือ 3 หรือ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเกิดยอดรวมได้น้อยลงจนกระทั่งไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดรวมได้เลย และยอดมีลักษณะบวม ฉ่ำน้ำ ซึ่งตรงกันข้ามกับ พวงชมพู (2546) ที่พบว่าการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอบัวหลวงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตรเกิดยอดรวมได้ดีที่สุด โดยยอดที่ได้มีลักษณะบวม ฉ่ำน้ำ อาจเนื่องจากอายุของเมล็ดที่นำมาเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแตกต่างกัน ผลการทดลองจึงไม่สอดคล้องกัน สำหรับเอ็มบริโอที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติม BA จะมีการเจริญเติบโตดีที่สุด แต่ไม่เกิดยอดรวม เหมือนกับ พวงชมพู (2546) ที่พบว่าเอ็มบริโอบัวหลวงเจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติม BA

การเกิดรากของเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้นต่างๆ และเททับด้วยอาหารเหลวสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต น้อยกว่าบัวหลวงต้นควบคุม อาจเนื่องจากการเพิ่ม BA ในอาหารทำให้พืชมีปริมาณไซโทไคนินมาก กว่าออกซิน ส่งผลให้เนื้อเยื่อพัฒนาเป็นยอด และอาจยับยั้งการยืดยาวของเซลล์รากได้ (สมบุญ, 2548)

1.2 การชักนำให้เกิดรากโดยใช้ NAA

จากการชักนำให้เกิดราก พบว่า NAA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเกิดรากได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ กนกพร (2544) และ พวงชมพู (2546) พบว่าการชักนำให้เกิดรากของยอดบัวหลวงสายพันธุ์บุณฑริกเกิดได้ดีที่สุด บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่นกัน ขณะที่อาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดรากเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนของปริมาณ NAA ที่เพิ่มขึ้น ส่วนความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ยอดบัวหลวงบวม ฉ่ำน้ำ การเจริญเติบโตชะงักและไม่เกิดราก เนื่องจาก NAA จัดเป็นออกซินชนิดหนึ่ง ซึ่งมีสมบัติช่วยเร่งการเจริญเติบโตของพืช โดยช่วยในการแบ่งเซลล์ เร่งการเกิดรากที่ความเข้มข้นต่ำ และจะยับยั้งการเกิดรากและการเจริญเติบโตเมื่อมีความเข้มข้นสูง (Bonga and Aderkas, 1992) ถ้าปริมาณออกซินภายในต้นพืชต่ำเกินไป การเพิ่มออกซินในอาหารที่เพาะเลี้ยงจะช่วยกระตุ้น ให้รากมีการเจริญแตกแขนง (Nair *et al.*, 1992)

ต้นควบคุมที่ไม่เติม NAA ยอดบัวหลวงสามารถเกิดรากได้เช่นกันแต่น้อยกว่ายอดที่เจริญบนอาหารที่เติม NAA ทุกความเข้มข้น เป็นไปในทำนองเดียวกับ Azria และ Bhalla (2000) เพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบ โตพบว่าสามารถเกิดรากได้ เนื่องจากในพืชมีออกซินในปริมาณที่เพียงพอสำหรับการเกิดราก แต่อาจมีในปริมาณต่ำกว่าที่พืชต้องการจึงเกิดรากได้น้อย การเพิ่มออกซินในอาหารจึงช่วยให้เกิดรากได้เพิ่ม

ขึ้น ซึ่งการเกิดรากนั้นมีความสัมพันธ์กับออกซินในต้นพืช และออกซินในอาหารเพาะเลี้ยง พืชบางชนิดที่มีปริมาณออกซินในต้นเพียงพอ จึงสามารถเกิดรากได้ในอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต นอกจากนี้ในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงมีการเติมน้ำตาลลงไปด้วย ซึ่งน้ำตาลเป็นแหล่งให้พลังงานในการเจริญเติบโตของพืช และจำเป็นสำหรับการเจริญ เติบโตของราก (Rashid, 1988)

ตอนที่ 2 ศึกษาอัตราการอยู่รอดของเอ็มบริโอบัวหลวงสายพันธุ์บุณฑริก หลังจากได้รับรังสี ในสภาพปลอดเชื้อ

จากผลการทดลอง พบว่าปริมาณรังสีที่เหมาะต่อการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในบัวหลวงอยู่ระหว่าง 0-10 กิโลแรด โดยปริมาณรังสีที่ทำให้พืชที่ฉายรังสีตายไป 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 6 กิโลแรด ซึ่งผลการทดลองนี้ตรงกันข้ามกับ Arunyanart และ Soontronyatara (2002) ที่ทดลองฉายรังสีแกมมากับไหลของบัวหลวงพันธุ์สัตตบุษย์ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ พบ ว่าค่า LD_{50} มีค่าเท่ากับ 2 กิโลแรด การที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากชิ้นส่วนและชนิดพันธุ์ของบัวหลวงที่นำมาฉายรังสีแตกต่างกัน โดยเมล็ดมีเปลือกหนาหุ้มช่วยป้องกันการทำลายจากรังสีได้ดีกว่าการฉายรังสีกับเนื้อเยื่อพืชโดยตรง จึงต้องใช้ปริมาณรังสีที่สูงกว่า อย่างไรก็ตาม พบว่าอัตราการอยู่รอดของเมล็ดจะลดลงตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น เป็นไปในทำนองเดียวกับ Matsumura (อ้างโดย Singh and Godward , 1974) พบว่าเมล็ดข้าวที่ได้รับรังสีปริมาณ 40 กิโลแรด อัตราการงอกลดลงเป็น 60 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ 70 กิโลแรด ไม่มีการงอกของต้นข้าวเลย การที่เมล็ดไม่งอก อาจเนื่องจากรังสีทำให้เกิดปรากฏการณ์ไอออไนเซชั่น ทำให้โมเลกุลของสารต่างๆ ที่อยู่ภายในเซลล์ หรือเป็นองค์ประกอบของเซลล์เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งอาจส่งผลทำให้การงอกของต้นกล้าเกิดได้ช้าลงหรือไม่สามารถงอกได้เลย รวมทั้งอาจสร้างความเสียหายกับโครโมโซม โดยพบว่าความผิดปกติจะเพิ่มมากขึ้นตามปริมาณรังสีที่สูงขึ้น (Marvin, 2001) หรืออาจเกิดจากรังสีไปทำปฏิกิริยากับน้ำภายในเมล็ดบัว ซึ่งมีน้ำสะสมอยู่มาก จึงทำให้เกิดอนุมูลอิสระมาก ซึ่งเป็นอันตรายต่อเซลล์หรือสารต่างๆ ภายในเซลล์ ยิ่งได้รับรังสีปริมาณสูงขึ้น ยิ่งทำให้เกิดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นด้วย จึงมีผลต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตจนกระทั่งถึงตายได้ (Sigurbjorhsson, 1983)

ตอนที่ 3 ศึกษาความแปรปรวนของการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ ของต้นกล้าบัวหลวงสายพันธุ์บุณฑริก หลังจากได้รับรังสี

บัวหลวงที่ได้รับรังสีปริมาณ 0 - 4 กิโลแรด สามารถเจริญเติบโตได้ โดยปริมาณ

รังสีที่เพิ่มขึ้นทำให้การเจริญเติบโตลดลง และเกิดลักษณะผิดปกติเพิ่มขึ้น ส่วนบัวหลวงที่ได้รับรังสีปริมาณ 6 - 10 กิโลแรด การเจริญเติบโตชะงักไม่สามารถเกิดยอดรวมและรากได้ และต้นตาย 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นไปในทำนองเดียวกับการทดลองของ Arunyanart และ Soontronyatara (2002) ที่ฉายรังสีกับไหลของบัวหลวงพันธุ์สัตตบุษย์ ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ พบว่าปริมาณรังสี 3-5 กิโลแรด ทำให้บัวหลวงเกิดลักษณะผิดปกติ และปริมาณรังสี 6 กิโลแรด ทำให้ต้นตาย 100 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองพบว่าปริมาณรังสีที่สูงขึ้น ทำให้การเจริญเติบโตลดลง ไม่สามารถเกิดยอดรวมและรากโดยตายในที่สุดนั้น อาจเนื่องจากรังสีที่ปริมาณสูงทำให้เกิดการขาดของโครโมโซม โดยส่วนที่ขาดไม่มีเซนโทรเมียร์ (acentric) ในที่สุดหลุดหายไปในไซโทพลาสซึม ส่งผลให้เซลล์ตาย (Sharma and Sharma, 1980)

3.1 ปริมาณรังสี 2 กิโลแรด

เอ็มบริโอที่ได้รับรังสี 2 กิโลแรด สามารถเกิดยอดรวมได้ดีกว่าต้นควบคุมและต้นที่ได้รับรังสีปริมาณอื่นๆ เป็นไปในทำนองเดียวกับการทดลองของ พวงชมพู (2546) พบว่าเอ็มบริโอบัวหลวงที่ได้รับรังสีปริมาณ 6 เกรย์ สามารถเกิดยอดรวมได้ดีกว่าเอ็มบริโอต้นควบคุมและที่ได้รับรังสีปริมาณ 2 4 8 และ 10 เกรย์ ประภาและคณะ (2534) พบว่าการสร้างยอดรวมของเมล็ดข้าว (*Oryza sativa* L.) เพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น จนถึง 28 กิโลแรด การเกิดยอดรวมจึงลดลง การที่เป็นเช่นนี้ อาจเนื่องจากรังสีไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการเปลี่ยน tryptophan เป็น IAA ซึ่งเป็นออกซินที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ทำให้พืชที่ได้รับรังสีมีปริมาณ IAA ลดลงไป ซึ่งการเกิดยอดต้องการออกซินในปริมาณต่ำ จึงมีการเกิดยอดรวมขึ้นมา (Gunekel, 1961) ยอดรวมมีลักษณะเป็นกระจุก ซึ่งแตกต่างจากต้นควบคุมที่เกิดยอดจากไหล เป็นไปในทำนองเดียวกับการทดลองของนงลักษณ์ (2541) พบว่าปริมาณรังสีแกมมา 20 เกรย์ ทำให้บีโกเนียเร็กซ์เกิดยอดเป็นกระจุก โดยมีสาเหตุจากรังสีมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการใช้อาหารในต้นพืช ทำให้เกิดการสะสมธาตุอาหารในบริเวณนั้นมาก นอกจากนี้ การเกิดยอดรวมเป็นกระจุก อาจเกี่ยวข้องกับรังสีกระตุ้นให้มีการแบ่งเซลล์ในเนื้อเยื่อเจริญมากขึ้น (Marvin, 2001) หรือรังสีอาจทำให้มีการสังเคราะห์ IAA ลดลง จึงทำให้เกิดยอดรวมมากเป็นกระจุก (Gunekel, 1961) ลักษณะผิดปกติของบัวหลวงที่ได้รับรังสีปริมาณ 2 กิโลแรด คือใบไหม้ หงิกงอ ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะหายไปหลังจากย้ายเลี้ยงครั้งที่ 2 ความผิดปกติที่เกิดขึ้นไม่ถ่ายทอดยังรุ่นต่อไป จึงน่าจะเป็นเพียงความผิดปกติทางด้านสรีรวิทยา (สิรนุช , 2540)

3.2 ปริมาณรังสี 4 กิโลแรด

3.2.1 ลักษณะที่ผิดปกติ

หลังจากเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอที่ได้รับรังสีปริมาณ 4 กิโลแรด พบว่าเกิดลักษณะผิดปกติหลายอย่าง เช่น ใบเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง เหมือนที่พบในการทดลองของกนกพร (2544) พวงชมพู (2546) และ Arunyanart และ Soontronyatara (2002) ที่พบว่ารังสีมีผลทำให้ใบที่เกิดขึ้นมีสีเหลือง การเกิดสีเหลืองของใบอาจมีสาเหตุมาจากมีการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ในใบ เนื่องจากคลอโรฟิลล์เป็นโมเลกุลซึ่งไม่ค่อยเสถียร สลายตัวได้ง่ายจากความร้อน ออกซิเจน และสารเคมีอื่นๆ (จริงแท้, 2549) นอกจากนี้พบใบที่มีสีแดงทางด้านหลังใบและขอบใบ เป็นไปในแนวทางเดียวกับ นงลักษณ์ (2541) พบว่าใบบีโกเนียเร็กซ์เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีแดง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของแอนโทไซยานิน จากการที่บัวหลวงเป็นพืชที่มีแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์อยู่ที่แวคิวโอล พบได้ทั้งในใบ ผล และราก สีของแอนโทไซยานินเปลี่ยนแปลงไปตาม pH ของสารละลายในแวคิวโอล ถ้าเป็นกรดจะมีสีแดง และเมื่อเป็นกรดอ่อนหรือเป็นกลางสีจะค่อยๆ จางลงจนไม่มีสี และเมื่อเป็นเบสจะมีสีน้ำเงิน นอกจากนี้พบว่าอุณหภูมิสูงสามารถกระตุ้นให้สร้างแอนโทไซยานินได้มากขึ้น โดยทำให้ยีนสร้างเอนไซม์ CHS (chalcone synthase) เพิ่มขึ้นมากกว่าปกติ ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ควบคุมการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน (จริงแท้, 2549) ดังนั้นผลการทดลองครั้งนี้ รังสีอาจทำให้เกิดการแตกตัวของน้ำภายในเซลล์ ส่งผลให้มีการเปลี่ยน แปลง pH ภายในแวคิวโอลทำให้มองเห็นสีแดง หรืออาจเกิดจากการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ เมื่อใบสูญเสียคลอโรฟิลล์ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่าพืชจะสังเคราะห์แอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น นอกจากนี้อาจเกี่ยวข้องกับรังสีทำให้อุณหภูมิในพืชสูงขึ้น ทำให้พืชสร้างแอนโทไซยานินได้มากขึ้น จึงมองเห็นใบมีสีแดง

จากผลการทดลองพบรูปร่างใบเปลี่ยนจากกลมเป็นรูปหอก ขอบใบม้วนหงิกงอและใบมีขนาดใหญ่กว่าปกติ เป็นไปในแนวทางเดียวกันกับการทดลองของ วิภาสิริ (2546) ที่พบว่ารังสีทำให้ความกว้างและความยาวของหญ้าซิกแนลนอนเพิ่มขึ้น และรังสีปริมาณต่ำสามารถกระตุ้นการเจริญของพืช ทำให้มีขนาดใหญ่กว่าต้นที่ไม่ได้รับรังสีได้ โดยพบว่าต้นพุทธรักษาที่ได้รับรังสีแกมมา มีลำต้นและขนาดของใบใหญ่กว่าต้นควบคุม (Sax, 1955) การเปลี่ยนแปลงทางด้านรูปร่างและขนาดของใบหลังจากได้รับรังสีนั้น อาจเนื่องจากรังสีไปมีผลกับเซลล์จุดกำเนิดของใบ (leaf primodia) เมื่อมีการเจริญเป็นใบจึงมีลักษณะผิดปกติหรือมีขนาดใหญ่ขึ้น (เสริมศิริ, 2530)

3.2.2 ลักษณะผิดปกติที่ไม่ถ่ายทอดทางพันธุกรรม

หลังจากย้ายเลี้ยงต้นบัวทั้งหมด 4 ครั้ง ครั้งละ 40 วัน พบว่าการเกิดยอดรวมและรากลดลงเล็กน้อย อาจเนื่องจากการย้ายเลี้ยงหลายๆ ครั้ง ทำให้ความสามารถในการเกิดเป็นต้นใหม่ลดลงได้ (คำนูณ, 2544) และลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้นของบัวหลวงหลังจากย้ายเลี้ยงไม่

มีความคงตัว มีการเปลี่ยนแปลงกลับไปเหมือนต้นปกติได้ ในขณะที่บางลักษณะยังคงอยู่แต่มีการแสดงออกไม่สม่ำเสมอ การที่ลักษณะผิดปกติที่พบจากการเพาะเลี้ยง สามารถกลับไปมีลักษณะเหมือนต้นปกติได้อีก เมื่อย้ายลงอาหารใหม่แสดงว่าความผิดปกติที่เกิดขึ้นอาจเป็นเพียงความผิดปกติทางด้านสรีรวิทยา ไม่ถ่ายทอดยังรุ่นต่อไป (สิรนุช, 2540)

3.2.3 ลักษณะผิดปกติที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรม

หลังจากย้ายเลี้ยงหลายๆ ครั้ง พบว่าลักษณะผิดปกติบางอย่างที่ยังคงอยู่และสามารถถ่ายทอดได้โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ ใบรูปหอก ขนาดใบและก้านใบใหญ่ อาจเนื่องจากรังสีทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับยีนหรือโครโมโซม โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลของรังสีที่ทำให้ดีเอ็นเอเกิดความเสียหาย หากไม่ได้รับการซ่อมแซมหรือได้รับการซ่อมแซมที่ผิดพลาดไป ย่อมก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมหรือการกลายพันธุ์ เนื่องจากกระบวนการซ่อมแซมมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องหลายชนิด ถ้าเกิดความผิดปกติในยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์เหล่านั้น ก็จะส่งผลให้เกิดความผิดพลาดในกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอ และเป็นผลทำให้ยีนที่ถูกซ่อมแซมต่างไปจากเดิมได้อีก (Sigurbjorhsson, 1983)

ตอนที่ 4 ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อจำนวนโครโมโซมและปริมาณดีเอ็นเอของบัวหลวงหลังจากได้รับรังสี

4.1 จำนวนโครโมโซม

การศึกษาโครโมโซมของบัวหลวงสายพันธุ์บุณฑริกจากเซลล์ปลายราก (2n) พบว่าต้นควบคุมมีจำนวนโครโมโซม 16 แท่ง เหมือนกับที่ ศิริลักษณ์ (2543) รายงานว่าจำนวนโครโมโซมบัวหลวงสายพันธุ์บุณฑริกมี 2n = 16 และจากการที่บัวหลวงมีจำนวนโครโมโซม 1 ชุด (x) เท่ากับ 8 (Darlington และ Wylie, 1955) ดังนั้นบัวหลวงจึงจัดเป็นพืชดิพลอยด์ (2n = 2x = 16)

จากการศึกษาจำนวนโครโมโซมของต้นบัวหลวงที่มีลักษณะผิดปกติ เนื่องจากได้รับรังสีปริมาณ 2 กิโลแรด พบว่าจำนวนโครโมโซมไม่เปลี่ยนแปลง คือมี 2n = 16 ในขณะที่รังสีปริมาณ 4 กิโลแรด พบว่าส่วนใหญ่ต้นที่ผิดปกติยังคงมีจำนวนโครโมโซม 2n = 16 และพบ 2n = 18 ในต้นที่แสดงลักษณะใบขนาดใหญ่และใบรูปหอก สอดคล้องกับ Arunyanart และ Soontronyatara (2002) พบว่าต้นบัวหลวงพันธุ์สัตตบุษย์ ที่ได้รับรังสีปริมาณ 2 กิโลแรด จำนวนโครโมโซมไม่เปลี่ยนแปลง ส่วนต้นที่ได้รับรังสีปริมาณ 3 และ 4 กิโลแรดมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นจากเดิม คือ 2n = 18 และ 2n = 20 ตามลำดับ การเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้น 2 แท่ง หรือเกิดอะนูพลอยด์ อาจมีสาเหตุเนื่องจากเกิดนอนดิสจังชัน (non-

disjunction) ซึ่งเป็นความล้มเหลวของการแยกตัวของโครมาทิดขณะที่มีไมโทซิส เมื่อสิ้นสุดการแบ่งเซลล์จึงทำให้เซลล์หนึ่งมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้น ขณะที่อีกเซลล์มีจำนวนโครโมโซมลดลง (Stickberger, 1990)

การทดลองครั้งนี้พบการขาดของโครโมโซม โดยเกิดขึ้นที่ส่วนปลายโครโม-
โซม ถ้าส่วนที่ขาดหายไปมียีนที่ควบคุมลักษณะอยู่ อาจมีผลทำให้ลักษณะภายนอกบางประการของพืชเปลี่ยนไป ทำให้เกิดลักษณะผิดปกติหรือถึงตายได้ (Woff, 1968) การขาดของโครโมโซมพบเป็นจำนวนน้อย อาจเนื่องจากการขาดหรือหักของโครโมโซมส่วนใหญ่ประมาณ 95% อาจมีการเชื่อมต่อเหมือนเดิม มีเพียงส่วนน้อยเชื่อมกับโครโมโซมอื่นหรือมีการขาดเกิดขึ้น ทำให้เกิดลักษณะผิดปกติได้ หรืออาจมีผลต่อการแบ่งเซลล์และการรอดชีวิตของเซลล์ (Brewen, 1964)

4.2 ปริมาณดีเอ็นเอของบัวหลวง

จากการวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องวัดปริมาณดีเอ็นเอ และใช้ใบอ่อนของผักกาดหัวที่มีปริมาณดีเอ็นเอเท่ากับ 1.11 พิโคแกรม เป็นต้นเปรียบเทียบมาตรฐาน (Dolezel *et al*., 1992) พบว่าปริมาณดีเอ็นเอของบัวหลวงต้นควบคุมและต้นที่ได้รับรังสีปริมาณ 2 กิโลแรด (2n = 16) มีค่าใกล้เคียงกันคือ 1.93 พิโคแกรม และ 1.95 พิโคแกรม ในขณะที่ต้นได้รับรังสี 4 กิโลแรด (2n = 18) มีปริมาณดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นเป็น 2.02 พิโคแกรม ซึ่งแตกต่างกับต้นควบคุมและต้นที่ได้รับรังสีปริมาณ 2 กิโลแรด อย่างมีนัยสำคัญ โดยปริมาณดีเอ็นเอของต้นที่ได้รับรังสี 4 กิโลแรด สอดคล้องกับจำนวนโครโมโซมที่เพิ่มขึ้น (2n = 18) เป็นไปในทำนองเดียวกับการทดลองของ Roux และคณะ (2003) ที่พบว่าการวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอต้นกล้วยที่ผ่านการฉายรังสีที่เกิดอะนูพลอยด์ (2n = 31, 32) มีปริมาณดีเอ็นเอน้อยกว่าต้นควบคุม (2n = 33)