หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

อภิปรายผลการทดลอง

การศึกษาโครโมโซมพุทธรักษาในราก โดยใช้วิธีทดลองซึ่งดัดแปลงจากของ จงจินต์ แปลกประพันธ์ (จงจินต์ แปลกประพันธ์, 2520) และ Mahanty (Mahanty, 1970) พบว่า โครโมโซมมีขนาดเล็กและย้อมติดสีได้ยาก มีโครโมโซมจำนวน 18 แท่ง ซึ่งตรงกับการทดลองของ จงจินต์ แปลกประพันธ์ (จงจินต์ แปลกประพันธ์, 2520) แสดงว่าพุทธรักษาพันธุ์นี้เป็น diploid ซึ่งมี basic number เท่ากับ 9 (Darington and Wylie, 1945) คารีโอไทพ์เป็นแบบ asymmetry karyotype คือประกอบด้วยโครโมโซมที่มี centromere แบบ metacentric submetacentric และ acrocentric chromosome ขนาดของโครโมโซมไม่ค่อยแตกต่างกันมากนัก โดยเฉพาะ 6 คู่แรก โครโมโซมคู่ที่สั้นที่สุดมีความยาวมากกว่าครึ่งหนึ่งของโครโมโซมคู่ที่ยาวที่สุด จึงแบ่งโครโมโซมออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีขนาดโครโมโซมค่อนข้างใหญ่มีค่า relative length ตั้งแต่ 0.066 ถึง 0.057 ประกอบด้วยโครโมโซม 6 คู่ คือ metacentric 2 คู่ submetacentric 3 คู่ และ acrocentric 1 คู่ ส่วนกลุ่มที่สองขนาดโครโมโซมค่อนข้างเล็กมีค่า relative length 0.048 ถึง 0.039. ประกอบด้วยโครโมโซม 3 คู่ คือ metacentric submetacentric และ acrocentric อย่างละ 1 คู่ ซึ่งคล้ายกับการศึกษาของ Mahanty (Mahanty, 1970) ต่างกันตรงลำดับของโครโมโซมคู่ที่ 1 - 6 โดย Mahanty จัดโครโมโซมคู่ที่ 1 - 3 เป็น submetacentric คู่ที่ 4 และ 6 เป็น metacentric คู่ที่ 5 เป็น acrocentric ทั้งนี้เนื่องจากขนาดของโครโมโซมคู่ที่ 1 - 6 ใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นถ้าเพิ่มจำนวนเซลล์ที่ศึกษาและกำลังขยายภาพให้สูงขึ้นอาจจัดลำดับของโครโมโซมคู่ที่ 1-6 ได้แน่ชัดขึ้น ส่วนโครโมโซมในกลุ่มที่ 2 ไม่พบ telocentric แต่พบ acrocentric ซึ่งมี CI เท่ากับ 0.698 แสดงว่าโครโมโซมแบบ telocentric ไม่ใช่ลักษณะเฉพาะของพืชสกุลพุทธรักษา แต่อาจพบได้ในพุทธรักษาบางพันธุ์เท่านั้น

นำหน่ออ่อนและต้นกล้าไปฉายรังสีแกมมาที่ได้จากธาตุโคบอลท์ 60 นำมาปลูกในกระถาง พบว่ามีการตายเกิดขึ้นทั้งในหน่อและต้นกล้าที่ได้รับรังสีทุกปริมาณรังสีที่ทำการทดลอง ทั้งนี้อาจเนื่องจากรังสีไปทำให้โมเลกุลของน้ำและสารประกอบต่าง ๆ ภายในเซลเกิดการแตกตัวและเปลี่ยนไป ทำให้ขบวนการทางเคมีต่าง ๆ หยุดทำงาน เซลจึงตาย *(Sparrow and Kanzak, 1958)* เปอร์เซ็นต์ของต้นที่รอดชีวิตในหน่อมีสหสัมพันธ์แบบเชิงเส้นตรงในทางตรงข้ามกับปริมาณรังสี กล่าวคือ จำนวนต้นที่รอดชีวิตจะน้อยลงเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้นโดยมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 90 เปอร์เซ็นต์ มีค่า *"r" (correlation coefficient)* เท่ากับ *- 0.8284 (degree of freedom* เท่ากับ 3) ซึ่งต่างกับการทดลองของ จงจินต์ แปลกประพันธ์ (จงจินต์ แปลกประพันธ์, 2520) ที่ทำการทดลองในหน่อพุทธรักษาชนิดเดียวกัน เขาพบว่าปริมาณรังสี *2500 rads* ทำให้เปอร์เซ็นต์ของต้นที่รอดชีวิตสูงกว่า *1500* และ *2000 rads* และการรอดชีวิตของหน่อไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณรังสี ผลที่แตกต่างกันอาจเนื่องจากลักษณะหน่อที่เลือกใช้ในการทดลองแตกต่างกัน ในการทดลองครั้งนี้เลือกใช้หน่อที่มีราก ส่วนจงจินต์ แปลกประพันธ์ ใช้หน่ออ่อนที่ยังไม่มีราก หลังจากฉายรังสีจึงนำไปเพาะจำให้มีราก ขั้นการเจริญของหน่ออาจทำให้ความสัมพันธ์ระหว่างการรอดชีวิตกับปริมาณรังสีเปลี่ยนแปลงไป

ต้นกล้าที่ได้รับรังสีรอดชีวิตน้อยกว่าต้นที่ไม่ได้รับรังสี เปอร์เซ็นต์ของต้นที่รอดชีวิตมีสหสัมพันธ์แบบเชิงเส้นตรงในทางตรงข้ามกับปริมาณรังสีเช่นเดียวกับในหน่อ โดยมีค่า *"r"* เท่ากับ *- 0.8948 (degree of freedom* เท่ากับ 3) ต้นที่รอดชีวิตจะลดน้อยลงเมื่อปริมาณรังสีสูงขึ้น โดยมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์ของต้นที่รอดชีวิตในต้นกล้าต่ำกว่าในหน่อที่ระดับปริมาณรังสีเท่ากัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากหน่อที่ทำการทดลองมีขนาดโตกว่าต้นกล้า การเจริญเติบโตของหน่อและต้นกล้าจึงแตกต่างกัน *Sparrow* และคณะ *(Sparrow et al, 1961)* กล่าวว่า ส่วนของพืชที่มีอัตราการเจริญเร็วจะมีความไวต่อรังสี *(radio sensitivity)* มากกว่าส่วนที่มีการเจริญช้ากว่า ทำให้ต้นกล้ามีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตน้อยกว่าในหน่อ

เมื่อทำการศึกษาการเจริญเติบโตของหน่อและต้นกล้าที่ได้รับรังสี เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับรังสี พบว่าหน่อที่ได้รับรังสี 500 *rads* เจริญดีกว่าหน่อที่ไม่ได้รับรังสี โดยสังเกตจากกราฟรูปที่5 และ 6 ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ที่ปริมาณรังสี 500 *rads* สามารถกระตุ้นให้พุทธรักษาเจริญได้ดียิ่น *Sax* (*Sax, 1955)* กล่าวถึงการทดลองของ *Wort* ว่า รังสีปริมาณต่ำ ๆ กระตุ้นการเจริญของพืชทำให้มีขนาดใหญ่กว่าต้นที่ไม่ได้รับรังสีได้ พบว่าความสูงของลำต้นรวมทั้งขนาดใบของต้นที่ได้รับรังสี 500 *rads* เมื่ออายุ 120 วัน มีขนาดใหญ่กว่าต้นที่ไม่ได้รับรังสี แต่ความแตกต่างดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ต้นที่ได้รับรังสี 1000 *rads* และ 2000 *rads* การเจริญเติบโตตลอดจนความสูงและขนาดใบเมื่ออายุ 120 วัน ไม่แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้รับรังสี แต่หน่อที่ได้รับรังสี 1500 *rads* ในต้นฤดูฝนให้ผลการทดลองที่แตกต่างจากหน่อที่ได้รับรังสีกลางฤดูฝน กล่าวคือ หน่อที่ได้รับรังสี 1500 *rads* กลางฤดูฝนมีการเจริญเติบโตช้ากว่าความสูงของลำต้นและขนาดใบเล็กกว่าต้นที่ไม่ได้รับรังสี ในขณะที่หน่อที่ได้รับรังสีในต้นฤดูฝนลักษณะดังกล่าวไม่แตกต่างจากต้นปกติ ทั้งนี้อาจเนื่องจากหน่อที่ได้รับรังสีในกลางฤดูฝนมีเซลบริเวณเนื้อเยื่อเจริญกำลังอยู่ในระยะแบ่งเซลมากกว่าหน่อที่ได้รับรังสีในต้นฤดูฝน ทำให้โดนรังสีทำลายได้มากกว่า เป็นผลให้ขนาดของลำต้นและใบเล็กลง เหมือนการทดลองของ *Mukherjee* และ *Khoshoo (Mukherjee and Khoshoo, 1970 b)* ซึ่งเขาอ้างการค้นพบของ *Gardon* ว่า การลดขนาดของพืชอาจเนื่องจากการลังเคราะห์ *auxin* ถูกทำลายด้วยรังสี ทำให้กระบวนการเมตาโบลิซึ่มของพืชลดลง และทำให้ขนาดของพืชลดลงไปด้วย

ต้นกล้าที่ได้รับรังสี 2000 *rads* มีลำต้นเตี้ยและขนาดใบเล็กกว่าต้นที่ไม่ได้รับรังสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ส่วนปริมาณรังสีอื่น ๆ การเจริญเติบโต ความสูง และความยาวใบเมื่ออายุ 120 วัน ไม่แตกต่างจากต้นที่ไม่ได้รับรังสี แต่ความกว้างใบลดลง เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความสูงและขนาดใบของต้นพุทธรักษาที่เจริญจากหน่อและต้นกล้าจะพบว่าต้นที่เจริญจากต้นกล้าจะมีขนาดลำต้นเตี้ยกว่าต้นที่เจริญจากหน่อ ทั้งกลุ่มที่ได้รับและไม่ได้รับรังสี ดังนั้นน่าจะทำการทดลองฉายรังสีแก่ต้นกล้าให้มากกว่านี้ เนื่องจากเคยพบต้นกล้าที่ได้รับรังสี 1000 และ 1500 *rads* บางต้นให้ดอกเมื่อความสูงของลำต้น

เพียง 45 - 50 เซนติเมตร ขณะที่หน่อที่ได้รับรังสีเท่ากันให้ดอกเมื่อความสูงประมาณ 70 เซนติเมตร ขึ้นไป การฉายรังสีแก่ต้นกล้าและการคัดเลือกพันธุ์อาจทำให้ได้พุทธรักษาที่มีลักษณะลำต้นเตี้ย ขนาดใบเล็กลง ใช้เป็นไม้ประดับหรือไม้กระถางได้ดี

ใบที่งอกจากหน่อและต้นกล้าที่ได้รับรังสี ใบแรก ๆ มักมีลักษณะผิดปกติ เช่น ใบค่อนข้างเล็กรูปร่างผิดปกติ แต่ใบที่งอกต่อมาจะมีลักษณะเกือบปกติและเป็นปกติในที่สุด ผลที่เกิดขึ้นเหมือนกับการทดลองของ จงจินต์ แปลกประพันธ์ (จงจินต์ แปลกประพันธ์, 2520) *Mukherjee* และ *Khoshoo (Mukherjee and Khoshoo, 1970 b)* และอรรถ นาครทรรพ *(Nakornthap, 1965)* ซึ่งเคยพบว่า หลังการฉายรังสีใบแรก ๆ มักมีรูปร่างผิดปกติ แต่ใบที่งอกต่อมาภายหลังรูปร่างลักษณะและขนาดคล้ายกับใบปกติ *Sparrow* และ *Konzak (Sparrow and Konzak, 1958)* กล่าวว่า ผลของรังสีที่มีต่อพืชหลัง การฉายรังสีส่วนใหญ่จะเป็นการทำลายเพียงชั่วคราว พืชมักจะกลับเป็นปกติอย่างเดิมได้ หน่อใหม่ที่งอกจากต้นที่ได้รับรังสีบางต้นมีใบแรกผิดปกติคล้ายกับใบแรก ๆ ของต้นเดิม แสดงว่าหน่อนั้นคงเจริญจากเซลบริเวณที่ได้รับความ กระทบกระเทือนจากรังสี แต่ใบต่อๆ มาของหน่อใหม่พบว่ามีลักษณะปกติ อาจเนื่องจากเซลที่ได้รับความกระทบกระเทือนจากรังสีมีส่วนประกอบของเซลเปลี่ยนไป ทำให้การสร้าง *DNA* ต้องหยุดชะงักลง เซลเหล่านี้จึงแบ่งตัวช้า *(Ahnstom, 1974)* หรือความผิดปกติบางประการของโครโมโซมอาจระงับไม่ให้เกิดการแบ่งเซลได้ *(Sheldon Wolff, 1968)* เป็นผลให้เซลที่ปกติเจริญได้เร็วกว่า ใบที่เจริญต่อมาภายหลังจึงมีลักษณะปกติ

การมีแถบสีเหลืองขนาดต่าง ๆ ขนานกับเส้นใบ หรือมีจุดเหลืองบนตัวใบ เนื่องจากยีนที่ควบคุมการสร้างคลอโรฟิลบางยีนถูกทำลาย ทำให้ปฏิกริยาการเปลี่ยนสารตั้งต้นของคลอโรฟิลดำเนินไปไม่ถึงขั้นสุดท้าย *(Sinnott, 1958)* ทำให้ไม่เกิดคลอโรฟิล บางบริเวณจึงเห็นเป็นสีเหลือง ส่วนรูปร่างของใบที่ผิดปกติเช่น มีรอยหยักที่ขอบใบดังรูปที่ 21 และมีรอยเว้าที่ขอบใบเข้าสู่กลางใบดังรูปที่ 22 อาจเนื่องจาก *primordia* ของใบถูกรังสีทำลาย เมื่อเจริญเป็นใบจึงมีลักษณะผิดปกติดังกล่าว

การเปลี่ยนสีของดอกจากสีชมพูเป็นสีครีมในต้นกล้าที่ฉายรังสี 500 *rads* 1 ต้น เหมือนกับการทดลองของ จงจินต์ แปลกประพันธ์ (จงจินต์ แปลกประพันธ์, 2520) ซึ่งพบ

การเปลี่ยนสีของเพตอลลอยด์ส่ตามิโนดในหน่อที่ได้รับรังสี การที่เป็นเช่นนี้ได้ให้เหตุผลไว้ว่า ต้นพุทธรักษาพันธุ์นี้มีสีชมพูเนื่องจากมียีโนไทพ์เป็น *heterozygous* ระหว่างสีชมพูกับสีครีม โดยมีสีครีมเป็นลักษณะด้อย ส่วนสีชมพูเป็นลักษณะเด่น เมื่อโดนรังสีทำให้สีชมพูเปลี่ยนจากยีนลักษณะเด่นเป็นด้อย หรือเนื่องจากรังสีทำให้ส่วนของโครโมโซมหัก ทำให้ยีนที่ควบคุมลักษณะสีชมพูหายไป ทำให้สีชมพูจางลงและเมื่อยีนหลายคู่เปลี่ยนไปทำให้สีชมพูเปลี่ยนเป็นสีครีม หรืออาจเนื่องจากเซลชั้นนอกที่มียีนสีชมพูถูกทำลาย เซลชั้นในซึ่งมียีนสีครีมจึงพัฒนาต่อมาเป็นเซลชั้นนอก จึงเห็นดอกพุทธรักษาเป็นสีครีม ส่วนการที่ดอกมีสีชมพูเข้มขึ้นอาจเนื่องจากยีนที่มีลักษณะเด่นเกิด *duplication* มากขึ้นกว่า 1 ตัว นอกจากนี้ *Mukherjee* และ *Khoshoo (Mukherjee and Khoshoo, 1970 b)* พบว่าการเปลี่ยนสีของดอกมักเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง เหมือนกับการทดลองของ อรรถ นาครทรรพ *(Narkornthap, 1965)*

ศึกษาผลของรังสีที่มีต่อโครโมโซมพุทธรักษาในระยะเอนาเฟสจากเซลปลายรากของต้นที่ได้รับรังสีปริมาณต่าง ๆ เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับรังสี พบความผิดปกติของโครโมโซมทั้งในหน่อและต้นกล้าที่ได้รับรังสี ความผิดปกติที่พบคือ โครโมโซมเคลื่อนที่ช้า *(chromosome lagging)* โครโมโซมบางแท่งไม่เคลื่อนที่ไปรวมกับโครโมโซมอื่น ๆ ที่ขั้วเซล ซึ่งพบในพุทธรักษาที่ได้รับรังสีทุกปริมาณรังสีที่ทำการทดลอง ส่วน *chromosome bridge* และ *fragment* พบเฉพาะในกลุ่มที่ได้รับรังสี 1500 และ 2000 *rads* จากการทดลองพบว่าความผิดปกติของโครโมโซมมีส่หลัมพันธ์กับปริมาณรังสีในเชิงเส้นตรง กล่าวคือเมื่อหน่อและต้นกล้าได้รับรังสีสูงขึ้น เปอร์เซ็นต์ของเซลที่มีโครโมโซมผิดปกติจะเพิ่มมากขึ้น หรือเปอร์เซ็นต์เซลที่มีโครโมโซมปกติจะลดลง เหมือนกับการทดลองของ *Mujub* และ *Greig (Mujub, and Greig, 1973)* ซึ่งทำการทดลองในต้นกล้าของ *Pisum sativum L.* พบว่าเปอร์เซ็นต์เซลผิดปกติในแต่ละปริมาณรังสีไม่มากนัก *Conger (Conger, 1965)* กล่าวว่าความผิดปกติของโครโมโซมที่พบในระยะเอนาเฟสจะมีเพียง 25 เปอร์เซ็นต์ ของความผิดปกติที่จะพบในระยะเมตาเฟส ทั้งนี้เนื่องจาก *chromosome bridge* ที่เกิดขึ้นอาจขาดออกจากกันก่อนจะสังเกตเห็น หรือ *fragment* ที่เกิดขึ้นอาจซ่อนอยู่ในกลุ่มของโครโมโซมตรงขั้วเซลทำให้สังเกตไม่ได้ นอกจากนั้นความผิดปกติที่พบในระยะเมตาเฟสมีเพียง 20 เปอร์เซ็นต์ ของที่

เกิดขึ้นทั้งหมด ดังนั้นเปอร์เซนต์ของโครโมโซมผิดปกติที่ศึกษาในระยะ เอนา เฟสจึงน้อยกว่าที่เกิดขึ้นจริงมาก

โครโมโซมเคลื่อนที่ช้า (lagging) อาจทำให้ส่วนของโครโมโซมบางส่วนขาดหายไป ซึ่งมีผลให้ลักษณะภายนอกบางประการของพุทธรักษาเปลี่ยนไปได้ ส่วนการที่โครโมโซมบางแท่งไม่เคลื่อนไปรวมกับกลุ่มโครโมโซมที่ขั้วเซลอาจเนื่องจากรังสีทำลาย spindle fiber เป็นผลให้เซลลูกมีโครโมโซมขาดหายไป ซึ่งอาจทำให้เซลนั้นตายเป็นผลให้การเจริญเติบโตของพืชชะงักหรือเจริญช้ากว่าต้นที่ไม่ได้รับรังสี

ความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดขึ้น Sheldon Wolff (Sheldon Wolff, 1968) กล่าวว่าจะมีผลต่อการแบ่งเซลและการรอดชีวิตของเซล โดย anaphase bridge สามารถระงับไม่ให้เกิด cytokinesis ได้ ซึ่งอาจจะมีผลต่อการเพิ่มจำนวนและการรอดชีวิตของเซล นอกจากนั้นการที่โครโมโซมบางแท่งไม่เคลื่อนไปยังขั้วเซลหลุดลอยอยู่ในไซโตพลาสซึม และการเคลื่อนที่ช้าของโครโมโซมเป็นผลให้โครโมโซมหรือส่วนของโครโมโซมหายไปจากเซลลูกที่ได้ใหม่ ความผิดปกติของโครโมโซมมักมีผลให้เซลตาย ดังนั้นในหน่อและต้นกล้าที่ได้รับรังสีสูงขึ้น จึงมีเปอร์เซนต์ของการตายสูงขึ้นด้วย

อนึ่ง เป็นที่น่าสังเกตว่าเปอร์เซนต์ต้นที่รอดชีวิตในหน่อที่ได้รับรังสี 1000 rads (ตารางที่ 5) ต่ำกว่าหน่อที่ได้รับรังสี 1500 และ 2000 rads ทั้งนี้อาจเนื่องจากในการทดลองครั้งนี้นำหน่อไปฉายรังสีไม่พร้อมกันทุกปริมาณรังสี (ตารางที่ ฆ. 1) ทำให้สภาพของหน่อที่ได้รับรังสีมีความแตกต่างกัน คาดว่าถ้าหน่อพุทธรักษาได้รับรังสีพร้อมกันในสภาพแวดล้อมอย่างเดียวกันทุกระดับปริมาณรังสี หน่อที่ได้รับรังสี 1000 rads จะรอดชีวิตมากกว่านี้ ดังกราฟในรูปที่ 7