การแปรผันและการกลายของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
Variation and Mutation of Plant from Tissue Culture

กิตติ โพธิปัทมะ[1]* สุริยา ฤธาทิพย์[2] และ กรวิศฎ์ ณ ถลาง[3]
Kitti Bodhipadma[1]* Suriya Rutatip[2] and Koravisd Nathalang[3]

บทคัดย่อ

การแปรผันและการกลายของพืชเนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเหตุการณ์สำคัญก่อให้เกิดการสั่นคลอนในความเชื่อดั้งเดิมที่ว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะให้พืชตรงตามพันธุ์มีลักษณะเหมือนเดิมทุกประการ ซึ่งการแปรผันนี้มีชื่อเรียกเฉพาะว่า “การแปรผันของเซลล์ร่างกาย” ส่วนการกลายของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นจะเกิดจากสิ่งก่อการกลายทั้งทางกายภาพหรือเคมีเป็นตัวชักนำ จวบจนปัจจุบันได้มีการชักนำให้เกิดการแปรผันและการกลายของพืชหลายๆ ชนิด เพื่อใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช ทำให้ได้รับพืชสายพันธุ์ใหม่ๆ มากมาย บทความนี้จึงได้นำเสนอถึงหลักการและประโยชน์ของการแปรผันและการกลายของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

คำสำคัญ: การกลาย การแปรผัน การแปรผันของเซลล์ร่างกาย การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Abstract

Plant variation and mutation from tissue cultures is the milestone shaking an old belief that plantlets through in vitro culture must be identical to the original source. Variation of regenerated plants from tissue culture is referred to with a specific term “somaclonal variation” whereas in vitro mutation they are induced by physical or chemical mutagens. Until now, induction of variation and mutation has been carried out from various plant species for advantages of breeding and providing new varieties of plants. This article discusses the principle and benefits of plant variation and mutation from tissue culture.

Keywords: Mutation, Variation, Somaclonal Variation, Plant Tissue Culture

1 รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

2 อาจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

3 อาจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

* Corresponding Author, Tel. 0-2587-8257, E-mail: kbm@kmutnb.ac.th

รับเมื่อ 30 มีนาคม 2554 ตอบรับเมื่อ 2 สิงหาคม 2554

1. บทนำ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นส่วนหนึ่งของเทคโนโลยีชีวภาพพืชที่สำคัญ [1] ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อให้เกิดความสำเร็จในหลายๆ ด้านได้ เช่น พันธุวิศวกรรม ซึ่งถ้ามีการตัดต่อจีน (Gene) ในเซลล์พืชเสร็จเรียบร้อยแล้ว แต่หากไม่อาจทำให้เซลล์ดังกล่าวเจริญไปเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้ด้วยเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เราก็ไม่มีโอกาสที่จะใช้ประโยชน์ในระดับของต้นพืชได้เลย

ในอดีตมีความเชื่อกันว่าพืชที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นจะมีลักษณะที่ตรงกับพันธุ์เดิมทุกประการ จึงทำให้ผู้ประกอบการนำเทคโนโลยีนี้ไปขยายพันธุ์พืชเชิงการค้ามากมายหลายชนิด อาทิเช่น กล้วยไม้ หน้าวัว และแอฟริกันไวโอเล็ต เป็นต้น ส่งผลให้มีการเพิ่มจำนวนของพืชอย่างรวดเร็วและสร้างรายได้ให้กับผู้ลงทุนเป็นอย่างมาก จวบจน Larkin และ Scowcroft [2] เปิดเผยให้เห็นว่าความจริงแล้วมีการแปรผัน (Variation) เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้ ซึ่งทำให้เราสามารถได้รับพืชสายพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะบางประการตามต้องการด้วยเทคโนโลยีนี้ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าถ้าให้สิ่งก่อการกลาย (Mutagen) ในขณะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะทำให้เราได้รับพืชสายพันธุ์ใหม่และช่วยย่นระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์พืชได้อีกด้วย [3] บทความนี้จึงได้นำเสนอถึงการแปรผันและการกลาย (Mutation) ของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่ามีหลักการและประโยชน์อย่างไร

2. การแปรผันของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในปัจจุบันจัดเป็นเครื่องมือสำคัญของนักปรับปรุงพันธุ์พืชที่ใช้สำหรับการชักนำให้เกิดการแปรผันของพืช Larkin และ Scowcroft [2] ได้ให้คำที่แสดงความหมายของการแปรผันของพืชที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อโดยเฉพาะว่า “การแปรผันของเซลล์ร่างกาย (Somaclonal Variation)” เนื่องจากเป็นการแปรผันที่เกิดขึ้นในเซลล์ร่างกาย (Somatic Cell) ของพืชจากการเพาะเลี้ยงเซลล์หรือแคลลัส (Callus) ซึ่งในปัจจุบันนี้ คำว่า “การแปรผันของเซลล์ร่างกาย” ได้ถูกนำมาใช้กันโดยทั่วไปในความหมายสำหรับสายพันธุ์แปรผันหรือผลจากการแปรผัน (Variant) ที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในทุกรูปแบบ [4]

2.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการแปรผันของเซลล์ร่างกาย

ปัจจัยหลักที่มีอิทธิพลต่อการแปรผันของเซลล์ร่างกาย [4], [5] ได้แก่ 1) การจัดระบบของเนื้อเยื่อ พบว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งยังไม่มีการจัดระบบ เช่น โพรโทพลาสต์ (Protoplast) เซลล์หรือแคลลัส จะพบการแปรผันมากกว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งมีการจัดระบบแล้ว 2) แบบชนิดพันธุกรรมหรือจีโนไทป์ (Genotype) พบว่า พืชที่มีจีโนไทป์แตกต่างกันจะมีการแปรผันไม่เท่ากัน เช่น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยพันธุ์ ‘New Guinea Cavendish’ จะมีการแปรผันสูงกว่าพันธุ์ ‘Williams’ 3) ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเติบโต พบว่าปริมาณและชนิดของสารควบคุมการเติบโตส่งผลให้เกิดการแปรผันที่แตกต่างกัน เช่น สาร BA (6-Benzyladenine) ความเข้มข้นสูง (30 มิลลิกรัมต่อลิตร) ส่งเสริมให้เกิดการแปรผันของแคลลัสข้าวมากกว่าที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 4) แหล่งของเนื้อเยื่อ พบว่าชิ้นส่วนของพืช (Explant) จากราก ใบ และลำต้น โดยทั่วไปจะให้สายพันธุ์แปรผันได้มากกว่าตาข้างและปลายยอด 5) จำนวนครั้งและระยะเวลาที่เพาะเลี้ยงต่อช่วง (Subculture) พบว่าการเพิ่มจำนวนครั้งและระยะเวลาที่เพาะเลี้ยงต่อช่วงจะกระตุ้นให้อัตราการแปรผันเพิ่มมากขึ้น และ 6) ความเค้น (Stress) พบว่าหากให้ความเค้น เช่น ความเค็มและภาวะกรด เป็นต้น ในขณะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถชักนำให้เกิดการแปรผันของเซลล์ร่างกายได้

ผลจากปัจจัยหลักที่กล่าวมาข้างต้นจะสัมพันธ์กับการเกิดสิ่งต่อไปนี้ภายในเซลล์ [6], [7] 1) พอยต์มิวเทชัน (Point Mutation) 2) การจัดตัวใหม่และการรวมจีนใหม่ของโครโมโซม 3) การเติมเมทิลให้ดีเอ็นเอ (DNA Methylation) 4) การเปลี่ยนลำดับเบสในจีโนม และ 5) การกระตุ้นจีโนมซึ่งเคลื่อนที่ได้ (Transposable

Elements) ซึ่งจะนำไปสู่การแปรผันของเซลล์ร่างกายตั้งแต่ระดับโมเลกุล โครโมโซม ไซโทพลาซึม เซลล์เนื้อเยื่อ และการเกิดสัณฐานของพืชในที่สุด

2.2 ข้อดีข้อด้อยของการแปรผันของเซลล์ร่างกาย

เนื่องจากการแปรผันของเซลล์ร่างกายจะช่วยเสริมในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืชแบบดั้งเดิมได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงส่งผลให้การแปรผันของเซลล์ร่างกายมีประโยชน์หรือข้อดีดังต่อไปนี้ [6] 1) การแปรผันสามารถเกิดขึ้นได้ในลักษณะสืบสายพันธุ์ (Trait) ซึ่งมีความสำคัญเชิงเศรษฐกิจการเกษตร 2) การแปรผันสามารถเกิดขึ้นได้ด้วยความถี่สูง 3) การแปรผันบางอย่างสามารถจัดเป็นสิ่งใหม่ซึ่งไม่อาจจะเกิดขึ้นได้ด้วยการปรับปรุงพันธุ์พืชแบบดั้งเดิม 4) อาศัยการคัดเลือกจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะช่วยคัดแยกสายพันธุ์ที่ทนทานต่อความเค้นชีวนะและอชีวนะ (Abiotic and Biotic Stress) ได้ 5) อาศัยการคัดเลือกจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะช่วยลดระยะเวลาของการคัดแยกลักษณะสืบสายพันธุ์ตามที่ต้องการได้ และ 6) ได้ประชากรของเซลล์จำนวนมากที่สามารถนำมาใช้ในการคัดเลือกจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้

ศักยภาพที่สำคัญอีกประการหนึ่งของการแปรผันของเซลล์ร่างกายคือการเพิ่มการแปรผันทางพันธุกรรมให้กับพันธุ์ปลูก (Cultivar) ซึ่งมีความสำคัญเชิงเศรษฐกิจการเกษตร โดยไม่ต้องอาศัยกระบวนการเกิดลูกผสม (Hybridization) แต่อย่างใด วิธีการนี้จะมีค่ามากถ้าการคัดเลือกลักษณะสามารถทำได้ในขณะที่มีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หรือถ้ามีวิธีการทดสอบคัดเบื้องแรก (Screening Method) อย่างรวดเร็ว [1]

อย่างไรก็ตามการใช้การแปรผันของเซลล์ร่างกายก็มีจุดอ่อนหรือข้อด้อยที่ควรระวัง [6] ได้แก่ 1) การแปรผันอาจจะไม่สามารถทำให้เกิดขึ้นได้ในลักษณะสืบสายพันธุ์ที่ซับซ้อน 2) การแปรผันอาจเกิดขึ้นในทิศทางตรงกันข้ามกับสิ่งที่ต้องการ 3) คาดเดาได้ยากว่าการแปรผันจะเกิดขึ้นหรือไม่ 4) สายพันธุ์ที่คัดแยกได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออาจจะมีพันธุกรรมไม่เสถียร 5) สายพันธุ์ที่คัดแยกได้ต้องการพื้นที่กว้างในการทดสอบ และ 6) สายพันธุ์ที่คัดแยกได้อาจจะไม่เสถียรเนื่องจากจีโนมซึ่งเคลื่อนที่ได้และการเติมเมทิลให้ดีเอ็นเอ

2.3 ลักษณะที่เกิดจากการแปรผันของเซลล์ร่างกาย

พืชที่เกิดขึ้นจากการแปรผันของเซลล์ร่างกายมีลักษณะหลายประการที่มีศักยภาพเด่นซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ทั้งทางด้านการเกษตรและป่าไม้ได้ เช่น มีการสร้างสารสี (Pigment) หรือมีการผลิตน้ำมันหอมระเหย (Essential Oil) ที่ต้องการ พืชมีขนาดใหญ่และแข็งแรงมากขึ้น มีขนาดดอกใหญ่ขึ้น มีเพศของดอกที่จำเพาะเจาะจง มีเนื้อผลมากขึ้น มีการสร้างเมล็ดมากขึ้น พืชมีความทน (Tolerance) ต่อความเค็ม หรือมีความต้านทาน (Resistance) ต่อโรคได้หลายชนิด ซึ่งการแปรผันดังกล่าวพบได้ในพืชหลากหลายชนิด ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด ข้าวสาลี อ้อย มะเขือเทศ มันฝรั่ง แอปเปิล กล้วยไม้ มะละกอ และต้น poplar เป็นต้น [1], [6], [8]-[10]

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการแปรผันของเซลล์ร่างกายจึงเป็นเครื่องมือที่ทรงประสิทธิภาพและถูกกว่าวิธีอื่นๆ ในการจัดการด้านพันธุกรรมพืช ซึ่งในปัจจุบันนี้มีการนำไปประยุกต์ใช้กันอย่างแพร่หลายอันเนื่องมาจากวิธีดำเนินการที่ไม่ยุ่งยาก การแปรผันของเซลล์ร่างกายจึงประสบความสำเร็จอย่างมากเมื่อนำมาใช้กับพืชที่มีข้อจำกัดในระบบพันธุกรรม (Genetic System) และ/หรือมีฐานพันธุกรรม (Genetic Base) แคบ เนื่องจากการแปรผันของเซลล์ร่างกายสามารถส่งเสริมให้เกิดการแปรผันเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืชได้อย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็ว [5]

3. การกลายของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเกิดการกลาย (Mutagenesis) ของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อาจจัดเป็นการแปรผันที่เกิดขึ้นในขณะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้ แต่การกลายนี้จะต้องอาศัยสิ่งก่อการกลายทางกายภาพหรือเคมีเป็นตัวชักนำ ซึ่งการใช้รังสีและสารเคมีที่ก่อการกลายร่วมกับ

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชก็เป็นวิธีการที่ใช้กันโดยแพร่หลาย และเป็นหนทางหนึ่งที่จะช่วยในการปรับปรุงพันธุ์พืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ การกลายของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะเอื้ออำนวยให้เกิดการชักนำการแปรผัน การคัดเลือก และการเพิ่มจำนวนของแบบชนิดพันธุกรรมตามที่เราประสงค์ในช่วงเวลาที่สั้นกว่าและใช้เนื้อที่น้อยกว่าวิธีการปรับปรุงพันธุ์พืชแบบดั้งเดิม [11]

3.1 การใช้รังสีก่อการกลาย

เนื่องจากอัตราการกลายเกิดเอง (Spontaneous Mutation) มีค่าต่ำมาก จึงได้มีการใช้การชักนำการกลาย (Induced Mutation) เพื่อเพิ่มทั้งอัตราและความถี่ของการกลาย [12] การชักนำการกลายทำได้โดยการใช้รังสีที่เป็นสิ่งก่อการกลายทางกายภาพ [13] เช่น รังสีแกมมา (Gamma Rays) รังสีเอกซ์ (X-rays) และลำแสงไอออน (Ion Beams) ทั้งในรูปแบบเฉียบพลัน (Acute) หรือเรื้อรัง (Chronic) ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการแปรผันทางพันธุกรรมและทำให้เราสามารถคัดเลือกลักษณะตามต้องการได้ การชักนำการกลายจึงช่วยเพิ่มความเป็นไปได้ของลักษณะสืบสายพันธุ์ที่มีความสำคัญเชิงเศรษฐกิจซึ่งไม่อาจพบได้ตามธรรมชาติหรืออาจสูญหายไปในระหว่างวิวัฒนาการ [14] นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้สิ่งก่อการกลายทางกายภาพมีข้อได้เปรียบมากกว่าสิ่งก่อการกลายทางเคมีในแง่ของการที่ไม่ต้องขจัดหรือล้างสิ่งก่อการกลายออกไป [15] ดังนั้นสายพันธุ์กลายที่ได้รับจากการใช้รังสีในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงมีมากกว่าร้อยละ 90 เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีชักนำการกลาย [16]

โดยหลักการแล้วอาจมีการให้รังสีกับเซลล์หรือเนื้อเยื่อก่อนหรือระหว่างการเพาะเลี้ยงก็ได้ แต่การให้รังสีที่มีพลังงานสูงนั้นควรทำกับภาชนะปิด ในขณะที่รังสีที่มีพลังงานต่ำจะต้องให้กับภาชนะเปิดที่เรียงกันเพียงชั้นเดียวเพื่อให้มีการรับปริมาณรังสีสม่ำเสมอ นอกจากนี้ยังมีข้อแนะนำว่าการฉายรังสีควรให้กับเซลล์หรือเนื้อเยื่อบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ปราศจากฮอร์โมน ก่อนย้ายไปยังอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตรอื่นๆ เพื่อป้องกันผลของรังสีต่อองค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ปัจจัยอื่นๆ ที่ควรคำนึงถึง ได้แก่ ปริมาณรังสี อุณหภูมิ ระยะของเซลล์ และความยาวนานของช่วงเวลาฟื้นตัวหลังจากได้รับรังสี เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ปริมาณทำให้ตายที่ขนาดมรณะ 50 (Lethal Dose 50 หรือ LD50) ก็เป็นสิ่งที่ต้องคำนึงถึง ซึ่งพบว่าโดยทั่วไปแล้วชิ้นส่วนปลายยอดพืชจะมีขนาดมรณะ 50 เมื่อได้รับรังสีแกมมาประมาณ 2 kR ในขณะที่แคลลัสจะมีขนาดมรณะ 50 เมื่อได้รับรังสีแกมมาประมาณ 1 kR [14], [17] ในแง่ของชนิดรังสี มีรายงานว่ามีการใช้รังสีแกมมาและรังสีเอกซ์กันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากมีการเข้าลึก (Penetration) ได้ดีและสามารถวัดปริมาณรับรังสีได้เที่ยง ในขณะที่แสงอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet หรือ UV) มีกำลังในการเข้าลึกต่ำจึงมักนำมาใช้กับเรณู (Pollen) หรือเซลล์ที่เรียงเป็นชั้นบาง (Thin Layer) [18]

ตัวอย่างของการเกิดการกลายของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมื่อได้รับรังสี ได้แก่ การชักนำข้าวพันธุ์ปลูก (Cultivar) Basmati 370 ให้ทนต่อความเค็มด้วยการให้รังสีแกมมา 50 Gy กับแคลลัส [19] ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ดีขึ้นอันเนื่องมาจากการกลาย เมื่อต้นบัวหลวงซึ่งเกิดจากการงอกใหม่ (Regeneration) ในขณะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้รับรังสีแกมมาหรือรังสีเอกซ์ 1 และ 2 krad มีรากทุติยภูมิ (Secondary Root) ยาว มีรากพิเศษ (Adventitious Root) จำนวนมาก มีการเจริญของยอดดีและมีการพัฒนาของเหง้า (Rhizome) สมบูรณ์ [20] และเมื่อชิ้นส่วนของพืชจากดอกวงนอก (Ray Floret) ของเบญจมาศได้รับรังสีแกมมา 0.5 Gy ต้นพืชซึ่งเกิดจากการงอกใหม่จากชิ้นส่วนของดอกวงนอกนี้มีการกลายของขนาดและสีของดอกไปจากเดิมโดยมีขนาดของดอกใหญ่ขึ้นและสีเปลี่ยนจากแดงอมเทาเป็นเหลือง [21]

3.2 การใช้สารเคมีก่อการกลาย

สารเคมีหลายชนิดมีคุณสมบัติในการก่อการกลาย เนื่องจากสามารถทำให้เกิดอัตราการกลายสูง ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นแบบพอยต์มิวเทชัน สารเคมีก่อการกลายที่

ใช้กันส่วนมากจะถูกจัดอยู่ในกลุ่มของ Alkylating Agent เช่น Ethyl Methanesulphonate (EMS) Ethyl Nitroso Urea (ENH) Methyl Nitroso Urea (MNH) และกลุ่มของ Azide เช่น Sodium Azide (NaN_3) สิ่งที่ต้องคำนึงในการใช้สารเคมีก่อการกลาย คือความเข้มข้น ระยะเวลาที่ใช้ ตัวทำละลาย และความเป็นกรด-เบสของสารละลาย [22], [23]

ข้อเด่นของสารเคมีก่อการกลายที่เหนือกว่าการใช้รังสีก่อการกลาย คือ สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่จำเพาะและสามารถทำนายได้ [24] อย่างไรก็ตาม แม้ว่าสิ่งก่อการกลายทางเคมีจะทำให้เกิดการกลายของจีน (Gene Mutation) ได้ในอัตราที่สูงกว่าสิ่งก่อการกลายทางกายภาพแต่ก็มีข้อเสียเปรียบหลายประการ ได้แก่ 1) ความไม่แน่นอนในการเข้าลึกไปยังเซลล์เป้าหมาย 2) มีการทำซ้ำ (Reproducibility) ได้ยาก 3) มีความคงอยู่นาน (Persistence) ของสิ่งก่อการกลาย และ 4) ต้องคำนึงถึงความปลอดภัยในการดำเนินการมากกว่าการใช้สิ่งก่อการกลายทางกายภาพ [18]

สารเคมีก่อการกลายสามารถชักนำให้เกิดการกลายของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้หลายประการ ตัวอย่างได้แก่ การเพาะเลี้ยงแคลลัสของผักกาดก้านขาว (*Brassica napus*) บนอาหารสูตร Murashige และ Skoog (MS) ซึ่งเติม EMS 0.15% ช่วยให้ต้นพืชซึ่งเกิดจากการงอกใหม่มีความต้านทานต่อโรคลำต้นเน่า (Stem Rot) ที่เกิดจากเชื้อ *Sclerotinia sclerotiorum* ได้ [25] ลักษณะบางประการ เช่น การสร้างคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) ขนาดใบ และอัตราการเติบโตของยอดและรากของสับปะรดซึ่งเกิดจากการงอกใหม่จากแคลลัส มีการกลายเมื่อแคลลัสได้รับ Colchicine 0.01% [26] และเมื่อเพาะเลี้ยงแคลลัสของชิงเฮา (*Artemisia annua*) โดยให้ Sodium azide 1–5 mM พบว่าแคลลัสที่เกิดการกลายมีปริมาณการสร้างสารต้านมาลาเรีย Artimisinin เพิ่มมากขึ้น [27]

4. สรุป

ไม่ว่าการแปรผันและการกลายของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะเป็นสิ่งที่พึงประสงค์หรือไม่ก็ตาม แต่ก็เป็นสิ่งที่เราสามารถควบคุมได้หากเราทราบหลักการตามที่ได้กล่าวมา ในแง่ของการขยายพันธุ์พืชเชิงการค้าซึ่งต้องการลักษณะของพืชที่เหมือนกันก็จำเป็นที่จะต้องพยายามหาทางหลีกเลี่ยงการแปรผันและการกลายของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่ถ้าเป็นนักปรับปรุงพันธุ์พืชก็อาจต้องการลักษณะใหม่ๆ ซึ่งไม่เคยมีมาก่อนหรือลักษณะเด่นเป็นที่นิยมของคนทั่วไป ในแง่นี้การแปรผันและการกลายของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดูเหมือนจะเป็นสิ่งจำเป็นต่อการพัฒนาสายพันธุ์พืชอย่างยิ่ง อย่างไรก็ตามการแปรผันและการกลายของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจัดว่าเป็นเทคโนโลยีอย่างง่ายๆ ที่ไม่ต้องลงทุนมากมายเหมือนกับเทคนิคอื่นๆ ที่ต้องใช้อุปกรณ์และสารเคมีราคาแพง รวมทั้งต้องการความชำนาญของผู้ปฏิบัติเป็นอย่างมาก จึงควรอย่างยิ่งที่นักเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและนักปรับปรุงพันธุ์พืชในประเทศไทยเราน่าจะหันกลับมาให้ความสำคัญในรายละเอียดอย่างแท้จริงอีกครั้งหนึ่ง

เอกสารอ้างอิง

[1] D.C.W. Brown and T.A. Thorpe, "Crop improvement through tissue culture," *World J. Micro. Biotech*., vol. 11, pp. 409–415, 1995.

[2] P.J. Larkin and W.R. Scowcroft, "Somaclonal variation -a novel source of variability from cell cultures for protoplast improvement," *Theor. Appl. Genet*., vol. 60, pp. 197–214, 1981.

[3] F.J. Novak and H. Brunner, "Plant breeding: Induced mutation technology for crop improvement," *IAEA Bull*., vol. 4, pp. 25–33, 1992.

[4] M.W. Bairu, A.O. Aremu, and J. Van Staden, "Somaclonal variation in plants: causes and detection methods," *Plant Growth Regul*., vol. 63, pp. 147–173, 2011.

[5] A. Karp, "Somaclonal variation as a tool for crop improvement," *Euphytica*, vol. 85, pp. 295–302, 1995.

[6] S.M. Jain, "Tissue culture-derived variation in crop improvement," *Euphytica*, vol. 118, pp. 153–166, 2001.

[7] A.M. van Harten, *Mutation breeding: theory and practical applications*, Cambridge University Press, 1st edition, 367 pp., 1998.

[8] T. Vajrabhaya, "Variations in clonal propagation," In: J. Arditti (Editor), *Orchid Biology: Reviews and Perspectives*, I, Cornell University Press, Ithaca, NY, pp. 177–202, 1977.

[9] S. Homhuan, B. Kijwijan, P. Wangsomnuk, K. Bodhipadma, and D.W.M. Leung, "Variation of plants derived from indirect somatic embryogenesis in cotyledon explants of papaya," *ScienceAsia*, vol. 34, pp. 347–352, 2008.

[10] N.Th. Saieed, G.C. Douglas, and D.J. Fry, "Somaclonal variation in growth, leaf phenotype and gas exchange characteristics of poplar: utilization of leaf morphotype analysis as a basis for selection," *Tree Physiol*., vol. 14, pp. 17–26, 1994.

[11] H. Afrasiab and J. Iqbal, "In vitro techniques and mutagenesis for the genetic improvement of potato cvs. Desiree and Diamant," *Pak. J. Bot*., vol. 42, pp. 1629–1637, 2010.

[12] J.L.M. Coimbra, F.I.F. de Carvalho, and A.C. de Oliveira, "Genetic variability induced by chemical and physical mutagenic agents in oat genotypes," *Crop Breed. Appl. Biotechnol*., vol. 4, pp. 48–56, 2004.

[13] S. Magori, A. Tanaka, and M. Kawaguchi, "Physically induced mutation: Ion beam mutagenesis," In: G. Kahl and K. Meksem (Editors), *The Handbook of Plant Mutation Screening*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, pp. 3–16, 2010.

[14] H. Brunner, Radiation induced mutations for plant selection, *Appl. Radiat. Isot*., vol. 46, pp. 589–594, 1995.

[15] S.J. Khan, H. ullah Khan, R.D. Khan, M.M. Iqbal, and Y. Zafar, "Development of sugarcane mutants through in vitro mutagenesis," *Pak. J. Biol. Sci*., vol. 3, pp. 1123–1125, 2000.

[16] V.Y. Patade and P. Suprasanna, "Radiation induced in vitro mutagenesis for sugarcane improvement," *Sugar Tech*., vol. 10, pp. 14–19, 2008.

[17] M. Velmurugan, K. Rajamani, P. Paramaguru, R. Gnanam, B.J.R. Kannan, C. Harisudan, and P. Hemalatha, "In vitro mutation in horticultural crops–A review," *Agric. Rev*., vol. 31, pp. 63–67, 2010.

[18] P.R. Tah, "Induced macromutation in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]," *Intl. J. Bot*., vol. 2, pp. 219–228, 2006.

[19] M.Y. Saleem, Z. Mukhtar, A.A. Cheema, and B.M. Atta, "Induced mutation and in vitro techniques as a method to induce salt tolerance in Basmati rice (*Oryza sativa* L.)," *Int. J. Environ. Sci. Tech*., vol. 2, pp. 141–145, 2005.

[20] S. Arunyanart and S. Soontronyatara, "Mutation induction by γ and X-ray irradiation in tissue cultured lotus," *Plant Cell Tiss. Org. Cult*., vol. 70, pp. 119–122, 2002.

[21] P. Misra, S.K. Datta, and D. Chakrabarty, "Mutation in flower colour and shape of *Chrysanthemum morifolium* induced by γ-radiation," *Biol. Plantarum*, vol. 47, pp. 153–156, 2003.

[22] S. Khan, F. Al–Qurainy, and F. Anwar, "Sodium azide: a chemical mutagen for enhancement of agronomic traits of crop plants," *Environ. We Int. J. Sci. Tech*., vol. 4, pp. 1–21, 2009.

[23] S.M. Jain, "Mutagenesis in crop improvement under the climate change," *Rom. Biotech. Lett*., vol. 15, pp. 88–106, 2010.

[24] T.A. Thorpe, "Biotechnological applications

of tissue culture to forest tree improvement," *Biotech. Adv*., vol. l, pp. 263–278, 1983.

[25] S. Liu, H. Wang, J. Zhang, B.D.L. Fitt, Z. Xu, N. Evans, Y. Liu, W. Yang, and X. Guo, "In vitro mutation and selection of doubled-haploid *Brassica napus* lines with improved resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*," *Plant Cell Rep*., vol. 24, pp. 133–144, 2005.

[26] A. Mujib, "Colchicine induced morphological variants in pineapple," *Plant Tissue Cult. & Biotech*., vol. 15, pp. 127-133, 2005.

[27] F. Al–Qurainy and S. Khan, "Mutational approach for enhancement of artemisinin in *Artemisia annua," J. Med. Plant. Res*., vol. 4, pp. 1714–1726, 2010.