การปรับปรุงพันธุ์อนูเบียส เพื่อเพิ่มอัตราการแตกหน่อ

Improving Budding Rate in Aquatic Plant *Anubias coffeefolia*

สุจิตรา เพชรคง1* สุรีย์พร เย็นสุวรรณ[1] ชมพูนุช มรรคทรัพย์[2] และมัลลิกา ทองสง่า[1]

Sujitra Pechkong*[1] Sureeporn Yensuwan[1] Chompunuch Makkasap[2] and Mullika Thongsagha[1]

บทคัดย่อ

การฉายรังสีแกรมม่าแบบเฉียบพลันต่อผลอัตราการเจริญเติบโตและการแตกหน่อไม้น้ำอนูเบียส คอฟฟี่ (*Anubias coffefolia*) ดำเนินการ ณ กองวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ ตั้งแต่ ตุลาคม 2554-มีนาคม 2558 โดยนำต้นอ่อนอนูเบียสไปฉายรังสีแกมม่าแบบเฉียบพลัน ที่ระดับ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 rads พบว่าระดับรังสีที่ 45.24 rads มีผลให้ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตมากขึ้น 21.98% จากนั้นศึกษาผลกระทบของรังสีในช่วง ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มการแตกหน่อ โดยการนำต้นอ่อนไปฉายรังสีแกมม่าที่ระดับ 0, 30, 40 และ 50 rads (373 rads/นาที) แล้วนำมาเลี้ยงต่อในสภาพห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าต้นอ่อนที่ผ่านการฉายรังสี (30, 40 และ 50 rads) มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงกว่าต้นอ่อนที่ไม่ผ่านการฉายรังสี และต้นอ่อนที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 40 rads มีน้ำหนักสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และเมื่อย้ายไม้น้ำอนูเบียสดังกล่าวไปเลี้ยงต่อในสภาพโรงเรือนเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 40 rads ยังคงมีการเจริญเติบโตให้จำนวนยอดและน้ำหนักมากที่สุด มีจำนวนยอดคิดเป็น 2 เท่าของต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสี ผลการศึกษาพบว่าการฉายรังสีแกมมาต้นอ่อนมีผลช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตและอัตราการแตกหน่อของพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียส คอฟฟี่ ซึ่งเทคนิคดังกล่าวนี้ สามารถนำใช้ในการผลิตไม้น้ำเชิงพาณิชย์ได้

คำสำคัญ: อนูเบียส การแตกหน่อ

Abstract

Acute gamma radiation was used to evaluate its effects on growth and budding rate of aquatic plant, *Anubias coffeefolia*. The experiments were carried out at Aquatic Animal Genetics Research and Development Institute from October 2011 to March 2015. Plantlets were irradiated at 0, 20, 40, 60, 80 and 100 rads. Irradiation at 45.24 rads resulted in a significantly high growth rate at 21.98% ($P<0.05$). Based on these findings the next experiment was conducted to find the optimal irradiation level for the best plant performance. Plantlets were irradiated at 0, 30, 40 and 50 rads (373 rads/minute), Plantlets were cultured under tissue culture conditions. Result found plantlets which were irradiated (30, 40 and 50 rads) had number shoot higher than non-irradiated plants and plantlets which were irradiated at 40 rads had significantly highest weight ($P<0.05$). The plants were then cultured in greenhouse for six months. The results were in line with the previous observation in that the number of shoot tip was twice that of the non-irradiated plants. It can be concluded from the results that the gamma irradiation of plantlets is potentially helpful in increasing growth and the rate of budding in the aquatic plant species *Anubias coffefolia*. The technique seems to be commercially viable.

Key word: *Anubias coffeefolia*, budding

[1] กองวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ

[2] ศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำชุมพร

[1] Aquatic Animal Genetics Research and Development Institute

[2] Chumphon Aquaculture Genetics Research and Development center

ผู้รับผิดชอบ: *39 หมู่1 ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120 โทร. 0-2904-7604 e-mail: veview@hotmail.com

Corresponding author : *39 Moo 1, Tumbol Khlongha, Aumphur Khlongluang, Pathumthani Province 12120 Tel. 0 2904-7604 e-mail: veview@hotmail.com

คำนำ

พันธุ์ไม้น้ำสวยงามสำหรับประดับตู้ปลามีความสำคัญทางเศรษฐกิจและได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายทั้งในยุโรปและเอเชีย มูลค่าในการส่งออกค่อนข้างสูง และมีแนวโน้มสูงขึ้น จากสถิติการส่งออก ปี 2555, 2556, 2557, 2558 และ 2559 เท่ากับ 28.78, 34.64, 35.52 และ 36.69 ล้านบาท ตามลำดับ ประเทศผู้ซื้อพันธุ์ไม้น้ำที่สำคัญของไทย ได้แก่ สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น รัสเซีย เยอรมนี อังกฤษ โปแลนด์ ตุรกี สเปน สาธารณรัฐเช็ก และอิตาลี เป็นต้น อนูเบียสเป็นพันธุ์ไม้น้ำสกุลหนึ่งที่มีมูลค่าการส่งออกสูงในอันดับ 2 และได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายทั้งในและต่างประเทศ มีมูลค่าการส่งออกเท่ากับ 7.35, 7.11, 8.15 และ 8.88 ล้านบาท (กรมวิชาการเกษตร, ติดต่อส่วนตัว) เนื่องจากพันธุ์ไม้น้ำสกุลอนูเบียสมีลักษณะสวยงาม มีความแข็งแรง ทนทาน และเจริญเติบโตช้า ทำให้ไม่ต้องตัดแต่งหรือเปลี่ยนพันธุ์ไม้น้ำใหม่บ่อยครั้ง ผนวกกับพันธุ์ไม้น้ำกลุ่มนี้มีราคาสูง ราคาในการส่งออกกระถางละ 1-1.50 เหรียญสหรัฐ ต้นพันธุ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อราคาต้นละ 5.00 บาท (สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและไม้น้ำ, 2549) อย่างไรก็ตามถึงแม้ตลาดจะมีความต้องการอนูเบียสเพิ่มมากขึ้น แต่ในทางกลับกันพบว่าต้นพันธุ์มีจำนวนไม่เพียงพอต่อ ความต้องการของตลาด ดังเช่น ในปี พ.ศ. 2550 ผู้ผลิตพันธุ์ไม้น้ำรายใหญ่มีต้นพันธุ์เพียง 70% ของความต้องการเท่านั้น (Lim, ติดต่อส่วนตัว) ทั้งนี้เนื่องจากอนูเบียสเป็นพันธุ์ไม้น้ำสกุลที่มีการขยายพันธุ์โดยการแตกหน่อ มีการขยายพันธุ์และมีการเจริญเติบโตช้ามากคือ ในธรรมชาติเกิดต้นใหม่ ปีละ 1-2 ต้นเท่านั้น (Rataj and Horeman, 1977) IAEA (1977) รายงานว่ารังสีมีผลให้จำนวนแขนงหรือกิ่งที่มากขึ้น ในพันธุ์กลายต้นแคระจำนวนข้อมากขึ้นและมีลักษณะใบแฝดเกิดขึ้น โดยรังสีในปริมาณต่ำๆ ช่วยทำให้การเกิดยอดหรือต้นจากชิ้นส่วนพืชหรือจากแคลลัสได้ดีขึ้น (Spiegal-Roy and Kochba, 1973 : Matthews and Narayanaswamy, 1976) ผู้วิจัยจึงมีแผนการปรับปรุงพันธุ์อนูเบียส โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกพันธุ์อนูเบียสที่มีการเพิ่มอัตราการแตกหน่อใหม่มากขึ้นด้วยเทคนิคการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมม่าร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทั้งนี้รังสีจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชแต่ละชนิดแตกต่างกัน จึงต้องเริ่มจากศึกษาหาระดับรังสีที่เหมาะสมกับชนิดพืชตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการ ซึ่งหากการทดลองครั้งนี้ได้พันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสที่มีการเพิ่มอัตราการแตกหน่อ จะสามารถใช้อนูเบียสลักษณะดังกล่าวเป็นต้นพันธุ์สำหรับการผลิตพันธุ์ไม้น้ำเชิงพาณิชย์ เพื่อเพิ่มผลผลิตพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสได้เพียงพอต่อความต้องการของตลาดในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาระดับรังสีที่เหมาะสมในการปรับปรุงพันธุ์พันธุ์ไม้น้ำอนูเบียส คอฟฟี่ ให้เพิ่มอัตราการแตกหน่อ
2. ศึกษาผลของรังสีแกมม่าต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนภายใต้สภาพห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและสภาพโรงเรือน

วิธีดำเนินการ

1. สถานที่และระยะเวลาดำเนินการ

ดำเนินการทดลอง ณ สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำและศูนย์บริการฉายรังสีมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ระยะเวลาในการทดลอง 3 ปี 6 เดือน ตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2554 ถึงเดือนมีนาคม 2558

2. การเตรียมอาหารสังเคราะห์

เตรียมสารเคมีตามส่วนประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) โดยเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น (stock solution) เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ชนิด BA (6-benzyladenine) เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรตามต้องการ แล้วปรับความเป็นกรดเป็นด่างให้อยู่ในช่วง 5.5-5.8 เติมผงวุ้น 6 กรัมต่อลิตร ต้มวุ้นให้ละลายก่อนเทลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดแล้วนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วนำไปใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3. การเตรียมเนื้อเยื่อต้นอ่อนไม้น้ำอนูเบียสคอฟฟี่

เตรียมเนื้อเยื่อต้นอ่อนไม้น้ำตามวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของสุจิตราและคณะ (2551) โดยการฟอกฆ่าเชื้อภายนอก โดยนำชิ้นส่วนยอดมาจุ่มในแอลกอฮอล์ 70% แล้วแช่ชิ้นส่วนยอดในสารละลายยาปฏิชีวนะเตตร้าไซคลิน ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 30 นาที และสารละลาย 0.6% NaOCl เจือจาง 20% ที่เติมสารเปียกใบ tween-20 จำนวน 1% เขย่าเบา ๆ นาน 20 นาที ตามลำดับ จากนั้นล้างชิ้นส่วนยอดด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 3 ครั้ง และตัดเนื้อเยื่อส่วนที่ตายออก เหลือไว้เฉพาะส่วนปลายยอด ขนาดประมาณ 0.5 เซนติเมตร จากนั้นเลี้ยงเพิ่มจำนวนต้นอ่อนในอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด BA จำนวน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ขวดละ 1 ชิ้น ตัดขยายและเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่ให้ต้นอ่อนทุกเดือนด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ จากนั้นนำต้นอ่อนไปเลี้ยงภายใต้ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีการควบคุมอุณหภูมิระหว่าง 25-28 องศาเซลเซียสและให้แสงที่ระดับความเข้มแสง 2,300-2,500 ลักซ์ วันละ12 ชั่วโมง จนกระทั่งได้จำนวนต้นอ่อนเพียงพอกับการทดลอง

4. วิธีการทดลอง

ดำเนินการทดลอง ณ กองวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ จังหวัดปทุมธานี โดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

4.1. หาค่าระดับรังสีแกมม่าที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ต้นอ่อนพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสคอฟฟี่ ให้มีการแตกหน่อมากขึ้น

4.1.1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) (อนันต์ชัย, 2542) ศึกษาที่ระดับรังสีต่าง ๆ กัน 6 ระดับ คือ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 rads จำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 20 ต้น

4.1.2 นำต้นอ่อนอนูเบียสอายุ 5 เดือน ความสูงประมาณ 1 เซนติเมตร ไปฉายรังสีแกมม่าแบบเฉียบพลันด้วยเครื่องแกมมาเตอร์มาร์ควัน (Mark I Gammator) ซึ่งใช้ธาตุซีเซียม 137 (Cesium-137) เป็นแหล่งกำเนิดรังสีแกมม่า ณ ศูนย์บริการฉายรังสี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จากนั้นนำต้นอ่อนที่ผ่านการฉายรังสีกลับมาเลี้ยง ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ชนิด BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพแวดล้อมเดิมในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และเปลี่ยนถ่ายอาหารให้ต้นอ่อนทุกเดือนเป็นระยะเวลา 2 เดือน บันทึกจำนวนยอดใหม่ ภายในระยะเวลา 2 เดือน แล้วหาค่าระดับรังสีที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์มีอัตราการแตกหน่อเพิ่มมากขึ้น โดยดัดแปลงวิธีของสุจิตราและคณะ (2550) โดยนำค่าน้ำหนักของต้นอ่อนหลังผ่านการฉายรังสี มาหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างระดับรังสี (X) กับค่าการเจริญเติบโตต้นอ่อน (น้ำหนักหรือจำนวนยอด) (Y) แล้วหาค่าระดับรังสีที่มีผลให้ได้การเจริญเติบโตสูงสุดต้นอ่อนสูงสุดจากสมการที่ได้จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบถดถอย (Regression Analysis) ดังนี้

$$y = ax^2 + bx + c$$

โดยที่ y = ค่าตัวแปรตาม คือน้ำหนักต้นอ่อน

x = ค่าตัวแปรอิสระ คือระดับรังสี

a = ค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรอิสระ x^2

b = ค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรอิสระ x

c = ค่าสัมประสิทธิ์คงตัว

4.2 ศึกษาผลของรังสีแกมม่าต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อน ในสภาพการเลี้ยง 2 แบบ คือ

4.2.1 ภายใต้สภาพห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

(ก) นำต้นอ่อนอนูเบียสความสูงประมาณ 1 เซนติเมตร ไปฉายรังสีแกมม่าแบบเฉียบพลันในระดับรังสีที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองที่ 1 โดยแบ่งระดับรังสีเป็น 0, 30, 40 และ 50 rads จำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 20 ต้น วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) (อนันต์ชัย, 2542) ใช้วิธีการฉายรังสีเช่นเดียวกับข้อ 1

(ข) ย้ายต้นอ่อนที่ผ่านการฉายรังสีลงเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ชนิด BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วเลี้ยงต้นอ่อนในสภาพห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบเดียวกันทุกซ้ำการทดลองด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตามวิธีของสุจิตรา และคณะ (2551) เป็นระยะเวลา 1 เดือน บันทึกน้ำหนัก และจำนวนยอด และคัดเลือกต้นที่มีการแตกหน่อเพิ่มสูงสุด 10% จากนั้นเลี้ยงขยายต้นอ่อนทุกชุดการทดลองที่ได้จากการคัดเลือก โดยตัดแบ่งขยายเพิ่มจำนวนและเปลี่ยนอาหารใหม่ให้ต้นอ่อน (sub culture) ตามวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทุกเดือน เป็นระยะเวลา 4 เดือน บันทึกน้ำหนักและจำนวนยอด

4.2.2 ภายใต้สภาพโรงเรือน

นำต้นอ่อนอนูเบียส คอฟฟี่ต้นปกติที่ไม่ผ่านการฉายรังสี และต้นที่ผ่านการฉายรังสี จากผลการทดลองข้อ 4.2.1 มาชักนำให้เกิดรากในอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) เลี้ยงจนกระทั่งได้ต้นที่สมบูรณ์ แล้วนำไปเลี้ยงในสภาพโรงเรือนด้วยวิธีการเลี้ยงแบบไร้ดิน (hydroponic) ซึ่งเป็นโรงเรือนกึ่งปิด มีการพรางแสงทุกด้านด้วยตาข่ายพรางแสง 60 เปอร์เซ็นต์ 2 ชั้น ควบคุมสารละลายธาตุอาหาร (EC 12 mS/cm) และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (6.5-6.8) จำนวน 50 ต้นต่อระดับรังสี ๆ ละ 4 ซ้ำ ณ ฟาร์มเกษตรกร จังหวัดภูเก็ต เป็นเวลา 6 เดือน บันทึกการเจริญเติบโตโดยวิธีการสุ่มระดับรังสีละ 20 ต้น

5. การบันทึกผลและวิเคราะห์ข้อมูล

5.1 บันทึกการเจริญเติบโต เช่น น้ำหนัก (กรัม) และลักษณะอื่น ๆ ได้แก่

<u>ความสูงของต้น</u> (เซนติเมตร) วัดจากส่วนล่างสุดของลำต้นถึงปลายสุดของใบ

<u>ความยาวใบ</u> (เซนติเมตร) วัดจากฐานใบถึงปลายสุดของใบ

<u>ความกว้างใบ</u> (เซนติเมตร) วัดจากส่วนที่กว้างที่สุดของขอบใบด้านหนึ่งไปถึงขอบใบอีกด้าน

<u>จำนวนยอด</u> (ยอด) นับจากยอดที่มีใบเกิดขึ้นแล้วอย่างน้อย 1 ใบ

พร้อมทั้งบันทึกและถ่ายภาพลักษณะทางสัณฐานที่ปรากฏ

5.2 วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าความสูงต้น น้ำหนัก ความยาวใบ ความกว้างใบ และจำนวนยอด ของต้นอ่อนที่ผ่านการฉายรังสีในแต่ละระดับ ด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (อนันต์ชัย, 2542 และศิริชัย, 2544)

ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

1. ระดับรังสีแกมม่าที่เหมาะสมต่อการชักนำให้ต้นอ่อนอนูเบียส คอฟฟี่มีการเจริญเติบโตแตกหน่อมากขึ้น

จากการนำต้นอ่อนพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสไปฉายรังสีแกมม่าแบบเฉียบพลัน ที่ระดับรังสี 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 rads แล้วนำต้นอ่อนดังกล่าวกลับมาเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่าต้นอ่อนที่ไม่ผ่านการฉายรังสี และที่ผ่านการฉายรังสีในแต่ละระดับให้จำนวนยอดไม่แตกต่างกัน แต่รังสีมีผลให้ต้นอ่อนมีน้ำหนักแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยรังสีที่ระดับ 40 rads มีผลให้ต้นอ่อนมีน้ำหนักสูงสุด (0.267±0.199 กรัม) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 จำนวนยอดใหม่เฉลี่ย ±SD (ยอด) และน้ำหนักเพิ่ม±SD (กรัม) ของต้นอ่อนพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับต่าง ๆ ภายในระยะเวลา 2 เดือน

ระดับรังสี (rads)	จำนวนยอด (ยอด±SD)	น้ำหนัก (กรัม±SD)
0	1.39±0.737[a]	0.182±0.154 [b]
20	1.56±0.891 [a]	0.177±0.007 [b]
40	1.65±0.814 [a]	0.267±0.199 [c]
60	1.63±0.928 [a]	0.221±0.160 [bc]
80	1.61±0.875 [a]	0.159±0.176 [ab]
100	1.41±0.621 [a]	0.101±0.136[a]

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

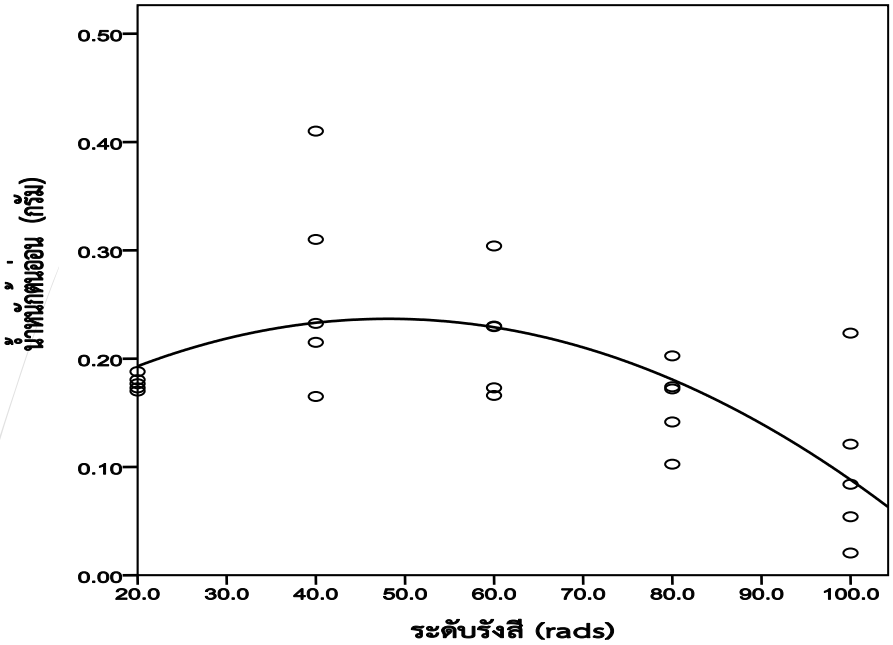
จากผลการศึกษาครั้งนี้ เห็นได้ว่ารังสีไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอด แต่รังสีมีผลต่อการเพิ่มน้ำหนักต้นอ่อน เนื่องจากน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของต้นอ่อนเกิดจากการเจริญเติบโตขยายขนาดหรือปริมาตรของเซลล์ ซึ่งวงจรของพืชโดยทั่ว ๆ ไป พบว่าการเจริญเติบโตของพืชจะเริ่มจากการแบ่งตัวและขยายขนาดของเซลล์ หลังจากการเจริญเติบโตได้ขนาดที่เหมาะสมแล้ว จึงค่อยเข้าสู่ระยะการเจริญไปเป็นเซลล์ที่จะพัฒนาเป็นเนื้อเยื่อและอวัยวะต่าง ๆ ของพืช (สมบุญ, 2544) และการกระตุ้นให้เกิดยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อระยะแรกมีอัตราที่ช้ากว่า และช่วงหลังจะมีอัตราเร็วขึ้นเป็นทวีคูณ (รังสฤษฏ์, 2540) ทำให้ผลการทดลองได้จำนวนยอดไม่แตกต่างกัน ผู้วิจัยจึงใช้ระดับรังสีที่มีผลให้น้ำหนักของต้นอ่อนเพิ่มมากที่สุดเป็นระดับรังสีที่เหมาะสมในการชักนำให้ต้นอ่อนการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนยอดและน้ำหนักเพิ่มขึ้นสูงสุด

เมื่อนำค่าน้ำหนักเพิ่มของต้นอ่อนมาหาค่าระดับรังสีที่เหมาะสมที่มีผลให้ต้นอ่อนมีน้ำหนักสูงสุด จากค่าความสัมพันธ์ระหว่างระดับรังสี (X) กับน้ำหนักต้นอ่อน (Y) ด้วยการวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบถดถอย (Regression Analysis) พบว่า ระดับรังสีกับน้ำหนักของต้นอ่อนมีความสัมพันธ์กันเป็นแบบเส้นโค้งโพลี่โนเมียล สมการที่ได้คือ $Y = (-5.526\times10^{-5}) X^2 + 0.005 X + 0.109$ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.433 ได้ระดับรังสีที่มีผลให้ต้นอ่อนมีน้ำหนักสูงสุดจากสมการเท่ากับ 45.24 rads (0.222 กรัม) ซึ่งค่าดังกล่าวเป็นระดับรังสีที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของต้นอ่อน โดยวิธีการฉายรังสีแกมม่าแบบเฉียบพลันซึ่งจะมีผลให้ต้นอ่อนที่ผ่านการฉายรังสีมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นจากต้นอ่อนที่ไม่ผ่านการฉายรังสี 21.98% (ภาพที่ 1)

2. ผลของรังสีแกมม่าต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียส คอฟฟี่ ในสภาพการเลี้ยง 2 แบบ

2.1 ภายใต้สภาพห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ผลจากการนำต้นอ่อนพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียส คอฟฟี่ ไปฉายรังสีแกมม่าแบบเฉียบพลัน ในระดับรังสีที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองที่ 1 โดยแบ่งระดับรังสีเป็น 0, 30, 40 และ 50 rads แล้วนำต้นอ่อนหลังผ่านการฉายรังสีกลับมาเลี้ยง และคัดเลือกต้นที่มีการแตกหน่อเพิ่มสูงสุด 10% ในทุกระดับรังสี พบว่า ต้นอ่อนที่ผ่านการฉายรังสี (30 40 และ 50 rads) มีจำนวนยอดมากกว่าต้นอ่อนที่ไม่ผ่านการฉายรังสีอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยมีจำนวนยอดเท่ากับ 5.07±1.328 5.20±2.111 และ 5.13±1.060 ตามลำดับ และต้นอ่อนที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 40 rads มีน้ำหนักสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) มีค่าเท่ากับ 1.58±0.942 กรัม (ตารางที่ 2; ภาพที่ 2, 3)



ภาพที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับรังสีแกมม่ากับน้ำหนักของต้นอ่อนพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียส ในระยะเวลา 2 เดือน

เมื่อเลี้ยงขยายต้นอ่อนที่ผ่านการฉายรังสีและไม่ผ่านการฉายรังสีที่ให้จำนวนยอดสูงสุด 10% มาลี้ยงต่อ โดยตัดแบ่ง ขยายเพิ่มจำนวนและเปลี่ยนอาหารใหม่ให้ต้นอ่อน (sub culture) ตามวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่าต้นอ่อนที่ไม่ผ่านการฉายรังสีมีจำนวนยอดสะสมเฉลี่ยต่อต้นเพิ่มขึ้นจากเดือนที่ 1 คิดเป็น 4.61 เท่า (15.75± 6.062 ยอด) ในขณะที่ต้นอ่อนที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 30 40 50 rads มีจำนวนยอดเพิ่มขึ้นจากเดือนที่ 1 คิดเป็น 3.56 เท่า (18.07±15.969 ยอด) 28.85 เท่า (150.40±171.901 ยอด) และ 23.29 เท่า (119.47±84.453 ยอด) ตามลำดับ จำนวนยอดที่เพิ่มขึ้นของต้นอ่อนที่ผ่านการฉายรังสีมีความแปรปรวนค่อนข้างสูง เนื่องจากการฉายรังสีเนื้อเยื่อพืชจะได้รับรังสีแบบสุ่ม ซึ่งผู้วิจัยไม่สามารถกำหนดได้ว่าต้องการให้รังสีไปมีผลที่ส่วนใดของเนื้อเยื่อ ทำให้ผลการแสดงออกที่เกิดขึ้นแตกต่างกัน ดังนั้นเพื่อให้ได้จำนวนยอดที่มีความสม่ำเสมอมากขึ้น ควรต้องดำเนินการคัดเลือกต้นที่มีอัตราการเพิ่มยอดมากในรุ่นต่อ ๆ ไปเพิ่มเติม

ตารางที่ 2 จำนวนยอดเฉลี่ย±SD (ยอด) และน้ำหนักเฉลี่ย±SD (กรัม) ของต้นอ่อนพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสที่ผ่านการฉายรังสีระดับต่าง ๆ ภายใต้สภาพห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ระดับรังสี (rads)	จำนวนยอด (ยอด)	น้ำหนักต้นอ่อน(กรัม)
0	3.42±0.515[a]	0.49±0.212[a]
30	5.07±1.328[b]	0.85±0.696[a]
40	5.20±2.111[b]	1.58±0.942[b]
50	5.13±1.060[b]	0.76±0.347[a]

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($P<0.05$)

พันธุ์ไม้น้ำอนูเบียส
ที่ไม่ผ่านการฉายรังสี

พันธุ์ไม้น้ำอนูเบียส
ที่ผ่านการฉายรังสี
ระดับ 30 rads

พันธุ์ไม้น้ำอนูเบียส
ที่ผ่านการฉายรังสี
ระดับ 40 rads

พันธุ์ไม้น้ำอนูเบียส
ที่ผ่านการฉายรังสี
ระดับ 50 rads

ภาพที่ 2 ต้นอ่อนพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสต้นปกติและต้นที่ผ่านการฉายรังสี ที่เลี้ยงภายใต้สภาพห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

พันธุ์ไม้น้ำอนูเบียส
ต้นปกติที่ไม่ผ่าน
การฉายรังสี

พันธุ์ไม้น้ำอนูเบียส
ที่ผ่านการฉายรังสี
ระดับ 30 rads

พันธุ์ไม้น้ำอนูเบียส
ที่ผ่านการฉายรังสี
ระดับ 40 rads

พันธุ์ไม้น้ำอนูเบียส
ที่ผ่านการฉายรังสี
ระดับ 50 rads

ภาพที่ 3 ต้นพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสต้นปกติและต้นที่ผ่านการฉายรังสี ที่สมบูรณ์และมีราก

ผลการศึกษาพบว่า ระดับรังสีที่ 40 rads สามารถกระตุ้นให้ต้นอ่อนพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียส คอฟฟี่ มีน้ำหนักมากที่สุด และต้นอ่อนที่ผ่านการฉายรังสี มีการแตกหน่อเพิ่มจำนวนยอดมากกว่าต้นอ่อนที่ไม่ผ่านการฉายรังสี ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ IAEA (1977) รายงานว่ารังสีมีผลให้จำนวนแขนงหรือกิ่ง ที่มากขึ้นในพันธุ์กลายต้นแคระ จำนวนข้อมากขึ้นมีลักษณะใบแฝดเกิดขึ้น โดยรังสีในปริมาณต่ำ ๆ ช่วยทำให้การเกิดยอดหรือต้นจากชิ้นส่วนพืชหรือจากแคลลัสได้ดีขึ้น (Spiegal-Roy and Kochba, 1973 : Matthews and Narayanaswamy, 1976) ดังเช่นการทดลองในต้นหน้าวัว (*Anthurium andraeanum*) ซึ่งเป็นต้นไม้ในครอบครัวเดียวกันกับพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียส คอฟฟี่ พบว่า ต้นหน้าวัวพันธุ์จักรพรรดิที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 3,600 เรินต์เกน มีการแตกหน่อมากที่สุด (บุญมี, 2515) และต้นหน้าวัวที่ผ่านการฉายรังสี เมื่อเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ มีอัตราการแตกหน่อด้านความกว้างของกอมากกว่าต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสี (ยงศักดิ์ และอัญชลี, 2558) การศึกษาผลของรังสีต่อการเพิ่มการแตกยอดในพันธุ์ไม้น้ำ ได้แก่ พันธุ์ไม้น้ำใบพายมวกเหล็ก (*Cryptocoryne balansae*) ที่ผ่านการฉายรังสีมีลักษณะต้นเตี้ยลง สีใบเปลี่ยนรูปแบบใบเปลี่ยนลักษณะใบ และการแตกต้นอ่อนเพิ่มเป็นกระจุก (สุจิตรา, 2548) ต้นโลบีเลีย (*Lobelia cardinalis*) ที่ผ่านการฉายรังสีทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง มีผลให้เพิ่มการเกิดใหม่ของจำนวนต้นอ่อน (ศรายุธ, 2547; ไตรมาธ, 2547) ส่วนการศึกษาในต้นไม้ชนิดอื่น ๆ พบว่ารังสีในปริมาณต่ำ ๆ มีผลกระตุ้นการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนยอด ได้แก่ ต้นหงส์เหิน (*Glonna williamsiana*) ที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 20 และ 40 เกรย์ สามารถกระตุ้นการแตกกอได้ 140.68 และ 117.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม (*Dendrobium*. Thailand x *Dendrobium* Mudame Udomsri) ที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 90 และ 100 เกรย์ มีจำนวนต้นต่อกอมากกว่าต้นที่ไม่ได้ฉายรังสี (ธนะและคณะ, 2548) ต้นกล๊อกซิเนีย (*Sinningia speciosa*) ที่ได้รับรังสีปริมาณ 40 และ 60 เกรย์มีปริมาณยอดต่อกิ่งเฉลี่ยสูงสุด (ธนวัตน์ และเตือนใจ, 2549) ยอดบีโกเนียเร็กซ์ที่ผ่านการฉายรังสีมีการเกิดยอดเป็นกระจุก (นงลักษณ์, 2541) และหน่อกล้วยพันธุ์Sata (*Musa sapientum*) ที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 10 และ20 เกรย์กล้วยเพิ่มจำนวนหน่อมากขึ้น De Guzman *et al*. (1976) ต้น Chrysanthenum *(cv. Yellow Puma)* ที่ผ่านการฉายรังสีแกมม่าที่ระดับ 10 เกรย์ เมื่อทำการแยกต้นอ่อนใส่อาหารใหม่ครั้งที่ 2 (M_1V_2) และ 3 (M_1V_3) มีการแตกหน่อเพิ่มมากขึ้น (Dwimahyani and Widiarsih, 2010) ต้น *Canscora decurrens* ที่ผ่านการฉายรังสีที่ 10-25 kR มีการเจริญเติบโตทั้งด้านความสูง ความยาวราก น้ำหนัก จำนวนหน่อ และจำนวนใบมากขึ้น (Yadav, 2016) ต้น *Moluccella laevis* ที่ผ่านการฉายรังสีที่ 15-17.5 kR มีน้ำหนักและจำนวนกิ่งมาก (Fardous, Mohammed, Magd El-Din and Mary, 2013) เป็นต้น

การเกิดลักษณะเป็นกระจุกและการเกิดการ แตกหน่อที่เพิ่มมากขึ้นในพืชที่ผ่านการฉายรังสี เนื่องจากรังสีไปมีผลต่อกระบวนการใช้อาหารของพืช และมีผลยับยั้ง การทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการเปลี่ยน tryptophan เป็น IAA ทำให้พืชที่ได้รับรังสีมีปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดออกซินลดลง จึงทำให้ต้นพืชมีเกิดการแตกหน่อมากขึ้น เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ชนิดออกซินมีผลในการยับยั้งการเกิดยอด (สมบุญ, 2544; Gunekel, 1961)

2.2 ภายใต้สภาพโรงเรือน

เมื่อนำพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสที่ผ่านการฉายรังสีแล้วมีการแตกหน่อเพิ่มขึ้นและต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสีที่สมบูรณ์และมีรากมาเลี้ยงในสภาพโรงเรือนแบบไร้ดิน (hydroponic) เป็นเวลา 6 เดือนพบว่า พันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 40 rads มีจำนวนยอดและน้ำหนักเฉลี่ยสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) มีค่าเท่ากับ 5.67±1.570 ยอด คิดเป็น 2 เท่า และมีน้ำหนัก 21.13±6.670 กรัม คิดเป็น 1.5 เท่าของต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสีตามลำดับ (ตารางที่ 3, ภาพที่ 4)

ตารางที่ 3 จำนวนยอดเฉลี่ย±SD จำนวนรากเฉลี่ย±SD น้ำหนักเฉลี่ย±SD ความกว้างใบเฉลี่ย±SD ความยาวใบเฉลี่ย±SD ความสูงต้นเฉลี่ย±SD และจำนวนยอดต่อต้นสูงสุดของพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับต่าง ๆ ที่เลี้ยงภายใต้สภาพโรงเรือนแบบไร้ดิน อายุ 6 เดือน

ระดับรังสี (rads)	จำนวนยอด เฉลี่ย±SD (ยอด)	จำนวนราก เฉลี่ย±SD (ราก)	น้ำหนักเฉลี่ย±SD (กรัม)	ความกว้างใบ เฉลี่ย±SD (ซม.)	ความยาวใบ เฉลี่ย±SD (ซม.)	ความสูงต้นเฉลี่ย ±SD (ซม.)	จำนวนยอด ต่อต้นสูงสุด (ยอด)
0	2.74±0.633[a]	17.836±3.149[a]	14.49±4.143[a]	3.21±0.482[a]	6.75±1.173[a]	10.28±1.573[a]	4
40	5.67±1.570[b]	18.589±3.762[a]	21.13±6.670[b]	3.34±0.602[a]	6.91±1.367[a]	10.79±2.181[a]	9
50	3.20±0.926[a]	17.648±2.677[a]	16.89±4.120[a]	3.30±0.424[a]	6.99±0.940[a]	10.63±1.582[a]	6

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

พันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสต้นปกติ
ที่ไม่ผ่านการฉายรังสี

พันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสที่ผ่าน
การฉายรังสีระดับ 40 rads

พันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสที่ผ่าน
การฉายรังสีระดับ 50 rads

ภาพที่ 4 พันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสต้นปกติที่ไม่ผ่านการฉายรังสี และต้นที่ผ่านการฉายรังสี อายุ 6 เดือน ภายใต้การเลี้ยงในโรงเรือน

สรุป

การปรับปรุงพันธุ์อนูเบียสโดยการฉายรังสีแกรมม่าแบบเฉียบพลันร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าระดับรังสีที่เหมาะสมในการชักนำให้ต้นอ่อนพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสมีจำนวนยอดและมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น มีค่าเท่ากับ 45.24 rads มีผลให้อัตราการเจริญเติบโตด้านน้ำหนักเพิ่มขึ้นมากกว่าต้นอ่อนที่ไม่ผ่านการฉายรังสี 21.98% เมื่อนำต้นอ่อนมาชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนยอด พบว่า รังสีที่ระดับ 30 40 และ 50 rads สามารถชักนำให้ต้นอ่อนมีจำนวนยอดเพิ่มขึ้นในทุกระดับรังสี และระดับรังสีที่ 40 rads มีผลให้ต้นอ่อนมีน้ำหนักสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และเมื่อเลี้ยงต้นสมบูรณ์ในสภาพโรงเรือน พบว่าพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 40 rads ยังคงมีการเจริญเติบโตให้จำนวนยอดและน้ำหนักมากที่สุด คิดเป็น 2 เท่า และ 1.5 เท่าของต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสี ตามลำดับ

การเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนยอดของพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียส นอกจากรังสีแกมม่าที่มีผลกระตุ้นให้ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตแล้ว ยังมีปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องหลายประการ ได้แก่ พันธุกรรม อายุพืช ธาตุอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโต และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมล้วนแต่มีผลต่อการเจริญเติบโตทั้งสิ้น ดังนั้น ในการผลิตพันธุ์ไม้น้ำอนูเบียสเชิงพานิชย์ เพื่อให้เกิดประสิทธิผลสูงสุด ต้องเริ่มจาการคัดเลือกต้นพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตดี และศึกษาสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงควบคู่ไปด้วย

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้ดำเนินการโดยใช้เงินงบประมาณประจำปีของกรมประมง รหัสทะเบียนวิจัย 52-0600-52069. ขอขอบคุณผู้อำนวยการกองวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ ที่สนับสนุนให้ทำวิจัย หัวหน้ากลุ่มวิจัยและพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์นักวิชาการและบุคลากรของกลุ่มฯ ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จด้วยดี และขอขอบคุณเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงพันธุ์ไม้น้ำจังหวัดภูเก็ต ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้สถานที่ในการทดลองในสภาพโรงเรือนแบบไร้ดิน

เอกสารอ้างอิง

ณัฐพง จันจุฬา. 2556. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในต้นหงส์เหินโดยการฉายรังสีแกมม่า. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. Thai J. Sci. Technol. 2 (1): 45-52.

ไตรมาธ สังข์สุวรรณ์. 2547. ผลของรังสีแกมม่าแบบโครนิกร่วมกับการเลี้ยงเนื้อเยื่อของ *Lobelia cardinalis*. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 22 หน้า.

ธนวัตน์ แก่นศักดิ์ศิริ และ เตือนใจ โก้สกุล. 2549. ผลของรังสีแกมม่าต่อกล๊อกซิเนีย (*Sinningia speciosa*). วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์. 5 (1): 13-23.

ธนะ กุลมุติวัฒน์, จิตรพรรณ พิลึก, ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์ และ อรุณี วงศ์ปิยะสถิต 2548. ผลของรังสีแกมมาต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าสกุลหวายเฮียสกุลในสภาพปลอดเชื้อ. ว.วิทย.กษ.(พิเศษ): 669-672.

นงลักษณ์ เทียนเสรี. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบีโกเนียเร็กซ์และผลของรังสีแกมม่า. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาพืชสวน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 75 หน้า.

บุญมี เลิศรัตน์เดชากุล. 2515. การศึกษาการใช้รังสีแกมม่าปริมาณต่าง ๆ กันในการปลูกหน้าวัว. ปัญหาพิเศษปริญญาโท. ภาควิชาพืชสวน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 113 หน้า.

ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และอัญชลี จาละ. 2558. รังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่มีผลต่อเนื้อเยื่อหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อ. Thai Journal of Sci and Tech. 4 (2): 177-184.

รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค. ภาควิชาพืชไร่นา, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 219 หน้า.

ศรายุธ ขัดคำ. 2547. ผลของรังสีแกมม่าแบบเฉียบพลันต่อ *Lobelia cardinalis* ในสภาพปลอดเชื้อ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 22 หน้า.

ศิริชัย พงษ์วิชัย. 2544. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์. พิมพ์ครั้งที่ 11. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์วิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 475 หน้า.

สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและไม้น้ำ. 2549. โครงการสำรวจข้อมูลตลาดปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำ. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง กรุงเทพฯ. 145 หน้า

สมบุญ เตชะภิญญาวัตน์. 2544. สรีระวิทยาของพืช. ภาควิชาพฤษศาสตร์. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 237 หน้า.

สุจิตรา เพชรคง, สุรางค์ สุมโนจิตราภรณ์, ชมพูนุช มรรคทรัพย์ และประจักษ์ บัวเนียม. 2550. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในไม้น้ำใบพาย ชนิด *Cryptocoryne wendtii* “Tropica” โดยการฉายรังสีแกมม่า. เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2550. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ. กรมประมง, กรุงเทพฯ. 24 หน้า.

สุจิตรา เพชรคง, นพพร สิทธิเกษมกิจ, สุรางค์ สุมโนจิตราภรณ์ และ ชมพูนุช มรรคทรัพย์. 2551. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในไม้น้ำอนูเบียสใบกว้างโดยการฉายรังสีแกมม่า. เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2551. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง. กรุงเทพฯ. 19 หน้า.

สุจิตรา เพชรคง. 2548. ผลของรังสีแกมม่าที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานของไม้น้ำใบพาย *Cryptocoryne balansae* Gagnep. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 66 หน้า.

อนันต์ชัย เขื่อนธรรม. 2542. หลักการวางแผนการทดลอง (พิมพ์ครั้งที่2). ภาควิชาสถิติ. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 348 หน้า.

De Guzman, E.V., E.M. Ublade and A.G. Del Rosario. 1976. Banana and coconut *in votro* culture for induced mutation studies, **In** International Ayomic Energy Agency (ed.). Improvement of Vegetatively Propagated Plants and Tree Crops through Induced Mutation.Vienna. pp. 33-54.

Dwimahyani, I. and S. Widiarsih. 2010. The effects of gamma irradiation on the growth and propagation of *In-Vitro* chrysanthemum shoot explants *(cv. Yellow Puma)*. Atom Indonesia. 36 (2): 45-49.

Gunekel, J.E. 1961. Modification of Plant Growth and Development Induced by Ionizing Radiation, Encyclopedia of Plant Physiology. 15: 555-561.

IAEA. 1977. Manual on Mutation Breeding. Technical Report Series No. 119, 2nd. Joint FAO/IAEA Division of Atomic Energy in Food and Agriculture. International Atomic Energy Agency, Vienna. 288 pp.

Mane L. and P. Deberge. 1985. Liquid medium addition to established tissue cultures to improve elongation and rooting *in vivo*. Plant Cell Organ. Cult. 5:23-33

Matthews, V.S. and S. Narayanaswamy. 1976. Phytohormone conyrol of regeneration in cultured of flax. Physiol. Pl. 80: 436-497.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assay with tobacco tissue culture. Physiol. Pl. 15: 473-497.

Rataj, K. and T. J. Horeman. 1977. Aquarium Plants. "their identification, cultivation and ecology." T. F. H. Pub. Inc. Ltd. London. 448 pp.

Spiegal-Roy, S and J. Kochba. 1973. Stimulation of differentiation on orange (*Citrus siensis*) ovular callus in relation to irradiation of the media. Radiation Botany. 13: 97-103.

Yadav, V. 2016. Effect of gamma radiation on various growth parameters and biomass of *Canscora decurrens* Dalz. International J. of Herbal Medicine. 4(5): 109-115.

Fardous, A. Minisi, E. Mohammed El-mahrouk, F. Magd El-Din Rida and N. Mary Nasr. 2013. Effects of gamma radiation on germination, growth characteristics and morphological variations of *Moluccella laevis* L. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. 13 (5): 696-704