1. บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ในปัจจุบันพรรณไม้น้ำสำหรับใช้ประดับตู้ปลาจัดเป็นพรรณไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากพรรณไม้น้ำแต่ละชนิดมีรูปทรงหลากหลายและมีสีสันสวยงามแตกต่างกันไป โดยสามารถนำพรรณไม้น้ำซึ่งมีมากมายหลากหลายชนิดนี้มาประดับตู้ปลา ก่อให้เกิดความสวยงาม ความเพลิดเพลิน เป็นเหมือนการจัดสวนในน้ำและจัดเป็นงานศิลปะอย่างหนึ่ง จึงทำให้เป็นที่นิยมของผู้เลี้ยงปลาสวยงาม การขยายพันธุ์มีทั้งแบบดั้งเดิมคือปลูกบนดินในที่โล่ง และแบบพัฒนาโดยปลูกในโรงเรือนปิดซึ่งส่วนใหญ่ใช้ในแถบยุโรป นอกจากนี้ยังได้มีการนำเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการขยายพันธุ์ของพรรณไม้น้ำ โดยสามารถผลิตพืชได้เป็นจำนวนมากในเวลาอันสั้นอีกทั้งผลผลิตที่ได้ยังมีคุณภาพสม่ำเสมอ ทำให้ขายผลผลิตได้ในราคาที่ดีกว่าและเป็นที่ยอมรับของตลาดต่างประเทศ โดยตลาดที่นิยมซื้อพรรณไม้น้ำได้แก่ ยุโรป ญี่ปุ่นและไต้หวัน (วิทยาและคณะ, 2540)

แม้เทคนิคดังกล่าวจะมีประโยชน์อย่างมาก แต่ต้องใช้ต้นทุนสูงกว่าการขยายพันธุ์แบบดั้งเดิม จึงมีเพียงผู้ผลิตรายใหญ่เท่านั้นที่สามารถจะทำได้ อีกทั้งปัจจัยในเรื่องของการแข่งขันทางธุรกิจทำให้บริษัทเอกชนผู้ส่งออกเหล่านี้มีการปกปิดเทคนิคและสูตรอาหาร แม้หน่วยงานของรัฐได้ทำการศึกษาและเผยแพร่ แต่อาจเป็นเพราะพรรณไม้น้ำยังเป็นพืชที่ค่อนข้างใหม่ในแง่ของการใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับประเทศไทย อีกทั้งลักษณะที่เป็นพืชที่อาศัยอยู่ในน้ำจึงอาจทำให้ประสบปัญหาการปนเปื้อนได้ง่าย จึงทำให้ข้อมูลหรืองานวิจัยในเรื่องนี้ยังมีน้อยมากเมื่อเทียบกับไม้ดอกไม้ประดับหรือพรรณไม้ชนิดอื่น ๆ

นอกจากการใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการขยายพันธุ์เพื่อให้ได้คุณภาพเป็นที่ยอมรับของตลาดแล้ว การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยการฉายรังสีหรือสิ่งก่อกลายพันธุ์อื่น ๆ เพื่อให้ได้พืชที่มีลักษณะแปลกใหม่ ซึ่งลักษณะที่เกิดขึ้นอาจเป็นที่ต้องการของตลาด ทำให้ได้ราคาสูงขึ้นและได้พรรณไม้น้ำเศรษฐกิจต้นใหม่ขึ้นมา จึงนับว่าเทคนิคดังกล่าวเป็นสิ่งสำคัญและถือได้ว่ามีประโยชน์อย่างมาก โดยการศึกษาในครั้งนี้ได้เลือกที่จะศึกษาพรรณไม้น้ำชนิด *Anubias barteri* var. *nana* เพราะจัดเป็นพรรณไม้น้ำที่มีความสวยงาม อีกทั้งมีราคาค่อนข้างสูง เป็นที่นิยม โดยเฉพาะในต่างประเทศ โดยจะศึกษาการขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และผลของรังสีแกมมาต่อพืชดังกล่าว ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นแนวทางหนึ่งในการขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ของ *Anubias barteri* var. *nana* ตลอดจนพรรณไม้น้ำชนิดอื่น ๆ ต่อไป

การตรวจเอกสาร

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

Anubias barteri var.*nana* จัดอยู่ในวงศ์ Araceae ลักษณะของพืชวงศ์นี้คือ เป็นพืชล้มลุกที่มีอายุปีเดียวหรือหลายปี พบทั้งที่เป็นพืชบกและพืชน้ำ ลำต้นหรือใบมักมีน้ำยางใสหรือน้ำยางขาว ลำต้นมีหลายแบบ คือเป็นเหง้า (rhizome) เป็นไหล (stolon) เป็นหัวที่เก็บอาหารอยู่ใต้ดิน (tuber) หรือเป็นหัวใต้ดินแบบที่มีข้อปล้องและตา (corm) ใบเป็นใบเดี่ยว (simple leaf) หรือใบประกอบ (compound leaf) ใบแตกรอบลำต้นเป็นกอ (basal rosette) หรือแตกเป็นวงรอบปลายลำต้น (apical rosette) แผ่นใบใหญ่มีเส้นใบแตกเป็นร่างแห (netted veined) รูปร่างของใบมีหลายแบบแตกต่างกันไป ก้านใบอวบอ้วน โคนก้านใบแผ่เป็นกาบหุ้มประกบกันไว้ บางชนิดก็ไม่มีก้านใบ ดอกเป็นช่อดอกแบบดอกย่อยไม่มีก้านเกิดร่วมกันเป็นแท่งบนก้านช่อดอก (spadix) มีใบประดับรองรับช่อดอก (spathe) สีสวยงาม หรือไม่มีก็ได้ ดอกย่อยเป็นดอกสมบูรณ์เพศหรือแยกเพศโดยอยู่ปนกันก็ได้ หรือมีดอกเพศเมียอยู่ตอนล่างดอกเพศผู้อยู่ตอนบน มักมีกลิ่นล่อแมลง ไม่จำกัดเวลาในการออกดอกผล ตัวอย่างของพืชอื่น ๆ ในวงศ์นี้ได้แก่ บอน เผือก หน้าวัว จอก ว่านน้ำ เป็นต้น (สุชาดา, 2542)

Anubias barteri var.*nana* เป็นพืชน้ำแบบจมอยู่ใต้น้ำ (submerge) มีลำต้นใต้ดินแบบเลื้อยไปตามพื้น (creeping rhizome) เป็นพันธุ์ไม้ที่พบมากในเขตร้อนทวีปแอฟริกา ลักษณะการเจริญของใบแตกรอบลำต้น (rosette plant) เป็นพืชที่มีขนาดความสูงประมาณ 10 เซนติเมตร ซึ่งจะมีใบหลากหลายรูปแบบ แต่โดยทั่วไปใบจะเป็นรูปไข่ (ovate) ปลายใบแหลม (pointed) ในธรรมชาติจะเจริญเติบโตในที่ร่มและที่มีแสงสลัว นิยมนำมาเลี้ยงประดับในตู้ปลา มีราคาค่อนข้างสูง เนื่องจากมีความทนทาน เลี้ยงง่ายและสวยงาม ขยายพันธุ์โดยการแยกหน่อ (Scheurmann, 1993; Cook, 1996; วิทยาและคณะ, 2540) ส่วนการขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะลี้ยงเนื้อเยื่อในประเทศไทยนั้น จากข้อมูลที่ได้จากการสอบถามคุณวิทยา หวังเจริญพร นักวิชาการประมง (การติดต่อส่วนบุคคล) พบว่าได้มีการขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นผลสำเร็จในบางบริษัทที่มีการส่งออกพรรณไม้น้ำซึ่งก็นับว่าเป็นประโยชน์ในทางธุรกิจ แต่ถ้าพิจารณาในด้านการศึกษาแล้วรายงานในเรื่องนี้ยังมีข้อมูลค่อนข้างน้อย

การขยายพันธุ์พรรณไม้น้ำโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นวิธีที่สามารถเพิ่มปริมาณของพืชให้ได้จำนวนมากในระยะเวลาสั้น โดยที่คุณภาพของพืชที่ได้จะมีความสม่ำเสมอ ขั้นตอนแรกของการเพาะเลี้ยง

เนื้อเยื่อคือ การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกและเชื้อจุลินทรีย์ออกจากผิวของเนื้อเยื่อ โดยสารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อมีหลายชนิด เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaOCl), คลอร็อกซ์, ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2), เมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) และเอธิลแอลกอฮอล์ เป็นต้น ซึ่งความเข้มข้นและระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อขึ้นกับประสิทธิภาพของสารเคมีและชนิดของพืช เมื่อได้ชิ้นส่วนพืชที่ปราศจากการปนเปื้อนแล้ว จึงทำการศึกษาเพื่อหาสูตรอาหาร รวมทั้งชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การเกิดยอดและการเกิดรากของพืชชนิดนั้น ๆ ต่อไป

สำหรับวิธีการฟอกฆ่าเชื้อและสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Anubias* และพรรณไม้น้ำชนิดอื่น ๆ ได้มีการศึกษาดังนี้

Huang และคณะ (1994) ได้ขยายพันธุ์ *Anubias barteri* var. *undulata* ในหลอดแก้ว ซึ่งก่อนการฟอกฆ่าเชื้อจะเก็บชิ้นส่วนพืชไว้ในสารละลายแอนตี้ออกซิแดนท์ (antioxidant) ซึ่งประกอบด้วย SDDC 0.2 เปอร์เซ็นต์ และ BA เพื่อไม่ให้เนื้อเยื่อเป็นสีน้ำตาลเมื่อชิ้นส่วนพืชเกิดบาดแผล การฟอกฆ่าเชื้อจะใช้ส่วนของปลายยอด (shoot tip) ที่ตัดใบออก และ ตาข้างที่พักตัว (quiescent lateral bud) โดยแยกตาข้างออกมาจากส่วนลำต้นและลอกเอากาบที่หุ้มออก นำมาแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ เข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ในสภาพสูญญากาศ ล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง แล้วแช่ในสารละลายแอนตี้ออกซิแดนท์ที่กรองเพื่อฆ่าเชื้อแล้ว ก่อนวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร, TDZ 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ครึ่งหนึ่งของปลายยอดที่ใช้ทดลองปลอดการปนเปื้อน ในขณะที่ตาข้างปนเปื้อนทั้งหมด ต่อมาปลายยอดเริ่มเกิดแคลลัสสีน้ำตาลแดง หลังจากนั้น 1 เดือน มีกลุ่มยอดเล็ก ๆ เกิดขึ้น เมื่อย้ายลงในอาหารขวดใหม่ กลุ่มของยอดก็จะเพิ่มขึ้น ย้ายเลี้ยงทุก 4 สัปดาห์ โดยตัดแยกกลุ่มยอดให้แต่ละกลุ่มมีประมาณ 10 ยอด หลังจากย้ายเลี้ยงได้ 7 เดือน อัตราของการเกิดยอดจะเริ่มคงที่ คือยอดจะเพิ่มขึ้น 5 เท่าทุกเดือน และเมื่อย้ายเลี้ยงลงในอาหารที่มี NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ยอดก็เกิดราก

อุไร (2544) ได้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นอเมซอน (*Echinodorus argentinensis*) โดยศึกษาวิธีฟอกฆ่าเชื้อต้นอ่อน ก้านใบ ใบ และใบอ่อน โดยแช่ในสารละลายแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ตามด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0. 1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งหยดสารเปียกใบ 2 หยด นาน 10 นาที และแคลเซียมไฮโปคลอไรต์ 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งหยดสารเปียกใบ 2 หยด นาน 15 นาที และล้างออกด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10, 20 และ 30 วัน ต้นอ่อนมีการปลอดเชื้อ 77.77, 75 และ 52.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อก้านใบ ใบ และใบอ่อนของต้นอเมซอน ให้เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อและมีชีวิตรอดต่ำ

และเมื่อนำต้นอ่อนอเมซอนลงเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1, 2.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลชักนำให้เกิดยอดที่ระยะเวลา 30 วัน โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.16, 1.66 และ 1.41 ยอด ตามลำดับ และอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 2.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนเกิดแคลลัสที่ระยะเวลา 30 วัน โดยแคลลัสมีขนาด 1 – 2 ลูกบาศก์มิลลิเมตรต่อต้นอ่อน 1 ต้น

Wainwright และ Marsh (1986) ได้ขยายพันธุ์ของ watercress (*Rorippa nasturtium – aquaticum* L.) ในหลอดแก้ว โดยใช้ส่วนของข้อเดี่ยว (single node) ฟอกฆ่าเชื้อด้วย เอธิลแอลกอฮอล์ เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่มี 2 เปอร์เซ็นต์ ของคลอรีนที่ออกฤทธิ์ (available chlorine) นาน 3 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง พบว่ามีการปลอดเชื้อมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ นำชิ้นส่วนพืชวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ ย้ายเลี้ยงทุก 4 สัปดาห์ เพื่อเพิ่มจำนวนยอดที่จะใช้ในการทดลองเพื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นขององค์ประกอบของอาหารสูตร MS ที่ระดับ ¼ MS, ½ MS และ MS ปกติ และเปรียบเทียบความเข้มข้นของน้ำตาลที่ระดับ 1, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ พบว่า น้ำหนักแห้งของยอดเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลมากขึ้น ที่ความเข้มข้นของน้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ ได้จำนวนข้อมากที่สุด ในขณะที่น้ำหนักแห้งของยอดเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ MS ลดลง และที่ความเข้มข้นของ MS เป็น ¼ และซูโครสเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิดข้อได้มากที่สุดคือ 40.9 ข้อ

Kane และคณะ (1988a) ได้ใช้ส่วนของยอดที่โผล่พ้นน้ำ (aerial shoot) ของ parrot - feather (*Myriophyllum aquuaticum* (Vellozo) Verdcourt) ล้างน้ำไหลนาน 1 ชั่วโมง แล้วตัดเป็นข้อ ๆ ฟอกฆ่าเชื้อด้วย โซเดียมไฮโปคลอไรต์ เข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ นาน 12 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที นำไปวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร ½ MS พบว่าภายใน 2 สัปดาห์สามารถชักนำให้เกิดยอดที่มี 5 – 6 ปล้อง และเมื่อนำแต่ละปล้องไปเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2iP 10 ไมโครโมลาร์ พบว่า มีตายอดเจริญขึ้นจากชั้นอีพิเดอร์มิสของปล้องโดยตรง ในวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง

Kane และคณะ (1988b) ได้เพาะเลี้ยงเอ็มบริโอของ American Lotus [*Nelumbo lutea* (willd.) Pers.] โดยใช้ส่วนของผล แช่ในเอธิลแอลกอฮอล์ เข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เข้มข้น 2.6 เปอร์เซ็นต์ นาน 12 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ใช้มีดกรีดผลตามแนวยาว เพื่อที่จะเอาส่วนของเอ็มบริโอออกมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร ½ MS พบว่าเอ็มบริโอที่เพาะลี้ยงบนอาหารแข็งไม่มีการเจริญเติบโต ในขณะที่เอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวมีการยืดยาวอย่างรวดเร็ว ภายในเวลา 3 สัปดาห์

เอ็มบริโอมีการเจริญเป็นลำต้นใต้ดินรูปร่างยาว ไม่แตกแขนง มีข้อ 3 – 4 ข้อ และมีราก แต่ละข้อมีใบหนึ่งใบที่มีก้านใบยืดยาว หลังจากนั้นอีก 1 สัปดาห์ นำส่วนของลำต้นใต้ดินมาตัดแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ ข้อที่ส่วนปลาย ข้อที่หนึ่ง และข้อที่สอง เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิม พบว่า ข้อที่ส่วนปลายเกิดลำต้นใต้ดินไม่แตกแขนง 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ส่วนของข้อที่หนึ่งและข้อที่สองมีเปอร์เซ็นต์การเกิดของลำต้นใต้ดินเพียง 75 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากนั้นจึงนำส่วนของลำต้นใต้ดินที่ได้จากส่วนปลายเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดต่าง ๆ คือ BA 0, 0.44, 1.32, 4.4, 13.2 และ 44 ไมโครโมลาร์ หรือ Zeatin 0, 0.46, 1.38, 4.6, 13.8 และ 46 ไมโครโมลาร์ หรือ GA_3 0, 0.29, 2.9, 29 และ 290 ไมโครโมลาร์ หรือ ABA 0, 0.038, 0.38, 3.8 และ 38 ไมโครโมลาร์ พบว่า ชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี GA_3 ส่วนของลำต้นใต้ดินมีการแตกแขนงเกิดขึ้น และเมื่อความเข้มข้นของ GA_3 เพิ่มขึ้น มีผลทำให้ความยาวของลำต้นใต้ดินและจำนวนข้อเพิ่มขึ้นในลักษณะเชิงเส้น โดยอาหารที่มี GA_3 290 ไมโครโมลาร์ ทำให้ลำต้นใต้ดิน มีการเจริญเติบโตสูงสุด คือมีความยาวของลำต้นใต้ดิน 116.8 มิลลิเมตร จำนวนข้อ 9 ข้อ และมีผลต่อการเติบโตของก้านใบในลักษณะควอแดรติค (quadratic) ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของ ABA ทำให้ความยาวของลำต้นใต้ดินและจำนวนข้อลดลงในลักษณะเชิงเส้น ส่วนความเข้มข้นของ BA และ Zeatin ในระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองนี้ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของลำต้นใต้ดินและจำนวนข้อแตกต่างอย่างเห็นได้ชัด นอกจากนี้ภายในเวลา 28 วัน ชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี GA_3 0.29 หรือ 2.9 ไมโครโมลาร์ หลาย ๆ ชิ้นส่วน มีก้านใบยาวมากกว่า 1 เมตร และส่วนของลำต้นใต้ดินที่เกิดขึ้นในอาหารที่มี GA_3 2.9 ไมโครโมลาร์ เมื่อย้ายเลี้ยงลงในอาหาร 1/2 MS ให้ส่วนของข้อได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์

Kane และคณะ (1990) ได้ใช้ส่วนของยอดที่โผล่พ้นน้ำของ *Cryptocoryne lucens* มาฟอกฆ่าเชื้อ โดยตัดยอดออกเป็นส่วน ๆ ขนาด 1 เซนติเมตร แต่ละชิ้นส่วนจะมีข้อ 2 – 3 ข้อ ล้างน้ำไหลเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วแช่ในเอธิลแอลกอฮอล์ เข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ เข้มข้น 1.05 เปอร์เซ็นต์ นาน 12 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที นำไปวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร LS ที่มี BA 2.0 ไมโครโมลาร์ และ NAA 0.5 ไมโครโมลาร์ ย้ายเลี้ยงทุก 4 สัปดาห์ เพื่อเพิ่มจำนวนพืชสำหรับใช้ในการทดลองเพื่อเปรียบเทียบชนิดของชิ้นส่วนพืช ที่ประกอบด้วย ข้อเดี่ยว และข้อกลุ่ม 3 ข้อ (cluster : triple node) เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร LS ที่มี BA 0 - 20 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA 0.5 ไมโครโมลาร์ พบว่าการเพิ่มจำนวนยอดเกิดได้ดีที่สุดในอาหาร LS ที่มี BA 20 ไมโครโมลาร์ โดยข้อกลุ่มเกิดยอดต่อชิ้นส่วนพืชมากกว่าข้อเดี่ยว คือเกิดยอด 13.4 ยอด แต่จำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดขึ้นต่อหนึ่งข้อจากชิ้นส่วนข้อเดี่ยวมากกว่าข้อกลุ่ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ 7.7 ยอด และ 4.5 ยอด ตามลำดับ

Kane และคณะ (1999) ได้นำส่วนของปลายยอด *Cryptocoryne wendtii* ล้างน้ำประปา นาน 15 นาที แล้วฟอกฆ่าเชื้อด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที ตามด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.05 เปอร์เซ็นต์ นาน 12 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 2.2 ไมโครโมลาร์ และ IAA 0.57 ไมโครโมลาร์ ย้ายเลี้ยงทุก 4 สัปดาห์ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อ 62 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นแยกเอายอดเดี่ยวมาทดลองเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครโมลาร์ เพียงอย่างเดียว และใช้ BA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังกล่าว ร่วมกับ IAA 10 ไมโครโมลาร์ พบว่า อาหาร MS ที่มี BA เข้มข้น 20 ไมโครโมลาร์ เกิดยอดมากที่สุดโดยยอดเพิ่มขึ้น 7 เท่า

Jenks และคณะ (2000) ได้ฟอกฆ่าเชื้อ *Nymphoides indica* โดยนำส่วนไหลที่มีข้อ (stolonic nodal explant) มาล้างน้ำไหลนาน 30 นาที แล้วแช่ในเอธิลแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 5 นาที หลังจากนั้นแช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.05 เปอร์เซ็นต์ นาน 12 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS พบว่ามีเพียง 1 ชิ้นส่วนพืชจากทั้งหมด 35 ชิ้นส่วนพืช หรือประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ที่ปลอดการปนเปื้อน เพิ่มจำนวนชิ้นส่วนพืชที่ได้โดยย้ายเลี้ยงทุก 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นได้ทดลองโดยใช้ส่วนของก้านใบที่อยู่ถัดจากส่วนของโคนใบลงมา 2 เซนติเมตร วางเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA หรือ 2iP หรือ KN ความเข้มข้น 0 – 25 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA หรือ IAA ที่ความเข้มข้น 0 - 25 ไมโคร-โมลาร์ พบว่า ยอดจะเพิ่มได้ดีที่สุด 11.4 ยอด ในอาหารที่มี BA 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IAA 20 ไมโครโมลาร์

การฉายรังสี

การฉายรังสีเป็นเทคนิคหนึ่งที่นิยมนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ เมื่อพืชได้รับรังสี รังสีจะถ่ายพลังให้กับโมเลกุลต่าง ๆ ของเซลล์ ในการถ่ายพลังงานทำให้โมเลกุลที่ได้รับพลังงานแตกตัวเป็นไอออน แล้วมีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลใหม่ มีการทำปฏิกิริยาเคมีระหว่างกัน เกิดเป็นโมเลกุลที่มีคุณสมบัติทางชีวเคมีต่างไปจากเดิม ซึ่งโมเลกุลเหล่านี้มีหน้าที่ต่าง ๆ ภายในเซลล์ ดังนั้นเมื่อคุณสมบัติทางชีวเคมีเปลี่ยนแปลงอาจส่งผลให้ความสามารถในการแบ่งเซลล์เปลี่ยนแปลง หรืออาจเกิดการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมที่สามารถส่งต่อไปยังเซลล์ลูกหลานได้ หรือในกรณีที่รุนแรงเซลล์จะไม่แบ่งตัวและตายในที่สุด (สิรนุช, 2540)

การกลายพันธุ์และชนิดของการกลายพันธุ์ (สิรนุช, 2540)

การกลายพันธุ์คือการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมของเซลล์ ซึ่งมีหลายระดับดังนี้

1. การกลายพันธุ์ของจีน เป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของจีนที่เกี่ยวข้องกับนิวคลีโอไทด์เบสเพียงไม่กี่โมเลกุลจากจำนวนทั้งหมด $10^3 - 10^5$ นิวคลีโอไทด์ ในจีนหนึ่ง ๆ ซึ่งแบ่งตามการเกิดได้ 2 ชนิด คือ การกลายพันธุ์แบบเฟรมชิพต์ (frameshift mutation) เป็นการเพิ่มหรือการขาดหายไปของนิวคลีโอไทด์จากโมเลกุล DNA เพียง 1 โมเลกุล ทำให้กรอบการอ่านของรหัสพันธุกรรมเปลี่ยนไปจากเดิม เป็นผลให้โปรตีนที่สร้างจากจีนดังกล่าวไม่สามารถทำงานได้เหมือนเดิม แบบที่ 2 คือ การแทนที่เบส (base substitution) เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจากการแทนที่คู่ของเบสด้วยเบสอื่นในกลุ่มเดียวกัน ซึ่งเกิดขึ้นได้ในระหว่างที่ DNA มีการจำลองตัวเอง เรียกว่า ทรานซิชั่น (transition) เช่น กลุ่มเบสพิวริน มีเบสอะดินิน เข้าแทนที่เบสกัวนิน หรือ กลุ่มเบสไพ-ริมิดิน มีเบสไซโทซิน เข้าแทนที่เบสไทมิน หรือเป็นการเปลี่ยนแปลงแบบสลับคู่ของเบส ซึ่งเกิดได้ในช่วงระยะที่มีการซ่อมสาย DNA เรียกว่า ทรานเวอร์สชั่น (transversion) คือมีการเปลี่ยนแปลงแบบสลับคู่ของเบส เช่น การแทนที่คู่ของเบสพิวรีนด้วยเบสไพริมิดิน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเข้าแทนที่ของเบสคู่ใดคู่หนึ่งนี้ ทำให้รหัสพันธุกรรมถูกแปลออกมาต่างไปจากรหัสเดิม เรียกว่าการกลายพันธุ์ชนิดมิสเซนส์ (missense mutation) หรือการแทนที่ของคู่เบสทำให้เกิดเทอร์มิเนเตอร์โคดอน ทำให้การสร้างพอลิเปปไทด์หยุดชะงักลง เป็นเส้นที่ไม่สมบูรณ์ มีขนาดสั้นกว่าปกติ เรียกว่า การกลายพันธุ์ชนิดนอนเซนส์ (nonsense mutation) การกลายพันธุ์ทั้งแบบทรานซิชั่นและทรานเวอร์สชั่นเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติ การกลายพันธุ์แบบการแทนที่เบสเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าการกลายพันธุ์เฉพาะจุด (point mutation)

2. การกลายพันธุ์ของโครโมโซม เป็นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือจำนวนของโครโมโซม โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซมนั้น เกิดจากการขาดหายไปของส่วนของโครโมโซม (deletion หรือ deficiency) ทำให้จีนจำนวนหนึ่งขาดหายไปด้วย หรือการที่มีจีนหรือส่วนของโครโมโซมเพิ่มเข้ามามากกว่าปกติ (duplication) หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงกลับทิศทางของส่วนของโครโมโซม (inversion) หรือเกิดการย้ายสลับที่ระหว่างส่วนของโครโมโซมที่ต่างคู่กัน (translocation) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้มีผลมากน้อยแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของจีน ส่วนการเปลี่ยนแปลงจำนวนของโครโมโซม เกิดจากความผิดปกติในกระบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส โดยที่โครโมโซมที่เป็นคู่กันคู่ใดคู่หนึ่งไม่แยกจากกันเรียกว่านอนดิสจังชัน (nondisjunction) หรืออาจเกิดการยับยั้งการเคลื่อนที่ของโครโมโซมไปยังขั้วของเซลล์ในระยะแอนาเฟส ทำให้เซลล์สืบพันธุ์บางเซลล์มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้น และในบางเซลล์มีจำนวนโครโมโซมน้อยไปกว่าปกติ เมื่อมีการปฏิสนธิระหว่างเซลล์สืบพันธุ์ปกติกับผิดปกติหรือผิดปกติกับผิดปกติด้วยกันก็ตาม ทำให้ได้ต้นลูกที่เกิดใหม่มีความผิดปกติในจำนวนโครโมโซม

การกลายพันธุ์สามารถเกิดขึ้นได้เองในธรรมชาติโดยไม่ทราบสาเหตุที่แน่นอน ซึ่งมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการทำให้เกิดการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติแบ่งได้เป็น 2 พวก คือ ปัจจัยภายในของพืชได้แก่ องค์ประกอบทางพันธุกรรมและสภาพทางสรีระ ปัจจัยจากสภาพแวดล้อม ได้แก่ อาหาร อุณหภูมิ รังสีและสิ่งก่อกลายพันธุ์ในสิ่งแวดล้อมที่เกิดเองตามธรรมชาติ นอกจากการกลายพันธุ์จะเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติแล้ว ยังสามารถใช้วิธีการต่าง ๆ เหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ขึ้นได้ เช่น การใช้รังสี การใช้สารเคมี การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การสอดแทรก DNA

การใช้รังสีเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ (สิรนุช, 2540)

รังสีที่นิยมใช้เหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพืช ได้แก่ รังสีเอกซ์ รังสีแกมมา และรังสีนิวตรอน ซึ่งอยู่ในกลุ่มของไอออนไนซิงเรดิเอชั่น เนื่องจากมีคุณสมบัติเบื้องต้นในการทำให้เกิดไอออนไนเซชั่น แก่อะตอมหรือโมเลกุลที่ได้รับรังสี ส่วนรังสีอุลตราไวโอเลต มีการใช้ในพืชน้อยมาก เนื่องจากมีอำนาจในการทะลุทะลวงต่ำ

รังสีแกมมาเป็นรังสีประเภทคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ทำให้เกิดไอออนไนเซชั่นได้ รังสีแกมมาเกิดจากการสลายตัวของนิวเคลียสของเรดิโอนิวไคลด์ (radionuclide) ในปฏิกิริยาของการสลายตัวของเรดิโอนิวไคลด์ ซึ่งมีรูปไม่เสถียร (unstable) พยายามปรับตัวให้เข้าสู่รูปเสถียร (stable) โดยการปลดปล่อยพลังงานส่วนเกินออกมาในรูปรังสีแอลฟา หรือรังสีเบตา และติดตามด้วยการสลายตัวให้รังสีแกมมา เรดิโอนิวไคลด์ ที่นิยมใช้เพื่อให้รังสีแกมมา คือ โคบอลต์ - 60 และ ซีเซียม - 137 สามารถให้รังสีแกมมาได้ 2 แบบ คือการฉายรังสีแบบเฉียบพลัน (acute irradiation) เป็นการให้รังสีในปริมาณสูง และให้รังสีเสร็จสิ้นในระยะเวลาสั้น และการฉายรังสีแบบเรื้อรัง (chronic irradiation) เป็นการให้รังสีในปริมาณน้อย ๆ แต่ให้เป็นระยะเวลานาน เช่น เป็นสัปดาห์ หรือเป็นเดือน นอกจากนี้เครื่องฉายรังสีแกมมายังมีได้หลายรูปแบบ ตามวัตถุประสงค์ของการใช้งาน ได้แก่ ไร่รังสีแกมมา (gamma field) เรือนรุกขรังสี (gamma greenhouse) เครื่องฉายรังสีแกมมาแบบปิด (self shield irradiator) และห้องรังสีแกมมา (gamma room) เมื่อเซลล์พืชได้รับรังสีต่าง ๆ รังสีถ่ายพลังงานให้กับโมเลกุลต่างๆ ของเซลล์ ทำให้โมเลกุลที่ได้รับพลังงานแตกตัวเป็นอิออนและฟรีเรดิคอล ต่าง ๆ มีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลใหม่ มีการทำปฏิกิริยาเคมีระหว่างกัน เกิดเป็นโมเลกุลที่มีคุณสมบัติทางชีวเคมีต่างไปจากเดิม รังสีสามารถถ่ายพลังงานให้กับโมเลกุลต่างๆ โดยตรง เรียกว่า ไดเรคแอคชั่น หรือส่งผ่านโดยทางอ้อมเรียกว่า อินไดเรคแอคชั่น โดยรังสีถ่ายพลังงานให้กับโมเลกุลของน้ำที่มีอยู่ภายในเซลล์เป็นจำนวนมาก ทำให้โมเลกุลของน้ำแตกตัวเป็นอิออนและฟรีเรดิคอลต่าง ๆ เรียกรวมกันว่า เรดิโอไลติกโปรดัคท์ (radiolytic product) พวกโมเลกุลเหล่านี้สามารถเข้าทำอันตรายกับชีวโมเลกุลภายในเซลล์ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้าง

และหน้าที่ของชีวโมเลกุลได้ ดังนั้นอันตรายของเซลล์ที่เกิดจากรังสีจึงเป็นผลรวมจากการรับรังสีนั้นโดยทางตรงและทางอ้อม ซึ่งชีวโมเลกุลดังกล่าวนี้มีหน้าที่ต่าง ๆ ภายในเซลล์ และมีความสำคัญต่อเซลล์มากน้อยต่างกัน เมื่อคุณสมบัติทางชีวโมเลกุลเหล่านั้นเปลี่ยนไป ก็จะไปกระทบกระเทือนต่อเซลล์ที่โมเลกุลเหล่านี้ทำหน้าที่อยู่ด้วย ผลที่ออกมาถ้าไม่รุนแรงนัก เซลล์ยังคงมีชีวิตอยู่ แต่ความสามารถในการแบ่งเซลล์อาจเปลี่ยนไป อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงในสารพันธุกรรมที่สามารถส่งต่อไปยังเซลล์ลูกหลานได้ เรียกว่าเกิดการกลายพันธุ์ แต่ถ้ารุนแรงมากจะทำให้เซลล์ไม่สามารถแบ่งตัวได้และตายในที่สุด

ลักษณะของการกลาย

ลักษณะการกลายของพืชหลังจากการฉายรังสีแล้วเป็นไปได้หลายแบบ การกลายที่มองเห็นได้ชัดเรียกว่า มาโครมิวเทชั่น (macromutation) เช่น การเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของส่วนต่าง ๆ ของพืช ผลของการฉายรังสีเมล็ดในชั่วที่ 1 (M1 generation) มักเป็นการเปลี่ยนแปลงทางสรีระของพืช โดยไม่สามารถรักษาลักษณะเหล่านี้ไว้ได้ในรุ่นต่อไป แต่เมื่อฉายรังสีแกมมากับส่วนอื่นของพืชนอกเหนือจากเมล็ด (vegetative part) มักได้การกลายแบบถาวร ซึ่งอาจจำแนกได้เป็น 2 ลักษณะ คือการกลายที่เกิดขึ้นทั้งต้น หรือทั้งส่วนของพืช (solid mutant) เป็นการกลายที่สามารถรักษาลักษณะการกลายและขยายพันธุ์ต่อไปได้ด้วยวิธีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ และการกลายเพียงบางส่วน (partly mutant) หรือไคเมรา (chimera) เป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเฉพาะส่วน อาจเกิดขึ้นบนต้นเดียวกัน เกิดเฉพาะบางส่วนของกิ่ง บางส่วนของดอก หรือบางส่วนของใบเป็นต้น แต่อย่างไรก็ตาม ด้วยเทคนิคของวิธีการขยายพันธุ์ สามารถทำให้ลักษณะกลายที่เป็นไคเมราเจริญไปเป็นการกลายทั้งต้นได้ โดยการตัดยอดในส่วนของกิ่งที่เกิดไคเมรา เพื่อทำให้ตาข้าง (axillary bud) เจริญเป็นกิ่งได้ ซึ่งในที่สุด ก็จะได้กิ่งที่กลายทั้งกิ่ง และนำไปขยายพันธุ์เป็นต้นกลายทั้งต้นได้ต่อไป (อรุณีและนวลฉวี, 2536)

การฉายรังสีพืชในวงศ์ Araceae และ พืชน้ำ

บุญมี (2518) อ้างโดย วิชชุดา (2537) ได้ศึกษาผลของการฉายรังสีแกมมาในระดับ 800, 1,200, 1,800, 2,400, 2,800 และ 3,200 เรินต์เกน (roentgen) ที่มีต่อต้นหน้าวัวพันธุ์จักรพรรดิ พบว่าการเจริญเติบโตของราก ลำต้น ใบ จานรองดอก และปลีของหน้าวัวมีแนวโน้มลดลงตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น รังสีแกมมาในระดับ 1,200 – 2,000 เรินต์เกน มีแนวโน้มทำให้ต้นหน้าวัวมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของจานรองดอก ปลี และใบ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวไม่คงที่ คือลักษณะจานรองดอก ปลีและใบจากหน่อที่เกิดขึ้นใหม่ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

ประภาและคณะ (2534) ได้ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อการสร้างยอดรวม (multiple shoot) จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวหอม (*Oryza sativa* L.) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำเมล็ดข้าวพันธุ์หอมขาวดอกมะลิ 105 มาฉายรังสีแกมมาในปริมาณ 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 40 และ 44 กิโลแรด แล้วนำมาฟอกฆ่าเชื้อและเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เมล็ดสร้างยอดรวม ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ จึงนับจำนวนเมล็ดที่สร้างยอดรวมและจำนวนยอดต่อเมล็ด และประเมินค่าปริมาณรังสีที่ทำให้ความถี่ในการสร้างยอดรวมลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (RD_{50}) ผลการทดลองพบว่า เมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้นทำให้จำนวนเมล็ดที่สร้างยอดรวมเพิ่มขึ้นจาก 45.9 เปอร์เซ็นต์ ในเมล็ดที่ไม่ฉายรังสีเป็น 83.3 เปอร์เซ็นต์ ในเมล็ดที่ฉายรังสีปริมาณ 24 กิโลแรด ที่ปริมาณรังสี 28 กิโลแรด จำนวนเมล็ดที่สร้างยอดรวมเริ่มลดลงเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ และลดลงต่ำสุดเป็น 11.4 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณรังสี 40 กิโลแรด และที่ปริมาณรังสี 44 กิโลแรดไม่พบเมล็ดที่สร้างยอดรวมเลย จากการคำนวณโดยเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ฉายรังสี พบว่า RD_{50} มีค่า 38 กิโลแรด ในทำนองเดียวกันเมื่อเพิ่มปริมาณรังสีจะทำให้จำนวนยอดต่อเมล็ดเพิ่มขึ้นจาก 5.7 ยอดในเมล็ดที่ไม่ฉายรังสีเป็น 21.3 ยอดในเมล็ดที่ฉายรังสี 40 กิโลแรด ที่ปริมาณรังสี 44 กิโลแรด จำนวนยอดต่อเมล็ดเป็น 0

วิชชุดา (2537) ได้ศึกษาผลของการฉายรังสีแกมมาที่มีต่อหน้าวัวพันธุ์ Double spathe ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำต้นหน้าวัวมาฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันในระดับ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เกรย์ แล้วตัดเป็นท่อน ๆ ละ 1 ข้อ วางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน อัตรารอดชีวิต การเกิดยอดใหม่ และความสูงมีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น ความยาวของปากใบและจำนวนโครโมโซมไม่เปลี่ยนแปลง และเมื่อนำแคลลัสขนาด 1 เซนติเมตร มาฉายรังสีในระดับดังกล่าวเช่นเดียวกัน แล้วนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่มี BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 30 วัน หลังจากนั้นย้ายไปเลี้ยงบนอาหารแข็ง หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน พบว่า แคลลัสที่ได้รับรังสีที่ระดับสูงขึ้น มีการเจริญเติบโตลดลง หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน แคลลัสที่ได้รับรังสีที่ระดับสูงขึ้น มีจำนวนยอดน้อยลง ส่วนความยาวของปากใบและจำนวนโครโมโซมไม่เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ยังพบว่ามีลักษณะผิดปกติเกิดขึ้น หลังจากย้ายออกปลูกได้ 4 เดือน คือ ต้นที่ได้จากแคลลัสที่ได้รับรังสีที่ระดับ 5 เกรย์ จะมีใบขนาดเล็ก และบางต้นที่ได้จากแคลลัสที่ได้รับรังสีที่ระดับ 3 เกรย์ มีลักษณะใบด่าง

อุไร (2544) ได้ศึกษาอิทธิพลของรังสีแกมมาต่อการกลายพันธุ์ในต้นอเมซอน โดยใช้ต้นอ่อนที่มีขนาดเท่า ๆ กัน ทำความสะอาด ตัดใบและรากทิ้งให้เหลือขนาดความยาวสุทธิประมาณ 6 เซนติเมตร ซับน้ำให้แห้งก่อนใส่ถุงพลาสติกถุงละ 1 ต้น ทั้งหมด 126 ต้น นำไปฉายรังสีแกมมา

ที่ระดับ 0, 50, 200,400, 600 และ 800 แรด แต่ละระดับรังสีฉาย 21 ต้น แล้วนำมาปลูกในกระถาง หลังจาก 4 เดือน บันทึกผล พบว่า LD_{30} และ LD_{50} มีค่าประมาณ 335 และ 550 แรด และรังสีแกมมาไม่มีผลต่อจำนวนหน่อ การจัดเรียงของใบและสีของใบ แต่รังสีแกมมามีผลทำให้ต้นอ่อนอเมซอนที่ถูกฉายรังสีทุกระดับเจริญเติบโตช้ากว่าต้นอ่อนที่ไม่ผ่านการฉายรังสีอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ต้นอ่อนอเมซอนที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาทุกระดับมีจำนวนโครโมโซมผิดปกติเมื่อเปรียบเทียบกับต้นอ่อนที่ไม่ผ่านการฉายรังสีซึ่งมีจำนวนโครโมโซม 2n = 22

การฉายรังสีแกมมาในผัก ผลไม้ ไม้ประดับและไม้เนื้อแข็ง

Goldman และ Ando (1990) ได้ศึกษาความไวต่อรังสีของโพรโทพลาสต์ ของส้ม (*Citrus sinensis* cv.Pera) พบว่า โพรโทพลาสต์ ที่แยกได้ที่อายุ 42 ชั่วโมงมีความเหมาะสมในการนำมาใช้ทดสอบ และ LD_{50} มีค่า 37.5 เกรย์

Zhen (1990)ได้นำช่อดอกอ่อน ของหอมสายพันธุ์ 8205 มาฉายรังสีแกมมาที่ระดับ 5, 10, 20 , 30, 40 และ 50 เกรย์ แล้วนำไปชักนำให้เกิดต้นในหลอดทดลอง พบว่า ชิ้นส่วนพืชที่ได้รับรังสีที่ระดับ 20 เกรย์ ขึ้นไปไม่สามารถเกิดต้นได้ มีเพียง 1 ต้นที่ได้จากชิ้นส่วนพืชที่ได้รับรังสีที่ระดับ 5 เกรย์ ที่มีการเปลี่ยนแปลง คือมีใบแคบ 9 ใบ มีรากเกิดขึ้น 7 ราก และมีรูปร่างของหัว (bulb) เปลี่ยนแปลงไป

Ahloowalia (1992) ได้ศึกษาผลของรังสีเพื่อชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในเบญจมาศ [*Chrysanthemum morifolium* cv.Princess Anne Bright Golden (yellow) and Neptune (white)] โดยฉายรังสีแกมมาในระดับ 2,000 แรด แก่ต้นเบญจมาศที่เพาะเลี้ยงในหลอดแก้วอายุ 10 สัปดาห์ หลังจากนั้นตัดแยกและย้ายเลี้ยงไป 3 ครั้ง จะได้พืชจำนวน 10 – 12 เท่า ในรุ่นที่ 4 (M1V4) พบว่า เบญจมาศสายพันธุ์ Nepture จำนวน 20 ต้น มีการเปลี่ยนแปลงของความสูง รูปร่างของดอก ใบ และขนาดของกลีบดอก มีช่อดอกสีแดงออกม่วง (magenta) เมื่อขยายพันธุ์ต่อไปโดยใช้วิธีปกติ (conventional propagation) 3 รุ่น พบว่ามีเพียง 15 ต้นที่มีลักษณะคงที่ ส่วนในสายพันธุ์ Princess Anne Bright Golden มีเพียง 1 ต้นจาก 16 ต้นที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างของดอก และลักษณะที่เปลี่ยนแปลงนั้นคงที่

Qin และคณะ (1995) ได้ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อ แคลลัสบรอคโคลี่ (*Brassica oleracea* L.var . *Italica* P.) โดยนำแคลลัสที่เพาะเลี้ยงได้อายุ 7 วัน และ 14 วัน มาฉายรังสีแกมมาที่ระดับ 0, 5, 10, 15 และ 20 กิโลแรด พบว่า แคลลัสอายุ 7 วัน ที่ฉายรังสีที่ระดับ 5 กิโลแรด เติบโตได้ดีที่สุด ในขณะที่รังสีแกมมาที่ระดับ 10 – 20 กิโลแรด มีผลยับยั้งการเติบโตของแคลลัสบรอคโคลี่ แคลลัสอายุ 7 วัน ที่ได้รับรังสีแกมมาที่ระดับ 5 กิโลแรด เกิดรากได้เร็วกว่าชุดควบคุม

1 – 2 วัน และระดับรังสีที่สูงขึ้นมีผลทำให้การเกิดของรากช้าออกไป อัตรารอดของพืชที่ได้หลังจากย้ายออกปลูกลดลงเมื่อระดับรังสีแกมมาที่ได้รับสูงขึ้น

Fereol และคณะ (1996) ได้ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อ *Alpinia purpurata* ในหลอดแก้ว โดยนำต้นในสภาพปลอดเชื้อ ที่มีความสูงประมาณ 5 เซนติเมตรไปฉายรังสีแกมมาที่ระดับ 0, 15, 30 และ 45 เกรย์ แต่ละระดับใช้ 25 ต้น พบว่า หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ที่ระดับรังสีแกมมาสูงขึ้น มีผลทำให้อัตรารอดของพืช น้ำหนักสด และอัตราการเพิ่มจำนวนยอดลดลง โดย LD_{50} มีค่าประมาณ 30 เกรย์ และผลของรังสีทำให้เกิดลักษณะที่ต่างไปจากเดิม เช่น ใบลาย (stripe) ใบมีสีขาวเผือก (albinism) ใบมีลักษณะภาวะพร่องคลอโรฟิลล์ (chlorosis) แผ่นใบสองข้างมีขนาดไม่เท่ากัน

Charbaji และ Nabulsi (1999) ได้นำส่วนของปลายยอดและข้อเดี่ยวขององุ่นสำหรับทำไวน์ ของต้นตอ (rootstocks) 2 พันธุ์ คือ R.99 และ 3309 และ สายพันธุ์ Helwani และ Cabernet Franc ที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง เป็นเวลา 60 วัน มาฉายรังสีแกมมาที่ระดับ 0, 2 , 5 และ 7 เกรย์ พบว่าชิ้นส่วนพืชของสายพันธุ์ Helwani และ Cabernet Franc ที่ได้รับรังสี 7 เกรย์ มีความยาวยอดเพิ่มขึ้น ยอดของทั้งสองต้นตอ และ Helwani ที่ได้รับรังสีที่ระดับ 5 เกรย์ มีจำนวนรากเพิ่มขึ้น ยอดของสายพันธุ์ Helwani และ Cabernet Franc ที่ได้รับรังสีที่ระดับ 2 และ 7 เกรย์ มีความยาวรากมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกันกับยอดของต้นตอ R.99 ที่ได้รับรังสีที่ระดับ 5 เกรย์ และชิ้นส่วนพืชที่ได้รับรังสีที่ระดับ 7 เกรย์ มีจำนวนใบเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

สิรนุชและคณะ (2526) ได้นำเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์อู่ทอง 1 มาฉายรังสีแกมมาในระดับ 30, 50 และ 70 กิโลแรด แต่ละระดับรังสีใช้ถั่วเขียวจำนวน 400 เมล็ด พบว่าเกิดการกลายพันธุ์ในลักษณะต่าง ๆ หลายชนิด เช่น พันธุ์กลายในปริมาณคลอโรฟิลล์ คือต้นกล้ามีใบเดี่ยวคู่แรกเป็นสีเหลืองเรียกว่า xantha และต้นที่มีใบสีขาว เนื่องจากความผิดปกติในจีนควบคุมการสร้างคลอโรฟิลล์ ทำให้กระบวนการสร้างคลอโรฟิลล์ถูกขัดขวาง การเปลี่ยนแปลงจำนวนใบย่อยของใบประกอบ การเปลี่ยนแปลงขนาดของใบและรูปทรงใบ พันธุ์กลายมีการติดเมล็ดต่ำและเป็นหมัน

วิทยาและสมปอง (2541) ได้ปรับปรุงพันธุ์มังคุดในหลอดทดลองโดยนำแคลลัสที่ชักนำจากใบอ่อนสีแดง มาฉายรังสีแกมมาที่ระดับ 0, 5, 10, 20 และ 40 เกรย์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า รังสีแกมมาที่ระดับ 20 และ 40 เกรย์ ทำให้อัตราการรอดชีวิตของแคลลัสลดลงแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังจากศึกษาลักษณะทางสันฐานบางประการของต้นชั่วที่ 1 (M1R1) พบว่า ต้นที่ได้จากแคลลัสที่ได้รับรังสีแกมมาที่ระดับ10, 20 และ 40 เกรย์ มีขนาดเตี้ยลง และต้นที่ได้มีอัตราการรอดชีวิตหลังย้ายปลูกต่ำกว่าต้นจากชุดควบคุม และลักษณะ

ผิดปกติทางสัณฐานที่พบเห็นคือ ปลายใบสองแฉก ขอบใบมีรอยหยัก การจัดเรียงตัวของใบผิดปกติ เกิดมังคุดสามใบ และเกิดกิ่งแขนง เป็นต้น

ส่วนรายงานงานวิจัยที่เกี่ยวกับการฉายรังสีในพืช *Anubias* เท่าที่ค้นคว้ายังไม่พบรายงาน ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์ของพืชชนิดดังกล่าวตลอดจน พรรณไม้น้ำชนิดอื่นต่อไป

วัตถุประสงค์

1. ขยายพันธุ์ *Anubias barteri* var.*nana.* โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากวิธีนี้สามารถเพิ่มปริมาณได้เป็นจำนวนมากในเวลาอันสั้น และได้ต้นขนาดสม่ำเสมอ

2. ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อ *Anubias barteri* var.*nana* ในหลอดทดลอง

3. เป็นแนวทางในการใช้เทคนิคการฉายรังสีเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ของพรรณไม้น้ำชนิดอื่นต่อไป