



## ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (รังสีประยุกต์และไอโซโทป)

ปริญญา

รังสีประยุกต์และไอโซโทป

รังสีประยุกต์และไอโซโทป

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ผลของการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันและ โครนิกต่อเนื่องเพื่อเพาะเลี้ยง  
อนุเบียสคอนเจนซิส

Effects of Acute and Chronic Gamma Irradiation on *In Vitro* Culture of  
*Anubias congensis* N.E. Brown.

นามผู้วิจัย นายปรกรณ์ ตั้งปอง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์ไพรรุช จอมพุก, Ph.D. )

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

( รองศาสตราจารย์ัญญา เตชะศีลพิทักษ์, วท.ม. )

หัวหน้าภาควิชา

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์วันวิสา สุกประเสริฐ, Ph.D. )

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

( รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr. )

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. ....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันและโครนิกต่อเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง  
อนุเบียสคอนเจนซิส

Effects of Acute and Chronic Gamma Irradiation on *In Vitro* Culture of  
*Anubias congensis* N.E. Brown.

โดย

นายปกรณ์ ตั้งปอง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (รังสีประยุกต์และไอโซโทป)

พ.ศ. 2552

ปกรณ์ ตั้งปอง 2552: ผลของการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันและ โครนิกต่อเนื่อง  
เพาะเลี้ยงอนุเบียสคอนเจนซิส ปริญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (รังสีประยุกต์และ  
ไอโซโทป) สาขารังสีประยุกต์และไอโซโทป ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป  
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พิรณช จอมพุก, Ph.D. 100 หน้า

นำต้นอ่อนเพาะเลี้ยงอนุเบียสคอนเจนซิส (*Anubias congenis* N.E. Brown) มาฉายรังสี  
แกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์ ที่อัตรารังสี 264 เกรย์ต่อชั่วโมง  
หลังจากฉายรังสี 60 วัน พบว่า เมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้นทำให้เปอร์เซ็นต์การตายสูงขึ้น โดยมีค่า  
 $LD_{50(60)}$  เท่ากับ 32.12 เกรย์ และจำนวนยอดต่อต้น จำนวนใบต่อต้น และจำนวนรากต่อต้น ในรุ่น  
 $M_1V_1$  ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) สำหรับลักษณะการเปลี่ยนแปลงหลังจากฉายรังสี  
แกมมาแบบเฉียบพลันที่เกิดขึ้นในรุ่น  $M_1V_1$  ที่สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่น  $M_1V_3$  ได้แก่ ลักษณะขอบ  
ใบหยัก ใบแคบ ใบต่าง และต้นแคระ ส่วนการนำต้นอ่อนเพาะเลี้ยงไปฉายรังสีแกมมาแบบ  
เฉียบพลันโดยการฉายครั้งเดียวและแบ่งฉาย 2 ครั้ง พบว่าที่ปริมาณรังสีรวม 15 และ 20 เกรย์ ต้น  
อ่อนที่ผ่านการฉายรังสีครั้งเดียวมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงเมื่อเทียบกับต้นอ่อนที่ผ่านการฉาย  
รังสีแบบแบ่งฉาย 2 ครั้ง ส่วนเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของลักษณะต่างๆ ที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  ใน  
กลุ่มที่ฉายรังสีครั้งเดียวจะมีเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงสูงกว่า สำหรับการเปลี่ยนและไม่เปลี่ยน  
อาหารเพาะเลี้ยงหลังจากฉายรังสีแบบเฉียบพลัน พบว่า การเปลี่ยนอาหารทำให้เปอร์เซ็นต์การรอด  
ชีวิตลดลงเมื่อเทียบกับการไม่เปลี่ยนอาหารหลังจากฉายรังสี แต่จำนวนยอดต่อต้น จำนวนใบต่อต้น  
และจำนวนรากต่อต้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิก  
ที่ปริมาณรังสี 0-120.30 เกรย์ อัตรารังสี 0.71 เกรย์ต่อชั่วโมง ไม่สามารถหาค่า  $LD_{50(60)}$  ได้  
เนื่องจากไม่มีการตายของต้นอ่อนในทุกปริมาณรังสี และที่ปริมาณรังสี 105.99 และ 120.30 เกรย์ มี  
ผลทำให้จำนวนยอดต่อต้นลดลง และสามารถคัดเลือกพันธุ์กลายที่คาดว่ามีความเป็นพันธุ์ใหม่  
ได้ทั้งหมด 5 สายพันธุ์ โดยได้จากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน 4 สายพันธุ์ และได้จากการ  
ฉายรังสีแกมมาแบบโครนิก 1 สายพันธุ์ พันธุ์กลายที่คัดเลือกได้ทุกสายพันธุ์สามารถขยายพันธุ์  
ต่อไปได้โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และสามารถตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่าง  
พันธุ์กลายที่คัดเลือกได้และพันธุ์เดิมด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD)

Pakorn Tangpong 2009: Effects of Acute and Chronic Gamma Irradiation on *In Vitro* Culture of *Anubias congensis* N.E. Brown. Master of Science (Applied Radiation and Isotopes), Major Field: Applied Radiation and Isotopes, Department of Applied Radiation and Isotopes. Thesis Advisor: Assistant Professor Peeranuch Jompuk, Ph.D. 100 pages.

*In Vitro* culture of *Anubias congensis* N.E. Brown. plantlets were irradiated with gamma rays for acute treatments of 0 20 40 60 80 and 100 Gy at the dose rate of 264 Gy/hr. After gamma irradiation for 60 days, survival percentage of plantlets decreased as irradiation doses increased. The calculated LD<sub>50(60)</sub> for the acute irradiation was 32.12 Gy. With the increased of radiation treatments, the number of shoots, number of leaves and number of roots per plantlet in the M<sub>1</sub>V<sub>1</sub> generation of *A. congensis* N.E. Brown. were decreased and significantly differences (p<0.05) among treatments. Some abnormalities observed in the M<sub>1</sub>V<sub>1</sub> generation exposed to acute irradiation were genetically transferred to the M<sub>1</sub>V<sub>3</sub> generation which included undulate leaf margins, narrow leaves, spotted leaves and dwarfism. For comparing the experiment between the single dose and two times split doses of gamma irradiation, the results indicated that at total doses of 15 and 20 Gy, the survival percentage of plantlets were lower in single dose treatment than two times split doses treatments. However, the percentage of variations in M<sub>1</sub>V<sub>1</sub> generation was higher in single dose treatment than another one. When comparing subculture and non-subculture of plantlets after gamma irradiation, the survival percentages of subculture treatments were less than non-subculture treatments in which the number of shoots, number of leaves and number of roots were not significantly differences. The chronic irradiation treatments were ranged from 0 to 120.30 Gy with the dose rate of 0.71 Gy/hr. The LD<sub>50(60)</sub> of these treatments was not possible to calculate because of all treatments had 100 percent survival. The number of shoots per plantlet was decreased only at 105.66 and 120.30 Gy. Five potential mutant lines of *A. congensis* N.E. Brown. were selected by 4 and 1 lines from acute and chronic treatments, respectively. All mutation characters were propagated through tissue culture. Moreover, random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique could be used to identify the mutant lines from the original variety.

---

Student's signature

---

Thesis Advisor's signature

## กิตติกรรมประกาศ

กราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พีรณัฐ จอมพุก ที่ปรึกษาโครงการวิทยานิพนธ์ ซึ่งคอยดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดีในการให้คำแนะนำการทำวิจัยประกอบวิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้สำเร็จ ล่วงไปด้วยดี กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ธัญญา เตชะศีลพิทักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำแนะนำวิธีการต่างๆ ในการปรับปรุงพันธุ์พืช ซึ่งเป็นประโยชน์แก่งานวิจัยชิ้นนี้เป็นอย่างมาก กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์ ที่กรุณาเป็นผู้ทรงคุณวุฒิการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย กราบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นวลฉวี รุ่งชนเกียรติ ที่กรุณาเป็นประธานการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ อภิลิทธิวานิช ที่กรุณาเป็นผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัยในการสอบประมวลความรู้ และยังคงแนะนำวิธีการต่างๆในการทำวิจัย กราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร.สมจิตต์ ปาละภาส ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชูศักดิ์ จอมพุก ที่กรุณาให้คำแนะนำในการทำงานวิจัยชิ้นนี้ผ่านไปได้ด้วยดี

ขอบพระคุณอาจารย์และบุคลากรทุกท่านในภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี และบุคลากรบัณฑิตวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านต่างๆ ด้วยดีเสมอมา และขอบคุณ คุณชนิตา ถินนอก ที่คอยช่วยเหลือในทุกๆ ด้านเป็นอย่างดี ขอขอบคุณ คุณชาลิณี ตั้งสมบัติวิจิตร และคุณสุธนา เกตุมาโร ที่คอยช่วยเหลือด้านต่างๆ และยังเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา ขอขอบคุณ คุณบุญฤทธิ์ สิ้นค้างาม คุณอังคณา เพาะนิยม และคุณวรรณมน มงคล ที่ช่วยเหลืองานด้านโมเลกุลเป็นอย่างดี ขอขอบคุณ คุณอรวรรณ จันทาพูน ที่คอยช่วยเหลือเป็นอย่างดี ขอขอบคุณ คุณอาทิตยา สุขเกษม คุณศรัญญา วงศ์สนิท และเพื่อนๆ ในภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป ภาควิชาพันธุศาสตร์ และภาควิชาพืชสวนทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจอย่างไม่มีขาดตกบกพร่อง ขอขอบคุณ คุณศรัณย์ สุขวัฒน์ ที่คอยให้ความช่วยเหลือและให้แนวคิดใหม่ๆ กับผู้วิจัยด้วยดีเสมอมา

กราบขอบพระคุณบิดา มารดา และทุกคนในครอบครัวที่คอยให้กำลังใจ และให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน ตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา จนวิทยานิพนธ์เล่มนี้ผ่านพ้นอุปสรรค ปัญหาต่างๆ ไปได้ด้วยดี

ปกรณ์ ตั้งปอง  
เมษายน 2552

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	14
อุปกรณ์	14
วิธีการ	17
ผลและวิจารณ์	26
ผล	26
วิจารณ์	79
สรุปและข้อเสนอแนะ	84
สรุป	84
ข้อเสนอแนะ	85
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	87
ภาคผนวก	97
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	100

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเทียบกับชุดควบคุมของ <i>A. congenis</i> N.E. Brown. ที่ 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาที่ปริมาณ 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์	27
2	ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่ของ <i>A. congenis</i> N.E. Brown. ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์	28
3	ค่าเฉลี่ยจำนวนใบต่อต้น ความยาว และความกว้างใบที่แตกใหม่ของ <i>A. congenis</i> N.E. Brown. ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์	30
4	ค่าเฉลี่ยจำนวนรากต่อต้น และความยาวรากที่แตกใหม่ของ <i>A. congenis</i> N.E. Brown. ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์	31
5	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเทียบกับชุดควบคุมของ <i>A. congenis</i> N.E. Brown. ที่ระยะเวลา 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาที่ปริมาณ 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์	37
6	ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่ของ <i>A. congenis</i> N.E. Brown. ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 (ชุดควบคุม) 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์	39
7	ค่าเฉลี่ยจำนวนใบต่อต้น ความยาวและความกว้างใบที่เกิดใหม่ของ <i>A. congenis</i> N.E. Brown. ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 (ชุดควบคุม) 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์	40

### สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
8	ค่าเฉลี่ยจำนวนรากต่อต้น และความยาวของรากที่เกิดใหม่ของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 (ชุดควบคุม) 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์	41
9	เปอร์เซ็นต์การกลายพันธุ์ในลักษณะต่างๆ ที่พบในรุ่น $M_1V_3$ หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์	44
10	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอด และค่าเฉลี่ยของจำนวนยอดต่อต้น ของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ในรุ่น $M_1V_1$ ที่ 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาแบบโครนิกที่ปริมาณ 0 14.34 28.60 31.24 42.90 51.16 65.55 82.42 91.69 105.99 และ 120.30 เกรย์	47
11	ค่าเฉลี่ยของ จำนวนใบต่อต้น ความยาวใบ และความกว้างของใบ ของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ในรุ่น $M_1V_1$ ที่ 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาแบบโครนิกที่ปริมาณ 0 14.34 28.60 31.24 42.90 51.16 65.55 82.42 91.69 105.99 และ 120.30 เกรย์	49
12	ค่าเฉลี่ยของ จำนวนรากต่อต้น และความยาวของราก ของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ในรุ่น $M_1V_1$ ที่ ระยะเวลา 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาแบบโครนิกที่ปริมาณ 0 14.34 28.60 31.24 42.90 51.16 65.55 82.42 91.69 105.99 และ 120.30 เกรย์	51
13	เปอร์เซ็นต์การกลายพันธุ์ในลักษณะต่างๆ ที่พบในรุ่น $M_1V_3$ หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 0 14.34 28.60 31.24 42.90 51.16 65.55 82.42 91.69 105.99 และ 120.30 เกรย์	54
14	ผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเทียบกับชุดควบคุมของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ที่ 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาที่ปริมาณ 0 5 10 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์	56

### สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
15	ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อต้านที่แตกใหม่ของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 5 10 15 20 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์	57
16	ค่าเฉลี่ยของ จำนวนใบต่อต้าน ความยาวใบ และความกว้างของใบ ของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ในรุ่น $M_1V_1$ ที่ระยะเวลา 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 (ชุดควบคุม) 5 10 15 20 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์	59
17	ค่าเฉลี่ยของจำนวนรากต่อต้าน และความยาวของรากเฉลี่ย ของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ในรุ่น $M_1V_1$ ที่ระยะเวลา 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 (ชุดควบคุม) 5 10 15 20 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์	60
18	ลักษณะการเปลี่ยนแปลง และเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงที่พบในรุ่น $M_1V_1$ ของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ในรุ่น $M_1V_1$ ที่ระยะเวลา 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 (ชุดควบคุม) 5 10 15 20 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์	62
19	เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอด ในรุ่น $M_1V_1$ ของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ในรุ่น $M_1V_1$ ที่ระยะเวลา 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณ 0 5 10 15 20 25 30 35 40 60 80 และ 100 เกรย์	66
20	ค่าเฉลี่ยของจำนวนรากต่อต้าน และความยาวของรากเฉลี่ย ของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ในรุ่น $M_1V_1$ ที่ระยะเวลา 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันในชุดการทดลองที่มีการย้ายและไม่ย้ายเปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงหลังจากการฉายรังสีได้รับรังสีแกมมาปริมาณ 0 5 10 15 20 25 30 35 40 60 80 และ 100 เกรย์	68

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
1	อาหารสูตร Murashige and Skoog (1962)	98
2	ลำดับเบสของไพรมเมอร์ S1-S20 และ S191-S195	99

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอด ของต้นอ่อนปลอดเชื้อ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ที่ปริมาณรังสี 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์ และค่า LD <sub>50(60)</sub>	27
2	เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตในลักษณะต่างๆ ของต้นอ่อนปลอดเชื้อ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ที่ปริมาณรังสี 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์ หลังจากการฉายรังสีระยะเวลา 60 วัน	32
3	ลักษณะใบหึงงอและใบด่าง ที่พบในรุ่น M <sub>1</sub> V <sub>1</sub> หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 20 (ก) 40 (ข) และ 60 (ค) เกรย์	33
4	ต้น <i>A. congensis</i> N.E. Brown. พันธุ์เดิม A <sub>0</sub> ที่ปลูกในเรือนเพาะชำเป็นระยะเวลา 6 เดือน	34
5	ต้น <i>A. congensis</i> N.E. Brown. พันธุ์กลาย A <sub>1</sub> ในรุ่น M <sub>1</sub> V <sub>3</sub> ที่คัดเลือกได้จากการฉายรังสี 20 เกรย์ และนำออกปลูกทดสอบในเรือนเพาะชำเป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยมีลักษณะการกลาย คือ มีขอบใบหยักเป็นคลื่น	35
6	ต้น <i>A. congensis</i> N.E. Brown. พันธุ์กลาย A <sub>2</sub> ในรุ่น M <sub>1</sub> V <sub>3</sub> ที่คัดเลือกได้จากการฉายรังสี 20 เกรย์ และนำออกปลูกทดสอบในเรือนเพาะชำเป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยมีลักษณะการกลายคือ ลำต้นแคระ และใบแคบ	35
7	<i>A. congensis</i> N.E. Brown. ที่กลายในลักษณะ albino ที่พบในรุ่น M <sub>1</sub> V <sub>3</sub> หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 40 เกรย์	36
8	เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของต้นอ่อนปลอดเชื้อของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ที่ปริมาณรังสี 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์ หลังจากการฉายรังสีระยะเวลา 60 วัน	38
9	เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตในลักษณะต่างๆ ของต้นอ่อนปลอดเชื้อ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ที่ปริมาณรังสี 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์ หลังจากการฉายรังสีระยะเวลา 60 วัน	42
10	ลักษณะใบด่าง และใบหึงงอ ที่พบในรุ่น M <sub>1</sub> V <sub>1</sub> หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 5 (ก) 15 (ข) 20 (ค) และ 40 (ง) เกรย์ ที่ระยะเวลา 60 วัน หลังจากฉายรังสี	43

### สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
11	ต้น <i>A. congensis</i> N.E. Brown. พันธุ์กลาย $A_3$ ในรุ่น $M_1V_3$ ที่อยู่สภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยมีลักษณะการกลายคือ มีลักษณะใบต่าง ซึ่งได้จากการฉายรังสีปริมาณ 10 เกรย์	45
12	ต้น <i>A. congensis</i> N.E. Brown. พันธุ์กลาย $A_4$ ในรุ่น $M_1V_3$ ที่คัดเลือกได้จากการฉายรังสี 20 เกรย์ และนำออกปลูกทดสอบในเรือนเพาะชำเป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยมีลักษณะการกลายคือ มีลำต้นแคระ ซึ่งได้จากการฉายรังสีปริมาณ 15 เกรย์	45
13	ต้น <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ในรุ่น $M_1V_3$ ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในห้องเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยมีลักษณะการกลายคือ albino ซึ่งสามารถพบได้จากการฉายรังสีปริมาณ 15 (ก) 20 (ข) 30 (ค) 35 (ง) และ 40 (จ) เกรย์	46
14	ลักษณะใบต่าง และหังกงอที่พบในรุ่น $M_1V_1$ หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกปริมาณรังสี 14.34 (ก) 28.60 (ข) 31.24 (ค) 42.90 (ง) 51.16 (จ) 65.55 (ฉ) 82.42 (ช) 91.69 (ซ) 105.99 (ฌ) และ 120.30 (ญ) เกรย์ ที่ระยะเวลา 60 วัน หลังจากฉายรังสี	52
15	ลักษณะ albino ที่พบในรุ่น $M_1V_1$ หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกปริมาณ 14.34 (ก) 31.24 (ข) 91.69 (ค) 105.99 (ง) และ 120.30 (จ) เกรย์ ที่ระยะเวลา 60 วัน หลังจากฉายรังสี	53
16	ต้น <i>A. congensis</i> N.E. Brown. พันธุ์กลาย $A_5$ ในรุ่น $M_1V_3$ ที่ปลูกทดสอบในเรือนเพาะชำเป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยมีลักษณะการกลายคือ มีลำต้นแคระ ซึ่งได้จากการฉายรังสีปริมาณ 28.60 เกรย์	55
17	ต้น <i>A. congensis</i> N.E. Brown. ในรุ่น $M_1V_3$ ที่เพาะเลี้ยงสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยมีลักษณะ albino ซึ่งสามารถพบได้จากการฉายรังสีปริมาณ 14.34 (ก) 31.24 (ข) 91.69 (ค) 105.99 (ง) และ 120.30 (จ) เกรย์	55

### สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
18	ลักษณะใบด่างที่พบในรุ่น $M_1V_1$ หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 5 (ก) 10 (ข) 15 (ค) 20 (ง) 5+5 (จ) 5+10 (ฉ) 10+5 (ช) และ 10+10 (ซ) เกรย์ ที่ระยะเวลา 60 วัน หลังจากฉายรังสี	63
19	แสดงการเปรียบเทียบระหว่างเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของชุดที่มีการย้ายเปลี่ยนอาหารและไม่ย้ายเปลี่ยนแปลงอาหารที่ระยะเวลา 60 วัน หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 0-100 เกรย์	67
20	แสดงการเปรียบเทียบจำนวนยอดต่อต้น จำนวนใบ และจำนวนรากต่อต้นเฉลี่ยของชุดที่มีการย้ายเปลี่ยนอาหารและไม่ย้ายเปลี่ยนแปลงอาหารที่ระยะเวลา 60 วัน หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 0-100 เกรย์	70
21	แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. พันธุ์เดิม ( $A_0$ ) และพันธุ์กลาย $A_1 A_2 A_3 A_4 A_5$ ด้วยเทคนิค RAPD (M : 1 kb DNA ladder, primer : S1 S2 S3 และ S4 เรียงตามลำดับจากซ้ายไปขวา)	76
22	แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. พันธุ์เดิม ( $A_0$ ) และพันธุ์กลาย $A_1 A_2 A_3 A_4 A_5$ ด้วยเทคนิค RAPD (M : 1 kb DNA ladder, primer : S5 S6 S7 และ S8 เรียงตามลำดับจากซ้ายไปขวา)	76
23	แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. พันธุ์เดิม ( $A_0$ ) และพันธุ์กลาย $A_1 A_2 A_3 A_4 A_5$ ด้วยเทคนิค RAPD (M : 1 kb DNA ladder, primer : S9 S10 S11 และ S12 เรียงตามลำดับจากซ้ายไปขวา)	77
24	แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. พันธุ์เดิม ( $A_0$ ) และพันธุ์กลาย $A_1 A_2 A_3 A_4 A_5$ ด้วยเทคนิค RAPD (M : 1 kb DNA ladder, primer : S13 S14 S15 และ S16 เรียงตามลำดับจากซ้ายไปขวา)	77
25	แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ <i>A. congensis</i> N.E. Brown. พันธุ์เดิม ( $A_0$ ) และพันธุ์กลาย $A_1 A_2 A_3 A_4 A_5$ ด้วยเทคนิค RAPD (M : 1 kb DNA ladder, primer : S17 S18 S19 และ S20 เรียงตามลำดับจากซ้ายไปขวา)	78

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
26	แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ <i>A. congenis</i> N.E. Brown. พันธุ์เดิม ( $A_0$ ) และพันธุ์กลาย $A_1$ $A_2$ $A_3$ $A_4$ $A_5$ ด้วยเทคนิค RAPD (M : 1 kb DNA ladder, primer : S191 S192 S193 และ S195 เรียงตามลำดับจากซ้ายไปขวา)	78

ผลของการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันและโครนิคต่อเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง  
อณูเบียดคอนเจนซิส

**Effects of Acute and Chronic Gamma Irradiation on *In Vitro* Culture of  
*Anubias congenis* N.E. Brown.**

คำนำ

พรรณไม้น้ำจัดว่ามีความสำคัญทางเศรษฐกิจเนื่องจากการส่งออกไปยังต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ทำให้เงินตราต่างประเทศไหลเข้ามาในประเทศไทย จึงเป็นส่วนหนึ่งที่เสริมสร้างความแข็งแกร่งให้แก่ระบบเศรษฐกิจของประเทศไทย และช่วยขับเคลื่อนระบบเศรษฐกิจภายในประเทศให้มีความคล่องตัวมากยิ่งขึ้น

พรรณไม้น้ำที่ได้รับความนิยมทั้งตลาดในประเทศ และต่างประเทศนั้นมีมากมายหลายสายพันธุ์ อาทิเช่น *Aponogeton ulvaceus*, *Echinodorus 'Ozelot'*, *Eusteralis stellata*, *Hemianthus micranthemoides*, *Ludwigia arcuata*, *Rotala indica*, *Rotala rotundifolia*, *Sagittaria subulata*, *Anubias nana*, *Anubias minmimar*, *Anubias barteri* และ *Anubias congenis* N.E. Brown. เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งพรรณไม้น้ำสกุลอณูเบียด ซึ่งได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในหมู่นักสะสมพรรณไม้น้ำ และผู้ที่เลี้ยงปลา เนื่องจากมีความสวยงาม ดูแลรักษาง่าย และทนทานต่อการกัดกินของเหล่าสัตว์น้ำชนิดที่กินพืชได้เป็นอย่างดี ในการผลิตพรรณไม้น้ำสกุลอณูเบียด ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด เนื่องจากพรรณไม้น้ำสกุลนี้ มีการเจริญเติบโตที่ค่อนข้างช้า (Rataj and Horeman, 1977) เมื่อเทียบกับพรรณไม้น้ำสกุลอื่น ทำให้การขยายพันธุ์โดยวิธีการตัดแยกจากหน่อของต้นแม่ นั้นทำได้ช้า ส่งผลให้พรรณไม้น้ำสกุลนี้มีราคาสูง โดยพรรณไม้น้ำสกุลอณูเบียดอายุ 6-12 เดือนมีราคาจำหน่ายต่อต้นประมาณ 80-100 บาท ดังนั้นในการขยายพันธุ์พรรณไม้น้ำสกุลอณูเบียด ให้ได้จำนวนมากนั้น ได้มีการนำเอาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาประยุกต์ใช้ (พวงผกา, 2546)

การนำเอาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการขยายพันธุ์พืชเป็นวิธีที่รวดเร็วเมื่อเทียบกับการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศแบบดั้งเดิม (Kyte and Kleyn, 1996) เช่น การปักชำ การ

ตอนกิ่ง หรือการแยกหน่อ เป็นต้น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นการนำเอาชิ้นส่วนของพืช เช่น ราก ปลายยอด เนื้อเยื่อเจริญ มาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ เช่น สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) และสูตร LS (Linsmaier and Skoog, 1965) โดยได้มีการดัดแปลงเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อให้มีความเหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด และมีการนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มาประยุกต์ใช้ในทางการเกษตรหลายๆ ด้าน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช (Novak et al., 1990) ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างพืชพันธุ์ใหม่ที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ หรือเพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีลักษณะที่ต้องการ เช่น ให้ผลผลิตสูง ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวสั้น หรือในส่วนของไม้ดอกไม้ประดับมีการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีความสวยงามมากยิ่งขึ้น ทั้งในด้านสีต้น และรูปร่างของใบ และดอก เพื่อสนองความต้องการของผู้บริโภค และยังเป็นการเพิ่มความหลากหลายของสายพันธุ์ของพืชสกุลนั้นๆ อีกทางหนึ่ง สำหรับพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียสนั้นจัดได้ว่าเป็นพรรณไม้น้ำที่มีลักษณะใบสวยงาม เหมาะแก่การนำไปประดับตกแต่งตู้ปลา หรือจัดแสดงได้เป็นอย่างดี โดยมูลค่าทางเศรษฐกิจของพรรณไม้น้ำสกุลนี้อยู่ที่ความหลากหลายของสายพันธุ์ และลักษณะที่มีความแปลกใหม่ ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์พรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียสให้มีความสวยงามแปลกตาขึ้น เป็นการเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้กับพรรณไม้น้ำสกุลนี้ และยังเป็นการเพิ่มทางเลือกให้กับผู้บริโภคในการเลือกซื้อพรรณไม้น้ำไปประดับตกแต่งตู้ปลาหรือตู้พรรณไม้น้ำอีกด้วย

การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์เพื่อให้เกิดความหลากหลายของพันธุ์ไม้ต่างๆ มีหลายวิธี เช่น การใช้สารเคมี และการใช้รังสี เป็นต้น ในส่วนของการใช้รังสีในการปรับปรุงพันธุ์พืช ถือได้ว่าเป็นที่นิยมนำมาใช้ในงานด้านการปรับปรุงพันธุ์พืชกันอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งไม้ดอกไม้ประดับ การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้รังสีเพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ เป็นการเพิ่มอัตราการกลายพันธุ์ให้สูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ ซึ่งแม้จะมีการกลายพันธุ์อยู่บ้าง แต่มีอัตราการกลายพันธุ์ต่ำมาก สำหรับไม้ดอกไม้ประดับ นั้นหากมีลักษณะที่แปลกแตกต่างออกไปจากพันธุ์เดิมและมีลักษณะที่สวยงาม ยิ่งเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคมากขึ้น ดังนั้นการใช้รังสีในการเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์ จึงเป็นแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์ให้ได้พรรณไม้น้ำที่มีลักษณะที่สวยงามได้ในอนาคต

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน (acute irradiation) และแบบโครนิก (chronic irradiation) ที่มีผลต่อการอยู่รอด และการเจริญเติบโตของตัวอ่อนในสภาพปลอดเชื้อของ *Anubias congensis* N.E. Brown.
2. เพื่อศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันและแบบโครนิก ในการเหนี่ยวนำให้ตัวอ่อนในสภาพปลอดเชื้อของ *Anubias congensis* N.E. Brown. เกิดการกลาย
3. เพื่อศึกษาการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการจำแนกพันธุ์เดิมออกจากพันธุ์กลาย
4. คัดเลือกพันธุ์กลายที่มีศักยภาพ ขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อทดสอบพันธุ์ต่อไป

## การตรวจเอกสาร

### ลักษณะทั่วไปของพรรณไม้น้ำสกุลอโนเบียส

พรรณไม้น้ำสกุลอโนเบียส (*Anubias*) เป็นพรรณไม้ที่อยู่ในวงศ์ Araceae มีถิ่นกำเนิดบริเวณเขตร้อนทวีปแอฟริกา จัดเป็นพืชมีดอก ใบเลี้ยงคู่ เป็นพืชล้มลุกอายุหลายฤดู มีต้นเป็นเหง้าใต้ดิน และแทงขึ้นมาบนดิน มีใบแตกออกจากโคนต้น มีกาบประดับคล้ายใบ มีสีน้ำตาลหรือขาวขอบขึ้นในที่ร่ม ชื้นแฉะ และมีความชื้นสูง พรรณไม้น้ำสกุลอโนเบียสสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.5-7.4 (Crusio, 1979)

*Anubias congensis* N.E. Brown. เป็นพรรณไม้น้ำสกุลอโนเบียสที่มีแผ่นใบสีเขียวเข้ม และมีลักษณะเป็นรูปหอก มีความยาวตั้งแต่ 25 เซนติเมตรไปจนถึง 30 เซนติเมตร และมีความกว้างของแผ่นใบประมาณ 10 เซนติเมตร ลำต้นเป็นลำต้นเหง้าใต้ดิน มักพบในบริเวณที่มีความชื้นสูง และมีน้ำท่วมถึง ในการขยายพันธุ์ของ *A. congensis* N.E. Brown. นิยมใช้การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการขยายพันธุ์ที่นิยมนั้น ได้แก่ ตัดแยกหน่อจากต้นแม่ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (กาญจนรี, 2549)

### การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นวิธีการเพิ่มจำนวนต้นพืชได้อย่างรวดเร็ว และได้ต้นพืชที่ปลอดโรค โดยการเพิ่มจำนวนต้นพืชให้ได้จำนวนมากนั้น (Rout *et al.*, 2006) นิยมใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต โดยเฉพาะอย่างสารควบคุมการเจริญโตกลุ่มไซโตไคนิน ที่มีคุณสมบัติชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก โดยได้มีการศึกษาในมะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum*) เป็นการศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ของมะเขือเทศ โดยทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ อาทิ เช่น ส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สูตรอาหารที่เหมาะสม และศึกษาถึงวิธีการต่างๆ ที่นำมาใช้ เช่น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบริเวณราก และการช่วยชีวิตคัพทะ เป็นต้น (Bhatia *et al.*, 2004) ปัจจุบันได้มีการนำเอาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมไม้ดอกไม้ประดับ เพื่อเพิ่มปริมาณให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาด (Rout *et al.*, 2006) อีกทั้งยังเป็นการอนุรักษ์พันธุกรรมของพืชท้องถิ่น และพืชหายากอีกด้วย (Chen *et al.*, 2006; Sudhersan *et al.*, 2003)

ในการเพิ่มจำนวนพืชให้ได้จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้นนั้นได้มีการศึกษาและพัฒนาวิธีการ รวมไปถึงปัจจัยที่เหมาะสม ต่อการเจริญเติบโตของพืช อาทิเช่นในการศึกษาที่มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มจำนวนขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) โดยได้ศึกษาถึงความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอดให้ได้ปริมาณมาก พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ (thidiazuron) ที่ระดับความเข้มข้น 72.64 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนยอดต่อต้นสูงที่สุดคือ 11.4 ยอดต่อต้น (Prathaturug *et al.*, 2005) ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนช่อดอกอ่อนของหญ้าพาสพาลัม (*Paspalum dilatatum* Poir.) พบว่าการใช้อาหารสูตร MS ที่ดัดแปลงเติม 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ gellum gum 0.2 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำ embryogenic callus ได้ จากนั้นย้ายแคลลัสไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ GA<sub>3</sub> (gibberellic acid) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ (Akashi and Adachi, 1992) ในส่วนของการศึกษาการชักนำใบอ่อนของหญ้าเนเปียร์แคระ (*Pennisetum purpureum* cv. Mott) ให้เกิดแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่ดัดแปลงเติมน้ำมะพร้าว 5 เปอร์เซ็นต์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้บนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 5 เปอร์เซ็นต์ BAP (benzylaminopurine) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA (naphthylacetic acid) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (จันทกานต์, 2544) และจากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการพัฒนาหน่อของกล้วยบัวสีส้ม พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BA (N<sup>6</sup>-benzyladenine) ระดับความเข้มข้น 2.5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการพัฒนาของหน่อของกล้วยบัวสีส้มดีที่สุด (อัญชูลิ, 2546)

ในปัจจุบันมีการนำเอาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาประยุกต์ใช้กับการอนุรักษ์พันธุ์พืชที่หายาก โดยได้มีการศึกษาใน Senno (*Lychnis senno*) ซึ่งเป็นพืชหายากในประเทศจีน โดยเป็นการศึกษาถึงปัจจัยที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก พบว่าการใช้ BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ Senno เกิดยอดจำนวนมากได้ (Chen *et al.*, 2006) และประโยชน์อีกด้านหนึ่งของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคือ การผลิตพืชปลอดโรคซึ่งมีการทดลองเพาะเลี้ยงละอองเรณูของลิลลี่ (*Lilium* × 'Enchantment') พบว่าสูตรอาหารที่สามารถชักนำเกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์และปราศจากโรค คือสูตรอาหาร MS ที่ดัดแปลงเติมพิโคลแรม (picloram) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ zeatin ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (Niimi *et al.*, 2001)

ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อีกด้านหนึ่งคือเพื่อใช้ในเทคนิคพันธุวิศวกรรม ซึ่งจัดว่าเป็นการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้วิธีทางโมเลกุลเข้ามาช่วย ในการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยมีการศึกษาการถ่ายยีนเข้าไปในบริเวณราก และยอดของเบญจมาศ (*Dendrathera grandiflorum*) โดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens* และทำการคัดเลือกชิ้นส่วนที่สามารถถ่ายยีนเข้าไปโดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงที่เติม kanamycin 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร (Sy *et al.*, 2003) และจากการถ่ายยีนโดยใช้ *A. tumefaciens* เข้าในใบของเบญจมาศ พบว่าสามารถใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อชักนำชิ้นส่วนของใบให้เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ (Teixeira da Siva and Fukai, 2002)

### การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำ

เนื่องจากพรรณไม้น้ำบางสายพันธุ์มีการเจริญเติบโตที่ค่อนข้างช้าโดยเฉพาะอย่างยิ่งพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส ดังนั้นจึงได้มีการนำเอาเทคโนโลยีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาช่วยในการเพิ่มปริมาณพรรณไม้น้ำให้ได้จำนวนมาก ซึ่งมีการศึกษาถึงปัจจัยที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนยอดให้ได้ปริมาณมาก โดยศึกษาทั้งชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตในระดับที่เหมาะสมจากการศึกษาในใบพาย (*Cryptocoryne wendtii*) พบว่าอาหารสูตร MS ที่ดัดแปลงเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ *C. wendtii* เกิดต้นอ่อนได้จำนวนมากที่สุด (มณีรัตน์ และ อรุณี, 2542) ซึ่งผลการทดลองในเบื้องต้น นั้นสอดคล้องกับการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากใน *C. wendtii* โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 20-25 ไมโครโมลาร์ (Kane *et al.*, 1999) ในส่วนของการศึกษาผลร่วมกันของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA พบว่าอาหารสูตร MS ที่ดัดแปลงเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยที่ไม่มีการเติม NAA นั้นสามารถชักนำให้อเมซอน (*Echinodorus argentesis*) เกิดยอดได้สูงสุด ส่วนอาหารสังเคราะห์ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าเกิดรากมากที่สุด เช่นเดียวกับอาหารสูตรที่มีการดัดแปลงเติม NAA อย่างเดียวทำให้เกิดรากจำนวนมาก (อุไร, 2542) และจากการศึกษาในโลบีเลีย (*Lobellia cardinalis*) พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 45 ยอด (อุไร, 2542)

วรรณดา (2548) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำสกุลอนูเบียส (*Anubias barteri* Engler) ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อศึกษาอิทธิพลของ 2 ปัจจัย โดยปัจจัย 1 คือ สูตรอาหารสังเคราะห์ 4 สูตร ได้แก่

สูตรที่ 1 MS สูตรที่ 2 MS (ลดธาตุอาหารหลัก  $\frac{1}{2}$  ของสูตรปกติ) สูตรที่ 3 LS และสูตรที่ 4 LS (ลดธาตุอาหารหลัก  $\frac{1}{2}$  ของสูตรปกติ) ร่วมกับ ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับความเข้มข้นของ NAA 2 ระดับ ได้แก่ 0 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ระดับความเข้มข้นของ BA 2 ระดับ ได้แก่ 0 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยง *A. barteri* เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า สูตรอาหารแต่ละสูตรที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักแตกต่างกัน มีผลชักนำให้เกิดยอดมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) แต่เมื่อพิจารณาลักษณะภายนอกของชิ้นเนื้อเยื่อ พบว่าชิ้นเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในสูตรอาหารสูตรที่ 1 และ 3 ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เพียงอย่างเดียว สามารถชักนำให้ชิ้นเนื้อเยื่อส่วนยอด *A. barteri* เกิดยอดใหม่ที่มีลักษณะสมบูรณ์ ไม่แสดงอาการบวมน้ำ ส่วนเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดจำนวนยอดมากที่สุด (3.60 ยอด) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองใน *A. barteri* Engler var. *undulata*. ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่คัดแปลงเติม BA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร (Huang *et al.*, 1994)

### การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้รังสี

การกลายพันธุ์เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในสารพันธุกรรม โดยการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเป็นผลทำให้ลักษณะของสิ่งมีชีวิตเปลี่ยนแปลงไป และสามารถถ่ายทอดลักษณะดังกล่าวไปสู่รุ่นต่อไปได้ สาเหตุของการกลายพันธุ์ ได้แก่ การกลายโดยธรรมชาติ รังสี และสารเคมีบางชนิด สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ รังสีที่นิยมนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านการปรับปรุงพันธุ์พืชคือ รังสีที่ก่อให้เกิดไอออน โดยเฉพาะอย่างยิ่งรังสีแกมมา ทั้งนี้เนื่องจากรังสีแกมมามีคุณสมบัติที่สามารถทะลุทะลวงผ่านตัวกลางได้ดี ทำให้สามารถผ่านเข้าไปทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมของพืชได้เป็นอย่างดี โดยรังสีมีผลทำให้โมเลกุลของดีเอ็นเอเปลี่ยนแปลงไปในสภาวะที่สามารถเกิดปฏิกิริยาทางเคมีได้สูง จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของโมเลกุลดีเอ็นเอ และนำไปสู่การกลายพันธุ์ในที่สุด (สิรินุช, 2540) โดยได้มีการศึกษาผลของรังสีแกมมาในพืชชนิดต่างๆ อาทิเช่น การศึกษาในส้มโชกุน (*Citrus reliculata*) และส้มโอ (*C. grandis*) ซึ่งทดลองฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 0 4 6 และ 8 เกรย์ และการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกที่ปริมาณรังสี 0 4 8 12 16 และ 20 เกรย์ ให้กับกิ่งพันธุ์ พบว่าหลังจากการฉายรังสี ในรุ่น  $M_1V_4$  ของ ส้มโชกุน และส้มโอ ได้ลักษณะการกลายคือ ไม่มีเมล็ด และเมล็ดมีขนาดเล็กลง (Somsri *et al.*, 2008)

การฉายรังสีแกมมาให้แก่เมล็ดข้าว (*Oryza sativa* L.) โดยฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 200 เกรย์ พบว่าหลังจากการฉายรังสีรุ่น  $M_1$  มีเปอร์เซ็นต์ความเป็นหมันสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดข้าวที่ไม่ผ่านการฉายรังสี และในรุ่น  $M_2$  ซึ่งมีความแปรปรวนของพันธุกรรมสูงขึ้นจากการทดลองชุดควบคุม 33 เปอร์เซ็นต์ (Fu *et al.*, 2008) และจากการฉายรังสีแกมมาให้แก่ถั่วชิกพี (*Cicer arietinum*) ที่ปริมาณรังสี 200 และ 400 เกรย์ หลังจากการฉายรังสีพบว่ามี การเปลี่ยนแปลงของ จำนวนฝัก จำนวนเมล็ดต่อฝัก ปริมาณโปรตีนในเมล็ด (Wani and Anis, 2008) ความยาวราก และพบว่าจากการทดลองฉายรังสีแกมมาปริมาณ 400 เกรย์ ส่งผลให้จำนวนยอดของ *C. arietinum* ลดลง (Toker *et al.*, 2005) และจากการศึกษาผลของรังสีแกมมาในวาซาบิ (*Wasabi japonica*) โดยฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 0 10 20 40 และ 80 เกรย์ พบว่ามีใบที่ผิดปกติเกิดขึ้นหลังจากการฉายรังสี และในการวิเคราะห์ปริมาณ Allyl thiocyanate (AITC) โดยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) พบว่ามีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อปริมาณรังสีสูงขึ้น (Hung and Johnson, 2008) และจากการนำเมล็ดพริกประดับ (*Capsicum annuum*) มาฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสีตั้งแต่ 0 300 400 500 600 และ 800 เกรย์ เพื่อศึกษาความไวต่อรังสี พบว่าสามารถหาค่าปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้เกิดการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (lethal dose,  $LD_{50}$ ) เท่ากับ 445 เกรย์ และพบว่าที่ปริมาณรังสีสูงขึ้นไปมีผลทำให้เกิดความผิดปกติทางสัณฐานวิทยาของใบเพิ่มขึ้น และเปอร์เซ็นต์การงอกลดลง (Omar *et al.*, 2008) ส่วนการศึกษาในถั่วฝักยาว (*Vigna sesquipedalis*) ที่นำเมล็ดมาฉายรังสีแกมมา 0 300 400 500 600 และ 800 เกรย์ พบว่าค่า  $LD_{50}$  อยู่ในช่วง 600-800 เกรย์ โดยที่ปริมาณรังสี 800 เกรย์ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา และการงอกของเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญ (Kon *et al.*, 2007) และเมื่อนำเมล็ดข้าวสาลี (*Triticum durum*) มาฉายรังสีแกมมาปริมาณรังสี 10 15 และ 20 กิโลเรด พบว่าสามารถคัดเลือกพันธุ์กลายที่มีความสูงของต้นลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับต้นปกติได้ (Stamo *et al.*, 2007) ในการศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อมะเขือเทศ (*Solanum lycopersicum*) โดยฉายรังสีแกมมาปริมาณ 300 เกรย์ พบว่าสามารถคัดเลือกพันธุ์กลาย ‘Micro-Tom’ ได้ในรุ่น  $M_2$  โดยพันธุ์ดังกล่าวมีลักษณะลำต้นเตี้ย มีใบสีอ่อน และมีรากสั้นสีชมพู (Matsukura *et al.*, 2007)

Wang *et al.* (2006) ได้ฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกให้แก่มันเทศ (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) สายพันธุ์ Kokei No.14 ที่ปริมาณรังสี 0 57 142 และ 227 เกรย์ อัตรารังสี 0 0.5 1.25 และ 2 เกรย์ต่อวัน ตามลำดับ หลังจากการฉายรังสีสามารถคัดเลือกพันธุ์กลายได้ 1 พันธุ์ โดยพันธุ์กลายดังกล่าวมีลักษณะเนื้อของรากสะสมอาหารเป็นสีส้ม ซึ่งต่างจากพันธุ์เดิมที่มีลักษณะเป็นสีเหลืองอ่อน และยังมีการสะสมอาหารเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับพันธุ์เดิม และจากการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกให้แก่ข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum vulgare*) ที่อัตรารังสี 3-15 เรดต่อวันพบว่ามีอัตราการกลาย

ของคลอโรฟิลล์สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับรังสี (Honcariv *et al.*, 1967) การฉายรังสีแกมมาในช่วงปริมาณรังสี 0-140 เกรย์ ให้แก่เมล็ดถั่วลันเตา (*Pisum sativum* L.) พบว่าที่ปริมาณรังสี 140 เกรย์ มีจำนวนรากที่งอกลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (Ciftci *et al.*, 2006) และจากการทดลองในถั่วเหลือง (*Glycine max* L.) โดยนำเมล็ดมาฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 0 200 300 400 500 600 และ 700 เกรย์ พบว่ามีการเจริญเติบโตของต้นกล้าลดลงเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มสูงขึ้นและจากการทดลองดังกล่าวสามารถหาค่า LD<sub>50</sub> ได้เท่ากับ 620 เกรย์ และพบลักษณะการกลายที่เกิดขึ้น ได้แก่ จำนวนฝักต่อต้นเพิ่มสูงขึ้น และเมล็ดมีขนาดใหญ่ขึ้น (Karthika and Lakshmi, 2006)

ในการปรับปรุงพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับนั้นรังสีแกมมาได้เข้ามามีบทบาทเป็นอย่างมากที่ช่วยสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมให้มากขึ้น ซึ่งมีการศึกษาการฉายรังสีแกมมาให้กับมะลิ (*Jasminum spp.*) โดยฉายรังสีให้กับกิ่งพันธุ์มะลิที่ปริมาณรังสี 50 และ 55 เกรย์ หลังจากการฉายรังสีพบว่ามีความผิดปกติของใบเกิดขึ้นได้แก่ ใบหงิกงอ ใบด่าง ในส่วนของดอกมีการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นคือ ก้านดอกมีความยาวลดลง ดอกเล็กลง และมีการเปลี่ยนแปลงรูปทรงของดอก (Aisyah *et al.*, 2005) เช่นเดียวกันกับการฉายรังสีให้กับเบญจมาศ (*Dendranthema grandiflorum* cv. 'Puja') ซึ่งได้พันธุ์กลายคือ มีกลีบดอกสีเหลือง ต่างจากพันธุ์เดิมที่กลีบดอกมีสีเหลืองอมส้ม (Datta *et al.*, 2000) และการนำเบญจมาศสายพันธุ์ New Princess มาฉายรังสีแกมมา ที่ปริมาณรังสี 0 10 20 30 และ 40 เกรย์ พบว่าที่ปริมาณรังสีแกมมา 10 เกรย์ เหมาะสมกับการปรับปรุงพันธุ์ เบญจมาศสายพันธุ์ New Princess มากที่สุด เนื่องจากที่ปริมาณรังสีที่สูงกว่า 10 เกรย์ พบว่า เบญจมาศสายพันธุ์ New Princess ตายทั้งหมด และสามารถคัดเลือกพันธุ์กลายที่มีลักษณะสีดอกเข้มขึ้น (deeper colors) ได้ (Dowrick and Bayoumi, 1966)

### การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้รังสีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นเป็นวิธีใช้พื้นที่น้อยแต่ได้จำนวนประชากรมากและใช้ระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์น้อยกว่าการปรับปรุงพันธุ์แบบมาตรฐาน หลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายแล้ว สามารถคัดเลือกลักษณะการกลายที่เกิดขึ้น เช่น ลักษณะทนเค็ม ลักษณะทนแล้ง และลักษณะทนโรคชนิดต่างๆ เป็นต้น โดยการแยกส่วนที่เกิดการกลาย ออกจากส่วนที่ปกติในสภาพปลอดเชื้อ ได้ (Jain *et al.*, 1998)

การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้การเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้รังสีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีผู้ศึกษาเป็นจำนวนมาก อาทิเช่น การปรับปรุงพันธุ์กุหลาบ (*Rosa hybrida*) ซึ่งได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกุหลาบแล้วนำไปฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 0 20 30 40 และ 60 เกรย์ หลังจากการฉายรังสีแกมมา พบว่าปริมาณรังสีแกมมาที่เหมาะสมในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์อยู่ในช่วงปริมาณรังสี 40-50 เกรย์ (Benetka, 1985) และ Huttema *et al.* (1986) ได้มีการศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงเบญจมาศ พบว่าสามารถคัดเลือกพันธุ์กลายที่มีความทนทานต่ออุณหภูมิต่ำได้ดี และต่อมาในปี ค.ศ.2000 ได้มีการปรับปรุงพันธุ์เบญจมาศโดยใช้รังสีแกมมาเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยทำการฉายรังสีแกมมาให้แก่เบญจมาศ และพบว่าเกิดลักษณะไคเมอราที่กลีบดอก ดังนั้นจึงนำเอากลีบดอกที่เกิดการเปลี่ยนแปลงนั้นมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ดัดแปลงเติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ากลีบดอกสามารถพัฒนาไปเป็นยอดที่สมบูรณ์ได้ (Mandal *et al.*, 2000) และการใช้รังสีแกมมาร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในเบญจมาศยังสามารถคัดเลือกพันธุ์กลายที่มีระยะเวลาบานของดอกเร็วขึ้น 7-10 วัน และพันธุ์กลายดังกล่าวยังสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ (Al-Safadi *et al.*, 2000) และจากการนำเบญจมาศชนิดดอกช่อ (spray) พันธุ์ Taihei ดอกสีม่วงแดงมาศึกษาผลของรังสีแกมมาร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร Half-MS แล้วนำยอด ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกที่ปริมาณ 62.8 และ 112 เกรย์ หลังจากการฉายรังสี 62.8 เกรย์ สามารถคัดเลือกพันธุ์กลายที่มีลักษณะต้นเตี้ยได้ และหลังจากการฉายรังสี 112 เกรย์ สามารถคัดเลือกพันธุ์ที่มีดอกสีส้มได้ (Lamseejan *et al.*, 2000) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในเบญจมาศ ซึ่งได้ทำการทดลองฉายรังสีเอกซ์ให้กับเซลล์แขวนลอยของเบญจมาศ พบว่าสามารถคัดเลือกพันธุ์กลายที่มีความทนทานต่อความเครียดทางชีวภาพ และกายภาพได้ดี (Preil *et al.*, 1991) เช่นเดียวกับการศึกษาในต้นคริสต์มัส (*Euphobia pulcherrima*) ที่ได้ทำการปรับปรุงพันธุ์จนได้พันธุ์กลายที่สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิต่ำได้ (Preil *et al.*, 1983) และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันเทศ (*I. batatas*) ในอาหารสูตร MS ที่ดัดแปลงเติม 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และนำไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน และโครนิก สามารถคัดเลือกพันธุ์กลายที่มีรากสะสมขนาดใหญ่ขึ้นจากเดิม 218.8 กรัม เป็น 646.9 กรัม (Wang *et al.*, 2006) เช่นเดียวกับการศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อรากสะสมอาหารของมันฝรั่ง (*Solanum tuberosum* L.) โดยได้นำมันฝรั่งที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ดัดแปลงเติม BAP ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร ไปฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 0 2.5 5 10

และ 15 เกรย์ หลังจากการฉายรังสีพบว่าที่ปริมาณรังสี 2.5 เกรย์ สามารถคัดเลือกพันธุ์ที่มีรากสะสมอาหารมากขึ้น 38 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์เดิม (Huttema *et al.*, 1986)

นอกเหนือจากการใช้รังสีแกมมาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์นั้น ปัจจุบันได้มีการนำเอาไอออนบีมมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชมากขึ้น (Miyazaki *et al.*, 2006) เช่นการศึกษาผลของการฉายไอออนบีมให้แก่เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงแอฟริกันไวโอเลต (*Saintpaulia ionatha*) ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ดัดแปลงเติม BA ความเข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์ และ NAA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ นำไปฉายด้วยคาร์บอนไอออนบีมที่ปริมาณรังสี 0 5 10 20 25 30 45 60 และ 80 เกรย์ พบว่าที่ปริมาณ 20 และ 25 เกรย์ มีลักษณะใบต่างเกิดขึ้น (Zhou *et al.*, 2006) เช่นเดียวกับการฉายในโตรเจนไอออนบีม และนีออนไอออนบีม ให้เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงของแวมยูรา (*Torenia hybrid cv. "Summer Wave"*) ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS หลังจากการฉายพบว่ามีเปลี่ยนแปลงของสีดอกจากเดิมซึ่งเป็นสีม่วง เป็นสีน้ำเงิน ซึ่งได้จากการฉายด้วยในโตรเจนไอออนบีมที่ปริมาณรังสี 5 และ 10 เกรย์ และสีชมพู ซึ่งได้จากการฉายนีออนไอออนบีมที่ปริมาณ 50 เกรย์ (Miyazaki *et al.*, 2006) ส่วนการฉายคาร์บอนไอออนบีมระดับพลังงาน 1.62 GeV ที่ปริมาณรังสี 10 20 40 60 และ 80 เกรย์ ให้กับแคลลัสไซคลาเมน (*Cyclamen sp.*) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ดัดแปลงเติม kinetin ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถคัดเลือกพันธุ์กลายที่มีกลีบดอกสีชมพูอ่อน จากเดิมสีชมพูเข้ม (Sugiyama *et al.*, 2008)

#### การตรวจสอบพันธุ์โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี

ในการตรวจสอบสายพันธุ์สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การตรวจสอบทางสัณฐานวิทยา (Cagirgan, 2006) การตรวจสอบทางเคมี (Sugiyama *et al.*, 2008) และวิธีตรวจสอบทางโมเลกุล (Kumar, 1999) โดยในการตรวจสอบโดยโมเลกุลนั้นนิยมใช้วิธีการตรวจสอบโดยใช้ดีเอ็นเอ โดยวิธีในการตรวจสอบดีเอ็นเอสามารถแบ่งได้เป็น 2 วิธี คือ ไฮบริไดเซชัน (Hybridization) และ Polymerase chain reaction (PCR base) (Sugiyama *et al.*, 2008; สุรินทร์, 2545) โดยเทคนิคอาร์เอพีดีเป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้วิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค PCR ซึ่งได้ถูกคิดขึ้นในปี ค.ศ. 1990 (William *et al.*, 1990) โดยไพรมอร์ซึ่งเป็นลำดับเบสสายสั้นๆ 10-12 เบส จะเป็นรหัสเริ่มต้นในการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสที่เป็นคู่สมกันจึงจะสามารถเพิ่มจำนวนลำดับเบสที่ต้องการได้ ดังนั้นในการจำแนกสายพันธุ์นั้นแต่ละสายพันธุ์จะมีลำดับเบสที่แตกต่างกัน ทำให้มีดีเอ็นเอเป้าหมายที่แตกต่างกัน เมื่อเกิดปฏิกิริยาถูกไขขึ้น จะมีการเพิ่มจำนวนของดีเอ็นเอเป้าหมายที่

แตกต่างกัน และเมื่อนำมาทำอิเล็กทรอนิกส์ เพื่อแยกดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างออกจากกัน ทำให้สามารถจำแนกสายพันธุ์ต่างๆ ได้ โดยอาร์เอพีดีเป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการจัดและจำแนกสายพันธุ์ในเบื้องต้น ทั้งนี้เนื่องจากเทคนิคอาร์เอพีดี มีความสะดวก และรวดเร็วในการปฏิบัติงาน และไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลของพืชหรือสิ่งมีชีวิตนั้นมาก่อน (สุรินทร์, 2545)

ตัวอย่างงานวิจัยที่มีการจำแนกสายพันธุ์โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี เช่น การจำแนกพันธุ์กล้วยที่เกิดการฉายรังสีแกมมาในถั่วเหลือง (*G. max* L.) พบว่าหลังจากฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 200 เกรย์ พบลักษณะการกลายที่ทนทานต่อสารกำจัดวัชพืช Atrazine โดยได้นำเอาเทคนิคอาร์เอพีดีมาจำแนกพันธุ์กล้วย พบว่าสามารถแยกพันธุ์กล้วยออกจากพันธุ์เดิม (Amsoy-71) ได้ โดยมี 5 ไพรเมอร์ ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ จากทั้งหมด 14 ไพรเมอร์ (Atak *et al.*, 2004) เช่นเดียวการศึกษาในข้าว Brazilian ที่ได้นำเอาเทคนิคอาร์เอพีดีมาใช้คัดเลือกรุ่นพันธุ์กล้วยที่มีความทนทานต่อสารกำจัดวัชพืช Glufosinate โดยสามารถจำแนกพันธุ์กล้วยออกจากพันธุ์เดิมได้ (Sandlhu *et al.*, 2002) จากการศึกษาผลของ EMS (ethyl methanesulphonate) เพื่อชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในชวนชม โดยใช้ EMS ความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 2 และ 3 ชั่วโมง และมีการตรวจสอบดีเอ็นเอของต้นที่มีลักษณะทางสัณฐานเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี พบว่าเมื่อแช่เมล็ดในสารละลาย EMS เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้เกิดลักษณะทางสัณฐานที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมคือ มีรูปร่างใบผิดปกติ และมีเส้นกลางใบ 2 เส้น และได้นำต้นที่เกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมาตรวจสอบดีเอ็นเอโดยเทคนิคอาร์เอพีดี พบว่าไพรเมอร์ OPAH03 สามารถให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอได้ (Wongsawad *et al.*, 2005a) สำหรับการตรวจสอบการกลายพันธุ์ในข้าว (*O. sativa*) โดยเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายโดยใช้สารละลาย EMS ความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ นาน 18 ชั่วโมง พบว่าไพรเมอร์ OPX 13 สามารถจำแนกความแตกต่างของดีเอ็นเอพันธุ์เดิมกับพันธุ์กล้วยได้ (Wongsawad *et al.*, 2005b)

การทดลองในอัลฟัลฟา (*Medicago sativa*) ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาเพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ และทำการตรวจสอบพันธุ์กล้วยที่เกิดขึ้นโดยใช้อาร์เอพีดีไพรเมอร์ OPB 8 OPB 8-1 OPB 8-2 OPB 8-3 และ OPB 8-4 โดยไพรเมอร์ที่สามารถแยกพันธุ์กล้วยออกจากพันธุ์เดิมได้คือ OPB 8-1 OPB 8-2 และ OPB 8-3 Danylchenko *et al.* (2005) ในการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณ 200 400 600 800 และ 1000 เกรย์ เพื่อเหนี่ยวนำให้หญ้ากินนีสีม่วง (*Panicum maximum*) เกิดการกลายพันธุ์ พบว่ามีการกลายเกิดขึ้น ประกอบด้วยโคลนที่มีขนาดลำต้นเล็ก และโคลนที่มีกาบใบสีเขียว เมื่อนำมาตรวจสอบความแตกต่างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี พบว่ามีไพรเมอร์ที่

สามารถจำแนกความแตกต่างได้คือ OPB2 OPB12 OPF1 และ OPF5 (สราวุธ และคณะ, 2551) และการปรับปรุงพันธุ์เบญจมาศสายพันธุ์ Thai Chen Queen ดอกสีส้ม โดยใช้ปริมาณแกลมมารังสี 10 20 และ 30 เกรย์ เหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ โดยสามารถคัดเลือกพันธุ์กลายที่มีลักษณะ ดอกสีส้มอ่อน สีเหลือง และชมพูอมส้ม และจากการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอาร์เอพีดีพบว่าไพรมเมอร์ OPR2 OPS2 และ OPK3 สามารถแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอของพันธุ์กลายได้ (Kumar *et al.*, 2006) จากการทดลองฉายรังสีแกมมาเพื่อศึกษาถึงความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นใน *Narcissus (Chinese narcissus)* พบว่าเมื่อฉายรังสี 5 10 15 20 40 60 และ 100 เกรย์ พบว่า *Narcissus* มีความไวต่อรังสีค่อนข้างมากโดยปริมาณรังสีที่เหมาะสมในการปรับปรุงพันธุ์อยู่ที่ประมาณ 10 เกรย์ และจากการตรวจสอบความแตกต่างของดีเอ็นเอของต้นที่ผ่านการฉายรังสีโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การกลายพันธุ์เท่ากับ 8.33 เปอร์เซ็นต์ (Lu *et al.*, 2007)

เทคนิคอาร์เอพีดียังนำมาใช้ในการตรวจสอบความแปรผันของพันธุกรรมที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (somaclonal variation) โดยมีการศึกษาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหยาดน้ำค้าง (*Drosera sp.*) และตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงโดยใช้ไพรมเมอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบคือ OPA 1- OPA 20 โดยไพรมเมอร์ OPA 1 OPA 3 OPA 7 และ OPA 18 สามารถแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงได้ (Kawiak and Lojkowska, 2004) นอกจากนี้ยังมีการนำเทคนิคอาร์เอพีดีมาใช้ในการจำแนกประชากรในธรรมชาติที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมเกิดขึ้น เช่น การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดในแคมพานูลา (*Campanula microdonta*) โดยได้ศึกษาความหลากหลายที่เกิดขึ้นโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีไพรมเมอร์ทั้งหมด 10 ไพรมเมอร์ คือ OPA-01 OPA-02 OPA-04 OPA-07 OPA-09 OPA-10 OPA-11 OPA-12 OPA-19 และ OPA-20 โดยไพรมเมอร์ทั้งหมดสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และแยกความแตกต่างของพันธุกรรมในกลุ่มประชากรได้ (Oiki *et al.*, 2001)

# อุปกรณ์และวิธีการ

## อุปกรณ์

1. พรรณไม้ที่ใช้ในการทดลอง คือ *Anubias congenis* N.E. Brown.
2. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการเตรียมอาหารสังเคราะห์
  - 2.1 เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter)
  - 2.2 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อโดยใช้ความดันไอน้ำ (Autoclave)
  - 2.3 ไมโครเวฟ (Microwave)
  - 2.4 เครื่องแก้ว (Laboratory glassware)
3. สารเคมีที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
  - 3.1 สารเคมีที่ใช้สำหรับการเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)
  - 3.2 สารเคมีที่ใช้สำหรับปรับความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารสังเคราะห์ ได้แก่ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้น 1 นอร์มอล และกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1 นอร์มอล
  - 3.3 สารเคมีที่ใช้สำหรับฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ และแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์
  - 3.4 สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ BA ( $N^6$ -benzyladenine)
4. อุปกรณ์ในการย้ายเนื้อเยื่อ ประกอบไปด้วย
  - 4.1 ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (Laminar air flow cabinet)
  - 4.2 ปากคีบ (Forcep)
  - 4.3 จานแก้ว (Petri dish)
  - 4.4 ตะเกียงบุนเซน (Bunsen burner)

#### 4.5 ขวดแก้ว (Glass bottle)

5. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งควบคุมความเข้มแสง 2500 ลักซ์ โดยควบคุมให้มีแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน และควบคุมอุณหภูมิในช่วง  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส

#### 6. อุปกรณ์ฉายรังสีแกมมา

6.1 เครื่องฉายรังสีแกมมา Mark I (Gamma Irradiator Mark I) ณ ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มีซีเซียม 137 (Cs-137) เป็นต้นกำเนิดรังสีแกมมา สำหรับการฉายรังสีแบบเฉียบพลัน (acute irradiation)

6.2 ห้องฉายรังสีแกมมา (Gamma Room) ณ ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มีต้นกำเนิดรังสีคือโคบอลต์-60 (Co-60) สำหรับการฉายรังสีแบบเรื้อรัง (chronic irradiation)

7. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในตรวจสอบพันธุ์กลายโดยเทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD, Random Amplified Polymorphic DNA)

7.1 สารเคมีที่ใช้สำหรับการสกัดดีเอ็นเอจากใบ *A. congensis* N.E. Brown.

7.1.1 ไนโตรเจนเหลว

7.1.2. 2-mercaptoethanol

7.1.3 CTAB (cetyl trimethyl ammonium bromide)

7.1.4 Chloroform

7.1.5 Isoamyl alcohol

7.1.6 Isopropanol

7.1.7 Ethanol

7.1.8 RNase A

7.1.9 NaCl

7.1.10 Sodium acetate

7.1.11 Linear polyacrylamide

7.1.12 Tris-HCl

7.1.13 EDTA (ethylenediamine tetraacetate)

## 7.2 สารเคมีที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอาร์เอฟดี

7.2.1 อะกาโรสเจล (Agarose gel)

7.2.2  $MgCl_2$

7.2.3 dNTP

7.2.4 Tris-HCl

7.2.5 EDTA

7.2.6 Taq DNA polymerase

7.2.7 Loading dye (bromphenol blue, xylene cyanol และ glycerol)

7.2.8 TBE buffer

7.2.9 Ethidium bromide 0.5  $\mu g/ml$

7.2.10 PCR buffer

7.2.11 RAPD primer

## 7.3 อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการตรวจสอบพันธุ์กลายโดยเทคนิคทางดีเอ็นเอ

7.3.1 เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (PCR thermal cycle)

7.3.2 เครื่อง spectrophotometer

7.3.3 เครื่อง electrophoresis

7.3.4 เครื่อง UV transilluminator

7.3.5 เครื่องชั่งสารความละเอียด 0.1 มิลลิกรัม

7.3.6 โกร่งบดตัวอย่าง

7.3.7 ไมโครปิเปตชนิดปรับปริมาตรได้

7.3.8 เครื่อง centrifuge

7.3.9 หลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

7.3.10 ตู้แช่ 4 องศาเซลเซียส และ -20 องศาเซลเซียส

## วิธีการ

### 1. การเตรียมต้นอ่อนปลอดเชื้อ *Anubias congenis* N.E. Brown.

เตรียมต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congenis* N.E. Brown. โดยนำชิ้นส่วนยอดที่ปลอดเชื้อของ *A. congenis* N.E. Brown. เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ดัดแปลงเติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เจลไรต์ (gelrite) 1.8 กรัมต่อลิตร เพื่อเพิ่มจำนวนต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ ให้เพียงพอกับการทดลอง

### 2. ฉายรังสีต้นอ่อน *A. congenis* N.E. Brown. โดยแบ่งเป็น 5 การทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อความอยู่รอด และการเจริญเติบโตของ *Anubias congenis* N.E. Brown. เพื่อหาระดับปริมาณรังสีที่เหมาะสมในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์

นำต้นอ่อนปลอดเชื้ออายุ 6 สัปดาห์ ไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันด้วยเครื่องฉายรังสีแกมมา Mark I โดยมีอัตรารังสี (dose rate) 264 เกรย์ต่อชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) โดยแบ่งออกเป็น 6 ทรีทเมนต์ ตามปริมาณรังสีคือ 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์ ทรีทเมนต์ ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ต้น

หลังจากฉายรังสีแล้ว ย้ายต้นอ่อนลงในอาหารขวดใหม่ โดยใช้อาหารสูตรเดิม และขนาดขวดที่ใช้เพาะเลี้ยงเท่าเดิม เพาะเลี้ยงขวดละ 1 ต้น ทำการตัดส่วนยอดออกไป ให้เหลือส่วนที่เป็นเหง้า นำไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งควบคุมความเข้มแสง 2500 ลักซ์ ให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน และควบคุมอุณหภูมิในช่วง  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส บันทึกผลการทดลอง หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 60 วัน ได้แก่ ความอยู่รอด จำนวนยอดที่แตกใหม่ จำนวนใบ ความยาว และความกว้างของใบที่แตกใหม่ จำนวนราก และความยาวรากที่แตกใหม่ และวิเคราะห์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันในช่วงปริมาณรังสีที่เหมาะสมซึ่งได้จากการทดลองที่ 1 ต่อความอยู่รอด การเจริญเติบโต และการกลายพันธุ์ของ *Anubias congensis* N.E. Brown.

เมื่อทราบช่วงปริมาณรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่เหมาะสมในการปรับปรุงพันธุ์ซึ่งได้จากการทดลองที่ 1 จึงนำต้นอ่อนปลอดเชื้ออายุ 6 สัปดาห์ ไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันด้วยเครื่องฉายรังสีแกมมา Mark I โดยมีอัตรารังสี 264 เกรย์ต่อชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบ CRD แบ่งออกเป็น 8 ทริทเมนต์ ตามปริมาณรังสีคือ 0 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์ ทริทเมนต์ ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ต้น หลังจากฉายรังสีแล้วดำเนินการต่อเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบโครนิกต่อความอยู่รอด การเจริญเติบโต และการกลายพันธุ์ของ *Anubias congensis* N.E. Brown.

นำต้นอ่อนปลอดเชื้ออายุ 6 สัปดาห์ ไปฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกในห้องฉายรังสีแกมมา วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยแบ่งออกเป็น 11 ทริทเมนต์ ตามปริมาณรังสีคือ 0 14.34 28.60 31.24 42.90 51.16 65.55 82.42 91.69 105.99 และ 120.30 เกรย์ ที่ระยะห่างจากต้นกำเนิดรังสี 2.0 เมตร โดยมีอัตรารังสีเท่ากับ 0.71 เกรย์ต่อชั่วโมง ทริทเมนต์ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ต้น หลังจากฉายรังสีแล้วดำเนินการต่อเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันโดยการฉายรังสีแบบฉายรังสีครั้งเดียว และแบบแบ่งฉาย 2 ครั้ง ที่มีต่อความอยู่รอด การเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงของ *Anubias congensis* N.E. Brown. ในรุ่น  $M_1V_1$

นำต้นอ่อนปลอดเชื้ออายุ 6 สัปดาห์ ไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันด้วยเครื่องฉายรังสีแกมมา Mark I โดยมีอัตรารังสี 264 เกรย์ต่อชั่วโมง ที่ปริมาณรังสีดังต่อไปนี้

- ทริทเมนต์ที่ 4.1 ชุดควบคุม (0 เกรย์)
- ทริทเมนต์ที่ 4.2 ฉายรังสีปริมาณ 5 เกรย์ (1 ครั้ง)
- ทริทเมนต์ที่ 4.3 ฉายรังสีปริมาณ 10 เกรย์ (1 ครั้ง)
- ทริทเมนต์ที่ 4.4 ฉายรังสีปริมาณ 15 เกรย์ (1 ครั้ง)

ทริทเมนต์ที่ 4.5 ฉายรังสีปริมาณ 20 เกรย์ (1 ครั้ง)

ทริทเมนต์ที่ 4.6 ฉายรังสีครั้งที่ 1 ปริมาณ 5 เกรย์ และฉายรังสีครั้งที่ 2 ปริมาณ 5 เกรย์

(5+5)

ทริทเมนต์ที่ 4.7 ฉายรังสีครั้งที่ 1 ปริมาณ 5 เกรย์ และฉายรังสีครั้งที่ 2 ปริมาณ 10 เกรย์

(5+10)

ทริทเมนต์ที่ 4.8 ฉายรังสีครั้งที่ 1 ปริมาณ 10 เกรย์ และฉายรังสีครั้งที่ 2 ปริมาณ 5 เกรย์

(10+5)

ทริทเมนต์ที่ 4.9 ฉายรังสีครั้งที่ 1 ปริมาณ 10 เกรย์ และฉายรังสีครั้งที่ 2 ปริมาณ 10 เกรย์

(10+10)

โดยทริทเมนต์ที่มีการฉายรังสีแบบแบ่งฉาย 2 ครั้ง จะนำต้นอ่อนในรุ่น  $M_1V_1$  ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันครั้งแรกอายุ 6 สัปดาห์ มาฉายรังสีอีกครั้งตามปริมาณรังสีที่กำหนด โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ทริทเมนต์ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ต้นหลังจากฉายรังสีแล้วดำเนินการต่อเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 5 ศึกษาผลของการเปลี่ยนอาหารและไม่เปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากการฉายรังสีในปริมาณรังสีต่างๆ ที่มีต่อความอยู่รอด และการเจริญเติบโตของ *Anubias congenisis* N.E. Brown. ในรุ่น  $M_1V_1$

นำต้นอ่อนปลอดเชื้ออายุ 6 สัปดาห์ ไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันด้วยเครื่องฉายรังสีแกมมา Mark I โดยมีอัตรารังสี 264 เกรย์ต่อชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD โดยมี 2 ปัจจัยคือ ปัจจัยที่ 1 การเปลี่ยนอาหารและไม่เปลี่ยนอาหารหลังจากฉายรังสี ปัจจัยที่ 2 คือ ปริมาณรังสี 0 5 10 15 20 25 30 35 40 60 80 และ 100 เกรย์ รวมเป็น 24 ทริทเมนต์ ทริทเมนต์ ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ต้น

โดยชุดที่เปลี่ยนอาหารหลังจากฉายรังสีแล้วย้ายลงในอาหารขวดใหม่ซึ่งใช้อาหารสูตรเดิม และขนาดขวดที่ใช้เพาะเลี้ยงเท่าเดิม โดยตัดบริเวณส่วนยอดออกไป ให้เหลือบริเวณที่เป็นเหง้าเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งควบคุมความเข้มแสง 2500 ลักซ์ ให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน และควบคุมอุณหภูมิในช่วง  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส โดยทดลองเลี้ยงเป็นระยะเวลา 60 วัน บันทึกผลการ

ทดลอง ได้แก่ ความอยู่รอด จำนวนใบที่แตกใหม่ จำนวนยอดที่แตกใหม่ จำนวนรากที่แตกใหม่ และวิเคราะห์ผลการทดลอง

### 3. การคัดเลือกลักษณะกลายพันธุ์

3.1 คัดเลือกพันธุ์กลายในสภาพปลอดเชื้อหลังจากฉายรังสีแกมมาในการทดลองที่ 1 2 และ 3 เมื่อเพาะเลี้ยงเกิดต้นใหม่เป็นรุ่น  $M_1V_2$  ขยายต้น  $M_1V_2$  ไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจนเกิดต้นใหม่ เรียกว่าต้น  $M_1V_3$  ในระหว่างการเพาะเลี้ยงทำการตรวจสอบการกลาย ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงรูปทรงของต้น ขนาดต้น รูปร่างลักษณะใบ และการเกิดใบด่าง ทำการตัดแยกชิ้นส่วนเนื้อเยื่อส่วนที่เกิดการเปลี่ยนแปลง ไปเพาะเลี้ยงในอาหารขวดใหม่เพื่อตรวจสอบต้นที่แตกมาใหม่ยังคงลักษณะการเปลี่ยนแปลงเหมือนเดิมหรือไม่ เมื่อได้ลักษณะที่คงตัวแล้ว ทำการเพิ่มปริมาณในสภาพปลอดเชื้อ โดยตัดแยกชิ้นส่วนลงเพาะเลี้ยงในอาหารขวดใหม่ทุกๆ 60 วัน ทำการตรวจสอบการกลาย

3.2 นำต้นอ่อนอนุเบียงที่คัดเลือกได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ออกปลูกทดสอบในเรือนเพาะชำ เพื่อศึกษาความสามารถในการเจริญเติบโต และการรอดชีวิตของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และความคงตัวของลักษณะการกลายที่คัดเลือกได้เมื่อนำออกปลูกทดสอบในเรือนเพาะชำ

### 4. การตรวจสอบพันธุ์กลาย

4.1 ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยนำต้นอ่อนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เกิดการกลายแต่ละลักษณะ มาตรวจสอบการเปลี่ยนของลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยเปรียบเทียบกับต้นปกติ

## 4.2 ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรม

### 4.2.1 การสกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อน *A. congensis* N.E. Brown.

- 4.2.1.1 นำใบอ่อนจากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมาบดในไนโตรเจนเหลว ให้ละเอียดเป็นผง แล้วถ่ายใส่หลอดขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มี extraction buffer (4X CTAB) 6 มิลลิลิตร และ 2-mercaptoethanol 1.5 ไมโครลิตร ซึ่งอุ่นไว้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
- 4.2.1.2 นำส่วนผสมที่ได้ไปอุ่นที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที กลับหลอดไปมาทุกๆ 10 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำหลอดมาวางให้เย็นที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที
- 4.2.1.3 เติม chloroform:Isoamyl alcohol (24:1) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร กลับหลอดไปมาประมาณ 5-10 นาที
- 4.2.1.4 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องนาน 20 นาที
- 4.2.1.5 คูณสารละลาย ชั้นบนใส่หลอดขนาด 15 มิลลิลิตร หลอดใหม่จากนั้นเติม linear polyacrylamide ปริมาณ 60 ไมโครลิตร และ isopropanol ที่เย็น ปริมาณ 4 มิลลิลิตร กลับหลอดไปมาจะเห็นสายดีเอ็นเอเกิดขึ้น
- 4.2.1.6 เตรียมหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วเกี่ยวดีเอ็นเอใส่ลงในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 2800 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
- 4.2.1.7 เทสารละลายส่วนบนทิ้ง จากนั้นเติม washing buffer ปริมาณ 1 มิลลิลิตร กลับหลอดไปมาเบาๆ
- 4.2.1.8 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 2800 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที
- 4.2.1.9 เทสารละลายส่วนบนทิ้ง คว่ำหลอดบนกระดาษซับให้แห้ง
- 4.2.1.10 เติม RNase buffer ปริมาณ 500 ไมโครลิตร ละลายดีเอ็นเอให้เป็นเนื้อเดียวกับ RNase buffer
- 4.2.1.11 เติม RNase A ปริมาณ 4 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อกำจัดอาร์เอ็นเอ (RNA) ออก
- 4.2.1.12 สกัด RNase A และโปรตีนที่หลงเหลืออยู่ออกไปโดยการเติม phenol : chloroform : isoamyl alcohol (25 : 24 : 1) ปริมาณ 400 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมา 5-10 นาที
- 4.2.1.13 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

4.2.1.14 คูดสารละลายใส่ส่วนบนใส่ในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่ จากนั้นเติม chloroform : isoamyl alcohol (24 : 1) ปริมาณ 500 ไมโครลิตร

4.2.1.15 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

4.2.1.16 คูดสารละลายใส่ส่วนบนใส่ในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่ จากนั้นเติม linear polyacrylamide ปริมาณ 6 ไมโครลิตร โซเดียมอะซิเตด ความเข้มข้น 3 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.2 ปริมาณ 20 ไมโครลิตร และ absolute ethanol ปริมาณ 500 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบาๆ

4.2.1.17 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เทสารละลายใส่ส่วนบนทิ้ง

4.2.1.18 เติมเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 500 ไมโครลิตร เพื่อล้างตะกอน กลับหลอดไปมาแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 2800 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

4.2.1.19 เทสารละลายส่วนบนทิ้ง คว่ำหลอดบนกระดาษซับให้แห้ง ปล่อยให้ตะกอนแห้ง

4.2.1.20 ละลายตะกอนใน TE buffer ปริมาณ 30-50 ไมโครลิตร (ขึ้นกับปริมาณตะกอน) ให้เป็นเนื้อเดียวกัน เก็บดีเอ็นเอที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

#### 4.3 การวิเคราะห์คุณภาพและความเข้มข้นของสารละลายดีเอ็นเอ

4.3.1 วัดค่าการดูดกลืนแสง UV โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ และคุณภาพของดีเอ็นเอโดยวัดค่า OD (optical density) ที่ 260 และ 280 นาโนเมตร (สารละลายดีเอ็นเอสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร)

4.3.2 แยกขนาดดีเอ็นเอ และตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอด้วยวิธีการวัดการเรืองแสงของดีเอ็นเอร่วมกับเอธิเดียมโบรไมด์

4.3.2.1 เตรียมอะกาโรสเจล 0.8 % (อะกาโรส 0.8 กรัม ต่อ 1X TBE buffer 100 มิลลิลิตร) แล้วละลายผงอะกาโรสด้วยความร้อนเพื่อให้อะกาโรสหลอมละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นปล่อยให้อะกาโรสเย็นลงที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส แล้วเทลงในถาดสำหรับเตรียมเจลที่มีหัวเสียบอยู่ ปล่อยให้อะกาโรสเจลแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง

4.3.2.2 เมื่ออะกาโรสเจลแข็งตัวแล้ว ดึงหัวที่เสียบอยู่ออกจากนั้นนำแผ่นอะกาโรสเจลที่ได้ไปวางลงในเครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิสแล้วเติม 1X TBE buffer ให้ท่วมแผ่นอะกาโรสเจล

4.3.2.3 ผสม working DNA ที่เตรียมไว้ปริมาณ 7 ไมโครลิตร ผสมกับ loading dye ปริมาณ 2 ไมโครลิตร แล้วหยอดลงในอะกาโรสเจล และหยอดสารละลายดีเอ็นเอมาตรฐาน (1 kb DNA ladder marker) เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบขนาดดีเอ็นเอ

4.3.2.4 ต่อกระแสไฟฟ้าเข้ากับกับเครื่องอิเล็กโทรโฟเรซิสโดยใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 135 โวลต์ นาน 30 นาที

4.3.2.5 นำอะกาโรสเจลไปย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์เข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ประมาณ 7 นาที จากนั้นนำแผ่นอะกาโรสเจลใส่กล่องพลาสติก โดยเปิดให้น้ำไหลผ่าน ประมาณ 5 นาที เพื่อล้างเอธิเดียมโบรไมด์ ที่ไม่ติดกับดีเอ็นเอออกไป และระวังอย่าใช้มือสัมผัสเอธิเดียมโบรไมด์โดยตรง เนื่องจากเอธิเดียมโบรไมด์มีคุณสมบัติเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogen)

4.3.2.6 นำแผ่นอะกาโรสเจลที่ได้ไปส่องดูด้วยเครื่อง UV transilluminator จากนั้นบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ

#### 4.4 การวิเคราะห์ ดีเอ็นเอของพันธุ์กลายด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี

4.4.1 นำดีเอ็นเอมาทำการเพิ่มปริมาณด้วยเครื่อง DNA thermal cycle โดยมีปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตร โดยมีส่วนประกอบดังนี้

อาร์เอพีดีไพรเมอร์ (5 pmole/ $\mu$ l)	1.0	ไมโครลิตร
ดีเอ็นเอต้นแบบ (50 ng/ $\mu$ l)	2.0	ไมโครลิตร
10X PCR buffer	1.5	ไมโครลิตร
MgCl <sub>2</sub> (25mM)	2.0	ไมโครลิตร
dNTP (2mM)	2.0	ไมโครลิตร
Tag DNA polymerase (5 U/ $\mu$ l)	0.2	ไมโครลิตร
น้ำกลั่นบริสุทธิ์	11.3	ไมโครลิตร

โปรแกรมในการทำ PCR ประกอบไปด้วย

Denature	94 องศาเซลเซียส	3 นาที	}	1 รอบ	
Denature	94 องศาเซลเซียส	1 นาที		}	40 รอบ
Annealing	36 องศาเซลเซียส	1 นาที			
Extension	72 องศาเซลเซียส	2 นาที			
Extension	72 องศาเซลเซียส	5 นาที		1 รอบ	

เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำมาทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

#### 4.5 ตรวจสอบผลอาร์เอฟดีโดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสเจล

4.5.1 เตรียมอะกาโรสเจล 1.5 % (อะกาโรส 1.5 กรัม ต่อ 1X TBE buffer 100 มิลลิลิตร) แล้วละลายผงอะกาโรสด้วยความร้อนเพื่อให้ อะกาโรสหลอมละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นปล่อยให้อะกาโรสเจลเย็นลงที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส แล้วเทลงในถาดสำหรับเตรียมเจลที่มีหัวเสียบอยู่ แล้วปล่อยให้อะกาโรสเจลแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง

4.5.2 เมื่ออะกาโรสเจลแข็งตัวแล้ว ดึงหัวที่เสียบอยู่ออก จากนั้นนำแผ่นอะกาโรสเจลที่ได้ไปวางลงในเครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิสแล้วเติม 1X TBE buffer ให้ท่วมแผ่นอะกาโรสเจล

4.5.3 ผสม working DNA ที่เตรียมไว้ปริมาณ 7 ไมโครลิตร ผสมกับ loading dye ปริมาณ 2 ไมโครลิตร แล้วหยอดลงในอะกาโรสเจล และหยอดสารละลายดีเอ็นเอมาตรฐาน (1 kb DNA ladder marker) เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบขนาดดีเอ็นเอ

4.5.4 ต่อกระแสไฟฟ้าเข้ากับกับเครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิส โดยใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 60 นาที

4.5.5 นำอะกาโรสเจล ไปย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์เข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร ประมาณ 7 นาที จากนั้นนำแผ่นอะกาโรสเจล ไปล้างน้ำเป็นเวลา 5 นาที

4.5.6 นำแผ่นอะกาโรสเจล ที่ได้ไปส่องด้วยเครื่อง UV transilluminator จากนั้นบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ

4.5.7 วิเคราะห์ผลของอาร์เอฟดี โดยการเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างที่เกิดขึ้นของแถบดีเอ็นเอ

## สถานที่และระยะเวลาทำการทดลอง

### 1. สถานที่ทำการทดลอง

ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร

### 2. ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง เดือน มิถุนายน 2550 สิ้นสุดการทดลอง เดือน มีนาคม 2552

## ผลและวิจารณ์

### ผล

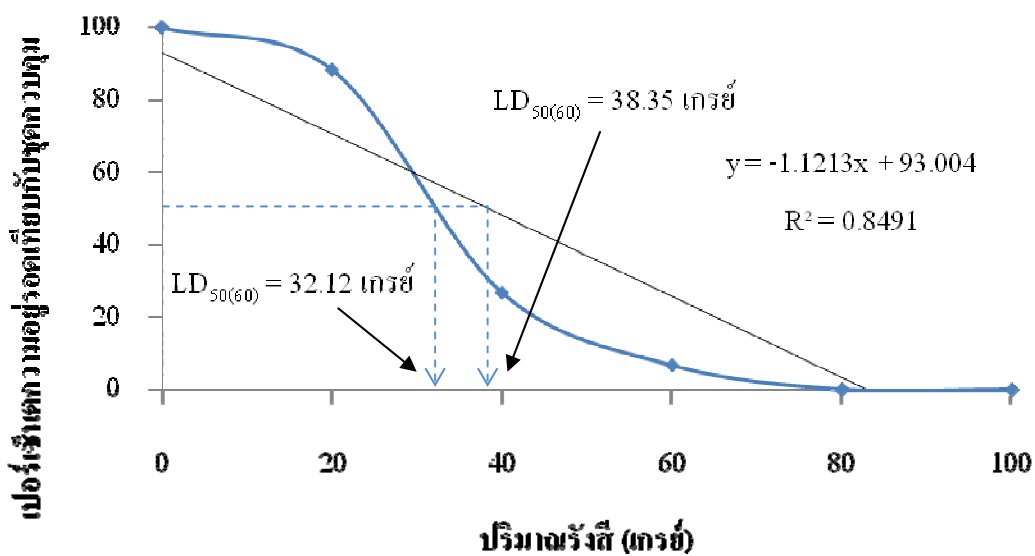
การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อความอยู่รอด และการเจริญเติบโตของ *Anubias congensis* N.E. Brown. เพื่อหาระดับปริมาณรังสีที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์

#### ความอยู่รอด

นำต้นอ่อนปลอดเชื้ออายุ 6 สัปดาห์ ไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันด้วยเครื่องฉายรังสีแกมมา Mark I ที่ระดับปริมาณรังสีคือ 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์ หลังจากการฉายรังสีเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าที่ระดับปริมาณรังสี 0 เกรย์ (ชุดควบคุม) มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของต้นอ่อนปลอดเชื้อสูงที่สุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดลดลงเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้นตามลำดับดังนี้ ที่ระดับปริมาณรังสี 20 40 และ 60 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดเท่ากับ 88.30 26.67 และ 6.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และที่ระดับปริมาณรังสี 80 และ 100 เกรย์หลังจากการฉายรังสีที่ระยะเวลา 60 วัน ไม่มีต้นอ่อนปลอดเชื้อของ *A. congensis* N.E. Brown. อยู่รอด (ตารางที่ 1) และจากการศึกษาสามารถหาค่าปริมาณรังสีที่ทำให้ต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสี ( $LD_{50(60)}$ ) จากวิธีการลากเส้นตรงตัดกราฟ ได้เท่ากับ 32.12 เกรย์ และเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการหาค่า  $LD_{50(60)}$  โดยใช้สมการถดถอยเชิงเส้นตรงซึ่งสามารถหาค่า  $LD_{50(60)}$  ได้เท่ากับ 38.35 เกรย์ (ภาพที่ 1)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเทียบกับชุดควบคุมของ *A. congenis* N.E. Brown. ที่ 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาที่ปริมาณ 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนต้นทั้งหมด	จำนวนต้นที่รอดชีวิต	ความอยู่รอด (% ของชุดควบคุม)
0	60	60	100.00
20	60	53	88.30
40	60	16	26.67
60	60	4	6.67
80	60	0	0.00
100	60	0	0.00



ภาพที่ 1 เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอด ของต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congenis* N.E. Brown. ที่ปริมาณรังสี 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์ และค่า  $LD_{50(60)}$

### จำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่

ผลจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อจำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่ของต้นอ่อน ปลูกเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. พบว่า ที่ระดับปริมาณรังสีต่างๆ มีจำนวนยอดแตกใหม่เฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยที่ระดับปริมาณรังสี 0 เกรย์ (ชุดควบคุม) มีจำนวนยอดที่แตกใหม่เฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 1.90 ยอด และลดลงตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น ที่ปริมาณรังสี 20 40 และ 60 เกรย์ ให้จำนวนยอดแตกใหม่เฉลี่ยเท่ากับ 0.85 0.65 และ 0.30 ยอด ตามลำดับ โดยจำนวนยอดต่อต้นแตกใหม่เฉลี่ยของต้นอ่อนที่ได้รับรังสีปริมาณ 20 และ 40 เกรย์ มีค่าใกล้เคียงกัน ( $p > 0.05$ ) แต่มีค่าเฉลี่ยของการแตกยอดใหม่สูงกว่าต้นอ่อน ที่ได้รับรังสีปริมาณ 60 เกรย์ อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และที่ระดับปริมาณรังสี 80 และ 100 เกรย์ ไม่พบว่าการแตกยอดใหม่ (ตารางที่ 2) ทั้งนี้เนื่องจากเกิดการตายทั้งหมดหลังจากการได้รับการฉายรังสีปริมาณดังกล่าว

**ตารางที่ 2** ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่ของ *A. congensis* N.E. Brown. ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนยอดต่อต้นเฉลี่ย (ยอด)
0	1.90 a <sup>1/</sup>
20	0.85 b
40	0.65 b
60	0.30 c
80	0.00 c
100	0.00 c
F-test	*
C.V.(%)	6.68

\* ทริทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติจากการเปรียบเทียบ โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

### จำนวนใบต่อดัน ความยาว และความกว้างของใบ

หลังจากการฉายรังสีให้แก่ต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. พบว่า เมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้นส่งผลให้มีจำนวนใบต่อดัน ความยาว และความกว้างของใบลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยที่ระดับปริมาณรังสี 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์ มีจำนวนใบต่อดันเฉลี่ยเท่ากับ 5.30 2.80 2.45 0.55 0.00 และ 0.00 ใบ ตามลำดับ สำหรับต้นอ่อนปลอดเชื้อที่ได้รับรังสีปริมาณ 20-100 เกรย์ มีจำนวนใบต่อดันลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับการทดลองชุดควบคุม และที่ปริมาณรังสี 60 เกรย์ มีจำนวนใบต่อดันเฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับต้นอ่อนปลอดเชื้อที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณ 20 และ 40 เกรย์ ในส่วนของความยาวใบเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 2.87 2.38 2.40 0.56 0.00 และ 0.00 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยต้นอ่อนปลอดเชื้อที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณ 60 เกรย์ มีความยาวใบเฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับต้นอ่อนปลอดเชื้อที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณ 0-40 เกรย์ และค่าความกว้างของใบเฉลี่ยมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อต้นอ่อนปลอดเชื้อได้รับปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.76 0.50 0.50 0.26 0.00 และ 0.00 เซนติเมตร ตามลำดับ และพบว่าต้นอ่อนปลอดเชื้อที่ผ่านการฉายรังสี 20 40 และ 60 เกรย์ มีความกว้างของใบเฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองชุดควบคุม แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างต้นอ่อนปลอดเชื้อที่ผ่านการฉายรังสี 20 40 และ 60 เกรย์ พบว่าต้นอ่อนที่ได้รับรังสี 60 เกรย์ มีความกว้างของใบเฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับต้นอ่อนปลอดเชื้อที่ผ่านการฉายรังสี 20 และ 40 เกรย์ (ตารางที่ 3)

### จำนวนรากต่อดัน และความยาวราก

เมื่อต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน พบว่าจำนวนรากต่อดัน และความยาวเฉลี่ยของรากลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น โดยที่จำนวนรากต่อดันเฉลี่ยของชุดควบคุม (0 เกรย์) และ 20 เกรย์ มีค่าเท่ากับ 5.35 และ 5.70 ราก ตามลำดับ โดยพบว่าที่ปริมาณรังสีตั้งแต่ 40 เกรย์ ขึ้นไปไม่เกิดรากใหม่ และที่ปริมาณรังสี 0 และ 20 เกรย์ มีความยาวของรากเฉลี่ยเท่ากับ 2.51 และ 0.35 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

**ตารางที่ 3** ค่าเฉลี่ยจำนวนใบต่อต้น ความยาว และความกว้างใบที่แตกใหม่ของ *A. congensis* N.E. Brown. ซึ่งเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนใบต่อต้นเฉลี่ย (ใบ)	ความยาวใบเฉลี่ย (เซนติเมตร)	ความกว้างใบเฉลี่ย (เซนติเมตร)
0	5.30 a <sup>1/</sup>	2.87 a <sup>1/</sup>	0.76 a <sup>1/</sup>
20	2.80 b	2.38 a	0.50 b
40	2.45 b	2.40 a	0.50 b
60	0.55 c	0.56 b	0.26 c
80	0.00 c	0.00 b	0.00 d
100	0.00 c	0.00 b	0.00 d
F-test	*	*	*
C.V.(%)	10.59	1.84	2.64

\* ทรีทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

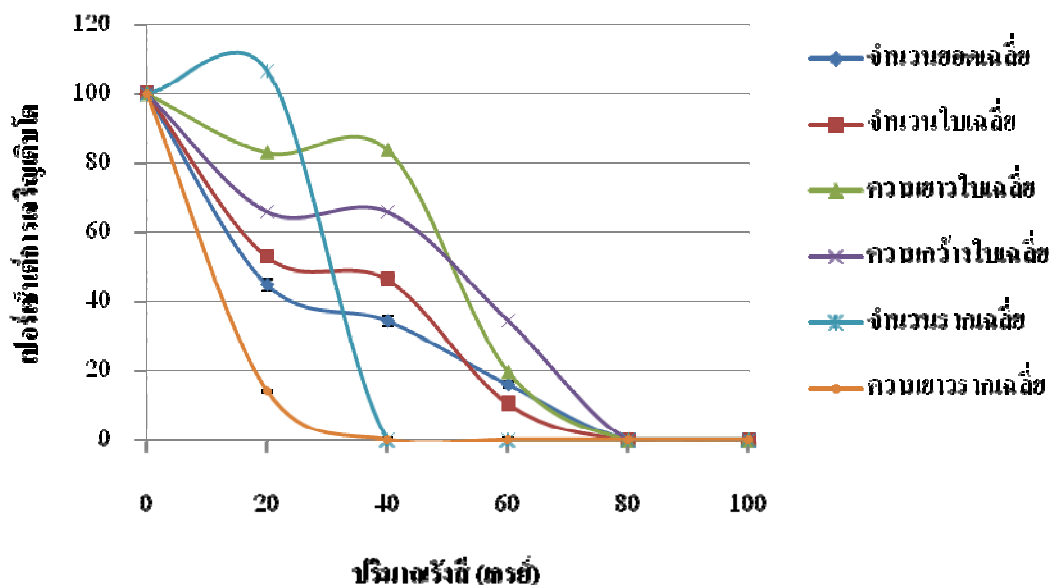
<sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติจากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

**ตารางที่ 4** ค่าเฉลี่ยจำนวนรากต่อต้น และความยาวรากที่แตกใหม่ของ *A. congensis* N.E. Brown. ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนรากต่อต้นเฉลี่ย (ราก)	ความยาวรากเฉลี่ย (เซนติเมตร)
0	5.35 a <sup>1/</sup>	2.51 a <sup>1/</sup>
20	5.70 b	0.35 b
40	0.00 c	0.00 c
60	0.00 c	0.00 c
80	0.00 c	0.00 c
100	0.00 c	0.00 c
F-test	*	*
C.V.(%)	8.95	14.56

\* ทรีทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติจากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 2 เปอร์เซนต์การเจริญเติบโตในลักษณะต่างๆ ของต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congenis* N.E. Brown. เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (0 เกรย์) ที่ปริมาณรังสี 0 20 40 60 80 และ 100 เกรย์ หลังจากการฉายรังสีระยะเวลา 60 วัน

ค่าปริมาณรังสีเกมมาที่ทำให้เปอร์เซนต์การเจริญเติบโตลดลง 50 เปอร์เซนต์ ที่ระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสี 60 วัน ( $GR_{50(60)}$ )

เมื่อนำข้อมูลการเจริญเติบโตในลักษณะต่างๆ ได้แก่ จำนวนยอดต่อต้น จำนวนใบต่อต้น ความยาวใบ ความกว้างใบ จำนวนรากต่อต้น และความยาวรากเฉลี่ยของ *A. congenis* N.E. Brown. ที่ผ่านการฉายรังสีเกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20 40 60 80 และ 100 เกรย์ มาหาค่า เปอร์เซนต์การเจริญเติบโตเทียบกับชุดควบคุม (0 เกรย์) พบว่าค่า  $GR_{50(60)}$  ที่หาจากข้อมูลการเจริญเติบโตในลักษณะดังกล่าว เท่ากับ 16.85 23.99 51.08 51.92 28.82 และ 9.93 เกรย์ ตามลำดับ (ภาพที่ 2) โดยจะเห็นว่ารังสีมีผลต่อการเจริญเติบโตในลักษณะความยาวรากมากที่สุด และมีผลต่อความยาวใบ และความกว้างของใบน้อยที่สุด เมื่อพิจารณาจากค่า  $GR_{50(60)}$  ของการเจริญเติบโตในลักษณะต่างๆ เหล่านี้พบว่าลักษณะการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการหาค่า  $GR_{50(60)}$  ได้แก่ จำนวนยอดต่อต้น จำนวนใบต่อต้น และจำนวนรากต่อต้น

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  ที่เกิดขึ้นหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบ  
เฉียบพลัน

หลังจากการฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 0 20 40 และ 60 เกรย์ พบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น  
ได้แก่ ใบด่าง ใบหงิกงอ โดยลักษณะใบด่าง และใบหงิกงอ พบได้หลังจากการฉายรังสีตั้งแต่ 20-60  
เกรย์ (ภาพที่ 3) ส่วนต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสี (0 เกรย์) ไม่พบลักษณะผิดปกติดังกล่าว โดยลักษณะ  
ที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  พบว่าบางลักษณะไม่สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่น  $M_1V_2$  และเมื่อทำการขยายพันธุ์  
ต่อไปในรุ่น  $M_1V_3$  ไม่พบลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นให้รุ่น  $M_1V_1$  ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงที่  
เกิดขึ้นดังกล่าวไม่จัดว่าเป็นการกลายพันธุ์ เป็นเพียงการเกิดความเสียหายทางสรีรวิทยาที่รังสี  
แกมมา กระทำต่อต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. เท่านั้น



ภาพที่ 3 ลักษณะใบหงิกงอและใบด่าง ที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบ  
เฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 20 (ก) 40 (ข) และ 60 (ค) เกรย์

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่พบในรุ่น  $M_1V_2$  ที่เกิดขึ้นหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบ  
เฉียบพลัน

เมื่อย้ายต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. ที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณต่างๆ  
พบว่าในรุ่น  $M_1V_2$  พบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นโดยที่ปริมาณรังสี 20 เกรย์ พบการเปลี่ยนแปลง  
ลักษณะขอบใบหยักเป็นคลื่น ใบแคบลำต้นแคระ และ albino ส่วนที่ระดับปริมาณรังสี 40 และ 60  
เกรย์ พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะการกลายแบบ albino เท่านั้น

ลักษณะการกลายในรุ่น  $M_1V_3$  ที่คัดเลือกได้หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน

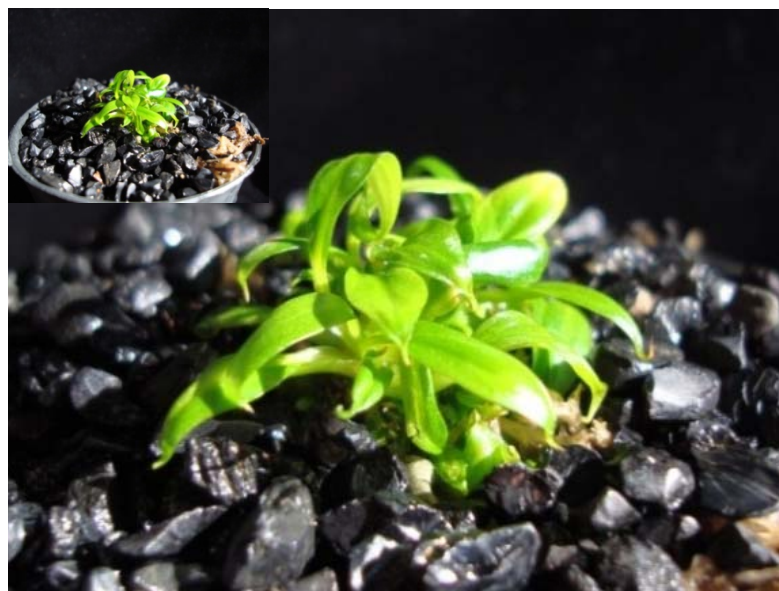
หลังจากนำต้นอ่อนของ *A. congensis* N.E. Brown. ที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณต่างๆ มาย้ายเปลี่ยนอาหารพบว่าสามารถคัดเลือกพันธุ์กลายในรุ่น  $M_1V_3$  ที่เกิดขึ้น โดยที่ปริมาณรังสี 20 เกรย์ คัดเลือกพันธุ์กลายลักษณะขอบใบหยักเป็นคลื่น ( $A_1$ ) (ภาพที่ 5) และพันธุ์กลายใบแคบลำต้นแคระ ( $A_2$ ) (ภาพที่ 6) และ albino (ภาพที่ 7) ส่วนที่ระดับปริมาณรังสี 40 และ 60 เกรย์ พบลักษณะการกลายแบบ albino (ภาพที่ 7) เท่านั้น



ภาพที่ 4 ต้น *A. congensis* N.E. Brown. พันธุ์เดิม  $A_0$  ที่ปลูกในเรือนเพาะชำเป็นระยะเวลา 6 เดือน



ภาพที่ 5 ต้น *A. congensis* N.E. Brown. พันธุ์กลาย A<sub>1</sub> ในรุ่น M<sub>1</sub>V<sub>3</sub> ที่คัดเลือกได้จากการฉายรังสี 20 เกรย์ และนำออกปลูกทดสอบในเรือนเพาะชำเป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยมีลักษณะการกลาย คือ ขอบใบหยักเป็นคลื่น



ภาพที่ 6 ต้น *A. congensis* N.E. Brown. พันธุ์กลาย A<sub>2</sub> ในรุ่น M<sub>1</sub>V<sub>3</sub> ที่คัดเลือกได้จากการฉายรังสี 20 เกรย์ และนำออกปลูกทดสอบในเรือนเพาะชำเป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยมีลักษณะการกลายคือ ลำต้นแฉะ และใบแคบ



ภาพที่ 7 *A. congenis* N.E. Brown. ที่กลายในลักษณะ albino ที่พบในรุ่น  $M_1V_3$  หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 40 เกรย์

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันในช่วงปริมาณรังสีที่เหมาะสมซึ่งได้จากการทดลองที่ 1 ต่อความอยู่รอด การเจริญเติบโต และการกลายพันธุ์ของ *Anubias congenis* N.E. Brown.

เมื่อทราบปริมาณรังสีที่เหมาะสมจากค่า  $LD_{50(60)}$  ซึ่งมีค่าประมาณ 30-40 เกรย์ และ  $GR_{50(60)}$  ประมาณ 16-28 เกรย์ จึงได้กำหนดปริมาณรังสีที่ฉายให้กับ *A. congenis* N.E. Brown. คือ 0 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์

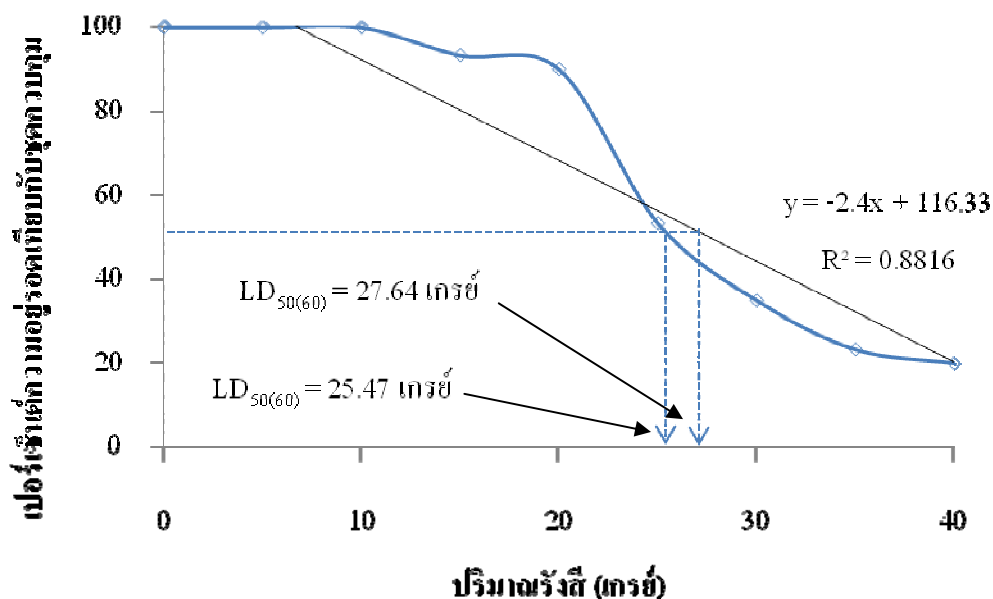
#### ความอยู่รอด

เมื่อฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันให้แก่ต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congenis* N.E. Brown. พบว่าเมื่อปริมาณรังสีสูงขึ้นมีผลทำให้จำนวนต้นอ่อนปลอดเชื้อของ *A. congenis* N.E. Brown. มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดลดลงเมื่อเปรียบเทียบการทดลองชุดควบคุม โดยที่ปริมาณรังสี 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์ต้นที่รอดชีวิตที่ระยะเวลา 60 วัน หลังจากการฉายรังสีเท่ากับ 100 93.33 90.00 53.33 35.00 23.33 และ 20.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 5) และสามารถหา

ค่า  $LD_{50(60)}$  ได้เท่ากับ 25.47 เกรย์ และเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการหาค่า  $LD_{50(60)}$  โดยใช้สมการถดถอยเชิงเส้นตรงสามารถหาค่า  $LD_{50(60)}$  ได้เท่ากับ 27.64 เกรย์ (ภาพที่ 8)

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเทียบกับชุดควบคุมของ *A. congensis* N.E. Brown. ที่ระยะเวลา 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณ 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนต้นทั้งหมด	จำนวนต้นที่รอดชีวิต	ความอยู่รอด (% ของชุดควบคุม)
0	60	60	100.00
5	60	60	100.00
10	60	60	100.00
15	60	56	93.33
20	60	54	90.00
25	60	32	53.33
30	60	21	35.00
35	60	14	23.33
40	60	12	20.00



ภาพที่ 8 เปอร์เซนต์ความอยู่รอดของดินอ่อนปลอดเชื้อของ *A. congenis* N.E. Brown. ที่ปริมาณรังสี 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์ หลังจากการฉายรังสีระยะเวลา 60 วัน

#### จำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่

ค่าเฉลี่ยหลังจากการที่ทำการฉายรังสีเกมมาแบบเฉียบพลันให้แก่ดินอ่อนปลอดเชื้อ *A. congenis* N.E. Brown. พบว่า เมื่อปริมาณรังสีสูงขึ้นมีผลทำให้จำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่มีจำนวนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยที่ปริมาณรังสี 0 (ชุดควบคุม) 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์ มีจำนวนยอดต่อต้นเฉลี่ยเท่ากับ 1.65 1.50 1.60 1.15 0.75 0.70 0.60 0.55 และ 0.50 ยอดตามลำดับ (ตารางที่ 6) โดยพบว่าที่ระดับปริมาณรังสี 15-40 เกรย์ มีจำนวนยอดต่อต้นแตกใหม่เฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (0 เกรย์) 5 และ 10 เกรย์ และพบว่าดินอ่อนที่ผ่านการฉายรังสีในช่วง 20-40 เกรย์ มีจำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่เฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณ 15 เกรย์

#### จำนวนใบต่อต้น ความยาว และความกว้างของใบ

เมื่อทำการฉายรังสีแล้วพบว่าผลที่เกิดกับจำนวนใบต่อต้น และความกว้างของใบ มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อปริมาณรังสีสูงขึ้น โดยจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ยที่เกิดใหม่ที่ปริมาณรังสี 0 (ชุดควบคุม) 5 และ 10 เกรย์ มีค่าเท่ากับ 5.40 5.45 และ 5.20 ใบ ตามลำดับ

และเริ่มมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ในช่วงปริมาณรังสี 15-40 เกรย์ โดยจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ยที่เกิดขึ้นมีค่าเท่ากับ 2.60 2.50 2.45 2.35 2.40 และ 2.35 ใบ ตามลำดับ และความกว้างใบเฉลี่ยมีแนวโน้มลดลงเช่นเดียวกับจำนวนใบโดยที่ระดับปริมาณรังสี 0 – 40 เกรย์ มีความกว้างใบเฉลี่ยเท่ากับ 0.79 0.78 0.82 0.78 0.51 0.49 0.49 0.45 และ 0.43 เซนติเมตร ตามลำดับ ในส่วนความยาวของใบพบว่าเมื่อปริมาณรังสีสูงขึ้นความยาวใบเฉลี่ยที่เกิดขึ้นใหม่มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) โดยค่าความยาวใบเฉลี่ยที่ปริมาณรังสี 0 -40 เกรย์ อยู่ในช่วง 2.36-2.85 เซนติเมตร (ตารางที่ 7)

**ตารางที่ 6** ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่ของ *A. congensis* N.E. Brown. ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 (ชุดควบคุม) 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนยอดต่อต้นเฉลี่ย (ยอด)
0	1.65 a <sup>1/</sup>
5	1.50 a
10	1.60 a
15	1.15 b
20	0.75 c
25	0.70 c
30	0.60 c
35	0.55 c
40	0.50 c
F-test	*
C.V.(%)	24.65

\* ทริทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติจากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ยจำนวนใบต่อต้น ความยาวและความกว้างใบที่เกิดขึ้นใหม่ของ *A. congensis* N.E. Brown. ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 (ชุดควบคุม) 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนใบต่อต้นเฉลี่ย (ใบ)	ความยาวใบเฉลี่ย (เซนติเมตร)	ความกว้างใบเฉลี่ย (เซนติเมตร)
0	5.40 a <sup>1/</sup>	2.83 a <sup>1/</sup>	0.79 a <sup>1/</sup>
5	5.45 a	2.85 a	0.78 a
10	5.20 a	2.78 a	0.82 a
15	2.60 b	2.83 a	0.78 a
20	2.50 b	2.43 a	0.51 b
25	2.45 b	2.44 a	0.49 b
30	2.35 b	2.43 a	0.49 b
35	2.40 b	2.37 a	0.45 b
40	2.35 b	2.36 a	0.43 b
F-test	*	ns	*
C.V.(%)	18.67	20.35	12.58

ns ทรีทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างไม่มีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* ทรีทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติจากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

### จำนวนรากต่อต้น และความยาวของราก

จำนวนรากต่อต้น และความยาวของราก หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน พบว่าเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มสูงขึ้น มีผลทำให้จำนวนรากต่อต้น และความยาวรากเฉลี่ย ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยหลังจากฉายรังสีที่ปริมาณ 0 – 30 เกรย์ พบว่ามีจำนวนรากต่อต้นเฉลี่ยเท่ากับ 5.50 5.55 5.56 5.60 5.54 2.90 และ 2.85 ราก ตามลำดับ (ตารางที่ 8) ส่วนที่ปริมาณรังสี 35 และ 40 เกรย์ พบว่าไม่มีรากใหม่เกิดขึ้น และในส่วนของความยาวรากเฉลี่ยหลังจากฉายรังสีปริมาณ 0-30 เกรย์ มีค่าเท่ากับ 2.47 2.56 2.47 0.37 0.39 0.20 และ 0.23 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 8) และที่ปริมาณรังสี 35 และ 40 เกรย์ ไม่สามารถบันทึกข้อมูลความยาวรากได้ เนื่องจากไม่มีรากใหม่เกิดขึ้นหลังจากการฉายรังสีปริมาณดังกล่าว

**ตารางที่ 8** ค่าเฉลี่ยจำนวนรากต่อต้น และความยาวของรากที่เกิดขึ้นใหม่ของ *A. congensis* N.E.

Brown. ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 (ชุดควบคุม) 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์

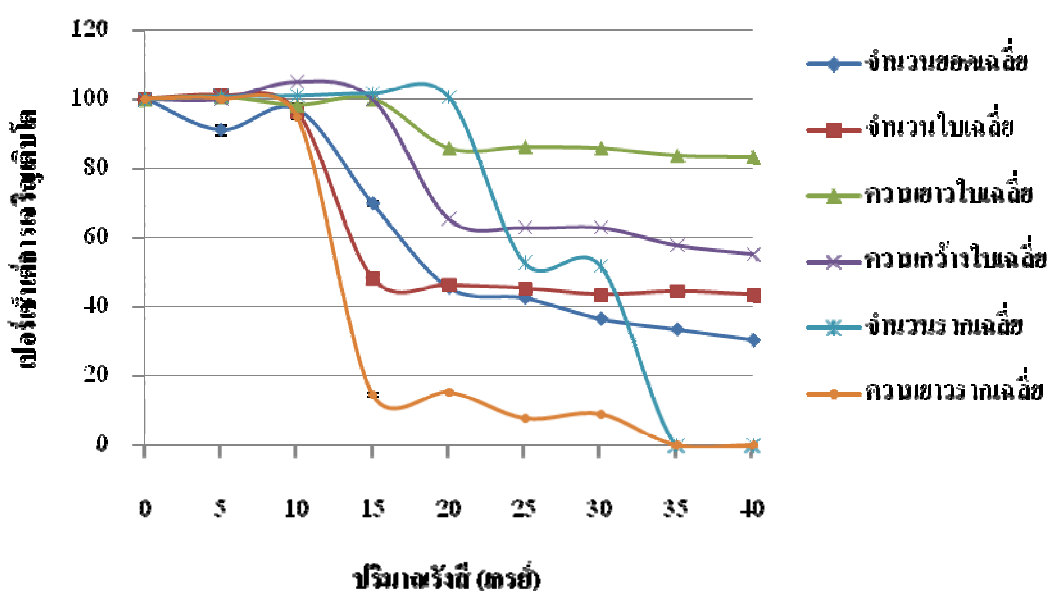
ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนรากต่อต้นเฉลี่ย (ราก)	ความยาวเฉลี่ยของราก (เซนติเมตร)
0	5.50 a <sup>1/</sup>	2.47 a <sup>1/</sup>
5	5.55 a	2.56 a
10	5.56 a	2.43 a
15	5.60 a	0.37 b
20	5.54 a	0.39 b
25	2.90 b	0.20 bc
30	2.85 b	0.23 bc
35	0.00 c	0.00 c
40	0.00 c	0.00 c
F-test	*	*
C.V.(%)	16.47	25.36

\* ทริทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติจากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสี 60 วัน ( $GR_{50(60)}$ )

เมื่อนำข้อมูลการเจริญเติบโตในลักษณะต่างๆ ได้แก่ จำนวนยอดต่อต้น จำนวนใบต่อต้น ความยาวใบ ความกว้างใบ จำนวนรากต่อต้น และความยาวรากเฉลี่ยของ *A. congensis* N.E. Brown. ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์ มาหาค่าเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตเทียบกับชุดควบคุม (0 เกรย์) พบว่าค่า  $GR_{50(60)}$  ที่หาจากข้อมูลการเจริญเติบโต โดยการลากเส้นตรงตัดกราฟ มีค่าเท่ากับ 14.88 12.54 17.58 17.74 23.79 และ 12.70 เกรย์ ตามลำดับ (ภาพที่ 9) โดยจะเห็นว่ารังสีมีผลต่อการเจริญเติบโตในลักษณะจำนวนใบ และความยาวรากมากที่สุด และมีผลต่อจำนวนรากน้อยที่สุด



ภาพที่ 9 เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตในลักษณะต่างๆ ของต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. ที่ปริมาณรังสี 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์ หลังจากการฉายรังสีระยะเวลา 60 วัน

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  ที่เกิดขึ้นหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบ  
เฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์

หลังจากการฉายรังสีแกมมา ที่ปริมาณรังสีเท่ากับ 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์ พบ  
ลักษณะการเปลี่ยนแปลงได้แก่ ใบด่าง และใบหงิกงอ โดยที่ปริมาณรังสี 5 เกรย์ พบลักษณะใบด่าง  
(ภาพที่ 10 ก) เพียงอย่างเดียว และที่ปริมาณรังสี 10-40 เกรย์พบลักษณะใบด่าง และใบหงิกงอ (ภาพ  
ที่ 10 ข-ง) และพบว่าที่ปริมาณรังสี 25-40 เกรย์ ต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown.  
บางส่วนมีลักษณะใบเหลือง และตายในที่สุด โดยลักษณะที่พบบางลักษณะในรุ่น  $M_1V_1$  ไม่สามารถ  
ถ่ายทอดไปยังรุ่น  $M_1V_2$  และ  $M_1V_3$  ได้



ภาพที่ 10 ลักษณะใบด่าง และใบหงิกงอ ที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบ  
เฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 5 (ก) 15 (ข) 20 (ค) และ 40 (ง) เกรย์ ที่ระยะเวลา 60 วันหลังจาก  
ฉายรังสี

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่พบในรุ่น  $M_1V_2$  ที่เกิดขึ้นหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบ  
เฉียบพลันที่ปริมาณ 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์

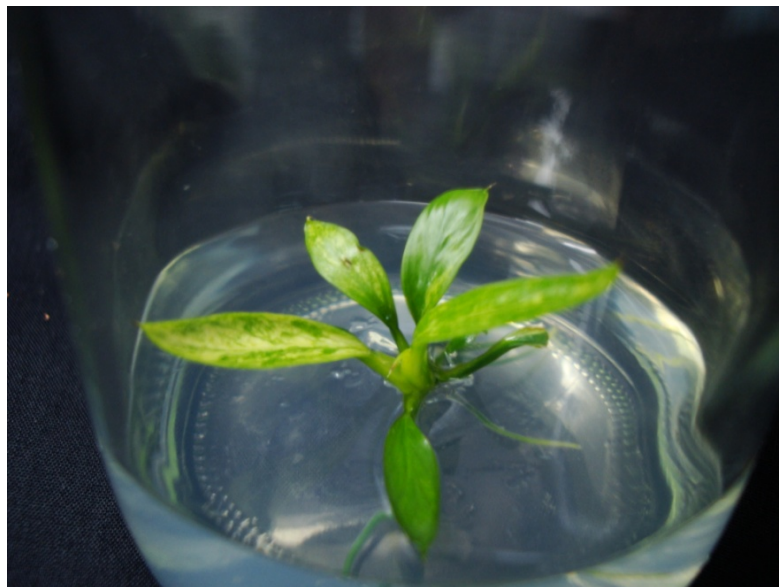
เมื่อย้ายต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณต่างๆ  
พบว่าในรุ่น  $M_1V_2$  พบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นโดยที่ปริมาณรังสี 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์  
พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะใบหงิกงอ และใบด่าง โดยบางลักษณะที่เกิดการเปลี่ยนแปลงไม่  
สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่น  $M_1V_3$  ได้

ลักษณะการกลายในรุ่น  $M_1V_3$  ที่คัดเลือกได้หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ ปริมาณรังสี 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์

หลังจากฉายรังสีลักษณะการเปลี่ยนแปลงบางลักษณะที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  ไม่สามารถ ถ่ายทอดมายังรุ่น  $M_1V_2$  และเมื่อทำการย้ายเปลี่ยนอาหารใหม่ พบว่าในรุ่น  $M_1V_3$  มีลักษณะการ เปลี่ยนแปลงที่พบในรุ่น  $M_1V_2$  สามารถถ่ายทอดมาได้ และมีเปอร์เซ็นต์การกลายในลักษณะต่างๆ ในรุ่น  $M_1V_3$  ที่ปริมาณรังสี 0 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์ เท่ากับ 0.00 0.00 1.67 3.33 3.33 0.00 1.67 8.33 และ 10.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 9) โดยลักษณะการกลายที่พบมากที่สุด คือลักษณะการกลายแบบ albino (ภาพที่ 13) และที่ระดับปริมาณรังสี 10 เกรย์ สามารถคัดเลือกพันธุ์ กลายลักษณะใบด่าง ( $A_3$ ) (ภาพที่ 11) คิดเป็น 1.67 เปอร์เซ็นต์ และหลังจากฉายรังสีที่ปริมาณรังสี เท่ากับ 15 เกรย์ คัดเลือกพันธุ์กลายลักษณะลำต้นแคระ ( $A_4$ ) (ภาพที่ 12) คิดเป็น 1.67 เปอร์เซ็นต์

**ตารางที่ 9** เปอร์เซ็นต์การกลายพันธุ์ในลักษณะต่างๆ ที่พบในรุ่น  $M_1V_3$  หลังจากการฉายรังสีแกมมา แบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนต้น ทั้งหมด	เปอร์เซ็นต์การ กลายทั้งหมด	ประเภทการกลาย (%)		
			ใบด่าง	ลำต้นแคระ	Albino
0	60	0.00	0.00	0.00	0.00
5	60	0.00	0.00	0.00	0.00
10	60	1.67	1.67	0.00	0.00
15	60	3.34	0.00	1.67	1.67
20	60	3.33	0.00	0.00	3.33
25	60	0.00	0.00	0.00	0.00
30	60	1.67	0.00	0.00	1.67
35	60	8.33	0.00	0.00	8.33
40	60	10.00	0.00	0.00	10.00



ภาพที่ 11 ต้น *A. congensis* N.E. Brown. พันธุ์กลาย  $A_3$  ในรุ่น  $M_1V_3$  ที่อยู่สภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยมีลักษณะการกลายคือ ใบต่าง ซึ่งได้จากการฉายรังสีปริมาณ 10 เกรย์



ภาพที่ 12 ต้น *A. congensis* N.E. Brown. พันธุ์กลาย  $A_4$  ในรุ่น  $M_1V_3$  ที่คัดเลือกได้จากการฉายรังสี 20 เกรย์ และนำออกปลูกทดสอบในเรือนเพาะชำเป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยมีลักษณะการกลายคือ ลำต้นแคระ ซึ่งได้จากการฉายรังสีปริมาณ 15 เกรย์



ภาพที่ 13 ต้น *A. congensis* N.E. Brown. ในรุ่น  $M_1V_3$  ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในห้องเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 เดือน โดยมีลักษณะการกลายคือ albino ซึ่งสามารถพบได้จากการฉายรังสีปริมาณ 15 (ก) 20 (ข) 30 (ค) 35 (ง) และ 40 (จ) เกรย์

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบโครนิกต่อความอยู่รอด การเจริญเติบโต และการกลายพันธุ์ของ *Anubias congensis* N.E. Brown.

#### ความอยู่รอด

หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกที่ระยะห่างจากต้นกำเนิดรังสี 2.0 เมตร อัตรารังสี 0.71 เกรย์ต่อชั่วโมง ที่ปริมาณรังสี 0 14.34 28.60 31.24 42.90 51.16 65.55 82.42 91.69 105.99 และ 120.30 เกรย์ พบว่าหลังจากฉายรังสี 60 วัน ไม่มีต้นตายในทุกปริมาณรังสี จึงไม่สามารถคำนวณหาค่าปริมาณรังสีแบบโครนิกที่ต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ได้ (ตารางที่ 10)

#### จำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่

จำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่เฉลี่ยหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกพบว่ามีจำนวนยอดต่อต้นแตกใหม่เฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ที่ปริมาณรังสี 105.99 และ 120.30 เกรย์

โดยในช่วงปริมาณรังสี 0 (ชุดควบคุม) – 91.69 เกรย์ พบว่ามีจำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่เฉลี่ยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) โดยมีค่าเท่ากับ 2.50 2.35 2.40 2.30 2.50 2.45 2.70 2.55 และ 2.40 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

**ตารางที่ 10** เปอร์เซ็นต์การอยู่รอด และค่าเฉลี่ยของจำนวนยอดต่อต้น ของ *A. congensis* N.E. Brown.. ในรุ่น  $M_1V_1$  ที่ 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาแบบโครนิกที่ปริมาณ 0 14.34 28.60 31.24 42.90 51.16 65.55 82.42 91.69 105.99 และ 120.30 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	ความอยู่รอด (% ของชุดควบคุม)	จำนวนยอดต่อต้นเฉลี่ย (ยอด)
0.00	100	2.50 a <sup>1/</sup>
14.34	100	2.35 a
28.60	100	2.40 a
31.24	100	2.30 a
42.90	100	2.50 a
51.16	100	2.45 a
65.55	100	2.70 a
82.42	100	2.55 a
91.69	100	2.40 a
105.99	100	1.25 b
120.30	100	1.30 b
F-test	-	*
C.V.(%)	-	8.64

\* ทริทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติจากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

### จำนวนใบต่อต้น ความยาว และความกว้างของใบ

หลังจากฉายรังสีแกมมาแบบ โครนิกที่ระยะห่างจากต้นกำเนิดรังสี 2.0 เมตร อัตรารังสี 0.71 เกรย์ต่อชั่วโมง ที่ปริมาณรังสี 0 14.34 28.60 31.24 42.90 51.16 65.55 82.42 91.69 105.99 และ 120.30 เกรย์ ให้แก่ต้นอ่อนปลอดเชื้อของ *A. congensis* N.E. Brown. พบว่าที่ปริมาณรังสี 105.99 และ 120.30 เกรย์ มีจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ต่างจากชุดการทดลองอื่นๆ โดยมีจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ยเท่ากับ 1.90 และ 1.25 ใบ ตามลำดับ แต่ในช่วงปริมาณรังสี 14.34-91.96 เกรย์ จำนวนใบต่อต้นมีความแตกต่างทางสถิติอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยมีค่าเท่ากับ 3.55 3.45 3.50 3.35 3.45 3.55 3.05 และ 3.40 ใบ ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

ในส่วนของความยาว และความกว้างของใบ พบว่าหลังจากนำ ต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. มาฉายรังสีแกมมาแบบ โครนิกที่ปริมาณรังสีต่างๆ พบว่าความยาว และความกว้างใบเฉลี่ยมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยที่ระดับปริมาณรังสี 120.30 เกรย์ มีความยาวใบเฉลี่ยมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 1.18 เซนติเมตร และรองลงมาคือที่ระดับปริมาณรังสี 105.99 เกรย์ มีค่าความยาวใบเฉลี่ยอยู่ที่ 1.32 เซนติเมตร และปริมาณรังสีในช่วง 14.34-91.69 เกรย์ มีค่าความยาวใบเฉลี่ยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) โดยมีค่าความยาวใบเฉลี่ยเท่ากับ 2.96 2.86 2.92 3.17 3.24 3.21 3.17 และ 3.20 เซนติเมตร ตามลำดับ และความกว้างใบเฉลี่ยพบว่าปริมาณรังสีในช่วง 105.99-120.30 เกรย์ มีผลทำให้ความกว้างใบเฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยมีค่าเท่ากับ 0.46 และ 0.49 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับการฉายรังสีในช่วงปริมาณรังสี 0-91.69 เกรย์ ซึ่งมีค่าความกว้างใบเฉลี่ยเท่ากับ 0.78 0.80 0.89 0.83 0.83 0.82 0.84 0.84 และ 0.80 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยของ จำนวนใบต่อต้น ความยาวใบ และความกว้างของใบ ของ *A. congensis* N.E. Brown. ในรุ่น M<sub>1</sub>V<sub>1</sub> ที่ 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาแบบโครนิกที่ปริมาณ 0 14.34 28.60 31.24 42.90 51.16 65.55 82.42 91.69 105.99 และ 120.30 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนใบต่อต้นเฉลี่ย (ใบ)	ความยาวเฉลี่ยของใบ (เซนติเมตร)	ความกว้างเฉลี่ยของใบ (เซนติเมตร)
0.00	3.25 a <sup>1/</sup>	2.85 a <sup>1/</sup>	0.78 a <sup>1/</sup>
14.34	3.55 a	2.96 ab	0.80 a
28.60	3.45 a	2.86 a	0.89 a
31.24	3.50 a	2.92 ab	0.83 a
42.90	3.35 a	3.17 ab	0.83 a
51.16	3.45 a	3.24 b	0.82 a
65.55	3.55 a	3.21 b	0.84 a
82.42	3.05 a	3.17 ab	0.84 a
91.69	3.40 a	3.20 b	0.80 a
105.99	1.90 b	1.32 c	0.46 b
120.30	1.25 c	1.18 c	0.49 b
F-test	*	*	*
C.V.(%)	15.68	28.97	12.49

\* ทรีทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติจากการเปรียบเทียบ โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

### จำนวนรากต่อต้น และความยาวของราก

หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกที่ระยะห่างจากต้นกำเนิดรังสี 2.0 เมตร อัตรารังสี 0.71 เกรย์ต่อชั่วโมง ที่ปริมาณรังสี 0 14.34 28.60 31.24 42.90 51.16 65.55 82.42 91.69 105.99 และ 120.30 เกรย์ ให้แก่ต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. พบว่าเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น มีจำนวนรากต่อต้นเฉลี่ยเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยที่ชุดควบคุมมีจำนวนรากต่อต้นเฉลี่ยเท่ากับ 5.50 ราก และที่ปริมาณรังสี 14.34 28.60 31.24 42.90 51.16 65.55 82.42 91.69 105.99 และ 120.30 เกรย์ มีจำนวนรากต่อต้นเฉลี่ยเท่ากับ 16.05 15.95 16.25 16.05 15.85 15.90 16.10 15.90 30.30 และ 34.10 ราก ตามลำดับ (ตารางที่ 12) ในส่วนของความยาวรากพบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) โดยความยาวรากเฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.61- 2.89 เซนติเมตร

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  ที่เกิดขึ้นหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกที่ปริมาณรังสีต่างๆ

หลังจากการฉายรังสี ที่ปริมาณรังสี 0 14.34 28.60 31.24 42.90 51.16 65.55 82.42 91.69 105.99 และ 120.30 เกรย์ พบความผิดปกติที่เกิดขึ้นได้แก่ ใบด่าง และหงิกงอ (ภาพที่ 14) และ albino (ภาพที่ 15) โดยบางลักษณะลักษณะที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  บางลักษณะพบว่าไม่สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่น  $M_1V_2$  และ  $M_1V_3$  ได้

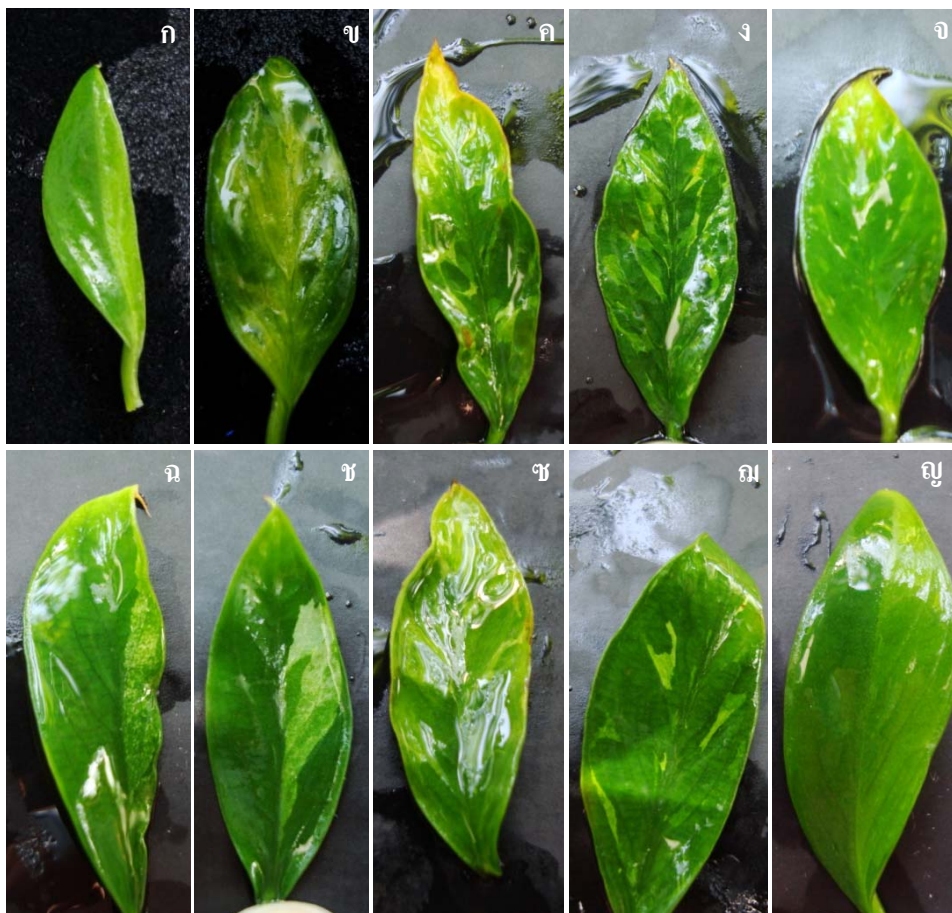
ตารางที่ 12 ค่าเฉลี่ยของ จำนวนรากต่อต้น และความยาวของราก ของ *A. congensis* N.E. Brown. ในรุ่น  $M_1V_1$  ที่ ระยะเวลา 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาแบบ โครนิกที่ปริมาณ 0 14.34 28.60 31.24 42.90 51.16 65.55 82.42 91.69 105.99 และ 120.30 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนรากต่อต้นเฉลี่ย (ราก)	ความยาวเฉลี่ยของราก (เซนติเมตร)
0.00	5.50 a <sup>1/</sup>	2.62 a <sup>1/</sup>
14.34	16.05 b	2.67 a
28.60	15.95 b	2.69 a
31.24	16.25 b	2.69 a
42.90	16.05 b	2.67 a
51.16	15.85 b	2.76 a
65.55	15.90 b	2.75 a
82.42	16.10 b	2.61 a
91.69	15.90 b	2.72 a
105.99	30.30 c	2.89 a
120.30	34.10 d	2.87 a
F-test	*	ns
C.V.(%)	28.64	16.92

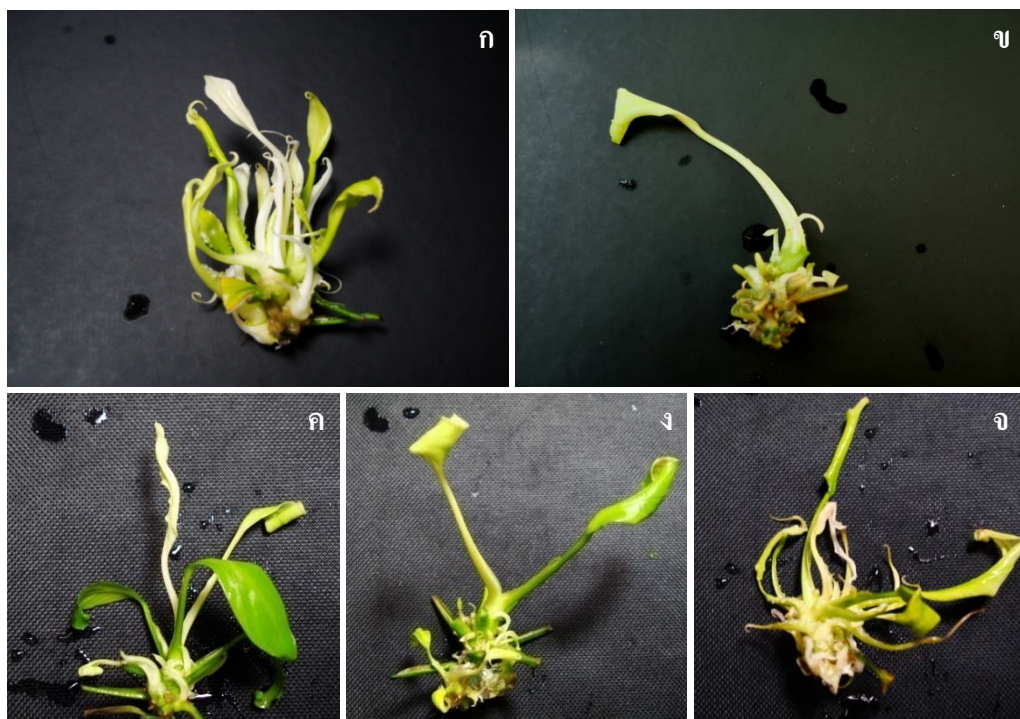
ns ทริทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างไม่มีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติจากการเปรียบเทียบ โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* ทริทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 14 ลักษณะ ใบต่าง และหิ้งงอที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิก ปริมาณรังสี 14.34 (ก) 28.60 (ข) 31.24 (ค) 42.90 (ง) 51.16 (จ) 65.55 (ฉ) 82.42 (ช) 91.69 (ซ) 105.99 (ฅ) และ 120.30 (ญ) เกรย์ ที่ระยะเวลา 60 วัน หลังจากฉายรังสี



ภาพที่ 15 ลักษณะ albino ที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกปริมาณ 14.34 (ก) 31.24 (ข) 91.69 (ค) 105.99 (ง) และ 120.30 (จ) เกรย์ ที่ระยะเวลา 60 วัน หลังจากฉายรังสี

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่พบในรุ่น  $M_1V_2$  ที่เกิดขึ้นหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิก

เมื่อย้ายต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณต่างๆ พบว่า ในรุ่น  $M_1V_2$  มีการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นโดยที่ปริมาณรังสี 14.34 31.24 91.69 105.99 และ 120.30 เกรย์ พบลักษณะ albino โดยลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดดังกล่าวบางลักษณะ ไม่สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่น  $M_1V_3$  ได้

ลักษณะการกลายในรุ่น  $M_1V_3$  ที่คัดเลือกได้หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกที่ปริมาณรังสีต่างๆ

เมื่อฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกให้แก่ต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. พบว่า มีการกลายเกิดขึ้นในรุ่น  $M_1V_3$  โดยลักษณะกลายที่เกิดขึ้นได้แก่ ต้นแคระ ( $A_3$ ) (ภาพที่ 16) และ

albino ส่วนชุดควบคุมไม่พบการกลาย และหลังจากการฉายรังสีแล้วพบว่าที่ปริมาณรังสี 14.34 เกรย์ มีการกลายแบบ albino เกิดขึ้นคิดเป็น 1.67 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณรังสี 28.60 เกรย์ มีการกลายคือ ลักษณะต้นแคระ (ภาพที่ 16) คิดเป็น 1.67 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณรังสี 31.24 เกรย์ พบการกลายแบบ albino คิดเป็น 3.33 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณรังสี 91.69 เกรย์ พบการกลายแบบ albino คิดเป็น 5.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณรังสี 105.99 เกรย์ พบการกลายแบบ albino คิดเป็น 11.67 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณรังสี 120.30 เกรย์ พบการกลายแบบ albino คิดเป็น 10.00 เปอร์เซ็นต์ และที่ปริมาณรังสี 42.90 51.16 65.55 และ 82.42 เกรย์ ไม่พบการกลายเกิดขึ้น โดยการกลายส่วนใหญ่เป็นการกลายลักษณะ albino รองลงมาคือ ต้นแคระ ซึ่งพบที่ปริมาณรังสี 28.60 เกรย์ เท่านั้น (ตารางที่ 3, ภาพที่ 17)

**ตารางที่ 13** เปอร์เซ็นต์การกลายพันธุ์ในลักษณะต่างๆที่พบในรุ่น  $M_1V_3$  หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกที่ปริมาณรังสี 0 14.34 28.60 31.24 42.90 51.16 65.55 82.42 91.69 105.99 และ 120.30 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนต้น ทั้งหมด	เปอร์เซ็นต์การ กลายทั้งหมด	ประเภทการกลาย (%)		
			ต้นแคระ	ใบแคบ	albino
0.00	60	0.00	0.00	0.00	0.00
14.34	60	1.67	0.00	0.00	1.67
28.60	60	1.67	1.67	0.00	0.00
31.24	60	3.33	0.00	0.00	3.33
42.90	60	0.00	0.00	0.00	0.00
51.16	60	0.00	0.00	0.00	0.00
65.55	60	0.00	0.00	0.00	0.00
82.42	60	0.00	0.00	0.00	0.00
91.69	60	5.00	0.00	0.00	5.00
105.99	60	11.67	0.00	0.00	11.67
120.30	60	10.00	0.00	0.00	10.00



ภาพที่ 16 ต้น *A. congensis* N.E. Brown. พันธุ์กลาย  $A_5$  ในรุ่น  $M_1V_3$  ที่ปลูกทดสอบในเรือนเพาะชำ เป็นระยะเวลา 6 เดือน มีลักษณะการกลายคือ ลำต้นแคระ ซึ่งได้จากการฉายรังสีปริมาณ 28.60 เกรย์



ภาพที่ 17 ต้น *A. congensis* N.E. Brown. ในรุ่น  $M_1V_3$  ที่เพาะเลี้ยงสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยมีลักษณะ albino ซึ่งสามารถพบได้จากการฉายรังสีปริมาณ 14.34 (ก) 31.24 (ข) 91.69 (ค) 105.99 (ง) และ 120.30 (จ) เกรย์

การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันโดยการฉายรังสีแบบฉายรังสีครั้งเดียว และแบบแบ่งฉาย 2 ครั้ง ที่มีต่อความอยู่รอด การเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงของ *Anubias congensis* N.E. Brown.

#### ความอยู่รอด

เมื่อนำต้นอ่อนปลอดเชื้อของ *A. congensis* N.E. Brown. มาฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน โดยการฉายรังสีแบบครั้งเดียว และแบบแบ่งฉาย 2 ครั้ง ด้วยปริมาณรังสี 0 5 10 15 20 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์ พบว่าหลังจากฉายรังสีระยะเวลา 60 วัน ต้นที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณ 0 5 10 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์ ไม่มีต้นอ่อนตาย แต่ที่ระดับปริมาณรังสี 15 และ 20 เกรย์ มีต้นที่รอดชีวิต 93.33 และ 90.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เห็นได้ว่าการฉายรังสีแบบแบ่งฉาย 2 ครั้ง เพื่อให้ได้ปริมาณรังสีที่ต้องการ มีผลทำให้ความอยู่รอดของต้นอ่อนสูงขึ้นกว่าฉายรังสีในปริมาณเท่ากันเพียงครั้งเดียว (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 ผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเทียบกับชุดควบคุมของ *A. congensis* N.E. Brown. ที่ 60 วันหลังได้รับรังสีแกมมาที่ปริมาณ 0 5 10 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนต้นทั้งหมด	จำนวนต้นที่รอดชีวิต	ความอยู่รอด (% ของชุดควบคุม)
0	60	60	100.00
5	60	60	100.00
10	60	60	100.00
15	60	56	93.33
20	60	54	90.00
5+5	60	60	100.00
5+10	60	60	100.00
10+5	60	60	100.00
10+10	60	60	100.00

### จำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่

จำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่หลังจากการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสีต่างๆ พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) ยกเว้นที่ปริมาณรังสี 15 และ 20 เกรย์ มีจำนวนยอดต่อต้นแตกใหม่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p<0.05$ ) โดยที่ปริมาณรังสี 0 5 10 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์ มีจำนวนยอดต่อต้นแตกใหม่เฉลี่ยเท่ากับ 1.70 1.55 1.65 1.50 1.60 1.40 และ 1.35 ยอดตามลำดับ และที่ปริมาณรังสี 15 และ 20 เกรย์ มีจำนวนยอดต่อต้นแตกใหม่เฉลี่ยเท่ากับ 1.15 และ 0.75 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่ของ *A. congensis* N.E. Brown. ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 5 10 15 20 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนยอดต่อต้นเฉลี่ย (ยอด)
0	1.70 a <sup>1/</sup>
5	1.55 a
10	1.65 a
15	1.15 b
20	0.75 b
5+5	1.50 a
5+10	1.60 a
10+5	1.40 a
10+10	1.35 a
F-test	*
C.V.(%)	25.49

\* ทริทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติจากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

### จำนวนใบต่อต้น ความยาวและความกว้างของใบ

จำนวนใบต่อต้นเฉลี่ยที่เกิดขึ้นใหม่หลังจากการฉายรังสีที่ปริมาณรังสี 0 5 10 15 20 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์ พบว่าที่ปริมาณรังสี 15 20 และ 10+10 เกรย์ มีจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับการทดลองชุดอื่นๆ โดยมีจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ยเท่ากับ 2.60 2.50 และ 3.80 ใบ ตามลำดับ และที่ปริมาณรังสี 0 5 10 5+5 5+10 และ 10+5 เกรย์ มีจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ยเท่ากับ 5.25 5.30 5.15 5.25 5.05 และ 4.75 ใบ ตามลำดับ ในส่วนของความยาวและความกว้างของใบ พบว่าต้นที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่างๆ ลักษณะความยาวใบมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ส่วนลักษณะความกว้างใบ พบว่าที่ปริมาณรังสี 20 เกรย์ ความกว้างใบเฉลี่ยเท่ากับ 0.51 เซนติเมตร ซึ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณรังสี 0 5 10 15 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์ ซึ่งมีความยาวใบเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 2.88 2.89 2.80 2.83 2.85 2.80 2.83 และ 2.81 เซนติเมตร ตามลำดับ ในส่วนความกว้างใบเฉลี่ยที่ปริมาณรังสี 0 5 10 15 20 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์ มีค่าเท่ากับ 0.80 0.77 0.83 0.78 0.76 0.81 0.75 และ 0.79 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 16)

### จำนวนรากต่อต้น และความยาวของราก

หลังจากการฉายรังสีที่ปริมาณ 10 เกรย์ เพียงครั้งเดียว พบว่ามีจำนวนรากต่อต้นเฉลี่ยและความยาวของรากเฉลี่ย มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับ การฉายรังสีที่ปริมาณ 5+5 เกรย์ และจากการฉายรังสีที่ปริมาณ 15 เกรย์ จำนวนรากต่อต้นเฉลี่ยและความยาวของรากเฉลี่ย มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับ การฉายรังสีที่ปริมาณ 5+10 เกรย์ แต่ที่ปริมาณรังสี 10+5 เกรย์ พบว่ามีจำนวนรากต่อต้น และความยาวของรากเฉลี่ยมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยมีค่าเท่ากับ 4.80 ราก และ 2.65 เซนติเมตร ตามลำดับ และจากการฉายรังสีที่ปริมาณ 10+10 เกรย์ พบว่าจำนวนรากต่อต้น และความยาวรากเฉลี่ยมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณรังสีที่ปริมาณ 20 เกรย์ (ตารางที่ 17)

ตารางที่ 16 ค่าเฉลี่ยของ จำนวนใบต่อต้น ความยาวใบ และความกว้างของใบ ของ *A. congensis* N.E. Brown. ในรุ่น M<sub>1</sub>V<sub>1</sub> ที่ระยะเวลา 60 วัน หลังได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ ปริมาณรังสี 0 (ชุดควบคุม) 5 10 15 20 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนใบต่อต้นเฉลี่ย (ใบ)	ความยาวใบ เฉลี่ย (เซนติเมตร)	ความกว้างใบเฉลี่ย (เซนติเมตร)
0	5.25 a <sup>1/</sup>	2.88 a <sup>1/</sup>	0.80 a <sup>1/</sup>
5	5.30 a	2.89 a	0.77 a
10	5.15 a	2.80 a	0.83 a
15	2.60 b	2.83 a	0.78 a
20	2.50 b	2.43 a	0.51 b
5+5	5.25 a	2.85 a	0.76 a
5+10	5.05 a	2.80 a	0.81 a
10+5	4.75 a	2.83 a	0.75 a
10+10	3.80 b	2.81 a	0.79 a
F-test	*	ns	*
C.V.(%)	19.68	3.42	11.57

ns ทรีทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างไม่มีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* ทรีทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติจากการเปรียบเทียบ โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 17 ค่าเฉลี่ยของจำนวนรากต่อต้น และความยาวของรากเฉลี่ย ของ *A. congensis* N.E.

Brown. ในรุ่น  $M_1V_1$  ที่ระยะเวลา 60 วัน หลังได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณรังสี 0 (ชุดควบคุม) 5 10 15 20 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนรากต่อต้นเฉลี่ย (ราก)	ความยาวราก เฉลี่ย (เซนติเมตร)
0	5.45 ab <sup>1/</sup>	2.42 a <sup>1/</sup>
5	5.35 abc	2.65 a
10	5.60 a	2.48 a
15	5.60 a	0.37 b
20	5.54 a	0.39 b
5+5	5.30 abc	2.60 a
5+10	5.35 abc	2.39 a
10+5	4.80 bc	2.65 a
10+10	4.70 c	2.38 a
F-test	*	*
C.V.(%)	23.56	38.21

\* ทรีทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

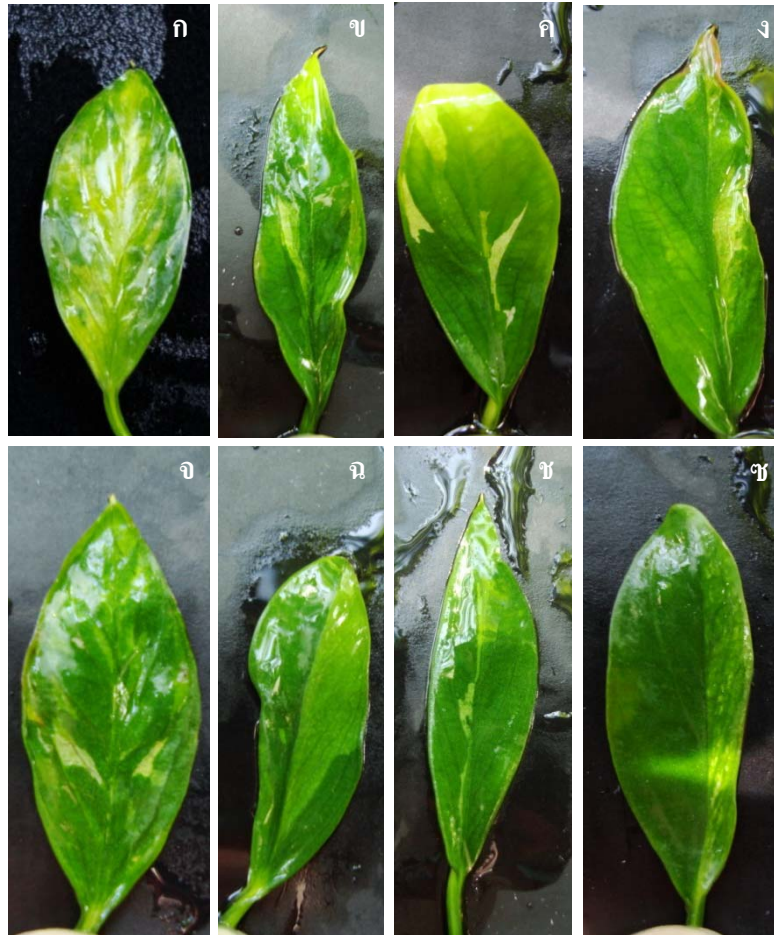
<sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติจากการเปรียบเทียบ โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  ที่เกิดขึ้นหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบ  
เทียบพลันที่ปริมาณรังสีต่างๆ

หลังจากการฉายรังสี ที่ปริมาณรังสี 5 10 15 20 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์ พบความ  
ผิดปกติที่เกิดขึ้นได้แก่ ใบด่าง และใบหงิกงอ (ภาพที่ 18) พบว่าการเปลี่ยนแปลงในลักษณะใบด่างที่  
เกิดขึ้นสูงสุด จากการฉายรังสีปริมาณ 20 เกรย์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดใบด่างเท่ากับ 56.67 (ตาราง  
ที่ 18) และพบว่าเกิดการเกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมีเปอร์เซ็นต์สูงขึ้นในช่วงปริมาณรังสี 5-20 เกรย์  
และ ในช่วงปริมาณรังสี 5+5 – 10+10 เกรย์ และการเปลี่ยนแปลงลักษณะที่เป็นใบหงิกงอพบว่าการ  
ฉายรังสีปริมาณ 20 เกรย์ เกิดลักษณะดังกล่าวสูงที่สุดเท่ากับ 51.67 เปอร์เซ็นต์ และที่รังสีปริมาณ 0  
5 10 15 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์ มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะใบหงิกงอเท่ากับ 0 33.33  
35.00 43.33 23.33 30.00 31.67 และ 48.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 18) และเมื่อเปรียบเทียบ  
ระหว่างการฉายรังสีครั้งเดียว และการฉายแบบแบ่งฉาย 2 ครั้ง พบว่า การฉายรังสีปริมาณ 10 และ  
5+5 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนในลักษณะใบด่าง และใบหงิกงอ โดยการฉายรังสีปริมาณ 10 เกรย์  
มีเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงทั้งสองลักษณะมากกว่าการฉายรังสีปริมาณ 5+5 เกรย์ ประมาณ 10  
เปอร์เซ็นต์ โดยการเปลี่ยนในลักษณะใบด่างมีค่าเท่ากับ 36.67 และ 21.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ  
และลักษณะที่เป็นใบหงิกงอ มีการเปลี่ยนแปลงเท่ากับ 35.00 และ 23.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และ  
การฉายรังสีปริมาณ 15 5+10 และ 10+5 เกรย์ พบว่า หลังจากการฉายรังสีปริมาณ 15 เกรย์ พบการ  
เปลี่ยนแปลงลักษณะใบด่างมากกว่าการฉายรังสีแบบแบ่งฉาย 2 ครั้ง ที่ปริมาณรังสี 5+10 และ 10+5  
เกรย์ ประมาณ 20 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และ ลักษณะการเปลี่ยนแปลงแบบใบหงิกงอ  
พบว่าการฉายรังสีปริมาณ 15 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนดังกล่าวมากกว่าการฉายรังสีแบบแบ่ง  
ฉาย 2 ครั้ง ที่ปริมาณรังสี 5+10 และ 10+5 เกรย์ ประมาณ 10 เกรย์ และจากการฉายรังสีปริมาณ 20  
เกรย์ เมื่อเปรียบกับการฉายรังสีแบบแบ่งฉาย 2 ครั้ง ที่ปริมาณรังสี 10+10 เกรย์ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์  
การเปลี่ยนแปลงในทั้งสองลักษณะใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 18 ลักษณะการเปลี่ยนแปลง และเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  ของ *A. congensis* N.E. Brown. ที่ระยะเวลา 60 วัน หลังได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ ปริมาณรังสี 0 (ชุดควบคุม) 5 10 15 20 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง	
	ใบด่าง	ใบหงิกงอ
0	0	0
5	23.33	33.33
10	36.67	35.00
15	46.67	43.33
20	56.67	51.67
5+5	21.67	23.33
5+10	26.67	30.00
10+5	38.33	31.67
10+10	51.67	48.33



ภาพที่ 18 ลักษณะใบต่างที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 5 (ก) 10 (ข) 15 (ค) 20 (ง) 5+5 (จ) 5+10 (ฉ) 10+5 (ช) และ 10+10 (ซ) เกรย์ ที่ระยะเวลา 60 วัน หลังจากฉายรังสี

การทดลองที่ 5 ศึกษาผลของการเปลี่ยนอาหารและไม่เปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากการฉายรังสีในปริมาณรังสีต่างๆ ที่มีต่อความอยู่รอด และการเจริญเติบโต ในรุ่น  $M_1V_1$  ของ *Anubias congensis* N.E. Brown.

#### ความอยู่รอด

นำต้นอ่อนปลอดเชื้ออายุ 6 สัปดาห์ ไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน โดยมีปัจจัย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 การเปลี่ยนอาหารและไม่เปลี่ยนอาหารหลังจากฉายรังสี ปัจจัยที่ 2 คือ ปริมาณรังสี 0 5 10 15 20 25 30 35 40 60 80 และ 100 เกรย์ โดยหลังจากฉายรังสีแล้วย้ายลงในอาหารขวดใหม่ซึ่งใช้อาหารสูตรเดิม พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตในชุดการทดลองที่เปลี่ยนอาหารหลังจากการฉายรังสีลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งมีค่าการรอดชีวิตเท่ากับ 100 100 100 90.33 91.67 48.33 40.00 26.67 15.00 8.33 0.00 และ 0.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 19)

ส่วนในชุดการทดลองที่ไม่มีการเปลี่ยนอาหารให้แก่ต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. พบว่าหลังฉายรังสี 60 วัน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่าชุดการทดลองที่มีการเปลี่ยนอาหาร ที่ปริมาณรังสี 0 5 10 15 20 25 30 35 40 60 80 และ 100 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 100 100 100 100 100 100 100 95.00 98.33 86.67 และ 81.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 19) โดยต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. ที่ได้รับรังสีในช่วงปริมาณ 40-100 เกรย์ มีต้นอ่อน บางส่วนที่ตาย คือ มีลักษณะใบเหลือง และตายในที่สุด เมื่อเปรียบเทียบชุดการทดลองที่มีการเปลี่ยนอาหาร และไม่เปลี่ยนอาหารหลังจากการฉายรังสี พบว่าชุดที่ไม่มีการย้ายเปลี่ยนอาหารมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดหลังจากการฉายรังสีระยะเวลา 60 วัน มากกว่าชุดที่มีการย้ายเปลี่ยนอาหารอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยมีการอยู่รอดเท่ากับ 96.81 และ 51.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 19)

#### จำนวนยอดต่อต้นที่แตกใหม่ จำนวนใบต่อต้น และจำนวนรากต่อต้น

หลังจากฉายรังสีแกมมาเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าชุดที่มีการย้ายเปลี่ยนอาหารใหม่ หลังจากฉายรังสี มีจำนวนยอดต่อต้น ใบต่อต้น และรากต่อต้นเฉลี่ย ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อปริมาณรังสีเพิ่มสูงขึ้น จำนวนยอดต่อต้นเฉลี่ยเริ่มลดลงที่ปริมาณรังสีตั้งแต่ 15 เกรย์ ขึ้นไปโดยที่ปริมาณรังสี 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์ มีจำนวนยอดต่อต้นเฉลี่ยเท่ากับ 1.05 0.80

0.80 0.70 0.45 0.55 และ 0.25 ยอด ตามลำดับ และที่ปริมาณรังสี 80 และ 100 เกรย์ ไม่มียอดที่เกิดใหม่หลังจากการได้รับรังสี

จำนวนใบต่อดันเฉลี่ยหลังจากการฉายรังสีมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อต้นอ่อนปลอดเชื้อของ *A. congensis* N.E. Brown. ได้รับปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น จำนวนใบต่อดันเฉลี่ยเริ่มลดลงอย่างเห็นได้ชัดในช่วงปริมาณรังสีตั้งแต่ 15 เกรย์ ขึ้นไป ที่ปริมาณรังสี 15 20 25 30 35 40 และ 60 เกรย์ มีจำนวนใบต่อดันเฉลี่ยเท่ากับ 2.60 2.50 2.45 2.30 2.35 2.30 และ 0.50 ใบ ตามลำดับ (ตารางที่ 20) โดยที่ปริมาณรังสี 80 และ 100 เกรย์ พบว่าไม่มีใบที่เกิดใหม่หลังจากการฉายรังสี

เมื่อฉายรังสีแล้วพบว่าจำนวนรากต่อดันเฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองชุดควบคุม โดยจำนวนรากต่อดันเฉลี่ยเริ่มมีการลดลงในช่วงปริมาณรังสีตั้งแต่ 20 เกรย์ ขึ้นไปโดยที่ปริมาณรังสี 20 25 และ 30 เกรย์ มีจำนวนรากต่อดันเฉลี่ยเท่ากับ 5.50 3.05 และ 2.75 ราก ตามลำดับ (ตารางที่ 20) และที่ปริมาณรังสีตั้งแต่ 35 เกรย์ ขึ้นไปพบว่ามีไม่มีการเกิดรากใหม่หลังจากการได้รับรังสี

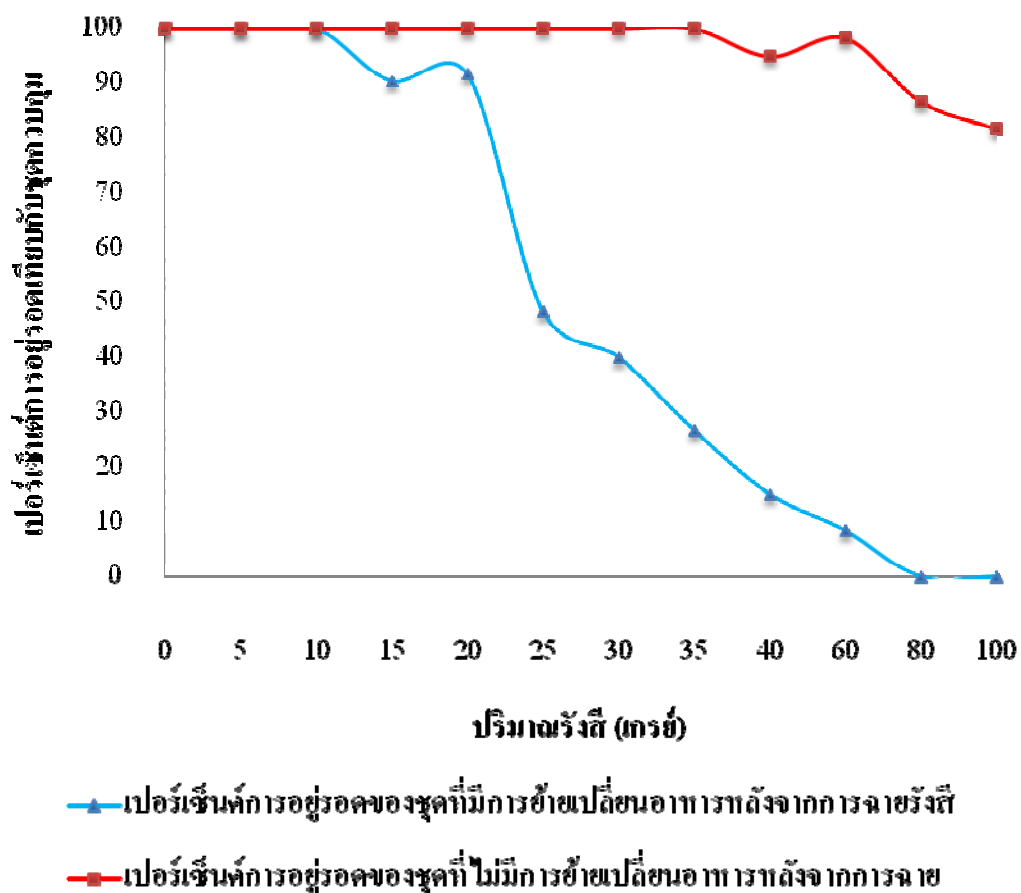
ตารางที่ 19 เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอด ในรุ่น  $M_1V_1$  ของ *A. congenis* N.E. Brown. ที่ระยะเวลา 60 วัน หลังได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่ปริมาณ 0 5 10 15 20 25 30 35 40 60 80 และ 100 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนต้นทั้งหมด		จำนวนต้นที่รอดชีวิต		ความอยู่รอด (% ของชุดควบคุม)	
	ย้าย	ไม่ย้าย	ย้าย	ไม่ย้าย	ย้าย	ไม่ย้าย
0	60	60	60	60	100.00 a <sup>1/</sup>	100.00 a <sup>1/</sup>
5	60	60	60	60	100.00 a	100.00 a
10	60	60	60	60	100.00 a	100.00 a
15	60	60	54	60	90.33 b	100.00 a
20	60	60	55	60	91.67 b	100.00 a
25	60	60	29	60	48.33 c	100.00 a
30	60	60	24	60	40.00 c	100.00 a
35	60	60	16	60	26.67 d	100.00 a
40	60	60	9	57	15.00 d	95.00 a
60	60	60	5	59	8.33 e	98.33 a
80	60	60	0	52	0.00 f	86.67 b
100	60	60	0	49	0.00 f	81.67 b
ค่าเฉลี่ย	-	-	-	-	51.69	96.81
F-test	-	-	-	-	* <sup>2/</sup>	
C.V. (%)	-	-	-	-	21.34	8.49

\* ทรีทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติจากการเปรียบเทียบ โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>2/</sup> วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการย้าย และไม่ย้ายเปลี่ยนอาหารหลังจากการฉายรังสี โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD



ภาพที่ 19 แสดงการเปรียบเทียบระหว่างเปอร์เซ็นต์การรอดของซุคที่มีการย้ายเปลี่ยนอาหารและไม่ย้ายเปลี่ยนอาหารที่ระยะเวลา 60 วัน หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 0-100 กรย์

ตารางที่ 20 ค่าเฉลี่ยของจำนวนยอคต่อต้น จำนวนใบต่อต้น และจำนวนรากต่อต้น ของ

*A. congensis* N.E. Brown. ในรุ่น  $M_1V_1$  ที่ระยะเวลา 60 วัน หลังได้รับรังสีแกมมาแบบ  
 เียบพลันในชุดการทดลองที่มีการย้าย และไม่ย้ายเปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงหลังจากการ  
 ฉายรังสีแกมมาปริมาณ 0 5 10 15 20 25 30 35 40 60 80 และ 100 เกรย์

ปริมาณรังสี (เกรย์)	จำนวนยอคต่อต้นเฉลี่ย (ยอค)		จำนวนใบต่อต้นเฉลี่ย (ใบ)		จำนวนรากต่อต้นเฉลี่ย (ราก)	
	ย้าย	ไม่ย้าย	ย้าย	ไม่ย้าย	ย้าย	ไม่ย้าย
0	1.40 ab <sup>1/</sup>	1.45 a <sup>1/</sup>	5.15 a <sup>1/</sup>	5.25 a <sup>1/</sup>	5.16 a <sup>1/</sup>	5.30 a <sup>1/</sup>
5	1.50 a	1.85 b	5.45 a	5.35 a	5.10 a	5.45 a
10	1.65 a	1.75 b	5.05 a	5.55 a	5.45 a	6.15 a
15	1.05 bc	1.25 c	2.60 b	2.45 b	5.40 a	5.70 a
20	0.80 cd	0.80 de	2.50 b	2.46 b	5.50 a	5.40 a
25	0.80 cd	1.15 ce	2.45 b	2.55 b	3.05 b	3.10 b
30	0.70 cd	0.95 de	2.30 b	2.50 b	2.75 b	3.12 b
35	0.45 de	0.85 d	2.35 b	2.45 b	0.00 c	0.60 c
40	0.55 de	0.65 d	2.30 b	2.40 b	0.00 c	0.40 c
60	0.25 ef	0.35 f	0.50 c	0.55 c	0.00 c	0.15 c
80	0.00 f	0.05 g	0.00 c	0.05 d	0.00 c	0.10 c
100	0.00 f	0.00 g	0.00 c	0.00 d	0.00 c	0.00 c
ค่าเฉลี่ย	0.76	0.93	2.55	2.63	2.70	2.96
F-test	*	*	*	*	*	*
F-test	ns <sup>2/</sup>		ns		ns	
C.V. (%)	32.57	21.59	18.46	14.32	12.61	8.64

ns ทริทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างไม่มีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\* ทริทเมนต์มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติจากการเปรียบเทียบ  
 โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

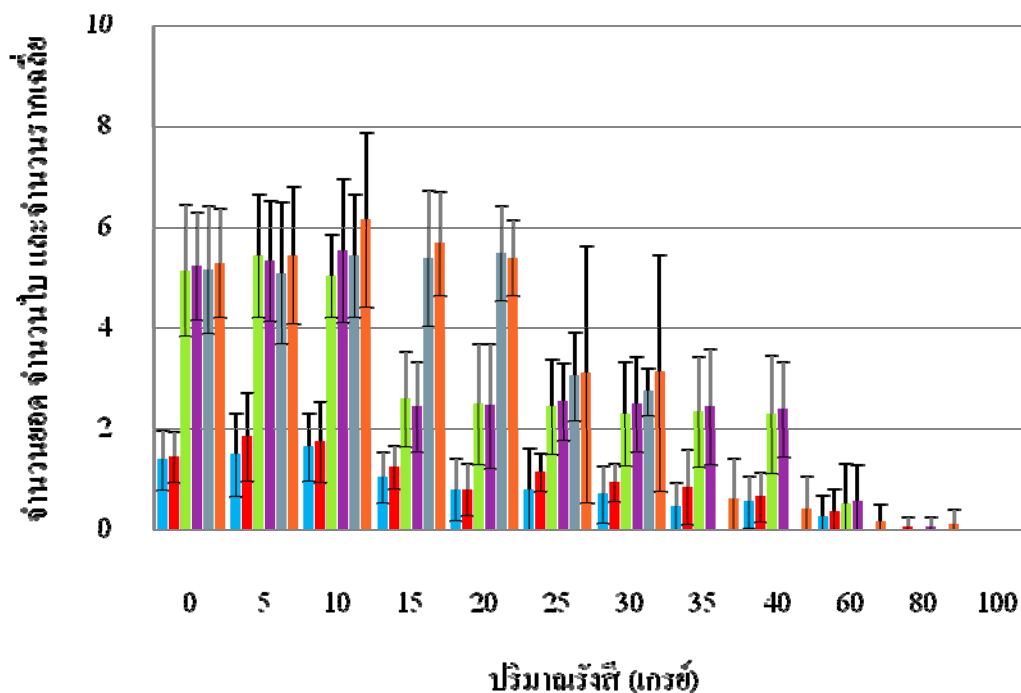
<sup>2/</sup> วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการย้าย และไม่ย้ายเปลี่ยนอาหารหลังจากการฉายรังสี  
 โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD

ในส่วนของชุดการทดลองฉายรังสีแกมมาให้แก่ต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congenis* N.E. Brown. โดยเมื่อฉายรังสีแล้วไม่มีการเปลี่ยนอาหารในการเพาะเลี้ยง พบว่าเมื่อระยะเวลาผ่านไป 60 วันหลังจากได้รับรังสี จำนวนยอดต่อต้นแตกใหม่เฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อปริมาณรังสีสูงขึ้น โดยจำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดขึ้นใหม่หลังจากการฉายรังสีปริมาณ 0 5 10 15 20 25 30 35 40 60 80 และ 100 เกรย์ มีค่าเท่ากับ 1.45 1.85 1.75 1.25 0.80 1.15 0.95 0.85 0.65 0.35 0.05 และ 0.00 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 20)

หลังจากการฉายรังสีพบว่าจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ยที่เกิดขึ้นใหม่มีจำนวนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ในช่วงปริมาณรังสีตั้งแต่ 15 20 25 30 35 40 60 และ 80 เกรย์ ซึ่งมีจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ยเท่ากับ 2.45 2.46 2.55 2.50 2.45 2.40 0.55 และ 0.05 ใบ ตามลำดับ (ตารางที่ 20) โดยที่ปริมาณรังสี 100 เกรย์ พบว่าไม่มีใบที่เกิดขึ้นใหม่หลังจากการฉายรังสีที่ระยะเวลา 60 วัน

การทดลองพบว่าจำนวนรากต่อต้นเฉลี่ยที่เกิดขึ้นใหม่หลังจากการฉายรังสีเริ่มมีจำนวนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ในช่วงปริมาณรังสีตั้งแต่ 25 30 35 40 60 และ 80 เกรย์ โดยมีจำนวนรากต่อต้นเฉลี่ยเท่ากับ 3.10 3.12 0.60 0.40 0.15 และ 0.10 ราก ตามลำดับ (ตารางที่ 20, ภาพที่ 20) และที่ปริมาณรังสี 100 เกรย์ ไม่มีรากที่เกิดขึ้นใหม่หลังจากการฉายรังสีปริมาณดังกล่าว

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนยอดต่อต้น จำนวนใบต่อต้น และจำนวนรากต่อต้นเฉลี่ย ระหว่างชุดการทดลองที่มีการย้าย และไม่ย้ายเปลี่ยนอาหารหลังจากการฉายรังสี พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) โดยจำนวนยอดต่อต้นเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 0.76 และ 0.93 ยอด ตามลำดับ จำนวนใบต่อต้นเฉลี่ยเท่ากับ 2.55 และ 2.63 ใบ ตามลำดับ และจำนวนรากต่อต้นเฉลี่ยเท่ากับ 2.70 และ 2.96 ราก ตามลำดับ



- จำนวนยอดค่อน้ำเลี้ยงของชุดที่ไม่มีการย้ายเปลี่ยนอาหารหลังจากการฉายรังสี
- จำนวนยอดค่อน้ำเลี้ยงของชุดที่มีการย้ายเปลี่ยนอาหารหลังจากการฉายรังสี
- จำนวนไข่ค่อน้ำเลี้ยงของชุดที่ไม่มีการย้ายเปลี่ยนอาหารหลังจากการฉายรังสี
- จำนวนไข่ค่อน้ำเลี้ยงของชุดที่มีการย้ายเปลี่ยนอาหารหลังจากการฉายรังสี
- จำนวนรากค่อน้ำเลี้ยงของชุดที่ไม่มีการย้ายเปลี่ยนอาหารหลังจากการฉายรังสี
- จำนวนรากค่อน้ำเลี้ยงของชุดที่มีการย้ายเปลี่ยนอาหารหลังจากการฉายรังสี

ภาพที่ 20 แสดงการเปรียบเทียบจำนวนยอดค่อน้ำเลี้ยง จำนวนไข่ค่อน้ำเลี้ยง และจำนวนรากค่อน้ำเลี้ยงของชุดที่มีการย้ายและไม่ย้ายเปลี่ยนอาหารที่ระยะเวลา 60 วัน หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 0-100 เกรย์

### การตรวจสอบพันธุ์กลายของ *A. congensis* N.E. Brown. โดยเทคนิคอาร์เอพีดี

เมื่อฉายรังสีที่ปริมาณต่างๆ สามารถคัดเลือกพันธุ์กลายได้ทั้งหมด 5 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์กลาย A<sub>1</sub> ซึ่งมีขอบใบหยักเป็นคลื่น ได้จากการฉายรังสีแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20 เกรย์

พันธุ์กลาย A<sub>2</sub> มีลักษณะลำต้นแคระ และใบแคบ ได้จากการฉายรังสีแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 20 เกรย์

พันธุ์กลาย A<sub>3</sub> เป็นพันธุ์ที่มีลักษณะใบด่าง ได้จากการฉายรังสีแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 10 เกรย์

พันธุ์กลาย A<sub>4</sub> มีลำต้นแคระ ได้จากการฉายรังสีแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 15 เกรย์

พันธุ์กลาย A<sub>5</sub> มีลำต้นแคระ และใบค่อนข้างมน ได้จากการฉายรังสีแบบโครนิกที่ปริมาณรังสี 28.60 เกรย์

หลังจากการตรวจสอบโดยใช้ไพโรมอร์ทั้งหมด 24 ไพโรมอร์ พบว่ามีไพโรมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์เดิมกับพันธุ์กลายได้ จำนวน 21 ไพโรมอร์ คิดเป็น 87.50 เปอร์เซ็นต์ของไพโรมอร์ที่นำมาใช้แยกความแตกต่างทั้งหมด ไพโรมอร์ที่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์เดิมกับพันธุ์กลาย A<sub>1</sub> จำนวน 17 ไพโรมอร์ คิดเป็น 70.83 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่

ไพโรมอร์ S1 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 5000 1000 850 650 bp

ไพโรมอร์ S2 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 500 bp

ไพโรมอร์ S3 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 2000 500 bp

ไพโรมอร์ S4 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 2000 650 500 400 bp

ไพโรมอร์ S5 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 5000 1000 850 bp

ไพโรมอร์ S6 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 5000 1650 800 bp

ไพโรมอร์ S8 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 850 650 400 bp

ไพโรมอร์ S10 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 500 bp

ไพโรมอร์ S11 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 bp

ไพโรมอร์ S13 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 850 650 bp

ไพโรมอร์ S14 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 850 bp

ไพโรมอร์ S15 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 500 bp

ไพรเมอร์ S17 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 bp

ไพรเมอร์ S18 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 850 bp

ไพรเมอร์ S191 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 bp

ไพรเมอร์ S192 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 bp

ไพรเมอร์ S193 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 bp

ไพรเมอร์ที่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์เดิมกับพันธุ์กลาย  $A_2$  จำนวน 16 ไพรเมอร์ คิดเป็น 66.67 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่

ไพรเมอร์ S1 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 5000 bp

ไพรเมอร์ S2 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 5000 850 bp

ไพรเมอร์ S3 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 bp

ไพรเมอร์ S4 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 400 bp

ไพรเมอร์ S5 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 5000 850 bp

ไพรเมอร์ S6 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 300 bp

ไพรเมอร์ S7 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 650 bp

ไพรเมอร์ S8 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 400 bp

ไพรเมอร์ S10 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 bp

ไพรเมอร์ S12 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 bp

ไพรเมอร์ S13 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 650 bp

ไพรเมอร์ S14 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 bp

ไพรเมอร์ S15 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 bp

ไพรเมอร์ S18 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1000 bp

ไพรเมอร์ S191 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 850 bp

ไพรเมอร์ S193 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 2000 1650 bp

ไพรเมอร์ S195 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 bp

ไพรเมอร์ที่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์เดิมกับพันธุ์กลาย  $A_3$  จำนวน 19 ไพรเมอร์ คิดเป็น 79.17 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่

- ไพรเมอร์ S1 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 400 bp
- ไพรเมอร์ S2 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 500 bp
- ไพรเมอร์ S3 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 bp
- ไพรเมอร์ S4 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 bp
- ไพรเมอร์ S5 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 300 bp
- ไพรเมอร์ S6 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 500 bp
- ไพรเมอร์ S7 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 500 650 bp
- ไพรเมอร์ S8 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 300 bp
- ไพรเมอร์ S10 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 bp
- ไพรเมอร์ S11 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 500 bp
- ไพรเมอร์ S12 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 850 bp
- ไพรเมอร์ S14 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1000 850 bp
- ไพรเมอร์ S15 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 500 bp
- ไพรเมอร์ S16 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 850 bp
- ไพรเมอร์ S17 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 bp
- ไพรเมอร์ S18 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1000 500 bp
- ไพรเมอร์ S191 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1000 850 bp
- ไพรเมอร์ S192 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 850 bp
- ไพรเมอร์ S193 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 5000 850 bp

ไพรเมอร์ที่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์เดิมกับพันธุ์กลาย  $A_4$  จำนวน 17 ไพรเมอร์ คิดเป็น 70.83 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่

- ไพรเมอร์ S1 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 5000 500 bp
- ไพรเมอร์ S2 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 500 bp
- ไพรเมอร์ S3 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 2000 1000 bp
- ไพรเมอร์ S4 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 650 bp

ไพรเมอร์ S5 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 5000 bp  
 ไพรเมอร์ S6 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 800 650 bp  
 ไพรเมอร์ S7 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 650 bp  
 ไพรเมอร์ S8 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1000 bp  
 ไพรเมอร์ S11 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 400 bp  
 ไพรเมอร์ S14 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 850 bp  
 ไพรเมอร์ S16 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 bp  
 ไพรเมอร์ S17 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 2000 1650 bp  
 ไพรเมอร์ S18 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1000 bp  
 ไพรเมอร์ S191 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1000 850 bp  
 ไพรเมอร์ S192 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 850 bp  
 ไพรเมอร์ S193 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 2000 1650 650 bp  
 ไพรเมอร์ S195 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 650 500 bp

ไพรเมอร์ที่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์เดิมกับพันธุ์กลาย  $A_5$  จำนวน 11 ไพรเมอร์ คิดเป็น 45.83 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่

ไพรเมอร์ S1 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด  
 ไพรเมอร์ S2 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 5000 650 bp  
 ไพรเมอร์ S3 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 2000 400 bp  
 ไพรเมอร์ S5 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 500 bp  
 ไพรเมอร์ S6 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 500 bp  
 ไพรเมอร์ S7 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 5000 650 bp  
 ไพรเมอร์ S10 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 650 bp  
 ไพรเมอร์ S11 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 400 bp  
 ไพรเมอร์ S12 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 2000 1650 400 bp  
 ไพรเมอร์ S13 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 bp  
 ไพรเมอร์ S15 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1650 1000 bp

ไพรเมอร์ที่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์กลาย  $A_1$  กับพันธุ์กลาย  $A_2$   $A_3$   $A_4$  และ  $A_5$  ได้แก่

ไพรเมอร์ S1 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 bp

ไพรเมอร์ S3 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 200 bp

ไพรเมอร์ S4 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 400 bp

ไพรเมอร์ S18 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 2000 bp

ไพรเมอร์ที่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์กลาย  $A_2$  กับพันธุ์กลาย  $A_3$   $A_4$  และ  $A_5$  ได้แก่

ไพรเมอร์ S193 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 850 bp

ไพรเมอร์ S5 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1500 bp

ไพรเมอร์ S1 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 bp

ไพรเมอร์ที่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์กลาย  $A_3$  กับพันธุ์กลาย  $A_4$  และ  $A_5$  ได้แก่

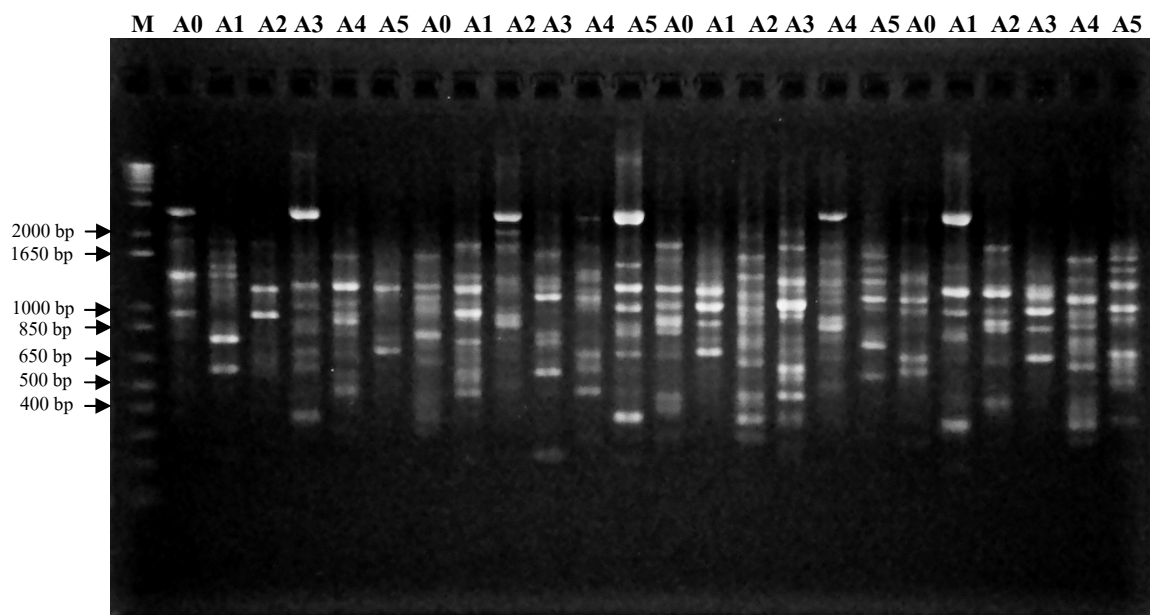
ไพรเมอร์ S2 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 650 bp

ไพรเมอร์ S5 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 1500 bp

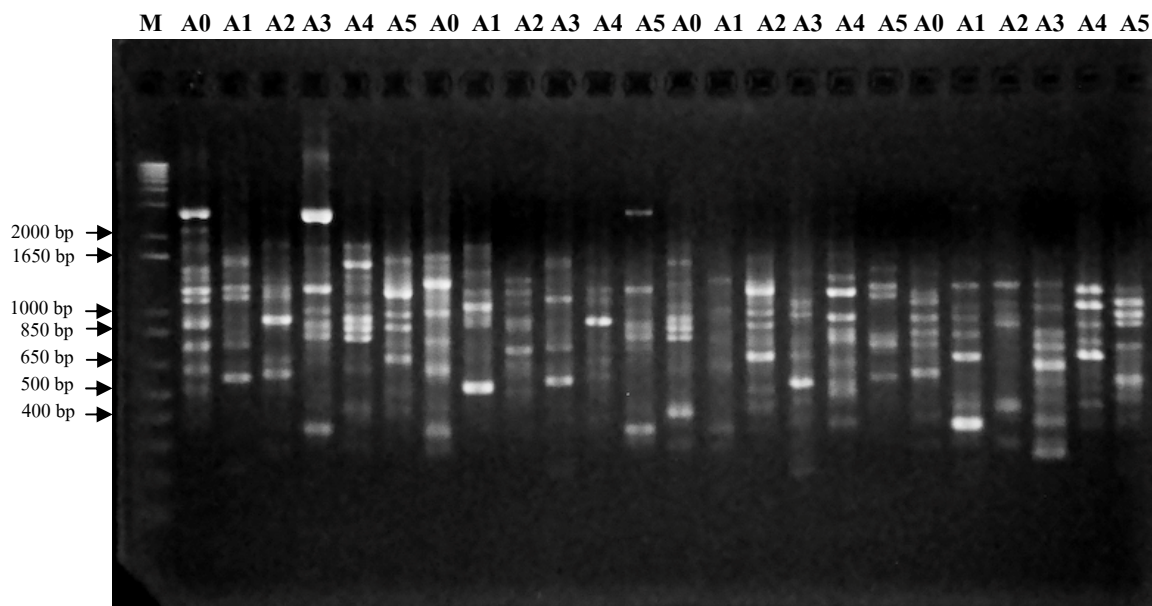
ไพรเมอร์ S8 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 850 bp

ไพรเมอร์ที่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์กลาย  $A_4$  กับพันธุ์กลาย  $A_5$  ได้แก่

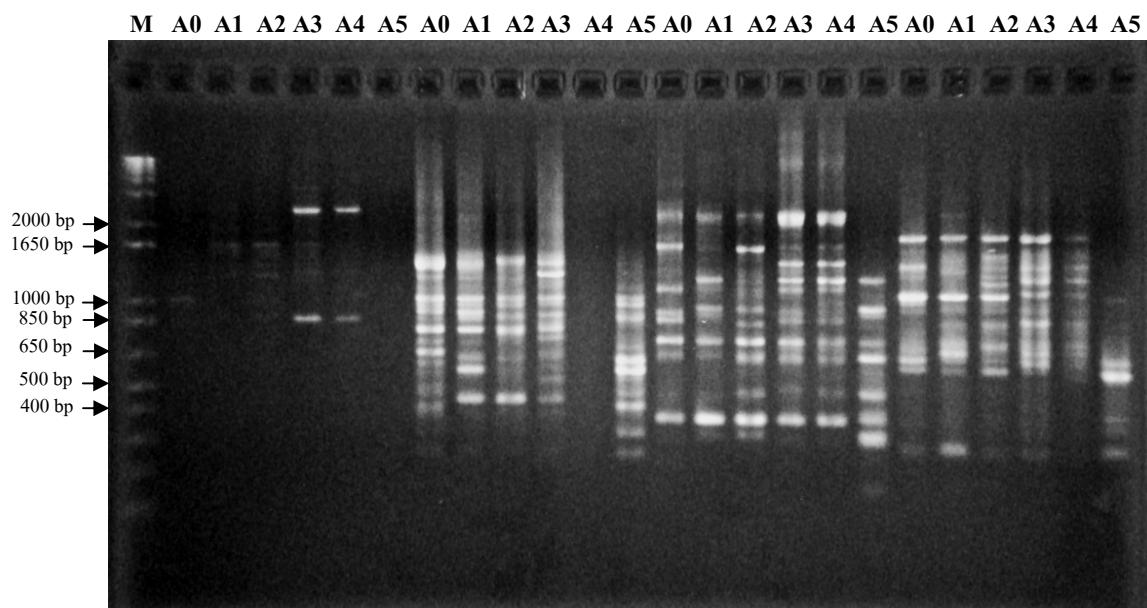
ไพรเมอร์ S2 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันขนาด 400 bp



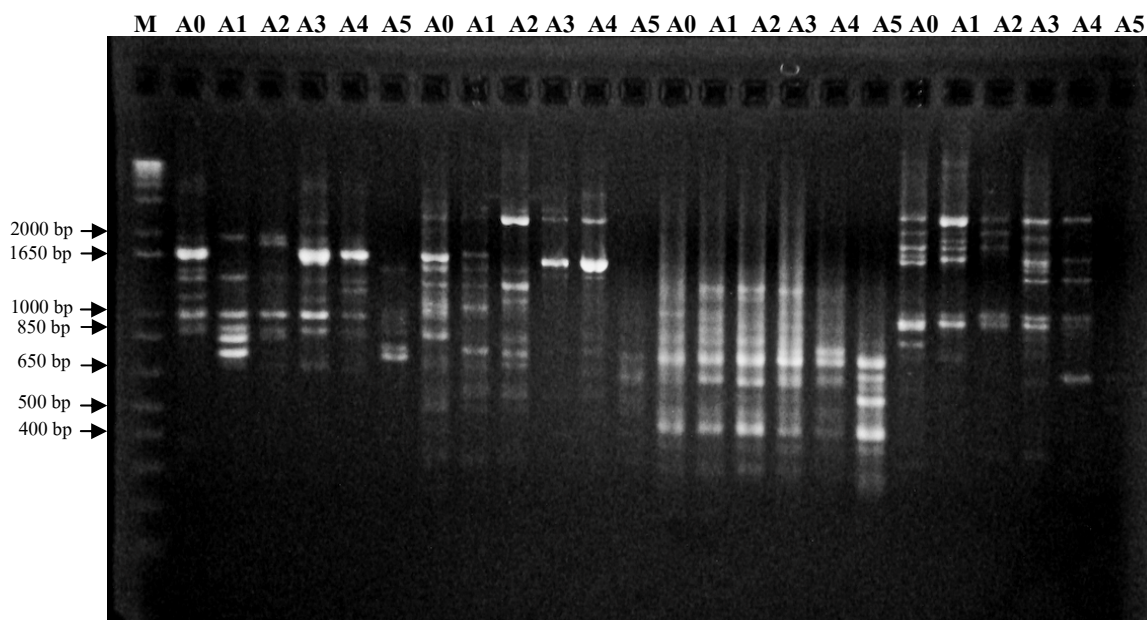
ภาพที่ 21 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ *A. congenis* N.E. Brown. พันธุ์เดิม ( $A_0$ ) และพันธุ์กลาย  $A_1$   $A_2$   $A_3$   $A_4$   $A_5$  ด้วยเทคนิค RAPD (M : 1 kb DNA ladder, primer : S1 S2 S3 และ S4 เรียงตามลำดับจากซ้ายไปขวา)



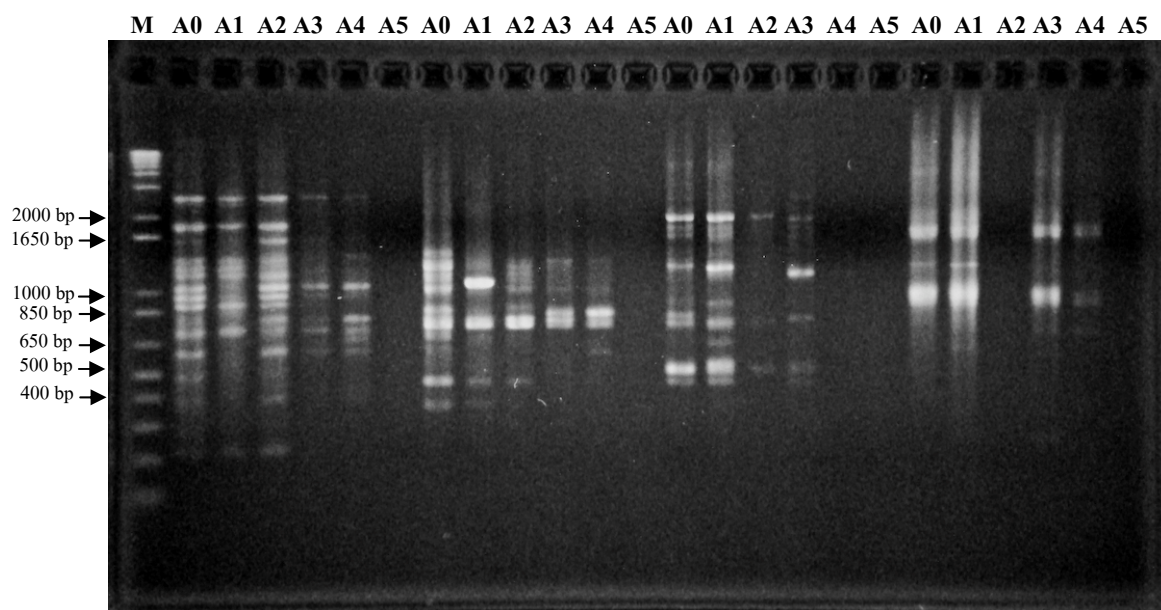
ภาพที่ 22 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ *A. congenis* N.E. Brown. พันธุ์เดิม ( $A_0$ ) และพันธุ์กลาย  $A_1$   $A_2$   $A_3$   $A_4$   $A_5$  ด้วยเทคนิค RAPD (M : 1 kb DNA ladder, primer : S5 S6 S7 และ S8 เรียงตามลำดับจากซ้ายไปขวา)



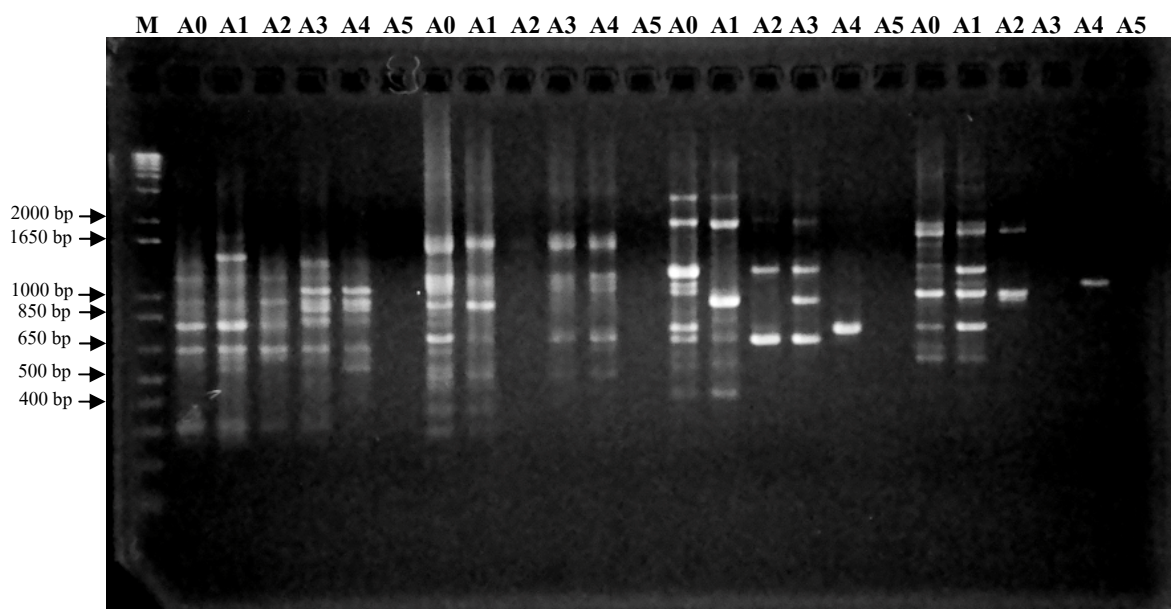
ภาพที่ 23 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ *A. congenis* N.E. Brown. พันธุ์เดิม ( $A_0$ ) และพันธุ์กลาย  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ,  $A_4$ ,  $A_5$  ด้วยเทคนิค RAPD (M : 1 kb DNA ladder, primer : S9 S10 S11 และ S12 เรียงตามลำดับจากซ้ายไปขวา)



ภาพที่ 24 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ *A. congenis* N.E. Brown. พันธุ์เดิม ( $A_0$ ) และพันธุ์กลาย  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ,  $A_4$ ,  $A_5$  ด้วยเทคนิค RAPD (M : 1 kb DNA ladder, primer : S13 S14 S15 และ S16 เรียงตามลำดับจากซ้ายไปขวา)



ภาพที่ 25 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ *A. congenis* N.E. Brown. พันธุ์เดิม ( $A_0$ ) และพันธุ์กลาย  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ,  $A_4$ ,  $A_5$  ด้วยเทคนิค RAPD (M : 1 kb DNA ladder, primer : S17 S18 S19 และ S20 เรียงตามลำดับจากซ้ายไปขวา)



ภาพที่ 26 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ *A. congenis* N.E. Brown. พันธุ์เดิม ( $A_0$ ) และพันธุ์กลาย  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ,  $A_4$ ,  $A_5$  ด้วยเทคนิค RAPD (M : 1 kb DNA ladder, primer : S191 S192 S193 และ S195 เรียงตามลำดับจากซ้ายไปขวา)

## วิจารณ์

ผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อความอยู่รอด และการเจริญเติบโตของ *Anubias congensis* N.E. Brown. เพื่อหาระดับปริมาณรังสีที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์

เมื่อฉายรังสีปริมาณ 0-100 เกรย์ ให้แก่ต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. พบว่า พบว่าเมื่อปริมาณรังสีเพิ่มขึ้นมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของต้นอ่อนลดลง เมื่อเปรียบเทียบ การทดลองชุดควบคุม (0 เกรย์) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อไฟฟิลิปินส์ (สุธนา, 2550) ที่ปริมาณรังสีสูงขึ้นพบว่าการตายของไฟฟิลิปินส์เพิ่มสูงขึ้น และ ในการศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่มีต่อ *Portulaca oleracea* L. (ชาลินี, 2551) เมื่อปริมาณที่ปริมาณสูงขึ้น พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การตายเพิ่มสูงขึ้นเช่นเดียวกัน โดยสามารถคำนวณค่าปริมาณรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นอ่อนลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ( $LD_{50(60)}$ ) ได้เท่ากับ 32.12 เกรย์ ซึ่งจากการทดลองของ กาญจนรี (2549) ได้ฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันกับเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง *A. congensis* N.E. Brown. และไม่สามารถหาค่าปริมาณรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ทำให้เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาหลังจากการฉายรังสี 30 วันได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการบันทึกผลที่ระยะเวลาแตกต่างกัน โดยที่ระยะเวลา 30 วันหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ยังไม่พบการตายเกิดขึ้น ประกอบกับ *A. congensis* N.E. Brown. เป็นพรรณไม้น้ำที่มีการเจริญเติบโตช้า ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงได้บันทึกเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดที่ระยะเวลา 60 วันหลังจากการฉายรังสีแกมมา ซึ่งสามารถหาค่าปริมาณรังสีที่ทำให้เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ได้ และที่ปริมาณรังสีสูงกว่า 80 เกรย์ พบว่าไม่มีต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. มีชีวิตรอด อาจเนื่องมาจากที่ระดับปริมาณรังสีสูง มีผลทำให้เซลล์เกิดการตาย ซึ่งอาจจะเกิดทั้งทางตรง และทางอ้อม โดยการเกิดความเสียหายโดยตรงคือ รังสีถ่ายเทพลังงานให้โมเลกุลของสารพันธุกรรม หรือสารชีวเคมีภายในเซลล์ ทำให้สารพันธุกรรมหรือสารเคมีมีลักษณะที่ผิดปกติออกไปจากเดิม ทำให้กิจกรรมภายในเซลล์เปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้เซลล์เกิดการตายได้ ส่วนความเสียหายที่เกิดจากรังสีแกมมาถ่ายเทพลังงานให้แก่โมเลกุลของน้ำภายในเซลล์ ทำให้โมเลกุลของน้ำอยู่ในสภาวะกระตุ้น ทำให้สามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของเบส หรือสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์ได้ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น ทำให้เกิดความเสียหายภายในเซลล์ และถ้าความเสียหายที่เกิดขึ้นนั้นรุนแรงมากกว่าที่เซลล์นั้นจะสามารถซ่อมแซมตัวเองได้ จะส่งผลให้เซลล์ตายในที่สุด (สิรินุช, 2540)

ผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อความอยู่รอด การเจริญเติบโต และการกลายพันธุ์ของ  
*Anubias congensis* N.E. Brown.

หลังจากฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 เกรย์ กับต้นอ่อน พบว่าเปอร์เซ็นต์การอยู่รอด และการเจริญเติบโตลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อปริมาณรังสีเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งผลการทดลองดังกล่าว สอดคล้องกับการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันใน *Cryptocoryne wendtii* "Brown." (แสงอุษา, 2548), *C. wendtii* "green", (ปิ่นอุบล, 2548), *C. balansae* (สุจิตรา, 2548), *Anubias nana* (กาญจนรี, 2549) ทั้งนี้การเจริญเติบโตที่ลดลงนั้นอาจเนื่องมาจากรังสีปริมาณไม่สูงมากนัก มีผลทำให้เซลล์นั้นชะงักการเจริญเติบโต แต่ไม่ถึงกับทำให้เซลล์ที่ได้รับรังสีนั้นตาย โดยเซลล์นั้นยังมีความสามารถในการซ่อมแซมตัวเองได้ แต่ถ้าการซ่อมแซมตัวเกิดความผิดพลาด ซึ่งส่งผลเกิดการกลายพันธุ์ (สิรินุช, 2540; อรุณี, 2550)

ในการทดลองฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันนี้ พบว่ามีลักษณะการเปลี่ยนแปลงบางลักษณะที่เกิดขึ้นในรุ่น  $M_1V_1$  ไม่สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นถัดไปได้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองฉายรังสีแกมมาให้แก่ แพร่เชียงไฮ้ (*P. oleracea* L.) (ชาลินี, 2551) เนื่องจากลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เป็นความเสียหายทางสรีรวิทยา จึงไม่สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่น  $M_1V_2$  และ  $M_1V_3$  ได้ เนื่องจากไม่เป็นความเสียหายที่เกิดขึ้นกับสารพันธุกรรม ถ้าเกิดความเสียหายกับสารพันธุกรรม และความเสียหายนั้นสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นต่อไปได้ เรียกว่า การกลายพันธุ์ (สิรินุช, 2540; อรุณี, 2550)

จากการทดลองที่ 1 พบว่ามีค่าปริมาณรังสีที่ทำให้เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ได้เท่ากับ 32.12 เกรย์ และในส่วนการทดลองที่ 2 สามารถหาค่าปริมาณรังสีที่ทำให้เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ได้เท่ากับ 25.47 เกรย์ ทั้งนี้ในการทดลองที่ 1 ได้ทำการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณ 0-100 เกรย์ โดยเว้นช่วงปริมาณรังสีช่วงละ 20 เกรย์ แต่ในการทดลองที่ 2 ได้ศึกษาที่ปริมาณรังสี 0-40 เกรย์ โดยเว้นช่วงปริมาณรังสีช่วงละ 5 เกรย์ พบว่าจากการทดลองที่ 1 ในช่วงปริมาณรังสี 20-40 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดลดลงอย่างเห็นได้ชัดและจากการทดลองที่ 2 พบว่าที่ปริมาณรังสีในช่วง 20-30 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดลดลงอย่างเห็นได้ชัด ทำให้ค่าปริมาณรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ทำให้ เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ในการทดลองที่ 2 มีค่าต่ำกว่าการทดลองที่ 1

**ผลของรังสีแกมมาแบบโครนิกต่อความอยู่รอด การเจริญเติบโต และการกลายพันธุ์ของ *Anubias congensis* N.E. Brown.**

เมื่อฉายรังสีแบบโครนิกในช่วงปริมาณรังสี 0-120 เกรย์ ที่อัตรารังสี 0.71 เกรย์ต่อชั่วโมง ที่ระยะห่างจากต้นกำเนิดรังสี 2 เมตร พบว่าไม่มีการตายเกิดขึ้นในทุกปริมาณรังสี ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอัตรารังสีที่ต่ำมาก ทำให้เซลล์เมื่อได้รับรังสีแล้วเกิดความเสียหายไม่มาก จึงสามารถซ่อมแซมตัวเองได้ และสามารถดำรงชีวิตได้ต่อไป (สิรินุช, 2540) ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกให้แก่ แพร่เซียงไฮ้ (*P. oleracea* L.) ที่ปริมาณรังสี 0-83 เกรย์ พบว่าไม่มีการตายเกิดขึ้น และที่ปริมาณรังสี 104.52 เกรย์ มีตายเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (ชาลินี, 2551) และการศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบโครนิกในแอฟริกันไวโอเลต (*Saintpaulia ionatha*) ที่ปริมาณรังสี 0-88 เกรย์ พบว่าที่การฉายรังสีปริมาณรังสีต่างๆ ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของแอฟริกันไวโอเลต (Wongpiyasatid et al, 2007)

**ผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันโดยการฉายรังสีแบบฉายรังสีครั้งเดียว และแบบแบ่งฉาย 2 ครั้ง ที่มีต่อความอยู่รอด การเจริญเติบโต และลักษณะการเปลี่ยนแปลงของ *Anubias congensis* N.E. Brown. ในรุ่น  $M_1V_1$**

จากการฉายรังสีปริมาณ 0 5 10 15 20 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์ พบว่าไม่มีการตายของต้นอ่อนปลอดเชื้อของ *A. congensis* N.E. Brown. ในทุกปริมาณรังสี ยกเว้นที่ปริมาณรังสีรวม 15 และ 20 เกรย์ พบว่าการฉายรังสีครั้งเดียวมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตน้อยกว่า การแบ่งฉาย 2 ครั้ง และส่วนเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของลักษณะต่างๆ ที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  ในกลุ่มที่ฉายรังสีครั้งเดียว จะมีเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงสูงกว่า ซึ่ง Lamseejan (2003) ที่ได้ทำการทดลองในเบญจมาศ (*Chrysanthemum morifolium*) ฉายรังสีแบบแบ่งฉาย 2 ครั้ง โดยฉายรังสีครั้งแรก 5 เกรย์ ครั้งที่ 2 10 เกรย์ พบว่า มีการกลายเกิดขึ้นในลักษณะต่างๆ โดยการกลายที่เกิดขึ้นจากการฉายรังสีแบบแบ่งฉาย 2 ครั้ง มีความหลากหลายมากกว่าการฉายรังสีแบบครั้งเดียว และ ธนาธิป (2551) ซึ่งการฉายรังสีนั้นเป็นการเกิดอันตรกิริยากับเซลล์แบบสุ่ม (อรุณี, 2550) ได้ศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบโครนิกให้กับต้นอ่อนของกล้วยไม้พันธุ์เอียสกุล ที่ปริมาณรังสี 0 50 100 200 50+50 และ 100+100 เกรย์ พบว่ากลุ่มที่ได้รับรังสีแบบแบ่งฉาย 2 ครั้ง มีการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มที่ได้รับรังสีแบบฉายครั้งเดียว โดยไม่มีผลกับการรอดชีวิตเนื่องจากการฉายรังสีแบบโครนิกซึ่งมีอัตรารังสีต่ำ และ

พบลักษณะผิดปกติมากขึ้นเมื่อปริมาณรังสีสูงขึ้น ซึ่งการฉายรังสีแบบแบ่งฉายเป็นปริมาณต่ำๆ โดยเว้นระยะจะทำให้เนื้อเยื่อสามารถฟื้นคืน (recover) ได้ดีจากการทำลายของรังสี ( พิรันุช, 2551)

**ผลของการเปลี่ยนอาหารและไม่เปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากการฉายรังสีในปริมาณรังสีต่างๆ ที่มีต่อความอยู่รอด และการเจริญเติบโตของ *Anubias congensis* N.E. Brown. ในรุ่น  $M_1V_1$**

ในการศึกษาพบว่าหลังจากการฉายรังสี ชุดการทดลองที่ไม่มีการเปลี่ยนอาหารมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่าชุดการทดลองที่มีการเปลี่ยนอาหารหลังจากการฉายรังสีในทุกปริมาณรังสีทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเมื่อต้นพืชผ่านการฉายรังสี จะทำให้ต้นพืชมีความอ่อนแอ (อรุณี, 2550) ดังนั้นการย้ายเปลี่ยนอาหารทันทีหลังจากการฉายรังสี อาจทำให้ต้นพืชได้รับความกระทบกระเทือนในระหว่างขั้นตอนการเปลี่ยนอาหารซึ่งจะมีการตัดส่วนยอดออกไปให้เหลือแต่เหง้า ซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ต้นพืชที่มีความอ่อนแอ เนื่องจากผลของรังสี ได้รับความกระทบกระเทือนมากขึ้นและตายไปในที่สุด แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช เนื่องจากในการนำเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการฉายรังสี จะมีข้อแนะนำให้ทำการเปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากการฉายรังสีทันที เนื่องจากหลังฉายรังสีอาจจะมีการเปลี่ยนแปลงของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจไม่เป็นผลดีกับต้นพืชที่อยู่ในอาหารเพาะเลี้ยง (Jain *et al.*, 1998) และเมื่อตรวจสอบในเรื่องการเจริญเติบโตในรุ่น  $M_1V_1$  ของลักษณะ จำนวนยอดต่อต้น จำนวนใบต่อต้น และจำนวนรากต่อต้นพบว่าไม่ต่างกันทั้งชุดที่เปลี่ยนและไม่เปลี่ยนอาหาร ทำให้มีแนวโน้มว่าสำหรับเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงของ *Anubias congensis* N.E. Brown. หลังจากฉายรังสีแล้วไม่ควรเปลี่ยนอาหารทันทีเนื่องจากมีผลต่อการรอดชีวิต ทั้งนี้ในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์สิ่งที่ต้องการคือให้มีเปอร์เซ็นต์การกลายพันธุ์สูง เพื่อจะคัดเลือกลักษณะกลายที่ต้องการต่อไปได้ จึงควรมีการศึกษาถึงเปอร์เซ็นต์การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นระหว่างชุดการทดลองที่เปลี่ยนอาหารและไม่เปลี่ยนอาหารด้วย

#### การตรวจสอบพันธุ์กลายโดยเทคนิคอาร์เอพีดี

จากการใช้อาร์เอพีดีไพรเมอร์ทั้งหมด 24 ไพรเมอร์ พบว่ามีไพรเมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างพันธุ์เดิมกับพันธุ์กลายได้ จำนวน 21 ไพรเมอร์คิดเป็น 87.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในการตรวจสอบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอพบว่าบางไพรเมอร์ไม่สามารถเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอได้ เนื่องจากไม่มีลำดับเบสที่เป็นคู่สมกันระหว่างดีเอ็นเอต้นแบบกับไพรเมอร์ที่ใช้

(สุรินทร์, 2545) และบางไพโรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ แต่ไม่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์เดิม และพันธุ์กลายได้ อาจเนื่องจากการกลายโดยเหนี่ยวนำโดยรังสีนั้น ส่วนใหญ่เป็นการกลายที่เกิดลำดับเบสเพียงบางลำดับ หรืออาจเป็นการเปลี่ยนแปลงแค่ลำดับเบสเดียวเท่านั้น (สิรินุช, 2540; อรุณี, 2550) ทำให้ไม่สามารถตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีได้ เนื่องจากเทคนิคอาร์พีดีเป็นการใช้ไพโรเมอร์แบบสุ่ม และไม่มีความจำเพาะกับลำดับเบส และพีชชนิดใดชนิดหนึ่ง ซึ่งในการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสเพียงเล็กน้อย เทคนิคอาร์เอพีดีอาจไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ แต่สำหรับไพโรเมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างได้นั้น เนื่องจากอาร์เอพีดีไพโรเมอร์สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ขนาดแตกต่างกัน โดยที่ความแตกต่างของรหัสบนสายพันธุ์กรรมมีผลทำให้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และขนาดของดีเอ็นเอที่อาร์เอพีดีไพโรเมอร์สามารถเพิ่มปริมาณได้ มีความแตกต่างกัน จึงสามารถแยกความแตกต่างของพีชต่างชนิดหรือต่างสายพันธุ์ได้ เช่นเดียวกับการศึกษาในการนำเทคนิคอาร์พีดีมาตรวจสอบกล้วยไม้พันธุ์เอียสกุล ที่ผ่านการฉายรังสี (วัชรินทร์ และ กัญยรัตน์, 2548) และ Kumar *et al.* (2006) ที่ใช้เทคนิคอาร์เอพีดีตรวจสอบเบญจมาศพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายรังสีได้

## สรุปและข้อเสนอแนะ

### สรุป

1. จากการฉายรังสีเกมมาแบบเฉียบพลันสามารถหาค่าปริมาณรังสีที่เหมาะสมในการเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์ สำหรับต้นอ่อนปลอดเชื้อ ของ *A. congensis* N.E. Brown. คืออยู่ในช่วง 10-30 เกรย์โดยพิจารณาจากค่าปริมาณรังสีที่ทำให้เกิดการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 60 วัน หลังจากการฉายรังสีและค่าปริมาณรังสีที่ทำให้เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 60 วัน

2. การฉายรังสีเกมมาแบบเฉียบพลันแบบฉายครั้งเดียว และแบบแบ่งฉาย 2 ครั้ง ที่ปริมาณ 0 5 10 15 20 5+5 5+10 10+5 และ 10+10 เกรย์ พบว่าที่ปริมาณรังสีรวม 15 และ 20 เกรย์ การฉายรังสีครั้งเดียวมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตน้อยกว่า การแบ่งฉาย 2 ครั้ง และส่วนเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของลักษณะต่างๆ ที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  ในกลุ่มที่ฉายรังสีครั้งเดียวจะมีเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงสูงกว่า

3. การเปลี่ยนอาหารและไม่เปลี่ยนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากการฉายรังสีในปริมาณรังสีต่างๆ ของ ต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. พบว่าในชุดการทดลองที่ไม่มีการเปลี่ยนอาหาร หลังจากการฉายรังสี มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่าชุดการทดลองที่มีการเปลี่ยนอาหารหลังจากการฉายรังสี ส่วนการเจริญเติบโตในรุ่น  $M_1V_1$  ของลักษณะ จำนวนยอดต่อต้น จำนวนใบต่อต้น และจำนวนรากต่อต้นพบว่าไม่ต่างกันทั้งชุดที่เปลี่ยนและไม่เปลี่ยนอาหาร

4. จากการฉายรังสีเกมมาแบบเฉียบพลันสามารถคัดเลือกพันธุ์กลายได้ทั้งหมด 4 สายพันธุ์ คือ พันธุ์กลาย ที่มีขอบใบหยักเป็นคลื่น ได้จากการฉายรังสีปริมาณ 20 เกรย์ พันธุ์กลาย ที่มีลักษณะลำต้นแคระ และใบแคบ ได้จากการฉายรังสีปริมาณ 20 เกรย์ พันธุ์กลาย ที่มีลักษณะใบต่าง ได้จากการฉายรังสีปริมาณ 10 เกรย์ และพันธุ์กลาย ที่มีลักษณะลำต้นแคระ ที่ได้จากการฉายรังสีปริมาณ 15 เกรย์

5. การฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกในช่วงปริมาณรังสี 0-120 เกรย์ ที่อัตรารังสี 0.71 เกรย์ ต่อชั่วโมงที่ระยะห่างจากต้นกำเนิดรังสี 2 เมตร พบว่า ไม่สามารถหาค่าปริมาณรังสีแกมมาที่ทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 60 วัน เนื่องจากไม่มีการตายในทุกปริมาณรังสี ส่วนผลทางด้านการศึกษาเจริญเติบโตพบว่าที่ปริมาณรังสี 105.99 และ 120.30 เกรย์ จำนวนยอดต่อต้นที่เกิดขึ้นใหม่มีจำนวนลดลง

6. การกลายที่เกิดขึ้นหลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกที่พบในรุ่น  $M_1V_3$  คือ ต้นแคระ ใบแคบ และลำต้นมีสีขาวทั้งต้น (albino) สามารถคัดเลือกพันธุ์กลายได้ 1 สายพันธุ์ คือ พันธุ์กลาย ที่มีลำต้นแคระ ซึ่งได้จากการฉายรังสีปริมาณ 28.60 เกรย์

7. สามารถตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมของพันธุ์เดิมและพันธุ์กลายด้วยเทคนิคอาร์เอพีดี โดยจากการใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 24 ไพรเมอร์ มีไพรเมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์เดิมกับพันธุ์กลายได้ จำนวน 21 ไพรเมอร์คิดเป็น 87.50 เปอร์เซ็นต์

#### ข้อเสนอแนะ

การฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันแบบฉายครั้งเดียว และแบบแบ่งฉาย 2 ครั้งในต้นอ่อนปลอดเชื้อ *A. congensis* N.E. Brown. ในปริมาณรังสีสูงนั้นจากการฉายครั้งเดียวจะทำให้มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลง แต่เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของลักษณะต่างๆ ที่พบในรุ่น  $M_1V_1$  ในกลุ่มที่ฉายรังสีครั้งเดียวจะมีเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงสูงกว่า แต่เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงที่สูงในรุ่นนี้ไม่ได้บ่งชี้ว่าจะมีเปอร์เซ็นต์การกลายพันธุ์ที่สูงด้วย ดังนั้นควรมีการศึกษาเปรียบเทียบเพิ่มเติมในเรื่องเปอร์เซ็นต์การกลายพันธุ์ ส่วนในเรื่องการย้ายเปลี่ยนอาหารและไม่เปลี่ยนอาหาร หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันซึ่งพบว่า การไม่ย้ายเปลี่ยนอาหารทำให้มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่าการย้ายเปลี่ยนอาหารและเมื่อตรวจสอบในเรื่องการเจริญเติบโตในรุ่น  $M_1V_1$  ของลักษณะ จำนวนยอดต่อต้น จำนวนใบต่อต้น และจำนวนรากต่อต้น พบว่าไม่ต่างกันทั้งชุดที่เปลี่ยนและไม่เปลี่ยนอาหาร ทำให้มีแนวโน้มว่าสำหรับเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงของ *Anubias congensis* N.E. Brown. หลังจากฉายรังสีแล้วไม่ควรเปลี่ยนอาหารทันทีเนื่องจากมีผลต่อการรอดชีวิต แต่ทั้งนี้ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของเปอร์เซ็นต์การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นด้วยว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ และมีข้อสังเกต ในเรื่องการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *A. congensis* N.E. Brown. คือควรมีการใช้ปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เนื่องจากการ *A. congensis* N.E. Brown. มีความไวต่อ

ระดับการเปลี่ยนแปลงของสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโต สูงๆ พบว่ามีลักษณะการเจริญเติบโตที่ผิดปกติไปจากเดิม

ในส่วนของ การย้ายปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกควรให้ต้นอ่อน *A. congensis* N.E. Brown. มีการปรับตัวในระยะแรก โดยการ ปลูกได้น้ำก่อนแล้วจึงค่อยนำมาปลูกแบบกิ่งจุ่มกิ่งลอย ได้ การทำลักษณะดังกล่าวพบว่าทำให้ใบของต้นอ่อนไม่แห้ง และพันธุ์กลายที่คัดเลือกได้ ควรมีการ ขยายพันธุ์และนำไปทดสอบความต้องการของตลาดต่อไป

## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กาญจนาธิ พงษ์ฉวี. 2549. การใช้วิธีการฉายรังสีและการหลอมรวมโปรโตพลาสต์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์อนุเบียงส. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จันทกานต์ อรรถนันท์. 2544. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในหญ้าเนเปียร์แคระโดยรังสีแกมมา ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชาลินี ตั้งสมบัติวิจิตร. 2551. ผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันและโครนิกต่อการกลายพันธุ์ของ แพร่เชียงใหม่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ธนาธิป เพรศพรายวงศ์. 2551. ผลของการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน และโครนิก ต่อต้นอ่อน และ PLBs ของกล้วยไม้ *Dendrobium Sonia 'Earsakul'* และ *Dendrobium Sonia '17 Red'*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ปิ่นอุบล ทักษานาคติยะ. 2548. การปรับปรุงพันธุ์ *Cryptocoryne wendtii* “green” โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พวงผกา คมสัน. 2546. ขั้นตอนการส่งออกพันธุ์ไม้น้ำและการขอใบรับรองปลอดโรคศัตรูพืช, น.120-134. ในเอกสารประกอบการฝึกอบรมการใช้เทคโนโลยีชีวภาพในการผลิตพรรณไม้น้ำเพื่อการส่งออก, สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ, กรมประมง.
- พีรณัฐ จอมพุก. 2551. เอกสารการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ “การใช้เทคนิคการกลายพันธุ์เพื่อสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมและการปรับปรุงพันธุ์พืช”. ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมา และวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี. กรุงเทพฯ.

มณีรัตน์ หวังวิบูรณ์กิน และ อรุณี รอดลอย. 2542. ผลของ  $\alpha$ -naphthaleneacetic acid (NAA) และ 6-benzylaminopurine (BA) ต่อการเกิดต้นอ่อนของใบพายศรีราชา *Cryptocoryne wendtii*. เอกสารวิชาการฉบับที่ 2/2542. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำ, กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย. 2548. การพัฒนาสูตรอาหารขยายโคลนอนุเบียส (*Anubias barteri* Engler, 1979). 31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology, 18 – 20 October 2005. นครราชสีมา.

วัชรินทร์ และ กัญจรัตน์. 2548. การทดสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของกล้วยไม้สกุลหวาย ที่ชักนำให้กลายพันธุ์ และเกิดความแปรปรวนสายพันธุ์ผ่านโปรโตพลาสต์. แหล่งที่มา: [http://www.irups.org/project\\_file/2548\\_2006-06-02\\_14803030.pdf](http://www.irups.org/project_file/2548_2006-06-02_14803030.pdf), 8 มีนาคม 2551.

สรายุทธ์ ไทยเกื้อ, อเนก โศภางาม และ จิรวัดน์ สนิทชน. 2551. การใช้รังสีแกมมาเหนี่ยวนำให้หยูกินีสีม่วงกลายพันธุ์. เกษตร (ฉบับพิเศษ) 36: 108-116.

สิรินุช ลามศรีจันทร์. 2540. การกลายพันธุ์ของพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุจิตรา เพรชคง. 2548. ผลของรังสีแกมมาที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานของพรรณไม้ใบพาย *Cryptocoryne balansae* Gagnep. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุธนา เกตุมาโร. 2550. การปรับปรุงพันธุ์ใฝฟิลิปปินส์โดยใช้รังสีแกมมา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรินทร์ ปิยะโชคคณากุล. 2545. จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ: ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- แสงอุษา สีดารอด. 2548. การปรับปรุงพันธุ์ไม้หน้า *Cryptocoryne wendtii* “Brown.” โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์. 2550. การกลายพันธุ์ : เพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์ และ นवलฉวี รุ่งธนเกียรติ. 2534. การใช้รังสีแกมมาชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในลักษณะดอกและสีแปรเขียงไฮ้. ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อัญชุลี ชินสุข. 2546. การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมและผลของรังสีแกมมาที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยบัวสีส้ม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อุไร เรืองณรงค์. 2542. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการชักนำให้เกิดการกลายในต้นอเมซอนโดยใช้รังสีแกมมา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Aisyah, S.I., L. Hapsari, and D. Herlina. 2005. Induced mutation on jasmine (*Jasminum spp.*) through gamma irradiation. **Journal of Agriculture and Rural Development in The Tropics and Subtropics, Supplement**. 83: 120-127.
- Akashi, R. and T. Adachi. 1992. Some attempts for overcoming breeding barriers by means of plant biotechnology. **Special Publication Talchung District Agricultural Improvement Station** 29: 269 - 281.
- Al-Safadi, B., Z. Ayyoubi and D. Jawdat. 2000. The effect of gamma irradiation on potato microtiber production *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. 61: 183-187.

- Atak, C., S. Alikamanoglu., L. Acik and Y. Canbolat. 2004. Induced of plastid mutation in soybean plant (*Glycine max* L. Merrill) with gamma radiation and determination with RAPD. **Mutation Research**. 556: 35-44.
- Benetka, V. 1985. Some experience of methodology with the isolation of somatic mutants in the rose cultivar "Sonia". **Acta Prubon**. 50: 9-25.
- Bhatia, P., N. Ashwath, T. Senaratna and D. Midmore. 2004. Tissue culture studies of tomato (*Lycopersicon esculentum*). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. 78: 1-24.
- Cagirgan, M. Iihan. 2006. Selection and morphological characterization of induced determinate mutants is sesame. **Field Crops Research**. 96: 19-24.
- Chen, L., Y. Wang, C. Xu, M. Zhao and J. Wu. 2006. In vitro propagation of *Lychis senno* Siebold et Zucc., a rear plant with potential ornamental value. **Scientia Horticulturae**. 107: 183-186.
- Ciftci, C.Y., A.D. Turkan., K.M. Khawar., M. Atak. and S. Ozcan. 2006. Use of gamma rays to induce mutations in four pea (*Pisum sativum* L.) cultivar. **Turkish Journal of Biology**. 30: 29-37.
- Crusio, W.E.. 1979. **A revision of the genus *Anubias* Schott**. Communications of the Agricultural University Wageningen. 79 (14): 1-48.
- Danylchenko, O. and B. Sorochisky. 2005. Use of RAPD assay for the detection of mutation changes in plant DNA induced by UV-B and gamma rays. **BMC Plant Biology**. 5:S9
- Datta, S.K., D. Chakrabarty. and A.K.A. Mandal. 2000. Gamma ray-induced genetic manipulations in flower colour and shape in *Dendranthema grandiflorum* and their management through tissue culture. **Plant breeding**. 120: 91-92.

- Dowrick, G.J. and A. El Bayoumi. 1966. The induction of mutations in chrysanthemum using X- and gamma radiation. **Euphyica**. 15: 204-210.
- Fu, H.-W., Y-F, Li. and Q.-Y. Shu. 2008. A revisit of mutation induction by gamma rays in rice (*Oryza sativa* L.): Implications of microsatellite markers for quality control. **Molecular Breeding**. 22: 281-288.
- Honcariv, R., V. Danko. and L. Kovac. 1967. Chlorophyll Mutations after Low Doses of Chronic Irradiation of Barley. **Biologia Plantarum**. 10: 127-130.
- Huang, L., Y. Chang and Y. Chang. 1994. Rapid in vitro multiplication of the aquatic angiosperm, *Anubias barteri* var. *undulata* . **Aquatic Botany**. 47: 77-83.
- Hung, C.D. and K. Johnson. 2008. Effects of ionizing radiation on the growth and allyl isothiocyanate accumulation of *Wasabia japonica* *in vitro* and *ex vitro*. **In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**. 44: 51-58.
- Huttema, JBM., G. Gussenhoven. and C. Beroertjes. 1986. Induction and selection of low temperature tolerant mutants of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. **Nuclear techniques an in vitro culture plant improvement, Vienna Austria**. IAEA: 321-7
- Jain,S.M., D.S. Brar. and B.S. Ahloowalia. 1998. **Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement**. Springer, Great Britain.
- Kane, M.E., G. L. Davis, D. B. McConnell and J. A. Gargiulo. 1999. *In vitro* propagation of *Cryptocoryne wendtii*. **Aquatic Botany**. 63: 197-202
- Karthika, R. and B. Subba Lakshmi. 2006. Effect of gamma rays and EMS on two varieties of soybean. **Asian Journal of Plant Sciences**. 5: 721-724.

- Kawiak, A and E. Lojkowska. 2004. Application of RAPD in the determination of genetic fidelity in micropropagated *Drosera* planlets. **In Vitro Cell. Dev. Biol.-plant.** 40: 592-595.
- Kon, E., O.H. Ahmed., S. Saamin. and N.M.A. Majid. 2007. Gamma radiosensitivity study on long bean (*Vigna sesquipedalis*). **American Journal of Applied Science.** 4: 1090-1093
- Kumar, L. 1999. DNA markers in plant improvement: An overview. **Biotechnology Advances.** 17: 143-182.
- Kyte, L. and J. Kleyn. 1996. Plants from Test Tubes. 3rd ed. **Timber Press Inc.**, Oregon, USA.
- Lamseejan, S. 2003. Improvement of chrysanthemum variety "Taihei" through *in vitro* induced mutation with chronic and acute gamma rays. **Journal of the Nuclear Society of Thailand.** Vol.6 (2) (2003) 1-13.
- Lamseejan, S., P. Jompuk, A. Wongpiyasatid, S. Deeseapan and P. Kwanthamachart. 2000. Gamma-rays induced morphological changes in chrysanthemum. (*Chrysanthemum morifolium*). **Kasetsart J.(Nat Sci).** 34 (3) : 417-422.
- Linsmaier, E.M. and Skoog, F. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum.** 18 100-127.
- Lu, G., X. Zhang., Y. Zou., Q. Zou., X. Xiang and J. Cao. 2007. Effect of radiation on regeneration of Chinese narcissus and analysis of genetic variation with AFLP and RAPD markers. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture.** 61: 183-187.
- Mandal, AKA., D. Chakrabarty. and SK. Datta. 2000. *In vitro* isolation of solid novel flower colour mutants from induced chimeric ray florets of chrysanthemum. **Euphytica.** 114: 9-12.

- Matsukura, C., I. Yamaguchi., M. Inamura., Y. Ban., Y. Kobayashi., Y. Yin., T. Saito., C. Kuwata., S. Imanishi. and S. Nishimura. 2007. Generation of gamma irradiation-induced mutant lines of the miniature tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivar 'Micro-Tom'. **Plant Biotechnology**. 24: 39-44
- Miyazaki, K., K. Suzuki., K. Iwaki., T. Kusumi., T. Abe., S. Yoshida., and H. Fukui. 2006. Flower pigment mutations induced by heavy ion beam irradiation in an interspecific hybrid of *Torenia*. **Plant Biotechnology**. 23: 163-167.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiol. Plant**. 15: 473-497.
- Niimi, Y., D.S.Han and M. Fujisaki. 2001. Production of virus-free plantlet by anther culture of *Lilium* × "Enchanment" . **Scientia Horticulturae**. 90: 325-334
- Novak, F.J., R. Afza, M. Van Duren and M.S. Omar. 1990. Mutation induction by gamma irradiation of *in vitro* cultured shoot-tips of banana and plantain (*Musa cvs*). **Tropical Agriculture**. 67 (1): 21-28.
- Oiki, S., T. Kawahara., K. Inoue., M. Ohara and M. Maki. 2001. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Variation among Populations of the Insular Endemic Plant *Campanula microdonta* (Campanulaceae). **Annals of Botany**. 87: 661-667.
- Omar, S.R., O.H. Ahmed., S. Saamin. and N.M.Ab. Majid. 2008. Gamma radiosensitivity study on chili (*Capsicum annuum*). **American Journal of Applied Science**. 5: 67-70
- Prathanturug, S., N. Soonthornchareommom, W.Chuakul, Y. Phaidee and P. Saralamp. 2005. Rapia micropropagation of *Curcuma longa* using bud explants pre-cultures in thidiazuron-supplemented liquid medium. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. 80: 347-351.

- Preil, W., JBM. Huittema. and J. DeJong. 1991. Method of selection of low temperature tolerant mutants of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. Using irradiated cell suspension cultures. **Plant Breed.** 107: 131-4.
- Preil, W., M. Engelhardt. and F. Walther. 1983. Breeding of low temperature tolerant Poinettia (*Euphorbia pulcherrima*) and *Chrysanthemum* by means of mutation induction in *in vitro* culture. **Acta Hortic.** 131: 345-51.
- Rataj, K. and T. J. Horeman. 1977. Aquarium Plant: Their Identification, Cultivation and Ecology. **T. F. H. Publ. Inc.**, West Sulvania. 448 p.
- Rout, G.R., A. Mohapatra and S. Mohan Jain. 2006. Tissue culture of ornamental pot plant: A critical review on present scenario and future prospects. **Biotechnology Advances.** 24: 531-560.
- Sandhu, S.S., R. Candido., L.E. Azini., A.T. Neto and C. Colombo. 2002. RAPD analysis of herbicide-resistant Brazilian rice lines produced via mutagenesis. **Genet. Mol. Res.** 1:359-370.
- Somsri, S., P. Thayamanont., S. Putivoranat., M. Kanhom and P. Jompook. 2008. Improvement of tropical and subtropical fruit trees: Tangerine, pummel in Thailand through induced mutation and biotechnology. **Acata Horticultrae.** 787: 127-140.
- Stamo, I., A. Ylli and A. Dodbiba. 2007. Induced Mutation for Improving Production on Bread and Durum Wheat. **6st International Conference of the Balkan Pyphysical Union.**
- Sudhersan, C., M. AboEl-Nil and J. Hussain. 2003. Tissue culture technology for conservation and propagation of certain native plants. **Journal of Arid Environments.** 54: 133.147.

- Sugiyama, M., H. Saito., H. Ichida., Y. Hayashi., H. Ryuto., N. Fukunishi., T. Terakawa and T. Abe. 2006. Biological effects of heavy-ion beam irradiation on cyclamen. **Plant Biotechnology**. 25: 101-104.
- Sy, S., C.Dc, K.J. HC, K. Hj and C. JS. 2003. Plant regeneration from leaf explants and efficient Agrobacterium-mediated transformation system of Chrysanthemum (*Dendratherma grandiflorum*). **Acta Hortic**. 625: 403-9
- Teixeira de Silva, JA. and S. Fukai. 2002. Increasing transient and subsequent stable transgene expression in chrysanthemum (*Dendratherma x grandiflora* (Ramat.) Kitamura) following optimization of particle bombardment and Agroinfection parameters. **Plant Biotechnol**. 19: 229-40.
- Toker, C., B. Uzun., H. Canci. and F. Ceylan. 2005. Effects of gamma irradiation on the shoot length of Cicer seeds. **Radiation Physics and Chemistry**. 73: 365-367.
- Wang, Y., F. Wang., H. Zhai. and Q. Liu. 2006. Production of useful mutant by chronic irradiation in sweetpotato. **Scientia Horticulturae**. 111: 173-178.
- Wani, A. and M, Anis. 2008. Gamma ray- and EMS-induced bold-seeded high-yielding mutants in chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Turkish Journal of Biology**. 32: 161-166.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik., K.J. Livak., J.A. Rafalski. and S.U. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Res**. 8 (22): 6531-6535.
- Wongpiyasatid, A., T. Thinnok, T. Taychasinpitak, P. Jompuk, K. Chusreeaeo, and S. Lamseejan. 2007. Effects of Acute Gamma Irradiation on Adventitious Planlet Regeneration and Mutation from Leaf Cutting of African Violet (*Saintpaulia ionahta*). **Kasetsart J.(Nat. Sci.)** 41: 633-640.

- Wongpiyasatid, A., P. Jompuk, K. Chusreeao and T. Taychasinpitak. 2007. Effects of Chronic Gamma Irradiation on Adventitious Plantlet Formation of *Saintpaulia ionantha* (African Violet) Detached Leaves. **Kasetsart J.(Nat. Sci.)** 41: 414-419.
- Wongsawad, P., C. Wongsawad, S. Mahadtanapuk., S. Kantawong., P. Chariyavidhayawat and T. Paratasilpin. 2005. Mutation in rice using Ethyl Methanesulphonate. **31<sup>st</sup> Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology.**
- Wongsawad, P., S. Mahadtanapuk., S. Kantawong., P. Chariyavidhayawat and T. Paratasilpin. 2005. Induced Mutation in *Adenium obesum* Balf. using Ethyl Methanesulphonate. **31<sup>st</sup> Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology.**
- Zhou, L.B., W.J. Li., S. Ma., X.C. Dong., L.X. Yu., Q. Li., G.M. Zhou and Q.X. Gao. 2006. Effects of ion beam irradiation on adventitious shoot regeneration from in vitro leaf explants of *Saintpaulia ionantha*. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research.** 244: 349-353.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 อาหารสูตร Murashige and Skoog (1962)

สารเคมี	ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1650
$\text{KNO}_3$	1900
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	170
$\text{H}_3\text{BO}_3$	6.2
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	6.9
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	6.14
KI	0.83
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{CoCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	37.25
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.85
Glycine	2.0
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Sucrose	30000

ตารางผนวกที่ 2 ลำดับเบสของไพรเมอร์ S1-S20 และ S191-S195

ไพรเมอร์	ลำดับเบส
S1	GTTTCGCTCC
S2	TGATCCCTGG
S3	CATCCCCCTG
S4	GGA CTGGAGT
S5	TGCGCCCTTC
S6	TGCTCTGCCC
S7	GGTGACGCAG
S8	GTCCACACGG
S9	TGGGGGACTC
S10	CTGCTGGGAC
S11	GTAGACCCGT
S12	CCTTGACGCA
S13	TTCCCCGCT
S14	TCCGCTCTGG
S15	GGAGGGTGTT
S16	TTTGCCCGGA
S17	AGGGAACGAG
S18	CCACAGCAGT
S19	ACCCCCGAAG
S20	GGACCCTTAC
S191	AGTCGGGTGG
S192	CTGGGTGAGT
S193	GTCGTTCTG
S195	CAGTTCACGG

## ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ -นามสกุล	นายปกรณ์ ตั้งปอง
วัน เดือน ปี ที่เกิด	22 สิงหาคม 2527
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (วิทยาศาสตร์ทั่วไป) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนสนับสนุนคุณภาพงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา พ.ศ. 2551