

การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาให้ทนทานหรือต้านทานต่อโรคเหี่ยวโดยใช้รังสีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
Plant Improvement of Curcuma for Tolerance or Resistance to Bacterial Wilt by
Radiation and Tissue Culture

นิพัฒน์ สุขวิบูลย์^{๑/} สุธามาศ ฦ น่าน^{๑/} ญัฐิมา โฆษิตเจริญกุล^{๒/} สุปัน ไม้ดัดจันทร์^{๑/}

บทคัดย่อ

การปรับปรุงพันธุ์กระเจียวสีส้ม ปทุมรัตน์และบัวลายลาวให้ทนทานหรือต้านทานต่อโรคเหี่ยวโดยใช้รังสีแกมมา ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย จังหวัดเชียงราย ระหว่าง ปี ๒๕๕๒-๒๕๕๖ การฉายรังสีแกมมา ระดับ ๑-๕ Krad แบบเฉียบพลันทำให้อัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนทั้ง ๓ พันธุ์มีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณรังสีขึ้น ค่า LD_{๕๐} ของการให้รังสีแบบเฉียบพลันต่อความแข็งแรง การเจริญเติบโตและการรอดตายคือ ๒- ๔ Krad การให้รังสีแกมมา ระดับ ๑-๕ Krad แบบโครนิกไม่มีผลต่อลักษณะใบ อัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนทั้ง ๓ พันธุ์ ความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (Rs-s) ที่ใช้ทดสอบความเป็นโรคเหี่ยวหลังปลูกเชื้อในสภาพโรงเรือนเพาะชำคือ ๑๐^๖ cfu ml^{-๑} หลังปลูกเชื้อโดยการตัดใบพบว่า ต้นกระเจียวส่วนใหญ่แสดงอาการโรคเหี่ยวระดับที่ ๔ คือ ใบเหี่ยวหรือเหลืองเกือบทั้งหมด ยกเว้นยอด ความรุนแรงการเกิดโรคเหี่ยวอยู่ในระดับปานกลาง (M = ๒.๖-๔.๐) จนถึงมาก (H = ๔.๑-๕.๐) จำนวนหัวพันธุ์บัวลายลาว ปทุมรัตน์และกระเจียวสีส้มจากทุกระดับรังสีที่รอดตายเท่ากับ ๑๗๖ ๒๙ และ ๑๙ หัว ตามลำดับ ซึ่งควรนำหัวพันธุ์ที่รอดชีวิตเหล่านี้ไปปลูกทดสอบความทนทานต่อโรคเหี่ยวในแปลงเกษตรกรที่เคยมีประวัติการระบาดของโรคเหี่ยวต่อไป

^{๑/} ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ต. รอบเวียง อ. เมือง จ. เชียงราย

^{๒/} สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

คำนำ

ปทุมมา (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.) เป็นไม้ล้มลุกที่มีหัวประเภทเหง้า (rhizome) และจัดอยู่ในวงศ์ขิง (Zingiberaceae) อยู่ในสกุล *Curcuma* ซึ่งแบ่งออกเป็นสองกลุ่มย่อย คือ *Eucurcuma* ได้แก่ กระเจียว และ *Paracurcuma* ได้แก่ ปทุมมา (สุรวิษ, ๒๕๓๙) ปทุมมาเป็นไม้ดอกไม้ประดับที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและเป็นที่นิยมอย่างมากในต่างประเทศ เนื่องจากมีลักษณะดอกคล้ายดอกทิวลิป จึงเรียกว่า ทิวลิปแห่งสยาม มีการผลิตและส่งออกหัวพันธุ์ไปยังตลาดต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา กลุ่มประชาคมเศรษฐกิจยุโรป (EU) โปรตุเกสและอิสราเอล มูลค่าการส่งออกหัวพันธุ์ในปี ๒๕๓๖ เท่ากับ ๒.๔ ล้านบาท และเพิ่มเป็น ๓๐ ล้านบาทในปี ๒๕๔๒ (โอฬาร, ๒๕๔๒) ซึ่งคิดเป็นอันดับสองรองจากการส่งออกกล้วยไม้ และได้ขยายตลาดส่งออกไปยังอีกหลายประเทศ เช่น อัฟริกาใต้ จีน ไต้หวัน เวเนซุเอลา โปแลนด์ โดมินีกัน และนิวคาริโดเนีย เพื่อนำไปผลิตเป็นไม้ดอกและไม้กระถาง แม้จะมีความต้องการสูงขึ้นแต่พบว่าปริมาณการส่งออกยังไม่เพียงพอ และผลผลิตส่วนใหญ่ยังมีคุณภาพไม่ได้มาตรฐาน เนื่องจากประสบปัญหาโรคหัวเน่าซึ่งเป็นโรคร้ายแรง เชื้อสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ซึ่งเมื่อเกิดการระบาดก็ยากในการควบคุมและกำจัดได้ นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ยังแฝงติดไปกับหัวพันธุ์โดยไม่แสดงอาการให้เห็น แต่มักตรวจพบเมื่อส่งออกและถูกกักกันหรือเผาทำลายที่ประเทศปลายทาง ทำให้กระทบต่อการส่งออกและการขยายตลาดในอนาคต (งานส่งเสริมไม้ดอกไม้ประดับ, ๒๕๔๑)

ส่วนใหญ่การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาเท่าที่รายงานไว้เป็นการเพื่อสร้างพันธุ์ใหม่ ที่มีลักษณะรูปทรงดอกหรือสีดอกที่แปลกใหม่ (กรมวิชาการเกษตร, ๒๕๔๔; พิมพ์ใจ และคณะ, ๒๕๓๙) แต่การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาให้ต้านทานหรือทนทานต่อโรคหัวเน่ายังไม่มีรายงาน จากการศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ต่างๆ ในกลุ่มปทุมมากับเชื้อโรคสาเหตุก็ยังไม่พบสายพันธุ์ต้านทานในสภาพธรรมชาติ ยกเว้นบางพันธุ์ในกลุ่มกระเจียว เช่น บัวขึ้น ซึ่งมีความทนทานต่อโรคนี้ แต่การผสมพันธุ์ข้ามชนิดระหว่างกลุ่มปทุมมากับกลุ่มกระเจียวยังไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร ยังไม่สามารถผสมข้ามกันได้หรือในคู่ที่ผสมกันได้พบว่า การติดเมล็ดน้อยและเมล็ดมีความงอกต่ำอีกด้วย นอกจากนี้ลูกผสมที่ได้ยังเป็นหมันและไม่สามารถนำไปปรับปรุงพันธุ์ เพื่อเพิ่มลักษณะที่ต้องการให้ดีขึ้นได้ (วิภาดาและคณะ, ๒๕๔๒ก; ๒๕๔๓)

การเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ โดยสิ่งก่อกลายพันธุ์ เช่น รังสี สารเคมีหรือวิธีทางชีววิทยา จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถนำมาใช้สร้างพันธุ์พืชใหม่ที่มีลักษณะดี ผลผลิตสูง คุณภาพดี ต้านทานศัตรูพืช ทนทานต่อสภาวะต่างๆ หรือมีคุณสมบัติอื่นๆ ที่ติดตามวัตถุประสงค์ได้อย่างกว้างขวาง ดังที่มีรายงานการใช้ประโยชน์ของการกลายพันธุ์ในพืชเศรษฐกิจทั้งพืชไร่ พืชผัก ไม้ผลและไม้ดอกไม้ประดับ (สิรินุช, ๒๕๔๐) โดยเฉพาะการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ร่วมกับสิ่งก่อกลายพันธุ์สามารถลดระยะเวลาการปรับปรุงพันธุ์พืชได้สั้นลง เพิ่มโอกาสการกลายพันธุ์ให้มากยิ่งขึ้น การสร้างพันธุ์พืชต้านทานโรค โดยใช้สิ่งก่อกลายพันธุ์ มีรายงานในพืชหลายชนิด เช่น ถั่วเหลืองต้านทานโรคราสนิม ถั่วลิสงต้านทานโรค leaf spot เปปเปอร์มินต์ต้านทานโรค wilt แพร่ต้านทานโรคจุดดำ (อ้างโดยสิรินุช, ๒๕๔๐) หม่อนต้านทานโรคใบไหม้ (รังสี และคณะ, ๒๕๓๕) และขิงต้านทานโรคเหี่ยว (อังสนา, ๒๕๓๓)

ปัจจุบันยังไม่มีรายงานการปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาเพื่อให้ทนทานหรือต้านทานต่อโรคหัวเน่าที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* เนื่องจากยังไม่พบสายพันธุ์ต้านทานในสภาพธรรมชาติ ยกเว้นพันธุ์บัวขึ้นซึ่งทนทานต่อโรคชนิดนี้แต่ก็ไม่สามารถผสมข้ามกันได้ จึงไม่สามารถนำไปปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มลักษณะที่ต้องการให้ดีขึ้นได้ การเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ โดยใช้รังสีเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่ใช้สร้างพันธุ์พืชใหม่ที่ทนทานหรือต้านทานศัตรูพืชได้ นอกจากนี้การนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ร่วมกับรังสี ก็สามารถลดระยะเวลาการปรับปรุงพันธุ์พืชได้สั้นลง เพิ่มโอกาสการกลายพันธุ์ให้มากยิ่งขึ้น การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาต้านทานโรคหัวเน่าโดย

ใช้รังสีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ครั้งนี้นอกจากจะเป็นการสร้างความแปรปรวนทางพันธุกรรมด้านความทนทานต่อโรคหัวเน่า ยังเป็นการปรับปรุงพันธุ์ให้ความหลากหลายมากยิ่งขึ้น เพื่อประโยชน์ในการพัฒนาพันธุ์ ซึ่งจะก่อให้เกิดผลตอบแทนเชิงการค้า เพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจในอนาคต

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

- ๑) ช่อดอกปทุมรัตน์ กระเจียวส้มและบัวลายลาว (ภาพที่ ๑)
- ๒) อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS
- ๓) สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช เช่น TDZ, IMA, NAA และ BA
- ๔) เครื่องฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันและโรงเรือนรังสีแบบโครนิค



ภาพที่ ๑ พันธุ์ปทุมรัตน์ บัวลายลาว และกระเจียวส้มที่ใช้ในการทดลอง

วิธีการ

ปี ๒๕๕๒

- ขยายพันธุ์ปทุมมาจากส่วนเนื้อเยื่อเจริญ (meristem) และช่อดอกของปทุมรัตน์ กระเจียวส้ม และบัวลายลาว ซึ่งเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* แล้วชักนำให้เกิดกลุ่มหน่ออ่อนยอส่วน (retarded shoot) ให้มีปริมาณมาก โดยปรับใช้เทคนิคของวิภาดาและคณะ (๒๕๔๕); นพมณีและคณะ (๒๕๔๕)

ปี ๒๕๕๓

- นำกลุ่มหน่ออ่อนยอส่วนทั้ง ๓ พันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อที่ได้จากปี ๒๕๕๒ มาฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันและแบบโครนิคที่ระดับรังสี ๑๐-๔๐ เกรย์ (สิรินุช, ๒๕๔๔) คำนวณหาปริมาณรังสีที่เหมาะสมจากค่า LD_{๕๐} ความแข็งแรง การเจริญเติบโตและการรอดตายของต้นอ่อน

- ตัดย้ายต้นเนื้อเยื่อหลังฉายรังสีเพาะเลี้ยงในอาหารใหม่ ๓ ครั้ง (M_0V_0 M_0V_1 M_0V_2)
- ย้ายต้น M_0V_3 ลงอาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่พัฒนาเป็นต้นและรากสมบูรณ์

ปี ๒๕๕๔

- นำกลุ่มหน่ออ่อนยอส่วนทั้ง ๓ พันธุ์มาฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันและแบบโครนิคเพิ่มเติม

- ตัดย้ายต้นเนื้อเยื่อหลังฉายรังสีเพาะเลี้ยงในอาหารใหม่ ๓ ครั้ง (M_1V_1 M_1V_2 M_1V_3) เพิ่มเติม
- ย้ายต้น M_1V_3 ลงอาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่พัฒนาเป็นต้นและรากสมบูรณ์
- ทดสอบวิธีการเพาะเชื้อให้ต้น M_1V_3 ในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคหัวเน่าของทั้ง ๓ พันธุ์โดยการตัดใบและปลูกเชื้อ ความเข้มข้นที่ 10^5 - 10^6 cfu ml⁻¹ เพื่อหาความเข้มข้นเชื้อที่เหมาะสมในปลูกเชื้อในโรงเรือนเพาะชำ
- คัดเลือกและเพิ่มจำนวนต้นที่รอดชีวิตหลังปลูกเชื้อด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ปี ๒๕๕๕

- เตรียมวัสดุปลูกในถุงพลาสติกและอบไอน้ำเพื่อฆ่าเชื้อ
- ย้ายปลูกต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ได้จากปี ๒๕๕๔ ในสภาพโรงเรือนเพาะชำ
- เตรียมเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวปทุมมา โดยเลี้ยงเชื้อในอาหาร Nutrient Glucose Agar (NGA) และขยายเพิ่มปริมาณในอาหาร Nutrient Broth (NB) ความเข้มข้น 10^6 cfu ml⁻¹
- เตรียมวัสดุปลูกที่ผสมเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ความเข้มข้น 10^6 cfu ml⁻¹ สัดส่วนวัสดุปลูก: เชื้อแบคทีเรีย เท่ากับ ๑๐:๑ กิโลกรัม
- ย้ายปลูกลงถุงพลาสติกบรรจุวัสดุปลูกที่ผสมเชื้อแบคทีเรีย และดูแลรักษาในโรงเรือนเพาะชำที่ พรางแสงด้วยตาข่ายสีดำชนิด ๗๐ เปอร์เซนต์
- ทดสอบปฏิกิริยาพันธุ์ต่อโรคหัวเน่าโดยตัดใบแล้วปลูกเชื้อเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ความเข้มข้น 10^6 cfu ml⁻¹
- ปฏิบัติดูแลรักษาต้นปทุมมา แล้วคัดเลือกสายต้นที่ทนทานหรือต้านทานโรคเหี่ยว
- เก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ไว้ปลูกในปีต่อไป

ปี ๒๕๕๖

- เพิ่มปริมาณสายต้น (clone) ที่ผ่านการคัดเลือกในห้องปฏิบัติการและโรงเรือนเพาะชำ ผลิตหัวพันธุ์ขนาดใหญ่ที่ให้ดอกสมบูรณ์
- ทดสอบปฏิกิริยาพันธุ์ต่อโรคหัวเน่าโดยตัดใบแล้วปลูกเชื้อเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ความเข้มข้น 10^6 cfu ml⁻¹ อีกครั้ง
- ปฏิบัติดูแลรักษาและคัดเลือกสายต้นที่ทนทานหรือต้านทานโรค และเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ที่รอดตาย

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม ๒๕๕๑ ถึง กันยายน ๒๕๕๖

สถานที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ตำบลรอบเวียง อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย
สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

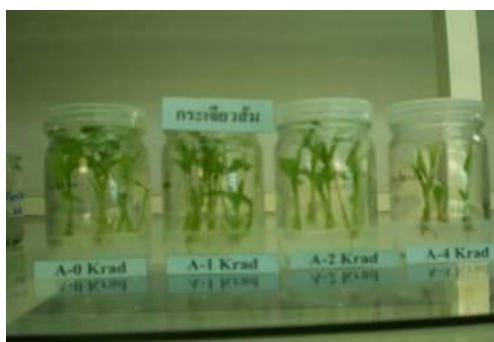
ปี ๒๕๕๒ และ ๒๕๕๓

เมื่อนำขึ้นส่วนกระเจียว ๓ พันธุ์คือ บัวลายลาว กระเจียวส้มและปทุมรัตน์ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันชุดที่ ๑ ที่ระดับ ๐ ๑ ๒ และ ๔ krad พบว่า หลังฉายรังสีแล้ว ๑ เดือนขึ้นส่วนทั้ง ๓ พันธุ์ทุกระดับรังสีรอดชีวิต ๑๐๐ เปอร์เซ็นต์ แต่การเจริญเติบโตและการแตกกอของขึ้นส่วนทั้ง ๓ พันธุ์มีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับรังสีเพิ่มขึ้นตามลำดับ (ภาพที่ ๒ และ ๓) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนหน้านี้ (๒๕๓๓) ที่นำเหง้าปทุมมาไปฉายรังสีแกมมาที่ระดับ ๒๐-๑๐๐ เกรย์ และ พบว่า การเจริญเติบโตลดลงตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น พิมพีใจและคณะ (๒๕๓๐) กับ Gual (๑๙๗๗) รายงานว่า การฉายรังสีกับพืชทำให้โครโมโซมและส่วนประกอบในไซโตพลาสต์เสียหายและเซลล์ตายในที่สุด โดยความสูงและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของพืชลดลงตามลำดับรังสีที่ใช้ตามรูปแบบ sigmoid curve

หลังผ่านการฉายรังสีแล้ว ๒ เดือน พบว่า ขึ้นส่วนกระเจียวทั้ง ๓ พันธุ์ที่รอดตายที่ระดับรังสี ๑ และ ๒ Krad เจริญเติบโตและแตกกอปกติหลังฉายรังสี ในขณะที่ระดับ ๔ Krad ทำให้กาบใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด (ภาพที่ ๕) จึงเป็นไปได้ว่าปริมาณรังสีที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดกลายพันธุ์จากค่า LD_{50} ต่อความแข็งแรง การเจริญเติบโตและการรอดตาย คือ ๒-๔ Krad ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของวิชา (๒๕๔๖) ที่พบว่า LD_{50} ของการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันเนื้อเยื่อปทุมมาพันธุ์ดอยตุง คือ ๔๒.๐๑ เกรย์ ระดับ ๓๐ และ ๕๐ เกรย์ทำให้มีลักษณะใบเหลืองและมีไคโมราเขียวและขาว แต่เมื่อย้ายลงปลูกในอาหารใหม่ก็ตายหมด Lamseejan et al. (๒๐๐๑) รายงานว่า LD_{50} เมื่อนำขึ้นส่วนปทุมมาพันธุ์พื้นเมืองไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันเท่ากับ ๒๘ เกรย์และระดับ ๓๐ เกรย์ทำให้สีดอกผันแปรค่อนข้างสูง ปริมาณรังสีที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์แตกต่างกันขึ้นอยู่กับความไวต่อรังสีของพืชแต่ละชนิด ขึ้นส่วนของพืชและระยะเวลาที่ใช้ในการฉายรังสี (IAEA, ๑๙๗๗) โดยส่วนของพืชที่ยังไม่มีรากหรือยอดมักมีความไวต่อรังสีสูงกว่าส่วนของพืชที่มีรากหรือยอดแล้ว

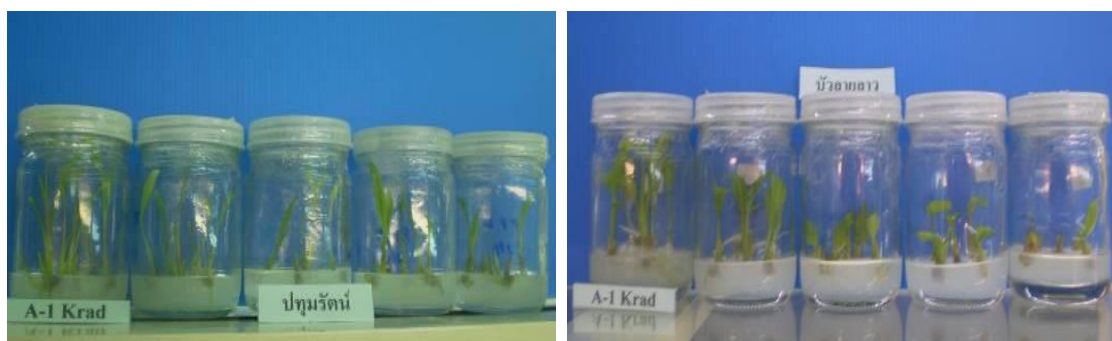


ภาพที่ ๒ ขึ้นส่วนปทุมรัตน์และบัวลายลาวหลังฉายรังสีแบบเฉียบพลันชุดที่ ๑ ที่ ๐ ๑ ๒ และ ๔ Krad



ภาพที่ ๓ ขึ้นส่วนกระเจียวสีส้มหลังฉายรังสีแบบเฉียบพลันชุดที่ ๑ ที่ระดับ ๐ ๑ ๒ และ ๔ Krad

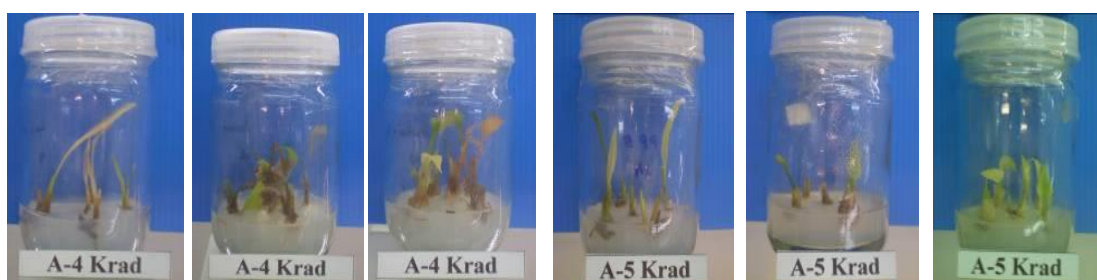
เมื่อหาปริมาณรังสีแบบเฉียบพลันที่เหมาะสมจากค่า LD $_{50}$ อีกครั้งจึงนำขึ้นส่วนกระเจียว ๓ พันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อไปฉายรังสีแบบเฉียบพลัน (ชุดที่ ๒) ที่ระดับ ๑ ๒ ๓ ๔ และ ๕ krad พบว่า การเจริญเติบโตและการแตกหน่อมีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มระดับรังสี ซึ่งสอดคล้องกับผลจากการฉายรังสีครั้งที่ ๑ (ภาพที่ ๔ และ ๕) แต่หลัง ๒ เดือน พบว่า ขึ้นส่วนที่ฉายรังสีที่ระดับ ๕ Krad มีใบที่เปลี่ยนเป็นสีเขียวซีดหรือขาว หยุดการเจริญเติบโตหรือแตกหน่อและตายในที่สุด (ภาพที่ ๖)



ภาพที่ ๔ ขึ้นส่วนปทุมรัตน์และบัวลายขาวหลังฉายรังสีแบบเฉียบพลันชุดที่ ๒ ที่ ๑ ๒ ๓ ๔ และ ๕ krad



ภาพที่ ๕ ขึ้นส่วนกระเจียวส้มหลังฉายรังสีแบบเฉียบพลันชุดที่ ๒ ที่ระดับ ๑ ๒ ๓ ๔ และ ๕ krad



ภาพที่ ๖ ขึ้นส่วนปทุมรัตน์ บัวลายลาวและกระเจียวสีส้มหลังฉายรังสีแบบเฉียบพลันที่ระดับ ๔-๕ Krad

เมื่อนำขึ้นส่วนกระเจียว ๓ พันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อไปฉายรังสีแบบโครนิกใน Gamma room ชุดที่ ๑ ที่ระดับรังสี ๐ ๑.๐๔ ๒.๐๘ ๓.๑๓ และ ๔.๑๘ krad พบว่า หลังฉายรังสีแล้ว ๑ เดือนขึ้นส่วนทั้ง ๓ พันธุ์รอดชีวิต ๑๐๐ เปอร์เซ็นต์ และมีการเจริญเติบโตหรือแตกหน่อปกติ เมื่อนำขึ้นส่วนกระเจียว ๓ พันธุ์ไปฉายรังสีแบบโครนิก ชุดที่ ๒ ที่ระดับ ๐ ๑.๐๔ ๒.๐๘ ๓.๑๓ ๔.๑๘ และ ๕.๖๔ krad พบว่า การฉายรังสีแบบโครนิกดังกล่าวไม่มีผลต่อลักษณะใบ การรอดตายและการเจริญเติบโตของขึ้นส่วนทั้ง ๓ พันธุ์ แต่ขึ้นส่วนบางส่วนมีการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรียเกิดขึ้น แม้จะใช้พาราฟิล์มพันฝาขวดที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออย่างดีก่อนนำขวดขึ้นส่วนกระเจียวเข้าไปฉายรังสีแบบโครนิกแล้วก็ตาม นอกจากนี้หลังฉายรังสีแล้วประมาณ ๑ เดือนปรากฏว่า ขึ้นส่วนที่ฉายรังสีแล้วบางส่วนได้เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด (ภาพที่ ๗) ซึ่งอาจเกิดจากอาหารที่เพาะเลี้ยงขึ้นส่วนเดิมอาจมีการเปลี่ยนแปลงในระหว่างที่ทำการฉายรังสีและส่งผลกระทบต่อขึ้นส่วนปทุมมา ดังนั้นหลังจากฉายรังสีแล้วควรย้ายขึ้นส่วนปทุมมาลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใหม่ ดังนั้นจึงเลือกใช้เฉพาะขึ้นส่วนกระเจียวที่ฉายรังสีแบบเฉียบพลันใช้ในการทดสอบการเกิดโรคเท่านั้น อย่างไรก็ตาม Lamseejan et al. (๒๐๐๒) ที่ฉายรังสีแกมมา หัวพันธุ์ปทุมมาแบบเฉียบพลันระดับ ๑๐-๓๐ เกรย์และนำหัวพันธุ์ที่รอดตายไปฉายรังสีแกมมาแบบโครนิกที่ระดับ ๑๒๐ เกรย์สามารถชักนำให้เกิดกลายพันธุ์เป็นพันธุ์ใหม่ได้ถึง ๙ พันธุ์



ภาพที่ ๗ ขึ้นส่วนกระเจียวสีส้มและบัวลายลาวที่สีน้ำตาลและตายหลังฉายรังสีแบบโครนิกระดับ ๑-๕ Krad

ปี ๒๕๕๔

การหาความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* (Rs-s) ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวปทุมมา โดยผสมเชื้อกับวัสดุปลูกในสภาพโรงเรือนเพาะชำ สำหรับใช้ทดสอบปลูกเชื้อเพื่อคัดเลือกต้นปทุมมาที่ทนทานต่อโรคเหี่ยวหรือรอดตายต่อไปนั้น พบว่า ต้นปทุมมาเริ่มเกิดอาการใบไหม้และตายหลังปลูกเชื้อแล้ว ๕ วัน โดยต้นปทุมมาตายมากที่สุดเมื่อเชื้อมีความเข้มข้นที่ 10^8 cfu ml⁻¹ รองลงมาคือ 10^6 และ 10^4 cfu ml⁻¹ ตามลำดับ ภายหลังจากปลูกเชื้อ ๒๐ วันต้นปทุมมาที่ทุกความเข้มข้นของเชื้อตายหมด ยกเว้นที่ความเข้มข้นของเชื้อ 10^4 cfu ml⁻¹ ที่รอดตาย ๑ ต้น ส่วนกรรมวิธีควบคุมโรคตาย ๓ ต้น (ตารางที่ ๑)

ตารางที่ ๑ การปลูกเชื้อ *R. solanacearum* : Rs-s โดยผสมในวัสดุปลูกในสภาพโรงเรือนเพาะชำ

กรรมวิธี/ระยะเวลา (วัน)	๕ วัน	๑๐ วัน	๑๕ วัน	๒๐ วัน
กรรมวิธีควบคุม (น้ำกลั่น)	๑๒	๘	๖	๓
Positive (conc. 10^4)	๙	๓	๑	๐

10^6 cfu ml ⁻¹	๑๐	๖	๑	๐
10^5 cfu ml ⁻¹	๑๑	๗	๑	๐
10^4 cfu ml ⁻¹	๑๒	๘	๑	๑

การหาความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* (Rs-s) ในสภาพห้องปฏิบัติการ สำหรับใช้ทดสอบปลูกเชื้อเพื่อคัดเลือกต้นปทุมมาที่ทนทานต่อโรคเหี่ยวต่อไปนั้น พบว่า ต้นปทุมมาเริ่มแสดงอาการใบไหม้หลังปลูกเชื้อแล้ว ๓ วัน โดยเชื้อที่ความเข้มข้น 10^6 เริ่มแสดงอาการก่อนเชื้อที่ความเข้มข้น 10^5 และ 10^4 cfu ml⁻¹ ดังนั้นจึงเลือกใช้เชื้อแบคทีเรีย Rs-s มีความเข้มข้นที่ 10^6 cfu ml⁻¹ สำหรับใช้ทดสอบความเป็นโรคและคัดเลือกต้นที่ทนทานหรือรอดตายหลังปลูกเชื้อในสภาพโรงเรือนเพาะชำต่อไป

๑๐.๒ ปี ๒๕๕๕-๕๖

การปลูกเชื้อแบคทีเรีย Rs-s ที่ความเข้มข้น 10^6 cfu ml⁻¹ โดยใช้กรรไกรตัดทำแผลที่ใบ (leaf cutting) แล้วปลูกเชื่อดังกล่าว จากนั้นจึงดูแลรักษาต้นพันธุ์ในสภาพโรงเรือนเพาะชำพรางแสง เช่น ให้น้ำและใส่ปุ๋ยเคมี (ภาพที่ ๘)



ภาพที่ ๘ การปลูกเชื้อ *R. solanacearum* โดยทำแผลที่ใบและต้นที่มีอาการเหี่ยว

เมื่อสุมต้นเพื่อประเมินการเกิดโรคเหี่ยวหลังปลูกเชื้อดังกล่าวข้างต้นแล้ว โดยประเมินระดับอาการโรคเหี่ยว ๑-๕ ซึ่งส่วนใหญ่แสดงอาการโรคเหี่ยวระดับที่ ๔ คือ ใบเหี่ยวหรือเหลืองเกือบทั้งหมดยกเว้นยอด ร่องมา คือ แสดงอาการโรคเหี่ยวในระดับที่ ๓ คือ ๑/๓-๒/๓ ของใบทั้งต้นเหี่ยวหรือเหลือง (ตารางที่ ๒)

ตารางที่ ๒ ต้นที่แสดงอาการโรคเหี่ยวหลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย Rs-s ในฤดูผลิตปี ๒๕๕๔/๕๕

พันธุ์	ความเข้มข้นรังสี	เปอร์เซ็นต์ต้นที่เกิดอาการโรคเหี่ยวในระดับต่างๆ				
		๑	๒	๓	๔	๕
กระเจียวส้ม	๑K	๐	๐	๔๐	๕๐	๑๐
	๒K	๐	๕	๕๐	๔๕	๐
	๓K	๑๕	๒๐	๒๕	๓๕	๕
	๔K	๐	๐	๒๐	๘๐	๐
บัวลายลาว	๑K	๐	๐	๑๕	๗๕	๑๐
	๒K	๐	๑๐	๑๕	๔๐	๓๕
	๓K	๐	๐	๑๐	๘๕	๕
	๔K	๐	๐	๐	๗๐	๓๐
	๕K	๐	๐	๐	๘๐	๒๐
ปทุมรัตน์	๑K	๐	๐	๓๐	๗๐	๐
	๒K	๐	๒๐	๓๐	๕๐	๐
	๓K	๐	๐	๒๐	๘๐	๐
	๔K	๐	๐	๗๐	๓๐	๐

หมายเหตุ ๑ = ไม่แสดงอาการ

๒ = ๑/๓ ของใบทั้งต้นเหี่ยวหรือเหลือง

๓ = ๑/๓-๒/๓ของใบทั้งต้นเหี่ยวหรือ

เหลือง

๔ = ใบเหี่ยวหรือเหลืองเกือบทั้งหมดยกเว้นยอด

๕ = ตาย

เมื่อเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ต้นที่รอดตายหลังปลูกเชื้อในฤดูผลิตปี ๒๕๕๔/๕๕ ที่จะใช้ปลูกทดสอบปฏิกิริยาต่อโรคเหี่ยวในฤดูผลิตปี ๒๕๕๕/๕๖ แต่ปทุมมาทั้ง ๓ พันธุ์ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำให้หัวพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวได้มีขนาดเล็กและยังไม่ออกดอก ทำให้ไม่สามารถบันทึกลักษณะกลายพันธุ์และคุณภาพดอกได้ จึงจำเป็นต้องปลูกในถุงพลาสติกขนาด ๕X๑๐ นิ้วโดยใช้วัสดุปลอดจากเชื้อโรคและดูแลรักษาในสภาพโรงเรือน

ตาข่ายพรางแสงอีกครั้งหนึ่งในฤดูการผลิตปี ๒๕๕๕/๕๖ เพื่อเพิ่มความสมบูรณ์และขนาดของหัวให้ออกดอกได้ตลอดจนจำเป็นต้องเลื่อนการนำหัวพันธุ์ที่รอดตายลงปลูกในแปลงเกษตรกรที่มีประวัติการระบาดของโรคเหี่ยว เพื่อคัดเลือกลูกพันธุ์ที่ทนทานต่อโรคเหี่ยวตามที่วางแผนไว้ได้

เมื่อทดสอบปฏิกิริยาต่อโรคเหี่ยวของปทุมมาในฤดูผลิตปี ๒๕๕๕/๕๖ โดยการปลูกเชื้อแบคทีเรีย Rs-s ที่ความเข้มข้น 10^6 cfu ml⁻¹ แบบทำแผลที่ใบเช่นเดียวกับในฤดูผลิตปี ๒๕๕๔/๕๕ พบว่า ระดับการเกิดโรคเฉลี่ยมีค่ามากกว่า ๓ คือ ๑/๓-๒/๓ ของใบทั้งต้นเหี่ยวและเหลือง ความรุนแรงการเกิดโรครอยู่ในระดับปานกลาง (M = ๒.๖-๔.๐) จนถึงมาก (H = ๔.๑-๕.๐) อย่างไรก็ตามมีหัวพันธุ์ปทุมรัตน์ PP๕ ๔k ครั้งที่ ๔ ที่ไม่ออกและต้นกระเจียวล้ม ๔k ครั้งที่ ๔ เป็นโรคใบไหม้จนทำให้ตายหมด รายละเอียดระดับการเกิดโรคและความรุนแรงการเกิดโรคเหี่ยวหลังปลูกเชื้อได้แสดงในตารางที่ ๓

ตารางที่ ๓ การเกิดโรคเหี่ยวหลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย Rs-s ในฤดูผลิตปี ๒๕๕๕/๕๖

พันธุ์	ระดับโรค (ต้นที่)					การเกิดโรคเหี่ยว	
	๑	๒	๓	๔	๕	ระดับโรคเฉลี่ย ^{๑/}	ความรุนแรง ^{๒/}
บัวลายลาว ๑k ครั้งที่ ๓	๔	๓	๓	๔	๔	๓.๖	M
บัวลายลาว ๑k ครั้งที่ ๔	๔	๔	๓	๕	๕	๔.๒	H
บัวลายลาว ๒k ครั้งที่ ๓	๔	๔	๕	๕	๕	๔.๖	H
บัวลายลาว ๒k ครั้งที่ ๔	๔	๔	-	-	-	๔.๐	M
บัวลายลาว ๓k ครั้งที่ ๓	๓	๓	๔	๔	๓	๓.๔	M
บัวลายลาว ๓k ครั้งที่ ๔	๔	๔	๕	๓	๕	๔.๒	H
บัวลายลาว ๔k ครั้งที่ ๔	๔	๔	๔	๔	-	๔.๐	M
บัวลายลาว ๕k ครั้งที่ ๔	๕	๕	๕	๕	๕	๕.๐	H
PP๕ ๑k	๔	๔	๓	๔	๒	๓.๔	M
PP๕ ๑k ครั้งที่ ๒	๓	๓	๕	๓	๕	๓.๘	M
PP๕ ๑k ครั้งที่ ๔	๕	๕	๔	๓	๓	๔.๐	M
PP๕ ๒k	๔	๓	๓	๔	๔	๓.๖	M
PP๕ ๒k ครั้งที่ ๒	๔	๓	๔	๓	๒	๓.๒	M
PP๕ ๒k ครั้งที่ ๓	๔	๓	๔	๓	๕	๓.๘	M
PP๕ ๒k ครั้งที่ ๔	๕	๕	๔	๕	๔	๔.๖	H
PP๕ ๓k	๕	๕	๕	-	-	๕.๐	H
PP๕ ๓k ครั้งที่ ๓	๔	๔	๔	๕	๕	๔.๔	H
PP๕ ๓k ครั้งที่ ๔	๕	๒	๓	๓	๕	๓.๖	M
PP๕ ๔k	๔	๔	๓	๕	๒	๓.๖	M
PP๕ ๔k ครั้งที่ ๔	ไม่ออกหัวเน่าตาย						
กระเจียวล้ม ๑k ครั้งที่ ๔	๓	-	-	-	-	๓.๐	M
กระเจียวล้ม ๒k ครั้งที่ ๓	๓	๓	๕	๓	๓	๓.๔	M
กระเจียวล้ม ๓k ครั้งที่ ๔	๔	๕	-	-	-	๔.๕	H
กระเจียวล้ม ๔k ครั้งที่ ๔	เป็นโรคใบไหม้ตายหมด						

^{๑/} โรคเหี่ยวแบ่งเป็น ๕ ระดับคือ ๑ = ไม่แสดงอาการ ๒ = ๑/๓ ของใบทั้งต้นเหี่ยวหรือเหลือง
 ๓ = ๑/๓-๒/๓ ของใบทั้งต้นเหี่ยวหรือเหลือง ๔ = ใบเหี่ยวหรือเหลืองเกือบทั้งหมดยกเว้นยอด

๕ = ตาย

๒/ ความรุนแรงโรค

O = ๐-๑.๐

L = ๑.๑-๒.๕

M = ๒.๖-๔.๐

H = ๔.๑-๕.๐

เมื่อเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์ที่ปลูกเชื้อแบคทีเรีย Rs-s ในฤดูปลูก ๒๕๕๕/๕๖ พบว่า การรอดตายหรือจำนวนหัวพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวได้ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับรังสีที่ใช้ จำนวนหัวพันธุ์บัวลายลาว ปทุมรัตน์และกระเจียวสีส้มจากทุกระดับรังสีที่รอดตายเท่ากับ ๑๓๖ ๒๙ และ ๑๙ หัว ตามลำดับ ซึ่งรายละเอียดจำนวนหัวพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวได้แสดงไว้ในตารางที่ ๔ ซึ่งหัวพันธุ์เหล่านี้ควรนำไปปลูกทดสอบในแปลงเกษตรกรที่มีประวัติการระบาดของโรคเหี่ยวต่อไป

ตารางที่ ๔ จำนวนหัวพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวได้หลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย Rs-s ในฤดูผลิตปี ๒๕๕๕/๕๖

พันธุ์	จำนวนหัวพันธุ์	
	จำนวนหัวที่ปลูก	จำนวนหัว (%) ที่เก็บเกี่ยวได้
บัวลายลาว ๑k ครั้งที่ ๓	๓๐	๑๐ (๓๓%)
บัวลายลาว ๑k ครั้งที่ ๔	๑๐	๘ (๘๐%)
บัวลายลาว ๒k ครั้งที่ ๓	๒๒	๒๘ (๑๐๐%)
บัวลายลาว ๒k ครั้งที่ ๔	๔๘	๔๗ (๙๘%)
บัวลายลาว ๓k ครั้งที่ ๓	๔๒	๓๗ (๘๘%)
บัวลายลาว ๓k ครั้งที่ ๔	๒๕	๔๔ (๑๐๐%)
บัวลายลาว ๔k ครั้งที่ ๔	๘	๒ (๒๕%)
บัวลายลาว ๕k ครั้งที่ ๔	๑๐	๐
รวม		๑๓๖
PP๕ ๑k	๑๔	๐
PP๕ ๑k ครั้งที่ ๒	๑๐	๐
PP๕ ๑k ครั้งที่ ๔	๑๐	๐
PP๕ ๒k	๑๒	๐
PP๕ ๒k ครั้งที่ ๒	๑๐	๐
PP๕ ๒k ครั้งที่ ๓	๑๐	๑๘ (๑๐๐%)
PP๕ ๒k ครั้งที่ ๔	๑๐	๓ (๓๓%)
PP๕ ๓k	๖	๐
PP๕ ๓k ครั้งที่ ๓	๑๖	๖ (๓๗%)
PP๕ ๓k ครั้งที่ ๔	๒๖	๐
PP๕ ๔k	๒๒	๒ (๙%)
รวม		๒๙
กระเจียวส้ม ๑k ครั้งที่ ๔	๒	๐
กระเจียวส้ม ๒k ครั้งที่ ๓	๓๐	๑๙ (๖๓%)
กระเจียวส้ม ๓k ครั้งที่ ๔	๔	๐
กระเจียวส้ม ๔k ครั้งที่ ๔	๒	๐
รวม		๑๙

ในการดำเนินงานมีปัญหาอุปสรรคที่สำคัญ ดังนี้

๑) ขั้นตอนการปลูกเชื้อแบคทีเรีย และคัดเลือกต้นที่ทนทานโรคเหี่ยวในสภาพโรงเรือนเพาะชำในปีที่ ๑ ค่าต่ำกว่าแผนงานที่กำหนด เนื่องจากมีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียหลังฉายรังสี และการระบาดของโรคใบไหม้ในสภาพโรงเรือน ทำให้ต้นที่ฉายรังสีตายจำนวนมาก และต้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นที่รอดตายเพื่อเพิ่มจำนวนต้นก่อนปลูกเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว แต่โครงการวิจัยปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาไม่ได้รับอนุมัติให้ขยายเวลาดำเนินงานและยุติการดำเนินงาน

๒) เดือนมิถุนายน ๒๕๕๖ เกิดการระบาดของโรคใบไหม้อย่างรุนแรงในต้นกล้ากระเจียวส้ม และ บัวลายลาว จึงใช้วิธีตัดแต่งใบออกจากต้น แล้วพ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช คือ ไดฟิโนโคนาโซลสลับกับ ฟลูซิลาโซล และเลื่อนการปลูกเชื้อโรคเหี่ยวเพราะต้องรอให้พืชแตกใบใหม่

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

๑. การฉายรังสีแกมมาระดับ ๑-๕ Krad แบบเฉียบพลันให้ขึ้นส่วนกระเจียวในสภาพปลอดเชื้อ ทำให้อัตราการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตมีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณรังสีขึ้น
๒. ค่า LD_{๕๐} ของการให้รังสีแบบเฉียบพลันต่อความแข็งแรง การเจริญเติบโตและการรอดตายคือ ๒- ๔ Krad
๓. การให้รังสีแกมมาระดับ ๑-๕ Krad แบบโครนิกไม่มีผลต่อลักษณะใบ การรอดตายและการเจริญเติบโตของขึ้นส่วนทั้ง ๓ พันธุ์
๔. ความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (Rs-s) ที่ใช้ทดสอบความเป็นโรคเหี่ยวหลังปลูกเชื้อในสภาพโรงเรือนเพาะชำคือ ๑๐^๖ cfu ml^{-๑}
๕. ต้นกระเจียวส่วนใหญ่แสดงอาการโรคเหี่ยวระดับที่ ๔ คือ ใบเหี่ยวหรือเหลืองเกือบทั้งหมดยกเว้นยอด ความรุนแรงการเกิดโรคเหี่ยวอยู่ในระดับปานกลาง (M = ๒.๖-๔.๐) จนถึงมาก (H = ๔.๑-๕.๐)
๖. จำนวนหัวพันธุ์บัวลายลาว ปทุมรัตน์และกระเจียวสีส้มจากทุกระดับรังสีที่รอดตายเท่ากับ ๑๗๖ ๒๙ และ ๑๙ หัว ตามลำดับ
๗. ควรนำหัวพันธุ์ที่รอดชีวิต และเก็บเกี่ยวไปปลูกทดสอบความทนทานต่อโรคเหี่ยวในแปลงเกษตรกรที่เคยมีประวัติการระบาดของโรคเหี่ยวต่อไป
๘. ขึ้นส่วนที่ฉายรังสีแล้วควรย้ายลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใหม่

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลงานวิจัยนี้ยังจำเป็นต้องนำหัวพันธุ์ที่รอดตายไปทดสอบความทนทานต่อโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย Rs-s ในแปลงเกษตรกรที่เคยมีประวัติหรือกำลังประสบปัญหาการระบาดของโรคเหี่ยว สำหรับ หัวพันธุ์เหลืออยู่นั้น อาจใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาให้ได้พันธุ์ใหม่ในอนาคตได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์กรุงเทพฯ ที่ให้บริการฉายรังสีเนื้อเยื่อปทุมมาทั้งแบบโครนิกและแบบฉับพลันตามแผนงานที่กำหนดไว้

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร ๒๕๔๔. ผลงานวิชาการประจำปี ๒๕๔๓. การประชุมวิชาการประจำปี ๒๕๔๔ เล่ม ๓.

วันที่ ๓๐ เมษายน -๔ พฤษภาคม ๒๕๔๔. โรงแรมมิราเคิลแกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพฯ. งานส่งเสริมไม้ดอกไม้ประดับ. ๒๕๔๑. ปทุมมาจังหวัดเชียงใหม่ ปี ๒๕๔๑. ฝ่ายส่งเสริมการผลิตและพัฒนาการผลิต กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (เอกสารโรเนียว).

นพมณี โทปัญญานนท์ ศิริรัตน์ จงแสง สนิธร สมสืบ และปวีณา นวมเจริญ. ๒๕๔๕. ระบบการผลิต

ต้นปทุมมาในสภาพปลอดเชื้อระดับอุตสาหกรรม. การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ ๒.

วันที่ ๒๘-๓๐ พฤษภาคม ๒๕๔๕ ณ โรงแรมเจริญธานี ปรีณเชส ขอนแก่น. หน้า ๑๔.

พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์ ถกวรรณ ศิริสวัสดิ์ พวงเพ็ญ ศิริรักษ์ พิศิษฐ์ วรอุไร และฉันทนา สุวรรณธาดา. ๒๕๓๙. การศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชกลุ่มกระเจียวไทย. รายงานประชุมวิชาการไม้ดอกไม้ประดับแห่งชาติ ครั้งที่ ๒ วันที่ ๑๔-๑๗ กุมภาพันธ์ ๒๕๓๙ จ. เชียงใหม่.

วิชาญ ยาวเรศถะกิจ. ๒๕๔๖. ผลของการใช้รังสีแกมมาต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปทุมมา. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

วิภาดา ทองทักษิณ นิพัฒน์ สุขวิบูลย์และสุป็น ไม้ดัดจันทร์ ๒๕๔๒ก. การผสมพันธุ์พืชสกุลกระเจียว. รายงานผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๔๒ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า ๑๐๗-๑๑๓.

วิภาดา ทองทักษิณ สุป็น ไม้ดัดจันทร์ และบุญแถม ถาคำฟู. ๒๕๔๒ข. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในกระเจียว. รายงานผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๔๒ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า ๑๑๔-๑๒๐.

วิภาดา ทองทักษิณ สุป็น ไม้ดัดจันทร์และบุญแถม ถาคำฟู. ๒๕๔๓. การคัดเลือกพันธุ์กระเจียวลูกผสม

รายงานผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๔๓. ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วิภาดา ทองทักษิณ สุป็น ไม้ดัดจันทร์และบุญแถม ถาคำฟู. ๒๕๔๕. โครงการผลิตปทุมมาปลอดโรคโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ ๒ วันที่ ๒๘-๓๐

พฤษภาคม

๒๕๔๕. ณ โรงแรมเจริญธานีปรีณเชส ขอนแก่น.

สิรินุช ลามศรีจันทร์. ๒๕๔๐. การกลายพันธุ์ของพืช. ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ๒๐๕ หน้า.

สิรินุช ลามศรีจันทร์. ๒๕๔๔. กระบวนการสร้างพืชพันธุ์ใหม่ด้วยรังสี เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรการใช้รังสีในการปรับปรุงพันธุ์ไม้ดอกไม้ประดับ. ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. วันที่ ๑๒-๑๔ กันยายน ๒๕๔๔.

สุรวิช วรรณไกรโรจน์. ๒๕๓๙. ปทุมมาและกระเจียว (Curcuma). สำนักพิมพ์บ้านและสวน. กรุงเทพฯ.

อดิสร กระแสชัย. ๒๕๓๓. การศึกษาการปรับปรุงพันธุ์ปทุมมา (*Curcuma spaganifolia*) โดยการใช้รังสี

แกมม่า. ว.เกษตรศาสตร์ (วิทย.) ๒๔(๒): ๑๒๕-๑๓๕.

โอฬาร พิทักษ์. ๒๕๔๒. ไม้ดอกเมืองร้อนยังฉายแววในตลาดโลก. เคหะการเกษตร. ๒๓(๘):๑๒๖-๑๓๑.

อังสนา อัครพิศาล. ๒๕๓๓. การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์และเซลล์สำหรับศึกษาปฏิกิริยาตอบสนอง
เฉียบพลันของสายพันธุ์ซึ่งต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (*Pseudomonas solanacearum*
E.S. Smith). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Gaul, H. ๑๙๗๗. Mutagenic effects in the first generation after seed treatment. pp. ๘๗-
๑๐๕.

In: Manual on Mutation Breeding. Second Edition. International Atomic Energy
Agency, Vienna.

IAEA. ๑๙๗๗. Manual on Mutation Breeding. Technical Report Series No. ๑๑๙. Second
Edition. Joint FAO/IAEA Division of Atomic Energy in Food and Agriculture.
International Atomic Energy Agency, Vienna.

Lamseejan, S., P. Jompook, A. Wongplyasatid, P. Kwanthammachart and R. Meesat.
๒๐๐๑.

Improvement of ornamental plants through induced mutations. pp. ๑๙-๒๐. In:
FAO/IAEA Seminar on Mutation Techniques and Molecular Genetics for Tropical
and Subtropical Plant Improvement in Asia and the Pacific Region. Makati City, The
Phillipines.

Lamseejan, S., P. Jompook, A. Wongplyasatid and S. Deeseepan. ๒๐๐๒. Induced
mutation

and *in vitro* culture in the improvement of Thai ornamentals. pp. ๒๑๓. In: Abstract
and Program. Plant Breeding for the ๑๑th Millenium. ๑๒th Australasian Plant
Breeding Conference, Perth, Western Australia.