

รังสีแกมมาชักนำการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาในบัวดิน (*Zephyranthes* spp.)

Gamma-ray induced morphological changes in rain lily (*Zephyranthes* spp.)

วุฒิพงษ์ แปงใจ^{1*} และ พัฒนา ศรีฟ้า ฮุนเนอร์²

Wuthipong Pangjai^{1*} and Pattana Srifah Huehne²

¹ สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา จ. พระนครศรีอยุธยา 13000

¹ Program in Plant Production Technology, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Si Ayutthaya Rajabhat University, Phranakhon Si Ayutthaya, 13000

² ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ กรุงเทพฯ 10210

² Laboratory of Biotechnology, Chulabhorn Research Institute, Bangkok, 10210

บทคัดย่อ: บัวดินจัดเป็นพืชมีศักยภาพในการปลูกเพื่อตกแต่งภูมิทัศน์และเป็นไม้กระถางที่ต้องการความหลากหลายทางสัณฐานวิทยา การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อชักนำดอกและใบบัวดินให้มีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา เพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ ด้วยรังสีแกมมา ในเบื้องต้นได้ทดสอบความไวในการตอบสนองต่อรังสีของบัวดิน *Zephyranthes* ‘Bangkok Yellow’ และ *Z. rosea* พบว่าปริมาณรังสีที่ทำให้เกิดการตายร้อยละ 50 (LD₅₀) และการเจริญลดลงร้อยละ 50 (GR₅₀) อยู่ที่ระดับ 9.8 และ 10.5 เกรย์ ตามลำดับ จากนั้นฉายรังสีในบัวดินชนิดอื่น ได้แก่ *Z. ‘Chinda’*, *Z. ‘Double Lotus’* และ *Z. ‘Dr. Tan Chiang Soo’* ด้วยปริมาณรังสี ระดับต่ำ (6 Gy), ระดับปานกลาง (8 Gy) และระดับสูงมาก (12 Gy) พบอัตราการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาจำเพาะแต่ละพันธุ์ที่ รังสีค่าสูงสุดที่ 10.0, 21.7 และ 3.3 % ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่า การเปลี่ยนแปลงของสีดอกสูงกว่าการเปลี่ยนแปลงขนาดกลีบ รูปปร่าง กลีบ รูปทรงใบ และสีใบ เมื่อแปลผลจากความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการเกิดดอกพบรูปแบบโค เมอร่าในหัวบัวดินจำนวน 5 รูปแบบ หลังการปลูกจำนวน 4 รุ่น ซึ่งเป็นประโยชน์สำหรับกระบวนการคัดเลือกบัวดินที่ดอกมีการ เปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา โดยสรุปกระบวนการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาครั้งนี้ประสบความสำเร็จ สามารถ นำมาใช้ในการพัฒนาบัวดินให้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลงเพื่อประโยชน์เชิงการค้า และสามารถใช้กระบวนการนี้เพื่อการ ปรับปรุงพันธุ์กรรมของบัวดินได้

คำสำคัญ: การฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน; การปรับปรุงพันธุ์พืช; รูปแบบโคเมอร่า; Bulb

ABSTRACT: Rain lily has become a potential crop for ornamental landscape elements and pot plants that require morphological diversity. This study aims to induce changes in flower and leaf morphological traits which will be a benefit for the breeding program by using gamma ray. First, the radiation-sensitivity doses were preliminarily examined in *Zephyranthes* ‘Bangkok Yellow’ and *Z. rosea*. The results indicate that the median lethal dose (LD₅₀) and the median of growth reduction (GR₅₀) are 9.8 and 10.5 Gy, respectively. Then, other varieties included *Z. ‘Chinda’*, *Z. ‘Double Lotus’*, and *Z. ‘Dr. Tan Chiang Soo’* were irradiated at low (6 Gy), medium (8 Gy), and very high dose (12 Gy). The morphological changes were variety specific at the highest percentage of 10.0, 21.7, and 3.3 %, respectively. Furthermore, the changes in flower color were higher than petal size, petal shape, leaf form, and leaf color. After growth for four generations, five different types of chimera patterns in bulblet were established base on the morphological-changes in flower formation. This finding will be a benefit for selection processes of the morphological-changes flower. In summary, the induction and selection processes for morphological changes in *Zephyranthes* spp. were successful in generating appropriated characters that have a commercial value. These processes could be used for other *Zephyranthes* genetic improvement.

Keywords: acute gamma irradiation; plant breeding; chimera pattern; bulb

* Corresponding author: pangjai@aru.ac.th

บทนำ

บัวดิน (*Zephyranthes* spp.) เป็นไม้ดอก มีลำต้นใต้ดินแบบบัลบ (bulb) จัดอยู่ในวงศ์พลับพลึง (Amaryllidaceae) พบมากกว่า 90 ชนิด (Tapia-Campos et al. 2012) มีถิ่นกำเนิดบริเวณแถบที่สูงของเม็กซิโก และอาร์เจนตินา มีความทนทานต่อสภาพแห้งแล้งและความหนาวเย็น (Katoch and Singh, 2015) บัวดินมีดอกที่สวยงาม และมีความหลากหลายของสีดอก ลวดลายดอก และจำนวนกลีบดอก (Marta, 2005) จึงนิยมปลูกประดับแปลง ปัจจุบันเกษตรกรพัฒนาบัวดินด้วยการผสมข้ามพันธุ์ (cross breeding) แต่มีข้อจำกัดในการเลือกผสม เนื่องจากจำนวนโครโมโซมและจำนวนชุดโครโมโซมมีความแตกต่างกันสูง (Felix et al. 2011) นอกจากนี้ยังพบปัญหาจากการผสมตัวเองไม่ติด (self-incompatibility) และพบการเกิดเมล็ดแบบแอโพมิกซิส (apomixis) อีกด้วย (Chowdhury and Hubstenberger, 2006)

การพัฒนาพันธุ์โดยชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาด้วยรังสีแกมมา เป็นวิธีที่สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับดีเอ็นเอ ก่อให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมได้เป็นอย่างดี (Tan et al. 2019) มีความปลอดภัย และราคาถูก จากฐานข้อมูลของ IAEA พบพืชที่ผ่านการพัฒนาด้วยการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยรังสีแกมมา มากกว่า 1,650 ชนิด (IAEA, 2020) การพัฒนาพันธุ์ไม้ประดับด้วยรังสีแกมมาพบในไม้ประดับหลายชนิด เช่น กุหลาบหนู (ภิญโญรัตน์ และนันทริยา, 2560) ลินเดอร์เนีย (สุพิชชา และคณะ, 2560) สับประดาสี (มยุรี และคณะ, 2561) เบญจมาศ (Soliman et al. 2014) บานชื่น (Pallavi et al. 2017) รวมทั้งใน *Z. grandiflora* L. ที่ชักนำให้เกิดการกลายในสภาพปลอดเชื้อ แล้วเกิดลักษณะผิดปกติในดอกและใบ ซึ่งความผิดปกติของใบสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ (รัตนภรณ์, 2555) การพัฒนาไม้ประดับด้วยวิธีการนี้สามารถคัดเลือกลักษณะที่เปลี่ยนแปลงได้ง่าย โดยการคัดเลือกลักษณะที่สังเกตเห็น เช่น สี รูปร่าง ลวดลาย ขนาดดอกหรือลักษณะวิสัยของพืช (Datta, 2012) อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงที่พบ มักเกิดขึ้นในเนื้อเยื่อบางส่วนซึ่งล้อมรอบด้วยเนื้อเยื่อปกติที่เรียกว่าไคเมอรา (chimera) ดังนั้นการแยกเนื้อเยื่อที่มีการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ออกจากเนื้อเยื่อปกติจึงเป็นสิ่งท้าทาย (Schum, 2003) สำหรับบัวดินการมีลำต้นใต้ดินเป็นประเภทบัลบ หัวใหม่จะพัฒนามาจากตาข้าง (auxiliary bud) ซึ่งบริเวณนี้ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์จำนวนน้อย ดังนั้นหากเกิดการเปลี่ยนแปลงในเซลล์กลุ่มนี้ จะทำให้หัวลูกของบัวดินที่เกิดขึ้นใหม่เจริญจากเซลล์ที่มีการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมซึ่งอาจทำให้ได้ดอกที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้การคัดเลือกโดยการแยกหัวอาจลดการเกิดไคเมอราได้อีกด้วย

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาปริมาณรังสีแกมมาที่เหมาะสมสำหรับพัฒนาพันธุ์บัวดิน และศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาที่เกิดขึ้นจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน รวมทั้งศึกษารูปแบบไคเมอราในหัวบัวดินสำหรับใช้ในการผลิตเชิงพาณิชย์ต่อไป

วิธีการศึกษา

การเตรียมหัวบัวดินและการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน

เตรียมหัวบัวดินโดยขยายพันธุ์ด้วยวิธีแบ่งส่วน (วุฒิพงษ์, 2561) เพื่อให้ได้บัวดินที่มีพันธุกรรมเดียวกัน เมื่อหัวบัวดินเจริญเติบโตเต็มที่ ทำความสะอาด ตัดรากและใบทิ้ง แล้วผึ่งไว้ในที่ร่ม 3 วันก่อนการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน ที่อัตราปริมาณรังสี (dose rate) 3.74 เกรย์/นาที ด้วยเครื่องฉายรังสีแกมมามาร์ควัน (Mark I) ณ ศูนย์วิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ หลังการฉายรังสีนำหัวบัวดินมาขยายพันธุ์ด้วยวิธีแบ่งส่วน โดยนำไปชำบนวัสดุปลูกในแนวตั้ง นาน 6 สัปดาห์ แล้วย้ายปลูกในวัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ดินก้ามปู:กาบมะพร้าวสับ:แกลบดิบ ในอัตราส่วน 3:1:3

ดำเนินการทดลองโดยแบ่งออกเป็น 2 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1: การหาปริมาณรังสีที่เหมาะสมสำหรับชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาในบัวดิน

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD โดยฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน จำนวน 12 ระดับ ประกอบด้วย 0 (ชุดควบคุม), 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 และ 15 เกรย์ แต่ละระดับประกอบด้วย 3 ซ้ำ ๆ ละ 5 หัว กับหัวบัวดิน 2 พันธุ์ คือ *Z. 'Bangkok Yellow'* และ *Z. resea* หลังการฉายรังสีนำหัวบัวดินไปขยายพันธุ์ด้วยวิธีแบ่งส่วน (วุฒิพงษ์, 2561) โดย 1 หัวแบ่งเป็น 6

ส่วน แล้วทำการบันทึกข้อมูลจำนวนต้นที่รอดชีวิต ความยาวใบและจำนวนใบในท้องทดลองหลังการฉายรังสีทุก 7 วันจำนวน 6 ครั้ง แล้วคำนวณหาปริมาณรังสีที่ทำให้เกิดการตาย 50 % หลังได้รับรังสี 35 วัน ($LD_{50(35)}$) และปริมาณรังสีที่ทำให้ความยาวใบลดลง 50 % ($GR_{50(35)}$) หลังได้รับรังสี 35 วัน พร้อมสร้างสมการสำหรับใช้คำนวณหาปริมาณรังสีที่ทำให้การเจริญเติบโตของใบหลังได้รับรังสี 35 วัน ลดลงประมาณ 0, 15, 30 และ 65 % ด้วยโปรแกรม LD_{50} Calculator (AAT Bioquest, 2019)

การทดลองที่ 2: การศึกษาลักษณะกลาย และรูปแบบโคเมอร่าในหัวบัวดิน

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD โดยนำหัวบัวดิน จำนวน 5 พันธุ์ ประกอบด้วย Z. 'Bangkok Yellow', Z. 'Chinda', Z. 'Double Lotus', Z. 'Dr. Tan Chiang Soo' และ Z. *Rosea* มาฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน จำนวน 4 ระดับ ที่คำนวณจากสมการของกราฟการเจริญเติบโตซึ่งได้จากการทดลองแรก ประกอบด้วย 0 เกรย์ (ชุดควบคุม), 6 เกรย์ (ระดับต่ำ), 8 เกรย์ (ระดับปานกลาง) และ 12 เกรย์ (ระดับสูงมาก) ซึ่งปริมาณรังสีนี้จะทำให้อัตราการเจริญเติบโตหลังการฉายรังสี 35 วัน ลดลงประมาณ 0, 15, 30 และ 65 % ตามลำดับ โดยแต่ละระดับประกอบด้วย 3 ซ้ำ ๆ ละ 20 ต้น และปลูกในสภาพแปลงทดลอง ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา ระหว่างเดือนตุลาคม 2560 – กันยายน 2562 เพื่อศึกษาลักษณะที่เกิดจากการกลาย ประกอบด้วย สีดอก ความยาวกลีบ ความกว้างกลีบ ความยาวใบ รูปร่างใบ รูปแบบโคเมอร่าในหัวบัวดิน และการคงตัวของลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไป โดยบันทึกผลจากรุ่นที่ 1 (M_1V_1) ถึงรุ่นที่ 4 (M_1V_4)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และทดสอบความสัมพันธ์ของข้อมูลด้วยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson product-moment correlation coefficient) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS statistical package

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของรังสีแกมมาต่ออัตราการรอดชีวิต

เมื่อตรวจสอบอัตราการรอดชีวิตของ Z. 'Bangkok Yellow' และ Z. *rosea* หลังการฉายรังสีแกมมาเป็นเวลา 35 วัน พบอัตราการรอดชีวิตเริ่มลดลงเมื่อได้รับปริมาณรังสี 6 เกรย์ (94%) และ 7 เกรย์ (96%) ตามลำดับ และทั้ง 2 พันธุ์มีอัตราการรอดชีวิตลดต่ำลงอย่างรวดเร็วเมื่อได้รับปริมาณรังสีในช่วง 8 - 13 เกรย์ (Figure 1 A) แสดงให้เห็นว่าอัตราการรอดชีวิตต่ำลงเมื่อได้รับปริมาณรังสีแกมมาสูงขึ้น ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับในไม้ดอกหลายชนิด เช่น บานชื่น (Pallavi et al. 2017) และแกลดีโอลัส (Sahariya et al. 2017) การที่อัตราการรอดชีวิตลดลงอาจเกิดจากรังสีแกมมาส่งผลโดยตรงต่อสารพันธุกรรมและทำให้ปริมาณอนุมูลอิสระสูงขึ้น แล้วก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับโครโมโซมหรืออื่นในภายหลัง (Blagojevic et al. 2019)

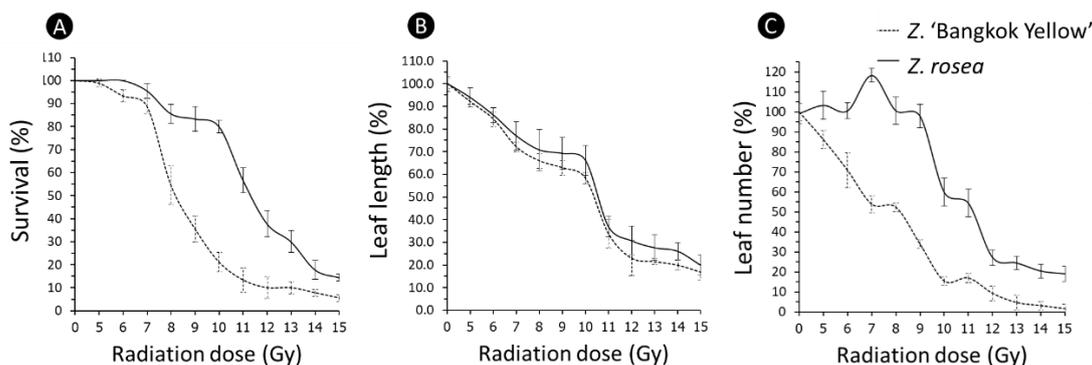


Figure 1 A, Survival percentage; B, leaf length percentage, and C, leaf number percentage of *Z. 'Bangkok Yellow'* and *Z. rosea* at 35 days after irradiated with gamma ray. Each point represents the mean \pm standard deviation.

เมื่อคำนวณหาค่า $LD_{50(35)}$ พบ *Z. 'Bangkok Yellow'* มีค่าเท่ากับ 8.19 เกรย์ ในขณะที่ *Z. rosea* มีค่าเท่ากับ 11.43 เกรย์ (Figure 2) จึงประมาณค่า $LD_{50(35)}$ สำหรับบัวดินเท่ากับ 9.8 เกรย์ จากค่า $LD_{50(35)}$ แสดงให้เห็นว่า *Z. 'Bangkok Yellow'* มีความไวต่อรังสีแกมมาสูงกว่า *Z. rosea* การที่พืชในสกุลเดียวกันมีความไวต่อรังสีในระดับที่แตกต่างกันนี้ พบในพืชหลายชนิด เช่น ลิ้นเดอรันเนีย (สุพิชชา และคณะ, 2560) แต่ค่า $LD_{50(35)}$ ของบัวดินทั้ง 2 พันธุ์ที่นำมาทดสอบมีค่าต่ำกว่าค่า $LD_{50(60)}$ ของ *Z. grandiflora* L. ที่ทำการชักนำให้เกิดการกลายในสภาพปลอดเชื้อซึ่งมีค่า LD_{50} เท่ากับ 17.8 เกรย์ (รัตนารณ, 2555) ความแตกต่างนี้อาจเป็นผลจากการเลี้ยงในระบบปลอดเชื้อทำให้พืชมีความแข็งแรงสูงกว่า หรือมีความสามารถในการฟื้นฟูสภาพของเนื้อเยื่อหลังได้รับรังสีได้เร็วกว่า และอาจเกิดจากประสิทธิภาพของยีนที่เกี่ยวข้องกับการซ่อมแซมดีเอ็นเอมีประสิทธิภาพไม่เท่ากัน (Choi et al. 2019) รวมทั้งอาจเกิดจากการจัดเรียงของจีโนม หรือเกิดจากความแตกต่างของกลไกการสร้างสาร phenolic และ flavonoid ทำให้การกำจัดอนุมูลอิสระมีประสิทธิภาพแตกต่างกัน (Hanafy and Akladios, 2018) นอกจากนี้พบว่าค่า $LD_{50(35)}$ ของ *Z. 'Bangkok Yellow'* และ *Z. rosea* ใกล้เคียงกับพืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกัน เช่น *Amaryllis belladonna* ซึ่งมีค่า LD_{50} เท่ากับ 10.5 เกรย์ (Sparrow et al. 1971)

ผลของรังสีแกมมาต่อการเจริญเติบโตของบัวดิน

เมื่อตรวจสอบความยาวใบของ *Z. 'Bangkok Yellow'* และ *Z. rosea* หลังการฉายรังสีแกมมา 35 วัน พบความยาวใบบัวดินทั้งสองพันธุ์ลดลงในอัตราใกล้เคียงกัน และมีรูปแบบที่คล้ายกัน คือ พบการลดลงอย่างรวดเร็ว 2 ช่วง ที่ปริมาณรังสี 6-8 เกรย์ และ 10-12 เกรย์ (Figure 1 B) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการทดลองในบานไม่รู้โรยลูกผสมที่พบว่าขนาดใบลดลงเมื่อได้รับปริมาณรังสีสูงขึ้น (สุพิชญวดี และคณะ, 2561)

นอกจากนี้พบว่าจำนวนใบของบัวดิน *Z. 'Bangkok Yellow'* ลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อได้รับปริมาณรังสีสูงขึ้น ผลของรังสีแกมมาอาจทำให้เซลล์พักตัวอยู่ในระยะ G_2/M (Takahashi et al. 2019) จึงเกิดการระงับการเจริญเติบโต หรืออาจมีความรุนแรงจนกระทั่งเกิดการตายของเซลล์ในที่สุด แต่จำนวนใบของบัวดิน *Z. rosea* เพิ่มมากขึ้นประมาณ 19 % เมื่อได้รับปริมาณรังสี 7 เกรย์ แล้วจึงลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อได้รับปริมาณรังสี 10 เกรย์ (Figure 1 C) การเจริญเติบโตสูงกว่าในชุดควบคุมนี้ อาจเป็นผลมาจากรังสีแกมมาในระดับต่ำชักนำให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ การเจริญเติบโต และพัฒนาการของต้นกล้า (Blagojevic et al. 2019) ยีนเหล่านี้อาจส่งผลต่อการพัฒนาของตาข้างจึงเกิดการสร้างใบใหม่ได้ และยังพบผลการทดลองในลักษณะเดียวกันนี้ในแววมยุรา ที่มีจำนวนยอดสูงกว่าชุดควบคุมเมื่อได้รับปริมาณรังสี 100 เกรย์ (ณัฐธิดา และคณะ, 2561) ความแตกต่างของจำนวนใบอาจเกิดจากการตอบสนองต่อรังสีแกมมาอาจมีความแตกต่างกันในพืชแต่ละพันธุ์ (Soliman et al. 2014) จึงทำให้พบจำนวนใบของบัวดินตอบสนองต่อรังสีแกมมาแตกต่างกันได้

เมื่อกำหนดค่า $GR_{50(35)}$ จากความยาวใบของ *Z. 'Bangkok Yellow'* และ *Z. rosea* พบว่ามีค่าที่ใกล้เคียงกัน คือ 10.24 และ 10.85 เกรย์ ตามลำดับ (Figure 2) จึงประมาณค่า $GR_{50(35)}$ สำหรับบัวดินเท่ากับ 10.5 เกรย์ โดยค่า $GR_{50(35)}$ นี้ชี้ให้เห็นว่า ความไวของการเจริญเติบโตต่อรังสีแกมมาของ *Z. 'Bangkok Yellow'* และ *Z. Rosea* ไม่แตกต่างกัน

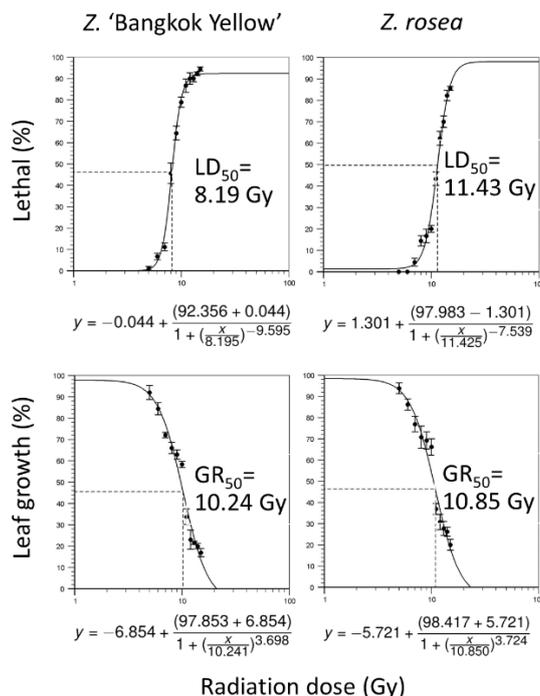


Figure 2 The median lethal dose (LD_{50}) and the median of growth reduction (GR_{50}) of *Z. 'Bangkok Yellow'* and *Z. rosea* at 35 days after irradiation.

ผลของรังสีแกมมาต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของบัวดิน

เมื่อทำการฉายรังสีแกมมาในบัวดิน 5 พันธุ์ ประกอบด้วย *Z. 'Bangkok Yellow'*, *Z. 'Chinda'*, *Z. 'Double Lotus'*, *Z. Rosea* และ *Z. 'Dr. Tan Chiang Soo'* ที่ปริมาณรังสีต่ำ (6 เกรย์) ปานกลาง (8 เกรย์) และสูงมาก (12 เกรย์) พบการเปลี่ยนแปลงของสีดอก (13.7 %), ขนาดกลีบ (4.7 %), รูปร่างกลีบ (10.7 %), รูปทรงใบ (1.0 %) และสีใบ (6.3 %) โดยบัวดินทุกพันธุ์ที่ได้รับปริมาณรังสี 8 เกรย์ มีอัตราการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยารวมจากทุกอวัยวะสูงสุดและ *Z. 'Chinda'* มีอัตราการเปลี่ยนแปลงรวมสูงกว่าพันธุ์อื่น โดยจำแนกเป็นการกลายในส่วนดอกและใบเท่ากับ 32.7 และ 15.0 % ตามลำดับ สำหรับ *Z. 'Double Lotus'* พบการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาสูงเมื่อได้รับปริมาณรังสี 12 เกรย์ มากกว่าเมื่อได้รับรังสี 6 เกรย์ แต่ในอีก 3 พันธุ์ ได้แก่ *Z. 'Bangkok Yellow'*, *Z. 'Chinda'* และ *Z. 'Dr. Tan Chiang Soo'* กลับพบว่าเมื่อได้รับปริมาณรังสี 6 เกรย์ มีอัตราการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาสูงกว่าเมื่อได้รับรังสี 12 เกรย์ (Figure 3) ดังนั้นปริมาณรังสี 8 เกรย์ เป็นปริมาณรังสีที่เหมาะสมสำหรับชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาในบัวดิน นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณรังสี 12 เกรย์ สร้างความเสียหายต่อดอกในระดับสูง เช่น ก่อให้เกิดดอกบิด ดอกหยิกงอและไม่บาน ลักษณะเหล่านี้อาจเป็นผลจากการได้รับรังสีที่สูงเกินไปจนอาจก่อให้เกิดความผิดปกติในระดับโครโมโซม (Rochanabanthit and jompuk, 2014) ดีเอ็นเอ (DNA) หรืออาจเกิดกลไกด้าน epigenetics เช่น การเกิด DNA methylation ในตำแหน่งโปรโมเตอร์ ส่งผลให้การถอดรหัส (transcription) หยุดชะงักไป (Lee et al. 2020) สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาจากทุกพันธุ์ พบการเปลี่ยนแปลงในดอกสูงกว่าใบ ทั้งนี้อัตราการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของบัวดินเมื่อได้รับปริมาณรังสี 8 เกรย์ ซึ่งมีอัตราการเปลี่ยนแปลงเท่ากับ 1.7 - 21.7 % มีค่าใกล้เคียงกับอัตราการกลายของเบญจมาศ ที่มีค่า 24.05 และ 39.15 % เมื่อได้รับปริมาณรังสี 10 และ 15 เกรย์ ตามลำดับ (Kumari et al. 2013)

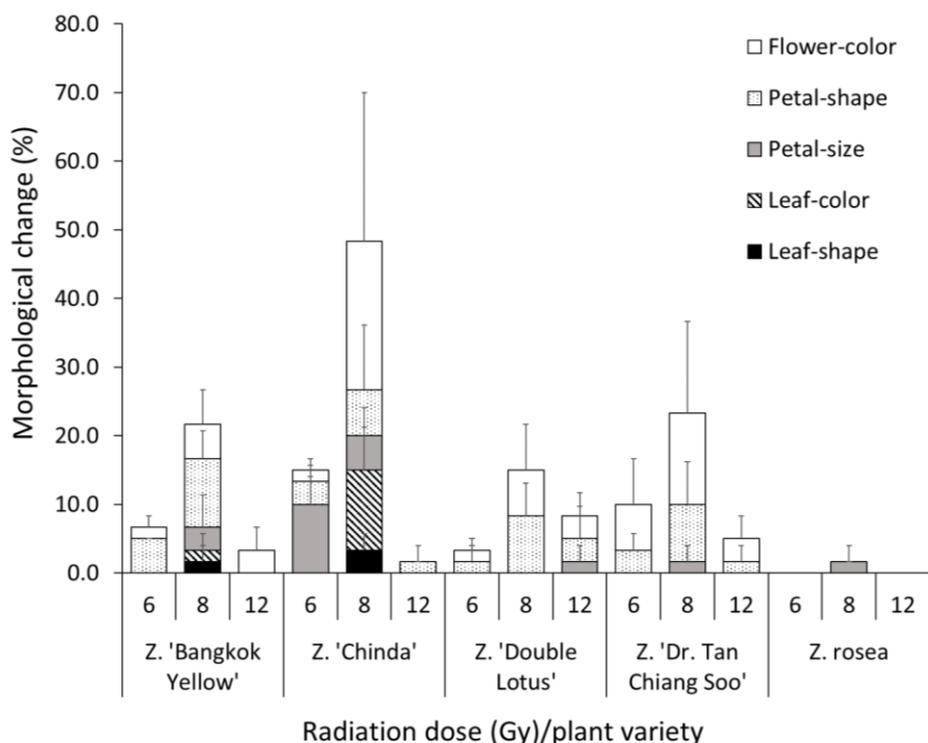


Figure 3 Percentage of morphological change on flower and leaf of five *Zephyranthes* species in M_1V_2 generation. There is no morphological change in control plants. Each bar represents the mean \pm standard deviation.

เมื่อปลูกต้นกล้าในแปลงทดลองพบว่าสีดอกมีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด โดยพบทั้งการเปลี่ยนแปลงที่ทำให้สีดอกเข้มขึ้นและอ่อนลง เช่นการเปลี่ยนสีกลีบดอกของ *Z. 'Chinda'* ให้สีแดงสดขึ้น (Figure 4 V2) รวมทั้งพบแถบสีเหลืองหายไป ใน *Z. 'Dr. Tan Chiang Soo'* (Figure 4 V14) เป็นต้น ส่วนการเปลี่ยนแปลงของรูปทรงของกลีบมีอัตราการเปลี่ยนแปลงที่รองลงมา เช่นการเปลี่ยนแปลงที่พบใน *Z. 'Double Lotus'* ที่กลีบดอกกว้างขึ้น (Figure 4 V8) และใน *Z. 'Dr. Tan Chiang Soo'* พบลักษณะปลายกลีบเรียวแหลม (Figure 4 V13) นอกจากนี้ยังพบการลดลงของจำนวนกลีบใน *Z. 'Double Lotus'* (Figure 4 V7-V8) อีกด้วย การเปลี่ยนแปลงที่เกี่ยวข้องกับสีดอกกลุ่มสีชมพู สีส้ม และสีแดง อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงของยีนในระบบการสังเคราะห์รงควัตถุในกลุ่ม Anthocyanin เช่นเดียวกับที่พบการเปลี่ยนแปลงสีกลีบกลุ่มสีแดง เหลือง ชมพู ในเบญจมาศ (Ryu et al. 2019)



Figure 4 Flower color and petal form of *Z. 'Chinda'* (1-5), *Z. 'Double Lotus'* (6-10), and *Z. 'Dr. Tan Chiang Soo'* (11-15) after irradiated with 8 Gy. C = Control, V = Variant

นอกจากนี้พบการเกิดโคเมอราแบบ sectorial ที่ส่งผลให้บางกลีบมีสีแตกต่างกัน ใน *Z. 'Chinda'* สายต้น 50.1 รุ่น M_1V_2 (Figure 5 B) และเมื่อแยกหัวไปปลูกในรุ่น M_1V_3 พบการเปลี่ยนแปลงสีดอกเป็น 2 แบบคือ ดอกสีชมพูแซมขาวในสายต้น 50.1.1 (Figure 5 C) และดอกสีแดงแซมส้มเหลืองในสายต้น 50.1.2 (Figure 5 D) การเปลี่ยนแปลงของสีดอกเช่นนี้พบในเบญจมาศที่ได้รับรังสีแกมมาและสามารถรักษาลักษณะทั้งสองไว้ได้ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Dwivedi et al. 2000) สำหรับการทดลองครั้งนี้สามารถรักษาลักษณะของสีดอกทั้ง 2 ไว้ได้ด้วยการแยกหัวบัวดิน ซึ่งเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและเป็นการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

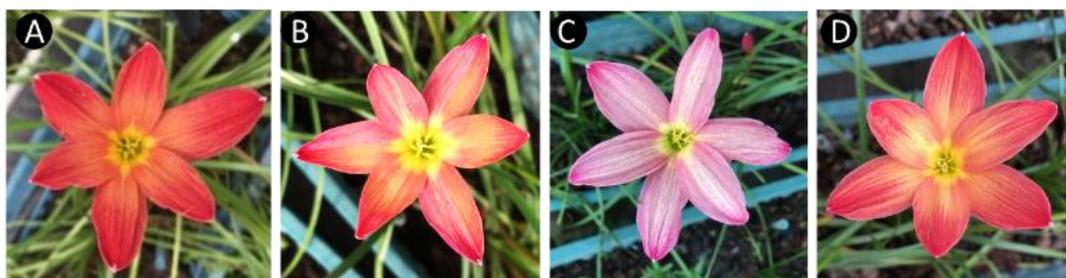


Figure 5 flower color variations from M_1V_4 of *Z. 'Chinda'* clone 50. A, wild-type; B, M_1V_3 clone 50.1 that appeared sectors of pale pink and dark red on petal; C, M_1V_4 clone 50.1.1 showing pale pink with white strip on petal, and D, M_1V_4 clone 50.1.2 showing dark red and yellow on petal.

สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของใบ *Z. 'Chinda'* รุ่น M_1V_2 ที่ได้รับปริมาณรังสี 8 เกรย์ พบลักษณะเผือก (albino) ซึ่งเจริญเติบโตได้เพียง 1 เดือนก่อนตายในระยะต่อมา นอกจากนี้ยังพบลักษณะใบต่างแถบสีขาวบริเวณขอบใบ (periclinal) ใบต่างแถบสีขาวปนแดง ใบต่างแถบสีเขียวอ่อน และใบสีเหลือง (Figure 6 B - E) ลักษณะใบต่างที่พบสามารถขยายพันธุ์ได้ด้วยการ

แยกหัวและมีความคงตัวของลักษณะต่างเมื่อตัดต่อจนถึงรุ่น M_1V_4 การเปลี่ยนแปลงของสีใบเมื่อได้รับรังสีแกมมาพบในพืชหลายชนิด เช่น ปทุมมาพันธุ์ลูกผสม (ภาคกุล และคณะ, 2563) และสับปะรดสี (มยุรี และคณะ, 2561) เป็นต้น

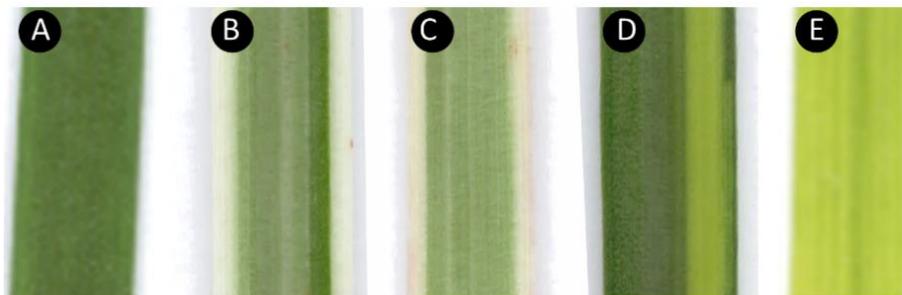


Figure 6 Somatic sectors of M_1V_4 leaf of *Z. 'Chinda'*. A, wild-type leaf; B, albina streak; C, albina streak with anthocyanin accumulation; D, yellow streak, and E, yellow leaf.

เมื่อตรวจสอบลักษณะของบัวดินที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณรังสี 8 เกรย์ และให้ลักษณะดอกที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ พบความยาวใบ ความยาวก้านช่อดอก (scape) และความยาวกลีบดอกของต้นที่มีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาส่วนใหญ่ไม่ต่างจากต้นควบคุม แต่ความยาวก้านช่อดอกของต้นกลายจากทั้ง 3 พันธุ์ มีความแปรปรวนสูงกว่าในอวัยวะอื่น ๆ นอกจากนี้พบความกว้างกลีบดอกชั้นนอกและกลีบดอกชั้นในของทุกดอกที่นำมาตรวจสอบ มีขนาดเปลี่ยนแปลงในทิศทางเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ระหว่าง 0.73 – 0.91 นอกจากนี้พบกลีบดอกมีความกว้างแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจำนวน 7 สายต้น แต่ความยาวของกลีบดอกมีความแตกต่างไปจากเดิมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเพียง 1 สายต้น เท่านั้น (Figure 7) ดังนั้นโดยภาพรวมเส้นผ่านศูนย์กลางดอกไม่เปลี่ยนแปลง การเปลี่ยนแปลงขนาดกลีบดอกที่พบในครั้งนี้อาจเกิดจากความผิดปกติของยีนที่ควบคุมการพัฒนาโครงสร้างทางกายวิภาคของดอก เช่นยีน AINTEGUMENTA (ANT) เป็นต้น (Huang and Irish, 2016)

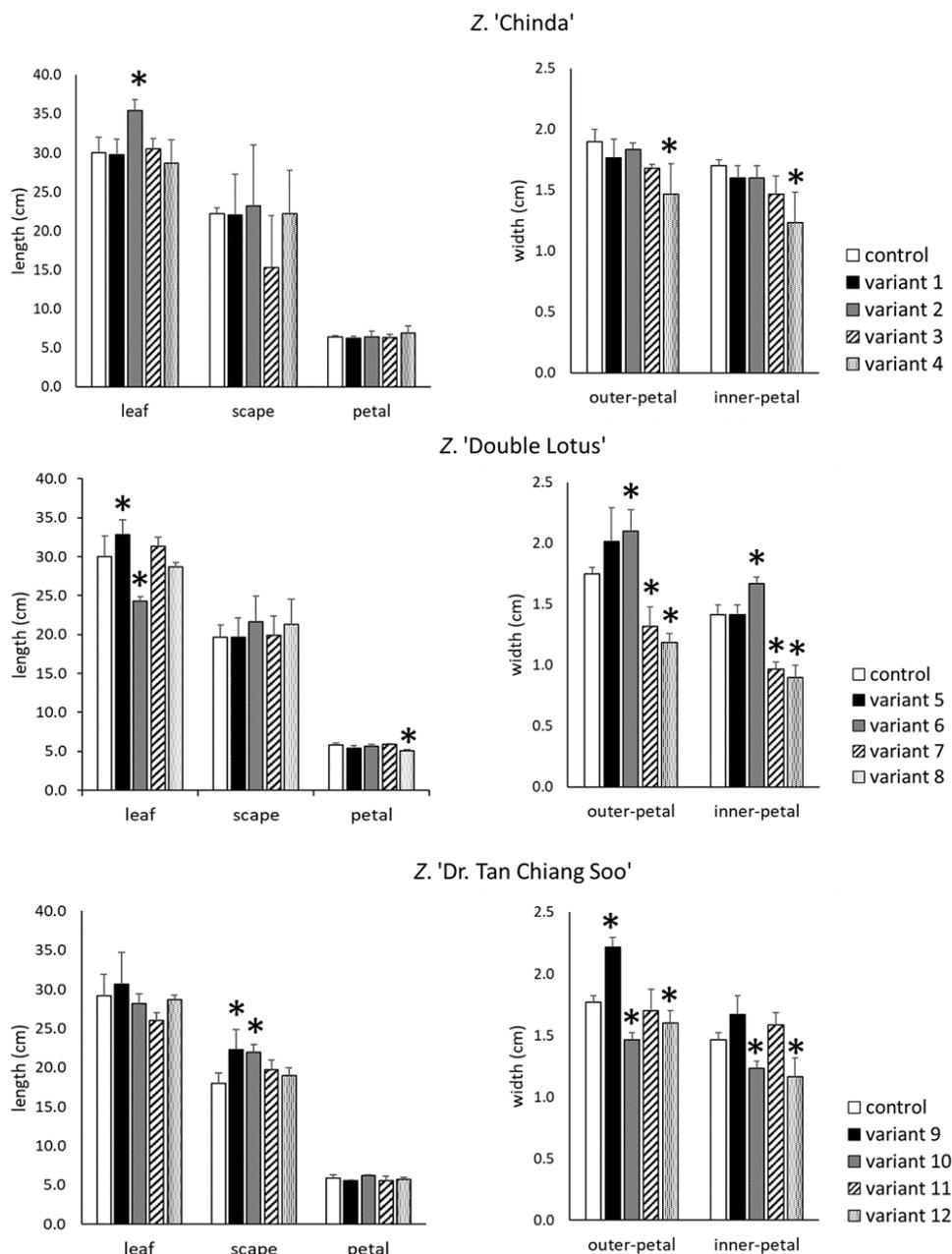


Figure 7 Comparison of M_1V_4 leaf length, scape length, and petal width of *Zephyranthes* variants. The asterisks were indicated the value that significantly different from the control ($P < 0.05$). Each point represents the mean \pm standard deviation.

การสร้างโมเดลรูปแบบโคเมอรานในหัวบัวดินรุ่น M_1V_2

จากการคัดเลือกบัวดินที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาจำนวน 4 รุ่น พบการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของดอกและใบ ซึ่งอาจเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมในระดับโครโมโซม ดีเอ็นเอ หรืออีพิจีเนติกส์ จึงใช้ข้อมูลจากลักษณะดอกที่มีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา เพื่อสร้างโมเดลรูปแบบโคเมอรานในหัวบัวดิน โดยไม่นำข้อมูลการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของใบซึ่งมีจำนวนข้อมูลน้อยมาใช้วิเคราะห์ร่วมด้วย ทำให้สามารถทำนายการพัฒนาของเซลล์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมในหัวลูกรุ่น M_1V_2 ได้ 5 รูปแบบ (Figure 8 A) คาดว่าส่วนที่มีการเปลี่ยนแปลงอยู่บริเวณเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายชั้น tunica ที่ครอบคลุมเซลล์ชั้น L1 และ L2 ซึ่งจะพัฒนาเป็นส่วนของกลีบดอกต่อไป (Jenik and Irish, 2000) โดยเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายของตาข้างที่จะพัฒนาไปเป็น

หัวลูกในรุ่น M_1V_2 อยู่ระหว่างไบเกิลด์ (bulb scale) ของรุ่น M_1V_1 เมื่อหัวลูกรุ่น M_1V_2 เจริญเติบโต ส่วนของเซลล์ที่มีการเปลี่ยนแปลงมีการเพิ่มจำนวนและพัฒนาเป็นอวัยวะที่แตกต่างกัน เนื่องจากเซลล์เหล่านี้กระจายอยู่ในตำแหน่งที่ต่างกัน ซึ่งพบรายงานในพืชหลายชนิดเช่น พืชและองุ่น (Foster and Aranzana, 2008) เช่นเดียวกับในหัวบัวดินรุ่น M_1V_2 อาจมีรูปแบบของเซลล์ที่มีการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมกระจายอยู่ทั่วหรืออาจกระจายอยู่เพียงบางส่วนของเนื้อเยื่อเจริญ โดยมีรายละเอียดดังใน Figure 8 B ประกอบด้วยแบบที่ 1 (type b) หัวรุ่น M_1V_2 พัฒนามาจากเนื้อเยื่อบริเวณ tunica ที่ได้รับผลกระทบจากรังสีแกมมาในระยะแรกของการพัฒนาของตาข้าง แล้วเกิดเป็นไคเมอราชนิด periclinal ดังนั้นชั้น L1 และ L2 ของทุกเซลล์มีลักษณะของสารพันธุกรรมที่ต่างไปจากเดิม จึงพบดอกของหัวลูกรุ่น M_1V_2 มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งลักษณะนี้จะสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นต่อไปได้ หรือบางครั้งอาจเป็นเซลล์ที่มีการเปลี่ยนแปลงกระจายตัวทั่วเนื้อเยื่อเจริญก่อนเริ่มพัฒนาเพื่อสร้างหัวลูก เมื่อหัวลูกเจริญเติบโตจึงทำให้ทุกเซลล์ในหัวลูกประกอบด้วยเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อให้ดอกจึงมีลักษณะสัณฐานวิทยาเปลี่ยนแปลงไปเสมอ สำหรับรูปแบบที่ 2 - 4 (type c - e) หัวรุ่น M_1V_2 อาจพัฒนามาจากตาข้างที่เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมปรากฏอยู่เพียงบางส่วนของเนื้อเยื่อเจริญ tunica เมื่อหัวลูกรุ่น M_1V_2 เจริญเติบโตทำให้การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกระจายอยู่บางส่วนของหัวลูก เกิดเป็นไคเมอราชนิด mericlinal ดังนั้นหัวลูกในรุ่นถัดไปจึงพบทั้งที่เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงและไม่เปลี่ยนแปลง ส่งผลให้ลักษณะของดอกที่พบภายในรุ่น M_1V_3 มีลักษณะที่ต่างกันไปแม้พัฒนามาจากหัวเดียวกัน โดยมีรายละเอียดดังนี้ รูปแบบที่ 2 (type c) เซลล์ที่สารพันธุกรรมได้รับผลกระทบเจริญไปเป็นส่วนของตาดอกของรุ่น M_1V_2 ทำให้พบลักษณะของดอกรุ่น M_1V_2 มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไป แต่หัวลูกรุ่น M_1V_3 ที่พัฒนาจากบริเวณที่เซลล์มีสารพันธุกรรมปกติจะให้ดอกที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของดอก รูปแบบที่ 3 (type d) เซลล์ที่สารพันธุกรรมได้รับผลกระทบเจริญไปเป็นเพียงบางส่วนของตาดอกของรุ่น M_1V_2 ทำให้ในหนึ่งดอกมีลักษณะกลีบดอกต่างกัน รูปแบบที่ 4 (type e) เซลล์ที่สารพันธุกรรมได้รับผลกระทบมีการเจริญไปเป็นส่วนอื่นนอกเหนือบริเวณตาดอกของรุ่น M_1V_2 จึงไม่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะของดอกในรุ่น M_1V_2 แต่จะเริ่มพบการเปลี่ยนแปลงลักษณะของดอกในรุ่น M_1V_3 และรูปแบบที่ 5 (type f) หัวรุ่น M_1V_2 มีเซลล์ที่สารพันธุกรรมได้รับผลกระทบมากกว่า 1 ตำแหน่ง และเซลล์เหล่านั้นไม่พัฒนาเป็นส่วนตาดอกของรุ่น M_1V_2 จึงเริ่มพบลักษณะดอกมีการเปลี่ยนแปลงไปในรุ่น M_1V_3 โดยดอกในรุ่นนี้อาจมีถึง 3 ลักษณะ

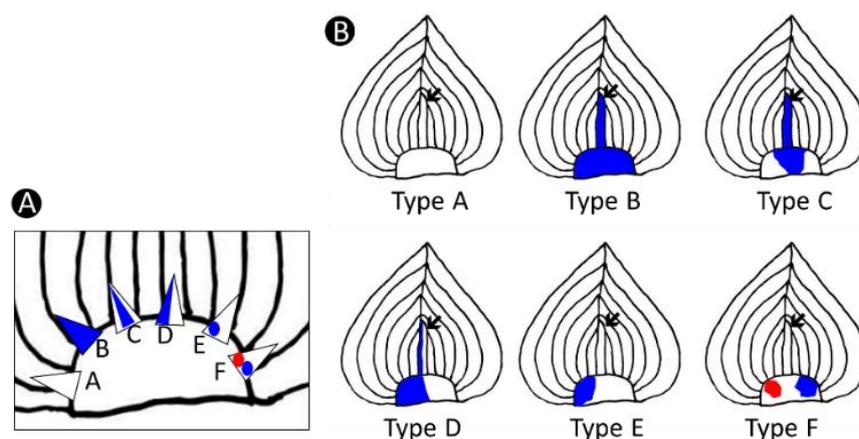


Figure 8 A proposed model for the variation pattern in bulblet of *Zephyranthes*. Chimera pattern on *Zephyranthes* bulb after irradiated with gamma ray. (A) M_1V_2 bulblet emerging from axillary apical meristem progenitor cell with different degree of competition ability between mutant cell versus normal cell. (B) M_1V_2 chimera degree that mutant cell develops to cover shoot apical meristem (type b and c), mutation cell eventually populates in part of shoot apical meristem (type d), a mutant cell which is not populated to cover the shoot apical meristem (type e-f), and wild – type (type a). Blue and red = mutant cell, \blacktriangledown = shoot apical meristem.

สรุป

ปริมาณรังสีที่เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดการกลายด้วยรังสีแกมมาในบัวดินลูกผสมพันธุ์ทางการค้า มีค่าเท่ากับ 8 เกรย์ ซึ่งเป็นระดับที่ทำให้การเจริญเติบโตหลังการฉายรังสีแกมมา 35 วัน ลดลงประมาณ 30 % โดยสามารถเพิ่มอัตราการเปลี่ยนแปลงของสีดอก รูปทรงของกลีบดอกและใบได้สูงถึง 36.6 % และรูปแบบโคเมอร่าในหัวบัวดินสามารถนำไปใช้ประกอบการคัดเลือกต้นกลายอย่างมีประสิทธิภาพในอนาคต จากข้อมูลนี้ชี้ให้เห็นว่าการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันกับหัวบัวดิน เพื่อชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะดอกที่มีความคงตัวและมีคุณค่าทางการค้า เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพและมีความเหมาะสม

คำขอขอบคุณ

การศึกษาครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ โครงการวิจัยเรื่อง การปรับปรุงพันธุ์บัวดิน (*Zephyranthes* spp.) เพื่อประโยชน์ทางการค้า (256109A1410006) และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา ที่สนับสนุนสถานที่ในการทำการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- ณัฐธิยา เกื้อทาน, ธัญญา เตชະศีลพิทักษ์, ทศไนย จารุวัฒน์พันธ์, ณัฐพงศ์ จันจุฬา, และนุชรัฐ บาลลา. 2561. อิทธิพลของการฉายรังสีแกมมาต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นแวมยูราพื้นเมืองในสภาพปลอดเชื้อ. *Thai Journal of Science and Technology*. 7: 580-587.
- ภคกุล วีระบริรักษ์, ธัญญา เตชະศีลพิทักษ์, พัฒนา สุขประเสริฐ, และอนันต์ พิริยะภัทรกิจ. 2563. ผลของรังสีแกมมาต่อลักษณะสัณฐานในปทุมมาพันธุ์ลูกผสม. *Thai Journal of Science and Technology*. 9: 243-250.
- ภิญญารัตน์ กงประโคน และนันทริยา จิตบำรุง. 2560. การใช้รังสีแกมมาชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทาง สัณฐานวิทยาในกุหลาบหนู. *แก่นเกษตร*. 45: 1296-1302.
- มยุรี ลิมติยะโยธิน, ธัญญา เตชະศีลพิทักษ์, และพีรณัฐ จอมพุก. 2561. การใช้รังสีแกมมาเหนี่ยวนำให้กลายพันธุ์ในเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง สับปะรดสี. *แก่นเกษตร*. 46: 983-990.
- รัตนภรณ์ เกิดเจริญ. 2555. การชักนำบัวดินให้กลายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อโดยรังสีแกมมาและสารโคลชิซิน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.
- วุฒิพงษ์ แป้งใจ. 2561. ผลของวิธีการตัดแบ่งและการฆ่าต่อการขยายพันธุ์บัวดิน (*Zephyranthes* 'Bangkok Yellow'). *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*. 49 (พิเศษ): 433-436.
- สุพิชชา สิทธิชัยสุข, ธัญญา เตชະศีลพิทักษ์, พีรณัฐ จอมพุก, และณัฐพงศ์ จันจุฬา. 2560. ผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อต้นลินเดอร์เนียในสภาพปลอดเชื้อ. *Thai Journal of Science and Technology*. 7: 158-168.
- สุเทพวิฑูดี ตักเตือน, ธัญญาเตชະศีลพิทักษ์, พัฒนา สุขประเสริฐ, อนันต์ พิริยะภัทรกิจ, และนุชรัฐ บาลลา. 2561. ผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อบานไม่รู้โรยลูกผสมพันธุ์กลายในสภาพปลอดเชื้อ. *Thai Journal of Science and Technology*. 7: 605-613.
- AAT Bioquest, Inc. 2019. Quest Graph™ LD₅₀ calculator. Available: <https://www.aatbio.com/tools/ld50-calculator>. Accessed Aug. 1, 2019.
- Blagojevic, D., Y. Lee, D. A. Brede, O. C. Lind, I. Yakovlev, K. A. Solhaug, C. G. Fossdal, B. Salbu, and J. E. Olsen. 2019. Comparative sensitivity to gamma radiation at the organismal, cell and DNA level in young plants of Norway spruce, Scots pine and *Arabidopsis thaliana*. *Planta*. 250: 1567-1590.
- Choi, S. H., T. H. Ryu, J. I. Kim, S. Lee, S. S. Lee, and J. H. Kim. 2019. Mutation in DDM1 inhibits the homology directed repair of double strand breaks. *PLoS One*. 14: e0211878.

- Chowdhury, M.R., and J. Hubstenberger. 2006. Evaluation of cross pollination of *Zephyranthes* and *Habranthus* species and hybrids. *Journal of the Arkansas Academy of Science*. 60: 113-118.
- Datta, S. K. 2012. Success story of induced mutagenesis for development of new ornamental varieties. *Biorem. Biodiv. Bioavail.* 6: 15-26.
- Dwivedi, A. K., B. K. Banerji, D. Chakrabarty, A. K. A. Mandal, and S. K. Datta. 2002. Gamma ray induced new flower colour chimera and its management through tissue culture. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 70: 853-855.
- Felix, W. J. P., L. P. Felix, N. F. Melo, M. B. M. Oliveira, J. H. A. Dutilh, and R. Carvalho. 2011. Karyotype variability in species of the genus *Zephyranthes* Herb. (Amaryllidaceae–Hippeastreae). *Plant Systematics and Evolution*. 294: 263-271.
- Hanafy, R. S., and S. A. Akladios. 2018. Physiological and molecular studies on the effect of gamma radiation in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) plants. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 16: 683-692.
- Foster, T. M., and M. J. Aranzana. 2018. Attention sports fans! The far-reaching contributions of bud sport mutants to horticulture and plant biology. *Horticulture Research*. 5: 1-13.
- Huang, T., and V. F. Irish. 2016. Gene networks controlling petal organogenesis. *Journal of Experimental Botany*. 67: 61-68.
- IAEA. 2019. FAO/IAEA mutant variety database. Available: <https://mvd.iaea.org>. Accessed Aug. 19, 2019.
- Jenik, P. D., and V. F. Irish. 2000. Regulation of cell proliferation patterns by homeotic genes during *Arabidopsis* floral development. *Development*. 127: 1267-1276.
- Katoch, D., and B. P. Singh. 2015. Phytochemistry and pharmacology of genus *Zephyranthes*. *Medicinal & Aromatic Plants*. 4: 212.
- Kumari, K., K. K. Dhatt, and M. Kapoor. 2013. Induced mutagenesis in *Chrysanthemum morifolium* variety 'Otome Pink' through gamma irradiation. *Bioscan*. 8: 1489-1492.
- Lee, S. I., J. W. Park, S. J. Kwon, Y. D. Jo, M. J. Hong, J. B. Kim and H. I. Choi. 2020. Epigenetic variation induced by gamma rays, DNA methyltransferase inhibitors, and their combination in rice. *Plants*. 9: 1088.
- Marta, F. 2005. Breeding of rainlilies. *Bulbs*. 7: 25-32.
- Pallavi, B., S. K. Nivas, L. D. Souza, T. R. Ganapathi, and S. Hegde. 2017. Gamma rays induced variations in seed germination, growth and phenotypic characteristics of *Zinnia elegans* var. Dreamland. *Advances in Horticultural Science*. 31: 267-273.
- Rochanabanthit, P., and P. Jompuk. 2014. Effects of chronic gamma irradiation on shallot chromosomes (*Allium Ascalonicum* linn). *Journal of Agricultural and Biological Science*. 9: 367-374.
- Ryu, J., B. Nam, B. R. Kim, S. H. Kim, Y. D. Jo, J. W. Ahn, J. B. Kim, C. H. Jin, and A. R. Han. 2019. Comparative analysis of phytochemical composition of gamma-irradiated mutant cultivars of *Chrysanthemum morifolium*. *Molecules*. 24: 3003.
- Sahariya, K., R. A. Kaushik, R. Khan, and D. Sarolia. 2017. Influence of gamma irradiation on flowering of gladiolus (*Gladiolus hybrida* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 6: 1362-1368.
- Schum, A. 2003. Mutation breeding in ornamentals: an efficient breeding method?. *Acta Horticulturae*. 612: 47-60.

- Soliman, T. M. A., L. Suhui, H. Yang, B. Hong, N. Ma, and L. Zhao. 2014. Isolation of flower color and shape mutations by gamma radiation of *Chrysanthemum morifolium* Ramat cv. Youka. *Euphytica*. 199: 317-324.
- Sparrow, A. H., S. S. Schwemmer, and P. J. Bottino. 1971. The effects of external gamma radiation from radioactive fallout on plants with special reference to crop production. *Radiation Botany*. 11: 85-118.
- Takahashi, N., N. Ogita, T. Takahashi, S. Taniguchi, M. Tanaka, M. Seki, and M. Umeda. 2019. A regulatory module controlling stress-induced cell cycle arrest in *Arabidopsis*. *Elife*. 8: e43944.
- Tan, C., X. Q. Zhang, Y. Wang, D. Wu, M. I. Bellgard, Y. Xu, X. Shu, G. Zhou and C. Li. 2019. Characterization of genome-wide variations induced by gamma-ray radiation in barley using RNA-Seq. *BMC genomics*. 20: 783.
- Tapia-Campos, E., J. M. Rodríguez-Domínguez, M. M. Revuelta-Arreola, J. M. Van Tuyl, and R. Barba-González. 2012. Mexican geophytes II. The genera *Hymenocallis*, *Sprekelia* and *Zephyranthes*. *Floriculture Ornamental Biotech*. 6: 129-139.