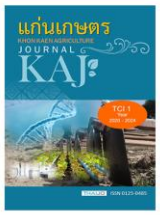
วารสารแก่นเกษตร THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj



การปรับปรุงพันธุ์เบญจมาศโดยชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมา

Chrysanthemum breeding by mutation using gamma radiation

นุชรัฐ บาลลา[1], ณัฐพงศ์ จันจุฬา[2]*, วิชัย ภูริปัญญวานิช[3], ละมัย ใหม่แก้ว[3], มยุรี ลิมติยะโยธิน[3], สุรกานต์ โพธิ์แก้ว[2], กัญญารัตน์ วันนา[2], ศิริญยา คาชิมา[2], นฤตยา นันยา[2] และ ชาตรี กอนี[2]

Nutcharat Balla[1], Nattapong Chanchula[2]*, Vichai Puripunyavanich[3], Lamai Maikaeo[3], Mayuree Limtiyayotin[3], Surakarn Pokaew[2], Kanyarat Wanna[2], Sirinya Kashima[2], Naritaya Nunya[2] and Chatree Konee[2]

[1] *คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 13180*
[1] *Faculty of Agricultural Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under Royal Patronage, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathumthani 13180*
[2] *ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมเกษตรสร้างสรรค์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) เทคโนธานี ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120*
[2] *Expert Center of Innovative Agriculture, Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR), Technopolis, Khlong Ha, Khlong Luang, Pathumthani 12120*
[3] *ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีนิวเคลียร์ สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) จ.นครนายก 26120*
[3] *Nuclear Technology Research and Development Center, Thailand Institute of Nuclear Technology (Public Organization), Nakhon Nayok 26120*

บทคัดย่อ: เบญจมาศ (*Dendranthema grandiflorum* (Ramal.) Kitam.) เป็นไม้ดอกไม้ประดับที่ได้รับความนิยมและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากมีรูปทรงที่สวยงาม สีสันสดใส ปลูกเลี้ยงง่าย สามารถออกดอกได้ตลอดทั้งปี นิยมปลูกไว้เพื่อประดับตกแต่งสวน จึงจำเป็นต้องได้รับการปรับปรุงพันธุ์อย่างสม่ำเสมอ เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคและสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงไป โดยการศึกษาวิธีการปรับปรุงพันธุ์เบญจมาศผ่านการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมา โดยใช้ชิ้นส่วนยอดของเบญจมาศพันธุ์ CH-09 ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เป็นเวลา 30 วัน ใช้ปริมาณรังสี 3 ระดับ ได้แก่ 0, 25 และ 50 เกรย์ พบว่า ปริมาณรังสีที่เหมาะสมทำให้รอดชีวิตที่ 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 22.5 เกรย์ จากนั้นทดสอบในเบญจมาศ 5 พันธุ์ คือ CH-09, CH-67, JP-01, JP-02 และ JP-04 พบว่า ทุกพันธุ์ที่ได้รับรังสีแกมมาปริมาณ 20 เกรย์ มีอัตราการรอดชีวิตสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งส่งผลทำให้ต้นเบญจมาศพันธุ์ CH-09 และ CH-67 มีความสูงเพิ่มขึ้น และสามารถเพิ่มจำนวนข้อในต้นพันธุ์ JP-04 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนผลของรังสีแกมมาต่อการกลายของดอกเบญจมาศภายหลังปลูกทดสอบ พบว่า ทุกต้นสามารถออกดอกได้ และพบการเปลี่ยนแปลงลักษณะดอกในพันธุ์ CH-09 เท่านั้น โดยสามารถแยกความแตกต่างพันธุ์กลายได้ทั้ง 3 พันธุ์ 1) วว-สทน. 01 (TISTR – TINT 01) ดอกเป็น bicolor กลีบดอกย่อยวงในสีเหลือง กลีบย่อยวงนอกสีชมพูอ่อนขลิบขาว, 2) วว-สทน. 02 (TISTR – TINT 02) สีดอกเป็น tricolor กลีบดอกย่อยวงในเป็นสีเหลือง กลีบย่อยกลางเป็นสีชมพูอ่อนขลิบเหลือง กลีบย่อยวงนอกเป็นสีชมพูอ่อน และ 3) วว-สทน. 03 (TISTR – TINT 03) มีลักษณะที่โดดเด่นต่างจากรหัสอื่นสีดอกเป็นแบบ tricolor กลีบดอกย่อยวงในเป็นสีเหลือง กลีบย่อยกลางเป็นสีเหลืองอ่อนออกขาว ส่วนกลีบ ย่อยวงนอกเป็นสีชมพู ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์เบญจมาศด้วยรังสีแกมมา เป็นวิธีที่สามารถนำไปใช้พัฒนาปรับปรุงพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพิ่มความหลากหลายของสายพันธุ์สู่ระบบการผลิตไม้ดอกเบญจมาศในอนาคต

คำสำคัญ: เบญจมาศ; รังสีแกมมา; การปรับปรุงพันธุ์

* Corresponding author: lorchula@gmail.com

Received: date; July 21, 2022 Accepted: date; April 7, 2023 Published: date

ABSTRACT: Chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum* (Ramal.) Kitam.) is among the more popular and economically important flower. Because of an attractive flower with good form, colorful flowers, easy to grow and can bloom all year, it is often used in landscaping. Therefore, need to be breeding regularly to introduce interesting new cultivars that are attractive to consumers and are more resilient to changing climatic conditions. In this study, gamma radiation was used to induce mutations in *C. morifolium*. First, cuttings incubated on MS medium in tissue culture for 30 days, were irradiated with acute doses of gamma radiation at 0, 25 and 50 grays in order to select the appropriate dose that resulted in 50% lethality/50% survival (the LD50). It was found that gamma radiation at 22.5 grays gave the desired result. Cuttings of five chrysanthemum varieties, CH-09, CH-67, JP-01, JP-02 and JP-04, were irradiated at 20 grays of gamma radiation and the survival rate was 100%. The irradiated plants of cultivar CH-09 and CH-67 grew significantly taller than control plants, and irradiated plants of cultivar JP-04 had significantly more branches than others. At flowering stage, mutations were only observed in cultivar CH-09. Three new mutations were selected: 1) TISTR - TNT01, a bicolor chrysanthemum with yellow inner petals surrounded by pale pink to white outer petals, 2) TISTR - TINT02, with yellow inner petals, a middle section of light pink with yellow rimmed petals and an outer rim of light pink petals, and 3) TISTR - TINT03, which was a more distinctive tricolor flower with yellow inner petals, and a lighter yellow to white section of middle petals, surrounded by an outer rim of pink petals. These findings reinforce the notion that gamma radiation is an effective technique for inducing mutations in chrysanthemum.

Keywords: *Chrysanthemum morifolium*; gamma ray; breeding

บทนำ

เบญจมาศ (*Dendranthema grandiflorum* (Ramal.) Kitam.) อยู่ในวงศ์ Asteraceae นิยมปลูกเป็นไม้ตัดดอกซึ่งมีปริมาณการผลิตและมูลค่าการจำหน่ายสูงเป็นอันดับ 2 ของโลก รองจากกุหลาบ (Susila et al., 2019) ประเทศเนเธอร์แลนด์เป็นผู้ผลิตเบญจมาศรายสำคัญของกลุ่มประเทศยุโรป มีส่วนแบ่งในตลาดมากถึง 85 เปอร์เซ็นต์ และยังผู้ส่งออกรายใหญ่ของโลก (สุภาพร และอำนวย, 2563) สำหรับประเทศไทยมีการปลูกเบญจมาศมานาน สามารถปลูกได้ทุกในทุกภูมิภาคของประเทศไทย แหล่งผลิตเดิมอยู่ที่จังหวัดทางภาคเหนือโดยเฉพาะจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย แต่ปัจจุบันมีการผลิตมากที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (สุภาพร และอำนวย, 2563) โดยในปี 2564 ประเทศมีเกษตรกรที่ผลิตเบญจมาศตัดดอก จำนวน 163 คน ในพื้นที่ 549.06 ไร่ มีรายได้สุทธิเฉลี่ย 117,970 บาท/ไร่/ปี (สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร, 2565) ปัจจุบันพบว่าพื้นที่การปลูกเบญจมาศและคุณภาพของผลผลิตลดลง อีกทั้งเกษตรกรขาดแคลนเบญจมาศสายพันธุ์ใหม่ๆ (พฤกษ์ และคณะ, 2563; สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร, 2565) ทำให้ต้องมีการนำเข้าเบญจมาศจากต่างประเทศเพิ่มขึ้นทุกปี ในปี 2564 ประเทศไทยนำเข้าเบญจมาศ 4,512.3 ตัน คิดเป็นมูลค่า 345.8 ล้านบาท (สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร, 2565)

การปรับปรุงพันธุ์เบญจมาศเพื่อให้ได้ปริมาณและมีคุณภาพจำเป็นต้องมีสายพันธุ์ที่เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ โดยเฉพาะเกษตรกรต้องการเบญจมาศที่มีความหลากหลาย อีกทั้งต้องการพันธุ์เบญจมาศกระถางที่จะเป็นสินค้าชนิดใหม่ในอนาคต และผู้บริโภคไม้ดอกไม้ประดับมักมีความนิยมและความต้องการลักษณะที่แปลกใหม่อยู่ตลอดเวลา ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์เบญจมาศนอกจากจะปรับปรุงพันธุ์ให้ตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคแล้ว ยังต้องมีการปรับปรุงพันธุ์เพื่อตอบสนองต่อสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงไป โดยเฉพาะสายพันธุ์ทนร้อน ต้านทานโรค แมลง (พันทิพา และคณะ, 2560) การปรับปรุงพันธุ์โดยการใช้รังสีชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์เป็นอีกหนึ่งวิธีที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชให้ได้สายพันธุ์ใหม่ๆ ที่ดีขึ้น (กษิดิ์เดช และ ณัฐพงศ์, 2563) และมีรายงานว่าสามารถเพิ่มโอกาสของการกลายพันธุ์ให้มากขึ้น (Lamseejan et al., 2000) ปัจจุบันเทคนิคการฉายรังสีจึงนิยมนำมาใช้สำหรับชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์เพื่อสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมพืชเป็นอย่างมาก (Zhu et al., 2008) โดยรังสีที่นิยมใช้เพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืชคือรังสีแกมมา เนื่องจากสามารถก่อให้เกิดปฏิกิริยาในเซลล์และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเกิดขึ้นกับโครโมโซม เช่น การเกิด break, bridges, inversion, translocation, deletion, micronucleus เป็นต้น (Jain, 2005; Lee et al., 2008) ส่งผลให้ดีเอ็นเอสายคู่เกิดการแตกหักและกลับมาเชื่อมต่อกันอีกครั้งอย่างผิดปกติส่งผลให้โครโมโซมเกิดการจัดเรียงแตกต่างจากเดิม นำไปสู่การกลายพันธุ์หรือการตายของเซลล์ ซึ่งจะส่งผลต่อการแสดงออกของลักษณะสัณฐานวิทยา กายวิภาค ชีวเคมี และสรีรวิทยาของพืชที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ยังขึ้นกับระดับรังสีที่ใช้ด้วย จากรายงานวิจัยของ พันทิพา และคณะ (2560) มีการใช้รังสีแกมมาชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทาง

สัณฐานวิทยาในต้นเบญจมาศสายพันธุ์การค้า โดยนำข้อของเบญจมาศ ไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 0, 5, 10, 15 20, 25 และ 30 เกรย์ พบว่าโดยเบญจมาศที่ฉายรังสี 5 และ 10 เกรย์ มีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าต้นเบญจมาศที่ได้รับรังสีปริมาณ 15, 20 และ 25 เกรย์ บางต้นมีการการกลายของสีดอก เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Wu et al. (2019) ทำการทดลองฉายรังสีแกมมากับรากของเบญจมาศ สายพันธุ์ Pinkling พบว่า มีจำนวนกลีบดอก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกลีบเลี้ยง และสีดอกที่เปลี่ยนแปลงไป

งานวิจัยนี้คณะผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนาให้ได้พันธุ์ใหม่ๆ โดยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาและทำการคัดเลือกพันธุ์กลายที่เหมาะสม เพื่อตอบสนองความต้องการของตลาด (Susila et al., 2019) และเหมาะสมกับสภาพพื้นที่ ลดการนำเข้าเบญจมาศจากต่างประเทศ เพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตเบญจมาศให้เกษตรกร อีกทั้งเป็นการเพิ่มรายได้และลดต้นทุนการผลิต

วิธีการศึกษา

การเตรียมชิ้นส่วนพืช

นำเนื้อเยื่อจากแผ่นใบ และข้อ ของเบญจมาศพันธุ์แนะนำจากโครงการหลวงขุนวาง จังหวัดเชียงใหม่ ที่มีความสมบูรณ์ไม่มีโรคและแมลงติดมา ล้างน้ำให้สะอาดโดยใช้น้ำยาล้างจาน จากนั้นให้น้ำไหลผ่านเป็นเวลา 30 นาที ฟอกด้วย Ethyl alcohol ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ในตู้ปลอดเชื้อ ตามด้วย Sodium hypochlorite ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ร่วมด้วย Tween-20 จำนวน 2 หยด เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 5 นาที 3 ครั้ง โดยเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น (Agar Agar powder, China) 8 กรัมต่อลิตร ปรับค่า pH ที่ 5.7 เพาะเลี้ยงในสภาพแสง 50 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดยอด จากนั้นตัดยอดชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตรเดิมเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยทำการขยายต้นพันธุ์เบญจมาศให้เพียงพอสำหรับใช้ในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์

การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์

นำต้นเบญจมาศที่เตรียมไว้ข้างต้นโดยคัดเลือกต้นที่มีขนาดประมาณ 3.81 เซนติเมตร ไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันด้วยเครื่องฉายรังสีของศูนย์บริการฉายรังสี สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) โดยใช้ปริมาณรังสี 3 ระดับ เป็นกรรมวิธีในการทดลอง ได้แก่ 0, 25 และ 50 เกรย์ จำนวนกรรมวิธีละ 100 ต้น เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ฉายรังสี แล้วนำต้นที่ผ่านการฉายรังสีมาเพาะเลี้ยงลงบนอาหารสูตรเดิม เป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกผลจำนวนต้นที่รอดชีวิต เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต และคำนวณค่า LD_{50} หรือ Critical Dose ที่เหมาะสม รวมถึงตรวจสอบความสูงต้น (มิลลิเมตร) นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี One-way ANOVA ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ completely randomized design (CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดลองด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ SPSS version 16.0

เมื่อหาปริมาณการฉายรังสีแกมมาที่เหมาะสมกับสภาพเนื้อเยื่อเบญจมาศได้แล้ว นำปริมาณรังสีที่เหมาะสมมาชักนำการกลายพันธุ์ในเบญจมาศ 5 พันธุ์ คือ CH-09, CH-67, JP-01, JP-02 และ JP-04 เนื่องจากเป็นพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือกจากเกษตรกรผู้ปลูกในจังหวัดนครราชสีมา โดยพบว่ามีความสามารถในการออกดอกได้ในช่วงฤดูร้อน บันทึกผลการทดลอง ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ความสูงของต้น จำนวนข้อ การแตกใหม่ และจำนวนใบต่อต้น นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี One-way ANOVA ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ completely randomized design (CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดลองด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ SPSS version 16.0

ทดสอบปลูกเบญจมาศภายหลังการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์

ทดสอบปลูกเบญจมาศที่ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์เปรียบเทียบกับพันธุ์ตั้งต้นในแปลงทดลอง โดยทำการย้ายปลูกต้นเบญจมาศที่ได้จากการฉายรังสีในสภาพปลอดเชื้อ (tissue culture) นำต้นที่มีรากสมบูรณ์ออกปลูกในสภาพธรรมชาติ ลงในวัสดุปลูกที่สะอาด (พีทมอส) หลังจากนั้น 1 เดือน ย้ายลงกระถางขนาด 4 นิ้ว บันทึกผลการเจริญเติบโตทุกเดือน เป็นระยะเวลา 4 เดือน จนกระทั่งออกดอก และทำการเปรียบเทียบกับพันธุ์ตั้งต้น (ไม่ได้ฉายรังสี) โดยเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของเบญจมาศ ได้แก่ ความสูงต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ ความกว้างของทรงพุ่ม จำนวนข้อ ขนาดของดอก นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธีเปรียบเทียบแบบจับคู่สิ่งทดลอง Compare means ด้วย paired samples T- test โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ SPSS version 16.0 จากนั้นตรวจสอบผลของรังสีต่อการกลายของดอกเบญจมาศ หลังจากทำการปลูกทดสอบในพื้นที่ทดสอบพันธุ์เบญจมาศจนถึงระยะออกดอก ทำการคัดเลือกพันธุ์กลายแยกความแตกต่างจากลักษณะและสีของดอก รวมถึงลักษณะใบ โดยเปรียบเทียบกับพันธุ์ตั้งต้น

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของรังสีต่อการรอดชีวิตและความสูงของเบญจมาศในสภาพปลอดเชื้อ

จากการนำต้นเบญจมาศไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสีแตกต่างกันคือ 25 และ 50 เกรย์ นำต้นที่ผ่านการฉายรังสีมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS จากนั้นคำนวณหาปริมาณรังสีที่ทำให้ต้นเบญจมาศรอดชีวิตที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) และความสูงต้นเบญจมาศที่อายุ 30 วัน เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ฉายรังสี (ต้นควบคุม) พบว่า เมื่อฉายรังสีที่ปริมาณ 25 และ 50 เกรย์ ต้นเบญจมาศมีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 46.66 และ 36.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ต้นควบคุมที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมามีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยความสัมพันธ์ของปริมาณรังสีที่ทำให้ต้นเบญจมาศรอดชีวิตที่ 50 เปอร์เซ็นต์มีค่าเท่ากับ 22.5 เกรย์ **(Figure 1)** จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าปริมาณรังสีที่สูงขึ้นมีผลทำให้อัตราการรอดชีวิตของต้นเบญจมาศลดลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lamseejan et al. (2000) ได้ศึกษาผลของรังสีแกมมาในการเพาะเลี้ยงเบญจมาศในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า ต้นที่ได้รับปริมาณรังสีแกมมาที่ 50 เกรย์ ขึ้นไปไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ และตายในที่สุด อาจเกิดขึ้นเนื่องจากรังสีทำให้อะตอมต่าง ๆ ภายในเซลล์เกิดแตกตัวเป็นไอออนและเกิด chemical radicals ที่ไวต่อการทำปฏิกิริยาก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีภายในเซลล์ การทำหน้าที่ต่าง ๆ ของเซลล์ลดลง และทำให้เซลล์ถูกทำลาย หรือเกิดการแบ่งเซลล์ที่ผิดปกติ หากเกิดขึ้นมากหรือรุนแรงก็จะทำให้พืชตายได้ (Kikuchi et al., 1995) นอกจากนี้ยังพบว่าการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณ 25 และ 50 เกรย์ กับต้นเบญจมาศ มีผลทำให้การเจริญเติบโตด้านความสูงต้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับการฉายรังสี โดยมีการเจริญเติบโตด้านความสูงต้นเฉลี่ยเท่ากับ 12.05±1.67 และ 10.00±1.25 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนเบญจมาศที่ไม่ฉายรังสีมีความสูงเท่ากับ 33.33±2.95 มิลลิเมตร เนื่องจากผลของรังสีทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวน หรือ โครงสร้างของโครโมโซม หรือเกิดการเชื่อมแบบกลับทิศหรือสลับคู่ระหว่างโครโมโซมต่างคู่กัน (translocation) ทำให้สิ่งมีชีวิตนั้น ๆ เกิดการกลายพันธุ์ได้ (Shikazono et al., 2003) และ Kovalchuk et al. (2007) ยังกล่าวว่ารังสีมีผลต่อการเจริญเติบโต และการพัฒนาของพืช หากให้รังสีในปริมาณต่ำก็จะกระตุ้น การเจริญเติบโตและการพัฒนา แต่ถ้าได้รับปริมาณรังสีสูงขึ้นจะเกิดความเสียหายได้ ดังนั้นปริมาณรังสีที่เหมาะสมต่ออัตราการรอดชีวิตมากขึ้นและความสูงของต้นเบญจมาศควรมีปริมาณที่ต่ำกว่า 22.5 เกรย์

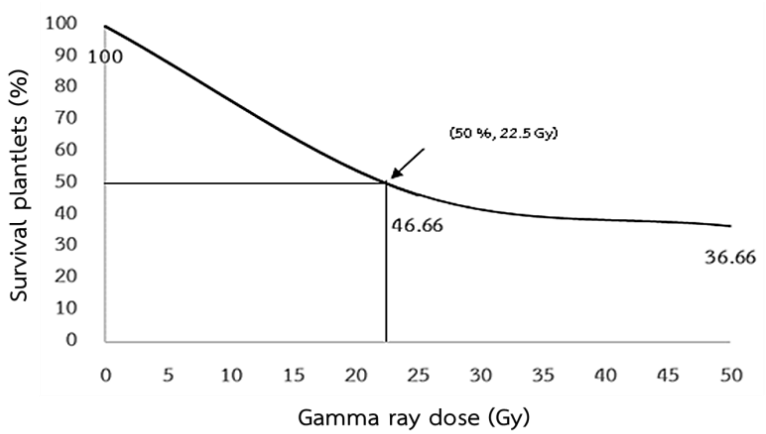


Figure 1 The survival of in vitro chrysanthemum plants and LD_{50} after irradiation with gamma ray and cultured on MS medium for 30 days

ผลของรังสีต่อการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นเบญจมาศในสภาพปลอดเชื้อ

หลังจากศึกษาหาปริมาณรังสีที่ทำให้ต้นเบญจมาศรอดชีวิตที่ 50 เปอร์เซ็นต์ ได้เท่ากับ 22.5 เกรย์ ทำให้ทราบถึงปริมาณรังสีที่มีแนวโน้มที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาเพื่อชักนำเบญจมาศ ได้แก่ปริมาณรังสีที่ 20 เกรย์ และ 50 เกรย์ โดยทดสอบในเบญจมาศทั้งหมด 5 พันธุ์ คือ CH-09, CH-67, JP-01, JP-02 และ JP-04 ผลการทดลองพบว่า เบญจมาศทุกพันธุ์ที่ได้รับรังสีแกมมาปริมาณ 20 เกรย์ มีอัตราการรอดชีวิตสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการรอดชีวิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุม หลังจากได้รับรังสีที่ปริมาณ 50 เกรย์ พันธุ์ CH-09, CH-67, JP-01, และ JP-04 มีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 75.00±2.50, 76.67±2.89, 62.50±12.5 และ 70.00±18.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ **(Table 1)** ในขณะที่เบญจมาศพันธุ์ JP-02 ไม่สามารถทนต่อรังที่ปริมาณ 50 เกรย์ จึงมีผลทำให้ต้นหยุดการเจริญและตายในที่สุด **(Figure 2; 3d)** เนื่องจากพืชแต่ละพันธุ์มีความไวต่อรังสีแตกต่างกันไป ดังรายงานของ Setia et al. (2020) ทำการฉายรังแกมมาในเบญจมาศ 2 พันธุ์ คือ Thiching Queen และ Purnima ในปริมาณรังสีปริมาณเท่ากัน พบว่าปริมาณรังสีที่ 20 เกรย์ สำหรับพันธุ์ Thiching Queen มีอัตราการรอดชีวิต เท่ากับ 43.83% และในพันธุ์ Purnima พบว่าปริมาณรังสีที่ 15 เกรย์ มีอัตราการรอดชีวิต เท่ากับ 44.41% ซึ่งถูกกำหนดให้เป็นค่า LD_{50} ที่เหมาะสม จะเห็นได้ว่าความไวต่อรังสีต่างกันแม้อยู่ในวงศ์เดียวกัน โดยลักษณะความไวหรือความต้านทานต่อรังสีขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยที่เป็นองค์ประกอบภายในของเซลล์พืชและส่วนหนึ่งถูกควบคุมโดยยีนที่สามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ หากชนิดและจำนวนของยีนที่เกี่ยวข้องได้รับความเสียหายหรือเกิดความผิดปกติมากเกินไปจึงทำให้พืชไม่สามารถรอดชีวิตได้ (พันทิพา และคณะ, 2560)

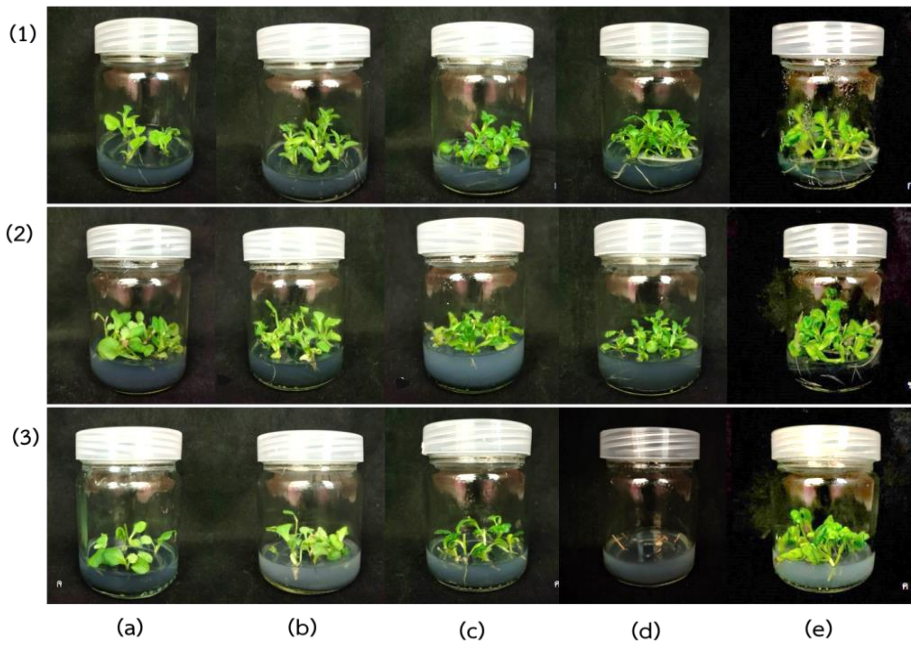


Figure 2 *In vitro* chrysanthemum 5 cultivar at 30 days: (1) control; (2) irradiation with 20 Gy; (3) irradiation with 50 Gy; (a) CH-09 strain; (b) CH-67 strain; (c) JP-01 strain; (d) JP-02 strain and (e) JP-04 strain

ในส่วนของปริมาณรังสีที่มีผลต่อการเจริญเจริญเติบโตของต้นเบญจมาศหลังจากการฉายรังสี นำไปเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่อายุ 30 วัน จากการตรวจสอบการเจริญเติบโตของเบญจมาศที่พบว่า ปริมาณรังสีมีผลทำให้ความเจริญเติบโตของเบญจมาศเปลี่ยนแปลงไป โดยปริมาณรังสีที่ 50 เกรย์ ส่งผลให้ความสูงต้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกพันธุ์ **(Table 1)** สอดคล้องกับ พีรนุช และคณะ (2544) ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์เบญจมาศพันธุ์ Reagan Dark Splend ด้วยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้รังสีแกมมาแบบเฉียบพลันปริมาณ 30 เกรย์ พบว่าต้นที่ได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันมีความสูงเฉลี่ยน้อยกว่าต้นที่ไม่ได้รับรังสี อาจเนื่องจากรังสีมีผลทำให้เกิดความเสียหายขึ้นในเซลล์ต่าง ๆ ภายในพืชที่กำลังพัฒนาหรือกำลังแบ่งตัวนั้นถูกทำลาย อีกทั้งยังส่งผลต่อการพัฒนาจำนวนข้อ (nodes) ในพันธุ์ JP-04 และจำนวนใบ พันธุ์ CH-09, CH-67 และ JP-01 มีจำนวนน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุม และส่งผลทำให้ต้นพันธุ์ JP-05 ตาย สอดคล้องกับ สุพิชชา และคณะ (2561) กล่าวว่าโดยส่วนใหญ่รังสีแกมมาในปริมาณสูงก่อให้เกิดผลกระทบเชิงลบต่อการเจริญเติบโตของพืช เนื่องจากรังสีส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาขัดขวางกระบวนการเมแทบอลิซึมทำให้กิจกรรมต่าง ๆ ภายในเซลล์ไม่สามารถดำเนินไปอย่างปกติได้ หรือมีประสิทธิภาพต่ำลง (Wang et al., 2020)

ในขณะที่รังสีปริมาณ 20 เกรย์ ส่งผลทำให้ต้นเบญจมาศพันธุ์ CH-09 และ CH-67 มีความสูงเพิ่มขึ้น และยังสามารถเพิ่มจำนวนข้อในต้นพันธุ์ JP-04 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทางกลับกันรังสีแกมมาที่ปริมาณ 20 เกรย์ มีผลทำให้จำนวนข้อและการแตกใหม่ลดลงในพันธุ์ JP-02 แต่ไม่มีผลในพันธุ์อื่นๆ จากผลการทดสอบจะเห็นได้ว่ารังสีแกมมามีผลต่อความสูงของต้นเบญจมาศมากกว่าการเจริญด้านอื่นๆ โดยความสูงแปรผกผันกับปริมาณรังสีที่ได้รับ หากรังสีมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นความสูงของต้นจะลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าต้นเบญจมาศพันธุ์ JP-02 เป็นพันธุ์ที่ไวต่อรังสีแกมมาและเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอมากกว่าพันธุ์อื่นอีก 4 พันธุ์

Table 1 Survival rate and growth rate of 5 cultivars of in vitro chrysanthemum at 30 days after gamma irradiation

Cultivar	Gamma ray dose (Gy)	Survival plants (%)	Stem height (cm)	Node number (Node/plant)	New shoot growth (cm)	Number of leaves (leaf/plant)
CH-09	Control	100.00±0.00^{a}	1.44±0.15^{b}	2.33±0.00	1.33±0.58	4.67±0.58^{a}
	20	100.00±0.00^{a}	1.92±0.25^{a}	2.67±1.15	1.33±0.58	5.00±0.73^{a}
	50	75.00±2.50^{b}	1.03±0.14^{c}	2.00±0.58	1.00±0.00	2.00±1.00^{b}
	F-test	**	**	ns	ns	**
	CV. (%)	7.87	12.91	30.49	38.57	30.9
CH-67	Control	100.00±0.00^{a}	1.34±0.20^{ab}	2.67±0.58	1.00±0.00	5.33±1.15^{a}
	20	100.00±0.00^{a}	1.76±0.22^{a}	3.67±0.58	1.00±0.00	4.67±0.58^{a}
	50	76.67±2.89^{b}	1.17±0.20^{b}	2.33±0.58	1.00±0.00	2.67±0.58^{b}
	F-test	**	**	ns	ns	**
	CV. (%)	1.81	19.17	23.62	0.00	19.34
JP-01	Control	100.00±0.00^{a}	1.68±2.17^{a}	3.67±0.58^{a}	1.33±0.58	7.00±1.00^{a}
	20	100.00±0.00^{a}	1.30±1.04^{a}	2.33±0.58^{b}	1.33±0.58	8.33±1.15^{a}
	50	62.50±12.5^{b}	0.94±6.01^{b}	2.00±0.00^{b}	1.33±0.60	3.33±1.15^{b}
	F-test	**	**	**	ns	**
	CV. (%)	8.25	28.59	17.68	38.57	1.77
JP-02	Control	100.00±0.00^{a}	1.58±0.16^{a}	3.67±0.58^{a}	2.00±1.00^{a}	6.67±3.06^{a}
	20	100.00±0.00^{a}	1.19±0.40^{a}	3.00±0.00^{b}	1.67±0.00^{ab}	8.00±0.00^{a}
	50	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
	F-test	**	**	**	**	**
	CV. (%)	0.00	27.2	15.00	72.16	36.08
JP-04	Control	100.00±0.00^{a}	2.32±0.50^{a}	4.00±0.00^{ab}	1.33±0.58^{a}	5.33±0.58^{a}
	20	100.00±0.00^{a}	3.21±0.55^{a}	4.67±0.58^{a}	1.33±0.58^{a}	6.33±1.53^{a}
	50	70.00±18.03^{b}	1.27±0.43^{b}	2.00±0.00^{c}	1.00±0.00^{a}	2.33±0.58^{b}
	F-test	**	**	**	**	**
	CV. (%)	11.56	22.11	9.38	38.57	21.43

1/ Data expressed as mean value± SE. Different alphabets indicated significant different among the treatment at P-value< 0.05(*) or 0.01(**)

ผลของรังสีต่อการเจริญเติบโตของต้นเบญจมาศในสภาพแปลงปลูก

จากการย้ายปลูกเบญจมาศที่ได้คัดเลือกจำนวน 5 พันธุ์ ได้แก่ CH-09, CH-67, JP-01, JP-02 และ JP-04 หลังจากชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาที่ปริมาณ 20 เกรย์ ในขณะที่ปริมาณรังสี 50 เกรย์ ทำให้เบญจมาศพันธุ์ JP-02 หยุดการเจริญเติบโตและตาย จึงไม่สามารถย้ายปลูกได้ หลังจากการย้ายปลูก วัดการเจริญเติบโตได้แก่ ความสูงต้น ความยาวใบ ความกว้างใบ ความกว้างทรงพุ่ม และจำนวนข้อ โดยบันทึกผลทุก ๆ เดือน เป็นระยะเวลา 4 เดือน จนกระทั่งออกดอก และทำการเปรียบเทียบกับพันธุ์ตั้งต้น (ต้นที่ไม่ได้ฉายรังสี) เพื่อทำการคัดเลือกสายพันธุ์เบญจมาศที่ลักษณะเด่นสายพันธุ์ใหม่ๆเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคและตลาด **(Figure 3)** พบว่า ระดับรังสีแกมมาที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงด้านความสูงทำให้เบญจมาศพันธุ์ CH-09, CH-67 และ JP-04 มีความสูงเฉลี่ยต่ำกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ **(Table 2)** โดยต้นเบญจมาศที่ไม่ได้รับการฉายรังสีมีความสูงต้นมากที่สุดในทุก

ช่วงอายุ ในขณะที่พันธุ์ JP-01 และ JP-02 มีการเปลี่ยนแปลงต่างออกไป คือ รังสีแกมมาปริมาณ 20 เกรย์ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทำให้ต้นอายุ 4 เดือน มีความสูงเฉลี่ยมากกว่าต้นควบคุมอย่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 24.80 ± 0.48 และ 10.70 ± 0.55 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ต้นที่ไม่ได้รับรังสีมีความสูงเฉลี่ยเพียง 12.69± 0.18 และ 8.67 ± 0.25 เซนติเมตร ตามลำดับ สอดคล้องกับ ภิญญารัตน์ และ นัททรียา (2560) ศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อต้นกุหลาบหนู พบว่าต้นที่ได้รับรังสีแกมมาที่ระดับความเข้มข้น 10, 20, 30 และ 40 เกรย์ มีความสูงเฉลี่ยสูงกว่าต้นควบคุม

ด้านความยาวและความกว้างใบ รังสีมีผลต่อเบญจมาศแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกันออกไป โดยสามารถแบ่งได้ 4 ลักษณะคือ 1) ใบยาวขึ้นและเส้นผ่าศูนย์กลางแคบลง 2) ใบสั้นลงและเส้นผ่าศูนย์กลางแคบลง 3) ความยาวใบเท่าเดิมและเส้นผ่าศูนย์กลางกว้างขึ้น และ 4) ใบไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับต้นควบคุม เมื่อวัดขนาดทรงพุ่มพบว่ารังสีไม่มีผลต่อพันธุ์ CH-09 แต่มีผลทำให้พันธุ์ JP-01 และ JP-04 มีทรงพุ่มลดลง ขณะเดียวกันทำให้อีก 2 พันธุ์คือ CH-67 และ JP-02 มีขนาดทรงพุ่มมากขึ้น รวมถึงกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาส่วนข้อของลำต้นมากที่สุดใน JP-01 เฉลี่ยเท่ากับ 46.20 ± 3.58 เซนติเมตร ขณะที่ต้นควบคุมมีจำนวนเฉลี่ยเพียง 15.20 ±164 เซนติเมตร การแสดงลักษณะที่แตกต่างกันเช่นนี้อาจเนื่องจากพืชแต่ละพันธุ์มีการตอบสนองต่อรังสีต่างกัน หรือความสามารถในการซ่อมแซมโครงสร้างภายในเซลล์ การพัฒนายอด การแตกใหม่ รวมถึงจำนวนข้อแตกต่างกัน จึงมีลักษณะทางสรีรวิทยาที่ผิดปกติ แต่ขณะเดียวกันต้นพืชมีความสามารถในการซ่อมแซมส่วนที่เสียหายได้ ทำให้เซลล์ที่มีการทำงานผิดปกติ มีโอกาสในเจริญเติบโตน้อยจึงถูกเซลล์ปกติกำจัดออก ทำให้ไม่ปรากฏลักษณะผิดปกติในรุ่นถัดมาของพืช (Natta et al., 2015; Defiani et al., 2017) ซึ่งพบว่าส่วนใหญ่ผลของรังสีต่อการเจริญเติบโตและพัฒนามีความผันแปรจากการกระตุ้นที่รังสีปริมาณต่ำ จนถึงสร้างความเสียหายที่รังสีในปริมาณสูง Kovalchuk et al. (2007)

Table 2 Stem height, leaves length, leaves diameter, canopy width and node number of *in vitro* chrysanthemum 5 cultivar 1, 2, 3 and 4 months after gamma irradiation and control (non-irradiation)

Cultivar	Age of Seedling	Treatment	Stem height (cm)	Leaves length (cm)	Leaves diameter(cm)	Canopy width (cm)	Node number (Node/plant)
CH-09	1 month	Control	3.46± 0.26	3.86 ± 0.38	2.38 ± 0.87	8.56 ± 0.47	3.40 ± 0.78
		20 Gy	3.25 ± 0.23	3.63 ± 0.32	2.38 ± 0.13	8.33 ± 0.18	3.10 ± 0.74
		T-test	ns	ns	ns	ns	ns
	2 months	Control	8.83± 028	4.73 ± 1.67	3.83 ± 0.36	15.33 ± 0.11	6.20 ± 0.87
		20 Gy	11.87 ± 0.46	5.37 ± 0.22	3.38 ± 0.15	11.35 ± 0.20	6.10 ± 0.88
		T-test	*	ns	ns	ns	ns
	3 months	Control	21.92 ± 0.62	5.74 ± 2.03	4.46 ± 1.80	18.36± 0.17	10.60 ± 0.92
		20 Gy	23.64 ± 0.46	6.47 ± 0.33	4.64 ± 0.64	25.45 ± 0.36	11.20 ± 0.79
		T-test	ns	ns	ns	ns	ns
	4 months	Control	37.62 ± 0.40	7.27 ± 2.62	5.55 ± 1.99	24.31 ± 1.31	19.50 ± 1.02
		20 Gy	35.38 ± 0.39	8.15 ± 0.58	5.74 ± 0.49	26.19 ± 0.52	19.70 ± 0.95
		T-test	*	ns	ns	*	ns
CH-67	1 month	Control	3.74 ± 0.25	5.35 ± 0.20	3.33 ± 0.13	8.87 ± 0.55	3.70 ± 0.67
		20 Gy	3.82 ± 0.91	4.34 ± 0.31	3.38 ± 0.29	9.44 ± 0.30	3.70 ± 0.95
		T-test	ns	*	ns	*	ns
	2 months	Control	11.31 ± 0.17	6.30 ± 0.16	3.58 ± 0.19	14.27 ± 0.23	6.60 ± 1.17
		20 Gy	8.62 ± 0.33	6.36 ± 0.12	5.24 ± 0.54	11.79 + 0.25	8.30 ± 0.82
		T-test	*	ns	*	*	*
	3 months	Control	25.98 ± 0.40	7.54 ± 0.40	4.44 ± 0.27	19.91 ± 0.31	10.10 ± 1.20
		20 Gy	26.91 ± 0.55	7.11 ± 0.34	5.42 ± 0.22	25.24 ± 0.19	15.90 ± 1.79
		T-test	*	ns	*	*	*
	4 months	Control	42.52 ± 0.36	8.25 ± 0.49	5.92 ± 0.35	24.37 ± 0.93	19.10 ± 1.20
		20 Gy	38.05 ± 0.46	9.15 ± 0.46	5.47 ± 0.45	26.10 ± 0.30	23.10 ± 0.74
		T-test	*	*	*	*	*
JP-01	1 month	Control	2.56± 0.34	2.05 ± 0.42	1.79 ± 0.28	4.54 ± 2.20	4.00 ± 0.64
		20 Gy	3.16 ± 0.11	2.64 ± 0.44	1.40 ± 0.18	4.52 ± 0.35	5.70 ± 0.82
		T-test	*	ns	ns	ns	ns
	2 months	Control	4.45± 0.14	2.28 ± 0.58	2.41 ± 0.16	14.51 ± 0.19	5.20 ± 0.92
		20 Gy	7.24 ± 0.31	4.35 ± 0.18	1.50 ± 0.16	8.43 ± 0.25	10.80 ± 0.79
		T-test	*	*	ns	ns	*
	3 months	Control	8.31± 0.09	2.42 ± 0.69	3.40 ± 0.21	18.48 ± 0.17	7.20 ± 1.37
		20 Gy	16.59 ± 0.42	4.41 ± 0.25	3.31 ± 0.22	18.54 ± 0.33	33.70 ± 1.34
		T-test	*	*	ns	ns	*

1/ Data expressed as mean value± SE. Different alphabets indicated significant different among the treatment at P-value< 0.05(*)

2/NS= Not significant

Table 2 Stem height, leaves length, leaves diameter, canopy width and node number of *in vitro* chrysanthemum 5 cultivar 1, 2, 3 and 4 months after gamma irradiation and control (non-irradiation) (continue)

Cultivar	Age of Seedling	Treatment	Stem height (cm)	Leaves length (cm)	Leaves diameter(cm)	Canopy width (cm)	Node number (Node/plant)
	4 months	Control	12.69± 0.18	3.51 ± 0.43	4.11 ± 1.18	20.14 ± 0.66	15.20 ± 1.64
		20 Gy	24.80 ± 0.48	5.90 ± 0.71	3.85 ± 0.49	17.83 ± 0.52	46.20 ± 3.58
		T-test	*	*	*	ns	*
JP-02	1 month	Control	2.41 ± 0.13	3.06 ± 0.21	1.61 ± 0.36	4.63 ± 0.13	7.30 ± 0.67
		20 Gy	2.60 ± 0.14	2.51 ± 0.25	1.34 ± 0.13	4.40 ± 0.20	6.70 ± 0.67
		T-test	*	*	*	*	ns
	2 months	Control	3.24 ± 0.20	3.45 ± 0.21	2.32 ± 0.18	14.58 ± 0.18	11.10 ± 0.74
		20 Gy	3.61 ± 0.33	3.59 ± 0.23	1.81 ± 0.15	11.08 ± 0.54	11.60 ± 0.70
		T-test	*	ns	*	*	ns
	3 months	Control	5.41 ± 0.20	4.53 ± 0.35	2.88 ± 0.28	19.45 ± 0.21	16.90 ± 1.10
		20 Gy	6.99 ± 0.37	4.41 ± 0.17	2.35 ± 0.23	26.42 ± 0.33	21.60 ± 1.51
		T-test	*	ns	*	*	*
	4 months	Control	8.67 ± 0.25	5.26 ± 0.15	3.31 ± 0.16	24.08 ± 0.70	24.70 ± 1.42
		20 Gy	10.70 ± 0.55	5.18 ± 0.09	3.52 ± 0.23	26.86 ± 0.54	24.90 ± 0.88
		T-test	*	ns	*	*	ns
JP-04	1 month	Control	4.79 ± 0.26	5.50 ± 0.20	3.39 ± 0.15	9.10 ± 0.41	3.90 ± 0.74
		20 Gy	4.15 ± 0.11	4.33 ± 0.27	3.42 ± 0.32	8.53 ± 0.37	3.10 ± 0.74
		T-test	*	*	ns	*	*
	2 months	Control	16.04 ± 0.30	7.37 ± 0.21	4.31 ± 0.24	15.75 ± 0.33	7.10 ± 1.85
		20 Gy	9.55 ± 0.19	6.53 ± 0.34	2.39 ± 0.19	11.31 ± 0.36	7.70 ± 0.67
		T-test	*	*	*	*	ns
	3 months	Control	35.94 ± 0.75	8.89 ± 0.28	5.26 ± 0.16	22.33 ± 0.19	12.60 ± 1.07
		20 Gy	31.55 ± 0.60	7.44 ± 0.15	4.97 ± 0.28	21.35 ± 0.26	10.20 ± 1.23
		T-test	*	*	*	*	*
	4 months	Control	51.48 ± 0.40	9.71 ± 3.09	6.57 ± 0.27	28.86 ± 0.43	23.00 ± 0.82
		20 Gy	41.65 ± 0.67	8.62 ± 0.42	5.32 ± 0.15	24.31 ± 0.69	21.30 ± 1.16
		T-test	*	ns	*	*	*

1/ Data expressed as mean value± SE. Different alphabets indicated significant different among the treatment at P-value< 0.05(*)

2/NS= Not significant

ในด้านผลของรังสีต่อการกลายของดอกเบญจมาศหลังจากทำการปลูกทดสอบ ทั้งหมด 5 พันธุ์ได้แก่ CH-09, CH-67, JP-01, JP-02 และ JP-04 พบว่า ทุกต้นสามารถออกดอกได้ และพบการเปลี่ยนแปลงลักษณะดอกในพันธุ์ CH-09 เท่านั้น โดยสามารถแยกความแตกต่างของเบญจมาศพันธุ์กลายได้ทั้ง 3 พันธุ์ โดยให้รหัสดังนี้ 1) วว-สทน. 01 (TISTR – TINT 01) 2) วว-สทน. 02 (TISTR – TINT 02) และ 3) วว-สทน. 03 (TISTR – TINT 03) ทั้งนี้เมื่อวัดค่าสีของดอกด้วยแผ่นเทียบสีมาตรฐาน (RHS Color chart) ต้นแม่พันธุ์เดิมมีลักษณะดอกเป็น tricolor มีกลีบดอกย่อยวงใน (dish) เป็นสีเหลือง (154C) กลีบดอกย่อยกลางมีสีขาวอมชมพูอ่อน (69D) (disc floret) และกลีบดอกย่อยวงนอก (floret) มีสีชมพูอมม่วง (73C) **(Figure 4; a)** โดยสามารถจัดกลุ่มการกลายออกเป็น 3 ลักษณะได้แก่ 1) รหัส วว-สทน.01 ดอกเป็น bicolor กลีบดอกย่อยวงในเป็นสีเหลือง 1-2 ชั้น กลีบย่อยวงนอกสีม่วงขลิบขาว (N81C) **(Figure 4; b)**

ส่วนรหัส วว-สทน.02 สีดอกเป็น tricolor กลีบดอกย่อยวงในเป็นสีเหลือง กลีบย่อยกลางเป็นสีชมพูอ่อน (70B) ปลายกลีบดอกขลิบเหลือง และกลีบย่อยวงนอกเป็นสีชมพูอ่อน ซึ่งพันธุ์ วว-สทน. 01 และพันธุ์ วว-สทน. 02 ลักษณะการเรียงตัวของกลีบดอกเป็นแบบ double type เหมือนดอกแม่พันธุ์ **(Figure 4; c)** ในขณะที่ วว-สทน. 03 สีดอกเป็นแบบ tricolor กลีบดอกย่อยวงในเป็นสีเหลือง กลีบย่อยกลางเป็นสีเหลืองอ่อนออกขาว (150D) ส่วนกลีบย่อยวงนอกเป็นสีชมพู (73A) **(Figure 4; d)** ซึ่งลักษณะที่โดดเด่นต่างจากรหัสอื่น คือ ลักษณะคล้ายดอกชั้นเดียวแต่การเรียงตัวของกลีบดอกวงย่อยนอกมีความยาวมากกว่าแบบดอกชั้นเดียวคล้าย anemone type **(Figure 4; e)** จะเห็นได้ว่ารังสีที่ปริมาณ 20 เกรย์ มีผลต่อสีดอกและการเรียงตัวของกลีบดอก โดยทำให้มีลักษณะของสีผสมหรือมีสีเข้มขึ้นจากดอกแม่พันธุ์ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ นุร์ซานีซา และ ราฮีมา (2564) พบว่าปริมาณรังสี 20-50 เกรย์ ทำให้กลีบดอกเทียนบ้านมีสีบานเย็นเข้มกว่าต้นที่ไม่ได้รับการฉายรังสี เนื่องจากรังสีมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน โดยยีนลักษณะด้อย (recessive gene) เปลี่ยนเป็นยีนลักษณะเด่น (dominant gene) หรือทำให้เซลล์กลีบดอกในชั้น L-1 และ L-2 ไม่สามารถซ่อมแซม หรือเซลล์ตายไป ทำให้เซลล์กลีบดอกในชั้น L-3 เจริญขึ้นมาทดแทน สีของดอกจึงเปลี่ยนแปลงไป (Pallavi et al., 2017) นอกจากนี้ดอกเบญจมาศพันธุ์กลายที่ได้มีขนาดดอกเล็กกว่าต้นแม่พันธุ์ เช่นเดียวกับ Limtiyayotin et al. (2018) พบการเปลี่ยนแปลงด้านใบมีขนาดเล็กลง ใบมีสีเขียวอ่อน ใบหงิกงอ ความยาวข้อสั้นลง สีดอก จำนวนกลีบดอกลดลงและในรุ่น M_1V_2 ของม่วงเทพรัตน์ ทั้งนี้เนื่องจากรังสีไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ที่เป็นจุดกำเนิดของกลีบดอก หรือไปยับยั้งให้ไม่มีการแบ่งเซลล์หรือเกิดการขยายตัวมากกว่าปกติหรือไปรบกวนปฏิกิริยาของเอนไซม์หลายชนิดที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการเร่งการเจริญเติบโต (Ye-sol et al., 2015)

Figure 4 Control (non–irradiated plant) and mutants of chrysanthemum flower color after irradiated with gamma ray: (a) CH-09 strain non–irradiated plant; (b) TISTR – TINT 01; (c) TISTR - TINT 02; (d) TISTR - TINT 03 and (e) disk floret of TISTR - TINT 03 flower.

สรุป

การศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่มีผลต่อต้นเบญจมาศ 5 พันธุ์ ได้แก่ CH-09, CH-67, JP-01, JP-02 และ JP-04 ในสภาพปลอดเชื้อและสภาพแปลงปลูก พบว่าปริมาณรังสีแกมมาที่มีผลทำให้ต้นเบญจมาศรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) เท่ากับ 22.5 เกรย์ เมื่อได้รับปริมาณมากขึ้นตั้งแต่ 25-50 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้อัตราการรอดชีวิตลดลงและตายในบางพันธุ์ โดยปริมาณรังสีที่ 20 เกรย์ มีผลทำให้การเจริญเติบโตเปลี่ยนแปลงได้แก่ ความสูง ลักษณะใบ จำนวนข้อ และความกว้างทรงพุ่มลดลง ในทางกลับกันมีผลกระตุ้นให้ความสูงเพิ่มขึ้นในบางพันธุ์ ในขณะที่ส่วนของดอกพบการกลายพันธุ์ในเฉพาะพันธุ์ CH-09 แบ่งเป็นลักษณะใหม่ 3 ลักษณะ

โดยลักษณะดอกที่ได้นั้น มีความหลากหลายของสีสัน ลักษณะดอก และขนาดดอกแตกต่างจากแม่พันธุ์เดิม ซึ่งจัดเป็นพันธุ์ใหม่ที่สามารถนำไปพัฒนาการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต เพื่อส่งเสริมให้มีศักยภาพในการพัฒนาพันธุ์เบญจมาศในประเทศไทยต่อไป

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ในการสนับสนุนทุนวิจัย เรื่อง การปรับปรุงพันธุ์เบญจมาศด้วยรังสีแกมมาผ่านการเพาะเลี้ยงแคลลัส ประจำปีงบประมาณ 2565

เอกสารอ้างอิง

กษิดิ์เดช อ่อนศรี และณัฐพงศ์ จันจุฬา. 2563. อิทธิพลของรังสีแกมมาต่อการพัฒนาพันธุ์คาลล่าลิลลี่. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 9(4): 471-478.

คำนูญ กาญจนภูมิ. 2552. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. สำนักพิมพ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

นุร์ชานีซา เจะดาโอะ และราฮีมา วาแมดีซา. 2563. ผลของรังสีแกมมาต่อความงอกของเมล็ด ความรอดชีวิตของต้นกล้า และลักษณะทางสัณฐานของเทียนบ้าน (*Impatiens balsamina* L.). วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์. 13: 363-376.

พฤกษ์ คงสวัสดิ์, นิตยา คงสวัสดิ์, วิภาดา ทองทักษิน และจงวัฒนา พุ่มหิรัญ. 2563. ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตเบญจมาศเฉพาะพื้นที่ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. แหล่งข้อมูล: https://www.doa.go.th/hort/wp-content/uploads/2020/12/เทคโนโลยีการผลิตเบญจมาศเฉพาะพื้นที่ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ.pdf. ค้นเมื่อ 4 มีนาคม 2566.

พันทิพา ลิ้มสงวน, สนธิชัย จันทร์เปรม, อิทธิฤทธิ์ อึ้งวิเชียร, ปัทมา ศรีน้ำเงิน และเสริมศิริ จันทร์เปรม. 2560. การปรับปรุงพันธุ์โดยชักนำการกลายพันธุ์ในเบญจมาศโดยใช้รังสีแกมมาและการตรวจสอบการกลายพันธุ์โดยวิธีเอเอฟแอลพี. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 48(3): 334–345.

พีรนุช จอมพุก, สิรนุช ลามศรีจันทร์ และสุรินทร์ ดีสีปาน. 2544. การเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในเบญจมาศด้วยรังสีแกมมาร่วมกับเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. น. 15-24. ใน: การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีนิวเคลียร์ครั้งที่ 8 : รังสีกับชีวิต 20 มิถุนายน 2544. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ภิญญารัตน์ กงประโคน และนัททรียา จิตบำรุง. 2560. การใช้รังสีแกมมาชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาในกุหลาบหนู. วารสารแก่นเกษตร. 45(1): 1296-1302.

สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร. 2565. เบญจมาศตัดดอก. แหล่งข้อมูล: http://www.agriman.doae.go.th/home/news/2565/40mum.pdf. ค้นเมื่อ 4 มีนาคม 2566.

สุพิชชา สิทธินิสัยสุข, ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์, พีรนุช จอมพุก และณัฐพงศ์ จันจุฬา. 2561. ผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อต้นลินเดอร์เนียในสภาพปลอดเชื้อ. Thai Journal of Science and Technology. 7(2): 158-168.

สุภาพร สัมโย และอำนวย อรรถลังรอง. 2563. สถานการณ์ไม้ดอกไม้ประดับของประเทศไทย ปี 2563 (ตุลาคม – ธันวาคม). สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. 1-3.

Defiani, M.R., I.A. Astarini, and E. Kriswiyanti. 2017. Oryzalin and gamma radiation induced polyploidization in garden balsam plants (*Impatiens balsamina* L.) *in vitro*. Current Agriculture Research Journal. 5(1): 1-5.

Jain, S.M. 2005. Mutation–assisted breeding in ornamental plant improvement. Acta Horticulturae. 714: 85-98.

Kikuchi, O.K., N.L. Del Mastro, and F. M. Wiendl. 1995. Preservative solution for gamma irradiated Chrysanthemum cut flowers. Radiation Physics and Chemistry. 46(4-6): 1309-1311.

Kovalchuk, I., J. Molinier, Y. Yao, A. Arkhipov, and O. Kovalchuk. 2007. Transcriptome analysis reveals fundamental differences in plant response to acute and chronic exposure to ionizing radiation. Mutation Research. 642: 101-113.

Lamseejan, S., P. Jompuk, A. Wongpiyasatid, S. Deeseepan, and P. Kwanthamachart. 2000. Gamma – rays induced morphological changes in Chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium*). Kasetsart Journal Natural Science. 34: 417-422.

Lee, G., S.J. Chung, I.S. Park, J.S. Lee, J.B. Kim, D.S. Kim, and S.Y. Kang. 2008. Variation in the phenotypic features and transcripts of color mutants of chrysanthemum (Dendranthema grandiflorum) derived from gamma ray mutagenesis. Journal of Plant Biology. 51: 418-423.

Limtiyayotin, M., C. Tosri, N. Sukin, and P. Jompuk. 2018. Effects of acute gamma irradiation on in vitro culture of Exacum affine Balf.f. ex Regel. Agriculture and Natural Resource. 52: 121-124.

Murashinge, T., and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Plant Physiology. 15: 473-497.

Natta, P., T. Thunya, W. Shermal, and C. Nattapong. 2015. Mutational induction in *Catharanthus roseus* L. by acute gamma irradiation. Thai Journal of Science and Technology. 4(1): 95-103.

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(4): 267-373.

Setia, M. K., M. Bala, and S. Singh. 2020. Induction of novel inflorescence traits in Chrysanthemum through 60Co gamma irradiation. International Journal of Radiation Biology. 96(10): 1309-1316.

Shikazono, N., Y. Yukihiko, K. Satoshi, S. Chihiro, W. Hiroshi, T. Shigemitsu, and T. Atsushi. 2003. Mutation rate and novel tt Mutants of *Arabidopsis thaliana* induced by carbon ions. Genetics. 163: 1449-1455.

Susila, E., A. Susilowati, and A. Yunus. 2019. The morphological diversity of Chrysanthemum resulted from gamma ray irradiation. Biodiversitas Journal of Biological Diversity. 20(2): 463-467.

Wang, L., J. Wu, F. Lan, and P. Gao. 2020. Morphological, cytological and molecular variations induced by gamma rays in *Chrysanthemum morifolium* 'Donglinruixue'. Folia Horticulturae. 32(1): 87-96.

Wu, J. H., J. Zhang, F. Lan, W.F. Fan, and W. Li. 2019. Morphological, cytological, and molecular variations induced by gamma rays in ground-grown Chrysanthemum 'Pinkling'. Canadian Journal of Plant Science. 100(1): 68-77.

Ye-sol, K., K.S. Hoon, S.S. Yeop, K.D. Sub, K. Jin-Baek, J.Y. Deuk, and K. Si-Yong. 2015. Genetic relationships among diverse spray- and standard-type Chrysanthemum varieties and their derived radio-mutants determined using AFLPs. Horticulture Environment and Biotechnology. 56: 498-505.

Zhu, H., J. Xu, S.Q. Li, X.Y. Sun, S.D. Yao, and S.L. Wang. 2008. Effects of high-energy-pulse-electron beam radiation on biomacromolecules. Science in China Series B Chemistry. 51(1): 86-91.