การชักนำให้เกิดการกลายในกล้วยหอม (*Musa* spp.) จีโนม AAA ด้วยรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน และตรวจสอบด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี

Induced Mutation in *Musa* spp. Genomes AAA Using Acute Gamma Ray and Determination with HAT-RAPD Markers

ศิริญยา คาชิมา, ธีระชัย ธนานันต์ และยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ*

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

กิตติ โพธิปัทมะ

สาขาวิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ แขวงวงศ์สว่าง เขตบางซื่อ กรุงเทพมหานคร 10800

Sirinya Kashima, Theerachai Thanananta and Yongsak Kachonpadungkitti*

Department of Biotechnology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

Kitti Bodhipadma

Department of Agro-Industrial Technology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's Institute of Technology North Bangkok, Wongsawang, Bangsue, Bangkok 10800

Received: July 4, 2020; Accepted: July 30, 2020

บทคัดย่อ

การปรับปรุงพันธุ์ตามธรรมชาติโดยการผสมพันธุ์ของกล้วยมีข้อจำกัด เนื่องจากกล้วยมีความเป็นหมันสูงและผลของกล้วยเกิดแบบ parthenocarpy ทำให้การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีการผสมพันธุ์มีความเป็นไปได้ต่ำ การศึกษานี้เป็นการชักนำให้เกิดการกลายในกล้วยหอม (*Musa* spp.) ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อและตรวจสอบการกลายด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี เมื่อนำเนื้อเยื่อกล้วยหอมทอง กล้วยหอมทองไต้หวัน และกล้วยหอมเขียวไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 0-80 เกรย์ แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าการฉายรังสีที่สูงกว่า 40 เกรย์ มีผลทำให้กล้วยทั้ง 3 พันธุ์ มีอัตราการตายเพิ่มขึ้น โดยกล้วยหอมทองไต้หวันและกล้วยหอมเขียวที่ฉายรังสี 20 เกรย์ มีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกล้วยหอมทองมีอัตราการรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าปริมาณรังสีที่ทำให้กล้วยทั้ง 3 พันธุ์ ตายที่ 30 เปอร์เซ็นต์ (LD_{30}) มีค่า 8 และ 22.5 29.4 เกรย์ ตามลำดับ ผลดังกล่าวแสดงถึงความทนต่อ

*Corresponding author: yongsakk@hotmail.com

DOI: 10.14456/tjst.2020.71

รังสีที่ไม่เท่ากันในกล้วยแต่ละพันธุ์ ส่งผลให้การเจริญเติบโตแต่ละด้านเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ต่างกัน ซึ่งปริมาณรังสีที่ค่า LD_{30} ทำให้เกิดลักษณะที่ผิดปกติ คือ ใบมีลักษณะหดสั้น ใบม้วน ลำต้นแคระแกร็น และมีสีขาวซีด เมื่อตรวจสอบการกลายของกล้วยทั้ง 3 พันธุ์ ด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์ E32 พบว่าสามารถแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นที่ผ่านการฉายรังสีออกจากต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสี

คำสำคัญ : กล้วยสกุล *Musa*; รังสีแกมมา; การกลาย; เครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี

Abstract

Natural breeding in banana is limited due to high sterility and parthenocarpic fruit. So, it gives low fertility when breeding. This study induced mutation in banana genus *Musa* which cultured *in vitro* and detected mutation by using HAT-RAPD. *Musa* cvs. 'Kluai Hom Thong', 'Kluai Hom Thong Taiwan' and 'Kluai Hom Khieo' tissues were cultured and radiated with acute gamma radiation at 0, 20, 40, 60 and 80 grays. These banana tissues were cultured on MS medium supplemented with 2 mg/L BA. It was found that all banana tissues were dead when radiated more than 40 grays. Tissues of 'Kluai Hom Thong Taiwan' and 'Kluai Hom Khieo' had 100 % survival rate when radiated with 20 grays while 80 % survival rate was obtained in 'Kluai Hom Thong'. When studied LD_{30} in 3 types of banana, it was 8, 22.5 and 29.4 grays, respectively. This result showed that each types of banana had different types of tolerance with gamma radiation. This made banana tissues had different growth rates. The LD_{30} gave different mutation characteristics such as short leaf, leaf curl, stunt and pale pseudobulb. When detected their characters with HAT-RAPD technique by using primer E32, this method classifies the genetic differences in banana trees from treated and non-treated radiation.

Keywords: *Musa* genus; gamma radiation; mutation; HAT-RAPD marker

1. คำนำ

กล้วยหอม (*Musa* spp.) เป็นพืชที่สร้างรายได้ให้กับเกษตรกรเป็นจำนวนมาก ด้วยคุณลักษณะของกล้วยหอมที่มีน้ำหนัก กลิ่นหอม รสชาติดี ทำให้กล้วยหอมของไทยได้รับความนิยม อีกทั้งยังมีศักยภาพในการส่งออกโดยเฉพาะตลาดญี่ปุ่นที่มีความต้องการสูง (วสันต์, 2558) โดยกล้วยหอมมีจีโนม AAA แบ่งเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กล้วยหอมทอง (*M. acuminata* 'Gros Michel') กล้วยหอมเขียว (*M. acuminata* 'Cavendish') และกล้วยนาก (*M. acuminata* 'Red Dacca') การวิจัยครั้งนี้ศึกษาในกล้วยหอมทอง กล้วยหอมทองไต้หวัน ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มย่อย Gros Michel และกล้วยหอมเขียว ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มย่อย Cavendish ลักษณะกาบใบของกล้วยหอมเขียวมีจุดประดำมากกว่ากล้วยหอมทองและกล้วยหอมทองไต้หวัน หวีหนึ่งมีประมาณ 15-22 ผล ปลายผลทู่ไม่มีจุก เปลือกหนากว่ากล้วยหอมทอง เมื่อสุกเปลือกจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมเหลือง ขณะที่เปลือกของกล้วยหอมทองและกล้วยหอมทองไต้หวันเมื่อสุกจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทอง (เบญจมาศ, 2545) เนื่องจากกล้วยมีเนื้อสีเหลืองอ่อน รสหวาน กลิ่นหอม จึงเป็นที่นิยมและมีความสำคัญในการส่งออก

การปรับปรุงพันธุ์กล้วย ด้วยการผสมพันธุ์จะ

มีข้อจำกัด เนื่องจากกล้วยมีความเป็นหมันสูง รวมถึงเมล็ดมีอัตราการงอกต่ำ ทำให้การปรับปรุงพันธุ์ด้วยการผสมพันธุ์มีความเป็นไปได้ต่ำ (เบญจมาศ และกรรณิกา, 2544) แต่ปัจจุบันได้มีการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้วิธีการกระตุ้นให้เกิดการกลาย เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในอัตราที่สูงขึ้น ด้วยการใช้สิ่งก่อการกลาย เช่น การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของต้นกล้วยด้วยรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน (Abdulhafiz *et al.*, 2018) ซึ่งสิ่งก่อการกลายที่นิยมนำมาใช้ในการชักนำให้เกิดการกลายได้แก่ การใช้รังสีแกมมาซึ่งเป็นรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าความถี่สูง ไม่มีมวลและประจุ มีอำนาจทะลุทะลวงสูง เป็นต้น

นอกจากนี้กล้วยถือเป็นพืชที่มีวิวัฒนาการมานานจึงมีความผันแปรทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันมีการนำเครื่องหมายทางโมเลกุลเข้ามาใช้ในการประเมินความหลากหลาย ทำให้จำแนกหรือระบุพันธุ์ของพืชได้ดียิ่งขึ้น อีกทั้งยังสามารถนำข้อมูลไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ ด้วยความสำคัญดังกล่าวผู้วิจัยจึงเลือกปรับปรุงพันธุ์โดยการชักนำให้เกิดการกลายด้วยรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แล้วตรวจสอบการกลายและประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี (HAT-RAPD, high annealing temperature-random amplified polymorphic DNA)

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 ตัวอย่างกล้วยหอมจีโนม AAA

พันธุ์กล้วยที่ใช้ในการชักนำการกลายจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ (1) กล้วยหอมทอง (2) กล้วยหอมทองไต้หวัน และ (3) กล้วยหอมเขียว

2.2 การเตรียมเนื้อเยื่อกล้วยจีโนม AAA

นำหน่อกล้วยหอมทอง กล้วยหอมทองไต้หวัน และกล้วยหอมเขียวมาฟอกฆ่าเชื้อตามวิธีของเบญจมาศ (2544) และนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (อรดี และคณะ, 2536) เป็นเวลา 8-16 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดหน่อ แล้วย้ายลงอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (Reddy *et al.*, 2014) เพื่อชักนำให้เกิดยอดภายใต้อุณหภูมิ 25±2 ºC ความเข้มแสง 37 μmol. $m^{-2}s^{-1}$ โดยให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน

2.3 ศึกษาปริมาณรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่เหมาะสมต่อการก่อกลาย

คัดเลือกต้นอ่อนกล้วยที่มีขนาดใกล้เคียงกัน นำไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันด้วยเครื่องฉายรังสีแกมมา Mark I Irradiator ที่มีธาตุซีเซียม -137 (caesium-137, Cs-137) เป็นต้นกำเนิดรังสี ณ ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ปริมาณรังสีระดับ 0, 20, 40, 60 และ 80 เกรย์ (Gray) โดยแต่ละการทดลองมี 2 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ตัวอย่าง แยกแต่ละตัวอย่างเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาล 3 % วุ้น 0.35 % เป็นเวลา 4 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) แล้วบันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต (รุ่น m_1v_1) เพื่อหาค่าปริมาณรังสีที่ทำให้ต้นอ่อนกล้วยตาย 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{30} และ LD_{50}) เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับรังสี (control)

2.4 ศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อการกลาย

คัดเลือกต้นอ่อนกล้วยที่มีขนาดใกล้เคียงกันฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน โดยใช้ปริมาณรังสีที่เหมาะสม (LD_{50}) ที่ได้จากข้อ 2.3 มากำหนดปริมาณรังสี โดยแต่ละการทดลองมี 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัวอย่าง แยกแต่ละตัวอย่างเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

น้ำตาล 3 % วุ้น 0.35 % เป็นเวลา 4 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) บันทึกผลการเจริญเติบโต (จำนวนราก ความสูงต้น ความกว้างและความยาวของใบ และความหนาแน่นปากใบด้านหลังใบ) โดยหลังฉายรังสีเป็นรุ่น m_1v_1 แล้วตัดย้ายเนื้อเยื่อลงอาหารใหม่ทุก 4 สัปดาห์ จนถึงรุ่น m_1v_3 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

2.5 ตรวจสอบด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี (HAT-RAPD)

2.5.1 การเตรียมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างโดยสุ่มต้นกล้วยที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ได้จากข้อ 2.4 จำนวน 25 ตัวอย่างต่อพันธุ์ และที่ไม่ผ่านการฉายรังสี (control) จำนวน 10 ตัวอย่างต่อพันธุ์ นำมาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีประยุกต์จาก Doyle และ Doyle (1987) จากนั้นตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร และตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis) ในเจลอะกาโรส (agarose gel) ความเข้มข้น 0.8 % (Sambrook *et al.*, 1989)

2.5.2 การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย HAT-RAPD

ใช้ไพรเมอร์ E32 ซึ่งเป็นไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ปริมาณสูงอย่างชัดเจนและให้แถบดีเอ็นเอหลายแถบ (ศิริญยา และคณะ, 2562) เพื่อตรวจสอบการกลายในกล้วยที่ผ่านการฉายรังสีเปรียบเทียบกับที่ไม่ผ่านการฉายรังสี โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสและตรวจสอบซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง เพื่อยืนยันผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

การทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ (1) บ่มที่อุณหภูมิ 94 ºC เป็นเวลา 3 นาที จำนวน 1 รอบ (2) บ่มที่อุณหภูมิ 94 ºC เป็นเวลา 30 วินาที, อุณหภูมิ 46 ºC เป็นเวลา 30 วินาที และอุณหภูมิ 72 ºC เป็นเวลา 1 นาที จำนวน 40 รอบ และ (3) บ่มที่อุณหภูมิ 72 ºC เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 1 รอบ จากนั้นตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในเจลอะกาโรส 1.5 % ย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) แล้วตรวจดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตและถ่ายภาพ (นฤมล และคณะ, 2556)

2.5.3 การวิเคราะห์ผล

เปรียบเทียบความเหมือนและความต่างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอกล้วยทั้ง 3 พันธุ์ ที่ผ่านการฉายรังสีและที่ไม่ผ่านการฉายรังสี โดยพันธุ์ที่พบแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่งให้สัญลักษณ์เป็น 1 ส่วนพันธุ์ที่ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเดียวกันให้สัญลักษณ์เป็น 0 แล้วคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (similarity coefficient) และสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ (dendrogram) ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.01e โดยเลือกวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic Mean) (Rohlf, 2002)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ปริมาณรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่เหมาะสมต่อการก่อการกลาย

กล้วยหอมทอง กล้วยหอมทองไต้หวัน และกล้วยหอมเขียวที่ได้รับปริมาณรังสีต่างกันมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การตาย (mortality) ของกล้วยทั้ง 3 พันธุ์ ที่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งปริมาณรังสี 40-80 เกรย์ ทำให้กล้วยทั้ง 3 พันธุ์ ตายมากที่สุด อย่างไรก็ตาม ที่ระดับรังสี 0 เกรย์ (control) ไม่พบการตายของกล้วยทั้ง 3 พันธุ์ เช่นเดียวกับที่ระดับรังสี 20 เกรย์ ไม่ทำให้กล้วยหอมทองไต้หวันและกล้วยหอมเขียวตาย (ตารางที่ 1) ซึ่งปริมาณรังสีที่ใช้ในการชักนำให้เกิดการกลายมีผลต่อการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อพืช โดย

การใช้ปริมาณรังสีสูง ส่งผลให้การรอดชีวิตของเนื้อเยื่อพืชลดลง ในทางกลับกันการใช้ปริมาณรังสีต่ำ ส่งผลให้การรอดชีวิตของเนื้อเยื่อพืชสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุพิชชา และคณะ (2561) ที่ศึกษาผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อต้นลินเดอร์เนียในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของลินเดอร์เนียมีค่าลดลง เมื่อปริมาณรังสีแกมมาเพิ่มสูงขึ้น เช่นเดียวกับงานวิจัยของ ศรัญญู และคณะ (2561) ที่ศึกษาการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในบานไม่รู้โรยลูกผสมพันธุ์กลายโดยการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน พบว่าปริมาณรังสีเพิ่มขึ้นส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลง นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยในลักษณะเดียวกัน เช่น กุหลาบหนู (ภิญญารัตน์ และนัททรียา, 2560) พริก (Jo *et al.,* 2016) แววมยุรา (Taychasinpitak *et al.,* 2016)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายของเนื้อเยื่อกล้วยทั้ง 3 พันธุ์ หลังได้รับการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันและเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในสภาพปลอดเชื้อ

ปริมาณรังสีแกมมา (Gy)	เปอร์เซ็นต์การตายของเนื้อเยื่อ (%)		
	กล้วยหอมทอง (HT)	กล้วยหอมทองไต้หวัน (HTW)	กล้วยหอมเขียว (CVD)
0	0^{a}	0^{a}	0^{a}
20	20^{b}	0^{a}	0^{a}
40	100^{c}	90^{b}	60^{b}
60	100^{c}	100^{b}	100^{c}
80	100^{c}	100^{b}	100^{c}
F-test	*	*	*

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ; ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในคอลัมน์เดียวกันเป็นการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการ Duncan's multiple range (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$

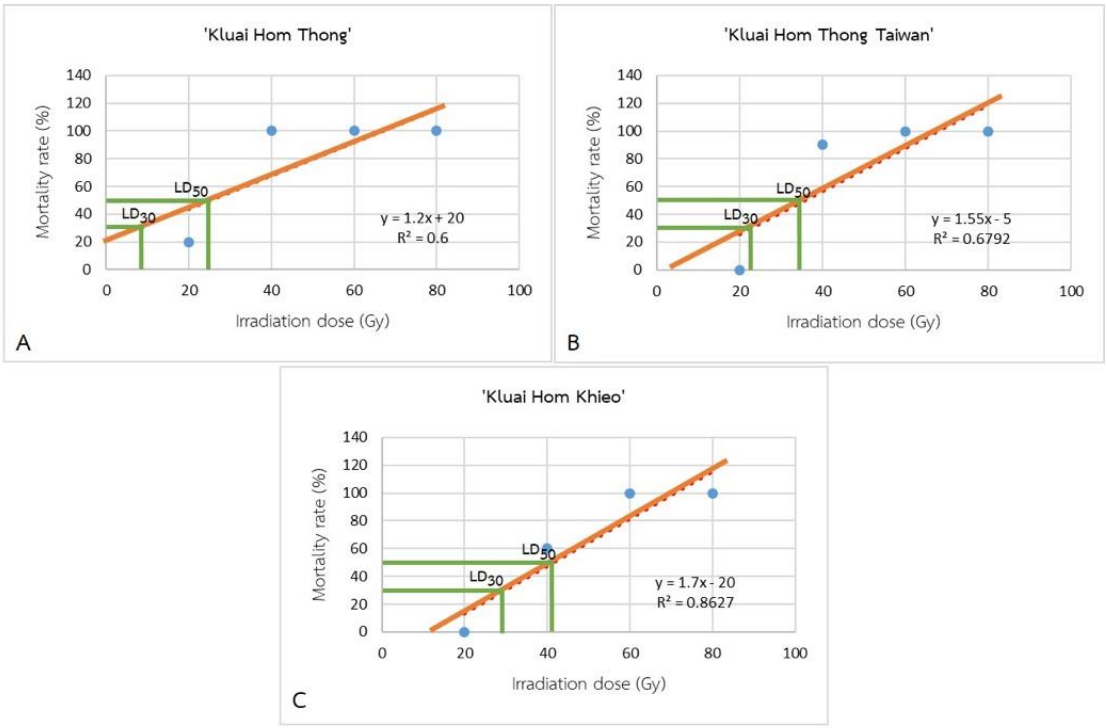
เปอร์เซ็นต์การตายของกล้วยทั้ง 3 พันธุ์ เพิ่มขึ้นตามปริมาณรังสีที่สูงขึ้น โดยเนื้อเยื่อกล้วยเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มเมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน จากนั้นนำเปอร์เซ็นต์การตาย (y) และปริมาณรังสีแกมมา (x) ที่ 4 สัปดาห์ คำนวณหาปริมาณรังสีที่ทำให้กล้วยทั้ง 3 พันธุ์ ตาย 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{30} และ LD_{50}) ด้วยการวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบถดถอย (regression analysis) พบว่าที่ปริมาณรังสี 8, 22.5 และ 29.4 เกรย์ ส่งผลให้กล้วยหอมทอง กล้วยหอมทองไต้หวัน และกล้วยหอมเขียวตาย 30 เปอร์เซ็นต์ (LD_{30}) ตามลำดับ ขณะที่ปริมาณรังสี 25, 35.5 และ 41.2 เกรย์ ส่งผลให้กล้วยหอมทอง กล้วยหอมทองไต้หวัน และกล้วยหอมเขียวตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LD_{50}) ตามลำดับ (รูปที่ 1) พืชแต่ละชนิดมีความไวต่อรังสี (radiosensitivity) ต่างกัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น สิ่งแวดล้อม (ปวีณนุช และคณะ, 2561) ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบกับกล้วยพันธุ์อื่น ๆ เช่น กล้วยไข่ 2x และ 4x มีค่า LD_{50} ที่ 27 และ 30.5 เกรย์ ตามลำดับ (สุภลัคน์, 2542) ขณะที่กล้วยลากาตันมีค่า LD_{50} ที่ 50 เกรย์ (Sales *et al.*, 2013) แสดงให้เห็นว่ากล้วยหอมทองมีความไวต่อปริมาณรังสีต่ำกว่า แต่ในทางตรงกันข้ามกล้วยหอมทองไต้หวัน และกล้วยหอมเขียวมีความไวต่อปริมาณรังสีสูงกว่า เป็นการยืนยัน

ว่าพืชชนิดเดียวกันแต่ต่างพันธุ์/สายพันธุ์จะมีความไวต่อปริมาณรังสีที่ต่างกัน สอดคล้องกับที่ Nualchavee (2012) ได้เสนอไว้ว่าพืชชนิดเดียวกัน/สายพันธุ์เดียวกันสามารถมีความไวต่อปริมาณรังสีที่ต่างกัน

3.2 ผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อลักษณะสัณฐานภายนอก

นำเนื้อเยื่อกล้วยหอมทอง กล้วยหอมทองไต้หวัน และกล้วยหอมเขียว ไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 8, 23 และ 29 เกรย์ แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 4 สัปดาห์ ตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาของกล้วยทั้ง 3 พันธุ์ ในรุ่น m_1v_1-m_1v_3 พบว่าการเจริญเติบโตในด้านต่าง ๆ ของกล้วยแต่ละพันธุ์ มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2)

การแตกรากของกล้วยแต่ละพันธุ์พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ กล่าวคือ กล้วยหอมทองหลังตัดแยกขยายพันธุ์ในช่วง m_1v_1-m_1v_2 มีการแตกรากเพิ่มขึ้น แต่เมื่อถึงรุ่น m_1v_3 จำนวนการแตกรากลดน้อยลง ต่างจากกล้วยหอมทองไต้หวันและกล้วยหอมเขียวที่ตัดแยกขยายพันธุ์ m_1v_1-m_1v_3 พบว่ามีจำนวนรากแตกออกเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของจินดา (2555) ที่พบว่ากล้วยไม้ลูกผสมพันธุ์ *Doritaenopsis* ที่ตัดแยกขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนมากขึ้น (m_1v_3) ส่งผลให้มีการแตกรากเพิ่มมากขึ้นเช่นเดียวกัน เมื่อฉายรังสีในกล้วยทั้ง 3 พันธุ์ พบว่ากล้วยหอมเขียวในรุ่น m_1v_3 มีจำนวนรากเพิ่มขึ้นเป็น 3 เท่า จึงน่าจะเป็นผลดีต่อการดูดซับน้ำและสารอาหารของกล้วย ส่งผลให้การเจริญเติบโตดีขึ้น



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรังสีแกมมา (x) กับเปอร์เซ็นต์การตาย (y) หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (A = กล้วยหอมทอง, B = กล้วยหอมทองไต้หวัน และ C = กล้วยหอมเขียว)

ตารางที่ 2 จำนวนการแตกรากและความสูงของกล้วยทั้ง 3 พันธุ์ หลังได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

Generation	จำนวนราก (เฉลี่ย)			ความสูงต้น (ซม.)		
	HT	HTW	CVD	HT	HTW	CVD
Control	7.17±0.378^{b}	6.30±0.607^{a}	3.33±0.232^{a}	3.03±0.229^{b}	4.90±0.362^{a}	4.71±0.288^{b}
m_1v_1	6.63±0.792^{b}	5.04±0.535^{a}	4.76±0.820^{ab}	2.83±0.251^{b}	7.65±0.643^{b}	5.67±0.488^{c}
m_1v_2	7.80±0.551^{b}	5.76±0.851^{a}	6.40±0.697^{bc}	2.62±0.173^{b}	4.25±0.351^{a}	6.08±0.337^{c}
m_1v_3	3.07±0.521^{a}	6.72±0.715^{a}	9.74±0.723^{c}	1.90±0.225^{a}	3.86±0.228^{a}	3.30±0.164^{a}
F-test	*	ns	*	*	*	*

HT = กล้วยหอมทอง; HTW = กล้วยหอมทองไต้หวัน; CVD = กล้วยหอมเขียว; ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในคอลัมน์เดียวกันเป็นการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการ Duncan's multiple range (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %; * = มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ $p < 0.05$; ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 3 ความกว้างและความยาวเฉลี่ยของใบกล้วยทั้ง 3 พันธุ์ หลังได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

Generation	ความกว้างใบ (ซม.)			ความยาวใบ (ซม.)		
	HT	HTW	CVD	HT	HTW	CVD
Control	1.61±0.062^{a}	1.51±0.089^{b}	1.20±0.085^{a}	4.03±0.228^{a}	5.01±0.313^{b}	3.38±0.309^{a}
m_1v_1	2.07±0.155^{b}	1.20±0.082^{a}	1.26±0.071^{a}	4.69±0.392^{ab}	3.95±0.301^{a}	3.32±0.130^{a}
m_1v_2	2.22±0.132^{b}	1.74±0.120^{b}	2.20±0.135^{c}	5.55±0.323^{bc}	4.93±0.248^{b}	5.69±0.337^{b}
m_1v_3	2.32±0.101^{b}	2.92±0.099^{c}	1.90±0.083^{b}	6.26±0.274^{c}	7.45±0.203^{c}	4.94±0.256^{b}
F-test	*	*	*	*	*	*

HT = กล้วยหอมทอง; HTW = กล้วยหอมทองไต้หวัน; CVD = กล้วยหอมเขียว; ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในคอลัมน์เดียวกันเป็นการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการ Duncan's multiple range (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %; * = มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ $p < 0.05$

ด้านความสูงของกล้วยทั้ง 3 พันธุ์ เมื่อได้รับรังสี พบว่าความสูงของหน่อใหม่ที่เกิดขึ้นลดลง (m_1v_1-m_1v_3) โดยกล้วยหอมทองที่ได้รับรังสีมีความสูงน้อยกว่าต้นควบคุม ซึ่งอาจส่งผลดีต่อการนำออกปลูก เพราะทำให้กระบวนการดูแลรักษาตลอดจนเก็บเกี่ยวผลผลิตทำได้ง่ายขึ้น แต่กล้วยหอมทองไต้หวันและกล้วยหอมเขียวที่ได้รับรังสีมีความสูงมากกว่าต้นควบคุม โดยต่างจากงานวิจัยของ Abdulhafiz และคณะ (2018) ซึ่งพบว่าต้นที่ได้รับรังสีในปริมาณที่สูงขึ้นมีความสูงของต้นลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุม นอกจากนี้ วสันต์ (2558) กล่าวว่าต้นกล้วยที่สูงเสี่ยงต่อการหักหรือล้ม

ได้ง่ายเมื่อเจอลมแรง เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความกว้างและความยาวของใบกล้วยทั้ง 3 พันธุ์ ที่ผ่านการฉายรังสีกับต้นควบคุม พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 3) กล่าวคือ ในช่วงแรกของการขยายพันธุ์ (m_1v_1) มีค่าเฉลี่ยลดลงจากต้นควบคุม แต่ในระยะของ m_1v_2 และ m_1v_3 มีค่าเฉลี่ยเพิ่มมากขึ้น ผลที่ได้คล้ายกับงานวิจัยของ จินดา (2555) ซึ่งพบว่ารังสีมีผลต่อลักษณะสัณฐาน (morphology) ทำให้ความกว้างและความยาวของใบเพิ่มมากขึ้น เมื่อตัดขยายพันธุ์ในรุ่นต่อไป (m_1v_2 และ m_1v_3) พื้นที่ของใบกล้วยหอมทองและกล้วยหอมทองไต้หวันที่เพิ่มขึ้น น่าจะช่วยส่งเสริมการสังเคราะห์ด้วยแสง

เมื่อตรวจนับความหนาแน่นของปากใบด้านหลังใบ (upper epidermis) ในกล้วยทั้ง 3 พันธุ์ ดังตารางที่ 4 ปรากฏว่ากล้วยหอมทองมีความหนาแน่นของปากใบไม่แตกต่างกันทางสถิติในแต่ละรุ่น (m_1v_2-m_1v_3) ขณะที่กล้วยหอมทองไต้หวันและกล้วยหอมเขียวมีความหนาแน่นของปากใบด้านหลังใบที่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

หลังจากเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหอมทอง กล้วยหอมทองไต้หวัน และกล้วยหอมเขียวที่ได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบต้นที่มีลักษณะสัณฐานผิดปกติเมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุม คือ ใบมีลักษณะหดสั้น ใบม้วนและงอเข้า ลำต้นเทียมเตี้ย มีสีขาวซีด (รูปที่ 2)

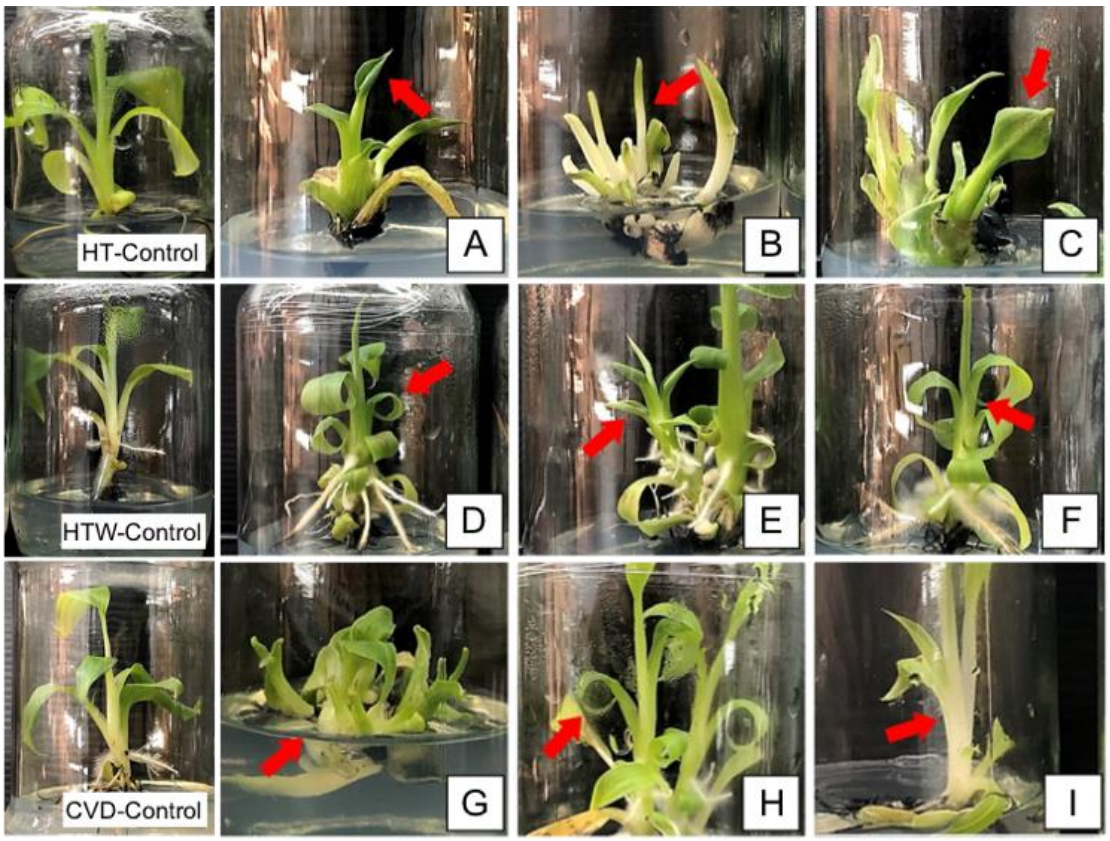
3.3 ผลการตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย HAT-RAPD

เมื่อตรวจสอบความผันแปรทางพันธุกรรมของกล้วยหอมทอง กล้วยหอมทองไต้หวัน และกล้วยหอมเขียวทั้งต้นที่ผ่านการฉายรังสีและที่ไม่ผ่านการฉายรังสีของแต่ละพันธุ์ ด้วยเครื่องหมาย HAT-RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ E32 พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ทุกตัวอย่าง โดยกล้วยหอมทองพบแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากรูป 15 แถบ คิดเป็น 93.75 % กล้วยหอมทองไต้หวันพบแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากรูป 7 แถบ คิดเป็น 77.78 % และกล้วยหอมเขียวพบแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากรูป 12 แถบ คิดเป็น 85.71 % นอกจากนี้ยังพบว่าให้แถบดีเอ็นเอขนาด 600 คู่เบส 1 แถบ ที่จำเพาะ

ตารางที่ 4 ผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อความหนาแน่นของปากใบด้านหลังใบของกล้วยที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาเปรียบเทียบกับต้นควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

Generation	ความหนาแน่นปากใบ (upper epidermis) (ปากใบ/ตร.มม)		
	HT	HTW	CVD
Control	37.07±6.190^{a}	32.40±2.474^{ab}	43.77±4.354^{b}
m_1v_1	31.73±3.203^{a}	36.23±2.635^{b}	39.52±9.000^{ab}
m_1v_2	26.60±2.981^{a}	25.77±2.329^{a}	24.00±1.917^{a}
m_1v_3	30.90±2.784^{a}	31.73±3.203^{ab}	33.00±7.815^{ab}
F-test	ns	*	*

HT = กล้วยหอมทอง; HTW = กล้วยหอมทองไต้หวัน; CVD = กล้วยหอมเขียว; ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กในคอลัมน์เดียวกันเป็นการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการ Duncan's multiple range (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %; * = มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ $p < 0.05$; ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 2 ลักษณะสัณฐานที่ผิดปกติของต้นกล้วยหอมทอง (HT) กล้วยหอมทองไต้หวัน (HTW) และกล้วยหอมเขียว (CVD) ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันเปรียบเทียบกับต้นควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

ต่อ HT-8Gy-22 ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับ HT-Control และให้แถบดีเอ็นเอขนาด 400 คู่เบส 1 แถบ ที่จำเพาะต่อ CVD-29Gy-11 ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับ CVD-Control เช่นเดียวกัน สอดคล้องกับแนวคิดของ พันธิพา และคณะ (2560) ซึ่งกล่าวว่าการตรวจพบแถบดีเอ็นเอที่มีความหลากรูปแสดงว่าต้นเบญจมาศที่ได้รับการฉายรังสีมีความผันแปรทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นในตำแหน่งที่เป็นตำแหน่งจดจำของเอนไซม์ ทำให้ตัดหรือไม่ตัดและเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอ ส่งผลให้ขนาดและจำนวนของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้เปลี่ยนแปลงไป (Vos *et al.*, 1995; Lee *et al.*, 2002)

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยทั้ง 3 พันธุ์ ที่ผ่านการฉายรังสีเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสีด้วยโปรแกรม NTSYS-pc รุ่น 2.01e โดยเลือกวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA พบว่ากล้วยแต่ละพันธุ์มีกลุ่มตัวอย่างที่น่าสนใจเมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุม ได้แก่ HT-8Gy-22 มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.20, HT-8Gy-23 มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.25, HT-8Gy-25 มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.29, HTW-23Gy-3 มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.57, HTW-23Gy-4 มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.57, CVD-29Gy-12 มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.55 และ CVD-29Gy-14 มีค่าสัมประสิทธิ์ความ

เหมือน 0.60 ตัวอย่างเหล่านี้ปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาดต่าง ๆ ที่มีความแตกต่างจากต้นควบคุม แสดงให้เห็นว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะใดลักษณะหนึ่ง การปรับปรุงพันธุ์โดยการชักนำให้เกิดการกลายร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเช่นนี้ อาจทำให้เกิดการกลายแบบความผันแปรของเซลล์ร่างกาย (somaclonal variation) ซึ่งความผันแปรที่เกิดขึ้นนี้จะคงทน สามารถถ่ายทอดไปยังชั่วรุ่นถัดไป แต่เกิดในอัตราต่ำและขึ้นกับชนิดของพืช ส่วนความผันแปรทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นจากการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายด้วยรังสี ก่อให้เกิดการกลายอย่างรุนแรงและเกิดความหลากหลาย รังสีอาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซม หรืออาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน โดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน

ผลการวิจัยครั้งนี้พบว่าการใช้ไพรเมอร์ E32 สามารถแยกความแตกต่างของสายพันธุ์กลายที่เกิดจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน โดย Lamseejan และคณะ (2000) กล่าวว่ารังสีที่นิยมใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช คือ รังสีแกมมา ซึ่งเป็นรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าความถี่สูง จัดอยู่ในกลุ่มของรังสีก่อไอออน (ionizing radiation) สามารถก่อให้เกิดปฏิกิริยาในเซลล์และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม นอกจากนี้ กิตติ และคณะ (2555) กล่าวว่าการชักนำการกลายทำได้โดยการใช้รังสีที่เป็นสิ่งก่อการกลายทางกายภาพทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการแปรผันทางพันธุกรรม

เมื่อนำผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากกล้วยทั้ง 3 พันธุ์ มาสร้างเป็นแผนภูมิความสัมพันธ์เดียวกัน (รูปที่ 3) พบว่าตัวอย่างกล้วยหอมเขียวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน ส่วนตัวอย่างกล้วยหอมทองและกล้วยหอมทองไต้หวันส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน และมีส่วนที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน เนื่องจากกล้วยหอมทองและกล้วยหอมทองไต้หวันจัดอยู่ในกลุ่มย่อย Gros Michel เช่นเดียวกัน

4. สรุป

ปริมาณรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่เหมาะสมต่อการก่อการกลาย (LD_{30}) ของกล้วยแต่ละพันธุ์มีค่าต่างกัน แสดงถึงความทนต่อรังสีของกล้วยในแต่ละพันธุ์ไม่เท่ากัน ส่งผลให้มีการตอบสนองต่อรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ต่างกัน และสามารถชักนำให้การเจริญเติบโตในแต่ละด้านเกิดการเปลี่ยนแปลง โดยกล้วยหอมทองมีความทนต่อรังสีต่ำ เมื่อได้รับปริมาณรังสีเล็กน้อยทำให้การเจริญเติบโตในแต่ละด้านลดลง แต่มีขนาดใบทั้งด้านความกว้างและความยาวเพิ่มขึ้น ขณะที่กล้วยหอมทองไต้หวันและกล้วยหอมเขียวมีความทนต่อรังสีสูงกว่า ส่งผลให้จำนวนการแตกรากและขนาดใบเพิ่มมากขึ้น แต่ความสูงของต้นลดลง นอกจากนี้พบว่ารังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ค่า LD_{30} มีผลทำให้การเจริญเติบโตไม่สม่ำเสมอ เกิดลักษณะผิดปกติ ได้แก่ ใบมีลักษณะหดสั้นและเรียวยาว ใบม้วนงอ ลำต้นแคระแกร็น ลำต้นเทียมมีสีขาว ซึ่งเป็นการแสดงออกทางฟีโนไทป์ (phenotype)

เมื่อตรวจสอบการกลายในกล้วยหอมทอง กล้วยหอมทองไต้หวัน และกล้วยหอมเขียวที่ได้รับรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ค่า LD_{30} เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับรังสีด้วยเทคนิค HAT-RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ E32 พบว่าสามารถแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นที่ได้รับรังสีออกจากต้นที่ไม่ได้รับรังสี เนื่องจากมีรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ชัดเจนและให้ความหลากหลายของแถบดีเอ็นเอระหว่างต้นที่ได้รับรังสีในแต่ละตัวอย่าง ดังนั้นเครื่องหมาย HAT-RAPD จึงมีประสิทธิภาพในการแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของต้นที่ได้รับรังสีออกจากต้นที่ไม่ได้รับรังสี

5. กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับความอนุเคราะห์ตัวอย่างเนื้อเยื่อกล้วยหอมทอง กล้วยหอมทองไต้หวัน และกล้วยหอมเขียวจาก ผศ.ดร.ณัฐพงษ์ จันจุฬา และขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปี 2562 ตามสัญญาเลขที่ บฑ. วช. 01/2562

6. รายการอ้างอิง

กิตติ โพธิปัทมะ, สุริยา ฤธาทิพย์ และกรวิศฎ์ ณ ถลาง, 2555, การแปรผันและการกลายของพืชจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, ว.วิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ 22(1): 225-231.

จินดา เดชบุญ, 2555, การชักนำความแปรปรวนทางพันธุกรรมในกล้วยไม้ลูกผสมสกุล *Doritaenopsis* โดยการใช้สารโคลชิซีนและรังสีแกมมาในสภาพปลอดเชื้อ, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.

นฤมล ธนานันต์, สุรีย์พร พุ่มเอี่ยม และธีระชัย ธนานันต์, 2556, การจำแนกพันธุ์และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ช้างและลูกผสมด้วยเครื่องหมายแฮตอาร์เอพีดี, ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 21(4): 360-370.

เบญจมาศ ศิลาย้อย และกรรณิกา เกรียงยะกุล, 2544, การชักนำให้กล้วยไข่เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้รังสีแกมมาร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, น. 197-202, สัมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 12 : พันธุศาสตร์ยุคปฏิวัติยีน, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2545, กล้วย, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ปวีณนุช ศรีช่วย, ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์, เฉอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์, สุวิสา พัฒนเกียรติ และอนันต์ พิริยะภัทรกิจ, 2561, ผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อข้อมันเทศประดับเลื้อยในสภาพปลอดเชื้อ, Thai J. Sci. Technol. 7(3): 239-248.

พันธิพา ลิ้มสงวน, สนธิชัย จันทร์เปรม, อิทธิฤทธิ์ อึ้งวิเชียร, ปัทมา ศรีน้ำเงิน และเสริมศิริ จันทร์เปรม, 2560, การปรับปรุงพันธุ์โดยชักนำการกลายพันธุ์ในเบญจมาศโดยใช้รังสีแกมมาและตรวจสอบการกลายพันธุ์โดยวิธีเอเอฟแอลพี, ว.วิทยาศาสตร์เกษตร 48(3): 334-345.

ภิญญารัตน์ กงประโคน และนัททรียา จิตบำรุง, 2560, การใช้รังสีแกมมาชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาในกุหลาบหนู, ว.แก่นเกษตร 45(พิเศษ 1): 1296-1302.

วสันต์ ชุณห์วิจิตรา, 2558, การปลูกกล้วยหอมทอง, ข่าวสารเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 60(2): 59-72.

ศรัญญู ถนิมลักษณ์, ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์, พัฒนา สุขประเสริฐ, พีรนุช จอมพุก และอนันต์ พิริยะภัทรกิจ, 2561, การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในบานไม่รู้โรยลูกผสมพันธุ์กลายโดยการฉายรังสีแกมมา, Thai J. Sci. Technol. 7(1): 48-57.

ศิริญยา คาชิมา, ธีระชัย ธนานันต์ และยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ, 2562, การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกล้วยจีโนม AAA ด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี, Thai J. Sci Technol 8(3): 300-308.

สุพิชชา สิทธินิสัยสุข, ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์, พีรนุช จอมพุก และณัฐพงศ์ จันจุฬา, 2561, ผลของรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อต้นลินเดอร์เนียในสภาพปลอดเชื้อ, Thai J. Sci. Technol. 7(2): 158-168.

สุภลัคน์ สุขสม, 2542, ศึกษาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและการแตกหน่อของกล้วยไข่ 2x และกล้วยไข่ 4x โดยการใช้รังสีแกมมา,

วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อรดี สหวัชรินทร์, กวิศร์ วานิชกุล และสุรพงษ์ โกสิยจินดา, 2536, การพัฒนาพันธุ์และการผลิตกล้วยกลุ่มกล้วยไข่โดยเทคโนโลยีชีวภาพ, รายงานวิจัย, ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Abdulhafiz, F., Kayat, F. and Zakaria, S., 2018, Effect of gamma irradiation on the morphological and physiological variation from *in vitro* individual shoot of banana cv. Tanduk (*Musa* spp.), J. Plant Biotechnol. 45: 140-145.

Doyle, J.J. and Doyle, J.L., 1987, A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue, Phytochem. Bull. 19: 11-15.

Jo, Y.D., Kim, S.H., Hwang, J.E., Kim, Y., Kang, H.S., Kim, S., Kwon, S.J., Ryu, J., Kim, J. and Kang, S., 2016, Construction of mutation populations by gamma-ray and carbon beam irradiation in Chili pepper (*Capsicum annuum* L.). Horti. Environ, Biotechnol. 5: 606-614.

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

Lee, Y.I., Lee, I.S. and Lim, Y.P., 2002, Variations in sweet potato regenerates from gamma ray irradiated embryonic callus, J. Plant Biotech. 4: 163-170.

Nualchavee, R., Jompuk, P., Rattanawong wiboon, T. and Puingam, R., 2012, Radiosensitivity of Vetiver to acute and chronic gamma irradiation, Kasetsart J. (Nat. Sci.). 46: 383-393.

Rohlf, F.J., 2002, NTSYSpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Applied Biostatistics, Inc., New York.

Sales, E.K., Lopez, J., Espino, R.R.C., Butardo, N.G. and Gonzalez Diaz, L., 2013, Improvement of bananas through gamma ray irradiation, Philipp. J. Crop. Sci. 38: 47-53.

Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T., 1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

Taychasinpitak, T., Kikuchi, S., Jala, A., Thanananta, T. and Chanchula, N., 2016, Mutation breeding of Thai native Torenia (*Torenia fournieri* Lind.) by gamma-ray irradiation, Thai J. Sci. Technol. 5(2): 190-199.

Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zebeau, M., 1995, AFLP: A new technique for DNA fingerprinting, Nucl. Acids Res. 23: 4407-4414.