ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

พืชสวน | พืชสวน

สาขา | **ภาควิชา**

เรื่อง การร่นระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาลูกผสมเพื่อเป็นไม้ตัดดอก โดยวิธีเพาะเลี้ยงคัพภะ

Studies Shortening Breeding Program of hybrid Curcuma for Cut Flower By Embryo Cultuer

นามผู้วิจัย นางสาวพรชนก คงสมโอษฐ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(รองศาสตราจารย์ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์, วท.ม.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(อาจารย์เฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(อาจารย์ธราธร ทีรฆฐิติ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(รองศาสตราจารย์พูนพิภพ เกษมทรัพย์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การร่นระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาลูกผสมเพื่อเป็นไม้ตัดดอกโดยวิธีการเลี้ยงคัพภะ

Studies Shortening Breeding Program of Hybrid *Curcuma* for Cut Flower by Embryo Culture

โดย

นางสาวพรชนก คงสมโอษฐ์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พ.ศ. 2554

พรชนก คงสมโอฐ์ 2554: การร่นระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาลูกผสมเพื่อเป็นไม้ตัดดอกโดยวิธีการเลี้ยงคัพภะ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาพืชสวน ภาควิชาพืชสวน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์, วท.ม. 70 หน้า

จากการศึกษาความสามารถในการผสมข้ามระหว่างปทุมมาพันธุ์ต่างๆ พบว่า คู่ผสมระหว่าง *Curcuma alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'ท็อปเรด' มีอัตราการผสมติดสูงที่สุดคือ 93.3 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็นคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'ขาวดอยตุง' ที่มีอัตราการผสมติด 87 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนคู่ผสมระหว่าง *Curcuma sp.*'มณีกาญจน์' x C. *larsenii* 'บัวลาย' มีอัตราการผสมติดต่ำที่สุดคือ 2.3 เปอร์เซ็นต์ จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลของการผสมต่างพันธุ์ข้ามชนิดนั้นอยู่ในช่วงระหว่าง 23.8 ถึง 94.2 เมล็ดต่อผลและอัตราเมล็ดสมบูรณ์ของการผสมภายในชนิดนั้นอยู่ระหว่าง 63.2 ถึง 98 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการช่วยชีวิตคัพภะลูกผสมปทุมมาโดยการตัดแยกคัพภะมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog ,1962) ที่ดัดแปลงโดยเติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, GA_3 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร, น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ kelcogel 2.5 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.75 เพาะเลี้ยงนาน 30 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสนั้น พบว่าคัพภะปทุมมามีอัตราการพัฒนาอยู่ระหว่าง 36.7 - 81.7 เปอร์เซ็นต์ โดยคู่ผสมที่มีอัตราการพัฒนาของคัพภะสูงที่สุดคือ *Curcuma alismatifolia* 'ปทุมมาป่า' x *C alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' เท่ากับ 81.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นคัพภะที่ได้ ส่วนคู่ผสมที่มีอัตราการพัฒนาของคัพภะน้อยที่สุดคือคู่ผสมระหว่าง *Curcuma sp.*'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง' เท่ากับ 36.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงคัพภะนี้จะมีคัพภะที่ไม่พัฒนาไปเป็นต้นจึงต้องทำการชักนำคัพภะให้เจริญเติบโตเป็นต้น ซึ่งพบว่าเมื่อปรับสูตรอาหารสังเคราะห์แล้วคัพภะสามารถพัฒนาเป็นต้นได้มากขึ้น

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Pornchanok Kongsomaot 2011: Studies Shortening Breeding Program of Hybrid *Curcuma* for Cut Flower by Embryo Culture Master of Science (Agriculture), Major Field: Horticulture, Department of Horticulture. Thesis Advisor: Assistant Professor Thunya Taychasinpitak, M.S. 70 pages.

A study on Crossability of some Curcuma spp. the results showed that Patumma had the highest fruit-set rate were 93.3% , 87% for *Curcuma alismatifolia* 'Chaingmai-pink' x *C. alismatifolia* 'Topred' , *C. alismatifolia* 'Chaingmai-pink' x *C. alismatifolia* 'Kawdoitung', respectively. *Curcuma sp*.'Maneekan' x C. larsenii 'bualai' had the lowest rated (2.3 %), yielded the number of seed per pod were 23.8 - 94.2 seed/pod and number of fully developed seed percentage were 63.2 – 98 %. The embryo rescue of hybrid Curcuma seeds were excised and cultured on medium fortified with different concentrations of 6-benzyl adenine (BA), Gibberellic acid (GA_3), alpha-naphthaleneacetic acid (NAA) with sucrose and kelcogel, After 4 weeks of culture, the results showed that embryo germination rate were 36.7 – 81.7 %. *Curcuma alismatifolia* 'wild Curcuma' x *C. alismatifolia* 'Chaingmai-pink' had the highest embryo germination rate (81.7%). *Curcuma sp*.'Maneekan' x *C. alismatifolia.*'Dangrakang' had the lowest embryo germination rate (36.7%)

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ ในการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนอำนวยความสะดวกในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้ จนวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบพระคุณ ดร.เฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์ ดร.ธราธร ทีรฆฐิติ และผศ.ดร.เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี กรรมการที่ปรึกษาวิชารอง ที่ให้คำปรึกษาและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย จังหวัดปทุมธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบคุณ ศูนย์ด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ ที่ให้การสนับสนุนทุนที่ใช้ในการวิจัย

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และพี่ชายที่เป็นกำลังใจรวมทั้งให้การสนับสนุนการศึกษาเสมอมา

พรชนก คงสมโอษฐ์

พฤษภาคม 2554

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	18
ผลและวิจารณ์	24
ผล	24
วิจารณ์	52
สรุปและข้อเสนอแนะ	58
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	59
ภาคผนวก	65
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	69

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เปอร์เซ็นต์การผสมติด จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลสมบูรณ์ และเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์เฉลี่ยต่อผล ในการผสมปทุมมาต่างพันธุ์ภายในชนิดเดียวกัน	26
2	เปอร์เซ็นต์การผสมติด จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลสมบูรณ์ และเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์เฉลี่ยต่อผล ในการผสมปทุมมาต่างพันธุ์ข้ามชนิด	30
3	แสดงอัตราการพัฒนาของคัพภะหลังจากทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ 30 วัน	32
4	ลักษณะการเปลี่ยนแปลงแคลลัสของลูกผสมปทุมมาแต่ละชนิด บนอาหารสังเคราะห์ หลังการเพาะเลี้ยง 30 วัน	41
5	ลักษณะการเปลี่ยนแปลงแคลลัสของลูกผสมปทุมมาแต่ละชนิด บนอาหารสังเคราะห์ หลังการเพาะเลี้ยง 60 วัน	45

ตารางผนวกที่

1	องค์ประกอบของอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962)	66

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’ x *C. alismatifolia* ‘ปทุมมาป่า’ ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน	35
2	การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’ x *C. alismatifolia* ‘ขาวสโนไวท์’ ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน	36
3	การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’ x *C. alismatifolia* ‘แดงระฆัง’ ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน	37
4	การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’ x *C. alismatifolia* ‘ม่วง’ ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน	38
5	ลักษณะเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* ‘ปทุมมาป่า’ x *C. alismatifolia* ‘กิโมโน’ ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน	39
6	การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *Curcuma sp.*‘มณีกาญจน์’ x *C. alismatifolia* ‘แดงระฆัง’ ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน	40
7	แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของแคลลัสของคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* ‘ขาวทิสชู’ x *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’ โดยการเพาะเลี้ยงบน อาหารสังเคราะห์ 60 วัน	49
8	แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของแคลลัสคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* ‘ขาวทิสชู’ x *C. alismatifolia* ‘แดงระฆัง’ โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ 60 วัน	50

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
9	แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของแคลลัสคู่ผสมระหว่าง *Curcuma sp.*'มณีกาญจน์x *C. alismatifolia* 'เขียวมรกต' โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ 60 วัน	51

ภาพผนวกที่

1	ลักษณะต้นพ่อพันธุ์ และ ต้นแม่พันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง	67

การร่นระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาลูกผสมเพื่อเป็นไม้ตัดดอก โดยวิธีการเลี้ยงคัพภะ

Studies Shortening Breeding Program of Hybrid *Curcuma* for Cut Flower by Embryo Culture

คำนำ

ปทุมมาเป็นไม้ดอกประเภทหัวเขตร้อนที่ได้รับความนิยมในต่างประเทศซึ่งปลูกเป็นไม้ตัดดอกและไม้กระถางโดยมีการส่งออกหัวพันธุ์ปทุมมาไปยังหลายประเทศ ได้แก่ เนเธอร์แลนด์ ญี่ปุ่น โปรตุเกส เยอรมัน ยุโรป ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา จีน เกาหลี โดยมีปริมาณการส่งออกในปี 2541-2547 ไม่ต่ำกว่า 2 ล้านหัว มูลค่าตั้งแต่ 16-29 ล้านบาท ทั้งนี้ยังมีแนวโน้มความต้องการหัวพันธุ์เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ พื้นที่ปลูกปทุมมาในประเทศไทยมีประมาณ 400 ไร่ โดยมีแหล่งผลิตหัวพันธุ์ที่สำคัญอยู่ในบริเวณจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน และพะเยา (เปรมปรี, 2546)

และเนื่องจากปทุมมาเป็นพืชสำคัญที่มีการค้าขาย และส่งออกเป็นจำนวนมาก อีกทั้งยังเป็นสินค้าประเภทบริโภคทางสายตา ความหลากหลายของสายพันธุ์จึงเป็นสิ่งจำเป็นในการกระตุ้นให้ตลาดไม้ดอกชนิดนี้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องต่อไป โดยในการปรับปรุงพันธุ์ปทุมมามักจะทำคัดเลือกปทุมมาที่มีกลีบประดับสีสันสวยงาม ก้านดอกยาวแข็งแรง ช่อดอกชูเหนือทรงพุ่ม แต่ปัญหาที่พบในการปรับปรุงพันธุ์ปทุมมานั้นคือเมล็ดปทุมมาลูกผสมส่วนใหญ่มีช่วงพักตัวเช่นเดียวกับหัวพันธุ์จึงต้องใช้เวลานานในการประเมินลักษณะเบื้องต้น ทำให้การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาลูกผสมไม่แพร่หลายเท่าที่ควรเพราะมีค่าใช้จ่ายสูง และใช้เวลายาวนาน

วิธีการร่นระยะเวลาการปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาวิธีหนึ่งคือ การช่วยชีวิตคัพภะลูกผสม (embryo rescue) เนื่องจากคัพภะของลูกผสมนี้มักมีปัญหาทางพันธุกรรม และไม่สามารถพัฒนาเป็นคัพภะที่สมบูรณ์ได้ ซึ่งอาจเกิดจากเอนโดสเปิร์มไม่พัฒนาเป็นปกติ (endosperm failure) ซึ่งส่งผลให้เกิดความผิดปกติทางด้านโภชนาการคือ มีอาหารสะสมไม่เพียงพอ จึงได้มีการนำเฉพาะส่วนของคัพภะของเมล็ดลูกผสมมาทำการเพาะเลี้ยงไว้ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อช่วยให้คัพภะพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ อย่างไรก็ตามพบว่าการช่วยชีวิตคัพภะลูกผสมนี้ให้ผลที่แตกต่างกันตามแต่ละ

คู่ผสม จึงจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาสูตรอาหาร อายุเมล็ด และการพัฒนาของคัพภะเพื่อทำให้การช่วยชีวิตคัพภะลูกผสมมีประสิทธิภาพมากขึ้น ส่งผลต่อการปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาใหม่ๆให้ที่มีลักษณะสีสันสวยสะดุดตาได้เร็วยิ่งขึ้น ประหยัดเวลา และค่าใช้จ่าย

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการทดลองนี้ คือ เพื่อศึกษาการพัฒนาของคัพภะปทุมมาลูกผสม และทำการร่นระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเป็นแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์ที่รวดเร็วและประหยัดต้นทุนขึ้น

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความสามารถในการผสมปทุมมาต่างพันธุ์ภายในชนิดเดียวกันและการผสมต่างพันธุ์ข้ามชนิด ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทางในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดและใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

2. ศึกษาการเพาะเลี้ยงคัพภะปทุมมาลูกผสมซึ่งจะช่วยร่นระยะเวลาการปรับปรุงพันธุ์

3. ศึกษาและเปรียบเทียบหาสูตรอาหารที่เหมาะในการชักนำแคลลัสไปเป็นต้นของปทุมมาลูกผสม

การตรวจเอกสาร

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ปทุมมา มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยส่วนใหญ่ปลูกเป็นไม้กระถาง และไม้ตัดดอก (Bunya-Atichart *et al*., 2004) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวไม่มีเนื้อไม้อายุหลายปี อยู่ในสกุล ขมิ้น (*Curcuma*) ของวงศ์ขิง (Zingiberaceae) สำหรับในประเทศไทยพบกระจายอยู่ทั่วทุกภาค โดยเฉพาะภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (พิมพ์ใจ และคณะ, 2539) พืชสกุลนี้มีลำต้นใต้ดินทำหน้าที่สะสมน้ำและอาหาร เรียกว่า เหง้า (rhizome) ตาข้างของเหง้าจะเจริญเติบโตเป็นลำต้นเทียม (pseudostem) อยู่เหนือดิน โดยลำต้นเทียมนั้นเกิดจากกาบใบที่ห่อตัวกันแน่น ก้านใบชูออกจากลำต้นเทียม (นิพัฒน์ และคณะ, 2537) ใบเป็นใบเดี่ยว มีลักษณะแผ่ตั้งแข็งแรงรูปร่างรีค่อนข้างกว้าง แผ่นใบสีเขียว เส้นกลางใบอาจมีสีม่วงแดงหรือไม่มีก็ได้ ช่อดอกเกิดจากส่วนปลายของลำต้นเทียมโดยมีลักษณะช่อดอกเป็นแบบช่อแน่น (compact spike) ประกอบด้วยกลีบประดับ (bract) และดอกจริง โดยมีกลีบประดับโอบรอบโคนช่อดอกย่อย ทั้งนี้กลีบประดับเรียงซ้อนกันเกิดเป็นช่อทรงกระบอก เอกลักษณ์อย่างหนึ่งของพืชสกุลนี้คือ ส่วนของโคนกลีบประดับส่วนล่างเชื่อมติดกันเกิดเป็นลักษณะคล้ายถ้วย ปทุมมามีกลีบประดับด้านล่างจำนวน 7-10 กลีบ สีเขียว โดยอาจมีสีชมพูแต้มบริเวณด้านข้างเล็กน้อย สำหรับกลีบประดับส่วนบนของช่อนั้นจะไม่มีช่อดอกย่อย มีสีขาว ชมพู ม่วงแดง หรือ ม่วงน้ำเงิน ปลายกลีบประดับ มักมีสีเขียวและยาวกว่ากลีบประดับส่วนล่างเล็กน้อยมีจำนวน 6-15 กลีบ และอาจจะปลายโค้งเข้าสู่แกนก้านช่อหรือปลายโค้งออก กลีบประดับส่วนบนนี้มีชื่อว่า coma bract หรือกลีบประดับชนิด coma ช่อดอกย่อยที่อยู่ในซอกกลีบประดับมีดอกจริงอยู่ประมาณ 2-7 ดอก ซึ่งเป็นดอกที่ไม่มีก้านดอก ประกอบด้วยกลีบเลี้ยง 3 กลีบ อยู่เหนือรังไข่เชื่อมกันเป็นหลอดหุ้มส่วนโคนของกลีบดอกไว้ซึ่งกลีบดอกเองนั้นก็มีโคนที่เชื่อมกันเป็นหลอดแต่ปลายแยกเป็นกลีบ 3 กลีบ เกสรเพศผู้วงนอกเป็นหมัน 3 อัน ถูกเปลี่ยนรูปเป็นกลีบ 3 กลีบ เรียกว่า กลีบสเตมิโนด (petaloid staminode) โดยมี 1 กลีบเปลี่ยนรูปเป็นปาก เกสรเพศผู้วงในมีก้านชูเกสรเพศผู้ 3 อันเชื่อมรวมกันโอบหุ้มก้านชูเกสรเพศเมียไว้ เกสรเพศผู้นี้ลดรูปไป 1 อัน เหลืออับละอองเรณู 2 อันที่อยู่ด้านเดียวกับปากเท่านั้น ซึ่งทำหน้าที่ตามปกติ รังไข่อยู่ใต้กลีบเลี้ยง ดอกในช่อย่อยเดียวกันจะบานห่างกัน 2-6 วัน โดยดอกในกลีบประดับบริเวณโคนช่อจะบานก่อน ดอกบานเพียง 1 วัน จำนวนดอกที่บานในแต่ละช่อ อาจมีเพียงดอกเดียวหรือหลายดอกต่อวัน ภายหลังการปฏิสนธิรังไข่ซึ่งเกิดจากผนังรังไข่ 3 ชิ้นเชื่อมกันจะเจริญเป็นผลที่มี 3 พู ภายในมีเมล็ดรูปร่างและขนาดคล้ายเมล็ดองุ่น ผลมีอายุประมาณ 1-2 เดือน ผลแก่มีผนังบางและเมล็ดแก่สีน้ำตาลเข้ม เมล็ด

มักมีการพักตัวเหมือนกับการพักตัวของเหง้า หัวปทุมมามีสีน้ำตาล ผิวเปลือกเป็นร่อง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5-3เซนติเมตร ยาว 3-4 เซนติเมตร มีรากเป็นระบบรากฝอย ปลายรากส่วนหนึ่งจะบวมพองออกมี 4ลักษณะเป็นตุ้มทำหน้าที่เก็บสะสมน้ำและอาหาร เพื่อใช้ในช่วงพักตัวและช่วยในการงอก

เนื่องจากไม้ดอกประเภทหัวเป็นพืชล้มลุกหลายฤดู ซึ่งวงจรชีวิตประกอบด้วยการเจริญเติบโตสลับกับช่วงของการพักตัว การเริ่มต้นวงจรชีวิตเริ่มจากการเจริญเติบโตของต้นจากหัวที่หมดระยะพักตัวแล้วมีการเจริญเติบโตของใบ และดอกควบคู่กันไปกับการสร้างหัวใหม่ หลังจากนั้นต้นจะหมดอายุและตายไปส่วนหัวใหม่ยังคงมีชีวิตและเข้าสู่ระยะพักตัว บางชนิดมีการสร้างตาดอกช้าโดยสร้างตาดอกได้และพัฒนาจากปลายยอดที่มีการเจริญเติบโตทางใบเต็มที่แล้ว ในขณะที่บางชนิดมีการสร้างดอกเร็ว ซึ่งมีตาใบ และตาดอกอยู่ในตำแหน่งที่แตกต่างกัน ตาดอกมีการเจริญจากนั้นมีการพัฒนาส่วนตาใบ และแทงช่อดอกก่อนหน่อใบ เมื่อหัวที่หมดระยะพักตัวแล้วเริ่มการเติบโตในฤดูใหม่ การสร้างดอกของไม้ดอกประเภทหัวนั้นมีขั้นตอนการสร้างดอก การเจริญและพัฒนาของดอก แตกต่างกันไปตามชนิดของพืช ซึ่งมีโครงสร้างหัวที่แตกต่างกันไปตามชนิดของพืช แม้แต่พืชที่มีโครงสร้างของหัวแบบเดียวกันก็ยังมีความแตกต่างในการสร้างและการเจริญเติบโตของดอกได้ (ฉันทนา, 2540)

พืชสกุลขมิ้นนั้นมีความหลากหลายของลักษณะต่างๆ มากมาย นักพฤษศาสตร์ได้จำแนกพืชสกุลขมิ้น โดยแบ่งเป็น 2 สกุลย่อย ได้แก่

1. สกุลย่อย Eucurcuma หรือกลุ่มกระเจียว ลักษณะเด่นสังเกตที่ดอกจริงปากกลีบดอกจะมีสีขาวหรือสีเหลือง และการออกดอก ช่อดอกที่เกิดจะเกิดจากเหง้าโดยตรง หรือช่อดอกเกิดจากตายอดของลำต้นเทียม เช่น ฉัตรทิพย์ ฉัตรทอง พลอยชมพู พลอยทักษิณ เป็นต้น

2. สกุลย่อย Paracurcuma หรือกลุ่มปทุมมา ลักษณะเด่นสังเกตุที่ดอกจริงที่ปากกลีบดอกจะมีสีขาวหรือสีม่วง และการออกดอก ช่อดอกที่เกิดจะเกิดจากตายอดของลำต้นเทียม เช่น ปทุมมา พลอยมยุรา แวววุบล เทพรำลึก เป็นต้น

การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาโดยการผสม

โดยปกติระยะเวลาในการบานของดอกขิงจะไม่พร้อมกันโดยเกสรเพศผู้จะบาน (anthesis) ก่อนเกสรเพศเมีย (receptive) ฉะนั้นโอกาสที่จะผสมข้ามจึงเป็นไปได้สูงแต่โอกาสที่จะผสมตัวเองนั้นก็ยังมีเช่นเดียวกัน นอกเหนือจากมนุษย์แล้วยังมี ผึ้ง มด ฯลฯ ที่เป็นผู้ช่วยในการผสมได้อีกด้วย (Gao *et al*., 2004)

ดอกปทุมมาส่วนมากพร้อมที่จะมีการถ่ายละอองเกสรเรณูได้ตั้งแต่ตอนเริ่มบานจนถึงบานในช่วง 8-10 นาฬิกา และในช่วงรับหรือถ่ายละอองเกสรนั้นควรกระทำในขณะที่ความชื้นสัมพัทธ์อยู่ในระดับสูงเนื่องจากละอองเกสรของไม้ดอกประเภทนี้มีความเป็นหมันในระดับปานกลางถึงต่ำ (จุไรรัตน์, 2544)

พืชชนิดนี้จะมีเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียอยู่ในดอกเดียวกันดังนั้นจะต้องมีการตอนดอกโดยดึงเกสรเพศผู้ออก (emasculation) เพื่อป้องกันไม่ให้พืชผสมตัวเองและใช้ละอองเกสรจากดอกอื่นในการผสมซึ่งวิธีนี้ต้องใช้ความระมัดระวังเพราะดอกจะช้ำหรือขาดได้ง่าย

การผสมละอองเกสรต้องกระทำในช่วงเวลาที่ดอกเพศเมียอยู่ในระยะผสมติด (receptive) เท่านั้น การผสมกระทำโดยรวบรวมละอองเกสรจากต้นพ่อจากนั้นนำไปแตะเบาๆบนปลายเกสรเพศเมียซึ่งละอองเกสรต้องยังมีชีวิต (viable)

ประเดิม (2542) ศึกษาการผสมภายในชนิด และการผสมข้ามชนิดของพืชกลุ่ม *Curcuma* พบว่าในกลุ่มปทุมมา ‘แววอุบล’มีการผสมติดสูงที่สุดร้อยละ 90% รองลงมาคือ ‘เทพรำลึก’ร้อยละ 60 ปทุมมาและ’มณีกาญจน์’ผสมติดร้อยละ 40 และ’เทพอัปสร’ผสมติดต่ำสุดร้อยละ 30 สำหรับในกลุ่มกระเจียว ‘ฉัตรทิพย์’มีการผสมติดสูงที่สุดร้อยละ 80 รองลงมาคือ ‘กระเจียวแดง’ร้อยละ 40 รองลงมาคือ ‘กระเจียวพลอยชมพู’ และ’พลอยทักษิณ’ร้อยละ 30 ส่วนชนิดอื่นๆนอกเหนือจากนี้ผสมไม่ติด

สำหรับการผสมข้ามชนิดนั้น พบว่า คู่ผสมที่อยู่ในกลุ่มปทุมมาที่มีการผสมติดสูงที่สุดคือ ‘เทพรำลึก’ x ‘ช่อมรกต’ ร้อยละ 70 รองลงมาคือ คู่ผสมระหว่าง’เทพรำลึก’ x ปทุมมา ร้อยละ 60 รองลงมาคือ ‘แววอุบล’ x ‘เทพอัปสร’ ร้อยละ 50 ส่วนคู่ผสมที่อยู่ในกลุ่มกระเจียวที่มีการผสมติด

สูงที่สุดคือ ‘กระเจียว’ x ‘กระเจียวแดง’ ‘กระเจียวแดง’ x ‘พลอยชมพู’ และ ‘ฉัตรทิพย์’ x ‘พลอยทักษิณ’ ร้อยละ 60 รองลงมาคือ ‘ฉัตรทิพย์’ x ‘อุษา’ ร้อยละ 50 ส่วนคู่ผสมที่ผสมข้ามระหว่างกลุ่ม ได้แก่ ‘ฉัตรทิพย์’ x ‘แววอุบล’ มีการผสมติดเท่ากับร้อยละ 50 ซึ่งการผสมข้ามดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิดของคู่ผสม (ร้อนละ 50-100) ส่วนคู่ผสมข้ามชนิดของปทุมมา x ‘ช่อมรกต’ ร้อยละ 40 รองลงมาคือ ‘มณีกาญจน์’ x ‘ฉัตรทอง’ ‘ฉัตรทิพย์’ x ‘เทพรำลึก’ ปทุมมา x ‘มณีกาญจน์’ ร้อยละ 30 กลุ่มดังกล่าวนี้มีการผสมข้ามระหว่างกลุ่มได้มากขึ้น แต่มีการผสมติดต่ำกว่ากลุ่มแรก แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ที่ห่างกันมากขึ้น (ร้อยละ 25-49) ส่วนกลุ่มที่มีความสัมพันธ์กันห่างกันมากที่สุด (ร้อยละ 5-24) ได้แก่ กระเจียว x ‘ฉัตรทิพย์’ ‘ฉัตรทิพย์’ x ‘ฉัตรทอง’ ปทุมมา x ‘แววอุบล’ ปทุมมา x ‘สายทิพย์’ และ ‘แววอุบล’ x ‘มณีกาญจน์’ ร้อยละ 20 รองลงมาคือ กระเจียว x ‘พลอยชมพู’ กระเจียว x ‘กระบี่ทอง’ ‘พลอยชมพู’ x ‘ฉัตรทอง’ ‘ฉัตรทิพย์’ x ‘พลอยไพลิน’ ‘ฉัตรทิพย์’ x ‘มณีกาญจน์’ ‘แววอุบล’ x ‘ช่อมรกต’ ‘เทพรำลึก’ x ‘พลอยทักษิณ’ ‘เทพรำลึก’ x ‘แววอุบล’ ‘มณีกาญจน์’ x ‘เทพอัปสร’ และ ‘พลอยชมพู’ x ‘อุษา’ มีการผสมติดร้อยละ 10 ซึ่งส่วนใหญ่จะมีโครโมโซมที่แตกต่างกัน สำหรับคู่ผสมที่ผสมไม่ติดได้แก่ ชนิดที่ผสมกับ ‘หยกปราจีน’ ‘ว่านเพชรม้า’ ‘ว่านงูเห่า’ ‘ว่านปลาไหลเผือก’ ‘ปทุมเทพ’ และ ‘อุบลวัลย์’

การพักตัวของเมล็ดในลูกผสม

สาเหตุการพักตัว (seed dormancy and dormancy breaking)

เมล็ดพืชเมื่อนำมาเพาะให้งอกจะมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น 3 ขั้นตอน คือ 1) การดูดซึมน้ำ 2) เกิดขบวนการเมตาบอลิซึมต่างๆ 3) มีการเจริญเติบโตเกิดขึ้น ถ้านำมาเพาะแล้วเกิดกระบวนการทั้งสามต่อเนื่องกันไปเรียกเมล็ดเหล่านี้ว่า เมล็ดไม่พักตัว แต่ถ้ากระบวนการทั้งสามนี้ตอนใดตอนหนึ่งไม่เกิดขึ้น ก็เรียกว่าเมล็ดพักตัว โดยธรรมชาติของเมล็ดมีการพักตัวเพื่อหลีกเลี่ยงสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและยืดระยะเวลาการพัฒนาของเมล็ด เพื่อรอให้พ้นสภาพที่ไม่เหมาะสม และคงไว้ซึ่งพันธุ์นั้นๆ โดยทั่วไปแล้วเมล็ดพืชส่วนใหญ่จะมีการพักตัวเมื่อหลุดร่วงจากต้นแม่ การพักตัวที่เกิดขึ้นขณะที่เมล็ดพัฒนาอยู่บนต้นแม่จัดเป็นการพักตัวขั้นแรก ลักษณะและระยะเวลาในการพักตัวถูกควบคุมด้วยพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม การพักตัวแบบนี้จะค่อยๆหมดไปตามระยะเวลาหลังเมล็ดสุกแก่ (after ripening) จากนั้นเมล็ดจะเข้าสู่ภาวะสงบ หรือ ระยะพักผ่อน (quiescent or resting state) และจะสามารถงอกได้เมื่อได้รับปัจจัยที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ด

ชนิดต่างๆ แต่ถ้าเมล็ดได้รับปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่ไม่แหมะสมต่อการงอก เมล็ดจะถูกชักนำให้เกิดการพักตัวขึ้นมาได้อีกครั้ง เมล็ดก็จะไม่งอกจัดเป็นการพักตัวขั้นที่สอง (Robert, 1998)

ประเภทของการพักตัวของเมล็ดแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน เป็นการยากที่จะบอกประเภทของการพักตัวของเมล็ดแต่ละแบบ Hartman, *et al.* (1997) ได้แบ่งการพักตัวของเมล็ดไว้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ 1) การพักตัวขั้นแรก 2) การพักตัวขั้นที่สอง

การพักตัวขั้นแรกยังแบ่งย่อยลงไปอีก 3 ลักษณะ คือ

1.1 การพักตัวเกี่ยวกับลักษณะภายนอกของเมล็ด (Exogenous dormancy) ส่วนใหญ่เกี่ยวกับโครงสร้างของเมล็ดดังนี้

เปลือกเมล็ดไม่ยอมให้น้ำซึมผ่าน (Impermeability of seed covering to water) เมื่อเพาะให้ความชื่น เมล็ดพวกนี้จะยังคงลักษณะแข็ง ไม่บวม พอง ไม่ดูดซึมน้ำ ลักษณะเหมือนเมล็ดแห้งทั่วๆไป เรียกเมล็ดพวกนี้ว่าเมล็ดแข็ง (hard seed) อาจเกิดจากส่วนของเปลือกหุ้มหนาและแข็งมาก เป็นอุปสรรคต่อการขยายขนาดของคัพภะ จนคัพภะไม่สามารถจะดันให้เปลือกแตกออกมาได้ หรือเปลือกหุ้มเมล็ดไม่ยอมให้ออกซิเจนซึมผ่าน (Impermeability of seed covering to oxygen) ซึ่งอาจจะเป็นส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ดหรือเปลือกของผลขัดขวางไม่ให้ออกซิเจนผ่านเข้าไปภายในเมล็ด ทำให้คัพภะได้รับออกซิเจนน้อยไม่เพียงพอที่จะเจริญเติบโตได้

1.2 การพักตัวเกี่ยวกับลักษณะภายในเมล็ด (Endogenous dormancy) ส่วนใหญ่เกี่ยวกับลักษณะทางสรีระของเมล็ดมีลักษณะดังนี้

การพักตัวเนื่องจากคัพภะยังเจริญเติบโตหรือยังอ่อน (Immature embryo dormancy) การพักตัวแบบนี้เป็นปรากฏการณ์ที่ซับซ้อนมาก ทั้งนี้ถูกควบคุมโดยปัจจัยภายนอกและปัจจัยภายในเมล็ด ระยะการพัฒนาทางสรีรวิทยาของเมล็ดเองก็มีผลต่อการพักตัวของคัพภะ เช่น การที่เมล็ดหลุดร่วงจากต้นแม่ก่อนคัภะจะเจริญเป็นรูปร่าง สัณฐานเต็มที่ ทำให้สารควบคุมการเจริญเติบโตที่อยู่ในคัพภะยับยั้งการยืดตัวของเซลล์เมื่อนำไปเพาะก็จะทำให้เมล็ดพวกนี้ไม่งอก จะต้องทิ้งไว้จนกว่าคัพภะที่ยังอ่อนอยู่นี้เจริญเติบโตเต็มที่จึงจะงอกได้ ซึ่งจะต้องใช้เวลาตามธรรมชาติประมาณ 2-3 เดือน พืชบางชนิดมีการพักตัวเนื่องจากสารยับยั้งการงอก (Inhibitors) สารยับยั้งการงอกในเมล็ดมีหลายชนิด ทั้งชนิดที่เป็นฮอร์โมนพืช และสารอินทรีย์อื่นๆ สารเหล่านี้ได้แก่ คอมาริน (caumarin),

กรดแอบไซซิก (abscisic acid : ABA), ไซยาไนด์ (cyanide) และฟีโนลิค (phenolic compounds) เป็นต้น สารยับยั้งการงอกนี้จะหยุดยั้งกระบวนการงอกในปฏิกิริยาชีวเคมีที่แตกต่างกันไป สารยับยั้งการงอกจะปรากฏอยู่ในส่วนใดส่วนหนึ่งของเมล็ด เช่น seed coat, pericarp, endosperm, cotyledon หรือ embryo ก็ได้ เมล็ดจะหลุดพ้นจากสภาพการพักตัว เมื่อสารยับยั้งการงอกจะถูกชะล้างออกไปจากเมล็ด หรือสลายไปจากเมล็ดธรรมชาติตามปกติแล้วในขณะที่เมล็ดมีการพัฒนาจะมี ABA อยู่ในระดับสูง ABA จะมีหน้าที่ยับยั้งไม่ให้เมล็ดงอกบนต้นแม่ ซึ่งหากเมล็ดที่สุกแก่แต่ยังคงมีระดับของ ABA ในปริมาณสูงนั้นจะทำให้เกิดการพักตัวขึ้น อย่างไรก็ตามระดับของ ABA จะลดลงเมื่อเก็บรักษาเมล็ดไว้ระยะหนึ่ง ในกรณีของ ABA ซึ่งเป็นฮอร์โมนระงับการงอกของเมล็ด โดยทั่วไปมักจะพบว่าการให้สารฮอร์โมนช่วยเร่งการเจริญเติบโต(growth promoters) เช่น GA, kinetin, cytokinin มักจะเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกได้อย่างรวดเร็วการพักตัวเนื่องจากความไวแสงของเมล็ด (Light sensitivity dormancy) แสงเป็นกลไกควบคุมการพักตัวของเมล็ดพืชบางชนิด เช่น เมล็ดวัชพืช ผักกาดหอม ยาสูบ เป็นต้น แสงสีแดง (ความยาวคลื่น 625-660 นาโนเมตร) มีผลต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ดได้ในขณะที่แสงสีแดงไกล (ความยาวคลื่น 700-730 นาโนเมตร) หรือความมืด ยับยั้งการงอกของเมล็ด กลไกการกระตุ้นหรือยับยั้งโดยแสงดังกล่าวเกิดจากการเปลี่ยนแปลงรูปของ Phytochrome pigment สองชนิดในเมล็ดคือ P-730 (รูปที่กระตุ้นการงอก) และ P-660 (รูปที่ยับยั้งการงอก) เมื่อเมล็ดได้รับแสงสีแดง P-660 เป็นรูป P-730 เมล็ดก็งอกได้ในทางตรงกันข้าม แสงสีแดงไกล จะเปลี่ยน P-730 เป็นรูป P-660 ซึ่งยับยั้งการงอก ความต้องการแสงในการงอกของเมล็ดพืช จะมีความจำเป็นมากเฉพาะเมล็ดที่เก็บเกี่ยวมาใหม่ๆ หากเก็บเมล็ดที่แห้งแล้วไว้นานๆ เมล็ดนั้นก็จะสามารถงอกได้โดยไม่ไวต่อแสง

1.3 การพักตัวแบบรวม (Combination dormancy) เมล็ดพืชบางชนิดมีการพักตัวที่สลับซับซ้อนกว่าธรรมดา โดยมีการพักตัวมากกว่า 1 แบบ เกิดขึ้นในเมล็ดเดียวกัน การทำลายการพักตัวจึงต้องเป็นไปทีละขั้นตอนตามลำดับ ตามกลไกของการพักตัวเหล่านั้นสาเหตุการพักตัวของเมล็ดเป็นผลมาจากปัจจัยต่างๆ ทั้งภายในและภายนอกเมล็ด ปัจจัยภายในได้แก่ ลักษณะทางพันธุกรรม ซึ่งสามารถถ่ายทอดและกำหนดชนิดของการพักตัวของเมล็ด ปัจจัยภายนอกได้แก่ อายุของเมล็ด สภาพการเก็บรักษา สภาพดินฟ้าอากาศและสิ่งแวดล้อมต่างๆ ขณะเมล็ดอยู่ในระหว่างกระบวนการการเจริญเติบโตและพัฒนาบนต้นแม่ ปัจจัยภายนอกเหล่านี้เป็นตัวกำหนดระยะเวลาของการพักตัว (Carol and Baskin, 1998 ; Desai *at el*, 1997 ; Jaime and Galili, 1995 ; Larry and Mcdonald, 1995 ; Michael and Bewley, 2000)

การพักตัวขั้นที่สอง (Secondary dormancy)

เมื่อเมล็ดสุกแก่จากต้นแม่ และผ่านการพักตัวขั้นแรกมาระยะหนึ่งแล้ว เมล็ดก็จะพ้นระยะการพักตัวตามธรรมชาติได้ ถ้าเมล็ดได้รับปัจจัยที่เหมาะสมต่อการงอก เมล็ดก็จะงอกได้ แต่ถ้าสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการงอก เมล็ดก็จะถูกชักนำให้มีการพักตัวขั้นที่สองได้ ทำให้เมล็ดเพาะไม่งอก ในทางกลับกันถ้าสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการงอก เมล็ดจะถูกชักนำให้กลับเข้าสู่ระยะการพักตัวอีกครั้ง ทำให้เมล็ดไม่งอก จัดเป็นการพักตัวขั้นที่สอง (Robert, 1998) การทำลายการพักตัวของเมล็ด (dormancy breaking) หมายถึงการทำให้เมล็ดหมดสภาพการพักตัว และสามารถงอกได้เมื่ออยู่ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการงอก อุณหภูมิต่ำ แสง การเก็บเมล็ดในสภาพแห้งความชื้นต่ำ และการใช้สารเคมีกระตุ้นการงอก มีผลทำให้การพักตัวของเมล็ดหมดไป กลไกดังกล่าวไม่ใช่สิ่งที่เมล็ดต้องการ หรือจำเป็นต่อการเจริญเติบโตตลอดเวลาการทำลายการพักตัวของเมล็ดมีอยู่หลายวิธี แต่ละวิธีก็เหมาะสมสำหรับการพักตัวของเมล็ดแต่ละแบบ และยังขึ้นกับสาเหตุของการพักตัวของเมล็ดนั้นๆด้วย

การช่วยชีวิตคัพภะลูกผสม (embryo rescue)

เทคนิคการช่วยชีวิตคัพภะเป็นวิธีการที่นิยมใช้ในการช่วยทำให้การผสมพันธุ์พืชข้ามชนิดประสบความสำเร็จ เนื่องจากคัพภะของลูกผสมข้ามชนิด (interspecific hybridization) หรือผสมข้ามกลุ่ม (intergeneric hybridization) เหล่านี้จะมีปัญหาทางพันธุกรรม (genetic barriers) และมักไม่สามารถพัฒนาเป็นคัพภะและเมล็ดที่สมบูรณ์ได้ เพราะเกิดการแท้งหลังจากการผสมเกสร เทคนิคนี้จะนำคัพภะของลูกผสมในระยะก่อนที่จะเกิดการแท้งมาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพที่ปลอดเชื้อทำให้คัพภะสามารถเกิดการพัฒนาและเจริญเป็นต้นบนอาหารสังเคราะห์ได้ นอกจากนี้ยังสามารถใช้เพาะเมล็ดที่คัพภะมีความอ่อนแอตั้งแต่กำเนิดให้งอกเป็นต้น ช่วยร่นระยะเวลาในการทำการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้แก้ปัญหาการพักตัวของเมล็ดในพืชบางชนิด (Pierik, 1987; Sharma *et al.*,1996)

โดยปกติการเพาะเลี้ยงคัพภะนั้น ต้องมีการแยกเอาส่วนของคัพภะทั้งชิ้นออกมาจากเมล็ดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ด้วยความระมัดระวัง และทำการแยกคัพภะออกมาทันทีก่อนที่คัพภะจะเริ่มฝ่อหรือสลายตัวไป (รังสฤษดิ์, 2545) ในกรณีที่คัพภะมีขนาดเล็กจะทำให้เกิดปัญหาในการแยกเอาส่วนคัพภะออกมาเพาะเลี้ยง เช่น ทำให้คัพภะเกิดความบอบช้ำจนไม่สามารถพัฒนาบน

อาหารเพาะเลี้ยงได้หรืออาจทำให้เกิดบาดแผลจนทำให้คัพภะเสียหายและตายไป หรือมีโอกาสเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ได้มากขึ้นทำให้ไม่ประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเท่าที่ควร

ปัจจัยที่มีผลต่อการประสบความสำเร็จในการช่วยชีวิตคัพภะ

การช่วยชีวิตเอ็มบริโอมีปัจจัยที่ส่งผลต่อการประสบความสำเร็จดังนี้

1. ระยะการพัฒนาของคัพภะหรืออายุของออวุลหลังการผสมเกสร โดยมีรายงานว่าคัพภะที่มีการพัฒนาไม่ถึงระยะ heart stage เมื่อถูกนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อจะทำให้โอกาสที่คัพภะจะสามารถพัฒนาเป็นต้นได้นั้นลดลงมากเมื่อเทียบกับคัพภะที่มีการพัฒนาถึงหรือเลยระยะ heart stage ไปแล้ว (Pellegrineschi *et al*., 1997; Pierik, 1987; Sharma *et al.,* 1996)

2. ส่วนประกอบของอาหารสังเคราะห์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงคัพภะ โดยมีส่วนประกอบที่จำเป็นคือ ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง น้ำตาล และสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช โดยส่วนใหญ่ในการช่วยชีวิตคัพภะ นิยมใช้อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skook (MS) และ Gamberg's B5 (Bridgen, 1994; Pellegrineschi *et al.,* 1997; Pierik, 1987)

Sharma *et al.* (1996) รายงานว่า ในการช่วยชีวิตคัพภะนั้น น้ำตาลและเคซีนไฮโดรไลเซท (casein hydrolysate) ในอาหารสังเคราะห์มีความสำคัญมาก ซึ่งทำให้เกิดการดึงธาตุอาหารต่าง ๆ จากอาหารสังเคราะห์เข้าไปสู่คัพภะได้ดีขึ้น และเป็นการป้องกันไม่ให้คัพภะเกิดการเจริญเป็นต้นโดยที่ยังพัฒนาไม่สมบูรณ์ เนื่องจากต้นที่ได้จากการพัฒนาของคัพภะที่ไม่สมบูรณ์นั้นจะมีความอ่อนแอมาก (Sharma *et al.,* 1996) นอกจากนั้นน้ำตาลยังเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญให้กับพืช โดยเป็นแหล่งของคาร์บอน (carbon source) ส่วนเคซีนไฮโดรไลเซทมีกรดอะมิโน 18 ชนิดเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเป็นแหล่งของไนโตรเจนและใช้กันอย่างกว้างขวางในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของคัพภะและพบว่า กรดอะมิโนในเคซีนไฮโดรไลเซทโดยเฉพาะกลูตามีน มีประสิทธิภาพสูงมากสำหรับการพัฒนาของคัพภะอ่อน (Pierik, 1987)

น้ำตาลที่นิยมใช้ คือ ซูโครส (sucrose) ซึ่งเป็นชนิดเดียวกับที่พืชสังเคราะห์ได้เอง และ มีความจำเป็นอย่างมากต่อเนื้อเยื่อพืชเกือบทุกชนิด โดยปกติมักใช้ในปริมาณ 1 – 5 เปอร์เซ็นต์ และมี

หลักฐานชี้ว่าการสร้างสารเมตาโบไลท์บางชนิดในเนื้อเยื่อที่เลี้ยง เป็นผลมาจากความเข้มข้นของซูโครส สำหรับน้ำตาลชนิดอื่น เช่น กลูโคส (glucose) และฟรุคโตส (fructose) มีการใช้บ้างปริมาณที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดและอายุของพืช โดยทั่วไปพืชจะเจริญเติบโตดีขึ้นเมื่อได้รับปริมาณ น้ำตาลเพิ่มขึ้นจนถึงจุดหนึ่ง จากนั้นการเพิ่มปริมาณน้ำตาลมากขึ้นอีกจะลดการเจริญเติบโตลง น้ำตาลอาจเปลี่ยนรูปได้เมื่อถูกนึ่งฆ่าเชื้อ นอกจากนี้น้ำตาลพอลิแซ็คคาไรด์อาจเปลี่ยนเป็น มอโนแซ็ดคาไรด์เมื่อเกิดการแยกสลายด้วยน้ำ (hydrolysis)

นอกจากนี้น้ำตาลแต่ละชนิดยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าออสโมติกโพเทลเชียล และค่าความเป็นกรดและด่างในอาหารซึ่งมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืชอีกด้วย (Neto *et al*, 2003) แรงดันออสโมติกที่เพิ่มขึ้นจากความเข้มข้นของน้ำตาลจะยับยั้งการเจริญของยอด แต่ไม่มีผลต่อการเจริญของราก (Mamiya and Sukamoto, 2000) น้ำตาลที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายชนิด คือ ซูโครส กลูโครส ฟรุกโตส มอลโตส แลกโตส กาแลกโตส และน้ำตาลที่อยู่ในรูปแอลกอฮอล์ คือ ไกลเซอรอล ซอร์บิทอล และ แมนนิทอล (Akhtar *et al*., 2000) น้ำตาลในพวกซูโครส หรือกลูโครส เมื่อเซลล์ดูดไปใช้มีผลต่อเมเทบอลิซึมของเซลล์ ซึ่งเป็นผลให้เกิดความไม่คงที่ในระหว่างการเพาะเลี้ยง โดยทั่วไปน้ำตาลที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชคือ น้ำตาลซูโครส ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากอ้อย หรือซูการ์บีท (sugar beet) เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharide) ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโครสและฟรุกโตส (อาภัสสรา, 2537) พบมากในพืชชั้นสูง ทั้งนี้เพราะในธรรมชาติพืชเก็บน้ำตาลในรูปของซูโครสเป็นส่วนใหญ่ (สมปอง, 2539) ส่วนน้ำตาลแลกโตสประกอบด้วยน้ำตาลกาแลกโตสและกลูโคส พบเฉพาะในน้ำนม และมอลโตสประกอบด้วยกลูโคสและกลูโคส (อาภัสสรา, 2537) น้ำตาลแต่ละชนิดดังกล่าวมีองค์ประกอบและโครงสร้างที่แตกต่างกันจึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันด้วย

Neto *et al* (2003) รายงานว่าน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลที่เหมาะสมที่สุดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทั่วไป เพราะน้ำตาลดังกล่าวมีค่าออสโมติกโพเทนเชียลที่ต่ำกว่าน้ำตาลชนิดอื่นๆ และมีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยง เมื่อเปรียบเทียบในระดับความเข้มข้นที่เท่ากัน นอกจากนี้สามารถรักษาระดับความเป็นกรดด่างของอาหารเพาะเลี้ยงได้ใกล้เคียงกันไม่ว่าจะเป็นก่อนและหลังการนึ่งฆ่าเชื้อมีรายงานที่กล่าวถึงประโยชน์และผลที่มีต่อการพัฒนาของพืชจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสดังนี้ คือ ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งยอดและราก (Mamiya and Sakamoto, 2000 ; Calamar and Klerk, 2002) นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำตาลมอลโตสยังส่งเสริมการชักนำโซมาติกคัพภะในการเพาะเลี้ยงยางพารา

วุ้น (agar) เนื้อเยื่อส่วนมากจะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งที่มีวุ้น ซึ่งหน้าที่ช่วยพยุงเนื้อเยื่อให้ตั้งอยู่ได้บนอาหาร วุ้นเป็นส่วนประกอบแพงที่สุด ในอาหาร ผลิตจากสาหร่ายทะเลทำให้อาหารแข็งตัว วุ้นเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) มีโมเลกุลใหญ่ วุ้นที่มีคุณภาพสูง เช่น difcoitek Agar มีราคาแพงมากปราศจากสิ่งเจือปน ในห้องปฏิบัติการบางแห่งใช้วุ้นประกอบอาหารแทนได้ การใช้วุ้นในปริมาณที่ต่ำเกินไปจะทำให้อาหารไม่แข็งตัวไหลไปมาได้ โดยเฉพาะเมื่อมี pH ต่ำจึงไม่สามารถพยุงเนื้อเยื่อพืชไว้ได้ แต่ถ้าใช้วุ้นในปริมาณที่สูงเกินไปจะทำให้อาหารแข็งมากจนไม่สามารถให้น้ำเพียงพอสำหรับการเจริญเติบโตของพืช และยังทำให้พืชดูดอาหารไปใช้ได้ยากวุ้นที่นิยมใช้ ได้แก่ Bacto-agar, Agar-agar, Phytagel และ Agarose ซึ่งวุ้นแต่ละชนิดมีองค์ประกอบของสารที่แตกต่างกัน วุ้นที่มีองค์ประกอบของสารหลายชนิดสามารถดูดซับธาตุอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตโดยเฉพาะกลุ่มไซโทไคนินในอาหารเพาะเลี้ยง ส่งผลให้การพัฒนาและการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชลดลงได้ (Bonga and Aderkas, 1992; Ananad *et al*,1999)

วุ้น Phytagel ผลิตจากเชื้อแบคทีเรีย Pseudomonas elodea ลักษณะใส มีความบริสุทธิ์ค่อนข้างสูง (Bonga and Aderkas., 1992) วุ้นชนิดนี้ส่งเสริมการสร้างยอดได้ดีเพราะสามารถดูดน้ำและธาตุอาหารได้อย่างเต็มที่ (Gabriela *et al*, 2001 ; Chaven *et al*, 1996 ; Cherreau *et al*, 1997) และช่วยส่งเสริมการยืดยาวของยอดได้ (Podwyszynska and Olszewski, 1995)

สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ในการช่วยชีวิตคัพภะนั้นมีส่วนช่วยทำให้การช่วยชีวิตคัพภะมีโอกาสประสบความสำเร็จมากขึ้น โดยออกซินที่ความเข้มข้นต่ำช่วยทำให้คัพภะมีการพัฒนาที่เป็นปกติและช่วยป้องกันไม่ให้เกิดการสร้างแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงคัพภะ เช่น IAA ที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของคัพภะได้ แต่ออกซินที่ระดับความเข้มข้นสูงจะยับยั้งการพัฒนาของคัพภะและส่งเสริมให้เกิดการสร้างแคลลัสขึ้น (Sharma *et al,* 1996) ส่วนไซโตไคนินช่วยให้เกิดการพัฒนาของใบเลี้ยงและยังกระตุ้นให้เกิดยอดและรากจากคัพภะ (Pierik, 1987) และเมื่อใช้ออกซินร่วมกับไซโตไคนินจะส่งผลให้มีการกระตุ้นการเจริญของคัพภะด้วย (Bridgen, 1994) สารสกัดจากธรรมชาติ เช่น น้ำมะพร้าวถูกนำมาใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างแพร่หลายซึ่งในน้ำมะพร้าวจะประกอบด้วย myo-inositol sorbitol auxin cytokinin และสารประกอบพวกไนโตรเจน ซึ่งส่งผลทำให้การช่วยชีวิตคัพภะในพืชต่าง ๆ นั้นแตกต่างกัน (Bridgen, 1994;Sharma *et al,* 1996)

3. สภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง โดยมีปัจจัยสภาพแวดล้อมที่สำคัญคือ แสง และอุณหภูมิ (Mallikarjuna, 1999) รายงานถึงการเพาะเลี้ยงคัพภะที่ได้จากการผสมข้ามในสภาพปลอดเชื้อว่า ควรเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26 ± 2°C และควรได้รับช่วงแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ในบางกรณีควรนำไปเพาะเลี้ยงไว้ในที่มืดในช่วง 1-2 สัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยง เพื่อเลียนแบบสภาพมืดเหมือนที่อยู่ในรังไข่หรือในฝัก หลังจากนั้นจึงนำไปเพาะเลี้ยงในที่มีแสงเพื่อกระตุ้นให้เกิดการสร้างคลอโรฟิลล์ (Badami *et al.,* 1997) และการสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างอาหารต่อไป

4. ลักษณะจีโนไทป์ (genotype) ของพืชแต่ละชนิด (species) จะมีผลต่อความยากง่ายในการเจริญของคัพภะในแต่ละสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน (Pierik, 1987)

5. สภาพแวดล้อมที่ต้นแม่เจริญเติบโต พบว่า คัพภะที่นำมาจากต้นแม่ที่ทำการเพาะเลี้ยงเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่ควบคุมจะเกิดการการพัฒนาที่ดีกว่าคัพภะที่นำมาจากต้นแม่ที่เจริญเติบโตในแปลงปลูกธรรมชาติ (Pierik, 1987)

จากหยกทิพย์ (2550) รายงานการติดผลของ ‘แววอุบล’ ‘ว่านนางดำ’ และ’บัวชั้น’ ว่าสามารถผสมตัวเองติดได้ ส่วน *Curcuma* ในกลุ่มอื่นๆ ไม่สามารถผสมตัวเองติด การผสมข้ามระหว่างพันธุ์ พบว่า สามารถผสมติดทุกคู่ผสม การผสมข้ามระหว่างชนิด พบว่า ปทุมมากลีบแหลม x ‘แววอุบล’ สามารถติดเมล็ดได้ทั้งการผสมตรงและผสมสลับ แต่ปทุมมากลีบแหลม x ‘เทพอัปสร’ ปทุมมากลีบแหลม x ‘ปทุมรัตน์’ ‘ปทุมรัตน์’ x ‘เทพอัปสร’ ปทุมมากลีบแหลม x ‘ว่านนางดำ’ ปทุมมากลีบแหลม x ‘บัวชั้น’ และ ‘เชียงใหม่เรด’ x ‘ว่านนางดำ’ สามารถติดเมล็ดได้จากการผสมตรงเพียงอย่างเดียว ส่วนคู่ผสมอื่นไม่สามารถผสมติด การผสมข้ามสกุลระหว่างปทุมมากลีบแหลม x ‘บัวเข็ม’ พบว่า สามารถผสมติด และมีคัพภะที่สมบูรณ์แต่เมื่อนำคัพภะมาเพาะเลี้ยง พบว่า คัพภะไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ การศึกษาการทำลายการพักตัวของเมล็ด พบว่า การแกะเปลือก และการแกะเปลือกร่วมกับการขูดเยื่อหุ้มสีน้ำตาล สามารถช่วยให้เมล็ดงอกได้ การศึกษาการช่วยชีวิตลูกผสม พบว่า การแยกคัพภะ จากผลอายุ 14 และ 28 วัน สามารถทำให้คัพภะงอกได้ ในขณะที่การเพาะเลี้ยงทั้งเมล็ดไม่สามารถงอกได้

Buitendijk *et al* (1995) รายงานว่า ลูกผสมที่เกิดจากการผสมข้ามในกลุ่ม Alstroemeria จะมีปัญหาในการผสมและหลังจากการผสมแล้วของ ออวุล 18 วัน การพัฒนาของเอนโดสเปิร์มจะน้อยลงโดยเกิดความผิดปกติ เนื่องจากการแท้งของคัพภะ

ในการช่วยชีวิตคัพภะลูกผสมซึ่งยังไม่พัฒนาเต็มที่ คัพภะเหล่านี้จะขาดแคลนธาตุอาหารเช่นเดียวกับคัพภะอ่อนที่ยังไม่เจริญเต็มที่จึงต้องการอาหารที่ซับซ้อนมากกว่า ซึ่งโดยปกติจะต้องเติมกรดอะมิโน วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโตบางอย่างที่จำเพาะลงไปด้วย บางพืชอาจต้องการสารประกอบที่ซับซ้อนที่ไม่ทราบองค์ประกอบที่ชัดเจน สารเหล่านี้ได้แก่ น้ำมะพร้าว (coconut water) สารสกัดจากเมล็ดพืช (seed extracts) มอลท์สกัด (malt extracts) และสารสกัดจากเอนโดสเปิร์ม (endosperm extracts) เพื่อช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของคัพภะลูกผสมที่ยังไม่พัฒนาเต็มที่ (รังสฤษดิ์, 2545)

Hossian *et al* (1990) ทำการเลี้ยงออวุล จากการผสมข้ามระหว่าง *Brassica oleracea* var. *capitata* L. กับ *Raphanus sativua* L. โดยนำฝักของลูกผสมที่ได้รับการผสมแล้วเป็นเวลา 22 วัน มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลงเติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ Casien hydrolysate 300 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และKinetin 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยนำมาเลี้ยงไว้ภายใต้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 3,000 LUX เป็นเวลา 16 ชั่วโมง/วัน ที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส นาน 1 เดือน หลังจากนั้น ออวุลสามารถเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นได้

Custers *et al* (1995) ได้ทำการศึกษาการช่วยชีวิตคัพภะภายหลังการปฏิสนธิในการผสมข้ามชนิดในกลุ่มทิวลิปที่ได้จากการผสมข้ามสายพันธุ์ของ *Tulipa gesneriana* ในการเลี้ยง ออวุล ซึ่งจะแยกต้นอ่อนมาเลี้ยงและสามารถเกิดเป็นต้นใหม่ได้อย่างสมบูรณ์ จากการผสมข้ามชนิดระหว่าง *Tulipa gesneriana* x *Tulipa kaufanniana* และต้นอ่อนที่ได้จะหยุดชะงักในการพัฒนา ดังนั้น วิธีการช่วยชีวิตคัพภะวิธีนี้สามารถช่วยการแท้งได้สำเร็จโดย Buitendijk *et al* (1995) ได้กล่าวว่า ในการเลี้ยงออวุล นั้นจะต้องคำนึงถึงอายุของออวุล ความเข้มข้นของน้ำตาล อุณหภูมิ แสงสว่าง และในการเก็บออวุล ก่อนที่เอนโดสเปิร์มจะไม่มีการพัฒนามาเลี้ยงก็มีความสำคัญอย่างยิ่ง โดยจะนำออวุล มาเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีน้ำตาล 6 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส ในที่มืดสามารถที่จะช่วยชีวิตของต้นอ่อนได้สำเร็จ

Van Creij *et al* (1999) ได้ทำการทดลองประสิทธิภาพของวิธีการช่วยชีวิตคัพภะจากการผสมข้ามพันธุ์ระหว่าง *Tulipa gesneriana* x *Tulipa agenensis* และ *Tulipa gesneriana* x *Tulipa praestans* ทั้งหมด 2 วิธีการคือ direct ovule culture และ ovary slice culture ตามด้วย ovule culture พบว่า เปอร์เซ็นต์การงอกในวิธีการ ovary slice culture ตามด้วย ovule culture มีการงอกที่ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการ direct ovule culture ซึ่งการเพิ่มของเปอร์เซ็นต์การงอกนั้นขึ้นอยู่กับอายุด้วย

ถ้าหากนำมาเลี้ยงตอนเริ่มแรกภายหลังการผสมไม่นาน พบว่า จะทำให้เปอร์เซ็นต์การแท้งสูง และการพัฒนาของคัพภะได้น้อยลง

Obata *et al* (2000) ทำการทดลองผสมข้ามชนิดของลิลลี่หลังจากการผสมแล้ว 30 – 40 วันจึงนำออวุล ที่ติดกับ placenta มาเลี้ยงบนอาหารที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรองของอาหาร B_5 ที่ประกอบด้วย FeEDTA และวิตามินของอาหารสูตร MS น้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ และ gellan gum 0.2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงได้ 5 สัปดาห์ ovule เริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล แต่บางส่วนสามารถเจริญต่อไปได้ หลังจากนั้น 8 สัปดาห์ให้แยกออวุล ออกมาเลี้ยงในอาหารใหม่ ผลปรากฏว่า ในคู่ผสมระหว่าง *Lilium regale* x *Lilium nobilissiumum* เมื่อเก็บออวุล มาเลี้ยง 30 วันหลังการผสมสามารถพัฒนาได้ 3 เปอร์เซ็นต์ และ 40 วัน ภายหลังการผสมพัฒนาเป็นต้นกล้าได้ 9 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใน *Lilium nobilism* x *Lilium regale* ovule สามารถพัฒนาได้ 3.6 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการผสมแล้ว 40 วันแต่ 30 วันภายหลังการผสมนั้นออวุล ไม่สามารถเจริญเป็นต้นกล้าได้

Van Creij *et al* (2000) จากการทดลองผลของส่วนประกอบของอาหารที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของออวุลในการผสมข้ามของ *Tulipa gesneriana* ซึ่งจะใช้วิธีการในการช่วยชีวิตคัพภะ ovary-slice culture ตามด้วย ovule culture และ direct ovule culture ในอาหารเลี้ยงจะใช้น้ำตาลซูโครส 9 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ ovary-slice culture ovule ที่นำมาจะมีอายุ 3 หรือ 5 สัปดาห์ภายหลังการผสม และได้ทำการปรับปรุงให้เปอร์เซ็นต์การงอกดีขึ้นโดยเปรียบเทียบกับน้ำตาล 5 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์การงอกจะไม่แตกต่างกันเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในการเลี้ยงออวุลจะเริ่ม 4 สัปดาห์ ต่อมากับออวุล ที่ได้จากการเลี้ยง ovary-slice 9 สัปดาห์ภายหลังการผสมเกสรเปอร์เซ็นต์การงอกจะใกล้เคียงกัน อาหารที่ใช้คืออาหารสูตร MS หรือ half MS ในระหว่างการเลี้ยง ovary-slice และ ovule สำหรับการเลี้ยง ovule แบบ direct ovule จะเริ่ม 4 6 และ 8 สัปดาห์ภายหลังการผสม ซึ่งเปอร์เซ็นต์การงอกไม่มีความแตกต่างในการเลี้ยงออวุล บนอาหารที่ใช้น้ำตาลซูโครส 3 6 หรือ 9 เปอร์เซ็นต์ และได้มีการใช้สารกลุ่มพวก cytokinin (BAP) ในปริมาณ 0.01 หรือ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งพบว่า ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอก และได้ทำการเลี้ยงในอาหารเหลวบนเครื่องเขย่า ซึ่งเปอร์เซ็นต์การงอกไม่แตกต่างจากการเลี้ยงบนอาหารแข็ง

Chi (2002) ได้ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการช่วยชีวิตคัพภะของลูกผสมข้ามชนิดในลิลลี่ด้วยวิธีการ 4 วิธีคือ 1.ovary slice culture 2.ovule with placenta 3.young single

ovule culture และ 4.embryo(sac) rescue ผลปรากฏว่า วิธีการ embryo(sac) rescue สามารถทำให้ ovule พัฒนาและเกิดเป็นต้นได้มากที่สุดถึง 0.2 – 0.3 เปอร์เซ็นต์ ในคู่ผสมระหว่าง *Oriental hybrid* x *Asiatic hybrid* โดย ovule ที่เก็บมาเลี้ยงนั้นอายุประมาณ 10 - 11 วัน

Roy *et al* (2004) จากการทดลองวิธีการในการช่วยชีวิตคัพภะประสบความสำเร็จในลิลลี่ลูกผสมระหว่างสายพันธุ์ *Trifolium alexandrinum* และ *Trifolium constantinopolitanum* ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรมในสายพันธุ์ *Trifolium alexandrinum* มีไม่มากนัก ดังนั้นจึงได้ทำการปรับปรุงพันธุ์ขึ้น ซึ่งในการผสมข้ามชนิด ลูกผสมไม่สามารถเกิดขึ้นได้ เนื่องจากอุปสรรคภายหลังการผสม โดยจะทำการผสมภายหลังทำ emasculate ดอกตัวผู้ได้ 2วัน ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ดีที่สุดในการผสม จากการสังเกต 5-7 วันภายหลังการผสมคัพภะจะมีลักษณะเป็น Globular และเปลี่ยนแปลงไปเป็น heart-shaped ภายหลังการผสมไปแล้ว 10-12 วัน และการนำคัพภะในระยะ heart-shaped นี้มาเลี้ยงจะตอบสนองได้ดีในอาหารสูตร EC3 จาก 612 คู่ผสม มีคัพภะที่สมบูรณ์เพียง 33 คัพภะที่สามารถนำมาเลี้ยงในอาหารสูตร EC3 นี้ได้ และลักษณะภายนอกของลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามชนิดของทิวลิปจะมีลักษณะกึ่งกลางระหว่างพ่อและแม่ และสามารถยืนยันลูกผสมอีกครั้งได้โดยการใช้ไอโซไซม์ในการทดสอบ

Rhee *et al* (2005) รายงานว่าการช่วยชีวิตคัพภะ ที่ได้จากการผสมข้ามชนิดของลิลลี่ ในสายพันธุ์ *Formolongi* hybrids จะนำคัพภะที่มีอายุน้อยกว่า 35 วัน ภายหลังการผสมเกสร ส่วนในสายพันธุ์ *Oriental* hybrids จะนำคัพภะที่มีอายุ 60 วันภายหลังการผสมเกสร สำหรับการผสมข้ามชนิดนั้น เช่น *Oriantal* x *Longiflorum* *Oriantal* x *Asiatic* *Formolongi* x *Asiatic* และ *Formolongi* x *Oriantal* hybrids โดยความสามารถในการช่วยชีวิตลูกผสมโดย การเลี้ยงคัพภะ ออวุล และถุงคัพภะ ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของลิลลี่ วิธีการผสมเกสร และสภาพของละอองเกสร จำนวนของ ovule และคัพภะ ที่ได้จากการผสมข้ามจะมีความแตกต่างจำนวนมาก ในบางคู่ผสม เช่น *Asiatic* x *Oriantal* *Asiatic* x *Longiflorum* *Longiflorum* x *Oriantal* และ*Longiflorum* x *Asiatic* hybrids จะมีคัพภะเกิดขึ้นเพราะว่ารังไข่จะฝ่อและตายภายใน 2 สัปดาห์ ภายหลังการผสมเกสรบนยอดเกสรเพศเมียโดยตรง และการผสมเกสรโดยการตัดก้านชูเกสรเพศเมีย

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุพันธุ์พืช

โดยใช้ปทุมมา 15 สายพันธุ์ ดังนี้

1. *Curcuma alismatifolia* ‘ปทุมมาป่า’
2. *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’
3. *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่เรด’
4. *C. alismatifolia* ‘บิ๊กเรด’
5. *C. alismatifolia* ‘ขาวปลายแดง’
6. *C. alismatifolia* ‘ขาวดอยตุง’
7. *C. alismatifolia* ‘สโนไวท์’
8. *C. alismatifolia* ‘ขาว tissue’
9. *C. alismatifolia* ‘บลูตุง’
10. *C. alismatifoli* ‘โรส’
11. *C. alismatifolia* ‘แดงระฒัง’
12. *C. harmandii* ‘ช่อมรกต’
13. *C. larsenii* ‘กล่อมนางนอน’
14. *Curcuma sp.* ‘บัวลายปราจีน’
15. *Curcuma sp.* ‘มณีกาญจน์’

การทดลองที่ 1 ศึกษาความสามารถในการผสมของปทุมมา

โดยทำการผสมดอกพืชในสกุล *Curcuma* กลุ่มปทุมมา ได้แก่ ปทุมมา (*Curcuma alismatifolia*) ซึ่งช่วงเวลาในการผสมอยู่ระหว่าง 7.30 – 11.00 น. ก่อนทำการผสมจะใช้ถุงครอบดอกไว้ก่อนที่ดอกจะบาน เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากละอองเกสรอื่น หรือจากมด และแมลงต่างๆ จากนั้นใช้ปากคีบปลายแหลม (forceps) สะอาดขูดละอองเกสรของต้นแม่พันธุ์ทิ้ง โดยขูดจากด้านบนลงมาด้านโคนอับเรณูเพื่อทำลายละอองเกสร และป้องกันการผสมตัวเองภายในดอกเดียวกัน แล้วใช้ปากคีบปลายแหลมที่ทำความสะอาดด้วยแอลกอฮอล์แล้วเขี่ยเกสรเพศผู้จากดอกของต้นพ่อพันธุ์ที่ต้องการมาแตะบริเวณบนยอดเกสรเพศเมีย (stigma surface) ของต้นแม่พันธุ์เบาๆ

เพื่อป้องกันไม่ให้บริเวณยอดเกสรได้รับอันตราย หลังการผสมต้องแขวนป้ายระบุชื่อคู่ผสม (ชนิดต้นแม่พันธุ์ x ชนิดต้นพ่อพันธุ์) และวันที่ทำการผสม โดยทำการวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) มี 47 คู่ผสม ในแต่ละคู่ผสมทำการผสมจำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 15 ดอก ดังนี้

คู่ผสมที่ 1 *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'บิ๊กเรด'

คู่ผสมที่ 2 *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'ปทุมมาป่า'

คู่ผสมที่ 3 *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'ขาวดอยตุง'

คู่ผสมที่ 4 *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'สโนไวท์'

คู่ผสมที่ 5 *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'ขาว tissue'

คู่ผสมที่ 6 *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'ขาวปลายแดง'

คู่ผสมที่ 7 *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'บลูตุง'

คู่ผสมที่ 8 *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *Curcuma* sp. 'มณีกาญจน์'

คู่ผสมที่ 9 *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia.*'โรส'

คู่ผสมที่ 10 *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง'

คู่ผสมที่ 11 *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *Curcuma* sp. 'บัวลายปราจีน'

คู่ผสมที่ 12 *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. harmandii* 'ช่อมรกต'

คู่ผสมที่ 13 *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. larsenii.* 'กล่อมนางนอน'

คู่ผสมที่ 14 *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่เรด' x *C. alismatifolia* 'ขาวดอยตุง'

คู่ผสมที่ 15 *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่เรด' x *C. alismatifolia* 'ขาวปลายแดง'

คู่ผสมที่ 16 *C. alismatifolia* 'บิ๊กเรด' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'

คู่ผสมที่ 17 *C. alismatifolia* 'บิ๊กเรด' x *C. alismatifolia* 'ขาวดอยตุง'

คู่ผสมที่ 18 *C. alismatifolia* 'บิ๊กเรด' x *C. alismatifolia* 'ขาวปลายแดง'

คู่ผสมที่ 19 *C. alismatifolia* 'บิ๊กเรด' x *Curcuma* sp.'มณีกาญจน์'

คู่ผสมที่ 20 *C. alismatifolia* ‘บิ๊กเรด’ x *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่เรด’

คู่ผสมที่ 21 *C. alismatifolia* ‘บิ๊กเรด’ x *C. alismatifolia* ‘ปทุมมาป่า’

คู่ผสมที่ 22 *C. alismatifolia* ‘ปทุมมาป่า’ x *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’

คู่ผสมที่ 23 *C. alismatifolia* ‘ปทุมมาป่า’ x *C. alismatifolia* ‘บิ๊กเรด’

คู่ผสมที่ 24 *C. alismatifolia* ‘ปทุมมาป่า’ x *C. alismatifolia* ‘ขาวปลายแดง’

คู่ผสมที่ 25 *C. alismatifolia* ‘ปทุมมาป่า’ x *C. alismatifolia* ‘โรส’

คู่ผสมที่ 26 *C. alismatifolia* ‘ปทุมมาป่า’ x *C. alismatifolia* ‘ขาวดอยตุง’

คู่ผสมที่ 27 *C. alismatifolia* ‘ขาว tissue’ x *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’

คู่ผสมที่ 28 *C. alismatifolia* ‘ขาว tissue’ x *C. alismatifolia* ‘บลูตุง’

คู่ผสมที่ 29 *C. alismatifolia* ‘ขาว tissue’ x *C. alismatifolia* ‘แดงระฆัง’

คู่ผสมที่ 30 *C. alismatifolia* ‘ขาวปลายแดง’ x *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’

คู่ผสมที่ 31 *C. alismatifolia* ‘ขาวปลายแดง’ x *C. alismatifolia* ‘ปทุมมาป่า’

คู่ผสมที่ 32 *C. alismatifolia* ‘ขาวปลายแดง’ x *C. alismatifolia* ‘โรส’

คู่ผสมที่ 33 *C. alismatifolia* ‘ขาวปลายแดง’ x *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่เรด’

คู่ผสมที่ 34 *C. alismatifolia* ‘ขาวดอยตุง’ x *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่เรด’

คู่ผสมที่ 35 *C. alismatifolia* ‘ขาวดอยตุง’ x *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’

คู่ผสมที่ 36 *C. alismatifolia* ‘ขาวดอยตุง’ x *C. alismatifolia* ‘บิ๊กเรด’

คู่ผสมที่ 37 *C. alismatifolia* ‘ขาวดอยตุง’ x *Curcuma* sp. ‘บัวลายปราจีน’

คู่ผสมที่ 38 *C. alismatifolia* ‘สโนไวท์’ x *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’

คู่ผสมที่ 39 *C. alismatifolia* ‘บลูตุง’ x *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’

คู่ผสมที่ 40 *Curcuma* sp.‘มณีกาญจน์’ x *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’

คู่ผสมที่ 41 *Curcuma* sp.‘มณีกาญจน์’ x *C. alismatifolia* ‘บิ๊กเรด’

คู่ผสมที่ 42 *Curcuma* sp.‘มณีกาญจน์’ x *C. alismatifolia* ‘ขาวดอยตุง’

คู่ผสมที่ 43 *Curcuma* sp.'มณีกาญจน์' x *C. harmandii* 'ช่อมรกต'

คู่ผสมที่ 44 *Curcuma* sp.'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง'

คู่ผสมที่ 45 *Curcuma* sp.'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'โรส'

คู่ผสมที่ 46 *Curcuma* sp.'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่เรด'

คู่ผสมที่ 47 *Curcuma* sp.'มณีกาญจน์' x *Curcuma* sp. 'บัวลายปราจีน'

การบันทึกข้อมูล

1. อัตราการผสมติดของแต่ละคู่ผสม โดยคำนวณจากจำนวนดอกที่ผสมติดต่อจำนวนดอกที่ผสมทั้งหมด
2. จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผล
3. จำนวนเมล็ดสมบูรณ์เฉลี่ยต่อผล โดยคำนวณจากจำนวนเมล็ดที่สมบูรณ์ต่อจำนวนเมล็ดทั้งหมดในแต่ละผล

การทดลองที่ 2 ศึกษาการเพาะเลี้ยงคัพภะ (Embryo Culture)

นำผลของปทุมมาที่ได้จากการทดลองที่ 1 ซึ่งเป็นผลที่อายุ 26-27 วันหลังจากทำการผสมมาฟอกด้วยสารละลายคลอร๊อกซ์ 20 เปอร์เซ็นต์ เขย่าเป็นเวลา 20 นาที แล้วจึงเปลี่ยนลงสารละลายคลอร๊อกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ เขย่าเป็นเวลา 10 นาทีอีกครั้ง จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที เพื่อทำความสะอาดและฆ่าเชื้อภายในตู้ปลอดเชื้อ ก่อนนำเมล็ดมาแกะคัพภะ (embryo) ของแต่ละคู่ผสมมาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog ,1962) ที่ดัดแปลงโดยเติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, GA_3 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร, น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ kelcogel 2.5 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.75 (หยกทิพย์, 2550) นำไปเลี้ยงในสภาวะที่มีความเข้มแสง 36 $\mu mol/m^2/s$ 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

การบันทึกข้อมูล

1. เปอร์เซ็นต์จำนวนต้นที่งอก โดยคำนวณจาก

$$\frac{\text{จำนวนคัพภะที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดที่ทำการเพาะ}} \times 100$$

2. ทำการบันทึกภาพการพัฒนาของคัพภะ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10 เท่า ทุกๆ 7 วัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์

การทดลองที่ 3 ศึกษาการเจริญเติบโตของแคลลัสภายหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ

นำแคลลัสที่เกิดจากการพัฒนาของคัพภะที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS, 1962) ที่ดัดแปลงโดยเติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, GA_3 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตม, น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ kelcogel 2.5 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.75 เพาะเลี้ยงนาน 30 วันเพาะเลี้ยงต่อในสภาวะที่มีความเข้มแสง 36 ไมโคลโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในการทดลองที่ 2 มาย้ายลงขวดที่ใช้สูตรอาหารต่างๆ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (1962) (MS) ที่ดัดแปลงโดยเติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, GA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร, น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ kelcogel 2.5 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.75

ชุดการทดลองที่ 2 อาหารอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ดัดแปลงโดยเติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ kelcogel 4.0 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.75

ชุดการทดลองที่ 3 อาหารอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ดัดแปลงโดยเติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ phytagel 4.0 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.75

ชุดการทดลองที่ 4 อาหารอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ดัดแปลงโดยเติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, น้ำตาลมอลโทส 30 กรัมต่อลิตร และ kelcogel 4.0 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.75

ชุดการทดลองที่ 5 อาหารอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ดัดแปลงโดยเติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลมอลโทส 30 กรัมต่อลิตร และ phytagel 4.0 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่าง 5.75

การบันทึกข้อมูล

บันทึกการเจริญเติบโตของคัพภะภายในขวดเมื่อการเพาะเลี้ยงโดยการสังเกตการเจริญเติบโตด้วยสายตา ทั้งขนาด สี จำนวนยอดและราก และการพัฒนาต่างๆเมื่อทำการเพาะเลี้ยง 30 และ 60 วันตามลำดับ

สถานที่ทำการทดลอง

1. โรงเรือนต้นแบบสาธิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ
2. หน่วยปฏิบัติการวิจัยกลางไบโอเทค ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ
3. ห้องปฏิบัติการกลาง ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

ผลและวิจาณ์

การทดลองที่ 1 ศึกษาความสามารถในการผสมของปทุมมา

จากการผสมทั้งแบบผสมต่างพันธุ์ภายในชนิดเดียวกัน และการผสมข้ามชนิดของพืชสกุล *Curcuma* จำนวนชนิดละ 45 ดอก ได้แสดงผลการศึกษาการผสมดังนี้

ผสมต่างพันธุ์ภายในชนิดเดียวกัน

1. เปอร์เซ็นต์การผสมติด

เปอร์เซ็นต์การผสมติดของการผสมต่างพันธุ์ภายในชนิดเดียวกันอยู่ในช่วงระหว่าง 55.3 – 93.3 เปอร์เซ็นต์ โดยคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'ขาวปลายแดง' มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดสูงที่สุดคือ 93.3 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' กับ *C. alismatifolia* 'สโนไวท์' มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดอยู่ที่ 87.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'ปทุมมาป่า' x *C. alismatifolia* 'โรส' มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดต่ำที่สุดคือ 55.3 เปอร์เซ็นต์ จากคู่ผสมทั้งหมดจะเห็นได้ว่าการผสมต่างพันธุ์ภายในชนิดเดียวกันจะให้เปอร์เซ็นต์การผสมติดที่สูง นั่นคือทำให้มีโอกาสได้ลูกผสมจากการผสมต่างพันธุ์ภายในชนิดเดียวกันมากตามไปด้วย (ตารางที่ 1)

2. จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผล

จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลของการผสมต่างพันธุ์ภายในชนิดเดียวกันนั้นอยู่ระหว่าง 72.0 – 94.2 เมล็ดต่อผล โดยคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'ขาว tissue' *x C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' มีจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลสูงที่สุดคือ 94.2 เมล็ดต่อผล รองลงมาได้แก่คู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'ปทุมมาป่า' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' มีจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลอยู่ที่ 92.2 เมล็ดต่อผล ส่วนคู่ผสม *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง' มีจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลต่ำที่สุดคือ 72.0 เมล็ดต่อผล จากจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลของคู่ผสมทั้งหมดจะพบว่ามีจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลสูงซึ่งเป็นผลมาจากลักษณะช่อดอกย่อยที่สามารถรองรับการขยายขนาดของผลได้มากของต้นแม่ (ตารางที่ 1)

3. เปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์

เปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์ของการผสมต่างพันธุ์ภายในชนิดเดียวกันนั้นอยู่ระหว่าง 63.2 – 98 เปอร์เซ็นต์ โดยที่คู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'ปทุมมาป่า' มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์สูงที่สุดคือ 98 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็นคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'โรส' , *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'ขาวดอยตุง' , *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'ขาว tissue' , *C. alismatifolia* 'บิ๊กเรด' x *C. alismatifolia* 'ขาวดอยตุง' , *C. alismatifolia* 'ปทุมมาป่า' x *C. alismatifolia* 'บิ๊กเรด' และคู่ผสมระหว่าง *C alismatifolia* 'ขาวปลายแดง' x *C. alismatifolia* 'โรส' มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์เท่ากันคือ 97.6 , 97.4, 97.4, 97.4, 97.4 และ 97.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนคู่ผสมระหว่าง *C alismatifolia* 'ขาว tissue' x *C. alismatifolia* 'แดงระฒัง' มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์น้อยที่สุดคือ 63.2 เปอร์เซ็นต์ จากเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์ของแต่ละคู่ผสมจะเห็นว่ามีเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์สูง นั่นคือในผลของลูกผสมที่ได้มีเมล็ดฝ่อ ลีบ หรือเสียหายน้อยเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า และทำให้ทราบได้ว่าเมล็ดลูกผสมที่ได้มีการพัฒนาที่ดีเกือบทั้งหมด (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การผสมติด จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลสมบูรณ์ และเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์เฉลี่ยต่อผล ในการผสมปทุมมาต่างพันธุ์ภายในชนิดเดียวกัน

คู่ผสม			เปอร์เซ็นต์การผสมติด (%)		จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผล (เมล็ด)			เปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์ (%)	
'เชียงใหม่พิงค์'	x	'บิ๊กเรด'	75.7	cdefg	87	±5.79	abc	94.6	abc
'เชียงใหม่พิงค์'	x	'ปทุมมาป่า'	77.7	bcdefg	85.4	±6.10	abc	98.0	a
'เชียงใหม่พิงค์'	x	'ขาวดอยตุง'	82.3	bcde	81.6	±5.14	abc	97.4	ab
'เชียงใหม่พิงค์'	x	'สโนไวท์'	87.0	ab	77.0	±3.63	abc	96.6	abc
'เชียงใหม่พิงค์'	x	'ขาว tissue'	82.0	bcdef	75.8	±2.63	abc	97.4	ab
'เชียงใหม่พิงค์'	x	'ท๊อปเรด'	93.3	a	81.8	±6.48	abc	95.2	abcde
'เชียงใหม่พิงค์'	x	'บลูตุง'	77.7	bcdefg	85.8	±8.86	abc	95.4	abcde
'เชียงใหม่พิงค์'	x	'โรส'	82.3	bcde	75.0	±3.12	abc	97.6	ab
'เชียงใหม่พิงค์'	x	'แดงระฆัง'	77.7	bcdefg	72.0	±3.16	c	86.2	j
'เชียงใหม่เรด'	x	'ขาวดอยตุง'	69.0	ghi	84.0	±5.57	abc	92.2	bcdefghi
'เชียงใหม่เรด'	x	'ท๊อปเรด'	75.7	cdefg	83.8	±3.22	abc	90.0	efghij
'บิ๊กเรด'	x	'เชียงใหม่พิงค์'	84.7	abcd	73.0	±3.81	bc	89.0	fghij
'บิ๊กเรด'	x	'ขาวดอยตุง'	82.3	bcde	79.8	±5.72	abc	97.4	ab
'บิ๊กเรด'	x	'ท๊อปเรด'	77.7	bcdefg	85.8	±11.1	abc	94.4	abcdef
'บิ๊กเรด'	x	'เชียงใหม่เรด'	82.3	bcde	76.8	±3.89	abc	85.8l	j
'บิ๊กเรด'	x	'ปทุมมาป่า'	82.3	bcde	84.4	±7.85	abc	86.8	ij
'ปทุมมาป่า'	x	'เชียงใหม่พิงค์'	77.7	bcdefg	92.2	±3.88	ab	94.4	abcdef
'ปทุมมาป่า'	x	'บิ๊กเรด'	80.0	bcdefg	81.6	±2.46	abc	97.4	ab
'ปทุมมาป่า'	x	'ท๊อปเรด'	75.7	cdefg	75.6	±6.20	abc	95.6	abcd
'ปทุมมาป่า'	x	'โรส'	55.3	j	78.0	±2.30	abc	95.2	abcde
'ปทุมมาป่า'	x	'ขาวดอยตุง'	76.0	bcdefg	77.2	±4.55	abc	88.2	ghij

ตารางที่ 1 (ต่อ)

คู่ผสม			เปอร์เซ็นต์การผสมติด (%)		จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผล (เมล็ด)			เปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์ (%)	
'ขาว tissue'	x	'เชียงใหม่พิงค์'	80.0	bcdefg	94.2	±3.81	a	94.4	abcdef
'ขาว tissue'	x	'บลูตุง'	77.7	bcdefg	79.8	±5.15	abc	90.0	efghij
'ขาว tissue'	x	'แดงระฆัง'	71.0	fgh	76.2	±5.56	abc	63.2	k
'ท๊อปเรด'	x	'เชียงใหม่พิงค์'	60.0	ij	83.6	±4.53	abc	96.8	abc
'ท๊อปเรด'	x	'ปทุมมาป่า'	82.3	bcde	84.6	±1.63	abc	93.6	abcdefg
'ท๊อปเรด'	x	'โรส'	80.0	bcdefg	83.2	±6.78	abc	97.2	ab
'ท๊อปเรด'	x	'เชียงใหม่เรด'	73.3	defg	81.4	±6.68	abc	92.8	abcdefgh
'ขาวดอยตุง'	x	'เชียงใหม่เรด'	75.7	cdefg	85.0	±3.56	abc	90.2	defghij
'ขาวดอยตุง'	x	'เชียงใหม่พิงค์'	75.3	defg	77.8	±5.01	abc	90.0	efghij
'ขาวดอยตุง'	x	'บิ๊กเรด'	62.3	hij	83.4	±7.23	abc	87.4	hij
'สโนไวท์'	x	'เชียงใหม่พิงค์'	82.3	bcde	75.6	±9.12	abc	91.6	cdefghi
'บลูตุง'	x	'เชียงใหม่พิงค์'	86.7	abc	84.6	±5.93	abc	92.2	bcdefghi

หมายเหตุ ± หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (SE)
ค่าเฉลี่ยที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เปรียบเทียบโดย DMRT

การผสมต่างพันธุ์ข้ามชนิด

1. เปอร์เซ็นต์การผสมติด

เปอร์เซ็นต์การผสมติดของการผสมต่างพันธุ์ข้ามชนิดอยู่ในช่วงระหว่าง 2.3 – 80.0 เปอร์เซ็น โดยคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. harmandii* 'ช่อมรกต' และคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'บิ๊กเรด' x *Curcuma* sp. 'มณีกาญจน์' มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดสูงที่สุดเท่ากันคือ 80.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือคู่ผสมระหว่าง *Curcuma* sp. 'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่เรด' มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดอยู่ที่ 77.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่เรด' *x C. larsenii* 'กล่อมนางนอน' และคู่ผสมระหว่าง *Curcuma* sp. 'มณีกาญจน์' x *Curcuma* sp. 'บัวลายปราจีน' มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดต่ำที่สุดคือ 6.7 และ 2.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากคู่ผสมข้ามชนิดทั้งหมด 14 คู่ผสมพบมีถึง 7 คู่ผสมที่มีเปอร์เซ็นต์การผสมที่มีอัตราการผสมติดสูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

2. จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผล

จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลของการผสมต่างพันธุ์ข้ามชนิดนั้นอยู่ในช่วงระหว่าง 23.8 - 82.2 เมล็ดต่อผล โดยที่คู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'บิ๊กเรด' x *Curcuma* sp. 'มณีกาญจน์' มีจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลสูงที่สุดคือ 82.2 เมล็ดต่อผล รองลงมาได้แก่คู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *Curcuma* sp. 'มณีกาญจน์' และคู่ผสมของ *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. harmandii.* 'ช่อมรกต' มีจำนวนเมล็ดเลี่ยต่อผลเท่ากับ 79.8 เมล็ดต่อผล ส่วนคู่ผสมระหว่าง *Curcuma* sp. 'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'บิ๊กเรด' , *Curcuma* sp. 'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' , *Curcuma* sp. 'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'ขาวดอยตุง', *Curcuma* sp. 'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'กิโมโน', *Curcuma* sp. 'มณีกาญจน์' x *C. harmandii.* 'ช่อมรกต', *Curcuma* sp. 'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง' และคู่ผสมระหว่าง *Curcuma* sp. 'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' มีจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลต่ำที่สุดคือ 32.2, 29.8, 28.4, 26.4, 25.2, 24.4 และ 23.8 เมล็ดต่อผล ตามลำดับ ซึ่งจากจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลของคู่ผสมทั้งหมดจะพบว่าของจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลมีความแตกต่างของแต่ละคู่ผสมสูงซึ่งเป็นผลมาจากลักษณะช่อดอกย่อยที่สามารถรองรับการขยายขนาดของผลได้มากหรือน้อยของ

ต้นแม่พันธุ์ที่แตกต่างกันโดยคู่ผสมที่มี *Curcuma* sp. ‘มณีกาญจน์’ เป็นต้นแม่พันธุ์จะมีผลขนาดเล็กที่สุด จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลจึงน้อยตามไปด้วย (ตารางที่ 2)

3. เปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์

เปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์ของการผสมต่างพันธุ์ข้ามชนิดอยู่ในช่วงระหว่าง 88.4 - 97.8 เปอร์เซ็นต์ โดยที่คู่ผสมระหว่าง *Curcuma* sp. ‘มณีกาญจน์’ x *C. alismatifolia* ‘ขาวดอยตุง’ มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์สูงที่สุดเท่ากับ 97.8 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือคู่ผสมระหว่าง *Curcuma* sp. ‘มณีกาญจน์’ x *C. harmandii.* ‘ช่อมรกต’, *Curcuma* sp. ‘มณีกาญจน์’ x *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’ และคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’ x *C. harmandii.* ‘ช่อมรกต’ มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์เท่ากับ 96.8 , 96.6 และ 95.6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนคู่ผสมระหว่าง *Curcuma* sp. ‘มณีกาญจน์’ x *C. alismatifolia* ‘โรส’, *C. alismatifolia* ‘ขาวดอยตุง’ x *Curcuma* sp.‘บัวลายปราจีน’, *C. alismatifolia* ‘บิ๊กเรด’ x *Curcuma* sp. ‘มณีกาญจน์’ และคู่ผสมระหว่าง *Curcuma* sp. ‘มณีกาญจน์’ x *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่เรด’ มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์ต่ำที่สุดคือ 91.0 , 90.8 , 90.2 และ 88.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์ของแต่ละคู่ผสมจะเห็นว่ามีเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์สูง นั่นคือในผลของลูกผสมที่ได้มีเมล็ดฝ่อ ลีบหรือเสียหายน้อยเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า และทำให้ทราบได้ว่าเมล็ดลูกผสมที่ได้มีการพัฒนาที่ดีเกือบทั้งหมด (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การผสมติด จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลสมบูรณ์ และเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์เฉลี่ยต่อผล ในการผสมปทุมมาต่างพันธุ์ข้ามชนิด

คู่ผสม			เปอร์เซ็นต์การผสมติด (%)		จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผล (เมล็ด) **(± S.E.)**			เปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์ (%)	
'เชียงใหม่พิงค์'	x	'มณีกาญจน์'	64.7	c	79.8	±5.75	ab	94.2	b
'เชียงใหม่พิงค์'	x	'บัวลายปราจีน'	24.0	e	0	±0.00	d	0	d
'เชียงใหม่พิงค์'	x	'ช่อมรกต'	80.0	a	79.8	±4.73	ab	95.6	ab
'เชียงใหม่พิงค์'	x	'กล่อมนางนอน'	6.7	f	0	±0.00	d	0	d
'บิ๊กเรด'	x	'มณีกาญจน์'	80.0	a	82.2	±3.84	a	90.2	c
'ขาวดอยตุง'	x	'บัวลายปราจีน'	44.3	d	73.0	±5.52	b	90.8	c
'มณีกาญจน์'	x	'เชียงใหม่พิงค์'	67.0	bc	29.8	±0.80	c	96.6	ab
'มณีกาญจน์'	x	'บิ๊กเรด'	51.0	d	32.2	±0.80	c	94.4	b
'มณีกาญจน์'	x	'ขาวดอยตุง'	42.3	d	28.4	±0.68	c	97.8	a
'มณีกาญจน์'	x	'ช่อมรกต'	29.0	e	25.2	±0.86	c	96.8	ab
'มณีกาญจน์'	x	'แดงระฆัง'	44.7	d	24.4	±1.12	c	94.4	b
'มณีกาญจน์'	x	'โรส'	62.3	c	26.4	±1.36	c	91.0	c
'มณีกาญจน์'	x	'เชียงใหม่เรด'	77.7	ab	23.8	±1.98	c	88.4	c
'มณีกาญจน์'	x	'บัวลายปราจีน'	2.3	f	0	±0.00	d	0	d

หมายเหตุ ± หมายถึง ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (SE)
ค่าเฉลี่ยที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เปรียบเทียบโดย DMRT

การทดลองที่ 2 ศึกษาการเพาะเลี้ยงคัพภะ (Embryo Culture)

เมื่อนำคัพภะลูกผสมปทุมมามาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลงโดยเพิ่ม BA , GA_3 และ NAA น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ kelcogel 2.5 กรัมต่อลิตรพบว่าคัพภะลูกผสมปทุมมามีการพัฒนาของคัพภะที่แตกต่างกัน โดยคัพภะปทุมมามีอัตราการพัฒนาอยู่ระหว่าง 36.7 - 81.7 เปอร์เซ็นต์ (กำหนดนับคัพภะที่มีการเปลี่ยนแปลง ขนาดหรือเป็นสีเขียว) คู่ผสมที่มีอัตราการพัฒนาของคัพภะสูงที่สุดคือ *Curcuma alismatifolia* 'ปทุมมาป่า' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' เท่ากับ 81.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นคัพภะที่ได้จากการผสมข้ามภายในชนิด ส่วนคู่ผสมที่มีอัตราการพัฒนาของคัพภะน้อยที่สุดคือคู่ผสมระหว่าง *Curcuma sp* 'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง' เท่ากับ 36.7 เปอร์เซ็นต์ เป็นคัพภะที่ได้จากการผสมข้ามชนิด (ตารางที่ 3)

การเปลี่ยนแปลงและการพัฒนาของคัพภะหลังจากทำการเพาะเลี้ยงคัพภะลูกผสมปทุมมาลงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลงเพิ่ม BA, GA และ NAA น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ kelcogel 2.5 กรัมต่อลิตร พบว่าคัพภะจากแต่ละเมล็ดมีการพัฒนาที่แตกต่างกันออกไปแม้ว่าเป็นคู่ผสมเดียวกันเห็นได้จากภาพถ่ายขนาดกำลังขยาย 10x ที่ได้จากการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยคัพภะเหล่านี้จะมีการเปลี่ยนแปลงพัฒนาได้สองกลุ่มใหญ่ๆ คือ คัพภะที่มีการเปลี่ยนแปลงพัฒนาไปเป็นต้นได้โดยตรงคือ มีลักษณะการพัฒนาเป็นส่วนของยอดและรากเมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ คัพภะกลุ่มนี้สามารถออกปลูกในสภาพแปลงได้เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรเดิมเป็นเวลา 3 เดือน (เปลี่ยนอาหารให้ทุกๆ 4 สัปดาห์) 1 เมล็ดจะให้ลูกผสมปทุมมา 1 ต้น ส่วนคัพภะอีกกลุ่มจะมีการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาขนาดเป็นแคลลัสสีขาวหรือสีเขียวเพียงอย่างเดียว แต่ไม่พบการการพัฒนาของส่วนลำต้นหรือรากเมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์เป็นเวลา 30 วันเท่ากัน คัพภะกลุ่มนี้ไม่สามารถออกปลูกได้จำเป็นต้องศึกษาการชักนำให้เกิดเป็นต้นต่อไป

ตารางที่ 3 แสดงอัตราการพัฒนาของคัพภะหลังจากทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ 30 วัน

อันดับ	คู่ผสม			อัตราการพัฒนาของคัพภะ (เปอร์เซ็น)	
1	*C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	x	*C. alismatifolia* 'ปทุมมาป่า'	65.00	cde
2	*C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	x	*C. alismatifolia* 'สโนไวท์'	78.33	abc
3	*C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	x	*C. alismatifolia* 'ขาว tissue'	70.00	abcd
4	*C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	x	*C. alismatifolia* 'บลูตุง'	73.33	abcd
5	*C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	x	*Curcuma spp* .'มณีกาญจน์'	55.00	efg
6	*C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	x	*C. alismatifolia.*'โรส'	66.67	bcde
7	*C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	x	*C. alismatifolia* 'แดงระฆัง'	43.33	ghi
8	*C. alismatifolia* 'บิ๊กเรด'	x	*C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	70.00	abcd
9	*C. alismatifolia* 'บิ๊กเรด'	x	*C. alismatifolia* 'ขาวดอยตุง'	73.33	abcd
10	*C. alismatifolia* 'ปทุมมาป่า'	x	*C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	81.67	a
11	*C. alismatifolia* 'ปทุมมาป่า'	x	*C. alismatifolia* 'ท๊อปเรด'	80.00	ab
12	*C. alismatifolia* 'ปทุมมาป่า'	x	*C. alismatifolia* 'โรส'	71.67	ab
13	*C. alismatifolia* 'ขาว tissue'	x	*C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	75.00	abcd
14	*C. alismatifolia* 'ขาว tissue'	x	*C. alismatifolia* 'บลูตุง'	65.00	cde
15	*C. alismatifolia* 'ขาว tissue'	x	*C. alismatifolia.*'แดงระฆัง'	51.67	fgh
16	*C. alismatifolia* 'บลูตุง'	x	*C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	61.67	def
17	*Curcuma spp* .'มณีกาญจน์'	x	*C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	70.00	abcd
18	*Curcuma spp* .'มณีกาญจน์'	x	*C. alismatifolia* 'บิ๊กเรด'	66.67	bcde
19	*Curcuma spp* .'มณีกาญจน์'	x	*C. harmandii.* 'ช่อมรกต'	41.67	hi
20	*Curcuma spp* .'มณีกาญจน์'	x	*C. alismatifolia* 'แดงระฆัง'	36.67	i

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ ระดับความเชื่อมั่น 95 % เปรียบเทียบโดย DMRT

การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'ปทุมมาป่า' ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วันพบว่าคัพภะที่มาจากคู่ผสมเดียวกันแต่มีการพัฒนาที่แตกต่างกัน โดยมีคัพภะที่พัฒนาเป็นแคลลัสสีเขียวเท่านั้นและไม่มีการพัฒนาส่วนอื่นเพิ่มเติมแม้จะมีขนาดใหญ่ขึ้นตามเวลาที่ใช้เพาะเลี้ยง (ภาพที่ 1 (ก)) ส่วนคัพภะอีกแบบคือคัพภะที่พัฒนาเป็นรากก่อนแล้วจึงเกิดแคลลัสเมื่อเพาะเลี้ยง 30 วันจะมีลักษณะเป็นแคลลัสที่มีรากยาว (ภาพที่ 1 (ข)) และคัพภะแบบที่พัฒนาเป็นยอด ราก และแคลลัสพร้อมกัน คัพภะแบบนี้จะพัฒนาเป็นต้นกล้าลูกผสมที่สมบูรณ์และสามารถออกปลูกในสภาพแปลงได้เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรเดิมเป็นเวลา 3 เดือน (เปลี่ยนอาหารให้ทุกๆ 7 วัน) (ภาพที่ 1 (ค))

การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'สโนไวท์' ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน พบว่ามีลักษณะคล้ายกันกับคู่ผสมอื่นๆคือแต่ละคัพภะมีการพัฒนาที่แตกต่างกัน โดยมีคัพภะที่พัฒนาเป็นแคลลัสสีขาวและไม่มีการพัฒนาส่วนอื่นแต่มีขนาดใหญ่ขึ้นและรูปร่างเปลี่ยนเป็นลักษณะโค้ง (ภาพที่ 2 (ก)) ส่วนคัพภะอีกแบบคือคัพภะที่มีการพัฒนาเป็นยอดแต่ยอดนั้นมีลักษณะผิดปกติ คือมีลักษณะเป็นแผ่นใบเล็กๆซ้อนทับกัน ไม่มีการพัฒนาส่วนของราก (ภาพที่ 2 (ข)) และคัพภะที่มีพัฒนาเป็นยอดแบบกระจุกคือ มียอดเล็กๆ เกิดขึ้นในบริเวณใกล้กัน แต่ไม่มีการพัฒนาส่วนของราก (ภาพที่ 2 (ค))

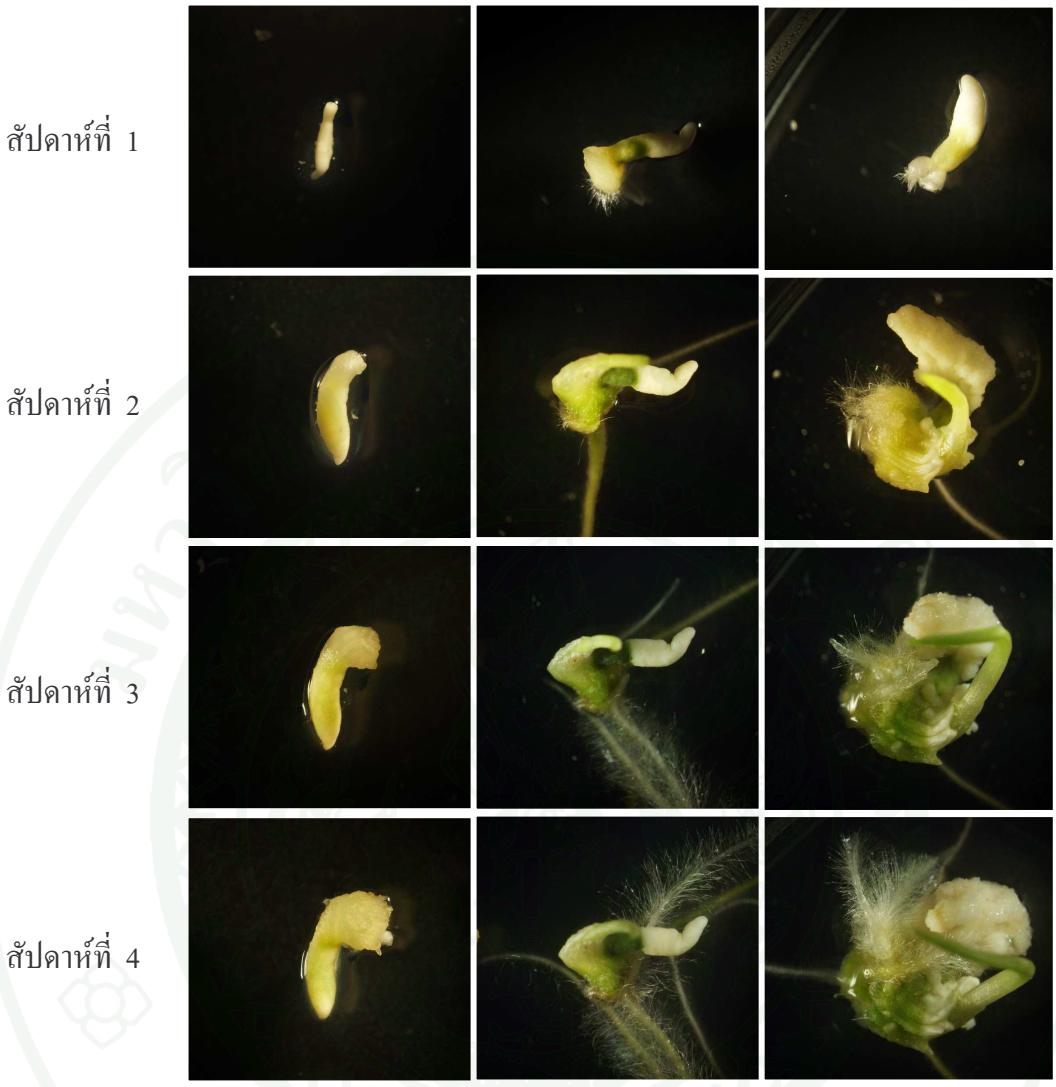
การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง' ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน พบว่ามีลักษณะคล้ายกันกับคู่ผสมอื่นๆคือแต่ละคัพภะมีการพัฒนาที่แตกต่างกัน โดยมีคัพภะที่พัฒนาเป็นแคลลัสที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและมีการพัฒนาของรากอย่างชัดเจนแต่ไม่พบการพัฒนาของยอด (ภาพที่ 3 (ก)) ส่วนคัพภะอีกแบบคือคัพภะที่มีการพัฒนาของรากก่อนแล้วจึงมีการพัฒนาเป็นยอดที่สมบูรณ์ตามลำดับ คัพภะแบบนี้จะสามารถพัฒนาเป็นต้นกล้าลูกผสมและสามารถออกปลูกในสภาพแปลงได้เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรเดิมเป็นเวลา 3 เดือน (เปลี่ยนอาหารให้ทุกๆ 7 วัน) (ภาพที่ 3 (ข)) และคัพภะที่มีการพัฒนาเพียงเล็กน้อยก่อนเปลี่ยนเป็นแคลลัสสีเขียวที่มีรูปทรงและขนาดใหญ่กว่าเดิม (ภาพที่ 3 (ค))

การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'บลูตุง' ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน พบว่ามีลักษณะคล้ายกันกับคู่ผสมอื่นๆคือแต่ละคัพภะมีการพัฒนาที่แตกต่างกัน โดยมีคัพภะที่พัฒนาเป็นแคลลัสสีขาว ไม่มีการพัฒนาส่วนอื่นๆ มีรูปทรงและขนาดต่างจากเดิมเล็กน้อย (ภาพที่ 4 (ก)) ส่วนคัพภะอีกแบบคือคัพภะที่พัฒนา

เป็นแคลลัสก่อนจะมีการพัฒนาส่วนรากตามมา (ภาพที่ 4 (ข)) และคัพภะที่มีการพัฒนาส่วนรากเล็กน้อยในสัปดาห์ที่ 2 ก่อนจะพัฒนาเป็นแคลลัสที่มีสีเขียวและขาวที่ขนาดใหญ่ขึ้นจากเดิมเล็กน้อย (ภาพที่ 4 (ค))

การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'ปทุมมาป่า' x *C. alismatifolia* 'โรส' ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน พบว่ามีลักษณะคล้ายกันกับคู่ผสมอื่นๆคือแต่ละคัพภะมีการพัฒนาที่แตกต่างกัน โดยมีคัพภะที่มีการพัฒนาเป็นยอด แต่ยอดที่ได้นั้นมีลักษณะผิดปกติ คือมีลักษณะเป็นแผ่นใบเล็กๆเจริญเติบโตในแนวระนาบและไม่มีการพัฒนาส่วนของราก (ภาพที่ 5 (ก)) ส่วนคัพภะอีกแบบคือคัพภะที่มีการพัฒนาของรากและยอดสีขาว แคลลัสแบบนี้จะพัฒนาไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ช้ากว่าคัพภะที่พัฒนารากและยอดสีเขียว (ภาพที่ 5 (ข)) และคัพภะที่มีการพัฒนาของราก และยอดสีเขียวคัพภะแบบนี้จะพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์ได้เร็วกว่าคัพภะที่มีรากและยอดสีขาว สามารถนำออกปลูกในสภาพแปลงได้เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรเดิมเป็นเวลา 3 เดือน (เปลี่ยนอาหารให้ทุกๆ 7 วัน) (ภาพที่ 5 (ค))

การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *Curcuma* sp. 'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง' ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน พบว่ามีลักษณะคล้ายกันกับคู่ผสมอื่นๆคือแต่ละคัพภะมีการพัฒนาที่แตกต่างกัน โดยมีคัพภะที่พัฒนารากและยอดได้สมบูรณ์และเร็ว คัพภะแบบนี้จะสามารถพัฒนาเป็นต้นกล้าลูกผสมและสามารถออกปลูกในสภาพแปลงได้เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรเดิมเป็นเวลา 3 เดือน (เปลี่ยนอาหารให้ทุกๆ 7 วัน) (ภาพที่ 6 (ก)) ส่วนคัพภะอีกแบบคือคัพภะที่มีการพัฒนารากและยอดอย่างช้าๆ ก่อนจะพัฒนาเป็นแคลลัสที่ไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ในอาหารสังเคราะห์สูตรเดิม (ภาพที่ 6 (ข))



ภาพที่ 1 การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’ x *C. alismatifolia* ‘ปทุมมาป่า’ ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน

(ก) คัพภะพัฒนาเป็นแคลลัสสีเขียวเท่านั้น

(ข) คัพภะพัฒนาเป็นรากก่อนและมีบางส่วนของรากพัฒนาเกิดแคลลัส

(ค) คัพภะพัฒนาเป็นยอด ราก และแคลลัสพร้อมกัน

ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'ขาวสโนไวท์' ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน

(ก) คัพภะพัฒนาแคลลัสสีขาว

(ข) คัพภะพัฒนาเป็นยอดที่มีลักษณะผิดปกติ

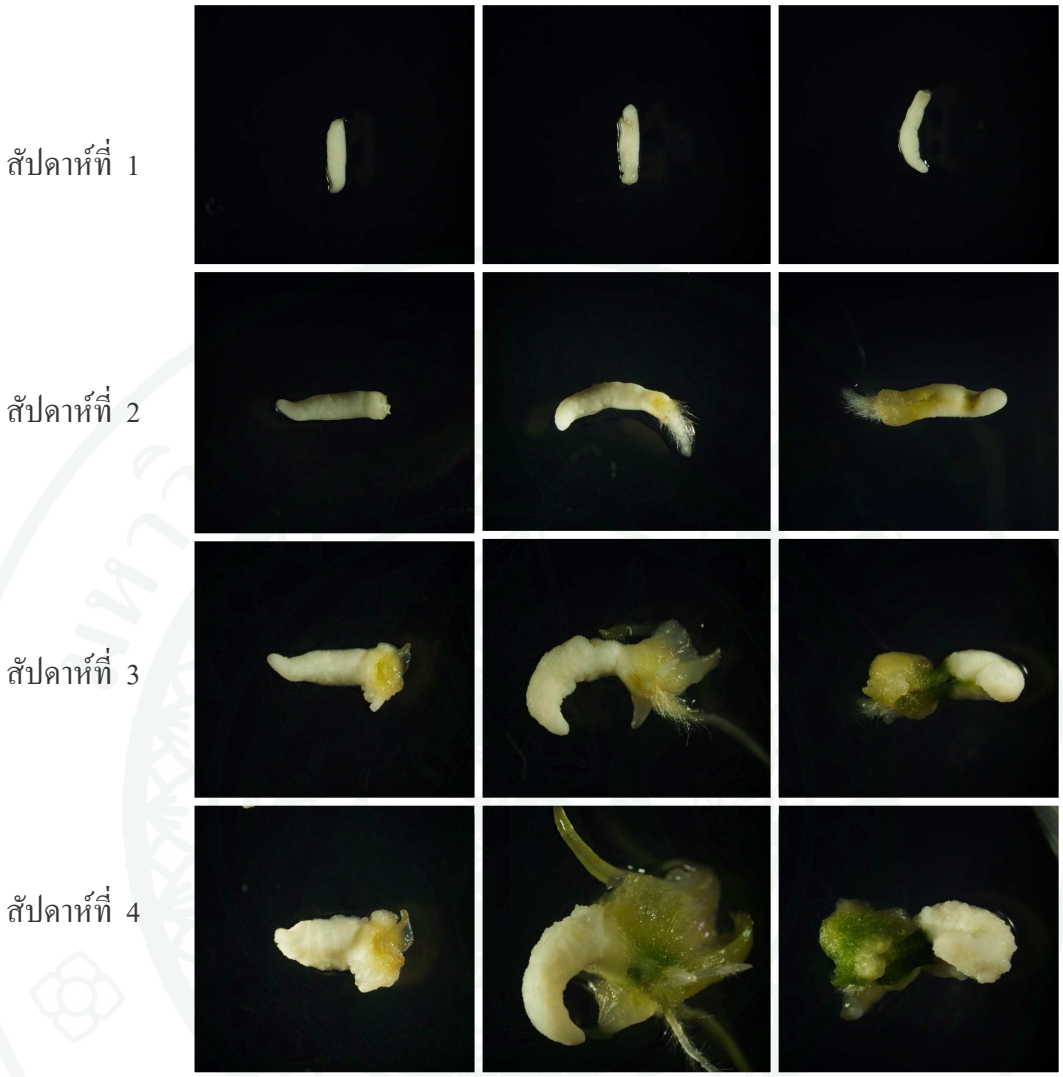
(ค) คัพภะพัฒนาเป็นยอดและมีบางส่วนพัฒนาเป็นแคลลัส

ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’ x *C. alismatifolia* ‘แดงระฆัง’ ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน

(ก) คัพภะขนาดใหญ่ขึ้นและมีบางส่วนพัฒนาเป็นรากและแคลลัส

(ข) คัพภะพัฒนาเป็นรากและยอด

(ค) คัพภะพัฒนาแคลลัสสีเขียวอย่างช้าๆ

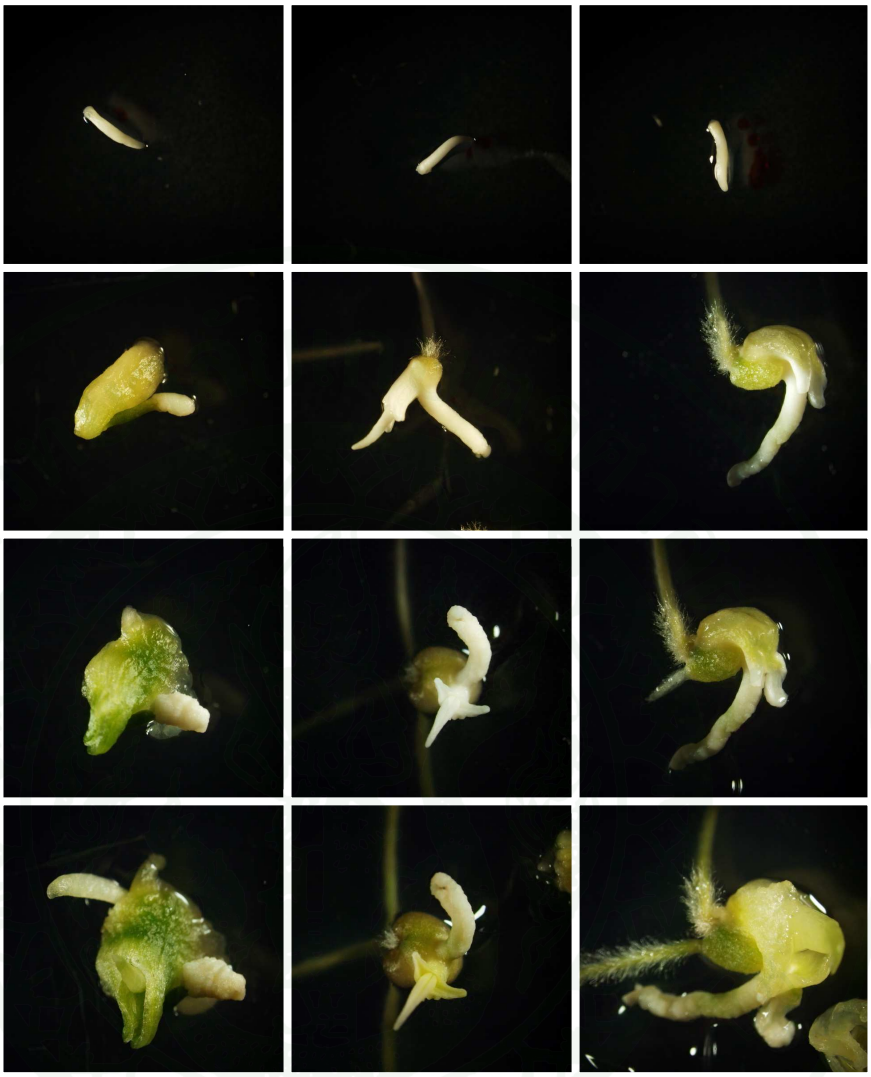


ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’ x *C. alismatifolia* ‘ม่วง’ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน

(ก) คัพภะพัฒนาเป็นแคลลัสสีขาว

(ข) คัพภะพัฒนาเป็นแคลลัสและราก

(ค) คัพภะพัฒนาเป็นแคลลัสสีเขียวและขาว

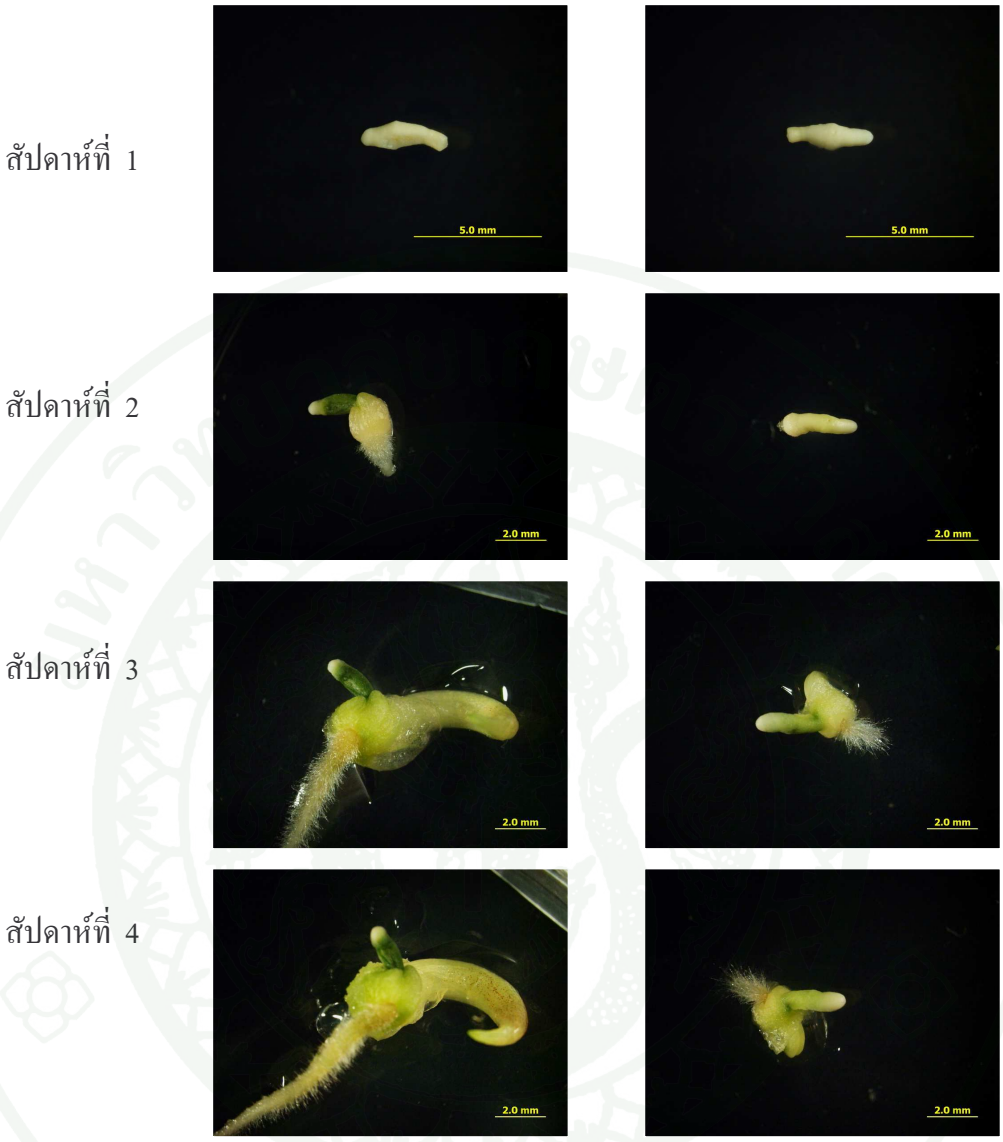


ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* ‘ปทุมมาป่า’ x *C. alismatifolia* ‘กิโมโน’ ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน

(ก) คัพภะพัฒนาเป็นยอดที่มีลักษณะผิดปกติ

(ข) คัพภะพัฒนาเป็นรากและยอดสีขาว

(ค) คัพภะพัฒนาเป็นรากและยอดสีเขียว



ภาพที่ 6 การเปลี่ยนแปลงของคัพภะคู่ผสมระหว่าง *Curcuma sp.*'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง' ที่ทำการเพาะเลี้ยง 30 วัน

(ก) คัพภะพัฒนาเป็นยอดและรากที่สมบูรณ์

(ข) คัพภะพัฒนาเป็นแคลลัสและรากเล็กน้อย

การทดลองที่ 3 ศึกษาการเจริญเติบโตของแคลลัสภายหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ

จากการทดลองที่ 2 พบว่ามีคัพภะที่มีการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาเป็นลักษณะของแคลลัส แต่ไม่พบการพัฒนาเป็นส่วนของลำต้นหรือรากดังนั้นจึงได้นับแคลลัสเหล่านี้มาทดสอบกับสูตรอาหาร พบว่าแต่ละสูตรอาหารสามารถชักนำให้แคลลัสมีการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาได้ดีซึ่งความสามารถในการพัฒนานั้นแตกต่างกันไปตามแต่ละคู่ผสม ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงแคลลัสของลูกผสมปทุมมาแต่ละชนิดบนอาหารสังเคราะห์หลังการเพาะเลี้ยง 30 วัน

คู่ผสม	สูตรอาหาร	จำนวนยอด	ลักษณะการเปลี่ยนแปลง
C. alismatifolia 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'บิ๊กเรด'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสสีขาวขุ่นผิวขุขระ
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีขาว ผิวขรุขระ
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีขาว
	Tr.4 (Mk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีเขียว
C. alismatifolia 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'ปทุมมาป่า'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีขาว
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีขาว
	Tr.4 (Mk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.5 (Mp)	1	แคลลัสสีเขียว
C. alismatifolia 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'บลูตุง'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสเป็นกลุ่มกลมสีขาว
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.4 (Mk)	1	แคลลัสสีเขียวเข้มขึ้น
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีขาว

ตารางที่ 4 (ต่อ)

คู่ผสม	สูตรอาหาร	จำนวนยอด	ลักษณะการเปลี่ยนแปลง
C. alismatifolia 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสสีเขียวอ่อนๆ
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีขียวอ่อน
	Tr.4 (Mk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีขาว
C. alismatifolia 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'โรส'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีเขียวอ่อนๆ
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีขาวขุ่น
	Tr.4 (Mk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีเขียว
C. alismatifolia 'บิ๊กเรด' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีขาว
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.4 (Mk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีเขียว
C. alismatifolia 'ปทุมมาป่า' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีขาว เริ่มมีรากยาว 1 เส้น
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีขาวขุ่น
	Tr.4 (Mk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีเขียว
C. alismatifolia 'ขาว tissue' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีขาว มีส่วนของราก 1 เส้น
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีขาว
	Tr.4 (Mk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีเขียว

ตารางที่ 4 (ต่อ)

คู่ผสม	สูตรอาหาร	จำนวนยอด	ลักษณะการเปลี่ยนแปลง
C. alismatifolia 'ขาว tissue' x *C. alismatifolia* 'บลูตุง'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.4 (Mk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีเขียว
C. alismatifolia 'ปทุมมาป่า' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีขาว มีรากยาว 1 เส้น
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีขาวขุ่น
	Tr.4 (Mk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีเขียว
C. alismatifolia 'ขาว tissue' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีขาว ส่วนของราก 1 เส้น
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีขาว
	Tr.4 (Mk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีเขียว
C. alismatifolia 'ขาว tissue' x *C. alismatifolia* 'ม่วง'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.4 (Mk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีเขียว
C. alismatifolia 'ขาว tissue' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสสีขาวขุ่น
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีขาว
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีขาว
	Tr.4 (Mk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีเขียว

ตารางที่ 4 (ต่อ)

คู่ผสม	สูตรอาหาร	จำนวนยอด	ลักษณะการเปลี่ยนแปลง
C. alismatifolia 'ขาวปลายแดง' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีขาว
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.4 (Mk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีเขียว
Curcuma sp. 'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีขาว
	Tr.4 (Mk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีเขียวเข้ม
Curcuma sp. 'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'ช่อมรกต'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสสีเขียวอ่อนๆ
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีขาว
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.4 (Mk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีเขียว
Curcuma sp. 'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสสีขาว
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.4 (Mk)	-	แคลลัสสีเขียว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีเขียว

หมายเหตุ อักษรในตารางใช้แทนสูตรอาหารสังเคราะห์ที่ใช้เพาะเลี้ยงในการทดลอง

MS แทน MS + GA_3 1 ml/l. + BA 1 ml/l. + NAA 0.1 ml/l.+ sucrose 30 g/l.+ kelcogel 2.5 g/l.

Sk แทน MS + BA 3 ml/l. + NAA 1.5 ml/l. + sucrose 30 g/l. + kelcogel 4 g/l.

Sp แทน MS + BA 3 ml/l. + NAA 1.5 ml/l. + sucrose 30 g/l. + phytagel 4 g/l.

MK แทน MS + BA 3 ml/l. + NAA 1.5 ml/l. + maltose 30 g/l. + kelcogel 4 g/l.

Mp แทน MS + BA 3 ml/l. + NAA 1.5 ml/l. + maltose 30 g/l. + phytagel 4 g/l.

ตารางที่ 5 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงแคลลัสของลูกผสมปทุมมาแต่ละชนิดบนอาหารสังเคราะห์ หลังการเพาะเลี้ยง 60 วัน

คู่ผสม	สูตรอาหาร	จำนวนยอด	ลักษณะการเปลี่ยนแปลง
C. alismatifolia 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'บิ๊กเรด'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีขาว
	Tr.3 (Sp)	1	แคลลัสสีเขียว มีจุดกำเนิดยอดเป็กระจุก
	Tr.4 (Mk)	1	แคลลัสสีเขียว มีส่วนพัฒนาเป็นยอด และรากเส้นยาว
	Tr.5 (Mp)	1	แคลลัสสีเขียว มีจุดกำเนิดยอดเป็นกระจุก
C. alismatifolia 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'ปทุมมาป่า'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีขาว
	Tr.3 (Sp)	1	แคลลัสเริ่มสีเขียวและมีขนาดใหญ่ขึ้น
	Tr.4 (Mk)	3	แคลลัสสีเขียว มีจุดกำเนิดยอดเป็น
	Tr.5 (Mp)	2	กระจุกแคลลัสสีเขียว มีส่วนพัฒนาเป็นยอด และรากเส้นเดี่ยวยาว
C. alismatifolia 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'บลูตุง'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีเขียว มีการพัฒนาเป็นราก
	Tr.3 (Sp)	5	แคลลัสสีเขียวมีการพัฒนาเป็นรากและยอดเป็นกระจุก
	Tr.4 (Mk)	3	แคลลัสสีเขียวมีจุดกำเนิดยอดเป็นกระจุก
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีขาว ไม่มีการเจริญเติบโต
C. alismatifolia 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสสีเขียวอ่อนๆ และมีขนาดใหญ่ขึ้น
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
	Tr.3 (Sp)	1	แคลลัสสีขียว รากมีขนขาวฟูตลอดเส้น
	Tr.4 (Mk)	4	แคลลัสสีเขียวมีจุดกำเนิดยอดเป็นกระจุก รากยาวเป็นเส้นเดี่ยว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสสีขาว ไม่มีการเจริญเติบโต

ตารางที่ 5 (ต่อ)

คู่ผสม	สูตรอาหาร	จำนวนยอด	ลักษณะการเปลี่ยนแปลง
C. alismatifolia 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'โรส'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
	Tr.2 (Sk)	1	แคลลัสสีเขียว มีการพัฒนาของยอด
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีขาวขุ่น
	Tr.4 (Mk)	2	แคลลัสสีเขียว มีจุดกำเนิดยอดเป็นกระจุก
	Tr.5 (Mp)	5	แคลลัสสีเขียวจุดกำเนิดยอดเป็นกระจุก
C. alismatifolia 'ปทุมมาป่า' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสสีเขียวกลม ขนาดใหญ่ขึ้น
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสมีราก แต่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
	Tr.4 (Mk)	2	แคลลัสสีเขียว มีส่วนยอดและราสั้นๆ
	Tr.5 (Mp)	3	แคลลัสสีเขียว มียอดเล็กๆ เป็นกระจุก
C. alismatifolia 'ขาว tissue' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	Tr.1 (MS)	2	แคลลัสมีการพัฒนาเป็นยอดและราก
	Tr.2 (Sk)	2	แคลลัสมีการพัฒนาเป็นยอดและราก
	Tr.3 (Sp)	8	แคลลัสมีจุดกำเนิดยอดเป็นกระจุก ราก หนายาว
	Tr.4 (Mk)	2	แคลลัสพัฒนาเป็นยอดยาวโค้ง
	Tr.5 (Mp)	3	แคลลัสพัฒนาเป็นยอดแคระแกรน และมีรากเล็กน้อย
C. alismatifolia 'ขาว tissue' x *C. alismatifolia* 'บลูตุง'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสปนเปื้อนเชื้อ แบคทีเรีย
	Tr.2 (Sk)	5	แคลลัสมีจุดกำเนิดยอดเป็นกนะจุก
	Tr.3 (Sp)	1	แคลลัสสีเขียวมียอดสูง และราก
	Tr.4 (Mk)	5	แคลลัสสีเขียว ยอดยาว
	Tr.5 (Mp)	3	แคลลัสมีจุดกำเนิดยอดเล็กๆ

ตารางที่ 5 (ต่อ)

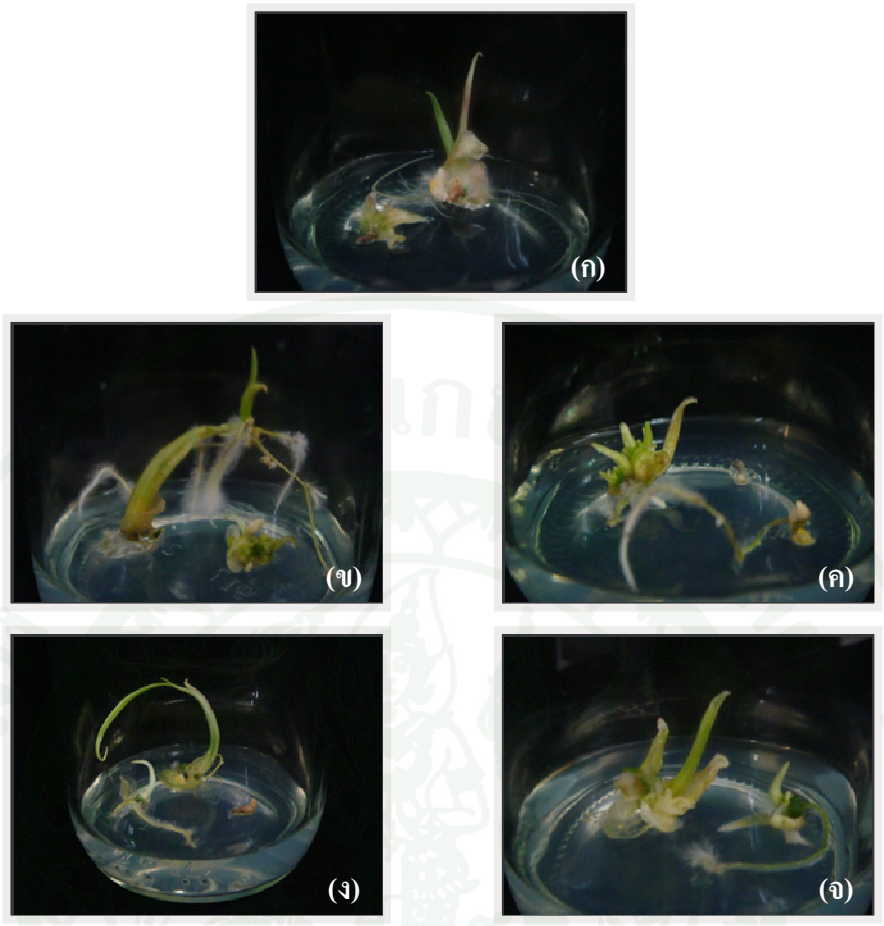
คู่ผสม	สูตรอาหาร	จำนวนยอด	ลักษณะการเปลี่ยนแปลง
C. alismatifolia 'ขาว tissue' X *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง'	Tr.1 (MS)	1	แคลลัสสีเขียว ขนาดใหญ่ขึ้น
	Tr.2 (Sk)	1	แคลลัสเกิดยอดเล็กๆ
	Tr.3 (Sp)	1	แคลลัสพัฒนาเป็นยอด มีรากยาวขาวฟู
	Tr.4 (Mk)	3	แคลลัสพัฒนาเป็นกระจุกยอด รากสั้น
	Tr.5 (Mp)	2	แคลลัสพัฒนายอดเป็นกระจุกรวม รากน้อยแต่ยาว
Curcuma sp. 'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์'	Tr.1 (MS)	1	แคลลัสสีเขียว ขนาดใหญ่ขึ้น มียอดเล็กๆ
	Tr.2 (Sk)	1	แคลลัสพัฒนาเป็นยอดใหญ่ รากยาว
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีขาว ไม่มีการเจริญเติบโต
	Tr.4 (Mk)	1	แคลลัสมีส่วนพัฒนาเป็นยอดและรากยาว
	Tr.5 (Mp)	1	แคลลัสพัฒนาเป็นต้น
Curcuma sp. 'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'ช่อมรกต'	Tr.1 (MS)	1	แคลลัสพัฒนาเป็นยอดเดี่ยว รากสั้น
	Tr.2 (Sk)	1	แคลลัสพัฒนาเป็นต้นใบยาว
	Tr.3 (Sp)	1	แคลลัสพัฒนาเป็นต้นโค้ง รากยาว
	Tr.4 (Mk)	1	แคลลัสพัฒนาเป็นต้น
	Tr.5 (Mp)	2	แคลลัส พัฒนาเป็นต้นกล้าเล็กๆ มีราก
Curcuma sp. 'มณีกาญจน์' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง'	Tr.1 (MS)	-	แคลลัสสีเขียวอ่อน
	Tr.2 (Sk)	-	แคลลัสสีเขียว ขนาดใหญ่ขึ้น
	Tr.3 (Sp)	-	แคลลัสสีเขียว ไม่มีการเจริญเติบโต
	Tr.4 (Mk)	1	แคลลัสพัฒนาเป็นยอด รากยาว
	Tr.5 (Mp)	-	แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

หมายเหตุ อักษรในตารางใช้แทนสูตรอาหารสังเคราะห์ที่ใช้เพาะเลี้ยงในการทดลอง ตัวอักษรภาษาอังกฤษใช้แทนสูตรอาหารในการทดลอง เหมือน ตารางที่ 4

ลักษณะการเจริญเติบโตของแคลลัสคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'ขาว tissue' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ 60 วัน พบว่าแคลลัสสามารถพัฒนาเป็นยอดและต้นได้ โดยเมื่อทำการเพาะเลี้ยงใน 30 วันแรกนั้นแคลลัสมีการพัฒนาน้อยมาก แต่จะมีการพัฒนาที่ดีขึ้นในช่วง 60 วันหลัง สำหรับคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'ขาว tissue' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, sucrose 30 กรัมต่อลิตร และ phytagel 4 กรัมต่อลิตร ทำให้แคลลัสเกิดยอดได้ดีโดยพบว่ามีจำนวนยอดมากถึง 8 ยอดจากหนึ่งแคลลัส และสามารถพัฒนาเป็นกลุ่มต้นกล้าที่สมบูรณ์ได้ ในขณะที่สูตรอาหารอื่นๆให้จำนวนยอดต่อชิ้นน้อยกว่าและยอดมีลักษณะผิดปกติคือ ยอดอวบน้ำ หรือยอดเรียวเล็กและโค้งงอ (ภาพที่ 7)

ลักษณะการเจริญเติบโตของแคลลัสคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'ขาว tissue' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง' โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ 60 วัน พบว่า แคลลัสเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงใน 60 วันหลัง เช่นกัน สำหรับคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'ขาว tissue' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง' ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, sucrose 30 กรัมต่อลิตร และ phytagel 4 กรัมต่อลิตร ทำให้แคลลัสพัฒนาเป็นยอดได้ดี ลักษณะยอดตั้งตรง สามารถเกิดรากได้มากและยาวกว่าเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรอื่นๆ ในขณะที่สูตรอาหารอื่น ทำให้แคลลัสพัฒนาเป็นยอดได้ช้ากว่าอีกทั้งยังเกิดรากน้อย (ภาพที่ 8)

ลักษณะการเจริญเติบโตของแคลลัสคู่ผสมระหว่าง *Curcuma* sp.'มณีกาญจน์ x *C. alismatifolia* 'ช่อมรกต' โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ 60 วัน พบว่า แคลลัสเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงใน 60 วันหลัง เช่นกัน สำหรับคู่ผสมระหว่าง *Curcuma* sp.'มณีกาญจน์ x *C. alismatifolia* 'ช่อมรกต' ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, maltose 30 กรัมต่อลิตร และ phytagel 4 กรัมต่อลิตร ทำให้แคลลัสพัฒนาเป็นยอดและรากได้ดี ในขณะที่สูตรอื่นทำให้แคลลัสเกิดยอดได้แต่เกิดรากได้น้อยกว่าหรือไม่เกิดรากเลย (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 7 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของแคลลัสคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* ‘ขาวทิสชู’ x *C. alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’ โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ 60 วัน ดังนี้

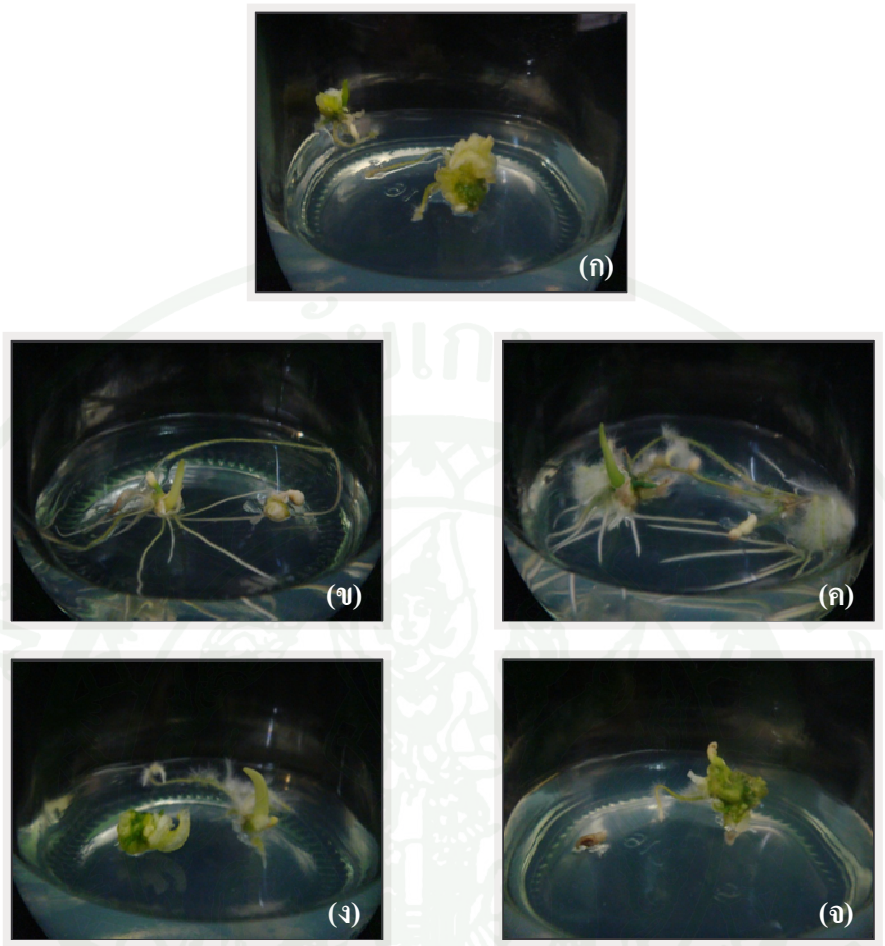
(ก) คือ MS + GA_3 1 ml/l. + BA 1 ml/l. + NAA 0.1 ml/l.+ sucrose 30 g/l.+ kelcogel 2.5 g/l.

(ข) คือ MS + BA 3 ml/l. + NAA 1.5 ml/l. + sucrose 30 g/l. + kelcogel 4 g/l.

(ค) คือ MS + BA 3 ml/l. + NAA 1.5 ml/l. + sucrose 30 g/l. + phytagel 4 g/l.

(ง) คือ MS + BA 3 ml/l. + NAA 1.5 ml/l. + maltose 30 g/l. + kelcogel 4 g/l.

(จ) คือ MS + BA 3 ml/l. + NAA 1.5 ml/l. + maltose 30 g/l. + phytagel 4 g/l.



ภาพที่ 8 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของแคลลัสคู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* ‘ขาวทิสชู’ x *C. alismatifolia* ‘แดงระฆัง’ โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ 60 วัน ดังนี้

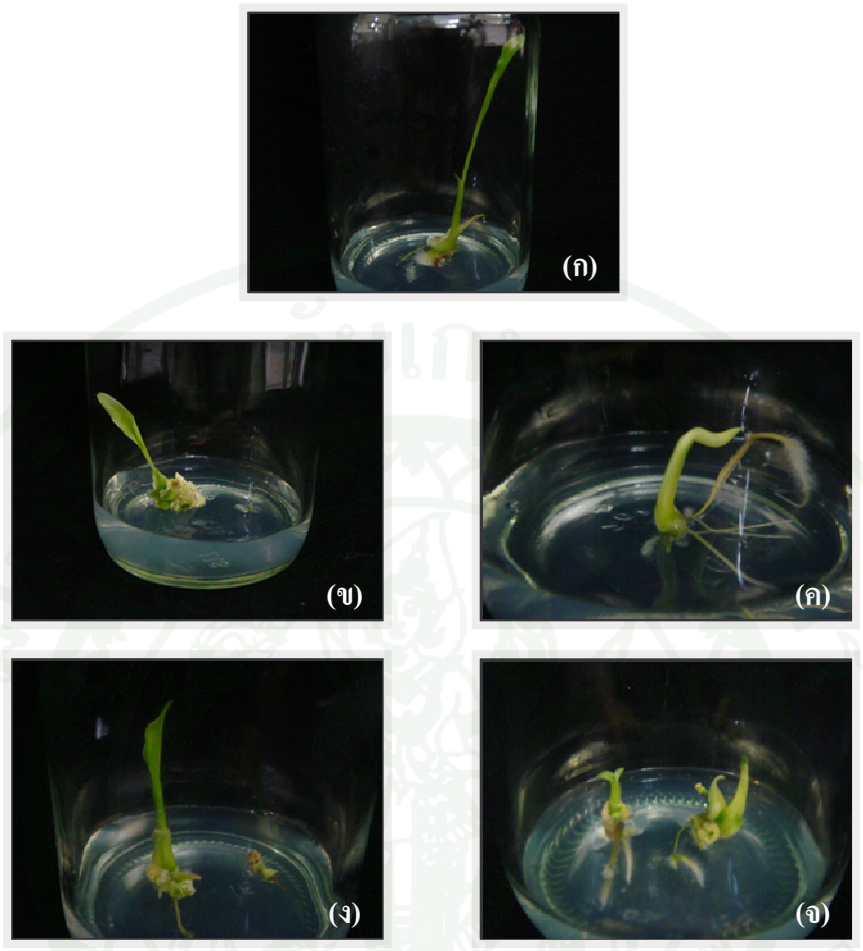
(ก) คือ MS + GA_3 1 ml/l. + BA 1 ml/l. + NAA 0.1 ml/l.+ sucrose 30 g/l.+ kelcogel 2.5 g/l.

(ข) คือ MS + BA 3 ml/l. + NAA 1.5 ml/l. + sucrose 30 g/l. + kelcogel 4 g/l.

(ค) คือ MS + BA 3 ml/l. + NAA 1.5 ml/l. + sucrose 30 g/l. + phytagel 4 g/l.

(ง) คือ MS + BA 3 ml/l. + NAA 1.5 ml/l. + maltose 30 g/l. + kelcogel 4 g/l.

(จ) คือ MS + BA 3 ml/l. + NAA 1.5 ml/l. + maltose 30 g/l. + phytagel 4 g/l.



ภาพที่ 9 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของแคลลัสคู่ผสมระหว่าง *Curcuma* sp.'มณีกาญจน์ x *C. alismatifolia* 'เขียวมรกต' โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ 60 วัน ดังนี้

(ก) คือ MS + GA_3 1 ml/l. + BA 1 ml/l. + NAA 0.1 ml/l.+ sucrose 30 g/l.+ kelcogel 2.5 g/l.

(ข) คือ MS + BA 3 ml/l. + NAA 1.5 ml/l. + sucrose 30 g/l. + kelcogel 4 g/l.

(ค) คือ MS + BA 3 ml/l. + NAA 1.5 ml/l. + sucrose 30 g/l. + phytagel 4 g/l.

(ง) คือ MS + BA 3 ml/l. + NAA 1.5 ml/l. + maltose 30 g/l. + kelcogel 4 g/l.

(จ) คือ MS + BA 3 ml/l. + NAA 1.5 ml/l. + maltose 30 g/l. + phytagel 4 g/l.

วิจารณ์

การทดลองที่ 1 ศึกษาความสามารถในการผสมของปทุมมา

ผสมต่างพันธุ์ภายในชนิดเดียวกัน

1. เปอร์เซ็นต์การผสมติด

เปอร์เซ็นต์การผสมติดของการผสมต่างพันธุ์ภายในชนิดเดียวกันอยู่ในช่วงระหว่าง 55.3 – 93.3 เปอร์เซ็นต์ โดยคู่ผสมทั้งหมดเป็นการผสมภายในชนิดเดียวกัน คือต้นแม่พันธุ์และพ่อพันธุ์ต่างเป็นชนิด *C. alismatifolia.* คู่ผสมเหล่านี้จึงมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิดทำให้มีโอกาสในการผสมติดสูงสอดคล้องกับรายงานของ ประเดิม (2542) กล่าวว่าคู่ผสมปทุมมาในกลุ่มเดียวกันน่าจะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันทำให้พบความสำเร็จในการผสมสูง ทั้งนี้สภาพแวดล้อมในขณะผสมเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งที่จะส่งเสริมการผสม โดยดอกของกลุ่มปทุมมาเกือบทั้งหมดพร้อมที่จะมีการถ่ายละอองเกสรเรณูได้ตั้งแต่ตอนเริ่มบานจนถึงบาน และละอองเรณูของไม้ดอกประเภทนี้มีความเป็นหมันในระดับปานกลางถึงต่ำ จึงต้องรับถ่ายและรับถ่ายละอองเกสรในขณะที่ความชื้นสัมพัทธ์อยู่ในระดับสูง (จุไรรัตน์, 2544) ซึ่งตรงกับสภาพแวดล้อมในการทดลองครั้งนี้ ด้วยปัจจัยทั้งหมดจึงทำให้เปอร์เซ็นต์การผสมติดในการทดลองสูง

2. จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผล

จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลของการผสมต่างพันธุ์ภายในชนิดเดียวกันนั้นอยู่ระหว่าง 72.0 – 94.2 เมล็ดต่อผล จากจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลของคู่ผสมทั้งหมดจะพบว่า จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลที่สูงนั้นเกิดจากการที่ปทุมมา *C. alismatifolia.* ที่ใช้เป็นต้นแม่พันธุ์ของแต่ละคู่ผสมนั้นมีช่อดอกเป็นทรงกระบอก และส่วนของโคนกลีบประดับส่วนล่างเชื่อมติดกันเกิดเป็นลักษณะคล้ายถ้วยที่มีขนาดใกล้เคียงกัน จึงสามารถรองรับการขยายตัวของรังไข่ได้ไม่แตกต่างกันมากนัก ทำให้ช่วงจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลจึงไม่ห่างกันมาก ประกอบกับความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิดของคู่ผสมทำให้ละอองเกสรที่นำไปแตะบนยอดเกสรตัวเมียนั้นมีโอกาสในการงอกหลอดละอองเกสรลงในก้านชูเกสรตัวเมียได้ดี จึงเกิดการปฏิสนธิได้เมล็ดในผลเป็นจำนวนมาก

3. เปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์

เปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์ของการผสมต่างพันธุ์ภายในชนิดเดียวกันนั้นอยู่ระหว่าง 63.2 – 98 เปอร์เซ็นต์ และถือว่าคู่ผสมแต่ละคู่ให้เปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์ที่สูงเป็นแสดงให้เห็นถึงการพัฒนาของคัพภะในเมล็ดที่ยังคงสามารถพัฒนาต่อไปได้ภายหลังการผสมจนกระทั่งเป็นเมล็ดใกล้สุกแก่ โดยที่เมล็ดไม่ฟีบเพราะเกิดการแท้งของคัพภะก่อนที่จะพัฒนาเต็มที่ ซึ่งเกิดจากการเข้ากันได้ของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย โอกาสในการเมล็ดลูกผสมที่สมบูรณ์จึงสูงตามไปด้วย

การผสมต่างพันธุ์ข้ามชนิด

1. เปอร์เซ็นต์การผสมติด

เปอร์เซ็นต์การผสมติดของการผสมต่างพันธุ์ข้ามชนิดอยู่ในช่วงระหว่าง 2.3 – 80.0 เปอร์เซ็น เป็นเปอร์เซ็นต์การผสมติดที่มีช่วงห่างมาก ทั้งนี้เกิดจากเป็นการผสมข้ามชนิด ที่มีความสัมพันธ์ห่างกัน จำนวนโครโมโซมที่ต่างกันอย่างเช่น *Curcuma* sp. ‘บัวลายปราจีน’ มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 24 และ *Curcuma* sp.‘มณีกาญจน์ ไม่มีข้อมูลด้านจำนวนโครโมโซม (สุรพล และปิยพร, 2546) แต่จำนวนโครโมโซมที่ต่างกันนั้นอาจเป็นสาเหตุทำให้เปอร์เซ็นต์การผสมติดน้อยลง สำหรับคู่ผสม C. alismatifolia ‘เชียงใหม่พิงค์’ x *C. alismatifolia* ‘ช่อมรกต’, *C. alismatifolia* ‘บิ๊กเรด’ x *Curcuma* sp. ‘มณีกาญจน์’, *Curcuma* sp. ‘มณีกาญจน์’ x C. *alismatifolia* ‘เชียงใหม่เรด’, *Curcuma* sp. ‘มณีกาญจน์’ x C. *alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’, C. *alismatifolia* ‘เชียงใหม่พิงค์’ x *Curcuma* sp. ‘มณีกาญจน์’ และ *Curcuma* sp. ‘มณีกาญจน์’ x C. *alismatifolia* ‘โรส’ ที่มีอัตราการผสมติด 80.0, 80.0, 77.7, 67.0, 64.7 และ 62.3 ตามลำดับ ซึ่งถือว่ามีอัตราการผสมติดที่สูงนั้น อาจเกิดจากความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของคู่ผสมปทุมมาเอง เนื่องจากในพืชกลุ่มนี้มีข้อมูลในการจำแนกพืชน้อยมากทั้งยังสามารถพบปทุมมาได้เกือบทุกภาคของประเทศดังนั้นจึงเป็นการยากที่จะจำแนกว่าเป็นปทุมมามาจากแหล่งไหน และมีความเกี่ยวข้องกับปทุมมาจากแหล่งอื่นๆอย่างไร

2. จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผล

จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลของการผสมต่างพันธุ์ข้ามชนิดนั้นอยู่ในช่วงระหว่าง 23.8 - 82.2 เมล็ดต่อผล ซึ่งจากจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลของคู่ผสมทั้งหมดจะพบว่าของจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลมีความแตกต่างของแต่ละคู่ผสมสูงซึ่งเป็นผลมาจากลักษณะช่อดอกย่อยที่สามารถรองรับการขยายขนาดของผลได้มากหรือน้อยของต้นแม่พันธุ์ที่แตกต่างกันโดยคู่ผสมที่มี *Curcuma* sp. 'มณีกาญจน์' เป็นต้นแม่พันธุ์จะมีผลขนาดเล็กที่สุดเมื่อเทียบกับลักษณะช่อดอกย่อยของปทุมมาชนิดอื่น อย่างเช่น C. *alismatifolia* ที่มีขนาดใหญ่ จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลจึงแตกต่างกันไปด้วย นอกจากนี้ ความสัมพันธ์ที่ห่างกันมากของคู่ผสมปทุมมาที่มีจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลน้อยนั้น อาจมีผลต่อการงอกของละอองเกสรลงในก้านชูเกสรตัวเมีย โดยละอองเกสรบนต้นแม่พันธุ์สามารถงอกหลอดละอองเกสรได้ช้าหรืออาจมีชีวิตบนยอดเกสรในช่วงสั้นๆ ทำให้โอกาสในการปฏิสนธิน้อยลงลงผลต่อจำนวนเมล็ดในผล

3. เปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์

เปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์ของการผสมต่างพันธุ์ข้ามชนิดอยู่ในช่วงระหว่าง 88.4 - 97.8 เปอร์เซ็นต์ จากเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์ของแต่ละคู่ผสมจะเห็นว่ามีเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์สูง นั่นคือในผลของลูกผสมที่ได้มีเมล็ดฝ่อ ลีบ หรือเสียหายน้อยเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า และทำให้ทราบได้ว่าภายหลังเกิดการปฏิสนธิแล้วเมล็ดลูกผสมมีการพัฒนาของคัพภะที่ดีจนสามารถเจริญเติบโตเป็นเมล็ดที่ใกล้สุกแก่ได้เกือบทั้งหมด โดยคัพภะไม่แท้งก่อนจะพัฒนาเต็มที่

การทดลองที่ 2 ศึกษาการเพาะเลี้ยงคัพภะ (Embryo Culture)

เฉลิมศรี (2550) รายงานว่าสามารถช่วยชีวิตคัพภะปทุมมาได้โดยใช้ผลที่อายุ 28 วันมาเพาะเลี้ยงทำให้มีจำนวนต้นที่งอกคิดเป็นเปอร์เซ็นต์มากกว่านำผลอายุ 14 วันมาเพาะเลี้ยง แต่การทดลองครั้งนี้มีความแตกต่างกันของสภาพอากาศสถานที่ทดลองและวิธีการฟอกฆ่าเชื้อทำให้ต้องเลือกผลที่อายุใกล้เคียงกันที่สุดนี้คือ 26 วันมาทำการทดลองเพื่อป้องกันผลแตกก่อนจนเกิดการปนเปื้อนและเพื่อความสะดวกขณะทำการตัดแยกคัพภะเนื่องจากความแข็งของเมล็ด พบว่าเมื่อนำคัพภะลูกผสมปทุมมามาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลงโดยเพิ่ม BA , GA_3 และ NAA น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ kelcogel 2.5 กรัมต่อลิตรพบว่าคัพภะลูกผสมปทุมมามี

การพัฒนาของคัพภะที่แตกต่างกัน โดยคัพภะปทุมมามีอัตราการพัฒนาอยู่ระหว่าง 36.7 - 81.7 เปอร์เซ็น (กำหนดนับคัพภะที่มีการเปลี่ยนแปลง ขนาดหรือเป็นสีเขียว) ซึ่งความแตกต่างนี้เกิดจากความสัมพันธ์ระหว่างคู่ผสมที่ห่างกัน โดยส่วนใหญ่เกิดจากจำนวนโครโมโซมที่แตกต่างกันนั่นเอง อย่างไรก็ตามคัพภะที่นำมาเพาะเลี้ยงเหล่านี้มีการการเปลี่ยนแปลงและการพัฒนาในหลายรูปแบบแม้ว่าจะเป็นคัพภะของคู่ผสมเดียวกัน

การที่คัพภะสามารถพัฒนาและอยู่รอดได้จะมีความสามารถแตกต่างกัน ตามชนิดและความยากง่ายในการผสมติดทางพันธุกรรม แม้ว่าศักยภาพในการผสมติดจะสูงแต่การพัฒนาของคัพภะอาจจะชะงักได้ เนื่องจากความแตกต่างของพื้นฐานทางพันธุกรรม สภาพแวดล้อมหลังการผสม และสภาพความสมบูรณ์ของต้นแม่ อาจส่งผลให้เกิดความล้มเหลวของการพัฒนาระยะแรกและส่งผลต่อเนื่องถึงระยะโตเต็มที่

จากการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10x หลังจากทำการเพาะเลี้ยงคัพภะพบว่าคัพภะเหล่านี้มีการเปลี่ยนแปลงพัฒนาได้สองกลุ่มใหญ่ๆ คือ คัพภะที่มีการเปลี่ยนแปลงพัฒนาไปเป็นต้นได้โดยตรงคือมีลักษณะการพัฒนาเป็นไปส่วนของลำต้นและรากเมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ คัพภะกลุ่มนี้สามารถออกปลูกในสภาพแปลงปลูกได้เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตรเดียวกันเป็นเวลา 3 เดือน (เปลี่ยนอาหารให้ทุกๆ 4 สัปดาห์) 1 เมล็ดจะให้ลูกผสมปทุมมา 1 ต้น ส่วนคัพภะอีกกลุ่มจะมีการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาของขนาดเป็นแคลลัสทั้งสีขาวและสีเขียวเพียงอย่างเดียวแต่ไม่พบการการพัฒนาของส่วนลำต้นหรือรากเมื่อทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์เท่ากัน คัพภะกลุ่มนี้จะไม่สามารถออกปลูกได้และต้องการการศึกษาเพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้นต่อไป (ภาพที่ 1) สาเหตุที่คัพภะมีการเปลี่ยนแปลงพัฒนาที่แตกต่างกันเกิดอาจเกิดจากพันธุกรรมของพืชเองเนื่องจากลูกผสมของพืชมีจีโนไทป์ แตกต่างกัน จะมีความยากง่ายในการเจริญเติบโตในสภาพเพาะเลี้ยงต่างกัน (Pierik, 1987; Bridgen, 1994) เทคนิคการตัดแยกคัพภะที่อาจทำให้คัพภะได้รับการความเสียหายขณะตัดแยก รวมไปถึงองค์ประกอบของอาหาร และสภาพแวดล้อมที่ได้รับ ทำให้เนื้อเยื่อบริเวณรอยตัดหรือบริเวณที่ได้รับความเสียหายมีการแบ่งตัวในอัตราสูงจึงเกิดเป็นแคลลัส

แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงคัพภะมีทั้งสีเขียวและสีขาว อาจเนื่องมาจากแคลลัสเป็นกลุ่มของเซลล์พาเรนไคมา (parenchyma) ที่เกาะตัวกันอยู่ โดยยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะเจาะจง (ไพบูลย์, 2524) เซลล์พาเรนไคมานี้เป็นเซลล์ที่มีผนังบางยังเป็นเซลล์ที่มีอายุน้อย

เซลล์ที่มีอายุน้อยจะมีปริมาณน้ำภายในเซลล์มาก (สมบุญ, 2535) จากลักษณะดังกล่าวนี้เองเป็นสาเหตุทำให้แคลลัสที่เกิดจากการเลี้ยงคัพภะบนอาหารแข็งมีสีเข้มและยุบตัวได้ เนื่องจากอาหารแข็งมีปริมาณน้ำน้อยกว่าในเซล์ ทำให้เกิดขบวนการพลาสโมไลซิส (plasmolysis) เกิดขึ้นโดยน้ำเคลื่อนที่จากภายในเซลล์ออกสู่นอกเซลล์ ทำให้สารประกอบภายในเซลล์เข้มขึ้น เห็นเป็นสีต่างๆ หากกลุ่มเซลล์เหล่านี้เกิดการสูญเสียน้ำจำนวนมากเซลล์ก็จะสีน้ำตาลเข้มขึ้น เซลล์เหี่ยว เกิดการยุบตัว เมื่อได้รับสภาพที่ไม่เหมาะสมเซลล์จะตายในที่สุด

นอกจากนี้การที่ไม่มีการเจริญเติบโตของรากและยอดนั้น อาจเนื่องมาจากอัตราส่วนระหว่างสารออกซินและไซโตไคนินในอาหารที่ไม่เหมาะสมโดยถ้ามีอัตราส่วนของไซโตไคนินสูงเนื่อเยื่อจะมีการเจริญของส่วนยอดอย่างเดียว แต่ถ้าอัตราส่วนของออกซินสูงเนื้อเยื่อจะมีการเจริญของราก เพราะออกซินเป็นสารที่สามารถกระตุ้นการเกิดราก และไซโตไคนินเป็นสารที่มีผลต่อการแบ่งเซลล์และกระตุ้นการเจริญของยอดทั้งยังกระตุ้นการเจริญของคัพภะทำให้เกิดเป็นต้นได้ (พีรเดช, 2529)

สำหรับแคลลัสที่เกิดขึ้นสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ โดยการนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เหมาะสมเพื่อกระตุ้นให้เจริญเป็นต้นขึ้นมาใหม่ได้ โดยหากแคลลัสได้รับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมและอาหารที่มีสารกระตุ้นจะสามารถเกิดยอดและรากได้ ซึ่งเป็นประโยชน์ในการขยายพันธุ์และประหยัดเวลาในการปรับปรุงพันธุ์

การทดลองที่ 3 ศึกษาการเจริญเติบโตของแคลลัสภายหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ

จากการทดลองพบว่าแคลลัสที่เกิดจากคัพภะคู่ผสมต่างๆนั้นตอบสนองต่ออาหารแตกต่างกันเช่น คู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* ‘ขาว tissue’ x *C. alismatifolia* ‘แดงระฆัง’ ให้การตอบสนองกับอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ดัดแปลงโดยเติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ phytagel 4.0 กรัมต่อลิตร ดีที่สุดโดยให้ทั้งยอดและรากที่สมบูรณ์สามารถเจริญเติบโตดีในเวลา 60 วัน คู่ผสมของ *Curcuma sp.*‘มณีกาญจน์ x *C. alismatifolia* ‘ช่อมรกต’ ให้การตอบสนองได้ใกล้เคียงกันทุกสูตรโดยแคลลัสพัฒนาเป็นยอดได้ทั้งหมดโดยไม่มีรากหรือพัฒนาเป็นรากได้เล็กน้อยในการเพาะเลี้ยง 60 วัน ซึ่งทำให้ทราบว่าแคลลัสที่มีลักษณะสีขาวสามารถชักนำให้เกิดรากได้เมื่อทำการเปลี่ยนอาหารทำให้แคลลัสเหล่านี้สามารถพัฒนาต่อไปเป็นจุดกำเนิดยอดสีเขียวได้อย่างชัดเจน แต่ยังไม่สามารถเกิดเป็นต้นที่

สมบูรณ์ได้ อาจเนื่องมาจากสูตรอาหารที่นำมาเลี้ยงนั้นไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของคัพภะ ซึ่งปกติแล้วแคลลัสที่เกิดจากคัพภะลูกผสมที่มีความห่างไกลทางพันธุกรรมเหล่านี้จะมีปัญหาในการติดผลเนื่องจากพันธุกรรม (genetic barriers) อยู่แล้ว (รังสฤษดิ์, 2545)

ปกติเมื่อแคลลลัสได้รับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมมีสารกระตุ้นในอาหารให้เกิดเป็นต้นและรากเซลล์บางส่วนกลายมาเป็น Meristematic cell แล้วจะเจริญเป็นจุดกำเนิดรากได้ (ไพบูลย์, 2524) ในกรณีที่ไม่เกิดยอดนั้นอาจเนื่องมาจากระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีในอาหารไม่เหมาะสม BA ที่ความเข้มข้นสูงเกินไปจะมีผลต่อการแบ่งเซลล์และเป็นสาเหตุทำให้เกิดความผิดปกติในการพัฒนายอด (Harazy *et al*, 1985) และแคลลัสบางส่วนไม่สามารถเจริญเป็นรากหรือยอดได้นั้นเกิดจากแคลลัสส่วนนั้นมีอายุต่างกัน ถูกสร้างขึ้นมาไม่พร้อมกันทำให้เซลล์ในแต่ละส่วนมีความพร้อมต่อการเปลี่ยนแปลงพัฒนาหรือเกิดรากและยอดต่างกัน รวมทั้งระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงที่ไม่เหมาะสมหรือนานเกินไปทำให้เซลล์เกิดการยับยั้งไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลงพัฒนาหรือกำเนิดอวัยวะได้ง่าย (รังสฤษดิ์, 2545)

สรุปและข้อเสนอแนะ

1. การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาโดยการผสมข้ามสามารถผสมติดได้ในเปอร์เซ็นต์ที่ค่อนข้างสูงทั้งการผสมภายในชนิดเดียวกันและการผสมข้ามชนิดเพียงแต่การผสมภายในชนิดเดียวกันมีโอกาสการผสมติดมากกว่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งคู่ผสมระหว่าง *C.alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' x *C. alismatifolia* 'ขาวปลายแดง'

2. การเพาะเลี้ยงคัพภะลูกผสมปทุมมาสามารถทำได้และช่วยลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ลงได้มากแล้ว ยังสามารถช่วยให้ลูกผสมที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมให้มีชีวิตรอดได้โดยการตัดแยกคัพภะ แม้ว่าคัพภะบางส่วนจะเจริญเป็นแคลลัสเนื่องจากความเสียหายในระหว่างการตัดแยก

3. สำหรับแคลลัสที่เกิดขึ้นสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ โดยการนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เหมาะสมเพื่อกระตุ้นให้เจริญเป็นต้นขึ้นมาใหม่ได้ โดยในการทดลองนี้ สูตรอาหารที่ดีสุดในการชักนำให้แคลลัสสามารถเกิดยอด และพัฒนาเป็นต้นได้ดีคือ อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, sucrose 30 กรัมต่อลิตร และ phytagel 4 กรัมต่อลิตร โดยสามารถทำให้คู่ผสมระหว่าง *C. alismatifolia* 'ขาว tissue' x *C. alismatifolia* 'เชียงใหม่พิงค์' และ *C. alismatifolia* 'ขาว tissue' x *C. alismatifolia* 'แดงระฆัง' เจริญเติบโตได้ดี

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2548. **ข้อมูลการส่งออกหัวพันธุ์ปทุมมาปี 2547**, กรมส่งเสริมการเกษตร กรุงเทพฯ.

จุไรรัตน์ อินทะนิน. 2544. **การผลิตและจำหน่ายปทุมมาของเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ฉันทนา สุวรรณธาดา. 2536. ไม้ดอกประเภทหัว. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ้างโดย เอกรัตน์ สามัตถิยะ. 2543. **การเจริญเติบโตของว่านแสงอาทิตย์**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ประเดิม วณิชชนานันท์. 2542. **การผสมภายในชนิดและการผสมข้ามชนิดของพืชกลุ่ม *Curcuma***. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เปรมปรี ณ สงขลา. 2546. **รายงานการจัดงานอะเมซิ่งไม้ดอกเมืองร้อน**. กรมส่งเสริมการเกษตร กรุงเทพฯ.

พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์, ถกลวรรณ ศรีสวัสดิ์ และฉันทนา สุวรรณธาดา. 2539. การศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชกลุ่มกระเจียวไทย 17 ชนิด: 86-93. ใน **รายงานการประชุมวิชาการไม้ดอกไม้ประดับแห่งชาติ ครั้งที่ 2**, กรุงเทพฯ: สำนักคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

พีรเดช ทองอำไพ. 2529. **ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย**. หจก. ไดนามิกส์การพิมพ์, กรุงเทพฯ.

ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา. 2524. **หลักการและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2545. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2535. **สรีรวิทยาของพืช**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมปอง เตชะโต. 2539. **เทคโนโลยีชีวภาพของพืชปลูก**. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

หยกทิพย์ สุดารีย์. (2550). การศึกษาการผสมเกสร การติดเมล็ดและการงอกของเมล็ดพืชในกลุ่มขมิ้น (Curcuma) ที่ผสมภายในชนิดเดียวกันและต่างชนิดกัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

อภัสสรา ชมิดท์. 2537. **ชีวเคมี**. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

อรวรรณ วิชัยลักษณ์. 2548. **เอกสารวิชาการ เรื่อง ปทุมมา.** โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด, กรุงเทพฯ.

Akhtar, N., N., Kumari, S., Pandey, H., Ara, M. , Singh, U., Jaiswal, V.S. and S.M, Jain, 2000. **Somatic embryogenesis in tropical fruit trees.** ***In*** **Somatic Embryogenesis in Woody plant** (eds. S.M. Jain, P.K. Gupta, and Newton, R.J.) London: Kluwer Academic Publishers.

Ananad, A., C.S., Rao and P. Balakrishna, 1999. *In vitro* propagation of *Syzygium travancoricum* Gumble-an endangered tree species. Plant Cell.**Tissue and Organ Culture** 56: 59-63.

Badami, P.S., N. Mallikarjuna and J.P. Moss. 1997. Interspecific hybridization between *Cicer arietinum* and *Cicer pinnatifidum*. **Plant Breed.** 116: 393-395.

Bonga, J.M. and P.V. Aderkas, 1992. *In Vitro* Culture of trees. London: Kluwer Academic Publishers. 236

Bridgen, M.P. 1994. A review of plant embryo culture. **Hort Sci.** 29(11): 1243-1245.

Buitendijk, J.H., N. Pinsonneaux and A.A.M. van Lammeren. 1995. Embryo rescue by half-ovule culture for the production of interspecific hybrids in Alstromeria. **Scientia Horticulturae** 64: 65-75.

Bunya-Atichart, K.S. Ketsa and G.Van Doorn. 2004. Postharvest Physiology of *Curcuma alismatifolia* flower. **Postharvest Biology and Technology** 34: 219-226.

Calamar, A. and G.J. Klerk. 2002. Effect of sucrose on adventitious root regeneration in apple. Plant Cell, **Tissue and Organ Culture** 70: 207-212.

Carol, C.B., and J.M. Baskin. 1998. **Seed ecology biogeography**, and evolution of dormancy and germination. Academic press Limited. 666

Chaven, S.S., R.S., Deshpande, B.L. Lad, and B.L. Dhonukshe. 1996. Tissue culture studies in jackfruit. **Annals of Plant Physiology** 10: 157-161.

Cherreau, E., F., Mourgues, M. Neveu, and M. Chevalier. 1997. Effect of gelling agents and antibiotics on adventitious bud regeneration from in vitro leaves of pear. ***In vitro*** **Cellular and Development Biology Plant** 33: 173-179.

Chi, H.S. 2002. The efficiencies of various embryo rescue method in interspecific crosses of *Lilium* . **Bot.bull. Aacd.sin** 43:139.

Custers, J.B.M., W. Eikelboom and J.P. Van Eijk. 1995. Embryo – rescue in the Genus Tulipa L; successful direct transfer of *T. kaufinanniana* Regel germplasm into *T. gesneria* L. **Euphytica** 82: 253-261

Desai, B.B., P.M. Kotecha and D.K. Salunkhe. 1997. **Seed hand book. Biology**, production processing and storage. Marcel dekker, lnc. 627

Gabriela , A., F., Saborio, L., Gomez, S., Torres and R., Valverde. 2001. The gelling agent type on *in vitro* and greenhouse of yams (*Dioscorea trifida* and *D. alata*). **Agronomia Costarricense** 24: 57-64.

Gao, J.Y., L.Z. Hang and Q.J. LI. 2004. The Floral Biology of *Curcumorpha longiflora* (Zingiberaceae) ; A: Ginger with two-day flower. **American Journal of Botany** 9(2): 289-293.

Harazy, A., B. leshem, A. Cohen and H.D. Rabinowitch. 1985. In vitro propagation of statice as an aid to breeding . **HortSci.** 20(3) : 361-362.

Hartmann, H.T., D.E. Kester, F.T. Davies and R.L.Geneve. 1997. **Plant propagation** : Principles and practices. Prentice Hall internation, lnc. 770

Hossian, M.M., H. Inden, and T. Asahira. 1990. In *vitro* ovule culture of intergeneric hybrids between *Brassica oleracea* and *Raphanus sativus*. **Scientia Horticulturae** 41 : 181-188.

Jaime, K., G. Galili. 1995. **Seed development and germination**. Marcel Dekker, lnc. 853

Larry, O.C., and M B. Mcdonald. 1995. **Principles of seed science and technology**. Third edition. Chapman &Hall. 409

Mallikarjuna, N. 1999. Ovule and embryo culture to obtain hybrids from interspecific incompatible pollinations in chickpea. **Euphytica** 110: 1-6.

Mamiya, M. and Sakamoto, Y. 2000. Effect of sugar concentration and strength of basal medium on conversion of somatic embryos in *Asparagus officinalis* L. **Scientia Horticulturae 84: 15-26.**

Michael, B., and J.D. Bewley. 2000. **Seed technology and its biological basis**. Sheffield Academic Press Ltd. 419

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum 15**. 473-497.

Neto, V.B.P. and Otoni, W.C. 2003.Carbon sources and their osmotic potential in plant tissue culture : does it matter?. **Scientia Horticulturae** 97: 193-202.

Obata, Y., Y.N. Nakano and I. Miyajima. 2000. Interspecific hybrids between *Lilium nobilissimum* and *L. regale* produced via ovule-with-placenta tissue culture. **Scientia Horticulturae** 84:191-204.

Pellegrineschi, C., A. Fatukun, G. Thottappilly and A.A. Adepoju. 1997. Cowpea embryo rescue. 1. Infuence of culture media composition on plant recovery from isolated immature embryos. **Plant Cell Rep**. 17: 133-138.

Pierik, R.L.M. 1987. ***In vitro* culture of higher plants**. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Netherlands.

Podwyszynska, M. and Olszewski, T. 1995. Influence of gelling agents on shoot multiplication and the uptake of macroelements by in vitro culture of rose, cordyline and homalomena. **Scientia Horticulturae** 64: 77-84.

Rhee, H.K., J.H. Lim and Y.J. Kim. 2005. Improvement of Breeding Efficiency for Interspecific Hybridization of Lilies in Korea. **National Horticultural Research Institute**. 440-310.

Robert, L.G.' 1998. Seed dormancy in commercial vegetable and flower species. **Seed technol**. 20: 236-247.

Roy, A.K., D.R. Malaviya and A. Tiwari. 2004. Interspecific hybridization of *Trifolium alexandrinum* with T. constantinopolitanum using Embryo rescue. **Plant cell** 705-710.

Sharma, D.R., R. Kaur and K. Kumar. 1996. Embryo rescue in plants – a review. **Euphytica**89: 325-337.

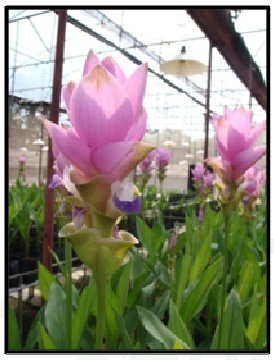
ovary-slice culture and ovule culture in intraspecific *Tulipa gesneriana* crosses. **Plant cell** 60(7) : 61-67.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 องค์ประกอบของอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962)

ธาตุอาหาร	ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
Macronutrients	
NH_4NO_3	1,650.000
KNO_3	1,900.000
$CaCl_2.2H_2O$	400.000
$MgSO_4.7H_2O$	370.00
KH_2PO_4	170.000
Micronutrients	
KI	0.830
H_3BO_3	6.200
$MnSO_4.7H_2O$	6.900
$ZnSO_4.7H_2O$	6.140
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.250
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
Fe-EDTA solution	
$FeSO_4.7H_2O$	27.850
$Na_2EDTA.2H_2O$	37.250
Organic compounds	
Myo-inositol	100.000
Glycine	2.000
Nicotinic acid	0.500
Pyridoxine-HCl	0.500
Thiamine-HCl	0.500
Others	
Sucrose	30,000.00
pH	5.75 – 5.80

Curcuma alismatifolia
'ปทุมมาป่า'


Curcuma alismatifolia
'เชียงใหม่พิงค์'

Curcuma alismatifolia
'เชียงใหม่เรด'

Curcuma alismatifolia
'บิ๊กเรด'

Curcuma alismatifolia
'ท๊อปเรด'

Curcuma alismatifolia
'ขาวดอยตุง'

Curcuma alismatifolia
'สโนไวท์'

Curcuma alismatifolia
'ขาว tissue'

ภาพผนวกที่ 1 ลักษณะต้นพ่อพันธุ์ และ ต้นแม่พันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง

Curcuma alismatifolia ‘บลูตุง’

Curcuma alismatifolia ‘โรส’

Curcuma alismatifolia ‘แดงระฒัง’

Curcuma harmandii ‘ช่อมรกต’

ภาพผนวกที่ 1 (ต่อ)

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ – นามสกุล	นางสาวพรชนก คงสมโอษฐ์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	23 ธันวาคม 2528
สถานที่เกิด	อำเภออุทัย จังหวัดพระนครศรีอยุธยา
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยบัณฑิตด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร