

ชื่อเรื่อง	การศึกษาการปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาโดยการผสมข้ามชนิด ระหว่างพืชในกลุ่ม <i>Eucurcuma</i> และ <i>Paracurcuma</i>
ชื่อผู้เขียน	นายธีรนิติ พวงกฤษ
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน
ประธานกรรมการหลักสูตร	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี

บทคัดย่อ

การทดสอบความมีชีวิตของละอองเกสรของพืชสกุล *Curcuma* พบว่า *C. paviflora*, *C. alismatifolia* และ *C. angustifolia* มีความมีชีวิตของละอองเกสรมากที่สุดคือ 95.18, 94.74 และ 92.88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ *C. paviflora* มีความสามารถในการงอกหลอดเกสรมากที่สุดคือ 92.63 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาความสามารถในการงอกของละอองเกสรบนยอดเกสรเพศเมียและการงอกหลอดเกสรลงในก้านชูเกสรเพศเมียนั้น พบว่า ละอองเกสรของพืชในกลุ่ม *Eucurcuma* (*C. angustifolia*, *C. aurantiaca*, *C. cordata*, *C. roscoeana* และ *C. rubrobractiata*) สามารถงอกได้คืบบนยอดเกสรเพศเมียของพืชในกลุ่ม *Paracurcuma* (*C. alismatifolia* และ *C. parviflora*) แต่เมื่อใช้ยอดเกสรเพศเมียของพืชที่อยู่ในกลุ่ม *Eucurcuma* ละอองเกสรของพืชที่อยู่ในกลุ่ม *Paracurcuma* บางชนิด ได้แก่ กลุ่มสมระหว่าง *C. angustifolia* X *C. alismatifolia*, *C. rubrobractiata* X *C. alismatifolia* และ *C. rubrobractiata* X *C. parviflora* ไม่สามารถงอกหลอดเกสรบนยอดเกสรเพศเมียได้ และกลุ่มสมระหว่าง *C. angustifolia* X *C. parviflora* ละอองเกสรสามารถงอกบนยอดเกสรเพศเมียได้ แต่หลอดเกสรไม่สามารถงอกหลอดลงไปในก้านชูเกสรได้ เมื่อทำการผสมเกสรจำนวน 20 กลุ่มสม พบว่า กลุ่มสมระหว่าง *C. alismatifolia* X *C. angustifolia* มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดมากที่สุดคือ 26.67 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผลอยู่ในช่วง 0.67 - 1.33 เมล็ดต่อผล และกลุ่มสมระหว่าง *C. alismatifolia* X *C. roscoeana*, *C. paviflora* X *C. aurantiaca* และ *C. alismatifolia* X *C. angustifolia* มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์มากที่สุด คือ 66.67, 66.67 และ 60.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเอ็มบริโอมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, GA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า เอ็มบริโอสามารถพัฒนาเป็นต้นกล้าได้ทั้งหมด และต้นกล้ามีอัตราการอยู่รอด 83.33 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลูกผสม พบว่า ลูกผสมมีลักษณะที่เป็นกึ่งกลางระหว่างต้นแม่และต้นพ่อ เมื่อตรวจสอบลูกผสมโดยใช้เทคนิค RAPD พบว่า ลูกผสมระหว่าง *C. alismatifolia* X *C. aurantiaca* สามารถแยกความแตกต่างระหว่างแม่และพ่อได้ โดยใช้ไพรเมอร์ OPU 14 (5'-TGGGTCCCTC-3') ลูกผสมทั้งหมดแสดงอาการเป็นหมัน และการศึกษาการแก้ไขความเป็นหมันโดยการเพิ่มปริมาณ

โครโมโซม พบว่า เมื่อให้สารโคลชิซิน 800 มิลลิกรัมต่อลิตร พืชมีอัตราการอยู่รอด 88.33 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนต้นที่มีการเพิ่มจำนวนของโครโมโซม 36.67 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นได้ทำการวัดระดับของโครโมโซมด้วยเครื่อง Flow cytometer พบว่ามีต้นปทุมมาที่ไม่มีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ($2n = 2x$) จำนวน 63.33 เปอร์เซ็นต์ ต้นที่มีการเพิ่มขึ้นของโครโมโซมเป็น 4 ชุด ($2n = 4x$) จำนวน 26.67 เปอร์เซ็นต์ และต้นที่มีการเพิ่มขึ้นของโครโมโซมเป็น 8 ชุด ($2n = 8x$) จำนวน 10.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อศึกษาเปรียบเทียบจำนวนเฉลี่ยของปากใบต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตรและจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อปากใบแล้ว พบว่า พืช $2n = 2x$ จะมีจำนวนปากใบเฉลี่ย 58.60 ปากใบต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร และมีจำนวนคลอโรพลาสต์เฉลี่ยอยู่ที่ 24.60 คลอโรพลาสต์ต่อปากใบ พืช $2n = 4x$ จะมีจำนวนปากใบเฉลี่ย 40.60 ปากใบต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร และมีจำนวนคลอโรพลาสต์เฉลี่ยอยู่ที่ 45.00 คลอโรพลาสต์ต่อปากใบ และพืช $2n = 8x$ จะมีจำนวนปากใบเฉลี่ย 28.30 ปากใบต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร และมีจำนวนคลอโรพลาสต์เฉลี่ยอยู่ที่ 72.20 คลอโรพลาสต์ต่อปากใบ เมื่อศึกษาความสามารถในการงอกหลอดเกสรของต้นที่มีการเพิ่มขึ้นของชุดโครโมโซม พบว่า ละอองเกสรของปทุมมาถูกผสมที่มีการเพิ่มของระดับชุดโครโมโซมสามารถงอกหลอดได้ และสามารถติดผลได้เมื่อผสมกับพืช $2n = 2x$ ปกติ

คำสำคัญ: ปทุมมา, ถูกผสมข้ามชนิด, RAPD, โคลชิซิน, ปากใบ, คลอโรพลาสต์

Title	A Study on Curcuma Breeding by Interspecific Hybridization between Eucurcuma and Paracurcuma
Author	Mr. Theeraniti Puangkrit
Degree of	Master of Science in Horticulture
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Chalerm Sri Nontaswatsri

ABSTRACT

The investigation on pollen viability of *Curcuma* found that *C. paviflora*, *C. alismatifolia* and *C. angustifolia* had highest viability percentages (95.18%, 94.74% and 92.88%, respectively), whereas *C. paviflora* had highest pollen germination percentage (92.63%). A study of pollen germination on the stigma surface and pollen tube growth into the style found that Eucurcuma pollens (*C. angustifolia*, *C. aurantiaca*, *C. cordata*, *C. roscoeana* and *C. rubrobractiata*) germinated well on the stigma surface of Paracurcuma (*C. alismatifolia* and *C. parviflora*) and pollen tubes grew normally into the style, but some Paracurcuma pollen could not germinate on the Eucurcuma stigma surface, i.e. *C. angustifolia* X *C. alismatifolia*, *C. rubrobractiata* X *C. alismatifolia* and *C. rubrobractiata* X *C. parviflora*. Only *C. parviflora* pollen was able to germinate on stigma surface of *C. angustifolia* but the pollen tube could not penetrate into the style at all. A total of 20 interspecific hybridization crosses were done and results showed that *C. alismatifolia* X *C. angustifolia* showed highest fruit setting percentage (26.67%) with 0.67-1.3 seed per fruit. The crosses between *C. alismatifolia* X *C. roscoeana*, *C. paviflora* X *C. aurantiaca* and *C. alismatifolia* X *C. angustifolia* showed highest vigorous seed percentages (66.67%, 66.67% and 60.00%, respectively). Embryo cultures were done on an MS medium containing 1 mg L⁻¹ BA, 1 mg L⁻¹ GA and 0.1 mg L⁻¹ NAA resulting to successful embryo regeneration. The resulting plantlets showed high survival percentage (83.33%-100%). The interspecific hybrid morphologies were then investigated and found that the hybrids showed intermediate characteristic between parents. The hybrid between *C. alismatifolia* X *C. aurantiaca* could be confirmed by RAPD technique using OPU 14 primer (5'-TGGGTCCCTC-3'). However, all hybrids were sterile. To overcome pollen viability, 800 mg L⁻¹ colchicines was applied and found that survival percentage was at 88.33% and chromosome doubling percentage at 36.67%, while producing 63.33% diploid plants (2n = 2x), 26.67% tetraploid plants (2n = 4x) and 10.00%

octaploid plants ($2n = 8x$) when investigated by flow cytometry. The number of stomata per 1 mm^2 was compared among diploid, tetraploid and octaploid plants, and found that the number of stomata per area of diploid plants was highest at 58.60 stomata per area (1 mm^2) but showed lowest chloroplasts per stomata at 24.60 chloroplasts per stomata, tetraploid plants had moderate number of stomata per area at 40.60 stomata per area (1 mm^2) and number of chloroplasts per stomata at 45.00 chloroplasts per stomata with octaploid plant having the lowest stomata per area at 28.30 (1 mm^2) although highest chloroplasts per stomata was at 72.20 chloroplasts. Pollen germination of hybrids with chromosome doubling plants ($2n = 4x$ and $2n = 8x$) showed better germination and had successful fruit setting when crossed with diploid plants.

Keywords: Curcuma, Interspecific Hybrid, RAPD, Colchicines, Stomata, Chloroplast