

การผสมพันธุ์ข้ามชนิดและการเลี้ยงอวุกของถูกผสมระหว่างคองคิง

*Gloriosa superba* Linn. และ *G. rothschildiana* O' Brien.



นายสำเริง ติศรีรอดง

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2541

ISBN 974-332-555-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**INTERSPECIFIC HYBRIDIZATION AND OVULE CULTURE OF HYBRID BETWEEN  
CLIMBING LILY *Gloriosa superba* Linn. AND *G. rothschildiana* O' Brien.**



**Samret Sikhruadong**

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements**

**for the Degree of Master of Science in Genetics**

**Department of Botany**

**Graduate School**

**Chulalongkorn University**

**Academic Year 1998**

**ISBN 974-332-555-7**

หัวข้อวิทยานิพนธ์      การผสมพันธุ์ข้ามชนิดและการเลี้ยงออกลูกของลูกผสมระหว่างคองคิง  
                                       *Gloriosa superba* Linn. และ *G. rothschildiana* O' Brien.

โดย                                นายสำเริง ธีเครือคง

ภาควิชา                         พฤกษศาสตร์

สาขาวิชา                     พันธุศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษา          รองศาสตราจารย์ สุมิตรา คงชื่นสิน

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม    ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พัทธา ทิมปนะเวช

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นำวิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาดตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุภวัฒน์ ชูดีวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ มุกดา ตูห์ริญ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ สุมิตรา คงชื่นสิน)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พัทธา ทิมปนะเวช)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เรณู ถาวโรฤทธิ์)

สำเร็จ ตีพิมพ์ : การผสมพันธุ์ข้ามชนิดและการเลี้ยงอวูลของลูกผสมระหว่างคองคิง *Gloriosa superba* Linn. และ *G. rothschildiana* O' Brien. (INTERSPECIFIC HYBRIDIZATION AND OVULE CULTURE OF HYBRID BETWEEN CLIMBING LILY *Gloriosa superba* Linn. AND *G. rothschildiana* O' Brien.) อ. ที่ปรึกษา รศ. สมิตรา คงชื่นสิน. อ. ที่ปรึกษาร่วม ผศ. พัชรา ภูมิประเวช ,69 หน้า. ISBN 974-332-555-7

การผสมเกสรด้วยมือระหว่างคองคิง *Gloriosa superba* Linn. เป็นพันธุ์แม่ และ *G. rothschildiana* O' Brien. เป็นพันธุ์พ่อ ซึ่งได้ทดสอบการงอกของละอองเกสรของพันธุ์พ่อก่อนการผสมเกสร ศึกษาการงอกของหลอดละอองเกสรบนยอดเกสรตัวเมียของคองคิง พบว่าหลังผสมเกสร 6 ถึง 10 วัน รังไข่และอวูลมีการขยายขนาดขึ้นเพียงเล็กน้อยหลังจากนั้นอวูลเหี่ยวและลีบทั้งหมด เมื่อนำอวูลของคองคิงที่ผสมด้วยละอองเกสรของ *G. rothschildiana* O' Brien. มาเลี้ยงในหลอดทดลองเปรียบเทียบกับอวูลของคองคิงที่ผสมตัวเอง พบว่าด้วยวิธีการที่ใช้ในการทดลองนี้อวูลที่นำมาเลี้ยงไม่มีปัญหาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เลย และจากการทดลองเลี้ยงอวูลอายุต่างๆ กันใน Induction medium 3 สูตร ที่อุณหภูมิ 25 °C ในที่มืดกับที่ได้รับแสง 1,000 lux 16 ชั่วโมง/วัน พบว่าอวูลที่ได้รับการผสมข้ามอายุ 8 วัน ที่เลี้ยงใน Induction medium I-3 ในที่ได้รับแสงจำนวน 2 อวูล สามารถเจริญให้แคลลัสในเดือนที่ 5 ของการเลี้ยง และพัฒนาเป็นยอดและรากได้ต่อไปเมื่อย้ายไปเลี้ยงใน Regeneration medium R-1, R-3 และ Induction medium I-1 ส่วนในการทดลองเลี้ยงอวูลของคองคิงที่ผสมตัวเอง พบว่า มีอวูลที่ผสมตัวเองอายุ 10 วัน หลังผสมเกสรที่เลี้ยงใน Induction medium I-3 ที่ได้รับแสงเพียงอวูลเดียวเท่านั้นที่มีการพัฒนาไปเป็นต้นพืช 1 ต้น มียอดและรากในเดือนที่ 2 ของการเลี้ยง ทั้งต้นที่ได้จากอวูลผสมข้ามและอวูลผสมตัวเอง สามารถเพิ่มจำนวนยอดได้ดีและสร้างหัวขนาดเล็กได้ใน Multiplication medium (MM) ที่ใช้ในการทดลองนี้ แต่ไม่มีรากเกิดขึ้นในอาหารสูตรดังกล่าว จากการทดลองชักนำให้เกิดรากของยอดทั้งที่ได้จากอวูลผสมข้ามอวูลผสมตัวเองของคองคิง และยอดของ *G. rothschildiana* O' Brien. พบว่าเมื่อเลี้ยงยอดของพืชทั้ง 3 ชนิด ใน Regeneration medium R-3 มีรากเกิดขึ้น 10-15 ราก เป็นรากที่มีลักษณะการเจริญเป็นปกติดีเหมาะสำหรับนำไปใช้ศึกษาจำนวนโครโมโซมในไซมาติกเซลล์ต่อไป ในขณะที่การเกิดรากในอาหารสูตร R-2 ได้รากขนาดเล็กจำนวนน้อย และใน R-4 ได้รากที่มีขนาดใหญ่สั้นผิดปกติจำนวนมาก

จากการศึกษาจำนวนโครโมโซมจากปลายรากในหลอดทดลอง พบว่าคองคิงมีจำนวนโครโมโซม 22 แท่ง *G. rothschildiana* O' Brien. มีจำนวนโครโมโซม 66 แท่ง และต้นที่ได้จากการเลี้ยงอวูลทั้ง 2 มีจำนวนโครโมโซม 44 แท่ง

ภาควิชา ..... พฤกษศาสตร์  
สาขาวิชา ..... พันธุศาสตร์  
ปีการศึกษา ..... 2541

ลายมือชื่อนิติกร .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

## C825745 : MAJOR GENETICS

KEY WORD:

OVULE CULTURE / *Gloriosa superba* Linn. / *G. rothschildiana* O' Brien.

SAMRET SIKHRUADONG : INTERSPECIFIC HYBRIDIZATION AND OVULE CULTURE OF HYBRID BETWEEN CLIMBING LILY *Gloriosa superba* Linn. AND *G. rothschildiana* O' Brien.. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. SUMITRA KONGCHUENSIN. THESIS COADVISOR : ASST. PROF. PATCHRA LIMPANAVECH. 69 pp. ISBN 974-332-555-7

Hand pollination between *Gloriosa superba* Linn. as female parent and *G. rothschildiana* O' Brien. as male parent. Pollen germination of male parent was tested before pollination. Growth of *G. rothschildiana* O' Brien. pollen tube on the stigma of *G. superba* Linn. was also studied. It was found that pollinated ovaries and ovules of *G. superba* Linn. slightly enlarged by 6-10 days after pollination and all soon withered. The *in vitro* cultures of self-pollinated and hybrid ovules of *G. superba* Linn. were compared. No microorganism contamination was found by the method used in this study. According to the culture of ovules at different ages, on 3 types of induction medium at 25 °C, both in darkness and 1,000 lux illumination, 16 hour/day, two 8-day-old hybrid ovules grown in Induction medium I-3 under light condition could generate callus in the fifth month of culture, and regenerated shoots and roots when they were transferred to Regeneration medium R-1, R-3 and Induction medium I-1. On the other hand, only one 10-day-old self-pollinated ovule could regenerate a new plant in the second month of culture. The regenerated plants both from self-pollinated and hybrid ovules could multiply their shoots and produced small tubers in Multiplication medium (MM), however, there is no root formation. To induce rooting of shoots regenerated from hybrid and self-pollinated ovules of *G. superba* Linn. and shoots of *G. rothschildiana* O' Brien. as well, it was found that 10-15 normal roots formed in Regeneration medium R-3 and these were suitable for chromosome number study in somatic cell, while a small number of tiny roots were found in Regeneration medium R-2 and numerous, large but short, abnormal roots in R-4 medium.

The study of chromosome number in *in vitro* root tip showed that *G. superba* Linn. had 22 chromosomes, whereas *G. rothschildiana* O' Brien. had 66 chromosomes and the plants regenerated from both hybrid ovules had 44 chromosomes

ภาควิชา.....พฤกษศาสตร์  
สาขาวิชา.....พันธุศาสตร์  
ปีการศึกษา.....2541

ลายมือชื่อนิสิต.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....



## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จได้เป็นอย่างดียิ่งด้วยความช่วยเหลือของท่าน รองศาสตราจารย์ สุมิตรรา คงชื่นสิน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ พัชรา ถิมปะนะเวช อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ซึ่งท่านทั้งสองได้กรุณาให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่าง ๆ และเอาใจใส่ด้วยความดีมาตลอด จึงขอกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ และขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ มุกดา สุทธิรัฐ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เรณู ถาวโรฤทธิ์ ที่ได้กรุณาตรวจแก้ไข และให้คำแนะนำต่าง ๆ ที่ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ท่านอาจารย์ ทรงศักดิ์ สาราญสุข ที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือทางด้าน การถ่ายภาพ

ขอขอบคุณ คุณอมรรัตน์ บัวคล้าย ที่กรุณาเอื้อเฟื้อ clean culture ของ *G. rothschildiana* O'Brien. เพื่อนำมาศึกษาจำนวนโครโมโซมในไซมาติกเซลล์

ขอขอบคุณ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุน การศึกษาครั้งนี้ และขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ช่วยเหลือทางด้าน ทุนการศึกษาส่วนหนึ่ง

สุดท้าย ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ซึ่งให้การสนับสนุนในด้านการเงิน และให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยตลอดมาจนสำเร็จการศึกษา

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ .....	ฉ
สารบัญตาราง .....	ซ
สารบัญภาพ .....	ฅ
บทที่	
1. บทนำ .....	1
2. การสำรวจเอกสาร .....	2
3. วัตถุประสงค์และวิธีดำเนินการศึกษา .....	15
4. ผลการศึกษา .....	25
5. อภิปรายผลการศึกษา .....	44
6. สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ .....	56
รายการอ้างอิง .....	58
ภาคผนวก .....	64
ประวัติผู้เขียน .....	69

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของคองคิง <i>G. superba</i> Linn. และ <i>G. rothschildiana</i> O'Brien. ....27
2	เปอร์เซ็นต์การงอกของละอองเกสรของ <i>G. rothschildiana</i> O'Brien. ในน้ำตาลซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์ .....29
3	ผลการศึกษาเทคนิคที่เหมาะสมเพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อที่ติดมากับ ฝักของคองคิง 4 วิธี .....30
4	การชักนำการเจริญของอวุกของคองคิงที่ผสมด้วยละอองเกสรของ <i>G. rothschildiana</i> O'Brien. ....34
5	การชักนำการเจริญของอวุกของคองคิงที่ผสมตัวเอง .....35
6	การพัฒนาเป็นต้นพืชของเนื้อเยื่อแคลลัสจากอวุกที่ถูกผสมด้วยละออง เกสรของ <i>G. rothschildiana</i> O'Brien. ใน Regeneration medium 4 สูตร และ Induction medium I-1 .....36



## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1	ลักษณะดอกของคองคิง <i>G. superba</i> Linn. และ <i>G. rothschildiana</i> O'Brien. .... 26
2	ลักษณะการงอกหลอดคองคองเกสรของ <i>G. rothschildiana</i> O'Brien. ในสารละลายน้ำตาลซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์ และบนยอดเกสรตัวเมียของคองคิง ..... 31
3	ลักษณะของรังไข่ของคองคิงหลังการผสมเกสร 6, 8, 10, 12 และ 14 วัน ..... 32
4	ระยะแรกของอวูกที่งอกซึ่งต่อมาเจริญเป็นแคลลัสใน Induction medium (I-3) แคลลัสเริ่มพัฒนาเป็นยอดและรากใน Regeneration medium (R-1) แคลลัสเริ่มพัฒนาเป็นยอดและรากใน Induction medium (I-1) แคลลัสที่พัฒนาเป็นต้นพืชและสร้างห้วงขนาดเล็กที่โคนใน Induction medium (I-1) และต้นพืชจำนวนมากที่พัฒนาจากแคลลัสใน Regeneration medium (R-3) ..... 37
5	ลักษณะต้นพืชที่เจริญเป็นยอดจำนวนมากมาช ใน Multiplication medium (MM) ..... 39
6	ลักษณะต้นพืชที่เจริญเป็นยอดและราก ในอาหารสูตร Regeneration medium R-2, R-3 และ R-4 ..... 41
7	จำนวนโครโมโซมในไซมาติกเซกซ์ของคองคิง <i>G. superba</i> Linn. <i>G. rothschildiana</i> O'Brien. และต้นพืชทุกผสม ..... 43