การปรับปรุงพันธุ์เบญจมาศให้สามารถออกดอกได้ตลอดปีเพื่อการผลิตในประเทศไทย

A Chrysanthemum Breeding for Year-round Production in Thailand

พรหมพร ธิวงค์เวียง[1] เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี[1]* ปฏิภาณ สุทธิกุลบุตร[2] และนฤมล เข็มกลัดเงิน[3]

Prompawn Tiwongwiang[1] Chalermsri Nontaswatsri[1]* Pathipan Sutigoolabud[2] and Naruemon Khemkladngoen[3]

[1] สาขาพืชสวนประดับ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

[1] Division of Ornamental Horticulture, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, San Sai, Chiang Mai 50290

[2] สาขาปฐพีศาสตร์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

[2] Division of Soil Science, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, San Sai, Chiang Mai 50290

[3] สาขาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

[3] Division of Genetics, Faculty of Science, Maejo University, San Sai, Chiang Mai 50290

* Corresponding author: chalermsri@mju.ac.th

(Received: 4 August 2023; Revised: 26 September 2023; Accepted: 27 September 2023)

Abstract

A chrysanthemum breeding for year-round production in Thailand was conducted. In this study five chrysanthemum genotypes were used, including one genotype that could flowering in long day condition (PI), and four genotypes that could not flowering in long day condition (PS1, PS2, PS3, PS4). The reciprocal crosses between PI group and PS group were done. The result showed that the crosses between PI x PS2 showed the highest embryo regenerated percentage (46%) while the crosses between PS4 x PI showed the lowest embryo regenerated percentage (6%). The reciprocal crosses showed that the using PI as female parent gave higher embryo regenerated percentage than used as male parent. The investigation of flowering traits of offspring found that only sixty-one (61) genotypes from two hundred one (201) could flowering in long day condition in both on-season and off-season growing. The PS4 x PI showed the highest flowering percentage (66.7%) whereas the PS3 x PI showed the lowest flowering percentage (12.5%). From this study, nine offspring genotypes which could flowering in long-day condition with good performance in flower and plant characteristics for commercial purpose can be selected. In addition, three genotypes B1, B2 and E1 showed good performance earliest-flowering (70 day after transplanting)

Keywords: Chrysanthemum, reciprocal cross, long-day, flowering

บทคัดย่อ

ทำการปรับปรุงพันธุ์เบญจมาศให้ได้สายพันธุ์ที่สามารถออกดอกเพื่อการผลิตได้ตลอดปีในประเทศไทย โดยงานวิจัยนี้ ได้คัดเลือกเบญจมาศทั้งหมด 5 สายพันธุ์ ประกอบด้วย สายพันธุ์ที่สามารถออกดอกภายใต้สภาพวันยาว 1 สายพันธุ์ (PI) และสายพันธุ์ที่ไม่สามารถออกดอกภายใต้สภาพวันยาว 4 สายพันธุ์ (PS1, PS2, PS3,

PS4) เพื่อนำมาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการศึกษาความสามารถในการผสมจากการช่วยชีวิตเอ็มบริโอ ทำการผสมแบบสลับพ่อแม่ (Reciprocal cross) พบว่า แต่ละคู่ผสมจะมีอัตราการงอกของเอ็มบริโอแตกต่างกัน โดยคู่ผสม PI x PS2 มีอัตราการงอกของเอ็มบริโอสูงสุด 46 เปอร์เซ็นต์ และคู่ผสม PS4 x PI มีอัตราการงอกของเอ็มบริโอน้อยสุด 6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการผสมสลับ พบว่า การใช้สายพันธุ์ PI เป็นแม่ มีการงอกของเอ็มบริโอสูงกว่าการใช้สายพันธุ์ PI เป็นพ่อ หลังจากนั้นทดสอบความสามารถในการสร้างและพัฒนาตาดอกทั้งการปลูกในฤดูและนอกฤดูของลูกผสมที่ได้ เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่สามารถออกดอกภายใต้สภาพวันยาว พบว่า สายพันธุ์ลูกผสมที่สามารถสร้างและพัฒนาตาดอกได้ในสภาพวันยาวมีจำนวน 61 สายพันธุ์ จากทั้งหมด 201 สายพันธุ์ โดยคู่ผสม PS4 x PI สามารถสร้างและพัฒนาตาดอกมากสุด 66.7 เปอร์เซ็นต์ และคู่ผสม PS3 x PI สามารถสร้างและพัฒนาตาดอกน้อยสุด 12.5 เปอร์เซ็นต์ จากการวิจัยนี้ได้คัดเลือกสายพันธุ์ลูกผสม 9 สายพันธุ์ ที่สามารถออกดอกภายใต้สภาพวันยาว และมีลักษณะที่ดีเหมาะสำหรับการนำไปผลิตเชิงการค้า นอกจากนี้ ยังพบว่า มี 3 สายพันธุ์ สามารถสร้างและพัฒนาตาดอกได้เร็วสุด คือ สายพันธุ์ B1 B2 และ E1 (70 วัน หลังย้ายปลูก)

คำสำคัญ: เบญจมาศ การผสมแบบสลับ วันยาว การออกดอก

คำนำ

เบญจมาศ (Chrysanthemum) *Chrysanthemum morifolium* Ramat. จัดอยู่ในวงศ์ Asteraceae มีถิ่นกำเนิดในประเทศจีนและญี่ปุ่น ซึ่งสันนิษฐานว่ามีการปลูกมานานกว่า 2,000 ปี ในยุคแรกเริ่มเบญจมาศถูกนำมาใช้เป็นเครื่องดื่ม และปลูกเป็นไม้ประดับ ต่อมาได้รับความนิยมมากขึ้นเนื่องด้วยมีความหลากหลายทั้งรูปร่าง และสีสันของดอก (Rawdkhao, 2012)

เบญจมาศเป็นไม้ดอกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมากโดยเฉพาะในประเทศไทย ปัจจุบันการผลิตเบญจมาศภายในประเทศมีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการ อีกทั้งคุณภาพไม่ตรงกับความต้องการของตลาด และขาดความหลากหลาย ทำให้มีมูลค่าการนำเข้าจากต่างประเทศมากกว่าการส่งออก (Sammayo and Adthalungrong, 2020) การที่จะผลิตเบญจมาศให้มีคุณภาพ และปริมาณให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาดสามารถทำได้เฉพาะในฤดูหนาว เนื่องจากมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เบญจมาศส่วนใหญ่เป็นพืชวันสั้น ซึ่งช่วงความยาววันมีผลต่อการเจริญเติบโตและการออกดอก สามารถออกดอกเมื่อได้รับช่วงความยาววันต่ำกว่าจุดวิกฤต โดยจุดวิกฤตของเบญจมาศ คือ ช่วงความยาววัน 12 ชั่วโมงต่อวัน (Zhang *et al*., 2018) การสร้างและพัฒนาของตาดอกถูกควบคุมโดยช่วงมืดอย่างต่อเนื่องร่วมกับอุณหภูมิที่เหมาะสม โดยจะมีการสร้างตาดอก (bud initiate) เมื่อได้รับช่วงมืดติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน ในทางตรงกันข้าม เมื่อได้รับช่วงมืดเป็นระยะเวลาสั้นจะมีการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ Nxumalo and Wahome (2010) ศึกษาเกี่ยวกับช่วงเวลาในการควบคุมช่วงมืดในเบญจมาศ โดยใช้พลาสติกดำ พบว่า การคลุมในช่วงเวลากลางวัน (11.00 น. - 15.00 น.) มีผลทำให้ความสูงของลำต้น และพื้นที่ใบลดลง ส่วนการคลุมในช่วงเวลาเช้า (05.00 น. – 09.00 น.) มีผลทำให้ขนาดดอกใหญ่ และความยาวของก้านสูงที่สุด เนื่องจากการคลุมในช่วงเวลาเช้าทำให้เบญจมาศได้รับช่วงมืดอย่างต่อเนื่อง จึงทำให้ได้ผลผลิตที่ดีตามต้องการ Langton (1977) รายงานว่า การสร้างและพัฒนาตาดอกเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงวันสั้นเมื่อเปรียบเทียบกับวันยาว โดยดอกที่เกิดเร็วจะพัฒนาไปจนถึงระยะออกดอก (anthesis) แม้ว่าหลังจากการสร้างตาดอกจะได้รับสภาพวันยาวก็ตาม

ด้วยเหตุนี้ การผลิตเบญจมาศนอกฤดูจึงต้องควบคุมความยาววันด้วยพลาสติกดำหรือผ้าดำ เพื่อให้ช่วงความยาววันที่เบญจมาศได้รับสั้นลง เนื่องจากช่วงความยาววันโดยเฉลี่ยของประเทศไทย (พ.ศ. 2561 - 2563) คือ 13.2 ชั่วโมงต่อวัน (Thai Astronomical Society, 2021) ซึ่งมีค่าเกินกว่าจุดวิกฤตของเบญจมาศ การสร้างและพัฒนาตาดอกภายใต้ช่วงความยาววันที่ไม่เหมาะสมของเบญจมาศจะทำให้เกิดความผิดปกติ ซึ่งแบ่งเป็น 2 แบบ คือ เมื่อเจริญไปได้ระยะหนึ่งช่วงความยาววันเริ่มสั้นลงตามธรรมชาติจะเกิดตาดอกขึ้นแต่ช่วงความยาววันยังไม่สั้นพอที่จะทำให้ดอกมีการพัฒนาต่อ จะทำให้เกิดตาดอกชนิดที่เรียกว่า crown bud ต่อมาเมื่อวันสั้นลงจนเหมาะสมอีกครั้งดอกจึงจะเริ่มพัฒนาต่อแต่จะเป็นดอกที่ไม่มีคุณภาพ และอาจมีลักษณะผิดปกติ (Krasaechai, 1992) ส่วนตาดอกอีกลักษณะหนึ่ง คือ bud break มีลักษณะเป็นตาดอกขนาดเล็กลีบไม่มีการพัฒนาของกลีบดอกเกิดขึ้นเนื่องจากได้รับสภาพวันยาว ซึ่งการควบคุมความยาววันมีปัญหาที่ตามมาทั้งต้นทุนการผลิตสูงขึ้น รวมไปถึงการเกิดโรคและแมลง ดังนั้น การปรับปรุงพันธุ์เบญจมาศให้สามารถออกดอกนอกฤดูได้ โดยไม่มีการตอบสนองต่อช่วงความยาววันหรือให้เข้ากับสภาพแวดล้อมในประเทศไทยจึงมีความสำคัญ และจะเป็นประโยชน์ต่อการผลิตเบญจมาศให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาดโดยไม่มีปัญหาในเรื่องของต้นทุน และโรคแมลง การปรับปรุงพันธุ์เบญจมาศได้มีการทำหลายวิธี โดยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีแกมมาเป็นวิธีการหนึ่งที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย ซึ่งมีการรายงานความสำเร็จหลายรายงาน Limsanguan *et al*. (2017) รายงานว่า การนำข้อในสภาพปลอดเชื้อของเบญจมาศไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน พบว่าปริมาณรังสีที่สูงขึ้นทำให้เบญจมาศตายมากขึ้น โดยมีค่า LD_{50} ประมาณ 26 เกรย์ เมื่อนำต้นที่รอดชีวิตออกปลูกในสภาพธรรมชาติต้นมีการเจริญเติบโตปกติและที่ได้รับปริมาณรังสีสูง ๆ บางต้นมีการกลายของสีดอก นอกจากนี้ Puripunyavanich *et al.* (2019) รายงานว่า การนำแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของเบญจมาศไปฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสี 20 เกรย์ เมื่อปลูกจนถึงระยะดอกบานได้อย่างสมบูรณ์ พบว่า ดอกมีขนาดเล็กลง และมีสีที่เปลี่ยนแปลงไปจากต้นพันธุ์ แต่อย่างไรก็ตาม การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยการฉายรังสีนี้เป็นวิธีที่ไม่สามารถกำหนดลักษณะการกลายพันธุ์ได้อีกวิธีที่สามารถใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เบญจมาศ คือ การผสมเกสร แต่เนื่องด้วยเบญจมาศมีความแตกต่างของระดับชุดโครโมโซมค่อนข้างสูง หรือมีพื้นฐานทางพันธุกรรมที่ซับซ้อน (Krasaechai, 1992) การได้เมล็ดที่สมบูรณ์จึงเป็นไปได้น้อย และใช้ระยะเวลานาน แต่มีการรายงานความสำเร็จในการผสมเกสรของเบญจมาศ โดย Zhang *et al*. (2018) และ Fukai *et al*. (1999) ได้ผสมเกสรระหว่างเบญจมาศสายพันธุ์ที่ออกดอกเร็วกับสายพันธุ์ที่ออกดอกช้า พบว่า ลูกผสมที่ได้สามารถออกดอกได้เร็วกว่าพ่อแม่ ดังที่กล่าวข้างต้นว่าการผสมเกสรของพืชที่มีความแตกต่างทางระดับพันธุกรรมมากมักพบปัญหาเกี่ยวกับการพัฒนาของเอ็มบริโอที่ไม่สามารถเจริญไปถึงระยะต้นอ่อนที่สมบูรณ์ ด้วยเหตุนี้ นักปรับปรุงพันธุ์จึงได้นำเทคนิคการช่วยชีวิตลูกผสม (embryo rescue) มาช่วยลดปัญหาการผสมเกสรของเบญจมาศ โดยในเบญจมาศจะต้องทำการช่วยชีวิตลูกผสมหลังจากผสมเกสรแล้วประมาณ 10 - 12 วัน ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่เอ็มบริโอพัฒนาไปถึงระยะทรงกลม (globular) หากเอ็มบริโออยู่บนต้นนานอาจเกิดความผิดปกติได้ (Deng *et al*., 2011)

การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างสายพันธุ์เบญจมาศที่สามารถสร้างตาดอกและมีการพัฒนาตาดอกได้ตลอดทั้งปี โดยจะทำการศึกษาความสามารถในการผสมและทดสอบความสามารถในการออกดอกของลูกผสมทั้งการปลูกในฤดูและนอกฤดู

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาความสามารถในการผสมจากการช่วยชีวิตเอ็มบริโอลูกผสม

ทำการผสมเกสรเบญจมาศ ทั้งหมด 5 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ผ่านการทดสอบความสามารถในการตอบสนองต่อช่วงความยาววันและทำการจัดกลุ่ม ดังนี้ สายพันธุ์ที่สามารถออกดอกในสภาพวันยาว 1 สายพันธุ์ (PI) และสายพันธุ์ที่ไม่สามารถออกดอกในสภาพวันยาว 4 สายพันธุ์ (PS1 PS2 PS3 และ PS4) (Table 1, Figure 1) (Suranapornchai, 2022) โดยทำการปลูกในโรงเรือนหลังคาพลาสติก ภายใต้ช่วงความยาววันธรรมชาติ ในช่วงเดือนตุลาคม 2563 - เดือนกุมภาพันธ์ 2564 ผสมเกสรโดยใช้พู่กันแตะละอองเกสรเพศผู้จากต้นที่ต้องการใช้เป็นพ่อป้ายบนยอดเกสรเพศเมีย หลังจากนั้นคลุมดอกที่ทำการผสมแล้วด้วยถุงกระดาษ ในการผสมแต่ละคู่จะต้องผสมซ้ำ อย่างน้อย 2 - 3 ครั้ง หลังจากผสมประมาณ 15 วัน ดอกที่ได้รับการผสมจะมีการพัฒนาของเอ็มบริโอในระยะ globular ซึ่งเป็นระยะที่สามารถนำมาช่วยชีวิตลูกผสม โดยใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม 1 mg/L BA + 0.1 mg/L NAA + 1 mg/L GA หลังเพาะเลี้ยงประมาณ 1 สัปดาห์ เอ็มบริโอจะพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่สามารถสังเกตเห็นใบเลี้ยงได้ จากนั้นเก็บข้อมูลเปอร์เซ็นต์การงอกของเอ็มบริโอ โดยคำนวณจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การงอกของเอ็มบริโอ} = \frac{\text{จำนวนต้นอ่อนที่สมบูรณ์}}{\text{จำนวนเอ็มบริโอทั้งหมด}} \times 100$$

ในการผสมเกสรจะทำการผสมแบบผสมตรงและแบบผสมสลับ (reciprocal cross) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ใช้คู่ผสมเป็นสิ่งทดลอง (treatment) มีทั้งหมด 8 คู่ผสม ในแต่ละสิ่งทดลอง มี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ดอก เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Science for Windows (SPSS) version 29

ความสามารถในการสร้างและพัฒนาตาดอกของลูกผสมในการปลูกในฤดูและนอกฤดูภายใต้สภาพวันยาว (ช่วงแสง 13 ชั่วโมงต่อวัน)

เมื่อได้ต้นลูกผสมที่มีรากสมบูรณ์จึงนำมาทำการตรวจสอบความสามารถในการออกดอกภายใต้สภาพวันยาว โดยปักชำยอด จำนวน 3 ยอด ในวัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ทราย และแกลบดำ อัตราส่วน 1:1 ในโรงเรือนพลาสติก ภายใต้ช่วงความยาววัน 24 ชั่วโมงต่อวัน (ช่วงเวลา 08.00 - 17.00 น. ได้รับแสงธรรมชาติ และ ช่วงเวลา 17.00 – 08.00 น. ได้รับแสงเทียมจากหลอดไฟ LED) เมื่อกิ่งชำพัฒนาจนมีใบประมาณ 4 - 5 ใบ ย้ายปลูกในกระถาง 8 นิ้ว โดยมีวัสดุปลูกเป็นดิน แกลบดิบ และแกลบดำ อัตราส่วน 1:2:1 ภายใต้ช่วงความยาววัน 24 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นให้แสง 13 ชั่วโมงต่อวัน (ช่วงเวลา 08.00 - 17.00 น. ได้รับแสงธรรมชาติ และ ช่วงเวลา 17.00 - 21.00 น. ได้รับแสงเทียมจากหลอดไฟ LED) โดยทำการปลูกทดสอบ 2 ฤดูกาล ได้แก่ ในฤดูปลูก คือ ช่วงเดือนพฤศจิกายน 2564 - มีนาคม 2565 ซึ่งมีช่วงความยาววัน 11 - 12 ชั่วโมงต่อวัน โดยมีอุณหภูมิ

ตอนกลางวันในช่วง 27.6 - 36.5 องศาเซลเซียส และตอนกลางคืนในช่วง 17.2 - 24.6 องศาเซลเซียส และนอกฤดูปลูก คือ ช่วงเดือนพฤษภาคม - กันยายน 2565 มีช่วงความยาววัน 12 - 13.5 ชั่วโมงต่อวัน โดยมีอุณหภูมิตอนกลางวันในช่วง 28.7 - 26.1 องศาเซลเซียส และตอนกลางคืนในช่วง 24.4 - 26.1 องศาเซลเซียส จากนั้นเก็บข้อมูลเปอร์เซ็นต์สายพันธุ์ลูกผสมในแต่ละคู่ผสมที่สามารถสร้างและพัฒนาตาดอกในสภาพวันยาวในการปลูกในฤดูและนอกฤดู จำนวนวันที่เริ่มสร้างตาดอก จำนวนวันที่ตาดอกพัฒนา และคัดเลือกต้นที่สามารถสร้างและพัฒนาตาดอกในสภาพวันยาวและลักษณะดีเหมาะสมในการผลิตเชิงการค้า เช่น มีสีสันแปลกใหม่ ลักษณะรูปทรงดอกสวยงาม และใช้ระยะเวลาในการสร้างและพัฒนาตาดอกไม่นาน

คำนวณเปอร์เซ็นต์สายพันธุ์ลูกผสมในแต่ละคู่ผสมที่สามารถสร้างตาดอกและมีการพัฒนาในสภาพวันยาว จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์สายพันธุ์ลูกผสมในแต่ละคู่ผสมที่สามารถสร้างตาดอกและมีการพัฒนาในสภาพวันยาว} = \frac{\text{จำนวนสายพันธุ์ลูกผสมที่สามารถสร้างตาดอกและมีการพัฒนาได้}}{\text{จำนวนสายพันธุ์ลูกผสมทั้งหมดในแต่ละคู่ผสม}} \times 100$$

โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) ใช้คู่ผสมเป็นสิ่งทดลอง (treatment) มีทั้งหมด 8 คู่ผสม ในแต่ละสิ่งทดลอง มี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ดอก เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Science for Windows (SPSS) version 29

Table 1 Flower characteristics and number of days from transplanting to flowering of chrysanthemums

Genotype	Flower characteristics		Number of days from transplanting to flowering (days)			
			On-season		Off-season	
	Flower characteristics	Color	Flower bud	Flower blooming	Flower bud	Flower blooming
PI	Decorative type	Yellow	36.19	81.69	23.10	77.77
PS1	Anemone type	Yellow	47.25	119.00	-	-
PS2	Single type	Red	33.11	102.20	30.31	-
PS3	Single type	Red with yellow tip	35.00	-	28.91	-
PS4	Decorative type	Pink	24.50	-	35.00	-

Remarks: PI=genotype that could flowering in long day condition, PS=genotype that could not flowering in long day condition

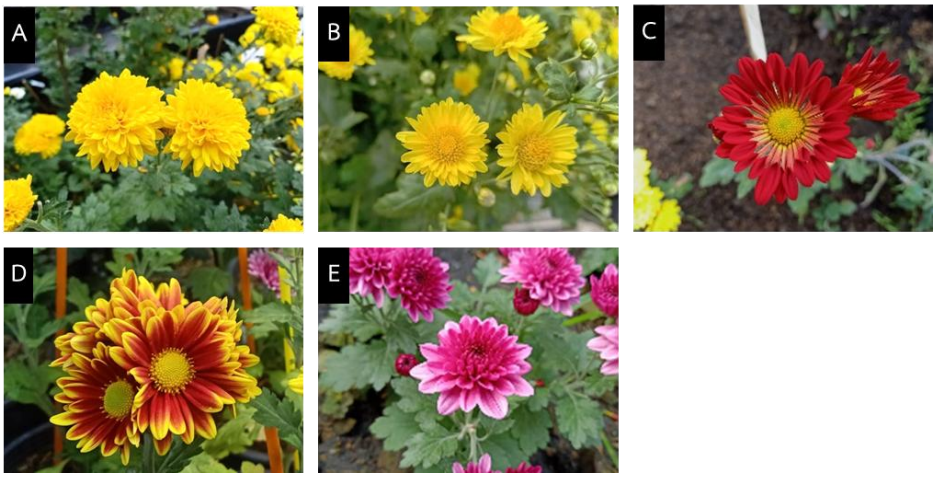


Figure 1 Flower characteristics of parents used in this experiment: (A) PI, (B) PS1, (C) PS2, (D) PS3, (E) PS4

ผลการวิจัยและวิจารณ์

การศึกษาความสามารถในการผสมจากการช่วยชีวิตลูกผสม

จากการผสมเกสร พบว่า หลังจากการผสมเกสรเบญจมาศสายพันธุ์ที่ไม่สามารถออกดอกในสภาพวันยาว (PS) และสายพันธุ์ที่สามารถออกดอกในสภาพวันยาว (PI) เมล็ดจะถึงระยะสุกแก่ใช้เวลาประมาณ 50-60 วัน แต่ส่วนใหญ่เมล็ดมีลักษณะลีบสีน้ำตาลเข้ม เมื่อผ่าดูด้านในเมล็ดเอ็มบริโอจะไม่มีการพัฒนา ด้วยเหตุนี้ จึงได้นำเทคนิคการช่วยชีวิตลูกผสม เข้ามาช่วยเพื่อให้ได้ต้นลูกผสมที่สมบูรณ์ โดยนำออวุลที่ได้รับการผสมเกสรเป็นเวลา 15 วัน มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ หลังจากนั้น 7 - 10 วัน เอ็มบริโอมีการพัฒนาต่อและเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ ซึ่งเปอร์เซ็นต์การงอกของเอ็มบริโอสามารถบ่งบอกถึงความสามารถในการผสม โดยหากมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงจะแสดงถึงการผสมติดที่สูงด้วยเช่นกัน ในแต่ละคู่ผสมมีเปอร์เซ็นต์การงอกของเอ็มบริโอแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยคู่ผสม PI x PS2 มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเอ็มบริโอสูงสุด 46 เปอร์เซ็นต์ และคู่ผสม PS4 x PI มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเอ็มบริโอน้อยสุด 6 เปอร์เซ็นต์ (Figure 2) เมื่อพิจารณาการผสมสลับพ่อแม่ พบว่า การใช้สายพันธุ์ PI เป็นพ่อ จะมีการงอกน้อยกว่าเมื่อใช้สายพันธุ์ PI เป็นแม่ ทั้งนี้อาจเนื่องจากในการผสมเกสรลักษณะดอกของ PI มีลักษณะเป็นกลีบแบบซ้อน (decorative type) จะมีกลีบดอกชั้นใน (disc floret) ซึ่งเป็นดอกสมบูรณ์เพศจำนวนน้อย จึงทำให้มีจำนวนละอองเกสรที่จะนำมาผสมน้อยตามไปด้วย นอกจากนี้ Maneephong and Jompuk (1996) รายงานว่าเปอร์เซ็นต์การผสมติดที่แตกต่างกันนั้นขึ้นอยู่กับแต่ละสายพันธุ์ที่ใช้เป็นคู่ผสม ซึ่งเกิดขึ้นจากความสามารถในการงอกของหลอดละอองเกสรบนยอดเกสรเพศเมีย และการเจริญไปจนถึงรังไข่ที่แตกต่างกัน จึงทำให้แต่ละคู่ผสมมีเปอร์เซ็นต์การงอกของเอ็มบริโอที่แตกต่างกัน

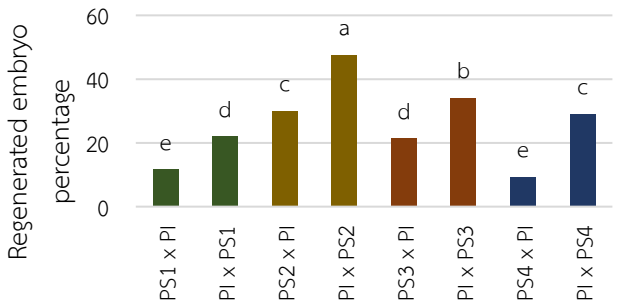


Figure 2 Regenerated embryo percentage of direct and reciprocal crosses between PI and PS groups. Different letters indicate differences of percentage at $p \leq 0.05$ by Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ความสามารถในการสร้างและพัฒนาตาดอกของลูกผสมในการปลูกในฤดูและนอกฤดูภายใต้สภาพวันยาว (ช่วงแสง 13 ชั่วโมงต่อวัน)

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์สายพันธุ์ลูกผสมในแต่ละคู่ผสมที่สามารถสร้างและพัฒนาตาดอกในสภาพวันยาว เปรียบเทียบระหว่างการปลูกในฤดูและนอกฤดู พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การสร้างและพัฒนาดอกแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยการปลูกในฤดูมีเปอร์เซ็นต์สายพันธุ์ลูกผสมที่สร้างและพัฒนาตาดอกในสภาพวันยาวมากกว่า ซึ่งอยู่ในช่วง 45.4 - 93.1 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การปลูกนอกฤดูมีเปอร์เซ็นต์สายพันธุ์ลูกผสมที่สร้างและพัฒนาตาดอก อยู่ในช่วง 12.5 - 66.7 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ อาจเป็นผลจากการที่อุณหภูมิมีผลต่อการพัฒนาดอกของเบญจมาศ Nozaki and Fukai (2008) รายงานว่า การพัฒนาตาดอกของเบญจมาศสายพันธุ์ *C. morifolium* cv. Sei-Monako และ *C. morifolium* cv. Sei-Maria ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส สามารถพัฒนาเป็นดอกที่สมบูรณ์ได้เร็วโดยใช้เวลา 25 วัน ในขณะที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 30 วัน Rawdkhao (2012) รายงานว่า อุณหภูมิตอนกลางวันจะมีผลต่อการพัฒนาทางลำต้น และอุณหภูมิตอนกลางคืนมีผลต่อการพัฒนาดอก โดยหากอุณหภูมิตอนกลางคืนสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส ในช่วงที่มีการพัฒนาของดอก จะส่งผลต่อการยับยั้งการสร้างและพัฒนาตาดอก ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ การปลูกในฤดูและนอกฤดูมีอุณหภูมิกลางคืนอยู่ในช่วง 17.2 - 24.6 และ 24.4 - 26.1 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ด้วยเหตุนี้ จึงทำให้เปอร์เซ็นต์การสร้างและพัฒนาตาดอกของการปลูกในฤดูมีมากกว่าการปลูกนอกฤดู นอกจากนี้ การปลูกในฤดูแต่ละคู่ผสมมีการสร้างและพัฒนาตาดอกใกล้เคียงกัน มีเพียงคู่ผสม PS1 x PI ที่การสร้างและพัฒนาตาดอกต่ำกว่าคู่ผสมอื่น ในขณะที่การปลูกนอกฤดูการสร้างและพัฒนาตาดอกของแต่ละคู่ผสมมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งคู่ผสมที่ใช้ PI เป็นแม่ ส่วนใหญ่จะมีเปอร์เซ็นต์การสร้างและพัฒนาตาดอกที่สูงกว่าการใช้เป็นพ่อ อย่างไรก็ตามสังเกตได้ว่าลูกผสมจาก PS1 x PI และ PI x PS1 มีเปอร์เซ็นต์การสร้างและพัฒนาตาดอกต่ำกว่าคู่ผสมอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งการปลูกในฤดูและนอกฤดู (Figure 3) อาจเกิดจากการสร้างและพัฒนาตาดอกของสายพันธุ์ PS1 ที่การปลูกในฤดูเกิดช้ากว่าสายพันธุ์อื่นและนอกฤดูปลูกไม่สามารสร้างและพัฒนาตาดอกได้ (Table 1) และลักษณะดังกล่าวสามารถถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูก จึงทำให้ลูกผสมจาก PS1 มีเปอร์เซ็นต์การสร้างและพัฒนาตาดอกต่ำกว่าคู่ผสมอื่น

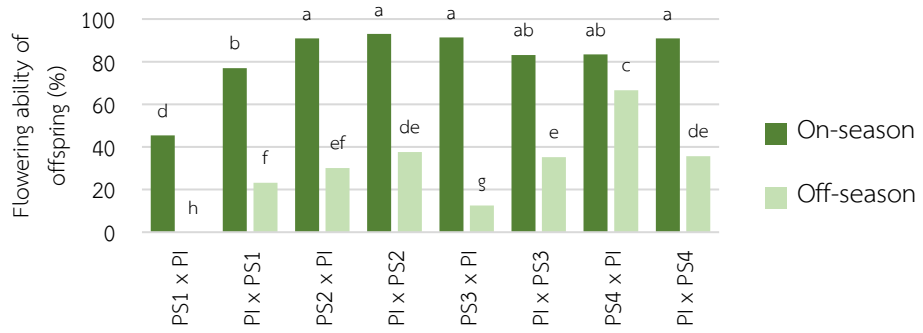


Figure 3 Flowering ability of offspring under long-day conditions in on-season and off-season growing. Different letters indicate differences of percentage at $p \leq 0.05$ by Duncan's Multiple Range Test *(*DMRT*)*

การคัดเลือกสายพันธุ์ลูกผสมจะคัดเลือกเฉพาะสายพันธุ์ที่สร้างและพัฒนาตาดอกภายใต้สภาพวันยาว (นอกฤดูปลูก) เป็นหลัก เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่สามารถผลิตได้ในการปลูกนอกฤดู พบว่าสายพันธุ์ลูกผสมที่สามารถสร้างและพัฒนาตาดอกได้มีจำนวน 61 สายพันธุ์ จากทั้งหมด 201 สายพันธุ์ (Table 2) โดยมี 28 สายพันธุ์ ที่ดอกบานได้สมบูรณ์ไม่มีลักษณะผิดปกติ (Figure 4) จึงคัดเลือกลักษณะเบื้องต้นที่มีความเหมาะสมในการผลิตเชิงการค้า เช่น มีสีสันแปลกใหม่ ลักษณะรูปทรงดอกสวยงาม และใช้ระยะเวลาในการสร้างและพัฒนาตาดอกไม่นาน ซึ่งการผลิตเบญจมาศในประเทศไทยส่วนใหญ่เกษตรกรนิยมปลูกดอกสีขาว เหลือง แดง และชมพู (Sammayo and Adthalungrong, 2020) งานวิจัยนี้จึงคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีสีสันแตกต่างไปจากเดิม เช่น สีส้ม และชมพูเข้ม ประกอบกับการมีลักษณะรูปทรงดอกที่สวยงาม ซึ่งมีจำนวน 9 สายพันธุ์ ประกอบด้วย สายพันธุ์ A1 A2 A3 B1 B2 C1 C2 D1 และ E1 (Figure 5) โดยทุกสายพันธุ์มีกลีบดอกแบบ decorative type ยกเว้น A2, A3 และ B1 ที่กลีบดอกมีความกึ่งกลางระหว่าง decorative type และ single type ในสายพันธุ์ B2 C2 และ D1 ลักษณะสีของกลีบดอกแตกต่างจากสายพันธุ์อื่น โคนกลีบมีสีส้มแดงและปลายกลีบสีเหลือง ทั้งนี้เบญจมาศที่ปลูกเป็นการค้าส่วนใหญ่มีชุดโครโมโซมเป็นแบบ hexaploid การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมจึงไม่เป็นไปตามกฎของเมนเดล ทำให้ไม่สามารถคาดเดาลักษณะที่จะปรากฏในรุ่นลูกได้ (Krasaechai, 1992) ดังเช่น ในคู่ผสม PI x PS4 เป็นการผสมระหว่างดอกสีเหลืองกับชมพูซึ่งลูกผสมที่ได้มีการกระจายตัวของสีต่าง ๆ โดยมีสีส้ม ชมพูเข้ม ชมพูอ่อน และขาว

Table 2 Number of hybrids that can flower under long-day conditions

Hybrids	Number (plants)
PI x PS1	5
PI x PS2	17
PS2 x PI	9
PI x PS3	12
PS3 x PI	4
PI x PS4	10
PS4 x PI	4
Total	**61**



Figure 4 Flower characteristics of hybrids that can complete flowering under long-day conditions: PIxPS2 (A-G), PS2xPI (H-J), PIxPS3 (K-N), PS3xPI (O-P), PIxPS4 (Q-X), PS4xPI (Y), PIxPS1 (Z-b). Bar = 1 cm



Figure 5 The selected hybrids with good comprehensive flower characteristics for commercial production: PIxPS2 (A), PS2xPI (B), PIxPS3 (C), PS3xPI (D), PIxPS4 (E). Bar = 1 cm

เมื่อศึกษาจำนวนวันในการสร้างและพัฒนาตาดอกของสายพันธุ์ลูกผสมที่คัดเลือก ทั้ง 9 สายพันธุ์ พบว่า แต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสายพันธุ์ B1 B2 และ E1 จะสร้างและพัฒนาตาดอกได้เร็วสุด 70 วัน หลังย้ายปลูก ในขณะที่ สายพันธุ์ A3 และ C2 จะสร้างและพัฒนาตาดอกช้าสุด 91 วัน หลังย้ายปลูก (Figure 6) ซึ่งโดยทั่วไปเบญจมาศจะใช้จำนวนวันในสร้างและพัฒนาตาดอก 90 - 150 วัน แตกต่างกันตามแต่ละสายพันธุ์ จะเห็นได้ว่าสายพันธุ์ที่คัดเลือกมีรูปร่างลักษณะดอกที่ดีและสีสันสวยงาม ประกอบกับใช้ระยะเวลาไม่นานในการปลูกจนถึงดอกบานแม้จะปลูกนอกฤดูก็ตาม ซึ่งเป็นแนวโน้มที่ดีที่จะสามารถใช้สายพันธุ์เหล่านี้เพื่อผลิตเชิงการค้าทั้งในฤดูและนอกฤดูต่อไป



Figure 6 Number of days from transplanting to flower bud appear and flower blooming under long-day conditions *(days): PI (parent)*; A1, A2, and A3 offspring of PIxPS2; B1 and B2 offspring of PS2xPI; C1 and C2 offspring of PIxPS3; D1 offspring of PS3xPI; E1 offspring of PIxPS

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาความสามารถในการผสมจากการช่วยชีวิตเอ็มบริโอลูกผสมของเบญจมาศคู่ผสม PI x PS2 มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเอ็มบริโอสูงสุด 46 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการสร้างและพัฒนาตาดอกของลูกผสมในฤดูและนอกฤดูปลูก พบว่า ในฤดูปลูกลูกผสมมีเปอร์เซ็นต์การสร้างและพัฒนาตาดอกมากกว่านอกฤดูปลูก เนื่องจากมีอุณหภูมิที่เหมาะสมกว่า ในการทดสอบนอกฤดู พบว่า มีลูกผสมที่สามารถสร้างและพัฒนาตาดอกได้ 61 สายพันธุ์ จาก 201 สายพันธุ์ คัดเลือกสายพันธุ์ที่มีรูปร่างลักษณะดอกที่ดีและสีสันสวยงามได้ 9 สายพันธุ์ และทดสอบจำนวนวันในการสร้างและพัฒนาตาดอก พบว่า ใช้ระยะเวลา 70 - 91 วัน โดยสายพันธุ์ B1 B2 และ E1 สร้างและพัฒนาตาดอกได้เร็วสุด 70 วัน หลังย้ายปลูก ซึ่งเหมาะสมกับการผลิตเชิงการค้าทั้งในฤดูและนอกฤดูเพื่อลดต้นทุนการผลิต และปัญหาเกี่ยวกับโรคแมลง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ทุนนักศึกษาเรียนดีจากมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนการศึกษาในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Deng, Y., S. Chen, F. Chen, X. Cheng and F. Zhang. 2011. The embryo rescue derived intergeneric hybrid between chrysanthemum and *Ajania przewalskii* shows enhanced cold tolerance. Plant Cell Reports 30: 2177-2186. Available: https://doi.org/10.1007/s00299-011-1123-x.

Fukai, S., T. Nagira and M. Goi. 1999. Characteristics of F1 progenies between Chrysanthemum and some Dendrathema species. In IV International Symposium on New Floricultural Crops 541: 373-378. Available: https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2000.541.59.

Krasaechai, A. 1992. Chrysanthemum. Odean Store Publishing, Bangkok. [in Thai]

Langton, F.A.1977. The Responses of early-flowering Chrysanthemums to daylength. Scientia Horticulturae 7(3): 277-289. Available: https://doi.org/10.1016/0304-4238(77)90024-3.

Limsanguan, P., S. Chanpreme, I. Ungvichian, P. Srinamngurn, and S. Chanpreme. 2017. Gamma ray induced mutation in Chrysanthemum and detection of DNA polymorphism by AFLP. Agricultural Science Journal, 48(3): 334-345. [in Thai]

Maneephong, C. and C. Jompuk. 1996. Technique for wide cross between cultivated rice (*Oryza sativa*) and wild rice (*O. montua*). KasetsartJournal (Natural Science) 30(1): 1-7. [in Thai]

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum 15(3): 473-497. Available: https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

Nozaki, K. and S. Fukai. 2008. Effects of high temperature on floral development and flowering in spray chrysanthemum. Journal of Applied Horticulture 10(1): 8-14. Available: https://doi.org/10.37855/jah.2008.v10i01.02.

Nxumalo, S.S. and P.K. Wahome. 2010. Effects of application of short-days at different periods of the day on growth and flowering in chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum*). Journal of Agriculture & Social Sciences 6(2): 39-42.

Puripunyavanich, V., A. Piriyaphattarakit, N. Chanchula and T. Taychasinpitak. 2019. Mutation induction of in vitro Chrysanthemum by gamma irradiation. Chiang Mai Journal of Sciences 46(3): 609-617.

Rawdkhao, T. 2012. Technology for the production of chrysanthemum cut flowers and potted plants. Research and Academic Promotion Institute, Maejo University, Chiang Mai. [in Thai]

Sammayo, S. and A. Adthalungrong. 2020. The situation of chrysanthemum production. Available: https://shorturl.asia/H0Ic5 (Accessed March 13, 2023). [in Thai]

Suranapornchai, S. 2022. Study on the influence of photoperiod length on flower bud induction and development, pollination ability, and embryo rescue in chrysanthemum. Master's Thesis in Horticulture, Faculty of Agricultural Production, Maejo University. [in Thai]

Thai Astronomical Society. 2021. Sunrise and sunset times. Available: https://thaiastro.nectec.or.th/skyevnt/sunmoon/2021/chiangmai.html [in Thai]

Zhang, M., H. Huang, Q. Wang and S. Dai. 2018. Cross breeding new cultivars of early-flowering multiflora chrysanthemum based on mathematical analysis. HortScience 53(4): 421-426. Available: https://doi.org/10.21273/HORTSCI12769-17.