

ความสามารถในการผสมข้ามและการประเมินลักษณะฟีโนไทป์ของบวบกลูกผสมชั่วที่ 1 Crossing ability and Phenotypic Evaluation of F1 Hybrids in *Centella asiatica* (L.) Urb

สุรพงษ์ อนุตโต^{1*} วาสนา สุภาพรหม¹ เกษร แซ่มชื่น¹ จารุพงศ์ ประสพสุข³ มณีรัตน์ รุจิณรงค์⁴ พฤกษ์ คงสวัสดิ์²
และอนรรักษ์ สุขขารมย์¹

Surapong Anuttato^{1*} Watsana Supaprom¹ Kesorn Chaemcheun¹ Jarupong Prasopsuk³ Maneerat Rujinarong⁴
Purk Kongsawat² and Anurak Sukkarom¹

¹ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร อำเภอเมือง จังหวัดพิจิตร 66000

¹Pichit Research and Development Center, Muang, Phichit 66000

²ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ อำเภอเมือง จังหวัดศรีสะเกษ 33000

²Srisaket Horticultural Research Center, Muang, Srisaket 33000

³สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3 อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40000

³Office of Agricultural Research and Development Region 3, Muang, Khon Kaen 40000

⁴กองแผนงานและวิชาการ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

⁴Planning and Technical Division, Department of Agriculture, Bangkok 10900

* Corresponding author: s.anuttato@gmail.com

(Received: 6 December 2024; Revised: 17 February 2025; Accepted: 25 March 2025)

Abstract

The study on the crossing ability of three varieties of *Centella asiatica* (L.) Urb in Thailand—Rayong, Nakhon Pathom, and Ubon Ratchathani—was conducted using diallel cross. Hand-pollination of 787 flowers resulted in a 64.2% fruit set, and 255 seeds set. After germination, 41 hybrid seedlings emerged (16.1%). However, some hybrid cross did not germinate, and some seedlings were weak. Consequently, 26 plants from four hybrid lines were available for morphological evaluation. Morphological traits evaluation of F1 hybrids revealed that there was consistent with that of the maternal parent.

Keywords: *Centella asiatica*, breeding, crossing ability, hybrid phenotype

บทคัดย่อ

การศึกษาศักยภาพในการผสมข้ามสายพันธุ์ของบวบจากสายพันธุ์พื้นเมือง 3 สายพันธุ์ โดยใช้แผนการผสมแบบพหุคูณผสม ประกอบด้วย สายพันธุ์ระยะของ นครปฐม และอุบลราชธานี พบว่า การผสมเกสรบวบ 787 ดอก มีอัตราการติดผล 64.2 เปอร์เซ็นต์ ได้เมล็ด 255 เมล็ด ภายหลังการเพาะเมล็ด ได้ต้นลูกผสม 41 ต้น หรือคิดเป็น 16.1 เปอร์เซ็นต์ แต่พบบางคู่ผสมไม่ออกรวมถึงต้นอ่อนบางต้นมีความอ่อนแอ ทำให้เหลือต้นลูกผสมที่สามารถประเมินลักษณะทางสัณฐานได้เพียง 4 คู่ผสม 26 ต้น ลูกผสมบวบชั่วที่ 1 ที่ได้ นำมาประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า ลูกผสมมีลักษณะสัณฐานวิทยาเป็นไปในทิศทางเดียวกับสายพันธุ์ที่นำมาใช้พันธุ์แม่

คำสำคัญ: บวบก ปรับปรุงพันธุ์ ความสามารถในการผสม ลักษณะลูกผสม

คำนำ

บัวบก (*Centella asiatica* (Linn.) Urb) หรือ Gotu kola, Asiatic pennywort มีการกระจายพันธุ์ในหลายประเทศ เช่น ไทย เวียดนาม แอฟริกา อเมริกา จีน อินเดีย ศรีลังกา ปากีสถาน ออสเตรเลีย เป็นต้น (Mathavaraj and Sabu, 2021) มีลักษณะลำต้นเลื้อยยาวไปกับพื้นดิน แตกกิ่งตามข้อ ใบเป็นรูปไข่ขอบใบหยัก ดอกเป็นช่อ ใน 1 ช่อดอกมี 2 - 3 ดอกย่อย กลีบดอกมี 5 กลีบ สีม่วงแดง ผลเป็นแบบ Cremocarp (Thongekkaew, 2013; Sudhakaran, 2017) ในประเทศไทยบัวบกถูกจัดให้เป็นพืชสมุนไพร Herbal Champion ในกลุ่มสมุนไพรที่มีศักยภาพ (The National Herbal Policy Committee, 2023) สารสำคัญในบัวบกที่มีการนำไปใช้ประโยชน์ในปริมาณมากจัดอยู่ในกลุ่ม Triterpenoid Saponins ได้แก่ Asiaticoside Madecassoside Asiatic acid และ Madecassic acid (Department of Medical Sciences, 2021) มีส่วนช่วยในการลดความเสื่อมของเซลล์ในร่างกายได้ และสารเหล่านี้ยังช่วยเร่งการสร้างสารคอลลาเจนที่เป็นโครงสร้างของผิวหนัง จึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการกระตุ้นให้แผลสมานตัวได้เร็ว (Thongekkaew, 2013) นอกจากนี้บัวบกยังพบสารสำคัญที่มีคุณค่าทางอาหารอีกมากกว่า 100 ชนิด (Kunjumon *et al.*, 2022) ดังนั้น บัวบกจึงถูกนำมาแปรรูปเป็นสารสกัดเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง อาหารและเครื่องดื่ม และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในปริมาณมาก โดยปริมาณสารสกัดจากบัวบกมีความต้องการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง และการผลิตภายในประเทศไม่เพียงพอต้องนำเข้าจากต่างประเทศต่อปีเป็นจำนวนมาก (National Nanotechnology Center, 2018; The National Herbal Policy Committee, 2023; Maimize Market Research, 2024)

Department of Agricultural Extension (2024) รายงานว่า ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกบัวบก 1,109.63 ไร่ แหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ นครปฐม นนทบุรี นครศรีธรรมราช

และอุบลราชธานี สายพันธุ์บัวบกที่เกษตรกรปลูกเป็นการค้า จะใช้สายพันธุ์ที่มีอยู่ในแต่ละท้องถิ่น โดยจะเรียกชื่อสายพันธุ์ตามแหล่งปลูก เช่น สายพันธุ์นครปฐม สายพันธุ์อุบลราชธานี เป็นต้น (National Nanotechnology Center, 2018; Piriaphattarakit *et al.*, 2018)

การพัฒนาพันธุ์บัวบกส่วนใหญ่นิยมใช้วิธีการเก็บรวบรวมพันธุ์พื้นเมือง นำมาคัดเลือกสายต้นลักษณะดีและมีปริมาณสารสำคัญสูง สำหรับแนะนำเป็นสายพันธุ์การค้า ซึ่งวิธีการนี้ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในหลายประเทศ เช่น ประเทศไทย (Chaiyai, 2013) อินเดีย (Thomas *et al.*, 2010; Prasad *et al.*, 2014; Kundu *et al.*, 2015; Kunjumon *et al.*, 2022) เนปาล (Devkota *et al.*, 2010) เวียดนาม (Truong *et al.*, 2024) อิหร่าน (Nav *et al.*, 2021) เป็นต้น นอกจากนี้การปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีการก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ถูกนำมาใช้ในปรับปรุงพันธุ์บัวบกเช่นกัน ทั้งวิธีการฉายรังสีเพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาและปริมาณสารสำคัญ (Moghaddam *et al.*, 2011; Dankhetdean *et al.*, 2021; Chachai *et al.*, 2024) และวิธีการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีการเพิ่มจำนวนโครโมโซมเพื่อให้ได้สายพันธุ์บัวบกที่เป็น Tetraploid โดยมีเป้าหมายการเพิ่มปริมาณสารสำคัญ (Chulalakasanukul, 2001; Kaensaksiri *et al.*, 2011; Thong-on *et al.*, 2013) ซึ่งมีบัวบกพันธุ์ศาลายา 1 ใช้วิธีนี้ในการปรับปรุงพันธุ์ และได้รับการขึ้นทะเบียนพันธุ์เมื่อวันที่ 11 มีนาคม 2564 (Department of Agriculture, 2020) อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันยังไม่พบรายงานการปรับปรุงพันธุ์บัวบกด้วยวิธีการผสมข้าม (Bindu and Rohini, 2018) เนื่องจากดอกบัวบกมีขนาดเล็ก ($3.53 \times 2.10 \text{ mm}^2$) มีอัตราติดผลจากการผสมตัวเองสูง (92.2 เปอร์เซ็นต์) และมีโอกาสติดผลและพัฒนาเป็นเมล็ดจากการผสมข้ามในอัตราต่ำ (Javaid *et al.*, 2018) การปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีการผสมข้าม เป็นการปรับปรุงลักษณะบางอย่างของพืชเพื่อให้

ได้พืชที่มีคุณสมบัติดีขึ้น (Samphantharak, 2008) และการผสมข้ามยังถูกใช้เป็นเครื่องมือหนึ่งในการศึกษาด้านชีวโมเลกุล เช่น การหาตำแหน่งยีนที่สนใจ เป็นต้น (Acquaah, 2012) ดังนั้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถในการผสมข้ามพันธุ์บวบ และลักษณะของลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมข้ามซึ่งข้อมูลที่ได้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางการพัฒนาพันธุ์บวบให้มีความหลากหลาย รวมถึงเป็นพื้นฐานการศึกษาด้านชีวโมเลกุลในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการผสมบวบ 3 สายพันธุ์ โดยใช้แผนผสมแบบพบกันหมด ในบวบที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาแตกต่างกัน 2 กลุ่ม ประกอบด้วย กลุ่มใบเล็ก โดยใช้สายพันธุ์ระยอง (RY) มีลักษณะก้านใบสั้น ขอบใบหยัก มุมโคนใบกว้างปานกลาง ขนาดไหลสั้น (Figure 1A) และกลุ่มใบใหญ่ ประกอบด้วย 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์นครปฐม (NP) มีลักษณะก้านใบยาว ขอบใบหยัก มุมโคนใบกว้างปานกลาง ขนาดไหลยาว (Figure 1B) และสายพันธุ์อุบลราชธานี (UB) มีลักษณะก้านใบยาว ขอบใบหยัก มุมโคนใบกว้างมาก ขนาดไหลยาว (Figure 1C)



Figure 1 The distinguish morphotype of parental line of *Centella asiatica* (L.) Ura in the study (A) Rayong: RY (B) Nakhon Pathom: NP (C) Ubon Ratchathani: UB

การผสมเกสร

การกำจัดเกสรเพศผู้ (emasculation) และการผสมเกสร (cross pollination) ทำภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Eakins 48 MP Video Microscope Camera) การเลือกดอกบวบเพื่อใช้ในการผสมเกสร ทำการเลือกดอกที่มีพัฒนาในระยะที่ 3 มีลักษณะที่เป็นดอกตูมระยะสุดท้ายก่อนที่ดอกจะบาน สังเกตจากดอกย่อยในช่อดอกแยกกันชัดเจน กลีบดอกเปลี่ยนสีแดงม่วงเข้ม (Damaiyani and Metusala, 2011) โดยดอกที่อยู่ในระยะอื่นในช่อดอกเดียวกันให้ทำการตัดทิ้ง การกำจัดเกสรตัวผู้ ใช้เข็มปลายแหลมสำหรับกำจัดกลีบดอกและเกสรเพศผู้ให้แล้วเสร็จก่อนเวลาดอกบาน หรือก่อนเวลา 8.00 น.

(Javaid *et al.*, 2018) แล้วครอบดอกที่กำจัดเกสรเพศผู้แล้วเพื่อป้องกันการผสมข้ามด้วยหลอดพลาสติกขนาดใหญ่ ภายหลังการผสมเกสร 10 วัน ทำการประเมินการติดผล (fruit set)

เมล็ดพันธุ์ลูกผสม ทำการเก็บเมื่อความสุกแก่ทางสรีรวิทยาสังเกตจากสีของเมล็ดมีเหลือง จนถึงสีน้ำตาล (Ekpong and Wiyachai, 2006; Novianti *et al.*, 2016) หลังจากนั้น ทำการเพาะเมล็ดในฟิมผสมทราย อัตราส่วน 1:1 เมื่อต้นกล้าเจริญเติบโต จึงย้ายปลูกในวงบ่อซีเมนต์ขนาด 60 เซนติเมตร เพื่อใช้เป็นต้นพันธุ์ในการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการ ปักชำสำหรับการประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลูกผสมต่อไป

การประเมินลักษณะฟีโนไทป์ลูกผสมชั่วที่ 1

ลูกผสมที่ได้ทำการขยายพันธุ์ด้วยวิธีปักชำไหลในถาดหลุมขนาด 1 นิ้ว เมื่อต้นกล้ามี 4 ใบ จึงทำการย้ายปลูกแปลงทดลองขนาด 1×1.5 เมตร ระยะปลูก 20×20 เซนติเมตร ภายใต้โรงเรือนพรางแสง 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวันที่ 20 กรกฎาคม พ.ศ. 2566 ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร (pH=6.1, OM=13.1 กรัมต่อกิโลกรัม, Available P=6.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม, Available K=43.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม, Ca=1,764 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ Mg=473 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) วางแผนการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) ประกอบด้วย สายพันธุ์ บัวบกลูกผสม 26 สายต้น และสายพันธุ์พ่อแม่ 3 สายพันธุ์ รวมเป็น 29 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 2 ซ้ำ ๆ ละ 8 ต้น

การบันทึกและวิเคราะห์ข้อมูล

การผสมเกสร ทำการบันทึกการติดเมล็ดจำนวนเมล็ดที่ได้จากการผสม การงอกของเมล็ด ในการประเมินลักษณะฟีโนไทป์ลูกผสมชั่วที่ 1 บันทึกลักษณะบัวบกลูกผสมหลังปลูก 60 วัน โดยประยุกต์จากรายละเอียดการตรวจสอบลักษณะของพันธุ์พืชที่ขอจดทะเบียนเป็นพันธุ์พืชใหม่ ตามชนิดพืชที่ได้ประกาศให้เป็นพันธุ์พืชใหม่ที่จะได้รับการคุ้มครอง ตามมาตรา 14 แห่งพระราชบัญญัติคุ้มครองพันธุ์พืช พ.ศ. 2542 ชนิดพืช บัวบก (Plant Varieties Protection, 2023) ลักษณะลูกผสมที่ได้ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผนการทดลองด้วยโปรแกรม IRRI และการวิเคราะห์เปรียบเทียบลูกผสมกับพ่อและแม่ด้วยวิธี Orthogonal contrast

ผลการวิจัยและวิจารณ์

การสร้างบัวบกลูกผสม

จากการผสมเกสรบัวบกแบบพบกันหมดจากพ่อแม่ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ ระยะเวลา นครปฐม และอุบลราชธานี จำนวน 787 ดอก เพื่อสร้างลูกผสม พบดอกมีการติดผล (fruit set) 64.2 เปอร์เซ็นต์ คู่ผสมที่มีอัตราการติดผล

สูงสุด คือ สายพันธุ์ระยะของผสมสายพันธุ์นครปฐม (82.2 เปอร์เซ็นต์) รองลงมา ได้แก่ สายพันธุ์อุบลราชธานีผสมสายพันธุ์นครปฐม สายพันธุ์นครปฐมผสมสายพันธุ์อุบลราชธานี สายพันธุ์ระยะของผสมสายพันธุ์อุบลราชธานีผสมสายพันธุ์นครปฐมผสมสายพันธุ์ระยะของ และสายพันธุ์อุบลราชธานีผสมสายพันธุ์ระยะของ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การพัฒนาของผลคิดเป็น 78.0 74.8 70.2 49.2 และ 48.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 1) เมื่อนำสายพันธุ์ระยะของเป็นสายพันธุ์พ่อพบมีอัตราการติดผลต่ำกว่าสายพันธุ์นครปฐมและสายพันธุ์อุบลราชธานีที่นำมาใช้เป็นสายพันธุ์พ่อเช่นเดียวกัน อาจเนื่องจากความเป็นหมันของละอองเรณู (pollen grain) ความเป็นหมันที่เกิดขึ้นมีสาเหตุจากความผิดปกติในกระบวนการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์ (Consolaro and Pagliarini, 1996a) โดยความเป็นหมันนี้ตามรายงานของ Consolaro *et al.* (1996b) พบบัวบกในแต่ละประชากรที่มีการกระจายตัวทางตอนใต้ของประเทศบราซิล ละอองเรณูมีอัตราความเป็นหมันแตกต่างกัน โดยมีอัตราความเป็นหมันอยู่ระหว่าง 26.5 - 99.7 เปอร์เซ็นต์ โดยบัวบกที่มีการกระจายตัวใน Costa Azul มีอัตราความเป็นหมันต่ำที่สุด ส่วนบัวบกที่มีการกระจายตัวใน Praia de Leste มีอัตราความเป็นหมันสูงสุด นอกจากนี้ความแตกต่างของจำนวนโครโมโซมในบัวบกก็ส่งผลต่อการผสมติด ส่วนใหญ่รายงานว่าบัวบกเป็นพืชดิพลอยด์ มีจำนวนโครโมโซม $2n=18$ (Mathavaraj and Sabu, 2021) แต่พบการรายงานบางแหล่งกระจายพันธุ์มีจำนวนโครโมโซม $2n=22$ (Hamal and Koul, 1989; Peiris and Kays, 1996) และจากการศึกษาจำนวนโครโมโซมของบัวบกในแต่ละสภาพแวดล้อมที่มีการกระจายพันธุ์ในประเทศอินเดีย โดย Das and Mallick (1991) พบว่า จำนวนโครโมโซมในแต่ละประชากรพบทั้งจำนวนโครโมโซมปกติ ($2n=18$) และ $2n=18+2$, $2n=18+1$

ช่วงเวลาระหว่างการกำจัดเกสรเพศผู้และการผสมพันธุ์มีความสำคัญต่อการผสมติด ตามที่ได้มีรายงานการบานของดอกและการแตกของอับเรณูในประเทศอินเดีย โดย Javaid *et al.* (2018) ได้รายงานดอกบัวบกเริ่มบานเวลา 8.00 น. และอับเรณูแตกระหว่างเวลา 9.30 - 10.30 น. ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Malik and Sharma (2020) ที่รายงานว่า อับเรณูเริ่มแตกระหว่างเวลา 4.00 - 8.00 น. จากการสังเกตในระหว่างกำจัดเกสรตัวผู้และการผสมเกสรบัวบกพบบางดอกเริ่มมีแตกของอับเรณูในช่วงเวลาดังกล่าว อย่างไรก็ตาม ในประเทศไทยยังไม่เคยมีการศึกษาชีพลักษณ์ (floral phenology) ของดอกบัวบก จึงควรมีการศึกษาในประเด็นนี้ เพิ่มเติมเพื่อใช้เป็นข้อมูลเพิ่มประสิทธิภาพการผสมเพื่อสร้างลูกผสมในอนาคต

ภายหลังการติดผล (fruit set) สามารถพัฒนาเป็นเมล็ดจำนวน 255 เมล็ด เมล็ดมีอายุเฉลี่ย 31.7 วัน ภายหลังการผสม เมื่อนำมาเพาะเมล็ด พบเมล็ดงอกเพียง 41 เมล็ด หรือคิดเป็น 16.1 เปอร์เซ็นต์จากเมล็ดที่เพาะทั้งหมด โดยแต่ละกลุ่มสมมีอัตราการงอกระหว่าง 0.0 - 48.6 เปอร์เซ็นต์ อายุเฉลี่ย 57.6 วัน โดยกลุ่มผสมสายพันธุ์อุบลราชธานีกับสายพันธุ์ระยะยงมีอายุเฉลี่ยต่ำที่สุด ส่วนกลุ่มผสมสายพันธุ์ระยะยงกับสายพันธุ์อุบลราชธานีมีอายุเฉลี่ยมากที่สุด อยู่ที่ 35.2 และ 70.23 วัน ตามลำดับ โดยต้นกล้าลูกผสมที่ได้บางส่วนมีความอ่อนแอ จึงทำให้ได้ต้นบัวบกกลุ่มผสมที่มีความแข็งแรงสามารถนำไปสู่ขั้นตอนการปลูกประเมินได้เพียง 26 ต้น (Table 1)

การงอกของเมล็ดบัวบกกลุ่มผสมมีอัตราต่ำ โดยเมล็ดจะมีอัตราการงอกสูงสุดเมื่ออยู่ในระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา (physiological maturity) (Ekpong and Wiyachai, 2006; Novianti *et al.*, 2016) เมล็ดบัวบกมีความสามารถในการงอกได้เมื่ออายุไม่น้อยกว่า 20 วัน หลังดอกบาน และเพิ่มขึ้นเมื่ออายุเมล็ดเพิ่มขึ้น โดยระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาที่ 48 วัน หลังดอกบาน เมื่อทดสอบความงอก พบว่า ที่ 56 วันหลังดอกบาน

มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุด (Ekpong and Wiyachai, 2006) ในกรณีของเมล็ดบัวบกกลุ่มผสม ถึงแม้ว่าสีของผิวเมล็ดจะเปลี่ยนสีเข้าสู่ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาแล้ว แต่การพัฒนาของภายในของเมล็ดอาจยังไม่เข้าสู่ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา ทำให้มีอัตราความงอกต่ำ นอกจากนี้อายุเมล็ดหลังการเก็บเกี่ยวส่งผลต่อการงอกของเมล็ด ซึ่งเมล็ดบัวบกที่เก็บใหม่ถึงแม้จะมีความมีชีวิตสูง (seed viability) แต่มีอัตราความงอกต่ำ แต่เมื่อเก็บรักษาไว้ 2 - 3 เดือน ความมีชีวิตของเมล็ดลดลง แต่อัตราการงอกสูงขึ้น เนื่องระยะเวลาเก็บนานขึ้นทำให้เกิดความชื้นภายในเมล็ดเปลี่ยนแปลง ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายในเมล็ด เช่น ABA จะมีสูงขณะเมล็ดอ่อน มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตของเอ็มบริโอ ป้องกันการงอกก่อนกำหนดเป็นต้น (Devkota and Jha, 2010; Kaewsom *et al.*, 2024) ในส่วนของเมล็ดบัวบกกลุ่มผสม ทำการเพาะเมล็ดหลังจากเก็บไม่เกิน 20 วัน จึงอาจเป็นอีกหนึ่งสาเหตุที่ทำให้อัตราการงอกต่ำ

ลักษณะของบัวบกกลุ่มผสมชั่วที่ 1

จากการผสมบัวบก 3 สายพันธุ์พบกันหมดนั้น ได้ลูกผสมเพียง 4 กลุ่มผสม จำนวน 26 ต้น ประกอบด้วยสายพันธุ์นครปฐมกับสายพันธุ์อุบลราชธานี จำนวน 5 ต้น สายพันธุ์ระยะยงกับสายพันธุ์อุบลราชธานี จำนวน 8 ต้น สายพันธุ์อุบลราชธานีกับสายพันธุ์นครปฐม จำนวน 10 ต้น และสายพันธุ์อุบลราชธานีกับสายพันธุ์ระยะยง 3 ต้น (Table 1) ที่สามารถนำมาขยายพันธุ์เพื่อปลูกประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลูกผสม ได้แก่ ความกว้างใบ ความยาวใบ ความยาวก้านใบ จำนวนไหล และความยาวไหล ซึ่งลักษณะเหล่านี้ส่งผลต่อปริมาณผลผลิตต่อพื้นที่ จากการทำการประเมิน พบว่าลักษณะของบัวบกกลุ่มผสม มีดังนี้

กลุ่มระหว่างสายพันธุ์ระยะยงกับสายพันธุ์อุบลราชธานี โดยใช้สายพันธุ์ระยะยงเป็นสายพันธุ์แม่ พบว่า มีความกว้างใบเฉลี่ย ความยาวใบเฉลี่ย ความยาว

ก้านใบเฉลี่ย และความยาวไหลเฉลี่ย เท่ากับ 3.98 2.77 6.66 และ 38.36 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยมีจำนวนไหลเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 1.86 ไหล (Table 2) รูปปร่างใบ พบมุมโคนใบมีลักษณะความกว้างปานกลางทุกต้น (Figure 2A) ส่วนลูกผสมที่ได้จากการผสมสลับ พบว่า ความกว้างใบเฉลี่ย ความยาวใบเฉลี่ย ความยาวก้านใบเฉลี่ย และความยาวไหลเฉลี่ย เท่ากับ 5.67 3.74 14.64 และ 59.16 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยมีจำนวนไหลเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 2.39 ไหล (Table 2) ส่วนรูปปร่างใบ พบมุมโคนใบมีลักษณะความกว้างปานกลางทุกต้น (Figure 2A)

คุณสมบัติระหว่างสายพันธุ์อุบลราชธานีกับสายพันธุ์นครปฐม โดยใช้สายพันธุ์อุบลราชธานีเป็นสายพันธุ์แม่ พบว่า มีความกว้างใบเฉลี่ย ความยาวใบเฉลี่ย ความยาวก้านใบเฉลี่ย และความยาวไหลเฉลี่ย เท่ากับ 5.58 3.55 12.75 และ 51.08 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยมีจำนวนไหลเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 2.44 ไหล (Table 2) รูปปร่างใบ พบมุมโคนใบมีลักษณะกว้างทุกต้น (Figure 2A) ส่วนลูกผสมที่ได้จากการผสมสลับ พบว่า ความกว้างใบเฉลี่ย ความยาวใบเฉลี่ย ความยาวก้านใบเฉลี่ย และความยาวไหลเฉลี่ย เท่ากับ 6.01 3.85 14.63 และ 56.18 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยมีจำนวนไหลเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 2.09 ไหล (Table 2) ส่วนรูปปร่างใบ พบมุมโคนใบมีลักษณะกว้างปานกลางทุกต้น (Figure 2A)

เมื่อนำลักษณะเชิงปริมาณ ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Orthogonal contrast ระหว่าง (1) ลูกผสมกับสายพันธุ์พ่อและ (2) ลูกผสมกับสายพันธุ์แม่ ในลักษณะพื้นฐานวิทยา 5 ลักษณะ ประกอบด้วย ความกว้างใบ ความยาวใบ ความยาวก้านใบ จำนวนไหล และความยาวไหล (Table 3) พบว่า คู่ผสมสายพันธุ์ระยองกับสายพันธุ์อุบลราชธานี เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ระยองซึ่งใช้เป็นสายพันธุ์แม่ ทั้ง 4 ลักษณะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อุบลราชธานี

ซึ่งใช้เป็นสายพันธุ์พ่อ ทุกลักษณะมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ยกเว้น ความกว้างใบที่ไม่แสดงความแตกต่างทางสถิติ ในทางกลับกันเมื่อนำมาผสมสลับพบว่า เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อุบลราชธานี ซึ่งใช้เป็นสายพันธุ์แม่ ทั้ง 4 ลักษณะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อนำลูกผสมเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ระยองซึ่งใช้เป็นสายพันธุ์พ่อ พบความยาวก้านใบและความยาวไหลมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ส่วนความกว้างใบ ความยาวใบ จำนวนไหลไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ส่วนคู่ผสมสายพันธุ์อุบลราชธานีกับสายพันธุ์นครปฐม เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับทั้งสายพันธุ์พ่อและแม่ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในทางกลับกันเมื่อนำมาผสมสลับ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ยกเว้นจำนวนไหลมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อุบลราชธานี เมื่อใช้เป็นสายพันธุ์พ่อ

จากการผสมบวบกที่มีลักษณะทางสัณฐานที่ต่างกัน ได้แก่ คู่ผสมสายพันธุ์ระยองกับสายพันธุ์อุบลราชธานี และคู่ผสมที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใกล้เคียงกัน ได้แก่ คู่ผสมระหว่างสายพันธุ์อุบลราชธานีและสายพันธุ์นครปฐม พบการแสดงออกของลูกผสมบวบกั่วที่ 1 มีลักษณะเชิงปริมาณ มีแนวโน้มเป็นไปในทิศทางของสายพันธุ์ที่นำมาใช้เป็นสายพันธุ์แม่ เช่นเดียวกับรูปปร่างใบของบวบลูกผสมชั่วที่ 1 การแสดงออกเป็นไปในทิศทางเดียวกันสายพันธุ์ที่นำมาใช้เป็นสายพันธุ์แม่ (Figure 2) การแสดงออกเช่นนี้ อาจเนื่องมาจากยีนควบคุมลักษณะต่าง ๆ ที่ศึกษานี้ได้รับการถ่ายทอดจากสายพันธุ์ที่นำมาใช้เป็นสายพันธุ์แม่ (maternal effect) (Acquaah, 2012) โดยลักษณะการควบคุมการแสดงออกทางสายพันธุ์แม่นี้คล้ายคลึงกับที่มีรายงานใน *Phaseolus vulgaris* L. ที่การควบคุมการแสดงออกของเมล็ดและต้นกล้ามีลักษณะการแสดงออกที่เกิดจากผลของ Maternal Effect (Singh et al., 2017)

Table 1 Summary of number of cross-pollinations, number of fruit sets, number of seed sets, average days of seed harvest after pollination, number of seed germinations, average days of germination and survival rate of plants after cross-pollination from three parental line of *Centella asiatica* (L.) Urb

Parental line	No. of cross pollination (flowers)	No. of fruit set (flowers)	No. of seed set (seeds)	Average day of seed harvesting after pollination (days)	No. of seed germination (seeds)	Average day of germination (days)	Survival plant (plants)
NP x RY	124	61 (49.2%)	19	28.2	1 (5.3%)	67.0	0
NP x UB	139	104 (74.8%)	56	26.6	5 (8.9%)	35.6	5
RY x NP	107	88 (82.2%)	35	31.1	0 (0.0%)	0	0
RY x UB	151	106 (70.2%)	72	35.7	13 (18.1%)	70.23	8
UB x NP	59	46 (78.0%)	35	35.4	17 (48.6%)	60.4	10
UB x RY	207	100 (48.3%)	38	30.2	5 (13.2%)	35.2	3
Total/ Average	787	505 (64.2%)	255	31.7	41 (16.1%)	57.6	26

เมื่อพิจารณาความสม่ำเสมอของลูกผสม
บวบกซ์ที่ 1 ยังคงพบความไม่สม่ำเสมอหรือยังคงมี
ความแปรปรวน (Table 2 และ Figure 2) ทั้งที่บวบก
เป็นพืชที่อัตราการผสมตัวเองสูงถึง 92.2 เปอร์เซ็นต์
เมื่ออยู่ในสภาพปิด แต่เมื่ออยู่ในสภาพเปิด สามารถ
ผสมจนเกิดผลได้สูงถึง 98.6 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุอาจ

เกิดจากมีแมลงหลายชนิดที่ทำหน้าที่เป็นตัวผสมเกสร
ในธรรมชาติ (Javaid *et al.*, 2018; Malik and Sharma,
2020) ปัจจัยดังกล่าวทำให้ภายในประชากรที่นำมาใช้
เป็นสายพันธุ์พ่อแม่อยู่ในสภาพ Heterozygous เมื่อนำ
พ่อแม่พันธุ์เหล่านี้มาผสมทำให้ลูกผสมที่ได้เกิดความ
แปรปรวนและไม่สม่ำเสมอ

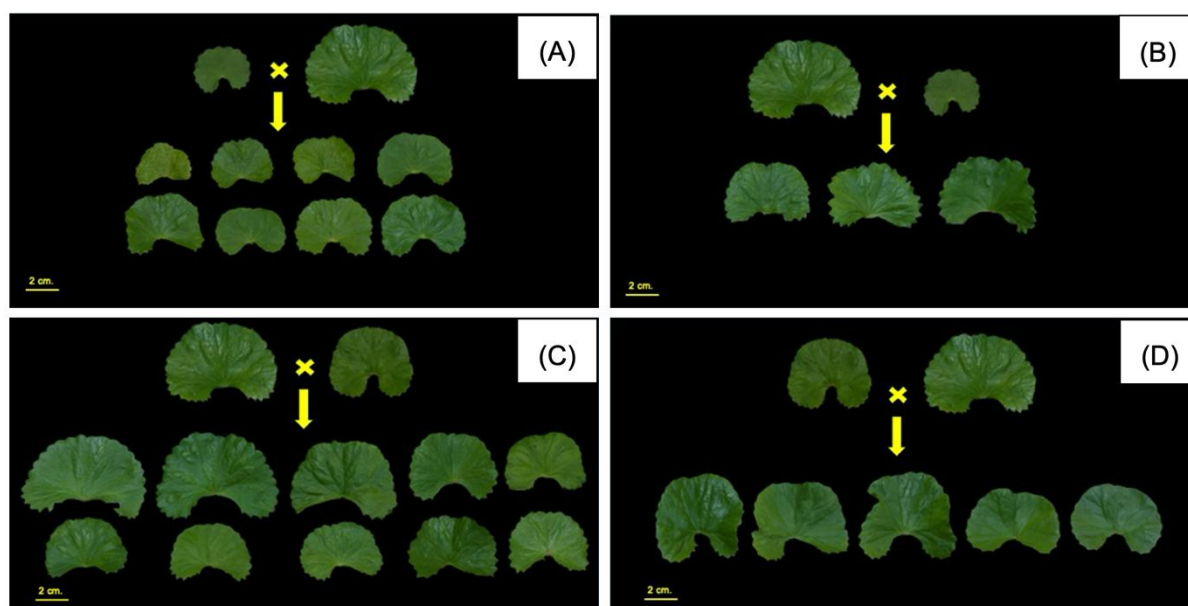


Figure 2 The leaf trait of *C. asiatica* hybrids compared with parents (A) RY x UB (B) UB x RY (C) UB x NP (D) NP x UB

Table 2 The important quantitative traits of *C. asiatica* hybrids and parental lines

		Leaf width (cm)	Leaf length (cm)	Petiole length (cm)	No. of stolon (stolon)	Stolon length (cm)
F1 hybrid	RY x UB	3.98 ± 1.13	2.77 ± 0.49	6.66 ± 2.02	1.86 ± 0.49	38.36 ± 11.55
	UB x RY	5.67 ± 0.52	3.74 ± 0.49	14.64 ± 2.13	2.39 ± 0.36	59.16 ± 11.37
	UB x NP	5.58 ± 1.33	3.55 ± 0.42	12.75 ± 2.19	2.44 ± 0.47	51.08 ± 12.54
	NP x UB	6.01 ± 1.19	3.85 ± 0.48	14.63 ± 2.58	2.09 ± 0.68	56.18 ± 14.71
Parental line	RY	4.57 ± 0.41	3.14 ± 0.40	6.80 ± 1.87	2.03 ± 0.24	35.08 ± 12.40
	NP	5.29 ± 0.34	3.63 ± 0.07	12.70 ± 1.00	2.52 ± 0.27	58.79 ± 14.10
	UB	5.55 ± 0.18	4.09 ± 0.25	15.49 ± 0.16	2.86 ± 0.20	62.51 ± 3.14

Remarks: Values (means of two replicates $\pm$ S.D.)

Table 3 Analysis of variance using orthogonal contrasts for important agronomic traits

Source of variation	F-test				
	Leaf width	Leaf length	Petiole length	No. of stolon	Stolon length
F1(RY x UB) vs RY	<1 ns	1.09 ns	1.04 ns	<1 ns	<1 ns
F1 (RY x UB) vs UB	3.52 ns	13.99 **	36.01 **	10.05 **	9.89 **
F1 (UB x RY) vs UB	<1 ns	<1 ns	<1 ns	1.90 ns	<1 ns
F1 (UB x RY) vs RY	1.47 ns	2.48 ns	23.94 **	1.09 ns	8.34 **
F1 (UB x NP) vs UB	<1 ns	2.39 ns	3.55 ns	1.76 ns	2.27 ns
F1 (UB x NP) vs NP	<1 ns	<1 ns	<1 ns	<1 ns	1.04 ns
F1 (NP x UB) vs NP	<1 ns	<1 ns	1.63 ns	1.73 ns	<1 ns
F1 (NP x UB) vs UB	<1 ns	<1 ns	<1 ns	5.56 *	<1 ns
CV (%)	21.5	13.8	17.1	18.7	20.7

Remarks: ns = not significant difference,

* = significant difference at p -value ≤ 0.05

** = significant difference at p -value ≤ 0.01

สรุปผลการวิจัย

จากการประเมินความสามารถในการผสมข้ามพันธุ์บัวบก จากพ่อแม่ 3 สายพันธุ์ วางแผนการผสมแบบพหุคูณแบบบล็อก ได้แก่ ระยะเวลาของ นครปฐม และ อุบลราชธานี พบว่า การผสมเกสรบัวบก 787 ดอก มีอัตราการติดผล 64.2 เปอร์เซ็นต์ ได้เมล็ด 255 เมล็ด ภายหลังการเพาะเมล็ด ได้ต้นลูกผสม 41 ต้น หรือ คิดเป็น 16.1 เปอร์เซ็นต์ แต่พบบางคู่ผสมไม่ออกรวมถึง ต้นอ่อนบางต้นมีความอ่อนแอ ทำให้เหลือต้นลูกผสมที่สามารถประเมินลักษณะทางสัณฐานได้เพียง 4 คู่ผสม 26 ต้น เมื่อทำการประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ ลูกผสมชั่วที่ 1 พบว่า ลูกผสมมีลักษณะสัณฐานวิทยาเป็นไปในทิศทางเดียวกับสายพันธุ์ที่นำมาใช้พันธุ์แม่

กิตติกรรมประกาศ

บทความนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยพันธุ์บัวบกเพื่อเพิ่มผลผลิตและสารสำคัญ ได้รับสนับสนุนงบประมาณวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.)

เอกสารอ้างอิง

- Acquaah, G. 2012. Principles of plant genetics and breeding. 2nd Edition. John Wiley and Sons, New Jersey.
- Bindu, K. H and M. R. Rohini. 2018. Crop Improvement and improved varieties in medicinal crops. pp. 33-45. In: Division of Floriculture and Medicinal Crops (eds.). Trainers' training on conservation and cultivation of medicinal plants. ICAR - Indian Institute of Horticultural Research, Bengaluru.

- Chachai, N., B. Pensuriya, M. Katklangdon, P. Nitmee, P. Kaewsri, S. Wongsatchanan, P. Pratubkong, R. Chindachia, J. Mungngam, P. Triboun and J. Sreesaeng. 2024. Induction of morphological characteristic differentiation of Thai native Asiatic pennywort (*Centella asiatica* L.) by acute Gamma irradiation. *Agricultural Science and Innovations Journal* 55(1): 32-50. [in Thai]
- Chaiai, P. 2013. Research and development on production technology of pennywort (*Centella asiatica* L.) Available: https://info.doa.go.th/research/pdf/2556/302_2556.pdf (July 28, 2024). [in Thai]
- Chulalaksananukul, W. 2001. Polyploid induction in *Centella asiatica* (L.) urban by Colchicine treatment, Research report Chulalongkorn University. [in Thai]
- Consolaro, M. E. L. and M. S. Pagliarini. 1996a. Spontaneous chromosome stickiness in microsporocytes of *Centella asiatica* (L.) Urban (Umbelliferae). *Cytologia* 61: 57-61.
- Consolaro, M. E. L., M. S. Pagliarini and L. J. Chaves. 1996b. Meiotic behavior, pollen fertility and seed production in Brazilian populations of *Centella asiatica* (L.) Urban (Umbelliferae). *Cytologia* 61: 375-381.
- Damaiyani, J. and D. Metusala. 2011. Fenologi perkembangan bunga *Centella asiatica* dan studi waktu kematangan pollen pada berbagai stadia. *Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus* 7A: 75-78.
- Dankhetdean, N., A. Piriaphattarakit, N. Chanchula and K. Saengngoen. 2021. Effects of gamma irradiation on the growth and the yield of asiatic pennywort (*Centella asiatica* L. Urb.) grown in Ubon Ratchathani province. *Wichcha Journal Nakhon Si Thammarat Rajabhat University* 40(2): 106-117. [in Thai]
- Das, A. and R. Mallick. 1991. Correlation between genomic diversity and asiaticoside content in *Centella asiatica* (L.) Urban. *Botanical bulletin of academia sinica* 32: 1-8.
- Department of Agriculture. 2020. Announcement of the Department of Agriculture on the advertisement of applications for the issuance of plant variety registration certificates under the plant variety act B.E. 2518 (1975). Available: https://www.doa.go.th/pvp/?page_id=867 (July 28, 2024). [in Thai]
- Department of Agricultural Extension. 2024. Agricultural production information: *Centella asiatica*. Available: <https://production.doe.go.th> (July 28, 2024). [in Thai]
- Department of Medical Sciences. 2021. Thai herbal pharmacopoeia. Kaewjawjom Printing and Publishing, Bangkok.
- Devkota, A. and P. K. Jha. 2010. Seed germination responses of the medicinal herb *Centella asiatica*. *Brazilian society of plant physiology* 22(2): 143-150.
- Devkota, A., S. Dall'Acqua, S. Comai, G. Innocenti and P. K. Jha. 2010. *Centella asiatica* (L.) Urban from Nepal: quali-quantitative analysis of samples from several sites, and selection of high terpene containing populations for cultivation. *Biochemical Systematics and Ecology* 38: 12-22.

- Ekpong, B. and T. Wiyachai. 2006. High quality of asiatic pennywort (*Centella asiatica* (L.) Urb.) seed production for farmer in Ban Wang Yang. Warinchamrap district, Ubon Ratchathani province. Research report, Ubon Ratchathani University. [in Thai]
- Hamal, I. A. and A. K. Koul. 1989. Taxonomic position of *Centella asiatica* (L.) Urban. Indian Academic of Science (Plant science) 99(4): 363-368.
- Javaid, A., R. Gurmet and N. Sharma. 2018. *Centella asiatica* (L.) Urban: A predominantly self-pollinated herbal perennial plant of family apiaceae. Vegetos 31(2): 53-59.
- Kaensaksiri, T., P. Soontornchainaksaeng, N. Soonthomchareonnon and S. Prathanturug. 2011. *In vitro* induction of polyploidy in *Centella asiatica* (L.) Urban. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 107: 187-194.
- Kaewsorn, P., T. Sutinunopas, B. Manochai, and R. Sermasak. 2024. Seed priming with KNO₃ solutions on seed quality of Asiatic pennywort. Thai Science and Technology Journal 32(3): 40-52. [in Thai]
- Kundu, S., S. K. M. Haque and B. Ghosh. 2015. Comparative analysis of bioactive compounds in different habitat of *Centella asiatica* (L.) Urban: Application for *in vitro* clonal propagation of elite ecotype. Journal of Applied Pharmaceutical Science 5 Supplement 2: 30-36.
- Kunjumon, R., A. J. Johnson, R. K. S. Remadevi and S. Baby. 2022. Assessment of major centelloside ratios in *Centella asiatica* accessions grown under identical ecological conditions, bioconversion clues and identification of elite lines. Scientific reports 12: 8177.
- Maimize Market Research. 2024. Gotu kola extract market: global industry analysis and forecast (2024-2030). Available: <https://www.maximize-marketresearch.com/marketreport/global-gotu-kola-extract-market/98621> (July 28, 2024)
- Malik, S. and A. Sharma. 2020. Study of phenology of a medicinal plant *Centella asiatica* of family apiaceae. Voyager 6: 15-21.
- Mathavaraj, S. and K. K. Sabu. 2021. Genetic status of *Centella asiatica* (L.) urb. (Indian pennywort): A review. Current Botany 12: 150-160.
- Moghaddam, S. S., H. Z. Jaafar, R. Ibrahim, A. Rahmat, M. A. Aziz and E. Philip. 2011. Effects of acute gamma irradiation on physiological traits and flavonoid accumulation of *Centella asiatica*. Molecules 16(6): 4994-5007.
- National Nanotechnology Center. 2018. Project on market opportunity analysis for targeted Thai herbal extracts. National Science and Technology Development Agency, Pathumthani. [in Thai]
- Nav, S. N., S. N. Ebrahimi, A. Sonboli, M. H. Mirjalili. 2021. Variability, association and path analysis of centellosides and agro-morphological characteristics in Iranian *Centella asiatica* (L.) Urban ecotypes. South African Journal of Botany 139: 254-266.
- Novianti, C., S. Purbaningsih and A. Salamah. 2016. The effect of different pericarp color on seed germination of *Centella asiatica* (L.) Urban,

- pp 1-4. In AIP Conference Proceedings 1729, 020064.
- Peiris, K. H. S. and S. J. Kays. 1996. Asiatic pennywort (*Centella asiatica* (L.) Urb.): A Little-known vegetable crop. HortTechnology 6(1): 13-18.
- Priyaphattarakit, A., P. Ruploet and K. Amprayn. 2018. Morphology study of various Asiatic pennywort. Thai Journal of Science and Technology 8(1): 54-65. [in Thai]
- Plant Varieties Protection. 2023. Test Guidelines of *Centella asiatica* (L.) urb descriptor. Available: https://www.doa.go.th/pvp/?page_id=509 (July 28, 2024). [in Thai]
- Prasad, A., S. S. Dhawan, A. K. Mathur, O. Prakash, M. M. Gupta, R. K. Verma, R. K. Lal and A. Mathur. 2014. Morphological, chemical and molecular characterization of *Centella asiatica* germplasms for commercial cultivation in Indo-gangetic plains. Natural Product Communications 9(6): 779-784.
- Samphantharak, K. 2008. Plant breeding: fundamentals, methods, and concepts. 2nd Edition. Kesetsart University Press, Bangkok. [in Thai]
- Singh, J., J. C. Michelangeli, S. A. Gezan, H. Lee and C. E. Vallejos. 2017. Maternal effects on seed and seedling phenotypes in reciprocal F1 hybrids of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Frontiers in Plant Science 8(42): 1-13.
- Sudhakaran, M. V. 2017. Botanical pharomacognosy of *Centella asiatica* (Linn.) urban. Pharmacognosy Journal 9(4): 546-558.
- The National Herbal Policy Committee. 2023. 2nd National herbal action plan (2023-2027). Division of Herb Economy, Department of Thai Traditional and Alternative Medicine, Ministry of Public Health, Nonthaburi. [in Thai]
- Thomas, M. T., R. Kurup, A. J. Johnson, S. P. Chandrika, P. J. Mathew, M. Dan and S. Baby. 2010. Elite genotypes/chemotypes, with high contents of madecassoside and asiaticoside, from sixty accessions of *centella asiatica* of south India and the Andaman Islands: For cultivation and utility in cosmetic and herbal drug applications. Industrial crops and products 32(3): 545-550.
- Thongekkaew, J. 2013. *Centella asiatica* (Linn.) urban: a Very useful herb. Journal of Science & Technology, Ubon Ratchathani University 15(3): 70-75. [in Thai]
- Thong-On, W., P. Arimatsu, S. Pitiporn, N. Soonthornchareonnon and S. Prathanurug. 2013. Field evaluation of in vitro-induced tetraploid and diploid *Centella asiatica* (L.) urban. Journal of Natural Medicines 68: 267-273.
- Truong, H. T. H., N. T. H. Ho, H. N. Ho, B. L. Q. Nguyen, M. H. D. Le and T. T. Duong. 2024. Morphological, phytochemical and genetic characterization of *Centella asiatica* accessions collected throughout Vietnam and Laos. Saudi Journal of Biological Sciences 31(1): 1-10.