



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ปี 2559
โครงการวิจัยที่ 3040-3889

เรื่อง การพัฒนาตองดิงสายพันธุ์แท้เพื่อตัดดอก
Development of Inbred Glorisa for Cut Flower

มูลนิธิ

หัวหน้าโครงการวิจัย

รศ.ดร. สุรวิช วรรณไกรโรจน์

อาสาสมัครมูลนิธิโครงการหลวง

ได้รับทุนวิจัยสนับสนุนจากมูลนิธิโครงการหลวง
เดือน ธันวาคม 2559



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ปี 2559
โครงการวิจัยที่ 3040-3889

เรื่อง การพัฒนาองตึงสายพันธุ์แท้เพื่อตัดดอก
Development of Inbred Gloriosa for Cut Flower

มูลนิธิ

หัวหน้าโครงการวิจัย

รศ.ดร. สุวิช วรรณไกรโรจน์ อาสาสมัครมูลนิธิโครงการหลวง

คณะวิจัย

นายเกษมศักดิ์

คำแพง

มูลนิธิโครงการหลวง

นางวันดี

สุริยะวงศ์

มูลนิธิโครงการหลวง

ได้รับทุนวิจัยสนับสนุนจากมูลนิธิโครงการหลวง

เดือน ธันวาคม 2559

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณฝ่ายวิจัย มูลนิธิโครงการหลวงที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย
และสิริสุภาพร คำสุกดี เจ้าหน้าที่ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพทางด้านพืช ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัย



บทคัดย่อ

โครงการพัฒนาตองติง (*Gloriosa superba*) สายพันธุ์แท้เพื่อตัดดอก ได้รวบรวมพันธุ์ตองติงจากแหล่งต่างๆ เพื่อนำมาผสมข้าม แล้วคัดเลือกต้นที่มีความหลากหลายของสีดอก และมีลักษณะดี มาสกัดเป็นสายพันธุ์แท้ ซึ่งจะสามารถใช้เมล็ดในการผลิตและระบบงานส่งเสริมได้นั้น การคัดเลือกลูกผสมตัวเอง 2 กลุ่มสี ช่วงรุ่นที่ 3 คือ กลุ่มสีแดง-เหลือง และกลุ่มสีส้ม-เหลือง ได้จำนวนกลุ่มละ 6 ผัก โดยกลุ่มสีแดง-เหลืองเมื่อนำเมล็ดมาเพาะได้หัวพันธุ์ คัดเลือกหัวพันธุ์ดีได้ 8 หัว ปลุกได้ดอกเพียง 3 ต้น แต่ผสมตัวเองช่วงที่ 4 ไม่ติดเลย เนื่องจากหัวพันธุ์ที่นำมาปลูกทั้ง 8 หัว มีขนาดเล็ก จึงทำให้ดอกที่ได้ไม่สมบูรณ์ การผสมตัวเองจึงไม่ติด ส่วนกลุ่มสีส้ม-เหลือง จาก 6 ผัก ได้เมล็ดและเพาะเกิดหัวพันธุ์ทั้งหมด 27 หัว เมื่อเก็บรักษาปลูกจนได้หัวพันธุ์ที่มีขนาดที่สามารถให้ดอกได้ ปลูกแล้วให้ดอกได้เพียง 5 ต้น เมื่อผสมตัวเองช่วงที่ 4 ได้เพียง 2 ต้น โดยต้นที่ 1 ได้เมล็ดจำนวน 58 เมล็ด ต้นที่ 2 ได้ 100 เมล็ด ขณะนี้อยู่ระหว่างการออก

ส่วนการชักนำให้เกิดการทวีจำนวนชุดโครโมโซมโดยใช้ Oryzalin พบต้นที่มีลักษณะผิดปกติซึ่งมีลักษณะที่ดี จึงคัดเลือกและผสมตัวเองจนได้เมล็ดพันธุ์ นำมาเพาะ แต่งอกและสร้างหัวพันธุ์เพียง 1 หัวเท่านั้น ซึ่งอาจเป็นผลจากการเข้าทำลายของ Cucumber Mosaic Virus จึงได้นำหัวพันธุ์นี้ปลูกต่อเพื่อเพิ่มขนาดหัวพันธุ์ ปลูกและพบว่า มีลักษณะดอกที่ดี จึงได้นำไปขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้ว เพื่อหลีกเลี่ยงความเสี่ยงจากการเข้าทำลายโดย Cucumber Mosaic Virus

คำสำคัญ: ไม้ดอก การผสมพันธุ์ โพลีพลอยด์ ดอกเหลือง oryzalin

Abstract

The “Development of *Gloriosa superba* Inbred Line for Cut-flower” project did gather germplasm from various sources to use in cross-hybridization. Selected clones with diverse flower colors and good flower shape would be subjected to inbred line extraction. The elite lines will be utilized for seed production and extension system of the Royal Project Foundation. Third generation selfing population were separated into 2 flower-color groups; Red-on-Yellow and Orange-on-Yellow. Each group got 6 seed-pods. The seeds of the Red-on-Yellow group yielded only 8 rhizomes, of which only 3 plants produced flowers. None of them could set seed-pod, probably due to their small rhizomes and small flowers. For the Orange-on-Yellow group, seeds germination led to 27 rhizomes, of which only 5 plants produced flowers. Among them, 2 clones were successfully self-pollinated. The first clone yielded 58 F₄ seeds while the second one yielded 100 F₄ seeds. The seeds are now being germinated.

For chromosome doubling induction using Oryzalin, an abnormal clone was selected and selfing. Only 1 seedling-rhizome was obtained, most likely resulted from Cucumber Mosaic Virus infection. The rhizome was then grown for flower evaluation. The flower was determined to be of high quality. Thus, the rhizome was sent to be micropropagated in an attempt to avoid Cucumber Mosaic Virus infection.

Keywords: Flower crop, hybridization, polyploid, yellow flower, oryzalin

สารบัญ

	หน้า
บทนำ	1
ทฤษฎี และแนวคิดที่เกี่ยวข้อง	3
กรรมวิธีทดลอง	5
ผลและวิจารณ์การทดลอง	7
สรุปผลและข้อเสนอแนะ	19
เอกสารอ้างอิง	20



สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ต้นเหลืองอ่อนกลีบใหญ่	5
2	ต้นเหลืองกลีบเล็ก	5
3	การผสมพันธุ์กลุ่มดอกสีเหลือง	7
4	การขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	8
5	การรับต้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	9
6	ตัวอย่างดอกตอติงลูกผสมระหว่างดอกสีเหลืองอ่อนกลีบใหญ่กับ ดอกสีเหลืองกลีบเล็กที่คัดเลือกได้	9
7	การอนุบาลต้นกล้าซึ่งอยู่ในช่วงการเจริญเติบโต	10
8	ลักษณะหัวจิวจากต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	10
9	ลักษณะหน่อที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวน	11
10	ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงตอติงดอกสีเหลือง	12
11	ตอติงลูกผสมตัวเองชั่วที่ 2 กลุ่มดอกสีแดง-เหลือง	13
12	ตอติงลูกผสมตัวเองชั่วที่ 3 กลุ่มดอกสีส้ม-เหลือง	14
13	ลักษณะต้นลูกผสมตัวเองชั่ว 3 รุ่นที่ 3 ที่หัวพันธุ์ยังไม่สมบูรณ์จึงทำให้ได้ ดอกที่ไม่สมบูรณ์ จึงผสมพันธุ์ไม่ติด	14
14	ลักษณะของหัวพันธุ์ลูกผสมตัวเองรุ่นที่ 4 ของต้นที่ 1 และ 2	14
15	ลักษณะต้นกล้าลูกผสมตัวเองชั่วที่ 3 หัวรุ่นที่ 1	15
16	หัวพันธุ์ตอติงลูกผสมตัวเองชั่วที่ 3 กลุ่มสีแดง-เหลือง รุ่นที่ 3 ต้นที่ 1	15
17	ลักษณะต้นและดอกตอติงลูกผสมตัวเองชั่วที่ 3 หัวรุ่นที่ 3 ส้ม-เหลือง	16
18	หัวพันธุ์ตอติงลูกผสมตัวเองชั่วที่ 3 กลุ่ม ส้ม-เหลือง ต้นที่ 2	16
19	ลักษณะดอกตอติงที่ดี จากต้นที่ผ่านการแช่เมล็ดในสารละลาย Oryzalin	17
20	ลักษณะดอกตอติงจากต้นที่ผ่านการแช่เมล็ดในสารละลาย Oryzalin	18

บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ทองดิงเป็นพืชใหม่ที่มีความหวังของมูลนิธิโครงการหลวง โดยได้รับการตอบรับที่ดีจากคู่ค้าในการทดสอบตลาด แต่หลังจากที่เริ่มมีการผลิตอย่างจริงจังกลับประสบปัญหาที่ไม่เคยมีผู้ใดรายงานมาก่อน คือเมื่อใช้หัวพันธุ์ในการผลิตช่อดอกเป็นเวลา 4 ครั้งแล้ว จะไม่มีการออกดอกอีกต่อไป นอกจากนี้ยังเริ่มมีต้นที่แสดงอาการติดเชื้อไวรัส เช่น ใบมีรอยขีดขนาดเล็กตามยาวอีกด้วย

การใช้เมล็ดเป็นส่วนขยายพันธุ์เริ่มต้นของกระบวนการผลิต นอกจากจะมีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าการใช้ต้นพันธุ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้ว ยังจะช่วยให้ได้ต้นที่ปราศจากเชื้อไวรัส ทำให้ได้ต้นที่แข็งแรง ดอกมีขนาดใหญ่และสมบูรณ์ อย่างไรก็ตามการผลิตสายพันธุ์แท้เพื่อใช้เมล็ดขยายพันธุ์ให้ตรงตามพันธุ์นั้นจะต้องใช้เวลาในการพัฒนาจากพันธุ์ที่มีอยู่ค่อนข้างนาน ไม่สามารถกระทำได้ทันทีเหมือนการใช้ต้นพันธุ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยวิธีปกติจะเป็นการช่วยทำให้ไวรัสแพร่ระบาดได้เร็วขึ้น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อพัฒนาทองดิงพันธุ์แท้พันธุ์ใหม่ซึ่งมีความหลากหลายของสีดอกที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเป็นไม้ตัดดอกต่อไป

ขอบเขตการวิจัยและจุดเน้น

งานวิจัยนี้จะเป็นการคัดเลือกทองดิงที่มีลักษณะดี (ดอกมีขนาดใหญ่ ช่อดอกยาว สีดอกสดใส อายุการปักแจกันยาว และอายุการเริ่มให้ดอกสั้น) จากแปลงผลิตของมูลนิธิโครงการหลวง และรวบรวมพันธุ์จากแหล่งอื่นๆ มาผสมข้ามพันธุ์ และนำลูกผสมไปปลูกเพื่อคัดเลือก แล้วผสมตัวเองและเก็บเมล็ดแยกต้นไว้ จากนั้นจึงนำเมล็ดจากแต่ละต้นไปปลูกเป็นแถวๆ ละ 15-20 ต้น แล้วคัดเลือกต้นที่มีลักษณะที่ดีไว้

ทำการผสมตัวเอง/ผสมระหว่างเครือญาติ (Sibling) และคัดเลือกจนได้ต้นที่มีลักษณะที่สม่ำเสมอทั้งแถว โดยทุกชั่วจะมีการรวบรวมข้อมูลด้านการเจริญเติบโตและคุณภาพผลิตผลเพื่อสร้างทองดิงสายพันธุ์แท้ แล้วนำเมล็ดทองดิงสายพันธุ์แท้ส่วนหนึ่งไปชักนำให้เกิดการทวีจำนวนโครโมโซมเป็นพันธุ์ใหม่ โดยเพาะเมล็ดให้เริ่มออกแล้วแช่สารละลาย Oryzalin ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ นาน 12-24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำต้นกล้าไปล้างน้ำก่อนนำไปปลูกทดสอบคัดเลือกต้นที่มีดอกขนาดใหญ่ขึ้น แต่กลีบดอกมีผิวสัมผัสและมีอายุการเริ่มให้ดอกสั้นเหมือนพันธุ์เริ่มต้น

ประโยชน์หรือผลที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ดองกิ่งสายพันธุ์แท้สำหรับตัดดอกที่ออกดอกได้เร็วและมีความหลากหลายของสีดอก
ซึ่งสามารถใช้เมล็ดในการเริ่มต้นกระบวนการผลิตได้อย่างยั่งยืน



ทฤษฎีและแนวคิดที่เกี่ยวข้อง

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ดองดิง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Gloriosa superba* Linn. [Synonyms: *G. simplex* L. (1767), *G. virescens* Lindl. (1825), *G. abyssinica* A.Rich. (1850), *G. carsonii* Baker. (1895), *Gloriosa minor* Rendle (1896), *G. baudii* (N.Terracc.) Chiov. (1916)] มีถิ่นกำเนิดในประเทศเซเนกัลไปทางตะวันออกสู่ประเทศเอธิโอเปียและโซมาเลีย และลงใต้สู่ประเทศอัฟริกาใต้ นอกจากนี้ยังพบในประเทศอินเดียและเอเชียอาคเนย์ *G. superba* มีจำนวนโครโมโซม $n=11$ โดย $2n=14, 22, 33, 44, 66, 77, 84, 88$ และ 90 (Dounias, 2006) ซึ่งดองดิงที่พบในประเทศไทย มีจำนวนโครโมโซม $2n=22$ แห่ง ส่วน *G. superba* 'Rothschildiana' (Syn. *G. rothschildiana* O' Brien) มีจำนวนโครโมโซม $2n=66$ แห่ง (สำเนา, 2541)

ในประเทศซึ่งเป็นถิ่นกำเนิดนั้น ดองดิงถูกใช้เป็นสมุนไพร แต่ปัจจุบันมีการปลูกดองดิงกันทั่วโลกเพื่อใช้เป็นไม้กระถางและไม้ตัดดอก

การปลูกและดูแลรักษา

ดองดิงเป็นพืชหัวซึ่งมีลำต้นเหนือดินที่จะแทงเหลือแต่หัวที่ปักหัวในฤดูแล้ง และหัวจะเติบโตอีกครั้งในฤดูฝน โดยแต่ละฤดูหัวเก่าจะแทงไปและจะเกิดหัวใหม่ 2 หัว น้ำหนักของหัวที่ต่างกันมีผลต่อขนาดและการเกิดกิ่งของต้นเหนือดิน

หัวที่งอกใหม่จะเริ่มออกดอกภายใน 5-8 สัปดาห์ โดยมีช่วงการให้ดอก 7 สัปดาห์ ก่อนที่ลำต้นเหนือดินที่จะแทงลง ซึ่งระยะจากที่เริ่มเห็นดอกตูมจนกระทั่งดอกบานจะใช้เวลา 2 สัปดาห์ ดอกจะพร้อมผสมหลังจากดอกบาน 1 วัน โดยเกสรเพศเมียจะอยู่ในระยะพร้อมผสม 4 วัน และเกสรเพศผู้จะถูกปลดปล่อยมาหลังจากเริ่มระยะพร้อมผสม 1 วัน แต่ละดอกภายในช่อเดียวกันจะบานห่างกัน 3 วัน ทั้งนี้ดอกที่ปลายช่อจะติดเมล็ดน้อยหรือไม่ติดเมล็ดเลย ผลจะแก่ภายใน 6-10 สัปดาห์หลังการถ่ายละอองเกสร เมล็ดถูกแพร่กระจายโดยสัตว์ (Dounias, 2006)

การขยายพันธุ์

การเพาะเมล็ดสามารถกระทำได้ที่หลังจากทำลายการพักตัวด้วยการเอาเยื่อสีแดง (Sarcotesta) ออก การแช่น้ำไหลไว้อพอย่างน้อยหนึ่งคืนเพื่อชะสลายยับยั้งการงอกออกจะช่วยทำลายการพักตัวของเมล็ดได้ จากนั้นเพาะเมล็ดด้วยวัสดุที่ระบายน้ำดี ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเมล็ดจะงอกใน 11-15 วัน แต่ต้นในฤดูแรกจะยังไม่ออกดอก ทั้งนี้ต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ดจะปราศจาก Gloriosa Stripe Mosaic Virus (Anonymous, 2011)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ตาจากส่วนของหัวจะมีอัตราการเพิ่มปริมาณที่สูงเมื่อใช้อาหารที่มีออกซินค่อนข้างสูง เมื่อเพาะเลี้ยงต้นที่ได้บนอาหารที่มี thiamine hydrochloride และ NaCl ในที่ซึ่งมีแสงสลัว จะทำให้ได้หัวขนาดจิ๋วภายใน 3-4 เดือน (Dounias, 2006)

การผสมพันธุ์ ดอกจะพร้อมผสมหลังจากดอกบาน 1 วัน จึงสามารถตอนเกสรเพศผู้ได้ทันทีเมื่อดอกเริ่มแย้ม เกสรเพศเมียจะอยู่ในระยะพร้อมผสม 4 วัน แต่เกสรเพศผู้จะถูกปลดปล่อยมาหลังจากเริ่มระยะพร้อมผสม 1 วัน ซึ่งบ่งชี้ว่า ต้องตั้งเป็นพืชผสมข้ามที่อาจผสมตัวเองบ้างตามธรรมชาติ การช่วยถ่ายละอองเกสรภายในต้นเดียวกัน (selfing) จะได้เมล็ดมากกว่าการติดเมล็ดตามธรรมชาติ (9.2 กรัม/ต้น เทียบกับ 4.3 กรัม/ต้น) (Dounias, 2006)

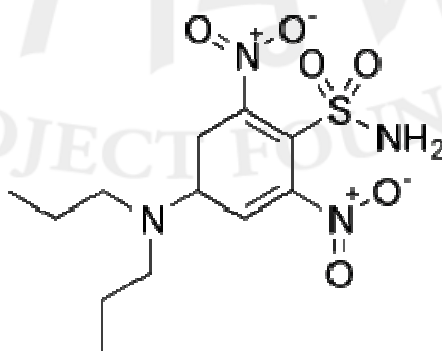
การผสมข้ามระหว่าง *Gloriosa superba* Linn. กับ *G. superba* 'Rothschildiana' ได้ลูกผสมที่มีจำนวนโครโมโซม 44 แท่ง (สำเร็จ, 2541) นอกจากนี้ยังมีรายงานการผสมข้ามสกุลกับ *Sandersonia aurantiaca* (Nakamura et al., 2005) และ *Littonia modesta* Z. (Kuwayama et al., 2005)

พันธุ์การค้า

พันธุ์ Rothschildiana เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันมากที่สุดเนื่องจากมีดอกขนาดใหญ่ พันธุ์ Lutea มีดอกขนาดเล็กสีเหลือง พันธุ์ Citrina มีดอกสีเหลืองแต้มสีแดงเข้ม และพันธุ์ Nana ซึ่งเป็นพันธุ์แคระเหมาะสำหรับใช้เป็นไม้กระถาง (Dounias, 2006)

Oryzalin

Oryzalin หรือ 4-(diisopropylamino)-3,5-dinitrobenzenesulfonamide ($C_{12}H_{18}N_4O_6S$) เป็นสารกำจัดวัชพืชที่ขัดขวางกระบวนการ depolymerization ของ microtubules ดังนั้นจึงตรึงการยืดยาวของเซลล์พืช (anisotropic growth) (Taiz, 2010)



กรรมวิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 งานปรับปรุงพันธุ์

1.1 งานผสมพันธุ์กลุ่มสีเหลือง

	ต้นแม่	ต้นพ่อ
คู่ผสมที่ 1	เหลืองอ่อนกลีบใหญ่	เหลืองกลีบเล็ก
คู่ผสมที่ 2	เหลืองกลีบเล็ก	เหลืองอ่อนกลีบใหญ่



ภาพที่ 1 ต้นเหลืองอ่อนกลีบใหญ่



ภาพที่ 2 ต้นเหลืองกลีบเล็ก

เมื่อได้ฝักลูกผสม จึงได้นำเมล็ดลูกผสมที่ได้มาปลูก เพื่อคัดเลือกต้นที่มีลักษณะดี คือ มีดอกสีเหลืองล้วน จำนวนดอกต่อช่อมาก กลีบดอกหนา แล้วจะทำการผสมตัวเองและปลูกคัดเลือก จนได้สายพันธุ์แท้ซึ่งมีดอกสีเหลือง ที่มีลักษณะคงตัว แล้วจึงนำไปขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด เพื่อให้ได้ต้นพันธุ์ปริมาณมากต่อไป

1.2 การคัดเลือกลูกผสมพันธุ์แท้

คัดเลือกต้นที่ปลูกจากเมล็ดซึ่งได้จากการผสมตัวเองของต้นที่มีสีและลักษณะกลีบดอกเป็นที่ต้องการจากสถานี อินทนนท์ โดยคัดต้นที่ออกดอกได้จากการปลูกหัวรุ่นที่ 2 (นับหัวที่เกิดจากเมล็ดเป็นรุ่นที่ 1) ดอกมีกลีบกว้าง ซึ่งมีสีแต้มปลายกลีบ และสีพื้นของกลีบต่างกัน 5 ต้นผสมเกสรในดอกเดียวกัน แล้วเก็บเมล็ดเพื่อปลูกดูความสม่ำเสมอในรุ่นต่อไป จนได้สายพันธุ์แท้ที่มีลักษณะคงตัว

การทดลองที่ 2 การชักนำให้เกิดการทวีจำนวนชุดโครโมโซมในดองดิงโดยใช้ Oryzalin

1. นำเมล็ดดองดิงที่คัดเลือกจากต้นลักษณะดีที่ผสมตัวเองไปเพาะให้งอก โดยนำเมล็ดแช่ในน้ำสะอาด 48 ชั่วโมง เปลี่ยนน้ำสะอาดทุก 24 ชั่วโมง

2. เมล็ดที่แช่น้ำแล้วนำไปเพาะในวัสดุเพาะ (midia: ขุยมะพร้าว ในอัตรา 1:1) พ่นน้ำพอชื้น
3. หลังจากเพาะ 2-3 สัปดาห์ คัดเมล็ดที่เริ่มงอก มาแช่สารละลาย 6 วิธี ดังนี้
 - 1) แช่ในน้ำสะอาด 24 ชั่วโมง
 - 2) แช่ในสารละลาย Oryzalin ความเข้มข้น 1,000 ppm แช่นาน 24 ชั่วโมง
 - 3) แช่ในสารละลาย Oryzalin ความเข้มข้น 2,000 ppm แช่นาน 24 ชั่วโมง
 - 4) แช่ในน้ำสะอาด 48 ชั่วโมง
 - 5) แช่ในสารละลาย Oryzalin ความเข้มข้น 1,000 ppm แช่นาน 48 ชั่วโมง
 - 6) แช่ในสารละลาย Oryzalin ความเข้มข้น 2,000 ppm แช่นาน 48 ชั่วโมง
4. ทำการทวีกำนวนชุดโครโมโซมเพื่อการคัดเลือก ด้วยการนำเมล็ดที่งอกแล้วจำนวน 2,610 เมล็ด มาแช่ในน้ำสะอาด 48 ชั่วโมง แช่ในสารละลาย Oryzalin ความเข้มข้น 2,000 ppm นาน 48 ชั่วโมง
5. นำเมล็ดที่ผ่านการทวีกำนวนชุดโครโมโซม มาปลูกเพื่อดูลักษณะต้นและดอกและคัดเลือกต้นที่มีลักษณะดีต่อไป

สถานที่ทดลองระยะเวลาทำการทดลอง

สถานีเกษตรหลวงปางดะ ตำบลสะเมิงใต้ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่
 เวลาดำเนินงาน 1 ปี เริ่มตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2558 สิ้นสุด 30 กันยายน 2559

มูลนิธิ

โครงการหลวง
 ROYAL PROJECT FOUNDATION

ผลและวิจารณ์การทดลอง

การทดลองที่ 1 งานปรับปรุงพันธุ์

1.1 งานผสมพันธุ์กลุ่มสีเหลือง

ความก้าวหน้าจากการทดลองเมื่อปี 2556 เมื่อปลูกหัวพันธุ์ลูกผสมระหว่างดองดิงสีเหลืองอ่อนกลีบใหญ่กับสีเหลืองกลีบเล็ก จำนวน 51 หัว มีต้นที่สามารถออกดอกได้ 13 ต้น แต่คัดเลือกต้นที่มีลักษณะดี คือ มีจำนวนดอกต่อช่อมาก กลีบดอกหนา ได้เพียง 1 ต้น จากนั้นจึงผสมตัวเองติดฝักอ่อนจำนวน 5 ฝัก (ภาพที่ 3) แล้วนำเมล็ดอ่อนที่ได้ไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ศูนย์ถ่ายทอดเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เพื่อหลีกเลี่ยงความเสี่ยงจากการเข้าทำลายโดย Cucumber Mosaic Virus ซึ่งถ่ายทอดผ่านเมล็ด ยากต่อการกำจัดเชื้อจากต้นที่ติดเชื้อ พบว่าเมล็ดมีการเจริญเติบโตแตกต่างกัน 3 รูปแบบ คือ

แบบที่ 1 จาก 1 เมล็ด อยู่ในระยะแตกกอมืออยู่ประมาณ 10 ต้น

แบบที่ 2 จาก 4 เมล็ด งอกเป็นต้นสูงประมาณ 4 นิ้ว ไม่มีการแตกกอ

แบบที่ 3 จาก 1 เมล็ด แตกกอ 10 ต้น สูงประมาณ 3 นิ้ว

ซึ่งได้ตัดแยกกอย้ายลงอาหารขุดใหม่จำนวน 1 ต้นต่อขุด เป็นที่เรียบร้อยแล้ว ได้ต้นทั้งหมด 100 ต้น (ภาพที่ 4) เมื่อต้นในขุดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญเติบโตได้ขนาดจึงนำต้นกล้าออกจากขุดเพื่อปลูกเลี้ยงอนุบาลที่สถานีฯ ปางตะ เมื่อวันที่ 4 กรกฎาคม 2559 (ภาพที่ 5) โดยปลูกในถาดหลุมที่มีวัสดุปลูกประกอบด้วย มีเดีย:ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 3:1 เมื่อปลูกเลี้ยงได้ระยะหนึ่ง จึงชุดหัวพันธุ์ เมื่อวันที่ 23 ตุลาคม 2559 ได้จำนวนหัวพันธุ์ทั้งหมด 38 หัว (จาก 100 ต้น) นำมาปลูกคัดเลือกได้ 7 หมายเลข จำนวน 14 หัว (ภาพที่ 6) โดยทยอยนำหัวพันธุ์ที่มีจุดเจริญเริ่มพัฒนามาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ



ภาพที่ 3 การผสมพันธุ์กลุ่มดอกสีเหลือง

ก- ลักษณะดอกดีที่คัดเลือกได้ ข-ค: ฝักของลูกผสมตัวเองนำไปขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ



ภาพที่ 4 การขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ก-ข: ลักษณะฝักและเมล็ดตอตั้ง

ค: การแตกกอของต้นกล้าที่งอกจาก 1 เมล็ด (แบบที่ 1)

ง: งอกเป็นต้นจากเมล็ดไม่มีการแตกกอ (แบบที่ 2)

จ: ลักษณะต้นกล้าที่ตัดแยกกอแล้ว (แบบที่ 3)

ปัจจุบันนำต้นออกขวดปลูกเลี้ยงอนุบาลได้จำนวนดังนี้

หมายเลข 1 สีแดงแต้มเหลือง		ได้จำนวน 14 ต้นกล้า
หมายเลข 2 ลูกผสมกลุ่มสีเหลือง แบ่งออกเป็น	สีเหลือง A	ได้จำนวน 28 ต้นกล้า
	สีเหลือง B	ได้จำนวน 16 ต้นกล้า
	สีเหลือง C	ได้จำนวน 26 ต้นกล้า
หมายเลข 5 สีแดงขอบเหลือง		ได้จำนวน 43 ต้นกล้า
หมายเลข 6 สีแดงขอบเหลืองกลีบใหญ่		ได้จำนวน 26 ต้นกล้า
หมายเลข 7 สีบานเย็นแต้มเหลือง		ได้จำนวน 19 ต้นกล้า



ภาพที่ 5 การรับต้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ



ภาพที่ 6 ตัวอย่างดอกดองดิงลูกผสมระหว่างดอกสีเหลืองอ่อนกลีบใหญ่กับ
ดอกสีเหลืองกลีบเล็กที่คัดเลือกได้



ภาพที่ 7 การอนุบาลต้นกล้าซึ่งอยู่ในช่วงการเจริญเติบโต



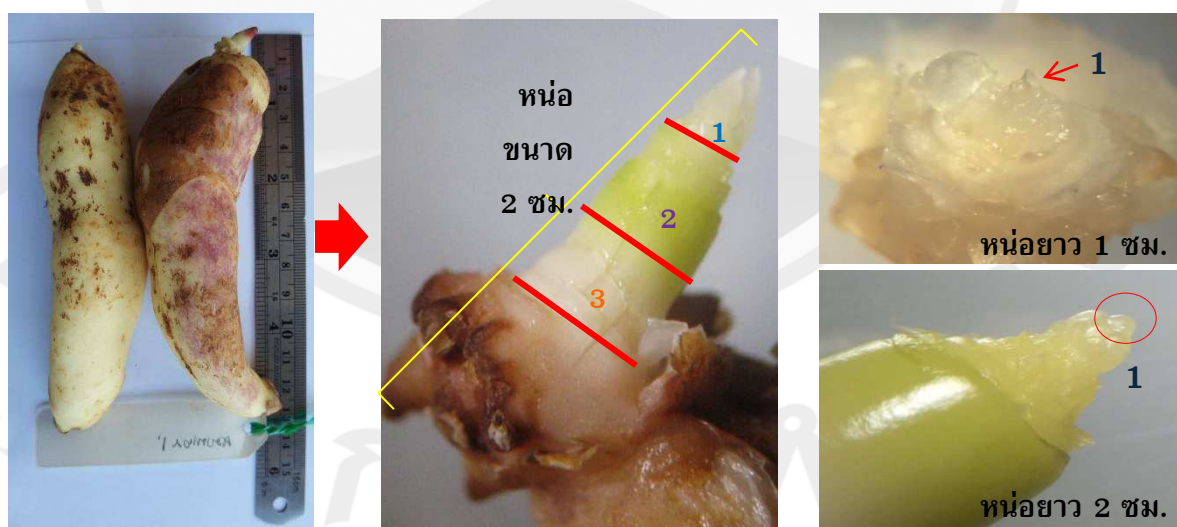
ภาพที่ 8 ลักษณะหัวจืดจากต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ส่วนคู่ผสมคู่ที่ 2 ระหว่างตอติงที่มีดอกสีเหลืองกลีบเล็กกับสีเหลืองอ่อนกลีบใหญ่ จำนวน 25 หัว สามารถออกดอกได้จำนวน 1 ต้น แต่ดอกที่ได้มีสีเหลืองปนสีแดงส้ม ไม่ได้มีสีเหลืองล้วนตามที่ต้องการ แสดงว่าการผสมตัวเอง อาจเกิดการปนเปื้อนของละอองเกสรจากต้นอื่น จึงได้ตัดทิ้ง

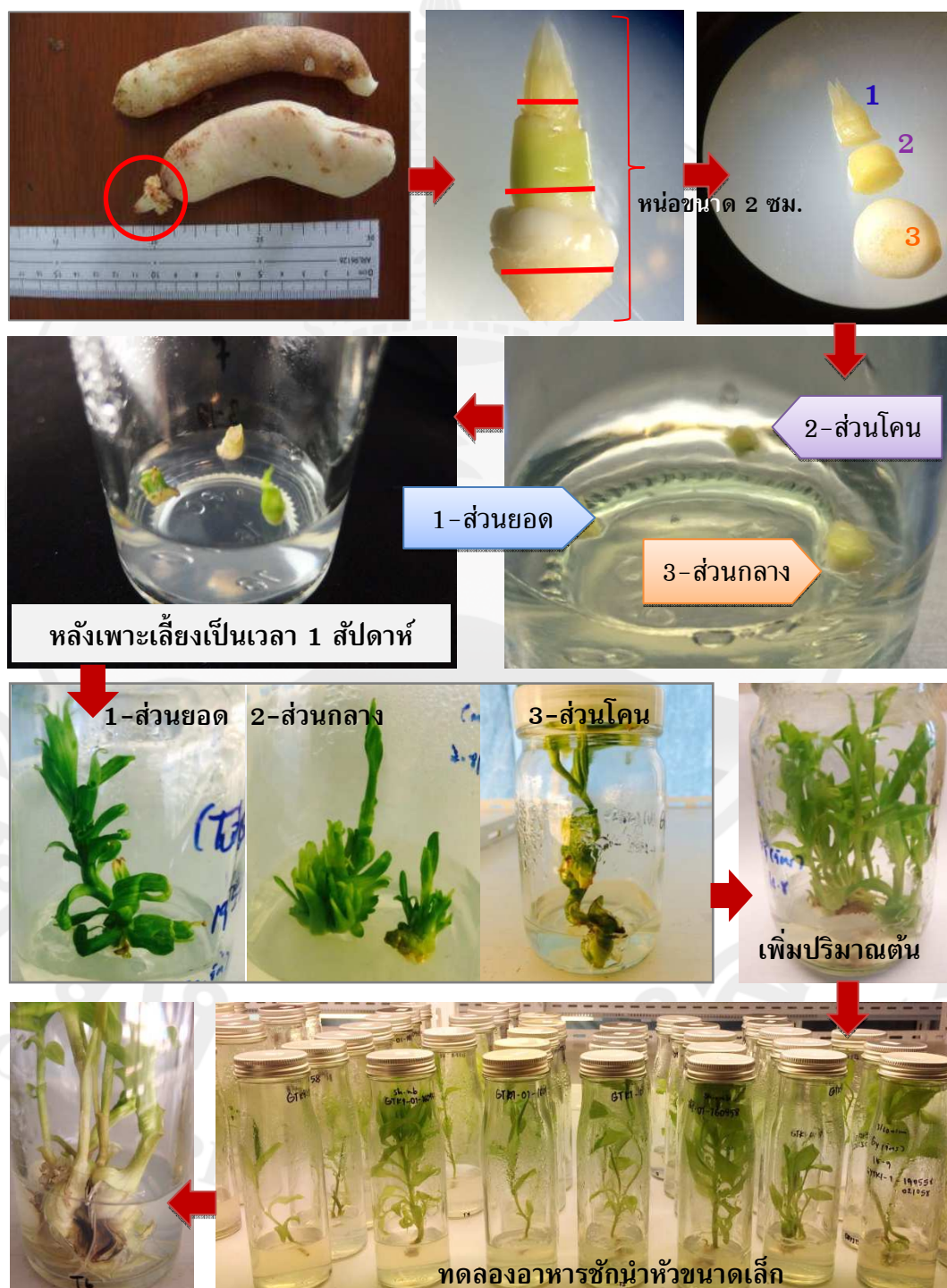
จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตอติง พบว่าการนำหน่อใหม่มาฟอกฆ่าเชื้อเข้าห้อง Lab ควรรอจนหน่อใหม่มีความยาวประมาณ 2 ซม. จะทำให้มีโอกาสดำเนินการปลอดเชื้อมากขึ้น และสามารถเพิ่มจำนวนได้เร็วขึ้นโดยการตัดแบ่งเป็น 3 ส่วนคือ

1. ส่วนยอด/เนื้อเยื่อเจริญ
2. ส่วนกลาง
3. ส่วนโคน

ทั้ง 3 ชิ้นส่วน สามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ทั้งสิ้น โดยต้องกระตุ้นด้วยไซโตไคนิน ตั้งแต่แรกเพื่อเพิ่มปริมาณซึ่งต้นจะตอบสนองได้ดีกว่า สามารถเพิ่มจำนวนต้นได้เร็วกว่า (ภาพที่ 9-10)



ภาพที่ 9 ลักษณะหน่อที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวน



ภาพที่ 10 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงดอสดองตึงดอกสีเหลือง

1.2 การคัดเลือกลูกผสมพันธุ์แท้

ในการทดลองปี 2555 ได้ผสมตัวเองของดองดิงซึ่งคัดเลือกจากต้นที่ปลูกจากเมล็ดผสมตัวเองของต้นที่มีลักษณะสีและกลีบดอกซึ่งเป็นที่ต้องการจากสถานีฯ อินทนนท์ โดยคัดเลือกเฉพาะดอกที่มีกลีบกว้าง ซึ่งมีสีแต้มปลายกลีบ และสีพื้นของกลีบต่างกัน 5 ต้น พบว่าไม่สามารถผสมให้ติดฝักได้ อาจเนื่องจากหัวพันธุ์มีขนาดเล็ก ส่งผลให้ดอกไม่สมบูรณ์ จึงนำหัวพันธุ์มาปลูกให้มีขนาดใหญ่ขึ้นในปี 2556 และผสมตัวเองซ้ำที่ 2 ได้ลูกผสมตัวเองที่สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มสีแดง-เหลือง จำนวน 2 ต้น (ภาพที่ 11) และกลุ่มสีส้ม-เหลือง จำนวน 1 ต้น จากนั้นจึงผสมตัวเองทั้ง 3 ต้น แต่ในกลุ่มสีแดง-เหลือง จาก 2 ต้น สามารถผสมตัวเองติดได้เพียง 1 ต้น ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มสี สามารถผสมตัวเองติดฝักได้กลุ่มละ 6 ฝัก โดยมีรายละเอียดดังนี้

กลุ่มสีแดง-เหลือง

ฝักที่ 1 ได้เมล็ดจำนวน	8 เมล็ด	ไม่มีเมล็ดที่งอกได้
ฝักที่ 2 ได้เมล็ดจำนวน	10 เมล็ด	ไม่มีเมล็ดที่งอกได้
ฝักที่ 3 ได้เมล็ดจำนวน	8 เมล็ด	ไม่มีเมล็ดที่งอกได้
ฝักที่ 4 ได้เมล็ดจำนวน	16 เมล็ด	ไม่มีเมล็ดที่งอกได้
ฝักที่ 5 ได้เมล็ดจำนวน	8 เมล็ด	จำนวนเมล็ดที่งอก 5 เมล็ด
ฝักที่ 6 ได้เมล็ดจำนวน	23 เมล็ด	จำนวนเมล็ดที่งอก 8 เมล็ด

ต้นที่งอกได้นำไปอนุบาลเพื่อให้ต้นเจริญเติบโตจนสร้างหัวจั่ว โดยต้นที่งอกจากฝักที่ 5 และ 6 สร้างหัวพันธุ์ได้เพียงฝักละ 2 หัว เท่านั้น และเมื่อนำมาปลูกเพิ่มจำนวนหัวพันธุ์ซึ่งเป็นรุ่นที่ 3 ปัจจุบันได้จำนวนหัวพันธุ์เพิ่มเป็น 14 หัว คัดลักษณะหัวที่สมบูรณ์ได้จำนวน 8 หัว ส่วนอีก 6 หัว ถูกทำลายโดยเชื้อราทำให้จุดเจริญเสียหาย ซึ่ง 8 หัวที่สมบูรณ์นี้ หลังจากนำไปปลูกได้ดอกจำนวน 3 ต้น แต่ผสมตัวเองไม่ติดเลย เนื่องจากหัวพันธุ์ที่นำมาปลูกทั้ง 8 หัว มีขนาดเล็ก ยังไม่ใช่ขนาดที่เหมาะสมกับการออกดอก จึงทำให้ดอกที่ได้ไม่สมบูรณ์ การผสมตัวเองจึงไม่ติด ขณะนี้ได้ชุดหัวพันธุ์ชุดนี้ขึ้นมาเก็บรักษาให้จุดเจริญงอกพร้อมปลูกครั้งต่อไปได้จำนวน 16 หัว ซึ่งมีขนาดใหญ่ขึ้น



ภาพที่ 11 ดองดิงลูกผสมตัวเองซ้ำที่ 2 กลุ่มดอกสีแดง-เหลือง

ก: ต้นที่ 1 ข: ต้นที่ 2



ภาพที่ 12 ดอกตังลูกผสมตัวเองชั่วที่ 3 กลุ่มดอกสีส้ม-เหลือง
 ก: ลักษณะการผสมตัวเอง ข: การติดฝัก ค: ลักษณะเมล็ดลูกผสม



ภาพที่ 13 ลักษณะต้นลูกผสมตัวเองชั่ว 3 รุ่นที่ 3 ที่หัวพันธุ์ยังไม่สมบูรณ์จึงทำให้ได้ดอกที่ไม่
 สมบูรณ์ จึงผสมพันธุ์ไม่ติด



ภาพที่ 14 ลักษณะของหัวพันธุ์ลูกผสมตัวเองรุ่นที่ 4 ของต้นที่ 1 และ 2



ภาพที่ 15 ลักษณะต้นกล้าลูกผสมตัวเองช่วงที่ 3 หัวรุ่นที่ 1



ภาพที่ 16 หัวพันธุ์ต้องตั้งลูกผสมตัวเองช่วงที่ 3 กลุ่มสีแดง-เหลือง
รุ่นที่ 3 ต้นที่ 1

กลุ่มสีส้ม-เหลือง

ฝักที่ 1 ได้เมล็ดจำนวน 27 เมล็ด จำนวนเมล็ดที่งอก 12 เมล็ด สร้างหัวพันธุ์ได้ 5 หัว
 ฝักที่ 2 ได้เมล็ดจำนวน 28 เมล็ด จำนวนเมล็ดที่งอก 15 เมล็ด สร้างหัวพันธุ์ได้ 7 หัว
 ฝักที่ 3 ได้เมล็ดจำนวน 26 เมล็ด จำนวนเมล็ดที่งอก 10 เมล็ด สร้างหัวพันธุ์ได้ 4 หัว
 ฝักที่ 4 ได้เมล็ดจำนวน 20 เมล็ด จำนวนเมล็ดที่งอก 8 เมล็ด สร้างหัวพันธุ์ได้ 5 หัว
 ฝักที่ 5 ได้เมล็ดจำนวน 23 เมล็ด จำนวนเมล็ดที่งอก 11 เมล็ด สร้างหัวพันธุ์ได้ 4 หัว
 ฝักที่ 6 ได้เมล็ดจำนวน 15 เมล็ด จำนวนเมล็ดที่งอก 7 เมล็ด สร้างหัวพันธุ์ได้ 2 หัว
 จากหัวพันธุ์ทั้งหมดที่ได้ในกลุ่มนี้ มีหัวจืดที่เริ่มงอกแล้วนำไปปลูกรุ่นที่ 1 ได้ จำนวน 8 หัว เมื่อเก็บรักษาหัวพันธุ์ที่ยังไม่ได้งอก แล้วนำมาปลูกเพื่อสร้างหัวพันธุ์ให้ได้ขนาดที่สามารถออกดอกได้ ซึ่งอยู่ในรุ่นที่ 3 ของลูกผสมตัวเองชั่วที่ 3 ซึ่งได้จำนวนหัวพันธุ์ 54 หัว

จากหัวพันธุ์ 54 หัว คัดเลือกหัวพันธุ์ที่สมบูรณ์นำไปปลูกได้จำนวน 28 หัว อีก 26 หัว หัวพันธุ์ไม่สมบูรณ์ เกิดการเน่าและจุดเจริญแห้ง ซึ่ง 28 หัวนี้เป็นรุ่นที่ 4 ของลูกผสมตัวเองชั่วที่ 3 และจาก 28 หัว เมื่อปลูกแล้ว สามารถให้ดอกได้เพียง 5 ต้น แต่ผสมตัวเองชั่วที่ 4 ได้เพียง 2 ต้น โดยต้นที่ 1 ได้เมล็ดจำนวน 58 เมล็ด ต้นที่ 2 ได้ 100 เมล็ด ขณะนี้อยู่ระหว่างการงอก



ภาพที่ 17 ลักษณะต้นและดอกของดิงลูกผสมตัวเองชั่วที่ 3 หัวรุ่นที่ 3 ส้ม-เหลือง



ภาพที่ 18 หัวพันธุ์ดองดิงลูกผสมตัวเองชั่วที่ 3 กลุ่ม ส้ม-เหลือง ต้นที่ 2

อีกส่วนหนึ่งนำเมล็ดจากศูนย์ฯ แกนน้อยมาเพาะ และคัดเลือกลักษณะต้นที่ดีมี 4 กลุ่มสี และได้ผสมตัวเอง แล้วนำเมล็ดลูกผสมตัวเองชั่วที่ 1 มาเพาะ แต่ต้นกล้าที่ได้ไม่สมบูรณ์ เนื่องจากติดเชื้อไวรัส จึงได้ทำลายทิ้ง

การทดลองที่ 2 การชักนำให้เกิดการทวีจำนวนชุดโครโมโซมในดองดึงโดยใช้ Oryzalin

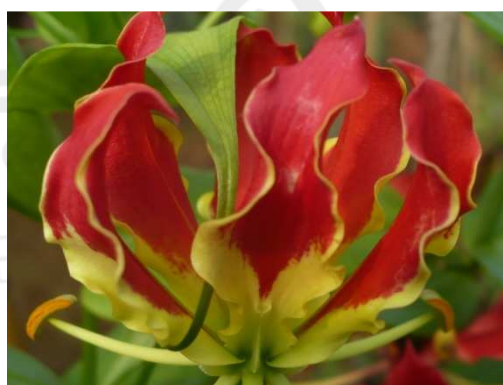
จากการทดลองชักนำให้เกิดการทวีจำนวนชุดโครโมโซมเพื่อการคัดเลือกในปี 2555 พบว่า การแช่ในสารละลาย Oryzalin ที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น และใช้เวลาในการแช่นานขึ้น ได้ทำให้อัตราความงอกลดลง ซึ่งหากพิจารณาความเข้มข้นของสารละลายที่ระดับเดียวกัน พบว่า เมื่อแช่ในสารละลายนานขึ้นจาก 24 ชั่วโมง เป็น 48 ชั่วโมง ได้ทำให้อัตราความงอกลดลงเกือบครึ่งหนึ่ง และค่า LD_{50} ในการแช่เมล็ดในสารละลาย Oryzalin คือ แช่สารละลาย Oryzalin เข้มข้น 2,000 มก./ล. นาน 48 ชั่วโมง เมื่อสังเกตลักษณะของต้นกล้าที่ผ่านการแช่เมล็ดในสารละลาย Oryzalin พบว่า มีลักษณะผิดปกติเกิดขึ้น คือ ขอบปล้องสั้น ใบใหญ่ กลมหนา สีเขียวเป็นมัน จำนวน 23 หัว เมื่อนำมาปลูกเพื่อประเมินความคงตัวของลักษณะผิดปกติ ก่อนนำไปนับจำนวนโครโมโซมนั้น ขณะนี้มีจำนวน 3 ต้น ที่ให้ดอก แต่คัดเลือกต้นที่มีลักษณะดีได้เพียง 2 ต้น (ภาพที่ 19) จึงผสมตัวเองทั้ง 2 ต้น แต่ติดเมล็ดเพียง 1 ต้น ได้จำนวน 3 ผล โดยมีรายละเอียดดังนี้

ฝักที่ 1 ได้เมล็ดจำนวน 10 เมล็ด ไม่มีเมล็ดที่งอก

ฝักที่ 2 ได้เมล็ดจำนวน 14 เมล็ด จำนวนเมล็ดที่งอก 4 เมล็ด สร้างหัวพันธุ์ได้ 1 หัว

ฝักที่ 3 ได้เมล็ดจำนวน 8 เมล็ด ไม่มีเมล็ดที่งอก

นำหัวพันธุ์จากฝักที่ 2 ไปปลูก ซึ่งขณะนี้อยู่ในระหว่างการเจริญเติบโต



ภาพที่ 19 ลักษณะดอกดองดึงที่ดี จากต้นที่ผ่านการแช่เมล็ดในสารละลาย Oryzalin

จากการทดลองปีที่แล้ว ฝักที่ 2 ได้เมล็ดจำนวน 14 เมล็ด แต่งออกเพียง 4 เมล็ด และสร้างหัวพันธุ์เพียง 1 หัวนั้น ได้นำหัวพันธุ์นี้ปลูกต่อเพื่อเพิ่มขนาดหัวพันธุ์ ซึ่งให้ดอกดังภาพที่ 20

ซึ่งได้นำไปขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อหลีกเลี่ยงความเสี่ยงจากการเข้าทำลายโดย Cucumber Mosaic Virus ได้ต้นกล้าจำนวน 18 ต้น อยู่ระหว่างการเจริญเติบโตในโรงเรือนอนุบาล



ภาพที่ 20 ลักษณะดอกตองติงจากต้นที่ผ่านการแช่เมล็ดในสารละลาย Oryzalin

มูลนิธิ

โครงการหลวง
ROYAL PROJECT FOUNDATION

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

การปรับปรุงพันธุ์

ส่วนการคัดเลือกลูกผสมตัวเองกลุ่มสีแดง-เหลืองชั่วที่ 3 ปัจจุบันได้หัวพันธุ์เพิ่มเป็น 14 หัว กลุ่มสีส้ม-เหลือง ชั่วที่ 3 เช่นกัน ได้หัวพันธุ์จำนวน 54 หัว

จากหัวพันธุ์ 54 หัว คัดเลือกหัวพันธุ์ที่สมบูรณ์นำไปปลูกได้จำนวน 28 หัว อีก 26 หัว หัวพันธุ์ไม่สมบูรณ์ เกิดการเน่าและจุดเจริญแห้ง ซึ่ง 28 หัวนี้เป็นรุ่นที่ 4 ของลูกผสมตัวเองชั่วที่ 3 และจาก 28 หัว เมื่อปลูกแล้ว สามารถให้ดอกได้เพียง 5 ต้น แต่ผสมตัวเองชั่วที่ 4 ได้เพียง 2 ต้น โดยต้นที่ 1 ได้เมล็ดจำนวน 58 เมล็ด ต้นที่ 2 ได้ 100 เมล็ด ขณะนี้อยู่ระหว่างการเพาะให้งอก

อีกส่วนหนึ่งนำเมล็ดจากศูนย์ฯ แกนน้อยมาเพาะ และคัดเลือกลักษณะต้นที่ดีมี 4 กลุ่มสี และได้ผสมตัวเอง แล้วนำเมล็ดลูกผสมตัวเองชั่วที่ 1 มาเพาะ แต่ต้นกล้าที่ได้ไม่สมบูรณ์ เนื่องจากติดเชื้อไวรัส จึงได้ทำลายทิ้ง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตอติงที่คัดเลือกไว้ เพื่อหลีกเลี่ยงความเสี่ยงจากการเข้าทำลายโดย Cucumber Mosaic Virus นั้น ควรนำหน่อใหม่ความยาวประมาณ 2 ซม. มาฟอกฆ่าเชื้อ จะทำให้มีโอกาสได้ต้นปลอดเชื้อมากขึ้น และสามารถเพิ่มจำนวนได้เร็วขึ้น โดยการตัดแบ่งเป็น 3 ส่วนคือ ส่วนยอด/เนื้อเยื่อเจริญ ส่วนกลาง และส่วนโคน แล้วชักนำให้เกิดต้นใหม่ด้วยการกระตุ้นด้วยไซโตไคนิน ตั้งแต่แรก เพื่อเพิ่มปริมาณซึ่งต้นจะตอบสนองได้ดีกว่า โดยสามารถเพิ่มจำนวนต้นได้เร็วกว่า

การชักนำให้เกิดการทวีจำนวนชุดโครโมโซมในตอติงโดยใช้ Oryzalin

การนำต้นตอติงที่ออกจากเมล็ดที่ผ่านการแช่สารละลาย Oryzalin ในปิ๊งประมาณ 2556 แล้วแสดงอาการผิดปกติ มาปลูกเพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงของลักษณะดอก พบต้นที่มีลักษณะดี จึงได้คัดเลือกไว้และผสมตัวเองจนได้เมล็ดพันธุ์ นำไปปลูก แต่งอกและสร้างหัวพันธุ์เพียง 1 หัวเท่านั้น ซึ่งอาจเป็นผลจากการเข้าทำลายของ Cucumber Mosaic Virus จึงได้นำหัวพันธุ์นี้ปลูกต่อเพื่อเพิ่มขนาดหัวพันธุ์ ปลูกและพบว่ามียลักษณะดอกที่ดี จึงได้นำไปขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้ว เพื่อหลีกเลี่ยงความเสี่ยงจากการเข้าทำลายโดย Cucumber Mosaic Virus

เอกสารอ้างอิง

สำเร็จ สีเครื่องดง. 2541.. การผสมพันธุ์ข้ามชนิดและการเลี้ยงออกลูกของลูกผสมระหว่างดองดิ่ง
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาพฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. แหล่งที่มา :
<http://cuir.car.chula.ac.th/handle/123456789/9763>. 29 มีนาคม 2553.

Anonymous. 2011. Gloriosa. Available source :

<http://home.xtra.co.nz/hosts/GHEL/Gloriosa.htm>. March 29, 2010.

Dounias E. 2006. *Gloriosa superba* L. [Internet] Record from Protabase. Schmelzer, G.H. & Gurib-Fakim, A. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa/Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands.

Available source : http://database.prota.org/dbtw-wpd/exec/dbtwpub.dll?AC=QBE_QUERY&BU=http://database.prota.org/search.htm&TN=PROTAB~1&QB0=AND&QF0=Species+Code&QI0=Gloriosa+superba&RF=Webdisplay. March 29, 2010.

Kuwayama, S., Y. Mizuta, M. Nakano, T. Nakamura and T. Oomiya. 2005. Cross-compatibility in interspecific and intergeneric hybridization among the Colchicaceous ornamentals, *Gloriosa* spp., *Littonia modesta* and *Sandersonia aurantiaca*. Acta Hort. 673: 422-425.

Nakamura, T., S. Kuwayama, S. Tanaka, T. Oomiya, H. Saito and M. Nakano. 2005. Production of intergeneric hybrid plants between *Sandersonia aurantiaca* and *Gloriosa rothschildiana* via ovule culture (Colchicaceae). Euphytica. 142: 283-289. Available source:

<http://www.springerlink.com/content/qw70hk4k78813510/>. 29 March 2010.

Taiz, L. 2010. Zeiger. E. Plant Physiology, 5/e. p. 443-444. Available source:

<http://en.wikipedia.org/wiki/Oryzalin>. 22 March 2013.