

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. **ชุดโครงการวิจัย** วิจัยและพัฒนาพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ
2. **โครงการวิจัย** วิจัยและพัฒนาพืชสมุนไพรและเครื่องเทศที่มีศักยภาพ
กิจกรรม ศึกษาเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิตพืชสมุนไพรตามการใช้ประโยชน์
กิจกรรมย่อย การศึกษาเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิตอัญชันเชิงการค้า
3. **ชื่อการทดลอง** การคัดเลือกและเปรียบเทียบพันธุ์อัญชัน^{1/}
 Varietal Selection and Comparison of Butterfly Pea (*Clitoria ternatea* L.)
4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

หัวหน้าการทดลอง นายจรูญ ดิษฐไชยวงศ์	สังกัด ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร
ผู้ร่วมงาน	
นางสาวมัลลิกา รักษ์ธรรม	สังกัด ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร
นางสุภาภรณ์ สาชาติ	สังกัด สถาบันวิจัยพืชสวน
นายเสงี่ยม แจ่มจำรูญ	สังกัด ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร

5. บทคัดย่อ

ปี 2554-2557 ปรับปรุงอัญชันพันธุ์ปลูกทั่วไป แบบคัดเลือกสายพันธุ์บริสุทธิ์ เพื่อให้ได้สายพันธุ์แท้ที่มีความคงตัวทางพันธุกรรม ในด้านผลผลิต ปริมาณแอนโธไซยานิน สีดอก และลักษณะกลีบดอก ปลูกคัดเลือกและเปรียบเทียบสายพันธุ์ในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร จำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอด้วยเทคนิคโมเลกุลเครื่องหมายที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น วิเคราะห์หาปริมาณแอนโธไซยานินที่คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อัญชันดอกสีน้ำเงินที่ผ่านการคัดเลือก 4 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ 7-1-16, 14-2-2, 18-2-5 และ 13 เปรียบเทียบกับพันธุ์ปลูกทั่วไปพบว่า สายพันธุ์ 14-2-2, 13 และ 18-2-5 ให้ปริมาณแอนโธไซยานินสูงสุด 74.7, 74.0 และ 72.5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักดอกสด 100 กรัม สูงกว่าพันธุ์ปลูกทั่วไป ร้อยละ 12, 11 และ 9 ตามลำดับ สายพันธุ์ 7-1-16 ให้ค่าเฉลี่ยผลผลิตดอกสดสูงสุด 1,639 กิโลกรัมต่อไร่ ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสายพันธุ์ 13 และพันธุ์ปลูกทั่วไป ซึ่งให้ผลผลิตดอกสดรองลงมาคือ 1,150 และ 1,144 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ทั้ง 4 สายพันธุ์ มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมร้อยละ 98-99 อัญชันทั้ง 4 สายพันธุ์และพันธุ์ปลูกทั่วไป มีความแตกต่างกันทางสถิติของขนาดใบ ใบย่อย และมีความแตกต่างกันของลักษณะกลีบดอก

^{1/}รหัสการทดลอง 01-31-54-06-03-01-01-54

6. คำนำ

อัญชัน (Asian pigeon wings, butterfly pea, blue pea) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Clitoria ternatea* L. พืชวงศ์ถั่ว (Fabaceae) เป็นพืชล้มลุก ตามธรรมชาติจะงอกจากเมล็ดในฤดูฝน สีของดอกซึ่งมีทั้งชนิดดอกสีขาวและดอกสีน้ำเงิน กลีบดอกมีทั้งชนิดชั้นเดียวและดอกซ้อน ออกดอกเกือบตลอดปี ในพันธุ์ปลูกทั่วไป (common cultivar) ยังมีความแปรปรวนทางพันธุกรรม ความแปรปรวนที่พบได้แก่ ปริมาณสารสำคัญ ผลผลิต สีดอก และลักษณะกลีบดอก โดยทั่วไปมักนึกถึงอัญชันดอกสีน้ำเงิน สีจากดอกอัญชัน มีสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) มักพบการใช้ประโยชน์ของดอกอัญชันเป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบางชนิด และใช้สีจากดอกเป็นส่วนผสมในขนมและอาหาร หรือใช้ดอกแห้งชงเป็นเครื่องดื่ม ดอกนำมาตำเป็นยาพอก หรือคั้นน้ำมาใช้ทาแก้ฟกช้ำ แก้พิษแมลงกัดต่อย และใช้สระผมเป็นยาแก้ผมร่วง (พิชานันท์, 2557) อัญชันเป็นพืชกลุ่มผสมตัวเอง (self-pollinated crop) ในธรรมชาติมีการผสมข้ามโดยแมลง ในประชากรพืชผสมตัวเองที่ไม่มีการผสมสายพันธุ์ พืชเกือบทั้งหมดของประชากรจะประกอบด้วยสายพันธุ์แท้ที่หลากหลาย ถึงแม้จะมีการผสมข้ามได้บ้าง หรือเกิดการกลายพันธุ์ของยีนโดยธรรมชาติ สายพันธุ์เหล่านี้จะกลับเข้าสู่สภาพคงตัวทางพันธุกรรมในที่สุด (กฤษฎา, 2546) การปรับปรุงพันธุ์พืชผสมตัวเอง จึงเน้นไปที่การปรับปรุงสายพันธุ์แท้ เพื่อนำไปใช้โดยตรงหรือผลิตพันธุ์ลูกผสม เมื่อมีระบบการผสมข้ามพันธุ์ที่เหมาะสม (กฤษฎา, 2546) การปรับปรุงสายพันธุ์ เพื่อลดความแปรปรวนของสีดอกและลักษณะกลีบดอก โดยนำเมล็ดอัญชันพันธุ์ปลูกทั่วไปมาปลูกคัดเลือกสายพันธุ์บริสุทธิ์ (pure line selection) โดยการคัดเลือกต้นเดี่ยว (single plant) ผสมตัวเอง เก็บเมล็ด นำเมล็ดจากต้นที่ผ่านการคัดเลือกมาปลูกคัดเลือกซ้ำ ได้สายพันธุ์แท้ (pure line) จากนั้นนำสายพันธุ์แท้ที่ผ่านการคัดเลือกมาปลูกเปรียบเทียบกับพันธุ์ปลูกทั่วไป สายพันธุ์แท้ที่ผ่านการเปรียบเทียบและทดสอบพันธุ์ เป็นพันธุ์ที่มีความสม่ำเสมอ (uniform cultivar) ในด้านผลผลิต ปริมาณสารสำคัญ สีดอก และลักษณะกลีบดอก จะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้ผลิตสมุนไพรอัญชันเป็นการค้า

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

เมล็ดอัญชันพันธุ์ปลูกทั่วไป ชนิดดอกสีขาวจากจังหวัดระยอง และชนิดดอกสีน้ำเงินจากจังหวัดระยอง และกรุงเทพฯ ไม้ค้ำ มุ้งทรงสี่เหลี่ยมขนาดกว้าง 1.50 เมตร ยาว 1.50 เมตร และสูง 2.50 เมตร ปุ๋ยคอก เชือกพลาสติก สารฆ่าแมลง เดลตาเมทริน (deltamethrin) และป้ายแปลง

- วิธีการ

ปลูกและคัดเลือกอัญชันสายพันธุ์แท้ (pure line) ใช้วิธี คัดเลือกสายพันธุ์บริสุทธิ์ ทำการคัดแยกสายพันธุ์ โดยคัดเลือกต้นที่ออกดอกเร็ว ผลผลิตสูง และให้ปริมาณแอนโทไซยานิน (anthocyanin) สูงสุด หรือไม่น้อยกว่า 70 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักดอกสด 100 กรัม ผสมตัวเอง (self

pollination; S) โดยใช้มุ้งคลุมต้นเดี่ยวๆ ทั้งต้น เก็บเมล็ดแยกต้น ขั้นตอนการคัดเลือกสายพันธุ์แท้ ดังนี้ (ภาพ 1)

ปี 2554

- ปลูกอัญชันชนิดดอกสีขาว 40 ต้น และชนิดดอกสีน้ำเงิน 40 ต้น คัดเลือกต้นเดี่ยว ผสมตัวเอง เก็บเมล็ดแยกต้น ได้เมล็ดเป็นสายพันธุ์ (line) ใหม่ S_1 ชนิดดอกสีขาว 5 สายพันธุ์ ชนิดดอกสีน้ำเงิน 20 สายพันธุ์

ปี 2555

- ปลูกประเมินสายพันธุ์อัญชันดอกสีน้ำเงิน วางแผนการทดลองแบบ RCB ปลูก S_1 20 สายพันธุ์ๆ ละ 1 ต้น ทำ 5 ซ้ำ รวม 100 ต้น คัดเลือกต้น ผสมตัวเอง เก็บเมล็ดแยกต้น ได้เมล็ด S_2 7 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ 7-1, 7-3, 7-4, 7-5, 14-2, 18-1 และ 18-2
- ปลูก S_2 7 สายพันธุ์ แบบต้นต่อแถวและคัดต้นที่ดี ให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด 3 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ 7-1, 14-2 และ 18-2 ผสมตัวเอง เก็บเมล็ดแยกต้น ได้เมล็ด S_3 4 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ 7-1-4, 7-1-16, 14-2-2 และ 18-2-5
- ปลูกอัญชันพันธุ์ผสมเปิด S_0 เพิ่มเติมอีก 24 ต้น คัดเลือกต้น ให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด ได้ 1 ต้น ผสมตัวเอง เก็บเมล็ดแยกต้น ได้เมล็ด S_1 คือ สายพันธุ์ 13

ปี 2556

- ปลูกประเมินสายพันธุ์อัญชันดอกสีน้ำเงิน วางแผนการทดลองแบบ RCB ปลูก S_3 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 7-1-4, 7-1-16, 14-2-2 และ 18-2-5 และ S_1 1 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ 13 ปลูกสายพันธุ์ละ 1 ต้น ทำ 5 ซ้ำ คัดเลือกต้นที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด
- เก็บตัวอย่างใบอัญชัน 5 สายพันธุ์คือ S_3 4 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ 7-1-4, 7-1-16, 14-2-2 และ 18-2-5 และ S_1 1 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ 13 นำมาจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรม ในระดับดีเอ็นเอด้วยเทคนิคโมเลกุลเครื่องหมาย

ปี 2557

- วางแผนการทดลองแบบ RCB อัญชันดอกสีน้ำเงิน 4 สายพันธุ์ และพันธุ์ปลูกทั่วไป 1 พันธุ์ ทำ 4 ซ้ำ รวม 5 กรรมวิธี คือ
 1. สายพันธุ์ 7-1-16
 2. สายพันธุ์ 14-2-2
 3. สายพันธุ์ 18-2-5
 4. สายพันธุ์ 13
 5. พันธุ์ปลูกทั่วไป

เตรียมแปลงปลูกขนาด 3×3 เมตร ปลูก 1 ต้นต่อหลุม ระยะปลูก 1×1 เมตร เก็บผลผลิต 9 ต้นต่อพื้นที่เก็บเกี่ยว 9 ตารางเมตร

ระยะเวลา	ขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์	สถานที่ดำเนินการ
ปี 2554	อัญชันพันธุ์ปลูกทั่วไป ดอกสีขาว 40 ต้น (S_0)	ศวพ.พิจิตร
	↓ S_1 5 สายพันธุ์	
ปี 2555	อัญชันพันธุ์ปลูกทั่วไป ดอกสีน้ำเงิน 40 ต้น (S_0)	ศวพ.พิจิตร
	↓	
	ประเมินพันธุ์ S_1 20 สายพันธุ์	
	↓	
	S_2 7 สายพันธุ์ 74 ต้น	
	↓	
ปี 2556	S_3 4 สายพันธุ์	ศวพ.พิจิตร
	↓	
	อัญชันพันธุ์ปลูกทั่วไป ดอกสีน้ำเงิน 24 ต้น (S_0)	
	↓	
ปี 2557	S_1 1 สายพันธุ์	ศวพ.พิจิตร
	↓	
ปี 2556	ประเมินพันธุ์ S_3 4 สายพันธุ์ + S_1 1 สายพันธุ์	ศวพ.พิจิตร
ปี 2557	เปรียบเทียบพันธุ์ S_3 3 สายพันธุ์ + S_1 1 สายพันธุ์	ศวพ.พิจิตร
	+ พันธุ์ปลูกทั่วไป 1 พันธุ์	
	↓	
	สายพันธุ์แท้ 3 สายพันธุ์ คือ 14-2-2, 18-2-5 และ 13	

ภาพ 1 แผนภูมิขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์อัญชันแบบ Pure line selection

การปลูกและดูแลรักษา เตรียมกล้า โดยแช่เมล็ดในน้ำสะอาดทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง นำเมล็ดขึ้นมาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม เพาะเมล็ดในถาดหลุมที่มีดินพรุ (peat) เป็นวัสดุเพาะ ดูแลรักษาจนกระทั่งกล้ามีใบจริง 2 ใบ จึงย้ายปลูกแบบแถวเดี่ยว ปลูกบนแปลงใหญ่ ยกแปลงสูง 20 เซนติเมตร ปรับผิวแปลงให้สม่ำเสมอ ระยะห่างระหว่างต้น 2 เมตร ระหว่างแถว 2 เมตร ขุดหลุมปลูกขนาด $15 \times 15 \times 15$ เซนติเมตร รองพื้นก่อนปลูกด้วยปุ๋ยคอกอัตรา 500 กรัมต่อหลุม ปลูก 1 ต้น/หลุม ย้ายกล้าวางที่ก้นหลุมให้ลึกประมาณ 5 เซนติเมตร กลบดินที่เหลือลงในหลุม กดดินบริเวณโคนต้นพอแน่น ทำค้ำแบบกระโจม ประกอบด้วยไม้รวกทำค้ำ 5 อันต่ออัญชัน 1 ต้น สูงจากพื้นดิน 2.5 เมตร ให้น้ำ

ตามปกติ กำจัดวัชพืชหลังปลูกเดือนละครั้ง และใช้สารเดลทาเมทริน พ่นป้องกันกำจัดหนอนเจาะดอก และฝัก

นำสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือก มาจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอด้วยเทคนิคโมเลกุลเครื่องหมาย สกัดดีเอ็นเอใช้วิธีการของ Li and Midmore (Li and Midmore, 1999)

การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินในดอกสด ดัดแปลงจาก estimation of total anthocyanin method ของ Ranganna (1977) โดยนำกลีบดอกสดหนัก 1 กรัม หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลาย ethanolic HCl (เตรียมจาก 95% ethanol : 1.5 N HCl ในอัตราส่วน 85 : 15) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำสารละลายที่สกัดได้มากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 และปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย ethanolic HCl จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานินรวม (total anthocyanin) มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด (mg/100g fresh weight) โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

$$\text{Total anthocyanin} = \frac{\text{OD at 535 nm} \times \text{final volume (ml)} \times 100}{\text{Weight (g)} \times 98.2}$$

การบันทึกข้อมูล บันทึกอายุออกดอก 50% ผลผลิตดอกสด ปริมาณแอนโทไซยานิน ลักษณะกลีบดอก และขนาดใบ (ค่าเฉลี่ย 9 ใบ) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางสถิติใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

- เวลาและสถานที่

ระยะเวลา: เริ่มต้น ปี 2554 สิ้นสุด ปี 2557

สถานที่: แปลงทดลองในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร

ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวและสรีรวิทยาของพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

ปี 2554 ปลูกอัญชันดอกสีขาว (S₀) 40 ต้น เก็บผลผลิต 73 ครั้ง คัดเลือกได้ 5 ต้นคือ ต้นที่ 1, 21, 22, 23 และ 29 ทั้ง 5 ต้น ให้ค่าเฉลี่ยอายุออกดอกหลังปลูก 42 วัน ผลผลิตดอกสด 3.54

กิโลกรัมต่อต้น และปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน 1.21 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักดอกสด 100 กรัม (ตาราง 1) ผสมตัวเอง เก็บเมล็ด ได้เมล็ด S_1

ตาราง 1 อายุออกดอก ผลผลิต และปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน ในอัญชันชนิดดอกสีขาว S_0 ปลุกในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ปี 2554

ต้น (S_0)	ออกดอก 50% หลังปลุก(วัน)	นน.ดอกสด (กก./ต้น)	ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน (มก/นน.ดอกสด 100 กรัม)
1	44	2.76	1.40
21	37	3.44	1.16
22	37	4.38	1.14
23	42	3.83	1.03
29	49	3.29	1.32
ค่าเฉลี่ย	42	3.54	1.21

วันปลุก 4 พฤษภาคม 2554 วันเก็บเกี่ยว 17 มิถุนายน-31 สิงหาคม 2554

ปลุกอัญชัน (S_0) 40 ต้น คัดเลือกต้นชนิดดอกสีน้ำเงินได้ 20 ต้น ให้ค่าเฉลี่ยอายุออกดอกหลังปลุก 30 วัน ผลผลิตดอกสด 3.53 กิโลกรัมต่อต้น และปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน 75.7 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักดอกสด 100 กรัม (ตาราง 2) ผสมตัวเอง เก็บเมล็ด ได้เมล็ด S_1 20 สายพันธุ์

ตาราง 2 อายุออกดอก ผลผลิต และปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน ในอัญชันชนิดดอกสีน้ำเงิน S_0 ปลุกในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ปี 2554

ต้น (S_0)	ออกดอก 50% หลังปลุก(วัน)	นน.ดอกสด (กก./ต้น)	ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน (มก/นน.ดอกสด 100 กรัม)
1	29	5.07	67.4
2	29	4.22	68.0
3	30	4.02	93.7
4	30	2.50	65.8
5	29	6.38	64.4
6	29	5.92	72.5
7	30	4.08	88.7
8	30	4.46	68.0
9	29	3.25	84.8
10	29	2.93	95.6

11	30	2.85	71.7
12	30	2.54	63.8
13	30	2.77	96.0
14	30	2.52	67.6
15	30	2.45	75.0
16	30	2.00	65.2
17	30	3.18	78.4
18	30	3.05	62.0
19	31	3.20	104
20	31	3.16	60.2
ค่าเฉลี่ย	30	3.53	75.7

วันปลูก 4 พฤษภาคม 2554 วันเก็บเกี่ยว 10 มิถุนายน-31 สิงหาคม 2554

ปี 2555 ปลูก S_1 20 สายพันธุ์ ให้ปริมาณสารแอนโทไซยานิน ตั้งแต่ 58.2-75.9 มิลลิกรัมต่อ น้ำหนักดอกสด 100 กรัม ผสมตัวเอง เก็บเมล็ด ได้เมล็ด S_2 7 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ 7-1, 7-3, 7-4, 7-5, 14-2, 18-1 และ 18-2 (ตาราง 3)

ตาราง 3 อายุออกดอก ผลผลิต และปริมาณแอนโทไซยานิน ในอัญชันชนิดดอกสีน้ำเงิน S_1 ปลูกในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ปี 2555

สายพันธุ์ (S_1)	ออกดอก 50% หลังปลูก (วัน) ^{1/}	นน.ดอกสด (กก./ต้น) ^{1/}	ปริมาณแอนโทไซยานิน (มก/นน.ดอกสด 100 กรัม) ^{1/}	เก็บเมล็ด S_2
1	40 ab	525 ab	72.8 a	
2	41 ab	459 b	68.1 ab	
3	43 abc	603 ab	73.3 a	
4	41 ab	568 ab	65.1 ab	
5	42 ab	534 ab	58.2 b	
6	42 ab	494 b	70.4 a	
7	39 a	787 a	73.4 a	7-1, 7-3, 7-4, 7-5
8	45 bc	400 b	68.1 ab	
9	42 ab	579 ab	72.0 a	
10	42 ab	435 b	64.6 ab	
11	39 a	590 ab	75.1 a	

12	41 ab	522 ab	73.2 a	
13	42 ab	503 b	64.1 ab	
14	48 c	379 b	75.2 a	14-2
15	41 ab	561 ab	64.8 ab	
16	41 ab	529 ab	69.5 ab	
17	42 ab	423 b	64.4 ab	
18	42 ab	493 b	75.9 a	18-1, 18-2
19	42 ab	404 b	69.6 ab	
20	43 abc	364 b	71.0 a	
CV (%)	8.7	37.0	11.7	

^{1/} ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแนวตั้งเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 5% โดยวิธี DMRT

วันปลูก 17 มกราคม 2555 วันเก็บเกี่ยว 22 กุมภาพันธ์-15 เมษายน 2555

ปี 2555 ปลูก S_2 7 สายพันธุ์ ให้ค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโธไซยานินตั้งแต่ 59.2-70.1 กรัมต่อน้ำหนักดอกสด 100 กรัม (ตาราง 4) ผสมตัวเอง เก็บเมล็ด ได้เมล็ด S_3 4 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ 7-1-4, 7-1-16, 14-2-2, และ 18-2-5

ตาราง 4 ปริมาณแอนโธไซยานิน และลักษณะกลีบดอกในอัญชันชนิดดอกสีน้ำเงิน S_2 ปลูกในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ปี 2555

สายพันธุ์ (S_2)	ปริมาณแอนโธไซยานิน (มก/นน.ดอกสด 100 กรัม)	ลักษณะกลีบดอก	เก็บเมล็ด S_3
7-1	59.2	5 กลีบซ้อน	7-1-4, 7-1-16
7-3	49.2	5 กลีบซ้อน	
7-4	51.2	5 กลีบซ้อน	
7-5	47.5	5 กลีบซ้อน	
14-2	51.3	4 กลีบซ้อน	14-2-2
18-1	66.2	4-5 กลีบซ้อน	
18-2	70.1	4-5 กลีบซ้อน	18-2-5

วันปลูก 20 สิงหาคม 2555

ปี 2555 ปลุกอัญชันพันธุ์ผสมเปิด S_0 เพิ่มเติมอีก 24 ต้น พบว่า ทุกต้นมีกีบดอกซ้อน คัดเลือกได้ ต้นที่ให้ปริมาณแอนโธไซยานินสูงสุด 72.4 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักดอกสด 100 กรัม ผสมตัวเอง เก็บเมล็ดแยกต้น ได้เมล็ด S_1 1 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ 13

ปี 2556 ปลุกประเมิน S_3 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 7-1-4, 7-1-16, 14-2-2 และ 18-2-5 และ S_1 1 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ 13 เก็บผลผลิต 45 ครั้ง พบว่า สายพันธุ์ 13 ให้ค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโธไซยานินสูงสุด 83.9 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักดอกสด 100 กรัม ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสายพันธุ์ 18-2-5 และ 14-2-2 ซึ่งให้ปริมาณแอนโธไซยานินรองลงมาคือ 80.9 และ 75.6 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักดอกสด 100 กรัม ตามลำดับ สายพันธุ์ 13 ให้ค่าเฉลี่ยผลผลิตดอกสดสูงสุด 5.54 กิโลกรัมต่อต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสายพันธุ์ 7-1-16 และ 7-1-4 ซึ่งให้ผลผลิตดอกสดรองลงมาคือ 4.46 และ 4.18 กิโลกรัมต่อต้น ตามลำดับ (ตาราง 5)

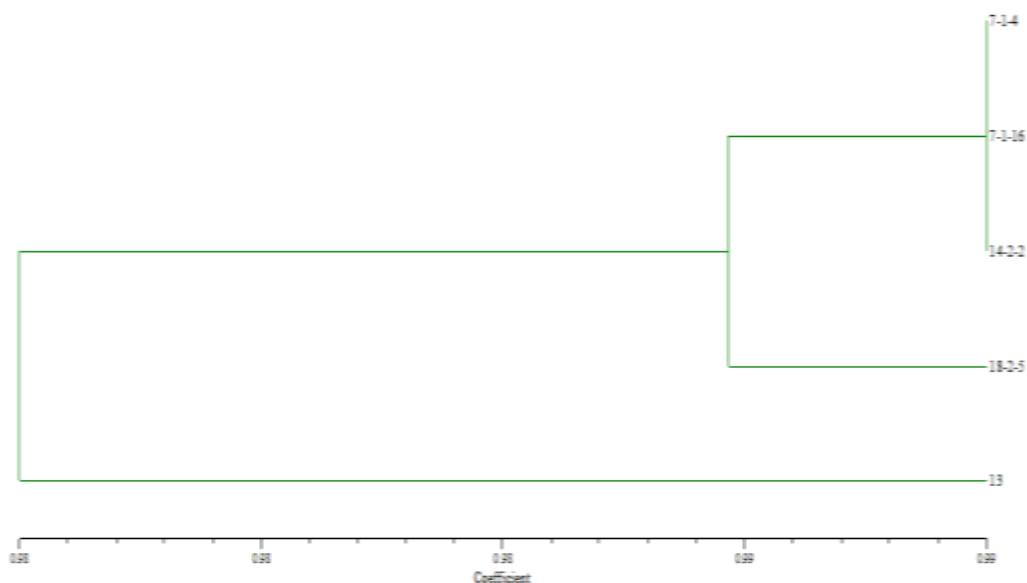
ตาราง 5 ผลผลิตและปริมาณแอนโธไซยานิน ในอัญชันชนิดดอกสีน้ำเงิน 5 สายพันธุ์
ปลุกในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ปี 2556

สายพันธุ์	นน.ดอกสด (กก./ต้น) ^{1/}	ปริมาณแอนโธไซยานิน (มก./นน.ดอกสด 100 กรัม) ^{1/}
7-1-4	4.18 ab	70.6 b
7-1-16	4.46 ab	72.6 b
14-2-2	3.15 b	75.6 ab
18-2-5	3.64 b	80.9 ab
13	5.54 a	83.9 a
CV (%)	30.2	9.6

^{1/} ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแนวตั้งเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
ที่ระดับนัยสำคัญ 5% โดยวิธี DMRT

วันปลูก 17 พฤษภาคม 2556 วันเก็บเกี่ยว 24 พฤษภาคม-7 สิงหาคม 2556

ปี 2556 จำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของอัญชันชนิดดอกสีน้ำเงิน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ S_3 4 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ 7-1-4, 7-1-16, 14-2-2 และ 18-2-5 และ S_1 1 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ 13 พบว่า ทั้ง 5 สายพันธุ์ มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมร้อยละ 98-99 (ภาพ 2)



ภาพ 2 เคนโตรแกรมความแตกต่างทางพันธุกรรมของอัญชันด้วย ISSR-Touchdown PCR โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 51 ไพรเมอร์ คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงตามวิธี Jaccard similarity และจัดกลุ่มความสัมพันธ์โดยวิธี UPGMA

ปี 2557 เปรียบเทียบพันธุ์อัญชันชนิดดอกสีน้ำเงิน S_3 3 สายพันธุ์ S_1 1 สายพันธุ์ และพันธุ์ปลูกทั่วไป 1 พันธุ์ พบว่า สายพันธุ์ 7-1-16 ให้ค่าเฉลี่ยผลผลิตดอกสดสูงสุด 1,639 กิโลกรัมต่อไร่ ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสายพันธุ์ 13 และพันธุ์ปลูกทั่วไป ซึ่งให้ผลผลิตดอกสดรองลงมาคือ 1,150 และ 1,144 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ สายพันธุ์ 14-2-2 ให้ค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโธไซยานินสูงสุด 74.7 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักดอกสด 100 กรัม ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสายพันธุ์ 13 และ 18-2-5 ซึ่งให้ปริมาณแอนโธไซยานินรองลงมาคือ 74.0 และ 72.5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักดอกสด 100 กรัม ตามลำดับ (ตาราง 6) ทั้ง 3 สายพันธุ์ให้ปริมาณแอนโธไซยานินสูงกว่าพันธุ์ปลูกทั่วไป และแตกต่างกันทางสถิติ พันธุ์ปลูกทั่วไปให้ปริมาณแอนโธไซยานินต่ำสุด 66.5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักดอกสด 100 กรัม สายพันธุ์ 14-2-2, 13 และ 18-2-5 ให้ปริมาณแอนโธไซยานินสูงกว่าพันธุ์ปลูกทั่วไป คิดเป็นร้อยละ 12, 11 และ 9 ตามลำดับ (ตาราง 6)

สายพันธุ์ 7-1-16 ให้ค่าเฉลี่ยอายุออกดอก 50% หลังปลูก 34 วัน แตกต่างทางสถิติกับสายพันธุ์อื่นและพันธุ์ปลูกทั่วไป และให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนัก 100 ดอกสด 73.3 กรัม ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสายพันธุ์ 13 ซึ่งให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนัก 100 ดอกสด 70.5 กรัม แต่แตกต่างกันทางสถิติกับพันธุ์ปลูกทั่วไป ซึ่งให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนัก 100 ดอกสด 45.7 กรัม (ตาราง 6)

ตาราง 6 เปรียบเทียบสายพันธุ์อัญชัน 4 สายพันธุ์ และพันธุ์ปลูกทั่วไป
ปลูกในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ปี 2557

สายพันธุ์	นน.ดอกสด (กก./ไร่) ^{1/}	ปริมาณแอนโทไซยานิน (มก/นน.ดอกสด 100 กรัม) ^{1/}	ปริมาณแอนโทไซยานิน เทียบกับพันธุ์ปลูกทั่วไป (ร้อยละ)
7-1-16	1,639 a	68.1 bc	102
14-2-2	906 b	74.7 a	112
18-2-5	692 b	72.5 abc	109
13	1,150 ab	74.0 ab	111
พันธุ์ปลูกทั่วไป	1,144 ab	66.5 c	100
CV (%)	30.3	5.6	4.7

^{1/} ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแนวตั้งเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ระดับนัยสำคัญ 5% โดยวิธี DMRT

วันปลูก 8 กรกฎาคม 2557

ตาราง 6 (ต่อ)

สายพันธุ์	ออกดอก 50% หลังปลูก (วัน) ^{1/}	น้ำหนัก 100 ดอกสด (กรัม) ^{1/}
7-1-16	34 a	73.3 a
14-2-2	38 b	44.2 b
18-2-5	39 b	44.5 b
13	37 b	70.5 a
พันธุ์ปลูกทั่วไป	38 b	45.7 b
CV (%)	4.7	14.7

^{1/} ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแนวตั้งเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ระดับนัยสำคัญ 5% โดยวิธี DMRT

วันปลูก 8 กรกฎาคม 2557

เมื่อศึกษาลักษณะพฤกษศาสตร์ อัญชันในต้นเดียวกัน มีใบประกอบทั้ง 2 แบบคือ ใบประกอบมี 5 ใบย่อย และ 7 ใบย่อย พบว่า อัญชันทั้ง 4 สายพันธุ์ และพันธุ์ปลูกทั่วไป มีความแตกต่างกันทางสถิติของขนาดใบในใบประกอบที่มี 5 ใบย่อยในด้านความกว้างใบ และความยาวก้านใบ และมีความแตกต่างกันของลักษณะกลีบดอก (ตาราง 7)

ตาราง 7 เปรียบเทียบลักษณะพฤกษศาสตร์ ในอัญชัน 4 สายพันธุ์และพันธุ์ปลูกทั่วไป ปลูกในศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ปี 2557

สายพันธุ์	ใบประกอบมี 5 ใบย่อย (ชม.) ^{1/}			ใบประกอบมี 7 ใบย่อย (ชม.) ^{1/}			ลักษณะ กลีบดอก
	กว้าง	ยาว	ก้านใบ ยาว	กว้าง	ยาว	ก้านใบยาว	
7-1-16	9.60 a	12.9 a	3.28 ab	9.82 a	14.1 a	3.37 a	5 กลีบซ้อน บิดเวียน
14-2-2	8.75 ab	12.1 a	3.10 ab	9.39 a	14.2 a	3.42 a	4-5 กลีบซ้อน
18-2-5	8.69 b	12.3 a	3.36 a	9.28 a	13.8 a	3.56 a	4-5 กลีบซ้อน
13	8.88 ab	12.1 a	2.97 b	8.92 a	13.2 a	3.27 a	5 กลีบซ้อน บิดเวียน
พันธุ์ปลูกทั่วไป	9.02 ab	12.4 a	3.28 ab	9.34 a	14.1 a	3.59 a	4-5 กลีบซ้อน
CV (%)	5.9	4.8	6.0	7.4	6.1	14.7	

^{1/} ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ในแนวตั้งเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ที่ระดับนัยสำคัญ 5% โดยวิธี DMRT

วันปลูก 8 กรกฎาคม 2557

11. สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

คัดเลือกและเปรียบเทียบอัญชัน ได้อัญชันชนิดดอกสีน้ำเงิน สายพันธุ์แท้ 3 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ 14-2-2, 18-2-5 และ 13 ให้ปริมาณแอนโธไซยานิน 74.7, 72.5 และ 74.0 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักดอกสด 100 กรัม สูงกว่าพันธุ์ปลูกทั่วไปร้อยละ 12, 9 และ 11 ตามลำดับ ยังมีความจำเป็นต้องนำไปปลูกทดสอบสายพันธุ์ในต่างแหล่งปลูก และต่างฤดูปลูก เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่ให้ปริมาณแอนโธไซยานิน และผลผลิตสูงสุด ในแต่ละแหล่งปลูกต่อไป

12. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้อัญชันสายพันธุ์แท้ ให้ปริมาณแอนโธไซยานินสูง เป็นประโยชน์ต่อกลุ่มเป้าหมายคือ กรมส่งเสริมการเกษตร เกษตรกร กลุ่มเกษตรกร กลุ่มแม่บ้าน และภาคเอกชน

13. คำขอขอบคุณ (ถ้ามี)

คณะนักวิจัยขอขอบคุณ ดร.ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ช่วยรับวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอ และ ผศ.ดร.จ่านงค์ อุทัยบุตร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ช่วยรับวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ

14. เอกสารอ้างอิง

กฤษฎา สัมพันธ์รักษ์. 2546. ปรับปรุงพันธุ์พืช: พื้นฐาน วิธีการ และแนวคิด. ภาควิชาพืชไร่
คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 237 หน้า.
พิชานันท์ ลีแก้ว. 2557. อัญชัน. จุลสารข้อมูลสมุนไพร 32 (1): 10-17.

- Li, M. and D. J. Midmore. 1999. Estimating the genetic relationships of Chinese water chestnut (*E. dulcis* (Burm.f.) Hensch) cultivated in Australia, using RAPDs. *J. of Hort and Biotec.* 74 (2): 224-231.
- Ranganna, S. 1977. Plant Pigment. In Ranganna S. (Ed.), *Manual of Analysis of Fruit and Vegetable Products*, TaTa McGraw-Hill publishing Co., Ltd. New Delhi. p. 72–93.