ความมีชีวิตของเรณูในดอกพระจันทร์ (*Ipomoea alba* L.)

Pollen Viability of Moonflower (*Ipomoea alba* L.)

เยาวพา จิระเกียรติกุล*, ภาณุมาศ ฤทธิไชย, รภีภร กลิ่นกัน และศิริพร เพ็ดตะกั่ว

ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Yaowapha Jirakiattikul*, Panumart Rithichai, Rapeeporn Klinkan

and Siriporn Phettrakua

Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,

Rangsit Centre, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120

บทคัดย่อ

ศึกษาความมีชีวิตของเรณูและระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเรณูของดอกพระจันทร์ (*Ipomoea alba* L.) โดยปลูกต้นดอกพระจันทร์ที่แปลงทดลองภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต เก็บเรณูของดอกพระจันทร์มาทดสอบในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2553 ถึง มกราคม พ.ศ. 2554 ทดสอบความมีชีวิตของเรณูด้วยวิธีทดสอบ 2 วิธี คือ *in vitro* germination test และ tetrazolium test จากการทดลองพบว่าไม่สามารถชักนำให้หลอดเรณู (pollen tube) งอกบนอาหารเพาะเลี้ยงได้ด้วยวิธี *in vitro* germination test อย่างไรก็ตาม เรณูย้อมติดสีแดงได้ดีเมื่อใช้วิธี tetrazolium test จากการทดสอบด้วยวิธี tetrazolium test พบว่าอัตราความมีชีวิตของเรณูจากอับเรณูแต่ละอับในดอกเดียวกันและจากดอกต่างกันในวันที่ดอกบานมีค่ามากกว่า 90 % และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าควรเก็บเรณูจากดอกบานที่เวลา 18.00 น.

คำสำคัญ : ดอกพระจันทร์, ความมีชีวิตของเรณู, เรณู, ย้อมสี

Abstract

Pollen viability and collecting time of moonflower (*Ipomoea alba* L.) were investigated. The Moonflower plants were grown in the experimental plots at the Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Rangsit centre. Pollen viability was examined during December 2010 and January 2011. The two selected tests, *in vitro* germination test and tetrazolium staining test, have been done to test pollen viability. It was found that using *in vitro* germination test, the pollen tubes did not

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** yjira@yahoo.com

germinate on the medium. However, pollen grains turned deep red when tetrazolium test was applied. With tetrazolium test, the pollen viability of different anthers and flowers on the flowering day was higher than 90 % which were not significantly different among the treatments. In addition, the optimum time to collect pollen was at 6 pm.

Key words: Moonflower, *Ipomoea alba*, pollen viability, pollen, tetrazolium test

1. บทนำ

ดอกพระจันทร์ ดอกชมจันทร์ หรือดอกบานดึก (*Ipomoea alba* L.) อยู่ในตระกูล Convolvulaceae เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปอเมริกากลางและอเมริกาใต้ มีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางในเขตอบอุ่นและเขตร้อนของอเมริกา ออสเตรเลีย และในกลุ่มประเทศเขตร้อนของทวีปเอเชีย ในประเทศไทยพบตามริมห้วยป่าดิบชื้นและบริเวณที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 700 เมตร [1] ประเทศในยุโรปและสหรัฐอเมริกานิยมปลูกดอกพระจันทร์เป็นไม้ดอกไม้ประดับ ส่วนประเทศไทยปลูกเป็นพืชผักรับประทานดอกตูมเรียกว่าดอกไม้จีน ใช้ผัดกับน้ำมันหอย หรือลวกจิ้มกับน้ำพริก จากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของดอกพระจันทร์พบว่าเป็นผักที่มีไขมันต่ำ มีธาตุเหล็ก ฟอสฟอรัส วิตามินเอ และวิตามินบี ดอกตูมมีสรรพคุณช่วยบำรุงเลือด หัวใจ แก้ร้อนใน ถอนพิษ บรรเทาอาการปอดบวม นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณขับปัสสาวะและเป็นยาระบายอ่อน ๆ การขยายพันธุ์มักใช้วิธีการเพาะเมล็ดหรือปักชำส่วนของลำต้น [2] จากความต้องการในการผลิตที่มีมากขึ้น การปรับปรุงพันธุ์จึงมีความจำเป็นต่อการเพิ่มศักยภาพในการผลิต อย่างไรก็ตามข้อมูลด้านชีววิทยาการสืบพันธุ์ (reproductive biology) โดยเฉพาะความมีชีวิตของเรณูของดอกพระจันทร์ยังไม่มีรายงาน ในการศึกษาความมีชีวิตของเรณูนั้นสามารถทดสอบได้หลายวิธี เช่น *in vitro* germination test, tetrazolium test, fluorochromatic reaction (FCR) test และ *in vivo* germination and pollen tube growth [3] ซึ่งวิธี *in vitro* germination test เป็นการทดสอบการงอกของเรณูบนอาหารเพาะเลี้ยง เรณูที่มีชีวิตจะงอกหลอดเรณู (pollen tube) เมื่อเพาะเลี้ยงไประยะเวลาหนึ่ง โดยส่วนใหญ่มักทดสอบในช่วงเวลา 1-12 ชั่วโมง เนื่องจากจะมีปัญหาการปนเปื้อนราและแบคทีเรียบนอาหารเพาะเลี้ยง [4] ส่วนวิธี tetrazolium test เป็นการย้อมสีเรณูด้วยสารละลาย tetrazolium (2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride) เรณูที่มีชีวิตจะติดสีแดง [3] ได้มีการศึกษาทดสอบความมีชีวิตของเรณูโดยวิธีทดสอบดังกล่าวทั้งสองวิธีกับพืชหลายชนิด เช่น ข้าว [5] มะเขือยาว [6] ดอกเม่าหลวงตัวผู้ [7] และ Kangaroo paw [8] ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความมีชีวิตของเรณู และระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเรณูของดอกพระจันทร์

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การปลูก

แช่เมล็ดดอกพระจันทร์ในน้ำนาน 12 ชั่วโมง จากนั้นเพาะเมล็ดในถาดเพาะที่มีส่วนผสมของทรายหยาบและพีทมอส อัตรา 2:1 โดยปริมาตร

เพาะ 1 เมล็ดต่อหลุม ปลูกลึกประมาณ 1 เซนติเมตร เมื่อต้นกล้าอายุ 14 วัน หลังเพาะเมล็ด ย้ายปลูกในแปลงปลูกกว้าง 1 เมตร ยาว 10 เมตร ระยะปลูก 50x50 เซนติเมตร

การเตรียมดินปลูก ใส่ปุ๋ยคอกรองพื้น อัตรา 100 กิโลกรัมต่อแปลง รองก้นหลุมด้วยปุ๋ยสูตร 16-16-16 อัตรา 10 กรัมต่อต้น หลังย้ายกล้า 1 สัปดาห์ ให้ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร โดยรด 1 ลิตรต่อ 1 ต้น เมื่อต้นกล้าอายุ 30 วันหลังย้ายกล้า ใส่ปุ๋ยสูตร 16-16-16 ต้นละ 10 กรัม และให้ต่อเนื่องทุก ๆ 30 วัน ทำการปักค้างหลังย้ายต้นกล้าปลูกในแปลงแล้ว 1 สัปดาห์ โดยใช้ไม้ไผ่รวกปักเป็นรูปสามเหลี่ยม

ปลูกต้นดอกพระจันทร์ในแปลงปลูกของภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2553 และทดสอบความมีชีวิตของเรณูในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2553 - มกราคม พ.ศ. 2554 อุณหภูมิเฉลี่ยต่ำสุดและสูงสุดขณะทำการศึกษา 17.5 และ 34.5 องศาเซลเซียส (ข้อมูลจากกรมอุตุนิยมวิทยา จังหวัดปทุมธานี)

2.2 วิธีการทดสอบความมีชีวิตของเรณู

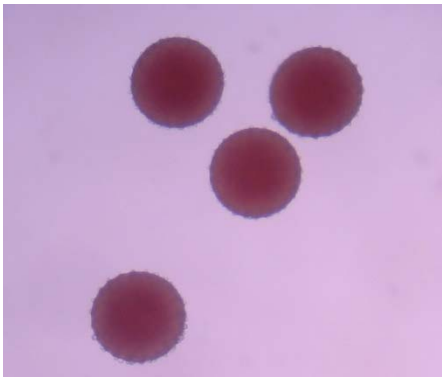
ทดสอบความมีชีวิตของเรณูด้วยวิธีทดสอบ 2 วิธี คือ *in vitro* germination test และการย้อมสีด้วยสารละลาย tetrazolium หรือ tetrazolium test โดยวิธี *in vitro* germination test นั้นทดสอบบนอาหารเพาะเลี้ยงกึ่งแข็งตามวิธีที่ได้อธิบายโดย Sukhvibul and Considine [8] เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงโดยใช้วุ้น (agar) ความเข้มข้น 1 % ในน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นเทลงจานเพาะปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อจานเพาะ ทิ้งไว้ให้เย็น สารละลายที่ใช้ทดสอบมีน้ำตาลซูโครส 4 ความเข้มข้น คือ 10, 20, 30, และ 40 % ทุกความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลซูโครสประกอบด้วยกรดบอริค (boric acid) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และแคลเซียมไนเตรท ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร วิธีการทดสอบนำเรณูจากดอกที่บานวางบนอาหารกึ่งแข็งในจานเพาะเลี้ยง จากนั้นหยดสารละลายที่เตรียมไว้ 2 หยด แล้วใช้ glass spreader เกลี่ยเรณูให้ทั่วจานเพาะเลี้ยง และนำไปวางในที่มืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำนับเรณูทั้งหมด 200 ละอองเรณู ต่อ 1 จานเพาะเลี้ยง โดยเรณูที่มีชีวิตนั้นต้องมีความยาวของหลอดเรณูมากกว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของเรณู

ส่วนวิธี tetrazolium test นำเรณูจากดอกที่บานวางบนแผ่นกระจกสไลด์หยดด้วยสารละลาย tetrazolium ความเข้มข้น 1 % ในสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 10 % จำนวน 2 หยด ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำแผ่นกระจกสไลด์ไปวางในจานแก้วที่มีกระดาษทิชชูเปียกน้ำชุ่มพอประมาณ แล้วปิดฝาจานแก้ว และนำไปเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการทดลอง 5 ซ้ำ (1 ซ้ำ คือ 1 แผ่นกระจกสไลด์) แต่ละซ้ำนับเรณูทั้งหมด 200 เรณูต่อ 1 แผ่นกระจกสไลด์ เมื่อครบกำหนดนำมาตรวจนับความมีชีวิตของเรณูโดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า เรณูที่มีชีวิตจะติดสีแดง (รูปที่ 1) ส่วนเรณูที่ไม่มีชีวิตจะไม่ติดสี

2.3 ความมีชีวิตของเรณูของแต่ละอับเรณูในดอกเดียวกัน

เก็บดอกพระจันทร์ที่เวลา 18.00 น. ในวันที่ดอกบาน โดยแต่ละดอกมีอับเรณู 5 อัน เคาะเรณูของแต่ละอับเรณูแยกกัน ตรวจสอบความมีชีวิตด้วยวิธี tetrazolium test ที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น การนับ

เรณูทำการนับทั้งหมด 200 เรณู ต่อ 1 แผ่นกระจกสไลด์ ในการวิจัยครั้งนี้ได้ทดลองกับดอกพระจันทร์ 5 ดอก (ซ้ำ) โดยใช้ 1 อับเรณู ต่อ 1 แผ่นกระจกสไลด์ บันทึกอัตราความมีชีวิตของเรณู (%) ของแต่ละอับเรณู



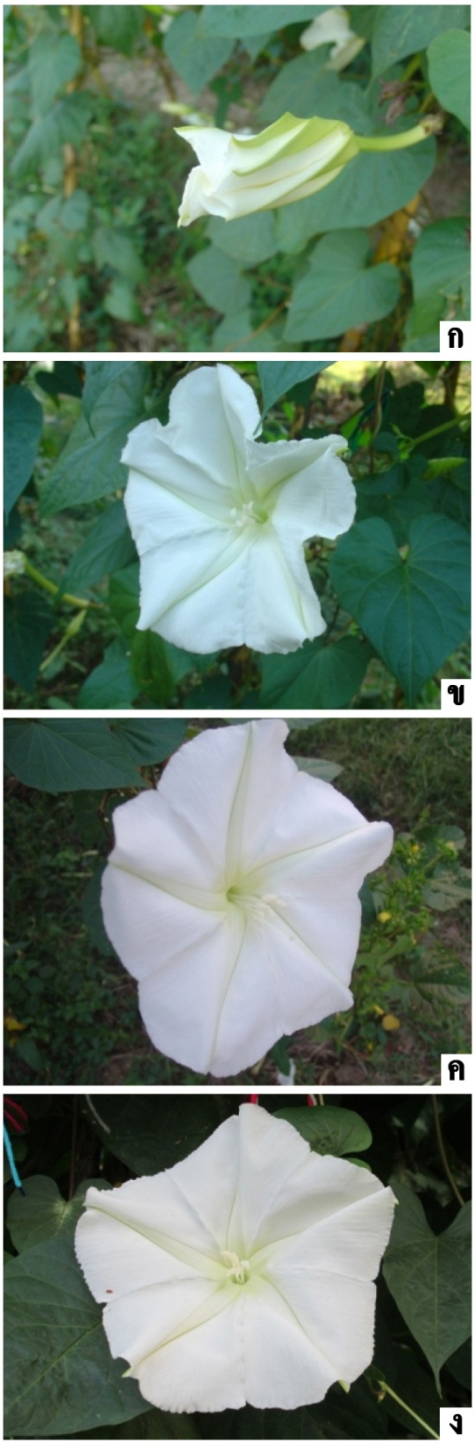
รูปที่ 1 การติดสีย้อมของเรณูที่มีชีวิต

2.4 ความมีชีวิตของเรณูจากดอกต่างกัน

เก็บเรณูดอกพระจันทร์ 10 ดอก ที่เวลา 18.00 น. ในวันที่ดอกบาน โดยเก็บเรณูแต่ละดอกแยกกัน นำเรณูมาตรวจนับความมีชีวิตด้วยวิธี tetrazolium test ในแต่ละดอกทำการทดสอบ 3 ซ้ำ บันทึกอัตราความมีชีวิตของเรณู (%) ของแต่ละดอก

2.5 ความมีชีวิตของเรณูเมื่อเก็บที่เวลาแตกต่างกัน

เก็บดอกพระจันทร์ในช่วงเวลา 16.00, 17.00, 18.00 และ 19.00 น. ในวันที่ดอกบาน (รูปที่ 2) โดยเก็บช่วงเวลาละ 10 ดอก เคาะเรณูออกจากอับเรณูทั้งหมดรวมกันในแต่ละช่วงเวลา นำเรณูมาตรวจนับความมีชีวิตด้วยวิธี tetrazolium test ในแต่ละช่วงเวลาทำการทดสอบ 5 ซ้ำ บันทึกอัตราความมีชีวิตของเรณู (%) ในแต่ละเวลาที่เก็บ



รูปที่ 2 ลักษณะการบานของดอกพระจันทร์ที่เวลา 16.00 - 19.00 น. (ก) 16.00 น. (ข) 17.00 น. (ค) 18.00 น. และ (ง) 19.00 น.

3. ผลการทดลอง

3.1 วิธีการทดสอบความมีชีวิตของเรณู

การทดสอบความมีชีวิตของเรณูด้วยวิธี *In vitro* germination test บนอาหารเพาะเลี้ยงกึ่งแข็งที่หยดด้วยสารละลายที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 10-40 % พบว่าไม่สามารถทำให้หลอดเรณูงอกบนอาหารเพาะเลี้ยงได้ด้วยสารละลายที่มีน้ำตาลซูโครสทุกความเข้มข้น ส่วนวิธี tetrazolium test พบว่า เรณูติดสีย้อมได้ดีและมีอัตราความมีชีวิต 95.10 % ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงใช้วิธี tetrazolium test ในการทดสอบความมีชีวิตของเรณูดอกพระจันทร์

3.2 ความมีชีวิตของเรณูของแต่ละอับเรณูในดอกเดียวกัน

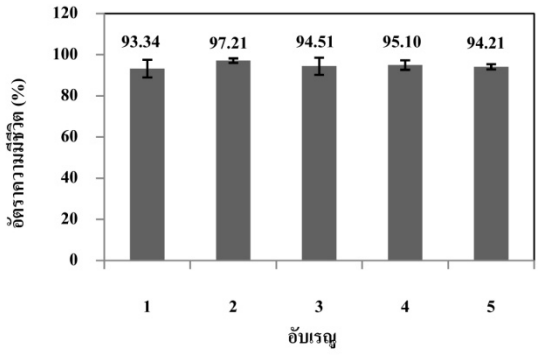
เมื่อทำการทดสอบความมีชีวิตของเรณูของแต่ละอับเรณูในดอกเดียวกัน พบว่าความมีชีวิตของเรณูของแต่ละอับเรณูในดอกเดียวกันมีอัตราความมีชีวิตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยอัตราความมีชีวิตของเรณูอยู่ในช่วง 93.34±4.33 ถึง 97.21±1.12 % (รูปที่ 3)

3.3 ความมีชีวิตของเรณูจากดอกต่างกัน

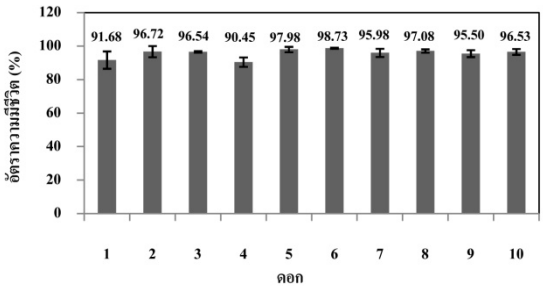
การทดสอบความมีชีวิตของเรณูจากดอกต่างกัน 10 ดอก พบว่ามีอัตราความมีชีวิตของเรณูของแต่ละดอกไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีอัตราความมีชีวิตของเรณูตั้งแต่ 90.45±2.75 ถึง 98.73±0.32 % (รูปที่ 4)

3.4 ความมีชีวิตของเรณูเมื่อเก็บที่เวลาต่างกัน

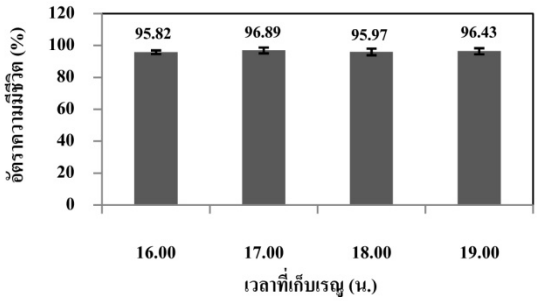
การเก็บเรณูที่เวลา 16.00, 17.00, 18.00 และ 19.00 น. ในวันที่ดอกบาน พบว่าอัตราความมีชีวิตของเรณูไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเก็บที่เวลาต่างกัน โดยอัตราความมีชีวิตของเรณูที่เวลา 16.00 ถึง 19.00 น. ในวันที่ดอกบาน มีค่า 95.82±1.11 ถึง 96.89±1.81 % (รูปที่ 5)



รูปที่ 3 อัตราความมีชีวิตของเรณูของแต่ละอับเรณูในดอกเดียวกันเมื่อเวลา 18.00 น. ในวันที่ดอกบาน



รูปที่ 4 อัตราความมีชีวิตของเรณูจากดอกต่างกันจำนวน 10 ดอก เมื่อเวลา 18.00 น.ในวันที่ดอกบาน



รูปที่ 5 อัตราความมีชีวิตของเรณูที่เวลาแตกต่างกันในวันที่ดอกบาน

4. วิจารณ์

ดอกของต้นดอกพระจันทร์จะบานในช่วงเย็นและเหี่ยวในเช้าของวันถัดมา ดังนั้นการเก็บเรณูเพื่อทดสอบความมีชีวิตจึงทำได้เฉพาะในช่วงเย็นของวันที่ดอกบานเท่านั้น เช่นเดียวกับบวบน้ำเต้า (*Lagenaria siceraria*) และบวบเหลี่ยม (*Luffa cutangula*) [9] แต่ต่างกับพืชหลายชนิดที่บานในช่วงเช้า เช่น ผักบุ้งจีน (*Ipomoea aquatica*) [10] มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum*) พริก (*Capsicum* sp.) [11] *Pseudopiptadenia contorta* กับ *P. leptostachya* [12] และ *Banksia spinulosa* [13]

เมื่อนำเรณูของดอกพระจันทร์มาทดสอบความมีชีวิตด้วยวิธี *in vitro* germination test และ tetrazolium test พบว่าเรณูสามารถติดสีย้อมของสารละลาย tetrazolium ได้ดี แต่ไม่สามารถงอกหลอดเรณูบนอาหารเพาะเลี้ยงเมื่อทดสอบด้วยวิธี *in vitro* germination test ถึงแม้ว่าสารละลายที่ใช้ทดสอบนั้นประกอบด้วยน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ซึ่ง Shivanna and Rangaswamy [3] ได้กล่าวว่าองค์ประกอบของสารละลายที่เหมาะสมต่อการงอกของเรณูประกอบด้วยส่วนประกอบ 3 ชนิด คือ น้ำตาลซูโครส กรดบอริค และแคลเซียมไนเตรท โดยจะต้องทดสอบหาความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสม ซึ่งจะแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด ส่วนกรดบอริคและแคลเซียมไนเตรทที่เหมาะสมกับพืชหลายชนิดคือที่ความเข้มข้น 100 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการที่หลอดเรณูของดอกพระจันทร์ไม่สามารถงอกได้นั้นอาจเนื่องจากพืชในสกุล *Ipomoea* มีเรณูเป็นได้ทั้งชนิด binucleate และ trinucleate [14] เป็นไปได้ว่าเรณูของดอกพระจันทร์อาจเป็นชนิด trinucleate เพราะเรณูชนิด trinucleate นี้จะไม่งอกหรืองอกได้น้อยเมื่อทดสอบด้วยวิธี *in vitro* germination test ซึ่งเป็นข้อจำกัดของวิธีทดสอบนี้ [15]

จากการศึกษาความมีชีวิตของเรณูของดอกพระจันทร์จากแต่ละอับเรณูในดอกเดียวกันหรือแต่ละดอกที่เวลา 18.00 น. ในวันที่ดอกบาน และช่วงเวลาที่ต่างกันตั้งแต่ 16.00 - 19.00 น. ในวันที่ดอกบานนั้นพบว่ามีอัตราความมีชีวิตของเรณูสูงมากกว่า 90 % และไม่แตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 3, 4 และ 5) แสดงให้เห็นว่าการเก็บเรณูของดอกพระจันทร์นั้นสามารถเก็บได้จากทุกอับเรณูและทุกดอกในช่วงเวลา 18.00 น. ในวันที่ดอกบาน และที่เวลาใดก็ได้ตั้งแต่ 16.00 - 19.00 น. ในวันที่ดอกบาน ถึงแม้ว่าเวลาในการเก็บเรณูตั้งแต่ 16.00 - 19.00 น. ความมีชีวิตของเรณูไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ที่เวลา 16.00 - 17.00 น. ดอกส่วนใหญ่ยังไม่บานและอับเรณูยังไม่ปล่อยเรณูเต็มที่ทำให้ไม่สะดวกต่อการปฏิบัติงาน ส่วนที่เวลา 19.00 น. เริ่มเป็นเวลากลางคืน และมืดมองเห็นได้ไม่ชัดเจนการปฏิบัติงานจึงไม่สะดวกเช่นกัน ดังนั้นจึงควรเก็บเรณูของดอกพระจันทร์ที่เวลา 18.00 น. ในวันที่ดอกบาน เนื่องจากดอกบานเต็มที่และสะดวกต่อการปฏิบัติงาน จากผลการวิจัยครั้งนี้สอดคล้องกับ Kumari และคณะ [16] ที่พบว่าเรณูของดอก *Trichosanthes dioica* Roxb. มีความมีชีวิตสูงสุด 95.88 % ในวันที่ดอกบาน นอกจากนี้เรณูของดอก *Agrostis stolonifera* L. พบว่าความมีชีวิตของเรณูสูงสุด 2 ช่วง ที่เวลา 09.00 และ 14.00 น [17] ใน *Piper colubrinum* Link. พบว่าอัตราความมีชีวิตของเรณูสูงสุดหลังจากอับเรณูแตกแล้ว 2 ชั่วโมง และเรณูยังคงมีชีวิตหลังจากนั้นอย่างน้อยอีก 8 ชั่วโมง [18] และบุญสนอง [19] ได้รายงานว่าอัตราความมีชีวิตของเรณูดอกถั่วแปปช้าง (*Afgekia sericea* Craib.) ประมาณ 90 % ในขณะที่ดอกบาน และอัตราความมี

ชีวิตลดลงหลังจากเรณูมีอายุ 24 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม เรณูพืชแต่ละชนิดจะมีช่วงเวลาและอัตราความมีชีวิตแตกต่างกันไป การศึกษาเกี่ยวกับวิธีการเก็บรักษาเรณูของดอกพระจันทร์ให้ได้เป็นระยะเวลานาน (long term storage) และการยอมรับการผสมของเกสรตัวเมียของดอกพระจันทร์ (stigma receptivity) นั้นก็ควรที่จะศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลทางชีววิทยาที่สำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์ของพืชชนิดนี้ต่อไป

5. สรุป

การศึกษาด้วยวิธี tetrazolium test พบว่าเรณูของดอกพระจันทร์มีอัตราความมีชีวิตมากกว่า 90 % เมื่อดอกบาน และเวลาที่เหมาะสมในการเก็บละอองเรณูคือ 18.00 น. โดยสามารถเก็บเรณูได้จากทุกอับเรณูของดอกที่บานทุกดอก

6. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดินของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

7. เอกสารอ้างอิง

[1] อฤชร พงษ์ไสว, 2543, ไม้เลื้อยป่า 1 : คู่มือคนเลี้ยงต้นไม้, สำนักพิมพ์บ้านและสวน, กรุงเทพฯ, 96 น.

[2] วิกิพีเดีย : สารานุกรมเสรี, ชมจันทร์, แหล่งที่มา : http://th.wikipedia.org/wiki/ดอกพระจันทร์, 17 กันยายน 2554.

[3] Shivanna, K.R. and Rangaswamy, N.S., 1992, Pollen Biology: A Laboratory Manual, Springer-Verlag, Berlin, 119 p.

[4] Vasil, I.K., 1987, Physiology and culture of pollen, Int. Rev. Cytol. 107: 127-174.

[5] Khatun, S. and Flower, T.J., 1994, The estimation of pollen viability in rice, J. Exp. Bot. 46:151-154.

[6] de Franca, L.V., Nascimento, W.M., Carmona, R., and de Freitas, R.A., 2009, Viability of eggplant pollen, Crop Breed. Appl. Biotechnol. 9: 320-327.

[7] สุจิตรา เจาะจง และสุดารัตน์ สกุลคู, 2552, การศึกษาความมีชีวิตของละอองเรณูในดอกเม่าหลวงตัวผู้, การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 สาขาพืช, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

[8] Sukhvibul, N. and Considine, J.A., 1993, Medium and long term storage of *Anigozanthos manglesii* (D. Don) pollen, New Zeal. J. Crop Hort. 21: 343-347.

[9] Robinson, R.W. and Decker-Walters, D.S., 1997, Cucurbits, University press, Cambridge, 226 p.

[10] อรพรรณ สังขจันทรานนท์, 2534, พัฒนาการและความสามารถในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ผักบุ้งจีน, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

[11] จานุลักษณ์ ขนบดี, 2541, การผลิตเมล็ดผัก, พิมพ์ครั้งที่ 2, สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ, 204 หน้า.

[12] de Assis Pires, J.P. and Freitas, L., 2008, Reproductive biology of two tree species of Leguminosae in a Montane Rain Forest in southeastern Brazil, Flora 203: 491-498.

[13] Vaughton, G. and Ramsey, M., 1991, Floral biology and inefficient pollen removal in

Banksia spinulosa var. neoanglica (Proteaceae), Aust. J. Bot. 39: 167-177.

[14] Brewbaker, J.L., 1967, The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms, Amer. J. Bot. 54: 1069-1083.

[15] Zhang, C., Fountain, D.W. and Morgan, E.R., 1997, *In vitro* germination of the trinucleate pollen of *Limonium perezii*, Grana 36: 284-288.

[16] Kumari, A., Komal, R., Rajeev, R. and Pandey, A.K., 2009, *In vitro* pollen germination, pollen tube growth and pollen viability in *Trichosanthes dioica* Roxb. (Cucurbitaceae), Int. J. Plant Repro. Biol. 1: 147-151.

[17] Fei, S. and Nelson, E., 2003, Estimation of pollen viability, shedding pattern and longevity of creeping bentgrass on artificial media, Crop Sci. 43: 2177-2181.

[18] Chen, Y.S., Cheksum, S.T., Paulus, A.D. and Sim, S.L., 2012, A study on pollen viability of *Piper colubrinum* Link., J. Agric. Sci. Technol. B 2: 1177-1183.

[19] บุญสนอง ช่วยแก้ว, 2545, ชีววิทยาการถ่ายละอองเรณูของถั่วแปปช้าง *Afgekia sericea* Craib, วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.