

Thesis Title Effect of Varietal Improvement of Local Bitter Gourd
(*Momordica charantia* L.) on 30 Kilodalton Protein

Author Mr. Charan Ditchaiwong

Degree Doctor of Philosophy (Horticulture)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Maneechat Nikompun	Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Prachya Kongtawelert	Member
Asst. Prof. Dr. Surapol Natakankitkul	Member
Asst. Prof. Dr. Dumnern Karladee	Member

ABSTRACT

Local bitter gourd (*Momordica charantia* L.) cultivars have genetic diversity because their fertilization is cross-pollination. Thus, their populations become into mixed genotypes or heterogeneous populations. Therefore some horticultural characteristics as well as 30 kilodalton (kDa) protein should not stable. Differences of 30 kDa protein levels and genetics behavior of 30 kDa protein in local bitter gourd cultivars which were analyzed, are not only beneficial for guidelines in varietal improvement but also are beneficial for increasing of potential in extraction of 30 kDa protein. 30 kDa protein has the ability to anti-HIV and anti-tumor activities. This research aims to analyze effects of varietal improvement of local bitter gourd on 30 kDa protein.

Twelve local bitter gourd accessions, accession numbers 1, 3, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 16 and 21 were collected from many provinces of Thailand. They were grown in comparison with one cultivar of commercial seed, accession number 20. Each plant was self-pollinated for 3 generations to produce inbred seeds. Two inbred lines of local bitter gourd accession numbers 13 and 12 gave the first and second highest seed yields, respectively, while two inbred lines of

accession number 10 and 1 gave the lowest and second lowest seed yields, respectively. Both of them were used as parental lines in diallel crossing. Seed yields, partially purified protein, total protein and 30 kDa protein levels were significantly different among F_1 hybrids and parental lines. Seed yields of F_1 hybrids and parental lines ranged from 8.15 to 10.45 g. The differences were significantly different. F_1 hybrid accession 13 \times 12 gave the highest seed yield of 10.45 g/5 g endosperm and parental line accession 10 gave the lowest seed yield of 8.15 g/5 g endosperm. Weight of partially purified protein ranged from 91 to 253 mg/5 g endosperm. The parental line accession 10 gave the highest partially purified protein weight of 253 mg/5 g endosperm. F_1 hybrid accession 12 \times 10 gave the lowest partially purified protein weight of 91 mg/5 g endosperm. Weight of total protein ranged from 6.13 to 19.58 mg/5 g endosperm. The parental line accession 10 gave the highest total protein weight of 19.58 mg/5 g endosperm. The lowest weight of total protein was F_1 hybrid accession 12 \times 10 which gave 6.13 mg/5 g endosperm. There were significant differences of 30 kDa protein weight among F_1 hybrids and parental lines of local bitter melon accessions. Weight of 30 kDa protein ranged from 65.65 to 155 μ g/5 g endosperm. The parental line accession 10 gave the highest 30 kDa protein weight of 155 μ g/5 g endosperm and F_1 hybrid accession 12 \times 10 gave the lowest 30 kDa protein weight of 65.65 μ g/5 g endosperm. Reciprocal crosses of parental line accessions 1 and 10 showed that there were maternal effects when accession 10 was used as female. Seed yields did not correlate with the levels of partially purified protein, total protein and 30 kDa protein among F_1 hybrids and parental lines of local bitter melon. There was a significant positive correlation between partially purified protein and total protein, between partially purified protein and 30 kDa protein and between 30 kDa protein and total protein in F_1 hybrids and parental lines of local bitter melon.

Inbred lines of 13 local bitter melon accessions were planted in the field and randomized complete block design (RCBD) was used. Results showed that fruit yields ranged from 766 to 2,244 kg/rai. Accession numbers 7 and 10 gave the highest yield of 2,244 and 2,186 kg/rai, respectively. The yields were 60.42 and 59.38% higher than the standard variety (accession number 20), respectively. Seeds of thirteen inbred local bitter melon accessions were extracted for endosperm that was used for protein extraction and analysis of 30 kDa protein. Yields of these accessions were recorded. It was found that ripe fruit yields ranged from 516 to 1,106 kg/rai but there were no significant differences among accessions. There was a significant different

statistically of seed yields among accessions. Seed yields of the accessions ranged from 50 to 134.8 kg/rai. Accession number 13 gave the highest ripe fruit yield of 1,106 kg/rai, the highest seed yield of 134.8 kg/rai and also the highest endosperm yield of 61.9 kg/rai. By using polyacrylamide gel electrophoresis and densitometric techniques, it was found that accession numbers 16, 10 and 3 gave the highest 30 kDa protein weight of 265.42, 215.91, and 206.39 $\mu\text{g}/5\text{ g}$ endosperm, respectively. However, the differences were not significantly different. There was a positive correlation between the 30 kDa protein weight and the total protein in all accessions.

When 13 inbred lines of local bitter gourd accessions were grown in the field to determine botanical characteristics, yield and horticultural characteristics. Results showed that botanical characteristics of all accessions were alike. The sizes of leaf, pistillate flower, staminate flower, sessile bract, fruit and seed were significantly different among the accessions.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ผลของการปรับปรุงพันธุ์มะระขึ้นกต่อระดับโปรตีน
30 กิโลดัลตัน

ผู้เขียน

นายจรูญ ดิษฐไชยวงศ์

ปริญญา

วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (พืชสวน)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร. มณีฉัตร นิกรพันธุ์	ประธานกรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. ปรัชญา คงทวีเลิศ	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรพล นชการกิจกุล	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. คำเนิน กาละดี	กรรมการ

บทคัดย่อ

มะระขึ้นกมีความหลากหลายทางพันธุกรรม เนื่องจากเป็นพืชผสมข้ามทำให้ประชากรที่ได้มีพันธุกรรมที่หลากหลาย ทำให้ลักษณะประจำพันธุ์ต่างๆ อาจไม่คงที่ การวิเคราะห์ความแตกต่างของโปรตีน 30 kDa รวมทั้งพฤติกรรมทางพันธุศาสตร์ในมะระขึ้นก จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งไม่เฉพาะในการปรับปรุงพันธุ์มะระขึ้นกเพื่อโปรตีน 30 kDa เท่านั้น แต่ยังเป็นประโยชน์ในด้านการเพิ่มแนวโน้มการสกัดโปรตีน 30 kDa ทั้งนี้โปรตีนดังกล่าวสามารถยับยั้งเชื้อไวรัสเอชไอวีและเซลล์มะเร็ง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้วางแผนการทดลองเพื่อวิเคราะห์ผลการปรับปรุงพันธุ์มะระขึ้นกพื้นเมืองที่มีต่อปริมาณโปรตีน 30 kDa

รวบรวมเมล็ดมะระขึ้นก 12 สายพันธุ์ (accession number) จากจังหวัดต่างๆ ของประเทศไทย ได้แก่ accession number 1, 3, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 16, 21 และพันธุ์ปลูกเพื่อการค้า ได้แก่ accession number 20 ผลิตเมล็ดสายพันธุ์แท้ โดยการผสมตัวเองภายในต้นเดียวกัน 3 ชั่วอายุ มะระขึ้นก accession number 13 และ 12 ให้น้ำหนักเมล็ดสูงสุด และมะระขึ้นก accession number 10 และ 1 ให้น้ำหนักเมล็ดต่ำสุด เมื่อผสมมะระขึ้นกทั้ง 4 สายพันธุ์ แบบพบกันหมด พบว่าน้ำหนักเมล็ด น้ำหนักโปรตีนสกัด ปริมาณโปรตีนรวม และโปรตีน 30 kDa มีความแตกต่างกัน

ทางสถิติระหว่างลูกผสมชั่วที่ 1 และสายพันธุ์พ่อแม่ ลูกผสมชั่วที่ 1 และสายพันธุ์พ่อแม่ให้น้ำหนักเมล็ดตั้งแต่ 8.15 ถึง 10.45 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติ กลุ่มผสม 13×12 ให้น้ำหนักเมล็ดสูงสุด 10.45 กรัม/เฮนโดสเปิร์ม 5 กรัม และ accession number 10 ให้น้ำหนักเมล็ดต่ำสุด 8.15 กรัม/เฮนโดสเปิร์ม 5 กรัม และพันธุ์ที่ทดสอบทั้งหมดให้น้ำหนักโปรตีนสกัดตั้งแต่ 91 ถึง 253 มิลลิกรัม/เฮนโดสเปิร์ม 5 กรัม accession number 10 ให้น้ำหนักโปรตีนสกัดสูงสุด 253 มิลลิกรัม/เฮนโดสเปิร์ม 5 กรัม และกลุ่มผสม 12×10 ให้น้ำหนักโปรตีนสกัดต่ำสุด 91 มิลลิกรัม/เฮนโดสเปิร์ม 5 กรัม น้ำหนักโปรตีนรวม ตั้งแต่ 6.13 ถึง 19.58 มิลลิกรัม/เฮนโดสเปิร์ม 5 กรัม accession number 10 ให้น้ำหนักโปรตีนรวมสูงสุด 19.58 มิลลิกรัม/เฮนโดสเปิร์ม 5 กรัม กลุ่มผสม 12×10 ให้น้ำหนักโปรตีนรวมต่ำสุด 6.13 มิลลิกรัม/เฮนโดสเปิร์ม 5 กรัม น้ำหนักโปรตีน 30 kDa ของกลุ่มผสมและสายพันธุ์พ่อแม่แตกต่างกันทางสถิติ น้ำหนักโปรตีน 30 kDa ตั้งแต่ 65.65 ถึง 155 ไมโครกรัม/เฮนโดสเปิร์ม 5 กรัม accession number 10 ให้น้ำหนักโปรตีน 30 kDa สูงสุด 155 ไมโครกรัม/เฮนโดสเปิร์ม 5 กรัม และกลุ่มผสม 12×10 ให้น้ำหนักโปรตีน 30 kDa ต่ำสุด 65.65 ไมโครกรัม/เฮนโดสเปิร์ม 5 กรัม การผสมสลับพ่อแม่ของ accession number 1 และ 10 แสดงให้เห็นผลของสายพันธุ์แม่ เมื่อ accession number 10 เป็นแม่พันธุ์ น้ำหนักเมล็ดของลูกผสมชั่วที่ 1 และสายพันธุ์พ่อแม่ไม่มีสหสัมพันธ์กับโปรตีนสกัด โปรตีนรวม และโปรตีน 30 kDa แต่มีสหสัมพันธ์ด้านบวกระหว่างโปรตีนสกัดกับโปรตีนรวม ระหว่างโปรตีนสกัดกับโปรตีน 30 kDa และระหว่างโปรตีน 30 kDa กับโปรตีนรวม

ทดสอบพันธุ์มะระขึ้นก 13 สายพันธุ์ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ พบว่าผลผลิตของมะระขึ้นกสายพันธุ์ต่างๆ มีน้ำหนักตั้งแต่ 766 ถึง 2,244 กก./ไร่ มะระขึ้นก accession number 7 และ accession number 10 ให้ผลผลิตสูงสุด 2,244 และ 2,186 กก./ไร่ ซึ่งมากกว่า accession number 20 60.42 และ 59.38% ตามลำดับ เฮนโดสเปิร์มของเมล็ดมะระขึ้นกทั้ง 13 สายพันธุ์ใช้สกัดแยกโปรตีน 30 kDa มะระขึ้นกแต่ละสายพันธุ์ให้น้ำหนักผลแก่ ตั้งแต่ 516 ถึง 1,106 กก./ไร่ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ และให้น้ำหนักเมล็ดสดตั้งแต่ 50 ถึง 134.8 กก./ไร่ ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติ accession number 13 ให้น้ำหนักผลแก่ น้ำหนักเมล็ดสด และน้ำหนักเฮนโดสเปิร์มสูงสุด กล่าวคือให้น้ำหนักผลแก่ 1,106 กก./ไร่ น้ำหนักเมล็ดสด 134.8 กก./ไร่ และน้ำหนักเฮนโดสเปิร์ม 61.9 กก./ไร่ ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน 30 kDa โดยวิธีแยกกระแสไฟฟ้าบนแผ่นเจล และวัดระดับความเข้มของโปรตีน 30 kDa พบว่า accession number 16 10 และ 3 ให้ปริมาณโปรตีน 30 kDa สูงสุด 265.42 215.91 และ 206.39 ไมโครกรัม/เฮนโดสเปิร์ม 5 กรัม ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และพบว่าโปรตีน 30kDa กับโปรตีนรวมในทุกสายพันธุ์มีสหสัมพันธ์ด้านบวก

เมื่อศึกษาลักษณะพฤกษศาสตร์ ผลผลิตและลักษณะพืชสวน พบว่า มะระขึ้นกทุกสายพันธุ์มี

ลักษณะพฤกษศาสตร์เหมือนกัน แต่มีความแตกต่างกันทางสถิติของขนาดใบ ดอกเพศเมีย ดอกเพศผู้
ใบประดับ ไร่ก้าน ผล และเมล็ด



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved