ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

พืชสวน

สาขา

พืชสวน

ภาควิชา

เรื่อง ความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้ามระหว่างกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ และลูกผสมสีเหลือง

Self and Cross Ability between *Spathoglottis hybrida* ‘Julalux’ and Yellow Hybrid

นามผู้วิจัย นางสาวศิวพร แก้วชุ่มชื่น

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(อาจารย์เฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(รองศาสตราจารย์สมภพ ฐิตะวสันต์, วท.ม.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(รองศาสตราจารย์ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์, วท.ม.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตรจารย์พัชรียา บุญกอแก้ว, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(รองศาสตราจารย์พูนพิภพ เกษมทรัพย์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้ามระหว่างกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ และลูกผสมสีเหลือง

Self and Cross Ability between *Spathoglottis hybrida* ‘Julalux’ and Yellow Hybrid

โดย

นางสาวศิวพร แก้วชุ่มชื่น

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ศิวพร แก้วชุ่มชื่น 2554: ความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้ามระหว่างกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสม 'จุฬาลักษณ์' และลูกผสมสีเหลือง ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาพืชสวน ภาควิชาพืชสวน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์เฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์, Ph.D. 78 หน้า

ลูกผสม 'จุฬาลักษณ์' และ ลูกผสมสีเหลือง เป็นกล้วยไม้ลูกผสมในสกุล *Spathoglottis* ที่มีทรงพุ่มกะทัดรัด ดอกมีสีสันสดใสและมีอายุการบานดอกยาวนาน ซึ่งในปัจจุบันได้รับการพัฒนาพันธุ์เพื่อใช้เป็นไม้กระถาง แต่ข้อมูลเกี่ยวกับการผลิตและการปรับปรุงพันธุ์ยังมีไม่เพียงพอ จึงได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญเติบโตในรอบ 1 ปี จำนวนโครโมโซม ความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้ามและอัตราความมีชีวิตของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า ลูกผสม 'จุฬาลักษณ์' และ ลูกผสมสีเหลืองมีรูปร่างและลักษณะภายนอกคล้ายกัน แตกต่างกันที่ขนาดและสีดอก วงจรการเจริญเติบโตในรอบ 1 ปี มีช่วงเจริญเติบโตสลับกับการพักตัว การศึกษาโครโมโซมจากเนื้อเยื่อปลายราก พบว่า ลูกผสม'จุฬาลักษณ์' และ ลูกผสมสีเหลืองมีจำนวนโครโมโซม 2n = 40 การศึกษาความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้ามแบบสลับพ่อ-แม่โดยการถ่ายละอองเกสรด้วยมือ ก่อนทำการผสมเกสรได้ศึกษาความมีชีวิตของกลุ่มเรณู ด้วยการย้อมสี aceto - carmine พบว่า ลูกผสม 'จุฬาลักษณ์' และลูกผสมสีเหลือง มีค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของกลุ่มเรณู 82±5.03 และ 91±2.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การผสมตัวเองของลูกผสม 'จุฬาลักษณ์' มีอัตราการผสมติด 54.00 เปอร์เซ็นต์ และการผสมตัวเองของลูกผสมสีเหลืองมีอัตราการผสมติด 71.43 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการผสมข้ามเมื่อให้ลูกผสม'จุฬาลักษณ์' เป็นต้นแม่พันธุ์ พบว่า มีอัตราการผสมติด 69.23 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อให้ลูกผสมสีเหลืองเป็นต้นแม่พันธุ์ มีอัตราการผสมติดเท่ากับ 50.00 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำเมล็ดจากทั้ง 4 คู่ผสมมาศึกษาความมีชีวิตของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า มีเพียงเมล็ดจากคู่ผสมที่มีลูกผสมสีเหลืองเป็นต้นแม่เท่านั้นที่งอกและพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มโดยสามารถเจริญเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ได้

_____ _____ ___/___/___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Siwaporn Kaeochumchuen 2011: Self and Cross Ability between *Spathoglottis hybrida* 'Julalux' and Yellow Hybrid. Master of Science (Agriculture), Major Field: Horticulture, Department of Horticulture. Thesis Advisor: Miss Shermarl Wongchaochant, Ph.D. 78 pages.

Spathoglottis hybrida 'Julalux' and yellow hybrid belong to genus *Spathoglottis*. They had compact plant sizes, attractive flower colors and long blooming period. Currently, they were improving for using as ornamental pot plants. However, data of their production and breeding program are still insufficient. So that, morphological and life cycle characteristics, chromosome numbers, self and cross abilities of these hybrids and their seed germination were studied. Morphological and life cycle characteristics of the two hybrids were mostly similar except for plant sizes and flower colors. The annual growth cycles had growing period alternating to dormancy. Chromosome numbers determined from root-tip of *S.* hybrida 'Julalux' and yellow hybrid were 2n = 40. Self and cross abilities by hand pollinating were studied. Pollinia viability was test by staining method using 1 % aceto-carmine before hand pollination. The average pollinia viability of *S.hybrida* 'Julalux' and yellow hybrid were 82±5.03 and 91±2.82 %, respectively. Self ability of *S. hybrida* 'Julalux' was 54.00 % and yellow hybrid was 71.43 %. In case of cross pollination, using *S. hybrida* 'Julalux' as mother plants showed 69.23 % pod set, while using yellow hybrid as mother plants showed 50.00 %. The obtained seeds from each pollinated combinations were cultured in growing media. Only seeds from combinations that had yellow hybrid as mother plants could germinate to be protocorms and develop to normal explants.

_____ _____ ____ /___/___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. เฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก รองศาสตราจารย์สมภพ ฐิตะวสันต์ รองศาสตราจารย์ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์พัชรียา บุญกอแก้ว อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษาในการเรียน แนะนำแนวทางในการวางแผนและดำเนินการทดลอง ตลอดจนตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ และขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์มณทินี ธีรารักษ์ อาจารย์หลักสูตรพืชสวน สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำปรึกษาและอำนวยความสะดวกในการดำเนินงาน ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์จิตราพรรณ เทียมปโยธร ผู้ทรงคุณวุฒิซึ่งเป็นผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย และ อาจารย์ ดร. เบญญา มะโนชัย ประธานการสอบ ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และหลักสูตรพืชสวน สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำการทดลอง ตลอดจนเครื่องมือต่าง ๆ ขอขอบคุณศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร (พืชสวน) จังหวัดสมุทรสาคร ที่เอื้อเฟื้อกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ สำหรับใช้ในการทดลอง ขอขอบคุณ ดร. ฉันทนา สุวรรณธาดา และคุณพรรัตน์ ศิริคำ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ช่วยให้การอบรมเทคนิคเกี่ยวกับการศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้ดินใบหมาก ขอขอบคุณ สวพ. (KURDI) ที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิจัย และขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัวแก้วชุ่มชื่น ที่ได้อบรมและให้กำลังใจผู้เขียนมาตลอดในทุกเรื่อง

ศิวพร แก้วชุ่มชื่น

พฤษภาคม 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	20
อุปกรณ์	20
วิธีการ	23
ผลและวิจารณ์	28
สรุป	64
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	66
ภาคผนวก	74
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	78

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ และลูกผสมสีเหลือง	33
2	การเจริญเติบโตของหัว ใบ และดอกในแต่ละระยะของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’	44
3	การเจริญเติบโตของหัว ใบ และดอกในแต่ละระยะของลูกผสมสีเหลือง	45
4	ผลของวัสดุปลูกต่อจำนวนราก ความยาวรากและคุณภาพรากของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’	47
5	ผลของวัสดุปลูกต่อจำนวนราก ความยาวรากและคุณภาพรากของลูกผสมสีเหลือง	48
6	อัตราการผสมตัวเองและผสมข้ามของกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ และลูกผสมสีเหลือง	57
7	เปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์จากแต่ละคู่ผสม	58
8	อัตราการงอกของเมล็ดที่เพาะบนอาหารแต่ละชนิดและเลี้ยงในสภาพแสงต่างกัน	61

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	รากของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’	34
2	รากของลูกผสมสีเหลือง	34
3	หัวของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ (ก) ที่ไม่ได้ผ่า และ (ข) ผ่าตามยาว	35
4	(ก) หัวที่อายุน้อย และ (ข) หัวที่อายุมากของลูกผสมสีเหลือง	35
5	ใบของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’	36
6	ใบของลูกผสมสีเหลือง	36
7	ช่อดอกของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ (ก) ในระยะดอกตูม และ (ข) ระยะดอกบาน	37
8	ช่อดอกของลูกผสมสีเหลือง (ก) ในระยะดอกตูม และ (ข) ระยะดอกบาน	37
9	ดอกของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’	38
10	ดอกของลูกผสมสีเหลือง	38
11	ฝักของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’	39
12	ฝักของลูกผสมสีเหลือง	39
13	เมล็ดของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’	39
14	เมล็ดของลูกผสมสีเหลือง	39
15	ไดอะแกรมแสดงช่วงการเจริญเติบโตของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ ใน 1 ปี	43
16	ไดอะแกรมแสดงช่วงการเจริญเติบโตของลูกผสมสีเหลืองใน 1 ปี	43
17	โครโมโซมจากเซลล์ปลายรากลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ ที่เก็บตัวอย่างในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน (กำลังขยาย 400 เท่า)	50
18	โครโมโซมจากเซลล์ปลายรากลูกผสมสีเหลือง ที่เก็บตัวอย่างในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน (กำลังขยาย 400 เท่า)	51
19	โครโมโซมจากเซลล์ปลายรากของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ ที่ไม่ผ่านการหยุดวงชีพเซลล์และหยุดวงชีพเซลล์นานแตกต่างกัน (กำลังขยาย 1000 เท่า)	53
20	โครโมโซมจากเซลล์ปลายรากของลูกผสมสีเหลือง ที่ไม่ผ่านการหยุดวงชีพเซลล์และหยุดวงชีพเซลล์นานแตกต่างกัน (กำลังขยาย 1000 เท่า)	53
21	จำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากของ (ก) ลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ และ (ข) ลูกผสมสีเหลือง (กำลังขยาย 1000 เท่า)	54

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
22	กลุ่มเรณูของ (ก) ลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ และ (ข) ลูกผสมสีเหลือง ที่ย้อมติดสี aceto - carmine ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (กำลังขยาย 400 เท่า)	55
23	ฝักของแต่ละคู่ผสมที่อายุ 25 วัน	57
24	ลักษณะเมล็ดจากคู่ผสมต่าง ๆ (กำลังขยาย 400 เท่า)	59
25	การงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินใบหมาก	62
26	ลักษณะของโปรโตคอร์มที่ได้รับสภาพแสงแตกต่างกัน	62
27	ระยะการพัฒนาของต้นกล้า	63

ภาพผนวกที่

1	ลักษณะของกลีบปากที่แตกต่างของลูกผสมสีเหลือง	77

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

½ MS medium	half strength Murashige and Skoog medium
VW medium	Vacin and Went medium

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้ามระหว่างกล้วยไม้ดินใบหมาก ลูกผสม 'จุฬาลักษณ์' และลูกผสมสีเหลือง

Self and Cross Ability between *Spathoglottis hybrida* 'Julalux' and Yellow Hybrid

คำนำ

ประเทศไทยนับเป็นแหล่งพันธุกรรมของกล้วยไม้หลากหลายชนิดและสายพันธุ์ ซึ่งมีรายงานว่าพบมากถึง 168 สกุล 1,170 ชนิด (สลิล, 2549) โดยสามารถพบได้ทั่วภูมิภาคของประเทศ และมีรายงานว่าพบชนิดใหม่อย่างต่อเนื่อง เนื่องจากมีสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติที่เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ อีกทั้งหลาย ๆ ชนิดที่มีอยู่ในธรรมชาติก็ได้รับการพัฒนาเป็นไม้ตัดดอก ไม้กระถาง และมีการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ให้แตกต่างไปจากสายพันธุ์เดิม ประเทศไทยจึงถือเป็นแหล่งผลิตกล้วยไม้ที่สำคัญของโลกซึ่งในแต่ละปีสามารถนำรายได้เข้าสู่ประเทศได้อย่างมากมาย ในปี 2553 มีการส่งออกต้นกล้วยไม้ 29,988,000 ต้น และดอกกล้วยไม้ 25,270 ตัน มูลค่ารวม 2,727.44 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2553)

กล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* เป็นกล้วยไม้ดินพันธุ์พื้นเมืองที่มีความหลากหลายทั้งสีสันของดอก ความสูงต้น ขนาดของใบ และความต้องการสภาพอากาศในการเจริญเติบโต คือ บางพันธุ์สามารถทนต่อสภาพกลางแจ้งได้ดีและบางพันธุ์เจริญได้ดีในที่ร่ม เป็นกล้วยไม้ที่สามารถปลูกได้เกือบทุกภาคของประเทศไทย การดูแลรักษาค่อนข้างง่าย และมีอายุการใช้งานยาวนาน จึงมีผู้นิยมนำมาปลูกเป็นไม้กระถาง และไม้ประดับสวน ดังนั้นหากมีการปรับปรุงพันธุ์ให้เป็นที่ต้องการของตลาด และพัฒนาการผลิตให้มีประสิทธิภาพ จะสามารถส่งเสริมกล้วยไม้ดินใบหมากให้ได้รับความนิยมทั้งในประเทศ และต่างประเทศ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2548) กล้วยไม้สกุลนี้มีความสามารถในการผสมข้ามได้ง่าย ทำให้เป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้เกิดการกระจายตัวทางพันธุกรรมในลักษณะต่าง ๆ ของลูกผสม และสามารถคัดเลือกลักษณะที่พึงประสงค์มาใช้ต่อไปได้

ในปัจจุบันนักปรับปรุงพันธุ์ให้ความสนใจพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้สกุลนี้มาใช้ประโยชน์เพื่อเป็นไม้กระถาง เนื่องจากบางชนิดมีลำต้นไม่สูงมาก สามารถออกดอกได้ตลอดปี ดอกมีสีสันสดใส และมีอายุการบานดอกยาวนาน ในการวิจัยครั้งนี้ใช้กล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสม 2 สายพันธุ์ คือ ลูกผสม 'จุฬาลักษณ์' ซึ่งมีลักษณะทรงต้นกะทัดรัด ช่อดอกพรู ก้านช่อดอกไม่ยาวจนเกินไป และ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลูกผสมสีเหลืองซึ่งมีการแตกกอที่ดี ทำให้ทั้ง 2 สายพันธุ์มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเป็นไม้กระถางในอนาคตได้ แต่พบว่าปัญหาในการผลิตและการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ชนิดนี้ยังขาดข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับลักษณะทางอนุกรมวิธาน ปัจจัยของสภาพแวดล้อม เทคโนโลยีการปลูกเลี้ยง และข้อมูลด้านการปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากพันธุ์ที่มีอยู่ในท้องตลาดส่วนใหญ่เกิดจากการผสมพันธุ์โดยเกษตรกร จึงไม่มีการบันทึกประวัติต้นที่ใช้เป็นพ่อ-แม่พันธุ์ ทำให้ไม่ทราบแหล่งที่มาของแต่ละสายพันธุ์ที่ชัดเจน อีกทั้งพบว่าลูกผสมส่วนใหญ่เป็นหมันและไม่มีเมล็ดทำให้เป็นปัญหาในกระบวนการขยายพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2548) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาสายพันธุ์ และศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม เพื่อใช้เป็นแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญเติบโตในรอบ 1 ปีของต้นพ่อ - แม่พันธุ์

2. เพื่อศึกษาชนิดของวัสดุปลูกที่เหมาะสมในการเกิดรากที่สมบูรณ์ สะอาด และศึกษาเทคนิคต่าง ๆ ที่เหมาะสมในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากเพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซม

3. เพื่อศึกษาความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้ามระหว่างลูกผสม‘จุฬาลักษณ์’ และลูกผสมสีเหลือง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

กล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* หรือกล้วยไม้ดินใบหมากอยู่ในวงศ์ Orchidaceae วงศ์ย่อย Epidendroideae เผ่า Arethuseae เผ่าย่อย Bletiinae (Beaman *et al*., 2001) Carl Ludwig Von Blume ตั้งชื่อกล้วยไม้สกุลนี้เมื่อปี ค.ศ. 1825 มีรากศัพท์มาจากภาษากรีก 2 คำ คือ spathe แปลว่า ใบมีด และ glotta แปลว่า ลิ้นหรือปาก หมายถึง รูปร่างของกลีบปากมีลักษณะคล้ายลิ้น ในประเทศไทยนิยมเรียกว่า กล้วยไม้ดิน เอื้องดิน เอื้องหัวข้าวเหนียว ว่านจุก กระเทียมป่า หรือ พิศมร ปัจจุบันพบว่ามีประมาณ 50 ชนิด กระจายพันธุ์อยู่ในเขตร้อน เขตกึ่งร้อนของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก เช่น อินเดีย จีน นิวกินี ออสเตรเลีย สิงคโปร์ พม่า ฟิลิปปินส์ และไทย คาดว่านิวกินีเป็นศูนย์กลางการกระจายพันธุ์ของกล้วยไม้สกุลนี้โดยพบว่ามีมากถึง 20 ชนิด (Beaman *et al*., 2001) จำแนกได้ 2 ประเภท คือ ประเภทผลัดใบตามฤดูกาล เป็นกล้วยไม้ดินที่มีการเจริญของหน่อและใบอ่อนหลังฤดูพักตัวและเข้าสู่การเจริญเติบโตในปลายฤดูแล้งหรือก่อนถึงฤดูฝนประมาณเดือนเมษายน หน่ออ่อนและใบใหม่เจริญออกมาจากใกล้โคนของหัวเดิมเมื่อใกล้ถึงกลางฤดูฝนและมีช่อดอกเจริญตามมา หลังจากดอกร่วงโรยแล้วใบจะโทรมและแห้งไป มีการทิ้งใบและหัวมีการพักตัว กล้วยไม้ดินใบหมากประเภทผลัดใบตามฤดูกาล หัวมีลักษณะค่อนข้างแบนตามระดับพื้นดิน ริมขอบมักเป็นเหลี่ยมและเบี้ยว ดอกมีสีเหลือง หรือสีขาวนวล ในประเทศไทยสามารถพบได้ในภาคเหนือ ภาคตะวันออก และภาคตะวันตก และประเภทไม่ผลัดใบตามฤดูกาล การเจริญของหน่อใหม่ออกมาจากตาที่อยู่ใกล้โคนของหัวเดิม การเจริญเติบโตคล้ายกับกล้วยไม้ดินใบหมากประเภทผลัดใบคือ เมื่อผ่านฤดูฝนไปแล้ว หัวที่เกิดใหม่เจริญเต็มที่แต่ไม่มีการทิ้งใบ ใบและกาบใบติดอยู่กับหัวต่อไปจนถึงระยะใบแก่จึงร่วงหล่นไป พร้อมกับมีการแตกหน่อ สร้างหัวใหม่และใบใหม่ ดอกมีสีม่วง พบทางภาคใต้ของประเทศไทย (อบฉันท์, 2543)

ในสภาพธรรมชาติสามารถพบกล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* บริเวณพื้นดินที่มีอินทรีย์วัตถุระหว่างซอกหิน หรือตามหน้าผาที่มีความลาดชัน โดยมีแสงแดดส่องถึงเพียงพอ และมีความชื้นค่อนข้างสูง ออกดอกได้ดีในช่วงระหว่างกลางฤดูฝนถึงต้นฤดูแล้งซึ่งมีอากาศเย็น(ระพี, 2549) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตประมาณ 30 องศาเซลเซียส สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพโรงเรือนที่มีการพรางแสงร้อยละ 50 และมีอากาศถ่ายเทสะดวก (กรมวิชาการเกษตร, 2548) ถ้าอุณหภูมิสูงอาจทำให้ดอกฝ่อ และออกดอกน้อย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. ลักษณะทางพฤษศาสตร์

หัว เป็นแบบ corm อยู่ใต้ดินและระดับดิน หัวมีหลายลักษณะ เช่น แบน บิดเบี้ยวและเป็นเหลี่ยม รูปร่างกลม หรือรูปกรวย เป็นต้น หัวเก่ามีวงแหวนรอบซึ่งเกิดจากรอยแผลของใบที่หลุดไป แต่ละวงแหวนมี 1 ตาสามารถเจริญเป็นหัวใหม่หรือช่อดอก มักมี 1 - 2 ตา อยู่ใกล้ฐานของหัวและมีรากแผ่ออกมา (Hooker, 1885)

ราก เป็นแบบรากดินระบบรากฝอย เกิดออกมาจากส่วนฐานของลำต้น มีขนาดค่อนข้างใหญ่ รูปทรงกระบอก เรียวยาว ผิวเรียบ อวบน้ำ มีสีขาว ปลายรากมีลักษณะเรียวแหลมและมีขนรากเส้นบางละเอียดจำนวนมาก สีขาวใส รากแก่มีสีน้ำตาล (บุญปิยธิดา, 2551)

ช่อดอก เป็นช่อแบบ racemose แทงช่อจากบริเวณด้านข้างของหัว เจริญจากบริเวณโคนใบ (Seidenfaden, 1992) หรือแทงช่อดอกออกจากฐานของแกนใบ (ระพี, 2516) ช่อตั้งตรง ก้านช่อยาวและเรียว มีความยาวตั้งแต่ 20 เซนติเมตรถึง 1 เมตร ในบางชนิด ดอกเกิดที่ปลายช่อเรียงเวียนห่าง ๆ ใบประดับไม่หลุดร่วง ดอกทยอยบานจากด้านล่างไปยังปลายช่อ ช่อดอก ก้านดอก และรังไข่มีทั้งแบบเกลี้ยงและมีขนปกคลุม (สลิล, 2549)

ดอก ลักษณะของดอกมี pollinium cap ปิดละอองเกสรไว้ ทำให้เป็นพืชผสมข้ามตามธรรมชาติ (กฤษฎา, 2519) โครงสร้างของดอกประกอบด้วย กลีบดอกชั้นนอก (sepal) 3 กลีบ กลีบดอกชั้นใน (petel) 3 กลีบ มีรูปร่างคล้ายกัน และกางออกในระนาบเดียวกัน กลีบปาก (labellum หรือ lip) อยู่ด้านล่าง ไม่มีเดือย เคลื่อนไหวไม่ได้ ช่วงกลางมีลักษณะคอด ส่วนโคนมีหูปากพับตั้งขึ้นทั้งสองข้าง บางชนิดไม่มีหูปาก ปลายปาก (mid lope) แตกต่างในแต่ละชนิดทำให้สามารถใช้จำแนกชนิดของกล้วยไม้ในสกุลนี้ได้ (Kamemoto and Sagarik, 1975) เส้าเกสรผอมที่โคนยาวโค้งเล็กน้อย กลุ่มละอองเกสรมี 2 ชุด ชุดละ 4 กลุ่ม แต่ละกลุ่มรูปร่างคล้ายกระบอง ดอกมีหลากหลายสี เช่น ขาว เหลือง ม่วง ชมพู และแฟนซี เป็นต้น (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2548)

ใบ เป็นใบเดี่ยว รูปหอก และมีเส้นใบเป็นรอยพับจีบตามความยาวของใบคล้ายใบของมะพร้าวหรือปาล์ม (ระพี, 2549) ฐานใบมีกาบใบรอบ ๆ ลำต้น ใบอ่อนตั้งตรงและมีร่องตามแนวยาวไม่มีข้อต่อ เมื่อแก่ปลายใบเรียวแหลมและโค้งห้อยปลายลง (ระพี, 2516; อบฉันท์, 2543)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดิน

กล้วยไม้ดิน (terrestrial orchids) เป็นกล้วยไม้ที่พบขึ้นอยู่ตามพื้นดิน หรือในบริเวณที่มีซากพืชสลายตัวทับถมกันอยู่ มีการเจริญเติบโตเป็นฤดูกาล มีหัวอยู่ใต้ดินหรือบนดินซึ่งมีโครงสร้างและหน้าที่เหมือนกับหัวของพืชหัวโดยทั่วไป และมีระบบรากเกิดจากส่วนของหัวที่อยู่ใต้ดิน มีลักษณะอวบน้ำ มักพบในเขตที่มีการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาลที่ชัดเจน เช่น ฤดูฝนหัวจะแตกหน่อและใบอ่อน ส่วนของหัวจะเจริญเป็นหัวใหม่เพิ่มขึ้นอีกและออกดอกในช่วงปลายฤดูฝน เมื่อเข้าสู่ฤดูแล้งใบจะทรุดโทรมและแห้งไป เหลือแต่ส่วนของหัวที่อวบน้ำและมีอาหารสะสมที่มีการพักตัวอยู่ใต้ดิน เมื่อถึงฤดูกาลที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสมจึงเจริญเป็นหน่อและใบอ่อนอีกครั้ง ส่วนใหญ่พบตามป่าดิบแล้ง ป่าเบญจพรรณ และมีหลายชนิดที่พบในป่าดิบชื้น (ดวงดาว, 2537) ตัวอย่างของกล้วยไม้ดินได้แก่ กล้วยไม้ในสกุล *Habenaria Chalanthe Phaius Pecteilis Eulophia* และ *Spathoglottis* เป็นต้น (Seidenfaden and Smitinand, 1959)

การแบ่งประเภทของกล้วยไม้ดินตามการเจริญเติบโต

กล้วยไม้ดินแบ่งตามการเจริญเติบโตได้ 5 กลุ่ม (จิตราพรรณ, 2539) คือ

1. สกุลรองเท้านารี (*Paphiopedilum*) พบในประเทศไทย 14 ชนิด มีการเจริญเติบโตแบบแตกกอ แตกหน่อจากตาที่โคนลำต้นเดิม แต่ละหน่อมีใบ 4 - 7 ใบ ไม่มีลำต้น ใบแผ่แบนออกเป็น 2 แถว ใบหนา มีช่อดอกออกจากตายอดกลางกอ ใบมีหลายลักษณะทั้งแคบ ยาว สีเขียว และชนิดใบสั้น สีเขียวเข้ม มีลวดลายหินอ่อน ดอกมีขนาดใหญ่ สีสด และบานทน รากมีขนาดใหญ่สีน้ำตาล ยาว 15 – 25 เซนติเมตร แผ่ออกไปด้านข้างไม่หยั่งลึกลงดิน ตามสภาพธรรมชาติพบขึ้นอยู่บนภูเขาหินปูนโดยอยู่ตามซอกหินที่มีใบไม้ผุทับถมอยู่ หรือในป่าที่มีฝนตกชุก มีความชื้นสูงตลอดปีและมีการระบายน้ำดี

2. กลุ่มที่มีลำต้นอวบน้ำทอดไปตามผิวดิน กล้วยไม้กลุ่มนี้มีใบสวยงาม มักเรียกว่า jewel orchids เนื่องจากใบมีลวดลายสีเงินหรือสีทอง พื้นใบมีสีเขียวสด สีเขียวเข้มหรือสีเขียวอมทองแดง ผิวใบมีประกายระยิบระยับเมื่อถูกแสง มักพบในป่าที่มีความชื้นสูง เช่น สกุล *Anoectochilus Macodes* และ *Ludisia*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. กลุ่มที่มีหัวอยู่ใต้ดินและต้นมีขนาดเล็ก กล้วยไม้กลุ่มนี้มีหัวกลม ขนาดประมาณ 5 - 10 เซนติเมตร พบขึ้นอยู่บนกองใบไม้ผุหรือแผ่นหินในป่าแล้ง ในช่วงฤดูแล้งจะเหลือแต่หัวฝังอยู่ใต้ดิน เมื่อได้รับน้ำฝนจะแทงยอดซึ่งมีช่อดอกชูขึ้นมา หัวใหม่เกิดขึ้นมาแทนหัวเก่าที่ลีบไปเมื่อดอกบาน หลังดอกโรย จะติดฝักแล้วจึงทิ้งใบเหลือแต่หัวพักตัวตลอดฤดูแล้ง มีถิ่นกำเนิดบนที่สูง เช่น *Habenaria* และ *Pecteilis*

4. กลุ่มที่มีหัวและต้นขนาดใหญ่ กล้วยไม้กลุ่มนี้มีหัวขนาดใหญ่อยู่บนดินหรืออยู่ใต้ดินมีทั้งชนิดใบแบน แคบและยาว เช่น สกุล *Cymbidium* และ *Grammatophyllum* พวกที่มีใบจีบแบบพัด เช่น *Spathoglottis Geodorum Calanthe Phaius* และ *Eulophia* บางชนิดมีใบเขียวตลอดปีแต่ส่วนใหญ่จะทิ้งใบในช่วงแล้งเหลือแต่หัว ดอกสวยงามจึงนิยมปลูกเลี้ยงเป็นไม้ประดับ

5. กลุ่มที่มีลำต้นผอมสูงและมีการเจริญเป็นกอ กล้วยไม้กลุ่มนี้มีสองชนิด คือ *Arundina gramnifolia* มีลำต้นสูงประมาณ 2 เมตร ใบคล้ายใบไผ่ จึงนิยมเรียกว่า เอื้องไผ่ ออกดอกเป็นช่อที่ปลายลำลูกกล้วย ดอกมีสีม่วงเข้ม กว้าง 5 - 6 เซนติเมตร และ *Branheadia finlaysoniana* มีต้นคล้ายเอื้องไผ่ แต่มีใบที่ปลายยอด 5 - 6 ใบ ก้านช่อดอกแบนคล้ายเขากวาง ดอกขนาดใกล้เคียงกับเอื้องไผ่ แต่ดอกจะบานไม่เต็มที่ และกลีบดอกลู่ไปด้านหน้า

จารุวรรณ (2550) ศึกษาการเจริญเติบโตของเอื้องน้ำต้น (*Calanthe cardioglossa* Schltr.) ที่เก็บรวบรวมมาจากแหล่งกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติ 2 แหล่ง ในเขตพื้นที่ป่าสงวนแห่งชาติขุนแม่กวง พบว่า เป็นพืชหลายฤดูผลัดใบ มีการเจริญเติบโตในลักษณะเป็นวงจรปีที่มีการเจริญเติบโตทางใบ และทางดอกสลับกับการพักตัวและมีการผลัดใบก่อนพักตัวในฤดูแล้ง การเจริญเติบโตทางใบอยู่ในระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนมกราคมของปีถัดไป การเจริญทางดอกเริ่มในระหว่างเดือนกันยายนถึงเดือนกุมภาพันธ์ของปีถัดไป การสร้างลำลูกกล้วยเริ่มขึ้นในเดือนเมษายนและต้นพืชพักตัวตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายน

อนุพันธ์ และคณะ (2550) กล่าวว่า บริเวณอุทยานแห่งชาติภูเรือ จังหวัดเลย ซึ่งมีลักษณะภูมิประเทศเป็นทิวเขาสูงที่เกิดจากการสะสมของตะกอนน้ำทะเล น้ำจืดและดินดอนสามเหลี่ยมปากแม่น้ำ มีอากาศหนาวเย็นตลอดทั้งปี ในพื้นที่อุทยานพบว่ามีกล้วยไม้หลายชนิดที่สามารถเจริญเติบโตได้ จึงทำการสำรวจกล้วยไม้ป่าบริเวณอุทยานแห่งชาติภูเรือ ตั้งแต่เดือนมีนาคม 2546 ถึงเดือนมีนาคม 2548 พบว่า ในฤดูแล้งและฤดูหนาวจะพบการออกดอกของกล้วยไม้ที่เป็นกล้วยไม้อิงอาศัยเป็นส่วนใหญ่ที่พบขึ้นบนหินหรือลานหินที่มีซากพืชซากสัตว์ทับถม ได้แก่ สกุล *Bulbophyllum*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Cleisomeria Coelogyne Doritis Epigeneium Eria Flickingeria และ *Trichotosia* และพบขึ้นตามคาคบไม้ ได้แก่ *Acriopsis Aerides Appendicula Bromheadia Chiloschista Cleisostoma Drymoda Gastrochilus Ornithochilus Otochilus Panisea Pholidota Polystachya Rhytionanthos Sarcoglyphis Schoenorchis Thrixspermum* และ *Vanda* นอกจากนี้ยังพบกล้วยไม้ที่ขึ้นทั้งบนลานหินและบนต้นไม้ ได้แก่ *Dendrobium* และ *Luisia* ส่วนฤดูฝนจะพบการออกดอกของกล้วยไม้ที่เป็นกล้วยไม้ดิน และกล้วยไม้กินซาก ซึ่งส่วนใหญ่จะพบขึ้นบนดิน และบนลานหิน ได้แก่ สกุล *Anoectochilus Anthogonium Aphyllorchis Arundina Calanthe Cymbidium Eulophia Habenaria Liparis Nervilia Pecteilis Spathoglottis* และ *Zeuxine*

พิชญนาถ (2551) ศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของกล้วยไม้แผ่นดินเย็น (*Nervilia*) 2 รหัส คือ ‘HKRCO 1’ และ ‘HKRCO 2’ พบว่า เป็นพืชหลายฤดูที่ผลัดใบ มีการเจริญเติบโตเป็นวงจรที่มีการเจริญเติบโตของดอกและใบสลับกับการพักตัวซึ่งคล้ายกับไม้ดอกประเภทหัวโดยทั่วไป มีการผลัดใบและพักตัวในฤดูแล้ง ช่วงการเจริญเติบโต คือ ระหว่างเดือนมีนาคมถึงตุลาคม ช่อดอกเจริญเต็มที่ในเดือนเมษายน มีการแทงใบอ่อนในช่วงกลางเดือนพฤษภาคม และคลี่แผ่นใบออกเป็นใบพับจีบในเดือนมิถุนายน ในช่วงที่ใบเริ่มคลี่มีการสร้างไหลออกมาจากข้อของลำต้นใต้ดิน เมื่อใบคลี่แผ่นใบเต็มที่ในเดือนตุลาคมจึงมีการสร้างหัวที่ส่วนปลายของไหลแต่ละอันและแปรรูปเป็นหัวสะสมอาหารและจะเจริญเป็นต้นใหม่ต่อไป เมื่อหัวขยายขนาดเต็มที่ใบจึงเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง และเหี่ยวแห้งไปพร้อมกับหัวเก่าในช่วงเดือนตุลาคม ส่วนหัวที่เกิดขึ้นใหม่จะเข้าสู่ระยะพักตัว ความแตกต่างของกล้วยไม้ทั้ง 2 รหัส คือ ‘HKRCO 1’ มีวงจรการเจริญเติบโตช้ากว่า 1 เดือน และเข้าสู่ระยะพักตัวช้ากว่า

3. การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ดินใบหมาก

การปรับปรุงพันธุ์พืช หมายถึง การเปลี่ยนแปลง และปรับปรุงส่วนประกอบทางพันธุกรรมของพืชให้ดีขึ้น มีลักษณะ หรือคุณภาพตามความต้องการ โดยอาศัยความรู้ทางวิทยาศาสตร์ และศิลปะ (Hayward *et al*., 1993) วิธีการปรับปรุงพันธุ์มิได้มีความหมายแค่การผสมพันธุ์ และการคัดเลือกพันธุ์ในระหว่างพืชชนิดเดียวกันเท่านั้น แต่ยังรวมถึงการผสมข้ามชนิด (interspecific hybridization) และการผสมข้ามสกุล (intergeneric hybridization) การผสมข้ามทำให้เกิดการกระจายตัวทางพันธุกรรมในลักษณะต่าง ๆ ของลูกผสม และยังสามารถรวมเอาลักษณะ อื่น ๆ ที่ไม่ปรากฏในพ่อแม่ไว้ด้วย จึงมีโอกาสที่จะได้ลูกผสมที่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม และมีลักษณะหรือคุณภาพตามความต้องการ ทำให้สามารถคัดเลือกลักษณะที่พึงประสงค์มาใช้ในการปรับปรุง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พันธุ์ได้ ซึ่งในธรรมชาติการผสมข้ามชนิดเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดวิวัฒนาการในพืชด้วย (นิตย์ศรี, 2541)

วัตถุประสงค์ของการผสมข้าม ได้แก่

1. เพื่อถ่ายทอดลักษณะบางอย่างจากพืชชนิดหนึ่งไปยังอีกชนิดหนึ่ง เช่น ความต้านทานโรค คุณค่าทางอาหารสูง และอายุการเก็บเกี่ยวสั้น เป็นต้น

2. เพื่อให้ได้พันธุกรรมใหม่ ๆ ที่ไม่เคยปรากฏในพืชพันธุ์พ่อ - แม่ เช่น ลักษณะของดอกที่แตกต่างออกไปของลูกผสม

3. เพื่อสร้างพืชชนิด (species)ใหม่ เช่นการผสมพันธุ์ระหว่างพืชที่มีโครโมโซมต่างชุดกัน ลูกผสมข้ามชนิดมักเป็นหมัน เนื่องจากโครโมโซมไม่จับคู่กัน สามารถใช้สารเคมี เช่น โคลชิซิน (colchicine) เพิ่มจำนวนโครโมโซมเป็นสองเท่า ทำให้ลูกผสมกลายเป็น amphidiploid มีการสร้างหน่วยสืบพันธุ์ที่ผสมติดตามปกติ

4. เพื่อตรวจสอบความสำเร็จในการผสมพันธุ์ โดยตรวจสอบว่า พืชสองชนิด สามารถผสมกันได้หรือไม่ อย่างไร

5. เพื่อศึกษาวิวัฒนาการการกำเนิดของพืชบางชนิด เช่น พืชที่เป็น polyploid โดยศึกษาจากการผสมติดหรือไม่ติด และเมื่อผสมแล้วสามารถให้ลูกผสมชั่วที่ 1 ที่สืบพันธุ์ได้ปกติ แสดงว่าพืชทั้งสองนั้นมีโครโมโซมชุดเดียวกันหรือเหมือนกัน และเป็นพืชชนิดเดียวกันหรือมีความใกล้ชิดทางสายพันธุ์

อุปสรรคในการผสมข้าม ได้แก่

1. การผสมไม่ติด ซึ่งเกิดจากการผสมข้ามระหว่างชนิดที่มีความสัมพันธ์กันน้อย

2. โครงสร้างของดอกที่ส่งเสริมให้เกิดการผสมตัวเอง และระยะการบานของดอกที่ไม่พร้อมกัน เป็นสาเหตุที่ทำให้ละอองเกสรของพืชชนิดหนึ่งไม่สามารถเข้าไปผสมกับพืชอีกชนิดหนึ่งได้

3. ละอองเกสรเข้าผสมกับไข่แต่ไม่มีการพัฒนาของไซโกตและเอ็นโดสเปิร์ม ทำให้ไม่เกิดเมล็ด หรือเกิดเมล็ดแต่เมล็ดไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นพืชต่อไปได้

4. ลูกผสมที่ได้มักเป็นหมัน อ่อนแอและผลิตเมล็ดได้น้อย

5. ลูกผสมมีลักษณะไม่เสถียร คือลูกหลานชั่วต่อ ๆ มาจะค่อย ๆ เปลี่ยนไปจนเหมือนกับพ่อแม่ชนิดใดชนิดหนึ่ง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* เป็นกล้วยไม้อีกประเภทหนึ่งที่มีความสวยงามและมีศักยภาพในการพัฒนาให้เป็นไม้ดอกประดับแปลงและไม้ดอกกระถางได้ ในปัจจุบันจึงมีการปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมเกสรระหว่างพันธุ์พื้นเมืองกับพันธุ์ต่างประเทศ อีกทั้งนักปรับปรุงพันธุ์เริ่มให้ความสนใจพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* ให้เป็นไม้กระถาง โดยมีแนวทางของการพัฒนาพันธุ์ คือ สามารถประดับได้ทุกสถานที่ มีทรงพุ่มกะทัดรัด ออกดอกง่าย สามารถออกดอกได้ตลอดปี มีดอกสีสันสดใสและมีอายุการบานดอกยาวนาน

จุฑาธิป และครรชิต (2550) ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* เพื่อพัฒนาเป็นไม้กระถาง โดยนำ *S. plicata* var. *alba* *S. kimballiana* และ *S. plicata* มาผสมเกสรแบบพบกันหมด จากการศึกษา พบว่า อายุฝักที่เหมาะสม คือ 25-30 วัน และเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร VW (1949) ดัดแปลง *S. plicata* var. *alba* ที่ผสมตัวเองและผสมข้าม มีอัตราการงอกของเมล็ดสูงที่สุดที่อายุฝัก 25 วัน

สุชาดา (2549) ศึกษาการผสมเกสรโดยการผสมตัวเองและผสมสลับพ่อแม่ระหว่างลูกผสม *Spathoglottis* สายพันธุ์ ‘ม่วงแคระ’ และ ‘เหลืองแคระ’ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มความหลากหลายของสายพันธุ์ และต้องการสายพันธุ์ที่มีใบเรียวเล็กเหมือนสายพันธุ์ ‘เหลืองแคระ’ ช่อดอกตั้งตรง มีจำนวนดอกต่อช่อมากซึ่งเป็นลักษณะเด่นของสายพันธุ์ ‘ม่วงแคระ’ และเป็นการศึกษาความสามารถในการผสมเกสร และการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด จากการศึกษาพบว่า ความสามารถในการผสมตัวเองของ ‘ม่วงแคระ’ และ ‘เหลืองแคระ’ มีเปอร์เซ็นต์การติดฝักเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์การผสมข้ามแบบสลับพ่อแม่เท่ากันคือ 80 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดลูกผสมทั้ง 4 คู่ผสม สามารถงอกได้ดีบนอาหารสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 70 มิลลิลิตรต่อลิตร มันฝรั่งบด 70 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลทราย 20 กรัมต่อลิตร ใช้เวลาการงอก 16 - 20 วัน

Aurigue and Labiano (2007) รายงานการผสมข้ามระหว่าง *S. kimballiana* var. *angustifolia* และ *S. vanoverberghii* ลูกผสมสามารถติดฝัก และพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ แต่ต้นที่ได้เป็นหมันในการทดลองจึงนำโปรโตคอร์มของ *S. kimballiana* var. *angustifolia* ที่เกิดจากการผสมตัวเองไปชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยการใช้รังสีแกมม่า (gamma-ray) พบว่าต้นที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน คือ เกิดลักษณะเผือก (albinism) ยอดมีลักษณะเป็นง่าม (fork) และมีจำนวนยอดและกิ่งเพิ่มมากขึ้น จากนั้นเมื่อออกดอกจึงทำการคัดเลือกต้นที่มีลักษณะดีจากการกลายพันธุ์เพื่อใช้เป็นต้นพ่อพันธุ์แล้วนำไปผสมข้ามกับ *S. vanoverberghii* ได้ลูกผสมสายพันธุ์ใหม่เรียกว่า ‘Lion of Singapore’

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โดยลูกผสมที่ได้มีลักษณะแตกต่างจากพ่อแม่ คือ ดอกมีสีเหลืองเข้ม และเกิดสีม่วงบริเวณก้านดอก กลีบดอกหนา และใบมีขนาดใหญ่ขึ้นกว่าเดิม

Locker and Grünberg (2000) ปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีดอกขนาดใหญ่ มีอายุการบานดอกนาน ดอกมีสีเข้ม และเจริญเติบโตได้รวดเร็ว ในการทดลองผสมข้ามลูกผสมของ *S. unguiculata* x *S. plicata* กับ *S. plicata* พบว่าประสบผลสำเร็จ และลูกผสมที่ได้มีลักษณะเด่น คือ ดอกมีสีม่วงเข้ม มีอายุการใช้งานยาวนาน ช่อดอกแน่น ก้านช่อตั้งตรง และมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว โดยตั้งชื่อกล้วยไม้พันธุ์นี้ว่า *Spathoglottis* 'Lencaract'

4. การศึกษาโครโมโซมกล้วยไม้ดิน

โครโมโซม (chromosome) เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของนิวเคลียส ประกอบด้วย กรด-นิวคลีอิก และโปรตีน ที่ทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการถ่ายทอดสารพันธุกรรมจากสิ่งมีชีวิตรุ่นหนึ่งไปยังอีกรุ่นหนึ่ง (Singh, 2003) สิ่งมีชีวิตที่อยู่ในชนิดเดียวกันจะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันเสมอ เช่น มนุษย์มีโครโมโซม 46 แท่ง มะเขือเทศมีจำนวนโครโมโซม 2n = 24 และถั่วลันเตามีจำนวนโครโมโซม 2n = 14 เป็นต้น (ไพศาล, 2542) การศึกษาโครโมโซมในเซลล์พืช นิยมศึกษาจากเซลล์ปลายราก ปลายยอด และดอกที่กำลังอ่อน เนื่องจากเป็นส่วนของเนื้อเยื่อเจริญที่มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว เพื่อทำการศึกษาในระยะที่พืชกำลังแบ่งตัวแบบไมโทซิส และไมโอซิส ในขณะที่อยู่ในระยะเมตาเฟส ซึ่งเป็นช่วงที่โครโมโซมหดตัวสั้น มีขนาดใหญ่และสามารถนับจำนวนโครโมโซมได้ (พรรณี, 2543)

ในการปรับปรุงพันธุ์พืชการศึกษาจำนวนโครโมโซมมีความสำคัญมาก เนื่องจากจำนวนโครโมโซม ลักษณะและรูปร่างของโครโมโซม มีส่วนช่วยให้สามารถเปรียบเทียบความคล้ายคลึงและความแตกต่างของพืชแต่ละชนิดที่นำมาศึกษาได้ อีกทั้งการเพิ่มขึ้นของโครโมโซมจะช่วยลดความเป็นหมันของลูกผสม ทำให้ลักษณะของต้นและดอกเปลี่ยนไป (ครรชิต, 2547) โดยจำนวนโครโมโซมของลูกผสมอาจผันแปรไปจากพ่อแม่ทั้งทางด้านจำนวน ลักษณะและรูปร่างของโครโมโซม

จารุภัทร (2549) ศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้ดินช้างผสมโขลง (*Eulophia graminea* Lindl.) จากเนื้อเยื่อปลายราก เก็บตัวอย่างปลายรากเวลา 11.00 น. นำปลายรากเก็บไว้ในน้ำยาคงสภาพเซลล์ที่ประกอบด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และกรดอะซิติกเข้มข้นในอัตราส่วน 3:1 โดยไม่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผ่านการหยุดวงชีพเซลล์ แล้วย้อมด้วยสี carbol fuchsin นาน 1 ชั่วโมง พบว่า มีจำนวนโครโมโซม 2n = 56

ศลิษา (2549) ศึกษาโครโมโซมของว่านจูงนาง 2 ชนิด คือ *Geodorum recurvum* (Roxb.) Alston และ *G. siamense* Rolfe ex Downie จากเนื้อเยื่อปลายรากด้วยวิธีขยี้เซลล์ เก็บตัวอย่างปลายรากเวลา 11.00 น. หยุดวงชีพเซลล์ในสารละลาย para-dichlorobenzene นาน 3 ชั่วโมง แล้วย้อมด้วยสี carbol fuchsin นาน 12 ชั่วโมง พบว่า ว่านจูงนาง *G. recurvum* (Roxb.) Alston มีจำนวนโครโมโซม 2n = 128 และ *G. siamense* Rolfe ex Downie มีจำนวนโครโมโซม 2n = 54

จารุวรรณ (2550) ศึกษาโครโมโซมจากเนื้อเยื่อปลายรากของกล้วยไม้เอื้องน้ำต้น (*Calanthe*) ด้วยวิธีขยี้เซลล์ พบว่าช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างปลายราก คือ 8.00 น. หยุดวงชีพเซลล์ในสารละลาย para-dichlorobenzene เป็นเวลา 36 ชั่วโมง แล้วย้อมด้วยสี carbol fuchsin นาน 30 นาที พบว่า มีจำนวนโครโมโซม 2n = 44 สอดคล้องกับรายงานของ Ishida (1992) ที่ศึกษาโครโมโซมในสกุล *Calanthe* 33 ชนิด รายงานว่าพืชมีสภาพเป็นอะนิวพลอยด์หลายระดับ โดยที่จำนวน 33 ชนิดนั้นมี 1 ชนิด ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n = 28 มี 22 ชนิด ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n = 40 มี 3 ชนิด ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n = 42 44 และ 46 และมี 1 ชนิด ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n = 45

Felix and Guerra (2000) ศึกษาจำนวนโครโมโซมพื้นฐานของกล้วยไม้ดินจำนวน 41 ชนิด จาก 11 สกุล ของกล้วยไม้ดินวงศ์ย่อย Cypripedioideae, Spiranthoideae, Orchidoideae และ Vanilloideae ในประเทศบราซิล โดยใช้ตัวอย่างจากปลายรากและตาดอก รายงานว่าความผันแปรของจำนวนโครโมโซมภายในวงศ์ย่อย Spiranthoideae มีจำนวนโครโมโซม 2n = 28 36 46 48 และ 92 วงศ์ย่อย Orchidoideae มีจำนวนโครโมโซม 2n = 42 44 48 80 84 และ 168 นอกจากนี้ยังพบว่ากล้วยไม้บางชนิดในสกุล *Prescottia* และบางสกุลในเผ่าย่อย Spiranthoideae มีโครโมโซมหนึ่งคู่ที่มีขนาดใหญ่กว่าคู่อื่น โดย Spiranthoideae และ Orchidoideae มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน x = 7

Latha (2002) ศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้ 5 ชนิด ได้แก่ *Habenaria crinifera Nervilia aragoana Vanda coerulea Renanthera imschootiana* และ *Phalaenopsis* ‘Chuck Hagan’ โดยใช้สีย้อม lacto-propionic orcein เก็บตัวอย่างปลายรากในเวลา 10.00 น. จากนั้นหยดสีย้อม ลงไป 2 หยด แล้วนำไปผ่านความร้อนเพื่อให้เนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม นำเนื้อเยื่อที่ได้วางบนแผ่นสไลด์ที่สะอาด แล้วหยดสีลงไปอีก 1 หยด ขยี้ปลายรากเพื่อให้เซลล์กระจายตัว ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ วิธีนี้ทำให้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โครโมโซมติดสีเข้ม ส่วนไซโตพลาสซึมไม่ติดสี ทำให้สามารถตรวจนับจำนวนโครโมโซมได้ง่าย จากการศึกษาพบว่า *H. crinifera* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 42 *N. aragoana* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 88 *V. coerulea* และ *R. imschootiana* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 38 และ *P.* 'Chuck Hagan' มีจำนวนโครโมโซม 2n = 57

ส่วนในสกุล *Spathoglottis* มีการศึกษาจำนวนโครโมโซมเช่นกัน *พบว่า S. plicata* var. *alba, S. kimballana* และ *S. plicata* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 40 38 และ 40 ตามลำดับ (จุฑาธิปและครรชิต, 2550) บุญปยธิดา (2551) ศึกษาโครโมโซมจากเนื้อเยื่อปลายรากของ *S. eburnean* Gagnep. และ *S. pubescens* Lindl. พบว่า ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างปลายราก คือ 16.00 น. หยุดวงชีพเซลล์ในสารละลาย para-dichlorobenzene เป็นเวลา 10 ชั่วโมง จากนั้นนำไปย้อมด้วยสี carbol fuchsin เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าทั้ง 2 ชนิดมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ 2n = 40 Goldblatt (1988) รายงานว่า *S. plicata* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 42 และ *S. pubescens* Lindl. มีจำนวนโครโมโซม 2n = 40 Teoh (1982) รายงานว่า *S. affinis* และ *S. microchilina* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 40 *S. plicata* Blume มีจำนวนโครโมโซม 2n = 40 และ 60

5. การผสมพันธุ์กล้วยไม้ดินใบหมาก

การผสมพันธุ์เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่จำเป็นสำหรับการสร้างพืชพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะดีและมีลักษณะแปลกไปจากพ่อ - แม่ และเหมาะกับวัตถุประสงค์ในการใช้ประโยชน์ การผสมพันธุ์กล้วยไม้ยังเป็นประโยชน์ในการช่วยขยายพันธุ์จากการใช้เมล็ด ซึ่งเป็นวิธีการเพิ่มจำนวนต้นกล้วยไม้ให้มีมากขึ้น

ขั้นตอนการผสมเกสรกล้วยไม้

1. การเลือกพันธุ์ที่ใช้เป็นพ่อและแม่

คัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ตามเป้าหมายของนักปรับปรุงพันธุ์ ว่าต้องการปรับปรุงพันธุ์ให้มีคุณสมบัติเช่นใด หลังจากนั้นเลือกว่าใช้พันธุ์ใดเป็นฝ่ายพ่อและพันธุ์ใดเป็นฝ่ายแม่ ต้นที่ใช้ต้องแข็งแรง สมบูรณ์ และปราศจากโรค (กฤษฎา, 2544)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การเตรียมดอกแม่พันธุ์

เลือกดอกที่บานเต็มที่และมีสีสันสดใส ไม่ควรเลือกใช้ดอกที่กำลังจะเหี่ยวและแก่เกินไป เพราะอาจทำให้การผสมติดลดลงและอาจเกิดการผสมตัวเองในดอกขึ้นก่อนได้ ควรเลือกผสมดอกกลาง ๆ ช่อหรือดอกที่โคนช่อเพื่อให้อาหารไปเลี้ยงฝักอย่างเพียงพอ และป้องกันการหักของก้านช่อดอก ระวังไม่ให้เกิดการผสมจากเกสรที่ไม่ต้องการทั้งจากการผสมตัวเองและการผสมข้ามที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ จากนั้นคลุมดอกด้วยถุงกระดาษเพื่อป้องกันเกสรแปลกปลอม และช่วยรักษาความชื้นให้ดอก การผสมเกสรควรทำในตอนเช้าขณะที่อากาศไม่ร้อนและละอองเกสรยังไม่ฟุ้งกระจาย (ไพบูลย์, 2521)

3. การเตรียมดอกพ่อพันธุ์

ระยะการพัฒนาของเกสรเพศผู้ที่ใช้ต้องเหมาะสม โดยการดูลักษณะภายนอกของดอก ความสัมพันธ์ระหว่างช่วงระยะการแก่ของละอองเกสรเพศผู้กับลักษณะภายนอกของดอกจะแตกต่างกันไปตามลักษณะทางพันธุกรรม ชนิด สถานที่ วัน และช่วงเวลาในแต่ละวัน จึงควรมีการตรวจสอบการนำมาใช้ โดยการเคาะดอกหรือใช้ปากคีบดึงอับละอองเกสรเพศผู้ออกมา แล้วขยี้ดูว่าละอองเกสรเพศผู้อยู่ในระยะที่พร้อมผสมหรือไม่ เมื่อพบว่าอยู่ในระยะที่เหมาะสมจึงทำการเก็บ ซึ่งการเก็บละอองเกสรเพศผู้ต้องระวังการปนเปื้อนของละอองเกสรที่ไม่ต้องการ (นพพร, 2543)

4. วิธีการผสมเกสร

การผสมเกสร คือ การนำละอองเกสรเพศผู้มาแตะ หรือป้ายบนยอดเกสรเพศเมีย ซึ่งในดอกเพศเมียต้องมีการขจัดเกสรเพศผู้ออกให้หมดก่อน เพื่อป้องกันปัญหาในการผสมตัวเอง และการปนเปื้อนของละอองเกสรที่ไม่ต้องการ อาจเตรียมดอกเพศเมียไว้ก่อนแล้ว หรือเตรียมทันทีเมื่อต้องการผสม ซึ่งต้องสัมพันธ์กับการเตรียมเกสรเพศผู้ที่นำมาผสม พบว่าวิธีการเตรียมทันทีเมื่อต้องการผสมให้การติดเมล็ดได้ดีกว่า ทั้งนี้เพราะเกสรเพศเมียยังสดอยู่ เมื่อทำการผสมแล้วต้องติดป้ายบอกวันที่ผสม ชื่อต้นแม่ และต้นพ่อ แล้วใช้ลวด หรือเชือกผูกไว้ที่ก้านดอก (นพพร, 2543)

ในการผสมแต่ละครั้งมีอัตราการผสมติดแตกต่างกัน เนื่องจากดอกบางดอกไม่ได้รับการผสมเกสรเพศผู้ ละอองเกสรเพศผู้อยู่ในระยะที่ไม่เหมาะสม หรือสภาพแวดล้อมในขณะนั้นไม่เอื้อต่อการผสมติด และเพื่อเป็นการป้องกันไม่ให้เกสรเพศเมียดังกล่าวได้รับการผสมจากดอกอื่นที่ปลิว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อยู่ในอากาศ ควรคลุมดอกเพศเมียไว้ด้วยถุงที่ละอองเกสรผ่านไม่ได้ การคลุมถุงนี้นอกจากเป็นการป้องกันละอองเกสรเพศผู้แปลกปลอมแล้ว ยังช่วยป้องกันการแห้งของดอกเพศเมียด้วย เมื่อผสมติดแล้วเอาถุงออกหรือใช้ถุงที่ระบายอากาศได้คลุมแทน เพื่อป้องกันศัตรูหรือเชื้อราที่อาจเกิดกับเมล็ดได้ (บุญหงษ์, 2548)

5. การเปลี่ยนแปลงของดอกหลังการผสมเกสร

หลังการผสมเกสรแล้วกลีบดอกเริ่มเหี่ยว และเปลี่ยนสี ยอดเกสรเพศเมียจะขยายใหญ่ขึ้น โดยมีน้ำเมือกเหนียวออกมา หลังจากนั้นถ้าผสมไม่ติดดอกก็จะหลุดไป หรือถ้าผสมติดก้านดอกส่วนที่เป็นรังไข่จะเปลี่ยนเป็นสีเขียว และขยายใหญ่ขึ้น การผสมติดขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น พันธุกรรมของต้นพ่อ และต้นแม่ ความสมบูรณ์ของต้น หรือสภาพแวดล้อม และการดูแลรักษา พบว่า การผสมพันธุ์กล้วยไม้นั้นผลที่ได้ แบ่งออกเป็น 5 ประเภท (ไพบูลย์, 2521) คือ

1. ผสมไม่ติด
2. ผสมติดแต่ฝักร่วงก่อนกำหนด
3. ผสมติดฝัก แต่ไม่มีเมล็ดอยู่ภายใน
4. ผสมติดฝัก และมีเมล็ดอยู่บ้างเล็กน้อย
5. ผสมติดฝัก และมีเมล็ดสมบูรณ์จำนวนมาก

จารุภัทร (2549) ทดลองผสมเกสรของกล้วยไม้ดินช้างผสมโขลง (*Eulophia graminea* Lindl.) ด้วยมือในช่วงเวลา 7.00 8.00 9.00 10.00 11.00 18.00 และ 19.00 น. พบว่าในแต่ละช่วงเวลามีอัตราการติดฝักแตกต่างกันไป การผสมเกสรเวลา 7.00 และ 18.00 น. มีอัตราการติดฝักสูงสุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ และ 93.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมา คือ ช่วงเวลา 17.00 9.00 และ 11.00 น. มีอัตราการติดฝัก 66.66 63.63 และ 53.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนการผสมเกสรเวลา 10.00 และ 19.00 น. มีอัตราการติดฝักต่ำสุด คือ 20.00 เปอร์เซ็นต์ และทุกฝักสามารถเจริญเติบโตบนต้นแม่ได้จนกระทั่งถึงระยะฝักแก่

ศลิษา (2549) ทดลองผสมเกสรกล้วยไม้ว่านจูงนาง 2 ชนิดในช่วงเวลา 7.00 8.00 9.00 10.00 11.00 17.00 18.00 และ 19.00 น. พบว่า *Geodorum recurvum* (Roxb.) Alston มีอัตราการผสมติดสูงสุดในช่วงเวลา 8.00 9.00 และ 10.00 น. คือ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนช่วงเวลาอื่น ๆ อัตราการผสมติดลดลง การผสมเกสรในช่วงเวลา 7.00 และ 11.00 น.ให้อัตราการผสมติดต่ำที่สุด คือ 70

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เปอร์เซ็นต์ ส่วนผลการผสมเกสร *G. siamense* Rolfe ex Downie พบว่า ช่วงเวลา 11.00 17.00 18.00 และ 19.00 น. มีอัตราการผสมติดสูงสุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือช่วงเวลา 8.00 9.00 และ 10.00 น. มีอัตราการผสมติด 80 เปอร์เซ็นต์ และช่วงเวลา 7.00 น. มีอัตราการผสมติดต่ำที่สุด คือ 40 เปอร์เซ็นต์

จารุวรรณ (2550) ศึกษาการผสมเกสรแบบผสมตัวเองของ *Calanthe cardioglossa* Schltr. ในช่วงเวลาที่แตกต่างกันคือ 8.00 9.00 10.00 11.00 16.00 และ 17.00 น. พบว่ามีอัตราการผสมติด 100 เปอร์เซ็นต์ทุกช่วงเวลา และอายุฝักตั้งแต่เริ่มติดฝักถึงฝักแตก 45 - 60 วัน

พิชญนาถ (2551) ศึกษาความเป็นไปได้ของการผสมเกสรในกล้วยไม้แผ่นดินเย็น (*Nervilia aragoana* Gaud.) พันธุ์ 'HKRC0 1' และ 'HKRC0 2' โดยการผสมด้วยมือ พบว่า มีอัตราการติดฝัก 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อผสมเกสรในช่วงเวลา 7.00-11.00 น. จากนั้นนำเมล็ดจากฝักที่มีอายุ 3 5 10 และ 15 วัน หลังการผสมเกสรไปเพาะในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW (1949) ดัดแปลง (CMU) พบว่าเมล็ดไม่สามารถงอกได้ ซึ่งเมื่อนำเมล็ดไปตรวจสอบความมีชีวิตโดยใชสาร 2,3,5 - triphenyl tetrazolium chloride พบว่าเมล็ดไม่มีชีวิต

Cochran (1985) ศึกษาการผสมเกสรตามธรรมชาติของ *Cypripedium acaule* ซึ่งมีอัตราการติดฝักในธรรมชาติต่ำ เนื่องจากดอกไม่ผลิตน้ำหวาน แต่เมื่อผสมเกสรด้วยมือพบว่ามีอัตราการติดฝักสูงสุดถึง 93 เปอร์เซ็นต์ และในการทดสอบผสมตัวเองและผสมข้ามต้นก็ให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกัน

Ackerman and Montalvo (1990) ศึกษาผลของการช่วยผสมเกสรด้วยมือให้กับกล้วยไม้ *Epidendrum ciliare* พบว่าเมื่อมีการผสมเกสรด้วยมือสามารถให้ฝักที่แก่และสมบูรณ์ได้ถึง 49 เปอร์เซ็นต์ ในปีที่ 1 และ 33 เปอร์เซ็นต์ ในปีที่ 2 จากผลการทดลองผู้วิจัยจึงได้สรุปผลว่า การติดฝักตามธรรมชาติของกล้วยไม้ชนิดนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่มีผลต่อการผสมเกสร ต้นที่ผสมติดและให้ฝักจำนวนมากนั้น ทำให้หลายฝักฝ่อไปเนื่องจากมีอาหารไปเลี้ยงต้นแม่ไม่เพียงพอ ทำให้มีการกระจายพันธุ์ในธรรมชาติน้อยมาก โดยพบว่าในเวลา 4 ปี มีการเกิดฝักในธรรมชาติเพียง 5-15 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. การเพาะเมล็ดกล้วยไม้

เมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็ก ลักษณะเป็นผงคล้ายฝุ่น มีความกว้างประมาณ 0.07-0.40 มิลลิเมตร ยาว 0.11-1.97 มิลลิเมตร ภายในเมล็ดมีคัพภะที่ประกอบด้วยเซลล์ประมาณ 100-200 เซลล์ หุ้มด้วยเปลือกหุ้มเมล็ดที่ปกคลุมด้วยชั้นไขมันที่ป้องกันน้ำ ภายในเมล็ดไม่มีอาหารสะสม (Rasmussen, 1995) ดังนั้นโอกาสที่เมล็ดกล้วยไม้สามารถงอกเองในธรรมชาติจึงเป็นไปได้ยากและต้องอาศัยเชื้อรา mycorrhiza เพื่อเป็นแหล่งอาหาร ซึ่งวิธีการนี้จะให้การงอกที่ไม่ดี แต่การนำเมล็ดกล้วยไม้มาเพาะในสภาพปลอดเชื้อช่วยเพิ่มอัตราการงอกได้ และช่วยเพิ่มโอกาสการคัดเลือกต้นลูกผสมที่ดีให้สูงขึ้น (ครรชิต, 2547) เพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมที่เกิดจากการผสมข้ามชนิดกัน นอกจากนี้ยังสามารถขยายพันธุ์ในกรณีของการผสมเกสรที่ได้เมล็ดน้อย ฝักร่วง หรือการช่วยชีวิตเอมบริโอ (embryo rescue) ที่เกิดจากการผสมระหว่างชนิดหรือสกุลที่มีความใกล้ชิดกันน้อย และยังช่วยลดระยะเวลาการเกิดวิวัฒนาการเองตามธรรมชาติ ทำให้การปรับปรุงพันธุ์มีประสิทธิภาพสูงขึ้น ระยะเวลาที่ใช้ในการงอกของกล้วยไม้แต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป โดยบางชนิดใช้เวลาหลายสัปดาห์ เป็นเดือนหรือในบางชนิดใช้เวลาหลายปีในการงอก ต่อมาจึงเริ่มพัฒนาเป็นใบและราก (Vendrame *et al*., 2007) Croix and Corix (1997) กล่าวว่า การพัฒนาของเมล็ดเริ่มจากอับละอองเกสรตกลงบนยอดเกสรเพศเมีย และงอกท่อลงไปผสมหลังจากการถ่ายละอองเกสร 1 - 2 สัปดาห์ แต่กล้วยไม้บางชนิดใช้เวลาถึง 13 สัปดาห์ ระยะเวลาที่ใช้ในการผสมเกสรที่แตกต่างกันเป็นสาเหตุหนึ่งที่มีผลไปถึงการแก่ของเมล็ด และคุณภาพของเมล็ดด้วย ดังนั้นการเพาะเมล็ดกล้วยไม้สภาพปลอดเชื้อจึงจำเป็นต้องให้ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ด เช่น อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง สภาพแวดล้อม และเมล็ดที่นำมาเพาะต้องมีอายุที่เหมาะสม ซึ่งกล้วยไม้แต่ละชนิดก็มีอายุที่เหมาะสมแตกต่างกันไป Nagashima (1989) เพาะเมล็ดของ *Ponerorchis graminiforia* Reichb. F. ซึ่งเป็นกล้วยไม้ดินของประเทศญี่ปุ่น ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า เมล็ดที่มาจากฝักแก่งอกได้ยากกว่าเมล็ดที่มาจากฝักอ่อนที่มีอายุ 35 - 40 วันหลังการผสมเกสร และมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด 40 เปอร์เซ็นต์ และ Gangaprasad *et al*. (1999) กล่าวว่า กล้วยไม้ดินหลายชนิดของประเทศออสเตรเลียสามารถนำเมล็ดจากฝักที่ยังอ่อนและยังไม่แตกมาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อได้ สอดคล้องกับรายงานของ Arditti and Ghani (2000) ที่กล่าวว่า การนำเมล็ดอ่อนของกล้วยไม้หลายชนิดมาเพาะในสภาพปลอดเชื้อสามารถงอกได้เร็วกว่านำเมล็ดแก่มาเพาะ เนื่องจาก เมล็ดกล้วยไม้ที่แก่เปลือกหุ้มเมล็ดอาจมีความหนาหรือมีสารเคลือบเมล็ดมากกว่าเมล็ดที่ได้จากฝักที่อายุน้อยทำให้น้ำและอาหารผ่านเข้าสู่เมล็ดได้ยาก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในเมล็ดกล้วยไม้มีอาหารสะสมอยู่น้อยหรือไม่มีอาหารสะสมอยู่เลย อาหารที่ใช้เพาะเมล็ดจึงต้องให้สารที่จำเป็นแก่เมล็ดเพื่อช่วยในการงอก โดยในอาหารที่ใช้นั้น ประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง น้ำตาล สารประกอบเคมีต่าง ๆ และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulator) เช่นสารในกลุ่มออกซินและไซโตไคนิน สารในกลุ่มออกซินที่นิยมใช้ได้แก่ indole-3-acetic acid (IAA), indole-butyric-acetic acid (IBA), naphthalene acetic acid (NAA) 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) และไซโตไคนินที่นิยมใช้ คือ N_6-Benzyladenine (BA), kinetin, zeatin และ N_6-isopentenye adenine (2iP) ซึ่งสมดุลของออกซินและไซโตไคนินมีผลต่อการสร้างอวัยวะ การเจริญเติบโต และการเกิดอวัยวะของพืช โดยสัดส่วนและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตแต่ละชนิดที่พืชต้องการขึ้นอยู่กับระยะการพัฒนาของเนื้อเยื่อพืช (รังสฤษฎ์, 2541) และหลังจากเมล็ดงอกแล้วต้นอ่อนของกล้วยไม้ต้องการอาหารมากขึ้นจึงจำเป็นต้องให้สารอาหารที่ต่างกันในกล้วยไม้แต่ละชนิด ณัชชา (2548) กล่าวว่า การเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อต้องมีการเติมสารประกอบอินทรีย์เชิงซ้อนลงไปในอาหารเพื่อช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตนอกเหนือจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เช่น น้ำมะพร้าวอ่อน มันฝรั่ง กล้วยหอมบด เป็นต้น มีการคิดค้นสูตรอาหารที่นำมาใช้ในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้อย่างต่อเนื่อง และมีหลายสูตรที่สามารถใช้เพาะเมล็ดกล้วยไม้ได้เป็นอย่างดี เช่น สูตรอาหาร VW (Vacin and Went, 1949) สูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) และสูตรอาหาร Knudson C (Knudson, 1946)

สุจรรยา (2540) ศึกษาการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินใบหมาก (*S. plicata* Bl.) โดยการนำเมล็ดแก่มาเพาะใสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW (1949) ดัดแปลง ที่ในปริมาตร 1 ลิตร เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตร กล้วยหอมบด 50 กรัม และถ่านกัมมันต์ 2 กรัม พบว่า เมล็ดงอกได้ดีที่สุดหลังเพาะนาน 1 เดือน และพัฒนาจากโปรโตคอร์มเป็นต้นกล้าขนาด 1-2 เซนติเมตรภายใน 1 เดือน จากนั้นจึงทำการถ่ายต้นกล้าลงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW (1949) ดัดแปลงที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลตรต่อลิตร กล้วยหอมบด 100 กรัมต่อลิตร มันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร และถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร เลี้ยงไว้นาน 6 เดือนจนต้นมีขนาดใหญ่และมีระบบรากแข็งแรง จึงทำการย้ายต้นกล้ากล้วยไม้ดินใบหมากออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก

ปิยะนุช (2547) ทดลองเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินลิ้นมังกร (*Habenaria rhodocheila* Hance.) ในอาหารเหลวสูตร VW (1949) พบว่าเมล็ดจากฝักที่มีอายุ 4 5 6 และ 7 สัปดาห์ สามารถงอกและพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มได้ ในสัปดาห์ที่ 20 หลังจากเพาะเมล็ด เมล็ดจากฝักที่มีอายุ 7 สัปดาห์ และมีตำแหน่งใกล้โคนช่อดอกให้โปรโตคอร์มที่มีขนาดใหญ่และสามารถงอกได้มากที่สุด คือ 2.46 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาพร และครรชิต (2552) ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต N^6- benzyladenine (BA) และ α-naphthalene acetic acid (NAA) ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ดินใบหมาก (*Spathoglottis plicata* Blume) โดยการเพาะเมล็ดจากฝักที่อายุ 30 วัน ที่ได้จากการผสมตัวเอง ทำการเพาะเมล็ดบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW (1949) ดัดแปลง หลังจากเมล็ดพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มจึงทำการศึกษาผลของอาหารสูตร VW (1949) ดัดแปลงและสูตร MS (1962) ที่ลดความเข้มข้นครึ่งหนึ่ง เติม BA 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.5 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อเพิ่มปริมาณโปรโตคอร์ม จากการศึกษาพบว่า หลังจากเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์ม 4 สัปดาห์ บนอาหารสูตร ½ MS ที่เติม BA และ NAA อย่างละ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้มากที่สุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงนาน 3 เดือน พบว่าอาหารสูตร ½ MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเจริญไปเป็นโปรโตคอร์มได้มากที่สุดถึง 40 เปอร์เซ็นต์

Rasmussen (1995) รายงานว่า เมล็ดกล้วยไม้ดินต้องการธาตุอาหารที่มีความเข้มข้นต่ำ แต่ในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงต้องมีการเพิ่มสารอินทรีย์ เช่น วิตามินและสารควบคุมการเจริญเติบโต และต้องมีแหล่งคาร์โบไฮเดรตจากน้ำตาล เช่น น้ำตาลกลูโคส หรือน้ำตาลซูโครส

Minea (2004) ศึกษาการเพาะเมล็ดและการพัฒนาของต้นกล้าในสภาพปลอดเชื้อของกล้วยไม้ในสกุล *Spathoglottis* โดยทดลองผสมเกสรกล้วยไม้ดินใบหมาก 2 ชนิด คือ *S. plicata* Bl. และ *S. kimballina* (Hort.) Sander ทั้งให้ผสมตัวเอง (self-pollination) ผสมภายในชนิดเดียวกัน (intraspecific cross) และผสมข้ามชนิด (interspecific cross) จากนั้นเก็บฝัก *S. plicata* Bl. ที่อายุ 15 20 25 และ 30 วัน และฝัก *S. kimballina* (Hort.) Sander ที่อายุ 30 35 และ 40 วัน มาเพาะในอาหารเหลวสูตร VW (1949) ดัดแปลงที่เติม น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร และอาหารกึ่งแข็งสูตร VW (1949) ดัดแปลงที่ประกอบด้วยน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลตรต่อลิตร กล้วยหอมบด 100 กรัมต่อลิตร มันฝรั่งบด 100 กรัมต่อลิตร และถ่านกัมมันต์ 2 กรัมต่อลิตร พบว่า อายุฝักที่เมล็ดของ *S. plicata* Bl. และ *S. kimballina* (Hort.) Sander งอกได้มากที่สุด คือ 25 - 30 วัน และ 30 - 40 วัน หลังการผสมเกสร (ตามลำดับ) โดยเมล็ดสามารถงอกได้ดีในอาหารเหลว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญเติบโตในรอบ 1 ปี
   1.1 ดินสอ
   1.2 ไม้บรรทัด
   1.3 กรรไกรตัดกิ่ง
   1.4 มีดผ่าตัด
   1.5 เวอร์เนียคาลิปเปอร์
   1.6 แผ่นเทียบสี RHS Color Chart (Wilson, 1942)
   1.7 กล้องถ่ายภาพ

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาจำนวนโครโมโซม
   2.1 วัสดุปลูก ได้แก่ กาบมะพร้าวสับ ทราย ขุยมะพร้าว และพีทมอส
   2.2 ขวดสำหรับเก็บตัวอย่างปลายรากพืช
   2.3 แผ่นกระจกสไลด์ และแผ่นกระจกปิดสไลด์
   2.4 อ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิ
   2.5 กระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 นิ้ว
   2.6 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมและศึกษาโครโมโซม ได้แก่
      - ดินสอ
      - ปากคีบปลายแหลม
      - เข็มเขี่ย
      - มีดผ่าตัด
      - กระดาษกรอง
      - กรวยกรอง
      - กระบอกตวงสารเคมี
      - หลอดสำหรับเก็บตัวอย่างปลายราก
      - หลอดดูดสาร
   2.7 กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope
   2.8 สารเคมี ได้แก่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

- น้ำยาคงสภาพคาร์นอย I (Carnoy's fluid I) ที่ประกอบด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ (ethanol) และ กรดอะซีติกเข้มข้น (glacial acetic acid) อัตราส่วน 3:1 (Gosden, 1994)

- สารเคมีสำหรับ pretreatment คือ 8-hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.002 โมล ต่อน้ำปริมาตร 1 ลิตร

- สารเคมีที่ใช้สำหรับย่อยแยกเซลล์ (hydrolytic solution) คือ กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1 นอร์มอล

- สีที่ใช้ย้อมโครโมโซมพืช คือ lacto - propionic orcein ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาความมีชีวิตของกลุ่มเรณู
   3.1 หลอดสำหรับเก็บตัวอย่างกลุ่มเรณู
   3.2 แผ่นกระจกสไลด์และแผ่นกระจกปิดสไลด์
   3.3 สีที่ใช้ย้อมกลุ่มเรณู คือ aceto - carmine
   3.4 กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope

4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการผสมเกสร
   4.1 ไม้จิ้มฟัน
   4.2 ไหมพรม
   4.3 ถุงกระดาษ

5. อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาอัตราความมีชีวิตของเมล็ดกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสมในสภาพปลอดเชื้อ
   5.1 ฝักกล้วยไม้ดินใบหมากจากทั้ง 4 คู่ผสม ได้แก่
      - ฝักคู่ผสม 'จุฬาลักษณ์' x 'จุฬาลักษณ์' (อายุฝัก 25 วันหลังผสมเกสร)
      - ฝักคู่ผสม 'จุฬาลักษณ์' x สีเหลือง (อายุฝัก 25 วันหลังผสมเกสร)
      - ฝักคู่ผสม สีเหลือง x สีเหลือง (อายุฝัก 30 วันหลังผสมเกสร)
      - ฝักคู่ผสม สีเหลือง x 'จุฬาลักษณ์' (อายุฝัก 30 วันหลังผสมเกสร)
   5.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ได้แก่
      - เครื่องชั่ง
      - เตาไมโครเวฟ
      - เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH-meter)
      - กระบอกตวง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

- บีกเกอร์
- ปิเปต
- แท่งแก้วคนสาร
- กรวยกรอง
- หลอดหยด

5.3 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร Vacin and Went (VW, 1949) และสูตร Murashige and Skoog (MS, 1962)

5.4 สารเคมีสำหรับทำความสะอาดฝัก

5.5 สารอินทรีย์ที่ใช้ร่วมกับอาหารเพาะเลี้ยง

- น้ำมะพร้าวอ่อน
- กล้วยหอม
- มันฝรั่ง
- น้ำตาลทราย
- ผงวุ้น
- ถ่านกัมมันต์

5.6 หม้อนึ่งความดัน ใช้นึ่งฆ่าเชื้ออาหารเพาะเลี้ยงและอุปกรณ์ที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนึ่งที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

5.7 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- ตู้ปลอดเชื้อ
- มีดผ่าตัด
- ปากคีบ
- จานแก้ว
- ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
- แอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- ไฟแช็ค
- ชั้นวางมีดผ่าตัดและปากคีบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิธีการ

การศึกษาความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้ามระหว่างกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ และลูกผสมสีเหลือง แบ่งการทดลองเป็น 4 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญเติบโตในรอบ 1 ปี การทดลองที่ 2 การศึกษาจำนวนโครโมโซม การทดลองที่ 3 การศึกษาความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้าม และ การทดลองที่ 4 การศึกษาอัตราความมีชีวิตของเมล็ดกล้วยไม้ดินใบหมากในสภาพปลอดเชื้อ

การทดลองที่ 1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญเติบโตในรอบ 1 ปี

1.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ต้นพืชทดลองเป็นต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ได้มาจากสวนกล้วยไม้ของเกษตรกร อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ที่ปลูกในกาบมะพร้าวสับ แล้วนำมาปลูกเลี้ยงต่อบริเวณสวนกล้วยไม้ระพี สาคริก ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร ดูแลรดน้ำต้นกล้วยไม้เป็นประจำทุกเช้า และใส่ปุ๋ยเม็ดละลายช้าสูตร 14-14-14 อัตรา 1 กรัมต่อต้นทุก 3 เดือน บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของส่วนประกอบของพืชทดลอง ได้แก่ ราก หัว ใบ ช่อดอก ดอกย่อย และฝักในระยะที่ส่วนต่าง ๆ ของต้นเจริญเติบโตเต็มที่ บันทึกลักษณะดังกล่าวจากต้นพืชทั้ง 10 ต้น พร้อมทั้งถ่ายภาพ

การบันทึกข้อมูล

ราก	จำนวนราก และขนาดของราก
หัว	รูปร่างและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหัว
ใบ	สีใบ จำนวนเส้นใบ และขนาดของใบ
ช่อดอก	ความยาวช่อดอก และจำนวนดอกย่อยต่อช่อ
ดอกย่อย	ความกว้างและความยาวของดอก สีของกลีบดอก สีของกลีบปาก และสีของหูปาก
ฝัก	ขนาดของฝัก และสีฝัก
เมล็ด	ลักษณะของเมล็ดและส่วนประกอบต่าง ๆ ของเมล็ด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.2 การศึกษาการเจริญเติบโตในรอบ 1 ปี

เลือกต้นกล้วยไม้ที่มีขนาดและการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน จำนวน 10 ต้น ติดตามการเจริญเติบโตในรอบ 1 ปี

การบันทึกข้อมูล

1. ช่วงที่มีการแทงหน่อใหม่ การเจริญเติบโตทางต้นและใบ การออกดอกและการพักตัวของหัวในรอบ 1 ปี

2. การเจริญเติบโตของหัว ใบและดอก

2.1 การเจริญเติบโตของหน่อใหม่ (หัว) ได้แก่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหัวและความสูงของหัวในทุกช่วงการเจริญเติบโต

2.2 จำนวนใบและขนาดของใบในช่วงการเจริญเติบโตทางต้นและใบ

2.3 ระยะออกดอก จำนวนดอก อายุการบานดอกและระยะเวลาการบานดอก

การทดลองที่ 2 การศึกษาจำนวนโครโมโซม

แบ่งออกเป็น 2 การทดลองย่อย ดังนี้

2.1 การศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณรากและให้รากที่มีคุณภาพดี

เลือกต้นที่สมบูรณ์และปราศจากโรค ทำการแยกกอจากต้นเดิมปลูกลงกระถางพลาสติกขนาด 2 นิ้ว วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 5 สิ่งทดลอง สิ่งทดลองละ 5 ซ้ำ ได้แก่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สิ่งทดลองที่ 1 กาบมะพร้าวสับ
สิ่งทดลองที่ 2 กาบมะพร้าวสับผสมทรายอัตราส่วน 1:1
สิ่งทดลองที่ 3 ทราย
สิ่งทดลองที่ 4 ขุยมะพร้าว
สิ่งทดลองที่ 5 พีทมอส

ปลูกเลี้ยงภายในโรงเรือนพลาสติกเป็นเวลา 2 สัปดาห์ บันทึกจำนวนรากและความยาวราก

2.2 การศึกษาช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างปลายรากและหยุดวงชีพเซลล์

ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างปลายรากโดยใช้มีดที่คม และสะอาดตัดปลายรากที่เวลา 9.00 10.00 11.00 12.00 13.00 และ 14.00 น. คัดเลือกรากที่มีลักษณะอวบ และสมบูรณ์ ตัดให้รากมีความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร และศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการหยุดวงชีพเซลล์ โดยเปรียบเทียบการใช้และไม่ใช้สารละลาย 8-hydroxyquinoline ในการหยุดวงชีพเซลลแชปลายรากในสารละลาย 8 - hydroxyquinoline เป็นเวลา 3 และ 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศา-เซลเซียส จากนั้นนำปลายรากมาลางดวยน้ำกลั่นให้สะอาด แช่ในสารเคมีคงสภาพเซลล์ (Fixation) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อครบกำหนดเวลา นำมาล้างด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ 2 ครั้ง เก็บปลายรากในเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ และเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จากนั้นศึกษาจำนวนโครโมโซมโดยเทคนิค squash technique (Singh, 2003) โดยตัดเฉพาะส่วนของปลายรากที่กำลังเจริญเติบโต สังเกตจากรากมีสีขาว และปลายรากมีสีเหลือง ให้มีความยาว 0.3 – 0.5 เซนติเมตร ย่อยเซลล์ในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 นอร์มอล เป็นเวลา 8 นาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่น ย้อมสีเนื้อเยื่อด้วยสี lacto - propionic orcein นาน 30 นาที วางเนื้อเยื่อปลายรากบนแผ่นสไลด์ ขยี้เซลล์ด้วยปากคีบปลายแหลม ปิดด้วยแผ่นกระจกปิดสไลด์ ใช้กระดาษซับบริเวณแผ่นกระจกปิดสไลด์ ใช้นิ้วมือกดลงไปเพื่อให้เซลล์กระจายและเป็นการซับสีส่วนเกิน จากนั้นใช้ปลายดินสอเคาะเบา ๆ เพื่อให้เซลล์กระจายตัว นำแผ่นสไลด์ไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เลือกเซลล์ที่มีการแบ่งนิวเคลียสในระยะเมตาเฟสที่เห็นโครโมโซมชัดเจนและกระจายตัวเต็มที่จำนวน 20 เซลล์ แล้วบันทึกภาพ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การศึกษาความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้าม

3.1 การศึกษาความมีชีวิตของกลุ่มเรณู

นำกลุ่มเรณูของกล้วยไม้วางบนสไลด์ หยดสี aceto-carmine ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ 1 หยด จากนั้นขยี้กลุ่มเรณูบนสไลด์และเขี่ยเอาส่วนที่สกปรกทิ้ง ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ตรวจสอบความมีชีวิตโดยการสุ่มตรวจนับจำนวนกลุ่มเรณูที่ย้อมติดสีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า จำนวน 10 ซ้ำ ซ้ำละ 100 เซลล์

3.2 การผสมเกสร

ผสมเกสรด้วยมือแบบผสมตัวเอง และผสมสลับพ่อ - แม่ (reciprocal cross) ผสมเกสรกล้วยไม้ดินใบหมากในช่วงเวลา 7.00 - 9.00 น. เลือกดอกที่ยังไม่ได้รับการผสมเกสร ดอกมีสีสันสดใสและสมบูรณ์ เลือกดอกที่อยู่บริเวณโคนช่อเพื่อให้อาหารไปเลี้ยงฝักอย่างเพียงพอและป้องกันการหักของก้านช่อดอก เลือกดอกที่มีเกสรเพศผู้สีเหลืองสดใส จากนั้นใช้ไม้จิ้มฟันที่สะอาดแตะเกสรเพศผู้ออกมาแล้วนำไปใส่ยอดเกสรเพศเมียซึ่งมีลักษณะเป็นแอ่งที่มีน้ำเมือกเหนียวคล้ายแป้งเปียก กดเบา ๆ เพื่อให้เกสรเพศผู้ติดสนิท ใช้ไหมพรมผูกที่ก้านดอกที่ทำการผสมเกสรไว้ จากนั้นใช้ถุงกระดาษคลุมดอกไว้เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเกสรที่ไม่ต้องการ หลังการผสมเกสร ดูแลรดน้ำต้นกล้วยไม้เป็นประจำทุกเช้า วันละครั้ง และใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 6-32-32 อัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร โดยฉีดพ่นให้ทางใบเป็นประจำสัปดาห์ละครั้ง ฉีดพ่นยาป้องกันเชื้อราเป็นครั้งคราว

การบันทึกข้อมูล

1. จำนวนดอกที่ผสม (ดอก)
2. อัตราการผสมติด (เปอร์เซ็นต์)
3. จำนวนฝักที่ได้ (ฝัก)
4. จำนวนฝักสมบูรณ์ (ฝัก)
5. จำนวนฝักไม่สมบูรณ์ (ฝัก)
6. ลักษณะของฝัก ได้แก่ สีฝัก ขนาดของฝักและระยะเวลาการพัฒนาของฝัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.3 การศึกษาอัตราความมีชีวิตของเมล็ด

นำฝักแก่ของกล้วยไม้ดินใบหมากแต่ละคู่ผสมมาคิดเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีต่อเมล็ดลีบ โดยนำเมล็ดกล้วยไม้ดินใบหมากมาผสมน้ำ แล้วนำมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบ่งเมล็ดออกเป็น 2 ลักษณะ คือ เมล็ดที่มีเอมบริโอสมบูรณ์ (เมล็ดดี) และเมล็ดที่ไม่มีเอมบริโอ (เมล็ดลีบ)

การทดลองที่ 4 การศึกษาอัตราความมีชีวิตของเมล็ดกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสมในสภาพปลอดเชื้อ

นำเมล็ดกล้วยไม้ดินใบหมากทั้ง 4 คู่ผสม ได้แก่ 'จุฬาลักษณ์' x 'จุฬาลักษณ์' และ 'จุฬาลักษณ์' x สีเหลือง ที่อายุฝัก 25 วันหลังผสมเกสร และ สีเหลือง x สีเหลือง และ สีเหลือง x 'จุฬาลักษณ์' ที่อายุ 30 วันหลังผสมเกสร มาเพาะในสภาพปลอดเชื้อ ทำความสะอาดฝักเบื้องต้นโดยล้างที่ผิวฝักด้วยน้ำยาล้างจานและล้างน้ำให้สะอาด ตัดแต่งปลายฝักส่วนที่เป็นสีน้ำตาลทิ้ง นำเข้าตู้ปลอดเชื้อ โดยจุ่มแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วลนไฟเพื่อฆ่าเชื้อที่ผิวฝัก จากนั้นใส่เมล็ดลงในน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร คนให้กระจาย นำเมล็ดกล้วยไม้เพาะบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS และอาหารสูตร VW (1949) ดัดแปลง โดยในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วยน้ำตาลทราย 1 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตร มันฝรั่ง 50 กรัม และกล้วยหอม 100 กรัม วางขวดเพาะเลี้ยงบนชั้นวางที่มีหลอดฟลูออเรสเซนต์สีขาวชนิด day light นาน 12 ชั่วโมง และวางในที่มืด 24 ชั่วโมง นาน 1 เดือน เพื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมและความต้องการแสงในการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินใบหมาก บันทึกอัตราการงอกของเมล็ดและลักษณะการพัฒนาของโปรโต-คอร์ม

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

1. ห้องปฏิบัติการ ตึกคณะเกษตร และสวนกล้วยไม้ระพี สาคริก ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร

2. ห้องปฏิบัติการ หลักสูตรพืชสวน สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

เริ่มทำการวิจัย เดือนเมษายน พ.ศ. 2552 ถึงเดือนธันวาคม 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญเติบโตในรอบ 1 ปี

1.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลูกผสม 'จุฬาลักษณ์'

ราก (root) เป็นระบบรากดินแบบรากฝอยเจริญออกมาจากฐานของหัวและกระจายอยู่รอบฐาน มีลักษณะกลม เรียวยาว ปลายรากเรียวแหลม เมื่อยังอ่อนมีสีเหลืองและมีขนราก เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่สีน้ำตาล (ภาพที่ 1) รากมีจำนวนเฉลี่ย 39±4.87 ราก ขนาดไล่เลี่ยกัน ความยาวเฉลี่ย 28.45±2.89 เซนติเมตร มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.08±2.54 เซนติเมตร (ตารางที่ 1)

หัว (corm) เจริญอยู่ระดับดินหรือเหนือดิน รูปไข่ มีข้อและปล้องเห็นได้ชัดเจน (ภาพที่ 3ก) มีตาปรากฏชัดเจนบนทุกข้อ หัวที่มีอายุน้อย (หัวใหม่) มีลักษณะเรียบ สีเขียวอ่อน เมื่อผ่าหัวตามยาวเห็นเนื้อภายในหัวมีสีเขียวอ่อนและเป็นเมือก (ภาพที่ 3ข) ส่วนหัวที่อายุมาก (หัวเก่า) มีลักษณะแห้งและแข็ง สีเขียวเข้ม โดยมีกาบใบแห้งหุ้มไว้ด้านนอก ขนาดความกว้างเฉลี่ยของหัว 1.70±0.28 เซนติเมตร ความสูงเฉลี่ย 1.81±1.75 เซนติเมตร (ตารางที่ 1)

ใบ (leaf) เป็นใบเดี่ยว เจริญมาจากตายอด สีเขียว วัดสีโดยใช้ RHS Colour Chart (Wilson, 1942): Green Group 137 C ใบเรียงตัวแบบสลับ มี 3 - 4 ใบต่อต้น ใบเป็นรูปหอก (ภาพที่ 5) มีความกว้างเฉลี่ย 3.58±0.68 เซนติเมตร ความยาวเฉลี่ย 25.52±3.38 เซนติเมตร ขอบใบเรียบ ปลายใบแหลม มีรอยพับจีบ แผ่นใบบาง ความหนาเฉลี่ย 0.05±0.17 เซนติเมตร (ตารางที่ 1) ผิวใบเกลี้ยงทั้ง 2 ด้าน มีเส้นใบแบบขนานจำนวน 5 - 7 เส้น

ช่อดอก (inflorescence) ช่อดอกเกิดจากตาข้างของหัว เป็นช่อแบบ raceme มีจำนวน 1 ช่อต่อต้น ก้านช่อดอกมีลักษณะแข็งและตั้งตรง ผิวเป็นมัน มีสีเขียวถึงสีเขียวปนม่วง ดอกเกิดที่ปลายช่อ ช่อดอกค่อนข้างแน่น (ภาพที่ 7ก และ 7ข) มีจำนวนดอกย่อยเฉลี่ย 23.27±2.46 ดอก (ตารางที่ 1) ก้านช่อดอกยาวเฉลี่ย 19.30±3.53 เซนติเมตร ดอกทยอยบานจากโคนไปยังปลายช่อ เกิดดอกใหม่ที่ปลายช่อต่อเนื่อง ใบประดับไม่หลุดร่วง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดอกย่อย (floret) เป็นดอกสมบูรณ์เพศแบบสมมาตร ก้านดอกย่อยมีสีเขียวถึงสีเขียวอมม่วง มีสันเล็ก ๆ ตามแนวยาวของรังไข่ ซึ่งบิดเป็นเกลียวเล็กน้อย ก้านดอกย่อยยาวเฉลี่ย 3.77±0.75 เซนติเมตร ดอกรูปร่างกลม ดอกบานเต็มที่กว้างเฉลี่ย 3.62±0.38 เซนติเมตรและยาวเฉลี่ย 3.68±0.44 เซนติเมตร (ตารางที่ 1) ดอกมีสีม่วง เทียบสีจาก RHS Color Chart (Wilson, 1942): Red - Purple Group 72 A มี 6 กลีบ ประกอบด้วยกลีบเลี้ยง 3 กลีบ และกลีบดอก 3 กลีบ ที่มีลักษณะคล้ายกัน (ภาพที่ 9) ประกอบด้วยกลีบเลี้ยงด้านบน 1 กลีบ อยู่รอบนอกสุดในตำแหน่งหลังเส้าเกสร รูปแถบปลายแหลม สีม่วง กลีบกว้างเฉลี่ย 0.86±0.44 เซนติเมตร ยาวเฉลี่ย 1.67±0.32 เซนติเมตร กลีบดอกด้านข้างมี 2 กลีบ รูปแถบ ปลายแหลม มีขนาดใหญ่กว่ากลีบเลี้ยงเล็กน้อย สีม่วง กว้างเฉลี่ย 1.10±0.85 เซนติเมตร ยาวเฉลี่ย 1.81±0.72 เซนติเมตร และกลีบปากจำนวน 1 กลีบ มี 3 แฉก กลีบปากมีสีเข้มกว่ากลีบอื่น เทียบสีจาก RHS Color Chart (Wilson, 1942): Red - Purple Group 59 A กว้างเฉลี่ย 0.10±1.11 เซนติเมตร ยาวเฉลี่ย 0.78±0.34 เซนติเมตร แผ่นกลีบด้านในมีสีเหลือง หูกลีบปากมีจำนวน 2 แผ่น สีเหลืองและมีแต้มสีม่วงอ่อน พับขึ้นตั้งฉากกับแนวของกลีบปากโดยส่วนปลายกลีบโค้งเข้าหากัน มีตุ่มเนื้อเยื่อ 2 อันแยกกัน รูปครึ่งวงกลม สีเหลือง มีแต้มสีม่วง ชั้นเกสรเพศผู้ ประกอบด้วย เส้าเกสร รูปร่างผอม สีม่วงอ่อน ยื่นโค้งออกมาข้างหน้า กว้างเฉลี่ย 0.33±0.57 เซนติเมตร ยาวเฉลี่ย 1.30±0.34 เซนติเมตร และปลายเส้าเกสรมีฝาครอบอับเรณู รูปร่างกลม สีเหลือง ภายในบรรจุกลุ่มเรณู 2 ชุด ชุดละ 4 กลุ่ม รูปร่างคล้ายกระบอง สีเหลือง ชั้นของเกสรเพศเมีย ประกอบด้วย รังไข่มี 3 คาร์เพล ภายในช่องรังไข่มีออวุลจำนวนมากติดอยู่กับผนังรังไข่ตามแนวตะเข็บ ตำแหน่งของรังไข่อยู่ต่ำกว่าจุดกำเนิดของกลีบเลี้ยง และยอดเกสรเพศเมียมีลักษณะเป็นแอ่งขนาดเล็ก มีน้ำหวานอยู่ด้านหน้าเส้าเกสร

ฝัก (capsule) เป็นผลแบบแห้งและแตก มีรอยแตกตามแนวตะเข็บ ฝักอ่อนมีสีเขียว ฝักแก่มีสีน้ำตาล รูปขอบขนานโคนผลสอบเรียว (ภาพที่ 11) กว้างเฉลี่ย 0.73±0.24 เซนติเมตร ยาวเฉลี่ย 3.75±1.59 เซนติเมตร (ตารางที่ 1)

เมล็ด (seed) มีขนาดเล็ก จำนวนมาก ลักษณะคล้ายแป้งหรือฝุ่น สีเหลืองอ่อน เมื่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เปลือกหุ้มเมล็ดมีลักษณะเหมือนถุงตาข่าย มีเอมบริโออยู่ด้านใน (ภาพที่ 13)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลูกผสมสีเหลือง

ราก (root) เป็นระบบรากดิน มีรากฝอยเจริญออกมาจากฐานของหัว มีลักษณะกลม เรียวและยาว มีขนาดค่อนข้างใหญ่ ปลายรากเมื่อยังอ่อนมีสีเหลืองและมีขนรากเป็นจำนวนมากเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่สีขาวอมน้ำตาล (ภาพที่ 2) มีจำนวนเฉลี่ย 47±2.57 ราก ขนาดใกล้เคียงกัน และยาวเฉลี่ย 45.37±3.51 เซนติเมตร มีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.10±1.28 เซนติเมตร (ตารางที่ 1)

หัว (corm) เจริญอยู่ระดับเหนือดินหรือระดับดิน รูปไข่ หัวมีข้อและปล้องเห็นได้ชัดเจน มีตาปรากฏบนทุกข้อในตำแหน่งสลับซ้ายขวา หัวที่มีอายุน้อย (หัวใหม่) มีลักษณะเรียบ สีเขียว (ภาพที่ 4ก) ส่วนหัวที่อายุมาก (หัวเก่า) มีลักษณะแห้งและแข็ง ผิวเหี่ยวย่น สีเขียวเข้มหรือสีน้ำตาล มีกาบใบแห้งลักษณะคล้ายกระดาษหุ้มอยู่ (ภาพที่ 4ข) ขนาดความกว้างของหัวเฉลี่ย 2.83±0.40 เซนติเมตร มีความสูงเฉลี่ย 2.34±0.66 เซนติเมตร (ตารางที่ 1)

ใบ (leaf) เป็นใบเดี่ยว เจริญมาจากตายอด สีเขียว เทียบสีจาก RHS Color Chart (Wilson, 1942): Green Group 137 B เรียงตัวแบบสลับ มีจำนวน 4 ใบต่อต้น ใบเป็นรูปหอก มีความกว้างเฉลี่ย 3.44±0.54 เซนติเมตร ยาวเฉลี่ย 45.20±4.59 เซนติเมตร (ตารางที่ 1) ขอบใบเรียบ ปลายใบแหลม มีรอยพับจีบ แผ่นใบหนาเฉลี่ย 0.1±0.59 เซนติเมตร ผิวใบเกลี้ยงทั้ง 2 ด้าน ผิวเรียบแต่ด้าน มีเส้นใบแบบขนานจำนวน 5 - 6 เส้น มองเห็นเส้นใบนูนเป็นสันชัดเจน (ภาพที่ 6)

ช่อดอก (inflorescence) เกิดจากตาข้างของหัว เป็นช่อแบบ raceme มีจำนวน 1 ช่อต่อหัว ช่อตั้งตรง ก้านช่อดอกมีสีเขียว มีลักษณะแข็ง ตั้งตรง ปลายก้านช่อดอกโค้งงอลง ผิวเป็นมัน ดอกเกิดที่ปลายช่อ ก้านช่อดอกยาวเฉลี่ย 56.16±7.12 เซนติเมตร มีจำนวนดอกย่อยเฉลี่ย 7.80±1.75 ดอก (ตารางที่ 1) มีสีเขียวอมเหลือง ดอกทยอยบานจากด้านล่างไปยังปลายช่อ เกิดดอกใหม่ที่ปลายช่อต่อเนื่อง ใบประดับไม่หลุดร่วง (ภาพที่ 8ก และ 8ข)

ดอกย่อย (floret) เป็นดอกสมบูรณ์เพศแบบสมมาตร ก้านดอกย่อยมีสีเขียวอ่อน ก้านดอกย่อยยาวเฉลี่ย 3.43±0.75 เซนติเมตร (ตารางที่ 1) ดอกรูปร่างกลม ดอกกว้างเฉลี่ย 5.26±0.67 เซนติเมตร และยาวเฉลี่ย 5.31±0.57 เซนติเมตร ดอกมีสีเหลือง เทียบสีจาก RHS Color Chart (Wilson, 1942): Yellow Group 3 B มี 6 กลีบ ประกอบด้วยกลีบเลี้ยง 3 กลีบ และกลีบดอก 3 กลีบ ที่มีลักษณะคล้ายกัน ประกอบด้วยกลีบเลี้ยงด้านบน 1 กลีบ อยู่รอบนอกสุดในตำแหน่งหลังเส้าเกสร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รูปแถบปลายแหลม สีเหลือง กว้างเฉลี่ย 1.09±0.93 เซนติเมตร ยาวเฉลี่ย 2.16±3.18 เซนติเมตร กลีบดอกด้านข้างมี 2 กลีบ รูปแถบ ปลายแหลม มีขนาดใหญ่กว่ากลีบเลี้ยง สีเหลือง กว้างเฉลี่ย 1.28±3.62 เซนติเมตร ยาวเฉลี่ย 2.43±2.98 เซนติเมตร และกลีบปากจำนวน 1 กลีบ กลีบปากมีสีเหลืองเข้ม เทียบสีจาก RHS Color Chart (Wilson, 1942): Yellow 7 A ปลายกลีบปากแผ่กว้างเป็นคลื่น โคนกลีบคอด มีตุ่มเนื้อเยื่อ 2 อันพับตั้งขึ้นแยกกัน รูปครึ่งวงกลมหรือสามเหลี่ยม สีเหลือง มีแต้มสีม่วงอ่อน หูกลีบปากมีจำนวน 2 แผ่นพับขึ้นตั้งฉากกับแนวของกลีบปากโดยส่วนปลายกลีบโค้งเข้าหากัน สีเหลือง โคนกลีบด้านในบริเวณที่ติดกับเส้าเกสรมีแต้มหรือเส้นสีม่วงอ่อน (ภาพที่ 10) ชั้นเกสรเพศผู้ ประกอบด้วย เส้าเกสร รูปร่างผอมยื่นโค้งออกมาข้างหน้า สีเหลือง กว้างเฉลี่ย 0.41±1.62 เซนติเมตร ยาวเฉลี่ย 1.51±2.71 เซนติเมตร และปลายเส้าเกสรมีฝาครอบอับเรณู รูปร่างกลม สีเหลือง ภายในบรรจุกลุ่มเรณู 2 ชุด ชุดละ 4 กลุ่ม ประกอบด้วยก้อนเกสรเพศผู้เล็ก ๆ จำนวนมากอยู่รวมกัน รูปร่างคล้ายกระบอง สีเหลือง มีลักษณะเหนียวคล้ายขี้ผึ้ง ชั้นของเกสรเพศเมีย ประกอบด้วย รังไข่มี 3 คาร์เพล ภายในช่องรังไข่มีออวุลจำนวนมากติดอยู่กับผนังรังไข่ตามแนวตะเข็บ ตำแหน่งของรังไข่อยู่ต่ำกว่าจุดกำเนิดของกลีบเลี้ยง และยอดเกสรเพศเมียมีลักษณะเป็นแอ่งขนาดเล็กอยู่ด้านหน้าเส้าเกสร มีน้ำหวาน

จากการสังเกตลักษณะของกลีบปากสายพันธุ์ลูกผสมสีเหลือง พบว่ากลีบปากของบางดอกมีลักษณะแตกต่างกัน เช่น กลีบปากมีสีเหลืองเข้ม ปลายปากผายกว้าง มีรอยเว้าและมีสันตรงแนวกลาง (ภาพผนวกที่ 1ก) บางกลีบปากมี 3 หยัก โดยหยักตรงกลางมีลักษณะแหลม (ภาพผนวกที่ 1ข) บางกลีบปากมีส่วนที่คอดเว้าสั้นมาก ปลายปากหยักเว้าและมีสันตรงกลาง (ภาพผนวกที่ 1ค) บางดอกปลายกลีบปากผายออก และหยักเป็นคลื่น (ภาพผนวกที่ 1ง) และบางดอกกลีบปากแคบ ปลายกลีบปากบานออกและมีลักษณะแหลม (ภาพผนวกที่ 1จ) เป็นต้น ลักษณะที่แตกต่างของกลีบปากอาจเป็นผลมาจาก ต้นที่ใช้ในการทดลองเป็นต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ด จึงทำให้เกิดความแปรปรวนของลักษณะกลีบปากได้

ฝัก (capsule) เป็นผลแบบแห้งและแตก ฝักอ่อนมีสีเขียว ฝักแก่มีสีน้ำตาล มีรูปร่างยาว รูปขอบขนานโคนผลสอบเรียว (ภาพที่ 12) กว้างเฉลี่ย 0.62±0.07 เซนติเมตร ยาวเฉลี่ย 3.59±1.91 เซนติเมตร (ตารางที่ 1)

เมล็ด (seed) มีจำนวนมาก ลักษณะคล้ายแป้งหรือฝุ่น สีเหลืองอ่อน เมื่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เปลือกหุ้มเมล็ดเป็นเส้นร่างแห ลักษณะเหมือนถุงตาข่าย มองเห็นเอมบริโออยู่ภายใน (ภาพที่ 14)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเปรียบเทียบลักษณะของกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสมทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่า ขนาดและสีของหัว ราก ใบ และดอก มีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ และแต่ละต้นในสายพันธุ์เดียวกัน ซึ่งความผันแปรดังกล่าวมีสาเหตุจากพันธุกรรมที่เกิดจากความแตกต่างของหน่วยย่อยของโมเลกุล ซึ่งเป็นผลจากยีนโดยตรง พืชที่มีพันธุกรรมแตกต่างกันย่อมแสดงลักษณะบางอย่างที่แตกต่าง พันธุกรรมเป็นตัวควบคุมลักษณะรูปร่างของพืช เป็นตัวกำหนดอัตราการเจริญเติบโตของพืชแต่ละต้น และการพัฒนาของพืช (กฤษฎา, 2551) โดยที่พืชหรือส่วนของพืชที่มีอายุแตกต่างกันหรืออยู่ในระยะของการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันย่อมมีความแตกต่างกัน เช่น หัวที่มีอายุน้อยย่อมมีขนาดเล็กกว่าหัวที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว นอกจากนี้ การเจริญเติบโตยังถูกควบคุมด้วยปัจจัยของสภาพแวดล้อมซึ่งมีผลต่อการแสดงออกทางพันธุกรรม สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น แสงและแร่ธาตุในดิน ซึ่งมีผลต่อกระบวนการเมทาบอลิซึมและปฏิกิริยาภายในเซลล์พืช นอกจากนี้แสงยังมีอิทธิพลต่อการขยายขนาดของใบและสีของใบอีกด้วย (สมบุญ, 2548)โดยพบว่า ในกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสมทั้ง 2 สายพันธุ์ ต้นที่ได้รับแสงมากใบจะมีสีม่วงสอดคล้องกับการศึกษาในกล้วยไม้สกุล *Habenaria* ที่ใบมีสีเขียวอ่อนเมื่อปลูกเลี้ยงใต้ต้นไม้หรือใต้ร่มเงา แต่เมื่อต้นได้รับแสงมากใบจะมีสีเขียวปนม่วง (นิพาพร, 2541) Nguyen and Cin (2009) อธิบายว่า รงควัตถุสำคัญที่ทำให้เกิดสีม่วงหรือสีน้ำเงินในพืช คือ แอนโทไซยานิน (anthocyanin) ที่สามารถพบได้ในใบ ดอก ลำต้น และผล ซึ่งการแสดงออกของสีในต้นพืชเป็นการแสดงออกที่ถูกควบคุมด้วยยีนหลัก (major genes) ทำให้สามารถแสดงลักษณะออกมาอย่างเด่นชัด แต่ก็พบว่าสิ่งแวดล้อมบางประการ เช่น แสงและอุณหภูมิมีผลต่อการสังเคราะห์และสลายตัวของแอนโทไซยานิน ทำให้ปริมาณของแอนโทไซยานินและสีเปลี่ยนแปลงไป อีกทั้งระยะการเจริญเติบโตของพืชก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อปริมาณของแอนโทไซยานิน กล่าวคือ ในช่วงหลังการออกดอก ปริมาณของแอนโทไซยานินจะมีมากในส่วนของใบ เปลือกและเมล็ด เป็นต้น (สรศักดิ์, 2531)

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา นอกจากจะทำให้ทราบแบบแผนของการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืชแล้ว ยังเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์พืช เพราะความแตกต่างระหว่างพันธุ์ไม่ว่าจะเป็นขนาดของดอก สีของดอก และลักษณะของใบ เป็นความแตกต่างระหว่างพันธุ์ที่สามารถถ่ายทอดได้ทางพันธุกรรม และช่วยเพิ่มความหลากหลายและความสวยงามของลูกผสม อีกทั้งการบันทึกข้อมูลทางสัณฐานวิทยายังสามารถใช้เป็นข้อมูลในการทำนายลักษณะของลูกผสมได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ และลูกผสมสีเหลือง

ลักษณะทางพฤษศาสตร์	ลูกผสม‘จุฬาลักษณ์’	ลูกผสมสีเหลือง
ราก		
จำนวนเฉลี่ย (ราก)	39.00±4.87 *	47.00±2.57 *
ความยาวเฉลี่ย (ซม.)	28.45±2.89	45.37±3.51
ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย (ซม.)	0.08±2.54	0.10±1.28
หัว		
ลักษณะหัว	รูปไข่	รูปไข่
ความกว้างเฉลี่ย (ซม.)	1.70±0.28	2.83±0.40
ความสูงเฉลี่ย (ซม.)	1.81±1.75	2.34±0.66
ใบ		
ลักษณะใบ	ขอบใบเรียบ ปลายใบแหลม มีรอยพับจีบ	ขอบใบเรียบ ปลายใบแหลม มีรอยพับจีบ
สีใบ	Green Group 137 C	Green Group 137 B
ความกว้างใบเฉลี่ย (ซม.)	3.58±0.86	3.44±0.54
ความยาวใบเฉลี่ย (ซม.)	25.52±3.38	45.20±4.49
ความหนาเฉลี่ย (ซม.)	0.05±0.17	0.10±0.59
ช่อดอก		
ความยาวช่อดอกเฉลี่ย (ซม.)	19.30±3.53	56.16±7.12
จำนวนดอกย่อยเฉลี่ย (ดอก)	23.27±2.46	7.80±1.75
ดอก		
สีกลีบดอก	Red - purple Group 72 A	Yellow Group 3 B
สีกลีบปาก	Red - purple Group 59 A	Yellow Group 7 A
เส้นผ่านศูนย์กลางดอก กว้างเฉลี่ย (ซม.)	3.62±0.38	5.26±0.67
เส้นผ่านศูนย์กลางดอก ยาวเฉลี่ย (ซม.)	3.68±0.44	5.31±0.57
ความยาวก้านดอกย่อย (ซม.)	3.77±0.75	3.43±0.75
ฝัก		
ความกว้างเฉลี่ย (ซม.)	0.73±0.24	0.62±0.07
ความยาวเฉลี่ย (ซม.)	3.75±1.59	3.59±1.91

หมายเหตุ *ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 1 รากของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’

ภาพที่ 2 รากของลูกผสมสีเหลือง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(ก) (ข)

ภาพที่ 3 หัวของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ (ก) ที่ไม่ได้ผ่า และ (ข) ผ่าตามยาว

(ก) (ข)

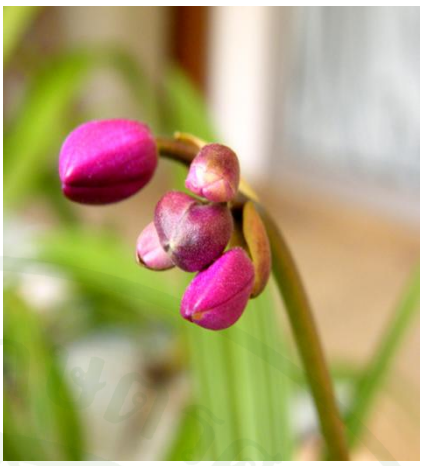
ภาพที่ 4 (ก) หัวที่อายุน้อย และ (ข) หัวที่อายุมากของลูกผสมสีเหลือง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 5 ใบของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’

ภาพที่ 6 ใบของลูกผสมสีเหลือง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



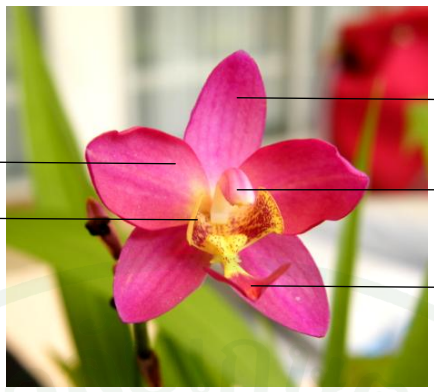
(ก) (ข)

ภาพที่ 7 ช่อดอกของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ (ก) ในระยะดอกตูม และ (ข) ระยะดอกบาน

(ก) (ข)

ภาพที่ 8 ช่อดอกของลูกผสมสีเหลือง (ก) ในระยะดอกตูม และ (ข) ระยะดอกบาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 9 ดอกของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’

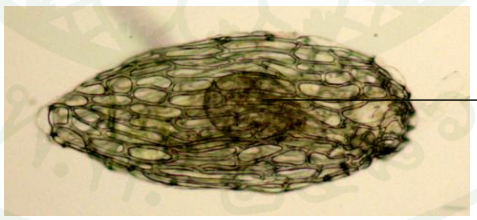
ภาพที่ 10 ดอกของลูกผสมสีเหลือง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 11 ฝักของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’

ภาพที่ 12 ฝักของลูกผสมสีเหลือง

ภาพที่ 13 เมล็ดของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’



ภาพที่ 14 เมล็ดของลูกผสมสีเหลือง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.2 การเจริญเติบโตในรอบ 1 ปี

การเจริญเติบโตของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ ประกอบด้วยช่วงการเจริญของใบและดอกสลับกับการพักตัว ที่ไม่มีการพักตัวอย่างชัดเจน (ภาพที่ 15) คือหลังจากดอกร่วงหมด จะไม่มีการทิ้งใบ สามารถออกดอกได้ตลอดทั้งปี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของต้นพืช ช่วงที่ออกดอกมากที่สุด คือ ตั้งแต่กลางเดือนสิงหาคม ถึง ต้นเดือนพฤศจิกายน มีช่อดอกเจริญออกมาจากตาดอกที่อยู่ในตำแหน่งด้านข้างของหัว ตาดอกแต่ละตาเจริญเป็นช่อดอก 1 ช่อ หลังจากแทงช่อดอกแล้ว ก้านช่อดอกยืดตัวและช่อดอกขยายขนาด ดอกย่อยทยอยบานจากโคนช่อไปปลายช่อ ดอกที่บานแล้วหลายวันสีดอกซีดลงเล็กน้อย การผสมเกสรในดอกเดียวกันด้วยมือเกิดการติดฝัก เมื่อติดฝักแล้วดอกจะเริ่มเหี่ยวและรังไข่จะขยายขนาดขึ้นจนมองเห็นเป็นฝัก ฝักแก่เต็มที่มีสีน้ำตาลเข้ม จากนั้นช่อดอกและใบจะเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและเริ่มแห้ง ระยะหลังจากนี้พบว่าต้นพืชมีการเจริญเติบโตคงที่ จนในช่วงเดือนมีนาคม ถึง เดือนพฤษภาคม จึงเริ่มมีการแทงหน่อจากตาข้างของหัว ยอดมีสีคล้ายสีของใบ เมื่อหน่อมีอายุประมาณ 30 วัน จึงเริ่มมีการแทงรากออกมารอบ ๆ โคนต้น ต้นพืชเริ่มการเจริญเติบโตทางใบในเดือนพฤษภาคม โดยพบว่าใบมีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนมากขึ้น

การศึกษาการเจริญเติบโตของต้นพืชทดลองโดยบันทึกขนาดของส่วนประกอบของต้นพืชในช่วงที่ต้นพืชมีการเจริญเติบโตในแต่ละช่วงของการเจริญเติบโตนั้นเป็นการบันทึกค่าเฉลี่ยจากต้นพืชทดลองจำนวน 10 ต้น จากการบันทึกผลการทดลอง พบว่า ต้นพืชมีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางหน่อซึ่งบันทึกในช่วงปลายเดือนเมษายน 0.24±0.03 เซนติเมตร ความสูงเฉลี่ย 0.53±0.07 เซนติเมตร มีค่าเฉลี่ยของหัวซึ่งวัดในช่วงเดือนสิงหาคม คือ 1.37±0.01 เซนติเมตร สูง 1.57±0.31 เซนติเมตร ในเดือนตุลาคมหัวมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็น 1.80±0.51 เซนติเมตร สูง 2.31±1.01 เซนติเมตร หลังจากนั้นเมื่อหัวเข้าสู่ระยะพักตัวในช่วงปลายเดือนธันวาคมถึงกุมภาพันธ์ หัวมีลักษณะเหี่ยวย่น มีค่าเฉลี่ยลดลงเป็น 1.60±0.22 เซนติเมตร สูงเฉลี่ย 1.80±0.01 เซนติเมตร จำนวนใบต่อต้นในเดือนพฤษภาคมมีค่าเฉลี่ยเป็น 3.2±0.42 ใบ และจากนั้นในระยะออกดอกต้นพืชมีจำนวนใบคงที่คือ 4.00±0.00 ใบต่อต้น ระยะที่ใบเจริญเติบโตเต็มที่มีขนาดกว้างเฉลี่ย 3.58±0.86 เซนติเมตร และยาวเฉลี่ย 25.25±3.38 เซนติเมตร การบันทึกการเจริญเติบโตของดอก พบว่า มีจำนวนช่อดอกเฉลี่ย 1 ช่อต่อหัว จำนวนดอกย่อยเฉลี่ย 23.00±0.66 ดอก มีอายุการบานดอกโดยเฉลี่ย 9.00±1.20 วัน ระยะเวลาที่ดอกแรกเริ่มบานจนถึงดอกสุดท้ายใช้เวลาประมาณ 21.00±1.70 วัน และมีจำนวนดอกที่บานพร้อมกันใน 1 ช่อเฉลี่ย 9.30±2.11 ดอก (ตารางที่ 2)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ส่วนในลูกผสมสีเหลือง พบว่า ช่วงที่ออกดอกมากที่สุด คือ ช่วงต้นเดือนตุลาคมถึงปลายธันวาคม (ภาพที่ 16) ในระยะนี้หัวของต้นพืชมีลักษณะรูปไข่ มีข้อและปล้องเห็นได้ชัดเจน บนแต่ละปล้องมีตาที่บริเวณโคน รากเจริญเติบโตมาจากส่วนฐานของหัว ช่อดอกเจริญออกมาจากตาดอกที่อยู่บริเวณด้านข้างของหัว ต้นพืชติดฝักจากการผสมเกสรด้วยมือ และสามารถติดฝักได้เองในสภาพธรรมชาติ ในช่วงเดือนมกราคมเริ่มมีการแห้งตายของใบเรื่อย ๆ จนกระทั่งใบบางส่วนร่วงในเดือนมีนาคม มีช่วงพักตัวตั้งแต่ปลายเดือนมีนาคมถึงกลางเดือนพฤษภาคม ที่บริเวณข้อของหัวมีตาอยู่ 1 - 2 ตา ตาเหล่านี้สามารถเจริญออกมาเป็นยอดได้ โดยแต่ละยอดสามารถแทงใบออกมาได้ 3 - 4 ใบ ในลักษณะสลับซ้ายขวา ใบมีลักษณะเป็นใบจีบ รูปหอก ปลายแหลม เส้นใบเรียงตัวแบบขนานตามยาว ใบที่เกิดใหม่มีสีม่วงเข้ม ต่อมาเมื่อใบมีการเจริญเติบโตมากขึ้นจึงเปลี่ยนเป็นสีเขียว มีการคลี่ใบออกและขยายขนาด ช่วงที่ใบเจริญเติบโตคือในระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงเดือนกันยายน และมีการเจริญเติบโตของหัวใหม่เกิดขึ้นด้วย หัวใหม่จะติดอยู่กับหัวเก่าทางด้านข้าง ส่วนหัวเก่านั้นมีลักษณะเหี่ยวย่น และมีกาบใบแห้งคล้ายเยื่อกระดาษติดอยู่ มีเพียงบางหัวที่พบว่ามีการฝ่อและแห้งไป

การติดตามการเจริญเติบโตของลูกผสมสีเหลือง พบว่า ในเดือนมิถุนายนมีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางหน่อ 0.31±0.01 เซนติเมตร สูงเฉลี่ย 0.62±0.01 เซนติเมตร ในเดือนสิงหาคมมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของหัว 1.50±0.01 เซนติเมตร สูงเฉลี่ย 1.78±0.20 เซนติเมตร ส่วนในเดือนกันยายนถึงเดือนธันวาคมค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางหัวมีค่าค่อนข้างคงที่ คือ 2.23±0.03 เซนติเมตร สูงเฉลี่ย 2.51±0.07 เซนติเมตร ต่อมาเมื่อหัวเข้าสู่ระยะพักตัวในเดือนมีนาคมถึงช่วงกลางเดือนพฤษภาคมวัดค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางหัวได้ 1.94±0.07 เซนติเมตร สูง 2.27±0.11 เซนติเมตร จำนวนใบต่อต้นในเดือนกรกฎาคมมีค่าเฉลี่ย 3.00±0.00 ใบ ส่วนในเดือนตุลาคม พฤศจิกายน และธันวาคม มีจำนวนใบต่อต้น 4.20±0.42 ใบ ขนาดความกว้างและความยาวใบเฉลี่ยเท่ากับ 3.44±0.54 และ 45.20±4.49 เซนติเมตร ตามลำดับ การบันทึกการเจริญเติบโตของดอก พบว่า มีจำนวนช่อดอกเฉลี่ย 1 ช่อต่อหัว และมีจำนวนดอกย่อยเฉลี่ย 7.30±1.59 ดอกต่อช่อ มีอายุการบานดอกโดยเฉลี่ย 3.80±1.29 วัน ระยะเวลาที่ดอกแรกเริ่มบานจนถึงดอกสุดท้ายใช้เวลาเฉลี่ยประมาณ 11.00±1.71 วัน และมีจำนวนดอกที่บานพร้อมกันใน 1 ช่อเฉลี่ย 3.40±0.96 ดอก (ตารางที่ 3)

จากการศึกษา พบว่า ลูกผสม‘จุฬาลักษณ์’ มีการเจริญเติบโตทางใบและลำต้นประมาณ 6 เดือน ออกดอก 3 เดือน ติดฝัก (ตั้งแต่ดอกเริ่มเหี่ยวจนถึงฝักแก่และแตก) ใช้เวลาประมาณ 1 เดือน และพักตัว 2 เดือน โดยพบว่า การเจริญของต้นมีการพักตัวที่ไม่ชัดเจน สอดคล้องกับ Hawkes (1965) รายงานว่า *Spathoglotis plicata* และ เอื้องพร้าว (*Phaius* spp.) ไม่มีการทิ้งใบหลังการออก

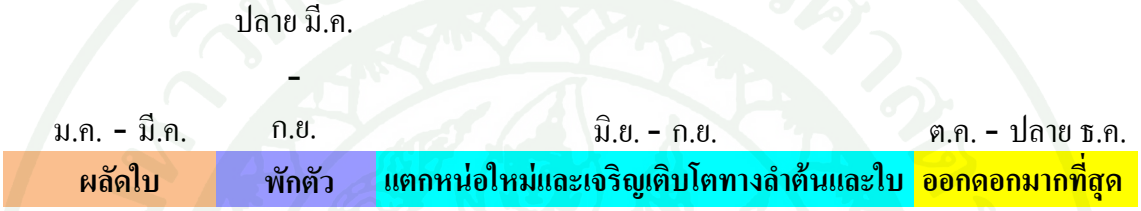
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดอก ทั้งนี้เนื่องจาก กล้วยไม้สกุล *Spathoglotis* ที่มีดอกสีม่วง จะไม่ทิ้งใบแม้ว่าจะมีการออกดอกหรือ ออกดอกไปแล้ว โดยมีใบและกาบใบติดอยู่กับหัว ถ้ามีสภาพแวดล้อมที่สมบูรณ์ (อบฉันท์, 2543) สภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับการพักตัวของกล้วยไม้ดิน ได้แก่ อุณหภูมิ แสง น้ำ แร่ธาตุ และความสัมพันธ์กับเชื้อราในดิน (พรวิวรรณ, 2550) ส่วนลูกผสมสีเหลืองมีการเจริญทางใบและลำต้นประมาณ 5 เดือน มีช่วงการออกดอกประมาณ 3 เดือน ติดฝักประมาณ 1 เดือน และพักตัว 2 เดือน การพักตัวปรากฏชัดเจนเหมือนกับกล้วยไม้ดินหลายชนิด เช่น *Habenaria* spp. (นิพาพร, 2541) *Geoderum* spp. (ศลิษา, 2549; อมรรัตน์, 2551) และ *Calanthe* spp. (จารุวรรณ, 2550) ที่มีการเจริญเติบโตในลักษณะของพืชหลายฤดูผลัดใบ (deciduous herbaceous perennial)

ประโยชน์ที่ได้จากการบันทึกข้อมูล คือ สามารถบอกได้ถึงช่วงการเจริญและการพัฒนาในระยะต่าง ๆ โดยเฉพาะช่วงการออกดอก ซึ่งในการปรับปรุงพันธุ์นั้นหากพืชทดลองมีระยะเวลาการออกดอกไม่ตรงกันจะได้หาวิธีบังคับให้ต้นพืชออกดอกให้ตรงกันหรือใช้เทคนิคการเก็บรักษาละอองเกสรไว้ใช้ในช่วงที่ต้นแม่พันธุ์บานดอก แต่จากการบันทึกข้อมูล พบว่า ช่วงที่ดอกบานตามธรรมชาติของกล้วยไม้ลูกผสมทั้ง 2 สายพันธุ์นั้นค่อนข้างนานและมีการออกดอกในระยะเวลาที่ใกล้เคียงกันจึงไม่มีข้อจำกัดในเรื่องการถ่ายละอองเกสร อีกทั้งการศึกษาวงจรการเจริญเติบโตทำให้ทราบถึงขนาดของต้น จำนวนใบต่อต้น ความสามารถในการแตกกอ และการออกดอก ซึ่งเป็นข้อมูลที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้พิจารณาตามความเหมาะสมในการใช้งานและใช้ในการเลือกเป็นต้นพ่อหรือต้นแม่เพื่อให้ลักษณะที่ต้องการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 15 ไดอะแกรมแสดงช่วงการเจริญเติบโตของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ ในรอบ 1 ปี



ภาพที่ 16 ไดอะแกรมแสดงช่วงการเจริญเติบโตของลูกผสมสีเหลืองในรอบ 1 ปี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 การเจริญเติบโตของหัว ใบ และดอก ในแต่ละระยะของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’

	แตกหน่อใหม่ (มี.ค. – พ.ค.)	การเจริญทางใบและลำต้น (กลาง พ.ค. – ปลาย พ.ย.)	ออกดอก (ส.ค. – ต้น พ.ย.)	พักตัว (ธ.ค. – ก.พ.)
หัว				
ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย (ซม.)	0.24±0.03 *	1.37±0.01	1.80±0.51	1.60±0.22
ความสูงเฉลี่ย (ซม.)	0.53±0.07	1.57±0.31	2.31±1.01	1.80±0.01
ใบ				
จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ)	3.20±0.42	4.00±0.00		
ความกว้างใบเฉลี่ย (ซม.)		3.58±0.86		
ความยาวใบเฉลี่ย (ซม.)		25.25±3.38		
ดอก				
จำนวนช่อดอกต่อหัว (ช่อ)			1.00±0.00	
จำนวนดอกย่อย (ดอก)			23.00±0.66	
อายุการบานดอกของดอกย่อย (วัน)			9.00±1.20	
ระยะการบานดอกแรกถึงดอกสุดท้าย (วัน)			21.00±1.70	
จำนวนดอกที่บานพร้อมกันใน 1 ช่อ (ดอก)			9.30±2.11	

หมายเหตุ *ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 การเจริญเติบโตของหัว ใบ และดอก ในแต่ละระยะของลูกผสมสีเหลือง

	แตกหน่อใหม่ (มิ.ย.)	การเจริญทางใบและลำต้น (มิ.ย. – ก.ย.)	ออกดอก (ส.ค. – ต้น พ.ย.)	พักตัว (มี.ค. – ก.ย.)
หัว				
ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย (ซม.)		0.31±0.01*	2.23±0.03	1.94±0.07
ความสูงเฉลี่ย (ซม.)		0.62±0.01	2.51±0.07	2.27±0.11
ใบ				
จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ)		3.00±0.00	4.20±0.42	
ความกว้างใบเฉลี่ย (ซม.)			3.44±0.54	
ความยาวใบเฉลี่ย (ซม.)			45.20±4.49	
ดอก				
จำนวนช่อดอกต่อหัว (ช่อ)			1.00±0.00	
จำนวนดอกย่อย (ดอก)			7.00±1.59	
อายุการบานดอกย่อย (วัน)			3.80±1.29	
ระยะการบานดอกแรกถึงดอกสุดท้าย (วัน)			11.00±1.71	
จำนวนดอกที่บานพร้อมกันใน 1 ช่อ (ดอก)			3.40±0.96	

หมายเหตุ *ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การทดลองที่ 2 การศึกษาจำนวนโครโมโซม

การศึกษาเทคนิคของการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากเพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสมทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยเปรียบเทียบชนิดของวัสดุปลูกที่เหมาะสมในการเกิดรากและให้รากที่มีคุณภาพดี การเก็บตัวอย่างปลายรากในช่วงเวลาที่แตกต่างกันเพื่อหาช่วงเวลาที่เซลล์อยู่ในระยะเมตาเฟสของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส การหาความยาวนานที่เหมาะสมในการหยุดวงชีพเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้น สามารถตรวจนับได้อย่างแม่นยำ และการนับจำนวนโครโมโซมของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ และลูกผสมสีเหลือง ผลการทดลองมีดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.1 การศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณรากและให้รากที่มีคุณภาพดี

เลือกต้นพืชที่สมบูรณ์ ปราศจากโรค และเจริญเติบโตเต็มที่ ทำการแยกกอจากต้นเดิม ลงกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 นิ้ว เปรียบเทียบวัสดุปลูก 5 ชนิด ได้แก่ กาบ-มะพร้าวสับ กาบมะพร้าวสับผสมทราย (1:1) ทราย ขุยมะพร้าว และพีทมอส ปลูกเลี้ยงภายในโรงเรือนพลาสติกเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า วัสดุปลูกที่เหมาะสมในการเกิดรากของลูกผสม 'จุฬาลักษณ์' คือ ขุยมะพร้าวและพีทมอส โดยให้จำนวนรากเฉลี่ยระหว่าง 8.40±3.58 ถึง 6.20±3.11 ราก ซึ่งเป็นจำนวนรากเฉลี่ยที่มากกว่าการปลูกในวัสดุปลูกชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4) วัสดุปลูกทุกชนิดให้ผลความยาวรากเฉลี่ยไม่แตกต่างกันโดยมีความยาวรากเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 1.59±0.38 ถึง 2.12±0.66 เซนติเมตร ส่วนลูกผสมสีเหลืองเมื่อปลูกในทรายให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติกับทุกวัสดุปลูกชนิดอื่น คือ ให้จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 5.20±3.11 ราก ความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดเมื่อปลูกในพีทมอสและกาบมะพร้าวสับผสมทราย (1:1) คือ 1.38±0.16 เซนติเมตร และ 1.10±0.19 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 5) คุณภาพของรากที่ได้จากการใช้กาบมะพร้าวสับ กาบมะพร้าวสับผสมทราย (1:1) ขุยมะพร้าว และพีทมอสมีลักษณะคล้ายกันคือ รากมีสีขาว ผิวเรียบ และมีขนาดสม่ำเสมอ ส่วนรากที่ได้จากวัสดุปลูกที่มีทรายเป็นส่วนประกอบเพียงอย่างเดียว พบว่า ผิวรากมีลักษณะขรุขระ อีกทั้งยังทำให้รากแข็ง ไม่สะดวกในการย่อยผนังเซลล์และหากล้างไม่สะอาดอาจทำให้กระจกปิดสไลด์แตกขณะทำ squashing ได้ (อดิศร, 2547)

โดยทั่วไปรากพืชที่นำมาศึกษาโครโมโซมนิยมใช้รากที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งจะให้รากที่สะอาดและอ่อนนุ่ม แต่มีข้อเสียคือ การชักนำให้เกิดรากทำได้ยาก เนื่องจากขึ้นอยู่กับปัจจัยทางพันธุกรรมและปัจจัยภายนอก เช่น สูตรอาหารที่เหมาะสม ฮอร์โมน และสภาพแวดล้อม (คำนูณ, 2542) ส่วนการปลูกในวัสดุปลูก เช่น กาบมะพร้าวสับ ขุยมะพร้าว ทรายและพีทมอส พบว่า ต้นพืชเกิดรากได้อย่างรวดเร็ว ใช้เวลาเพียง 2 - 3 สัปดาห์ แต่ยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับการเลือกใช้วัสดุปลูกที่เหมาะสมเพื่อใช้ปลูกพืชสำหรับนำรากไปวิเคราะห์ทางเซลล์วิทยา ดังนั้น ข้อมูลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้จึงมีความน่าสนใจและสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับพืชชนิดอื่นได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 ผลของวัสดุปลูกต่อจำนวนราก ความยาวรากและคุณภาพรากของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’

ชนิดของวัสดุปลูก	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)	คุณภาพราก
กาบมะพร้าวสับ	4.00±2.34[1/]b[2/]	1.59±0.38	ผิวเรียบ สะอาด
กาบมะพร้าวสับ + ทราย (1:1)	4.40±1.67 b	1.76±0.62	ผิวเรียบ สะอาด
ทราย	4.20±1.30 b	1.89±0.46	ผิวขรุขระ แข็ง
ขุยมะพร้าว	8.40±3.58 a	1.93±0.46	อ่อนนุ่ม สะอาด
พีทมอส	6.20±3.11 a	2.12±0.66	สะอาด อ่อนนุ่ม
F-test	*	ns	
CV. (%)	46.86	28.30	

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[2/] ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncant’ s new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 ผลของวัสดุปลูกต่อจำนวนราก ความยาวรากและคุณภาพรากของลูกผสมสีเหลือง

ชนิดของวัสดุปลูก	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)	คุณภาพราก
กาบมะพร้าวสับ	2.40±1.44[1/]b[2/]	0.78±0.19 b	สะอาด อ่อนนุ่ม
กาบมะพร้าวสับ + ทราย (1:1)	2.80±1.10 b	1.10±0.19 a	ผิวค่อนข้างขรุขระ
ทราย	5.20±3.11 a	0.64±0.33 b	ผิวขรุขระ แข็ง
ขุยมะพร้าว	2.40±0.55 b	0.57±0.16 b	ผิวเรียบ อ่อนนุ่ม
พีทมอส	2.20±0.84 b	1.38±0.16 a	ผิวเรียบ อ่อนนุ่ม
F-test	*	*	
CV. (%)	54.16	24.07	

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[2/] ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncant' s new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

2.2 การเตรียมเนื้อเยื่อปลายราก

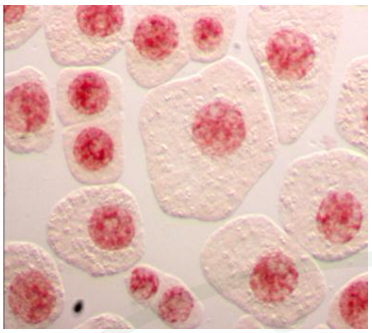
2.2.1 การศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างปลายราก

การเก็บตัวอย่างปลายรากของพืชทดลองในช่วงเวลา 9.00 10.00 11.00 12.00 13.00 และ 14.00 น. แล้วนำไปผ่านขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซม พบว่าการเก็บตัวอย่างปลายรากของกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสม 'จุฬาลักษณ์' และลูกผสมสีเหลือง ที่เวลา 9.00 ถึง 10.00 น. พบเซลล์อยู่ในระยะอินเตอร์เฟสและโปรเฟสมากที่สุด คือ เซลล์และนิวเคลียสมีขนาดใหญ่ โครโมโซมเกาะรวมกันเป็นกลุ่มก้อน (ภาพที่ 17ก – ข และภาพที่ 18ก – ข) เวลา 11.00 น. ได้จำนวนเซลล์ที่อยู่ในระยะเมตาเฟสมากที่สุด (ภาพที่ 17ค และภาพที่ 18ค) สามารถตรวจนับจำนวนโครโมโซมได้ง่าย สอดคล้องกับช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างปลายรากของกล้วยไม้ชนิดอื่น เช่น กล้วยไม้ช้างผสมโขลง (จารุภัทร, 2549) และกล้วยไม้แผ่นดินเย็นพันธุ์ 'HKRCO 1' (พิชญนาถ, 2551) ส่วนที่เวลา 12.00 ถึง 14.00 น. พบเซลล์ที่อยู่ในระยะแอนาเฟส และระยะทีโลเฟสเป็นส่วน

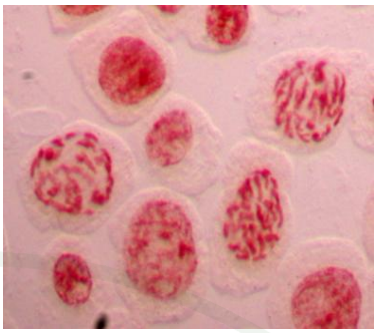
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ใหญ่ (ภาพที่ 17ง และภาพที่ 18ง) การคัดเลือกรากเพื่อนำมาใช้ในการศึกษา ควรเลือกรากที่อวบและสมบูรณ์ ใช้ส่วนของปลายรากที่ความยาวประมาณ 0.5 - 1 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นบริเวณจุดเจริญที่มีการเจริญเติบโตและมีการแบ่งตัวของเซลล์ สังเกตจากปลายรากมีสีขาวขุ่น ส่วนรากที่ไม่เหมาะสมในการนำมาศึกษาคือ รากที่มีสีคล้ำ มีร่องรอยแมลงกัดกินหรือมีลักษณะหงิกงอ นอกจากช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างจะมีผลต่อการศึกษาโครโมโซมแล้ว สภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ และแสง ก็มีผลให้การศึกษาจำนวนโครโมโซมประสบผลสำเร็จด้วย โดยพบว่า ตัวอย่างปลายรากที่เก็บในช่วงฤดูร้อนที่มีแสงแดดจัด ท้องฟ้าแจ่มใส พบจำนวนเซลล์ในระยะเมตาเฟสมากกว่าตัวอย่างปลายรากที่เก็บในช่วงฤดูหนาวซึ่งเป็นช่วงที่พืชมีการเจริญเติบโตช้าทำให้เซลล์มีการแบ่งตัวน้อย

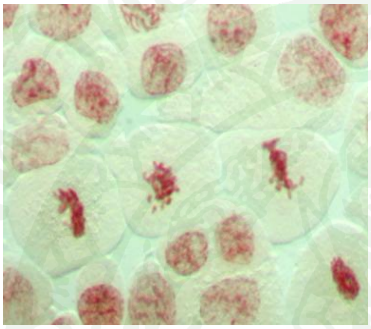
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



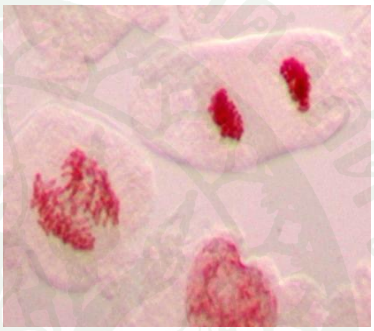
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

ภาพที่ 17 โครโมโซมจากเซลล์ปลายรากลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ ที่เก็บตัวอย่างในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน (กำลังขยาย 400 เท่า)

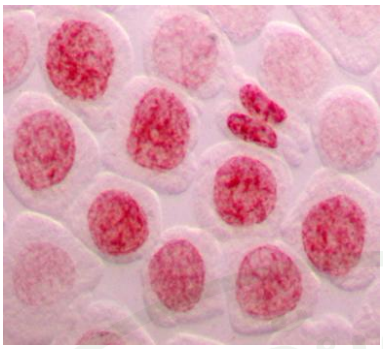
(ก) 9.00 น. เซลล์อยู่ในระยะอินเตอร์เฟสมากที่สุด

(ข) 10.00 น. เซลล์ส่วนใหญ่อยู่ในระยะโปรเฟส

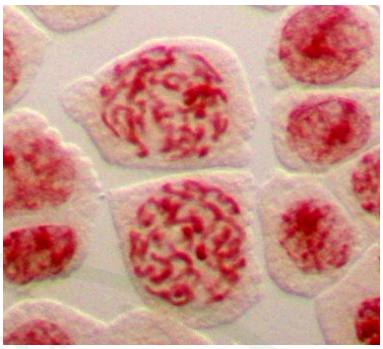
(ค) 11.00 น. เซลล์อยู่ในระยะเมตาเฟสมากที่สุด

(ง) 12.00 – 14.00 น. เซลล์อยู่ในระยะแอนาเฟส และระยะทีโลเฟส

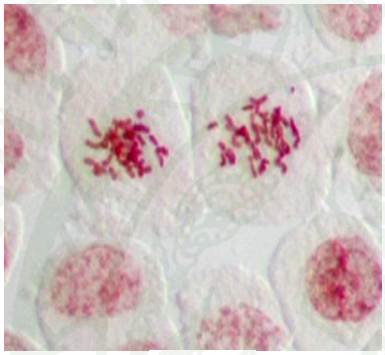
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



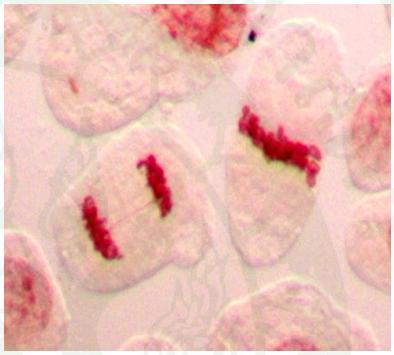
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

ภาพที่ 18 โครโมโซมจากเซลล์ปลายรากลูกผสมสีเหลืองที่เก็บตัวอย่างในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน (กำลังขยาย 400 เท่า)

(ก) 9.00 น. เซลล์อยู่นระยะอินเตอร์เฟต

(ข) 10.00 น. มีการแบ่งเซลล์ในระยะโปรเฟสมากที่สุด

(ค) 11.00 น. เซลล์อยู่ในระยะเมตาเฟตมากที่สุดและโครโมโซมหดตัวเป็นแท่งชัดเจน

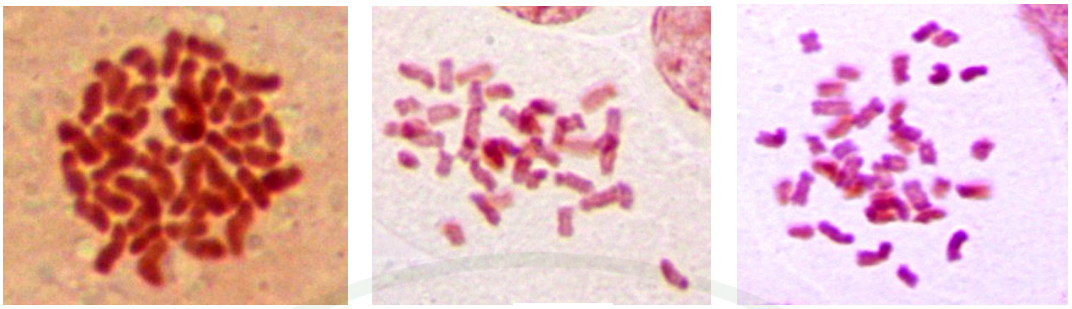
(ง) 12.00 – 14.00 น. เซลล์ส่วนใหญ่อยู่ในระยะแอนาเฟส และระยะทีโลเฟส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2.2 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการหยุดวงชีพเซลล์

ทดลองหยุดวงชีพเซลล์โดยการเก็บตัวอย่างปลายรากในเวลา 11.00 น. ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลอง นำตัวอย่างปลายรากไปแช่ในสารละลาย 8-hydroxyquinoline เก็บที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานานแตกต่างกันคือ 3 และ 6 ชั่วโมง จากนั้นนำเนื้อเยื่อปลายรากไปผ่านขั้นตอนต่าง ๆ ของการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาโครโมโซม ผลการทดลองพบว่า เซลล์ที่ไม่ผ่านการหยุดวงชีพเซลล์แสดงโครโมโซมที่ค่อนข้างยาวและไม่กระจายตัว (ภาพที่ 19ก; ภาพที่ 20ก) แต่เมื่อใช้สารละลาย 8 - hydroxyquinoline ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการสร้างเส้นใยสปินเดิล และหยุดการแบ่งเซลล์ให้อยู่ในระยะเมตาเฟส (Singh, 2003) ทำให้โครโมโซมหดสั้นและกระจายตัวออกจากกัน สามารถเห็นรูปร่างของโครโมโซมชัดเจน ช่วยให้การวิเคราะห์ผลมีความถูกต้องและแม่นยำมากยิ่งขึ้น โดยการใช้สารละลาย 8-hydroxyquinoline หยุดวงชีพเซลล์เป็นเวลา 3 และ 6 ชั่วโมง ให้ผลไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 19ข และ 19ค; ภาพที่ 20ข และ 20ค) ดังนั้นควรใช้เวลาในการหยุดวงชีพเซลล์เพียง 3 ชั่วโมงเพื่อเป็นการลดระยะเวลาในการปฏิบัติงาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



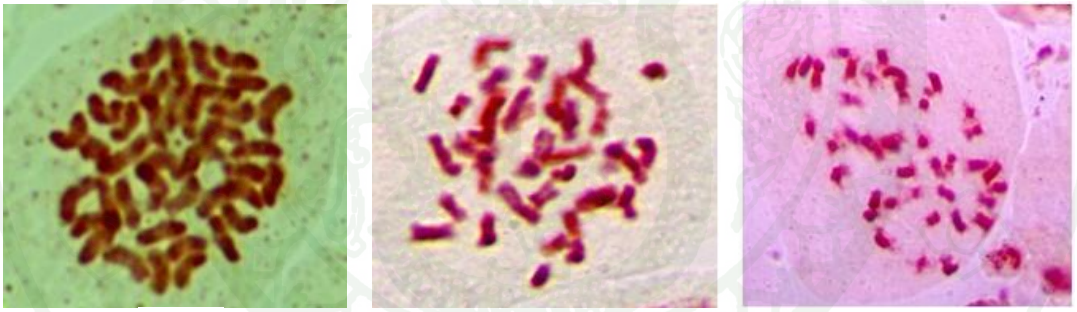
(ก) (ข) (ค)

ภาพที่ 19 โครโมโซมจากเซลล์ปลายรากของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ ที่ไม่ผ่านการหยุดวงชีพเซลล์และหยุดวงชีพเซลล์นานแตกต่างกัน (กำลังขยาย 1000 เท่า)

(ก) ไม่ผ่านการหยุดวงชีพเซลล์

(ข) แช่ในสารละลาย 8-hydroxyquinoline เพื่อหยุดวงชีพเซลล์เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

(ค) แช่ในสารละลาย 8-hydroxyquinoline เพื่อหยุดวงชีพเซลล์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง



(ก) (ข) (ค)

ภาพที่ 20 โครโมโซมจากเซลล์ปลายรากของลูกผสมสีเหลือง ที่ไม่ผ่านการหยุดวงชีพเซลล์และหยุดวงชีพเซลล์นานแตกต่างกัน (กำลังขยาย 1000 เท่า)

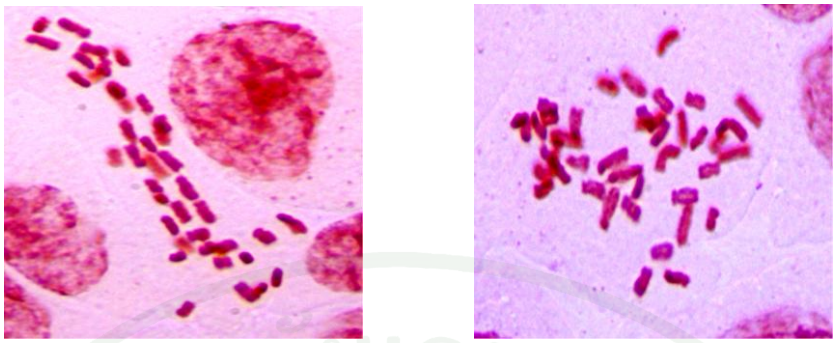
(ก) ไม่ผ่านการหยุดวงชีพเซลล์

(ข) แช่ในสารละลาย 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

(ค) แช่ในสารละลาย 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

การตรวจนับจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ที่เห็นโครโมโซมชัดเจนและกระจายตัวเต็มที่จำนวน 20 เซลล์ พบว่า ลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ และลูกผสมสีเหลืองมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ $2n = 40$ (ภาพที่ 21ก และ 21ข)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



(ก) (ข)

ภาพที่ 21 จำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากของ (ก) ลูกผสม 'จุฬาลักษณ์' และ (ข) ลูกผสมสีเหลือง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

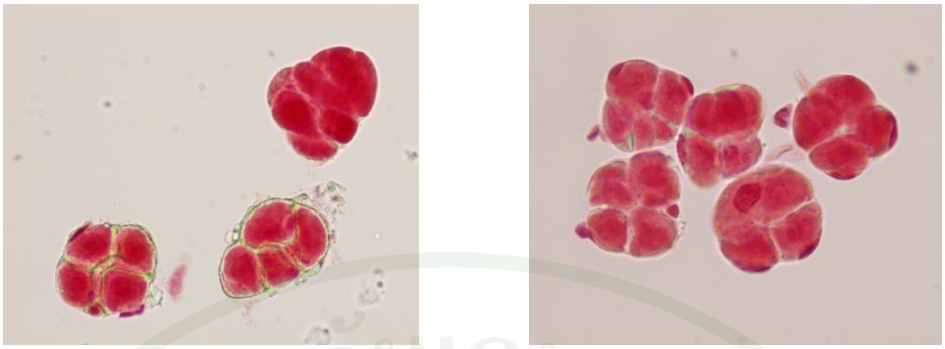
การทดลองที่ 3 การศึกษาความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้าม

3.1 การศึกษาความมีชีวิตของกลุ่มเรณู

ก่อนทำการผสมเกสรได้ศึกษาความมีชีวิตของกลุ่มเรณู โดยเก็บกลุ่มเรณูในช่วงเวลา 8.00 - 9.00 น. ทดสอบด้วยการย้อมสี aceto - carmine ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำมาตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลูกผสม 'จุฬาลักษณ์' มีค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของกลุ่มเรณู 82.00±5.74 เปอร์เซ็นต์ และลูกผสมสีเหลืองมีค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของกลุ่มเรณู 91.70±5.33 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะการติดสีของกลุ่มเรณูของทั้ง 2 สายพันธุ์ ติดสีแดงเข้ม (ภาพที่ 22) แสดงว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์อยู่มากพร้อมที่จะงอกหลอดเรณูได้

การทดสอบความมีชีวิตของกลุ่มเรณูด้วยการย้อมสี aceto - carmine มีความมีชีวิตสูงกว่าอัตราการผสมเกสรมาก เนื่องจากการศึกษาความมีชีวิตของกลุ่มเรณูด้วยการย้อมสีอาศัยการทำปฏิกิริยาของสารเคมีกับโครงสร้างเฉพาะ เช่น เอนไซม์ แป้ง โครมาตินและสารอื่น ๆ ที่มีประสิทธิภาพในการตอบสนองกับสีย้อม ซึ่งกลุ่มเรณูเหล่านี้มีระดับขององค์ประกอบทางเคมีสูงพอที่จะย้อมติดสี (เกรียงศักดิ์และคณะ, 2551) การตรวจสอบด้วยวิธีการย้อมสีจึงเป็นเพียงการคาดคะเนความมีชีวิตของกลุ่มเรณูในเบื้องต้นเท่านั้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



(ก) (ข)

ภาพที่ 22 กลุ่มเรณูของ (ก) ลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ และ (ข) ลูกผสมสีเหลืองที่ย้อมติดสี aceto - carmine ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (กำลังขยาย 400 เท่า)

3.2 การผสมเกสร

การศึกษาความเป็นไปได้ในการผสมพันธุ์กล้วยไม้ดินใบหมาก โดยการถ่ายละอองเกสรด้วยมือแบบผสมตัวเอง และผสมสลับพ่อ-แม่ เพื่อศึกษาความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้าม โดยบันทึกอัตราการผสมติด อัตราการติดฝัก และติดตามการเจริญเติบโตของฝักตั้งแต่ระยะติดฝักจนถึงฝักแก่ ผลการทดลอง พบว่า การผสมเกสรในช่วงเวลา 7.00 - 9.00 น.ดอกที่ได้รับการผสมเกสรสามารถผสมติดได้ และฝักเจริญเติบโตบนต้นแม่ได้จนกระทั่งถึงระยะฝักแก่ ลักษณะของฝักจากทุกคู่ผสมมีลักษณะคล้ายคลึงกัน (ภาพที่ 23) ภายในฝักมีเมล็ดเป็นจำนวนมาก แสดงให้เห็นว่า มีการปฏิสนธิเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ การผสมตัวเองของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ มีอัตราการผสมติดเป็น 54.00 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) ขนาดของฝักกว้างเฉลี่ย 0.62±1.24 เซนติเมตร ยาวเฉลี่ย 3.50±0.89 เซนติเมตร การผสมตัวเองของลูกผสมสีเหลืองมีอัตราการผสมติด 71.43 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดของฝักกว้างเฉลี่ย 0.62±1.0 เซนติเมตร ยาวเฉลี่ย 3.75±1.37 เซนติเมตร ฝักของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ มีระยะการพัฒนาของฝักจนถึงฝักแตก 27-30 วัน และฝักของลูกผสมสีเหลืองมีระยะเวลา 35-37 วัน การผสมข้ามระหว่างลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ และลูกผสมสีเหลืองมีอัตราการผสมติดเป็น 69.23 เปอร์เซ็นต์ ขนาดของฝักโดยเฉลี่ย คือ กว้าง 0.59±0.93 เซนติเมตร ยาว 3.73±1.77 เซนติเมตร ใช้เวลาการเจริญเติบโตจากเริ่มติดฝักจนถึงฝักแตก 30-32 วัน ส่วนการผสมข้ามสายพันธุ์ระหว่างลูกผสมสีเหลืองและลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ มีอัตราการผสมติดเท่ากับ 50.00 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดของฝักเฉลี่ย กว้าง 0.48±0.38 เซนติเมตร ยาว 3.64±0.97 เซนติเมตร ใช้เวลาการเจริญเติบโตจากเริ่มติดฝักจนถึงฝักแตก 33 - 35 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

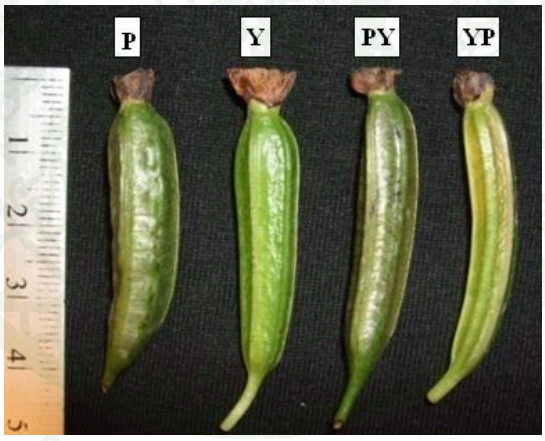
ลักษณะของฝักที่ไม่สมบูรณ์ คือ ฝักมีการพัฒนาได้ระยะหนึ่ง (สังเกตจากรังไข่มีการขยายตัว) แล้วหยุดการพัฒนา ทำให้ฝักที่ได้มีขนาดเล็กและลีบ ฝักเกิดการแตกก่อนระยะที่เหมาะสม เกิดการร่วงของฝักอ่อน และฝักมีลักษณะหงิกงอ

ความสามารถในการปฏิสนธิในแต่ละคู่ผสมมีความแตกต่างกัน เป็นผลมาจากหลายสาเหตุ เช่น ความสามารถในการงอกของละอองเกสรเพศผู้ที่สามารถงอกผ่านก้านเกสรเพศเมีย (นพพร, 2543) การเข้าคู่กันของโครโมโซมในช่วงการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (นิตย์ศรี, 2541) อายุของละอองเกสรเพศผู้และความพร้อมของยอดเกสรเพศเมีย ความสมบูรณ์ของต้นแม่พันธุ์ เพราะถ้าต้นแม่พันธุ์อ่อนแอ ไม่ได้รับการดูแล การผสมพันธุ์อาจล้มเหลวได้ (ณัฐาและคณะ, 2545) นอกจากนี้ปัจจัยของสภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิและความชื้นในช่วงที่มีการถ่ายละอองเกสรก็มีผลต่อการพัฒนาของฝักและเมล็ดด้วย เนื่องจากอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมมีผลต่อการถ่ายละอองเกสรและการปฏิสนธิ โดยทำให้การงอกของหลอดละอองเกสรและการเจริญเติบโตของหลอดละอองเกสรลดลง (Karappanos *et al.*, 2010) อุณหภูมิสูงยังเร่งให้การพัฒนาของผลและเมล็ดเร็วขึ้น ทำให้เมล็ดมีระยะเวลาในการสะสมอาหารน้อยลงและมีอายุการพัฒนาของผลหรือฝักเปลี่ยนแปลงไป (Adam *et al*., 2001) ส่วนความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศต่ำทำให้การงอกของหลอดละอองเกสรลดลง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 อัตราการผสมตัวเองและผสมข้ามของกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ และลูกผสมสีเหลือง

คู่ผสม	จำนวนดอกที่ผสม (ดอก)	อัตราการผสมติด (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนฝักที่ได้ (ฝัก)	ฝักสมบูรณ์ (ฝัก)	ฝักไม่สมบูรณ์ (ฝัก)
ผสมตัวเอง					
‘จุฬาลักษณ์’ x ‘จุฬาลักษณ์’	50	54.00	27	19	8
สีเหลือง x สีเหลือง	42	71.43	30	26	4
ผสมข้าม					
‘จุฬาลักษณ์’ x สีเหลือง	52	69.23	36	29	7
สีเหลือง x ‘จุฬาลักษณ์’	44	50.00	22	16	6



ภาพที่ 23 ฝักของแต่ละคู่ผสมที่อายุ 25 วัน
(P) ‘จุฬาลักษณ์’ x ‘จุฬาลักษณ์’
(Y) สีเหลือง x สีเหลือง
(PY) ‘จุฬาลักษณ์’ x สีเหลือง
(YP) สีเหลือง x ‘จุฬาลักษณ์’

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.3 อัตราความมีชีวิตของเมล็ด

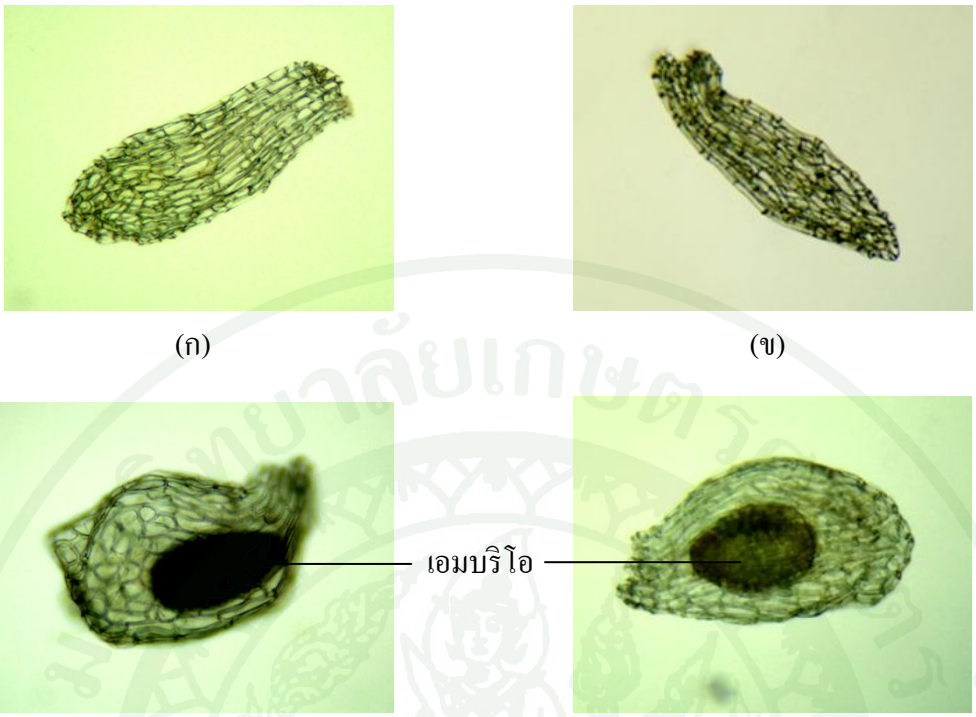
เมื่อนำฝักแก่ของกล้วยไม้ดินใบหมากแต่ละคู่ผสมมาคิดเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า คู่ผสม 'จุฬาลักษณ์' x 'จุฬาลักษณ์' มีเมล็ดที่มีเอมบริโอสมบูรณ์ 14 เปอร์เซ็นต์ คู่ผสม สีเหลือง x สีเหลือง มีเมล็ดที่มีเอมบริโอสมบูรณ์ 62.33 เปอร์เซ็นต์ การผสมข้ามระหว่าง 'จุฬาลักษณ์' x สีเหลือง และ สีเหลือง x 'จุฬาลักษณ์' มีเมล็ดที่มีเอมบริโอสมบูรณ์ 10.66 และ 59.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

ลักษณะของเมล็ดที่ได้จากการให้ลูกผสม 'จุฬาลักษณ์' เป็นต้นแม่พันธุ์ส่วนใหญ่มีลักษณะเรียวยาวและลีบ ไม่มีเอมบริโออยู่ภายใน (ภาพที่ 24ก และ 24ข) ส่วนเมล็ดที่ได้จากการให้ลูกผสมสีเหลืองเป็นต้นแม่พันธุ์เมล็ดมีลักษณะสมบูรณ์และมีเอมบริโอขนาดใหญ่ (ภาพที่ 24ค และ 24ง) การที่เอมบริโออ่อนแอหรือเกิดการแท้งตายทำให้ไม่สามารถพัฒนาเป็นเมล็ดที่สมบูรณ์เนื่องมาจากความไม่เข้ากันระหว่างจีโนมของพ่อและแม่ เช่น การที่ยีนบางยีนมาเข้าคู่กันและมีการแสดงออกในการยับยั้งการพัฒนาของเอมบริโอ หรือทำให้ไม่มีการแสดงออกของลักษณะที่มีความจำเป็นในกระบวนการที่มีผลต่อการพัฒนาของเอมบริโอ เช่น กระบวนการแบ่งเซลล์หรือกระบวนการสร้างอวัยวะ หรือความไม่เข้ากันระหว่างจีโนมของพ่อกับไซโตพลาสซึมของแม่ หรือการที่จีโนมของเอนโดสเปิร์มมีความไม่เข้ากัน ทำให้เอนโดสเปิร์มมีการพัฒนาผิดปกติและสลายตัวไป เอมบริโอจึงขาดแหล่งอาหารและตายไปด้วย หรือการที่ผนังออวุลหรือเอนโดสเปิร์มมีกลไกขัดขวางการพัฒนาของเอมบริโอ เป็นต้น (Shivanna, 2003; Lee *et al*., 2008) ซึ่งอุปสรรคที่เกิดขึ้นเหล่านี้แก้ปัญหาได้โดยการช่วยชีวิตเอมบริโอ (สุขุมาล, 2548)

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์จากแต่ละคู่ผสม

คู่ผสม	**เมล็ดสมบูรณ์ (เปอร์เซ็นต์)**
'จุฬาลักษณ์' x 'จุฬาลักษณ์'	14.00
'จุฬาลักษณ์' x สีเหลือง	10.66
สีเหลือง x สีเหลือง	62.33
สีเหลือง x 'จุฬาลักษณ์'	59.66

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 24 ลักษณะเมล็ดจากคู่ผสมต่างๆ (กำลังขยาย 400 เท่า)

(ก) ‘จุฬาลักษณ์’ x ‘จุฬาลักษณ์’

(ข) ‘จุฬาลักษณ์’ x สีเหลือง

(ค) สีเหลือง x สีเหลือง

(ง) สีเหลือง x ‘จุฬาลักษณ์’

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การทดลองที่ 4 การศึกษาอัตราความมีชีวิตของเมล็ดกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสมในสภาพปลอดเชื้อ

หลังจากทำการผสมตัวเองและผสมสลับพ่อ-แม่แล้ว เก็บฝักของกล้วยไม้ดินใบหมากแต่ละคู่ผสมมาเพาะในสภาพปลอดเชื้อเพื่อทดสอบความมีชีวิตของเมล็ด เนื่องจากพบว่า เมล็ดที่ได้จากการใช้ลูกผสม'จุฬาลักษณ์' เป็นต้นแม่นั้น มีอัตราเมล็ดสมบูรณ์ต่ำมาก การช่วยชีวิตเอมบริโอ (embryo rescue) โดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อเป็นเทคนิคที่ช่วยในการปรับปรุงพันธุ์พืชที่ประสบปัญหาเมื่อพืชได้รับการผสมแล้วเอมบริโอไม่สามารถพัฒนาหรือฝ่อไป เปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมและความต้องการแสงต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินใบหมากให้ผลการทดลอง ดังนี้

เมื่อนำเมล็ดที่ได้จากการผสมตัวเองและผสมข้ามที่ให้ลูกผสม 'จุฬาลักษณ์' เป็นต้นแม่ไปเพาะในสภาพปลอดเชื้อนาน 1 เดือน ทุกวิธีการพบว่าเมล็ดไม่งอก (ตารางที่ 8) จึงนำเมล็ดที่เพาะไปศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เมล็ดมีสีน้ำตาล และลีบ แต่เมื่อใช้ลูกผสมสีเหลืองเป็นต้นแม่พันธุ์ พบว่า หลังจากเพาะเมล็ดนาน 1 เดือน บนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ในที่มีแสง คู่ผสม สีเหลือง x สีเหลือง มีอัตราการงอกของเมล็ด 93.92 เปอร์เซ็นต์ และ คู่ผสม สีเหลือง x 'จุฬาลักษณ์' มีอัตราการงอกของเมล็ด 80.27 เปอร์เซ็นต์ การเพาะเมล็ดบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW (1949) ดัดแปลง ในที่มีแสงเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า คู่ผสม สีเหลือง x สีเหลือง มีอัตราการงอกของเมล็ด 84.56 เปอร์เซ็นต์ และ คู่ผสม สีเหลือง x 'จุฬาลักษณ์' มีอัตราการงอกของเมล็ด 78.20 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเพาะเมล็ดบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS และ อาหารกึ่งแข็งสูตร VW (1949) ดัดแปลง ในที่มืดเป็นเวลา 1 เดือน บนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS คู่ผสมสีเหลือง x สีเหลือง และ คู่ผสม สีเหลือง x 'จุฬาลักษณ์' มีอัตราการงอกของเมล็ด 84.56 เปอร์เซ็นต์ และ 78.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีอัตราการงอกของเมล็ด 83.43 เปอร์เซ็นต์ และ 72.89 เปอร์เซ็นต์ (ตามลำดับ) เมื่อเพาะบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW (1949) ดัดแปลง

จากการทดลองพบว่า สูตรอาหารและแสงมีผลต่อขนาดและการพัฒนาของโปรโตคอร์ม โดยเมล็ดที่เพาะบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS และได้รับแสงโปรโตคอร์มมีสีเขียวและมีขนาดใหญ่ การพัฒนาของโปรโตคอร์มไปเป็นต้นอ่อนอย่างรวดเร็ว (ภาพที่ 25) ส่วนการเพาะเมล็ดในที่มืดโปรโตคอร์มมีลักษณะขาวซีด (ภาพที่ 26) เนื่องจาก เมล็ดหรือต้นกล้าที่งอกในที่มืดจะมีการยืดยาวกว่าปกติ ใบเลี้ยงและใบไม่ขยายตัว คลอโรพลาสต์จะพัฒนาเป็น etioplast ทำให้ไม่มีการสร้างคลอโรฟิลล์ ไม่มีเอนไซม์ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และไม่มีโปรตีนโครงสร้างต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการสร้าง thylakoid system และโครงสร้างอื่น ๆ ของกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง แต่เมื่อได้รับแสงปกติ etioplast อาจพัฒนาเป็นคลอโรฟิลล์ได้ (พูนพิภพ, 2549)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

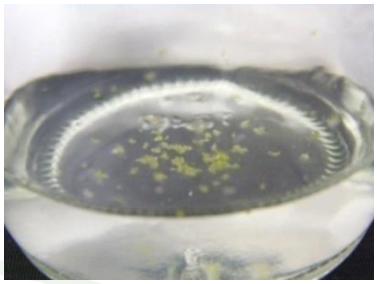
การพัฒนาของเอมบริโอเริ่มขยายขนาดใหญ่ขึ้นดันเปลือกหุ้มเมล็ดให้ฉีกออกแล้วพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มสีเขียว มีลักษณะกลม ปลายแหลม (ภาพที่ 27ก และ 27ข) ในเดือนที่ 2 โปรโต-คอร์มมีการขยายขนาดมากขึ้น มี rhizoid เกิดขึ้นบริเวณส่วนฐาน และเห็น leaf primodia ชัดเจน (ภาพที่ 27ค) เดือนที่ 3 โปรโตคอร์มมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และพัฒนาเป็นต้นอ่อนจำนวนมาก (ภาพที่ 27ง) มีใบเกิดขึ้น 1-2 ใบ (ภาพที่ 27จ) การพัฒนาของโปรโตคอร์มที่เพาะบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS มีขนาดใหญ่และมีการพัฒนาเป็นต้นกล้าได้รวดเร็วกว่าการเพาะบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW (1949) ดัดแปลง

ตารางที่ 8 อัตราการงอกของเมล็ดที่เพาะบนอาหารแต่ละชนิดและเลี้ยงในสภาพแสงต่างกัน

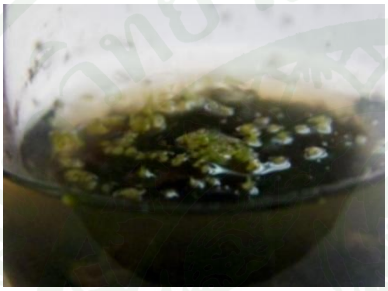
คู่ผสม	อัตราการงอกของเมล็ด (เปอร์เซ็นต์)			
	½ MS มีแสง	½ MS มืด	VW มีแสง	VW มืด
'จุฬาลักษณ์' x 'จุฬาลักษณ์'	0	0	0	0
'จุฬาลักษณ์' x สีเหลือง	0	0	0	0
สีเหลือง x สีเหลือง	93.92	84.56	92.07	83.43
สีเหลือง x 'จุฬาลักษณ์'	80.27	72.20	77.13	72.89

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(ก)



(ข)



(ค)

(ง)

ภาพที่ 25 การงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินใบหมาก

(ก) ½ MS มีแสง

(ข) ½ MS ที่มืด

(ค) VW (1949) ดัดแปลง มีแสง

(ง) VW (1949) ดัดแปลง ที่มืด

(ก)

(ข)

ภาพที่ 26 ลักษณะของโปรโตคอร์มที่ได้รับสภาพแสงแตกต่างกัน

(ก) โปรโตคอร์มที่ได้รับแสงมีสีเขียวใส

(ข) โปรโตคอร์มที่อยู่ในที่มืดมีลักษณะขาวซีด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(ก) (ข) (ค)

(ง) (จ)

ภาพที่ 27 ระยะการพัฒนาของต้นกล้า

(ก) เมล็ดเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเขียว เรียกว่า โปรโตคอร์ม

(ข) โปรโตคอร์มมีลักษณะกลม ปลายแหลม

(ค) มี rhizoid และเห็นจุดกำเนิดใบชัดเจน (leaf primodia)

(ง) โปรโตคอร์มมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว

(จ) พัฒนาเป็นต้นอ่อน มีรากและใบเกิดขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุป

การศึกษาความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้ามระหว่างกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ และลูกผสมสีเหลืองครั้งนี้ ทำให้ทราบข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ทั้งทางด้านสัณฐานวิทยา การเจริญเติบโต จำนวนโครโมโซมและความสามารถในการผสมตัวเองและผสมข้าม ดังนี้

1. ลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ และลูกผสมสีเหลืองมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของส่วนประกอบต่างๆ ของต้นใกล้เคียงกันมาก แตกต่างในเรื่องขนาด จำนวนและสีดอก

2. รูปแบบการเจริญเติบโตในรอบ 1 ปี ของกล้วยไม้ดินใบหมากลูกผสมทั้ง 2 สายพันธุ์ มีช่วงการเจริญเติบโตทางใบและดอกสลับกับการพักตัว โดยลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ ออกดอกมากที่สุดช่วงกลางเดือนสิงหาคมถึงเดือนพฤศจิกายน ส่วนในลูกผสมสีเหลืองช่วงที่ออกดอกมากที่สุด คือ ต้นเดือนตุลาคมถึงปลายธันวาคม ดังนั้นช่วงเวลาที่เอื้อให้เกิดการผสมข้ามในธรรมชาติ คือ ระหว่างเดือนตุลาคมถึงเดือนพฤศจิกายน

3. วัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ปลูกเพื่อนำรากไปศึกษาจำนวนโครโมโซม คือ กาบมะพร้าวสับ ขุยมะพร้าว หรือพีทมอส เนื่องจากให้รากที่สมบูรณ์ สะอาดและไม่แข็ง ขั้นตอนการศึกษาโครโมโซมจากเนื้อเยื่อปลายรากของกล้วยไม้ดินลูกผสมทั้ง 2 สายพันธุ์ สรุปได้ว่า เวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างปลายราก คือ 11.00 น. หยุดวงชีพเซลล์ในสารละลาย 8-hydroxyquinoline เป็นเวลา 3 ชั่วโมงแล้วแช่ในน้ำยารักษาสภาพเซลล์นาน 12 ชั่วโมง นำไปย้อมด้วยสี lacto - propionic orcein นาน 30 นาที การตรวจนับจำนวนโครโมโซม พบว่า ทั้ง 2 สายพันธุ์มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ $2n = 40$

4. การผสมตัวเองและผสมข้ามแบบสลับพ่อ – แม่ของลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ และลูกผสมสีเหลือง สามารถผสมติดฝักและมีเมล็ดอยู่ภายใน โดยฝักจากแต่ละคู่ผสมมีระยะการพัฒนาของฝักแตกต่างกัน

5. เมล็ดที่ได้จากการให้ลูกผสม ‘จุฬาลักษณ์’ เป็นต้นแม่ ส่วนใหญ่เป็นเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์ คือ ไม่มีเอมบริโอและเมล็ดมีลักษณะลีบ ส่วนเมล็ดที่ได้จากการให้ลูกผสมสีเหลืองเป็นต้นแม่มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดสมบูรณ์สูง เมื่อทดสอบอัตราความมีชีวิตของเมล็ดของแต่ละคู่ผสมในสภาพปลอด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เชื้อ มีเพียงเมล็ดจากคู่ผสมที่ใช้ลูกผสมสีเหลืองเป็นต้นแม่เท่านั้นที่สามารถงอกเป็นโปรโตคอร์ม และพัฒนาเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ได้

6. การใช้ลูกผสมสีเหลืองเป็นต้นแม่พันธุ์ในการผสมข้ามจะช่วยเพิ่มอัตราการติดฝักที่มีเมล็ดสมบูรณ์ให้สูงขึ้นได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กฤษฎา สัมพันธรักษ์. 2519. **หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช**. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____. 2544. **การปรับปรุงพันธุ์พืช ความหลากหลายของแนวคิด**. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____. 2551. **การปรับปรุงพันธุ์พืช พื้นฐาน วิธีการ และแนวคิด**. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2548**. รายงานการวิจัย ศูนย์นำร่องวิจัยพัฒนาและถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตและการจัดการผลผลิตกล้วยไม้กระถางเพื่อการส่งออก**. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

เกรียงศักดิ์ ไทยพงษ์, สุนี ดาแลหมัน และ รวี เสรฐภักดี. 2551. อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาละอองเกสรอ่อน. **ว. วิทย์. กษ.** 39 (3) (พิเศษ): 36-39.

คำนูณ กาญจนภูมิ. 2542. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ครรชิต ธรรมศิริ. 2547. **เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้**. บริษัทอัมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน), กรุงเทพฯ.

จารุภัทร ประราศรี. 2549. **การศึกษาลักษณะของกล้วยไม้ช้างผสมโขลงที่ศูนย์การพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จารุวรรณ สุขเกษม. 2550. **การศึกษาลักษณะและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้เอื้องน้ำต้น**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จิตราพรรณ พิลึก. 2539. กล้วยไม้ดิน, น. 81-85. *ใน* **กองสวนสาธารณะ (บรรณาธิการ) วันต้นไม้ประจำปีแห่งชาติ.** สำนักสวัสดิการสังคม กรุงเทพมหานคร, ห้างหุ้นส่วนจำกัด ป.สัมพันธ์พาณิชย์, กรุงเทพฯ.

จุฑาธิป เขียววงษ์จันทร์ และครรชิต ธรรมศิริ. 2550. การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ดินใบหมากเพื่อพัฒนาเป็นไม้กระถาง, *ใน* **การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 33.** มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์, นครศรีธรรมราช.

ณัชชา วิสุทธิเทพกุล. 2548. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหายากและใกล้สูญพันธุ์, น. 368 - 374 *ใน* **รายงานการประชุม ความหลากหลายทางชีวภาพด้านป่าไม้ และสัตว์ป่า " ความก้าวหน้าของผลงานวิจัย และกิจกรรมปี 2548 "**. 21-24 สิงหาคม 2548, โรงแรมรีเจ้นท์ ชะอำ เพชรบุรี.

ดวงดาว สุวรรณรังสี. 2537. **บันทึกธรรมชาติกล้วยไม้ไทย**. บริษัทอัมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน), กรุงเทพฯ.

นพพร สายัมพล. 2543. **เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นิตย์ศรี แสงเดือน. 2541. **พันธุศาสตร์พืช**. พิมพ์ครั้งที่ 2 . สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นิพาพร ชัยทนุ. 2541. **การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินบางชนิดในสกุลลิ้นมังกรและนางอั้ว**. ปัญหาพิเศษปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุญปยธิดา คลองแคลว. 2551. **การศึกษาลักษณะของบานดึกและเอื้องดินลาวที่รวบรวมจากป่าสงวนแห่งชาติขุนแม่กวง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

บุญหงษ์ จงคิด. 2548. **หลักและเทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืช**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปิยะนุช ปิยะตระกูล. 2547. **ปัจจัยที่มีผลต่อการงอกและการพัฒนาต้นอ่อนของกล้วยไม้ดินลิ้นมังกร (*Habenaria rhodocheila* Hance.)**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พรวิวรรณ โพธาสินธุ์. 2550. **ความหลากหลายทางชีวภาพและนิเวศวิทยาของกล้วยไม้ดินบางชนิดในป่าเต็งรังและป่าเบญจพรรณของจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พรรณี ฐิตาภิชิต. 2543. **หลักพันธุศาสตร์**. พิมพ์ครั้งที่ 3. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

พิชญนาถ อัญชลิสังกาศ. 2551. **การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโต และการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อของกล้วยไม้แผ่นดินเย็นพันธุ์ HKRC01 และ HKRC02**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท , มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พูนพิภพ เกษมทรัพย์. 2549. **ชีววิทยา 2**. พิมพ์ครั้งที่ 2. มูลนิธิ สอวน, กรุงเทพฯ.

ไพบูลย์ ไพรีพ่ายฤทธิ์. 2521. **ตำรากล้วยไม้สำหรับผู้เริ่มเล่น**. อาทรการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2542. **พันธุศาสตร์**. พิมพ์ครั้งที่ 5. ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพฯ.

วิทยาพร พรชุติ และครรชิต ธรรมศิริ. 2552. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA ตอการเพาะเลี้ยงเนื่อเยื่อกล้วยไม้ดินใบหมาก (*Spathoglottis plicata* Blume), น. 61 *ใน* **บทคัดย่องานประชุมวิชาการพฤษศาสตร์แห่งประเทศไทยครั้งที่ 3.** มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

รังสฤษฎ์ กาต๊ะวี. 2541. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลักการและเทคนิค**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ระพี สาคริก. 2516. **การเพาะปลูกกล้วยไม้ในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย**. โรงพิมพ์ชวนพิมพ์, กรุงเทพฯ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ระพี สาคริก. 2549. **กล้วยไม้สำหรับผู้เริ่มต้น**. วศิระ บจก., กรุงเทพ ฯ.

ศลิษา รุจิวณิชย์กุล. 2549. **การศึกษาลักษณะของกล้วยไม้ว่านจูงนางที่ศูนย์การพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2548. **สรีรวิทยาของพืช**. ภาควิชาพฤษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สรศักดิ์ เหลี่ยวไชยพันธุ์. 2531. **ตำราเภสัชเวท เรื่อง พฤกษแทนนิน**. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

สลิล สิทธิสัจจธรรม. 2549. **กล้วยไม้ป่าเมืองไทย**. บริษัทอัมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน), กรุงเทพฯ.

สุขุมาล หวานแก้ว. 2548. **การเพาะเลี้ยงออวุลที่ได้จากการผสมข้ามชนิดของ *Lycopersicon esculentum* x *L. hirsutum* และ *L. esculentum* x *L. chilense*** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุจรรยา เรืองวีรยุทธ. 2540. **การเพาะเมล็ดและปลูกเลี้ยงต้นกล้ากล้วยไม้ดินใบหมาก (*Spathoglottis plicata* Bl.)**. ปัญหาพิเศษปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุชาดา พัฒนกนก. 2549. การขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลสปาโทกลอททิสพันธุ์ดอกสีม่วงแคระและเหลืองแคระ. **VRU Res. and Development J.** 1: 8-17

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2553. **ข้อมูลพื้นฐานเศรษฐกิจการเกษตร ปี 2553.** กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

อดิศร กระแสชัย. 2547. **บทปฏิบัติการ Cytogenetics in Agriculture**. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อบฉันท์ ไทยทอง. 2543. **กล้วยไม้เมืองไทย**. บริษัทอัมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน), กรุงเทพฯ.

อนุพันธ์ กงบังเกิด, ทองพูล ราชวังอินทร์, วศิณี ทองคำ, สายสมร ปาระมี และคงศักดิ์ พร้อมเทพ. 2550. การสำรวจกล้วยไม้บริเวณอุทยานแห่งชาติภูเรือ อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย. **NU Science Journal** 4 (1): 53-66.

อมรรัตน์ ทองแสน. 2551. **การศึกษาลักษณะ และ การผสมพันธุ์ว่านจูงนาง ที่รวบรวมจากป่าสงวนแห่งชาติขุนแม่กวง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Ackerman, J.D. and A.M. Montalvo. 1990. Short-and long-term limitations to fruit production in a tropical orchid. **Ecology** 71: 263-272.

Adams, S.R., K.E. Cockshull and C.R.J. Cave. 2001. Effect of temperature on the growth and development of tomato fruit. **Ann Bot**. 88: 869-877.

Arditti, J. and A.K.A. Ghani. 2000. Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implication. **New Phytol.** 110: 367-421.

Aurigue, F.B. and R.G. Labiano. 2007. **The Philippine breed of 'Lion of Singapore'- A *Spathoglottis* hybrid**, Source : http://www.maidon.pcarrd.dost.gov.ph/joomla, April 22, 2010.

Beaman, T. E., J. J. Wood, R. S. Beaman and J. H. Beaman. 2001. **Orchids of Sarawak**. Natural History Publications (Borneo) Sdn. Bhd., Sabah.

Cochran, M.E. 1985. Pollinator limitation in the simple deceptive species *Cypripedium acaule* Bull. **ESA.** 66: 155.

Croix, I. and E.la Corix. 1997. **African orchids in the wind and cultivation**. Timber Press, Inc., Oregon.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Felix, L.P. and M. Guerra. 2000. Cytogenetic and Cytotaxonomy of some Brazilian species of Cymbidioid Orchids. **Genet. Mol. Biol**. 23: 957-978.

Gangaprasad, A.N., W.S. Decruse, S. Seeni and S. Menon. 1999. Micropropagation and restoration of the endangered Malabar daffodil orchid *Ipsea malabarica*. **Lindleyana**. 14: 38-46.

Goldblatt, P. 1988. **Index to Plant Chromosome Number**. Missouri Botanical Garden. Missouri.

Gosden, J.R. 1994. **Chromosome Analysis Protocols**. Humana Press, New Jersey.

Hawkes, A. D. 1965. **Encyclopedia of cultivated orchids**. Faber and Faber Ltd., London.

Hayward, M.D., N. O. Bosemark, I. Romagosa**. 1993. Plant breeding : principles and prospects**. Chapman & Hall, London.

Hooker, J.D. 1885. **The Flora of British India**. Willam Clowes and Sone Limited, London.

Ishida, G. 1992. Karyomorphological studies in *Calanthe*. **Fourth Asia Pacific Orchid Conference Program and Abstracts**, Chiang Mai.

Kamemoto, H. and R. Sagarik. 1975. **Beautiful Thai Orchid Species**. Siam society, Bangkok.

Karapanos, I.C., K.A. Akoumianakis, C.M. Olympios and H.C. Passam. 2010. Tomato pollen respiration in relation to *in vitro* germination and pollen tube growth under favourable and stress – inducing temperatures. **Sex Plant Reproduction** 23: 219-224.

Knudson, L. 1946. A new nutrient for the germination of orchid seeds. **Am. Orchid Soc. Bull.** 15: 214-217**.**

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Latha, P.G. 2002. Lacto-propionic orcein as a suitable stain for mitotic chromosome of Orchidaceae. **J. Phytol. Res.** 15 (1): 25-27.

Lee, C.B., L.E. Page, B.A. McClure and T.P. Holtsford. 2008. Post-pollination hybridization barriers in *Nicotiana* section *Alatae*. **Sex Plant Reprod.** 21: 183–195.

Locker, H.J. and M.R. Grünberg. 2000. *Spathoglottis* plant named 'Lencaract'. **U.S. Patent** 11: 54-56.

Minea, M. 2004**. A study on seed germination and seedling development of *Spathoglottis* Bl. orchid**. Thesis, Kasetsart University.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Plant Physiol.** 15: 473-497.

Nagashima, T. 1989. Embryogenesis, seed formation and immature seed germination *in vitro* in *Ponerorchis graminiforia* Reichb. **F. J. Japanese Soc. HortScience** 58: 187-194.

Nguyen, P. and V.D. Cin. 2009. The role of light on foliage colour development in coleus (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd). **Plant Physiol. Bioch.** 47: 934-945.

Rasmussen, H.N. 1995. **Terrestrial Orchids form Seed to Mycotrophic Plant**. Cambridge University Press, New York.

Seidenfaden, G. and T. Smitinand . 1959. **The Orchid of Thailand**. Siam society, Bangkok.

Seidenfaden, G. 1992. The Orchids of Indochina. **Opera Bot**. 114: 1-502.

Shivanna, K.R. 2003. **Pollen Biology and Biotechnology**. Science Publishers, Inc., Enfield, New Hampshire.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Singh, R.J. 2003. **Plant Cytogenetics**. 2nd ed. CRC press LLC, New York.

Teoh, S. B. 1982. Complement Fractionation in Natural Diploid Orchid Species. **Theor. Appl. Genet.** 61: 91-95.

Vacin E. and F. Went. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. **Bot. Gaz**. 110: 605-613.

Vendrame, W.A., V.S. Carvalho, J.M.M. Dias. 2007. *In vitro* germination and seedling development of cryopreserved *Dendrobium* hybrid mature seeds. **Sci. Hort.** 114: 188 – 193.

Wilson, R.F. 1942. **Royal Horticultural Color Chart I-II**, Banbury and London.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

องค์ประกอบของอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962)

ธาตุอาหาร	ปริมาณ (mg/l)
Macronutrients	
$NHNO_3$	1,650.000
KNO_3	1,900.000
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440.000
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370.000
KH_2PO_4	170.000
Micronutrients	
KI	0.830
H_3BO_3	6.200
$MnSO_4 \cdot 7H_2O$	6.900
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	6.140
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.250
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025
Fe-EDTA solution	
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27.850
$Na_2EDTA \cdot 2H_2O$	37.250
Organic compounds	
Myo-inositol	100.000
Glycine	2.000
Nicotinic acid	0.500
Pyridoxine-HCl	0.500
Thiamine-HCl	0.500
Others	
Sucrose	10,000.000
pH	5.7-5.8

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

องค์ประกอบของอาหารสูตร Vacin and Went (1949)

ธาตุอาหาร	ปริมาณ (mg/l)
Macronutrients	
$(NH_4)_2SO_4$	500.000
KNO_3	525.000
$Ca_3(PO_4)_2$	200.000
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	250.000
KH_2PO_4	250.000
Micronutrients	
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	7.500
$Fe_2(C_4H_4O_6)$	28.000
Others	
Sucrose	10,000.000
pH	5.8

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

(จ)

ภาพผนวกที่ 1 ลักษณะของกลีบปากที่แตกต่างของลูกผสมสีเหลือง

(ก) ปลายกลีบปากผายกว้าง มีรอยเว้าและมีสันตรงแนวกลาง

(ข) กลีบปากมี 3 หยัก โดยหยักตรงกลางมีลักษณะแหลม

(ค) กลีบปากมีส่วนที่คอดเว้าสั้นมาก ปลายปากหยักเว้าและมีสันตรงกลาง

(ง) ปลายกลีบปากผายออกและหยักเป็นคลื่น

(จ) กลีบปากแคบ ปลายกลีบปากบานออกและมีลักษณะแหลม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ นางสาวศิวพร แก้วชุ่มชื่น

เกิดวันที่ 29 เมษายน 2528

สถานที่เกิด อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

ประวัติการศึกษา วท.บ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตำแหน่งปัจจุบัน -

สถานที่ทำงานปัจจุบัน -

ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ -

ทุนการศึกษาที่ได้รับ -

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์