

การทดลองเพื่อหาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดและการพัฒนาของต้นกล้ากล้วยไม้ดินท้าวตุลุดอกเล็กในสภาพปลอดเชื้อ โดยเฉพาะเมล็ดที่มีอายุต่างกัน คือ 4, 5, 6, 7 และ 8 สัปดาห์หลังการผสมเกสร ลงบนอาหารวุ้นสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1) ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างกัน คือ 2, 4 และ 6 % พบว่า เมล็ดจากฝักที่มีอายุ 6, 7 และ 8 สัปดาห์สามารถงอกได้ในอาหารที่มีน้ำตาลทุกระดับ เมล็ดจากฝักอายุ 7 สัปดาห์ใช้เวลาเพื่อการงอกเพียง 28 วัน ในขณะที่เมล็ดจากฝักอายุ 8 สัปดาห์ใช้เวลาเพื่อการงอก 56 วัน ในอาหารที่มีความเข้มข้นน้ำตาลต่างกัน เมล็ดจากฝักอายุ 7 สัปดาห์มีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย 62.50, 50.00 และ 33.50% ตามลำดับ และพบการตายของโปรโตคอร์มในอาหารที่มีซูโครส 6% ในขณะที่เมล็ดอายุ 8 สัปดาห์มีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำสุดเพียง 3.00, 3.00 และ 2.50% ตามลำดับ และพบการตายของ โปรโตคอร์มสูงสุดหลังการเพาะ 79 วัน การเปรียบเทียบสภาพอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดโดยการเพาะเมล็ดลงใน อาหารวุ้น อาหารวุ้นหยดอาหารเหลว และอาหารเหลว พบว่ามีการพัฒนาของกัพพะต่างกัน โดยเมล็ดที่เพาะลงในอาหารเหลวมีความกว้างและความยาวของกัพพะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 3 สัปดาห์แรกหลังการเพาะ และดีกว่าที่เกิดในอาหารสภาพอื่น แต่หลังจากการเพาะ 10 สัปดาห์ ในสภาพอาหารที่ต่างกันความกว้างกัพพะกลับไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การเลี้ยงในอาหารเหลวมีผลทำให้มีความยาวกัพพะสูงสุดเฉลี่ย 237.70 ไมโครเมตร เมล็ดสามารถงอกได้เร็วกว่า และมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดถึง 65% แต่ก็พบการตายของโปรโตคอร์มมากกว่าที่พบในอาหารสภาพอื่น ในการศึกษาการพัฒนาของต้นอ่อนเมื่อเลี้ยงในอุณหภูมิที่ต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ 25 และ 30°C ต้นกล้าไม่มีความแตกต่างกันทางความสูง จำนวนใบ ความยาวใบ และจำนวนรากเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ที่อุณหภูมิ 20°C การเจริญทางต้นด้าไม่สามารถเกิดหัว เช่นเดียวกับต้นในอุณหภูมิ 30°C การเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารที่มีน้ำตาล 2% ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15% มีการเจริญทางต้นและหัวดี ในอาหารที่ไม่มีน้ำตาล พบว่า น้ำมะพร้าวทุกระดับช่วยส่งเสริมการเจริญของหัว แต่เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลร่วมกับน้ำมะพร้าวช่วยส่งเสริมการเจริญถึงเพียงความเข้มข้นหนึ่ง ส่วนในอาหารที่มีเพียงน้ำมันฝรั่งสกัด 20 หรือ 30 ก/ล ต้นอ่อนไม่สามารถมีชีวิตรอดได้ แต่หากเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลร่วมด้วยต้นอ่อนสามารถเจริญได้ โดยที่ความเข้มข้น น้ำตาล 4% ใช้ร่วมกับน้ำมันฝรั่งสกัด 20 ก/ล ทำให้ต้น และหัวเจริญได้ดี แต่การเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารที่มีน้ำตาลร่วมกับกล้วยบดทำให้การเจริญเติบโตลดลง และพบว่าในอาหารที่มีน้ำตาล 4% อย่างเดียวทำให้หัวเจริญดี หรือถ้าเลี้ยงในอาหารที่มีเพียงกล้วยบด 5% ทำให้ต้นมีการเจริญดี แต่เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของต้นอ่อนในอาหารที่มีน้ำตาลร่วมกับน้ำมะพร้าว น้ำมันฝรั่งสกัด หรือกล้วยบด พบว่าอาหารที่มีน้ำตาล 2% ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15% ให้ผลดีที่สุดในด้านต้น ใบ รากและหัว และพบว่า ต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารที่มี BA 2.0 - 4.0 บก/ล ร่วมกับ NAA ทุกระดับ และอาหารที่มี BA 1.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 1.0 - 2.0 มก/ล ไม่สามารถมีชีวิตรอดได้ อีกทั้งต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารที่มี NAA มีหัวลักษณะผิดปกติ และอาหารที่มีเพียง BA ทำให้ขนาดหัวลดลง ดังนั้น NAA และ BA จึงไม่มีความจำเป็นในการเลี้ยงต้นอ่อน และการเกิดหัว

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา พบว่า หลังจากการนำโปรโตคอร์มมาเลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1) 1 สัปดาห์ ภายในโปรโตคอร์มสร้างเนื้อเยื่อเจริญในสัปดาห์ต่อมาเกิดจุดกำเนิดใบ หลังจากนั้นเกิดการสร้างจุดกำเนิดหัวในสัปดาห์ที่ 3 และหลังการเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ สังเกตเห็นยอด และหัวชัดเจน

Abstract

TE 158739

A series of experiments to find suitable factors for *Brachycorythis* sp. seed germination and seedling development in aseptic conditions showed that when seeds from different ages of seed pod, i.e. 4, 5, 6, 7 and 8 weeks after pollination were sown onto the agar medium of modified Vacin and Went (1949) (CMU1) having different sucrose concentrations, i.e. 2, 4 and 6%; the seeds from different ages of seed pods, i.e. 6, 7 and 8 weeks could germinate in the media of all sugar concentrations. Seeds from the 7-week-old pod germinated within 28 days after sowing, whereas seeds from the 8-week-old pod required 56 days for germination. On the media with different sugar concentrations, seeds from the 7-week-old pod gave average germination percentage at 62.50, 50.00 and 33.50%, respectively. Death of protocorms was found in the medium containing 6% sugar, whereas seeds from the 8-week-old pod gave the lowest percentage i.e. 3.00, 3.00 and 2.50%, respectively and the protocorm death was highest at 79 days after sowing. A comparison to find suitable medium conditions, i.e. agar medium, liquid medium and agar medium with liquid drop showed different embryo development. The seeds sown in the liquid medium gave the widest and longest embryos which increased rapidly in the first 3 weeks after sowing, and were better than from the other media; but 10 weeks after sowing it did not give significant result in terms of the protocorm width. The liquid medium gave the longest embryo at 237.00 microns in average. In this medium, seeds germinated earlier and gave the highest

TE 158739

percentage at 65%, however, the protocorm death was also found more than other medium conditions. The study on protocorm development in different temperatures showed that at 25 and 30 °C, the seedlings did not show any significant results in average heights, leaf numbers, leaf lengths and root numbers. Growth was less in 20 °C and it did not produce tuber, the same as in the 30 °C. Culturing the seedlings in the medium containing 2% sugar combined with coconut milk at 30 °C gave good plant growth, as well as good tuber. Coconut milk in the medium devoided of sugar promoted tuber growth. But growing in the medium containing both sugar and coconut milk, growth was promoted at certain concentrations. In the medium with only potato extract at 20 or 30 g/l, the seedlings could not survive, but when combined with sugar growth was obtained. Sucrose at 4% used with 20 g/l potato extract helped the seedlings to produce good growth in both plant and tuber. Culturing seedlings in the medium having sugar together with blended banana reduced growth, but when either 4% sugar or banana at 5% was singly used, good growth was obtained. Comparing growth of the seedlings in the media adding sugar with coconut milk, potato extract or blended banana showed that best growth in terms of plant height, leaf, root and tuber were obtained from the medium containing 2% sugar and coconut milk at 15%. Seedlings cultured in the media containing BA at 2.0 – 4.0 mg/l combined with every concentration of NAA, and 1.0 mg/l BA used with 1.0 –2.0 mg/l NAA could not survive. The seedlings grown in the medium having NAA provided abnormal tuber, and the medium containing only BA gave smaller tuber. NAA and BA are not essential in culturing the seedlings and tuber formation.

Histological study showed that after culturing the protocorms onto the modified Vacin and Went (1949) medium for 1 week, the protocorm internal tissue formed a meristem. Leaf primordia developed within another week, followed by tuber formation in the third week. Four weeks after culturing both shoot and tuber could be clearly observed.