

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อเก็บรวบรวมสายพันธุ์กล้วยไม้สกุลม้าวิงในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างและนำไปใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในอนาคต
2. เพื่อศึกษาจำนวนโครโมโซม ลักษณะโครโมโซม และพฤติกรรมการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์ของกล้วยไม้สกุลม้าวิง

ตรวจเอกสาร

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วยไม้สกุลม้าวิง

ไพบูลย์ (2521) รายงานว่ากล้วยไม้สกุลม้าวิง มีหลายชนิดได้แก่ ม้าวิง ม้าบิน แดงอุบลซึ่งมีลักษณะดอกใหญ่และทนทาน แดงอุบล *Doritis pulcherrima* var. *buyssoniana* มีชื่อพื้นเมืองว่า แดงอุบล ดอกหิน เป็นพืชอยู่ในวงศ์ Orchidaceae สกุล *Doritis* Tribe Vandaeae Subtribe Sarcanthinae กล้วยไม้แดงอุบลจัดเป็นพวก Terrestrial plant หรือ Lithophytic plant ที่มีลำต้นตั้งตรง ขนาดสั้น ใบขนาดใหญ่ ช่อดอกยาวตั้งมีดอกจำนวนมาก การกระจายตัวของกล้วยไม้สกุลม้าวิง (*Doritis*) อยู่ใน Indochina แต่มีข้อสังเกตที่น่าสนใจคือ พืชชนิดนี้ไม่ได้ถูกบันทึกในช่วงการสำรวจเร็วๆ นี้ จากคณะทำการสำรวจชาว Vietnamese-Soviet ซึ่งเป็นสิ่งชี้ให้เห็นว่ามีแนวโน้มที่จะสูญพันธุ์ โดยเฉพาะแดงอุบลที่มีการกระจายพันธุ์แคบมาก พบในประเทศลาวและแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยเท่านั้น เช่นในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานีมีการกระจายพันธุ์มาก กล้วยไม้ชนิดนี้มีบทบาทในการนำไปผสมพันธุ์เพื่อพัฒนาเป็นไม้ตัดดอก

ส่วนต่างๆ ของดอกกล้วยไม้แดงอุบล กลีบดอก มี 6 กลีบ แบ่งเป็น 2 ชั้น ชั้นนอก (Sepal) 3 กลีบ ชั้นใน (Petal) 3 กลีบ กลีบชั้นนอก (Sepal) อยู่ข้างบน 1 กลีบ เรียก กลีบนอกบน (Dorsal sepal) ขนาด 21-22 x 10-12 มม. กลีบชั้นใน (Petal) กลีบคู่บน 2 กลีบ ขนาดรูปร่างและสีสรรค์เหมือนกันทุกประการเรียก Petal Petal ขนาดใกล้เคียง Sepal ขนาด 21-22 x 10-12 มม. กลีบคู่ล่าง 1 กลีบ มีลักษณะแตกต่างจากกลีบคู่บน มีชื่อเรียกเฉพาะว่า ปาก (Lip, Labellum) ดอกจะมีปาก ลักษณะ 3-lobed lip ทั้ง 3 lobe มีขนาดใกล้เคียงกัน Side lobe จะอยู่บริเวณด้านข้างของปากทั้งสองข้าง ส่วน Mid lobe อยู่บริเวณปลายปากจะสดใสกว่าและมักจะพบว่ามี 2 Keel Side lobe ของปากขนาด 12 x 7 มม. กว้างที่สุดส่วนกลาง mid lobe ของปากยาว 9-11 มม. กว้าง 7-9 มม. กว้างที่สุดที่ส่วนฐาน ปลายปากกลม พื้นที่บริเวณโคนของปากเรียกว่า Claw กล้วยไม้สกุลนี้มีส่วนของ Claw ยาว บน Claw มีส่วนที่ยื่นออกมา มีลักษณะคล้ายฟันอยู่ 1 คู่ แต่ละอันตั้งอยู่ด้านข้างทั้ง 2 ข้างของ Claw (a pair of raising lateral dents) ปากอยู่ติดกับฐานเส้าเกสร (Column-foot)

เกสร กล้วยไม้เป็นดอกสมบูรณ์เพศ มีลักษณะเฉพาะคือ ส่วนของก้านชูยอดเกสรตัวเมียกับก้านชูยอดเกสรตัวผู้รวมเป็นอวัยวะเดียวกันและยอดเกสรตัวเมียกับเรณูก็ติดอยู่ที่ส่วนนี้ รวมเรียกส่วนนี้ทั้งหมดว่า เส้าเกสร (Column) ที่ปลายสุดของเส้าเกสรจะเป็นที่อยู่ของเรณู เรณูมีฝาคาบ (Anther cap) ปิดมิดชิดเรณูเกาะกันเป็นก้อนแข็ง เรียก ก้อนเรณู (Pollinia) เส้าเกสรส่วนต่อไปถัดจากปลายสุดลงมา จะพบแอ่งกลมๆ เล็กๆ มีน้ำเหนียวๆ อยู่เกือบเต็มแอ่ง เรียก แอ่งยอดเกสรตัวเมีย (Stigmatic cavity) เส้าเกสรเป็นโครงสร้างที่รวมอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียไว้ด้วยกัน มีแผ่นกั้นระหว่างเกสรตัวผู้ (Pollinia) และ

แอ่งเกสรตัวเมีย (Stigmatic cavity) เรียกว่า Rostellum มีลักษณะที่เห็นเด่นชัดโผล่ออกมาและ Rostellum นี้มีส่วนของก้านเกสรตัวผู้ (Stipe) ที่มีลักษณะเป็นเส้นตรงยาวติดอยู่ด้วยฐานเส้าเกสร (Column-foot) มีลักษณะยาวเกือบเท่ากับทั้งเส้าเกสร (Column) และมีส่วนของ Lateral sepal ติดอยู่ตลอดความยาวของฐานเส้าเกสร เกสรตัวผู้ (Pollinia) มี 4 อัน รูปร่าง Globular อยู่ติดกันเป็นคู่ในแต่ละคู่จะมีเกสรตัวผู้ขนาดใหญ่และขนาดเล็กอยู่ติดกัน โดยเกสรตัวผู้ขนาดใหญ่บริเวณส่วนผิวสัมผัสกับเกสรตัวผู้ขนาดเล็กจะมีส่วนโค้งเล็กน้อยรองรับเกสรตัวผู้ขนาดเล็ก ก้านเกสรตัวผู้ (stipe) สีขาวมีลักษณะเป็นเส้นตรงยาว รังไข่ (Ovary) อยู่บริเวณก้านดอกส่วนที่อยู่ชิดกับโคนดอก

ดอก ช่อดอกแบบกระจะ (Raceme) จำนวนดอก/ช่อ 7-29 ดอก ขนาดดอก มีขนาดตั้งแต่ กว้าง 3 ซม. x สูง 2.5 ซม. ถึง กว้าง 5 ซม. x สูง 4 ซม. สีและลักษณะพORMดอกมีความแปรปรวนมากซึ่งมีสีดอกตั้งแต่ชมพูอ่อนจนถึงม่วงเข้ม สีปากมีสีเหมือนกลีบดอก สีอ่อนกว่ากลีบดอก สีเข้มกว่ากลีบดอก มีลวดลายและจุดสีหลายแบบ สี Sidelobe บนปากมีสีเหลือง เหลืองส้ม ชมพูอ่อน ม่วง (ศรีประไพ และคณะ, 2542)

ใบ ใบมีรูปร่าง (Leaf shape) เป็นแบบใบดาบ (Ensiform) ปลายใบ (Leaf apices) เป็นแบบแหลม (Acute) ขอบใบ (Leaf margin) เป็นแบบเรียบ (Entire) ขนาดของใบ (Leaf size) กว้าง 2-6.5 ซม. ยาว 8-20 ซม. การจัดเรียงของใบ (Leaf arrangement) เป็นแบบซ้อนสลับ (Equitant) ลักษณะใบมีหลายแบบ เช่น ใบเขี้ยวยาว ใบเขี้ยวกลมสั้น ใบเขี้ยวขอบน้ำตาลแดง ใบเขี้ยวจุดน้ำตาลกว้างกลม ใบเขี้ยวจุดน้ำตาลเรียวยาว ใบแดงยาว ลักษณะการเจริญเติบโตเจริญเติบโตไปทางยอด ลำต้นเดี่ยว (Monopodial growth) มักพบเป็นกอ ความสูงของต้น 6-20 ซม. (กรณีอยู่ในที่ร่มมากได้แสงแดดไม่เพียงพอต้นจะสูงยาว) การผสมพันธุ์ในธรรมชาติ แมลงช่วยในการผสมพันธุ์ มีการติดฝักในธรรมชาติสูง

2. สภาพที่พบตามธรรมชาติ

ลักษณะภูมิประเทศที่พบ ภูเขาหิน หน้าผา ในป่าเต็งรัง อาจพบได้ตามริมลำธารน้ำ ความสูงจากระดับน้ำทะเล 195-410 เมตร บริเวณที่พบส่วนใหญ่ บนหินหรือหน้าผาที่มีอินทรีย์วัตถุสะสมอยู่หรือหญ้าปกคลุม ใต้ต้นพุดผา เอ็นอ้า เล็บแมว เหมือดแอ ต้นรัง ในกอสลัดไต่ พบได้บ้างที่ขึ้นอยู่บนต้นไม้ เช่น บนต้นพุดผา บนต้นรัง

3. การขยายพันธุ์

การศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้แดงอุบล (*Doritis pulcherrima* var. *buyssonian*) โดยวิธีการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ ได้แยกการทดลองเป็น 2 ส่วน คือ

- (1) ศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลร่วมกับผลของแสงต่อการงอกและการพัฒนาของเมล็ด โดยนำฝักกล้วยไม้แดงอุบลอายุ 4 เดือนมาเพาะในอาหารสูตรดัดแปลง Vacin and Went ที่มีระดับความเข้มข้นของน้ำตาล 4 ระดับ คือ 0, 10, 20 และ 30 กรัม/ลิตร นำไปเลี้ยงในสภาพแสง 2 แบบ คือ ให้แสงตลอด และเก็บในที่มืด 15 วัน แล้วนำมาให้แสง หลังจากเพาะเมล็ดเป็นเวลา 4 เดือน พบว่า อาหารสูตรดัดแปลง Vacin and Went ที่ไม่มีน้ำตาลและเลี้ยงในที่มืด 15 วันแล้วจึงนำมาให้แสง มีความเหมาะสมต่อการงอกและพัฒนาของเมล็ดกล้วยไม้แดงอุบล (กาญจนา, 2544)

- (2) ศึกษาสูตรอาหารร่วมกับความเข้มข้นของน้ำตาลที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อน โดยนำต้นอ่อนอายุ 5 เดือน ขนาด 2 ซม. มาเลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลง 3 สูตร คือ สูตรอาหารดัดแปลง Knop สูตรอาหารดัดแปลง Knudson C และสูตรอาหารดัดแปลง Vacin and Went ที่มีระดับน้ำตาล 4 ระดับ คือ 0, 10, 20 และ 30 กรัม/ลิตร หลังจากการเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่า สูตรอาหารดัดแปลง Vacin and Went ที่ไม่มีน้ำตาลหรือมีน้ำตาล 10 กรัม/ลิตร เหมาะสมต่อการเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้แดงอุบลให้มีการเจริญเติบโตที่ดี (กาญจนา และสุภาพ, 2544)

จากการศึกษาของกาญจนา และคณะ (2543) เรื่องการเพาะเลี้ยงใบอ่อนกล้วยไม้แดงอุบล ได้นำต้นกล้าจากการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อซึ่งมีใบอ่อนยาวประมาณ 1-2 ซม. มาทำการศึกษาโดยแยกเป็น 3 การทดลอง คือ

- ศึกษาส่วนของใบอ่อนและวิธีวางชิ้นส่วนใบอ่อนบนอาหารเพื่อชักนำการเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อใบอ่อนที่ศึกษาจะถูกตัดเป็น 2 ส่วนตามขวางของทางยาวใบได้ส่วนโคนใบและส่วนปลายใบ นำชิ้นส่วนใบอ่อนวางบนอาหาร 2 วิธี คือ แบบปักลงในอาหารและแบบนอนบนอาหาร หลังจากการเพาะเลี้ยง 3 เดือนพบว่า การใช้ส่วนโคนใบอ่อนวางนอนบนอาหารเป็นวิธีที่เหมาะสมในการชักนำการเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อ โดยชิ้นส่วนที่เลี้ยงมีการรอดชีวิต 100% มีการพัฒนาเป็นต้นอ่อน 18% ยอด 29% หลายยอด 18% แคลลัส 20% และโปรโตคอร์มร่วมกับแคลลัส 3%
- ศึกษาความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงใบอ่อน นำส่วนโคนใบอ่อนและปลายใบวางนอนบนอาหารสูตร New Dogashima Medium (NDM) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต Naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0, 0.1, 5.1 และ 5 มก./ล. ร่วมกับ Benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 0, 1.0, 0.5, 1 และ 5 มก./ล. ผลการทดลองพบว่า ชิ้นส่วนโคนใบที่เลี้ยงในอาหาร NDM ที่เติม NAA 0.1 มก./ล. ร่วมกับ BA 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มและแคลลัสได้ดีที่สุด เท่ากับ 70%
- การทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงใบอ่อน เลี้ยงส่วนโคนใบอ่อนวางนอนบนอาหารสูตรต่างๆ 4 สูตร คือสูตรดัดแปลง Vacin and Went medium (VW) สูตร New Dogashima medium (NDM) สูตร Murashigi and Skoog medium (MS) และ สูตร Ichihashi and Yamashita medium (IY) โดยอาหารทั้ง 4 สูตรเติม NAA 0.1 มก./ล. และ BA 1 มก./ล. อาหาร NDM เป็นอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของกล้วยไม้แดงอุบล สามารถชักนำยอดหลายยอดได้ 26% แคลลัส 17% และโปรโตคอร์ม 18%

การเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อน ทำการเก็บก้านช่อดอกอ่อนจากสภาพธรรมชาติ ศึกษาอิทธิพลของตำแหน่งข้อบนก้านช่อดอกต่อการเจริญและพัฒนาของตาบนก้านช่อดอก นำข้อที่มีตาบนก้านช่อดอกตำแหน่งข้อที่ 1, 2, 3 และ 4 มาเลี้ยงบนอาหาร หลังจากการเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือนพบว่าตำแหน่งตาข้อที่ 1, 2 และ 3 นับจากดอกอ่อนสามารถชักนำให้เกิดการพัฒนาได้ โดยตาข้อที่ 2 และข้อที่ 3 มีการพัฒนาเป็น ตุ่มตาสีเขียวและยอดอ่อน ส่วนตาข้อที่ 1 มีการพัฒนาเป็นตุ่มตาสีเขียว ยอดอ่อน และช่อดอกอ่อน ในก้านช่อดอก 1 ก้านเมื่อนำตาจากข้อที่ 1, 2 และ 3 มาเลี้ยงในอาหาร New Dogashima medium (NDM) ที่เติม NAA 0.1 มก./ล. และ BA 5 มก./ล. จะชักนำให้เกิดการพัฒนาได้ประมาณ 21% การศึกษาวิธีการต่างๆ ที่

ใช้ในการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียในการเลี้ยงก้านช่อดอกยังไม่มีประสิทธิภาพที่ดี โดยเฉพาะการควบคุมเชื้อแบคทีเรียยังไม่ได้ผลและตาบนก้านช่อดอกไม่มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อ

ในขั้นตอนการขยายปริมาณโปรโตคอร์มเพื่อให้ได้จำนวนมากพบว่า การเพิ่มปริมาณโปรโตคอร์มกล้วยไม้แดงอุบลในอาหารน้ำสูตร New Dogashima medium (NDM) ที่เติม NAA 0.1 มก./ล. ร่วมกับ BA 1 มก./ล. ได้ผลดีที่สุด โปรโตคอร์มมีการพัฒนาเป็นต้นขนาดเล็กไม่มีรากและมีกลุ่มโปรโตคอร์มเกิดขึ้นใหม่ปริมาณมาก เมื่อต้องการให้โปรโตคอร์มพัฒนาเป็นต้น อาหารที่เหมาะสมในการพัฒนาของโปรโตคอร์มกล้วยไม้แดงอุบลให้เป็นต้นอ่อน พบว่า สูตรอาหารดัดแปลง Vacin and Went (VW) มีแนวโน้มการเจริญเติบโตของต้นดีที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสูตร New Dogashima medium (NDM) ทั้ง 2 สูตร ให้ผลการเจริญเติบโตของต้นได้ดีกว่าอาหารสูตร Ichihashi and Yamashita medium (IY)

4. เซลล์พันธุศาสตร์

การศึกษาทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์ของกล้วยไม้ได้มีรายงานการศึกษาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้หลากหลายชนิด (Tanaka และ Kamimoto, 1984) เช่น จำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้ในสกุล *Acampe* พบว่ามีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 38 และกล้วยไม้สกุล *Acenthephippium* มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 48 สกุล *Doritis* มีจำนวนโครโมโซม $2n = 38, 40$ และ 76 สุมนทิพย์และคณะ (2545) ได้ทำการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ ของกล้วยไม้บางชนิดในเขตอุทยานแห่งชาติภูพาน จังหวัดสกลนครและจังหวัดกาฬสินธุ์ พบว่ากล้วยไม้ที่ทำการศึกษาทั้ง 33 ชนิด มี 24 ชนิด ที่มีจำนวนโครโมโซม $2n = 38$ และมี 4 ชนิด ที่มีจำนวนโครโมโซม $2n = 40$ ไพบุลย์ และนิยดา (ม.ป.ป.) ได้ศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้ในสกุลข้าง 3 ชนิดพบว่า มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ $2n = 38$ ศิริพร (2546) ได้ศึกษาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้สกุลหวายที่ใช้ตัดดอกและที่นิยมใช้ทำ พ่อ-แม่พันธุ์ พบว่ามีจำนวนโครโมโซม $2n = 38, 57, 76$ และ 78