ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์กล้วยไม้ไทยพันธุ์แท้บางชนิดโดยเทคนิคเมล็ดเทียม

ชื่อผู้เขียน นายสมยศ มีสุข

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต เกษตรศาสตร์ (สาขาวิชาพืชสวน)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์ ประธานกรรมการ

รองศาสตราจารย์เกศิณี ระมิงค์วงศ์ กรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิเชียร ภู่สว่าง กรรมการ

บทคัดย่อ

การเลี้ยงโปรโตคอร์มขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 ± 0.2 มม ของกล้วยไม้ม้าวิ่ง (*Doritis pulcherrima* Lindl.) และเอื้องเงินแดง (*Dendrobium cariniferum* Rchb. f.) บนอาหารวุ้นสูตร VW (1949) ดัดแปลง ที่มีน้ำตาลซูโครส 0.058 , 0.3 และ 0.6 โมล นาน 2 วัน ก่อนนำไปเคลือบด้วยสารอัลจิเนต ทำให้เมล็ดเทียมที่ไม่สูญเสียน้ำของกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด มีความงอกไม่แตกต่างกันระหว่างกรรมวิธี คือ 85.00 - 97.50 และ 80.00 - 95.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่สูงกว่าการใช้น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 0.9 โมล อย่างมีนัยสำคัญ การสูญเสียน้ำนานขึ้นทำให้ความงอกลดลงตามลำดับ แต่น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 0.6 และ 0.9 โมล ทำให้เมล็ดเทียมกล้วยไม้ม้าวิ่งที่สูญเสียน้ำนาน 4 และ 6 ชั่วโมง มีความงอกสูงกว่าเมื่อใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นอื่น ส่วนเมล็ดเทียมเอื้องเงินแดงที่สูญเสียน้ำนาน 4 ชั่วโมง และเลี้ยงบนอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 0.058 โมล ทำให้มีความงอกสูงสุด แต่เมื่อสูญเสียน้ำนานขึ้นเป็น 6 ชั่วโมง และเลี้ยงบนอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 0.6 โมล กลับทำให้มีความงอกสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ การเคลือบโปรโตคอร์มด้วยสารอัลจิเนต ก่อนนำไปเลี้ยงบนอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 0.6 โมล นาน 2 วัน และปล่อยให้สูญเสียน้ำนาน 4 ชั่วโมง ทำให้เมล็ดเทียมกล้วยไม้ม้าวิ่ง เอื้องเงินแดง เอื้องดินใบหมาก (*Spathoglottis plicata* Bl.) และเอื้องพร้าว (*Phaius tankervilliae* (Banks in L' Herit.) Bl.) มีความงอกได้สูงสุด และเมื่อสูญเสียน้ำนานขึ้นเป็น 6 ชั่วโมง เมล็ดเทียมกล้วยไม้ 3 ชนิดแรก ยังคงมีความงอกที่สูงไม่แตกต่างจากการสูญเสียน้ำนาน 4 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญ

เมล็ดเทียมกล้วยไม้ม้าวิ่ง เอื้องเงินแดง และเอื้องดินใบหมากที่ผ่านการดึงน้ำออกนาน 2 ชั่วโมง ไม่สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 1 , 8 ± 2 และ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ได้นานเกิน 10

สัปดาห์ แต่เมล็ดเทียมเอื้องเงินแดงที่ไม่ดึงน้ำออก สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียส ได้นาน 16 สัปดาห์ โดยมีความงอกที่ลดลงตามเวลาการเก็บที่นานขึ้น ส่วนการเก็บรักษาเมล็ดเทียมกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด โดยไม่ดึงน้ำออกที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ยังคงมีความงอกที่สูงจนถึงสัปดาห์ที่ 16 โดยไม่แตกต่างจากเมื่อไม่ได้เก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างกรรมวิธีคือ 80.00 - 100.00 , 62.50 - 80.00 และ 87.50 - 100.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การเลี้ยงในสภาพหลอดแก้วทำให้เมล็ดเทียมกล้วยไม้ม้าวิ่ง และเอื้องดินใบหมากมีความงอกสูงกว่าการเลี้ยงในสภาพนอกหลอดแก้วมาก แต่การใช้อาหารสูตร VW (1949) ดัดแปลง + น้ำตาลซูโครส 4 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งอาหารสะสมเทียม ทำให้เมล็ดเทียมเอื้องดินใบหมากที่เลี้ยงในสภาพนอกหลอดแก้วมีความงอกสูงแตกต่างจากอาหารสะสมเทียมชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญ และการเติมสารอะกริมัยซินเข้มข้น 0.0 - 1.5 ก/ล ลงในสารเคลือบ ไม่ให้ผลที่แตกต่างกันต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดเทียมที่เลี้ยงในสภาพนอกหลอดแก้ว แต่น้ำตาลซูโครส 4 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เมล็ดเทียมกล้วยไม้อีก 2 ชนิด มีความงอกสูงสุด แต่เพียง 8.20 และ 18.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การเลี้ยงเมล็ดเทียมกล้วยไม้ม้าวิ่ง และเอื้องดินใบหมากบนอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 0.6 โมล และกลีเซอรอลเข้มข้น 0.0 , 0.5 และ 1.0 โมล นาน 2 วัน ก่อนนำไปดึงน้ำออกนาน 6 ชั่วโมง หรือการใช้สารละลายสูตร PVS2 และ PVS3 ดึงน้ำออกจากเมล็ดเทียมกล้วยไม้ม้าวิ่ง เอื้องดินใบหมาก และเอื้องพร้าว ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ไม่สามารถช่วยให้เมล็ดเทียมกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิด มีชีวิตรอดหลังการแช่แข็งในไนโตรเจนเหลวได้เลย แต่เมื่อไม่ได้แช่แข็ง เมล็ดเทียมก็ยังมีความงอกที่ต่ำมาก

Thesis Title Preservation of Some Thai Native Orchid Species by Synthetic Seed Technique

Author Mr. Somyot Meesuk

M.S. Agriculture (Horticulture)

Examining Committee

Asst. Prof. Dr. Pimchai Apavatjrut Chairman

Assoc. Prof. Kesinee Ramingwong Member

Asst. Prof. Dr. Wichian Pooswang Member

Abstract

Protocorms size 1 ± 0.2 mm of *Doritis pulcherrima* Lindl. and *Dendrobium cariniferum* Rchb. f. were precultured onto modified VW (1949) medium comprising 0.058 , 0.3 and 0.6 M sucrose for 2 days , then subsequently encapsulated in calcium alginate beads to form synthetic seeds. The results showed that the non - dehydrated synthetic seeds of both species had significant higher germination percentages i.e. 85.00 - 97.50 and 80.00 - 95.00 per cent respectively than that obtained from the 0.9 M sucrose treatment. Longer dehydrating period resulted in decreasing germination percentages , but 0.6 and 0.9 M sucrose promoted the 4 and 6 hrs dehydrated *Doritis* synthetic seed to have higher germination percentages than from other sucrose concentrations. The 4 hrs - dehydrated *Dendrobium* synthetic seeds yielded highest germination percentage when sown onto the 0.058 M sucrose medium , but the 6 hrs - dehydrated synthetic seeds gave highest germination on the 0.6 M sucrose medium. The encapsulated protocorms in calcium alginate beads before preculturing onto modified VW (1949) medium comprising 0.6 M sucrose for 2 days , and dehydrated for 4 hrs yielded highest germination in the *Doritis* , *Dendrobium* , *Spathoglottis plicata* Bl. , and *Phaius tankervilliae* (Banks in L' Herit.) Bl.). Increasing dehydrating time to 6 hrs , the first 3 species still had high germination percentages , but not significantly differed from the 4 hrs treatment.

Storage of dehydrated synthetic seeds of *Doritis* , *Dendrobium* , and *Spathoglottis* species for 2 hrs at 4 ± 1 , 8 ± 2 , and 25 ± 2 °C showed that all synthetic seeds could not survive longer than 10 weeks. The non - dehydrated synthetic seeds of the *Dendrobium* could

be preserved at 4 ± 1 °C for 16 weeks , but germination is declined significantly when the time increased. Storage of the non - dehydrated synthetic seeds of all the 3 species at 25 ± 2 °C for 16 weeks , yielded high germination percentages i.e. 80.00 - 100.00 , 62.50 - 80.00 and 87.50 - 100.00 respectively.

In vitro germination of the *Doritis* and *Spathoglottis* species yielded higher germination than those from the *in vivo* germination. Modified VW (1949) medium + 4 per cent sucrose used as synthetic endosperm helped the synthetic seeds to produced highest germination percentage. Synthetic endosperms comprising 0.0 - 1.5 g/l Agrimycin did not significantly improve *in vivo* germination of both species. But , sucrose at 4 per cent level gave highest germination , but only at 8.20 and 18.30 per cent respectively.

Doritis and *Spathoglottis* synthetic seeds were precultured onto modified VW (1949) medium containing 0.6 M sucrose and glycerol at 0.0 , 0.5 and 1.0 M for 2 days , prior to dehydrating for 6 hrs , or dehydrating synthetic seeds of the *Doritis* , *Spathoglottis* and *Phaius* species by PVS2 or PVS3 solutions at 25 ± 2 °C for 2 hrs , before cryopreserving in liquid nitrogen showed that the synthetic seeds could not survive. However , very low germination was also obtained from those treatments without cryopreservation.