ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การขยายพันธุ์เอื้องน้ำต้นในสภาพปลอดเชื้อ

ผู้เขียน นางสาวภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) พืชสวน

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

อาจารย์ ดร. ฉันทนา สุวรรณธาดา ประธานกรรมการ

อาจารย์ ดร. ดรุณี นาพรหม กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้เอื้องน้ำต้น (*Calanthe cardioglossa* Schltr.) ประกอบด้วย การศึกษาโครงสร้างของต้นและกายวิภาควิทยาของเนื้อเยื่อที่นำไปเพาะเลี้ยง การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อน ก้านช่อดอก ปลายยอด และอับเรณู

โครงสร้างของเอื้องน้ำต้นแสดงระบบรากเป็นรากดินแบบรากฝอย ลำต้นแปรรูปเป็นลำลูกกล้วยสีเขียว มีลักษณะคล้ายคนโท มีรอยคอดบริเวณกลางลำเจริญอยู่บนดิน ใบเรียงตัวแบบสลับ ช่อดอกแบบช่อกระจะ ก้านช่อดอกตั้งตรง ดอกทยอยบานจากโคนช่อไปยังปลายช่อ ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศแบบสมมาตรด้านข้าง มี 6 กลีบ เป็นกลีบเลี้ยง 3 กลีบ กลีบดอก 2 กลีบ และกลีบปากขนาดใหญ่ 1 กลีบ กลีบปากมีสีและลักษณะแตกต่างกัน มีจุดแต้มสีเข้มกระจายอยู่ทั่วกลีบปาก เส้าเกสรมีลักษณะอ้วนและสั้น ฝักเป็นแบบแห้งแล้วแตก มีสีเขียวเข้ม ภายในบรรจุเมล็ดจำนวนมากมีลักษณะคล้ายฝุ่นแป้งสีเหลืองอ่อน

การศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของลำต้นพบว่าประกอบด้วยเนื้อเยื่อผิว ซึ่งมีชั้นเซลล์ผิวและชั้นใต้เซลล์ผิว เนื้อเยื่อพื้น และมัดท่อลำเลียงซึ่งเป็นแบบท่อลำเลียงเคียงข้าง ใบประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ระบบเช่นกัน เนื้อเยื่อผิวมีเซลล์ 1 ชั้น มีโซฟิลล์ไม่แบ่งเป็นแพลิเสด และสปองจี ท่อลำเลียงเป็นแบบเคียงข้าง ปลายยอดประกอบด้วยเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดที่มีจุดกำเนิดใบหุ้มอยู่เป็นชั้น ๆ ตาข้างที่อยู่ต่ำลงมา อยู่ภายในซอกของใบอ่อน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อเป็นการเพาะจากฝักที่มีอายุแตกต่างกันคือ 2, 4, 6, 8 และ 10 สัปดาห์หลังการผสมเกสร อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง คือ อาหารแข็งสูตร Vacin and Went ดัดแปลง (VW) พบว่าฝักที่มีอายุ 2 สัปดาห์เป็นฝักที่มีเมล็ดอ่อนเกินไปและเมล็ดเหล่านั้นไม่สามารถงอกในอาหารเพาะเลี้ยง ส่วนฝักในกรรมวิธีอื่นมีเมล็ดสมบูรณ์และมีเอ็มบริโอขนาดค่อนข้างใหญ่ เมล็ดงอกได้โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเพิ่มขึ้นตามอายุของฝัก และพบว่าอายุฝักมีผลต่อขนาดกว้างและยาวของเอ็มบริโอ โดยที่ขนาดดังกล่าวเพิ่มขึ้นตามอายุของฝัก เมล็ดมีการพัฒนาไปเป็นต้น เมื่อเลี้ยงได้นาน 5 เดือน

จากการศึกษาผลของ NAA และ BA ต่อการงอกของเมล็ด พบว่า เอ็มบริโอมีความกว้างมากที่สุดเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มล/ล โดยมีความกว้างเฉลี่ย 247.33 ไมครอน ส่วนกรรมวิธีที่ให้เอ็มบริโอที่มีความยาวมากที่สุดคือ NAA 0.1 มล/ล กับ BA 1 มล/ล โดยมีความยาวเฉลี่ยของเอ็มบริโอมากที่สุดคือ 382.66 ไมครอน แต่ขนาดของเอ็มบริโอไม่มีผลต่อการงอก คือเมล็ดที่มีเอ็มบริโอขนาดเล็กบางเมล็ดงอกดีกว่าเมล็ดที่มีเอ็มบริโอขนาดใหญ่กว่า อาหารที่เติม BA 2 มล/ล ให้เปอร์เซ็นต์การงอกมากที่สุด คือ 83.40%

การเลี้ยงอับเรณูบนอาหารVW และ MS ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 3 ชนิด คือ NAA, BA และ 2, 4-D พบว่าอับเรณูไม่ตอบสนองต่ออาหารและไม่มีการพัฒนา

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนและก้านช่อดอกอ่อนมีปัญหาเรื่องการปนเปื้อน และจะต้องพัฒนาวิธีการทำความสะอาดเนื้อเยื่อก่อนเพาะ ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอด บนอาหารสูตร VW ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิด คือ 2, 4-D และ TDZ พบว่าอาหารที่เติม 2, 4-D และ TDZ ที่มีความเข้มข้นเท่ากันคือ 2 มล/ล สามารถทำให้เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงเกิดยอดดีกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ และได้ยอด 6.2 ยอด โดยเฉลี่ยหลังจากเลี้ยงได้นาน 120 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title *In vitro* Propagation of *Calanthe cardioglossa* Schltr.

Author Miss Phatphitcha Rujirapongchai

Degree Master of Science (Agriculture) Horticulture

Thesis Advisory Committee

Lect. Dr. Chuntana Suwanthada	Chairperson
Lect. Dr. Daruni Naphrom	Member

Abstract

Studies on aseptic propagation of *Calanthe cardioglossa* Schltr. comprised of the plant structure observation, histological work of the plant parts being cultured, and *in vitro* culture of seeds, young leaf tissues, flower stalk tissues, apical shoots and anthers.

Calanthe plant obtained fibrous root system, green pseudobulb with a prominent central constriction, leaves of alternate phyllotaxis and erect racemose inflorescence. The flowers bloomed distally. The perfect flower was of bilateral symmetry. It comprised of 3 sepals, 2 petals and a showy lip. The lip feature and its freckle pattern varied. The staminal column was short and slightly swollen.The pod of capsule type contained enormous amount of yellow dust-liked seeds.

Anatomical study of stem tissue revaled 3 tissue systems, i.e. dermal, ground and vascular tissues. The leaf cross section showed single-layered adaxial and abaxial epidermis, homogenous mesophyll and collateral vascular bundle. The shoot-tip tissue comprised of an apical dome covered with layers of leaf primordium with lateral buds at each of the lower young-leaf axils.

Pods of different developmental stages, i.e. 2, 4, 6, 8 and 10 weeks after pollination were *in vitro* cultured on VW agar medium. It showed that the 2-weeks pod was too young and the seeds failed to germinate. Seeds from other treatments could germinate with different germination

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

percentages. Such percentages increased with the pod age. Maturity of the pods also affected the size of the embryos growing on the medium. The seeds developed into plantlets after 5 months of culture.

Effects of NAA and BA on the seed germination was observed. The treatments giving best average width (247.33 μ) and length (382.66 μ) of the embryos were 1 ml/l NAA and 0.1 ml/l NAA + 1 ml/m BA, respectively. However the size of the embryos did not correlate with the seed germination. Highest seed germination, 83.40%, was obtained from the treatment of 2 ml/l BA.

Aseptic culture of anthers on VW and MS adding NAA, BA or 2, 4-D as well as those of young-leaf tissue and flower stalk tissue showed some contamination, and attemps in tissue sterilization prior to cultures should be considered. Cytokinins, 2, 4-D and TDZ, could induce a number of shoots from shoot-tip culture on VW agar medium. The best treatment was 2 ml/l 2, 4-D plus 2 ml/l TDZ, giving 6.2 shoots in average, 120 days after culture.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved