ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของหัวในสภาพหลอดแก้ว และการเปลี่ยนแปลงภายในของกล้วยไม้ดินนางอั้วสาคริก

ผู้เขียน นายธีรพล พรสวัสดิ์ชัย

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (พืชสวน)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร. พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์	ประธานกรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. โสระยา ร่วมรังษี	กรรมการ
Associate Professor Dr. Norikuni Ohtake	กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาถึงปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของหัวในสภาพหลอดแก้ว และการเปลี่ยนแปลงภายในของกล้วยไม้ดินนางอั้วสาคริกซึ่งเป็นกล้วยไม้ดินเฉพาะถิ่นของประเทศไทย ได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ส่วนคือ ส่วนที่ 1 การศึกษาถึงผลของปัจจัยต่าง ๆ เช่น น้ำตาลซูโครส น้ำมะพร้าว IAA BAP และสภาพแสง ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการสร้างหัวในสภาพหลอดแก้วของต้นอ่อนที่เจริญขึ้นจากโปรโตคอร์ม พบว่า ต้นอ่อนสามารถสร้างหัวเองได้ตามกลไกธรรมชาติ โดยปัจจัยที่ทดลองส่งผลเพียงการส่งเสริม และ/หรือ ยับยั้งการเจริญเติบโตของหัว รวมถึงยับยั้งการเกิดหัว น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งพลังงานและโครงสร้างคาร์บอนที่สำคัญมากต่อการเจริญเติบโตและการสะสมแป้งของหัว รวมทั้งมีอิทธิพลต่อค่าแรงดันออสโมติกของอาหารซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของหัวในเวลาต่อมา น้ำมะพร้าวช่วยเพิ่มสารช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและน้ำตาลแก่ต้นอ่อน อีกทั้งช่วยให้มีการสะสมแป้งในหัวมากขึ้น และยังให้ผลร่วมกับ BAP ต่อการสร้างหัว การเจริญเติบโตของหัว รวมถึงการเกิดก้อนเนื้อเยื่อคล้ายโปรโตคอร์ม การเติม BAP 0.01 - 0.10 มก/ล ไม่ส่งผลต่อการสร้างและการเจริญเติบโตของหัวอย่างมีนัยสำคัญ แต่ทำให้มีเปอร์เซนต์การสร้างหัวทรงรูปไข่ซึ่งคล้ายรูปทรงที่เกิดในธรรมชาติลดลง และส่งผลให้มีการสะสมแป้งลดลง ขณะที่ความเข้มข้นสูงขึ้นที่ 0.5 - 2.0 มก/ล ทำให้การสร้างหัวลดลง การเติม IAA ความเข้มข้น 0.01 0.10 และ 1.0 มก/ล ไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนและหัวอย่างมีนัยสำคัญ แต่ทำให้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มีเปอร์เซนต์การสร้างหัวทรงรูปไข่ลดลง นอกจากนี้ IAA ยังช่วยเพิ่มปริมาณน้ำตาลในหัว และ IAA ที่ความเข้มข้นสูงสุดช่วยให้มีการสะสมแป้งในหัวเพิ่มมากขึ้น การทดลองสภาพแสงของการเลี้ยงมีผลต่อการเจริญเติบโตและรูปทรงของหัว ต้นอ่อนสร้างหัวทรงรูปไข่ในสภาพมืดได้ดีกว่าสภาพที่มีแสง แสงสว่างบนชั้นเลี้ยงทำให้ต้นอ่อนสังเคราะห์แสงสร้างน้ำตาลเพิ่มขึ้น ช่วยทดแทนน้ำตาลที่ได้รับจากอาหารเลี้ยงได้ส่วนหนึ่ง และส่งผลให้มีการสะสมแป้งเพิ่มมากขึ้นในเนื้อเยื่อส่วนยอด และโปรโตคอร์ม แต่การสะสมแป้งในหัวโดยรวมเกิดขึ้นได้ดีกว่าเมื่อเลี้ยงในที่มืด

ส่วนที่ 2 การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของการสร้างหัวในต้นอ่อนที่เจริญจากโปรโตคอร์มและในต้นที่โตเต็มวัยในสภาพธรรมชาติ พบว่า กระบวนการสร้างหัวสามารถแบ่งได้เป็น 4 ระยะ คือ 1) การสร้างจุดกำเนิดหัว 2) การยืดตัวของจุดกำเนิดหัว 3) การสร้างตายอดของหัว และ 4) การขยายขนาดของหัว โดยพบว่าต้นอ่อนที่เจริญจากโปรโตคอร์ม และในต้นที่โตเต็มวัยมีการเกิดจุดกำเนิดหัวที่แตกต่างกัน ในต้นอ่อนที่เจริญจากโปรโตคอร์มสร้างจุดกำเนิดหัวจากกลุ่มของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดร่วมกับจุดกำเนิดของปลายหัวที่สร้างจากเนื้อเยื่อเจริญที่อยู่ต่ำลงมา ขณะที่ในต้นที่โตเต็มวัยสร้างจุดกำเนิดหัวจากตาพิเศษซึ่งอยู่ที่ส่วนโคนของลำต้นตั้งแต่ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น โดยจุดกำเนิดหัวเริ่มเติบโตขึ้นขณะที่ต้นพืชอยู่ในระยะเตรียมการออกดอก และมีการพัฒนาต่อไปอย่างเห็นได้ชัดเจนเมื่อต้นพืชเข้าสู่ระยะสร้างดอก โดยทั้งจุดกำเนิดหัวและจุดกำเนิดใบอ่อนมีการเจริญเติบโตตามแรงดึงดูดของโลกเพื่อสร้างส่วนก้านของหัวที่เกิดเป็นโพรงแคบ ๆ อยู่ภายใน หลังจากที่จุดกำเนิดหัวเจริญเติบโตหยั่งลงดินลึกถึงระดับที่เหมาะสมแล้ว จึงสร้างจุดกำเนิดใบอ่อนขึ้นคลุมปลายยอดอ่อนทางด้านบนซึ่งมีการเจริญเติบโตในทิศทางหนีแรงดึงดูดของโลกเพื่อพัฒนาเป็นตายอดของหัวใหม่ที่บริเวณส่วนล่างสุดของโพรงช่องว่างในส่วนก้านของหัว ขณะเดียวกับที่เนื้อเยื่อเจริญส่วนปลายหัวยังเจริญเติบโตตามแรงดึงดูดของโลกเพื่อเพิ่มขนาดหัวจนกระทั่งสร้างเป็นหัวที่สมบูรณ์ขึ้น

การศึกษาส่วนที่ 3 เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของมหธาตุ กรดอะมิโนอิสระ และฮอร์โมน IAA และ ABA ของต้นที่โตเต็มวัยในระหว่างการสร้างหัว พบว่า ความเข้มข้นของธาตุไนโตรเจน โปแตสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ในส่วนยอด และในหัว มีเพิ่มมากขึ้นเมื่อพืชพัฒนาจากระยะพักตัวเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น และมีความเข้มข้นลดลงเล็กน้อยเมื่อต้นพืชเข้าสู่ระยะก่อนการออกดอก ยกเว้นความเข้มข้นของโปแตสเซียมในยอด และของแมกนีเซียมในหัว ซึ่งมีการเพิ่มความเข้มข้นขึ้นเล็กน้อยเมื่อต้นพืชเข้าสู่ระยะก่อนการออกดอก ส่วนความเข้มข้นของแมกนีเซียมในยอดไม่เปลี่ยนแปลงนัก สำหรับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสทั้งในยอดและหัวพบว่ามีเพิ่มมากขึ้นเมื่อหัวเริ่มงอก และลดลงเมื่อต้นพืชเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นและระยะก่อนการออกดอก การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนอิสระพบว่า แอสพาราจีนเป็นกรดอะมิโนหลัก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ที่มีปริมาณสูงสุดในทุกส่วนของพืชในทุกระยะการเจริญเติบโต ขณะที่กรดอะมิโนอาร์จินีน และแอนเซอรีน มีปริมาณรองลงมา ส่วนการวิเคราะห์ IAA และ ABA ในรูปอิสระพบว่า ฮอร์โมนพืชทั้งสองชนิดในส่วนยอดมีความเข้มข้นลดลงเมื่อต้นพืชเจริญเติบโตจากระยะการเจริญทางลำต้นเพื่อเข้าสู่ระยะเตรียมการออกดอก ขณะที่การวิเคราะห์ฮอร์โมนดังกล่าวโดยใช้เทคนิคเดียวกันไม่สามารถวิเคราะห์จากตัวอย่างหัวได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Factors Influencing *in vitro* Tuber Growth and Development, and Internal Changes in *Pecteilis sagarikii* Seidenf.

Author Mr. Theeraphon Phornsawatchai

Degree Doctor of Philosophy (Horticulture)

Thesis Advisory Committee

Associate Professor Dr. Pimchai	Apavatjrut	Chairperson
Associate Professor Dr. Soraya	Ruamrungsri	Member
Associate Professor Dr. Norikuni	Ohtake	Member

ABSTRACT

Studies on factors influencing *in vitro* tuber growth and development, and internal changes were carried out in *Pecteilis sagarikii* Seidenfaden, an endemic terrestrial orchid of Thailand. They were divided into three parts. The first part was on the effects of some chemicals and physical factors, i.e. sucrose, coconut water, IAA, BAP and illumination condition on growth and *in vitro* tuberization of the protocorm-derived plantlets. It was found that the plantlets could spontaneously form their tubers *in vitro*, while the various tested factors played roles to promote and/or inhibit tuber initiation, growth and development. Sucrose was important source of carbon skeleton and energy to supply for tuber growth and starch accumulation, and also influenced the osmotic potential of the culture medium resulting in tuber growth. Coconut water, being sources of plant growth promoters and sugars, stimulated starch accumulation in the tuber, and also acted synergistically with BAP on the tuber formation and growth, including protocorm-like bodies formation. BAP at low concentrations, 0.01 - 0.10 mg/l showed no significant effects on tuber formation and growth, but reduced formation percentages of the oval-shape tubers, resembling the tuber shape in nature, and also reduced starch accumulation; while BAP at higher levels, 0.5 - 2.0 mg/l suppressed tuber formation. IAA at the tested concentrations, i.e. 0.01, 0.10 and 1.00 mg/l had no significant effects on shoot and tuber growth, but reduced the oval-shape tuber formation percentages. In addition, IAA resulted in increasing total soluble sugar in tuber, and the highest IAA concentration increased starch accumulation in the tuber. Illumination played important roles on tuber growth and shape. The cultured plantlets formed the oval-shape tubers in the dark condition more than in the light condition. The artificial lighting supported the plantlets to produce *in vitro* photosynthetic sugar to partially compensate the external sucrose supplement in the culture medium. The lighting resulted in increasing starch

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

accumulation in shoots and protocorms, but the overall starch accumulation in tubers was better in the dark condition.

The second part was the histological study on tuber formation in both protocorm-derived plantlet and mature plant. It was found that tuberization processes in both plant materials could be divided into 4 stages, i.e. 1) The formation of a tuber primordium, 2) The extension of the tuber primordium, 3) The formation of a tuber-shoot bud, and 4) The enlargement of the tuber. The origins of the tuber primordia in the protocorm-derived plantlet and the mature plant were different. In the protocorm-derived plantlet, a tuber primordium originated from its apical meristem with a new-formed tuber tip primordium at the lower part; while in the mature plant, it originated from the adventitious bud at one side of the basal part of the plant monopodial stem in the vegetative stage. Interestingly, the tuber primordium of the mature plant started to grow when the mother plant developed into the pre-flowering stage, and then developed markedly when the plant entered the flower formation stage. The tuber primordium with young leaf primordia grew in the geotropic direction forming a tuber stalk with a narrow hollow inside. At an optimum depth, the upper meristem grew negatively against the geotropic force and produced new leaf primordia, covering it to form a tuber-shoot bud in a cavity inside the tuber stalk. While the lower meristem continued to grow geotropically and increased in tuber size, forming a complete tuber.

The third part of the studies was on the changing of internal macro elements, free amino acids and some growth regulators, i.e. IAA and ABA, in mature plants during tuberization. It showed that the concentrations of nitrogen, potassium, calcium and magnesium increased from the dormancy stage to the vegetative stage and slightly decreased in the pre-flowering stage both in shoots and tubers; except the potassium concentration in shoots and the magnesium concentration in tubers, which slightly increased in the pre-flowering stage. But the magnesium concentration in shoots did not change during the vegetative to the pre-flowering stages. The concentration of phosphorus in tubers increased while sprouting, and decreased when the plants were in the vegetative and pre-flowering stages both in tubers and shoots. Analyses of free amino acids showed that the asparagine was the dominant free amino acid in all plant organs, at different stages of development. While the arginine and anserine were the second dominant free amino acids. Analyses of some growth regulators showed that concentrations of free IAA and free ABA in shoots decreased from the vegetative stage to the pre-flowering stage. But both substances from the tuber samples could not be analysed from the used technique.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved