NU Science Journal 2007; 3(2): 231 - 241

ผลของแสงต่อการงอกและพัฒนาการของเมล็ดกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบในหลอดทดลอง (*Dendrobium ochreatum* Lindl.)

อนุพันธ์ กงบังเกิด* และแสงเดือน วรรณชาติ

Effect of Light on *in vitro* Seed Germination and Development of *Dendrobium ochreatum* Lindl.

Anupan Kongbangkerd* and Saengduean Wannachart

หน่วยวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

*Corresponding author. E-mail: anupank73@hotmail.com

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของแสงต่อการงอกและพัฒนาการของเมล็ดกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ โดยการนำเมล็ดจากฝักอายุ 8 เดือน มาเพาะบนอาหารแข็งดัดแปลงสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร มันฝรั่ง 150 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร โดยให้ระยะเวลาที่ได้รับแสงแตกต่างกันคือได้รับแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน 16 สัปดาห์ ได้รับแสง 24 ชั่วโมงต่อวัน 16 สัปดาห์ ได้รับความมืด 4 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน 12 สัปดาห์ ได้รับความมืด 8 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 8 ชั่วโมงต่อวันอีก 8 สัปดาห์ และได้รับความมืดตลอด 16 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดสามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่มีใบ 3 - 4 ใบ และรากอย่างน้อย 1 ราก ภายหลังการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และเมล็ดที่ได้รับความมืด 4 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 12 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดเป็นต้นอ่อนสูงสุดถึง 92.64 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ : เมล็ดกล้วยไม้ เอื้องคำผักปราบ แสง หลอดทดลอง

Abstract

The effect of light on *in vitro* germination and development of young seedlings of *Dendrobium ochreatum* Lindl. was studied. Seeds from 8 months-old pods were germinated on modified semi-solid Vacin and Went (VW) (1949) medium supplemented with 20 g/l sucrose, 150 ml/l coconut water, 150 g/l potato and 8 g/l agar. The cultures were kept under various light duration periods; 8 hrs of light per day for 16 weeks, 24 hrs of light per day for 16 weeks, 4 weeks in the dark then exposed to the light (8 hrs per day) for a further 12 weeks, 8 weeks in the dark then exposed to the light (8 hrs per day) for a further 8 weeks, and then 16 weeks in a dark condition. The results indicated that young seedlings with 3-4 leaves and 1 root could be observed after 12 weeks of culture in all treatments. However, the highest percentage of seed germination (92.64 %) was obtained when seeds were incubated in the dark for 4 weeks then exposed to the light (8 hrs per day) for further 12 weeks.

Keywords: orchid seed, *Dendrobium ochreatum* Lindl., light, *in vitro*

บทนำ

กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) จัดเป็นกล้วยไม้สกุลใหญ่ที่สุด ที่มีลักษณะของดอกสวย งาม มีทั้งดอกขนาดใหญ่ ดอกขนาดเล็ก มีสีสันสวยงามและมีรูปร่างแตกต่างกันออกไปตามแต่ละชนิด สำหรับประเทศไทยจัดเป็นประเทศหนึ่งที่มีสภาพแวดล้อมและธรรมชาติที่เอื้ออำนวยต่อการเจริญของกล้วยไม้ป่าเป็นจำนวนมาก รวมทั้งกล้วยไม้ป่าสกุลหวายที่สำคัญและหายาก ซึ่งอยู่ในสภาวะใกล้สูญพันธุ์ เนื่องจากปัจจุบันมีการทำลายป่าไม้อันเป็นแหล่งกำเนิดทางธรรมชาติของกล้วยไม้เพิ่มมากขึ้น เป็นผลทำให้พันธุ์ไม้ป่ารวมทั้งกล้วยไม้ป่ามีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ (*Dendrobium ochreatum* Lindl.) ซึ่งเป็นกล้วยไม้ป่าชนิดหนึ่งที่หายากและใกล้จะสูญพันธุ์ พบในบริเวณป่าดิบชื้นทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือของประเทศไทย มีการแพร่กระจายพันธุ์ในประเทศอินเดีย พม่า ลาวและไทย ที่ความสูงตั้งแต่ 1,200 ถึง 1,600 เมตรจากระดับน้ำทะเล เอื้องคำผักปราบจัดเป็นกล้วยไม้อิงอาศัยที่มีรากเกาะยึดกับต้นไม้ ลำต้นมีลักษณะเป็นลำลูกกล้วย มักจะเป็นลำคดโค้ง ยาวประมาณ 15-70 เซนติเมตร บริเวณข้อพองออกเล็กน้อย ขึ้นเป็นกอห้อยลง ลำต้นมีสีเขียวอ่อนอมเทา อวบน้ำและอ่อน ใบเป็นรูปไข่ถึงรูปหอก ขนาดกว้างประมาณ 7 - 8 เซนติเมตร ยาวประมาณ 5 - 13 เซนติเมตร แผ่นใบบางและอ่อน มีสีเขียวอ่อน ดอกออกเป็น

ช่อสั้นๆ มีประมาณ 1-3 ดอก ออกดอกตรงบริเวณปลายลำที่ยังมีใบติดอยู่ ก้านดอกยาวประมาณ 3.5-4 เซนติเมตร ขนาดดอกประมาณ 4 เซนติเมตร ดอกมีกลิ่นหอมนานประมาณ 10-14 วัน กลีบเลี้ยงและกลีบดอกมีสีเหลืองทองหรือเหลืองส้ม ส่วนที่ฐานของกลีบปากมีสีน้ำตาลแดง กลีบดอกจุ้มเล็กน้อย ทิ้งใบหลังมีดอก โดยปกติจะออกดอกช่วงเดือนมีนาคมถึงมิถุนายน (อบฉันท์ ไทยทอง, 2546; Bill *et al*., 2002) โดยทั่วไปแล้วการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ในในธรรมชาตินั้นต้องอาศัยเชื้อรา แต่จากพัฒนาการการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำให้เราสามารถเพาะเมล็ดกล้วยไม้ให้งอกเป็นต้นใหม่ได้เป็นจำนวนมากในสภาพปลอดเชื้อโดยไม่ต้องอาศัยเชื้อราบางชนิดมาช่วยในการงอก การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อประสบความสำเร็จอย่างมากในกล้วยไม้หลายสกุล อย่างไรก็ตาม ในการงอกของเมล็ดกล้วยไม้นั้นมีปัจจัยหลายประการที่เกี่ยวข้อง เช่น สูตรอาหาร อุณหภูมิ และแสง เป็นต้น สูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงนั้น ต้องมีน้ำตาลและแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการงอกและการเจริญของต้นอ่อน อีกทั้งกล้วยไม้แต่ละชนิดมีความต้องการแสงในการงอก และการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน และบางครั้งพบว่า ในสภาพที่ไม่มีแสง นั้นเมล็ดสามารถงอกและเจริญอยู่รอดได้มากกว่าสภาพที่มีแสง (Stimart and Ascher, 1981) ดังนั้นวัตถุประสงค์การทดลองนี้จึงต้องการศึกษาอิทธิพลของแสงต่อการงอก และระยะพัฒนาการของกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบในหลอดทดลอง อันจะเป็นแนวทางในการศึกษาถึงอิทธิพลของปัจจัยอื่น ที่มีผลต่อการงอกและพัฒนาการของเมล็ดกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบในหลอดทดลองต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

นำฝักกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบที่มีอายุหลังการผสมเกสรประมาณ 8 เดือน ผ่าฝักตามแนวขวางออกเป็นสองส่วน ทำการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15-20 นาที และฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดอีกครั้งด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ใช้หลอดหยดดูดเมล็ดปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำไปเพาะบนอาหารแข็งดัดแปลงสูตร Vacin และ Went (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร มันฝรั่ง 150 กรัมต่อลิตร (ใช้เฉพาะน้ำต้มมันฝรั่ง) และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร ปรับความเป็นกรด-ด่างของอาหารเป็น 5.2 วางเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้โดยให้ระยะเวลาที่ได้รับแสงแตกต่างกันคือ

ทรีทเมนต์ที่ 1 ได้รับแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน นาน 16 สัปดาห์
ทรีทเมนต์ที่ 2 ได้รับแสง 24 ชั่วโมงต่อวัน นาน 16 สัปดาห์
ทรีทเมนต์ที่ 3 ได้รับความมืดนาน 4 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน นาน 12 สัปดาห์

ทรีทเมนต์ที่ 4 ได้รับความมืดนาน 8 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน นาน 8 สัปดาห์ และ

ทรีทเมนต์ที่ 5 ได้รับความมืด นาน 16 สัปดาห์

วางเลี้ยงทรีทเมนต์ทั้งหมดไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) มี 10 ซ้ำ บันทึกลักษณะการงอก การเปลี่ยนแปลงของเมล็ด และเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด โดยทำการสุ่มนับเมล็ด 100 เมล็ดต่อซ้ำ จำนวน 3 ซ้ำ ทุกๆ 4 สัปดาห์ เป็นเวลา 16 สัปดาห์ และนำเมล็ดจากอาหารที่เพาะไว้ มาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอพร้อมบันทึกภาพ และบันทึกข้อมูลต่างๆ โดยแบ่งกลุ่มเมล็ดเป็นระดับดังนี้

ลักษณะการงอกของเมล็ด	ระดับคะแนน	จำนวนที่พบ
เมล็ดที่มีเอมบริโอแต่ไม่งอก	0	a
เมล็ดที่มีการขยายตัว พองบวม (งอก) แต่ยังไม่หลุดออกจากเปลือกเมล็ด	1	b
เมล็ดที่มีเอมบริโอเกือบหลุดออกจากเปลือกเมล็ด	2	c
เมล็ดที่มีเอมบริโอหลุดออกจากเปลือกเมล็ด	3	d

นำตัวเลขที่ได้มาคำนวณเพื่อหาเปอร์เซ็นต์การงอกตามวิธีการของ Pierik และคณะ (1988) ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การงอก} = \frac{100 \times (b+c+d)}{a+b+c+d}$$

ทำการบันทึกระยะพัฒนาการของต้นอ่อนโดยดัดแปลงตามวิธีการของ Arditti (1979) ดังนี้

ระยะพัฒนาการ	ลักษณะของเมล็ดและต้นอ่อน
1	เมล็ดสมบูรณ์ แต่ไม่งอก
2	เมล็ดขยายขนาดจากเดิม 5-10 เท่า โดยเอมบริโอมีขนาดเพิ่มขึ้น อาจมีหรือไม่มีสีเขียวของคลอโรฟิลล์และจะดันเปลือกเมล็ดแตกออก
3	เอมบริโอเจริญเป็นลูกกลมปลายแหลมเรียกว่า โปรโตคอร์ม และมีไรซอยด์
4	ต้นอ่อนมีใบยอดที่เห็นชัดเจน 1 ใบ งอกขึ้นมาทางด้านบนของโปรโตคอร์ม
5	ต้นอ่อนมีใบยอด 2 ใบ
6	ต้นอ่อนมีใบยอด 3-4 ใบ และมีรากอย่างน้อย 1 ราก

ผลการทดลอง

จากการศึกษาลักษณะการงอกของเมล็ดกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ ที่ให้ได้รับแสงแตกต่างกัน โดยแบ่งกลุ่มเมล็ดออกเป็นระดับคะแนนดังที่กล่าวไว้ในวิธีการทดลอง พบว่า ภายหลังการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ สามารถสังเกตเห็นเมล็ดกล้วยไม้ที่มีเอมบริโอ แต่ไม่งอก จนกระทั่งเป็นเมล็ดที่เอมบริโอหลุดออกจากเปลือกหุ้มเมล็ดแล้ว ซึ่งเมล็ดที่พบส่วนใหญ่เป็นเมล็ดที่มีการขยายตัว พองบวม (งอก) แต่ยังไม่หลุดออกจากเปลือกหุ้ม (รูป 1ก) ภายหลังการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จะพบเมล็ดที่เอมบริโอหลุดออกจากเปลือกเพิ่มขึ้น และที่ 12 สัปดาห์ พบว่า เมล็ดที่เอมบริโอหลุดออกจากเปลือกเมล็ด เมื่อครบ 16 สัปดาห์ จะสังเกตเห็นว่าเมล็ดที่เอมบริโอหลุดออกจากเปลือกเมล็ดมีจำนวนเพิ่มขึ้น ซึ่งเมล็ดที่ได้รับระยะเวลาในการให้แสงต่างกันทุกสภาวะ จะมีเปอร์เซ็นต์การงอกเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 4 จนถึงสัปดาห์ที่ 16 โดยพบว่า เมล็ดที่ได้รับความมืด 4 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน 12 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดถึง 92.64 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 1)

จากการศึกษาระยะพัฒนาการของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบที่งอกในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า ภายหลังการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมล็ดกล้วยไม้ที่พบส่วนใหญ่อยู่ในระยะพัฒนาการที่ 2 คือเมล็ดมีการขยายขนาดจากเดิมประมาณ 5-10 เท่า และเอมบริโอจะดันเปลือกหุ้มเมล็ดให้แตกออก (รูป 1ข) ซึ่งพบระยะพัฒนาการนี้ในเมล็ดที่ได้รับสภาวะความมืด 8 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 8 ชั่วโมงต่อวันอีก 8 สัปดาห์ มากที่สุด คิดเป็น 69.56 เปอร์เซ็นต์ และจากการสังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดมีการพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์ม เพิ่มมากขึ้น ซึ่งอยู่ในระยะพัฒนาการที่ 3 (รูป 1ค) โดยเมล็ดที่เพาะในสภาวะที่ได้รับแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 16 สัปดาห์นั้น จะพบระยะพัฒนาการนี้มากที่สุด คิดเป็น 8.22 เปอร์เซ็นต์ และที่เวลา 12 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดสามารถมีพัฒนาการได้ครบทุกระยะกล่าวคือ เมล็ดมีการพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่มีใบยอด 1 ใบ (ระยะพัฒนาการที่ 4) และใบยอด 2 ใบ (ระยะพัฒนาการที่ 5) งอกขึ้นมาทางด้านบนของโปรโตคอร์ม (รูป 1ง-1จ) มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเมล็ดที่ได้รับความมืด 8 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 8 ชั่วโมงต่อวันอีก 8 สัปดาห์ จะสังเกตพบระยะพัฒนาการที่ 4 มากที่สุด คิดเป็น 16.93 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดที่ได้รับความมืด 4 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน 12 สัปดาห์ จะสังเกตพบระยะพัฒนาการที่ 5 มากที่สุด คิดเป็น 19.02 เปอร์เซ็นต์ และภายหลังการเพาะเมล็ดเป็นเวลาครบ 16 สัปดาห์ พบว่า เมล็ดเข้าสู่ระยะพัฒนาการที่ 6 เพิ่มมากขึ้น โดยเมล็ดมีการพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่มีใบยอด 3-4 ใบ และรากอย่างน้อย 1 ราก (รูป 1ฉ) โดยเมล็ดที่ได้รับความมืด 4 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จะมีระยะพัฒนาการที่ 6 มากที่สุด คิดเป็น 18.29 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 2)

ตาราง 1 จำนวนเมล็ดที่พบในแต่ละลักษณะการงอกของเมล็ดเอื้องคำผักปราบ (คิดเป็นเปอร์เซ็นต์) และเปอร์เซ็นต์การงอกภายหลังการเพาะเมล็ดบนอาหารแข็งดัดแปลงสูตร VW (1949) เป็นเวลา 16 สัปดาห์

Treatment	% การงอก*	0*	1*	2*	3*
แสง 8 ชม./วัน เป็นเวลา 16 สัปดาห์	80.16^{c}	19.84^{a}	51.36^{a}	6.10^{c}	22.70^{c}
แสง 24 ชม./วัน เป็นเวลา 16 สัปดาห์	88.21^{b}	11.79^{b}	26.73^{bc}	14.03^{a}	44.45^{b}
มืด 4 สัปดาห์ ตามด้วยแสง 8 ชม./วัน 12 สัปดาห์	92.64^{a}	7.36^{b}	22.76^{c}	10.80^{b}	59.08^{a}
มืด 8 สัปดาห์ ตามด้วยแสง 8 ชม./วัน 8 สัปดาห์	89.19^{b}	10.81^{b}	22.91^{c}	12.16^{ab}	50.12^{a}
มืด 24 ชม./วัน เป็นเวลา 16 สัปดาห์	78.17^{c}	21.83^{a}	32.91^{b}	7.19^{c}	38.07^{b}

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงถึงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

วิเคราะห์ความแตกต่างโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

0* - เมล็ดที่มีเอมบริโอแต่ไม่งอก

1* - เมล็ดที่มีการขยายตัว พองบวม (งอก) แต่ยังไม่หลุดออกจากเปลือกเมล็ด

2* - เมล็ดที่มีเอมบริโอเกือบหลุดออกจากเปลือกเมล็ด

3* - เมล็ดที่มีเอมบริโอหลุดออกจากเปลือกเมล็ด

ตาราง 2 จำนวนเมล็ดที่พบในแต่ละระยะพัฒนาการของต้นอ่อนเอื้องคำผักปราบ (คิดเป็นเปอร์เซ็นต์) ภายหลังการเพาะเมล็ดบนอาหารแข็งดัดแปลงสูตร VW (1949) เป็นเวลา 16 สัปดาห์

Treatment	ระยะพัฒนาการงอกของเมล็ดกล้วยไม้					
	1*	2*	3*	4*	5*	6*
แสง 8 ชม./วัน เป็นเวลา 16 สัปดาห์	19.84[a]	52.42[a]	7.64[bc]	14.63[c]	3.28[c]	2.19[c]
แสง 24 ชม./วัน เป็นเวลา 16 สัปดาห์	11.79[b]	27.71[bc]	7.11[c]	12.50[c]	24.07[b]	16.82[a]
มืด 4 สัปดาห์ ตามด้วย แสง 8 ชม./วัน 12 สัปดาห์	7.36[c]	22.99[c]	9.66[b]	14.04[c]	28.66[a]	18.29[a]
มืด 8 สัปดาห์ ตามด้วย แสง 8 ชม./วัน 8 สัปดาห์	10.18[b]	27.22[bc]	14.90[a]	20.52[b]	21.35[b]	5.20[b]
มืด 24 ชม./วัน เป็นเวลา 16 สัปดาห์	21.83[a]	33.04[b]	12.25[ab]	24.97[a]	6.45[c]	1.46[c]

หมายเหตุ ตัวอักษรเหมือนกันที่อยู่ในสดมภ์เดียวกันแสดงถึงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

วิเคราะห์ความแตกต่างโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

1* - เมล็ดสมบูรณ์แต่ไม่งอก

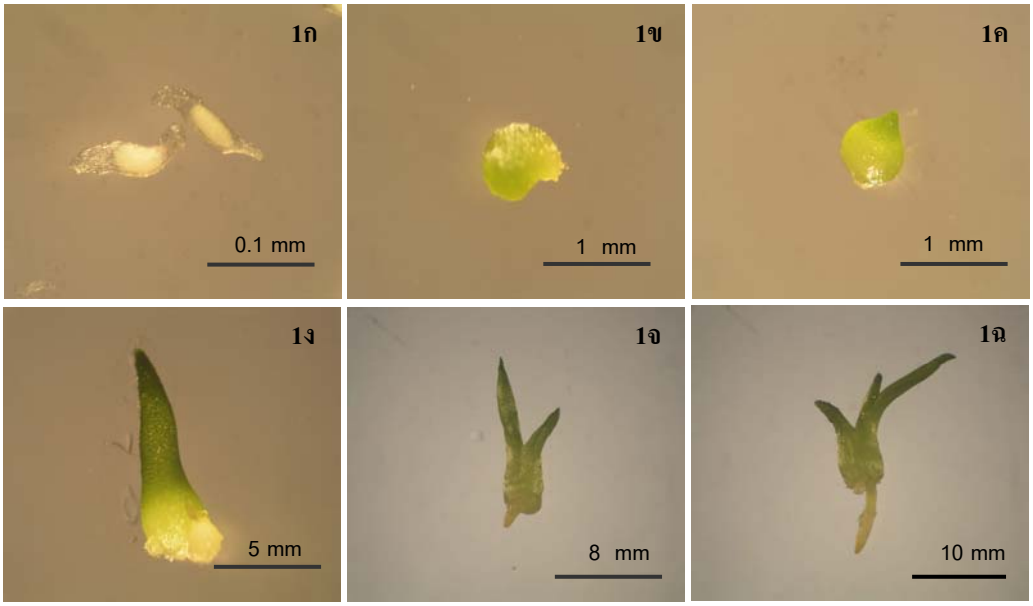
2* - เมล็ดขยายขนาดจากเดิม 5-10 เท่า โดยเอมบริโอมีขนาดเพิ่มขึ้น อาจมีสีเขียวหรือไม่มีสีเขียวของคลอโรฟิลล์ และจะดันเปลือกเมล็ดแตกออก

3* - เอมบริโอเจริญเป็นลูกกลมปลายแหลมเรียกว่า โปรโตคอร์ม และมีไรซอยด์

4* - ต้นอ่อนมีใบยอดที่เห็นชัดเจน 1 ใบ งอกขึ้นมาทาง ด้านบนของโปรโตคอร์ม

5* - ต้นอ่อนมีใบยอด 2 ใบ

6* - ต้นอ่อนมีใบยอด 3-4 ใบ และมีรากอย่างน้อย 1 ราก



รูป 1 (ก-ฉ) ระยะพัฒนาการของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ

(ก) - ระยะพัฒนาการที่ 1 เมล็ดสมบูรณ์แต่ไม่งอก

(ข) - ระยะพัฒนาการที่ 2 เมล็ดขยายขนาดจากเดิม 5-10 เท่า โดยเอมบริโอมีขนาดเพิ่มขึ้น อาจมีสีเขียวหรือไม่มีสีเขียวของคลอโรฟิลล์และจะดันเปลือกเมล็ดแตกออก

(ค) - ระยะพัฒนาการที่ 3 เอมบริโอเจริญเป็นลูกกลมปลายแหลมเรียกว่าโปรโตคอร์ม และมีไรซอยด์

(ง) - ระยะพัฒนาการที่ 4 ต้นอ่อนมีใบยอดที่เห็นชัดเจน 1 ใบ งอกขึ้นมาทางด้านบนของโปรโตคอร์ม

(จ) - ระยะพัฒนาการที่ 5 ต้นอ่อนมีใบยอด 2 ใบ และ 1ฉ - ระยะพัฒนาการที่ 6 ต้นอ่อนมีใบยอด 3-4 ใบ และมีรากอย่างน้อย 1 ราก

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาการงอกของเมล็ดและการพัฒนาเป็นต้นอ่อนของเอื้องคำผักปราบพบว่า เมล็ดกล้วยไม้สามารถงอกและพัฒนาได้ค่อนข้างเร็ว ซึ่งเป็นลักษณะของเมล็ดกล้วยไม้รากอากาศและรากกึ่งอากาศโดยทั่วไป (Arditti, 1982) ซึ่งหลังจากการเพาะเมล็ดไปได้ 7-12 วัน พบว่า เมล็ดมีการเปลี่ยนแปลงโดยเริ่มมีการขยายขนาดและเปลี่ยนเป็นสีเขียว เนื่องมาจากเอมบริโอมีขนาดเล็ก มีช่องว่างขนาดใหญ่ที่มีอากาศแทรกอยู่ เมื่อเมล็ดได้รับสภาพความชุ่มชื้นจะดูดน้ำผ่านทาง micropyle (Arditti and Ghani, 2000) ส่งผลให้เอมบริโอมีขนาดเพิ่มขึ้น ซึ่งในระยะนี้ไม่สามารถสร้างอาหารได้เอง (Heterotroph) จำเป็นต้องอาศัยน้ำตาลและธาตุอาหารที่จำเป็นจากอาหารสังเคราะห์ที่เพาะเลี้ยง (Arditti, 1992) และสภาพที่มีแสงทำให้มีการสร้างคลอโรฟิลล์เกิดขึ้น (Pierik, 1987) ทำให้เอมบริโอมีสีเขียว เมื่อเพาะเมล็ดนาน 4 สัปดาห์ จะพบเอมบริโอมีการเพิ่มขนาดจากเดิมประมาณ 5-10 เท่า มีลักษณะเกือบกลม เกิดแรงดันเต่งทำให้ผนังของเปลือกหุ้มเมล็ดฉีกขาดไป ดังนั้นเอมบริโอจึงค่อยๆ โผล่พ้นออกมาจากเปลือกหุ้มเมล็ด และเอมบริโอที่พัฒนาเป็นก้อน protocorm มีส่วนปลายเป็นยอดแหลม มีไรซอยด์ (Rhizoid) เกิดขึ้นโดยรอบ เนื่องจากเมื่อเอมบริโอดูดน้ำจะทำให้เซลล์มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วจนทำให้เอมบริโอหลุดออกจากเปลือก (Arditti, 1992) และมีการรวมตัวของเซลล์กลุ่ม (Clump cell) จนทำให้เกิดเป็นโครงสร้างที่เรียกว่า protocorm (Pierik, 1987) จากนั้นจะเห็นใบยอดใบแรกทางด้านบนของโปรโตคอร์มชัดเจน และเจริญเป็นลำดับจนกระทั่งได้ต้นอ่อนที่มีใบยอด 3-4 ใบ และเห็นรากชัดเจน 1-2 ราก ในทางตรงกันข้าม ภายหลังการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ซึ่งสอดคล้องกับ Withner (1959) ที่กล่าวว่า ด้านบนของโปรโตคอร์มจะเจริญไปเป็นส่วนของ vegetative apex ของลำต้น ซึ่งจัดเป็นการเจริญแบบ sympodial ส่วนด้านล่างของโปรโตคอร์มจะเจริญไปเป็นส่วนราก ซึ่งการเปลี่ยนสภาพของรากแรกเกิดยังคงไม่สมบูรณ์ในส่วนของโปรโตคอร์ม แต่ภายหลังที่เกิดชั้น stele จะเริ่มเห็นรากที่แท้จริงเมื่อโปรโตคอร์มมี 3 - 5 ใบ

จากการทดลองนี้จะเห็นว่าระยะเวลาที่เพาะเมล็ดจนกระทั่งพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่มีรากอย่างน้อย 1 ราก ใช้เวลาเพียง 12 สัปดาห์ รวมทั้งเปอร์เซ็นต์การงอกค่อนข้างสูงและสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Singh (1933) ที่กล่าวว่า การงอกและการพัฒนาแบบไม่พึ่งพา (Asymbiosis) ของเมล็ดกล้วยไม้อากาศ (Epiphytic orchid) ในสภาพปลอดเชื้อเกิดขึ้นได้เร็วและส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การงอกสูงขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นเช่นกัน

นอกจากนี้แสงยังมีอิทธิพลต่อเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงของพืชหลายชนิด ทั้งในด้านความเข้มแสงและช่วงเวลาที่ได้รับแสง โดยแสงจะทำหน้าที่ให้พลังงานในการสังเคราะห์แสง และกล้วยไม้สามารถเจริญเติบโตได้โดยใช้แสงเทียม ถ้ากำหนดความเข้มแสงและลักษณะของแสงให้ถูกต้อง ทำให้เมล็ดงอกและเจริญเติบโตได้เร็วกว่าปกติ 1-2 ปี (Burgeff, 1936) แต่ต้องขึ้นอยู่กับความสมดุลของคุณภาพแสงและความเข้มแสง ภายหลังการเพาะเมล็ดกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ บนอาหารกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร

VW โดยได้รับแสงแตกต่างกัน พบว่าเมล็ดที่ได้รับความมืด 4 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน 12 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดถึง 92.64 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากรายงานของ Arditti (1979) พบว่า แสงไม่จำเป็นต่อการงอกของกล้วยไม้ประเภท epiphytic orchid อย่างไรก็ตาม Larry และ Mcdonald (1995) รายงานว่า อาจเป็นไปได้ว่าสภาพมืดหรือการได้รับแสงสลับช่วงมืดสามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดได้ โดยการทดลองนี้จะเห็นว่าในสัปดาห์ที่ 8 หลังจากการเพาะเมล็ดนั้น เมล็ดที่ได้รับความมืดนาน 4 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน 12 สัปดาห์ ความมืดที่ได้รับนั้นอาจจะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของเอมบริโอได้ และการที่กล้วยไม้ได้รับความเข้มแสงนี้ ทำให้สามารถสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตได้มาก โดยคาร์โบไฮเดรตที่ได้จะถูกนำไปใช้ในกระบวนการหายใจเพื่อการเจริญเติบโต (Bidwell, 1979)

เอกสารอ้างอิง

อบฉันท์ ไทยทอง. (2546). กล้วยไม้เมืองไทย (พิมพ์ครั้งที่ 4). กรุงเทพฯ: บ้านและสวน.

Arditti, J. (1979). Aspects of the physiology of orchids. *Advance Botanical Research*, *7*, 421-655.

Arditti, J. (1982). *Orchid seed germination and seedling culture – A manual*. In J. Arditti (ed.). Orchid Biology II. New York : Cornell Univ. Press., 244-370

Arditti, J. (1992). Fundamentals of Orchid Biology. Canada : John Wiley and Sons.

Arditti, J. and Ghani, A.K.A. (2000). Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Phytologist*, *145*, 367-421.

Bidwell, R. (1979). *Plant Physiology*. New York : Macmillan Publishing Company.

Bill, L., Geoff, S. and Wayne, H. (2002). *Dendrobium* and its relative. Portland : Timber Press.

Burgeff, H. (1936). Samenkeimung der Orchideen. Cited by C.L. Withner. The Orchid A Scientific Survey. New York: The Ronald Press.,312

Larry, O.P. and Mcdonald, M.B. (1995). *Priciples of Seed Science and Technology*. 3rd (ed.). New York : Chapman and Hall Press.

Pierik, R.L.M. (1987). *In Vitro Culture of Higher Plants*. Dordrecht : Martinus Nijhoff Pubilshers.

Singh, F. (1993). *In vitro* orchid seed germination and cloning of orchid -α success story. In J. Prakash and R.L.M. Pierik (eds.). Plant Biotechnology Commercial Prospects and Problems. New Delhi: Mohan and Primlani for Oxford and IBH Publishing., 129

Stimart, D.P. and Ascher, P.D. (1981). *In vitro* germination of *Paphiopedilum* seed on a completely defined medium. *Scientia Horticulturae*, *14*, 165-170.

Vacin, E. and Went, F.W. (1949). Some pH changes in nutrient solutions. *Botanical Gazette*, *110*, 605-613.

Withner, C.L. (1959). *The Orchid* : A Scientific Survey. New York: The Ronald Press.