การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยากับการพัฒนาตาดอกของเอื้องพร้าว

Histological Study on Flower Bud Development of *Phaius tankervilleae* (Banks ex l' Heriter) Blume

วัชราภรณ์ ชนะเคน[1/] และ พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์[1/]

Watcharaporn Chanaken[1/] and Pimchai Apavatjrut [1/]

Abstract: Histological study on *Phaius tankervilleae* (Banks ex l' Heriter) Blume flower bud development showed that when the bud at the base of its corm could be visualized in October (1st week), the inner tissue comprised a shoot apical meristem and a developed bract. In the 4th week more bract primordia were found. The flower primordia were initiated in the 5th week. Flower primordia subsequently developed into sepals, lip, petals, column in the 10th week and rostellum in the 12th week. At the end of the 12th week, pollen and stigma were not found.

Keywords: Histology, flower bud development, *Phaius tankervilleae*

บทคัดย่อ: การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยากับการพัฒนาตาดอกของเอื้องพร้าว พบว่าในระยะที่เริ่มเห็นตาดอกที่บริเวณโคนของหัวด้วยตาเปล่าในเดือนตุลาคม (สัปดาห์ที่ 1) ภายในตาดอกประกอบด้วย เนื้อเยื่อเจริญปลายยอด และมีการพัฒนาใบประดับแล้ว ต่อมาพบจุดกำเนิดใบประดับเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 และเริ่มมีการเกิดของจุดกำเนิดดอกในสัปดาห์ที่ 5 ต่อมาจุดกำเนิดดอก มีการพัฒนาเป็นส่วนของกลีบนอก (sepal) กลีบปาก (lip) กลีบดอก (petal) และเส้าเกสร (column) ในสัปดาห์ที่ 10 ส่วนเนื้อเยื่อผนังก้นเกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมีย (rostellum) เกิดในสัปดาห์ที่ 12 โดยยังไม่พบการเกิดเกสรเพศผู้ และเพศเมีย

คำสำคัญ: เนื้อเยื่อวิทยา การพัฒนาตาดอก เอื้องพร้าว

[1/]ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

[1/]Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

คำนำ

กล้วยไม้ดินที่พบในประเทศไทยมีมากกว่า 200 ชนิด ใน 60 สกุล (จิตราพรรณ, 2539 อ้างโดย นิภาพร, 2541) มักพบขึ้นอยู่ตามพื้นดินที่ปกคลุมด้วยอินทรีย์วัตถุ มีทั้งชนิดที่มีหัวอยู่ใต้ดิน เช่นกล้วยไม้ในสกุล *Habenaria, Pecteilis, Brachycorythis* และ *Nervilia* เป็นต้น บางชนิดมีหัวเจริญอยู่บนผิวดินเช่น *Eulophia, Spathoglottis* และ *Phaius* เป็นต้น (อบฉันท์, 2549) ในวงจรการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ การสร้างดอกเป็นกระบวนการหนึ่งที่มีความสำคัญ (ลิลลี่, 2546) กล้วยไม้บางชนิดมีการเจริญของช่อดอกที่บริเวณปลายยอด บางชนิดเจริญจากตาข้าง เมื่อต้นพืชมีการพัฒนาถึงระยะเจริญพันธุ์ เนื้อเยื่อเจริญปลายยอดทั้งของตาข้างและตายอดจะหยุดการสร้างใบ และเริ่มเปลี่ยนเป็นตาดอก โดยสร้างส่วนของดอกไปตามขั้นตอนการสร้างดอกของพืชแต่ละชนิด (พวงผกา, 2548; ลิลลี่, 2546 ; Esau, 1977) ซึ่งประกอบด้วย 2 กระบวนการใหญ่ ๆ คือ กระบวนการชักนำ และกระบวนการพัฒนาตาดอก (Hew and Yong, 2004) การเข้าใจขั้นตอนและเวลาที่ใช้ในการพัฒนาดอกเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญต่อการผลิตไม้ดอกที่จะนำไปใช้ประโยชน์ แต่การศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนาดอกของกล้วยไม้ดินของประเทศไทยมีน้อยมาก จึงได้ทำการศึกษาครั้งนี้

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของตาข้างเอื้องพร้าวทำโดย การเก็บตัวอย่างตาข้างของต้นพืชในช่วงที่มีการพัฒนาไปเป็นตาดอกซึ่งเริ่มเห็นได้ด้วยตาเปล่าในเดือนตุลาคม เก็บตัวอย่างทุกสัปดาห์เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยในแต่ละสัปดาห์เก็บตัวอย่าง 4 ซ้ำ นำเนื้อเยื่อมาตัดตามยาวและตามขวางตามวิธีการศึกษาเนื้อเยื่อแบบ paraffin embedding ของ Johansen (1940) โดยนำตัวอย่างขนาด กว้าง 0.25-0.3 ซม และยาว 0.5-0.7 ซม มาแช่ในน้ำยา FAA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง นำเนื้อเยื่อมาผ่านขั้นตอนของการดึงน้ำออกจากเซลล์ โดยให้เนื้อเยื่อผ่านขั้นตอนของน้ำยาที่มีส่วนผสมของ ethyl alcohol และ tertiary butyl alcohol (TBA) จากระดับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์รวมในน้ำยา 50, 70, 85 และ 95% ในแต่ละความเข้มข้นแช่เนื้อเยื่อพืชนาน 1 คืน จากนั้นนำไปแช่ในน้ำยา ที่มีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์รวม 100% นาน 2 สัปดาห์ ตามด้วย TBA 100% และน้ำยาที่ประกอบด้วย TBA และพาราฟินเหลว อัตราส่วน 1:1 นาน 2 คืน จึงนำเนื้อเยื่อไปผ่านขั้นตอนของการแทรกพาราฟินเข้าไปในเนื้อเยื่อ (infiltration) โดยการตัดเนื้อเยื่อของพืชลงไปในพาราฟินบริสุทธิ์หลอมเหลวแล้ว เก็บไว้ในตู้อบที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส จนกระทั่งพาราฟินแทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อได้เต็มที่ โดยใช้เวลาประมาณ 1 เดือน จากนั้นนำเนื้อเยื่อมาฝังในพาราฟิน แล้วจัดตำแหน่งของเนื้อเยื่อให้อยู่ในตำแหน่งและระนาบที่ต้องการ นำแท่งพาราฟินที่ได้ไปตัดแต่งให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ให้ชิ้นส่วนพืชอยู่ตรงกลาง แล้วนำมาติดกับแท่งไม้ จากนั้นนำไปตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อแบบล้อหมุน โดยตัดเนื้อเยื่อตามยาวหรือตามขวางให้หนา 13 ไมครอน นำแถบชิ้นส่วนพืช (paraffin ribbon) ที่ได้จากการตัดไปติดลงบนแผ่นกระจกสไลด์ด้วยน้ำยายึดเนื้อเยื่อพืชซึ่งมีส่วนผสมของไข่ขาวและน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:49 มล. วางแผ่นสไลด์บนเครื่องอุ่นสไลด์จนแถบชิ้นส่วนพืชแห้งและติดแน่นกับแผ่นสไลด์ ทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นนำแผ่นสไลด์ที่มีแถบชิ้นส่วนพืชติดอยู่ไปละลายพาราฟินออกจากเนื้อเยื่อ แล้วนำไปย้อมสี โดยใช้สี Dalafield's hematoxylin แล้วปิดแผ่นสไลด์ด้วยแผ่นกระจกปิดสไลด์ยึดให้ติดกันด้วยแคนาดาบาลซัม เมื่อแผ่นสไลด์แห้งสนิท นำแผ่นสไลด์ดังกล่าวไปศึกษาเนื้อเยื่อใต้กล้องจุลทรรศน์ และบันทึกภาพ

ผลการทดลอง

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาจากตาข้าง ในระยะที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า โดยศึกษาทั้งตามยาวและตามขวาง พบว่าตาข้างของเอื้องพร้าวมีลำดับการพัฒนาดังนี้

สัปดาห์ที่ 1 ตาที่สังเกต พบว่าเริ่มเกิดในสัปดาห์ที่ 1 ในเดือนตุลาคมนี้เป็นตายอด (apical meristem) มีขนาดกว้างเพียง 0.25-0.3 ซม. ยาว 0.5-0.7 ซม. เมื่อนำตาดังกล่าวมาตัดพบว่าเนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลาย มีลักษณะเป็นรูปโดมเตี้ย (ภาพที่ 1A) มีเซลล์

ตื่นตัวอยู่อย่างหนาแน่น ด้านข้างเนื้อเยื่อปลายยอดนี้มีการเจริญของจุดกำเนิดใบประดับ และมีส่วนของใบประดับ (bract) ปรากฏอยู่แล้ว ต่อมาเมื่อนำตามาตัดในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 พบว่าเนื้อเยื่อมีการพัฒนาของตาคล้ายในสัปดาห์ที่ 1

สัปดาห์ที่ 4 ตาที่มีขนาดกว้าง 1.5-2 ซม. และยาว 1-1.5 ซม. พบว่าส่วนของยอด และใบประดับมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้น และมีจำนวนใบประดับเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 1B)

สัปดาห์ที่ 5 ตาที่มีขนาด กว้าง 2-2.5 ซม. ยาว 1.7-3 ซม. พบว่าโดมของตายอดมีความกว้างและสูงขึ้น นอกจากนี้ในตำแหน่งด้านข้างของยอดโดมหรือซอกใบประดับ มีกลุ่มเซลล์ตื่นตัวเจริญอยู่หนาแน่น และกลุ่มเซลล์นี้เป็นเนื้อเยื่อเริ่มต้นของจุดกำเนิดดอก (floral primordia) (ภาพที่ 2A)

สัปดาห์ที่ 7 ตาที่มีขนาดกว้าง 1.8-2 ซม. และยาว 4.5-5.5 ซม. มีการเจริญของจุดกำเนิดดอก (floral primordia) และใบประดับรองดอกย่อย (bracteole) ซึ่งพบตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 (ภาพที่ 2B)

สัปดาห์ที่ 8 และ 9 ตาที่มีขนาดกว้าง 1.7-2 ซม. ยาว 5-6.5 ซม. และ กว้าง 1.7-2 ซม. ยาว 6-8.5 ซม. ตามลำดับ พบว่าเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดมีการเจริญสูงขึ้น จนเห็นเป็นลักษณะช่อดอก บริเวณด้านข้างของช่อมีการเจริญของจุดกำเนิดดอกที่มีขนาดใหญ่เกิดขึ้นที่บริเวณซอกของใบประดับรองดอกย่อย แต่ยังไม่มีการพัฒนาของส่วนประกอบดอก (ภาพที่ 3A-B)

สัปดาห์ที่ 10 คือช่วงต้นเดือนธันวาคม ตาที่มีขนาดกว้าง 1.7-2.25 ซม. ยาว 10-11.5 ซม. มีการพัฒนาส่วนประกอบของดอกแรกที่โคนของช่อดอก คือมีการพัฒนาส่วนของกลีบนอก (sepal) กลีบปาก (lip) กลีบดอก (petal) และ เส้าเกสร (column) (ภาพที่ 4A-B)

สัปดาห์ที่ 12 ตาที่มีขนาด กว้าง 1.8-2.55 ซม. ยาว 12-15 ซม. พบว่าช่อดอกที่อยู่ด้านในของตามีความยาวเพิ่มขึ้นและมีจำนวนของจุดกำเนิดดอกเพิ่มขึ้นด้วย ดอกอ่อนที่เจริญอยู่ที่บริเวณโคนช่อ มีการพัฒนาส่วนประกอบของดอกแล้ว ซึ่งได้แก่ส่วนของ กลีบนอก กลีบปาก กลีบดอก และเส้าเกสร เห็นเป็นรูปร่างชัดเจนกว่าในสัปดาห์ที่ 10 (ภาพที่ 5A-B) นอกจากนี้ยังพบว่า มีการเจริญในส่วนของจะงอยยื่นออกมาจากส่วนฐานของเส้าเกสร ซึ่งจะพัฒนาต่อไปเป็นเนื้อเยื่อผนังกั้นเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมีย (rostellumn) (ภาพที่ 5B) ในสัปดาห์นี้ยังไม่พบการสร้างเกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมีย

วิจารณ์

การพัฒนาตาดอกของเอื้องพร้าว จากตาดอกที่มีขนาดที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าในสัปดาห์แรกของเดือนตุลาคม จนถึงสัปดาห์ที่ 4 หลังจากนั้นพบว่า มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด ใบประดับ และมีการยืดตัวของเนื้อเยื่อเจริญในช่วงสัปดาห์ที่ 4 ของการสังเกต การพัฒนาตาดอกในช่วงดังกล่าว อาจอยู่ในระยะผ่านการชักนำแล้ว ซึ่งเป็นระยะที่พืชได้มีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการสร้างสารเมตาบอไลท์ต่าง ๆ ภายในเซลล์ เพื่อสังเคราะห์ฮอร์โมนกระตุ้นการออกดอก (สมบุญ, 2548) ซึ่งต่อมาในสัปดาห์ที่ 5 เริ่มเห็นการพัฒนาของจุดกำเนิดดอก ที่เจริญบริเวณซอกของใบประดับ มีกลุ่มเซลล์ตื่นตัวเจริญอยู่อย่างหนาแน่น และมีการพัฒนาของกลุ่มเซลล์อย่างชัดเจนคือกลุ่มเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นในสัปดาห์ที่ 7 ซึ่งการเปลี่ยนแปลงระยะนี้เป็นการเปลี่ยนแปลงในระยะกำเนิดดอก (สมบุญ, 2548) และเป็นระยะที่ต้องระวังอย่างมากในการปลูกพืช คือหากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ตาดอกที่เกิดขึ้นอาจจะฝ่อ (โสระยา, 2544) ในสัปดาห์ที่ 8-9 เป็นระยะที่ช่อดอกมีจุดกำเนิดดอกมากขึ้นและมีการพัฒนาเพิ่มขึ้น แต่การพัฒนาส่วนประกอบของดอกยังไม่ชัดเจน จนกระทั่งสัปดาห์ที่ 10-12 ซึ่งสังเกตเห็นได้ว่า ส่วนประกอบของดอกมีการพัฒนาเป็น กลีบนอก กลีบปาก กลีบดอก และ เนื้อเยื่อผนังกั้นเกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมีย ตามลำดับ ลำดับการพัฒนาของดอกที่เกิดขึ้นคล้ายกับการพัฒนาตาดอกของกล้วยไม้ *Cattleya labiata* Lindl. ซึ่งศึกษาโดย Rotor and MacDaniels (1951) พบว่ากล้วยไม้ชนิดนี้มีการพัฒนาส่วนของกลีบนอก ตามด้วยส่วนของกลีบปาก กลีบดอก และเส้าเกสร ตามลำดับ

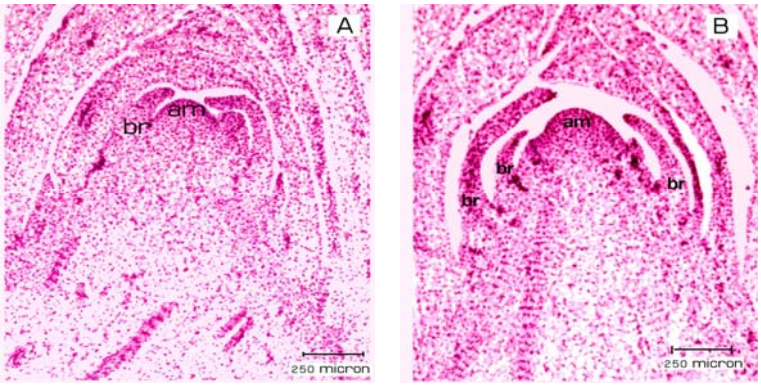


Figure 1 Longitudinal sections showing *Phaius tankervilleae* flower bud development in 1st and 4th week.

A = development of flower bud in 1st week (October)

B = development of flower bud in 4th week

am = apical meristem

br = bract

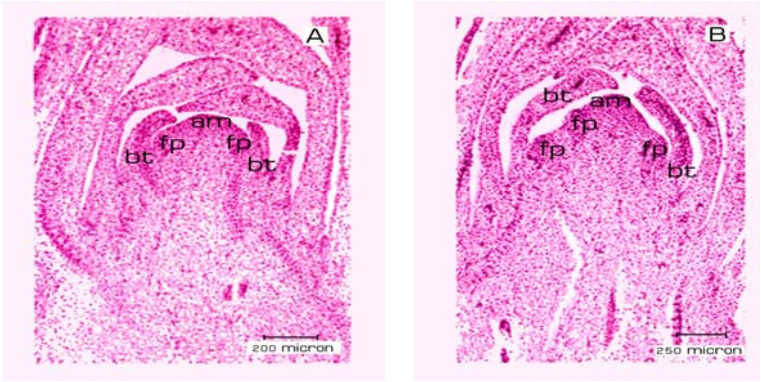


Figure 2 Longitudinal sections showing *Phaius tankervilleae* flower bud development in 5th and 7th week.

A = development of flower bud in 5th week

B = development of flower bud in 7th week

am = apical meristem

bt = bracteole

fp = floral primordium

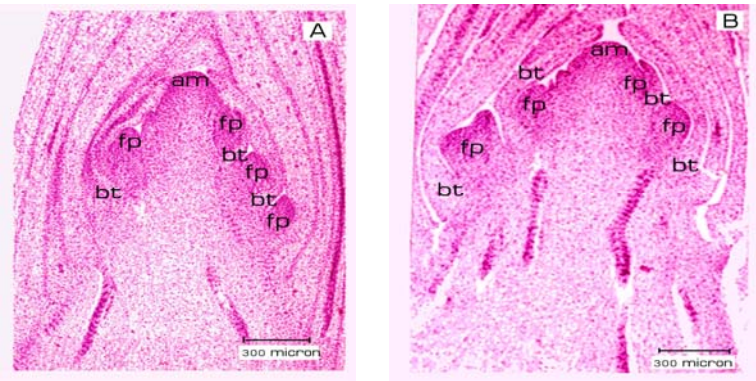


Figure 3 Longitudinal sections showing *Phaius tankervilleae* flower bud development in 8th and 9th week.

A = development of flower bud in 8th week

B = development of flower bud in 9th week

am = apical meristem

bt = bracteole

fp = floral primordium

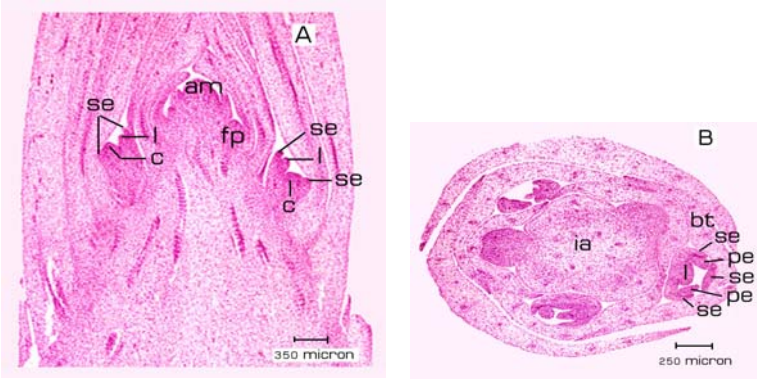


Figure 4 Development of *Phaius tankervilleae* flower bud in 10th week.

A = development of flower bud in 8th week

B = development of flower bud in 9th week

am = apical meristem
fp = floral primordium
pe = petal
bt = bracteole
ia = inflorescence axis
se = sepal
c = column
l = lip

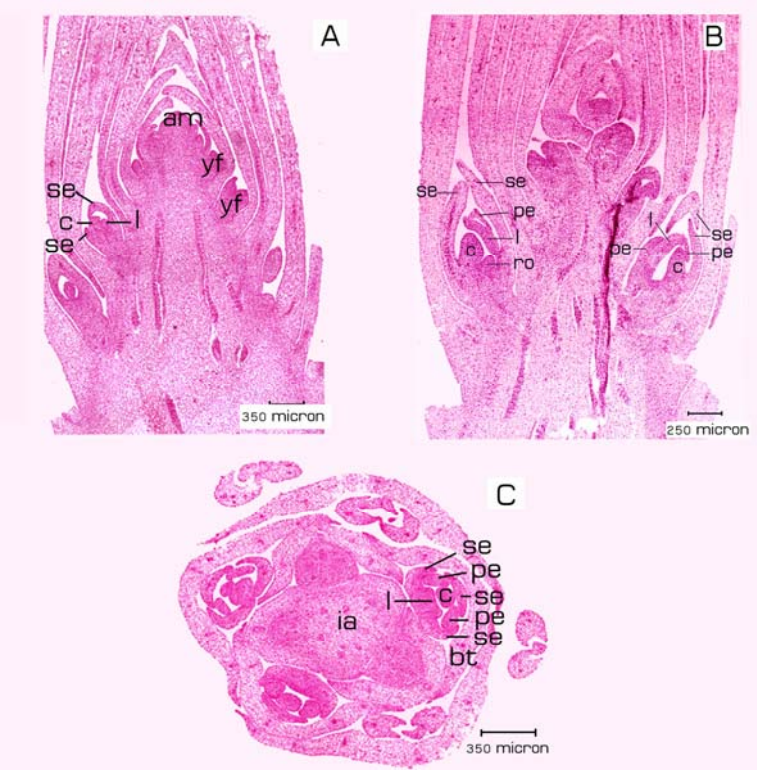


Figure 5 Development of *Phaius tankervilleae* flower bud in 12th week.

A = longitudinal section showing flower bud development in 12th week

B = longitudinal section at different plane showing flower bud development in 12th week

C = cross section showing flower bud development in 12th week

am = apical meristem	ia = inflorescence axis	ro = rostellumn
bt = bracteole	l = lip	se = sepal
c = column	pe = petal	yf = young flower

สรุป

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของตาดอกและการพัฒนาตาดอกของเอื้องพร้าว ดำเนินการโดยศึกษาจากตาข้างที่เกิดจากหัว เริ่มศึกษาตั้งแต่ระยะที่สามารถมองเห็นตาดังกล่าวด้วยตาเปล่าในเดือนตุลาคม พบว่าในระยะนี้ส่วนปลายยอดของตาเริ่มมีการพัฒนา คือมีการเจริญของเนื้อเยื่อเจริญไปเป็นจุดกำเนิดใบประดับ และจุดกำเนิดดอก ในสัปดาห์ที่ 5 ของการสังเกต พบว่าจุดกำเนิดดอกเริ่มมีการเปลี่ยนแปลง ขยายขนาดใหญ่ขึ้น มีกลุ่มเซลล์เจริญอยู่อย่างหนาแน่น การสังเกตในสัปดาห์ที่ 8 และ 9 พบว่ายังไม่มีการเกิดส่วนประกอบของดอก ต่อมาในสัปดาห์ที่ 10 ส่วนของกลีบนอก กลีบดอก กลีบปาก และ เส้าเกสรเริ่มมีการพัฒนา และในสัปดาห์ที่ 12 มีการ

พัฒนาส่วนประกอบของดอกที่ชัดเจน พร้อมทั้งมีการพัฒนาส่วนของเนื้อเยื่อผนังก้นเกสรเพศผู้และเพศเมีย รวมระยะเวลาในการพัฒนาของตาดอกตั้งแต่เริ่มเห็นด้วยตาเปล่าจนเกิดผนังก้นเกสรเพศผู้ และเพศเมียคือ 12 สัปดาห์

เอกสารอ้างอิง

นิภาพร ชัยหนุ. 2541. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้ดินบางชนิดในสกุลลิ้นมังกรและนางอั้ว. ปัญหาพิเศษปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 44 หน้า.

พวงผกา สุนทรชัยนาคแสง. 2548. กายวิภาคและสัณฐานวิทยาของพืชมีดอก. สำนักพิมพ์ท็อป, กรุงเทพฯ. 380 หน้า.

ลิลลี่ กาวีต๊ะ. 2546. การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานและพัฒนาการของพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 320 หน้า

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2548. สรีรวิทยาของพืช. จามจุรีโปรดักท์, กรุงเทพฯ. 252 หน้า.

โสระยา ร่วมรังสี. 2544. สรีรวิทยาไม้ดอก. โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮ้าส์, กรุงเทพฯ.100 หน้า.

อบฉันท์ ไทยทอง. 2549. กล้วยไม้เมืองไทย. พิมพ์ครั้งที่ 11. อัมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พลับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ. 461 หน้า.

Esau, K. 1977. Anatomy of Seed Plants. John Wiley & Sons, New York. 550 pp.

Hew, C. S. and J.W. H. Yong. 2004. The Physiology of Tropical Orchids in Relation to the Industry end ed. World Scientific Publishing Co., River Edge. 370 pp.

Johansen, D.A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York. 523 pp.

Rotor, G., Jr. and L.H. MacDaniels. 1951. Flower bud differentiation and development in *Cattleya labiata* Lindl. American Journal of Botany 38: 147-152.