

ผลของอายุฝักต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินลิ้นมังกร
ในสภาพปลอดเชื้อ

Affect of Pod Age on Seed Germination of
Habenaria rhodocheila Hance in Aseptic Conditions

ปิยะนุช ปิยะตระกูล^{1/} และ พิมพใจ อาภาวัชรุตม์^{1/}

Piyanuch Piyatrakul^{1/} and Pimchai Apavatjirut^{1/}

Abstract : A series of experiment to find suitable pod age for seed germination of *Habenaria rhodocheila* Hance in aseptic conditions by sowing the 3, 4, 5, 6 and 7 weeks old seed pods after pollination onto the modified Vacin and Went (1949) (CMU1) medium showed that at one week after sowing, the embryo shape from the 3 weeks old seed pod was not well formed, whereas those from the 4, 5, 6 and 7 weeks old seed pods showed oval embryos. Twenty weeks after seed sowing, the embryo sizes from the older seed pods (7 and 6 weeks) were bigger than those from younger seed pods (5, 4 and 3 weeks). Germination was not found from seeds of the 3 and 4 weeks old seed pods, whereas the 7 weeks old seeds provided early germination and gave the highest germination percentage (2.46 %, 12 weeks after sowing). It also gave bigger protocorms than those from the 5 and 6 weeks old pod.

บทคัดย่อ: การศึกษาอายุฝักที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินลิ้นมังกรในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำฝักอายุ 3, 4, 5, 6 และ 7 สัปดาห์ หลังการผสมเกสร มาเพาะในอาหารเหลวสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลงหรือ CMU1 ในสัปดาห์แรกพบว่า เมล็ดจากฝักอายุ 3 สัปดาห์ ยังเห็นรูปร่างคัพทะไม่ชัดเจน ในขณะที่เมล็ดจากฝักอายุ 4, 5, 6 และ 7 สัปดาห์ เห็นคัพทะเป็นรูปวงรี หลังจากเพาะเมล็ดนาน 20 สัปดาห์ พบว่าขนาดของคัพทะ จากฝักอายุมาก (7 และ 6 สัปดาห์) มีขนาดใหญ่กว่า คัพทะจากฝักอายุน้อย (5, 4 และ 3 สัปดาห์) อย่างมีนัยสำคัญ ไม่พบการงอกของเมล็ดจากฝักอายุ 3 และ 4 สัปดาห์ ในขณะที่เมล็ดจากฝักอายุ 7 สัปดาห์ งอกได้เร็ว และให้เปอร์เซ็นต์งอกมากที่สุด (2.46 %, สัปดาห์ที่ 12 หลังการเพาะเมล็ด) รวมทั้งยังให้โปรโตคอร์มใหญ่กว่าจากเมล็ดของฝักอายุ 5 และ 6 สัปดาห์

^{1/} ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

^{1/} Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

Index words: กล้วยไม้ดิน ลิ่นมังกร สภาพปลอดเชื้อ อายุฝัก

terrestrial orchid, *Habenaria rhodocheila* Hance, aseptic condition, pod age

คำนำ

กล้วยไม้ดินเป็นพืชเศรษฐกิจที่ทำรายได้เข้าประเทศปีละมากกว่าพันล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2546) ประเทศไทยเป็นถิ่นกำเนิดของกล้วยไม้เมืองร้อนที่สำคัญแห่งหนึ่งของโลก มีกล้วยไม้ดินประมาณ 200 ชนิด (นิพาพร, 2542) และกล้วยไม้ดินสกุล *Habenaria* ซึ่งเป็นสกุลที่สำคัญสกุลหนึ่ง จำนวน 36 ชนิด (Seidenfaden, 1977 ; อบจันท์, 2543)

กล้วยไม้ดินลิ่นมังกร (*Habenaria rhodocheila* Hance) มีความสวยงามมากที่สุดชนิดหนึ่ง เนื่องจากต้นเล็ก กะทัดรัด มีดอกสวยงามแปลกตา จึงมีผู้นิยมนำกล้วยไม้ดินชนิดนี้ไปใช้ประโยชน์ในการทำเป็นไม้กระถาง ซึ่งทั้งหมดเป็นการเก็บหัวจาก ป่าทำให้ปริมาณกล้วยไม้ดินลิ่นมังกรในสภาพธรรมชาติ ลดลงอย่างรวดเร็ว (นิพาพร, 2542) เมล็ดของกล้วยไม้ดินมีขนาดเล็กมากทำให้ยากต่อการศึกษารองอกในสภาพธรรมชาติ (Rasmussen, 1995) และกลไกในการงอกก็ยังไม่ทราบแน่ชัด (Van Der Kinderen, 1987) ในการทดลองนี้เป็นการศึกษาผลของอายุฝักต่อการงอกในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

นำฝักกล้วยไม้ที่มีอายุ 3, 4, 5, 6 และ 7 สัปดาห์หลังการผสมเกสร มาทำความสะอาดโดยการล้างน้ำให้สะอาด ตัดแต่งปลายฝักส่วนที่เป็นสีน้ำตาลออก เช็ดฝักด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70 % และนำไปแช่ในคลอโรกซ์ 15 % นาน 15 นาที นำเข้าตู้กรองอากาศ ล้างฝักด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งมาเชื้อแล้ว 3 ครั้ง เพาะในอาหารเหลวสูตร Vacin and Went (VW, 1949) คัดแปลง หรือ CMU1 นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ให้ความเร็ว 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส ในที่มีด

ผลการทดลอง

เมล็ดจากฝักอายุ 3 สัปดาห์ มีสีขาวและสีเข้มขึ้นเมื่ออายุฝักเพิ่มขึ้น จนถึงฝักอายุ 7 สัปดาห์ เมล็ดมีสีน้ำตาลเข้ม ฝักส่วนใหญ่แตกเมื่อมีอายุได้ 8 สัปดาห์หลังการผสมเกสร ลักษณะของเมล็ดมีรูปร่างเรียวยาว ป่องตรงกลาง โดยเมล็ดจากฝักอายุ 3 สัปดาห์ ยังเห็นรูปร่างของคัพภะได้ไม่ชัดเจน (ภาพที่ 1) ในขณะที่เมล็ดจากฝักอายุ 4, 5, 6 และ 7 สัปดาห์ สามารถเห็นคัพภะเป็นรูปทรงกลมรีได้ (ภาพที่ 2)



Figure 1 Seed from 3 weeks-old pod after pollination.



Figure 2 Seed from 7 weeks-old pod after pollination.

Table 1 Effect of pod age on embryo size 20 weeks after sowing.

Pod age (weeks)	Embryo size (micron)	
	width	length
3	53.00 $\pm$ 16.00 ^c	159.40 $\pm$ 18.60 ^b
4	193.80 $\pm$ 29.10 ^b	259.40 $\pm$ 83.40 ^a
5	218.80 $\pm$ 32.00 ^b	278.10 $\pm$ 33.90 ^a
6	259.40 $\pm$ 43.00 ^a	286.40 $\pm$ 58.50 ^a
7	270.50 $\pm$ 26.50 ^a	312.50 $\pm$ 80.20 ^a

Means followed by the same letter within the same column was not significantly different by T SD ($\alpha=0.05$)

เมื่อเพาะในอาหารเหลวเป็นเวลา 20 สัปดาห์ พบว่า ความกว้างเฉลี่ยของคัพภะจากฝักอายุ 7 และ 6 สัปดาห์ มีขนาดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ใหญ่กว่าคัพภะจากฝักอายุ 5, 4 และ 3 สัปดาห์ อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ความยาวเฉลี่ยของคัพภะจากฝักอายุ 4, 5, 6 และ 7 สัปดาห์ ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 1)

การงอกเกิดขึ้นในปริมาณที่น้อยมากและไม่สม่ำเสมอ เมล็ดจากฝักอายุมาก งอกได้เร็วกว่าเมล็ดที่มาจากฝักอายุน้อย โดยเมล็ดจากฝักอายุ 7 สัปดาห์ งอกในช่วงสัปดาห์ที่ 12 หลังการเพาะเมล็ด ส่วนเมล็ดจากฝักอายุ 6 และ 5 สัปดาห์ งอกในช่วงสัปดาห์ที่ 16 และ 20 หลังการเพาะเมล็ด ตามลำดับ

และเมล็ดจากฝักอายุ 7 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์งอกได้มากที่สุด คือ 2.46% (ตารางที่ 2)

คัพภะมีการเจริญเติบโตจนกระทั่งต้นเปลือกหุ้มเมล็ดให้รากขาและเมื่อหลุดออกจากเปลือกหุ้มเมล็ดแล้วมีการเจริญเติบโตเร็วขึ้นกว่าเมื่อยังอยู่ในเปลือกหุ้มเมล็ด จากนั้นพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์มสร้างยอดขนาดเล็ก (ภาพที่ 3) ซึ่งยึดตัวพัฒนาเป็นต้นอ่อนอย่างรวดเร็ว

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า โปรโตคอร์มจากฝักอายุ 7 สัปดาห์ กว้างกว่าโปรโตคอร์มจากฝักอายุ 6 และ 5 สัปดาห์ แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางด้านความยาว (ตารางที่ 3)

Table 2 Effect of pod age on seed germination 20 weeks after sowing (%).

Pod age (weeks)	Germination (%)
3	0
4	0
5	0.374
6	1.316
7	2.46

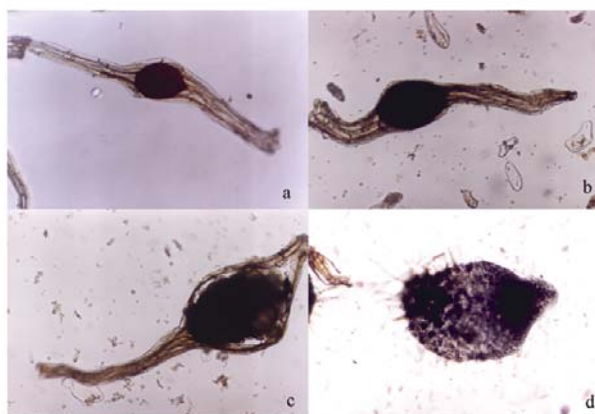


Figure 3 Stage of embryo development.

- a seed at the first week after sown
- b enlarge embryo on 4 weeks after sown
- c testa ruptured
- d protocorm

Table 3 Effect of pod age on procorm size 20 weeks after sowing.

Pod age (weeks)	Protocorm size (micron)	
	width	length
3	-	-
4	-	-
5	780.8 ± 452.55^b	1228.8 ± 434.45
6	841.6 ± 292.98^b	1257.6 ± 505.64
7	1414.4 ± 434.87^a	1738.67 ± 515.99

Means followed by the same letter within the same column was not significantly different by LSD (p=0.05)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินลิ้นมังกร โดยนำฝักที่มีอายุฝัก ตั้งแต่ 3, 4, 5, 6 และ 7 สัปดาห์มาเพาะในอาหารเหลวสูตร VW (1949) ดัดแปลง (CMU1) นาน 1 สัปดาห์พบว่า ฝักอายุ 3 สัปดาห์ คัพภะยังไม่พัฒนาเต็มที่ แต่เริ่มเห็นคัพภะชัดเจนเมื่อผสมเกสรแล้ว 4 สัปดาห์ และฝักแก่ให้เมล็ดสีน้ำตาลเข้ม เมื่ออายุ 7 สัปดาห์ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 20 สัปดาห์ เมล็ดจากฝักอายุ 5, 6 และ 7 สัปดาห์ มีขนาดของคัพภะเพิ่มขึ้นและสามารถงอกได้ แต่เมล็ดที่แก่กว่าให้เปอร์เซ็นต์การงอกมาก และเร็วกว่าอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งอาจขึ้นอยู่กับระยะการพัฒนาของคัพภะที่เหมาะสมโดยในแต่ละฝักมีความจำเพาะเจาะจงแตกต่างกันไป โดยกระบวนการพัฒนาของคัพภะในเมล็ดต้องเกิดขึ้นจนกระทั่งถึงจุดหนึ่งที่คัพภะพร้อมงอก ในกรณีนี้จึงทำให้การงอกจากคัพภะอายุน้อยต้องพัฒนาต่อในอาหารเพาะเมล็ดก่อน การงอกจึงเกิดขึ้นได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานเกี่ยวกับกล้วยไม้ดินของ Nagashima (1989) ได้ทำการศึกษาการพัฒนา คัพภะ ของ กล้วย ไม้ ดิน *Ponerorchis graminifolia* Reichd. f. ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการปฏิสนธิเกิดขึ้นหลังจากการผสมเกสร 12-13 วัน หลังจากนั้นเมล็ดจะเจริญอย่างรวดเร็วจนมีขนาดโตเต็มที่เมื่อ 40 วันหลังการผสมเกสร เมื่อนำเมล็ดมาเพาะพบว่า เปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดที่ 40 % เมื่อใช้เมล็ดอายุ 35-40 วันหลังการผสมเกสร ซึ่งสูงกว่า เปอร์เซ็นต์การงอกจากการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินลิ้นมังกรในครั้งนี้มาก แต่อายุฝักที่เหมาะสมใกล้เคียงกัน กล้วยไม้ดินบางชนิดใช้เวลาการพัฒนาคัพภะน้อยกว่า เช่น กล้วยไม้ดิน *Cypripedium calceolus* L. พบว่าการปฏิสนธิเกิดขึ้นหลังการผสมเกสร 20 วัน การสร้างคัพภะเกิดขึ้น 30 วันหลังการผสมเกสร และคัพภะพัฒนาจนสมบูรณ์เมื่อ 50 วัน

หลังการผสม โดยเปอร์เซ็นต์การงอกมากที่สุดพบในเมล็ดอายุ 40 วัน หลังการผสมเกสร (Wagner and Hansel, 1995) ในส่วนของเปอร์เซ็นต์การงอก พบว่าลิ้นมังกรเป็นพืชที่งอกได้น้อย โดยเห็นได้จากเปอร์เซ็นต์งอกสูงสุดเพียง 2.46 % ในระยะเวลาทั้งหมด 20 สัปดาห์ ซึ่งสอดคล้องกับผลงานของนิพาพร (2542) ที่ได้ทดลองวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เมล็ดลิ้นมังกรโดยใช้คลอโรกซ์ร่วมกับทีโพลเปรียบเทียบกับไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ แล้วนำไปเพาะในอาหารเหลวสูตร VW (1949) ดัดแปลง เลี้ยงในที่มืดเป็นเวลานาน 4 เดือน พบว่า เมล็ดที่ฟอกด้วยคลอโรกซ์ร่วมกับทีโพลมีการงอก 9.94 % ในขณะที่ไม่พบการงอกในเมล็ดที่ฟอกด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์

ในการทดลองครั้งนี้พบว่า หลังจากคัพภะขยายขนาดและสามารถค้นเปลือกหุ้มเมล็ดขาดแล้ว โปรโตคอร์มเจริญอย่างรวดเร็ว ในเมล็ดจากทุกอายุฝัก และอิทธิพลของอายุฝักมีผลต่อความกว้างของโปรโตคอร์มมากกว่าด้านความยาว ในทำนองเดียวกับที่มีผลต่อขนาดของคัพภะที่ขยายขนาด การที่โปรโตคอร์มจากเมล็ดของฝักอายุ 7 สัปดาห์ มีขนาดใหญ่ที่สุด เป็นผลจากการที่เมล็ดงอกก่อนจึงมีเวลาขยายขนาดได้นานกว่า

เอกสารอ้างอิง

- นิพาพร ชัยทนต์. 2542. การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเมล็ดและพัฒนาต้นอ่อนของกล้วยไม้ดินลิ้นมังกรและนางอ้วตสาริก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. ภาควิชาพืชสวน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 60 น.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2546. ดอกกล้วยไม้สด : ปริมาณและมูลค่าการส่งออกรายเดือน. ระบบ

- ออนไลน์. แหล่งที่มา <http://www.oae.go.th>
(20 มกราคม 2547).
- อปฉันท์ ไทยทอง. 2543. กล้วยไม้เมืองไทย. สำนักพิมพ์
บ้านและสวน. กรุงเทพฯ. 461 น.
- Nagashima, T. 1989. Embryogenesis, seed formation and
immature seed germination *in vitro* in
Ponerorchis graminifolia Reichb. f. J. Japanese
Soc. Hort. Sci. 58 : 187-194.
- Rasmussen, H. N. 1995. Terrestrial Orchid from Seed to
Mycotrophic Plant. Cambridge University Press.
New York. 444 p.
- Seidenfaden, G. 1977. Orchid Genera in Thailand V.
Udgivet af dansk botanisk forening, København.
149 p.
- Van Der Kinderen, G. . 1987. Absciscic acid in terrestrial
orchid seed : a possible impact on their
germination , Lindleyana 2 : 84-87.
- Wagner, J. and A. Hansal. 1995. *In vitro* seed germination of
Cypripedium calceolus L. at various
embryogenic stages. Hort. Abst. 65 : 552.
-