

ชื่อเรื่อง	การผสมข้ามสกลระหว่างเอื้องดินใบไผ่และเอื้องดินใบหมาก
ผู้วิจัย	วิชาญ แฝงเมือง
ประธานที่ปรึกษา	ดร.มลิวรรณ นาคขุนทด
กรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุพันธ์ กงบังเกิด
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2556
คำสำคัญ	การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ลูกผสมข้ามสกล กล้วยไม้ดิน พีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพี

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการผสมเกสรระหว่างเอื้องดินใบไผ่กับเอื้องดินใบหมาก ทั้งรูปแบบผสมตัวเอง (self pollination) และผสมข้ามสกล (cross pollination) ที่แตกต่างกัน 6 รูปแบบ ได้แก่ รูปแบบที่ 1) เอื้องดินใบหมากที่ผสมตัวเอง 2) เอื้องดินใบไผ่ที่ผสมตัวเอง 3) เอื้องดินใบไผ่ (เป็นแม่) ผสมข้ามกับเอื้องดินใบหมาก (เป็นพ่อ) โดยมีการฝากเกสรจากเอื้องดินใบไผ่ผสมเข้าไปด้วย 4) เอื้องดินใบหมาก (เป็นแม่) ผสมข้ามกับเอื้องดินใบไผ่ (เป็นพ่อ) โดยมีการฝากเกสรจากเอื้องดินใบหมากผสมเข้าไปด้วย 5) เอื้องดินใบหมาก (เป็นแม่) ผสมข้ามกับเอื้องดินใบไผ่ (เป็นพ่อ) และ 6) เอื้องดินใบไผ่ (เป็นแม่) ผสมข้ามกับเอื้องดินใบหมาก (เป็นพ่อ) พบว่า การผสมเกสรในรูปแบบที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การติดฝักสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ รูปแบบที่ 2 3 4 5 และ 6 คิดเป็น 93.33, 93.33, 80, 67.5 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของฝักที่เกิดจากการผสม พบว่า ฝักของกล้วยไม้ที่ได้จากการผสมรูปแบบที่ 2 มีความยาวฝักเฉลี่ย (5.23 เซนติเมตร) ความกว้างฝัก (0.82 เซนติเมตร) และน้ำหนักฝัก (1.67 กรัม) เฉลี่ยสูงสุด และเมื่อนำเมล็ดที่ได้จากการผสมข้ามในแต่ละรูปแบบ มาศึกษากระบวนการงอกและการพัฒนาของเมล็ด โดยเพาะบนอาหารสูตรกึ่งแข็งดัดแปลงสูตร Vacin and Went (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร น้ำต้มมันฝรั่ง 50 กรัมต่อลิตร น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 7 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า เมล็ดที่ได้จากการผสมในรูปแบบที่ 2 และรูปแบบที่ 3 เลี้ยงไว้ในสภาวะที่ได้รับแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน และ 24 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 16 สัปดาห์ จะมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมล็ดที่ได้จากการผสมในรูปแบบที่ 5 เมื่อเลี้ยงไว้ในที่มีด 8 สัปดาห์ หลังจากนั้นย้ายออกมาเลี้ยงที่มีแสง 12 ชั่วโมงต่อวัน อีก 8 สัปดาห์ จะมีเปอร์เซ็นต์การงอกเพียง 12 เปอร์เซ็นต์

จากการศึกษาองค์ประกอบของอาหารบางประการที่มีผลต่อการเจริญ และพัฒนาของ ต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องดินใบหมากและเอื้องดินใบไผ่ และต้นอ่อนที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างเอื้อง ดินใบหมากและเอื้องดินใบไผ่ โดยมีการฝากการผสมเกสรจากต้นเดิมลงไปด้วย พบว่า สารประกอบอินทรีย์เชิงซ้อน ได้แก่ น้ำมะพร้าว และน้ำต้มมันฝรั่ง รวมไปถึง สารควบคุมการ เจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินและออกซินนั้น มีผลต่อการเจริญและการพัฒนาทางสัณฐานวิทยา ของต้นอ่อนที่ได้จากการผสมเกสรทั้ง 4 รูปแบบ และมีแนวโน้มในการพัฒนาที่สามารถชักนำให้เกิด จำนวนต้นที่แตกใหม่ ความสูงต้นที่แตกใหม่ จำนวนยอดที่แตกใหม่ ความสูงของลำต้นที่เพิ่มขึ้น จำนวนรากที่แตกใหม่ รวมไปถึงความยาวรากที่แตกใหม่ ที่นำไปใช้ในการทวีจำนวนต้นพันธุ์ใหม่ได้ ดีแตกต่างกันออกไป

ผลการตรวจสอบรูปแบบของดีเอ็นเอด้วยเอ็มไซม์ตัดจำเพาะ จากเทคนิคพีซีอาร์-อาร์เอฟ แอลพีโดยใช้บริเวณ ITS โดยเอนไซม์ *TaqI* และ *AluI* จะให้รูปแบบของดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน ระหว่างเอื้องดินใบหมากและเอื้องดินใบไผ่ เมื่อนำดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดทั้ง 2 เอนไซม์มา เปรียบเทียบกัน พบว่า ลูกผสมข้ามสกุลจากการถ่ายฝากโดยมีเอื้องดินใบหมากเป็นแม่มีโอกาสเกิด ลูกผสม คิดเป็น 9.62 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ลูกผสมข้ามสกุลจากการถ่ายฝากโดยมีเอื้องดินใบไผ่ เป็นแม่มีโอกาสเกิดลูกผสม คิดเป็น 8.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Title INTERGENERIC HYBRIDIZATION BETWEEN *ARUNDINA GRAMINIFOLIA* (D.DON) HOCHR. AND *SPATHOGLOTTIS PLICATA* BLUME

Author Wichan Fangmuang

Advisor Maliwan Nakkhunthod, Ph.D.

Co - Advisor Assistant Professor Anupan Kongbangkerd. Dr.rer.nat

Academic Paper Thesis M.S. in Biological Sciences, Naresuan University, 2013

Keywords Tissue culture, Intergeneric hybrid, Terrestrial orchids, PCR-RFLP

ABSTRACT

Intergeneric hybridization between *Arundina graminifolia* (D.Don) Hochr. and *Spathoglottis plicata* Blume was studied. Different pollination patterns was performed in 6 different methods; 1) self pollination of *S. plicata* 2) self pollination of *A. graminifolia* 3) cross pollination between *A. graminifolia* (♀) and *S. plicata* (♂) with pollen deposit from *A. graminifolia* 4) cross pollination between *S. plicata* (♀) and *A. graminifolia* (♂) with pollen deposit from *S. plicata* 5) cross pollination between *S. plicata* (♀) and *A. graminifolia* (♂) and 6) cross pollination between *A. graminifolia* (♀) and *S. plicata* (♂), were conducted and investigated. The results found that the highest percentage of fruit setting (100 %) could observe on method 1) followed by methods 2, 3, 4, 5 and 6 (93.33, 93.33, 80, 67.5, 0 %), respectively. Morphological comparison of seed pods after pollination was observed and showed that the longest 5.23 cm, widest 0.82 cm and weight 1.67 g of pods was noticed from the pollination method 2). In vitro asymbiotic germination of seeds derived from each pollination methods was studied. Seeds were cultured on modified Vacin and Went (VW) 1949 semi-solid medium supplemented with 150 ml/l coconut water, 50 g/l potato extract, 20 g/l sucrose and 7.0 g/l agar for 16 weeks. The results showed that the highest percentage of seed germination 100 % could obtain when seeds derived from pollination method (2) and (3) were cultured in the 12 and 24 hours photoperiod, respectively. However, only 12 % of seed germination from

pollination method (5) could observe when seeds were firstly incubated in the dark for 8 weeks then moved to culture under 12 hours photoperiod for further 8 weeks.

Effect of medium components on growth and development of *in vitro* seedlings of *S. plicata*, *A. graminifolia*, and hybrids between *S. plicata* and *A. graminifolia* were observed. The results indicated that organic supplements; coconut water and potato extract as well as plant growth regulators; cytokinins and auxins could affect growth, development and morphological changes of plantlets receive from 4 different pollination patterns.

Molecular marker investigation for intergeneric hybrid examination between *S. plicata* and *A. graminifolia* was studied. The results indicated that different DNA patterns received from different restriction enzyme ligation using *TaqI* and *AluI* enzymes in PCR-RFLP technique at ITS region were detected. However, only 9.62 % of intergeneric hybrids from pollination method (4) could be occurred while 8.33 % of intergeneric hybrids from pollination method (3) could be observed.

