รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. แผนงานวิจัย : แผนบูรณาการวิจัยและพัฒนาเพื่อความยั่งยืนของกล้วยไม้และไม้ดอกไม้ประดับ

2. โครงการวิจัย : การวิจัยและพัฒนากล้วยไม้ศักยภาพอื่นๆ

กิจกรรม : การวิจัยและพัฒนากล้วยไม้สกุลลิ้นมังกร

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การศึกษาชีววิทยาของดอกลิ้นมังกร *(Habenaria rhodocheila)*

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Study on Biology of *Habenaria rhodocheila* flower

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวพรอนันต์ แข็งขันธ์	สังกัด	สถาบันวิจัยพืชสวน
ผู้ร่วมงาน	นางสาววาสนา สุภาพรหม	สังกัด	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร
	นายวัชรพล บำเพ็ญอยู่	สังกัด	ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย
	นางสาวศิรากานต์ ขยันการ	สังกัด	ศูนย์วิจัยเมล็ดพันธุ์เชียงใหม่
	นายอำนวย อรรถลังรอง	สังกัด	สถาบันวิจัยพืชสวน

5. บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาสัณฐานวิทยาของดอกและเรณู 2) ศึกษาความมีชีวิตและการงอกของเรณู 3) ศึกษาอายุเก็บเกี่ยวฝักที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเมล็ดในห้องปลอดเชื้อ และ 4) ศึกษาจำนวนฝักที่เหมาะสมในการผสมพันธุ์ของกล้วยไม้ลิ้นมังกรดอกสีชมพู สัณฐานวิทยาของดอกกล้วยไม้ลิ้นมังกรสีชมพู มีช่อดอกเป็นแบบกระจะ (spike) ออกดอกที่ปลายยอด โดยบานจากโคนสู่ปลายยอด กลีบนอกบนมีสีเขียวปนชมพู กลีบดอกสีชมพูอ่อน ส่วนโคนกลีบดอกมีสีชมพูเข้ม เดือยสีชมพูปนเขียว รังไข่มีสีชมพูปนเขียว มีเกสรตัวเมีย 2 อัน มีลักษณะคล้ายงวงเล็กๆ ยื่นออกมาด้านข้างทั้งสองด้านของเส้าเกสร เกสรตัวผู้ก้านชูละอองเกสร (caudicle) เส้นบางใส และตุ่มเหนียวสีแดง (viscidium) ยื่นออกมา ดอกกล้วยไม้ลิ้นมังกรมีเส้าเกสรที่ประกอบด้วยกลุ่มเรณู (pollinia) ข้างละ 1 ชุด รูปร่างคล้ายไข่ปลา ในแต่ละกลุ่มเรณูประกอบด้วยกลุ่มเรณูย่อย (massula) จำนวนมาก ประมาณ 300-600 อัน เรียงตัวในแนวตั้งบนแผ่นยึด ส่วนใหญ่จะมีรูปร่างรูปลูกแพร์ (piriform) แต่ละกลุ่มเรณูมีรูปร่างโดยประมาณคือ กว้าง 50-200 ไมโครเมตร ยาว 100-200 ไมโครเมตร และในแต่ละกลุ่มเรณูย่อยก็ประกอบด้วยเรณู (pollen grain/pollen unit) ประมาณ 100-200 อัน ยึดติดกันเป็นก้อน แต่ละเรณูมีขนาดประมาณ 15-20 ไมโครเมตร การศึกษาความมีชีวิตของเรณูโดยการนำละอองเรณูจากดอกที่มีการบาน 4 ระยะ ได้แก่ 1) ระยะก่อนดอกบาน 1 วัน 2) ระยะดอก

บาน 3) ระยะหลังดอกบาน 1 วัน และ 4) ระยะหลังดอกบาน 2 วัน มาย้อมด้วยสีอะซีโตคาร์มีน ความเข้มข้น 1% และทดสอบความงอกของเรณูด้วยเทคนิคหยดแขวน ในอาหารสังเคราะห์ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส 5 % ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า และกลุ่มเรณูย่อยจากดอกทั้ง 4 ระยะ มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนความงอกของเรณู พบว่า ช่วงก่อนดอกบาน 1 วันและวันที่ดอกบาน มีเปอร์เซ็นต์การงอกของกลุ่มเรณูย่อย อยู่ที่ 9.8 และ 21.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่หลังจากดอกบาน 1 ถึง 2 วัน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การงอกเพิ่มขึ้นเป็น 49.0 และ 58.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับอายุเก็บเกี่ยวฝักที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเมล็ดในห้องปลอดเชื้อ โดยใช้ฝักกล้วยไม้ลิ้นมังกรที่มีอายุ 38 39 40 41 42 43 และ 44 วัน พบว่า เมล็ดเริ่มงอกในช่วงเดือนที่ 2-3 ซึ่งจะมีลักษณะเป็นตุ่มสีขาว และรากสีขาวงอกออกมา และเริ่มเปลี่ยนเป็นหน่อสีขาวตามลำดับ โดยฝักที่มีอายุ 41 วัน หลังผสมเกสร เมื่อนำไปเพาะในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้อาหารสังเคราะห์ มีจำนวนต้นต่อขวดมากที่สุด โดยในเดือนที่ 2 3 4 5 และ 6 มีจำนวนต้น 8.8 12.0 11.1 12.7 และ 11.6 ต้นต่อขวด ตามลำดับ สำหรับการศึกษาจำนวนฝักที่เหมาะสมในการผสมพันธุ์โดยการผสมและให้มีการติดฝัก 2 4 6 8 และ 10 ฝักต่อต้น พบว่า การผสมและให้ติดเมล็ด 2 ฝักต่อต้น มีจำนวนเมล็ดดี และจำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อฝักมากที่สุด คือ 2,800 และ 4,380 เมล็ด ตามลำดับ และมีสัดส่วนเมล็ดดีต่อเมล็ดลีบเท่ากับ 1.8 : 1 เมล็ด

6. คำนำ

กล้วยไม้ลิ้นมังกร (*Habenaria rhodocheila* Hance) เป็นกล้วยไม้ดิน (terrestrial orchid) ดอกมีสีสันสวยงาม ต้นมีขนาดเล็ก เหมาะสำหรับนำมาทำเป็นไม้กระถาง ออกดอกในช่วงเดือนสิงหาคม-ตุลาคมของทุกปี (วัชราภรณ์, 2550) ปัจจุบันมีผู้ที่สนใจศึกษาเกี่ยวกับการผสมพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ลักษณะแปลกใหม่เพิ่มมากขึ้น แต่ก็มักจะประสบปัญหาการผสมไม่ติดฝักหรือผสมติดฝักแต่เมล็ดมีความสมบูรณ์น้อย ซึ่งเกิดจากหลายปัจจัย คุณภาพของเรณูเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อความสำเร็จในการผสมเกสร ซึ่งสามารถตรวจสอบได้จากความมีชีวิตและความสามารถในการงอกของละอองเรณู (ศิรัชตนันท์, 2559; Pacini and Hesse, 2002) และมักจะมีความสัมพันธ์กับระยะการบานของดอก

สัณฐานวิทยาของละอองเรณู (pollen morphology) สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการจำแนกชนิดพืช และศึกษาความเข้ากันได้ในการผสมพันธุ์ ส่วนการตรวจสอบความมีชีวิตของเรณู (pollen viability) นิยมใช้ 2 วิธี คือการย้อมสี (dye staining) ด้วย aceto carmine, aceto orcein และ Brilliant blue เป็นต้น และการทดสอบความงอกของเรณู (pollen germination) โดยใช้อาหารสังเคราะห์สำหรับเลี้ยงละอองเกสร สูตร Brewbaker and Kwack (1963) ซึ่งเรณูที่มีชีวิตจะมีการของงอกหลอดเรณู (pollen tube)

หลังจากผสมพันธุ์ การเก็บเกี่ยวเมื่อมีอายุฝักที่เหมาะสมก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่จะทำให้การเพาะกล้วยไม้ประสบความสำเร็จ เนื่องจากในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ลิ้นมังกรในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่ผ่านมามักประสบปัญหาหลายประการ เช่น ฝักแตก เมล็ดที่เพาะเกิดการปนเปื้อน และมีอัตราการงอกต่ำ เป็นต้น ซึ่งมักเกิดจากอายุฝักไม่เหมาะสมสำหรับนำไปเพาะ ซึ่งจากการศึกษาของ ปิยะนุช (2547) ที่ทำการเก็บเกี่ยวฝักกล้วยไม้ลิ้นมังกรที่มีอายุ 3 4 5 6 และ 7 สัปดาห์หลังผสมเกสร ไปเพาะในอาหารเหลวนาน 1 สัปดาห์ พบว่า

เมล็ดที่มีอายุ 3 สัปดาห์หลังการผสมเกสร มีรูปร่างของคัพภะไม่ชัดเจน ในขณะที่เมล็ดที่ได้จากฝัก 4 5 6 และ 7 สัปดาห์ สามารถเห็นคัพภะที่มีรูปร่างเป็นวงรีและมีการเพิ่มขนาดในเวลาต่อมา และในสัปดาห์ที่ 20 หลังการเพาะเมล็ด พบคัพภะจากฝักอายุ 7 สัปดาห์ ซึ่งมีขนาดใหญ่และงอกมากที่สุดถึง 2.46 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาจำนวนฝักที่เหมาะสมในการผสมพันธุ์ เป็นอีกปัจจัยที่มีความสำคัญเพื่อให้ได้มาซึ่งจำนวนเมล็ดในปริมาณที่มากพอในการนำไปเพาะเลี้ยง ซึ่งหากมีการผสมให้มีจำนวนฝักต่อต้นมากเกินไป ก็อาจจะทำให้ได้เมล็ดน้อยและเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์เนื่องจากเกิดการแย่งอาหาร และหากมีการผสมจำนวนต้นต่อฝักน้อยเกินไป ก็จะทำให้เสียโอกาสในการได้เมล็ดในปริมาณที่เหมาะสม

ดังนั้น การทราบข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกและเรณู ความมีชีวิตและความงอกของละอองเรณูกล้วยไม้ลิ้นมังกรสีชมพู อายุฝักที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวเพื่อนำไปเพาะเมล็ดในห้องปลอดเชื้อ รวมถึงจำนวนฝักที่เหมาะสมในการผสมพันธุ์เพื่อนำข้อมูลมาประยุกต์ใช้ในการจัดการผสมเกสรสำหรับการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ลิ้นมังกรต่อไป

7. วิธีดำเนินการ :

7.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกและเรณู

ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกกล้วยไม้ลิ้นมังกรสีชมพู โดยการบันทึกลักษณะดอก กลีบดอก เกสรตัวผู้ และเกสรตัวเมีย พร้อมทั้งศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกลุ่มละอองเรณูของกล้วยไม้ลิ้นมังกรดอกสีชมพู โดยดึงอับเรณูมาวางบนสไลด์ แล้วหยดน้ำกลั่น 1-2 หยด ก่อนที่จะใช้ปากคีบแตะเบาๆ เพื่อให้เรณูกระจาย หลังจากนั้นเขี่ยส่วนอับเรณูทิ้ง ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า เมื่อเห็นภาพกลุ่มเรณูชัดเจน จึงเคลือบขอบกระจกสไลด์ด้วยน้ำยาเคลือบเล็บให้สนิท เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำ และนำไปถ่ายภาพและบันทึกลักษณะรูปร่างของเรณู

7.2 การศึกษาความมีชีวิต และการงอกของเรณู

นำกล้วยไม้ลิ้นมังกร ดอกสีชมพู ใน 4 ระยะการบานได้แก่ ระยะก่อนดอกบาน 1 วัน (ดอกตูมระยะสุดท้าย) ระยะดอกบาน ระยะหลังดอกบาน 1 วัน และระยะหลังดอกบาน 2 วัน ทดสอบความมีชีวิตของเรณูด้วยการย้อมสี (straining method) โดยการดึงอับเรณูของดอกแต่ละระยะมาวางบนสไลด์ แล้วย้อมด้วยสีอะซีโตคาร์มีน (acetocarmine) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1-2 หยด จากนั้นใช้ปากคีบขยี้เบาๆ เพื่อให้เรณูกระจายทั่วสีย้อม แล้วปิดด้วยแผ่นกระจกปิดสไลด์ (cover slip) โดยไม่ให้มีฟองอากาศ ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที เพื่อให้ละอองเรณูติดสีได้ดีขึ้น จากนั้นสุ่มนับการติดสีของเรณูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า เรณูที่มีชีวิตจะย้อมติดสีเข้มสม่ำเสมอ ผิวเรียบ และรูปร่างไม่บิดเบี้ยว ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ โดยในแต่ละซ้ำทำการสุ่มนับ 4 บริเวณต่อสไลด์ (microscopic field)

ทดสอบการงอกของเรณูด้วยเทคนิคหยดแขวน (hanging drop technique) โดยใช้อาหารสังเคราะห์สำหรับเลี้ยงละอองเกสร ที่ประกอบด้วย H_3BO_3 100 ppm, $Ca(NO_3)_2.4H_2O$ 300 ppm, $MgSO_4.7H_2O$ 200

ppm, KNO_3 100 ppm (Brewbaker and Kwack, 1963) ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ โดยนำละอองเกสรมาใส่อาหารสังเคราะห์ บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 ชั่วโมง จากนั้นนำมาสุ่มนับจำนวนละอองเกสรที่งอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ โดยในแต่ละซ้ำทำการสุ่มนับ 4 บริเวณต่อสไลด์

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความงอก} = \frac{\text{จำนวนกลุ่มเรณูย่อยที่งอก}}{\text{จำนวนกลุ่มเรณูย่อยที่สุ่มนับ}} \times 100$$

7.3 ศึกษาอายุเก็บเกี่ยวฝักที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเมล็ดในห้องปลอดเชื้อ

ศึกษาอายุของฝักของกล้วยไม้ลิ้นมังกรที่เหมาะสมในการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ โดยการวางแผนการทดลองแบบ RBC มี 5 กรรมวิธีได้แก่ ฝักกล้วยไม้ที่มีอายุ 39 40 41 42 43 และ 44 วัน จำนวน 4 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำมี 20 ฝัก และเพาะฝักละ 2 ขวด โดยทำการผสมตัวเองแล้วเก็บเกี่ยวฝักตามอายุที่กำหนด และนำมาเพาะในสภาพปลอดเชื้อ จากนั้นนำไปวางไว้ในที่มืดในห้องที่เพาะเลี้ยง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

7.4 ศึกษาจำนวนฝักที่เหมาะสมในการผสมพันธุ์

ศึกษาจำนวนฝักต่อช่อที่เหมาะสมในการผสมพันธุ์ ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 1 ต้น ได้แก่ โดยการผสมข้ามต้น (ใช้เกสรจากต้นอื่น) และปล่อยให้ติดฝัก จำนวน 2 4 6 8 และ 10 ฝักต่อต้น ตามลำดับ หลังจากผสม 45 วัน ทำการเก็บเกี่ยวฝัก และนำมานับจำนวนเมล็ด โดยแยกเป็นจำนวนเมล็ดดี จำนวนเมล็ดฝ่อ และจำนวนเมล็ดทั้งหมด

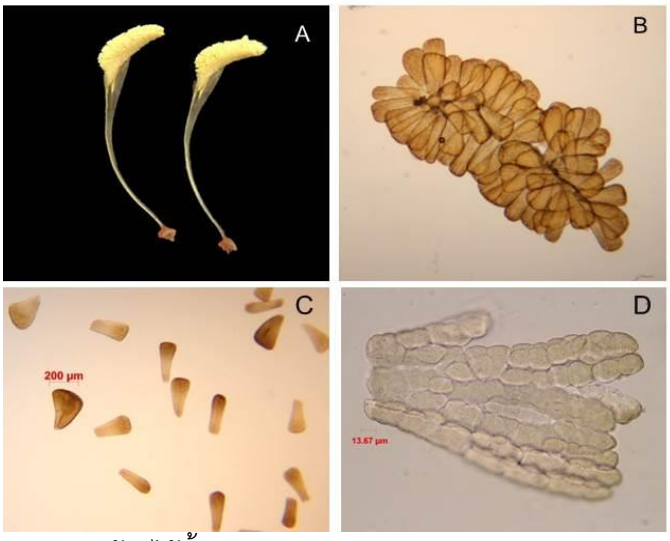
- เวลา	เริ่มต้น ตุลาคม 2558 สิ้นสุด กันยายน 2561
- สถานที่ดำเนินการทดลอง	ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร และสถาบันวิจัยพืชสวน

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

8.1 ชีววิทยาของดอกกล้วยไม้ลิ้นมังกร

ดอกกล้วยไม้ลิ้นมังกรสีชมพู มีช่อดอกเป็นแบบกระจะ (spike) ออกดอกที่ปลายยอด โดยบานจากโคนสู่ปลายยอด กลีบนอกบนมีสีเขียวปนชมพู (Grayish yellow green A) กลีบดอกสีชมพูอ่อน (Light purplish pink D) ส่วนโคนกลีบดอกมีสีชมพูเข้ม (Strong pink D) เดือยสีชมพูปนเขียว (Greyish reddish orange C) รังไข่มีสีชมพูปนเขียว (Greyish reddish orange B) มีเกสรตัวเมีย (stigma) 2 อัน มีลักษณะคล้ายงวงเล็กๆ ยื่นออกมาด้านข้างทั้งสองด้านของเส้าเกสร เกสรตัวผู้ก้านชูละอองเกสร (caudicle) เส้นบางใส และตุ่มเหนียวสีแดง (viscidium) ยื่นออกมา

ดอกกล้วยไม้ลิ้นมังกรมีเส้าเกสรที่ประกอบด้วยกลุ่มเรณู (pollinia) ข้างละ 1 ชุด รูปร่างคล้ายไข่ปลา (ภาพที่ 1 A) เมื่อนำมาตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า ในแต่ละกลุ่มเรณูประกอบด้วยกลุ่มเรณูย่อย (massula) จำนวนมาก ประมาณ 300-600 อัน เรียงตัวในแนวตั้งบนแผ่นยึด (ภาพที่ 1 B) ส่วนใหญ่จะมีรูปร่างแบบแบนหนา (tabula) รูปลูกแพร์ (piriform) และรูปร่างไม่แน่นอน (acalymmate) แต่ละกลุ่มเรณูมีรูปร่างโดยประมาณคือ กว้าง 50-200 ไมโครเมตร ยาว 100-200 ไมโครเมตร (ภาพที่ 1 C) และในแต่ละกลุ่มเรณูย่อยก็ประกอบด้วยเรณู (pollen grain/pollen unit) ประมาณ 100-200 อัน ยึดติดกันเป็นก้อน แต่ละเรณูมีขนาดประมาณ 15-20 ไมโครเมตร (ภาพที่ 1 D)



ภาพที่ 1 ลักษณะเกสรของดอกกล้วยไม้ลิ้นมังกร (A) กลุ่มเรณูย่อย (massula) (B และ C) และ ละอองเรณู (pollen grain) (D)

8.2 สัณฐานวิทยา ความมีชีวิต และความงอกของเรณูกล้วยไม้ลิ้นมังกร

การทดสอบความมีชีวิตของกลุ่มเรณูย่อยของกล้วยไม้ลิ้นมังกรที่ระยะก่อนดอกบานหนึ่งวัน ระยะดอกบาน ระยะดอกบาน 1 วัน และระยะดอกบาน 2 วัน โดยการย้อมด้วยสีอะซีโตคาร์มีน พบว่า เรณูย่อยมีชีวิต 92.3-95.0 เปอร์เซ็นต์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ส่วนการทดสอบความงอกของกลุ่มเรณู สังเกตเห็นกลุ่มหลอดละอองเรณูงอก (pollen tube) แทงทะลุผ่านกลุ่มเรณูย่อยออกมาหลังบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 14 ชั่วโมง ในน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 2) เมื่อนำไปนับและคำนวณเปอร์เซ็นต์การงอกของเรณู พบว่า ช่วงก่อนดอกบาน 1 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอกของกลุ่มเรณูย่อยต่ำที่สุด คือ 9.8 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นเพิ่มขึ้นเป็น 21.0 เปอร์เซ็นต์ ในระยะดอกบาน และมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดในช่วงหลังจากดอกบาน 1-2 วัน โดยมีการงอกของกลุ่มเรณูย่อย 49.0 และ 58.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ภาพที่ 2 การงอกของหลอดละอองเรณูแทงทะลุผ่านกลุ่มเรณูย่อย เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 5 %

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตและการงอกของกลุ่มเรณูย่อย ของกล้วยไม้ลิ้นมังกรดอกสีชมพูที่ระยะการบานของดอกแตกต่างกัน

กรรมวิธี	ความมีชีวิตของเรณู (%)	การงอกของเรณู (%)
ระยะก่อนดอกบาน 1 วัน	92.3	9.8 b
ระยะดอกบาน	95.0	21.0 b
ระยะหลังดอกบาน 1 วัน	93.0	49.0 a
ระยะหลังดอกบาน 2 วัน	92.4	58.5 a
CV (%)	3.7	21.7

ตัวเลขที่ตามหลังด้วยอักษรที่เหมือนกันแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

7.3 ศึกษาอายุเก็บเกี่ยวฝักที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเมล็ดในห้องปลอดเชื้อ

การศึกษาอายุฝักที่เหมาะสมในการเพาะเมล็ด โดยเก็บฝักที่อายุฝัก 38, 39, 40, 41, 42, 43 และ 44 วัน พบว่า ฝักอายุ 44 วัน มีความกว้างฝักมากที่สุดไม่ต่างจากฝักอายุ 43 วัน แต่แตกต่างทางสถิติกับฝักที่อายุ 38-42 วัน ส่วนความยาวฝัก พบว่า แต่อายุเก็บเกี่ยวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อนำไปเพาะในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า เมล็ดเริ่มงอกในช่วงเดือนที่ 2 ซึ่งจะมีลักษณะเป็นตุ่มสีขาว และรากสีขาวงอกออกมา และเริ่มเปลี่ยนเป็นหน่อสีขาว ตามลำดับ โดยฝักที่อายุ 41 วัน หลังผสมเกสร มีจำนวนต้นที่งอกต่อขวดมากที่สุด โดยในเดือนที่ 6 มีการงอก 11.60 ต้นต่อขวด ส่วนฝักที่มีอายุ 44 วันหลังผสมเกสร มีจำนวนต้นต่อขวดต่ำที่สุด โดยในเดือนที่ 6 มีการงอก 1.00 ต้นต่อขวด (ตางรางที่ 2)

ตารางที่ 2 ความกว้างฝัก และความยาวฝักของกล้วยไม้ลิ้นมังกรที่อายุ 38 ถึง 44 วันหลังผสมเกสร

กรรมวิธี	ความกว้างฝัก	ความยาวฝัก	จำนวนต้นที่งอกต่อขวดหลังเพาะ				
	(มม.)	(มม.)	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน
อายุฝัก 38 วัน	4.29 b	32.7	1.75	2.40	3.00	3.80	4.00
อายุฝัก 39 วัน	4.24 b	29.6	4.10	4.30	4.70	4.10	4.00
อายุฝัก 40 วัน	4.20 b	29.4	2.83	3.10	3.11	3.20	5.00
อายุฝัก 41 วัน	4.26 b	27.6	8.80	12.00	11.10	12.70	11.60
อายุฝัก 42 วัน	4.31 b	30.3	1.00	1.80	1.80	1.80	2.30
อายุฝัก 43 วัน	4.41 ab	30.4	2.30	4.30	4.60	4.90	4.70
อายุฝัก 44 วัน	4.73 a	27.1	0.00	1.00	1.00	1.00	1.00
% cv	6.58	8.94	-	-	-	-	-

ตัวเลขที่ตามหลังด้วยอักษรที่เหมือนกันแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 3 การงอกของเมล็ดกล้วยไม้ลิ้นมังกรที่อายุ 38 ถึง 44 วันหลังผสมเกสร หลังจากเพาะในเดือนที่ 2 ถึง 6

กรรมวิธี	จำนวนขวดที่มีการงอกของเมล็ด				
	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน
อายุฝัก 38 วัน	4	5	5	5	4
อายุฝัก 39 วัน	16	18	20	23	24
อายุฝัก 40 วัน	6	8	9	9	9
อายุฝัก 41 วัน	13	14	17	15	15
อายุฝัก 42 วัน	3	4	5	5	4
อายุฝัก 43 วัน	7	9	8	9	9
อายุฝัก 44 วัน	0	1	1	1	1

8.4 ศึกษาจำนวนฝักที่เหมาะสมในการผสมพันธุ์

หลังจากผสมและให้ติดฝัก จำนวน 2 4 6 8 และ 10 ฝักต่อต้น ทำการเก็บเกี่ยวฝักแล้วนำมานับเมล็ดโดยแยกเป็นเมล็ดดี เมล็ดฝ่อ และจำนวนเมล็ดทั้งหมด พบว่า การผสมและให้ติดเมล็ด 2 ฝักต่อต้น มีจำนวนเมล็ดดี และจำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อฝักมากที่สุด คือ 2,800 และ 4,380 เมล็ด ตามลำดับ และมีสัดส่วนเมล็ดดีต่อเมล็ดฝ่อเท่ากับ 1.8 : 1 การผสมและให้มีติดเมล็ด 4 ฝักต่อต้น มีจำนวนเมล็ดดีและเมล็ดรวม เท่ากับ 1,047 และ 1,291 เมล็ด ตามลำดับ และมีสัดส่วนเมล็ดดีต่อเมล็ดฝ่อ เท่ากับ 1.0 : 1.2 การผสมและให้ติดเมล็ด 6 ฝักต่อต้น มีจำนวนเมล็ดดีและเมล็ดรวม เท่ากับ 1,334 และ 2,407 เมล็ด มีสัดส่วนเมล็ดดีต่อเมล็ดฝ่อ

เท่ากับ 1.2 : 1.0 การผสมและให้ติดเมล็ด 8 ฝักต่อต้น มีจำนวนเมล็ดดีและเมล็ดทั้งหมด เท่ากับ 1,611 และ 2,946 เมล็ด มีสัดส่วนเมล็ดดีต่อเมล็ดฝ่อ เท่ากับ 1.2 : 1.0 และเมื่อมีการผสมและให้ติดเมล็ด 10 ฝักต่อต้น มีจำนวนเมล็ดดีและเมล็ดทั้งหมด เท่ากับ 1,936 และ 3,174 เมล็ด มีสัดส่วนเมล็ดดีต่อเมล็ดฝ่อ เท่ากับ 1.6 : 1.0 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 จำนวนเมล็ดของกล้วยไม้ลิ้นมังกร จากต้นที่มีการผสมและปล่อยให้ติดฝัก 2 4 6 8 และ 10 ฝักต่อต้น

จำนวนฝักต่อต้น	จำนวนเมล็ดดี	จำนวนเมล็ดฝ่อ	จำนวนเมล็ดทั้งหมด	สัดส่วนเมล็ดดี : เมล็ดฝ่อ
2	2,800	1,580	4,380	1.8 : 1.0
4	1,047	1,291	2,336	1.0 : 1.2
6	1,334	1,073	2,407	1.2 : 1.0
8	1,611	1,335	2,946	1.2 : 1.0
10	1,936	1,238	3,174	1.6 : 1.0

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ดอกกล้วยไม้ลิ้นมังกรเป็นดอกสมบูรณ์เพศที่มีเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน เมื่อศึกษาสัณฐานวิทยาของละอองเกสร พบว่า กลุ่มเรณูย่อยมีรูปร่างคล้ายคลึงกันกับกล้วยไม้ดินที่อยู่ในชนิดเดียวกัน โดยในการผสมพันธุ์ควรเลือกใช้ดอกที่มีการบานแล้ว 1 ถึง 2 วัน เนื่องจากมีการงอกของหลอดละอองเรณูสูงมากกว่าดอกในระยะก่อนบานและดอกที่บาน โดยละอองเกสรยังคงมีปริมาณมากอยู่ และเมื่อทำการผสมแล้วควรทำการเก็บเกี่ยวเมื่อฝักมีอายุ 41 วันหลังผสม โดยลักษณะฝักไม่อ่อนและไม่แก่จนเกินไป และเมื่อนำไปเพาะมีการงอกของเมล็ดสูงที่สุด โดยสามารถผสมและปล่อยให้ติดฝักได้ตั้งแต่ 2 -10 ฝักต่อต้น เนื่องจากในแต่ละฝักมีจำนวนเมล็ดดีค่อนข้างสูง

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ข้อมูลจากการวิจัยในครั้งนี้ สามารถนำไปใช้สำหรับนักปรับปรุงพันธุ์ในการวางแผนการผสมพันธุ์และขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่จากศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการอำนวยความสะดวกในการปลูกกล้วยไม้ลิ้นมังกร การใช้เครื่องมือ ตลอดจนการบันทึกข้อมูล จนการทดลองสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

12. เอกสารอ้างอิง

ปิยะนุช ปิยะตระกูล. 2547. ปัจจัยที่มีผลต่อการงอกและการพัฒนาต้นอ่อนของกล้วยไม้ดินลิ้นมังกร (*Habenaria rhodocheila* Hance). วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วัชราภรณ์ ชนะเคน. 2550. ลักษณะและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินบางชนิด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาพืชสวน. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 178 หน้า.

ศิรัชตนันท์ โรจนวิจิตร ปิยนุช ศรชัย ดวงกมล สัมฤทธินันท์ หนึ่งฤทัย เดชสังกรานนท์ บุบผา คงสมัย และเสริมศิริ จันทร์เปรม. 2559. เทคนิคสำหรับการแยกและการทดสอบความงอกของเรณูกล้วยไม้สกุลหวายบางชนิด. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 47(3): 305-316.

Brewbaker, J.L. and B.H. Kwack. 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. American Journal of Botany 50(9): 859-865.

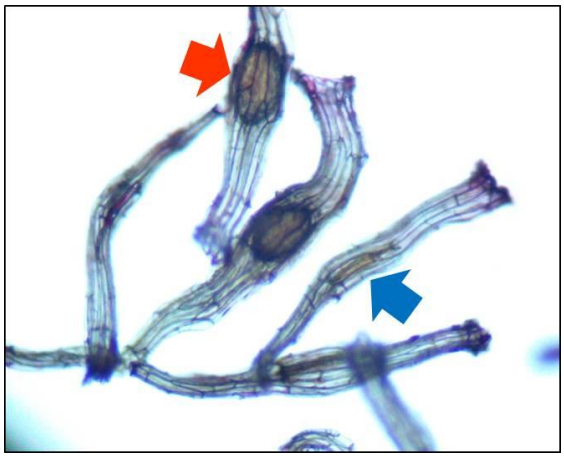
Devrnja, N., J. Milojevic, L. Tubic, S. Zdravkovic-Koric, A. Cingel and D. Calic. 2012. Pollen morphology, viability, and germination of *Tanacetum vulgare* L. Hort Science 47(3): 440-442.

Lin Liu. 2016. Ultramicroscopic characterization of mature pollen grains of Habenaria sagittifera. Horticultural Plant Journal 2(1):50-54

Passarelli L. M. and C. H. Rolleri. 2010. Pollen grains and massulae in pollinia of four South American palustrine species of Habenaria (Orchidaceae). Grana 49: 47-55.

Pacini, E. and M. Hesse. 2002. Types of pollen dispersal units in orchids, and their consequences for germination and fertilizer. Annals of Botany 89: 653-664.

13. ภาคผนวก



ภาพผนวกที่ 1 ลักษณะเมล็ดกล้วยไม้ลิ้นมังกร เมล็ดดี (ลูกศรสีแดง) และเมล็ดฝ่อ (ลูกศรสีน้ำเงิน)

ตารางผนวกที่ 1 สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ลิ้นมังกรในสภาพปลอดเชื้อ

สารเคมี	ปริมาณ
VW + น้ำมะพร้าว	150 มิลลิลิตร/ลิตร
peptone	1 กรัม/ลิตร
น้ำตาล	20 กรัม/ลิตร
วุ้น	8 กรัม/ลิตร (pH 5.7)

หมายเหตุ VW= vacin and went