

การเกิดเมกะสปอร์ การเกิดเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย และการเกิดเอ็มบริโอในกล้วยไม้ดินอึ้งนวล

(*Eulophia herbacea* Lindl.)

Megasporogenesis, Megagametogenesis and Embryogenesis of

Eulophia herbacea Lindl.

นราศักดิ์ ศรียศ (Narasak Sriyot)* อัจฉรา ธรรมถาวร (Achra Thammathaworn)**

บทคัดย่อ

ศึกษาการเกิดเมกะสปอร์ การเกิดเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย และการเกิดเอ็มบริโอในกล้วยไม้ดินอึ้งนวล (*Eulophia herbacea* Lindl.) โดยใช้เทคนิคการทำให้ตัวอย่างพืชใส พบว่าอวูลเป็นแบบคว่ำ มีผนังอวูล 2 ชั้น และเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ (megaspore mother cell) อยู่ติดนิวเคลียส (tenuinucellate) ไข่เอ็มบริโอเกิดจาก 2 สปอร์ แบบ *Allium* type หรือเกิดจาก 1 สปอร์ แบบ *Polygonum* type ปรากฏการณ์สไตรค์ (strike phenomenon) ทำให้ได้ไข่เอ็มบริโอที่เจริญเต็มที่ 6 นิวเคลียส หลอดเรณูเจริญเข้าสู่ไข่เอ็มบริโอทางไมโครไพล์ (micropyle) ไซโกตแบ่งเซลล์ตามขวางได้โพเอ็มบริโอระยะ 2 เซลล์ (two-celled proembryo) ที่ประกอบด้วยเซลล์ฐานที่มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ปลาย โพเอ็มบริโอในระยะ 4 เซลล์เป็นรูปแบบสมมาตร แกนยึดเอ็มบริโอมี 4 เซลล์ โดย 2 เซลล์เจริญไปทางด้านไมโครไพล์ ส่วนอีก 2 เซลล์เจริญไปทางด้านฐานอวูล เอนโดสเปิร์มเป็นแบบนิวเคลียส (nuclear endosperm) เมื่อเมล็ดเจริญเต็มที่ประกอบด้วยเอ็มบริโอรูปกลมที่มีคลอโรฟิลล์ ไม่มีใบเลี้ยง ส่วนแกนยึดเอ็มบริโอและเอนโดสเปิร์มสลายไป

ABSTRACT

The megasporogenesis, megagametogenesis and embryogenesis of *Eulophia herbacea* Lindl. were investigated using clearing technique. The ovules are anatropous, bitegmatic and tenuinucellate. The development of the embryo sacs are bisporic conformed to *Allium* type or monosporic conformed to *Polygonum* type. The six nuclei mature embryo sacs result from the strike phenomena produced reduction of the embryo sac nuclei. The pollen tubes enter the embryo sac through micropyle (porogamy). Two celled proembryo results from transverse division of zygote producing a basal cell that is larger than a terminal one. Four celled proembryo is isobilateral. The suspensor comprises four cells, two cells develop toward the micropylar end and the other to the chalazal end. The mature embryo is globular, chlorophyllous and acotyledonous. The suspensors and nuclear endosperm degenerate at the final stage of ovule development.

คำสำคัญ : การเกิดเมกะสปอร์ การเกิดเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย การเกิดเอ็มบริโอ

Key Words : megasporogenesis, megagametogenesis, embryogenesis

* มหาวิทยาลัย หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

กล้วยไม้ดินอึ่งนวล (*Eulophia herbacea* Lindl.) จัดอยู่ในเผ่าซิมบิเดี (Tribe Cymbidieae) (Dressler, 1993) มีลักษณะวิสัยเป็นกล้วยไม้ดิน ดอกเป็นดอกช่อ กลีบดอกมีสีขาวหรือเหลืองอ่อน ส่วนกลีบเลี้ยงมีสีเขียว มีช่วงการออกดอกในเดือนเมษายน-เดือนพฤษภาคม มีเขตการกระจายพันธุ์ในเขตประเทศไทย อินเดีย พม่า ลาว เวียดนาม จีน ทั่วโลกพบพืชสกุลนี้ประมาณ 200 ชนิด ส่วนในประเทศไทยพบพืชสกุลนี้ 13 ชนิด (Seidenfaden, 1983)

พืชวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) มีความสำคัญในฐานะที่เป็นไม้ดอกไม้ประดับและพืชเศรษฐกิจของไทย และมีลักษณะทางวิทยาเอ็มบริโอที่มีความน่าสนใจเนื่องจากอวูลของพืชในวงศ์กล้วยไม้มีพัฒนาการที่ช้ามาก แม้ออกบานเต็มที่แล้วอวูลก็ยังอยู่ในระยะเซลล์อาร์คีสปอร์ (archesporial cell) อวูลจะมีการเจริญต่อไปได้เมื่อได้รับการถ่ายเรณูเท่านั้น ถุงเอ็มบริโอ (embryo sac) มีทั้งแบบที่เกิดจาก 1 สปอร์ (monosporic) 2 สปอร์ (bisporic) และ 4 สปอร์ (tetrasporic) และมีความหลากหลายในชนิดของแกนยึดเอ็มบริโอ (suspensor) การเกิดแอโพมิกซิส (apomixis) และการมีหลายเอ็มบริโอ (polyembryony) (Swamy, 1943a, 1949) การศึกษาวิทยาเอ็มบริโอใน *E. epidendrea* (Swamy, 1943b) พบว่าถุงเอ็มบริโอเกิดจาก 1 สปอร์ ถุงเอ็มบริโอที่เจริญเต็มที่ มี 7 นิวเคลียส ซึ่งเกิดจากการแบ่งเซลล์ที่ผิดปกติของถุงเอ็มบริโอในระยะ 4 นิวเคลียส เรียกว่า เกิดปรากฏการณ์สไตรค์ (strike phenomenon) และใน *E. dabia* (Vij and Sharma, 1986 อ้างตาม Sood, 1992) พบว่าถุงเอ็มบริโอเกิดจากทั้ง 1 สปอร์ และ 2 สปอร์ การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาการเกิดเมกะสปอร์ การเกิดเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย และการเกิดเอ็มบริโอ ในกล้วยไม้ดินอึ่งนวล ซึ่งข้อมูลที่ได้ในครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการอนุรักษ์พันธุ์ การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ชนิดนี้ สำหรับเกษตรกร และ

นักวิชาการพืชสวน และสามารถนำไปใช้กับงานด้านอนุกรมวิธานพืชได้อีกด้วย (Maheshwari, 1950 และ Johri et al., 1992)

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

เก็บตัวอย่างอึ่งนวล (*Eulophia herbacea* Lindl.) จากสวนป่านัญจาศิริ อำเภอมัญจาคีรี จังหวัดขอนแก่น นำมาปลูกอยู่ที่แปลงปลูกพืชทดลอง ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ก่อนการศึกษาการเกิดเมกะสปอร์ การเกิดเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย และการเกิดเอ็มบริโอ ต้องทำการถ่ายเรณูด้วยมือเสียก่อน โดยดอกจะมีช่วงของการบานตั้งแต่เวลา 4.00 น.-10.00 น. เมื่อดอกบานเต็มที่ ทำการทดสอบการยอมรับเรณูของยอดเกสรเพศเมียทันทีด้วยการหยดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ลงบนยอดเกสรเพศเมีย (Dafni and Maués, 1998) จากนั้นจึงถ่ายเรณูด้วยมือในดอกที่บานเต็มที่ เก็บฝักที่ได้รับการถ่ายเรณูแล้วทุกๆ 3 วัน จนถึงวันที่ 102 จากนั้นเก็บฝักทุกๆ เดือน จนถึงวันที่ฝักแตก รักษาเซลล์ในฝักด้วยสารละลาย FAA 70% แช่อวูลใน Herr' clearing solution (Herr, 1971) นาน 1 นาที แล้วนำไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ Normaski Interference Contrast

ผลการวิจัย

การเกิดเมกะสปอร์ และการเกิดเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย

อวูลจากรังไข่ที่ได้จากดอกที่บานวันแรกอยู่ในระยะเริ่มเกิด (ovular primordium) ภายในมีเซลล์ที่เรียงกันเป็นแนวแกน 1 แถว ตามความยาวของอวูล ซึ่งเซลล์เหล่านี้มีเนื้อเยื่อชั้นผิวหุ้มไว้ 1 ชั้น (ภาพที่ 1 ก) ส่วนปลายสุดมีเซลล์อาร์คีสปอร์ ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ข้างเคียง (ภาพที่ 1 ข) หลังการถ่ายเรณู อวูลจะมีการเจริญต่อไป กล่าวคือเนื้อเยื่อชั้นผิวเริ่มมีการแบ่งเซลล์ให้ได้หลายชั้นเซลล์ และเจริญต่อไปเป็นผนังอวูล (integument) (ภาพที่ 1 ค และ ง) เซลล์อาร์

ทีสปอร์เจริญไปเป็นเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ (megaspore mother cell) โดยตรงโดยไม่มีการแบ่งเซลล์ ออวุลเริ่มค้ำลง (ภาพที่ 3 ค) หลังการถ่ายเรณูได้ 33 วัน ออวุลจึงจะอยู่ในระยะที่เจริญเต็มที่ ซึ่งพบว่าออวุลเป็นแบบคว่ำ (anatropous) มีผนังออวุล 2 ชั้น (bitegmic) ผนังออวุลชั้นในทำให้เกิดไมโครไพล์ (micropyle) และเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์อยู่ติดนิวเคลียส (tenuinucellate) (ภาพที่ 1 จ) เมื่อเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์อยู่ในระยะโปรเฟส I ผนังออวุลชั้นใน (inner integument) จึงเจริญมาหุ้มนิวเคลียสไว้หมด (ภาพที่ 1 ฉ)

รูปแบบการเกิดเมกะสปอร์ และการเกิดเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียในกล้วยไม้ดินอิงนวลมี 3 รูปแบบ ดังนี้

รูปแบบที่ 1 ถุงเอ็มบริโอเกิดจาก 2 เมกะสปอร์ (bisporic) และมีรูปแบบ *Allium* type เมื่อเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์แบ่งเซลล์แบบไมโอซิส I ได้เซลล์ 2 เซลล์ที่อยู่ติดกันเรียก ไดแอด (dyad) มีผนังเซลล์กั้นเซลล์ทั้งสองแยกออกจากกันอย่างชัดเจน (ภาพที่ 2 ก) จากนั้นเซลล์ที่อยู่ทางด้านไมโครไพล์ (micropylar dyad) สลายไปเห็นร่องรอยเป็นรูปสามเหลี่ยม (ภาพที่ 2 ข) ส่วนเซลล์ที่อยู่ทางด้านฐานออวุล (chalazal dyad) จะแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส II (ภาพที่ 2 ค) ได้ นิวเคลียสของเมกะสปอร์ 2 นิวเคลียส (megaspore nucleus) จากนั้นมีแวคิวโอลเกิดขึ้นตรงกลางถุงเอ็มบริโอ (embryo sac) ทำให้นิวเคลียสทั้งสองถูกแยกออกจากกันไปอยู่คนละขั้วของถุงเอ็มบริโอ (ภาพที่ 3 ค) นิวเคลียสทั้งสองจะแบ่งนิวเคลียสแบบไมโทซิส 1 ครั้ง เกิดเป็นถุงเอ็มบริโอในระยะ 4 นิวเคลียส (ภาพที่ 3 ง) จากนั้น 2 นิวเคลียสทางด้านไมโครไพล์จะแบ่งนิวเคลียสแบบไมโทซิสอีก 1 ครั้ง ส่วนอีก 2 นิวเคลียสทางด้านฐานออวุลจะไม่มีการแบ่ง ดังนั้นถุงเอ็มบริโอที่เจริญเต็มที่ประกอบไปด้วย 6 นิวเคลียส เรียกการลดจำนวนนิวเคลียสของถุงเอ็มบริโอว่าปรากฏการณ์สไตรค์ โดย 1 นิวเคลียสทางด้านฐาน

ออวุล เจริญไปเป็นแอนติโพดัล (antipodal) และ 1 นิวเคลียสทางด้านไมโครไพล์ เจริญไปเป็นเซลล์ไข่ (egg cell) อีก 2 นิวเคลียสเจริญไปเป็นซินเนอร์จิสต์ (synergid) ส่วนอีก 2 นิวเคลียสที่อยู่กลางถุงเอ็มบริโอทำหน้าที่เป็นโพลาร์นิวเคลียส (polar nucleus) และมีการรวมตัวกันเพื่อพัฒนาไปเป็นเซลล์กลาง (central cell) (ภาพที่ 4 ก) ก่อนที่จะเกิดการปฏิสนธิ

รูปแบบที่ 2 ถุงเอ็มบริโอเกิดจาก 1 เมกะสปอร์ (monosporic) และมีรูปแบบ *Polygonum* type ที่มีไตรแอด (triad) รูปแบบนี้พบน้อยกว่ารูปแบบที่ 1 เมื่อเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์แบ่งเซลล์แบบไมโอซิส I ได้ 2 เซลล์แล้ว เซลล์ที่อยู่ทางด้านไมโครไพล์จะสลายไป ส่วนเซลล์ที่อยู่ทางด้านฐานออวุล แบ่งเซลล์แบบไมโอซิส II (ภาพที่ 2 ค) ได้เซลล์เมกะสปอร์ 2 เซลล์มีผนังกั้นเซลล์ทั้งสองให้แยกกันอย่างชัดเจน (ภาพที่ 2 ง และ จ) ระยะนี้เห็นถุงเอ็มบริโอมี 3 เซลล์เรียงต่อกัน เรียก ไตรแอด คือประกอบไปด้วยเซลล์เมกะสปอร์ 2 เซลล์และเซลล์ของไดแอดที่นิวเคลียสสลายไปอีก 1 เซลล์ จากนั้นเซลล์เมกะสปอร์ที่อยู่ทางด้านไมโครไพล์สลายไป 1 เซลล์ เหลือ 1 เซลล์เมกะสปอร์ที่ทำหน้าที่ต่อไป (functioning megaspore) (ภาพที่ 2 ฉ) จากนั้นมีการแบ่งนิวเคลียสแบบไมโทซิส 1 ครั้ง ได้ถุงเอ็มบริโอที่มี 2 นิวเคลียส และเห็นเซลล์ที่สลายไปแยกเป็น 2 กลุ่ม คือเซลล์ของไดแอดที่อยู่ทางด้านไมโครไพล์และเซลล์ของเมกะสปอร์ (ภาพที่ 3 ข) จากนั้นจะมีการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสอีก 2 ครั้ง ได้ถุงเอ็มบริโอที่เจริญเต็มที่ประกอบไปด้วย 6 นิวเคลียส

รูปแบบที่ 3 ถุงเอ็มบริโอเกิดจาก 1 เมกะสปอร์ (monosporic) และมีรูปแบบ *Polygonum* type ที่มีเมกะสปอร์กุ่มสี่ (megaspore tetrad) รูปแบบนี้พบน้อยกว่าอีกสองรูปแบบที่กล่าวมาแล้ว เมื่อเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์แบ่งเซลล์แบบไมโอซิส I ได้ 2 เซลล์แล้ว ทั้งสองเซลล์จะแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส II ได้เซลล์เมกะสปอร์ 4 เซลล์เรียงตัวกันเป็นรูปตัวที (T-shape) (ภาพที่ 3 ก) จากนั้น 3 เซลล์ที่อยู่ทางด้านไม

โครไฟลัสลายไป เหลือ 1 เซลล์เมกะสปอร์ที่ทำหน้าที่ต่อไป และมีการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสอีก 3 ครั้ง ได้ถุงเอ็มบริโอที่เจริญเต็มที่ประกอบไปด้วย 6 นิวเคลียส

การเกิดเอ็มบริโอ

การปฏิสนธิจะเกิดขึ้นประมาณวันที่ 36-39 หลังการถ่ายเรณู โดยหลอดเรณู (pollen tube) (ภาพที่ 3 จ) ซึ่งประกอบไปด้วย 3 นิวเคลียส ได้แก่ 2 นิวเคลียสที่มีรูปร่างรีหรือรูปไข่ ทำหน้าที่เป็นสเปิร์ม ส่วนอีก 1 นิวเคลียส ที่มีการขยายขนาดขึ้น มีรูปร่างรีและยาวซึ่งทำหน้าที่เป็นนิวเคลียสไม่เกี่ยวกับเพศ (vegetative nucleus) หลอดเรณูเจริญไปตามก้านออวุล (funiculus) และแทรกเข้าสู่ช่องว่างระหว่างผนังออวุลชั้นในทั้งสอง เข้าสู่ถุงเอ็มบริโอทางด้านไมโครไฟลัส เรียกกระบวนการนี้ว่าพอโรแกมี (porogamy) (ภาพที่ 3 ค) เมื่อหลอดเรณูเจริญเข้าสู่ถุงเอ็มบริโอ จะปลดปล่อยไซโทพลาซึมเข้าสู่ถุงเอ็มบริโอ ทำให้เห็นเป็นกลุ่มของสารสีน้ำตาล ซึ่งสารดังกล่าวอาจมีส่วนช่วยในการเคลื่อนที่ของสเปิร์ม โดย 1 สเปิร์มจะเข้าผสมกับเซลล์ไข่ได้ไซโกต และอีก 1 สเปิร์มจะเข้าผสมกับเซลล์กลางได้เป็นเอนโดสเปิร์ม ในระยะที่เกิดการปฏิสนธินี้ แอนติโพแดลยังปรากฏให้เห็นอยู่ (ภาพที่ 4 ก) จนเมื่ออยู่ในระยะไซโกต แอนติโพแดลก็จะสลายไป (ภาพที่ 4 ข)

ไซโกตจะมีการแบ่งเซลล์ตามขวางได้ 2 เซลล์คือ เซลล์ฐาน (basal cell) และเซลล์ปลาย (terminal cell) ที่มีขนาดไม่เท่ากัน โดยเซลล์ฐานจะมีขนาดใหญ่กว่า และมีแวคิวโอลดันให้นิวเคลียสไปอยู่ทางด้านฐานออวุล (ภาพที่ 4 ค) จากนั้นเซลล์ฐานจะแบ่งเซลล์ตามยาว ได้เอ็มบริโอในระยะ 3 เซลล์ โดยเซลล์ที่ได้จากการแบ่งมีขนาดค่อนข้างเท่ากัน เอนโดสเปิร์มมีการแบ่งนิวเคลียสและขยายขนาดใหญ่มากกว่าเดิม 3-4 เท่า โดยเอนโดสเปิร์มมีลักษณะไม่เป็นเซลล์ แต่จะพบนิวเคลียสกระจายอยู่ภายในโปรโทพลาซึม เรียกว่าเอนโดสเปิร์มแบบนิวเคลียส

(nuclear endosperm) (ภาพที่ 4 ง) จากนั้นเซลล์ปลายจะมีการแบ่งเซลล์ตามยาวหนึ่งครั้งได้โพเรเอ็มบริโอในระยะ 4 เซลล์ ที่มีรูปร่างแบบสมมาตร หรือแบบ A1 (ภาพที่ 4 จ) ตามการจัดจำแนกของ Veyret (1974) เซลล์ที่อยู่ทางด้านไมโครไฟลัส 2 เซลล์ จะขยายขนาดและมีแวคิวโอลเกิดขึ้นดันนิวเคลียสให้ไปอยู่ทางด้านฐานออวุล เพื่อที่จะพัฒนาไปเป็นแกนยึดเอ็มบริโอ (suspensor) จากนั้นจะมีการแบ่งอีกหลายครั้งและหลายแนว โดยไม่มีรูปแบบที่แน่นอน จนได้เอ็มบริโอที่ประกอบไปด้วยเซลล์เรียงตัวกันหนึ่งแถว และมีแกนยึดเอ็มบริโอขนาดใหญ่ 4 เซลล์ โดย 2 เซลล์เจริญไปทางด้านฐานออวุล ส่วนอีก 2 เซลล์เจริญไปทางด้านไมโครไฟลัส (ภาพที่ 4 ฉ) และมีการพัฒนาไปเป็นเอ็มบริโอรูปกลมที่มีสีเขียวเหลือง มีคลอโรฟิลล์ (chlorophyllous embryo) โดยเซลล์ทางด้านฐานของเอ็มบริโอมีลักษณะโค้งเนื่องจากน้ำหนักของเอ็มบริโอมากกดทับ (ภาพที่ 5 ก) เอ็มบริโอที่เจริญเต็มที่อยู่ในระยะเอ็มบริโอก้อนกลม (globular stage) สีน้ำตาลดำ และไม่มีใบเลี้ยง ส่วนแกนยึดเอ็มบริโอและเซลล์ที่อยู่ทางด้านฐานของเอ็มบริโอจะสลายไป (ภาพที่ 5 ข) เมล็ดที่เจริญเต็มที่ที่มีเปลือกเมล็ดที่ใส มีลวดลายของผิวเคลือบคิวทิน (cuticle) และมีผิวขรุขระ (ภาพที่ 5 ค)

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

การเกิดถุงเอ็มบริโอของกล้วยไม้ในกลุ่มโมแนนเดรีย (monandreae) มักจะเกิดจาก 1 สปอร์ ส่วนในกลุ่มไดแอนเดรีย (diandreae) มักจะเกิดจาก 2 สปอร์ (Johri *et al.*, 1992) กล้วยไม้ดินอึ้งนวลที่ศึกษาในครั้งนี้ จัดอยู่ในกลุ่มโมแนนเดรีย (Dressler, 1993) แต่พบว่าถุงเอ็มบริโอเกิดจาก 2 สปอร์และจาก 1 สปอร์ ซึ่งได้สรุปรูปแบบการเกิดเมกะสปอร์ และการเกิดเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียในกล้วยไม้ดินอึ้งนวลไว้ในภาพที่ 6 ข้อมูลที่ได้จึงน่าสนใจอย่างยิ่งที่จะทำการศึกษาต่อไป เพื่อที่จะเชื่อมโยงไปถึงการจัดจำแนกและการ

ระบุพืชวงศ์กล้วยไม้ให้ใกล้เคียงความเป็นจริงมากที่สุดในอนาคต

การลดจำนวนของนิวเคลียสภายในถุงเอ็มบริโอเกิดจากการที่นิวเคลียสในระยะถุงเอ็มบริโอ 4 นิวเคลียส มีความผิดปกติในการแบ่งเซลล์ ทำให้ได้ถุงเอ็มบริโอที่มี 6 นิวเคลียส เรียกว่าปรากฏการณ์สไตรค์ ซึ่งปรากฏการณ์นี้ยังพบใน *E. epidendrea* นอกจากนี้ยังพบได้ใน *Cirrhopetalum fimbriatum* (Ekanthappa and Arekal, 1977) *Cypripedium cordigerum* (Sood, 1988) และ *Malaxis saprophyta* (Sood, 1992)

Swamy (1949) แบ่งรูปแบบการเกิดเอ็มบริโอของพืชในวงศ์กล้วยไม้ออกเป็นทั้งหมด 3 รูปแบบ ตามแนวการแบ่งตัวของเซลล์ปลายของโพรเอ็มบริโอในระยะ 2 เซลล์ และการเจริญของเซลล์ปลายและเซลล์ฐานไปเป็นเอ็มบริโอ ดังนี้ (1) Group A (Asterad type) คือชนิดที่เซลล์ปลายจะแบ่งเซลล์ตามยาวทำให้ได้เอ็มบริโอที่อยู่ในระยะที่มี 3 เซลล์ จากนั้นเซลล์ฐานจะไม่มีการพัฒนาไปเป็นส่วนหนึ่งของตัวเอ็มบริโอ (2) Group B (Onagrad type) คือชนิดที่เซลล์ปลายจะแบ่งเซลล์ตามยาวทำให้ได้เอ็มบริโอที่อยู่ในระยะ 3 เซลล์ จากนั้นทั้งเซลล์ปลายและเซลล์ฐานจะพัฒนาไปเป็นเอ็มบริโอ (3) Group C (Cymbidium type) คือชนิดที่แนวการแบ่งของเซลล์ทั้งสองของโพรเอ็มบริโอ มีลักษณะที่ต่างไปจาก 2 แบบที่กล่าวข้างต้นซึ่งอิงนวลมีรูปแบบการเกิดเอ็มบริโอแบบ Group C คือมีแนวการแบ่งเซลล์ที่ไม่แน่นอน แต่ในที่สุดก็จะได้เอ็มบริโอก่อนกลมเหมือนกัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ และสถานที่ในการทำวิจัย และโครงการ

พัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ (ทุนเรียนดี วิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย) ที่ให้ทุนสนับสนุน การศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา

เอกสารอ้างอิง

- Dafni, A., and Maués, MM. 1998. A Rapid and Simple Procedure to Determine Stigma Receptivity. *Sex Plant Reprod* 11: 177-180.
- Dressler, RL. 1993. *Phylogeny and Classification of the Orchid Family*. Australia: Cambridge University.
- Ekanthappa, KG., and Arekal, GD. 1977. A Contribution to the Embryology of *Cirrhopetalum fimbriatum* Lindl. *Proc. Indian Acad. Sci.* 86: 211-216.
- Herr, JM., Jr. 1971. A New Clearing Squash Technique for the Study of Ovule Development in Angiosperm. *Amer. J. Bot.* 58: 785-790.
- Johri, BM., Ambegaokar, KB., and Srivastava, PS. 1992. *Comparative Embryology of Angiosperm* Vol. 2. Germany: Springer-Verlag.
- Maheshwari, P. 1950. *An Introduction to the Embryology of Angiosperm*. New Delhi: Tata McGraw-Hill.
- Seidenfaden, G. 1983. *Orchid Genera in Thailand* XI. *Cymbidieae* Pfitz. *Opera Bot.* 72: 1-123.
- Sood, SK., and Rao, PRM. 1988. Studies in the Embryology of the Diandrous Orchid *Cypripedium cordigerum* (Cypripedieae, Orchidaceae). *Pl. Syst. Evol.* 160: 159-168.
- Sood, SK. 1992. Embryology of *Malaxis saprophyta*, with Comments on the Systematic Position of *Malaxis* (Orchidaceae). *Pl. Syst. Evol.* 179: 95-105.

Swamy, BGL. 1943a. Embryology of Orchidaceae.

Current Science 12: 13-17.

Swamy, BGL. 1943b. Gametogenesis and

Embryogeny of *Eulophia epidendrea* Fischer.

Proc. Nat. Inst. Sci. India 9: 59-65.

Swamy, BGL. 1949. Embryological Studies in the

Orchidaceae. II. Embryogeny. American

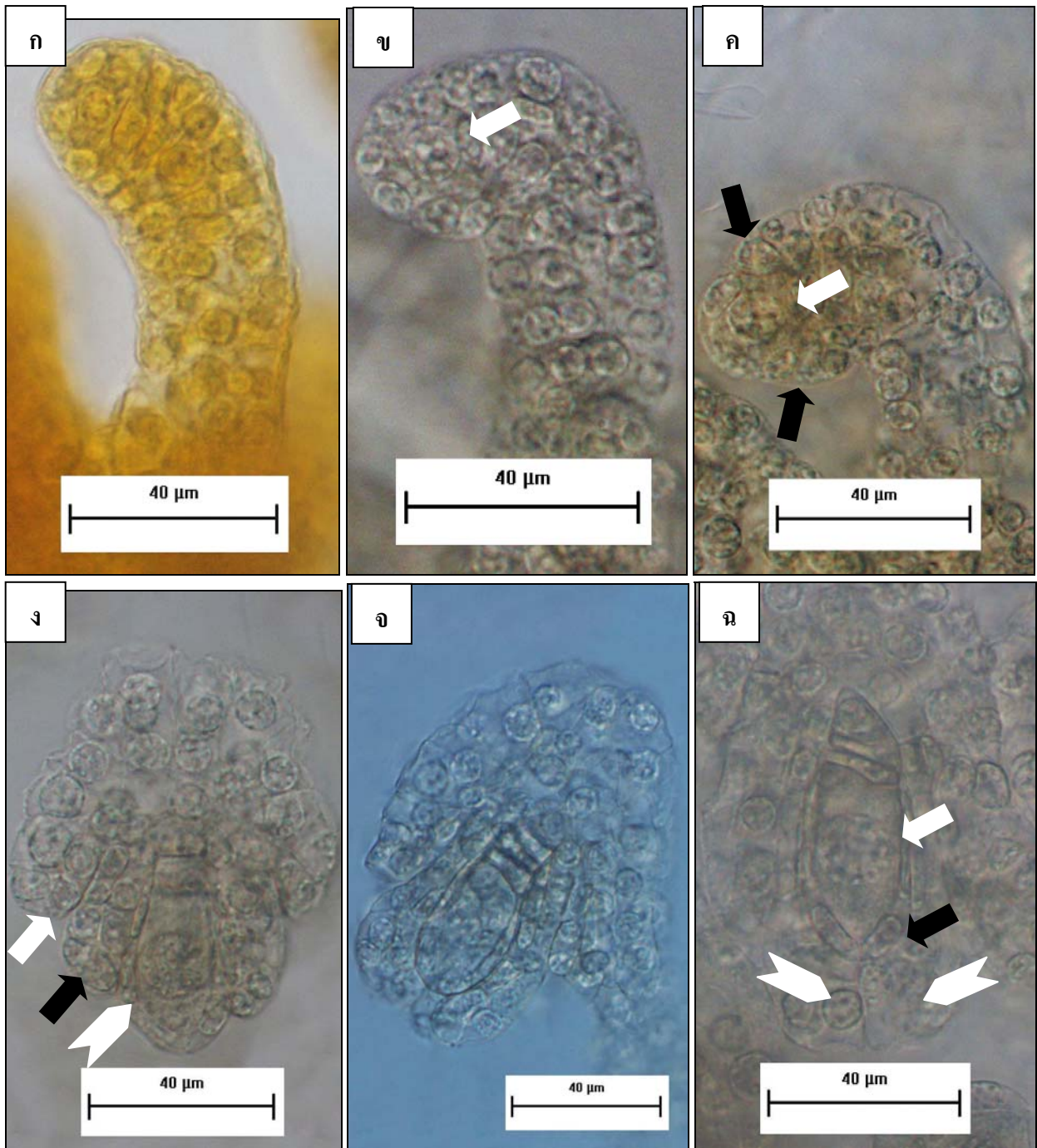
Midland Naturalist 41: 202-232.

Veyret, Y. 1974. Development of the Embryo and

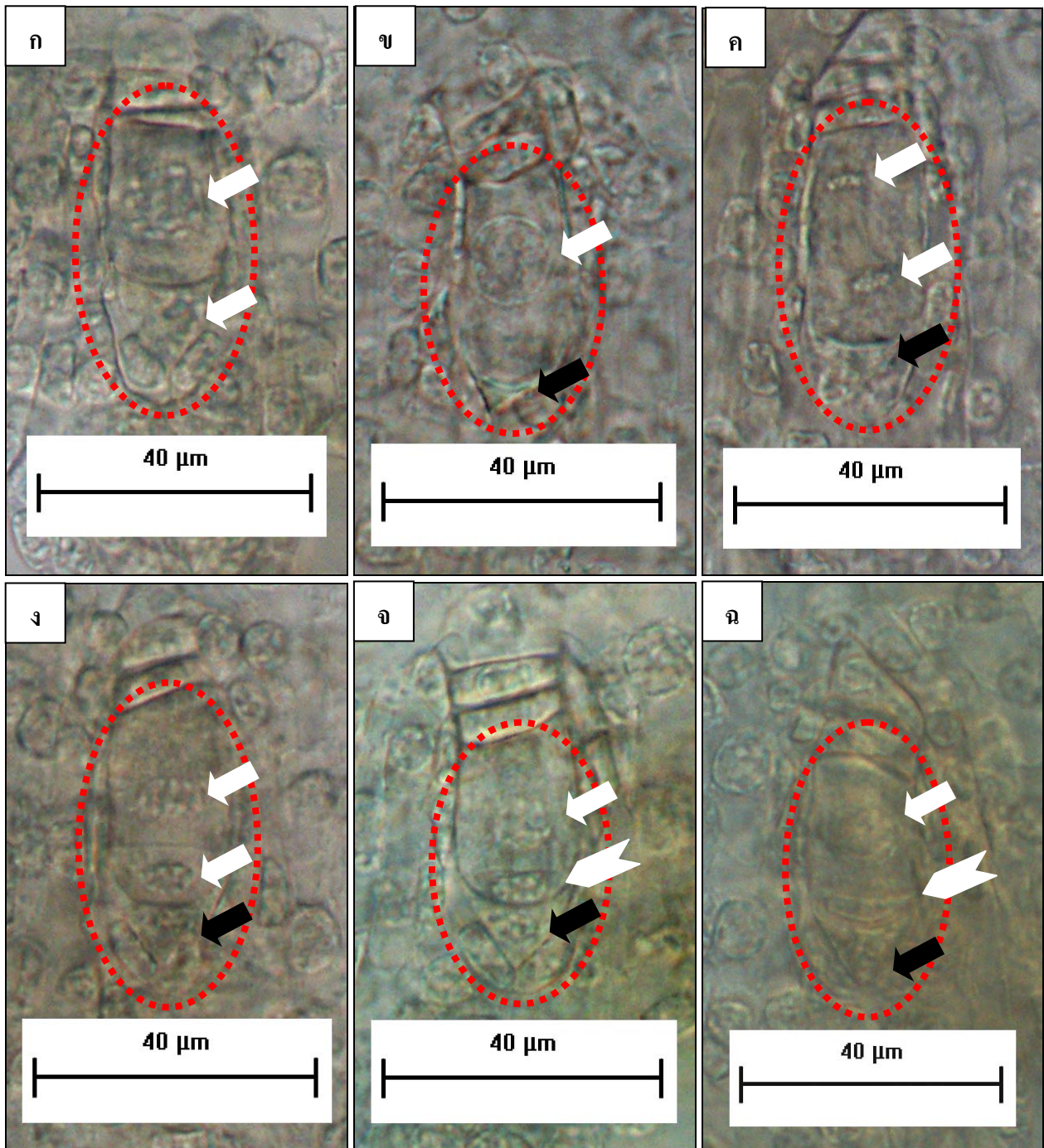
the Young Seedling Stages of Orchids. In: The

Orchids: Scientific Studies. Withner, CL. (Ed.).

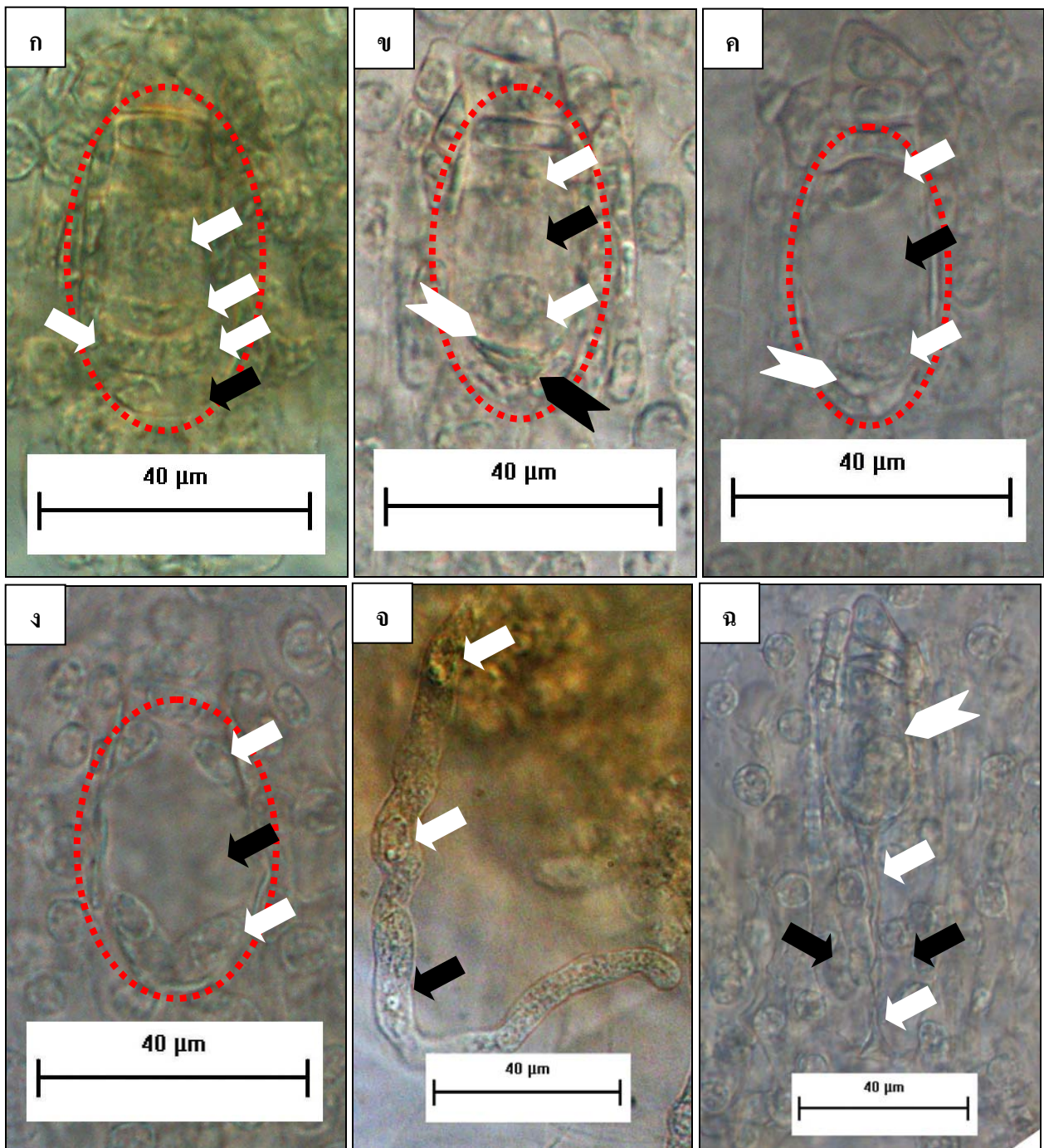
pp. 223-259. John Wiloy & Sons, Inc.



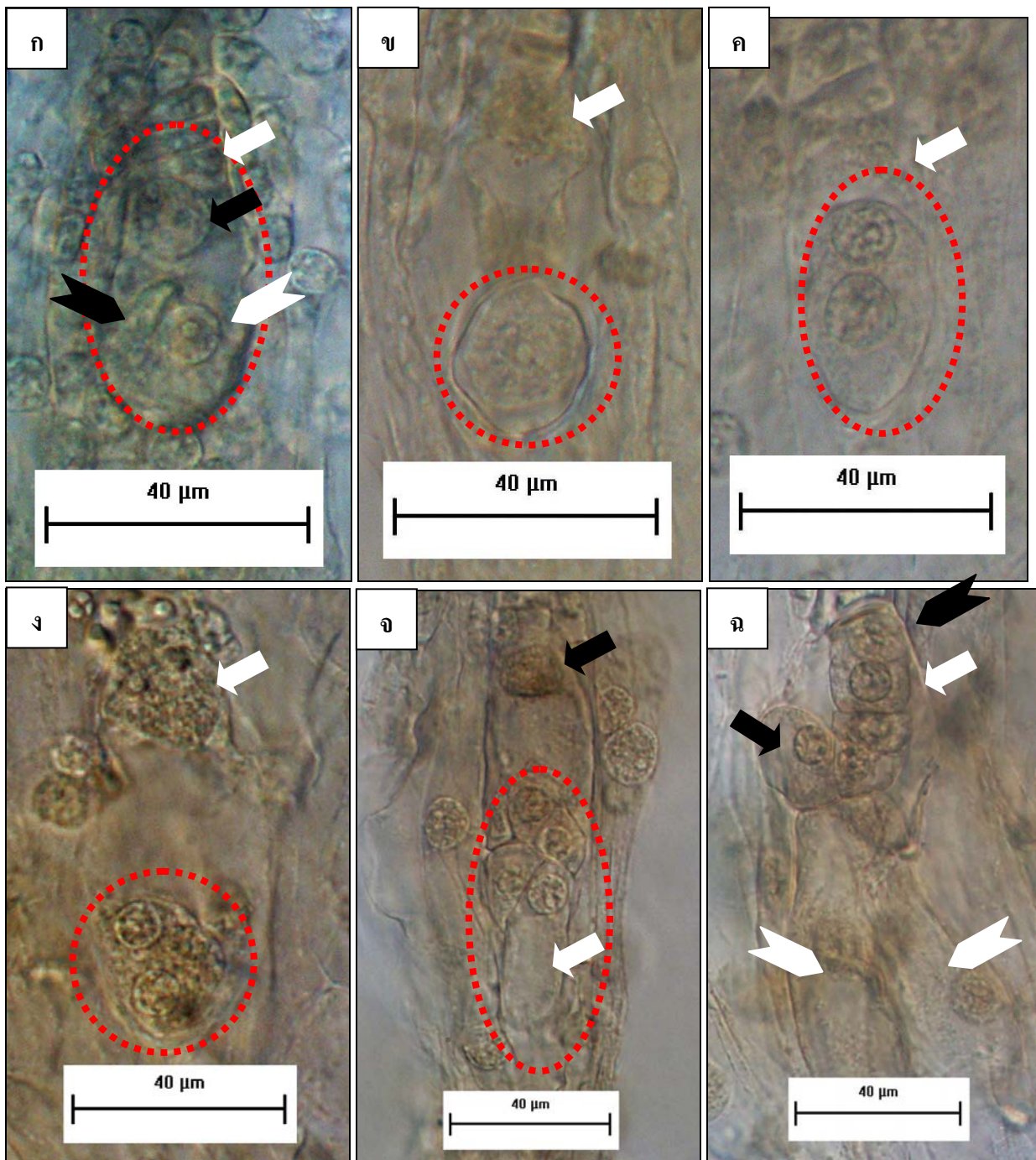
ภาพที่ 1 ก. ออวูลจากรังไข่ในวันที่ตกบนาน, ข. ออวูลเริ่มโค้งลงปรากฏเซลล์อาร์คิสปอร์ที่มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์อื่น (ลูกศร),ค. เซลล์อาร์คิสปอร์เริ่มพัฒนาไปเป็นเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ (ลูกศรสีขาว) และเห็นส่วนที่จะกลายไปเป็นผนังออวูลชั้นใน (ลูกศรสีดำ), ง. ออวูลที่เห็นผนังออวูลชั้นนอก (ลูกศรสีขาว) ผนังออวูลชั้นใน (ลูกศรสีดำ) และนิวเคลียส (หัวลูกศร) ที่หุ้มเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ประกอบไปด้วยเซลล์เรียงกัน 1 ชั้น, จ. ออวูลที่เจริญเต็มที่ในระยะเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์, ฉ. โปร เฟส I ของเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์ (ลูกศรสีขาว) โดยในระยะนี้ผนังออวูลชั้นใน (หัวลูกศร) เจริญมาหุ้มนิวเคลียส (ลูกศรสีดำ) ไว้หมดแล้ว



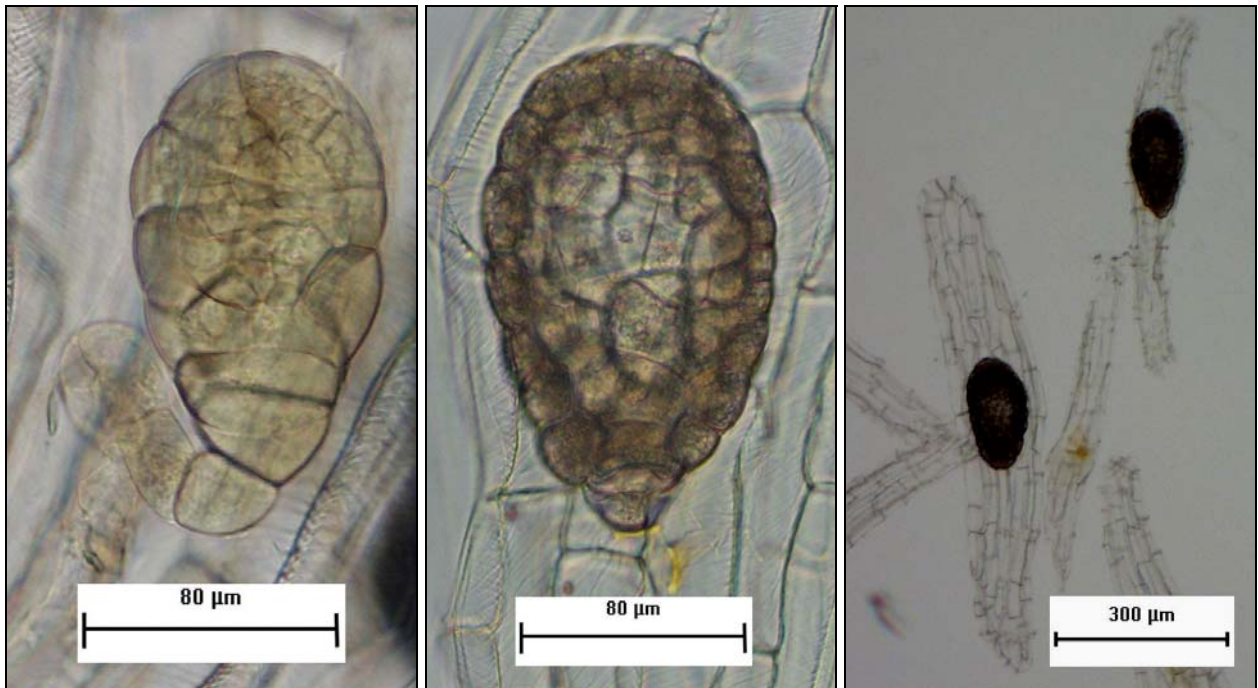
ภาพที่ 2 ก. ไคแอตที่เป็นผลจากไมโอซิส I ของเซลล์กำเนิดเมกะสปอร์, ข. เซลล์ที่อยู่ทางด้านไมโครไฟล์สลายไปเห็นเป็นร่องรอยที่มีรูปร่างคล้ายสามเหลี่ยม (ลูกศรสีดำ), ค. เซลล์ที่เหลือของไคแอตทางด้านฐานออวูลเข้าสู่ไมโอซิส II (ลูกศรสีขาว) และยังเห็นร่องของเซลล์ที่สลายไป (ลูกศรสีดำ), ง. ไคแอตที่ประกอบไปด้วย 2 เซลล์ของเมกะสปอร์ (ลูกศรสีขาว) และ 1 เซลล์ที่สลายไปของไคแอต (ลูกศรสีดำ), จ. ไคแอต โดยเมกะสปอร์ 1 เซลล์ทางด้านไมโครไฟล์เริ่มจะสลาย (หัวลูกศร), ฉ. เซลล์เมกะสปอร์ที่ทำหน้าที่ (functioning megaspore) (ลูกศรสีขาว) เห็นเมกะสปอร์ 1 เซลล์ทางด้านไมโครไฟล์ที่สลายไป (หัวลูกศร) และ 1 เซลล์ที่สลายไปของไคแอต (ลูกศรสีดำ)



ภาพที่ 3 ก. เมกะสปอร์กลุ่มสี่รูปตัวที (ลูกสรสีขาว) และเห็นนิวเคลียส (ลูกสรสีดำ), ข. อนุเอมบริโอในระยะ 2 นิวเคลียส (ลูกสรสีขาว) ซึ่งเกิดจาก 1 เมกะสปอร์ มีแควิวโอล (ลูกสรสีดำ) เห็นกลุ่มของเซลล์ที่สลายไปสองกลุ่ม คือเมกะสปอร์ 1 กลุ่ม (หัวลูกสรสีขาว) และเซลล์ที่อยู่ทางด้านไมโครไพล์ของไดแอนด 1 กลุ่ม (หัวลูกสรสีดำ), ค. 2 นิวเคลียสของเมกะสปอร์ (ลูกสรสีขาว) มีแควิวโอล (ลูกสรสีดำ) และเห็นร่องของเซลล์ที่อยู่ทางด้านไมโครไพล์ของไดแอนดที่สลายไป (หัวลูกสร), ง. อนุเอมบริโอในระยะ 4 นิวเคลียส (ลูกสรสีขาว) โดยมีแควิวโอลกั้นกลาง (ลูกสรสีดำ) จ. หลอดเรณูที่เจริญเต็มที่ประกอบไปด้วย 2 นิวเคลียสที่ทำหน้าที่เป็นสปิร์ม (ลูกสรสีขาว) และนิวเคลียสไม่เกี่ยวกับเพศ (ลูกสรสีดำ), ฉ. หลอดเรณู (ลูกสรสีขาว) แทรกผ่านช่องว่างระหว่างผนังอวุลชั้นในทั้งสอง (ลูกสรสีดำ) เข้าสู่อนุเอมบริโอ (หัวลูกสร)



ภาพที่ 4 ก. ไข่เอ็มบริโอที่เห็นแอนติโพแคด 1 เซลล์ (ลูกศรสีขาว) เซลล์กลาง (ลูกศรสีดำ) เซลล์ไข่ (หัวลูกศรสีขาว) และไซโทพลาซึมของหลอดเรณู (หัวลูกศรสีดำ), ข. ไซโกต (วงกลม) และแอนติโพแคด (ลูกศร), ค. โพรเอ็มบริโอระยะ 2 เซลล์ (วงกลม) และแอนติโพแคด (ลูกศร), ง. โพรเอ็มบริโอระยะ 3 เซลล์ (วงกลม) และแอนติโพแคดแบบนิวเคลียส (ลูกศร), จ. โพรเอ็มบริโอระยะ 4 เซลล์มีรูปร่างแบบสมมาตร (วงกลม) โดยเซลล์ทางด้านไมโครโพล์ขยายขนาดและมีแวคิวโอลคั่นนิวเคลียสไปทางด้านฐานออวูล และแอนติโพแคด (ลูกศรสีดำ), ฉ. เอ็มบริโอมีเซลล์เรียงกัน 1 แถว (ลูกศรสีขาว) เห็นแกนเอ็มบริโอขนาดใหญ่ โดย 1 เซลล์เจริญไปทางด้านฐานออวูล (ลูกศรสีดำ) ส่วนอีก 2 เซลล์เจริญไปทางด้านไมโครโพล์ (หัวลูกศรสีขาว) และเห็นแอนติโพแคด (หัวลูกศรสีดำ)



ภาพที่ 5 ก. เอ็มบริโอรูปกลม สีเขียวเหลือง โดยเซลล์ทางฐานของเอ็มบริโอมีลักษณะโค้งเนื่องจากน้ำหนักของ เอ็มบริโอมากกดทับ (ลูกศร), ข. เอ็มบริโอที่เจริญเต็มที่อยู่ในระยะเอ็มบริโอรูปกลม สีน้ำตาลดำ เซลล์ทางฐาน ของเอ็มบริโอสลายไปเห็นเป็นร่องรอย (ลูกศร), ค. เมล็ดที่เจริญเต็มที่ผิวขรุขระ ภายในมีเอ็มบริโอก้อนกลมสีน้ำตาลดำ (ลูกศร)

Type	Megaspores					Megagametogenesis		
	Meiosis I		Meiosis II			Mitosis I	Mitosis II	Mitosis III
Bisporic <i>Allium</i> type								
Monosporic <i>Polygonum</i> type								

ภาพที่ 6 รูปแบบการเกิดเมกะสปอร์ และการเกิดเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียในกล้วยไม้ดินอิงนวล

ตารางที่ 1 ระยะการเจริญที่สำคัญที่สัมพันธ์กับจำนวนวันหลังการถ่ายเรณู

วันหลังถ่ายเรณู	ระยะการเจริญที่สำคัญ
0-30	เซลล์อาร์คิสปอร์
33	เซลล์กำเนิดเมกะสปอร์
36	ไดแอต ไตรแอต เมกะสปอร์กลุ่มสี่ ถุงเอ็มบริโอระยะ 2-6 นิวเคลียส
39	ปฏิสนธิ
42	ไซโกต
45-54	โพรเอ็มบริโอระยะ 2-4 เซลล์
57	เอ็มบริโอมีเซลล์เรียงกัน 1 แถว เริ่มมีแกนชิดเอ็มบริโอ
60-81	เอ็มบริโอมีเซลล์เรียงกัน 1 แถว เริ่มเกิดเป็นเอ็มบริโอรูปกลม เอนโดสเปิร์มสลายไป
84-99	เอ็มบริโอรูปกลม สีเขียวเหลือง แกนชิดเอ็มบริโอสลายไป
102-240	เอ็มบริโอรูปกลม สีน้ำตาลดำ เซลล์ทางด้านฐานของเอ็มบริโอสลายไป

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบผลการศึกษาทางวิทยาเอ็มบริโอของพืชในสกุลอีโนวล (*Eulophia*) 3 ชนิด

ชนิดพืช	monosporic	bisporic	triad	T-tetrad	จำนวน นิวเคลียสสูง เอ็มบริโอ	ระยะเวลาจากวัน ถ่ายเรณูจนถึงวัน ปฏิสนธิ
<i>E. epidendraea</i> (Swamy, 1943b, 1949)	+	-	-	+	7	45 วัน
<i>E. dabia</i> (Vij and Sharma, 1986)	+	+	-	-	ไม่มีรายงาน	ไม่มีรายงาน
<i>E. herbacea</i> (นราศักดิ์ ศรียศ และ อัจฉรา ธรรมถาวร, 2553)	+	+	+	+	6	39 วัน

+ = ปรากฏลักษณะ, - = ไม่ปรากฏลักษณะ