บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

กล้วยไม้เป็นพืชในวงศ์ Orchidaceae ซึ่งเป็นวงศ์ที่ใหญ่ที่สุดของพรรณพืชในโลกและในประเทศไทย (สลิล, 2549) เป็นพืชที่ได้มีการนำไปใช้ประโยชน์ทางการค้ามากมาย ในบรรดาสกุลทั้งหลายของกล้วยไม้นั้นมีสกุลหนึ่งที่มีความสวยงามและพบว่ามีเจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติน้อยลงมากคือสกุล *Calanthe* (อบฉันท์, 2543)

1. กล้วยไม้สกุล *Calanthe*

กล้วยไม้สกุล *Calanthe* เป็นสกุลที่ค่อนข้างใหญ่ มี 200 ชนิด (Pfahl, 2004) กระจายอยู่ทั่วไปในเขตร้อนของโลกทั้งในทวีปอเมริกา แอฟริกา เอเชีย ออสเตรเลีย และหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก ในทวีปเอเชียพบในประเทศเนปาล อินเดีย พม่า มาเลเซีย ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ และไทย (Sheehan and Sheehan, 1979)

1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของ *Calanthe*

Wood *et al.* (1993) กล่าวถึง กล้วยไม้สกุลนี้ว่าส่วนใหญ่เป็นพวกที่เจริญเติบโตบนดิน มีน้อยมากที่เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย Pfahl (2004) รายงานว่ากล้วยไม้สกุลนี้มีขนาดกลางถึงใหญ่ แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกเป็นพวกที่มีลำลูกกล้วยยาวและเป็นเหลี่ยม มีกาบใบที่มีลักษณะเป็นร่างแหสีเขียวอมเทาคลุมไว้ ใบมีจีบและร่วงจากต้นเมื่อต้นเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว ช่อดอกโปร่ง มีขนปกคลุม เป็นช่อแบบช่อกระจะที่มีใบประดับขนาดใหญ่ อีกกลุ่มเป็นพวกที่มีลำลูกกล้วยขนาดเล็กหรือไม่มีลำลูกกล้วย ใบมีขนาดใหญ่แผ่กว้างและมีอายุยาวนาน ช่อดอกเป็นแบบช่อกระจะเช่นกันแต่ช่อแน่นกว่าและมีใบประดับขนาดเล็ก Williams (1961) กล่าวถึงลักษณะการเกิดดอกของ *Calanthe* ไว้ว่ากลุ่มที่มีการทิ้งใบนั้นการสร้างดอกเกิดในระยะที่ใบและลำลูกกล้วยเจริญเติบโตเต็มที่แล้วและเมื่อดอกโรยลำลูกกล้วยจะเข้าสู่ระยะพักตัว ส่วนกลุ่มที่ไม่มีการทิ้งใบนั้นช่อดอกเกิดขึ้นมาจากซอกใบ แล้วเจริญเติบโตไปพร้อม ๆ กันกับใบ

Sheehan and Sheehan (1979) และ Wood *et al.* (1993) รายงานว่า *Calanthe* มีราก หนา ยาว และมีขน ลำต้นมีลักษณะเป็นลำลูกกล้วยที่คล้ายคอร์ม มีทั้งขนาดสั้นและขนาดยาว เจริญทางด้านข้าง รูปร่างของลำลูกกล้วยเป็นเหลี่ยม มีส่วนคอดบริเวณกลางลำและมีโคนใบห่อหุ้มอยู่ มีใบได้หลายใบ จำนวนตั้งแต่ 2 ใบขึ้นไปและเรียงกันค่อนข้างแน่น ใบรูปรีค่อนข้างแคบหรือรูปรีแกมรูปแถบ ใบพับจีบ ยาว 30-120 เซนติเมตร (ซม) กว้าง 7.5-20 ซม อาจมีหรือไม่มีก้านใบ หากมีก้านใบความยาวของก้านใบยาวได้ไม่เกิน 1 มิลลิเมตร (มม) ช่อดอกเป็นแบบช่อกระจะ ออกตามซอกใบหรือออกที่ปลายยอดหรือออกจากโคนของลำลูกกล้วย ช่อตั้งขึ้น อาจเป็นช่อยาวหรือช่อสั้น มีดอก 2-3 ดอกต่อช่อหรือมากกว่า มีหรือไม่มีใบประดับที่โคนก้านดอก ดอกมีขนาดเล็กถึงค่อนข้างใหญ่ ดอกอาจจะพลิกด้านได้ ดอกมักมีสีขาว แดง หรือ ม่วงสด และเมื่อดอกช้ำหรือเสียหายมักจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเข้มจนดำ กลีบเลี้ยง 3 กลีบ มีขนาด รูปร่าง และสีเหมือนกัน กลีบดอก 2 กลีบ อาจเหมือนกับกลีบเลี้ยง สั้นหรือกว้างกว่า กลีบเลี้ยงและกลีบดอกแยกออกจากกันเป็นอิสระ กลีบเลี้ยงด้านบนทำมุมเกือบ 90 องศากับกลีบเลี้ยงด้านข้างแต่ละด้าน กลีบปากมีขอบเรียบ มีรอยหยัก 3-4 รอย โคนกลีบปากเชื่อมติดกับฐานของเส้าเกสร กลีบปากมีเดือยซึ่งเป็นลักษณะพิเศษของกล้วยไม้สกุลนี้ ด้านนอกของดอกและช่อดอกปกคลุมด้วยขนนุ่ม เส้าเกสรมีลักษณะสั้นและตรง มีฝาครอบ ส่วนที่กว้างที่สุดของเส้าเกสรคือส่วนที่อยู่ใกล้กับแอ่งเกสรตัวเมีย ซึ่งมักจะมีขนปกคลุมอยู่ด้านล่าง ฝาครอบเส้าเกสรเชื่อมติดกับเดือยของกลีบปาก แต่ละดอกมีกลุ่มเรณู 2 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ก้อน กลุ่มเรณูมีสีเหลือง และมีลักษณะยาว

1.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Calanthe cardioglossa* Schltr.

สำหรับกล้วยไม้ดินในสกุล *Calanthe* ที่พบในประเทศไทยนั้นรพีพันธ์ (2516) กล่าวว่ามีรายงานว่าพบกล้วยไม้สกุลนี้จำนวน 16 ชนิดในทางตอนใต้ของจังหวัดตรังและจังหวัดพังงา อบฉันท์ (2543) กล่าวว่ามี *Calanthe* 15 ชนิดเจริญเติบโตตามป่าสนและป่าดิบแล้งที่สูงตั้งแต่ 200 เมตรจากระดับน้ำทะเล สำหรับชนิด *Calanthe cardioglossa* Schltr. ที่มีชื่อสามัญพื้นถิ่นว่าเอื้องน้ำต้น หรือเอื้องเหลี่ยมนั้นพบตามป่าดิบเขาแทบทุกภาคของประเทศ ออกดอกในช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์ กล้วยไม้ชนิดนี้ผลัดใบก่อนออกดอก (สลิล และ นฤมล, 2545)

สลิล และ นฤมล (2545) นิรนาม (2545) อบฉันท์ (2543) อัครสิทธิ์ (2546) และ Vaddhanaphuti (2001) กล่าวถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเอื้องน้ำต้นไว้ดังนี้

1.2.1 ลำลูกกล้วย เป็นรูปน้ำเต้าทรงแคบ ลักษณะคล้ายหัวแบบคอร์ม มีสีเขียวอมเทา ผิวเป็นร่องตื้นตามยาว ลำต้นเจริญทางด้านข้าง ลำลูกกล้วยสูง 3-7 ซม และมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.0-3.5 ซม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2.2 ใบ เป็นใบเดี่ยว รูปหอก ปลายแหลมมน โคนสอบเรียวเป็นก้านพับจีบ เส้นใบเรียงตัวแบบขนานตามยาว ใบกว้าง 7-10 ซม ยาว 20-30 ซม เรียงตัวแบบสลับ มี 3-4 ใบ ทิ้งใบก่อนมีดอก

1.2.3 ช่อดอก เป็นแบบช่อกระจะ มีดอกย่อย 5-15 ดอกต่อช่อ ปลายช่อโค้งลง ดอกย่อยบานจากโคนช่อไปส่วนปลายช่อ ดอกบานพร้อมกันทีละ 2 ดอก

1.2.4 ดอก เกิดที่ปลายช่อ ดอกมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5-2.0 ซม มีกลีบเลี้ยง 3 กลีบ รูปไข่ ด้านนอกมีขน ขนาดกว้าง 5-6 มม ยาว 10-15 มม กลีบดอกมี 3 กลีบ รูปรี ผิวเรียบ กลีบปากมีขนาดใหญ่กว่ากลีบอื่น มีลวดลาย มีหลายรูปทรง ขอบกลีบหยักเป็นคลื่น โคนกลีบม้วนเป็นโพรงขนาดกว้าง 8-10 มม ยาว 10-15 มม สีของดอกคือ ขาว เหลือง เหลืองอมส้ม ชมพูอ่อน ชมพูแก่ ชมพูอมม่วง ส้ม แดง และม่วง ดอกที่มีกลีบดอกสีชมพูเมื่อดอกใกล้จะโรยกลีบดอกจะเปลี่ยนเป็นสีส้ม และดอกที่มีกลีบดอกสีขาวนั้นกลีบดอกเมื่อใกล้โรยจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง เกสรเพศผู้รวมกับเกสรเพศเมียเป็นเส้าเกสร รังไข่อยู่ใต้วงกลีบ มี 3 คาร์เพล เชื่อมติดกันเป็นช่องเดียว ภายในมีไข่อ่อนจำนวนมากติดอยู่ด้านข้างของรกแบบแนวตะเข็บ

1.2.5 ผล เป็นแบบผลแห้งแตก ขนาด 1-2 ซม

2. ลักษณะการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดิน

กล้วยไม้ดินเป็นกล้วยไม้ที่มีหัวอยู่ใต้ดินหรือบนดิน หัวดังกล่าวมีลักษณะโครงสร้างและหน้าที่เหมือนกับหัวของพืชหัวโดยทั่วไป โดยที่ส่วนใหญ่มีระยะพักตัวในช่วงแล้งหลังจากที่ส่วนเหนือดินของต้นได้ตายไปหรือเมื่อต้นพืชมีการทิ้งใบ ทำให้มีลักษณะการเจริญเติบโตเป็นวงจรปีที่มีการเจริญเติบโตของต้นสลับกับการพักตัวของหัวในแต่ละวงจร (ฉันทนา และ รณณรงค์, 2549)

จารุภัทร (2549) ศึกษาการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินช้างผสมโขลง (*Eulophia graminea* Lindl.) รายงานว่า การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินชนิดนี้มีลักษณะของการเจริญเติบโตเป็นวงจรปี และในวงจรการเจริญเติบโตหนึ่งวงจรนั้นต้นพืชมีการเจริญเติบโตทางใบและดอกสลับกับการพักตัว ทั้งนี้ต้นพืชเริ่มการเจริญเติบโตหลังจากหัวหรือลำลูกกล้วยผ่านการพักตัวแล้วโดยการแตกตาดอกออกมาก่อนตาใบ หลังจากที่ดอกโรยและเริ่มติดฝักแล้ว จึงมีการเจริญของหน่อใบออกมาจากตาใบ ซึ่งอยู่ที่บริเวณโคนของลำลูกกล้วยแม่ ต่อมาต้นมีการสร้างลำลูกกล้วยควบคู่ไปกับการเจริญเติบโตของใบ

ศลิษา (2549) ศึกษาการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินว่านจูงนางชนิด *Geodorum recurvum* (Roxb.) Alston และ *G. siamense* Rolfe ex Downie ในวงจรการเจริญเติบโต 1 วงจรกล่าวว่า ทั้ง 2 ชนิดมีวงจรการเจริญเติบโตเป็นไปในลักษณะเดียวกัน โดยมีการเจริญเติบโตของดอกและใบสลับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กับการพักตัวเป็นปี ๆ ไป และในช่วงที่มีการเจริญเติบโตนั้นต้นพืชเริ่มการเจริญเติบโตหลังจากหัวผ่านการพักตัวแล้วและมีการแทงหน่อใบออกมา หลังจากที่หน่อใบนี้เจริญเติบโตได้เล็กน้อยจึงมีตาดอกงอกออกมาเป็นช่อดอกอ่อน ออกมาจากซอกของกาบใบที่หุ้มโคนหน่อใบนั้น ช่อดอกดังกล่าวมีการเจริญเติบโตควบคู่ไปกับหน่อใบและเจริญก้าวหน้ากว่าหน่อใบ โดยที่ในระยะที่ช่อดอกยืดตัวเต็มที่และดอกบานแล้วนั้นการเจริญเติบโตของใบยังคงอยู่ในระยะที่มีการคลี่ตัวของใบดอกติดฝักได้ในธรรมชาติและเจริญเติบโตควบคู่ไปกับใบ ในขณะที่ใบขยายตัวมีการสร้างหัวใหม่ขึ้นมาที่บริเวณโคนต้น หัวใหม่หยุดการขยายขนาดเมื่อใบสิ้นสุดการเจริญเติบโต หลังจากนั้นส่วนเหนือดินตายไปคงเหลือเพียงหัวที่พักตัวเป็นระยะเวลา 4-5 เดือน หัวใหม่มีหัวเก่าของปีก่อน ๆ ซึ่งมีลักษณะแห้งและแข็งจำนวน 5-7 หัวติดอยู่เป็นแถว ไม่หลุดและไม่สลายไป

Linder and Kurzweil (1999) กล่าวว่า กล้วยไม้สกุล *Calanthe* เจริญเติบโตบนดิน มีลักษณะการเจริญเติบโตเป็นแบบแตกกอหรือแบบฐานร่วม โดยที่ยอดใหม่เกิดจากตาข้างตาใดตาหนึ่งของส่วนปลายของลำลูกกล้วยแม่ (สมศักดิ์, 2540) Goi *et al.* (1995) อธิบายลักษณะการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินชนิด *Calanthe discolor* Lindl. ว่ากล้วยไม้ชนิดนี้มีการเจริญเติบโตในปีแรกเป็นการเจริญเติบโตทางใบ โดยที่มีการสร้างตาข้างที่บริเวณซอกของกาบใบและใบจริง ตาเหล่านี้เป็นตาใบทั้งหมด เมื่อต้นพืชมีการเจริญเติบโตในปีที่ 2 ตาดังกล่าวมีการเจริญเติบโตเพียงบางตาเท่านั้น ตาที่อยู่ที่ซอกของใบจริงในตำแหน่งใบล่างสุดเจริญไปเป็นตาดอก ส่วนตาในตำแหน่งอื่นของซอกใบจริงพักตัวและจะมีการเจริญเป็นตาดอกได้ก็ต่อเมื่อตาดอกที่เจริญแล้วเสียหายไป และจากพฤติกรรมของการเจริญเติบโตของใบและดอกเขาได้เสนอความเห็นไว้ด้วยว่าตาดอกของพืชชนิดนี้จะเจริญเติบโตได้ต่อเมื่อต้นพืชต้นนั้นมีใบจริงออกมาแล้วไม่ต่ำกว่า 3 ใบ

รพีพันธ์ (2516) รายงานวิธีการปฏิบัติเพื่อปลูกเลี้ยง *Calanthe* ว่ากล้วยไม้สกุลนี้ในกลุ่มที่เป็นพวกทิ้งใบนั้น ต้นพืชต้องการการพรางแสงในระยะเริ่มปลูก เมื่อเริ่มแตกหน่อขยายใบแล้วจึงจะต้องการแสงแดดจัด ดังนั้นจึงควรปลูกในช่วงเดือนมีนาคม โดยเมื่อเริ่มปลูกต้องใช้วัสดุปลูกจำพวกปุ๋ยหมัก ใบไม้แห้งหรือดินร่วนที่มีปุ๋ยอยู่ด้วยผสมกับกาบมะพร้าว ช่วงแรกของการเจริญเติบโตต้นพืชต้องการน้ำน้อย เมื่อเริ่มแตกใบจึงต้องการน้ำมากขึ้น เมื่อใบเริ่มร่วงและต้นออกดอกให้ลดน้ำ ทั้งนี้สอดคล้องกับ หญิงลักษณาเลิศ (2512) ที่รายงานว่า *Calanthe* ชอบความชื้น และแสงแดดรำไร

Hawkes (1965) รายงานการปลูกเลี้ยง *Calanthe* ชนิดที่เป็นพืชทิ้งใบว่าควรจะปลูกในเครื่องปลูกที่โปร่งซึ่งระบายน้ำดี หลังจากที่ดอกโรยแล้วจึงแยกลำลูกกล้วยให้เป็นหัวเดี่ยวเพื่อการปลูกครั้งต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การผสมพันธุ์กล้วยไม้

การผสมพันธุ์พืชเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการสร้างพันธุ์ใหม่เพื่อให้ได้ต้นพืชที่มีลักษณะดีและลักษณะที่แปลกไปจากพ่อแม่ การผสมพันธุ์กล้วยไม้ก็เป็นการกระทำเพื่อจุดประสงค์เดียวกัน คือ การสร้างพันธุ์ใหม่เพื่อการใช้ประโยชน์ แต่นอกจากจะเป็นการสร้างพันธุ์ใหม่แล้ว การผสมพันธุ์กล้วยไม้ยังช่วยให้ได้ฝักและเมล็ดสำหรับการขยายพันธุ์ซึ่งการขยายพันธุ์วิธีนี้เป็นวิธีการเพิ่มปริมาณต้นที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าการตัดแยกลำ

ในการผสมพันธุ์กล้วยไม้นั้นขั้นตอนต่าง ๆ ของการปฏิบัติจะต้องเหมาะสม จึงจะประสบผลสำเร็จ เริ่มตั้งแต่การเลือกต้นแม่ที่มีความสมบูรณ์เต็มที่ เลือกดอกที่อยู่บริเวณโคนช่อดอกเพื่อที่จะย่นระยะทางในการลำเลียงอาหารไปเลี้ยงดอกและฝักและลดปัญหาการหักของก้านช่อดอกซึ่งเกิดจากการรับน้ำหนักของฝักที่บริเวณปลายช่อ การผสมเกสรทำโดยการเขี่ยเกสรเพศผู้ของต้นแม่ทิ้งไปแล้วนำไม้ปลายแหลมแตะน้ำเหนียว ๆ ในแอ่งของยอดเกสรเพศเมียไปแตะที่เกสรเพศผู้ของต้นพ่อแล้วนำกลับไปวางไว้ในแอ่งยอดเกสรเพศเมีย หลังจากนั้นติดป้ายที่เขียน วัน เดือน และปีที่ผสมเกสรพร้อมทั้งชื่อพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ (ดรรชิต, 2547)

การเก็บรักษาละอองเรณูเพื่อรอการผสมเกสรในช่วงเวลาที่เหมาะสมเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่ง โดยเฉพาะในกรณีที่ดอกตัวผู้และดอกตัวเมียพร้อมผสมในเวลาที่แตกต่างกัน การเก็บรักษาละอองเรณูของกล้วยไม้ทำโดยการนำเอากลุ่มเรณูออกมาใส่ไว้ในหลอดแคปซูลยา จากนั้นปิดแคปซูลให้แน่น เขียนข้อมูลดอกไว้ที่ตัวหลอด แล้วนำแคปซูลใส่ไว้ในขวด ปิดฝาให้แน่น เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส (°ซ) จะสามารถเก็บไว้ได้นานถึง 1 ปี (Meeyot and Kamemoto, 1969 ; Seaton, 1994 อ้างโดย ดรรชิต, 2547)

Ackerman and Montalvo (1990) รายงานว่ากล้วยไม้ดินชนิด *Epidendrum ciliare* ของประเทศเปอโตริโกมีการกระจายพันธุ์ในธรรมชาติน้อยมาก ซึ่งเกิดจากการที่ประชากรที่มีการเจริญเติบโตในแหล่งกระจายพันธุ์ติดฝักได้น้อย และ จากการติดตามผลเป็นเวลา 4 ปี พบว่ามีการเกิดฝักในสภาพธรรมชาติได้เพียง 5-15 เปอร์เซ็นต์ (%) เท่านั้น จึงได้ศึกษาถึงผลของการช่วยผสมเกสรด้วยมือให้กับดอกของต้นกล้วยไม้เหล่านั้นและพบว่าเมื่อมีการช่วยผสมเกสรด้วยมือต้นพืชให้ฝักที่แก่และสมบูรณ์ได้ถึง 49% ในปีที่ 1 และ 33% ในปีที่ 2 โดยที่กรรมวิธีควบคุมให้ฝักแก่เพียง 8% และ 5% ตามลำดับ ซึ่งเขาได้สรุปผลของการศึกษาไว้ว่า การติดฝักตามธรรมชาติของกล้วยไม้ชนิดนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่มีผลต่อการผสมเกสร นอกจากนี้ยังกล่าวด้วยว่าต้นที่ผสมติดและมีฝักจำนวนมากนั้น ฝักหลายฝักฝ่อไปเนื่องจากมีอาหารเลี้ยงจากต้นแม่ไม่เพียงพอ

Cochran (1985) ศึกษาการผสมเกสรตามธรรมชาติของ *Cypripedium acaule* สรุปว่าสาเหตุของการติดฝักในธรรมชาติเพียง 3% ของกล้วยไม้ชนิดนี้เกิดเนื่องจากดอกไม่ผลิตน้ำหวาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตามธรรมชาติ และเมื่อผสมเกสรด้วยมือช่วยพบว่าต้นพืชติดฝักได้ถึง 93% นอกจากนี้ยังบอกด้วยว่าในการทดสอบการผสมด้วยมือนั้น การผสมข้ามต้นหรือการผสมตัวเองให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน และการปลิดใบออกระหว่างการผสมก็ไม่มีผลกระทบต่อฝักด้วย

Ito (1980) รายงานว่าในประเทศญี่ปุ่นมีกล้วยไม้สกุล *Calanthe* จำพวกที่เจริญเติบโตในเขตอบอุ่นประมาณ 12 ชนิด ในกึ่งเขตร้อน 5 ชนิด และเขตภูเขาสูง 2 ชนิด ในจำนวน *Calanthe* พื้นเมืองที่มีความสำคัญทางพืชสวนมีชนิดที่ออกดอกในฤดูใบไม้ผลิ 6 ชนิด ซึ่งอยู่ในกลุ่มที่มีลักษณะของ *C. discolor* ชนิดออกดอกในฤดูร้อน 4 ชนิด ซึ่งอยู่ในกลุ่มที่มีลักษณะของ *C. furcata* และชนิดออกดอกในฤดูร้อน 1 ชนิดในกลุ่มที่มีลักษณะของ *C. reflexa* ทั้งนี้เขารายงานด้วยว่าเกิดลูกผสมที่เป็นลูกผสมของ *Calanthe* พื้นเมือง 3 ชนิด คือ *C. discolor, C. sieboldii* และ *C. aristulifera* ในธรรมชาติมากมาย โดยเป็นลูกผสมที่มีสีและรูปทรงแตกต่างกัน

จารุภัทร (2549) รายงานผลการผสมเกสรของกล้วยไม้ดินช้างผสมโขลง (*Eulophia graminea* Lindl.) ซึ่งทดลองการผสมด้วยมือในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน 8 ช่วง คือ การผสมในเวลา 7.00, 8.00, 9.00, 10.00, 11.00, 17.00, 18.00 และ 19.00 น. ว่าการผสมเกสรในทุกช่วงเวลาเป็นผลสำเร็จ โดยมีเปอร์เซ็นต์การติดฝักแตกต่างกันไป การผสมเกสรเวลา 7.00 และ 18.00 น. นั้นให้เปอร์เซ็นต์การติดฝักที่สูงที่สุด คือ 100% และ 93.75% ตามลำดับ รองลงมา คือ เวลา 17.00, 9.00 และ 11.00 น. ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การผสมติดเป็น 66.66%, 63.63% และ 53.84% ตามลำดับ ส่วนการผสมเกสรเวลา 10.00 และ 19.00 น. นั้นให้เปอร์เซ็นต์การติดฝักต่ำที่สุด คือ 20.00% และฝักทุกฝักสามารถเจริญเติบโตบนต้นแม่ได้จนกระทั่งถึงระยะฝักแก่

ศลิษา (2549) กล่าวว่าได้ทดลองผสมเกสรกล้วยไม้ว่านจูงนาง 2 ชนิดในช่วงเวลา 7.00, 8.00, 9.00, 10.00, 11.00, 17.00, 18.00 และ 19.00 น. พบว่าว่านจูงนางชนิด *Geodorum recurvum* (Roxb.) Alston มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดสูงที่สุดเป็น 100% ในช่วงเวลา 8.00, 9.00 และ 10.00 น. ส่วนช่วงเวลาอื่น ๆ มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดรองลงมาและเปอร์เซ็นต์การผสมติดต่ำที่สุดเป็น 70% เกิดจากการผสมเกสรในช่วงเวลา 7.00 และ 11.00 น. ส่วนผลของการผสมเกสรในชนิด *G. siamense* Rolfe ex Downie นั้นพบว่าช่วงเวลาที่ให้เปอร์เซ็นต์การผสมติดเป็น 100% คือ 11.00, 17.00, 18.00 และ 19.00 น. ช่วงเวลาที่มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดรองลงมา คือ 80% ได้แก่ช่วงเวลา 8.00, 9.00 และ 10.00 น. และช่วงเวลาที่มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดต่ำที่สุด คือ ช่วงเวลา 7.00 น. โดยผสมติดเพียง 40%

Charanasri *et al.* (1980) กล่าวถึงบทบาทสำคัญของการเป็นโพลีพลอยด์ว่า การเพิ่มโครโมโซมเป็นสองเท่าให้แก่ลูกผสมดิพลอยด์ที่มีจีโนมต่างกันในกล้วยไม้กลุ่มแวนด้าทำให้ลูกผสม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ที่ได้กลายสภาพเป็นแอมฟิดิพลอยด์ที่สามารถติดฝักและขยายพันธุ์ทางเมล็ดได้ในขณะที่ลูกผสมดิพลอยด์ที่ไม่ได้เพิ่มโครโมโซมมีการเจริญพันธุ์ต่ำ

4. การศึกษาเอกลักษณ์ของพืช

ในการเรียนรู้เกี่ยวกับพืชจำเป็นต้องศึกษาถึงลักษณะภายนอกและโครงสร้างภายในของพืชควบคู่กันไปเสมอ และการศึกษาพืชอนุรักษ์แต่ละชนิดนั้นการบันทึกลักษณะของพืชไว้เป็นข้อมูลจำเพาะในการใช้เป็นฐานข้อมูลเป็นสิ่งที่จำเป็น การศึกษาเอกลักษณ์ของพืชประกอบด้วยการศึกษาลักษณะภายนอก อันได้แก่ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และ การศึกษาลักษณะภายใน อันได้แก่ ลักษณะทางกายวิภาควิทยา โดยมีข้อมูลทางเซลล์พันธุศาสตร์ในระดับของโครโมโซม และข้อมูลทางอนูโมเลกุลในลักษณะของความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของพืชที่แสดงออกทางรูปแบบไอโซไซม์เป็นข้อมูลประกอบ ซึ่งการศึกษาเอกลักษณ์ของพืชในลักษณะต่าง ๆ ดังกล่าวมานี้สามารถนำผลไปใช้เพื่อเป็นข้อมูลประกอบในการจำแนกพืชในระบบอนุกรมวิธานพืชได้อีกด้วย

4.1 ลักษณะทางกายวิภาค

การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของพืชชั้นสูง เป็นการศึกษารูปร่างลักษณะภายในและความสำคัญของเนื้อเยื่อทั้ง 3 ระบบ รวมทั้งการเจริญของส่วนประกอบ การเปลี่ยนสภาพ และวิวัฒนาการ (เทียมใจ, 2523) การศึกษาข้อมูลทางด้านกายวิภาควิทยาที่กระทำกันทั่วไปมี 2 ประเภท คือ กายวิภาคระดับเซลล์และกายวิภาคระดับต่ำกว่าเซลล์ ส่วนของพืชที่นำมาศึกษาได้แก่ ใบ ลำต้น ก้านใบ แผ่นใบ และใบเลี้ยง รวมถึงรูปแบบการเรียงของเส้นใบ (กันยา, 2545) สำหรับพืชในวงศ์ Orchidaceae นั้นได้มีการศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาเพื่อใช้เสริมข้อมูลทางอนุกรมวิธานในการจำแนกชนิด ดังเช่น Stern (1997) ได้ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของกล้วยไม้ในเผ่าย่อย Habenariinae รายงานว่า ใบของกล้วยไม้เหล่านั้นมีปากใบแบบไม่มีเซลล์ข้างเซลล์คุม มีโซฟิลล์ไม่มีเซลล์แพลิเซด กลุ่มท่อลำเลียงเป็นแบบท่อลำเลียงเดียงข้างที่เรียงตัวเป็นแถวเดี่ยว มีเยื่อหุ้มท่อลำเลียงที่ประกอบด้วยเซลล์มีชีวิตที่มีผนังเซลล์บาง ไม่มีเซลล์ชนิดสเกลอเรงคิมา และ เนื้อเยื่อรองจากผิวในชั้นคอร์เทกซ์ของลำต้นประกอบด้วยเซลล์มีชีวิต ผนังเซลล์บางและมีช่องว่างระหว่างเซลล์ขนาดใหญ่จำนวนมาก รอบนอกของเนื้อเยื่อพื้นเป็นชั้นของเซลล์มีชีวิตที่มีผนังเซลล์หนาล้อมอยู่ 1 ชั้นเซลล์ ยกเว้นในชนิด *Habenaria repens* เนื้อเยื่อพื้นบริเวณกลางลำต้นเป็นเซลล์มีชีวิตที่ส่วนใหญ่มีผนังเซลล์บาง ช่องว่างระหว่างเซลล์มีรูปร่างแตกต่างกันไป ซึ่งใน *H. repens* เช่นกันที่จะเห็นเป็นช่องว่างที่ใหญ่มากและเด่นชัด กลุ่มท่อลำเลียงเดียงข้างอยู่กระจัดกระจายทั่วลำต้น ไม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มีเซลล์สเกลอเรงคิมา รากมีชั้นวีเลเมนและมีชั้นเซลล์ผิวซึ่งเป็นเซลล์ที่ตายแล้ว เซลล์ผิวเหล่านั้นมีผนังเซลล์บางและมีเซลล์แพสเซจที่มีผนังเซลล์ด้านนอกหนา เนื้อเยื่อลำเลียงของรากมี 2 ลักษณะ คือ 1) เนื้อเยื่อลำเลียงที่มีท่อลำเลียงทรงกระบอกล้อมรอบด้วยคอร์เทกซ์ และ 2) เนื้อเยื่อลำเลียงที่มีกลุ่มของเมอริสตีลกระจายอยู่ทั่วเนื้อเยื่อพื้น ในลักษณะแรกนั้นเนื้อเยื่อคอร์เทกซ์ประกอบด้วยเซลล์ที่มีรูปร่างสม่ำเสมอซึ่งบางครั้งมีเซลล์เมือกอยู่ด้วย ยกเว้นในสกุล *Stenoglottis* ซึ่งเนื้อเยื่อคอร์เทกซ์มีรูปร่างไม่สม่ำเสมอ ประกอบด้วยเซลล์ที่สะสมน้ำและเซลล์ดูดซึมโดยไม่มีเซลล์เมือก ส่วนลักษณะที่สองนั้นเนื้อเยื่อพื้นประกอบด้วยเซลล์เมือกที่มีขนาดใหญ่กว่า และมีเซลล์ดูดซึมที่มีขนาดเล็กกว่า

Stern and Judd (2002) ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของกล้วยไม้ในเผ่า Cymbidieae เพื่องานอนุกรมวิธานและเปรียบเทียบ โดยศึกษาตัวอย่างชนิดต่าง ๆ เกือบทั้งหมดของเผ่านี้ซึ่งมีด้วยกัน 28 สกุล รายงานว่ากล้วยไม้ที่ศึกษาทั้งหมดมีลักษณะทางกายวิภาควิทยาที่คล้ายคลึงกัน ยกเว้นสกุล *Govenia* ซึ่งรากไม่มีวีเลเมน และ มัดท่อลำเลียงของลำลูกกล้วยไม่มีเซลล์สเกลอเรงคิมา ลักษณะดังกล่าวนี้ไม่พบในกล้วยไม้สกุลอื่นของเผ่านี้ นอกจากนี้ยังรายงานด้วยว่ากลุ่มเซลล์เส้นใยที่พบบริเวณขอบใบของสกุล *Grammatophylum* และ *Porphyroglottis* นั้นเซลล์ที่อยู่ติดไปทางด้านเซลล์ผิวของใบเป็นเซลล์ที่มีลักษณะแคบและมีผนังเซลล์หนา ส่วนกลุ่มที่อยู่ทางด้านที่ติดกับเซลล์มีโซฟิลล์เป็นเซลล์ที่ใหญ่กว่าและมีผนังเซลล์บางกว่า ลักษณะดังกล่าวพบในสกุล *Maxillaria* บางชนิดด้วย ส่วนในรากของกล้วยไม้ในเผ่า Cymbidieae ส่วนใหญ่นั้นพบว่ามีทิโลโซมในราก เช่นเดียวกับในบางชนิดของ *Maxillaria* และข้อมูลนี้ยืนยันได้จากผลการวิเคราะห์ DNA ซึ่งแสดงให้เห็นความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดกันระหว่างเผ่า Cymbidieae และ Maxillarieae ส่วนสกุล *Govenia* นั้นแยกออกจากเผ่า Cymbidieae ได้อย่างชัดเจนทั้งโดยทางกายวิภาควิทยาและทางอนุโมเลกุล จึงไม่ควรจัด *Govenia* ไว้ในเผ่านี้ การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสามารถสรุปเป็นสมมติฐานได้เพียงไม่กี่สมมติฐานเท่านั้นเนื่องจากมีความคล้ายคลึงกันค่อนข้างสูงในสกุลที่เป็นสมาชิกของเผ่านี้

Fukai *et al.* (2003) ได้ศึกษาการเกิดและการเจริญของดอก *Calanthe bicolor* พบว่าตาดอกเกิดในเดือนกรกฎาคมโดยเกิดออกมาจากก้านชูตาที่บริเวณซอกใบของใบจริงที่อยู่โคนสุดของยอดใหม่ ตาดอกบนแกนช่อดอกมีลักษณะของการเจริญเป็นดอกโดยที่จุดเจริญของดอกมีลักษณะแบนลง และมีการกำเนิดกลีบเลี้ยงและกลีบดอก วงละ 3 กลีบ จุดกำเนิดเกสรเพศผู้มีลักษณะเป็นโครงสร้างคล้ายกับปีรามิด 3 อัน ยื่นออกมาแล้วเจริญไปเป็นฝาครอบอับเรณูและกลุ่มเรณู ด้านล่างของจุดกำเนิดเกสรเพศผู้เกิดโครงสร้างที่เจริญเป็นเส้าเกสร ในระยะที่ดอกบานนั้นออวุลยังเจริญไม่เต็มที่การแก่เต็มที่ของออวุลเกิดหลังจากการผสมเกสรแล้ว 50 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Arditti (1992) รายงานการศึกษากายวิภาควิทยาของกล้วยไม้ดินสกุล *Calanthe* ไว้ว่า *C. langei* นั้นมีรากที่มีวีเลเมน 3-4 ชั้นเป็นส่วนใหญ่ โดยที่บางบริเวณของวีเลเมนมีเพียง 1 ชั้นเซลล์ และเซลล์ดังกล่าวไม่มีการเพิ่มขนาดของผนังเซลล์ ผนังเซลล์มีรูเปิดขนาดเล็ก เนื้อเยื่อชั้นนอกมักจะมีขนาดใหญ่และหนาเล็กน้อย เนื้อเยื่อคอร์เทกซ์ประกอบด้วยเซลล์พาเรงคิมา

จารุภัทร (2549) ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของกล้วยไม้ดินช้างผสมโขลง (*Eulophia graminea* Lindl.) รายงานว่าระบบเนื้อเยื่อของใบคล้ายคลึงกับใบพืชใบเลี้ยงเดี่ยวโดยทั่วไป มีความแตกต่างในบางลักษณะ คือ มีปากใบที่ชั้นเนื่อเยื่อผิวทั้งด้านบนใบและด้านใต้ใบ ตำแหน่งของปากใบอยู่ระดับเดียวกับเซลล์ผิว เซลล์คุมมีลักษณะเป็นรูปไต เนื้อเยื่อพื้นเป็นเซลล์มีโซฟิลล์ที่เรียงตัวกันแน่นมีรูปร่างคล้ายคลึงกันไม่แยกเป็นเซลล์แพลิเซดและเซลล์สปอนจี มัดท่อลำเลียงเป็นแบบท่อลำเลียงเคียงข้าง มีเซลล์ไซเล็มอยู่ด้านผิวใบด้านบนใบและเซลล์โฟลเอ็มอยู่ด้านผิวใบด้านใต้ใบ มัดท่อลำเลียงมีทั้งขนาดใหญ่และขนาดเล็ก มัดท่อลำเลียงขนาดใหญ่แต่ละมัดครอบคลุมพื้นที่ของเนื้อเยื่อพื้นทั้งหมด มัดท่อลำเลียงมีเยื่อหุ้มท่อลำเลียงและมีกลุ่มเซลล์เส้นใยโอบหัวและท้ายของมัดไว้ นอกจากนี้ยังปรากฏกลุ่มเซลล์เส้นใยกระจายตัวอยู่ใต้ชั้นเซลล์ผิวใบอีกด้วย ในเซลล์มีโซฟิลล์ขนาดใหญ่บางเซลล์ปรากฏผลึกรูปเข็ม

ศลิษา (2549) ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของกล้วยไม้ว่านจูงนางชนิด *Geodorum recurvum* (Roxb.) Alston และ *G. siamense* Rolfe ex Downie รายงานว่าเนื้อเยื่อของลำต้นมีระบบเนื้อเยื่อในลักษณะเดียวกันกับพืชใบเลี้ยงเดี่ยวโดยทั่วไป แต่เนื้อเยื่อพื้นมีลักษณะจำเพาะคือมีคอร์เทกซ์ที่แยกออกเป็น 2 ชั้นตามความแตกต่างของรูปร่างลักษณะของเซลล์ โดยที่เซลล์คอร์เทกซ์ด้านนอกนั้นเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ที่มีรูปร่างและขนาดไม่แน่นอนเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ ไม่มีช่องว่างระหว่างเซลล์ มีเซลล์ที่จะกลายเป็นเซลล์แอเรงคิมา ส่วนเซลล์ในคอร์เทกซ์ด้านในมีรูปร่างหลายเหลี่ยมที่ไม่แน่นอนเรียงตัวไม่เป็นระเบียบมีช่องว่างระหว่างเซลล์ และคอร์เทกซ์ 2 ชั้นนี้มีแถบของเซลล์พาเรงคิมาขนาดเล็กจำนวน 2-3 ชั้นเซลล์คั่นไว้

4.2 ลักษณะทางเซลล์วิทยา

เซลล์วิทยาเป็นการศึกษาเกี่ยวกับเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและองค์ประกอบของเซลล์ ส่วนประกอบของเซลล์ที่มีความสามารถบ่งบอกความจำเพาะของสิ่งมีชีวิตคือโครโมโซม โดยที่พืชแต่ละชนิดมีโครโมโซมที่มีรูปร่างลักษณะและจำนวนที่แน่นอน (กฤษฎา, 2519) การศึกษาจำนวนโครโมโซมในเซลล์พืชสามารถศึกษาได้ในเซลล์ที่มีการแบ่งตัวทั้งแบบไมโตซิสและไมโอซิส (นิตย์ศรี, 2542) โดยนับจำนวนโครโมโซมและศึกษารูปร่างของโครโมโซมในระยะเมตาเฟสของการแบ่งตัว (ภาควิชาพันธุศาสตร์, 2544)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาคาริโอไทป์ตลอดจนการนับจำนวนโครโมโซมของพืชแต่ละชนิดสามารถใช้ประกอบการวิเคราะห์ลักษณะจำเพาะของพืชดังกล่าวเพื่ออนุกรมวิธานได้ (กันยารัตน์, 2532) ซึ่งการศึกษาโครโมโซมพืชได้มีการกระทำอย่างกว้างขวางในพืชกลุ่มต่าง ๆ รวมทั้งพืชในวงศ์ Orchidaceae ดังเช่น Latha (2002) ศึกษาเทคนิคในการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาโครโมโซม โดยมุ่งถึงวิธีการย้อมสีเนื้อเยื่อปลายรากที่ง่ายและรวดเร็วทดลองกับกล้วยไม้ชนิด *Habenaria crinifera, Nervilia aragoana, Renanthera imschootiana, Vanda coerulea* และลูกผสมของ *Phalaenopsis* สายพันธุ์ Chuck Hagen รายงานว่าสามารถพัฒนาวิธีการที่ได้ผล คือเริ่มจากการเก็บตัวอย่างปลายรากของพืชทดลองในช่วงเวลา 10.00 น. หยดสีแลคโตโพรพิโอนิคออร์ซีน 2 หยดลงบนเนื้อเยื่อแล้วนำกระจกสไลด์ไปลนไฟเพื่อให้เนื้อเยื่ออ่อนตัว จากนั้นนำปลายรากไปวางบนกระจกสไลด์ที่สะอาดแล้วหยดแลคโตโพรพิโอนิคออร์ซีนลงไป 1 หยดปิดด้วยกระจกปิดสไลด์แล้วกดให้แบน วิธีนี้ได้โครโมโซมที่ติดสีชัดเจนในขณะที่ไซโตพลาสซึมไม่ติดสี ทั้งนี้เขาได้รายงานว่า *H. crinifera* มีจำนวนโครโมโซม $2n = 42$ *N. aragoana* มี $2n = 68$ *V. coerulea* มี $2n = 38$ และ ลูกผสมของ *Phalaenopsis* สายพันธุ์ Chuck Hagen มี $2n = 57$ การศึกษาครั้งนี้นับว่าได้เทคนิคในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากที่ง่ายและรวดเร็ว เนื่องจากสามารถลดขั้นตอนของการหยุดวงชีพเซลล์ใน 8-ไฮดรอกซีควินโนลิน ส่วนการตรึงเซลล์ในน้ำยาคาร์นอยและการเตรียมเนื้อเยื่อใช้เวลาทั้งหมดเพียง 10 นาทีเป็นอย่างมาก

Kao *et al.* (2001) ศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้สกุล *Phalaenopsis* 8 ชนิดและของ *Doritis pulcherrima* ที่มีความใกล้ชิดกับ *Phalaenopsis* 8 ชนิดนั้นด้วยวิธีขยี้เซลล์ปลายราก โดยเก็บตัวอย่างจากปลายรากของพืชทดลองแล้วหยุดวงชีพของเซลล์ในสารละลาย 8-ไฮดรอกซีควินโนลินเข้มข้น 2 มิลลิโมล ที่อุณหภูมิ 20 °ซ นาน 4 ชั่วโมง รักษาสภาพเซลล์ในสารละลายเอทานอลและกรดอะซิติกเข้มข้นในอัตราส่วน 3 ต่อ 1 นาน 24 ชั่วโมง แล้วแยกเซลล์โดยใช้กรดไฮโดรคลอลิกเข้มข้น 1 นอร์มอล นาน 7 นาที ที่อุณหภูมิ 60 °ซ ย้อมโครโมโซมด้วยเบสิคฟุคซินนาน 1 ชั่วโมง ตามด้วยสารละลายเพคติเนส 1% นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นขยี้เซลล์แล้วตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์ ผลปรากฏว่าพืชทดลองทั้ง 9 ชนิดมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ $2n = 38$ แต่ว่าพืชทดลองแต่ละชนิดมีคาริโอไทป์ที่แตกต่างกันในแง่ของขนาดของโครโมโซมและตำแหน่งของเซ็นโทรเมียร์

Ishida (1992) ได้ศึกษาโครโมโซมของ *Calanthe* 33 ชนิด รายงานว่ามีต้นพืชที่มีสภาพเป็นอะนิวพลอยด์หลายระดับ โดยที่ในจำนวน 33 ชนิดนั้นมี 1 ชนิด ที่มี $2n = 38$ มี 22 ชนิด ที่มี $2n = 40$ มี 3 ชนิด ที่มี $2n = 42, 44$ และ 46 และมี 1 ชนิด ที่มี $2n = 45$

D'Emerico *et al.* (2005) ศึกษาจำนวนโครโมโซมของ *Ophrys* 17 ชนิด จากเนื้อเยื่อของรังไข่ที่ยังไม่โตเต็มที่ โดยใช้โคลชิซิน 0.3% ในการหยุดวงชีพเซลล์ที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมงแล้ว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตรึงเซลล์ด้วยสารละลายที่มีส่วนผสมของเอทานอล 100% คลอโรฟอร์ม กรดอะซิติกเข้มข้นและฟอร์มาลีนในอัตราส่วน 5:1:1:1 ปริมาตรต่อปริมาตร จากนั้นนำมาย่อยแยกเซลล์ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอลิกเข้มข้น 5.5 นอร์มอล ที่อุณหภูมิ 20 °ซ นาน 20 นาที แล้วย้อมด้วยสีฟ่อยเก้น พบว่า *Ophrys* ทุกชนิดมีโครโมโซมเป็น 2n = 2x = 36 แต่ว่ามีความแตกต่างของคาริโอไทป์ในแต่ละชนิด

จารุภัทร (2549) ศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้ดินช้างผสมโขลง (*Eulophia graminea* Lindl.) จากเนื้อเยื่อปลายราก พบว่าเทคนิคในการเตรียมเนื้อเยื่อที่เหมาะสมคือเก็บตัวอย่างปลายรากเวลา 11.00 น. จากนั้นนำปลายรากไปรักษาสภาพเซลล์ในสารละลายที่มีส่วนผสมของเอทานอล 95% และกรดอะซิติกเข้มข้นในอัตราส่วน 3 ต่อ 1 โดยไม่ต้องผ่านการหยุดวงชีพเซลล์ ต่อมานำไปย้อมด้วยสีคาบอลฟุคซินนาน 1 ชั่วโมง เมื่อนำเนื้อเยื่อที่ย้อมสีแล้วไปขยี้แล้วตรวจพบว่าเซลล์ปลายรากมีโครโมโซม 2n = 56

ศลิษา (2549) ศึกษาโครโมโซมของว่านจูงนาง 2 ชนิดคือ *Geodorum recurvum* (Roxb.) Alston และ *G. siamense* Rolfe ex Downie จากเนื้อเยื่อปลายรากด้วยวิธีขยี้เซลล์ พบวิธีการเตรียมเนื้อเยื่อที่ได้ผล คือการเก็บตัวอย่างปลายรากเวลา 11.00 น. หยุดวงชีพเซลล์ในสารละลาย para-dichlorobenzene นาน 3 และ 2 ชั่วโมงตามลำดับ แล้วนำไปย้อมด้วยสีคาบอลฟุคซินนาน 6 และ 12 ชั่วโมงตามลำดับ เมื่อนำเนื้อเยื่อที่ผ่านกรรมวิธีดังกล่าวไปตรวจนับจำนวนโครโมโซมพบว่า ว่านจูงนาง *G. recurvum* (Roxb.) Alston และ *G. siamense* Rolfe ex Downie มีจำนวนโครโมโซม 2n = 128 และ 54 ตามลำดับ

4.3 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยเทคนิคทางชีวเคมี

ปัจจุบันมีลูกผสมของพืชต่าง ๆ เกิดขึ้นมากมาย ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แสดงออกของลูกผสมเหล่านั้นมักมีความแตกต่างจากต้นพ่อและแม่เล็กน้อย มีส่วนให้การจำแนกพันธุ์พืชโดยทั่วไปโดยการพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชสับสนได้ จึงได้มีการนำเทคนิคหรือวิธีการอื่นมาช่วยในการจำแนกลูกผสม และ/หรือสายพันธุ์พืชร่วมไปกับการจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางฟีโนไทป์ (กัลยา, 2546)

การนำเทคนิคทางชีวเคมีด้วยวิธีอิเล็คโทรโฟรีซิสมาใช้ตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชหรือใช้เพื่อเป็นข้อมูลประกอบในการจำแนกพันธุ์พืชนั้น สามารถทำได้โดยการเปรียบเทียบรูปแบบไอโซไซม์ของพืชเหล่านั้น (ชวนพิศ, 2538) ในสภาวะที่เหมาะสมการย้อมเอนไซม์โดยเทคนิคต่าง ๆ ช่วยให้เกิดความชัดเจนในรูปแบบของแถบ จำนวนแถบและค่าการเคลื่อนที่ของแถบช่วยให้การวิเคราะห์ความแปรปรวนในตัวอย่างมีความแม่นยำมากพอและสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประกอบการจำแนกหรือการบ่งชี้ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้สอดคล้องกับการจำแนกพันธุ์โดยใช้ลักษณะของการแสดงออกทางฟีโนไทป์ของพืช (Shields *et al.*, 1983)

การใช้เทคนิคทางอิเล็คโทรโฟรีซิสในกล้วยไม้นั้นมีการกระทำกันค่อนข้างกว้างขวาง เช่น Park *et al.* (1990) ได้วิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ของกล้วยไม้ชนิด *Cymbidium goeringii* ของประเทศเกาหลีโดยใช้ประชากร 286 ตัวอย่าง จาก 12 แหล่ง โดยใช้เทคนิคอิเล็คโทรโฟรีซิสแบบเจลแป้งและใช้เอนไซม์ 3 ระบบคือ aspartate aminotransferase (AAT), acid phosphatase (ACP) และ esterase (EST) ผลปรากฏว่าไอโซไซม์ทั้ง 3 ชนิด ให้รูปแบบของแถบเป็นลักษณะโพลีมอร์ฟิคที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความถี่ของแถบในบางประชากรและสรุปไว้ด้วยว่า *C. goeringii* มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมทั้งภายในประชากรและระหว่างประชากรแต่ละกลุ่มซึ่งเกิดจากการผสมข้ามต้นในกลุ่มประชากรเหล่านั้น

Sharma *et al.* (2001) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและความคล้ายคลึงกันของกล้วยไม้เฉพาะถิ่นของทางตะวันตกของทวีปออสเตรเลียในสกุล *Pterostylis* จำนวน 6 ชนิดที่มีความใกล้ชิดกัน ได้แก่ *P.* aff. *alata, P. angusta, P. aspera, P. hamiltonii, P. rogersii* และ *P. scabra* โดยใช้เทคนิคอิเล็คโทรโฟรีซิสแบบเจลแป้งเพื่อวิเคราะห์รูปแบบอัลโลไซม์ ประชากรที่ศึกษามี 35 ประชากร ทดสอบกับเอนไซม์ 12 ระบบ โดยใช้ใบมาสกัดเอนไซม์ พบว่าเอนไซม์ทั้ง 12 ระบบสามารถชี้ความแตกต่างของประชากรและแยกออกเป็น 6 กลุ่มสอดคล้องกับชนิดและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของประชากรเหล่านั้น

Hyun *et al.* (1999) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุศาสตร์ระหว่าง *Calanthe bicolor, C. discolor* และ *C. sieboldii* โดยศึกษารูปแบบไอโซไซม์ ใช้เอนไซม์ EST และ peroxidase (POX) หลังจากการวิเคราะห์ RAPD เขารายงานว่าผลการศึกษาบ่งถึงความสัมพันธ์ของ *C. bicolor* ว่าใกล้ชิดกับ *C. discolor* และ *C. sieboldii* ในขณะที่ *C. discolor* และ *C. sieboldii* มีความคล้ายคลึงกันระหว่างกันและกันน้อยกว่าที่ต่างก็มีกับ *C. bicolor* และสรุปไว้ว่าจากข้อมูลดังกล่าวสามารถวิเคราะห์ได้ว่า *C. bicolor* เป็นลูกผสมที่เกิดในธรรมชาติของ *C. discolor* และ *C. sieboldii*

Oh *et al.* (1990) ทดลองใช้เทคนิคอิเล็คโทรโฟรีซิสโดยใช้เอนไซม์ 5 ระบบทดสอบกับโปรตีนของ *Calanthe* 5 ชนิด รายงานผลการวิเคราะห์ของเขาว่าใน *Calanthe* 5 ชนิดที่ศึกษานั้น *C. coreana* และ *C. discolor* มีความใกล้ชิดกันในขณะที่ *C. replexa* มีความแตกต่างจากอีก 4 ชนิดอย่างชัดเจน ส่วน *C. discolor* var. *bicolor* นั้นเป็นลูกผสมของ *C. discolor* และ *C. sieboldii*

รัติกาล (2543) ศึกษาการแยกกลุ่มเอื้องแซะ (*Dendrobium scabrilingue* Lindl.) 4 กลุ่มที่รวบรวมจากอำเภอแม่สะเรียงและอำเภอปางมะผ้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ และดอยขุนตาลในเขตจังหวัดลำปาง กับเอื้องเงินแดงและเอื้องแซะดอยปุย โดย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ด้วยระบบเอนไซม์ 6 ชนิดคือ EST, glutamate oxaloacetate transminase (GOT), glucose phosphate isomerase (GPI), leucine aminopeptidase (LAP), malate dehydrogenase (MDH) และ shikimate dehydrogenase (SKD) พบว่า EST, GOT, MDH และ SKD แสดงแถบสีหลายรูปแบบ ซึ่งสามารถยืนยันการแยกกลุ่มตัวอย่างของเอื้องแซะออกเป็น 4 กลุ่มตามแหล่งเจริญเติบโตดังกล่าวและสามารถแยกความแตกต่างของประชากรเอื้องแซะออกจากเอื้องเงินแดงและเอื้องแซะดอยปุยได้อย่างชัดเจน

พสุ (2546) รายงานถึงการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของกล้วยไม้รองเท้านารี 11 ชนิด โดยวิธีโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็คโทรโฟรีซิส พบว่าการใช้ใบอ่อน 0.5 กรัมกับน้ำยาสกัดที่มีส่วนประกอบของ 0.1M tris-HCl pH7, 1mM ethylene diamine tetraacetate, 1% w/vpvp-360, 2mM dithiothreitol และ 10mM β-mercaptoethanal และการใช้ seperating gel 11% ให้ผลดีที่สุด และ จากการวิเคราะห์เอนไซม์ 20 ระบบ พบว่า มีเอนไซม์ 6 ระบบ คือ EST, GOT, LAP, MDH, SKD และ superoxide dismutase (SOD) ที่แสดงรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกัน ส่วนอีก 14 ระบบคือ aconitase (ACO), ACP, alcohol dehydrogenase (ADH), alkaline phosphate (ALP), diaphorase (DIA), formate dehydrogenase (FDH), glucose dehydrogenase (GDH), glutamate dehydrogenase (GLD), isocitrate dehydrogenase (IDH), malic enzyme (ME), phosphoglucoisomerase (PGI), phospho-glucomutase (PGM), POX และ urease (URE) ไม่แสดงแถบสีให้เห็น

สุทธินันท์ (2548) ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของกล้วยไม้ดินใบจีบ 7 สกุล คือ *Arundina*, *Calanthe*, *Eulophia*, *Geodorum*, *Liparis*, *Phaius* และ *Spathoglottis* จำนวน 18 ชนิด ทดสอบระบบเอนไซม์โดยวิธีโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็คโทรโฟรีซิส จำนวน 20 ระบบ คือ ACP, ACO, ADH, ALP, DIA, EST, FDH, GDH, GLD, GOT, IDH, LAP, MDH, ME, PGI, PGM, POX, SKD, SOD และ URE พบว่ามีเอนไซม์ 9 ระบบ คือ ACP, DIA, EST, GOT, LAP, MDH, POX, SOD และ SKD สามารถให้แถบสีและแสดงรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกัน และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาความสัมพันธ์และความแตกต่างทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ดินทั้ง 18 ชนิด ด้วย UPGMA cluster โดยการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ทั้ง 9 ระบบร่วมกัน พบว่าที่ระดับความแตกต่าง 10% สามารถจำแนกชนิดของกล้วยไม้ดินใบจีบที่ศึกษาได้ทั้งหมด และสามารถแบ่งกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ค่าความแตกต่าง 25% ออกได้เป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย *E. andamanensis*, *G. citrinum*, *G. recuevum*, *P. tankervilleae*, *S. affinis* และ *S. eburnea* และกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย *C. rubens*, *C. triplicate* และ *C. vestita* กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย *A. graminifoli*, และ *C. masuca* และกลุ่มที่ 4 มีชนิดเดียวคือ *E. nuda* จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ดังกล่าวสามารถจำแนกชนิดของกล้วยไม้ดินใบจีบที่ศึกษาได้ทั้งหมด และจำแนกกลุ่มได้ชัดเจนสอดคล้องกับการจำแนกโดยใช้ลักษณะทาง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สัณฐานวิทยาแต่ไม่สามารถแสดงความสัมพันธ์ใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างสกุลและระหว่างชนิดได้อย่างสมบูรณ์

จารุภัทร (2549) ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของกล้วยไม้ดินช้างผสมโขลง (*Eulophia graminea* Lindl.) จากใบที่อยู่ในระยะใบอ่อนและใบที่เจริญเติบโตเต็มที่โดยใช้เทคนิคโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็คโทรโฟรีซิสและใช้เอนไซม์ 3 ระบบ คือ ACP, EST และ POX ผลการศึกษาปรากฏว่าการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาความสัมพันธ์และความแตกต่างทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ดินชนิดนี้ในกลุ่มประชากร 10 ประชากรที่เจริญเติบโตอยู่ในแหล่งกระจายพันธุ์ 1 แหล่งด้วย UPGMA cluster และวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ทั้ง 3 ระบบร่วมกัน โดยใช้โปรแกรม SPSS release 11.5 พบว่าสามารถจำแนกประชากรออกได้เป็น 3 กลุ่ม

ศลิษา (2549) ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของกล้วยไม้ดินว่านจูงนาง 2 ชนิดคือ *Geodorum recurvum* (Roxb.) Alston และ *G. siamense* Rolfe ex Downie โดยวิธีโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็คโทร-โฟรีซิส ระบบเอนไซม์ที่ใช้ในการทดสอบมี 3 ระบบ คือ ACP, EST และ POX ทดสอบกับเนื้อเยื่อของใบที่มีระยะการเจริญเติบโต 2 ระยะคือระยะใบอ่อนและระยะที่เจริญเติบโตเต็มที่รายงานว่าผลการวิเคราะห์สามารถแยกว่านจูงนางทั้ง 2 ชนิดออกจากกันได้และสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved