# บทที่ 2

## การตรวจเอกสาร

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว มีทั้งประเภทชอบความชุ่มชื้น และประเภททนแล้ง เป็นพืชที่มีอายุยืนนานหลายปี จำพวกไม่มีเนื้อไม้ มีจำนวนชนิดมากที่สุดในบรรดาไม้ดอกด้วยกัน คือ มีอยู่ประมาณ 19,000 ชนิด (อบฉันท์, 2543) ในประเทศไทยนั้นกล้วยไม้เป็นพืชวงศ์ที่ใหญ่ที่สุดมีสมาชิกมากมาย มีขนาด รูปร่างและลักษณะหลากหลาย มีดอกที่มีสีสันสวยงามแปลกตา จากการสำรวจพบแล้วทั้งสิ้น 168 สกุล และมากกว่า 1,170 ชนิด (สลิล, 2549)

จากลักษณะของการเจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติแยกกลุ่มกล้วยไม้ออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กล้วยไม้อิงอาศัย (epiphytic orchid) ซึ่งมีรากเกาะยึดกับเปลือกไม้ โดยไม่เบียดเบียนอาหารจากต้นไม้เหล่านั้น ส่วนอีกกลุ่มเป็นกล้วยไม้ดิน (terrestrial orchid) พบขึ้นอยู่ตามพื้นดินที่มีซากอินทรียวัตถุทับถมอยู่ มีการเจริญเติบโตเป็นฤดูกาล และมีส่วนของหัวเทียม หรือเหง้า เป็นส่วนของลำต้นสะสมอาหารอยู่ใต้ดินหรือที่ระดับดิน กล้วยไม้ในกลุ่มนี้พบเห็นน้อยกว่าพวกกล้วยไม้อิงอาศัย (สลิล, 2549; อบฉันท์, 2543)

### 1. กล้วยไม้สกุล *Nervilia*

กล้วยไม้สกุล *Nervilia* เป็นกล้วยไม้ดินที่มีส่วนเหนือดินเจริญเฉพาะฤดูกาล จัดเป็นกล้วยไม้ประเภทที่มีใบสวยงามสกุลหนึ่ง ตั้งชื่อขึ้นเมื่อปี ค.ศ. 1830 จากภาษากรีกคือคำว่า venus ซึ่งแปลว่า เส้นเลือด ชื่อนี้สื่อถึงเส้นใบที่เห็นเด่นชัด ส่วนชื่อไทย คือ สกุลแผ่นดินเย็น มีการกระจายพันธุ์ตั้งแต่ทวีปแอฟริกาจนถึงทวีปเอเชีย พบประมาณ 65 ชนิด ในประเทศไทยพบ 10 ชนิด ทั้งในป่าผลัดใบและป่าไม่ผลัดใบทั่วทุกภาค (สลิล, 2549)

#### 1.1 ลักษณะทั่วไปของ *Nervilia*

เนอร์วิเลียเป็นกล้วยไม้ดิน เจริญเฉพาะฤดูกาล เจริญออกทางด้านข้าง มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังต่อไปนี้ (อบฉันท์, 2543)

1.1.1 **หัว** หัวมีรูปทรงกลมอยู่ใต้ดิน บางชนิดหัวมีผิวขรุขระคล้ายตุ่มหนาม และมีไหลแยกสาขาไปสร้างหัวใหม่

1.1.2 **ใบ** ต้นพืชแต่ละต้นมีใบเพียง 1 ใบ รูปเกือบกลม แผ่นใบพับจีบคล้ายพัด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มีทั้งใบปรกดินหรือชูเหนือผิวดิน แผ่นใบเกลี้ยงหรือมีขนปกคลุม ขอบใบเรียบ ใบอ่อนพับจีบ มีอายุฤดูเดียว ทิ้งใบก่อนออกดอก

1.1.3 **ช่อดอก** ช่อดอกเกิดก่อนใบ ช่อดอกมักจะมีสีกลมกลืนกับสภาพแวดล้อม ขนาดค่อนข้างเล็ก มีทั้งดอกเดี่ยวและช่อดอก ออกจากหัวใต้ดิน ดอกมีขนาดเล็ก แต่ละช่ออาจมีมากกว่า 30 ดอก เรียงแบบเวียนรอบแกนช่อดอก

1.1.4 **ดอก** ดอกมีกลีบเลี้ยงและกลีบดอกแยกกันเป็นอิสระ มีขนาดและรูปทรงใกล้เคียงกัน ดอกมีสีขาว น้ำตาล ม่วงแดง จนถึงสีเขียว บางชนิดมีทั้งดอกสีขาวและสีม่วง ขอบกลีบเรียบ กลีบปากอยู่ด้านล่าง มักมีหูปากรูปสามเหลี่ยม แต่บางชนิดไม่เด่นชัด ไม่มีเดือยดอกหรือคางดอก ด้านบนของแผ่นปากเรียบ เกลี้ยง หรือมีขนอ่อนปกคลุม เส้าเกสรเรียวยาว ที่ปลายมีฝาครอบ กลุ่มเรณูมี 2 กลุ่ม ประกอบด้วยกลุ่มเรณูย่อยเรียงกันแน่น ไม่มีก้านและแป้นก้านกลุ่มเรณู

**1.2 *Nervilia aragoana* Gaud.**

เนอร์วิเลียชนิดนี้เป็นหนึ่งใน 10 ชนิดที่พบในประเทศไทย และพบได้ง่ายกว่าชนิดอื่น ๆ มีลักษณะทางสัณฐานดังต่อไปนี้ (สลิล, 2549)

1.2.1 **หัว** เป็นหัวใต้ดินแปรรูปจากลำต้น

1.2.2 **ใบ** ใบรูปหัวใจ หรือเกือบกลม ขนาด 6-12 ซม ปลายใบแหลม แผ่นใบเกลี้ยงค่อนข้างบาง บางครั้งมีจุดม่วงประเป็นแนวโค้งกลางใบ ก้านใบยาวกว่า 30 ซม

1.2.3 **ช่อดอก** ช่อดอกเป็นช่อกระจะ ตั้งตรง และยาวกว่า 60 ซม ช่อโปร่ง

1.2.4 **ดอก** ดอกขนาด 1.5-2 ซม กลีบเลี้ยงและกลีบดอกรูปแถบ มีสีเขียวทั้ง 5 กลีบ ปลายกลีบแหลม กลีบปากรูปรีแกมรูปไข่กลับ ปลายกลีบปากมน มีหูปากรูปสามเหลี่ยมตั้งชัน แผ่นกลีบมีขนสีเขียวจนถึงสีแดง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**2. ลักษณะการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดิน**

กล้วยไม้ดินเป็นกล้วยไม้กลุ่มที่พบขึ้นอยู่ตามพื้นดิน หรือตามซอกที่มีซากพืชสลายตัวทับถมกันอยู่ โดยมากกล้วยไม้ดินมีการเจริญเติบโตเป็นฤดูกาล (อบฉันท์, 2543) มีหัวอยู่ใต้ดินหรือบนดิน หัวเหล่านี้มีลักษณะโครงสร้างและหน้าที่เหมือนกับหัวของพืชหัวโดยทั่วไป ส่วนใหญ่พักตัวในช่วงแล้งหลังจากที่ส่วนเหนือดินของต้นได้ตายไปหรือเมื่อต้นพืชมีการทิ้งใบ ทำให้มีลักษณะการเจริญเติบโตเป็นวงจรปีที่มีการเจริญเติบโตของต้นสลับกับการพักตัวของหัวในแต่ละวงจร (ฉันทนา และ รณณรงค์, 2549)

Tatarenko and Kondo (2003) ศึกษาวงจรการเจริญเติบโตในรอบปีของกล้วยไม้ดิน 46 ชนิด ในประเทศรัสเซีย และประเทศญี่ปุ่น ซึ่งโดยปกติแล้วกล้วยไม้ดินเหล่านี้จะพบได้อย่างกว้างขวางในสภาพภูมิประเทศที่แตกต่างกัน กล้วยไม้ดินเหล่านี้มีรูปแบบการเจริญเติบโตที่มีการเจริญเติบโตสลับกับการพักตัวในรอบ 1 ปี โดยขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่ต้นพืชเจริญเติบโต กล้วยไม้เหล่านั้นแต่ละชนิดมีรูปแบบของการเจริญเติบโตของหน่อ เหง้า หัว และราก ที่แตกต่างกัน และมีระยะของการแตกหน่อใหม่ในฤดูกาลที่แตกต่างกันออกไปตามนิสัยการเจริญเติบโต และสภาพทางภูมิศาสตร์ในแหล่งกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติ กล้วยไม้ดินในกลุ่มที่เป็นพืชหลายฤดู มีรูปแบบการเจริญเติบโตเป็นแบบเจริญออกทางด้านข้าง และต้องการระยะเวลาค่อนข้างยาวนาน ในการสร้างตารวมซึ่งประกอบด้วยส่วนของยอด และช่อดอกรวมกันอยู่ภายในตาเดียวกัน จากการศึกษาพบว่ากล้วยไม้ดินในกลุ่มที่มีการสร้างหัวเป็นแบบมันฝรั่งมีช่วงของระยะเวลาค่อนข้างสั้นสำหรับการสร้างยอดและราก ส่วนกล้วยไม้ในกลุ่มที่มีการเจริญเติบโตทางยอดนั้นมีความผันแปรของระยะเวลาในการแตกตาข้าง โดยขึ้นอยู่กับปริมาณอาหารสะสมภายในลำแม่ สำหรับกล้วยไม้ชนิดที่มีการกระจายพันธุ์ ในบริเวณกว้างไปตามแนวเส้นรุ้งของโลก ตามแนวเขตหนาวทางตอนเหนือไล่ลงไปถึงบริเวณเขตอบอุ่นทางตอนใต้นั้น พบว่ากล้วยไม้ในเขตหนาวทางตอนเหนือ มีการเจริญของยอดที่อยู่ภายในตายาวนานกว่าต้นพืชที่กระจายพันธุ์ในเขตอบอุ่นอันเป็นเหตุให้ต้นพืชแตกตาช้ากว่าต้นพืชในเขตร้อน ส่งผลให้หน่อที่ออกมานั้นมีเวลาในการเจริญเติบโตสั้นกว่า

Goi *et al*. (1995) ศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของ *Calanthe discolor* Lindl. โดยเน้นถึงความสัมพันธ์ของวงจรการเจริญเติบโต และการเกิดดอกของต้นพืช รายงานว่า ต้นพืชเริ่มต้นการเจริญเติบโตในช่วงต้นเดือนเมษายน โดยการแทงหน่อออกมา หน่อนี้ประกอบด้วยกาบใบ 6 ใบ และใบจริง 3 ใบ โดยมีจุดกำเนิดใบ 2 ใบที่ปลายยอดของหน่อ ที่ซอกใบของใบจริงใบล่างสุดของหน่อนี้ปรากฏก้านช่อดอกซึ่งมีดอกย่อย 13-14 ดอก อยู่บนก้านนั้น และที่ซอกของกาบใบ 3 ใบที่อยู่ส่วนบนของหน่อนั้นมีตาใบปรากฏอยู่ แต่ละตาประกอบด้วยจุดกำเนิดกาบใบ 6 อัน เมื่อช่อดอกมีการเจริญเติบโต และร่วงโรยไปในที่สุดนั้น ระยะนี้เป็นระยะที่หน่อมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และตาใบจำนวน 3 ตาที่กล่าวถึงข้างต้นนั้นจะมี 1 ตาที่เจริญไปเป็นตาดอกซึ่งจะปรากฏในวงจรการเจริญเติบโตถัดไป ทั้งนี้ต้นพืชใช้เวลาในการเจริญเติบโตทั้งทางใบและทางดอกครบวงจรในเวลา 2 ปี เนื่องจากตาดอกใช้เวลาในการเจริญเป็นช่อดอกช้ามาก

จารุภัทร (2549) ศึกษาการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินชนิดช้างผสมโขลง (*Eulophia graminea* Lindl.) รายงานว่า การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินชนิดนี้มีลักษณะของการเจริญเติบโตเป็นวงจรปีและในวงจรการเจริญเติบโตหนึ่งวงจรนั้นต้นพืชมีการเจริญเติบโตทางใบและดอกสลับกับการพักตัว ทั้งนี้ต้นพืชเริ่มการเจริญเติบโตหลังจากหัวหรือลำลูกกล้วยผ่านการพัก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตัวแล้ว โดยการแตกตาดอกออกมาก่อนตาใบ หลังจากที่ดอกโรยและเริ่มติดฝักแล้ว จึงมีการเจริญของหน่อใบออกมาจากตาใบ ซึ่งอยู่ที่บริเวณโคนของลำลูกกล้วยแม่ ต่อมาต้นมีการสร้างลำลูกกล้วยควบคู่ไปกับการเจริญเติบโตของใบ

ศลิษา (2549) ศึกษาการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ดินว่านจูงนางชนิด *Geodorum recurvum* (Roxb.) Alston และ *G. siamense* Rolfe ex Downie ในวงจรการเจริญเติบโต 1 วงจรกล่าวว่า ว่านจูงนางทั้ง 2 ชนิดมีวงจรการเจริญเติบโตเป็นไปในลักษณะเดียวกัน โดยมีการเจริญเติบโตของดอกและใบสลับกับการพักตัวเป็นปี ๆ ไป และในช่วงที่มีการเจริญเติบโตนั้นต้นพืชเริ่มการเจริญเติบโตหลังจากหัวผ่านการพักตัวแล้วและมีการแทงหน่อใบออกมา หลังจากที่หน่อใบนี้เจริญเติบโตได้เล็กน้อยจึงมีตาดอกงอกออกมาเป็นช่อดอกอ่อน ออกมาจากซอกของกาบใบที่หุ้มโคนหน่อใบนั้น ช่อดอกดังกล่าวมีการเจริญเติบโตควบคู่ไปกับหน่อใบและเจริญก้าวหน้ากว่าหน่อใบ โดยที่ในระยะที่ช่อดอกยืดตัวเต็มที่และดอกบานแล้วนั้นการเจริญเติบโตของใบยังคงอยู่ในระยะที่มีการคลี่ตัวของใบ ดอกติดฝักได้ในธรรมชาติและเจริญเติบโตควบคู่ไปกับใบ ในขณะที่ใบขยายตัวมีการสร้างหัวใหม่ขึ้นมาที่บริเวณโคนต้น หัวใหม่หยุดการขยายขนาดเมื่อใบสิ้นสุดการเจริญเติบโต หลังจากนั้นส่วนเหนือดินตายไปคงเหลือเพียงหัวที่พักตัวเป็นระยะเวลา 4-5 เดือน หัวใหม่ของต้นพืชมีหัวเก่าของปีก่อน ๆ ซึ่งมีลักษณะแห้งและแข็งจำนวน 5-7 หัวติดอยู่เป็นแถวไม่หลุดและไม่สลายไป

จารุวรรณ (2550) ศึกษาการเจริญเติบโตของเอื้องน้ำต้น (*Calanth*e cardioglossa Schltr.) ที่เก็บรวบรวมมาจากแหล่งกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติ 2 แหล่ง ในเขตพื้นที่ป่าสงวนแห่งชาติขุนแม่กวง พบว่า มีการเจริญเติบโตในลักษณะเดียวกัน คือ เป็นพืชหลายฤดูผลัดใบ มีการเจริญเติบโตในลักษณะเป็นวงจรปีที่มีการเจริญเติบโตทางใบ และทางดอกสลับกับการพักตัว และมีการผลัดใบก่อนพักตัวในฤดูแล้ง โดยที่มีการเจริญเติบทางใบอยู่ในระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนมกราคมของปีถัดไป การเจริญทางดอกเริ่มในระหว่างเดือนกันยายนถึงเดือนกุมภาพันธ์ของปีถัดไป การสร้างลำลูกกล้วยเริ่มขึ้นในเดือนเมษายนและต้นพืชพักตัวตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**3. ลักษณะทางกายวิภาควิทยาของกล้วยไม้**

การศึกษาเกี่ยวกับส่วนประกอบของต้นพืชต้องศึกษาทั้งลักษณะภายนอกและโครงสร้างภายในของพืชควบคู่กันไป การศึกษาทางด้านกายวิภาควิทยาของพืช เป็นการศึกษาเกี่ยวกับรูปร่างลักษณะภายใน เนื้อเยื่อชนิดต่าง ๆ การเจริญ วิวัฒนาการ การเปลี่ยนสภาพ และความสำคัญของเนื้อเยื่อแต่ละชนิดตลอดจนลักษณะภายในและการเจริญของส่วนต่าง ๆ ของพืช

ชั้นสูง (เทียมใจ, 2546) สำหรับการศึกษาทางด้านกายวิภาควิทยาของกล้วยไม้นั้น Stern and Judd (2002) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการจัดกลุ่มและการเปรียบเทียบลักษณะทางกายวิภาคของกล้วยไม้ในเผ่า Cymbidieae โดยศึกษากับกล้วยไม้ 28 สกุลด้วยกัน พบว่า กล้วยไม้ที่เป็นสมาชิกของเผ่ามีลักษณะทางกายวิภาคที่ค่อนข้างเหมือนกันยกเว้นสกุล *Govenia* ที่มีความแตกต่าง กล่าวคือ ในพืชสกุลนี้ไม่พบเนื้อเยื่อชั้นวีเลเมนในรากและเนื้อเยื่อท่อลำเลียงในลำลูกกล้วยก็ไม่ปรากฏเซลล์สเคอเรงคิมา ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้ไม่พบในกล้วยไม้สกุลอื่น ๆ ของเผ่าเดียวกัน ในส่วนของสกุล *Grammatophyllum* และ *Porphyroglottis* ลักษณะเฉพาะอยู่ที่กลุ่มเซลล์เส้นใยซึ่งพบที่บริเวณขอบใบ ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์เส้นใยที่มีขนาดเล็กมีลักษณะเรียวและแคบ ผนังเซลล์หนา ส่วนเซลล์ในชั้นผิวและเซลล์มีโซฟิลล์มีขนาดของเซลล์ใหญ่และผนังของเซลล์บางกว่า ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้สามารถพบได้ในบางชนิดของสมาชิกสกุล *Maxillaria* ด้วย ซึ่งความจำเพาะดังกล่าวนี้สอดคล้องกับผลของการวิเคราะห์ DNA ซึ่งในที่สุดสามารถสรุปได้จากลักษณะจำเพาะทางกายวิภาควิทยาว่า กล้วยไม้ในเผ่า Cymbideae และ Maxillarieae มีความสัมพันธ์ใกล้ชิด ส่วนสกุล *Govenia* นั้นผลการศึกษาบ่งชี้ว่าไม่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับสมาชิกในเผ่า Cymbidieae เลย

Stern and Carlsward (2006) ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของลำต้น ใบ และราก ของกล้วยไม้ในเผ่าย่อย Oncidiinae เพื่อใช้ประกอบการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม เพื่อประโยชน์ในงานอนุกรมวิธาน จากการศึกษาพบว่า ลักษณะทางกายวิภาควิทยาของส่วนประกอบของต้นพืชในแต่ละชนิดของเผ่านั้นมีความชัดเจน สามารถจะแบ่งกลุ่มตามความคล้ายคลึงกันในด้านของลักษณะของเซลล์ การปรากฏของชั้นของเซลล์ในรูปแบบต่าง ๆ ในระบบเนื้อเยื่อแต่ละระบบ ไม่ว่าจะเป็นชั้นใต้เซลล์ผิวของใบ ลักษณะของมีโซฟิลล์ การสะสมผลึกซิลิกาภายในเซลล์ในชั้นของเซลล์ต่าง ๆ ตลอดจนลักษณะของการเพิ่มความหนาของผนังเซลล์ของเซลล์ในตำแหน่งต่าง ๆ

อุดมศรี (2543) ศึกษากายวิภาควิทยาของใบกล้วยไม้ดินชนิด *Eulophia andamanensis* พบว่า เนื้อเยื่อผิวของใบมีด้านละ 1 ชั้นเซลล์ เซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวเมื่อมองจากการลอกผิว และจากการตัดตามขวางมีรูปร่างหลายเหลี่ยมจนถึงรูปร่างไม่แน่นอน เมื่อมองจากการตัดตามขวางผนังเซลล์ด้านขนานกับผิวด้านนอกตรงจนถึงโค้งเล็กน้อย เซลล์ที่เส้นกลางใบและบริเวณแผ่นใบไม่แตกต่างกัน ผิวมีคิวตินเคลือบ ปากใบมีเฉพาะที่ผิวใบด้านล่าง อยู่ระดับเดียวกับเนื้อเยื่อชั้นผิว เป็นชนิดพาราไซติก และไซโคลไซติก ยาว 35-40 และกว้าง 27.5-30 ไมโครเมตร ช่องปากใบยาว 17.5-27.5 และกว้าง 2.5-7.5 ไมโครเมตร เมื่อมองจากการตัดตามขวาง สันด้านนอกของเซลล์คุมมีขนาดใหญ่กว่าสันด้านใน ไม่มีขน ไม่มีเนื้อเยื่อชั้นใต้ผิว ส่วนเนื้อเยื่อลำเลียง มีมัดท่อลำเลียงเรียงตัวอยู่ในระดับเดียวกัน ทุกมัดเป็นท่อลำเลียงแบบเคียงข้าง มีโฟลเอ็มอยู่ด้านล่างและ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไซเล็มอยู่ด้านบน มีเยื่อหุ้มท่อลำเลียงเป็นเซลล์เส้นใยอยู่ทางขั้วโดยเฉพาะที่ขั้วโฟลเอ็ม เส้นกลางใบมีเยื่อหุ้มท่อลำเลียงที่ขั้วโฟลเอ็มหนา 1-2 ชั้นเซลล์ มีเส้นใบย่อย 3 ขนาด ขนาดใหญ่มีเยื่อหุ้มท่อลำเลียงที่ขั้วโฟลเอ็มและที่ขั้วไซเล็ม ที่ขั้วโฟลเอ็มหนา 2-3 ชั้นเซลล์ ส่วนที่ไซเล็มหนา 1-2 ชั้นเซลล์ เส้นใยขนาดกลางและขนาดเล็กมีเยื่อหุ้มท่อลำเลียง 1 ชั้นเซลล์ เซลล์ที่อยู่ติดกับเยื่อหุ้มท่อลำเลียง มีเสตกมาตารูปกรวย ชั้นมีโซฟิลล์ประกอบด้วยเซลล์พาเรงคิมาที่มีคลอโรพลาสต์ มีรูปร่างและการเรียงตัวเหมือนกัน ไม่แยกเป็นแพลิเซดและสปองจี มีเซลล์อยู่ 8-10 ชั้นเซลล์ มีเซลล์สะสมผลึกรูปเข็ม มีเซลล์เส้นใยอยู่เป็นกลุ่มและเรียงตัวอยู่ในระดับเดียวกัน อยู่ในชั้นมีโซฟิลล์ใกล้ชั้นเนื้อเยื่อผิว เซลล์ที่อยู่ติดกลุ่มเซลล์เส้นใยเหล่านี้มี สเตกมาตารูปกรวย

จารุวรรณ (2550) ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของเอื้องน้ำต้น พบว่า รากมีระบบเนื้อเยื่อประกอบด้วยชั้นของเนื้อเยื่อผิว เนื้อเยื่อใต้ชั้นผิว คอร์เทกซ์ เอ็นโดเดอร์มิส และสตีลที่มีชั้นของเพอริไซเคิล มัดท่อลำเลียงมีการเรียงตัวของเซลล์ไซเล็มสลับกับเซลล์โฟลเอ็มแบบรัศมี ลำต้นประกอบด้วย เนื้อเยื่อผิว เนื้อเยื่อพื้น และมัดท่อลำเลียงซึ่งเป็นแบบท่อลำเลียงเคียงข้าง เนื้อเยื่อของใบประกอบด้วยชั้นเนื้อเยื่อผิวด้านบนใบและเนื้อเยื่อผิวด้านใต้ใบ ทั้ง 2 ด้านมีปากใบ เนื้อเยื่อพื้นเป็นเซลล์มีโซฟิลล์เรียงตัวแน่นอยู่เต็มพื้นที่ มัดท่อลำเลียงเป็นแบบท่อลำเลียงเคียงข้าง เนื้อเยื่อของกลีบดอกและกลีบเลี้ยงมีระบบเนื้อเยื่อเช่นเดียวกับใบ ฝักมีผนังผล 3 ชั้น ผนังผลชั้นนอกและชั้นในมีเซลล์เพียงชั้นเดียว ส่วนผนังผลชั้นกลาง มีหลายชั้น ผลมี 3 คาร์เพล ออวุลติดกับผนังรังไข่แบบพลาเซนตาตามแนวตะเข็บ

จารุภัทร (2549) ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของช้างผสมโขลง รายงานว่า ระบบเนื้อเยื่อของใบคล้ายคลึงกับใบพืชใบเลี้ยงเดี่ยวโดยทั่วไป มีความแตกต่างในบางลักษณะ คือ มีปากใบที่ชั้นเนื้อเยื่อผิวทั้งด้านบนใบและด้านใต้ใบ ตำแหน่งของปากใบอยู่ระดับเดียวกับเซลล์ผิว เซลล์คุมมีลักษณะเป็นรูปไต เนื้อเยื่อพื้นเป็นเซลล์มีโซฟิลล์ที่เรียงตัวกันแน่นมีรูปร่างคล้ายคลึงกันไม่แยกเป็นเซลล์แพลิเซดและเซลล์สปอนจี มัดท่อลำเลียงเป็นแบบท่อลำเลียงเคียงข้าง มีเซลล์ไซเล็มอยู่ด้านผิวใบด้านบนใบและเซลล์โฟลเอ็มอยู่ด้านผิวใบด้านใต้ใบ มัดท่อลำเลียงมีทั้งขนาดใหญ่และขนาดเล็ก มัดท่อลำเลียงขนาดใหญ่แต่ละมัดครอบคลุมพื้นที่ของเนื้อเยื่อพื้นทั้งหมด มัดท่อลำเลียงมีเยื่อหุ้มท่อลำเลียงและมีกลุ่มเซลล์เส้นใยโอบหัวและท้ายของมัดไว้ นอกจากนี้ยังปรากฏกลุ่มเซลล์เส้นใยกระจายตัวอยู่ใต้ชั้นเซลล์ผิวอีกด้วย ในเซลล์มีโซฟิลล์ขนาดใหญ่บางเซลล์ปรากฏผลึกรูปเข็ม

ศลิษา (2549) ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของว่านจูงนางชนิด *Geodorum recurvum* และ *G. siamense* รายงานว่าเนื้อเยื่อของลำต้นมีระบบเนื้อเยื่อในลักษณะเดียวกันกับพืชใบเลี้ยงเดี่ยวโดยทั่วไป แต่เนื้อเยื่อพื้นมีลักษณะจำเพาะคือมีคอร์เทกซ์ที่แยกออกเป็น 2 ชั้นตามความ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แตกต่างของรูปร่างลักษณะของเซลล์ โดยที่เซลล์คอร์เทกซ์ด้านนอกนั้นเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ที่มีรูปร่างและขนาดไม่แน่นอน เรียงตัวไม่เป็นระเบียบ ไม่มีช่องว่างระหว่างเซลล์ มีเซลล์ที่จะกลายเป็นเซลล์แอเรงคิมา ส่วนเซลล์ในคอร์เทกซ์ด้านในมีรูปร่างหลายเหลี่ยมที่ไม่แน่นอน เรียงตัวไม่เป็นระเบียบ มีช่องว่างระหว่างเซลล์ และคอร์เทกซ์ 2 ชั้นนี้มีแถบของเซลล์พาเรงคิมาขนาดเล็กจำนวน 2-3 ชั้นเซลล์คั่นไว้

**4. ลักษณะทางเซลล์วิทยา**

เซลล์วิทยาเป็นการศึกษาเกี่ยวกับเซลล์ของสิ่งมีชีวิตรวมถึงการศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบภายในเซลล์เหล่านั้นเพื่อใช้ในการจัดจำแนก และจัดกลุ่มของสิ่งมีชีวิตได้ คือ โครโมโซม เนื่องจากสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีความจำเพาะในจำนวน รูปร่าง และลักษณะของโครโมโซมที่แตกต่างกัน สำหรับการศึกษาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้นั้น มีนักวิจัยหลายท่านศึกษาเอาไว้ดังนี้ Latha (2002) ได้ศึกษาการใช้สีย้อมที่เหมาะสม โดยใช้สี lactopropionic orcein ในการย้อมสีโครโมโซมของกล้วยไม้จำนวน 5 ชนิด คือ *Habenaria crinifera, Nervilia aragoana, Vanda coerulea, Renanthera imschootiana* และ *Phalaenopsis* ลูกผสม พันธุ์ Chuck Hagan โดยใช้เทคนิคที่ง่ายและรวดเร็ว คือ การนำปลายรากที่เก็บมาในเวลา 10.00 น. จากนั้นหยดสีย้อม lactopropionic orcein ลงไป 2 หยด แล้วนำไปให้ความร้อนเพื่อให้เนื้อเยื่ออ่อนนิ่ม จากนั้นนำเนื้อเยื่อที่ได้ไปวางลงบนสไลด์ที่สะอาด แล้วหยดสีลงไปอีก 1 หยด ขยี้เนื้อเยื่อเพื่อให้เซลล์พืชตัวอย่างเกิดการกระจายตัว ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ วิธีนี้จะได้โครโมโซมที่ติดสีเข้ม โดยที่ไซโตพลาสซึมไม่ติดสี สามารถตรวจนับโครโมโซมได้สะดวก นับจำนวนโครโมโซมของพืชทดลองได้คือ *H.crinifera* มี 2n = 42, *N.aragoana* มี 2n = 88, *V.coerulea* และ *R.imschootiana* มี 2n = 38 และ *phalaenopsis* ลูกผสมพันธุ์ Chuck Hagan มี 2n = 57 นอกจากนี้ผู้วิจัยยังให้ความเห็นด้วยว่าเทคนิคที่เขาพัฒนาขึ้นนี้ลดขั้นตอนอันยุ่งยากได้หลายขั้นตอนและใช้เวลาในการเตรียมเนื้อเยื่อไม่เกิน 10 นาที แต่ได้ผลดีเท่าเทียมกับวิธีการที่เคยใช้กันมา

Bernardos *et al.* (2006) ศึกษาเซลล์วิทยาของกล้วยไม้เฉพาะถิ่นของหมู่เกาะคานารี 3 ชนิด คือ *Habenaria tridactylites, Himantoglossum metlessicsianum* และ *Orchis canariensis* ซึ่งมีการศึกษาทางด้านเซลล์วิทยาอยู่น้อยมาก จากการศึกษาพบว่า *Hi. metlesiesianum* มีจำนวนโครโมโซม 2n = 36 ส่วน *Ha. tridactylites* และ *O. canariensis* นั้นมี 2n = 32 และ 84 ตามลำดับ โดยที่ชนิดหลังเป็นพืชเตตระพลอยด์ และจากผลการศึกษา เขาได้อธิบายถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชที่เขาศึกษาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาและจำนวนโครโมโซมที่บ่งบอกถึงการจัดหมวดหมู่ และวิวัฒนาการของต้นพืชเหล่านั้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จารุวรรณ (2550) ศึกษาเทคนิคการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากของเอื้องน้ำต้นเพื่อให้ได้เซลล์ที่อยู่ในระหว่างการแบ่งตัวแบบไมโตซีสในระยะเมตาเฟส ซึ่งการได้เซลล์ดังกล่าวจะช่วยให้การศึกษาจำนวนโครโมโซมของต้นพืชสำเร็จได้ และจากผลการศึกษาปรากฏว่าวิธีการหรือเทคนิคในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากที่เหมาะสม คือ เก็บตัวอย่างปลายรากในเวลา 8.00 น. หยุดวงชีพเซลล์ในสารละลาย para-dichlorobenzene (PDB) เป็นเวลา 36 ชั่วโมง แล้วแช่ปลายรากในน้ำยารักษาสภาพเซลล์ หลังจากนั้นนำปลายรากไปย้อมด้วยสี carbol fuchsin นาน 30 นาที จากการศึกษาพบว่า เอื้องน้ำต้นมีโครโมโซม 2n = 44

จารุภัทร (2549) ศึกษาโครโมโซมของช้างผสมโขลงจากเนื้อเยื่อปลายราก พบว่าเทคนิคในการเตรียมเนื้อเยื่อที่เหมาะสมคือเก็บตัวอย่างปลายรากเวลา 11.00 น. จากนั้นนำปลายรากไปรักษาสภาพเซลล์ในสารละลายที่มีส่วนผสมของ 95% ethanol และกรดอะซิติกเข้มข้นในอัตราส่วน 3 ต่อ 1 โดยไม่ต้องผ่านการหยุดวงชีพเซลล์ ต่อมานำไปย้อมด้วยสี cabol fuchsin นาน 1 ชั่วโมง เมื่อนำเนื้อเยื่อที่ย้อมสีแล้วไปขยี้แล้วตรวจ พบว่าเซลล์ปลายรากมีโครโมโซม 2n = 56

ศลิษา (2549) ศึกษาโครโมโซมของว่านจูงนาง 2 ชนิดคือ *Geodorum recurvum* และ *G. siamense* จากเนื้อเยื่อปลายรากด้วยวิธีขยี้เซลล์ พบวิธีการเตรียมเนื้อเยื่อที่ได้ผล คือการเก็บตัวอย่างปลายรากเวลา 11.00 น. หยุดวงชีพเซลล์ในสารละลาย PDB นาน 3 และ 2 ชั่วโมงตามลำดับ แล้วนำไปย้อมด้วยสี cabol fuchsin นาน 6 และ 12 ชั่วโมงตามลำดับ เมื่อนำเนื้อเยื่อที่ผ่านกรรมวิธีดังกล่าวไปตรวจนับจำนวนโครโมโซมพบว่า ว่านจูงนางมีจำนวนโครโมโซม 2n = 128 และ 54 ตามลำดับ

**5 การศึกษารูปแบบไอโซไซม์**

เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซีสเป็นเทคนิคหนึ่งทางชีวเคมีที่มีความสำคัญและให้ประโยชน์มากในการศึกษาสารชีวโมเลกุล เช่น เอ็นไซม์ และกรดนิวคลีอิค (อาภัสรา, 2537) ปัจจุบันมีการนำเอาเทคนิคดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ร่วมกับการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นพืชเพื่อประโยชน์ในการจัดจำแนกพันธุ์พืช เพราะโดยทั่วไปแล้วการพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นพืชเพียงอย่างเดียวอาจยังไม่เพียงพอต่อการจัดจำแนกในกรณีที่ต้นพืชเหล่านั้นมีความใกล้ชิดกันมาก ดังนั้นจึงมีการนำเทคนิคทางชีวเคมีโดยใช้วิธีอิเล็คโทรโฟรีซิสมาตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชหรือใช้เพื่อเป็นข้อมูลประกอบในการจำแนกพันธุ์พืช โดยใช้การเปรียบเทียบรูปแบบไอโซไซม์ของพืชเหล่านั้น ดังที่ Harris and Abbott (1996) ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของกล้วยไม้ลูกผสมชนิด *Epipactis youngiana* ซึ่งเกิดขึ้นในธรรมชาติกับชนิดที่สงสัยว่าจะเป็นพ่อและแม่ คือ *E.helloborine* x *E.leptochila* หรือ *E.helleborine* x *E. phyllanthes*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา แต่เมื่อนำพืชเหล่านั้นไปศึกษารูปแบบไอโซไซม์แล้ววิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสายเลือด ปรากฏว่าลูกผสมแสดงความแปรปรวนของพันธุกรรมสูงมาก และมีความคล้ายคลึงกับคู่ผสมที่ทดสอบนั้นน้อยเกินไปที่จะเป็นลูกผสมที่เกิดจากคู่ผสม 2 คู่นั้น

Oh *et al.* (1990) ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของ *Calanthe* 5 ชนิด ได้แก่ *C. coreana, C. discolor, C. replexa, C. sieboldii* และ *C. discolor* var.bicolor เพื่อหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชเหล่านั้น โดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซีสกับเอนไซม์ 5 ระบบ พบว่า *C. coreana* และ *C. discolor* แสดงลักษณะของแถบสีที่คล้ายคลึงกัน ส่วน *C. discolor* var. bicolor ให้รูปแบบแถบสีของเอ็นไซม์ superoxide dismutase (SOD) อยู่ระหว่างรูปแบบของ *C. discolor* และ *C. sicboldii* ซึ่งวิเคราะห์ได้ว่า *C. discolor* var. bicolor เป็นลูกผสมของ *C. discolor* และ *C. sieboldii* ในขณะที่พบว่า *C. replex* นั้นไม่แสดงรูปแบบที่ใกล้เคียงกับ *Calanthe* อีก 4 ชนิดเลย

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 จากการวิเคราะห์เอนไซม์ 20 ระบบ พบว่า มีเอนไซม์ 6 ระบบ คือ esterase (EST), glutamic-oxaloacetate (GOT), leucine aminopeptidase (LAP), malate dehydrogenase (MDH), shikimate dehydrogenase (SKD) และ SOD ที่แสดงรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกัน ส่วนอีก 14 ระบบคือ aconitase (ACO), acid phosphatase (ACP), alcohol dehydrogenase (ADH), alkaline phosphate (ALP), diaphorase (DIA), formate dehydrogenase (FDH), glucose dehydrogenase (GDH), glutamate dehydrogenase (GLD), isocitrate dehydrogenase (IDH), malic enzyme (ME), phosphogluco- isomerase (PGI), phospho-glucomutase (PGM), peroxidase (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%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

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 และจำแนกกลุ่มได้ชัดเจนสอดคล้องกับการจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา แต่ไม่สามารถแสดงความสัมพันธ์ใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างสกุลและระหว่างชนิดได้อย่างสมบูรณ์

จารุวรรณ (2550) ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอื้องน้ำต้น 2 กลุ่มด้วยแอนไซม์ ACP, EST และ POX พบว่าเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด ให้แถบสีของไอโซไซม์ที่ชัดเจน ซึ่งเมื่อนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ระดับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของประชากรเอื้องน้ำต้น 2 กลุ่มนั้นพบว่าสามารถแยกประชากรดังกล่าวออกเป็น 2 กลุ่มได้อย่างชัดเจนที่ค่าความคล้ายคลึง 16% และเมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธุ์ทางพันธุกรรมของประชากรในกลุ่มที่ค่าความคล้ายคลึง 96% พบว่าแยกประชากรออกได้เป็นกลุ่มย่อยหลายกลุ่ม

จารุภัทร (2549) ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของช้างผสมโขลงจากใบที่อยู่ในระยะใบอ่อนและใบที่เจริญเติบโตเต็มที่โดยใช้เทคนิคโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็คโทรโฟรีซิสและใช้เอนไซม์ 3 ระบบ คือ ACP, EST และ POX ผลการศึกษาปรากฏว่าการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาความสัมพันธ์และความแตกต่างทางพันธุกรรมของกล้วยไม้ดินชนิดนี้ในกลุ่มประชากร 10 ประชากรที่เจริญเติบโตอยู่ในแหล่งกระจายพันธุ์ 1 แหล่งด้วย UPGMA cluster analysis และวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ทั้ง 3 ระบบร่วมกัน โดยใช้โปรแกรม SPSS release 11.5 พบว่าสามารถจำแนกประชากรออกได้เป็น 3 กลุ่ม

ศลิษา (2549) ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของว่านจูงนาง 2 ชนิด โดยวิธีโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็คโทรโฟรีซิส ระบบเอนไซม์ที่ใช้ในการทดสอบมี 3 ระบบ คือ ACP, EST และ POX ทดสอบกับเนื้อเยื่อของใบที่มีระยะการเจริญเติบโต 2 ระยะคือระยะใบอ่อนและระยะที่เจริญเติบโตเต็มที่รายงานว่าผลการวิเคราะห์สามารถแยกว่านจูงนางทั้ง 2 ชนิดออกจากกันได้และสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**6. การผสมพันธุ์กล้วยไม้**

การขยายพันธุ์กล้วยไม้แบบอาศัยเพศเป็นการขยายพันธุ์ที่ต้องพึ่งการผสมเกสรเป็นหลัก วิธีนี้ยังเป็นวิธีการที่จำเป็นสำหรับการสร้างพันธุ์พืชพันธุ์ใหม่ เพื่อการปรับปรุงลักษณะต่าง ๆ

ให้ได้ต้นพืชที่มีลักษณะเด่นแปลกตาออกไป และเหมาะสมกับวัตถุประสงค์ในการใช้งาน การขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดยังเป็นการเพิ่มปริมาณต้นกล้วยไม้ให้มีมากขึ้น และรวดเร็วกว่าการขยายพันธุ์ในแบบอื่น ๆ แต่การผสมพันธุ์กล้วยไม้จะประสบผลสำเร็จได้มากน้อยเท่าใดนั้นจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง การเลือกต้นแม่ที่มีความสมบูรณ์เต็มที่เป็นปัจจัยหนึ่งในการเลือกต้นแม่และเลือกดอกที่จะใช้ในการผสมพันธุ์นั้นควรจะเลือกดอกที่บานแล้ว 2-3 วัน และเลือกดอกที่โคนช่อเพื่อให้ระยะทางส่งอาหารสั้นลง ลดปัญหาก้านช่อดอกหักในขณะติดฝัก ในการผสมเกสรทำโดยการเขี่ยกลุ่มเรณูไปแตะลงบนน้ำเหนียว ๆ ในแอ่งยอดเกสรตัวเมีย ทำการติดป้ายบอกวันที่ผสมและชื่อต้นแม่และต้นพ่อเพื่อป้องกันการสับสน (ครรชิต, 2547)

สำหรับการเก็บรักษาเรณูเพื่อรอการผสมเกสรในช่วงเวลาที่เหมาะสมก็เป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่ง โดยเฉพาะในกรณีที่ดอกตัวผู้และดอกตัวเมียพร้อมผสมในเวลาที่แตกต่างกัน การเก็บรักษาละอองเรณูทำโดยการนำเอากลุ่มเรณูออกมาใส่ไว้ในหลอดแคปซูลยา จากนั้นปิดแคปซูลให้แน่นเขียนข้อมูลดอกไว้ที่ตัวหลอด แล้วนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส (°ซ) จะสามารถเก็บไว้ได้นานถึง 1 ปี โดยไม่สูญเสียคุณสมบัติ (ครรชิต, 2547) สำหรับงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการผสมเกสรนั้น จารุวรรณ (2550) ได้ศึกษาการผสมเกสรเอื้องน้ำต้นแบบผสมตัวเองในช่วงเวลาแตกต่างกันตั้งแต่ 8.00 – 9.00 น. 10.00 – 11.00 น. 16.00 – 17.00 น. และ 18.00 – 19.00 น. พบว่าต้นพืชผสมติดฝักในทุกกรรมวิธี โดยมีเปอร์เซ็นต์การผสมติด 100% ในทุกกรรมวิธี

จารุภัทร (2549) รายงานผลการผสมเกสรของช้างผสมโขลงซึ่งทดลองการผสมด้วยมือในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน 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

ศลิยา (2549) ทดลองผสมเกสรว่านจูงนาง 2 ชนิดในช่วงเวลา 7.00, 8.00, 9.00, 10.00, 11.00, 17.00, 18.00 และ 19.00 น. พบว่าว่านจูงนางชนิด *Geodorum recurvum* มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดสูงเป็น 100% ในช่วงเวลา 8.00, 9.00 และ 10.00 น.ส่วนช่วงเวลาอื่น ๆ มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดรองลงมาและเปอร์เซ็นต์การผสมติดต่ำที่สุดเป็น 70% เกิดจากการผสมเกสรในช่วงเวลา 7.00 และ 11.00 น. ส่วนผลของการผสมเกสรในชนิด *G. siamense* นั้น พบว่าช่วงเวลาที่ให้เปอร์เซ็นต์การผสมติดเป็น 100% คือ 11.00, 17.00, 18.00 และ 19.00 น. ช่วงเวลาที่มี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เปอร์เซ็นต์การผสมติดรองลงมา คือ 80% ได้แก่ช่วงเวลา 8.00, 9.00 และ 10.00 น. และช่วงเวลาที่มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดต่ำที่สุด คือ ช่วงเวลา 7.00 น. โดยผสมติดเพียง 40%

**7. การขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ**

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นการเพาะเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของต้นพืชในอาหารสังเคราะห์ภายใต้สภาวะไร้เชื้อ ชิ้นส่วนของพืชไม่ว่าจะเป็นจากส่วนใดของต้นพืชก็ตามสามารถเจริญเติบโตขึ้นได้ในอาหารสังเคราะห์เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม ในปัจจุบันนี้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลายทั่วโลก สำหรับกล้วยไม้ การใช้ประโยชน์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนิยมทำกันในทางการค้าเพื่อเพิ่มปริมาณต้นพืชให้เพียงพอต่อความต้องการ (ศิวพงษ์, 2546)

เมล็ดกล้วยไม้แตกต่างจากพืชชนิดอื่น ๆ เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีอาหารสะสมอยู่ภายในเมล็ดเพียงเล็กน้อยไม่เพียงพอต่อการงอก ในสภาพธรรมชาติการงอกของเมล็ดต้องอาศัยอาหารจากเชื้อราที่อาศัยอยู่ในเมล็ด เป็นการพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน ดังนั้นการนำเมล็ดมาเพาะบนอาหารวิทยาศาสตร์จะช่วยให้ได้จำนวนต้นกล้ามากกว่าการเพาะเมล็ดในธรรมชาติหลายเท่า เนื่องจากได้รับอาหารอย่างเพียงพอและสภาพแวดล้อมเหมาะสม (ครรชิต, 2547) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในกล้วยไม้นั้น ปัจจุบันมีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง เช่น มัลลิกา (2547) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการงอกและการพัฒนาต้นอ่อนของกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็ก จากการศึกษาพบว่า การเพาะเมล็ดลงบนอาหารวุ้นสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1) ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างกัน คือ 2,4 และ 6% พบว่าเมล็ดจากฝักที่มีอายุ 6, 7 และ8 สัปดาห์ สามารถงอกได้ในอาหารที่มีน้ำตาลทุกระดับ เมล็ดจากฝักอายุ 7 สัปดาห์ใช้เวลาเพื่อการงอกเพียง 28 วัน ในขณะที่เมล็ดที่มาจากฝักอายุ 8 สัปดาห์ใช้เวลาเพื่อการงอก 56 วัน ในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลต่างกันนั้น เมล็ดจากฝักอายุ 7 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย 62.50, 50.00, และ 33.50% ตามลำดับ และพบการตายของโปรโตคอร์มในอาหารที่มีซูโครส 6% ในขณะที่เมล็ดอายุ 8 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การงอกสุดเพียง 3.00, 3.00 และ 2.50 % ตามลำดับและพบการตายของโปรโตคอร์มสูงสุดหลังการเพาะ 79 วัน

สุจรรยา (2540) ศึกษาการเพาะเมล็ดของกล้วยไม้ดินใบหมาก โดยการนำเมล็ดแก่มาเพาะในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารแข็งสูตร Vacin and Went (1949) ที่ดัดแปลงเพิ่มน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มล/ล กล้วยหอมบด 50 ก/ล และถ่านกัมมันต์ 2 ก/ล พบว่า เมล็ดงอกดีมากหลังเพาะนาน 1 เดือน และเจริญเป็นต้นกล้าสูง 1-2 ซม ภายใน 1 เดือนหลังจากนั้น ระยะนี้ถ่ายต้นกล้าลงบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) ที่ดัดแปลงเพิ่มน้ำมะพร้าวอ่อน 150 มล/ล กล้วยหอมบด 100 ก/ล มันฝรั่งบด 50 ก/ล และถ่านกัมมันต์ 2 ก/ล เลี้ยงไว้นาน 6 เดือนจนต้นขนาดใหญ่และมีระบบรากที่ดี จึงย้ายต้นกล้าออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สุจรรยา และ คณะ (2548) ศึกษาการชักนำให้เกิดยอดในกล้วยไม้ดิน *Coelogyne tenasserimensis* Scidenf. หวายเอื้องทอง (*Dendrobium ellipsohyllum* Tang & Wang) และแวนด้าเข็มขาว (*Vanda lilacina* Teijsm. & Binnend.) โดยเลี้ยงกล้วยไม้อายุ 1 เดือนในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมไซโตไคนิน 4 ชนิด คือ $N^6$- benzyladenine (BA) kinetin thidiazuron (TDZ) และ zeatin ความเข้มข้น 5 μM พบว่า หลังจากเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ ต้นกล้ากล้วยไม้ถูกชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากได้ โดยหวายเอื้องทองและ *Coelogyne* เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ ที่มีความเข้มข้น 5 μM สามารถเกิดยอดใหม่เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 7 และ 3.2 ยอดต่อต้นตามลำดับ ส่วนแวนด้าเข็มขาวเกิดยอดใหม่เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 4 ยอดต่อต้นเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 5 μM สำหรับการใช้ kinetin และ zeatin มีผลต่อการชักนำการเกิดยอดน้อยมาก ในขณะที่การใช้ TDZ ไม่สามารถ ชักนำการสร้างรากได้ ทั้งนี้เมื่อนำต้นกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิดออกปลูกในโรงเรือน พบว่า เอื้องทองมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด รองลงมาคือ เข็มขาว และ *Coelogyne* คิดเป็นร้อยละ 100, 85 และ 50 ตามลำดับ

ยรรยง (2545) ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลิ้นมังกรใบจุด (*Habenaria carnea* N.E. Br.) พบว่า ลิ้นมังกรใบจุดเป็นกล้วยไม้ดินที่มีหัวลักษณะเป็นแท่งกลมคล้ายดินสอยาว 1.0-4.5 ซม มีจุดเจริญที่ปลายข้างหนึ่งของหัว เจริญเติบโตในช่วงฤดูฝน ผลิใบจำนวน 3-7 ใบ ใบรูปใบหอก กว้าง 2.0-5.0 ซม ยาว 4.0-16.0 ซม ช่อดอกเกิดจากปลายยอดเมื่อต้นเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว ดอกเป็นช่อ มีดอกย่อย 2-14 ดอก พร้อมเกิดหัวใหม่ 1-2 หัว การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อเพื่อให้ได้ต้นอ่อน พบว่าการใช้อาหารเหลวสูตร VW ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหาร 0.5 เท่า ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุด เมื่อนำต้นอ่อนที่ได้ไปย้ายลงอาหารแข็งที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหาร 0.5 หรือ 1.0 เท่าของสูตร VW มาตรฐานร่วมกับการใส่น้ำตาลทราย หรือกลูโคส 10 หรือ 20 กรัมต่อลิตร พบว่า ต้นอ่อนสามารถเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารสูตร VW ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารเป็น 0.5 เท่าร่วมกับกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร และเมื่อย้ายต้นอ่อนไปเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหาร 0.5 หรือ 1.0 เท่าของ VW หรือ ปุ๋ยสูตร 21-21-21 อัตรา 0.5 หรือ 1.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการเพิ่มหรือไม่เพิ่มวิตามินรวม พบว่าต้นอ่อนเจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร 1.0 เท่าของ VW ที่เพิ่มวิตามินรวม โดยค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในอาหารสูตร VW ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตคือ 6.0 และสำหรับการทดลองสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการลงหัวของต้นลิ้นมังกรใบจุดในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า ต้นลิ้นมังกรใบจุดเจริญเติบโตและลงหัวได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร VW ที่เพิ่มวิตามินรวม หลังจากนำต้นลิ้นมังกรใบจุดที่มีใบ 6.1-7.1 ใบ ย้ายออกปลูกในโรงเรือน วัสดุปลูกที่ทำให้ต้นกล้าแข็งแรง และมีจำนวนหัวเพิ่มมากขึ้น คือ เพอร์ไลท์ผสมขุยมะพร้าวในอัตรา 1:1 และพบว่าต้นลิ้นมังกรใบจุดส่วนมากมีการทิ้งใบและพักตัว

ปิยะนุช (2547) ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ด การเจริญของโปรโตคอร์ม และการเจริญของต้นและหัวในสภาพปลอดเชื้อของลิ้นมังกร พบว่า เมื่อเพาะเมล็ดในอาหาร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เหลวสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1) นาน 1 สัปดาห์ เมล็ดอายุ 3 สัปดาห์หลังการผสมเกสร ยังเห็นรูปร่างของเอ็มบริโอไม่ชัดเจน ในขณะที่เมล็ดจากฝักอายุ 4, 5, 6 และ 7 สัปดาห์ สามารถเห็นเอ็มบริโอที่มีรูปร่างเป็นวงรี และมีการขยายขนาดเฉลี่ยในเวลาที่เพิ่มขึ้น ไม่พบการงอกจากเมล็ดของฝักอายุ 3 และ 4 สัปดาห์หลังการผสมเกสร ในสัปดาห์ที่ 20 หลังการเพาะเมล็ด พบโปรโตคอร์มขนาดเฉลี่ยใหญ่กว่าจากฝักอื่น เอ็มบริโอจากฝักอายุมากและมีตำแหน่งใกล้โคนช่อดอกยาวกว่าเอ็มบริโอจากฝักอายุน้อยและมีตำแหน่งอยู่ใกล้ปลายช่อดอก การทดลองเกี่ยวกับผลของแสงและอุณหภูมิพบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและได้รับแสง เอ็มบริโอมีขนาดเฉลี่ยใหญ่กว่าเมื่อเลี้ยงในอุณหภูมิต่ำที่ได้รับหรือไม่ได้รับแสงหลังการเพาะนานเท่ากัน เมล็ดสามารถงอกได้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ทั้งที่ได้รับและไม่ได้รับแสง (0.25 และ 0.48% ตามลำดับ) แต่น้อยและช้ากว่าการงอกที่ 30 องศาเซลเซียส และได้รับแสง การเพาะเมล็ดจากฝักอายุ 7 สัปดาห์ในอาหารวุ้นสูตร VW (1949) ดัดแปลง (CMU1) ที่มีระดับน้ำตาลต่างกัน (0, 2, 4, 6, 8 และ 10%) พบว่าน้ำตาลไม่มีผลต่อการเพิ่มขนาดเฉลี่ยของเอ็มบริโออย่างมีนัยสำคัญ เมล็ดงอกได้ในอาหารที่มีและไม่มีน้ำตาล อาหารที่มี BA และ/หรือ NAA ช่วยเพิ่มการงอก โดยพบว่า NAA 0.1 มก/ล เพียงอย่างเดียวให้ขนาดโปรโตคอร์มใหญ่ที่สุด และพบว่า การให้ระยะมืดก่อนการให้แสงไม่มีผลต่อการเจริญของโปรโตคอร์มไปเป็นต้นอ่อน การให้อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสทำให้โปรโตคอร์มไม่สามารถเจริญไปเป็นต้นได้ แต่ต้นพัฒนาและเจริญได้ในอุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส และพบว่าต้นอ่อนไม่สามารถมีชีวิตรอดในอาหารที่มีซูโครส 8% ทั้งมีและไม่มีกล้วยบด หรือน้ำสกัดมันฝรั่ง ในขณะที่ซูโครส 4% เหมาะสมกับการเจริญ และเมื่อใช้ร่วมกับกล้วยบด 25 หรือ 50 ก/ล ส่งเสริมการสร้างหัวใหม่ 50-70% แต่กล้วยบดเพียงอย่างเดียวไม่มีผลต่อการเจริญของใบและราก ในขณะที่สามารถใช้น้ำสกัดมันฝรั่ง 0-100 ก/ล เลี้ยงต้นได้ แต่น้ำสกัดมันฝรั่งร่วมกับซูโครสมีผลในทางลบต่อใบ และราก แต่น้ำสกัดมันฝรั่งที่ 100 ก/ล เพียงอย่างเดียวช่วยให้มีการสร้างหัวใหม่มากที่สุดถึง 50%

ราตรี (2547) ศึกษาผลของออกซิน และไซโตไคนินบางชนิดต่อการขยายพันธุ์กล้วยไม้ดินพันธุ์นางอั้ว (*Habenaria dentate* (SW.) Schltr.) .ในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำเนื้อเยื่อปลายยอด และหัวนางอั้วน้อย เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VS ซึ่งเติม NAA, 2,4 – D, BA หรือ TDZ ความเข้มข้นต่างกันเป็นเวลา 90 วัน พบว่าการเติม BA 3 มิลลิกรัม/ลิตร หรือTDZ 1.5 มิลลิลิตร/ลิตร ในอาหารเพาะเลี้ยงทำให้เนื้อเยื่อปลายยอด มีการสร้าง protocorm like bodies (plbs) สูงสุดเท่ากับ 99 plbs ต่อชิ้นส่วน หรือ 77.4 pllbs ต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ส่วนในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนหัว พบว่า การเติม BA 3 มิลลิกรัม/ลิตร ในอาหารเพาะเลี้ยง มีผลทำให้ชิ้นส่วนหัว สร้าง plbs สูงที่สุดเท่ากับ 32.94 plbs ต่อชิ้นส่วน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved