

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว อยู่ในวงศ์ Orchidaceae เป็นพืชหลายฤดู (สลิล, 2549) ในธรรมชาติ สามารถแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ได้ 2 กลุ่มคือ กล้วยไม้อิงอาศัย และ กล้วยไม้ดิน (อบนันท, 2549) หากจำแนกตามแหล่งที่กล้วยไม้เจริญเติบโตอยู่ในธรรมชาติจะแบ่งเป็น 4 แบบ คือ กล้วยไม้อิงอาศัย กล้วยไม้อาศัยบนหิน กล้วยไม้อาศัยในน้ำ และ กล้วยไม้อาศัยบนดิน (สลิล, 2549) โดยในประเทศไทยพบกล้วยไม้รวมทั้งสิ้น 167 สกุล มากกว่า 1,140 ชนิด

เป็นที่รู้จักว่า *Nervilia* เป็นกล้วยไม้ดินชนิดแรก ที่ถูกจัดให้อยู่ในเผ่าย่อย *Nerviliinae* พบในเขตกึ่งร้อนและเขตร้อน (Hawkes, 1965) สกุลเนอรวีเลีย หรือ เนอรวีเลีย ตั้งขึ้นเมื่อปี ค.ศ. 1830 โดย Philibert Commerson และ Charles Gaudichaud-Beaupre สองนักพฤกษศาสตร์ชาวฝรั่งเศส สำหรับชื่อสกุลมีรากศัพท์มาจากภาษากรีกว่า *nervus* แปลว่า เส้นเลือด ที่สื่อถึงเส้นใบที่เห็นเด่นชัด ส่วนชื่อไทยเรียกกันว่าสกุล “แผ่นดินเย็น” (สลิล, 2549) ซึ่ง Dockrill (1969) กล่าวว่ากล้วยไม้ในสกุลนี้เป็นกล้วยไม้ดินผลัดใบ

1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Nervilia*

Seidenfaden (1978) รายงานว่าพบกล้วยไม้ดินที่อยู่ในสกุล *Nervilia* ในประเทศไทย 9 ชนิด โดยอ้างถึง Schlechter (1911) ว่าแบ่งออกได้เป็น 3 หมู่ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Dockrill (1969) โดยแบ่งตามจำนวนดอกที่เกิดบนช่อดอก หมู่ที่ 1 คือ *Linervia* ซึ่งต้นพืชในหมู่นี้มีดอกเพียงดอกเดียว หมู่ที่ 2 คือ *Vinerlia* ซึ่งต้นพืชมีก้านช่อดอกสั้นและมีดอก 2 - 3 ดอกต่อช่อ ส่วนใหญ่มี 2 ดอกต่อช่อ และหมู่ที่ 3 คือ *Nervilia* ซึ่งเป็นต้นพืชมีก้านช่อดอกยาว และมีดอก 4 - 20 ดอกต่อช่อ

ลักษณะทั่วไปของพืชสกุล *Nervilia* คือเป็นกล้วยไม้บนดิน เจริญทางด้านข้าง มีหัวรูปทรงกลมอยู่ใต้ดิน บางชนิดหัวเป็นตุ่มหนาม ใบพับจีบ รูปหัวใจทรงกว้างซึ่งเป็นลักษณะเด่น (Hawkes, 1965) มีใบเพียงใบเดียวงอกออกมาจากหัวหรือจากลำต้นใต้ดิน (Dockrill, 1969) มีทั้งใบปรกดินหรือชูเหนือผิวดิน แผ่นใบเกลี้ยงหรือมีขนปกคลุม ขอบใบเรียบ ใบอ่อนพับจีบ มีอายุฤดูเดียว ใบไม่มีข้อต่อ ทั้งใบก่อนออกดอก มีทั้งดอกเดี่ยวและช่อดอก ดอกมีความสวยงามสมบูรณ์ (Hawkes, 1965) ดอกเจริญออกมาจากหัวซึ่งอยู่ใต้ดิน ดอกมีขนาดเล็ก แต่ละช่ออาจมีมากกว่า 30 ดอก ดอก

ย่อยเรียงเวียน กลีบเลี้ยงและกลีบดอกแยกเป็นอิสระ มีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกัน ดอกมีสีขาว สีน้ำตาล สีม่วงแดง จนถึงสีเขียว บางชนิดมีทั้งดอกสีขาวและสีม่วง ขอบกลีบเรียบ กลีบปากอยู่ด้านล่าง มักมีหูกลีบปากรูปสามเหลี่ยมแต่บางชนิดไม่เด่นชัดนัก (สลิล, 2549) ไม่มีเดือยดอก (Dockrill, 1969) หรือคางดอก ด้านบนของแผ่นปากเรียบ เกือบหรือมีขนปกคลุม เส้นแวงยาว ที่ส่วนปลายมีฝากรอบ กลุ่มเรณูมี 2 กลุ่ม ประกอบด้วยเรณูย่อยเรียงกันแน่น ไม่มีก้านและเป็นก้านกลุ่มเรณู (สลิล, 2549) ในส่วนของสกุล *Nervilia* นั้น ออบันท์ (2549) กล่าวถึงไว้ว่า กล้ายไม้สกุลนี้มีส่วนเหนือดินเจริญเฉพาะฤดูกาล แต่ละต้นมีใบเพียง 1 ใบ รูปเกือบกลม และแผ่นใบพับจีบคล้ายพัด จัดเป็นกล้ายไม้ประเภทใบสวยงามอีกสกุลหนึ่ง หลังฤดูแล้งมีช่อดอกเกิดก่อนหลังจากนั้นจึงมีใบเจริญตามมา มีหัวอยู่ใต้ดินรูปร่างค่อนข้างกลม ผิวขรุขระคล้ายเป็นหนาม และมีไหลแยกไปสร้างหัวใหม่ ช่อดอกมีสีกลมกลืนกับสภาพแวดล้อม ขนาดค่อนข้างเล็ก และมีช่วงการเจริญประมาณ 1 สัปดาห์ ชนิดที่พบเห็นได้ทั่วไปคือ *N. aragoana* Gaud. กล้ายไม้ชนิดนี้เป็นหนึ่งใน 10 ชนิดที่พบในประเทศไทย และพบได้ง่ายกว่าชนิดอื่น ๆ มีชื่อไทยว่า วานพระนิม แผ่นดินเย็น บัวสันโดย (Dockrill, 1969) และ บัวหัวเดียว (Vaddhanaphuti, 2005)

มีลักษณะทางสัณฐานดังต่อไปนี้

1. หัว เป็นแบบคอร์ม (corm) (สลิล, 2549) หัวค่อนข้างกลม (Hawkes, 1965) และแข็ง มีข้อปล้องไม่มาก (สลิล, 2549) ลำต้นเป็นหัวใต้ดิน (ออบันท์, 2549) มีรากสั้น ๆ แหวงออกมา (Dockrill, 1969) มีการสร้างไหลหลังจากที่มีการแทงช่อดอกออกมาจากหัวแล้ว โดยปลายไหลทำหน้าที่สะสมอาหาร และแปรรูปไปเป็นหัวใหม่ (Hawkes, 1965) ในฤดูกาลที่ไม่เหมาะสมต้นพืชจะพักตัวอยู่ใต้ดิน (สลิล, 2549)

2. ใบ ต้นพืชมีใบเพียงใบเดียว (Hawkes, 1965) แหวงออกมาจากหัวซึ่งอยู่ใต้ดิน ก้านใบยาว 15-20 เซนติเมตร (ซม) (Dockrill, 1969) ใบรูปหัวใจ (Hawkes, 1965) หรือเกือบกลม ขนาด 6 – 12 ซม พับจีบคล้ายพัด ปลายใบเป็นติ่งแหลม แผ่นใบเกลี้ยง ค่อนข้างบาง (ออบันท์, 2549) ขอบใบหยักเป็นคลื่นตามรอยจีบ (Hawkes, 1965) ผิวใบด้านบนสีเขียวเป็นมัน (Dockrill, 1969) บางครั้งมีจุดม่วง ประเป็นแนวโค้งกลางใบ (ออบันท์, 2549) โคนใบเว้าลึก (Dockrill, 1969)

3. ช่อดอก ช่อดอกเป็นช่อกระจจะ (ออบันท์, 2549) ช่อเดียวต่อหัว (Hawkes, 1965) ดอกในช่อโปร่ง มีดอกจำนวนมากเรียงบนแกนช่อ ดอกบานจากโคนไปสู่ปลายช่อ ช่อดอกตั้งตรง ก้านช่อดอกยาวกว่า 60 ซม (ออบันท์, 2549) มีกาบใบยาว และ แคมปรากฏบนก้านช่อดอก (Dockrill, 1969) ก้านดอกกลม สีเขียวถึงเขียวเข้ม (ออบันท์, 2549) เมื่อติดฝักก้านดอกจะยึดตัวอย่างรวดเร็ว เพื่อยกฝักให้สูงขึ้นช่วยให้เมล็ดแพร่กระจายพันธุ์ได้ดี (สลิล, 2549)

4. ดอก มีจำนวนเฉลี่ย 6 ดอกต่อช่อ (Dockrill, 1969) ดอกมีขนาด 1.5 – 2 ซม กีบเลี้ยงและกลีบดอกรูปแถบกลีบทั้ง 5 มีสีเขียว ปลายกลีบแหลม กลีบปากรูปรีแกมรูปไข่ กลีบ (อบันันท์, 2549) แบ่งออกเป็น 3 ส่วน มีเส้นสีม่วง หรือ สีเขียวอยู่บนกลีบ (Dockrill, 1969) กลีบเลี้ยงและกลีบดอก ยาว 20-35 มิลลิเมตร (มม) ปลายกลีบปากมน มีหูปากรูปสามเหลี่ยมตั้งชัน แผ่นกลีบมีขนสีเขียวจนถึงสีแดง (อบันันท์, 2549) ดอกบานเต็มที่อาจแผ่กางหรือห่อไม่แผ่กาง (Dockrill, 1969) เกสรเพศผู้ และ เพศเมียเชื่อมกับเส้าเกสรมีลักษณะเป็นก้านเดี่ยวอยู่ใจกลางดอก ผลครอบเรณูแบ่งเป็น 2 ช่อ (สลิล, 2549)

5. ฟัก และ เมล็ด เป็นผลแบบแตกตามแนวตะเข็บทั้ง 3 แนว เมล็ดมีขนาดเล็กมากจนเป็นผงคล้ายฝุ่น มีจำนวนมหาศาล ภายในเมล็ดไม่มีส่วนที่เป็น เอนโดสเปิร์ม แต่จะมีเอ็มบริโออยู่ภายใน (สลิล, 2549)

2. การศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยา

ลิลลี่ (2546) กล่าวถึงโครงสร้างทางกายวิภาคโดยทั่วไปของพืชว่า ประกอบด้วยเซลล์ที่มีชีวิตหลายชนิดที่มีรูปร่างและองค์ประกอบภายในแตกต่างกัน ซึ่งทำหน้าที่แตกต่างกัน การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานและพัฒนาการของพืช พิจารณาจากความสำคัญของเซลล์ที่เป็นโครงสร้าง และหน้าที่ พืชเกิดเซลล์ใหม่ ๆ เพิ่มขึ้นในส่วนเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด หรือ ปลายราก โดยเกิดการเจริญ และ เปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเจริญปฐมภูมิ หรือเกิดการเติบโต และเจริญไปทางด้านข้างของเนื้อเยื่อเจริญทุติยภูมิ การคุดน้ำ และธาตุอาหารซึ่งเกิดขึ้นบริเวณใกล้ปลายราก หรือ การที่เนื้อเยื่อเจริญปลายยอดมีการสร้างใบใหม่ ปลายยอดที่ยืดขยายออกไปนี้ต้องมีระบบท่อลำเลียงที่เชื่อมต่อกับท่อลำเลียงเดิม โดยการเกิดเซลล์ และเนื้อเยื่อขึ้นมาใหม่จากเนื้อเยื่อวาสคิวลาแคมเบียม ยิ่งไปกว่านั้นการเติบโตและพัฒนาของพืชซึ่งอยู่กับที่ไม่อาจเคลื่อนย้ายได้ จึงสามารถศึกษาหรือตรวจสอบการตอบสนองที่มีต่อปัจจัยสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดีและชัดเจน

สำหรับการศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์เพื่อการจำแนกชนิดของกล้วยไม้ใน Stern and Judd (2002) ได้ศึกษากายวิภาคเพื่อการจำแนกและเปรียบเทียบลักษณะของกล้วยไม้ในเผ่า Cymbidieae รายงานว่ากล้วยไม้ในเผ่ามี 28 สกุล ทุกสกุลยกเว้นสกุล *Govenia* มีลักษณะทางกายวิภาคที่คล้ายคลึงกัน ในสกุล *Grammatophyllum*, *Porphyroglottis* และ *Maxillaria* พบว่า ใบของต้นพืชบางชนิดใน 3 สกุลนี้มีเซลล์เส้นใยที่มีลักษณะพิเศษ คือ เซลล์ดังกล่าวที่อยู่บริเวณขอบใบมีรูปร่างเรียวยาว และมีผนังเซลล์หนา ส่วนเซลล์เส้นใยที่อยู่ใกล้เคียงกับเซลล์มีไซฟิลล์ มีขนาดใหญ่กว่า และมีผนังเซลล์บางกว่า ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมดังกล่าวสามารถยืนยันได้จากผลการวิเคราะห์ DNA ที่ได้ผลสอดคล้องกัน

จารุภัทร (2549) ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของข้างผสมโหลง (*Eulophia graminea* Lindl.) รายงานว่า เนื้อเยื่อชั้นผิวของรากประกอบด้วยเซลล์ผิวหนัง 4 - 5 ชั้นเซลล์ ชั้นคอร์เทกซ์ เป็นเนื้อเยื่อพื้นที่อยู่ระหว่างเนื้อเยื่อผิวกับเนื้อเยื่อลำเลียง โดยคอร์เทกซ์ชั้นนอกประกอบด้วยเซลล์ 1 ชั้นเซลล์ เนื้อเยื่อพื้นของคอร์เทกซ์เป็นเซลล์พาเรงคิมารูปร่างค่อนข้างกลมหรือหลายเหลี่ยม มีหลายขนาด เซลล์เรียงตัวแน่น ปรากฏช่องว่างระหว่างเซลล์ ส่วนคอร์เทกซ์ชั้นในประกอบด้วยเซลล์เพียงชั้นเดียว เซลล์เรียงต่อกันเป็นวงรอบกลุ่มท่อลำเลียง เซลล์เหล่านี้มีรูปร่างไม่แน่นอนเป็นเซลล์หลายเหลี่ยมที่มีขนาดต่างกัน มัดท่อลำเลียงมีการเรียงตัวของเซลล์ไซเล็มสลับกับเซลล์โฟลเอ็มแบบรัศมี นอกจากนี้ยังพบว่ามีเซลล์แอเรนคิมาแทรกอยู่ในบางบริเวณระหว่างเนื้อเยื่อลำเลียงและเนื้อเยื่อแกน

ศลิษา (2549) ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของใบของว่านจูนาง 2 ชนิดคือ *Geodorum recurvum* (Roxb.) Alston และ *G. siamense* Rolfe ex Downie พบว่ามีลักษณะคล้ายคลึงกัน คือ เนื้อเยื่อชั้นผิวประกอบด้วยเซลล์พาเรงคิมาเรียงต่อกันเป็นแถวด้านบนใบ และด้านใต้ใบด้านละ 1 ชั้น เซลล์มีขนาดค่อนข้างเล็ก รูปร่างค่อนข้างสี่เหลี่ยม ผนังเซลล์บาง และผนังเซลล์ด้านนอกมีคิวทินเคลือบ ไม่มีช่องว่างระหว่างเซลล์ ปากใบเกิดระดับเดียวกับเซลล์ผิว พบทั้ง 2 ด้านของผิวใบ เซลล์คุมมีลักษณะเป็นรูปไต เซลล์มีไซฟิลล์เป็นเซลล์พาเรงคิมาที่มีรูปร่างค่อนข้างกลมหรือรี ขนาดไม่แน่นอน เรียงตัวแน่น มีช่องว่างระหว่างเซลล์ เซลล์มีไซฟิลล์ส่วนใหญ่มีเม็ดคอลลอโรพลาสต์บรรจุอยู่มากมาย มีผลิกรูปเข็มปรากฏในเซลล์มีไซฟิลล์บางเซลล์ ทางด้านใต้ใบพบว่ามีมัดของเซลล์เส้นใยแทรกอยู่ มัดท่อลำเลียงเป็นแบบท่อลำเลียงเคียงข้างมีเซลล์ไซเล็มอยู่ด้านผิวใบ ด้านบนใบ และเซลล์โฟลเอ็มอยู่ด้านผิวใบด้านใต้ใบ มีกลุ่มเซลล์เส้นใยเป็นแถบหนาโอบล้อมด้านบนของโฟลเอ็มและไซเล็มไว้

จารุวรรณ (2550) ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของเอื้องน้ำตัน (*Calanthe cardioglossa* Schltr.) รายงานว่า เนื้อเยื่อของลำต้นพืชมีระบบเนื้อเยื่อในลักษณะเดียวกันกับพืชใบเลี้ยงเดี่ยว โดยทั่วไป คือ เนื้อเยื่อชั้นผิวประกอบด้วยเซลล์พาเรงคิมาที่มีขนาดเล็กมากรูปร่างสี่เหลี่ยม เรียงต่อกันเป็นแถวยาวอยู่ 1 ชั้นเซลล์ ในเนื้อเยื่อชั้นนี้พบปากใบที่ประกอบด้วยเซลล์คุมมีลักษณะเป็นรูปไต อยู่ระดับเดียวกันกับเซลล์ผิว ช่องว่างใต้ปากใบมีขนาดเล็กไม่ใหญ่ มีขอบเขตอยู่ใต้เซลล์คุม เซลล์ผิวบางเซลล์แปรรูปเป็นรยางค์ที่เรียวยาวมีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว คอร์เทกซ์เป็นเนื้อเยื่อพื้น ประกอบด้วยเซลล์พาเรงคิมาที่มีผนังบาง มีรูปร่างไม่แน่นอน มีตั้งแต่รูปร่างกลม รูปสี่เหลี่ยมไปจนถึงรูปหลายเหลี่ยม มีขนาดแตกต่างกัน มีบางเซลล์ที่บรรจุผลิกรูปเข็มไว้ภายใน มัดท่อลำเลียงเป็นแบบท่อลำเลียงเคียงข้างที่มีเซลล์ไซเล็มอยู่ด้านในและเซลล์โฟลเอ็มอยู่ด้านนอก เรียงตัวกันแบบกระจัดกระจายอยู่ทั่วไป

3. การศึกษาเซลล์วิทยา

วัฏจักรของเซลล์ (cell cycle) หมายถึงวงจรชีวิตของเซลล์อันประกอบด้วยระยะอินเทอร์เฟส (interphase) และ ไมโทซิส ระยะเวลาที่เซลล์ 1 เซลล์ได้ผ่านเข้าสู่อินเทอร์เฟสและจากนั้นก็ผ่านเข้าไมโทซิสจนสิ้นสุดการแบ่ง ได้เซลล์ลูก 2 เซลล์ เรียกว่าเป็น 1 วัฏจักรของเซลล์ โดยองค์ประกอบที่สำคัญยิ่งในการแบ่งเซลล์ได้แก่โครโมโซม ซึ่งไมโทซิสเป็นช่วงเวลาเดียวของวัฏจักรเซลล์ที่โครโมโซมมีรูปร่างเห็นได้ชัดเจนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ในระยะของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส ระยะต้นของโพรเฟสนั้นโครโมโซมปรากฏให้เห็นได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ มีขนาดขยายยาว ในตอนปลายระยะโพรเฟสโครโมโซมจะหดตัวสั้นมาก (อมรา, 2546) โครโมโซมเป็นแหล่งบรรจุสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตซึ่งโดยทั่วไปในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตจะมีจำนวนโครโมโซมคงที่ โครโมโซมมีคุณสมบัติเฉพาะ คือ สามารถทำปฏิกิริยากับสีย้อมที่เป็นเบส (basic dye) (สุนนทิพย์ และ ปิยะธิดา, 2550)

Felix and Guerra (2000) ได้ศึกษาโครโมโซมเพื่อใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนในการจำแนกสกุลและชนิดของกล้วยไม้ โดยศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์และอนุกรมวิธานระดับเซลล์ของกล้วยไม้ในเผ่า Cymbidieae ในประเทศบราซิลรายงาน ว่า กล้วยไม้ในเผ่านี้มีจำนวนโครโมโซมที่ผันแปรมาก จากการศึกษาต้นกล้วยไม้ทั้งหมด 44 ชนิดจาก 20 สกุล พบว่ากล้วยไม้ในเผ่าย่อย Catasetinae มีจำนวนโครโมโซม $2n = 54$ และ 108 เผ่าย่อย Cyrtopodiinae มี $2n = 44, 46$ และ 92 เผ่าย่อย Eulophiinae มี $2n = 54$ เผ่าย่อย Lycastinae มี $2n = 40$ และ 80 เผ่าย่อย Maxillariinae มี $2n = 40$ และ 42 เผ่าย่อย Oncidiinae มี $2n = 12, 20, 30, 36, 42, 44, 56, 112$ และ 168 เผ่าย่อย Ornithocephalinae มี $2n = 56$ เผ่าย่อย Stanhopeinae มี $2n = 40$ และ เผ่าย่อย Zygopetalinae มี $2n = 52$ และ 96

สุนนทิพย์ และคณะ (2542) ศึกษาโครโมโซมจากปลายรากของกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) 4 ชนิด ในเขตอุทยานแห่งชาติภูพาน จังหวัดสกลนครและกาฬสินธุ์ โดยนำปลายรากแช่ในสารละลายโคลชิซินเข้มข้น 0.2% แล้วรักษาสภาพเซลล์ในสารละลายเข้มข้น 90% ของเอทานอล 3 ส่วนและกรดอะซิติกเข้มข้น 1 ส่วน ย่อยแยกเซลล์ในสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 1 นอร์มอล ที่ 60°C ประมาณ 5-10 นาที จากนั้นย้อมด้วยสี aceto orcein เข้มข้น 45% นาน 10-15 นาที ก่อนนำไปย้อมเซลล์ พบว่าเอื้องข้าวเหนียวลิง (*D. delacourii*) และ เอื้องเงิน (*D. draconis*) มีจำนวนโครโมโซม $2n = 38$ ส่วนเอื้องช้างน้ำ (*D. pulchellum*) และ เอื้องแปรงสีฟัน (*D. secundum*) มี $2n = 40$

ศุมนทิพย์ และ ปิยะธิดา (2550) ศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของกล้วยไม้ในเขตพื้นที่โคกภูตาคา อำเภอกุเวียง จังหวัดขอนแก่น โดยใช้เทคนิค aceto-orcein squash และ Feulgen stain technique โดยใช้ชิ้นส่วนปลายรากของกล้วยไม้มาตรวจนับจำนวนโครโมโซม พบว่า สามารถศึกษาโครโมโซมของพืชกล้วยไม้ 15 ชนิด และรายงานว่ กล้วยไม้ 10 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม $2n = 23$ กล้วยไม้ 2 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม $2n = 40$ กล้วยไม้ 2 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม $2n = 42$ และกล้วยไม้ 1 ชนิด มีจำนวนโครโมโซม $2n = 26$

จารุภัทร (2549) ศึกษาเกี่ยวกับกล้วยไม้ไทยคือช้างผสมโคลง ศึกษาโครโมโซมจากเนื้อเยื่อปลายราก โดยการเก็บตัวอย่างในเวลา 11.00 น. นำปลายรากแช่ในน้ำยารักษาภาพเซลล์ โดยไม่ผ่านกรรมวิธีหยุดวงจรเซลล์ ย้อมด้วยสี carbol fuchsin นาน 1 ชั่วโมง หลังจากขยี้เนื้อเยื่อและศึกษาโครโมโซมได้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ช้างผสมโคลงมีจำนวนโครโมโซม $2n = 56$ ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับรายงานของ Goldblatt (1981, 1984) และ Felix and Guerra (2000)

การศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้มีความสำคัญต่อนักปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากการเพิ่มโครโมโซม จะช่วยลดความเป็นหมันของต้นลูกผสม และทำให้ลักษณะของต้นและดอกเปลี่ยนไป (ครรรชิต, 2547)

ศลิษา (2549) ศึกษาโครโมโซมของว่านจูงนาง 2 ชนิดคือ *Geodorum recurvum* และ *G. siamense* จากเนื้อเยื่อปลายรากด้วยวิธีขยี้เซลล์ พบวิธีการเตรียมเนื้อเยื่อที่ได้ผล คือการเก็บตัวอย่างปลายรากเวลา 11.00 น. หยุดวงจรเซลล์ในสารละลาย para-dichlorobenzene (PDB) นาน 3 และ 2 ชั่วโมงตามลำดับ แล้วนำไปย้อมด้วยสี carbol fuchsin นาน 6 และ 12 ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อนำเนื้อเยื่อที่ผ่านกรรมวิธีดังกล่าวไปตรวจนับจำนวนโครโมโซมพบว่า ว่านจูงนาง *G. recurvum* และ *G. siamense* มีจำนวนโครโมโซม $2n = 128$ และ 54 ตามลำดับ

จารุวรรณ (2550) ศึกษาโครโมโซมของเอื้องน้ำตัน ที่เก็บรวบรวมมาจากแหล่งกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติ 2 แหล่งด้วยวิธีขยี้เซลล์ พบว่ากรรมวิธีที่ได้ผลดีที่สุดในการเตรียมเนื้อเยื่อปลายรากเพื่อศึกษาโครโมโซม คือ การเก็บตัวอย่างปลายรากเวลา 8.00 น. หยุดวงจรเซลล์ในสารละลาย PDB เป็นเวลานาน 36 ชั่วโมง ย้อมด้วยสี carbol fuchsin นาน 30 นาที พบว่า เอื้องน้ำตันจากทั้ง 2 แหล่ง มีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ $2n = 44$

4. การศึกษารูปแบบไอโซไซม์

อิเล็กโทรโฟริซิสเป็นคำที่ใช้อธิบายการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่มีประจุไฟฟ้าในสนามไฟฟ้า พอลิเมอร์ทางชีวภาพ ส่วนใหญ่มีประจุจึงสามารถเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าได้ อาศัยคุณสมบัติดังกล่าวนี้ เทคนิคอิเล็กโทรโฟริซิสจึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ ของแมโครโมเลกุล

ตัวอย่างเช่น มวลโมเลกุลของโปรตีน ความแตกต่างของโมเลกุลในแง่ประจุสุทธิและรูปร่างของมัน รวมทั้งการแยกโมเลกุลที่ต่างกันด้วย (อาภัสสร, 2537) ในการศึกษาความคล้ายคลึงของกล้วยไม้ โดยศึกษาถึงองค์ประกอบในระดับโมเลกุลนั้น พสุ (2546) ได้รายงานผลการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของกล้วยไม้รองเท้านารี 11 ชนิดโดยวิธีโพลีอคริลลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส ทดสอบกับเนื้อเยื่อของใบอ่อน พบว่าน้ำยาสกัดที่มีส่วนประกอบของ 0.1 M Tris-HCl pH 7, 1 mM EDTA, 1% w/v PVP-360, 2 mM DTT และ 10 mM β -mercaptoethanol และ การใช้ 11% separating gel ให้ผลดี และเมื่อวิเคราะห์เอนไซม์ 20 ระบบ พบว่า มีเอนไซม์ 6 ระบบที่แสดงรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกัน คือ esterase (EST), glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), leucine aminopeptidase (LAP), malate dehydrogenase (MDH), shikimate dehydrogenase (SKD) และ superoxide dismutase (SOD) ส่วนอีก 14 ระบบ คือ aconitase (ACO), acid phosphatase (ACP), alcohol dehydrogenase (ADH), alkaline phosphate (ALP), diaphorase (DIA), dormate dehydrogenase (FDH), glucose dehydrogenase (GDH), glutamate dehydrogenase (GLD), isocitrate dehydrogenase (IDH), malic enzyme (ME), phosphoglucoisomerase (PGI), phosphoglucomutase (PGM), peroxidase (POX) และ urease (URE) ไม่แสดงแถบสี ในขณะที่ สุธินันท์ (2548) ศึกษา น้ำยาสกัด 4 สูตรคือ Gottlieb *et al.* (1981), Apavatjirut *et al.* (1999), Obera-Okeyo *et al.* (1997) และ Sharma *et al.* (1999) เพื่อทำให้เกิดรูปแบบไอโซไซม์ของกล้วยไม้ดินใบจิบ 18 ชนิด ใน 7 สกุล โดยวิธีโพลีอคริลลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส จากการใช้ส่วนของใบอ่อน 0.5 ก กับน้ำยาสกัด 1.5 มล และใช้ 10 % separating gel พบว่าน้ำยาสกัดของ Apavatjirut *et al.* (1999) ให้ผลดีที่สุด และจากการวิเคราะห์เอนไซม์ 20 ระบบ พบว่ามีเอนไซม์ 11 ระบบ ไม่แสดงแถบสีให้เห็น (ACO, ADH, ALP, GDH, GLD, FDH, IDH, ME, PGI, PGM และ URE) แต่มีเอนไซม์ 9 ระบบ แสดงรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกัน คือ ACP, DIA, EST, GOT, LAP, MDH, POX, SKD และ SOD พบว่าการวิเคราะห์รูปแบบแถบสีของไอโซไซม์จากเอนไซม์เหล่านี้ให้รูปแบบแถบสีที่เป็นเอกลักษณ์ของกล้วยไม้ดินใบจิบทั้ง 18 ชนิด เมื่อวิเคราะห์แถบสีของแต่ละเอนไซม์แยกกัน ด้วย UPGMA cluster analysis โดยใช้โปรแกรม SPSS ไม่สามารถจัดกลุ่มพืช 5 ต้นในชนิดเดียวกัน แยกจากพืชชนิดอื่นได้ครบทุกชนิด และเมื่อวิเคราะห์รูปแบบแถบสีของไอโซไซม์ทั้ง 9 ระบบร่วมกัน สามารถจัดกลุ่มกล้วยไม้ดินใบจิบ 5 ต้นจากชนิดเดียวกันออกจากชนิดอื่นได้ เพียงใช้ค่าแตกต่างทางพันธุกรรมที่ 10% ทำให้สามารถจำแนกกลุ่มพืชศึกษาได้ทั้ง 18 ชนิด แต่ไม่สามารถแสดงความสัมพันธ์ใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างสกุลและระหว่างชนิดให้สอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จารุภัทร (2549) ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของข้างผสมโหลง จากใบอ่อนและใบที่เจริญเติบโตเต็มที่ในประชากรจำนวน 10 ประชากร โดยใช้เทคนิคโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส และ ใช้เอนไซม์ในการทดสอบ 3 ระบบ คือ ACP, EST และ POX ผลจากการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาความสัมพันธ์และความแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากรที่เจริญเติบโตอยู่ในแหล่งกระจายพันธุ์ 1 แหล่งด้วย UPGMA cluster analysis และวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ทั้ง 3 ระบบร่วมกัน พบว่า สามารถจำแนกประชากรออกได้เป็น 3 กลุ่ม

ศลิษา (2549) ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของกล้วยไม้ดินว่านจุงนาง 2 ชนิดคือ *Geodorum recurvum* และ *G. siamense* โดยใช้ใบอ่อนและใบที่เจริญเติบโตเต็มที่ จำนวน 10 ประชากร ด้วยวิธีโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส ใช้เอนไซม์ในการทดสอบ 3 ระบบ คือ ACP, EST และ POX วิเคราะห์ด้วย UPGMA cluster analysis และวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ทั้ง 3 ระบบร่วมกัน พบว่า สามารถแยกว่านจุงนางทั้ง 2 ชนิดออกจากกันได้ โดยผลจากการวิเคราะห์ใบอ่อนจำแนกประชากรออกได้เป็น 3 กลุ่ม ส่วนผลจากการวิเคราะห์ใบที่เจริญเติบโตเต็มที่จำแนกประชากรออกได้เป็น 4 กลุ่ม

จารุวรรณ (2550) ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอื้องน้ำตัน จากแหล่งกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติ 2 แหล่ง โดยใช้ใบที่เจริญเติบโตเต็มที่ของประชากรจำนวน 10 ประชากร ด้วยวิธีโพลีอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส ใช้เอนไซม์ในการทดสอบ 3 ระบบ คือ ACP, EST และ POX วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วย UPGMA cluster analysis และ วิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ทั้ง 3 ระบบร่วมกัน พบว่า เอนไซม์ทั้ง 3 ระบบ แสดงรูปแบบไอโซไซม์ที่แตกต่างกันและสามารถจำแนกประชากรออกได้เป็น 7 กลุ่ม

5. การศึกษาการเจริญเติบโต

กล้วยไม้ดินขึ้นตามพื้นดินหรือซอกหินที่มีซากพืชที่สลายตัวผุพังแทรกอยู่ โดยมากกล้วยไม้ มักจะมีการเจริญเติบโตเป็นฤดูกาล และ อาจจะมีลำลูกกล้วย (pseudobulb) หรือเหง้า (rhizome) หรือส่วนที่สะสมอาหารใต้ดิน ซึ่งอาจจะเป็นส่วนของต้น (tuber) หรือส่วนราก (tuberous root) อยู่ที่ระดับดินหรือใต้ดิน มีช่วงของการมีใบ ดอก และฝัก เฉพาะฤดูกาลเท่านั้น จัดเป็นพวกไม้ล้มลุกหลายฤดู ดังนั้นจึงพบเห็นได้น้อยกว่าพวกกล้วยไม้อิงอาศัย (อบฉันท, 2549) ครรชิต (2547) กล่าวว่า การกระจายพันธุ์ ของกล้วยไม้ดิน สกุล เนอร์วเลีย มีตั้งแต่เขตร้อนของทวีปแอฟริกา ศรีลังกา แผ่นดินใหญ่ของเอเชียเขตร้อน มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ปาปัวนิวกินี ออสเตรเลีย หมู่เกาะแปซิฟิก ทางตะวันออกของคาอิดิ กล้วยไม้สกุลนี้มีประมาณ 65 ชนิด พบในประเทศไทย 9-10 ชนิด (สลิล, 2549) มีถิ่นอาศัยขึ้นบนดินที่ไม่ค่อยมีความอุดมสมบูรณ์เป็นพื้นที่ลาดเอียง ในพื้นที่โล่งใน

ป่าทุ่งหญ้า ป่าผลัดใบและไม่ผลัดใบทั่วทุกภาค (สลิท, 2549) กล้ายไม้ชนิดนี้สังเกตเห็นได้ง่ายจากรูปร่างของใบ ไม่ค่อยมีการนำมาปลูกเลี้ยง แต่พบในกลุ่มผู้นิยมกล้ายไม้พันธุ์แท้ (สลิท, 2549; ออบันท์ และ ชุมพล, 2543)

ฉันทนา (2550) กล่าวว่าพบแผ่นดินเย็นเจริญเติบโตเป็นกลุ่ม อยู่ได้ต้นไม้ในป่าโปร่งบนเนินสูงที่ชันขึ้นไปหากลุ่มไผ่กอแน่น บริเวณที่มีก้อนหินกองอยู่ในสภาพธรรมชาติ จารุภัทร (2549) ศึกษาการเจริญเติบโตของช่างผสมโคลง ในสภาพเลียนแบบธรรมชาติ คือ ปลูกเลี้ยงในเครื่องปลูกที่มีส่วนผสมของดินที่มีลักษณะของดินใกล้เคียงกับดินในแหล่งกระจายพันธุ์ แล้วปลูกเลี้ยงไว้ได้ต้นไม้ป่า รายงานไว้ว่า พืชชนิดนี้มีการเจริญเติบโตเป็นวงจรรอบและแต่ละวงจรรใช้เวลา 1 ปี โดยมีการเจริญเติบโตของต้นพืชสลับกับการพักตัวต้นพืชเริ่มวงจรการเจริญเติบโตด้วยการแทงช่อดอกในเดือนมกราคม แล้วตามด้วยการเจริญเติบโตของหน่อใบในเดือนพฤษภาคม หลังจากที่มีการสร้างลำลูกกล้ายไม้ใหม่แล้วต้นพืชจึงเข้าสู่ระยะพักตัวในเดือนตุลาคม

จารุวรรณ (2550) ศึกษาการเจริญเติบโตของเอื้องน้ำต้น ที่เก็บรวบรวมมาจากแหล่งกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติ 2 แหล่งที่ความสูง 800-1,200 เมตรเหนือระดับน้ำทะเลในพื้นที่ป่าสงวนแห่งชาติขุนแม่งวง แล้วนำมาปลูกเลี้ยงในป่าผสมผลัดใบที่ความสูง 350 เมตรเหนือระดับน้ำทะเลโดยประมาณ พบว่า ต้นพืชมีการเจริญเติบโตในลักษณะเดียวกันกับช่างผสมโคลง คือ เป็นพืชหลายฤดูผลัดใบ มีการเจริญเติบโตในลักษณะเป็นวงจรรอบปีที่มีการเจริญเติบโตทางใบและทางดอกสลับกับการพักตัวและมีการผลัดใบก่อนพักตัวในฤดูแล้ง โดยที่มีการเจริญเติบโตทางใบอยู่ในระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนมกราคมของปีถัดไป การเจริญทางดอกเริ่มในระหว่างเดือนกันยายนถึงเดือนกุมภาพันธ์ การสร้างลำลูกกล้ายไม้เริ่มขึ้นในเดือนเมษายนและต้นพืชพักตัวตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายน

ศลิษา (2549) ศึกษาการเจริญเติบโตของว่านจุงนาง 2 ชนิด ในวงจรการเจริญเติบโต 1 วงจรกล่าวว่า พบว่าต้น พืชมีการเจริญเติบโตเป็นวงจรรอบปี คือ ใน 1 ปี มีการเจริญเติบโตของต้นพืชสลับกับการพักตัว เริ่มการเจริญเติบโตด้วยการแทงหน่อใบออกมาจากฐานของหัวในเดือนมีนาคม และแทงช่อดอกออกมาในเวลาไล่เลี่ยกันในเดือนเมษายน ใบและดอกเจริญเติบโตควบคู่กันไป ดอกติดฝักได้ในธรรมชาติในเดือนพฤษภาคม ในระยะที่ใบเจริญเติบโตลำต้นแปรรูปเป็นหัวใหม่เมื่อหัวใหม่ขยายขนาดเต็มที่ต้นพืชจึงทิ้งใบและเข้าสู่ระยะพักตัว โดย เข้าสู่ระยะพักตัวตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนจนถึงเดือนกุมภาพันธ์