

## บทที่ 2

### ตรวจเอกสาร

กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) เป็นสกุลใหญ่ที่สุดสกุลหนึ่ง มีประมาณ 1,400 ชนิด มีการใช้ประโยชน์เป็นไม้ตัดดอก และไม้กระถางที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย มีการกระจายพันธุ์ออกไปในบริเวณกว้าง ทั้งในทวีปเอเชีย และหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก (ไพบูลย์, 2521) ในประเทศไทยมีมากกว่า 150 ชนิด (อบฉันท, 2543) และมีหลายชนิดที่มีดอกสวยงาม ในกล้วยไม้หวายหมู่ (section) ต่าง ๆ ของไทย (พิมพ์ใจ, 2540)

#### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้นของกล้วยไม้สกุลหวาย เป็นแบบไรโซม (rhizome) มีลำต้นเทียมหรือลำลูกกล้วย (pseudo-bulb) ทำหน้าที่สะสมอาหาร มีรูปทรงต่าง ๆ เช่น รูปลำกลมยาว รูปลูกกล้วย รูปกระสวย และรูปเหลี่ยม

ใบ มีหลายรูปทรง เช่น ใบยาว ใบกว้างสั้น และชนิดที่ใบก่อนฤดูออก และชนิดที่มีใบมีอายุหลายปี

ราก เป็นระบบรากกึ่งอากาศ (semi - epiphyte) มีขนาดเล็ก ออกเป็นกระจุกจากโคนต้น หรือจากข้อ

ดอก มีกลุ่มเรณูรูปรี 2 คู่ และเป็นกลุ่มเรณูที่ไม่มีก้านเรณูหรือแผ่นเยื่อบาง ๆ เชื่อมระหว่างคู่เรณู ฝาปิดอับเรณูค่อนข้างกลมและร่วนง่าย เส้าเกสรสั้น แต่มักมีส่วนฐานเจริญยึดยาวคล้ายคาง (mentum) ซึ่งเป็นส่วนที่กlibเลี้ยงค่อนข้างติดทาบอยู่ตลอดตามยาว กลีบปากติดอยู่ที่ปลายสุดของส่วนคาง ลักษณะของดอกตรงบริเวณนี้โดยภาพรวมคล้ายดง แตกต่างกันไปในแต่ละชนิด

ผล มีขนาดและรูปร่างแตกต่างกัน เมื่อแก่เต็มที่แตกตามแนวยาว 3 แนว

เมล็ด มีขนาดเล็กมาก ลักษณะเป็นผงละเอียดจำนวนมาก ไม่มีอาหารสะสม และใบเลี้ยงไม่เจริญ เมล็ดแก่มีสีเหลือง ส่วนเมล็ดอ่อนมีสีขาว (ไพบูลย์, 2521; อบฉันท, 2543)

การขยายพันธุ์ แบบอาศัยเพศเป็นการผสมเกสร และมีการเจริญและพัฒนาในส่วนของรังไข่ไปเป็นผล ซึ่งกล้วยไม้มักเรียกว่า ฝัก (pod) โดยเมล็ดในธรรมชาติไม่สามารถงอกได้มากนัก เนื่องจากการงอกของเมล็ดต้องอาศัยเชื้อรา mycorrhiza บริเวณรอบ ๆ ต้นเจริญเข้าไปในเมล็ดและให้อาหารแก่ลัพพะ เป็นการพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกันแบบ symbiotic method ต่อมา Knudson (1922)

ประสบความสำเร็จในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้บนอาหารสังเคราะห์ฆ่าเชื้อ (sterilized medium) ซึ่งประกอบด้วยแร่ธาตุต่าง ๆ น้ำตาล และวุ้น โดยไม่อาศัยเชื้อรา เรียกว่า asymbiotic method วิธีนี้ให้ความงอกสูงกว่า ยังผลให้การผสมพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์มีการพัฒนาอย่างรวดเร็ว (ครรรชิต, 2541)

แบบไม่อาศัยเพศมีวิธีต่าง ๆ เช่น การตัดแยกลำหน้า การตัดแยกลำหลัง การตัดตะเกียง และการปักชำ ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมในการปลูกเลี้ยง และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยไม้ สามารถเพิ่มจำนวนต้นได้มากในเวลาอันสั้น ปลอดภัยโรค และได้ต้นสม่ำเสมอ (พิมพ์ใจ, 2541)

### สรีรวิทยาการออกดอกของพืช

สรีรวิทยาการออกดอกของพืชเป็นการเปลี่ยนแปลงของการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งก้าน (vegetative) สู่อายุทางด้านการสืบพันธุ์ (reproductive) พืชมีการเจริญเติบโตด้านกิ่งก้านจนถึงอายุที่มีความพร้อมที่จะออกดอก (ripeness to flower) จึงเกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นที่ใบ หลังจากได้รับการกระตุ้นจากสภาพแวดล้อม คือ แสง อุณหภูมิ ความชื้น และสารควบคุมการเจริญเติบโตส่งผลให้ดอก (flower bud initiation) และการพัฒนาของดอก (flower bud development) กระบวนการทั้งสองระยะนี้ต่างกันและแยกกันอย่างชัดเจน โดยแต่ละกระบวนการต้องการปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมที่เฉพาะสำหรับพืชนั้น ๆ การเกิดดอกเป็นการพัฒนาของเนื้อเยื่อเจริญทำให้เกิดเป็น floral primodium ส่วนการพัฒนาของดอกนั้นเป็นการพัฒนาของ floral primodium เป็นดอกที่สมบูรณ์ (Dodson and Gillespie, 1967)

สรีรวิทยาการออกดอกของกล้วยไม้แตกต่างกันไปตามสภาพแวดล้อมของถิ่นกำเนิด โดยกล้วยไม้สกุลหวาย ปัจจัยที่ควบคุมการออกดอกซึ่งเป็นผลของอุณหภูมิในช่วงประมาณ 17 °C และพบว่าความยาววันไม่มีผลต่อการออกดอก ส่วนสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่ม cytokinins สามารถชักนำให้เกิดการออกดอกได้ และกลุ่ม gibberellins สนับสนุนผลของกลุ่ม cytokinins (Goh and Arditti, 1981)

การออกดอกของกล้วยไม้สกุลหวายนั้น บางชนิดออกดอกที่ยอด บางชนิดออกดอกที่ตาข้างตามข้อของลำลูกกล้วย บางชนิดออกได้ทั้งที่ยอดและตาข้าง บางชนิดออกดอกเฉพาะลำลูกกล้วยที่ทิ้งใบหมดแล้ว (ไพบูลย์, 2521)

## การออกดอกในหลอดแก้ว (Scorza, 1982)

การออกดอกในหลอดแก้วมีปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องดังนี้

1. ความยาววัย พืชที่มีดอกทุกชนิดจำเป็นต้องผ่านความยาววัยก่อนถึงจะสามารถออกดอกได้

2. สารควบคุมการเจริญเติบโต

2.1 ไซโตไคนิน เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตหลักในการชักนำให้เกิดดอกในหลอดแก้ว

2.2 ออกซิน เป็นสารยับยั้งการออกดอกในหลอดแก้ว โดยพบว่า IAA ในยาสูบมีผลส่งเสริมให้ RNA สังเคราะห์โปรตีน สำหรับการเจริญทางด้านกิ่งก้าน

2.3 จิบเบอเรลลิน มีผลต่อการพัฒนาของดอกมากกว่าการชักนำให้เกิดดอก

2.4 น้ำตาล มีผลต่อกิจกรรมของ pentose phosphate pathway และส่งเสริมผลของแสง และ vernalization

2.5 สารอื่น ๆ เช่น spermidine และ abscisic acid

3. ลักษณะทางกายภาพของอาหารสังเคราะห์ พบว่าอาหารวุ้นให้เปอร์เซ็นต์การออกดอกในหลอดแก้วสูงกว่าอาหารเหลว มีรายงานว่าชิ้นส่วนพืชบนอาหารวุ้นมีสารประกอบกรดอะมิโน เช่น proline และ arginine แต่มี alanine ต่ำ

4. Flowering gradient พบว่าความสามารถการออกดอกได้ในหลอดแก้วขึ้นอยู่กับระยะห่างจากตำแหน่งตายอด

5. ความยาววัน

6. Vernalization

7. การพัฒนาของดอก พบว่าดอกในหลอดแก้วมักจะมีขนาดเล็กและขนานรูปร่างผิดปกติ และสารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลในการควบคุมการพัฒนาของดอกในหลอดแก้ว

การทดลองเกี่ยวกับการออกดอกในหลอดแก้ว

การชักนำให้พืชออกดอกในหลอดแก้วได้มีรายงานครั้งแรกตั้งแต่ ค.ศ. 1933 โดย White ได้ทำการเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของ *Stellaria media* พบว่าชิ้นส่วนพืชที่นำมาเลี้ยงสามารถเกิดดอกได้ (Street, 1974)

Tanimoto and Harada (1981) ได้ศึกษากับแวมมูรา (*Torenia fournieri*) พบว่าการเพิ่ม  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ให้แก่อาหารที่เลี้ยงมีผลต่อการสร้างตาข้างซึ่งจะเปลี่ยนเป็นตาดอกเพิ่มขึ้น แต่การใช้  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  เจือจาง มีการสร้างตาข้างมากขึ้นแต่ไม่มีการสร้างตาดอก และพบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการควบคุมการสร้างตาดอกคือ อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ความเข้มข้น 1/5 เท่า และไม่มีการใช้  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ในธาตุอาหารหลัก นอกจากนั้นความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่มากกว่า 60 ก/ล. มีผลต่อการเพิ่มจำนวนดอก และเกิดการพัฒนาดอกได้จนถึงระยะ anthesis Tanimoto and Harada (1987) พบว่าปัจจัยของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเกิดตาข้างและการสร้างตาดอกพบว่า ใช้ ABA มีบทบาทสำคัญในการชักนำการออกดอกในหลอดแก้ว และ gibberellin ที่ความเข้มข้น 0.01 มก/ล. สามารถกระตุ้นการสร้างตาดอกได้แต่ที่ความเข้มข้น 1 มก/ล. มักจะยับยั้งการสร้างดอก

Wada and Totsuka (1982) ได้ศึกษากับ *Perilla* ซึ่งเป็นพืชวันสั้นพบว่าการลดระดับไนโตรเจนลง 1/10 เท่าในอาหารสูตร White ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 20 ก/ล. สามารถชักนำให้เกิดตาดอกได้สูงถึง 45 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมื่อไม่ใช้น้ำตาลสามารถเกิดดอกได้เพียง 38 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้สภาพการให้แสงที่ความเข้มแสง 2,000 - 2,200 ลักซ์ ตลอดเวลา (continuous light) เมื่อให้แสงที่ความเข้ม 8,000 ลักซ์แก่ *Perilla* ก่อนออกดอก 30 วัน พบว่าช่วยส่งเสริมให้เกิดดอก ในขณะที่ให้หลัง 30 วัน พบว่ายับยั้งการเกิดตาดอกและเมื่อนำตาดอกที่เกิดขึ้นแล้วย้ายปลูกในสภาพภายนอกพบว่าสามารถพัฒนาเป็นดอกได้ทันที

Khurana and Maheshwari (1983) ใช้ *Lemna paucicostata* (short - day duckweed) ทำการศึกษาผลของ BA ที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./ล. โดยให้รับควบคู่กับ EDTA  $10^{-4}$  โมล ในอาหารสูตร Heller พบว่าระดับความเข้มข้นดังกล่าวให้ผลเช่นเดียวกันกับที่ได้รับวันสั้น

Shinozaki and Takimoto (1983) ได้ศึกษาผลของสารเร่งการเจริญเติบโตและสารประกอบเบนโซอิกต่อการชักนำการออกดอกในหลอดแก้วจาก *Pharbitis nil* Strain Kidachi ซึ่งเป็นพืชวันสั้น พบว่าเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว ภายใต้แสง 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 20 °ซ และมีระดับความเข้มข้นของ NAA 0.005 - 0.5 มคม. GA<sub>3</sub> 0.1 - 0.5 มคม. Kinetin 0.5 - 5 มคม. BA 0.05 - 5 มคม. หรือ abscisic acid 4 มคม. พบว่าสามารถชักนำให้เกิดดอกได้ในสภาพวันยาว ซึ่ง strain Kidachi เป็นพืชวันสั้น และการออกดอกมีผลยับยั้งการยึดของรากด้วย สำหรับ *Lemna paucicostata* นั้น 3,4 - Dichlorobenzoic acid 0.05 - 10 มคม. และสารประกอบกลุ่มเดียวกันชนิดอื่น ๆ มีผลต่อการเกิดดอกได้ไม่แตกต่างกัน แม้ว่า NAA kinetin หรือ 3,4 - dichlorobenzoic acid ที่ใช้เลี้ยงส่วน hypocotyl สามารถชักนำให้เกิดดอกได้ หรือยับยั้งการสร้างรากนั้น ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าการสร้าง

ดอกนั้นจะมีผลทำให้เกิดการสร้างสารทุติยภูมิที่มีผลยับยั้งการสร้างราก ในขณะที่ ethrel ความเข้มข้น 1 - 50 มกม. ยับยั้งการยึดของรากแต่ไม่มีผลต่อการออกดอก

Kerrbaury (1984) ศึกษากล้วยไม้สกุล *Oncidium varicosum* เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร Knudson ที่ประกอบด้วย NAA 0.5 มก/ล. และภายใต้แสง 16 ชั่วโมง/วัน ความเข้มแสง 600 ลักซ์ อุณหภูมิ  $25 \pm 1$  °ซ พบว่าสามารถเกิดดอกได้ 30 เปอร์เซ็นต์ โดยช่อดอกที่เกิดขึ้นนี้ จะเกิดจากปลายยอดของหน่อแรก หรือตาออกของหน่อที่ 2 แต่ในสภาพการปลูกเลี้ยงปกตินั้น กล้วยไม้ชนิดนี้ จะเกิดช่อดอกบริเวณตาข้างของลำลูกกล้วย และยังพบว่าดอกสามารถบานได้ 20 - 30 วัน

Tisserat and Galleta (1988) ได้เลี้ยง *Amaranthus* 5 ชนิด พบว่าสามารถออกดอกได้เมื่อใช้ชิ้นส่วนปลายยอดเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีน้ำตาลเข้มข้น 3 ก/ล. myo - inositol 100 มก/ล. thiamine.HCL 0.4 มก/ล. ู้น 8 ก/ล. และมีระดับความเข้มข้นของ NAA 0.1 มก/ล. และยังพบว่า NAA ไม่มีส่วนในการชักนำการออกดอกแต่เพิ่มปริมาณของช่อดอก และพบว่าดอกที่เกิดในหลอดแก้วสามารถติดเมล็ดได้ และเมล็ดสามารถงอกได้ทันที ต้นกล้าที่เกิดขึ้นใหม่นี้สามารถเกิดดอกได้ทันที

Mulin and Tran Thanh Van (1989) ได้เลี้ยง Thin Cell Layers จากส่วนของใบของ partial somatic hybrid ระหว่าง *Petunia hybrida* Hort. และ *Nicotiana plumbaginifolia* Viv. พบว่าสามารถชักนำให้เกิดดอกได้ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย thiamin 0.1 มก/ล. myo - inositol 100 มก/ล. น้ำตาลซูโครส 30 ก/ล. NAA และ kinetin ความเข้มข้น  $10^{-6}$  โมล ความเป็นกรดต่าง 5.6 และ Difco Bacto Agar 1 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าลักษณะใบเหมือนต้นแม่ และลักษณะดอกที่เกิดขึ้นในหลอดแก้วแตกต่างกับต้นพ่อแม่

Lee et al. (1990) ได้เลี้ยง zygotic embryo ที่เจริญเต็มที่ของ *Pinax ginseng* C.A.Meyer พบว่าสามารถเกิดดอกได้ 50 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสูตร MS ที่ความเข้มข้นลดลงครึ่งส่วนของธาตุอาหารหลัก แต่เพิ่ม BA 1 มก/ล. GA<sub>3</sub> 1 มก/ล. และหลังจากเลี้ยงบนอาหารสูตรดังกล่าว 4 สัปดาห์ จะพบฝักที่ไม่พัฒนาเต็มที่ และพบว่าชิ้นส่วนรากของ ginseng นี้ สามารถอยู่ระยะเวลาในการผ่านภาวะเขาวัวได้ โดยการเกิดดอกในหลอดแก้วและทำให้เกิดการสะสมอาหารให้รากมีขนาดใหญ่ขึ้น

Banko และ Stenfani (1991) ได้เลี้ยง axillary bud ของ sour wood *Oxydendrum arboreum* L. ซึ่งเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง บนอาหารสูตร WPM (Woody Plant Medium) ของ Loyde และ McCown (1990) ให้อุณหภูมิ 22 °ซ ด้วยแสง cool - white ความเข้มแสง 55 - 60 มกม. ต่อตารางเมตรต่อวินาที พบว่าสามารถเกิดดอกได้ในสภาพวันยาว 16 และ 24 ชม./วัน และเมื่ออาหารเติม zeatin ไม่เกิน 6 มกม. และเมื่อใช้ zeatin 2 มกม. และให้แสงตลอด 24 ชั่วโมงระดับที่เกิดดอกมากที่สุดคือ 81 เปอร์เซ็นต์

Chamber *et al.* (1991) ได้เลี้ยงไฟ *Dendrocalamus hamiltobii* Munro. โดยใช้ชิ้นส่วนของ epicotyl จากต้นกล้าอ่อน เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 4.4 มกม. และย้ายลงบนอาหารที่มี BA 22.2 มกม. เพียง 1 สัปดาห์ สามารถเกิดดอกได้ถึง 47 เปอร์เซ็นต์บนบริเวณข้อของชิ้นส่วนที่เลี้ยง และพบว่าโครงสร้างของดอกมีลักษณะต่าง ๆ เหมือนกันกับต้นที่ปลูกในสภาพธรรมชาติ

Lee *et al.* (1991) ได้เลี้ยง *Panax ginseng* C.A.Meyer บนอาหารสูตร MS (1962) ที่ลดธาตุอาหารหลักลงครึ่งหนึ่ง แต่เติม myo - inositol 100 มก/ล thiamine.HCL 0.4 มก/ล. น้ำตาลซูโครส 30 ก/ล. ความเป็นกรดค่า 5.8 และ Bacto-Agar 8 ก/ล. พบว่าทุกกรรมวิธีของการใช้ฮอร์โมนพืชสามารถชักนำให้เกิดดอกได้ คือ BA หรือ BA + GA<sub>3</sub> หรือ BA + GA<sub>3</sub> + ABA อย่างละ 5 มกม. โดยดอกเกิดจากกิ่งที่ออกจากซอกใบที่ยึดจากข้อของใบเลี้ยง

Hendriks *et al.* (1992) ศึกษาผลของอุณหภูมิกลางวันและกลางคืนและความแตกต่าง (fluctuation) ของอุณหภูมิกลางวันและกลางคืนจากต้นคริสต์มาส *Pointsettias* 'A.H.Diamond' และ 'Ziegler's Rosa' เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการออกดอกในหลอดแก้ว พบว่า อุณหภูมิกลางวัน 17 °ซ และอุณหภูมิกลางคืน 23 °ซ ให้ผลดีที่สุด และให้จำนวนดอกมากที่สุดด้วย ในทางตรงข้ามกัน อุณหภูมิกลางวัน 23 °ซ และ อุณหภูมิกลางคืน 17 °ซ ให้ขนาดของดอกที่ใหญ่ที่สุด

Wang *et al.* (1993) ได้ศึกษาการออกดอกในหลอดแก้วของกล้วยไม้ (*Dendrobium candidum*) โดยนำต้นมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีการใช้ BA NAA ABA และ spermidine ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่าสามารถชักนำให้ต้นกล้วยไม้เกิดดอกได้สูงสุด 82.8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี ABA ก่อน 1 เดือน แล้วจึงย้ายลงบนอาหารที่มี BA 0.008 มกม. และยังพบว่าการชักนำดอกในหลอดแก้วเกิดขึ้นเมื่อต้นไม่มีการสร้างรากที่มีการชักนำดอกในหลอดแก้ว สำหรับการให้ spermidine ที่ความเข้มข้น 2, 6, 8 มกม. พบว่าที่ 2 มกม. มีการสร้างดอก 31.5 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้น 6 และ 8 มกม. ไม่มีการสร้างดอกเลย นอกจากนั้นการใช้ spermidine 0.5 มกม. ร่วมกับ BA 0.008 มกม. ให้ดอก 36 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมื่อใช้ BA 0.008 มกม. เพียงอย่างเดียวมีการออกดอก 45.8 เปอร์เซ็นต์

Burn *et al.* (1993) ได้ศึกษากับ *Arabidopsis thaliana* และ *Thlaspi arvense* ซึ่งปกติในสายพันธุ์ออกดอกเร็วสามารถเกิดดอกได้เมื่อได้รับความเย็นกระตุ้นที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 24 วัน แต่เมื่อได้รับสาร DNA - demethylating คือ 5 - azacytidine สามารถชักนำให้ต้นที่ไม่ได้รับความเย็นสามารถออกดอกได้ก่อน ในขณะที่สายพันธุ์ออกดอกช้า ที่ไม่ตอบสนองต่อการได้รับความเย็น จะไม่ตอบสนองต่อ 5 - azacytidine เช่นกัน โดยพบว่าการได้รับความเย็นหรือ 5 - azacytidine ทำให้เกิดการลดระดับของ 5 - methylcytosine ใน DNA ของต้นพืชนั้น เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับความเย็นนั้น และยังพบว่าสาร DNA - methylation ควบคุมการพัฒนาของต้นและดอกของ

*Arabidopsis* และ *Thlaspi* ผลของความเย็นหรือ 5 - azacytidine ที่ได้รับทำให้เกิดกระบวนการ demethylation ซึ่งเป็นการควบคุมยีนให้เกิดดอกหลังการ transcription โดยใน *Thlaspi* แสดงให้เห็นว่าการ transcription ของ kaurenoic acid hydroxylase เป็นกระบวนการสำคัญในการสังเคราะห์กลไกการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน

Duan and Yazawa (1994) ได้ศึกษาการออกดอกในหลอดแก้วของ *Doriella Tiny* พบว่าสามารถชักนำให้ออกดอกได้ในหลอดแก้วภายในเวลา 7 เดือน โดยเลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin and Went ที่มีความเข้มข้นของ BA 5 มก/ล. น้ำตาล 50 ก/ล. จากนั้นย้ายไว้บนอาหารสูตร Hyponex ที่ไม่เติม BA เพื่อให้ดอกพัฒนาต่อ สำหรับการเติม kinetin 2iP หรือ น้ำมะพร้าว ในอาหารสูตร Vacin และ Went ไม่มีผลต่อการชักนำดอกในหลอดแก้ว

Duan and Yazawa (1995) ได้ศึกษาการชักนำดอกในหลอดแก้วของ *Phalaenopsis Leopard Petra* พบว่าอาหารที่เหมาะสมในการชักนำดอกในหลอดแก้ว คือ อาหารสูตร VW ที่เติม BA 5 มก/ล. น้ำตาล 25 ก/ล. โดยพบว่าสามารถชักนำดอกได้ในเวลา 9 เดือนคิดเป็น 70 เปอร์เซ็นต์ และมีเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ ที่สามารถบานต่อได้ นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) ที่เพิ่มขึ้นจะยับยั้งการพัฒนาของดอก และอุณหภูมิต่ำมีผลยับยั้งการออกดอกในหลอดแก้วของพืชชนิดนี้

Chengalrayan *et al.* (1995) ได้เลี้ยงชิ้นส่วนใบของถั่วลิสง (*Arachis hypogaea* L.) และชักนำให้เกิด embryos ที่เจริญเต็มที่ ซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตร MS โดยชักนำให้เกิด caulogenic bud บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก/ล. และ NAA 4 มก/ล. จากนั้นนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก/ล. และ kinetin 1 มก/ล. พบว่าสามารถทำให้เกิดดอกได้

Kobayashi *et al.* (1995) ได้เลี้ยงชิ้นส่วนปล้องของ *Torenia fournieri* เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดธาตุอาหารหลักลงเหลือ 1/5 ส่วน และเติม organic buffer คือ 2 - (N - morpholino ethanesulfonic acid : MES) นาน 3 สัปดาห์ พบว่าบนอาหารที่ไม่มี MES สามารถให้ดอกได้มากกว่า และยังพบความเป็นกรดค้างที่เปลี่ยนแปลงภายใน 5 สัปดาห์แรกและ 7 สัปดาห์ และ เมื่อ 13 สัปดาห์ จะลดลงเหลือ 4.3 โดยปัจจัยที่เกิดการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดค้างนี้ทำให้สามารถเกิดดอกได้ซึ่งจะเกิดในช่วง 2 สัปดาห์แรก

Pederson *et al.* (1996) ศึกษา *Alstroemeria* ให้ได้รับความเย็น 4 ระดับ คือ 5 10 15 20 °C เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่ลดธาตุอาหารหลักลงเหลือ 1/10 เท่าภายในสภาพมืด โดยใช้ชิ้นส่วนตาเลี้ยงบนอาหารสูตร modified MS (Pederson and Brandt 1982) ที่มี BA 8.8 มกม. NAA 0.05 มกม. และให้แสงตลอดเวลา พบว่าอุณหภูมิ 5 และ 10 °C ยับยั้งการเกิดราก และอุณหภูมิต่ำกว่า 15 °C สามารถชักนำให้เกิดดอกได้ โดยอุณหภูมิ 10 °C ทำให้เกิดดอก

ได้เร็วกว่า และพบการผล็อยของดอกน้อยกว่า การเกิดดอกล่าช้า น่าจะมาจากสาเหตุการเลือกใช้ขนาดของดินไม่เท่ากัน

Gaspar *et al.* (1996) ได้ศึกษาเกี่ยวกับสารควบคุมการเจริญเติบโตต่าง ๆ ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่า จิบเบอเรลลิน ส่งเสริมการสร้างดอกในพืชที่ต้องการวันยาวสำหรับ abscisic acid มีบทบาทช่วยส่งเสริมการสร้างไซโตไคนิน และ polyamine เช่น spermidine มีบทบาทช่วยในการอวัยวะในท่อน้ำเลี้ยง

Nadgauda *et al.* (1997) ได้เลี้ยงต้นไผ่ (*Bambusa arundinaceae*) เมื่อเลี้ยงต้นในอาหารสูตร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าว 5 เปอร์เซ็นต์ และ BA 2.2 มก. พบว่าใน 3 - 6 เดือน สามารถทำให้เกิดดอกได้ 70 เปอร์เซ็นต์ การเปรียบเทียบดอกจากหลอดแก้วและจากสภาพภายนอกพบว่าแม้จะมีความแตกต่างกันในด้านขนาดที่เล็กกว่า แต่มีองค์ประกอบอันครบ และยังพบอีกว่าให้ละอองเรณูที่สมบูรณ์ 93 เปอร์เซ็นต์

Ho and Chang (1998) ได้เลี้ยงต้นไผ่ (*Bambusa oldhamii* Munro) ซึ่งเป็นไผ่ต่าง ในอาหารเหลวสูตร MS ที่มี 2,4-D และ kinetin ความเข้มข้น 3 และ 2 มก/ล. ตามลำดับ และเติมน้ำตาลซูโครส 6 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถทำให้เกิดดอกได้ 70 เปอร์เซ็นต์ และ ให้เรณูที่มีชีวิต และมีความสมบูรณ์ 75 เปอร์เซ็นต์

Jun and Juan (1999) ได้เลี้ยงชิ้นส่วนใบของคาร์เนชั่น (*Dianthus chinensis* L.) บนอาหารที่ประกอบด้วยฮอร์โมนต่าง ๆ เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส และเกิดตายอด และดอก สูตร MS จากนั้นทำการศึกษาระดับของสารประกอบ polyamine ภายในต้น พบว่า ระดับของ putrescine และ spermidine เพิ่มขึ้น และ spermine และ diaminopropane ลดลง ในขณะที่พืชสร้างดอก

Vinterhalter *et al.* (1999) ได้ใช้รากจาก *Gentiana punctata* L. ที่ได้รับการตัดต่อพันธุกรรม โดยใช้ *Agrobacterium rhizogenes* strain A4 M70GUS เลี้ยงบนอาหารสูตร WPM เหลว ที่ไม่เติมฮอร์โมนพบว่าสามารถเกิดดอกที่มีกลีบดอกสีเหลืองได้ โดยไม่ได้รับความเย็นมาก่อน

Kostenyuk *et al.* (1999) ได้เลี้ยงไรโซมอายุ 3 - 4 เดือนของกล้วยไม้ *Cymbidium niveo-marginatum* Mak บนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 40 ก/ล. NAA 5 มก/ล. ภายในสภาพอุณหภูมิ 25 - 26 °C ความเข้มแสง 50 มก. ต่อตารางเมตรต่อวินาที ให้แสง 16 ชั่วโมงและมี 8 ชั่วโมง และสลับกัน เพื่อเพิ่มปริมาณไรโซมแต่เมื่อให้อุณหภูมิอื่น 4 - 6 และ 30 - 32 °C ตามลำดับ พบว่าทุกระดับไม่มีการเกิดดอกเลย แต่การลดไนโตรเจนลงเหลือ 1/7 - 1/25 เท่า (5.6 - 2.4 มล.ม.) และเพิ่มฟอสฟอรัส 5 เท่า สามารถชักนำให้เกิดดอกได้ ส่วนผลของฮอร์โมนอื่น ๆ เช่น 2,3,5-triodobenzoic acid ยับยั้งการสร้างดอก แต่ NAA ไม่มีผลต่อการสร้างดอก ส่วน GA<sub>3</sub> ทำให้เกิดดอกช้าลง และ Paclobutazol สามารถยับยั้งการทำงานของไซโตไคนิน



นพมณี และคณะ (2543) ได้เลี้ยงผักกาดขาวปลี (*Brassica campestris* var. *pekinensis*) โดยเปรียบเทียบผลของโพแทสเซียมคลอไรด์กับอูโรหภูมิคำ (10 °ซ) และ 5 - azacytidine พบว่าสามารถชักนำให้ผักกาดขาวปลีเกิดตุ่มดอกและพัฒนาเป็นดอกที่สมบูรณ์ในสภาพวันยาว คล้ายกับการได้รับอูโรหภูมิคำ แต่ต้นที่ได้รับ 5 - azacytidine เกิดตุ่มดอกแต่ไม่มีการพัฒนาเป็นดอก

ชุติมา (2540) ได้เลี้ยงกล้วยไม้ลูกผสม *Dendrobium bigibbum* X *Dendrobium* Pinky Sem 'Sabin' พบว่าสามารถชักนำให้ออกดอกได้เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร VW ดัดแปลงที่มี BA 5 มก/ล. ร่วมกับน้ำตาล 30 ก/ล. สามารถชักนำให้ออกดอกได้ 40 เปอร์เซ็นต์หลังจากเลี้ยงในอาหารนาน 3 เดือน

และได้มีการศึกษาใช้สูตรอาหารต่าง ๆ เพื่อชักนำดอก พบว่าสูตรอาหารที่ใช้ขึ้นอยู่กับสกุลกล้วยไม้ที่เลี้ยง (ตาราง 1)

ตาราง 1 กล้วยไม้สกุลต่างๆ ที่ออกดอกในหลอดแก้ว และสูตรอาหารที่ชักนำ (Chin *et al.*, 1999)

สกุล	สูตรอาหาร
<i>Arethusa</i>	Knudson
<i>Cymbidium</i>	MS, Hyponex
<i>Dendrobium</i>	MS, VW
<i>Laeliocattleya</i>	Knudson
<i>Phalaenopsis</i>	VW, Hyponex