บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว จัดอยู่ในวงศ์ กล้วยไม้ (Orchidaceae) Dressler (1981) รายงานว่า พบทั้งหมดประมาณ 19,500 ชนิด (species) ใน 724 สกุล (genera) 21 เผ่า (tribe) และ 9 วงศ์ย่อย (subfamily) ซึ่งต่อมามีการพบเพิ่มขึ้นเป็น 796 สกุล 19,000 ชนิด (อบฉันท์, 2543) สามารถพบกล้วยไม้ได้เกือบทุกบริเวณบนโลกยกเว้นที่ บริเวณขั้วโลก และทะเลทราย (Linder and Kurzweil, 1999) กล้วยไม้ส่วนใหญ่ พบในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อน (Cribb and Bailes, 1989) กล้วยไม้ที่เจริญเติบโตอยู่ในธรรมชาติ สามารถแบ่งตามลักษณะการเจริญเติบโตได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ กลุ่มแรกคือ กล้วยไม้อากาศ (epiphyte) เป็นกล้วยไม้ที่เกาะอาศัยอยู่บนต้นไม้อื่น ๆ โดยมีรากเกาะติดกับกิ่งไม้หรือลำต้น โดยไม่ได้แย่งอาหารจากต้นไม้ ที่มันขึ้นอยู่ แต่ได้รับอาหารจากซากอินทรีย์วัตถุ มีหลายชนิดที่สามารถเจริญเติบโตบนโขดหินหรือหน้าผา เรียกว่าพวก lithophytic orchid กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มของกล้วยไม้ดิน (terrestrial) พบขึ้นอยู่ตามพื้นดินที่ปกคลุมด้วยอินทรีย์วัตถุ ส่วนมากเป็นพวกที่มีหัวอยู่ใต้ดิน เมื่อเริ่มเข้าสู่ฤดูฝน จะผลิใบและช่อดอก และสร้างหัวใหม่ขึ้นมาพร้อม ๆ กัน เมื่อดอกโรย ใบจะเหี่ยวแห้ง คงเหลือหัวฝังอยู่ในดินตลอดฤดูแล้ง (ครรชิต, 2541)

ลักษณะโดยทั่วไปของกล้วยไม้ในสกุล *Habenaria*

กล้วยไม้ดินสกุล *Habenaria* อยู่ในวงศ์ย่อย (subfamily) Orchidoideae เผ่า (tribe) Orchideae เผ่าย่อย (subtribe) Habenariinae

Habenaria เป็นกล้วยไม้ดินสกุลใหญ่ มีรายงานว่า พบมากกว่า 500 ชนิด ทั้งในเขตหนาวและเขตร้อน พบมากที่สุดในเอเชีย แอฟริกา และเขตร้อนทางตอนใต้ของอเมริกา มีหัวแบบ tuber และรากอวบน้ำ ใบเรียบ มีกาบใบที่โคนต้น ช่อดอกเป็นแบบ spike หรือ raceme สูงประมาณ 2.5-5.0 ซม ขนาดแตกต่างกันไปตั้งแต่เล็กจนถึงใหญ่ สีดอกโดยทั่วไปเป็นสีเขียวหรือขาว แต่บางชนิดมีสีเหลือง ส้ม ชมพูหรือแดง กลีบนอกบนสั้นกว่ากลีบนอกคู่ล่าง กลีบในเป็นแผ่นเดียวหรือมีรอยหยัก 2 รอย ปากเชื่อมติดกับเส้าเกสรเป็นแผ่นเดียวหรือมีรอยหยัก 3 รอย มีเดือยดอกที่โคนปาก เส้าเกสรสั้นมากและมีโครงสร้างที่ซับซ้อน viscidia ยื่นออกมาจากช่องเกสรตัวผู้ จงอยมีขนาดเล็ก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตั้งตรง มีช่องเกสรตัวผู้ขนาบอยู่ทั้ง 2 ข้าง เป็น perennial herb ที่ยุบตัวหลังจากออกดอกและพักตัวไปนาน 6 เดือน กล้วยไม้ดิน *Habenaria rhodocheila* Hance นับว่าเป็นชนิดที่น่าสนใจมากที่สุด เนื่องจากดอกมีสีสันสดใสเมื่อเทียบกับชนิดอื่น ๆ ในสกุลเดียวกัน (Sheehan and Sheehan, 1994) Kijima (1978) รายงานว่า *Habenaria* มีประมาณ 750 ชนิด พบได้ทั้งในเขตร้อนและเขตหนาว ชื่อถูกตั้งตามลักษณะของกลีบดอกที่ห้อยลงมา ในฤดูหนาวการเจริญทางใบจะตายลงเหลือแต่รากอยู่ใต้ดิน Hawkes (1965) รายงานว่ามี กล้วยไม้สกุล *Habenaria* ประมาณ 700 ชนิด และมีเพียง 50 ชนิดที่เป็นที่รู้จัก แต่ก็มีการศึกษาเพิ่มเติมอย่างต่อเนื่อง กล้วยไม้สกุลนี้มีกระจายอยู่ทั่วโลกแต่พบมากที่ บราซิล แอฟริกาเขตร้อน และทางเหนือของอบอุ่น เกือบทั้งหมดเป็นกล้วยไม้ดิน แต่มีบางส่วนที่เป็น กล้วยไม้อากาศ และบางส่วนเป็น lithophyte คืออาศัยอยู่ตามซอกหิน

กล้วยไม้ดินลิ้นมังกร (*H. rhodocheila* Hance)

กล้วยไม้ดินลิ้นมังกร (*H. rhodocheila* Hance) หรือ สังหิน ปัดแดง พบได้ในภาคอีสานและภาคใต้ของประเทศไทย ดอกบานในช่วงเดือนกันยายน-ตุลาคม ลักษณะของดอก มีกลีบนอกด้านบน และด้านล่าง มีขนาดเล็กและมีสีเขียว ส่วนที่สะดุดตาคือ ปาก มีรอยหยักเป็น 4 แฉก ขนาดยาวประมาณ 3 ซม กว้างประมาณ 2.5 ซม มีสีชมพูอ่อน ชมพูเข้ม ส้มและเหลือง (Vaddhanaphuti, 1997) นิพาพร (2541) ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ ลิ้นมังกรที่มีสีดอกต่างกัน 3 แบบคือ กลีบนอกบนสีเขียว ปากสีส้ม สีส้มทั้งดอก และดอกสีชมพู พบว่าทั้ง 3 ชนิด มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกและใบคล้ายกัน ต่างกันที่สีดอกและลักษณะหัว โดยหัวของลิ้นมังกรที่มีกลีบนอกบนสีเขียว ปากสีส้ม มีลักษณะแผ่แบน ปลายเป็นหลายแฉก แต่ชนิดดอกสีชมพูมีหัวกลมยาว เกสรตัวผู้มีลักษณะเป็นก้อนเล็ก ๆ จำนวนมากจับกลุ่มรวมกัน (sectile) มี 2 ชุดแยกจากกัน ยอดเกสรตัวเมียมีลักษณะเป็นวงเล็ก ๆ 2 วง ยื่นออกมากด้านหน้าของเส้าเกสร

Pridgeon (1992) รายงานว่า ลิ้นมังกรมีรากอวบน้ำ ต้นยาวประมาณ 10-30 ซม มีใบ 1-2 ใบ อยู่ด้านล่าง ด้านบนมี 3-4 ใบ ช่อดอกตั้งตรง มีดอก ตั้งแต่ 2-15 ดอก กลีบนอกด้านบนมีลักษณะคล้ายวงรี ยาว 1 ซม กลีบนอกด้านล่างสั้นและบางกว่า ปากมีรอยหยักเป็น 4 แฉก มีสีแดง สีที่หายากคือสีส้มหรือเหลือง มีเดือย (spur) ยาว 4-5 ซม พบในอินโดจีน มาเลเซีย ทางเหนือจนถึงใต้ของจีน

Teo (1985) รายงานว่า ลิ้นมังกรเดิมมีชื่อเรียกว่า *H. xanthocheila* Ridl. และ *H. pusilla* Rchb. F. ต้นมีความสูง 30-40 ซม ใบสีเขียวมีจำนวน 5-6 ใบ ลักษณะยาวและแคบ ช่อดอกยาว 4-6 ซม กลีบนอกด้านบนมีลักษณะคล้ายหมวกสีเขียวอยู่เหนือเส้าเกสร กลีบนอกด้านล่างบิด ปากมีสี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ส้มอ่อน เหลือง แผ่กว้างมีรอยหยักที่เห็นได้ชัด 3 แฉก เดือยยาวกว่าก้านดอกย่อย (pedicel) พบในทางตอนใต้ของจีน อินโดจีน ทางตอนใต้ของไทย ทางเหนือของแหลมมลายู

ภาพ 1 กล้วยไม้ดินลิ้นมังกร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลักษณะทั่วไปของเมล็ดกล้วยไม้ดิน

เมล็ดกล้วยไม้ดินมีขนาดเล็กมาก ความกว้างประมาณ 0.07-0.40 มม ความยาวประมาณ 0.11-1.97 มม ในหนึ่งฝักอาจมีเมล็ดมากถึงพันเมล็ด กล้วยไม้ในเขตร้อนส่วนใหญ่ มีน้ำหนักเมล็ดน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม กล้วยไม้ดิน *Goodyera repens* และ *Cephalanthera damasonium* มีน้ำหนักเมล็ดประมาณ 2 ไมโครกรัม นอกจากนั้นเปลือกหุ้มเมล็ดยังถูกปกคลุมด้วยชั้นไขมันที่สามารถป้องกันน้ำได้ ซึ่งด้วยขนาดที่เล็ก การศึกษาการงอกในสภาพธรรมชาติจึงทำได้ยาก (Rasmussen, 1995) และกลไกการงอกยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด (Miyoshi and Mii, 1995)

ภาพ 2 เมล็ดกล้วยไม้ดินลิ้นมังกร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปัจจัยที่มีผลต่อการงอกและการเจริญของเมล็ดกล้วยไม้ดิน

การศึกษาความต้องการในการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ ระยะแรกในปี ค.ศ. 1899 Bernard ได้รายงานว่าเชื้อราบางชนิดมีความจำเป็นต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1919 Knudson ได้ทำการเพาะเมล็ด *Cattleya mossiae* บนอาหารสูตร Pfeffer ร่วมกับ ซูโครส 1 % พบว่าเมล็ดสามารถงอกได้ในสภาพปลอดเชื้อ จึงทำให้ Knudson เชื่อว่าเชื้อราไม่ได้มีผลต่อการงอกของคัภพะโดยตรง แต่เป็นผลผลิตที่ได้จากการย่อยสารบางชนิดของเชื้อราที่มีผลต่อการงอก (Arditti, 1972) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ (Stoutamire, 1974)

ปัจจัยเรื่องอายุฝักกล้วยไม้ที่เหมาะสมต่อการงอก พบว่าในแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันไป Nagashima (1989) ได้ทำการเพาะเมล็ดของ *Ponerorchis graminifolia* Reichb. F. ซึ่งเป็นกล้วยไม้ดินของประเทศญี่ปุ่น ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า เมล็ดแก่งอกยาก แต่เมล็ดที่มาจากฝักอ่อน คือ 35-40 วันหลังการผสมเกสร สามารถงอกได้ในอัตราสูงสุดคือ 40 % Vejsadova and Mala (1996) ได้ศึกษาการงอกของกล้วยไม้ดิน 8 ชนิดคือ *Orchis morio, Gymnadenia conopsea, Liparis loeselii, Dactylorhiza longebracteata, D. bohemica, D. incarnata, D. maculata* และ *Epipactis palustris* พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อที่เมล็ดไม่สามารถกระตุ้นให้เมล็ดที่มาจากฝักแก่งอกได้ แต่สามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดที่มาจากฝักอ่อน และพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์ม ซึ่งสามารถเลี้ยงต่อไปได้ใน *D. maculata, D. incarnata, D. bohemica, D. longebracteata* และ *O. morio* การงอกของเมล็ดที่มาจากฝักอ่อนยังพบในกล้วยไม้ดิน *Ipsea malabarica* ซึ่งเมื่อนำมาเพาะในอาหารเหลวที่มี casein acid hydrolysate สามารถงอกได้ถึง 90 % และสามารถพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มได้ ภายใน 60 วัน หลังจากทำการเพาะ (Gangaprasad *et al.*, 1999) กล้วยไม้ดินหลายชนิดของประเทศออสเตเลีย สามารถนำเมล็ดจากฝักที่ยังมีสีเขียวอยู่และไม่แตก มาเพาะในสภาพปลอดเชื้อเช่นเดียวกัน (McIntyre *et al.*, 1972) จากการศึกษาปัจจัยเกี่ยวกับอายุฝักของกล้วยไม้สกุล *Cypripedium* 3 ชนิดคือ *C. candidum, C. reginae* และ *C. calceolus* var. *parviflorum* โดยทำการเก็บฝักอายุ 5 สัปดาห์ ถึง 12 สัปดาห์หลังการผสมเกสร มาทำการเพาะ พบว่า *C. reginae* งอกได้ดีที่สุด และฝักอายุ 8 สัปดาห์หลังการผสมเกสรให้เปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด การงอกเกิดขึ้นตั้งแต่เพาะได้ 4 สัปดาห์ จนถึง 20 สัปดาห์ ขึ้นกับชนิดกล้วยไม้ (Pauw and Remphrey, 1994) ต่อมา ได้มีการศึกษาเรื่องเดียวกันนี้กับ *C. calceolus* L. โดยเพาะฝักอ่อนที่มีอายุต่างกันบนอาหารสูตร Van Waes และ Debergh พบว่าการปฏิสนธิเกิดขึ้นหลังจากผสมเกสรได้ 20 วัน และเมล็ดให้เปอร์เซ็นต์การงอกสูง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สุด จากฝักอายุ 40 วันหลังผสมเกสร โดยเปอร์เซ็นต์การงอกลดลงเมื่อฝักมีอายุมากขึ้น (Wagner and Hansal, 1995) ส่วนเมล็ด *C. reginae* จากฝักอ่อนอายุ 6 สัปดาห์หลังผสมเกสร เมื่อนำมาเพาะลงบนอาหารสูตร GP ดัดแปลง แล้วเก็บในที่มืด การงอกเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว (Frosch, 1986) การแก่ของฝักเกี่ยวข้องกับอุณหภูมิคือ ถ้าอุณหภูมิสูง ฝักแก่เร็วขึ้น ทำให้อายุการเก็บฝักสั้นลง (Steele, 1995) ธีรพล (2535) ศึกษาอายุฝักที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีเหลืองปราจีน (*Paphiopedilum concolor* Lindl.) โดยทำการเพาะเมล็ดจากฝักอายุ 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 และ 28 สัปดาห์หลังการผสมเกสร ในอาหารเหลวสูตร Vacin และ Went (1949) (VW) ดัดแปลง พบว่าเมล็ดสามารถงอกได้ในอาหารเหลวเมื่อฝักมีอายุตั้งแต่ 14 ถึง 28 สัปดาห์หลังผสมเกสร โดยเมล็ดจากฝักอายุ 18 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดและให้โปรโตคอร์ม ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ส่วนในรองเท้านารีฝาหอย (*P. bellatulum* Rchb. F.) พบว่าอายุฝักที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 18-28 สัปดาห์หลังผสมเกสร โดยเมล็ดมีความสมบูรณ์มากกว่า 60 % ความสมบูรณ์ของเมล็ดเพิ่มขึ้นตามอายุฝักที่มากขึ้น เมื่อเพาะในอาหารเหลวสูตร VW (1949) ดัดแปลง เมล็ดเริ่มงอกตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ของการเพาะ และเมื่อเพาะนาน 5-7 สัปดาห์เมล็ดงอกมากกว่า 75 % (เกษนันท์, 2538) ในการศึกษาปัจจัยเกี่ยวกับอายุฝักของกล้วยไม้ดิน *Ophrys lutea* และ *O. fusca* โดยเพาะบนอาหารสูตร Curtis ดัดแปลง พบว่าสามารถงอกได้ดีทั้งเมล็ดที่มาจากฝักอ่อนและฝักแก่ รวมทั้งสามารถพัฒนาเป็นโปรโตคอร์มได้ภายใน 2 เดือนหลังการเพาะ (Barroso *et al.*, 1990) ในขณะที่กล้วยไม้ดิน *Disa uniflora* Berg. ต้องใช้เมล็ดที่ได้จากฝักแก่มาเพาะบนอาหารสูตร Thomale ดัดแปลง ทำให้การงอกสูงถึง 75-80 % (Van Waes and Geest, 1983) นอกจากนี้ กล้วยไม้ดิน *Dactylorhiza majalis, D. maculata, D. incarnata* และ *Gymnadenia conopsea* เมล็ดงอกได้ดีเมื่อใช้ฝักแก่มาเพาะด้วยเช่นกัน (Borris and Albrecht, 1969)

การงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินในสภาพธรรมชาติ เกี่ยวข้องกับเชื้อราบางชนิด ซึ่งเชื้อราอาจให้สารบางตัวที่จำเป็นสำหรับการงอกแก่คัพภะ เช่นฮอร์โมนเป็นต้น Pauw *et al.* (1995) รายงานว่า ไซโตคินิน เป็นสารควบคุมการเจริญที่มีผลกระทบเป็นอย่างมากต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินในสภาพปลอดเชื้อ และได้ทำการทดสอบ ไซโตคินิน 3 ชนิดคือ BA, 2-iP และ kinetin กับกล้วยไม้ดิน *Cypripedium candidum* โดยเพาะเมล็ดบนอาหารสูตร Nortog (1973) ดัดแปลง พบว่า หลังจากเพาะเมล็ดได้ 20 สัปดาห์ BA และ 2-iP ที่ความเข้มข้น 0.8 มก/ล สามารถเพิ่มการงอกของเมล็ดได้ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะบนอาหารสูตรเดียวกันที่ไม่มี ไซโตคินิน หรือมี kinetin ซึ่งไม่เพิ่มการงอก การใช้ BA และ 2-iP ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.2 และ 0.4 มก/ล ให้ผลไม่แตกต่างกัน และงอกได้น้อยกว่า เมื่อใช้ความเข้มข้น 0.8 และ 1.6 มก/ล การงอกเริ่มขึ้นเมื่อเพาะได้ 2 สัปดาห์ และเปอร์เซ็นต์การงอก เพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อเพาะได้ 4-8 สัปดาห์ นอกจาก *C. candidum* แล้ว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

BA ยังส่งเสริมการงอกในกล้วยไม้ดิน *C. calceolus* และ *Epipactis helleborine* เมื่อนำเมล็ดจากฝักแก่มาเพาะบนอาหารสูตร Thomale (1954) ดัดแปลง ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0.88 ไมโครโมล และเมื่อใช้อาหารสูตรนี้เพาะกล้วยไม้ดิน *Aceras anthropophorum, Cephalan thera spp.* และ *Limodorum abortivum* ก็ได้ผลดีเช่นเดียวกัน ในขณะที่กล้วยไม้ดิน *Listera ovata* และ *Dactylorhiza maculata* สามารถงอกได้ในอาหารสูตรเดียวกันแต่ไม่มี BA (Waes and Debergh, 1986)

Arditti and Ernst (1984) รายงานว่า การงอกของเมล็ดมีความไวต่อไซโตคินิน ที่มีความเข้มข้นสูงมากกว่า โปรโตคอร์ม และ ได้รวบรวมผลของ ไซโตคินิน และออกซิน ที่มีต่อการงอกของกล้วยไม้ต่าง ๆ ดังนี้ kinetin 1-10 มก/ล ทำให้เมล็ดของกล้วยไม้ดิน *Coeloglossum viride* และ *Dactylorhiza purpurella* งอกช้าลง kinetin หรือ BA 1 มก/ล เพิ่มการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดิน *Cypridedium calceolus* และ *Spathoglottis plicata* NAA มากกว่า 1 มก/ล ยับยั้งการงอกของ *Cymbidium sp.* IAA 0.1, 1 และ 10 มก/ล ยับยั้งการงอกของ *Dendrobium nobile* IAA 1 ก/ล ช่วยการงอกของ *Miltonia spectabills, Odontoglossum grande* และ *O. schlieperianum* 2,4-D ช่วยการงอกของ *Spathoglottis plicata* แต่ 2,4-D ที่ 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2 และ 5 มก/ล ยับยั้งการงอกของ *Vanda* cv. Miss Joaquim และ IAA ที่ 0.25, 0.5 และ 1 มก/ล ทำให้ *Orchis purpurella* งอกช้าลง Borris and Voigt (1986) รายงานว่า NAA 2 มก/ล เพิ่มการงอกของกล้วยไม้ดิน *Orchis mascula* และ *Dactylorhiza maculata* ส่วน Eiberg (1970) พบว่า 2,3,5,-T ที่ 2 มก/ล ยับยั้งการงอกของกล้วยไม้อย่างรุนแรง Pathak *et al.* (1994) ทำการเพาะฝักอ่อนของกล้วยไม้ดิน *Goodyera biflora* บนอาหารสูตร Mitra ร่วมด้วย IAA, IBA, 2,4-D, NAA, GA_3 และ/หรือ kinetin อย่างละ 1 มก/ล พบว่า เมล็ดสามารถงอกได้ทั้งในอาหารที่มีและไม่มีฮอร์โมน แต่สังเกตได้ว่า kinetin ช่วยส่งเสริมการสร้างอวัยวะและการพัฒนาต้นอ่อน Voraurai *et al.* (1992) ทำการเพาะเมล็ด *Grammatophyllum speciosum* จากฝักแก่บนอาหารสูตร VW (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 10 % peptone 1 ก/ล และ NAA 1 มก/ล พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดสูง เมล็ดงอกในสัปดาห์ที่ 4 ของการเพาะ และสามารถพัฒนาไปเป็น โปรโตคอร์มและต้นที่แข็งแรง

Arditti and Enst (1984) รายงานว่าช่วงอุณหภูมิที่เมล็ดกล้วยไม้ส่วนมาก สามารถงอกได้คือ 20-25 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจขยายไปได้ถึง 6-40 องศาเซลเซียส ตามความเฉพาะเจาะจงของกล้วยไม้แต่ละชนิด บางชนิดอาจต้องผ่านความเย็นก่อนจึงสามารถงอกได้ Zettler and McInnis (1993) ได้ทำการทดลองกับกล้วยไม้ดิน *Goodyera pubescens* ซึ่งพบทางตอนเหนือของอเมริกา โดยเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิ –7, 6 และ 22 องศาเซลเซียส แล้วนำมาเพาะในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า เมล็ดสามารถงอกได้ทุกอุณหภูมิ แต่เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright by Chiang Mai University
All rights reserved

Porter (1942) รายงานว่ากล้วยไม้ดินสกุล *Zeuxine* ซึ่งเป็นกล้วยไม้เขตร้อน งอกได้เมื่อถึงฤดูร้อนเท่านั้น Harvais and Hadley (1967) พบว่า เมล็ดกล้วยไม้ดินหลายชนิดที่พบในทวีปยุโรป งอกได้ดีที่สุดเมื่ออุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า และกล้วยไม้ สกุล *Eulophia* ซึ่งพบในอินเดีย งอกและเจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 60-85 ฟาเรนไฮท์ (Bhattacharjee, 1984)

Knudson เป็นผู้ริเริ่มการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ และการผลิตต้นอ่อน ซึ่งเป็นงานที่ยาก เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้ไม่มี endosperm ที่เป็นแหล่งสะสมอาหารภายในเมล็ด อีกทั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนใช้เวลานาน ปัญหาเหล่านี้มีปัจจัยจากทั้งภายนอกและภายในเมล็ดเป็นตัวควบคุม ซึ่งแสงก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งต่อการงอกและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ (Islam *et al.*, 1999) กล้วยไม้ดินที่มีถิ่นกำเนิดต่างกัน ก็มีความไวต่อแสงแตกต่างกันไปด้วย Van Waes (1984) ทดสอบผลของแสงต่อการงอกของกล้วยไม้ดินที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปยุโรป ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า *Anacamptis pyramidalis, Dactylorhiza maculata* และ *Gymmadenia conopsea* เมื่อได้รับความเข้มแสง 100 ลักซ์ งอกได้น้อยกว่าเมื่อเลี้ยงในที่มืดอย่างเห็นได้ชัด และให้ผลเช่นเดียวกับ *D. majalis* ที่ต้องการความมืดติดต่อกันถึง 14 วันในการงอก (Rasmussen *et al.*, 1990) ในขณะที่ เมล็ดของ *Spiranthes magnicamporum* งอกได้ถึง 99 % ภายใต้ความเข้มแสง 55 ไมโครโมล/ตารางเมตร/วินาที (Anderson, 1991) ซึ่งสอดคลองกับเมล็ดของกล้วยไม้ดิน *Platanthera integrilabia* เมื่อได้รับแสง สามารถงอกได้ถึง 44 % เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงในที่มืดซึ่งงอกเพียง 20.3 % นอกจากนั้น แสงยังกระตุ้นการพัฒนาของโปรโตคอร์มของกล้วยไม้ชนิดนี้ ให้สามารถสร้างใบอีกด้วย (Zettler and McInnis, 1994) ในกล้วยไม้ดิน *Cypripedium reginae* จำเป็นต้องเลี้ยงต้นอ่อนในที่มืดและอุณหภูมิประมาณ 24 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 เดือน เพื่อให้สร้างรากประมาณ 3 ราก และสร้างยอดให้ยืดก่อนการให้แสง (Steele, 1995) สำหรับ *Cypripedium macranthum* ที่ได้รับอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นาน 45 วัน สร้างหน่อใหม่ได้ 80 % และถ้าให้อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นาน 60 วัน สามารถสร้างหน่อใหม่ได้ ถึง 100 % (JongSuk and JeeYeon, 1999)

น้ำตาล เป็นแหล่งพลังงานของเนื้อเยื่อพืช เนื่องจากเนื้อเยื่อพืชที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อจะสูญเสียความสามารถในการตรึงคาร์บอน จากกระบวนการสังเคราะห์แสง สาเหตุอาจเกิดจากปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีในภาชนะ มีต่ำมาก ประกอบกับในสภาพจำลองที่เลี้ยงในขวดนั้น ประสิทธิภาพของการสังเคราะห์แสงต่ำกว่าปกติมาก ดังนั้นจึงต้องเพิ่มน้ำตาลให้กับต้นพืชหรือเนื้อเยื่อที่เลี้ยง น้ำตาลที่ใช้ อาจเป็นน้ำตาล กลูโคส ซูโครส หรือฟรุคโทส (ประสาทพร, 2541) น้ำตาลถูกใช้เป็นแหล่งคาร์บอน สำหรับการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ และยังช่วยสนับสนุนการเจริญเติบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โตของต้นอ่อน และมีรายงานว่า น้ำตาลความเข้มข้นสูงสามารถกระตุ้นการสร้างอวัยวะได้ (Arditti and Ernst, 1984)

Knudson กล่าวว่าในสภาพปลอดเชื้อ ต้นอ่อนไม่สามารถเติบโตได้ถ้าปราศจากน้ำตาล มีการทดลองหลายเรื่อง ที่แสดงให้เห็นว่า เมล็ดกล้วยไม้ดินบางชนิดต้องการน้ำตาล สำหรับการงอกในสภาพปลอดเชื้อ เช่น *Cypripedium reginae, Listera ovata, Goodyera repens* และ *G. oblongifolia* มีรายงานว่า *Platanthera bifolia* งอกบนอาหารที่มีน้ำตาล ซูโครส หรือ กลูโคส แต่ไม่พบการงอกบนอาหารที่ไม่มีน้ำตาล (Rasmussen, 1995) เมล็ดกล้วยไม้ดิน *Orchis morio* สามารถงอกได้ถึง 59.3 % บนอาหารที่มี ซูโครส 29 มิลลิโมล และงอก 64.9 % เมื่อเพิ่ม ซูโครสเป็น 58 มิลลิโมล แต่พบความงอกเพียง 47.9 % เมื่อไม่ใช้ซูโครส (Van Waes, 1984) Ballard (1987) ได้ทำการทดลองเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดิน *Cypripedium reginae* ในสภาพปลอดเชื้อ ที่ความเข้มข้นของ ซูโครสต่างกันคือ 2, 1.5 และ 1 % พบว่า ที่ ซูโครส 2 % เมล็ดงอก 65 % และลดลงเป็น 63 % และ 60.5 % ตามลำดับความเข้มข้น ในขณะที่ ซูโครสความเข้มข้น 0, 1 และ 2 % ไม่ทำให้การงอกของ *Paphiopedilum villosum* แตกต่างกัน (Piluek, 1992) และในทางตรงกันข้าม ซูโครสที่ความเข้มข้น 1.6 % (46 มิลลิโมล) และ 1 % (29 มิลลิโมล) ลดการงอกของ *Dactylorhiza majalis* และ *D. purpurella* ตามลำดับ (Harvais, 1972)

Sharma and Tandon (1990) ทดลองเพาะเมล็ด *Cymbidium elegans* และ *Coelogyne punctulata* บนอาหารที่มี ซูโครส 2-7 % พบว่า กล้วยไม้ทั้งสองสามารถงอกและเจริญเติบโตได้ดีเมื่อใช้ ซูโครสในช่วง 2-3 % ส่วนในการเลี้ยงต้นอ่อนลูกผสมของ *Arachnis* Maroon Maggie × *Renanthera coccinea* พบว่า อาหารสูตรที่ใส่น้ำตาล 2 % และ 2.5 % แต่ไม่ใส่กล้วย ให้การเจริญของต้นอ่อนดีกว่าสูตรที่มีกล้วยอยู่ด้วย (ขนิษฐา, 2517) และในกล้วยไม้ดิน *Orchis morio* ที่เพาะบนอาหารที่มี ซูโครส 1 % ทำให้ต้นอ่อนมีรากยาว (Beyrle and Smith, 1993) JongSuk *et al.* (1999) พบว่า ซูโครส 5 % ทำให้กล้วยไม้ *Sarcanthus scolopendrifolius* มีการพัฒนาและการเจริญของต้นอ่อนดี Collins and Dixon (1992) รายงาน การเลี้ยงยอดกล้วยไม้ดิน *Diuris longfolia* R. บนอาหารสูตร Burgff N_3f ร่วมกับน้ำตาล 4 % ช่วยส่งเสริมการเกิดราก นอกจากนั้นการเลี้ยงตาข้างของพืชอื่นคือ มันฝรั่งบนอาหารสูตร MS (1962) ร่วมกับน้ำตาล 4 หรือ 8 % สามารถชักนำให้เกิดหัวได้โดยจำนวนหัวไม่แตกต่างกัน แต่น้ำตาลที่ 8 % ให้หัวที่มีขนาดใหญ่กว่า (Khuri and Moorby, 1996) ในขณะที่ Zamora *et al.* (1994) ใช้น้ำตาล 10 % ชักนำการเกิดหัวของมันฝรั่ง

สารสกัดจากพืช เช่น มันฝรั่ง และ กล้วยเป็นสารอินทรีย์ ที่ซับซ้อนและไม่ทราบองค์ประกอบอย่างแท้จริง มีบทบาทในแง่เป็นแหล่งของฮอร์โมน น้ำตาล กรดอะมิโน หรือสารอินทรีย์อื่น ๆ การใช้มักพบว่าช่วยให้การเจริญดีขึ้น ข้อเสียคือผลที่ได้อาจแตกต่างกันตามคุณภาพของวัตถุ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ดิบที่นำมาเตรียม (ประสาทพร, 2541) Churchill *et al.* (1972) รายงานว่า กล้วยบดสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตให้กับต้นอ่อนของกล้วยไม้ นอกจากนั้นยังเพิ่มจำนวนรากแก่ *Cattleya* (Arditti, 1968) และใน *Phalaenopsis* เนื่องจากในกล้วยประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญพวก ไซโตคินิน, ออกซิน, จิบเบอเรลลิน, ไบโอติน และวิตามินต่าง ๆ (Ernst, 1967) Ernst (1974) ได้ทำการเลี้ยง *Paphiopedilum* บนอาหารสูตร Thomale GD ร่วมด้วยกล้วยบด 5 % และถ่านกัมมันต์ 0.2 % สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตได้ดีกว่า กล้วยบดหรือถ่านกัมมันต์เพียงอย่างใดอย่างหนึ่ง จิตราพรรณ (2514) ทำการถ่ายขวดกล้วยไม้ลูกผสม *Arachnis* Maggie Oei × *Renanthera coccinea* ในอาหารสูตร MS โดยเปรียบเทียบระหว่างกล้วย 3 ชนิด คือ กล้วยหอม กล้วยน้ำว้า กล้วยไข่ และไม่ใส่กล้วย โดยใส่กล้วยชนิดละ 100 ก/ล บดละเอียดลงในอาหารวุ้น พบว่าสูตรที่ใส่กล้วยหอมให้ผลดีที่สุด ลูกกล้วยไม้สามารถเจริญเติบโตได้ดี ต่อมา ธีรพล (2535) ทำการทดลองย้ายต้นอ่อนรองเท้านารีเหลืองปราจีนลงในอาหารสูตร VW (1949) ดัดแปลงที่มีถ่านกัมมันต์และกล้วยหอมบด 0.2 % และ 5 % ตามลำดับพบว่า มีความเหมาะสมต่อการพัฒนาและการเจริญของต้นอ่อน มากกว่าสูตรที่ไม่มีกล้วย และสูตรที่เติมถ่านกัมมันต์ หรือกล้วยเพียงอย่างเดียว นอกจากนั้นยังพบว่า กล้วยบดช่วยให้ โปรโตคอร์มของ *Dendrobium* พัฒนาไปเป็นต้นอ่อนที่มีคุณภาพดี และส่งเสริมการเจริญของ โปรโตคอร์มของ *Cymbidium* (Arditti and Ernst, 1984) Harvais พบว่าการใช้อาหารวุ้นที่มีมันฝรั่งเป็นส่วนประกอบเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ดิน *Cypripredium reginae* เป็นประโยชน์อย่างมากต่อการเจริญของโปรโตคอร์มและต้นอ่อน (Steele, 1995) นอกจากนั้น น้ำสกัดมันฝรั่ง 5 % ในอาหารสูตร NP ยังกระตุ้นการเจริญของ callus ของ *Phalaenopsis, Doritaenopsis* และ *Neofinetia* (Ichihashi and Islam, 1999) น้ำมันฝรั่งสกัด 10 % ในอาหารสูตร Knudson C ช่วยการงอกและการเจริญของต้นอ่อนกล้วยไม้ดิน *Goodyera oblongifolia* และ *Calypso bulbosa* (Arditti *et al.*, 1982) และ Soontornchainaksaeng *et al.* (2001) ใช้อาหารสูตร VW ร่วมด้วย น้ำมันฝรั่งสกัด 10 % และกล้วยบด 10 % ใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงต้นอ่อน *Vanda coerulea* ในการเลี้ยงยอดของ *Paphiopedilum* ในอาหารสูตร MS พบว่าในสูตรที่เติมน้ำมันฝรั่งสกัดหรือกล้วยที่ 1-3 % และ 2% ตามลำดับ สามารถกระตุ้นการแตกยอด (Huang *et al.*, 2000)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved