บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

1. ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการงอกของเมล็ดและการพัฒนาจนถึงระยะโปรโตคอร์ม

1.1 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับต้นพืช

1.1.1 อายุฝัก

การศึกษาอายุฝักที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดในการศึกษาครั้งนี้ โดยนำฝักกล้วยไม้ลิ้นมังกรที่มีอายุฝัก ตั้งแต่ 3, 4, 5, 6 และ 7 สัปดาห์มาเพาะในอาหารเหลวสูตร VW (1949) ดัดแปลง (CMU1) นาน 1 สัปดาห์พบว่า ฝักอายุ 3 สัปดาห์ คัพภะยังไม่พัฒนาเต็มที่ แต่เริ่มเห็นคัพภะชัดเจนเมื่อผสมเกสรแล้ว 4 สัปดาห์ และฝักแก่ให้เมล็ดสีน้ำตาลเข้ม เมื่ออายุ 7 สัปดาห์ แต่ฝักที่แก่กว่าอีกเพียงสัปดาห์เดียวจะแห้งและแตก ฝักที่ไม่แก่ เมล็ดมีคัพภะยังอ่อนมากได้แก่ ฝักอายุ 3 และ 4 สัปดาห์ เมื่อนำเมล็ดมาเพาะไม่สามารถงอกได้ อย่างไรก็ตาม คัพภะจากฝักอายุ 4 สัปดาห์ แม้ไม่สามารถงอกจากเปลือกหุ้มเมล็ดได้ แต่ตัวคัพภะก็มีขนาดขยายใหญ่ขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในระยะต่อมา (แผนภาพ 2) การขยายขนาดคัพภะจากทุกอายุฝักเกิดขึ้นหลังการเพาะ 4 สัปดาห์ต่อมาคัพภะขยายขนาดมากขึ้น และเห็นผลชัดยิ่งขึ้นในคัพภะที่มาจากฝักอายุมากขึ้น โดยอิทธิพลของอายุฝักมีผลต่อความกว้างของคัพภะที่ขยายขึ้น มากกว่าด้านความยาว (ตาราง 5) แม้ว่า เมล็ดจากฝักอายุ 5, 6 และ 7 สัปดาห์ มีขนาดของคัพภะเพิ่มขึ้นและสามารถงอกได้ แต่เปอร์เซ็นต์ในการงอกของเมล็ดที่แก่กว่า จะให้เปอร์เซนต์การงอกมากกว่าอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งอาจขึ้นอยู่กับระยะการพัฒนาของคัพภะ ที่เหมาะสมโดยในแต่ละพืชมีความจำเพาะเจาะจงแตกต่างกันไป ถึงแม้ว่าเมล็ดจากฝักอายุ 5 สัปดาห์จะงอกได้ แต่ก็ใช้เวลาในการงอกนานถึง 20 สัปดาห์ หลังการเพาะ และการที่ใช้เมล็ดจากฝักที่มีอายุ แก่กว่าเพียง 1 สัปดาห์จะทำให้เมล็ดงอกเร็วขึ้นถึง 4 สัปดาห์ คือเมล็ดจากฝักอายุ 6 และ 7 สัปดาห์ ใช้เวลาในการงอก 16 และ 12 สัปดาห์ ตามลำดับนั้น น่าจะเป็นเพราะกระบวนการพัฒนาของคัพภะจนแก่ ในเมล็ดจะต้องเกิดขึ้นต่อไปจนกระทั่งถึงจุดหนึ่งที่คัพภะพร้อมงอก ในกรณีนี้จึงทำให้การงอกจากคัพภะอายุน้อยต้องพัฒนาต่อในอาหารเพาะเมล็ดก่อน การงอกจึงเกิดขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานเกี่ยวกับกล้วยไม้ดิน *Cypripedium calceolus* var. *pubescens* ซึ่งสามารถงอกได้ในขณะที่คัพภะยังแบ่งตัวไม่สมบูรณ์ (Light and Mac Conaill, 1990) นอกจากนั้น Borris (1969) ยังพบว่า กล้วยไม้ดิน *Orchis militaris* และ *Ophrys insectifera* สามารถงอกเมื่อคัพภะแบ่งตัวได้ 2 ใน 3 ของขนาดจริง ในขณะที่เมล็ดแก่ซึ่งคัพภะพัฒนาสมบูรณ์แล้วของ *Calopogon*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

pulchellus สามารถงอกได้อย่างรวดเร็ว (Arditti, *et al.*, 1982) Nagashima (1989)ได้ทำการศึกษาการพัฒนาคัพภะของกล้วยไม้ดิน *Ponerorchis graminifolia* Reichd. f. ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการปฏิสนธิเกิดขึ้นหลังจากการผสมเกสร 12-13 วัน หลังจากนั้นเมล็ดจะเจริญอย่างรวดเร็วจนมีขนาดโตเต็มที่เมื่อ 40 วันหลังการผสมเกสร เมื่อนำเมล็ดมาเพาะพบว่า เปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดที่ 40 % เมื่อใช้เมล็ดอายุ 35-40 วันหลังการผสมเกสร ซึ่งสูงกว่าเปอร์เซ็นต์การงอกจากการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินลิ้นมังกรในครั้งนี้มาก แต่อายุฝักที่เหมาะสมใกล้เคียงกัน ต่อมาเขาได้ทำการศึกษาการพัฒนาคัพภะของกล้วยไม้ดิน *Cymbididim koran* Makino. พบว่า การปฏิสนธิเกิดขึ้นหลังจากการผสมเกสร 90-100 วัน และยังพบว่า เปอร์เซ็นต์การงอกขึ้นอยู่กับระยะการพัฒนาของคัพภะ โดยคัพภะที่พัฒนาจนสมบูรณ์แล้วสามารถงอกและสร้างไรโซม (rhizome) ได้ แต่เปอร์เซ็นต์การงอกน้อยกว่าคัพภะที่พัฒนายังไม่สมบูรณ์ (Nagashima, 1999) กล้วยไม้ดินบางชนิดใช้เวลาการพัฒนาคัพภะน้อยกว่า เช่น กล้วยไม้ดิน *Cypripedinm calceolus* L. พบว่า การปฏิสนธิเกิดขึ้นหลังการผสมเกสร 20 วัน การสร้างคัพภะเกิดขึ้น 30 วันหลังการผสมเกสร และคัพภะพัฒนาจนสมบูรณ์เมื่อ 50 วันหลังการผสม โดยเปอร์เซ็นต์การงอกมากที่สุดพบในเมล็ดอายุ 40 วัน หลังการผสมเกสรซึ่งคัพภะก็ยังพัฒนาไม่สมบูรณ์ (Wagner and Hansel, 1995) ในขณะที่ Cribb (1997) กล่าวโดยรวมถึงสกุล *Cypripedinm* ว่า การปฏิสนธิเกิดขึ้นประมาณ 24 วันหลังการผสมเกสร และคัพภะพัฒนาในระยะแรกเมื่อ 59 วันหลังการผสมเกสรและเมล็ดงอกได้ดีเมื่อคัพภะพัฒนาจนมีขนาด 2 ใน 3 ไปจนถึง 3 ใน 4 ของขนาดโตเต็มที่

ในส่วนของเปอร์เซ็นต์การงอก พบว่าลิ้นมังกรเป็นพืชที่งอกได้น้อย โดยเห็นได้จากเปอร์เซ็นต์งอกสูงสุดเพียง 2.46 % ในระยะเวลาทั้งหมด 20 สัปดาห์ ซึ่งสอดคล้องกับผลงานของ นิพาพร (2542) ที่ได้ทดลองวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดลิ้นมังกรโดยใช้คลอรอกซ์ร่วมกับทีโพลเปรียบเทียบกับไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ แล้วนำไปเพาะในอาหารเหลวสูตร VW (1949) ดัดแปลง เลี้ยงในที่มืดเป็นเวลานาน 4 เดือน พบว่า เมล็ดที่ฟอกด้วยคลอรอกซ์ร่วมกับทีโพลมีการงอก 9.94 % ในขณะที่ไม่พบการงอกในเมล็ดที่ฟอกด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ นอกจากนี้ Scott and Zetter (2002) ได้รายงานการทดลองเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินสกุล *Habenaria* 3 ชนิด โดยใช้วิธีเพาะร่วมกับเชื้อรา (symbiotic technique) เป็นเวลา 63 วัน ที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส และไม่ได้รับแสง พบการงอกในระยะที่คัพภะหลุดออกจากเปลือกหุ้มเมล็ดแล้วใน *Habenaria repens* มากที่สุดเพียง 5.35 % *H. macroceratitis* งอกเพียง 0.56 % และ ไม่พบคัพภะที่หลุดออกจากเปลือกหุ้มเมล็ดของ *H. quinqueseta* แต่พบระยะที่เปลือกหุ้มเมล็ดฉีก และคัพภะกำลังหลุดออก 18.1 % ในขณะที่เมล็ดที่เพาะโดยไม่ใช้เชื้อรา งอกน้อยกว่าที่เพาะโดยใช้เชื้อราในกล้วยไม้ดินทั้งสามชนิด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ในการทดลองครั้งนี้พบว่า หลังจากคัพภะขยายขนาดและสามารถดันเปลือกหุ้มเมล็ดขาดแล้ว โปรโตคอร์มเจริญอย่างรวดเร็ว ในเมล็ดจากทุกอายุฝัก และอิทธิพล ของอายุฝักมีผลต่อความกว้างของโปรโตคอร์มมากกว่าด้านความยาว ในทำนองเดียวกับ ที่มีผลต่อขนาดของคัพภะที่ขยายขนาด การที่ โปรโตคอร์มจากเมล็ดของฝักอายุ 7 สัปดาห์ มีขนาดใหญ่ที่สุดเป็นผลจากการที่เมล็ดงอกก่อนจึงมีเวลาขยายขนาดได้นานกว่า

1.1.2 ตำแหน่งฝักบนช่อดอก

จากการศึกษาผลของตำแหน่งฝักบนช่อดอกกับอายุฝัก พบว่า ปัจจัยเกี่ยวกับอายุฝักให้ผลสอดคล้องกับการทดลองที่ 1.1 คือ คัพภะจากฝักอายุมากกว่าเมื่อขยายขนาดในอาหารที่เลี้ยงเป็นเวลา 20 สัปดาห์ มีขนาดใหญ่กว่าคัพภะจากฝักอายุน้อย และไม่พบการงอกในฝักอายุ 3 และ 4 สัปดาห์ เช่นกัน ส่วนปัจจัยเกี่ยวกับตำแหน่งฝักบนช่อดอก พบว่า มีอิทธิพลต่อความยาวของคัพภะ มากกว่าต่อความกว้าง แต่หลังการงอกแล้ว โปรโตคอร์มที่พัฒนามาจากคัพภะของฝักทุกตำแหน่งก็เจริญได้ทันกัน ทำให้มีขนาดทั้งความยาว และความกว้างเฉลี่ย ไม่ต่างกันมากนัก เนื่องจากฝักที่ทดลอง ยังมีคัพภะที่ไม่พัฒนาเต็มที่ จึงทำให้ เมล็ดที่สามารถงอกได้ใช้เวลานาน หลังการเพาะเมล็ดแล้วถึง 20 สัปดาห์ และมีเปอร์เซ็นต์ การงอกต่ำมาก อาจมาจากดอกที่ใกล้โคนช่อได้รับน้ำและอาหารดีกว่า ดอกส่วนบนของช่อ หรืออาจเกิดจากอายุของแต่ละดอกในช่อและต้นเดียวกัน กล่าวคือ กล้วยไม้ดินลิ้นมังกรมีช่อดอกแบบ raceme มีจำนวนดอกมากกว่า 5 ดอก บางครั้งมากถึง 15 ดอกในหนึ่งช่อ การบานของดอกจะบานจากตำแหน่งดอกที่อยู่ทางด้านล่างก่อน โดยในช่อดอกเดียวกันจะมีการบานทุกระยะ โดยในขณะที่ดอกแรกบานเต็มที่ ดอกที่อยู่บนสุดยังตูมอยู่จึงเป็นเหตุให้ดอกในแต่ละตำแหน่งมีอายุไม่เท่ากัน ซึ่งการทดลองนี้จะยึดเอาตำแหน่งดอกที่ 1 ของช่อดอกบานเต็มที่ จึงเริ่มทำการผสมเกสร ซึ่งในบางต้นดอกในตำแหน่งที่ 5 อาจมีอายุน้อยกว่าแม้ว่าจะบานแล้ว ระพี (2535) แนะนำว่าให้ ผสมเกสรเมื่อดอกกล้วยไม้มีสภาพบานเต็มที่ และกำลังสดใส ซึ่งเป็นระยะเวลาที่อวัยวะตัวเมียพร้อมที่จะรับการผสมเกสรได้ดีที่สุด แต่ดอกกล้วยไม้แต่ละชนิดมีระยะเวลาการบานดอกไม่เท่ากัน ในการทดลองครั้งนี้ ดอกตำแหน่งบนมีอายุไม่เท่ากับดอกล่างตำแหน่งที่ 1 นอกจากนั้น Rasmussen (1995) รายงานว่า อายุของดอกในขณะที่ทำการผสมเกสรมีอิทธิพลต่อการงอกของเมล็ด Böhm (1966) กล่าวว่าเมล็ดของฝักในสภาพธรรมชาติ ที่อยู่ในตำแหน่งส่วนบนของช่อดอกจะอ่อนกว่าฝักที่อยู่ส่วนล่างของช่อดอก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับส่วนประกอบของอาหาร

1.2.1 น้ำตาล

การศึกษาผลของระดับน้ำตาลต่อการงอกของเมล็ด โดยได้นำเมล็ดจากฝักอายุ 7 สัปดาห์ มาเพาะในอาหารวุ้นสูตร VW (1949) ดัดแปลง ที่มีน้ำตาล 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 % (การทดลองที่ 1.4) พบว่า น้ำตาลไม่ช่วยเพิ่มขนาดของคัพภะ และความงอกลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเพิ่มขึ้น ซึ่งพบว่าการงอกเร็ว และความงอกมากที่สุดคือ 1.14 % เกิดขึ้นในอาหารที่ไม่มีน้ำตาล รองลงมาคือ 0.45 % ในอาหารที่มีน้ำตาล 2 % ส่วนที่น้ำตาล 4, 6, 8 และ 10 % งอกน้อยกว่า 0.1 % ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน้ำตาลไม่จำเป็นต่อการงอกของกล้วยไม้ดินลิ้นมังกรแต่น้ำจำเป็นต่อการพองของเมล็ด และการเพิ่มขนาดของคัพภะจากการดูดน้ำ (ซึ่งมีแร่ธาตุอาหารผสมอยู่ด้วย) Rasmussen (1995) ได้อธิบายการที่เมล็ดกล้วยไม้สามารถงอกได้ในอาหารที่ไม่มีน้ำตาลว่า เมล็ดบางชนิดมีน้ำตาลภายในเพียงพอในการงอกโดยไม่ต้องอาศัยน้ำตาลจากภายนอก นอกจากนั้นเมล็ดกล้วยไม้บางชนิดมีการสะสม glucoprotein ซึ่งจะปล่อย glucose โดยกระบวนการ hydrolysis นอกจากนั้นยังมีรายงานว่า เมล็ดจากกล้วยไม้ดินบางชนิดสามารถงอกได้ในน้ำกลั่น โดยเมล็ดจะพองอยู่ในน้ำเป็นเวลานานแล้วคัพภะจึงหลุดออกมาจากเปลือกหุ้มเมล็ดและพัฒนาไปเป็นโปรโตคอร์มที่สร้างขนรากได้ ซึ่งการงอกในกรณีนี้พบในกล้วยไม้ดินสกุล *Dactylorhiza, Habenaria* และ *Ophrys* (Stoutamire, 1974) โดยพบว่าระดับของน้ำตาลซูโครสจะไม่สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอก ของเมล็ดของกล้วยไม้ดินที่สามารถงอกในน้ำได้ นอกจากนั้นที่ระดับซูโครสความเข้มข้นสูงยังยับยั้งการงอกอีกด้วย โดยเกิดจากผลของมวลโมเลกุลของน้ำตาลต่อกระบวนการออสโมซิส ซึ่งเห็นได้จากกล้วยไม้ดิน *Dactylorhiza majalis* ที่สามารถงอกได้ดีในน้ำ และในอาหารที่มีซูโครสระดับต่ำทำนองเดียวกับในกล้วยไม้ดิน *D. purpurella* งอกในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสหรือซูโครส 1 % น้อยกว่าการงอกในน้ำกลั่น (Harvais, 1972) นอกจากนี้ Harrison (1977) ยังรายงานว่า *Cattleya aurantiaca* ซึ่งเป็นกล้วยไม้อากาศ งอกได้ในอาหารที่มีและไม่มีซูโครส โดยอาหารที่มีซูโครสทำให้การงอกเกิดขึ้นช้ากว่า นอกจากนี้ *Paphiopedium ciliolare* งอกได้ดีที่สุดในอาหารที่มีความเข้มข้นของกลูโคสและฟรุกโทส 0.5+0.5 % ความงอกลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเพิ่มขึ้น (Pierik *et al.*, 1988) ในขณะที่ Vanwaes (1984) พบว่า กล้วยไม้ดิน *Orchis morio* ที่เพาะในอาหารที่มี ซูโครส 1 และ 2 % มีการงอกที่ 59 และ 64.9 % ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าที่เพาะในอาหารที่ไม่ซูโครส ที่งอกเพียง 47.9 % แต่เมื่อเพิ่มระดับซูโครสขึ้นเป็น 3 และ 4 % การงอกของเมล็ดน้อยกว่าเมื่อไม่ใช้ซูโครส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในสัปดาห์ที่ 20 ของการทดลอง พบว่า โปรโตคอร์มมีขนาดใกล้เคียงกันทั้งในอาหารที่มีน้ำตาลและไม่มีน้ำตาล แต่เนื่องจากในอาหารที่ไม่มีน้ำตาลเกิดการงอกขึ้นก่อนจึงทำให้มีเวลาในการพัฒนาขนาด มากกว่าโปรโตคอร์มในอาหารที่มีน้ำตาล ซึ่งเกิดช้ากว่าถึง 8 สัปดาห์ แต่น้ำตาลช่วยให้มีการพัฒนาขนาดขึ้นอย่างรวดเร็วจนทำให้มีขนาดใกล้เคียงกับโปรโตคอร์มที่เกิดขึ้นก่อนในอาหารที่ไม่มีน้ำตาลในเวลาสั้นเพียง 4 สัปดาห์ จึงเห็นได้ชัดว่าขณะที่น้ำตาลไม่จำเป็นต่อการงอกของเมล็ดแต่ช่วยส่งเสริมการเจริญของโปรโตคอร์ม มีรายงานว่า เมื่อนำเมล็ดของ *Cattleya aurantiaca* ที่งอกในอาหารที่มีน้ำตาลไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีซูโครส ต้นอ่อนสามารถเจริญต่อไปได้ แต่เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับต้นที่เลี้ยงในอาหารที่มีซูโครส พบว่า ต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารที่มีซูโครสมีปริมาณของโปรตีน (protein content) และระดับของเอนไซม์สูงกว่า และพบว่า น้ำตาลช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของทั้งเมล็ดและต้นอ่อน (Ernst and Rodrignez, 1984) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของน้ำตาลด้วย ในโปรโตคอร์มของ *Cymbidium* มีการตอบสนองต่อกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างกัน โดยโปรโตคอร์มที่ไม่ได้รับกลูโคสไม่ขยายขนาดและตายในที่สุด ที่กลูโคส 0.25 % โปรโตคอร์มมีการเจริญเติบโตน้อยมากแต่เนื้อเยื่อมีสีเขียว ที่กลูโคส 0.63 % โปรโตคอร์มมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้น สร้างขนราก แต่ไม่พัฒนาเป็นต้นอ่อน ที่กลูโคส 1.6 % โปรโตคอร์มมีการเจริญเติบโตและพัฒนาดีที่สุด ที่กลูโคส 4 % โปรโตคอร์มมีการเพิ่มจำนวนของต้นอ่อนแต่ที่กลูโคส 10 % โปรโตคอร์มไม่ขยายขนาดและตายอย่างรวดเร็ว (Arditti and Ernst, 1984)

1.2.2 NAA และ BA

NAA และ/หรือ BA ไม่มีผลต่อขนาดของคัพภะที่ขยายขนาดในอาหารที่เลี้ยง แต่มีส่วนช่วยกระตุ้นการงอกให้เร็วขึ้นและเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกทั้ง NAA และ BA เมื่อใช้อย่างเดียว หรือ NAA ร่วมกับ BA หากเพาะเมล็ดในอาหารที่ไม่เติม NAA จะเห็นผลของ BA มากกว่า BA ระดับสูง 1 มก/ล ให้เปอร์เซ็นต์การงอกมากกว่าเมื่อใช้ระดับต่ำหรือไม่ใช้ BA เลย ซึ่งให้การงอกต่ำสุด และการใช้ NAA ระดับสูงสุด 1 มก/ล ร่วมกับ BA ทุกระดับแม้จะให้เปอร์เซ็นต์การงอกมากเพิ่มขึ้น แต่ก็ไม่ดีเท่ากับเมื่อใช้ NAA ระดับต่ำ 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 1 มก/ล ซึ่งให้การงอกสูงสุดอย่างเห็นได้ชัด ในกรณีที่ว่า สัดส่วนของ ออกซิน :ไซโตคินิน ที่เหมาะสม อาจช่วยส่งเสริมการแบ่งเซลล์ ให้เป็นไปในอัตราที่เร็วขึ้น จนทำให้คัพภะที่ยังไม่พร้อมที่จะงอก สามารถแบ่งเซลล์จนเพิ่มขนาดของคัพภะให้กว้างพอที่จะดันเปลือกหุ้มเมล็ดจนงอกได้ จึงน่าจะเป็นไปได้น้อย เนื่องจากหากเป็นเช่นนี้จริง สัดส่วนของสารกระตุ้นการเจริญที่เหมาะสมดังกล่าว น่าจะทำให้คัพภะมีขนาดใหญ่จนเห็นได้ชัด หรืออาจเป็นไปได้ว่า สัดส่วนของ ออกซิน : ไซโตคินิน ที่เหมาะสมช่วยทำลายกระบวนการพักตัวของเมล็ด โดยเมล็ดบางส่วนอาจยังพักตัว ไม่พร้อมที่จะงอก ซึ่งเป็น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลักษณะของไม้ป่าหลายชนิด จึงทำให้เมล็ดงอกได้มากที่สุด และเร็วกว่าเมื่อไม่ใช้ทั้งออกซินและไซโตคินิน

ในส่วนของขนาดโปรโตคอร์ม พบว่า NAA ทำให้การเจริญของโปรโตคอร์มน้อยลง ในขณะที่ BA มีผลส่งเสริมการเจริญของโปรโตคอร์ม โดยที่ BA 1 มก/ล อย่างเดียวให้ขนาดโปรโตคอร์มใหญ่ที่สุด ในขณะที่ผลร่วมของสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งสองชนิดก็มีผลในการชะลอการเจริญเติบโตเช่นกัน Arditti and Ernst (1984) ให้เหตุผลของความไม่สอดคล้องกันของการใช้สารควบคุมการเจริญกับพืชว่า อาจขึ้นอยู่กับความต้องการของพืชแต่ละชนิด มีหลายรูปแบบและมีการตอบสนองออกทางสรีรวิทยาที่แตกต่างกัน หรืออาจขึ้นอยู่กับความแตกต่างกันของโครงสร้างของสารเร่งการเจริญเติบโต หรือขึ้นอยู่กับสภาพการเลี้ยงที่แตกต่างกัน หรือ ช่วงความเข้มข้นของสารที่นำมาใช้ และสุดท้ายคืออาจขึ้นอยู่กับอายุของเนื้อเยื่อที่จะให้การตอบสนองที่แตกต่างกัน ในส่วนผลของ ออกซิน ที่มีต่อพืช เคยมีรายงานว่า NAA สามารถเพิ่มการงอก และ/หรือการเจริญเติบโตของต้นอ่อนได้ โดยมีรายงานว่า เพิ่มการงอกของกล้วยไม้ *Bletilla sp., Cattleya aurantiaca, Cymbidium madidum* และ *Paphiopedilum* Hybrids ส่วนผลของ ไซโตคินินมีรายงานว่า ส่งเสริมการเจริญของต้นอ่อนหลายชนิดและทำให้ไมโตครอนเดียมีขนาดใหญ่ และเมื่อนำ ออกซิน และ ไซโตคินิน มาใช้ร่วมกัน พบว่า มีผลทำให้เพิ่มการเจริญ โดยผลที่ได้ขึ้นอยู่กับชนิด ความเข้มข้นและสัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ ในขณะที่ Rasmussen (1995) รายงานว่า ออกซิน ไม่ค่อยมีผลกับการส่งเสริมการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินโดยในบางกรณีมีการลดการงอก แต่อย่างไรก็ตามพบว่าเพิ่มการงอกของ *Orchis mascula* โดยใช้ NAA 2 มก/ล แต่ในส่วนของ ไซโตคินิน ได้รายงานว่า BA หรือ kinetin สามารถเพิ่มการงอกของกล้วยไม้ดินที่โดยปกติแล้วงอกยาก เช่น *Cypripedium calceolus, C. reginae* และ *Epipactis helleborine* โดยใช้ BA ความเข้มข้น 0.1-0.2 มก/ล หรือ kinetin 0.5-5 มก/ล นอกจากนั้นยังเป็นไปได้ว่าการให้ ไซโตคินิน สามารถชักนำให้เกิดการตอบสนอง โดยให้ผลเช่นเดียวกันกับการให้ความเย็นเพื่อกระตุ้นให้เกิดการงอก Steele (1995) รายงานว่า kinetin ช่วยให้เมล็ดจากฝักแก่ของ *Cypripedium reginae* งอกและยังส่งผลให้โปรโตคอร์มเจริญอย่างรวดเร็ว รวมทั้งกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการพัฒนายอด โดยใช้ kinetin 0.5-1.0 มก/ล Pauw *et al.* (1995) ทำการทดสอบ ไซโตคินิน 3 ชนิด คือ BA, 2-iP และ kinetin กับ *Cypripedium candidum* โดยเพาะเมล็ดบนอาหารสูตร Nortog (1973) ดัดแปลง พบว่า BA และ 2-iP ความเข้มข้น 0.8 มก/ล สามารถเพิ่มการงอกได้ เมื่อเทียบกับอาหารที่ไม่มี ไซโตคินิน แต่ kinetin ไม่เพิ่มการงอก โดยได้ให้เหตุผลว่า การทำงานของ ไซโตคินินต่อการงอกของเมล็ดยังไม่รู้แน่ชัดแต่มีการสังเกตว่า ไซโตคินิน มีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมไขมันในเมล็ดที่สะสมไว้ โดย ไซโตคินิน ในอาหารไปทำให้ไขมันที่เมล็ดสะสมไว้ อยู่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ในรูปที่ใช้งานได้ ซึ่งทำให้กระบวนการงอกดำเนินต่อไปได้ นอกจากนั้น ไซโตคินิน ทั้ง 3 ชนิดยังช่วยให้โปรโตคอร์มพัฒนาอย่างรวดเร็ว โดยหลังจาก 12 สัปดาห์หลังการเพาะเมล็ด อาหารที่ใส่ BA หรือ 2-iP โปรโตคอร์ม มีขนาดใหญ่กว่าและสร้างขนราก ได้มากกว่าโปรโตคอร์มจากอาหารที่ไม่มีไซโตคินิน

1.3 แสงและอุณหภูมิ

จากการทดลองพบว่า แสงและอุณหภูมิมีผลต่อขนาดของคัพภะ โดยเมล็ดที่ได้รับอุณหภูมิสูง (30 องศาเซลเซียส) และได้รับแสงมีคัพภะขนาดใหญ่ (การทดลองที่ 1.3) และเมื่อเปรียบเทียบที่อุณหภูมิเดียวกัน พบว่า เมล็ดที่ได้รับแสง มีคัพภะขนาดใหญ่กว่าเมล็ดที่ไม่ได้รับแสง อาจเป็นไปได้ว่าอุณหภูมิสูงที่ใช้พอเหมาะกับการแบ่งเซลล์ของคัพภะ และ/หรือ การดูดน้ำมากกว่าจึงทำให้คัพภะใหญ่กว่า และแสงก็ช่วยให้คัพภะมีขนาดใหญ่ขึ้น ในขณะที่อุณหภูมิต่ำไม่ส่งเสริมการขยายขนาดของคัพภะ เมื่อพิจารณาความงอก พบว่า การงอกเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในที่มีแสงมากที่สุด คือ 0.97 % ในขณะที่อุณหภูมิเดียวกันแต่ไม่ได้รับแสงไม่พบการงอก อาจเนื่องมาจากในชุดการทดลองที่ต้องควบคุมแสง ทำโดยนำเมล็ดที่เพาะในขวดรูปชมพู ขนาด 50 มล ใส่ในกล่องกระดาษแล้วใช้อลูมิเนียมฟอล์ยหุ้มอีกชั้นหนึ่ง แล้วจึงนำไปไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส จึงอาจทำให้การระบายอากาศภายในกล่องไม่สะดวก และทำให้อุณหภูมิภายในกล่องสูงกว่าภายนอก โดยอาจจะสูงจนสามารถยับยั้งการงอกได้ ซึ่ง Eiberg (1970) รายงานว่า เปอร์เซ็นต์การงอกขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ โดยเมื่อเพาะกล้วยไม้ดิน *Dactylorhiza incarnater* ในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน พบว่า เมล็ดสามารถงอกได้ที่อุณหภูมิ 20-21 องศาเซลเซียส และ 27-28 องศาเซลเซียส แต่จะงอกเพิ่มขึ้นอีก 50 % ถ้าเพาะในที่อุณหภูมิ 23-24 องศาเซลเซียส Nakamura (1962) รายงานว่า เมล็ดกล้วยไม้ดิน *Galeola septentrionalis* เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 70 วัน ให้การงอกสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลามากกว่า 55 วัน และที่อุณหภูมิ 32-34 องศาเซลเซียส ยับยั้งการงอกของเมล็ด

การทดลองนี้ในขณะที่พบว่าที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส พบการงอกเล็กน้อยทั้งในสภาพที่ได้รับแสงและไม่ได้รับแสง จึงอาจกล่าวได้ว่า แสงไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ด แต่การได้รับอุณหภูมิสูง (30 องศาเซลเซียส) เหมาะกับกล้วยไม้ดินลิ้นมังกรมากกว่าอุณหภูมิต่ำ 20 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นไปในทางตรงกันข้ามกับ Rasmussen (1995) ที่กล่าวว่า เทคนิคการให้อุณหภูมิต่ำกับเมล็ดกล้วยไม้เพื่อทำลายการพักตัวใช้ได้ผลดีกับกล้วยไม้ที่งอกยากหลายชนิด เช่นใน *Epipactis palustris* โดยที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ไม่พบการงอกแต่เมื่อนำมา รับอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบการงอกเกิดขึ้น และเปอร์เซ็นต์งอกเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับอุณหภูมิ 5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 และ 12 สัปดาห์ นอกจากนั้นการให้อุณหภูมิต่ำเพื่อทำลายการพักตัวยังใช้ได้กับ *Arethusa bulbosa* และ *Cympripedium reginae* ในกล้วยไม้ดินชนิดนี้ พบว่างอกในที่อุณหภูมิควบคุมเพียง 1 % แต่เมื่อนำมารับอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 เดือน การงอกเพิ่มขึ้นเป็น 16 % Rudnicki (1969) อธิบายว่า อุณหภูมิต่ำมีผลทางสรีรวิทยาทำให้ระดับของ abscisic acid ภายในลดลง ในขณะเดียวกันก็เพิ่มระดับของ ไซโตคินิน ซึ่งทั้งสองกระบวนการนี้เป็นการกระตุ้นการงอก โดยการให้ ไซโตคินิน สามารถทดแทนความต้องการอุณหภูมิต่ำเพื่อทำลายการพักตัวได้ การศึกษาครั้งนี้ไม่พบการงอกที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นอุณหภูมิระหว่าง 20 และ 30 องศาเซลเซียส เป็นเรื่องที่จะต้องศึกษาต่อไป

2. ปัจจัย ที่มีผลต่อการพัฒนาของโปรโตคอร์ม และการเจริญของต้นและหัว

2.1.1 ปัจจัยเกี่ยวกับแสงและอุณหภูมิ

โปรโตคอร์มสามารถพัฒนาและเจริญเป็นต้นได้ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส ที่ได้รับแสงตลอดเวลา ส่วนที่ได้รับสภาพมืดนาน 4 และ 8 สัปดาห์ โปรโตคอร์ม มียอดยืดยาว แต่เมื่อได้รับแสงก็สามารถพัฒนายอดที่ยืดยาว ให้กลายเป็นใบและเจริญเป็นต้นได้ ในขณะที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส โปรโตคอร์มไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในทุกสภาพแสง (การทดลองที่ 2.1)

การได้รับแสงช้ากว่า 8 สัปดาห์ไม่มีผลต่อการเจริญทางใบ ราก การสร้างหัว และขนาดหัว ในขณะที่อุณหภูมิมีผลต่อขนาดของใบ จำนวนราก และส่งเสริมการเจริญทางใบ การสร้างหัว ปัจจัยที่ควบคุมการเจริญเติบโตของพืชมีหลายปัจจัย ทั้งที่มาจากพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่ออัตราการเจริญของพืช ซึ่งมีความต้องการที่แตกต่างกัน โดยอุณหภูมิที่พอเหมาะพืชจะเติบโตได้รวดเร็ว นอกจากนั้นยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจและการสังเคราะห์แสงอีกด้วย (เชาวน์ และ พรรณี, 2528) ในกรณีที่โปรโตคอร์มตายที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส น่าจะเกิดจากปัจจัยทางด้านพันธุกรรมคือ กล้วยไม้ดินลิ้นมังกรมีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนชื้น การได้รับอุณหภูมิต่ำที่ 20 องศาเซลเซียส อาจไม่เหมาะสมกับการเจริญของพืชที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อน ทำให้กิจกรรมในเซลล์ไม่สามารถดำเนินได้ตามปกติโปรโตคอร์ค่อยๆ ตายลง โดยสังเกตุได้จากการเปลี่ยนจากสีขาวใสเป็นสีน้ำตาลในสัปดาห์ที่ 4 ของการเลี้ยงอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญ ในแต่ละพืชจะแตกต่างกันไป ในกล้วยไม้ดิน *Galeola septentrionalis* เจริญได้ดีในช่วง 22-24 องศาเซลเซียส สำหรับ *Dactylorhiza majalis* คือ 23-24.5 องศาเซลเซียส โดยถ้าอุณหภูมิสูงถึง 29 องศาเซลเซียส จะหยุดการเจริญ แต่ถ้าลดลงที่ 12-15 องศาเซลเซียส การเจริญจะช้าลงแต่ยังพัฒนาได้ (Rasmussen, 1995) ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

จำนวนราก และจำนวนหัวในอุณหภูมิ 30องศาเซลเซียส เกิดมากกว่า และมีใบใหญ่กว่าแสดงให้เห็นว่าเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญ การแบ่งเซลล์ และการพัฒนาของอวัยวะต่าง ๆ นอกจากนี้ยังพบว่าอุณหภูมิสูงต้นจะยุบตัวช้ากว่าเมื่อเลี้ยงในอุณหภูมิต่ำกว่า อย่างไรก็ตามต้นในทุกสภาพที่เลี้ยงจะยุบตัวอย่างสมบูรณ์เหมือนกันหมด หลังการเลี้ยง 20 สัปดาห์ ซึ่งเป็นระยะเวลาใกล้เคียงกับที่ต้นเจริญในธรรมชาติ

2.2 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับส่วนประกอบของอาหาร

2.2.1 น้ำตาล กล้วยบด และน้ำมันฝรั่งสกัด

จากการทดลองพบว่าน้ำตาลและกล้วยบดไม่มีผลร่วมกันในการส่งเสริมการเจริญทางใบของพืชทดลอง ดังเห็นได้จากในอาหารที่ไม่มีน้ำตาลและกล้วยบดให้ใบที่มีขนาดใหญ่ที่สุด โดยขนาดใบลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาล และ/หรือ กล้วยบดเพิ่มขึ้น และต้นอ่อนตายในอาหารทุกส่วนผสม ที่มีน้ำตาล 8 % โดยต้นอ่อนสามารถพัฒนาจนมีใบ มีหัวได้ แต่มีลักษณะแคระแกรนและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำ ตายในสัปดาห์ที่ 8 ของการเลี้ยง

ผลดังกล่าวน่าจะอธิบายได้ว่าอาหารที่ไม่มีทั้งน้ำตาล และกล้วยบด เป็นอาหารที่มีความเข้มข้นต่ำ พืชจึงดูดอาหารที่มีเกลือแร่ วิตามิน และส่วนประกอบอื่น ไปใช้ได้ง่ายในช่วงแรกจึงส่งผลให้ใบมีขนาดใหญ่ หากเลี้ยงต้นนานมากกว่า 20 สัปดาห์ น้ำตาลน่าจะยังจำเป็นต้องเติมลงในอาหาร เนื่องจากพืชในหลอดแก้ว มีบทบาทด้านกิจกรรม การสังเคราะห์แสงน้อย การที่ขนาดใบลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาล และ/หรือ กล้วยบดเพิ่มขึ้นน่าจะเป็นเหตุผลเกี่ยวกับความเข้มข้นในอาหารสูงขึ้น มีแรงดันออสโมติคในอาหารสูง พืชดูดไปใช้ได้น้อย ซึ่งเห็นได้ชัดเมื่อใช้น้ำตาล 8 % ทำให้ต้นตายหมดในสัปดาห์ที่ 8 นอกจากเรื่องของแรงดันออสโมติคดังกล่าวแล้ว การเติมกล้วยยังเป็นการเพิ่มสารประกอบหลายอย่างแก่อาหารทั้งสารอนินทรีย์ และสารอินทรีย์ ซึ่งการเพิ่มนี้ ทำให้ปริมาณมากเกินไปจนเป็นอันตรายต่อพืชที่เลี้ยง

ในส่วนการเจริญของหัวพบว่าน้ำตาล 4 % ใช้ร่วมกับกล้วยบด 50 ก/ล เหมาะสมที่สุดโดยให้เปอร์เซ็นต์การสร้างหัวใหม่ และการสร้างยอดของหัวใหม่สูงสุด มีการตายน้อย นอกจากนั้นน้ำตาล 4 % ยัง ช่วยส่งเสริมให้มีจำนวน ความกว้าง และความยาวรากดีอีกด้วย ที่เป็นเช่นนี้น่าจะเป็นเพราะ การเกิดอวัยวะต่าง ๆ ดังกล่าวต้องการพลังงาน และการสะสมอาหารมากกว่าปกติ เพื่อการเกิดและการพัฒนานี้ แต่หากมีการเติมส่วนประกอบของอาหารมากไป กลับทำให้เกิดผลเสีย ดังนั้นเมื่อช่วงแรกของการสร้างหัวผ่านไปแล้ว หากต้องการให้หัวยาว ควรปรับความเข้มข้นของอาหารลง โดยการใช้น้ำตาลเท่าเดิมอย่างเดียว หรือลดความเข้มข้นน้ำตาลลง แต่ยังคงใช้กล้วยบดตามเดิม ในขณะที่กล้วยบดอย่างเดียว ไม่มีผลส่งเสริมจำนวนและขนาดราก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในส่วนของการทดลองผลของระดับน้ำตาลและน้ำสกัดมันฝรั่งพบว่าไม่มีผลต่อการเจริญของหัว นอกจากนั้นยังทำให้จำนวนใบลดลง และรากสั้นอีกด้วย ส่วนการไม่ใส่น้ำตาลส่งเสริมการเจริญ ทางใบและรากมากกว่าการใส่น้ำตาลที่ระดับ 4 % การเจริญทางหัวพบว่าการใส่ (2 และ 4 %) และไม่ใส่น้ำตาลให้จำนวนหัวไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน แต่อาหารที่ใส่น้ำตาล 4 % ให้มีขนาดหัวยาวกว่าเมื่อไม่ใส่น้ำตาล

ผลการทดลองที่พบว่าการใส่น้ำตาลให้ผลไม่แตกต่างกับการไม่ใส่น้ำตาลหรือให้ผลด้อยกว่านั้น อาจเป็นเพราะอาหาร สูตร VW (1949) ดัดแปลง ที่ใช้ในการทดลองได้ทำการเติมน้ำมะพร้าว 15 % ลงในสูตรอาหาร การที่ต้นเจริญได้อาจเป็นผลของน้ำมะพร้าวที่มีต่อต้นพืช ซึ่งน้ำมะพร้าวเป็นสารที่มีองค์ประกอบซับซ้อน ไม่คงตัว ประกอบไปด้วย น้ำตาล สารควบคุมการเจริญเติบโต วิตามิน กรดอะมิโนและสารอื่น ซึ่งอาจเหมาะสมกับการเจริญเติบโตและการสร้างหัวของกล้วยไม้ดินลิ้นมังกรอยู่แล้วน้ำตาลที่ร่วมกับส่วนประกอบในน้ำมะพร้าวอีกจึงอาจมากเกินไป แต่อรพินท์ (2524) รายงานว่าน้ำมะพร้าวอ่อน เป็นสารช่วยการเจริญเติบโตชนิดหนึ่งที่นิยมใช้เติมในอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ ทั้งนี้เนื่องจากน้ำมะพร้าวมีส่วนประกอบต่าง ๆ หลายชนิดที่ช่วยให้กล้วยไม้ใช้แร่ธาตุอาหารต่าง ๆ ให้เป็นประโยชน์ได้ดียิ่งขึ้น และสอดคล้องกับการทดลองของ ธีรพล (2535) ซึ่งทำการทดลอง หาระดับน้ำตาลและน้ำมะพร้าวที่เหมาะสม ต่อรองเท้านารีเหลืองปราจีนพบว่า น้ำตาลช่วยให้โปรโตคอร์มมีการเจริญเติบโตและมีขนาดโตขึ้น และการเจริญจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีน้ำมะพร้าวร่วมอยู่ด้วย นอกจากนี้ในอาหารเลี้ยงที่มีน้ำมะพร้าวเพียงอย่างเดียวโปรโตรคอร์มสามารถเจริญและมีการพัฒนาในระยะต่อมาได้เช่นเดียวกับผลในการทดลองครั้งนี้ นอก นอกจากนี้ เกษนันท์ (2538) ได้ทำการทดลองคล้ายกันในกล้วยไม้รองเท้านารีฝาหอย พบว่าโปรโตรคอร์มมีชีวิตรอดมากที่สุดเมื่อไม่เติมน้ำตาล แต่เติมน้ำมะพร้าว อย่างเดียวที่ระดับ 10 และ 20 % ซึ่งน้ำมะพร้าวให้น้ำตาลแก่อาหารอยู่แล้ว รองลงมาคือ การเติมน้ำตาลที่ 1 % ร่วมกับน้ำมะพร้าว 10 % จากการแยกส่วนประกอบของน้ำมะพร้าวพบว่า นอกจากน้ำตาลแล้วยังมีสารอีกหลายอย่างที่ส่งเสริมการเจริญของพืชโดยพบสารที่มีส่วนประกอบของ myo-inositol, scullo-inositol และ sorbitol ซึ่งมีผลช่วยให้เซลล์พืชมีปฏิกิริยาต่อสารเร่งการเจริญชนิดอื่น นอกจากนั้นยังมีสารแสดงให้เกิดผลทางสรีรวิทยาของ โซโตคินิน ซึ่งช่วยในการเจริญเติบโตของพืช การแบ่งเซลล์ การยืดตัวของเซลล์ ตลอดจนการออกดอกออกผลมีผลกับเมตาบอลิซึมในพืช (จิตราพรรณ, 2514)

นอกจากน้ำมะพร้าวแล้ว มักพบว่ามีการเติม น้ำสกัดมันฝรั่ง และกล้วยสุกบดในอาหารเพื่อช่วยเสริมการเจริญ ส่วนประกอบทางเคมีของมันฝรั่งพบว่า มีน้ำตาล ซูโครส กลูโคส และฟรุกโทส โดยปริมาณน้ำตาลในมันฝรั่ง มีตั้งแต่ปริมาณเพียงเล็กน้อยไปจนถึง ปริมาณ 10 % ของน้ำหนักสด นอกจากนั้นยังมีสารหลายตัวที่ไม่ใช่น้ำตาลแต่มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

reducing sugar คือ tyrosin, ascorbic acid, cysteine, glutathione และ inositol ส่วนน้ำตาลอื่นมีปริมาณเล็กน้อย ได้แก่ maltose, xylose, sugar phosphate, raffinose, melibiose, heptulose และ melezitose (เกศดา, 2523) ส่วนในกล้วยพบว่า มีวิตามิน เอ บี ซี และยังมีโปรตีนกับแร่ธาตุอื่นอีกเป็นจำนวนมาก เช่น โปแตสเซียม ฟอสฟอรัส แคลเซียมและ เหล็ก นอกจากนั้นยังมีสารคล้ายไซโตคินิน (ขนิษฐา, 2517) และยังพบว่ามีสารคล้าย gibberellin อีกด้วย (Khalifah, 1966) การทดลองนี้พบว่า ผลร่วมของสารของน้ำมันฝรั่งและกล้วยบด เมื่อร่วมกับน้ำมะพร้าวและน้ำตาลแล้วมีมากเกินไปจนเกินความเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต โดยสอดคล้องกับการทดลองของ นิพาพร (2542) ซึ่งทำการเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ดินลิ้นมังกรในอาหารสูตร VW ดัดแปลง ที่เพิ่มน้ำมะพร้าว 15 % น้ำมันฝรั่ง 100 ก/ล ร่วมกับน้ำตาล 1 หรือ 2 % และกล้วยหอมบด 0 หรือ 20 ก/ล พบว่าอาหารทุกส่วนผสมไม่มีผลต่อ จำนวนต้นเฉลี่ย ของกล้วยไม้ดินลิ้นมังกร และให้ผลเช่นเดียวกันกับกล้วยไม้ดินสาคริก และเมื่อเติมน้ำมะพร้าว 15 % น้ำมันฝรั่ง 100 ก/ล กล้วยหอมบด 20 ก/ล โดยเพิ่มน้ำตาลเป็น 2 , 4 หรือ 6 % ร่วมกับพาโคลบิวทราโซล 0-1 มก/ล พบว่าอาหารทั้งหมดไม่มีผลต่อจำนวนและขนาดราก จำนวนและขนาดหัวของกล้วยไม้ดินลิ้นมังกร

น้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานของพืชโดยในการทดลองพบว่า น้ำตาล 4 % เหมาะสมกับการสร้างหัวและราก ในขณะที่ น้ำตาล 8 % ทำให้ต้นอ่อนตาย เหตุผลอาจมาจาก น้ำตาลมีน้ำหนักโมเลกุลมาก ทำให้ ความดันออสโมติค ในอาหารไม่เหมาะสม เมื่อเติมน้ำตาลมากเกินไป โดยสอดคล้องกับผลการทดลองจากกล้วยไม้ร้องเท้านารีฝาหอย โดยพบว่าความมีชีวิตรอดสูงสุดในอาหารที่เติมน้ำตาล 1 % และไม่เติมน้ำตาล ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดต่ำลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 3 % (เกษนันท์, 2538) และให้ผลเช่นเดียวกันในกล้วยไม้รองเท้านารีฝาหอย (ธีรพล, 2535) นอกจากนั้น ต้นอ่อนของ *Cymbidium* sp. ยังถูกยับยั้งการพัฒนาคลอโรฟิลล์ในอาหารที่มีซูโครสความเข้มข้นสูง (Vanséveren-Van Espen, 1973)

คาร์โบไฮเดรทที่ใช้เป็นแหล่งพลังงานมีหลายชนิด เช่น ซูโครส กลูโคส และฟรุกโทส นับว่าเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีต่อต้นอ่อนของกล้วยไม้ ซึ่งน้ำตาลเหล่านี้มีผลโดยตรงต่ออัตราส่วนของการเกิดยอดและราก (ขนิษฐา, 2517) ในสภาพปลอดเชื้อ ต้นอ่อนของกล้วยไม้ประเภทรากอากาศ เพิ่มการพัฒนารากมากขึ้น ทั้งในด้านจำนวนและขนาดเมื่อระดับของ ซูโครสสูงขึ้น ในขณะที่การเจริญทางใบลดลง (Rasmussen, 1995) ในส่วนของไม้หัวพบว่าที่ซูโครสมากกว่า 4 % ชักนำการเกิดหัว และซูโครส 6 % กระตุ้นการสร้างหัวในมันฝรั่ง (Koda *et al.*, 1992) แต่ในการทดลองนี้การใช้มันฝรั่งอย่างเดียวเพิ่มเปอร์เซนต์การเกิดหัวมากที่สุด Šimko (1994) ได้ทำการทดลองหาปัจจัยเกี่ยวกับการสร้างหัวของมันฝรั่งโดยนำลำต้นที่มีตาไปแช่ในสารต่าง ๆ ดังนี้ คือ น้ำกลั่น ซูโครส 100 ก/ล กลูโคส 100 ก/ล พาโคลบิวทราโซล 1 มก/ล และ GA_3 1 มก/ล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นเวลา 30 ชั่วโมง จากนั้นตัดข้อที่มีตามาฟอกทำความสะอาด แล้วนำมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้อาหารสูตร MS (1962) ร่วมกับ ซูโครส 6 % พบการสร้างหัวใหม่ในข้อที่มาจาก การแช่ในพาโคลบิวทราโซล และซูโครสมากที่สุด ในขณะที่สร้างหัวน้อยที่สุดใน GA_3 และสรุปว่ากระบวนการชักนำให้เกิดการสร้างหัวขึ้นอยู่กับความสมดุลระหว่าง gibberellin และสารที่ส่งเสริมการสร้างหัว การให้พาโคลบิวทราโซล ซึ่งเป็นสารต่อต้าน gibberellin มีผลทำให้ยับยั้งการสร้าง จิบเบอเรลลิน นอกจากนั้นยังได้เสนอสมมุติฐานว่าการเพิ่มซูโครสให้สูงขึ้น เป็นการเพิ่มสารที่มีคุณสมบัติที่ไปรวมกับ จิบเบอเรลลิน แล้วทำให้สารนี้อยู่ในรูปที่ไม่ทำงาน จึงทำให้ลดการยับยั้งการสร้างหัว และเกิดการสร้างหัวของมันฝรั่ง

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของโปรโตคอร์มที่มีเนื้อเยื่อเจริญ และจุดกำเนิดของใบที่มีการสร้างขึ้นแล้วแสดงให้เห็นถึงโครงสร้างคล้ายตายอดที่พร้อมจะงอด และพัฒนาท่อลำเลียง และใบอ่อนต่อไป แต่ต่างจากคัพภะทั่วไปคือ ไม่มีจุดกำเนิดราก แม้ว่าโปรโตคอร์มจะพัฒนาไปเป็นยอดอ่อนที่ยังไม่มีราก คือไม่เป็นต้นที่สมบูรณ์ แต่จุดกำเนิดของหัวก็สามารถเกิดขึ้นได้จากเซลล์บริเวณเนื้อเยื่อเจริญตั้งแต่ยอดยังอ่อนอยู่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved