บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

กล้วยไม้เป็นพืชที่มีผู้นิยมปลูกเลี้ยงกันทั่วโลก ทั้งนี้เพราะดอกกล้วยไม้มีสีสันสวยงาม ที่พบตามธรรมชาติมีประมาณ 25,000 ชนิด ซึ่งแหล่งกำเนิดกล้วยไม้ป่าของโลกมี 2 แหล่งใหญ่ๆ ด้วยกัน คือ ลาตินอเมริกา กับเอเชียแปซิฟิก โดยที่ประเทศไทยเป็นศูนย์กลางแหล่งกำเนิดกล้วยไม้ป่าในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก (มาลินี, 2534) ซึ่งมีกล้วยไม้มากกว่า 900 ชนิด ขึ้นอยู่ตามธรรมชาติของประเทศไทย (Seidenfaden and Smitinand, 1959-1965 อ้างโดย ครรชิต, 2541) คิดเป็น 3.5-4.5 เปอร์เซ็นต์ ของกล้วยไม้ที่มีทั้งหมดในโลก (Dressler, 1981 อ้างโดย ครรชิต, 2541) ในจำนวนนั้นกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) จัดเป็นสกุลใหญ่ที่สุด เนื่องจากมีอยู่ตามธรรมชาติเป็นจำนวนมากกว่ากล้วยไม้สกุลอื่นๆ สำหรับกล้วยไม้สกุลหวายที่เป็นกล้วยไม้ป่าของไทยนั้นก็มีด้วยกันหลายชนิด ได้แก่ เอื้องผึ้ง เอื้องม่อนไข่ เอื้องพวงหยก เอื้องช้างน้าว เอื้องมัจฉานุ เอื้องเงิน เอื้องเงินหลวง เอื้องสายน้ำครั่ง เอื้องสายประสาท เอื้องสายวิสูตร เอื้องเก๊าก่ิว เอื้องคำ แววมยุรา และเหลืองจันทบูร (บรรณ, 2534) โดยที่กล้วยไม้พันธุ์เหลืองจันทบูรเป็นหนึ่งในกล้วยไม้ป่าสกุลหวายที่มีความสำคัญ และใกล้สูญพันธุ์ เนื่องจากดอกที่มีลักษณะและสีสันสวยงาม จึงถูกนำออกจากป่ามาเพื่อการจำหน่ายโดยขาดการอนุรักษ์ ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญให้กล้วยไม้ชนิดนี้ลดจำนวนลง

ในปัจจุบันกล้วยไม้จัดเป็นไม้ดอกเศรษฐกิจที่มีความสำคัญพืชหนึ่งของไทย (ไมตรี, 2541) สามารถส่งทั้งดอก และต้นกล้วยไม้ไปจำหน่ายต่างประเทศได้ปีละหลายพันล้านบาท ในปี พ.ศ.2548 ประเทศไทยส่งออกกล้วยไม้ไปจำหน่ายต่างประเทศ มีมูลค่าไม่ต่ำกว่า 2,600-2,800 ล้านบาท เพิ่มขึ้นจากปี 2547 ร้อยละ 10-20 โดยมีตลาดหลัก คือ ญี่ปุ่น สหภาพยุโรป และสหรัฐอเมริกา ที่นำเข้ากล้วยไม้สกุลหวายจากประเทศไทย ร้อยละ 60 ของการนำเข้ากล้วยไม้พันธุ์อื่นๆ (ผู้ส่งออก, 2548) ในช่วงระยะเวลาไม่กี่ปีที่ผ่านมา การค้ากล้วยไม้เติบโตอย่างมากทั้งในด้านปริมาณ และมูลค่า ทำให้การผลิตกล้วยไม้ในประเทศไทยในปัจจุบันเป็นการผลิตเพื่อการค้าเพิ่มสูงขึ้น จึงได้มีการศึกษาหาวิธีเพิ่มผลผลิตและคุณภาพ แต่จากการศึกษาเมล็ดพันธุ์กล้วยไม้ที่แต่ละฝักมีนับหมื่นเมล็ดนั้น พบว่าในธรรมชาติมีโอกาสงอกเป็นต้นได้ไม่ถึงร้อยละ 0.1 เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้ที่แก่แล้วไม่มีทั้งใบเลี้ยง และเอนโดสเปิร์ม จึงไม่มีอาหารสะสมไว้เลี้ยงต้นอ่อน (สมปอง,

สามารถแก้ไขโดยวิธีการเลี้ยงเมล็ดในหลอดทดลองในสภาพปลอดเชื้อที่มีอาหารสมบูรณ์ จึงมีการนำเทคโนโลยีทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ เพื่อสามารถผลิตต้นพันธุ์ปริมาณมากได้ในเวลาอันรวดเร็ว (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2546) และการปรับปรุงพันธุ์ให้มีความแปลกใหม่ก็เป็นการเพิ่มมูลค่าให้กล้วยไม้ได้ ดังนั้น จึงมีความพยายามผสมพันธุ์ระหว่างชนิด เพื่อให้ได้กล้วยไม้ชนิดใหม่อยู่เสมอ แต่ขั้นตอนการเพาะเมล็ดไปจนถึงการผสมเกสรใช้ระยะเวลานาน การชักนำดอกในหลอดทดลอง เป็นอีกแนวทางหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากสามารถใช้สารก่อกลายพันธุ์ชักนำการกลายพันธุ์ของกล้วยไม้ แล้วจึงทำการตรวจสอบลักษณะดอก ซึ่งสามารถร่นระยะเวลาได้มาก เพราะถ้าทำการปลูกทดสอบในแปลงปลูกต้องใช้เวลานานในการที่จะนำต้นออกไปอนุบาล และดูแลรักษาจนกว่าจะออกดอกได้ นอกจากนี้ การชักนำดอกในหลอดทดลอง ทำให้ทราบถึงสารเคมีที่จำเป็น สำหรับต้นกล้วยไม้เพื่อใช้ในการติดดอก ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ เพื่อเร่งการเกิดดอกในการปลูกกล้วยไม้ทั่วไป ดังนั้นการทดลองนี้จึงเป็นการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้พันธุ์เหลืองจันทบูร เพื่อการผลิตกล้วยไม้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น เป็นการอนุรักษ์สายพันธุ์ และเป็นแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

การตรวจเอกสาร

กล้วยไม้พันธุ์เหลืองจันทบูร (*Dendrobium Friedericksianum* Rchb.f) (วชิรพงศ์, 2547) มีชื่อสามัญว่า Friederick's Dendrobium อยู่ในวงศ์ Orchidaceae (ภาพที่ 1) เป็นกล้วยไม้พันธุ์พื้นเมืองของประเทศไทย มีเขตกระจายพันธุ์อยู่ในป่าดิบชื้นทางภาคตะวันออกของประเทศไทย บริเวณจังหวัดจันทบุรีและตราด ลักษณะโดยทั่วไปของกล้วยไม้เหลืองจันทบูร เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ประเภทกล้วยไม้อิงอาศัย ลำต้นเจริญทางด้านข้างและมีจำนวนมากเป็นกอใหญ่ ลำลูกกล้วย (pseudobulb) ทรงกระบอกผิวเป็นร่องตื้นๆ มีลักษณะโคนเล็กแล้วค่อยโป่งไปทางตอนปลาย ขนาดลำลูกกล้วยยาวมาก บางต้นยาวถึง 75 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร เมื่อลำแก่จะเป็นสีเหลือง โดยด้านข้างของลำจะมีใบอยู่ทั้ง 2 ข้าง ใบเป็นใบเดี่ยวรูปหอกออกเรียงสลับตามข้อเกือบตลอดต้น ขนาด 8x2 เซนติเมตร แผ่นใบค่อนข้างบางแต่เหนียว บางครั้งจะทิ้งใบในช่วงมีดอก ออกดอกช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายนของทุกปี (อบฉันท์, 2547) ดอกออกเป็นช่อตามข้อลำ ช่อละ 2-4 ดอกโดยมีก้านช่อสั้น กลีบเลี้ยงและกลีบดอกรูปรี กลีบปากเกือบกลม ขนาดดอกโตประมาณ 5 เซนติเมตร กล้วยไม้เหลืองจันทบูรที่พบในธรรมชาติ จะมีดอก 2 แบบ คือ สีเหลืองทั้งดอก เรียกว่า เหลืองจันท์ (*Dendrobium Friedericksianum* Rchb.f) ออกดอก

แรกๆ จะมีสีเหลืองอ่อนแล้วค่อยๆ เข้มขึ้นจนเป็นสีจำปา (ภาพที่ 2ก) ซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาดมากและราคาแพง อีกชนิดหนึ่งมี กลีบดอกชั้นนอกสีเหลือง กลีบในแต้มสีม่วงแดงเป็นจุดเล็ก-ใหญ่ต่างกัน เรียกว่า เหลืองขมิ้น หรือ เหลืองจุด (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f var. oculatum) (พานิชย์, 2546) (ภาพที่ 2ข) มีราคาถูกกว่าเหลืองจันท์ และหาได้ง่ายกว่า แต่ทั้งสองชนิดมีความสวยงามใกล้เคียงกัน ทำให้เป็นที่ต้องการของตลาดมาก จึงมีการนำออกจากป่าเพื่อจำหน่ายหลายรูปแบบ คือ การเก็บมาทั้งต้น และนำมาแบ่งเป็นกอเล็กๆ ปลูกในกระถางจนออกราก จากนั้นนำไปจำหน่าย ราคาต้นละ 200-300 บาท บางต้นที่ปลูกเลี้ยงเป็นเวลานาน และกอมีขนาดใหญ่อาจขายได้ราคาถึง 7,000-8,000 บาท อีกวิธีหนึ่งเป็นการเก็บมาทั้งต้นด้วยวิธีแกะมาจากต้นไม้ที่กล้วยไม้เหลืองจันทบูรเกาะอยู่ ด้วยวิธีการเช่นนี้จึงทำให้จำนวนของกล้วยไม้เหลืองจันทบูรในป่าลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว ประกอบกับป่าถูกทำลาย จึงทำให้กล้วยไม้ชนิดนี้ลดน้อยลง หากปล่อยไว้ในสภาพเช่นนี้ เชื่อว่ากล้วยไม้เหลืองจันทบูร คงจะสูญพันธุ์ไปจากป่าอย่างแน่นอน

ภาพที่ 1 ลักษณะต้นกล้วยไม้เหลืองจันทบูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f)
ที่มา : Anonymous (2007a)

ก ข

ภาพที่ 2 ลักษณะดอกกล้วยไม้เหลืองจันทบูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f)

(ก) พันธุ์เหลืองจันท์

(ข) พันธุ์เหลืองขมิ้น หรือ เหลืองจุด

ที่มา : Anonymous (2007b)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของกล้วยไม้ในหลอดทดลอง

การเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในหลอดทดลองให้ได้ผลดี นอกจากสูตรอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโตแล้ว ต้องพิจารณาถึงสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ซึ่งประกอบด้วย แสง อุณหภูมิ ความชื้น และอากาศภายในขวด สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้มีอยู่หลายวิธีการ คือ การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด หรือ ตาข้าง ช่อดอก ใบ และราก ซึ่งสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้มีมากมายแต่สูตรที่ใช้กันมากได้แก่ สูตรดัดแปลง VW สูตร Knudson C และสูตร MS (ครรชิต, 2541) ในปัจจุบันสูตรอาหารที่ใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับกล้วยไม้ ได้แก่ สูตรดัดแปลงของ MS เนื่องจากได้ผลดีทั้งในการเพาะเมล็ด และเพิ่มจำนวนยอด Chen และคณะ (2005) รายงานการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ *Cymbidium faberi* บนอาหารสังเคราะห์ที่ประกอบด้วย NH_4NO_3 500 มิลลิกรัมต่อลิตร KNO_3 250 มิลลิกรัมต่อลิตร $Ca(NO_3)_2.4H_2O$ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร KCl 200 มิลลิกรัมต่อลิตร $MgSO_4.7H_2O$ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร KH_2PO_4 550 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับธาตุอาหารรอง และสารอินทรีย์ของอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร และวุ้น 8 กรัมต่อลิตร เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BAP 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเกิดยอดรวมเฉลี่ย 3.8 ยอดต่อชิ้นส่วน ในระยะเวลา 60 วัน ส่วน Yan และคณะ (2006) รายงานการชักนำยอดรวมของกล้วยไม้

Cypripedium flavum ในอาหารสังเคราะห์สูตร Havais เติม BAP 2.22 µM สามารถชักนำยอดรวม 2.55 ยอดต่อชิ้นส่วน สำหรับการทำให้เกิดยอด มีการใช้สารเคมีหลายชนิด เช่น 2,4-D และ TDZ ซึ่ง Chen และคณะ (2004) ทำการทดลองกับกล้วยไม้ลูกผสม *Paphiopedilum philippinense* (ลูกผสม PH59 และ PH60) โดยใช้ชิ้นส่วนใบมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MMS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ 4.54 µM เกิดยอด 7 ยอดต่อชิ้นส่วน ในลูกผสม PH59 ส่วนในลูกผสม PH60 พบว่า 2,4-D 4.52 µM ร่วมกับ TDZ 0.45 µM เกิดยอด 1 ยอดต่อชิ้นส่วน หลังการเพาะเลี้ยง 170 วัน การตอบสนองต่อความเข้มข้นของ TDZ ในการเกิดยอดอาจแตกต่างกัน ในพืชแต่ละชนิด หรือแต่ละสายพันธุ์ ดังรายงานของ Malabadi และคณะ (2004) ใช้ TDZ กับกล้วยไม้ *Vanda coerulea* ต้องใช้ถึง 11.35 µM จึงเกิดการพัฒนาเป็น PLBs 95 เปอร์เซ็นต์ และสามารถพัฒนาเป็นยอดได้เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นจึงนำมาชักนำให้ออกรากได้โดยใช้ IAA ที่ระดับความเข้มข้น 11.42 µM นอกจากสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ได้กล่าวมาแล้ว ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้มักใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA หรือ BA ร่วมกับ NAA ดังรายงานของ Decruse และคณะ (2003) ชักนำยอดรวมของกล้วยไม้ *Vanda spathulata* บนอาหารสังเคราะห์สูตร Mitra เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 44.4 µM ร่วมกับ IAA 17.1 µM ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ *Cymbidium goeringli* Reichenbach fil. ใช้ BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (Shimasaki and Uemoto, 2004) ส่วนการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ *Renanthera imschootiana* Rolfe. ใช้ BA 44.4 µM ร่วมกับ IAA 10.7 µM (Seeni and Latha, 1992) Paek และ Yeung (1991) รายงานการใช้ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อการชักนำยอดของกล้วยไม้ *Cymbidium forrestii* และการนำชิ้นส่วนลำต้นของ *Geodorum densiflorum* (Lam.) Schltr. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 5.0 µM สามารถชักนำให้เกิดยอดรวมได้ดี ภายในระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นจึงนำมาชักนำให้ออกรากได้โดยใช้ NAA ในอัตราต่ำเพียง 1.0 µM (Sheelavantmath *et al*., 2000) ในการชักนำยอดรวม นอกจากการใช้ 2,4-D และ TDZ แล้ว อาจใช้สาร BA หรือ KN และการชักนำราก อาจใช้ IAA หรือ NAA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยขึ้นอยู่กับชนิดของพืช การชักนำแคลลัส ในกล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์ (*Dendrobium pompadour*) เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D 2.5 µM ร่วมกับ KN 2.5 µM ส่วนการชักนำแคลลัสของกล้วยไม้เอื้องแซะหลวง (*Dendrobium scabrilingue*) ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D 0.5 µM ร่วมกับ KN 10.0 µM (พรรณี, 2542)

การชักนำดอกในหลอดทดลอง

ตั้งแต่เริ่มมีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีรายงานมากมายเกี่ยวกับการชักนำดอกในหลอดทดลอง (ตารางที่ 1) เพื่อใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์พืช รวมไปถึงการศึกษาชีววิทยาของช่อดอกในหลอดทดลอง ดังนี้

ตารางที่ 1 ชนิดพืชที่มีการชักนำดอกในหลอดทดลอง และแหล่งที่มาของข้อมูล

ชนิดพืช	อ้างอิง
Annona squamosa L.	Zobayed และคณะ (2002)
Bambusa arundinacea	Nadgauda และคณะ (1997)
Bambusa edulis	Lin และคณะ (2003a)
Bambusa edulis	Lin และคณะ (2005a)
Bambusa vulgaris	Rout และ Das (1994)
Brassica napus	Koh และ Loh (2000)
Chamomilla recutita L.	Kintzios และ Michaelakis (1999)
Convallaria majalis L.	Verron และคณะ (1994)
Cymbidium niveo-marginatum Mak	Kostenyuk และคณะ (1999)
Dendrocalamus giganteus	Rout และ Das (1994)
Dendrocalamus hamiltonii Munro	Chambers และคณะ (1991)
Dendrocalamus strictus	Rout และ Das (1994)
Dendrocalamus strictus Nees	Singh และคณะ (2000)
Dendrobium candidum	Wang และ Zu (1997)
Gentiana triflora Pall. var. *axillriflora*	Zhang และ Leung (2000)
Gaillardia pulchella Foug.	Bourque และคณะ (1989)
Kniphofia leucocephala	Taylor และคณะ (2005)
Lycopersicon esculentum Mill.	Compton และ Veilleux (1991)
Melia azedarach	Handro และ Floh (2001)
Morus alba L.	Thomas (2004)
Murraya paniculata (L.) Jack	Jumin และ Nito (1995)
Murraya paniculata (L.) Jack	Jumin และ Ahmad (1999)

ตารางที่ 1(ต่อ)

ชนิดพืช	อ้างอิง
Nicotiana tabacum L.	Bridgen และ Veilleux (1988)
Orychophragmus violaceus	Luo และคณะ (2000)
Panax ginseng	Lin และคณะ (2003b)
Panax ginseng	Lin และคณะ (2005b)
Phalaenopsis Pink Leopard 'Petra'	Duan และ Yazawa (1995)
Phalaenopsis hybrida	Su และคณะ (2001)
Psygmorchis pusilla	Vaz และคณะ (2004)
Vanda coerulea	Malabadi และคณะ (2004)
ลูกผสมระหว่าง *Petunia hybrida* (Hort.) กับ *Nicotiana plumbaginiflolia* (Viv.)	Mulin และ Van (1989)

กระบวนการเกิดดอกของพืชแต่ละชนิดในหลอดทดลองต้องการปัจจัยที่แตกต่างกันออกไป โดยต้องพิจารณาถึง ชนิดของสูตรอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อพืชที่ไม่เหมือนกัน นอกจากนี้ สภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงก็มีผลต่อการดูดซึมสาร และการแสดงผลของสารต่อพืชในหลอดทดลอง เพราะในสภาพที่อุณหภูมิ และความชื้นในอากาศสูง ช่วยส่งเสริมให้กระบวนการดูดซึมสารของพืชเป็นไปได้ดี รวมถึงความสมบูรณ์ของต้นพืช ก็มีความสำคัญต่อกระบวนการเกิดดอกของพืชด้วย เพราะต้นพืชที่สมบูรณ์สามารถตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตได้ดีกว่าต้นพืชที่อ่อนแอ ดังนั้นจึงต้องพิจารณาปัจจัยที่กล่าวมาข้างต้น ประกอบกับการชักนำการออกดอกในหลอดทดลองด้วย

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดดอกในหลอดทดลอง

1. สูตรอาหาร

อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายสูตรด้วยกัน มักเรียกตามชื่อนักวิทยาศาสตร์ที่คิดสูตรนั้นขึ้นมา เช่น สูตรแกมบอร์ก (B5) สูตรของเฮลเลอร์ (H) สูตรของลินสเมีย และสกุค (LS) สูตรของมูราชิก และ สกุค (MS) สูตรของเชน และฮิลดีแบรนท์ (SH) และสูตรของไวท์ (W) ซึ่งแต่ละสูตรมีส่วนประกอบ และปริมาณของสารที่เป็นองค์ประกอบแตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช และวัตถุประสงค์ในการใช้ โดยทั่วไปอาหารทุกสูตร มีองค์ประกอบของอาหาร 5 ส่วน ดังนี้ สารอนินทรีย์ สารอินทรีย์ น้ำตาล สารควบคุมการเจริญเติบโต และสารประกอบเชิงซ้อน (สมปอง, 2539ข) ชนิดของอาหารเพาะเลี้ยงมีความสำคัญอย่างมากต่อการชักนำการสร้างดอกในหลอดทดลอง ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชชนิดใดนั้น มีความจำเป็นต้องเลือกให้เหมาะสม มีรายงานการเพาะเลี้ยงพืชชนิดต่างๆ ในอาหารสังเคราะห์สูตรที่แตกต่างกัน เช่น อาหารสูตร B5 ใช้ชักนำการสร้างดอกใน *Panax ginseng* (Lin *et al*., 1997) อาหารสูตร WPM (Woody plant medium) ใช้ชักนำการสร้างดอกใน *Gentiana triflora* (Zhang and Leung, 2000) ส่วนอาหารสูตร VW (Vacin and Went) ใช้ชักนำการสร้างดอกใน *Phalaenopsis* Pink Leopard'Petra' (Duan and Yazawa, 1995) และอาหารสูตร MS ใช้ชักนำการสร้างดอกในพืชหลายชนิดด้วยกัน ได้แก่ *Cymbidium niveo-marginatum* Mak (Kostenyuk *et al*., 1999) *Brassica napus* (Koh and Loh, 2000) *Chamomilla recutita* L.(Kintzios and Michaelakis, 1999) *Kniphofia leucocephala* (Taylor *et al*., 2005) *Nicotiana tabacum* L. (Bridgen and Veilleux, 1988) *Orychophragmus violaceus* (Luo *et al*., 2000) *Dendrocalamus hamiltonii* Munro (Chambers *et al*., 1991) *Bambusa arundinacea* (Nadgauda *et al*., 1997) และ *Bambusa edulis* (Lin *et al*., 2003a) เป็นต้น จากที่กล่าวมาข้างต้นทำให้ทราบว่าพืชแต่ละชนิด และแต่ละสายพันธุ์ตอบสนองต่อการออกดอกในอาหารสังเคราะห์ที่แตกต่างกัน

2. สารควบคุมการเจริญเติบโต

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เป็นสารอินทรีย์ที่ไม่จำกัดว่าพืชจะสร้างขึ้นเองหรือมนุษย์สังเคราะห์ขึ้น มีการใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็จะสามารถกระตุ้น ยับยั้ง หรือเปลี่ยนแปลงสภาพทางสรีรวิทยาของพืชได้ มีสารหลายชนิดที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช รวม

ไปถึงการออกดอกด้วย แต่สารเหล่านั้นอาจจะไม่ใช่สารควบคุมการเจริญเติบโตก็ได้ สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต้องเป็นสารอินทรีย์ ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) และออกซิเจน (O) เป็นหลัก เมื่อใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็สามารถแสดงผลต่อพืชได้ ซึ่งความเข้มข้นที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของสาร และจุดประสงค์ที่ต้องการใช้ ธาตุอาหารของพืช สารพวกน้ำตาล กรดอะมิโน และไขมัน ถึงแม้ว่าจะเป็นสารอินทรีย์และมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช แต่ก็ไม่จัดว่าเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโต เนื่องจากสารเหล่านี้เป็นอาหารของพืชโดยตรง ส่วนธาตุอาหารต่างๆ เช่น ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) เป็นวัตถุดิบในการสร้างอาหารและไม่จัดเป็นสารอินทรีย์ จึงไม่อยู่ในข่ายที่จะเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตเช่นกัน (พีรเดช, 2542ข)

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเป็นสารกลุ่มใหญ่ ประกอบด้วยสารชนิดต่างๆ มากมาย ซึ่งสามารถแยกออกเป็นหมวดหมู่ตามคุณสมบัติที่แตกต่างกัน ส่วนการทดลองนี้เป็นการศึกษาชนิด และคุณสมบัติของสารที่มีผลต่อการเกิดดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้พันธุ์เหลืองจันทบูร ดังนี้

2.1. BA

BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ที่มีความสำคัญในกระบวนการเจริญเติบโต และพัฒนาการของเซลล์พืช มีหน้าที่ควบคุมการแบ่งเซลล์ การเติบโตของกิ่งใบ การแตกแขนง และส่งเสริมการเกิดดอกในพืชหลายชนิด ซึ่ง Duan และ Yazawa (1995) ประสบความสำเร็จในการชักนำดอกกล้วยไม้ *Phalaenopsis* Pink Leopard 'Petra' ในหลอดทดลองในอาหารสังเคราะห์ที่เติม BA 22 μM ส่วน Kostenyuk และคณะ (1999) รายงานการชักนำดอกกล้วยไม้ *Cymbidium niveo-marginatum* Mak ในหลอดทดลอง บนอาหารสังเคราะห์ที่เติม BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ ยังมีการใช้ BA ในการชักนำดอกในหลอดทดลองของพืชกลุ่มอื่นๆ อีก เช่น เมื่อเติม BA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในอาหารสังเคราะห์ พบว่า สามารถส่งเสริมการเกิดดอกในหลอดทดลองของ *Murraya paniculata* ภายในระยะเวลา 60 วัน (Jumin and Ahmad, 1999) หรือการชักนำดอกในหลอดทดลองของ *Kniphofia leucocephala* ในอาหารสังเคราะห์ ที่เติม BA 20 μM (Taylor *et al*., 2005) และเมื่อเพาะเลี้ยง *Dendrocalamus hamiltonii* Munro ในอาหารสังเคราะห์ ที่เติม BA 22.2 μM พบว่า สามารถชักนำการเกิดดอกในหลอดทดลอง (Chambers *et al*., 1991) ได้เช่นเดียวกัน

2.2. NAA

NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ที่มีความสำคัญในกระบวนการเจริญเติบโต และพัฒนาการของเซลล์พืช มีหน้าที่ ควบคุมการขยายตัวของเซลล์ การเติบโตของใบ การติดผล การเกิดราก และส่งเสริมการสร้างดอก ซึ่งภูวดล (2545) รายงานการใช้ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หยอดบนยอดสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต [*Ananas comosus* (L.) Merr. CV. Phuket] ในสภาพแปลงปลูก พบว่า สามารถชักนำการออกดอกได้ 90-91 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 38 วัน ส่วนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีรายงานการใช้ NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำการเกิดดอกของ *Bambusa edulis* ในหลอดทดลอง (Lin *et al*., 2005a) หรือการใช้ NAA ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน เพื่อการชักนำดอกในหลอดทดลอง ดังรายงานของ Kintzios และ Michaelakis (1999) ชักนำดอกของ *Chamomilla recutita* L. ในอาหารสังเคราะห์ที่เติม NAA 1.07 µM ร่วมกับ BA 8.87 µM และเมื่อเพาะเลี้ยง *Streptocarpus nobilis* ในอาหารสังเคราะห์ เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin 0.35 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สามารถชักนำการเกิดดอกในหลอดทดลอง (Handro, 1983)

2.3. SPD

SPD เป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่มของ polyamines ที่ประกอบด้วยหมู่อะมิโน ($-NH_2$) ตั้งแต่ 2 ตัวขึ้นไป โดยที่ polyamines มีผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืชหลายอย่าง เช่น ส่งเสริมการแบ่งเซลล์ การทำให้ผนังเซลล์มีความคงทน ส่งเสริมการพัฒนาของผลในพืชบางชนิด ลดภาวะความเครียดจากการขาดน้ำ และชะลอการร่วงของใบ (ยุวดี, 2546) ตามรายงานของ Applewhite และคณะ (2000) ใช้ SPD ชักนำดอกของ *Arabidopsis* ในหลอดทดลอง ส่วน Sawhney และคณะ (1988) ใช้ SPD ชักนำดอกของ *Nicotiana tabacum* L. ในหลอดทดลอง แต่พืชบางชนิดก็ไม่มีการตอบสนองต่อ SPD เช่น คาร์เนชั่น (*Dianthus caryophyllus* cv. Crowley Pink) (Downs and Lovell, 1986) ส่วนในสภาพแปลงปลูก ยุวดี (2546) รายงานการฉีดพ่น SPD ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร กับสตรอเบอรี่ (*Fragaria ananassa* Duch.) พบว่าสามารถกระตุ้นให้สตรอเบอรี่เพิ่มจำนวนช่อดอกต่อต้นได้

2.4. GA_3

GA_3 เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่พบครั้งแรกโดยนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นในเชื้อรา (มานี, 2541) ต่อมาค้นพบว่าในพืชก็ผลิตสารดังกล่าวเช่นเดียวกัน GA_3 มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ทำให้เกิดการยืดตัวของเซลล์ และการแบ่งตัวของเซลล์ มีหน้าที่ควบคุมการเติบโตของต้น ทำลายการพักตัวของเมล็ด และตา เพิ่มการติดผล เปลี่ยนเพศดอก และเร่งการเกิดดอก (เยาวลักษณ์, 2528) Lin และคณะ (2005b) เพาะเลี้ยงโสม (*Panax ginseng*) ในอาหารสังเคราะห์สูตร B5 เติม GA_3 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำการเกิดดอก 59.67 % ส่วน Luo และคณะ (2000) รายงานการชักนำดอก *Orychophragmus violaceus* ในหลอดทดลอง บนอาหารสังเคราะห์ที่เติม zeatin 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ GA_3 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อเพาะเลี้ยงไผ่ 3 สายพันธุ์ คือ *Bambusa vulgaris*, *Dendrocalamus giganteus* และ *Dendrocalamus strictus* ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม GA_3 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สามารถส่งเสริมการเกิดดอกในหลอดทดลอง (Rout and Das, 1994)

2.5. PBZ

PBZ เป็นสารชะลอการเจริญเติบโต (plant growth retardants) มีชื่อทางเคมีว่า 2RS, 3RS-1-(4-chlorophenyl)-4, 4-dimethyl-2-(1 H-1, 2, 4-trizol-l-yl) pentan-3-ol หรือ $C_{15}H_{20}CIN_3O$ (ประทีป,2541) มีคุณสมบัติในการยับยั้งการสร้างหรือการทำงานของจิบเบอเรลลิน เป็นสารที่ทำให้ต้นไม้เตี้ยลง แต่ยังคงมีการเจริญเติบโตทางลำต้น อีกทั้งยังเพิ่มการติดผลและคุณภาพของผลผลิต นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นให้เกิดตาดอกเร็วขึ้น โดยที่ขนาด และคุณภาพของดอกคงเดิมทุกประการ (สมพร, 2529) มีรายงานการใช้ PBZ กับพืชหลายชนิดในสภาพแปลงปลูกเพื่อกระตุ้นการเกิดดอก หรือส่งเสริมให้พืชเกิดดอกได้เร็วขึ้น เช่น ในกลุ่มของไม้ดอกไม้ประดับ ได้แก่ กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium* 'Hepa') (สร้อยนภา, 2528 อ้างโดย พีรเดช, 2542ข) เข็มเชียงใหม่ (*Ixora spp.*) (อรวรรณ, 2548) เทียนซ้อน (*Impatiens balsamina*) (สมชาย และเพทาย, 2549) และสาวน้อยประแป้ง (*Dieffenbachia spp.*) (ธัญพิสิษฐ์, 2544) ส่วนในกลุ่มของไม้ผล และไม้ยืนต้น ได้แก่ มะม่วง (*Mangifera indica* Linn.) (ประทีป, 2541) มะนาว (*Citrus aurantifolia* Swing.) (พีรเดช, 2542ก) และส้มจุก (*Citrus reticulata* Blanco) (รัชนีวรรณ, 2547) ปริมาณ และความเข้มข้นของสารที่ใช้แตกต่างกันตามชนิด และสายพันธุ์ของพืช

ประโยชน์ของการชักนำดอกในหลอดทดลอง

1. ปรับปรุงพันธุ์พืช

พืชโดยทั่วไปจะออกดอกได้ เมื่อพืชนั้นมีความพร้อม คือ อายุ อาหาร และสภาพแวดล้อม เช่น กล้วยไม้เหลืองจันทบูร ต้องปลูกเลี้ยง 3-4 ปี จึงจะเริ่มออกดอกครั้งแรก ซึ่งต้องใช้เวลานานในการปรับปรุงพันธุ์ เพราะถ้าทำการปลูกทดสอบในแปลงปลูกต้องใช้เวลาหลายปีในการเพาะเมล็ด อนุบาลต้นกล้า และดูแลรักษาจนกว่าจะออกดอกได้ แต่เมื่อนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาใช้ สามารถร่นระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ได้มาก โดยใช้สารก่อกลายพันธุ์ชักนำการกลายพันธุ์ของพืชในหลอดทดลอง แล้วจึงทำการตรวจสอบลักษณะโดยใช้วิธีการชักนำดอกในหลอดทดลอง อีกทั้งยังสามารถผลิตกล้วยไม้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น

2. อนุรักษ์พันธุ์พืช

กล้วยไม้ป่าหลายสายพันธุ์ในประเทศไทยประสบปัญหาการถูกลักลอบนำออกจากป่ามาเพื่อการจำหน่ายโดยขาดการอนุรักษ์ เป็นสาเหตุสำคัญให้กล้วยไม้ป่าหลายชนิดลดจำนวนลง การนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาใช้ สามารถรักษาสายพันธุ์ของกล้วยไม้เหล่านี้ไว้ในหลอดทดลอง ซึ่งมีประโยชน์ เพราะเป็นการประหยัดพื้นที่ และสามารถเก็บรักษาได้จำนวนมาก รวมถึงในกลุ่มของพืชล้มลุก เมื่อออกดอกติดผลแล้วก็จะตายไป เช่น ไผ่ ในอดีตไผ่มีปริมาณมากทั้งที่ปลูกในบริเวณบ้าน และมีอยู่ตามสภาพธรรมชาติ จึงมีการนำไม้ไผ่ไปใช้ประโยชน์มากมาย ทำให้ต้นไผ่ลดปริมาณลงมาก เช่นไผ่พันธุ์ *Dendrocalamus hamiltonii* Munro (Chambers *et al*., 1991) *Bambusa arundinacea* (Nadgauda *et al*., 1997) และ *Bambusa edulis* (Lin *et al*., 2003a) และยังประสบปัญหาที่ว่า เมื่อไผ่ออกดอก ติดเมล็ดแล้วก็จะตาย ทำให้เกิดการอนุรักษ์สายพันธุ์ของไผ่ไว้ในหลอดทดลอง เพื่อป้องกันการสูญพันธุ์

3. เพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์

นางดุรณี เอ็ดเวิร์ส รอง ผอ.ศูนย์พันธุวิศวกรรม และเทคโนโลยี ชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) เปิดเผยว่า หลังจากที่ได้เชิญหน่วยงานที่เกี่ยวข้องมาหารือเพื่อแปลงสินทรัพย์ทางปัญญาด้านเทคโนโลยีชีวภาพให้เป็นทุน เนื่องจากเห็นว่าปัจจุบันงานวิจัยด้านเทคโนโลยีชีวภาพสามารถสร้างรายได้ทางเศรษฐกิจได้นั้น ทางไบโอเทค มองว่าควรจะยกตัวอย่างงานวิจัยให้สถาบันทางการเงินเห็นเป็นตัวอย่างนำร่องก่อน ซึ่งเบื้องต้นคิดว่าน่าจะเป็นการวิจัยกล้วยไม้ เพราะที่ผ่านมามีภาคธุรกิจ นักวิจัยที่ได้ทำการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้มาอย่างต่อเนื่อง ทั้งยังเป็นผลิตภัณฑ์ที่ตลาดต้องการ อย่างไรก็ตาม การนำเสนอโครงการกับสถาบันทางการเงิน จะคัดเลือกเอาพันธุ์ที่แปลกๆ และมีลู่ทางการลงทุน เช่น สีแปลกใหม่ รูปลักษณะของดอกไม่เหมือนกล้วยไม้ที่มีในท้องตลาด (นิรนาม, 2546) ซึ่งในปัจจุบัน มีการจำหน่าย “ต้นไม้ในขวดแก้ว” โดยชิ้นงานประเภทนี้สร้างรายได้ตั้งแต่ 20-5,000 บาท ขึ้นอยู่กับภาชนะที่ใส่ และสายพันธุ์ไม้ (บดินทร์ และศิริโรจน์, 2549)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสูตรอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดที่มีศักยภาพต่อการเจริญ และเพิ่มปริมาณยอดรวมของกล้วยไม้พันธุ์เหลืองจันทบูร
2. เพื่อศึกษาปัจจัยบางประการโดยเฉพาะสารอินทรีย์ และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเกิดดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้พันธุ์เหลืองจันทบูร
3. เพื่อสร้างความแปลกใหม่ของต้นกล้วยไม้ในหลอดทดลองเป็นการเพิ่มคุณค่า และราคา