บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

กล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* หรือที่มักเรียกรวมว่า เอื้องดินใบหมาก กล้วยไม้ดินหรือกล้วยไม้ดินใบจีบ จัดเป็นพืชในวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) วงศ์ย่อย Epidendroideae เผ่า Arethuseae และเผ่าย่อย Bletiinae มีสมาชิกในสกุลประมาณ 50 ชนิด กระจายพันธุ์ อยู่ในเขตจีนตอนใต้ เทือกเขาหิมาลัย อินเดีย เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปาปัวนิวกินี หมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก ซามัว นิวคาเลโดเนีย และบางส่วนของออสเตรเลีย (Holttum 1964; Seidenfaden 1992) โดยคาดว่ามีศูนย์กลางการกระจายพันธุ์อยู่ที่ หมู่เกาะปาปัวร์นิวกินี เนื่องจากพบถึง 21 ชนิด (Comber 1990 ; Holttum 1964) ในเขตประเทศแถบอินโดจีน พบ 6 ชนิด คือ *S. affinis* (เหลืองพิสมร) *S. eburnea* (ขาวพิสมร) *S. pubescens* (เอื้องดินลาว) *S. plicata* (ว่านจุก) *S. aurea* และ *S. hardingiana* (Seidenfaden, 1992) โดย พบขึ้นบนดินตามป่าโปร่งโดยเฉพาะชายป่าและส่วนใหญ่พบตามพื้นราบ (อบฉันท์ , 2543)

ระพี (2516) กล่าวว่า เอื้องดินใบหมากสามารถจำแนกตามรูปแบบการเจริญเติบโตออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีการพักตัวและผลัดใบตามฤดูกาล เป็นชนิดที่หน่ออ่อนและใบจะแทงในช่วงปลายฤดูร้อนและเจริญเติบโตเต็มที่ในช่วงกลางฤดูฝนและออกดอกเมื่อเข้าสู่ช่วงปลายฤดูฝน โดยฝักจะแก่และแตก เมื่ออายุประมาณ 30 ถึง 45 วัน จากนั้นจะทิ้งใบจนหมดเหลือเพียงหัวลักษณะแบน และพักตัวในช่วงปลายฤดูหนาวถึงต้นฤดูร้อน กล้วยไม้ในกลุ่มนี้ ได้แก่ เหลืองพิสมรและขาวพิสมร อีกกลุ่มหนึ่ง คือ ชนิดที่มีการเจริญเติบโตตลอดทั้งปี เช่น ว่านจุก *S. kimballiana S. petri S. unguiculata* และ *S. vanoverbugii* กล้วยไม้ดินกลุ่มนี้มีการเจริญเติบโตแทงหน่อและออกดอกได้ตลอดทั้งปีโดยเฉพาะในสภาพปลูกเลี้ยง ในฤดูหนาวการเจริญเติบโตจะช้าลงแต่ไม่ทิ้งใบ อีกทั้งเป็นกลุ่มที่มีความทนทานต่อสภาพแห้งแล้งและแดดจัดจึงเป็นชนิดที่นิยมนำมาเป็นหลักในการปรับปรุงพันธุ์ กล้วยไม้ดินใบหมากที่พบในเขตภูเขาสูงจำนวนมากมักเป็นชนิดที่มีสีเหลือง และนำมาเลี้ยงในเขตที่ราบต่ำได้ยาก ปัจจุบันได้มีการนำกล้วยไม้ดินสายพันธุ์ที่ขึ้นบนภูเขาสูง มาผสมกับพันธุ์ที่มีถิ่นกำเนิดจากที่ราบต่ำ เพื่อพัฒนาสายพันธุ์ที่สามารถปลูกเลี้ยงได้ในเขตที่ราบต่ำ (Holttum, 1964)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น มีการเจริญเติบโตแบบ sympodial มีลำลูกกล้วยแตกออกไปด้านข้างมีลำต้นจริงลักษณะคล้ายเหง้า (Hooker, 1885) ที่เรียกว่า หัว รูปร่างกลม หรือ แบน มีหลายปล้อง มีหัวที่อยู่

ระดับพื้นดิน หรืออยู่ใต้พื้นดินเล็กน้อย (Comber, 1990) มีการเจริญเชื่อมต่อกันเป็นเหง้าสั้นๆ บางชนิดที่ไม่พักตัว หัวมักมีรูปร่างกลม มีกาบใบห่อหุ้ม และจะทิ้งใบ เมื่อหัวแก่ ชนิดที่พักตัวในฤดูแล้ง เช่น เหลืองพิสมร และ ขาวพิสมร หัวมักมีรูปร่างแบน

ใบ สีเขียว หรือสีเขียวแกมม่วง รูปหอก เป็นรอยพับจีบตามยาว คล้ายใบของต้นหมาก เป็นที่มาของชื่อ เอื้องดินใบหมาก ความยาวของใบมีตั้งแต่ 20 เซนติเมตร ในชนิดที่มีขนาดเล็ก เช่น *S. hardingiana* และ ยาวได้มากกว่า 1 เมตร เช่น ใบของว่านจุกที่ ฐานใบมีกาบใบหุ้มรอบลำลูกกล้วย ปลายกาบใบเชื่อมติดกัน ใบจะร่วงเมื่อหัวแก่ หรือเข้าสู่ระยะพักตัว (John and Sheehan, 1994)

ดอก ช่อดอกเกิดด้านข้างของหัว ดอกเกิดที่ปลายช่อ ช่อดอกแบบ racemose ดอกบานจากโคนไปสู่ปลายช่อ (Seidenfaden, 1992) ส่วนใหญ่ดอกบานไปโรยไป มีจำนวนดอกต่อช่ออาจมากถึงห้าสิบดอกโดยประมาณ โดยดอกบานพร้อมกันครั้งละสี่ถึงห้าดอก เช่น ว่านจุก และมีทั้งชนิดที่บาน พร้อมกันในคราวเดียว เช่น เหลืองพิสมร ออกดอกคราวละ10-15 ดอก กลีบเลี้ยงและกลีบดอกของเอื้องดินใบหมากมีรูปร่างยาวรีและกางออกเกือบอยู่ในระนาบเดียวกัน กลีบปากช่วงกลางมักคอด ช่วงปลายกว้างคล้ายลิ้นเป็นที่มาของชื่อสกุล ซึ่งมีรากศัพท์มาจากภาษากรีก 2 คำ คือ คำว่า spathe แปลว่า ช้อน และ glotta แปลว่า ลิ้น หรือ ปาก หมายถึง รูปทรงของกลีบปากมีลักษณะคล้ายลิ้น ส่วนชื่อไทยเรียกว่า สกุลกล้วยไม้ดิน (ระพี , 2516) ยกเว้นบางชนิดที่ปลายปากคอด เช่น *S . petri* และ *S. hardingiana* จะไม่มีลิ้น เหมือนชนิดอื่นๆ โดนกลีบปากของเอื้องดินใบหมากส่วนมากมีหูปากพับตั้งขึ้นทั้ง 2 ข้าง บางชนิดไม่มีหูปาก (Seidenfaden, 1992) เส้าเกสรมี กลุ่มเรณู 2 ชุด ชุดละ 4 ก้อน รูปทรงกระบอก ผล รูปร่างเรียวยาวเมื่อแก่จะปริแตกตามรอยตะเข็บ ภายในมีเมล็ดจำนวนมาก

เมล็ด มีรูปร่างรียาวหรือเป็นเส้น กว้าง 91-125 ไมโครเมตร ยาว 500-683 ไมโครเมตร ปลายด้านหนึ่งมีช่องเปิด ด้านตรงข้ามลักษณะมน มีเอ็มบริโอสีน้ำตาลถึงน้ำตาลดำเปลือกหุ้มเมล็ดบางสีขาวหรือขาวอมเหลืองค่อนข้างโปร่งแสง เซลล์เปลือกหุ้มเมล็ดชั้นนอกรูปสี่เหลี่ยมถึงหกเหลี่ยม เป็นเกลียวรอบเมล็ด ไม่มีรยางค์เหนือช่องเปิด (วรชาติ, 2549)

ชนิดของเอื้องดินใบหมาก

S. affinis De Vriese. ชื่อพ้อง *S. lobbii* ชื่อไทย เหลืองพิสมร หัวข้าวเหนียว กระจายพันธุ์ในประเทศไทย อินโดจีน ตอนเหนือของมาเลเซีย (Teo, 1985) จาวา และ บอร์เนียว (Comber 1990; Seidenfaden 1992) เป็นชนิดที่พักตัวในฤดูแล้ง ออกดอกในช่วงปลายฤดูฝน หัวมีรูปร่างแบนทรงสามเหลี่ยม อยู่ใต้ดิน (Comber, 1990) ใบกว้างประมาณ 1.5-4.5 เซนติเมตร และยาวประมาณ 25-40 เซนติเมตร ดอก สีเหลือง มีจำนวนมากแต่จะบานพร้อมกันครั้งละ 2-3 ดอก (Teo, 1985) ขนาดก้านช่อดอกยาวประมาณ 70 เซนติเมตรและมีขนละเอียด ออกโดยรอบ ขนาดกลีบเลี้ยงด้านบน กว้าง 0.8 เซนติเมตร และยาว 1.8 เซนติเมตร บางต้นมีเส้นสีน้ำตาลอมม่วงประปรายในบริเวณกลีบเลี้ยงด้านข้าง

S. eburnea Gagnep. ชื่อไทย บานดึก ขาวพิสมร (อบฉันท์ 2549; Seidenfaden and Smitinand, 1961) กระจายพันธุ์ในอินโดจีน ประเทศไทยพบเป็นหย่อมกระจายตามทุ่งหญ้าภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือหัวและใบคล้ายเอื้องหัวข้าวเหนียวและเอื้องดินลาว ช่อดอกสูง 20-30 เซนติเมตร (อบฉันท์, 2549) จำนวนดอกในช่อประมาณ 10-12 ดอก ทยอยบานครั้งละ 1-2 ดอก ขนาดดอกประมาณ 3 เซนติเมตร สีขาวนวลอมเหลืองหรือเกือบขาว แผ่นปากมีส่วนคอดเว้าสั้นมาก (Seidenfaden and Smitinand, 1961)

S. *hardingiana* Par.&Rchb. พบจากเขตเกาะลังกาวีในมาเลเซีย ไปจรดเกาะทางตอนใต้ของพม่า ในประเทศไทยพบได้ทางภาคใต้ในเขตจังหวัดพังงา และอำเภอทุ่งสง นครศรีธรรมราช สามารถแยกออกจากชนิดอื่นๆได้ง่าย เพราะ เป็นชนิดที่กลีบปากไม่มีลิ้น และหูปากเปลี่ยนรูปไปเป็นปีกสามเหลี่ยมเล็ก ทางด้านข้าง (Seidenfaden and Smitinand, 1961) มีสีขาว ชมพู หรือม่วงสด ลักษณะเด่นคือมีกลีบดอก แอ่นไปข้างหลังจนบางครั้ง นักกล้วยไม้เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า หงษ์เหิร ลำลูกกล้วยหรือหัวมีขนาดเล็ก ทรงกลม ใบยาวประมาณ 15 เซนติเมตร ก้านช่อมีลักษณะผอมเล็กยาวประมาณ 20 เซนติเมตรขนาดดอกกว้างประมาณ 2.5 เซนติเมตร พักตัวในฤดูร้อน

S. kimballiana Hook. พบใน ซาบาร์ และซาราวัค (Wood *et al.*, 1993) ใบแคบเรียว โคนใบ มีสีม่วง มีดอกขนาด 5 เซนติเมตร สีเหลือง กลีบดอกมีความหนามากกว่าชนิดอื่นๆ และมักมี สีม่วงจางๆที่ด้านหลังดอก (Holttum, 1964) ออกดอกตลอดปีในสภาพปลูกเลี้ยง นิยมนำมาผสมกับชนิดอื่นๆเพื่อถ่ายทอดขนาดดอกที่ใหญ่ไปสู่รุ่นลูก

S. plicata Blume.ชื่อพ้อง *Bletia angustata* Gaud. *B. angustifolia* Gaud. *Paxtonia rosea* LdI. *Phaius rhumphii* Bl. *S. lilacina* Griff และ *S. spicata* Ldl. (Hawkes,1965) มีชื่อไทย คือ กล้วยไม้ดิน เอื้องดิน (กรุงเทพฯ) ว่านจุก และกระเทียมป่า (ตราด) (ระพี, 2516; อบฉันท์, 2549) พบในประเทศไทย หมู่เกาะแปซิฟิก อินเดีย นิวกินี มาเลเซีย และจีนก้านช่อดอกตั้งตรงและแข็งแรง ยาวประมาณ 30 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางดอกประมาณ 3 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงและกลีบดอกขนาดใกล้เคียงกัน สีของดอกหลากหลายตั้งแต่ม่วงชมพู จนถึงม่วงเข้มและขาว หูปากสีน้ำตาลแดงถึงแดงอ่อนและมีตุ่มสีเหลืองใกล้ฐานของปาก

Holttum (1964) จำแนก ว่านจุกจากสายพันธุ์ที่มีการปลูกเลี้ยงไว้หลายกลุ่มคือ

ดอกสีม่วงสด เป็นฟอร์มปกติของว่านจุก ลักษณะของกลุ่มนี้กลีบเลี้ยงจะยาวกว่าและแคบกว่ากลีบดอกเล็กน้อย ช่วงดอกที่กว้างที่สุดเป็นช่วงกลางกลีบ ปุ่มปากสีเหลืองเหลืองซีด สีของปากและหูปากมีสีม่วงเข้ม

1. var. *aureocallus* ปุ่มปากสีเหลืองสด หูปากสีม่วงเข้มเจือม่วง
2. var. *molucana* ต้นโตกว่า *var .aureocallus* ปุ่มปากสีเหลืองสด รูปร่างดอกเหมือน *var. vieillardii*

ดอกสีขาว

1. var. *alba* ดอกเหมือนฟอร์มปกติทุกประการแต่มีสีขาวบริสุทธิ หูปากมีสีเหลืองซีด ปุ่มปากมีสีเหลืองปานกลาง กลีบดอกกว้างที่สุดบริเวณเยื้องไปทางโคนกลีบ
2. var. *pallidissima* ทุกส่วนของดอก มีสีม่วงเจืออยู่ กลีบดอกแหลม ปุ่มปากเหลือง หูปากสีเหลืองจางๆ
3. var. Penang white ดอกสีขาวบริสุทธิปลายกลีบกว้างโคนคอด ปุ่มปาก และหูปากสีเหลืองสด เป็นพันธุ์ที่มีเลือด บริสุทธิบางต้นมีหูปากสีเหลืองซีด

ดอกสีชมพู เข้มหรือจาง (mauve)

1. var. pallidilobus ต้นมีขนาดใหญ่เดียงฟอร์มปกติ ดอกมีรูปร่างเหมือน *var. vieillardii* หูปากสีม่วง เจือเหลือจางๆ ปุ่มปากสีเหลืองซีด
2. var. purpureolobus ขนาดต้นใหญ่ใกล้เคียง *var. vieillardii* แต่ดอกมีสีเข้มกว่า หูปากสีม่วงเข้ม ปุ่มปากสีเหลือง ปลายปากสีชมพูเข้ม

3. var. *vieillardii* เป็นพันธุ์ที่มีขนาดต้นใหญ่มาก ก้านดอกยาว หูปาก สีน้ำตาลส้มเข้ม ปุ่มปากสีเหลืองสด ประจุดสีส้มเข้ม ปลายปากสีม่วงเข้ม

S. pubescens Lindl. ชื่อชนิดมาจากภาษาละตินว่า pubens แปลว่า ขนนุ่มหมายถึงมีขนกำมะหยี่ปกคลุมตามส่วนต่างๆ มีชื่อไทยว่า เอื้องนวลจันทร์ บานจ้วน เอื้องดินลาวเอื้องดิน (สลิล, 2549) พบจากอินเดียตะวันออกเฉียงเหนือ หลายมณฑลในประเทศจีน พม่า ไทย ลาว กัมพูชา เวียดนาม และเกาะฮ่องกง (Jarrett, 1932) พบในป่าโปร่ง และบนทุ่งหญ้า หัวมีลักษณะแบนเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2.5 เซนติเมตร มีใบประมาณ 2-3 ใบ ใบยาวประมาณ 15-40 เซนติเมตร กว้าง 1.5-2 เซนติเมตร ช่อดอกสูงประมาณ 50 เซนติเมตร มีดอก 2-8 ดอก สีเหลืองหรือครีม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3-4 เซนติเมตร บริเวณด้านหลังกลีบเลี้ยงมีขน หูปากกลมยาว มีลักษณะโค้งคล้ายเคียว

S. vanoverburgii มีดอกสีเหลือง สด ก้านช่อสั้น ดอกดก และออกตลอดปีในสภาพปลูกเลี้ยง มีถิ่นกำเนิดในเขตลูซอนประเทศฟิลิปฟินส์ (Holtum, 1964) ขนาดดอกค่อนข้างเล็กกลีบเลี้ยงกว้างประมาณ 0.7-0.8 เซนติเมตร ส่วนกลีบดอกกว้างกว่ากลีบเลี้ยงมาก โดยกว้างประมาณ 1.2-1.3 เซนติเมตรเส้นผ่านศูนย์กลางดอกกว้างไม่เกิน 5 ซม. (ระพี , 2516; เศรษฐพงษ์ และ คณะ, 2548; Holtum, 1964)

การศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์ของกล้วยไม้

โครโมโซมของกล้วยไม้ดิน

การศึกษาถึงจำนวนและระดับชุดโครโมโซม นับเป็นสิ่งแรกๆของการสร้างฐานข้อมูลเพื่อการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ เพราะจำนวนโครโมโซม และรูปร่างของโครโมโซม ที่ใกล้เคียงกันแสดงถึงความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมของสายพันธุ์ที่นำมาศึกษา (กฤษฎา, 2519) การศึกษาโครโมโซม ที่นิยมคือ การศึกษาด้วยเตรียมสไลด์ด้วยการกดและขยี้เซลล์ หรือ squash technique ซึ่งทำให้เซลล์อยู่ในแนวราบ และง่ายต่อการนับ (บุญปิยธิดา, 2551) รายงานการศึกษาจำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* บางชนิดมีความหลากหลายตั้งแต่ 2n = 38 เช่น *S. kimballiana* 2n = 40 เช่น *S. plicata* 2n = 40 (จุฑาธิป, 2551; Hegde and Boraiah, 1972) *S. eburnea* 20 = 40 *S. pubescens* 2n = 40 (บุญปิยธิดา, 2551) ซึ่งจำนวนโครโมโซม 2n = 38 และ 2n = 40 ของประชากรส่วนมากใกล้เคียงกับกล้วยไม้หลายสกุล เช่น หวาย 2n = 38, 40 (Kamemoto

et al.,1999) ฟาแลนอฟซิส 2n = 38 (Kao *et al.*, 2001) และยังมีกล้วยไม้อีกหลายสกุลที่มีจำนวนโครโมโซมต่างออกไป จำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้บางชนิดในหลายเผ่า (tribe) ถูกรายงานไว้โดย Felix and Guerra (2000) ดังนี้ Catasatinae 2n = 54 และ 108 Cyrtopodiinae 2n = 44 46 92 Eulophiinae 2n = 54 Lycastinae 2n = 40 และ 80 Maxillariinae 2n = 40 และ 42 Oncidiinae 2n = 12 20 30 36 42 44 56 112 และ168 Ornithocaphalinae 2n = 56 Stanhopeinae 2n = 40 Zygopetalinae 2n = 52 และ 96 Luo (2004) ศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของกล้วยไม้บางชนิดในเผ่า *Habenaria aitchsonii* มี 2n = 32 และ 64 นอกจากการศึกษาโดยการนับจำนวนโครโมโซมแล้วยังมีวิธีการที่รวดเร็วและใช้กันแพร่หลายในปัจจุบันอีกวิธีการหนึ่งคือการวัดระดับชุดโครโมโซม และปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยเครื่อง Flow cytometer ซึ่งเป็นการสกัดเอานิวคลีอายของเซลล์ แล้วนำมาวัดน้ำหนักของนิวคลีอายด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ซึ่งวิธีการนี้ไม่สามารถ บอกจำนวนโครโมโซมได้แต่สามารถบอกความใกล้ชิดกันของกล้วยไม้ชนิดต่างๆได้จาก ปริมาณดีเอ็นเอที่ใกล้เคียงกัน และสามารถบอกระดับชุดของโครโมโซมได้อย่างรวดเร็ว (Kamemoto *et al.* 1999) ในการศึกษาของ Lin *et. al.* 2005 โดยการวัดปริมาณดีเอ็นเอควบคู่กับการศึกษาการเข้าคู่กันของโครโมโซมด้วยเทคนิค Genomic *in situ* hybridization (GISH) พบว่าปริมาณดีเอ็นเอของฟาแลนอพซิสหลายชนิดที่มีจำนวนโครโมโซม 2n=38 สามารถแบ่งกลุ่มออกได้เป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มที่มีขนาดจีโนมขนาดใหญ่ประมาณ 13-15 พิโคกรัมและขนาดเล็ก ประมาณ 3-5 พิโคกรัม และยังพบว่าฟาแลนอพซิสที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันแต่มีขนาดจีโนมต่างกัน การเข้าคู่กันของโครโมโซมมีความผิดปรกติมากกว่าฟาแลนนอฟซิสที่มีขนาดจีโนมใกล้เคียงกัน

กล้วยไม้โพลีพลอยด์

Kamemoto *et al.* (1999) กล่าวว่า กล้วยไม้ที่ชนะการประกวดมักเป็นพวกโพลีพลอยด์มากกว่าดิพลอยด์ คุณสมบัติที่ดีของไม้ตัดดอกมีความสัมพันธ์กับจำนวนโครโมโซม โดยกล้วยไม้สกุลแคทลียาและสกุลซิมบิเดียมที่เป็นทริพลอยด์มีคุณสมบัติเป็นไม้ตัดดอกดีที่สุด ในการศึกษาในสกุลหวายโดย Saichol *et al.*(2001) พบว่าต้นเตตร้าพลอยด์มีดอกหนา อัตราการหายใจต่ำ น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากกว่าต้นปกติอายุการปักแจกันนานกว่า นอกจากนั้นการศึกษาใน *S.* Lion of Singapore โดย Zong *et al.* (2006) ยังพบว่าต้นเตตร้าพลอยด์ มีปริมาณดีเอ็นเอมากกว่าและ มีจำนวนปากใบน้อยกว่าต้นดิพพลอยด์

การเพิ่มจำนวนโครโมโซมสามารถเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติโดยเกิดจากการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่เป็นดิพพลอยด์ซึ่งไม่มีการลดจำนวนโครโมโซมจากพ่อ-แม่ที่เป็นดิพลอยด์ หรือเกิดจากการผิดปกติในการแบ่งเซลล์ของ zygote ทำให้จำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นก็สามารถเกิดโพลีพลอยด์

ได้ ความถี่ของการเกิดโพลีพลอยด์สามารถเพิ่มขึ้นได้การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในพืชสามารถทำได้โดยการใช้สารเคมีหลายชนิดแต่พบว่าโคลชิซินเป็นสารที่มีการใช้มากที่สุดเพราะให้ผลค่าเฉลี่ยในการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ที่สม่ำเสมอที่สุด (อดิศร, 2539) ในกล้วยไม้มีวิธีการที่นิยมคือใช้สารโคลชิซีนกับ protocorm-like bodies (Kamemoto *et al.*, 1999) ในสภาพธรรมชาติกล้วยไม้ปรับตัวโดยการสร้างประชากรโพลีพลอยด์ เพื่อให้สามารถเข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปได้เช่นในสกุล ออนซิเดียม และ คาตาเซตัม ซึ่งเป็นกล้วยไม้ที่ขึ้นอยู่บนหิน (Lithophyte) มีจำนวนระดับชุดโครโมโซม สูงกว่า กล้วยไม้อิงอาศัย (Felix and Guerra, 2000) สอดคล้องกับที่ Peakall and James (1989) ศึกษาโครโมโซมของกล้วยไม้ดินในประเทศออสเตรเลียจำนวน 35 ชนิด จาก 17 สกุล พบว่ากล้วยไม้เหล่านี้มีความผันแปรของจำนวนโครโมโซมตั้งแต่ 2n = 24 ถึง 2n = 56 นอกจากนี้ยังรายงานว่ามีจำนวนโครโมโซมที่เป็นโพลีพลอยด์ในกล้วยไม้ดิน 2 ชนิดโครโมโซมมีลักษณะสั้นไม่มีเซนโทรเมียร์ ตรงกันข้ามกล้วยไม้สกุล *Lyeranthus* มีขนาดของโครโมโซมตั้งแต่ขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ และเสนอความคิดเห็นว่าการเพิ่มของจำนวนโครโมโซมดังกล่าวน่าจะเป็นวิวัฒนาการที่ส่งผลให้เกิดความหลากหลายในชนิดและพันธุ์ของกล้วยไม้เหล่านี้

การผสมพันธุ์กล้วยไม้ดิน

กล้วยไม้ดินถูกผสมพันธุ์และใช้เป็นไม้ประดับมาช้านานทั้งในประเทศไทยและในต่างประเทศ สมาชิกในสกุลนี้มีมากกว่า 50 ชนิด ด้วยเหตุนี้ โอกาสในการผสมพันธุ์เพื่อให้ได้คู่ผสมและ ลักษณะใหม่ในสกุลนี้จึงยังเปิดกว้างสำหรับนักปรับปรุงพันธุ์ ประกอบคุณลักษณะที่เลี้ยงง่ายขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว จึงทำให้ เป็นพืชที่เหมาะจะนำมาศึกษาและปรับปรุงพันธุ์ แต่ความรู้เกี่ยวกับพันธุศาสตร์และการถ่ายทอดลักษณะของกล้วยไม้สกุลนี้กลับมีน้อยมาก เนื่องจากเป็นกล้วยไม้ที่ผสมพันธุ์ง่ายและมีระยะเวลาการถือฝักสั้น ประมาณ 30-35 วัน และ สามารถงอกได้ดีในสภาพแปลงปลูกเมื่อเมล็ดกระจายไปจากฝักแตก ทำให้พันธุ์กล้วยไม้ดินจำนวนมากไม่มีการบันทึกคู่ผสม ทำให้ผู้ที่นำมาพัฒนาพันธุ์ต่อไม่สามารถคาดเดาแนวโน้มของลูกผสมชั้นต่อไปตลอดจนความสมบูรณ์พันธุ์ของกล้วยไม้ดินเหล่านั้นได้ เป็นปัญหาต่อการจดทะเบียนพันธุ์ และเป็นทางตันของการผสมพันธุ์กล้วยไม้ดินตลอดมา

จนถึงปัจจุบัน (ตุลาคม 2553) กล้วยไม้สกุล *Spathoglottis* ได้รับการจดทะเบียนกับสมาคมพืชสวนอังกฤษ (RHS) แล้วเพียง 103 พันธุ์ (RHS International Orchid Register, 2010) ซึ่งนับว่าน้อยมากเมื่อเทียบกับกล้วยไม้เศรษฐกิจอื่นๆ เช่น หวาย (*Dendrobium*) 10,978 พันธุ์ แคทลียา 28,792 พันธุ์ ออนซิเดียม 693 พันธุ์ ทั้งนี้ Segerback (1992) กล่าวว่ากล้วยไม้ดินสกุล *Spathoglottis* ทุกชนิดสามารถผสมข้ามชนิดระหว่างกันได้ แต่ลูกผสมส่วนใหญ่เป็นหมันหรือใกล้เคียงเป็นหมัน

เมื่อผสมตัวเองหรือผสมกลับพ่อแม่ หรือผสม *Spathoglottis* อื่นๆทำให้เกิดลูกผสมรุ่นที่ 2 ได้ยากมาก ลูกผสมหลายชนิดจะไม่มีเมล็ดหรือมีเมล็ดเพียง 1-2 เมล็ดในฝักโดยฝักจะแก่ประมาณ 6 สัปดาห์หลังผสม แต่ในบัญชีการจดชื่อลูกผสมของสมาคมพืชสวนอังกฤษกลับพบว่า มีลูกผสมที่จดทะเบียนจำนวนมาก ที่เกิดจาก การผสมหลายชั้น จากพ่อแม่พันธุ์หลายชนิด เช่น *S.* Angelina ประกอบไปด้วย พันธุกรรมที่ถ่ายทอดมาจาก *S. plicata S. vanoverburgii S. aurea* และ *S. chrysantha* ซึ่งแสดงให้เห็นว่า มีความเป็นไปได้ที่จะสร้างลูกผสมที่เกิดจากพันธุกรรมของเอื้องดินใบหมาก หลายๆชนิดเข้าด้วยกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การสร้างสายพันธุ์ เตต้าพลอยด์ ซึ่งมีความสมบูรณ์พันธุ์สูงกว่า ดิพพลอยด์ (ศิริพร, 2546)

การถ่ายทอดสีของกล้วยไม้

สีเป็นองค์ประกอบหลักองค์ประกอบที่ถูกสนใจมากที่สุดทางด้านไม้ดอก (Horn, 2002) ซึ่งเกิดจากเม็ดสีในดอกไม้เรียกว่า รงควัตถุ (pigment) ซึ่งสามารถแบ่งได้ สี่กลุ่ม คือ

1. คลอโรฟีล (chlorophylls) คลอโรฟีลเป็นรงควัตถุสีเขียวที่พืชใช้ในการสังเคราะห์แสง ละลายได้ในไขมัน พบในพืชสีเขียวทุกชนิด ในใบพืชที่มีสีเขียวมีคลอโรฟิลล์ประมาณ 0.1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสด กระจายตัวอยู่ในอวัยวะที่เรียกว่า คลอโรพลาสต์ คลอโรฟิลล์ มีหลายชนิดเช่น chlorophyll a, b, c และ d เป็นต้น

2. ฟลาโวนอยด์ (flavoniods) สามารถแบ่งกลุ่มย่อยได้เช่น ฟลาโวน (flavones) ฟลาโวนอล (flavonols) และแอนโทไซยานิน (anthocyanins) ออโรน (aurones) ชาลโคน (chalkones)และ กอสซี่เพติน (gossypetin) (Griesbach, 1983) ในปัจจุบันมีฟลาโวนอยด์มากว่า 3,000 ชนิด ที่ถูกค้นพบและ อธิบายสูตรโครงสร้าง (Ben-meir *et al.*, 2002) แอนโธไซยานิน เป็นกลุ่มของสารประกอบที่ให้สีแดง ชมพู น้ำเงิน และม่วง แอนโธไซยานินประมาณ 20 ชนิด ชนิดที่มีความสำคัญมีอยู่ 6 ชนิดคือ เพลาร์โกนิดิน (pelargonidin) ไซยานิดิน (cyanidin) เดลฟินิดิน (delphinidin) พีโอนิดิน (peonidin) พิตูนิดิน (petunidin) และมัลวิดิน (malvidin) เป็นสารประกอบจำพวกไกลโคไซด์ ละลายได้ในน้ำ และ อยู่ในแวคคิวโอลของเซลล์ อิพิเดอร์มิส (epidermis) (Griesbach, 1983)

3. คาโรทีนอยด์ (carotenoids) คาร์โรทีนอยด์ ละลายได้ในไขมัน เป็นรงควัตถุที่ อยู่กันเป็นกลุ่มในอวัยวะที่เรียกว่า โครโมพลาสต์ chromoplast ให้สีเหลือง ส้ม และแดง ในไม้ดอกจำนวนมาก เช่น ใน กุหลาบ นาซิสซัส ฟรีเวีย เยอบีร่า ลิลลี่ แพนซี (Horn, 2002) ตัวอย่างของคาโรทีนอยด์ ได้แก่ แคโรทีน (carotene) ไลโคพีน (lycopene) แซนโธฟิลล์ (xanthophyll) และคริพโตแซนธิน (cryptoxanthin) เป็นต้น (Cunningham and Gantt, 2002)

4. เบตาเลน (betalains) ละลายได้ในน้ำ ให้สีเหลืองหรือแดงเข้มในพืชกลุ่ม Caryophyllales ได้แก่ พืชในวงศ์ Amarathaceae Aizoceae Amarathaceae Nyctaginaceae Portlaceae Cactaceae เป็นต้น แต่ เบตาเลน จะไม่ปรากฏในพืชร่วมกับ แอนโทไซยานิน (Horn, 2002)

ในดอกของพืชส่วนใหญ่มักประกอบด้วย ส่วนประกอบของ ฟลาโวนอยด์และ คาโรทีนอยด์ (Griesbach, 1983; Horn, 2002) การถ่ายทอดสีของรงควัตถุชนิดฟลาโวนอยด์ ถูกอธิบายครั้งแรกในผลงานของเมนเดล

Horn (2002) กล่าวถึงการศึกษาการทำงานของยีนหกตัวที่ควบคุม การผลิตรงควัตถุชนิดแอนโธไซยานิน ในพืช มีการทำงานแบบ ข่มข้ามคู่ ดังนี้

1. เดลฟินิดิน (delphinidin) > ไซยานิดิน (cyanidin) > เพลาร์โกนิดิน (pelargonidin)
2. มัลวิดิน (malvidin) > พีโอนิดิน (peonidin) > เพลาร์โกนิดิน (pelargonidin)
3. พิตูนิดิน (petunidin) > พีโอนิดิน (peonidin)
4. พีโอนิดิน (peonidin) >ไซยานิดิน (cyanidin)

(เครื่องหมาย " > " แสดง การข่ม)

นอกจากการทำงานของรงควัตถุชนิด แอนโธไซยานินแล้วสีที่ปรากฏในพืชมักเกิดจากการทำงานร่วมกันของฟลาโวนอยด์และคาโรทีนอยด์ และมียีนอื่นๆที่ส่งผลทางอ้อมต่อการเปลี่ยนสีของดอกไม้ได้ เช่น มีผลต่อ pH ใน vacuole การเกิด co-pigmentation การที่หมู่ metal มาจับกับ ฟลาโวนอยด์ หรือ ปัจจัยทางสัณฐานวิทยา เช่น ขนบนดอก และปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม เช่น ความเข้มแสงและอุณหภูมิ (Griesbach, 1983; Horn, 2002)

ในกล้วยไม้สีที่เกิดขึ้นบนดอก มาจากการผสมกันของรงควัตถุสี่ชนิดในอัตราส่วนต่างๆกัน มีการศึกษาใน *Oncidium* Gower Ramsey พบว่า สีเหลืองในกลีบดอกมาจากคาโรทีนอยด์ ชนิดไวโอลาแซนติน (violaxanthin) (Hieber *et al.*, 2006) ส่วนสีเหลือง ในสกุลหวาย และแคทลียา เกิดจากรงควัตถุชนิด คาโรทีนอยด์ (Thammasiri , 1984) การเกิดจุดสีแดงบนกลีบดอกของ *Oncidium* Gower Ramsey เกิดจากไซยานิดินและพีโอนิดิน (Hieber *et al.*, 2006) ส่วนจุดที่เกิดบนดอกของ *Phalaenopsis lueddemanniana* เป็นผลมาจากการผสมกันของรงควัตถุชนิดฟลาโวนอยด์ และคาโรทีนอยด์

การเกิดสีแดงในกล้วยไม้นั้นเกิดได้จากหลายๆเหตุผลเช่นจากการปรากฏของฟลาโวนอยด์ร่วมกับการหายไปของคลอโรฟิลและแคโรทีนอยด์ หรือเกิดจากสีม่วงของฟลาโวนอยด์รวมกับสีส้มของคาโรทีนอยด์ ซึ่ง เป็นแนวคิดในการพัฒนาลูกผสมแคทลียาสีแดงจากพ่อแม่สีส้มและสีม่วง ในพิทูเนียและกล้วยไม้สกุลซิมบิเดียมซึ่งสีแดงเป็นสีที่หายากพบว่าเป็นเพราะยีน DFR (dihydroflavonol 4-reductase) จำเพาะกับ Substrate และไม่สามารถเปลี่ยน dihydrokaempferol

เป็น เพลาโกนิดีนซึ่งมีสีแดงอิฐได้ จึงมีการตัดต่อพันธุกรรมนำยีน DFR ของข้าวโพดใส่ในพิทูเนีย ทำให้ได้พิทูเนียสีแดงอิฐแต่ต้นที่ได้ไม่เสถียร ต้องการปรับปรุงพันธุ์โดยการคัดเลือกต่ออีกหลายรุ่น จึงได้ต้นที่มีสีแดงที่เสถียร ดอกไม้สีแดงหรือน้ำเงินยังสามารถปรับปรุงพันธุ์ได้โดยแนวคิดเรื่อง pH ในกลีบดอกซึ่งควบคุมโดยยีนจำนวนน้อยคู่เมื่อให้กลีบดอกมี pH ต่ำลงจะทำให้มีสีแดงสดมากขึ้น (Griesbach, 1983) Katsumoto *et al.* (2007) บรรยายถึงความสำเร็จในการพัฒนาพันธุ์กุหลาบสีน้ำเงินโดย เกิดจากการทำการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มี pH ในแวคคิวโอลในกลีบดอกสูงโดยวัด pH ของน้ำปั่นกลีบดอกกุหลาบนับร้อยสายพันธุ์ ร่วมกับการตัดต่อพันธุกรรม โดยทำให้ยีน DFR ของกุหลาบมีการแสดงออกลดลง (down regulation) ถ่ายยีน DFR ของ *Iris hollandica* เข้าไปทำงานแทน และทำให้เกิดการสร้างฟลาโวนอยด์กลุ่ม เดลฟีนีดีน ขึ้นโดยถ่ายยีน F3'5'H ของต้น viola สู่กุหลาบ

Arditti (1992) ศึกษาเกี่ยวกับการถ่ายทอดสีดอกของ *Spathoglottis* มีสมมติฐานว่าสีของดอกและปุ่มบนฐานกลีบปาก ถูกควบคุมโดยยีนสามคู่ ซึ่งเป็นอิสระต่อกันได้แก่ 1) *P_* ให้จุดสีชมพูบนกลีบดอกและกลีบเลี้ยง และ จุดสีแดงบนปุ่มบนฐานที่ปากและบนฐานปากส่วน *pp* ไม่ให้สี ไม่มีจุด 2) *T_* ให้สีชมพูอ่อนหรือสีม่วงแต้มบนกลีบดอกและกลีบเลี้ยงส่วน *tt* ไม่ให้สีดอกหรือสีแต้ม และ 3) *B_* ส่งผลให้ปุ่มบนปากและฐานปากเป็นสีเหลืองสด

การเกิดสีขาว ลักษณะเผือกในกล้วยไม้ แต่ละสกุล และแต่ละชนิดมีคามแตกต่างกันไป ใน *S. plicata* var. *alba* คือต้นที่มียีนในสภาพด้อยเป็น *pp* และ *bb* ทั้งสองตำแหน่ง ส่วนในแคทลียา ยีนสร้างสี คือ ยีน *C* ที่สร้าง โครโมเจน และ ยีน *R* ที่เปลี่ยนโครโมเจนเป็นรงควัตถุ ซึ่งแคทลียาบางชนิดจะเผือกก็ต่อเมื่อ ยีนที่ตำแหน่ง *R* เป็น *rr* ส่วนในแคทลียา บางชนิดพบว่า มียีนอีกหนึ่งตำแหน่งที่มีผลต่อการเกิดสีคือยีน *p* ทำให้เกิดลักษณะกึ่งเผือก (semi alba) (Arditti, 1992) ซึ่ง ข้อมูลจากการศึกษาในระดับชีวโมเลกุลพบว่าการลดการสังเคราะห์ แอนโทซายานินทำได้สำเร็จใน พิทูเนีย เยอบีรา เบญจมาศ กุหลาบ คาร์เนชั่น ไลซิแอนทัส (lisianthus) และ แววมยุรา (torenia) ใน gentian (*Gentian triflora*) สีน้ำเงิน การถ่ายยีน antisense CHS เพื่อไปหยุดการสร้างแอนโทซายานินทำให้พืชทดลองที่ได้ มีสีขาวบริสุทธิ์ ไปจนถึงน้ำเงินจางๆ (Tanaka *et al.* 2005)

เมล็ดของกล้วยไม้ดิน

Rasmussen (2008) กล่าวว่าในสภาพธรรมชาติเมล็ดของกล้วยไม้จะไม่มีส่วนของเอนโดสเปอร์ม ทำให้เมล็ดของกล้วยไม้มีขนาดเล็ก สามารถกระจายพันธุ์โดยการปลิวไปตามลมได้ไกลๆ แต่การงอกของเมล็ดกล้วยไม้ เกิดขึ้นเมื่อได้รับอาหารเลี้ยงจากการอิงอาศัยกับรา หลังจากการปฏิสนธิ เมล็ดของกล้วยไม้มีอายุการแก่แตกต่างกันไปตามแต่ละชนิดและสกุล สำหรับในสกุล

Spathoglottis ฝักแก่จะแตกเมื่อมีอายุประมาณ 30-45 วัน ขึ้นอยู่กับสภาพสิ่งแวดล้อมด้วย กล้วยไม้ดินส่วนใหญ่จะเกิดการปฏิสนธิ สองสัปดาห์หลังจากการผสมเกสร แต่ในบางสกุลอย่าง เช่น สกุล *Cypripedilum* อาจใช้เวลามากถึง13 สัปดาห์ ทั้งนี้พืชในสภาพธรรมชาติและสภาพปลูกเลี้ยง ยังมีระยะเวลาในการเกิดการปฏิสนธิไม่เท่ากัน แสดงให้เห็นว่าสภาพแวดล้อมมีผลต่อการปฏิสนธิของกล้วยไม้ดิน ในกล้วยไม้ดินส่วนใหญ่ หลังจากการปฏิสนธิ กระบวนการ embryogenesis ใช้เวลาประมาณสองอาทิตย์ ส่วน *Cypripedilum calceolis* var. *pubescen* หลังจากปฏิสนธิได้ 47 วัน เอมบริโอมีขนาดเพียง 12 เซลล์ คุณภาพของเมล็ดของกล้วยไม้ดินขึ้นอยู่กับ ปัจจัยหลายอย่างที่เกิดขึ้นระหว่างการ ผสมเกสร การปฏิสนธิ และการสุกแก่ของฝัก ในระยะการผสมเกสร ปริมาณความมีชีวิตของเมล็ดอาจขึ้นอยู่กับ ปริมาณของอับละออง เรณู ที่ไปตกบน แอ่งเกสรตัวเมีย อายุของดอก ช่วงเวลาที่ผสมพันธุ์ เมื่อฝักแก่ เมล็ดของกล้วยไม้ดิน ชนิดที่มีการพักตัว บางชนิดอาจต้องการความเย็นเพื่อทำลายการพักตัวในการงอก ในทางปฏิบัติ การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ดินในห้องปฏิบัติการมักไม่ใช้ฝักที่แก่จัดจนแตก อย่างเช่น ใน *Cypripedilum* ฝักที่มีอายุ 42-60 วัน มีเปอร์เซ็นการงอกมากกว่า ฝักที่มีอายุ 85-110 วัน ซึ่งการที่ฝักแก่มีการงอกน้อยกว่านั้นเนื่องมาจากฝักแก่มีการสร้างสารเคลือบจำพวก ลิกนิน ซูเบอริน และไคติน เคลือบที่ผิวเมล็ด และไปขัดขวางกระบวนการดูดน้ำของเมล็ด ทำให้ไม่เกิดกระบวนการงอกหรืองอกช้าลง ความมีชีวิตของเมล็ดแสดงให้เห็นถึงปริมาณของเมล็ดในฝักที่สามารถงอกได้ ในบางกรณี อาจมีการทำลายความหนาของชั้นนี้โดยการนำไปฟอกด้วยสารเคมี เช่น โปแตสเซียมไฮโปคลอไรด์ ส่วนในสภาพธรรมชาติการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินธรรมชาติเกิดจากสัญญาณที่ส่งไปจาก เชื้อรา ที่เข้าไปอิงอาศัยอยู่กับเมล็ด

การทดสอบความมีชีวิตของเมล็ดกล้วยไม้ดิน

เนื่องจากความรู้เกี่ยวกับรูปแบบการพักตัวของกล้วยไม้ดินยังคงมีการศึกษาได้ไม่ครบถ้วน การจะแยกเมล็ดที่ไม่มีชีวิตออกจากเมล็ดที่พักตัว โดยวิธีการเพาะเมล็ดแล้วศึกษาการงอก จึงเป็นเรื่องยาก ฉะนั้นการทดสอบการงอกจึงอาจไม่ใช่สิ่งที่แสดงถึงความสมบูรณ์ของเมล็ด การทดสอบคุณภาพของเมล็ดจึงสามารถทดสอบได้โดยการทดสอบความมีชีวิตและความสมบูรณ์ของเอมบริโอ โดย การย้อมด้วยสีย้อม ชนิดที่ละลายน้ำได้ แต่สีกลุ่มนี้จะสามารถย้อมได้ดี เมื่อ สีถูกนำไปสัมผัสกับเซลล์เอ็มบริโอโดยตรง ซึ่งในพืชทั่วไป สามารถทำได้โดยการตัดเมล็ดให้เป็นรอย แต่ในเมล็ดกล้วยไม้ ซึ่งมีขนาดเล็กมาก ไม่สามารถนำมาตัดที่ละเมล็ดได้ สีของเมล็ดกล้วยไม้ซึ่งมีเปลือกหุ้มเมล็ดจึงอาจถูกรบกวนได้ เยื่อหุ้มเมล็ดของกล้วยไม้สามารถเอาออกได้ โดยการนำไปใส่ในน้ำภายใต้สไลด์ และหมุนไปมา ซึ่งทำให้เอมบริโอหลุดได้ การใช้คลื่นเสียง ultra sonic หรือใช้

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

Sodium hypochlorite หลังจากนั้นย้อมด้วยสี fluorescein diacetate (FDA) สุพัตร และ คำนูน (2549) ทดสอบความมีชีวิตของเมล็ดกล้วยไม้เขากวางอ่อนโดยย้อมด้วย 2,3,5 Triphenyl tetrazolium chloride (TCC) 0.2 % โดยนับเมล็ดที่ติดสีแดงเป็นเมล็ดที่มีชีวิต Singh (1981) ศึกษาวิธีการทดสอบความมีชีวิตของเมล็ด *S. plicata* โดยการย้อมสีด้วย TTC และสี malachite green ในสารละลายน้ำ พบว่าเมล็ดที่ยังมีชีวิตติดสีแดงที่บริเวณคัภภะ และติดสีเขียวที่บริเวณเปลือกหุ้มเมล็ด ถ้าเมล็ดไม่มีชีวิตจะติดสีเขียวอย่างเดียว และต้องใช้เวลา 22-24 ชั่วโมงในการย้อมสีดังกล่าวเพื่อให้คัภภะที่มีชีวิตย้อมติดสีแดง

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ - 1 ส.ค. 2554
เลขทะเบียน 242734
เลขเรียกหนังสือ