

บทที่ 2

ผลงานวิจัยและงานเขียนอื่นๆที่เกี่ยวข้อง

ความเป็นมาของกล้วยไม้

กล้วยไม้เป็นไม้ดอกในกลุ่มพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (monocotyledonous plant) วงศ์ออร์คิดเซีย (Orchidaceae) หรือที่เรียกทั่วไปว่า วงศ์กล้วยไม้ เป็นพืชที่มีอายุยืนนาน กล้วยไม้พบได้โดยทั่วไปตั้งแต่บริเวณที่มีน้ำแข็งปกคลุมเกือบตลอดปีไปจนถึงเขตร้อนในป่าทุกประเภท (อบจันทร์ ไททอง , 2545) ประกอบไปด้วยชนิดมากกว่า 25,000 ชนิด และมีลูกผสมอีกมากกว่า 100,000 ชนิด เป็นตระกูลไม้ดอกที่มีจำนวนชนิดมากที่สุดในโลก กล้วยไม้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกับดอกกลีดิโอลามากที่สุด ลักษณะของกล้วยไม้ทั้งต้นและดอก มีความหลากหลายมาก ตั้งแต่ดอกที่มีลักษณะ รูปทรง สี สัน สวยงาม ไปจนถึงลักษณะรูปทรงสีที่แปลกประหลาด สะดุดตาผู้ที่ได้พบเห็น สีของกล้วยไม้ตั้งแต่สีที่สดใสไปจนถึงสีที่มืดทึม กล้วยไม้จัดเป็นไม้ดอกที่มีวิวัฒนาการสูงสุดในบรรดาไม้ดอกทั่วไป กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (monocotyledons) ที่มีการบันทึกการปลูกเลี้ยงมาเป็นเวลาช้านาน

ในแถบยุโรป ราวปี 300 ก่อนคริสต์ศักราช Theophrastus ผู้ซึ่งได้ชื่อว่าเป็น บิดาของวิชาพฤกษศาสตร์ ได้บันทึกไว้เกี่ยวกับกล้วยไม้ที่มีชื่อว่า *Orchis* ซึ่งเป็นที่มาของคำว่า orchid ในปัจจุบัน กล้วยไม้มีชื่อว่า *Orchis* นี้ มีหัวอยู่ในดิน มีลักษณะคล้าย testis เลยตั้งชื่อให้ว่า orchid การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ในประเทศจีนเริ่มขึ้นในราชวงศ์ Sung (ค.ศ.960 – 1279) ส่วนใหญ่แล้วเป็นพวก *Cymbidium Phaius* และ *Calanthe*

การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ในประเทศไทย เริ่มมาตั้งแต่รัชกาลที่ 5 โดยนายเฮนรี อลาบาสเตอร์ ได้นำกล้วยไม้สกุล *Cattleya* เข้ามาปลูกเลี้ยง และได้มีการนำเข้ามาพวก *Oncidium* และ *Brassavola* ด้วย ซึ่งในสมัยนั้นการปลูกเลี้ยง ทำอยู่ในวงจำกัด ในหมู่เจ้านายและข้าราชการบริพารเท่านั้น ต่อมาเมื่อมีการติดต่อกับต่างชาติมากขึ้น การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ ก็เริ่มเป็นที่สนใจของคนหมู่มาก ต่อมา Dr.Gunnar Seidenfaden และศาสตราจารย์เต็ม สมิตินันท์ ได้ทำการสำรวจพันธุ์กล้วยไม้ในประเทศไทยขึ้น ซึ่งสามารถรวบรวมไว้ได้มากกว่า 1,000 ชนิด และได้จัดพิมพ์รวมเล่มชนิดของกล้วยไม้ที่ได้ค้นพบไว้ด้วย อีกท่านหนึ่งที่ทำให้ความสนใจแก่กล้วยไม้ไทยมากคือ ศาสตราจารย์ระพี สาคริก ท่านได้เป็นผู้เริ่มต้นการฝึกอบรมการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ให้แก่ผู้ที่สนใจ และต่อมาได้มีการพัฒนาพันธุ์กล้วยไม้มาเป็นลำดับ จนถึงปัจจุบัน (ณัฐา โพธารมณ์ , 2550)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยไม้

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา แตกต่างไปจากดอกไม้ชนิดอื่นๆ เป็นไม้ดอกที่มีวิวัฒนาการขั้นสูงแล้ว ลักษณะเหล่านั้นได้แก่

1. **ดอก** กล้วยไม้เป็นไม้ดอกที่มีลักษณะเด่น แปลกไปจากไม้ดอกชนิดอื่นๆ คือ ส่วนของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย รวมอยู่บนฐานเดียวกัน เรียกโครงสร้างนี้ว่า เสาเกสร (column) ซึ่งในไม้ดอกชนิดอื่นๆ ไม่มีโครงสร้างนี้ ลักษณะของกลีบดอก แบ่งออกได้เป็น 2 ชั้น คือกลีบชั้นนอก (sepal) ประกอบไปด้วยกลีบดอก 3 กลีบคือ กลีบชั้นนอกด้านบน เรียกว่า dorsal sepal และกลีบชั้นนอกด้านข้าง ซึ่งมีอยู่ 2 กลีบเรียกว่า lateral sepals ในส่วนกลีบดอกชั้นใน (petal) มีส่วนของกลีบดอกอยู่ 2 กลีบ และมีกลีบชั้นในอีกกลีบหนึ่ง ที่มีการแปรรูปไปเป็นส่วนที่เรียกว่า ปาก (labellum หรือ lip) ในบางครั้ง เมื่อมีการนับจำนวนกลีบดอกของกล้วยไม้มักพูดว่ามี 5 กลีบ และ 1 ปาก ซึ่งส่วนปากนี้ ในกล้วยไม้บางสกุลเรียกว่า กระเปาะ กระโปรง หรือห้วงรองเท้า

2. **ช่อดอก** ของกล้วยไม้ มีทั้งที่เป็นช่อดอกช่อและดอกเดี่ยว ช่อดอกของกล้วยไม้ (inflorescence) มีทั้งเป็นช่อเดี่ยว (raceme) และช่อแขนง (panicle)

3. **ลำต้น** ลักษณะของกล้วยไม้ มีหลากหลายอยู่มาก สามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่มด้วยกัน ตามลักษณะการเจริญของทรงต้นคือ

แบบเจริญไปทางเดียว (monopodial) กล้วยไม้ในกลุ่มนี้ มีการเจริญเติบโตขึ้นไปทางสูง แต่เพียงอย่างเดียว การเกิดของใบเกิดสลับเป็นแบบฟันปลา ช้อนกันขึ้นไปในระนาบเดียว จุดเจริญอยู่ที่ส่วนยอด รากเกิดขึ้นได้ตามลำดับที่เจริญสูงขึ้นไป เมื่อมีการเจริญไปทางสูงระยะหนึ่งแล้ว ส่วนโคนของลำต้นอาจมีการแทงหน่อใหม่ขึ้นมาจากที่บริเวณส่วนโคนได้

แบบเจริญไปทางแนวนอน (sympodial) กล้วยไม้ในกลุ่มนี้ การเจริญเติบโตเป็นไปในแนวนอน มีส่วนของลำต้นที่แท้จริงอยู่บริเวณโคน ในบางชนิดเรียกว่า เหง้า (rhizome) ส่วนที่เห็นเป็นลำต้นนั้น แท้จริงคือลำต้นเทียม หรือส่วนที่มีการพัฒนาไปในการสะสมอาหาร เรียกว่า ลำลูกกล้วย (pseudobulb) มีจุดเจริญอยู่ที่เหง้า เมื่อต้นเดิมพัฒนาไปได้ระยะหนึ่งแล้ว ก็เกิดต้นใหม่ขึ้นมาจากตาด้านข้าง

4. **ใบ** ของกล้วยไม้มีอยู่หลากหลายลักษณะด้วยกัน สามารถแบ่งเป็นกลุ่มตามลักษณะของใบได้ดังนี้ ใบกลม (terete) ใบแบบนี้มีลักษณะกลมเป็นทรงกระบอก มองดูคล้ายแท่งดินสอ ใบร่อง (semi-terete) ใบมีลักษณะเกือบกลม แต่ยังคงแยกออกจากกันพอมองเห็นได้ ถ้าทำการตัดขวาง มองเห็นเป็นรูปตัว V และใบแบน (strap-leaf) ใบมีร่องตื้นๆ อยู่ตรงกลางใบ แล้วส่วนของขอบใบแผ่ออกกว้าง บางชนิดใบโค้งห้อยลงเล็กน้อย

5. **ราก** ของกล้วยไม้ เป็นแบบรากแขนง มีความสัมพันธ์อยู่อย่างใกล้ชิดกับเชื้อราที่เรียกว่า *Mycorrhiza* ซึ่งอยู่ร่วมกันแบบภาวะเกื้อกูล (symbiosis) รากกล้วยไม้มีความสามารถในการ

การดูดซับธาตุอาหารได้ดี และรากของกล้วยไม้บางชนิดที่ปลายรากมีสีเขียวห่อหุ้มสามารถทำหน้าที่สังเคราะห์ด้วยแสงได้

6. เมล็ด มีขนาดเล็ก น้ำหนักประมาณ 0.3 – 0.6 ไมโครกรัม เนื่องจากเมล็ดของกล้วยไม้มีขนาดเล็กมากนี้เอง ทำให้ไม่สามารถที่จะทำการเพาะเมล็ดของกล้วยไม้เหมือนไม้ดอกชนิดอื่นๆ ต้องใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาช่วยในการเพาะเมล็ด

การจัดแบ่งตามลักษณะของแหล่งที่อยู่และลักษณะของราก

สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่มด้วยกัน ได้แก่

1. กล้วยไม้ดิน (terrestrial) ในกลุ่มนี้ แหล่งที่อยู่ในธรรมชาติ เจริญเติบโตอยู่บนดิน ในการปลูกเลี้ยง รากดูดอาหารจากดินคล้ายพืชอื่นๆทั่วไปใช้ดินหรือดินผสมเป็นวัสดุปลูก และมักมีหัวอยู่ใต้ดินด้วย ได้แก่ สกุลเอื้องพร้าว (*Phaius*) สกุลเอื้องดินใบหมาก (*Spathoglottis*) สกุลนางอ้ว (*Habenaria*) เป็นต้น

2. กล้วยไม้กึ่งดิน (semi-terrestrial) มีการเจริญเติบโตอยู่บนผิวดิน บริเวณที่มีซากไม้หรือใบไม้ผุ ลำต้นค่อนข้างอวบน้ำ ได้แก่ สกุลรองเท้านารี สกุลกาเราร่อน (*Cymbidium*) เป็นต้น

3. กล้วยไม้กึ่งอากาศ (semi-epiphyte) เป็นพวกที่เจริญได้ดีบนต้นไม้ หรือโขดหิน รากมีขนาดค่อนข้างเล็ก ในการปลูกเลี้ยงต้องใช้วัสดุปลูก ได้แก่ สกุนหวาย บางชนิดของสกุลแคทลียา เป็นต้น

4. กล้วยไม้อากาศ (epiphyte) กล้วยไม้พวกนี้ตามธรรมชาติชอบเกาะตามต้นไม้ ดูดอาหารจากสิ่งผู้พบบนวัสดุปลูกและจากเชื้อราบางชนิดรวมทั้งตามต้นไม้ที่มันเกาะ เจริญเติบโตได้ดีบนต้นไม้ หรือโขดหิน รากมีขนาดใหญ่ และอวบน้ำ บริเวณปลายรากมีสีเขียวสามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ การปลูกเลี้ยงใช้วัสดุปลูกน้อยมาก ถ้ามีความชื้นดี อาจไม่ต้องใช้เครื่องปลูกเลยก็ได้ ได้แก่ สกุลแวนด้า สกุลฟาแลนอปซิส (*Phalaenopsis*) เป็นต้น (ชวลิต ดาบแก้ว , 2542)

กล้วยไม้สกุลหวาย (Dendrobium) เป็นกล้วยไม้สกุลใหญ่ที่สุด มีการแพร่กระจายพันธุ์ออกไปในบริเวณกว้างทั้งในทวีปเอเชียและหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก นักพฤกษศาสตร์ได้จำแนกออกเป็นหมู่ประมาณ 20 หมู่ และรวบรวมกล้วยไม้ชนิดนี้ที่ค้นพบแล้วได้ประมาณ 1,000 ชนิดพันธุ์ กล้วยไม้สกุลหวาย มีลักษณะการเจริญเติบโตแบบซิมโพเดียล คือ มีลำลูกกล้วย เมื่อลำต้นเจริญเติบโตเต็มที่แล้วจะแตกหน่อเป็นลำต้นใหม่และเป็นกอ ใบแข็งแรงสีเขียว ดอกมีลักษณะ

ทั่วไปของกลีบชั้นนอกคู่บนและคู่ล่างขนาดยาวพอๆ กันโดยกลีบชั้นนอกบนจะอยู่อย่างอิสระ
เดี่ยวๆ ส่วนกลีบชั้นนอกคู่ล่างจะมีส่วนโคน ซึ่งมีลักษณะยื่นออกไปทางด้านหลังของส่วนล่างของ
ดอกประสานเชื่อมติดกับฐานหรือสันหลังของเส้าเกสร และส่วนโคนของกลีบชั้นนอกคู่ล่างและ
ส่วนฐานของเส้าเกสรซึ่งประกบกันจะยื่นออกมา มีลักษณะคล้ายเดือยที่เรียกว่า “เดือยดอก”
สำหรับกลีบชั้นในทั้งสองกลีบมีลักษณะต่างๆ กันแล้วแต่ชนิดพันธุ์ของกล้วยไม้

กล้วยไม้ป่าของไทย เป็นกล้วยไม้ที่มีความสวยงามเลี้ยงไว้ดูเล่น และเพื่อการค้นคว้า
สำหรับเป็นแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

กล้วยไม้ต่างประเทศ มีความสำคัญในทางการค้า คือการปลูกเลี้ยงเป็นหวายตัดดอกขาย
เพราะปลูกเลี้ยงง่าย (ชวลิต ดาบแก้ว, 2542)

เอื้องเงินหลวง *Dendrobium formosum* Roxb.

ชื่อพื้นเมือง : เอื้องตึง, เอื้องงุ่ม

สกุล : *Dendrobium*

วงศ์ย่อย : Epidendroideae



ภาพที่ 1 กล้วยไม้เอื้องเงินหลวง

เอื้องเงินหลวง เป็นกล้วยไม้ที่มีลำลูกกล้วยตั้งตรง กลมค่อนข้างอ้วน ความยาวประมาณ
30-50 เซนติเมตร ที่กาบใบมีขนสีดำลักษณะใบรูปไข่ยาวรี ยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร ปลาย
ใบมี 2 แฉกไม่เท่ากัน ออกดอกที่ยอด ช่อดอกสั้น ช่อหนึ่งๆ มี 3-5 ดอก กลีบดอกมีสีขาว ปากสี
เหลืองส้มโคนปากสอบปลายปากเว้า มีสันนูนสองสันจากโคนออกมาถึงกลางปาก ขนาดดอกโต
ประมาณ 10 เซนติเมตร มีกลิ่นหอมอ่อน

ออกดอกเดือนตุลาคมถึงธันวาคม พบทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน
ภาคตะวันตก และภาคใต้

แหล่งที่พบในประเทศไทย ป่าผลัดใบเกือบทุกภาค (อบฉันท์ ไทยทอง, 2543)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถนำเอาชิ้นส่วนต่างๆของพืชมาทำการเพาะเลี้ยงได้ ทำให้ได้พืชที่มีปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น (คำบุญ กาญจนภูมิ , 2544) กล้วยไม้ปานิยมใช้การเพาะเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ เมล็ดงอกได้ดีเมื่อเพาะในอาหารสังเคราะห์ที่มีสภาพเหมาะสม (ส่อง สกน บุญเกิด , 2545) ดังนั้นการผลิตรกล้วยไม้ให้มีปริมาณมากและมีคุณภาพดีเพียงพอกับความต้องการของตลาดจึงเป็นสิ่งจำเป็น

หลักการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

หลักการที่สำคัญของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ ต้องใช้เทคนิคปลอดเชื้อ ตัดเอาชิ้นส่วนของพืชที่สะอาด นำมาเลี้ยงในขวดแก้วที่บรรจุอาหารวิทยาศาสตร์ ซึ่งได้ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว เมื่อเซลล์จากชิ้นส่วนต่างๆ ของพืชที่นำมาเลี้ยงได้รับแร่ธาตุ วิตามิน สารควบคุมการเจริญเติบโต และน้ำตาล จากอาหารวิทยาศาสตร์ ที่ใช้เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ จะมีการเติบโตเป็นต้นโดยตรง หรือเกิดเป็นกลุ่มของเซลล์ที่เรียก “แคลลัส” หรือเกิดเป็นคัพภะที่เรียกว่า “ไซมาติกเอมบริโอ” หรือ “เอมบริอยด์” และเมื่อตัดแบ่งเป็นชิ้นๆ แล้วเปลี่ยนอาหารใหม่บ่อยครั้ง ก็สามารถเพิ่มปริมาณได้ไม่มีที่สิ้นสุด ผลสุดท้ายก็จะได้นต้นที่มีลักษณะเหมือนกันทุกประการเป็นจำนวนมากเหมาะที่จะนำไปขยายพันธุ์ไม้อดอก ไม้ประดับ ผัก ไม้ผล ไม้ปลูกป่า พืชไร่ รวมทั้งพืชสมุนไพรต่างๆ (อรดี สหวัชรินทร์ , 2539)

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ความปลอดเชื้อ (aseptic หรือ sterile condition) การรักษาความสะอาดให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อในทุกขั้นตอนของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นหัวใจสำคัญอันดับแรก อาหารเพาะเลี้ยงต้องทำให้ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ เช่น เชื้อรา หรือแบคทีเรีย ซึ่งมักพบปนเปื้อนบนอาหารตู้ถ่ายเนื้อเยื่อต้องสะอาด การฆ่าเชื้อโดยเปิดแสง อุลตราไวโอเลต(UV) ไว้อย่างน้อย 30 นาที ก่อนทำงานก็สามารถฆ่าเชื้อโรคต่างๆได้ดี ต้องเช็ดฝุ่นและเช็ดความสะอาดภายในตู้ด้วยแอลกอฮอล์ ต้องนึ่งอบฆ่าเชื้อ หรือเผาไฟอุปกรณ์บางอย่างให้ดีก่อนใช้เสมอ ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อพืชควรมีระบบเป่าลมจากด้านหลังมาทางด้านหน้าชิ้นส่วนของพืชบางอย่างสามารถฆ่าเชื้อโรคที่ติดมาด้วยการล้างด้วยแอลกอฮอล์หรือแช่ในสารละลายเคมีบางชนิด เช่น โซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ ด้วยความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสม เพราะสารเคมีดังกล่าวมีอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืชเช่นเดียวกัน เนื้อเยื่อพืชที่อ่อนแอ เช่น ใบ ดอก หรือยอด จะต้องได้รับการปฏิบัติแตกต่างไปจากชิ้นส่วนของพืชที่แข็งแรง เช่น เมล็ด หรือผัก กิ่ง หรือตาที่มีสิ่งห่อหุ้มอาจต้องใช้เวลาในการฟอกล้างฆ่าเชื้อและมักจะยากแก่การทำให้สะอาด

สารเคมีที่หาได้ง่ายและนิยมใช้ในการพอกฆ่าเชื้อ คือ โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (คลอรีนหรือไฮเตอร์) โดยใช้ความเข้มข้นระหว่าง 10-200 % เวลาที่ใช้พอกคือ 15-30 นาที ขึ้นอยู่กับชนิดของชิ้นส่วนของพืช อาจแช่ชิ้นส่วนของพืชบางชนิดในแอลกอฮอล์ก่อนสัก 10-30 วินาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดก่อนนำไปแช่พอกในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ที่ตั้งอยู่บนเครื่องกวนตลอดเวลา การใส่สารสบู่ เช่น Tween 20 หรือ Tween 80 ด้วย 4-5 หยด จะช่วยในการพอกล้างเนื้อเยื่อบางชนิดได้ดีขึ้น หลังจากพอกเสร็จแล้วล้างด้วยน้ำสะอาดที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อล้างสารพอกออกให้หมด ขั้นตอนนี้ต้องทำในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ ภาชนะและอุปกรณ์ทุกชิ้นที่จะใช้ในการนำเนื้อเยื่อลงเลี้ยงในอาหารจะต้องสะอาดปราศจากการปนเปื้อนใดๆ

ห้องเพาะเลี้ยงต้องสะอาด ควรมีการหมุนเวียนของอากาศจากภายนอกเข้าไปภายในน้อยที่สุด เพื่อป้องกันไม่ให้อากาศที่มีเชื้อโรคติดเข้าไป ห้องจึงควรเป็นระบบปิด แต่ต้องมีการหมุนเวียนของอากาศบริสุทธิ์ภายในดี อุณหภูมิต้องเหมาะสม และไม่เปลี่ยนแปลงมาก (อารีย์ วรรณวุฒิก , 2541)

สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อมีหลายสูตร เช่น Vacin and Went(VW), Murashig and Skoog(MS) เป็นต้น นอกจากนั้นยังมีการพัฒนาสูตรอาหารให้เตรียมง่ายโดยใช้ปุ๋ยกล้วยไม้แทนสารเคมีในสูตร VW (จิตรพรพรณ พิลิก, 2536)

รุ่งฤดี สีหะวงษ์ (2538) ศึกษาผลของสูตรอาหารบางชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลที่มีผลต่อการเจริญพัฒนาของต้นกล้วยไม้ป่าสกุล *Dendrobium* 3 สายพันธุ์ ทำการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ป่าสกุล *Dendrobium* 3 สายพันธุ์ ในอาหารสังเคราะห์ที่เติมน้ำตาลความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับ พบว่าต้นอ่อนของ *D.aggregatum* และ *D.primulinum* จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสังเคราะห์ที่เติมน้ำตาลความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นอ่อนของ *D.pieridii* จะเจริญได้ดีที่สุดในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ โดยต้นอ่อนทั้ง 3 สายพันธุ์จะมีน้ำหนักสดเฉลี่ยเพิ่มขึ้น ความสูง ความกว้าง จำนวนรากและหน่อแขนงมากกว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาลระดับอื่น ส่วนสูตรอาหารที่ทำให้ต้นอ่อนของกล้วยไม้ป่า *D.pieridii* มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด คือ MMS ซึ่งจะแตกต่างจากต้นอ่อนของ *D.aggregatum* และ *D.primulinum* ที่เจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหารสูตร MMS ส่วนในอาหารสูตร VW นั้นต้นอ่อนของกล้วยไม้ป่าทั้ง 3 สายพันธุ์จะมีการเติบโตต่ำสุด

บุญยืน กิจวิจารณ์ และ ไพบุลย์ มงคลถาวรชัย (2542) ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์ไถ่โป๊นัง (*Arundina graminifolia* L.) จากส่วนของลำต้นในอาหารดัดแปลงของ Vacian และ Went (1949) โดยเติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ได้รับแสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์เป็นเวลา

16 ซม./วัน อุณหภูมิ 25-28 °C เมื่อตัดส่วนของลำต้นออกเป็นชิ้นขนาดยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร แล้วจึงนำไปเลี้ยงในอาหารวุ้นและอาหารเหลว ชิ้นส่วนของลำต้นนำไปเลี้ยงในอาหารวุ้นได้รับความชื้นแสง 3,000 ลักซ์ เนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนของลำต้นสามารถเจริญไปเป็นต้นได้จำนวนมาก เมื่อแยกแต่ละหน่อออกไปเลี้ยงในอาหารใหม่ก็สามารถเพิ่มจำนวนได้เรื่อยๆ เนื้อเยื่อนำไปเลี้ยงในอาหารใหม่ก็สามารถเพิ่มจำนวนได้เรื่อยๆ เนื้อเยื่อนำไปเลี้ยงบนอาหารเหลวบนเครื่องเขย่า (100รอบ/นาที) ได้รับความชื้นแสง 1,000 ลักซ์ พบว่าเนื้อเยื่อสามารถเจริญมีลักษณะคล้ายโปรโตคอร์มจำนวนมากใน 2-3 สัปดาห์ เมื่อย้ายโปรโตคอร์มไปยังอาหารวุ้นก็จะสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นต้นที่สมบูรณ์ 6-8 สัปดาห์ การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถขยายพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์ยี่โกปีนังได้จำนวนมากและรวดเร็ว

Nguyen Thi Hong Nhat และ Tran Thi Dung (2006) ศึกษาการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายโดยวิธีการตัดลำต้นแบบบางๆ ขนาด 1, 3, 5 มิลลิเมตร ของกล้วยไม้สกุลหวาย 2 สายพันธุ์ คือ D₁₆ และ D₃₆ โดยเลี้ยง บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ NAA ใน 3-4 สัปดาห์ เกิดโปรโตคอร์มเกิดขึ้นทั้งสองสายพันธุ์ เมื่อนำโปรโตคอร์มไปเลี้ยงในอาหารที่เติม BA และ NAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรากฏว่า ต้นที่ทำการตัดขนาด 5 มิลลิเมตร สายพันธุ์ D₃₆ มีการเกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด

สารอินทรีย์ (organic salt)

สารอินทรีย์จากผักหรือผลไม้ที่สำคัญมากคือ น้ำมะพร้าว น้ำส้ม น้ำมะเขือเทศ สารสกัดจากยีสต์ น้ำแอปเปิล กล้วยบด สารเหล่านี้ไม่ควรใช้ในงานวิจัย เนื่องจากไม่ทราบส่วนประกอบแน่นอน (undefined medium) ในระยะที่นำมาใช้ สารอินทรีย์ที่มีในโตรเจนเป็นส่วนประกอบ เช่น กรดอะมิโน ช่วยส่งเสริม การเจริญเติบโต และทำให้เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงพร้อมที่จะเกิดเป็นต้นได้ เช่น เคซีนไฮโดรไลเซต (casein hydrolysate) 0.1 - 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทริปโทน (tryptone) 0.25 - 2.00 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารสกัดจากมอลต์ (malt extrat) 0.5 - 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สารเหล่านี้ประกอบด้วยวิตามินและกรดอะมิโน ส่วนสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) ซึ่งมีวิตามินบีสูงมักใช้ในปริมาณ 0.25 - 2.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

ศิริลักษณ์ เจริญดีและคณะ (2544) ศึกษาการงอกและระยะพัฒนาการของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินหลวงโดยใช้ผักที่มีอายุหลังผสมเกสร ประมาณ 7 เดือน โดยเพาะเมล็ดบนอาหารแข็งดัดแปลงสูตร Vacin and Went(VW) ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำต้มมันฝรั่ง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลทราย 20 กรัมต่อลิตร และกล้วยหอมบด 100 กรัมต่อลิตร พบว่าเมล็ด

สามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่มีใบ 3-4 ใบ และรากอย่างน้อย 1 ราก ภายหลังการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 3 เดือน และมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดคิดเป็น 95.2 เปอร์เซ็นต์

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชมีความสำคัญอย่างมากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชชั้นสูง โดยเฉพาะออกซิน และไซโตไคนิน สามารถกล่าวได้ว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยสารทั้งสองชนิดดังกล่าวที่เติมลงในอาหาร มีผลทำให้เซลล์มีการยืดยาวและมีการแบ่งเซลล์ได้อย่างสมบูรณ์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของชิ้นส่วนพืชและชนิดพืชด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโต (เยาวพา จิระเกียรติกุล , 2546)

1. **ออกซิน** จัดเป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชพวกหนึ่งที่สามารถทำให้เกิดการแบ่งตัว และยืดตัวของเซลล์บริเวณลำต้นของพืช สารออกซินบางชนิดพบว่าเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในพืช แต่ก็มีสารออกซินอีกหลายชนิดที่มนุษย์สังเคราะห์ขึ้นมาได้ (ลออ เสงี่ยมประชา , 2544) แหล่งสังเคราะห์ออกซินในพืช ได้แก่ เนื้อเยื่อเจริญปลายยอด ปลายราก ปลายโคเลอพอไทล์ ใบอ่อน ดอก ผล และคัพภะ ออกซินที่เกิดในธรรมชาติมี 3 ชนิด คือ IAA (Indole-3-acetic acid) หรือ indoleacetic acid พบมากที่สุดตามธรรมชาติ และยังเป็นออกซินสังเคราะห์ที่นิยมใช้มากที่สุด เนื่องจากมีผลเสียต่อการกำเนิดด้วยน้อยกว่าออกซินชนิดอื่น เช่นเมื่อเทียบกับ NAA , 4-chloro-IAA (4-chloro-indoleacetic acid) และ PAA (phenylacetic acid) ส่วนออกซินที่เกิดจากการสังเคราะห์ขึ้น เช่น IBA, NAA และ 2,4-D เป็นต้น เนื่องจาก IAA ถูกทำลายโดยง่ายโดยแสงและเอนไซม์ เพราะฉะนั้นถ้าใช้ IAA ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อควรให้ความเข้มข้นที่สูงเช่น 1-30 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตาม NAA และ IBA พบว่ามีประสิทธิภาพสูงกว่า IAA โดย NAA จะใช้ปริมาณที่น้อยประมาณ 0.1-0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ออกซินที่สร้างบริเวณปลายยอดจะควบคุมการแตกตาข้าง ส่งเสริมหรือชักนำการแบ่งเซลล์ การเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ เพิ่มอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงโดยเพิ่มการสังเคราะห์ mRNA ในนิวเคลียส ซึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสารในกลุ่มออกซิน มีความสามารถในการกระตุ้นการยืดตัวของรากพืช โดยใช้ความเข้มข้นในระดับที่ต่ำมากๆ เพราะถ้าใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้น การยืดยาวจะถูกยับยั้ง ออกซินจะมีผลกระตุ้นให้เกิดรากหรือไม่ ขึ้นอยู่กับสมดุลของฮอร์โมนภายในต้นพืชนั้นๆด้วย (เยาวพา จิระเกียรติกุล , 2546)

2. **ไซโตไคนิน** เป็นสารซึ่งเป็น derivative ของ purine ได้ทดลองการเจริญเติบโตของเอ็มบริโอ ของพืชพวก *Datura* ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อปรากฏว่า เอ็มบริโอนั้นจะไม่มีการเจริญเติบโตเลย แต่หลังจากที่เติมน้ำมะพร้าวลงในสูตรอาหารด้วย เอ็มบริโอมีการเจริญเติบโต และการเจริญของเอ็มบริโอนี้จะไม่เกิดขึ้นถ้าในสูตรอาหารนั้นใส่แต่ออกซิน เช่น IAA เพียงอย่างเดียว (ลออ เสงี่ยมประชา , 2542) แหล่งสังเคราะห์ไซโตไคนินในพืช ได้แก่ บริเวณอวัยวะ

ที่มีอายุน้อย เช่น เมล็ด ใบอ่อน ผล และปลายราก ไซโตไคนินที่พบในธรรมชาติชนิดแรกคือ Zeatin ซึ่งพบจากการสกัดเนื้อเมล็ดข้าวโพด แต่ไม่นิยมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพราะมีราคาแพง และ dihydrozeatin isopentenyl adenine (IPA) ส่วนไซโตไคนินที่เกิดจากการสังเคราะห์ เช่น ไคเนติน (6-furfurylamino purine), TDZ (Thidiazuron), 2iP (N6-Benzyladenine) และ BAP (benzylamino purine) เป็นต้น (เยาวพา จิระเกียรติกุล, 2546) ซึ่งคุณสมบัติของไซโตไคนิน ได้แก่ แรงการแบ่งเซลล์ ช่วยในการเปลี่ยนรูปร่างและหน้าที่ของเซลล์ (ล่อ เล็งประชา, 2542)

3. จิบเบอเรลลิน (gibberellin) ฮอร์โมนพืชกลุ่มนี้มี 60 กว่าชนิด แต่ GA3 เป็นชนิดที่ใช้มากที่สุด จิบเบอเรลลินไม่ค่อยใช้กันมากนักในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช GA มีบทบาทในการชักนำให้ปลั่งยาวขึ้นหลังจากการสร้างยอด ช่วยให้เนื้อเยื่อเจริญมีการเจริญเติบโตและช่วยในการงอกของเมล็ด ไม่ควรฆ่าเชื้อจิบเบอเรลลินด้วยหม้อนึ่งความดัน เพราะจิบเบอเรลลิน ส่วนหนึ่งจะเสื่อมสลายไปเมื่อได้รับความร้อน ควรทำให้ปลอดเชื้อ โดยใช้เครื่องกรองเมมเบรน นอกจากนี้ จิบเบอเรลลินนั้น เคยถูกนำมาใช้ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแต่โดยทั่วไปมีผลปิดกั้นการเกิดอวัยวะ

4. แอ็บซิชิกแอซิด (ABA; abscisic acid) มักยับยั้งการเจริญเติบโต ในสภาพปลอดเชื้อแต่ในบางครั้งพบว่า ABA ส่งเสริมการเจริญของแคลลัส และการเกิด เป็นต้นใหม่ และการเกิด เป็นต้นใหม่ ควรทำให้สารนี้ปลอดเชื้อโดยใช้เครื่องกรองเมมเบรน ABA มีบทบาทเกี่ยวกับการสังเคราะห์ไซโตไคนินและเป็นตัวต่อต้านการทำงานของจิบเบอเรลลิน

5. เอทิลีน (ethylene) อวัยวะพืชแคลลัสหรือเซลล์ในสภาพปลอดแก้วมีการผลิตเอทิลีน จึงไม่ควรปิดหลอดแก้วแน่นเกินไปเพื่อไม่ให้เกิดการสะสมของแก๊สนี้ ผลของเอทิลีนมีทั้งส่งเสริมและยับยั้งการเจริญเติบโต การเลี้ยงเนื้อเยื่อในที่มืด จะมีการสะสมเอทิลีนมากกว่า ในที่มีแสง ถ้ามีมากเกินไปจะทำให้เกิดการจ้ำน้ำของพืชได้ แก๊สนี้ยังเป็นสาเหตุของการแก่ของเนื้อเยื่อพืช

วีรณัฐ คุรุอินทร์และจามจุรี โสติดิกุล(2548) ได้ศึกษาผลของ BA และ NAA ที่มีต่อการพัฒนาของแคลลัสกล้วยไม้ดินหมูกิ่ง โดยเลี้ยงแคลลัสของหมูกิ่งที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร บนอาหารสูตร VW ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1.0, 2.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า BA ที่ระดับ 1.0-5.0 มิลลิกรัมต่อลิตรกระตุ้นให้เกิดแคลลัสตั้งแต่ 14.13-18.04 ยอด/แคลลัส ซึ่งมากกว่า BA ที่ระดับ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และ BA ที่ระดับ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัสมีขนาดใหญ่ที่สุด คือ 1.15 เซนติเมตร ทั้งนี้ทุกกรรมวิธีไม่ทำให้แคลลัสมีความสูงแตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตาม หากเลี้ยงแคลลัสเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยไม่มีการเปลี่ยนย้ายอาหารเลย พบว่าแคลลัสมีอัตราการตายเพิ่มขึ้น โดย BA และ

NAA ที่ระดับ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้แคลลัสมีเปอร์เซ็นต์การรอดสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่นคือ 57 เปอร์เซ็นต์

สุจรรยา เรื่องวีรยุทธและคณะ (2548) ศึกษาผลของการใช้ไซโตไคนินในการชักนำให้เกิดยอดในกล้วยไม้ดิน (*Coelogyne tenasserimensis* Scidenf.) หนวาย *Dendrobium ellipsohyllum* Tang&Wang และแวนด้าเข็มขาว *Vanda lilacina* Teijsm.&Binnend โดยเลี้ยงกล้วยไม้อายุ 1 เดือนในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมไซโตไคนิน 4 ชนิดคือ BA ไคเนติน TDZ และ Zeatin ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 ไมโครโมล สามารถเกิดยอดใหม่เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 7 และ 3.2 ยอดต่อต้นตามลำดับ ส่วนแวนด้าเข็มขาวเกิดยอดใหม่สูงสุดเท่ากับ 4 ยอดต่อต้น เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมล สำหรับการใส่ไคเนติน และ zeatin ที่มีผลต่อการชักนำการเกิดยอดน้อยมาก แต่ TDZ ไม่สามารถชักนำให้มีการสร้างยอด ทั้งนี้เมื่อนำต้นกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิดออกปลูกในโรงเรือนพบว่ากล้วยไม้เอื้องทองมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด รองลงมาคือ เข็มขาว และกล้วยไม้ดิน *Coelogyne* คิดเป็นร้อยละ 100, 85 และ 50 ตามลำดับ

พุทธพงษ์ สร้อยเพชรเกษม และคณะ (2550) ได้ศึกษาผลของ NAA ร่วมกับ BA ต่อการเจริญและพัฒนาของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำก๊วในสภาพปลอดเชื้อ จากการเพาะเมล็ดกล้วยไม้เอื้องคำก๊ว (*Dendrobium signatum* Rchb.f.) ในสภาพปลอดเชื้อบนสูตรอาหารดัดแปลง Vacin and Went (1949) เป็นระยะเวลา 2 เดือน แล้วทำการย้ายต้นอ่อนที่ออกจากเมล็ดลงเลี้ยงบนอาหารสูตรอาหารดัดแปลง Vacin and Went (1949) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต Naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่าต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำก๊วที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนแตกหน่อได้ดีที่สุดคิดเป็น 5.7 หน่อ ในขณะที่อาหารสูตรที่เติม NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าจำนวนใบ (16.50 ใบ) ความสูงของหน่อใหม่ (5.47 เซนติเมตร) และความยาวราก (6.05 เซนติเมตร) เฉลี่ยสูงสุด และจากการย้ายเลี้ยงต้นอ่อนลงปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าต้นอ่อนที่ใช้กาบมะพร้าวสับเป็นวัสดุปลูก มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด คิดเป็น 85 เปอร์เซ็นต์

อรรถพล วิเศษฐานิชย์ และสุรียา ตันติวิวัฒน์ (2552) นำต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องเงินแดงที่มีความสูง 10 มิลลิเมตร มาเลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin and Went (VW) ที่เติม BA หรือ TDZ

ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 10 และ 20 ไมโครโมลาร์ พบว่าการเติม BA ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ ทำการเติบโตของกล้วยไม้เอื้องเงินแดงดีที่สุด

Murdad Rosmah และคณะ(2006) ศึกษาเทคนิคการตัดโปรโตคอร์มเพื่อเพิ่มจำนวนของโปรโตคอร์ม ให้มากขึ้น โดยทำการเลี้ยงโปรโตคอร์มของ *Phalaenopsis gitantea* ในอาหารสูตร XER ที่เติมน้ำมะพร้าวความเข้มข้น 10, 15, 20% และถ่าน 1, 2 และ 2.5 กรัม/ลิตร เปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตสูงที่สุดในอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 15%และถ่าน 2.5 กรัม/ลิตร($56.82 \pm 38.86\%$) ค่าเฉลี่ยของโปรโตคอร์มที่เกิดใหม่ต่อ1โปรโตคอร์มคือ 4.24 ± 2.89 โปรโตคอร์มที่ไม่ได้ทำการตัดที่เลี้ยงบนอาหาร ที่เติมน้ำมะพร้าว 20% ไม่มีถ่าน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโปรโตคอร์มใหม่ที่ $6.93 \pm 6.28\%$ ค่าเฉลี่ยที่เกิดขึ้น ต่อ1โปรโตคอร์มคือ 0.72 ± 0.57

สารอื่นๆที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยง

อะดีนีน(adenine)

การใส่อะดีนีนในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีประโยชน์คือ ช่วยในการผลิตยอดแต่ยังไม่ทราบกลไกการทำงานแน่ชัด

ผงถ่าน (activated charcoal)

มักใช้ในความเข้มข้น 0.1 - 3.0 % ในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ ผงถ่านมี ความสามารถในการดูดซับสารบางตัวออกจากอาหารได้ เนื่องจากผงถ่านมีช่องว่างที่ ละเอียดมาก มีพื้นที่ผิวในช่องว่างสูง จึงใช้ผงถ่านในการดูดซับสารพิษ เช่น สารประกอบฟีนอล (phenol) เอทิลีน ทำให้ปริมาณสารดังกล่าวในอาหารลดลง เช่น การดูดซับฮอร์โมนหรือ สารประกอบฟีนอล ซึ่งเป็นพิษกับเซลล์ นอกจากนี้อาจใช้ผงถ่านในระยะเวลาที่เกิดรากเพื่อลดแสงบริเวณราก และทำให้รากเจริญเติบโตได้ดี ผงถ่านจึงสำคัญต่อการสร้างเป็นต้นใหม่ สารที่มีคุณสมบัติเหมือนกันกับผงถ่าน คือ PVP (polyvinyl pyrrolidone)ก็สามารถดูดซับสารฟีนอลได้หรือการเติมdiethylthiocarbonate(DIECA) จะช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชัน

วุ้น (agar)

เป็นสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ที่ได้จากหญ้าทะเลและสาหร่ายทะเล การใส่วุ้นลงในอาหารต้องใส่ในปริมาณที่พอเหมาะ ถ้าใส่มากเกินไปจะทำให้อาหารแข็ง พืชจะสัมผัสกับอาหารได้น้อยและการดูดสารจะถูกจำกัดลงทำให้พืชมีเจริญเติบโต (Pierik, 1997)

ความเป็นกรดเบส (pH)

มีความสำคัญอย่างมาก เนื่องจากมีผลโดยตรงต่อสภาพทางฟิสิกส์ของอาหารและนำธาตุอาหารไปใช้ของพืช โดยที่ช่วงระดับ pH 5.5-6.5 จะเป็นช่วงที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตของพืชในสภาพปลอดเชื้อ (Arditti and Ernst, 1993) แต่ถ้าระดับ pH ต่ำกว่า 4.5 หรือสูงกว่า 7.0 จะไปยับยั้งการเจริญเติบโต โดยที่ IAA และ GA จะไม่คงรูป รากจะเหี่ยว เกลือโลหะจะตกตะกอน วิตามิน B และ pantothenic acid ไม่อยู่ตัวและยับยั้งการดูดซับแอมโมเนียมไอออน (Pierik, 1997)

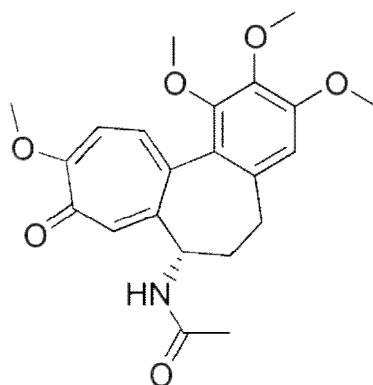
การปรับปรุงพันธุ์โดยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์

การกลายพันธุ์ (mutation) หมายถึง การเปลี่ยนแปลงลักษณะต่างๆ ของสิ่งมีชีวิตที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วกะทันหัน และสามารถถ่ายทอดไปสู่บุตรหลานในรุ่นหลังได้ ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพันธุกรรม (gene mutation) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซม (chromosomal aberration) และการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม (polyploidy) อย่างใดอย่างหนึ่ง หรือหลายอย่างรวมกันก็ได้ วัตถุประสงค์ของการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ ก็เพื่อสร้างลักษณะดีใหม่ๆ ที่ยังไม่เคยพบในสภาพธรรมชาติให้เกิดขึ้นในระยะเวลาอันรวดเร็ว ในการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยการเพิ่มจำนวนของโครโมโซมเป็นโพลีพลอยด์ เนื่องจากพวกอโตะโพลีพลอยด์มักมีขนาดของดอกและเมล็ดใหญ่ขึ้น แต่มีการแตกกิ่งก้านสาขาหรือแตกกอ น้อยลง มีอายุยืนขึ้น และมีจำนวนเมล็ดน้อยลง สำหรับสาเหตุของการเกิดโพลีพลอยด์นั้น โดยทั่วไปเกิดจากการที่โครโมโซมไม่มีการแยกตัวออกจากกัน (non disjunction) ในช่วงแอนาเฟส (anaphase) ของการแบ่งตัวแบบไมโอซิส (meiosis) อันเป็นผลสืบเนื่องมาจากการควบคุมของสารพันธุกรรม นอกจากการเกิดโพลีพลอยด์ในสภาพธรรมชาติแล้ว นักปรับปรุงพันธุ์พืชยังสามารถสร้างพืชโพลีพลอยด์ขึ้นโดยใช้สารโคลชิซิน (colchicine) ในการเพิ่มชุดของจำนวนโครโมโซม

สิ่งที่ใช้ในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagens) มีทั้งรังสี (radiation) และสารเคมี (chemical mutagens) ซึ่งมักจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงในระดับยีน โดยสารเคมีจะเข้าไปจับคู่กับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอ (DNA) ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้

สารโคลชิซินเป็นสารกลุ่มอัลคาลอยด์ ในทางการแพทย์นำมาใช้รักษาโรคเกาต์ ไช้ข้ออักเสบ ส่วนในทางด้านพันธุศาสตร์และการปรับปรุงพันธุ์พืช นำมาใช้ในการเพิ่มชุดโครโมโซม สารโคลชิซินสกัดได้มาจากเมล็ดและหัวของต้นดอกตัง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Colchicum autumnale* เมื่อนำสารนี้ 0.1-2% ไปใช้เพาะเมล็ดหรือใช้ในการจุ่มต้นกล้าของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ก็จะมีผลในการป้องกันการสร้างเส้นใยสปินเดิล (spindle fiber) ในขณะที่พืชทำการแบ่งเซลล์ ทำให้ได้เซลล์พืชที่มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า ซึ่งความสำเร็จของการนำอโตะโพลีพลอยด์มาใช้ประโยชน์นี้

การปรับปรุงพันธุ์พืช เช่นในไม้ดอกไม้ประดับทำให้ได้ขนาดของดอกโตขึ้นรวมทั้งคุณภาพอื่น ๆ ดีขึ้น (บุญหงส์ จงคิด , 2548)



ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของโคลชิซิน

สุพัตรา สวรรธรรม และคณะ (2551) ศึกษาผลของระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับ สารโคลชิซินของโปรโตคอร์มกล้วยไม้เอื้องแซะหอมต่อการเกิดต้นโพลีพลอยด์ในสภาพปลอดเชื้อ โดยเลี้ยงชิ้นส่วนของโปรโตคอร์มบนอาหารกึ่งแข็งสูตร VW (1949) ที่มีสารโคลชิซิน 5 ระดับความเข้มข้นคือ 0.00, 0.025, 0.05, 0.075 และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับระยะเวลาที่แตกต่างกัน 4 ระดับคือ 3, 7, 14 และ 21 วัน พบว่าสารโคลชิซินที่ความเข้มข้น 0.075 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 14 วัน เหมาะสมที่สุด โดยโปรโตคอร์มมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 36.8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตรวจสอบการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมโดยวัดปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Flow cytometer พบว่าสามารถชักนำให้เกิดต้นโพลีพลอยด์ได้ 58.33 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าต้นโพลีพลอยด์ที่ได้มีลักษณะแตกต่างจากต้นดิพลอยด์คือ มีลำต้นและใบขนาดใหญ่กว่า แต่มีความสูงของต้นและความยาวของใบน้อยกว่าต้นดิพลอยด์

Paulo Artur Konzen Xavier de Mello e Silva และคณะ(2543) ศึกษาผลของการกระตุ้นและจำแนกของ *Cattleya intermedia* ต่อการเกิดโพลีพลอยด์ โดยเลี้ยงชิ้นส่วนของโปรโตคอร์มโดยใช้โคลชิซินที่ระดับความเข้มข้น 0.00, 0.05, 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงในระยะเวลา 4 และ 8 วัน จากความเข้มข้นของโคลชิซิน 3 ระดับ พบว่าความเข้มข้น 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้เกิด มิกโซพลอยด์และเตตระพลอยด์

Flow cytometry คือ การตรวจนับหรือวัดลักษณะจำเพาะของ อนุภาค (particle) หรือ เซลล์ (cell) ที่กำลังไหลผ่านลำแสงเป็นแถวเรียงเดียว โดยลักษณะที่สามารถนับหรือวัดได้โดยตรง คือ cell size และ granularity ส่วนลักษณะชนิดอื่น ๆ เช่น surface markers และ intracellular markers จำเป็นจะต้องใช้การย้อมด้วยสี fluorescence หรือ immuno-fluorescence จึงจะสามารถทำการตรวจนับหรือวัดได้ ข้อจำกัดของ อนุภาค (particle) หรือ เซลล์ (cell) ที่จะสามารถใช้ flow cytometer ทำการศึกษาได้ จะต้องเป็น free particles แขนงลอยอยู่ใน fluid เท่านั้น solid tumors หรือ tissues จะต้องถูกทำให้แยกออกเป็นเซลล์ เดี่ยว ๆ ก่อน