บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

เฮลิโคเนีย

เฮลิโคเนีย หรือ ธรรมรักษา อยู่ในลำดับ (order) *Zingiberales* สกุล (genus) *Heliconia* วงศ์ (family) *Heliconiaceae* มีอยู่ประมาณ 200 – 225 ชนิด (species) (Kress, 1994) เฮลิโคเนียมีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปอเมริกาทั้งในอเมริกากลางและอเมริกาใต้ และรวมทั้งหมู่เกาะในแถบแคริบเบียน เฮลิโคเนียส่วนมากพบในเขตร้อนชื้นหรือแฉะ แต่พบบ้างในบริเวณที่มีช่วงแล้ง พบที่ระดับความสูงตั้งแต่ระดับน้ำทะเลไปจนถึง 1,800 ม. เหนือระดับน้ำทะเล แต่เจริญได้สมบูรณ์ที่สุดที่ระดับต่ำกว่า 460 เมตร นอกจากนี้ยังพบเฮลิโคเนียในหมู่เกาะแปซิฟิกใต้ จากหมู่เกาะซามัว ไปจนถึงเกาะซาลาเวซี ซึ่งอยู่กลางหมู่เกาะอินโดนีเซีย (Berry and Kress, 1991)

เฮลิโคเนียส่วนใหญ่มีจำนวนโครโมโซมเป็น 2n = 24 เช่น *H. psittacorum* cv. Andromeda (Lee *et al.*, 1994), Lady Di (Lee *et al.*, 1994; สาวิตรี และ สัดดา, 2541), Tay (Lee *et al.*, 1994) และ *H. bihai* (Anderson, 1984) บางชนิดมีโครโมโซมเป็น 2n = 22 (Cheesman and Larter; Chakravorti, quoted in Anderson, 1984) เช่น *H. metallica* Planchon & Linden ex Hooker และ *H. wagneriana* Petersen cv. Rainbow หรือ 2n = 26 (Venkatasubtan, quoted in Anderson, 1984) *H. psittacorum* cv. Petra, Sassy และ Iris มีจำนวนโครโมโซมเป็น triploid 2n = 3x = 36 (Lee *et al.*, 1994)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ต้น เฮลิโคเนียเป็นพืชยืนต้น (perennial) ลำต้นไม่มีเนื้อไม้ และมีลำต้นใต้ดิน เรียกว่า เหง้า (rhizome) เหง้า 1 เหง้า มีศักยภาพในการสร้างหน่อหรือเหง้าใหม่ได้ 2 หน่อ โดยหน่อใหม่จะแตกตาบนส่วนของเหง้าเดิมขนานกับผิวดิน มีลักษณะคล้ายการแตกกิ่งของต้นไม้ (sympodial growth) ส่วนที่คล้ายลำต้นประกอบด้วยกาบใบ (leaf sheath) ที่ซ้อนทับกัน (overlapping) เรียกว่า ลำต้นเทียม (pseudostem) (เศรษฐพงศ์, 2538b; Berry and Kress, 1991)

ใบ การเรียงตัวของใบบนลำต้นเทียมเป็นแบบสลับตรงข้ามกัน (alternate) ในระนาบเดียวกัน (distichores) แต่ละใบประกอบด้วยส่วนของก้านใบ (petiole) และตัวใบ (blade) รูปแบบการจัดเรียงตัวของใบแบ่งได้เป็น 3 ลักษณะตามลักษณะการเจริญเติบโตของเฮลิโคเนีย ลักษณะแรกคล้ายกล้วย (musoid) มีก้านใบยาวและอยู่ในแนวตั้ง ลักษณะที่สองคล้ายขิง (zingiberoid) มีก้านใบสั้นและใบอยู่ในแนวนอนหรือตั้งฉากกับลำต้นเทียม และลักษณะที่สามคล้ายพุทธรักษา (connoid) มีก้านใบสั้นหรือยาวไม่มากนัก และใบทำมุมป้านกับลำต้น (Berry and Kress, 1991) ลักษณะเหล่านี้ใช้แยกชนิด (species) ของเฮลิโคเนีย ส่วนตัวใบคล้ายใบกล้วย มีขนาด สี ลักษณะปลายใบแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดเฮลิโคเนีย มีฐานใบไม่เท่ากัน (Criley and Broschat, 1992) และมีความสูงต้นแตกต่างกัน

ดอก ช่อดอก (inflorescence) ของเฮลิโคเนียเป็นส่วนที่สะดุดตาที่สุด และมีสีสันสวยงาม ช่อดอกแทงออกกลางลำต้นเทียมและเป็นส่วนสุดท้ายของการเจริญ ช่อดอกอาจตั้ง (upright or erect) หรือห้อย (pendent) ขึ้นกับชนิด (species) เฮลิโคเนีย ช่อดอกประกอบด้วย (1) ก้านช่อดอก (peduncle) เป็นส่วนต่อระหว่างโคนใบสุดท้ายกับโคนกลีบประดับกลีบแรก (2) กลีบประดับหรือกาบรองดอก (inflorescence bract หรือ cincinal bract) เป็นส่วนที่พัฒนามาจากใบ (3) ก้านต่อระหว่างกลีบประดับ (rachis) มีสีและผิวแตกต่างจากกลีบประดับขึ้นกับชนิด (species) ของเฮลิโคเนีย กลีบประดับในช่อดอกมีการจัดเรียงตัวที่แตกต่างกันขึ้นกับชนิดของเฮลิโคเนีย ภายในกลีบประดับมีดอก (flowers) ถึง 50 ดอก ภายในดอกมีทั้งเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน (hermaphrodite) ชั้นของกลีบดอก (perianth) ประกอบด้วยกลีบดอก (petals) อยู่ชั้นใน และกลีบรองดอก (sepals) อยู่ชั้นนอก ชั้นละ 3 กลีบ ส่วนโคนกลีบดอกทั้ง 2 ชั้น เชื่อมกันคล้ายหลอด สีของกลีบดอกแตกต่างกัน (Berry and Kress, 1991) ดอกบานเพียง 1 วัน แล้วหลุดร่วงไป เหลือเพียงส่วนล่างของดอกซึ่งเป็นส่วนของรังไข่ (ovary) ภายในรังไข่มี 3 ช่อง ภายในดอก 1 ดอก มีเกสรตัวผู้ 6 อัน แต่มีเกสรที่สมบูรณ์เพียง 5 อันที่สามารถสร้างละอองเรณู (pollen) ได้ อีกหนึ่งอันเป็นหมันไม่สามารถสร้างละอองเรณูได้ แต่เฮลิโคเนียบางชนิดมีเกสร 6 อันที่สร้างละอองเรณูได้ (Berry and Kress, 1991) ดอกในกลีบประดับมีทั้งร่วงหล่นออกไปและไม่ร่วงเมื่อต้นเฮลิโคเนียโต 1 ต้น มีศักยภาพในการสร้างช่อดอก 1 ช่อ ช่อดอกมีอายุอยู่กับต้นตั้งแต่ 2-3 วัน จนถึง 6 เดือน ขึ้นกับชนิดเฮลิโคเนีย เมื่อช่อดอกหยุดการสร้างดอกและผล จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล แล้วแห้งหรือเน่าไป (เศรษฐพงศ์, 2538b)

การผสมเกสรของเฮลิโคเนีย ส่วนใหญ่อาศัยนก ค้างคาว (Berry and Kress, 1991; Stiles, 1975) แมลง หรือ หนูเล็ก ๆ ที่อาศัยอยู่ภายในช่อดอก (Seifert, quoted in Criley and Broschat, 1992) อาศัยแหล่งน้ำหวานจากดอกเฮลิโคเนีย ซึ่งก่อให้เกิดระบบการปรับปรุงพันธุ์ตามธรรมชาติ

การผสมข้ามของดอกเฮลิโคเนียเกิดจากการช่วยผสมของนกฮัมมิ่งเบิร์ดที่มีปากยาวและหยัก ส่วนการผสมตัวเองของดอกเฮลิโคเนียนั้นเกิดจากการช่วยผสมของนกฮัมมิ่งเบิร์ดที่มีปากสั้นและตรง (Stiles, 1975) ดอกสมบูรณ์เพศของเฮลิโคเนียใช้เวลาบานสั้น ดอกจะเหี่ยว หรือ ร่วงโรยภายใน 24 ชม. ยอดเกสรตัวเมีย (stigma) รับละอองเรณูภายใน 4-5 ชม. หลังดอกบาน (Criley and Broschat, 1992) เฮลิโคเนียบางชนิดดอกไม่บาน ยอดเกสรตัวเมียและอับละอองเรณูถูกปิด และบางครั้งอับละอองเรณูแตกไปก่อนดอกบาน ทำให้ไม่เกิดการผสมบนยอดเกสรตัวเมีย (Skutch, quoted in Criley and Broschat, 1992) จากการศึกษาของ Lee *et al.* (1994) พบว่า *H. psittacorum* L.f. cv. Tay, Andromeda และ Lady Di ไม่เป็นหมัน มีการสร้างละอองเรณูปกติ ขนาดของละอองเรณูสม่ำเสมอและปกติ อัตราการสร้างผลต่ำคือ 2.8-4.7% เนื่องมาจากการงอกของละอองเรณูบนยอดเกสรตัวเมียไม่สมบูรณ์ ส่วน *H. psittacorum* L.f. cv. Petra, Iris และ Sassy นั้นเป็นหมันอย่างสมบูรณ์

ผล ผลแก่มีลักษณะเป็นผลประเภท drupe คล้ายผลท้อ ภายในผลมีเมล็ด 1-3 เมล็ด ผลมีเนื้อนุ่ม แต่มีชั้นหุ้มเมล็ดที่แข็ง เฮลิโคเนียบางชนิดมีผลสีน้ำเงิน (blue) ขนาดของผลยาวไม่เกิน 2 ซม. บางชนิดมีผลสีแดงจนถึงสีส้ม (Berry and Kress, 1991) และพบว่าภายในผลของพันธุ์ Andromeda มีจำนวนเมล็ดที่เกิดขึ้นในผลแตกต่างกัน คือ ผลที่มีจำนวนเมล็ด 1 เมล็ด/ผล มีอยู่ 75.7% ผลที่มีจำนวนเมล็ด 2 เมล็ด/ผลมีอยู่ 18.7% และ ผลที่มีจำนวนเมล็ด 3 เมล็ด/ผล มี 5.6% (Lee *et al.*, 1994)

ลักษณะทางสรีรวิทยา

การแตกกอ ลักษณะการแตกกอของเฮลิโคเนียมี 2 ลักษณะ คือ ลักษณะแรก กอกระชับและขยายวงช้า (clumping) เนื่องจากหน่อใหม่เกิดขึ้นชิดโคนต้นเก่า และลักษณะที่สอง กอโปร่งและขยายเป็นวงกว้าง (spreading) เนื่องจากหน่อใหม่เกิดห่างจากต้นเดิม ลักษณะการแตกกอนั้นใช้แยกความแตกต่างของชนิด (species) เฮลิโคเนียได้ (Criley and Broschat, 1992)

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมภายนอกมีผลต่อการเจริญเติบโตของเฮลิโคเนีย ได้แก่ แสง อุณหภูมิ ความชื้น และสารเคมีบางชนิด เป็นต้น ซึ่งส่งผลถึงผลผลิตดอกเฮลิโคเนีย (Broschat and Donselman, 1983; 1984)

แสง มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตของ *H. psittacorum* cv. Andromeda ในปีแรกของการปลูกภายใต้สภาพแสงที่ต่างกันในทางตอนใต้ของรัฐฟลอริด้า (ไม่มีข้อมูลความเข้มแสง) ผลปรากฏว่า ต้นที่ปลูกกลางแจ้ง ให้ผลผลิตดอกเฉลี่ย 130 ดอก/ตร.ม./ปี ปีที่ 2 ของการปลูก

ให้ผลผลิตดอกเฉลี่ย 160 ดอก/ตร.ม./ปี ส่วนพวกที่ปลูกภายใต้สภาพที่พรางแสง 63% ให้ผลผลิตดอกน้อยกว่า คือ ในปีที่ 1 ให้ผลผลิตเฉลี่ย 35 ดอก/ต.ร.ม./ปี ปีที่ 2 ให้ผลผลิตดอกเฉลี่ย 65 ดอก/ตร.ม./ปี เช่นเดียวกันกับ *H. psittacorum* L.f. x *H. spathocircinata* Aristeguieta cv. Golden Torch เมื่อปลูกภายใต้สภาพแสงแดดเต็มที่ (ไม่ปรากฏข้อมูลความเข้มแสง) เป็นเวลาหนึ่งปีครึ่ง ให้ผลผลิตดอกเฉลี่ย 84 ดอก/ตร.ม./ปี แต่เมื่อปลูกภายใต้สภาพที่พรางแสง 63% ทำให้ผลผลิตดอกเฉลี่ยลดลงเหลือ 40 ดอก/ตร.ม./ปี สำหรับ *H. psittacorum* L.f. cv. Andromeda หลังจากปลูกในที่มีการพรางแสงต่างกัน มีผลทำให้ความยาวช่อดอก และความสูงต้น มีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ต้นที่เจริญภายใต้สภาพแสงแดดเต็มที่ มีช่อดอกยาวเฉลี่ย 39.8 ซม. ยาวกว่าต้นที่เจริญภายใต้สภาพที่พรางแสง 63% คือ 32.2 ซม. แต่มีความสูงต้นไม่แตกต่างจากต้นที่เจริญภายใต้สภาพที่พรางแสง 63% (Broschat and Donselman, 1984)

การศึกษาของ Catley and Brooking (1996) พบว่า *H. psittacorum* L.f. x *H. spathocircinata* Aristeguieta cv. Golden Torch ที่ปลูกสภาพความเข้มแสง 710 $\mu mol/m^2/s$ ให้จำนวนหน่อใหม่ 10.1 หน่อ/ต้น สูงกว่าเฮลิโคเนียที่ปลูกในสภาพความเข้มแสง 475 $\mu mol/m^2/s$ (8.3 หน่อ/ต้น) Lekawatana (1995) ได้ศึกษาสภาพความเข้มแสงระดับต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ *H. stricta* cv. Dwarf Jamaican 19 สัปดาห์ พบว่าความเข้มแสง 262.6, 591.9 และ 1,476.2 $\mu mol/m^2/s$ มีผลต่อระยะการเจริญทางลำต้นและใบแตกต่างกัน ส่วนการออกดอกและการมีดอกฝ่อนั้นมีผลต่างกันเพียงเล็กน้อย ต้นที่เจริญภายใต้สภาพความเข้มแสง 262.6 $\mu mol/m^2/s$ ให้ผลผลิตดอก 84.2% สูงกว่าต้นที่เจริญภายใต้สภาพความเข้มแสง 591.9 และ 1,476.2 $\mu mol/m^2/s$ เพียงเล็กน้อย คือ 77.4% และ 78.9% ตามลำดับ ต้นที่เจริญภายใต้สภาพความเข้มแสง 262.6 $\mu mol/m^2/s$ มีดอกฝ่อ 10.5% ต่ำกว่า ต้นที่เจริญภายใต้สภาพความเข้มแสง 591.9 $\mu mol/m^2/s$ และ 1,476.2 $\mu mol/m^2/s$ ซึ่งมีดอกฝ่อ 16.1% และ 15.8% ตามลำดับ แต่ระดับความเข้มแสงที่ต่างกันไม่ทำให้อายุดอกบาน จำนวนใบที่ให้ดอก และจำนวนกลีบประดับภายในช่อดอกของ *H. stricta* cv. Dwarf Jamaican แตกต่างกัน ในทางตรงกันข้ามความเข้มแสงกลับมีอิทธิพลต่อความสูงต้น และความยาวช่อดอกแตกต่างกันทางสถิติคือ ต้นที่เจริญภายใต้สภาพความเข้มแสง 262.6 และ 591.9 $\mu mol/m^2/s$ มีความสูงต้นเฉลี่ย 54.9 และ 51.4 ซม. ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าต้นที่เจริญภายใต้สภาพความเข้มแสง 1,476.2 $\mu mol/m^2/s$ มีความสูงเฉลี่ย 44.5 ซ.ม. ช่อดอกของต้นที่เจริญภายใต้สภาพความเข้มแสง 262.6 $\mu mol/m^2/s$ มีความยาวเฉลี่ย 35 ซม. ซึ่งยาวกว่าช่อดอกของต้นที่เจริญภายใต้สภาพความเข้มแสง 591.9 และ 1,476.2 $\mu mol/m^2/s$ คือ 31.9 และ 28.3 ซม. ตามลำดับ

ช่วงแสงวันสั้น มีอิทธิพลต่อการออกดอกของ *H. stricta* cv. Dwarf Jamaican จากการให้ช่วงแสงวันสั้น 8 ชม./วัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับการให้ช่วงแสงปกติ 13.2-13.7

ชม./วัน ผลปรากฏว่า ต้นที่เจริญภายใต้ช่วงแสงวันสั้นให้ผลผลิตดอก 130 ดอก เฉลี่ย 4.6 ดอก/กระถาง ซึ่งมากกว่าต้นที่เจริญภายใต้ช่วงแสงปกติที่ให้ผลผลิตดอก 49 ดอก เฉลี่ย 1.4 ดอก/กระถาง และในช่วงสัปดาห์ที่ 11-14 หลังจากให้ช่วงแสงวันสั้นนั้น ต้นที่เจริญภายใต้ช่วงแสงวันสั้นให้ผลผลิตดอกมากถึง 81% ของทั้งหมดสูงกว่าต้นที่เจริญภายใต้ช่วงแสงปกติซึ่งให้ดอก 30% ในเวลาเดียวกัน เมื่อผ่าต้นพิสูจน์ ต้นที่เจริญภายใต้ช่วงแสงวันสั้นไม่มีดอกฝ่อ แต่ต้นที่เจริญภายใต้แสงปกติมีดอกฝ่อ การให้ช่วงแสงวันสั้นเป็นเวลา 3-4 สัปดาห์พอเพียงต่อการกระตุ้นให้เกิดการออกดอก แต่ถ้าให้ช่วงแสงวันสั้น 28 สัปดาห์ทำให้ดอกไม่ดก (Criley and Kawabata, 1986) การศึกษาของ Geertsen (1990) ใน *H. aurantiaca* โดยให้ช่วงแสง 8, 12 และ 16 ชม./วัน พบว่าต้นที่เจริญภายใต้แสงวันสั้น 8 ชม./วัน ออกดอกเพิ่มและเร็วมากขึ้น ในขณะที่มีจำนวนใบเพียง 2-3 ใบ นอกจากนั้นยังให้ผลผลิตดอกสูงที่สุด คือ 62% แต่ให้ช่อดอกสั้นกว่าต้นที่เจริญภายใต้ช่วงแสง 16 ชม./วัน และยังพบว่าช่วงแสงไม่มีอิทธิพลต่อจำนวนการแตกหน่อ

ระยะเวลาของการให้ช่วงแสงวันสั้นกับ *H. stricta* cv. Dwarf Jamaican ทำให้ความยาวช่อดอกและจำนวนกลีบประดับแตกต่างกัน ต้นที่เจริญภายใต้ช่วงแสงวันสั้น 8 ชม./วัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์ มีความยาวช่อดอกเฉลี่ย 18.7 ซม. ยาวกว่า ต้นที่เจริญภายใต้ช่วงแสงวันสั้น 8 ชม./วัน 3 และ 4 สัปดาห์ คือ มีความยาวช่อดอกเฉลี่ย 16.3 และ 17.8 ซม. ตามลำดับ แต่ระยะเวลาของการให้ช่วงแสงวันสั้นไม่มีผลต่อความสูงต้น จำนวนใบที่ให้ดอก และอายุดอกบาน จากการให้ช่วงแสงวันยาวแล้วให้ช่วงแสงวันสั้นกับ *H. stricta* cv. Dwarf Jamaican เป็นเวลาต่างกัน แล้วย้อนกลับไปให้ช่วงแสงวันยาวอีกครั้ง ผลปรากฏว่า ต้นที่เจริญภายใต้ช่วงแสงวันยาวแล้วเปลี่ยนมาให้ช่วงวันสั้น 6 สัปดาห์ และให้ช่วงแสงวันยาวอีกครั้งจะทำให้ได้ผลผลิตดอกมากที่สุดคือ 4 ดอก/กระถาง (Criley and Kawabata, 1986)

อุณหภูมิ มีผลต่อการเจริญเติบโตกับเฮลิโคเนีย อุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้อัตราการเจริญเติบโตทั้งหมดเพิ่มมากขึ้นมีผลทำให้การผลิตดอกเพิ่มขึ้นด้วย แต่ไม่มีรายงานใดระบุว่าการเพิ่มอุณหภูมิมีผลต่อการชักนำการออกดอกของเฮลิโคเนีย เช่น *H. psittacorum* L.f. และ *H. aurantiaca* (Geertsen, 1990)

จากการศึกษาใน *H. aurantiaca* ที่เจริญภายใต้อุณหภูมิ 15, 18 และ 21^{o}ซ เป็นเวลา 6 เดือน ผลปรากฏว่า ต้นที่เจริญภายใต้อุณหภูมิ 15^{o}ซ ให้หน่อใหม่เฉลี่ย 48 หน่อ จากหน่อเริ่มต้น 3 หน่อ ต่ำกว่าต้นที่เจริญภายใต้อุณหภูมิ 18 หรือ 21^{o}ซ ซึ่งให้หน่อใหม่เฉลี่ย 98 หน่อ ต้นที่เจริญภายใต้อุณหภูมิ 15^{o}ซ ให้ผลผลิตดอกน้อยกว่า 40% ส่วนต้นที่เจริญภายใต้อุณหภูมิ 21^{o}ซ ให้ผลผลิตดอกถึง 60% ต้นที่เจริญภายใต้อุณหภูมิ 21^{o}ซ มีการพัฒนาสร้างดอกได้มากกว่าต้นที่เจริญภายใต้อุณหภูมิ 15 ^{o}ซ ซึ่งมีใบ 7.5 ใบจึงให้ดอก ส่วนต้นที่เจริญภายใต้อุณหภูมิ 21^{o}ซ มี 10 ใบจึงให้ดอก ส่วนความ

สูงต้นเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น ต้นที่เจริญภายใต้อุณหภูมิ 15°ซ สูงเฉลี่ย 55 ซม. แต่ต้นที่เจริญภายใต้อุณหภูมิ 21°ซ มีความสูงเฉลี่ย 95 ซม. (Geertsen, 1990) เช่นเดียวกับพันธุ์ Golden Torch ให้จำนวนใบมากกว่า และออกดอกเร็วกว่าในสภาพอุณหภูมิสูงกว่า แต่อุณหภูมิไม่มีผลต่อการเกิดหน่อ (Catley and Brooking, 1996) จากการศึกษาของเศรษฐพงศ์ (2538a) พบว่าอุณหภูมิ 15, 20 และ 25°ซ มีผลต่อการออกดอกของ *H. strica* cv. Dwarf Jamaican แตกต่างกัน แต่ไม่มีผลต่อการฝ่อของดอก ที่อุณหภูมิ 15°ซ ทำให้ต้นเฮลิโคเนียพันธุ์นี้ออกดอกเพิ่มขึ้นเป็น 58% และที่อุณหภูมิ 25°ซ ทำให้เฮลิโคเนียพันธุ์นี้ออกดอกลดลง 17% ในทางตรงกันข้ามอุณหภูมิ 15 ทำให้ต้นที่อยู่ในระยะการ เจริญทางลำต้นและใบ (vegetative phase) มีอยู่ 22% เมื่ออุณหภูมิเพิ่มเป็น 25°ซ ทำให้ต้นที่อยู่ในระยะการเจริญทางลำต้นและใบ เพิ่มขึ้นเป็น 69% นอกจากอุณหภูมิจะมีผลต่อการออกดอกและการเจริญเติบโตแล้ว จำนวนใบเริ่มต้นก่อนให้อุณหภูมิก็มีผลต่อการเจริญเติบโตเช่นกัน ต้นที่มีใบเริ่มต้น 3 ใบ ก่อนให้อุณหภูมิ ทำให้เปอร์เซ็นต์ต้นที่มีระยะการเจริญทางลำต้นและใบ และผลผลิตดอกสูงสุด คือ 62% และ 60% ตามลำดับ ในขณะที่ต้นที่มีใบเริ่มต้น 2 และ 1 ใบ ให้ผลผลิตดอก 30% และ 17% ตามลำดับ

การให้ช่วงแสงและอุณหภูมิร่วมกันมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเฮลิโคเนีย Lekawatana (1995) ศึกษาการออกดอกและการฝ่อของดอก โดยการให้ช่วงแสงวันสั้น 8 ชม./วัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ กับ *H. stricta* cv. Dwarf Jamaican จากนั้นให้เฮลิโคเนียเจริญในห้องควบคุมแสงและอุณหภูมิ ที่ให้สภาพวันยาว 14 ชม./วัน ในอุณหภูมิเฉลี่ยที่ต่างกัน คือ 18, 21, 24 และ 28°ซ พบว่าในช่วงสัปดาห์ที่ 4-11 ต้นที่เจริญภายใต้อุณหภูมิ 18°ซ มีเปอร์เซ็นต์การออกดอก 55.2% ในขณะที่ต้นที่เจริญในสภาพอุณหภูมิ 28°ซ มีเปอร์เซ็นต์การออกดอกเป็น 30.8% และเปอร์เซ็นต์ ดอกฝ่อเพิ่มสูงขึ้นจาก 0% เป็น 19.2% ดอกฝ่อสามารถสังเกตเห็นได้ในสัปดาห์ที่ 6 หลังจากเริ่มให้ช่วงแสงวันสั้น หลังจากให้ช่วงแสงวันสั้น 1-4 สัปดาห์กับเฮลิโคเนียพันธุ์นี้เกิดการสร้างดอกแรก ต้นที่เจริญภายใต้อุณหภูมิ 24 และ 28°ซ เกิดดอกฝ่อขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 ในขณะต้นที่เจริญที่อุณหภูมิ 21°ซ เกิดการฝ่อของดอกในสัปดาห์ที่ 7 ในสัปดาห์ที่ 20 ต้นที่เจริญที่อุณหภูมิ 18°ซ ให้ผลผลิตดอกสูงสุดคือ 61.5% ขณะที่ต้นที่เจริญภายใต้อุณหภูมิ 21, 24 และ 28°ซ ให้ดอก 50, 33.3 และ 27.3% ตามลำดับ อุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้ตาดอกฝ่อเพิ่มมากขึ้น คือที่อุณหภูมิ 18°ซ ดอกฝ่อ 7.7% ที่อุณหภูมิ 28°ซ ดอกฝ่อเพิ่มขึ้นเป็น 27% ต้นที่เจริญภายใต้อุณหภูมิ 18 และ 21°ซ ออกดอกโดยเฉลี่ยในเวลา 18 สัปดาห์ ซึ่งช้ากว่าต้นที่เจริญภายใต้อุณหภูมิ 24 และ 28°ซ 1 สัปดาห์

ความชื้น เฮลิโคเนียเป็นพืชที่ชอบน้ำมาก แต่ดินปลูกต้องระบายน้ำได้ดี เพราะปริมาณน้ำมีผลต่อคุณภาพ สี และ ขนาดของช่อดอก ถ้าต้นได้รับน้ำไม่สม่ำเสมอ ช่อดอกจะมีขนาดเล็กลง สีสัน

ไม่สดใส และยังทำให้อายุการปักแจกันสั้นลง อาการขาดน้ำของต้นเฮลิโคเนียสังเกตได้ จากใบที่ห่อม้วนในเวลากลางวัน (วชิรพงศ์, 2538)

ธาตุอาหารพืช เฮลิโคเนียหลายชนิดมักมีปัญหาขาดธาตุไนโตรเจน ทำให้ใบอ่อนมีสีเขียวเหลือง และอัตราการเจริญเติบโตลดลง ในสภาพดินเป็นด่างจะมีอาการขาดธาตุเหล็กและแมงกานีส การขาดธาตุเหล็กเกิดได้ในสภาพดินแน่น หรือรากเน่า ซึ่งทำให้ใบอ่อนมีสีเหลือง ส่วนอาการขาดธาตุแมงกานีส จะเกิดขึ้นในใบอ่อนเช่นกัน แต่จะมีสีเหลืองระหว่างเส้นใบ (เศรษฐพงศ์, 2538b) เฮลิโคเนียตอบสนองต่อปุ๋ยดีมาก จากการศึกษาของ Broschat and Donselman (1984)พบว่า การให้ปุ๋ยสลายตัวช้าในสัดส่วน N:P:K เท่ากับ 3:1:2 กับ *H. psittacorum* L.f. ในอัตรา 650 ก./ตร.ม./ปี จะให้ผลผลิตดอกและหน่อสูงสุด

สารเคมีบางชนิด Broschat and Svenson (1994) ได้ศึกษาการเจริญเติบโตของ *H. caribae* เมื่อได้รับอิทธิพลจากสารเคมี 2-(3,4-dichlorophenoxy) triethylamine (DCPTA) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ประเภท tertiary amine bioregulator โดยการแช่เหง้าเฮลิโคเนียชนิดนี้ด้วยสาร DCPTA 30 μM/L ทำให้ได้หน่อใหม่จำนวน 23.2 หน่อ มากกว่าต้นที่ไม่ได้แช่ คือ เกิดหน่อใหม่จำนวน 16.9 หน่อ ส่วนต้นที่แช่ใบด้วยสาร DCPTA ให้จำนวนหน่อใหม่ใกล้เคียงกับการแช่เหง้า คือ 22.4 หน่อ ส่วนผลผลิตดอกนั้นไม่แตกต่างกัน นอกจากการใช้สาร DCPTA เพียงอย่างเดียวกับเฮลิโคเนียแล้วยังมีการใช้สาร DCPTA ร่วมกับความเข้มแสงใน *H. stricta* cv. Dwarf Jamaican โดยการพรางแสง 50% และ ไม่มีการพรางแสง (2,200 μmol/m^2/s) นาน 12 เดือน ผลปรากฏว่า ต้นที่เจริญภายใต้แสง 50% เมื่อแช่เหง้าหรือฉีดพ่นสาร DCPTA มีความสูงต้นเฉลี่ยและจำนวนหน่อใหม่เฉลี่ย 31.9 หน่อ/กระถาง มากกว่าต้นที่ไม่มีการใช้สาร การฉีดพ่นสาร DCPTA ที่เหง้า ให้หน่อใหม่เฉลี่ย 32.3 หน่อ/กระถาง มีความสูงต้นเฉลี่ย 66.2 ซม. ส่วนต้นที่ไม่มีการใช้สาร ให้จำนวนหน่อใหม่เฉลี่ย 23 หน่อ/กระถาง ความสูง 52.1 ซม. การใช้สารและไม่ใช้สาร DCPTA ไม่มีผลต่อผลผลิตดอก ส่วนต้นที่เจริญภายใต้แสงเต็มที่ ต้นที่แช่เหง้าและการฉีดพ่นด้วยสาร DCPTA ให้จำนวนหน่อใหม่และความสูงไม่แตกต่างกัน แต่เหง้าที่แช่ด้วยสาร DCPTA ให้จำนวนดอกเฉลี่ย 15 ดอก/กระถาง มากกว่า ต้นที่ฉีดพ่นด้วย DCPTA (8 ดอก/กระถาง) และต้นที่ไม่ได้ให้ DCPTA (7.3 ดอก/กระถาง)

สารพาโคลบิลทราโซล (paclobutrazol) มีผลทำให้ *H. psittacorum* L.f. x *H. spathocircinata* Aristeguieta cv. Golden Torch มีความสูงต้นลดลงตามปริมาณสารที่ให้ต่อกระถางที่เพิ่มขึ้น (ภาสกร, 2532; วชิรพงศ์, 2536) และยังพบว่าทำให้ขนาดกับก้านใบเล็กลงด้วย (ภาสกร, 2532) ในขณะที่การใช้สารมาเลอิกไฮดราไซด์ (maleic hydrazide) ร่วมกับสารพาโคลบิลทราโซลทำให้ความยาวใบและก้านใบสั้นลง (วชิรพงศ์, 2536)

วิทยาการหลังเก็บเกี่ยว การใช้เฮลิโคเนียเป็นไม้ตัดดอกนั้นมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน แต่มักพบปัญหาในช่วงหลังการเก็บเกี่ยวซึ่งมีการศึกษาน้อยมาก วิทยาการหลังเก็บเกี่ยวเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่ออายุการปักแจกัน ได้แก่ การสูญเสียการดูดน้ำของช่อดอก และการสูญเสียน้ำของกลีบประดับ (Losel and Rober, 1995) การนำดอกเฮลิโคเนียอบไอน้ำนาน 2-3 ชม. จะทำลายโรคและแมลงที่อยู่ในดอกได้ เป็นการเพิ่มอายุการปักแจกันอีกด้วย (Hansen *et al.*, 1992) การแช่ช่อดอกในน้ำก่อนขนส่ง และการเคลือบไข (wax) มีแนวโน้มที่สามารถยืดอายุการปักแจกันให้ยาวนานขึ้น นอกจากนั้นการใช้น้ำประปา หรือน้ำกรอง ไม่มีผลต่อการยืดอายุปักแจกัน (Losel and Rober, 1995)

การขยายพันธุ์ เฮลิโคเนียสามารถขยายพันธุ์ด้วยหลายวิธี ได้แก่ การเพาะเมล็ด การแยกกอ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเมล็ด ทำโดยนำเมล็ดที่สุกกำจัดส่วนที่เป็นเนื้อออก (เศรษฐพงศ์, 2538b) หรือทำความสะอาดผิวเปลือกด้วย โซเดียมไฮโปคลอไรด์ 1% แช่เมล็ดนาน 2-3 นาที (Criley, 1996b) เมล็ดเฮลิโคเนียบางชนิดเปลือกแข็งควรนำไปแช่น้ำก่อนเพาะ และควรแช่สารเคมีป้องกันเชื้อรา (วชิรพงศ์, 2538) เพาะในกระบะลึกเท่ากับความหนาเมล็ด หรืออาจเพาะในถุงพลาสติกที่มีทรายและขุยมะพร้าวในอัตราส่วน 1:1 เป็นวัสดุปลูก ควรให้วัสดุเพาะชื้นอยู่เสมอ เมล็ดเฮลิโคเนียใช้เวลางอกตั้งแต่ 3 เดือน ถึง 3 ปี (Carle, quoted in Criley, 1996a) สามารถทดสอบความมีชีวิตของเมล็ดเฮลิโคเนีย โดยใช้ 2,3,5-triphenyl-2Hh-tetrazolium chloride (Criley, 1996a)

การแยกกอ โดยการแยกกอออกเป็นส่วน ๆให้มีลำต้นเทียมติดเหง้าอยู่ 1-2 ต้น (Broschat and Donselman, 1983) ตัดลำต้นให้เหลือเพียง 15-30 ซม. วัดจากเหง้า ตัดราก ตัดต้นเทียมและใบที่ตายออก จุ่มหรือคลุกในยาฆ่าเชื้อรา นำไปชำใส่ถุงพลาสติกที่ใส่วัสดุปลูกเพาะชำซึ่งระบายน้ำได้ดี เช่น ทรายผสมขุยมะพร้าวหรือดินผสม ชำในที่ร่มรำไร ประมาณ 4-6 สัปดาห์ รากและหน่อใหม่จะเริ่มงอก (เศรษฐพงศ์, 2538b) สามารถลดการพักตัวของการแตกหน่อใหม่ได้โดยเอาปลายยอดของต้นเทียมแช่ลงในสารไซโตไคนิน (cytokinin) (Criley, 1996b)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จะได้ต้นที่ปราศจากเชื้อโรค เช่น *Ralstonia solanacearum* และได้หน่อจำนวนมาก ขึ้นกับชนิดเฮลิโคเนีย เมื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฮลิโคเนีย *H. psittacorum* L.f. 4 พันธุ์ คือ พันธุ์ Golden Torch, Orange, Andromeda และ Sassy โดยใช้ตาที่ปลายยอดและตาตามซอกกาบใบ (terminal and axillary bud) ของเหง้าบนสูตรอาหาร Murashige and Skoog (MS) ที่ดัดแปลงและเติม BA 40 µM น้ำมะพร้าว 150 มล./ล., sucrose 30 ก./ล. และ gelrite 2 ก./ล. แล้วนำมาเพิ่มจำนวนยอด (shoot) โดยใช้อาหารสูตร MS ที่มี BA 10 µM/L ไม่มีน้ำมะพร้าว และชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร MS ธรรมดา ใช้เวลาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 4-5 เดือน มีอัตราการเพิ่มของหน่อเป็น 5

เท่าของการขยายพันธุ์โดยการแยกกอ (Nathan *et al.*, 1992) ได้มีการพัฒนานำ *H. psittacorum* cv. Choconiana มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D 40-80 μM ชักนำให้เกิดการสร้างแคลลัส (Goh *et al.*, 1995a) เมื่อลดความเข้มข้น 2,4-D ในอาหารเป็น 40 μM และเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 6 สัปดาห์ สามารถรักษาศักยภาพการเกิดเป็นแคลลัส (regenerate callus) ได้เป็นระยะเวลายาวนาน ถึง 18 เดือน (Nathan *et al.*, 1993) และชักนำแคลลัสบนอาหารสูตร MS ธรรมดา ที่ไม่มี 2,4-D เนื้อเยื่อสามารถสร้าง potocorm ซึ่งจะพัฒนาไปเป็นต้น และสามารถปลูกในสภาพแปลงได้ (Goh *et al.*, 1995a; Nathan *et al.*, 1993)

ชีวโมเลกุล (Molecular Biology)

การศึกษาลักษณะประจำพันธุ์พืชนอกจากจะศึกษาทางสัณฐานวิทยา และสรีรวิทยาแล้วยังสามารถศึกษาลักษณะทางด้านชีวโมเลกุล ได้แก่ กรดนิวคลีอิก (nucleic acid), ไอโซไซม์ (isoenzyme) และโปรตีนชนิดต่าง ๆ โดยอาศัยเทคนิคอิเลคโตรโฟรีซิส (electrophoresis) ช่วยในการแยกสารชีวโมเลกุลที่ต้องการวิเคราะห์

โปรตีนเป็นสารชีวโมเลกุลที่มีความสำคัญและมีมากที่สุดในสิ่งมีชีวิต เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างพื้นฐานและการทำงานหลักของเซลล์ มีโครงสร้างเป็นโพลีเมอร์สายยาว มีหน่วยย่อยเป็นกรดอมิโน 20 ชนิด โมเลกุลโปรตีนประกอบด้วยอมิโนประมาณ 50 ถึง 2,500 หน่วย ขึ้นกับชนิดโปรตีน (ดาวัลย์, 2531)

คุณสมบัติของโปรตีน

เป็นswitterion คือ amino acid เกิดการแตกตัวของ carboxyl group และ amino group ทำให้ amino acid มีประจุบวกหรือลบ จึงทำหน้าที่เป็นได้ทั้งกรดและด่าง จากคุณสมบัติดังกล่าวจึงทำให้แยกสารได้ ฉะนั้นสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในเทคนิคอิเลคโตรโฟรีซิส (electrophoresis) วิเคราะห์ทางด้านชีวเคมีได้ (Dunn, 1993)

อิเลคโตรโฟรีซีส (electrophoresis)

อิเลคโตรโฟรีซิส เป็นวิธีการใช้กระแสไฟฟ้าไปแยกเอาสารประกอบต่าง ๆ ในสารละลายออกจากกัน โดยอาศัยหลักการที่ว่าโมเลกุลของสารเหล่านี้เคลื่อนที่ไปในสนามไฟฟ้าที่มีความต่างศักย์ โดยการเคลื่อนที่ดังกล่าวของโมเลกุลจะแตกต่างกันไปขึ้นกับคุณสมบัติของโมเลกุลนั้น ๆ เช่น ประจุ รูปร่าง ขนาด เป็นต้น อาศัยหลักการเหล่านี้ พร้อมกับตัวกลางชนิดต่าง ๆ สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการแยกวิเคราะห์ ทำให้บริสุทธิ์ของสารประกอบต่าง ๆ ที่เราจะทำการศึกษาค้นคว้าได้ เช่น โปรตีน น้ำตาล นิวคลีโอไทด์ (สุรศักดิ์ และ รสนา, มปป)

Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)

เป็นเทคนิคที่มีตัวกลางค้ำจุนเป็น polyacrylamide gel ซึ่งเฉื่อยต่อสารเคมีในระหว่างเกิดกระบวนการแยก ตัวกลางค้ำจุนแบบนี้ลดการแพร่และป้องกันการเกิดการพา ทำให้การแยกได้แถบที่คมชัด และเป็นตัวกลางที่มีรูพรุน ทำหน้าที่เป็นตะแกรงร่อนโมเลกุล เมื่อปรับขนาดรูพรุนให้เหมาะสม เพราะฉะนั้นการแยกโปรตีนด้วยตัวกลางนี้จึงขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของประจุและขนาดของสารที่ต้องการแยก

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของ acrylamide gel ที่เหมาะสมกับช่วงมวลโมเลกุลของสาร

ความเข้มข้นของเจล (%T)	ช่วงมวลโมเลกุลที่เหมาะสม (กิโลดาลตัน (kDa))
3-5	สูงกว่า 100
5-12	20-150
10-15	10-80
มากกว่า 15	ต่ำกว่า 15

ที่มา : Dunn (1993)

Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

Polyacrylamide Gel Electrophoresis (PAGE) ที่มี sodium dodecyl sulphate (SDS) โดยใช้ SDS ในระบบบัฟเฟอร์ และสลายพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกหน่วยย่อยของโปรตีนและหามวลโมเลกุลของโปรตีน (Dunn, 1993) SDS เป็น anionic detergent ที่มีประจุลบ สามารถจับกับสายโซ่ polypeptide ด้วยอัตราส่วนคงที่ คือ SDS 1.4 กรัมต่อสาย polypeptide 1 กรัม เมื่อ polypeptide จับกับ SDS จะคลายการขดม้วนออกเป็นสายยาว มี

เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 18^{0}A จึงมีรูปร่างเป็นแท่ง (rod shape) ซึ่งคงที่ขณะที่ความยาวของ polypeptide complex จะเป็นสัดส่วนกับมวลโมเลกุลของ polypeptide ซึ่งมีประจุลบ เพราะ SDS ไปบดบังประจุโปรตีน ทำให้อัตราส่วนของประจุต่อมวล หรือ มีความหนาแน่นประจุคงที่เท่ากัน และมีรูปร่างเหมือนกัน ทำให้การเคลื่อนที่ขึ้นกับมวลโมเลกุลของสายโซ่ polypeptide และทุก complex จะเคลื่อนที่ไปในทิศทางเดียวกันโดยวิ่งเข้าหาขั้วบวก (อาภัสสรา, 2537)

การใช้แบบแผนโปรตีนในการจำแนกชนิดหรือพันธุ์ของพืช

Hussain และคณะ (1986) ได้ศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของถั่วไร่ (field bean) (*Phaseoulus vulgaris* L.) 7 พันธุ์ โดยใช้เทคนิค protein electrophoresis 2 วิธี คือ สกัดโปรตีนจากใบเลี้ยงของถั่วด้วยสารละลาย acetic acid แล้วทำการแยกโปรตีนด้วย PAGE และวิธีที่ 2 สกัดโปรตีนด้วยสารละลาย sodium chloride, ethanol 70% และ acetic acid ทำการแยกโปรตีนด้วย SDS-PAGE ผลปรากฏว่า ทั้ง 2 วิธี แยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ได้ แต่วิธีที่ 1 ให้จำนวนแถบโปรตีน 15 แถบซึ่งน้อยกว่าวิธีที่ 2 ที่ให้แถบโปรตีน 35 แถบ Hussain *et al.* (1989) ได้พัฒนาเทคนิค protein electrophoresis มาใช้ในการจำแนกพันธุ์ ถั่วอาหารสัตว์ (*Pueraria phaseoloids*) 10 พันธุ์ได้ Driedger *et al.* (1994) จำแนกพันธุ์ของถั่วดำ (*Phaseolus vulgaris*) ด้วยเทคนิค protein electrophoresis โดยอาศัยวิธีการของ Hussain และคณะ (1986) พบว่าโปรตีนปริมาณ 15 µl ที่สกัดด้วย ethanol แล้วทำการแยกโปรตีนด้วย SDS-PAGE ที่มีความเข้มข้นของ acrylamide 12% ไม่เห็นแถบ แต่ถ้าใช้โปรตีนปริมาณ 18 µl แล้วแยกโปรตีนด้วย SDS-PAGE ที่มีความเข้มข้นของ acrylamide 14% gel ให้แถบโปรตีนจำนวนมาก ทำให้สามารถจำแนกพันธุ์ของถั่วดำได้ นอกจากนี้เทคนิคดังกล่าวยังสามารถจำแนกพันธุ์ปลูกของถั่ว (*Phaseolus vulgaris* L.) (Bonetti *et al.*, 1995)

Ferguson and Grabe (1986) ได้ศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ของหญ้าไรย์ (rye grass) โดยการสกัดโปรตีนจากเมล็ด และทำการแยกโปรตีนด้วย SDS-PAGE แถบโปรตีนที่เกิดขึ้นสามารถจำแนกพันธุ์ปลูกของหญ้าไรย์ 26 สายพันธุ์ได้

นอกจากนั้นเทคนิค protein electrophoresis ยังสามารถจำแนกพันธุ์ลูกผสม และสายพันธุ์ของ pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) (Kumar *et al.*, 1995), พันธุ์ข้าวโพด (Chun *et al.*, 1994), พันธุ์น้อยหน่า (อำนวย, 2522), ข้าวบาเล่ย์ (Principe *et al.*, 1992), พันธุ์ปาล์ม (Baaziz *et al.*, 1994) จำแนกชนิดพืช ได้แก่ การจำแนกชนิดของ *Sida* 4 ชนิด (Vieritz, 1992), Lolium (Moller and Spoor, 1993) แบบแผนโปรตีนยังเข้าไปช่วยตรวจสอบพันธุ์ในระหว่างการปรับปรุงพันธุ์

ข้าวโอ๊ต ไม่ว่าในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หรือสภาพปลูกในแปลง (Dahleen *et al.*, 1991) และจำแนก doubled haploid ของข้าวสาลีและข้าวไรย์ (Vahl *et al.*, 1993)

นอกจากการใช้แบบแผนโปรตีนจำแนกชนิดและพันธุ์พืชแล้ว แบบแผนโปรตีนสามารถใช้ในการศึกษาการพัฒนาของอับเรณูของข้าว (กัลยา, 2538) ระยะการพัฒนาของ male gametophytes ของข้าวสาลี (Vergne and Dumas, 1988) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงแบบแผนของโปรตีนในพริกที่ได้รับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ก่อให้เกิดโรคและไม่ก่อให้เกิดโรค (ประชุมพร, 2538) และการเปลี่ยนแปลงโปรตีนของพืชเมื่อได้รับภาวะความเครียด (stress) เช่น ความร้อน (heat stress) (Mahhou and Dennis, 1994; Russell and Sachs, 1992) และ ความเย็น (Hahn and Walbot, 1989)