บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบัน ทุกคนยอมรับว่า สรีรวิทยาของพืช อยู่ภายใต้การควบคุมของสารเคมีชนิดต่าง ๆ ที่เรียกว่า ฮอร์โมน การศึกษาค้นคว้าเริ่มมีขึ้นในตอนปลายของศตวรรษที่ 19 คนแรกที่เสนอว่าพืชมีฮอร์โมนเป็นตัวควบคุมการเจริญเติบโตคือ Julius von Sachs เขาเสนอแนะว่า พืชทุกชนิดจะต้องสร้าง organ-forming substances ขึ้นที่ใบ (Devlin,1969) แล้วลำเลียงสารนี้ไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืช จากข้อเสนอแนะอันนี้เอง ทำให้มีการศึกษากันอย่างจริงจังในศตวรรษที่ 20

ขณะที่ Sachs ทำการศึกษาค้นคว้าอยู่นั้น Charles Darwin ได้ศึกษาเกี่ยวกับสิ่งเร้าของพืช โดยศึกษาผลของแสงและแรงดึงดูดของโลก ที่มีต่อการเคลื่อนไหวของพืช เขาเสนอแนะว่าการเจริญเติบโตของพืชอาจอยู่ในความควบคุมของสารประเภทหนึ่ง เขาแสดงให้เห็นว่า แสงและแรงดึงดูดของโลกมีผลต่อการโค้งของปลายรากและปลายยอด และสิ่งที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์นี้สามารถส่งผ่านไปยังส่วนอื่น ๆ ของต้นได้ เขาสรุปว่า เมื่อต้นอ่อนได้รับแสงเพียงด้านเดียว จะมีการเคลื่อนย้ายสิ่งที่เกิดขึ้นจากส่วนยอดลงมายังข้างล่าง ทำให้ตอนล่างเกิดการโค้ง สำหรับการตอบสนองของพืชต่อแรงดึงดูดของโลกในส่วนของราก เขาพบว่า มีเพียงปลายรากเท่านั้นที่ตอบสนอง และจากปลายรากนี้จะมีการส่งผ่านสิ่งที่เกิดขึ้นไปยังส่วนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง ทำให้เกิดการโค้งลงข้างล่าง

Devlin (1969) รายงานว่า ในปี 1910 1911 และ 1913 Boysen-Jensen พบสารบางอย่างที่อยู่ปลายยอดของเยื่อหุ้มยอดอ่อน ซึ่งเป็นตัวทำให้เกิดการโค้งเข้าหาแสง เมื่อพืชได้รับแสงด้านเดียว แต่ยังไม่สรุปว่า สารชนิดนี้เป็นตัวควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ต่อมาในปี 1919 Paal พบว่า มีสารบางอย่างถูกส่งมาจากปลายยอด และสามารถไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลที่อยู่ถัดจากยอดลงมาได้ Devlin รายงานต่อไปว่า ในปี 1928 Went แยกสารชนิดนี้ออกมา และสามารถนำไปกระตุ้นเยื่อหุ้มยอดอ่อนของต้นโอ๊ตให้เกิดการโค้งงอได้ ให้ชื่อสารชนิดนี้ว่า auxin ซึ่ง Went ให้ข้อคิดไว้ว่า ฮอร์โมนชนิดนี้ต้องเป็นฮอร์โมนชนิดที่ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ถ้าขาด auxin แล้วพืชจะไม่มีการเจริญเติบโต

Leopold and Kriedemann (1975) รายงานไว้ว่า ขณะที่มีการค้นพบ auxin นี้เอง ในประเทศญี่ปุ่น ปี 1926 Kurosawa ค้นพบฮอร์โมนชื่อ gibberellin โดยศึกษากับต้นข้าวที่เป็นโรค bakanae เนื่องจากเชื้อรา Gibberella fujikuroi (Saw.) Wr.Syn. Fusarium monilifome Saw. ทำให้ต้นข้าวมีการเจริญเติบโตสูง ผอม และซีดกว่าต้นปกติ ผลผลิตลดลงถึง 40% เขาพบว่า sterile filtrate ของราชนิดนี้ทำให้เกิดอาการของโรค bakanae ในข้าวได้ ต่อมา Yabuta แยกสารชนิดนี้ออกมาได้ให้ชื่อว่า gibberellin ซึ่งในปี 1951 Mitchell et al. พบว่า ในพืชชั้นสูง ก็มีสาร จำพวก gibberellin เช่นกัน

รายงานของ Leopold and Kriedemann (1975) กล่าวต่อไปว่า ในปี 1913 Haberlandt ทดลองพบว่า สารที่แพร่ออกจากเนื้อเยื่อ phloem ของมันฝรั่ง สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลในเนื้อเยื่อ parenchyma ของมันฝรั่งได้ ต่อมาในปี 1942 Van Overbeek et al. พบว่า น้ำมะพร้าวมีสารบางอย่างที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นอ่อนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ครั้นถึงปี 1955 Miller et al. แยกสารนี้ได้จาก DNA ของยีสต์ เป็นสารพวก deoxyadenosine ให้ชื่อว่า kinetin วิเคราะห์ได้ว่าเป็น 6-furfurylaminopurine สำหรับในพืชนั้น Letham et al.วิเคราะห์ฮอร์โมนชนิดนี้ได้ในปี 1964 จากเมล็ดอ่อนข้าวโพดให้ชื่อว่า zeatin

การออกดอกของพืชนั้นขึ้นอยู่กับ อิทธิพลทางพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม โดยมียีนส์เป็นตัวควบคุมลักษณะทางกรรมพันธุ์ และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะมาชักนำให้ออกดอก สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการออกดอกของพืช ได้แก่ แสง อุณหภูมิ และอาหาร แสงมีอิทธิพลทั้งในด้านความเข้มช่วงคลื่น และช่วงเวลาการให้แสง โดยช่วงเวลาการให้แสงเป็นสิ่งที่มีอิทธิพลมากที่สุด นอกจากนี้พบว่า อุณหภูมิและช่วงเวลาการให้แสงมีอิทธิพลร่วมกันในการสร้างดอก

Evans (1975) รายงานการค้นพบการออกดอกของพืชไว้ว่า ในปี 1688 John Ray ได้บันทึกว่า มีผู้สังเกตเห็นผลของช่วงเวลาการให้แสงที่มีต่อการออกดอก ปี 1879 Edison พบว่า พืชสามารถปรับตัวเพื่อตอบสนองต่อช่วงเวลาการให้แสงจากหลอด incandescent ซึ่ง

Bailey และคนอื่น ๆ ได้นำหลอดไฟชนิดนี้ไปใช้ทดลองควบคุมการออกดอกของไม้ประดับ และพบว่าการออกดอกของพืชหลายชนิด เร่งให้เกิดได้โดยการยืดช่วงแสงตามธรรมชาติให้ยาวออกไปอีก โดยใช้แสงจากหลอด incandescent ในสมัยนั้น เชื่อกันว่า พืชออกดอกได้ เพราะแสงที่เพิ่มให้ไปกระตุ้นการเจริญเติบโต หลังจากนั้น Klebs แสดงให้เห็นว่า ช่วงเวลาการให้แสง มีความสำคัญต่อการออกดอก โดยการทำให้ต้น house leek (Sempervivum sp.) ออกดอกได้ โดยให้แสงตลอดวัน หลาย ๆ วัน เขาสรุปว่า การให้แสงเป็นการกระตุ้นพืชให้ออกดอกได้ดีกว่าการให้อาหาร

Evans (1975) รายงานต่อไปว่า ในช่วงปี 1912 ถึง 1914 Julien Tournois ทดลองกับต้น hops และกัญชา พบว่า หลังจากที่ได้รับแสงช่วงสั้น หรือได้รับช่วงมืดที่ยาวแล้ว พืชออกดอกได้เร็วกว่าปกติ ผลที่ได้นี้ต่างไปจากผลที่ได้จากต้น house leek ทำให้เกิดแนวทางความคิดไปสู่การค้นพบ photoperiodism

อุณหภูมิ อาจเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของพืชต่อช่วงเวลาการให้แสงได้ เช่น ถ้ากลางคืนร้อน สตรอเบอรี่ ส้ม และ Japanese morning glory จะเป็นพืชชนิดวันสั้น แต่ถ้าอุณหภูมิต่ำออกดอกที่ช่วงเวลาการให้แสงใด ๆ ก็ได้ พืชชนิดวันยาว-สั้น เช่น Bryophyllum daigremontianum และ ราตรี (Cestrum nocturnum) ออกดอกในช่วงวันยาวได้ ถ้าอุณหภูมิของช่วงมืดต่ำลงถึง 12 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่านั้น ในทางตรงข้าม Bouvardia humboldtii ออกดอกได้โดยไม่ขึ้นกับช่วงเวลาการให้แสง ถ้าอุณหภูมิสูง และออกดอกในช่วงวันยาวได้เมื่ออุณหภูมิปานกลาง แต่ไม่ออกดอกเลยถ้าอุณหภูมิต่ำ (Evans, 1975)

ในรายงานของ Evans (1975) กล่าวถึง การเลือกพืชทดลองว่า เป็นสิ่งสำคัญมาก พืชที่เป็นชนิดวันสั้น หรือพืชชนิดวันยาวอย่างแท้จริงเท่านั้น จึงเป็นพืชที่มีประโยชน์ในการทดลอง พืชชนิดวันสั้นที่ใช้ในการทดลองครั้งแรกได้แก่ Xanthium strumarium หรือ X.pensylvanicum จากเมืองชิคาโก โดยในปี 1938 Hamner พบว่า Xanthium sp. ออกดอกได้เมื่อได้รับช่วงมืดยาว หลังจากนั้นมา Xanthium sp. ก็กลายเป็นพืชทดลองของงานด้าน photoperiodism อย่างแพร่หลาย ในปี 1955 Imamura and Takimoto ใช้ violet strain ของต้น Japanese morning glory (Pharbitis nil) พืชชนิดนี้มีข้อดีกว่า Xanthium sp. คือทำให้

ออกดอกได้มาก โดยใช้ช่วงวันสั้น 1 ครั้งเท่านั้นในระยะ 2-3 วันหลังจากหว่านเมล็ด ต่อมาในปี 1959 Cumming ทดลองใช้ต้น Chenopodium rubrum พบว่าสามารถใช้พืชทดลองได้มากถึง 150 ต้น ปลูกบนกระดาษกรองใน Petridish ชักนำให้ออกดอกได้ โดยใช้ช่วงวันสั้นเพียง 1 ครั้งเท่านั้น หลังจากที่หว่านเมล็ดได้ 2-3 วัน หรือในระยะที่ใบเลี้ยงโผล่ออกมา ทั้งยังออกดอกก่อนที่จะต้องย้ายไปปลูกนอก Petridish ด้วย ทำให้สะดวกและเหมาะสำหรับศึกษาเกี่ยวกับ endogenous rhythm และ spectrum composition ของแสง แต่ไม่เหมาะสำหรับศึกษาเรื่องการเคลื่อนย้ายของตัวกระตุ้นให้ออกดอก

สำหรับแหน (Lemna perpusilla) และไข่น้ำ (Wolffia microscopica) ออกดอกได้หลังจากที่ได้รับช่วงวันสั้นเพียงครั้งเดียว สามารถเจริญเติบโตในขวดแก้วรูปชมพู่ในสารอาหารชนิดต่าง ๆ กันได้ เหมาะสำหรับใช้สำรวจดูผลของสารอาหาร หรือตัวห้ามต่าง ๆ ที่มีต่อการชักนำให้ออกดอก (Hillman, 1959)

รายงานของ Evans (1975) กล่าวว่า ในปี 1934 Knott เป็นคนแรกที่พิสูจน์ได้ว่ากระบวนการตอบสนองต่อช่วงเวลาการให้แสง ในการออกดอกเกิดขึ้นเป็นครั้งแรกที่ใบ จากการทดลองกับต้น spinach (พืชชนิดวันยาว) อายุของใบที่ตอบสนองต่อช่วงเวลาการให้แสงขึ้นอยู่กับชนิดของพืช เช่น ใน Xanthium sp. ใช้ใบที่เริ่มคลี่ออกมาได้เพียงครึ่งหนึ่งก็ได้ ใน Perilla sp. และ Lolium sp. ต้องใช้ใบที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้ว จึงจะมีความสามารถในการชักนำให้เกิดดอกได้ ใน Chenopodium rubrum และ Pharbitis nil พบว่า ใบเลี้ยงเพียงอย่างเดียวก็ชักนำได้ พืชบางชนิดแม้จะมีเนื้อที่ใบเพียง 1-2 ตารางเซนติเมตร ก็สามารถชักนำให้ออกดอกได้

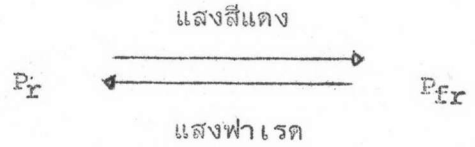
ใบไม้ นอกจากจะสร้างสารกระตุ้นการมีดอกแล้ว ขณะที่มีช่วงความยาววันไม่เหมาะสม จะสร้างสารห้ามการออกดอกด้วย ปัจจุบันยังไม่ทราบแน่ชัดว่า สารนี้เป็นสารเคมีชนิดใด แต่เชื่อว่าสามารถทำให้เกิดผลกระทบกระเทือนต่อ photochemical activity ได้ และสารห้ามการออกดอกนี้ สามารถลำเลียงข้ามต้นโดยผ่านรอยต่อของกิ่งได้เช่นเดียวกับสารกระตุ้นการมีดอก สารห้ามการออกดอกสามารถขัดขวางการมีดอกได้ 2 ทางคือ โดยไปขัดขวางการลำเลียงฮอร์โมนจาก

ใบไปยังส่วนที่กำลังเจริญเติบโต หรือโดยการทำลายฮอร์โมน เช่น ขัดขวางกระบวนการบางตอนในการสร้างฮอร์โมนดอก (florigen) และพบว่า อัตราส่วนใบแก่ต่อใบอ่อนมีผลในการควบคุมการมีดอก เช่น ในต้น Hyocyamus niger (พืชชนิดวันยาว) การออกดอกขึ้นกับอิทธิพลของสารห้ามการมีดอก ซึ่งถ้าตัดใบทิ้งก็สามารถออกดอกได้ โดยไม่ขึ้นกับช่วงเวลาการให้แสง แต่ทั้งนี้พืชต้องมีระบบราก และการสะสมอาหารดีพอ แสดงให้เห็นว่า ช่วงเวลาการให้แสงมีผลต่อการควบคุมการสร้างดอก โดยไปยับยั้งการสร้างสารกระตุ้น หรือสารห้ามการออกดอก เพราะดอกที่เกิดขึ้นเป็นผลของความสมดุลย์ของฮอร์โมนทั้ง 2 ประเภท แต่ในพืชชนิดวันสั้น เชื่อว่า ในช่วงมืดวิกฤตเป็นเวลาที่พืชใช้ทำลายสารห้ามการออกดอกให้อยู่ในระดับพอเหมาะ ส่วนพืชชนิดวันยาวจะสร้างสารห้ามการออกดอกในช่วงมืด ฉะนั้นถ้าได้รับช่วงมืดที่ยาว พืชชนิดวันยาวจะไม่ออกดอก (Evans, 1975)

Evans (1975) รายงานต่อไปว่า ช่วงมืดเป็นสิ่งสำคัญในการห้ามการออกดอกของพืชชนิดวันยาว ถ้าให้แสงตลอดเวลาทดลองแล้วการออกดอกจะเร็วขึ้น ช่วงมืดที่ยาวขึ้นและอุณหภูมิที่สูงขึ้น จะทำให้การออกดอกช้าลง จากการทดลองของ Lang and Melchers ในปี 1943 กับต้น Hyocyamus niger (พืชชนิดวันยาว) พบว่า ถ้าอุณหภูมิยิ่งสูงเท่าใด ช่วงเวลาการให้แสงที่ต้องการในการทำให้พืชออกดอกยิ่งยืดยาวออกไปเท่านั้น เห็นได้ว่า อุณหภูมิเป็นสิ่งสำคัญพอ ๆ กับช่วงเวลาการให้แสง ในพืชชนิดวันสั้น พบว่า จะไม่ออกดอกจนกว่าจะได้รับช่วงมืดที่ยาว และต้องไม่มีแสงเข้าไปขัดจังหวะในช่วงมืดด้วย ในปี 1938 Bonner พบหลักฐานเกี่ยวกับความสำคัญของช่วงมืดในพืชชนิดวันสั้น (Xanthium sp.) ว่า หลักฐานที่หนึ่ง อย่างน้อยที่สุดต้องมีช่วงมืดยาวถึง 8½ ชั่วโมง จึงสามารถชักนำให้พืชออกดอกได้ แม้ว่าวงจรมืด-สว่างมากหรือน้อยกว่า 24 ชั่วโมง และแม้ว่าอัตราส่วนระหว่างกลางวันกับกลางคืนจะมีค่าน้อยหรือมากก็ตาม ถ้าช่วงมืดมากกว่า 8½ ชั่วโมง ก็สามารถชักนำให้ออกดอกได้ เขาจึงคิดว่า ช่วงเวลาการให้แสง และความสัมพันธ์ระหว่างช่วงเวลาการให้แสงกับช่วงมืดไม่ใช่สิ่งสำคัญในการออกดอกเหมือนกับความยาวของช่วงมืด หลักฐานที่สอง พบว่า อุณหภูมิของช่วงมืด มีผลต่อการตอบสนองการออกดอกมากกว่าอุณหภูมิในช่วงเวลาการให้แสง แต่ภายหลังพบว่า ถ้า Xanthium sp. เจริญเติบโตอยู่ในช่วงวันสั้น ที่ไม่ค่อยมีแสงมากนัก อุณหภูมิของช่วงเวลาการให้แสง จะเป็นสิ่งที่มีความสำคัญมาก ต่อมา

ในปี 1959 Nitsch and Went พบว่า สามารถชักนำให้ต้น Xanthium sp. ออกดอกได้ โดยให้ได้รับช่วงมืดเพียง 8 ชั่วโมง ที่ 32องศาเซลเซียส แต่ครึ่งแรกของช่วงเวลาการให้แสงต้องมีอุณหภูมิต่ำด้วย หลักฐานที่สาม คือ ถ้าให้แสงที่มีความเข้มต่ำมาก ๆ เพียง 1 นาทีในตอนกลางของช่วงมืดที่ใช้ชักนำ สามารถห้ามการออกดอกได้ แต่ถ้าให้ช่วงมืดสลับในช่วงเวลาการให้แสงจะไม่มีผลต่อการออกดอกเลย สรุปได้ว่าทั้งพืชชนิดวันสั้น และพืชชนิดวันยาว ช่วงที่มีความสำคัญในการออกดอกคือ ช่วงมืดและอาจเรียกพืชเป็น พืชชนิดกลางคืนสั้น หรือพืชชนิดกลางคืนยาวก็ได้

รายงานของ Evans (1975) กล่าวถึงการให้แสงสลับในช่วงมืดว่ามีผลในการออกดอกของพืช แสดงว่ามีรงควัตถุเกี่ยวข้องกับการออกดอก รงควัตถุนี้สามารถดูดรับแสงไว้ได้มากที่สุดในช่วงคลื่นสีแดง และรับได้น้อยที่สุดในแสงช่วงคลื่นสั้น ส่วนในช่วงคลื่นสีเขียวรับเกือบไม่ได้เลย ดังนั้นปฏิกิริยาของแสงน่าจะมีส่วนในการควบคุมการออกดอกทั้งในพืชชนิดวันสั้น และชนิดวันยาว ในปี 1948 Borthwick Hendricks and Parker เสนอว่า รงควัตถุที่เป็นตัวรับแสงคือ phytochrome ซึ่งมี 2 รูปคือ รูปที่ดูดรับแสงสีแดงที่ 660 nm. เรียกว่า P_r หรือ P_{660} และรูปที่ดูดรับแสงฟาเรดที่ช่วงคลื่นประมาณ 730 nm. เรียกว่า P_{fr} หรือ P_{730} เกิดปฏิกิริยาได้ดังนี้



เมื่อรงควัตถุได้รับแสงสีแดง ปฏิกิริยาจะไปทางขวาและรงควัตถุส่วนใหญ่จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ P_{fr} แต่ถ้าได้รับแสงฟาเรดจะทำให้รงควัตถุส่วนใหญ่ กลับไปอยู่ในรูป P_r เนื่องจากแสงสีแดงสามารถกระตุ้นการออกดอกในพืชชนิดวันยาวและสามารถห้ามการออกดอกในพืชชนิดวันสั้น ถ้าให้แสงสีแดงสลับในตอนกลางของช่วงมืดที่ชักนำ ฉะนั้น P_{fr} น่าจะเป็นรูปแบบของ phytochrome ที่ทำงานได้ นอกจากนี้ยังพบว่า ในตอนสิ้นสุดของวัน phytochrome ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ P_{fr} และอาจเปลี่ยนแปลงเนื่องจากความมืดในระยะ 2-3 ชั่วโมงแรกในเวลากลางคืน ซึ่งปฏิกิริยาในช่วงมืดชักนำอาจจะยังไม่เริ่มต้น ฉะนั้น การให้แสงฟาเรดในตอนสิ้นสุดของวันน่าจะทำให้รงควัตถุส่วนใหญ่เปลี่ยนไปเป็น P_r ทำให้ช่วงวิกฤติของพืชชนิดวันสั้นลดลง ในปี 1952

Borthwick และคณะทดลองต่อไปพบว่า ช่วงวิกฤตของต้น Xanthium sp. จะเพิ่มขึ้นจาก 8½ ชั่วโมงเป็น 9 ชั่วโมง ถ้าพืชได้รับแสงสีแดงก่อนที่จะเข้าสู่ช่วงมืด แต่ถ้าให้พืชได้รับแสงฟาเรดก่อนเข้าสู่ช่วงมืด ช่วงวิกฤตจะลดลงมาเป็น 7 ชั่วโมง ดังนั้นปฏิกิริยาชักนำในช่วงมืดของพืชชนิดวันสั้น น่าจะเริ่มขึ้นหลังจากที่ P_{fr} ได้เปลี่ยนเป็น P_r แล้ว ต่อมาในปี 1960 Nagayama และคณะ พบว่าการใช้แสงสีแดงสลับในช่วงมืด ซึ่งห้ามการออกดอกของ Pharbitis nil. นั้นไม่สามารถทำให้กลับมีดอกได้อีกโดยการใช้แสงฟาเรด ทั้งนี้ในปี 1964 Fredericq เชื่อว่าเป็นเพราะ phytochrome P_{fr} ทำปฏิกิริยาได้เร็วมากในตอนกลางของช่วงมืด ถ้าต้องการให้พืชออกดอกอีกครั้งหลังจากถูกห้ามไม่ให้ออกดอกโดยใช้แสงสีแดง ก็สามารถทำได้โดยให้แสงฟาเรดหลังจากที่ให้แสงสีแดงแล้ว 30 วินาที

Ishiguri and Oda (1972) พบว่า สามารถทำให้ Lemna gibba (พืชชนิดวันยาว) ออกดอกได้ในช่วงเวลาการให้แสงสีขาว 10ชั่วโมง ที่ตามด้วยแสงสีแดงหรือแสงฟาเรด อย่างใดอย่างหนึ่งอีก 3 ชั่วโมง หรือในช่วงเวลาการให้แสงที่ประกอบด้วยแสงสีแดง 10 ชั่วโมงตามด้วยแสงฟาเรดอีก 3 ชั่วโมง แต่ถ้าได้รับแสงสีแดงเพียงอย่างเดียวพืชไม่ออกดอก ฉะนั้นแสงฟาเรดน่าจะมีบทบาทสำคัญในการเป็นตัวเริ่มต้นชักนำให้เกิดดอก นอกจากนี้ พบว่าในพืชชนิดวันยาวนี้ แสงสีแดงที่ให้สลับในตอนกลางของช่วงมืดจะไปกระตุ้นให้เกิดดอก และผลอันนี้จะไม่ถูกทำลายโดยการใช้แสงฟาเรด เขาคิดว่าในพืชชนิดวันยาวนี้ การทำงานของแสงสีแดงอาจไม่ได้ผ่านระบบ phytochrome ก็ได้ แต่อย่างไรก็ตามการออกดอกของแหนชนิดวันสั้น ที่ถูกห้ามโดยการให้แสงฟาเรดสลับในตอนต้นของช่วงมืด สามารถทำให้ออกดอกได้อีกโดยการให้แสงสีแดงต่อจากแสงฟาเรดทันที ดังนั้นเขาทั้งสองจึงเชื่อว่าระบบ phytochrome ที่เปลี่ยนรูปได้เมื่อได้รับแสงสีแดงหรือแสงฟาเรด ต้องมีความสำคัญในการออกดอกของ L.gibba และ L.perpusilla

Ishiguri and Oda (1974) ได้ทำการทดลองอีก พบว่าการออกดอกของ L.gibba สามารถชักนำให้เกิดขึ้นได้ในช่วงเวลาการให้แสงสั้น ๆ (10 ชั่วโมง) ถ้าในช่วงเวลาการให้แสงนั้นประกอบด้วยแสงสีแดง และแสงฟาเรดในสัดส่วนที่เหมาะสมและต้องเริ่มด้วยแสงสีแดงก่อนแล้ว จึงตามด้วยแสงฟาเรดจึงจะได้ผล แสดงว่า L.gibba ต้องการแสงฟาเรดในการชักนำให้พืชออกดอก แต่ L.perpusilla ต้องการแสงฟาเรดในการทำลายผลของการชักนำให้เกิดดอก

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

จากการที่สามารถกระตุ้นให้ L.gibba ออกดอกได้โดยการให้แสงสีแดงสลับในตอนกลางของช่วงมืดในขณะที่ถ้าให้แสงสีแดงสลับในตอนต้นของช่วงมืด จะไปห้ามการออกดอก แสดงว่าจะต้องมี timing mechanism ในช่วงมืดแน่นอน แต่ยังไม่ทราบว่าเกิดขึ้นอย่างไรแม้ว่าในปัจจุบันจะมีผู้ศึกษาเกี่ยวกับเรื่องนี้มากก็ตาม อย่างไรก็ดี การทดลองนี้สนับสนุนแน่ชัดว่า กระบวนการออกดอกจะต้องเกี่ยวข้องกับระบบ phytochrome (Ishiguri and Oda, 1974)

ต่อมา Doss (1975) ทำการทดลองใน L.perpusilla พบว่า การห้ามพืชไม่ให้ออกดอกโดยให้แสงสลับในตอนต้นของช่วงมืด สามารถทำให้กลับออกดอกได้อีกโดยการให้สารที่เป็นตัวห้ามการสังเคราะห์ RNA และ gene transcription ได้แก่ 2-thiouracil และ actinomycin D ตามลำดับ ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้จะมีผลต่อเมื่อมีอยู่ในพืชก่อนที่จะได้รับแสงสลับในตอนต้นของช่วงมืด ฉะนั้นสารพวกนี้ต้องมีอิทธิพลในการควบคุม phytochrome ในพืชบางชนิดได้ ดังที่ Mohr เคยทำการทดลองไว้ในปี 1969

รงควัตถุ phytochrome นี้ตรวจพบในปี 1959 โดย Butler et al. และวิเคราะห์ได้ว่าเป็นพวก soluble cytoplasmic protein ในปี 1966 (Evans, 1975)

Evans (1975) รายงานการทดลองของ Chailahjan ว่า สามารถชักนำให้พืชชนิดวันสั้น Helianthus tuberosus ออกดอกในช่วงวันยาวได้โดยการทาบกิ่งเข้ากับ H.annuus ซึ่งเป็นพืชที่การออกดอกไม่ขึ้นกับช่วงเวลาการให้แสง ต่อมาในปี 1972 Van de Pol ได้ชักนำให้ต้น Kalanchoe sp. (พืชชนิดวันสั้น) ออกดอกได้โดยทาบกิ่งเข้ากับ Bryophyllum sp. (พืชชนิดวันยาว-วันสั้น) ชักนำให้ Silene sp. (พืชชนิดวันยาว) ออกดอกได้โดยทาบกิ่งกับ Perilla sp. (พืชชนิดวันสั้น) และชักนำให้ Xanthium sp. ออกดอกในช่วงวันยาวได้โดยทาบกิ่งกับพืชชนิดวันยาว Rudbeckia sp. ในปี 1973 Jacques พบว่าเมื่อทาบกิ่ง Blitum sp. (พืชชนิดวันยาว) ให้กับ Chenopodium sp. (พืชชนิดวันสั้น) ที่อยู่ในสภาวะช่วงเวลาการให้แสงยาว จะมีผลในการออกดอกน้อยกว่าเมื่อทาบกิ่ง chenopodium sp. ให้กับ Blitum sp. ที่ได้รับช่วงเวลาการให้แสงสั้น จึงสงสัยว่าในพืชชนิดวันยาวอาจมีระดับของตัวกระตุ้นให้ออกดอกต่ำกว่าในพืชชนิดวันสั้น เพราะการทดลองของ Zeevaart ในปี 1958 พบว่า

สามารถใช้ยาสูบชนิดที่การออกดอกไม่ขึ้นกับช่วงเวลาการให้แสง ทาบกิ่งกับ Nicotiana sylvestris (พืชชนิดวันยาว) ทำให้ยาสูบชนิดหลังนี้ออกดอกได้ แต่ไม่สามารถทาบกิ่งเพื่อให้ยาสูบพันธุ์ Maryland Mammoth (พืชชนิดวันสั้น) ออกดอกได้ สรุปได้ว่า ต้องมีตัวกระตุ้นให้ออกดอกอยู่ในพืชทุกชนิดและเป็นชนิดเดียวกัน เรียกว่า florigen ซึ่งปัจจุบันยังไม่สามารถหาสูตรเคมีที่ถูกต้องได้ แต่ยอมรับกันว่า สารนี้น่าจะเป็นฮอร์โมนชนิดหนึ่งที่ลำเลียงได้ทุกทิศทางในพืช ผ่านเนื้อเยื่อที่มีชีวิตซึ่งส่วนใหญ่เป็น phloem นำไปสะสมไว้ที่ตา

เนื่องจากเป็นที่ยอมรับแล้วว่า การออกดอกของพืชอยู่ภายใต้อิทธิพลของฮอร์โมน ดังนั้นจึงมุ่งความสนใจไปที่สารจำพวก gibberellin จากการทดลองพบว่า gibberellin มีผลในการชักนำให้พืชชนิดวันยาวออกดอกได้ในสภาวะช่วงวันสั้น สามารถช่วยให้ต้นที่ถูกชักนำให้ออกดอกอยู่แล้วออกดอกได้เร็วขึ้น และมีจำนวนมากขึ้นโดยไปเร่งการเจริญเติบโตของพืชก่อนแล้วชักนำให้ออกดอก แต่ในพืชชนิดวันสั้นฮอร์โมนนี้ มีผลห้ามการออกดอก ดังนั้น gibberellin ไม่ควรจะเป็นสารชนิดเดียวกับฮอร์โมนควบคุมการมีดอก อย่างไรก็ดีมีการทดลองสนับสนุนว่า gibberellin มีผลชักนำให้พืชออกดอก และสามารถสกัดเอาฮอร์โมนนี้จากต้นที่ถูกชักนำไปทำให้พืชชนิดเดียวกันที่ไม่ได้ถูกชักนำออกดอกได้ ฉะนั้นถึงแม้ว่า gibberellin จะไม่ใช่ florigen โดยตรงก็ดี แต่ก็อาจ เป็นส่วนหนึ่งที่จะประกอบเข้าเป็น florigen ก็ได้ นอกจากนี้ช่วงเวลาการให้แสงยังมีอิทธิพลต่อการสร้าง gibberellin ทำให้มีปริมาณ gibberellin เพิ่มขึ้น ทั้งในพืชชนิดวันสั้นและพืชชนิดวันยาว (Evans, 1975)

ในปี 1950 Gorham ได้ศึกษาการเจริญเติบโตของแหน พบว่า L.minor ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในสารอาหารที่มีแต่เกลือแร่ และน้ำตาลเมื่ออยู่ในที่มืดตลอด แต่สามารถเจริญเติบโตได้ในสารอาหารที่เติม casein hydrolyzate และ yeast extract เขาเชื่อว่า กระบวนการเจริญเติบโตจำเป็นต้องใช้แสงสว่างนอกเหนือจากที่ต้องใช้ในการสังเคราะห์แสง ต่อมาในปี 1955 และ 1956 Kandeler ทำการทดลองเกี่ยวกับการตอบสนองต่อช่วงเวลาการให้แสงของ L.gibba พบว่า สามารถออกดอกได้เมื่อได้รับช่วงเวลาการให้แสงยาวกว่าช่วงวิกฤต (ยาวกว่า 12-14 ชั่วโมง) และไม่สามารถออกดอกในช่วงวันสั้นได้เลย แต่จะออกดอกได้เร็วขึ้น ถ้าแสงที่ใช้ชักนำมีส่วนประกอบเป็นแสงฟาเรดอยู่ด้วย เช่น แสงจากหลอด incandescent ในปี 1957

Hillman พบว่า สามารถใช้แสงสีแดงนาน 10นาที ทุก ๆ 3-4 วันกับแหนที่เจริญเติบโตอยู่ในที่มืด มีแต่เกลือแร่ และน้ำตาลเป็นสารอาหารทำให้เจริญเติบโตอยู่ได้นานถึง 75 วัน โดยไม่ต้องสังเคราะห์แสง และผลของแสงสีแดงนี้หมดไปได้ถ้าให้พืชได้รับแสงฟาเรดในเวลาต่อมา เขาพบว่าสิ่งที่อาจทำหน้าที่แทนแสงในระบบนี้คือ kinetin (6-furfurylaminopurine) โดยมีความเข้มข้นที่พอเหมาะที่จะทำให้เกิดผลเหมือนกับแสงสีแดง เป็น 3×10^{-6} โมล่าร์ (0.645 ppm.) และ yeast extract ที่ใส่ในสารอาหารนั้น (Hillman, 1957)

ต่อมาได้มีการทดลองใช้ L.perpusilla 6746 พบว่า แหนชนิดนี้มีการตอบสนองต่อช่วงเวลาการให้แสง เป็นแบบพืชชนิดวันสั้นในสารอาหารตามสูตรของ Hutner ที่อุณหภูมิ 26-28 องศาเซลเซียส ออกดอกได้มากที่สุดเมื่อช่วงเวลาการให้แสงยาว 6-11 ชั่วโมง ถ้าช่วงเวลาการให้แสงมากกว่า 15 ชั่วโมงขึ้นไปไม่ออกดอก (Hillman, 1959. I)

ในปี 1957 Landolt พบว่า culture ของ L.perpusilla ที่เจริญเติบโตอยู่หนาแน่นในสารอาหารขวดเดิมนั้นสามารถออกดอกได้โดยไม่ขึ้นกับช่วงเวลาการให้แสงซึ่ง Hillman (1959) พบว่าการที่แหนชนิดนี้ ออกดอกได้โดยไม่ขึ้นกับช่วงเวลาการให้แสงนั้น เนื่องมาจากผลของ chelating agent พวก EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) และอุณหภูมิ เขาพบว่า แหนสามารถออกดอกได้โดยไม่ขึ้นกับช่วงเวลาการให้แสงในสารอาหารที่ไม่มี EDTA ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส นอกจากนี้แหนที่เจริญเติบโตอยู่ในสารอาหารขวดเดิมนาน ๆ ก็สามารถออกดอกได้ แม้ว่าจะมีช่วงเวลาการให้แสงยาวถึง 16-24 ชั่วโมงก็ตาม และเมื่อทดลองใช้สารอาหารที่เจือจางแหน ก็พบว่า แหนสามารถออกดอกได้เช่นกัน

การเติม EDTA ความเข้มข้น 10^{-5} โมล่าร์ หรือ chelating agent อื่น ๆ ลงไปในสารอาหารจะไปห้ามการออกดอกของ L.perpusilla เฉพาะในช่วงวันยาวเท่านั้น นั่นคือถ้าในสารอาหารนั้นไม่มี EDTA ด้วยแล้ว L.perpusilla สามารถออกดอกได้โดยไม่ขึ้นกับช่วงเวลาการให้แสง และในสารอาหารที่มี EDTA แหนชนิดนี้จะแสดงการตอบสนองต่อช่วงเวลาการให้แสงในรูปแบบของพืชชนิดวันสั้น สำหรับแหนที่อยู่ในสารอาหารเก่านาน ๆ สามารถออกดอกได้นั้น เนื่องมาจากมีการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของสารอาหาร และจากการที่สามารถทำให้พืชออกดอกได้มากขึ้น เมื่อให้แหนอยู่ในสารอาหารที่เจือจาง แสดงว่าความหนาแน่นของแหนในขวดแก้ว

ไม่ใช่สาเหตุที่แท้จริง แต่เป็นการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของสารอาหาร และไม่ใช่เป็นเพราะมี การสะสมสารกระตุ้นการมีดอกแต่อย่างใด เขาพบว่า EDTA มีผลต่อการออกดอกโดยไปเปลี่ยนแปลงระดับของประจุบวก เช่น H^+ และประจุลบ เช่น $PO_4^{\equiv}$ นอกจาก EDTA แล้ว เขาพบว่า citric acid และ tartaric acid ก็มีผลห้ามการออกดอกในช่วงวันยาวได้เช่นเดียวกัน (Hillman,1959 II)

จากการทดลองเลี้ยง L.perpusilla ในสารอาหารตามสูตรของ Hoagland ที่มีทองแดงอยู่ด้วย พบว่าถ้ามีปริมาณทองแดงสูงจะทำให้พืชออกดอกได้โดยไม่ขึ้นกับช่วงเวลาการให้แสง แต่ใน L.gibba ทองแดงจะห้ามการออกดอก ทั้งนี้ทองแดงอาจทำงานโดยเกี่ยวข้องกับระบบ phytochrome เพราะสามารถใช้แสงบางชนิดทำลายผลของทองแดงได้เป็นบางส่วน นอกจากนี้ทองแดงอาจมีผลต่อการทำงานของเหล็กด้วย เนื่องจากพบว่าทองแดงมีผลต่อการดูดแร่เหล็กของราก ฉะนั้นทองแดงอาจทำงานโดยไปห้ามการทำงานของเหล็กซึ่งเป็นส่วนสำคัญในระบบการตอบสนองต่อช่วงเวลาการให้แสงของ phytochrome (Hillman, 1962) ต่อมา Tanaka and Takimoto (1975) พบว่า การที่ SH inhibitor ($CuSO_4$) ทำให้ L.perpusilla ออกดอกในช่วงวันยาวได้นั้นไม่ได้มีสาเหตุมาจาก metabolism ของไนโตรเจนลดลง แม้ว่า $CuSO_4$ สามารถลด activity ของ nitrate reductase ได้ก็ตาม เพราะการลดระดับของไนโตรเจนในสารอาหารที่ไม่มี SH inhibitor ไม่ได้ทำให้เกิด floral initiation แต่อย่างใด

สารอาหารที่มี ferric citrate ความเข้มข้นสูง ๆ สามารถทำให้ L.paucicostata (พืชชนิดวันสั้น) ออกดอกได้เช่นเดียวกับสารอาหารที่มี chelating agent เช่น EDDHA (ethylenediamine-di-o-hydroxyphenylacetic acid) $5x10^{-6}$ โมล่าร์หรือ EDTA 10^{-4} โมล่าร์ และถ้าใช้ EDDHA และ ferric citrate ที่ระดับความเข้มข้นสูง ๆ สองอย่างรวมกันก็สามารถทำให้แทนออกดอกได้เช่นกัน (Maheshwari and Gupta, 1967) ส่วนในไข่น้ำ (W.microscopica) พบว่าถ้าตัวให้เหล็กในอาหารเป็น Fe-EDTA แล้วจะสามารถทำให้เปลี่ยนสภาพจากพืชชนิดวันสั้น เป็นพืชชนิดที่ไม่ขึ้นกับช่วงเวลาการให้แสงได้ ดังในการทดลองของ Maheshwari and Selth ในปี 1966 แต่ทั้งสองกรณีนี้ยังไม่ทราบกลไกที่เนื่องจากสารเคมีที่ใช้ แต่คิดว่าเหล็กอาจมีส่วน

เกี่ยวข้องเป็นพิเศษในการออกดอกของพืชสกุลนี้

การศึกษาเกี่ยวกับการออกดอกในปัจจุบันยังนิยมใช้แหนอยู่มาก เพราะสะดวกในการชักนำให้เกิดดอกโดยการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของสารอาหาร (Hillman,1959; 1962; Posner,1973) นอกจากใช้ทดลองเกี่ยวกับการตอบสนองต่อช่วงเวลาการให้แสงแล้ว ยังใช้ทดลองหาระบบการสร้างสารกระตุ้นการออกดอกด้วย

Hillman and Posner (1971)ศึกษากับ L.perpusilla โดยใช้สารอาหารตามสูตรของ Hutner ที่มี NH_4NO_3 เป็นตัวให้ NH_4^+ พบว่า ถ้าสารอาหารเจือจาง sucrose ในสารอาหารจำนวน 1% นั้น จะไปห้ามการออกดอก แต่สามารถทำให้กลับออกดอกได้อีก ถ้าให้สารอาหารเข้มข้นขึ้น แต่ในสารอาหารที่มี KNO_3 พบว่าไม่มีการห้ามออกดอกเลย เขาเชื่อว่า NH_4^+ น่าจะเป็นตัวที่ไปห้ามการออกดอก ซึ่งสนับสนุนผลการทดลองของ Kandeler ในปี 1969 ว่ากลไกในการห้ามการออกดอกเนื่องจาก NH_4^+ เหมือนกับกลไกในการห้ามการออกดอกเนื่องจาก sucrose 1% ซึ่งในปี 1968 Chailahjan เชื่อว่า NH_4^+ อาจทำงานโดยเกี่ยวข้องกับ uncoupling phosphorylation หรือ NH_4^+ อาจไปห้ามการสังเคราะห์เอนไซม์ nitrate reductaseจากการทดลองใน L.perpusilla ที่เจริญเติบโตอยู่ในสภาพที่ไม่สามารถสังเคราะห์แสงจะเกิดอาการแบบเดียวกันคือ NH_4^+ และ sucrose จะไปทำให้สารอาหารเจือจางลงซึ่งมีผลในการห้ามการออกดอก เขาเชื่อว่าผลของ NH_4^+ ที่ห้ามการออกดอกนี้ อาจเป็นผลเนื่องมาจากมีระดับของ amino acid ไม่เพียงพอในการออกดอกเนื่องจาก amino acid บางตัวสามารถทำให้การห้ามการออกดอกของ sucrose หมดไปได้ และ active amino acid นี้เชื่อว่าถูกสร้างขึ้นมาก่อนสารอื่น ๆ โดยวิธี amination หรือ transamination จาก respiratory intermediate ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า active amino acid ชนิดใดชนิดหนึ่งจะทำตัวเป็นตัวเริ่มต้นของ amino acid ที่มีผลต่อการออกดอกซึ่งพบว่า intermediate ของ glycolytic pathway tricarboxylic acid cycle และ pentose phosphate pathway สามารถทำให้การห้ามการออกดอกเนื่องจาก sucrose หมดไปได้เป็นบางส่วน ฉะนั้นอาจเป็นไปได้ว่า intermediate เหล่านี้อาจทำหน้าที่เหมือนกับเป็นตัวเริ่มต้นของ active amino acid (alanine serine) ส่วนการที่ NH_4^+ ไปทำให้มีระดับของ amino acid

ไม่เพียงพอจนทำให้ห้ามการออกดอกได้นั้นเชื่อว่ามีสาเหตุเนื่องมาจาก NH_4^+ ไปเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของ glucose-6-P ใน pentose phosphate pathway ซึ่งในกรณีของแหนนี้จะมี sucrose เป็นตัวชักนำให้มี glucose-6-P dehydrogenase เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้มีการเปลี่ยนแปลงของ glucose ใน pentose phosphate pathway มากเกินไปทำให้ glucose-6-P ที่จำเป็นต้องใช้ในการสร้าง amino acid precursorมีไม่เพียงพอ ซึ่งได้ผลเหมือนกับการทดลองในปี 1967 ของ Nitsch ว่าความมากน้อยของการเปลี่ยนแปลงของ glucose ใน pentose phosphate pathway มีผลต่อการออกดอกของพืช (Posner,1971) นอกจากนี้พบว่าการย้ายแหนลงในน้ำกลั่นทุกวัน วันละ 2-3 ชั่วโมง ในช่วงมืด สามารถห้ามการออกดอกได้ แสดงว่าสารที่กระตุ้นการออกดอกอาจถูกปล่อยออกจากพืชเมื่อแช่อยู่ในน้ำกลั่น (Hillman and Posner, 1971)

Oota (1972) พบว่า การห้ามการออกดอกของ L.gibba ในสารอาหารที่มี sucrose 1% นั้น สามารถทำให้กลับมีดอกได้อีก โดยใช้ cyclic AMP เข้มข้น 10^{-5} โมล่าร์ สารชนิดนี้ไม่มีผลต่อการออกดอกและการสร้างใบเลย ถ้าในสารอาหารนั้นไม่มี sucrose แต่ถ้าสารอาหารมี sucrose และมีสารที่ห้ามการออกดอกอยู่ด้วยสามารถทำให้พืชกลับออกดอกได้อีก โดยใช้ cyclic AMP ซึ่งในปี 1968 Robertson et al. พบว่าการทำงานของตัวกระตุ้นที่ให้แก่พืช เช่น ฮอร์โมนจะทำหน้าที่เป็น ตัวนำรหัสตัวแรกของ regulatory information โดยมี cyclic AMP เป็นตัวนำรหัสตัวที่สอง เขาสันนิษฐานว่า ตัวกระตุ้นนี้ไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ adenyl cyclase ในตำแหน่งที่จะเกิดปฏิกิริยาในระดับเซล และเอนไซม์ที่ถูกกระตุ้นแล้วนี้จะไปปรับระดับของ cyclic AMP ให้มีปริมาณสูงพอที่จะทำให้ ยีนส์ หรือ DNA ทำงานได้อีก การออกดอกของ L.gibba ที่เกิดขึ้นจากการถูกชักนำโดยช่วงเวลาการให้แสงน่าจะเกี่ยวข้องกับ cyclic AMP ซึ่งอาจประกอบด้วยระยะชักนำดังนี้

1. ชักนำการสร้าง florigen ในใบเพื่อตอบสนองต่อช่วงเวลาการให้แสงชักนำ

2. ชักนำให้มีการลำเลียง floral protein จากใบมาสะสมไว้ที่ตา

ทั้งสองระยะนี้ยังไม่ทราบแน่ชัดว่า เป็นระยะใดที่ cyclic AMP ทำหน้าที่เป็นตัวนำรหัสตัวที่สอง แต่เชื่อแน่ว่า การห้ามการออกดอกเนื่องจาก sucrose 1% ต้องเกี่ยวข้องกับการที่สารพวก catabolite ไปห้ามการพิมพ์แบบของยีนส์ เหมือนที่เกิดในแบคทีเรีย ซึ่ง

Pastan and Perlman ได้ทดลองไว้ในปี 1970

Posner (1973) ได้ทดลองโดยศึกษากับ L.perpusilla 6746 พบว่าสิ่งที่สามารถทำให้การห้ามการออกดอกเนื่องจาก sucrose หมดไปได้คือ สิ่งที่เกิดขึ้นระหว่างที่พืชหายใจเช่น 5'-ATP amino acid บางชนิด บรรยากาศที่ไม่มีคาร์บอนไดออกไซด์ อาหารที่ไม่มี NH_4^+ และ DCMU [3(3',4'-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea] ซึ่งเป็น photosynthetic inhibitor ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ สารพวกนี้มีผลต่อระดับ adenine derivative ในพืช เขาเชื่อว่า การห้ามการออกดอกเนื่องจาก sucrose อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงการหายใจหรือกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของ adenine derivative ของพืช ในปี 1968 Kandeler ได้อธิบายไว้ว่า การห้ามการออกดอกเนื่องจาก sucrose นี้เกิดเนื่องจากมีการใช้ ATP มากเกินไปนั่นเอง

Takimoto (1973) ได้ทดลองกับ L.perpusilla 6746 โดยศึกษาผลของคลื่นแสงว่าสามารถทำให้พืชออกดอกได้โดยไม่ขึ้นกับช่วงเวลาการให้แสง ถ้าให้พืชได้รับแสงสีน้ำเงินหรือแสงฟาเรด เขาพบว่าสามารถทำให้พืชออกดอกได้ โดยใช้เพียงแสงสีขาวที่มีความเข้มต่ำตลอดการทดลอง เนื่องจากแหนชนิดนี้เป็นพืชชนิดวันสั้นจึงสามารถออกดอกเมื่ออยู่ในช่วงมืดตลอดได้ เพียงแต่เปอร์เซนต์ของการออกดอกของพืชที่อยู่ในช่วงมืดตลอดนี้จะน้อยกว่าของพืชที่ได้รับแสงที่มีความเข้มต่ำ ดังนั้นผลของแสงที่มีความเข้มต่ำนี้ต่างกับผลของช่วงมืดตลอดและผลที่เกิดจากแสงที่มีความเข้มต่ำนี้เหมือนกับผลที่เกิดขึ้นจากแสงสีน้ำเงินและแสงฟาเรด

Doss (1975) ได้ศึกษาเกี่ยวกับระยะเวลาและจำนวนวงจรที่ใช้ในการชักนำให้ L.perpusilla ออกดอก พบว่าจำนวนวงจรที่ใช้ชักนำให้ออกดอกขึ้นกับระยะที่จะชักนำ ถ้าให้ช่วงเวลาการให้แสงชักนำในวันที่ 4 ของการทดลอง เมื่อครบ 7 วันแล้วผ่าดูจะพบ flower primordia แสดงว่าเมื่อให้ช่วงเวลาการให้แสงชักนำในวันที่ 4 สามารถชักนำให้ออกดอกได้โดยใช้เพียง 1 วงจร แสดงว่าการออกดอกต้องเกี่ยวข้องกับเวลาของการเจริญเติบโตและการผ่อของดอกด้วย ถ้าชักนำให้ออกดอกเร็วเกินไปไม่เกิดผล อาจเป็นเพราะยังไม่มีเนื้อเยื่อที่สามารถตอบสนองต่อการชักนำได้ และถ้าชักนำช้าเกินไปไม่เกิดผล อาจเป็นเพราะเวลาที่เหลือมีไม่เพียงพอที่จะทำให้เห็นผลได้ในวันที่ 7

ผลงานที่รวบรวมมากล่าวไว้ข้างต้นนี้ได้สรุปถึงหลักฐานต่าง ๆ เกี่ยวกับปัจจัยที่ควบคุมการออกดอกของแหน ซึ่งได้แก่ แสง อุณหภูมิ และสารอาหาร

แสง มีผลต่อการออกดอกทั้งในด้านความเข้ม ช่วงคลื่น ช่วงเวลาการให้แสง และเวลาให้แสงสลับในช่วงมืด โดยมีผลร่วมกับอุณหภูมิและส่วนประกอบของสารอาหาร ช่วงคลื่นแสง อุณหภูมิ และสารอาหารที่เหมาะสมสามารถทำให้การตอบสนองต่อช่วงเวลาการให้แสงในการออกดอกของพืชเปลี่ยนไปได้

ส่วนประกอบของสารอาหารที่มีผลต่อการออกดอกได้แก่ sucrose ตัวห้ามการสังเคราะห์ RNA (2-thiouracil) ตัวห้าม gene transcription (actinomycin D) gibberellin chelating agent (EDTA EDDHA) ferric citrate citric acid tartaric acid SH-inhibitor ($CuSO_4$) NH_4^+ cyclic AMP 5'- ATP adenine derivative DCMU amino acid เกลือแร่ต่าง ๆ และ intermediate ต่าง ๆ

ฉะนั้นจะเห็นได้ว่า ส่วนประกอบของสารอาหาร มีความสำคัญต่อการออกดอกของพืชมาก การศึกษาที่ใช้เทคนิคของ tissue culture นิยมใช้น้ำมะพร้าวเติมลงในสารอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อทำให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตดีและเร็ว เนื่องจากมีฮอร์โมนพืชจำพวก cytokinin อยู่ด้วยนั้นทำให้คิดว่า น้ำมะพร้าวก็น่าจะมีผลต่อการออกดอกด้วยเช่นกัน ซึ่งอาจจะเป็นผลเนื่องมาจาก cytokinin (Evans,1975) ในน้ำมะพร้าวหรือ อาจเป็นเพราะสารอย่างอื่นที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าวก็ได้ เพราะจากการวิเคราะห์น้ำมะพร้าวพบว่ามีสารที่ช่วยในการออกดอกของพืชได้ เช่น amino acid บางชนิด (Posner,1971) และเกลือแร่ต่าง ๆ (Posner,1969; 1973)

002231

ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ศึกษาเกี่ยวกับผลของช่วงเวลาการให้แสงที่มีต่อการเจริญเติบโตและการออกดอกของแหน Spirodela polyrhiza (Linn.) Schleid Syn. Lemna polyrhiza Linn. แหนชนิดนี้ขนาดไม่เล็กจนเกินไป สะดวกในการทำ pure culture มีอยู่ทั่วไปตามแหล่งน้ำต่าง ๆ ระยะเวลาทดลองก็ไม่นานเกินไป ดอกเห็นได้ง่ายและชัดเจน นำแหนชนิดนี้มาศึกษาในสารอาหาร 3 ชนิดในช่วงเวลาการให้แสงต่าง ๆ กันโดยศึกษาผล

ของน้ำมะพร้าวและ kinetin ในสารอาหารที่มีต่อการเจริญเติบโตและการออกดอกของแหน

จากบทความเกี่ยวกับแหน โดย ศาสตราจารย์กสิน สุวตะพันธุ์ (2507) อธิบายไว้ว่า พืชชนิดนี้เป็นพืชชนิดวันสั้น เป็นพันธุ์ไม้น้ำที่เจริญงอกงามได้ในสภาวะที่มีน้ำอุดมสมบูรณ์ ปกติแหนจะลอยอยู่บนผิวน้ำนิ่ง ๆ แต่บางครั้งอาจจะจมลงไปอยู่ใต้ฟื้นน้ำ เมื่อมีความแห้งแล้ง หรืออยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม แหนจะสร้าง cyst ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นกลม หนา ขนาดเล็ก ซึ่งสามารถเจริญงอกงามได้อีก เมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสม

พืชพวกนี้ รากแท้ลดขนาดลงเป็น rhizoid ชนิดที่ไม่แยกสาขา เมื่อโตเต็มที่มี 5 รากหรือมากกว่า 5 ลำต้นลดขนาดลงมาเห็นเป็นแผ่นบาง ๆ เล็ก ๆ รูปไข่ ปลายกว้าง ความยาวตั้งแต่ 4.5-10 มิลลิเมตร ไม่มีใบ ภายในมีเซลเรียงตัวซ้อนกันอยู่เป็นชั้น ด้านบนมีสีเขียว ด้านล่างมีสีม่วงแดง ผิวด้านบนและด้านล่างแบนราบ ค่อนข้างหนา ขอบข้าง ๆ จะเป็นกระพุ้งเล็ก ๆ เว้าเข้าไปสองข้างไม่เท่ากันชอนลงไปด้านล่าง กระพุ้งเล็ก ๆ นี้จะเป็นที่เกิดของต้นใหม่

ในกรณีที่เกิดดอก ดอกจะออกแทนที่ต้นใหม่นั้น โดยออกจากกระพุ้งนั้นอันใดอันหนึ่งเพียงอันเดียว ต้นใหม่ที่เกิดขึ้นในกระพุ้งเล็ก ๆ ซ่อนอยู่ในต้นแม่นั้นจะติดอยู่กับ membranous leaflet เล็ก ๆ 2 อัน ช่อดอกประกอบด้วย ดอกตัวผู้ 2 ดอก และดอกตัวเมีย 1 ดอก อยู่ภายในกาบหุ้มดอกตัวผู้ขึ้นอยู่เป็นคู่แต่ละดอกมี 2 stamen

filament เป็นแบบ filiform เป็นเส้นเรียวยาวแบบรูปเข็ม อับละอองเกสรตัวผู้มี 2 เซล 4 locule เวลาแก่แตกออกเป็น 2 ฝา ดอกตัวเมียชิ้นเดี่ยว ๆ มี 1 pistil 2 ovule ติดอยู่ที่ฐานของรังไข่ ก้านชูเกสรตัวเมียและ stigma มี 1 อัน ไม่แตกสาขา ผลเป็นแบบ utricle มี 1 เมล็ด

บนแผ่นของลำต้นมีเส้นลายอยู่ 7-13 เส้น และ มักอยู่กันเป็นกลุ่ม อยู่ใน 2-4 ชั่วอายุ คือมีกลุ่มละ 2-3หรือ 4 ต้นหรือมากกว่าก็มี ขยายพันธุ์แบบไม่มีเพศได้โดย

การแบ่งตัวออกเป็นหน่อเล็ก ๆ เหมือนต้นเดิม พวกที่อยู่ในเขตอบอุ่นสามารถอยู่ข้ามฤดูได้โดยการสร้างหน่อหรือสร้าง cyst ฝังจมอยู่ใต้ระดับที่มันอยู่ แหนมีอยู่ทั่วไปในสระน้ำ บ่อ และตามทุ่งนาที่มีน้ำท่วม (Lawrence, 1951)