



## บทที่ 1

### บทนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตกล้วยไม้เมืองร้อนที่สำคัญที่สุดแห่งหนึ่งของโลก และกล้วยไม้ นับเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างหนึ่ง เนื่องจากประเทศไทยจัดเป็นผู้ส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกรายใหญ่ของโลก กล้วยไม้เป็นไม้ตัดดอกที่ดอกมีสีสันสวยงามและหลากหลาย รูปร่างแตกต่างกันไปตามลักษณะประจำพันธุ์ มีทั้งดอกขนาดเล็กและใหญ่ อีกทั้งดอกกล้วยไม้หลายชนิด เช่น หวายและแวนด้า มีอายุการใช้งานนาน จึงเป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลาย ในปีหนึ่งๆ สามารถผลิตเพื่อตัดดอกจำหน่ายทำรายได้แก่ผู้ปลูกเลี้ยงและนำรายได้เข้าสู่ประเทศมากพอสมควร

กล้วยไม้เป็นไม้ดอกที่เจริญเติบโตช้า เมล็ดมีขนาดเล็กมากแตกต่างจากเมล็ดของไม้ดอกชนิดอื่นๆ มีน้ำหนักเพียง 0.3 - 14 ไมโครกรัมเท่านั้น ความยาวเพียง 0.25 - 1.2 มิลลิเมตร และกว้าง 0.09 - 0.27 มิลลิเมตร (Arditti, 1967) ไม่มีเอนโดสเปิร์มหรืออาหารสะสมภายในเมล็ด การงอกของเมล็ดในสภาพธรรมชาติต้องอาศัยเชื้อรา mycorrhiza โดยมีความสัมพันธ์กับกล้วยไม้แบบ symbiosis ดังนั้นจึงพบว่าเมล็ดกล้วยไม้ในธรรมชาตินั้นงอกได้น้อยมาก การเจริญของกล้วยไม้โดยทั่วไปค่อนข้างช้า นับจากเมล็ดงอกจนถึงระยะออกดอกใช้เวลาอย่างน้อย 3 - 5 ปี ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของกล้วยไม้นั้นๆ กล้วยไม้ที่นิยมปลูกกันในปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นลูกผสมข้ามชนิด (interspecific hybrid) และข้ามสกุล (intergeneric hybrid) ทำให้ได้สายพันธุ์ใหม่มากมาย แต่ลูกผสมที่ได้มักมีความแปรปรวนสูง โดยเฉพาะพวกลูกผสมข้ามสกุลที่ห่างไกลกันมากๆ ลูกผสมที่ได้อาจมีลักษณะหรือสีของดอกไม่เป็นไปตามที่คาดไว้ ซึ่งกว่าจะทราบลักษณะดังกล่าว ต้องใช้เวลาหลายปี ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการปลูกเลี้ยงและบำรุงรักษา ดังนั้นหากสามารถเลี้ยงให้กล้วยไม้เจริญเร็วขึ้น และสามารถชักนำให้ออกดอกได้ในช่วงอายุยังน้อย เพื่อจะได้เห็นลักษณะของดอกได้เร็วขึ้น จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการคิดและปรับปรุงพันธุ์ลูกผสมใหม่ๆ ซึ่งเป็นการประหยัดทั้งเวลาและค่าใช้จ่ายในการจัดการด้วย

## การสำรวจเอกสาร

ในอดีตความรู้เกี่ยวกับการงอกของเมล็ดนั้นมีน้อยมาก จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1899 Bernard ได้สังเกตเห็นว่าการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพธรรมชาตินั้นจำเป็นต้องอาศัยเชื้อราในกลุ่ม mycorrhiza จึงได้ทำการแยกเชื้อราออกมาพบว่าเชื้อราที่สำคัญที่มีบทบาทต่อการงอกคือสกุล *Rhizoctonia* โดยมีความสัมพันธ์กับกล้วยไม้แบบอาศัยซึ่งกันและกัน (symbiosis) ดังนั้นในสมัยแรกๆ นักวิทยาศาสตร์จึงพยายามหาวิธีเพาะเมล็ดให้สามารถงอกได้มากขึ้น โดยการเลียนแบบธรรมชาติ Bernard เป็นคนแรกที่ได้พยายามเพาะเมล็ดกล้วยไม้และเชื้อราด้วยกันในอาหาร เริ่มตั้งแต่ปี ค.ศ. 1904 ถึงปี ค.ศ. 1909 แต่ยังไม่ประสบความสำเร็จ (อ้างถึงโดย Arditti, 1967) และจากการค้นพบของ Bernard ได้มีผู้ศึกษาเกี่ยวกับเชื้อราในกลุ่มนี้อีกหลายท่านเช่น ในปี ค.ศ. 1907 Temetz พบว่าเชื้อราที่แยกได้จากรากของ *Ericaceae* สามารถตรึงไนโตรเจนในอากาศมาใช้ได้ (อ้างถึงโดย Noggle and Wynd, 1943) จนถึงในปี ค.ศ. 1922 Lewis Knudson เป็นนักวิทยาศาสตร์ท่านแรกที่ค้นพบวิธีการเพาะเมล็ดกล้วยไม้วิธีใหม่ได้สำเร็จโดยไม่อาศัยเชื้อรา ซึ่งเป็นการงอกแบบ asymbiosis โดยการเพาะเมล็ดแบบปลอดเชื้อ ในอาหารที่มีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบ โดยได้ทดลองกับกล้วยไม้สกุล *Cattleya Laelia* และ *Epidendrum* พบว่าเมล็ดกล้วยไม้เหล่านี้ซึ่งไม่มีเอนโดสเปิร์มสามารถงอกได้มากและมีอัตราการอยู่รอดสูง โดยไม่จำเป็นต้องมีเชื้อราอยู่ด้วย สำหรับสูตรอาหารที่ใช้ นั่นคือสูตร Knudson B ซึ่งประกอบด้วยสารประกอบอนินทรีย์ที่ให้ธาตุอาหารหลัก 4 ชนิด คือ  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  และ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  กับธาตุอาหารรองอีก 1 ชนิด คือ  $\text{Fe}(\text{PO}_4)_3$  ฝุ่นและน้ำตาล จากการค้นพบนี้แสดงให้เห็นว่าการงอกของเมล็ดกล้วยไม้นั้นไม่จำเป็นต้องอาศัยเชื้อรา แต่ต้องมีอาหารพวกคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงานนอกเหนือจากธาตุอาหารอื่นๆ ซึ่ง Knudson ได้ปรับปรุงสูตรอาหารเพาะเมล็ดกล้วยไม้ให้มีความเหมาะสมต่อการเจริญของกล้วยไม้ จนได้สูตร Knudson C ในปี ค.ศ. 1946 โดยมีส่วนประกอบของสารประกอบอนินทรีย์ที่ให้ธาตุอาหารหลักเช่นเดียวกับสูตร Knudson B แต่เพิ่มธาตุอาหารรองเป็น 2 ชนิดคือ  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  และ  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  แทนการใช้  $\text{Fe}(\text{PO}_4)_3$  ต่อมาได้มีผู้สนใจศึกษาเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมกับกล้วยไม้ชนิดอื่นๆ มากขึ้น อย่างไรก็ตามอย่างไรก็ดีพบว่าสูตรของ Knudson ที่พบตั้งแต่ปี 1922 นั้นยังเป็นที่นิยมกันอยู่ และยังใช้เป็นสูตรพื้นฐานในการพัฒนาและปรับปรุงให้ได้สูตรใหม่ๆ ตามมาอีกมากมาย เพื่อให้เหมาะสมกับชนิดของพืชและส่วนของเนื้อเยื่อที่นำมาเลี้ยง

กล้วยไม้ก็เหมือนกับพืชอื่นๆ ทั่วไปที่จำเป็นต้องได้รับสารอาหารสำหรับการเจริญ ส่วนประกอบในสูตรอาหารที่เพียงพอและเหมาะสมจึงจัดเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการงอกและการ

เจริญของกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อเป็นอย่างมาก นับจากงานของ Knudson (1922) เป็นต้นมา เริ่มมีผู้สนใจศึกษาถึงธาตุอาหารที่จำเป็นชนิดต่างๆ ทั้งธาตุอาหารหลัก (macroelement) และธาตุอาหารรอง (microelement) ในอาหารรวมถึงสารชนิดอื่นๆ ทั้งที่เป็นสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ ได้แก่ น้ำตาลหรือคาร์โบไฮเดรตอื่น วิตามิน และสารอินทรีย์ที่ได้จากพืชหรือสัตว์ รวมทั้ง pH ของอาหาร เป็นต้น ในปี ค.ศ. 1966 Chin พบว่า โปแตสเซียม ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม มีความสำคัญมากต่อการเจริญของกล้วยไม้ลูกผสม *Dendrobium phalaenopsis* (อ้างถึงโดย Withner, 1974) นอกจากนี้ไนโตรเจนก็มีผลต่อการงอกและการเจริญของกล้วยไม้เช่นกัน ไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่ำสามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดบางชนิดได้ เช่นใน *Vanilla planifolia* พบว่าสามารถงอกได้ดีบนอาหารที่ลดปริมาณไนโตรเจนในสูตรอาหาร Knudson B ลง 10 เท่า ขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไนโตรเจนขึ้นอีก 2 เท่า กลับยับยั้งการงอกของเมล็ด (Lugo - Lugo, 1955) โดยทั่วไปไนโตรเจนที่ใช้ในสูตรอาหารมีทั้งในรูปเกลือไนเตรทและเกลือแอมโมเนียม ซึ่งกล้วยไม้สามารถนำไปใช้ได้ทั้ง 2 รูป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของกล้วยไม้ด้วยเช่นกัน Raghavan และ Torrey (1963) พบว่ากล้วยไม้ลูกผสมสกุล *Cattleya* สามารถงอกและเจริญได้ดีบนอาหารที่มีไนโตรเจนในรูปของเกลือแอมโมเนียม ขณะที่เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มีเกลือไนเตรทการเจริญกลับไม่ดีเท่าที่ควร และการงอกของเมล็ด *Vanilla planifolia* นั้นพบว่าไนโตรเจนในรูปของเกลือแอมโมเนียมมีผลต่อการงอกของเมล็ดมากกว่าในรูปของเกลือไนเตรท (Lugo - Lugo, 1955) อย่างไรก็ตามยังมีการศึกษาถึงสารประกอบอนินทรีย์ที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนต่อการงอกและการเจริญของกล้วยไม้อีกด้วย ในปี ค.ศ. 1936 Burgeff พบว่า  $\text{NH}_4\text{SO}_4$  ให้ผลดีที่สุดต่อ *Laeliocattleya* และในปี ค.ศ. 1941 Schaffstein พบว่า  $\text{KNO}_3$  และ  $\text{NH}_4\text{SO}_4$  ให้ผลดีที่สุดสำหรับสกุล *Phalaenopsis* และ *Dendrobium* นอกจากนี้ยังมีการใช้กรดอะมิโนหลายชนิดเติมลงในสูตรอาหารด้วยเพื่อช่วยในการงอกของกล้วยไม้บางชนิด (อ้างถึงโดย Arditti, 1967)

ธาตุอาหารรอง เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณน้อยแต่จำเป็นสำหรับการงอกและการเจริญของกล้วยไม้ ในสูตรอาหารเพาะเมล็ดในระยะแรก อาจไม่ต้องใช้ธาตุเหล่านี้ เนื่องจากธาตุอาหารรองอาจปนเปื้อนมากับสารอื่นๆ ที่เป็นส่วนประกอบของอาหารอยู่แล้ว (Arditti and Emst, 1993) ธาตุอาหารรองที่จะใช้ในรูปแบบสารละลาย ประกอบด้วยสารอนินทรีย์หลายตัว ได้แก่ โบรอน คอปเปอร์ โมลิบดีนัม สังกะสี แมงกานีส ไอโอดีน โคบอลท์ และเหล็ก แต่ถ้าใช้เหล็ก, สังกะสี และโบรอน ในปริมาณที่มากเกินไป อาจทำให้เป็นพิษแก่พืชได้ (Withner, 1974) Pierik และคณะ พบว่าอาหารที่ใส่เหล็กทำให้เมล็ดของ *Paphiopedilum ciliolare* งอกและเจริญดีกว่าในอาหารที่ไม่มีมาก (อ้างถึงโดย Pierik, 1987) Yates และ Curtis (1949) พบ

ว่าอาหารที่มีแมงกานีสทำให้ *Epidendrum nocturnum* Jacq เจริญได้ดีต้นมีสีเขียวสดและรากเจริญดีขึ้นเมื่อเทียบกับอาหารที่ไม่มี

น้ำตาลจัดเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญที่กล้วยไม้ใช้เป็นแหล่งพลังงานสำหรับการงอกและการเจริญของต้นอ่อน กล้วยไม้แต่ละชนิดใช้น้ำตาลได้แตกต่างกัน บางชนิดอาจจะไม่งอกเลยในอาหารที่ใช้น้ำตาลที่บริสุทธิ์หรือเฉพาะเจาะจง Noggle และ Wynd (1943) พบว่าเมล็ดของ *Cattleya* สามารถงอกและเจริญได้ดีในอาหารที่ใช้น้ำตาลมอลโทส แต่จะไม่งอกเลยเมื่อใช้น้ำตาลที่บริสุทธิ์ กล้วยไม้บางชนิดอาจงอกและเจริญได้ดีเมื่อใช้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โมเลกุลคู่หรือหลายโมเลกุล ในปี ค.ศ. 1967 Emst พบว่าน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่มีน้ำตาลฟรุกโทสหรือไซโลสเป็นองค์ประกอบ จะให้ผลดีต่อการงอก

การศึกษาเกี่ยวกับวิตามินและสารอินทรีย์ก็ได้รับความสนใจมากเช่นกัน ในปี ค.ศ. 1943 Noggle และ Wynd พบว่า pyridoxine ทำให้การงอกของ *Cattleya* ดีขึ้น และ nicotinic acid ให้ผลดีทั้งกับการงอกและการเจริญของกล้วยไม้ชนิดเดียวกัน นอกจากนี้วิตามินยังเป็นที่ต้องการของกล้วยไม้หลายชนิดเพื่อช่วยในการงอก เช่น *Dendrobium Phalaenopsis* และ *Vanda* (อ้างถึงโดย Burgeff, 1959) การทดลองใช้สารอินทรีย์ซึ่งได้จากพืชหรือสัตว์ส่วนใหญ่มีผลส่งเสริมการเจริญของกล้วยไม้ให้ดีขึ้น เช่น ในปี ค.ศ. 1922 Knudson ทดลองเพาะเมล็ด *Laeliocattleya* พบว่าเมล็ดงอกและเจริญได้ดีบนอาหารที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสและสารสกัดจากยีสต์ และบนอาหารที่ประกอบด้วยน้ำตาลฟรุกโทสและลำต้นไต้ดินมันฝรั่ง (หัวมันฝรั่ง) ส่วนสารอินทรีย์อื่นๆ ที่นิยมใช้กัน ได้แก่ peptone (Curtis, 1943), น้ำมะเขือเทศสด (Meyer, 1945), น้ำมะพร้าวอ่อน (ถาวร และมนทกานติ, 2519), นู๋ปลา (อ้างถึงโดย Emst, 1967), เนื้อกล้วยหอมบดละเอียด (Emst, 1967) เป็นต้น

ผลการศึกษาถึงองค์ประกอบของอาหารที่เหมาะสมสำหรับการงอกและการเจริญของกล้วยไม้ที่ผ่านมา ทำให้เกิดสูตรอาหารขึ้นใหม่อีกหลายสูตร ส่วนใหญ่จะเป็นการดัดแปลงจากสูตรของ Knudson C ซึ่งเป็นสูตรธาตุอาหารต่ำแต่มีปริมาณธาตุอาหารต่างๆ เพียงพอ เนื่องจากสารอินทรีย์ที่ใช้ในสมัยแรกๆ ไม่ค่อยมีความบริสุทธิ์ ดังนั้นสารที่ขาดไปอาจจะเจือปนอยู่ในสารที่ใช้ ทำให้พืชไม่เกิดอาการขาดสารอาหาร

Murashige และ Skoog (1962) ได้ปรับปรุงสูตรอาหารของ White และสูตรดั้งเดิมอื่นๆ เพื่อให้เหมาะสมสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อแคลลัสของยาสูบซึ่งเป็นไม้ที่โตเร็ว พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณของธาตุอาหารอนินทรีย์หรืออินทรีย์ในสูตรอาหารพื้นฐานให้มี

ความเข้มข้นรวมสูงขึ้น 4 เท่า จะทำให้เนื้อเยื่อเยื่อใยเจริญดีที่สุด โดยมีน้ำหนักสดสูงขึ้นประมาณ 3 เท่า ตั้งแต่นั้นมาได้มีผู้นำสูตรนี้ไปใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอื่นๆ อีกหลายชนิดซึ่งให้ผลต่อการเจริญได้ดี สูตรนี้จึงเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย

Schenk และ Hildebrandt (1972) ได้เสนออาหารสูตรใหม่ที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเนื้อเยื่อแคลลัสของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและพืชใบเลี้ยงคู่หลายชนิด โดยไม่ได้ทำการทดลองกับกล้วยไม้ สูตรอาหารนี้ประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรองและกรดอินทรีย์ ได้แก่ myo-inositol ในปริมาณสูง นอกจากนี้ยังได้ทดลองใช้สารควบคุมการเจริญร่วมด้วย ซึ่งจากงานนี้พบว่าปริมาณของธาตุอาหารหลักบางชนิดสูงขึ้นส่งเสริมการเจริญได้ดีขึ้น ยกเว้นปริมาณของแคลเซียม, แมกนีเซียม และฟอสฟอรัส ถ้าใช้ในปริมาณที่สูงมากการเจริญจะลดลง ส่วนธาตุอาหารรองนั้น ใช้ปริมาณเพียงเล็กน้อยก็สามารถช่วยการเจริญได้ และน้ำตาลซูโครสที่ระดับ 3% เหมาะสมต่อการเจริญมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าออกซินที่ความเข้มข้นสูงเหมาะสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชใบเลี้ยงเดี่ยวด้วย ซึ่งสูตรนี้ทำให้พืชเจริญได้เร็วขึ้นและทำให้เซลล์ของแคลลัสหลุดออกจากกันได้ง่ายขึ้นด้วย

ถาวร วัชรภักย์ และมนทกานติ วัชรภักย์ (2519) ได้ปรับปรุงสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อแคลลัสกล้วยไม้หลายสกุล ได้แก่ *Cattleya*, *Dendrobium*, *Vanda* และ *Aranda* โดยศึกษาถึงความต้องการออกซิน ไซโตไคนิน และน้ำตาลซูโครสบนอาหารสูตร Schenk and Hildebrandt และศึกษาถึงองค์ประกอบ ความเข้มข้นและสัดส่วนของเกลือธาตุอาหารหลักที่เหมาะสม พบว่ากล้วยไม้สกุล *Cattleya* และ *Dendrobium* เจริญได้ดีบนอาหารที่มี NAA 0.1 - 1.0 ppm. และน้ำมะพร้าว 10% ส่วนเนื้อเยื่อ *Vanda* และ *Aranda* เจริญได้ดีโดยไม่ต้องเติมออกซินและไซโตไคนิน ที่ระดับซูโครส 4% ทั้ง 4 สกุล เมื่อศึกษาถึงสัดส่วนของเกลือธาตุอาหารหลักพบว่าเนื้อเยื่อสกุล *Cattleya* เจริญได้ดีที่สุดในอาหารสูตร Knudson และเนื้อเยื่อสกุล *Dendrobium* เจริญได้ดีที่สุดในอาหารที่มีปริมาณธาตุอาหารหลักเป็นครึ่งส่วนของสูตร Schenk and Hildebrandt หรือครึ่งส่วนของ Murashige and Skoog ส่วนสกุลเนื้อเยื่อสกุล *Vanda* และ *Aranda* นั้น ระยะเวลาแคลลัสเจริญได้ดีในครึ่งส่วนของ Schenk and Hildebrandt แต่ระยะเวลาเจริญเป็นต้น พบว่าเจริญบนอาหารของ Knudson ได้ดีที่สุด

ล่าสุด Vajrabhaya, Supaokit และ Vajrabhaya (1994) ได้พัฒนาสูตรอาหารใหม่สำหรับการเจริญของต้นกล้ากล้วยไม้ ให้ชื่อสูตรว่า CU-1 ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่มีองค์ประกอบอย่างง่ายสามารถเตรียมได้สะดวกและรวดเร็ว อาหารสูตรนี้ประกอบด้วย  $KNO_3$ , น้ำตาลซูโครส ส่วน

ของลำต้นใต้ดินมันฝรั่งและงุ่น ซึ่งสูตรนี้ได้ทดลองกับกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* พบว่ากล้วยไม้ เจริญได้ดีกว่าสูตรของ Schenk and Hildebrandt อย่างน้อย 3 เท่า และดีกว่าสูตร Knudson ถึง 5 เท่า รวมทั้งได้ทดลองนำสูตรนี้มาเพาะเมล็ด *Dendrobium* และ *Cattleya* พบว่าเมล็ดงอก และเจริญได้ดีเช่นกัน ทั้งยังพบว่าส่วนของลำต้นใต้ดินมันฝรั่งเพียงอย่างเดียวมีทั้งสารอินทรีย์และ อนินทรีย์ เพียงพอสำหรับการเจริญของต้นอ่อนกล้วยไม้ขาดเพียงไนโตรเจน ในโตรเจน และน้ำตาล เท่านั้น

พืชชั้นสูงโดยทั่วไปเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่จะมีการพัฒนาจากระยะ vegetative เข้าสู่ ระยะ reproductive หรือระยะที่พืชสร้างดอกซึ่งเป็นช่วงที่สำคัญยิ่งในวงจรชีวิตของพืช ส่วนใหญ่การ ออกดอกจะเป็นไปตามฤดูกาลและมีอีกหลายชนิดสามารถออกดอกได้ตลอดปี การออกดอกของ พืชต้องอาศัยขบวนการทางสรีรวิทยาที่สลับซับซ้อน ซึ่งมีการศึกษาวิจัยถึงกลไกที่แท้จริงของการ ออกดอกมานานนับร้อยปี แต่จนถึงปัจจุบันความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับเรื่องนี้ยังคงไม่มากเท่าที่ ควร อย่างไรก็ตาม พอจะสรุปได้ว่าการพัฒนาของพืชสู่ระยะ reproductive นั้น มีปัจจัยทางสภาพ แวดล้อมและสารควบคุมการเจริญเข้ามาเกี่ยวข้อง (อ้างถึงโดย Arteca, 1996)

การออกดอกของพืชโดยทั่วไปแบ่งได้เป็นสองระยะด้วยกัน คือ การเกิดของตาดอก (flower bud initiation) และตามด้วยการพัฒนาของตาดอก (flower bud development) ซึ่ง ขบวนการทั้งสองระยะนี้จะต่างกันและแยกกันอย่างชัดเจน โดยแต่ละขบวนการต้องการปัจจัย ทางสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมที่เฉพาะสำหรับพืชนั้นๆ การเกิดตาดอกเป็นการพัฒนาของ เนื้อเยื่อเจริญทำให้เกิดเป็น floral primodium ส่วนการพัฒนาของดอกนั้นเป็นการพัฒนาของ floral primodium เป็นดอกที่สมบูรณ์ (Dodson and Gillespie, 1967) ซึ่งการเกิด floral primodium และการพัฒนาของดอกนั้น อาจควบคุมโดยปัจจัยใดปัจจัยหนึ่ง เช่นความยาวช่วง แสง อุณหภูมิ หรือสารควบคุมการเจริญ หรือปัจจัยหลายอย่างเหล่านี้ร่วมกันก็ได้ (Arteca, 1996)

ในไม้ประดับดอก ส่วนของดอกนับเป็นส่วนที่สำคัญมากที่สุด การผสมพันธุ์หรือปรับ ประพันธุ์เพื่อให้ได้รูปร่างดอกที่สวยงามหรือที่แปลกตาออกไปจึงเป็นที่สนใจทำกันมาก หากผู้ผสม สามารถเห็นดอกได้เร็วจะมีประโยชน์ในการค้ามาก ปัจจุบันได้มีผู้สนใจศึกษาวิธีชักนำให้ออก ดอกเร็วขึ้น โดยการเลี้ยงส่วนต่างๆ ของพืชในหลอดแก้ว และชักนำด้วยปัจจัยต่างๆ พบว่าประสบ ความสำเร็จในไม้ดอกหลายชนิดรวมทั้งกล้วยไม้ด้วย ดังได้กล่าวมาแล้วว่าปัจจัยที่ช่วยให้ต้นไม้ ผลิตดอกนั้นแตกต่างกันตามชนิดของพืช เมื่อนำชิ้นพืชมาเลี้ยงในหลอดแก้ว การที่จะชักนำให้

ขึ้นพืชเหล่านั้นเกิดตาดอกและพัฒนาต่อไปเป็นดอกที่โตเต็มที่ คงจะแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช ปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำให้พืชออกดอกในหลอดแก้ว ขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น สรีระของต้นพืชขณะที่นำเอาขึ้นพืชมาเลี้ยง ปัจจัยของสารอาหารที่ใช้เลี้ยง เช่น กลีโคโนเตรท กลีโคแอมโมเนียม ความเข้มข้นของน้ำตาล อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน ตลอดจนชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญ หรือความยาวของช่วงแสงต่อวัน เป็นต้น

การชักนำให้พืชออกดอกในหลอดแก้ว ได้มีรายงานครั้งแรกในปี ค.ศ. 1955 โดย Skoog ซึ่งศึกษาในยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) โดยนำส่วนข้อของลำต้นมาเลี้ยงและพบว่า ส่วนของพืชที่นำมาเลี้ยงมีผลต่อการเกิดตาดอกของยาสูบได้ซึ่งเป็นรายงานแรกที่พบว่าการออกดอกสามารถเกิดขึ้นได้ในหลอดแก้ว (อ้างถึงโดย Scorza and Janick, 1980) และต่อมามีรายงานในพืชอื่นอีกหลายชนิด ซึ่งมีปัจจัยต่างๆ เข้ามาเกี่ยวข้องในการชักนำ ได้แก่ งานของ Takimoto (1960) เป็นรายงานแรกๆ ที่ได้ศึกษาถึงผลของน้ำตาลซูโครสต่อการเกิดตาดอกของ *Pharbitis* ซึ่งเป็นพืชวันสั้น โดยปลูกต้น *Pharbitis* ในอาหารสูตรดัดแปลงของ White ที่ไม่มีและมีน้ำตาล 5% ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 20 องศาเซลเซียส พบว่าพืชนี้เกิดตาดอกได้ดีในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 5% ในทุกสภาพแสงของวันสั้นหรือสภาพมืดและที่อุณหภูมิทั้งสองระดับ โดยไม่ต้องการความเข้มแสงสูงในการชักนำ ซึ่งในธรรมชาติพืชวันสั้นจะต้องการความเข้มแสงสูงในการเกิดดอก ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากปริมาณน้ำตาลซูโครสที่สูงที่ให้แก่พืชทำให้มีอาหารเพียงพอสำหรับการสร้างดอกโดยที่พืชไม่ต้องใช้กระบวนการที่ต้องการแสงความเข้มสูง (high-intensity light process) รายงานของ Ringe และ Nitsch (1968) ได้ศึกษาถึงผลของสารควบคุมการเจริญต่อการเกิดตาดอกของ *Begonia* โดยชักนำส่วนของก้านใบ ใบ และก้านดอก ด้วย IAA BA และ adenine ในอาหารสูตร Murashige-Skoog and Knop พบว่าทั้ง IAA BA และ adenine ที่ความเข้มข้นไม่เกิน  $3 \times 10^{-4}$  โมลาร์ สามารถชักนำให้ก้านดอกสร้างตาดอกได้ ซึ่งออกซินอาจไม่มีผลโดยตรงต่อการเกิดดอกเหมือนไซโตไคนิน หรือ adenine แต่ออกซินอาจมีผลทำให้ขึ้นพืชอยู่รอดได้จนกระทั่งส่วนเนื้อเยื่อเจริญสามารถพัฒนาจนเป็นดอกได้ งานของ Wardell และ Skoog (1969) ได้ศึกษาถึงสารควบคุมการเจริญต่อการออกดอกของยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) โดยเลี้ยงส่วนของลำต้นจากต้นที่ออกดอกแล้วในอาหารสูตร Murashige and Skoog พบว่าเมื่อใช้ IAA ที่ความเข้มข้นต่ำ (1 ไมโครโมลาร์) ทำให้การพัฒนาของตาดอกดีขึ้น แม้การเกิดดอกของขึ้นลำต้นจะต้องการ IAA แต่ถ้า IAA ที่ความเข้มข้นมากไปกลับมีผลในการยับยั้งทั้งการเจริญด้าน vegetative และการเจริญของตาดอก ส่วน kinetin ที่ความเข้มข้นสูง ช่วยเพิ่มปริมาณ vegetative bud แต่ไม่มีผลช่วยให้เกิดตาดอกเพิ่มขึ้น แต่กลับทำให้ floral shoot แตกแขนงมาก

และ GA<sub>3</sub> ที่เติมในอาหารตั้งแต่แรกจะยับยั้งการเกิดตาตอกอย่างมาก แต่ถ้าให้หลังจากที่ยาสอบเกิดตาตอกแล้วจะช่วยให้ตาตอกพัฒนาต่อไปได้ดี งานของ Srinivasan และ Mullins (1978) ที่ได้ศึกษากลของไซโตไคนิน ชนิดต่างๆ ต่อการเกิดตอกขององุ่น (*Vitis vinifera* L.) โดยเลี้ยงส่วนของ tendril พบว่าเมื่อป้าย BA หรือ PBA 5-10 ไมโครโมลาร์ ที่ส่วนปลายของ tendril โดยตรงจะสามารถพัฒนาไปเป็นช่อดอกได้ แต่ถ้าเติม BA หรือ PBA ลงในอาหารแข็งจะไม่มีช่อดอกเกิดขึ้น นอกจากนั้นยังพบว่าเมื่อเติม BA PBA หรือ zeatin riboside ลงในอาหารเหลวที่เลี้ยง tendril และเขย่าตลอดเวลา พบว่าสามารถชักนำให้แตกกิ่งจำนวนมากและเจริญไปเป็นช่อดอกได้ นอกจากนั้นยังพบว่า PBA และ zeatin riboside ไม่มีผลต่อการเจริญของ calyx และ corolla ดังนั้นดอกจึงมีรูปร่างปกติ แต่ PBA และ zeatin riboside ไม่มีผลต่อการเกิด micro- และ macrosporogenesis

รายงานของ Scorza และ Janick (1980) ได้ศึกษาใน *Passiflora suberosa* . โดยการเลี้ยงชิ้นใบ ลำต้น และ tendril ในอาหารสูตร Murashige and Skoog ที่มีน้ำตาลซูโครส 3% โกลซินและวิตามินเป็นส่วนประกอบ พบว่าส่วนปลายยอดของลำต้นสามารถชักนำให้เกิดดอกได้ภายใน 21 วัน เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่มีแสง ซึ่ง Scorza และ Janick สรุปว่าการชักนำให้เกิดดอกนั้นต้องเลี้ยงชิ้นพืชในอาหารที่มี BA อย่างน้อย 3 วัน แสดงให้เห็นว่าไซโตไคนินเป็นปัจจัยที่จำเป็นสำหรับการเกิดตอกในหลอดแก้ว ซึ่งไซโตไคนินอาจเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดขบวนการ mitotic ของเซลล์ที่จะเจริญและพัฒนาไปเป็นดอก อย่างไรก็ตามก็เชื่อว่าจะมีปัจจัยอื่นซึ่งเป็นปัจจัยภายในร่วมอยู่ด้วย ทั้งนี้เนื่องจากชิ้นพืชที่ตอบสนองต่อไซโตไคนินมากที่สุดนั้นเป็นชิ้นพืชที่อยู่ใกล้ปลายยอด ส่วนชิ้นพืชที่ยื่อนำมาจากส่วนที่ห่างจากปลายยอดมากขึ้น การชักนำการเกิดตอกจะลดลงตามลำดับ

Tanimoto และ Harada ได้ศึกษาถึงผลของธาตุอาหารและปริมาณน้ำตาลซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ควบคุมการออกดอกของท่อนลำต้นของ *Torenia founieri* ที่เลี้ยงในหลอดแก้วโดยได้เลี้ยงบนอาหารมาตรฐานสูตร Murashige and Skoog แล้วปรับลดเกลือของธาตุอาหารหลัก ลง พบว่าชิ้นลำต้นของ *Torenia* สามารถชักนำให้เกิดตาตอกได้ดีที่สุดในอาหารที่มีธาตุอาหารหลักอื่นตาม MS เพียง 1/5 เท่าและไม่มี NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> เลย การเพิ่มปริมาณน้ำตาลให้สูงขึ้น (สูงถึง 60 กรัมต่อลิตร) อัตราการเกิดตาตอกจะสูงตาม และตาตอกสามารถพัฒนาต่อไปจนได้อับเรณู (Tanimoto และ Harada, 1981a) เมื่อเขาศึกษาต่อไปถึงผลของสารควบคุมการเจริญที่มีบทบาทต่อการเกิดตอกในหลอดแก้ว พบว่า IAA ช่วยกระตุ้นการเกิดของตาตอกและการพัฒนาของ

ตาตอกของขึ้นพืชที่นำมาจากต้นที่อยู่ในระยะเจริญพันธุ์ (reproductive plant) แต่ ABA ให้ผลตรงกันข้าม คือ ช่วยชักนำให้ขึ้นพืชที่นำมาจากต้นที่กำลังเจริญ (vegetative plant) เกิดตาตอกได้ zeatin ในระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ยับยั้งการเกิดของตาตอก แต่ก็พบว่าถ้าเป็นขึ้นพืชที่นำมาจากส่วนล่างๆ ของลำต้น zeatin สามารถชักนำให้เกิดตาตอกได้ (Tanimoto และ Harada, 1981b) นอกจากนี้ Tanimoto, Miyazaki และ Harada (1985) ได้เลี้ยงขึ้นลำต้นของ *Torenia* ในอาหารที่ไม่เติมฮอร์โมน พบว่าการเกิดตาตอกเกี่ยวข้องกับสรีรวิทยาของขึ้นพืชที่เลี้ยง โดยเฉพาะ ABA ที่อยู่ภายใน การเติม ABA ลงไปในอาหารจะช่วยให้ขึ้นพืชที่เลี้ยงมีการเกิดตาตอกดีขึ้น ทั้งนี้เพราะ ABA ที่เติมลงไปทำให้ขึ้นพืชมี ABA เพิ่มขึ้น รายงานของ Wada และ Totsuka (1982) ได้ศึกษาใน *Perilla* ซึ่งเป็นพืชวันสั้น โดยเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารสูตรของ White เมื่อเลี้ยงในสภาพแสงตลอด ความเข้มแสง 2000 - 2200 ลักซ์ พบว่าในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 2% และลดปริมาณของแหล่งไนโตรเจนลง 10 เท่า เสริมให้เกิดดอกได้ดีที่สุด และยังพบว่าเมื่อให้ความเข้มแสงสูง (8000 ลักซ์) ใน 30 วันแรกของการเลี้ยง ช่วยให้เกิดดอกดีขึ้นและผลนี้จะเกิดน้อยลงหากเติมน้ำตาลลงไปในอาหาร ในทางตรงข้าม ถ้าให้แสงที่มีความเข้มสูงในช่วง 30 วันหลังหรือให้ความเข้มแสงสูงตลอดจะยับยั้งการเกิดดอก ไม่ว่าจะเติมน้ำตาลหรือไม่ก็ตาม ทั้งนี้อาจเนื่องจากที่ความเข้มแสงสูงพืชสร้างคาร์โบไฮเดรตจากการสังเคราะห์แสงมากเกินไปจนความจำเป็นในการเกิดดอก ในขณะที่อาหารนั้นมีปริมาณน้ำตาลซูโครส (คาร์โบไฮเดรต) และไนโตรเจนในอัตราส่วนที่สูงพอสำหรับการเกิดดอกของ *Perilla* ในหลอดแก้วอยู่แล้ว

Khurana และ Maheshwari (1983) ได้ศึกษาใน *Lemna paucicostata* 6746 ซึ่งเป็นพืชวันสั้น โดยใช้ต้นอ่อนเลี้ยงในอาหารที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลักของ Bonner และ Devinian และธาตุอาหารรองของ Heller's พบว่าพืชนี้เกิดดอกได้ดีเมื่อเลี้ยงในช่วงแสงของวันสั้นเพียงหนึ่งวันในอาหารที่มี BA 1000 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยอาจมีหรือไม่มี EDTA ก็ได้ ซึ่ง EDTA มีผลช่วยให้เกิดดอกได้ดีในพืชนี้ ตามรายงานของ Takimoto และ Tanaka ในปี ค.ศ. 1973 แต่ผลของไซโตไคนินที่ช่วยให้ดอกออกดีที่สุดกลับพบในอาหารที่ไม่มี EDTA อย่างไรก็ตามไซโตไคนินนับว่ามีบทบาทสำคัญอย่างมากในการชักนำการเกิดดอกในสายพันธุ์นี้

Shinazaki และ Takimoto (1983) ได้ศึกษาถึงผลของสารควบคุมการเจริญและอนุพันธ์ของกรด benzoic ต่อการเกิดดอกของ *Pharbitis nil* ในสารละลายธาตุอาหารและเลี้ยงในที่ที่มีแสงตลอด พบว่าพืชตอบสนองต่ออาหารทั้งที่มี NAA (0.05 - 0.5 ไมโครโมลาร์) kinetin (0.5 - 5 ไมโครโมลาร์) BA (0.5 - 5 ไมโครโมลาร์) GA<sub>3</sub> (0.1 - 0.5 ไมโครโมลาร์) หรือ ABA (4 ไมโครโมลาร์)

โครโมลาร์) ในการออกดอกแต่ยับยั้งการยึดตัวของราก และพบว่าสารที่ให้ใน 6 วันแรก ในสภาพแสงวันยาวก็เพียงพอสำหรับการชักนำ แต่เมื่อใช้ Ethrel (1 - 50 ไมโครโมลาร์) กลับมีผลทั้งยับยั้งการเกิดดอกและการยึดยาวของราก ทั้งนี้อาจเนื่องจาก ethylene ที่มีอยู่ใน Ethrel ซึ่งมีผลยับยั้งการเกิดดอกของพืชนี้

รายงานของ Wada และ Shinozaki (1985) ซึ่งศึกษาโดยเลี้ยงต้นอ่อน *Pharbitis nil* ภายพันธุ์ Violet และ Tendan บนอาหารดัดแปลงของ White พบว่าการชักนำให้เกิดดอกสามารถทำได้โดยลดความเข้มข้นของอาหารลง ซึ่ง *Pharbitis nil* ตอบสนองดีที่สุดในอาหารที่ประกอบด้วยครึ่งส่วนของสูตร White ที่ลดปริมาณเกลือไนเตรท เพียงตัวเดียวลง 1000 เท่า (C/N ratio สูงสุด) การลดความเข้มข้นของอาหารทำก่อนวันที่จะให้อยู่ในที่มืด จากนั้นจึงเลี้ยงในอาหารสูตรครึ่งส่วนของ White จะเห็นว่าอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน (C/N ratio) ที่สูงโดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนโบเลี้ยงและปลายยอดในช่วงก่อนหรือระหว่างที่ชักนำด้วยวันมืดเหมาะสำหรับการเกิดดอก ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีของ Klebs รายงานของ Dicken และ Staden (1988) ที่ศึกษาใน *Kalanchoe blossfeldiana* Poellniz โดยเลี้ยงขึ้นพืชส่วนข้อของลำต้น ในอาหารสูตรดัดแปลงของ Murashige and Skoog (1/5 MS) น้ำตาลซูโครส 3% และไม่มีฮอร์โมน พบว่า การปิดปากขวดที่เลี้ยงด้วยฟิล์ม PVC ยับยั้งการเกิดดอกและการเจริญด้าน vegetative อาจเนื่องจาก CO<sub>2</sub> ถูกปล่อยออกมาจากพืช และมีการสร้างเอธิลีนขึ้นภายในขวด และพบว่าไนโตรเจนในรูปของ NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> และ KNO<sub>3</sub> ช่วยให้เกิดการออกดอกและการเจริญของต้น การเกิดดอกดีที่สุดในอาหารที่มี NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> และ KNO<sub>3</sub> เต็มสูตรในสภาพวันสั้น และถ้าในอาหารไม่มีไนโตรเจนเลยจะทำให้การออกดอกของพืชช้าลง ส่วนระดับน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการชักนำการออกดอก อยู่ที่ประมาณ 2 - 4% ถ้าสูงกว่านี้จะมีผลในการยับยั้งและใบสร้าง anthocyanin ได้มากขึ้นเมื่อ น้ำตาลสูงขึ้นถึง 6% รายงานของ Tisserat และ Galletta (1988) ที่ศึกษาใน *Amaranthus* โดยใช้ส่วนของปลายยอดเลี้ยงในอาหารสูตร Murashige and Skoog ที่มีน้ำตาลซูโครส 3% และเติม myo-inositol 100 มิลลิกรัมต่อลิตร thiamine HCl 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และฟัน 8 กรัมต่อลิตร พบว่า *Amaranthus* ตอบสนองต่ออาหารที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ดี ในที่มีแสงไม่ว่าจะเป็นวันสั้นหรือวันยาวก็ตาม โดยที่ NAA จะมีผลต่อการเกิดช่อดอกแต่ไม่จำเป็นสำหรับการชักนำการเกิดดอก นอกจากนี้ต้นอ่อนที่งอกจากดอกที่เป็นหมันสามารถเกิดช่อดอกได้ด้วย อย่างไรก็ตามอัตราการเกิดช่อดอกของ *Amaranthus* นั้นยังแตกต่างกันไปตามชนิดอีกด้วย บางชนิดอาจเกิดได้ใน 16 สัปดาห์ แต่บางชนิดอาจต้องใช้เวลาถึง 32 สัปดาห์ก็ได้ ซึ่งสรุปได้ว่า *Amaranthus* หลายชนิดสามารถเกิดช่อดอกได้ดีในหลอดแก้ว ช่อดอกที่เกิดขึ้น

สามารถแยกออกและนำไปเลี้ยงต่อได้อีก นอกจากนี้จะเห็นว่าวงชีวิตของ *Amaranthus* สามารถเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ภายในหลอดแก้ว ในเวลา 24 - 32 สัปดาห์ จากผลการทดลองเห็นได้ว่าเมื่อชักนำปลายยอดให้เกิดดอกแล้วจะมีเมล็ดเกิดขึ้นตามมาด้วย และ *Amaranthus* หลายชนิดสามารถเกิดดอกได้เรื่อยไปในหลอดแก้ว รายงานของ Lee และคณะ (1991) ที่ศึกษาในโสม (*Panax ginseng* C.A. Meyer) โดยใช้ส่วน zygotic embryo เลี้ยงในอาหารสูตร Murashige and Skoog ที่เติมสารควบคุมการเจริญชนิดต่างๆ ในระดับความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ เพื่อชักนำการเกิดดอก พบว่าโสมตอบสนองดีที่สุดในอาหารที่มีแต่ BA หรือ BA + GA<sub>3</sub> หรือ BA + GA<sub>3</sub> + ABA โดยสามารถพัฒนาเป็นดอกได้ 80% ในเวลา 6 สัปดาห์ ซึ่งตาดอกที่เกิดขึ้นจะเกิดบนกิ่งข้างที่เกิดจากข้อของใบเลี้ยง ขณะที่ส่วนปลายยอดจะยังคงอยู่ในระยะ vegetative นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อลดปริมาณไนโตรเจนในอาหารลงครึ่งหนึ่งทำให้เกิดดอกได้สูงขึ้น แสดงว่า BA มีความสำคัญต่อการสร้างตาดอก ส่วน GA<sub>3</sub> และ ABA ถ้าใช้เพียงลำพังตัวเดียวไม่สามารถชักนำให้เกิดดอกได้แต่มีผลต่อการงอกและการยืดยาวของกิ่ง อย่างไรก็ตาม การพัฒนาของดอกจะดี ถ้าเลี้ยงในอาหารที่มี BA ร่วมกับสารตัวอื่นๆ มากกว่าใช้ BA เพียงตัวเดียว ซึ่งสรุปได้ว่า BA จำเป็นสำหรับการเกิดดอกในหลอดแก้วของโสม

นอกจากการชักนำให้พืชหลายชนิดออกดอกในหลอดแก้วได้สำเร็จแล้ว กกล้วยไม้เป็นอีกพืชหนึ่งที่ได้รับความสนใจ เนื่องจากในสภาพปกติต้องใช้เวลานานกว่าจะเกิดดอก ถ้าสามารถชักนำให้ออกดอกได้เร็วขึ้นก็จะมีประโยชน์อย่างยิ่งในการผลิตและปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ (Daun and Yazawa, 1994) มีรายงานของ Kerbauy (1984) ได้ศึกษาศภาพการเลี้ยงที่เหมาะสมสำหรับการเกิดดอกของ *Oncidium varicosum* 'Baldin' โดยเลี้ยงช่อดอกในอาหารเหลวสูตรของ Knudson โดยเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความเข้มแสง 500 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน แสงสว่างจากหลอด Gro - Lux ที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส และเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 60 รอบต่อนาที จากนั้นนำ protocorm - like body ย้ายมาเลี้ยงในอาหารที่เติมกล้วยหอม 60 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 1% ฟู่น 0.8% activated charcoal และ Fe-EDTA แทน FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O เลี้ยงในช่วงแสงและอุณหภูมิดังกล่าวข้างต้น เมื่อเลี้ยงประมาณ 8 - 9 เดือน mericlone ที่ได้จะโตถึง 3 - 4 เซนติเมตร และบางต้นพัฒนาเป็นลำลูกกล้วย (pseudobulb) ที่สมบูรณ์ และที่ระยะนี้เองพบว่าประมาณ 30% ของ mericlone พัฒนาให้ดอกเล็กๆ ซึ่งเป็นดอกเดี่ยวจากส่วนปลายยอด และยอดที่ให้ออกส่วนใหญ่เป็นยอดของลำลูกกล้วยลำที่สอง เมื่อเปรียบเทียบกับ *Oncidium varicosum* ที่ปลูกในธรรมชาติต้องใช้เวลาดึง 3 ปี กว่าจะออกดอก Kerbauy เชื่อว่า mericlone ที่พัฒนามาจากช่อดอก (micro - inflorescence) หรือชนิดของแสงและช่วงแสงที่ใช้เลี้ยง อาจ

เป็นปัจจัยที่ช่วยในกระบวนการเกิดดอก แสงสว่างที่มาจากหลอด Gro - Lux จะมีช่วงแสงสีแดงค่อนข้างกว้าง อาจเป็นปัจจัยทางกายภาพที่กระตุ้นการออกดอกของ *Oncidium* นอกจากนั้นการเติม activated charcoal ลงในอาหาร ช่วยดูดซับเอธิลีนที่พืชสร้างขึ้นมาเอธิลีน จึงไม่น่าเป็นปัจจัยต่อการออกดอก สำหรับอุณหภูมิที่เลี้ยงเป็นอุณหภูมิปกติของการเจริญของกล้วยไม้เมืองร้อนอยู่แล้ว แม้ว่าจะงานวิจัยนี้จะมีข้อมูลไม่เพียงพอต่อการชักนำการออกดอกของ *Oncidium* ในหลอดแก้ว แต่ก็แสดงให้เห็นว่าการชักนำให้กล้วยไม้ดอกในหลอดแก้วเป็นสิ่งที่เกิดขึ้นได้

นอกจากนี้มีรายงานการออกดอกของกล้วยไม้ในหลอดแก้วอีกรายงานหนึ่งของ Daun และ Yazawa (1994) ซึ่งศึกษาใน *Doriella* Tiny (*Doritis pulcherrima* x *Kingiella philippinensis*), *Phalaenopsis* Pink Leopard 'Petra' (*Phal. Dorothylita* x *Phal. Mouchelte*) *Dendrobium moniliforme* ใน *Doriella* และ *Phalaenopsis* ใช้ส่วนตะเกียง (adventitious bud) จากก้านช่อดอกของ และ *Dendrobium* ใช้ต้นกล้าอายุ 6 เดือนเป็นพืชทดลอง ผลการทดลองปรากฏว่าใน *Doriella* สามารถชักนำให้เกิดก้านดอกได้เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร Vacin and Went หรือ Murashige and Skoog ที่เติม BA โดยมีน้ำตาลซูโครส 25 - 50 กรัมต่อลิตร และปริมาณไนโตรเจนรวมในอาหาร 6 - 9 มิลลิโมลาร์ แต่ถ้าใช้ kinetin หรือ 2iP หรือน้ำมะพร้าวเติมในอาหารดังกล่าวจะไม่มีผล เมื่อย้ายต้นที่มีก้านดอกจากการทดลองนี้ลงใน Hyponex 30 กรัมต่อลิตร ที่ไม่มีฮอริโมน (Hyponex มี N:P:K = 6.5 : 6.0 : 19.0) พบว่ามากกว่า 90% ของต้นที่ย้ายเกิดดอกที่มีลักษณะปกติและบานได้นาน 2 สัปดาห์ ใน *Phalaenopsis* และ *Dendrobium* ได้ผลในทำนองเดียวกันในอาหารสูตร Vacin and Went ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 25 กรัมต่อลิตร จากการศึกษาของ Daun และ Yazawa เป็นที่น่าสนใจว่าผลของ BA ในการชักนำการเกิดตาออก ใน อาหารสูตร Vacin and Went และ Hyponex มีผลต่างกัน อย่างไรก็ดีเนื่องจากไม่ทราบส่วนผสมที่แน่นอนของ Hyponex ทำให้ไม่สามารถอธิบายถึงผลได้

จากรายงานที่ผ่านมาจะเห็นว่า การชักนำให้พืชออกดอกในหลอดแก้วสามารถทำได้ในพืชหลายชนิดรวมถึงกล้วยไม้ด้วย ซึ่งการเกิดดอกในหลอดแก้วส่วนใหญ่จะถูกชักนำด้วยปัจจัยบางอย่างที่ให้แก่พืช ปัจจัยที่สำคัญได้แก่ สารควบคุมการเจริญในกลุ่มไซโตไคนิน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง BA ซึ่งมีบทบาทอย่างมากต่อการเกิดดอกของพืชทั้งในพืชล้มลุกหรือชั้นสูงทั่วไป เช่น ใน *Begonia* (Ringe and Nitsch, 1968), องุ่น (Srinivasan and Mullins, 1978), *Passiflora suberosa* (Scorza and Janick, 1980), *Pharbitis nil* (Shinazaki and Takimoto, 1983), โสม (Lee et. al., 1991), ใผ่ (Chambers, Heuch and Pierrie, 1991) และกล้วยไม้ในสกุล *Doriella*

*Phalaenopsis* และ *Dendrobium* (Daun and Yazawa, 1994) เป็นต้น

นอกจากนี้ปริมาณน้ำตาล(คาร์บอน) และไนโตรเจนในอาหารก็มีความสำคัญในการชักนำเช่นกัน ซึ่ง ในปี ค.ศ. 1918 Klebs พบว่าถ้าอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนในพืชมีสูงจะช่วยในการเจริญด้าน reproductive หรือการออกดอกของพืชได้ดี (อ้างถึงโดย Wada and Totsuka, 1982) ซึ่งในพืชหลายชนิดให้ผลในทำนองเดียวกับทฤษฎีนี้ เช่น ใน *Torenia founieri* (Tanimoto and Harada, 1981b), *Perilla* (Wada and Totsuka, 1982), *Pharbitis nil* (Wada and Shinozaki, 1985), *Kalanchoe blossfeldiana* (Dicken and Staden, 1988) เป็นต้น จากรายงานต่างๆ ดังกล่าวจึงเป็นไปได้ที่จะชักนำกล้วยไม้ให้ออกดอกเร็วขึ้นในหลอดแก้ว โดยการให้ปัจจัยที่เหมาะสม จะมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ เนื่องจากจะสามารถย่นระยะเวลาให้สั้นลงได้อย่างมีนัยสำคัญ

การวิจัยนี้จะศึกษาถึงสูตรอาหารพื้นฐานที่มีต่อการเจริญของเมล็ดและต้นอ่อนกล้วยไม้ โดยเปรียบเทียบระหว่างสูตรอาหารที่มีส่วนประกอบของธาตุอาหารหลักแตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ คือ สูตรที่มีเกลือธาตุอาหารหลักสูง ได้แก่ สูตร MS(1962) , สูตรที่มีเกลือธาตุอาหารหลักปานกลาง ได้แก่ Mod.SH (2519) สูตรที่มีเกลือธาตุอาหารหลักปานกลางค่อนข้างสูง ได้แก่ Mod.SH ที่มีมันฝรั่ง (Mod.SH+Po) สูตรที่มีเกลือธาตุอาหารหลักต่ำ ได้แก่ สูตร Knudson C (1946) และสูตรอาหารอินทรีย์อย่างง่ายที่ประกอบด้วยธาตุอาหารเพียงไม่กี่ตัว ได้แก่ สูตร CU-1 (1994) นอกจากนี้จะเปรียบเทียบสูตรอาหารในการเจริญแล้ว งานวิจัยนี้ได้มุ่งเน้นถึงการชักนำให้กล้วยไม้สามารถออกดอกในหลอดแก้วได้โดยใช้สารควบคุมการเจริญ ได้แก่ BA และ ปริมาณเกลือ  $\text{NH}_4^+ : \text{NO}_3^-$  และอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนในอาหารสูตรทดลองที่ระดับที่เหมาะสม

### วัตถุประสงค์และขอบเขตของงานวิจัย

เพื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญของกล้วยไม้บางสกุล ตลอดจนศึกษาหาสูตรอาหารที่อาจจะสามารถชักนำให้กล้วยไม้สามารถออกดอกได้ในหลอดแก้วในขณะที่ต้นยังเล็ก

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและเรียนรู้วิธีการชักนำการออกดอกของกล้วยไม้ที่ศึกษาได้ ซึ่งจะได้นำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป