ว.วิทย. มข. 40(3) 645-653 (2555) KKU Sci. J. 40(3) 645-653 (2012)

การออกดอกของกล้วยไม้ในหลอดทดลอง

In Vitro Flowering of Orchid

สมพร ประเสริฐส่งสกุล[1]

บทคัดย่อ

การออกดอกในหลอดทดลองมีประโยชน์สำหรับพืชที่มีระยะเยาว์วัยยาวนาน กล้วยไม้เป็นไม้ดอกที่นิยมทั่วไป และมีระยะเยาว์วัยที่ยาวนานหลังจากเมล็ดงอก และการเจริญเป็นต้นใหม่ในหลอดทดลอง ดังนั้นบทความปริทัศน์นี้แสดงให้เห็นถึงสภาวะในหลอดทดลองที่ทำให้ระยะเยาว์วัยสั้นลง และกระตุ้นให้กล้วยไม้ออกดอกได้เร็วขึ้น โดยสารควบคุมการเจริญเติบโต สารชะลอการเจริญเติบโต องค์ประกอบของธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัส การตัดราก อุณหภูมิ และช่วงวัน มีผลต่อการออกดอกของกล้วยไม้

ABSTRACT

In vitro flowering is benefit for plant with a long juvenile period. Orchid is one of the popular flower that takes a long time to flowering after seed germination and *in vitro* regeneration. Therefore, the aim of this review is to show the *in vitro* conditions for shortening the juvenile period and induction of orchid flowering. Plant growth regulator, growth retardant, phosphorus and nitrogen contents, root excision, temperature and day length affect to the *in vitro* flowering of orchid.

คำสำคัญ: การออกดอก กล้วยไม้ สารควบคุมการเจริญเติบโต ระยะเยาว์วัย

Keywords: Flowering, Orchid, Plant growth regulator, Juvenile period

[1]ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี จ.ปัตตานี 94000

E-mail: psomporn@bunga.pn.psu.ac.th

บทนำ

การออกดอกของพืช คือ การเปลี่ยนแปลงของการเติบโตของส่วนที่ไม่อาศัยเพศ (vegetative growth) สู่การเจริญทางด้านการสืบพันธุ์ (reproductive growth) ซึ่งดอก คือ อวัยวะสืบพันธุ์ของพืช กล้วยไม้เป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีดอกที่สวยงาม จัดอยู่ในวงศ์ Orchidaceae พบได้ทั่วโลก ดอกกล้วยไม้มีความแปรผันทั้งขนาด รูปร่าง และสีสัน ซึ่งบางประเทศมีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก เพราะเป็นไม้ตัดดอกที่มีการส่งออกไปต่างประเทศ ทำรายได้ให้ประเทศอย่างมหาศาล สกุลของกล้วยไม้ที่มีความนิยมนำมาใช้เป็นไม้ดอกที่มีความสวยงาม เช่น สกุลหวาย (*Dendrobium* spp.) สกุลกะเรกะร่อน (*Cymbidium* spp.) สกุลฟ้ามุ่ย (*Vanda* spp.) สกุลฟาแลนนอปซิส (*Phalaenopsis* spp.) สกุลไอยเรศ (*Rhynchostylis* spp.) และลูกผสมกล้วยไม้ต่าง ๆ อย่างไรก็ตาม กล้วยไม้รู้จักกันดีว่ามีระยะเยาว์วัย (juvenile) ที่ยาวนาน หลังจากเมล็ดมีการงอกและหลังจากการเจริญเป็นต้นใหม่ในหลอดทดลอง ใช้เวลา 2 ปี หรือมากถึง 10-13 ปี กว่าเมล็ดที่งอกจะมีการออกดอก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความแปรผันในกล้วยไม้และคุณสมบัติของกล้วยไม้แต่ละชนิด ซึ่งยังไม่มีวิธีการที่เป็นมาตรฐานในการทำให้ระยะเยาว์วัยของกล้วยไม้สั้นลง และกระตุ้นให้กล้วยไม้ออกดอกได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นจึงมีการศึกษาการออกดอกในพืชซึ่งกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเทคนิคที่เหมาะสมในการศึกษาการเกิดตาดอก และการออกดอกในสภาพปลอดเชื้อและภายใต้สภาวะควบคุม (Ziv and Naor, 2006) ได้มีการทดลองและทำวิจัยโดยศึกษาผลของอุณหภูมิ สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช สารชะลอการเจริญเติบโตของพืช และการใช้สารเคมีเข้าไปในกล้วยไม้ ฯลฯ เพื่อชักนำการออกดอก ปัจจุบันมีผลงานตีพิมพ์ที่เกี่ยวข้องกับการออกดอกของกล้วยไม้ในหลอดทดลองเป็นจำนวนมาก ทำให้ทราบถึงปัจจัยที่มีผลต่อการออกดอกของกล้วยไม้

กระบวนการเกิดดอก

การออกดอกของพืชอาศัยกระบวนการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อเจริญของส่วนที่ไม่อาศัยเพศ (vegetative meristem) ซึ่งหมายถึง ตา (bud) ไปเป็นเนื้อเยื่อเจริญที่เกี่ยวกับการสืบพันธุ์ (reproductive meristem) โดยมีการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นดังนี้

ระยะเยาว์วัยที่ไม่อาศัยเพศ
⇩
ระยะเจริญเต็มวัยไม่อาศัยเพศ
⇩
ระยะสืบพันธุ์
⇩
การออกดอก

การเปลี่ยนแปลงจากระยะเยาว์วัยเข้าสู่ระยะเจริญเต็มวัยขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ขนาด อายุ จำนวนใบ สภาวะแวดล้อมของการเติบโต เช่น ความเครียดจากการขาดน้ำ (water stress) การขาดแสง อุณหภูมิต่ำ เมื่อพืชเข้าสู่ระยะเจริญเต็มวัย พืชเริ่มมีการตอบสนองต่อการกระตุ้น หรือชักนำจากปัจจัยต่าง ๆ เพื่อเข้าสู่ระยะสืบพันธุ์ เช่น อุณหภูมิ แสง สารควบคุมการเจริญเติบโต และมีการเปลี่ยนแปลงของตาที่จะเจริญเป็นดอก จนกระทั่งพัฒนาเกิดส่วนอื่น ๆ ที่ประกอบขึ้นเป็นดอก (Saupe, 2009) กล้วยไม้มีลักษณะเช่นเดียวกับพืชทั่วไปที่ต้องมีการเปลี่ยนแปลงจากระยะเยาว์วัยเข้าสู่ระยะการสืบพันธุ์เพื่อออกดอก ทั้งในธรรมชาติและในหลอดทดลอง ได้มีการศึกษาถึงการออกดอกในกล้วยไม้สกุลต่าง ๆ ในธรรมชาติ โดยเฉพาะเรื่องของอุณหภูมิ และช่วงวัน ที่เป็นปัจจัย

อย่างมากต่อการออกดอกของกล้วยไม้ (ตารางที่ 1) พบว่าอุณหภูมิต่ำสามารถชักนำให้เกิดการออกดอกของกล้วยไม้ขณะที่อุณหภูมิสูงจะยับยั้งการออกดอกของกล้วยไม้ในหลายสกุล โดยที่อุณหภูมิ 12 °C มีประสิทธิภาพต่อการชักนำการออกดอกของกล้วยไม้ยกเว้นในสกุลฟาแลนนอปซิสที่อุณหภูมิสูง ช่วง 15-25 °C สามารถเกิดดอกได้ สำหรับการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวกับการออกดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้มีหลายประการ ผู้เขียนจึงได้รวบรวมไว้เพื่อให้ผู้สนใจการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีความเข้าใจเกี่ยวกับปัจจัยในการออกดอกของกล้วยไม้ และสามารถนำไปประยุกต์กับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ชนิดต่าง ๆ ได้

ตารางที่ 1 ผลของอุณหภูมิและแสงต่อการชักนำการเกิดดอกในกล้วยไม้สกุลต่าง ๆ

สกุล	อุณหภูมิ (°C)	ช่วงวัน (photoperiod)	เอกสารอ้างอิง
Cattleya	12-16	Short days	(Dole and Wilkins, 1999; Goh and Arditti, 1985; Krizek and Lawson, 1974; Rotor, 1952, 1959)
Cymbidium	20-26 day/10-14 night (cool); 10-14 diurnal fluctuation (intermediate); 25-30 (warm)	No response	(Dole and Wilkins, 1999; Goh and Arditti, 1985; Ichihashi, 1997; Powell et al., 1988; Pridgeon, 2000; Went, 1957)
Dendrobium	10-13 18	Short days Short days	(Dole and Wilkins, 1999; Goh and Arditti, 1985; Ichihashi, 1997; Leonhardt, 2000; Rotor, 1952)
Miltoniopsis	11-14	Short days	(Lopez, 2003; Lopez et al., 2005; Robinson, 2002)
Phalaenopsis	15-25	No response	(Baker, 1991; De Vries, 1950; Dole and Wilkins, 1999; Griesbach, 1985; Lee and Lin, 1984, 1987; Robinson, 2002; Rotor, 1952; Sakanishi et al., 1980; Wang, 1995b, 1997; Yoneda et al., 1991, 1992)
Zygopetalum	11-14	Short days	(Lopez, 2003; Lopez et al., 2003; Lopez and Runkle, 2004)

ที่มา: ดัดแปร (modify) จาก Lopez and Runkle, 2005

สารควบคุมการเจริญเติบโตกับการออกดอกของกล้วยไม้ในหลอดทดลอง

ในสภาพหลอดทดลองมีการศึกษาเกี่ยวกับผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการออกดอกของกล้วยไม้อย่างกว้างขวาง ซึ่งสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีการศึกษามาก ได้แก่ กลุ่มไซโทไคนิน (cytokinin) ออกซิน (auxin) และจิบเบอเรลลิน (gibberellin) ผลของสารกลุ่มไซโทไคนินต่อการออกดอกของกล้วยไม้มีรายงาน คือ Benzyladenine (BA) ตัวอย่างเช่น Wang et al. (1995) ศึกษาการออกดอกในกล้วยไม้ *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl. ซึ่งเป็นกล้วยไม้ที่พบทั่วไปในประเทศจีน โดยการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเมล็ดและโพรโทคอร์ม (protocorm) บนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม Naphthaleneacetic acid (NAA) 0.3 มก./ล. ซึ่งเป็นสารกลุ่มออกซิน หลังจากนั้นสามารถชักนำให้เกิดตาดอกได้ร้อยละ 27 เมื่อนำโพรโทคอร์มไปเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA 2 มก./ล. และ NAA 0.5 มก./ล. ต่อมา Wang et al. (1997) เพาะเลี้ยงกล้วยไม้ *D. candidum* ปกติใช้เวลา 3-4 ปี จึงจะมีการออกดอก ทำให้มีการศึกษาผลของฮอร์โมนและสารพอลีเอมีน (polyamine) ต่อการชักนำการออกดอก โดยการเติม spermidine หรือ BA หรือสารผสมระหว่าง NAA และ BA ในอาหารสูตร MS พบว่าโพรโทคอร์ม และยอดสามารถพัฒนาเป็นดอกภายใน 6 เดือน โดยเกิดดอกร้อยละ 31.6-45.8 การออกดอกจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อให้โพรโทคอร์มได้รับ Abscisic acid (ABA) ที่เติมในอาหารก่อนย้ายเลี้ยงใน BA สามารถชักนำให้เกิดดอกได้ถึงร้อยละ 82.8 Hee et al. (2007) นำต้นกล้ากล้วยไม้ *Dendrobium* Chao Praya Smile มาชักนำให้เกิดดอก โดยเลี้ยงบนอาหาร Knudson C ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า BA ความเข้มข้น 11.1 ไมโครโมลาร์ ให้การออกดอกสูงสุดร้อยละ 45 หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือน Sim et al. (2007) นำโพรโทคอร์มของกล้วยไม้ *Dendrobium* Madame Thong-In มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร Knudson C ดัดแปร (modified Knudson C medium) เติม BA 4.4 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้เกิดตาดอกร้อยละ 82 ภายในเวลา 12 สัปดาห์ ในกล้วยไม้ *Phalaenopsis* มีรายงานการชักนำให้เกิดตาดอกโดย Duan and Yazawa (1995) พบว่าการเติม BA ในอาหารเพาะเลี้ยงช่วยชักนำการเกิดตาดอกได้ Blanchard and Runkle (2008) ศึกษาการชักนำการเกิดดอกใน *Doritaenopsis* และ *Phalaenopsis* โดยพบว่า BA ช่วยชักนำการออกดอกโดยเป็นส่วนในการควบคุมการเกิดช่อดอก การเจริญพัฒนาของดอกขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ BA พบว่าความเข้มข้นของ BA สูงสามารถชักนำการเกิดดอกได้ดีกว่าเมื่อใช้ BA ความเข้มข้นต่ำ

นอกจากนี้ Thidiazuron (TDZ) ซึ่งมีชื่อเต็มว่า N-phenyl-N’-1,2,3-thidiazol-5yl urea เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เป็นสารสังเคราะห์ออกฤทธิ์ต่อการเจริญเติบโตของพืชเช่นเดียวกับกลุ่มไซโทไคนิน มีผู้นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อชักนำการออกดอกในหลอดทดลอง โดย De Melo Ferreira et al. (2006) รายงานว่า TDZ สามารถชักนำการเกิดตาดอกใน *Dendrobium* Second Love (*D.* Peace × *D.* Awayuki) ซึ่ง TDZ 1.8 ไมโครโมลาร์ มีผลต่อระดับของไซโทไคนินและ Indoleacetic acid (IAA) ซึ่งเป็นสารกลุ่มออกซินในชิ้นส่วนพืช โดยสามารถกระตุ้นให้เกิดตาดอกได้ร้อยละ 65 เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี TDZ 5 วัน ระดับของไซโทไคนินจะขึ้นสู่ระดับสูงสุด จากนั้นจะเริ่มลดลง และสูงขึ้นอีกครั้งในวันที่ 25 ซึ่งเป็นวันที่เริ่มเห็นตาดอก ส่วนที่เลี้ยงในอาหารไม่มีการเติม TDZ ระดับไซโทไคนินจะคงที่ตลอดเวลา ส่วนระดับของออก-

ซินจะสูงสุดในวันที่ 15 แล้วลดลงจนเท่ากับที่เลี้ยงในอาหารไม่เติม TDZ ในวันที่ 25 จะเห็นได้ว่า TDZ ชักนำให้เกิดตาดอกได้นั้น เป็นผลมาจากการที่ TDZ ไปกระตุ้นการสร้างฮอร์โมนออกซินและไซโทไคนินที่จำเป็นต่อการเกิดตาดอก ซึ่งไซโทไคนินอาจเป็นสัญญาณกระตุ้นยีนเกี่ยวกับการออกดอก หรือเป็นสารควบคุมช่วยชักนำให้พืชออกดอกได้ การเปลี่ยนแปลงของไซโทไคนินระหว่างการออกดอกนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Chen et al. (1997) พบว่าในช่วงของการออกดอกในพืช *Euphoria longana* จะมีการเพิ่มขึ้นของไซโทไคนิน Chang and Chang (2003) ชักนำให้เกิดแคลลัสจากส่วนของเหง้า (rhizome) ของ *Cymbidium ensifolium* var. *misericors* ที่เลี้ยงบนอาหาร ½ MS ที่เติม NAA กับ TDZ, N^6-(2-isopentenyl) adenine (2iP) หรือ BA เป็นเวลา 100 วัน พบว่า TDZ ความเข้มข้น 3.3-10 ไมโครโมลาร์ หรือ 2iP ที่ความเข้มข้น 10-33 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.5 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้เกิดการออกดอกดีที่สุด โดย 2iP ให้ผลการเกิดตาดอกดีกว่า TDZ และ BA Wang et al. (2009) ศึกษาการออกดอกของกล้วยไม้ *Dendrobium nobile* Lindl. โดยการเพาะเลี้ยงต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดอายุ 2-3 เดือน นำมาชักนำการเกิดตาดอก โดยเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA TDZ หรือ PP_{333} (paclobutrazol) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าสามารถชักนำการเกิดตาดอกได้ร้อยละ 20.0-34.8 โดยที่ BA ระดับความเข้มข้น 1 มก./ล. ให้ตาดอกสูงที่สุดร้อยละ 20 สำหรับ TDZ ชักนำตาดอกได้ร้อยละ 31.9-34.8 สูงกว่าที่ชักนำด้วย BA ส่วน PP_{333} ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-1.0 มก./ล. ชักนำให้เกิดตาดอกร้อยละ 28.9-33.3 ทั้ง TDZ และ PP_{333} มีประสิทธิภาพในการชักนำตาดอกของกล้วยไม้นี้ดีกว่าการใช้ BA

สารกลุ่มจิบเบอเรลลิน เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตช่วยเร่งการออกดอกได้ในพืชบางชนิด ในกล้วยไม้มีการศึกษาและรายงานว่าช่วยในการออกดอกได้ ตัวอย่างเช่น การศึกษาของ Dewir et al. (2007) นำยอดของ *Spathiphyllum cannifolium* cv. Sunny Sails มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม Gibberellic acid (GA_3) ความเข้มข้น 0-10 มก./ล. พบว่า GA_3 ที่ระดับความเข้มข้น 10 มก./ล. ชักนำให้เกิดช่อดอกสูงสุดร้อยละ 83 โดยที่ระดับความเข้มข้น 1 3 และ 5 มก./ล. กระตุ้นให้มีการเกิดช่อดอกเมื่อเปรียบเทียบกับไม่มี GA_3 จะไม่มีการออกดอก ผลการศึกษาทำให้เห็นว่า GA_3 มีผลในการทำให้การเติบโตของส่วนที่ไม่อาศัยเพศเปลี่ยนไปเป็นระยะสืบพันธุ์ได้ นอกจากนี้ มีการศึกษาผลของน้ำตาลต่อการออกดอก โดยนำยอดที่เจริญได้ดีบนอาหาร MS ที่มี GA_3 10 มก./ล. น้ำตาลทรายความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ ร้อยละ 0-12 w/v พบว่าน้ำตาลทรายที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 3 หรือ 6 ชักนำให้เกิดช่อดอกร้อยละ 83 และ 85 ตามลำดับ ความเข้มข้นของน้ำตาลที่ร้อยละ 9 และ 12 ส่งผลให้การเกิดช่อดอกลดลง มีรายงานผลของน้ำตาลทรายต่อการออกดอกในพืชหลายชนิด เช่น *Kalanchoe blossfeldiand* (Dickens and Van Staden, 1988) buckwheat (Kachonpadungkitti et al., 2001) ระดับของน้ำตาลมีผลต่อการชักนำการเกิดดอก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีการลำเลียงคาร์โบไฮเดรตจากใบไปยังเนื้อเยื่อเจริญบริเวณปลายยอดส่งผลให้เกิดการชักนำการออกดอก จะเห็นได้ว่าผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลต่อการออกดอกของกล้วยไม้หลายชนิด ซึ่งได้สรุปไว้ในตารางที่ 2

นอกจากสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ชักนำให้เกิดการออกดอกแล้ว ได้มีการนำสารชะลอการเจริญเติบโต (growth retardant) มาใช้เช่นกัน Techato et al. (2009) ศึกษาผลของ paclobutrazol (PBZ) มีชื่อเต็มว่า [(2RS,3RS)-1-(4-chlorophenyl)-4,4-dimethyl-2-(1H-1,2,4 triazol-1yl) pentan-3-ol] ต่อการออกดอกของ Friederick's *Dendrobium* โดยใช้ยอดที่มีข้อ 3-4 ข้อ เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม PBZ (0.025 0.05 0.075 และ 0.1 มก./ล.) พบว่า PBZ ระดับความเข้มข้น 0.025-0.075 มก./ล. ช่วยส่งเสริมให้เกิดการผลิของตา (budbreak) ได้ทุกข้อร้อยละ 40-50 โดยที่ระดับความเข้มข้น 0.05 มก./ล. ให้ผลการชักนำการเกิดตาดอกสูงที่สุดร้อยละ 29

อัตราส่วนของธาตุอาหารต่อการออกดอกของกล้วยไม้ในหลอดทดลอง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ต้องอาศัยแร่ธาตุอาหารต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบในอาหารเพื่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช ซึ่งการออกดอกของพืชขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของธาตุอาหาร Duan and Yazawa (1994) ศึกษาการออกดอกของ *Doriella, Phalaenopsis* และ *Dendrobium* พบว่าการมีธาตุไนโตรเจน (N) สูงในอาหารจะลดการเกิดตาดอกของกล้วยไม้ ในทางตรงกันข้ามหากไนโตรเจนต่ำ จะช่วยเพิ่มการเกิดตาดอกในกล้วยไม้ ซึ่งให้ผลที่สอดคล้องกับการศึกษาของ Kostenyuk et al. (1999) รายงานถึงการตัดรากในกล้วยไม้ *Cymbidium* ที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ที่มีธาตุอาหารฟอสฟอรัส (P) สูง และธาตุไนโตรเจนต่ำ พบว่าจะเกิดดอกได้ 2.5 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงบนอาหาร ½ MS ที่มีการเติม BA แต่อัตราส่วนของ P/N คงที่ Tee et al. (2008) ศึกษาผลของอัตราส่วนของธาตุอาหาร P/N ต่อการออกดอกในหลอดทดลอง พบว่าต้นกล้าร้อยละ 52 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร ½ MS ที่เติม BA โดยในอาหารมีธาตุ P สูง และ N ต่ำ จะเกิดดอกที่เกิดจากการชักนำจากช่อดอก ขณะที่เกิดดอกร้อยละ 20 เมื่อเลี้ยงบนอาหาร ½ MS ที่เติม BA แต่ไม่มีการดัดแปรอัตราส่วนของ P/N หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน ในทางตรงกันข้ามจะเกิดยอดเท่านั้น เมื่อเลี้ยงในอาหาร ½ MS ที่เติม BA และมี N สูง ส่วน P ต่ำ

การตัดรากต่อการออกดอกของกล้วยไม้ในหลอดทดลอง

Kostenyuk et al. (1999) รายงานการตัดรากในกล้วยไม้ *Cymbidium niveo-marginatum* Mak โดยเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA โดยมีธาตุ P สูง และ N ต่ำ สามารถชักนำการออกดอกได้ สมพรและวิทูล (2550) นำต้นกล้ากล้วยไม้หวายเหลืองจันท-บูร มาตัดรากออกนำไปวางเลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว และอาหารสูตร MS ที่เติม BA ที่ระดับ 2 5 10 และ 20 มก./ล. สามารถเกิดดอกได้ร้อยละ 3.3-23.3 ในช่วงเวลา 40-80 วัน ส่วนที่ไม่เติม BA จะไม่ออกดอก ดังนั้น BA ช่วยกระตุ้นการออกดอก ในอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวสามารถเกิดดอกได้ เพราะน้ำมะพร้าวถือว่าเป็นแหล่งของไซโทไคนิน การตัดรากมีผลต่อการชักนำให้เกิดดอกถึงแม้ว่าไซโทไคนินจะมีการสร้างบริเวณรากในพืชชั้นสูงเมื่อมี BA ร่วมอยู่ด้วยจึงช่วยส่งเสริมให้มีการออกดอก

ตารางที่ 2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการออกดอกของกล้วยไม้ในหลอดทดลอง

ชนิดพืช	การตอบสนอง	ชิ้นส่วนพืชที่ถูกชักนำด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต	สารควบคุมการเจริญเติบโต	เอกสารอ้างอิง
Dendrobium Madame Thong-In	flower	protocorm	BA 4.4 μM	Sim et al., 2007
Dendrobium Chao Praya Smile	flower	protocorm	BA 11.1 μM	Hee et al., 2007
Dendrobium Sonia 17	flower	three-leaf stage plantlet	BA 20 μM	Tee et al., 2008
Dendrobium candidum Wall. ex Lindl.	floral bud	protocorm	BA 2 mg/L NAA 0.5 mg/L	Wang et al., 1995
Cymbidium niveo-marginatum Mak	flower	rhizome	BA 10 mg/L GA_3 15 mg/L	Kostenyuk et al., 1999
Cymbidium ensifolium var. *misericors*	flower	rhizome	NAA 1.5 μM TDZ 3.3-10 μM 2iP 10-33 μM BA 10-33 μM	Chang and Chang, 2003
Dendrobium Secon Love (*D.* Peace × *D.* Awayuki)	floral buds	shoots	TDZ 1.8 μM	De Melo Ferrire et al., 2006

ผลของอุณหภูมิและช่วงวันต่อการออกดอกของกล้วยไม้ในหลอดทดลอง

จากการรายงานของ Kostenyuk et al. (1999) ที่สามารถชักนำให้เกิดการออกดอกในกล้วยไม้ *C. niveo-marginatum* Mak โดยการให้แสงวันสั้น (short day) 8/16 ชั่วโมง (กลางวัน/กลางคืน) ที่อุณหภูมิ 4-6 °C เป็นสภาวะที่เหมาะต่อการชักนำการออกดอก Vaz et al. (2004) ศึกษาช่วงวันและอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตและการเกิดดอกในกล้วยไม้ *Psygmorchis pusilla* Dodson และ Dressler โดยให้ความเข้มแสง 30 $\mu molm^{-2}s^{-1}$ ที่เวลาต่าง ๆ พบว่าเมื่อให้แสงนาน 12 และ 16 ชั่วโมง ช่วยทำให้เกิดดอกดีที่สุด เมื่อให้แสงเป็นเวลา 22 ชั่วโมง จะยับยั้งการเกิดดอก และเมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเกิดดอกพบว่าอุณหภูมิ 27 °C การเกิดดอกดีที่สุด ขณะที่อุณหภูมิสูงกว่า 30 °C จะยับยั้งการเกิดดอก การที่อุณหภูมิสูงยับยั้งการเกิดดอก อาจเป็นเพราะอุณหภูมิสูงอัตราการหายใจของพืชจะเพิ่มขึ้นและการดูดซึมคาร์บอนไดออกไซด์จะต่ำลง มีผลให้คาร์โบไฮเดรต

ลดลงในพืช จึงยับยั้งการเจริญเติบโตและการเกิดดอก Wang et al. (2009) นำต้นกล้าของ *D. nobile* Lindl. มาเลี้ยงบนอาหาร ½ MS ให้ได้รับ PP_{333} ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ร่วมกับ ABA 0.5 มก./ล. จากนั้นจึงย้ายต้นกล้ามาเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำ 23 °C/18 °C กลางวัน/กลางคืน พบว่ามากกว่าร้อยละ 60 เกิดดอกที่ปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 °C โดยเมื่อเลี้ยงบนอาหาร ½ MS ที่มี PP_{333} ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 0.05 มก./ล. ที่อุณหภูมิ 23 °C/18 °C ให้ดอกสูงถึงร้อยละ 81.6 การออกดอกใช้เวลาประมาณ 6 เดือน ซึ่งปกติกล้วยไม้ชนิดนี้ใช้เวลาอย่างน้อย 3 ปี จึงจะออกดอก จากรายงานนี้มีการให้ ABA ก่อนย้ายลงในอาหารที่มี TDZ มีรายงานมาก่อนว่าการออกดอกจะเพิ่มขึ้นมากกว่าร้อยละ 80 เมื่อให้โพรโทคอร์มของกล้วยไม้ *D. candidum* Wall. ex Lindl. ได้รับ ABA ก่อนย้ายลงในอาหาร MS ที่เติม BA เพื่อชักนำการออกดอก (Wang et al., 1995; Wang et al., 1997)

สรุป

จากข้อมูลและรายละเอียดต่าง ๆ จะเห็นได้ว่าการชักนำการออกดอกในหลอดทดลองด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเครื่องมือที่สำคัญช่วยลดระยะเยาว์วัยของกล้วยไม้ให้สั้นลง ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องได้แก่ สารควบคุมการเจริญเติบโต โดยสารกลุ่มไซโทไคนินที่มีบทบาทอย่างมากในการชักนำการออกดอกได้แก่ BA มีผลต่อการออกดอกของกล้วยไม้ และมีบางรายงานพบว่า TDZ และ 2iP ให้ผลดีกว่า BA การได้รับ ABA ในช่วงเริ่มต้นเป็นส่วนสำคัญในการชักนำการออกดอก สารกลุ่ม GA หรือสารชะลอการเจริญเติบโตบางชนิดสามารถชักนำการออกดอกได้เช่นกัน นอกจากนี้การออกดอกของกล้วยไม้ยังขึ้นกับอัตราส่วนของธาตุอาหาร การตัดราก อุณหภูมิ และช่วงวัน ซึ่งในกล้วยไม้แต่ละสกุลมีการตอบสนองที่แตกต่างกัน ดังนั้นการชักนำการออกดอกของกล้วยไม้ต้องคำนึงถึงชนิดของกล้วยไม้ ชิ้นส่วนพืชที่ใช้ให้เหมาะสม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วนิดา เจียรกุลประเสริฐ อาจารย์ประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ที่กรุณาตรวจทานความถูกต้องของภาษาอังกฤษ

เอกสารอ้างอิง

สมพร ประเสริฐส่งสกุล และวิทูล ไชยภักดี. (2550). การออกดอกของกล้วยไม้หวายเหลืองจันทบูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f.) ในหลอดทดลอง. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 35(3). 180-185.

Blanchard, M.G. and Runkle, E.S. (2008). Benzyladenine promotes flowering in *Doritaenopsis* and *Phalaenopsis* orchids. Journal of Plant Growth Regulation 27: 141-150.

Chang, C. and Chang W.-C. (2003). Cytokinins promotion of flowering in *Cymbidium ensifolium* var. *misericors in vitro*. Plant Growth Regulation 39: 217-221.

Chen, W.S., Huang, K.L. and Yu, H.C. (1997). Cytokinins from terminal buds of *Euphoria longana* during different growth stages. Plant Physiology 99: 185-198.

De Melo Ferreira, W., Kerbauy, G.B., Kraus, J.E., Pescador, R. and Suzuki, R.M. (2006). Thidiazuron influences the endo-genous levels of cytokinins and IAA during the flowering of isolated shoot of *Dendrobium*. Journal of Plant Physiology 163: 1126-1134.

Dewir, Y.H., Chakrabarty, D., Ali, M.B., Singh, N., Hahn, E.-J. and Paek, K.-Y. (2007). Influence of GA_3, sucrose and solid medium/bioreactor culture on in vitro flowering of Spathiphyllum and association of glutathione meta-bolism. Plant Cell Tissue and Organ Culture 90: 225-235.

Dickens, C.W.S. and Van Staden, J. (1988). The *in vitro* flowering of *Kalanchoe blossfelddiana* Poellniz. (1) Role of culture condition and nutrients. Journal of Experimental Botany 39: 461-471.

Duan, J.-X. and Yazawa, S. (1994). *In vitro* floral development in × *Doriella* Tiny (*Doritis pulcherring* × *Kingiella Philip-pinensis*). Scientia Horticulturae 59: 253-264.

Duan, J.-X. and Yazawa, S. (1995). Floral induction and development in *Pha-laenopsis in vitro.* Plant Cell Tissue and Organ Culture 43(1): 71-74.

Hee, K.H., Loh, C.S. and Yeoh, H.H. (2007). Early in vitro flowering and seed production in culture in *Dendrobium* Chao Praya Smile (Orchidaceae). Plant Cell Reports 26: 2055-2062.

Kachonpadungkitti, Y., Romchatngoen, S., Hasegawa, K. and Hisajima, S. (2001). Efficient flower induction from cultured buckwheat (*Fagopyrum esculentum* L.) node segments *in vitro*. Plant Growth Regulation 35: 37-45.

Kostenyuk, I., Oh. B.J. and So, I.S. (1999). Induction of early flowering in *Cymbidium niveo-marginatum* Mak in vitro. Plant Cell Reports 19: 1-5.

Lopez, R.G. and Runkle, E.S. (2005). Environmental physiology of growth and flowering of orchids. HortScience 40(7): 1969-1973.

Saupe, S.G. (2009). Flowering. Plant Physiology (Biology 327). Collegeville, MN 56321. (320) 363-2782.

Sim, G.E., Loh, C.S. and Goh, C.J. (2007). High frequency early in vitro flowering of *Dendrobium* Madame Thong-In (Orchidaceae). Plant Cell Reports 26: 383-393.

Te-chato, S., Nujeen, P. and Muangsorn, S. (2009). Paclobutrazol enhance bud-break and flowering of Friederick's *Dendrobium* orchid *in vitro*. Journal of Agricultural Technology 5(1): 157-165.

Tee, C.S., Mazah, M. and Tan, C.S. (2008). Induction of *in vitro* flowering in the orchid *Dendrobium* Sonia 17. Biologia Plantarum 52(4): 723-726.

Vacin, E. and Went, F. (1949). Some pH change in nutrient solution. Botanical Gazette 110: 605-613.

Vaz, A.P.A., Figueiredo-Ribeiro, R. de C.L. and kerbauy, G.B. (2004). Photoperiod and temperature effects on in vitro growth and flowering of *P. pusilla*, and epiphytic orchid. Plant Physiology and Biochemistry 42: 411-415.

Wang, G.Y., Liu, P., Xu, Z.H. and Chua, N.H. (1995). Effect of ABA on the *in vitro* production of flower buds of *Dendrobium candidum* Wall. ex. Lindl. Acta Botanica Sinica 37(5): 374-378.

Wang, G., Xu, Z., Chia, T.-F. and Chua, N.-H. (1997). *In vitro* flowering of *Den-drobium candidum*. Science in China (Series C) 40(1): 35-42.

Wang, Z.H., Wang, L. and Ye, Q.S. (2009). High frequency early flowering from *in vitro* seedlings of *Dendrobium nobile*. Scientic Horticulturae 122: 328-331.

Ziv, M. and Naor, V. (2006). Flowering of geophytes *in vitro*. Propagation of Ornamental Plants 6(1): 3-16.

❑❑❑❑❑