# บทนำ

ความก้าวหน้าในการเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชในหลอดทดลองในระยะสิบกว่าปีที่ผ่านมา ทำให้นักวิทยาศาสตร์สามารถขยายพันธุ์พืชหลายชนิดโดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ (Steward et al., 1958; Morel, 1960, 1964; Wimber, 1963; Sagawa et al., 1966, 1967; Reinert and Mohr, 1967; Kim et al., 1970; Steward and Mapes, 1971; Johri, 1971; Bhojwani and Johri, 1971; Nag and Johri, 1971; Intuwong, 1972) นอกจากนั้นยังทำให้นักวิจัยเห็นแนวทางและโอกาสที่จะเป็นไปได้ในการเลี้ยงเซลล์ของพืชชั้นสูงอย่างปราศจากเชื้อ เพื่อที่จะให้ได้ผลผลิตทางการค้า (Puhan and Martin, 1971) ปัจจุบันนี้ดอกกล้วยไม้นับเป็นสินค้าออกที่ทำรายได้ให้แก่ประเทศไทยที่มีความสำคัญมากอย่างหนึ่ง กล้วยไม้ที่ใช้ตัดดอกเพื่อส่งเป็นสินค้าออกที่สำคัญก็คือหวายปอม-ปาดัวร์ (Dendrobium Pompadour ) กล้วยไม้ชนิดนี้ก็เช่นเดียวกับกล้วยไม้อื่น ๆ อีกหลายชนิดที่ทำ meristem culture ได้ โดยนำเนื้อเยื่อเจริญมาเลี้ยงบนวุ้นอาหารในหลอดทดลอง มันจะเจริญเป็น callusซึ่งในที่สุดจะกลายเป็นต้นเล็ก ๆ สามารถนำไปปลูกเลี้ยงในกระถางเจริญเป็นต้นกล้วยไม้โดยสมบูรณ์ได้ (Sagawa and Shoji, 1967; Kim et al., 1970 ) ทำนองเดียวกับที่Morel (1960, 1964)ได้ทำกับกล้วยไม้สกุล Cymbidium ซึ่งเป็นงานเริ่มต้นของการขยายพันธุ์กล้วยไม้โดยวิธีเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำให้สามารถขยายพันธุ์กล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์จากต้นที่มีลักษณะดีได้ต้นที่มีลักษณะคงที่เหมือนเดิมอย่างรวดเร็วเพื่อเพิ่มจำนวนกล้วยไม้สำหรับตัดดอก นับเป็นการเพิ่มพูนรายได้ให้แก่นักเลี้ยงกล้วยไม้ของไทยและทำให้รายได้ของประเทศเพิ่มมากขึ้นในที่สุด นอกจากนั้นการขยายพันธุ์แบบนี้ทุกต้นมีgenotype เหมือนกันทุกประการ เหมาะที่จะใช้ในการทดลองทางสรีรวิทยา เช่น การทดลองเกี่ยวกับอาหาร สิ่งกระตุ้นการเจริญ หรือการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม และยังช่วยให้การศึกษาเกี่ยวกับ mutationของกล้วยไม้ง่ายกว่าเดิมมาก (ถาวร วัชราภัย, 2510 ) จึงนับเป็นเรื่องที่น่าสนใจที่จะติดตามการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อกล้วยไม้นี้นับตั้งแต่เป็นต้นเล็ก ๆ ด้วยการถ่ายภาพแบบ time-lapse

ในปัจจุบันนี้การถ่ายรูปและภาพยนตร์ได้เข้ามามีส่วนในวงงานวิจัยอย่างกว้างขวาง การใช้กล้องถ่ายภาพยนตร์ติดตามบันทึกผลการทดลองตลอดจนการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นทำให้ประหยัดเวลาและลดงานลงไป ทำให้นักวิจัยมีเวลาทำงานอย่างอื่นได้มากขึ้น การถ่ายภาพมีประโยชน์ในงานด้านวิทยาศาสตร์มากเพราะสามารถบันทึกเก็บข้อมูลต่าง ๆ ได้เหมือนของจริง สามารถติดตามถ่ายภาพในระยะต่าง ๆ ต่อเนื่องกันได้ โดยเฉพาะเมื่อนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ดูก็จะพบข้อเท็จจริงต่าง ๆ มากขึ้น (Richards, 1954) และภาพที่ได้ก็เก็บไว้ดูได้ตลอดไป การถ่ายภาพเป็นระยะ ๆ (time-lapse photography) เป็นวิธีการถ่ายภาพตามช่วงเวลาที่ตั้งเอาไว้ เมื่อสิ่งที่ถ่ายมีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างช้า ๆ ก็จะถูกบันทึกโดยถ่ายภาพไว้ การถ่ายภาพแบบtime-lapse ที่ง่ายที่สุดคือตั้งกล้องถ่ายรูปไว้นิ่ง ๆ บนสามขา แล้วถ่ายทีละรูปโดยเว้นระยะเวลาห่างเท่า ๆ กัน (Weston, 1957) นำรูปถ่ายทั้งชุดที่ได้มาเรียงกันตามลำดับจะใช้สำหรับการศึกษาและเปรียบเทียบได้ การถ่ายภาพยนตร์แบบtime-lapse นำมาใช้ในการถ่ายพืช เช่น การงอกของเมล็ด การเจริญของดอกไม้ ผลไม้ การเจริญเติบโตของพืช (Weston, 1957)

## การสำรวจการวิจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องซึ่งได้กระทำมาแล้ว

Morel (1960)เป็นคนแรกที่ใช้เนื้อเยื่อกล้วยไม้ในการขยายพันธุ์ โดยใช้เยื่อเจริญที่อยู่ปลายยอดของกล้วยไม้สกุล Cymbidium เลี้ยงบนวุ้นอาหาร ชิ้นส่วนของกล้วยไม้เจริญไปเป็น protocorm-like body (plb.) และในที่สุดกลายไปเป็นต้นเล็ก ๆ จากหลักเกณฑ์นี้ Morel (1964 ) ก็นำมาใช้ขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุลอื่นอีก เช่น Cattleya และ Miltonia พบว่าเนื้อเยื่อที่แยกออกมาสามารถเจริญเป็นต้นเล็ก ๆ ได้หลายต้น และต้นที่เกิดขึ้นใหม่ในระยะแรกมีลักษณะคล้ายต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ด และยังคงรักษาลักษณะของพันธุ์เดิมทุกประการ Wimber (1963)พบว่าเนื้อเยื่อเจริญของกล้วยไม้ที่เลี้ยงในflask ที่ไม่เขย่าจะมีการเจริญตามลำดับขั้นคล้ายการงอกของเมล็ดหลังจากเกิดplb.แล้ว ส่วนในflask ที่เขย่า plb. จะไม่เปลี่ยนแปลงไปเป็นต้น ยังคง proliferate ต่อไปเป็นplb. มากขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะการเขย่าทำให้ polarity ที่จะเกิดขึ้นในเนื้อเยื่อถูกยับยั้งจึงไป-

ระงับการเกิดต้น Sagawa, Shoji and Shoji (1967 ); Kim, Kunisaki and Sagawa (1970) ใช้ meristem culture ขยายพันธุ์กล้วยไม้สกุล Dendrobium พบว่าเนื้อเยื่อเจริญที่ให้ผลดีคือเนื้อเยื่อเจริญจาก axillary bud และ terminal bud ต้นเล็กๆ ที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้สามารถจะนำไปปลูกเลี้ยงในเรือนกล้วยไม้ เจริญเติบโตให้ดอกได้ตามปกติ (Steward and Mapes, 1971 ) ในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ลูกผสมบางพวก (Vanda merrillii var. Tan Chay Yan X Vanda luzonica )Rao (1963) สังเกตว่ามักจะเกิด callus แทนที่จะมีการเจริญไปเป็นต้นอ่อนตามปกติ การเกิด callus ในกรณีเช่นนี้เป็นอุปสรรคขัดขวางการเจริญของต้นอ่อนทำให้ต้นอ่อนเกิดช้าไปมาก Rao (1963 ) อ้างถึง Curtis and Nichol (1948 ); Gilliland(1958 ); Withner(1959 ) และ Burgeff(1963 ) ว่าได้พบ callus เกิดขึ้นในระหว่างที่ศึกษาการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ ต่อมา callus จะเปลี่ยนแปลงเกิดเป็นใบและราก Rao (1967 ) ได้ศึกษาและอธิบายถึงการเกิดเนื้อเยื่อและอวัยวะในต้นอ่อนของกล้วยไม้ที่เพาะจากเมล็ด

การเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชที่น่าสนใจอื่นๆ นอกจากกล้วยไม้นั้น White (1954); Maheshwari (1963 ); Puhan and Martin (1971 ) กล่าวถึง Haberlandt (1902 ) ว่าเป็นผู้ริเริ่มการเลี้ยง isolated cell ในหลอดทดลองแต่ประสบความล้มเหลวเนื่องจากความรู้เกี่ยวกับความต้องการการอาหารของพืชในสมัยนั้นยังมีไม่เพียงพอ อีกประมาณ 30ปีต่อมา Gautheret(1934 ) และ White (1934 ) ประสบความสำเร็จในการเปิดทางไปสู่การเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลอง ต่อมาก็มีพัฒนาการของเทคนิคใหม่ที่ก้าวหน้าเพิ่มขึ้นตามลำดับมีการเลี้ยง isolated cell ของพืชชั้นสูงซึ่งจะเป็นทางก้าวไปสู่การค้นคว้าศึกษาปัญหาของเซลล์และสรีรวิทยา (Torrey and Reinert, 1961) Ball (1950 ) พบว่าชิ้นส่วนของลำต้น Sequoia sempervirens เลี้ยงในหลอดทดลองสามารถเจริญไปเป็น callus และเกิดหน่อ (shoot) ขึ้น Steward, Mapes and Mears ( 1958) พบว่าเซลล์ของแครอทเจริญและเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ Steward and Mapes (1971 ) ศึกษาการเจริญและเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อจากลำต้นหน่อไม้ฝรั่ง สามารถชักนำให้เกิด callusและเจริญไปเป็นต้นได้ โดยการเปลี่ยน-

แปลงองค์ประกอบและสัดส่วนของอาหารที่เลี้ยงอาจทำให้เกิดรากโดยไม่มีหน่อ เกิดหน่อแต่ไม่มีราก หรือเกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ มีการเลี้ยง **endosperm** ของพืชมีดอกที่เป็น parasite บางชนิด ( Nag and Johri, 1971 ) พบว่า endosperm ที่เติบโตเต็มที่แล้วจะเจริญและเกิดเซลล์มากมายจนพองฟู ( proliferation ) บนอาหารของ White ( 1943 ) ที่มี auxin indole butyric acid, kinetin และ casein hydrolysate อยู่ด้วย และมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นอวัยวะได้ คือมีหน่อ และ haustoria เกิดขึ้น งานครั้งแรกที่ศึกษาถึงการเกิด embryo ในเนื้อเยื่อ endosperm ของพืชที่ไม่เป็น **parasite** คือ Croton bonplandianum ( syn. C. persicaria ) พบว่า endosperm ที่เติบโตเต็มที่แล้วเมื่อนำมาเลี้ยงบน White 's medium + 2 ppm 2,4-dichlorophenoxyacetic acid + 5ppm kinetin + 2500ppm yeast extract มีการเจริญและมี proliferation อย่างมากมายจนเกิด callus เมื่อย้าย callus นี้ไปยัง White's medium หรือ White's medium ที่มี 500 ppm casein hydrolysate จะมีการเปลี่ยนแปลงเกิดรากขึ้น รากที่เกิดนี้มีลักษณะภายในเช่นเดียวกับรากปกติที่เกิดจากต้น ( Bhojwani and Johri, 1971 ) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาใน Ranunculus sceleratus ( Johri, 1971 ) ซึ่งเป็นพืชที่มีความเหมาะสมเป็นพิเศษพอๆ กับแครอทพืชทั้งสองชนิดนี้เกือบทุกส่วนแสดงความสามารถที่จะชักนำให้เกิด embryo-like structure (มักเรียกว่า embryoid ) เมื่อแยกเอาเซลล์ เนื้อเยื่อและอวัยวะของพืชนี้มาเลี้ยงในหลอดทดลอง อีกทั้ง embryo-like structure ที่ได้จากการเลี้ยงในหลอดทดลองยังมีลำดับของการเจริญเปรียบได้กับ embryo ที่เจริญจาก zygote embryoid ที่เติบโตเต็มที่มีลักษณะเช่นเดียวกับ embryo ในเมล็ด

การจัดสภาพแวดล้อมให้เหมาะสม ให้อาหารที่จำเป็น รวมทั้งการให้สารเคมีบางอย่าง เหล่านี้สามารถจะกระตุ้นการเจริญของเซลล์และเนื้อเยื่อได้ แม้แต่เซลล์ที่เติบโตเต็มที่แล้วก็อาจกลับเจริญแบ่งตัวได้อีก หรือแม้กระทั่งการเกิดพืชทั้งต้นจากเซลล์เดี่ยวๆ ( Steward, 1963b) ความต้องการอาหารของเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในหลอดทดลองย่อมแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ชิ้นส่วนของพืช และสภาวะทางสรีรวิทยาด้วย อาหารสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อแตกต่างไปจากอาหารสำหรับการงอกของเมล็ดเล็กน้อย ( Wimber,

1963; Morel, 1965 ) Intuwong (1972 ) อ้างถึงอาหารที่เหมาะสำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยทั่วไปซึ่ง Sagawa and Kunisaki (1968 ) สรุปว่า ได้แก่อาหารที่ประกอบด้วยสารอนินทรีย์ธรรมดาซึ่งเติมน้ำตาลและน้ำมะพร้าวลงไปด้วย Morel( 1965) พบว่าอาหารที่มีสารที่สกัดหรือได้จากพืช เช่นกล้วย น้ำมะเขือเทศ น้ำมะพร้าว ใช้กับต้นออนจะให้ผลไม่ดีแต่ชอบอาหารตามสูตร Knudson C มากกว่า Intuwong ยังได้อ้างถึงงานของนักวิทยาศาสตร์อื่นๆ บางคน ( Lindemann, 1967; Vajrabhaya, 1970; Churchill et al., 1970, 1971 ) ซึ่งได้ศึกษาพบว่ากล้วยไม้บางชนิดต้องการอาหารมากกว่าอาหารประเภท simple medium เพื่อที่จะทำให้เนื้อเยื่อเกิด proliferation ชิ้นส่วนและเนื้อเยื่อของพืชที่นำมาเลี้ยงในหลอดทดลองส่วนใหญ่ไม่สามารถสร้างอาหารได้เองแม้ว่าชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเลี้ยงจะมีคลอโรฟิลล์อยู่มากในตอนแรกก็ตาม รงควัตถุที่มีอยู่จะลดลงไปมากหรือน้อยในระหว่างที่เลี้ยง ดังนั้นจึงต้องเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่มีน้ำตาล Ernst (1970) อ้างว่า Burgeff( 1909) ประสบความสำเร็จในการเพาะเมล็ด Laeliocattleya บนอาหารที่มีน้ำตาล sucrose 0.33 เปอร์เซนต์ Knudson ( 1922) สามารถเพาะเมล็ดกล้วยไม้ Laelia และ Cattleya ให้งอกโดยไม่ต้องอาศัยราใดๆ เมื่อเติมน้ำตาลลงในอาหารนั้น และได้ต้นออนเกิดขึ้นบน Knudson B ที่มีน้ำตาล sucrose อย่างน้อย 0.8 เปอร์เซนต์ Gautheret ( 1955) แสดงว่า sucrose เป็นน้ำตาลที่ให้ผลดีที่สุด และจากการศึกษาของ Ernst ( 1967, 1970 ) โดยใช้ต้นออนของ Phalaenopsis และ Dendrobium สรุปว่าคาร์โบไฮเดรตพวก D-series enantiomers ใช้ได้ผลดี ยกเว้น D-galactose ซึ่งพิสูจน์ได้ว่าไม่เหมาะกับการเจริญ ทำให้ protocorm ที่เลี้ยงบนอาหารที่มี galactose ตายในระยะเวลาอันสั้น รวมทั้ง disaccharide และ trisaccharide ที่มี D-galactopyranosyl radical อยู่ด้วย ก็ไม่เหมาะจะใช้เป็น carbon-source การพบเช่นนี้สนับสนุนว่าสิ่งมีชีวิตชั้นสูงต้องการ D-sugar และ L-amino acid (Ernst, 1970)

การเติบโตและการเจริญตามปกติของพืชจะไม่เกิดขึ้นถ้าไม่มีสารพวกฮอร์โมนของพืชนั้นสร้างอยู่ภายในเซลล์รวมทั้งต้องมีอยู่ในสัดส่วนที่พอเหมาะและในเวลาที่สมควรอีกด้วย (Overbeek, 1968) ฮอร์โมนของพืชอีกพวกหนึ่งที่นอกเหนือไปจาก auxin และ gibberellin

คือ cytokinin ฮอร์โมน cytokinin นี้มีมากในน้ำมะพร้าว ( liquid endosperm ของ Cocos nucifera ) ในปี 1941 Overbeek ได้เสนอเป็นครั้งแรกในการใช้น้ำมะพร้าวสำหรับการเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลอง liquid endosperm ของมะพร้าวไม่เพียงมีประโยชน์ในการเป็นอาหารของ embryo ในระยะอ่อนมันยังมีสารพวก growth substance ทำให้เซลล์ที่เติบโตเต็มที่และไม่แบ่งตัวแล้วกลับมีความสามารถแบ่งตัวได้ใหม่อีก ( Steward, 1963b) จากการทดลองและศึกษาผลของการเลี้ยงต้นอ่อน Phalaenopsis โดยเติมอาหารที่เป็นสารอินทรีย์ต่างๆ ลงในอาหารตามสูตร Knudson C Ernst( 1967) สรุปว่าน้ำมะพร้าวชักนำให้เกิด proliferation อย่างมากแต่ differentiation จะเกิดช้า ในจำพวกสิ่งสกัด ( extract) จากพืช และน้ำผลไม้ (juice) ที่แสดงพลังทำให้มีการแบ่งเซลล์ที่เด่นที่สุดคือน้ำมะพร้าว (Fox, 1969 ) Fox ได้อ้างถึง Overbeek et al. (1941 ) ว่าพบปัจจัยบางอย่างอยู่ในน้ำมะพร้าวซึ่งกระตุ้นการเจริญของ embryo ในเนื้อเยื่อที่เลี้ยง ได้มีการใช้น้ำมะพร้าวเติมลงไปในอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชในหลอดทดลองกันอย่างกว้างขวางเพื่อชักนำให้มีการเจริญ มีผู้พยายามพิสูจน์และแยกหาองค์ประกอบในน้ำมะพร้าวที่มีอำนาจชักนำให้มีการเจริญและแบ่งตัว ( Caplin and Steward, 1948 ) และยังมีการศึกษาต่อเนื่องกันมา ( Mauney et al., 1952; Kuraishi and Okumura, 1961; Shaw and Srivastava, 1964 ) Miller et al. (1956) แยกผลึกของสารชนิดหนึ่งได้จาก DNA และพิสูจน์ได้ว่า เหมือนกับ 6-furfurylamino purine ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยในการแบ่งนิวเคลียสของเซลล์จึงให้ชื่อว่า kinetin Overbeek( 1968) อ้างว่า Miller ใช้ sperm DNA ของปลาเฮริ่ง ได้พบว่าสารนี้ทำให้เซลล์ของยาสูบเจริญและแบ่งตัวได้ ถ้าใช้ DNA ที่เตรียมมาใหม่ๆ กลับไม่ได้ผล แต่เมื่อนำไป autoclave แล้วมันจะมีพลังกระตุ้นให้เซลล์เจริญและแบ่งตัว แสดงว่าปัจจัยที่ส่งเสริมการเจริญจะต้องเป็นผลที่เกิดจาก nucleic acid ที่สลายตัว และพบว่าสารดังกล่าวเป็น derivative ตัวหนึ่งของ adenine คือ kinetin และได้รวมเรียกฮอร์โมนของพืชทั้งหมดที่มี kinetin-like activity ว่า "cytokinin" Ranganathan et al. (1962 ) และ Fox (1969 ) กล่าวว่าน้ำมะพร้าวและ kinetin สามารถใช้แทนกันได้ จะส่งเสริมการเจริญของเนื้อเยื่อหลายชนิดเมื่อมี auxin อยู่ใน medium

นั้นด้วย ( Sommer et al., 1962; Halperin and Wetherell, 1964) แสดงว่ามีอำนาจในการกระตุ้นการเจริญเช่นเดียวกับ kinetin อยู่ในน้ำมะพร้าว ได้มีการแยกพบสารประเภท purine หลายตัวจากน้ำมะพร้าว ( Fox, 1969) ปัจจุบันนี้รู้ถึงองค์ประกอบสำคัญที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าว ( Steward, 1963a)มี sorbitol ในน้ำมะพร้าว 20 ลิตร แยก sorbitol ออกมาได้ 200 กรัม myo-inositol scyllo-inositolส่วนสารที่เป็นผลึกที่แยกได้จากน้ำมะพร้าวมี 1,3-diphenyl urea และสารอีกตัวหนึ่งที่คล้าย xanthine มาก ในน้ำมะพร้าวยังมีสารประกอบของ phenol คือ leucoanthocyanin อยู่มาก ซึ่งไม่สามารถนำให้เป็นผลึกได้ แต่จาก homogenous product.ที่ได้จากน้ำมะพร้าวก็กระตุ้นการเจริญและมีคุณสมบัติทางเคมีเป็น leucoanthocyanin (Steward et al., 1961) และแยกไม่พบ kinetin ในน้ำมะพร้าว ( Steward, 1963a) นอกเหนือจากน้ำมะพร้าว Fox ( 1969 ) อ้างว่าตรวจพบ cytokinin activity ในน้ำมะเขือเทศ ( Nitsch and Nitsch, 1961) ในสารที่สกัดจากดอกและผลแอปเปิล ในลูกแพร์ ในผลอ่อนของข้าวโพด และยังพบในแหล่งต่าง ๆ เช่น ลำต้นของพืชบางชนิด,female gametophyte ของ Ginkgo biloba endosperm ต้นอ่อน และเนื้อเยื่อของพืชบางชนิด ( Goldacre and Bottomley, 1959; Bottomley et al., 1963; Steward and Shantz, 1959; Beauchesne, 1961; Zwar and Skoog, 1963; Fox, 1962) เหล่านี้ล้วนเป็นแหล่งของ cytokinin ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ จึงกล่าวได้ว่า cytokinin มีอยู่ในพืชอย่างกว้างขวาง การสกัดเอา cytokinin ธรรมชาติทำได้โดยใช้เนื้อเยื่อที่มีพลังในการแบ่งเซลล์ได้สูง ( Torrey, 1969 ) เช่น ผลไม้อ่อนที่กำลังเจริญ cytokinin ที่แยกออกมาได้จากผลอ่อนของข้าวโพดพบว่าเป็น zeatin ซึ่ง Letham (1963 ) สามารถแยกสารนี้ได้ในลักษณะที่เป็นผลึก โครงสร้างของมัน ( Letham et al., 1964) และการสังเคราะห์ ( Shaw and Wilson, 1964) แสดงว่ามันเป็นสารอีกตัวหนึ่งที่มีโครงสร้างคล้าย kinetin

มีรายงานเกี่ยวกับการทำงานที่เสริมกัน ( synergistic action ) ระหว่าง cytokinin กับ auxin เป็นจำนวนมาก อาทิ Steward(1963b) พบว่าเมื่อใช้ 2,4-D ร่วมกับน้ำมะพร้าว จะกระตุ้นการเจริญของเนื้อเยื่อหลายชนิด ซึ่งถ้าใช้น้ำมะพร้าวอย่าง-

เดียวไม่เกิดผล Sastri ( 1963 )พบการทำงานที่เสริมกัน ระหว่างkinetin กับ2,4-D ในช่วง2 ถึง4ppm ( kinetin ) กับ 0.02 ถึง 0.08 ppm( 2,4-D ) เป็นผลให้มีการเจริญได้ callusที่ดี สำหรับในฝิ่น สิ่งที่เนื้อเยื่อฝิ่นต้องการเพื่อการเจริญ คือ น้ำมะพร้าว หรือ kinetin กับ 2,4-D หรือ NAA ที่เติมลงไปใน basal medium(Ranganathan et al., 1963) จากรายงานของ Steward and Caplin( 1951 ) กล่าวถึงผลที่ส่งเสริมกันระหว่าง 2,4-D กับน้ำมะพร้าวที่เกิดกับการเจริญของเนื้อเยื่อมะเขือเทศทำนองเดียวกัน yeast extractและ malt extractอย่างใดอย่างหนึ่ง หรือใช้รวมกันไม่สามารถใช้แทนน้ำมะพร้าวเพื่อชักนำให้เนื้อเยื่อเจริญได้ แต่ kinetin ใช้แทนน้ำมะพร้าวได้ ขอบเขตในการเจริญที่เกิดจากการกระตุ้นของ kinetinและน้ำมะพร้าวเป็นแบบเดียวกัน ( Ranganathan et al.,1963) Mehta ( 1967 ) กล่าวถึงรายงานของ Struckmeyer et al. ว่าถ้าใช้ auxin ที่มีความเข้มสูงจะมี tracheid เกิดขึ้นน้อย ถ้าใช้ความเข้มต่ำจะชักนำให้เกิด tracheid มากมาย Mehta ทำการทดลองโดยใช้เนื้อเยื่อ callus ของมะเขือเทศ และ Linum ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน ในกรณีของการทำงานร่วมกันระหว่างauxin ( IAA ) กับ cytokinin เพื่อกระตุ้น organogenesis นั้น Nag and Johri( 1971 )พบว่าเมื่อความเข้มของ cytokinin ต่ำลงจะชักนำให้เกิดตา ( bud ) แต่ถ้าความเข้มของauxin สูงขึ้นจะชักนำให้เกิด callus

Cytokinin มี activityหลายอย่าง มีส่วนเกี่ยวข้องในการแบ่งเซลล์ เมื่อใช้ร่วมกับ auxin จะชักนำให้เกิด cytokinesis หลังจากที่เกิด mitosisแล้ว (Das et al., 1956) Haper and Luippold(1960 ), Torrey (1961 ) ก็พบและสนับสนุนว่า cytokininช่วยให้มีการแบ่งเซลล์ Fox( 1969 ) กล่าวถึงรายงานเกี่ยวกับ kinetin และสารที่มีโครงสร้างคล้าย kinetinบางตัวซึ่งมีพลังกระตุ้นการแบ่งเซลล์ ทำให้เซลล์ในชิ้นส่วนของใบขยายออก (Miller, 1956; Kuraishi and Okumura,1956; Scott and Liverman, 1956 ) ทำให้เซลล์ในชั้น cortex ของรากยาสูบขยายตัว 4 เท่าจากขนาดปกติ เมื่อมี kinetin อยู่ (Arora et al., 1959) ซึ่งสอดคล้องกับข้อความที่ Steward (1963b) กล่าวว่าสารพวก auxin cytokininและ gibberellin สารเหล่านี้ตัวใดตัวหนึ่งภายใต้สถานการณ์อย่างหนึ่ง อาจดูเหมือน auxin และ-

ภายใต้สถานการณ์อีกอย่างหนึ่งอาจดูเหมือน cytokinin cytokinin จะกระตุ้นเนื้อเยื่อให้เกิด morphogenesisภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ( Fox, 1969) การเลี้ยงเนื้อเยื่อ pith ของยาสูบ ( Skoog and Miller, 1957) ในสภาวะที่มี 2mg/l. IAA กับ0.02 mg/l. kinetin เนื้อเยื่อ pithจะเจริญเป็นcallus การเพิ่มอัตราส่วนของkinetin ต่อ auxin จะเป็นโดยการลดความเข้มของ auxin หรือเพิ่มระดับ kinetin ในอาหาร จะเป็นผลให้เกิดตาขึ้นซึ่งอาจเจริญไปเป็นหน่อ และเป็นต้นที่สมบูรณ์ในที่สุดได้ ในทางตรงกันข้ามเมื่ออัตราส่วนของ kinetin ต่อ auxin ต่ำลงจะเกิดรากขึ้น cytokinin ยังส่งเสริมให้เมล็ดงอกทำลาย dormancy ของเมล็ด ( Miller, 1956; Haber and Tolbert, 1957; Miller, 1958) ทำลาย apical dominance ( Thimann and Wickson, 1957; Sachs and Thimann, 1964)

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อสังเกตการเจริญและเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อกล้วยไม้ Dendrobium Pompadour ดูการเจริญของ callus ที่เลี้ยงบนวุ้นอาหารที่มีน้ำมะพร้าวกับวุ้นอาหารที่ไม่มีน้ำมะพร้าว ว่ามีการเจริญแตกต่างกันมากน้อยเพียงไร ศึกษาอัตราการเพิ่มของขนาดและปริมาตรของcallus ดูการเปลี่ยนแปลงจาก plb.มาเป็นต้นเล็ก ๆ จุดมุ่งหมายในข้อนี้เพื่อศึกษาจากภาพที่ถ่ายแบบ time-lapse เนื่องจากผู้ศึกษารายอื่น ๆ มุ่งถึงผลของสัดส่วนและองค์ประกอบของอาหาร ลักษณะของการเกิดเนื้อเยื่อและโครงสร้างของเนื้อเยื่อ ยังไม่มีผู้ใดศึกษาโดยการบันทึกภาพทุกระยะ เช่นนี้ มีบางคนถ่ายภาพเมื่อสิ้นสุดการทดลอง หรือบันทึกภาพเฉพาะเพียงบางระยะเท่านั้น ประโยชน์ที่จะได้จากการวิจัยนี้ จะทำให้ได้เรียนรู้ถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับเนื้อเยื่อกล้วยไม้อย่างละเอียดตลอดจนการเจริญเติบโตของมัน และภาพยนตร์ม้วนนี้ยังใช้ประกอบในการแสดงวิธีขยายพันธุ์ของพืชแบบต่าง ๆ ซึ่งเป็นภาพยนตร์ทางวิชาการ เพื่อนำออกเผยแพร่ในโอกาสที่เหมาะสมต่อไป