



การ เกิดแคล้วจากตาแวนคำมิสโจอะคิม

เมื่อเลี้ยงในหลอกทคคลอง

นายค่านุณ กาญจนภูมิ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาคามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

แผนกวิชาพฤษศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2519

000245

Callus Formation in the Bud of Vanda x Miss Joaquim
Cultured in vitro

Mr. Kamnoon Kanchanapoomi

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements
for the Degree of Master of Science

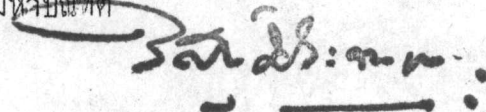
Department of Botany

Graduate School

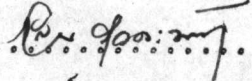
Chulalongkorn University

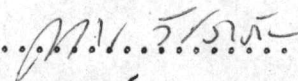
1976

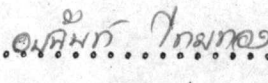
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

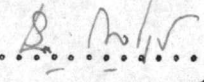

.....
(ศาสตราจารย์ ดร.วิศิษฐ์ ประจวบเหมาะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการตรวจวิทยานิพนธ์  ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์กสิณ สุวตะพันธ์)

.....  กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชรากัญ)

.....  กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อบฉันท ไทยทอง)

.....  กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เรณู ดาวโรตม์)

อาจารย์ผู้ควบคุมการวิจัย : ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชรากัญ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อบฉันท ไทยทอง
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์เรื่อง การเกิดแคลด์สจากตาแวนด้ามิสโจอะคิมเมื่อเลี้ยงในหลอดทดลอง
โดย นายคำณูณ กาญจนภูมิ
แผนกวิชา พฤษศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

.....
(ศาสตราจารย์ ดร.วิศิษฐ์ ประจวบเหมาะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการตรวจวิทยานิพนธ์

..... *Dr. S. S. S.* ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์กสิณ สุวตะพันธ์)

..... *Dr. S. S. S.* กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.ดาวร วัชรภักย์)

..... *Dr. S. S. S.* กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อบนันท ไทยทอง)

..... *Dr. S. S. S.* กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เรณู ดาวโรตม์)

อาจารย์ผู้ควบคุมการวิจัย : ศาสตราจารย์ ดร.ดาวร วัชรภักย์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อบนันท ไทยทอง
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์เรื่อง การเกิดแคลลัสจากตาแวนก้ามิสโจอะคิมเมื่อเลี้ยงในหลอดทดลอง
โดย นายคำณู กาญจนภูมิ
แผนกวิชา พฤกษศาสตร์

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การ เกิดแคลลัสจากตาแวนค้ำมิสโจอะคิม

เมื่อเลี้ยงในหลอดทดลอง

ชื่อ

นายคำนูน กาญจนภูมิ

แผนกวิชา

พฤกษศาสตร์

ปีการศึกษา

2519

บทคัดย่อ

การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของตาแวนค้ำมิสโจอะคิมเมื่อปลูกตามธรรมชาติ และการเกิดแคลลัสจากตาแวนค้ำเมื่อเลี้ยงในหลอดทดลอง โดยการเลี้ยงบนวุ้นอาหาร และในอาหารเหลวในสภาพปลอดเชื้อ คัด section ต่อเนื่องตาแวนค้ำด้วยวิธีการฝังพาราฟิน ย้อม section ด้วยสีอีมาทอกโซลิน ทำสไลด์ถาวรศึกษาลักษณะต่างๆ

ผลการศึกษาพบว่าตาข้างแวนค้ำมิสโจอะคิมมีลักษณะต่างๆ ไปตามแบบฉบับปลายยอดของพืชพวก angiosperm คือ ประกอบด้วย tunica 2 ชั้น และ corpus เนื้อเยื่อเจริญตรงปลายยอดมีลักษณะแบนและแบ่งบริเวณชัดเจน 68% ของจำนวนตาแวนค้ำที่เลี้ยงบนวุ้นอาหารไม่เกิดพวก meristematic cells ส่วนอีก 32% ของจำนวนที่เหลือเป็นพวกที่เกิด meristematic cells ทางด้าน abaxial และ adaxial ของใบอ่อน ตาแวนค้ำที่เลี้ยงบนวุ้นอาหารระยะหนึ่งแล้วนำมาเลี้ยงต่อไปในอาหารเหลวมีการสร้างแคลลัสดีมาก การเกิดแคลลัสเริ่มตั้งแต่เมื่อเลี้ยงตาแวนค้ำบนวุ้นอาหารประมาณหนึ่งเดือนแล้วมีการเจริญดีเมื่ออยู่ในอาหารเหลว เมื่อศึกษากายวิภาคของแคลลัสพบว่าประกอบด้วย parenchyma cell คอมนามีชั้นเซลล์คล้าย epidermis ล้อมรอบซึ่งภายหลังกลายเป็น meristemoid ส่วนการเกิดแคลลัสพบว่าเกิดจากเซลล์ในชั้นนอกสุดของใบอ่อนที่หุ้มรอบตาแวนค้ำ และมีจุดกำเนิดมาจากหนึ่งเซลล์ซึ่งมีลักษณะเป็น meristematic cell มีไซโทพลาสหนาแน่น นิวเคลียสใหญ่ ส่วนอื่นๆ ของตาแวนค้ำเช่น mesophyll ไม่พบว่ามี การสร้างแคลลัส

Thesis Title Callus Formation in the Bud of Vanda
 x Miss Joaquim Cultured in vitro

Name Mr. Kamnoon Kanchanapoomi

Department Botany

Academic Year 1976

ABSTRACT

Lateral buds of Vanda x Miss Joaquim were cultured in vitro — first aseptically on a solid medium before being transferred to a liquid medium. The sections were prepared by the paraffin method, using hematoxylin, for the histological study.

The results of the study revealed that the lateral buds of Vanda x Miss Joaquim resembled a typical angiosperm shoot apex: the meristem is flat and composed of two layers of tunica which cover the central corpus, exhibiting a clear zonation between them. 68% of the Vanda buds cultured on an agar medium showed no sign of activity, whereas the remaining 32% initiated meristematic cells on the abaxial and adaxial position of young leaves. In addition, the callus formation increased rapidly in a liquid medium. Calli formed after one month when cultured on an agar medium, and the growth rate of the calli were accelerated when they were submerged in a liquid

medium. Serial sections of the calli showed that they were composed of parenchyma cell bounded by an epidermis - like layer, and subsequently these cells differentiated into meristemoid. The results also showed that the calli initiated from a single cell of the leaf epidermis, and this single meristematic cell had dense cytoplasm with a large nucleus. No callus formed in the mesophyll or in any of the other tissues.

กิติกรรมประกาศ

ผู้ทำวิทยานิพนธ์เรื่องนี้ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร
วัชรภักย์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อภินันท์ ไทยทอง ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและ
ข้อคิดอันเป็นประโยชน์ ช่วยในการจัดหาเอกสารประกอบการวิจัยเป็นจำนวนมาก
อีกทั้งช่วยในการแก้ไขข้อผิดพลาดจนอุปสรรคต่างๆ อย่างใกล้ชิด และเอาใจใส่ตลอด
เวลา

ขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ กลิน สุวตะพันธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เรณู
ถาวรโรถฤทธิ์ ที่ได้ช่วยตรวจวิทยานิพนธ์ ทำให้วิทยานิพนธ์นี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น นอกจากนี้
ยังได้รับความช่วยเหลือจาก คุณ มลวิภา โสมานันท์ คุณประชานันท์ นันทนะวานิช
คุณ ชายชาติ ธรรมครองอาคม คุณ สมพงษ์ สิงห์นิล และได้รับทุนสนับสนุนการวิจัย
จากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และสภาวิจัยแห่งชาติ จึงขอขอบคุณมา
 ณ ที่นี้ด้วย

สารบัญ

			หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ง
รายการรูปประกอบ	ฉ

บทที่

1. บทนำ	1
2. อุปกรณ์และวิธีทำการวิจัย	6
3. ผลการวิจัย	9
4. การอภิปรายผลการวิจัย	31
เอกสารอ้างอิง	36
ภาคผนวก	43
ประวัติการศึกษา	46

รายการรูปประกอบ

รูปที่

หน้า

1-2	ลักษณะตาข้างแวนคามิสโจอะคิม ที่ปลุกตาม ธรรมชาติ	10
3	ผลึกแคลเซียมออกซาลเลทรูปเข็ม (raphides) อยู่ที่ส่วนใบของตาแวนคา	10
4-6	แสดง mucilage cell ลักษณะต่างๆ	11
7	ตาแวนคาบนวนอาหารอายุประมาณ หนึ่งเดือน มีลักษณะครึ่งทรงกลม	13
8-9	section ตามยาวและตามขวางของตาแวนคาบน วนอาหาร	13
10	meristematic cell ที่ผิวชั้นนอกของใบออกรอบตา แวนคาที่เลี้ยงบนวนอาหาร	14
11	กลุ่มเซลล์ที่มีการเจริญอย่างทางด้าน abaxial ของใบอ่อนที่อยู่นอกสุด	14
12-18	แสดงการแบ่งเซลล์แบบต่างๆ ทำให้กลุ่มเซลล์ที่ผิว ชั้นนอกของใบออกรอบตาแวนคาบนวนอาหารมีความ สูงและขนาดเพิ่มขึ้น	15
19	แสดงเซลล์บางส่วนของกลุ่มเซลล์ที่เริ่มตายเมื่อเลี้ยง ไปนานๆ	16

รายการรูปประกอบ (ต่อ)

<u>รูปที่</u>		<u>หน้า</u>
20	ใบที่ยืดและเจริญออกมาจากตาแวนค้ำเมื่อเลี้ยงใน อาหารเหลวที่เขยาดลอคเวลา	18
21	protocorm-like body ที่จับกันเป็นก้อนกลม ล้อมรอบตาแวนค้ำ	18
22-23	แสดงเนื้อเยื่อแคลลัสที่เกิดจากใบอ่อน เป็น parenchymatous cell	19
24	แสดงแคลลัสที่ล้อมรอบด้วยชั้นของเซลล์ตาย epidermis	20
25	แสดงแคลลัสของตาแวนค้ำที่มีบางส่วนเปลี่ยนเป็น meristemoid	20
26-27	แสดง meristemoid ที่มีการเปลี่ยนแปลงกลายเป็น shoot apex เกิด leaf primordium...	22
28	แสดงตำแหน่งแคลลัสเกิดมากบริเวณค้ำข้างทั้งสองค้ำ ของใบอ่อน	23
29	แคลลัสเกิดที่ปลายใบอ่อนใกล้ยอด	23
30-31	แสดงเซลล์หนึ่งเซลล์ในชั้นนอกสุดของใบอ่อน ซึ่งเป็นจุด กำเนิดของการเกิดแคลลัส	24
32	2 daughter cell ที่เกิดจากการแบ่งแบบ anticlinal ของเซลล์เริ่มต้น	25

รายการรูปประกอบ (ต่อ)

รูปที่

หน้า

33	4 daughter cell ที่เกิดจากการแบ่งแบบ anticlinal เรียงเป็นแถว 1 ชั้น	25
34-35	4daughter cell ซึ่งพบว่าเริ่มมี periclinal division เพิ่มจำนวนแถวของ meristematic cell	26
36-37	แสดงผลการแบ่งเซลล์และแรงคั้นของเซลล์ทำให้ กลุ่ม meristematic cell สูงกว่าเซลล์ข้างเคียง	28
38	meristematic cell ที่มีการแบ่งตัวหลายแบบ อย่างรวดเร็ว ทำให้เห็นจำนวนแถวและจำนวน เซลล์เพิ่มขึ้น	29
39-40	แสดง เซลล์รอบนอกของก้อนแคลลัสที่สูงโป่งขึ้นจาก บริเวณเค็ม	29
41	แคลลัสที่สูงขึ้นเห็นการเรียงตัวของ เซลล์รอบนอก อย่างเป็นระเบียบ	30
42	ก้อนแคลลัสที่มีขนาดใหญ่ขึ้นซึ่งได้จากการแบ่ง เซลล์หลายแบบ	30