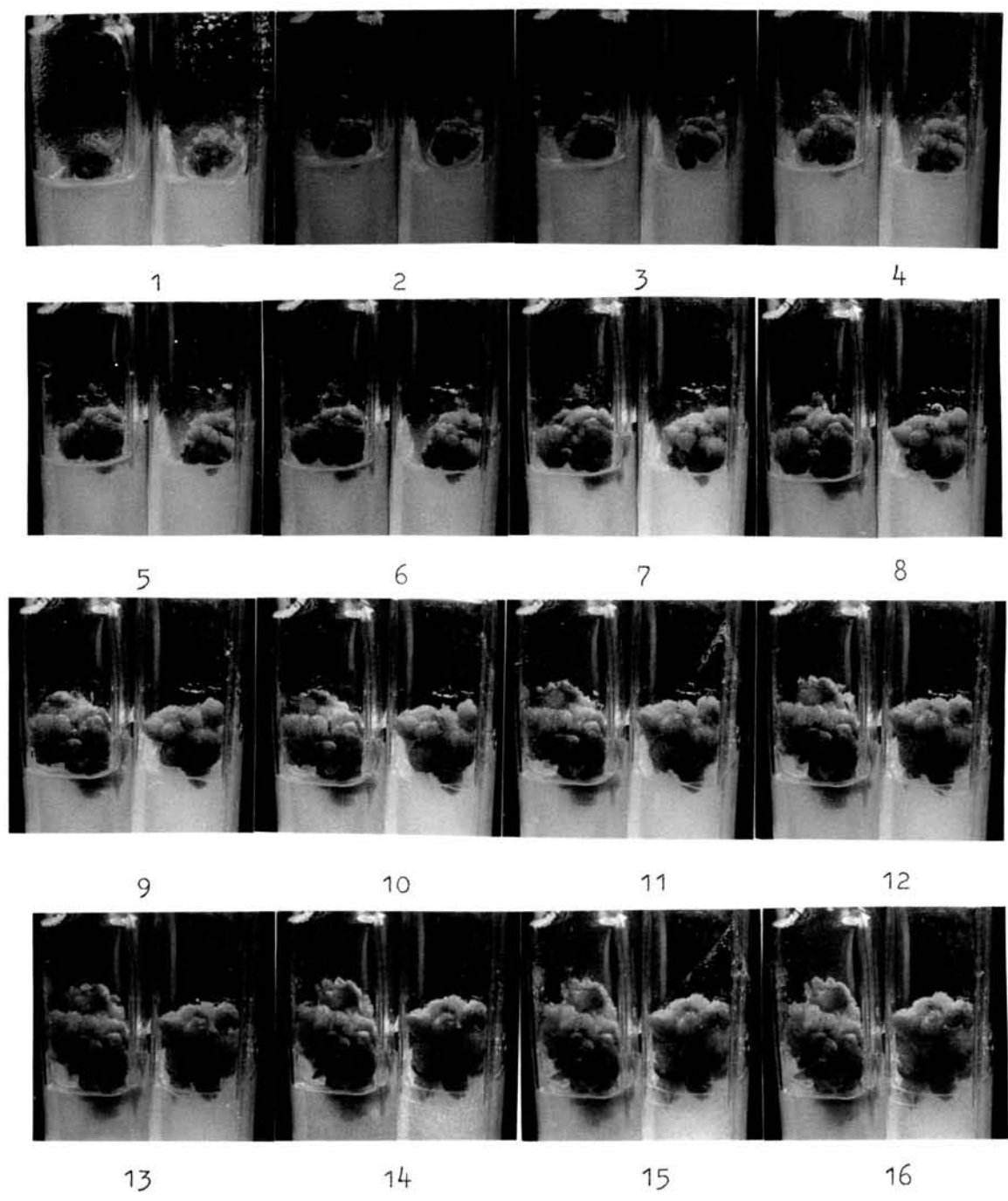


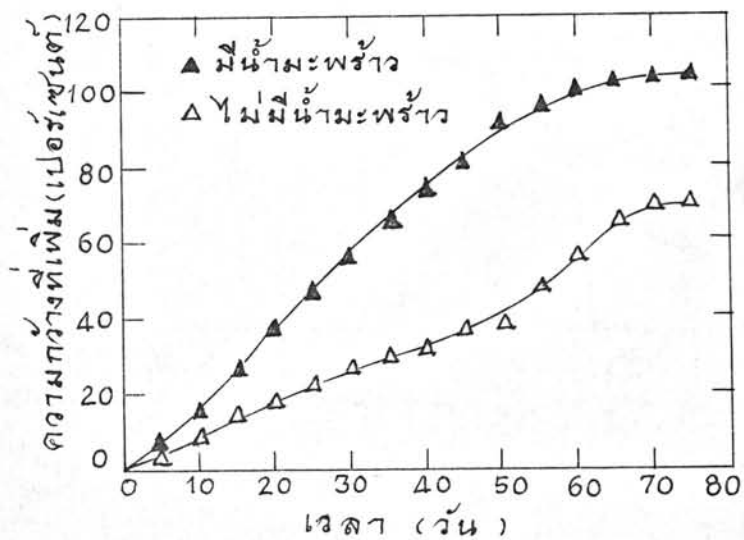
ผลการวิจัย

ศึกษาการเจริญและ proliferation

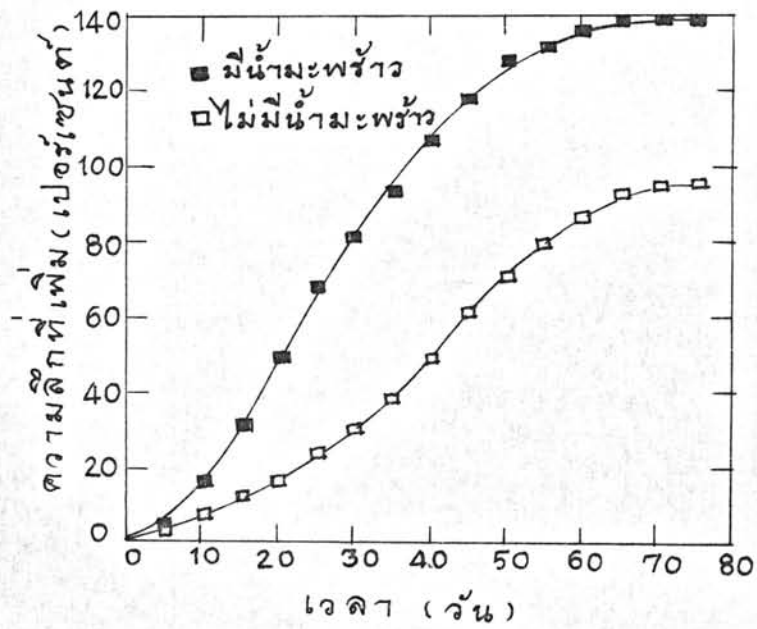
ชิ้นเนื้อเยื่อ Dendrobium Pompadour ซึ่งมีขนาดกว้างด้านละ 5.5 ถึง 7.5 มม. ที่นำมาเลี้ยงบนวุ้นอาหารในหลอดทดลองครั้งแรกมีสีเขียวอ่อน ชิ้นเนื้อเยื่อมีลักษณะอติคิ้วแน่น จากเนกกาทีฟที่ได้โดยการถ่ายภาพแบบ time-lapse ในช่วงเวลา 75 วัน เมื่อนำมาอติขยายบนกระดาษอติรูปโดยอติขยายรูปแรกและทุกๆ รูปที่ 40 ของเนกกาทีฟ (ห่างกันรูปละ 5 วัน) ทำให้ได้ภาพแสดงลำดับการเจริญของชิ้นเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนวุ้นอาหารที่มีน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ และ 2,4-D 0.1ppm เปรียบเทียบกับพวกที่เลี้ยงบนวุ้นอาหารที่มี 2,4-D 0.1ppm แต่ไม่มีน้ำมะพร้าวอยู่ด้วย (รูปที่ 3) ภาพถ่ายแต่ละภาพแสดงถึงการเจริญและ proliferation ในช่วงเวลาห่างกัน 5 วัน การเจริญของชิ้นเนื้อเยื่อบนวุ้นอาหารที่มีน้ำมะพร้าวและไม่มีน้ำมะพร้าวในระยะ 5 วันแรกไม่แตกต่างกัน การเจริญและ proliferation จะเห็นได้ชัดเจนประมาณวันที่ 10 นับจากเริ่มย้ายมาเลี้ยงในหลอดทดลอง ชิ้นเนื้อเยื่อบนวุ้นอาหารทั้งสองข้างก็เกิด proliferation ในอาหารที่มีน้ำมะพร้าวอยู่ด้วยเกิด proliferation มากกว่า และรวดเร็วกว่า ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจน (ดูรูปที่ 3 นับตั้งแต่ภาพที่ 3 เป็นต้นไป) ศึกษาการเจริญของเนื้อเยื่อกล้วยไม้ โดยการวัดขนาดของชิ้นเนื้อเยื่อที่เพิ่มขึ้น โดยวัดจากชิ้นเนื้อเยื่อในหลอดทดลองที่เลี้ยงไว้ในสภาพเช่นเดียวกันกับเนื้อเยื่อที่ถ่ายภาพยนตร์ทุกประการ วัดความกว้าง ความลึก และความสูงของชิ้นเนื้อเยื่อ แล้วหาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของชิ้นเนื้อเยื่อที่เพิ่มทั้งกว้าง ลึก และสูง กับระยะเวลา (รูปที่ 4, 5, 6 และ 7) และได้หาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรของชิ้นเนื้อเยื่อที่เพิ่มกับระยะเวลา (รูปที่ 8) ยิ่งทำให้เห็นได้อย่างชัดเจนว่าน้ำมะพร้าวส่งเสริมให้เนื้อเยื่อจาก meristem culture ของ Dendrobium Pompadour มีการเจริญและเกิด proliferation อย่างมาก ชิ้นเนื้อเยื่อที่เจริญอยู่บนวุ้นอาหารที่มีน้ำมะพร้าวมีขนาดเพิ่มมากกว่าชิ้นเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนวุ้นอาหารที่ไม่มีน้ำ-



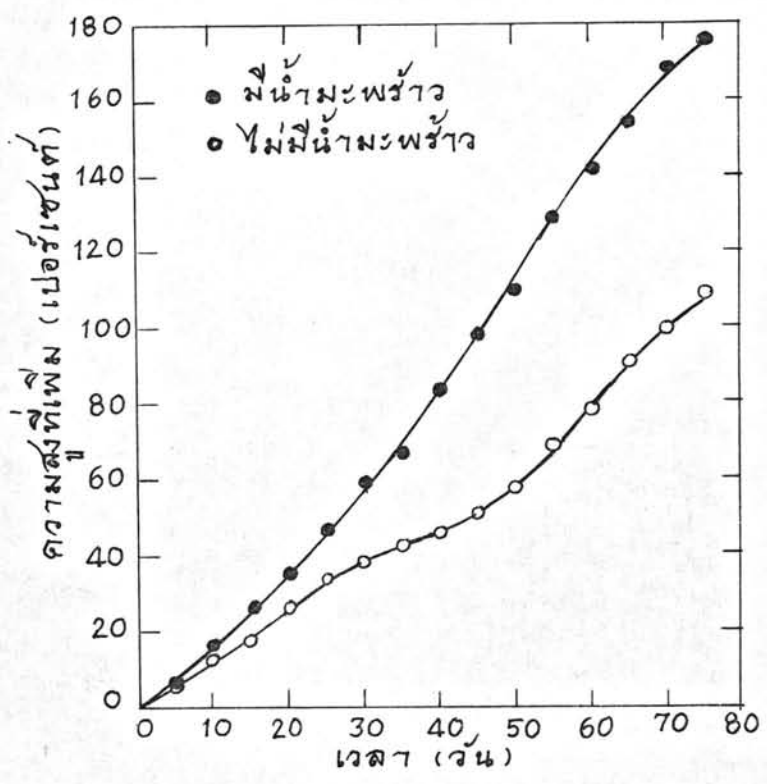
รูปที่ 3 ภาพที่ได้จากการฉายแบบ time - lapse แสดงการเจริญและ proliferation ของชิ้นเนื้อเยื่อ Dendrobium Pompadour บนวุ้นอาหารที่มีน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ กับ 2,4-D 0.1 ppm (หลอดซ้าย) และบนวุ้นอาหารที่มี 2,4-D 0.1 ppm ไม่มีน้ำมะพร้าว (หลอดขวา) แต่ละภาพมีอายุห่างกัน 5 วัน



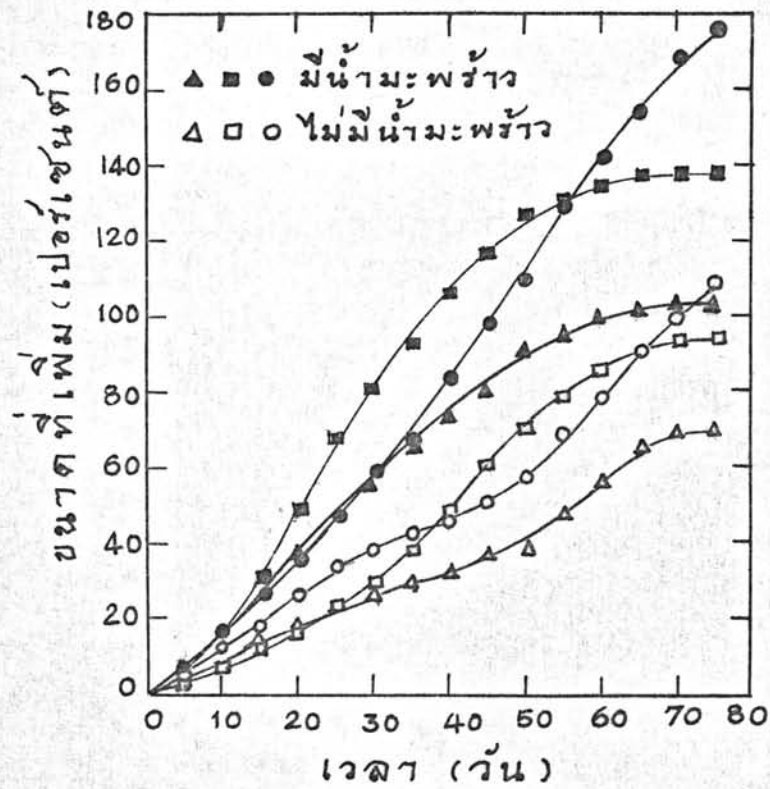
รูปที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างของชั้นเนื้อเยื่อที่เพิ่มเป็นเปอร์เซ็นต์กับเวลา



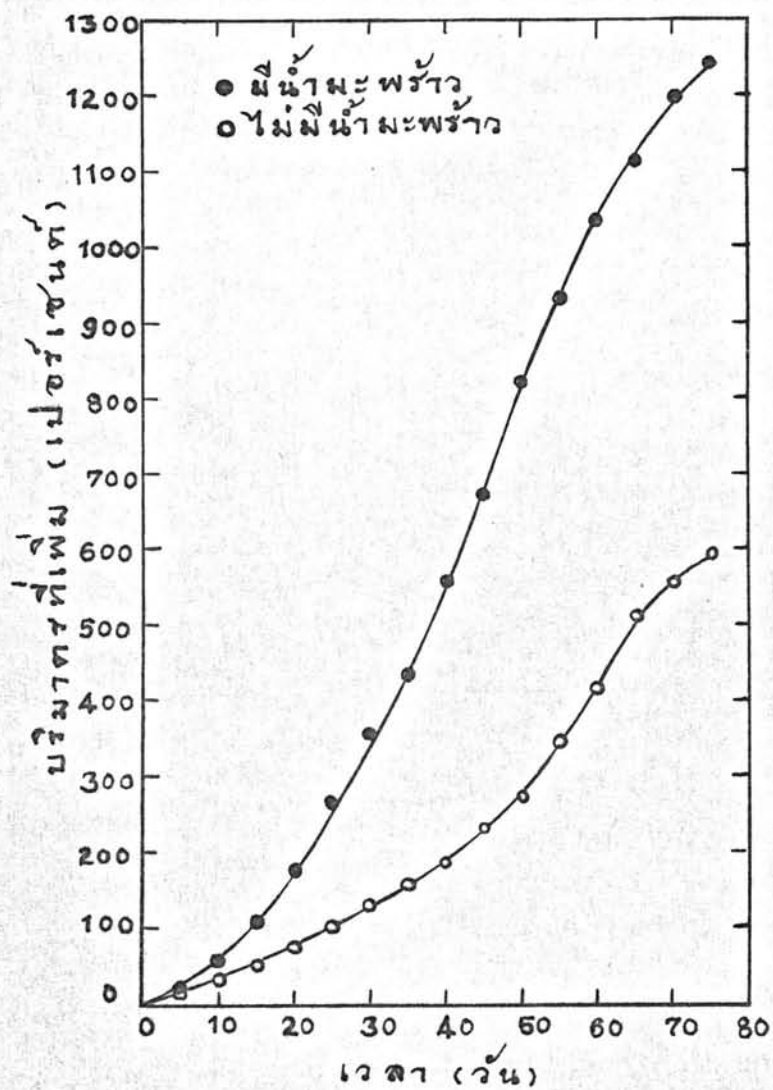
รูปที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความลึกของชั้นเนื้อเยื่อที่เพิ่มเป็นเปอร์เซ็นต์กับเวลา



รูปที่ 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของชิ้นเนื้อเยื่อที่เพิ่มเป็นเปอร์เซ็นต์กับเวลา



รูปที่ 7 เปรียบเทียบขนาดของชั้นเนื้อเยื่อที่เพิ่มเป็นเปอร์เซ็นต์กับเวลา (เครื่องหมายรูปสามเหลี่ยมแทนความกว้าง รูปสี่เหลี่ยมแทนความลึก และรูปวงกลมแทนความสูง)



รูปที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของดินเนื้อเยื่อที่เพิ่มเป็นเปอร์เซ็นต์
กับเวลา

มะพร้าวและมีความแตกต่างกันในทางสถิติ¹ ผลการเจริญของขึ้นเนื้อเยื่อในช่วงเวลา 75 วัน แสดงไว้ในตารางที่ 1 และตารางที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงการเพิ่มขนาดและปริมาตรของขึ้นเนื้อเยื่อ Dendrobium Pompadour บน วนอาหารที่มีน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์กับ 2,4-D 0.1ppm และบนวนอาหารที่ไม่มีน้ำมะพร้าวมีแต่ 2,4-D 0.1ppm ในระยะ 75 วัน เฉลี่ยจาก 7 หลอด

เวลา วัน	วนอาหารที่มีน้ำมะพร้าว				วนอาหารที่ไม่มีน้ำมะพร้าว			
	ความกว้าง ที่เพิ่ม,%	ความลึก ที่เพิ่ม,%	ความสูง ที่เพิ่ม,%	ปริมาตร ที่เพิ่ม,%	ความกว้าง ที่เพิ่ม,%	ความลึก ที่เพิ่ม,%	ความสูง ที่เพิ่ม,%	ปริมาตร ที่เพิ่ม,%
0	-	-	-	-	-	-	-	-
5	5.6	5.4	6.1	18.1	3.1	2.9	4.9	11.3
10	14.8	16.6	16.0	55.3	7.7	8.2	12.3	30.9
15	26.6	31.6	25.7	109.4	13.6	12.3	17.8	50.3
20	36.7	49.9	34.7	176.0	17.7	17.8	25.5	74.0
25	46.9	69.3	46.3	263.9	21.4	24.4	33.2	101.2
30	56.4	81.5	59.3	352.2	25.8	31.8	37.8	128.5
35	64.6	93.7	66.3	430.2	30.0	39.2	41.5	156.1
40	73.1	107.2	82.9	555.9	31.7	50.4	45.2	187.6
45	79.3	117.6	98.0	672.5	36.7	61.6	50.2	231.8

¹ขนาดของขึ้นเนื้อเยื่อทั้งความกว้าง ลึก สูง และปริมาตรของขึ้นเนื้อเยื่อที่เลี้ยง บนวนอาหารที่มีน้ำมะพร้าวและไม่มีน้ำมะพร้าวมีความแตกต่างกันโดยมีนัยสำคัญจนถึงมีนัยสำคัญยิ่ง คือมีความแตกต่างกันตั้งแต่ระดับ 95% จนถึง 99%

เวลา วัน	บุนอาหารที่มีน้ำมะพร้าว				บุนอาหารที่ไม่มีน้ำมะพร้าว			
	ความกว้าง ที่เพิ่ม,%	ความลึก ที่เพิ่ม,%	ความสูง ที่เพิ่ม,%	ปริมาตร ที่เพิ่ม,%	ความกว้าง ที่เพิ่ม,%	ความลึก ที่เพิ่ม,%	ความสูง ที่เพิ่ม,%	ปริมาตร ที่เพิ่ม,%
50	92.5	127.5	110.1	820.1	38.9	71.2	57.2	273.8
55	94.8	130.7	129.2	930.0	46.9	80.0	68.0	344.2
60	99.1	134.8	142.3	1032.7	54.4	87.4	77.8	414.5
65	101.6	136.9	154.0	1113.1	64.7	93.9	91.1	512.3
70	102.8	138.2	168.3	1196.1	68.4	94.8	99.1	553.1
75	103.8	138.8	175.7	1241.8	69.4	96.3	108.2	592.3

ตารางที่ 2 การเจริญของชิ้นเนื้อเยื่อ Dendrobium Pompadour เมื่อเลี้ยงระยะเวลา 75 วัน บนบุนอาหารที่มีน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์กับ 2,4-D 0.1ppm และบนบุนอาหารที่ไม่มีน้ำมะพร้าวมีแต่ 2,4-D 0.1ppm โดยการวัดขนาดของชิ้นเนื้อเยื่อที่เพิ่มเฉลี่ยจาก 7 หลอด

ขนาดที่เพิ่ม	บุนอาหารที่มีน้ำมะพร้าว และ 2,4-D		บุนอาหารที่มีแต่ 2,4-D	
	จำนวนเท่าที่เพิ่ม	ส่วนเบี่ยงเบน- มาตรฐาน	จำนวนเท่า ที่เพิ่ม	ส่วนเบี่ยงเบน- มาตรฐาน
ความกว้าง	1.04	0.0743	0.69	0.0712
ความลึก	1.39	0.1157	0.96	0.0945
ความสูง	1.76	0.3132	1.08	0.2320
ปริมาตร	12.42	1.4702	5.92	0.8374

การเจริญและการเปลี่ยนแปลงไปเป็นต้นเล็กๆ

ชั้นเนื้อเยื่อ Dendrobium Pompadour ที่เลี้ยงในหลอดทดลองในระยะแรก เกิด proliferation ทำให้ได้ callus ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น นอกจากนั้นการเจริญและการขยายตัวของเซลล์ของ callus (Knudson, 1922; Rao, 1964, 1967) จะเป็นผลให้ callus มีลักษณะเป็นลอนหรือพู ลักษณะภายนอกที่แสดงให้เห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงเพื่อเกิดอวัยวะคือ growing point ซึ่งมีลักษณะเป็นตุ่มเล็กๆ อยู่บนพูของ callus ต่อมา growing point จะขยายตัวพองออก มีลักษณะเป็น corm บริเวณส่วนยอดที่มีสีเขียวเข้มขึ้น growing point ในระยะนี้เรียก protocorm-like body (plb.) ส่วนยอดที่มีสีเขียวเข้มกว่าจะเจริญไปเป็นหน่อ (รูปที่ 9 ก และ ข) ระยะที่เริ่มเห็น differentiation ของ callus ประมาณวันที่ 45 นับจากเริ่มต้น (รูปที่ 3, 10) สังเกตว่าเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนวุ้นอาหารที่เติม 2,4-D กับน้ำมะพร้าวมี differentiation ตีกว่าเนื้อเยื่อบนวุ้นอาหารที่ไม่มีน้ำมะพร้าว (ดูรูปที่ 3 และรูปที่ 10)

ตัดแบ่งชั้นเนื้อเยื่อก้อนใหญ่ที่เกิด differentiation ได้ plb. แล้วออกเป็นชั้นเล็กๆ แต่ละชั้นมีมากกว่า plb. เมื่อย้ายไปเลี้ยงบนวุ้นอาหารในหลอดใหม่ (รูปที่ 10) จะมีการเจริญและเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วไปเป็นหน่อใบ ลำต้นและราก เกิดเป็นต้นเล็กๆ ที่สมบูรณ์หลายต้น พบว่าบนวุ้นอาหารที่มีน้ำมะพร้าวกับ 2,4-D เกิด differentiation ไปเป็นหน่อและต้นตีกว่า และรากที่เกิดขึ้นบางรากยาวกว่า 2 ซม. แต่การเจริญของต้นและความสูงของต้นเล็กๆ ที่เกิดขึ้นบนวุ้นอาหารที่ไม่มีน้ำมะพร้าวเห็นดีกว่าบนวุ้นอาหารที่มีน้ำมะพร้าว เมื่อแยกเอา plb. เดี่ยวๆ มาเลี้ยงบนวุ้นอาหารจะสามารถศึกษาการเจริญและเปลี่ยนแปลงจาก plb. ไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น รูปที่ 11 แสดงให้เห็นการเจริญของต้นที่สมบูรณ์ซึ่งได้จากการย้าย plb. ที่เปลี่ยนแปลงจนเกิดหน่อและใบเล็กๆ แล้วมาเลี้ยงบนวุ้นอาหารในหลอดใหม่ การเจริญของต้นกล้วยไม้เล็กๆ บนวุ้นอาหารที่มีน้ำมะพร้าวกับ 2,4-D จะเจริญช้ำกว่าต้นที่อยู่บนวุ้นอาหารที่ไม่มีน้ำมะพร้าวแต่มี 2,4-D ซึ่งต้นหลังนี้จะเจริญเติบโตได้คือลำต้นยืคตัวยาวออก ลักษณะของต้นสมบูรณ์แข็งแรงตีกว่า เมื่อวัดการเจริญเติบโตของต้นโดยวัดความสูงแสดงให้เห็น-



ก



ข



ค



ง

รูปที่ ๑

การเจริญบางระยะของเนื้อเยื่อกล้วยไม้ Dendrobium Pompadour

- ก. callus และ protocorm - like body
- ข. protocorm - like body
- ค. ต้นเล็กในระยะที่มีใบ 2 ใบ และราก 1 ราก
- ง. ต้นเล็กในระยะที่มีใบ 3 ใบ และมีรากเกิดขึ้นหลายรากแล้ว ในภาพนี้
ลอกเอากาบใบนอกสุดออกเพื่อให้เห็นว่ารากงอกออกมาจากลำต้น



รูปที่ 10 ภาพจากการถ่ายแบบ time - lapse แสดงการเจริญของต้นกล้วยไม้ *Dendrobium Pompadour* ซึ่งเจริญมาจาก plb. ของ callus บนวุ้นอาหารที่มีน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์กับ 2,4-D 0.1 ppm (หลอดซ้าย) และบนวุ้นอาหารที่มี 2,4-D 0.1 ppm ไม่มีน้ำมะพร้าว (หลอดขวา) แต่ละภาพมีอายุห่างกัน 5 วัน

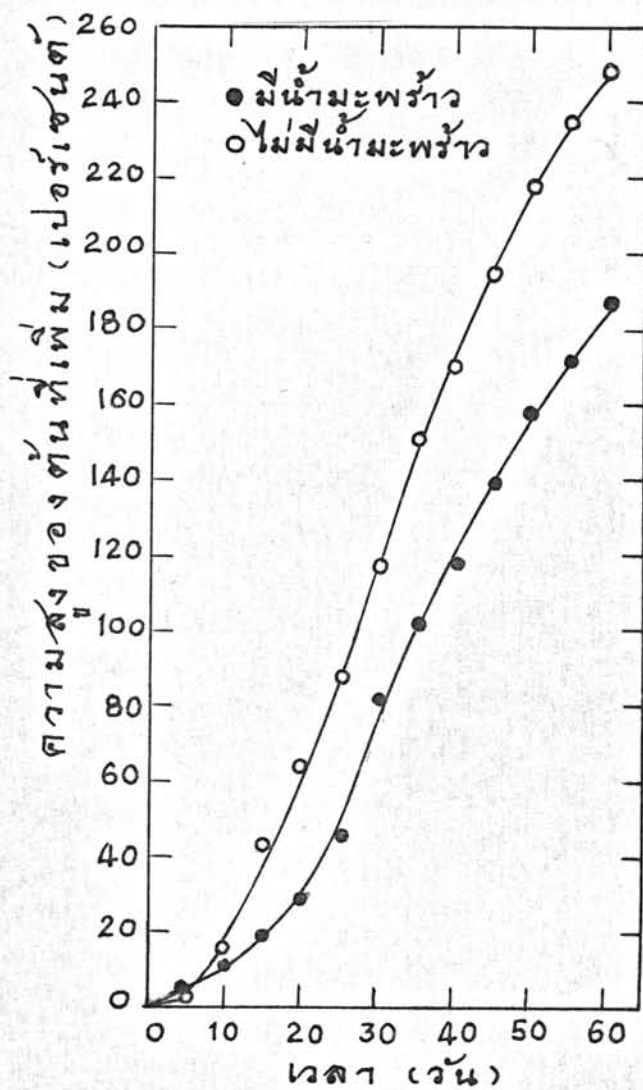




รูปที่ 11 ภาพจากการถ่ายภาพแบบ time - lapse แสดงการเจริญของ Dendrobium Pompadour จากระยะที่เริ่มมีใบจนกลายเป็นต้นที่สมบูรณ์ บนอาหารที่มีน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ กับ 2,4-D 0.1 ppm (หลอดซ้าย) และบนอาหารที่มี 2,4-D 0.1 ppm ไม่มีน้ำมะพร้าว (หลอดขวา) แต่ละภาพมีอายุห่างกัน 5 วัน

เห็นว่าในระยะ 5 วันแรกที่ย้ายมายังหลอดใหม่คนที่เลี้ยงบนวุ้นอาหารที่มีน้ำมะพร้าวและ 2,4-D เจริญดีกว่าแต่หลังจากวันที่ 8 ไปแล้ว คนที่อยู่ในหลอดที่ไม่มีน้ำมะพร้าวจะเจริญสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อสิ้นระยะเวลา 60 วันคนที่เลี้ยงบนวุ้นอาหารที่ไม่มีน้ำมะพร้าวมีความสูงเพิ่มขึ้นถึง 248.0 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่คนที่อยู่บนวุ้นอาหารซึ่งมีน้ำมะพร้าวมีความสูงเพิ่มขึ้น 187.5 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 12) แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าการเกิดและเจริญของรากจะเป็นไปในทางตรงกันข้ามกับการเจริญของคน จากการวัดความยาวของรากทั้งหมดในแต่ละคน และนับจำนวนรากที่เกิดขึ้น พบว่าอาหารที่มีน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์กับ 2,4-D 0.1ppm ช่วยให้คนเล็กๆ ที่เกิดจาก plb. ของ Dendrobium Pompadour มีจำนวนรากและความยาวของรากทั้งหมดในแต่ละคนเหนือกว่ารากของคนในหลอดที่ไม่มีน้ำมะพร้าว (ตารางที่ 3) นอกจากนี้ยังพบว่าคนที่เลี้ยงบนวุ้นอาหารที่มีน้ำมะพร้าวเกิดรากก่อนรากที่เกิดนี้เกิดจากลำต้นหลังจากเกิดใบที่ 2 หรือใบที่ 3 แล้ว (ดูรูปที่ 9 ภาพ ค. และ ง.)





รูปที่ 12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของต้นที่เจริญจาก protocorm-like body กับเวลา

ตารางที่ 3

แสดงระยะเวลาที่เกิดไข่และราก พร้อมทั้งจำนวนรากและความยาวรวมของรากต่อต้น เฉลี่ยจาก 7 ต้น

อาหาร	ระยะเวลาที่เกิดไข่แรก ¹		ระยะเวลาที่เกิดรากแรก ¹		จำนวนรากต่อต้น		ความยาวรวมของรากต่อต้น	
	เวลา (วัน)	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	เวลา (วัน)	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	จำนวนราก	ส่วนเบี่ยงเบนเป็นมาตรฐาน	ความยาว (ซ.ม.)	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
มีน้ำมูะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์และ 2,4-D 0.1 ppm	8.14	1.12	23.29	1.83	4.24	0.38	5.56	0.93
มี 2,4-D 0.1ppm	8.57	1.05	32.43	1.89	3.61	0.49	2.82	0.53

ระยะเวลานับตั้งแต่เริ่มเห็น protocorm-like body