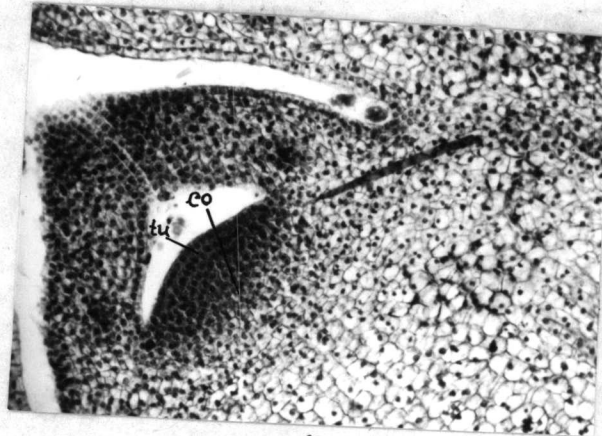
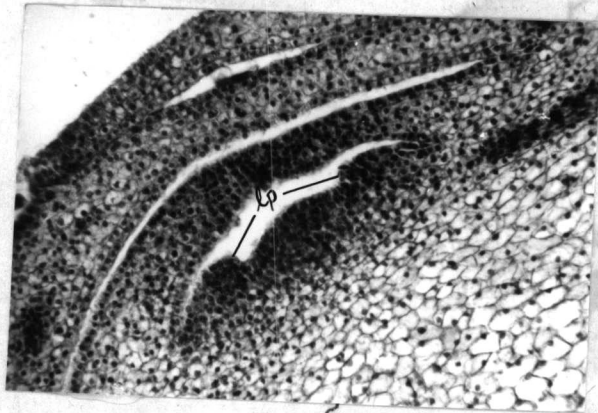


การศึกษาลักษณะตาข้างของแวนคามีส์โจอะคิมเมื่อปลูกตามธรรมชาติ

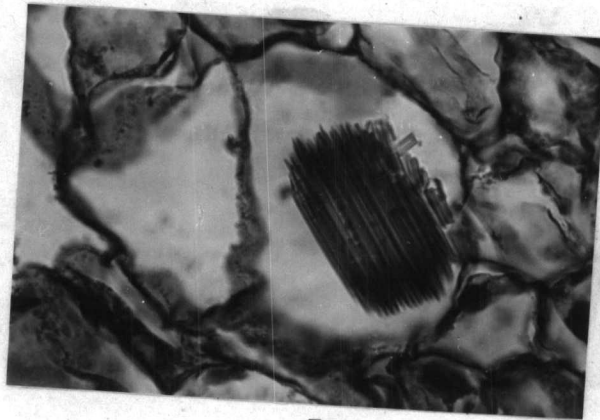
ตาข้างของแวนคามีส์โจอะคิมที่ปลูกตามธรรมชาติ มีลักษณะต่างๆ ไปตามแบบฉบับของปลายยอดของพืชพวก angiosperm คือมีศักยภาพในการเจริญไม้เส้นสุดและลักษณะเหมือนกันหากตัดตามแนวรัศมี การเกิดตาเริ่มจากเนื้อเยื่อชั้นนอกๆ เริ่มด้วยการเกิด branch primordium ที่ซอกของใบในระยะที่ 2 หรือ 3 ของ plastochron ชั้นนอกของตาข้างเกิดการแบ่งเซลล์ในแนว anticlinal มักทำให้เกิดบริเวณที่เรียกว่า shell zone เห็นขอบเขตของ bud meristem แยกจากยอดเดิม ตาข้างของแวนคามีส์ประกอบด้วย tunica 2 ชั้น และ corpus (รูปที่ 1,2) จุดเริ่มต้นการเจริญของตาเกิดการแบ่งเซลล์ในแนว anticlinal ใน tunica ทั้งสองชั้น ส่วนชั้นที่อยู่ลึกๆ ลงไปมีการแบ่งแบบหลายทิศทาง ผลการแบ่งเซลล์ทั้งสองบริเวณนี้ทำให้พื้นที่ผิวและปริมาตรของตาเพิ่มขึ้น ทำให้ตาข้างชูสูงขึ้นมาจากระดับผิวของลำต้น ลักษณะเซลล์ในชั้น tunica และ corpus มีนิวเคลียสใหญ่ย้อมติดสีเข้ม ไซโทพลาสทหนาแน่น ส่วนกลุ่มเซลล์ที่ apical meristem ลงมาเห็นนิวเคลียสชัด ไซโทพลาสทย้อมติดสีจางลง โดยทั่วไปตาข้างของกล้วยไม้พวกกิ่งโคด เช่น Vanda teres และลูกผสมมีการเจริญน้อย เนื้อเยื่อเจริญตรงปลายยอดมีลักษณะแบนและแบ่งบริเวณชัดเจน เห็น leaf primordium บริเวณตาแวนคามีส์พบเซลล์ที่มีผนังเคลือบไขออกซาเลทรูปเข็ม (raphides) อยู่ในส่วนใบมากกว่าที่ยอด (รูปที่ 3) และสังเกตเห็นว่าตาข้างของแวนคามีส์ที่ปลูกตามธรรมชาติมีผนังรูปเข็มมากกว่าตาของแวนคามีส์ที่เลี้ยงบนวัสดุอาหารและในอาหารเหลว นอกจากนั้นมักพบ mucilage cell ที่ยอดมากกว่าที่ตาข้าง (รูปที่ 4,5,6) แต่ไม่พบที่ตาข้างของแวนคามีส์ที่เลี้ยงบนวัสดุอาหารและในอาหารเหลว mucilage cell บางชนิดมีกานูนยื่นออกมา บางชนิดไม่มีกานูนและย้อมสีขึ้นมาห่อหุ้มไซลีน คิตส์เหลืองทึบ การที่ตาแวนคามีส์ที่เลี้ยงบนวัสดุอาหารและในอาหารเหลวมีผนังน้อยและไม่พบ mucilage cell อาจจะเป็นเพราะ metabolism ต่างกันเนื่องจากสภาวะแวดล้อมต่างกัน



1



2

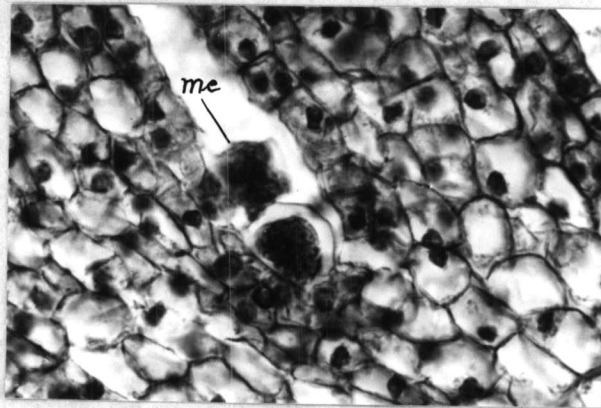


3

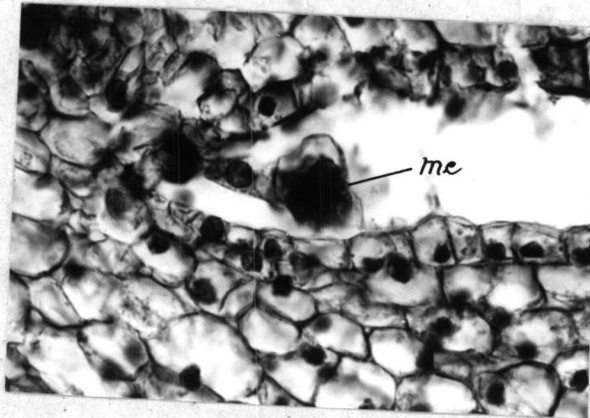


รูปที่ 1,2 ลักษณะตาข้างแวนคัมโบสโจะคิมที่ปลุกตามธรรมชาติ เห็นเนื้อเยื่อเจริญ
 ตรงปลายยอดมีลักษณะแบน ประกอบด้วย tunica (tu) 2 ชั้น และ
 corpus (co.) เห็น leaf primordium (lp) X 125

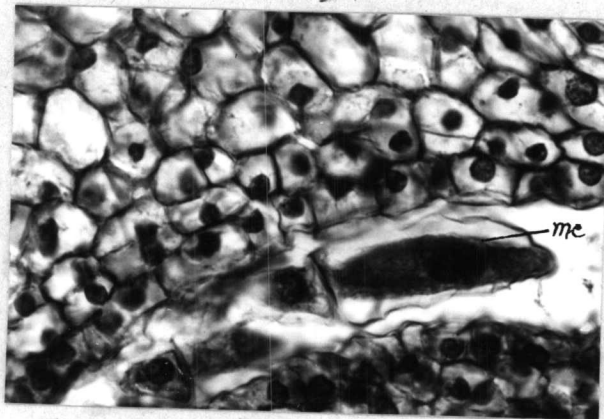
รูปที่ 3 ผนังเซลล์เชื่อมออกซาเลทรูปเข็ม(raphides)อยู่ที่ส่วนใบของตาแวนคัมโบ X500



4



5



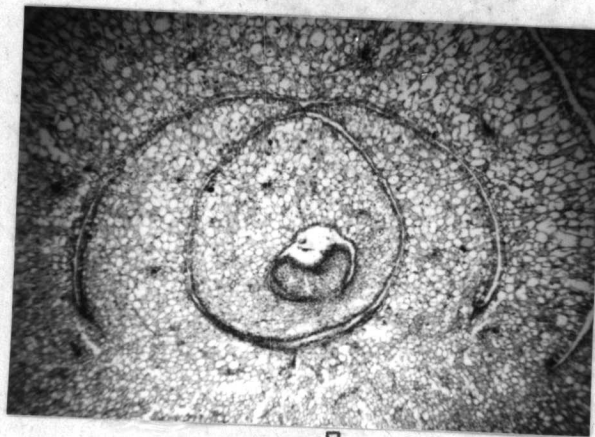
6

รูปที่ 4,5,6 แสดง mucilage cell (mc) ลักษณะต่างๆ ย้อมติดสีที่บ
X 500

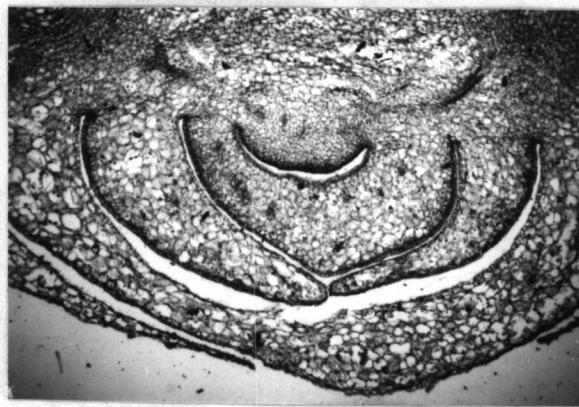
การศึกษาลักษณะตาแวนค้ำมิสโจะคิมเมื่อเลี้ยงบนวุ้นอาหาร

หลังจากที่ได้เลี้ยงตาแวนค้ำมิสโจะคิมบนวุ้นอาหารตามสูตรถาวร วัชรากัย (กำลังพิมพ์) เป็นเวลาประมาณหนึ่งเดือนในสภาพปลอดเชื้อแล้ว ตาแวนค้ำเจริญขึ้นกว่าเดิมโดยขยายตัวออกทางด้านข้าง จนในที่สุดมีรูปร่างคล้ายครึ่งทรงกลม (รูปที่ 7) สีเปลี่ยนจากขาวซีดเป็นเขียวและถ้าเลี้ยงตาแวนค้ำบนวุ้นอาหารต่อไปมักจะเปลี่ยนจากเขียวไปเป็นสีน้ำตาลดำและตายไปในที่สุด

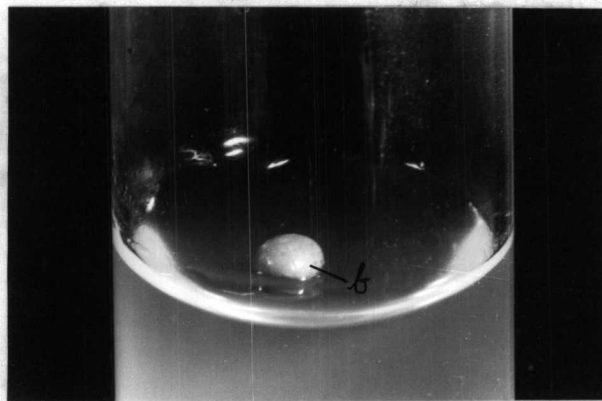
นำตาแวนค้ำบนวุ้นอาหาร ส่วนหนึ่งจำนวน 25 ชิ้น มาศึกษาลักษณะภายในโดยการตัด section ทอเนื่องทั้งตามยาวและตามขวาง พบว่าตาแวนค้ำที่เลี้ยงบนวุ้นอาหารมีลักษณะต่างๆ ไปคล้ายตาแวนค้ำที่ปลูกตามธรรมชาติ คือ shoot apex มีไบออนล้อมรอบแคปซูลรูปเข็มน้อยกว่าและไม่พบ mucilage cell (รูปที่ 8, 9) ส่วนลักษณะรายละเอียดของเนื้อเยื่อแบ่งออกได้เป็นสองพวกคือ จำนวน 68% ของตาแวนค้ำไม่เกิด meristematic cells และอีก 32% ที่เหลือพบว่าเกิด meristematic cells ขึ้นจากเซลล์ที่ผิวชั้นนอกทางด้าน abaxial และ adaxial ของไบออนที่หุ้มรอบตาแวนค้ำ meristematic cells เหล่านี้เป็นจุดเริ่มต้นของการเกิดแคลลัสในเวลาต่อมา (รูปที่ 10) และทางด้าน abaxial ของไบออนที่อยู่นอกสุดพบกลุ่มเซลล์ซึ่งมีการเจริญน้อยมากสูงพ้นจากผิวใบขึ้นไป (รูปที่ 11) กลุ่มเซลล์เหล่านี้มีลักษณะคล้าย meristematic cells ที่หยุดเจริญ คือมีการเจริญน้อยและไม่มีการพองฟูของแคลลัสออกมาให้เห็นชัดเจน มีบางส่วนที่ชูสูงขึ้นมาสูงกว่าเซลล์ข้างเคียง กลุ่มเซลล์ที่สูงขึ้นมานี้มีเป็นกลุ่มๆ และมีระยะห่างไม่เท่ากันในแต่ละกลุ่ม การเจริญของแต่ละกลุ่มเซลล์มีไม่เท่ากัน บางแห่งมีเซลล์เจริญสูงขึ้นไปจากผิวมากแล้วในขณะที่อีกกลุ่มเพิ่งมีลักษณะสูงขึ้นมาจากผิวชั้นนอกของไบออนเท่านั้น หลังจากนั้นเซลล์บางส่วนเริ่มตายไป สังเกตจากการไม่พบนิวเคลียสและลักษณะเซลล์ที่เห็นค่อนข้างใส แต่บางเซลล์ก็ยังมีนิวเคลียสและไซโทพลาสซึม (รูปที่ 12-18) เมื่อเลี้ยงตาแวนค้ำบนวุ้นอาหารไปนานๆ กลุ่มเซลล์เหล่านี้ก็จะหยุดขงักการเจริญไม่มีการแบ่งเซลล์อีก เซลล์ที่มีอยู่ก็ตายไป ทำให้ไม่เห็นว่ามีการสร้างแคลลัสเกิดขึ้น (รูปที่ 19)



7



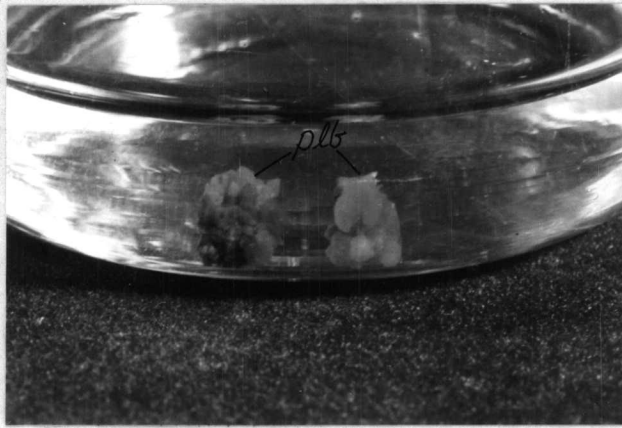
8



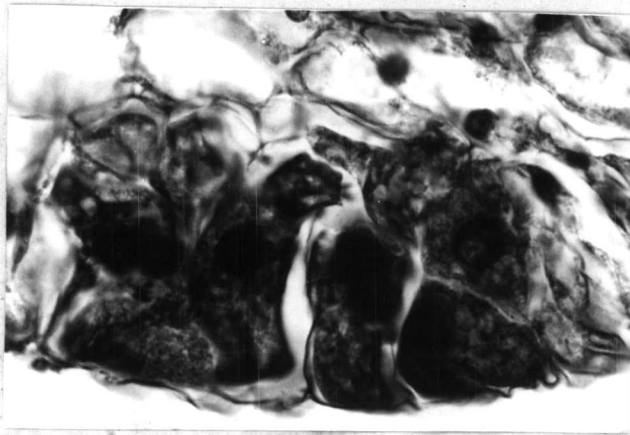
9

รูปที่ 7 ตาแวนดำ (b) ที่ได้ย้งบนวุ้นอาหารอายุประมาณหนึ่งเดือนลักษณะครึ่งทรงกลม

รูปที่ 8,9 section ตามยาวและตามขวางของตาแวนดำบนวุ้นอาหาร X 50



10

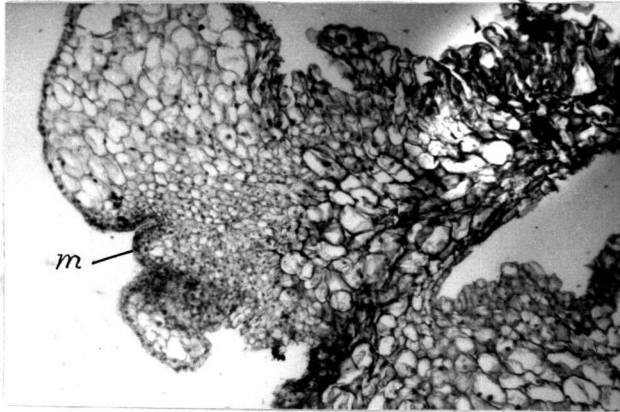


11

- รูปที่ 10 meristematic cells (mc) ที่ผิวชั้นนอกของใบอ่อนรอบตาแวนต้า
ที่เลี้ยงบนวุ้นอาหาร X 50
- รูปที่ 11 กลุ่มของเซลล์ที่มีการเจริญน้อยทางด้าน abaxial ของใบอ่อนที่อยู่
นอกสุด X 50



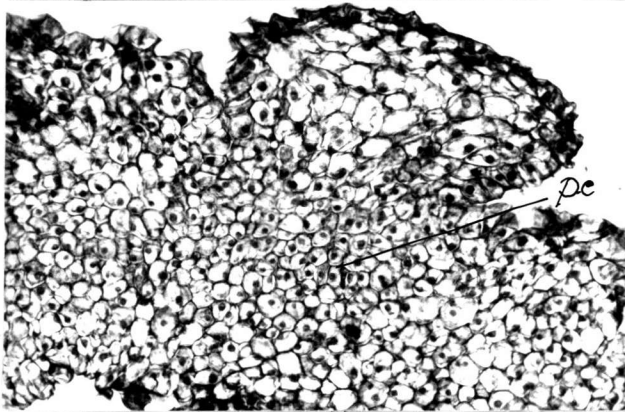
15



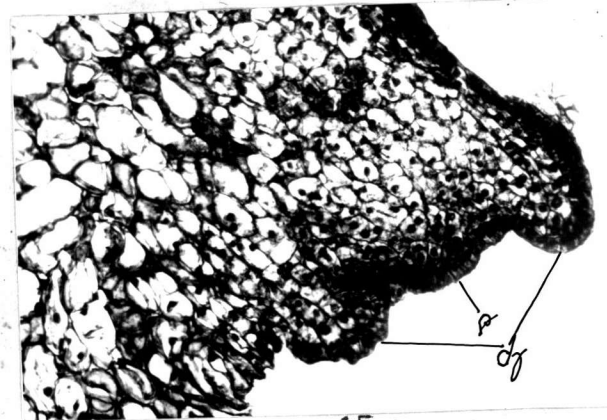
12



13



14



15

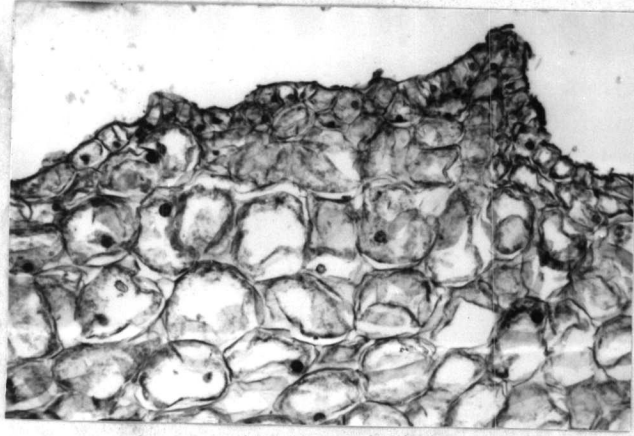
รูปที่ 12-18

แสดงการแบ่งเซลล์แบบต่างๆ ทำให้กลุ่มเซลล์ที่ผิวชั้นนอกของใบ
ออรอบตาเวนครีบอาหารมีความสูงและขนาดเพิ่มขึ้น

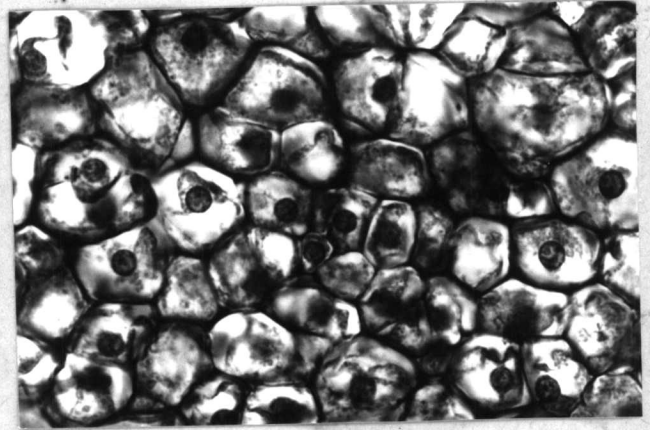
รูปที่ 12-14, 16-18 X 125

รูปที่ 15 X 500

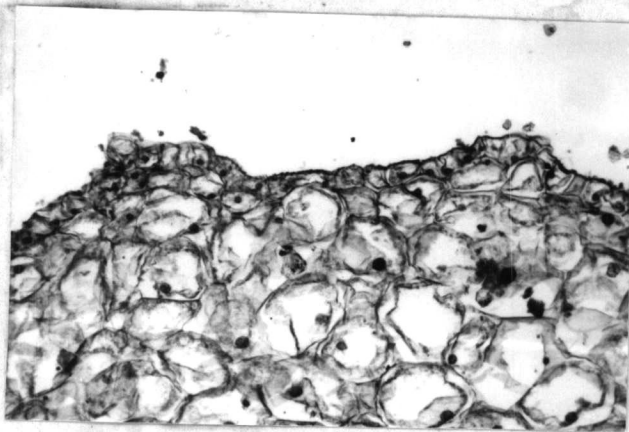
000246



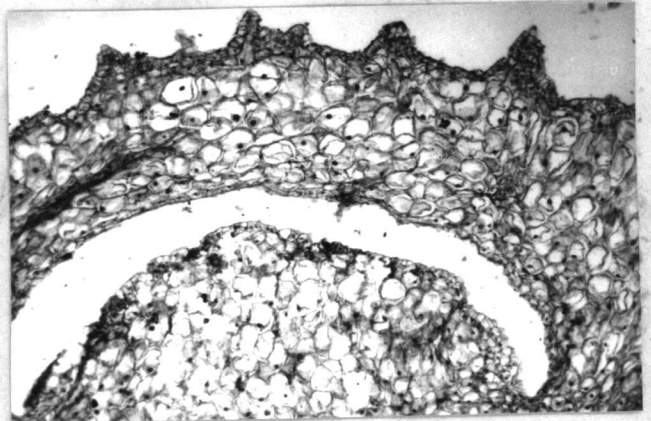
16



17



18



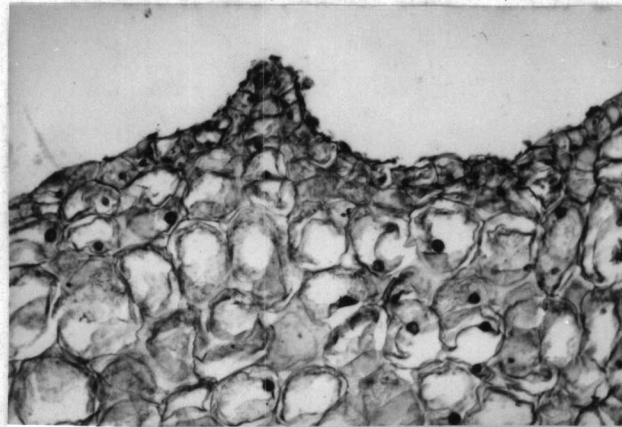
19

รูปที่ 19 แสดง เซลล์บางส่วนของกลุ่มเซลล์ที่เริ่มตายเมื่อเลี้ยงไปนานๆ X 125

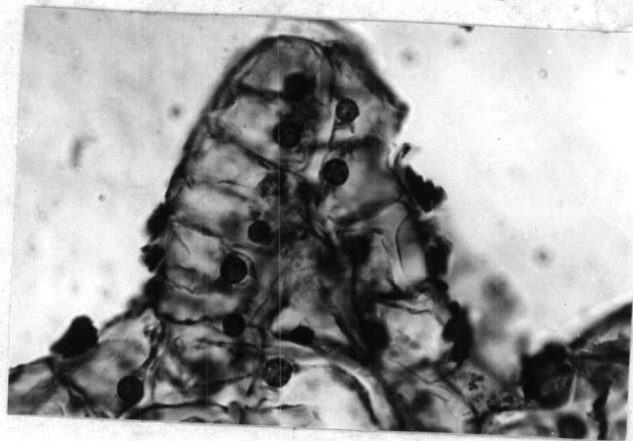
การศึกษาลักษณะตาแวนค้ำมีสโจะคิมเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว

ตาแวนค้ำที่เลี้ยงบนวุ้นอาหารส่วนหนึ่งจำนวน 10 ชิ้น ย้ายลงไปเลี้ยงในอาหารเหลวโดยไมตัดค้ำใบอ่อน พบว่า 40% ของตาแวนค้ำพวกนี้ไม่สร้างแคลลัส แต่กลับมีใบยัด และเจริญออกมาซึ่งในที่สุดได้ค้ำใหม่ (รูปที่ 20) ในขณะที่ 60% ที่เหลือเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลค้ำแล้วตายไป ตาแวนค้ำที่เลี้ยงบนวุ้นอาหารอีกส่วนหนึ่งจำนวน 20 ชิ้น เมื่อนำมาตัดค้ำใบอ่อนที่หุ้มรอบตาออกให้เหลือเพียง 2-3 ใบ โกล่ยกย้ายลงในอาหารเหลว นับจากวันที่ย้ายตาแวนค้ำลงในอาหารเหลว บางค้ำเริ่มสร้างแคลลัส บางค้ำไม่สร้างแต่กลับเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายไปในที่สุดโดยไม่ทราบสาเหตุเช่นกัน พวกที่สร้างแคลลัสสังเกตได้จากการพองฟูของเนื้อเยื่อเมื่ออายุได้ประมาณ 6-7 วัน ตรงบริเวณผิวหน้าของตา เมื่อศึกษาลักษณะภายนอกของแคลลัสที่มีอายุมากขณะที่ยังสกปรกอยู่ด้วยกล้องจุลทรรศน์เห็นเป็นก้อน ตอนแรกแคลลัสสีเขียว พออายุมากบางส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และบางส่วนของแคลลัสจะตายไปบ้าง เมื่อแคลลัสมีขนาดใหญ่การเจริญและการขยายตัวของเซลล์ของแคลลัสเป็นผลให้แคลลัสมีลักษณะเป็นลอนหรือฟู บนแคลลัสจะเห็นว่ามีย่อม meristemoid เล็กๆ meristemoid เหล่านี้เจริญให้ protocorm - like body (รูปที่ 21)

เมื่อตัด section ของแคลลัสพบว่า เป็น parenchyma cell ขนาดเล็กเป็นจำนวนมากซึ่งมีรูปร่างเป็น isodiametric เห็นนิวเคลียสชัด (รูปที่ 22, 23) เซลล์ของแคลลัสที่อายุน้อยเป็นพวก meristematic cell แบ่งตัวอย่างรวดเร็ว การเจริญของแคลลัสในระยะนี้เป็นผลมาจากการแบ่งเซลล์เป็นสำคัญ หลังจากนั้นกลุ่มเซลล์เหล่านี้เพิ่มขนาดขึ้นและเปลี่ยนรูปไปเป็นกลุ่มเนื้อเยื่อที่มีรูปเป็นก้อนกลมจากการตัด section คอเนืองของแคลลัส พบแคลลัสที่มีอายุมากประกอบด้วยเซลล์ผนังบางล้อมรอบด้วยชั้นของเซลล์คล้าย epidermis (รูปที่ 24) ต่อมาในแคลลัสพวกนี้มีบางเซลล์ที่อยู่ติดจากชั้นเซลล์คล้าย epidermis แบ่งตัวอย่างรวดเร็วกลายเป็น meristemoid



20

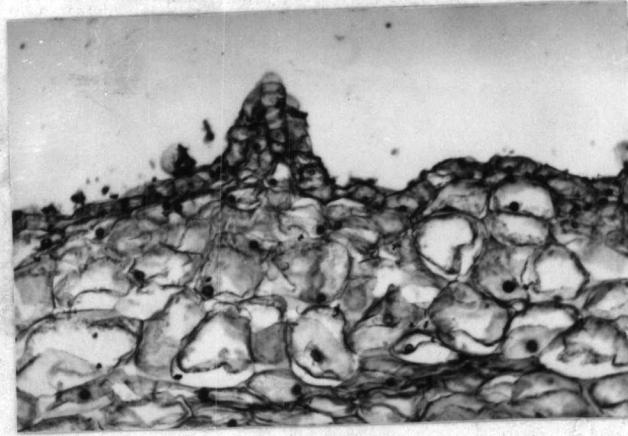


รูปที่ 20

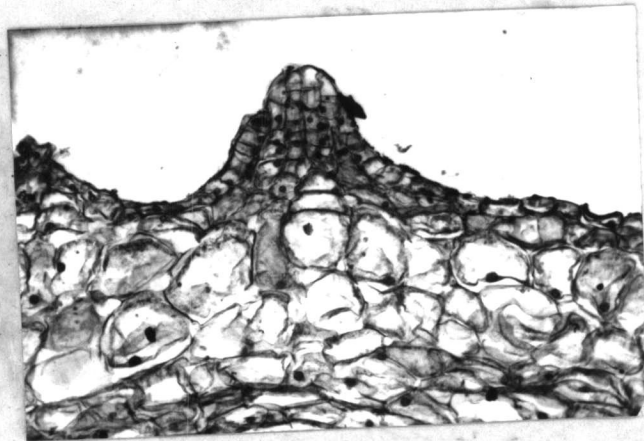
ใบ (1) ที่ยัดและเจริญออกมาจากตาแวนดำ เมื่อเลี้ยงในอาหาร
เหลวที่เขย่าตลอดเวลา

รูปที่ 21

protocorm - like body (plb) ที่จับกันเป็นก้อนกลมล้อมรอบ
ตาแวนดำทำให้ไม่เห็นตาเดิม

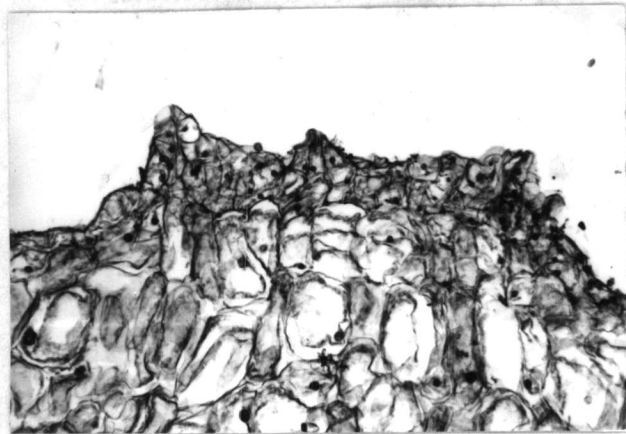


22

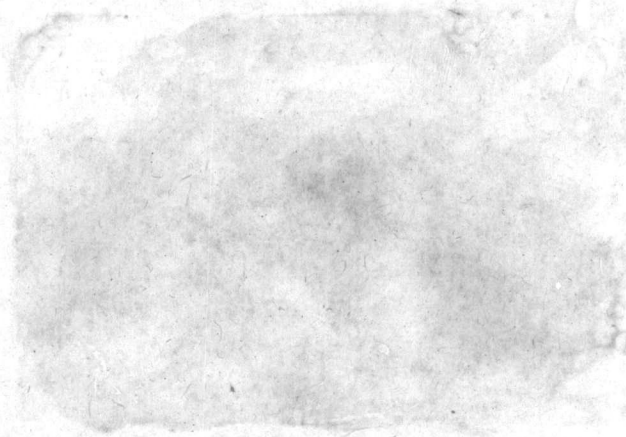


23

รูปที่ 22, 23 แสดงเนื้อเยื่อแคลลัสที่เกิดจากใบอ่อน เป็นพวก parenchyma cell (pc)
 ขนาดเล็ก เห็นนิวเคลียสชัดเจน ย้อมติดสีเข้ม X 125, X 500



24



25

รูปที่ 24

แสดงแคลลัสที่ล้อมรอบด้วยชั้นเซลล์คล้าย epidermis (e) X 500

รูปที่ 25

แสดงแคลลัสของตาแวนคาที่มีบางส่วนเปลี่ยนเป็น meristemoid

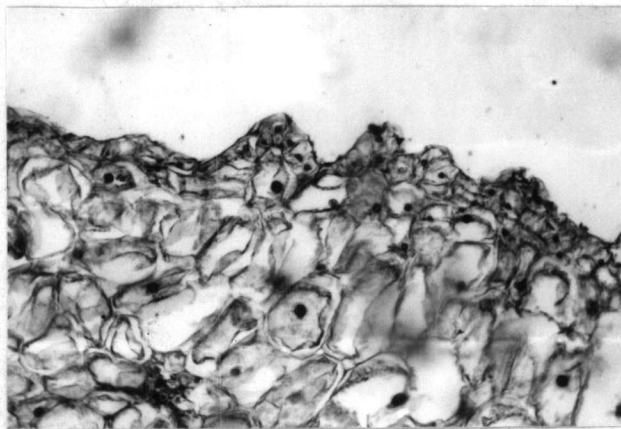
(m) X 125

(รูปที่ 25) หลังจากนั้น meristemoid มีการเปลี่ยนแปลงกลายเป็น shoot apex เกิด leaf primordium ขึ้น (รูปที่ 26, 27) ไม่พบ guard cell หรือต่อมต่างๆ ในก้อนแคลลัสและไม่พบว่ากลุ่มเซลล์เหล่านี้เปลี่ยนไปเป็นเซลล์ชนิดอื่น

ตำแหน่งของการเกิดแคลลัสมักเกิดที่บริเวณใบอ่อนใกล้ๆ ยอด โดยอาจเกิดที่ด้านข้างทางด้าน abaxial หรือ adaxial ของใบอ่อนเพียงด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านของใบอ่อน ที่ปลายใบ หรืออาจเกิดพร้อมๆ กันดังที่ได้กล่าวมาแล้วก็ได้ จากการศึกษาพบว่าโอกาสที่แคลลัสเกิดมากที่สุดคือที่ด้านข้างทั้งสองของใบอ่อน (รูปที่ 28, 29) และการเจริญของแคลลัสไม่เท่ากัน แม้วางจะมีอายุเท่ากันหรือเป็นตาก่อนเดียวกันก็ตาม ตาแวนค้ำที่มีอายุมากมักมีแคลลัสขนาดใหญ่กว่าตาแวนค้ำที่มีอายุน้อย นอกจากนี้ตาแวนค้ำก่อนเดียวกันแคลลัสที่ตำแหน่งหนึ่งมีขนาดใหญ่ ในขณะที่อีกตำแหน่งหนึ่งเพิ่งเริ่มมีการพองฟูของแคลลัสให้เห็น

การเกิดแคลลัส

จากการศึกษาการเกิดเนื้อเยื่อแคลลัสของตาแวนค้ำที่เลี้ยงบนวุ้นอาหาร และในอาหารเหลวโดยการตัด section ทอเนื่อง ทำให้ทราบว่าเซลล์ที่แบ่งตัวให้แคลลัสนั้น อาจเกิดขึ้นตั้งแต่ตาแวนค้ำยังอยู่บนวุ้นอาหารและเริ่มต้นจากเซลล์หนึ่งเซลล์ในชั้นนอกสุดของใบอ่อน มีลักษณะเป็น meristematic cell ขนาดใหญ่กว่าเซลล์ใกล้เคียง มีผนังเซลล์บาง นิวเคลียสใหญ่ ไซโทพลาสซึมหนาแน่นย้อมติดสีสีมาทอกโซลินเห็นได้ชัด นอกจากนั้นยังพบ meristematic cell ในระยะ 2-, 4-cell เรียงเป็นแถว 1 ชั้น ทางด้าน abaxial และ adaxial ของใบอ่อนตั้งแต่ใบที่สองนับจากใบนอกสุดเข้ามา meristematic cell ในระยะ 2-, 4-cell ได้มาจากการแบ่งตัวแบบ anticlinal ของเซลล์เริ่มแรก สังเกตได้จากเซลล์ที่กำลังแบ่งตัว (รูปที่ 30, 31, 32, 33) ในระยะ 4 เซลล์นี้เองที่พบว่าเริ่มมีการแบ่งเซลล์ในแนวอื่นเกิดขึ้น คือมีการแบ่งแบบ periclinal ทำให้จำนวนแถวของเซลล์เพิ่ม (รูปที่ 34, 35) ผลจาก

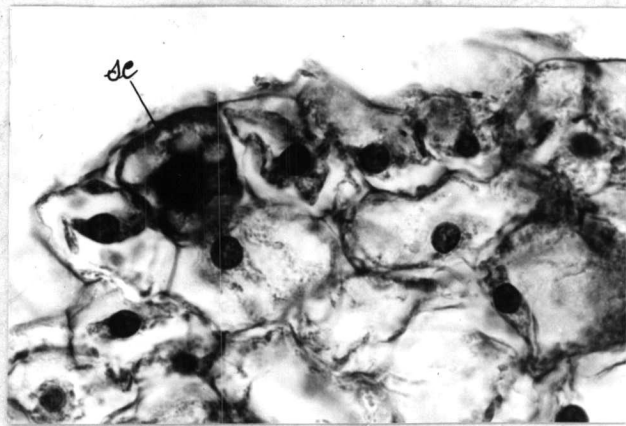


26

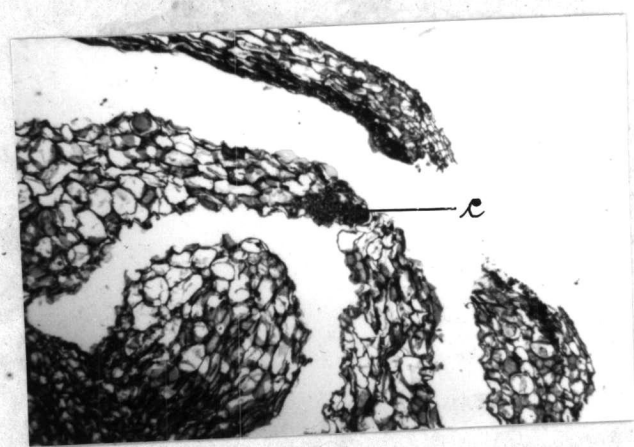


27

รูปที่ 26,27 แสดง meristemoid ที่มีการเปลี่ยนแปลงกลายเป็น shoot apex
(s) เกิด leaf primordium (lp) หนึ่ง X 125



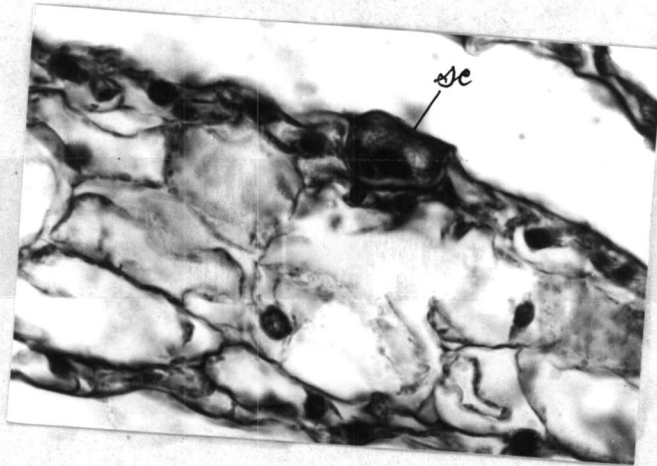
28



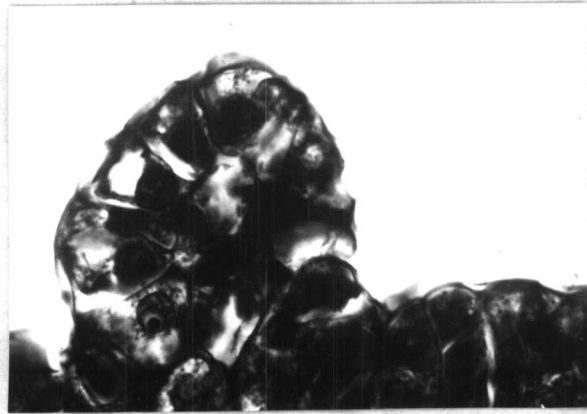
29

รูปที่ 28 แสดงตำแหน่งแคลลัส (c) เกิดมากบริเวณด้านข้างทั้งสองด้าน
ของใบอ่อน x 500

รูปที่ 29 แคลลัสเกิดที่ปลายใบอ่อนใกล้ยอด x 50

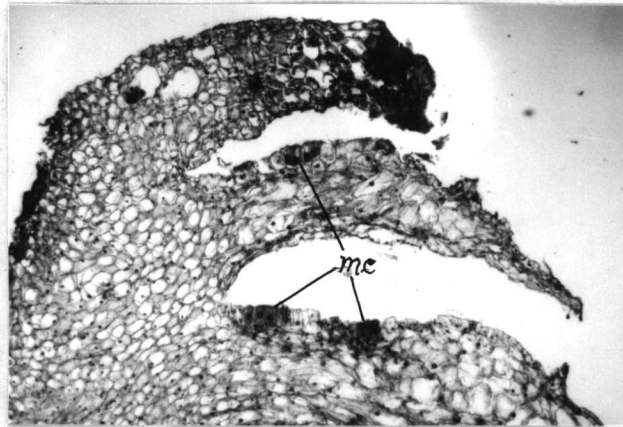


30

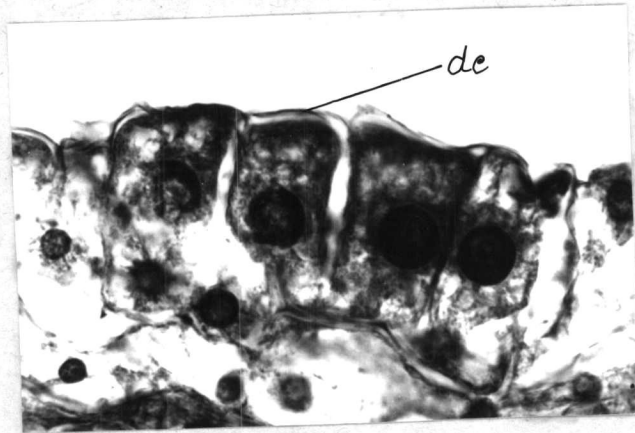


31

รูปที่ 30,31 แสดงเซลล์หนึ่งเซลล์ (sc) ในชั้นนอกสุดของใบอ่อน ซึ่งเป็นจุดกำเนิดของการเกิดแคลลัส X 500

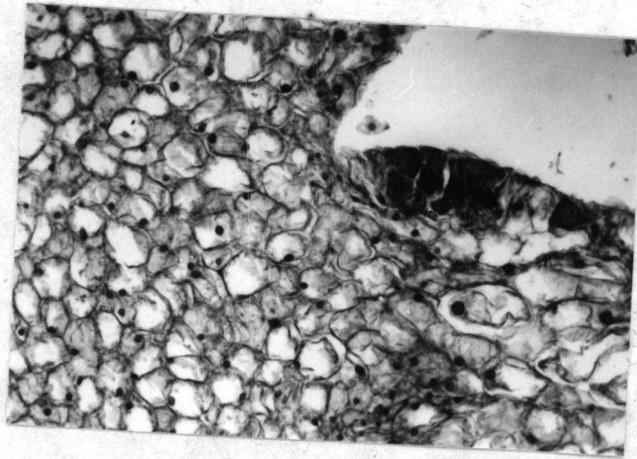


32

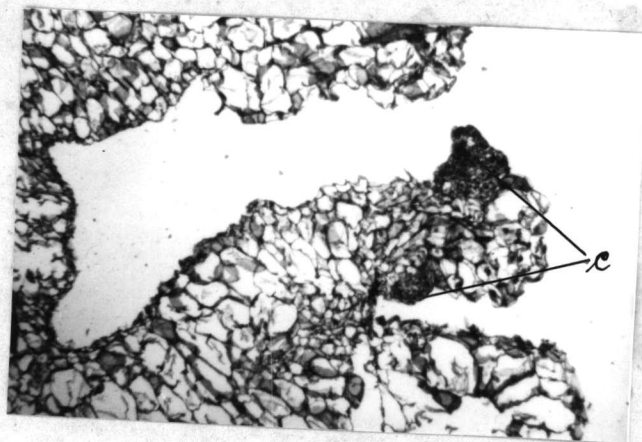


33

- รูปที่ 32 2 daughter cell (dc) ที่เกิดจากการแบ่งแบบ anticlinal
ของเซลล์เริ่มต้น X 500
- รูปที่ 33 4 daughter cell (dc) ที่เกิดจากการแบ่งแบบ anticlinal
เรียงเป็นแถว 1 ชั้น X 500



34

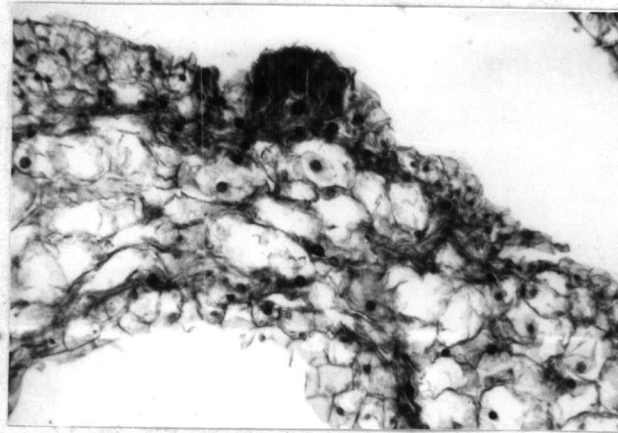


35

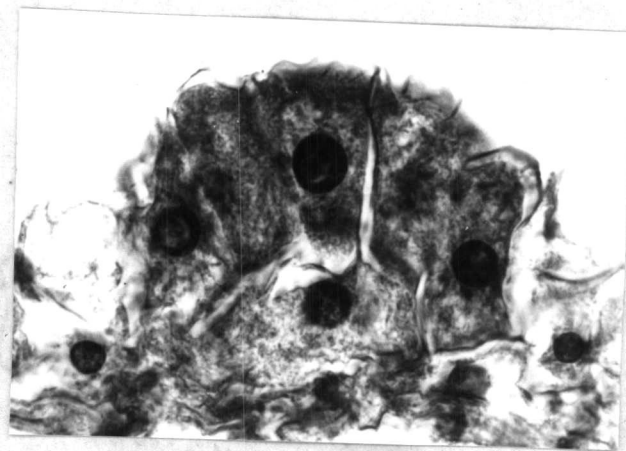
รูปที่ 34,35

4 daughter cell ซึ่งพบว่าเริ่มมี periclinal
 division เพิ่ม จำนวนแถวของ meristematic cell
 X 125, X 500

การแบ่งเซลล์แบบนี้ทำให้ meristematic cell สูงกว่าเซลล์ข้างเคียง (รูปที่ 36, 37) หลังจากนั้นกลุ่มของ meristematic cells ที่ได้มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วหลายแบบหลายระนาบทำให้จำนวนแถวและจำนวนเซลล์มีมากขึ้น จึงเห็นเป็นก้อนแคลลัสสูงขึ้นมาเหนือบริเวณพื้นที่เล็กๆ เหล่านี้ (รูปที่ 38) การแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็วและการขยายตัวทำให้เซลล์รอบนอกโป่งสูงขึ้นจากบริเวณเดิม (รูปที่ 39, 40) ในขณะเดียวกันเซลล์รอบนอกของก้อนแคลลัสที่เจริญสูงขึ้นมานั้นมีการเรียงตัวของเซลล์เป็นระเบียบเห็นเป็นชั้นของเซลล์คล้าย epidermis ล้อมรอบ แล้วเซลล์เหล่านั้นมีการแบ่งแบบ anticlinal เพิ่มจำนวนเซลล์ทำให้บริเวณนั้นสูงขึ้น (รูปที่ 41) ส่วนเซลล์ที่อยู่ข้างในซึ่งถูกล้อมรอบด้วยชั้นของเซลล์คล้าย epidermis นั้นมีการแบ่งหลายแบบเพิ่มจำนวนเซลล์ขึ้นทำให้ได้กลุ่มเซลล์ที่เรียงตัวไม่เป็นระเบียบ (รูปที่ 42) จากการแบ่งเซลล์หลายแบบดังที่กล่าวมาแล้วทำให้แคลลัสมีขนาดใหญ่ขึ้น หลังจากนั้นแถวของเซลล์ขนาดเล็กที่อยู่ในตำแหน่งที่เว้าลงไปของบริเวณรอบนอกของแคลลัส (รูปที่ 25) จะเปลี่ยนแปลงไปเป็น growing point (รูปที่ 26, 27) ซึ่งมีลักษณะเหมือน vegetative growing point คือมีเซลล์ขนาดเล็กเกิดเป็นจำนวนมาก การเกิดของ growing point ในแคลลัสนี้เหมือนการเกิด growing point ในพืชทั่วไป คือในระยะแรกของ meristemoid จะมี meristem ที่เหมือนกัน แต่ต่อมาเซลล์ภายในที่มี totipotency สูงมีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วเป็นจุดเริ่มต้นของ shoot apex ก่อน หลังจากนั้นเซลล์ซึ่ง active เหล่านี้จะมี activity ต่อเนื่องแบ่งตัวจนได้กลุ่มเซลล์ยื่นออกมากลายเป็น leaf primordium แต่บางครั้งแคลลัสที่ได้จากไซออนนั้นเมื่อมีการเจริญไประยะหนึ่ง อาจมีเซลล์บางเซลล์หรือเซลล์บางกลุ่มที่มี totipotency สูงมีขนาดเล็กเกิดเป็นจำนวนมาก เห็นนิวเคลียสชัดเจนคือยังเป็น meristematic cell แบ่งตัวให้แคลลัสใหม่เกิดซ้อนบนก้อนแคลลัสก่อนเดิมได้ ส่วนเซลล์ที่ไม่มี activity สูงพบบริเวณที่มีการพองพูนนั้นจะมีขนาดใหญ่และเป็นพวก parenchyma cell (รูปที่ 25)



36

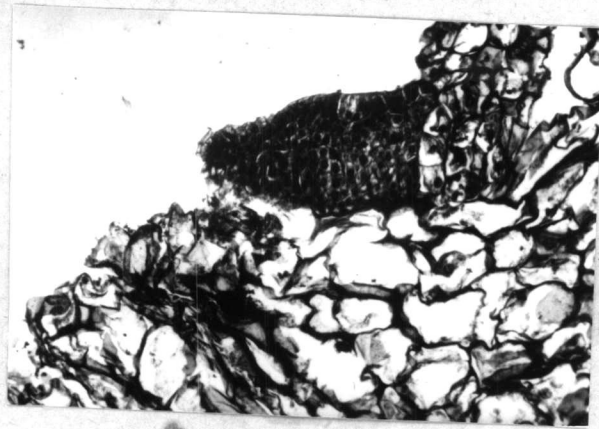


37



รูปที่ 36,37

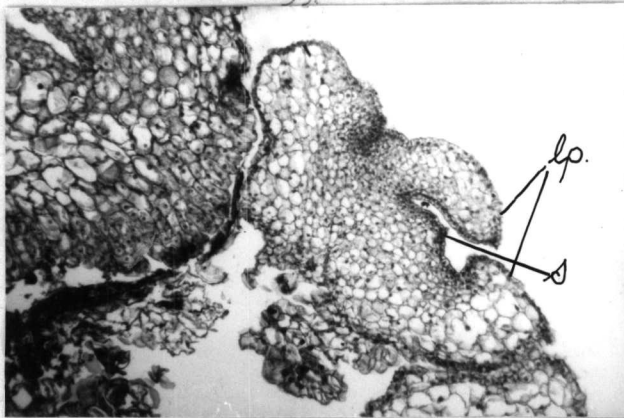
แสดงผลการแบ่งเซลล์และแรงดันของเซลล์ทำให้กลุ่ม meristematic cell สูงกว่าเซลล์ข้างเคียง X 125, X 500



38



39



40

รูปที่ 38

meristematic cell ที่มีการแบ่งตัวหลายแบบอย่างรวดเร็ว ทำให้เห็นจำนวนแถวและจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น X 125

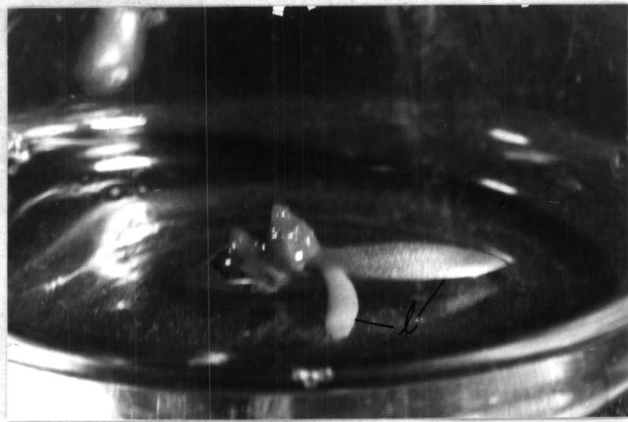
รูปที่ 39, 40

แสดง เซลล์รอบนอกของกอนแคคัลสที่สูงโป่งขึ้นจากบริเวณเดิม

X 125, X 500



41



รูปที่ 41

แคลลัสที่สูงขึ้นเห็นการเรียงตัวของเซลล์รอบนอกอย่างเป็นระเบียบ X 50

รูปที่ 42

ก่อนแคลลัสที่มีขนาดใหญ่ขึ้นซึ่งได้จากการแบ่งเซลล์หลายแบบ X 50