



1. พืชทดลอง

พืชทดลองใช้ Vanda x Miss Joaquim ซึ่งเป็นลูกผสมระหว่าง Vanda teres (Roxb.) Lindl. X Vanda hookerana Rchb. f. (Holttum, 1953) ศึกษาเฉพาะตาข้างโดยเลี้ยงบนวุ้นอาหารและในอาหารเหลว

2. อุปกรณ์ที่ใช้

- 2.1 หลอดแก้วขนาด 170 x 20 มม. สำหรับเลี้ยงตาแวนค้ำบนวุ้นอาหารและขวดรูปชมพู่ขนาด 25 มล. สำหรับเลี้ยงตาแวนค้ำในอาหารเหลว
- 2.2 หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ Philip TL 40 W / 54
- 2.3 เครื่องเขย่าแบบ reciprocating shaker
- 2.4 เครื่องตัด section แบบ rotary microtome

3. อาหารและสารเคมีที่ใช้

- 3.1 อาหารสำหรับเลี้ยงตาแวนค้ำใช้ตามสูตรของศาสตราจารย์ ดร. ดาวรรักษ์ ซึ่งดัดแปลงมาจาก Murashige and Skoog, 1962 ; Schenk and Hildebrandt, 1971 ; Nitsch, 1972 (ดูภาคผนวก)
- 3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทำ section แบบการฝังพาราฟินตามวิธีของ Johansen (1940)

4. วิธีการเลี้ยงตาแวนค้ำ

ตัดเอาตาข้าง (lateral bud) จากแวนค้ำไปเลี้ยงบนวุ้นอาหารตามวิธีการของ Sagawa, Shoji and Shoji, 1966 ; Vajrabhaya and Vajrabhaya, 1970 ; Kunisaki, Kim and Sagawa, 1972 ในสภาพปลอดเชื้อโดยตัดเอาส่วน

ของลำต้นแวนค้ำจากยอดสุดลงมาจนถึงใบที่ 7 เก็บเอาไว้ นอกนั้นก็ทิ้งไป ทั้งนี้ เพราะว่าเป็นเนื้อเยื่อเหนือใบที่ 7 เหล่านี้เจริญง่าย นุ่มและง่ายต่อการที่จะตัดเอาตาข้างออกมาเลี้ยงบนวุ้นอาหาร ตัดเอาใบออกเอาลำต้นแวนค้ำแอลกอฮอล์ 95% เช็ดตรงลำต้นของแวนค้ำที่ปราศจากใบแล้ว 2-3 ครั้ง จากนั้นเอามันจุ่มแอลกอฮอล์ 95% แล้วเผาไฟ ตัดลำต้นของแวนค้ำออกเป็นชิ้นเล็กๆ โดยตัดตรงปล้องเหนือข้อประมาณ 1.25 ซม. และใต้ข้อลงมาประมาณ 2.5 ซม. เอาท่อนเหล่านี้ไปฆ่าเชื้อที่ผิวในคลอโรกซ์ 10% เป็นเวลาประมาณ 10 นาที ลอกเอากาบใบที่หุ้มลำต้นออกแล้วแช่ในคลอโรกซ์ 5% อีก 5 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อแล้วจึงตัดเอาตาข้างไปเลี้ยงบนวุ้นอาหารในห้องที่มีอุณหภูมิ $27 \pm 2^{\circ} \text{C}$ ให้แสงวันละ 14 ชั่วโมงด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์สีขาวที่มีความเข้มของแสง 2000-3000 lux เป็นเวลาประมาณหนึ่งเดือน เมื่อตาแวนค้ำเหล่านี้เจริญจนมีรูปร่างคล้ายครึ่งทรงกลม ตัดเอาใบรอบนอกออก หลังจากนั้นย้ายตาแวนค้ำลงไปเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ซึ่งมีอาหารเหลวที่ไม่มีน้ำตาลและวุ้น นำขวดเหล่านี้ไปวางบน reciprocating shaker ความเร็วประมาณ 100 รอบ ต่อ นาที เป็นเวลา 1-2 เดือน

๕. การศึกษาการเจริญและการเกิดเนื้อเยื่อใหม่

เมื่อตัดเอาตาข้างแวนค้ำมาเลี้ยงบนวุ้นอาหารและในอาหารเหลว มีการสร้างเนื้อเยื่อเจริญออกมา เกิดการแบ่งตัวและขยายตัวจนได้แคลลัสที่มีขนาดใหญ่ นำมาศึกษาลักษณะภายนอกขณะที่ยังสคยอยู่ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยาย 20 เท่า การที่จะศึกษาทวิภาคของเนื้อเยื่อที่เกิดขึ้นใหม่ว่ามีจุดกำเนิดมาจากไหน มีการเปลี่ยนแปลงอย่างไร ทำได้โดยการตัด section ในการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาถึงจุดกำเนิดของแคลลัสที่เกิดจากตาแวนค้ำโดยการตัด section ต่อเนื่อง (serial section) ด้วย rotary microtome ทำสไลด์ถาวรด้วยวิธีมาทอกโซลิน ศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับแคลลัสและการเกิดแคลลัสด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายสูง บันทึกภาพที่ได้ประกอบการศึกษา

6. การศึกษาลักษณะของตาแนวค้ำที่ปลูกตามธรรมชาติ

เพื่อศึกษาลักษณะตาแนวค้ำที่ปลูกตามธรรมชาติ โดยเอาส่วนของปล้อง
แนวค้ำที่มีตาอยู่ควมมาตัด section ทั้งตามยาวและตามขวางด้วยวิธีการฝังพาราฟิน
ย้อม section ที่ได้อด้วยสีอีมาทอกโซลิน จากนั้นดูด้วยกล้องที่มีกำลังขยายสูง ภายรูป
เพื่อประกอบการศึกษาต่อไป