บทปฏิบัติการที่ 7
เรื่อง การชักนำและเพาะเลี้ยงอวัยวะ

จากคุณสมบัติของพืชที่เรียกว่า totipotency หมายถึงเซลล์ทุกเซลล์สามารถเจริญพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ได้เมื่ออยู่ในสภาพชักนำที่เหมาะสม ดังนั้นอวัยวะของพืชทุกส่วนจึงสามารถนำมาใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงได้ แต่เนื่องจากอวัยวะของพืชประกอบด้วยเนื้อเยื่อและเซลล์จำนวนมาก จึงมีรูปแบบของการเจริญและพัฒนาแตกต่างกันไปซึ่งถูกกำหนดจากปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายประการทั้งจากตัวพืชเอง สภาวะในการเพาะเลี้ยง รวมทั้งอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

กระบวนการพัฒนาโครงสร้างอวัยวะพืช (organogenesis) ในสภาวะเพาะเลี้ยงนั้นเป็นการเจริญแบบทิศทางเดียวคือมีการเกิดยอดหรือรากเพียงอย่างใดอย่างหนึ่ง โดยมีรูปแบบการเจริญ 2 ชนิด คือ การเกิดอวัยวะจากชิ้นส่วนพืชเริ่มต้นโดยตรงไม่ผ่านการพัฒนาเป็นแคลลัส เรียกว่า direct organogenesis และกระบวนการพัฒนาโดยผ่านแคลลัสก่อน เรียกว่า indirect organogenesis

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการตัดแยกชิ้นส่วนพืชไปเพาะเลี้ยงอย่างเหมาะสม
2. เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเจริญและพัฒนาของอวัยวะต่างๆ ของพืช

อุปกรณ์

1. ต้นกล๊อกซิเนียร์ในสภาพปลอดเชื้อ
2. อุปกรณ์ในตู้ปลอดเชื้อ ได้แก่ มีดผ่าตัด ปากคีบ จานแก้ว ผ้า ตะเกียงแอลกอฮอล์
3. อาหารสังเคราะห์ 3 สูตร ได้แก่
   - สูตร MS

- สูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- สูตร MS ที่เติม IAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิธีการ

การเพาะเลี้ยงตาข้าง (bud culture)

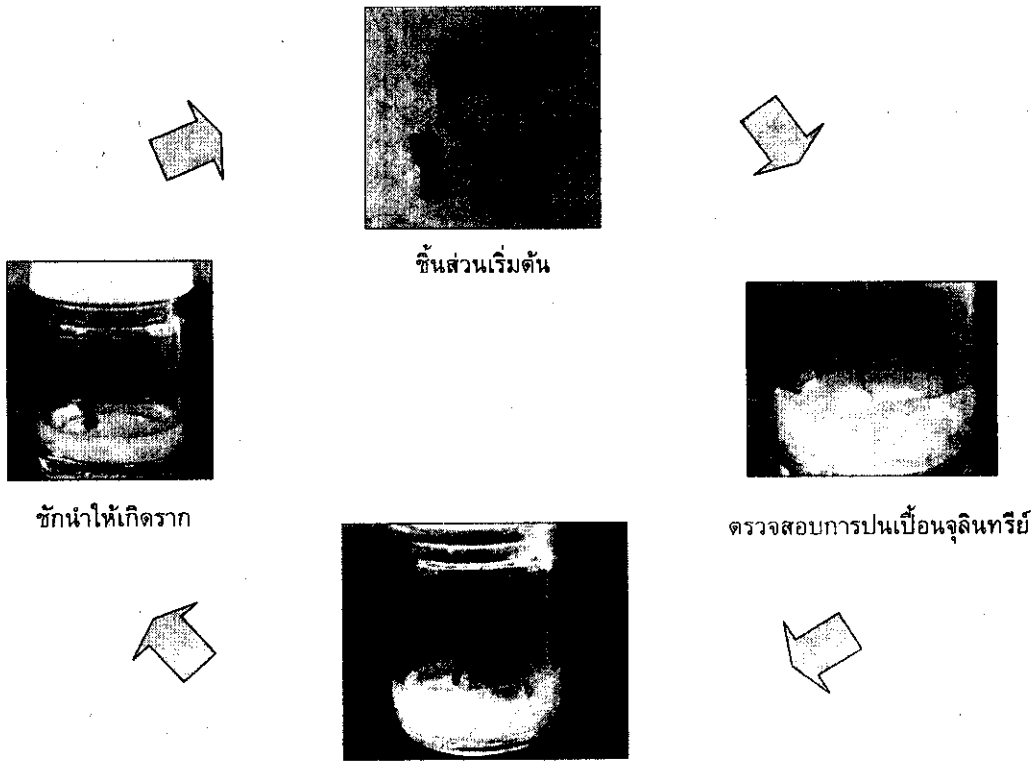
1. ตัดแยกส่วนตายอดหรือตาข้างขนาด 0.5 - 1 เซนติเมตร
2. นำชิ้นส่วนลงเลี้ยงในอาหารสูตร MS และ สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
3. นำขวดใส่เนื้อเยื่อไปเพาะเลี้ยงในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส มีช่วงแสง 16 ชั่วโมง และมืด 8 ชั่วโมง
4. บันทึกผลการทดลองทุกสัปดาห์เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

การเพาะเลี้ยงใบ (leaf culture)

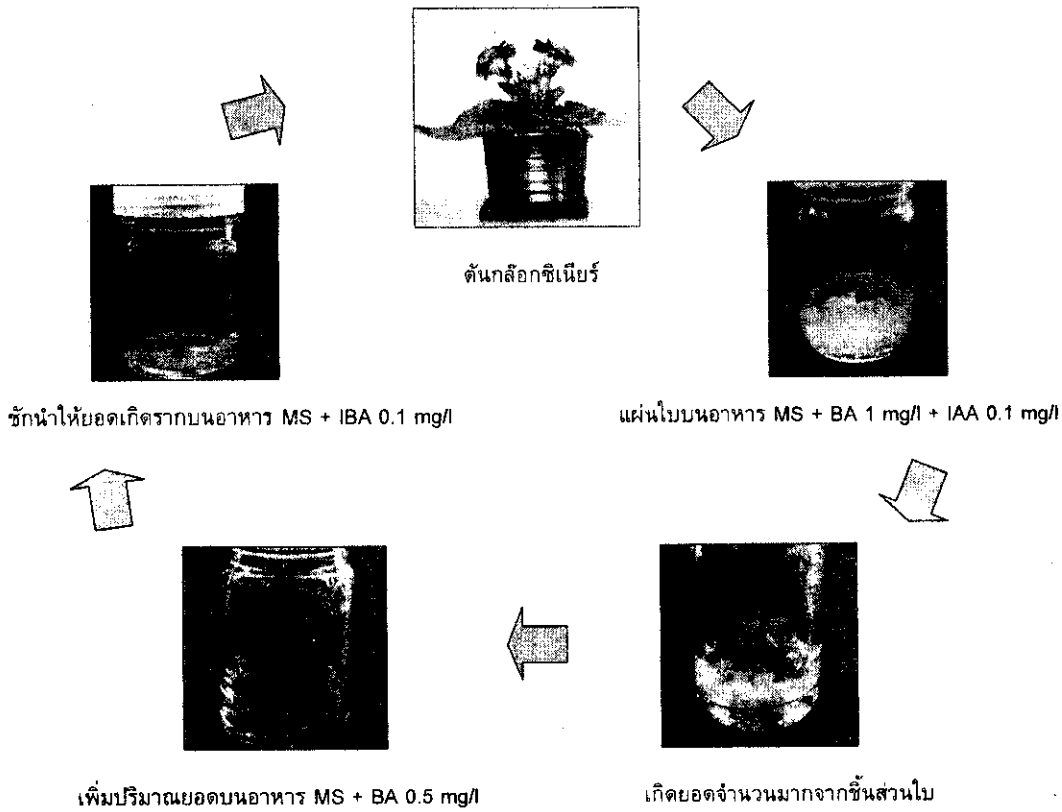
1. ตัดชิ้นส่วนใบเป็นสี่เหลี่ยมขนาดประมาณ 0.5 ตารางเซนติเมตร
2. นำชิ้นส่วนลงเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ สูตร MS ที่เติม IAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
3. นำขวดใส่เนื้อเยื่อไปเพาะเลี้ยงในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีช่วงแสง 16 ชั่วโมง และมืด 8 ชั่วโมง
4. บันทึกผลการทดลองทุกสัปดาห์เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

บันทึกผลการทดลอง

1. การปนเปื้อน ลักษณะและสาเหตุของการปนเปื้อน
2. การเจริญเติบโต จำนวนและความยาวของรากและราก
3. ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนพืชเริ่มต้น



<u>ภาพที่ 3</u> การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตายอดหรือตาข้าง



<u>ภาพที่ 4</u> การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแผ่นใบของกล๊อกซิเนียร์

ผลการเพาะเลี้ยงอวัยวะ

พืชตัวอย่าง : ชื่อวิทยาศาสตร์.....ชื่อสามัญ.....
ชิ้นส่วนเริ่มต้น.....สูตรอาหาร.....
วันที่ทำการทดลอง.....ผู้ทดลอง.....

สัปดาห์ที่	การปนเปื้อน		ข้อมูลด้านปริมาณ				ลักษณะทั่วไป
			ยอด		ราก		
	(%)	สาเหตุ	จำนวน (ยอด)	ยาว (cm)	จำนวน (ราก)	ยาว (cm)	
1							
2							
3							
4							

สรุปผลการทดลอง

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

คำถามท้ายบท

1. รูปแบบการเจริญของตาข้างเป็นแบบใด ผลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงคืออะไร ?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2. รูปแบบการเจริญของชิ้นส่วนใบเป็นแบบใด ผลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงคืออะไร ?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

3. การใช้ตาข้างและแผ่นใบเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นให้ผลแตกต่างกันอย่างไร มีข้อดีและข้อเสียอย่างไร ?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....