บทที่ 3

ผลการวิจัย

1. การเพาะเลี้ยงตายอดและตาข้างของส้มโอ

1.1 ผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงตายอดและตาข้างของส้มโอที่นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MMS ถ้าท่อนบนมีมากกว่าหนึ่งตา ก็จะเจริญเติบโตเป็นหน่อมากกว่าหนึ่งหน่อ จำนวนหน่อจะเท่ากับจำนวนตายอดและตาข้างรวมกัน ส่วนท่อนล่างที่นำมาเพาะเลี้ยงจะมีจำนวนตาข้างหนึ่งถึงสองตา จึงเจริญเป็นหน่อได้หนึ่งถึงสองหน่อ การเกิดหน่อจากตายอดและตาข้างเกิดได้ดีเท่า ๆ กัน คือจะปรากฏหน่อและใบขนาดเล็กให้เห็นภายใน 2-3 สัปดาห์ ใบจะค่อย ๆ คลี่แผ่แบนออก ต่อมาจึงเจริญเติบโตเพิ่มขนาดใบให้ใหญ่ขึ้น ใบจะมีสีเขียวเข้ม แต่ละหน่อที่เกิดขึ้นนี้ก็จะมีตายอดอยู่ด้วย หลังจากเกิดหน่อแล้ว 2 สัปดาห์ หน่อก็จะเจริญเติบโตเพียงพอที่จะนำไปศึกษาต่อไป (ภาพที่ 1) หน่อทุกหน่อมีความแข็งแรงมาก เพราะสามารถปรุงอาหารและมีอาหารจากสูตร MMS เพียงพอ ปัญหาที่เกิดขึ้นในการเพาะเลี้ยงตายอดและตาข้างของส้มโอ คือปัญหา contamination ทุกครั้งที่ทำการเพาะเลี้ยงตายอดและตาข้างของส้มโอ จะมี contamination มากกว่า 30 เปอร์เซนต์ บางครั้งถึง 50 เปอร์เซนต์ ปัญหานี้จึงแก้ไขโดยใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์เรียกว่า ultrasonic cleaner จึงลดปัญหา contamination ให้เหลือเพียง 10 เปอร์เซนต์ บางครั้งอาจจะลด contamination ให้เหลือเพียง 1-2 เปอร์เซนต์

ภาพที่ 1 หน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงตาข้างของส้มโอในอาหารวุ้นสูตร MMS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (X1)

บริเวณรอยตัดของการเพาะเลี้ยงตายอดและตาข้าง จะพบว่า เกิดเป็นแคลลัสได้บ้างแต่มีปริมาณน้อยและเจริญเติบโตได้ช้ามาก

1.2 ผลการศึกษาอิทธิพลของ IBA ที่มีต่อการเกิดรากของหน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงตาข้าง

นำเอาหน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงตาข้างที่มีอายุ 5 สัปดาห์ มากระตุ้นให้เกิดรากโดยเพิ่ม IBA ในอาหารวุ้นสูตร MMS ความเข้มข้น 0, 1, 5, 10, 15 มก./ล. นั้น ปรากฏว่าไม่มีรากเกิดขึ้นเลยในเวลา 8 สัปดาห์ ถึงแม้จะไม่เกิดรากแต่ก็พบว่า ส่วนของหน่อเจริญขึ้นไปได้เรื่อย ๆ มีใบขนาดใหญ่ มีจำนวนใบเพิ่มขึ้น ตายอดยืดยาวเจริญขึ้น จนกระทั่งขนาดใบเกือบเท่าขนาดใบปกติของส้มโอ

2. การเพาะเลี้ยงกล้าส้มโอจากเมล็ด

2.1 ผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงกล้าส้มโอจากเมล็ด

หลังจากที่นำเมล็ดส้มโอมาเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MMS เป็นเวลา 10 วัน ปรากฏว่า ต้นกล้าจะงอกโดยโผล่ radicle ออกมาก่อน หลังจากนั้น จึงชู epicotyl ขึ้นมา ต้นกล้าที่เกิดขึ้นใหม่มีขนาดเล็กแต่ก็แข็งแรง จะชูใบขึ้นแล้วค่อย ๆ คลี่ใบให้แผ่แบนออกเต็มที่ปล่อยให้ต้นกล้าเจริญเติบโตเป็นเวลา 10 วัน จึงนำไปศึกษาต่อ

2.2 ผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงอวัยวะส่วนต่าง ๆ ของกล้าส้มโอ

ส่วนของต้นกล้าส้มโอที่ตัดนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MMSI คือ ตายอด, epicotyl, hypocotyl, ใบ, ใบเลี้ยง และราก ปรากฏว่า ตายอดไม่เกิดเป็นแคลลัส ส่วนยอดจะเจริญงอกงาม ใบมีสีเขียวเข้มและมีขนาดใหญ่ขึ้น ถ้าไม่มีการเปลี่ยนย้ายอาหารภายในเวลา 3 สัปดาห์ ใบจะเริ่มเหลืองและร่วงไปในที่สุด เนื่องจากขาดอาหารและแร่ธาตุที่เหมาะสม ถ้าเปลี่ยนย้ายอาหารใหม่ทุก ๆ 10 วัน จะสามารถเพาะเลี้ยงส่วนตายอดได้นานเป็นเวลาหลายเดือน โดยที่ยังมีชีวิตอยู่

ส่วน epicotyl ที่นำมาเพาะเลี้ยง จะเกิดเป็นแคลลัสที่ปลายรอยตัดทั้งสองข้าง โดยจะเริ่มเกิดเนื้อเยื่อขึ้นมาใหม่ มีลักษณะฟูสีเขียวอ่อน ปรากฏให้เห็นภายใน 2 สัปดาห์ และจะเพิ่มปริมาณขึ้น เมื่อมีการย้ายเปลี่ยนอาหาร

ส่วนการเพาะเลี้ยง hypocotyl ของกล้าส้มโอก็จะได้ผลเช่นเดียวกันกับการเพาะเลี้ยง epicotyl คือเกิดแคลลัสที่รอยตัดทั้งสองข้าง และจะเพิ่มปริมาณได้เมื่อมีการเปลี่ยนย้ายอาหารใหม่ การเกิดแคลลัสปรากฏให้เห็นภายใน 2 สัปดาห์ แคลลัสลักษณะฟูและมีสีเขียวอ่อน

ใบของกล้าส้มโอที่นำมาเพาะเลี้ยงพบว่า มีการเจริญเติบโตและมีสีเขียวอยู่เพียงระยะหนึ่ง ถึงแม้จะเปลี่ยนย้ายอาหารใบก็เริ่มเหลือง และม้วนจากขอบใบเข้ามา ในที่สุดจะเหี่ยวและตายไป สามารถเพาะเลี้ยงให้ใบมีสีเขียวอยู่ได้นานประมาณ 3 สัปดาห์เท่านั้น ส่วนของก้านใบพองออก แต่ก็ยังไม่แสดงให้เห็นชัดว่าจะเกิดแคลลัส ถ้าตัดเอาส่วนแผ่นใบออกให้เหลือแต่เส้นกลางใบแล้วนำไปเพาะเลี้ยง ปรากฏว่า มีแคลลัสเกิดขึ้นรอบ ๆ รอยตัดของเส้นกลางใบ แต่มีจำนวนน้อยมาก การเพิ่มปริมาณให้มากขึ้นก็ปรากฏว่าทำได้ช้ามาก

การเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงจะกล่าวถึงในข้อ 2.3

การเพาะเลี้ยงรากของกล้าส้มโอ พบว่า รากเจริญได้ดี และยาวขึ้นได้อย่างรวดเร็วใน 1 สัปดาห์ จะยาวเพิ่มได้ประมาณ 1.5 เซนติเมตร แต่ไม่ปรากฏให้เห็นว่ามีแคลลัสเกิดขึ้น

2.3 ผลการศึกษาการทำให้เกิดแคลลัสจากใบเลี้ยง

ใบเลี้ยงที่ปราศจากเชื้อ เมื่อนำมาตัดแบ่งเป็นส่วนแล้วจึงนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MMSI เกิดแคลลัสขึ้นบริเวณรอยตัด ภายในเวลา 7-10 วัน แคลลัสมีสีเขียวอ่อน มีลักษณะฟู บริเวณรอยตัดที่ติดกับ epicotyl จะเกิดแคลลัสได้รวดเร็วกว่าบริเวณที่อยู่ห่างออกไป แคลลัสที่ได้นี้เพิ่มปริมาณมากขึ้นอย่างรวดเร็ว

2.4 ผลการศึกษาการเพิ่มปริมาณแคลลัสจากใบเลี้ยงของส้มโอเพื่อใช้ในการวิจัย

เมื่อตัดแบ่งแคลลัสและย้ายไปเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MMSII ซึ่งมีปริมาณของ kinetin เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าของอาหารวุ้นสูตร MMSI คือมี kinetin 0.5 มก./ล. ปริมาณแคลลัสจะเพิ่มขึ้นได้อย่างเร็วในช่วงระยะหนึ่งเดือนแรก หลังจากนั้นจะเจริญเติบโตได้ช้าลง โดยเฉพาะสองเดือนผ่านไป จะสังเกตเห็นแคลลัสอยู่เป็นกลุ่มอัดกันแน่นสีเขียวเข้มข้น แม้จะเปลี่ยนอาหารให้บ่อยครั้ง แคลลัสที่เพาะเลี้ยงมา 2 เดือนแล้ว ก็ยังเจริญเติบโตได้ช้า การตัดแบ่งแคลลัสให้มีขนาดเล็กลงคือประมาณ 3 x 3 x 3 มิลลิเมตร เพื่อให้มีการดูดซึมอาหารและเคลื่อน

ย้ายอาหารได้รวดเร็ว ก็ไม่ได้ช่วยให้การเจริญเติบโตของแคลลัสมีอัตราเร็วขึ้น

2.5 ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัส

เมื่อนำแคลลัสที่เพาะเลี้ยง เป็นเวลา 2 เดือน มาศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของแคลลัสที่เป็นเซลอยู่อัดกันแน่น โดยชั่งน้ำหนักสดแล้วเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MMSII ใช้ระยะเวลา 45 วัน แล้วชั่งหาน้ำหนักสดที่เปลี่ยนไป ทำการศึกษา 15 ซ้ำ คำนวณหาน้ำหนักแคลลัสที่เพิ่มขึ้น ปรากฏผลดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การเจริญเติบโตของแคลลัสในเวลา 45 วัน ในอาหารวุ้นสูตร MMSII

No. of inoculum	Fr. wt. of inoculum (gm)	Fr. wt. of callus (gm)	Fr. wt. increase (gm)
15	4.5081	9.7439	5.2358
Average	0.3005	0.6495	0.3490

เมื่อนำเอาแคลลัสที่ทราบน้ำหนักสดไปอบให้แห้ง เพื่อทราบน้ำหนักแห้งของแคลลัส ปรากฏผลดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของแคลลัสอายุ 45 วัน ในอาหารวุ้นสูตร MMSII

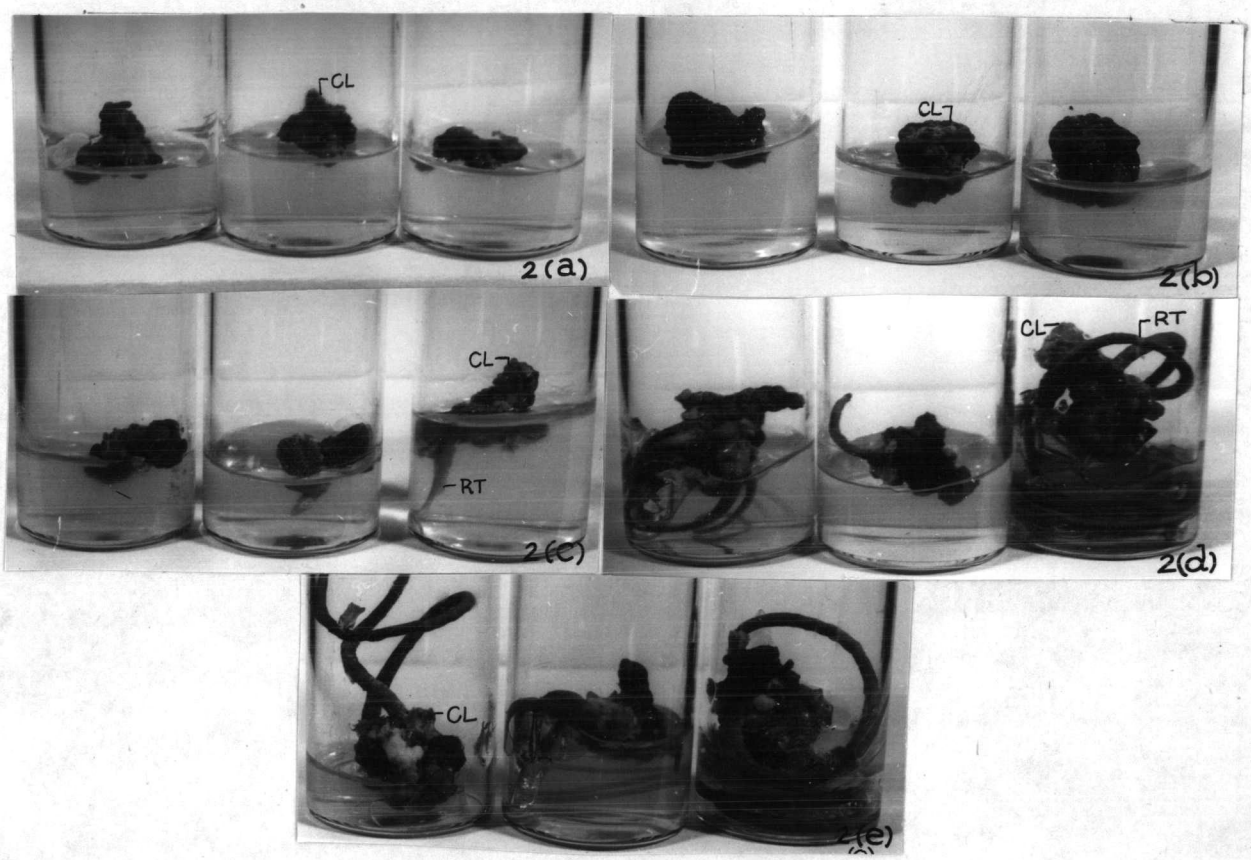
No. of experiment	Fr. wt. of callus (gm)	Dry wt. of callus (gm)
15	9.7439	0.9520
Average	0.6495	0.0635

2.6 ผลการศึกษาอิทธิพลของ NAA ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงของส้มโอ

เมื่อนำเอาแคลลัสที่เพาะเลี้ยงไว้ 4 เดือน มาศึกษาโดยเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MMS ที่มีความเข้มข้นของ NAA 0, 0.05, 0.10, 0.20, 0.40 มก./ล. ตามลำดับ เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและเปลี่ยนแปลงปรากฏผลดังนี้ ในสัปดาห์ที่ 1 และสัปดาห์ที่ 2 แคลลัสเริ่มการทดลองมีขนาด 5 x 5 x 5 มิลลิเมตร นั้นจะเพิ่มปริมาณได้ทุก ๆ ความเข้มข้น แต่ที่ความเข้มข้น 0, 0.05 มก./ล. นั้น ปริมาณเพิ่มขึ้นไม่มากนัก แคลลัสยังเห็นเป็นสีเขียวเข้ม และประกอบด้วยเซลที่อยู่อัดกันแน่น ในสัปดาห์ที่ 6 จะปรากฏมีรากเกิดขึ้นในแคลลัสที่อยู่ในอาหารวุ้นที่มีความเข้มข้นของ NAA 0.20 และ 0.40 มก./ล. รากที่เกิดขึ้นจะค่อย ๆ ยาว และจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นโดยรากออกมาจากจุดใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 2c, 2d) ในอาหารวุ้นที่มีความเข้มข้น 0.1 มก./ล. มีรากเกิดขึ้นได้บ้าง แต่ไม่มาก รากที่เกิดขึ้นนี้ก็เจริญเติบโตได้เร็วเช่นเดียวกัน (ภาพที่ 2e) ส่วนในอาหารวุ้นที่มี NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.05 มก./ล. ไม่ปรากฏว่ามีรากเกิดขึ้นเลย เมื่อสุดสิ้นการศึกษาคือในเวลา 8 สัปดาห์ (ภาพที่ 2a, 2b)

ตารางที่ 7 อิทธิพลของ NAA ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงของส้มโอเป็นเวลา 8 สัปดาห์

NAA (mg/l)	Amount of callus	Remark
0	small	only callus
0.05	small	"
0.10	medium	callus with root without shoot
0.20	medium	"
0.40	large	"



ภาพที่ 2 แคลลัสจากใบเลี้ยงของส้มโอเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MMS มี NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (X1)

(a) มี NAA 0 มก./ล.
(b) มี NAA 0.05 มก./ล.
(c) มี NAA 0.10 มก./ล.
(d) มี NAA 0.20 มก./ล.
(e) มี NAA 0.40 มก./ล.

(RT = root, CL = callus)

2.7 ผลการศึกษาอิทธิพลของ BA ที่มีต่อการเจริญเติบโตและเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงของส้มโอ

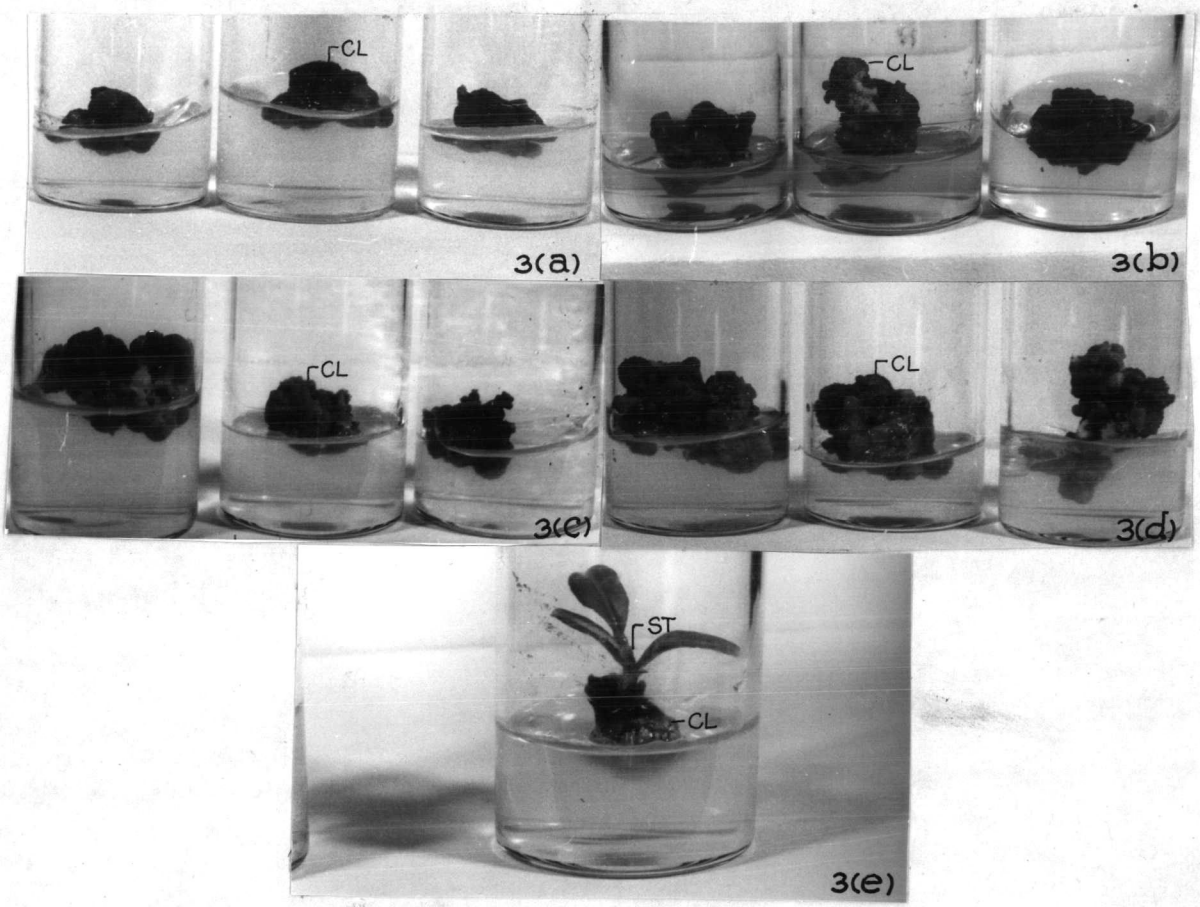
หลังจากที่นำเอาแคลลัสที่เพาะเลี้ยงมาแล้วเป็นเวลา 4 เดือน มาเพาะเลี้ยงต่อในอาหารวุ้นสูตร MMS ที่มีความเข้มข้นของ BA 0, 0.05, 0.10, 0.20, 0.40 มก./ล. ตามลำดับ ปรากฏว่า ใน 2 สัปดาห์ ปริมาณแคลลัสจะเพิ่มขึ้นจากเดิม ซึ่งเห็นได้ชัด สีของแคลลัสยังปรากฏเป็นสีเขียวเข้มและประกอบด้วยกลุ่มของเซลที่อยู่อัดกันแน่น ต่อมาในสัปดาห์ที่ 5 พบว่าทุก ๆ ความเข้มข้นของ BA จะเห็นเป็นปมเป็นปุ่มที่เห็นได้ชัด คือ ในอาหารวุ้นมี BA ความเข้มข้น 0.20 และ 0.40 มก./ล. มีปมอยู่มากมายหลายแห่ง ในสัปดาห์ที่ 8 ในอาหารวุ้นที่มี 0.40 มก./ล. จะเกิดเป็นหน่อและเจริญเป็นต้นและใบให้เห็น แต่ยังไม่เกิดราก (ภาพที่ 3e) ส่วนในความเข้มข้นอื่น ๆ ไม่พบว่ามีหน่อ แม้จะทิ้งไว้นานกว่า 8 สัปดาห์ (ภาพที่ 3a, 3b, 3c และ 3d)

ตารางที่ 8 การศึกษาอิทธิพลของ BA ที่มีต่อการเจริญเติบโตและเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงของส้มโอเป็นเวลา 8 สัปดาห์

BA (mg/l)	Amount of callus	Remark
0	small	only callus
0.05	medium	"
0.10	medium	"
0.20	large	"
0.40	large	callus with shoot without root

2.8 ผลการศึกษาอิทธิพลของ NAA และ BA ที่มีต่อการเจริญเติบโตและเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงของส้มโอ

เมื่อนำเอาแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงของส้มโอมาเป็นเวลา 4 เดือน มาเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MMS ที่มี combination ของ NAA 0, 0.05, 0.10, 0.20, 0.40 มก./ล. และ BA 0, 0.05, 0.10, 0.20, 0.40 มก./ล. ตามลำดับ ปรากฏว่าใน 2 สัปดาห์



ภาพที่ 3 แคลลัสจากใบเลี้ยงของสัมโอเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MS มี BA ความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (X1)

(a) มี BA 0 มก./ล.

(b) มี BA 0.05 มก./ล.

(c) มี BA 0.10 มก./ล.

(d) มี BA 0.20 มก./ล.

(e) มี BA 0.40 มก./ล.

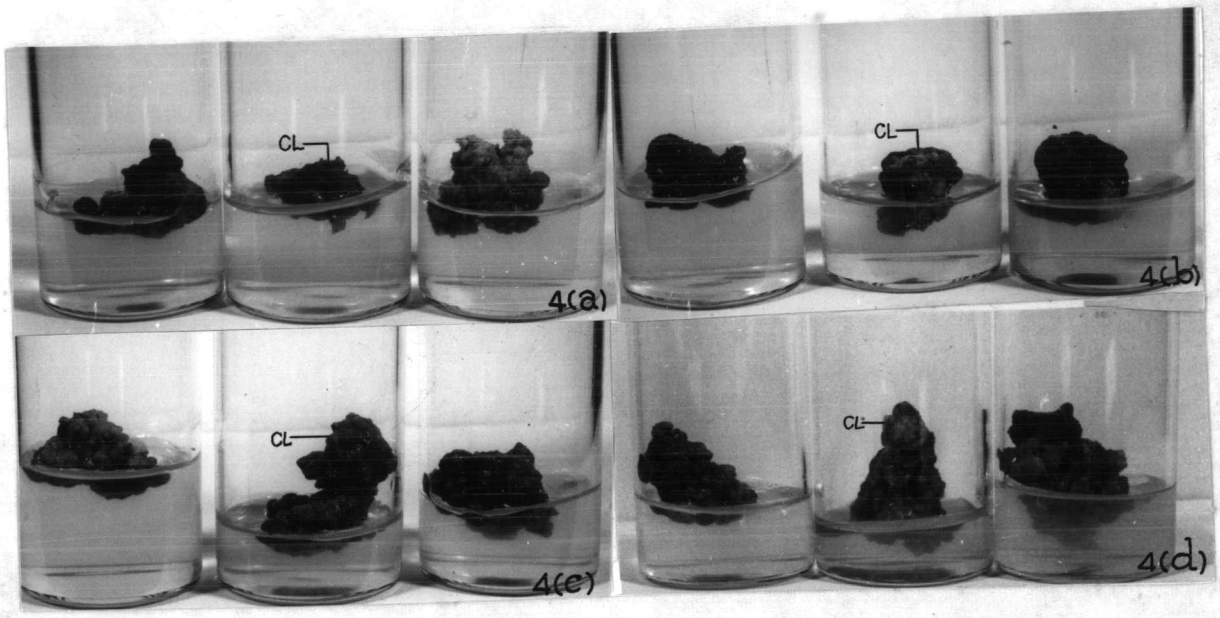
(ST = shoot, CL = callus)

ปริมาณแคลลัสจะเพิ่มขึ้นทุก ๆ ความเข้มข้นของ NAA กับ BA แคลลัสยังมีสีเขียวเข้มประกอบด้วยกลุ่มเซลที่เกาะกันแน่น ในสัปดาห์ที่ 6 จะพบว่าบางความเข้มข้นที่จะทำให้แคลลัสเกิดเป็นหน่อได้คือ NAA:BA 0.10:0.40, 0.20:0.40, 0.40:0.40 มก./ล. ในสัปดาห์ที่ 8 ที่ความเข้มข้นของ NAA:BA ดังกล่าวก็จะเกิดเป็นรากได้ด้วย (ภาพที่ 5d, 6d และ 7d) นอกจากนี้ยังพบว่า ในบาง combination เกิดเป็นรากได้เพียงอย่างเดียวในสัปดาห์ที่ 6-8 ได้แก่ NAA:BA 0.20:0.05, 0.40:0.05, 0.40:0.10, 0.40:0.20 มก./ล. (ภาที่ 6a, ภาพที่ 7a, 7b และ 7c)

combination ของ NAA:BA นอกจากที่กล่าวข้างบนนี้จะไม่ทำให้เกิดเป็นหน่อหรือรากเลย (ภาพที่ 4a, 4b, 4c, 4d, 5a, 5b, 5c, 6b และ 6c)

ตารางที่ 9 อิทธิพลของ NAA และ BA ที่มีต่อการเจริญเติบโตและเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงของส้มโอเป็นเวลา 8 สัปดาห์

NAA:BA (mg/l)	Amount of callus	Remark
0.05:0.05	medium	only callus
:0.10	medium	"
:0.20	large	"
:0.40	medium	"
0.10:0.05	medium	"
:0.10	large	"
:0.20	medium	"
:0.40	medium	callus with root and shoot
0.20:0.05	medium	callus with root without shoot
:0.10	large	only callus
:0.20	medium	"
:0.40	medium	callus with rootand shoot
0.40:0.05	medium	callus with root without shoot
:0.10	medium	"
:0.20	medium	"
:0.40	medium	callus with root and shoot



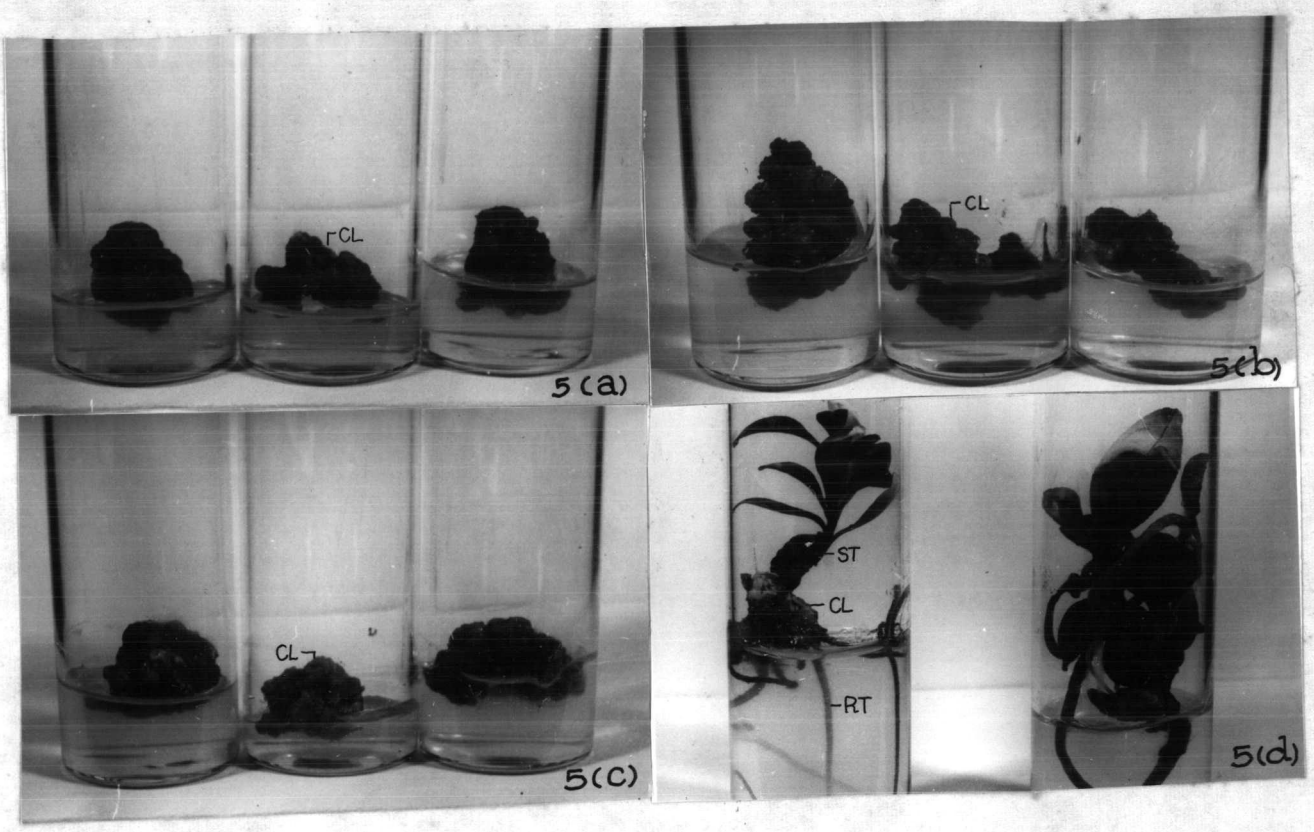
ภาพที่ 4 แคลลัสจากใบเลี้ยงของส้มโอเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MMS ที่มีส่วนผสมของ NAA และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (X1)

(a) มี NAA:BA 0.05:0.05 มก./ล.

(b) มี NAA:BA 0.05:0.10 มก./ล.

(c) มี NAA:BA 0.05:0.20 มก./ล.

(d) มี NAA:BA 0.05:0.40 มก./ล.



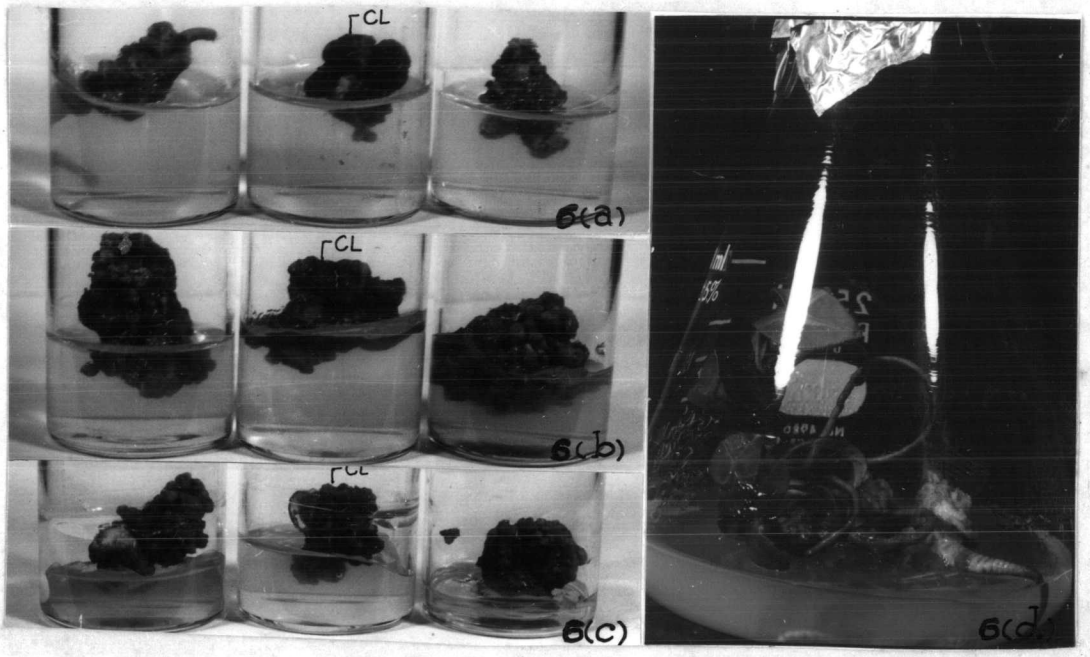
ภาพที่ 5 แคลลัสจากใบเลี้ยงของส้มโอเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MMS ที่มีส่วนผสมของ NAA และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (X1)

(a) มี NAA:BA 0.10:0.05 มก./ล.

(b) มี NAA:BA 0.10:0.10 มก./ล.

(c) มี NAA:BA 0.10:0.20 มก./ล.

(d) มี NAA:BA 0.10:0.40 มก./ล.



ภาพที่ 6 แคลลัสจากใบเลี้ยงของสัมโอเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MMS ที่มีส่วนผสมของ NAA และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (X1)

(a) มี NAA:BA 0.20:0.05 มก./ล. (X1)

(b) มี NAA:BA 0.20:0.10 มก./ล. (X1)

(c) มี NAA:BA 0.20:0.20 มก./ล. (X1)

(d) มี NAA:BA 0.20:0.40 มก./ล. ($\times \frac{1}{2}$)

I16483257

ภาพที่ 7 แคลลัสจากใบเลี้ยงของส้มโอเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MMS ที่มีส่วนผสมของ NAA และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

(a) มี NAA:BA 0.40:0.05 มก./ล. ($X\frac{1}{8}$)

(b) มี NAA:BA 0.40:0.10 มก./ล. ($X\frac{1}{4}$)

(c) มี NAA:BA 0.40:0.20 มก./ล. ($X\frac{1}{2}$)

(d) มี NAA:BA 0.40:0.40 มก./ล. (X1)

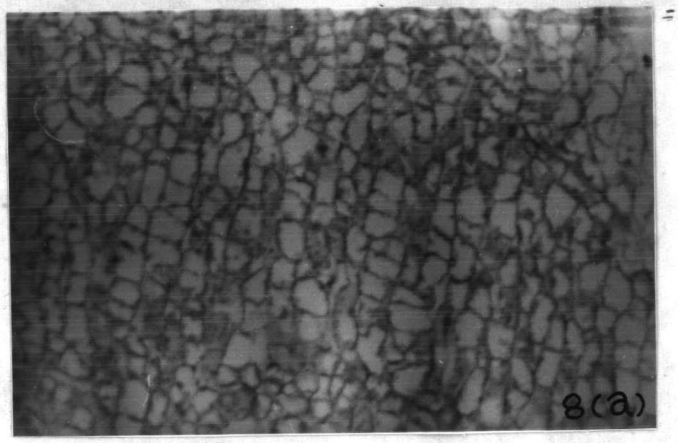
2.9 ผลการศึกษาการย้ายส้มโอไปปลูกในดิน

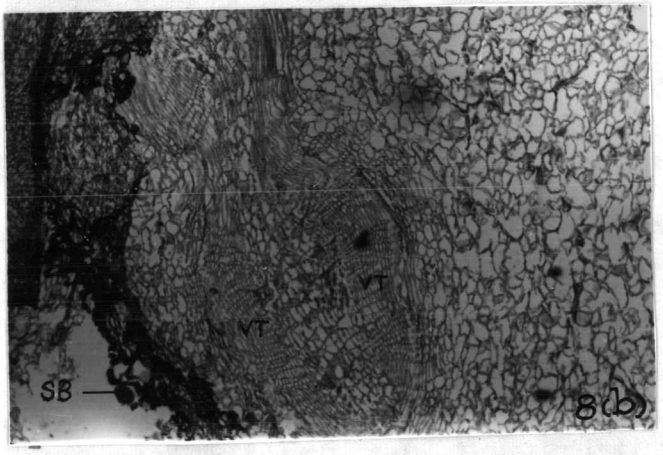
แคลลัสที่มีแต่รากเพื่อนำไปปลูกในดิน จะตายภายใน 7 วัน ส่วนแคลลัสที่มีแต่ต้น เมื่อนำไปปลูกในดิน 3 วัน ใบจะเริ่มเหี่ยวและตาย

แคลลัสที่มีทั้งต้นและรากจะเจริญเติบโตได้ เมื่อนำไปปลูกต่อไปก็จะเจริญงอกงามดี

2.10 ผลการศึกษา organogenesis ของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงของส้มโอ

โดยทั่วไป เซลของใบเลี้ยงประกอบด้วย parenchymatous cell ที่ภายในมีเม็ดแป้งและหยดน้ำมัน จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงและกระตุ้นโดยใช้ฮอร์โมนให้เกิดแคลลัส ได้สุ่มแคลลัสอายุ 8 สัปดาห์ มาศึกษาทางด้านกายวิภาคศาสตร์ พบว่า ประกอบด้วย parenchymatous cell ที่มีลักษณะภายในเหมือนเดิม (ภาพที่ 8a) vascular tissue เกิดในแนวขนานกับผิวของแคลลัส ตำแหน่งลึกลงไปจากผิว (ภาพที่ 8b) รอบนอกของแคลลัสจะพบเซล 5-6 แถว ที่มีผนังเซลด้านที่มองเห็นคล้ายเป็น suberized cell (ภาพที่ 8b) ในแคลลัสขนาดใหญ่เห็นแนวของ cambium zone ชัดเจน (ภาพที่ 9a, 9b) vascular tissue มี xylem และ phloem ต่างกันเด่นชัด โดยสังเกตลักษณะของเซลและการติดสี (ภาพที่ 8b และ 10a) ใน xylem พบเซลหลายชนิด เช่น tracheid, vessel member เป็นต้น (ภาพที่ 10c) บริเวณที่แคลลัสเริ่มนูนขึ้นพบเซลของ vascular tissue ยืดยาวไปทางด้านเนื้อเยื่อแคลลัสที่นูนขึ้นนั้น (ภาพที่ 10d) ถ้าไม่มีส่วนของแคลลัสนูนขึ้นไป เซลของ vascular tissue จะไม่มียืดยาวตั้งฉากกับผิว เพียงแต่ยืดไปทางด้านข้างในแนวขนานกับผิว (ภาพที่ 10b และ 10c)

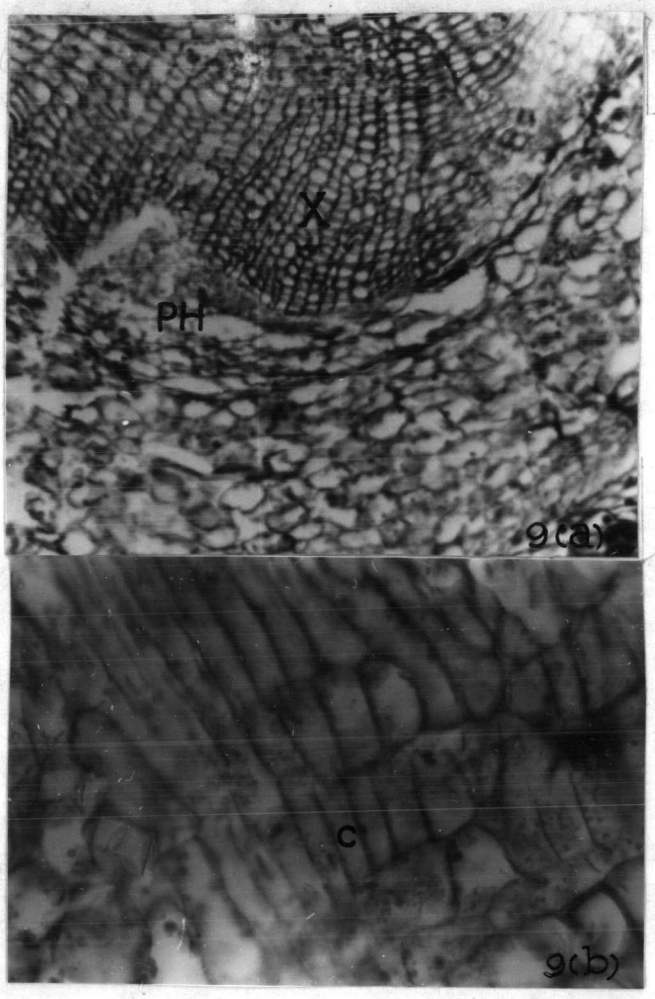




ภาพที่ 8 ลักษณะภายในของแคลลัส

(a) แคลลัสของใบเลี้ยงประกอบด้วยเซล parenchyma มีเม็ดแป้งและหยดน้ำมัน (X 400)

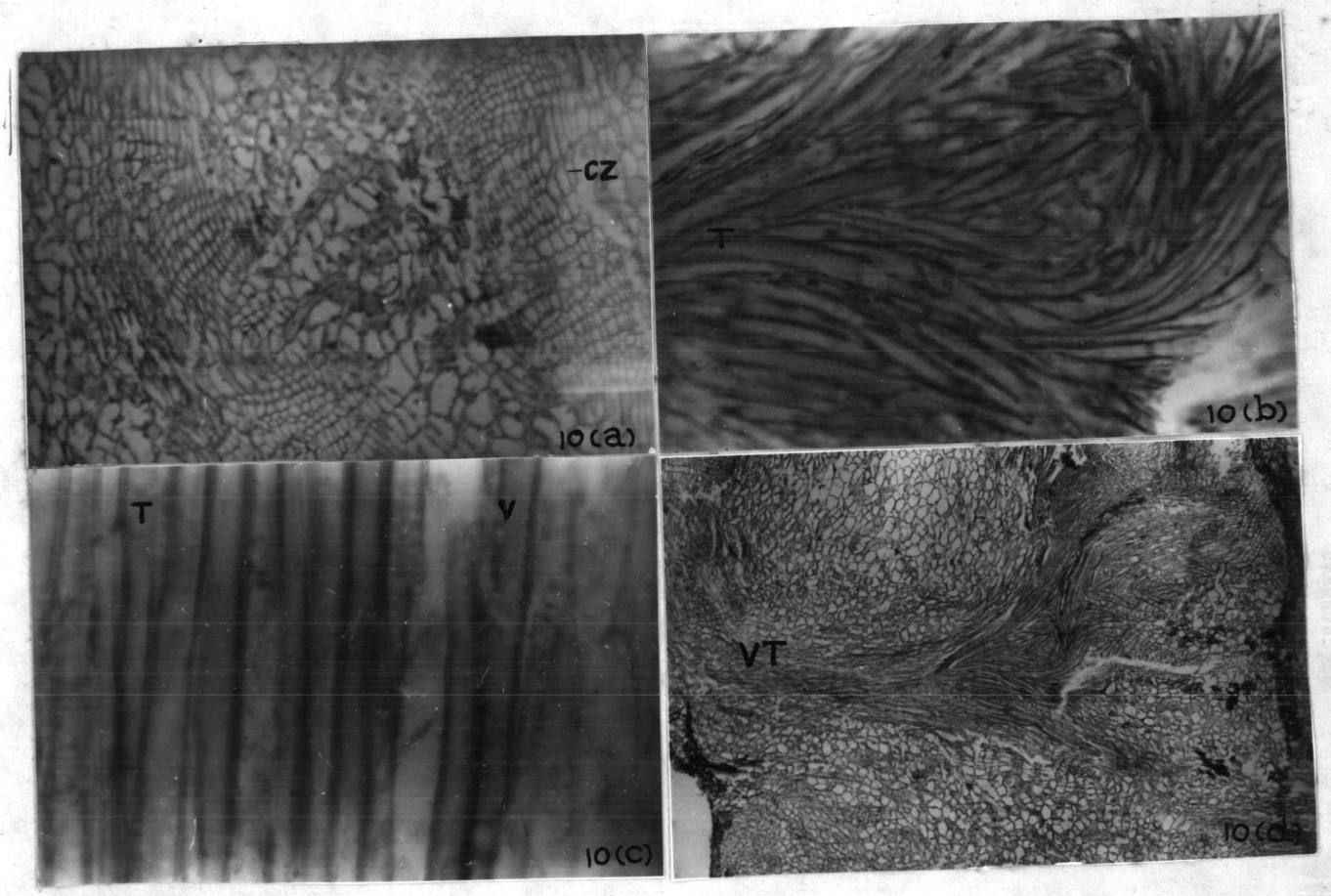
(b) vascular tissue (VT) เกิดในแนวขนานกับผิวของแคลลัส รอบนอกเป็น suberized cell (SB) (X 400)



ภาพที่ 9 vascular tissue ของแคลลัส

(a) vascular tissue ของแคลลัสประกอบด้วย xylem (X) และ phloem (PH) (X 400)

(b) vascular tissue ของแคลลัสมี cambium (C) (X 2000)



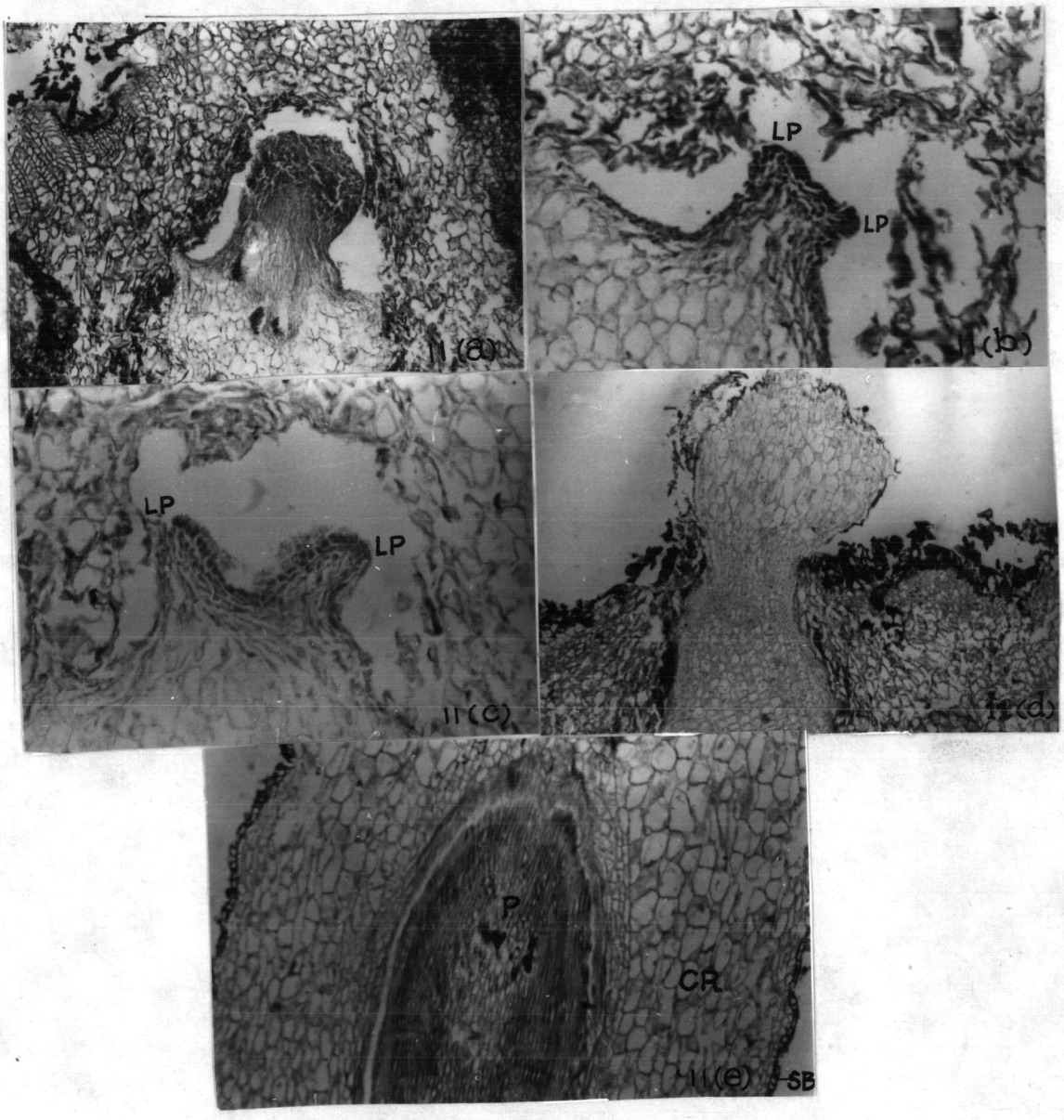
ภาพที่ 10 เซลชนิดต่าง ๆ ใน vascular tissue

(a) vascular tissue ของแคลลัสมี cambium zone (CZ) (X 400)

(b) xylem ของแคลลัสประกอบด้วย tracheid (T) (X 400)

(c) " " " tracheid และ vessel (V) (X 6000)

(d) vascular tissue ยืดยาวไปทางเนื้อเยื่อแคลลัสที่นูนขึ้น (X 400)



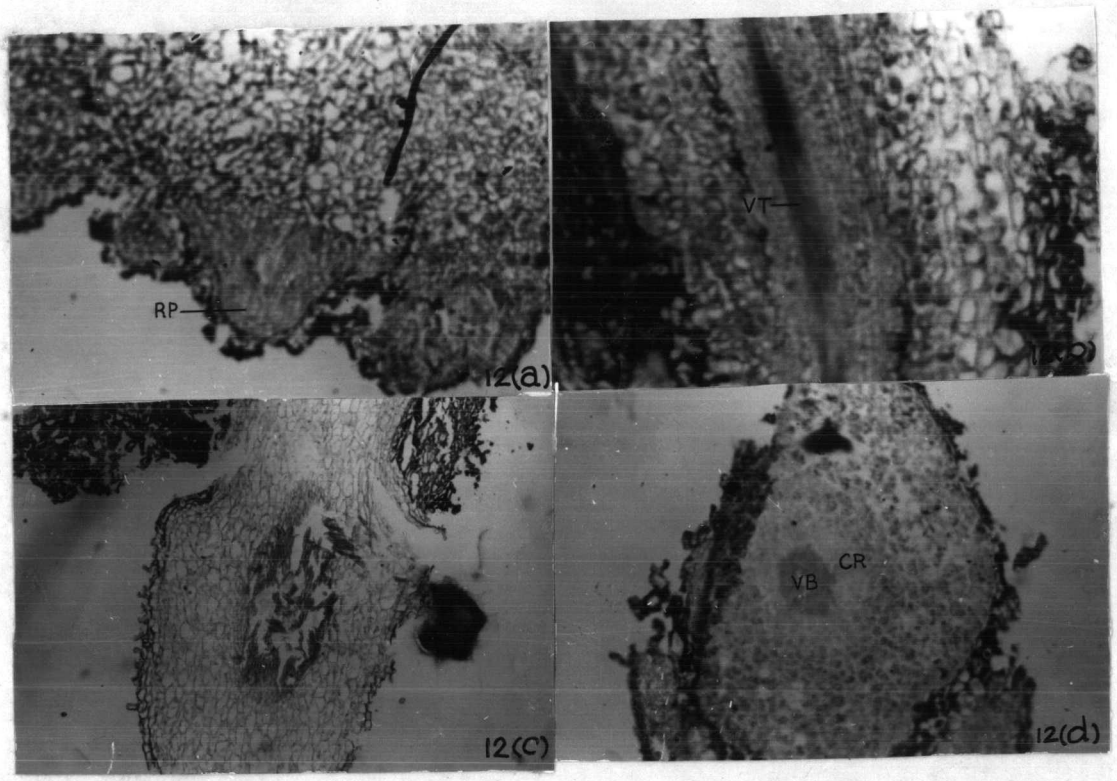
ภาพที่ 11 การเกิดหน่อจากแคลลัส

(a, b, c) หน่อเกิดจากเนื้อเยื่อตำแหน่งลึกจากผิวของแคลลัส (X 400)

(d) หน่อโผล่พ้นผิวของแคลลัส (X 400)

(e) ลักษณะภายในหน่อแคลลัสที่เจริญแล้วประกอบด้วย siphonostele (X 400)

(LP = leaf primordia, P = pith, CR = cortex
SB = suberized cell)



ภาพที่ 12 การเกิดรากจากแคลลัส

(a) รากกำเนิดจากเนื้อเยื่อใกล้ผิวของแคลลัส (X 400)

(b) รากยืดยาวออกกลางรากเป็น vascular tissue (X 400)

(c) ปลายรากจะมีเนื้อเยื่อเจริญยื่นยาวออกพ้นผิวแคลลัส (X 400)

(d) ลักษณะภายในของราก ประกอบด้วย ชั้นนอกมี suberized cell, certex และ protostele (X 400)

(RP = root primordia)

การเกิดหน่อจากการศึกษาโดยการสุ่มตัวอย่างแคลลัส พบว่า มีเนื้อเยื่อเจริญเกิดขึ้นในบริเวณส่วนในของแคลลัส ตำแหน่งลึกลงไปจากผิว มีลักษณะคล้ายเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (ภาพที่ 11a, 11b และ 11c) เป็นกลุ่มเซลยื่นออกไปคล้าย leaf primordia (ภาพที่ 11b และ 11c) ปลายยอดนี้จะเจริญกันเนื้อเยื่ออื่นของแคลลัสให้สลาย (ภาพที่ 11a, 11b และ 11c) และโผล่พ้นผิวของแคลลัสออกมาได้เป็นหน่อ (ภาพที่ 11a) และเป็นต้นในหลอดแก้ว (ภาพที่ 3e) หน่อที่เจริญมากแล้วมีลักษณะภายในดังภาพที่ 11e คือเนื้อเยื่อผิวเป็นเซลที่ผนังบางด้านเป็น suberized wall เนื้อเยื่อชั้น cortex เป็น parenchyma และ stele เป็น siphonostele ประกอบด้วยเนื้อเยื่อที่มี phloem ล้อมรอบ xylem มี pith อยู่ตรงกลางเช่นเดียวกับลักษณะภายในของลำต้นพืชทั่วไป

รากมีกำเนิดจากเนื้อเยื่อบริเวณส่วนในแคลลัส เห็นแคลลัสเริ่มนูนที่ละน้อย (ภาพที่ 12a) จนกระทั่งยืดยาวออก (ภาพที่ 12b) ตรงปลายของแคลลัสที่ยืดยาวขึ้นนี้จะมีรากเจริญยื่นออกมา (ภาพที่ 12e) รากที่เจริญจากแคลลัสนี้มีลักษณะภายในเช่นเดียวกับรากพืชทั่วไป (ภาพที่ 12d) มีเนื้อเยื่อผิวประกอบด้วยเซลที่มีผนังบางส่วนเป็น suberized wall เช่นเดียวกับของหน่อ เนื้อเยื่อพื้นเป็น parenchyma มี stele เป็น protostele มี vascular bundle กลุ่มเดียวมี phloemล้อมรอบ xylem ไม่มี pith เช่นเดียวกับลักษณะภายในของรากพืชทั่วไป