จินดา เดชบุญ : การชักนำความแปรปรวนทางพันธุกรรมในกล้วยไม้ลูกผสมสกุล *Doritaenopsis* โดยการใช้สารโคลชิซินและรังสีแกมมาในสภาพปลอดเชื้อ (COLCHICINE AND GAMMA IRRADIATION OF *Doritaenopsis* HYBRID TO INDUCE GENETIC VARIATION *IN VITRO*) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อารักษ์ ธีรอำพน, 64 หน้า.

การศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสายพันธุ์กล้วยไม้ลูกผสมสกุล *Doritaenopsis* ให้มีลักษณะที่ดี แตกต่างไปจากเดิม โดยการใช้สารโคลชิซินและรังสีแกมมาในสภาพปลอดเชื้อ โดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง การทดลองแรกเพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้สารโคลชิซินชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ Factorial ใน CRD มี 7 ซ้ำ โดยการนำโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ที่มีขนาด 2-3 มิลลิเมตร ไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Vacine and Went (VW) ที่มีสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0, 0.05, 0.075 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) เป็นระยะเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน จากนั้นนำโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ไปเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรดัดแปลง VW สังเกตการเปลี่ยนแปลงของโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นและระยะเวลารับสารโคลชิซินทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ลดลง และเมื่อโปรโตคอร์มไลค์บอดี้เจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนจนมีอายุ 10 เดือน บันทึกการเจริญเติบโตและปริมาณดีเอ็นเอ พบว่าต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นสูงขึ้นและระยะเวลานานขึ้น ให้น้ำหนักสด จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก ความยาวราก และความหนาแน่นปากใบลดลง ในขณะที่เส้นผ่าศูนย์กลางราก ความกว้างใบ ความหนาของใบ และความยาวปากใบมีแนวโน้มสูงขึ้น นอกจากนี้ ต้นที่ได้รับสารโคลชิซิน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นเตตระพลอยด์สูง โดยเฉพาะเมื่อใช้สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) นาน 7 วัน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นเตตระพลอยด์สูงที่สุดคือ 60 เปอร์เซ็นต์ ต้นเตตระพลอยด์ที่ได้มีใบสั้นและกว้าง แผ่นใบหนา รากสั้น และมีการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นดิพลอยด์ การทดลองที่สองเพื่อศึกษาปริมาณรังสีแกมมาที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 7 ซ้ำ โดยการนำโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ที่มีขนาด 2-3 มิลลิเมตร ไปฉายรังสีแกมมาที่ระดับ 0, 50, 100, 150 และ 200 เกรย์ จากนั้นนำโปรโตคอร์มไลค์บอดี้ไปเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรดัดแปลง VW สังเกตการเปลี่ยนแปลงของโปรโตคอร์มไลค์บอดี้เมื่อโปรโตคอร์มไลค์บอดี้เจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนจนมีอายุ 10 เดือน บันทึกการเจริญเติบโตและปริมาณดีเอ็นเอ พบว่าต้นที่ได้รับการฉายรังสีแกมมามีน้ำหนักสด ความยาวใบ ความกว้างใบ ความหนาใบ จำนวนราก ความยาวรากและเส้นผ่าศูนย์กลางรากลดลง แต่มีจำนวนใบมาก ในขณะที่ความหนาแน่นและความยาวของปากใบ และปริมาณดีเอ็นเอไม่แตกต่างกัน และมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เปลี่ยนแปลงไป เช่น ใบหลอด ใบแฉก ใบด่าง ใบยาวเรียวเล็ก ใบหดสั้นและหนาขึ้น ใบ

เปลี่ยนสีไปจากเดิมจากสีเขียวปนน้ำตาลแดงเป็นสีเขียวทั้งใบ และมีเปอร์เซ็นต์การกลายพันธุ์สูงขึ้นเมื่อได้รับปริมาณรังสีแกมมามากขึ้น โดยที่ระดับ 200 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การกลายพันธุ์สูงที่สุด คือ 24.29 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อนำต้นกล้วยไม้ที่กลายพันธุ์ที่ได้จากการฉายรังสีแกมมาออกปลูกในสภาพโรงเรือน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การรอดของต้นกล้วยไม้น้อยลงเมื่อได้รับปริมาณรังสีแกมมาที่สูงขึ้น โดยต้นกล้วยไม้ที่กลายพันธุ์ที่ได้จากการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 50 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดของต้นกล้วยไม้ที่กลายพันธุ์หลังจากนำไปปลูกในสภาพโรงเรือนสูงที่สุด คือ 57.14 เปอร์เซ็นต์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
ปีการศึกษา 2555

ลายมือชื่อนักศึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

JINDA DEDBOON : COLCHICINE AND GAMMA IRRADIATION OF *Doritaenopsis* HYBRID TO INDUCE GENETIC VARIATION *IN VITRO*. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. ARAK TIRA-UMPHON, Ph.D., 64 PP.

COLCHICINE/GAMMA IRRADIATION/*Doritaenopsis* HYBRID/*IN VITRO*

This study aims to develop *Doritaenopsis* hybrid by colchicine and gamma irradiation. Two experiments were set up *in vitro*. The first experiment was to examine the most effective concentration and the duration of colchicine treatment. The experimental design was Factorial in CRD with 7 replications. The protocorm-like bodies (PLBs) were cultured on Vacine and Went medium (VW) containing different concentrations of colchicine 0, 0.05, 0.075 and 0.1% (w/v). After an incubation period of 1, 3, 5 and 7 days, they were transferred into modified VW medium. The results showed that increasing concentration and duration of colchicine treatment decreased the percent survival of PLBs. After 10 months, morphology, physiology and DNA content were investigated. The results indicated that the higher concentrations and the longer treatment durations decreased the fresh weight, number of leaves, leaf length, number of root, root length and stomatal density of the young plant. In contrast, the root diameter, leaf width, leaf thickness and stomatal length increased. In addition, plant exposured to colchicine gave high percentage of tetraploid plant. Especially, the plant exposure to colchicine at 0.1% for 7 days showed the highest percentage of tetraploid (60%). However, the tetraploid plants were rosette and the rate of growth was slower than that of the diploid plants. The second experiment was to find the suitable dose of gamma irradiation for mutation. The experimental design was in CRD with 7 replications. PLBs were irradiated with gamma radiation at the doses of 0, 50,

100, 150 and 200 Gy before transferred to culture on modified VW for 10 months. The results showed that the fresh weight, leaf length, leaf width, leaf thickness, number of root, root length, and root diameter decreased with the increased exposure dosages. However, the number of leaves increased. While, stomatal density, stomatal length and DNA contents were not significantly different. Moreover, morphological changes such as abnormal leaf, forked leaves, chlorophyll variation, narrow leaves, shortened and thickened leaves, multiple branching and changes in leaf color from green brown to green were observed. In addition, the percentage of mutation was highest at the radiation doses of 200 Gy (24.29%). Furthermore, the higher radiation exposured caused higher mortality rate of the plants. Plant exposured to gamma radiation at 50 Gy showed the highest mutation survival rate (54.54%).

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Crop Production Technology Student's Signature_____

Academic Year 2012 Advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____