

## บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสายพันธุ์กล้วยไม้ลูกผสมสกุล *Doritaenopsis* ให้มีลักษณะที่ดี แตกต่างไปจากเดิม ด้วยการใช้สารโคลชิซินและรังสีแกมมาในสภาพปลอดเชื้อ แบ่งเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้สารโคลชิซินชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD มี 7 ซ้ำ โดยการนำโปรโตคอร์ัมที่มีขนาด 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 จากนั้นนำโปรโตคอร์ัมไปเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรดัดแปลง VW สังเกตการเปลี่ยนแปลงของโปรโตคอร์ัม พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นและระยะเวลาใช้สารโคลชิซินทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของโปรโตคอร์ัมลดลง และเมื่อ โปรโตคอร์ัมเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนจนมีอายุ 10 เดือน บันทึกการเจริญเติบโตและปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่า ต้นที่ได้รับสารละลายโคลชิซินความเข้มข้นสูงขึ้นและระยะเวลานานขึ้น ให้น้ำหนักสดจำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก ความยาวราก และความหนาแน่นปากใบลดลง ในขณะที่เส้นผ่าศูนย์กลางราก ความกว้างใบ ความหนาของใบ และความยาวปากใบมีแนวโน้มสูงขึ้น นอกจากนี้ ต้นที่ได้รับสารโคลชิซิน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นเตตระพลอยด์สูง โดยเฉพาะเมื่อใช้สารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) นาน 7 วัน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นเตตระพลอยด์สูงสุด คือ 60 เปอร์เซ็นต์ ต้นเตตระพลอยด์ที่ได้มีใบสั้นและกว้าง แผ่นใบหนา รากสั้น และมีการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นดิพลอยด์ การทดลองที่ 2 เพื่อศึกษาปริมาณรังสีแกมมาที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 7 ซ้ำ โดยการนำโปรโตคอร์ัมที่มีขนาด 2-3 มิลลิเมตร ไปฉายรังสีแกมมาที่ระดับ 0, 50, 100, 150 และ 200 เกรย์ จากนั้นนำโปรโตคอร์ัมไปเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรดัดแปลง VW สังเกตการเปลี่ยนแปลงของโปรโตคอร์ัม เมื่อโปรโตคอร์ัมเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนจนมีอายุ 10 เดือน บันทึกการเจริญเติบโตและปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่า ต้นที่ฉายรังสีแกมมามีน้ำหนักสด ความยาวใบ ความกว้างใบ ความหนาใบ จำนวนราก ความยาวราก และเส้นผ่าศูนย์กลางรากลดลง แต่มีจำนวนใบมาก ในขณะที่ความหนาแน่นและความยาวของปากใบ และปริมาณคลอโรฟิลล์ไม่แตกต่างกัน และมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เปลี่ยนแปลงไป เช่น ใบห่อหุ้ม ใบแฉก ใบด่าง ใบยาวเรียวเล็ก ใบหัดสั้น และหนาขึ้น ใบเปลี่ยนสีไปจากเดิมจากสีเขียวปนน้ำตาลแดงเป็นสีเขียวทั้งใบ และมีเปอร์เซ็นต์การกลายพันธุ์สูงขึ้นเมื่อได้รับปริมาณรังสีแกมมามากขึ้น โดยที่ระดับ 200 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การกลายพันธุ์สูงสุด คือ 24.29 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อนำต้นกล้วยไม้ที่กลายพันธุ์ที่ได้จากการฉายรังสีแกมมาออกปลูกในสภาพโรงเรือน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การรอดของต้นกล้วยไม้น้อยลงเมื่อได้รับปริมาณรังสีแกมมาที่สูงขึ้น โดยต้นกล้วยไม้ที่กลายพันธุ์ที่ได้จากการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 50 เกรย์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดของต้นกล้วยไม้ที่กลายพันธุ์หลังจากนำไปปลูกในสภาพโรงเรือนสูงสุด คือ 57.14 เปอร์เซ็นต์

## Abstract

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 a colchicine treated. The experimental design was Factorial in CRD with 7 replications. The 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 the increasing in the concentration and the duration of colchicine could make percent survival of PLBs decreased. After 10 months, morphology, physiology and DNA content were investigated. The results showed that the higher the concentrations and the longer durations could decrease 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 exposed to colchicine gave the high percentage of tetraploid plant. Especially, the plant exposure to colchicine at 0.1 % (w/v) 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 transferring 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 were decrease with an increasing exposure dosage. However, the number of leaves increased. While, stomatal density, stomatal length and DNA contents were showed not any differences. 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 radiation doses of 200 Gy (24.29 %). Furthermore, the higher radiation exposed gave affected the higher mortality of the plants after removing from tissue culture. Plant exposed to gamma radiation at 50 Gy showed the highest survival rate of mutation (54.54 %).