

# ผลของออร์ซาลินที่มีต่ออัตราการรอดชีวิต ลักษณะเซลล์คุมและความหนาแน่นปากใบของกล้วยไม้กะเรกะร่อนสองสี (*Cymbidium bicolor* Lindl.)

## Effect of Oryzalin on Survival rate, Guard cell size and Stomata density of (*Cymbidium bicolor* Lindl.)

วชิราพรรณ ทองประภา,<sup>1\*</sup> พรทิพย์ อติชาติ,<sup>2</sup> จุฑาพร แสงประจักษ์<sup>3</sup>  
Wachirapan Thongprapa,<sup>1\*</sup> Porntrip Atichart,<sup>2</sup> Jutaporn Sangprajak<sup>3</sup>

### บทคัดย่อ

ศึกษาอัตราการรอดชีวิต ลักษณะเซลล์คุมและความหนาแน่นปากใบของกล้วยไม้กะเรกะร่อนสองสีภายหลังแช่สารละลายออร์ซาลิน โดยแช่โปรโตคอร์มกล้วยไม้ในสารละลายออร์ซาลินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน คือ 0, 15, 30, 60 และ 120 ไมโครโมลาร์ และที่มีระยะเวลาต่างกันคือ 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง จากนั้นเลี้ยงโปรโตคอร์มบนอาหารสังเคราะห์สูตร Vacin and Went (VW) เป็นเวลา 3 เดือนพบว่าโปรโตคอร์มที่แช่สารละลายออร์ซาลินที่ระดับความเข้มข้น 120 ไมโครโมลาร์ เป็นระยะเวลา 24 และ 72 ชั่วโมง มีอัตราการรอดชีวิตต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ลักษณะปากใบมีขนาดลดลง ในขณะที่เซลล์คุมมีขนาดใหญ่ขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าในชุดที่แช่สารละลายออร์ซาลินที่ระดับความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง มีความหนาแน่นปากใบลดลงมาก เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งลักษณะดังกล่าว แสดงถึงแนวโน้มการเกิดโพลีพลอยด์

**คำสำคัญ:** กล้วยไม้, กะเรกะร่อนสองสี, ออร์ซาลิน, อัตราการรอดชีวิต

### Abstract

Protocorms of *Cymbidium bicolor* Lindl. In liquid nutrient medium were conducted to oryzalin treatment of 0, 15, 30, 60 and 120  $\mu\text{M}$  (w/v) concentration for 6, 12, 24, 48 and 72 hours. The survival rate, guard cell size and density of stomata were evaluated after cultured on VW medium for three months. Highest concentrations (120  $\mu\text{M}$ ) and longer treatment durations (72 hours) lowered the survival rates of the explants, stomata size decreased where as guard cell size increased. Moreover, the stomata density increased which treated in 15  $\mu\text{M}$  oryzalin solution for 6 hour showed as polyploids induction.

**Keyword:** Orchid, *Cymbidium bicolor* Lindl., Oryzalin, Survival rate

<sup>1</sup> นิสิตปริญญาโท, <sup>2,3</sup> อาจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

<sup>1</sup> Master Degree Student, <sup>2,3</sup> Lecturer, Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakam University, Kantarawichai Dirtrict, Maha Sarakam, 44150 Thailand.

\* Corresponding author: Wachirapan Thongprapa, Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakam University, Kantarawichai Dirtrict, Maha Sarakam, 44150 Thailand. E-mail: p-p\_ticktock@hotmail.com

## บทนำ

กล้วยไม้เป็นพืชอยู่ในวงศ์ Orchidaceae ซึ่งนับเป็นวงศ์ใหญ่ที่สุดในบรรดาพืชที่มีดอกทั้งหลาย ปัจจุบันทั่วโลกมีประมาณ 796 สกุล และ 17,500 ชนิด สำหรับประเทศไทยถือเป็นแหล่งกำเนิดกล้วยไม้ที่สำคัญแห่งหนึ่งของโลก โดยเฉพาะกล้วยไม้ที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนชื้น โดยมีกล้วยไม้ป่าหรือกล้วยไม้พื้นเมืองชนิดต่างๆ ที่สำรวจพบแล้วทั้งสิ้น 168 สกุล และมากกว่า 1,170 ชนิด<sup>1</sup> กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่นเดียวกับ หนุ่ย กล้วย อ้อย ว่านต่างๆ ลักษณะที่สังเกตเห็นได้ชัดเจนสำหรับพืชจำพวกนี้คือ มีใบซึ่งเส้นใบขนานกันตามความยาวของใบ รากของกล้วยไม้ไม่มีรากแก้ว แต่มีระบบรากเช่นเดียวกับอ้อย ชิงช้า<sup>2</sup>

กล้วยไม้เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของไทย ปัจจุบันอุตสาหกรรมเกี่ยวกับกล้วยไม้ในประเทศไทยได้เจริญมากขึ้น มีการส่งออกทั้งดอกและต้นกล้วยไม้ไปจำหน่ายยังต่างประเทศน่ายได้เข้าประเทศปีละประมาณ 1,000 ล้านบาท นอกจากนี้ประเทศไทยยังได้รับการยกย่องเป็นแหล่งผลิตกล้วยไม้เมืองร้อนที่สำคัญของโลกอีกด้วย<sup>3</sup>

การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ เพื่อให้ได้ลักษณะตามความต้องการของตลาดนั้น มีด้วยกันหลายวิธี ในอดีตใช้วิธีมาตรฐาน (conventional breeding) ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้เวลานานและทำได้ยาก เกิดความแตกต่างของจำนวนชุดโครโมโซม (ploidy level) และการเกิดลักษณะเซลล์สืบพันธุ์ที่ไม่ลดจำนวนลง (unreduced gamete) ทำให้ติดเมล็ดยากหรือไม่ติดเมล็ด ดังนั้นการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ (induced mutation) โดยการใช้รังสีแกมมาหรือรังสีซี หรือสารเคมี ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จึงนิยมนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ ซึ่งสามารถก่อให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรม อาจทำให้ได้พืชพันธุ์ใหม่ซึ่งมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ<sup>4</sup> ปัจจุบันมีการใช้สารเคมีบางชนิดสามารถก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในลักษณะ

ต่อๆ กับพืชได้ เช่น กอให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมขึ้นเป็น 2n เท่าตัว ทั้งนี้เนื่องจากสารเคมีที่ใช้ไปยับยั้งการสร้างเส้นใยสปินเดิล (spindle fiber) ในช่วงของการแบ่งเซลล์ จึงทำให้โครโมโซมไม่

สามารถแยกออกจากกันเป็น 2 เซลล์ได้ จึงมารวมกันและมีจำนวนเป็น 2 เท่า สารเคมีดังกล่าว ตัวอย่างเช่น ออร์ซาลิน หรือ ชื่อการค้าว่า Surflan, Rycelan, Dirimal เป็นสารกำจัดวัชพืช ที่มีคุณสมบัติเป็นสารที่ยับยั้งการแบ่งเซลล์ในระยะไมโทซิส (antimitotic agent) ซึ่งได้รับความนิยมในการนำมาปรับปรุงพันธุ์พืชได้สำเร็จ เช่น กล้วยหิน<sup>5</sup> ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงได้นำเอาเทคโนโลยีชีวภาพมาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้กะระระอ่อนสองสี ซึ่งเป็นกล้วยไม้พันธุ์พื้นเมือง โดยใช้สารเคมีคือ ออร์ซาลิน เพื่อเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะพัฒนาสายพันธุ์กล้วยไม้ให้เป็นที่ต้องการได้เร็วขึ้น โดยมีขนาดต้นและดอกใหญ่ขึ้นซึ่งเป็นผลมาจากการเพิ่มจำนวนโครโมโซม

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสารละลายออร์ซาลินและระยะเวลาในการแช่สารละลายที่เหมาะสมต่อการรอดชีวิตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้กะระระอ่อนสองสีในสภาพปลอดเชื้อ
2. เพื่อศึกษาลักษณะเซลล์คุมและความหนาแน่นปากใบของกล้วยไม้กะระระอ่อนสองสี ที่ผ่านการแช่ในสารละลายออร์ซาลิน

## วิธีการศึกษา

1. การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายออร์ซาลินและระยะเวลาในการแช่สารละลาย ที่เหมาะสมต่อการรอดชีวิตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้กะระระอ่อนสองสี

นำฝักกล้วยไม้กะระระอ่อนสองสีมาทำความสะอาดโดยตัดส่วนหัวและส่วนปลายของฝักกล้วยไม้ ออกเล็กน้อย (ระวังอย่าให้ฝักกล้วยไม้แตก) แล้วนำมาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของฝัก โดยแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 15% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่เติม tween 20 จำนวน 2 หยด เขย่าเป็นเวลา 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จากนั้นนำฝักกล้วยไม้ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวแล้ว มาผ่าตามแนวยาวแล้วใช้ปากคีบค่อยๆ เขี่ยเมล็ดกล้วยไม้ลงในอาหารสังเคราะห์สูตร VW (1949)<sup>6</sup> เติมน้ำวัน 7 กรัมต่อ

ลิตร และน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร pH 5.7-5.8 เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสงประมาณ 40 ไมโครโมลาร์ต่อตารางเมตรต่อวินาที เมื่อเมล็ดเริ่มงอกจะสังเกตเห็นเมล็ดมีสีเขียวเพาะเลี้ยงต่อไปจนกระทั่งเมล็ดเจริญเป็นโปรโตคอร์ม

นำโปรโตคอร์มกล้วยไม้กะระระร้อนสองสี มาแช่ในอาหารเหลวสูตร VW ที่เติมสารละลายออริซาลิน ความเข้มข้นต่างๆ กันดังนี้คือ 0, 15, 30, 60 และ 120 ไมโครโมลาร์ ที่มีระยะเวลาในการแช่แตกต่างกันคือ 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ภายหลังจากแช่ในสารละลายออริซาลินแล้วนำมาเพาะเลี้ยงต่อไปบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสงประมาณ 40 ไมโครโมลาร์ต่อตารางเมตรต่อวินาที เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน จากนั้นทำการบันทึกอัตราการรอดชีวิตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้กะระระร้อนสองสี ที่ผ่านการแช่ในสารละลายออริซาลิน ที่มีความเข้มข้นที่ระดับและระยะเวลาต่างๆกัน โดยนับจำนวนโปรโตคอร์มที่รอดชีวิต

## 2. การศึกษาลักษณะเซลล์คุมและความหนาแน่นปากใบของกล้วยไม้กะระระร้อนสองสี ที่ผ่านการแช่ในสารละลายออริซาลิน

นำโปรโตคอร์มกล้วยไม้กะระระร้อนสองสีที่ผ่านการแช่สารละลายออริซาลินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน จากการทดลองที่ 1 ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน นำมาวัดความยาวและความกว้างของปากใบ ความยาวและความกว้างของเซลล์คุม และความหนาแน่นของปากใบ โดยใช้ใบมีดโกนชุดผิวใบด้านบนของตัวอย่าง หลังจากนั้นแช่ตัวอย่างพืชในสารละลายซาฟรานินโอ (safranin O) แล้ววางเนื้อเยื่อบนสไลด์ ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ วัดความยาวและความกว้างของปากใบ ความยาวและความกว้างของเซลล์คุม และความหนาแน่นของปากใบ ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) กำลังขยาย 40 เท่า โดยแต่ละหน่วยการทดลองทำ 5 สไลด์ วัดจำนวน 10 เซลล์ต่อสไลด์ ซึ่งมีทั้งหมดมี 50 เซลล์ต่อหน่วยการทดลอง

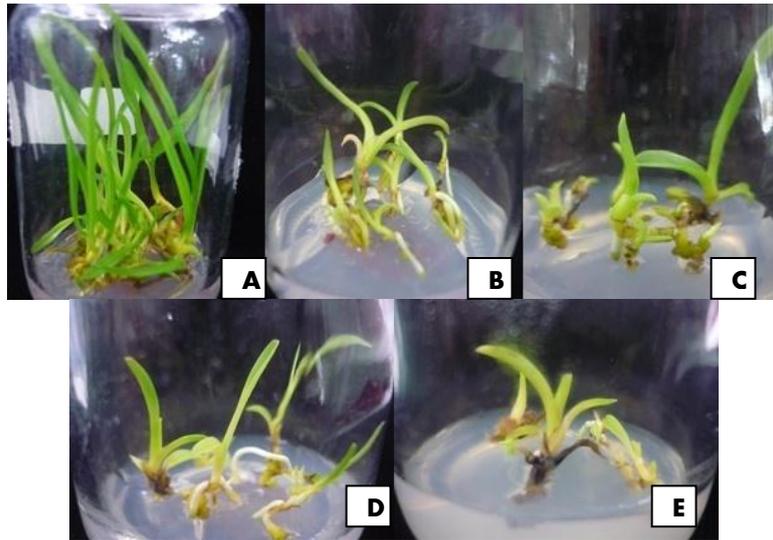
## การวางแผนการทดลอง

การทดลองแบบแฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (factorial in CRD) มีทั้งหมด 5 ซ้ำๆ ละ 25 ต้น การวิเคราะห์ข้อมูลใช้วิธี Analysis of variance และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละหน่วยทดลองโดยใช้ DMRT (Duncan's Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

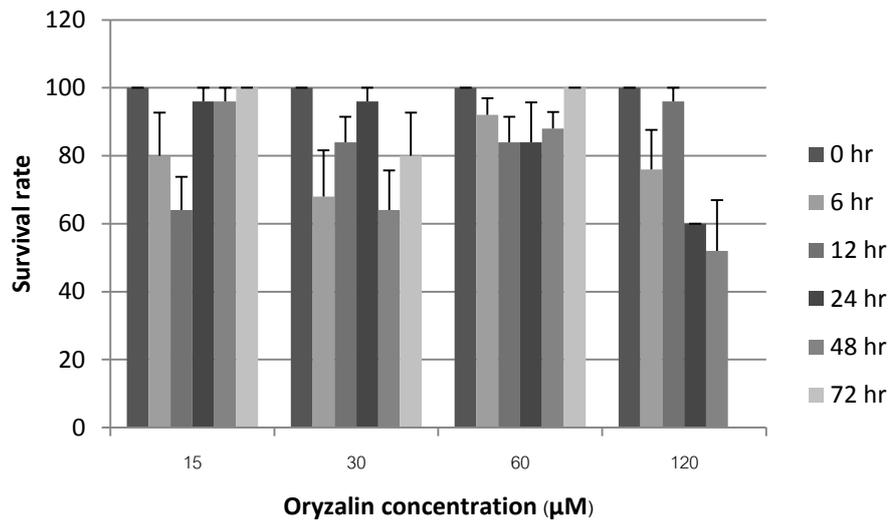
## ผลการทดลอง

จากการศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่สารละลายออริซาลิน ที่เหมาะสมต่อการรอดชีวิตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้กะระระร้อนสองสี พบว่าอัตราการรอดชีวิตของโปรโตคอร์มกล้วยไม้กะระระร้อนสองสี ที่ผ่านการแช่สารละลายออริซาลินที่ระดับความเข้มข้น 0, 15, 30, 60 และ 120 ไมโครโมลาร์ เป็นระยะเวลา 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าโปรโตคอร์มกล้วยไม้ที่แช่ในสารละลายออริซาลินที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นและระยะเวลาในการแช่นานขึ้น อัตราการรอดชีวิตจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และที่ระดับความเข้มข้น 120 ไมโครโมลาร์ เมื่อแช่เป็นเวลานานถึง 72 ชั่วโมง โปรโตคอร์มไม่สามารถรอดชีวิตได้ มีอัตราการรอดชีวิตต่ำที่สุด (Figure 1 และ 2)

จากการศึกษาลักษณะปากใบของกล้วยไม้กะระระร้อนสองสีภายหลังจากแช่ในสารละลายออริซาลินความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ กัน พบว่าความยาวและความกว้างของปากใบมีขนาดลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยชุดควบคุมมีความยาวปากใบเฉลี่ย  $30.75 \pm 0.36$  ไมโครเมตร ในขณะที่ความยาวและความกว้างของปากใบของโปรโตคอร์มกล้วยไม้ที่ผ่านการแช่ในสารละลายออริซาลินในระยะเวลาต่างๆกันมีขนาดเล็กลง ดังแสดงในตาราง (Table 1, 2 และ Figure 3)



**Figure 1** Effect of *in vitro* oryzalin treatment on the survival rate of *Cymbidium bicolor* Lindl. (A) control, (B) 15 µM oryzalin treatment, (C) 30 µM oryzalin treatment, (D) 60 µM oryzalin treatment, (E) 120 µM oryzalin treatment after cultured for three months.



**Figure 2** Effect of *in vitro* oryzalin treatment on the surviving percentage of *Cymbidium bicolor* Lindl. after cultured for three months.

**Table 1** Effect of *in vitro* oryzalin treatment on the stomata length of *Cymbidium bicolor* Lindl. after cultured for three months

| Oryzalin concentration (µM) | Average stomata length (µm)<br>(Mean ± SD) |                         |                         |                         |                         |
|-----------------------------|--|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                             | 6 hr                                       | 12 hr                   | 24 hr                   | 48 hr                   | 72 hr                   |
| 0                           | 33.50±1.00 <sup>a</sup>                    | 33.50±1.00 <sup>a</sup> | 33.50±1.00 <sup>a</sup> | 33.50±1.00 <sup>a</sup> | 33.50±1.00 <sup>a</sup> |
| 15                          | 32.30±1.00 <sup>a</sup>                    | 31.30±0.56 <sup>a</sup> | 28.80±0.56 <sup>c</sup> | 29.00±0.47 <sup>c</sup> | 31.00±0.61 <sup>a</sup> |
| 30                          | 28.50±0.61 <sup>c</sup>                    | 30.00±0.00 <sup>b</sup> | 28.80±0.79 <sup>c</sup> | 29.00±0.47 <sup>c</sup> | 29.00±0.61 <sup>c</sup> |
| 60                          | 29.30±0.50 <sup>c</sup>                    | 29.00±1.00 <sup>c</sup> | 28.80±0.56 <sup>c</sup> | 31.30±0.79 <sup>a</sup> | 29.30±0.94 <sup>c</sup> |
| 120                         | 29.30±0.50 <sup>c</sup>                    | 31.30±0.97 <sup>a</sup> | 32.00±0.50 <sup>a</sup> | 30.30±0.83 <sup>b</sup> | 0.00±0.00 <sup>d</sup>  |

Values follow by different letter in the same letter sequence (a, b...) are significantly different at the 95 % confidence level by DMRT

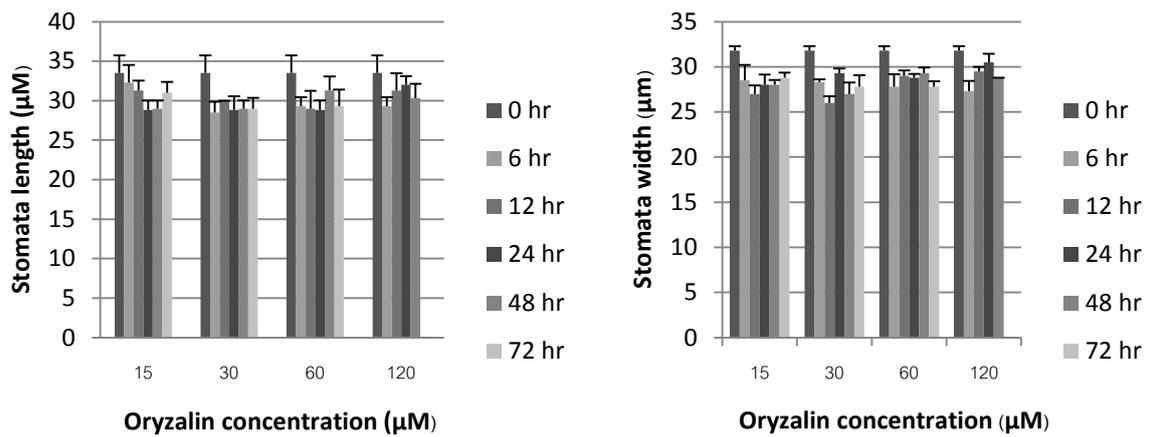
**Table 2** Effect of *in vitro* oryzalin treatment on the stomata width of *Cymbidium bicolor* Lindl. after being cultured for three months.

| Oryzalin concentration (µM) | Average stomata width (µm)<br>(Mean ± SD) |                         |                         |                         |                         |
|-----------------------------|---|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                             | 6 hr                                      | 12 hr                   | 24 hr                   | 48 hr                   | 72 hr                   |
| 0                           | 31.80±0.50 <sup>a</sup>                   | 31.80±0.50 <sup>a</sup> | 31.80±0.50 <sup>a</sup> | 31.80±0.50 <sup>a</sup> | 31.80±0.50 <sup>a</sup> |
| 15                          | 28.50±1.70 <sup>b</sup>                   | 27.00±0.94 <sup>b</sup> | 28.00±1.16 <sup>b</sup> | 28.00±0.50 <sup>b</sup> | 28.80±0.56 <sup>b</sup> |
| 30                          | 28.30±0.31 <sup>b</sup>                   | 26.00±0.73 <sup>b</sup> | 29.30±0.50 <sup>a</sup> | 27.00±0.64 <sup>b</sup> | 27.80±1.27 <sup>b</sup> |
| 60                          | 27.80±1.39 <sup>b</sup>                   | 29.00±0.61 <sup>a</sup> | 28.80±0.40 <sup>b</sup> | 29.30±0.75 <sup>a</sup> | 27.80±0.61 <sup>b</sup> |
| 120                         | 27.30±1.15 <sup>c</sup>                   | 29.50±0.50 <sup>a</sup> | 30.50±0.94 <sup>a</sup> | 28.80±0.79 <sup>b</sup> | 0.00±0.00 <sup>d</sup>  |

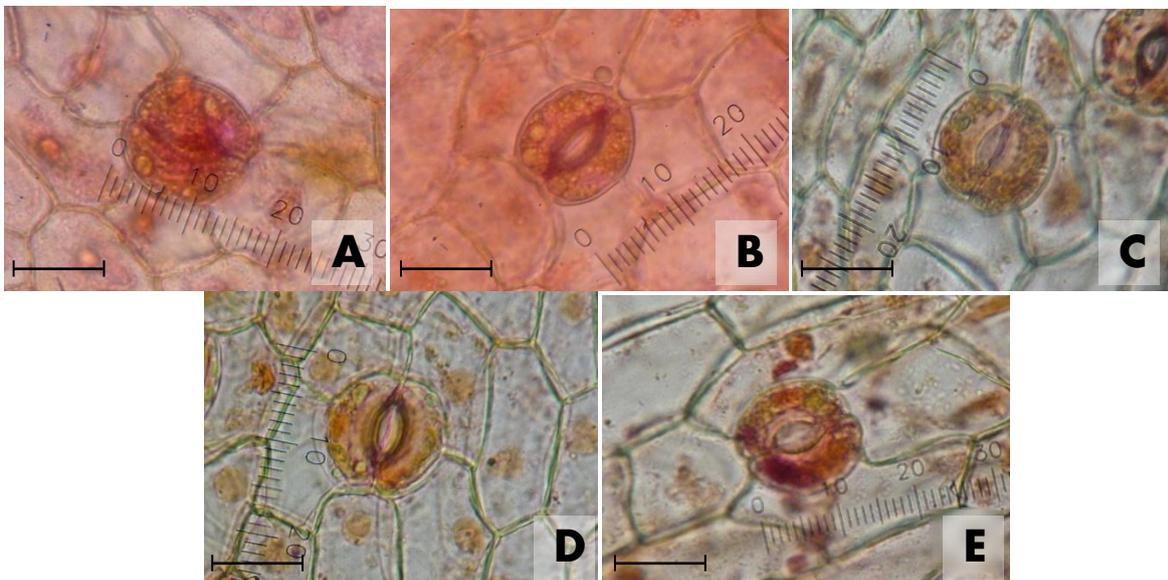
Values follow by different letter in the same letter sequence (a, b...) are significantly different at the 95 % confidence level by DMRT

ส่วนความกว้างและความยาวของเซลล์คุมของกล้วยไม้กะเรกะร้อนสองสี ที่ผ่านการแช่ในสารละลายออริซาลิน พบว่าที่ทุกความเข้มข้น ความยาวและความกว้างของเซลล์คุมลดลงจากชุดควบคุม แต่ความยาวของเซลล์คุมจากกล้วยไม้ที่ผ่านการแช่ในสารละลายออริซาลิน ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ความยาวเซลล์คุมมีขนาด  $23.00 \pm 0.50$  ไมโครเมตร ซึ่งมากกว่าชุดควบคุม

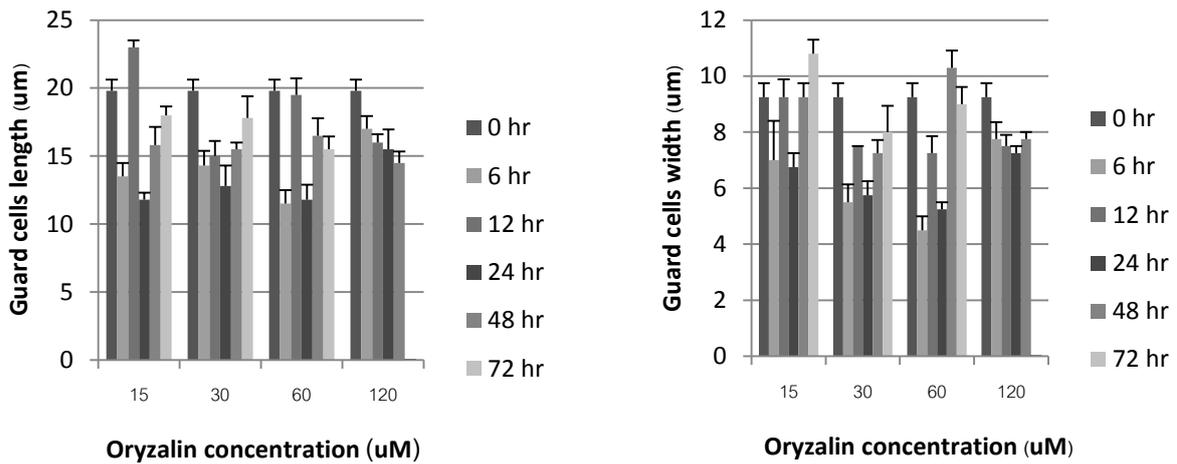
( $19.80 \pm 0.83$  ไมโครเมตร) และความกว้างของเซลล์คุมกล้วยไม้ที่ผ่านการแช่สารละลายออริซาลินความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และ 60 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีความกว้างของเซลล์คุม  $10.80 \pm 0.50$  และ  $10.30 \pm 0.61$  ตามลำดับ ซึ่งมีความกว้างมากกว่าชุดควบคุม ( $9.25 \pm 0.50$  ไมโครเมตร) (Figure 4 และ 5)



**Figure 3** Effect of *in vitro* oryzalin treatment on the stomata length and stomata width of *Cymbidium bicolor* Lindl. after cultured for three months.



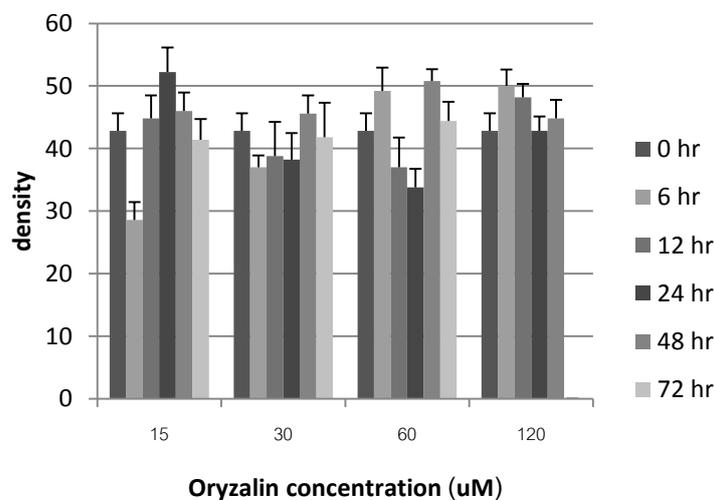
**Figure 4** The width and length of the guard cell size and stomata size of *Cymbidium bicolor* Lindl. control (A), 15 µM oryzalin treatment (B), 30 µM oryzalin treatment (C), 60 µM oryzalin treatment (D), 120 µM oryzalin treatment (E) (— = 250 µm at 40X)



**Figure 5** Effect of *in vitro* oryzalin treatment on the guard cells length and guard cells width of *Cymbidium bicolor* Lindl. after cultured for three months.

จากการศึกษาความหนาแน่นของปากใบพบว่าโปรโตคอร์มที่ผ่านการแช่ในสารละลายออริซาลิน ความเข้มข้น 15 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 60 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีความหนาแน่นของปากใบ

เท่ากับ  $28.60 \pm 2.84$ ,  $37.00 \pm 1.90$ ,  $38.80 \pm 5.44$ ,  $38.20 \pm 4.28$ ,  $37.00 \pm 4.77$  และ  $33.80 \pm 2.92$  ปากใบต่อตารางเมตร ตามลำดับ ซึ่งความหนาแน่นปากใบลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งมีความหนาแน่น  $42.80 \pm 2.85$  ปากใบต่อตารางมิลลิเมตร (Figure 6 และ Table 3)



**Figure 6** Effect of *in vitro* oryzalin treatment on stomata density of *Cymbidium bicolor* Lindl. after cultured for three months.

**Table 3** Effect of *in vitro* oryzalin treatment on the density of *Cymbidium bicolor* Lindl. after being cultured for three months.

| Oryzalin concentration (µM) | Average density (mm)<br>(Mean ± SD) |                         |                         |                         |                         |
|-----------------------------|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                             | 6 hr                                | 12 hr                   | 24 hr                   | 48 hr                   | 72 hr                   |
| 0                           | 42.80±2.85 <sup>a</sup>             | 42.80±2.85 <sup>a</sup> | 42.80±2.85 <sup>a</sup> | 42.80±2.85 <sup>a</sup> | 42.80±2.85 <sup>a</sup> |
| 15                          | 28.60±2.84 <sup>b</sup>             | 44.80±3.69 <sup>a</sup> | 52.20±3.97 <sup>a</sup> | 46.00±2.95 <sup>a</sup> | 41.40±3.31 <sup>a</sup> |
| 30                          | 37.00±1.90 <sup>b</sup>             | 38.80±5.44 <sup>a</sup> | 38.20±4.26 <sup>a</sup> | 45.60±2.89 <sup>a</sup> | 41.80±5.49 <sup>a</sup> |
| 60                          | 49.20±3.73 <sup>a</sup>             | 37.00±4.77 <sup>b</sup> | 33.80±2.92 <sup>b</sup> | 50.80±1.85 <sup>a</sup> | 44.40±3.08 <sup>a</sup> |
| 120                         | 50.00±2.60 <sup>a</sup>             | 48.20±2.15 <sup>a</sup> | 42.80±2.31 <sup>a</sup> | 44.80±2.96 <sup>a</sup> | 0.00±0.00 <sup>c</sup>  |

Values follow by different letter in the same letter sequence (a, b...) are significantly different at the 95 % confidence level by DMRT

## วิจารณ์และสรุปผล

โปรโตคอร์มกล้วยไม้กะระร้อนสองสี ที่ผ่านการแช่สารละลายออริซาลินที่มีความเข้มข้นสูงและเป็นเวลานานขึ้นจะมีผลทำให้อัตราการรอดชีวิตของโปรโตคอร์มลดลง สอดคล้องกับผลการทดลองของ สลิลดา เกตกะโกมล และคณะ (2552)<sup>7</sup> ซึ่งรายงานว่า การใช้ความเข้มข้นของสารละลายออริซาลินเพิ่มขึ้น และระยะเวลาในการแช่ที่นานขึ้นทำให้ต้นอ่อนกล้วยไม้มีอัตราการรอดชีวิตลดลง และสอดคล้องกับรายงานของ Saratham *et al.*, (2010)<sup>8</sup> ที่เลี้ยงชิ้นส่วนโปรโตคอร์มของกล้วยไม้เอื้องแซะหอม พบว่าความเข้มข้นของโคลชิซินซึ่งเป็นสารยับยั้งการแบ่งเซลล์ของพืชที่สูงขึ้นมีผลให้โปรโตคอร์มมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลง สำหรับขนาดของเซลล์คัมมีขนาดเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับผลการทดลองของวชิรพัฒน์ (2552)<sup>9</sup> ซึ่งรายงานว่าเซลล์คัมของกล้วยไม้มาวี่งต้นดิพลอยด์ เตตระพลอยด์ และออกตะพลอยด์ มีความยาวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการศึกษาที่พบว่าขนาดของเซลล์คัมมีขนาดเพิ่มขึ้นและความหนาแน่นของปากใบลดลง เป็นดัชนีชี้วัดว่าพืชมีแนวโน้มในการเกิดโพลีพลอยด์ ซึ่งเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่ต้องมีการวิเคราะห์ด้วย flow cytometer และนับ

จำนวนโครโมโซม เพื่อเป็นแนวทางปรับปรุงพัฒนาสายพันธุ์ได้ต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณกองวิจัยส่งเสริมและพัฒนางานวิจัย มหาวิทยาลัยมหาสารคามที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย จากงบประมาณรายปีงบประมาณ 2556

## เอกสารอ้างอิง

- [1] สลิล สิทธิจักรธรรม และนฤมล กฤษณชาติ. คู่มือกล้วยไม้. กรุงเทพฯ; 2545.
- [2] ระพี สาคริก. ส่วนต่างๆของกล้วยไม้. น.19-28. กล้วยไม้. ชอนนทรี. กรุงเทพฯ; 2530.
- [3] ไพบุลย์ ไพรีพายฤทธิ์. กล้วยไม้สำหรับผู้เริ่มต้น. กรุงเทพฯ : ห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล อาหารการพิมพ์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา เขตพื้นที่พิษณุโลก. 2521.
- [4] เบญจมาศ คิลาย้อย. กล้วย. พิมพ์ครั้งที่ 3.สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ; 2545. 357 น.

- [5] Silayoi B. and Saradhuldhath P. Some chemical treatments on Klulai Khai through tissue culture for mutation breeding. Kasetsart Journal (Natural Sciences). Jul-Sep 2001. 35(3) p. 231-241.
- [6] Vacin, E.F. and F. Went. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. In: C.L.Withner (ed.). The Orchids Survey. Ronald Press. N.Y. pp: 589-599.
- [7] สลิลดา เกตกะโกมล1, เบญจมาศ ศิลาชัย1 และ อรุณี วงศ์ปิยะสกลิตย์. ผลของออร์ซาลินที่มีต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกล้วยหิน. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. สาขาพืช. กรุงเทพฯ; 2552. หน้า 423-431 (641 หน้า).
- [8] Sarathum S., Hegele M., Tantivivat S. and Nanakorn M. Effect of Concentration and Duration of Colchicine Treatment on Polyploidy Induction in *Dendrobium scabrilingue* L. *Europ.J.Hort.Sci.*, (2010) 75 (3). S. 123–127
- [9] วชิรพัฒน์ จิวานิจ. ผลของโคลชิซินต่อการชักนำกล้วยไม้ม้าวิ่งให้เกิดพอลิพลอยดีในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์; 2552.