

บทคัดย่อ

การสร้างลูกผสมกล้วยไม้สกุลม้าวิงมีวัตถุประสงค์ เพื่อผลิตกล้วยไม้เป็นไม้ประดับกระถางที่มีดอกสวยงาม สามารถออกดอกได้ตลอดทั้งปี ได้ดำเนินการวิจัยโดยรวบรวมเชื้อพันธุกรรมที่ใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการสร้างลูกผสม ทำการผสมพันธุ์กล้วยไม้สกุลม้าวิงและสกุลฟาแลนอปซิส กล้วยไม้สกุลม้าวิงและสกุลเข็ม ได้ฝักลูกผสมจำนวน 45 คู่ผสม เมื่อนำเมล็ดจากฝักไปเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ พบว่า มีจำนวน 7 คู่ผสมที่เมล็ดมีการพัฒนาเป็นต้นอ่อน แต่ได้ต้นอ่อนจำนวนน้อยมาก จึงทำการทดลองเพื่อเพิ่มปริมาณต้นกล้วยไม้จากชิ้นส่วนใบ โดยการชักนำโปรโตคอร์มไลค์บอดี จากชิ้นส่วนใบอ่อนของกล้วยไม้ม้าวิงและกล้วยไม้แดงอุบล เมื่อนำส่วนโคนใบเพาะเลี้ยงในอาหาร NDM ที่เติมสาร TDZ ความเข้มข้น 1-10 มก./ล. สามารถชักนำโปรโตคอร์มไลค์บอดี ยอด และราก ซึ่งจุดกำเนิดของการพัฒนาเนื้อเยื่อ คือ การเกิดโซมาติกเอ็มบริโอที่ชั้นเซลล์ epidermis บริเวณโคนใบ ผลจากการวิจัยนี้สามารถนำไปใช้เพิ่มปริมาณต้นกล้วยไม้ลูกผสมให้มีปริมาณมากในเวลาอันรวดเร็ว

การวิจัยเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกล้วยไม้ลูกผสมต่างสกุล โดยการศึกษาอายุฝักลูกผสม 4 ระยะ คือ 1, 1.5, 2 และ 2.5 เดือน และอาหารเพาะเลี้ยง 5 สูตร คือ Vacin & Went (VW), VW + 2,4-D ความเข้มข้น 100 มก./ล., VW + Dicamba ความเข้มข้น 50 มก./ล., VW + Kinetin ความเข้มข้น 1 มก./ล. + NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. และ VW + Peptone ความเข้มข้น 2 ก./ล. ผลการทดลองพบว่า ฝักอ่อนลูกผสมอายุ 2 เดือน มีความเหมาะสมที่จะนำคัพเพาะไปเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยง และอาหารที่เหมาะสม คือ อาหารสูตร VW ที่เติมสาร kinetin ความเข้มข้น 1 มก./ล. + NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. คัพเพาะที่เพาะเลี้ยงบนอาหารนี้สามารถพัฒนาได้ดีที่สุดจำนวนเฉลี่ย 61 คัพเพาะ

การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ลูกผสมในสภาพปลอดเชื้อ นำต้นกล้วยไม้ลูกผสมฟาแลนอปซิส x แดงอุบล มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรสังเคราะห์ 2 สูตรคือ สูตร Vacin and Went (VW) และสูตร ½ Murashige & Skoog (MS) และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต คือ Kinetin และ BAP ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดลองพบว่า สูตร ½MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ทำให้ลูกกล้วยไม้เจริญเติบโตดีที่สุด

การศึกษาวัดสัณฐานที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของลูกกล้วยไม้ในสภาพโรงเรือน นำกล้วยไม้ลูกผสมฟาแลนอปซิส เวดดิ้ง x แดงอุบล ปลูกในวัสดุต่างๆ 4 แบบ คือ ปลูกในสแฟกนัมมอส, ปลูกในกาบมะพร้าวสับ, ปลูกในถ่านหุงต้ม และปลูกในถ่านหุงต้มปิดทับด้วยสแฟกนัมมอส ผลการทดลองพบว่า ถ่านหุงต้มปิดทับด้วยสแฟกนัมมอสมีผลทำให้ลูกกล้วยไม้เจริญเติบโตดีทั้งทางด้านต้น ใบ และราก

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานของกล้วยไม้ลูกผสม ซึ่งได้ทำการผสมระหว่างสกุลม้าวิงและสกุลฟาแลนอปซิส และระหว่างสกุลม้าวิงและสกุลเข็ม ได้ผลผลิต 4 คู่ผสม คือ 1) แดงอุบล x เข็มแสด 2) แดงอุบล x เข็มแดง 3) แดงอุบล x ฟาแลนอปซิส ขาวปากแดง 4) ฟาแลนอปซิส เวดดิ้ง x แดงอุบล โดยลูกผสมทั้ง 4 คู่ผสม มีลักษณะของใบที่แตกต่างกัน เมื่อปลูกเลี้ยงต่อไปสามารถปลูกเลี้ยงจนออกดอก 2 คู่ผสม คือ แดงอุบล x เข็มแดง และ ฟาแลนอปซิส เวดดิ้ง x แดงอุบล ซึ่งทั้งสองคู่ผสมมีความเหมาะสมที่จะเป็นไม้ประดับกระถาง เนื่องจากต้นและช่อดอกมีขนาดกะทัดรัด ดอกมีความทนทาน ต้นสามารถทนทานต่อโรคและแมลง ได้นำกล้วยไม้ทั้งสองคู่ผสมทำการจดทะเบียนกล้วยไม้ลูกผสมพันธุ์ใหม่ที่ The Royal Horticultural Society ณ ประเทศอังกฤษ จำนวน 2 ชื่อ คือ *Asconopsis Purple Ubon* และ *Phalaenopsis Warin Bride*

การวิเคราะห์ DNA เพื่อตรวจสอบเอกลักษณ์ลูกผสมสายพันธุ์ใหม่ โดยใช้เครื่องหมาย EST-SSR-B34 ตรวจสอบเอกลักษณ์ลูกผสมของกล้วยไม้ที่ได้รับการผสมพันธุ์ระหว่าง แดงอุบล รหัส NK13 x ฟาแลนอปซิส 1 ขาวปากแดง สามารถแสดงเอกลักษณ์ของลูกผสมที่แตกต่างจากพ่อและแม่ได้และยืนยันการเป็นลูกผสมที่แท้จริงได้

Abstract

The hybridization of *Doritis* orchid was done in order to produce new orchid pot plant with a beautiful flower and year-round flowering. The project was undertaken by collecting plant specimens of *Doritis*, *Phalaenopsis* and *Ascocentrum* as parents. The crosses between *Doritis* and *Phalaenopsis*, and *Doritis* and *Ascocentrum* were done producing 44 hybrid capsules. Hybrid seeds from all capsules were cultured under aseptic condition and it was found that only 6 hybrids developed into plantlets, with only a few plantlets in total. In order to increase plantlet numbers, basal leaf segments of *D. pulcherrima* and *D. pulcherrima* var. *buyssoniana* were cultured on New Dogashima medium (NDM) with 0-10 mg/l Thidiazuron (TDZ) to induce protocorm-like bodies (PLBs). The result showed that TDZ at 1-10 mg/l produced PLBs, shoot and root. Histological study showed that somatic embryos originated from the epidermal layers at the base of basal leaf segment. Next, somatic embryos developed into three forms, that was PLBs, shoot and root. This technique may thus be applied to increase numbers of *Doritis* hybrid plantlets in short time period.

Increasing the efficiency of intergeneric hybridization was done by 1) the study of capsule age; 1, 1.5, 2 and 2.5 months, and 2) the study of 5 culture media; Vacin & Went (VW), VW + 100 mg/l 2,4-D, VW + 50 mg/l Dicamba, VW + 1 mg/l Kinetin plus 0.1 mg/l NAA and VW + 2 g/l Peptone). The two months old capsule that cultured in VW medium supplement with 1 mg/l Kinetin plus 0.1 mg/l NAA was found to be highly effective, with 61 embryos rescued.

The suitable culture medium for *in vitro* growth of *Doritis* hybrid (*Phalaenopsis* Wedding x *D. pulcherrima* var. *buyssoniana*) was investigated. Seedlings of *Doritis* hybrid were cultured in 2 media; Vacin & Went (VW) and ½ Murashige & Skoog (MS) with no supplement or supplement with 0.5, 1.0 mg/l Kinetin or BAP and with or without 0.1 mg/l NAA. The best response in seedling growth was observed on ½ MS medium without hormone.

The suitable potting substrate on *ex vitro* growth of *Doritis* hybrid plantlets was evaluated. The 4 potting substrates; sphagnum moss, coconut bark, charcoal, and charcoal covered with sphagnum moss, were tested. The charcoal covered with sphagnum moss showed the best plantlet growth in shoot, leaf and root.

The morphology of *Doritis* hybrid was studied in the cross between *Doritis* and *Phalaenopsis*, and *Doritis* and *Ascocentrum* which produce 4 hybrids: 1) *D. pulcherrima* var. *buyssoniana* x *A. miniatum* 2) *D. pulcherrima* var. *buyssoniana* x *A. curvifolium* 3) *D. pulcherrima* var. *buyssoniana* x *P. Khao Pak Daeng* 4) *P. Wedding* x *D. pulcherrima* var. *buyssoniana*. The four hybrids each presented a different leaf pattern and only 2 hybrids, *D. pulcherrima* var. *buyssoniana* x *A. curvifolium* and *P. Wedding* x *D. pulcherrima* var. *buyssoniana* had flowers. These two hybrids are suitable as orchid pot

plants because of their compact size of plant and inflorescence, their having long flower life and their pest resistance. The two new hybrids were registered at the Royal Horticultural Society in the name of *Asconopsis* Purple Ubon and *Phalaenopsis* Warin Bride.

A molecular marker was used to identify the genotype of the new hybrid. The EST-SSR-B34 marker indicates the specific genetic profiles of *D. pulcherrima* var. *buyssoniana* (NK13) x *P.* Khao Pak Daeng hybrid and its parents. Thus this marker proves that the hybridization was successful.