

บทคัดย่อ

การศึกษาการชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มไลค์บอดีและการเพิ่มชุดโครโมโซมของกล้วยไม้ *Phalaenopsis amabilis* และ *P. parishii* จากใบอ่อน มี 3 การทดลองประกอบด้วย 1. การชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มไลค์บอดีโดยสูตรอาหารที่เหมาะสม พบว่า ใบอ่อนกล้วยไม้ *P. amabilis* สามารถชักนำให้เกิดโปรโตคอร์มไลค์บอดี ได้มากที่สุด คือ เฉลี่ย 1.2 โปรโตคอร์ม/ชิ้น เมื่อเลี้ยงบนธาตุอาหารหลักสูตร 1/2VW ที่เติมน้ำตาล 2% น้ามะพร้าว 15% NAA 0.1 และ TDZ 0.1 มก./ล. แต่ใบอ่อนกล้วยไม้ *P. parishii* ไม่มีการตอบสนองต่อกรรมวิธีใดๆจากการศึกษาครั้งนี้ 2. การชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมโดยใช้สารละลายโคลชิซิน ที่ความเข้มข้น 0, 0.01, 0.025, 0.05 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 1, 5 และ 10 วัน พบว่า โปรโตคอร์มของกล้วยไม้ *P. amabilis* สามารถถูกกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มจำนวนโครโมโซมได้ โดยการให้สารละลายโคลชิซิน 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 วัน ในขณะที่โปรโตคอร์มกล้วยไม้ *P. parishii* ไม่สามารถเลี้ยงให้มีชีวิตรอดได้หลังจากการได้รับสารละลายโคลชิซิน

3. การศึกษาวิธีการหาจำนวนโครโมโซมจากปลายรากของต้นกล้วยไม้ *P. amabilis* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยทำการศึกษาหาช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการเก็บตัวอย่างปลายรากที่เวลา 7.00, 8.00 และ 9.00 น. และระยะเวลาการหยุดวงจีพเซลล์ในสารละลายพาราไดคลอโรเบนซีน (PDB) นาน 4, 8 และ 12 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่ในน้ำยารักษาสภาพเซลล์ และนำไปย้อมปลายรากด้วยสี carbol fuchsin นาน 2 ชั่วโมง จากการศึกษาปลายรากพบว่า การเก็บตัวอย่างปลายรากที่เวลา 8.00 น. และแช่สารละลาย PDB นาน 8 ชั่วโมงให้ผลดีที่สุด จากการตรวจนับโครโมโซม พบว่า เซลล์ปลายรากของ *P. amabilis* ปกติมีจำนวนโครโมโซม $2n = 2x = 38$ และเซลล์ปลายรากของต้นที่สามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซม มีจำนวนชุดโครโมโซมเป็น $2n = 4x = 76 \pm 2$

Abstract

The studies on protocorm-like body (PLB) induction and chromosome doubling of *Phalaenopsis amabilis* and *P. parishii* from young leaves comprising were conducted in 3 experiments. Firstly, suitable media for PLB induction were tested. It was found that PLB of *P. amabilis* could be induced from young leaves, 1.2 PLB/explant in average, using 1/2VW macronutrient supplemented with 2% sucrose, 15% coconut water, 0.1 mg/l NAA and 0.1 mg/l TDZ. However, *P. parishii* showed no response to the tested treatments. Secondly, colchicine solution at 0, 0.01, 0.025, 0.05 and 0.1 %, was applied on the protocorms of *P. amabilis* and *P. parishii* for 1, 5 and 10 days, in order to increase polyploidy of both plants. It was found that colchicines solution at 0.05 % for 5 days could increase ploidy levels of *P. amabilis* protocorms, whereas no protocorm of *P. parishii* could survive. Lastly, suitable chromosome counting protocol was studied. Root tip of *P. amabilis* derived from *in vitro* was sampled at different times of day, 7.00, 8.00 and 9.00 am, and it was fixed in paradichlorobenzene (PDB) for 4, 8 and 12 hours. After the treatment, root tips were transferred to preservative solution and dyed with carbol fuchsin for 2 hours. The sample that collected at 8.00 am and fixed in the PDB for 8 hours gave the best result. Ordinary plant of *P. amabilis* has $2n=2x=38$, whereas those plants treated with colchicine has $2n=4x=76 \pm 2$.