

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสาร โคลชิซินและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในกล้วยไม้ม้าวิ่ง (*Doritis pulcherrima* Lindl.) เอื้องเงิน (*Dendrobium draconis* Rchb.f) และมิสสิงคโปร์ (*Dendrobium* Miss Singapore) โดยการเพาะเลี้ยง โพรโทคอร์มกล้วยไม้ม้าวิ่งในอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร NDM ส่วนโพรโทคอร์มกล้วยไม้ เอื้องเงินและมิสสิงคโปร์เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสังเคราะห์สูตร MS ร่วมกับสารโคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 0.01, 0.05 และ 0.1% (v/v) เป็นเวลา 1, 2, 3 และ 4 วัน ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ในที่มีด ผลการศึกษาพบว่า อัตราการรอดชีวิตและการเกิดยอดของกล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิดลดลง เมื่อเพาะเลี้ยงใน อาหารเหลวสังเคราะห์ที่เติมสารโคลชิซินความเข้มข้นสูงและระยะเวลาเพาะเลี้ยงนานขึ้น สำหรับ ความเข้มข้นของสารโคลชิซินและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ของ กล้วยไม้ม้าวิ่งและเอื้องเงินคือ สารโคลชิซินความเข้มข้น 0.05% ระยะเวลา 3 วัน ตามลำดับ ส่วน อาหารเหลวสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารโคลชิซินความเข้มข้น 0.01% ระยะเวลา 2 วัน มี ประสิทธิภาพต่อการชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในกล้วยไม้มิสสิงคโปร์ได้ดีที่สุด จากการตรวจนับ จำนวนโครโมโซมของกล้วยไม้ทั้งหมด โดยใช้เทคนิค squash พบว่า จำนวนโครโมโซมของ กล้วยไม้ทั้ง 3 ชนิดที่ไม่ได้รับสารโคลชิซินมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ $2n=2x=38$ ส่วนกล้วยไม้ ม้าวิ่งที่ได้รับสารโคลชิซินมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ $2n=4x=76$ และ $2n=8x=152$ สำหรับ กล้วยไม้เอื้องเงินและมิสสิงคโปร์มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ $2n=4x=76$ สามารถยืนยันผลการ ตรวจวิเคราะห์ระดับพลอยดีของกล้วยไม้เหล่านี้ ด้วยการวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอ โดยใช้ฟลูออโรเมทรี จากการศึกษาลักษณะใบ ปริมาณคลอโรฟิลล์ และขนาดเซลล์คุมของกล้วยไม้โพลีพลอยด์ พบว่า ใบ ของกล้วยไม้โพลีพลอยด์มีลักษณะใบหนา สีเขียวเข้ม ปริมาณคลอโรฟิลล์ และขนาดเซลล์คุม เพิ่มขึ้น แต่มีจำนวนเซลล์คุมต่อพื้นที่น้อยกว่ากล้วยไม้ดิพลอยด์

The objectives of this research were to investigate the optimal colchicine concentration and suitable duration to induce polyploid in *Doritis pulcherrima* Lindl., *Dendrobium draconis* Rchb.f and *Dendrobium* Miss Singapore. Protocorms of *D. pulcherrima* were treated with 0, 0.01, 0.05 and 0.1% (v/v) colchicine in liquid New Dogashima Medium for 1, 2, 3 and 4 days at $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ under dark condition whereas *Den. draconis* and *Den.* Miss Singapore were treated with the same concentration of colchicine in liquid MS medium. The results showed that the percentage of plantlet survival and shoot regeneration decreased when colchicine concentration and treatment duration increased. The optimal colchicine concentration and treatment duration for inducing highest polyploidy of *D. pulcherrima* and *Den. draconis* were 0.05% and 3 days, respectively. The protocorms of *Den.* Miss Singapore were successfully induced in liquid MS medium supplemented with 0.01% colchicine for 2 days. Chromosome number of these orchids was determined by using squash technique. The results showed that the chromosome number of non-treated orchids was $2n=2x=38$. We found that the chromosome number of treated *D. pulcherrima* was $2n=4x=76$ and $2n=8x=152$, whereas the chromosome number of treated *Den. draconis* and *Den.* Miss Singapore were $2n=4x=76$. Ploidy level of these orchids was also confirmed from DNA content by using flow cytometry. The characteristics of polyploid orchids could be observed from leaves, chlorophyll content and size of guard cells. It was found that the leaves of polyploid orchids were thicker and their green color was darker when compared with diploid orchids. The former had higher chlorophyll content, larger guard cells and the lower number of guard cells per unit area than the latter.