การใช้สารโคลชิซีนเพื่อชักนำให้เกิดโพลี่พลอยด์ของเด็นโดรบิอุม

นางสาวกัญญา ไชยเจริญ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
แผนกวิชาพฤกษศาสตร์
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2516

008672

INDUCTION OF POLYPLOIDY IN DENDROBIUM BY COLCHICINE TREATMENT

Miss Kanya Chaichareon

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Botany

Graduate School

Chulalongkorn University

1973

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการตรวจวิทยานิพนธ์ ..... ประธานกรรมการ

..... กรรมการ

..... กรรมการ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อาจารย์ผู้ควบคุมการวิจัย รองศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การใช้สารโคลชิซีนเพื่อชักนำให้เกิดโพลี่พลอยด์ของเด็นโดรบิอุม
ชื่อ นางสาวกัญญา ไชยเจริญ
แผนกวิชา พฤกษศาสตร์
ปีการศึกษา 2516

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

การใช้สารโคลชิซีนเพื่อชักนำให้ลูกผสมของกล้วยไม้สกุล Dendrobium ชนิดต่างๆ มีจำนวนโครโมโซมเพิ่มขึ้นจากเดิม ส่วนที่ใช้แช่สารนี้คือ callus, protocorm like body และต้นอ่อนที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ จาก meristem และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ด ความเข้มข้นของโคลชิซีนที่ใช้คือ 0.05 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ เวลา 3,4 และ 10 วัน

จำนวนโครโมโซมนับจากเซลของปลายรากโดยการทำสไลด์ชั่วคราวย้อมด้วยวิธีของ Feulgen จากการนับโครโมโซม 130 ต้น ที่มาจาก diploid ปรากฏว่าเป็น tetraploid และ near tetraploid 63.07 เปอร์เซ็นต์ octoploid และ near octoploid 20.77 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพวกที่กลายเป็น hexaploid, heptaploid, aneuploid และ mixoploid มีเพียง 1 หรือ2 ต้นเท่านั้น และพวกที่ยังคงเป็น diploid มีเหลือเพียง 11.54 เปอร์เซ็นต์ จากพวกที่เป็น triploid อยู่แต่เดิม 74 ต้น กลายเป็น hexaploid และ near hexaploid 71.63 เปอร์เซ็นต์ ยังคงเป็น triploid ตามเดิม 21.63 เปอร์เซ็นต์ นอกนั้นเป็น pentaploid และ mixoploid ส่วนพวกที่เริ่มต้นจาก pentaploid 24 ต้น ส่วนใหญ่ยังคงเป็น pentaploid ตามเดิมคือ 79.17 เปอร์เซ็นต์ เป็น heptaploid 8.33 เปอร์เซ็นต์ และ near octoploid 12.50 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่พบต้นใดที่เป็น decaploid ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมเป็นสองเท่าของเดิมเลย

จากการศึกษาความหนาของใบ และขนาดของ guard cell ผลปรากฏว่าความหนาของใบ diploid เมื่อเทียบกับ tetraploid และของ triploid เมื่อเทียบกับ hexaploid มีนัยสำคัญต่างกันทางสถิติ ส่วนความกว้างและยาวของคู guard cell ของใบเหล่านั้นก็มีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ลักษณะทั่วๆไปของต้นอ่อนที่มีจำนวนโครโมโซมต่างกันพอสังเกตได้คือ tetraploid มีใบเขียวกว่าของ diploid ส่วน octoploid ใบหนากว่าของ tetraploid ผิวใบเป็นคลื่นและการเจริญของต้นช้ามาก ส่วนใบของ hexaploid เขียวกว่า กว้างกว่า และยับเล็กน้อย เมื่อเทียบกับของ triploid

ลักษณะดอกของ tetraploid ต่างจากของ diploid ในสาระสำคัญคือ ขนาดดอกและความกว้างของกลีบเพิ่มขึ้น ความหนาของกลีบดอกเพิ่มขึ้น ขนาด pollen ของ tetraploid ใหญ่กว่าของ diploid แต่ทั้งสองชนิดไม่งอก ใน stigmatic fluid เลย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Thesis Title Induction of Polyploidy in Dendrobium by Colchicine Treatment

Name Miss Kanya Chaichareon

Department Botany

Academic Year 1973

ABSTRACT

A method for the induction of polyploidy in Dendrobium by using colchicine was established. Calluses, protocorm - like bodies and plantlets from tissue culture as well as seedlings were subjected to various treatments. Concentrations of colchicine solution of 0.05 and 0.2 percent for duration of 3,4 and 10 days were found to be effective.

Chromosome counts were made from temporary slides prepared from root tips by the squash method. A total of 130 plants regenerated from the diploid stocks were studied, of which 63.07 percent became tetraploid and near tetraploid while 11.54 percent remained diploid. Other heteroploids - hexaploids, heptaploids, some aneuploids and some mixoploids were also observed. The occurrence of each of these groups was limited to about one or two plants per group. From the triploid stocks, seventy - four plants were studied. Occurrences of hexaploid and near hexaploid were as high as 71.63

percent, while 21.63 percent had the original triploid number and a few were pentaploid and mixoploid.

Of the twenty four pentaploids treated, the majority 79.17 percent remained the same; 8.33 percent became heptaploid and 12.50 percent became near octoploid. But none of them was found to be a decaploid (i. e. having a chromosome number twice the original one.)

The thickness of the leaf and the size of the guard cell were studied. The differences in thickness between the leaves of diploid and tetraploid or of triploid and hexaploid were found to be statistically significant. Similar results were obtained when the guard cell pairs of these leaves were compared.

Other characteristics of the plantlets were also observed to be different; for example the tetraploids generally had greener leaves than those of the diploid counterpart. The octoploid plants and very thick leaves with rough surfaces, and the growth of these plants was much retarded. Similarly the hexaploid leaves were relatively thick and wrinkled when compared with those of the triploids.

Flowers of the tetraploid plants differed appreciably from those of the diploids, e.g. the size of the whole flower and the width of the petals were greater than those of the diploids, and the petals were also thicker. The pollens of the tetraploids were larger than those of the diploids, but neither of them germinated in the stigmatic fluid.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชราภัย อาจารย์ผู้ควบคุมการวิจัย ศาสตราจารย์วิรุฬห์ สุวรรณกิตติ หัวหน้าแผนกวิชาพฤกษศาสตร์ ศาสตราจารย์กสิน สุวตะพันธุ์ อาจารย์ ดร. กันยารัตน์ ไชยสุต อาจารย์ ดร. อบฉันท์ ไทยทอง อาจารย์มนฑกานติ วัชราภัย อาจารย์อรดี อินทุวงศ์ แห่งแผนกวิชาพฤกษศาสตร์ อาจารย์พิเชษฐ์ จันทรนวพงศ์ แผนกวิชาฟิสิกส์ และศาสตราจารย์ระพี สาคริก แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งได้ให้คำปรึกษาแนะนำ และให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือด้วยความกรุณาตลอดมาทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ผู้เขียนขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงแด่ทุกท่านที่กล่าวนามมาแล้วไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบาญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

รายการตารางประกอบ ..... ฌ

รายการภาพประกอบ ..... ฎ

บทที่

1 บทนำ 1

2 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง 15

3 ผลการทดลอง 25

4 การอภิปรายผลการทดลอง 63

5 ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ 77

บรรณานุกรม 81

ภาคผนวก 90

ประวัติการศึกษา 91

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการตารางประกอบ

หน้า

ตารางที่

1. polyploid ของพืชสกุลต่างๆ ที่สร้างขึ้นจากการใช้สาร-โคลชิซีน 9

2. polyploid ของกล้วยไม้สกุลต่างๆ ที่สร้างขึ้นจากการใช้สาร-โคลชิซีน 10

3. รายชื่อกล้วยไม้ที่นำมาทดลอง ชื่อพ่อ แม่ section พ่อและแม่ 16

4. ความเข้มข้นของสารละลายโคลชิซีน และระยะเวลาที่ใช้-ในการทดลอง 20

5. ปริมาณของเนื้อเยื่อที่ตาย และลักษณะทางสัณฐานของเนื้อเยื่อหลังเอาออกจากสารละลายโคลชิซีน 26

6. จำนวนโครโมโซมของ D. Caesar เลขที่ 2 และ 3 หลังจากแช่สารละลายโคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 และ 4 วัน และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน 29

7. จำนวนโครโมโซมของ D. superbiens เลขที่ 1 และ 2 หลังจากแช่สารละลายโคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน 31

8. จำนวนโครโมโซมของ ⊗D. May Neal หลังจากแช่สารละลาย-โคลชิซีน 0.05 เปอร์เซ็นต์ 10 วัน และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วันและ 4 วัน 35

9. จำนวนโครโมโซมของ D. Lim Chong Min x D. formosum หลังจากแช่โคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ 1 วัน .. 37

รายการตารางประกอบ (ต่อ)

หน้า

ตารางที่

10. จำนวนโครโมโซมของ D. Caesar เลขที่ 1 หลังจากแช่โคลชิซีน0.05 เปอร์เซ็นต์ 10วัน และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน 39

11. จำนวนโครโมโซมของ D. Desaputra หลังจากแช่โคลชิซีน0.2 เปอร์เซ็นต์2 $\frac{1}{6}$ และ 3วัน 41

12. จำนวนโครโมโซมของ D. Majesticหลังจากใช้โคลชิซีน 0.2เปอร์เซ็นต์3,4 วัน และ0.05 เปอร์เซ็นต์10 วัน.. 44

13. จำนวนโครโมโซมของลูกผสม Dendrobium ซึ่งเดิมเป็น diploid 46

14. จำนวนโครโมโซมของลูกผสม Dendrobium ซึ่งเดิมเป็น triploidและ pentaploid 48

15. ค่าเฉลี่ยความกว้างและยาวของ diploid และ tetraploid guard cell..... 50

16. ค่าเฉลี่ยความกว้างและยาวของ triploid และ hexaploid guard cell 52

17. ค่าเฉลี่ยความหนาของใบ diploid และ tetraploid.. 53

18. ค่าเฉลี่ยความหนาของใบ triploidและ hexaploid.. 54

19. ค่าเฉลี่ยความกว้างและยาวของ tepal ความหนาของ petal เส้นผ่าศูนย์กลางของก้านชอดอก guard cell ความหนาของใบ และขนาดของ pollen quartet 62

รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1.	ระยะต่างๆ ของเนื้อเยื่อลูกผสม Dendrobium ก่อนที่จะนำไปแช่สารละลายโคลชิซีน	19
2.	แสดงต้นและโครโมโซมของ triploid และ hexaploid ของ D. Lady Hamilton x D.May Neal	21
3.	โครโมโซมของ D. Caesar เลขที่ 2	30
4.	โครโมโซมของ D. superbiens เลขที่ 1	32
5.	โครโมโซมของ D. superbiens เลขที่ 2	33
6.	โครโมโซมของ ⓧ D. May Neal	36
7.	โครโมโซมของ D. Lim Chong Min x D. formosum	38
8.	โครโมโซมของ D. Caesar เลขที่ 1	40
9.	โครโมโซมของ D. Desaputra	42
10.	โครโมโซมของ D. Majestic	45
11.	guard cell ของ diploid และ tetraploid ของ D. Caesar เลขที่ 2	49
12.	ต้น diploid , tetraploid และ octoploid ของ D. Caesar เลขที่ 2	56
13.	ต้น triploid และ hexaploid ของ D. Caesar เลขที่ 1	57

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่

14. ต้น triploid และ hexaploid ของ D. Desaputra 58

15. เปรียบเทียบช่อดอก diploid และ near tetraploid ของ D. Caesar เลขที่ 3 60

16. เปรียบเทียบดอก diploidและ near tetraploid ของ D. Caesar เลขที่ 3 61

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย