

พันธกรรมของต้นกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์เอื้องสกุลที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก NaN_3 และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ พบว่าเครื่องหมายทั้งสองไม่มีความสัมพันธ์กัน ($r=0.19$) และเครื่องหมาย ISSR มีประสิทธิภาพสูงกว่า เนื่องจากมีความสามารถในการจำแนกต้นสายพันธุ์กล้วยสูงกว่า จากการนับจำนวนโครโมโซมบริเวณปลายราก พบว่าต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์จาก NaN_3 และต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์มีจำนวนโครโมโซม $2n=2x=24$ แสดงว่า NaN_3 ทั้งสองความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซม จากผลการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่า NaN_3 สามารถก่อกลายพันธุ์ PLBs ของกล้วยไม้สกุลหวายได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเครื่องหมาย ISSR เป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพ สามารถใช้ในการจำแนกต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ออกจากต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ได้ตั้งแต่ระยะแรก



ANAKKAORN WANNAJINDAPORN : MUTATION INDUCTION OF
Dendrobium 'Earsakul' USING SODIUM AZIDE. THESIS ADVISOR :
PROF. PIYADA ALISHA TANTASAWAT, Ph.D., 112 PP.

CYTOLOGY/DENDROBIUM/ISSR/MORPHOLOGY/MUTATION/ORCHID/
SODIUM AZIDE

The orchid is one of the most important economic ornamentals in Thailand. Owing to its beauty and high diversity, there has been a lot of demand domestically and internationally. Therefore, breeding new varieties for high quality and yield is essential. Mutation breeding is an alternative for orchid improvement. The objective of this research was to perform mutation breeding of *Dendrobium* 'Earsakul' using sodium azide (NaN_3) in vitro. The experiment was divided into 2 parts: (1) chemical mutagenesis of *Dendrobium* 'Earsakul' protocorm-like bodies (PLBs) using NaN_3 and (2) selection and evaluation of mutants, which was divided into 3 experiments: 2.1) selection and evaluation with morphological characters, 2.2) selection and evaluation with molecular markers, and 2.3) selection and evaluation with cytological method. When reverse osmosis water (ROW; control 1) and various concentrations of NaN_3 (0 (control 2), 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 and 4.0 mM) were evaluated to determine the optimal concentrations for inducing mutation of *Dendrobium* 'Earsakul' PLBs and the percentages of mortality were recorded at 3 days, 1 and 2 weeks, it was found that the percentages of mortality of PLBs increased with the increasing concentrations of NaN_3 . The 30% (LD_{30}) and 50% (LD_{50}) mortality rates were obtained with 0.1 and 0.5 mM NaN_3 , respectively. PLBs were mutagenized at the concentrations of 0.1 and 0.5 mM NaN_3 and cultured for 6 months before being transferred to a greenhouse.

The nonmutagenized PLBs were treated with ROW (control 1) and 0 mM NaN_3 (control 2). Morphological alterations have been observed in some putative mutants: dwarf, more and shorter internodes, short and thick leaves, short roots and reduced root numbers, which differed from nonmutagenized controls where no change was observed. When genetic profiles of 24 putative mutants from mutagenesis using 0.1 and 0.5 mM NaN_3 were compared to 10 nonmutagenized controls using inter-simple sequence repeats (ISSR) markers, altered DNA profiles were found in 20 out of these 24 putative mutants (83.33%). Sixty-three polymorphic bands were produced from a total of 181 bands (34.81%) by 10 polymorphic ISSR primers. Genetic diversity and relatedness were evaluated among NaN_3 mutagenized plants and nonmutagenized controls by means of ISSR analysis and morphological characters. No correlation was found between ISSR and morphological markers. In addition, ISSR had higher mutant differentiation capability, indicating its higher efficiency. The counting of chromosome numbers in the root tips showed that NaN_3 mutagenized plants and nonmutagenized controls had the same chromosome number of $2n=2x=24$, suggesting that both concentrations of NaN_3 had no effect on the chromosome number. These results indicated that NaN_3 can be effectively utilized to mutagenize *Dendrobium* 'Earsakul' PLBs, and the ISSR marker is a powerful tool for identification of mutants at an early stage.

School of Crop Production Technology

Academic Year 2015

Student's Signature _____

Advisor's Signature _____