หัวข้อวิทยานิพนธ์ การพัฒนาข้าวสายพันธุ์แท้โดยเทคนิคดับเบิลแฮพลอยด์

ผู้เขียน นายโสภณ บุญธรรม

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คณะกรรมการที่ปรึกษา

รศ.ดร. ณัฐา โพธาภรณ์	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
รศ.ดร. ประสาทพร สมิตะมาน	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
ดร. ธีรยุทธ ตู้จินดา	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีลักษณะดีตามต้องการ ได้แก่ ผลผลิตสูง คุณภาพเมล็ดดี มีความต้านทานต่อโรคและแมลงนั้น เพื่อให้ได้ต้นที่มีลักษณะดีดังกล่าวจำเป็นต้องใช้พืชสายพันธุ์แท้ซึ่งนักปรับปรุงพันธุ์พืชมักใช้วิธีการแบบดั้งเดิมโดยใช้เทคนิคการผสมตัวเองไม่น้อยกว่า 7-8 ชั่วรุ่น จึงจะได้สายพันธุ์แท้ วิธีการแบบใหม่ที่ใช้การเพาะเลี้ยงอับเรณูและรังไข่ของข้าว สามารถผลิตต้นแฮพลอยด์ (n = x) และดับเบิลแฮพลอยด์ (2n = 2x) ช่วยให้การสร้างข้าวสายพันธุ์แท้ที่มีความคงตัวทางพันธุกรรม (homozygous line) และช่วยทำให้พันธุกรรมที่เกิดจากการรวมตัวกันของยีนในแบบต่าง ๆ เข้าสู่สมดุลได้เร็วมากขึ้น (fixed recombination) ทำให้ลดเวลาและมีความสำเร็จสูง จากการทดลองเพาะเลี้ยงอับเรณูและรังไข่ของข้าวลูกผสมกลับรุ่นที่ BC_3F_6 ที่ได้จากคู่ผสม Rathu Heenati/KDML 105 จำนวน 10 สายพันธุ์ และข้าวลูกผสมกลับรุ่นที่ BC_4F_3 ที่ได้จาก Rathu Heenati/KDML105//Chai Nat 1 จำนวน 2 สายพันธุ์ พบว่าอาหารที่เหมาะสมสามารถชักนำให้เกิด

แคลลัสจากอับเรณูได้ทุกสายพันธุ์ คือ อาหารสูตร N6 ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 3 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 50 กรัมต่อลิตร โดยให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุดที่ 16.23 และ 15.67 เปอร์เซ็นต์ จากสายพันธุ์ 325(3)-(1) และ 237(4)-(1) ตามลำดับ ในขณะที่การเพาะเลี้ยงรังไข่ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 10.85 เปอร์เซ็นต์ จากสายพันธุ์ CH75 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร N6 ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 40 กรัมต่อลิตร อัตราการเกิดต้นสีเขียวจากแคลลัสของทั้งอับเรณูและรังไข่คิดเป็น 3.75 และ 7.46 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ sucrose 30 กรัมต่อลิตร โดยต้นสีเขียวที่ได้จากเพาะเลี้ยงอับเรณู 3 ต้น และจากรังไข่ 5 ต้น แสดงลักษณะที่เป็นต้นแฮพลอยด์ โดยมีจำนวนโครโมโซมเพียงชุดเดียว ซึ่งสามารถยืนยันจากการนับจำนวนโครโมโซม ขนาดของเซลล์ปากใบ จำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์ปากใบ และความสูงของต้นเป็นเกณฑ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Development of Pure Line Rice by Double Haploid Techniques

Author Mr. Sophon Boontham

Degree Master of Science (Biotechnology)

Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Nuttha	Potapohn	Advisor
Assoc. Prof. Dr. Prasartporn	Smitamana	Co-advisor
Dr. Theerayut	Toojinda	Co-advisor

ABSTRACT

Rice breeding has been employed for the best varieties that high yielding, good grain quality, diseases and insects resistant are noted. Generally conventional breeding has been used by most breeders to create such varieties. However, in order to accomplishthis this goal, the pure line is required and usually it takes not less than 7-8 generations of selfing to obtain. An alternative way to produce pure line is to employ either anther or ovary culture for producing haploid (n=x) and double haploid (2n=2x) in rice. This process can produce homozygous line and rapid fixed recombination. It consumes less time and achievement. The ovaries and anthers of 10 backcross lines (BC_3F_6) of a cross Rathu Heenati/KDML 105 and 2 backcross lines (BC_4F_3) of a cross Rathu Heenati/KDML 105//Chai Nat 1 were cultured for callus induction. The results showed that calli from all lines of anther induced callus when cultured on N6 medium supplemented with 2 mg/L NAA, 2 mg/L

2,4-D, 3 mg/L kinetin, 500 mg/L casein hydrolysate and 50 g/L maltose, which gave the highest percentage of calli induction (16.23 and 15.67% from 325(3)-(1) and 237(4)-(1) lines, respectively). The highest percentage of calli induction (10.85%) from the ovary culture was obtained when cultured on N6 medium supplemented with 2 mg/L NAA, 2 mg/L 2,4-D, 1 mg/L kinetin, 500 mg/L casein hydrolysate and 40 g/L maltose. The calli from anther and ovary were regenerated to green plantlet on MS medium supplemented with 2 mg/L BAP, 0.5 mg/L NAA, 500 mg/L casein hydrolysate and 30 g/L sucrose. The percentage of calli development from ovary (7.46%) was greater than anther (3.75%) on same medium. Three and five plants derived from anther and ovary culture respectively were selected and proved to be haploid using chromosome counting, guard cell size, chloroplast number in the guard cell and plant height.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved