สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ ค

บทคัดย่อภาษาไทย ง

ABSTRACT ฉ

สารบาญตาราง ญ

สารบาญภาพ ฎ

รายการอักษรย่อ ฒ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ประวัติความเป็นมา 1

1.2 วัตถุประสงค์ 2

บทที่ 2 ตรวจเอกสาร 3

2.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงอับเรณูและรังไข่ของข้าว 6

2.2 การเพิ่มจำนวนโครโมโซมแบบทวีคูณ 10

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง 12

3.1 การเตรียมต้นข้าวสำหรับการทดลอง 12

3.2 การทดสอบผลของการ Pretreatment ที่มีผลต่อความอยู่รอดของรังไข่เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร 16

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3 ทดสอบผลของแสงต่อความอยู่รอดและการพัฒนาของรังไข่ 16
3.4 ทดสอบผลของการเลี้ยงร่วมกันระหว่างรังไข่และอับเรณู 17
3.5 การทดลองสูตรอาหารสำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสจากรังไข่และอับเรณู 17
3.6 การทดลองสูตรอาหารสำหรับการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสที่ได้จาก รังไข่และอับเรณู 18
3.7 การเพิ่มจำนวนโครโมโซม 17
3.8 การศึกษาจำนวนโครโมโซม และตรวจสอบเซลล์ชั้นผิวของใบ 18
3.9 การศึกษาลักษณะทางการสัณฐานวิทยา และลักษณะทางการเกษตร ของต้นข้าวแฮพลอยด์ 19

บทที่ 4 ผลการทดลอง 20

4.1 ทดสอบการ pretreatment ที่มีผลต่อความอยู่รอดของรังไข่เมื่อนำมา เพาะเลี้ยงบนอาหาร 20
4.2 ผลจากการทดลองเพาะเลี้ยงรังไข่ ในสภาพมีแสงและไม่มีแสง 21
4.3 ผลของการเลี้ยงร่วมกันระหว่างรังไข่และอับเรณู 22
4.4 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสของ รังไข่และอับเรณู 25
4.5 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส ของรังไข่และอับเรณู 30
4.6 การเพิ่มจำนวนโครโมโซม 36
4.7 การศึกษาจำนวนโครโมโซม และตรวจสอบชั้นเอพิเดอร์มิสของใบ 38
4.8 การศึกษาลักษณะทางการสัณฐานวิทยา และลักษณะทางการเกษตร ของต้นข้าวแฮพลอยด์ 39

บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง 45

บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง 49

เอกสารอ้างอิง 51

ภาคผนวก 59

ประวัติผู้เขียน 75

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 3.1 แสดงรายชื่อสายพันธุ์ข้าว ที่มา และแหล่งที่มา 13

ตารางที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ 237(4)-(1) 325(3)-(1) CH71 และ CH75 บนอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสสูตรต่างๆ เป็นเวลา 10-45 วัน 26

ตารางที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงอับเรณูของข้าวสายพันธุ์ 237(4)-(1) 325(3)-(1) CH71 และ CH75 บนอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสสูตรต่างๆ เป็นเวลา 40-50 วัน 28

ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงอับเรณูและรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ บนอาหารสูตร A2 (N6 ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร kinetin 3 มิลลิกรัมต่อลิตร CH 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ maltose 50 กรัมต่อลิตร) เป็นเวลา 40-60 วัน 29

ตารางที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณูและรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ CH75 บนอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นสูตรต่างๆ 35

ตารางที่ 4.5 อัตราการรอดตายของต้นข้าวแฮพลอยด์หลังถูกแช่ในสารละลายโคลชิซินที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาการแช่สารต่างกัน 37

ตารางที่ 4.6 ขนาดเซลล์คุมปากใบ และจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมปากใบของต้นแฮพลอยด์ และต้นปกติ 39

ตารางที่ 4.7 ลักษณะทางการเกษตรของต้นข้าวแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ (HO) และอับเรณู (HA) เปรียบเทียบกับต้นข้าวปกติสายพันธุ์ CH71 และ CH75 44

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 3.1	การเตรียมต้นข้าวในสภาพปลอดเชื้อเพื่อใช้ในการทดลอง (a) ต้นข้าวบนอาหาสูตรแตกกอ (b) ต้นข้าวบนอาหารสูตรชักนำให้เกิดราก	13
ภาพที่ 3.2	การเตรียมต้นข้าวสำหรับใช้เพื่อการทดลองที่ปลูกในกระถาง และเพิ่มความสมบูรณ์ของต้นข้าวด้วยปุ๋ยละลายน้ำทุก 10 วัน	14
ภาพที่ 3.3	การเลือกช่อดอกจากต้นหลักในระยะตั้งท้องมีระยะห่างระหว่างใบธงกับข้อใบที่อยู่ถัดลงมาประมาณ 8-12 และ 12-16 เซนติเมตร	15
ภาพที่ 3.4	แสดงระยะห่างระหว่างข้อใบธงกับข้อใบที่อยู่ถัดลงมาที่ 8-12 ซม. และละอองเรณูมีระยะการพัฒนาช่วงกลางถึงช่วงท้ายของการเกิดนิวเคลียสเดียว	15
ภาพที่ 3.5	การเพาะเลี้ยงอับเรณูร่วมกับรังไข่ (ลูกศรดำ) (a) แบบตัดแยกออกจากกัน และ (b) ไม่ตัดแยกออกจากกันโดยให้ส่วนของก้านชูอับเรณูติดอยู่กับฐานของรังไข่	17
ภาพที่ 4.1	รูปแบบการพัฒนาของรังไข่ที่ตัด stigma ออก หลังเพาะเลี้ยงบนอาหาร (a) (b) สูตร O2 (c) (d) สูตร A2 และ (e) (f) สูตร A4 เป็นเวลา 30 วัน	21
ภาพที่ 4.2	ความแตกต่างของรังไข่หลังจากเพาะเลี้ยงในสภาพมีแสงและไม่มีแสงบนอาหารสูตร O2 เป็นเวลา 20 วัน (a) (b) ในสภาพมีแสง และ (c) (d) ในสภาพไม่มีแสง	22
ภาพที่ 4.3	ลักษณะการเกิดแคลลัสจากรังไข่ (ศรชี้) ของข้าวสายพันธุ์ 437(2)(4)-(1) ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับอับเรณูบนอาหารสูตร A2 เป็นเวลา 53 วัน ในสภาพมีแสง	23
ภาพที่ 4.4	ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ 325(3)-(1) ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับอับเรณูบนอาหารสูตร A3 หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน ในสภาพไม่มีแสง	23
ภาพที่ 4.5	ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ที่เป็นสีเขียวของข้าวสายพันธุ์ 237(4)-(1) หลังเพาะเลี้ยงร่วมกับอับเรณูบนอาหารสูตร A3 (a) หลังจากเพาะเลี้ยง 10 วัน (b) หลังจากเพาะเลี้ยง 14 วัน (c) หลังจากเพาะเลี้ยง 16 วัน และ (d) หลังจากเพาะเลี้ยง 30 วัน ในสภาพมีแสง	24

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 4.6 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ CH75 บนอาหารสูตร A3 หลังจากเพาะเลี้ยง 60 วัน 24

ภาพที่ 4.7 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ 437(2)(4)-(1) ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับอับเรณูบนอาหารสูตร A3 (a) หลังเพาะเลี้ยง 45 วัน (b) หลังจากเพาะเลี้ยง 50 วัน และ (c) หลังจากเพาะเลี้ยง 60 วัน ในสภาพมีแสง 25

ภาพที่ 4.8 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ 237(4)-(1) ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับอับเรณูบนอาหารสูตร A2 (a) หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 35 วัน (b) หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 53 และ (c) หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา58 วัน ในสภาพมีแสง 27

ภาพที่ 4.9 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสจากอับเรณูของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับรุ่นที่ BC_3F_6 ที่ได้จากคู่ผสม Rathu Heenati/KDML 105 ในรูปแบบต่างๆ หลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสเป็นเวลา 50 วัน 30

ภาพที่ 4.10 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ 437(2)(4)-(1) หลังจากวางบนอาหารสูตร AR1 (a) เป็นเวลา 10 วัน และ (b) (c) เป็นเวลา 24 วัน 31

ภาพที่ 4.11 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสที่เกิดจากรังไข่สายพันธุ์ 325(3)-(1) บนอาหารสูตร AR1 หลังเพาะเลี้ยง 28 วัน 31

ภาพที่ 4.12 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัส ที่เกิดจากรังไข่สายพันธุ์ CH75 บนอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นสูตร AR1 (a) หลังเพาะเลี้ยง 30 วัน และ (b) (c) หลังเพาะเลี้ยง 33 วัน 32

ภาพที่ 4.13 ลักษณะการพัฒนาของต้นเผือกจากแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ CH75 หลังวางบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนเป็นเวลา 21 วัน 32

ภาพที่ 4.14 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสจากอับเรณูไปเป็นยอดหรือต้น หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นเป็นเวลา 23 วัน (a) แคลลัสที่มีการพัฒนาเป็นต้นเผือก และ (b) แคลลัสที่มีการพัฒนาเป็นต้นสีเขียว 34

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 4.15 ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสจากอับเรณูสายพันธุ์ CH 75 (a) ลักษณะของแคลลัสสายพันธุ์ CH 75 หลังวางบนอาหารสูตร AR1 เป็นเวลา 7 วัน (b) ลักษณะการพัฒนาของแคลลัสสายพันธุ์ CH 75 ซึ่งผ่านการวางบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนเป็นเวลา 3 วัน ก่อนย้ายลงบนอาหารสูตร AR1 เป็นเวลา 14 วัน และ (d) แคลลัสที่พัฒนาเป็นต้นสีเขียวบนอาหารสูตร AR1 หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 17 วัน 34

ภาพที่ 4.16 ลักษณะต้นจากแคลลัสที่เกิดจากรังไข่ของข้าวสายพันธุ์ CH75 บนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน (a) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหาร 3 วัน (b) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหาร 7 วัน (c) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหาร 14วัน และ (d) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรแตกกอ คือ MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 21 วัน 36

ภาพที่ 4.17 ลักษณะของต้นข้าวแฮพลอยด์บนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนหลังถูกแช่ในสารละลายโคลชิซิน (a) ความเข้มข้น 0.01 และ (b) 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 37

ภาพที่ 4.18 ลักษณะของต้นข้าวปกติสายพันธุ์ CH75 และต้นข้าวแฮพลอยด์หลังจากย้ายลงปลูกในกระถางเป็นเวลา 80 วัน (a) ต้นปกติ (b) ต้นแฮพลอยด์ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงรังไข่ (c) ต้นแฮพลอยด์ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงอับเรณู (d) จำนวนโครโมโซมจากต้นปกติ (e) จำนวนโครโมโซมจากต้นแฮพลอยด์ (f) จำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมของต้นปกติ และ (g) จำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมของต้นแฮพลอย์ (bar=20μM) 38

ภาพที่ 4.19 ลักษณะต้นปกติสายพันธุ์ CH75 และต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ในระยะแตกกอ (a) (b) ต้นปกติ และ (c) (d) ต้นแฮพลอยด์ 40

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 4.20 ต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่หลังจากปลูกในกระถางเป็นเวลา 80 วัน (a) ต้นที่ 1 (clone 1) (b) ต้นที่ 2 (clone 2) (c) ต้นที่ 3 (clone 3) (d) ต้นที่ 4 (clone 4) และ (e) ต้นที่ 5 (clone 5) 40

ภาพที่ 4.21 เปรียบเทียบระหว่างต้นแฮพลอยด์ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่และต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากอับเรณู (a) ต้นแฮพลอยด์ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ (b) ต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากอับเรณูต้นที่ 1 (clone 1) (c) ต้นที่ 2 (clone 2) และ (d) ต้นที่ 3 (clone 3) 41

ภาพที่ 4.22 ลักษณะของต้นข้าวปกติสายพันธุ์ CH75 และต้นข้าวแฮพลอยด ระยะตั้งท้อง (a) ต้นปกติสายพันธุ์ CH75 (b) ต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ และ (c) ต้นแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับเรณู 41

ภาพที่ 4.23 ลักษณะของต้นข้าวปกติสายพันธุ์ CH75 และต้นข้าวแฮพลอยด์ระยะออกรวง (a) ต้นข้าวปกติสายพันธุ์ CH75 และ (c) ต้นข้าวแฮพลอยด์ 42

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รายการอักษรย่อ

2,4-D	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
2,4,5-T	2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid
BAP	6-Benzylaminopurine
CH	Casein Hydrolysate
IAA	Indole-3-acetic acid
MS	Murashige and Skoog (1962) medium
mg/L	Milligram per Litre
NAA	α – Naphthaleneacetic acid
N6	Nitsch and Nitsch (1969) medium
w/v	weight/volume

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved