

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง	การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในยางพาราโดยใช้สารโคลชิซินในหลอดทดลอง
ผู้วิจัย	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาวดี รามสูตร
ปีงบประมาณ	2558

ยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) เป็นพืชเศรษฐกิจหลักและมีการปลูกกระจายทั่วทุกภาคของประเทศไทย พันธุ์ที่นิยมปลูกได้แก่ RRIM 600 การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาการใช้สารโคลชิซินในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ในหลอดทดลอง โดยนำชิ้นส่วนของยางพารา 2 ชนิด ได้แก่ ปลายยอด และข้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) เติม IAA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ และโคลชิซิน 5 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0, 0.05, 0.01, 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อินคิวบนบนเครื่องเขย่าเลี้ยงนาน 24, 48 และ 72 ชั่วโมง และวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรเดิม ร่วมด้วยผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ ที่ไม่เติมสารละลายโคลชิซิน วางเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 เดือน หลังจากนั้นย้ายไปยังอาหารใหม่สูตร MS เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย IBA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าความเป็นกรดค่า 5.7 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เพาะเลี้ยง เป็นเวลา 3 เดือน ผลการศึกษาพบว่า โคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ให้อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 93.33, 86.67, 53.33, 60 และ 73.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในแต่ละ ความเข้มข้นของโคลชิซินที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ให้อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา 72 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง (76 และ 64 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อวิเคราะห์ด้วยสมการรีเกรสชัน พบว่าสารละลายโคลชิซินที่สามารถชักนำให้ปลายยอดมีอัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) คือที่ความเข้มข้น 0.04 และ 0.12 เปอร์เซ็นต์ จุ่มแช่นาน 48 ชั่วโมง สำหรับชิ้นส่วนข้อให้อัตราการรอดชีวิตสูงในระดับโคลชิซินที่ลดลง และในแต่ละความเข้มข้นของโคลชิซินที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ให้อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุด 72 เปอร์เซ็นต์ ที่อัตราการรอดชีวิตลดลงครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) ความเข้มข้น 0.009 และ 0.024 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา 48 ชั่วโมง (0.07 และ 0.15 เปอร์เซ็นต์) และ 72 ชั่วโมง (0.005 และ 0.03 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ตรวจสอบการสร้างยอดของชิ้นส่วนปลายยอดของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของโคลชิซิน 0.01 ระยะเวลาการจุ่มแช่โคลชิซิน 48 ชั่วโมง มีการสร้างยอดสูงสุด 3.00 ± 0.82 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนสูงสุด 3.00 ± 0.71

ขนาดยอดเฉลี่ย 1.13 ± 0.51 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 2.75 ± 0.96 ใบต่อชิ้นส่วน สูงกว่าชุดควบคุม (2.80 เปอร์เซ็นต์, 2.80 ยอด, 0.80 เซนติเมตร และ 2.60 ใบ) ตามลำดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อทำการตรวจสอบการสร้างยอด จำนวนยอดเฉลี่ย ขนาดยอด และจำนวนใบเฉลี่ยของชิ้นส่วนของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 พบว่า การสร้างยอดของชิ้นส่วนข้อที่ได้รับสารโคลชิซินทุกระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่ต่างกัน อยู่ในช่วง 0.50 - 1.00 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ย 0.33 - 0.67 ยอดต่อชิ้นส่วน ขนาดยอด 0.03 - 0.10 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 0.33 - 0.50 ใบต่อชิ้นส่วน น้อยกว่าชุดควบคุม (2.00 เปอร์เซ็นต์, 1.33 ยอด, 0.60 เซนติเมตร และ 1.67 ใบ) ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ลักษณะชิ้นส่วนปลายยอดและข้อที่ทรีตด้วยโคลชิซิน พบว่าอัตราการรอดชีวิตค่อยๆลดลงตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่เลี้ยงร่วมกับโคลชิซินที่เพิ่มขึ้น และมีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ เช่น ใบบิดม้วนและใบขาวซีดหรือบางชิ้นส่วนไม่มีการพัฒนา มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงดำ มีน้ำยางสีขาว จึงไม่สามารถนำไปศึกษาตรวจสอบชุดโครโมโซมได้ และพบว่าชิ้นส่วนปลายยอดสามารถให้อัตราการรอดชีวิตและพัฒนาสร้างยอดได้ดีกว่าชิ้นส่วนข้อ

คำสำคัญ: โคลชิซิน, การกลายพันธุ์, ในหลอดทดลอง, ยางพารา

Abstract

The Title	Induce Mutation in <i>Hevea brasiliensis</i> Muell. Arg. by Colchicine <i>In vitro</i> Treatment
The Author	Assistant Professor Dr. Supawadee Ramasoot
Year	2015

Hevea brasiliensis Muell. Arg. is the main crops plants and cultivation general distribution all regions of Thailand. Popular variety rubber three was RRIM 600. The present study was to investigate the effects of chlochicine mutation induction of *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. variety 'RRIM 600' *in vitro*. Shoot tips and nodes were used and cultured on MS (Murashige and Skoog, 1962) medium supplemented with 1 mg/l IAA, 5 mg/l BA, 3 % sucrose and different concentration of chlochicine at 0, 0.05, 0.01, 0.1 and 0.2 %. All culture media were incubated on rotary shaker for 24, 48 and 72 hour and then were cultured on original formula the same culture media but added 0.2 % activated charcoal without cholchicine for 1 month. The culture were maintained at 25 ± 2 °C under a 14-h photoperiod with photosynthetic photon flux density of 3,000 lux. After culturing for 3 months found that concentration of chlochicine at 0, 0.01, 0.05, 0.1 and 0.2 % gave the highest percentage of survival rate at 93, 33, 86.67, 53.33, 60 and 73.33 respectively. All concentration of chlochicine at 24 hour gave the highest percentage of survival rate at 80, 72 hour (76 %) and 48 hour (64 %), respectively not significant difference ($p \leq 0.05$). Regression analysis found that concentration of chlochicine at 0.04 and 0.12 % for 48 hour gave half survival rate (LD_{50}) shoot tip induction. For microcutting explants gave the highest percentage of survival rate when decreasing. All concentration of chlochicine decrease. and concentration of chlochicines at 24 hour gave the highest percentage of survival rate at 72 for LD_{50} at 0.009 and 0.024 %, 48 hour (0.07 and 0.15 %) and 72 hour (0.05 and 0.03 %), respectively.

Morphological characteristic were to investigate shoot induction from shoot tip culture of rubber tree. The study found that concentration of chlochicine at 0.01 for 48 hour gave the highest percentage of shoot formation at 3.00 ± 0.82 % , average number of shoots at 3.00 ± 0.71 shoots/explant, average size of shoot at 1.13 ± 0.51 cm., average number of leaves at 2.75 ± 0.96 leave/explant than in the control. (2.80 %, 2.80 shoots, 0.80 cm. and 2.60 leaves), respectively significant difference ($p \leq 0.05$). For microcutting culture, Shoot formation derived from node

explant that were treated with concentration of colchicines and different times 0.50-1.00 % gave average number of shoot at 0.33-0.67 shoot/explant, average size of shoot at 0.03-0.10 cm. and average number of leave at 0.33-0.50 leave/explant less than the control (2.00 %, 1.33 shoots, 0.60 cm. and 1.67 leaves), respectively significant difference ($p \leq 0.05$). For morphological characteristic of shoot tip and node explants treated colchicine, the survival rates were gradually decreasing followed by increasing concentrations and incubation times. The present study found that abnormal plant were leaf roll and pale white leaves. In addition, some explants were not development, dark brown to black of explants and running white latex. So we can not to detect the chromosome. However shoot tip explants gave the highest percentage of survival rate than node explants.

Keyword : Colchicine, Mutation, *In vitro*, *Hevea brasiliensis*