ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ และการขยายพันธุ์อัญชันในสภาพปลอดเชื้อ

ชื่อผู้เขียน นายสมโชค รักษารัก

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์	ประธานกรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. อดิศร กระแสชัย	กรรมการ
อาจารย์ ดร. ฉันทนา สุวรรณธาดา	กรรมการ

บทคัดย่อ

การเลี้ยงชิ้นส่วนพืชขนาด 5 มม จากลำต้นใต้ใบเลี้ยงของต้นกล้าอัญชันดอกซ้อนสีน้ำเงินอมม่วงอายุ 10 วัน พบว่า BA 0.5 และ 1.0 มก/ล เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดที่ไม่ผ่านแคลลัส และเกิดคัพภะเทียมมากที่สุด คัพภะเทียมเกิดเฉพาะจากเนื้อเยื่อจากใบเลี้ยง และเนื้อเยื่อจากราก ตำแหน่งของต้นใต้ใบเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเกิดยอดที่สุดคือตำแหน่งส่วนปลายลำต้น แต่ชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสมที่สุดต่อการเกิดยอดและคัพภะเทียมจากใบเลี้ยงและจากราก คือ ตำแหน่งส่วนโคน การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาพบว่าการเกิดยอดและการเกิดคัพภะเทียม เซลล์เริ่มแบ่งตัวเมื่อเลี้ยงนาน 3 วัน และเริ่มเห็นการเรียงตัวของเซลล์แสดงการเริ่มเกิดตายอดในช่วง 15-18 วัน ส่วนการเกิดคัพภะเทียมสังเกตได้จากเซลล์เกิดการแบ่งตัวเป็นระยะ globular stage, heart shape และ torpedo shape ซึ่งโครงสร้างดังกล่าวมีขอบเขตแยกออกจากเนื้อเยื่อแม่มองเห็นชัดเจน การเกิดตายอดจากรากเกิดจากเซลล์พาเรนไคมาใกล้บริเวณใกล้ท่อลำเลียงและเกิดยอดเร็วกว่าเนื้อเยื่อส่วนอื่นประมาณ 3 วัน

การแช่เมล็ดแห้งที่ผ่านการแช่น้ำ 24 ชม ในสารละลายโคลชิซีนความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลานานต่างกัน ทำให้เซลล์มีจำนวนโครโมโซมจากปลายรากจากเมล็ดที่กำลังงอกเป็นแบบมิกซาพลอยด์ คือ 2n = 2x, 4x, 6x, 7x, 8x, 12x, 14x และ 16x ต้นเหล่านี้เมื่อปลูกลงดินนาน 3 เดือน มีเพียง 1 จาก 24 ต้น ที่เป็นเตตราพลอยด์ นอกจากนั้นต้นต่างๆที่รอดตายแสดงจำนวน

โครโมโซมที่ปลายยอดเป็นดิปพลอยด์ ส่วนต้นที่ได้รับสารโคลชิซีนสูงสุด 0.5 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 4 และ 6 ชม ต้นตายหมด

การแช่ข้อตำแหน่งใบเลี้ยงในสารละลายโคลชิซีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ นาน 15-60 นาทีเกิดยอดน้อยกว่าเมื่อไม่ได้รับโคลชิซีน และยอดที่ได้เกิดเซลล์ผิดปกติและยอดไม่สามารถพัฒนาเป็นยอดที่สมบูรณ์ได้

การชักนำการกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมา 300 และ 400 เกรย์ ทำให้ต้นตายมาก ต้นเตี้ย ยอดไม่เจริญ ออกดอกช้า และดอกมีกลีบดอกผิดปกติกลีบดอกไม่คลี่เต็มที่ การฉายรังสีแกมมา 200 เกรย์ ทำให้พืช 1 ต้น จาก 65 ต้น ให้ดอกมีลักษณะเป็นไคเมรา

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

Thesis Title Induced Mutation and *in vitro* Propagation in Butterfly Pea (*Clitoria ternatea* Linn.)

Author Mr.Somechok Rugsarug

M.S. (Agriculture) Horticulture

Examining Committee

Assistant Professor Dr. Pimchai Apavatjrut Chairman

Associate Professor Dr. Adisorn Krasaechai Member

Lecturer Dr. Chantana Suwanthada Member

Abstract

Culturing hypocotyl, cotyledon and root explants, 5 mm in size from ten days old seedlings onto MS medium showed that BA added at 0.5 and 1.0 mg/l were most suitable for direct shoot bud induction and also for somatic embryo production. The embryoids occurred only on the cotyledonous and root explants. The most suitable part for bud formation in hypocotyl was the distal part, whereas the best parts for both bud and somatic embryo production from cotyledon and root explants were their basal parts. Histological studies showed that both bud and somatic embryo initiation started by their first cell divisions occurred in the cultures three days after culturing. The active cells formed in rows indicating differentiation of new buds occurred at 15-18 days after culturing. The bud development completed when the cultures were 21 days old. Embryoid formation at different stages, i. e. globular, heart shape, and torpedo shape stages showed their distinct boundaries from the parent tissue. Bud formation from the root explants initiated from the parenchymatous cells near vascular bundle, occuring three days earlier than those obtained from the other tissues.

Soaking dry seeds in water for 24 hrs prior to soaking in different colchicine concentrations at various soaking times resulting in changing root chromosome number into mixaploid in each plant having the chromosome number ranging from 2n = 2x, 4x, 6x, 7x, 8x, 12x, 14x and 16x. Three months after transplanting into soil, only 1 from 24 plants (from 0.2%

colchicine, soaked for 2 hrs) was tetraploid plant. The other survived plants showed chromosome from apical bud cells in diploid number, whereas all plant died when the highest concentration at 0.5% was applied for 4 and 6 hrs.

Soaking cotyledon-nodal explants in colchicine solution for 15-60 mins yielded less buds than without colchicine application. The bud obtained showed cell abnormalities and the bud could not develop into complete shootlets.

Mutation induction by using gamma ray at 300 and 400 Gy gave less survivals. The survived plants were short, their shoots could not develop further, slow in flowering, and the petals were abnormal and could not normally expand. Only 1 from 65 plants showed chimera characteristics in flower colour when gamma rays at 200 Gy was irradiated.

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University