ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การชักนำการกลายพันธุ์ข้าวเหนียวคำ (Oryza sativa var. indica) โดยการประยุกต์ลำไอออนพลังงานต่ำ

ผู้เขียน

สุพรรณี พรมเทพ

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิชาชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ.คร. สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย ประชานกรรมการ รศ.คร. สมศร สิงขรัตน์ กรรมการ รศ.คร ศันสนีย์ จำจด กรรมการ อาจารย์ คร. รัฐพร จันทร์เดช กรรมการ

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้ได้นำเทคนิคลำไอออนพลังงานต่ำชักนำการกลายพันธุ์ในข้าวเหนียวคำ โดยทำการระดมยิงเมล็ด 4800 เมล็ด ด้วยในโตรเจนไอออนช่วงพลังงาน 60, 80, 100 และ 125 keV ในแต่ละพลังงานใช้ปริมาณไอออน 1, 4, 8 x 10¹⁶ ions / cm² ชุดละ 400 เมล็ด หลังจากนั้นนำเมล็ดที่ได้แพาะบนกระดาษกรองชุ่มน้ำ ครบ 7 วัน ย้ายลงดินจนกระทั่งเก็บเกี่ยว จากการทดลองพบว่าเมื่อใช้ปริมาณไอออนและระดับพลังงานสูงขึ้นเปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดชีวิตของข้าวเหนียวคำลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

ในชั่วที่ 1 พบต้นสีเขียวทั้งหมด 9 ต้น (G1-G9) ที่ระดับพลังงาน 60, 80 และ 100 keV รวมทั้งพบข้าวจ้าว 1 ต้นที่พลังงาน 80 keV ภายหลังตาย 1 ต้น ทำการเก็บเมล็ดจากต้น G1-G8 และ ปลูกในชั่วที่ 2 และ 3 ต่อไป พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกดังต่อไปนี้ 1) มีทั้งต้นที่มีแผ่นใบ สีม่วง เขียวปนม่วง และม่วง 2) มีทั้งต้นที่มีกาบใบสีม่วง เขียวปนม่วง และม่วง 3) เปลือกเมล็ดเป็นสี ฟาง ม่วงอ่อน และม่วง 4) เยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีขาว ม่วงอ่อน และม่วง และ 5) พบเมล็ดแป้งข้าวจ้าวต่อ แป้งข้าวเหนียวมีอัตราส่วน 3:1

ในการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงระดับพันธุกรรมของข้าวกลายพันธุ์ด้วยเทคนิค HAT-RAPD (High Annealing Temperature-RAPD) พบว่าจากการใช้ 9 ไพรเมอร์ มี 4 ไพรเมอร์ได้แก่ OPH15, OPK14, OPX13 และ OPW09 สามารถแยกความแตกต่างได้ระหว่างต้น M1G1-M1G5 เทียบกับต้นปกติโดยเฉพาะ OPK14 ที่ให้แถบดีเอนเอน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 600 คู่เบสซึ่ง แตกต่างจากกลุ่มควบคุม เมื่อทำการหาลำดับเบสพบว่ากรดอะมิโนของยืนมีความเหมือนยืนใน สมาชิก cytochrome P450 ของ Oryza sativa var. japonica ถึง 92 % สำหรับรุ่น M2 และ M3 ยังคง พบความแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยการใช้ 3 ไพรเมอร์ได้แก่ OPH15, OPX13 และ OPW09



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright © by Chiang Mai University All rights reserved

Thesis Title Mutational Induction in Purple Glutinous Rice (Oryza sativa

var. indica) by Low Energy Ion Beam Application

Author Miss. Supunnee Promthep

Degree Master of science (Biology)

Thesis Advisory Committee Assoc. Prof. Dr. Somboon Anuntalabhochai Chairperson

Assoc. Prof. Dr. Somsorn Singkarat Member

Assoc. Prof. Dr. Sansanee Jamjod Member

Lecturer Dr. Rattaporn Chandej Member

Abstract

Application of low energy ion beam bombardment for induction mutation in purple glutinous rice were studied. About 4800 seeds were bombarded by low energy nitrogen ion beam at energies in ranges of 60, 80, 100 and 125 keV. Each energies used fluences 1, 4, 8 x 10¹⁶ ions / cm² respectively. After bombardment the seeds were germinated on wet culture paper for 7 days. Then, rice seedlings were transferred to grow in soil until ripening stage. The result revealed that percentage of germination and survival were decreased when fluences and energies increased significantly. At M1 generation, nine rice seedlings with green leaf and stem sheath (G1-G9) were observed at 60, 80 and 100 keV, as well as one mutant with non glutinous seeds at 80 keV. However one of these seedling was death. Therefore seeds of the remainder cultivated for further analysis. Valiable characteristics of M2 and M3 generation was following; 1) leaf blade were green, variegated and purple color., 2) Leaf sheath were green, variegated and purple color., 3) Seed coats were straw, light purple and purple color., 4) Pericarp color were white, light purple and purple color. 5) Finally, the ratio between non glutinous seeds and glutinous seeds was 3:1.

In order to determine genetic modification in the mutant, HAT-RAPD (High Annealing Temperature RAPD) was choosen. Of 9 primers, among four primers, named OPK14, OPH15, OPX13 and OPW09, revealed genetic variation between the M1 mutants (G1-G5) and control. In particular, DNA bands produced by OPK14 at the molecular weight of 600 bp was sequenced and analysed. After aligement with the data variable in the Genbank, the 600 bp fragment were 92 % identities to cytochrome P450 of *Oryza sativa* var. *japonica*. In addition, three primers, named OPH15, OPX13 and OPW09, provided genetic variation in the M2 and M3 mutants.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright © by Chiang Mai University All rights reserved