การเพาะเลี้ยงอับเรณูของยางพารา

Anther Culture of Rubber Tree

สุเทพ ชูช่วย

Sutap Chuchuay

เลขหมู่ QK725 ส๗ 2534
เลขทะเบียน 029677
20 ส.ย. 2534

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biotechnology

Prince of Songkla University

2534

หัวข้อวิทยานิพนธ์ : การเพาะเลี้ยงอับเรณูของยางพารา
ผู้เขียน : นายสุเทพ ชูช่วย
สาขาวิชา : เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา : 2533

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงอับเรณูที่มีไมโครสปอร์ระยะนิวเคลียสเดี่ยวตอนปลายของยางพาราพันธุ์ RRIM 600 จากดอกขนาด 3.1-3.5 มิลลิเมตรบนอาหารวุ้นสูตร Rubber Tree$_1$ (RT_1) ร่วมกับ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร (มก/ล) α-naphthaleneacetic acid (NAA) 0.5 มก/ล ไคเนติน 2 มก/ล น้ำมะพร้าว 5 เปอร์เซ็นต์ ซูโครส 7 เปอร์เซ็นต์และเจลไรต์ 0.15 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ไมโครสปอร์ระยะนิวเคลียสเดี่ยวตอนปลายพัฒนาเป็นแคลลัสดีที่สุด ความเป็นกรดด่างของอาหารเพาะเลี้ยงที่ 5.8 เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัส การเก็บช่อดอกยางพาราไว้ที่อุณหภูมิ 10 ± 1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนการทดลองช่วยให้อับเรณูเกิดแคลลัสได้ 96 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับการนำอับเรณูที่ไม่ได้เก็บที่อุณหภูมิเย็นมาชักนำแคลลัสได้ 35.48 เปอร์เซ็นต์ เมื่อย้ายแคลลัสไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร RT_2 ร่วมกับไคเนติน 2 มก/ล กรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) 0.5 มก/ล และซูโครส 7 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้แคลลัสเกิดเอ็มบริออยด์ได้ การสับคัลเจอร์แคลลัสในอาหารที่ใช้ชักนำแคลลัส ทำให้ศักยภาพในการเกิดเอ็มบริออยด์ลดลง การชักนำให้เกิดต้นยางพาราต้องย้ายเอ็มบริออยด์ไปเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร Murashige และ Skoog (MS) ดัดแปลงร่วมกับ N^6-benzyladenine (BA) 1 มก/ล GA_3 2 มก/ล และซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ เพื่อชักนำยอดก่อน จากนั้นจึงย้ายยอดไปเลี้ยงใน

อาหารวุ้นสูตร MS ดัดแปลงที่เติม GA_3 2 มก/ล Indole-3-acetic acid (IAA) 1 มก/ล 5-bromouracil 1 มก/ล และซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ เพื่อชักนำให้เกิดราก ต้นยางพาราที่พัฒนาจากเอ็มบริออยด์เจริญเติบโตอย่างช้า ๆ ในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตและเจริญเติบโตได้ดีมากเมื่อย้ายเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร MS ดัดแปลงร่วมกับ ผงถ่าน 0.05 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต การศึกษาจำนวนโครโมโซมในเซลล์ปลายราก ของต้นยางพาราที่ชักนำได้มีสภาพเป็นแฮพลอยด์มีจำนวนเท่ากับ 18 แท่ง

Thesis Title : Anther Culture of Rubber Tree
Author : Mr. Sutap Chuchuay
Major Program : Biotechnology
Academic Year : 1990

Abstract

Late uninucleate microspore of RRIM 600 rubber tree can be induced to calli in anther culture. The best of calli formation was from anthers cultivated on inductive Rubber Tree$_1$ (RT_1) agar medium supplemented with 0.5 milligram per liter (mg/l) 2,4-dichlorophenoxy-acetic acid (2,4-D), 0.5 mg/l α-naphthaleneacetic acid (NAA), 2 mg/l kinetin, 5 percent (%) coconut water 7 % sucrose and 0.15 % gelrite. Cold-treated anthers at 10 ± 1 °C for 24 hours produced calli with the efficiencies up to 96 %, compared with 35.48 % in nontreated anthers. The adjustment of medium pH prior to autoclaving at 5.8 was suitable for calli induction. Calli were transferred to RT_2 medium supplemented with 2 mg/l kinetin, 0.5 mg/l gibberellic acid (GA_3) and 7 % sucrose for embryoid production. The frequency of embryoid formation was low and calli tended to lose the potential for embryogenesis within a short time during subculture. The regenerated plants were induced by first culturing

embryoids to the modified MS agar medium (Murashige and Skoog) supplemented with 1 mg/l BA, 2 mg/l GA_3 and 5 % sucrose. The shoots were then transferred to the rooting medium which was modified MS agar medium supplemented with 2 mg/l GA_3, 1 mg/l indole-3-acetic acid (IAA) and 1 mg/l 5-bromouracil for root induction. The complete plantlets grew slowly when transferred to modified MS agar medium without growth regulators while on medium supplemented with 0.05 % activated charcoal, the growth of plantlet was markedly increasing. The cytological observation on the chromosome number of root tips of plantlets derived from anther culture was haploid (n=18)