

การคัดเลือกข่าวทนแล้งจาก โซมา โคลนัลแควรีเอชันและดีเมทาซิลเลชัน

นางสาวพรทิพย์ ชินสงคราม



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาพฤษศาสตร์


บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2539

ISBN 974-633-975-3

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

SELECTION OF DROUGHT-TOLERANT RICE FROM SOMACLONAL VARIATION  
AND DEMETHYLATION



Miss Porntip Chinsongkram

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science

Department of Botany

Graduate School

Chulalongkorn University

1996

ISBN 974-633-975-3

หัวข้อวิทยานิพนธ์      การคัดเลือกข้าวทนแล้งจากโครมาโคลนัลแวนิเอชันและดีเอ็มทีลเลชัน  
โดย                              นางสาวพรทิพย์ ชินสงคราม  
ภาควิชา                            พฤกษศาสตร์  
อาจารย์ที่ปรึกษา                รองศาสตราจารย์มนทกานติ วัชรภักย์  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม        ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชรภักย์

---

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยเป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร. สันติ อุดสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีดา บุญ-หลง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(รองศาสตราจารย์มนทกานติ วัชรภักย์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชรภักย์)

..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรวิทย์ จุฬาลักษณ์านุกูล)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

พรทิพย์ ชินสงคราม : การคัดเลือกข้าวทนแล้งจากโซมาโคลนัลแควรีเอชันและดีเมทิลเลชัน (SELECTION OF DROUGHT - TOLERANT RICE FROM SOMACLONAL VARIATION AND DEMETHYLATION) อ. ที่ปรึกษา : รศ. มณฑกานติ วัชรภักย์ และ ศ. ดร. ดาวร วัชรภักย์ , 66 หน้า , ISBN 974 - 633 - 975 - 3

ทดลองคัดเลือกกล้าข้าวทนแล้งด้วยวิธีต่าง ๆ ในหลอดแก้วด้วย polyethylene glycol 6000 (PEG) ผลการทดลอง PEG ความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร เหมาะกับกล้าข้าวอายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิ 31 - 33 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ 12 ช.ม. ต่อวัน โดยที่ชุดเปรียบเทียบ (ใช้ข้าวพันธุ์ กข. 23 ชนิดพันธุ์หลัก) มีอัตราการรอดตาย 2.5 เปอร์เซ็นต์ ได้นำวิธีการดังกล่าวมาคัดเลือกข้าวสามชั่วอายุ (R1, R2 และ R3) มีเพียง 124 สายพันธุ์ จากทั้งหมด 295 สายพันธุ์ ในรุ่น R1 (ซึ่งได้จากเมล็ดพันธุ์ที่คัดเลือกจาก somaclonal variation ในรุ่น R0) ซึ่งมีอัตราการรอดตายระหว่าง 0.6 - 66 เปอร์เซ็นต์ การคัดเลือกในรุ่น R2 มีสองวิธี วิธีหนึ่งทำเหมือนกับวิธีที่ได้กล่าวมาแล้ว และคัดเลือกได้ 11 สายพันธุ์ ซึ่งมีอัตราการรอดตาย 10 - 20 เปอร์เซ็นต์ วิธีที่สองโดยการแช่กล้าข้าวอายุ 3 วัน ใน 5-azacytidine ความเข้มข้น 300 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 3 วัน ก่อนแล้วคัดเลือกด้วย PEG ต่อ พบว่าวิธีนี้ให้ผลไม่ดี ซึ่งเหลือรอดเพียงสองสายพันธุ์ ที่มีอัตราการรอดตาย 1.6 และ 4.0 เปอร์เซ็นต์

หลังการคัดเลือกมาอย่างต่อเนื่องมีสิบสามสายพันธุ์ที่รอดตาย โดยมีอัตราการรอดตาย 20 - 46 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งสังเกตลักษณะอื่น ๆ ในสายพันธุ์เหล่านี้ มีสามสายพันธุ์ที่มีลักษณะการแตกกอมาก และมีอายุการออกดอกเร็ว แม้ว่าจะผ่านการคัดเลือกด้วย PEG ที่รุนแรงมาก่อน ซึ่งได้แก่สายพันธุ์ TC RD23 2777-01 R3 , TC RD23 2784 - 11 R3 และ TC RD23 2784 - 08 R3

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา.....พฤกษศาสตร์.....  
สาขาวิชา.....พฤกษศาสตร์.....  
ปีการศึกษา.....2538.....

ลายมือชื่อนิสิต.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....



## C525497 : MAJOR Botany

KEY WORD: DEMETHYLATION/ DROUGHT STRESS/ DROUGHT TOLERANT/ Oryza sativa L./ SOMACLONAL VARIATION

PORN TIP CHINSONGKRAM : SELECTION OF DROUGHT - TOLERANT RICE FROM SOMACLONAL VARIATION AND DEMETHYLATION. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. MONTAKAN VAJRABHAYA AND PROF. THAVORN VAJRABHAYA , Ph. D. 66 pp. ISBN. 974 - 633 - 975 - 3

Different methods for the selection of drought tolerant of rice seedlings In vitro by polyethylene glycol 6000 (PEG) were tried. The results indicated that 150 gram per liter of PEG was suitable for 7 - day old seedlings kept under 31 to 33 degree Celcius under 1500 lux illumination 12 hours a day. The survival rate of the control (using foundation seeds of RD23) was 2.5 percent. Using the above method for selection of rice for three generation (R1 , R2 and R3) only 124 lines out of 295 lines (were obtained from the seed stocks which selected from somaclonal variation in R0) in R1 with survival rates ranged from 0.6 to 66.0 percent. Two methods were used in the selection of R2 , The first was semilar to the methods mentioned earlier and obtained 11 lines with survival rates of 10 to 20 percent , the second was the past treatment of 3 - day old seedlings with 300 micromolar 5- azacytidine for three days following the PEG treatment. The latter gave poor results , only two lines had survival rates of 1.6 and 4.0 percent.

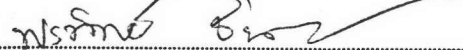
Thirteen lines survived through successive selections with the survival rates of 20 to 40 percent. Additional observations on other characteristic -s were also made. Among these , three lines became bushy and having early heading date inspite of severe PEG treatment earlier. These are TC RD23 2777-01 R3 , TC RD23 2784-11 R3 and TC RD23 2784-08 R3.

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


ภาควิชา.....พฤกษศาสตร์.....

สาขาวิชา.....พฤกษศาสตร์.....

ปีการศึกษา.....2538.....

ลายมือชื่อนิสิต..........

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..........

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..........



## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงอย่างสมบูรณ์ ด้วยความกรุณาช่วยเหลือเป็นอย่างดีจาก รองศาสตราจารย์มนตรี วัชรภักย์ อาจารย์ที่ปรึกษา และศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชรภักย์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาของการวิจัย ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

กราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ปรีดา บุญ-หลง ประธานกรรมการ ผู้ตรวจแก้ไข วิทยานิพนธ์ฉบับนี้

กราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรวุฒิ จุฬาลักษณ์านุกูล กรรมการ ผู้ตรวจแก้ไข วิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนผู้ช่วยวิจัยเป็นระยะเวลา 2 ปี  
ขอขอบคุณคณะกรรมการสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ที่ให้ทุนส่วนหนึ่งเพื่อสนับสนุนการศึกษาและวิจัยเป็นระยะเวลา 1 ปี

ขอขอบคุณอาจารย์ภาควิชาพฤกษศาสตร์ และเจ้าหน้าที่ทุก ๆ คนที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และให้กำลังใจด้วยดีเสมอมา

ขอขอบคุณ บิดา มารดา และคุณธรรมศักดิ์ บุญวงศ์ ที่ให้ทุนศึกษาและวิจัยตลอดมา

ท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณความดีของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ แต่บิดา มารดา ครู อาจารย์ทุกท่าน และคุณประภัสร์ พรหมชัยนันท์ ผู้ส่งกลับไปแล้ว

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
พรทิพย์ ชินสงคราม  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ .....	ฉ
สารบัญตาราง .....	ซ
สารบัญภาพ .....	ณ
บทที่	
1. บทนำ .....	1
2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง .....	15
3. ผลการทดลอง .....	22
4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง .....	51
รายการอ้างอิง .....	59
ประวัติผู้แต่ง .....	66

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. สารเคมีสำหรับเตรียมธาตุอาหารสูตรคัดแปลง WP No.2 .....	17
2. ผลการคัดเลือกกล้าข้าวพันธุ์ กข. 23 อายุต่าง ๆ โดยแช่ในสารละลาย PEG 6000 ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 1 เดือน .....	24
3. ผลการคัดเลือกกล้าข้าวสายพันธุ์ทนแล้ง กข. 23 ในรุ่น R1 และ R2 ที่มีอัตราการ รอดตาย 20 % ด้วยวิธีการให้ และไม่ให้ 5-azacytidine แล้วคัดเลือกด้วย PEG 6000 ความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน .....	30
4. ผลการคัดเลือกกล้าข้าวสายพันธุ์ทนแล้ง กข. 23 ในรุ่น R3 ด้วย PEG 6000 ความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน .....	38
5. ลักษณะความสูง จำนวนหน่อต่อกอ และอายุการออกดอก ของข้าวสายพันธุ์ทนแล้ง กข.23 รุ่น R3 จำนวน 13 สายพันธุ์ .....	43
6. ความถี่ของลักษณะความสูง จำนวนหน่อต่อกอ และอายุการออกดอก ของข้าวสาย พันธุ์ทนแล้ง กข.23 รุ่น R3 จำนวน 13 สายพันธุ์ .....	48
7. สรุปผลการคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ทนแล้ง กข.23 จากรุ่น R1- R3 จำนวน 13 สายพันธุ์ .....	56

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. สูตรโครงสร้าง PEG 6000 .....	12
2. สูตรโครงสร้าง 5-azacytidine .....	12
3. การเกิด 5-methylcytosine จาก cytosine ในสาย DNA กระตุ้นโดย เอนไซม์ DNA methylase .....	13
4. กล้าข้าว กข.23 อายุ 4 วัน 7 วัน และ 11 วัน .....	20
5. กล้าข้าว กข.23 อายุ 4 วัน 7 วัน และ 11 วัน เมื่อผ่านการคัดเลือก ด้วย PEG 6000 ความเข้มข้นต่าง ๆ .....	23
6. แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอายุของกล้าข้าวกับอัตราการรอดตายที่ PEG 6000 ความเข้มข้น 3 ระดับ .....	25
7. แสดงภาพต่าง ๆ ในการคัดเลือกและเลี้ยงกล้าข้าว .....	26
8. เปรียบเทียบอัตราการรอดตายของกล้าข้าวสายพันธุ์ทนแล้งในรุ่น R1 และ R 2 กับกล้าข้าว กข. 23 ชนิดพันธุ์หลัก หลังคัดเลือกด้วย PEG ...	28
9. เปรียบเทียบอัตราการรอดตายของกล้าข้าวสายพันธุ์ทนแล้งในรุ่น R1 และ R 2 ที่ให้และไม่ให้ 5-azacytidine ในข้าว 3 สายพันธุ์ กับกล้าข้าว กข. 23 ชนิดพันธุ์หลัก หลังกคัดเลือกด้วย PEG 6000 .....	29
10. เปรียบเทียบอัตราการรอดตายของกล้าข้าวสายพันธุ์ทนแล้งในรุ่น R1 R 2 และ R3 กับกล้าข้าว กข. 23 ชนิดพันธุ์หลัก หลังคัดเลือกด้วย PEG 6000 .....	39
11. การรอดตายของกล้าข้าวสายพันธุ์ TC RD 23 2734 R3 เทียบกับ ชุดเปรียบเทียบ และลักษณะ albino ที่พบขณะคัดเลือกกล้าข้าวทนแล้ง. .	40
12. ลักษณะต้นเตี้ย (ขวา) เปรียบเทียบกับต้นปกติ (ซ้าย) ในสายพันธุ์ TC RD 23 2784 R3 .....	42
13. ลักษณะต้นออกดอกเร็ว (ซ้าย) เปรียบเทียบกับต้นออกดอกช้า (ขวา) ในข้าวสายพันธุ์ทนแล้งรุ่น R1 .....	42