

รหัสโครงการ SUT3-302-45-18-22



รายงานการวิจัย

การผลิตข้าวโพด (*Zea mays* L.) สายพันธุ์แท้โดยการเพาะเลี้ยง
อับละอองเกสร

(Production of Inbred Maize (*Zea mays* L.) by Anther Culture)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

บทคัดย่อ

ทำการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรเพื่อผลิตข้าวโพดสายพันธุ์แท้ (คัมเบลแฮพลอยด์ [DH]) โดยใช้เทคนิค early transfer และใช้โคลชิซินเป็นสารเหนี่ยวนำการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซม ร่วมกับการใช้ synchronization of cell cycle (SC) เพื่อเพิ่มจำนวนละอองเกสรที่อยู่ในระยะการแบ่งเซลล์ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตต้น DH เปรียบเทียบกับการไม่ใช้ SC ใช้ข้าวโพดพันธุ์แท้ 5 พันธุ์ และถูกผสมระหว่างข้าวโพดเขตร้อนและเขตอบอุ่น 9 คู่ผสม ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี พบว่าสามารถชักนำให้เกิด embryo-like structure (ELS) ได้ทุกจีโนไทป์ โดยถูกผสม Ki 3 x M 24 มีความสามารถในการชักนำให้เกิด ELS (EI) สูงที่สุดเท่ากับ 2.26 % และ 1.93 % เมื่อใช้และไม่ใช้ SC ตามลำดับ และการใช้ SC มีศักยภาพในการชักนำให้เกิด ELS เพิ่มขึ้น แต่เนื่องจาก ELS ที่ได้มีคุณภาพไม่ดีเพราะสภาพแวดล้อมในการปลูกและการเพาะเลี้ยงไม่เหมาะสม จึงเกิดการพัฒนาของ ELS เป็นต้นเพียง 6 ต้น ซึ่งทุกต้นตายในระหว่างการเพาะเลี้ยง ทำการทดลองเพิ่มเติมที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ โดยเลือกเฉพาะถูกผสมคู่ที่ให้ค่า EI สูงที่สุด 3 คู่ พบว่าการใช้ SC มีศักยภาพในการชักนำให้เกิด ELS เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน แม้ว่า SC จะมีแนวโน้มในการลดความสามารถในการเกิดต้นเล็กน้อย แต่พบว่าความสามารถในการเกิดต้น DH (DRA) ความสามารถในการผลิตต้น DH (DPP) และดัชนีการเพิ่มชุดโครโมโซม (DI) มีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อใช้ SC จีโนไทป์เป็นปัจจัยสำคัญที่ควบคุมการเกิด ELS การเกิดต้น และการรอดชีวิตของต้นที่ชักนำได้ โดยพบว่าถูกผสม Agron 1 x Pa 91 ให้ค่า EI, DRA, DPP และ DI สูงที่สุดเท่ากับ 4.40 %, 2.80 %, 0.14 % และ 0.38 เมื่อใช้ SC ตามลำดับ สภาพแวดล้อมในการปลูก donor plants และในการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรเป็นอีกปัจจัยที่สำคัญและทำให้ได้ค่า EI สูงกว่าการทดลองเดิมประมาณ 3 เท่า และได้ ELS คุณภาพดี สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ โดยเฉพาะพันธุ์ Agron 1 x Pa 91 ประสบผลสำเร็จในการผลิตต้น DH ที่มีความสมบูรณ์พันธุ์ (fertile) จำนวน 3 ต้น แต่ทุกต้นไม่สามารถผสมตัวเองได้เนื่องจากอับละอองเกสรแตกก่อนวันออกไหม

ทำการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นข้าวโพดที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS ภายใต้สภาพ photoautotrophic (ไม่เติมน้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยง) และใช้เวอร์มิคูไลท์เป็นวัสดุค้ำยัดกับสภาพ photomixotrophic (เติมน้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยง) และใช้เวอร์มิคูไลท์และฟูน (กรรมวิธีควบคุม) เป็นวัสดุค้ำยัด โดยบันทึกข้อมูลความยาวใบและราก จำนวนราก น้ำหนักสดใบและราก และน้ำหนักแห้งใบและราก ที่อายุ 3, 5, 7 และ 9 วัน ภายหลังจากการเพาะเลี้ยง พบว่าการเพาะเลี้ยงในสภาพ photoautotrophic ให้ค่าความยาวใบและราก และน้ำหนักสดใบและราก สูงที่สุดในทุกระยะการเจริญเติบโต (อายุ 3, 5, 7 และ 9 วัน; $p < 0.05$) โดยที่ระยะ 9 วันให้ค่าความยาวใบและราก น้ำหนักสดใบและราก และจำนวนรากสูงกว่า กรรมวิธีควบคุม 1.5, 1.7, 1.7, 4.1 และ 1.6 เท่า ตามลำดับ สำหรับการเพาะเลี้ยงในสภาพ photomixotrophic เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการใช้เวอร์มิคูไลท์กับฟูนเป็นวัสดุค้ำยัด พบว่าการใช้ฟูนให้

ก

บทคัดย่อ (ต่อ)

จำนวนรากสูงกว่าที่ระยะการเจริญเติบโต 5 วันเป็นต้นไป ($p < 0.05$) และที่ระยะ 9 วัน ให้ค่าน้ำหนักสดใบสูงกว่าการใช้เวอร์มิคูไลท์ 1.3 เท่า ($p < 0.05$) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการใช้เวอร์มิคูไลท์เป็นวัสดุค้ำยิดช่วยให้ข้าวโพดเจริญเติบโตได้รวดเร็วขึ้นในสภาพ photoautotrophic แต่อาจยับยั้งการเจริญเติบโตในสภาพ photomixotrophic ซึ่งความยาวและจำนวนรากที่เพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพ photoautotrophic อาจช่วยเพิ่มโอกาสรอดชีวิตของต้นข้าวโพดในระหว่างการเพาะเลี้ยงและหลังย้ายปลูกลงดิน

Abstract

Inbred (doubled haploid; DH) maize was produced by anther culture using the early transfer technique and colchicine as chromosome doubling agent together with the synchronization of cell cycle (SC) to synchronize the pollen cell cycle at the mitotic stage suitable for chromosome doubling. The objective was to increase the efficiency of DH production compared to control (not using SC). Five inbred lines and 9 hybrids between tropical and temperate varieties were used for anther culture at Suranaree University of Technology tissue culture laboratory. It was found that all genotypes were capable of embryo-like structure (ELS) induction. Ki 3 x M 24 gave the highest ELS induction (EI), 2.26 % and 1.93 % when using and not using SC, respectively. SC had the potential to increase EI, but the unsuitable environment lowered the ELS quality so that only 6 plantlets were obtained and all the plantlets died in culture. Additional experiment was conducted at the National Corn and Sorghum Research Center using only 3 hybrids with the highest EI. Similarly, it was found that SC had the potential to increase EI of all genotypes. Although SC slightly decreased regeneration ability (RA), it tended to increase DH regeneration ability (DRA), DH plant production (DPP) and doubling index (DI). Genotype is a major factor controlling EI, RA and survivability (S). Agron 1 x Pa 91 gave the highest EI, DRA, DPP and DI of 4.40 %, 2.80 %, 0.14% and 0.38 when using SC, respectively. Another important factor is environment for donor plant growth and anther culture, which increased the EI *ca.* 3-fold over the previous experiment. In addition, good quality ELS capable of regeneration was obtained especially for Agron 1 x Pa 91. Three fertile DH plants were obtained from this hybrid but selfing could not be achieved due to asynchronous occurrence of pollen shed and silk emergence.

Growth of *in vitro* maize plantlets cultured on MS medium photoautotrophically with vermiculite as a supporting material was compared with those cultured photomixotrophically with vermiculite and agar (control) as supporting materials. The leaf and root lengths, number of roots, leaf and root fresh weight, and leaf and root dry weight were recorded on days 3, 5, 7 and 9 of culture. Plantlets grown photoautotrophically had the highest leaf and root lengths, and leaf and root fresh weight at all stages of growth (days 3, 5, 7 and 9; $p < 0.05$). On day 9 they had 1.5-, 1.7-, 1.7-, 4.1- and 1.6- fold higher leaf and root lengths, leaf and root fresh weight and number of roots than control, respectively. Under photomixotrophic condition, using agar as a supporting material led to higher number of roots since day 5 ($p < 0.05$) and on day 9 leaf fresh weight was 1.3- fold higher than using vermiculite ($p < 0.05$). Therefore, using vermiculite as a supporting material promoted

Abstract (continued)

growth of *in vitro* maize plantlets under photoautotrophic condition, but may inhibit growth under photomixotrophic condition. The increase in length and number of roots under photoautotrophic condition may enhance survivability during *in vitro* culture and *ex vitro* acclimatization.