LIBRARY AND INFORMATION CENTER
MAHIDOL UNIVERSITY

IN VITRO INDUCTION OF POLYPLOID IN WHITE MULBERRY (MORUS ALBA VAR. S54) BY COLCHICINE TREATMENT

ARIYA SATRABHANDHU

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIRMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)

IN
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
1991

Copyright by Mahidol University

อภินันทนาการ
จาก
บัณฑิตวิทยาลัย มหิดล

ชื่อวิทยานิพนธ์ การชักนำให้เกิดโพลีพลอยด์ในหม่อน (Morus alba var. S54) โดยการใช้สารโคลชิซีน

ผู้วิจัย อริยา สาตรพันธุ์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

สาริณี ไชยเจริญ, M.Sc.

มาลียา เครือตราชู, Ph.D.

อัจฉราพร ไศละสูต, M.A.

วันที่สำเร็จการศึกษา 16 มกราคม พ.ศ. 2534

บทคัดย่อ

ใบอ่อนของหม่อน (Morus alba var. S54) จากต้นที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อได้นำมาเลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลง Murashige และ Skoog ที่ใส่ BA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ความเข้มข้นของ BA และ NAA ที่เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดแคลลัสและเพิ่มปริมาณแคลลัสคือ 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร BA ร่วมกับ 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร NAA และ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร BA ร่วมกับ 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร NAA ตามลำดับ วิธีการทดลองคือแช่เนื้อเยื่อแคลลัสในสารละลายโคลชิซีนที่ปราศจากเชื้อความเข้มข้น 0.025 ถึง 0.2 % เป็นเวลา 3 ถึง 7 วัน จากนั้นเลี้ยงแคลลัสบนอาหารที่มี 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร BA กับ 0.025 มิลลิกรัม/ลิตร NAA เพื่อให้ต้นเจริญ ต้นหม่อนเกิดรากเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลง MS ที่มีสารอาหารลดลงครึ่งหนึ่งและใส่ 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร IBA การใส่ diethyldithiacarbamate ความเข้มข้น 25 ถึง 400 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้เนื้อเยื่อหม่อนตาย แต่การใส่ถ่าน 0.1 % สามารถดูดสารสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นในระยะที่ต้นหม่อนมีการเจริญและเกิดรากได้ การตรวจสอบต้นหม่อนที่เป็นโพลีพลอยด์กระทำโดยการนับโครโมโซมจากเซลปลายราก จากการทดลองใช้สารละลายโคลชิซีนทั้ง 4 ความเข้มข้นร่วมกับเวลาแช่ที่แตกต่างกัน พบว่าได้ต้นหม่อนเตตราพลอยด์จำนวนมากที่สุด (47.22 %) จากการแช่แคลลัสในสารละลายโคลชิซีน 0.1 % เป็นเวลา 3 วัน แต่การใช้สารละลาย

© Copyright by Chulalongkorn University

โคลชิซีนความเข้มข้นอื่น ๆ ได้ต้นหม่อนเตตราพลอยด์จำนวนน้อยกว่า และได้ต้นมิกซ์โซพลอยด์เป็นจำนวนมาก ต้นหม่อนที่สมบูรณ์ได้ปลูกลงดิน จากการเปรียบเทียบต้นหม่อนเตตราพลอยด์กับดิพพลอยด์พบว่าต้นเตตราพลอยด์มีลักษณะต่าง ๆ ใหญ่กว่าต้นดิพพลอยด์มาก

Copyright by Mahidol University

Thesis Title: *In vitro* Induction of Polyploid in White Mulberry (*Morus alba* var. S54) by Colchicine Treatment.

Name: Ariya Satrabhandhu

Degree: Master of Science (Environmental Biology)

Thesis Supervisory Committee

Sarinee Chaicharoen, M.Sc.

Maleeya Kruatrachue, Ph.D.

Ajaraporn Sailasuta, M.A.

Date of Graduation: 16 January B.E. 2534 (1991)

ABSTRACT

Young leaf explants of mulberry (*Morus alba* var. S54), derived from aseptically grown shoots were cultured on the modified Murashige and Skoog medium supplemented with various concentrations of BA and NAA. The optimum concentrations of BA and NAA for callus initiation and proliferation were 0.5 mg/l BA plus 1.0 mg/l NAA and 1.0 mg/l BA plus 0.5 mg/l NAA, respectively. Active callus tissues were soaked in sterilized aqueous colchicine solution at the range of 0.025 to 0.2 % for 3 to 7 days. Then calli were placed on the medium containing 1.0 mg/l BA and 0.025 mg/l NAA for shoot regeneration. For shoot growth, the regenerated shoots were subcultured on the medium containing 0.25 mg/l BA and 0.025 mg/l NAA. Root formation occurred when culturing an individual shoot on the half-strength modified MS medium containing 0.1 mg/l IBA. The addition of

Copyright by Mahidol University

diethyldithiacarbamate at the range 25 to 400 mg/l caused tissue death, whereas 0.1 % activated charcoal was able to absorb browning substances during shoot growth and root formation stages. Determination of polyploid plants was carried on by chromosome counts of squashed root-tip cells. The results of 4 colchicine concentrations applied in combination with various soak period showed that the highest number of tetraploid plants could be obtained from 0.1 % colchicine solution with 3 days soak period treatment (47.22 %), whereas, other treatments produced the lower number of tetraploid plants with the high percentage of mixoploidy. The complete plants were successfully grown in pots containing soil. By comparison, the tetraploid mulberry plants possess the gigantic characters much more than the diploid plants.

Copyright by Mahidol University