วิลาวรรณ ทิมทอง : การชักนำมันสำปะหลังให้เกิดการกลายพันธุ์โดยรังสีแกมมาและเอธิลมีเทนซัลโฟเนต (INDUCED MUTATION IN CASSAVA BY GAMMA RADIATION AND ETHYL METHANESULFONATE) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ เกิดไทย, 141 หน้า.

มันสำปะหลัง เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยนอกจากจะใช้แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารของคนแล้ว ยังเป็นวัตถุดิบเพื่อใช้ในการแปรรูปเป็นอาหารสัตว์ จึงเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ การปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังเพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ที่คุณภาพดีและมีผลิตสูงจึงมีความจำเป็น ซึ่งการกลายพันธุ์เป็นทางเลือกหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์มัน-สำปะหลัง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ด้วยวิธีกลายพันธุ์โดยใช้สารเคมี เอธิลมีเทนซัลโฟเนต (Ethyl Methanesulfonate; EMS) และการฉายรังสีแกมมา ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การศึกษาครั้งนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ส่วน คือ 1) ศึกษาสูตรอาหารและชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมันสำปะหลังที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดต้นอ่อนในสภาพหลอดทดลอง 2) ศึกษาความเข้มข้นในการใช้ EMS และระดับรังสีแกมมาที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในมันสำปะหลังในหลอดทดลอง 3) ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางพันธุกรรมของมันสำปะหลังที่เกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากการได้รับ EMS และรังสีแกมมา ซึ่งจากการทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะต่อการชักนำต้นอ่อนมันสำปะหลัง พันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 พบว่าสูตรอาหาร MS ร่วมกับ 0.1BA มก/ล. ร่วมกับ 1.0Kin มก/ล. และร่วมกับ 0.05NAA มก/ล. ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดต้นสูงสุด (75.00%) หลังจากนั้นทำการทดสอบหาความเข้มข้นของ EMS และปริมาณรังสีแกมมา ที่เหมาะสมต่อการกลายพันธุ์มันสำปะหลัง โดยใช้ reverse osmosis water (ROW; control) และ EMS ความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์และทำการบันทึกเปอร์เซ็นต์การตายที่ 1 สัปดาห์ พบว่าเปอร์เซ็นการตายของมันสำปะหลัง เพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ EMS ที่สูงขึ้น โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการกลายพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 พันธุ์ระยอง 72 คือ 0. 91 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การทดสอบหาระดับปริมาณรังสีแกมมา 0 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การตายที่ 1 สัปดาห์ พบว่า เปอร์เซ็นต์การตายของมันสำปะหลัง เพิ่มขึ้นตามระดับปริมาณรังสีแกมมาสูงขึ้น โดยปริมาณรังสีที่เหมาะสมต่อการกลายพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 คือ 25.50 และ 30 เกรย์ ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนาน 45 วัน แล้วนำออกปลูกในสภาพโรงเรือน พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงภายหลังได้รับสารละลาย EMS และปริมาณรังสีแกมมาในรุ่น M_1V_1 ของมันสำปะหลังพบการเปลี่ยนแปลงในลักษณะสัณฐานที่เปลี่ยนแปลงไปคือ ความสูงต้น จำนวนใบ เส้นผ่าศูนย์กลางต้น และปริมาณคลอโรฟิลล์ ที่แตกต่างไปจากต้น ที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ ที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลง เมื่อ

ประเมินการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมของต้นมันสำปะหลังห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่ไม่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS ความเข้มข้น 0.25 0.50 0.75 และ 1 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 15 และ 111 ต้น ตามลำดับ และการฉายรังสีแกมมาที่ระดับปริมาณ 10 20 30 40 50 และ 60 เกรย์ จำนวน 36 และ 43 ต้น ตามลำดับ เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ ด้วยใช้เครื่องหมาย inter-simple sequence repeats (ISSR) โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR ที่ให้ความหลากหลายทั้งหมด 12 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความหลากหลายระหว่างสายพันธุ์ ของมันสำปะหลังพันธุ์ห้วยบง 60 ที่ทำให้กลายพันธุ์ด้วย EMS จำนวน 97 แถบ จาก 292 แถบ คิดเป็น 33.21% และในมันสำปะหลังระยอง 72 จำนวน 69 แถบ จาก 249 แถบ คิดเป็น 27.17% และพบว่าต้นที่ฉายรังสีแกมมาทำให้แถบดีเอ็นเอมีความหลากหลายระหว่างมันสำปะหลังห้วยบง 60 จำนวน 57 แถบ จาก 232 แถบ คิดเป็น 24.56% และพันธุ์ระยอง 72 จำนวน 46 แถบ จาก 249 แถบ คิดเป็น 18.47% จากการนำลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมาย ISSR มาประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของต้นมันสำปะหลังห้วยบง 60 และพันธุ์ระยอง 72 ที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ด้วย EMS และการฉายรังสีแกมมา เปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ก่อกลายพันธุ์ แสดงให้เห็นว่า EMS และรังสีแกมมา สามารถก่อกลายพันธุ์ในมันสำปะหลังได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเครื่องหมาย ISSR เป็นเครื่องมือที่มีสามารถใช้ในการจำแนกต้นที่ผ่านการก่อกลายพันธุ์ออกจากต้นที่ไม่ได้ผ่านการก่อกลายพันธุ์ ซึ่งงานวิจัยนี้เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืชต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ลายมือชื่อนักศึกษา วิลาวรรณ ทิมาทอง

ปีการศึกษา 2562 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

WILAWAN THIMTONG : INDUCED MUTATION IN CASSAVA BY GAMMA RADIATION AND ETHYL METHANESULFONATE. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. TEERAYOOT GIRDTHAI, Ph.D., 141 PP.

Manihot esculenta (L.) Crantz)/MORPHOLOGY/MUTATION/ISSR/ETHYL METHANESULFONATE/GAMMA RAY

Cassava is one of the most important starch crops, and its storage root is mostly used as a source for food and feed products. There is also a lot of demand domestically and internationally. Therefore, breeding new varieties for high quality and yield is essential. Mutation breeding is an alternative way for cassava improvement. The objective of this research was to induce mutation of two cassava varieties; Huay bong 60 and Rayong 72 using Ethyl methanesulfonate (EMS) and gamma ray under *in vitro*. The experiment was divided into 3 parts: 1) Determination of a suitable culture medium for cassava plantlet induction; 2) Chemical and physical mutagenesis using EMS and gamma-ray of cassava under *in vitro*; and 3) Evaluation of mutant cassava induced by EMS and gamma-ray using morphological characters and ISSR marker. The results from this study found that MS medium supplemented with different concentrations of 0.1 BA (mg/l.) +1.0 Kin (mg/l.) +0.05 NAA (mg/l.) was a suitable culture medium for plantlet induction on Huay bong 60 and Rayong 72 providing highest percentages of plantlets (75%). Different concentrations of EMS (0, 0.25, 0.50, 0.75 and 1%) were evaluated to determine the optimal concentrations for induced mutation of cassava and the median lethal dose (LD_{50}) at one-week old plantlet. The results found that the percentages of mortality increased with the increasing concentrations of EMS. LD_{50} of EMS on Huay bong 60 and Rayong 72 were 0.91 and 0.25%, respectively. Different doses of gamma-ray (10, 20, 30, 40, 50

and 60 Gy) were also evaluated. The results found that the percentages of mortality increased with the increasing doses of gamma-ray, the highest dose led to the highest mortality rate. LD_{50} of gamma ray on Huay bong 60 and Rayong 72 were 25.50 and 35.00 Gy, respectively. After cassava nodes were mutagenized with EMS and gamma-ray at different concentrations, it was found that cassava mutant at M_1V_1 generation had an effect on shoots length, number of leaves, stem diameter and chlorophyll content. The plantlets were then cultured for 45 days before being transferred to a greenhouse. Morphological and ISSR markers alterations were observed and found in some putative mutants. Shoots length, number of leaves, stem diameter and chlorophyll content were significant difference. Fifteen and 111 putative survival mutants from mutagenesis using EMS and 36 and 43 successive mutants from mutagenesis using gamma ray on two varieties were compared to the non-mutagenized control. For mutagenesis using EMS, 97 polymorphic bands were produced from a total of 292 bands (33.21%) in Huay bong 60, and 69 polymorphic bands were produced from a total of 249 bands (27.17%) in Rayong 72 by using 12 polymorphic ISSR primers. In the gamma ray experiment, 57 polymorphic bands were produced from a total of 232 bands (24.56%) in Huay bong 60, and 46 polymorphic bands were produced from a total of 249 bands (18.47%) in Rayong 72. Genetic diversity and relatedness were evaluated among EMS and gamma ray treated plants. These results indicated that EMS and gamma ray can be effectively utilized to mutagenize cassava, and the ISSR marker is a powerful tool for identification of mutants, and might be used as breeding germplasm in a cassava breeding program.

School of Crop Production Technology Student's Signature Wilawan Thimtong

Academic Year 2019 Advisor's Signature