รายงานการวิจัย

เรื่อง

วิธีการแยกและเพาะเลี้ยงโพรโทพลาสต์ปาล์มน้ำมัน(*Elaeis guineensis* Jacq.)

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. คำนูณ กาญจนภูมิ

งบประมาณจากทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2543
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

เลขหมู่ [illegible]
Bib Key 23414b

บทคัดย่อ

หาชิ้นส่วนปาล์มน้ำมันที่เหมาะสมที่สุดเพื่อใช้ในการแยกและเพาะเลี้ยงโพรโทพลาสต์โดยวิธีโฟลไซโทเมทรี พบว่า ตัพภะที่ผ่านการแช่น้ำมีความเหมาะสมมากที่สุดเนื่องจากมีปริมาณเซลล์ในช่วง G2 ของวงจรเซลล์สูงที่สุด แยกโพรโทพลาสต์จากชิ้นส่วนตัพภะดังกล่าวด้วยสารละลายเอนไซม์ผสมระหว่าง Cellulase Driselase และ Macerozyme พบว่า ได้ปริมาณโพรโทพลาสต์สูงที่สุดจากการแยกด้วยเอนไซม์สูตร 1.0% Cellulase + 0.25% Driselase + 0.25% Macerozyme ที่ระยะเวลาในการแยก 48 ชั่วโมง (4.52×10^6 pp/g. f. w) เลี้ยงโพรโทพลาสต์ในอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดต่าง ๆ โดยวิธี Bead culture เปรียบเทียบผลของชนิด gelling agent น้ำตาลชนิดต่าง ๆ และการมีและไม่มีผงถ่าน ต่ออัตราการแบ่งเซลล์ พบว่า โพรโทพลาสต์มีอัตราการแบ่งเซลล์เริ่มต้นมากที่สุดในอาหารที่มี Agarose เป็น gelling agent ส่วนชนิดของน้ำตาลและผงถ่านไม่มีความแตกต่างกัน จากนั้น ทดสอบผลของ Picloram และ/หรือ 2, 4-D ร่วมกับไซโทไคนินชนิดต่าง ๆ พบว่า โพรโทพลาสต์แบ่งเซลล์เริ่มต้นสูงสุดในอาหารที่มี Picloram 2 มก/ล 2, 4-D 1 มก/ล Kinetin 2 มก/ล และ BA 1 มก/ล (7.0 ± 0.81 เปอร์เซ็นต์) ศึกษาผลของ Dicamba และ ABA ร่วมกับ Picloram 2, 4-D Kinetin และ BA ต่อการชักนำการเจริญเป็นเซลล์โคโลนี พบว่า ค่า Plating efficiency มีค่าสูงสุดในอาหารที่มี Dicamba และ 2, 4-D ร่วมกับไซโทไคนินชนิดต่าง ๆ ในขณะที่อาหารที่มี Picloram ร่วมกับสารควบคุมการเจริญชนิดอื่น ๆ จะมีอัตราการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์โคโลนีที่ต่ำ แม้ว่า Dicamba เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีประสิทธิภาพต่อการชักนำให้เกิดเซลล์โคโลนี แต่ค่า Plating efficiency ที่ได้ยังคงมีค่าต่ำเพียง 0.032 เปอร์เซ็นต์

Abstract

The best source of oil palm explants for protoplast isolation and culture was determined by flow cytometry. It was found that imbibed embryos were the suitable explants since they had the most numbers of cells in G2 phase of the cell cycle. Protoplasts were isolated from imbibed embryos in the enzyme mixture solution of Cellulase, Driselase and Macerozyme. The highest yield of protoplast (4.52×10^6 protoplasts per gram fresh weight) were obtained from enzyme solution containing 0.1% Cellulase + 0.25% Driselase + 0.25% Macerozyme for 48 h. protoplast were cultured in Murashige and Skoog medium using bead culture technique. The protoplast culture was investigated according to different gelling agents, sugars and activated charcoal. The results revealed that the most initial cell division was obtained in the medium with agarose as gelling agent. Types of sugar and activated charcoal had no effect on cell division. Various plant growth regulators namely Picloram and/or 2, 4-D in combination with different cytokinins were tested. The highest cell division $7.0 \pm 0.81\%$ was found in the MS medium supplemented with 2 mg/l Picloram, 1 mg/l 2, 4-D, 2 mg/l Kinetin and 1 mg/l BA. For cell colony formation, Dicamba and ABA in combination with Picloram, 2, 4-D, Kinetin and BA were tested. Plating efficiency was better in the MS medium supplemented with Dicamba and 2, 4-D combined with different cytokinins compared to Picloram and other growth regulators containing media. Although Dicamba was more efficient to the cell colony formation, the plating efficiency was still low (0.032%).