

ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลของความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะที่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของ ชิ้นส่วนต่าง ๆ และการปลูกถ่ายยีนในหน้าวัวพันธุ์โชเนต
ผู้เขียน	นางสาวคนานาง จันทนวรรณ
สาขาวิชา	พืชศาสตร์
ปีการศึกษา	2549

บทคัดย่อ

จากการศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะซีโฟทาซิม, แวนโคมัยซิน, มีโลเพน และคานามัยซิน ต่อการเจริญ และการกำจัดเชื้ออะโกรแบคทีเรียม (*Agrobacterium tumefaciens*) ซึ่งเป็นตัวกลางในการปลูกถ่ายยีนในหน้าวัวพันธุ์โชเนต พบว่าซีโฟทาซิม และมีโลเพนเข้มข้น 100 มก./ล. ส่งเสริมการสร้างแคลลัสสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ จากชิ้นส่วนข้อ แวนโคมัยซินเข้มข้น 100 มก./ล. ให้ขนาดแคลลัสเฉลี่ยจากชิ้นส่วนข้อสูงสุด 1.08 ซม. มีโลเพนให้การพัฒนาเป็นต้นใหม่ สูงสุด 14 ยอดต่อแคลลัส เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อส่วนเกินพบว่า ซีโฟทาซิมเข้มข้น 0.4 มก./ล. สามารถกำจัดอะโกรแบคทีเรียมได้ดีที่สุดโดยมีพื้นที่ clear zone มากที่สุด 2.7 ตร.ซม. (90 เปอร์เซ็นต์) จากการศึกษาความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะคัดเลือกไฮโกรมัยซินต่ออัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนข้อพบว่า ความเข้มข้น 50 มก./ล. มีผลยับยั้งอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหาร Murashige และ Skoog ดัดแปลง (MMS) สำหรับ การศึกษาความสามารถในการปลูกถ่ายยีนพบว่า การจุ่มแช่ชิ้นส่วนข้อร่วมกับเชื้อ อะโกรแบคทีเรียม มีค่า OD₆₀₀ 1.634 เป็นเวลา 15 นาที แล้ววางเลี้ยงบนอาหาร MMS 2 วัน ล้างด้วย น้ำกลั่นเติมซีโฟทาซิม 200 มก./ล. ย้ายเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหาร MMS เติมซีโฟทาซิม 200 มก./ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ จึงย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเติมคัดเลือกการปลูกถ่ายยีนไฮโกรมัยซิน 50 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์พบว่า ชิ้นส่วนข้อมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด 73.33 เปอร์เซ็นต์ และการพัฒนาเป็น พืชต้นใหม่ 9 ยอด จากการตรวจสอบกิจกรรมของยีน *gus* พบจุดสีน้ำเงิน 16 จุด

Thesis Title Effect of Screening Antibiotics on Survival Rate of Nodal Explant and Gene Transformation in Anthurium cv. Sonate

Author Miss Kananang Juntanawan

Major Program Plant Science

Academic Year 2006

ABSTRACT

A study was carried out on the concentrations of the antibiotics vancomycin, cefotaxime, melopen and kanamycin, in order to eradicate *Agrobacterium tumefaciens* which was used for gene transformation in anthurium cv Sonate. The results showed that callus induction rate, size of callus and number of shoots were different among all treatments. Cefotaxime and melopen at 100 mg/l promoted the best callus formation (100%) while vancomycin at 200 mg/l gave the highest size of callus (1.08 cm). Melopen at 10 mg/l promoted the maximum number of shoots (14 shoots/callus). Kanamycin gave a lower percentage of callus, size of callus and number of shoots from node than the other antibiotics. In terms of the efficiency of eliminating *Agrobacterium*, cefotaxime at 0.4 mg/l was most efficient, giving a clear zone 2.7 cm² (90%). The effect of concentration of antibiotic (marker) on the survival rate of nodal explants was also investigated, and it was found that hygromycin at a concentration of 50 mg/l completely inhibited growth of nodes within 4 weeks of culture on modified Murashige and Skoog (MMS) medium. For the transformation studies, co-culture density of *A. tumefaciens* at OD₆₀₀ of 1.634 with nodes for 15 minutes on MMS medium for 2 days, then immersed in sterile distilled water containing 200 mg/l cefotaxime for 30 minutes, gave the best conditions for gene transformation. After culturing the transformed nodes on MMS with 200 mg/l cefotaxime for 6 weeks and transferring to MMS with 50 mg/l hygromycin for 4 weeks, the highest percentage of node callus (73.33%) and regenerated shoots (9 shoots/callus) were obtained. The transient expression of the *gus* gene was detected at an average number of 16 blue spots/callus.