รายงานการวิจัย

เรื่อง

การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้โดยเทคโนโลยีโปรโตพลาสต์ฟิวชั่น

Improvement of Orchids through Protoplast Fusion Technology

โดย

รศ. ดร. ตำนูณ กาญจนภูมิ

Order Key 18637
BIB Key 156202

เลขหมู่ SB409.6 ต163 2541
เลขทะเบียน .- 2 มิ.ย. 2542

งบประมาณโครงการวิจัย ปีงบประมาณ 2540
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
วิทยาเขตหาดใหญ่

บทคัดย่อ

ตากล้วยไม้ฟาแลนนอปซีสและแวนด้าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW (Vacin and Went, 1949) และสูตรดัดแปลงของ Kanchanapoom และคณะ (1991) สามารถพัฒนาเป็นรูปโดมหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 1 เดือน เมื่อฉีกใบอ่อนที่หุ้มตาออก แล้วย้ายเลี้ยงลงในอาหารเหลวสูตรเดิมที่มีการเขย่าด้วยความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1-2 เดือน ทำให้ตาสามารถเจริญเป็นโปรโตคอร์มได้ โปรโตคอร์มเพิ่มจำนวนได้เมื่อย้ายเลี้ยงในอาหารเหลวดังกล่าว และพัฒนาเป็นต้นกล้วยไม้ที่มียอดอ่อน ใบ และรากที่สมบูรณ์ เมื่อย้ายโปรโตคอร์มไปเลี้ยงบนอาหารแข็ง

นำใบอ่อนของกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ที่มีน้ำหนักสดชนิดละ 1 กรัม มาแยกโปรโตพลาสต์ พบว่าจะได้จำนวนโปรโตพลาสต์มากที่สุดเมื่อใช้สารละลายเอนไซม์ผสมระหว่างเซลลูเลส 1% + ไดรซีเลส 0.5% + มาเซอโรไซม์ 0.25% ที่มีน้ำตาลแมนนิทอล 0.7 M โดยใช้เวลา 5 ชั่วโมงสำหรับใบฟาแลนนอปซีส และ 6 ชั่วโมงสำหรับใบแวนด้า สามารถทำให้โปรโตพลาสต์ฟาแลนนอปซีสและแวนด้าเกิดฟิวชั่นได้ในสารละลาย PEG 6,000 เข้มข้น 45% เกิดเป็นเฮทเทอโรแคริออน (heterokaryon) เมื่อนำเฮทเทอโรแคริออนนี้ไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร VW ที่ไม่มีน้ำตาลซูโครส แต่มีน้ำตาลแมนนิทอล 0.5 M ภายใต้สภาวะมืด พบว่าเกิดการแบ่งสร้างผนังเซลล์ และเห็นการแบ่งเซลล์ เมื่อเพาะเลี้ยงไปได้ 21 วัน

Abstract

A domed-shaped *Phalaenopsis* and *Vanda* buds were obtained when cultured on VW (Vacin and Went, 1949) and Kanchanapoom et al. (1991) agar media for 1 month. The leaves from the bulging buds were removed and the buds were transferred to flasks containing liquid culture medium. The flasks were placed on the orbital shaker with the agitation speed of 125 rpm. Protocorm-like bodies were developed from these injured buds within 1-2 months. The proliferation of protocorm-like bodies could be obtained after each subculture into the same liquid medium. Complete plantlets occurred when these protocorm-like bodies were transferred to the same agar medium.

Protoplasts were isolated from the young leaves of cultured *Phalaenopsis* and *Vanda* plantlets. One gram fresh weight of the young leaves was digested with the enzyme solution containing 1% Cellulase + 0.5% Driselase + 0.25% Macerozyme , 0.7 M Mannitol. The incubation period was 5 and 6 hours for *Phalaenopsis* and *Vanda*, respectively. Protoplasts of *Phalaenopsis* and *Vanda* were induced to fuse with the solution of 45% PEG 6,000. The heterokaryons were successfully cultured in liquid VW medium with 0.5 M Mannitol but without sucrose under dark condition. After 21 days of culture, wall formation and the first division were evident .