รายงานวิจัย

เรื่อง

การแยกและเลี้ยงโพรโทพลาสต์จากใบผักกาดหอม

Isolation and Culture of Protoplast from Leaves of *Lactuca sativa*

โดย

นาย วิทูล ไชยภักดี

MR. WITOOL CHAIPAKDEE

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

งบประมาณรายได้จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปี 2545

บทคัดย่อ

การแยกโพรโทพลาสต์ของใบผักกาดหอม (*Lactuca sativa* L.) โดยใช้ใบผักกาดหอมที่เพาะจากเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อที่มีอายุ 25, 30 , 40 และ 50 วัน ด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ร่วมกับเพคติเนส ความเข้มข้นต่าง ๆ นำโพรโทพลาสต์ที่แยกได้ไปเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร มูราชิเกะ และ สกุด (MS) เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตหลายชนิดที่มีความเข้มข้นต่างกัน และการเลี้ยงในอาหารเหลว แบบแขวน แบบหยด และเลี้ยงบนอาหารแข็ง จากการศึกษาพบว่า ใบที่มีอายุ 30 วัน ที่ระดับความเข้มข้นของ เอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ เพคติเนส 1 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวน โพรโทพลาสต์ที่มีชีวิตสูงที่สุด 14.1 x 10^6 โพรโทพลาสต์ต่อกรัมน้ำหนักสด การเลี้ยงโพรโทพลาสต์ด้วยอาหารเหลวเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้มีการแบ่งเซลล์ได้มากที่สุด มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ การแบ่งเซลล์ครั้งแรกปรากฏให้เห็นหลังวางเลี้ยง 4 วัน และมีการสร้างไมโครโคโลนี (microcolony) หลังวางเลี้ยง 4 สัปดาห์ อย่างไรก็ตาม โพรโทพลาสต์ยังไม่สามารถพัฒนาไปเป็นแคลลัส และพืชต้นใหม่ จากไมโครโคโลนีได้

Abstract

Protoplasts were isolated from leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings 25, 30, 40 and 50 days after germination *in vitro* . The leaves were stripped and incubated in various combination of cellulase and pectinase. Protoplasts were cultured on MS medium containing various kinds and concentrations of plant growth regulators and various culture systems i.e. liquid media, hanging, drop culture and solid media. Results revealed that the highest number of viable protoplasts 14.1 $x10^5$ per gram fresh weight was obtained from leaves of 30 days old lettuce seedlings isolated by using 2 % cellulase in combination with 1 % pectinase. . Protoplast cultured in liquid MS media at concentrations 0.5 mg /l NAA with 0.5 mg /l BA promoted the highest cell division more than 50 % . First division of protoplasts was observed at 4 days after culture. Microcolony formation occurred 4 weeks after culture. Unfortunately, neither callus formation nor plantlet regeneration were obtained.