รายงานการวิจัย

การถ่ายโอนลักษณะดีของกล้วยไม้หอมเข้าสู่กล้วยไม้เศรษฐกิจ

Transferring of genuine characteristics from fragrance orchids to commercial orchids

พรรณี อัศวตรีรัตนกุล

ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน
ปีงบประมาณ 2541-2542
ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
วิทยาเขตหาดใหญ่

หอสมุด คุณหญิงหลง อรรถกระวีสุนทร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
วิทยาเขตหาดใหญ่
ได้รับจาก
คณะวิทยาศาสตร์ ๒๐
วันที่ เลขที่ ๒ ก.ค. ๒๕๔๓

บทคัดย่อ

ในการชักนำให้กล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์เกิดแคลลัสในสภาพที่ปลอดเชื้อ สูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดคือ อาหารดัดแปลงพื้นฐานของมูราชิก และสกุค (modified Murashige and Skoog ;1962)(MS6) ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตไคนิติน (Kinetin) และ 2,4 –Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ความเข้มข้น 2.5 μM และ 2.5 μM ตามลำดับ โดยใช้ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สำหรับสูตรอาหารที่สามารถชักนำให้กล้วยไม้หอมเอื้องแซะหลวงให้เกิดแคลลัสประกอบด้วย สารควบคุมการเจริญเติบโตไคนิติน และ 2,4-D ที่ความเข้มข้น 10 μM และ 0.5 μM

ในการทดลองการถ่ายโอนจีนในกล้วยไม้สามารถสร้างแบคทีเรีย *Agrobacterium tumefaciens* ที่มีดีเอ็นเอพาหะของจีนต้านทานยาปฏิชีวนะไฮโกรมัยซินหรือคานามัยซินได้และพบว่ากล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์และกล้วยไม้หอมเอื้องแซะหลวงที่ถูกถ่ายโอนจีนต้านทานยาปฏิชีวนะสามารถเจริญเติบโตในอาหารที่มียาปฏิชีวนะเหล่านี้ได้เมื่อเปรียบเทียบกับกล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์และกล้วยไม้เอื้องแซะหลวงที่เป็นตัวควบคุม

ในการแยกโพรโทพลาสต์ของกล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์และกล้วยไม้หอมเอื้องแซะหลวงจากใบอ่อนพบว่าสารละลายเอนไซม์ผสมระหว่างเอนไซม์มาเซอโรไซม์ 1 % และเอนไซม์เซลลูเลส 1% ที่มีน้ำตาลซอร์บิทอล 0.4 M ใช้เวลา 3 ชั่วโมงสำหรับกล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์และ 5 ชั่วโมงสำหรับกล้วยไม้เอื้องแซะหลวง และโพรโท-พลาสต์จากกล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์และกล้วยไม้หอมเอื้องแซะหลวงสามารถหลอมรวมกันได้โดยใช้สาร polyethylene glycol 6000

Abstract

Callus induction in *Dendrobium* Pompadour was conducted from culturing of seedling in vitro onto modified basal Murashige and Skoog(1962; MS) medium with various concentrations of 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid(2,4-D) and kinetin under continuous light of about 2,000 lux for 16 hours under aseptic condition. The result showed that medium MS6 composed of the mixture of 2,4-D at concentration 2.5 μM and kinetin at concentration 2.5 μM was the best media. For *Dendrobium scabrilingue* callus formation was obtained when cultured on MS4 supplemented with 0.5 μM 2,4-D and 10.0 μM kinetin.

I have successfully transferred plasmid which contained hygromycin and kanamycin resistance gene into *Agrobacterium tumefaciens* and then infected to plant tissue. The results showed that both infected *Dendrobium* Pompadour and Infected *Dendrobium scabrilingue* can grow well in the medium which contain hygromycin and kanamycin.

The protoplasts were prepared from *Dendrobium* Pompadour and *Dendrobium scabrilingue* in the buffer containing 1 % macerozyme , 1 % cellulase and 0.4 M sorbitol. From protoplast fusion experiment, the microscopic observation showed that the *Dendrobium* Pompadour can fuse with *Dendrobium scabrilingue* by using PEG 6000.