ชื่อวิทยานิพนธ์	เทคนิคการแยกและการเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์จากใบกล้วยไม้เหลืองจันทบูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f) ในหลอดทดลอง
ผู้เขียน	นางสาวสกุลรัตน์ แสนปุตะวงษ์
สาขาวิชา	พืชศาสตร์
ปีการศึกษา	2548

บทคัดย่อ

ศึกษาการแยกโปรโตพลาสต์จากชิ้นส่วนต่างๆ ของเหลืองจันทบูร (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f) ในหลอดทดลอง ด้วยสารละลายเอนไซม์ชนิดและความเข้มข้นต่างๆ อินคูเบทบนเครื่องเขย่าแบบไปมาที่ความเร็ว 50 รอบต่อนาที ในที่มืด เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง ปรับความหนาแน่นและเลี้ยงในอาหารชนิดต่างๆ เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดและความเข้มข้นต่างๆ พบว่าใบกล้วยไม้อายุ 4 สัปดาห์ ที่อินคูเบทด้วยสารละลายเอนไซม์เซลลูเลสโอโนซูกะอาร์-10 เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับมาเซอโรไซม์อาร์-10 เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ MES [2 (N-morpholino) ethanesulfonic acid] เข้มข้น 3 มิลลิโมลาร์ ซึ่งละลายในแมนนิทอล เข้มข้น 0.45 โมลาร์ ปรับระดับความเป็นกรดด่างของสารละลายเอนไซม์เป็น 5.5 เป็นระยะเวลา 5 ชั่วโมง ให้จำนวนโปรโตพลาสต์ $1.53x10^7$ ต่อกรัมน้ำหนักสด และความมีชีวิตสูงสุด (97.06 เปอร์เซ็นต์) การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์กล้วยไม้ด้วยความหนาแน่น $5x10^5$ โปรโตพลาสต์ต่อมิลลิลิตร ในอาหารเหลวสูตร MS เติม NAA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ส่งเสริมการแบ่งเซลล์สูงสุด (41.12 เปอร์เซ็นต์) และการสร้างมาโครโคโลนีได้ดีที่สุด (2.67 เปอร์เซ็นต์) อย่างไรก็ตามโปรโตพลาสต์ยังไม่สามารถพัฒนาเป็นแคลลัสและพืชต้นใหม่ได้

Thesis Title	Isolation and Culture Technique of Protoplasts from *In Vitro* Young Leaf of Friederick's Dendrobium Orchid (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f)
Author	Miss Sakulrat Sanputawong
Major Program	Plant Science
Academic Year	2005

ABSTRACT

Isolation and culture of protoplasts from *in vitro* of Friederick's Dendrobium Orchid (*Dendrobium friedericksianum* Rchb.f) was carried out using various kinds and concentrations of enzymes. The tissue-enzyme mixture was incubated on a gyratory shaker at 50 rpm under darkness for 4-6 hours. Protoplast densities were adjusted and cultured in different types of media supplemented with different kinds and concentrations of growth regulators. The results showed that leaves at 4 weeks of incubated in 2% cellulase Onozuka R-10, 1% macerozyme R-10 and 3 mM MES [2 (N-morpholino) ethanesulfonic acid] dissolved in 0.45 M mannitol, pH 5.5 and incubated for 5 hours gave released protoplasts at $1.53x10^7$ /gram fresh wight and viability of protoplasts was the highest (97.06%). Culture of the protoplasts at density of $5x10^5$/ml in solidified MS medium supplemented with 3 mg/l NAA and 1 mg/l BA promoted the highest cell division (41.12%) and macrocolony formation (2.67%). However, the protoplasts could not be developed to callus and plantlet.