พรทิพย์ มงคลดี. 2548. การส่งถ่ายยีน antisense ACC oxidase สู่กล้วยหอมทอง (*Musa sapientum* Linn.). วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. [ISBN 974-284-491-7]
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รศ.ดร.สุมนทิพย์ บุนนาค

บทคัดย่อ

170962

กล้วยเป็นพืชที่มีความสำคัญเนื่องจากเป็นอาหารหลักและเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตของประชาชนในหลายประเทศของทวีปอัฟริกา กล้วยหอมทอง (*M. sapientum*) มีข้อดีกว่ากล้วยหอมพันธุ์อื่นคือมีรสชาติดีกว่า แต่มีข้อเสียคือกล้วยหอมทองมักจะสุกเร็วและไม่ต้านทานต่อโรค ในการทดลองนี้มีจุดประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการชักนำเนื้อเยื่อกล้วยหอมทองให้เกิดต้นใหม่ และศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารปฏิชีวนะเพื่อใช้ในการกำจัด *A. tumefaciens* โดยไม่เป็นอันตรายต่อตัวอย่างพืช และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการส่งถ่ายยีนสู่พืชโดยใช้ *A. tumefaciens* และ particle bombardment เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำเนื้อเยื่อกล้วยหอมทองให้เกิดเป็นต้นใหม่ได้จำนวนมาก จากการทดลองพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 10 มก./ล. ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15 % (v/v) สามารถชักนำปลายยอดกล้วยหอมทองให้เกิดต้นได้มากที่สุด 12 ต้นต่อชิ้นส่วนพืช สามารถชักนำปลายยอดกล้วยหอมทองให้เกิดเอ็มบริโอได้โดยเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมไบโอติน 1 มก./ล., ซีเอติน 0.2 มก./ล. และ 2,4-D 1.5 มก./ล. และสามารถชักนำโซมาติกเอ็มบริโอให้เป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ได้เมื่อเลี้ยงนาน 4 เดือน การศึกษาอิทธิพลของสารปฏิชีวนะซีโฟแทกซีมและไฮโกรมัยซินต่อการเจริญของกล้วยหอมทอง พบว่าความเข้มข้นสูงสุดของซีโฟแทกซีมที่กล้วยหอมทองสามารถต้านทานได้คือ 250 มก./ล. ไฮโกรมัยซินความเข้มข้น 25 มก./ล. สามารถยับยั้งการเจริญของต้นกล้วยหอมทองได้ การส่งถ่ายยีน antisense ACC oxidase สู่กล้วยหอมทองโดยใช้ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 (pCAMBIA 1305.1) พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มปลายยอดกล้วยหอมทองร่วมกับ *A. tumefaciens* คือ 12 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่า acetosyringone ไม่มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการส่งถ่ายยีนสู่กล้วยหอมทอง ความเข้มข้นของซีโฟแทกซีมที่เหมาะสมในการกำจัด *A. tumefaciens* คือ 250 มก./ล. สำหรับการส่งถ่ายยีนสู่ปลายยอดกล้วยหอมทองโดยใช้ particle bombardment นั้นใช้กระสุนทังสเตนขนาด 1 ไมครอน ที่เคลือบด้วยพลาสมิดที่มียีน antisense ACC oxidase พบว่าแรงดันที่เหมาะสมของก๊าซฮีเลียมคือ 650 psi เมื่อตรวจสอบการสอดแทรกของยีนที่ส่งถ่ายสู่กล้วยหอมทองด้วยเทคนิค PCR พบว่ามีการสอดแทรกของยีนที่ส่งถ่ายเข้าไป

Porntip Mongkondee. 2005. **Transformation of *Musa sapientum* Linn. with antisense ACC oxidase.** Master of Science Thesis in Biology, Graduate School, Khon Kaen University. [ISBN 974-284-491-7]

Thesis Advisor : Assoc. Prof. Dr. Sumontip Bunnag

ABSTRACT

170962

Musa sapientum Linn. is the most important staple food and source of carbohydrate in many countries of Africa. The advantage of *M. sapientum* is the most delicious than other *Musa* spp. The disadvantage of *M. sapientum* is fast ripening and sensitive to disease. The objectives of this research were to improve regeneration of *M. sapientum*; to select the suitable antibiotic for elimination of *Agrobacterium tumefaciens* which maintaining high levels of shoot regeneration and to establish the optimal condition for the transformation of *M. sapientum* by using *A. tumefaciens* and particle bombardment. Application of tissue culture may lead to improve the efficiency of regeneration system. The suitable medium for shoot induction was MS medium supplemented with 10 mg/l BA and 15 % (v/v) coconut water. The number of shoot multiplication were 12 shoots/explant. Shoot tips successfully formed somatic embryos on MS medium containing 1 mg/l biotin, 0.2 mg/l zeatin and 1.5 mg/l 2,4-D. Plantlets were developed from somatic embryos after culturing for 4 months. Experiments were performed to determine the effects of cefotaxime and hygromycin on regeneration of *M. sapientum.* It was found that the highest concentration of cefotaxime that plantlets could tolerate was 250 mg/l. The plantlets of *M. sapientum* were completely inhibited by 25 mg/l hygromycin. The *A. tumefaciens* strain LBA4404 (pCAMBIA 1305.1) with antisense ACC oxidase gene was used for genetic transformation of *M. sapientum.* The optimal co-cultivation time for *M. sapientum* was 12 hours. The efficiency of acetosyringone was tested and it was found that acetosyringone could not improve transformation efficiency of *M. sapientum.* The optimal concentration of cefotaxime for elimination *A. tumefaciens* was 250 mg/l. Particle bombardment was also used to deliver antisense ACC oxidase gene into *M. sapientum.* Tungsten particles (1 μm) were coated with antisense ACC oxidase gene and introduced into shoot tips of *M. sapientum.* The optimal helium pressure was 650 psi. PCR method confirmed the integration of foreign genes.