

วริศา พิลาโฮม. 2548. การส่งถ่ายยีน antisense ACC oxidase สู่มะเขือเทศและแตงกวา. วิทยานิพนธ์
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
[ISBN 974-666-690-8]

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รศ. ดร. สุนันทิพย์ บุญนาค

บทคัดย่อ

170943

การเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำโพรโทคอร์มเข็มขาวและเอื้องคำให้เกิดขึ้น เป็นขั้นตอน
ที่จะต้องทำการศึกษาก่อนการส่งถ่ายยีนสู่มะเขือเทศและแตงกวา จากการศึกษาพบว่า อาหาร
สังเคราะห์สูตร New Dogashima Medium 1993 (NDM) คัดแปลงที่เติมน้ำมันฝรั่ง 1% เป็นสูตร
อาหารที่เหมาะสมในการเพาะเมล็ดมะเขือเทศและเอื้องคำ และสามารถเพิ่มปริมาณโพรโทคอร์ม
เข็มขาวและเอื้องคำโดยการย้ายลงในอาหารเหลวสูตร NDM ที่เติมน้ำตาลซูโครส 1% เมื่อศึกษาผล
ของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดขึ้น พบว่า สามารถชักนำโพรโทคอร์มเข็มขาว
ให้เกิดขึ้นได้สูงสุด 6 ต้นต่อโพรโทคอร์ม ในอาหารสังเคราะห์สูตร NDM ที่เติม naphthaleneacetic
acid 1 มก./ล. สามารถชักนำโพรโทคอร์มเอื้องคำให้เกิดขึ้นสูงสุดในอาหารสังเคราะห์สูตร NDM
ที่เติม benzylaminopurine 0.1 มก./ล. มีจำนวนต้นเฉลี่ย 7 ต้นต่อโพรโทคอร์ม หลังจาก 4 เดือน นำ
ต้นอ่อนไปเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีฮอร์โมนเพื่อชักนำให้เกิดราก จากการศึกษาผลของสารปฏิชีวนะ
ต่อการเจริญของโพรโทคอร์มกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด พบว่า ความเข้มข้นสูงสุดของซีโฟแทกซิมที่
โพรโทคอร์มเข็มขาวและเอื้องคำ สามารถเจริญได้ คือ 250 และ 300 มก./ล. ตามลำดับ สาร
ปฏิชีวนะไฮโครมัยซินความเข้มข้น 9 และ 25 มก./ล. สามารถยับยั้งการเจริญของโพรโทคอร์ม
กล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิดได้ ตามลำดับ การส่งถ่ายยีน antisense ACC oxidase สูโพรโทคอร์มกล้วยไม้ทั้ง
2 ชนิดโดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 (pCAMBIA 1305.1) และ
microprojectile bombardment ที่มียีน *hptII* และยีน *gus* พบว่า โพรโทคอร์มเข็มขาวและเอื้องคำที่
ได้รับการส่งถ่ายยีนโดยใช้ *Agrobacterium* มีเปอร์เซ็นต์ความต้านทานต่อไฮโครมัยซินเท่ากับ 54%
และ 23 % ตามลำดับ สำหรับโพรโทคอร์มของกล้วยไม้ทั้ง 2 ชนิด ที่ทำการส่งถ่ายยีนโดยใช้
microprojectile bombardment มีเปอร์เซ็นต์ความต้านทานต่อไฮโครมัยซินเท่ากับ 42 % และ 21%
ตามลำดับ เมื่อตรวจสอบผลการส่งถ่ายยีนด้วย GUS assay พบว่า มีกิจกรรมของยีน *gus* และเมื่อ
ตรวจสอบโดยเทคนิค PCR พบว่า มีการสอดแทรกของยีนที่ส่งถ่ายเข้าไป

Warisa Pilahome. 2005. Transformation of *Vanda lilacina* Teijsm. & Binn. and *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. with antisense ACC oxidase. Master of Science Thesis in Biology, Graduate School, Khon Kaen University. [ISBN 974-666-690-8]

Thesis Advisor : Assoc. Prof. Dr. Sumontip Bunnag

Abstract

170943

As prerequisites for generating stably transformed *Vanda lilacina* and *Dendrobium chrysotoxum*, efforts were made to improve the efficiency of regeneration system for both orchid species. The New Dogashima Medium (NDM) supplemented with 1% potato extract was suitable for germination of seeds of *V. lilacina* and *D. chrysotoxum*. The protocorm – like bodies (PLBs) of *V. lilacina* and *D. chrysotoxum* were successfully proliferated on the NDM liquid medium containing 1 % sucrose. Experiments were performed to determine the effect of plant growth regulators on the number of shoots per PLB. It was found that the highest shoot numbers of *V. lilacina* were 6 shoots per PLB when cultured on NDM medium supplemented with 1 mg/l naphthaleneacetic acid. The highest number of shoots per PLB of *D. chrysotoxum* was successfully regenerated on NDM medium enriched with 1 mg/l benzylaminopurine. The number of shoots were 6 shoots per PLB. After 4 months the regenerated shoots of two orchid species were transferred into NDM without hormone for roots induction. In the study of the effect of antibiotics on growth of the two orchid species, it showed that the highest concentrations of cefotaxime that protocorms of *V. lilacina* and *D. chrysotoxum* could tolerate were 250 and 300 mg/l, respectively. The protocorm development of the two orchid species were completely inhibited by hygromycin concentrations at 9 and 25 mg/l, respectively. Transformations of the two orchid species with antisense ACC oxidase into their protocorms via *Agrobacterium tumefaciens* strain LBA4404 (pCAMBIA 1305.1) and microprojectile bombardment were investigated. The plasmid containing antisense ACC oxidase gene, hygromycin resistant (*hptII*) gene and β -glucuronidase gene was used. The transformation percentages of *V. lilacina* and *D. chrysotoxum* by *Agrobacterium* were 54% and 23%, respectively. The transformation of the two orchid species by microprojectile bombardment gave hygromycin-resistant percentages of 42% and 21%, respectively. The positive results of GUS assay revealed the GUS activity in the transformed protocorms, while the PCR method indicated successful integration of transgenes.