

กัลยา รัตนถาวรกิติ 2550: การพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงแคลลัสเพื่อการถ่ายยีนในปทุมมา ปรินญา
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาพืชสวน ภาควิชาพืชสวน ปรธานกรรมการที่ปรึกษา:
ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุวิธ วรรณไกรโรจน์, Ph.D. 85 หน้า

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนจากปลาย กลาง และ โคนของช่อดอกอ่อนปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่บนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA เพิ่มขึ้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA เพิ่มขึ้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร หรืออาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ เพิ่มขึ้น 0, 0.25, 0.5 หรือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IMA เพิ่มขึ้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้ สภาพมืด แสงสีขาว แสงสีแดงหรือแสงสีน้ำเงิน นาน 12 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดยอด พบว่า เกิดต้นมากที่สุดบน อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA เพิ่มขึ้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA เพิ่มขึ้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่ อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ เพิ่มขึ้น 0.1-1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IMA เพิ่มขึ้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ เกิดกลุ่มยอดที่แคระแกร็นที่มีขนาดใหญ่ไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้ชิ้นพืชที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาพแสงสีแดงเกิดขึ้นซึ่งสูง มากที่สุด ในขณะที่สภาพแสงสีขาวมีผลให้เกิดขนาดของกลุ่มยอดที่แคระแกร็นซึ่งมีขนาดใหญ่ที่สุด โดยตำแหน่ง ของชิ้นพืชบนช่อดอกไม่มีผลต่อจำนวนต้นและความสูงต้น

การชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนโคนต้นของปทุมมาบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D เพิ่มขึ้น 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 หรือ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ เพิ่มขึ้น 0, 0.01 หรือ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้ สภาพมืด แสงสีขาว แสงสีแดงหรือแสงสีน้ำเงิน นาน 4 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D เพิ่มขึ้น 1.0 - 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ไม่แตกต่างกัน ขณะที่สภาพแสงสีน้ำเงินและแสง สีแดงส่งเสริมให้เกิดแคลลัสดีกว่าแสงสีขาวและสภาพมืด โดยที่ชิ้นพืชซึ่งเพาะเลี้ยงอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D เพิ่มขึ้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ เพิ่มขึ้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้แสงสีแดงมีอัตราการเกิด แคลลัสสูงที่สุดเท่ากับ 91.67 เปอร์เซ็นต์ เมื่อย้ายแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงซึ่งเติม 2,4-D เพิ่มขึ้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ เพิ่มขึ้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ เพิ่มขึ้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ได้อัตราที่แคลลัสเกิดยอดได้สูงที่สุดคือ 14.54 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาอิทธิพลของสารปฏิชีวนะต่อการเติบโตของแคลลัสปทุมมาเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า แคลลัสสามารถเติบโตได้บนอาหารที่เติมซีโฟแทกซิม เพิ่มขึ้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่ไฮโกรมัยซิน เพิ่มขึ้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ขยับยั้งการเติบโตของแคลลัสปทุมมา การทดลองถ่ายยีน *gus* เข้าสู่แคลลัสของปทุมมาพันธุ์ เชียงใหม่ โดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA 4404 (pCAMBIA1305.1) พบว่า การบ่มแคลลัส ร่วมกับ *Agrobacterium* นาน 30 นาที สามารถตรวจพบการแสดงออกของยีน *gus* โดยวิธี GUS assay