

การเพิ่มประสิทธิภาพการชักนำให้แคลลัสเกิดต้นใหม่ในทุเรียนพันธุ์หมอนทองและพันธุ์ชะนีเป็นขั้นตอนที่จะต้องศึกษาก่อนการส่งถ่ายยีนสู่ทุเรียน จากการศึกษาพบว่าอาหารสูตรที่เหมาะสมในการชักนำให้ใบเลี้ยงทุเรียนพันธุ์หมอนทองและพันธุ์ชะนีเกิดแคลลัสคือ อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 0.8 มก./ล. โดยมีเปอร์เซ็นต์การสร้างแคลลัสเท่ากับ 100% การเติมผงถ่าน (activated charcoal) ในอาหารเพาะเลี้ยงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้ใบเลี้ยงทุเรียนเกิดแคลลัส โดยปริมาณที่เหมาะสมที่เติมในอาหารคือ 0.2 ก./ล. และ 35 มก./ล. ตามลำดับ สูตรอาหารที่ชักนำให้แคลลัสทุเรียนพันธุ์หมอนทองเจริญเป็นต้นใหม่คืออาหารสูตร MS ที่เติม GA 1.0 มก./ล. และสูตรอาหารที่ชักนำให้แคลลัสทุเรียนพันธุ์ชะนีเกิด bud primordia คืออาหารสูตร WPM ที่เติม TDZ 5.0 มก./ล. โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 70% แกนเอ็มบริโอ (embryo axis) ของทุเรียนสามารถเกิดยอดได้ในอาหารสูตร WPM ที่เติม GA 1.0 มก./ล. หรือเติม BA 1.0 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.

ความเข้มข้นสูงสุดของซีโฟแทกซิมที่แคลลัสทุเรียนพันธุ์หมอนทองสามารถทนได้คือ 350 มก./ล. ความเข้มข้นของกานามัยซินและไฮโกรมัยซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของแคลลัสทุเรียนคือ 350 มก./ล. และ 20 มก./ล. ตามลำดับ

การส่งถ่ายยีน antisense ACC oxidase สู่ทุเรียนพันธุ์หมอนทองโดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105(pCAMBIA1305.1) โดยบ่มแคลลัสทุเรียนร่วมกับเชื้อ *A. tumefaciens* เมื่อตรวจสอบผลการส่งถ่ายยีน สามารถตรวจพบการแสดงออกของ gus gene สำหรับการส่งถ่ายยีน antisense ACC oxidase สู่ทุเรียนทั้งสองพันธุ์ด้วยวิธี microprojectile bombardment สามารถตรวจพบการแสดงออกของ gus gene จากการตรวจสอบการสอดแทรกของยีนโดยเทคนิค PCR พบว่ามีการสอดแทรกของยีนที่ส่งถ่าย

As prerequisites for generating stable transformed *Durio zibethinus* Murr. cv. Mon Tong and cv. Chanee, efforts were made to improve the efficiency of regeneration system. The MS (Murashige and Skoog, 1962) medium supplemented with 0.8 mg/l 2,4-D was suitable for inducing the cotyledon of durian cv. Mon Tong and cv. Chanee to develop into calluses. The percentage of callus induction was 100%. Other modifications of the medium, including addition of 0.2 g/l activated charcoal or 35 mg/l ascorbic acid improved the efficiency of callus induction. The callus of durian cv. Mon Tong was successfully regenerated on the MS medium supplemented with 1.0 mg/l GA. The callus of durian cv. Chanee was successfully regenerated on the WPM medium enriched with 5.0 mg/l TDZ. Its regeneration percentage was 70%. The suitable regeneration medium for durian embryo axis was WPM medium containing 1.0 mg/l GA or 1.0 mg/l BA combination with 0.5 mg/l NAA.

The highest concentration of cefotaxime that callus of durian cv. Mon Tong could tolerate was 350 mg/l. Kanamycin concentration at 350 mg/l and hygromycin concentration at 20 mg/l were effective for inhibition of callus induction.

*Agrobacterium*-mediated gene transfer protocols for durian cv. Mon Tong were devised using callus. *A. tumefaciens* strain EHA105(pCAMBIA1305.1) containing antisense ACC oxidase gene was used in this experiment. Co-cultivation of durian cv. Mon Tong callus with EHA105, led to numerous GUS-positive. Successful transformation of antisense ACC oxidase into the two mentioned species of durian by microprojectile bombardment was verified by GUS assay. The GUS assay revealed the GUS activity while PCR method indicated the integration of DNA.