

ข

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ จีเนติก ทรานสฟอร์เมชัน ของกาวาเครือขาว (*Pueraria mirifica* Shaw and Suvatabandhu) โดย *Agrobacterium rhizogenes*

ชื่อผู้เขียน วิจารณ์ มงคลไชยสิทธิ์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ :

รองศาสตราจารย์ ดร.สมบูรณ์ อนันตลาโกชัย	ประธานกรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร.ทิพย์มณี ภระตะศิลป์	กรรมการ
อาจารย์ ดร.ศรีสุลักษณ์ ธีรานุกพัฒนา	กรรมการ

บทคัดย่อ

Agrobacterium rhizogenes สายพันธุ์ A₄ และ 15834 ถูกนำมาทดลองเพื่อใช้ในการชักนำการสร้างรากในเนื้อเยื่อส่วนยอดและลำต้นของกาวาเครือขาว เพื่อเพิ่มการผลิตสารที่มีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน การชักนำให้เกิดรากดำเนินการทดลอง 2 วิธีคือ นำเนื้อเยื่อปลายยอดและลำต้นมาตัดให้มีความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร แช่ลงใน bacterial suspension ที่มีความเข้มข้น 2×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 10 นาที และอีกวิธีคือ การหยด bacterial suspension ลงบนบาดแผลของเนื้อเยื่อโดยตรงขึ้นละ 50 ไมโครลิตร บ่มเชื้อเป็นเวลานาน 48 ชั่วโมงในที่มีด จากนั้นไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ คือ 1) อาหาร MS 2) อาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA และ kinetin 1:1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 3) อาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์และด้วยการชักนำทั้ง 2 วิธี ไม่สามารถชักนำให้เกิดการสร้างรากได้ และเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ไม่ได้มีการชักนำด้วยแบคทีเรียพบว่าในสูตรอาหาร 3 ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดการสร้างรากได้ดีที่สุด นอกจากนั้นเมื่อทดลองเลี้ยงต้นอ่อน (seedling) ของกาวาเครือขาว อายุ 2 สัปดาห์ ในอาหารเหลว MS ที่เติมฮอร์โมน NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดการสร้างรากได้ดีเช่นกัน

ThesisTitle Genetic Transformation of *Pueraria mirifica* Shaw and Suvatabandhu by
Agrobacterium rhizogenes

Author Miss Viraporn Mogkonchaisit

M.S. Biology

Examining Committee :

Associate Professor Dr.Somboon Anuntalabhochai

Chairman

Associate Professor Dr.Thipmani Paratasilpin

Member

Lecturer Dr. Srisulack Dheeranupattana

Member

Abstract

Two strains of *Agrobacterium rhizogenes*; A₄ and 15834 were used in the induction of hairy root in *Pueraria mirifica*'s stem and shoot explants in order to yield the estrogenic liked substance. The induction were performed in two different treatments. Firstly, 1.5 cm of stem and shoot were soaked in 2×10^8 cell/ml bacterial suspension for 10 min. Secondly, the same concentration of 50 μ l bacterial suspension was dropped on wounded tissue of both the stem and shoot; consequently, all treated tissues were incubated for 48 hr. in dark. Then the tissue were cultured on media containing only MS (1), MS with NAA and kinetin in ratio 1:1 mg/l. (2) and MS with 0.1 mg/l. NAA (3). It was found that both stem and shoot of *P. mirifica* were not be able to induce root formation by *A. rhizogenes* either soaking or dropping treatments.

However, the untreated *P. mirifica* generates the best root formation in both solid and liquid media of MS with 0.1 mg/l. NAA.