สูตรอาหารที่เหมาะสมที่ใช้ในการชักนำเมล็ดข้าวพันธุ์ กข 6 ให้เกิดแคลลัสคือ อาหารสังเคราะห์สูตร N_6 ดัดแปลงที่เติม 2,4 D 22.5 μM, casein hydrolysate 300 mg/l และ bacto agar 0.8% (w/v) ภายใต้สภาวะที่มีแสง โดยมีเปอร์เซนต์การสร้างแคลลัสเท่ากับ 97.22% สำหรับสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสข้าวสายพันธุ์ กข 6 ให้เจริญเป็นต้นใหม่ คือ อาหารสังเคราะห์สูตร N_6 ดัดแปลงที่เติม IAA 2.5 μM, BA 18 μM, casein hydrolysate 300 mg/l และ gelrite 0.26% (w/v) ซึ่งเปอร์เซนต์การเจริญเป็นต้นใหม่ของแคลลัสเท่ากับ 61.11% และมีจำนวนต้นต่อแคลลัสเท่ากับ 6 ต้น สำหรับสูตรอาหารที่ใช้ชักนำเมล็ดข้าวพันธุ์ กข 15 ให้สร้างแคลลัสคืออาหารสังเคราะห์สูตร N_6 ที่เติม 2,4 D 7 μM และ bacto agar 0.8% (w/v) โดยมีเปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 93.33% ส่วนอาหารที่ชักนำแคลลัสของข้าวสายพันธุ์ กข 15 ให้เจริญเป็นต้นใหม่คืออาหารสูตร MS ที่เติม BA 13.5 μM, kinetin 7.5 μM, NAA 4.5 μM, casein hydrolysate 300 mg/l และ bacto agar 0.8% (w/v) โดยมีเปอร์เซนต์การเกิดเป็นต้นใหม่เท่ากับ 53% และมีจำนวนต้นเท่ากับ 8 ต้น ต่อแคลลัส ในการยับยั้งการเจริญของ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA 4404 และสายพันธุ์ EHA 105 พบว่า cefotaxime ที่ความเข้มข้น 50 mg/l และ carbenicillin ที่ความเข้มข้น 150 mg/l สามารถยับยั้งการเจริญของ *A. tumefaciens* ทั้งสองสายพันธุ์ได้ cefotaxime และ carbenicillin ที่ความเข้มข้น 250 mg/l เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญเป็นต้นของแคลลัสของข้าวทั้งสองสายพันธุ์ได้อย่างสมบูรณ์ kanamycin และ hygromycin ที่ความเข้มข้น 150 mg/l และ 10 mg/l เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ใช้ในการคัดเลือกข้าวแปลงพันธุ์สายพันธุ์ กข 6 ที่ต้านทานต่อ kanamycin และ hygromycin ตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของ kanamycin ที่ใช้ในการคัดเลือกข้าวแปลงพันธุ์สายพันธุ์ กข 15 คือ 200 mg/l เวลาที่เหมาะสมในการบ่ม (co-cultivation) เมล็ดข้าวพันธุ์ กข 6. และ กข 15 ใน *A. tumefaciens* ทั้งสองสายพันธุ์คือ 50 นาที จากการตรวจสอบการแสดงออกของ GUS gene ในเมล็ดข้าวสายพันธุ์ กข 6 ที่บ่มร่วมกับ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA 4404pBI 121 และสายพันธุ์ EHA105 pCAMBIA 1301 มีเปอร์เซนต์ GUS activity เท่ากับ 89.19% และ 93.33% ตามลำดับ สำหรับเมล็ดข้าวสายพันธุ์ กข 15 ที่บ่มร่วมกับ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA 4404 (pBI 121) มีการแสดงออกของ gus gene เท่ากับ 100% ผลการตรวจสอบกิจกรรมของ gus gene ในต้นข้าวแปลงพันธุ์สายพันธุ์ กข 6 และ กข 15 พบว่าทุกต้นที่นำมาตรวจสอบมีการแสดงออกของ gus gene ในทุกส่วนของพืช

TE 132915

Abstract

The suitable medium for callus induction of rice var. RD 6 seeds was modified N_6 medium containing 22.5 μM 2, 4 D, 300 mg/l casein hydrolysate and 0.8% (W/V) bacto agar under light condition. The percentage of callus induction was 97.22%. Regeneration of rice var. RD 6 was enhanced up to 61.11% on the same medium supplement with 2.5 μM IAA, 18 μM BA, 300 mg/l casein hydrolysate and 0.26 % (W/V) gelrite. The numbers of shoots/callus were 6. On the other hand, high percentage of callus induction at 93.33% was obtained when seeds of rice var. RD 15 were cultured on N_6 medium containing 7 μM 2,4D, 0.8 % (W/V) bacto agar. Regeneration percentage of rice var. RD 15 was 53% on MS medium supplement wilh 13.5 μM BA, 7.5 μM kinetin, 4.5 μM NAA, 300 mg/l casein hydrolysate and 0.8% (W/V) bacto agar. The numbers of shoots / callus were 8. The minimum concentration of cefotaxime and carbenicillin for elimination *A. tumefaciens* were 50 mg/l and 150 mg/l respectively. The concentration of cefotaxime and carbenicillin at 250 mg/l was effective to inhibit growth of transgenic rice completely. The minimum concentrations of kanamycin and hygromycin for selection of transgenic rice var. RD 6 were 150 mg/l and 10 mg/l respectively. On the other hand kanamycin concentration at 200 mg/l was effective for selection of transgenic rice var. RD 15. The optimal co-cultivation time of rice seeds was 50 minutes. Gus activity of rice seed var. RD 6 cocultivated with *A. tumefaciens* LBA 4404 pBI 121 and EHA 105 pCAMBIA 1301 was 89.19% and 93.33 % respectively. The frequency of gus expression in infected rice seed var. RD 15 was 100%. GUS assays in transgenic rice var. RD 6 and var. RD 15 showed that under the proper conditions transformed plants were obtained.