

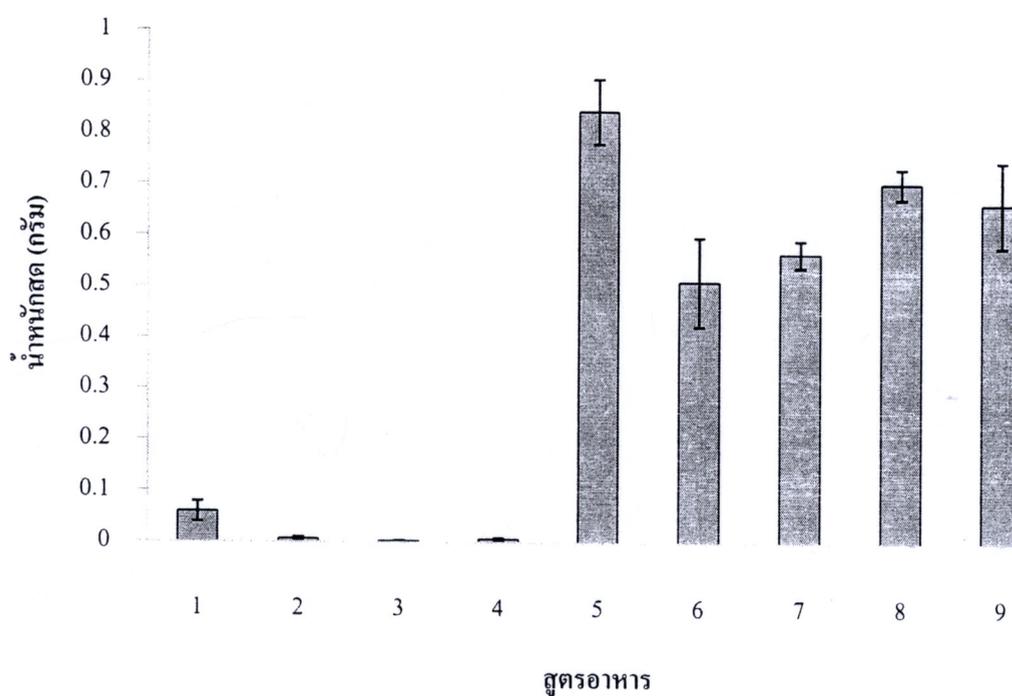
บทที่ 4
ผลการวิจัย



ผลการทดลองที่ 1 ผลของ 2, 4-D และน้ำตาลต่อการเพิ่มน้ำหนักและขนาดของแคลลัส

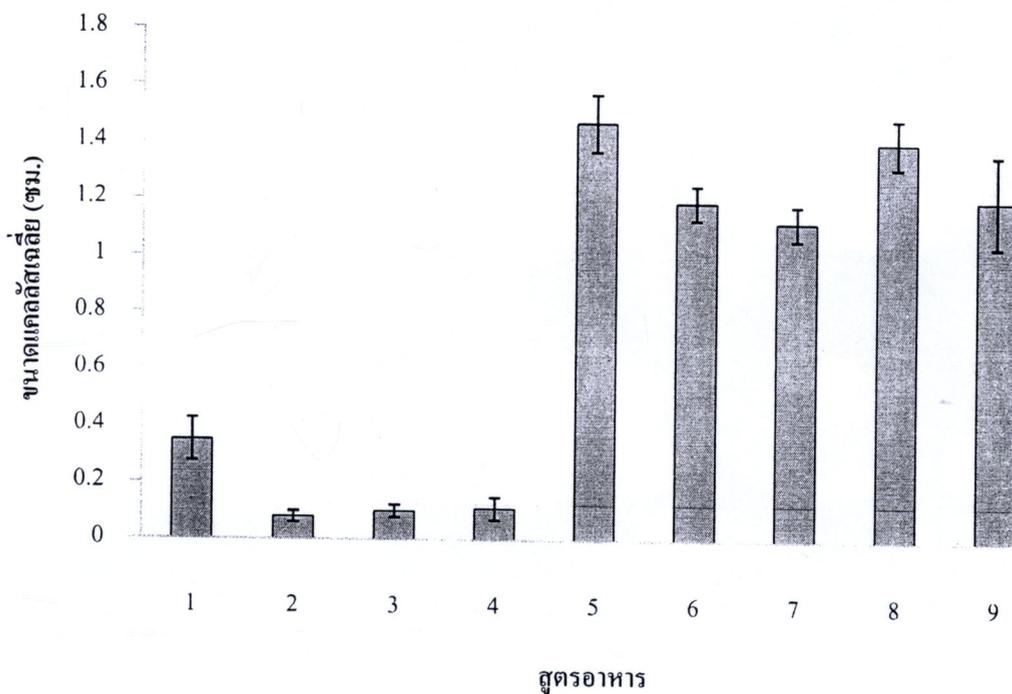
อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80

จากการนำแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80 เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม 2, 4-D และน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ เพื่อเพิ่มปริมาณของแคลลัส พบว่า ในสัปดาห์แรกแคลลัสของอ้อยทั้งสองพันธุ์ ยังไม่มีการเติบโตหรือขยายขนาด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 - 3 สัปดาห์ แคลลัสเริ่มมีการเจริญเติบโต และขยายขนาดจากก้อนแคลลัสเดิม โดยแคลลัสที่เกิดขึ้นในระยะแรกจะมีสีเหลืองอ่อน ประกอบด้วยเซลล์ที่เกาะกันแน่น (compact callus) และกลุ่มเซลล์ที่มีการเกาะตัวกันอย่างหลวม (friable callus) โดยลักษณะการเกาะกันเองของเซลล์อาจจะแยกกันในแต่ละก้อนของแคลลัส หรือ อาจมีลักษณะทั้ง 2 แบบรวมในก้อนแคลลัสเดียวกัน ในสัปดาห์ที่ 5-6 แคลลัสจะมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่วนใหญ่แคลลัสยังคงมีลักษณะเกาะกันแน่น และมีสีเหลืองอ่อน แต่บางแคลลัสเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เนื่องจากมีการปล่อยสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) และแคลลัสส่วนใหญ่จะหยุดการเจริญเติบโตและเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลมากขึ้นเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 7-8 (ภาพที่ 10 และ 13) จากการศึกษาพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ 2, 4-D ที่ 4 มก./ล. และซูโครส 15 ก./ล. น้ำหนักและขนาดเฉลี่ยของแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 เพิ่มขึ้นมากที่สุด คือ 0.606 กรัมและ 1.5 ซม. ตามลำดับ (ภาพที่ 8 และ 9) ซึ่งแตกต่างจากแคลลัสอ้อยพันธุ์ K92-80 พบว่าอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่มีปริมาณความเข้มข้นของ 2, 4-D 4 มก./ล. และซูโครส 30 ก./ล. น้ำหนักและขนาดเฉลี่ยของแคลลัสอ้อยเพิ่มขึ้นมากที่สุด เท่ากับ 0.843 กรัม และ 1.47 ซม. ตามลำดับ (ภาพที่ 11 และ 12) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับสูตรอาหารอื่น



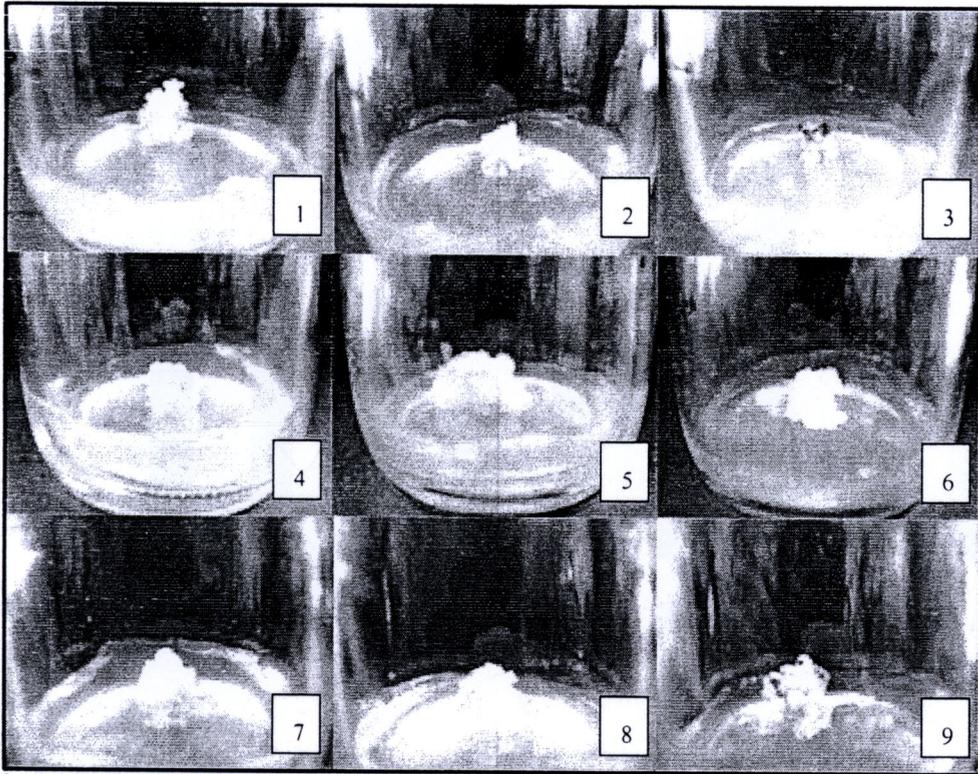
ภาพที่ 8 น้ำหนักสดของแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่แปรผัน 2, 4-D และน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 8 สัปดาห์

หมายเหตุ: อาหารสูตรที่ 1 เต็ม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 2 เต็ม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 3 เต็ม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 4 เต็ม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 5 เต็ม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 6 เต็ม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 7 เต็ม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 8 เต็ม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 9 เต็ม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.



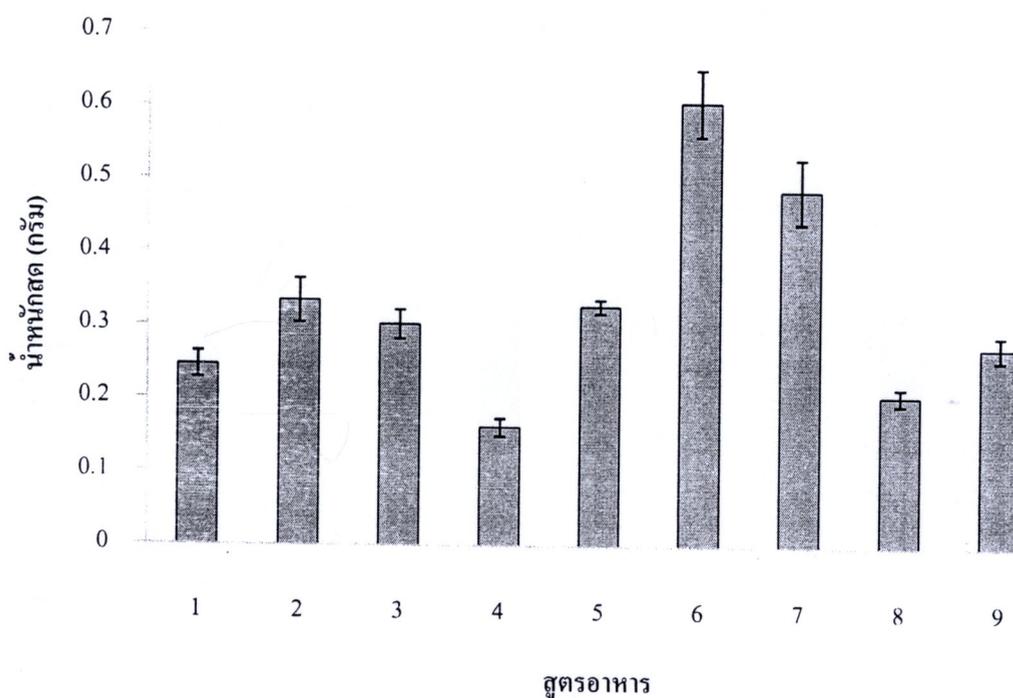
ภาพที่ 9 ขนาดเฉลี่ยของแคคตัสฮ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D และน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 8 สัปดาห์

หมายเหตุ: อาหารสูตรที่ 1 เติม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 2 เติม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 3 เติม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 4 เติม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 5 เติม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 6 เติม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 7 เติม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 8 เติม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 9 เติม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.



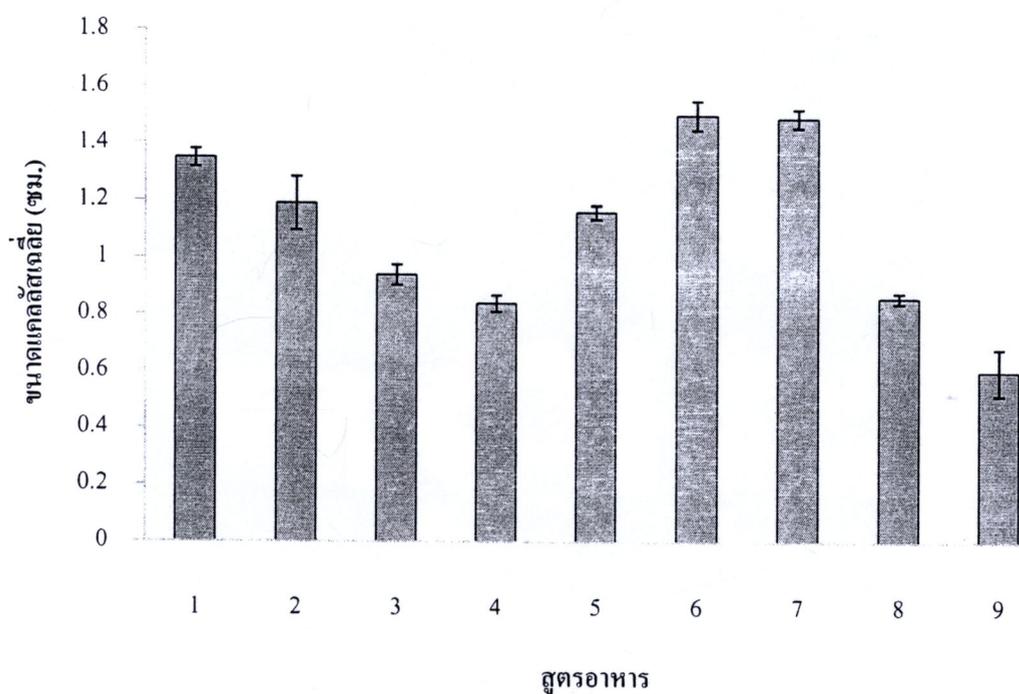
ภาพที่ 10 ลักษณะการเจริญของแคลสส์อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่แปรผัน 2, 4-D และน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 8 สัปดาห์

หมายเหตุ: อาหารสูตรที่ 1 เดิม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 2 เดิม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 3 เดิม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 4 เดิม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 5 เดิม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 6 เดิม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 7 เดิม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 8 เดิม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 9 เดิม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.



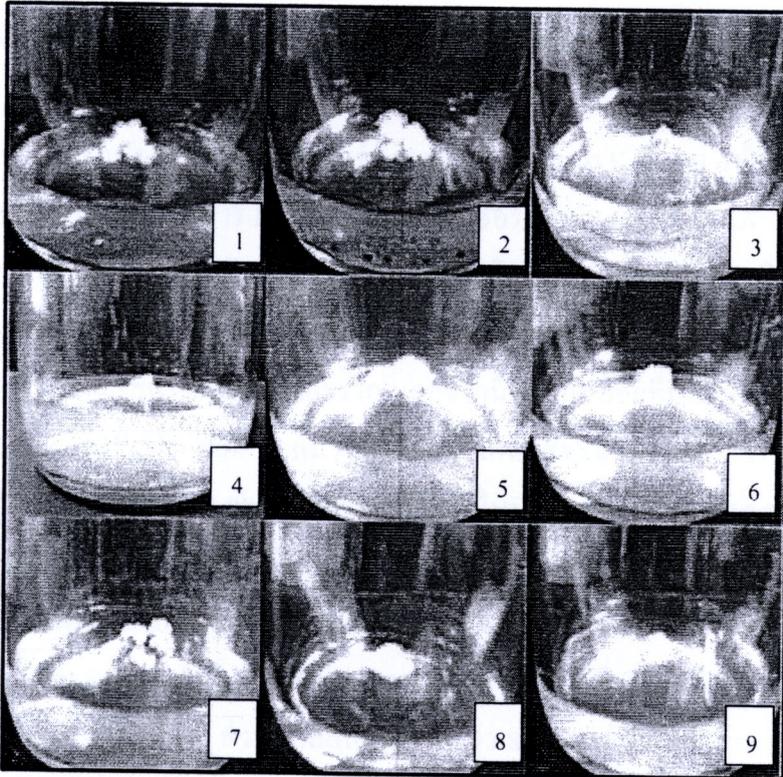
ภาพที่ 11 น้ำหนักสดของแคลลัสอ้อยพันธุ์ K 92-80 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่แปรผัน 2, 4- D และน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 8 สัปดาห์

หมายเหตุ: อาหารสูตรที่ 1 เดิม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 2 เดิม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 3 เดิม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 4 เดิม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 5 เดิม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 6 เดิม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 7 เดิม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 8 เดิม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 9 เดิม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.



ภาพที่ 12 ขนาดเฉลี่ยของเซลล์สอัยพันธุ์ K 92-80 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่แปรผัน 2, 4-D และน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 8 สัปดาห์

หมายเหตุ: อาหารสูตรที่ 1 เดิม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 2 เดิม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 3 เดิม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 4 เดิม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 5 เดิม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 6 เดิม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 7 เดิม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 8 เดิม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 9 เดิม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.



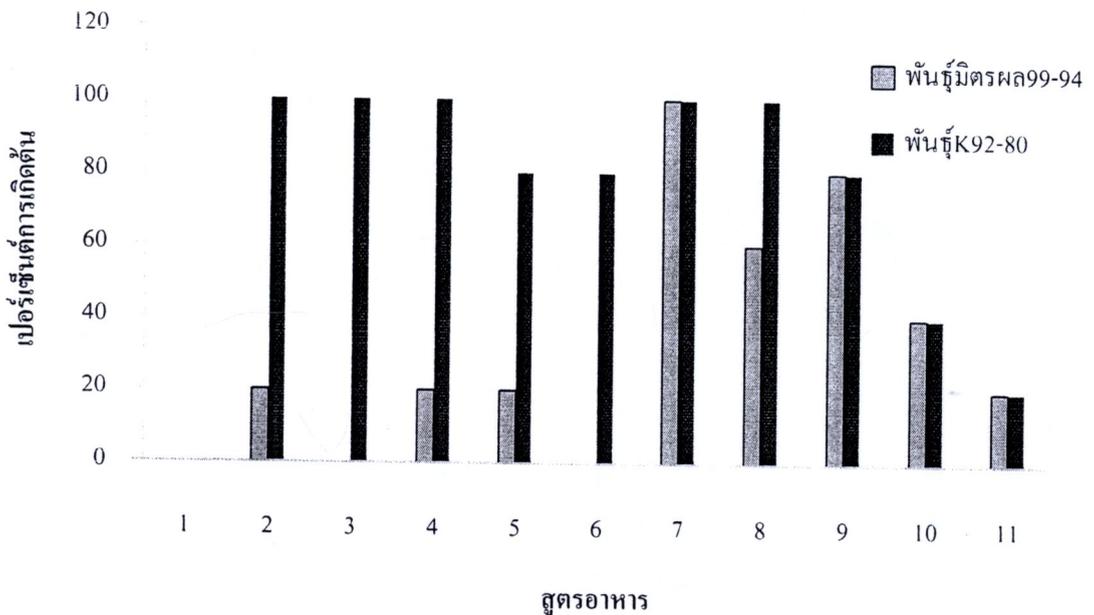
ภาพที่ 13 ลักษณะการเจริญของแบคทีเรียอ้อยพันธุ์ K 92-80 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D และน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 8 สัปดาห์

หมายเหตุ: อาหารสูตรที่ 1 เติม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 2 เติม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 3 เติม 2, 4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 4 เติม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 5 เติม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 6 เติม 2, 4-D 4 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 7 เติม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 10 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 8 เติม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 15 ก./ล.
 อาหารสูตรที่ 9 เติม 2, 4-D 5 มก./ล. ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล.

ผลการทดลองที่ 2 ศึกษาผลของ BA และ NAA ต่อการชักนำให้เกิดต้นในอ้อยพันธุ์มิตรผล

99-94 และอ้อยพันธุ์ K 92-80

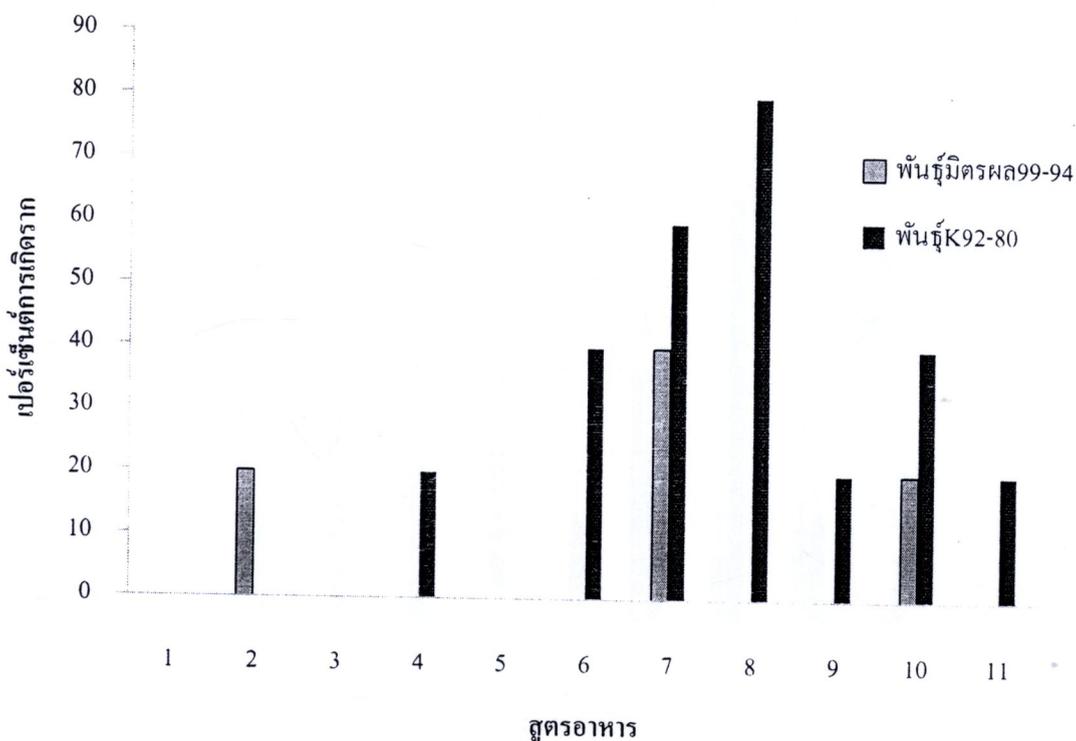
จากการศึกษาการชักนำให้แคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99 -94 และ K 92-80 ให้เจริญเป็นต้นโดยเพาะเลี้ยงแคลลัสอ้อยในสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติมฮอร์โมน BA และ NAA ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่า แคลลัสอ้อยจะเจริญเป็นต้น โดยเริ่มเกิดจุดสีเขียว เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 2 - 3 สัปดาห์ จากนั้นจะเจริญไปเป็นยอดในสัปดาห์ที่ 3 - 4 และพบว่าบางแคลลัสสร้างยอดหรือรากเพียงอย่างเดียว บางแคลลัสสร้างทั้งยอดและราก นอกจากนี้แคลลัสอ้อยที่มีลักษณะแห้งและไม่จำเป็นว่าจะสามารถเจริญเป็นต้นได้ดีกว่า แม้ว่าขนาดของแคลลัสจะมีขนาดเล็กกว่า 1 ซม. จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ให้เจริญเป็นต้นใหม่บนอาหารสูตรต่างๆ พบว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม BA 0.5 มก./ล.ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. มีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นและรากเท่ากับ 100 และ 40 ตามลำดับ (ภาพที่ 14 และ 15) จำนวนต้นและรากเฉลี่ยต่อแคลลัสเท่ากับ 15 และ 3.6 ตามลำดับ (ภาพที่ 16 และ 17) ความยาวเฉลี่ยของต้นและรากเท่ากับ 1.73 และ 0.43 ซม. (ภาพที่ 18 และ 19) ส่วนแคลลัสพันธุ์ K 92-80 พบว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. เปอร์เซ็นต์การเกิดต้นและรากเท่ากับ 100 และ 80 ตามลำดับ (ภาพที่ 14 และ 15) จำนวนต้นและรากเฉลี่ยต่อแคลลัสเท่ากับ 45 และ 3.6 ตามลำดับ (ภาพที่ 16 และ 17) ความยาวเฉลี่ยของต้นและรากเท่ากับ 2.17 และ 0.69 ซม. (ภาพที่ 18 และ 19) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับสูตรอาหารอื่น



ภาพที่ 14 เปอร์เซ็นต์การเกิดต้นจากแคล์สอัยพันธุ์มิตรผล 99-94 และพันธุ์ K 92-80 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

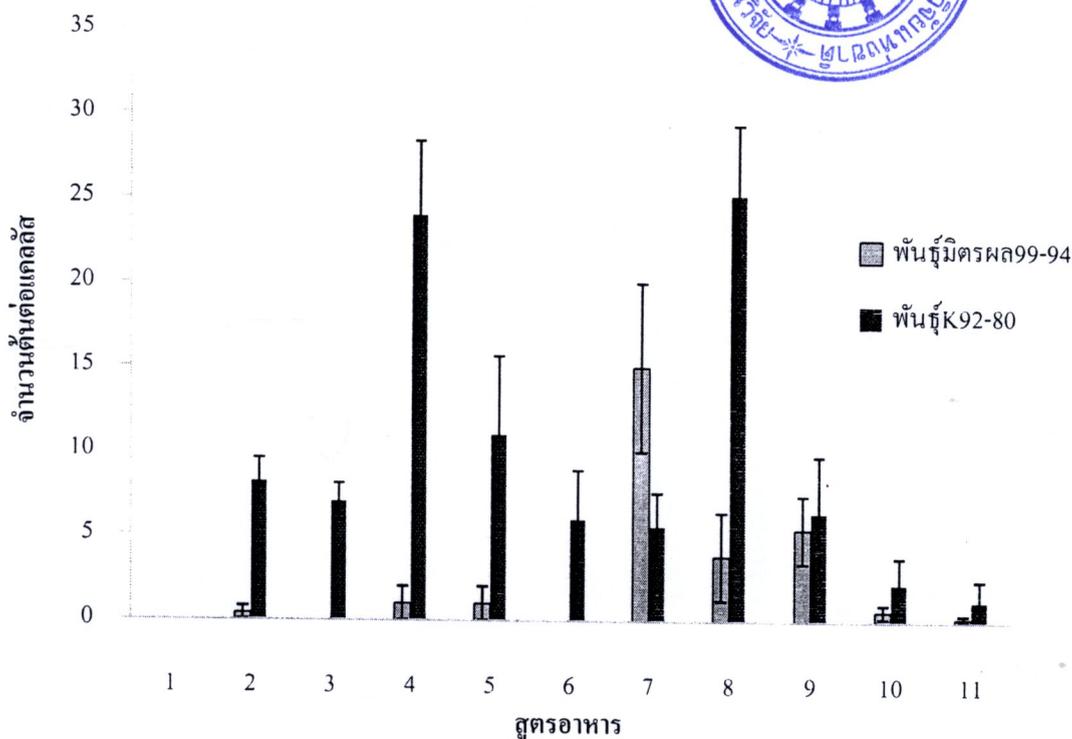
หมายเหตุ

- อาหารสูตรที่ 1 อาหารสูตรที่ไม่เติม BA และ NAA
- อาหารสูตรที่ 2 อาหารสูตรที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 3 อาหารสูตรที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 4 อาหารสูตรที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 5 อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 6 อาหารสูตรที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 7 อาหารสูตรที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 8 อาหารสูตรที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 9 อาหารสูตรที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 10 อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 11 อาหารสูตรที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.



ภาพที่ 15 เปอร์เซ็นต์การเกิดรากจากแคลลัสอ้อยพันธุ์มีตรผล 99-94 และพันธุ์K 92-80 ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

- หมายเหตุ**
- อาหารสูตรที่ 1 อาหารสูตรที่ไม่เติม BA และ NAA
 - อาหารสูตรที่ 2 อาหารสูตรที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 3 อาหารสูตรที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 4 อาหารสูตรที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 5 อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 6 อาหารสูตรที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 7 อาหารสูตรที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 8 อาหารสูตรที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 9 อาหารสูตรที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 10 อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 11 อาหารสูตรที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.



ภาพที่ 16 จำนวนต้นเฉลี่ยต่อแคล์สของอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และพันธุ์ K 92-80 ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

หมายเหตุ

อาหารสูตรที่ 1 อาหารสูตรที่ไม่เติม BA และ NAA

อาหารสูตรที่ 2 อาหารสูตรที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.

อาหารสูตรที่ 3 อาหารสูตรที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.

อาหารสูตรที่ 4 อาหารสูตรที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.

อาหารสูตรที่ 5 อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.

อาหารสูตรที่ 6 อาหารสูตรที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.

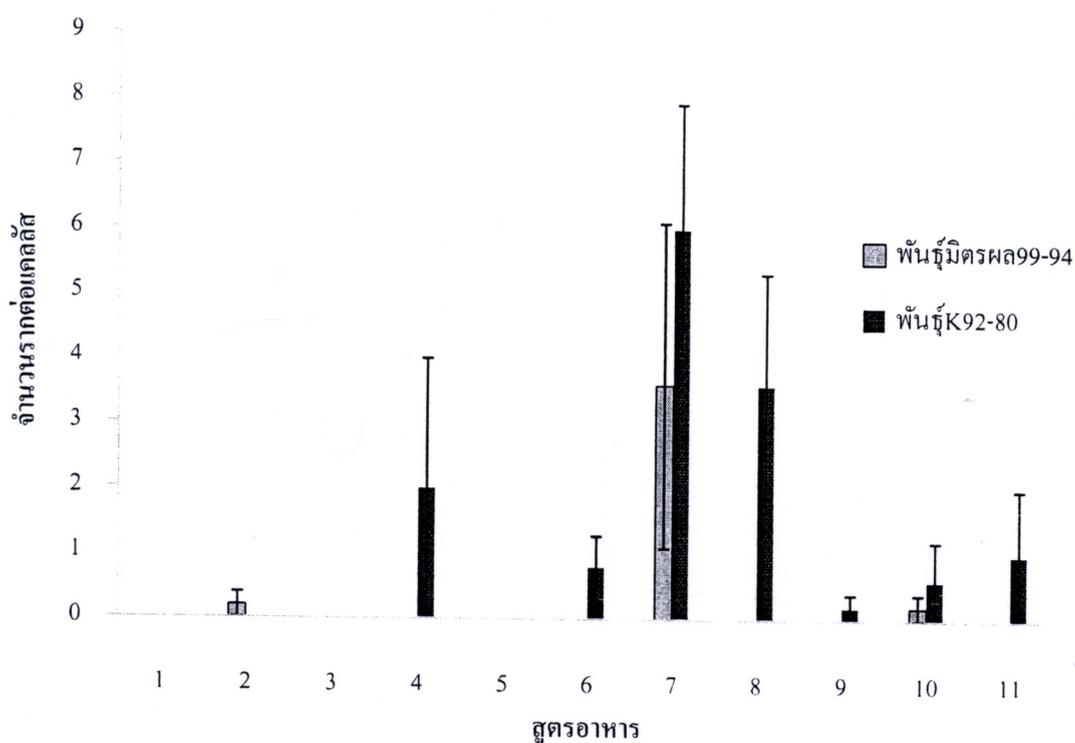
อาหารสูตรที่ 7 อาหารสูตรที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.

อาหารสูตรที่ 8 อาหารสูตรที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.

อาหารสูตรที่ 9 อาหารสูตรที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.

อาหารสูตรที่ 10 อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.

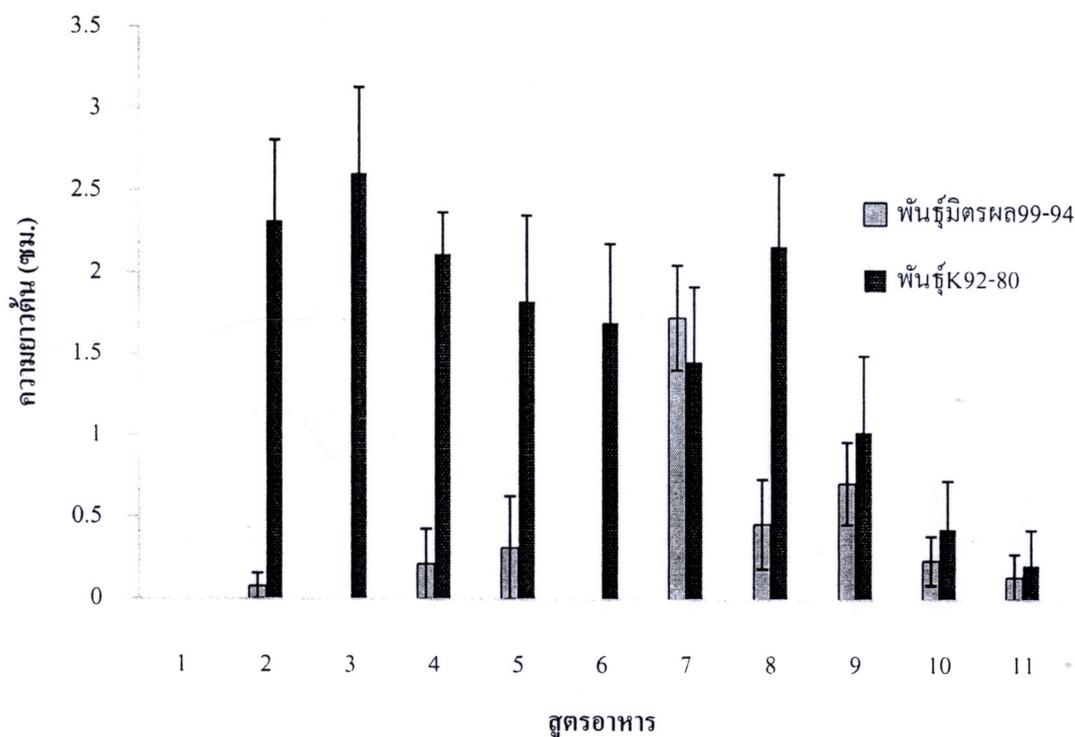
อาหารสูตรที่ 11 อาหารสูตรที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.



ภาพที่ 17 จำนวนรากเฉลี่ยต่อแคล์สของอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และพันธุ์ K 92-80 ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

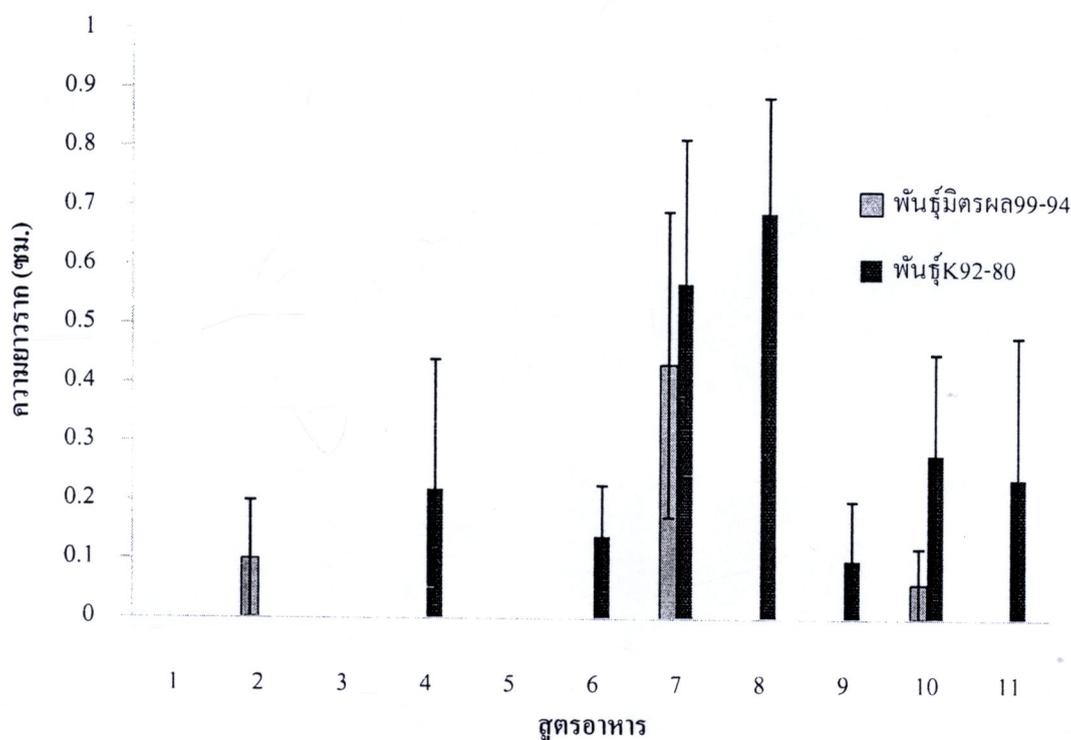
หมายเหตุ:

- อาหารสูตรที่ 1 อาหารสูตรที่ไม่เติม BA และ NAA
- อาหารสูตรที่ 2 อาหารสูตรที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 3 อาหารสูตรที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 4 อาหารสูตรที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 5 อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 6 อาหารสูตรที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 7 อาหารสูตรที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 8 อาหารสูตรที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 9 อาหารสูตรที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 10 อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
- อาหารสูตรที่ 11 อาหารสูตรที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.



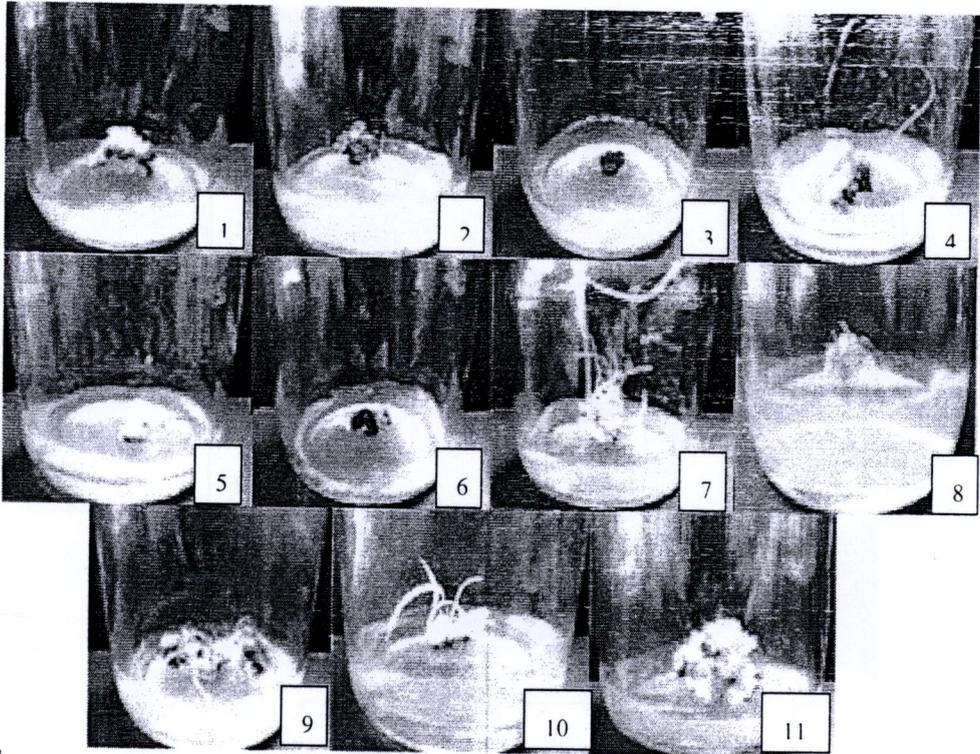
ภาพที่ 18 ความยาวต้นเฉลี่ยของแคลลัสของอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และพันธุ์ K 92-80 ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

- หมายเหตุ:
- อาหารสูตรที่ 1 อาหารสูตรที่ไม่เติม BA และ NAA
 - อาหารสูตรที่ 2 อาหารสูตรที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 3 อาหารสูตรที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 4 อาหารสูตรที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 5 อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 6 อาหารสูตรที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 7 อาหารสูตรที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 8 อาหารสูตรที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 9 อาหารสูตรที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 10 อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 - อาหารสูตรที่ 11 อาหารสูตรที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.



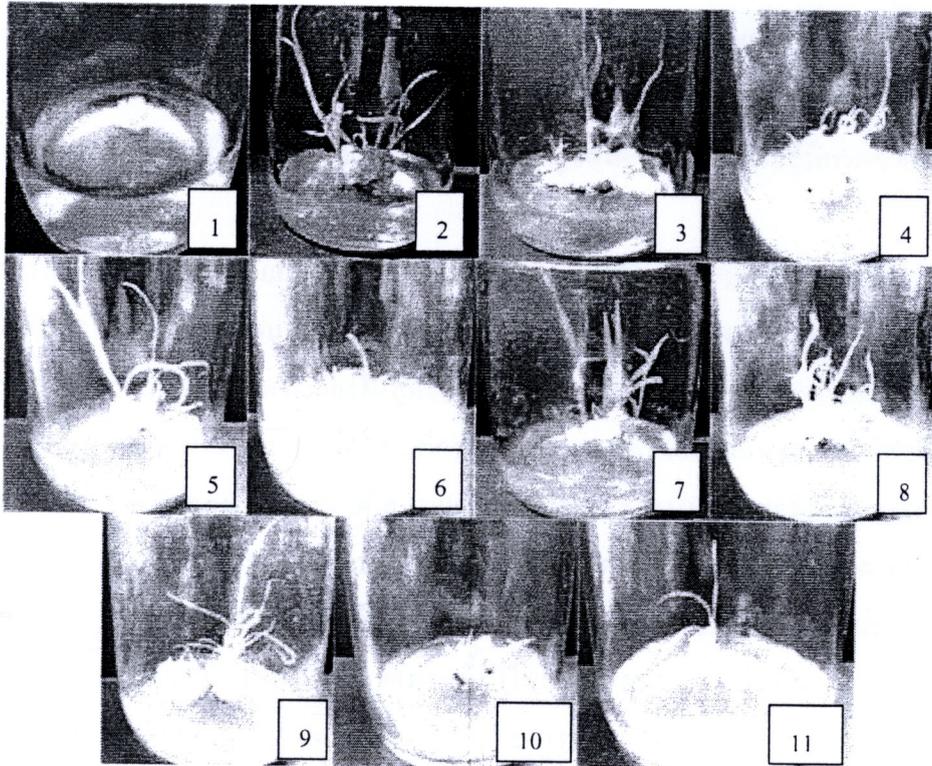
ภาพที่ 19 ความยาวรากเฉลี่ยของแคล์สิซของอ้อยพันธุ์มีตรผล 99-94 และพันธุ์ K 92-80 ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

- หมายเหตุ: อาหารสูตรที่ 1 อาหารสูตรที่ไม่เติม BA และ NAA
 อาหารสูตรที่ 2 อาหารสูตรที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 3 อาหารสูตรที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 4 อาหารสูตรที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 5 อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 6 อาหารสูตรที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 7 อาหารสูตรที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 8 อาหารสูตรที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 9 อาหารสูตรที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 10 อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 11 อาหารสูตรที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.



ภาพที่ 20 ลักษณะการเกิดยอดจากแคลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

- หมายเหตุ: อาหารสูตรที่ 1 อาหารสูตรที่ไม่เติม BA และ NAA
 อาหารสูตรที่ 2 อาหารสูตรที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 3 อาหารสูตรที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 4 อาหารสูตรที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 5 อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 6 อาหารสูตรที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 7 อาหารสูตรที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 8 อาหารสูตรที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 9 อาหารสูตรที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 10 อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 11 อาหารสูตรที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.



ภาพที่ 21 ลักษณะการเกิดยอดจากแคลลัสของพันธุ์ K 92-80 ที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

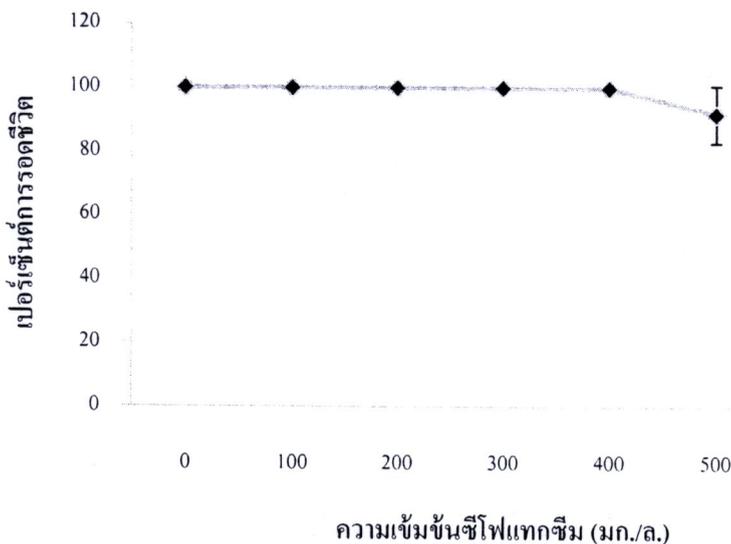
- หมายเหตุ: อาหารสูตรที่ 1 อาหารสูตรที่ไม่เติม BA และ NAA
 อาหารสูตรที่ 2 อาหารสูตรที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 3 อาหารสูตรที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 4 อาหารสูตรที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 5 อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 6 อาหารสูตรที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 7 อาหารสูตรที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 8 อาหารสูตรที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 9 อาหารสูตรที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 10 อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.
 อาหารสูตรที่ 11 อาหารสูตรที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล.



ผลการทดลองที่ 3 อิทธิพลของสารปฏิชีวนะซีโฟแทกซิมต่อการเจริญของแคลลัสและต้นอ่อน
อ้อยพันธุ์ มิตรผล 99-94 และ K 92-80

3.1 อิทธิพลของสารปฏิชีวนะซีโฟแทกซิมต่อการเจริญของแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K92-80

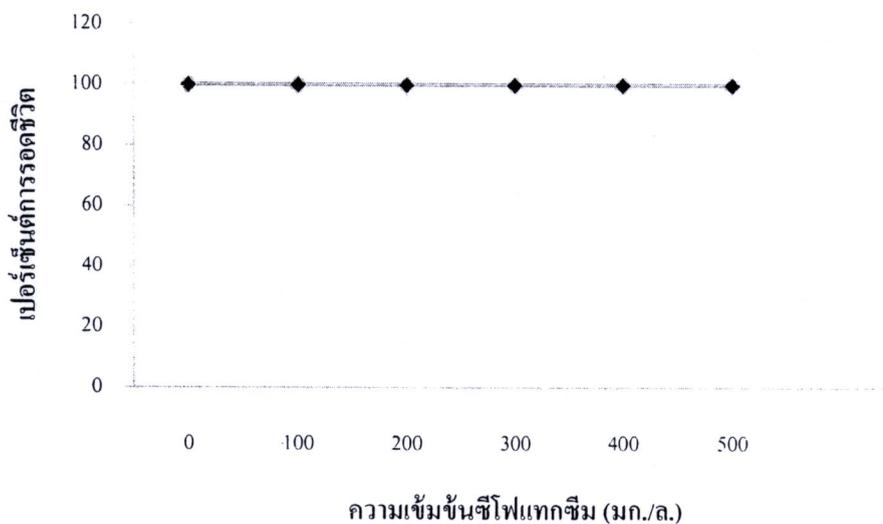
จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสอ้อยมิตรผล 99-94 และพันธุ์ K 92-80 บนสูตรอาหารชักนำให้เกิดแคลลัสที่เติมสารปฏิชีวนะซีโฟแทกซิมความเข้มข้น 0, 100, 200, 300, 400, 500 และ 600 มก./ล. พบว่า แคลลัสพันธุ์ K 92-80 ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่เติมสารปฏิชีวนะซีโฟแทกซิมความเข้มข้น 100, 200, 300 และ 400 มก./ล. มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 100 ลักษณะแคลลัสมีสีเหลืองสามารถเจริญเติบโตและขยายขนาดได้ ส่วนแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมสารปฏิชีวนะซีโฟแทกซิม 500 และ 600 มก./ล. มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 92 และ 88 ตามลำดับ ซึ่งแคลลัสบางส่วนมีการเปลี่ยนแปลงจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาล (ภาพที่ 22 และ 23) ส่วนร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัสพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่เติมสารปฏิชีวนะซีโฟแทกซิมที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 100 ในทุกความเข้มข้น ลักษณะแคลลัสเป็นสีเหลืองและสามารถเจริญเติบโตได้ (ภาพที่ 24 และ 25)



ภาพที่ 22 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแคลลัสพันธุ์ K92-80 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่เติมซีโฟแทกซิม ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพที่ 23 ลักษณะของแคลสอ้อยพันธุ์ K92-80 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมซีโฟแทกซีม ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



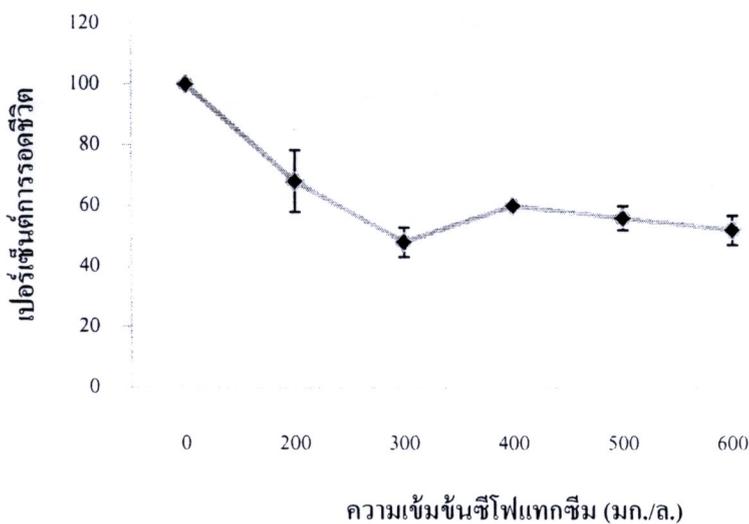
ภาพที่ 24 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแคลสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมซีโฟแทกซีมความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



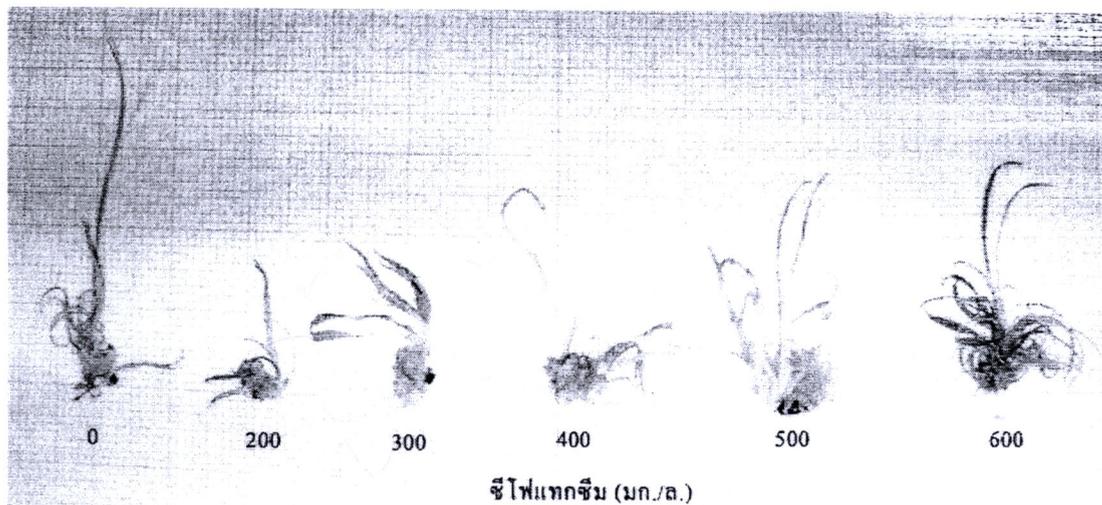
ภาพที่ 25 ลักษณะของแคลสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมซีโฟแทกซีมความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

3.2 อิทธิพลของสารปฏิชีวนะซีโฟแทกซิมต่อการเจริญของคั่นอ่อนอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K92-80

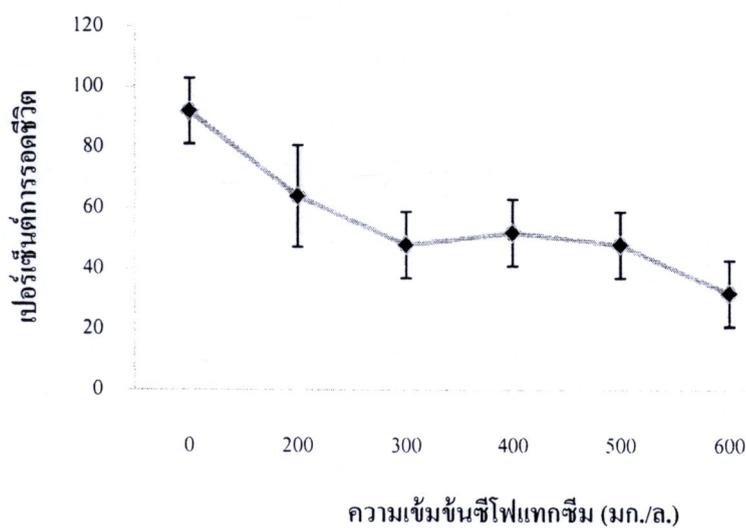
จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสอ้อยพันธุ์ K92-80 และพันธุ์มิตรผล 99-94 บนสูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดคั่นอ่อนที่เติมสารปฏิชีวนะซีโฟแทกซิมความเข้มข้น 0, 200, 300, 400, 500 และ 600 มก./ล. พบว่าแคลลัสอ้อยพันธุ์ K92-80 สามารถเจริญเติบโตเป็นคั่นอ่อนได้ในทุกความเข้มข้น โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 100, 68, 48, 60, 56 และ 48 ตามลำดับ คั่นอ่อนที่เกิดในอาหารสูตรที่มีความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะที่สูงขึ้นจะมีลักษณะคั่นเล็ก เจริญเติบโตช้าและบางส่วนเป็นคั่นเผือก (ภาพที่ 26 และ 27) ส่วนแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 พบว่าสามารถเจริญเติบโตเป็นคั่นอ่อนได้ในอาหารสูตรชักนำให้เกิดคั่นที่เติมสารปฏิชีวนะซีโฟแทกซิม 200, 300 และ 400 มก./ล. โดยมีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 92, 64 และ 48 ลักษณะของคั่นอ่อนที่เกิดมีสีเขียว ในความเข้มข้นที่ 500, 600 และ 700 มก./ล. มีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 48, 32 และ 28 แต่แคลลัสส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นคั่นอ่อนได้ (ภาพที่ 28 และ 29)



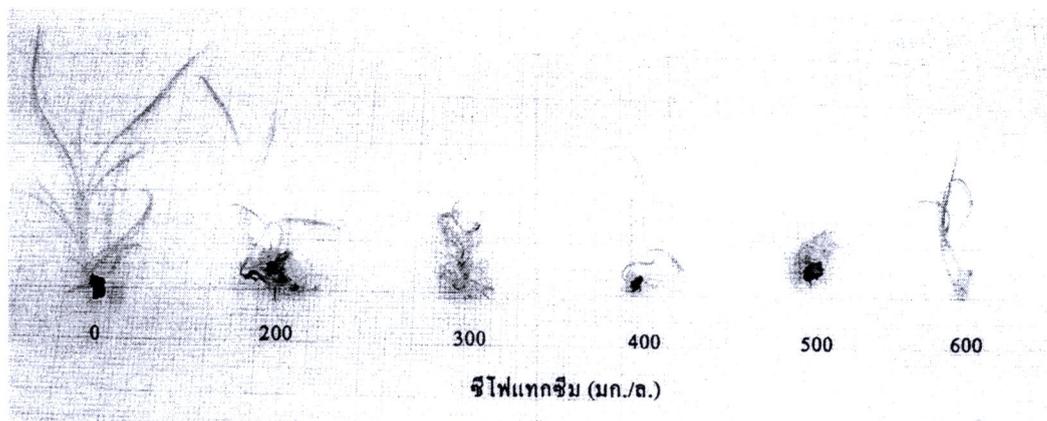
ภาพที่ 26 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของคั่นอ่อนอ้อยพันธุ์ K 92-80 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมซีโฟแทกซิม ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพที่ 27 ลักษณะของต้นอ่อนอ้อยพันธุ์ K 92-80 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมซีโฟแทกซิม ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพที่ 28 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นอ่อนอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมซีโฟแทกซิมความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพที่ 29 ลักษณะของต้นอ่อนอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมซีโฟแทกซิม ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

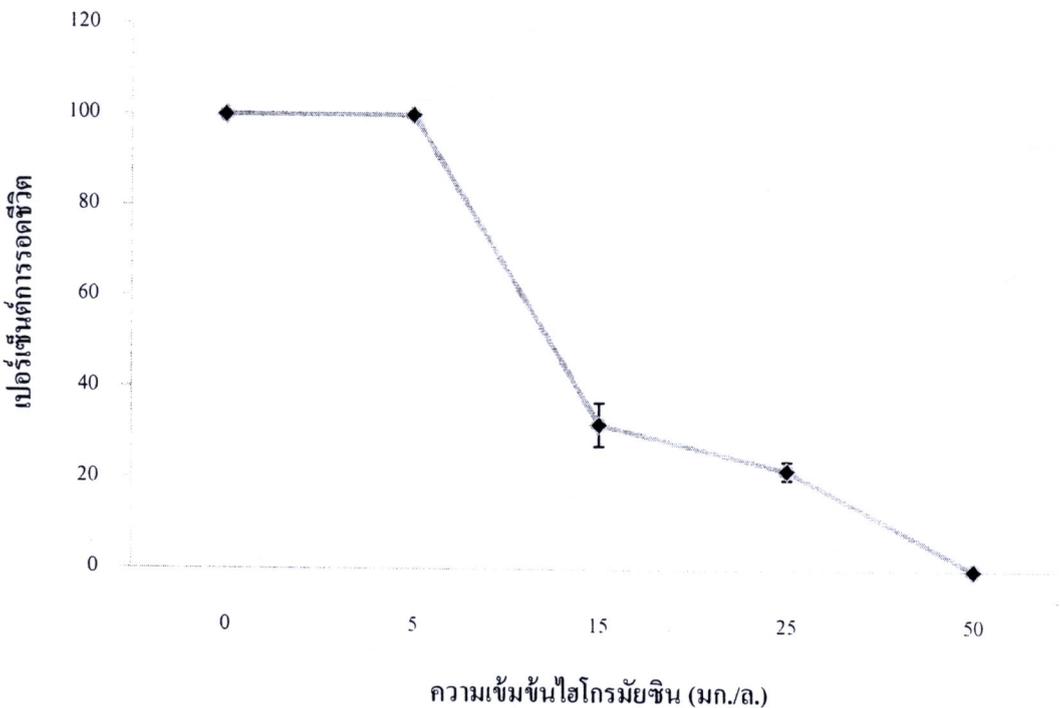
ผลการทดลองที่ 4 อิทธิพลของสารปฏิชีวนะไฮโกรมัยซินต่อการเจริญของแคลลัสและต้นอ่อนอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80

4.1 อิทธิพลของสารปฏิชีวนะไฮโกรมัยซินต่อการเจริญของแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80

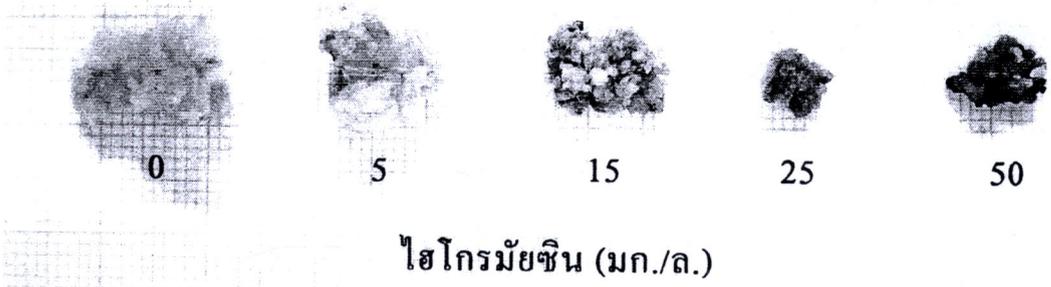
จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80 ในอาหารสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสที่เติมสารปฏิชีวนะไฮโกรมัยซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน ตั้งแต่ 0, 5, 15, 25 และ 50 มก./ล. พบว่า ไฮโกรมัยซินที่ระดับความเข้มข้น 5 มก./ล. ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแคลลัสอ้อยได้ทั้งสองพันธุ์ ลักษณะของแคลลัสมีสีเหลือง สามารถเจริญเติบโตได้ และไฮโกรมัยซินที่ระดับความเข้มข้น 25 มก./ล. แคลลัสอ้อยพันธุ์ K92-80 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 22 และแคลลัสพันธุ์มิตรผล 99-94 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 36 (ภาพที่ 30 และ 32) ลักษณะของแคลลัสบางส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและหยุดการเจริญเติบโต แต่เมื่อไฮโกรมัยซินมีระดับความเข้มข้น 50 มก./ล. ร้อยละการรอดชีวิตของแคลลัสอ้อยทั้งสองพันธุ์เท่ากับ 0 แคลลัสเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาล และตายในที่สุด เมื่อเวลาผ่านไปเพียง 1-2 สัปดาห์ (ภาพที่ 31 และ 33)

4.2 อิทธิพลของสารปฏิชีวนะไฮโกรมัยซินต่อการเจริญของต้นอ่อนอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80

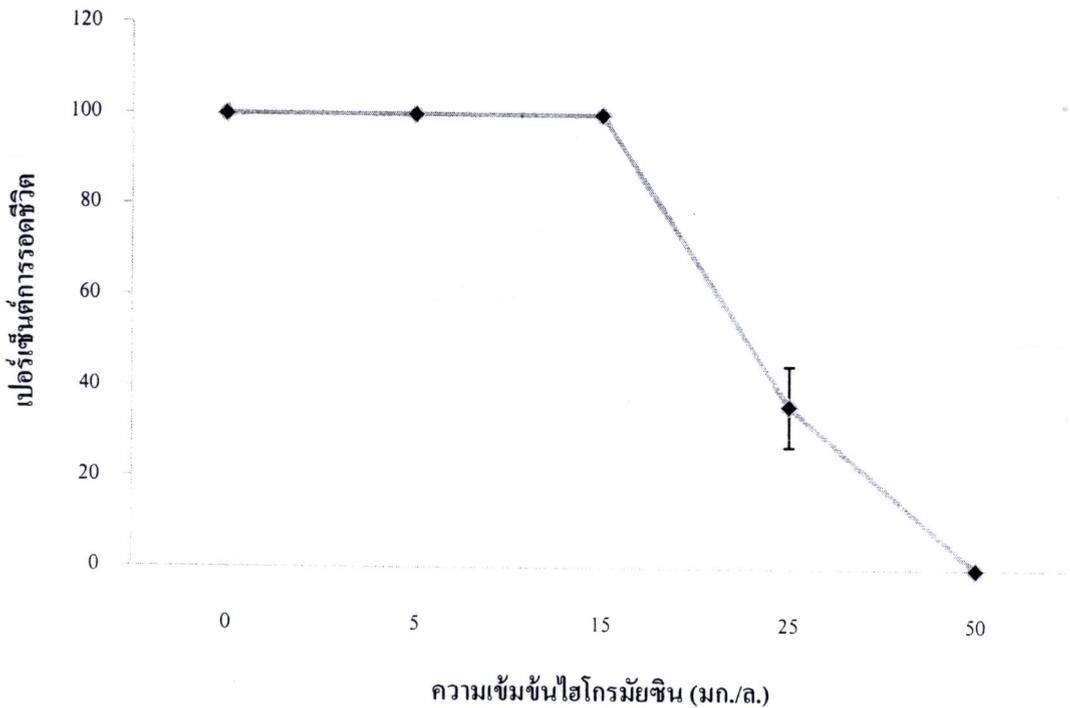
จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80 ในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นที่เติมสารปฏิชีวนะไฮโกรมัยซินที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน ตั้งแต่ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 มก./ล. พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นไฮโกรมัยซิน 0, 10 และ 20 มก./ล. แคลลัสของอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 88, 48 และ 32 ตามลำดับ และ แคลลัสของอ้อยพันธุ์ K 92-80 สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 100, 92 และ 36 ตามลำดับ (ภาพที่ 34 และ 36) ลักษณะส่วนยอดที่เกิดสีเขียว แต่เมื่อเวลาผ่านไป 2-3 สัปดาห์ ต้นอ่อนจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด สำหรับแคลลัสอ้อยที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดต้นที่เติมไฮโกรมัยซินความเข้มข้น 30 มก./ล. ขึ้นไป แคลลัสอ้อยทั้งสองพันธุ์เริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายภายในระยะเวลา 1-2 สัปดาห์ โดยไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนได้ (ภาพที่ 35 และ 37)



ภาพที่ 30 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแคลลัสอ้อยพันธุ์ K 92-80 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมไฮโกรมัยซิน ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



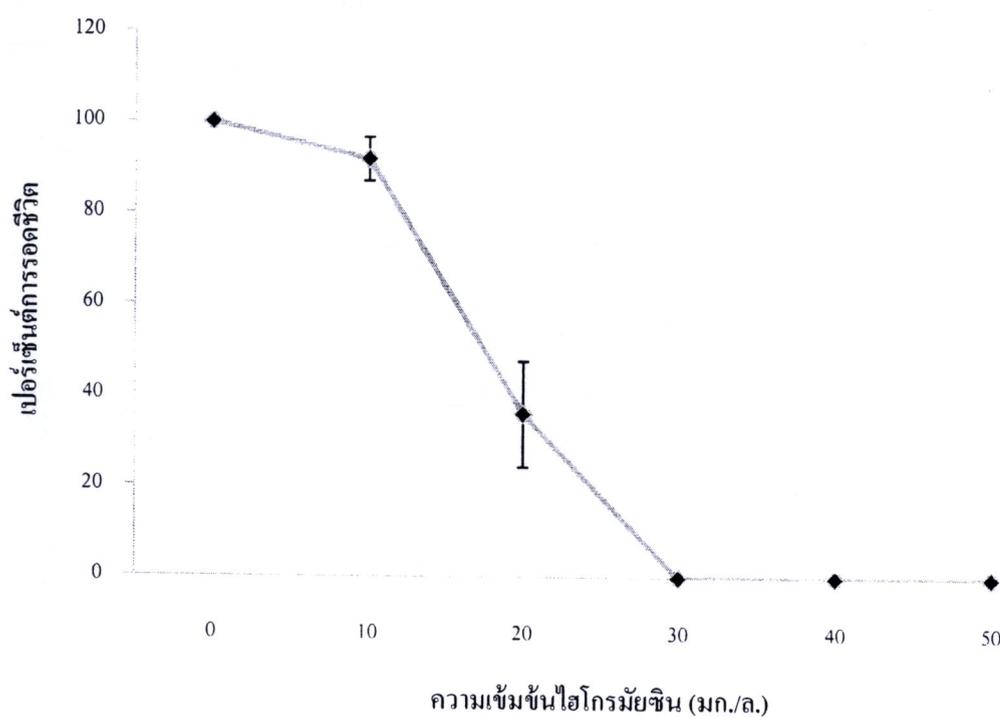
ภาพที่ 31 ลักษณะของเซลล์สัอัยพันธุ์ K 92-80 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



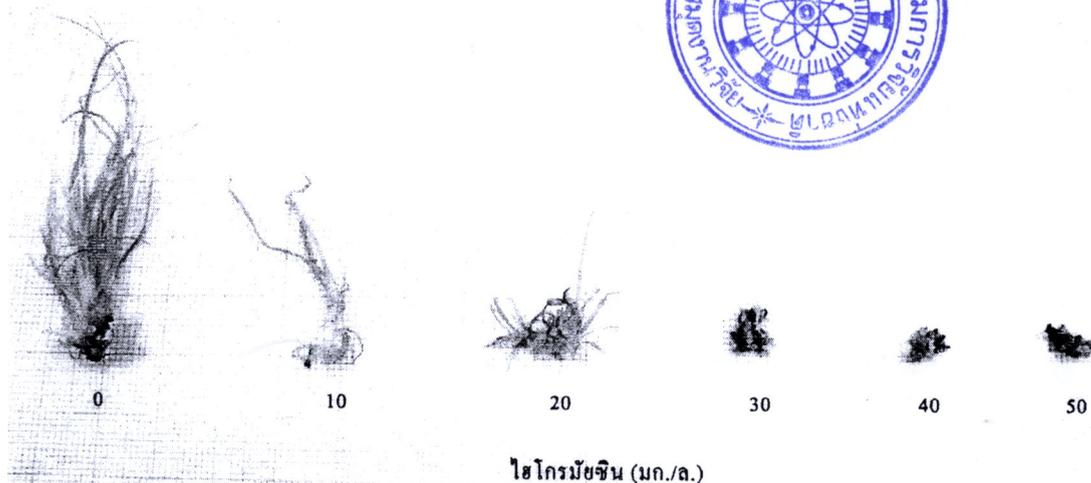
ภาพที่ 32 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์สัอัยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพที่ 33 ลักษณะของแคลสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมไฮโครมัยซิน ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

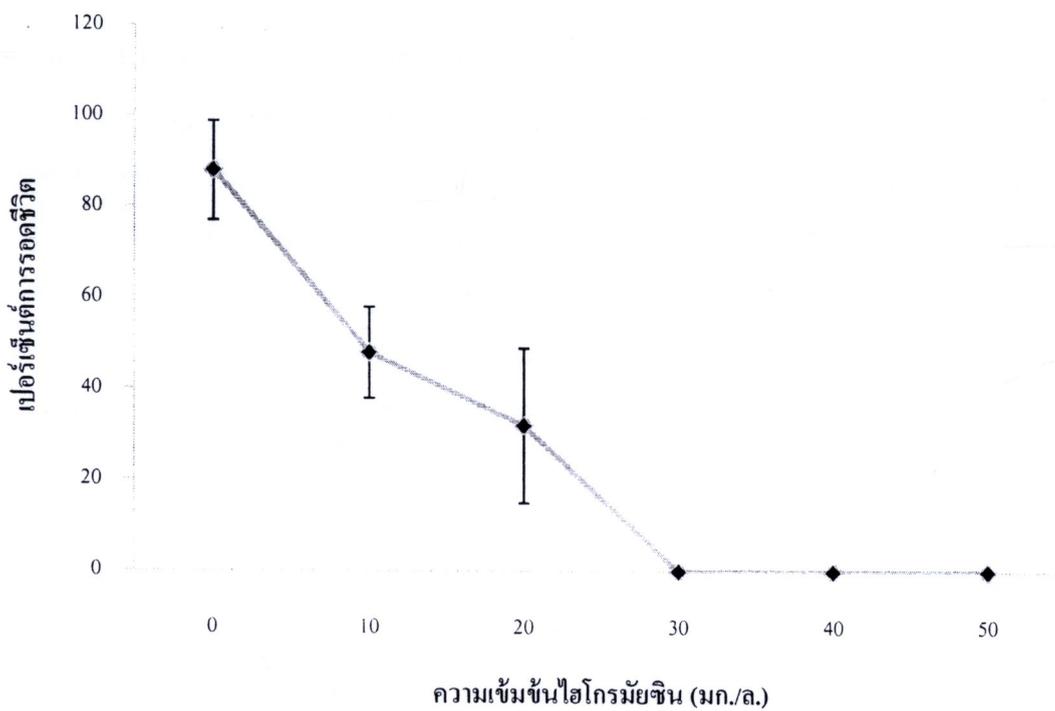


ภาพที่ 34 เปอร์เซนต์การรอดชีวิตของต้นอ่อนอ้อยพันธุ์ K 92-80 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมไฮโครมัยซินความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

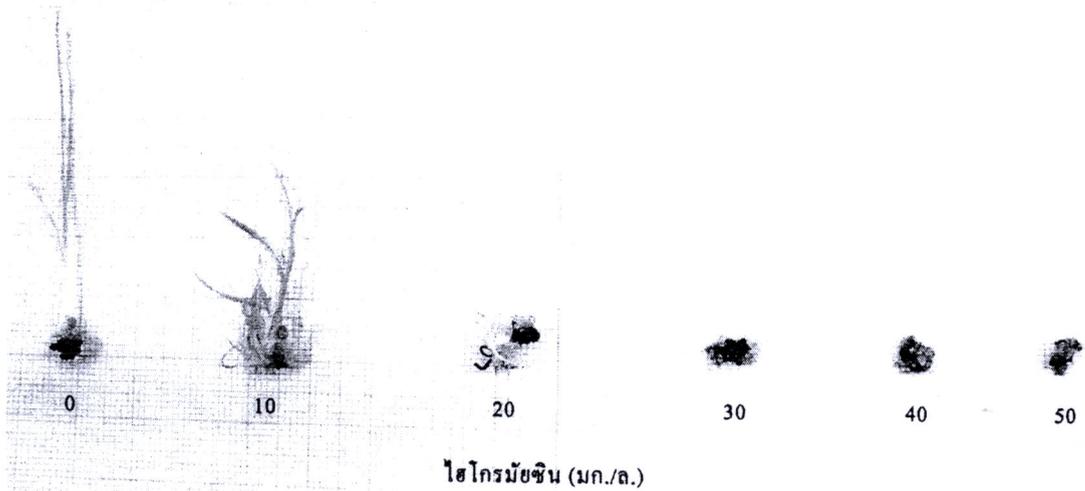


ไฮโครมัยซิน (มก./ล.)

ภาพที่ 35 ลักษณะของต้นอ่อนอ้อยพันธุ์ K 92-80 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมไฮโครมัยซิน ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



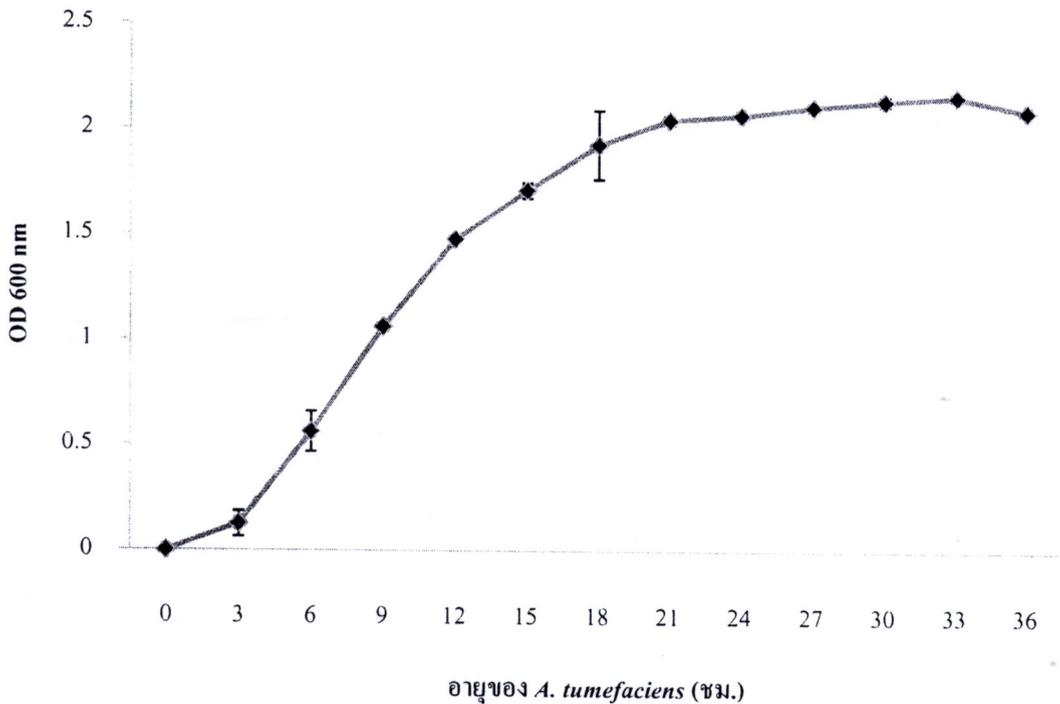
ภาพที่ 36 เปอร์เซนต์การรอดชีวิตของต้นอ่อนอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมไฮโครมัยซินความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพที่ 37 ลักษณะของต้นอ่อนอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมไฮโครมัยซิน ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ผลการทดลองที่ 5 ศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA 4404 (pCAMBIA 1305.1)

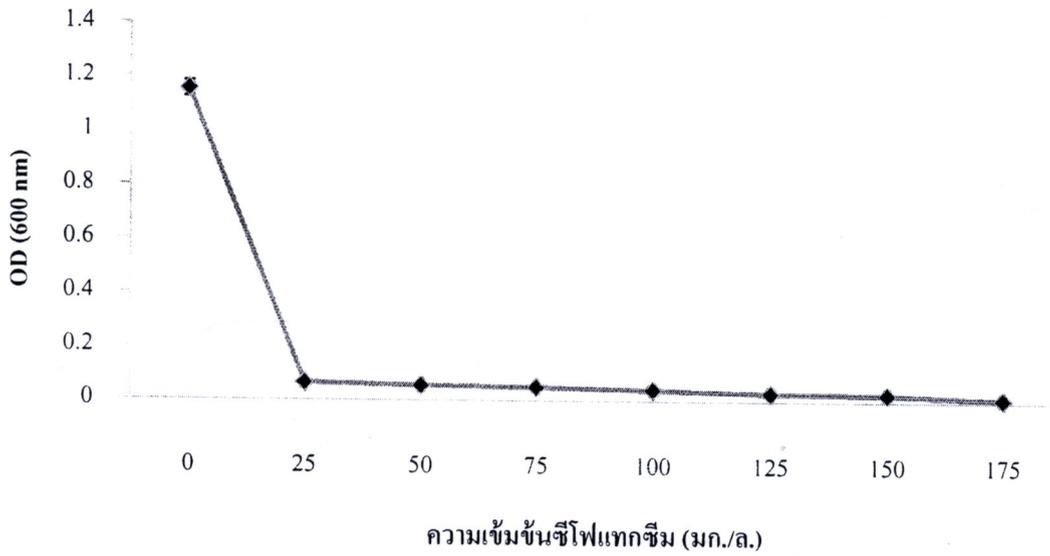
จากการศึกษา *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA 4404 (pCAMBIA 1305.1) ที่มียีน *chitinase* เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว LB ที่เติมกานามัยซิน 100 มก./ล. ภายหลังจากการบ่มที่อุณหภูมิ 28 °C ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 36 ชั่วโมง วัดการเจริญเติบโตของ *A. tumefaciens* ที่ความยาวคลื่น 600 nm (OD_{600}) พบว่าเชื้อ *A. tumefaciens* มีการเจริญอย่างรวดเร็ว โดยพบว่าเชื้อมีการเจริญเข้าสู่ระยะ *log phase* ในช่วง 3 ชั่วโมงแรก และมีการเจริญสูงสุดในช่วงเวลา 12 - 21 ชั่วโมง วัดค่า OD_{600} เท่ากับ 1.47 - 2.045 จากนั้นเชื้อจะเริ่มเจริญช้าลงและเข้าสู่ช่วงคงที่ (*stationary phase*) (ภาพที่ 38)



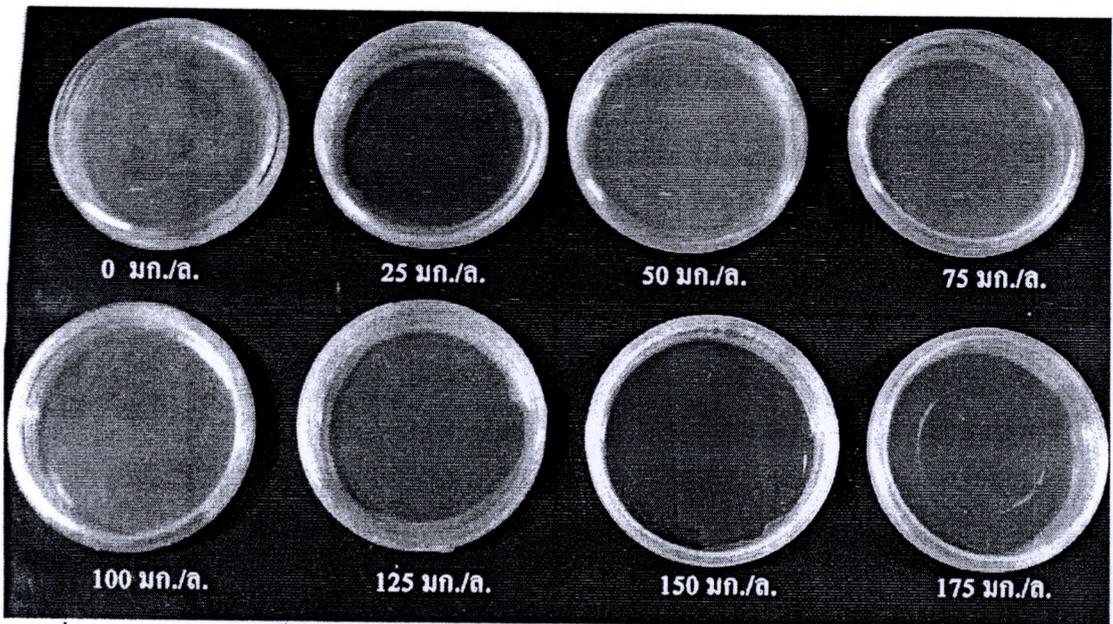
ภาพที่ 38 การเจริญของ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA 4404 (pCAMBIA 1305.1) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว LB ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงต่างๆ

ผลการทดลองที่ 6 ผลของซีโฟแทกซิมต่อการเจริญของเชื้อ *A. tumefaciens*

จากการศึกษาผลอิทธิพลของซีโฟแทกซิมต่อการเจริญของเชื้อ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 (pCAMBIA1305.1) ในอาหารเหลว LB เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเชื้อสามารถเติบโตได้ในอาหารที่ไม่เติมซีโฟแทกซิมโดยมีค่า OD₆₀₀ เท่ากับ 1.156 แต่ในอาหารเลี้ยงเหลวที่เติมซีโฟแทกซิมที่ความเข้มข้น 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 และ 200 มก./ล. วัดค่าการเจริญของเชื้อได้เท่ากับ 0.065, 0.056, 0.051, 0.042, 0.031, 0.027 และ 0.011 ตามลำดับ (ภาพที่ 39) จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าซีโฟแทกซิมสามารถกำจัดเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเมื่อนำอาหารที่ผ่านการทดลองดังกล่าวมาตรวจการเจริญโดยการเขี่ยเชื้อบนอาหารพบว่าเชื้อมีการเจริญในอาหารที่ไม่มีการเติมซีโฟแทกซิมเท่านั้น (ภาพที่ 40)



ภาพที่ 39 ผลการวัดค่า OD₆₀₀ เปรียบเทียบระดับการเจริญของ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA 4404 (pCAMBIA 1305.1) ในอาหารเหลว LB ที่เติมสารปฏิชีวนะซีโฟแทกซิม ความเข้มข้นต่างๆกัน



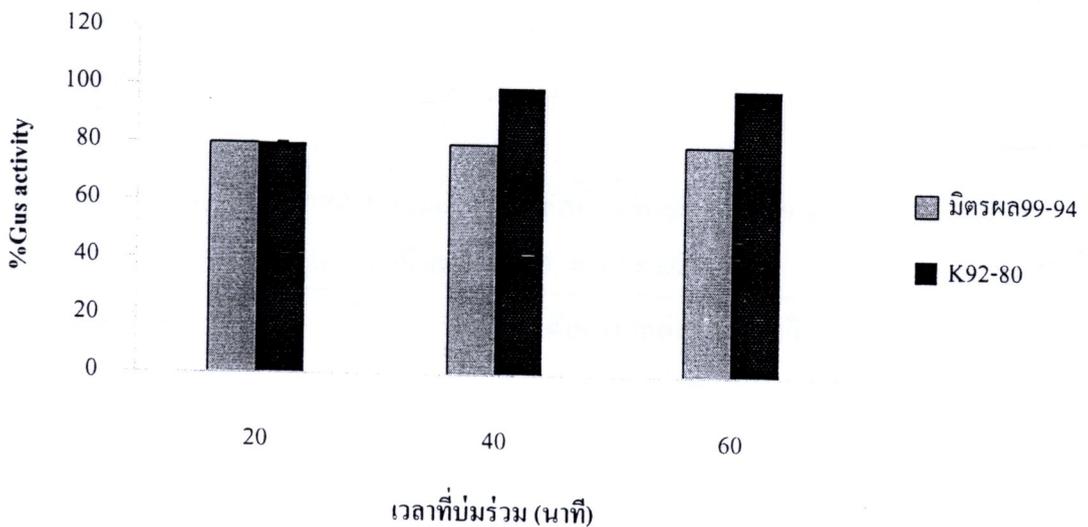
ภาพที่ 40 การเจริญของเชื้อ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA 4404 (pCAMBIA 1305.1) บนอาหารแข็ง LB ที่เติมสารปฏิชีวนะซีโฟแทกซิมความเข้มข้นต่างๆกัน

ผลการทดลองที่ 7 การส่งถ่ายยีนสู่อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80

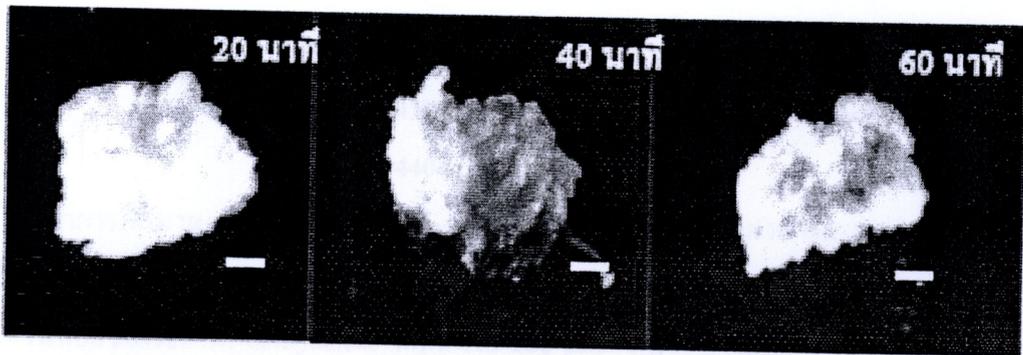
ผลการทดลองที่ 7.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการบ่มแคลลัสร่วมกับเชื้อ *A. tumefaciens*

สายพันธุ์ LBA4404 (pCAMBIA1305.1)

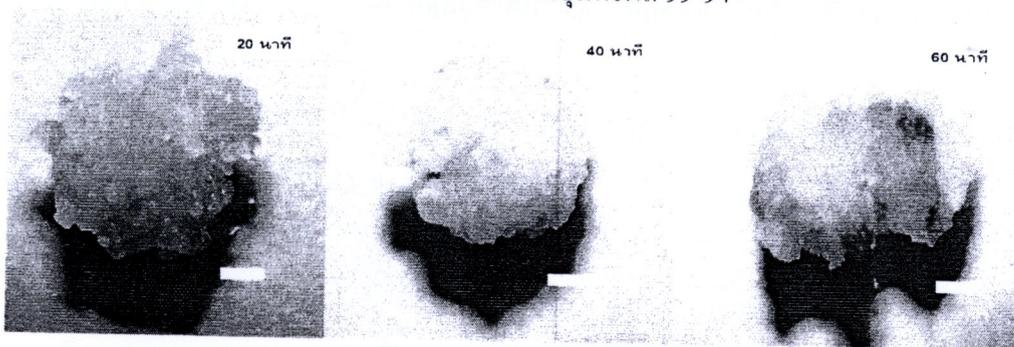
จากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มแคลลัสร่วมกับเชื้อ *A. tumefaciens* โดยเปรียบเทียบเวลาต่างๆ กัน ดังนี้ 20, 40 และ 60 นาที พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มแคลลัส อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80 ร่วมกับเชื้อ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 (pCAMBIA 1305.1) คือ 20 และ 40 นาที ตามลำดับ โดยมีเปอร์เซ็นต์การแสดงออกของยีน *gus* เท่ากับ 80 และ 100 (ภาพที่ 41) เมื่อใช้พื้นที่ความเข้มของสีฟ้าที่ปรากฏบนแคลลัสหลังจากการตรวจสอบการแสดงออกของยีน *gus* สามารถแบ่งระดับการแสดงออกของยีนได้เป็น 4 ระดับ คือ ระดับที่ไม่มีการแสดงออกของยีน (0), ระดับที่มีการแสดงออกของยีนในระดับต่ำ (+1), ระดับที่มีการแสดงออกของยีนในระดับปานกลาง (+2) และระดับที่มีการแสดงออกของยีนในระดับมากที่สุด (+3) (ตารางที่ 4 และภาพที่ 42)



ภาพที่ 41 เปอร์เซ็นต์การแสดงออกของยีน *gus* ที่เกิดจากการบ่มแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80 ร่วมกับเชื้อ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA 4404 (pCAMBIA 1305.1) เป็นเวลา 20, 40 และ 60 นาที



แคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94



แคลลัสอ้อยพันธุ์ K 92-80

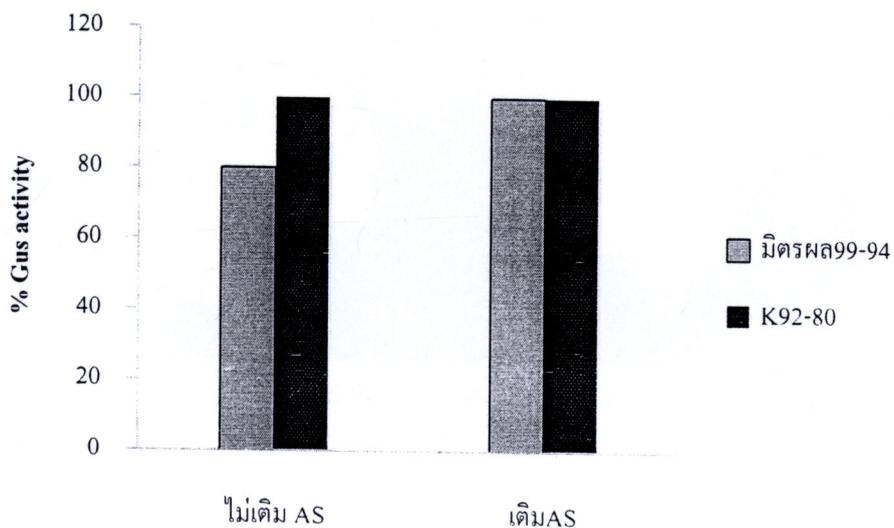
ภาพที่ 42 ลักษณะของแคลลัสพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80 ที่บ่มร่วมกับเชื้อ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 (pCAMBIA 1305.1) เป็นเวลา 20, 40 และ 60 นาที (สเกล = 1mm)

ตารางที่ 4 ระดับการแสดงออกของยีน *gus* บนแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80 ที่บ่มร่วมกับเชื้อ *A. tumefaciens* เป็นเวลา 0, 20, 40 และ 60 นาที

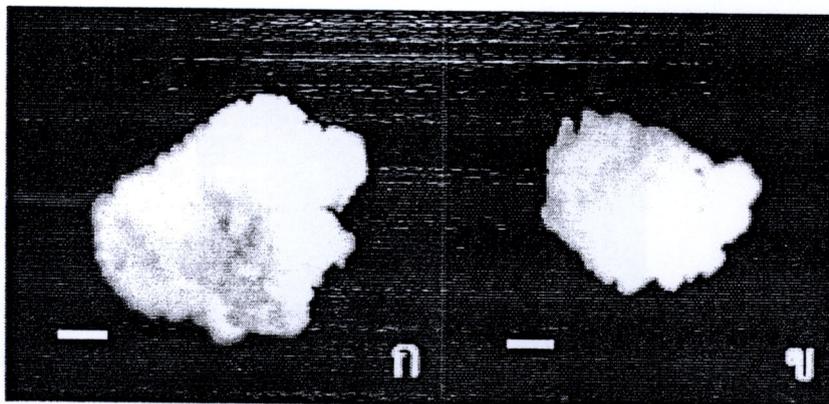
เวลาบ่มร่วม (นาที)	ระดับการแสดงออกของยีน							
	มิตรผล 99-94				K 92-80			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
0	5	-	-	-	5	-	-	-
20	-	-	4	1	-	-	5	-
40	-	-	2	3	-	-	1	4
60	-	-	-	5	-	-	-	5

ผลการทดลองที่ 7.2 การศึกษาผลของ acetosyringone (AS) ต่อประสิทธิภาพการส่งถ่ายยีนสู่
 อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และพันธุ์ K 92-80 โดย *A. tumefaciens* สาย
 พันธุ์ LBA 4404 (pCAMBIA 1305.1)

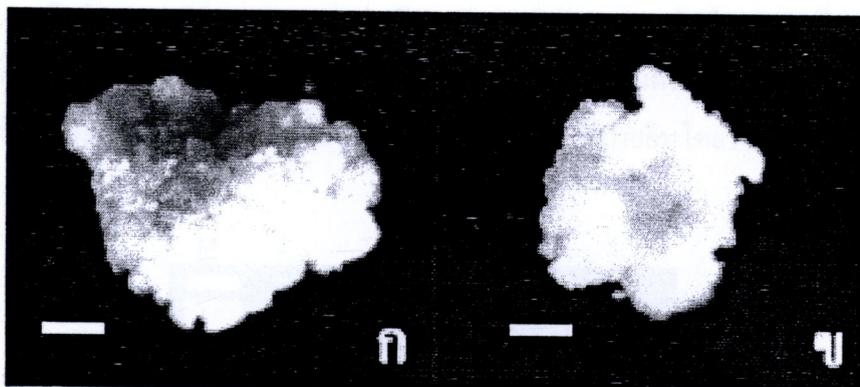
จากการศึกษาผลของสาร acetosyringone (AS) ที่มีต่อประสิทธิภาพในการส่งถ่ายยีน *chitinase* สู่อ้อยโดย *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 (pCAMBIA 1305.1) ภายหลังจากบ่มร่วมกับสารแขวนลอยของเชื้อ *A. tumefaciens* ที่เติม AS 200 μ M พบว่า แคลลัสอ้อยที่บ่มร่วมเชื้อที่เติม AS สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการแสดงออกของยีน *gus* ให้แก่แคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 โดยมีเปอร์เซ็นต์การแสดงออกของยีน *gus* เท่ากับ 100 แต่แคลลัสอ้อยพันธุ์ K 92-80 พบว่าการเติม AS เปรอร์เซ็นต์มีการแสดงออกของยีน *gus* เท่ากับแคลลัสอ้อยที่ไม่เติม AS โดยมีเปอร์เซ็นต์การแสดงออกเท่ากับ 100 (ภาพที่ 43, 44 และ 45)



ภาพที่ 43 เปรอร์เซ็นต์การแสดงออกของยีน *gus* ของแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80 ที่บ่มร่วมกับ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA 4404 (pCAMBIA 1305.1) ที่เติมและไม่เติม acetosyringone (AS)



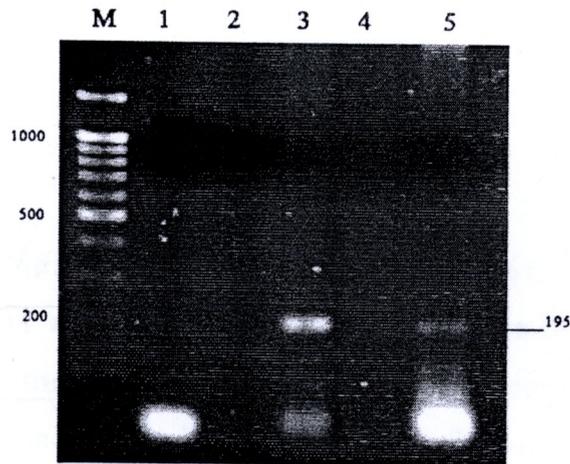
ภาพที่ 44 ลักษณะของแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่บ่มร่วมกับ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA 4404 (pCAMBIA 1305.1) ที่เติม acetosyringone (ก)และไม่เติม acetosyringone (ข) (สเกล = 1mm)



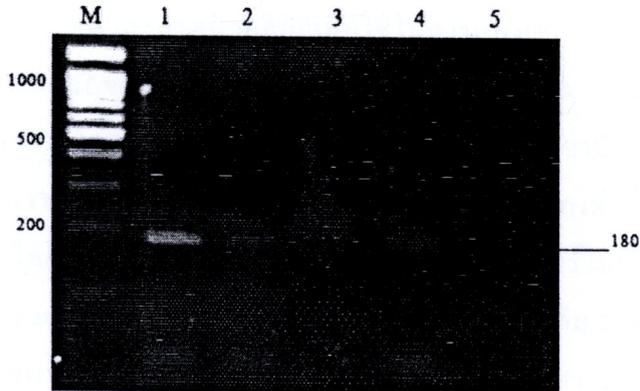
ภาพที่ 45 ลักษณะของแคลลัสอ้อยพันธุ์ K 92-80 ที่บ่มร่วมกับ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ LBA 4404 (pCAMBIA 1305.1) ที่เติม acetosyringone (ก) และไม่เติม acetosyringone (ข) (สเกล = 1mm)

ผลการทดลองที่ 8 การตรวจสอบการสอดแทรกของยีนโดยเทคนิค PCR

จากการนำดีเอ็นเอที่สกัดจากต้นอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 และ K 92-80 ที่ผ่านการส่งถ่ายยีนและไม่ผ่านการส่งถ่ายยีนมาตรวจสอบการสอดแทรกของยีนโดยเทคนิค PCR โดยใช้ primer 35S และ NOS พบว่ามีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของอ้อยที่ได้รับการส่งถ่ายยีนทั้งสองพันธุ์ โดยมีขนาด 195 และ 180 bp ตามลำดับ ซึ่งขนาดเท่ากับขนาดของดีเอ็นเอของพลาสมิด pCAMBIA 1305.1 (ภาพที่ 46 และ 47) แสดงว่ามีการสอดแทรกของยีนที่ส่งถ่ายเข้าไป



ภาพที่ 46 ผลการตรวจสอบการสอดแทรกของยีน โดยเทคนิค PCR โดยใช้ primer 35S คู่กับ anti-35S M=100 bp DNA Ladder, เลน 1 = พลาสมิด pCAMBIA1305.1, เลน 2 = ดีเอ็นเอของอ้อยพันธุ์ K92-80 ที่ไม่ผ่านการส่งถ่ายยีน, เลน 3 = ดีเอ็นเออ้อยพันธุ์ K92-80 ที่ผ่านการส่งถ่ายยีน โดย *A. tumefaciens* เลน 4 = ดีเอ็นเอของอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่ไม่ผ่านการส่งถ่ายยีน, เลน 5 = ดีเอ็นเออ้อยพันธุ์ 99-94 ที่ผ่านการส่งถ่ายยีน โดย *A. tumefaciens*



ภาพที่ 47 ผลการตรวจสอบการสอดแทรกของยีน โดยเทคนิค PCR โดยใช้ primer NOS คู่กับ anti-NOS M=100 bp DNA Ladder, เลน 1 = พลาสมิด pCAMBIA 1305.1, เลน 2 = ดีเอ็นเอของอ้อยพันธุ์ K 92-80 ที่ผ่านการส่งถ่ายยีน, เลน 3 = ดีเอ็นเออ้อยพันธุ์ K 92-80 ที่ไม่ผ่านการส่งถ่ายยีน โดย *A. tumefaciens* เลน 4 = ดีเอ็นเอของอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่ผ่านการส่งถ่ายยีน, เลน 5 = ดีเอ็นเออ้อยพันธุ์ 99-94 ที่ไม่ผ่านการส่งถ่ายยีน โดย *A. tumefaciens*