

บดินทร์ ผดุงสวัสดิ์ 2558: การถ่ายยีน *crtW* เพื่อการสร้างแอสตาแซนทีนในยาสูบ
พืทูเนีย และคาลิบรากัวโดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรีย *Agrobacterium tumefaciens*
(พืชสวน) สาขาพืชสวน ภาควิชาพืชสวน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:
รองศาสตราจารย์ธัญญา เตชะศีลพิทักษ์, วท.ม. 63 หน้า

การถ่ายยีน *crtW* เข้าสู่ยาสูบ พืทูเนีย และคาลิบรากัว โดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 เพื่อให้พืชสร้างสารแอสตาแซนทีน โดยการเลี้ยงชิ้นส่วนใบพืชร่วมกับ *A. tumefaciens* (co-cultivation) ในอาหารสูตร MS ที่มี acetosyringone ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่มืดเป็นเวลา 3 วัน คัดเลือกชิ้นส่วนพืชที่ได้รับการถ่ายยีนบนอาหารคัดเลือกสูตร MS ที่มีกานามัยซิน ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนใบของยาสูบสามารถเจริญเกิดเป็นตาพิเศษและชักนำให้เกิดเป็นต้นได้ ส่วนชิ้นส่วนใบของพืทูเนียและคาลิบรากัวสามารถเจริญเป็นแคลลัสได้เท่านั้น ชิ้นส่วนพืชที่ได้รับการถ่ายยีนมีสีส้มเมื่อเปรียบเทียบกับชิ้นส่วนพืชที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน มีการสร้างแอสตาแซนทีนสะสมในใบลำต้น หลอดกลีบดอก กลีบเลี้ยงและรังไข่ของต้นยาสูบที่ได้รับการถ่ายยีน และในแคลลัสของพืทูเนียและคาลิบรากัว ใบของต้นยาสูบที่ได้รับการถ่ายยีนมีปริมาณสารคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และแคโรทีนอยด์รวมแตกต่างจากต้นที่ไม่ได้รับการถ่ายยีนอย่างมีนัยสำคัญ โดยใบของต้นยาสูบที่ได้รับการถ่ายยีนมีปริมาณสารคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และแคโรทีนอยด์รวมมากกว่าใบของต้นที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน ผลการวิเคราะห์ชนิดตรงควัตถุด้วยวิธี Thin layer chromatography (TLC) พบสารแอสตาแซนทีนในชิ้นส่วนพืชที่ได้รับการถ่ายยีน แต่ไม่พบในชิ้นส่วนพืชที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารแอสตาแซนทีนที่พบในใบของยาสูบด้วยวิธี High-performance liquid chromatography (HPLC) พบปริมาณสารแอสตาแซนทีน 0.496 และ 0.383 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักสดหนึ่งกรัมในใบยาสูบที่ได้รับการถ่ายยีนต้นที่ 16 และ 21 ตามลำดับ แต่ไม่พบสารแอสตาแซนทีนในใบยาสูบที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน เมื่อตรวจสอบโดยเทคนิค PCR พบยีน *crtW* จากชิ้นส่วนของพืชที่ได้รับการถ่ายยีน และตรวจสอบการแสดงออกของยีน *crtW* โดยเทคนิค RT-PCR พบว่าชิ้นส่วนใบของยาสูบ, แคลลัสของพืทูเนียและคาลิบรากัวที่ได้รับการถ่ายยีนมีการแสดงออกของยีน *crtW*