

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
รายการสัญลักษณ์และคำย่อ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
2. วัตถุประสงค์	2
3. ขอบเขตของการวิจัย	2
4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 บทตรวจเอกสาร	4
1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของอ้อย	4
2. การจำแนกชนิดของอ้อย	8
3. โรคอ้อย	9
4. ไคติน	10
5. ไคทิเนส	10
6. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อย	11
7. การส่งถ่ายยีนสู่พืช	12
8. การส่งถ่ายยีนสู่พืชโดยใช้ <i>Agrobacterium</i>	14
9. การส่งถ่ายยีนสู่อ้อย โดยใช้ <i>Agrobacterium</i>	18
10. การส่งถ่ายยีนโดยวิธีตรง	18
11. การส่งถ่ายยีนสู่อ้อยโดยวิธี particle bombardment	19
12. การสร้างอ้อยแปลงพันธุ์ให้ต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูอ้อย	19

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยพันธุ์ Phil 66-07	21
1. บทนำ	21
2. อุปกรณ์และวิธีการ	21
3. ผลการทดลอง	24
4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	36
บทที่ 4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94	39
1. บทนำ	39
2. อุปกรณ์และวิธีการ	39
3. ผลการทดลอง	40
4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	44
บทที่ 5 อิทธิพลของสารปฏิชีวนะต่อการเจริญของแคลลัสและต้นอ่อนอ้อย	45
1. บทนำ	45
2. อุปกรณ์และวิธีการ	45
3. ผลการทดลอง	47
4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	60
บทที่ 6 การส่งถ่ายยีน chitinase สู่อ้อยพันธุ์ Phil 66-07	62
1. บทนำ	62
2. อุปกรณ์และวิธีการ	62
3. ผลการทดลอง	72
4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	88
บทที่ 7 การส่งถ่ายยีน chitinase สู่อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94	91
1. บทนำ	91
2. อุปกรณ์และวิธีการ	91
3. ผลการทดลอง	99
4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	114
เอกสารอ้างอิง	116
ภาคผนวก	122

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ส่วนผสมของปฏิกิริยา PCR ในแต่ละหลอด	67
ตารางที่ 2 ระดับการแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่บ่มร่วมกับ <i>A. tumefaciens</i> พันธุ์ LBA4404 (pCAMBIA 1305.1) ในระยะเวลา 0, 30, 60, 90 และ 120 นาที	75
ตารางที่ 3 ระดับการแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่บ่มร่วมกับ <i>A. tumefaciens</i> พันธุ์ LBA4404 (pCAMBIA 1305.1) ในระยะเวลา 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 และ 90 นาที	100
ตารางที่ 4 จำนวนแคลลัสอ้อยที่ผ่านการบ่มร่วมกับเชื้อ <i>A. tumefaciens</i> สายพันธุ์ LBA4404 (PBI 121) ระยะเวลาต่าง ๆ กัน ที่ต้านทานต่อกานามัยซิน เป็นเวลา 30 วัน	103
ตารางที่ 5 จำนวนแคลลัสอ้อยที่ต้านทานต่อกานามัยซิน โดยใช้พลาสมิด PBI 121 ที่ rupture disc ขนาดทนแรงดันก๊าซฮีเลียม 900 และ 1,100 ปอนด์/ตารางนิ้ว	105
ตารางที่ 6 จำนวนแคลลัสอ้อยที่ต้านทานต่อกานามัยซินเป็นเวลา 30 วัน โดยใช้ พลาสมิด PBI 121 ที่ระยะห่างระหว่างจุดปล่อยกระสุนถึงเนื้อเยื่อ เป้าหมาย 6, 9 และ 12 ซม.	107
ตารางที่ 7 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) และเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของอ้อย พันธุ์ Phil 66-07 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม น้ำมะพร้าว 2,4-D และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	123
ตารางที่ 8 จำนวนต้นเฉลี่ย/แคลลัส และเปอร์เซ็นต์การเกิดต้น/แคลลัสของอ้อย พันธุ์ Phil 66-07 ที่เลี้ยงบนสูตรอาหารดัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ	124
ตารางที่ 9 จำนวนรากเฉลี่ย/ต้น และเปอร์เซ็นต์การเกิดราก/ต้นของอ้อย พันธุ์ Phil 66-07 ที่เลี้ยงบนสูตรอาหารดัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ	124
ตารางที่ 10 จำนวนต้นเฉลี่ย/แคลลัส และเปอร์เซ็นต์การเกิดต้น/แคลลัสของอ้อย พันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เลี้ยงบนสูตรอาหารดัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ	125
ตารางที่ 11 สารละลายต้นตอของอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog's (MS)	126

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 การเกิดรากและหน่ออ้อย	6
ภาพที่ 2 ลักษณะใบ ดอก และผลของอ้อย (<i>S. officinarum</i> L.)	8
ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของไคติน	10
ภาพที่ 4 ลักษณะรูปร่างของ <i>Agrobacterium</i>	15
ภาพที่ 5 ลักษณะของ Ti plasmid	16
ภาพที่ 6 การถ่ายทอด T-DNA จากเชื้อ <i>Agrobacterium</i> เข้าสู่เซลล์พืช	17
ภาพที่ 7 ลักษณะแคลลส์อ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่เจริญบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม 2,4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15%	24
ภาพที่ 8 ลักษณะสีของแคลลส์ที่เกิดขึ้น เมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารใหม่	25
ภาพที่ 9 ลักษณะแคลลส์อ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่เลี้ยงบนสูตรอาหารดัดแปลงที่เติม 2,4-D, NAA, yeast extract น้ำมะพร้าวความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 5 สัปดาห์	27
ภาพที่ 10 น้ำหนักสดของแคลลส์อ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D, NAA ร่วมกับน้ำมะพร้าว และ yeast extract ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 5 สัปดาห์	28
ภาพที่ 11 ลักษณะการเจริญของแคลลส์อ้อยพันธุ์ Phil 66-07	29
ภาพที่ 12 ลักษณะต้นใหม่จากแคลลส์อ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร ดัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นต่างๆ กัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์	30
ภาพที่ 13 เปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นต้นใหม่จากแคลลส์อ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่เลี้ยงบนสูตรอาหารดัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นต่างๆ กัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์	31
ภาพที่ 14 จำนวนต้นเฉลี่ย/แคลลส์ของอ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร ดัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นต่างๆ กัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์	32
ภาพที่ 15 ลักษณะรากที่เกิดขึ้นจากต้นอ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร แข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ร่วมกับ น้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น ระดับต่างๆ กัน	33

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 16 เพอร์เซ็นต์การเกิดรากจากต้นอ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ร่วมกับ น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์	34
ภาพที่ 17 จำนวนรากเฉลี่ย/ต้นของอ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ร่วมกับ น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์	35
ภาพที่ 18 ลักษณะต้นใหม่จากแคลลส์อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 2 เดือน	41
ภาพที่ 19 เพอร์เซ็นต์การเจริญเป็นต้นอ่อนจากแคลลส์อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 2 เดือน	42
ภาพที่ 20 จำนวนต้นเฉลี่ย/แคลลส์ของอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติม BA ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 2 เดือน	43
ภาพที่ 21 ลักษณะแคลลส์อ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D 3 มก./ล. ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 15% ไฮโกรมัยซินความเข้มข้น 0, 5, 15, 25, 35, 45, 55 และ 65 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	47
ภาพที่ 22 เพอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแคลลส์อ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D 3 มก./ล. ร่วมกับน้ำมะพร้าว15% ที่มีไฮโกรมัยซินความเข้มข้น 0, 5, 15, 25, 35, 45, 55 และ 65 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	48
ภาพที่ 23 ลักษณะต้นอ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D 3 มก./ล. ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 15% ไฮโกรมัยซินความเข้มข้น0, 5, 15, 25, 35, 45, 55 และ 65 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	48
ภาพที่ 24 เพอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นอ่อนอ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ IBA 0.5 มก./ล. ที่มีไฮโกรมัยซินความเข้มข้น 0, 10, 25, 50,75 และ 100 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	49

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 25 ลักษณะแคลสอัยพันธุ์ Phil 66-07 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม เติม 2,4-D 3 มก./ล. ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 15% ไฮโกรมิยชินความเข้มข้น 0, 5, 15, 25, 35, 45, 55 และ 65 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	50
ภาพที่ 26 เพอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแคลสอัยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยง บนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D 3 มก./ล. ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 10% ที่มีซีโฟแทกซึมความเข้มข้น 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600 และ 700 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	50
ภาพที่ 27 ลักษณะต้นอ่อนอัยพันธุ์ Phil 66-07 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ IBA 0.5 มก./ล. ที่มีไฮโกรมิยชิน ความเข้มข้น 0, 10, 25, 50, 75 และ 100 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	51
ภาพที่ 28 เพอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นอ่อนอัยพันธุ์ Phil 66-07 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ IBA 0.5 มก./ล. ที่มีไฮโกรมิยชินความเข้มข้น 0, 10, 25, 50, 75 และ 100 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	51
ภาพที่ 29 ลักษณะแคลสอัยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D 3 มก./ล. ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 10% ที่มีซีโฟแทกซึมความเข้มข้น 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600 และ 700 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	52
ภาพที่ 30 เพอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแคลสอัยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร สูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D 3 มก./ล. ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 10% ที่มีซีโฟแทกซึมความเข้มข้น 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600 และ 700 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	53
ภาพที่ 31 ลักษณะต้นอ่อนอัยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ IBA 0.5 มก./ล. ที่มีซีโฟแทกซึม ความเข้มข้น 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 และ 800 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	53

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 32 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ IBA 0.5 มก./ล. ที่มีซีพีแทกซึมความเข้มข้น 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 และ 800 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	54
ภาพที่ 33 ลักษณะแคลลส์อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D 3 มก./ล. ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 10% ไฮโกรมัยซิน ความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	55
ภาพที่ 34 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแคลลส์อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D 3 มก./ล. ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 10% ที่เติมไฮโกรมัยซินความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	55
ภาพที่ 35 ลักษณะต้นอ่อนอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ IBA 0.5 มก./ล. ที่เติมไฮโกรมัยซิน ความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	56
ภาพที่ 36 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นอ่อนอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D 3 มก./ล. ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 10% ที่เติมไฮโกรมัยซินความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	56
ภาพที่ 37 ลักษณะแคลลส์อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D 3 มก./ล. ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 10% ที่เติมกานามัยซิน ความเข้มข้น 0, 250, 500, 750, 1,000, 1,250 และ 1,500 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	58
ภาพที่ 38 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแคลลส์อ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D 3 มก./ล. ร่วมกับ น้ำมะพร้าว 10% ที่เติมกานามัยซินความเข้มข้น 0, 250, 500, 750, 1,000, 1,250 และ 1,500 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	58
ภาพที่ 39 ลักษณะต้นอ่อนอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ IBA 0.5 มก./ล. ที่เติมกานามัยซิน ความเข้มข้น 0, 250, 500, 750, 1,000, 1,250 และ 1,500 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	59

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 40 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นอ่อนอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA 3 มก./ล. ร่วมกับ IBA 0.5 มก./ล. ที่เติมกานามัยซิน ความเข้มข้น 0, 250, 500, 750, 1,000, 1,250 และ 1,500 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์	59
ภาพที่ 41 เครื่อง particle bombardment	64
ภาพที่ 42 ลักษณะการทำงานของเครื่อง particle bombardment	64
ภาพที่ 43 แผนที่พลาสมิด pCAMBIA 1305.1 ขนาด 11846 bp ที่มีโปรโมเตอร์ คือ CaMV35s promoter ยีนเครื่องหมายคือ <i>nptII</i> gene ด้านทานต่อ กานามัยซิน และยีน <i>hpt</i> ด้านทานต่อไฮโกรมัยซิน ยีนรายงานผลคือ <i>gus</i> gene	65
ภาพที่ 44 แสดงส่วนของพลาสมิด pCAMBIA 1305.1 ที่มียีน chitinase	65
ภาพที่ 45 การเจริญของ <i>A. tumefaciens</i> สายพันธุ์ LBA4404 (pCAMBIA 1305.1) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว LB ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงต่างๆ	72
ภาพที่ 46 การวัดค่า OD ₆₀₀ เปรียบเทียบการเจริญของ <i>A. tumefaciens</i> สายพันธุ์ LBA4404 (pCAMBIA 1305.1) ในอาหารเหลว LB ที่เติมซีโฟแทกซึมความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	73
ภาพที่ 47 การเจริญของ <i>A. tumefaciens</i> สายพันธุ์ LBA 4404 (pCAMBIA1305.1) บนอาหารแข็ง LB ที่เติมซีโฟแทกซึมความเข้มข้น 0-175 มก./ล.	74
ภาพที่ 48 ผลการตรวจสอบการแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่บ่มร่วมกับ <i>A. tumefaciens</i> พันธุ์ LBA4404 (pCAMBIA 1305.1) ในระยะเวลา 0, 30, 60, 90 และ 120 นาที	76
ภาพที่ 49 ความเข้มของสีฟ้าที่เกิดจากการแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่บ่มร่วมกับ <i>A. tumefaciens</i> พันธุ์ LBA4404 (pCAMBIA 1305.1) ในระยะเวลา 0, 30, 60, 90 และ 120 นาที	77
ภาพที่ 50 เปอร์เซ็นต์การแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ้อยพันธุ์ Phil 66-07 ที่บ่มร่วมกับ <i>A. tumefaciens</i> พันธุ์ LBA4404 (pCAMBIA 1305.1) ในระยะเวลา 0, 30, 60, 90 และ 120 นาที	77
ภาพที่ 51 ผลการตรวจสอบการแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ้อยพันธุ์ Phil 66-07 โดยใช้เครื่อง particle bombardment แรงดันก๊าซฮีเลียม 900 (ก-ค) และ 1100 psi (ง-ฉ)	78

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 52 ความเข้มของสีฟ้าที่เกิดจากการแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ่อน พันธุ์ Phil 66-07 โดยใช้เครื่อง particle bombardment แรงดันก๊าซฮีเลียม 900 และ 1100 psi	79
ภาพที่ 53 เปอร์เซ็นต์การแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ่อนพันธุ์ Phil 66-07 โดยใช้เครื่อง particle bombardment แรงดันก๊าซฮีเลียม 900 และ 1100psi	79
ภาพที่ 54 ผลการตรวจสอบการแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ่อนพันธุ์ Phil 66-07 โดยใช้เครื่อง particle bombardment แรงดันก๊าซฮีเลียม 900psi ที่ระยะการยิง 6 ซม. (ก-ค) 9 ซม. (ง-ฉ) 12 ซม. (ช-ฌ)	81
ภาพที่ 55 ความเข้มของสีฟ้าที่เกิดจากการแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ่อนพันธุ์ Phil 66-07 โดยใช้เครื่อง particle bombardment แรงดันก๊าซฮีเลียม 900psi ที่ระยะการยิง 6 ซม. 9 ซม. และ 12 ซม.	82
ภาพที่ 56 เปอร์เซ็นต์การแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ่อนพันธุ์ Phil 66-07 โดยใช้เครื่อง particle bombardment แรงดันก๊าซฮีเลียม 900 psi ที่ระยะการยิง 6 ซม. 9 ซม. และ 12 ซม.	82
ภาพที่ 57 การแสดงออกของยีน <i>gus</i> ในใบอ่อนพันธุ์ Phil 66-07 ที่ไม่ผ่านการส่งถ่ายยีน (ก) เปรียบเทียบกับใบอ่อนที่ได้รับการส่งถ่ายยีน (ข)	83
ภาพที่ 58 กายวิภาคศาสตร์ของใบอ่อนพันธุ์ Phil 66-07 ที่ไม่ผ่านการส่งถ่ายยีน (ก และ ข) และผ่านการส่งถ่ายยีน (ค และ ง)	84
ภาพที่ 59 ผลการตรวจสอบการสอดแทรกของยีนโดยเทคนิค PCR โดยใช้ ไพรเมอร์ 35S คู่กับ anti-35S	85
ภาพที่ 60 ผลการตรวจสอบการสอดแทรกของยีนโดยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ NOS คู่กับ anti-NOS	85
ภาพที่ 61 ผลการตรวจสอบการสอดแทรกของยีนโดยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ chitinase คู่กับ anti-chitinase	86
ภาพที่ 62 ผลการตรวจสอบการแสดงออกของยีนโดยเทคนิค RT-PCR โดยใช้ ไพรเมอร์ chitinase คู่กับ anti-chitinase (เลน 1-4) และใช้ไพรเมอร์ TPI คู่กับ anti-TPI	87
ภาพที่ 63 ผลการตรวจสอบการแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ่อนพันธุ์ มิตรผล 99-94 ที่บ่มร่วมกับ <i>A. tumefaciens</i> พันธุ์ LBA4404 (pCAMBIA 1305.1) ในระยะเวลา 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 และ 90 นาที	101

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 64	เปอร์เซ็นต์การแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่บ่มร่วมกับ <i>A. tumefaciens</i> พันธุ์ LBA4404 (pCAMBIA 1305.1) ในระยะเวลา 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 และ 90 นาที	102
ภาพที่ 65	ผลการตรวจสอบการแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่ทำการถ่ายยีนโดยใช้เครื่อง particle bombardment แรงดันก๊าซฮีเลียม 900 (ก-ค) และ 1100 psi (ง-ฉ)	104
ภาพที่ 66	เปอร์เซ็นต์การแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่ทำการถ่ายยีนโดยใช้เครื่อง particle bombardment แรงดันก๊าซฮีเลียม 900 และ 1,100 psi	104
ภาพที่ 67	ผลการตรวจสอบการแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 ที่ทำการถ่ายยีนโดยใช้เครื่อง particle bombardment แรงดันก๊าซฮีเลียม 900 psi ที่ระยะการยิง 6 ซม. (ก-ค) 9 ซม. (ง-ฉ) 12 ซม. (ช-ฉ)	106
ภาพที่ 68	เปอร์เซ็นต์การแสดงออกของยีน <i>gus</i> บนแคลลัสอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 โดยใช้เครื่องที่ทำการถ่ายยีน particle bombardment แรงดันก๊าซฮีเลียม 1,100 psi ที่ระยะการยิง 6 ซม. 9 ซม. และ 12 ซม.	106
ภาพที่ 69	ผลการตรวจสอบการสอดแทรกของยีนเมื่อใช้พลาสมิด pCAMBIA1305.1 ในอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 โดยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ 35S คู่กับ anti-35S	107
ภาพที่ 70	ผลการตรวจสอบการสอดแทรกของยีนเมื่อใช้พลาสมิด pCAMBIA1305.1 ในอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 โดยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ NOS คู่กับ anti-NOS	109
ภาพที่ 71	ผลการตรวจสอบการสอดแทรกของยีนเมื่อใช้พลาสมิด pCAMBIA1305.1 ในอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 โดยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ chitinase คู่กับ anti-chitinase	109
ภาพที่ 72	ผลการตรวจสอบการสอดแทรกของยีนเมื่อใช้พลาสมิด PBI 121 ในอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 โดยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ 35S คู่กับ anti-35S	110
ภาพที่ 73	ผลการตรวจสอบการสอดแทรกของยีนเมื่อใช้พลาสมิด PBI 121 ในอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 โดยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ NOS คู่กับ anti-NOS	110

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 74 ผลการตรวจสอบการสอดแทรกของยีนเมื่อใช้พลาสมิด PBI 121 ในอ้อยพันธุ์มิตรผล 99-94 โดยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ chitinase คู่กับ anti-chitinase	111
ภาพที่ 75 ผลการตรวจสอบการแสดงออกของยีน เมื่อใช้พลาสมิด pCAMBIA1305.1 โดยเทคนิค RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ chitinase คู่กับ anti-chitinase (เลน 1-5) ละใช้ไพรเมอร์ TPI คู่กับ anti-TPI	112
ภาพที่ 76 ผลการตรวจสอบการแสดงออกของยีน เมื่อใช้พลาสมิด PBI121 โดยเทคนิค RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ chitinase คู่กับ anti-chitinase (เลน 1-5) ละใช้ไพรเมอร์ TPI คู่กับ anti-TPI	113

รายการสัญลักษณ์และคำย่อ

nm	=	นาโนเมตร
μm	=	ไมโครเมตร
มม.	=	มิลลิเมตร
ก.	=	กรัม
มก.	=	มิลลิกรัม
ล.	=	ลิตร
มล.	=	มิลลิลิตร
μl	=	ไมโครลิตร
μmol	=	ไมโครโมล
μM	=	ไมโครโมลาร์
bp	=	base pair
kb	=	kilo base pair
$^{\circ}\text{C}$	=	องศาเซลเซียส
BA	=	Benzyl adenine
IBA	=	indole-3-butyric acid
NAA	=	Napthaleneacetic acid
2,4-D	=	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
ชม. (hr)	=	ชั่วโมง (hour)
OD	=	Optical Density
w/v	=	weight by volume
v/v	=	volume by volume
psi	=	pounds per square inch