เฉลิมพล ศรีอคุลย์พันธุ์ 2555: การขยายพันธุ์สบู่ดำโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน *APETALA2* ในอะราบิดอปซิสและสบู่ดำ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์) สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์สมพิศ สามิภักดิ์, Ph.D. 114 หน้า

Jatropha curcas L. อยู่ในวงศ์ EUPHORBIACEAE เป็นพืชน้ำมันสามารถนำมาหีบได้เป็นน้ำมัน และใช้เป็นพลังงานทดแทน เนื่องจากปริมาณผลผลิตต่อไร่ของสบู่ดำยังน้อยอยู่ จึงได้เริ่มทำการทดลองศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสบู่ดำสายพันธุ์ KUBP 78-9 โดยสร้างแคลลัสจากใบอ่อน ก้านใบ และลำต้น ได้ภายใน 1-2 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลที่ได้เกิดกลุ่มก้อนแคลลัสมีสีเขียว และมีการแพ็คตัวกันอย่างหนาแน่น จากนั้นนำมาชักนำให้เกิดเป็นปลายยอดทวีคูณได้สำเร็จบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BAP ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระยะเวลา 4-6 สัปดาห์ และสามารถชักนำให้เกิดรากได้สำเร็จ บนสูตรอาหาร ½MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้เวลา 5-6 สัปดาห์ ส่วนงานทางด้านพันธุศาสตร์โมเลกุลมีรายงานมาจากหลายงานวิจัยได้กล่าวไว้ว่ายีน *APETALA2* นั้นมีบทบาทที่สำคัญในการควบคุมขนาดของเมล็ด, น้ำหนักของเมล็ด, การสะสมของน้ำมัน และโปรตีนในเมล็ด, จำนวนเซลล์ของเอ็มบริโอ และขนาดของเซลล์ จึงทำการสร้าง RNAi silencing construct เพื่อลดการแสดงออกของยีน *APETALA2* ในอะราบิดอปซิส โดยออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะ 3 คู่ เพื่อจะเพิ่มปริมาณชิ้นยีน 3 ส่วนของยีน *APETALA2* และสร้าง RNAi construct ได้สำเร็จ 2 construct โดยได้เชื่อมเข้าไปในเวกเตอร์ pHellsgate8 แล้วทำการถ่ายฝากโครงสร้างยีนเข้าไปในอะโกรแบคทีเรียม จากนั้นจึงดำเนินการถ่ายฝากโครงสร้างเข้าไปในต้นอะราบิดอปซิสด้วยวิธี floral dip เพื่อที่จะทำ Homologous gene silencing จากนั้นทำการคัดเลือกเมล็ดบนอาหารที่มียาปฏิชีวนะกานามัยซิน แล้วตรวจสอบโดยปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับโครงสร้าง แล้วมาตรวจสอบการแสดงออกด้วยการทำปฏิกิริยา Semi-quantitative RT-PCR โดยใช้ *Actin* เป็นยีนอ้างอิง ผลการตรวจสอบพบว่าต้นอะราบิดอปซิสในรุ่น T_1 ที่มีชิ้นส่วน pJC2/14 และ pF2/4/2 มีการแสดงออกของยีน *AP2* ที่น้อยลงเมื่อเปรียบเทียบกับ wild type ขณะที่ต้นที่มีชิ้นส่วน pF1/3/1 พบว่ายังคงมีการแสดงออกเท่าเดิม นอกจากนั้นได้ดำเนินการถ่ายฝาก RNAi construct เข้าสู่เนื้อเยื่อสบู่ดำแต่ไม่ประสบความสำเร็จ

_____ _____ ____/ ____/ _____

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์