

กุลชาติ นาคจันทิก 2554: การถ่ายยีนต้านทานสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทเข้าสู่มัน
สำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียม ปริญา
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พืชไร่) สาขาพืชไร่ ภาควิชาพืชไร่นา อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์สนธิชัย จันทน์เปรม, Ph.D. 65 หน้า

การถ่ายยีนเข้าสู่มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta*, Crantz.) โดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ที่มีพลาสมิด pCAM1304-EPSPS ที่มียีนต้านทานสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสท (*aroA*) และยีนรายงานผล *gus* โดยศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องคือ เวลาที่ใช้ในการปลูกเชื้อ (inoculation) 15 30 45 และ 60 นาที และการเพาะเลี้ยงเชื้อร่วมกับเนื้อเยื่อ (co-cultivation) 1 3 และ 5 วัน ตรวจสอบการแสดงออกของยีน *gus* แบบชั่วคราวโดยวิธี GUS histochemical assay พบว่า วิธีการที่ให้ผลดีที่สุดคือ การใช้ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 เป็นพาหะและกระตุ้นเชื้อโดยใช้ acetosyringone ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ร่วมกับการปลูกเชื้อนาน 60 นาที และเพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อเป็นเวลา 5 วัน ซึ่งทำให้เนื้อเยื่อทุกชิ้นได้รับการถ่ายยีนและมีค่าเฉลี่ยคะแนนการติดสีน้ำเงินจากการตรวจสอบการแสดงออกของยีน *gus* ด้วยวิธี GUS histochemical assay หลังจากถ่ายยีนเป็นเวลา 7 วัน สูงสุด 9 คะแนนจาก 10 คะแนน ส่วนแคลลัสของมันสำปะหลังที่ปลูกเชื้อนาน 30 นาที และเพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อเป็นเวลา 3 วัน ทำให้เนื้อเยื่อทุกชิ้นได้รับการถ่ายยีนและมีค่าเฉลี่ยคะแนนการติดสีน้ำเงินสูงสุด 5 คะแนนจาก 10 คะแนน หลังจากถ่ายยีนเป็นเวลา 14 วัน และหลังจากคัดเลือkbนอาหารคัดเลือกที่มีสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ พบแคลลัสจำนวน 8 ชิ้น สามารถเจริญเติบโตได้ และเมื่อตรวจสอบโดยวิธีพีซีอาร์ และSouthern PCR hybridization พบว่ามีการคงอยู่ของยีน *aroA* จำนวน 4 แคลลัส