กุสุมา รอดแผ้วพาล 2554: การถ่ายยีนต้านทานสารไกลโฟเสทเข้าสู่อ้อย (*Saccharum officinarum* L.) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชไร่) สาขาพืชไร่ ภาควิชาพืชไร่นา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์สนธิชัย จันทร์เปรม, Ph.D. 68 หน้า

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการถ่ายยีนเข้าสู่แคลลัสอ้อยโดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียม ได้แก่ ผลของสารปฏิชีวนะ cefotaxime ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อ การเจริญเติบโตของเชื้ออะโกรแบคทีเรียมและแคลลัสอ้อย พบว่า สารปฏิชีวนะ cefotaxime ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้ออะโกรแบคทีเรียม สายพันธุ์ EHA105 ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และ สารปฏิชีวนะ cefotaxime ความเข้มข้นในช่วง 100-500 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแคลลัสและการพัฒนาไปเป็นต้นอ้อย และ การทดสอบประสิทธิภาพการถ่ายยีนโดยทดสอบความเข้มข้นของเชื้อโดยการเจือจาง เซลล์แขวนลอยเชื้อในสัดส่วนต่าง ๆ และระยะเวลาที่ใช้ในการปลูกเชื้อบนแคลลัสอ้อย ตรวจสอบผลการถ่ายยีนด้วยวิธี GUS histochemical assay พบว่า การปลูกเชื้อโดยใช้เซลล์แขวนลอยเชื้อที่ไม่เจือจาง (สัดส่วน 1:0 ของเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียต่ออาหารเพาะเลี้ยง) ร่วมกับระยะเวลาในการปลูกเชื้อนาน 10 นาที ให้เปอร์เซ็นต์จำนวนชิ้นที่ติดสีน้ำเงินมากที่สุด คือ 88.33 % และ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับวิธีการอื่นที่ทดสอบ

การถ่ายยีน *EPSPs* เข้าสู่แคลลัสของอ้อยโดยใช้อะโกรแบคทีเรียม สายพันธุ์ EHA105 ที่มีพลาสติด pCAM-EPSPs 1304 เป็นพาหะ โดยนำเทคนิคที่ได้จากการศึกษาต้นเบื้องต้นมาใช้ในการถ่ายยีน พบว่า มีแคลลัสที่สามารถเจริญเติบโตบนอาหารคัดเลือกที่เติมสารไกลโฟเสท 0.5 มิลลิโมลาร์ จำนวน 10 โคลน จากนั้นนำแคลลัสที่รอดชีวิตมาตรวจสอบผลการถ่ายยีนด้วยวิธีพีซีอาร์ พบว่า มียีน *EPSPs* จำนวน 5 โคลน เมื่อนำมายืนยันผลการมีอยู่ของยีน *EPSPs* ที่ถูกถ่ายยีนเข้าไปในแคลลัสด้วยวิธี Southern PCR blot และ dot blot hybridization พบว่า มี *EPSPs* อยู่ในจีโนมของอ้อยจริง

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์