ภาคภูมิ ปัญญาดี 2551: กิจกรรมของเอนไซม์อะซิโทแลคเตทซินเธสในเซลล์อ้อยที่ผ่านการคัดเลือกให้ต้านทานสารอิมาซาเพอร์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ทศพล พรพรหม, Ph.D. 71 หน้า

การคัดเลือกเซลล์อ้อยต้านทานสารอิมาซาเพอร์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งได้ชักนำแคลลัสจากส่วนม้วนใบอ่อนของอ้อยพันธุ์ K95-282 จากนั้นชักนำให้เกิดเป็นเซลล์แขวนลอย โดยใช้สูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร casein hydrolysate 500 มิลลิกรัมต่อลิตร myo-inositol 100 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ ที่ pH 5.7 การคัดเลือกเซลล์อ้อยต้านทานสารอิมาซาเพอร์ เริ่มต้นทำการคัดเลือกเซลล์อ้อยพันธุ์ K 95-282 จากระดับความเข้มข้นของสารตั้งแต่ 0.1 ถึง 1 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดเป็นเซลล์ที่ต้านทานต่อสารอิมาซาเพอร์ได้ ซึ่งจะเรียกว่า เป็นสายพันธุ์เซลล์อ้อยต้านทานสารอิมาซาเพอร์ในระดับความเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ ใช้เวลาในการคัดเลือกนาน 420 วัน มีดัชนีของความต้านทานสารเป็น 116.7 เท่าของเซลล์อ้อยปกติสายพันธุ์เดียวกัน การศึกษาลักษณะกลไกทางชีวเคมีของอ้อยต้านทานสารอิมาซาเพอร์ โดยพิจารณาจากการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ acetolactate synthase (ALS) ในเซลล์อ้อยที่ต้านทานสารและเซลล์อ้อยปกติสายพันธุ์เดียวกัน เมื่อพิจารณาจากค่า $I_{50}$ จะเห็นได้ว่าเซลล์อ้อยที่ต้านทานสารจะมีกิจกรรมของเอนไซม์ ALS มากกว่าในเซลล์ของอ้อยปกติพันธุ์เดียวกัน 6.5 เท่า หลังจากได้รับสารอิมาซาเพอร์ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.01 ถึง 100 ไมโครโมลาร์ จากผลการทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า เซลล์อ้อยที่ต้านทานสารอิมาซาเพอร์มีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ ALS เป็นแบบตอบสนองน้อยต่อสารกำจัดวัชพืช จึงทำให้เซลล์อ้อยที่ต้านทานสารไม่ถูกยับยั้งโดยสารอิมาซาเพอร์

ภาคภูมิ ปัญญาดี
ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

31 / มี.ค. / 51

Parkpoom Punyadee 2008: Acetolactate Synthase Activity in Selected Imazapyr-Resistant Sugarcane Cells. Master of Science (Agricultural Biotechnology), Major Field: Agricultural Biotechnology, Interdisciplinary Graduate Program. Thesis Advisor: Associate Professor Tosapon Pornprom, Ph.D. 71 pages.

Selection of sugarcane (*Saccharum* spp.) cells resistant to imazapyr was carried out using callus and cell suspension induced from the tight young furled leaves of sugarcane clone K 95-282. The callus and cell suspension were cultured on modified MS medium supplemented with 3 mg/L 2,4-D, 500 mg/L casein hydrolysate, 100 mg/L myo-inositol, 10 % coconut water and pH 5.70. A sugarcane cell line from K 95-282 resistant to 1 μM imazapyr was obtained after 420 days of selection, using a stepwise selection with increasing concentrations of imazapyr from 0.1 to 1 μM. It was referred to as 1 μM imazapyr-resistant sugarcane cell line. The results indicated that the resistance index of the resistant cells line was 116.7-fold higher than that of the normal cells. To establish the biochemical mechanism of resistance to imazapyr, acetolactate synthase (ALS) activity was determined in normal and resistant cells. Based on $I_{50}$ value, ALS activity of the resistant cells was 6.5-fold higher than that of the normal cells at various concentrations of imazapyr from 0.01 to 100 μM. These results suggested that the biochemical mechanism of imazapyr resistance in the sugarcane cell line appeared to be an alteration at the target site, based on the ALS activity, leading to less sensitivity to imazapyr.

P. Punyadee — Student's signature

T. Pornprom. — Thesis Advisor's signature

31 / Mar / 08