

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

1. จากการศึกษาการส่งถ่ายพลาสมิดในพืชใบเลี้ยงคู่ คือ ยาสูบและพิทูเนีย เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของพลาสมิด โดยการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105 เข้าสู่ชิ้นส่วนใบยาสูบและพิทูเนีย พบว่าประสบความสำเร็จในการส่งถ่ายยีน โดยชิ้นส่วนใบยาสูบและพิทูเนียที่ได้รับพลาสมิดสามารถเจริญในอาหารคัดเลือกและพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ ซึ่งเมื่อนำมาตรวจสอบการแสดงออกของยีน *gus* ด้วยวิธี GUS histochemical พบว่าเนื้อเยื่อเกิดสีฟ้าและประสิทธิภาพการส่งถ่ายสูงสุดเท่ากับ 97 เปอร์เซ็นต์

2. จากการศึกษาการส่งถ่ายพลาสมิดในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว คือ ข้าวคิตาอิเกะ ซึ่งเป็นข้าวในกลุ่มจาโปนิกา โดยการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105 เข้าสู่แคลลัสข้าวคิตาอิเกะ พบว่า ประสบความสำเร็จในการส่งถ่ายและการตรวจสอบการแสดงออกของยีน *gus* ด้วยวิธี GUS histochemical พบว่าแคลลัสเกิดสีฟ้า โดยมีเปอร์เซ็นต์การส่งถ่ายพลาสมิดสูงสุดเท่ากับ 64 เปอร์เซ็นต์

4. จากการศึกษาการส่งถ่ายพลาสมิดในข้าวบือโปะโละซึ่งเป็นข้าวในกลุ่มอินดิกา โดยการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105 เข้าสู่เนื้อเยื่อปลายยอดและแคลลัสข้าวบือโปะโละ พบว่า การใช้กานามัยซินความเข้มข้น 100 และ 150 มิลลิกรัมต่อลิตรเหมาะสมต่อการคัดเลือกเนื้อเยื่อปลายยอดและแคลลัสที่ได้รับยีนตามลำดับและอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4 D ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตรเหมาะสมต่อการชักนำเมล็ดข้าวบือโปะโละให้เป็นแคลลัส และสูตรอาหาร RE1 (MS+ 300 mg/L casamino acid + 100 mg/L yeast extract + 500 mg/L L- proline + 500 mg/L L- glutamine +30 g/L sucrose + 4 mg/L BA + 6 g/L phytagel) สามารถชักนำแคลลัสให้เจริญเป็นต้นได้ 5 เปอร์เซ็นต์ จากการตรวจสอบการแสดงออกของยีน *gus* ด้วยวิธี GUS histochemical และเทคนิคฟิซีอาร์ พบว่า เนื้อเยื่อปลายยอดและแคลลัสของข้าวบือโปะโละเกิดสีฟ้าและเกิดแถบดีเอ็นเอของยีน *gus* ขนาด 500 คู่เบส โดยประสิทธิภาพการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 เข้าสู่เนื้อเยื่อปลายยอดข้าวบือโปะโละเท่ากับ 0.5 และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่ไม่พบการแสดงออกของยีน *gus* ในเนื้อเยื่อปลายยอดข้าวบือโปะโละที่ผ่านการส่งถ่ายพลาสมิดด้วยเชื้ออะ

โคโรแบคทีเรียสายพันธุ์ EHA105 สำหรับประสิทธิภาพการส่งถ่ายพลาสมิดเข้าสู่แคลลัสข้าวบือโปะโละ พบว่าการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้เชื้อโคโรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 เท่ากับ 42 และ 32 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้เชื้อโคโรแบคทีเรียสายพันธุ์ EHA105 เท่ากับ 49 และ 34 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้เชื้อโคโรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105 ในพืชทดลอง คือ ยาสูบ พืชเนียบ ข้าวคิตาอิเกะ และข้าวบือโปะโละ พบว่าสามารถส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้เชื้อโคโรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105 เข้าสู่ชิ้นส่วนใบยาสูบและพืชเนียบซึ่งเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ได้ดี โดยประสิทธิภาพการส่งถ่ายสูงสุดเท่ากับ 97 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าการส่งถ่ายพลาสมิดเข้าสู่แคลลัสข้าวคิตาอิเกะ โดยมีประสิทธิภาพการส่งถ่ายสูงสุดเท่ากับ 64 เปอร์เซ็นต์ และมากกว่าการส่งถ่ายพลาสมิดเข้าสู่แคลลัสข้าวบือโปะโละ ซึ่งมีประสิทธิภาพการส่งถ่ายสูงสุดเท่ากับ 49 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการส่งถ่ายพลาสมิดเข้าสู่เนื้อเยื่อปลายยอดของข้าวบือโปะโละจะมีประสิทธิภาพการส่งถ่ายต่ำมากที่สุดเท่ากับ 0.5 เปอร์เซ็นต์

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาครั้งนี้ประสบความสำเร็จในการส่งถ่ายพลาสมิดเข้าสู่แคลลัสของข้าวป๊อโปะโละ ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานเกี่ยวกับการส่งถ่ายพลาสมิดเข้าสู่ข้าวสายพันธุ์นี้มาก่อน แต่ยังไม่สามารถชักนำแคลลัสข้าวป๊อโปะโละที่ได้รับพลาสมิดให้เจริญเป็นต้นได้ ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการสร้างพืชตัดแปลงพันธุกรรม แต่จากการทดลอง สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาระบบการส่งถ่ายยีนและสามารถนำไปศึกษาและพัฒนาวิธีการชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นต้นใหม่อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น การพัฒนาสูตรอาหาร การเลือกชิ้นส่วนหรืออายุของพืชที่เหมาะสม นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลพื้นฐานในการใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียส่งถ่ายยีนเข้าสู่ข้าวกลุ่มอินดิกาสายพันธุ์อื่นๆ เช่น ข้าวหอมมะลิ ข้าวปทุมธานี หรือข้าวที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจต่อไปในอนาคต