

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฎ
อักษรย่อและสัญลักษณ์	ท
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	
2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าว	3
2.2 ลักษณะทางสัณฐานของข้าว	3
2.3 การแบ่งประเภทของข้าว	5
2.4 ข้าวบือโปะโละ	7
2.5 การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยใช้พันธุ์วิศวกรรม	11
2.6 เทคนิคการส่งถ่ายยีนโดยพันธุ์วิศวกรรม	11
2.7 การส่งถ่ายยีนโดยใช้อะโกรแบคทีเรีย	12
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	
3.1 วัสดุและอุปกรณ์	19
3.2 เครื่องมือ	19
3.3 สารเคมี	20

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4 พืชทดลอง	20
3.5 สายพันธุ์อะโกรแบคทีเรีย	20
3.6 วิธีการทดลอง	22

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 ผลของการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 เข้าสู่ชิ้นส่วนใบยาสูบและ พืหนึ่โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105 (ดัดแปลงจาก Horsch <i>et al.</i> , 1985 และ Ingrid, 2006)	34
4.2 การส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 เข้าสู่เซลล์ส้ข้าวคิตาอิเกะ (Kitaake) โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105 (ดัดแปลงจาก Hiei <i>et al.</i> , 1994)	39
4.3 ผลการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 เข้าสู่เนื้อเยื่อปลายยอดของ ข้าวบือโปะโละโดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105 (ดัดแปลงจาก Yookongkaew <i>et al.</i> , 2007)	42
4.4 ผลการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 เข้าสู่เซลล์ส้ข้าวบือโปะโละโดย ใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105	48

บทที่ 5 อภิปรายผลการทดลอง

5.1 ผลของการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 เข้าสู่ชิ้นส่วนใบยาสูบ และพืหนึ่โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105 (ดัดแปลงจาก Horsch <i>et al.</i> , 1985 และ Ingrid, 2006)	57
---	----

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5.2 การส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 เข้าสู่เซลล์สข้าวคิตาอิเกะ (Kitaake) โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105 (ดัดแปลงจาก Hiei <i>et al.</i> , 1994)	58
5.3 ผลการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 เข้าสู่เนื้อเยื่อปลายยอดข้าวบือโปะโละโดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105 (ดัดแปลงจาก Yookongkaew <i>et al.</i> , 2007)	59
5.4 ผลการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 เข้าสู่เซลล์สข้าวบือโปะโละโดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105	62
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง	66
เอกสารอ้างอิง	69
ภาคผนวก	78
ภาคผนวก ก สารเคมี	79
ภาคผนวก ข การเตรียมสารละลายและสูตรอาหาร	82
ประวัติผู้เขียน	94

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 แสดงพันธุ์ข้าวที่พบในพื้นที่ 4 หมู่บ้านของตำบลแจ่มหลวง	10
4.1 แสดงประสิทธิภาพการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 เข้าสู่ชิ้นส่วนใบยาสูบโดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105	35
4.2 แสดงประสิทธิภาพการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 เข้าสู่ชิ้นส่วนใบพื้ญเนียโดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105	37
4.3 แสดงประสิทธิภาพการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 เข้าสู่ แคลลัสข้าวคิตาอิกะโดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105	41
4.4 แสดงความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะกานามัยซินที่มีผลต่อการเจริญของ เนื้อเยื่อปลายยอดข้าวบือโปะโละ	43
4.5 แสดงประสิทธิภาพการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 ในเนื้อเยื่อปลายยอดข้าวบือโปะโละโดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105	46
4.6 แสดงความเข้มข้นของ 2,4 D ต่างๆ ที่มีผลในการชักนำเมล็ดข้าวบือโปะโละ ให้เกิดแคลลัส	49
4.7 แสดงความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะกานามัยซินต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญของ แคลลัสข้าวบือโปะโละ	50
4.8 แสดงการเกิดจุดเขียวและการเจริญเป็นต้นของแคลลัสข้าวบือโปะโละ ที่ชักนำในอาหารสูตร RE1 RE2 และ RE3	52
4.9 แสดงประสิทธิภาพการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 ในแคลลัส ข้าวบือโปะโละโดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105	55

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 แสดงลักษณะต้นของข้าวบือโปะโละ	9
2.2 แสดงลักษณะเมล็ดข้าวบือโปะโละ	9
2.3 แสดงอะโกรแบคทีเรียที่เตรียมส่งถ่ายบริเวณ T-DNA เข้าสู่เซลล์พืชและทำให้พืชเกิดเป็นปุ่มปม	13
2.4 แสดงกลไกของเชื้ออะโกรแบคทีเรียในการส่งถ่าย T-DNA เข้าสู่เซลล์พืช	14
3.1 แสดงโครงสร้างพลาสมิด pBI121 และลำดับเบสตำแหน่ง 5'UTR หน้ายีน <i>gus</i> ในพลาสมิด pBI121 และ pSTART	21
4.1 แสดงผลของการส่งถ่าย LBA4404 (pSTART) เข้าสู่ชิ้นส่วนใบยาสูบ	35
4.2 แสดงผลของการแสดงออกของยีน <i>gus</i> โดยวิธี GUS histochemical ในเนื้อเยื่อต่างๆของ ยาสูบหลังจากผ่านการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรีย สายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105	36
4.3 แสดงผลของการส่งถ่าย LBA4404 (pSTART) เข้าสู่ชิ้นส่วนใบพิทูเนีย	37
4.4 แสดงผลของการแสดงออกของยีน <i>gus</i> ในเนื้อเยื่อพิทูเนียที่ผ่านการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105	38
4.5 แสดงแคลลัสข้าวคิตาอิกะที่ผ่านการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105 ในอาหารคัดเลือกเป็นเวลา 2 สัปดาห์	39
4.6 แสดงผลของการแสดงออกของยีน <i>gus</i> โดยวิธี GUS histochemical ในแคลลัสข้าว คิตาอิกะที่ผ่านการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรีย สายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105	40
4.7 แสดงเนื้อเยื่อปลายยอดข้าวบือโปะโละที่เพาะเลี้ยงบนอาหารคัดเลือกที่เติมกานามัยซิน ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์	43
4.8 แสดงลักษณะเนื้อเยื่อปลายยอดข้าวบือโปะโละที่ผ่านการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105 ในอาหารคัดเลือก 4 สัปดาห์	45

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ	หน้า
4.9 แสดงผลการตรวจสอบการแสดงออกของยีน <i>gus</i> ในเนื้อเยื่อปลายยอดข้าวบือโปะโละ ที่ผ่านการส่งถ่าย LBA4404 (pSTART) และ EHA105 (pSTART)	46
4.10 แสดงการตรวจสอบยีน <i>gus</i> ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ในต้นข้าวบือโปะโละ ที่ผ่านการส่งถ่าย LBA4404 (pSTART) และ LBA4404 (pBI121)	47
4.11 แสดงการเกิดแคลลัสของข้าวบือโปะโละในอาหารที่เติม 2,4 D ความเข้มข้นต่างๆ	49
4.12 แสดงลักษณะของแคลลัสที่เลี้ยงในอาหารที่เติมกานามัยซินความเข้มข้นต่างๆ	51
4.13 แสดงลักษณะของแคลลัสข้าวบือโปะโละที่เพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เจริญเป็น ต้นใหม่สูตรต่างๆ	52
4.14 แสดงแคลลัสข้าวบือโปะโละที่ผ่านการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้อะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105 ในอาหารคัดเลือกเป็นเวลา 2 สัปดาห์	53
4.15 แสดงผลของการแสดงออกของยีน <i>gus</i> โดยวิธี GUS histochemical ในแคลลัสข้าว บือโปะโละที่ผ่านการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้อะโกรแบคทีเรีย สายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105	54
4.16 แสดงการตรวจสอบยีน <i>gus</i> ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ในแคลลัสข้าวบือโปะโละที่ผ่านการ ส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้อะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105	55
4.17 แสดงประสิทธิภาพการส่งถ่ายพลาสมิด pSTART และ pBI121 โดยใช้เชื้ออะโกร แบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 และ EHA105 เข้าสู่ยาสูบ พืชเนย ข้าวคิตาอิกะ และข้าวบือโปะโละ	56

อักษรย่อและสัญลักษณ์

μ	=	micro
μg	=	microgram
μl	=	microliter
bp	=	base pair
PCR	=	polymerase chain reaction
pH	=	logarithm of reciprocal of hydrogen (H) ion concentration
dNTP	=	deoxynucleotide triphosphate
DNA	=	deoxyribonucleic acid
KeV	=	kilo electron volt
mg	=	milligram
ml	=	millileter
T-DNA	=	transfer DNA
cm	=	centrimeter
Ω	=	ohm
μF	=	microfarad
RNase A	=	ribonuclease A
OD	=	optical density