สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การย้ายยีนในข้าวโดยใช้อโกรแบคทีเรียมและเครื่องยิงยีน

นายปราการ กระถินทอง รหัส 40053039

นางสาวสุกัญญา สำลีทอง รหัส 40053068

นางสาวสุนิสา วนาวงรัศมี รหัส 40053071

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

ประจำปีการศึกษา 2543

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 39891
วัน, เดือน, ปี 11 ก.ค. 2544

.b.....
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gene transformation of rice (*Oryza sativa* L.) by *Agrobacterium* sp. and Particle gun bombardment

Prakarn	**Krathinthong**	**40053039**
Sukanya	**Samleethong**	**40053068**
Sunisa	**Wanawongrusamee**	**40053071**

A special Project Submitted in Partial Fulfillment of the

Requirement for the Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang 2000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การย้ายยีนในข้าวโดยใช้อโกรแบคทีเรียมและเครื่องยิงยีน

Gene transformation of rice (*Oryza sativa* L.) by *Agrobacterium* sp. and Particle gun bombardment

โดย	นายปราการ	กระถินทอง	รหัสประจำตัว 40053039
	นางสาวสุกัญญา	สำลีทอง	รหัสประจำตัว 40053068
	นางสาวสุนิสา	วนาวงรัศมี	รหัสประจำตัว 40053071
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม		

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....

(ผศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง) หัวหน้าภาค

คณะกรรมการโครงงานพิเศษ

.....

(ผศ.เนาวรัตน์ ปานแย้ม) ประธานกรรมการ

.....

(ดร. อุ่นเรือน เพชราวัลย์) กรรมการ

.....

(ผศ. อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม) กรรมการ

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การย้ายยีนในข้าวโดยใช้อโกรแบคทีเรียมและเครื่องยิงยีน			
นักศึกษา	นายปราการ	กระถินทอง	รหัส	40053039
	นางสาวสุกัญญา	สำลีทอง	รหัส	40053068
	นางสาวสุนิสา	วนาวงรัศมี	รหัส	40053071
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. อนุรักษ์	โพธิ์เอี่ยม		
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์			
ปีการศึกษา	2543			

บทคัดย่อ

ผลการชักนำเอ็มบริโอแก่ของข้าวสายพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 สุพรรณบุรี 1 และปทุมธานี 1 ให้กลายเป็นแคลลัส โดยใช้ฮอร์โมน NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน พบว่าอาหารแข็งสูตร NB ที่มีฮอร์โมน NAA ระดับความเข้มข้น 0.75 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำเอ็มบริโอแก่ของข้าวสายพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ปทุมธานี 1 และสุพรรณบุรี 1 ให้กลายเป็นแคลลัสได้ดีที่สุด ตามลำดับ

การย้ายยีนในแคลลัสของข้าวโดยใช้อโกรแบคทีเรียม 3 สายพันธุ์ ได้แก่ AGL-1 EHA105 และ LBA4404 โดยใช้เชื้อความเข้มข้น OD ที่ 0.1 และ 0.01 และใช้สารชักนำการย้ายยีน คือ อะซีโตไซลิงโกนความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ จากผลการทดสอบกัส พบว่าผลของการย้ายยีนจะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ของข้าว สายพันธุ์ของอโกรแบคทีเรียม ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน และอายุของแคลลัส ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการย้ายยีนของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 คือ อโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD ที่ 0.1 ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์ และอายุแคลลัส 9 วัน ข้าวสุพรรณบุรี 1 คือ อโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD ที่ 0.01 ความเข้มข้น อะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์ และอายุแคลลัส 7 วัน และข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 คือ อโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD ที่ 0.1 ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์ และอายุแคลลัส 7 วัน

สำหรับการย้ายยีนโดยการใช้เครื่องยิงยีนเป็นการศึกษาเบื้องต้น ซึ่งประสบปัญหาทางเทคนิคหลายขั้นตอน จึงยังต้องมีการพัฒนาและปรับปรุงประสิทธิภาพต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special project title : Gene transformation of rice (*Oryza sativa* L.) by *Agrobacterium* sp. and Particle gun bombardment

Name : Mr. Prakarn Prakarn Krathinthong 40053039

: Miss Sukanya Samleethong 40053068

: Miss Sunisa Wanawongrusamee 40053071

Special project advisor : Assistant Prof. Anurug Poeaim

Academic : 2000

Abstract

The results of induction mature seeds into callus on NB medium containing hormone NAA at different concentration level found that 0.75, 0.5 and 1.0 mg/L NAA suitable for Chao Hom Khong Luang 1, Supanburi 1 and Pathumthani 1, respectively.

Gene transfer into callus 5, 7 and 9 days by Agrobacterium three strains, AGL-1, EHA105 and LBA4404 which OD concentrated 0.1 and 0.01 and using 50 and 100 μM acetosyringone. From the gus assay showed the results of gene transfer was different in which kind of rice, strains of Agrobacterium, concentration of Agrobacterium and acetosyringone and ages of callus. The highest efficiency in gene transfer of Chao Hom Khong Luang 1, Supanburi 1 and Pathumthani 1 were callus 9 days, OD 0.1 AGL-1 and 100 μM acetosyringone, callus 7 days, OD 0.01 EHA105 and 100 μM acetosyringone, callus 7 days, OD 0.1 EHA105 and 50 μM acetosyringone, respectively.

For gene transformation by using particle gun bombardment was the primary study which encountered the technical problem, so that we must be continued developing and improving efficiency.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งทำสำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่าน

ขอขอบพระคุณอาจารย์อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่กรุณาให้คำปรึกษาระหว่างการค้นคว้าวิจัย ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง รวมถึงการตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษให้ถูกต้อง และสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณอาจารย์เนาวรัตน์ ปานแย้ม และอาจารย์อุ่นเรือน เพชรวัลย์ที่เป็นคณะกรรมการในโครงงานพิเศษ และช่วยในการตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่านที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ และสารเคมีต่าง ๆ สำหรับใช้ในการทดลอง

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ด้วยความเคารพยิ่ง ขอขอบคุณเพื่อน ๆ และทุกท่านที่มิได้กล่าวนามมา ณ ที่นี้ด้วย ที่ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจในการศึกษามาตลอด รวมถึงมีส่วนช่วยให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ด้วยดี

นายปราการ กระถินทอง
นางสาวสุกัญญา สำลีทอง
นางสาวสุนิสา วนาวงรัศมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อพิเศษภาคภาษาไทย	ก
บทคัดย่อพิเศษภาคภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฑ
บทที่ 1 บทนำ	1
- ที่มาของปัญหา	3
- วัตถุประสงค์	3
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	4
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	23
บทที่ 4 ผลการทดลอง	27
1. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดเป็นแคลลัสในข้าว 3 สายพันธุ์	27
2. ศึกษาประสิทธิภาพของการย้ายยีนโดยใช้เชื้อ Agrobacterium tumefaciens	51
3. ศึกษาประสิทธิภาพของการย้ายยีนโดยใช้เครื่องยิงยีน (Particle gun bombardment)	121
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	122
1. การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำเอ็มบริโอแก่ของข้าวให้กลายเป็นแคลลัส	122
2. การหาปัจจัยที่เหมาะสมของเชื้ออโกรแบคทีเรียมสำหรับการย้ายยีน	122
3. การตรวจสอบการแสดงออกของยีน หลังจากการย้ายยีนเข้าสู่เซลล์ข้าว	123
เอกสารอ้างอิง	124
ภาคผนวก	126

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

1 ตัวอย่างของการย้ายยีนในพืชโดยใช้เครื่องยิงยีน 14

2 การพัฒนาการถ่ายยีนในข้าว 15

3 เปรียบเทียบข้อดี และข้อเสียของการใช้เครื่องยิงยีน 16

4 ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA ในสูตรอาหาร NB 7 สูตร 27

5 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_1 28

6 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_2 29

7 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_3 30

8 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_4 31

9 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_5 32

10 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_6 33

11 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_7 34

12 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_1 35

13 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_2 36

14 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_3 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

15 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_4 38

16 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_5 39

17 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_6 40

18 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_7 41

19 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_1 42

20 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_2 43

21 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_3 44

22 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_4 45

23 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_5 46

24 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_6 47

25 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_7 48

26 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

27 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 54
ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์
ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1
28 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 55
ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์
ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1
29 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 56
ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์
ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1
30 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 57
ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์
ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1
31 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 58
ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์
ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1
32 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 60
ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์
ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1
33 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 61
ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์
ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1
34 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 62
ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์
ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

35 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 63
ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์
ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1
36 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 64
ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์
ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1
37 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 65
ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์
ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1
38 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 67
ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์
ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1
39 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 68
ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์
ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1
40 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 69
ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์
ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1
41 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 70
ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์
ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1
42 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 71
ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์
ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

43 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 72

44 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 74

45 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 75

46 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 76

47 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 77

48 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 78

49 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 79

50 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

51 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 82

52 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 83

53 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 84

54 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 85

55 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 86

56 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 88

57 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 89

58 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

59 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 91

60 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 92

61 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 93

62 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 95

63 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 96

64 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 97

65 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 98

66 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 99

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

67 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 100

68 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 102

69 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 103

70 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 104

71 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 105

72 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 106

73 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 107

74 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 109

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

75 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 110

76 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 111

77 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 112

78 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 113

79 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 114

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

1 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_1 28
2 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_2 29
3 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_3 30
4 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_4 31
5 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_5 32
6 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_6 33
7 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_7 34
8 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_1 35
9 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_2 36
10 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_3 37
11 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_4 38
12 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_5 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

13 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_6 40

14 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_7 41

15 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_1 42

16 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_2 43

17 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_3 44

18 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_4 45

19 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_5 46

20 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_6 47

21 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_7 48

22 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารแต่ละสูตรของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 49

23 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารแต่ละสูตรของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 49

24 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารแต่ละสูตรของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

25 แสดงประสิทธิภาพในการย้ายยีน ก. ระดับที่ 0 ข. ระดับที่ 1 51

26 แสดงประสิทธิภาพในการย้ายยีน ก. ระดับที่ 2 ข. ระดับที่ 3 52

27 แสดงประสิทธิภาพในการย้ายยีน ก. ระดับที่ 4 ข. ระดับที่ 5 52

28 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1 55

29 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1 57

30 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1 59

31 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105 62

32 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105 64

33 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105 66

34 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404 69

35 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404 71

36 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404 73

37 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1 76

38 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1 78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
39	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1	80
40	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105	83
41	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105	85
42	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105	87
43	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404	90
44	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404	92
45	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404	94
46	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1	97
47	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1	99
48	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1	101
49	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105	104
50	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105	106

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

51 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105 108

52 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404 111

53 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404 113

54 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404 115

55 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1 116

56 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105 116

57 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404 117

58 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1 117

59 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105 118

60 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404 118

61 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1 119

62 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105 119

63 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404 120

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

64 แสดงขั้นตอนการย้ายยีนโดยใช้เครื่องยิงยีน 121

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ข้าว คือ ธัญญาหารที่มีความสำคัญต่อมนุษย์และสัตว์มาก ประชากรกว่าครึ่งโลกบริโภคข้าวเป็นอาหารหลักโดยเฉพาะชนชาวเอเชีย วิถีชีวิตคนไทยตั้งแต่ครั้งอดีตผูกพันกับข้าว ซึ่งเป็นผลิตผลที่หล่อเลี้ยงประเทศไทยมาแต่ครั้งโบราณจนถึงปัจจุบัน ประชาชนคนไทย (มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์) บริโภคข้าวเป็นอาหารหลักเฉลี่ยบริโภคคนละประมาณ 130 กิโลกรัมต่อปี ดังนั้นคนไทยทุกคนจึงให้ความสำคัญในคุณค่าของข้าวตลอดมา

ข้าวปลูกมากในเอเชียและใช้บริโภคในเอเชียประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ ข้าวที่ปลูกสำหรับบริโภคทั่วโลกมี 2 ชนิด จำนวนมากกว่า 120,000 พันธุ์ คือ ข้าวปลูกเอเชีย (*Oryza sativa* Linn.) และข้าวปลูกแอฟริกา (*O. glaberrima* Steud.) นักวิทยาศาสตร์ได้ทำการศึกษาข้าวชนิดต่าง ๆ พบว่าข้าวพวก *Oryza sativa* ยังแบ่งได้อีก 3 กลุ่มคืออินดิคา จาปอนิคาและจาวานิคา โดยยึดเอาลักษณะภายนอกของต้น เมล็ด และเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบของข้าวลูกผสมระหว่างข้าวทั้ง 3 ชนิดเป็นเกณฑ์ในการแบ่งดังนี้

อินดิคา เป็นข้าวที่มีลักษณะเมล็ดเรียวยาว ต้นสูงและอ่อน มีใบกว้างสีเขียวอ่อน แตกกอมาก ให้ผลผลิตต่ำ มีการตอบสนองต่อปุ๋ยน้อย แต่สามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมต่างๆ ได้ง่าย ปลูกมากในประเทศเขตร้อนเช่น อินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ มาเลเซีย และไทย

จาปอนิคา ลักษณะเมล็ดป้อมสั้น ต้นเตี้ยและแข็ง ใบแคบสีเขียวแก่ การแตกกอปานกลาง ให้ผลผลิตสูง มีการตอบสนองต่อปุ๋ยดีมาก ปลูกในพื้นที่อบอุ่นเช่น จีน เกาหลี ญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกา

จาวานิคา เมล็ดกว้างหนา ใบกว้างและแข็งสีเขียวแก่ แตกกอน้อย พบในประเทศอินโดนีเซียเท่านั้น และเป็นข้าวที่ไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ

ข้าวในกลุ่มอินดิคา มีปัญหาที่สำคัญของการปลูกข้าวคือให้ผลผลิตต่ำ ซึ่งเกิดจากโรคและแมลงเข้าทำลาย โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากไวรัส จึงได้มีความพยายามที่จะปรับปรุงพันธุ์ข้าวที่ต้านทานโรคขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรพบุรุษไทยได้ใช้ภูมิปัญญาคัดเลือกพันธุ์ข้าวให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมเพื่อผลผลิตที่ดี และคุณภาพเมล็ดข้าวที่ดี ดังเช่นพันธุ์ข้าวปิ่นแก้ว ซึ่งเคยชนะเลิศในงานประกวดพันธุ์ข้าวโลกเมื่อปี พ.ศ. 2476 การพัฒนาข้าวไดเริ่มจริงจังในสมัยรัชกาลที่ 5 กรุงรัตนโกสินทร์ จากความเจริญรุ่งเรืองของประเทศในสมัยนั้น ทำให้มีการติดต่อค้าขายกับต่างประเทศมากขึ้น พระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัว ได้ทรงพิจารณาเห็นว่า ข้าวกำลังเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญ แต่ข้าวไทยกลับมีราคาต่ำ การค้าข้าวที่มีมาตั้งแต่สมัยอยุธยานั้นเข้าใจว่าไม่ได้มีการคัดแยกข้าวเมล็ดสั้นออกจากข้าวเมล็ดยาว หรือแยกข้าวนาสวนออกจากข้าวนาเมือง ซึ่งจากการที่ไทยส่งข้าวทั้งเมล็ดสั้นและเมล็ดยาวปนกันออกไปขาย ทำให้มีผู้ซื้อแล้วนำไปคัดแยกเอาข้าวเมล็ดยาวขายเป็นข้าวคุณภาพดีของอินเดียที่มีชื่อเสียงในตลาดโลกขณะนั้น (ข้าวปาฐนา หรือ Patna rice) ส่วนข้าวเมล็ดสั้นที่เหลือก็ขายในชื่อข้าวไทย (Siam rice) ซึ่งทำให้ภาพพจน์ข้าวไทยเสียหายอย่างยิ่ง พระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัวจึงทรงโปรดให้มีการประกวดพันธุ์ข้าวขึ้นเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2450 โดยทรงกำหนดวัตถุประสงค์ “เพื่อเป็นการอุดหนุนและบำรุงหาพันธุ์ข้าวที่ดีมาไว้ทำพันธุ์ และเพื่อให้ข้าวประเทศสยามเจริญดี มีค่าเท่าเทียมกับข้าวของประเทศอื่น” ส่งผลให้ชาวนาหันมาสนใจปลูกข้าวพันธุ์ดีกันมากขึ้น ในหลายๆปีที่ผ่านมาได้มีการปรับปรุงพัฒนาพันธุ์ข้าวให้เกิดพันธุ์ข้าวใหม่ๆ สามารถต้านทานโรคพืชต่างๆ ได้ดี และมีคุณภาพมากยิ่งขึ้น ทั้งยังสามารถเพิ่มปริมาณข้าวได้จำนวนมากเพื่อการส่งออกและบริโภคภายในประเทศ ปัจจุบันมีพื้นที่ที่ปลูกข้าวปีละประมาณ 63 ล้านไร่ (นาปีและนาปรัง) ได้ผลผลิตข้าวเปลือกประมาณ 22 ล้านตัน (สงกรานต์, 2544) และยังได้ทำการพัฒนาประสิทธิภาพการทรานฟอร์มผ่านดีเอ็นเอโดยตรงในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว กรรมวิธีนี้ก็ยังประสบปัญหาต่างๆ เช่น วิธีการมีประสิทธิภาพต่ำและไม่เป็นไปตามที่คาดไว้รวมทั้งความยุ่งยากในการย้ายยีน หลายๆปีที่ผ่านมาการย้ายยีนโดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียม เป็นหนึ่งในตัวเลือกที่มีประสิทธิภาพสูง ในปัจจุบันมีรายงานมากมายที่เขียนถึงความสำเร็จโดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมในการย้ายยีนเข้าสู่ธัญพืช (Chan และคณะ 1993, Hiei และคณะ 1994) วิธีที่ใช้ในปัจจุบันที่มีประสิทธิภาพสูงคือการใช้เครื่องยิงยีน (Particle gun bombardment) ซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่สร้างขึ้นเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพ โดยวิธีการนี้สามารถทำการย้ายยีนเข้าสู่เซลล์และเนื้อเยื่อได้ในช่วงกว้างมากกว่าในอดีตที่ผ่านมา โดยอาศัยการส่งสารพันธุกรรมที่เคลือบอยู่บนผิวของผงทังสเตน หรือทองคำ ด้วยแรงดันของก๊าซฮีเลียมเข้าไปยังเซลล์ผู้รับ (Takashi, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแคลลัสของข้าวสายพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 สุพรรณบุรี 1 และปทุมธานี 1
2. ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมของเชื้อ *Agrobacterium* sp. สำหรับการย้ายยีน
3. ศึกษาถึงการย้ายยีนโดยใช้เครื่องยิงยีน
4. ศึกษาการแสดงออกของยีน หลังจากการย้ายยีนเข้าสู่เซลล์

ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

เลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวให้เกิดเป็นแคลลัส และนำมาทำการย้ายยีนโดยใช้เครื่องยิงยีน และ *Agrobacterium tumefaciens* จากนั้นจึงทำการชักนำแคลลัสให้กลายเป็นต้น แล้วตรวจสอบการแสดงออกของโปรโมเตอร์ยีนหลังจากการย้ายยีนเข้าสู่เซลล์พืชโดยการตรวจสอบยีนกัส

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำเอมบริโอแก่ให้กลายเป็นแคลลัส
2. ทำให้ทราบปัจจัยที่เหมาะสมในการใช้ *Agrobacterium tumefaciens* ในการย้ายยีนเข้าสู่เซลล์ข้าว
3. ทำให้ทราบถึงขั้นตอนการใช้เครื่องยิงยีนเข้าสู่เซลล์ข้าว
4. สามารถนำข้อมูลเหล่านี้ไปสานต่องานทางด้านพันธุวิศวกรรมให้ครบวงจร เพื่อเป็นแนวทางในการ ปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพของพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

ข้าวเป็นพืชล้มลุกจัดอยู่ในตระกูลหญ้า (Family : Gramineae หรือ Poaceae) สกุล ออไรซ่า (Genus : *Oryza*) ข้าวเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อนและอบอุ่น มีการแพร่กระจายตั้งแต่เส้นรุ้งที่ 53 องศาเหนือ ถึง 35 องศาใต้ และสามารถขึ้นได้ดีตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนถึงระดับสูงประมาณ 2,500 เมตร เนื่องจากข้าวมีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางจึงพบข้าวชนิดต่างๆ ซึ่งปัจจุบันมีทั้งหมด 23 ชนิด เป็นข้าวปลูกเพื่อบริโภค 2 ชนิด ส่วนที่เหลือเป็นข้าวป่าทั้งหมด

ประเทศไทย-ศูนย์กำเนิดข้าว

ความหลากหลายของข้าวชนิดต่างๆ ที่แพร่กระจายทั่วโลกมีอย่างน้อย 23 ชนิด ในจำนวนนี้มีเพียง 2 ชนิด ที่มนุษย์ใช้ปลูกเพื่อบริโภค คือข้าวเอเชีย และข้าวแอฟริกา ซึ่งมีความหลากหลายทางพันธุกรรมมาก และมีจำนวนประมาณอย่างน้อย 120,000 พันธุ์ที่มีชื่อและลักษณะต่างกัน

ประเทศไทยอยู่ในเขตความผันแปรของข้าวป่าและข้าวปลูก มีข้าวป่าแพร่กระจายทั่วประเทศ 5 ชนิด ในจำนวนนี้มีชนิดที่เป็นบรรพบุรุษของข้าวปลูกเอเชียคือ ข้าวป่าข้ามปี (*O. rufipogon* Griff.) และข้าวป่าปีเดียว (*O. nivara* Shama et Shastry) ประเทศไทยนอกจากจะมีความหลากหลายในชนิดของข้าวแล้วยังมีความหลากหลายในพันธุ์ข้าวปลูกอีกด้วย ประมาณอย่างน้อย 3,500 ชื่อที่มีลักษณะต่างกัน ปัจจุบันสถาบันวิจัยข้าวได้รวบรวมพันธุ์ข้าวปลูกและข้าวป่าของไทยไว้มากกว่า 19,000 ตัวอย่าง พบว่าอย่างน้อย 5,500 ตัวอย่างมีชื่อข้าวปลูกต่างกัน ลักษณะที่เห็นได้ชัดคือ ลักษณะข้าวเจ้า ข้าวเหนียว ข้าวอายุเบา กลาง และอายุหนัก เป็นต้น ซึ่งภายในแต่ละลักษณะก็ยังมีความหลากหลายอีก เช่นมีปริมาณอะไมเลสต่างกัน เป็นสาเหตุให้หุงสุกและนุ่ม แข็งหรือเหนียว จากความหลากหลายทางพันธุกรรมที่พบในข้าวป่าที่เป็นบรรพบุรุษของข้าวปลูกตลอดจนความหลากหลายของพันธุกรรมข้าวปลูกที่พบจำนวนมากในประเทศไทยนี้ จึงเป็นที่ยอมรับว่า ประเทศไทยเป็นศูนย์กำเนิดและแพร่กระจายของข้าวเอเชีย

พันธุ์ข้าวของเกษตรกร

ข้าวให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมเพื่อผลผลิตที่ดี และคุณภาพเมล็ดข้าวที่ดี ดังเช่นพันธุ์ข้าวปิ่นแก้ว ซึ่งเคยชนะเลิศในงานประกวดพันธุ์ข้าวโลกเมื่อปี พ.ศ. 2476 การพัฒนาข้าวไดเริ่มจริงจังในสมัยรัชกาลที่ 5 กรุงรัตนโกสินทร์ จากความเจริญรุ่งเรืองของประเทศในสมัยนั้น ทำให้มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การติดต่อค้าขายกับต่างประเทศมากขึ้น พระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัว ได้ทรงพิจารณาเห็นว่า ข้าวกำลังเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญ แต่ข้าวไทยกลับมีราคาต่ำ การค้าข้าวที่มีมาตั้งแต่สมัยอยุธยานั้นเข้าใจว่าไม่ได้มีการคัดแยกข้าวเมล็ดสั้นออกจากข้าวเมล็ดยาว หรือแยกข้าวนาสวนออกจากข้าวนาเมือง ซึ่งจากการที่ไทยส่งข้าวทั้งเมล็ดสั้นและเมล็ดยาวปนกันออกไปขาย ทำให้มีผู้ซื้อแล้วนำไปคัดแยกเอาข้าวเมล็ดยาวขายเป็นข้าวคุณภาพดีของอินเดียที่มีชื่อเสียงในตลาดโลกขณะนั้น (ข้าวปาฐนา หรือ Patna rice) ส่วนข้าวเมล็ดสั้นที่เหลือก็ขายในชื่อข้าวไทย (Siam rice) ซึ่งทำให้ภาพพจน์ข้าวไทยเสียหายอย่างยิ่ง พระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัวจึงทรงโปรดให้มีการประกวดพันธุ์ข้าวขึ้นเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2450 โดยทรงกำหนดวัตถุประสงค์ “เพื่อเป็นการอุดหนุนและบำรุงหาพันธุ์ข้าวที่ดีมาไว้ทำพันธุ์ และเพื่อให้ข้าวประเทศสยามเจริญดี มีค่าเท่าเทียมกับข้าวของประเทศอื่น” ส่งผลให้ชาวนาหันมาสนใจปลูกข้าวพันธุ์ดีกันมากขึ้น ในหลายๆปีที่ผ่านมาได้มีการปรับปรุงพัฒนาพันธุ์ข้าวให้เกิดพันธุ์ข้าวใหม่ๆ สามารถต้านทานโรคพืชต่างๆ ได้ดีและมีคุณภาพมากยิ่งขึ้น ทั้งยังสามารถเพิ่มปริมาณข้าวได้จำนวนมากเพื่อการส่งออกและบริโภคภายในประเทศ ปัจจุบันมีพื้นที่ที่ปลูกข้าวปีละประมาณ 63 ล้านไร่ (นาปีและนาปรัง) ได้ผลผลิตข้าวเปลือกประมาณ 22 ล้านตัน

จากการที่ทางราชการได้จัดให้มีการประกวดพันธุ์ข้าวขึ้นภายในประเทศ และได้จัดส่งพันธุ์ข้าวทั้งของนาทดลองและของเกษตรกรจากภาคต่างๆ ไปประกวดในระดับโลกและได้รับรางวัลกลับมาถึง 11 รางวัลนั้น ทำให้เกษตรกรให้ความสนใจในการที่จะบำรุงรักษาและคัดเลือกพันธุ์ข้าวในนาของตนให้ดี บริสุทธิ์ สม่ำเสมอ ทำให้ได้พันธุ์ข้าวที่ปลูกแล้วได้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพเมล็ดดี มีชื่อเสียงจึงทำให้มีการตั้งชื่อพันธุ์ข้าวตามชื่อผู้บำรุงพันธุ์ที่เรียกกัน อาจจะเรียกตามลักษณะของสีเปลือกตามด้วยชื่ออื่นๆเช่น เหลืองอ่อน ขาวภูดาษ ขาวทดลอง ตามลักษณะคุณภาพและการให้ผลผลิต เช่น ดอกมะลิ ขาวพวง เกวียนหัก ล้นยุ้ง เรียกชื่อคล้ายผลไม้หรือดอกไม้ที่นิยม เช่น น้ำดอกไม้ จำปาซ้อน ขาวดอกมะลิ เรียกชื่อตามแหล่งที่มา หรือชื่อต่างๆที่เป็นมงคล พันธุ์ข้าวที่น่าจะเป็นพันธุ์ที่บำรุงและคัดเลือกพันธุ์ โดยเกษตรกรที่ยังรู้จักคุ้นเคยกันในขณะนี้ ได้แก่ ขาวตาแห้ง ส่วนพันธุ์ข้าวที่ปรับปรุงพันธุ์ที่นาทดลอง และมีพันธุ์ข้าวที่เกษตรกรเรียกกัน เช่น ขาวยิ่งศักดิ์ หรือพันธุ์ข้าวที่บำรุงพันธุ์โดยเกษตรกรรายอื่นๆ เช่น ขาวตาอู๋ หอมตาเกิด เหลืองตาแพ ขาวตาแพง เหลืองแม่รำพึง ขาวตาก้อง ขาวแม่วงษ์ เหลืองยายหนู ขาวตาเฮง ขาวนางขวด และเหลืองตาสังข์ ปัจจุบันไม่พบมีการปลูกอยู่เลย การประกวดพันธุ์ข้าวเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการรวบรวมพันธุ์ข้าวจากเกษตรกรในท้องถิ่นต่างๆ เป็นการคัดเลือกพันธุ์เพื่อค้นหาสายพันธุ์ที่ดีเด่นตามหลักวิชาการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การปรับปรุงพันธุ์ข้าว : พัฒนาการอย่างต่อเนื่อง

จากปัญหาการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในปี พ.ศ. 2533-34 และหวนกลับมาระบาดอีกครั้งในปี พ.ศ. 2540-41 ทำให้การปรับปรุงพันธุ์ข้าวในระยะหลังโดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวนาชลประทาน ได้เน้นพันธุ์ที่ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นวัตถุประสงค์สำคัญ ซึ่งมีผลงานต่อเนื่องจากการรับรองพันธุ์ข้าวเจ้าสุพรรณบุรี 90 คือ พันธุ์ข้าวชัยนาท 1 แพร่ 1 สุพรรณบุรี 1 และสุพรรณบุรี 2 และจากอัตราการขยายตัวของปริมาณการส่งออกข้าวหอมไปต่างประเทศ ทำให้รัฐบาลกำหนดนโยบายการส่งออกข้าวคุณภาพดีมากขึ้น โดยเน้นการผลิตข้าวขาวดอกมะลิ 105 และกข 15 สถาบันวิจัยข้าวจึงได้เสนอให้มีการการรับรองพันธุ์ข้าวหอมที่ไม่ไวต่อช่วงแสงสำหรับปลูกในพื้นที่ที่มีการชลประทานจำนวน 2 พันธุ์ จากโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวคุณภาพดีเพื่อการส่งออก คือ พันธุ์ข้าวเจ้าหอมคลองหลวง 1 และข้าวเจ้าหอมสุพรรณบุรี

ฉะนั้นการปรับปรุงพันธุ์ข้าวจึงมีเป้าหมายสูงสุดที่จะสร้างพันธุ์ข้าวที่รวมลักษณะต่างๆ ไว้อย่างสมบูรณ์ที่สุด และสามารถแก้ปัญหาต่างๆ ได้อย่างกว้างขวาง การปรับปรุงพันธุ์จึงเป็นงานที่ต้องดำเนินการอย่างต่อเนื่อง

เทคโนโลยีชีวภาพกับการปรับปรุงพันธุ์ข้าว

ปัจจุบันเทคโนโลยีชีวภาพได้เข้ามามีบทบาทในการพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมของประเทศในทุกด้าน โดยเฉพาะด้านการเกษตร เนื่องจากข้าวเป็นธัญพืชที่มีความสำคัญที่สุดสำหรับประชากรโลก ดังนั้นจึงได้นำความรู้ด้านเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตข้าวโดยเฉพาะการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ

เทคโนโลยีชีวภาพของพืชมีความก้าวหน้า ช้ากว่า จุลินทรีย์ โดยเฉพาะแบคทีเรียและยีสต์ ทั้งนี้สาเหตุมาจากพืชมีพื้นฐานสรีรวิทยาและพันธุกรรมที่ซับซ้อนกว่าจุลินทรีย์มาก การนำเทคโนโลยีของยีน หรือพันธุวิศวกรรมมาแทนที่การผสมพันธุ์แบบเดิม (conventional breeding) นั้นเป็นการเพิ่มผลผลิตได้มาก เช่นการใช้การปรับปรุงประสิทธิภาพของปุ๋ยและการสังเคราะห์แสง ทนหรือต้านทานต่อโรคพืชและยาปราบวัชพืช ทนต่อดินเค็ม เป็นต้น อีก 10 ปีข้างหน้า (พ.ศ. 2551) เทคโนโลยีชีวภาพจะแสดงให้เห็นศักยภาพที่โดดเด่นไปทั่วโลก ข้อมูลสนับสนุนคำพูดดังกล่าวก็คือ การใช้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (plant tissue culture) ที่ทำกันมาเป็นเวลานานทั้งในประเทศและนานาชาติ ในประเทศไทยเรารู้จักศาสระพี สาคริก ซึ่งเป็นผู้บุกเบิกเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้มากว่า 30 ปี (ตั้งแต่ พ.ศ. 2505) ในต่างประเทศเรื่องของพันธุวิศวกรรมของพืชมีมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1983 (Fraley และคณะ, 1983) นักวิจัยใช้เทคนิคดังกล่าวผลิตสารทรงคุณค่า ชิโคนิน (shikonin) ซึ่งปกติราคากิโลกรัมละ 200,000 บาท (5,000 เหรียญสหรัฐ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้สำเร็จ ล่าสุดได้มีการทำพันธุวิศวกรรมในมะเขือ และได้รับการอนุญาตให้ใช้ได้ในอเมริกาเมื่อปี พ.ศ. 2539 เราเรียกพืชเหล่านั้นว่า พืชทรานส์จีนิค (transgenic plant)

เทคนิคพันธุวิศวกรรมสำหรับเทคโนโลยีชีวภาพ

1. การใช้ cloning vector มี 2 ชนิดคือ ไวรัส และ Ti (tumor-inducing) plasmid จากแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคพืชเรียกว่า *Agrobacterium tumefaciens* โดยทำให้เกิดโรคหงอนไก่ (crown gall disease) เป็นตัวพาสารพันธุกรรมเข้าสู่เซลล์โดยมีเอนไซม์โอพีนและออกโตพีนเข้ามาเกี่ยวข้อง

2. Particle bombardment technique ใช้ถ่ายทอดพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่บางชนิด พืชที่ใช้วิธีดังกล่าวได้แก่ ข้าวโพด ข้าว ข้าวบาร์เล่ย์ ถั่วเหลือง และฝ้าย (Vasil และคณะ, 1992 และ Hiei และคณะ, 1994) เทคนิคดังกล่าวใช้วิธีการเคลือบบนอนุภาคขนาดเล็กมากๆภายในสภาพสูญญากาศและยิงด้วยความเร็วสูงเข้าสู่เซลล์พืชยีนสัญลักษณ์ที่ใช้ได้คือ คลอแรมฟีคอลอซีติลทรานสเฟอเรส (chlorampheicol acetyltransferase) นีโอไมซินฟอสโพทรานสเฟอเรส (neomycin phosphotransforase) เบตา-กลูคูโรนิเดส (β-glucuronidase) และลูซิเฟอเรส (luciferase)

3. การคัดเลือกโคลน โดยมากจะมียีนสัญลักษณ์สำหรับช่วยในการคัดเลือก ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มดังนี้

3.1 การคัดเลือกแบบบวก (Positive selection) โดยเซลล์สามารถเจริญได้ทั้งในสารพิษ และสามารถใช้สารที่ปกติไม่มีในอาหารเลี้ยงเซลล์พืช ในกรณีสารพิษ ประกอบด้วยยาปฏิชีวนะ เอนไซม์ย่อยสลายยาปราบวัชพืช ได้แก่ นีโอไมซินฟอสโฟทรานเฟอเรส (neomycin phosphotransferase (NTPII) หรือร่วมกับกานาไมซิน (kanamycin) พาโรโมไมซิน (paromomycin) หรือยาปฏิชีวนะอื่น ๆในกรณีที่สองยีนที่ควบคุมเอนไซม์ที่ทนต่อไกลโฟเสท (glyphosate) ที่เรียกว่า 5-อีโนอิลไพรูวิล ชิคิเมททรีฟอสเฟต ซินเทส (5-enoylpyruvylshikimate 3-phosphate synthase) หรือฟอสโฟแมนโนไอโซเมอเรส (phosphomannoisomerase,PMI) หรือฟอสโฟไซโลไอโซเมอเรส (phosphoxyloisomerase,PXI) ซึ่งสามารถเจริญได้บนแมนโนสหรือไซโลส ซึ่งเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเซลล์

3.2 การคัดเลือกแบบลบ (Negative selection) ผลผลิตที่ได้ไปกระตุ้นโปรทอกซิน (protoxin) ให้เป็นสารพิษและทำให้เกิดปฏิกิริยารุนแรง เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5 Flurocytosine	cytosine deaminase →	5 Flurouracil
Chlorafe	nitrate reductase →	Chlorite
Phosphonomonoesters	phosphonomonoesters hydrolase →	Phosphonales
Indoleacetamide	indoleacetamidehydrolase →	Indole aceticacid (สารพิษ)

4. การแสดงออกเพื่อให้ได้ดีเอ็นเอที่ต้องการ สามารถใช้ promoter sequence translation leaders introns และ polyadenylation singnals ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและคู่ นิยมใช้ cauliflower mosaic virus (CaMV) (ไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคใบด่างของดอกกระหล่ำ) โดยใช้ CaMV 35S promoter ซึ่งจัดเป็น constitutive promoter ถูกนำมาใช้เป็นโปรโมเตอร์ควบคุมการแสดงออกของการย้ายยีนเข้าสู่พืชใบเลี้ยงคู่หลายๆชนิด นอกจากนี้ยังมี CaMV 19S,35S ของ Figwott Mosaic Carnation Etch และ Peanut Mottle viruses การแสดงออกทางฟิสิกส์และเคมีก็สามารถนำมาใช้ได้ เช่นในทางฟิสิกส์ ใช้แสงและอุณหภูมิเป็นตัวกระตุ้น ทางเคมีใช้สารประเภท safeners คอยป้องกันพืชไม่ให้ได้รับอันตรายจากสารฆ่าแมลงทั้งประเภทยาฆ่าวัชพืช (herbicide) หรือ ยาฆ่ารา (fungicide) ซึ่งสารประเภท safeners ที่ใช้กระตุ้น promoters ได้จากยีนที่ควบคุมเอนไซม์ที่ลดความเป็นพิษ เช่น glutathione-S-transferase (GSTs) หรือ cytochrome P-450 อย่างไรก็ตามยังต้องค้นคว้าและวิจัยหาตัวกระตุ้นที่น่าเชื่อถือได้รวดเร็วให้ได้ในอนาคต นอกจาก promoter แล้ว ยังมีรายงานหลายฉบับได้กล่าวถึงยีน translation leaders introns โดยเฉพาะในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว introns ของ ubiquitin เอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส และ hsp 70 ส่วน polyadenylation signal ของเอนไซม์ nopaline synthase (NOS) จากอโกรแบคทีเรียมก็นิยมใช้ จากการรวบรวมข้อมูลดังกล่าวข้างต้น จะเห็นได้ว่ายีนสำหรับการควบคุมการถอดรหัสควรจะมีการศึกษาและปรับปรุงให้ดีขึ้นในอนาคต เนื่องจากปัจจัยการถอดรหัสล้วนต้องใช้ความรู้ด้านชีวเคมีร่วมด้วยเพื่อให้ได้ promoters ที่เหมาะสมต่อไป ซึ่งจัดเป็นงานที่นักเทคโนโลยีชีวภาพพืชควรกระทำเป็นอย่างยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การควบคุมวัชพืช

การปลูกพืชโดยทั่วๆไปในโลกมนุษย์ ล้วนพบปัญหาการเกิดวัชพืชในพืชที่เราต้องการปลูกเช่นเดียวกัน การปราบวัชพืชกระทำได้ 2 วิธี คือการใช้เครื่องมือและการใช้สารเคมี การใช้สารเคมีได้รับความนิยมมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบด้านประสิทธิภาพและราคา แต่สารเคมีที่ใช้ปราบวัชพืชไม่สามารถแยกวัชพืชออกจากพืชที่เราปลูกจึงทำลายหมดทุกอย่างด้วยเหตุนี้นักเทคโนโลยีชีวภาพจึงได้ค้นคว้าและวิจัยยาปราบยาวัชพืช โดยอาศัยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมผลิตสารปราบวัชพืชได้สำเร็จ 2 ชนิด คือไกลโฟเสท และ กลูโฟซิเนท (glufosinate) มีชื่อทางการว่า ราวอัพ (Roundup) และบาสต้า (Basta) ตามลำดับนอกจากนี้ยังมีสารปราบวัชพืชอื่นๆ ที่สามารถทนต่อ bromoxynil sulffonylureas และ imidazolinones

การควบคุมแมลง

นอกจากวัชพืชจะเป็นปัจจัยสำคัญต่อการปลูกพืชแล้วยังมีแมลงเป็นปัจจัยที่สำคัญรองลงมา การใช้ยาฆ่าแมลง แม้ว่าจะได้ผลแต่ก่อให้เกิดผลเสียตามมาทั้งต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม และยาฆ่าแมลงทั่วๆ ไป ไม่สามารถให้ผลต่อแมลงชนิดใดชนิดหนึ่งที่เราต้องการกำจัดได้และอาจทำให้คุณภาพของพืชที่เราปลูกลดลงด้วย เนื่องจากยาฆ่าแมลงมีผลกระทบต่อจุลินทรีย์ อันได้แก่ แบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส จุลินทรีย์บางชนิดสามารถผลิตสารพิษ เช่น อัลฟลาท็อกซิน (aflatoxin) และฟูมิโนซิน (fuminosin) ซึ่งมีอันตรายต่อ มนุษย์และสัตว์

พืชที่สามารถต้านทานต่อแมลงได้ในรุ่นแรกใช้ยีน บีที จากแบคทีเรียที่มีชื่อว่า *Bacillus thurengiensis*

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยใช้เทคโนโลยีการย้ายยีน

วิธีการย้ายยีนที่ถูกใช้กันอย่างแพร่หลาย มีประสิทธิภาพสูงและประสบผลสำเร็จในพืชหลายชนิด คือการย้ายยีนโดยใช้อโกรแบคทีเรียม จากการอาศัยความสามารถในการส่งถ่ายชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเวื้อเข้าสู่เซลล์พืช เข้าเชื่อมต่อกับส่วนของจีโนม สามารถเกิดการแสดงออกได้ ต่อมามีการพัฒนากลไกการส่งย้ายยีนของเชื้ออโกรแบคทีเรียมมาใช้ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ เพื่อการส่งย้ายยีนควบคุมลักษณะที่ต้องการเข้าสู่พืช ในข้าววิธีการย้ายยีนโดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียม ได้ถูกนำมาใช้ แต่พบอุปสรรคที่สำคัญคือ ความต้านทานของข้าวต่อเชื้ออโกรแบคทีเรียม เนื่องจากข้าวไม่ได้เป็นพืชอาศัยของเชื้ออโกรแบคทีเรียมตามธรรมชาติ ทำให้การย้ายยีนมีประสิทธิภาพต่ำ จึงมีการพัฒนาวิธีการย้ายยีนเข้าสู่ข้าวโดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นในหลายๆ ปัจจัย ในปัจจุบันการย้ายยีนโดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมได้ถูกนำมาใช้ในการย้ายยีนเข้าสู่ข้าวชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จาปอนิกา ได้ประสบผลสำเร็จในหลายๆสายพันธุ์ ขณะที่ข้าวชนิดอินดิคา เช่นข้าวไทย ยังตอบสนองต่อการย้ายยีนต่ำอยู่

อโกรแบคทีเรียม (*Agrobacterium tumefaciens*)

อโกรแบคทีเรียมเป็นแบคทีเรียสาเหตุของโรคพืชที่อาศัยอยู่ในดิน เชื้อตัวนี้เข้าทำลายพืชตรงรอยต่อระหว่างผิวดินกับอากาศ อาการที่แสดงให้เห็นคือปุ่มปมที่เกิดขึ้นตรงตำแหน่งดังกล่าว เรียกชื่อโรคนี้ว่าโรคปุ่มปม เมื่อนำส่วนปมที่แสดงอาการของโรคมาตรวจสอบปรากฏว่าไม่พบเชื้อแต่อย่างใด และเมื่อนำสารที่สกัดได้ไปเพาะเชื้อให้กับพืชก็ไม่มีอาการของโรคเช่นเดียวกัน แต่เมื่อเพาะเชื้อด้วยอโกรแบคทีเรียมบริเวณคอดินสามารถชักนำให้เกิดโรคปุ่มปมได้ และเมื่อนำดินบริเวณคอดินที่เกิดอาการโรคมาตรวจแยกเชื้อสาเหตุปรากฏว่ามีเชื้ออโกรแบคทีเรียอยู่ จึงสันนิษฐานว่าเชื้อสาเหตุตัวนี้ไม่ได้เข้าไปรวมอยู่ในชิ้นส่วนพืชที่แสดงอาการโรค แต่อาจปล่อยบางสิ่งบางอย่างเข้าไป ซึ่งในเวลาต่อมาพบว่าแบคทีเรียปล่อยข้อมูล พันธุกรรมเข้าสู่เซลล์พืช แล้วบังคับให้เซลล์พืชสร้างสารควบคุมการเจริญเติบโต ผลที่ตามมาคือเซลล์พืชแบ่งตัวอย่างรวดเร็วมีขนาดใหญ่ขึ้นจนเห็นเป็นปุ่มปม นอกจากนี้แบคทีเรียยังบังคับให้พืชสร้างสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียด้วย สารดังกล่าวเป็นพวกกรดอะมิโนกลุ่มที่เรียกว่า โอพีน (opine) ที่สำคัญได้แก่ ออคโทพีน (octopine) และโนพาลีน (nopaline) เป็นต้น

ปัญหาสำคัญของการย้ายยีนด้วยเชื้ออโกรแบคทีเรียม ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวคือ อโกรแบคทีเรียมจะมีความจำเพาะเจาะจงต่อพืชที่จะเข้าบุกรุกในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ซึ่งส่วนมากเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจไม่ได้เป็นพืชอาศัยของเชื้ออโกรแบคทีเรียม ทำให้การย้ายยีนมีประสิทธิภาพต่ำ มีสาเหตุสำคัญคือ ลักษณะทางกายภาพของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและพืชใบเลี้ยงคู่มีความแตกต่างกันทำให้มีผลต่อประสิทธิภาพการย้ายยีนของเชื้ออโกรแบคทีเรียม จะตอบสนองต่อสารประกอบ ฟีโนลิก เช่น อะซีโตไซลิงโกน ที่ถูกสร้างขึ้นเมื่อพืชเกิดบาดแผลในการเข้าบุกรุกของเชื้อ บาดแผลที่เกิดขึ้นในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวจะไม่มีกรสร้างสารฟีนอลิกขึ้น หรือมีแต่การสร้างในปริมาณที่น้อย ส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการบุกรุกของเชื้ออโกรแบคทีเรียมต่ำลง รวมทั้งเซลล์ที่เกิดบาดแผลไม่แสดงการแบ่งตัวเหมือนในพืชใบเลี้ยงคู่ จึงมีการพัฒนาวิธีการย้ายยีนเข้าสู่พืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น ข้าว โดยใช้อโกรแบคทีเรียม ให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นในหลายๆปัจจัย ได้แก่ การเลือกเนื้อเยื่อเป้าหมายที่ตอบสนองต่อการย้ายยีนสูงมาใช้เป็นเนื้อเยื่อเป้าหมาย การปรับสภาพของการย้ายยีนให้เหมาะสมต่อการเข้าบุกรุกของอโกรแบคทีเรียม โดยการเติมสารฟีโนลิก เช่นเดียวกับสารที่เซลล์พืชปล่อยออกมาขณะเกิดบาดแผล (อภิชาติ และคณะ, 2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การย้ายยีนโดยใช้เชื้อ *Agrobacterium tumefaciens*

จากการศึกษาพบว่า *Agrobacterium tumefaciens* เป็นสาเหตุโรคพืชที่ไม่ได้บุกรุกเข้าสู่เซลล์พืช กลไกการเกิดโรคเป็นผลมาจากปฏิกิริยาร่วมกันระหว่างเชื้อแบคทีเรียกับพืช และก่อให้เกิดอาการที่เรียกว่าปุ่มปม จึงคิดว่าแบคทีเรียตัวนี้น่าจะมีศักยภาพในการเป็นพาหะ ทั้งนี้เพราะแบคทีเรียกำหนดทิศทางการแบ่งเซลล์ของเซลล์พืชแล้วบังคับให้พืชสร้างสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียซึ่งใช้เป็นตัวตรวจสอบการปลดปล่อยดีเอ็นเอจากแบคทีเรียเข้าสู่เซลล์พืชได้

ค.ศ. 1974 มีการค้นพบเทคนิคการย้ายยีนโดยผ่านทางการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและในปีเดียวกันมีการค้นพบTi plasmid ของ *Agrobacterium* sp. อันเป็นสาเหตุของการเกิดโรคปุ่มปมในต้นพืช

ค.ศ. 1977 Chilton และคณะประสบความสำเร็จในการย้ายยีน Ti plasmid จาก *Agrobacterium* sp. เข้าสู่พืช

ค.ศ. 1985 Horsh และคณะพบวิธีการย้ายยีนจาก *Agrobacterium tumefaciens* เข้าเซลล์พืชทางแผ่นใบ

ค.ศ. 1990 Raineri และคณะประสบความสำเร็จในการย้ายยีนในข้าวสายพันธุ์ จาปอนิคา Koukolikova และคณะ, 1993. ทำการวิเคราะห์ virD operon ของ *Agrobacterium tumefaciens* เพื่อค้นหาหน้าที่ที่เกี่ยวข้องกับทีดีเอ็นเอในนิวเคลียสเซลล์พืช และการสกัดแยกทีดีเอ็นเอโดยทีดีเอ็นเอเคลื่อนย้ายจาก *Agrobacterium tumefaciens* เข้าสู่เซลล์พืช และสามารถแยกได้จากเซลล์พืชหลายสายพันธุ์ จากการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนของอโกรแบคทีเรียมและการแสดงออกของเอนไซม์เบต้า กลูคูโลนิเดสเป็นการแสดงให้เห็นว่าโปรตีน virD ติดอยู่กับทีดีเอ็นเอและนำทีดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์พืช

การใช้อโกรแบคทีเรียมเป็นตัวกลางในการย้ายยีนในข้าวอินดิคาโดยการใช้เวกเตอร์แบบ binary และ superbinary ปัจจุบันนี้มีการใช้อโกรแบคทีเรียมในการย้ายยีนอย่างกว้างขวาง ซึ่งการใช้อโกรแบคทีเรียมนี้จะให้ประสิทธิภาพสูง อโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404 ซึ่งมี superbinary vector ให้ประสิทธิภาพเทียบเท่ากับ binary vector (pCAMBIA1301) โดยทั้งสองกรณีสามารถผลิตพืชที่ต้านทานไฮโกรไมซินได้ 60 ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลการทดสอบกัส (GUS) เป็นบวก 59 ถึง 75 เปอร์เซ็นต์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย้ายยีนจึงมีการใช้อะซิโตไซลิงโกน (ความเข้มข้น 400 ไมโครโมลาร์)

การย้ายยีนโดยใช้เครื่องยิงยีน

เครื่องยิงยีน เป็นหนึ่งในเทคโนโลยีที่นำมาใช้ในการนำยีนที่สนใจเข้าสู่เซลล์ วิธีนี้ได้ถูกพัฒนาขึ้นโดย John Sanford และคณะ มหาวิทยาลัย Cornell สหรัฐอเมริกา ซึ่งอาศัยการส่งพาหะที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห่อหุ้มด้วยดีเอ็นเอเข้าไปยังเนื้อเยื่อ และเซลล์โดยตรง เครื่องยิงยีนนี้จะถูกใช้เมื่อการย้ายยีนโดยใช้ *Agrobacterium* sp. ล้มเหลว หรือเกิดความล้มเหลวในการรวมโพรโทพลาสต์ (protoplast fusion)

เครื่อง gunpowder driven particle gun ซึ่งเป็นเครื่องยิงยีนรุ่นแรกๆ ซึ่งใช้ผงทังสเตนที่เคลือบด้วยสารพันธุกรรม โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 ไมโครเมตร ซึ่งอยู่ในรูปสารละลายในของเหลวปริมาณเล็กน้อย และอยู่ที่ด้านหน้าสุดของหัวกระสุน plastic macroprojectile macroprojectile จะถูกส่งออกไปโดยการอัดประจุไฟฟ้าของดินปืน macroprojectile ที่ถูกส่งออกไปจะไปกระทบกับ plastic stopping plate ที่บริเวณตอนปลายของ acceleration tube โดย macroprojectile จะเคลื่อนผ่านออกทางรูเล็กๆบริเวณปากท่อ สุดท้าย microprojectile จะถูกดันออกมา แม้ว่ารูปแบบของ gunpowder driven particle gun นี้จะถูกสร้างขึ้นมาสำเร็จสำหรับใช้เคลื่อนย้ายยีนในพืชหลากหลายสายพันธุ์ แต่ก็ขาดการควบคุมพลังงานของเครื่องยิงยีนซึ่งจะส่งผลให้เกิดความเสียหายแก่ปริมาณของเซลล์ผู้รับได้

รูปแบบที่ใช้กันอยู่ทั่วไปในปัจจุบัน คือ PDS-1000/He™ โดยมีบริษัท BIO-RAD เป็นตัวแทนจำหน่ายเครื่อง PDS-1000/He™ ได้ถูกพัฒนาขึ้นให้มีประสิทธิภาพดีกว่าเครื่อง gunpowder driven particle gun ภายใต้พื้นฐานการออกแบบที่พัฒนาขึ้นโดย John Sanford และคณะ เครื่อง PDS-1000/He™ ใช้พลังจากแรงอัดของก๊าซฮีเลียม โดยก๊าซนี้จะทำการส่ง macrocarrier เข้าสู่เซลล์ผู้รับ เมื่อเปรียบเทียบกับเครื่อง gunpowder driven particle gun พบว่าเครื่อง PDS-1000/He™ มีความสะอาดและปลอดภัยกว่าทั้งยังสามารถควบคุมปัจจัยต่างๆ ของการยิงได้ดีอีกด้วย

การกระจายตัวของ microcarrier บนเซลล์ผู้รับก็มีมากกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าการกระจายตัวของ microcarrier ไปยังเซลล์ผู้รับ ก็ยังเป็นไปอย่างนิ่มนวล และยังมีความคงที่สูงกว่า

John Sanford กล่าวว่าเครื่องยิงยีนนี้มีพื้นฐานกำเนิดมาจากศาสตร์ทางชีววิทยา และศาสตร์ว่าด้วยการเคลื่อนที่ของกระสุนปืน วิธีการนี้มีชื่อเรียกต่างๆกันมากมายหลายชื่อเช่น microprojectile bombardment , gene gun method , particle acceleration method และอื่นๆ

ตั้งแต่ได้มีการพัฒนาระบบ particle bombardment ก็ได้มีการสร้างเครื่องยิงยีนที่มีความแตกต่างกันมากมายหลายชนิด เช่นปืนที่ใช้การปลดปล่อยกระแสไฟฟ้า (electrically triggered discharge gun) เครื่องยิงยีนที่ใช้ลม (pneumatic particle gun) ก๊าซฮีเลียม ไนโตรเจน เครื่องที่ใช้พลังงานจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide powered devices) และ Micro-targeting gun

ต่อมาเครื่องยิงยีนได้ถูกพัฒนาให้มีประสิทธิภาพสูงสุด คือใช้ง่าย ไม่ยุ่งยาก ปลอดภัยมีความแน่นอนแม่นยำ และมีราคาต่ำสำหรับใช้ในการส่งสารพันธุกรรม เข้าสู่เซลล์ผู้รับ แรกเริ่มวิธีการนี้ได้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อทำการส่งยีนที่สนใจเข้าสู่สารพันธุกรรมทั้งหมดในนิวเคลียส (nuclear genome) ของพืชชั้นสูง (ตารางที่ 1) ซึ่งเนื้อเยื่อพืชที่นำมาทดสอบนั้นรวมไปถึง สารละลายเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(cell suspension) แคลลัส (callus) คัพภะที่ยังอ่อนอยู่ (immature embryos) ไมโครสปอร์ (microspore) และอื่นๆ โดยเซลล์ข้างต้นที่กล่าวมานี้ จะไม่สามารถทำการย้ายยีนได้เลย ถ้าใช้วิธีการอื่น

การย้ายยีนในข้าวครั้งแรกเกิดขึ้นโดยนาย Toriyama และคณะ ในปี ค.ศ.1988 ได้มีการใช้วิธีการทำโพรโทพลาสต์ และการย้ายยีนโดยตรง และได้มีการพัฒนาให้วิธีการนี้ให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น ซึ่งการพัฒนาการย้ายยีนในข้าวได้แสดงไว้ในตารางที่ 2

วิธีการใช้เครื่องยิงยีนในการนำยีนภายนอกเข้าสู่เนื้อเยื่อของข้าว เป็นวิธีการที่ง่ายและมีประสิทธิภาพ ซึ่งได้มีการทดลองในข้าวสายพันธุ์อินดิคา และจาปอนิคา (Christou, 1993)

วิธีการนี้ยังสามารถใช้ในการย้ายยีนในจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ เช่น *B. megaterium* *Pseudomonas syringae* *Agrobacterium tumefaciens* *Erwinia amylovora* *Escherichai coli* และยังสามารถทำให้เกิดการย้ายยีน ในอวัยวะต่างได้ เช่น Chloroplast ใน *Chlamydomonas* sp. และในไมโตคอนเดรียของยีสต์ ในปี ค.ศ.1990 Svab และคณะ รายงานว่าสามารถทำการย้ายยีนเข้าไปในเซลล์สัตว์โดยใช้เครื่องยิงยีนได้

ตารางที่ 1 ตัวอย่างของการย้ายยีนในพืชโดยใช้เครื่องยิงยีน (particle gun bombardment)

ชนิดของพืช	เซลล์ผู้รับ	ยีน	อ้างอิง
Tobacco	Suspension cell	*Gus*[a)] , *npt II*[b)]	Klein, T. M.
Soybean	Embryonic axes	*Gus* , npt II	McCabe, D. E.
Papaya	Immature embryo, etc.	*Gus* , *npt II*	Fitch, M.
Maize	Callus, Suspension cell	*Gus* , *bar*[c)]	Fromm, M. E.
Maize	Suspension cell	*Gus* , *bar*	Gordon, W.
Populus	Protoplast-derived cell	*Gus* , *BT*[d)]	McCown, B. H.
Cranberry	Stem section	*Gus* , *npt II* , BT	Serres, R.
Rice	Immature embryo	*Gus* , *bar*	Christou, P.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดของพืช	เซลล์ผู้รับ	ยีน	อ้างอิง
Rice	Suspension cell	*bar*	Cao, J.
Rice	Immature embryo	*Gus* , *hpt* [e)]	Li, L.
Dendrobium orchid	Protocorm	*npt II* , virus CP [f)]	Kuehnle, A.
Oat	Suspension cell	*Gus* , *bar*	Somers, D. A.
Wheat	Callus	*Gus* , *bar*	Vasil, A.
Wheat	Scutellar tissue	*Gus* , *bar*	Nehra, N. S.
Wheat	Immature embryo	*Gus* , *bar*	Altpeter, F
Phaseolus vulgare	Seed meristem	*Gus* , *bar*	Russell, D. R.
Turfgrass	Callus	*Gus*	Zhong, H.
Picea glauca	Somatic embryo	*Gus* , *npt II*	Ellis, D. D.
Sorghum	Immature embryo	*Gus* , *bar*	Casas, A. M
Sorghum	Immature embryo	*Gus* , *hpt*	Hagio, T.
Peanut	Embryo axis	*Gus* , *bar* , virus CP	Brar, G. S.
Sunflower	Shoot apices	*Gus* , *npt II*	Knittel, N.
Barley	Immature embryo	*Gus* , *bar*	Wan, Y.
Barley	Immature embryo	*npt II*	Ritala, A.
Barley	Microspore	*Gus* , *bar*	Jahne, A.
Barley	Immature embryo	Virus CP	Hagio, T.
Alfalfa	Callus	*Gus* , *npt II*	Pereira, L. F.
Italian ryegrass	Suspension cell	*Gus* , *hpt*	Ye, X.
Asparagus	Callus	*Gus* , *hpt* , *bar*	Cabrera,

a) : *Gus* ; β-Glucuronidase, b) : *npt II* ; Neomycin phosphotransferase II, c) : *bar* ; (PAT) Phasphinothricin acetyl transferase, d) : BT ; *Bacillus thuringiensis*, e) : *hpt* ; Hygromycin phosphotransferase, f) : CP ; Coat protein

ที่มา : Hagio (1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 : การพัฒนาการถ่ายยีนในข้าว

ประเภท	ชนิดของเซลล์	วิธีการ	อ้างอิง
Transient	protoplasts	PEG	Ou-Lee *et al.*
Stable callus-Japonica	protoplasts	PEG	Uchimiya *et al.*
Transgenic Japonica plants	protoplasts	Electroporation	Toriyama *et al.*
	protoplasts	Electroporation	Zhang *et al.*
	protoplasts	PEG	Zhang and Wu
First indica-type rice	protoplasts	PEG	Datta *et al.*
Variety-independent method	immature embryos	Bombardment	Christou *et al.*
Agrobacterium transformation	embryos	Agrobacterium	Hiei *et al.*
First successful field trial with a Useful gene (herbicide resistance)	immature embryos	Bombardment	Oard *et al.*

ที่มา : Christou (1993)

ปี ค.ศ.1996 ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีการออกแบบของสหรัฐอเมริกาทำให้เครื่องยิงยีนแบบมือถือได้กำเนิดขึ้น โดยเครื่องยิงยีนแบบมือถือนี้สามารถหาซื้อได้ง่ายในประเทศญี่ปุ่น เครื่องมือนี้มีชื่อว่า "Helios™ Gene Gun System" โดยบริษัท BIO - RAD เป็นตัวแทนจำหน่ายซึ่งการทำงานของ particle gun จะขึ้นอยู่กับขนาดของเป้าหมาย และขนาดของเป้าหมายก็จะถูกจำกัดด้วย chamber และเนื้อเยื่อของเซลล์ผู้รับก็ต้องอยู่ภายใต้สภาวะสูญญากาศในขณะที่ถูกยิง แต่เครื่องยิงยีนแบบมือถือนี้ไม่ต้องใช้สภาวะสูญญากาศ และเซลล์ผู้รับก็สามารถถูกย้ายยีนได้ภายในลำกล้องของตัวเครื่อง เครื่องมือชนิดนี้จึงน่าจะถูกนำไปใช้กันอย่างแพร่หลายในอนาคต โดยเครื่องมือชนิดนี้ยังสามารถใช้ได้ทั้งในหลอดทดลองและในสิ่งมีชีวิต (*in vitro* และ *in vivo)*

ลักษณะและวิธีการใช้

วิธีการนี้กลายเป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายเป็นอันดับสองรองจากการย้ายยีนโดยใช้ *Agrobacterium* sp. งานวิจัยที่ใช้เครื่องยิงยีนมีเพิ่มมากขึ้นเมื่อการทำโพรโทพลาสต์ล้มเหลวซึ่งเกิดจากการชักนำโพรโทพลาสต์ ให้กลายเป็นต้นพืชนั้น ค่อนข้างเป็นไปได้ยากและใช้เวลานาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการย้ายยีนโดยวิธีการนี้มีทั้งข้อดีข้อเสียมากกว่าการใช้ *Agrobacterium* sp. และการย้ายยีนโดยใช้วิธีโพรโทพลาสต์ ดังนี้

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบข้อดี และข้อเสียของการใช้เครื่องยิงยีน

ข้อดี	ข้อเสีย
1.สามารถใช้ได้กับเซลล์และเนื้อเยื่อแทบทุกชนิด	1.เครื่องยิงยีนจะมีประสิทธิภาพในการย้ายยีนที่มีความละเอียดอ่อนต่ำความถี่ในการย้ายยีนโดยใช้วิธีการนี้จะมีความไม่คงที่เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ *Agrobacterium* sp. และการทำโพรโทพลาสต์
ภายใน ระยะเวลาอันสั้นได้ในคราวเดียว	ประมาณ 260 เยน โดยใช้ความดันมาตรฐานของเครื่องมือเป็นหลัก (130,000เยนต่อการยิง 500 ครั้ง)
3.วิธีการนี้ไม่ต้องการลำดับ T-DNA โดยปกติแล้วการย้ายยีนโดยใช้ *Agrobacterium* sp. ภายใน Plasmid DNA จะต้องมีลำดับของ T-DNA ซึ่งยีนส่วนนี้จะถูกส่งเข้าสู่เซลล์ของเนื้อเยื่อพืช และ T-DNAนี้จะถูกควบคุมโดย Vir gene แต่ในการย้ายยีนโดยใช้เครื่องยิงยีน เครื่องยิงยีน จะทำการปลดปล่อยเม็ดอนุภาคที่มี Plasmid DNA เข้าสู่เซลล์ได้ทันที	3.ถ้าจะนำผลผลิตที่ได้ไปใช้ในทางการค้าผู้ทำจะต้องเสียค่าธรรมเนียมให้แก่เจ้าของลิขสิทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

4.วิธีการนี้ต้องการ Plasmid DNA เพียงเล็กน้อยโดยเครื่อง PDS-1000/He™ ต้องการ Plasmid DNA รวมทั้งสิ้นเพียง 0.8 ไมโครกรัม ต่อการยิงหนึ่งครั้ง	4.ในการใช้เครื่องต้องมีความละเอียดอ่อนเพราะฉะนั้นผู้ปฏิบัติอาจต้องขอคำแนะนำจากผู้เชี่ยวชาญ
5.การแสดงออกของยีนที่มีอยู่ได้ไม่นานสามารถตรวจสอบได้ในเวลาไม่กี่วันในการตรวจสอบหาความแตกต่างของยีนที่แสดงออกอยู่ได้ไม่นานใน เนื้อเยื่อที่ยังมีชีวิตอยู่	
6.วิธีการนี้สามารถส่ง Plasmid DNA เข้าสู่เซลล์เนื้อเยื่อผู้รับได้หลายๆ Plasmid พร้อมกันในทีเดียว	
7.การตรวจสอบผลที่ผิดพลาดจะถูกกำจัดออกไปในกรณีการใช้*Agrobacterium* sp. ในการย้ายยีนการตรวจสอบจุดสีฟ้าโดย ใช้สาร X-gluc อาจเกิดการผิดพลาดได้เนื่องจากยีนที่สอดใส่เข้าไปใน T-DNA อาจมีความสามารถในการย่อยสลายสารนี้จนเกิดเป็นจุดสีฟ้าขึ้น หรือในอีกกรณีหนึ่งคือเชื้อ *Agrobacterium* sp. อาจเกิดการปนเปื้อน	

หลักการใช้เครื่อง

เครื่อง PDS-1000/He™ ได้ถูกนำไปใช้ตามห้องปฏิบัติการต่างๆอย่างมากมาย ซึ่งต้องเตรียม DNA-coated microcarrier เพื่อใช้ในขั้นตอนต่อๆไป โดยผู้ใช้สามารถปรับเปลี่ยนวิธีการเพื่อเพิ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

39891

ประสิทธิภาพในการย้ายยีนให้ดีขึ้นได้ DNA-coated microcarrier เป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีน ในขั้นตอนการทำจะต้องทำให้เกิดการตกตะกอนระหว่างอนุภาคทังสเตน หรือผงทองคำกับ Plasmid DNA ที่สนใจซึ่งมีขั้นตอนต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. ปั่นสารละลาย microcarrier หรืออนุภาคโลหะ ใน 50 เปอร์เซ็นต์ glyceral (60 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เป็นเวลา 5 นาที ด้วยเครื่อง vortex เพื่อทำให้สารละลาย microcarrier กระจายออกจากกันไม่รวม เป็นก้อนนำสารละลาย microcarrier 5 ไมโครลิตร (3 มิลลิกรัม) ใส่ลง ในหลอดmicrocentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร การ Mix หลอดที่บรรจุ microcarrier อย่างต่อเนื่องในอัตราสูงมีความสำคัญอย่างมากนอกจากนี้แล้วในอดีตที่ผ่านมาคู่มือการใช้เครื่องได้แนะนำว่าควรทำการสั่นสะเทือน (sonicate) สารละลาย microcarrierในอัตราสูง แต่จากประสบการณ์ของผู้เขียนที่ผ่านมาพบว่าขั้นตอนดังกล่าวนี้ไม่ก่อให้เกิดประโยชน์เลย
2. ในขณะที่กำลังผสม อยู่ให้เติมสารต่างๆ ดังต่อไปนี้ตามลำดับ
   - ดีเอ็นเอ 5 ไมโครลิตร (1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร)
   - แคลเซียมคลอไรด์ 50 ไมโครลิตร (2.5 โมลาร์)
   - spermidine 20 ไมโครลิตร (ไม่เป็นเบส , 0.1 โมลาร์)
3. ผสมต่ออีก 3 นาที หลังจากนั้นปล่อยให้ microcarrier นอนก้นเป็นเวลา3 นาที
4. ทำการปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 2 วินาทีใน microcentrifuge ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เพื่อทำให้ microcarrier ตกตะกอนลงสู่ส่วนล่างและเทส่วนใสทิ้ง
5. เติม 70 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล 150 ไมโครลิตร โดยเติมเบาๆ อย่าให้เกิดการฟุ้งกระจายของสารละลาย และเทส่วนใสทิ้ง
6. เติม 100 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล หรือ 99.5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 150 ไมโครลิตร
7. ทิ้งส่วนที่เป็นของเหลวไป
8. เติม 100 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล จำนวน 55-60 ไมโครลิตร หรือ 99.5 เปอร์เซ็นต์
9. นำไมโครปิเปตต์ดูดสารที่อยู่ตรงก้นหลอดขึ้นมาหลังจากนั้นนำ DNA-coated microcarrier 6 ไมโครลิตรที่ดูดขึ้นมาย้ายลงสู่บริเวณตรงกลางของแผ่น macrocarrier แล้วทำการเกลี่ย DNA-coated microcarrier ตรงบริเวณศูนย์กลางของแผ่น macrocarrier เป็นบริเวณกว้างมากกว่า 1 เซนติเมตรรอจนกระทั่ง microcarrier แห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ้าต้องการยิงยีนเพียงเล็กน้อย ให้ทำการเตรียม DNA-coated microcarrier ให้พอเพียงสำหรับการยิงยีน 3 ครั้ง โดยการลดปริมาณของสารทั้งหมดลงครึ่งหนึ่ง

ขั้นตอนการใช้เครื่องให้ปฏิบัติตามขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

1. เปิดปั๊มสูญญากาศ และปุ่มพลังงาน (power)
2. ทำการตั้งเครื่องควบคุมก๊าซฮีเลียมไปที่ 200 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ซึ่งอยู่เหนือแผ่น rupture disk
3. นำแผ่น rupture disk ใส่ลงในตัวเครื่อง
4. นำ stopping screen ใส่ลงในตัวเครื่อง
5. นำ microcarrier assembly ใส่ลงในตัวเครื่อง
6. นำเซลล์ผู้รับ หรือเนื้อเยื่อใส่ลงใน target shelf
7. กดปุ่ม vac
8. เมื่อระดับสูญญากาศที่หน้าปัดถึงระดับที่ต้องการแล้ว (มากกว่า 27.5 นิ้วปรอท ให้เลื่อนปุ่ม vac ไปยังตำแหน่ง hold เพื่อรักษาระดับความดันให้คงที่
9. ปิดปั๊มสูญญากาศเพื่อป้องกันไม่ให้ความร้อนเพิ่มมากขึ้น
10. กดปุ่มยิง (fire) ทันทีจนกระทั่ง rupture disk แตกออก
11. หลังจากการยิงเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์แล้ว ให้เลื่อนปุ่ม vac ไปยังตำแหน่ง vent
12. ทำการย้ายเซลล์ผู้รับออก
13. ย้าย microcarrier assembly ออกมาโดยที่ stopping screen ยังสามารถนำกลับไปใช้ใหม่ได้อีก 2-3 ครั้ง
14. ทำการย้าย rupture disk ออกโดยถ้าต้องการทำการยิงต่อให้เริ่มทำตั้งแต่ข้อ 3 เป็นต้นไป
15. ทำความสะอาดตัวเครื่อง (chamber) โดยใช้ 70 เปอร์เซ็นต์เอทานอล
16. ปิดวาล์วถังก๊าซฮีเลียม
17. ทำการปล่อยก๊าซฮีเลียมออกจากตัวเครื่อง
18. ปิดปุ่มพลังงาน (power)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทำให้ประสิทธิภาพในการย้ายยีนดีขึ้น

เครื่องยิงยีนเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้ายยีน ที่สนใจเข้าสู่เซลล์พืช วิธีนี้เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อพืชที่ไม่สามารถใช้ *Agrobacterium* sp. ในการย้ายยีนได้ เครื่องยิงยีนเป็นเครื่องมือที่มีความรวดเร็วในการเคลื่อนย้ายยีนที่สนใจเข้าสู่เซลล์พืชเพื่อใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีนที่สนใจ วิธีการนี้จะทำให้ได้พืชที่มีลักษณะที่เหมาะสมและสามารถทำให้ได้พืชที่มีลักษณะตามที่ต้องการโดยแทบจะไม่มีคุณลักษณะเดิมหลงเหลืออยู่เลย

การเพิ่มประสิทธิภาพในการย้ายยีนมีดังนี้

1. น้ำ ควรใช้น้ำสะอาดที่ทำการอบฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน(autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที เพื่อใช้ในการเตรียมบัฟเฟอร์ และสารละลาย
2. spermidine ทำการปรับความเข้มข้นให้เป็น 0.1 โมลาร์ แล้วเทสารละลายลงในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เมื่อนำสารละลายไปใช้แล้ว ให้นำสารละลายที่เหลือไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยสารนี้จะหมดอายุภายใน 2 สัปดาห์
3. เอทานอล ให้ใช้เอทานอลที่เตรียมใหม่ๆ ถ้าใช้เอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ให้เตรียมเอทานอลก่อนการทดลองโดยใช้เอทานอล 100 เปอร์เซ็นต์ จะดีกว่า 99.5 เปอร์เซ็นต์ที่หาได้ตามท้องตลาดโดยผู้เขียนแนะนำให้ใช้ molecular sieve (SIGMA M-9882) ในการดูดซับน้ำออกจากเอทานอล
4. การล้างอนุภาคโลหะ ควรจะทำการย้ายส่วนที่เป็นของเหลวใสออกก่อนที่จะทำการล้างครั้งที่สองด้วยเอทานอล 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อล้างด้วย เอทานอลมากกว่า 1 ครั้งแล้วให้ย้ายส่วนที่เหลือของ spermidine และน้ำออก อนุภาคที่มียีนเคลือบอยู่อาจนำกลับไปใช้ใหม่
5. การปั่นเหวี่ยง ควรใช้ความเร็วต่ำประมาณ 3,000-5,000 รอบต่อนาที นาน 1-2 วินาที ถ้าใช้ความเร็วรอบสูงๆ จะทำให้อนุภาคโลหะจับกันเป็นกลุ่มก้อน
6. plasmid DNA ต้องบริสุทธิ์ ห้ามใช้ตัวอย่างที่มี RNA ปนอยู่
7. ห้ามใช้ carrier DNA เนื่องจาก carrier DNA จะถูกอนุภาคโลหะดูดซับ ไว้โดย carrier DNA จะถูกใช้เป็นประจำในการทำ electroporationของ protoplasts
8. ขั้นตอนการเคลือบ microcarrier ที่เคลือบอยู่บน macrocarrier มีความสำคัญมาก เมื่อเคลือบแล้วต้องนำไปใช้ภายใน 2 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. การเติม manital หรือ sorbital จะทำให้การเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคโลหะมีมากขึ้น และเสถียรขึ้น ทั้งยังป้องกันการแตกรั่วของเซลล์เนื่องจากการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคโลหะ
10. ผู้ปฏิบัติควรศึกษาปัจจัยต่างๆก่อนการใช้เครื่องยิงยีนมาอย่างเรียบร้อยแล้ว

นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ ในการใช้เครื่องยิงยีนอันได้แก่

1. microcarrier ควรใช้ผงทองขนาด 1.6 ไมโครเมตร
2. ตำแหน่งของเซลล์ผู้รับ ควรให้เซลล์ผู้รับหรือเนื้อเยื่ออยู่ห่างจาก stoppingscreen 9เซนติเมตร
3. จำนวนครั้งในการยิง ประมาณ 2 ครั้งต่อหนึ่งตัวอย่าง
4. ยีนสนับสนุน พืชใบเลี้ยงคู่ (35s)
   พืชใบเลี้ยงเดี่ยว (35s) Adh (Alcoholdehydrogenase)
5. ยีนตรวจสอบ ยีน Gus (β-glucuronidase)

ถ้าไม่มีจุดสีน้ำเงินเกิดขึ้นจากการทดสอบ ก็ยังมีวิธีการอื่นในการย้ายยีน หรืออาจทำการสร้างกลุ่มยีนสนับสนุนขึ้นมาใหม่ ถ้ามีจุดสีฟ้า 1 จุดหรือมากกว่า แสดงให้เห็นว่าการทดลองที่ทำอย่างต่อเนื่องนั้นทำในสภาวะที่ดีที่สุดเช่นเดียวกันหมด

การใช้เครื่อง particle gun bombardment จะไม่จำเป็นเลยถ้าการใช้ *Agrobacterium* sp. หรือการทำโพรโทพลาสต์สามารถทำได้ง่ายกว่า และสะดวกกว่า เพราะการย้ายยีนโดยวิธี particle gun bombardment มีความเสถียรต่ำ วิธีการนี้บางครั้งก็ใช้พลังงานมาก และค่อนข้างมีค่าใช้จ่ายสูงในกรณีที่ใช้กับพืชที่ยังไม่ถูกย้ายยีนที่มีจำนวนมาก

การทำโพรโทพลาสต์เหมาะสมที่สุดเนื่องจากการแยกโพรโทพลาสต์ สามารถทำให้ได้เซลล์เดี่ยวๆอย่างแท้จริง นั่นเป็นเพราะว่า โพรโทพลาสต์ ได้ถูกแยกออกจากเซลล์อื่นๆอย่างแน่นอนและวิธีการในการย้ายยีนก็ยังสามารถทำได้ง่ายโดยปราศจากการใช้เครื่องมือพิเศษต่างๆ เมื่อเทียบกับการใช้ particle gun bombardment นอกจากนี้แล้วเครื่อง electroporator ก็สามารถสร้างขึ้นมาได้ง่าย และยังหาซื้อได้ง่าย ส่วนวิธีการใช้สาร polyethyleneglycol ก็ไม่ต้องใช้อุปกรณ์พิเศษต่างๆ

อย่างไรก็ตามในอดีตที่ผ่านมา ผู้เขียนก็ได้เรียนรู้ถึงวิธีการปฏิบัติที่ดีที่จะทำให้ขั้นตอนต่างๆ ได้ผลดียิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในอนาคตอันใกล้ วิธีการนี้จะกลายเป็นเครื่องมือที่มีประโยชน์มากทั้งทางด้านโมเลกุล และ การปรับปรุงพันธุกรรมในธัญพืชต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวไทย ได้แก่
   1.1 ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1
   1.2 ข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1
   1.3 ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1

2. เชื้ออโกรแบคทีเรียม 3 สายพันธุ์ได้แก่
   2.1 AGL-1
   2.2 EHA105
   2.3 LBA4404

3. สารเคมี
   3.1 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารสูตร NB
   3.2 สารเคมีที่ใช้ฟอกฆ่าเชื้อได้แก่ สารละลายคลอรอกซ์ และสารเปียกใบ (tween-20)
   3.3 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชได้แก่ 2,4-D NAA BAP ไคเนติน และซีเอติน
   3.4 กรดอะมิโนได้แก่ แอลโพรลีน และเคซีนไฮโดรไลเสท
   3.5 แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ และ 95 เปอร์เซ็นต์
   3.6 สารชักนำการย้ายยีน อะซีโตไซลิงโกน
   3.7 สารฆ่าอโกรแบคทีเรียม เซโฟแทกซิน

4. ภาชนะเครื่องแก้ว
   4.1 บีกเกอร์
   4.2 ขวดรูปชมพู่
   4.3 ปิเปตต์
   4.4 ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
   4.5 จานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 แท่งแก้วคน

4.7 กระบอกตวง

4.8 ขวดวัดปรับปริมาตร

4.9 กรวยแก้ว

5. เครื่องมือที่ใช้เตรียมอาหาร

5.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด

5.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบหยาบ

5.3 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง

5.4 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดัน

5.5 อ่างน้ำปรับอุณหภูมิ

5.6 เตาความร้อนและเครื่องกวน

6. มีดผ่าตัด
7. ปากคีบ
8. จุกยางชนิดทนความร้อน
9. อะลูมิเนียมฟอยล์
10. ตะเกียงแอลกอฮอล์
11. เครื่องเขย่า
12. ไมโครเวฟ
13. ตู้เพาะเชื้อ
14. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
15. พาราฟิล์ม
16. กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ
17. กล้องจุลทรรศน์พร้อมอุปกรณ์ภาพ
18. ตู้บ่มเชื้อ
19. สเปคโตรโฟโตมิเตอร์
20. ตู้ปลอดเชื้อ
21. ตู้เย็น
22. เครื่องล้าง (sonicator)
23. ช้อนตักสารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

24. ชุดกรองแยกเชื้อ
    - กระบอกฉีด
    - เยื่อกรอง
25. ที่ดูดปล่อยสาร (auto pipette)
26. ทิปขนาดต่างๆ
27. กระบอกพลาสติกต่างๆ ใช้บรรจุแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์
28. ถุงมือ
29. ปากกาเขียนแก้ว
30. แปรงล้างขวดและหลอดทดลอง พร้อมน้ำยา
31. อ่างน้ำขนาดใหญ่

ขั้นตอนการดำเนินงาน

1. การชักนำให้เกิดแคลลัส
    1.1 ฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดข้าวพันธุ์ละ 200 เมล็ด ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วฟอกฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เขย่าเป็นเวลา 2 นาที
    1.2 เทแอลกฮอล์ทิ้งแล้วฟอกต่อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ 20 เปอร์เซ็นต์ ที่มีสารเปียกใบ (tween-20) 0.02 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 150 มิลลิลิตร เขย่าให้ทั่วถึงเป็นเวลา 30 นาที
    1.3 เทสารละลายคลอรอกซ์ออก แล้วล้างเมล็ดข้าวด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง
    1.4 ตักเมล็ดข้าวออกจากฟลาสก์ วางเมล็ดข้าวลงบนกระดาษทิชชูที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที
    1.5 คีบเมล็ดวางลงบนอาหารแข็งสูตร NB จานละ 20 เมล็ด
    1.6 เก็บในที่มืดอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน
    1.7 ทำการตัดส่วนที่เป็นแคลลัสออกมาวางบนอาหารแข็งสูตร NB

2. การย้ายยีนโดยใช้อโกรแบคทีเรียม
    2.1 หยดสารละลายของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* โดยใช้ความเข้มข้นที่ 0.1 และ 0.01 ไมโครลิตร หยดลงบนแต่ละแคลลัส แคลลัสละ 10 ไมโครลิตร แล้วนำไปเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 2 วัน
    2.2 ล้างแคลลัสด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ผสมด้วยเซโฟแทกซิน 250 มิลลิกรัมต่อลิตร เขย่าเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการล้าง 2 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 นำแคลลัสที่ล้างมาวางบนอาหาร NB ที่มีเซโฟแทกซิน เป็นเวลา 2 วัน

2.4 คัดเลือกต้นที่อยู่รอดไปชักนำให้เกิดต้น

3. การตรวจสอบยีนกัส

3.1 นำแคลลัสมาตรวจสอบ โดยการเติม GUS-buffer ให้ท่วมแคลลัส

3.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ประมาณ 16 ชั่วโมง

3.3 ดูด GUS-buffer ออก แล้วเติมแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ให้ท่วมแคลลัส

3.4 ตรวจวัดผลโดยดูการเกิดสีน้ำเงินด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

3.5 แคลลัสหลังจากการตรวจผลแล้ว ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1.ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดเป็นแคลลัสในข้าว 3 สายพันธุ์

จากการชักนำเอ็มบริโอแก่ของข้าวให้เกิดเป็นแคลลัสในอาหาร NB 7 สูตร ซึ่งประกอบด้วย 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร แอล-โพรลีน 1.0 กรัมต่อลิตร ไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร ซูโครส 30.0 กรัมต่อลิตร และเคซีนไฮโดรไลเสท 0.2 กรัมต่อลิตร โดยมีความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA 0.1 0.25 0.5 0.75 1.0 1.25 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4) ผลของการชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดเป็นแคลลัสที่สมบูรณ์ในข้าว 3 สายพันธุ์ เป็นดังนี้

ตารางที่ 4 ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA ในสูตรอาหาร NB 7 สูตร

สูตรอาหาร	ความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA (มิลลิกรัมต่อลิตร)
NB_1	0.1
NB_2	0.25
NB_3	0.5
NB_4	0.75
NB_5	1.0
NB_6	1.25
NB_7	1.5

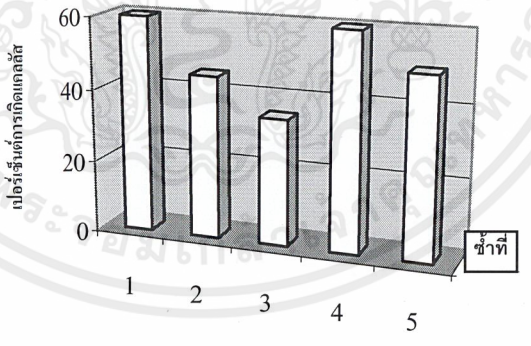
1.1 ข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1

1.1.1 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_1 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 60.0 45.0 35.0 60.0 และ 50.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ย คือ 50.0 ดังตารางที่ 5 และภาพที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_1

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	12	60.0
20	9	45.0
20	7	35.0
20	12	60.0
20	10	50.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		50.0



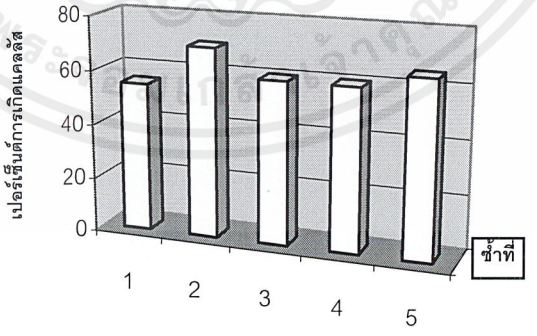
ภาพที่ 1 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1.2 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_2 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำพบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 55.0 70.0 60.0 60.0 และ 65.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ย คือ 62.0 ดังตารางที่ 6 และภาพที่ 2

ตารางที่ 6 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_2

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	11	55.0
20	14	70.0
20	12	60.0
20	12	60.0
20	13	65.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		62.0



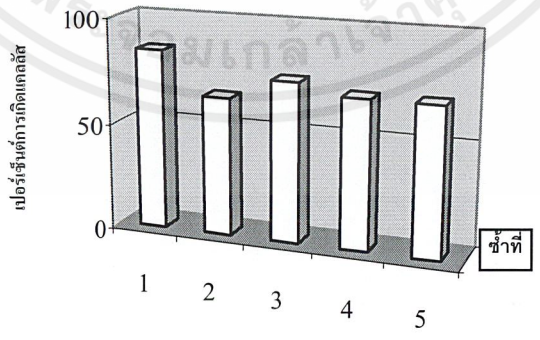
ภาพที่ 2 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1.3 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_3 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 85.0 65.0 75.0 70.0 และ 70.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ย คือ 73.0 ดังตารางที่ 7 และภาพที่ 3

ตารางที่ 7 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_3

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	17	85.0
20	13	65.0
20	15	75.0
20	14	70.0
20	14	70.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		73.0



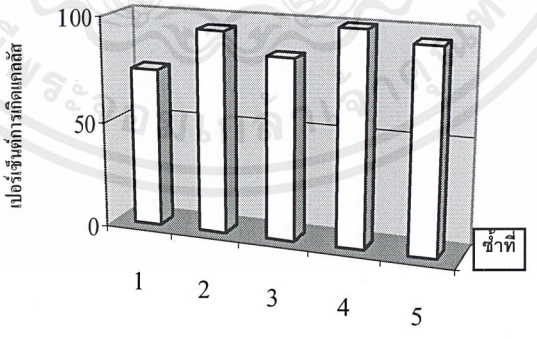
ภาพที่ 3 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1.4 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_4 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 75.0 95.0 85.0 100.0 และ 95.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ย คือ 90.0 ดังตารางที่ 8 และภาพที่ 4

ตารางที่ 8 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_4

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	15	75.0
20	19	95.0
20	17	85.0
20	20	100.0
20	19	95.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		90.0



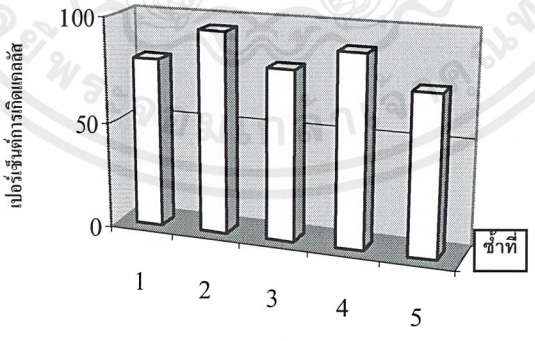
ภาพที่ 4 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1.5 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_5 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 80.0 95.0 80.0 90.0 และ 75.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ย คือ 84.0 ดังตารางที่ 9 และภาพที่ 5

ตารางที่ 9 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_5

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	16	80.0
20	19	95.0
20	16	80.0
20	18	90.0
20	15	75.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		84.0



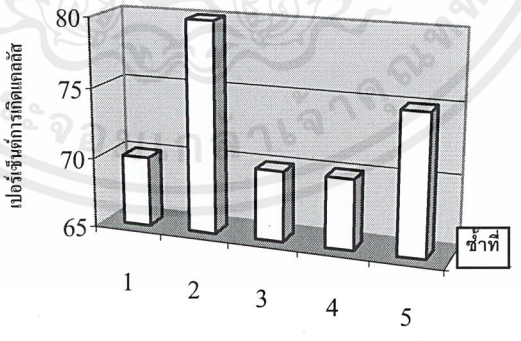
ภาพที่ 5 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1.6 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_6 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 70.0 80.0 70.0 70.0 และ 75.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ย คือ 73.0 ดังตารางที่ 10 และภาพที่ 6

ตารางที่ 10 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง1 ในอาหารสูตร NB_6

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	14	70.0
20	16	80.0
20	14	70.0
20	14	70.0
20	15	75.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		73.0



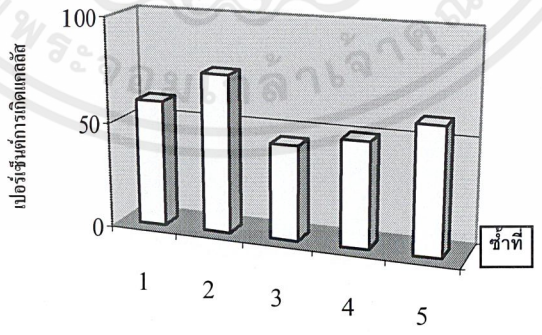
ภาพที่ 6 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1.7 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_7 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 60.0 45.0 35.0 60.0 และ 50.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ย คือ 50.0 ดังตารางที่ 11 และภาพที่ 7

ตารางที่ 11 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง1 ในอาหารสูตร NB_7

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	12	60.0
20	15	75.0
20	9	45.0
20	10	50.0
20	12	60.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		58.0



ภาพที่ 7 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ในอาหารสูตร NB_7

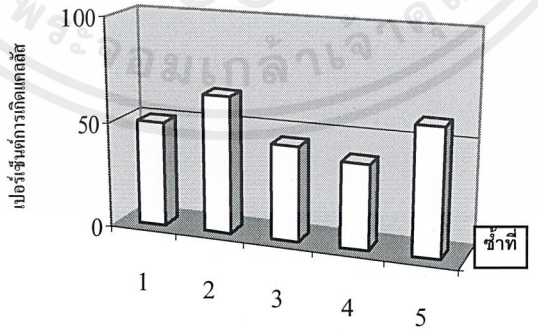
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1

1.2.1 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_1 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 50.0 65.0 45.0 40.0 และ 60.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยคือ 52.0 ดังตารางที่ 12 และภาพที่ 8

ตารางที่ 12 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ใน อาหารสูตร NB_1

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	10	50.0
20	13	65.0
20	9	45.0
20	8	40.0
20	12	60.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		52.0



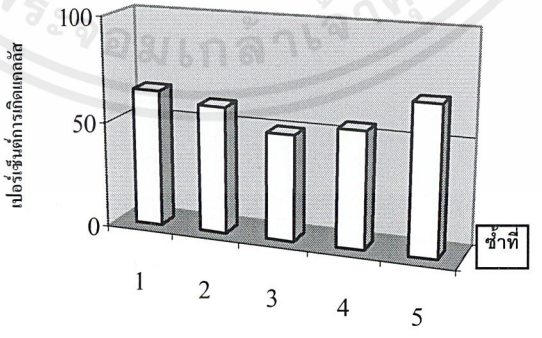
ภาพที่ 8 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.2 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_2 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 65.0 66.0 50.0 55.0 และ 70.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยคือ 60.0 ดังตารางที่ 13 และภาพที่ 9

ตารางที่ 13 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_2

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	13	65.0
20	12	60.0
20	10	50.0
20	11	55.0
20	14	70.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		60.0



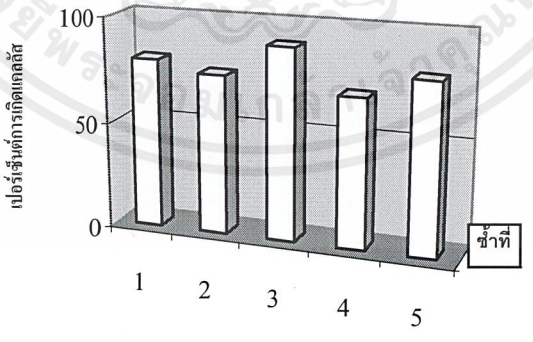
ภาพที่ 9 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.3 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_3 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 80.0 75.0 90.0 70.0 และ 80.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยคือ 79.0 ดังตารางที่ 14 และภาพที่ 10

ตารางที่ 14 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_3

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	16	80.0
20	15	75.0
20	18	90.0
20	14	70.0
20	16	80.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		79.0



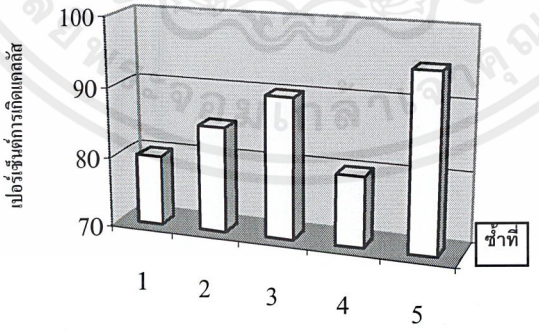
ภาพที่ 10 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.4 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_4 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 80.0 85.0 90.0 80.0 และ 95.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยคือ 86.0 ดังตารางที่ 15 และภาพที่ 11

ตารางที่ 15 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_4

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	16	80.0
20	17	85.0
20	18	90.0
20	16	80.0
20	19	95.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		86.0



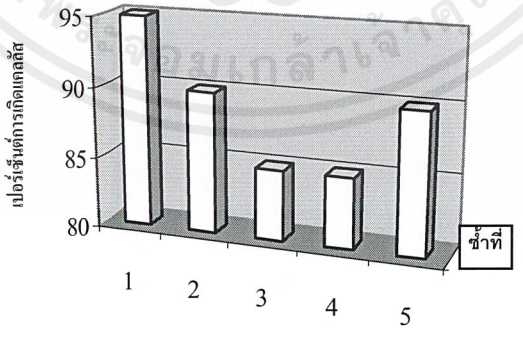
ภาพที่ 11 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.5 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_5 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 95.0 90.0 85.0 85.0 และ 90.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยคือ 89.0 ดังตารางที่ 16 และภาพที่ 12

ตารางที่ 16 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_5

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	19	95.0
20	18	90.0
20	17	85.0
20	17	85.0
20	18	90.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		89.0



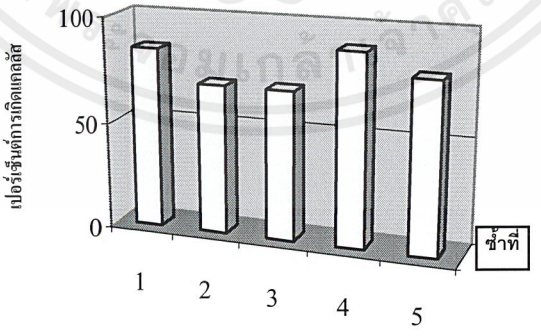
ภาพที่ 12 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.6 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_6 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 85.0 70.0 70.0 90.0 และ 80.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยคือ 79.0 ดังตารางที่ 17 และภาพที่ 13

ตารางที่ 17 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_6

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	17	85.0
20	14	70.0
20	14	70.0
20	18	90.0
20	16	80.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		79.0



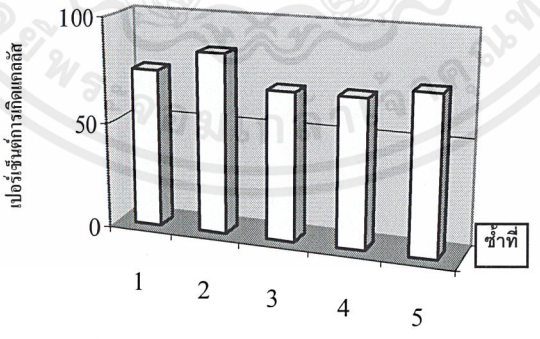
ภาพที่ 13 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.7 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_7 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 75.0 85.0 70.0 70.0 และ 75.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยคือ 75.0 ดังตารางที่ 18 และภาพที่ 14

ตารางที่ 18 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_7

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	15	75.0
20	17	85.0
20	14	70.0
20	14	70.0
20	15	75.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		75.0



ภาพที่ 14 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ในอาหารสูตร NB_7

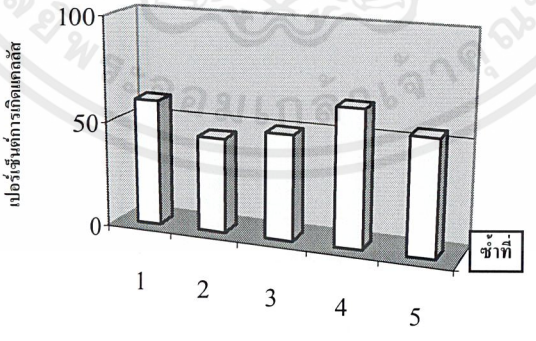
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

1.3.1 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_1 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 60.0 45.0 50.0 65.0 และ 55.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยคือ 55.0 ดังตารางที่ 19 และภาพที่ 15

ตารางที่ 19 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_1

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	12	60.0
20	9	45.0
20	10	50.0
20	13	65.0
20	11	55.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		55.0



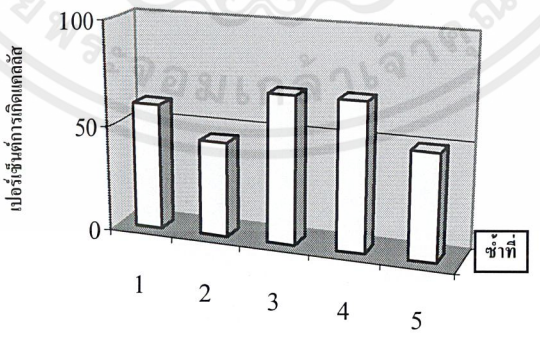
ภาพที่ 15 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.2 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_2 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 60.0 45.0 70.0 70.0 และ 50.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยคือ 59.0 ดังตารางที่ 20 และภาพที่ 16

ตารางที่ 20 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_2

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	12	60.0
20	9	45.0
20	14	70.0
20	14	70.0
20	10	50.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		59.0



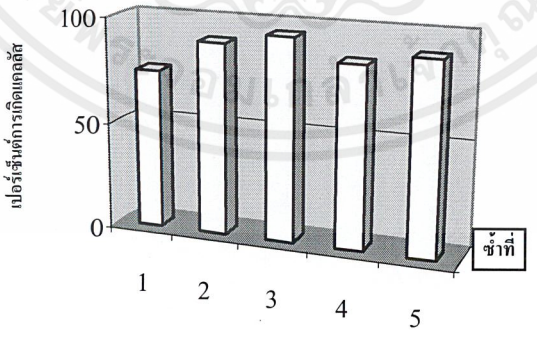
ภาพที่ 16 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.3 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_3 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 75.0 90.0 95.0 85.0 และ 90.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยคือ 87.0 ดังตารางที่ 21 และภาพที่ 17

ตารางที่ 21 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_3

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	15	75.0
20	18	90.0
20	19	95.0
20	17	85.0
20	18	90.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		87.0



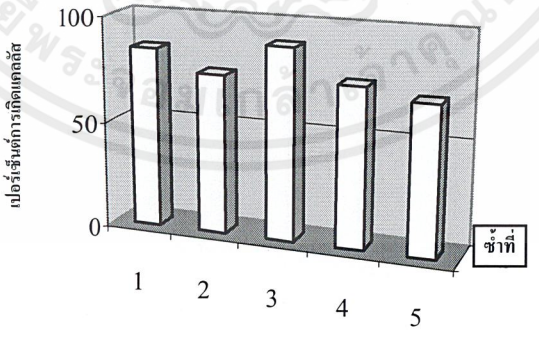
ภาพที่ 17 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.4 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_4 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 85.0 75.0 90.0 75.0 และ 70.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยคือ 79.0 ดังตารางที่ 22 และภาพที่ 18

ตารางที่ 22 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_4

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	17	85.0
20	15	75.0
20	18	90.0
20	15	75.0
20	14	70.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		79.0



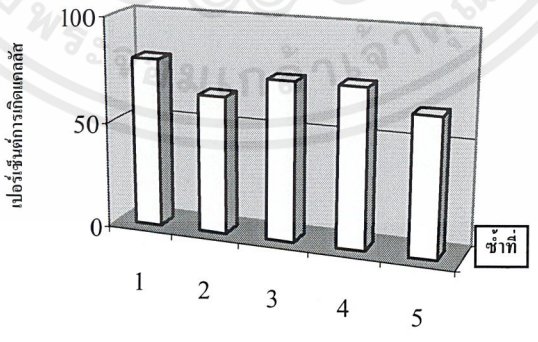
ภาพที่ 18 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.5 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_5 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 80.0 65.0 75.0 75.0 และ 65.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยคือ 72.0 ดังตารางที่ 23 และภาพที่ 19

ตารางที่ 23 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_5

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	16	80.0
20	13	65.0
20	15	75.0
20	15	75.0
20	13	65.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		72.0



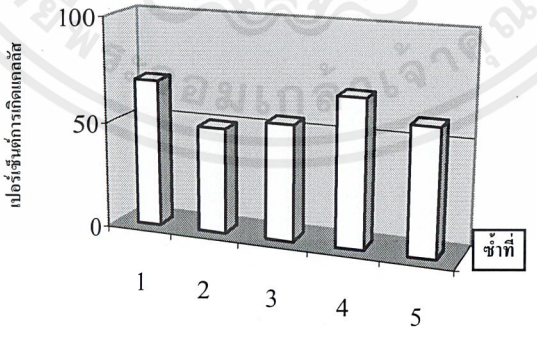
ภาพที่ 19 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.6 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_6 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 70.0 50.0 55.0 70.0 และ 60.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยคือ 61.0 ดังตารางที่ 24 และภาพที่ 20

ตารางที่ 24 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_6

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	14	70.0
20	10	50.0
20	11	55.0
20	14	70.0
20	12	60.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		61.0



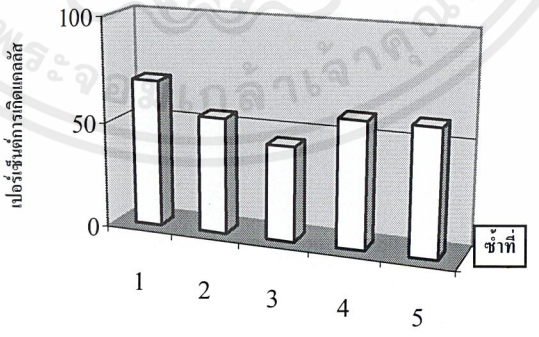
ภาพที่ 20 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.7 จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1ในอาหารที่ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่สมบูรณ์ในอาหารสูตร NB_7 โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 5 ซ้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 70.0 55.0 45.0 60.0 และ 60.0 ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยคือ 58.0 ดังตารางที่ 25 และภาพที่ 21

ตารางที่ 25 แสดงเปอร์เซ็นต์การชักนำเอ็มบริโอแก่ให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_7

จำนวนเอ็มบริโอแก่เริ่มต้น	จำนวนการเกิดแคลลัส	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส
20	14	70.0
20	11	55.0
20	9	45.0
20	12	60.0
20	12	60.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัส		58.0

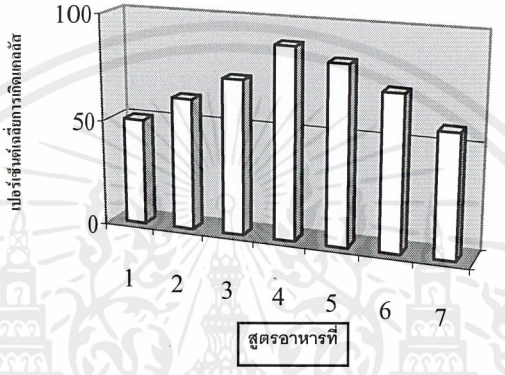


ภาพที่ 21 กราฟแสดงผลการชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในอาหารสูตร NB_7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

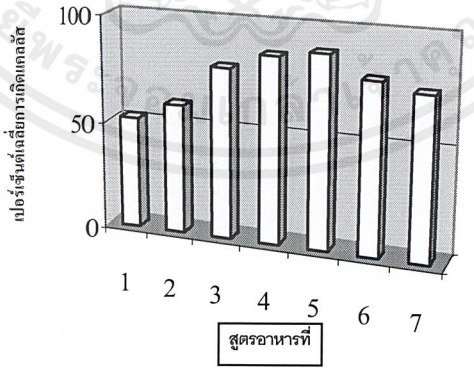
จากผลการทดลองนำเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการเกิดแคลลัสในอาหารแต่ละสูตรของข้าวแต่ละสายพันธุ์มาทำการเขียนกราฟ ผลที่ได้ดังแสดงในภาพที่ 22 23 และ 24

1. ข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1



ภาพที่ 22 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารแต่ละสูตรของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1

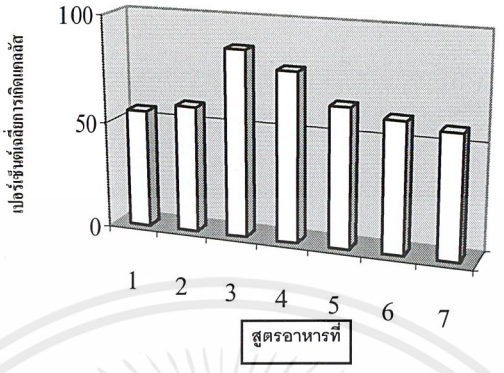
2. ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1



ภาพที่ 23 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารแต่ละสูตรของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1



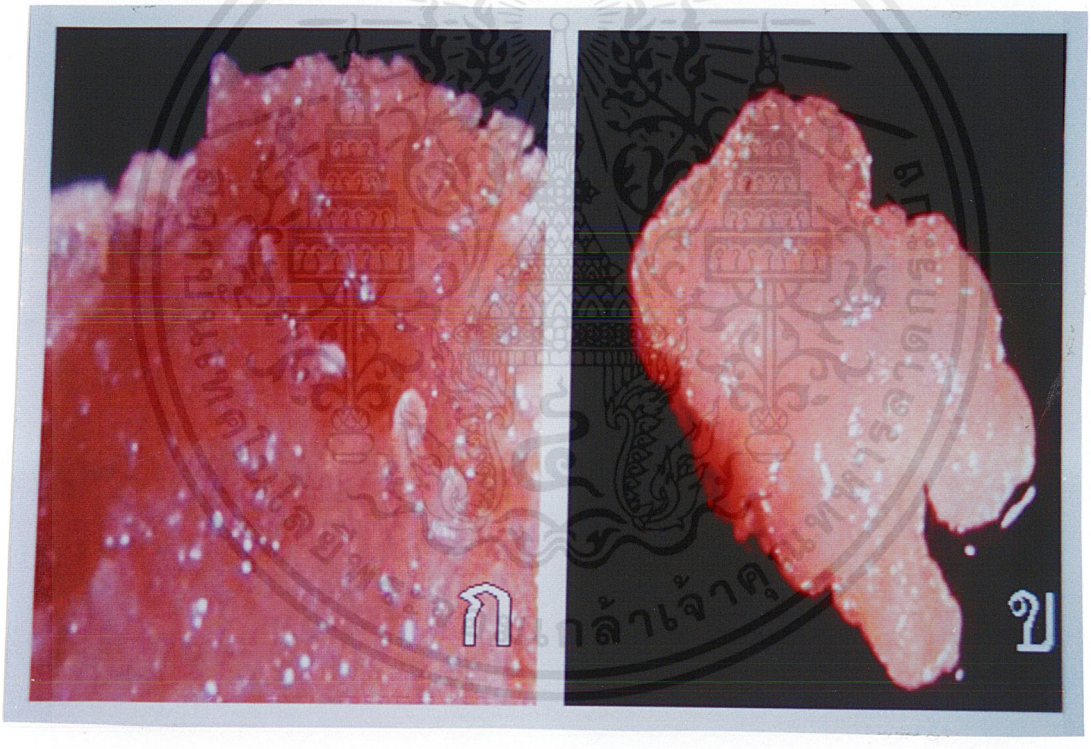
ภาพที่ 24 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารแต่ละสูตรของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การศึกษาประสิทธิภาพของการย้ายยีนโดยใช้เชื้อ *Agrobacterium tumefaciens*

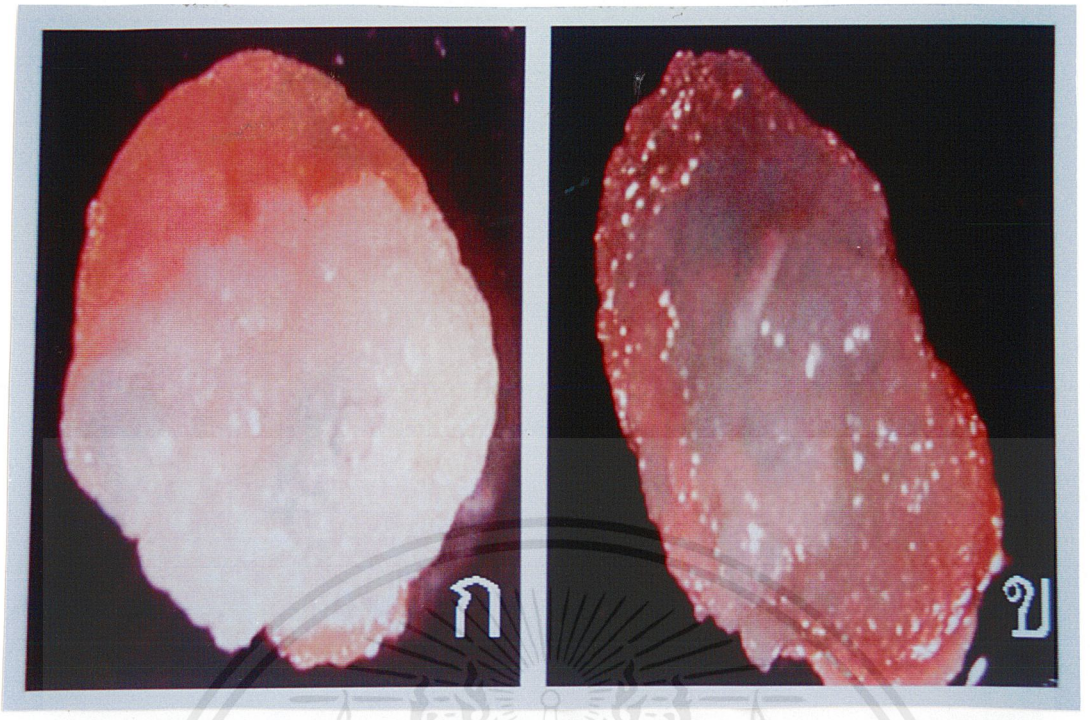
ผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 EHA105 LBA4404 โดยมีความเข้มข้น OD 0.1 และ 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วันในข้าว 3 สายพันธุ์

การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอมีทั้งหมด 6 ระดับ ดังภาพที่ 25 26 และ 27

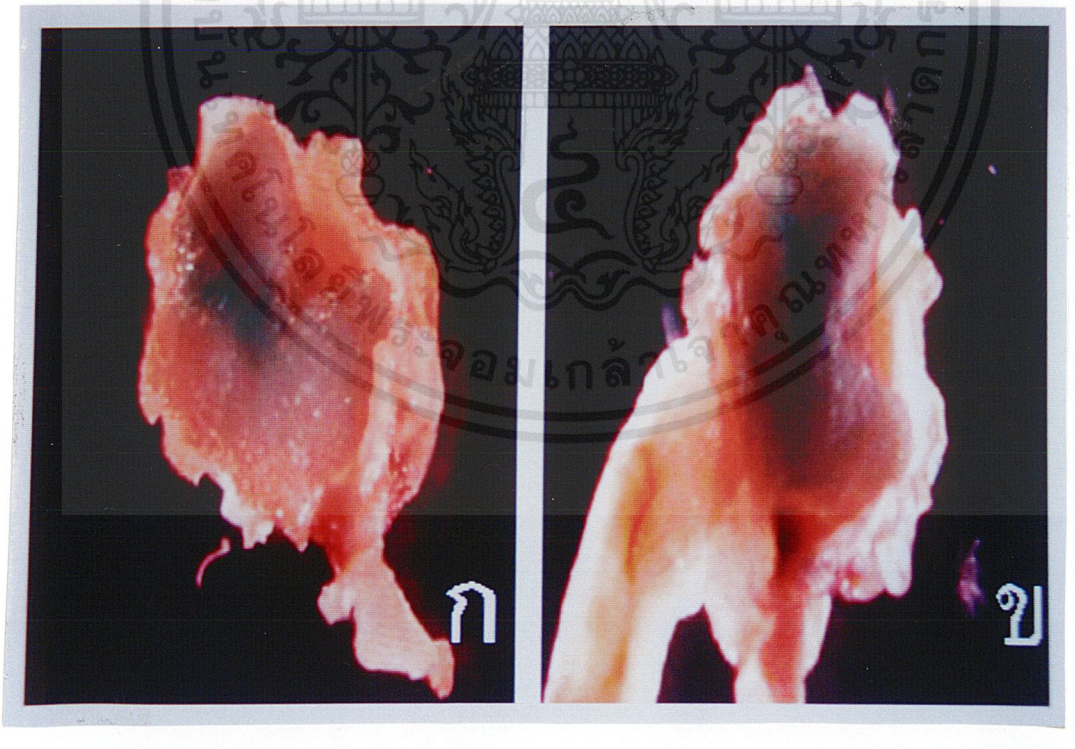


ภาพที่ 25 แสดงประสิทธิภาพในการย้ายยีน ก. ระดับที่ 0 ข. ระดับที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 26 แสดงประสิทธิภาพในการย้ายยีน ก. ระดับที่ 2 ข. ระดับที่ 3



ภาพที่ 27 แสดงประสิทธิภาพในการย้ายยีน ก. ระดับที่ 4 ข. ระดับที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1 ข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1

2.1.1 ผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.1 และ 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วันของข้าวสายพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ดังตารางที่ 26-31 และภาพที่ 28-30

ตารางที่ 26 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	5	0	3	2	0	0	50
		100	3	0	0	3	4	0	70
10	0.1	50	4	0	1	4	1	0	60
		100	2	1	2	4	1	0	80
10	0.1	50	3	0	2	3	2	0	70
		100	2	0	0	3	4	1	80
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									60
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									76.67

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 27 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	6	1	3	0	0	0	40
		100	4	0	2	0	4	0	60
10	0.01	50	4	1	0	5	0	0	60
		100	3	0	3	4	0	0	70
10	0.01	50	6	1	2	1	0	0	40
		100	2	0	1	3	2	2	80
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									46.67
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									70.0

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

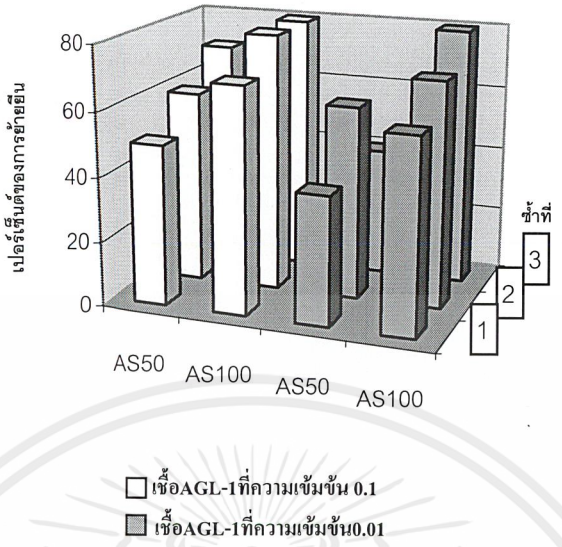
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 28 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1

ตารางที่ 28 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	3	0	4	3	0	0	70
		100	2	0	0	1	3	4	80
10	0.1	50	4	1	3	2	0	0	60
		100	1	1	1	1	3	3	90
10	0.1	50	3	2	1	1	3	0	70
		100	1	2	1	1	1	4	90
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									66.67
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									86.67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 29 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	4	1	3	2	0	0	60
		100	2	1	1	3	3	0	80
10	0.01	50	6	2	1	1	0	0	40
		100	2	3	0	2	3	0	80
10	0.01	50	5	2	0	3	0	0	50
		100	3	1	1	4	1	0	70
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									50
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									76.67

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

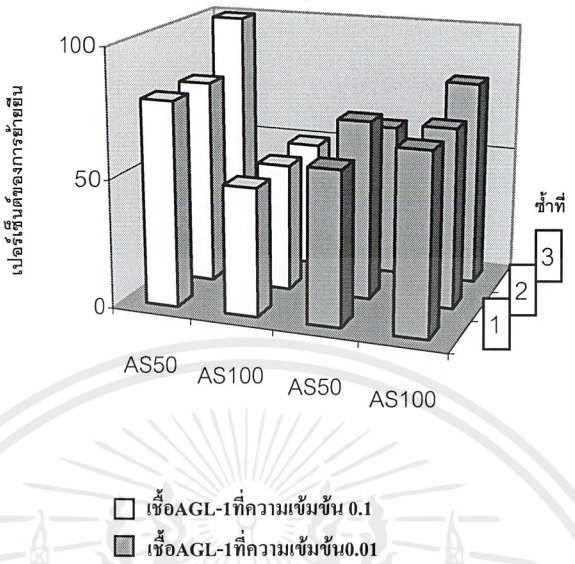
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 29 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1

ตารางที่ 30 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	4	2	1	5	0	0	60
		100	2	1	1	4	1	1	80
10	0.1	50	3	3	2	2	0	0	70
		100	0	1	2	1	2	4	100
10	0.1	50	3	2	4	1	0	0	70
		100	1	1	1	2	1	4	90
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									66.67
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									90.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 31 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	6	1	1	2	0	0	40
		100	3	1	1	1	2	2	70
10	0.01	50	4	2	1	3	0	0	60
		100	1	1	2	2	0	4	90
10	0.01	50	5	2	1	2	0	0	50
		100	2	1	1	2	4	0	80
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									50.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									80.0

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

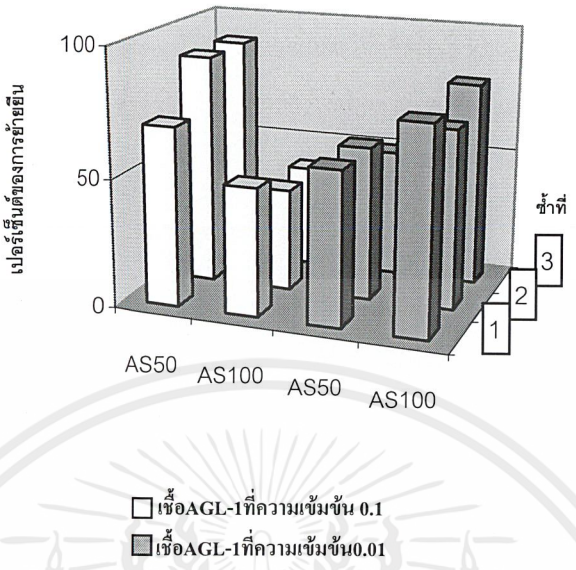
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 30 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 ผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.1 และ 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ดังตารางที่ 32-37 และภาพที่ 31-33

ตารางที่ 32 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	1	0	2	2	3	2	90
		100	2	0	3	2	2	1	80
10	0.1	50	2	0	1	3	3	1	80
		100	1	1	0	3	4	1	90
10	0.1	50	0	2	1	1	3	3	100
		100	1	1	3	4	1	0	90
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									90.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									86.67

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 33 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	4	2	3	1	0	0	60
		100	3	0	1	3	3	0	70
10	0.01	50	5	3	1	1	0	0	50
		100	3	2	2	3	0	0	70
10	0.01	50	4	3	3	0	0	0	60
		100	2	2	1	4	1	0	80
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									56.67
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									73.34

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

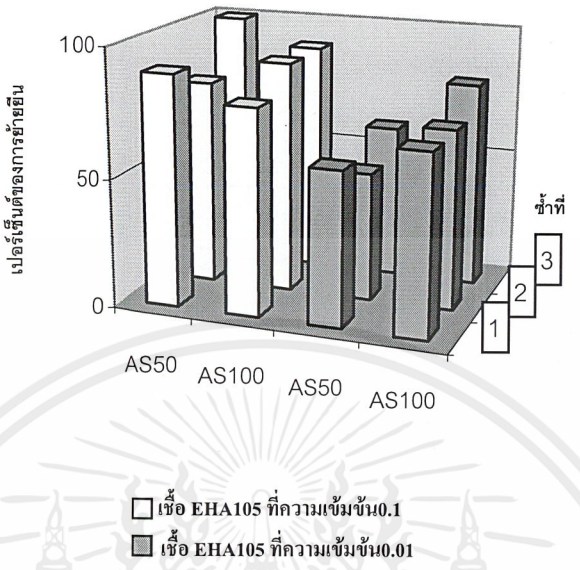
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 31 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105

ตารางที่ 34 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	2	1	0	3	1	4	80
		100	5	2	0	3	0	0	50
10	0.1	50	2	1	1	0	5	1	80
		100	5	2	1	0	2	0	50
10	0.1	50	0	1	2	1	1	5	100
		100	5	1	1	3	0	0	50
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									86.67
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									50.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 35 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	4	3	2	1	0	0	60
		100	3	1	1	4	1	0	70
10	0.01	50	3	4	1	2	0	0	70
		100	3	1	0	5	1	0	70
10	0.01	50	4	3	3	0	0	0	60
		100	2	1	1	0	5	1	80
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									63.34
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									73.34

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

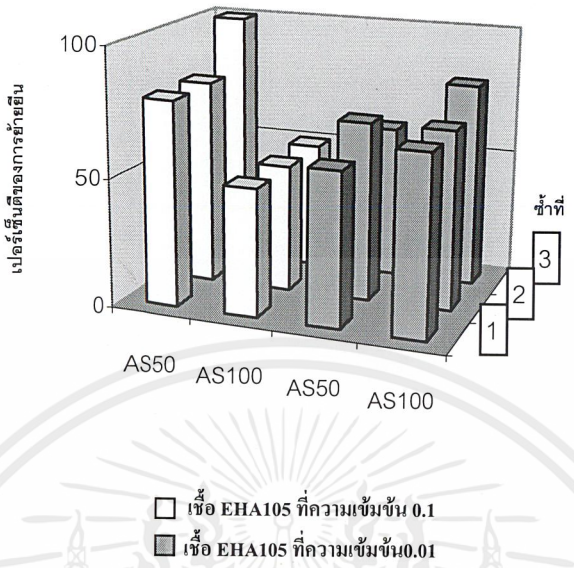
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 32 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105

ตารางที่ 36 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	3	0	0	2	1	4	70
		100	5	0	2	3	0	0	50
10	0.1	50	1	1	0	4	0	4	90
		100	6	0	2	2	0	0	40
10	0.1	50	1	1	1	3	4	0	90
		100	6	1	1	2	0	0	40
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									83.34
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									43.34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 37 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	4	2	3	1	0	0	60
		100	2	1	1	3	3	0	80
10	0.01	50	4	2	1	2	1	0	60
		100	3	1	1	5	0	0	70
10	0.01	50	5	2	1	2	0	0	50
		100	2	0	2	1	1	4	80
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									56.67
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									76.67

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

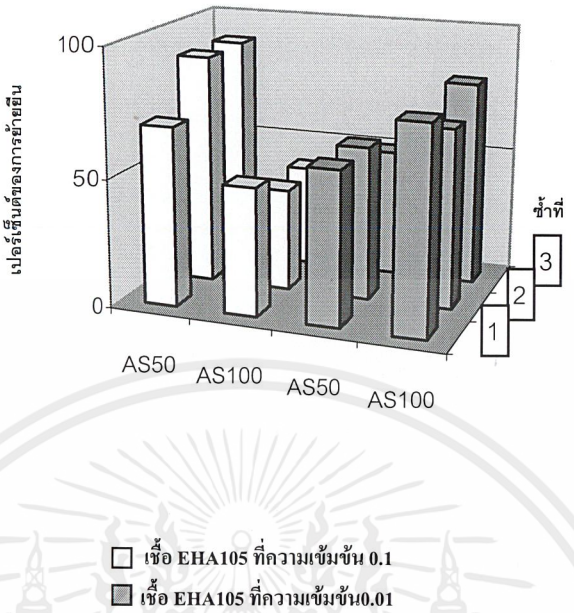
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 33 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 ผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.1 และ 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ดังตารางที่ 38-43 และภาพที่ 34-36

ตารางที่ 38 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	4	0	2	1	3	0	60
		100	4	0	3	2	1	0	60
10	0.1	50	3	1	1	0	1	4	70
		100	5	0	3	1	1	0	50
10	0.1	50	3	1	1	1	2	2	70
		100	4	1	2	1	2	0	60
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									66.67
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									56.67

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 39 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	6	2	1	1	0	0	40
		100	5	2	1	1	1	0	50
10	0.01	50	7	1	2	0	0	0	30
		100	5	2	1	2	0	0	50
10	0.01	50	6	2	1	1	0	0	40
		100	5	1	1	0	3	0	50
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									36.67
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									50.0

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

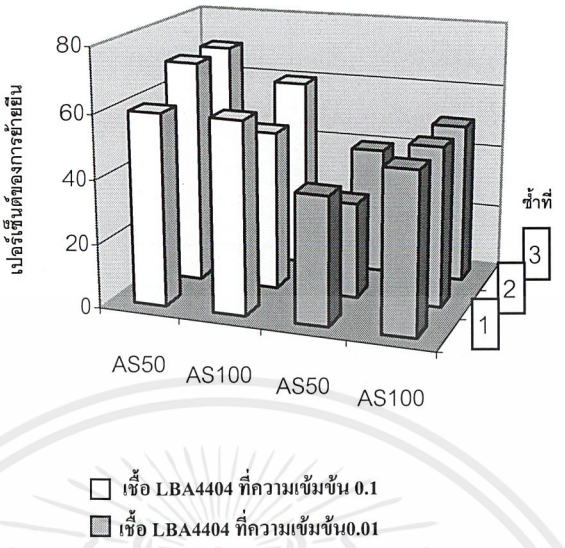
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 34 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404

ตารางที่ 40 แสดผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	2	0	0	1	3	4	80
		100	4	0	2	3	1	0	60
10	0.1	50	2	0	1	0	4	3	80
		100	3	2	0	0	5	0	70
10	0.1	50	2	1	1	1	1	4	80
		100	3	2	0	0	4	1	70
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									80.0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									66.67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 41 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	6	2	2	0	0	0	40
		100	5	1	1	3	0	0	50
10	0.01	50	6	2	1	1	0	0	40
		100	4	2	1	1	2	0	60
10	0.01	50	5	2	3	0	0	0	50
		100	3	2	1	3	1	0	70
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									43.32
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									60.0

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

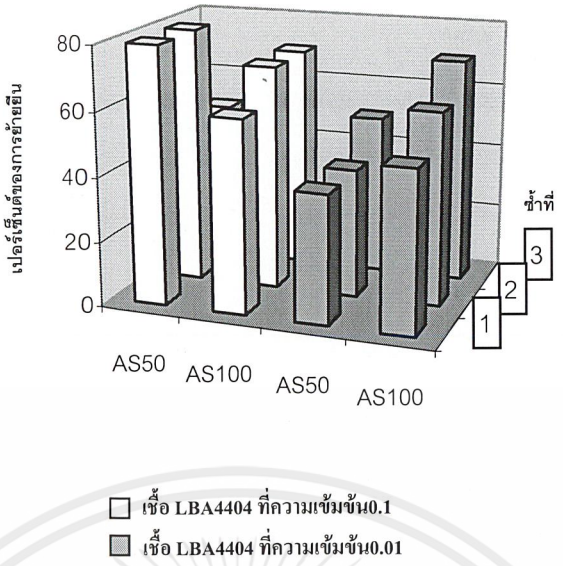
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 35 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404

ตารางที่ 42 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	1	1	0	3	2	3	90
		100	3	2	1	2	2	0	70
10	0.1	50	1	0	1	2	3	3	90
		100	2	2	0	2	4	0	80
10	0.1	50	0	0	3	3	2	2	100
		100	2	1	4	3	0	0	80
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									93.34
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									76.67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 43 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	5	2	1	2	0	0	50
		100	4	1	2	1	2	0	60
10	0.01	50	4	3	2	1	0	0	60
		100	4	1	1	4	0	0	60
10	0.01	50	2	4	2	2	0	0	80
		100	3	1	1	5	0	0	70
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									63.34
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									63.34

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

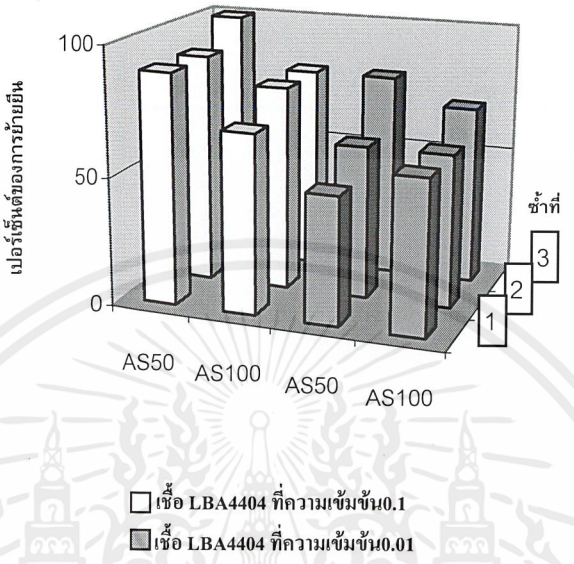
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 36 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วันของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1

2.1.2 ผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.1 และ 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ดังตารางที่ 44-49 และภาพที่ 37-39

ตารางที่ 44 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	5	0	0	5	0	0	50
		100	10	0	0	0	0	0	0
10	0.1	50	4	0	6	0	0	0	60
		100	10	0	0	0	0	0	0
10	0.1	50	5	0	5	0	0	0	50
		100	10	0	0	0	0	0	0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									53.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									0

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 45 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	10	0	0	0	0	0	0
		100	8	2	0	0	0	0	20
10	0.01	50	10	0	0	0	0	0	0
		100	8	2	0	0	0	0	20
10	0.01	50	10	0	0	0	0	0	0
		100	8	1	1	0	0	0	20
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									20

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

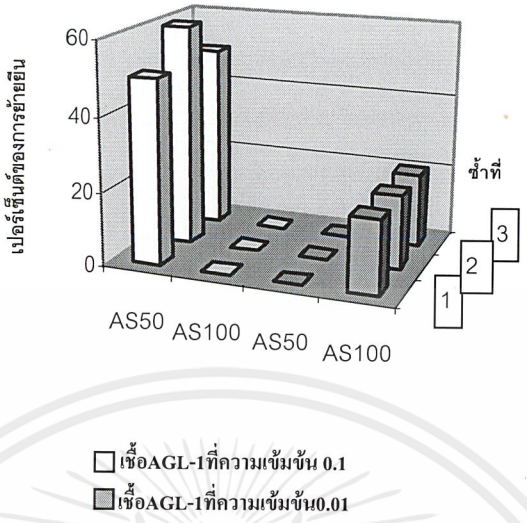
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 37 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1

ตารางที่ 46 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	10	0	0	0	0	0	0
		100	10	0	0	0	0	0	0
10	0.1	50	10	0	0	0	0	0	0
		100	10	0	0	0	0	0	0
10	0.1	50	10	0	0	0	0	0	0
		100	10	0	0	0	0	0	0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 47 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	9	0	1	0	0	0	10
		100	10	0	0	0	0	0	0
10	0.01	50	8	2	0	0	0	0	20
		100	10	0	0	0	0	0	0
10	0.01	50	9	0	1	0	0	0	10
		100	10	0	0	0	0	0	0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									13.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									0

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

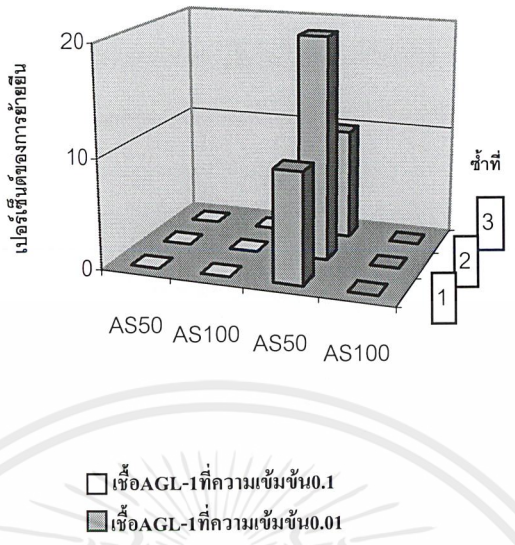
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 38 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1

ตารางที่ 48 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	4	0	1	5	0	0	60
		100	2	0	0	2	6	0	80
10	0.1	50	5	1	3	1	0	0	50
		100	0	1	0	5	4	0	100
10	0.1	50	5	3	2	0	0	0	50
		100	0	0	3	7	0	0	100
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									53.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									93.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 49 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	3	2	0	5	0	0	70
		100	0	0	2	8	0	0	100
10	0.01	50	3	1	4	2	0	0	70
		100	0	1	3	4	2	0	100
10	0.01	50	5	0	5	0	0	0	50
		100	1	0	7	2	0	0	90
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									63.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									96.66

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

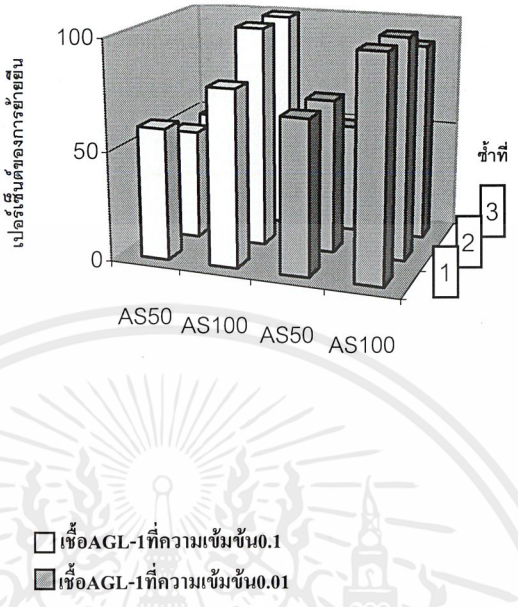
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 39 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 ผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.1 และ 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วันของข้าวพันธุ์ สุพรรณบุรี 1 ดังตารางที่ 50-55 และภาพที่ 40-42

ตารางที่ 50 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	10	0	0	0	0	0	0
		100	10	0	0	0	0	0	0
10	0.1	50	10	0	0	0	0	0	0
		100	10	0	0	0	0	0	0
10	0.1	50	10	0	0	0	0	0	0
		100	9	1	0	0	0	0	10
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									3.33

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 51 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้นOD 0.01และความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ100ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	9	0	1	0	0	0	10
		100	7	0	3	0	0	0	30
10	0.01	50	10	0	0	0	0	0	0
		100	6	2	2	0	0	0	40
10	0.01	50	8	2	0	0	0	0	20
		100	6	4	0	0	0	0	40
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									10
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									36.66

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

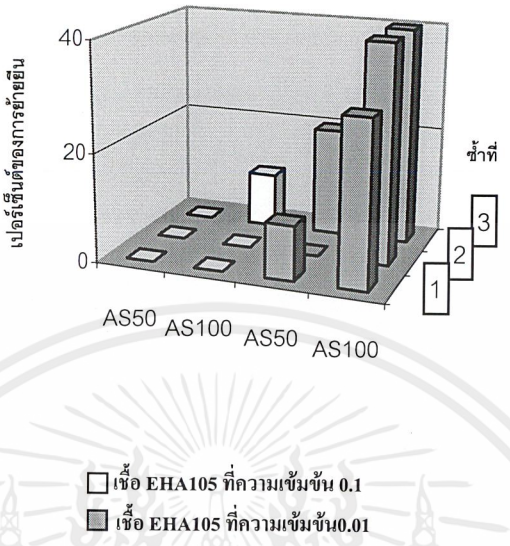
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 40 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105

ตารางที่ 52 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้นOD 0.1 และความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	3	0	0	4	3	0	70
		100	10	0	0	0	0	0	0
10	0.1	50	5	0	5	0	0	0	50
		100	10	0	0	0	0	0	0
10	0.1	50	5	0	5	0	0	0	50
		100	10	0	0	0	0	0	0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									56.66
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 53 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้นOD 0.01และความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน50 และ 100ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	0	0	0	0	10	0	100
		100	0	0	0	0	3	7	100
10	0.01	50	0	0	0	0	8	2	100
		100	0	0	0	0	1	9	100
10	0.01	50	0	0	0	9	1	0	100
		100	0	0	0	0	3	7	100
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									100
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									100

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

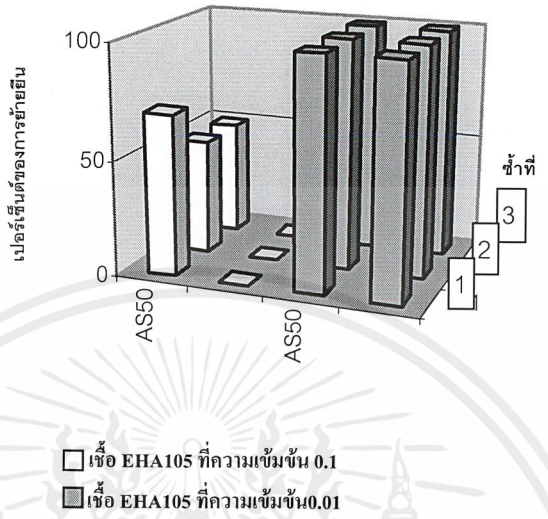
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 41 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105

ตารางที่ 54 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้นOD 0.1 และความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	2	0	3	5	0	0	80
		100	3	0	7	0	0	0	70
10	0.1	50	1	0	9	0	0	0	90
		100	4	0	5	1	0	0	60
10	0.1	50	2	8	0	0	0	0	80
		100	3	0	5	2	0	0	70
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									83.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									66.66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 55 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้นOD 0.01 และความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50และ100ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	2	0	4	2	2	0	80
		100	0	1	4	3	2	0	100
10	0.1	50	0	2	3	4	1	0	100
		100	0	3	4	3	0	0	100
10	0.1	50	2	0	3	2	3	0	80
		100	0	0	3	5	2	0	100
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									86.66
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									100

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

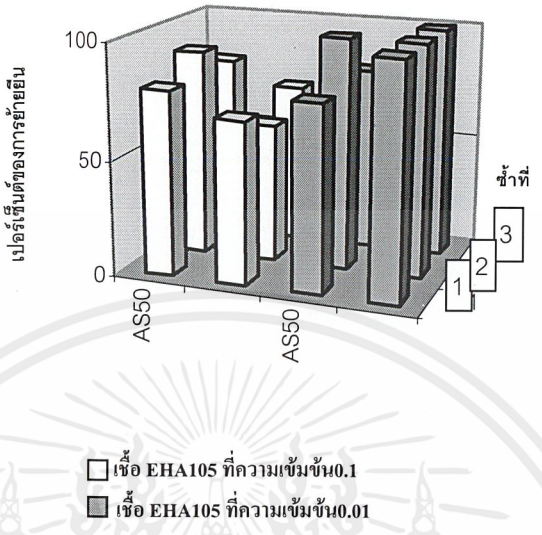
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 42 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 ผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.1 และ 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ดังตารางที่ 56-61 และภาพที่ 43-45

ตารางที่ 56 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	6	1	3	0	0	0	40
		100	7	0	0	3	0	0	30
10	0.1	50	6	0	4	0	0	0	40
		100	7	0	0	3	0	0	30
10	0.1	50	5	5	0	0	0	0	50
		100	7	0	3	0	0	0	30
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									43.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									30

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 57 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้นOD 0.01และความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50และ100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	6	0	0	4	0	0	40
		100	6	0	0	4	0	0	40
10	0.01	50	7	0	1	2	0	0	30
		100	7	0	0	3	0	0	30
10	0.01	50	7	0	3	0	0	0	30
		100	5	1	4	0	0	0	50
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									33.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									40

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

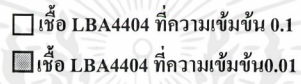
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 43 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA440

ตารางที่ 58 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	10	0	0	0	0	0	0
		100	10	0	0	0	0	0	0
10	0.1	50	9	1	0	0	0	0	10
		100	10	0	0	0	0	0	0
10	0.1	50	10	0	0	0	0	0	0
		100	9	1	0	0	0	0	10
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									3.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									3.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 59 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	10	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	4	3	3	0	100
10	0.1	50	10	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	4	3	3	0	100
10	0.1	50	10	0	0	0	0	0	0
		100	0	1	5	4	0	0	100
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									0
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									100

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

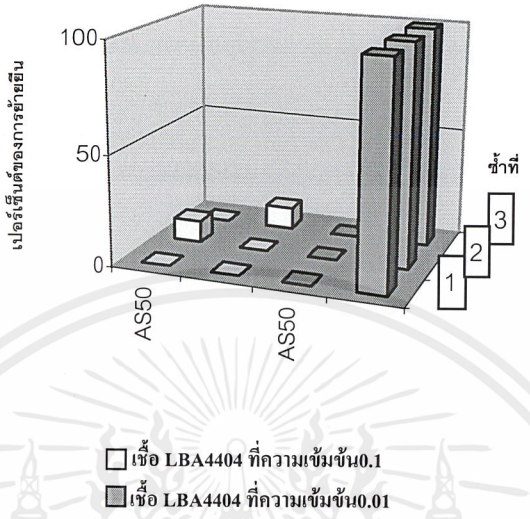
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 44 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404

ตารางที่ 60 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	3	0	1	6	0	0	70
		100	3	0	0	0	7	0	70
10	0.1	50	3	0	1	6	0	0	70
		100	2	1	0	0	7	0	80
10	0.1	50	2	1	7	0	0	0	80
		100	2	8	0	0	0	0	80
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									73.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									76.66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 61 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	6	0	0	4	0	0	40
		100	6	0	0	4	0	0	40
10	0.01	50	6	0	1	3	0	0	40
		100	5	0	5	0	0	0	50
10	0.01	50	7	0	3	0	0	0	30
		100	6	0	0	4	0	0	40
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									36.66
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยชของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									43.33

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

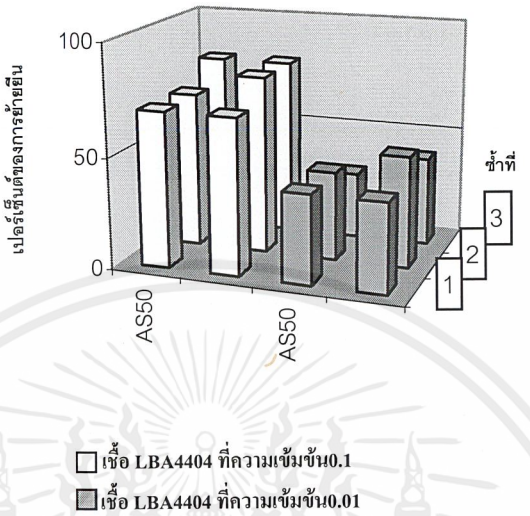
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 45 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

2.3.1 ผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้น OD 0.1 และ 0.01 และความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วันของข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี 1 ดังตารางที่ 62-67 และภาพที่ 46-48

ตารางที่ 62 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ที่ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	5	0	1	2	2	0	50
		100	7	0	1	2	0	0	30
10	0.1	50	4	0	2	4	0	0	60
		100	8	0	1	1	0	0	20
10	0.1	50	4	0	2	2	2	0	60
		100	6	0	1	2	1	0	40
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									56.66
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									26.66

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องสเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 63 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ที่ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	6	0	2	2	0	0	40
		100	7	0	2	1	0	0	30
10	0.01	50	5	0	2	3	0	0	50
		100	7	0	1	2	0	0	30
10	0.01	50	5	0	2	2	1	0	50
		100	6	0	1	3	0	0	40
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									46.66
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									33.33

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องสเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

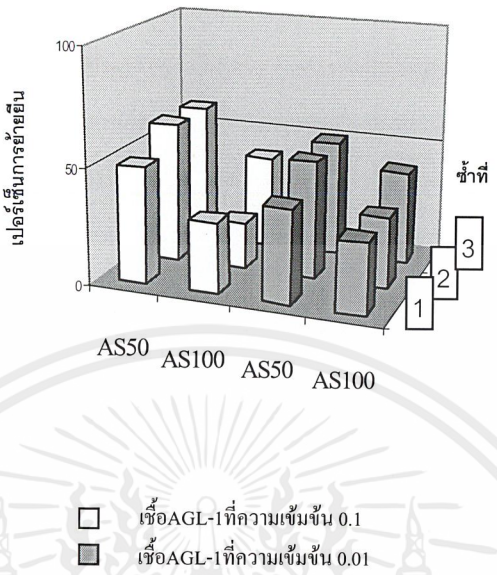
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 46 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1

ตารางที่ 64 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ที่ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	3	0	3	4	0	0	70
		100	6	0	1	1	2	0	40
10	0.1	50	2	0	4	2	2	0	80
		100	7	0	1	2	0	0	30
10	0.1	50	3	0	2	2	3	0	70
		100	6	0	1	3	0	0	40
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									73.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									36.66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 65 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ที่ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	5	0	3	2	0	0	50
		100	7	0	1	2	0	0	30
10	0.01	50	5	0	2	2	1	0	50
		100	6	0	1	3	0	0	40
10	0.01	50	4	0	2	2	2	0	60
		100	6	0	2	2	0	0	40
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									53.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									36.66

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องสเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

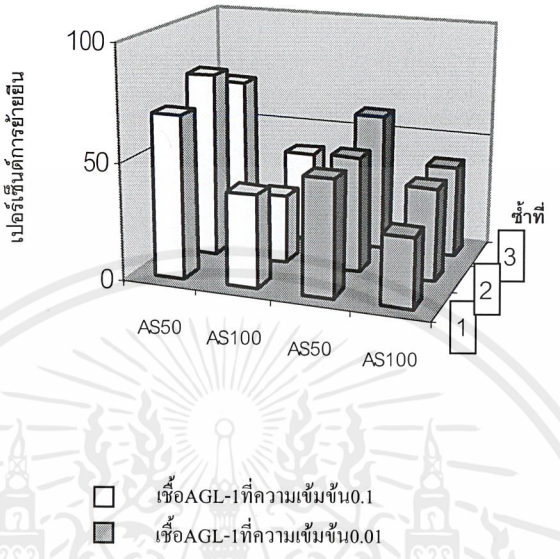
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 47 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1

ตารางที่ 66 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ที่ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	4		1	3	2	0	60
		100	8	0	2	0	0	0	20
10	0.1	50	3	0	2	4	1	0	70
		100	7	0	1	2	0	0	30
10	0.1	50	4	0	2	2	2	0	60
		100	8	0	2	0	0	0	20
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									63.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									23.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 67 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 ที่ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	5	0	3	1	1	0	50
		100	8	0	2	0	0	0	20
10	0.01	50	4	0	2	2	2	0	60
		100	7	0	0	3	0	0	30
10	0.01	50	5	0	3	2	0	0	50
		100	8	0	2	0	0	0	20
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									53.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									23.33

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องสเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

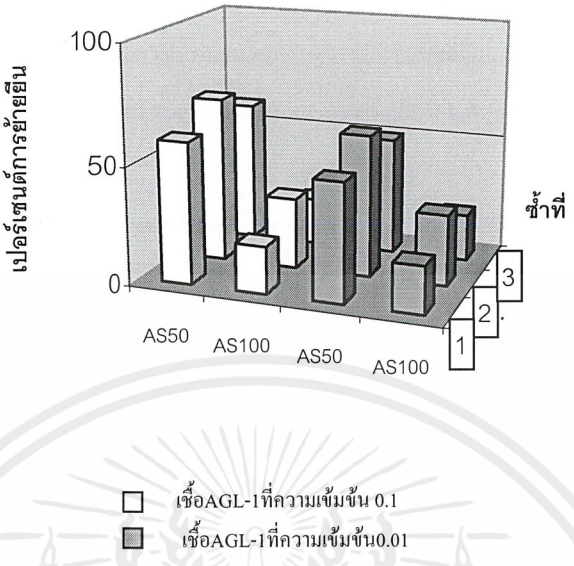
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 48 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 ผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ AGL-1 โดยมีความเข้มข้น OD 0.1 และ 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ดังตารางที่ 68-73 และภาพที่ 49-51

ตารางที่ 68 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ที่ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	4	0	2	3	1	0	60
		100	6	0	1	1	2	0	40
10	0.1	50	3	0	2	2	3	0	70
		100	6	0	2	2	0	0	40
10	0.1	50	4	0	4	2	0	0	60
		100	5	0	1	2	2	0	50
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									63.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									43.33

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องสเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 69 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ที่ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	5	1	2	2	0	0	50
		100	7	0	1	2	0	0	30
10	0.01	50	5	0	3	2	0	0	50
		100	6	0	2	2	0	0	40
10	0.01	50	4	0	2	3	1	0	60
		100	6	0	2	2	0	0	40
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									53.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									36.66

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องสเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

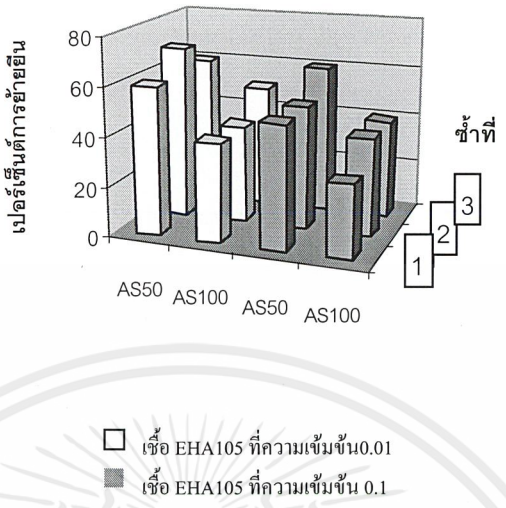
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 49 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105

ตารางที่ 70 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ที่ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	2	0	4	3	1	0	80
		100	4	0	1	2	3	0	60
10	0.1	50	2	0	3	1	4	0	80
		100	4	0	2	2	2	0	60
10	0.1	50	1	0	3	3	3	0	90
		100	3	0	3	3	1	0	70
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									83.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									63.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 71 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ที่ความเข้มข้น OD 0.01ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	2	0	2	3	3	0	80
		100	5	0	2	1	2	0	50
10	0.01	50	2	0	3	2	3	0	80
		100	4	0	2	3	1	0	60
10	0.01	50	3	0	4	2	1	0	70
		100	5	0	2	2	1	0	50
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									76.66
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									53.33

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องสเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

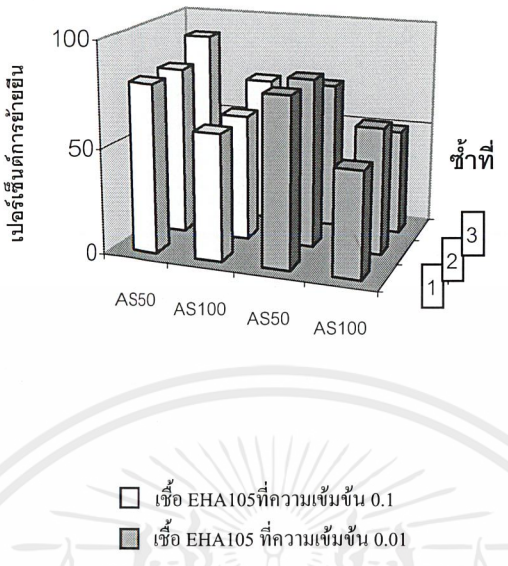
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 50 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วันของข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105

ตารางที่ 72 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ที่ความเข้มข้น OD 0.1ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	4	0	2	2	2	0	60
		100	7	0	1	1	1	0	30
10	0.1	50	3	0	3	2	2	0	70
		100	6	0	2	2	0	0	40
10	0.1	50	3	0	3	2	2	0	70
		100	7	0	2	1	0	0	30
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									66.66
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									33.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 73 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA105 ที่ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	4	0	3	2	1	0	60
		100	7	0	1	2	0	0	30
10	0.01	50	4	0	2	2	2	0	60
		100	8	0	0	2	0	0	20
10	0.01	50	4	0	2	2	2	0	60
		100	7	0	2	1	0	0	30
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									60
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									33.33

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องสเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

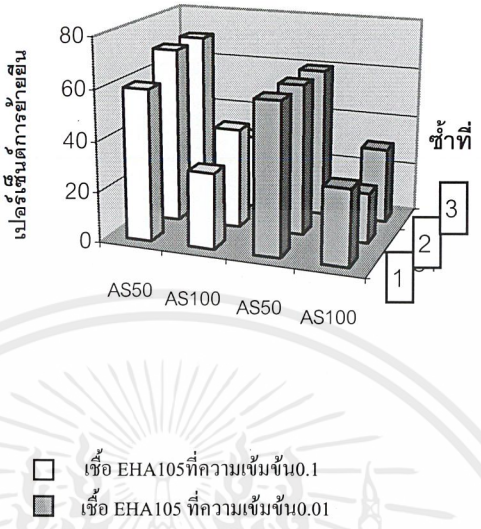
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 51 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 ผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ความเข้มข้น OD 0.1 และ 0.01 และความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ดังตารางที่ 74-79 และภาพที่ 52-54

ตารางที่ 74 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ที่ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	5	0	1	3	1	0	50
		100	8	1	0	1	0	0	20
10	0.1	50	5	0	3	1	1	0	50
		100	8	0	2	0	0	0	20
10	0.1	50	4	0	2	2	2	0	60
		100	7	0	1	2	0	0	30
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									53.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									23.33

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องสเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 75 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ที่ความเข้มข้น OD 0.01ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	6	0	2	1	1	0	40
		100	6	0	1	1	2	0	40
10	0.01	50	7	0	1	2	0	0	30
		100	7	0	1	1	1	0	30
10	0.01	50	6	0	2	2	0	0	40
		100	7	0	1	0	2	0	30
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									36.66
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									33.33

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องสเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

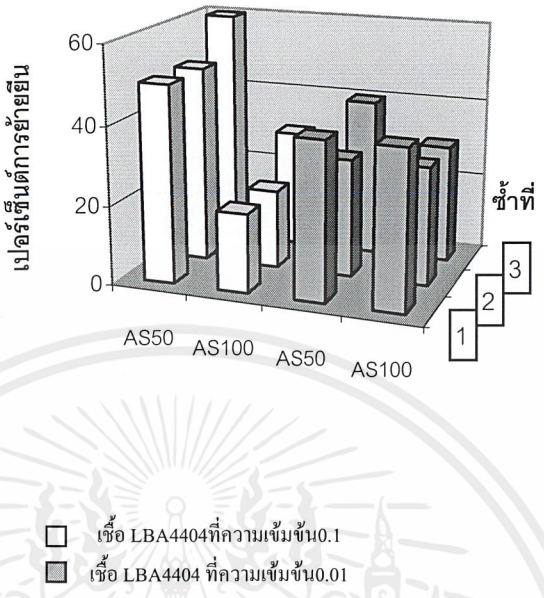
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 52 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404

ตารางที่ 76 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ที่ความเข้มข้น OD 0.1ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	4	0	2	2	2	0	60
		100	6	0	2	2	0	0	40
10	0.1	50	3	0	1	4	2	0	70
		100	7	0	1	1	1	0	30
10	0.1	50	4	0	2	2	2	0	60
		100	7	0	0	3	0	0	30
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									63.33
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									33.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 77 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ที่ความเข้มข้น OD 0.01ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	4	0	2	2	2	0	60
		100	7	0	1	1	1	0	30
10	0.01	50	4	0	2	2	2	0	60
		100	7	0	1	2	0	0	30
10	0.01	50	5	0	1	1	3	0	50
		100	6	0	1	3	0	0	40
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									56.66
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									33.33

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องสเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

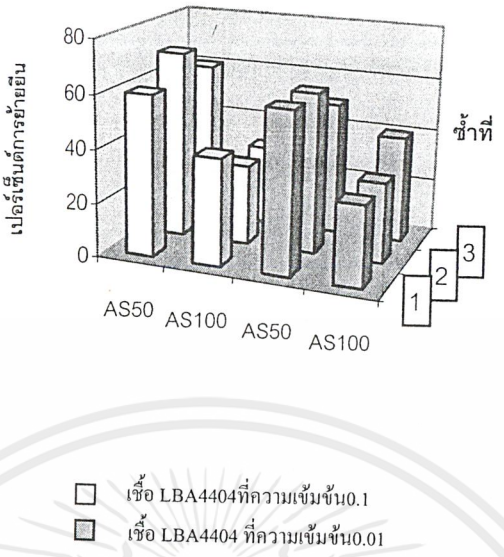
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 53 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 7 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404

ตารางที่ 78 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ที่ความเข้มข้น OD 0.1 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.1	50	5	0	2	3	0	0	50
		100	8	0	2	0	0	0	20
10	0.1	50	4	0	2	2	2	0	60
		100	8	0	2	0	0	0	20
10	0.1	50	4	0	4	2	0	0	60
		100	7	0	2	1	0	0	30
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโตน 50 ไมโครโมลาร์									56.66
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									23.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 79 แสดงผลของความเข้มข้นของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA4404 ที่ความเข้มข้น OD 0.01 ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วัน

จำนวนแคลลัสเริ่มต้น	ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม	ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน	ผลการย้ายยีนโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ						เปอร์เซ็นต์การย้ายยีน
			0	1	2	3	4	5	
10	0.01	50	5	0	3	1	1	0	50
		100	7	0	1	1	1	0	30
10	0.01	50	5	0	1	2	2	0	50
		100	7	0	2	1	0	0	30
10	0.01	50	6	0	2	2	0	0	40
		100	7	0	1	2	0	0	30
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์									46.66
เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนที่ความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์									30

หมายเหตุ : การรายงานผลของการย้ายยีนซึ่งตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอเป็นดังนี้

0 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องสเตอริโอ

1 = ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

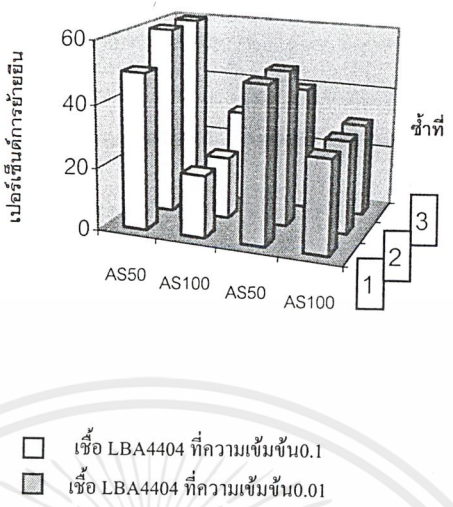
2 = สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

3 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจน

4 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 3

5 = สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ชัดเจนมากกว่าระดับที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

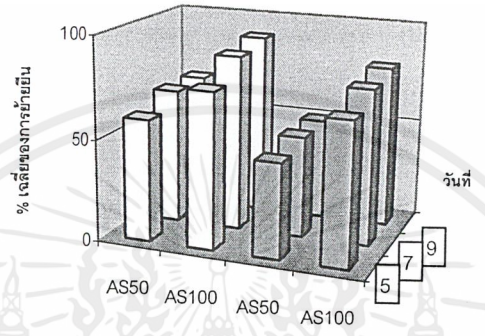


ภาพที่ 54 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การย้ายยีนในแคลลัสอายุ 9 วันของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404

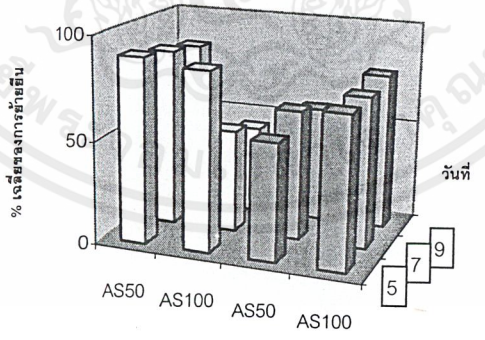
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองนำเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีน โดยใช้ความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม 3 สายพันธุ์ OD 0.1 และ 0.01 อะซิโตไซลิงโกนความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวทั้ง 3 สายพันธุ์มาทำการเขียนกราฟเป็นดังนี้

1. ข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1

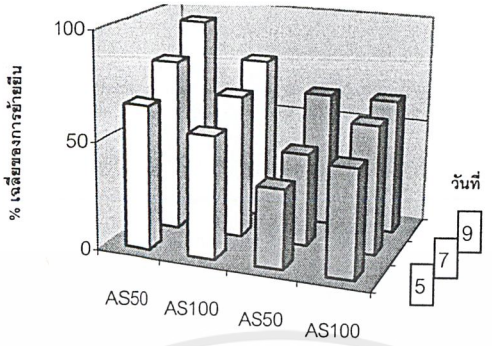


ภาพที่ 55 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1



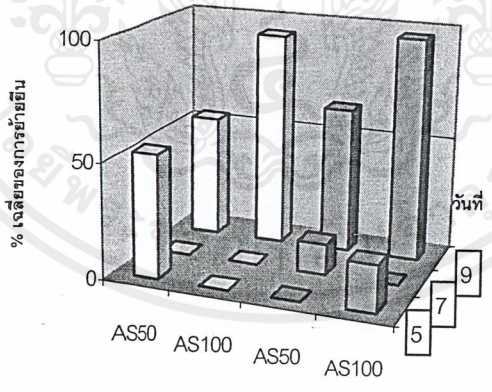
ภาพที่ 56 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



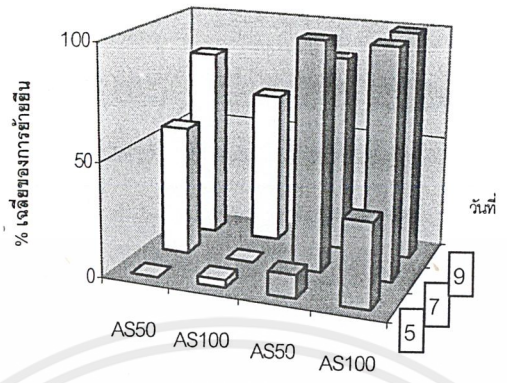
ภาพที่ 57 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404

2. ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1

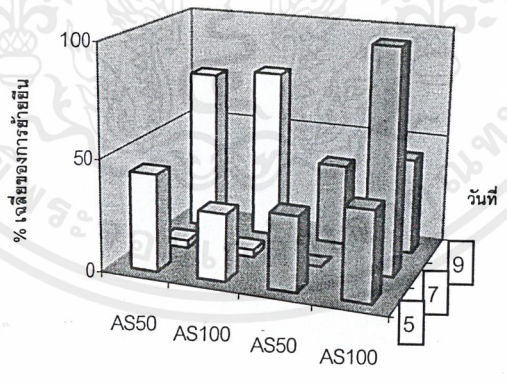


ภาพที่ 58 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



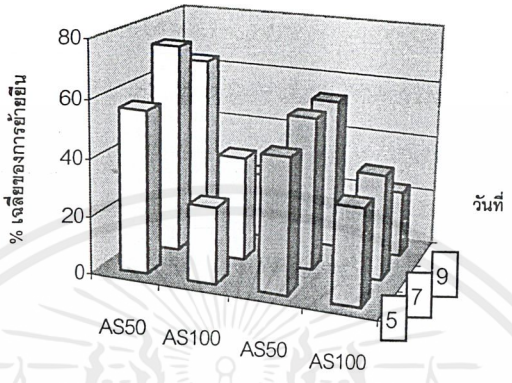
ภาพที่ 59 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105



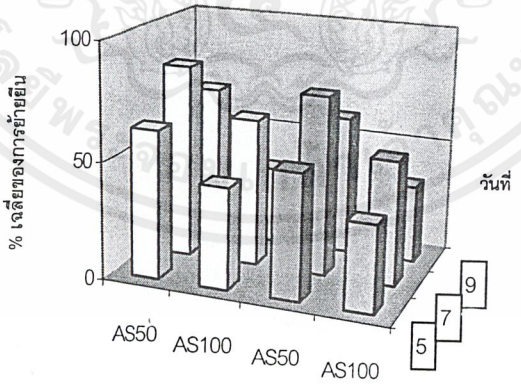
ภาพที่ 60 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

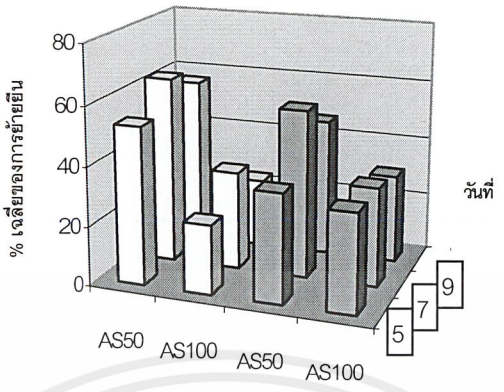


ภาพที่ 61 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1



ภาพที่ 62 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105

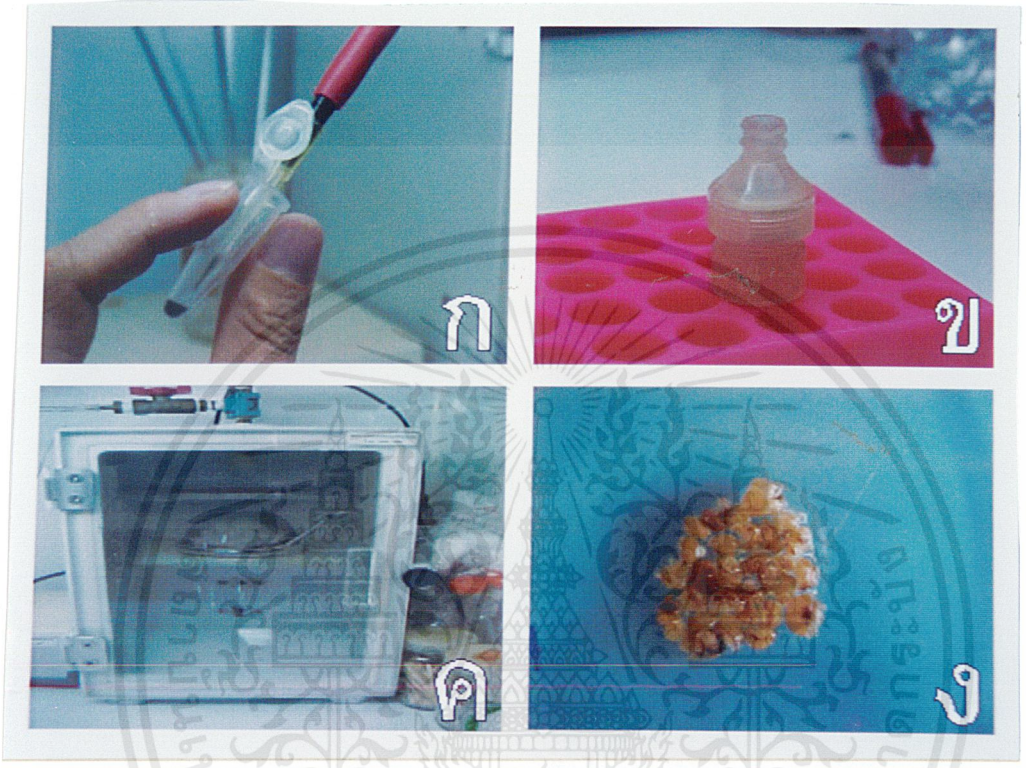
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 63 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการย้ายยีนในแคลลัสอายุ 5 7 และ 9 วัน ของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เชื้ออโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ LBA4404

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การศึกษาประสิทธิภาพของการย้ายยีนโดยใช้เครื่องยิงยีน (Particle bombardment)



ภาพที่ 64 แสดงขั้นตอนการย้ายยีนโดยใช้เครื่องยิงยีน (Particle bombardment)

ก. การเตรียม DNA-coated microcarrier

ข. กระบอกยิงยีน

ค. เครื่องยิงยีน

ง. แคลลัสที่ผ่านการยิงยีนแล้ว

เนื่องจากประสบปัญหามากมายในการย้ายยีนโดยใช้เครื่องยิงยีน เช่น แคลลัสที่ผ่านการยิงยีนแล้วเกิดการปนเปื้อน เพราะผู้ปฏิบัติมีความชำนาญไม่มากพอ จึงทำให้ผลการทดลองที่ได้มีจำนวนไม่มากพอที่จะนำมารายงานผลได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

1. การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำเอ็มบริโอแก่ของข้าวให้กลายเป็นแคลลัส

ในการทดลองการชักนำเอ็มบริโอแก่ของข้าวในอาหารแข็งสูตร NB ซึ่งประกอบด้วย 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เคซีนไฮโดรไลเสท 0.2 กรัมต่อลิตร แอล-โพรลีน 1.0 กรัมต่อลิตร ไฟทาเจล 2.6 กรัมต่อลิตร ซูโครส 30.0 กรัมต่อลิตร ที่มีความเข้มข้นของฮอร์โมน NAA แตกต่างกัน 7 ค่า คือ 0.1 0.25 0.5 0.75 1.0 1.25 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอาหารแข็งสูตร NB_3 ที่มีฮอร์โมน NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมกับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 อาหารแข็งสูตร NB_4 ที่มีฮอร์โมน NAA 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมกับข้าวเจ้าหอมคลองหลวง 1 และอาหารแข็งสูตร NB_5 ที่มีฮอร์โมน NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมกับข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 โดยสูตรอาหารทั้ง 3 สูตรนั้นมีประสิทธิภาพในการชักนำเอ็มบริโอแก่ของข้าวให้เกิดเป็นแคลลัสได้ดี

2. การหาปัจจัยที่เหมาะสมของเชื้ออโกรแบคทีเรียมสำหรับการย้ายยีน

ในการทดลองหาปัจจัยที่เหมาะสมของเชื้ออโกรแบคทีเรียมทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ AGL-1 EHA105 และ LBA4404 ที่ใช้ในการย้ายยีนของข้าว 3 พันธุ์ คือ ข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 และข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยการศึกษา 3 ปัจจัยด้วยกัน คือ อายุของแคลลัส ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน และความเข้มข้นของเชื้อ อโกรแบคทีเรียม พบว่าปัจจัยทั้งสามมีผลแตกต่างกันในข้าวแต่ละสายพันธุ์ ดังนี้

ข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ในอาหาร NB ให้ได้อายุแคลลัส 5 7 และ 9 วัน โดยใช้อโกรแบคทีเรียม 3 สายพันธุ์ ที่ความเข้มข้น OD 0.1 และ 0.01 และความเข้มข้นอะซีโตไซลิงโกน 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ พบว่าอายุแคลลัส 9 วัน ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์ อโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1 ความเข้มข้นของเชื้อ OD ที่ 0.1 มีประสิทธิภาพการย้ายยีนโดยการใช้ อโกรแบคทีเรียมได้ดีที่สุด

ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 อายุแคลลัส 7 วัน ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์ อโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้นของเชื้อ OD ที่ 0.01 มีประสิทธิภาพการย้ายยีนโดยการใช้ อโกรแบคทีเรียมได้ดีที่สุด

ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 อายุแคลลัส 7 วัน ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์ อโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105 ความเข้มข้นของเชื้อ OD ที่ 0.1 มีประสิทธิภาพการย้ายยีนโดยการใช้ อโกรแบคทีเรียมได้ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การตรวจสอบการแสดงออกของยีน หลังจากการย้ายยีนเข้าสู่เซลล์ข้าว

การตรวจสอบการแสดงออกของยีน หลังจากการย้ายยีนเข้าสู่เซลล์ข้าว ทำได้โดยการทดสอบกัสและสังเกตุการเกิดสีน้ำเงินของแคลลัสโดยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่เกิดสีน้ำเงิน ดังนี้

ข้าวพันธุ์เจ้าหอมคลองหลวง 1 ที่เพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ในอาหาร NB ได้อายุแคลลัส 9วัน ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์ อโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ AGL-1 และความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม 0.1 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการย้ายยีน โดยมีเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่เกิดสีน้ำเงินเฉลี่ย 90 เปอร์เซ็นต์

ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ที่เพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ในอาหาร NB ได้อายุแคลลัส 9 วัน ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 100 ไมโครโมลาร์ อโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105และความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม 0.01 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการย้ายยีน โดยมีเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่เกิดสีน้ำเงินเฉลี่ย 100 เปอร์เซ็นต์

ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่เพาะเลี้ยงเอ็มบริโอแก่ในอาหาร NB ได้อายุแคลลัส 7 วัน ความเข้มข้นของอะซีโตไซลิงโกน 50 ไมโครโมลาร์ อโกรแบคทีเรียมสายพันธุ์ EHA105 และความเข้มข้นของเชื้ออโกรแบคทีเรียม 0.1 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการย้ายยีน โดยมีเปอร์เซ็นต์แคลลัสที่เกิดสีน้ำเงินเฉลี่ย 80 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

สงกรานต์ จิตตรากร. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีกับข้าวไทย, ฝ่ายนิเทศสัมพันธ์สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. กรุงเทพฯ (2544):13.

อภิชาติ วรรณวิจิตร, สมวงษ์ ตระกูลรุ่ง และ ธีรยุทธ ตู้จินดา. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีกับข้าวไทย, ฝ่ายนิเทศสัมพันธ์สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. กรุงเทพฯ (2544):80-121.

Chan, MT., L. Tsu-Min and Hsin-Hsiung, C. Transformation of indica rice (*Oryza sativa* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. Plant Cell Physiol. 33 (1992) : 577-583.

Chiton, M.D., T.C. Currier, S.K. Farrand, A.J. Bendich, M.P. Gordon and Nester, E.W. 1974. *Agrobacterium tumefaciens* DNA and PS8 bacteriophage DNA not detected in crown gall tumors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 71 : 3672-3676.

Christou, P., L.F. Tmeria and Kofron, M. Production of transgenic rice *Oryza sativa* plant from agronomically important indica and japonica varieties via electric discharge particle acceleration of exogenous DNA into immature zygotic embryos. Bio/Technology.9(1993):957-962.

Fraley, R.T., S.G. Rogers and Horsch, R.B. 1986. Genetics transformation in higher plants. CRC Crit Rev. Plant Sci. 4 : 1-46.

Hiei, Y., T. Komari and Kubo, T. (1997). Transformation of rice mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. Plant Mol Biol 35 : 205-218.

Horsch, R.B., J.E. Fry, N. Hoffmann, M. Wallroth, D. Eichholtz, S.G. Rogers and Fraley, R.T. (1985) Transferring genes into plants. Science, 227, 1229-1231.

Raineri, D.M., P. Bottino , M.P. Gordon and Nester, W. *Agrobacterium*-mediated transformation of rice *(Oryza sativa* L.).Bio/Technology. 8(1990) : 33-38.

Sandford, J.C., (1988) The biolistic process. Trends biotech. 6, 299-302.

Svab, Z., P. Hajdukiewicz and Maliga, P. (1990) Stable transformation of plastids in higher plants. Proc. Natl Acad. Sci. USA, 87, 8526-8530.

Takashi, H. Optimizing the particle bombardment method for Efficient Genetic Transformation. Department of Biotechnology. 32 (4). (1998) : 239-247.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Toriyama, K., Y. Arimoto, H.U. chimiya and Hinatn, K. Transgenic rice plants after direct gene transfer into protoplasts. Bio/Technology.6(1988):1072-1074.

Vasil, V., S.M. Brown, D. Re, M.E. Fromm and Vasil, I.K. (1991) Stably transformed callus lines from microprojectile bombardment of cell suspension cultures of wheat. Bio/Tech. 9, 743-747.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

วิธีทดสอบกัส (GUS Assay)

การตรวจสอบการแสดงออกของยีนกัสในเซลล์ข้าว ทำโดยนำแคลลัสของข้าวมาแช่ในสารละลายเอ็กซ์กลักนำไปไว้ในระบบสูญญากาศเป็นเวลา 1-2 นาที จึงนำไปบ่มไว้เป็นเวลา 1 คืน ที่อุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเนื้อเยื่อของข้าวที่ผ่านการบ่มแล้วไปแช่ในเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เพื่อกำจัดคลอโรฟิลล์ออกไปจึงบันทึกผลโดยบันทึกจำนวนแคลลัสที่เปลี่ยนเป็นสีฟ้า

สารละลาย GUS-buffer ประกอบด้วย

phosphate buffe	50	มิลลิโมลาร์
X-gluc (5-bromo-4-chloro-indolyl-β-D-glucuronide)	1	มิลลิกรัมต่อลิตร
Triton X-100	0.5	เปอร์เซ็นต์
methanol	20	เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงสูตรอาหารแข็ง NB

stock solution	สารเคมี	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)
สารละลาย D	KNO_3	2830
	$(NH_4)_2SO_4$	463
สารละลาย E	$CaCl_2.7H_2O$	166
สารละลาย F	$MgSO_4.7H_2O$	185
	KH_2PO	460
B5 micronutrients	KI	0.75
	H_3BO_3	3
	$CoCl_2.6H_2O$	0.025
	$MnSO_4.7H_2O$	10
	$ZnSO_4.7H$ O	2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

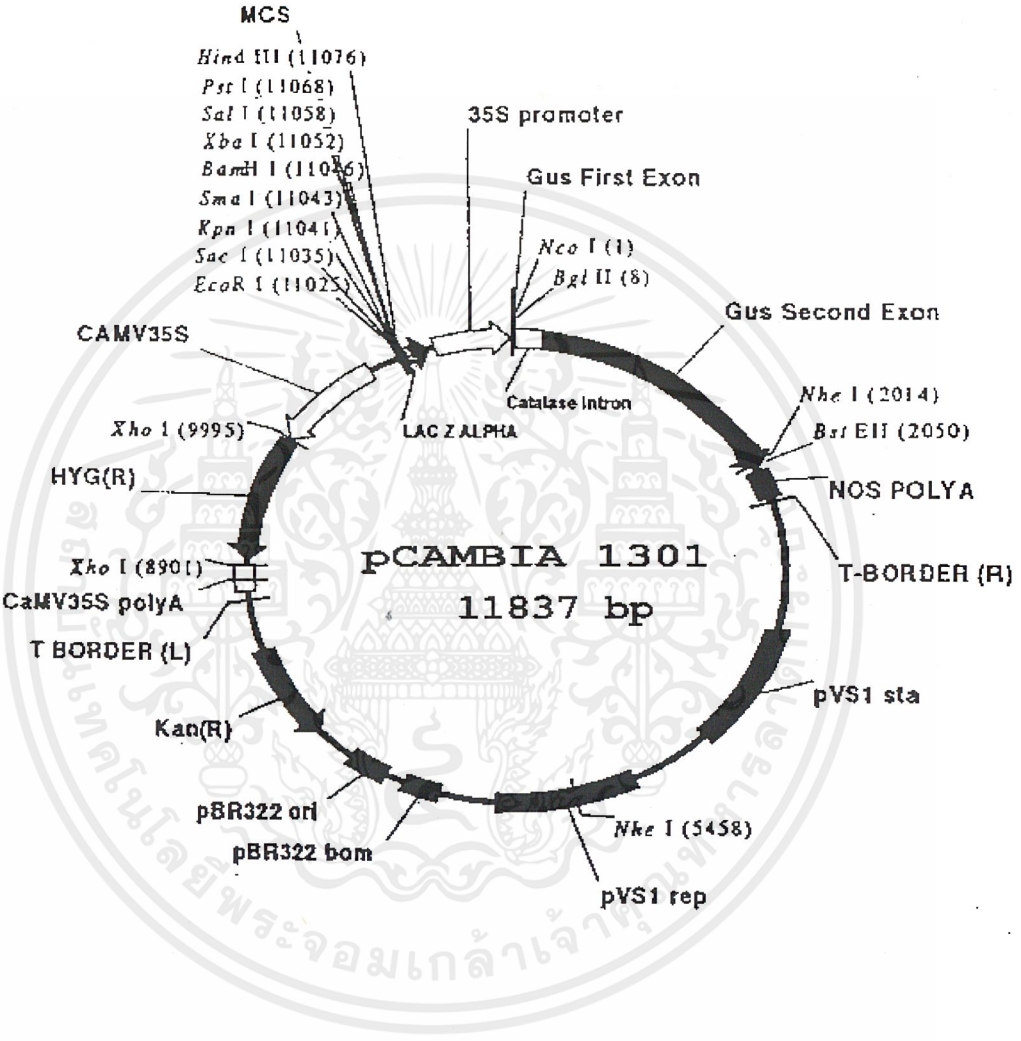
stock solution	สารเคมี	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)
	$Na_2Mo_4 .7H_2O$	0.25
	$CuSO_4 .5H_2O$	0.025
FeEDTA	$FeSO_4 .7H_2 O$	27.8
	$Na_2EDTA .2H_2O$	37.8
B5 Vitamins	Inositol	100
	Nicotinic acid	1
	Pyridoxine HCl	1
	Thiamine HCl	10
	Casein hydrolysate	100
	L-proline	1000
	Sucrose	30 กรัมต่อลิตร
	Phytagel	2.6 กรัมต่อลิตร
	PH	5.8

ตารางภาคผนวกที่ 2 อาหารเหลว LB (LURIA-BERTANI) DEHYDRATED

Bacto Tryptone	10	กรัม
Bacto Yeast Extract	5	กรัม
Sodium Chloride	10	กรัม

Final pH 7.0 $\pm$ 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปแสดงลักษณะโครงสร้างพลาสมิดของแบคทีเรีย *Agrobacterium* (Ti plasmid)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้