บทที่ 4

ผลการทดลอง

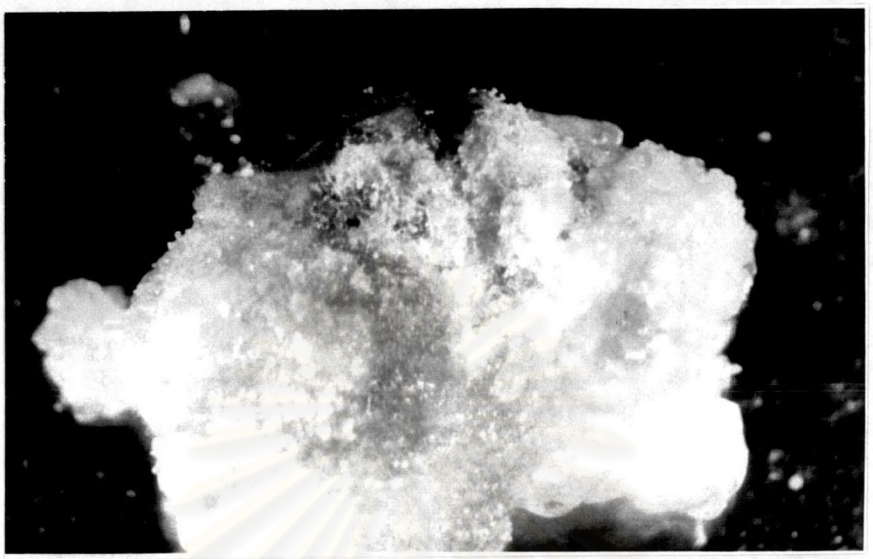
1.การศึกษาแคลลัสที่จะนำมาใช้เป็น Feeder cells

1.1. ผลของการเพาะเลี้ยงแคลลัสของยาสูบและพิทูเนีย

จากการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแผ่นใบยาสูบบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l และเนื้อเยื่อแผ่นใบพิทูเนียนำไปในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 mg/l นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน พบว่า สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสขึ้นได้ทั้งในยาสูบและพิทูเนีย จากการศึกษาพบว่า ใบยาสูบสร้างแคลลัสที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่มีลักษณะแตกต่างกัน คือ มีทั้งแคลลัสที่มีลักษณะเซลล์ละเอียดเกาะกันแน่น แยกจากกันได้ยาก ที่เรียกว่า คอมแพคแคลลัส (compact callus) มีทั้งสีเขียวและสีขาวและแคลลัสที่ประกอบด้วยเซลล์ที่อยู่แบบหลวมๆหลุดแยกจากกันได้ง่าย ที่เรียกว่า ฟรายเอเบิลแคลลัส(Friable callus) ซึ่งมีทั้งเซลล์ค่อนข้างใสและเซลล์ที่ค่อนข้างเขียว (รูปที่ 3)

จากการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแผ่นใบพิทูเนียในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 mg/l พบว่า แคลลัสของพิทูเนียมีเพียงลักษณะเดียว คือ ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่ประกอบด้วยเซลล์ขนาดเล็กเกาะกันอยู่หลวมแยกจากกันได้ง่าย มีสีเหลืองอมเขียว (รูปที่ 4)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3 แคลลัสของยาสูบที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแผ่นใบบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l

รูปที่ 4 แคลลัสของพิทูเนียที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแผ่นใบบนอาหารกึ่งแข็ง สูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 mg/l

1.2 **ผลการศึกษาความสามารถในการ** regenerate **ของแคลลัสชนิดต่างๆบน** feeder medium

เมื่อนำแคลลัสยาสูบทั้งที่เป็นคอมแพคแคลลัส และฟรายเอเบิลแคลลัส ไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร KDMS ซึ่งใช้เป็น feeder medium และสังเกตลักษณะการเจริญของแคลลัส และการเกิดเป็นยอด พบว่า คอมแพคแคลลัสของยาสูบจะสามารถเจริญเพิ่มปริมาณทั้งแคลลัสสีเขียว และสีขาวได้เป็นอย่างดี และสามารถเจริญเป็นยอดจำนวนมากได้ (รูปที่ 5)

ส่วนฟรายเอเบิลแคลลัสของยาสูบที่มีสีค่อนข้างใสนั้น จะมีการเจริญเติบโตอย่างช้าๆ และจะกลายเป็นแคลลัสสีเหลืองน้ำตาลซึ่งจะตายไปในที่สุด และไม่สามารถชักนำให้เกิดเป็นยอดได้ นอกจากนี้กลุ่มเซลล์สีค่อนข้างเขียวที่เกาะกันค่อนข้างหลวม อยู่บริเวณรอยต่อระหว่างคอมแพคแคลลัสกับฟรายเอเบิลแคลลัสก็สามารถเจริญเป็นยอดได้ในอาหาร KDMS (รูปที่ 6)

ส่วนของแคลลัสพิทูเนียที่นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร medium B พบว่า แคลลัสของพิทูเนียจะสามารถเจริญเพิ่มปริมาณเป็นแคลลัสสีเขียวและสามารถชักนำให้เกิดยอดได้เช่นกัน (รูปที่7)

รูปที่ 5 คอมแพคแคลลัสสีเขียวและสีขาวของยาสูบสามารถเจริญและเกิดเป็นต้นได้ บนอาหารกึ่งแข็งสูตร KDMS

รูปที่ 6 ลักษณะแคลลัสและการเกิดต้นของฟรายเอเบิลแคลลัสของยาสูบที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร KDMS

รูปที่ 7 ลักษณะแคลลัสและการเกิดต้นของแคลลัสพิทูเนียเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร medium B

I21041659

1.3 ผลการศึกษาการเตรียมเซลล์แขวนลอยของยาสูบและพิทูเนีย

ผลของการศึกษาการเตรียมเซลล์แขวนลอยของยาสูบ

จากการทดลองนำเอาคอมแพคแคลลัสของยาสูบที่มีสีเขียว และสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ มาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยทั้ง 3 วิธี พบว่าเซลล์แขวนลอยที่ได้ประกอบด้วย เซลล์เดี่ยวและกลุ่มเซลล์ในสัดส่วนต่างๆกัน มีขนาดและรูปร่างหลายแบบ ดังนี้

เมื่อนำคอมแพคแคลลัสมาเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l จะได้เซลล์แขวนลอยที่ประกอบด้วยเซลล์และกลุ่มเซลล์ขนาดเล็ก มีรูปร่างค่อนข้างกลม ลักษณะละเอียด สีเขียวอ่อน สามารถใช้ปิเปตดูดได้ง่าย (รูปที่ 8)

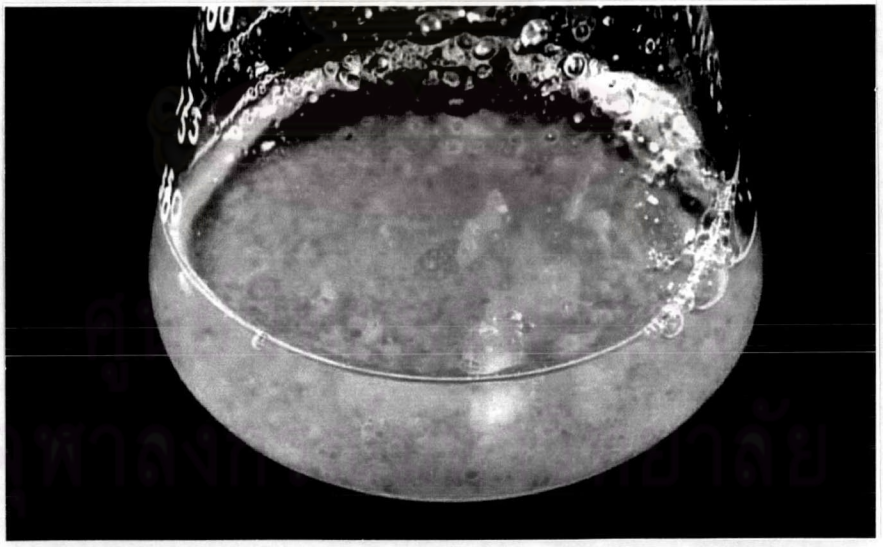
ส่วนคอมแพคแคลลัสของยาสูบที่เลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยสูตร MS ที่เติม IAA 0.1 mg/l และ kinetin 1.0 mg/l จะได้เซลล์แขวนลอยเพียงเล็กน้อย แต่ก้อนแคลลัสจะขยายขนาด และเกิดเป็นยอดจำนวนมาก

สำหรับคอมแพคแคลลัสของยาสูบที่เลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l จนได้เซลล์แขวนลอยแล้วจึงย้ายมาเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยสูตร MSที่เติม IAA 0.1 mg/l และ kinetin 1.0 mg/l จะได้เซลล์แขวนลอยประกอบด้วยเซลล์และกลุ่มเซลล์ขนาดใหญ่ มีลักษณะหยาบ มีสีเหลือง และกลายเป็นสีน้ำตาลได้ง่าย ต้องทำการเปลี่ยนอาหารบ่อยๆ เนื่องจากเซลล์แขวนลอยลักษณะนี้มักแบ่งเซลล์แล้วเกาะกลุ่มกันเป็นกลุ่มใหญ่จึงทำให้ยากสำหรับการใช้ปิเปตดูดเซลล์เพื่อนำไปทดสอบและใช้เป็นฟีดเดอร์ต่อไป (รูปที่ 9)

ผลของการศึกษาการเตรียมเซลล์แขวนลอยของพิทูเนีย

เมื่อนำเอาแคลลัสของพิทูเนียที่มีลักษณะเป็นแคลลัสที่มีสีเหลืองอมเขียวและสามารถชักนำให้เกิดยอดได้มาเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยสูตร Medium P จะได้เซลล์แขวนลอยที่ละเอียดประกอบด้วยเซลล์และกลุ่มเซลล์ขนาดเล็ก มีรูปร่างค่อนข้างกลม สีเขียวอ่อน สามารถใช้ปิเปตดูดได้ง่าย (รูปที่ 10)

รูปที่ 8 เซลล์แขวนลอยของยาสูบที่เจริญในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย สูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l



รูปที่ 9 เซลล์แขวนลอยของยาสูบที่เจริญในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1mg/l แล้วย้ายมาเลี้ยงใน MS ที่เติม IAA 0.1 mg/l + kinetin 1.0 mg/l

รูปที่ 10 เซลล์แขวนลอยของพิทูเนียที่เจริญในอาหารสูตร Medium P

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

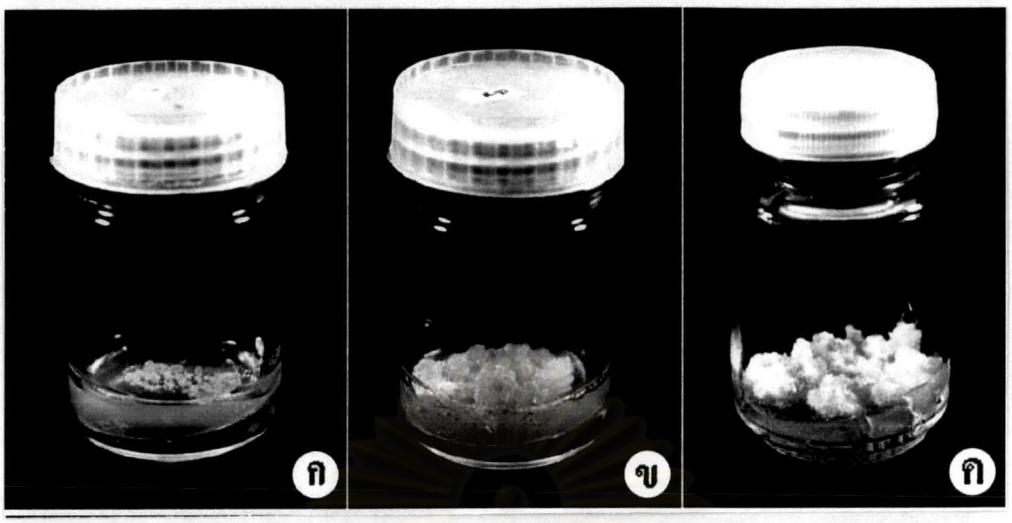
1.4 ผลของการศึกษาความสามารถในการรีเจนเนอเรท ของเซลล์แขวนลอยยาสูบและพิทูเนียบน feeder medium

เมื่อทำการทดลองนำเซลล์แขวนลอยของยาสูบที่เลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l และสูตร MS ที่เติม IAA 0.1 mg/l และ kinetin 1.0 mg/l และเซลล์แขวนลอยของพิทูเนียที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยสูตร Medium P มาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งที่ใช้ทำฟีดเดอร์สูตร KDMS สำหรับยาสูบและ Medium B สำหรับพิทูเนียตามลำดับ พบว่า เซลล์แขวนลอยของยาสูบที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยสูตร MS ที่เติม 0.1mg/l 2,4-D สามารถเจริญพัฒนาเป็นแคลลัสที่เกาะกันอย่างหลวมๆอย่างรวดเร็ว มีทั้งที่เป็นสีเหลืองเล็กน้อย สีขาวและสีเขียว แต่ไม่พบการเกิดยอด (รูปที่ 11) (ตารางที่ 2)

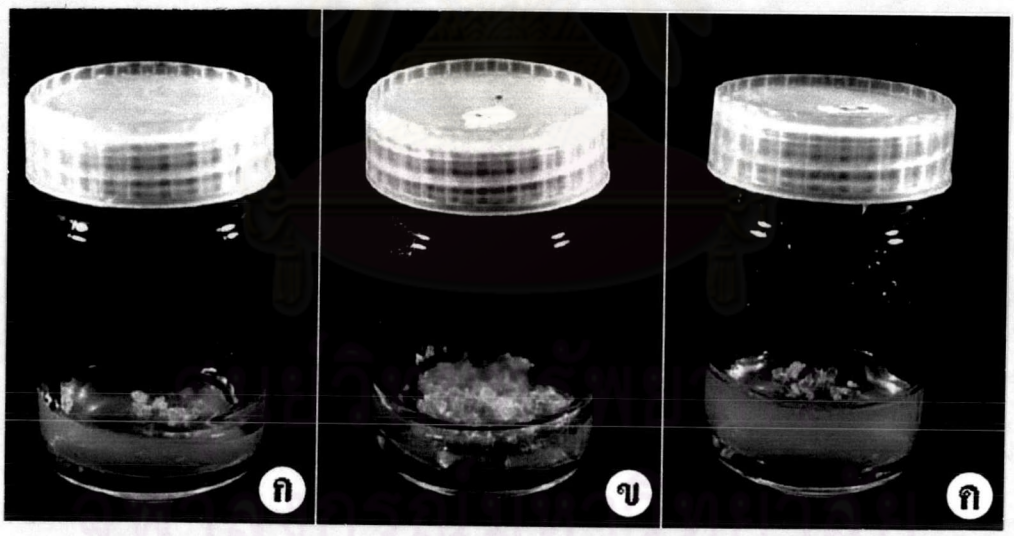
ส่วนเซลล์แขวนลอยของยาสูบที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l แล้วย้ายมา MS ที่เติม IAA 0.1 mg/l และ kinetin 1.0 mg/l เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร KDMS จะเจริญพัฒนาเป็นแคลลัสอย่างช้าๆบนอาหาร KDMS แคลลัส มีลักษณะฉ่ำน้ำ สีเหลืองและสีน้ำตาลอ่อนในระยะแรก และบางส่วนจะกลายเป็นสีน้ำตาลอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้น กลุ่มเซลล์ที่ยังไม่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลบางกลุ่มจะเจริญเป็นแคลลัสไม่ฉ่ำน้ำ สีเขียวอ่อน บางบริเวณเกิดจุดสีเขียว (greenspot) และบางแห่งเริ่มเกิดยอดตั้งแต่วันที่ 40 ของการเลี้ยง (รูปที่ 12) (ตารางที่ 2)

ส่วนเซลล์แขวนลอยของพิทูเนียที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยสูตร Medium P เมื่อย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่ใช้ทำฟีดเดอร์สูตร medium B จะพัฒนาเป็นแคลลัสอย่างช้าๆ แคลลัสมีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์เกาะกันหลวมๆ สีเขียว เกิด greenspot และเกิดยอดได้ (รูปที่ 13) ผลการเกิดต้น การพัฒนาของแคลลัส การเกิดสีน้ำตาล (browning) แสดงในตารางที่ 2

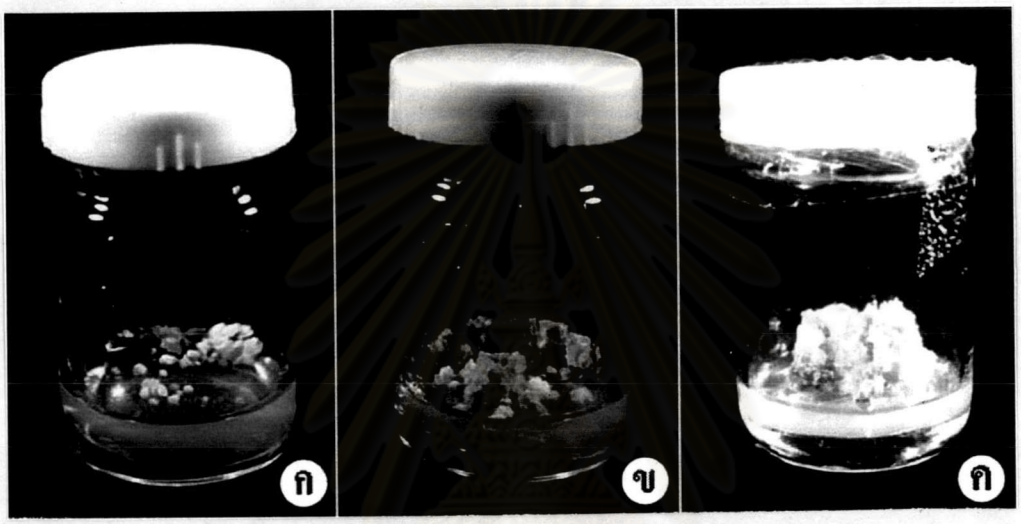
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 11 แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยยาสูบที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม 2-4 D 0.1 mg/l บนอาหาร KDMS ที่ใช้ทำฟีดเดอร์เซลล์
(ก) อายุ 20 วัน (ข) อายุ 50 วัน (ค) อายุ 70 วัน



รูปที่ 12 แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยยาสูบที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม IAA 0.1 mg/l และ kinetin 1.0 mg/l บนอาหาร KDMS ที่ใช้ทำฟีดเดอร์เซลล์
(ก) อายุ 20 วัน (ข) อายุ 50 วัน (ค) อายุ 70 วัน



รูปที่ 13 แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยพิทูเนียที่เลี้ยงในอาหาร Medium P บนอาหาร medium B ที่ใช้ทำฟีดเดอร์เซลล์ 20 50 70 วัน

(ก)อายุ 20 วัน (ข) อายุ 50 วัน (ค) อายุ 70 วัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 การเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของยาสูบและพิทูเนียบนอาหาร KDMS และ Medium B เป็นระยะเวลา 10 20 30 40 50 60 70 และ 80 วัน

ชนิดของเซลล์แขวนลอย	อาหาร ที่ใช้เลี้ยง	ระยะเวลา (วัน)	การเจริญของแคลลัส			
			ลักษณะของแคลลัส	ปริมาณแคลลัส	การเกิดสีน้ำตาล	การเกิดยอด
ยาสูบที่เลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l	KDMS	10	เกิดแคลลัสสีเหลืองเล็กน้อย	+	0	-
		20	เกิดแคลลัสสีเหลืองเล็กน้อย	+	0	-
		30	เกิดแคลลัสสีเหลืองและเขียว	++	0	-
		40	เกิดแคลลัสสีเหลืองและเขียว อยู่กันหลวมๆ	+++	0	-
		50	แคลลัสสีเขียวและขาว	++++	0	-
		60	แคลลัสสีเขียวและขาว	++++	0	-
		70	แคลลัสสีเขียวและขาว	++++	1	-
		80	แคลลัสสีเขียวและขาว	++++	1	-
ยาสูบที่เลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เติม IAA 0.1 mg/l และ Kinetin 1.0mg/l	KDMS	10	แคลลัสฉ่ำน้ำสีเหลืองและสีน้ำตาลอ่อน	+	0	-
		20	แคลลัสฉ่ำน้ำสีเหลืองและสีน้ำตาลอ่อน	+	0	-
		30	แคลลัสสีเหลืองอ่อนและสีน้ำตาลอ่อน	++	1	-
		40	แคลลัสสีเขียวและสีน้ำตาล	++	1	/
		50	แคลลัสสีเขียวและสีน้ำตาล เกิด greenspot	+++	2	/
		60	แคลลัสสีเขียว เกิด greenspot และบางเซลล์เริ่มเกิดต้น	+++	2	/
		70	แคลลัสสีเขียว เกิด greenspot เกิดเป็นต้นจำนวนมาก	+++	2	/
		80	แคลลัสสีเขียว เกิด greenspot เกิดเป็นต้นจำนวนมาก	+++	2	/
Petunia ที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร medium P	medium B	10	แคลลัสฉ่ำน้ำสีเขียวและขาว	+	0	-
		20	แคลลัสฉ่ำน้ำสีเขียวและขาว	+	0	-
		30	แคลลัสฉ่ำน้ำสีเขียวและขาว	++	0	-
		40	แคลลัสสีเขียวและขาว	++	0	-
		50	แคลลัสสีเขียวและขาว	+++	0	-
		60	แคลลัสสีเขียวและขาว	+++	0	-
		70	แคลลัสสีเขียวและขาว	+++	0	-
		80	แคลลัสสีเขียว เกิด greenspot เกิดต้นเล็กน้อย	++++	0	/

หมายเหตุ การเกิดแคลลัสน้อยมาก +

การเกิดแคลลัสไม่เกิน 30% ของพื้นที่ผิวอาหาร ++

การเกิดแคลลัสไม่เกิน 30-60% ของพื้นที่ผิวอาหาร +++

การเกิดแคลลัสมากกว่า 60% ของพื้นที่ผิวอาหาร ++++

การเกิดสีน้ำตาลในอาหาร

ไม่เกิดสีน้ำตาล 0 สีน้ำตาลอ่อน 1 สีน้ำตาล 2

2. ผลของการศึกษาสูตรอาหารและขั้นตอนที่เหมาะสมในการถ่ายยีนเข้าสู่มะเขือเทศโดยใช้ *A. tumefaciens*

ภายหลังจากทำการถ่ายยีนเข้าสู่มะเขือเทศ 2 พันธุ์ คือ พันธุ์สีดาทิพย์ และพันธุ์สวีทเซอรี่ จำนวน 18 ชุดการทดลอง (ดังตารางที่ 1) ได้ทำการสังเกตลักษณะต่างๆของใบเลี้ยงมะเขือเทศ โดยทำการวัดขนาดของใบเลี้ยง นับจำนวนชิ้นใบเลี้ยงที่เกิดสีน้ำตาล หลังจากเพาะเลี้ยงด้วย regeneration medium ในสัปดาห์ที่ 2, 4, 6 และ 8 และทำการนับจำนวนขวดที่เกิดยอด จำนวนชิ้นที่เกิดยอด และความสูงของต้นในสัปดาห์ที่ 8 หลังการถ่ายยีน

2.1 ผลการศึกษาการถ่ายยีนในมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์

2.1.1 ผลต่อขนาดของใบเลี้ยง

จากการทดลองพบว่า หลังจากทำการถ่ายยีนเข้าสู่ใบเลี้ยง และนำไปเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดยอด ใบเลี้ยงในทุกชุดการทดลองจะขยายขนาดอย่างรวดเร็ว ใน 1-2 สัปดาห์แรกโดยใบเลี้ยงจะบวม และพองตัวออกหนาขึ้น และมีสีเขียวสดเข้มขึ้น และพบว่า ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 เป็นต้นไปจนถึงสัปดาห์ที่ 8 ใบเลี้ยงจะมีการเจริญเติบโตแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับขนาดของใบเลี้ยงในแต่ละชุดการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบชุดการทดลองทั้ง 18 ชุด (ตารางที่ 1) ที่ใช้อาหารที่ชักนำให้เกิดยอด 3 สูตร คือ medium I (regeneration medium ที่เตรียมตามวิธีของ Fillatti และคณะ,1987) medium II (regeneration medium ที่เตรียมตามวิธีของ Attathom และคณะ,1991) และmedium III (Medium C ที่เตรียมตามวิธีของ Roekel และคณะ,1993) และมีการใช้ feeder cells คือ A (เซลล์แขวนลอยยาสูบที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1mg/l), B (เซลล์แขวนลอยยาสูบที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1mg/l เป็นเวลา 3 สัปดาห์ แล้ว subculture ไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม IAA 0.1mg/l และ kinetin 1.0 mg/l) ,C (เซลล์แขวนลอยพิทูเนียที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยสูตร medium P) เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 8 จะพบว่าชุดการทดลองที่ 15 ที่ใช้ feeder cells แบบ C และอาหารสูตร medium III มีผลทำให้ใบเลี้ยงมีการขยายขนาดมากกว่าชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ โดยลักษณะดังกล่าวสามารถสังเกตได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 หลังจากการเพาะเลี้ยงใน regeneration medium (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยของขนาดของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหาร regeneration media สัปดาห์ที่ 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์

No.	Medium type	Preculture or no preculture	feeder cells type	cotyledon width, cm. (±SE) [1]			
				2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
1	I	+	A	0.50 (±0.02)^{a}	0.52 (±0.02)^{bc}	0.53 (±0.02)^{bc}	0.53 (±0.02)^{bc}
2	II	+	A	0.37 (±0.01)^{e}	0.37 (±0.02)^{e}	0.37 (±0.02)^{f}	0.39 (±0.02)^{ef}
3	III	+	A	0.42 (±0.02)^{abcde}	0.44 (±0.03)^{cde}	0.47 (±0.01)^{bcdef}	0.47 (±0.01)^{bcdef}
4	I	-	A	0.38 (±0.03)^{de}	0.38 (±0.03)^{de}	0.42 (±0.02)^{cdef}	0.43 (±0.02)^{cdef}
5	II	-	A	0.46 (±0.03)^{abcd}	0.46 (±0.03)^{bcde}	0.46 (±0.03)^{bcdef}	0.46 (±0.03)^{bcdef}
6	III	-	A	0.38 (±0.05)^{de}	0.38 (±0.05)^{de}	0.38 (±0.06)^{ef}	0.38 (±0.06)^{f}
7	I	+	B	0.47 (±0.02)^{abc}	0.47 (±0.02) ^{bcde}	0.48 (±0.02)^{bcdef}	0.48 (±0.02)^{bcdef}
8	II	+	B	0.48 (±0.05)^{ab}	0.49 (±0.05)^{bcd}	0.49 (±0.05) ^{bcde}	0.49 (±0.05)^{bcdef}
9	III	+	B	0.43 (±0.02)^{abcde}	0.52 (±0.03)^{bc}	0.53 (±0.04)^{bc}	0.53 (±0.04)^{bc}
10	I	-	B	0.45 (±0.02)^{abcde}	0.50 (±0.04)^{bc}	0.51 (±0.04)^{bcd}	0.51 (±0.04)^{bcde}
11	II	-	B	0.45 (±0.03)^{abcde}	0.57 (±0.04)^{ab}	0.57 (±0.04)^{b}	0.57 (±0.04)^{b}
12	III	-	B	0.38 (±0.01)^{de}	0.41 (±0.02)^{cde}	0.41 (±0.02)^{def}	0.41 (±0.02)^{def}
13	I	+	C	0.40 (±0.01)^{bcde}	0.46 (±0.02)^{bcde}	0.46 (±0.03)^{bcdef}	0.46 (±0.03)^{bcdef}
14	II	+	C	0.43 (±0.03)^{abcde}	0.51 (±0.06)^{bc}	0.52 (±0.05)^{bcd}	0.52 (±0.05)^{bcd}
15	III	+	C	0.50 (±0.03)^{a}	0.66 (±0.06)^{a}	0.67 (±0.06)^{a}	0.67 (±0.06)^{a}
16	I	-	C	0.38 (±0.02)^{de}	0.42 (±0.04)^{cde}	0.43 (±0.04)^{cdef}	0.43 (±0.04)^{cdef}
17	II	-	C	0.39 (±0.02)^{cde}	0.42 (±0.04)^{cde}	0.45 (±0.03)^{bcdef}	0.45 (±0.03)^{bcdef}
18	III	-	C	0.39 (±0.01)^{cde}	0.42 (±0.02)^{cde}	0.45 (±0.03)^{bcdef}	0.45 (±0.03)^{bcdef}

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

^{ns}หมายถึงไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

\+ = ทำ preculture

\- = ไม่ได้ทำ preculture

2.1.1.1 ผลของอาหารชักนำให้เกิดยอดต่อขนาดของใบเลี้ยง

จากผลการทดลองในตารางที่ 3 เมื่อเลือกสังเกตผลของอาหารชักนำที่มีต่อขนาดใบเลี้ยงโดยทำการเปรียบเทียบผลในแต่ละชุดการทดลองที่ใช้ feeder cells ชนิดเดียวกัน ได้ผลดังนี้

จากการทดลองที่ใช้เซลล์แขวนลอยของยาสูบที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l เป็น feeder cells และทำการ preculture เนื้อเยื่อใบเลี้ยงมะเขือเทศบน feeder cells 1 คืน ก่อนการทำ cocultivation บน feeder cells เป็นเวลา 2 วัน แล้วจึงนำไปเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอดต่างกัน 3 สูตร คือ medium I, II และ III ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า เนื้อเยื่อใบเลี้ยงที่เลี้ยงในอาหารทั้ง 3 สูตร มีความกว้างเฉลี่ยของใบเลี้ยงแตกต่างกันทางสถิติตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 หลังจากการเพาะเลี้ยงใน regeneration medium โดย medium I จะมีผลทำให้ใบเลี้ยงมีขนาดกว้างมากที่สุด และ medium II มีขนาดใบเลี้ยงแคบที่สุด (ตารางที่ 4) อย่างไรก็ดีหากดำเนินการทดลองในทำนองเดียวกันแต่ไม่มีขั้นตอนของการทำ preculture จะพบว่า medium ทั้ง 3 ชนิดไม่มีผลต่อความกว้างของขนาดใบเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ตารางที่ 5)

จากการทดลองที่ใช้เซลล์แขวนลอยของยาสูบที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่ IAA เติม 0.1 mg/l และ kinetin 1.0 mg/l เป็น feeder cells สำหรับทำ preculture ก่อนการ transformation แล้ว cocultivation บน feeder cells เป็นเวลา 2 วัน หลังจากนั้นนำใบเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอดต่างกัน 3 สูตร คือ medium I medium II และ medium III จะเห็นได้ว่าอาหารทุกสูตรมีแนวโน้มทำให้ขนาดของใบเลี้ยงมะเขือเทศขยายใหญ่ขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเปรียบเทียบความกว้างเฉลี่ยของใบเลี้ยงระหว่างสูตรอาหารในสัปดาห์เดียวกัน พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติตลอดการทดลอง (ตารางที่ 6) อย่างไรก็ดีเมื่อทำการทดลองเช่นเดิม แต่ไม่ผ่านการทำ preculture พบว่าใบเลี้ยงที่เจริญใน regeneration medium ทั้ง 3 ชนิดมีความกว้างเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 2 หลังจากเพาะเลี้ยงบน regeneration medium โดยพบว่าความกว้างของใบเลี้ยงบน medium I และ II ไม่แตกต่างกัน แต่มีขนาดใหญ่กว่าใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบน medium III แต่ในสัปดาห์ที่ 4-8 พบว่าความกว้างของใบเลี้ยงบน medium I และ II ไม่แตกต่างกันและบน medium I และ III ก็ไม่แตกต่างกันด้วย แต่ความกว้างของใบเลี้ยงบน medium II มีขนาดใหญ่กว่าใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบน medium III (ตารางที่ 7)

จากชุดการทดลองที่ใช้เซลล์แขวนลอยของพิทูเนียที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Medium P เป็น feeder cells และทำการ preculture ก่อนการทำ cocultivation บน feeder cells แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอด 3 สูตร คือ medium I medium II และ medium III ตามลำดับ พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงใน regeneration medium เป็นเวลา 2 สัปดาห์

medium III มีผลทำให้ใบเลี้ยงมีขนาดใหญ่ที่สุด และ medium I มีผลทำให้ขนาดของใบมีขนาดเล็กที่สุด (ตารางที่ 8)

อย่างไรก็ดี หากดำเนินการทดลองในทำนองเดียวกัน แต่ไม่มีขั้นตอนของการทำ preculture จะพบว่า medium ทั้ง 3 ชนิด ไม่มีผลต่อความกว้างของใบเลี้ยงเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (ตารางที่ 9)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III โดยมีการทำ preculture ก่อน cocultivation บน tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l และเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดโดยใช้ feeder cells ชนิดเดิม

Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	0.50 (±0.02)[a]	0.52 (±0.02)[a]	0.53 (±0.02)[a]	0.53 (±0.02)[a]
II	0.37 (±0.01)[c]	0.37 (±0.02)[c]	0.37 (±0.02)[c]	0.39 (±0.02)[c]
III	0.42 (±0.02)[b]	0.44 (±0.03)[b]	0.47 (±0.01)[b]	0.47 (±0.01)[b]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 5 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + 2,4-D 0.1 mg/l ร่วมในการชักนำให้เกิดยอดหลังจากกระบวนการ cocultivation โดยไม่ผ่านการทำ preculture

Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	0.38 (±0.03)[ns]	0.38 (±0.03)[ns]	0.42 (±0.02)[ns]	0.43 (±0.02)[ns]
II	0.46 (±0.03)[ns]	0.46 (±0.03)[ns]	0.46 (±0.03)[ns]	0.46 (±0.03)[ns]
III	0.38 (±0.05)[ns]	0.38 (±0.05)[ns]	0.38 (±0.06)[ns]	0.38 (±0.05)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 6 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + kinetin 1 mg/l และ IAA 0.1 mg/l และมีการทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	0.47 (±0.02) [ns]	0.47 (±0.02) [ns]	0.48 (±0.02) [ns]	0.48 (±0.02) [ns]
II	0.48 (±0.05) [ns]	0.49 (±0.05) [ns]	0.49 (±0.05) [ns]	0.49 (±0.05) [ns]
III	0.43 (±0.02) [ns]	0.52 (±0.03) [ns]	0.53 (±0.04) [ns]	0.53 (±0.04) [ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 7 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + kinetin 1 mg/l และ IAA 0.1 mg/l โดยไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture ก่อนทำ cocultivation

Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	0.45 (±0.02)[a]	0.50 (±0.04)[ab]	0.51 (±0.04)[ab]	0.51 (±0.04)[ab]
II	0.45 (±0.03)[a]	0.57 (±0.04)[a]	0.57 (±0.04)[a]	0.57 (±0.04)[a]
III	0.38 (±0.01)[b]	0.41 (±0.02)[b]	0.41 (±0.02)[b]	0.41 (±0.02)[b]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 8 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยผ่านขั้นตอนการทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	0.40 (±0.01)[b]	0.46 (±0.02)[b]	0.46 (±0.03)[b]	0.46 (±0.03)[b]
II	0.43 (±0.03)[ab]	0.51 (±0.06)[b]	0.52 (±0.05)[b]	0.52 (±0.05)[b]
III	0.50 (±0.03)[a]	0.66 (±0.06)[a]	0.67 (±0.06)[a]	0.67 (±0.06)[a]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 9 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	0.38 (±0.02)[ns]	0.42 (±0.04)[ns]	0.43 (±0.04)[ns]	0.43 (±0.04)[ns]
II	0.39 (±0.02)[ns]	0.42 (±0.04)[ns]	0.45 (±0.03)[ns]	0.45 (±0.03)[ns]
III	0.39 (±0.01)[ns]	0.42 (±0.02)[ns]	0.45 (±0.03)[ns]	0.45 (±0.03)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

2.1.1.2 **ผลของชนิดของ feeder cells ต่อขนาดของใบเลี้ยง**

จากผลการทดลองในตารางที่ 3 เมื่อเลือกสังเกตผลของชนิด feeder cells ที่มีต่อขนาดของใบเลี้ยงมะเขือเทศ โดยทำการเปรียบเทียบผลในแต่ละชุดการทดลองที่ใช้อาหารเพาะเลี้ยงสูตรเดียวกัน โดยผ่านและไม่ผ่านการทำ preculture ได้ผลดังนี้

จากชุดการทดลองที่ใช้ feeder cells ทั้ง 3 แบบ ทำการ preculture และ transformation ก่อนนำไปเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอดด้วยอาหารสูตร medium I จะเห็นได้ว่าความกว้างเฉลี่ยของใบเลี้ยงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉพาะในสัปดาห์ที่ 2 โดยการทดลองที่ใช้ยาสูบเป็น feeder cells (แบบ A และ B) มีผลทำให้ความกว้างเฉลี่ยของใบเลี้ยงมากกว่าของการทดลองที่ใช้พิทูเนียเป็น feeder cells แต่เมื่อระยะเวลาในการทดลองนานขึ้น พบว่าการใช้ feeder cells ต่างกันไม่มีผลทำให้ขนาดของใบเลี้ยงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 10) สำหรับการทดลองในลักษณะเดียวกันแต่ไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture พบว่าขนาดของใบเลี้ยงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติตลอดการทดลอง แต่พบว่า feeder cells แบบ B มีแนวโน้มทำให้ใบเลี้ยงมีการขยายขนาดมากที่สุด (ตารางที่ 11)

จากชุดการทดลองที่ใช้ feeder cells ทั้ง 3 แบบ ทำการ preculture และ transformation ก่อนนำไปเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอดด้วยอาหารสูตร medium II จะเห็นได้ว่าในสัปดาห์ที่ 6 ขนาดของใบเลี้ยงที่ใช้ feeder cells แบบ B และ C มีขนาดใหญ่กว่าใบเลี้ยงที่ใช้ feeder cells แบบ A อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 12) อย่างไรก็ดีสำหรับการทดลองด้วยวิธีเดียวกันแต่ไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture พบว่าการใช้ feeder cells แบบ B มีผลให้ใบเลี้ยงขยายขนาดเพิ่มขึ้นมากกว่าการใช้ feeder cells แบบ A และ C อย่างมีนัยสำคัญ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 จนสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 13)

จากชุดการทดลองที่ใช้ feeder cells ทั้ง 3 แบบ ทำการ preculture และ transformation แล้วใช้อาหารสูตร medium III สำหรับชักนำให้เกิดยอด พบว่าการใช้ feeder cells แบบ C มีผลทำให้ใบเลี้ยงมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้นมากกว่าการใช้ feeder cells แบบ A และ B อย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 จนสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 14) สำหรับการทดลองในลักษณะเดียวกันแต่ไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติของขนาดใบเลี้ยงที่ใช้ feeder cells ทั้ง 3 แบบตลอดการทดลอง (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 10 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium I ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	0.50 (±0.02)[a]	0.52 (±0.01)[ns]	0.53 (±0.02)[ns]	0.53 (±0.02)[ns]
B	0.47 (±0.02)[a]	0.47 (±0.02)[ns]	0.48 (±0.02)[ns]	0.48 (±0.02)[ns]
C	0.40 (±0.01)[b]	0.46 (±0.02)[ns]	0.46 (±0.03)[ns]	0.46 (±0.03)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 11 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium I ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	0.38 (±0.03)[ns]	0.38 (±0.03)[ns]	0.42 (±0.02)[ns]	0.43 (±0.02)[ns]
B	0.45 (±0.02)[ns]	0.50 (±0.04)[ns]	0.50 (±0.04)[ns]	0.51 (±0.04)[ns]
C	0.38 (±0.02)[ns]	0.42 (±0.04)[ns]	0.43 (±0.04)[ns]	0.43 (±0.04)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 12 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium II ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	0.37 (±0.01) [ns]	0.37 (±0.02) [ns]	0.37 (±0.02) [b]	0.39 (±0.02) [ns]
B	0.48 (±0.05) [ns]	0.49 (±0.04) [ns]	0.49 (±0.05) [a]	0.49 (±0.05) [ns]
C	0.43 (±0.03) [ns]	0.51 (±0.04) [ns]	0.52 (±0.05) [a]	0.52 (±0.05) [ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 13 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium II ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	cotyledon width, cm. (±SE) 1			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	0.46 (±0.03) [ns]	0.46 (±0.03) [b]	0.46 (±0.03) [b]	0.46 (±0.03) [b]
B	0.45 (±0.03) [ns]	0.57 (±0.04) [a]	0.57 (±0.04) [a]	0.57 (±0.04) [a]
C	0.39 (±0.02) [ns]	0.42 (±0.04) [b]	0.45 (±0.03) [b]	0.45 (±0.03) [b]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 14 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium III ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	0.42 (±0.02)[ns]	0.44 (±0.03)[b]	0.47 (±0.01)[b]	0.47 (±0.01)[b]
B	0.43 (±0.02)[ns]	0.52 (±0.03)[b]	0.53 (±0.04)[b]	0.53 (±0.04)[b]
C	0.50 (±0.03)[ns]	0.66 (±0.06)[a]	0.67 (±0.06)[a]	0.67 (±0.06)[a]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 15 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium III ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	0.38 (±0.05)[ns]	0.38 (±0.05)[ns]	0.38 (±0.06)[ns]	0.38 (±0.06)[ns]
B	0.38 (±0.01)[ns]	0.41 (±0.02)[ns]	0.41 (±0.02)[ns]	0.41 (±0.02)[ns]
C	0.39 (±0.01)[ns]	0.42 (±0.02)[ns]	0.45 (±0.03)[ns]	0.45 (±0.03)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

2.1.1.3 ผลของการ preculture ต่อขนาดของใบเลี้ยง

จากผลการทดลองในตารางที่ 3 เมื่อเลือกสังเกตผลของการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture ที่มีต่อขนาดของใบเลี้ยงมะเขือเทศ โดยทำการเปรียบเทียบผลในแต่ละชุดการทดลองที่ใช้อาหารเพาะเลี้ยงสูตรเดียวกัน และใช้ feeder cells ชนิดเดียวกัน ได้ผลดังนี้

จากชุดการทดลองที่ใช้ feeder cells แบบ A และเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง สำหรับชักนำให้เกิดยอดด้วยอาหารสูตร medium I จะเห็นได้ว่า ความกว้างเฉลี่ยของใบเลี้ยงในสัปดาห์ที่ 2 และ 4 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ มีผลทำให้ ความกว้างเฉลี่ยของใบเลี้ยงที่ผ่านการ preculture มากกว่าของการทดลองที่ไม่ได้ผ่านการ preculture แต่เมื่อระยะเวลาในการทดลองนานขึ้น พบว่า ไม่มีผลทำให้ขนาดของใบเลี้ยงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 16) สำหรับการทดลองในลักษณะเดียวกันแต่เลี้ยงในอาหาร medium II จะเห็นได้ว่า การผ่านขั้นตอนการทำ preculture หรือ ไม่ได้ทำ preculture ขนาดของใบเลี้ยงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติตลอดการทดลอง (ตารางที่ 17) และเมื่อเลี้ยงในอาหาร medium III จะเห็นได้ว่า ความกว้างเฉลี่ยของใบเลี้ยงที่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture มีการขยายขนาดมากกว่าไม่ผ่านการทำ preculture (ตารางที่ 18)

จากชุดการทดลองที่ใช้ feeder cells แบบ B และเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอดด้วยอาหาร medium I จะเห็นได้ว่า ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 เป็นต้นไป ความกว้างเฉลี่ยของใบเลี้ยงที่ไม่ผ่านการ preculture จะมีการขยายขนาดมากกว่าใบเลี้ยงที่ผ่านขั้นตอนการ preculture (ตารางที่ 19) สำหรับการทดลองในลักษณะเดียวกัน แต่เลี้ยงในอาหาร medium II จะเห็นได้ว่า ความกว้างเฉลี่ยของใบเลี้ยงที่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture และไม่ผ่านการทำ preculture ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 20) และเมื่อเลี้ยงใน medium III จะเห็นได้ว่า ก็ให้ผลเช่นเดียวกับเลี้ยงใน medium II (ตารางที่ 21)

จากชุดการทดลองที่ใช้ feeder cells แบบ C และเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอด ด้วยอาหาร medium I จะเห็นได้ว่าความกว้างเฉลี่ยของใบเลี้ยงที่ผ่านขั้นตอน preculture และไม่ผ่านการ preculture ไม่แตกต่างกันทางสถิติตลอดการทดลอง (ตารางที่ 22) สำหรับการทดลองในลักษณะเดียวกันแต่เลี้ยงบน medium II ก็ให้ผลเช่นเดียวกันกับเลี้ยงบน medium I (ตารางที่ 23) สำหรับการทดลองในลักษณะเดียวกันแต่เลี้ยงบน medium III พบว่า ความกว้างเฉลี่ยของใบเลี้ยงที่ผ่านขั้นตอนการ preculture มีการขยายขนาดมากกว่าไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture (ตารางที่ 24)

ตารางที่ 16 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน medium I โดยมีการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture ก่อน cocultivation บน tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + 0.1 mg/l 2,4-D และเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดโดยใช้ feeder cells ชนิดเดิม

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	I	0.50 (±0.02)[a]	0.52 (±0.02)[a]	0.53 (±0.02)[ns]	0.53 (±0.02)[ns]
-	I	0.38 (±0.03)[b]	0.38 (±0.03)[b]	0.42 (±0.02)[ns]	0.43 (±0.02)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 17 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน medium II โดยมีการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture ก่อน cocultivation บน tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + 0.1 mg/l 2,4-D และเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดโดยใช้ feeder cells ชนิดเดิม

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	II	0.37 (±0.01)[ns]	0.37 (±0.02)[ns]	0.37(±0.02)[ns]	0.39 (±0.02)[ns]
-	II	0.46 (±0.03)[ns]	0.46 (±0.03)[ns]	0.46(±0.03)[ns]	0.46 (±0.03)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่18 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน medium III โดยมีการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture ก่อน cocultivation บน tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + 0.1 mg/l 2,4-D และเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดโดยใช้ feeder cells ชนิดเดิม

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	III	0.42 (±0.02)[a]	0.44 (±0.03)[a]	0.47 (±0.01)[a]	0.47 (±0.01)[a]
-	III	0.38 (±0.05)[b]	0.38 (±0.05)[b]	0.38 (±0.06)[b]	0.38 (±0.06)[b]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 19 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน medium I และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + 1 mg/l kinetin และ 0.1 mg/l IAA โดยมีการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	I	0.47 (±0.02)[ns]	0.47 (±0.02)[b]	0.48 (±0.02)[b]	0.48 (±0.02)[b]
-	I	0.45 (±0.02)[ns]	0.50 (±0.04)[a]	0.51 (±0.04)[a]	0.51 (±0.04)[a]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 20 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่มีการพัฒนาบน medium II และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เติม 1 mg/l kinetin และ 0.1 mg/l IAA โดยมีการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	II	0.48 (±0.05)[ns]	0.49 (±0.05)[ns]	0.49 (±0.05)[ns]	0.49 (±0.05)[ns]
-	II	0.45 (±0.03)[ns]	0.57 (±0.04)[ns]	0.57 (±0.04)[ns]	0.57 (±0.04)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 21 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เติม mg/l kinetin และ 0.1 mg/l IAA โดยมีการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE) 1			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	III	0.43 (±0.02)[ns]	0.52 (±0.03)[ns]	0.53 (±0.04)[ns]	0.53 (±0.04)[ns]
-	III	0.38 (±0.01)[ns]	0.41 (±0.02)[ns]	0.41 (±0.02)[ns]	0.41 (±0.02)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 22 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน medium I และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยผ่านขั้นตอนการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	I	0.40 (±0.01)[ns]	0.46 (±0.02)[ns]	0.46 (±0.03)[ns]	0.46 (±0.03)[ns]
-	I	0.38 (±0.02)[ns]	0.42 (±0.04)[ns]	0.43 (±0.04)[ns]	0.43 (±0.04)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 23 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน medium II และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยผ่านขั้นตอนการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	II	0.43 (±0.03)[ns]	0.51 (±0.06)[ns]	0.52 (±0.05)[ns]	0.52 (±0.05)[ns]
-	II	0.39 (±0.02)[ns]	0.42 (±0.04)[ns]	0.45 (±0.03)[ns]	0.45 (±0.03)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 24 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน medium III และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยผ่านขั้นตอนการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	III	0.50 (±0.03)[a]	0.66 (±0.06)[a]	0.67 (±0.06)[a]	0.67 (±0.06)[a]
-	III	0.39 (±0.01)[b]	0.42 (±0.02)[b]	0.45 (±0.03)[b]	0.45 (±0.03)[b]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.1.2 การเกิดสีน้ำตาล (Browning)

จากการถ่ายยีน เข้าสู่เนื้อเยื่อใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ในทุกชุดการทดลอง (treatment) พบว่าใน 1-2 สัปดาห์แรกหลังจากที่ทำการถ่ายยีนเข้าสู่ใบเลี้ยง แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดยอด ใบเลี้ยงจะขยายขนาดอย่างรวดเร็ว โดยใบเลี้ยงจะบวมและพองตัวออกหนาขึ้นและมีสีเขียวสดเข้มขึ้นมีขนาดใหญ่ขึ้น โดยการขยายขนาดของใบเลี้ยง 1-2 สัปดาห์แรกหลังจาก transformation ตรงบริเวณรอยตัดของใบเลี้ยงจะพบแคลลัสสีขาวและเขียว มีลักษณะเกาะกันแน่นเกิดขึ้น และเมื่อเข้าสัปดาห์ที่ 3-4 แคลลัสบริเวณรอยตัดและบริเวณแผ่นใบเลี้ยงที่ปริแยกออกจะเริ่มเป็นสีน้ำตาล (browning) มีลักษณะไม่แข็งแรงนัก และจะเกิดมากขึ้นในสัปดาห์ที่ 6-8 จากการนับใบเลี้ยงที่เกิด browning โดยนับจากการที่ใบเลี้ยงและแคลลัสเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและสีน้ำตาลมากกว่า 50 เปอร์เซนต์ของพื้นที่ใบเลี้ยงที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง และเมื่อเกิด browning เนื้อเยื่อใบเลี้ยงจะกลายเป็นสีน้ำตาลถึงดำ ภายในระยะเวลา 2 สัปดาห์ หลังเพาะเลี้ยง ซึ่งจะทำให้เนื้อเยื่อตายในที่สุด (รูปที่ 14) และจากการสังเกตสีของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง พบว่า จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลด้วย และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าชุดทดลองที่ 9 ซึ่งใช้ feeder cells แบบ B และอาหารสูตร medium III และชุดการทดลองที่ 15 ซึ่งใช้ feeder cells แบบ C และอาหารสูตร medium III จะมีเปอร์เซ็นต์การเกิด browning ต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 25)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 14 ลักษณะการเกิดสีน้ำตาลในใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่ได้รับการถ่ายยีน

ก. ใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ภายหลังการย้ายลงอาหารกึ่งแข็งเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ข. ใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ภายหลังการย้ายลงอาหารกึ่งแข็งเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 25 browning percentage (%) ของใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III โดยมีการทำและไม่ทำ preculture ก่อน cocultivation บน feeder cells 3 แบบ และเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดโดยใช้ feeder cells ชนิดเดียวกันกับที่ทำ cocultivation

Treat ment	Medium type	feeder cells type	Preculture	browning percentage, % (±SE) [1]			
				2 week	4 weeks	6 weeks	8 weeks
1	I	A	+	35.00(±9.28)^{bcde}	55.00(±12.80)^{ab}	57.50(±11.21)^{bcd}	75.00(±3.73)^{bcd}
2	II	A	+	57.5(±3.82)^{a}	70.00(±3.33)^{a}	75.00(±0.00)^{ab}	95.00(±3.33)^{a}
3	III	A	+	30(±6.24)^{cdef}	37.50(±9.32)^{bcd}	52.50(±7.86)^{cd}	72.50(±6.92)^{cd}
4	I	A	-	55(±6.24)^{ab}	70.00(±5.00)^{a}	87.50(±4.17)^{a}	92.50(±3.82)^{ab}
5	II	A	-	7.5(±5.34)^{f}	22.50(±8.70)^{d}	52.50(±4.49)^{cd}	77.50(±4.49)^{abcd}
6	III	A	-	25(±9.45)^{cdef}	46.43(±3.57)^{abcd}	71.43(±3.57)^{abc}	89.29(±5.05)^{abc}
7	I	B	+	17.5(±5.34)^{def}	20.00(±5.00)^{d}	50.00(±5.27)^{cd}	75.00(±3.73)^{bcd}
8	II	B	+	16.67(±7.22)^{def}	25.00(±11.02)^{cd}	63.89(±8.45)^{bcd}	83.33(±5.89)^{abcd}
9	III	B	+	30(±7.27)^{cdef}	40.00(±7.64)^{bcd}	60.00(±6.67)^{bcd}	67.50(±6.51)^{d}
10	I	B	-	25(±5.27)^{cdef}	42.50(±6.51)^{bcd}	62.50(±4.17)^{bcd}	77.50(±6.92)^{abcd}
11	II	B	-	37.5(±6.72)^{abcd}	52.50(±5.83)^{ab}	70.00(±5.00)^{abc}	87.50(±5.59)^{abc}
12	III	B	-	47.22(±8.78)^{abc}	50.00(±9.32)^{abc}	66.67(±7.22)^{bc}	83.33(±5.89)^{abcd}
13	I	C	+	12.5(±4.17)^{ef}	30.00(±8.17)^{bcd}	62.50(±4.17)^{bcd}	80.00(±5.00)^{abcd}
14	II	C	+	28.57(±8.50)^{cdef}	42.86(±8.99)^{bcd}	64.29(±9.22)^{bc}	78.57(±8.50)^{abcd}
15	III	C	+	10(±6.67)^{f}	20.00(±7.27)^{d}	42.50(±8.38)^{d}	70.00(±7.27)^{cd}
16	I	C	-	30.56(±8.10)^{cdef}	30.56(±8.10)^{bcd}	58.33(±5.89)^{bcd}	77.78(±5.01)^{abcd}
17	II	C	-	15(±7.64)^{def}	22.50(±7.86)^{d}	52.50(±6.92)^{cd}	65.00(±6.67)^{d}
18	III	C	-	27.78(±6.51)^{cdef}	44.44(±3.68)^{bcd}	66.67(±4.17)^{bc}	80.56(±6.94)^{abcd}

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

\+ = ทำ preculture - = ไม่ทำ preculture

2.1.2.1 ผลของชนิดของอาหารต่อการเกิด browning ของใบเลี้ยง

จากการทดลองทำ transformation ใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ด้วยวิธีต่างๆ พบว่า ทุกชุดการทดลองที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้ง 3 สูตร มีผลทำให้เกิด browning เพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลานานขึ้น แต่ผลที่เกิดจะแตกต่างไปตามชนิดของ feeder cells ที่ใช้ และการทำและไม่ทำ preculture

จากการทดลองที่ใช้เซลล์แขวนลอยของยาสูบที่เพาะเลี้ยงใน อาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l เป็น feeder cells สำหรับการทำ preculture พบว่า medium I และ III มีแนวโน้มทำให้ใบเลี้ยงมีเปอร์เซ็นต์การเกิด browning ต่ำที่สุดตลอดการทดลอง (ตารางที่ 26) อย่างไรก็ดีสำหรับการทดลองเช่นเดียวกันนี้ แต่ไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture พบว่า ในสัปดาห์ที่ 4 และ 6 อาหารสูตร medium II มีผลทำให้ใบเลี้ยงมีเปอร์เซ็นต์ browning ต่ำกว่าอาหารสูตร medium I และ III อย่างมีนัยสำคัญตลอดการทดลอง แต่ในสัปดาห์ที่ 8 พบว่า medium II และ III ส่งผลให้ใบเลี้ยงมะเขือเทศเกิด browning ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 27)

จากการทดลองที่ใช้เซลล์แขวนลอยของยาสูบที่เพาะเลี้ยงใน อาหารเหลวสูตร MS ที่เติม IAA 0.1 mg/l และ kinetin 1.0 mg/l เป็น feeder cells สำหรับทำ preculture พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง medium III มีแนวโน้มส่งผลให้ใบเลี้ยงมะเขือเทศเกิด browning ต่ำที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 28) แต่ในการทดลองในลักษณะเดียวกันนี้ในชุดการทดลองที่ไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture จะพบแนวโน้มเปอร์เซ็นต์การเกิด browning ต่ำที่สุดในการทดลองที่ใช้ medium I แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 29)

จากชุดการทดลองที่ใช้เซลล์แขวนลอยของพิทูเนียที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Medium P เป็น feeder cells พบว่า medium III มีแนวโน้มทำให้เปอร์เซ็นต์ necrosis ต่ำที่สุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 30) แต่สำหรับชุดการทดลองที่ไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture จะพบว่า medium II มีแนวโน้มส่งผลให้เกิด browning ต่ำที่สุด แต่ไม่แตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 31)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 26 browning percentage (%) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III โดยมีการทำ preculture ก่อน cocultivation บน tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + 2,4-D 0.1 mg/l และเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดโดยใช้ feeder cells ชนิดเดิม

Regeneration medium	browning percentage, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	35.00(±9.28)[b]	55.00(±12.80)[ns]	57.50(±11.21)[ns]	75.00(±3.73)[b]
II	57.5(±3.82)[a]	70.00(±3.33)[ns]	75.00(±0.00)[ns]	95.00(±3.33)[a]
III	30(±6.24)[b]	37.50(±9.32)[ns]	52.50(±7.86)[ns]	72.50(±6.92)[b]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 27 browning percentage (%) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + 2,4-D 0.1 mg/l ร่วมในการชักนำให้เกิดยอดหลังจากกระบวนการ cocultivation โดยไม่ผ่านการทำ preculture

Regeneration medium	browning percentage, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	55(±6.24)[a]	70.00(±5.00)[a]	87.50(±4.17)[a]	92.50(±3.82)[a]
II	7.5(±5.34)[b]	22.50(±8.70)[c]	52.50(±4.49)[c]	77.50(±4.49)[b]
III	25(±9.45)[b]	46.43(±3.57)[b]	71.43(±3.57)[b]	89.29(±5.05)[ab]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 28 browning percentage (%) ของแคลลัสมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + kinetin 1 mg/l และ IAA 0.1 mg/l และมีการทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Regeneration medium	browning percentage, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	17.5(±5.34)[ns]	20.00(±5.00)[ns]	50.00(±5.27)[ns]	75.00(±3.73)[ns]
II	16.67(±7.22)[ns]	25.00(±11.02)[ns]	63.89(±8.45)[ns]	83.33(±5.89)[ns]
III	30(±7.27)[ns]	40.00(±7.64)[ns]	60.00(±6.67)[ns]	67.50(±6.51)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 29 browning percentage(%) ของแคลลัสมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + kinetin 1 mg/l และ IAA 0.1 mg/l โดยไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture ก่อนทำ cocultivation

Regeneration medium	browning percentage, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	25(±5.27)[ns]	42.50(±6.51)[ns]	62.50(±4.17)[ns]	77.50(±6.92)[ns]
II	37.5(±6.72)[ns]	52.50(±5.83)[ns]	70.00(±5.00)[ns]	87.50(±5.59)[ns]
III	47.22(±8.78)[ns]	50.00(±9.32)[ns]	66.67(±7.22)[ns]	83.33(±5.89)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 30 browning percentage (%) ของแคลลัสมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยผ่านขั้นตอนการทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Regeneration medium	browning percentage, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	12.5(±4.17) [ns]	30.00(±8.17) [ns]	62.50(±4.17) [ns]	80.00(±5.00) [ns]
II	28.57(±8.50) [ns]	42.86(±8.988) [ns]	64.29(±9.22) [ns]	78.57(±8.50) [ns]
III	10(±6.67) [ns]	20.00(±7.27) [ns]	42.50(±8.38) [ns]	70.00(±7.27) [ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 31 browning percentage (%) ของแคลลัสมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Regeneration medium	browning percentage, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	30.56(±8.01) [ns]	30.56(±8.10) [ns]	58.33(±5.89) [ns]	77.78(±5.01) [ns]
II	15(±7.64) [ns]	22.50(±7.86) [ns]	52.50(±6.92) [ns]	65.00(±6.67) [ns]
III	27.78(±6.51) [ns]	44.44(±3.68) [ns]	66.67(±4.17) [ns]	80.56(±6.94) [ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

2.1.2.2 ผลของชนิดของ feeder cells ต่อการเกิด browning

จากชุดการทดลองที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร medium I พบว่าในระยะแรกของการทดลอง คือ ใบเลี้ยงที่ใช้ feeder cells แบบ B และ C มีแนวโน้มของเปอร์เซ็นต์ browning ต่ำกว่าการใช้ feeder cells แบบ A สัปดาห์ที่ 2 และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 4 แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าการเกิด browning ในใบเลี้ยงที่ใช้ feeder cells ทั้ง 3 แบบ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 32) สำหรับชุดทดลองที่ไม่ผ่านการทำ preculture พบว่า การใช้ feeder cells แบบ B และ C มีผลทำให้เกิด browning ต่ำกว่า แบบ A อย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าการใช้ feeder cells ทั้ง 3 แบบ ทำให้เกิด browning ในปริมาณที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 33)

จากชุดการทดลองที่ใช้อาหารสูตร medium II พบว่าให้ผลเช่นเดียวกันกับที่พบในชุดการทดลองที่ใช้สูตรอาหาร medium I คือ ใบเลี้ยงที่ใช้ feeder cells แบบ B และ C มีแนวโน้มของเปอร์เซ็นต์ browning ต่ำกว่าการใช้ feeder cells แบบ A อย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 2 และ 4 ของการทดลอง แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 34) แต่สำหรับชุดทดลองที่ไม่ผ่านการทำ preculture พบว่าให้ผลแตกต่างไป คือ การใช้ feeder cell แบบ A และ C พบการเกิด browning ต่ำกว่าแบบ B อย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลอง การใช้ feeder cells แบบ C มีเปอร์เซ็นต์การเกิด browning ต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 35)

จากชุดการทดลองที่ใช้อาหารสูตร medium III พบว่า ทั้งชุดการทดลองที่ผ่าน และไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture มีการเกิด browning ในใบเลี้ยงมะเขือเทศไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญตลอดการทดลอง (ตารางที่ 36 และ 37) แต่อย่างไรก็ตาม พบแนวโน้มว่าชุดการทดลองที่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture ทำให้เกิด browning ใบเลี้ยงมะเขือเทศน้อยกว่าชุดการทดลองที่ไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 32 browning percentage (%) ของแคลลัสมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium I ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	browning percentage, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	35.00(±9.28)[ns]	55.00(±12.80)[a]	57.50(±11.21)[ns]	75.00(±3.73)[ns]
B	17.5(±5.34)[ns]	20.00(±5.00)[b]	50.00(±5.27)[ns]	75.00(±3.73)[ns]
C	12.5(±4.17)[ns]	30.00(±8.17)[ab]	62.50(±4.17)[ns]	80.00(±5.00)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 33 browning percentage (%) ของแคลลัสมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium I ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	browning percentage, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	55(±6.24)[a]	70.00(±5.00)[a]	87.50(±4.17)[a]	92.50(±3.82)[ns]
B	25(±5.27)[b]	42.50(±6.51)[b]	62.50(±4.17)[b]	77.50(±6.92)[ns]
C	30.56(±8.01)[b]	30.56(±8.10)[b]	58.33(±5.89)[b]	77.78(±5.01)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 34 browning percentage (%) ของแคลลัสมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium II ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	browning percentage, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	57.5(±3.82)[a]	70.00(±3.33)[a]	75.00(±0.00)[ns]	95.00(±3.33)[ns]
B	16.67(±7.22)[b]	25.00(±11.02)[b]	63.89(±8.45)[ns]	83.33(±5.89)[ns]
C	28.57(±8.50)[b]	42.86(±8.988)[b]	64.29(±9.22)[ns]	78.57(±8.50)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 35 browning percentage (%) ของแคลลัสมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium II ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	browning percentage, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	7.5(±5.34)[b]	22.50(±8.70)[b]	52.50(±4.49)[b]	77.50(±4.49)[ab]
B	37.5(±6.72)[a]	52.50(±5.83)[a]	70.00(±5.00)[a]	87.50(±5.59)[a]
C	15(±7.64)[b]	22.50(±7.86)[b]	52.50(±6.92)[b]	65.00(±6.67)[b]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 36 browning percentage (%) ของแคลลัสมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium III ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	browning percentage, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	30(±6.24)[ns]	37.50(±9.32)[ns]	52.50(±7.86)[ns]	72.50(±6.92)[ns]
B	30(±7.27)[ns]	40.00(±7.64)[ns]	60.00(±6.67)[ns]	67.50(±6.51)[ns]
C	10(±6.67)[ns]	20.00(±7.27)[ns]	42.50(±8.38)[ns]	70.00(±7.27)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 37 browning percentage (%) ของแคลลัสมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium III ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	browning percentage, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	25(±9.45)[ns]	46.43(±3.57)[ns]	71.43(±3.57)[ns]	89.29(±5.05)[ns]
B	47.22(±8.78)[ns]	50.00(±9.32)[ns]	66.67(±7.02)[ns]	83.33(±5.89)[ns]
C	27.78(±6.51)[ns]	44.44(±3.68)[ns]	66.67(±4.17)[ns]	80.56(±6.94)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

2.1.3 การเกิดยอด

จากการถ่ายยีนเข้าสู่เนื้อเยื่อใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ด้วยวิธีต่างๆ พบว่า หลังจาก transfromation ใบเลี้ยงมะเขือเทศจะเริ่มเกิด regeneration เห็นเป็น ตายอดขนาดเล็กสีเขียว บริเวณแคลลัสที่เกิดขึ้นตรงรอยตัด หรือบริเวณรอยปริของแผ่นใบเลี้ยง ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 เป็นต้นไปในทุกชุดการทดลอง และจะเห็นชัดเจนขึ้น และมีจำนวนเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ถัดๆ มา และพบว่า เมื่อเนื้อเยื่อใบเลี้ยงเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองไปจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ยอดที่เกิดที่มีขนาดเล็กจะชะงักการเจริญเติบโต และจะตายภายใน 10-14 วัน แต่ถ้าเป็นต้นที่ค่อนข้างสมบูรณ์และขนาดใหญ่ จะเจริญเติบโตช้าและไม่ค่อยแข็งแรง บันทึกข้อมูล เปอร์เซนต์จำนวนขวดที่มี regeneration เปอร์เซนต์จำนวนใบเลี้ยงที่มี regeneration ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อชิ้นใบเลี้ยง ความสูงเฉลี่ยของยอด ในตารางที่ 38 รูปที่ 15 ในการทดลองในครั้งนี้ ได้ทำ positive control และ negative control เพื่อเปรียบเทียบผลกับทุกชุดการทดลองด้วย

negative control ทำโดยการนำเอา ชิ้นส่วนของพืชที่ไม่ได้ผ่านการ cocultivation มาเลี้ยงบน regeneration medium ที่มียาปฏิชีวนะ kanamycin ผลพบว่า เนื้อเยื่อของใบเลี้ยงมะเขือเทศจะตายภายใน 10-14 วัน (รูปที่ 15)

positive control ทำโดยการนำเอาชิ้นใบเลี้ยงมะเขือเทศที่ไม่ได้ผ่านการ cocultivation มาเลี้ยงบน regeneration medium ที่ไม่มียาปฏิชีวนะ kanamycin โดยได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ใบเลี้ยงมะเขือเทศบนอาหาร regeneration medium 3 ชนิด เช่นเดียวกับที่ใช้ในชุดการทดลองอื่นๆ โดยพบว่า เมื่อใช้ feeder layer ใบเลี้ยงสามารถ regeneration เกิดเป็นยอดได้ดี ทั้ง 3 สูตรอาหาร (รูปที่ 16) ในขณะที่ชุด positive control ที่เลี้ยงบน regeneration medium โดยไม่มี feeder layer พบว่า เนื้อเยื่อใบเลี้ยงจะมีการเจริญพัฒนา เป็นแคลลัสแต่ไม่พัฒนาเป็นยอด หรือได้ยอดเพียงเล็กน้อย (รูปที่ 17)

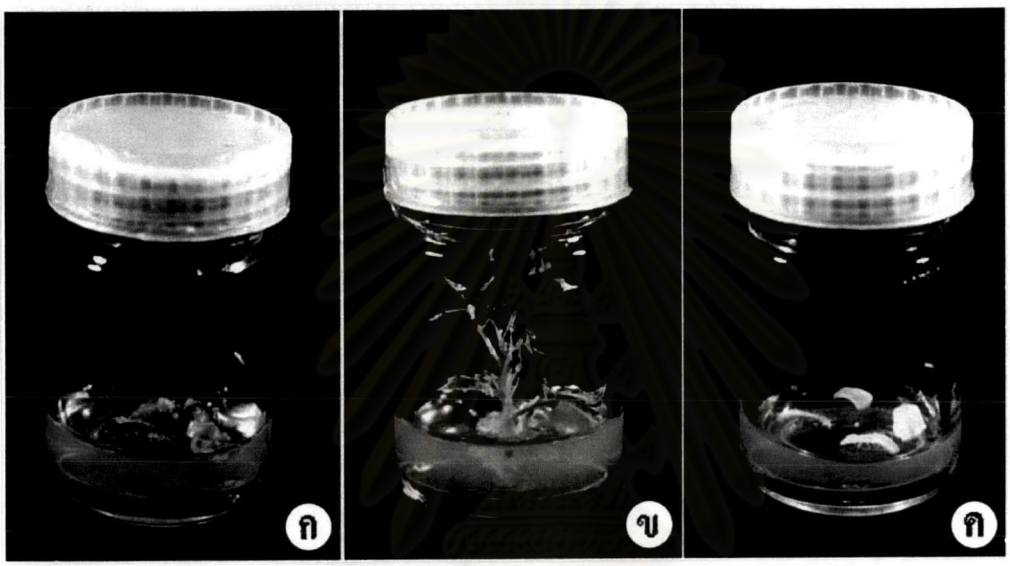
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 38 ผลของการศึกษาสูตรอาหารและขั้นตอนที่เหมาะสมในการถ่ายยีนเข้าสู่มะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่มีต่อการเกิดยอดจากใบเลี้ยง เมื่อเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์

Treatment	Medium type	feeder cells type	Preculture	ค่าเฉลี่ยจำนวนขวดที่มี regeneration(%)	จำนวนใบเลี้ยงที่มี regeneration /ใบเลี้ยงทั้งหมด	Putative transformation efficiency (TE)*	ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อชิ้นใบเลี้ยง
1.	I	A	+	20	2/40	10	2
2.	II	A	+	20	2/40	10	2
3.	III	A	+	22	2/40	7.5	1.5
4.	I	A	-	20	2/40	10	2
5.	II	A	-	10	1/40	2.5	1
6.	III	A	-	29	2/28	18	2.5
7.	I	B	+	22	2/40	12.5	2.5
8.	II	B	+	22	2/36	17.5	3.0
9.	III	B	+	20	2/40	10	2
10.	I	B	-	10	1/40	2.5	1
11.	II	B	-	10	1/40	2.5	1
12.	III	B	-	25	2/36	11.11	2
13.	I	C	+	25	2/40	15	3
14.	II	C	+	29	2/28	14.3	2
15.	III	C	+	20	3/40	12.75	1.7
16.	I	C	-	22	2/36	5.55	1
17.	II	C	-	25	2/40	10	2
18.	III	C	-	22	2/36	8.33	1.5

* Transformation efficiency (TE) = $\frac{\text{Number of confirmed transformed shoot} \times 100}{\text{number of explants treated}}$

(Firoozabady และ Kuehnle, 1995)



รูปที่ 15 ใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอดที่มี kanamycin

ก. ใบเลี้ยงที่ได้รับการถ่ายยีน ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์

ข. ใบเลี้ยงที่ได้รับการถ่ายยีน ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ค. ใบเลี้ยงที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน

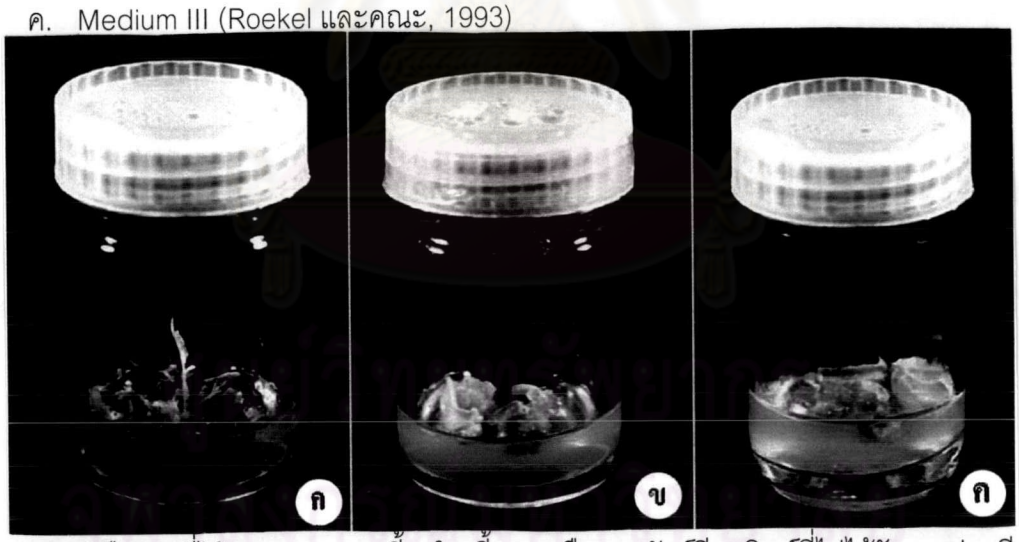
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 16 ยอดมะเขือเทศที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่ไม่ได้รับการถ่ายยีนแล้วเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอด 3 สูตร และเลี้ยงบน feeder ที่ไม่มี kanamycin (positive control with feeder)

ก. Medium I (Fillatti และคณะ, 1987)

ข. Medium II (Attathom และคณะ, 1991)

ค. Medium III (Roekel และคณะ, 1993)



รูปที่ 17 ยอดมะเขือเทศที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่ไม่ได้รับการถ่ายยีนแล้วเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอด 3 สูตร ที่ไม่มี kanamycin และไม่ได้เลี้ยงบน feeder (positive control without feeder)

ก. Medium I (Fillatti และคณะ, 1987)

ข. Medium II (Attathom และคณะ, 1991)

ค. Medium III (Roekel และคณะ, 1993)

2.2 ผลการศึกษาการถ่ายยีนในมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่

2.2.1 ผลต่อขนาดของใบเลี้ยง

เมื่อเปรียบเทียบชุดการทดลองทั้ง 18 ชุดการทดลอง ที่ใช้อาหารที่ชักนำให้เกิดยอด 3 สูตร คือ medium I (Filatti และคณะ, 1987) medium II (Attathom และคณะ, 1991) และ medium III (Roekel และคณะ, 1993) และมีการใช้ feeder cells 3 แบบ คือ A (เซลล์แขวนลอยยาสูบที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่มี 2,4-D 0.1 mg/l), B (เซลล์แขวนลอยยาสูบที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่มี kinetin 1 mg/l และ IAA 0.1 mg/l) และ C (เซลล์แขวนลอยยาสูบที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร medium P) หลังจากถ่ายยีนเข้าสู่ใบเลี้ยงและนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำให้เกิดยอด ในช่วง 1-2 สัปดาห์แรก พบว่าใบเลี้ยงในทุกชุดทดลองขยายขนาดอย่างรวดเร็ว ทำให้มีลักษณะอวบหนา มีขนาดใหญ่ขึ้นและมีสีเขียวสดเข้มขึ้น ผลการวัดขนาดความกว้างของใบเลี้ยง พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของค่าความกว้างใบเลี้ยงเฉลี่ยระหว่างชุดทดลองตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ถึงสัปดาห์ที่ 8 ของการทดลอง นอกจากนี้ พบว่าใบเลี้ยงมะเขือเทศในชุดการทดลองที่ 13 คือ ชุดที่ใช้ feeder cells แบบ A และเลี้ยงในอาหารสูตร medium I มีขนาดใหญ่ที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 39)

อย่างไรก็ดี เพื่อแสดงให้เห็นถึงผลของชนิดของ regeneration medium ชนิดของ feeder cells ที่ใช้ และขั้นตอนการทำ preculture ว่ามีผลอย่างไรต่อใบเลี้ยงของมะเขือเทศที่ผ่านขั้นตอน cocultivation ด้วย *Agrobacterium* จึงทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบปัจจัยต่างๆ โดยมีผลการทดลองดังนี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 39 ค่าเฉลี่ยของขนาดของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหาร regeneration media สัปดาห์ที่ 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์

No.	Medium type	preculture	feeder cells type	cotyledon width, cm. (±SE) [1]			
				2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
1	I	+	A	0.38 (±0.03)^{bcd}	0.56 (±0.05)^{bcde}	0.59 (±0.05)^{bc}	0.59 (±0.05)^{bc}
2	II	+	A	0.35 (±0.02)^{cd}	0.47 (±0.05)^{cdef}	0.50 (±0.05)^{cd}	0.50 (±0.05)^{cde}
3	III	+	A	0.35 (±0.01)^{cd}	0.51 (±0.01)^{bcdef}	0.52 (±0.01)^{bcd}	0.54 (±0.02)^{bcde}
4	I	-	A	0.43 (±0.04)^{ab}	0.63 (±0.06)^{b}	0.66 (±0.07)^{b}	0.67 (±0.07)^{b}
5	II	-	A	0.36(±0.03)^{bcd}	0.50(±0.05)^{bcdef}	0.52 (±0.05)^{bcd}	0.52 (±0.05)^{bcde}
6	III	-	A	0.35 (±0.02)^{cd}	0.49 (±0.04)^{bcdef}	0.51 (±0.04)^{bcd}	0.52 (±0.04)^{bcde}
7	I	+	B	0.33 (±0.02)^{cd}	0.40 (±0.06)^{f}	0.44 (±0.04)^{cd}	0.46 (±0.04)^{cde}
8	II	+	B	0.33 (±0.01)^{d}	0.45 (±0.03)^{cdef}	0.46 (±0.03)^{cd}	0.47 (±0.03)^{cde}
9	III	+	B	0.35 (±0.02)^{cd}	0.53 (±0.03)^{bcdef}	0.53 (±0.03)^{bcd}	0.53 (±0.03)^{bcde}
10	I	-	B	0.37 (±0.02)^{bcd}	0.56 (±0.03)^{bcde}	0.57 (±0.04)^{bcd}	0.60 (±0.05)^{bc}
11	II	-	B	0.33 (±0.02)^{d}	0.44 (±0.05)^{cdef}	0.44 (±0.05)^{cd}	0.44 (±0.05)^{cde}
12	III	-	B	0.36 (±0.03)^{cd}	0.50 (±0.06)^{bcdef}	0.50 (±0.06)^{cd}	0.50 (±0.07)^{cde}
13	I	+	C	0.45 (±0.02)^{a}	0.79 (±0.05)^{a}	0.80 (±0.06)^{a}	0.80 (±0.06)^{a}
14	II	+	C	0.37 (±0.01)^{bcd}	0.57 (±0.02)^{bcd}	0.57 (±0.02)^{bcd}	0.57 (±0.02)^{bcd}
15	III	+	C	0.32 (±0.01)^{d}	0.42 (±0.03)^{ef}	0.42 (±0.03)^{d}	0.42 (±0.03)^{de}
16	I	-	C	0.40 (±0.03)^{abc}	0.59(±0.06)^{bc}	0.59 (±0.06)^{bc}	0.59 (±0.06)^{bc}
17	II	-	C	0.33 (±0.01)^{cd}	0.45 (±0.03)^{cdef}	0.45 (±0.03)^{cd}	0.45 (±0.03)^{cde}
18	III	-	C	0.32 (±0.01)^{d}	0.42 (±0.04)^{def}	0.42 (±0.04)^{d}	0.42 (±0.06)^{e}

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

\+ = ทำ preculture

\- = ไม่ได้ทำ preculture

2.2.1.1 ผลของอาหารสำหรับชักนำให้เกิดยอดต่อขนาดของใบเลี้ยง

เมื่อทำการ transformation ใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ วิธีต่างๆจำนวน 18 ชุดการทดลอง ทำการวัดขนาดของใบเลี้ยงในสัปดาห์ที่ 2 4 6 และ 8 หลังจากนำไปทำการเพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดยอดที่มียาปฏิชีวนะทำการเปรียบเทียบอาหารชักนำให้เกิดยอด 3 ชนิด เมื่อใช้ feeder cells ชนิดเดียวกัน และทำการ preculture หรือไม่ได้ทำเหมือนๆกัน ได้ผลการทดลอง ดังนี้

จากการทดลองที่ใช้เซลล์แขวนลอยของยาสูบที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l เป็น feeder cells และทำการ preculture เนื้อเยื่อใบเลี้ยงบน feeder cells 12 ชั่วโมง ก่อนการทำ cocultivation บน feeder cells เป็นเวลา 2 วัน แล้วจึงนำไปเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอดต่างกัน 3 สูตร คือ medium I medium II และ medium III ตามลำดับ พบว่าใบเลี้ยงในทั้ง 3 สูตรอาหารมีการขยายขนาดใหญ่ขึ้น แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 40) และพบผลการทดลองในลักษณะเดียวกันในการทดลองที่ไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture (ตารางที่ 41)

จากการทดลองที่ใช้เซลล์แขวนลอยของยาสูบที่เพาะเลี้ยงใน อาหาร MS ที่เติม IAA 0.1mg/l และ kinetin 1.0 mg/l เป็น feeder cells สำหรับ preculture เนื้อเยื่อใบเลี้ยงบน feeder cells 12 ชั่วโมง ก่อนการทำ cocultivation บน feeder cells ชนิดเดียวกันเป็นเวลา 2 วัน หลังจากนั้นนำไปเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอด 3 สูตร ดังได้กล่าวแล้ว จะเห็นได้ว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 42) และจะพบผลการทดลองเช่นเดียวกันนี้ในชุดทดลองที่ไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture (ตารางที่ 43)

สำหรับชุดการทดลองที่ใช้เซลล์แขวนลอยของพิทูเนียที่เพาะเลี้ยงในอาหาร medium P เป็น feeder cells และทำการ preculture เนื้อเยื่อใบเลี้ยงบน feeder cells 12 ชั่วโมงก่อนการทำ cocultivation บน feeder cells เป็นเวลา 2 วัน แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอด 3 สูตร พบว่า ทุกชุดการทดลองมีขนาดของใบเลี้ยงขยายใหญ่ขึ้น โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติของความกว้างเฉลี่ยของใบเลี้ยง ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนสิ้นสุดการทดลอง ทั้งนี้อาหารสูตร medium I มีผลทำให้ใบเลี้ยงขยายขนาดมากกว่าอาหารสูตร medium II และ medium III ตามลำดับ (ตารางที่ 44) นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงด้วยวิธีดังกล่าวแต่ไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture พบว่า medium I มีผลให้ใบเลี้ยงมะเขือเทศขยายขนาดมากกว่า medium II และ III อย่างมีนัยสำคัญ แต่ medium II และ III ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ถึงสัปดาห์ที่ 6 (ตารางที่ 45)

ตารางที่ 40 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III โดยมีการทำ preculture ก่อน cocultivation บน tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l และเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดโดยใช้ feeder cells ชนิดเดิม

Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	0.38 (±0.03)[ns]	0.56 (±0.05)[ns]	0.59 (±0.05)[ns]	0.59 (±0.05)[ns]
II	0.35 (±0.02)[ns]	0.47 (±0.05)[ns]	0.50 (±0.05)[ns]	0.50 (±0.05)[ns]
III	0.35 (±0.01)[ns]	0.51 (±0.01)[ns]	0.52 (±0.01)[ns]	0.54 (±0.02)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 41 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่มี 2,4-D 0.1 mg/l ร่วมในการชักนำให้เกิดยอดหลังจากกระบวนการ cocultivation โดยไม่ผ่านการทำ preculture

Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	0.43 (±0.04)[ns]	0.63 (±0.06)[ns]	0.66 (±0.07)[ns]	0.67 (±0.07)[ns]
II	0.36(±0.03)[ns]	0.50(±0.05)[ns]	0.52 (±0.05)[ns]	0.52 (±0.05)[ns]
III	0.35 (±0.02)[ns]	0.49 (±0.04)[ns]	0.51 (±0.04)[ns]	0.52 (±0.04)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 42 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เติม kinetin 1 mg/l และ IAA 0.1 mg/l และมีการทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	0.33 (±0.02)[ns]	0.40 (±0.06)[ns]	0.44 (±0.04)[ns]	0.46 (±0.04)[ns]
II	0.33 (±0.01)[ns]	0.45 (±0.03)[ns]	0.46 (±0.03)[ns]	0.47 (±0.03)[ns]
III	0.35 (±0.02)[ns]	0.53 (±0.03)[ns]	0.53 (±0.03)[ns]	0.53 (±0.03)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 43 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เติม kinetin 1 mg/l และ IAA 0.1 mg/l โดยไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture ก่อนทำ cocultivation

Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	0.37 (±0.02)[ns]	0.56 (±0.03)[ns]	0.57 (±0.04)[ns]	0.60 (±0.05)[ns]
II	0.33 (±0.02)[ns]	0.44 (±0.05)[ns]	0.44 (±0.05)[ns]	0.44 (±0.05)[ns]
III	0.36 (±0.03)[ns]	0.50 (±0.06)[ns]	0.50 (±0.06)[ns]	0.50 (±0.07)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 44 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยผ่านขั้นตอนการทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	0.45 (±0.02)[a]	0.79 (±0.05)[a]	0.80 (±0.02)[a]	0.80 (±0.06)[a]
II	0.37 (±0.01)[b]	0.57 (±0.02)[b]	0.57 (±0.02)[b]	0.57 (±0.02)[b]
III	0.32 (±0.01)[b]	0.42 (±0.03)[c]	0.42 (±0.03)[c]	0.42 (±0.03)[c]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns]หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 45 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	0.40 (±0.03)[a]	0.59(±0.06)[a]	0.59 (±0.06)[a]	0.59 (±0.06)[a]
II	0.33 (±0.01)[b]	0.45 (±0.03)[b]	0.45 (±0.03)[b]	0.45 (±0.03)[ab]
III	0.32 (±0.01)[b]	0.42 (±0.04)[b]	0.42 (±0.04)[b]	0.42 (±0.06)[b]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns]หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

2.2.1.2 **ผลของชนิดของ feeder cells ต่อขนาดของใบเลี้ยง**

จากการทดลอง transformation ใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ด้วยวิธีต่างๆ จำนวน 18 ชุดการทดลอง ทำการวัดขนาดของใบเลี้ยงในสัปดาห์ที่ 2 4 6 และ 8 หลังจากนำไปทำการเพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดยอดชนิดที่มียาปฏิชีวนะ ทำการเปรียบเทียบการใช้ feeder cells ที่แตกต่างกัน 3 แบบ คือ A (เซลล์แขวนลอยยาสูบที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l), B (เซลล์แขวนลอยยาสูบที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม kinetin 1 mg/l และ 0.1 IAA mg/l) และ C (เซลล์แขวนลอยยาสูบที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร medium P) โดยทำการ preculture และไม่ได้ทำ preculture และเมื่อนำไปทำการเพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดยอดที่มียาปฏิชีวนะชนิดเดียวกันผลการทดลองดังนี้

จากชุดการทดลองที่ใช้ feeder cells ทั้ง 3 แบบ และทำการ preculture เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนการ transformation แล้ว cocultivation บน feeder cells เป็นเวลา 2 วัน ก่อนนำไปเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอดด้วยอาหารสูตร medium I จะเห็นได้ว่า การใช้ feeder cells แบบ C มีผลให้ใบเลี้ยงขยายขนาดเพิ่มขึ้นมากที่สุดตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 46) สำหรับการทดลองในลักษณะเดียวกันแต่ไม่ผ่านการทำ preculture พบว่าการใช้ feeder cells ทั้ง 3 ชนิดมีผลต่อขนาดของใบเลี้ยงไม่แตกต่างกันทางสถิติตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง (ตารางที่ 47)

จากชุดการทดลองที่ใช้ feeder cellsทั้ง 3 แบบ และทำการ preculture เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนทำ transformation แล้ว cocultivation บน feeder cells เป็นเวลา 2 วัน ก่อนนำไปเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอดด้วยอาหารสูตร medium II พบว่าการใช้ feeder cells แบบ C มีผลทำให้ขนาดของใบเลี้ยงเพิ่มขึ้นมากกว่าการใช้ feeder cells แบบ A และ B อย่างมีนัยสำคัญเฉพาะในสัปดาห์ที่ 4 แต่หลังจากนั้นไม่พบความแตกต่างกันในการใช้ feeder cells ทั้ง 3 แบบ (ตารางที่ 48) สำหรับการทดลองโดยไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติของขนาดใบเลี้ยงตลอดระยะเวลาการทดลอง (ตารางที่ 49)

จากชุดการทดลองที่ใช้ feeder cells ทั้ง 3 แบบ และทำการ preculture เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนทำ transformation แล้ว cocultivation บน feeder cells เป็นเวลา 2 วัน ก่อนนำไปเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอดด้วยอาหารสูตร medium III จะเห็นได้ว่าการใช้ feeder cells แบบ A และ B มีผลให้การขยายขนาดของใบเลี้ยงเพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกัน แต่มากกว่าการใช้ feeder cells แบบ C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 จนสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 50) สำหรับการทดลองเช่นเดียวกันนี้แต่ไม่ผ่านการทำ preculture ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติของขนาดใบเลี้ยงที่ใช้ feeder cells ทั้ง 3 แบบ (ตารางที่ 51)

ตารางที่ 46 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่เพาะเลี้ยงบน medium I ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	0.38 (±0.02)[b]	0.56 (±0.05)[b]	0.59 (±0.05)[b]	0.59 (±0.05)[b]
B	0.33 (±0.02)[b]	0.44 (±0.06)[c]	0.44 (±0.04)[b]	0.44 (±0.04)[b]
C	0.45 (±0.01)[a]	0.79 (±0.02)[a]	0.80 (±0.02)[a]	0.80 (±0.06)[a]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 47 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่เพาะเลี้ยงบน medium I ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	0.43 (±0.04)[ns]	0.63 (±0.06)[ns]	0.66 (±0.07)[ns]	0.67 (±0.07)[ns]
B	0.37 (±0.02)[ns]	0.56 (±0.03)[ns]	0.57 (±0.04)[ns]	0.60 (±0.05)[ns]
C	0.40 (±0.03)[ns]	0.59(±0.06)[ns]	0.59 (±0.06)[ns]	0.59 (±0.06)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 48 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium II ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	0.35 (±0.01) [ns]	0.47 (±0.02) [b]	0.50 (±0.05) [ns]	0.50 (±0.05) [ns]
B	0.33 (±0.05) [ns]	0.45 (±0.03) [b]	0.46 (±0.03) [ns]	0.47 (±0.03) [ns]
C	0.37 (±0.03) [ns]	0.57 (±0.02) [a]	0.57 (±0.02) [ns]	0.57 (±0.02) [ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 49 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium II ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	0.36(±0.03) [ns]	0.50(±0.05) [ns]	0.52 (±0.05) [ns]	0.52 (±0.05) [ns]
B	0.33 (±0.02) [ns]	0.44 (±0.05) [ns]	0.44 (±0.05) [ns]	0.44 (±0.05) [ns]
C	0.33 (±0.01) [ns]	0.45 (±0.03) [ns]	0.45 (±0.03) [ns]	0.45 (±0.03) [ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 50 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์รี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium III ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	0.35 (±0.01) [ns]	0.51 (±0.01)[a]	0.52 (±0.01)[a]	0.54 (±0.02)[a]
B	0.35 (±0.02) [ns]	0.53 (±0.03)[a]	0.53 (±0.03)[a]	0.53 (±0.03)[a]
C	0.32 (±0.01) [ns]	0.42 (±0.03)[b]	0.42 (±0.03)[b]	0.42 (±0.03)[b]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 51 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์รี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium III ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	0.35 (±0.02) [ns]	0.49 (±0.04) [ns]	0.51 (±0.04) [ns]	0.52 (±0.04) [ns]
B	0.36 (±0.03) [ns]	0.50 (±0.06) [ns]	0.50 (±0.06) [ns]	0.50 (±0.07) [ns]
C	0.33 (±0.01) [ns]	0.42 (±0.04) [ns]	0.42 (±0.04) [ns]	0.42 (±0.06) [ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

2.2.1.3 ผลของการ preculture ต่อขนาดของใบเลี้ยง

จากผลการทดลองในตารางที่ 39 เมื่อเลือกสังเกตผลของการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture ที่มีต่อขนาดของใบเลี้ยงมะเขือเทศ โดยทำการเปรียบเทียบผลในแต่ละชุดการทดลองที่ใช้อาหารเพาะเลี้ยงสูตรเดียวกัน และใช้ feeder cells ชนิดเดียวกันได้ผลดังนี้

จากชุดการทดลองที่ใช้ feeder cells แบบ A และเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอดด้วยอาหารสูตร medium I จะเห็นได้ว่า ความกว้างเฉลี่ยของใบเลี้ยงที่ผ่านขั้นตอนการ preculture และไม่ได้ preculture ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 52) และเมื่อเลี้ยงบนอาหาร medium II และ medium III ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 53) เช่นเดียวกันกับเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร medium III (ตารางที่ 54)

จากชุดการทดลองที่ใช้ feeder cells แบบ B และเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอดด้วยอาหารสูตร medium I จะเห็นได้ว่า ความกว้างเฉลี่ยของใบเลี้ยงที่ผ่านขั้นตอนการ preculture และไม่ผ่านขั้นตอนการ preculture มีการขยายขนาดไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 55) สำหรับการทดลองในลักษณะเดียวกันแต่เลี้ยงในอาหาร medium II และ medium III ก็ให้ผลเช่นเดียวกันกับเลี้ยงบน medium I (ตารางที่ 56) (ตารางที่ 57)

จากชุดการทดลองที่ใช้ feeder cell แบบ C และเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอด สูตร medium I จะเห็นได้ว่า ความกว้างเฉลี่ยของใบเลี้ยงที่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture บน feeder cells จะมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้นมากกว่าใบเลี้ยงที่ไม่ผ่านการ preculture ตลอดการทดลอง (ตารางที่ 58) สำหรับการทดลองในลักษณะเดียวกัน แต่เลี้ยงบนอาหาร medium II ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติของขนาดใบเลี้ยงที่ผ่านการทำ preculture และไม่ผ่านการทำ preculture (ตารางที่ 59) และเมื่อเลี้ยงบน medium III ก็ให้ผลเช่นเดียวกันกับเลี้ยงบน medium II (ตารางที่ 60)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 52 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน medium I โดยมีการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture ก่อน cocultivation บน tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + 2,4-D 0.1 mg/l และเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดโดยใช้ feeder cells ชนิดเดิม

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	I	0.38 (±0.03)[ns]	0.56 (±0.05)[ns]	0.59 (±0.05)[ns]	0.59 (±0.05)[ns]
-	I	0.43 (±0.04)[ns]	0.63 (±0.06)[ns]	0.66 (±0.07)[ns]	0.67 (±0.07)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 53 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน medium II โดยมีการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture ก่อน cocultivation บน tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + 2,4-D 0.1 mg/l และเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดโดยใช้ feeder cells ชนิดเดิม

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	II	0.35 (±0.02)[ns]	0.47 (±0.05)[ns]	0.50 (±0.05)[ns]	0.50 (±0.05)[ns]
-	II	0.36 (±0.03)[ns]	0.50 (±0.05)[ns]	0.52 (±0.05)[ns]	0.52 (±0.05)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 54 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน medium III โดยมีการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture ก่อน cocultivation บน tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + 2,4-D 0.1 mg/l และเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดโดยใช้ feeder cells ชนิดเดิม

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	III	0.35 (±0.01)[ns]	0.51 (±0.01)[ns]	0.52 (±0.01)[ns]	0.54 (±0.02)[ns]
-	III	0.35 (±0.02)[ns]	0.49 (±0.04)[ns]	0.51 (±0.04)[ns]	0.52 (±0.04)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 55 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน medium I และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS +1mg/l kinetin และ 0.1 mg/l IAA และมีการทำ preculture หรือไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	I	0.33 (±0.02)[ns]	0.40 (±0.06)[ns]	0.44 (±0.04)[ns]	0.46 (±0.04)[ns]
-	I	0.37 (±0.02)[ns]	0.56 (±0.03)[ns]	0.57 (±0.04)[ns]	0.60 (±0.05)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 56 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน medium II และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + kinetin 1 mg/l และ IAA 0.1 mg/l และมีการทำ preculture หรือไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	II	0.33 (±0.01)[ns]	0.45 (±0.03)[ns]	0.46 (±0.03)[ns]	0.47 (±0.03)[ns]
-	II	0.33 (±0.02)[ns]	0.44 (±0.05)[ns]	0.44 (±0.05)[ns]	0.44 (±0.05)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 57 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + kinetin 1 mg/l และ IAA 0.1 mg/l และมีการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	III	0.35 (±0.02)[ns]	0.53 (±0.03)[a]	0.53 (±0.03)[a]	0.53 (±0.03)[a]
-	III	0.36 (±0.03)[ns]	0.50 (±0.06)[b]	0.50 (±0.06)[b]	0.50 (±0.07)[b]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 58 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน medium I และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยผ่านขั้นตอนการทำ preculture หรือไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	I	0.45 (±0.02)[a]	0.79 (±0.05)[a]	0.80 (±0.06)[a]	0.80 (±0.06)[a]
-	I	0.40 (±0.03)[b]	0.59(±0.06)[bc]	0.59 (±0.06)[bc]	0.59 (±0.06)[bc]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 59 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน medium II และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยผ่านขั้นตอนการทำ preculture หรือไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	II	0.37 (±0.01)[ns]	0.57 (±0.02)[ns]	0.57 (±0.02)[ns]	0.57 (±0.02)[ns]
-	II	0.33 (±0.01)[ns]	0.45 (±0.03)[ns]	0.45 (±0.03)[ns]	0.45 (±0.03)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 60 ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน medium III และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยผ่านขั้นตอนการทำ preculture หรือไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Preculture/ nopreculture	Regeneration medium	cotyledon width, cm. (±SE)[1]			
		2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
+	III	0.32 (±0.01)[ns]	0.42 (±0.03)[ns]	0.42 (±0.03)[ns]	0.42 (±0.03)[ns]
-	III	0.32 (±0.01)[ns]	0.42 (±0.04)[ns]	0.42 (±0.04)[ns]	0.42 (±0.06)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี independent sample t – test

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2.2 การเกิดสีน้ำตาล

จากการถ่ายยีนเข้าสู่เนื้อเยื่อใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ในทุกชุดการทดลอง (treatment) โดยใช้อาหารที่ชักนำให้เกิดยอด 3 สูตร คือ medium I (Fillatti และคณะ, 1987) medium II (Attathom และคณะ, 1991) และ medium III (Roekel และคณะ, 1993) และมีการใช้ feeder cells 3 แบบ คือ A (เซลล์แขวนลอยยาสูบที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l), B (เซลล์แขวนลอยยาสูบที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม kinetin 1 mg/l และ IAA 0.1 mg/l) และ C (เซลล์แขวนลอยยาสูบที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร medium P) พบว่าใน 1-2 สัปดาห์แรก หลังจากที่ทำการถ่ายยีนเข้าสู่ใบเลี้ยง แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดยอด ใบเลี้ยงจะขยายขนาดอย่างรวดเร็วโดยใบเลี้ยงจะบวม และพองตัวออกหนาขึ้น และมีสีเขียวสดเข้มขึ้นมีขนาดใหญ่ขึ้น โดยการขยายขนาดของใบเลี้ยง 1-2 สัปดาห์แรกหลังจาก transformation ตรงบริเวณรอยตัดของใบเลี้ยงจะพบแคลลัส สีขาวและเขียว มีลักษณะเกาะกันแน่นเกิดขึ้น และเมื่อเข้าสัปดาห์ที่ 3-4 พบว่าแคลลัสและตามบริเวณรอยตัดและบริเวณแผ่นใบเลี้ยงที่ปริแยกออกจะเริ่มเป็นสีน้ำตาล(browning) และจะเกิดมากขึ้นในสัปดาห์ที่ 6-8 และทำการนับจำนวนใบเลี้ยงที่เกิดสีน้ำตาล โดยการนับใบเลี้ยงและแคลลัสที่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาลตั้งแต่ 50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบเลี้ยง และพบว่าหลังจากที่สีของใบเลี้ยงเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหลังจากนั้น เนื้อเยื่อใบเลี้ยงจะกลายเป็นสีน้ำตาลจนถึงดำ ภายในระยะเวลา 10-14 วัน ซึ่งจะทำให้เนื้อเยื่อตายในที่สุดและเมื่อสังเกตสีของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง พบว่าเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลด้วย ลักษณะการเกิดสีน้ำตาล (browning) แสดงดังรูปที่ 18 นอกจากนี้ยังพบว่าชุดการทดลองที่ 13 ซึ่งใช้ feeder cells แบบ C และเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร medium-I และชุดการทดลองที่ 14 ซึ่งใช้ feeder cells แบบ C และเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร medium I มีผลทำให้เกิดbrowning ต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญตลอดการทดลอง (ตารางที่ 61)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

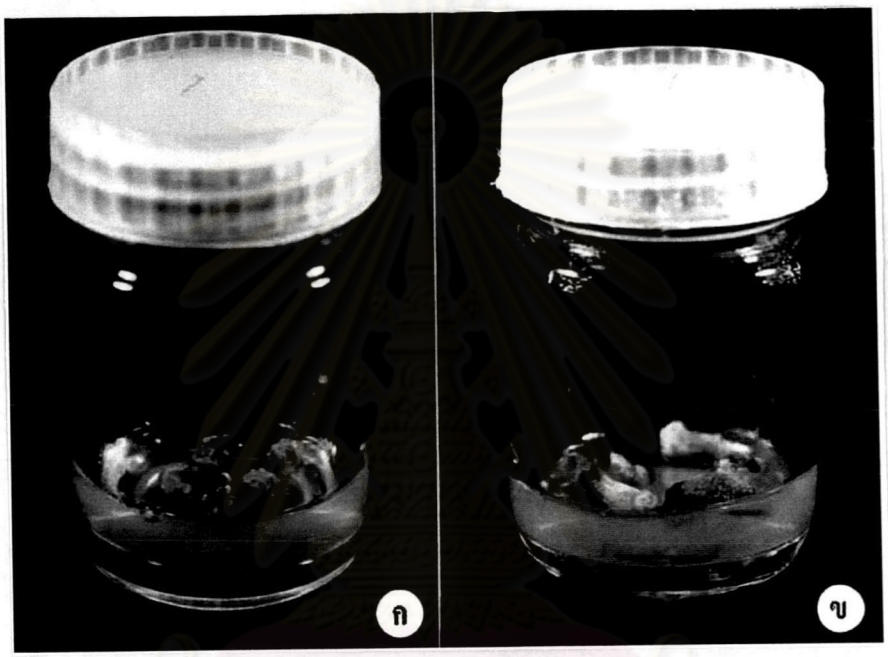
ตารางที่ 61 browning percentage,% ของใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III โดยมีการทำ preculture ก่อน cocultivation บน feeder cells 3 แบบ และเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดโดยใช้ feeder cells ชนิดเดิม

No.	Medium type	preculture	feeder cells type	browning percentage , % (±SE) [1]			
				2 week	4 weeks	6 weeks	8 weeks
1	I	+	A	10.00(±5.53)^{cde}	27.50(±7.86)^{bcd}	47.50(±9.47)^{bcde}	80.00(±10.41)^{bcde}
2	II	+	A	27.50(±5.83)^{ab}	42.50(±5.34)^{abc}	60.00 (±7.64)^{abcd}	77.50(±7.86)^{abcd}
3	III	+	A	8.33(±5.89)^{cde}	22.22(±7.73)^{bc}	27.78(±7.73)^{e}	36.11(±8.45)^{e}
4	I	-	A	12.50(±5.59)^{bcde}	27.50(±6.92)^{bcd}	39.50(±9.82)^{bcd}	45.00(±10.41)^{cde}
5	II	-	A	32.50(±7.50)^{a}	55.00(±8.17)^{a}	67.5(±5.34)^{ab}	77.50(±4.49)^{ab}
6	III	-	A	11.11(±4.39)^{bcde}	33.33(±10.21)^{abc}	50.00(±8.33)^{bcde}	55.56(±10.02)^{bcde}
7	I	+	B	11.11(±6.05)^{bcde}	30.56(±5.56)^{bc}	58.33(±5.89)^{abcd}	72.22(±5.01)^{abcd}
8	II	+	B	22.50(±2.50)^{abc}	47.50(±2.50)^{ab}	60.00(±4.08)^{abcd}	70.00(±6.24)^{abcd}
9	III	+	B	12.50(±4.17)^{bcde}	35.00(±4.08)^{abc}	55.00(±6.24)^{abcd}	67.50(±8.38)^{abcd}
10	I	-	B	15.00(±4.08)^{bcde}	30.00(±8.17)^{bc}	60.00(±7.64)^{abcd}	62.50(±8.54)^{abcd}
11	II	-	B	22.50(±5.83)^{abc}	42.50(±9.90)^{abc}	77.50(±10.17)^{a}	87.50(±6.72)^{a}
12	III	-	B	5.56(±3.68)^{de}	30.56(±6.94)^{bc}	55.56(±6.94)^{abcd}	75.00(±10.21)^{abcd}
13	I	+	C	0.00(±0.00)^{e}	6.25(±4.09)^{d}	28.13(±3.13)^{e}	28.13(±3.13)^{e}
14	II	+	C	0.00(±0.00)^{cdef}	7.50(±3.82)^{bcd}	25.00(±0.00)^{bc}	35.0(±4.08)^{abcd}
15	III	+	C	20.00(±5.0)^{f}	45.0(±6.24)^{d}	62.50(±8.54)^{d}	75.00(±11.80)^{cd}
16	I	-	C	10.00(±4.08)^{cdef}	22.5(±7.86)^{bcd}	35.00(±11.90)^{bcd}	42.50(±14.93)^{abcd}
17	II	-	C	15.63(±6.58)^{def}	40.63(±9.38)^{d}	46.88(±11.02)^{cd}	56.25(±13.98)^{d}
18	III	-	C	11.11(±4.39)^{cdef}	41.67(±4.17)^{bcd}	58.33(±5.89)^{bc}	72.22(±9.72)^{abcd}

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

^{ns}หมายถึงไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

\+ = ทำ preculture - = ไม่ทำ preculture



รูปที่ 18 ลักษณะการเกิดสีน้ำตาล(browning) ในใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่ได้รับการถ่ายยีน (transformation)

ก. ใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ภายหลังการย้ายลงอาหารกึ่งแข็งเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ข. ใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ภายหลังการย้ายลงอาหารกึ่งแข็งเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2.2.1 ผลของอาหารชักนำการเกิดยอดต่อการเกิด browning ของใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่

เมื่อทำการ transformation ใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่วิธีต่างๆ จำนวน 18 ชุดการทดลอง ทำการวัดขนาดของใบเลี้ยงในสัปดาห์ที่ 2 4 6 และ 8 หลังจากนำไปทำการเพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดยอดที่มียาปฏิชีวนะ ทำการเปรียบเทียบอาหารชักนำให้เกิดยอด 3 ชนิด เมื่อใช้ feeder cells ชนิดเดียวกัน และทำการ preculture หรือไม่ได้ทำ preculture พบว่า ทุกชุดการทดลองที่เพาะเลี้ยงในอาหารทั้ง 3 สูตร มีผลทำให้เกิด browning เพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลานานขึ้น แต่ผลที่เกิดจะแตกต่างไปตามชนิดของ feeder cells ที่ใช้ และการทำและไม่ทำ preculture

จากการทดลองที่ใช้เซลล์แขวนลอยของยาสูบที่เพาะเลี้ยงใน อาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l เป็น feeder cells และทำการ preculture เนื้อเยื่อใบเลี้ยงบน feeder cells 1 คืน ก่อนการทำ cocultivation บน feeder cells เป็นเวลา 2 วันแล้วจึงนำไปเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสำหรับชักนำให้เกิดยอดต่างกัน 3 สูตร คือ medium I medium II และ medium III ตามลำดับ หลังจากเลี้ยงในอาหารทั้ง 3 สูตร เป็นเวลา 6-8 สัปดาห์ พบว่า ใบเลี้ยงในอาหารสูตร medium III มีเปอร์เซ็นต์การเกิด browning น้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่อาหารสูตร medium I และ medium II มีผลทำให้เกิด browning ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 62) สำหรับการทดลองในลักษณะเดียวกันแต่ไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture พบว่าหลังจากเลี้ยงในอาหารทั้ง 3 สูตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ใบเลี้ยงในอาหารสูตร medium I มีเปอร์เซ็นต์การเกิด browning น้อยกว่าการเลี้ยงในอาหารสูตร medium II อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 63)

จากการทดลองที่ใช้เซลล์แขวนลอยของยาสูบที่เพาะเลี้ยงใน อาหารเหลวสูตร MS ที่เติม IAA 0.1 mg/l และ kinetin 1.0 mg/l เป็น feeder cells สำหรับทำ preculture พบว่าสูตรอาหาร medium I และ III มีผลทำให้เกิด browning น้อยกว่า medium II อย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 4 แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าสูตรอาหารทั้ง 3 สูตร มีผลทำให้เกิด browning ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 64) สำหรับการศึกษาโดยไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture พบว่าสูตรอาหารทั้ง 3 สูตร มีผลทำให้เกิด browning ไม่แตกต่างกันตลอดการทดลอง (ตารางที่ 65)

จากชุดการทดลองที่ใช้เซลล์แขวนลอยของพิทูเนียที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Medium P เป็น feeder cells พบว่าสูตรอาหาร medium I และ II พบการเกิด browning ไม่แตกต่างกันและน้อยกว่า medium III อย่างมีนัยสำคัญตลอดระยะเวลาการทดลอง (ตารางที่ 66) สำหรับการทดลองในลักษณะเดียวกันแต่ไม่ผ่านขั้นตอน preculture พบว่าสูตรอาหารทั้ง 3 สูตรมีผลทำให้เกิด browning ไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการทดลอง (ตารางที่ 67)

ตารางที่ 62 browning percentage,% ของใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III โดยมีการทำ preculture ก่อน cocultivation บน tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l และเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดโดยใช้ feeder cells ชนิดเดิม

Regeneration medium	Percentage browning, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	10.00(±5.53)^{b}	27.50(±7.86)^{ns}	47.50(±9.47)^{ab}	80.00(±10.41)^{a}
II	27.50(±5.83)^{a}	42.50(±5.34)^{ns}	60.00 (±7.64)^{a}	77.50(±7.86)^{a}
III	8.33(±5.89)^{b}	22.22(±7.73)^{ns}	27.78(±7.73)^{b}	36.11(±8.45)^{b}

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 63 browning percentage,% ของใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l ร่วมในการชักนำให้เกิดยอดหลังจากกระบวนการ cocultivation โดยไม่ผ่านการทำ preculture

Regeneration medium	Percentage browning, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	12.50(±5.59)^{b}	27.50(±6.92)^{ns}	39.50(±9.82)^{ns}	45.00(±10.41)^{b}
II	32.50(±7.50)^{a}	55.00(±8.17)^{ns}	67.5(±5.34)^{ns}	77.50(±4.49)^{a}
III	11.11(±4.39)^{b}	33.33(±10.21)^{ns}	50.00(±8.33)^{ns}	55.56(±10.02)^{ab}

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 64 Percentage browning,% ของใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เติม kinetin 1 mg/l และ IAA 0.1 mg/l และมีการทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Regeneration medium	Percentage browning, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	11.11(±6.05) ^{ns}	30.56(±5.56) ^{b}	58.33(±5.89) ^{ns}	72.22(±5.01) ^{ns}
II	22.50(±2.50) ^{ns}	47.50(±2.50) ^{a}	60.00(±4.08) ^{ns}	70.00(±6.24) ^{ns}
III	12.50(±4.17) ^{ns}	35.00(±4.08) ^{b}	55.00(±6.24) ^{ns}	67.50(±8.38) ^{ns}

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

^{ns} หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 65 Percentage browning,% องใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เติม 1kinetin mg/l และ IAA 0.1 mg/l โดยไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture ก่อนทำ cocultivation

Regeneration medium	Percentage browning, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	15.00(±4.08) ^{ns}	30.00(±8.17) ^{ns}	60.00(±7.64) ^{ns}	62.50(±8.54) ^{ns}
II	22.50(±5.83) ^{ns}	42.50(±9.90) ^{ns}	77.50(±10.17) ^{ns}	87.50(±6.72) ^{ns}
III	5.56(±3.68) ^{ns}	30.56(±6.94) ^{ns}	55.56(±6.94) ^{ns}	75.00(±10.21) ^{ns}

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

^{ns} หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 66 Percentage browning,% ของใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยผ่านขั้นตอนการทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Regeneration medium	Percentage browning, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	0.00(±0.00)[b]	6.25(±4.09)[b]	28.13(±3.13)[b]	28.13(±3.13)[b]
II	0.00(±0.00)[b]	7.50(±3.82)[b]	25.00(±0.00)[b]	35.00(±4.08)[b]
III	20.00(±5.00)[a]	45.00(±6.24)[a]	62.50(±8.54)[a]	75.00(±11.18)[a]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 67 Percentage browning,% ของใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation

Regeneration medium	Percentage browning, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
I	10.00(±4.08)[ns]	22.50(±7.86)[ns]	35.00(±11.90)[ns]	42.50(±14.93)[ns]
II	15.63(±6.58)[ns]	40.63(±9.38)[ns]	46.88(±11.02)[ns]	56.25(±13.98)[ns]
III	11.11(±4.39)[ns]	41.67(±4.18)[ns]	58.33(±5.89)[ns]	72.22(±9.72)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

2.2.2.2 ผลของชนิดของ feeder cells ต่อการเกิด browning

จากการทดลองทำ transformation ใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ด้วยวิธีต่างๆ จำนวน 18 ชุดการทดลอง ทำการวัดเปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของใบเลี้ยงในสัปดาห์ที่ 2 4 6 และ 8 หลังจากนำไปทำการเพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดยอด 3 แบบที่มียาปฏิชีวนะ และทำการเปรียบเทียบการใช้ feeder cells ที่แตกต่างกัน 3 แบบ (แบบ A B และ C) ผ่านขั้นตอนการทำ preculture หรือไม่ได้ทำ เมื่อนำไปทำการเพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดยอดที่มียาปฏิชีวนะชนิดเดียวกัน พบว่าการใช้ feeder cells ทั้ง 3 แบบ ส่งผลให้เกิด browning เพิ่มมากขึ้นในใบเลี้ยงมะเขือเทศเมื่อทำการทดลองเป็นเวลานานขึ้น อย่างไรก็ดีผลที่เกิดขึ้นแตกต่างไปตามชนิดของ medium ที่ใช้

จากชุดการทดลองที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร medium I พบว่าในระยะแรกของการทดลอง คือ ใบเลี้ยงที่ใช้ feeder cells แบบ C มีเปอร์เซ็นต์ browning ต่ำกว่าการใช้ feeder cells แบบ A และ B อย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 4 จนสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 68) สำหรับชุดทดลองที่ไม่ผ่านการทำ preculture พบว่า การใช้ feeder cells ทั้ง 3 แบบมีผลต่อการเกิด browning ไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาของการทดลอง (ตารางที่ 69)

จากชุดการทดลองที่ใช้อาหารสูตร medium II พบว่าการใช้ feeder cells แบบ C มีผลทำให้เกิด browning น้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญตลอดการทดลอง(ตารางที่ 70) แต่สำหรับชุดทดลองที่ไม่ผ่านการทำ preculture พบว่า การใช้ feeder cells ทั้ง 3 แบบมีผลต่อการเกิด browning ไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาของการทดลอง (ตารางที่ 71)

จากชุดการทดลองที่ใช้อาหารสูตร medium III พบว่าการใช้ feeder cells แบบ A ทำให้เกิด browning น้อยกว่าแบบ B และ C อย่างมีนัยสำคัญตลอดระยะเวลาของการทดลอง (ตารางที่ 72) แต่สำหรับชุดทดลองที่ไม่ผ่านการทำ preculture พบว่า การใช้ feeder cells ทั้ง 3 แบบมีผลต่อการเกิด browning ไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาของการทดลอง (ตารางที่ 73)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 68 เปอร์เซ็นต์การเกิด browning (percentage browning, %) ของใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium I ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	Percentage browning, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	10.00(±5.53)[ns]	27.50(±7.86)[a]	47.50(±9.47)[ab]	80.00(±10.41)[a]
B	11.11(±6.05)[ns]	30.56(±5.56)[a]	58.33(±5.89)[a]	72.22(±5.01)[a]
C	0.00(±0.00)[ns]	6.25(±4.09)[b]	28.13(±3.13)[b]	28.13(±3.13)[a]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 69 เปอร์เซ็นต์การเกิด browning (percentage browning, %) ของใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium I ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	Percentage browning, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	12.50(±5.59)[ns]	27.50(±6.92)[ns]	39.50(±9.82)[ns]	45.00(±10.41)[ns]
B	15.00(±4.08)[ns]	30.00(±8.17)[ns]	60.00(±7.64)[ns]	62.50(±8.54)[ns]
C	10.00(±4.08)[ns]	22.50(±7.86)[ns]	35.00(±11.90)[ns]	42.50(±14.93)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 70 เปอร์เซ็นต์การเกิด browning (percentage browning, %) ของใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium II ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	Percentage browning, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	27.50(±5.83)[a]	42.50(±5.34)[a]	60.00 (±7.64)[a]	77.50(±7.86)[a]
B	22.50(±2.50)[a]	47.50(±2.50)[a]	60.00(±4.08)[a]	70.00(±6.24)[a]
C	0.00(±0.00)[b]	7.50(±3.82)[b]	25.00(±0.00)[b]	35.00(±4.08)[b]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 71 เปอร์เซ็นต์การเกิด browning (percentage browning, %) ของใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium II ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	Percentage browning, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	32.50(±7.50)[ns]	55.00(±8.17)[ns]	67.5(±5.34)[ns]	77.50(±4.49)[ns]
B	22.50(±5.83)[ns]	42.50(±9.90)[ns]	77.50(±10.17)[ns]	87.50(±6.72)[ns]
C	15.63(±6.58)[ns]	40.63(±9.38)[ns]	46.88(±11.02)[ns]	56.25(±13.98)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 72 เปอร์เซ็นต์การเกิด browning (Percentage browning,%) ของใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium IIIภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	Percentage browning, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	8.33(±5.89)[ns]	22.22(±7.73)[b]	27.78(±7.73)[b]	36.11(±8.45)[b]
B	12.50(±4.17)[ns]	35.00(±4.08)[ab]	55.00(±6.24)[a]	67.50(±8.38)[a]
C	20.00(±5.00)[ns]	45.00(±6.24)[a]	62.50(±8.54)[a]	75.00(±11.18)[a]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 73 เปอร์เซ็นต์การเกิด browning(Percentage browning,%) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium III ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation

Feeder cells	Percentage browning, % (±SE)[1]			
	2 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks
A	11.11(±4.39)[ns]	33.33(±10.21)[ns]	50.00(±8.33)[ns]	55.56(±10.02)[ns]
B	5.56(±3.68)[ns]	30.56(±6.94)[ns]	55.56(±6.94)[ns]	75.00(±10.21)[ns]
C	11.11(±4.39)[ns]	41.67(±4.18)[ns]	58.33(±5.89)[ns]	72.22(±9.72)[ns]

[1] ตัวอักษรภาษาอังกฤษหลังตัวเลขที่เหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[ns] หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

2.2.3 การเกิดยอด

จากการถ่ายยีนเข้าสู่เนื้อเยื่อใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ ใน 18 treatment พบว่า จะเริ่มเกิด regeneration เห็นเป็นตายอดขนาดเล็กสีเขียวบริเวณแคลลัสที่เกิดขึ้นบริเวณรอยตัด หรืออาจจะเกิดจากรอยปริของแผ่นใบเลี้ยงตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 เป็นต้นไปในทุกชุดการทดลอง และจะเห็นชัดเจนขึ้น มีจำนวนเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ถัดๆ มา และพบว่า เมื่อเนื้อเยื่อใบเลี้ยงเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองไปจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ยอดที่เกิดที่มีขนาดเล็กจะชะงักการเจริญเติบโต และจะตายภายใน 10 – 14 วัน แต่ถ้าเป็นต้นที่ค่อนข้างสมบรูณ์และมีขนาดใหญ่พบว่าจะเจริญเติบโตช้าลง บันทึกข้อมูล จำนวนขวดที่มี regeneration จำนวนใบเลี้ยงที่มี regeneration จำนวนยอดต่อชิ้น (ตารางที่ 74) (รูปที่ 19) ในการทดลองในครั้งนี้ ได้ทำ positive control และ negative control เพื่อทำการเปรียบเทียบผลกับทุกชุดการทดลองด้วย

negative control ทำโดยการนำเอาชิ้นส่วนของพืชที่ไม่ได้ผ่านการ cocultivation มาเลี้ยงบน regeneration medium ที่มียาปฏิชีวนะ kanamycin ไม่พบการเกิดเป็นแคลลัส และเนื้อเยื่อใบเลี้ยงของมะเขือเทศจะตายภายใน 10 -14 วัน (รูปที่ 19)

positive control ทำเช่นเดียวกับ positive control ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ โดยผลพบว่า ใบเลี้ยงของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่สามารถรีเจนเนอเรทเกิดเป็นยอดได้ดี ทั้ง 3 สูตรอาหาร ที่ไม่มี kanamycin และมี feeder layer (รูปที่ 20) ในขณะที่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบเลี้ยงมะเขือเทศโดยไม่มี feeder พบว่า เนื้อเยื่อใบเลี้ยงจะมีการเจริญพัฒนาเป็นแคลลัสแต่ไม่พัฒนาเป็นยอด หรือได้ยอดเพียงเล็กน้อย (รูปที่ 21)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

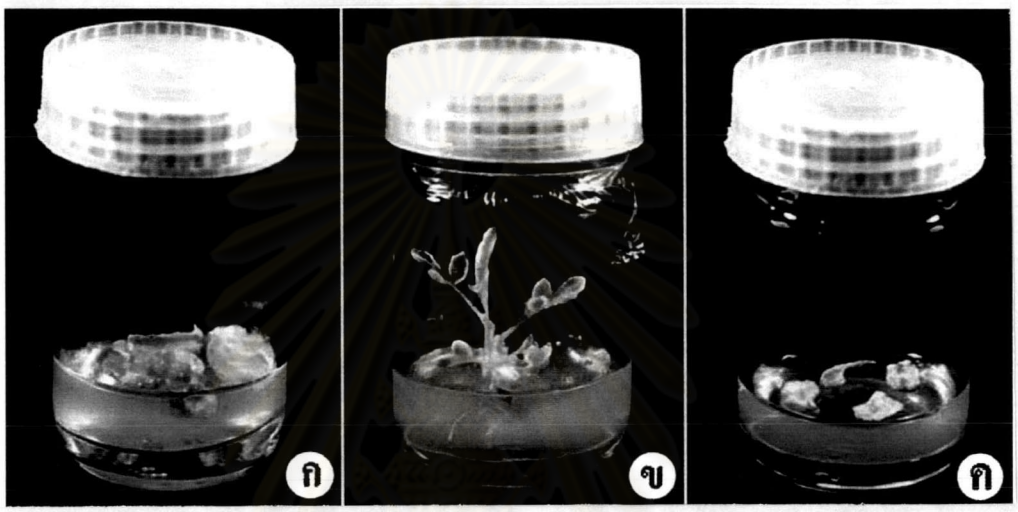
ตารางที่ 74 ผลของการศึกษาสูตรอาหารและขั้นตอนที่เหมาะสมในการถ่ายยีนเข้าสู่มะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรี่ที่มีต่อการเกิดยอดจากใบเลี้ยง เมื่อเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์

Treatment	medium type	feeder cells type	Pre-culture	ค่าเฉลี่ยจำนวนขวดที่มี regeneration (%)	จำนวนใบเลี้ยงที่มี regeneration / ใบเลี้ยงทั้งหมด	Putative transformation efficiency (TE*)	ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดต่อชิ้นใบเลี้ยง
1.	I	A	+	30	4/40	20	2
2.	II	A	+	30	4/40	17.5	1.75
3.	III	A	+	22	2/36	11.1	2
4.	I	A	-	20	2/40	12.5	2.5
5.	II	A	-	20	2/40	10	2
6.	III	A	-	22	2/36	8.3	1.5
7.	I	B	+	33	5/36	22.2	1.6
8.	II	B	+	30	3/40	12	1.6
9.	III	B	+	33	5/36	16.7	1.2
10.	I	B	-	30	3/40	17.3	2.3
11.	II	B	-	20	2/40	10	2
12.	III	B	-	37.5	4/32	15.6	1.25
13.	I	C	+	37.5	5/32	18.8	1.2
14.	II	C	+	40	4/40	15	1.5
15.	III	C	+	37.5	3/40	7.5	1.0
16.	I	C	-	20	2/40	12.5	2.5
17.	II	C	-	37.5	3/32	18.8	2
18.	III	C	-	11	2/36	5.6	1

*Transformation efficiency (TE) = Number of confirmed transformed shoot X 100

Number of explants treated

(Firoozabady และ Kuehnle, 1995)



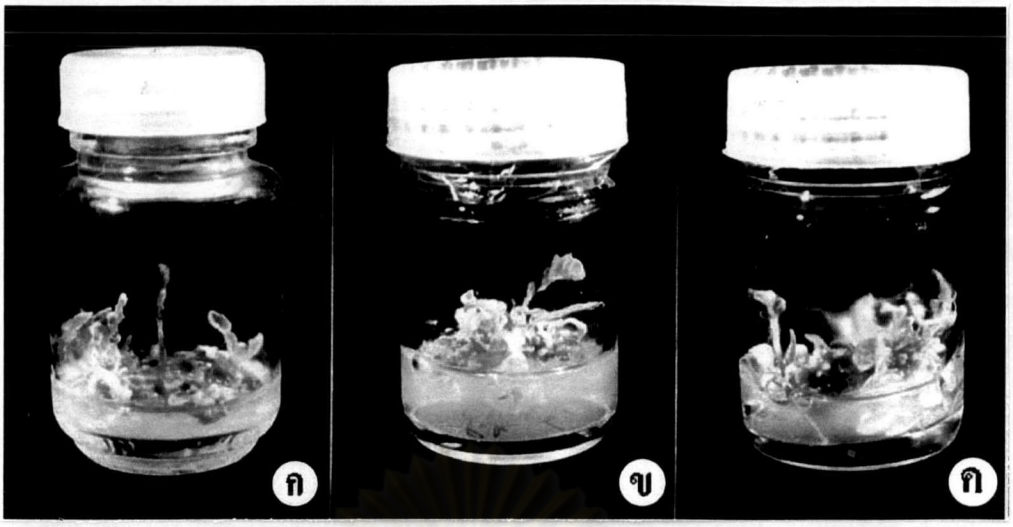
รูปที่ 19 ใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรี่ ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอดที่มี kanamycin 100 mg/l

ก. ใบเลี้ยงที่ได้รับการถ่ายยีน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์

ข. ใบเลี้ยงที่ได้รับการถ่ายยีน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ค. ใบเลี้ยงที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

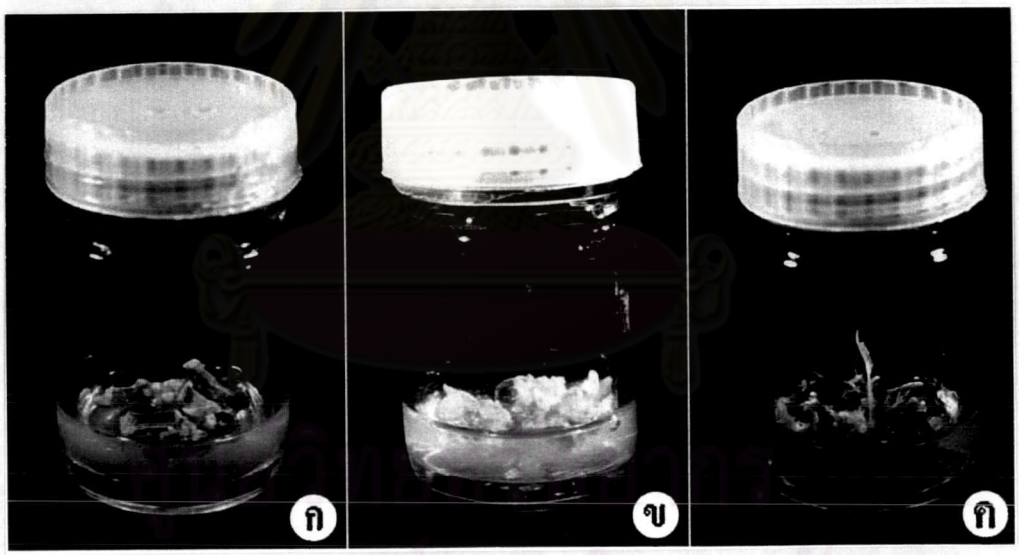


รูปที่ 20 ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่ไม่ได้รับการถ่ายยีนแล้วเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอด 3 สูตรที่ไม่มี kanamycin 100 mg/l และมี feeder

ก. medium I (Filatti และคณะ, 1987)

ข. medium II (Attathom และคณะ, 1991)

ค. medium III (Roekel และคณะ, 1993)



รูปที่ 21 ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่ไม่ได้รับการถ่ายยีนเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอดที่ไม่มี kanamycin 100 mg/l และไม่มี feeder

ก. medium I (Fillatti และคณะ,1987)

ข. medium II (Attathom และคณะ,1991)

ค. medium III (Roekel และคณะ, 1993)

3. ผลของการตรวจสอบต้นมะเขือเทศที่คาดว่าจะเป็น Transgenic plant

จากการทดลองถ่ายยีนเข้าในมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์และสวีทเซอรี่โดยใช้ภาวะต่างๆ ผลได้ต้นมะเขือเทศที่คาดว่าจะเป็น transgenic plant หลังจากการถ่ายยีนเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยได้ทำการดูแลเปลี่ยนอาหาร และชักนำให้เกิดราก จนได้ต้นที่มีขนาดใหญ่พอจะทำการสกัด DNA จำนวนรวม 18 ตัวอย่าง ดังตารางที่ 75

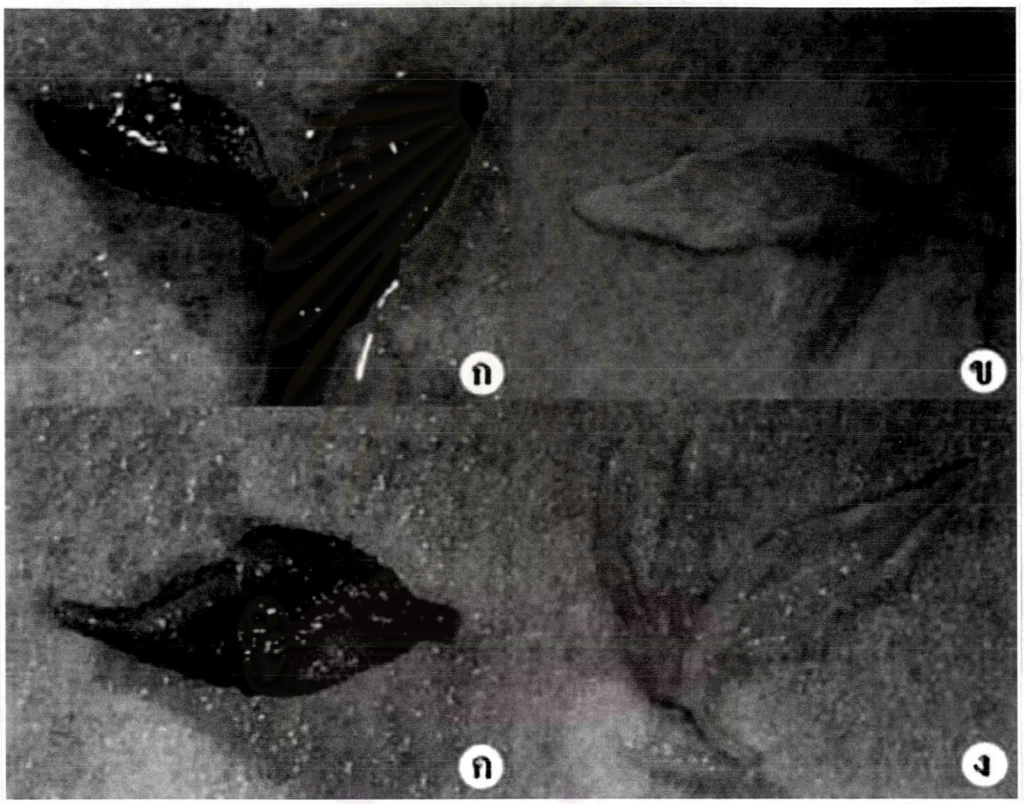
ตารางที่ 75 แสดงจำนวนต้นมะเขือเทศที่นำมาตรวจสอบ GUS activity และ PCR

treatment	จำนวนต้นที่นำมาตรวจ	
	พันธุ์สีดาทิพย์	พันธุ์สวีทเซอรี่
1	1	1
2	-	2
3	-	-
4	-	-
5	-	-
6	-	-
7	1	1
8	1	2
9	-	1
10	1	-
11	-	-
12	-	-
13	1	1
14	1	1
15	-	-
16	-	1
17	1	1
18	-	-

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.1 ผลการตรวจสอบ GUS activity โดยวิธี Histochemical Assay

จากการตรวจสอบ GUS activity ในต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่ได้จาก 7 treatment จำนวน 7 ต้น และพันธุ์สวีทเชอรี่ที่ได้จาก 9 treatment จำนวน 11 ต้น ผล พบว่าเนื้อเยื่อของต้นที่ได้จากการ transform ทุกต้น จะติดสีน้ำเงินของ dichloro-dibromoindigo ภายหลังจาก incubate ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (รูปที่ 22)



รูปที่ 22 การตรวจสอบการทำงานของเอ็นไซม์ GUS ในต้นมะเขือเทศที่ได้จากการชักนำใบเลี้ยงของมะเขือเทศทั้ง 2 พันธุ์ที่ถูกถ่ายยีน

ก. ใบของต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่ได้รับการถ่ายยีน

ข. ใบของต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน

ค. ใบของต้นมะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรี่ที่ได้รับการถ่ายยีน

ง. ใบของต้นมะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรี่ที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 ผลของการตรวจสอบต้นที่คาดว่าจะเป็น Transgenic plant ด้วยวิธี PCR

3.2.1 การศึกษา condition ที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มจำนวน DNA

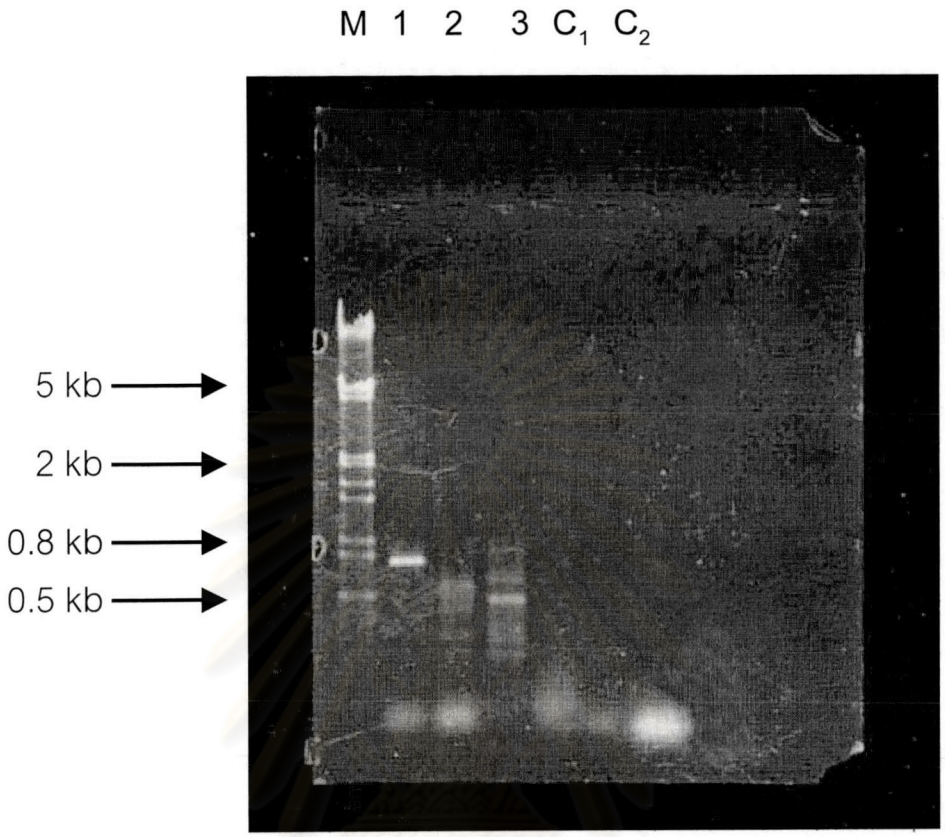
3.2.1.1 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในขั้นตอน Annealing

จากการทำ PCR โดยใช้ DNA ของ transgenic tobacco ปริมาณ 100 ไมโครกรัม เป็น template และ specific primers สำหรับยีน *NPT II* และใช้อุณหภูมิจำเพาะสำหรับขั้นตอน annealing ที่ 55, 60, 61, 62, 63, 64 และ 65 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่า ที่อุณหภูมิ annealing เป็น 55 องศาเซลเซียส นั้นจะพบแถบ DNA จำนวนแถบขนาดประมาณ 0.8 กิโลเบส ส่วนที่อุณหภูมิสูงกว่า 55 องศาเซลเซียส ผลไม่พบว่ามี DNA ถูกเพิ่มจำนวนในทุกชุดการทดลอง

3.2.1.2 ศึกษาความเข้มข้นของ primers ที่เหมาะสม

จากการทดลอง โดยใช้อุณหภูมิขั้นตอน annealing 55 องศาเซลเซียส ปริมาณ DNA พืชสุทธิ 100 ng และใช้ความเข้มข้นของ primers ที่ 1 μM, 5 μM และ 10 μM พบว่า เมื่อใช้ความเข้มข้นของ primers 1 μM จะได้แถบ DNA 1 แถบ ขนาดประมาณ 0.8 กิโลเบสชัดเจน ส่วนเมื่อใช้ความเข้มข้นของ primers 5 μM และ 10 μM จะพบแถบ DNA หลายแถบ ขนาดประมาณ 0.8 กิโลเบส และ น้อยกว่า 0.8 กิโลเบส (รูปที่ 23)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 23 แสดงผลของการเพิ่มปริมาณ DNA ของ *NPT II* gene จาก transgenic tobacco โดยใช้ specific primers ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ช่องที่ 1 – 3 คือผลของ PCR ที่ใช้ primer ที่ความเข้มข้น 1, 5 และ 10 μM ตามลำดับ

M = Marker

C_1 = negative control (H_2O)

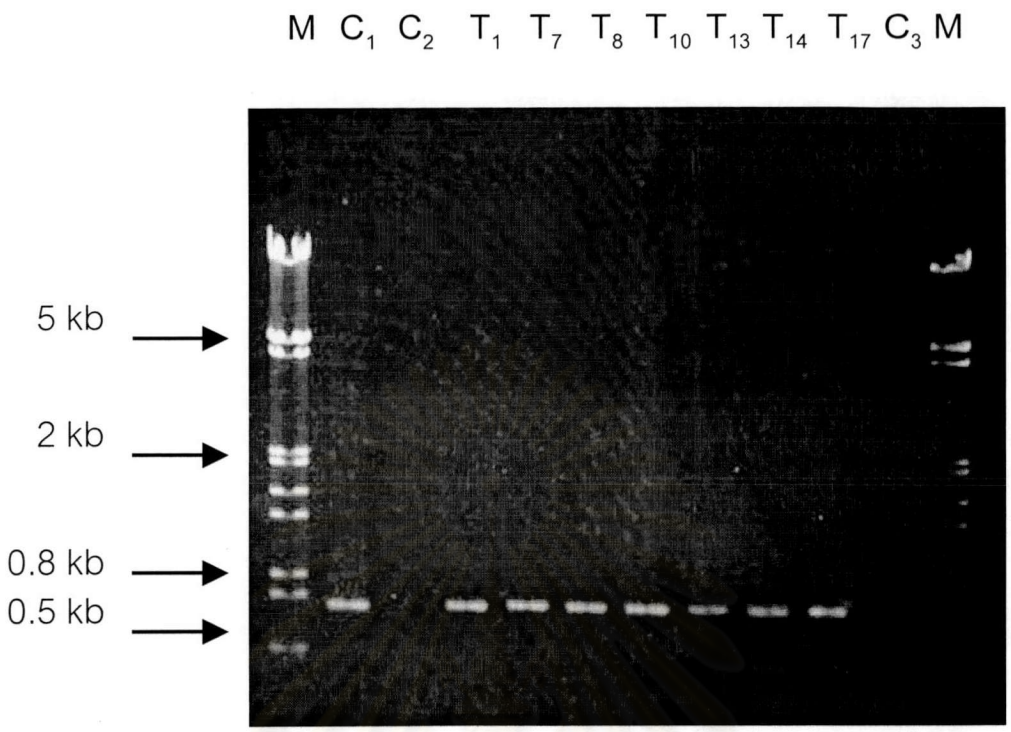
C_2 = negative control (nontransgenic soybean)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.2 ตรวจสอบต้นมะเขือเทศที่ได้รับการ transformation

จากผลการตรวจสอบต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์และพันธุ์สวีทเซอรี่ ที่ได้รับการถ่ายยีน โดยเทคนิคการเพิ่มปริมาณ DNA (PCR; Polymerase Chain Reaction) โดยใช้ Specific primers สำหรับยีน *NPT II* ผลการศึกษา จากการตรวจสอบต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ จำนวน 7 treatment จำนวน 7 ต้น และ ตรวจสอบต้นมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ จำนวน 9 treatment จำนวน 11 ต้น ได้แถบ DNA 1 แถบจากทุกต้น ขนาดประมาณ 0.8 กิโลเบส (รูปที่ 24-25)

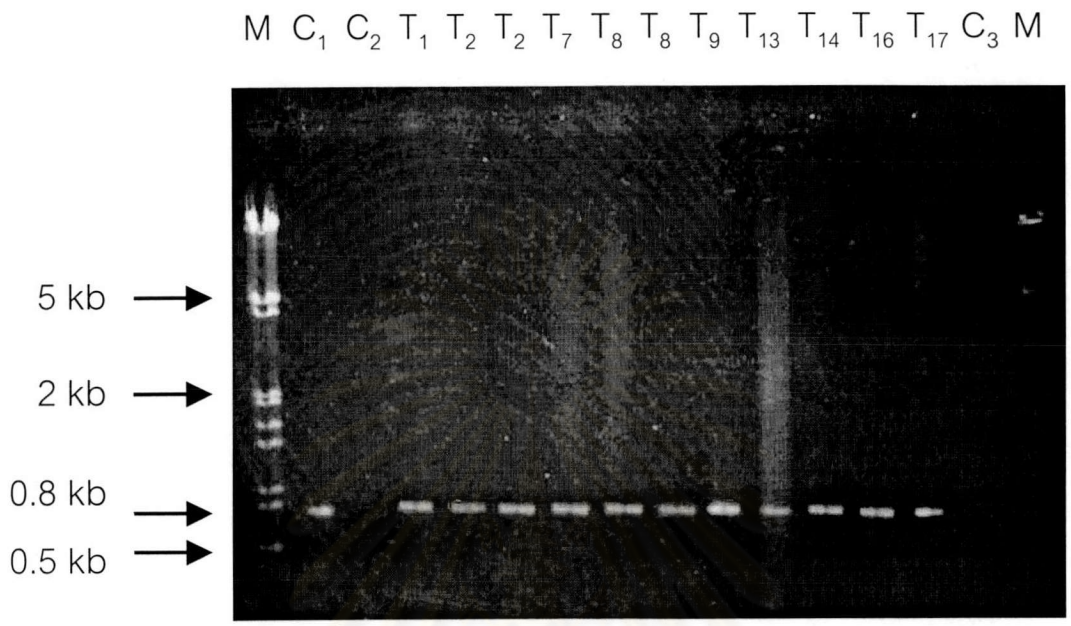
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 24 ผลของการเพิ่มปริมาณ DNA โดยใช้ specific primers สำหรับ *NPT* II genes กับดีเอ็นเอของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่ได้รับการถ่ายยีน

โดย T_1 = treatment ที่ 1 T_7 = treatment ที่ 7 T_8 = treatment ที่ 8
T_{10} = treatment ที่ 10 T_{13} = treatment ที่ 13 T_{14} = treatment ที่ 14
T_{17} = treatment ที่ 17
M = Marker
C_1 = transgenic tobacco
C_2 = negative control (H_2O)
C_3 = negative control (nontransgenic soybean)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 25. ผลของการเพิ่มปริมาณ DNA โดยใช้ Specific primers สำหรับ *NPT II* genes กับดีเอ็นเอ ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรี่ที่ได้รับการถ่ายยีน

โดย T_1 = treatment 1 T_2 = treatment 2 T_7 = treatment 7 T_8 = treatment 8

T_9 = treatment 9 T_{13} = treatment 13 T_{14} = treatment 14 T_{16} = treatment 16

T_{17} = treatment 17 M = Marker

C_1 = transgenic tobacco

C_2 = negative control (H_2O)

C_3 = negative control (non transgenic soybean)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย