ผลของชนิดของฟีดเดอร์เซลล์ และอาหารที่ใช้ในการรีเจนเนอเรทที่มีต่อการถ่ายยีน ด้วย *Agrobacterium tumefaciens* เข้าสู่มะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ และสวีทเชอรี่ (*Lycopersicon esculentum* Mill. cultivar Seedatip AND Sweet Cherry)

นางสายสุนี แก้วเทศ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-3070-5

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I21041659

EFFECTS OF TYPES OF FEEDER CELLS AND REGENERATION MEDIA ON *Agrobacterium tumefaciens* MEDIATED TRANSFORMATION OF TOMATO cultivar Seedatip AND Sweet Cherry (*Lycopersicon esculentum* Mill. cultivar Seedatip AND Sweet Cherry)

Mrs. Saisunee Kaewthed

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Genetics
Department of Botany
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2002
ISBN 974-17-3070-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของชนิดของฟีดเดอร์เซลล์ และอาหารที่ใช้ในการรีเจนเนอเรทที่มีต่อการถ่ายยีนด้วย *Agrobacterium tumefaciens* เข้าสู่มะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์และสวีทเชอรี่ (*Lycopersicon esculentum* Mill. cultivar Seedatip AND Sweet Cherry)
โดย	นางสายสุนี แก้วเทศ
สาขาวิชา	พันธุศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศุภจิตรา ชัชวาลย์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พัชรา ลิมปนะเวช

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย โพธิ์พิจิตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(อาจารย์ ดร.พงศ์ธาริน โล่ห์ตระกูล)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศุภจิตรา ชัชวาลย์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พัชรา ลิมปนะเวช)

.....กรรมการ

(อาจารย์ ดร.กนกวรรณ เสรีภาพ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สายสุนี แก้วเทศ : ผลของชนิดของฟีดเดอร์เซลล์และอาหารที่ใช้ในการรีเจนเนอเรท ที่มีต่อการถ่ายยีนด้วย *Agrobacterium tumefaciens* เข้าสู่มะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ และสวีทเชอรี่ (*Lycopersicon esculentum* Mill. cultivar Seedatip AND Sweet Cherry) (EFFECTS OF TYPES OF FEEDER CELLS AND REGENERATION MEDIA ON *Agrobacterium tumefaciens* MEDIATED TRANSFORMATION OF TOMATO cultivar Seedatip AND Sweet Cherry (*Lycopersicon esculentum* Mill. cultivar Seedatip AND Sweet Cherry) อ. ที่ปรึกษา : ผศ.ดร.ศุภจิตรา ชัชวาลย์, อ. ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. พัชรา ลิมปนะเวช, 145 หน้า. ISBN 974-17-3070-5

การเตรียมฟีดเดอร์เซลล์จากแคลลัสของยาสูบ ที่ได้จากแผ่นใบที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l พบว่า แคลลัสที่เจริญในอาหารดังกล่าวมีลักษณะแตกต่างกัน คอมแพกแคลลัสสีเขียวและสีขาวสามารถเจริญเป็นยอดได้ ในอาหาร KDMS ในเวลา 80 วัน ในขณะที่ไฟรเอเบิลแคลลัสที่มีลักษณะเซลล์ใสไม่มีสีเขียว เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายไปในที่สุด เมื่อนำคอมแพกแคลลัสสีเขียวและสีขาวนี้มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l พบว่า ได้เซลล์แขวนลอยสีเหลืองอมเขียวที่เพิ่มปริมาณได้ และมีขนาดเล็ก กระจายตัวดี เมื่อย้ายเซลล์แขวนลอยนี้มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม IAA 0.1 mg/l และ kinetin 1.0 mg/l พบว่า เซลล์แขวนลอยเจริญเติบโตเป็นกลุ่มเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ซึ่งผลที่ได้ต่างจากการย้ายคอมแพกแคลลัสสีเขียวและ สีขาวมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม IAA 0.1 mg/l และ kinetin 1.0 mg/l โดยตรงที่พบว่า แคลลัสให้เซลล์แขวนลอยน้อย แต่มีการรีเจนเนอเรทเป็นยอดจำนวนมาก จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นฟีดเดอร์เซลล์

สำหรับการเลี้ยงแคลลัสจากแผ่นใบพิทูเนียในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 mg/l พบว่าได้แคลลัสสีเขียวอมเหลือง ลักษณะเซลล์ค่อนข้างละเอียด เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหาร medium B สามารถเกิดการรีเจนเนอเรทเป็นยอดได้ดี และเมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงในอาหารเหลว medium P พบว่าได้เซลล์แขวนลอยสีเขียวอมเหลือง ลักษณะเซลล์ละเอียด และกระจายตัวดี ซึ่งสามารถใช้เป็นฟีดเดอร์เซลล์ได้

จากการศึกษาวิธีการถ่ายยีนเข้าสู่มะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์และสวีทเชอรีรวม 18 การทดลอง โดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ LBA 4404 ซึ่งมีพลาสมิด pBI121 ที่มี *gus* gene เป็นยีนรายงานผล และ *npt* II gene เป็นยีนเครื่องหมายสำหรับการคัดเลือก พบว่า ใบเลี้ยงของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ขยายขนาดได้ดีที่สุดเมื่อใช้เซลล์แขวนลอยพิทูเนียเป็นฟีดเดอร์โดยทำ preculture ด้วยเป็นเวลา 1 คืน และเลี้ยงบน regeneration medium III รองลงมา คือ การใช้เซลล์แขวนลอยยาสูบที่เลี้ยงในอาหารMS ที่เติม IAA 0.1 mg/l และ kinetin 1.0 mg/l เป็นฟีดเดอร์โดยไม่ทำ preculture และเลี้ยงบน regeneration medium II ส่วนใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรี่ขยายขนาดได้ดีที่สุดเมื่อใช้เซลล์แขวนลอยพิทูเนียเป็นฟีดเดอร์ และเลี้ยงบน regeneration medium I รองลงมา คือ การใช้เซลล์แขวนลอยยาสูบที่เลี้ยงในอาหารMS ที่เติม IAA 0.1 mg/l และ kinetin 1.0 mg/l เป็นฟีดเดอร์และเลี้ยงบน regeneration medium II ทั้งนี้การ preculture และไม่ preculture ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนประสิทธิภาพในการถ่ายยีนเข้าสู่มะเขือเทศทั้ง 2 พันธุ์ จากทั้ง 18 การทดลอง พบว่า มะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ และพันธุ์สวีทเชอรี่มีค่า pupative transformation efficiency เป็น 2.5-18.0% และ 5.6-22.2% ตามลำดับ

ต้นมะเขือเทศที่คาดว่าจะเป็นต้นที่ได้รับการถ่ายยีนได้ถูกนำมาตรวจสอบเอนไซม์กลูคูโรนิเดส โดยวิธี histochemical detection และโดยการเพิ่มชิ้นส่วนของยีน *npt* II โดยใช้ไพร์เมอร์จำเพาะ ซึ่งพบว่าพืชทุกต้นที่นำมาตรวจสอบให้ผลบวกในการตรวจสอบยีนทั้งสอง การทดสอบนี้ยืนยันประสิทธิภาพการถ่ายยีนว่าเป็นดังที่ระบุไว้ข้างต้น

ภาควิชา.....พฤกษศาสตร์..... ลายมือนิสิต.....

สาขาวิชา..... พันธุศาสตร์..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา.....2545..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

##4272428123 : MAJOR GENETICS

KEYWORDS : TOMATO / *Agrobacterium tumefaciens*. / *NPT II* GENE / POLYMERASE CHAIN REACTION.

EFFECTS OF TYPES OF FEEDER CELLS AND REGENERATION MEDIA ON *Agrobacterium tumefaciens*. MEDIATED TRANSFORMATION OF TOMATO cultivar *Seedatip* AND *Sweet Cherry*.) *Lycopersicon esculentum*. Mill. cultivar *Seedatip* AND *Sweet Cherry*). THESIS ADVISOR : ASSIST.PROF.DR. SUPACHITRA CHADCHAWAN, CO-ADVISOR : ASSIST.PROF.PATCHARA LIMPANAVECH. 145 pp. ISBN 974-17-3070-5

Feeder cells were prepared from tobacco callus produced from leaf tissue which was cultured in MS medium containing 0.1 mg/l 2,4-D. Different types of callus were reported. The green and white compact callus regenerated well on KDMS medium within 80 days, while the translucent friable callus turned brown and finally died, the green and white compact callus generated fine greenish yellow cell suspension. In liquid MS medium containing 0.1 mg/l 2,4-D, which transferred to liquid MS medium containing 0.1 mg/l IAA +1.0 mg/l kinetin, grew into aggregates and turned brown afterwards. On the contrary, when the green and white compact callus was directly transferred to liquid MS containing 0.1 mg/l IAA +1.0 mg/l kinetin, shoot buds were produced rather than cell suspension. Therefore, it was not suitable to use as feeder.

The petunia feeder cells were also prepared from leaf callus induced on MS medium containing 1.0 mg/l 2,4-D. Petunia callus was composed of yellowish green small cells. When cultured on medium B, the callus regenerated shoot buds whereas it produced fine cell suspension when cultured in medium P which was also used as feeder.

Eighteen treatments of transformation techniques were studied in 2 cultivars of tomato, 'Seedatip' and 'Sweet Cherry' by using *Agrobacterium tumefaciens* LBA 4404 carrying pBI121 plasmid which contains *gus* reporter gene and *npt II* gene as the seletable marker. As the results, in 'Seedatip', the treatment using petunia cell suspension as feeder and preculturing overnight then culturing on regeneration medium III gave the highest expansion of cotyledon, followed by the treatment using tobacco cell suspension raised from MS medium containing 0.1 mg/l IAA +1.0 mg/l kinetin as feeder, no preculturing but using regeneration medium II . While in 'Sweet Cherry' , the highest result of cotyledon expansion was found in the treatment using petunia cell suspension as feeder and culturing on regeneration medium I, followed by the treatment using tobacco cell suspension which raised from MS medium containing 0.1 mg/l IAA +1.0 mg/l kinetin as feeder and culturing on regeneration medium II. In the latter cultivar, no significant difference was observed between preculturing and non- preculturing of the cotyledons. The transformation efficiency from all eighteen treatments was observed as putative transformation efficiency of 2.5-18.0% in 'Seedatip' and 5.6-22.2% in 'Sweet Cherry'.

All putative transgenic tomato plants were confirmed by the histochemical detection of GUS enzyme and the amplification of *npt II* gene using the specific primers. Both detections were positive in all transgenic plants tested. This confirmed the transformation efficiency as indicated above.

Department.....Botany.....
Field of student.....genetics.....
Academic year.....2002.....

Student's signature.....
Advisor's signature.....
Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศุภจิตรา ชัชวาลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์พัชรา ลิมปนะเวช อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณา ให้กำลังใจ และคำแนะนำต่างๆ ตลอดระยะเวลาที่การทำวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.พงศ์ธาริน โล่ห์ตระกูล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และอาจารย์ ดร.กนกวรรณ เสรีภาพ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้วิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ กรมสามัญศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ และโรงเรียนเทพศิรินทร์ ที่ให้โอกาสในการลาศึกษาต่อในครั้งนี้

ขอขอบคุณ อาจารย์อัญชลี ใจดี คุณฐปนา อัครเอกปัญญา คุณสหัช จันทนาอรพินทน์ คุณรักชนก โคโต คุณญาวดี ศรีเมฆ และทุกท่านในภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับความช่วยเหลือในการทำวิจัยและให้คำแนะนำต่างๆตลอดจนความห่วงใยและกำลังใจที่มีให้กันเสมอมา

ขอขอบคุณสมาชิกในครอบครัว ที่ให้กำลังใจและความห่วงใย ตลอดจนความช่วยเหลือในทุกๆด้านในการเรียนและการทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... .....ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ....จ

กิตติกรรมประกาศ..... ....ฉ

สารบัญ..... ....ช

สารบัญตาราง..... ....ญ

สารบัญรูปภาพ..... ....ธ

บทที่

1. บทนำ..... 1

2. การตรวจเอกสาร..... 4

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะเขือเทศ..... 4

การถ่ายยีนเข้าสู่พืช 5

กลไกในการเคลื่อนย้าย T-DNA เข้าสู่เซลล์ของพืช..... 7

ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการถ่ายยีนในพืช..... ...10

การถ่ายยีนในมะเขือเทศโดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens*..... ...16

3. วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการศึกษา..... ...19

วัสดุอุปกรณ์..... ...19

วิธีการทดลอง..... ...23

4. ผลการทดลอง..... ...32

1. ผลของการศึกษาลักษณะของแคลลัสที่จะนำมาใช้เป็น Feeder cells.... ...32

1.1 ผลของการเพาะเลี้ยงแคลลัสของยาสูบและพิทูเนีย..... ...32

1.2 ผลของการศึกษาความสามารถในการรีเจนเนอเรทของแคลลัสชนิดต่างๆ บน feeder medium..... ...34

1.3 ผลของการศึกษาการเตรียมเซลล์แขวนลอยของยาสูบและพิทูเนีย..... ...36

1.4 ผลของการศึกษาความสามารถในการรีเจนเนอเรทเซลล์แขวนลอยของยาสูบและพิทูเนียบน feeder medium..... ...39

2. ผลของการศึกษาสูตรอาหารและขั้นตอนที่เหมาะสมในการถ่ายยีนเข้าสู่มะเขือเทศโดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens*..... ...43

สารบัญ

หน้า

2.1 ผลการศึกษาและถ่ายยีนในมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์..... ...43

2.1.1 ผลต่อขนาดใบเลี้ยง..... ...43

2.1.1.1 ผลของอาหารชักนำให้เกิดยอดต่อขนาดของใบเลี้ยง..... ...45

2.1.1.2 ผลของชนิดของ feeder cells ต่อขนาดของใบเลี้ยง..... ...50

2.1.1.3 ผลของการ preculture ต่อขนาดของใบเลี้ยง..... ...54

2.1.2 การเกิดสีน้ำตาล (Browning)..... ...60

2.1.2.1 ผลของชนิดของอาหารชักนำให้เกิดยอดต่อการเกิด Browning 63

2.1.2.2 ผลของชนิดของ feeder เซลล์ต่อการเกิด Browning..... ...67

2.1.3 การเกิดยอด..... ...71

2.2 ผลของผลการศึกษาและถ่ายยีนในมะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรี 75

2.2.1 ผลต่อขนาดใบเลี้ยง..... ...75

2.2.1.1 ผลของชนิดของอาหารชักนำให้เกิดยอดต่อขนาดของใบเลี้ยง..... ...77

2.2.1.2 ผลของชนิดของ feeder cells ต่อขนาดของใบเลี้ยง..... ...81

2.2.1.3 ผลของการ preculture ต่อขนาดของใบเลี้ยง... ...85

2.2.2 การเกิดสีน้ำตาล..... ...91

2.2.2.1 ผลของชนิดของอาหารชักนำให้เกิดยอดต่อการเกิด Browning 94

2.2.2.2 ผลของชนิดของ feeder เซลล์ต่อการเกิด Browning..... ...98

2.2.3 การเกิดยอด..... ..102

3. ผลของการตรวจสอบต้นมะเขือเทศที่คาดว่าจะเป็น transgenic plants..... ..106

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

3.1 ผลการตรวจสอบ Gus activity โดยมี Histochemical Assay.....107

3.2 ผลการตรวจสอบ Gus activity โดยวิธี PCR.....108

5 อภิปรายผลการทดลอง.....113

6.สรุปผลการทดลอง.....120

รายการอ้างอิง.....132

ภาคผนวก.....136

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....145

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดง treatment ทั้งหมดในการทดลองนี้.....	29
2	การเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของยาสูบและพิทูเนียบนอาหาร KDMS และ Medium B ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 10 20 30 40 50 60 70 และ 80 วัน.....	42
3	ค่าเฉลี่ยของขนาดของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหาร regeneration media สัปดาห์ที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์	44
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 + 2,4-D 0.1 mg/l และเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดโดยใช้ feeder cells ชนิดเดิม.....	47
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.....	47
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.....	48
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.....	48

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
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.....	49
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.....	49
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.....	51
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....	51
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.....	52
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....	52
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.....	53
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....	53

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
16	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่มีการพัฒนาบน 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.....	55
17	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่มีการพัฒนาบน 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.....	55
18	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่มีการพัฒนาบน 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.....	56
19	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่มีการพัฒนาบน medium I และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + kinetin 1 mg/l และ IAA 0.1 mg/l โดยมีการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation	56
20	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่มีการพัฒนาบน medium II และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + kinetin 1 mg/l และ IAA 0.1 mg/l โดยมีการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation.....	57
21	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่มีการพัฒนาบน medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + kinetin 1 mg/l และ IAA 0.1 mg/l โดยมีการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation.....	57
22	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่มีการพัฒนาบน medium I และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยมีการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation.....	58

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
23	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่มีการพัฒนาบน medium II และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยมีการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation.....	58
24	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่มีการพัฒนาบน medium III และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยมีการทำ preculture และไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation.....	59
25	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 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.....	62
26	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III โดยมีการทำ preculture ก่อน cocultivation บน tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + 0.1 mg/l 2,4-D และเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดโดยใช้ feeder cells ชนิดเดิม.....	64
27	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning 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	64
28	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning 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.....	65

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
29	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + 1 mg/l kinetin และ 0.1 mg/l IAA โดยไม่ผ่านขั้นตอนการทำ preculture ก่อนทำ cocultivation.....	65
30	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning 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.....	66
31	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning 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.....	66
32	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium I ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation.....	68
33	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium I ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation.....	68
34	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium II ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation.....	69
35	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium II ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation.....	69
36	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium III ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation.....	70

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
37	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบน medium III ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation.....	70
38	ผลของการศึกษาสูตรอาหารและขั้นตอนที่เหมาะสมในการถ่ายยีนเข้าสู่มะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่มีต่อการเกิดยอดจากใบเลี้ยง เมื่อเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์.....	72
39	ค่าเฉลี่ยของขนาดของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรี่ หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหาร regeneration media สัปดาห์ที่ 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์	76
40	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรี่ 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.....	78
41	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรี่ ที่มีการพัฒนาบน regeneration medium 3 ชนิด คือ medium I medium II และ medium III และใช้ tobacco feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS + 0.1 mg/l 2,4-D ร่วมในการชักนำให้เกิดยอดหลังจากกระบวนการ cocultivation โดยไม่ผ่านการทำ preculture.....	78
42	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรี่ 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.....	79
43	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรี่ 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.....	79

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
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.....	80
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.....	80
46	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium I ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation.....	82
47	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium I ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation....	83
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.....	83
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....	83
50	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium III ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation.....	84
51	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium III ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation...	84

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
52	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่มีการพัฒนาบน 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.....	86
53	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่มีการพัฒนาบน 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.....	86
54	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่มีการพัฒนาบน 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.....	87
55	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่มีการพัฒนาบน medium I 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.....	87
56	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่มีการพัฒนาบน 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.....	88
57	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่มีการพัฒนาบน medium III 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.....	88
58	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่มีการพัฒนาบน medium I และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยผ่านการทำ preculture หรือไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation.....	89

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
59	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่มีการพัฒนาบน medium II และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยผ่านการทำ preculture หรือไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation.....	89
60	ความกว้างของใบเลี้ยง (cotyledon width, cm.) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่มีการพัฒนาบน medium III และใช้ petunia feeder cells ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Medium P ร่วมในการชักนำให้เกิดยอด โดยผ่านการทำ preculture หรือไม่ได้ทำ preculture บน feeder cells ดังกล่าว ก่อนทำ cocultivation.....	90
61	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ 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.....	92
62	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่มีการพัฒนาบน 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.....	95
63	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ที่มีการพัฒนาบน 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	95
64	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอร์ 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.....	96

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
65	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ 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.....	96
66	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning 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.....	97
67	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ 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.....	97
68	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning (percentage browning, %) ของมะเขือเทศพันธุ์ สวีทเซอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium I ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation....	99
69	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning (percentage browning, %) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium I ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation.....	99
70	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning (percentage browning, %) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium II ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation....	100
71	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning (percentage browning, %) ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium II ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation.....	100

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
72	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium III ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่มีการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation.....	101
73	เปอร์เซ็นต์การเกิด browning ของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรี่ที่เพาะเลี้ยงบน medium III ภายหลังจาก cocultivation โดยมี feeder cells 3 แบบ คือ แบบ A B และ C และที่ไม่ผ่านการทำ preculture ก่อนการทำ cocultivation.....	101
74	ผลของการศึกษาสูตรอาหารและขั้นตอนที่เหมาะสมในการถ่ายยีนเข้าสู่มะเขือเทศพันธุ์สวีทเชอรีที่มีต่อการ เกิดยอดจากใบเลี้ยง เมื่อเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์.....	103
75	แสดงจำนวนต้นมะเขือเทศที่นำมาตรวจสอบ GUS activity และ PCR.....	106

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
1	กลไกการส่ง T-DNA ของ *Agrobacterium* เข้าสู่พืช (Streip และ Uldis,1991).....	9
2	โครงสร้างของ T-DNA บนพลาสมิด pBI 121.....	19
3	แคลลัสของยาสูบที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแผ่นใบบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l.....	33
4	แคลลัสของพิทูเนียที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแผ่นใบบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.0 mg/l.....	33
5	คอมแพคแคลลัสสีเขียวและสีขาวของยาสูบสามารถเจริญและเกิดเป็นต้นได้ บนอาหารกึ่งแข็งสูตร KDMS	34
6	ลักษณะแคลลัสและการเกิดต้นของฟรายเอเบิลแคลลัสของยาสูบเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร KDMS.....	35
7	ลักษณะแคลลัสและการเกิดต้นของแคลลัสพิทูเนียเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร medium B	35
8	เซลล์แขวนลอยของยาสูบที่เพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย สูตร MS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l.....	37
9	เซลล์แขวนลอยของยาสูบที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D0.1mg/l แล้วย้ายมาเลี้ยงใน MS ที่เติม IAA0.1 mg/l + kinetin 1.0 mg/l.....	37
10	เซลล์แขวนลอยของพิทูเนียมาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Medium P.....	38
11	แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยยาสูบที่เลี้ยงในอาหารMS ที่เติม 2,4-D 0.1 mg/l บนอาหาร KDMS ที่ใช้ทำฟีดเดอร์เซลล์	40
12	แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยยาสูบที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม IAA 0.1 mg/l + kinetin 1.0 mg/l บนอาหารที่ใช้ทำฟีดเดอร์เซลล์	40
13	แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยพิทูเนียที่เลี้ยงในอาหาร Medium P บนอาหาร Medium B ที่ใช้ทำฟีดเดอร์เซลล์ 20 50 70 วัน.....	41
14	ลักษณะการเกิดสีสีน้ำตาลในใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่ได้รับการถ่ายยีน	61
15	ใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอดที่มี kanamycin 100 mg/l.....	73

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
16	ยอดมะเขือเทศที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่ไม่ได้รับการถ่ายยีนแล้วเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอด 3 สูตร และเลี้ยงบน feeder ที่ไม่มี kanamycin.....	74
17	ยอดมะเขือเทศที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่ไม่ได้รับการถ่ายยีนแล้วเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอด 3 สูตร ที่ไม่มี kanamycin และไม่ได้เลี้ยงบน feeder (positive control without feeder).....	74
18	ลักษณะการเกิดสีน้ำตาล(browning) ในใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่ได้รับการถ่ายยีน (transformation)	93
19	ใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอดที่มี kanamycin 100 mg/l.....	104
20	ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรีที่ไม่ได้รับการถ่ายยีนแล้วเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอด 3 สูตรที่ไม่มี kanamycin 100 mg/l และมี feeder....	105
21	ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรีที่ไม่ได้รับการถ่ายยีนเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดยอดที่ไม่มี kanamycin 100 mg/l และไม่มี feeder.....	105
22	การตรวจสอบการทำงานของเอ็นไซม์ GUS ในต้นมะเขือเทศที่ได้จากการชักนำใบเลี้ยงของมะเขือเทศทั้ง 2 พันธุ์ที่ถูกถ่ายยีน.....	107
23	ผลของการเพิ่มปริมาณ DNA ของ *NPT II* gene จาก transgenic tobacco โดยใช้ specific primers ที่ความเข้มข้นต่างๆ	109
24	ผลของการเพิ่มปริมาณ DNA โดยใช้ Specific primers สำหรับ *NPT II* genes กับดีเอ็นเอของมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ที่ได้รับการถ่ายยีน.....	111
25	ผลของการเพิ่มปริมาณ DNA โดยใช้ Specific primers สำหรับ *NPT II* genes กับดีเอ็นเอของมะเขือเทศพันธุ์สวีทเซอรี่ที่ได้รับการถ่ายยีน.....	112
26	ปฏิกิริยาการสลาย 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronidase (Xgluc) โดยเอนไซม์ GUS.....	142