

การสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ดาหลา

Induction of Genetic Variation for Clonal Improvement in Torch Ginger,

Etilingera elatior (Jack) R.M. Smith

ชยานิจ ดิษฐบรรจง^{1/}

กษิตศ ดิษฐบรรจง^{1/}

เบ็ญจมาศ ทรงพระ^{1/}

สุทธราชิพ สุภเกษตร^{2/}

^{1/} สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

^{2/} ศูนย์วิจัยพืชสวนยะลา (ธารโต)

บทคัดย่อ

นำดาหลาชนิดดอกสีแดงได้แก่ พันธุ์บัวแดงใหญ่ พันธุ์แดงอินโด และชนิดดอกสีชมพู ได้แก่ พันธุ์บานเย็น จากศูนย์วิจัยพืชสวนยะลา (ธารโต) มาชักนำให้เกิดยอดจากตาข้าง สามารถชักนำให้เกิดยอดอ่อนได้ บนอาหาร MS + BA 20-30 μM มีจำนวนยอดอ่อนเท่ากับ 3.55 และ 4.35 ยอดต่อชิ้นส่วนพืชภายในเวลา 2 เดือน และเมื่อนำมาเพิ่มปริมาณ สามารถชักนำให้เกิดยอดรวม (multipleshoot) สูงสุดถึง 5.8 ยอดต่อชิ้นส่วนยอดอ่อน (microshoot) บนอาหาร MS ที่เติม BA ที่ระดับ 10 μM จากนั้นนำชิ้นส่วนของยอดอ่อนไปฉายรังสีแกมมาเรื้อรัง (chronic irradiation) ที่ระยะ 4.5 และ 5.5 เมตร ปริมาณรังสี 4.3 และ 2.9 กิโลเรด (krad) พบว่าปริมาณรังสีที่สูงจะทำให้อัตราการรอดชีวิตลดลง และทำให้เกิดลักษณะที่ผิดปกติ เช่น ลักษณะการแตกกอ ความสูง ความผิดปกติของใบ สีใบ และเมื่อใช้เทคนิค AFLP จำแนกความแตกต่างของต้นอ่อนที่ได้รับรังสี ในรุ่น MV3 โดยใช้ Primer 8 คู่ ได้แก่ E-ACG / M-CAA E-ACG / M-CAC E-AAC / M-CAG E-AAC / M-CAT E-ACT / M-CAG E-ACT / M-CAC E-ACA / M-CAG และ E-ACA / M-CAA พบว่าสามารถแยกความแตกต่างของต้นอ่อนที่ฉายรังสีออกจากต้นปกติได้ ในพันธุ์บัวแดงใหญ่ 17 หมายเลข พันธุ์บานเย็น 3 หมายเลข และพันธุ์แดงอินโด 4 หมายเลข โดยมีลักษณะทาง morphology ที่ต่างจากพันธุ์ปกติได้แก่ การแตกกอ ความสูงของต้น และลักษณะใบ

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดอ่อนมาเพิ่มจำนวนโครโมโซม ในอาหารเหลว MS + BA 10 μM ร่วมกับโคลชิซินความเข้มข้น 0.03 0.06 และ 0.09 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 2 และ 3 วัน พบว่าอัตราการมีชีวิตของยอดอ่อน จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของโคลชิซินและระยะเวลาในการเลี้ยงร่วมกันนานขึ้น เมื่อทำการวัดระดับชุดของโครโมโซมของต้นอ่อนในรุ่น MV2 โดยใช้วิธี flow cytometry พบว่า มีโครโมโซมเป็น mixoploid ($2n + 4n$) ในดาหลาทั้ง 3 พันธุ์ ต่อจากนั้นนำต้นอ่อนที่มีปริมาณนิวเคลียส ใน area ของ $4n$ ที่มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ไปขยายเพิ่มปริมาณ จนถึงรุ่น MV4 และนำไปวัดระดับชุดโครโมโซมอีกครั้ง เพื่อคัดเลือกต้น tetraploid พบว่า พันธุ์บัวแดงใหญ่มีระดับชุดโครโมโซมเป็น $4n$ (tetraploid) จำนวน 5 ต้น จากการใช้โคลชิซิน ความเข้มข้น 0.06 เปอร์เซ็นต์ นาน 2 และ 3 วัน ส่วนพันธุ์บานเย็นและแดงอินโด ยังคงมีจำนวนโครโมโซมเป็น mixoploid ไม่สามารถคัดเลือกต้นที่เป็น tetraploid ได้