116. การถ่ายยีนเข้าสู่เบญจมาศเพื่อยืดอายุการปักแจกันและต้านทานแมลง

Genetic Transformation in Chrysanthemum for Prolong Vast Life and Insect Resistance

กษิดิศ ดิษฐบรรจง *ชยานิจ ดิษฐบรรจง*

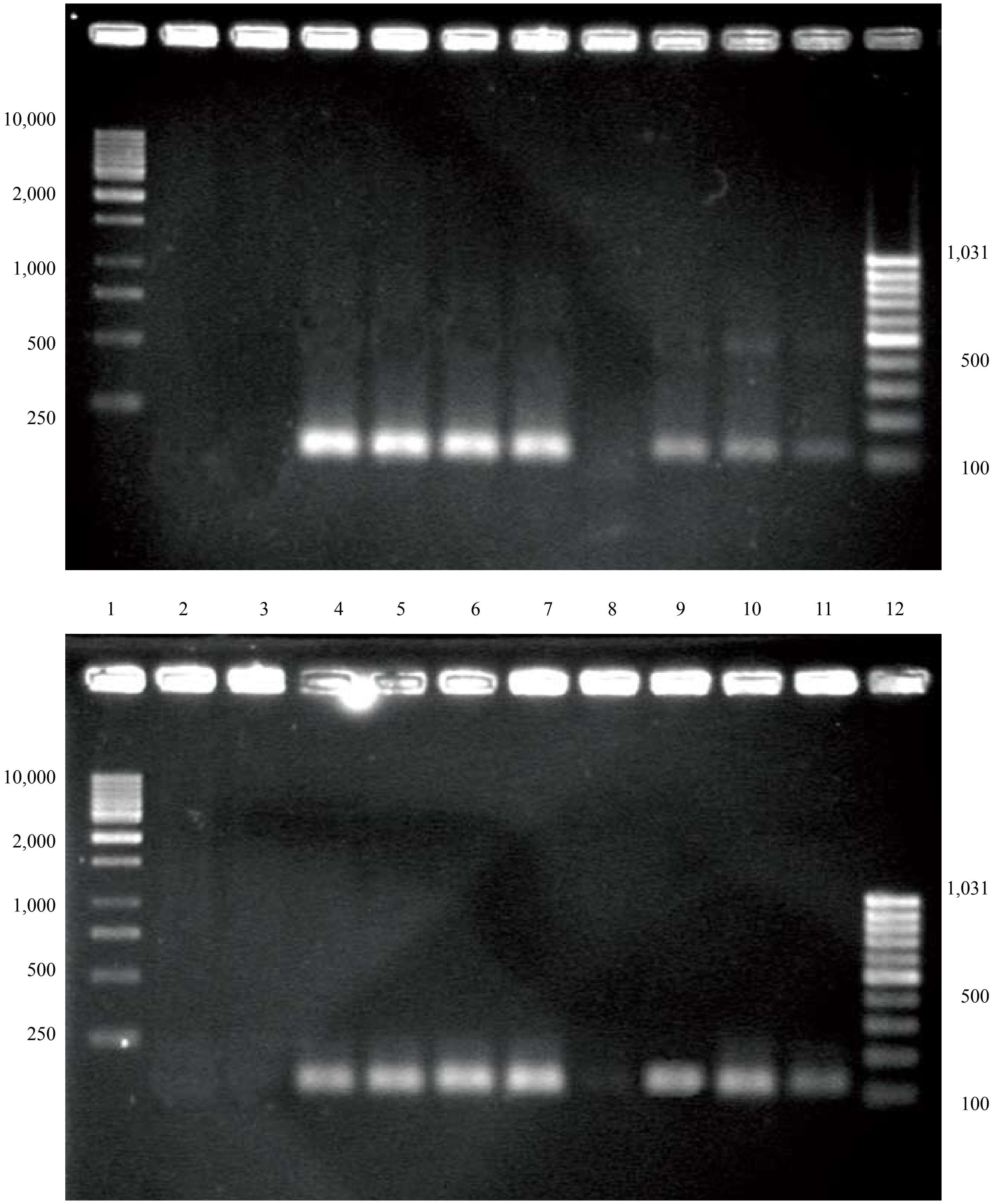
หทัยรัตน์ อุไรรงค์ *เบ็ญจมาศ ทรงพระ*

บทคัดย่อ

เบญจมาศ ไม้ตัดดอกที่มีมูลค่าการผลิตอันดับ 1 ใน4 ของไม้ตัดดอกทั่วโลก แต่ในประเทศไทยคุณภาพดอกเบญจมาศที่ผลิตได้ต่ำกว่าของต่างประเทศ เนื่องจากมีปัญหาโรคแมลงและอายุการปักแจกันสั้น การถ่ายยีน chitinase และ antisense–ethylene responsive sensor (ERS) สามารถช่วยพัฒนาพันธุ์ได้ ทำการศึกษาระบบการขยายพันธุ์ ที่มีประสิทธิภาพเพื่อการถ่ายยีน โดยนำส่วนข้อและฐานรองดอก ของเบญจมาศชนิดดอกเดี่ยว (standard type) เลี้ยงในอาหาร Murashige and Skoog (1962) หรือ MS (1962) ที่เติมสารกระตุ้นการเจริญเติบโตพืช 6-benzylamino purine (BA) และ 2, 4-D ความเข้มข้นระดับ 5, 10 และ 15 μM เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสพบว่าในทุกชิ้นส่วน BA และ 2, 4-D สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ แต่ BA ที่ระดับความเข้มข้น 3-5 μM สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส ซึ่งมีลักษณะเป็น callus clump เกาะกันหลวมเป็นก้อนสีเขียวเข้มภายในเวลา 1 เดือน แคลลัสพัฒนาเป็นยอดได้ในอาหาร MS (1962) ที่เติม BA ระดับ 15-20 μM จากนั้นศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการถ่ายยีนพบว่า *A. tumefaciens* สายพันธุ์ EHA 105 (pCAMBIA 1301)ระยะเวลาการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชร่วมกับเชื้อนาน 3 วัน มีประสิทธิภาพสูงสุดในการถ่ายยีนเข้าสู่แคลลัสเบญจมาศต่อจากนั้นทำการถ่ายยีน antisense–ERS และยีน chitinase เข้าสู่แคลลัสเบญจมาศ โดยใส่ plasmid ซึ่งมียีนดังกล่าวเข้าสู่เซลล์ Agrobacterium ด้วยวิธี freeze–thaw method หรือ electroporation จากนั้นทำการถ่ายยีนทั้ง 2 ชนิดเข้าสู่แคลลัสของเบญจมาศ คัดเลือกแคลลัสที่ได้รับการถ่ายยีนด้วย kanamycin หรือ hygrmycin ความเข้มข้น 75 หรือ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และชักนำให้เกิดยอด ตรวจการปรากฏของยีนโดยใช้วิธี PCR ใช้ primer 35S และ NOS 1 ได้ต้นเบญจมาศดัดแปลงพันธุกรรมที่มียีน antisence–ERS และยีน chitinase

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

หลังจากที่ได้เบญจมาศดัดแปลงพันธุกรรมแล้ว ยังต้องทดสอบต่อไปอีกว่ายีนดังกล่าวสามารถมีการแสดงออกลักษณะของการต้านทานโรคแมลง และอายุการบานของดอกจริงหรือไม่ รวมทั้งต้องดำเนินการทดสอบความเสถียรของยีน ผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมอีกด้วย



ภาพแสดง ผลการตรวจสอบการปรากฏของยีน chitinase ด้วย 35S promoter (ภาพบน) และ Nos terminater (ภาพล่าง) บน agarose gel 1.5% lane1 และ 12 - molecular marker 1 Kb และ 100 bp GeneRuler DNA ladders ตามลำดับ

lane 2 3 และ 8 - negative control (ไม่ได้รับการถ่ายยีน)

lane 4 5 6 7 9 10 11 - ต้นที่ได้รับการถ่าย