

การแยกโปรโตพลาสต์ของมันฝรั่งเพื่อศึกษาความสามารถ
ในการสร้างแคลไล
PROTOPLAST ISOLATION OF POTATO TO STUDY CALLI
REGENERATION

นลินี รุ่งเรืองศรี
ภาควิชาชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยแม่โจ้

อุทัย รุ่งเรืองศรี
ภาควิชาอารักขาพืช
คณะผลิตกรรมการเกษตร
มหาวิทยาลัยแม่โจ้

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์พืชจนเป็นแคลไลแล้วชักนำให้เจริญเป็นต้นพืชนั้นเป็นวิธีการหนึ่งที่อาจจะเป็นประโยชน์แก่งานปรับปรุงพันธุ์ โดยเฉพาะการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรค งานวิจัยนี้เป็นงานทดลองแยกโปรโตพลาสต์จาก mesophyll ของมันฝรั่ง 7 พันธุ์ โดยใช้ส่วนใบจากต้นที่ได้เลี้ยงในสภาพ *in vitro* แล้ว 1 เดือน แล้วจึงสังเกตความสามารถในการสร้าง microcalli ซึ่งเป็นสภาพแรกก่อนที่จะ regenerate เป็นต้นพืช ผลการศึกษาแสดงว่าใบของมันฝรั่งทั้ง 7 พันธุ์แยกเป็นโปรโตพลาสต์ได้ในปริมาณเพียงพอแก่การนำไปเพาะเลี้ยงต่อเป็น microcalli ปัญหาใหญ่ในงานวิจัยด้านโปรโตพลาสต์คือการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์และการรักษาปัจจัยในสภาพแวดล้อมให้คงที่

Abstract

Protoplast cultures for plant regeneration is a novel method for crop improvement, especially for disease resistance. Protoplasts were isolated from leaf mesophylls of seven potato cultivars which had been grown under *in vitro* conditions. Protoplast cultures were initiated to determine the ability to form microcalli of all seven

cultivars. Results showed that protoplast yields were all satisfactory and could be used for microcalli generation under another medium. This initial experience indicates that the *in vitro* working environment must be strictly regulated to prevent contamination if more extensive research on protoplasts is desired.

คำนำ

(Introduction)

มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญและมีการปลูกอย่างแพร่หลาย แต่เนื่องจากมันฝรั่งมีความอ่อนแอต่อโรคหลายอย่าง ผลผลิตแต่ละปีมักจะถูกทำลายด้วยโรคต่างๆ การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีผสมพันธุ์ยังใช้เวลานานและไม่นำไปสู่ความต้านทานโรคที่สำคัญได้เสมอไป นอกจากนี้ยังเป็นการยากที่จะหาลักษณะต้านทานโรคที่แท้จริงมาผสมกับพันธุ์ปลูกซึ่งมีลักษณะพึงประสงค์อื่นๆ การขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์ที่เป็นวิธีการที่ให้โปรโตพลาสต์เดี่ยวแบ่งตัวเป็นแคลล (calli) ซึ่งจะสามารถเจริญเป็นต้นพืช ในวิธีการนี้อาจจะพบต้นพืชที่ได้กลายพันธุ์ (soma clonal variation) และเกิดลักษณะต้านทานโรคได้

โรคใบไหม้ (late blight) นำโดยเชื้อรา *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary มีส่วนสำคัญในการลดปริมาณผลผลิตของมันฝรั่ง เชื้อราตัวนี้ก่อโรคโดยเข้าทำลายส่วนใบและหัวของพืช การศึกษาความต้านทานโรคใบไหม้ในมันฝรั่งโดยใช้โปรโตพลาสต์นั้นได้มีผู้เริ่มมานานแล้ว (Behneke, 1979, 1980; Shepard, et al, 1980, 1981; Tomiyama, et al, 1974)

ข้อมูลจากงานทดลองด้านปรับปรุงพันธุ์ในแปลงได้ระบุว่ามีความต้านทานโรคใบไหม้ 2 ชนิด ได้แก่ ความต้านทานอย่างจำเพาะซึ่งนำโดย major genes (R genes) ชุดหนึ่งและก่อให้เกิดปฏิกิริยาในพืชที่เรียกว่า hypersensitivity กับอีกชนิดหนึ่งที่เรียกว่า general หรือ field resistance ซึ่งควบคุมโดย minor genes (Toxopeus, 1964) ความต้านทานซึ่งนำโดย major genes นั้นจะเป็นรองต่อเชื้อรา *P. infestans* เพราะจะเกิด races ใหม่ ๆ ขึ้น (Gallegly, 1968) แต่ความต้านทานอีกชนิดหนึ่งซึ่งอาจจัดว่าเป็นลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative character) นั้นมีผลเพียงลดระดับการเข้าทำลายพืชและค้ำกันพืชจากเชื้อราทุก race (ความรุนแรงของโรคลด