

นิตยสาร เครื่องจักร 2552: พื้นฐานทางชีวโมเลกุลของสายพันธุ์เซลล์อ้อยที่ต้านทานสารกำจัด
วัชพืชอิมาซาเพอร์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขา
เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
หลัก: รองศาสตราจารย์ทศพล พรพรม, Ph.D. 72 หน้า

การคัดเลือกเซลล์ของสายพันธุ์อ้อยต้านทานสารอิมาซาเพอร์ ได้ดำเนินการเพื่อพิจารณากลไกพื้นฐานทางชีวเคมีและชีวโมเลกุลของความต้านทานสารกำจัดวัชพืช ในการคัดเลือกเซลล์อ้อยต้านทานสารอิมาซาเพอร์ ได้ชักนำเซลล์จากส่วนม้วนใบอ่อนของอ้อยพันธุ์ K97-32 จากนั้นชักนำให้เกิดเป็นเซลล์แขวนลอยโดยใช้สูตรอาหาร MS ดัดแปลง ที่ประกอบด้วย น้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ casein hydrolysate 0.5 กรัมต่อลิตร myo-inositol 0.1 กรัมต่อลิตร และ 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเริ่มต้นทำการคัดเลือกเซลล์อ้อยต้านทานสารอิมาซาเพอร์ จากระดับความเข้มข้นของสารอิมาซาเพอร์ตั้งแต่ 0.1 ถึง 1 ไมโครโมลาร์ ใช้เวลาในการคัดเลือกนาน 378 วัน เซลล์ที่รอดจากการคัดเลือกทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 14 วัน ซึ่งมีดัชนีของความต้านทานสารเป็น 918 เท่าของเซลล์อ้อยปกติ นอกจากนี้เมื่อเลี้ยงเซลล์อ้อยต้านทานในอาหารที่ปราศจากสารกำจัดวัชพืชนานอย่างน้อย 4 เดือน เซลล์อ้อยต้านทานสารยังคงความต้านทานต่อสารอิมาซาเพอร์ การศึกษากลไกทางชีวเคมีของความต้านทานสารอิมาซาเพอร์ โดยพิจารณาจากการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ ALS ในเซลล์อ้อยต้านทานและเซลล์อ้อยปกติ พบว่า เซลล์อ้อยต้านทานมีกิจกรรมของเอนไซม์ ALS ที่ 3, 5, 7, 10 และ 14 วันหลังได้รับสารสูงกว่าเซลล์อ้อยปกติเป็น 2.65, 2.94, 3.36, 2.90 และ 2.62 เท่า ตามลำดับ นอกจากนี้ได้ทำการพิจารณาในระดับชีวโมเลกุลของยีน ALS ซึ่งเป็นตำแหน่งเป้าหมายในการเข้าทำลายของสารกำจัดวัชพืช โดยทำการโคลนยีนและหาลำดับเบสในส่วนที่ครอบคลุมบริเวณ B และ E ของยีน ALS ขนาด 455 คู่เบส จากเซลล์อ้อยปกติและเซลล์อ้อยต้านทานสารอิมาซาเพอร์ ซึ่งได้ทำการขึ้นทะเบียนใน GenBank รหัส EU243998 และ EU243999 ตามลำดับ เมื่อตรวจสอบลำดับเบสของยีน ALS ในเซลล์อ้อยต้านทาน พบว่า มีการกลายพันธุ์เฉพาะจุดเกิดขึ้นที่เป็นแบบการหายไป ของกรดอะมิโนอะลานีน เกิดขึ้นที่ตำแหน่ง 666 เมื่อพิจารณาจากการสะสม mRNA ของยีน ALS ระดับ transcription ในเซลล์อ้อยต้านทานสาร ไม่พบความแตกต่างของการสะสม mRNA ของยีน ALS เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์อ้อยปกติที่ไม่ได้รับสารและเซลล์อ้อยปกติที่ได้รับสาร แสดงให้เห็นว่า การสะสม mRNA ของยีน ALS ไม่มีความสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ ALS ซึ่งการเกิดการกลายพันธุ์ภายในยีน ALS ในเซลล์อ้อยต้านทาน อาจส่งผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ ALS ที่เป็นแบบการตอบสนองน้อยต่อสารกำจัดวัชพืช จึงทำให้เซลล์อ้อยต้านทานไม่ถูกยับยั้งโดยสารอิมาซาเพอร์