

การถ่ายทอดลักษณะแคระในเฟินกูดอยใบมัน

Inheritance of Dwarfism in *Blechnum gibbum* Mett.

สุรวีช วรณไกรโรจน์^{1*} มล. จารุพันธ์ ทองแถม² และ อนุพันธ์ สุรินรังษี²

Surawit Wannakraij^{1*}, M.L. Charupanth Thongtham² and Anuphan Surinranagsee²

¹ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

¹Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

²โครงการพัฒนาเฟิน สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์ มูลนิธิโครงการหลวง จ. เชียงใหม่ 50200

²Fern Development Project, Royal Agricultural Station Intanon, Royal Project Foundation, Chiang Mai 50200, Thailand

*Corresponding author: Email: agrsuw@ku.ac.th

(Received: 27 November 2018; Accepted: 17 April 2019)

Abstract: Silver lady fern (*Blechnum gibbum* Mett.) is a pot tree fern which has been utilized in many countries, in both sub-tropical and tropical regions of the world. A number of dwarf forms of the fern, occasionally found as a variance from spore germination of a common silver lady fern, has more desirable characteristics to be used for table decorations. Thus, the variance is highly desirable for consumers. Due to its inability to produce spore, the dwarf variance has a propagation constrain. To know how to reproduce this dwarf fern in commercial scale, an inheritance of dwarfism was investigated from spore germination using spores collected from the normal form which had produced some dwarf variances. Segregation in a population of 7,463 progenies was analyzed. Of which 2,341 are normal and 5,122 are dwarf. A chi-square goodness of fit test indicated 4 alleles, postulated as d_1 , d_2 , d_3 and d_4 , as the dwarfism controllers. As an interallelic interaction among those four loci is a duplicate recessive epistasis. Therefore, germination of spores from the 4 loci heterozygotes could be adopted for mass production the dwarf form in the future.

Keywords: Fern, pot plant, genetic, breeding, duplicate recessive epistasis

บทคัดย่อ: เฟินกูดดอยใบมัน (*Blechnum gibbum* Mett.) เป็นเฟินต้นกระถางขนาดเล็กที่มีการใช้ประโยชน์ในหลายประเทศ ทั้งเขตกึ่งร้อนและเขตร้อนชื้น เฟินกูดดอยใบมันแคระซึ่งเกิดจากการกระจายตัวในการเพาะสปอร์ของเฟินกูดดอยใบมันต้นปกติ มีลักษณะที่เหมาะสมยิ่งขึ้นในการใช้ประดับในพื้นที่จำกัด เช่นโต๊ะทำงาน ทำให้เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค แต่เฟินกูดดอยใบมันแคระไม่สร้างสปอร์อันเป็นข้อจำกัดในการขยายพันธุ์ จึงได้ศึกษารูปแบบการถ่ายทอดลักษณะแคระโดยการเพาะสปอร์ซึ่งเก็บจากเฟินกูดดอยใบมันต้นที่มีลักษณะปกติซึ่งมีประวัติเคยให้ลูกจำนวนหนึ่งที่มีลักษณะแคระเพื่อเป็นแนวทางผลิตเชิงการค้าในอนาคต การศึกษาการกระจายตัวในรุ่นลูกจำนวน 7,463 ต้น พบว่ามีต้นปกติ จำนวน 2,341 ต้น และต้นแคระ จำนวน 5,122 ต้น ซึ่งเมื่อทดสอบโดย chi-square “goodness of fit test” พบว่าลักษณะต้นแคระอยู่ภายใต้การควบคุมของอัลลีลแฝง จำนวน 4 ตำแหน่ง จึงกำหนดชื่อว่า อัลลีล d_1 , d_2 , d_3 และ d_4 ที่มีการทำงานแบบ duplicate recessive epistasis ดังนั้นการผลิตเฟินกูดดอยใบมันแคระให้ได้ปริมาณมากในเชิงการค้า จึงสามารถใช้วิธีเพาะสปอร์จากต้นที่เป็น heterozygote ของยีนทั้งสี่ตำแหน่ง

คำสำคัญ: เฟิน ไม้กระถาง พันธุกรรม ปรับปรุงพันธุ์ duplicate recessive epistasis

คำนำ

ไม้ประดับที่มีต้นหรือทรงพุ่มขนาดเล็ก กำลังเป็นที่สนใจของผู้บริโภค โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เพื่อใช้เป็นไม้กระถางประดับโต๊ะ (Amasino *et al.*, 2005) ทรงพุ่มขนาดเล็กอาจเกิดจากการที่ทรงพุ่มกระชับโดยยีนส์ส่วนของอวัยวะทุกส่วนไว้ (เล็กแบบย่อส่วน หรือ miniature) หรือเกิดจากการที่ทรงพุ่มกระชับโดยยีนส์ส่วนของอวัยวะแต่ละส่วนเปลี่ยนไป (ลักษณะแคระ หรือ dwarfism) ความต้องการไม้ประดับแคระนี้ได้ทำให้มีความพยายามศึกษารูปแบบการถ่ายทอดลักษณะหรือพันธุกรรมของลักษณะนี้ในไม้ประดับบางชนิด เพื่อให้สามารถวางแผนการปรับปรุงพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น ในการศึกษาในกุหลาบ *Rosa chinensis minima* นั้นพบว่า ลักษณะแคระอยู่ภายใต้การควบคุมของยีนซ่ม 1 ตำแหน่ง (Dubois and de Vries, 1987)

เฟินในสกุลกูดดอย หรือ *Blechnum* อยู่ในวงศ์ Blechnaceae มีถิ่นกำเนิดกระจายอยู่ในเขตร้อนโลกได้ มีประมาณ 200 ชนิด ซึ่งส่วนใหญ่นั้น พบได้ในเขตร้อนและพื้นที่ภูเขาในเขตร้อนชื้น ของทวีปแอฟริกา อเมริกาใต้ และออสเตรเลีย (Kramer *et al.*, 1990) เฟินกูดดอยใบมัน (*Blechnum gibbum* Mett.) หรือ Silver Lady fern มีถิ่นกำเนิดในหมู่เกาะแปซิฟิก เป็นเฟินดิน ลำต้นเดี่ยวตั้งขึ้น สูง 90-120 เซนติเมตร ใบประกอบรูปขนนกชั้นเดียว ใบย่อยสีเขียวเป็นมัน ใบที่สร้างและไม่สร้างสปอร์มี

รูปร่างคล้ายกัน (Holtum, 1968) แต่ใบที่สร้างสปอร์มักจะแคบกว่าใบที่ไม่สร้างสปอร์อย่างชัดเจน นิยมใช้ปลูกประดับสวน เนื่องจากปลูกเลี้ยงง่าย และเจริญเติบโตได้รวดเร็ว (Hoshizaki and Moran, 2002) การขยายพันธุ์เฟินเพื่อการค้าของมูลนิธิโครงการหลวง ได้พบว่าเฟินกูดดอยใบมันบางต้นสามารถให้ต้นกล้าจากสปอร์ที่มีลักษณะแคระ (dwarf) โดยมีลำต้นตั้งตรง สูงเพียง 20-25 เซนติเมตร และมีเส้นผ่าศูนย์กลางทรงพุ่มเพียง 10-15 เซนติเมตร ใบย่อยแข็ง เล็กละเอียด ย่นเป็นคลื่น และไม่มีใบสร้างสปอร์ เหมาะที่จะนำไปประดับพื้นที่ขนาดเล็ก ค่อนข้างเล็ก เช่นโต๊ะทำงาน เฟินกูดดอยใบมันแคระเป็นที่ต้องการของผู้พบเห็น แต่เนื่องจากการแตกหน่อช้า และการสร้างสปอร์น้อยมาก จึงเป็นข้อจำกัดในการขยายพันธุ์ในเชิงการค้า (Boonpermrasri, 2006; Saengdanuch, 2011) ดังนั้น จึงได้ศึกษาการถ่ายทอดลักษณะแคระของเฟินกูดดอยใบมัน เพื่อเป็นแนวทางผลิตเฟินกูดดอยใบมันแคระในเชิงการค้าต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บรวบรวมใบที่สร้างสปอร์ในระยะที่อับสปอร์แก่แต่ยังไม่แตก จากเฟินกูดดอยใบมันจำนวน 1 ต้นที่มีลักษณะปกติแต่เคยมีประวัติให้ลูกจำนวนหนึ่งที่มีลักษณะแคระ ที่ปลูกในโรงจัดแสดงพันธุ์เฟิน ในสถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์ มูลนิธิโครงการหลวง เชียงใหม่

แล้วนำไปแช่ด้วยเอทานอลเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เพื่อทำลายสปอร์ที่อาจปนเปื้อนบนใบของเฟินกูดคอยใบมันที่ถูกเก็บรวบรวม เนื่องจากโรงจัดแสดงพันธุ์เฟินมีเฟินต้นอื่นที่อาจมีสปอร์แตก แล้วสปอร์ปลิวมาติดใบของเฟินกูดคอยใบมัน จากนั้นนำไปเก็บในซองกระดาษ ผึ่งให้แห้งเพื่อให้สปอร์แตก แล้วจึงนำสปอร์ไปเพาะในตะกร้าพลาสติกที่มีพีทมอสขึ้นเป็นวัสดุเพาะ เมื่อไรสปอร์แล้ว นำตะกร้าไปใส่ในถุงพลาสติกชนิดพีวีซี แล้วปิดปากถุง จากนั้นนำไปวางในโรงเรือนเฟิน ที่พรางแสงประมาณ 80-85 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิกลางวัน 25-27 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิกลางคืน 15-18 องศาเซลเซียส โดยเพาะสปอร์ในช่วงกลางเดือนเมษายน 2560 รวม 5 ตะกร้า

เมื่อสปอร์เจริญเป็นโพรทาลัสและมีการผสมพันธุ์เกิดขึ้นแล้ว ได้เกิดต้นกล้าขึ้น ทำการย้ายต้นกล้าครั้งแรกหลังจากเพาะสปอร์ 8 เดือน ซึ่งต้นกล้าเข้าสู่ระยะ sporophyte สมบูรณ์แล้ว โดยแยกต้นที่มีลักษณะปกติ และต้นที่มีลักษณะผิดปกติ จากนั้น ย้ายต้นกล้าอีก 2 ครั้ง จึงเก็บข้อมูลจำนวนต้นที่มีลักษณะปกติ และจำนวนต้นที่มีลักษณะแคระหลังจากย้ายต้นกล้าลงกระถางขนาด 3 นิ้ว (Figure 1)

นำข้อมูลไปทดสอบสัดส่วนของต้นที่มีลักษณะปกติ และต้นที่มีลักษณะแคระ ด้วย chi-square (χ^2) test เพื่อตรวจสอบ goodness of fit ของสัดส่วนตามสมมติฐาน โดยใช้สมมติฐานว่าต้นแม่พันธุ์เป็น heterozygote ในลักษณะต้นแคระ (ยีนทุกตำแหน่งที่ควบคุมลักษณะต้นแคระ อยู่ในสภาพ heterozygous) เนื่องจากรุ่นลูกที่เคยได้จากการผสมตัวเอง มีทั้งลักษณะ

ต้นปกติและลักษณะต้นแคระ ทั้งนี้ได้เริ่มจากการที่มียีน 2 ตำแหน่งควบคุมลักษณะ แล้วจึงเพิ่มจำนวนยีนควบคุมลักษณะครั้งละ 1 ตำแหน่ง จนได้ค่า χ^2 ที่ทำให้อยอมรับสมมติฐาน โดยคำนวณค่า χ^2 จากสูตร

$$\chi^2 = \sum (O_i - E_i)^2 / E_i$$

โดยที่ O_i = จำนวนต้นที่มีลักษณะ i

E_i = จำนวนทางทฤษฎีของต้นที่มีลักษณะ i

ผลการศึกษาและวิจารณ์

หลังจากได้ย้ายกล้าที่ได้จากการเพาะสปอร์ของเฟินกูดคอยใบมันซึ่งมีต้นลักษณะปกติ ทั้ง 5 ตะกร้าแล้ว 3 ครั้ง และแยกต้นกล้าตามลักษณะต้นที่เห็นพบว่าได้ต้นกล้าทั้งหมด 7,463 ต้น โดยมีต้นที่มีลักษณะปกติรวม 2,341 ต้น และต้นที่มีลักษณะแคระรวม 5,122 ต้น ซึ่งการที่มีการกระจายต้นในรุ่นลูกนั้น เป็นการยืนยันความถูกต้องของสมมติฐานที่ว่าเฟินกูดคอยใบมันซึ่งเป็นแม่พันธุ์นั้นเป็น heterozygote ในลักษณะต้นแคระ (Watts, 1980) การที่มีการกระจายต้นในรุ่นลูกเป็นเพียง 2 กลุ่ม โดยมีต้นกล้าซึ่งมีลักษณะต้นปกติเหมือนต้นแม่พันธุ์ในสัดส่วนที่ต่ำกว่าต้นกล้าซึ่งมีลักษณะต้นแคระ บ่งชี้ว่าต้องมียีนหลายตำแหน่งเกี่ยวข้องกับการควบคุมลักษณะต้นแคระ โดยยีนเหล่านั้นมีปฏิสัมพันธ์กันข้ามตำแหน่ง (interallelic interaction) แบบ epistasis (Watts, 1980)

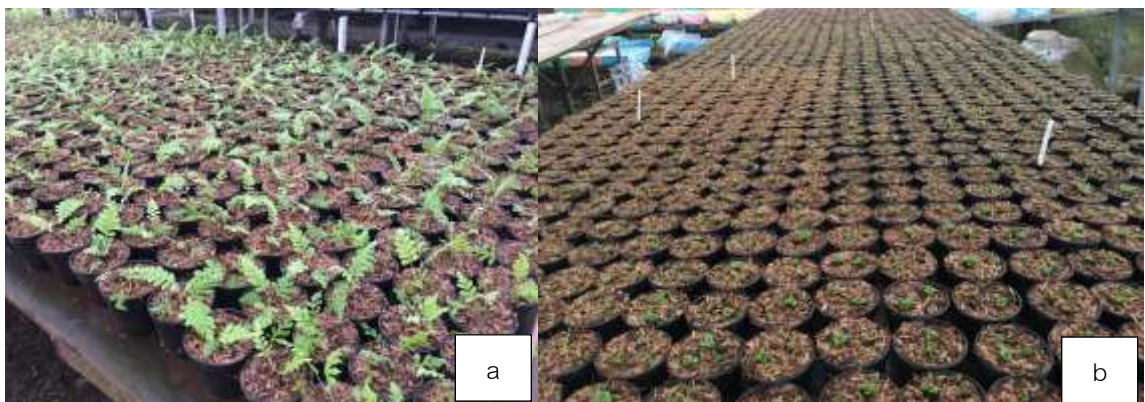


Figure 1. The normal form (a) and the dwarf form (b) of *Blechnum gibbum* after the third transplanting

เนื่องจากเฟินกูดดอยไบนันที่เป็น homozygous dominant และ homozygous recessive มีลักษณะต่างกันคือ homozygous dominant มีต้นลักษณะปกติ และ homozygous recessive มีต้นลักษณะแคระ จึงมี epistasis เพียงสองแบบที่จะทำให้รุ่นลูกจากการผสมตัวเองของต้น heterozygote มีการกระจายตัวเป็น 2 กลุ่ม คือ แบบ Duplicate dominant epistasis ซึ่งเป็นแบบที่ต้นที่มีอัลลีล dominant แม้เพียงตำแหน่งเดียวจะมีลักษณะต้นปกติ ทำให้รุ่นลูกมีต้นที่มีลักษณะแคระในสัดส่วน $(1/4)^n$ เมื่อ n คือจำนวนตำแหน่งยีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมลักษณะต้นแคระ และแบบ duplicate recessive epistasis ซึ่งเป็นแบบที่ต้นซึ่งมียีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมลักษณะต้นแคระอยู่ในสภาพ homozygous recessive แม้เพียงตำแหน่งเดียว จะมีลักษณะต้นแคระ ซึ่งจะทำให้รุ่นลูกมีต้นที่มีลักษณะปกติในสัดส่วน $(3/4)^n$ (Watts, 1980) การที่รุ่นลูกมีต้นที่มีลักษณะปกติรวม 2,341 ต้น และต้นที่มีลักษณะแคระรวม 5,122 ต้น หรือมีต้นปกติในสัดส่วน 0.3136808 ของประชากรรุ่นลูก 7,463 ต้น จึงได้นำสัดส่วนของจำนวนต้นกล้าที่มีลักษณะปกติ และต้นที่มีลักษณะแคระ มาทดสอบด้วย chi-square test โดยใช้สมมติฐานว่ายีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมลักษณะต้นแคระ มีปฏิกริยาต่อกันแบบ duplicate recessive epistasis เนื่องจาก epistasis แบบนี้ จะทำให้มีต้นซึ่งมีลักษณะปกติในสัดส่วนที่ต่ำลง เมื่อมียีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมลักษณะต้นแคระต้นกล้ามามากตำแหน่งขึ้น

ผลการทดสอบด้วย chi-square test (Table 1) พบว่าการมีต้นปกติในสัดส่วน 0.3136808 ของประชากรรุ่นลูก (ต้นที่มีลักษณะปกติรวม 2,341 ต้น และต้นที่มีลักษณะแคระรวม 5,122 ต้น) ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) จากสัดส่วนทางทฤษฎีของจำนวนต้นปกติ 0.31640625 ของประชากรรุ่นลูก หรือ $(3/4)^4$ หรือต้นที่มีลักษณะปกติรวม 2,361 ต้น และต้นที่มีลักษณะแคระรวม 5,102 ต้น ประกอบกับการที่ประชากรมีจำนวนมากกว่า 6.4×10^4 ต้น ทำให้สามารถทดสอบสัดส่วนดังกล่าวด้วย chi-square test ได้ที่ระดับความมั่นใจ 99% (Watts, 1980) พบว่าเฟินกูดดอยไบนัน มีอัลลีลแฝง 4 ตำแหน่ง ที่ควบคุมการเกิดลักษณะต้นแคระ (Figure 2) ซึ่งยีนเหล่านี้มีปฏิกริยาต่อกันแบบ duplicate recessive epistasis จึงกำหนดให้อัลลีลทั้งสี่ตำแหน่ง ชื่อ d_1, d_2, d_3 และ d_4 ตามลำดับ นั่นคือ เฟินกูดดอยไบนันที่มีลักษณะแคระนั้น มีลักษณะพันธุกรรม (phenotype) เป็น $d_1d_1D_2D_3D_4, D_1d_2d_2D_3D_4, D_1D_2d_3d_3D_4, D_1D_2D_3d_4d_4, d_1d_1d_2d_2D_3D_4, d_1d_1D_2d_3d_3D_4, d_1d_1D_2D_3d_4d_4, D_1d_2d_2d_3d_3D_4, D_1d_2d_2D_3d_4d_4, D_1D_2d_3d_3d_4d_4, D_1d_2d_2d_3d_3d_4d_4, d_1d_1D_2d_3d_3d_4d_4, d_1d_1d_2d_2D_3d_4d_4, d_1d_1d_2d_2d_3d_3D_4$ หรือ $d_1d_1d_2d_2d_3d_3d_4d_4$ ดังนั้น การผลิตเฟินกูดดอยไบนันแคระในเชิงพาณิชย์ จึงควรใช้วิธีเพาะสปอร์จากต้นปกติที่เป็น heterozygote ของยีนทั้งสี่ตำแหน่งซึ่งจะมีอยู่ในสัดส่วน 0.1975308 หรือ $(2/3)^4$ ของประชากรที่มีลักษณะปกติ 462 ต้น จาก 2,341 ต้นของรุ่นลูกชุดนี้ และเนื่องจากไบนันของเฟินกูดดอยไบนันต้นปกติมีขนาดใหญ่ สามารถให้สปอร์จำนวนมาก จึงจะสามารถเกิดต้นกล้าเฟินกูดดอยไบนันแคระได้จำนวนมากเช่นกัน

Table 1. Phenotypic distribution in the progeny population with chi-square test for duplicate recessive epistasis

Observed ratio	Number of alleles	Expected ratio	Chi-square	P
2,341: 5,122	2	4,198: 3,265	1877.7	> 0.05
	3	3148: 4315	357.8	> 0.05
	4	2,361: 5,102	0.248	≤ 0.05



Figure 2. Normal and dwarf forms of *Blechnum gibbum* (a) at their marketable stage and (b) a close-up view of the dwarf form

สรุป

การศึกษาลักษณะการถ่ายทอดลักษณะแคระในเฟินกูดอยใบมันจากการกระจายตัวในรุ่นลูก พบว่าการที่รุ่นลูกมีต้นที่มีลักษณะปกติ จำนวน 2,341 ต้น และต้นที่มีลักษณะแคระ จำนวน 5,122 ต้น แสดงว่าลักษณะแคระอยู่ภายใต้การควบคุมของอัลลีลแฝง จำนวน 4 ตำแหน่ง ที่มีการทำงานแบบ duplicate recessive epistasis ดังนั้นการผลิตเฟินกูดอยใบมันแคระให้ได้ปริมาณพอเพียงต่อ จึงสามารถใช้วิธีเพาะสปอร์ต้นที่เป็น heterozygote ของยีนทั้งสองตำแหน่งได้

เอกสารอ้างอิง

- Amasino, R.M., F.M. Schomburg, S.D. Michaels and C. M. Bizzell. 2005. Dwarfism genes and dwarf plants. (Online). Available: <https://www.warf.org/documents/technology-summary/P01061US.pdf> (October 29, 2018).
- Boonpermrasri, A. 2006. Development of fern cultivars in Thailand and 'Rasmijoti, a new fern hybrid from the Royal Project Foundation. Home Agricultural Magazine 30(5): 215-223. (in Thai)
- Dubois, L.A.M. and D.P. de Vries. 1987. On the inheritance of the dwarf character in *Polyantha* × *Rosa chinensis minima* (Sims) Voss F_1 -populations. Euphytica 36: 535-539.
- Holtum, R.E. 1968. A Revised Flora of Malaya. Volume 2: Ferns of Malaya. Government Printing Office, Singapore. 653 p.
- Hoshizaki, B.J. and R.C. Moran. 2002. Fern Grower's Manual. Timber Press, Portland, Oregon. 626 p.
- Kramer, K.U., T.C. Chamber and E. Hennipman. 1990. Blechnaceae. pp. 60-68. In: K.U. Kramer and P.S. Green (eds.). The Families and Genera of Vascular Plants. Vol 1. Pteridophytes and Gymnosperms. Springer-Verlag, Wien, Berlin.

Saengdanuch, P. 2011. Royal Project Ferns. Amarin
Printing and Publishing Co., Bangkok.
198 p. (in Thai)

Watts, L. 1980. Flower and Vegetable Plant
Breeding. Grower Books, London. 182 p.
