บทที่ 4
การทำงานของยีนและแนวคิดในการปรับปรุงพันธุ์

โดยทั่วไป นักปรับปรุงพันธุ์พืชมักจะพิจารณาลักษณะที่ปรากฏ เพื่อตัดสินใจในการคัดเลือกพืช ในหลาย ๆ กรณี ลักษณะที่ปรากฏอาจไม่เป็นไปตามที่คาดการณ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อลักษณะนั้น ๆ ควบคุมโดยยีนที่มีปฏิสัมพันธ์กันอย่างซับซ้อน การเข้าใจระบบการทำงานของยีนประเภทต่าง ๆ ย่อมจะช่วยให้เกิดความเข้าใจ และใช้ยีนแต่ละประเภทให้เหมาะสมกับธรรมชาติของพืชแต่ละชนิด และมีส่วนช่วยในการวางแผนการปรับปรุงพันธุ์และคัดเลือกสายพันธุ์ แนวคิดและวิธีการต่าง ๆ ในการปรับปรุงพันธุ์ที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน มาจากพื้นฐานในการทำงานของยีน เพื่อให้สัมพันธ์กับวิธีการผสมพันธุ์ และการคัดเลือกพันธุ์ อย่างไรก็ตาม นักปรับปรุงพันธุ์อาจมีความจำเป็นที่จะต้องประยุกต์วิธีการต่าง ๆ เพื่อให้เหมาะกับสภาพของงานและเชื้อพันธุกรรม (germ plasm) ที่จะใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ การวิเคราะห์ปัญหาบางอย่างที่ลึกซึ้ง จำเป็นที่จะต้องอิงหลักการทำงานของยีน เพื่อที่จะแก้ปัญหาเหล่านั้นได้อย่างถูกต้อง และแก้ปัญหาได้อย่างมีประสิทธิภาพ

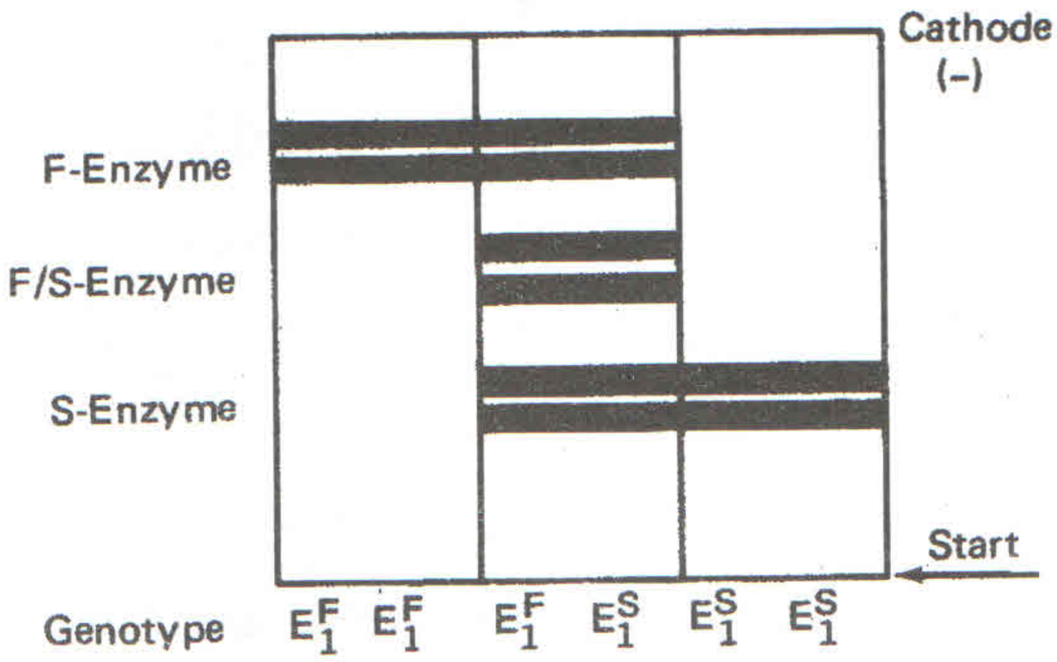
หลังจากการค้นพบผลงานของเมนเดลในปี 1900 ทำให้สามารถแบ่งยีนออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ยีนข่ม (dominant gene) และยีนแฝง (recessive gene) และมีความเข้าใจว่า ยีน 1 ตัว ควบคุมลักษณะ 1 ลักษณะ จนกระทั่งมีการค้นพบว่า ยีนทำงานโดยผ่านกระบวนการทางชีวเคมี (Beadle และ Tatum, 1941) ยีนเป็นผู้ผลิตเส้นใยโปรตีน (polypeptide) ซึ่งก็คือ เอนไซม์ (enzyme) จึงเปลี่ยนแนวคิดมาเป็น 1 ยีน 1 เอนไซม์ แต่ต่อมา ค้นพบว่า เอนไซม์ 1 ชนิด อาจมีเส้นใยโปรตีนมากกว่า 1 ชนิด (Yanofsky, Drapeau, Grest และ Carton, 1967) คำจำกัดความของคำว่า "ยีน" จึงเปลี่ยนมาเป็น 1 ยีน 1 เส้นใยโปรตีน (one gene – one polypeptide) และทำให้เข้าใจถึงปฏิสัมพันธ์ ระหว่างยีนภายในชุดเดียวกัน (alleles) และยีนต่างชุดกัน (non-alleles) ดีขึ้น

ปฏิสัมพันธ์ของยีนในชุดเดียวกัน

เมื่อพิจารณาถึงยีนภายในชุดเดียวกัน (ยีนที่ตำแหน่งโครโมโซมเดียวกัน) ซึ่งมีอยู่หลายตัว (multiple alleles) และต่างก็ทำหน้าที่เดียวกัน แต่มีประสิทธิภาพไม่เท่ากัน เป็นเหตุให้การแสดงออกของยีนมีระดับต่าง ๆ กัน ลักษณะที่ไม่แสดงออก เมื่ออยู่ในสภาพยีนคู่ผสม เรียกว่า ลักษณะแฝง และลักษณะที่แสดงออกเมื่ออยู่ในสภาพยีนคู่ผสม เรียกว่า ลักษณะข่ม ระดับของการข่มมีตั้งแต่ข่มไม่สมบูรณ์ (incomplete dominance) จนถึงข่มสมบูรณ์ (complete dominance)

ในกรณีที่ เอนไซม์ประกอบด้วยเส้นใยโปรตีนมากกว่า 1 เส้น แต่ละเส้นมาจากยีนภายในชุดเดียวกัน ซึ่งอาจเหมือนกันหรือต่างกัน ทำให้เกิดเอนไซม์มากกว่า 1 ชนิด (isozyme) และมีประสิทธิภาพในระดับต่าง ๆ กัน เอนไซม์ที่ประกอบด้วยเส้นใยโปรตีนที่ต่างกัน อาจมีประสิทธิภาพตั้งแต่ไม่สามารถทำงานได้จนถึงทำงานได้เกินกว่าเอนไซม์ที่มีโปรตีนเพียงชนิดเดียว ทำให้เกิดลักษณะข่มเกิน (over dominance) อย่างไรก็ตาม จนถึงปัจจุบัน ยังไม่มีหลักฐานใด ๆ ที่เด่นชัด ถึงลักษณะการทำงานของยีนในแบบข่มเกิน

แต่เป็นที่เข้าใจว่า ไอโซไซม์ที่หลากหลายช่วยในการปรับตัวของพืช ให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย ภาพที่ 4.1 แสดงเอนไซม์ esterase ของยีนคู่แฝด $E_1^F E_1^F$, $E_1^S E_1^S$ และเอนไซม์ของยีนคู่ผสม $E_1^F E_1^S$ (Hess, 1975)



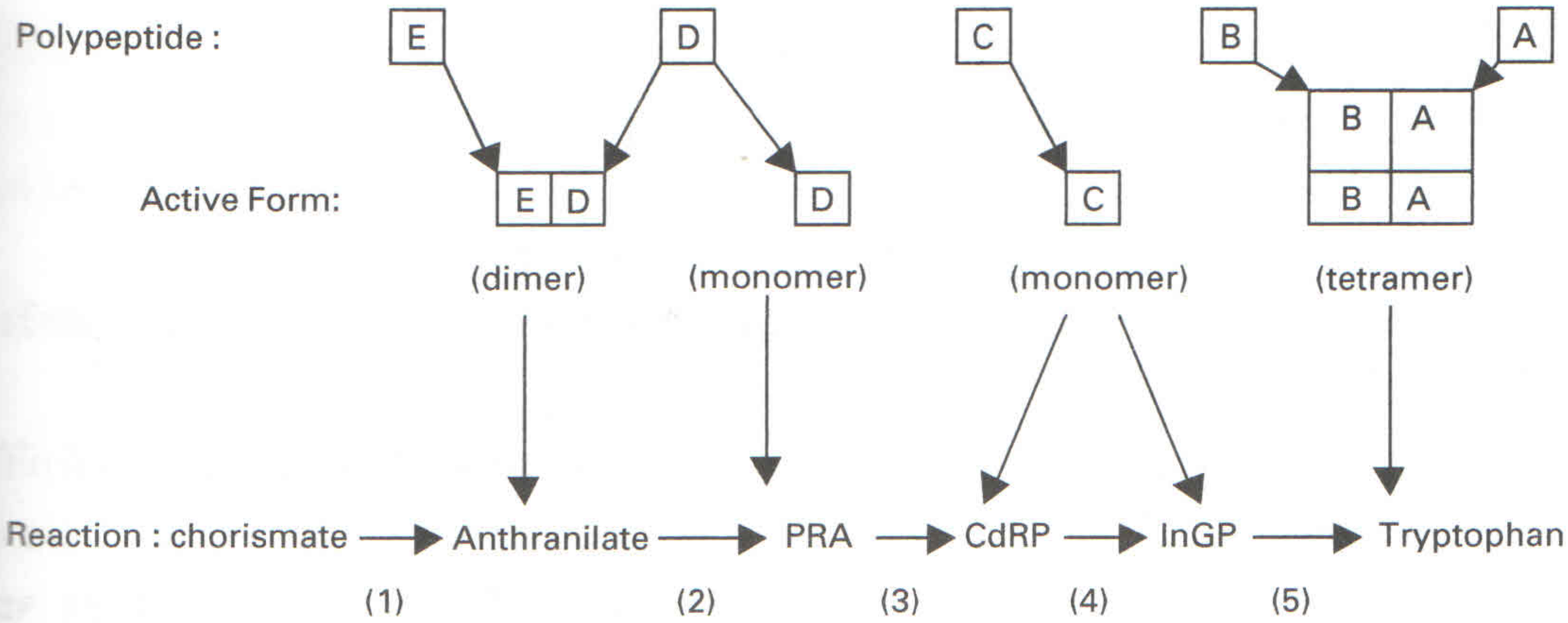
ภาพที่ 4.1 แสดงปฏิสัมพันธ์ของยีนในชุดเดียวกันในระดับเอนไซม์ แสดงถึงเอนไซม์ของยีนคู่แฝดและยีนคู่ผสม ของเอนไซม์ esterase ซึ่งประกอบด้วยยีน E_1^S และ E_1^F(Hess, 1975)

นอกจากนี้ เมื่อมองลักษณะโดยรวม ยีนส่วนมากแสดงออกในลักษณะผลบวก (no dominance หรือ additive) นั่นคือ ยีนคู่ผสมจะมีลักษณะอยู่กึ่งกลางระหว่างยีนข่มและยีนแฝงคู่แฝด ลักษณะที่เบี่ยงเบนไปจากค่าเฉลี่ย เรียกว่า ลักษณะไม่เป็นผลบวก (non additive) ถ้าให้ A และ a เป็นยีนในชุดเดียวกัน ปฏิสัมพันธ์ของยีนในแบบต่าง ๆ สรุปได้ คือ Aa = (AA + aa)/2 = ลักษณะผลบวก ถ้า Aa > (AA + aa)/2 < AA = ปฏิกิริยาแบบข่มไม่สมบูรณ์ แต่เมื่อ Aa = AA > aa = ปฏิกิริยาข่มสมบูรณ์ และเมื่อ Aa > AA > aa = ปฏิกิริยาข่มเกิน

ในกรณีที่ ยีนในชุดเดียวกัน ต่างตัวต่างแสดงออก เรียกว่า ลักษณะข่มร่วม (co – dominance) เช่น ยีนที่ควบคุมลักษณะกลุ่มเลือดของมนุษย์ AA ควบคุมกลุ่มเลือด A และ BB ควบคุมกลุ่มเลือด B และ AB ควบคุมกลุ่มเลือด AB แทนที่จะเป็นกลุ่ม A หรือกลุ่ม B ลักษณะการต้านทานโรค ที่ยีนแต่ละตัวต้านทานต่อเชื้อแต่ละเชื้อ ในแบบ ยีน-ต่อ-ยีน ทำให้พืชในสภาพยีนคู่ผสม ต้านทานโรคได้ 2 เชื้อ

ปฏิสัมพันธ์ของยีนต่างชุด

ยีนนอกจากมีปฏิสัมพันธ์ภายในยีนชุดเดียวกัน ยังมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีนต่างชุด เป็นที่ทราบดีว่า ความแปรปรวนของลักษณะแต่ละลักษณะ ส่วนหนึ่งเป็นผลมาจากปฏิสัมพันธ์ของยีนต่างชุดภายในสายชีวเคมี (metabolic pathway) เดียวกัน ปฏิสัมพันธ์ข้ามชุดของยีนภายในสายชีวเคมีเดียวกัน เรียกว่า epistasis ภาพที่ 4.2 แสดงถึงสายชีวเคมีในการผลิต tryptophan ซึ่งต้องมีเส้นใยโปรตีน (polypeptide) ที่ทำงานได้ (E , D, C, B และ A) ครบทุกชุด จึงจะสามารถผลิต tryptophan ได้ เอนไซม์แต่ละตัว (active form) ในแต่ละช่วงของสายชีวเคมี ประกอบด้วยเส้นใยโปรตีนตั้งแต่ 1 – 4 เส้น ประสิทธิภาพของเอนไซม์ ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของเส้นใยโปรตีนจากยีนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง (Hartman และ Suskind, 1969)



ภาพที่ 4.2 แสดงการทำงานของเอนไซม์ในขั้นตอนต่าง ๆ เพื่อสร้าง tryptophan ของ *E. coli* (Hartman และ Suskind, 1969)

เพื่อให้เข้าใจได้ง่ายขึ้น น่าจะได้พิจารณาจากลักษณะทางพันธุกรรมที่คุ้นเคย (Srb และOwen, 1952) และสามารถเห็นได้ชัด ดังเช่น สีของหัวหอม การที่ผิวของหัวหอมจะเกิดสีได้ ต้องประกอบด้วยยีนอย่างน้อย 3 ชุด คือ ยีน I = ตัวยับยั้งการสร้างสารต้นกำเนิดสี ยีน C = ตัวสร้างสารต้นกำเนิดสี และยีน R = ตัวทำให้เกิดสี ยีนแฝง i และ c เป็นยีนที่ไม่ทำงาน ส่วน r เป็นยีนที่ยังทำงาน แต่มีประสิทธิภาพต่ำ สามารถทำให้เกิดสีได้ในระดับต่ำ ปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีนแต่ละคู่ ทำให้ได้อัตราส่วนของลักษณะสีต่าง ๆ กัน คือ

ถ้าพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างยีน I – และ C – โดยให้ rr คงที่

I - C - rr	=	ขาว	(9)
I - cc rr	=	ขาว	(3)
ii C - rr	=	เหลือง	(3)
ii cc rr	=	ขาว	(1) หรือ 13 ขาว : 3 เหลือง

ในกรณีนี้ I ขัดขวางการทำงานของยีน C ซึ่งเป็นตัวผลิตสารต้นกำเนิดสี ทำให้ลักษณะที่มี I อยู่เป็นสีขาวทั้งหมด และลักษณะ cc ไม่สามารถผลิตสารต้นกำเนิดสีได้ ในขณะที่ r ทำงานได้ในระดับหนึ่งเมื่ออยู่ร่วมกับ C – จึงให้สีเหลือง เรียกลักษณะนี้ว่า ปฏิกิริยายับยั้ง (inhibition action)

เมื่อพิจารณาระหว่างยีน I -, และ R – โดยที่ CC คงที่

I - CC R-	=	ขาว	(9)
I - CC rr	=	ขาว	(3)
ii CC R-	=	แดง	(3)
ii CC rr	=	เหลือง	(1) หรือ 12 ขาว : 3 แดง : 1 เหลือง

ซึ่งปกติเรียกว่า ผลกระทบจากยีนข่ม (dominant epistasis) ต่างกับปฏิกิริยายับยั้ง เพียงแต่ว่าเราพิจารณา I กับ C หรือ I กับ R ในกรณีนี้ พิจารณาระหว่าง I กับ R จึงเหมือนกับ I ไปข่ม R

เมื่อพิจารณาระหว่างยีน C- และ R- โดยที่ ii คงที่