วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 32:1 (1-12)

เครื่องหมายโมเลกุลที่สัมพันธ์กับยีนควบคุมความยาวและความกว้างเมล็ดข้าวในประชากรชั่วที่ 2 ของคู่ผสมระหว่างพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กับบาสมาติ

Molecular Markers Linked to Genes Related to Rice Grain Length and Width in F_2 Progenies of Cross Between KDML 105 and Basmati

พิมใจ สุทธวงค์[1] วราภรณ์ แสงทอง[1] แสงทอง พงษ์เจริญกิต[1] พรพันธ์ ภู่พร้อมพันธุ์[2]

บทคัดย่อ

ความยาวของเมล็ดข้าวเป็นสิ่งสำคัญในการกำหนดราคาของข้าว โดยข้าวเมล็ดยาวเป็นข้าวที่มีราคาสูงในท้องตลาด เช่น ข้าวพันธุ์บาสมาติ รวมถึงเป็นการเพิ่มผลผลิตของข้าวเพราะขนาดของเมล็ดเป็นหนึ่งในองค์ประกอบของผลผลิต จึงเกิดแนวคิดในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้มีความยาวของเมล็ดเพิ่มมากขึ้น โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลมาช่วยในการคัดเลือกขนาดของเมล็ด การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดหรือเป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2* และ *gl-3* กับลักษณะความยาวของเมล็ด และหาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดกับยีน *GW2* และ *GW5* กับลักษณะความกว้างของเมล็ด ในประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่างพันธุ์รับขาวดอกมะลิ 105 กับพันธุ์ให้บาสมาติ จำนวน 100 ต้น ผลการทดลองพบเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างข้าวพันธุ์รับขาวดอกมะลิ 105 กับข้าวพันธุ์ให้บาสมาติ ซึ่งยึดติดหรือเป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2, gl-3, GW2* และ *GW5* คือ Indel1, RMw327, RM6203 และ RMw-513 ตามลำดับ จึงนำมาศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ซึ่งใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่คัดเลือกได้เป็นไพรเมอร์กับลักษณะความยาวและความกว้างของเมล็ดด้วยวิธี single regression พบว่ามีเครื่องหมายโมเลกุลเพียงหนึ่งตำแหน่ง คือ Indel1 ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2* มีความสัมพันธ์กับลักษณะความยาวของเมล็ด (P<0.01) และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.4069 ในขณะเดียวกันก็มีความสัมพันธ์กับลักษณะความกว้างของเมล็ด (P<0.01) และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.3247 ในขณะที่เครื่องหมาย RMw327 ซึ่งยึดติดกับยีน *gl-3* พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะความยาวของเมล็ด ส่วนเครื่องหมาย RM6203 และ RMw-513 ซึ่งยึดติดกับยีน *GW2* และ *GW5* ตามลำดับ พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะความกว้างของเมล็ด ดังนั้นเครื่องหมายโมเลกุล Indel1 เพียงชนิดเดียวที่สามารถนำมาช่วยในการคัดเลือกร่วมกับวิธีผสมกลับ เพื่อพัฒนาสายพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้มีเมล็ดยาวกว่าเดิมได้

คำสำคัญ: ข้าว, ความยาวเมล็ดของข้าว, ขาวดอกมะลิ 105, บาสมาติ, เครื่องหมายโมเลกุล

Abstract

Grain length is important in determining the price of rice because long grain rice has a higher price in the market such as basmati. In addition, increased yield because grain size is one component of rice yield. One concept in rice breeding is to improve KDML105 's value by increasing the grain length through the use of marker-assisted selection. This study aimed to investigate the relationship between molecular linked or functional markers of *qGL7-2* and *gl-3* genes and grain length trait, and between the markers of the *GW2* and *GW5* genes and grain width trait among the 100 F_2 plant population of a cross between the recipient KDML105 and donor parent Basmati. Results showed that molecular linked or

[1] สาขาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
[2] สาขาพืชสวนประดับ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

functional markers related to *qGL7-2*, *gl-3, GW2*, and *GW5* (displayed polymorphic) bands between KDML105 and Basmati, namely: Indel1, RMw327, RM6203 and RMw-513, respectively. Genotypic studied via single regression method showed that only Indel1, a functional marker of *qGL7-2* gene, was highly related with grain length (P<0.01) and R^2 (R-squared value) equivalent to 0.4069, and also had a highly significant relationship to grain width (P<0.01) which R^2 was 0.3247. While, molecular marker, RMw327 linked to *gl-3* gene was not correlated with grain length. RM6203 and RMw-513 linked to *GW2* and *GW5* genes, respectively, also were not related to grain width. Thus, improvement for the seed length of KDML105 lines will be achieved by utilizing an Indel1 in a marker-assisted backcrossing.

Keywords: rice, rice grain length, Khao Dawk Mali 105, Basmati, molecular marker

คำนำ

ความนิยมในการบริโภคข้าวของแต่ละพื้นที่แตกต่างกัน เช่น ส่วนใหญ่ของประเทศในแถบเอเชีย ยุโรป และสหรัฐอเมริกา นิยมบริโภคข้าวที่มีเมล็ดยาวและรูปร่างผอมเรียว ส่วนประเทศญี่ปุ่น เกาหลีใต้ และศรีลังกา นิยมบริโภคข้าวเมล็ดสั้นและกลม (Shao *et al*., 2010) จากรายงานการส่งออกข้าวไทย รายงานว่า ราคาข้าวเมล็ดยาวบาสมาติของอินเดียมีราคาสูงกว่าข้าวหอมมะลิของไทยประมาณตันละ 50-100 เหรียญสหรัฐอเมริกา (ทีมข่าวเศรษฐกิจ, 2555) บาสมาติเป็นข้าวเมล็ดยาว หอม และร่วน มีขนาดเมล็ดข้าวกล้อง ความยาว x ความกว้าง เท่ากับ 7.65 x 1.66 มิลลิเมตร ส่วนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีขนาดเมล็ดเท่ากับ 7.18 x 1.94 มิลลิเมตร จากการตรวจเอกสารพบว่าขนาดของเมล็ดข้าวถูกควบคุมด้วยยีนหลายตำแหน่ง ได้แก่ *GS3 qGL7-2, gl-3, GW2* และ *GW5* โดยมี *GS3* เป็น QTL หลัก (major QTL) ในการควบคุมความยาวและน้ำหนักเมล็ด และเป็น QTL รอง (minor QTL) ควบคุมความกว้างและความหนาของเมล็ด *GS3* ตั้งอยู่บนโครโมโซมแท่งที่ 3 ประกอบด้วย 5 เอกซอน มีการแปลรหัสมาเป็นกรดอะมิโน 232 ตัว (Fan *et al*., 2006; Kai *et al*., 2009; Yan *et al*., 2011) ส่วน *qGL7-2* เป็น QTL หลัก ซึ่งควบคุมลักษณะความยาวเมล็ด ตั้งอยู่บนแขนยาวโครโมโซมแท่งที่ 7 ระหว่างเครื่องหมาย Indel1 กับ RM 21945 มีขนาดประมาณ 278 kb (Shao *et al*., 2010) ส่วน *gl-3* เป็น QTL ซึ่งควบคุมลักษณะความยาวเมล็ด ตั้งอยู่บนโครโมโซมแท่งที่ 3 ซึ่งมีขนาดประมาณ 87.5 kb อยู่ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล RMw357 และ RMw353 (Wan *et al*., 2006; Fan *et al*., 2006) *GW2* เป็น QTL ควบคุมลักษณะความกว้างและความยาวเมล็ด ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 2 มี 8 เอกซอน หากทำให้ *GW2* สูญเสียสภาพการทำงานจะทำให้เมล็ดข้าวมีความกว้างเพิ่มขึ้น (Song *et al*., 2007) และ *GW5* เป็น QTL หลักในการควบคุมลักษณะความกว้างและน้ำหนักของเมล็ด ซึ่งตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 5 มีการแปลรหัสมาเป็นกรดอะมิโน 144 ตัว ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการแบ่งเซลล์ในช่วงที่เมล็ดมีการพัฒนา (Weng *et al*., 2008; Yan *et al*., 2011) เนื่องจากความยาวของเมล็ดข้าวเป็นสิ่งสำคัญในการกำหนดราคา และจะเป็นการเพิ่มผลผลิตของข้าวเพราะขนาดของเมล็ดเป็นหนึ่งในองค์ประกอบของผลผลิตจาก 3 องค์ประกอบคือ จำนวนเมล็ดต่อรวง จำนวนรวงต่อกอ และขนาดของเมล็ดซึ่งมีส่วนสัมพันธ์โดยตรงต่อน้ำหนักของผลผลิต (Takeda and Matsuoka, 2008; Song and Ashikari, 2008) ดังนั้นการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะกับยีนควบคุมลักษณะความยาวและความกว้างของเมล็ด เพื่อใช้คัดเลือกต้นข้าวที่มียีนควบคุมความยาวของเมล็ดมากจากพันธุ์ให้คือบาสมาติ แต่ให้มีลักษณะต่าง ๆ เหมือนกับพันธุ์รับคือขาวดอกมะลิ 105 ร่วมกับการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีผสมกลับ หากผลการทดลองนี้ประสบความสำเร็จจะสามารถพัฒนาพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้มีความยาวของเมล็ดใกล้เคียงหรือเท่ากับข้าวพันธุ์บาสมาติได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์ และวิธีการ

1. การคัดเลือกข้าวพันธุ์ให้ และการสร้างประชากรเพื่อใช้ในการศึกษา

1.1 จากการตรวจเอกสารพบว่าข้าวพันธุ์บาสมาติมีความยาวของเมล็ดมาก จึงนำไปปลูกในพื้นที่เดียวกันกับพันธุ์รับคือขาวดอกมะลิ 105 แล้วสุ่มวัดความยาวและความกว้างของเมล็ดข้าวกล้องจำนวน 30 กอ ๆ ละ 20 เมล็ด ด้วยเครื่อง เวอร์เนียคาลิปเปอร์

1.2 จากนั้นนำข้อมูลความยาวและความกว้างของเมล็ดข้าวกล้องมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างพันธุ์รับกับพันธุ์ให้โดยวิธี t-test แล้วนำมาสร้างประชากรเพื่อใช้ในการศึกษา ดังนี้

1.3 สร้างลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1 hybrid) ฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553 ผสมข้าวพันธุ์ ขาวดอกมะลิ 105 กับพันธุ์บาสมาติ

1.4 ผลิตเมล็ดชั่วที่ 2 (F_2 seed) โดยปลูกเมล็ด F_1 ฤดูนาปรัง (มกราคม – มิถุนายน) พ.ศ. 2554 จากนั้นปล่อยให้ผสมตัวเองจะได้เมล็ด F_2

1.5 ปลูกเมล็ด F_2 ฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2554 เพื่อใช้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลกับลักษณะความยาวและความกว้างของเมล็ด

2. การหาเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดหรือเป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2*, *gl-3*, *GW2* และ *GW5*

ค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลที่เป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2* จากรายงานการวิจัยของ Shao และคณะ (2010) รวมถึงเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดกับยีน *gl-3* จากรายงานการวิจัยของ Wan และคณะ (2006) ส่วนยีน *GW2* คัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดกับยีน *GW2* จากตาราง supplementary table 18 จากเวปไซด์ gramene (http://www.gramene. org/markers/microsat) โดยคัดเลือกเครื่องหมายที่อยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีนมากที่สุด และคัดเลือกเครื่องหมายที่ยึดติดกับยีน *GW5* จากรายงานการวิจัยของ Weng และคณะ (2008) แล้วสั่งสังเคราะห์ไพรเมอร์เพื่อใช้ตรวจสอบความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับกับพันธุ์ให้

3. การตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดหรือเป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2*, *gl-3*, *GW2* และ *GW5* และคัดเลือกเครื่องหมายที่แสดงความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ให้บาสมาติ

3.1 ตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลที่คัดเลือกไว้ว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กับพันธุ์บาสมาติ หรือไม่ โดยการสกัดดีเอ็นเอจากใบข้าวของพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กับพันธุ์บาสมาติ ด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (Genomic DNA Purification Kit Cat #K0512, Fermentas Inc.) ตามขั้นตอนการสกัดของบริษัท จากนั้นเพิ่มปริมาณชิ้นส่วน ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (polymerase chain reaction; PCR) โดยในแต่ละปฏิกิริยาประกอบด้วย น้ำกลั่น ปริมาตร 1.5 µl สารละลาย 1x Go Taq® Green Master Mix (400 µM dNTPs reaction buffer (pH 9) 3 mM $MgCl_2$ และเอนไซม์ *Taq* DNA polymerase 0.1 units/µl) (Cat no. M7123, Promega Corporation) ปริมาตร 7.5 µl สารละลาย forward primer ที่ความเข้มข้น 5 µM ปริมาตร 2 µl สารละลาย reverse primer ที่ความเข้มข้น 5 µM ปริมาตร 2 µl และดีเอ็นเอแม่พิมพ์ ปริมาตร 2 µl ปริมาตรรวมทั้งหมด 15 µl เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ โดยตั้งโปรแกรมการทำงานที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 2 นาที ในขั้นตอน predenaturing ในแต่ละรอบ ขั้นตอน denaturing ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 1 นาที ขั้นตอน annealing ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส 1 นาที 30 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 1 นาที 30 วินาที และทำปฏิกิริยาซ้ำอีกจำนวน 35 รอบ รอบ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 5 นาที แล้วตรวจสอบผลที่ได้ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซีส โดยใช้วุ้นอะกาโรส (NuSieve ® 3:1 Agarose, Cat no. 50090, Lonza) เข้มข้น 4 % ในสารละลาย 1x TBE buffer จากนั้นย้อมสีชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยสารละลาย SYBR®Safe DNA gel stain แถบดีเอ็นเอเรืองแสงภายใต้แสงยูวี บันทึกภาพแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเครื่อง GelDoc (Bio-Rad Laboratories Ltd.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 คัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กับพันธุ์บาสมาติของแต่ละยีน โดยพิจารณาภาพแถบดีเอ็นเอที่ขนาดของผลผลิตพีซีอาร์มีค่าต่างกันมาก และให้แถบดีเอ็นเอที่มีความคมชัด เพื่อใช้คัดเลือกต้น F_1 และตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร F_2 ต่อไป

4. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดหรือเป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2* และ *gl-3* กับลักษณะความยาวของเมล็ด และการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดกับยีน *GW2* และ*GW5* กับลักษณะความกว้างของเมล็ด ในประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่างพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กับพันธุ์บาสมาติ

4.1 ปลูกเมล็ด F_2 เพื่อใช้ศึกษาข้อมูลฟีโนไทป์ ในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2554 โดยปลูก 1 ต้น/หลุม ระยะห่างระหว่างต้น 25 x 25 เซนติเมตร เมื่อข้าวแตกกอแล้วจึงให้หมายเลขประจำกอ จำนวน 100 กอ โดยแต่ละกอต้องมีต้นข้าวกออื่นขนาบข้างครบทั้งสี่ด้าน เมื่อเมล็ดข้าวสุกแก่จึงเก็บตัวอย่างเมล็ดข้าวโดยเก็บจากลำต้นหลัก (main stem) ของแต่ละกอ ตามหมายเลขที่ให้ไว้ สุ่มวัดขนาดเมล็ดข้าวกล้องจำนวน 20 เมล็ด/กอ จากนั้นหาค่าเฉลี่ยความยาวและความกว้างของเมล็ดของแต่ละกอในประชากร F_2 เพื่อเป็นข้อมูลฟีโนไทป์ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์กับเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดหรือเป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2*, *gl-3*, *GW2* และ *GW5* ที่คัดเลือกได้ซึ่งใช้เป็นข้อมูลจีโนไทป์ (genotype)

4.2 การเก็บข้อมูลจีโนไทป์ โดยเก็บใบข้าวของต้น F_2 ทั้ง 100 กอ ที่ใช้ศึกษาข้อมูลฟีโนไทป์มาสกัดดีเอ็นเอดังวิธีการที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น เพื่อตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร F_2 แต่ละกอ ในการทำพีซีอาร์ใช้เครื่องหมายโมเลกุลของแต่ละยีนซึ่งแสดงแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กับพันธุ์บาสมาติที่ได้คัดเลือกไว้แล้วตรวจสอบผลที่ได้ด้วยวิธี อิเล็กโตรโฟรีซีส โดยประชากร F_2 นี้ มีการกระจายตัวของยีน โดยกำหนดให้ตัวอย่างต้น F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือน ขาวดอกมะลิ 105 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 แถบดีเอ็นเอเหมือนบาสมาติ มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 และต้น F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของขาวดอกมะลิ 105 และบาสมาติมีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 เพื่อใช้เป็นข้อมูลจีโนไทป์ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์กับลักษณะความยาวและความกว้างของเมล็ดซึ่งเป็นข้อมูลฟีโนไทป์

4.3 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ของต้น F_2 ที่ตรวจสอบด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่เป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2* และ *gl-3* กับฟีโนไทป์ของต้น F_2 คือลักษณะความยาวเมล็ด และการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ของต้น F_2 ที่ตรวจสอบด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดกับยีน *GW2* และ *GW5* กับฟีโนไทป์ของต้น F_2 คือลักษณะความกว้างเมล็ด ด้วยสมการถดถอย (regression) โดยวิธี single regression เพื่อหาค่าสัมประสิทธิ์ของสมการถดถอย (regression coefficient, R^2) ซึ่งเป็นค่าที่แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายโมเลกุลที่เป็นส่วนหนึ่งของยีนหรือยึดติดกับยีนต่างๆ มีความสัมพันธ์กับลักษณะความยาวหรือความกว้างของเมล็ดหรือไม่ จากนั้นนำเครื่องหมายโมเลกุลที่วิเคราะห์ โดยวิธี single regression ซึ่งแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญมาวิเคราะห์ต่อด้วยสมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) โดยวิธี multiple regression เพื่อศึกษาว่าเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดหรือเป็นส่วนหนึ่งของยีนความยาวของเมล็ดคือ *qGL7-2* และ *gl-3* เครื่องหมายใดมีความสัมพันธ์กับลักษณะความยาวของเมล็ดมากที่สุด หรือเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดกับยีนความกว้างของเมล็ด คือ *GW2* และ *GW5* เครื่องหมายใดมีความสัมพันธ์กับลักษณะความกว้างของเมล็ดมากที่สุด โดยใช้โปรแกรม SAS ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลอง

1. พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษา

จากการสุ่มวัดความยาวและความกว้างเมล็ดข้าวกล้องของพันธุ์รับขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ให้บาสมาติ จำนวน 30 กอ ๆ ละ 20 เมล็ด ด้วยเครื่องเวอร์เนียคาลิปเปอร์ พบว่ามีความยาว x ความกว้างของเมล็ดข้าวกล้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ 7.18 x 1.94 และ 7.65 x 1.66 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี t-test พบว่าความยาวของเมล็ดข้าวกล้องของพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์บาสมาติมีความแตกต่างกัน (P<0.01) โดยพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีความยาวของเมล็ดข้าวกล้องน้อยกว่าพันธุ์บาสมาติเท่ากับ 0.47 มิลลิเมตร ส่วนลักษณะความกว้างของเมล็ดข้าวกล้องของพันธุ์ ขาวดอกมะลิ 105 และบาสมาติ มีความแตกต่างกัน (P<0.01) โดยพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีความกว้างของเมล็ดข้าวกล้องมากกว่าพันธุ์บาสมาติ เท่ากับ 0.28 มิลลิเมตร ดังแสดงใน Table 1

2. การหาเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดหรือเป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2*, *gl-3*, *GW2* และ *GW5*

ค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลที่เป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2* จากรายงานการวิจัยของ Shao และคณะ (2010) ได้เครื่องหมายที่เป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2* คือ Indel1 ส่วนการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดกับยีน *gl-3* จากรายงานการวิจัยของ Wan และคณะ (2006) ได้เครื่องหมายจำนวน 11 เครื่องหมาย ได้แก่ RMw314, RMw315, RMw319, RMw357, RMw353, RMw323, RMw324, RMw327, RMw329, RMw330 และ RMw331 ส่วนยีน *GW2* คัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดกับยีน *GW2* จากตาราง supplementary table 18 จากเวปไซด์ gramene (http://www.gramene.org/markers /microsat) โดยคัดเลือกเครื่องหมายที่อยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีนมากที่สุด จำนวน 17 เครื่องหมาย ได้แก่ RM12812, RM12813, RM6203, RM12819, RM12820, RM12821, RM12827, RM12831, RM12832, RM12833, RM12837, RM12839, RM12840, RM12841, RM12843, RM12845 และ RM12846 และค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดกับยีน *GW5* จากรายงานการวิจัยของ Weng และคณะ (2008) ได้จำนวน 4 เครื่องหมาย ได้แก่ RMw-503, RMw-513, RMw-528 และ RMw-554

Table 1 Range and mean of grain length and grain width in recurrent parent (KDML 105) and donor parent (Basmati) in the off-season 2010.

Trait	Variety name	Range (mm)	Mean ± SD (mm)	Distance (mm)	*P*-value
Grain length					
	KDML105	6.67-7.66	7.18±0.24	0.47	0.0001**
	Basmati	7.00-8.41	7.65±0.34		
Grain width					
	KDML105	1.78-2.02	1.94±0.06	0.28	0.0001**
	Basmati	1.52-1.79	1.66±0.06		

** Highly significant

3. การตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดหรือเป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2*, *gl-3*, *GW2* และ *GW5* และคัดเลือกเครื่องหมายที่แสดงความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ให้บาสมาติ

เมื่อนำเครื่องหมายโมเลกุลที่ได้มาตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างข้าวพันธุ์รับขาวดอกมะลิ 105 กับพันธุ์ให้บาสมาติ โดยใช้ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และบาสมาติ เป็นแม่พิมพ์ในการทำพีซีอาร์ คัดเลือกได้เครื่องหมาย Indel1 ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2* (Shao *et al*., 2010) คัดเลือกเครื่องหมาย RMw327 ซึ่งยึดติดกับยีน *gl-3* ซึ่ง Wan และคณะ (2006) เคยรายงานว่าเครื่องหมายโมเลกุลนี้อยู่ห่างจากยีน 2.3 cM คัดเลือกเครื่องหมาย RM6203 ซึ่งยึดติดกับยีน *GW2* อยู่ห่างจากยีน 128,021 เบส และคัดเลือกเครื่องหมาย RMw-513 ที่ยึดติดกับยีน *GW5* ซึ่ง Weng และคณะ (2008) เคยรายงานว่าอยู่ห่างจากยีน 0.37 cM (Table 2) ดังนั้นจึงใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวในการคัดเลือกต้น F_1 และตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร F_2 ซึ่งแสดงตัวอย่างแถบดีเอ็นเอเมื่อใช้ไพรเมอร์ที่คัดเลือกได้ของแต่ละยีน ดังแสดงใน Figure 1, 2, 3 และ 4

Table 2 Showing markers that linked to *qGL7-2*, *gl-3, GW2* and *GW5*.

Order	Gene	Chr.	Link marker	Distance
1	*qGL7-2*	7	Indel1	Functional marker
2	*gl-3*	3	RMw327	2.3 cM
3	*GW2*	2	RM6203	128,021 bp
4	*GW5*	5	RMw-513	0.37 cM

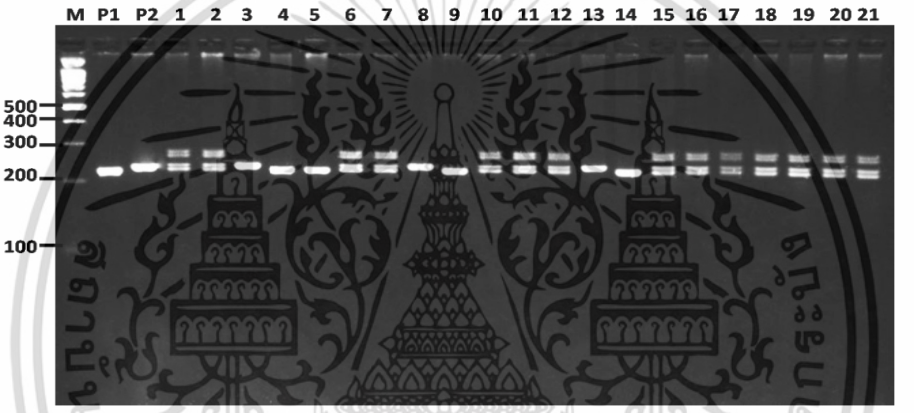

Figure 1 Profiles of Indel1 marker that linked to gene *qGL7-2* on 4% agarose gel in F_2 progeny. M is represent 100 bp ladder, P1 = KDML105, P2 = Basmati, lane 1-21 are F_2 of crossing between KDML105 and Basmati.

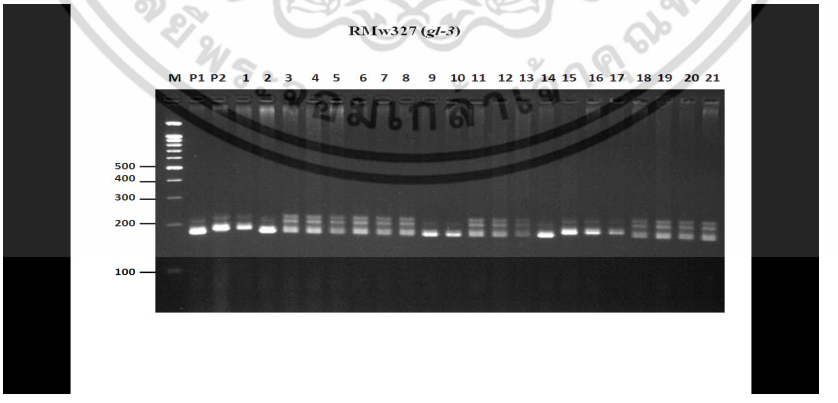

Figure 2 Profiles of RMw327 marker that linked to gene *gl-3* on 4% agarose gel in F_2 progeny. M is represent 100 bp ladder, P1 = KDML105, P2 = Basmati, lane 1-21 are F_2 of crossing between KDML105 and Basmati.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

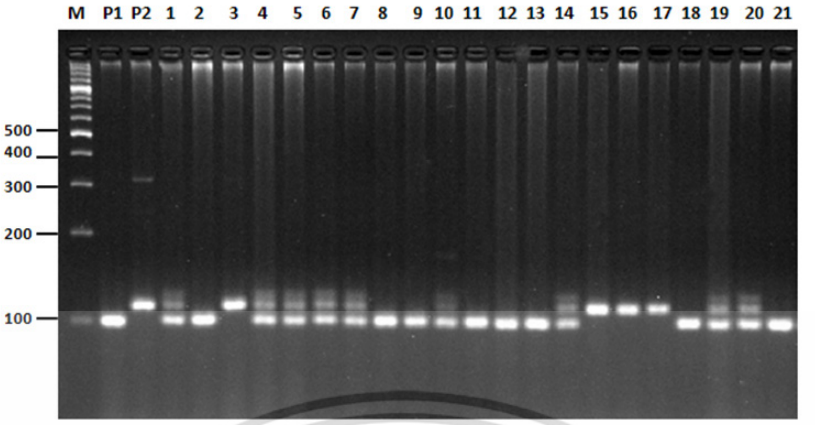

Figure 3 Profiles of RM6203 marker that linked to gene *GW2* on 4% agarose gel in F_2 progeny. M is represent 100 bp ladder, P1 = KDML105, P2 = Basmati, lane 1-21 are F_2 of crossing between KDML105 and Basmati.

Figure 4 Profiles of RMw-513 marker that linked to gene *GW5* on 4% agarose gel in F_2 progeny. M is represent 100 bp ladder, P1 = KDML105, P2 = Basmati, lane 1-21 are F_2 of crossing between KDML105 and Basmati.

4. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดหรือเป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2* และ *gl-3* กับ ลักษณะความยาวของเมล็ด และการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดกับยีน *GW2* และ *GW5* กับลักษณะความกว้างของเมล็ด ในประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่างพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กับพันธุ์บาสมาติ

จากการเก็บข้อมูลฟีโนไทป์ในประชากร F_2 จำนวน 100 กอ ๆ ละ 20 เมล็ด โดยการวัดความยาวและความกว้างของเมล็ดข้าวกล้องที่ตำแหน่งตรงกลางเมล็ดด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์ แล้วหาค่าเฉลี่ยเป็นความยาวและความกว้างของเมล็ดในแต่ละกอ ได้ค่าเฉลี่ยความยาว x ความกว้างเมล็ดของประชากร F_2 เท่ากับ 7.90 x 1.92 มิลลิเมตร ขณะที่ค่าเฉลี่ยของข้าวพันธุ์ ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์บาสมาติที่ปลูกในฤดูเดียวกัน แปลงเดียวกันได้เท่ากับ 7.36 x 2.08 และ 7.87 x 1.78 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวของเมล็ดระหว่างพันธุ์รับขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ให้บาสมาติ พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01) โดยพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีความยาวของเมล็ดน้อยกว่าพันธุ์บาสมาติ ซึ่งผลต่างของค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.51 มิลลิเมตร และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวของเมล็ดระหว่างประชากร F_2 กับพันธุ์รับขาวดอกมะลิ 105 พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01) โดยประชากร F_2 มีความยาวเมล็ดมากกว่าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งผลต่างของค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.54 มิลลิเมตร และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวของเมล็ดระหว่างประชากร F_2 กับพันธุ์ให้บาสมาติ พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในขณะเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความกว้างของเมล็ดระหว่างพันธุ์รับขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ให้บาสมาติ พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01) โดยพันธุ์รับขาวดอกมะลิ 105 มีความกว้างของเมล็ดมากกว่าพันธุ์ให้บาสมาติ ซึ่งผลต่างของค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.30 มิลลิเมตร และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความกว้างของเมล็ดพบว่า ประชากร F_2 มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01) กับพันธุ์รับขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ให้บาสมาติ โดยประชากร F_2 มีความกว้างของเมล็ดน้อยกว่าพันธุ์รับขาวดอกมะลิ 105 มีผลต่างของค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.16 มิลลิเมตร แต่มากกว่าพันธุ์ให้บาสมาติ มีผลต่างของค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.14 มิลลิเมตร (Table 3)(Figure 5) เมื่อนำข้อมูลฟีโนไทป์ของตัวอย่างในประชากร F_2 จำนวน 100 กอ มาวิเคราะห์การกระจายตัวของลักษณะความยาวและความกว้างเมล็ดด้วยโปรแกรม SAS พบว่าลักษณะความยาวของเมล็ดมีการกระจายตัวแบบปกติ (normal distribution) ส่วนลักษณะความกว้างของเมล็ดมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ (non-normal distribution) (6 และ 7)

Table 3 Range and mean of grain length and grain width in F_2 progeny and their parents (KDML105 X Basmati).

Trait	Population	Range (mm)	Mean ± SD (mm)	Distance (mm)	*P*-value
Grain length	KDML 105	7.00-7.58	7.36±0.13		
				0.54	0.0001**
	F_2 progeny	6.83-9.09	7.90±0.47		
				0.16	0.0001**
	Basmati	7.62-8.14	7.87±0.14		
Grain width	KDML 105	2.03-2.13	2.08±0.03		
				0.14	0.7168ns
	F_2 progeny	1.70-2.43	1.92±0.13		
				0.03	0.0001**
	Basmati	1.74-1.85	1.78±0.03		

** Highly significant ^{ns} non-significant.

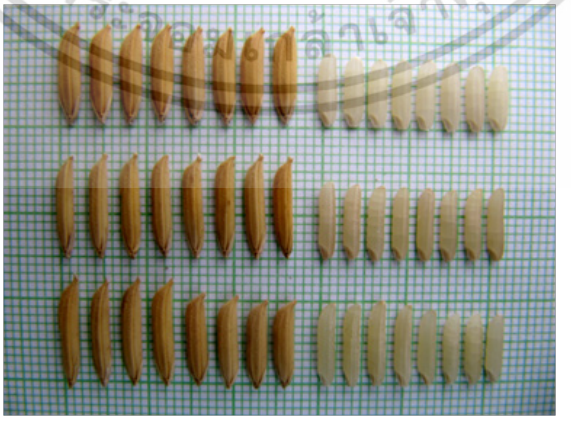

Figure 5 Grain length and grain width of recurrent parent (KDML105) and donor parent (Basmati) and their F_2 progeny in the rainy season 2011.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ ซึ่งใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่คัดเลือกได้เป็นไพรเมอร์กับลักษณะความยาวและความกว้างของเมล็ด ด้วยวิธี single regression พบว่ามีเครื่องหมายโมเลกุลเพียงหนึ่งตำแหน่ง คือ Indel1 ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2* กับลักษณะความยาวของเมล็ด มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01) มีค่า R^2 เท่ากับ 0.4069 และจากการศึกษาเพิ่มเติมพบว่าลักษณะความกว้างของเมล็ดมีลักษณะการกระจายตัวสอดคล้องกับจีโนไทป์ของเครื่องหมายโมเลกุล Indel1 จึงนำค่าจีโนไทป์และข้อมูลความกว้างของเมล็ดมาหาความสัมพันธ์ พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01) มีค่า R^2 เท่ากับ 0.3247 ส่วนเครื่องหมาย RMw327 ที่ยึดติดกับยีน *gl-3* กับลักษณะความยาวของเมล็ด รวมถึงเครื่องหมาย RM6203 ที่ยึดติดกับยีน *GW2* และเครื่องหมาย RMw-513 ที่ยึดติดกับยีน *GW5* ซึ่งควบคุมลักษณะความกว้างเมล็ด ไม่มีความสัมพันธ์กัน เนื่องจากมีเครื่องหมาย Indel1 เพียงตำแหน่งเดียวที่แสดงความสัมพันธ์กับความกว้าง-ยาวของเมล็ด จึงไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ multiple regression ได้ ผลการวิเคราะห์ดังแสดงใน Table 4

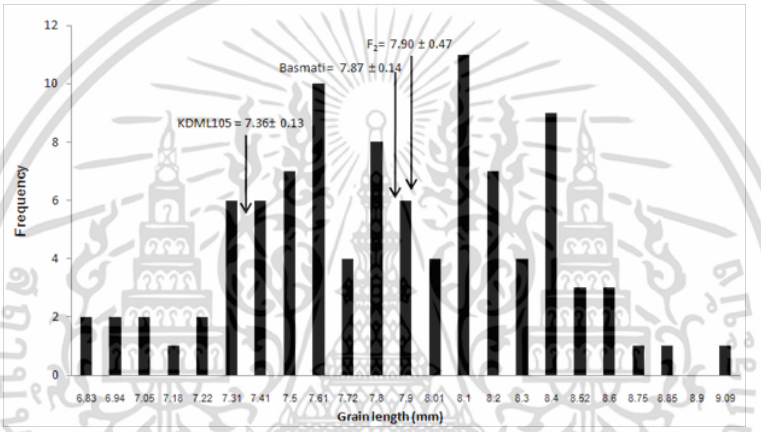

Figure 6 Frequency distribution of grain length trait showing normal frequency distribution in the F_2 progeny derived from cross between KDML105 and Basmati in the rainy season 2011. Arrows are indicated mean value.

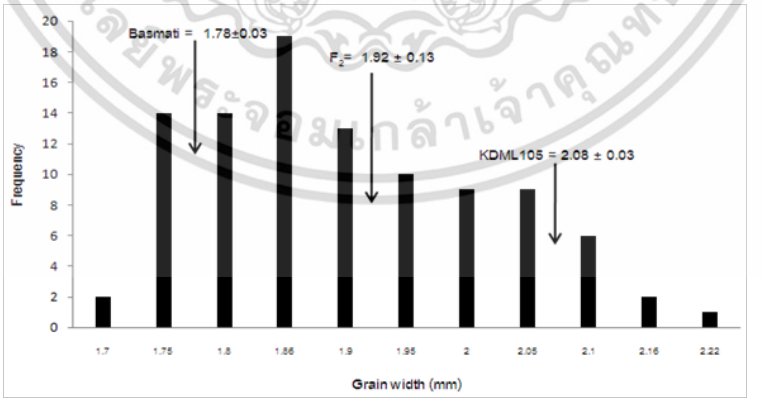

Figure 7 Frequency distribution of grain width trait showing non-normal frequency distribution in the F_2 progeny derived from cross between KDML105 and Basmati in the rainy season 2011. Arrows are indicated mean value.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 4 Single regression analysis of each marker with it's functional and linkage gene related to grain length and grain width of F_2 progeny derived from KDML105 x Basmati in the rainy season 2011

Trait	Gene	Marker	R-Square	F Value	P-value
Grain length					
	qGL7-2	Indel1	0.406941	33.28	0.0001**
	gl-3	RMw327	0.039642	1.98	0.1435^{ns}
Grain width					
	qGL7-2	Indel1	0.324736	23.08	0.0001**
	GW2	RM6203	0.025018	1.24	0.2926^{ns}
	GW5	RMw-513	0.024366	1.21	0.3023^{ns}

** Highly significant ^{ns} non-significant.

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดกับยีน *qGL7-2* และ *gl-3* กับลักษณะความยาวของเมล็ด ในประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่างพันธุ์รับขาวดอกมะลิ 105 กับพันธุ์ให้บาสมาติ ด้วยวิธี single regression พบว่าเครื่องหมาย Indel1 ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2* มีความสัมพันธ์กับลักษณะความยาวของเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยมีค่า R^2 เท่ากับ 40.69 % และในขณะเดียวกันเครื่องหมายนี้ก็มีความสัมพันธ์กับลักษณะความกว้างของเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยมีค่า R^2 เท่ากับ 32.47 % ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Shao และคณะ (2010) ที่พบว่า *qGL7-2* เป็น QTLs หลักซึ่งมีผลต่อลักษณะความยาวเมล็ดในประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่าง D50 กับ HB277 มีค่า R^2 เท่ากับ 53.14 % แต่ Shao และคณะ (2010) ไม่ได้รายงานถึงความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวกับลักษณะความกว้างของเมล็ด นอกจากนี้ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Bai และคณะ (2010) ที่พบว่ามี QTL รองอีกหนึ่งตำแหน่ง คือ *qGL7* มีความสัมพันธ์กับลักษณะความยาว ความกว้าง และความหนาของเมล็ดในประชากร NIL-F_2 ของคู่ผสมระหว่าง Nanyangzhan กับ Chuan7 ส่วนเครื่องหมาย RMw327 ซึ่งยึดติดกับยีน *gl-3* กับลักษณะความยาวเมล็ด และเครื่องหมาย RM6203 ซึ่งยึดติดกับยีน *GW2* รวมถึงเครื่องหมาย RMw-513 ซึ่งยึดติดกับยีน *GW5* กับลักษณะความกว้างเมล็ด พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันทางสถิติ

จากผลการทดลองพบว่า ค่าเฉลี่ยความยาวเมล็ดของขาวดอกมะลิ 105 บาสมาติ และประชากร F_2 มีค่าเท่ากับ 7.36 7.87 และ 7.9 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งความยาวของเมล็ดในประชากร F_2 กับบาสมาติ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนค่าเฉลี่ยความกว้างเมล็ดของขาวดอกมะลิ 105 บาสมาติ และประชากร F_2 มีค่าเท่ากับ 2.08 1.78 และ 1.92 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยค่าเฉลี่ยความกว้างของเมล็ดในประชากร F_2 อยู่ระหว่างของพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และบาสมาติ เมื่อนำมาหาอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างเมล็ด พบว่า ขาวดอกมะลิ 105 บาสมาติ และประชากร F_2 มีค่าเท่ากับ 3.54 4.42 และ 4.11 ตามลำดับ โดยอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของเมล็ดในประชากร F_2 มีค่ามากกว่า 3 ซึ่งจัดเป็นข้าวเมล็ดเรียว (กรมการข้าว, 2554) และมีค่าใกล้เคียงกับของบาสมาติที่จัดว่าเป็นข้าวคุณภาพดีที่สุด ดังนั้นเครื่องหมายโมเลกุลนี้น่าจะเป็นประโยชน์ในการช่วยคัดเลือกเพื่อปรับปรุงให้ข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีเมล็ดยาวได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

ในการศึกษาความสัมพันธ์ของจีโนไทป์ของเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดหรือเป็นส่วนหนึ่งของยีนที่ควบคุมลักษณะความยาวและความกว้างของเมล็ดข้าว สำหรับใช้คัดเลือกความยาวและความกว้างของเมล็ดข้าวในประชากร F_2 ระหว่างคู่ผสมพันธุ์รับขาวดอกมะลิ 105 กับพันธุ์ให้บาสมาติ ซึ่งมีความยาว x ความกว้างของเมล็ดข้าวกล้องเฉลี่ยเท่ากับ 7.18 x 1.94 และ 7.65 x 1.66 มิลลิเมตร ตามลำดับ และการหาเครื่องหมายโมเลกุลที่เป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2* และยึดติดกับยีน *gl-3* ซึ่งควบคุมลักษณะความยาวของเมล็ด รวมทั้งยีน *GW2* และ *GW5* ซึ่งควบคุมลักษณะความกว้างเมล็ด ได้ทำการคัดเลือกเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีนดังกล่าวมาตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างข้าวพันธุ์รับขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ให้บาสมาติ พบว่าเครื่องหมาย Indel1 ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2* และเครื่องหมาย RMw327, RM6203 และ RMw-315 ซึ่งยึดติดกับยีน *gl-3, GW2* และ *GW5* ตามลำดับ แสดงความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ให้บาสมาติ จึงนำมาศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดกับยีนแต่ละยีนที่หาได้กับลักษณะความยาวและความกว้างของเมล็ดด้วยวิธี single regression พบว่ามีเครื่องหมายโมเลกุลเพียงหนึ่งตำแหน่ง คือ Indel1 ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของยีน *qGL7-2* มีความสัมพันธ์กับลักษณะความยาวของเมล็ด ($P<0.01$) และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.4069 ในขณะเดียวกันก็มีความสัมพันธ์กับลักษณะความกว้างของเมล็ด ($P<0.01$) และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.3247 ส่วนเครื่องหมาย RMw327 ซึ่งยึดติดกับยีน *gl-3* พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะความยาวของเมล็ด และเครื่องหมาย RM6203 และ RMw-513 ซึ่งยึดติดกับยีน *GW2* และ *GW5* ตามลำดับ พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะความกว้างของเมล็ด ดังนั้นในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้มีความยาวของเมล็ดเพิ่มขึ้น จะใช้เครื่องหมายโมเลกุล Indel1 มาช่วยในการคัดเลือกร่วมกับวิธีผสมกลับ เพื่อให้ได้สายพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 เมล็ดยาวต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณหน่วยวิจัยการปรับปรุงพันธุ์ข้าวระดับโมเลกุลของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อนุเคราะห์ให้ใช้อุปกรณ์และสารเคมีในการทำการวิจัย และภาควิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อนุเคราะห์พื้นที่บริเวณฟาร์มวิจัย และพัฒนาการผลิตพืชไร่ เพื่อใช้ในการศึกษาลักษณะฟีโนไทป์ของประชากร

เอกสารอ้างอิง

กรมการข้าว. 2554. วิทยาการก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวข้าว.องค์ความรู้เรื่องข้าว. สืบค้นเมื่อ 5 ตุลาคม 2554. จากกรมการข้าว เวปไซต์: http://www.brrd.in.th/rkb2/postharvest/index.phpfile= content.php&id=6.htm

ทีมข่าวเศรษฐกิจ. 2555. พาณิชย์ดันราคาส่งออกข้าวไทย. สืบค้นเมื่อ 9 กันยายน 2555, จาก ไทยรัฐออนไลน์ เวปไซต์: http://www.thairath.co. th/content/newspaper/232396.

Bai, X., Luo, L., Yan, W. and Xing, Y. 2010. Genetic dissection of rice grain shape using a recombinant inbred line population derived from two contrasting parents and fine mapping a pleiotropic quantitative trait locus *qGL7*. BMC Genetics. 11:16.

Fan, C., Xing, Y., Mao, H. and Zhang, Q. 2006. *GS3*, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice encodes a putative transmembrane protein. Theor Appl Genet. 112:1164-1171.

Kai, N. T., Jiang, H., Kubo, T. and McCouch, S. 2009. Evolutionary history of *GS3*, a gene conferring grain length in rice. Genetics. 182:1323-1334.

Shao, G., Tang, S., Luo, J. and Hu, P. 2010. Mapping of *qGL7-2*, a grain length QTL on chromosome 7 of rice. J. Genet. Genomics. 37: 523-531.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Song, X. J. and Ashikari, M. 2008. Toward an optimum return from crop plants. Rice. 1: 135-143.

Song, X. J., Huang, W., Shi, M. and Lin, H. X. 2007. A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase. Nat. Genet. 39: 623-630.

Takeda, S. and Matsuoka, M. 2008. Genetic approaches to crop improvement: responding to environmental and population changes. Nat. Rev. Genet. 9:444-457.

Wan, X. Y., Wan, J. M., Jiang, L. and Guo, X. P. 2006. QTL analysis for rice grain length and fine mapping of an identified QTL with stable and major effects. Theor Appl Genet. 112:1258-1270.

Weng, J.F., Gu, S., Wan, X. and Wan, J. 2008. Isolation and initial characterization of *GW5*, a major QTL associated with rice grain width and weight. Cell Research. 18:1199-1209.

Yan, S., Zou, G., Li, S. and Tao, Y. 2011. Seed size is determined by the combinations of the genes controlling different seed characteristics in rice. Theor Appl Genet. 123(7):1173-1181.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้