

ชื่อเรื่อง

การหาเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียว กข 6 ให้ต้นเตี้ย และศึกษาการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของอัลลีล *Sd1/sd1* ในข้าว

ชื่อผู้เขียน

นางสาวกมลทิพย์ บุญรัตน์

ชื่อปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ประธานกรรมการที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราภรณ์ แสงทอง

บทคัดย่อ

ความสูงของต้นข้าวถูกควบคุมด้วยอัลลีล *Sd1/sd1* โดยที่อัลลีลเด่น *Sd1* ควบคุมให้ข้าวมีต้นสูง (tall plant) และอัลลีลด้อย *sd1* ควบคุมให้ข้าวมีต้นเตี้ย (semidwarf plant) ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียว กข 6 ให้ต้นเตี้ย ใช้ข้าวต้นสูงพันธุ์ กข 6 เป็นพันธุ์รับและข้าวต้นเตี้ยพันธุ์ กข 1 เป็นพันธุ์ให้ การศึกษาการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของอัลลีล *Sd1/sd1* ในข้าวนี้ ต้องการหา target marker เพื่อใช้คัดเลือกต้นข้าวที่มีอัลลีลด้อย *sd1* หา flanking marker เพื่อใช้คัดเลือกหาต้นข้าวที่มีจำนวนของอัลลีลที่ไม่ต้องการที่ติดมาจากพันธุ์ให้ (donor parent) น้อยที่สุด และ background marker เพื่อใช้ตรวจเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 ผลจากการหาเครื่องหมายโมเลกุลหา target marker ได้จำนวน 2 คู่ ได้แก่ RD6Sd1MW1F/1R และ sd1MW3F/3R ซึ่ง RD6Sd1MW1F/1R เป็น target marker ที่เฉพาะกับอัลลีลเด่น *Sd1* และ sd1MW3F/3R เป็น target marker ที่เฉพาะกับอัลลีลด้อย *sd1* ส่วน flanking marker ที่หาได้ ได้แก่ flanking marker 1 และ 2 โดยที่ flanking marker 1 คือ RM1339 (147.5 cM) และ flanking marker 2 คือ RM 3375 (155.1 cM) มีระยะห่างจากตำแหน่งของยีนที่ต้องการ (target gene) (148.2 cM) ประมาณ 0.7 cM และ 7.6 cM ตามลำดับ ส่วน background marker สามารถหาได้จำนวน 69 ตำแหน่ง กระจายอยู่บนโครโมโซมทั้ง 12 แท่ง แบ่งเป็น background markers ที่อยู่บน target chromosome (โครโมโซมที่ 1) จำนวน 6 ตำแหน่ง และอยู่บน non-target chromosome (โครโมโซมที่ 2-12) จำนวน 63 ตำแหน่ง เมื่อนำเครื่องหมายโมเลกุลที่หาได้มาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียว กข 6 ให้ต้นเตี้ย ใช้เวลาทั้งหมด 5 ฤดู พบว่าในฤดูที่ 5 ทำการคัดเลือกได้ต้น BC₄F₁-127-4121-2630-358 ที่มีอีโนไทป์เป็น Sd1sd1 มีตำแหน่งของ flanking marker 1 และ flanking marker 2 เป็นโฮโมไซกัส (homozygous) ของ กข 6 ทั้ง 2 ตำแหน่ง และเป็นต้นที่มีความเหมือนกับ กข 6 เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตรวจด้วย background marker ทั้งหมด 69 ตำแหน่ง ดังนั้นต้น BC₄F₁-127-4121-2630-358 จึงเป็นต้นที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ให้เป็น กข 6 ต้นเตี้ย และเมื่อทำการศึกษาการถ่ายทอดทางพันธุกรรม

ของอัลลีล *Sd1/sd1* ทางด้านอีโนไทป์โดยใช้ target marker ทั้ง 2 คู่ข้างต้น และทางด้านฟีโนไทป์ โดยการวัดความสูงของต้นข้าวสายพันธุ์ BC_1F_2 -127 จำนวน 30 ต้น และ BC_3F_2 -127-4121-2630-1609 จำนวน 65 ต้น พบว่าอีโนไทป์ที่ได้ทำการตรวจสอบมีความสอดคล้องกับฟีโนไทป์ และเป็นไปตามกฎข้อที่ 1 ของเมนเดล คืออีโนไทป์มีการกระจายตัวเป็น 1 *Sd1Sd1*: 2 *Sd1sd1*: 1 *sd1sd1* และฟีโนไทป์มีการกระจายตัวเป็น 3 ต้นสูง: 1 ต้นเตี้ย เมื่อนำต้นข้าวสายพันธุ์ BC_1F_3 -127 จำนวน 6 สายพันธุ์ที่ได้จากการผสมตัวเองของต้น BC_1F_2 -127 ที่มีอีโนไทป์ต่างกันคือ *Sd1Sd1* *Sd1sd1* และ *sd1sd1* มาศึกษาต่อ ได้ผลดังนี้คือ ข้าวสายพันธุ์ BC_1F_3 -127 ที่ได้จากการผสมตัวเองของต้น BC_1F_2 -127 ที่มีอีโนไทป์ *Sd1Sd1* พบว่ามีอีโนไทป์แบบเดียวคือ *Sd1Sd1* และมีฟีโนไทป์เป็นต้นสูงทั้งหมด ส่วนข้าวสายพันธุ์ BC_1F_3 -127 ที่ได้จากการผสมตัวเองของต้น BC_1F_2 -127 ที่มีอีโนไทป์ *Sd1sd1* พบว่ามีการกระจายตัวของอีโนไทป์เป็น 1 *Sd1Sd1*: 2 *Sd1sd1*: 1 *sd1sd1* และมีการกระจายตัวของฟีโนไทป์เป็น 3 ต้นสูง: 1 ต้นเตี้ย ส่วนข้าวสายพันธุ์ BC_1F_3 -127 ที่ได้จากการผสมตัวเองของต้น BC_1F_2 -127 ที่มีอีโนไทป์ *sd1sd1* พบว่ามีอีโนไทป์แบบเดียวคือ *sd1sd1* และมีฟีโนไทป์เป็นต้นเตี้ยทั้งหมด แสดงว่าความสูงของต้นข้าวถูกควบคุมด้วยอัลลีลเพียง 1 คู่ คือ *Sd1/sd1* โดยอัลลีลเด่น *Sd1* ควบคุมให้ข้าวมีลำต้นสูง ส่วนอัลลีลด้อย *sd1* ควบคุมให้ข้าวมีลำต้นเตี้ย ซึ่งการทำงานของอัลลีลเป็นแบบข่มสมบูรณ์ โดยอัลลีลเด่น *Sd1* ข่มอัลลีลด้อย *sd1* ดังนั้นการหาเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียว กข 6 ให้ต้นเตี้ย ประสบผลสำเร็จเพราะสามารถหาเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้นเตี้ยได้ ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวจะเป็นประโยชน์อย่างมากในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้นสูงให้ต้นเตี้ยต่อไป

Title	Identification of Molecular Marker in the Genetic Improvement of Glutinous Rice CV. RD 6 Towards Semi-dwarf Plant Height and Study of Genetic Inheritance of Allele <i>Sd1/sd1</i> in Rice
Author	Miss Kamontip Boonrat
Degree of	Master of Science in Biotechnology
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Varaporn Sangtong

ABSTRACT

The height of rice plants is controlled by a pair of alleles, *Sd1/sd1*, with the dominant allele *Sd1* controlling tallness and the recessive allele *sd1* controlling a semi-dwarf character in rice plants. The first part of the study was conducted on the genetic improvement of glutinous rice variety, RD 6, by using recipient allele of the tall RD 6 plants and donor allele semi-dwarf of the RD 1 plants. In the second part, the study was on the genetic inheritance of *Sd1/sd1* in rice, involving the identification of a target marker in order to select rice plants having recessive allele *sd1*, a flanking marker to select rice plants with the lowest number of adhering alleles, and background markers to determine the percentage of similarity to RD 6. Results showed that two pairs of target markers were found, RD6Sd1MW1F/1R and sd1MW3F/3R, with RD6Sd1MW1F/1R being the specific target marker for the *Sd1* dominant allele and sd1MW3F/3R for the *sd1* recessive allele. On the other hand, two flanking markers were found, RM1339 (147.5 cM) as flanking marker 1 and RM3375 (155.1 cM) as flanking marker 2, and at 0.7 cM and 7.6 cM from the target gene (148.2 cM), respectively. In addition, background markers were identified on 69 loci scattered on 12 chromosomes with 6 loci on the target chromosome (chromosome 1) and 63 loci on non-target chromosomes (chromosome 2-12). When the molecular markers were used for genetic improvement of RD 6 for semi-dwarf over a 5-season period, results showed that in the 5th season, BC₄F₁-127-4121-2630-358 was found to have Sd1sd1 genotype, having flanking markers 1 and 2 homozygous with RD 6 at two loci and had 100% similarity to RD 6 when examined by using background markers on all the 69 loci. Thus

BC₄F₁-127-4121-2630-358 was considered a semi-dwarf plant that resulted from the genetic improvement of RD 6. Meanwhile, in the study on genetic inheritance of *Sd1/sd1* allele in terms of its genotype by using the initial pair of target markers and phenotypes by measuring the height of 30 rice plants of BC₁F₂-127 line and 65 plants of BC₃F₂-127-4121-2630-1609, results showed that the tested genotypes fitted the phenotypes. The results were also found to follow the First Mendelian Law of Inheritance, where a genotypic ratio was 1 Sd1Sd1: 2 Sd1sd1: 1 sd1sd1 and a phenotypic ratio was 3 tall plants: 1 semi-dwarf plant. When 6 BC₁F₃-127 rice plants which resulted from the self-crossing of BC₁F₂-127 that had distinctive Sd1Sd1, Sd1sd1 and sd1sd1 genotypes were further studied, it was found that BC₁F₃-127 line that came from the self-crossing of BC₁F₂-127 containing Sd1Sd1 genotype had one Sd1Sd1 genotype and all plants had tall phenotypes. As for BC₁F₃-127 that came from the self-crossing of BC₁F₂-127 containing Sd1sd1 genotype, results showed that genotypes were distributed as 1 Sd1Sd1: 2 Sd1sd1: 1 sd1sd1 and phenotypes were 3 tall plants: 1 semi-dwarf plant. Meanwhile, BC₁F₃-127 that resulted from the self-crossing of BC₁F₂-127 having sd1sd1 genotype, showed one genotype, sd1sd1, and phenotypic characteristics of being semi-dwarf. This meant that the height of rice plant was controlled by only one pair of allele, *Sd1/sd1*, with dominant allele *Sd1* causing plants to be tall while the recessive allele *sd1* causing plants to be semi-dwarf. These alleles were found to work in complete dominance with the dominant allele *Sd1* dominating the recessive allele *sd1*. Thus, the identification of the molecular marker for the improvement of the glutinous rice variety, RD 6, for semi-dwarf was considered successful with this molecular marker being expected to provide many more benefits in further improvement of rice plants.