

บทที่ 5

การจำแนกตำแหน่ง QTLs (Quantitative Trait Loci) ของยีนต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในประชากรข้าวโพด

บทนำ

เทคนิคทางด้านพันธุศาสตร์โมเลกุลได้มีการพัฒนาให้มีความก้าวหน้า และได้นำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น โดยการใช้โมเลกุลเครื่องหมาย (Molecular marker) ในการสร้างแผนที่ทางพันธุกรรม ตรวจสอบ และการหาตำแหน่งยีนที่สนใจในลักษณะทางเกษตร วิธีการดังกล่าวจะสามารถหาตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมายที่อยู่ใกล้กับ QTLs ที่มียีนลักษณะทางเกษตรที่สนใจ ซึ่งจะนำโมเลกุลเครื่องหมายนี้มาใช้ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์จะทำให้การถ่ายทอดยีนมีความรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้คือ การระบุตำแหน่ง QTLs ของยีนต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ของประชากรข้าวโพด

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

5.1 อุปกรณ์

5.1.1 ข้อมูลฟีโนไทป์ในตาราง ภาคผนวกที่ 2ค เป็นผลการประเมินระดับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในประชากรข้าวโพดคั่วผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 3 ($F_{2:3}$) จำนวน 162 สายพันธุ์ ในสภาพโรงเรือนและแปลงทดลอง มีลักษณะที่ศึกษา ได้แก่ ชนิดของบาดแผล ร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรค และอัตราการเพิ่มขึ้นของโรค มีรายละเอียดดังนี้

- การประเมินในสภาพโรงเรือน เก็บข้อมูลชนิดของแผล (Disease Size) หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 7 วัน แทนด้วยสัญลักษณ์ DS7 และ 10 วัน แทนด้วยสัญลักษณ์ DS10

- การประเมินในสภาพแปลงทดลอง เก็บข้อมูล 3 ลักษณะ ได้แก่

1) ชนิดของแผล (Disease Size) หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 45, 90 และ 100 วัน แทนด้วย DS1 DS2 และ DS3 (บันทึกผลครั้งที่ 1 2 และ 3) ตามลำดับ

2.) ร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรค (Disease Long Area) หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 45, 90 และ 100 วัน แทนด้วย DLA1 DLA2 และ DLA3 (บันทึกผลครั้งที่ 1 2 และ 3) ตามลำดับ

3) อัตราการเพิ่มขึ้นของโรค แทนด้วย DDS1 DDS2 และ DDS3 โดย

DDS1 คำนวณจากส่วนต่างระหว่างขนาดของบาดแผลจากผลการบันทึกครั้งที่ 1 และ 2 $(DS2-DS1)/DS2$

DDS2 คำนวณจากส่วนต่างระหว่างขนาดของบาดแผลจากผลการบันทึกครั้งที่ 1 และ 3 $(DS3-DS1)/DS3$

DDS3 คำนวณจากส่วนต่างระหว่างขนาดของบาดแผลจากผลการบันทึกครั้งที่ 2 และ 3 $(DS3-DS2)/DS2$

5.1.2 ข้อมูลจีโนไทป์ คือ ข้อมูลอัลลีลจากการตรวจสอบด้วยโมเลกุลเครื่องหมายต่างๆ และการสร้างแผนที่ทางพันธุกรรมของข้าวโพด

5.1.3 โปรแกรม Stat graphic v3.0

5.1.4 โปรแกรม Windows QTL Cartographer 2.5

5.2 วิธีการทดลอง

5.2.1 วิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ ระหว่าง genotype และระดับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ phenotype เพื่อระบุโมเลกุลเครื่องหมายที่อยู่ใกล้ยีนต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่

วิเคราะห์ QTL analysis ประชากรข้าวโพดคั่วผสม

5.2.2 วิเคราะห์ข้อมูล

- 1) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ (correlation) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดโรคใบไหม้แผลใหญ่ในสภาพโรงเรือน และสภาพแปลงทดลอง โดยใช้สถิติ Pearson's Product Moment Correlation (สหสัมพันธ์อย่างง่าย)
- 2) วิเคราะห์หาความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ
- 3) วิเคราะห์หาค่า Quantitative Trait Locus (QTL)

5.3 การบันทึกข้อมูล

5.3.1 ข้อมูลฟีโนไทป์ คือ ข้อมูลผลการประเมินระดับความต้านทานโรค ใบไหม้แผลใหญ่ในประชากรข้าวโพดคั่วผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 3 ($F_{2:3}$) จำนวน 162 สายพันธุ์ ในสภาพโรงเรือน และแปลงทดลอง

5.3.2 ข้อมูลจีโนไทป์ คือ ข้อมูลอัลลีลจากการตรวจสอบด้วยไมโครลูกเครื่องหมายต่างๆ และการสร้างแผนที่ทางพันธุกรรมของข้าวโพด

5.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

5.4.1 ใช้โปรแกรม Stat graphic v3.0 วิเคราะห์ single marker analysis เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่าง genotype และระดับความเสียหายของโรคใบไหม้แผลใหญ่ (NCLB) (Phenotype)

5.4.2 ใช้โปรแกรม Windows QTL Cartographer 2.5 มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่าง genotype และ ระดับต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ เพื่อกำหนดตำแหน่งของยีน และระบุไมโครลูกเครื่องหมายที่อยู่ใกล้ยีนความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ของประชากรคั่วผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 2

5.5 สถานที่ทำการทดลอง

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ตำบลพิชัย อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง

5.6 ระยะเวลาในการทำการทดลอง

ระยะเวลาการวิจัย 5 เดือน ตั้งแต่เดือนสิงหาคม พ.ศ.2555 ถึง เดือนธันวาคม พ.ศ.2555

ผลการทดลอง

1. การเตรียมข้อมูลจีโนไทป์ และข้อมูลฟีโนไทป์ และการระบุตำแหน่งของ QTL s และโมเลกุลเครื่องหมายที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ของประชากรข้าวโพด

การระบุตำแหน่งของ QTL s ด้วยวิธี Single marker analysis ต้องใช้ข้อมูล 2 ส่วน ประกอบด้วย ข้อมูลจีโนไทป์ เป็นข้อมูลอัลลีลจากการตรวจสอบด้วยโมเลกุลเครื่องหมายต่างๆ และการสร้างแผนที่ทางพันธุกรรมของข้าวโพด (ตารางภาคผนวกที่ 1ค) และข้อมูลฟีโนไทป์ เป็นผลคะแนนระดับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ที่ได้จากการประเมินในประชากรข้าวโพดคู่ผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 3 ($F_{2:3}$) (ตารางภาคผนวกที่ 28)

ผลการศึกษา พบ ตำแหน่ง QTLs ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ของประชากรข้าวโพด จำนวนทั้งสิ้น 12 ตำแหน่ง ดังแสดงในตารางที่ 5.1 แบ่งเป็น QTL s ที่พบการประเมินโรคในสภาพโรงเรือน และในสภาพแปลงทดลอง จำนวน 3 และ 9 ตำแหน่ง ตามลำดับ

การประเมินในสภาพโรงเรือน พบ QTLs ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 7 วัน (DS7) บนโครโมโซมที่ 8 วางตัวในตำแหน่งเดียวกับโมเลกุลเครื่องหมาย UMC2356, UMC1095 และ UMC1268 โดยมีค่า R-square (R^2) เท่ากับ 4.59, 4.87 และ 3.44 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยฟีโนไทป์ที่ ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC2356 และ UMC1095 พบว่า สภาพโฮโมไซกัสอัลลีลของ Ki48 มีค่าต่ำกว่าสภาพเฮเทอโรไซกัสอัลลีล และสภาพโฮโมไซกัสอัลลีลของ Ki47 (ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC2356 มีค่าเท่ากับ 1.61, 1.83 และ 2.10 ตามลำดับ และที่ ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC1095 มีค่าเท่ากับ 1.62, 1.90 และ 2.22 ตามลำดับ) แสดงว่า พันธุ์ Ki48 เป็นพันธุ์ที่ให้ความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในขณะที่ตำแหน่ง โมเลกุลเครื่องหมาย UMC1268 ค่าเฉลี่ยฟีโนไทป์ของกลุ่มพันธุ์ที่มีสภาพโฮโมไซกัสอัลลีลของ Ki48 มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มเฮเทอโรไซกัสอัลลีล (1.75 และ 1.78 ตามลำดับ) แต่น้อยกว่าค่าเฉลี่ยของกลุ่มพันธุ์ที่มีอัลลีลแบบโฮโมไซกัสของ Ki47 (2.25) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า พันธุ์ Ki48 เป็นพันธุ์ที่ให้ความต้านทาน ต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ ทั้งนี้ ข้อมูลชนิดของแผล ในการประเมินโรคใบไหม้แผลใหญ่ หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 10 วัน (DS10) ไม่พบ QTLs ที่เกี่ยวข้อง

การประเมินในสภาพแปลงทดลอง พบ QTLs ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ (DS) และอัตราการเพิ่มขึ้นของโรค (DDS) จำนวน 6 และ 3 ตำแหน่ง ตามลำดับ แต่ไม่พบ QTL s ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานของพื้นที่ใบที่เป็นโรค (DLA) โดยข้อมูลลักษณะชนิดของแผล ในการประเมินโรค

ใบไหม้แผลใหญ่ หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 45 วัน (DS1) พบ QTLs จำนวน 3 ตำแหน่ง ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย PHI243966 บนโครโมโซมที่ 5 และที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC1095 และ UMC1268 บนโครโมโซมที่ 8 มีค่า R-square (R^2) เท่ากับ 5.24, 6.07 และ 6.39 ตามลำดับ ส่วนข้อมูลลักษณะชนิดของแผล ในการประเมิน โรคใบไหม้แผลใหญ่ หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 90 วัน (DS2) พบ QTLs จำนวน 2 ตำแหน่ง ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC1578 และ UMC1019 บนโครโมโซมที่ 5 มีค่า R^2 เท่ากับ 3.84 และ 3.92 ตามลำดับ และข้อมูลลักษณะชนิดของแผล ในการประเมินโรคใบไหม้แผลใหญ่หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 100 วัน (DS3) พบ QTLs เพียงจำนวน 1 ตำแหน่ง ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC1019 บนโครโมโซมที่ 5 มีค่า R^2 เท่ากับ 4.07 ซึ่ง QTLs ที่พบจากผลจากค่าเฉลี่ยพีโนไทป์ใน DS1 DS2 และ DS3 แสดงให้เห็นว่าพันธุ Ki47 เป็นพันธุให้ความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่

อัตราการเพิ่มขึ้นของโรค (DDS) พบ QTLs ที่เกี่ยวข้องจำนวน 3 ตำแหน่ง และมีพันธุ Ki48 เป็นพันธุให้ความต้านทาน ต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ โดยพบ QTLs จาก DDS1 จำนวน 1 ตำแหน่ง ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC1268 บนโครโมโซมที่ 8 มีค่า R^2 เท่ากับ 3.10 และจาก DDS2 จำนวน 2 ตำแหน่ง ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC1095 และ UMC1268 บนโครโมโซมที่ 8 ซึ่งมีค่า R^2 เท่ากับ 4.61 และ 5.28 ตามลำดับ ส่วน DDS3 ไม่พบ QTLs ที่เกี่ยวข้องกับอัตราการเพิ่มขึ้นของโรค (DDS)

ตารางที่ 5.1 ตำแหน่ง QTLs โมเลกุลเครื่องหมายที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ และค่าเฉลี่ยพีโนไทป์ของแต่ละกลุ่มอัลลีลในประชากรข้าวโพดคั่วผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 2:3

ลักษณะ	โมเลกุลเครื่องหมาย	โครโมโซมที่	ค่าเฉลี่ยพีโนไทป์			R^2
			ไฮโมไซกัส Ki48	เฮเทอโรไซกัส	ไฮโมไซกัส Ki47	
การประเมินในสภาพโรงเรือน						
DS7	UMC2356	8	1.61 ^a	1.83 ^{ab}	2.10 ^b	4.59
	UMC1095	8	1.62 ^a	1.90 ^{ab}	2.22 ^b	4.87
	UMC1268	8	1.75 ^a	1.78 ^a	2.25 ^b	3.44
DS10	ไม่พบ QTL					
การประเมินในสภาพแปลงทดลอง						
DS1	PHI243966	5	0.94 ^b	0.74 ^a	0.64 ^a	5.24
	UMC1095	8	0.90 ^b	0.80 ^b	0.51 ^a	6.07

ตารางที่ 5.1 (ต่อ)

ลักษณะ	โมเลกุลเครื่องหมาย	โครโมโซมที่	ค่าเฉลี่ยฟีโนไทป์			R ²
			ไฮโมไซกัส Ki48	เฮเทอโรไซกัส	ไฮโมไซกัส Ki47	
	UMC1268	8	0.95 ^b	0.77 ^{ab}	0.60 ^a	6.39
DS2	UMC1587	5	2.60 ^a	2.84 ^{ab}	3.08 ^b	3.84
	UMC1019	5	2.61 ^a	2.84 ^{ab}	3.08 ^b	3.92
DS3	UMC1019	5	3.42 ^a	3.67 ^{ab}	3.88 ^b	4.07
DLA1	ไม่พบ QTL					
DLA2	ไม่พบ QTL					
DLA3	ไม่พบ QTL					
อัตราการเพิ่มขึ้นของโรค						
DDS1	UMC1268	8	0.66 ^a	0.73 ^b	0.75 ^b	3.1
DDS2	UMC1095	8	0.76 ^a	0.78 ^a	0.84 ^b	4.61
	UMC1268	8	0.74 ^a	0.79 ^b	0.82 ^b	5.28
DDS3	ไม่พบ QTL					
หมายเหตุ	R ² , Coefficient of determination					

2. ตำแหน่ง QTLs ที่พบใหม่หลังการเพิ่มจำนวนโมเลกุลเครื่องหมาย และการระบุตำแหน่ง QTLs ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในประชากรข้าวโพดผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ F_{2:3}

QTLs และโมเลกุลเครื่องหมายที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในประชากรข้าวโพดที่ได้จากกลุ่มผสม Ki48 / Ki47 พบบนโครโมโซมที่ 5 และโครโมโซมที่ 8 (จากบทที่ 4) การเพิ่มจำนวนโมเลกุลเครื่องหมายเข้าไปในตำแหน่งของ QTLs ที่พบ รวมถึงตำแหน่งของยีนต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ จะช่วยให้สามารถนำโมเลกุลเครื่องหมายไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพและแม่นยำมากขึ้น

ผลการศึกษา พบ QTLs ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ บนโครโมโซมที่ 2 จำนวน 4 ตำแหน่ง จากการประเมินโรคในสภาพโรงเรือน จำนวน 3 ตำแหน่ง พบ QTLs ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะ DS7 วางตัวที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC2625, UMC1042 และ UMC1526 ค่า R² เท่ากับ 4.29, 3.58 และ 3.70 ตามลำดับ (ตารางที่ 5.2) เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยฟีโนไทป์ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมายทั้งสาม พบว่า สภาพไฮโมไซกัสอัลลีลของ Ki47 มีค่าต่ำกว่าสภาพเฮเทอโรไซกัสอัลลีล และสภาพไฮโมไซกัสอัลลีลของ Ki48 แสดงว่า พันธุ์ Ki47 เป็นพันธุ์ให้ความต้านทาน

และการประเมินโรค ในสภาพแปลงทดลอง จำนวน 1 ตำแหน่ง พบ QTLs ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะ DS2 วางตัวที่ตำแหน่งของโมเลกุลเครื่องหมาย UMC1516 ค่า R^2 เท่ากับ 2.73 และพันธุ Ki48 เป็นพันธุให้ความต้านทาน เนื่องจากค่าเฉลี่ยพีโนไทป์สภาพโฮโมไซกัสอัลลีลของ Ki48 ค่า R^2 เท่ากับ 2.50 มีค่าต่ำกว่าสภาพเฮเทอโรไซกัสอัลลีล และสภาพโฮโมไซกัสอัลลีลของ Ki47 ซึ่งค่า R^2 เท่ากับ 2.91 และ 2.94 ตามลำดับ

ตำแหน่ง QTLs บนโครโมโซมที่ 8 พบ QTLs ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะ DS7 และ DS10 จากการประเมินโรคในสภาพโรงเรือน และลักษณะ DS1 DS2 DLA2 DDS2 และ DDS3 จากการประเมินโรคในสภาพแปลงทดลอง โดยตำแหน่งของ QTLs ที่พบในลักษณะ DS7 DS1 และ DDS2 ใกล้เคียงกับตำแหน่งของโมเลกุลเครื่องหมายเดิมที่เคยพบ ส่วนลักษณะ DS10 DS2 DLA2 และ DDS3 เป็นการพบ QTL s ใหม่ โดย DS10 พบ QTLs ที่โมเลกุลเครื่องหมาย UMC2199 และ UMC1161 ค่า R^2 เท่ากับ 2.77 และ 2.59 ตามลำดับ มีพันธุ Ki48 เป็นพันธุให้ความต้านทาน ต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในทางตรงกันข้ามลักษณะ DS2 และ DLA2 พบ QTLs บริเวณเดียวกับ DS10 คือที่โมเลกุลเครื่องหมาย UMC2199 และ UMC1161 แต่มีพันธุ Ki47 เป็นพันธุให้ความต้านทาน ต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ นอกจากนี้ ลักษณะ DDS2 และ DDS3 พบ QTLs ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC1161 ค่า R^2 เท่ากับ 3.68 และ 3.22 ตามลำดับ มีพันธุ Ki48 เป็นพันธุให้ความต้านทาน โรคใบไหม้แผลใหญ่

ตำแหน่ง QTLs แหล่ง โมเลกุลเครื่องหมายที่เกี่ยวข้อง และค่าเฉลี่ยพีโนไทป์ของแต่ละกลุ่มอัลลีล ในประชากรข้าวโพดคั่วผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 2:3 แสดงดังตารางที่ 5.2 และภาพที่ 5.1

ตารางที่ 5.2 ตำแหน่ง QTLs และโมเลกุลเครื่องหมายที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ และค่าเฉลี่ยฟีนไทป์ของแต่ละกลุ่มอัลลีลในประชากรข้าวโพดคั่วผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 2:3

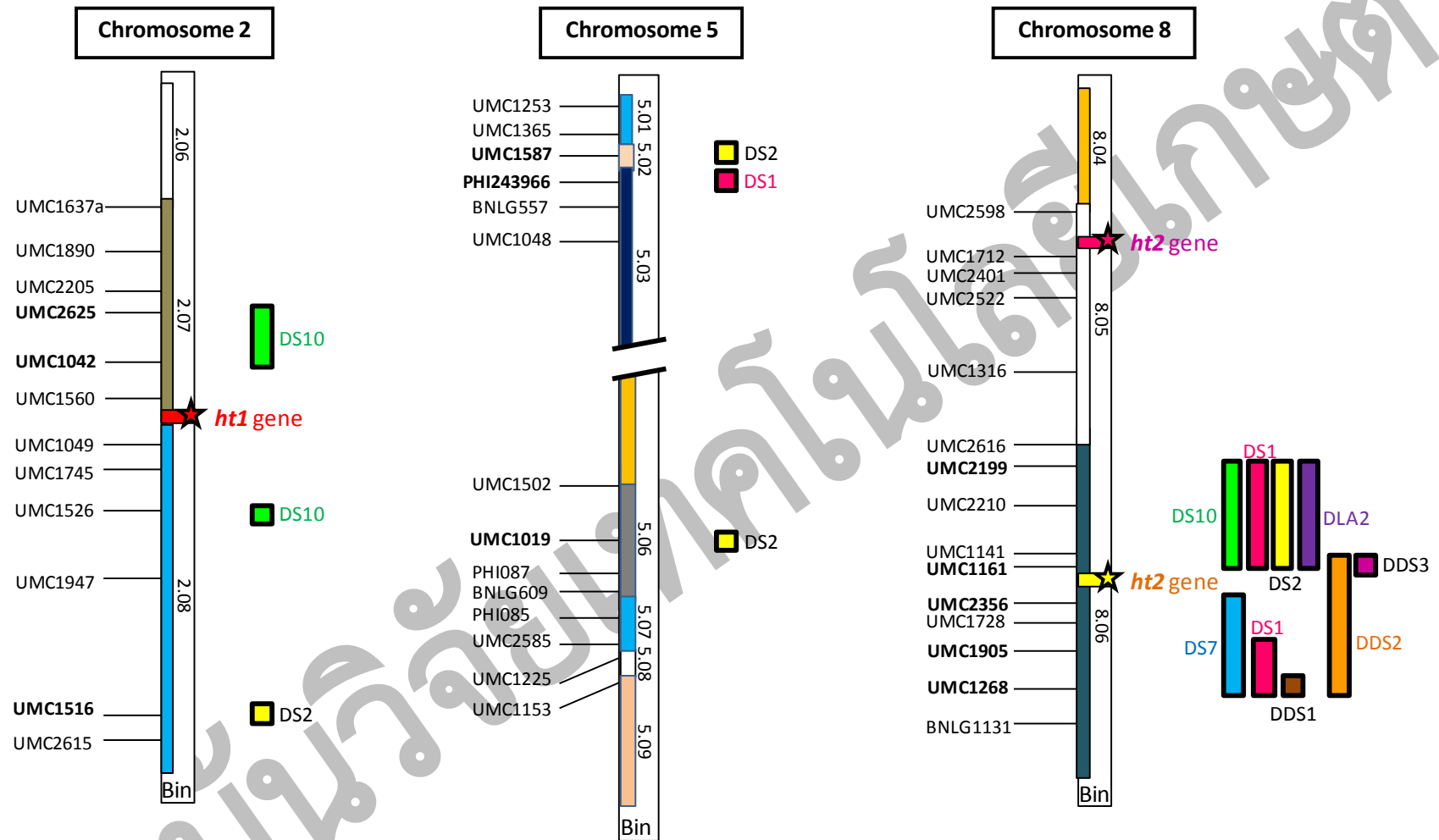
ลักษณะ	โมเลกุลเครื่องหมาย	โครโมโซม	ตำแหน่ง (Bin/ลำดับเบส)	ค่าเฉลี่ยฟีนไทป์			อัลลีลที่ให้ ความต้านทาน	R ²
				ไฮโมไซกัส Ki48	เฮเทอโรไซกัส	ไฮโมไซกัส Ki47		
การประเมินโรคในสภาพโรงเรือน								
DS7	*UMC2199	8	8.06/148.2	1.60 ^a	1.94 ^b	2.06 ^b	Ki48	3.25
	*UMC1161	8	8.06/158.8	1.62 ^a	1.90 ^{ab}	2.16 ^b	Ki48	4.25
	UMC2356	8	8.06/160.4	1.61 ^a	1.83 ^{ab}	2.10 ^b	Ki48	4.59
	UMC1095	8	8.06/164.1	1.62 ^a	1.90 ^{ab}	2.22 ^b	Ki48	4.87
	UMC1268	8	8.06/168.9	1.75 ^a	1.78 ^a	2.25 ^b	Ki48	3.44
DS10	*UMC2625	2	2.07/193.6	3.35 ^b	3.21 ^b	2.93 ^a	Ki47	4.29
	*UMC1042	2	2.07/199.5	3.35 ^b	3.19 ^{ab}	2.96 ^a	Ki47	3.58
	*UMC1526	2	2.07/205.6	3.35 ^b	3.21 ^{ab}	2.94 ^a	Ki47	3.7
	*UMC2199	8	8.06/148.2	2.87 ^a	3.30 ^b	3.21 ^b	Ki48	2.77
	*UMC1161	8	8.06/158.8	2.90 ^a	3.28 ^b	3.23 ^b	Ki48	2.59
การประเมินโรคในสภาพแปลงทดลอง								
DS1	PHI243966	5	5.03/15.0	0.94 ^b	0.74 ^a	0.64 ^a	Ki47	5.24
	*UMC2199	8	8.06/148.2	0.84 ^b	0.82 ^b	0.57 ^a	Ki47	3.31
	*UMC1161	8	8.06/158.8	0.89 ^b	0.81 ^b	0.52 ^a	Ki47	6.39
	UMC1095	8	8.06/164.1	0.90 ^b	0.80 ^b	0.51 ^a	Ki47	6.07

ลักษณะ	โมเลกุลเครื่องหมาย	โครโมโซม	ตำแหน่ง (Bin/ลำดับเบส)	ค่าเฉลี่ยฟีโนไทป์			อัลลีลที่ให้ ความต้านทาน	R ²
				ไฮโมไซกัส Ki48	เฮเทอโรไซกัส	ไฮโมไซกัส Ki47		
DS2	UMC1268	8	8.06/168.9	0.95 ^b	0.77 ^{ab}	0.60 ^a	Ki47	6.39
	*UMC1516	2	2.08/219.7	2.50 ^a	2.91 ^b	2.94 ^b	Ki48	2.73
	UMC1587	5	5.02/10.2	2.60 ^a	2.84 ^{ab}	3.08 ^b	Ki48	3.84
	UMC1019	5	5.06/190.7	2.61 ^a	2.84 ^{ab}	3.08 ^b	Ki48	3.92
	*UMC2199	8	8.06/148.2	2.92 ^b	2.94 ^b	2.46 ^a	Ki47	2.92
	*UMC1161	8	8.06/158.8	2.96 ^b	2.97 ^b	2.32 ^a	Ki47	5.39
DS3	UMC1019	5	5.06/190.7	3.42 ^a	3.67 ^{ab}	3.88 ^b	Ki47	4.07
DLA1	ไม่พบ QTL							
DLA2	*UMC2199	8	8.06/148.2	26.43 ^b	25.90 ^b	21.43 ^a	Ki47	2.78
	*UMC1161	8	8.06/158.8	26.55 ^b	26.43 ^b	19.85 ^a	Ki47	4.74
DLA3	ไม่พบ QTL							
อัตราการเพิ่มขึ้นของโรค								
DDS1	UMC1268	8	8.06/168.9	0.66 ^a	0.73 ^b	0.75 ^b	Ki48	3.1
DDS2	*UMC1161	8	8.06/158.8	0.76 ^a	0.78 ^{ab}	0.83 ^b	Ki48	3.68
	UMC1095	8	8.06/164.1	0.76 ^a	0.78 ^a	0.84 ^b	Ki48	4.61
	UMC1268	8	8.06/168.9	0.74 ^a	0.79 ^b	0.82 ^b	Ki48	5.28
DDS3	*UMC1161	8	8.06/158.8	0.20 ^a	0.20 ^a	0.30 ^b	Ki48	3.22

หมายเหตุ

* คือ ตำแหน่ง QTLs ที่พบใหม่หลังการเพิ่มจำนวนโมเลกุลเครื่องหมาย

R²; Coefficient of determination



ภาพที่ 5.1 ตำแหน่ง QTLs และโมเดลเครื่องหมายที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ประชากรข้าวโพด

วิจารณ์ผลการทดลอง บทที่ 5

การระบุตำแหน่ง QTLs ด้วยวิธี Single marker analysis ต้องใช้ข้อมูล ทั้งหมด 2 ส่วน ประกอบด้วย ข้อมูลจีโนไทป์ เป็นข้อมูลอัลลีลจากการตรวจสอบด้วยโมเลกุลเครื่องหมายต่างๆ ข้อมูลการสร้างแผนที่ทางพันธุกรรมของข้าวโพด และข้อมูลฟีโนไทป์ เป็นผลคะแนนระดับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ที่ได้จากการประเมิน โรคในประชากรข้าวโพดคู่ผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 3 ($F_{2:3}$) จำนวน 162 สายพันธุ์ ในสภาพโรงเรือนและ สภาพแปลงทดลอง พบ ตำแหน่ง QTLs ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ของประชากรข้าวโพด จำนวนทั้งสิ้น 12 ตำแหน่ง แบ่งเป็น QTL s ที่พบในสภาพโรงเรือน จำนวน 3 ตำแหน่ง และสภาพแปลงทดลอง จำนวน 9 ตำแหน่ง ได้แก่ **สภาพโรงเรือน** พบ QTLs ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะชนิดของแผล (DS) หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 7 วัน (DS7) บนโครโมโซมที่ 2 พบ QTLs 3 ตำแหน่ง ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC2625, UMC1042 และ UMC1526 บนโครโมโซมที่ 8 หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 7 วัน (DS7) พบ QTLs ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC2356, UMC1095 และ UMC1268 ส่วนหลังการปลูกถ่ายเชื้อ 10 วัน (DS10) บนโครโมโซมที่ 8 ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC2199 และ UMC1161 พันธุ์ Ki48 เป็นพันธุ์ให้ความต้านทาน ต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ **สภาพแปลงทดลอง** พบ QTLs ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะชนิดของแผล (DS) จำนวน 6 ตำแหน่ง และอัตราการเพิ่มขึ้นของโรค (DDS) จำนวน 3 ตำแหน่ง หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 45 วัน (DS1) พบ QTL 3 ตำแหน่ง ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย PHI243966 บนโครโมโซมที่ 5 และที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC1095 และ UMC1268 บนโครโมโซมที่ 8 หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 90 วัน (DS2) บนโครโมโซมที่ 2 พบ QTLs จำนวน 1 ตำแหน่ง ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC1516 บนโครโมโซมที่ 5 พบ QTLs จำนวน 2 ตำแหน่ง ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC1578 และ UMC1019 มีพันธุ์ Ki48 เป็นพันธุ์ให้ความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ และ บนโครโมโซมที่ 8 DS2 และ DLA2 พบ QTLs ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC2199 และ UMC1161 แต่มีพันธุ์ Ki47 เป็นพันธุ์ให้ความต้านทาน ต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ และหลังการปลูกถ่ายเชื้อ 100 วัน (DS3) พบ QTLs เพียง 1 ตำแหน่งที่ UMC1019 บนโครโมโซมที่ 5 และ **อัตราการเพิ่มขึ้นของโรค** พบ QTLs ที่เกี่ยวข้องจำนวน 3 ตำแหน่ง และมี Ki48 เป็นพันธุ์ให้ความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ จาก DDS1 จำนวน 1 ตำแหน่ง ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC1268 บนโครโมโซมที่ 8 และจาก DDS2 จำนวน 3 ตำแหน่ง ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC1095, UMC1161 และ UMC1268 บนโครโมโซมที่ 8 ส่วน DDS3 พบ QTLs ที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย UMC1161 บนโครโมโซมที่ 8 มีพันธุ์ Ki48 เป็นพันธุ์ให้ความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ จากเอกสารอ้างอิงที่มีรายงานมาก่อน Holland *et al.* (1998) และ

Jiang *et al.* (1999) พบว่า ลักษณะความต้านทานแบบไม่จำเพาะ มักถูกควบคุมด้วยยีนหลายคู่ (polygenic resistance) ซึ่งยีนแต่ละคู่จะมีผลต่อการแสดงออกเพียงเล็กน้อย (minor gene) โดยสภาพแวดล้อมจะมีอิทธิพลอย่างมากต่อการแสดงออกของลักษณะ เช่น กลุ่มยีนควบคุมลักษณะปริมาณ (quantitative trait loci; QTL) ควบคุมลักษณะความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ซึ่งมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 2 โครโมโซมที่ 7 โครโมโซมที่ 8 และโครโมโซมที่ 9 และ Welz and Geiger (2000) พบว่า แหล่งยีนต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ตำแหน่งยีนที่ควบคุมลักษณะปริมาณ พบ 12 - 13 QTLs ที่เกี่ยวข้อง ที่ตำแหน่งโครโมโซมที่ 3 (bin 3.06/07), โครโมโซมที่ 5 (bin 5.04) และโครโมโซมที่ 8 (bin 8.05/06) ตำแหน่งยีนหลัก *Ht2* และ *Htn1* อยู่ที่ bin 8.05 และ 8.06

สรุป บทที่ 5

ตำแหน่ง QTLs ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ มีจำนวนทั้งสิ้น 12 ตำแหน่ง แบ่งเป็น QTLs ที่พบในสภาพโรงเรือน จำนวน 3 ตำแหน่ง และสภาพแปลงทดลอง จำนวน 9 ตำแหน่ง ได้แก่

สภาพโรงเรือน พบ QTLs ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะชนิดของแผล (DS) หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 7 วัน (DS7) พบบนโครโมโซมที่ 2 และโครโมโซมที่ 8 ส่วนหลังการปลูกถ่ายเชื้อ 10 วัน (DS10) พบบนโครโมโซมที่ 8 พันธุ์ Ki48 เป็นพันธุ์ให้ความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่

สภาพแปลงทดลอง พบ QTLs ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะชนิดของแผล (DS) และอัตราการเพิ่มขึ้นของโรค (DDS) จำนวน 6 และ 3 ตำแหน่ง หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 45 วัน (DS1) พบบนโครโมโซมที่ 5 และบนโครโมโซมที่ 8 หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 90 วัน (DS2) พบบนโครโมโซมที่ 2 จำนวน 1 ตำแหน่ง บนโครโมโซมที่ 5 จำนวน 2 ตำแหน่ง พันธุ์ Ki48 เป็นพันธุ์ให้ความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ และ บนโครโมโซมที่ 8 จำนวน 2 ตำแหน่ง แต่มีพันธุ์ Ki47 เป็นพันธุ์ให้ความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ และหลังการปลูกถ่ายเชื้อ 100 วัน (DS3) พบบนโครโมโซมที่ 8 จำนวน 1 ตำแหน่ง

อัตราการเพิ่มขึ้นของโรค พบ QTLs ที่เกี่ยวข้องจำนวน 3 ตำแหน่ง และมี Ki48 เป็นพันธุ์ให้ความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ จาก DDS1 จำนวน 1 ตำแหน่ง และจาก DDS2 จำนวน 3 ตำแหน่ง บนโครโมโซมที่ 8 ส่วน DDS3 พบ QTLs จำนวน 1 ตำแหน่ง บนโครโมโซมที่ 8 มีพันธุ์ Ki48 เป็นพันธุ์ให้ความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่