



รายงานผลการวิจัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้

เรื่อง

การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดของไทยโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล
แบบเอสเอสอาร์
MOLECULAR BREEDING OF THAI VEGETABLE SOYBEAN
BY SSR MARKER

โดย

พรพันธ์ ภู่อ้อมพันธุ์ ศุกระกาญจน์ ศรีบุญ

2553



รายงานผลการวิจัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้

เรื่อง การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดของไทยโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์
MOLECULAR BREEDING OF THAI VEGETABLE SOYBEAN BY SSR
MARKER

ได้รับการจัดสรรเงินงบประมาณวิจัย ประจำปี 2552
จำนวนเงิน 260,000 บาท

หัวหน้าโครงการ นายพรพันธ์ ภู่อ้อมพันธุ์
ผู้ร่วมโครงการ นายศุภระกาญจน์ ศรีบุญ

งานวิจัยเสร็จสมบูรณ์
วันที่ 31 ตุลาคม 2553

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2552 ขอขอบคุณ Assoc. Prof. Dr. Jun Abe มหาวิทยาลัยฮอกไกโด ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์วิเคราะห์องค์ประกอบน้ำมันในเมล็ดจากตัวอย่างที่โครงการส่งไปวิเคราะห์ ขอขอบคุณสาขาพืชสวนประดับ ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร และศูนย์กล้วยไม้และไม้ดอกไม้ประดับที่อำนวยความสะดวกด้านสถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์การวิจัย ขอขอบคุณ คุณกมลรัตน์ บุญมาวัฒน์ ที่เป็นกำลังสำคัญในการทำการวิจัยครั้งนี้มาโดยตลอด

คณะผู้วิจัย

สารบัญเรื่อง

	หน้า
สารบัญตาราง	(ก)
สารบัญตารางผนวก	(ง)
สารบัญภาพ	(จ)
บทคัดย่อ	1
Abstract	3
คำนำ	4
วัตถุประสงค์	5
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	15
ผลการวิจัย	20
วิจารณ์ผลการวิจัย	51
สรุปผลการวิจัย	54
เอกสารอ้างอิง	56
ภาคผนวก	59

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนองค์ประกอบน้ำมัน กรดไขมันPalmitic และกรดไขมัน Stearic ในเมล็ดของประชากรสายพันธุ์แท้และพันธุ์พ่อแม่ ปลูกทดสอบในฤดูฝน ปี 2551	23
2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนกรดไขมัน Oleic, Linoleic และกรดไขมัน Linolenic ในเมล็ดของประชากรสายพันธุ์แท้และพันธุ์พ่อแม่ ปลูกทดสอบในฤดูฝน ปี 2551	24
3 แสดงค่าพิสัย ค่าเฉลี่ยประชากรสายพันธุ์แท้ ค่าเฉลี่ยพันธุ์พ่อแม่ และค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบของประชากรถั่วเหลืองฝักสด ในฤดูฝนปี 2551	25
4 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบน้ำมันและกรดไขมัน ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ ปลูกในฤดูฝนปี 2551	29
5 เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ กลุ่มลิงเกจ และขนาดของอัลลีล (คูเบส) ในพันธุ์พ่อแม่	31
6 การจัดกลุ่มลิงเกจของเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ในประชากรสายพันธุ์แท้จากคู่ผสมถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ AGS292 กับสายพันธุ์ K3	34
7 การกระจายตัวของเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ 101 เครื่องหมายในประชากร ถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ ในการทดสอบค่าไคสแควร์	35
8 การวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบน้ำมัน ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ จากคู่ผสมระหว่างพันธุ์ AGS292 และสายพันธุ์ K3 ปลูกในฤดูฝน ปี 2551	44
9 การวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกรดไขมัน Palmitic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ จากคู่ผสมระหว่างพันธุ์ AGS292 และสายพันธุ์ K3 ปลูกในฤดูฝน ปี 2551	44

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
10 การวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Stearic น้ำมันในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้จากกลุ่มสม ระหว่างพันธุ์ AGS292 และสายพันธุ์ K3 ปลูกในฤดูฝน ปี 2551	45
11 การวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Oleic ใน เมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ จากกลุ่มสมระหว่างพันธุ์ AGS292 และสายพันธุ์ K3 ปลูกในฤดูฝน ปี 2551	46
12 การวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Linoleic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ จากกลุ่มสมระหว่างพันธุ์ AGS292 และสายพันธุ์ K3 ปลูกในฤดูฝน ปี 2551	47
13 การวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Linolenic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ จากกลุ่มสมระหว่างพันธุ์ AGS292 และสายพันธุ์ K3 ปลูกในฤดูฝน ปี 2551	47
14 การวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุล ที่แสดงความแตกต่างทางสถิติที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบน้ำมันใน เมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ ปลูกในฤดูฝน ปี 2551	48
15 การวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุล ที่แสดงความแตกต่างทางสถิติที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Palmitic ใน เมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ ปลูกในฤดูฝน ปี 2551	48
16 การวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุล ที่แสดงความแตกต่างทางสถิติที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Stearic ใน เมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ ปลูกในฤดูฝน ปี 2551	49
17 การวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุล ที่แสดงความแตกต่างทางสถิติที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Oleic ใน เมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ ปลูกในฤดูฝน ปี 2551	49

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
18 การวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุล ที่แสดงความแตกต่างทางสถิติที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Linoleic ใน เมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ ปลูกในฤดูฝน ปี 2551	50
19 การวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุล ที่แสดงความแตกต่างทางสถิติที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Linolenic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ ปลูกในฤดูฝน ปี 2551	50

สารบัญตารางผนวก

ตารางผนวกที่

หน้า

- | | | |
|---|---|----|
| 1 | เปอร์เซ็นต์องค์ประกอบน้ำมันและกรดไขมันในเมล็ดถั่วเหลืองของ
ประชากรสายพันธุ์แท้ปลูกทดสอบในฤดูฝน ปี 2551 | 60 |
|---|---|----|

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 การกระจายตัวขององค์ประกอบน้ำมันใน เมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ปลูกทดสอบฤดูฝนปี 2551	26
2 การกระจายตัวขององค์ประกอบกรดไขมัน Palmatic ใน เมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ปลูกทดสอบฤดูฝนปี 2551	26
3 การกระจายตัวขององค์ประกอบกรดไขมัน Stearic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ปลูกทดสอบฤดูฝนปี 2551	27
4 การกระจายตัวขององค์ประกอบกรดไขมัน Oleic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ปลูกทดสอบฤดูฝนปี 2551	27
5 การกระจายตัวขององค์ประกอบกรดไขมัน Linoleic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ปลูกทดสอบฤดูฝนปี 2551	28
6 การกระจายตัวขององค์ประกอบกรดไขมัน Linolenic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ปลูกทดสอบฤดูฝนปี 2551	28
7 กลุ่มลิงเกจของเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ในประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้จากคู่ผสมถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ AGS292 กับสายพันธุ์ K3	33

การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดไทยโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล
แบบเอสเอสอาร์
MOLECULAR BREEDING OF THAI VEGETABLE SOYBEAN
BY SSR MARKER

พรพันธุ์ ภู่อ้อมพันธุ์¹ สุกระกาญจน์ ศรีบุญ¹
PORNPAN POOPROMPAN, SUKRAKARN SRIBOON

¹ คณะผลิตกรรมการเกษตร
มหาวิทยาลัยแม่โจ้

บทคัดย่อ

ถั่วเหลืองฝักสดเป็นพืชที่มีความสำคัญเพราะมีองค์ประกอบโปรตีนและน้ำมันในเมล็ดสูง อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ในทางตรงกันข้ามของโปรตีนและน้ำมันทำให้การปรับปรุงพันธุ์ทั้งสองลักษณะเป็นไปได้ยาก การใช้เครื่องหมายโมเลกุลอาจจะช่วยให้การเพิ่มอัลลีลที่ควบคุมลักษณะต้องการได้ งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการถ่ายทอดลักษณะและจำแนกเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ที่เชื่อมโยงกับลักษณะเชิงปริมาณที่ควบคุมองค์ประกอบน้ำมันและกรดไขมันในเมล็ดของประชากรสายพันธุ์ที่ใช้ทำแผนที่โครโมโซม (mapping population) จากคู่ผสมระหว่างถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ AGS292 กับถั่วเหลืองสายพันธุ์ (G8891xG7945) 31-3-5-5 หรือ 'K3' ปลุกทดสอบพันธุ์พ่อแม่และประชากรสายพันธุ์แท้ 92 สายพันธุ์ ในฤดูฝน ปี 2551 วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design, RCBD) จำนวน 2 ซ้ำ การประเมินค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบโดยใช้ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบน้ำมันในเมล็ด กรดไขมัน palmitic (16:0), stearic (18:0), oleic (18:1), linoleic (18:2) และ linolenic (18:3) มีค่าร้อยละ 65.5, 60.0, 70.0, 71.9, 74.2 และ 59.7 ตามลำดับสำรวจความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ทั้งหมด 333 เครื่องหมาย พบความแตกต่างทางพันธุกรรมในสายพันธุ์แท้ 101 เครื่องหมาย สามารถสร้างกลุ่มถึงเก้าได้ 13 กลุ่ม มี 58 เครื่องหมายที่ไม่สามารถจัดกลุ่มถึงเก้าได้ การวิเคราะห์ความแปรปรวน

ปัจจัยเดียว (Single-Factor Analysis of Variance, SF-ANOVA) เพื่อหาความเชื่อมโยงกับกลุ่มของยีนที่ควบคุมลักษณะเชิงปริมาณ และยืนยันความเชื่อมโยงโดยวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ในเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่าง พบเครื่องหมายโมเลกุล Satt179, Satt443, Sat_218, Satt239 และ Satt055 บนกลุ่มลิงเกจ D1a+Q, D2, H, I, และ K ตามลำดับ เชื่อมโยงกับกลุ่มยีนที่ควบคุมองค์ประกอบน้ำมัน เครื่องหมายโมเลกุล Sat_217 (กลุ่มลิงเกจ A1) Satt425 (กลุ่มลิงเกจ F) และ Sat_315 (กลุ่มลิงเกจ G) เชื่อมโยงกับกลุ่มยีนที่ควบคุมองค์ประกอบกรดไขมัน stearic เครื่องหมายโมเลกุล Sat_217 บนกลุ่มลิงเกจ A1 เชื่อมโยงกับกลุ่มยีนที่ควบคุมองค์ประกอบกรดไขมัน oleic เครื่องหมายโมเลกุล Sat_217 (กลุ่มลิงเกจ A1) Satt063 (กลุ่มลิงเกจ B2) และ Satt009 (กลุ่มลิงเกจ N) เชื่อมโยงกับกลุ่มยีนที่ควบคุมองค์ประกอบกรดไขมัน linoleic เครื่องหมายโมเลกุล Satt179 (กลุ่มลิงเกจ D1a) และ Satt613 (กลุ่มลิงเกจ N) เชื่อมโยงกับกลุ่มยีนที่ควบคุมกรดไขมัน linolenic กลุ่มยีนแต่ละกลุ่มสามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้ร้อยละ 4.8-14.7, 4.0-14.2, 8.7-17.9, 13.6, 4.0-15.4 และ 4.6-12.0 ขององค์ประกอบน้ำมัน กรดไขมัน palmitic, stearic, oleic, linoleic, และ linoleic ตามลำดับ ดังนั้นจึงสามารถจำแนกกลุ่มยีนหลักสำหรับการปรับปรุงคุณภาพเมล็ดถั่วเหลืองฝักสด

ABSTRACT

Vegetable soybean [*Glycine max* (L.)] is an important crop because of its high oil and protein concentration. However, there is an inverse relationship between seed protein and oil concentration, making it difficult to improve both traits simultaneously. Molecular breeding may be helpful to facilitate a balanced accumulation of desirable alleles. Objectives of this study were to investigate the inheritance and identify simple sequence repeat (SSR) markers associated with quantitative trait loci (QTL) for seed oil content and fatty acids in recombinant inbred lines (RILs) derived from a cross between the vegetable soybean cultivar 'AGS292' and experimental line (G8891xG7945) 31-3-5-5 (or 'K3'). Parents and 92 RILs were grown in rainy season of 2008. Experiments were conducted on randomized complete block design with two replications. Narrow-sense heritability estimates on an entry mean basis for seed oil content, palmitic acid (16:0) stearic acid (18:0), oleic acid (18:1), linoleic acid (18:2) and linolenic acid (18:3) were 65.5, 60.0, 70.0, 71.9, 74.2 and 59.7 % respectively. A total of 333 SSR molecular genetic markers were screened and 101 were polymorphic in the RIL. Thirteen linkage groups were constructed while 58 markers were found unlinked. Single factor ANOVA was used to identify candidate QTL, which were then confirmed by multiple-locus regression analysis of significant marker loci. The results revealed that molecular marker Satt179, Satt443, Sat_218, Satt239 and Satt055 on molecular linkage group (MLG) D1a+Q, D2, H, I, and K respectively associated with oil QTL were detected. Molecular markers Sat_217 (MLG A1), Satt425 (MLG F) and Sat_315 (MLG G) associated with stearic acid QTL, Sat_217 on MLG A1 associated with oleic acid QTL, Sat_217 (MLG A1) Satt063 (MLG B2) and Satt009 (MLG N) associated with linoleic acid QTL, Satt179 (MLG D1a) and Satt631 (MLG N) associated with linolenic acids QTL were verified. The individual QTL explained 4.8-14.7, 4.0-14.2, 8.7-17.9, 13.6, 4.0-15.4 and 4.6 to 12.0% of the phenotypic variation for oil, palmitic acid stearic acid, oleic acid, linoleic acid and linolenic acid content in the seed, respectively. Thus, we identified major loci for improving vegetable soybean seed quality.

คำนำ (Introduction)

ถั่วเหลืองฝักสด (vegetable soybean) ปัจจุบันมีผู้นิยมบริโภคมากขึ้น เพราะว่ามีคุณค่าทางโภชนาการสูง จัดว่าเป็นอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ เป็นแหล่งพลังงานรวมทั้งให้วิตามินเอ บี ซี และเกลือแร่ที่ร่างกายต้องการ คุณภาพของถั่วเหลืองฝักสดขึ้นอยู่กับความพึงพอใจของผู้บริโภคและองค์ประกอบทางเคมีในเมล็ด และมีรูปทรงของฝักที่สวยงาม สีเขียวสดใสมะลัดมีขนาดใหญ่ รสชาติดี หวาน และมีคุณค่าทางด้านโภชนาการสูง องค์ประกอบหลักของเมล็ดถั่วเหลืองประกอบด้วยโปรตีนประมาณ ร้อยละ 41 น้ำมันร้อยละ 20 สามารถนำเมล็ดถั่วเหลืองมาแปรรูปผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น สกัดน้ำมันพืช อาหารสัตว์ เครื่องสำอาง สี น้ำมันหล่อลื่น และพลังงานทดแทน เป็นต้น กลุ่มของยีนที่ควบคุมลักษณะองค์ประกอบโปรตีนและน้ำมันในเมล็ดถั่วเหลืองซึ่งจากรายงานของ Tajuddin *et al.* (2003) พบว่าเป็นลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative trait loci, QTL) และได้มีการจำแนกเครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบน้ำมันและกรดไขมันในเมล็ดบนกลุ่มลิงเกจ (molecular linkage group, MLG) ต่างๆ เพื่อให้ประโยชน์ในการช่วยคัดเลือก (marker-assisted selection, MAS)

การวิจัยครั้งนี้ เน้นการศึกษาความเชื่อมโยงของเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ (simple sequence repeat, SSR) กับลักษณะเชิงปริมาณที่ควบคุมลักษณะองค์ประกอบน้ำมันและกรดไขมันในเมล็ดในประชากรสายพันธุ์แท้ (recombinant inbred lines, RILs) ที่มีการกระจายตัว (segregating population) จากคู่ผสมระหว่างถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ที่ใช้ปลูกเป็นการค้าพันธุ์ AGS292 ที่มีคุณภาพของเมล็ดตรงต่อความต้องการของผู้บริโภค และปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมของประเทศไทยได้ดี ผสมกับถั่วเหลืองที่ได้จากการทดลอง (experimental line) สายพันธุ์ (G8891 x G7945) 31-3-5-5 หรือ K3 ที่มีองค์ประกอบของโปรตีนในเมล็ดสูง และองค์ประกอบน้ำมันในเมล็ดต่ำ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการถ่ายทอดลักษณะเชิงปริมาณที่สำคัญ (quantitative trait loci, QTL) ของถั่วเหลืองฝักสดในประชากรสายพันธุ์แท้ (recombinant inbred lines, RILs) ที่มีการกระจายตัวจากกลุ่มผสมระหว่างถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ AGS292 กับถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ได้จากการทดลอง (experimental line) สายพันธุ์ (G8891 x G7945) 31-3-5-5 หรือ K3 ที่มีองค์ประกอบของโปรตีนในเมล็ดสูง และองค์ประกอบน้ำมันในเมล็ดต่ำ
2. เพื่อสร้างแผนที่โครโมโซมและศึกษาความเชื่อมโยงของเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ (SSR) กับลักษณะเชิงปริมาณที่สำคัญที่ควบคุมลักษณะทางคุณภาพของเมล็ด ได้แก่ องค์ประกอบของน้ำมันและกรดไขมันในเมล็ด
3. เพื่อใช้ช่วยคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดของไทยที่สามารถปรับตัวได้ดีที่ใช้ปลูกสำหรับการส่งออกและบริโภคภายในประเทศ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถประเมินค่าอัตราพันธุกรรมลักษณะเชิงปริมาณที่สำคัญในถั่วเหลืองฝักสด ได้แก่ องค์ประกอบของน้ำมันและกรดไขมันในเมล็ด
2. ทราบตำแหน่งเครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยง หรือวางอยู่ใกล้กับกลุ่มยีนที่ควบคุมลักษณะเชิงปริมาณ ได้แก่ องค์ประกอบน้ำมันและกรดไขมันในเมล็ด
3. ได้วิธีการคัดเลือกพันธุ์ที่รวดเร็วขึ้นสำหรับถั่วเหลืองฝักสดโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์

การตรวจเอกสาร

(Literature review)

ถั่วเหลืองฝักสด (vegetable soybean) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine max* (L.) Merrill ชื่อสามัญคือ Vegetable soybean, Sweet bean, Eda mame (Japan), Mao tou (China) อยู่ในวงศ์ Leguminosae และตระกูลย่อย (sup-family) Papilionidae (อาคม, 2546) ถั่วเหลืองฝักสดเป็นพืชชนิดเดียวกับถั่วเหลืองทั่วไป แต่ฝักมีขนาดใหญ่ สีเขียวสด รสหวานเล็กน้อย แตกต่างจากถั่วเหลืองธรรมดาอย่างชัดเจน (สิริกุล, 2533) ถั่วเหลืองอาจถูกจำแนกออก

ตามลักษณะของการเจริญเติบโต (growth habit) ได้ 2 แบบ คือ พันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตแบบไม่ทอดยอด (determinate growth habit) จะหยุดการเจริญเติบโตทางลำต้น เมื่อเริ่มออกดอกหรือเริ่มติดฝัก และเกิดช่อดอกหรือช่อฝักที่ตายอด ส่วนพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตแบบทอดยอด (indeterminate growth habit) จะเจริญเติบโตไปพร้อมกับการพัฒนาของเมล็ด ทำให้ปลายยอดสร้างเป็นใบอ่อนไม่ใช่ช่อดอกหรือช่อฝัก พันธุ์ที่ปลูกในเขตอบอุ่นมักเป็นพวก determinate growth habit (กรมวิชาการเกษตร, 2547)

ฝักและเมล็ด เกิดเป็นกลุ่ม ฝักอาจมีลักษณะตรง หรือโค้งเล็กน้อย ฝักของถั่วเหลืองมีความยาวตั้งแต่ 2-7 เซนติเมตร หรือมากกว่า เมื่อแก่มีสีเหลืองฟาง น้ำตาล หรือดำ แตกต่างกันไปตามพันธุ์ มีเมล็ดประมาณ 1-5 เมล็ด แต่โดยมากมักจะมี 3 เมล็ด จำนวนฝักสด 1 กิโลกรัม ต้องมีน้อยกว่า 350 ฝัก น้ำหนักเมล็ดแห้ง 100 เมล็ด ต้องมากกว่า 30 กรัม (ศิริกุล, 2533) ฝักที่เกิดก่อนมีจำนวนเมล็ดต่อฝักมากกว่าฝักที่เกิดทีหลัง ถั่วเหลืองบางพันธุ์เมื่อฝักแก่อาจแตก (shattering) ตามรอยแตก (suture) ทำให้เมล็ดร่วง แต่พันธุ์ที่นิยมปลูกเมล็ดมักไม่ร่วง (non-shattering) โดยทั่วๆ ไปแล้วฝักจะแตกมากขึ้นถ้าถั่วเหลืองแก่ในฤดูแล้ง เมล็ดส่วนมากมีรูปร่างกลมรีเป็นรูปไข่ มีขนาดและน้ำหนักแตกต่างกันไปตามพันธุ์ เมล็ดส่วนใหญ่มีสีเหลืองฟาง แต่บางพันธุ์อาจมีเมล็ดสีเหลืองอมเขียว น้ำตาลหรือดำ การเจริญเติบโตของเมล็ดในฝักจะไม่พร้อมกัน เมล็ดตอนปลายฝัก (apical seed) จะเจริญก่อนเมล็ดที่อยู่ตอนโคน (basal seed) และเมล็ดตอนกลางของฝักตามลำดับ

เมล็ดถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) สามารถแบ่งออกตามการใช้ประโยชน์ได้ 2 รูปแบบ คือ เมล็ดแห้งและเมล็ดสด กรณีของเมล็ดแห้ง ถ้ามีคุณภาพดีใช้ทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร สำหรับคุณภาพรองใช้สกัดน้ำมันได้กากถั่วเหลืองใช้ทำอาหารสัตว์ หรือใช้เมล็ดแห้งทำอาหารสัตว์โดยตรง สำหรับกรณีของการบริโภคเมล็ดสดหรือถั่วเหลืองฝักสด คนไทยเรียกว่า “ถั่วแระ” โดยจะเก็บเกี่ยวในขณะที่ฝักมีเมล็ดเต่งเต็มที่ แต่ยังไม่เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นเหลือง เพื่อใช้บริโภคเป็นอาหารว่าง โดยการต้มทั้งต้นและฝัก แต่ถั่วเหลืองฝักสด (vegetable soybean) ที่มีคุณภาพสูง ผลิตเพื่อการส่งออกไปยังประเทศญี่ปุ่นจะอยู่ในรูปฝักสดแช่แข็ง หรืออีกรูปแบบเป็นการส่งออก เมล็ดสดที่แกะออกจากเปลือกฝัก (shelled eda mame) ส่วนใหญ่เป็นความต้องการของตลาดในยุโรป การผลิตถั่วเหลืองฝักสดของโลก มีการผลิตและใช้รับประทานกันมากในประเทศแถบเอเชีย เช่น ญี่ปุ่น จีน ไต้หวัน ไทย อินโดนีเซีย และเวียดนาม ประเทศที่ผลิตและส่งออกมากขณะนี้คือ จีน ไต้หวัน และไทย โดยที่จีนส่งออกเพิ่มขึ้น ส่วนไต้หวัน ไทย และอินโดนีเซีย ส่งออกลดลงเล็กน้อย ขณะนี้ประเทศอินเดียเริ่มมีการผลิตและส่งออกถั่วเหลืองฝักสด เป็นปีแรกเพิ่มอีกประเทศหนึ่ง และด้านการตลาดญี่ปุ่นเป็นตลาดเป้าหมายสำคัญที่สุด เพราะ

บริโภคถั่วเหลืองฝักสดมากปีหนึ่งๆ ไม่น้อยกว่า 1.5 แส่นตัน แต่การผลิตภายในประเทศไม่พอ จึงนำเข้าจากจีน ไต้หวัน ไทย อินโดนีเซีย เวียดนาม และสหรัฐอเมริกา ซึ่งแนวโน้มการส่งออกถั่วเหลืองฝักสดของไทยคาดว่าจะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เพราะถั่วเหลืองฝักสดของไทยมีคุณภาพดีกว่าเมื่อเทียบกับแหล่งอื่น ๆ ซึ่งตลาดใหญ่ที่สุดในขณะนี้คือ ประเทศญี่ปุ่น ประเทศไทยส่งออกไปญี่ปุ่นประมาณ 9,000 ตันต่อปี เป็นอันดับ 3 ของการนำเข้าของญี่ปุ่น รองจากจีนและไต้หวัน แม้ตลาดของถั่วเหลืองฝักสดในต่างประเทศจะค่อนข้างเล็กเมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์อาหารส่งออกอื่น ๆ แต่ก็มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่องจากเพียง 866 ตันในปี 2533 เพิ่มขึ้นเป็น 11,160 ตันในปี 2549 ทั้งนี้ เพราะกระแสของอาหารสุขภาพที่ผู้บริโภคปัจจุบันให้ความสำคัญเพิ่มมากขึ้น ทำให้เกษตรกรไทยมีโอกาสที่จะผลิตอาหารทางเลือกนี้ให้กับชาวโลกต่อไป และในขณะเดียวกัน ก็ยังใช้เป็นอาหารที่บำรุงสุขภาพสำหรับคนในประเทศได้อีกด้วย จึงสมควรอย่างยิ่งที่จะต้องมีการวิจัยและพัฒนาทั้งด้านพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตถั่วเหลืองฝักสดเพื่อการส่งออก (นริลักษณ์ และคณะ, 2550) นอกจากนี้ยังพบว่าในเมล็ดของถั่วเหลืองฝักสดมี phytosterols (Mohamed, 2001) ทำให้ความนิยมบริโภคถั่วเหลืองฝักสดมีมากขึ้นตามลำดับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสหรัฐอเมริกา

องค์ประกอบที่สำคัญของเมล็ดถั่วเหลืองคือ โปรตีนและน้ำมัน ซึ่งมีสหสัมพันธ์ในทางลบซึ่งกันและกัน กล่าวคือ พันธุ์ที่มีโปรตีนสูงจะมีน้ำมันต่ำ และพันธุ์ที่มีโปรตีนต่ำจะมีน้ำมันสูง (กรมวิชาการเกษตร, 2547)

โปรตีนเป็นสารประกอบที่มีในพืชเล็กน้อย แต่ใช้ว่าจะไม่มี โดยโปรตีนส่วนใหญ่จะเป็นสารประกอบของไกลโคโปรตีนและลิโปโปรตีนซึ่งอยู่ในผนังเซลล์ แต่พืชบางชนิดเช่นถั่วและพืชเคี้ยวมัน (nut) อาจสะสมโปรตีนไว้ได้มากในโปรตีนโนพลาส (protenoplast) โดยปกติโปรตีนจะมีกลิ่นอ่อนๆ แต่เมื่อได้รับความร้อนจะเกิดกลิ่นหอม (สมโภชน์, ม.ป.ป.)

การพัฒนาและการปรับปรุงถั่วเหลืองฝักสดในประเทศไทยได้เริ่มต้นในปี 2529 มีการนำเข้าถั่วเหลืองฝักสด จากศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักแห่งเอเชีย (AVRDC) หรือในปัจจุบันเรียกว่า The World Vegetable Center และประเทศญี่ปุ่น มาทดสอบจนกระทั่งได้พันธุ์ถั่วเหลืองฝักสด 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ AGS292 (Kaohsiung #1) สำหรับส่งออก และพันธุ์รับรองเชียงใหม่ 1 สำหรับบริโภคภายในประเทศ ต่อมาได้นำพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดอีกพันธุ์หนึ่งมาแนะนำให้เกษตรกรปลูกเพื่อส่งออก คือ พันธุ์ No.75 (Rhyokkoh) ปัจจุบันทั้งถั่วเหลืองฝักสดที่ใช้ส่งออกและบริโภคภายในประเทศ เกษตรกรสนใจที่จะปลูกมาก (Chotiyanwong and Chotiyanwong, 1997)

ลักษณะของถั่วเหลืองฝักสดที่ตลาดญี่ปุ่นต้องการ

ขนาดและรูปร่างของฝัก ความกว้างของฝักอย่างน้อย 1.4 เซนติเมตร ความยาวของฝักอย่างน้อย 4.5 เซนติเมตร ความหนาอย่างน้อย 1.4 เซนติเมตร ฝักต้องมี 2 เมล็ดขึ้นไป และเมล็ดติดต่อกันไม่เว้นช่อง น้ำหนักฝัก 1 กิโลกรัม ควรมีจำนวนฝักต่ำกว่า 340 ฝัก (สมศักดิ์, 2547)

ลักษณะเปลือกฝัก มีขนสีขาว เปลือกฝักสีเขียวหรือเขียวเข้ม ไม่มีรอยตำหนิใด ๆ จากการเข้าทำลายของโรคและแมลง หรือการปฏิบัติใด ๆ

รสชาติ เมล็ดสดเมื่อสุกแล้วมีรสหวานเล็กน้อย อ่อนนุ่ม และปัจจุบันถ้ามีกลิ่นหอม จะเป็นตลาดใหม่ที่ได้รับความนิยม

ความปลอดภัยทางด้านอาหาร ไม่มีสารพิษตกค้าง มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ตามมาตรฐานที่ระบุโดยตลาดต่างประเทศ

การผลิตถั่วเหลืองฝักสดในต่างประเทศ

ประเทศไทยส่งออกถั่วเหลืองฝักสดส่วนใหญ่ไปยังประเทศญี่ปุ่น และเริ่มมีการส่งออกไปยังประเทศสหรัฐอเมริกา อังกฤษ และแคนาดา ใน 4 ประเทศดังกล่าวถือเป็นประเทศคู่ค้าที่สำคัญที่ควรให้ความสนใจ โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกา (สมศักดิ์, 2547) คนญี่ปุ่นมีประวัติการบริโภคถั่วเหลืองฝักสดมาเป็นเวลานาน ประมาณ 1,000 ปี ตามหลักฐาน คนญี่ปุ่นเริ่มบริโภคถั่วเหลืองฝักสดในพิธีทางศาสนา ตั้งแต่ปี พ.ศ. 1470 ความนิยมมีมากขึ้น จนปัจจุบันมีการบริโภคถั่วเหลืองฝักสดแช่แข็ง (ทั้งเปลือก) ปีละประมาณ 140,000 ตัน เป็นการผลิตได้เองปีละประมาณครึ่งหนึ่งจึงต้องนำเข้าจากต่างประเทศ (Kitamura, 2001) ถั่วเหลืองฝักสดแช่แข็งเป็นที่นิยมมาก เนื่องจากอยู่ในสภาพพร้อมรับประทาน มีคุณภาพดี และรสชาติดี (ทั้งหวาน มัน และเค็มเล็กน้อย) ญี่ปุ่นนำเข้าถั่วเหลืองฝักสดแช่แข็งจากไทยประมาณร้อยละ 13 ของปริมาณนำเข้าเป็นอันดับที่ 3 รองจากจีน และได้หัน การผลิตถั่วเหลืองฝักสดภายใน ประเทศญี่ปุ่น ที่นิยมมาก คือ cha mame (brown edamame) เป็นพวกที่มีเปลือกเมล็ดแก่สีน้ำตาล อีกพวกหนึ่ง คือ kuromame (black edamame) เป็นพวกที่มีเปลือกเมล็ดแก่สีดำ ทั้ง cha mame และ kuro mame การผลิตปีละประมาณร้อยละ 10 ของปริมาณการผลิตในประเทศญี่ปุ่น นอกจากนี้พวก dada chamame และ cha kaori เป็นกลุ่มพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดที่มีกลิ่นหอม พันธุ์และเมล็ดพันธุ์ของถั่วเหลืองฝักสดดังกล่าวผลิตโดยภาคเอกชน ในอนาคตภาคเอกชนของไทยอาจเจาะตลาดกลุ่มนี้ได้ (สมศักดิ์, 2547)

ประเทศสหรัฐอเมริกาเริ่มนำเข้าถั่วเหลืองฝักสดในช่วงปี 2523-2538 เนื่องจากคนอเมริกันที่มีเชื้อสายเอเชีย (Lin, 2001) มีความต้องการบริโภคถั่วเหลืองฝักสด ต่อมาในปี 2540 องค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (FDA) ประกาศควมมีคุณค่าทางอาหารของถั่วเหลืองช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ ทำให้ชาวอเมริกันให้ความสนใจการบริโภคถั่วเหลืองกันมาก ในช่วงปี 2538-2542 การบริโภคถั่วเหลืองฝักสดขยายตัวปีละร้อยละ 20 ส่งผลให้มีการนำเข้าถั่วเหลืองฝักสดเพิ่มขึ้นถึงประมาณ 10,000 ตัน (ในปี 2543) เป็นการนำเข้าจากไทยประมาณ 800 ตัน เป็นอันดับ 3 ของประเทศนำเข้าถั่วเหลืองฝักสดคาดว่าจะการนำเข้าถั่วเหลืองฝักสดของสหรัฐอเมริกาจะสูงขึ้นถึง 25,000 ตัน ในช่วงปี 2548-2550 การบริโภคถั่วเหลืองฝักสดของประชาชนอเมริกันมีหลากหลาย มีทั้งฝักสดและเมล็ดสดแช่แข็ง หรือในรูปเมล็ดสด (ไม่แช่แข็ง) นอกจากนี้มีจำหน่ายในรูปของเมล็ดสดบรรจุกระป๋องและในรูปเมล็ดสดอบแห้ง (roasted soynuts) ความนิยมบริโภคเมล็ด ถั่วเหลืองฝักสดมีมากขึ้นเรื่อยๆ ในรูปของการประกอบอาหาร เช่น ข้าวผัด โรยบนข้าว โรยบน ice cream, ice candy สลัด และ soft drink และความนิยมบริโภคถั่วเหลืองฝักสดอินทรีย์มีมากขึ้นตามลำดับ (สมศักดิ์, 2547)

ลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative trait loci , QTL)

การศึกษาลักษณะทางปริมาณ (quantitative trait loci , QTL) ลักษณะที่แสดงออกที่ปรากฏส่วนใหญ่ในพืชจะเป็นลักษณะทางปริมาณ คือ มียีนหลายตัว (polygene) ควบคุมการแสดงออกทางลักษณะ และสภาพแวดล้อมจะมีผลต่อการแสดงออกสูง การทำ QTL mapping จะทำให้ทราบตำแหน่งของยีนแต่ละตัวว่าอยู่บนโครโมโซมใด และมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะนั้นอย่างไร (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2551) และความสำคัญของ QTL ในแง่การปรับปรุงพันธุ์มีส่วนเกี่ยวข้องกับใกล้ชิดกับการทำแผนที่ (mapping) และกำหนดจุด (marking) ซึ่งหากเราทราบถึงหมู่ของหน่วยพันธุกรรมที่มีผลต่อการแสดงผลทางลักษณะด้านต่างๆได้เราก็สามารถเคลื่อนย้ายหมู่ยีนเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ได้โดยใช้วิทยาการทางพันธุวิศวกรรม (Bloggang, 2550)

อัตราพันธุกรรม (heritability)

การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของลักษณะเชิงคุณภาพและลักษณะเชิงปริมาณจากพ่อแม่สู่ลูกนั้น จะเกิดขึ้นได้เมื่อมีการผสมพันธุ์ ทั้งผสมข้ามและผสมตัวเอง

และสามารถวัดค่าได้จากสัดส่วนความแปรปรวนที่เนื่องมาจากอัตราพันธุกรรม (σ^2_G) ของลักษณะนั้น กับสัดส่วนของความแปรปรวนทั้งหมดที่เกิดขึ้นเนื่องจากพันธุกรรมร่วมกับสภาพแวดล้อม ที่แสดงออกร่วมกันในลักษณะที่ปรากฏ (σ^2_P) สัดส่วนนี้คือ อัตราพันธุกรรม หรือ Heritability ซึ่งเป็นค่าบ่งชี้ถึงการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของลักษณะนั้นๆ จากพ่อแม่ไปยังลูก แสดงได้ทั้งในรูปสัดส่วนและในรูปของเปอร์เซ็นต์ที่แตกต่างกันไปตามประชากรที่ศึกษาและลักษณะบางลักษณะมีค่าสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งลักษณะที่สังเกตเห็นได้ชัดเจน เช่น ลักษณะของดอกถั่วเหลืองเขียวใหม่ 60 ซึ่งมีสีขาว เมื่อปลูกพันธุ์นี้แล้วปล่อยให้ผสมตัวเอง จากชั่วที่ 2 เป็นชั่วที่ 3 (F_2 - F_3) ลูกชั่วที่ 3 ก็ยังคงมีดอกสีขาวเห็นเด่นชัด ถึงแม้ว่าจะนำไปปลูกในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันไป แสดงว่า ลักษณะนี้ถ่ายทอดไปได้มาก เห็นชัดเจนทำให้คัดเลือกง่ายและอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมมีผลต่อลักษณะนี้น้อย ในทางตรงกันข้าม ถ้าวัดลักษณะของผลผลิตต่อต้นของลูกชั่วที่ 3 ก็จะได้ผลผลิตไม่เท่ากับพ่อแม่ชั่วที่ 2 ส่วนใหญ่จะทำให้ผลผลิตลดลง เพราะอิทธิพลของสภาพแวดล้อม ดิน น้ำ และอุณหภูมิ ที่แตกต่างกัน ซึ่งมีผลต่อองค์ประกอบทางพันธุกรรม แสดงว่า ลักษณะนี้ถ่ายทอดพันธุกรรมไปได้น้อย ไม่ชัดเจนทำให้คัดเลือกยากและอิทธิพลของสภาพแวดล้อมมีผลต่อลักษณะนี้ค่อนข้างมาก ดังนั้น อัตราพันธุกรรมจึงเป็นตัวกำหนดความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์ของประชากรศึกษาของลักษณะนั้นๆ ว่ามีโอกาสเพิ่มหรือลดลักษณะนั้นๆ โดยการคัดเลือกให้มีความก้าวหน้าไปได้มากน้อยเพียงไร ในการวัดค่าอัตราพันธุกรรม จำเป็นต้องทราบค่าความแปรปรวนที่เนื่องมาจากพันธุกรรมและความแปรปรวนเนื่องจากสภาพแวดล้อม ตลอดจนความแปรปรวนทั้งหมด ซึ่งหาได้จากแผนการผสมพันธุ์และการปลูกทดสอบรุ่นลูก ในแผนการทดลองที่มีซ้ำ แล้ววิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) (ประวิตร, 2548) อัตราพันธุกรรม (heritability) แบ่งได้ 2 แบบ ตามที่มาของความแปรปรวนทางพันธุกรรม ได้แก่ อัตราพันธุกรรมแบบกว้าง (broad sense heritability) เป็นอัตราพันธุกรรมที่เกิดจากสัดส่วนของความแปรปรวนทางพันธุกรรมทั้งหมดโดยไม่ได้แยกรายละเอียดว่าเป็นแบบบวกสะสมหรือเป็นแบบผลข่มต่อความแปรปรวนของลักษณะนั้นที่สังเกตได้ทั้งหมด หากเป็นการทดลองเปรียบเทียบลักษณะของรุ่นลูกในสภาพแวดล้อมเดียว ค่าอัตราพันธุกรรมก็จะคำนวณได้ ดังนี้

$$h^2 = \sigma^2_G / \sigma^2_P$$

$$= \sigma^2_G / (\sigma^2_G + \sigma^2_E)$$

อัตราพันธุกรรมอีกแบบหนึ่งคือ อัตราพันธุกรรมแบบแคบ (narrow sense heritability) เป็นอัตราพันธุกรรมที่เกิดจากสัดส่วนของความแปรปรวนเนื่องจากยีนแบบบวกสะสม ต่อความแปรปรวนของลักษณะนั้นที่สังเกตได้ทั้งหมด หากเป็นการทดลองเปรียบเทียบลักษณะ ของรุ่นลูกในสภาพแวดล้อมเดียว ค่าอัตราพันธุกรรมก็จะคำนวณได้ ดังนี้

$$h^2 = \sigma_A^2 / \sigma_P^2 \\ = \sigma_A^2 / (\sigma_G^2 + \sigma_E^2)$$

อัตราพันธุกรรมแบบแคบนี้มีประโยชน์มากในการปรับปรุงพันธุ์ เพราะความแปรปรวนเนื่องมาจากปฏิกิริยาของยีนแบบบวกสะสม (σ_A^2) ควบคุมการถ่ายทอดลักษณะเชิงปริมาณไปสู่ลูกหลาน ซึ่งส่วนใหญ่เป็นลักษณะที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่ง Additive gene action เป็นคุณสมบัติของยีนที่ถ่ายทอดไปสู่ลูกหลาน หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า คุณค่าการผสมพันธุ์ (breeding value) ส่วน σ_D^2 และ σ_I^2 เป็นคุณสมบัติของจีโนไทป์ (genotype) ซึ่งเปลี่ยนแปลงได้เมื่อมีการแยกแกมีท (gamete) ในการแบ่งเซลล์ และมีผลทำให้ σ_G^2 โดยรวมเปลี่ยนไป (ประวิตร, 2548)

Fehr (1987) พบว่าในการประเมินค่าอัตราพันธุกรรมของประชากรสายพันธุ์แท้ (recombinant inbred line , RIL) ควรใช้อัตราพันธุกรรมแบบแคบ (narrow sense heritability) เนื่องจากประชากรสายพันธุ์แท้มีลักษณะพันธุกรรมเข้าสู่สภาวะโฮโมไซโกซิติ (homozygosity) ทั้งหมด ซึ่งค่าอัตราพันธุกรรมก็จะคำนวณได้ ดังนี้

$$\text{Narrow sense heritability } h^2 = \sigma_g^2 / [\sigma_g^2 + (\sigma_{ge}/e) + \sigma_{e/re}]$$

เครื่องหมายโมเลกุลและการใช้ประโยชน์

ข้อมูลทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตรู้จักในชื่อว่า ยีน (gene) คือ หน่วยพันธุกรรม หรือหน่วยควบคุมลักษณะ เป็นส่วนของดีเอ็นเอที่มีการเรียงตัวแบบเฉพาะตั้งอยู่บนโครโมโซม ประกอบด้วยส่วนที่ควบคุมการแสดงออก (promoter) และส่วนโครงสร้าง (structural) ความแตกต่างของยีนเกิดขึ้นจากการเรียงตัวของลำดับของนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ที่แตกต่างกัน การแสดงออกของยีนจะแสดงออกในรูปของลักษณะทางฟีโนไทป์ (phenotype) ข้อมูลทาง

พันธุกรรมเหล่านี้มีการแสดงออกผ่านทางอาร์เอ็นเอ ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างโปรตีนที่มีความจำเพาะต่อลำดับนิวคลีโอไทด์นั้นๆ ลักษณะต่างๆ ที่ปรากฏในสิ่งมีชีวิตเกิดจากผลรวมของการทำงานร่วมกันของโปรตีนต่างๆ นั่นเอง กระบวนการปรับปรุงพันธุ์เป็นกระบวนการที่ทำการศึกษาและนำเอาลักษณะทางพันธุกรรมต่างๆ ที่ต้องการในสิ่งมีชีวิตมาใช้ จึงมีความจำเป็นที่ต้องใช้เครื่องมือที่มีความแม่นยำในการแยกความแตกต่างของลักษณะที่แสดงออกในสิ่งมีชีวิตในสายพันธุ์ที่แตกต่างกันได้ (อภิชาติ, 2550)

เครื่องหมาย (marker) คือตัวบ่งชี้ที่มีความจำเพาะเจาะจงในด้านต่างๆ ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ได้นำเอาเครื่องหมายที่เป็นเครื่องหมายลักษณะทางด้านการเกษตรต่างๆ มาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการปฏิบัติให้สูงขึ้น ซึ่งเครื่องหมายที่ใช้สามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ดังนี้ (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2550)

เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (morphological markers) เป็นตัวบ่งชี้ทางสัณฐานวิทยา ลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ ลักษณะที่ปรากฏโดยทั่วไปที่สามารถสังเกตได้ ไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือใดๆ เป็นตัวบ่งชี้ เป็นลักษณะที่แสดงออกภายนอก เช่น ลักษณะความสูงของต้นพืชลักษณะสีของดอก ลักษณะความแตกต่างของใบ เป็นต้น

เครื่องหมายทางชีวเคมี (biochemical markers) คือการใช้โมเลกุลทางชีวเคมีเป็นตัวระบุถึงความแตกต่างในพืชที่ทำการศึกษา เช่น การใช้ไอโซไซม์ (isozyme) หรือโปรตีนในการศึกษาพืชต่างชนิดหรือต่างพันธุ์

เครื่องหมายทางโมเลกุล (molecular markers) คือ การใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายในการตรวจสอบถึงความแตกต่างในระดับของยีน หรือดีเอ็นเอในพืชที่เราทำการศึกษา ซึ่งมีความถูกต้องแม่นยำ และมีความจำเพาะมากกว่าเครื่องหมายชนิดอื่น

เครื่องหมายโมเลกุล หรือเครื่องหมายดีเอ็นเอ คือ ลำดับเบสช่วงหนึ่งบนโครโมโซมซึ่งสามารถบ่งบอกตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งบนโครโมโซมที่ตรวจสอบได้ และมีการถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูกได้ ซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยอาศัยเทคนิคการเพิ่มขยายดีเอ็นเอในหลอดทดลองหรือเทคนิคพีซีอาร์

การศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุล (molecular genetics) ซึ่งเป็นการศึกษาถึงถึงความแตกต่างระดับโมเลกุลของยีนที่ทำหน้าที่เป็นส่วนควบคุมการแสดงออกของลักษณะต่างๆ ในสิ่งมีชีวิต จึงมีประโยชน์ที่จะนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ การใช้เครื่องหมายระดับโมเลกุล (molecular markers) เป็นการดีเอ็นเอเพื่อเป็นเครื่องหมายในการตรวจสอบในระดับของยีน หรือดีเอ็นเอ ถูกนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชในหลายๆ ด้าน เช่น

นำมาใช้ในการแยกสายพันธุ์พืช (varietal identification) เป็นการนำเอาเครื่องหมายโมเลกุลมาใช้เป็นตัวกำหนดสายพันธุ์ หรือแยกสายพันธุ์ ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพถูกต้องแม่นยำ นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้ในการรวบรวมสายพันธุ์ และใช้ศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์

การนำเอาเครื่องหมายโมเลกุลมาใช้ในการทำแผนที่ทางพันธุกรรม (genetic mapping) และการหาตำแหน่งของยีน (gene tagging) เป็นการกำหนดตำแหน่งบนจีโนม เพื่อเป็นการวางแผนผังในจีโนม และนำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการหาตำแหน่งของยีนที่ควบคุมลักษณะตามที่ต้องการว่าอยู่บนตำแหน่งใดของโครโมโซม นำมาใช้ในการแยกยีน และเพิ่มจำนวน (clone) ให้ได้ปริมาณตามที่ต้องการ เพื่อประโยชน์ในการนำมาใช้ในการส่งถ่ายเข้าสู่พืชที่ปราศจากยีน ซึ่งเป็นวิธีในการปรับปรุงพันธุ์อีกวิธีหนึ่ง (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2550)

การเพิ่มประสิทธิภาพของการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม (conventional breeding) โดยที่เครื่องหมายโมเลกุลจะวางตัวอยู่ในบริเวณที่มียีนที่เราต้องการ ทำให้สามารถลดขั้นตอนในการคัดเลือก จึงทำการคัดเลือกต้นพืชที่มียีนที่แสดงลักษณะตามที่ต้องการ โดยไม่ต้องรอการแสดงออกทางฟีโนไทป์ที่จะนำมาใช้ในการคัดเลือก เพราะเครื่องหมายโมเลกุลจะไม่ถูกควบคุมการแสดงออกโดยสภาพแวดล้อม ไม่ขึ้นกับระยะเวลาการเจริญของพืช ทำให้สามารถทำการตรวจสอบได้ในทุกระยะเวลาของการเจริญเติบโต จึงทำให้สามารถลดระยะเวลา ลดค่าใช้จ่าย และเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพที่จะใช้ในแผนการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2550) การทำพันธุ์วิศวกรรม เพื่อหายีนที่ควบคุมลักษณะที่สนใจ นำมาเพิ่มปริมาณ และทำการใส่ยีนที่ต้องการ จะทำให้พืชแสดงออกในลักษณะที่ถูกควบคุมโดยยีนที่ทำการใส่เข้าไป รวมถึงการใช้กลไกการทำงานของ antisense RNA ในการยับยั้งการแสดงออกของยีนในพืชที่ทำการปรับปรุงพันธุ์ โดยใส่ยีนที่มีการกลับทิศทางกับยีนที่ต้องการยับยั้งการแสดงออก ทำให้พืชมีการผลิตอาร์เอ็นเอที่เป็นสายคู่สมกับอาร์เอ็นเอของยีนที่ต้องการยับยั้งการแสดงออก ทำให้เกิดการเข้าคู่กันของอาร์เอ็นเอ ไม่เกิดการสร้างโปรตีน พืชจึงไม่สามารถแสดงลักษณะนั้นๆ ได้ จึงถูกนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชอีกในวิธีหนึ่ง (อภิชาติ, 2550)

เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ (simple sequence repeat)

เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ หรือ Microsatellite หมายถึง ขนาดสั้นดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกันของจำนวนชุดของลำดับเบสซ้ำๆ เรียงต่อกันหัวสลับหาง ซึ่งพบกระจายอยู่ภายในสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตชนิดยูคาริโอต ชนิดของเบสซ้ำได้แก่ ซ้ำสองเบส (di-nucleotide

repeat) เช่น AT ซ้ำสามเบส (tri- nucleotide repeat) เช่น AAC และ ซ้ำสี่เบส (tetra-nucleotide repeat) เช่น GTAC เป็นต้น โดยทั่วไปเบสซ้ำเหล่านี้มักมีลำดับเบสที่จำเพาะอยู่บริเวณรอบๆ ซึ่งเราสามารถสร้างชิ้นดีเอ็นเอที่เริ่มต้นจำลองตัวที่เข้าคู่ได้กับเบสจำเพาะเหล่านี้ ผลจากปฏิกิริยา ลูกโซ่จำลองตัวเพื่อเพิ่มปริมาณของลำดับเบสซ้ำเหล่านั้นคือชิ้นดีเอ็นเอขนาดต่างๆ ซึ่งแสดงถึงความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ได้ เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์นับเป็นเครื่องหมายโมเลกุล ที่ได้รับการพัฒนามาที่สุด สามารถตรวจสอบความหลากหลายได้มากกว่าเครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอฟแอลพี (restriction fragment length polymorphism ; RFLP) ทั้งยังตรวจสอบผลได้ง่าย และใช้สารพันธุกรรมเริ่มต้นเพียงปริมาณน้อย ดังนั้นจึงนับเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความเหมาะสมที่สุดในการทำเอกลักษณ์พันธุกรรมโดยใช้หลักการพีซีอาร์ (polymerase chain reaction) ผลผลิตของการทำพีซีอาร์นั้นจะนำไปแยกขนาดโดยใช้ polyacrylamide gel electrophoresis ซึ่งความแตกต่างแต่ละต้นในประชากรนั้นเกิดจากความแตกต่างของจำนวนเบสซ้ำในแต่ละต้น คุณสมบัติที่สำคัญของโมเลกุลเครื่องหมายชนิดนี้ก็คือ ความจำเพาะเจาะจงของตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมายบนจีโนม และจำนวนของ allelic form ที่สามารถตรวจสอบได้นอกจากนั้นโมเลกุลเครื่องหมายชนิดนี้ยังเป็นชนิดข่มร่วม (codominant) จึงสามารถตรวจสอบตำแหน่งที่เป็นพันธุ์ทาง (heterozygous) ได้ (อภิชาติ, 2550)

เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ได้ถูกนำมาใช้ในการทำแผนที่ยีน การจำแนกพันธุ์พืช และการศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์ประชากร เนื่องจากเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่มีระดับของความแปรปรวนสูง พบการกระจายอยู่ทั่วไปในจีโนมของสิ่งมีชีวิตชั้นสูง สามารถตรวจสอบได้ง่าย Cregan *et al.* (1999) ได้ทำแผนที่เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ซึ่งปัจจุบันมีมากกว่า 700 ตำแหน่งบน 20 กลุ่มลิงเกจของจีโนมถั่วเหลือง จากรายงานของ Brummer *et al.* (1997) จำแนกและติดตามเครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับลักษณะองค์ประกอบโปรตีนและน้ำมันในเมล็ดถั่วเหลือง พบว่า มี QTL 10 ตำแหน่ง ที่ควบคุมน้ำมันในเมล็ด ซึ่งตั้งอยู่บนกลุ่มลิงเกจ A2 B1 D1 F G และ H และพบ QTL 13 ตำแหน่ง ที่ควบคุมลักษณะองค์ประกอบโปรตีนในเมล็ดถั่วเหลือง ซึ่งตั้งอยู่บนกลุ่มลิงเกจ A1 A2 B2 C2 E G I J และ L Maughan *et al.* (2000) ได้จำแนกเครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอฟแอลพี เอสเอสอาร์ และ อาร์เอฟดี ที่วางอยู่ใกล้กับกลุ่มของยีนที่ควบคุมองค์ประกอบของน้ำตาลซูโครสของเมล็ดซึ่งเป็นลักษณะเชิงปริมาณ พบว่าสามารถอธิบายความแปรปรวนของเครื่องหมายได้ร้อยละ 6.1 ถึง 12.4 และค่าผลรวมของความแปรปรวนทั้งหมดมีค่าร้อยละ 53.0

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย (Materials and Methods)

ประชากรที่ใช้ทำแผนที่โครโมโซม (mapping population)

ประชากรที่ใช้ทำแผนที่โครโมโซม (mapping population) ใช้ประชากรสายพันธุ์แท้ (recombinant inbred lines, RILs) ที่มีการกระจายตัว จำนวน 92 สายพันธุ์ จากคู่ผสมระหว่าง ถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ที่ใช้ปลูกเป็นการค้าซึ่งปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมของประเทศไทยได้ดี ได้แก่ พันธุ์ AGS292 กับสายพันธุ์ที่ได้จากการทดลอง (experimental line) สายพันธุ์ (G8891 x G7945) 31-3-5-5 หรือ K3 ที่มีองค์ประกอบโปรตีนในเมล็ดสูง องค์ประกอบน้ำมันในเมล็ดต่ำ สร้างประชากรสายพันธุ์แท้โดยใช้วิธีการประยุกต์ single seed descent

เครื่องมืออุปกรณ์และสารเคมี

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ ได้แก่ เครื่องอิเล็กโตรโฟรีซิส เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR) เครื่องสองแถบดีเอ็นเอ ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต เครื่องหมุนเหวี่ยง เครื่องชั่งละเอียด กล้องดิจิทัล กล้องจุลทรรศน์ ไมโครปีเพดต์ ปีกเกอร์ ปากคีบ ทิป เป็นต้น

สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอและทำปฏิกิริยา ได้แก่ 2xCTAB chloroform-isoamyl alcohol, isopropanol, 75% ethanol with 10 mM ammonium acetate, 75% ethanol, TE buffer, 0.5 EDTA (pH 8.0), TE-dye, TAE buffer, *Taq* DNA polymerase, dNTPs, MgCl₂, Forward primer, Reverse primer, PCR buffer, Loading dye, Ethidium bromide และน้ำกลั่น เป็นต้น

การศึกษาลักษณะทางการเกษตร

ปลูกทดสอบประชากรและพันธุ์พ่อแม่ในแปลงทดลอง สาขาพืชสวนระดับ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ เพื่อศึกษาลักษณะทางการเกษตรที่สนใจในฤดูฝน ปี 2551 ระหว่างวันที่ 16 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2551 ถึง วันที่ 20 เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2551 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete

block design, RCBD) จำนวน 2 ซ้ำ ใช้ประชากรสายพันธุ์แท้ 92 สายพันธุ์ ขนาดแปลงทดลอง กว้าง 1 เมตร ยาว 3 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลง 50 เซนติเมตร ระยะปลูก 20x50 เซนติเมตร จำนวน 1 แถว/พันธุ์

การปลูก หยอดเมล็ดพันธุ์หูลุมละ 2 - 3 เมล็ด หยอดเมล็ดพันธุ์เล็กประมาณ 2 - 3 เซนติเมตร แล้วกลบบาง ๆ หลังปลูก 14 วัน ถอนต้นถั่วให้เหลือเพียง 1 ต้นต่อหลุม

การให้ปุ๋ย แบ่งการใส่ปุ๋ยเป็น 3 ครั้ง คือ ครั้งแรกใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ หลังปลูก 14 วัน ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ผสมกับปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ หลังปลูก 28 วัน และครั้งที่ 3 ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ผสมกับปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ หลังปลูก 45 วัน โดยโรยข้างแถวปลูกแล้วพรวนดินกลบ

การให้น้ำ ให้น้ำหลังจากหยอดเมล็ดพันธุ์ที่ และให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ 7-10 วันต่อครั้ง ให้น้ำทุกครั้งหลังการให้ปุ๋ย และต้องไม่ให้ถั่วเหลืองฝักสดขาดน้ำในระยะติดฝัก เพราะว่าช่วงนี้ถ้าถั่วเหลืองฝักสดขาดน้ำจะทำให้ฝักและเมล็ดมีคุณภาพผลผลิตที่ต่ำ การให้น้ำจะให้แบบตามร่อง

การกำจัดวัชพืช พ่นสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอก และการกำจัดวัชพืชด้วยมือ 3 ครั้ง คือ ครั้งแรกหลังปลูก 14 วัน ครั้งที่ 2 หลังปลูก 28 วัน และครั้งที่ 3 หลังปลูก 45 วัน การป้องกันและกำจัดแมลง พ่นสารฆ่าแมลงเมื่อมีการระบาดของแมลงในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

การบันทึกข้อมูล

1. องค์ประกอบน้ำมันในเมล็ด (oil content)
2. องค์ประกอบกรดไขมัน (fatty acid) palmitic (16:0), Stearic (18:0), Oleic(18:1), Linoleic(18:2), และ Linolenic (18:3),

การวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำมันและกรดไขมันในเมล็ด

วิเคราะห์องค์ประกอบน้ำมันและกรดไขมันในเมล็ดแห้งที่ มหาวิทยาลัยฮอกไกโด ประเทศญี่ปุ่น โดยเก็บตัวอย่างเมล็ดแห้งสายพันธุ์แท้ จำนวน 92 สายพันธุ์และพันธุ์พ่อแม่ที่ปลูกทดสอบในแปลงทดลองสาขาพืชสวนประดับ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ สายพันธุ์ละ 5 ต้นๆ ละ 1 เมล็ด จำนวน 2 ซ้ำ โดยใช้บริเวณส่วนกลางของเมล็ดแต่ละเมล็ดบดละเอียดเป็นผงแล้วนำมารวมน้ำหนักเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำมันในเมล็ด

การประเมินค่าอัตราพันธุกรรม (heritability, h^2)

วิเคราะห์หาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และการกระจายตัวของลักษณะในประชากร และประเมินค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบ (narrow-sense heritability, h^2) เนื่องจากประชากรที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้เป็นประชากรสายพันธุ์แท้ที่อยู่ในสภาพ homozygous แล้ว ซึ่งแสดงถึงอัตราส่วนระหว่างความแปรปรวนอันเนื่องมาจากปฏิกริยาของยีนแบบบวกสะสม (additive genetic variance, σ_a^2) ซึ่งไม่มีความแปรปรวนเนื่องจากการข่มของยีน (dominant genetic variation, σ_d^2) ซึ่งสามารถประเมินค่าได้จากสมการ Fehr (1987) ดังนี้

$$h^2 = \sigma_a^2 / [\sigma_a^2 + (\sigma_d^2 / r)]$$

โดยกำหนดให้ σ_a^2 = ความแปรปรวนทางพันธุกรรม

σ_d^2 = ความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

r = จำนวนซ้ำ

การวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker analysis)

สกัดดีเอ็นเอพันธุ์พ่อแม่และประชากรสายพันธุ์แท้ด้วยวิธีการประยุกต์ของ Doyle and Doyle (1987) การวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ (simple sequence repeat, SSR) โดยสำรวจความแตกต่างของเครื่องหมายโมเลกุลในพันธุ์พ่อแม่ และนำเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่างในพันธุ์พ่อแม่มาวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมกับประชากรสายพันธุ์แท้

การทำปฏิกิริยาพีซีอาร์

ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยเตรียมสารละลายในหลอดทดลองปริมาตร 25 ไมโครลิตร โดยมีส่วนประกอบดังนี้ คือ ดีเอ็นเอแม่พิมพ์ 3 ไมโครลิตร (30 นาโนกรัม) forward primer 1.25 ไมโครลิตร (0.25 ไมโครโมลลาร์) reverse primer 1.25 ไมโครลิตร (0.25 ไมโครโมลลาร์) Master mix (Taq DNA polymerase, dNTPs, MgCl₂ buffer และ dye) 12.5 ไมโครลิตร และน้ำ

กลั่น 7 ไมโครลิตร อุณหภูมิที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ ระยะแรกใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที 1 รอบ ต่อด้วยระยะ denaturation ใช้อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที ระยะ annealing ใช้อุณหภูมิ 48 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที ระยะ extension ใช้ อุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที จำนวน 32 รอบ ระยะสุดท้ายใช้อุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 1 รอบ

การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยนำผลผลิต (PCR products) มาทำอิเล็กโตรโฟรีซิสบนอะกาโรสเจล ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที ย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) บันทึกภาพภายใต้ แสงอัลตราไวโอเล็ต เพื่อตรวจหาความแตกต่าง (polymorphisms) ของขนาดอัลลีลและการ กระจายตัวในประชากร สายพันธุ์แท้ บันทึกผลโดยให้สายพันธุ์แท้ที่มีอัลลีลที่เหมือนพันธุ์แม่ AGS292 เป็นอัลลีล A และอัลลีลที่เหมือนสายพันธุ์พ่อ K3 เป็นอัลลีล B

การสืบค้นความเชื่อมโยงของเครื่องหมายโมเลกุลกับลักษณะที่สนใจ โดยใช้ โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ เพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และวิเคราะห์ความเชื่อมโยง ระหว่างลักษณะกับเครื่องหมายโมเลกุลด้วยวิธี Single Factor Analysis of Variance (SF-ANOVA) และการวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression)

ใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ บน 20 กลุ่มลิงเกจ (molecular linkage group) ที่มีการทำแผนที่ไว้โดย Cregan *et al.* (1999) โดยทำการสุ่มคัดเลือกเครื่องหมายดีเอ็นเอ แบบเอสเอสอาร์ในแต่ละกลุ่มลิงเกจ ให้กระจายทั่วทั้งจีโนม บางส่วนของเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบ เอสเอสอาร์ ได้มีการวิเคราะห์หาขนาดของอัลลีล (allele size) ของพันธุ์พ่อแม่ไว้แล้ว โดยใช้เครื่อง วิเคราะห์ลำดับเบสอัตโนมัติ (DNA sequencer) เครื่องหมายดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่างของอัล ลีลในแต่ละตำแหน่ง (locus) ในพันธุ์พ่อแม่ก็จะนำไปใช้วิเคราะห์ความเชื่อมโยงของลักษณะต่าง ๆ ในประชากรสายพันธุ์แท้ต่อไป

การสืบค้นความเชื่อมโยงของเครื่องหมายโมเลกุลกับลักษณะที่สนใจ

สืบค้นความเชื่อมโยงของเครื่องหมายโมเลกุลกับลักษณะองค์ประกอบน้ำมันและ กรดไขมันโดยใช้วิเคราะห์การกระจายตัวของประชากรในลักษณะองค์ประกอบน้ำมันและกรด ไขมันในเมล็ด จากการปลูกทดสอบในฤดูฝน ปี 2551 นำสายพันธุ์แท้จำนวน 92 สายพันธุ์ ร่วมกับ พันธุ์พ่อแม่ มาวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ โดยใช้เครื่องหมายที่แสดงความ แตกต่าง (polymorphisms) ในพันธุ์พ่อแม่แล้ววิเคราะห์ความเชื่อมโยงของเครื่องหมายโมเลกุลกับ

ลักษณะดังกล่าวด้วยวิธี Single-Factor Analysis of Variance (SF-ANOVA) และยืนยันความเชื่อมโยงโดยวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับลักษณะที่ศึกษา

การวิเคราะห์ข้อมูล

สร้างแผนที่โครโมโซมโดยใช้โปรแกรม GMENDEL ในการจัดกลุ่มลิงเกจ โดยใช้ค่า LOD score 3 และหาระยะทางระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล ใช้โปรแกรม Mapchart ในการสร้างแผนที่โครโมโซม

ใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ค่าสหสัมพันธ์ (correlation) วิเคราะห์ความเชื่อมโยงระหว่างลักษณะกับเครื่องหมายโมเลกุลด้วยวิธี Single Factor Analysis of variance (SF-ANOVA) และการวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression)

ผลการวิจัย (Results)

การวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำมัน กรดไขมันในเมล็ดและอัตราพันธุกรรม

องค์ประกอบน้ำมันในเมล็ด

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนขององค์ประกอบน้ำมันในเมล็ด ในฤดูฝนปี 2551 พบว่า พันธุ์พ่อแม่และประชากรสายพันธุ์ทั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ระหว่างพันธุ์พ่อแม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และภายในประชากรสายพันธุ์ทั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 1 เมื่อนำมาวิเคราะห์การกระจายตัวของประชากรในฤดูฝนปี 2551 พบว่า ประชากรมีการกระจายตัวแบบปกติ ($P = 0.7489$) ดังแสดงในภาพที่ 1 มีค่าพิสัยอยู่ระหว่างร้อยละ 36.35 ถึง 58.85 ประชากรมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 49.26 พันธุ์ AGS292 มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 54.65 และสายพันธุ์ K3 มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 42.90 ดังแสดงในตารางที่ 3 การประเมินค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบขององค์ประกอบน้ำมันในเมล็ดของประชากรสายพันธุ์แท้ พบว่า มีค่าร้อยละ 65.5

กรดไขมัน Palmitic

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนกรดไขมัน palmitic ในเมล็ด ในฤดูฝนปี 2551 พบว่า พันธุ์พ่อแม่และประชากรสายพันธุ์ทั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ระหว่างพันธุ์พ่อแม่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) และภายในประชากรสายพันธุ์ทั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 1 เมื่อนำมาวิเคราะห์การกระจายตัวของประชากรในฤดูฝนปี 2551 พบว่า ประชากรมีการกระจายตัวแบบปกติ ($P = 0.9595$) ดังแสดงในภาพที่ 2 มีค่าพิสัยอยู่ระหว่างร้อยละ 9.95 ถึง 12.90 ประชากรมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 11.50 พันธุ์ AGS292 มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 12.00 และสายพันธุ์ K3 มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 11.40 ดังแสดงในตารางที่ 3 การประเมินค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบของกรดไขมัน palmitic ในเมล็ดของประชากรสายพันธุ์แท้ พบว่า มีค่าร้อยละ 60.0

กรดไขมัน Stearic

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนกรดไขมัน stearic ในเมล็ด ในฤดูฝนปี 2551 พบว่า พันธุ์พ่อแม่และประชากรสายพันธุ์แท้มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ระหว่างพันธุ์พ่อแม่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) และภายในประชากรสายพันธุ์แท้มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 1 เมื่อนำมาวิเคราะห์การกระจายตัวของประชากรในฤดูฝนปี 2551 พบว่า ประชากรมีการกระจายตัวแบบปกติ ($P = 0.4749$) ดังแสดงในภาพที่ 3 มีค่าพิสัยอยู่ระหว่างร้อยละ 2.00 ถึง 3.70 ประชากรมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 2.72 พันธุ์ AGS292 มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 2.70 และสายพันธุ์ K3 มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 2.65 ดังแสดงในตารางที่ 3 การประเมินค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบของกรดไขมัน stearic ในเมล็ดของประชากรสายพันธุ์แท้ พบว่า มีค่าร้อยละ 70.4

กรดไขมัน Oleic

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนกรดไขมัน oleic ในเมล็ด ในฤดูฝนปี 2551 พบว่า พันธุ์พ่อแม่และประชากรสายพันธุ์แท้มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ระหว่างพันธุ์พ่อแม่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) และภายในประชากรสายพันธุ์แท้มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 2 เมื่อนำมาวิเคราะห์การกระจายตัวของประชากรในฤดูฝนปี 2551 พบว่า ประชากรมีการกระจายตัวไม่ปกติ ($P = 0.0013$) เฉียงไปทางด้านขวา ดังแสดงในภาพที่ 4 มีค่าพิสัยอยู่ระหว่างร้อยละ 17.75 ถึง 58.10 ประชากรมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 30.68 พันธุ์ AGS292 มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 27.15 และสายพันธุ์ K3 มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 27.50 ดังแสดงในตารางที่ 3 การประเมินค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบของกรดไขมัน oleic ในเมล็ดของประชากรสายพันธุ์แท้ พบว่า มีค่าร้อยละ 71.9

กรดไขมัน Linoleic

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนกรดไขมัน linoleic ในเมล็ด ในฤดูฝนปี 2551 พบว่า พันธุ์พ่อแม่และประชากรสายพันธุ์แท้มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ระหว่างพันธุ์พ่อแม่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) และภายในประชากรสายพันธุ์แท้มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 2 เมื่อ

นำมาวิเคราะห์การกระจายตัวของประชากรในฤดูฝนปี 2551 พบว่า ประชากรมีการกระจายตัวไม่ปกติ ($P=0.0014$) เียงไปทางด้านซ้าย ดังแสดงในภาพที่ 5 มีค่าพิสัยอยู่ระหว่างร้อยละ 25.05 ถึง 58.80 ประชากรมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 48.16 พันธุ์ AGS292 มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 51.70 และสายพันธุ์ K3 มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 50.30 ดังแสดงในตารางที่ 3 การประเมินค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบของกรดไขมัน linoleic ในเมล็ดของประชากรสายพันธุ์แท้ พบว่า มีค่าร้อยละ 74.2

กรดไขมัน Linolenic

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนกรดไขมัน linolenic ในเมล็ด ในฤดูฝนปี 2551 พบว่า พันธุ์พ่อแม่และประชากรสายพันธุ์แท้มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) ระหว่างพันธุ์พ่อแม่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และภายในประชากรสายพันธุ์แท้มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 2 เมื่อนำมาวิเคราะห์การกระจายตัวของประชากรในฤดูฝนปี 2551 พบว่า ประชากรมีการกระจายตัวแบบปกติ ($P=0.7162$) ดังแสดงในภาพที่ 6 มีค่าพิสัยอยู่ระหว่างร้อยละ 3.95 ถึง 9.20 ประชากรมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 6.98 พันธุ์ AGS292 มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 6.50 และสายพันธุ์ K3 มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 8.20 ดังแสดงในตารางที่ 3 การประเมินค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบของกรดไขมัน linolenic ในเมล็ดของประชากรสายพันธุ์แท้ พบว่า มีค่าร้อยละ 59.7

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนองค์ประกอบน้ำมัน กรดไขมัน Palmitic และกรดไขมัน Stearic ในเมล็ดของประชากรสายพันธุ์แท้และพันธุ์พ่อแม่ ปลูกทดสอบในฤดูฝน ปี 2551

SOV	df	Mean square		
		องค์ประกอบ น้ำมันในเมล็ด	กรดไขมัน Palmitic	กรดไขมัน Stearic
Blocks	1	22.06	1.36	0.04
Genotypes	93	40.56**	0.75**	0.22**
Parents vs RILs	1	0.93	0.15	0.11
Between Parents	1	138.06*	0.36	0.0025
Between RILs	91	39.92**	0.76**	0.23**
Error	93	16.62	0.38	0.08
Variance components	$\sigma_e^2 =$	15.80	0.29	0.10
	$\sigma_g^2 =$	8.31	0.19	0.04

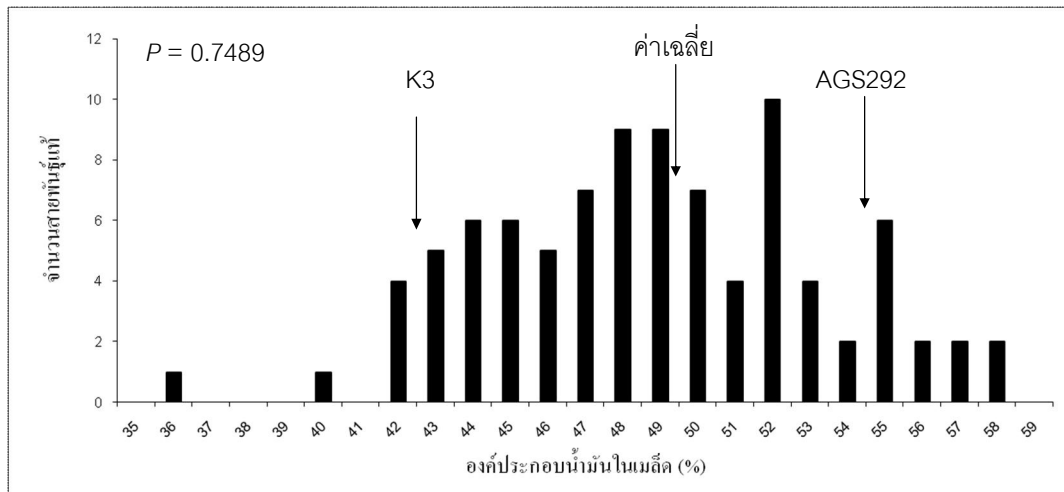
หมายเหตุ * หมายความว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ
 ** หมายความว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนกรดไขมัน Oleic, Linoleic และกรดไขมัน Linolenic
ในเมล็ดของประชากรสายพันธุ์แท้และพันธุ์พ่อแม่ ปลูกทดสอบในฤดูฝน ปี 2551

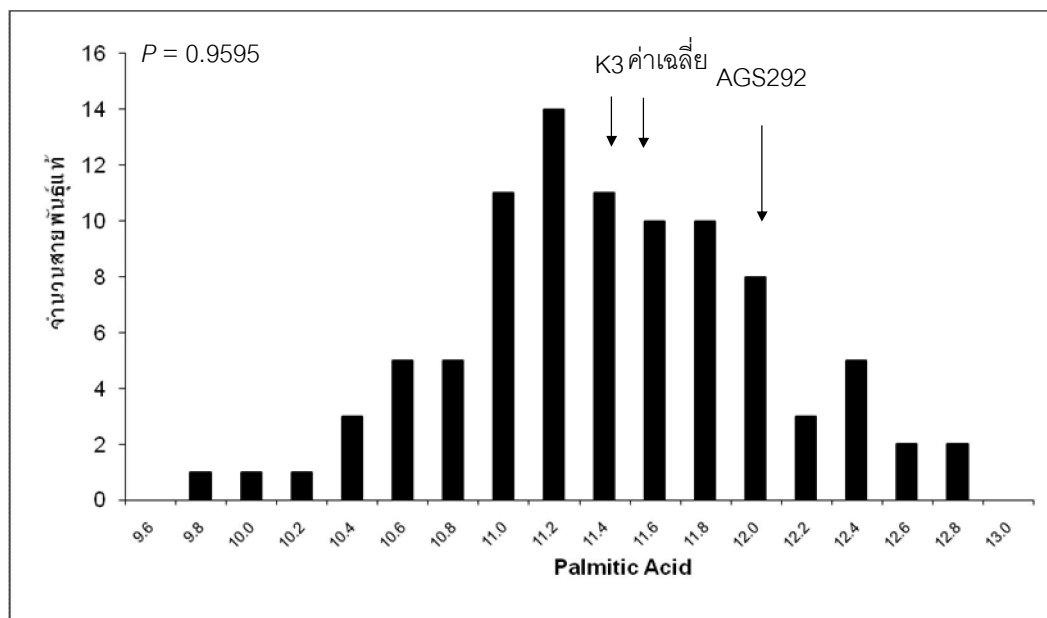
SOV	df	Mean square		
		กรดไขมัน Oleic	กรดไขมัน Linoleic	กรดไขมัน Linolenic
Blocks	1	105.30	60.22	2.21
Genotypes	93	128.17**	89.90**	2.39**
Parents vs RILs	1	44.19	32.50	0.57
Between Parents	1	0.12	1.96	2.89
Between RILs	91	130.50**	91.49**	2.40**
Error	93	42.67	27.16	1.21
Variance components	$\sigma_e^2 =$	54.58	38.95	0.90
	$\sigma_g^2 =$	21.34	13.58	0.60

ตารางที่ 3 แสดงค่าพิสัย ค่าเฉลี่ยประชากรสายพันธุ์แท้ ค่าเฉลี่ยพันธุ์พ่อแม่ และค่าอัตรา พันธุกรรมแบบแคบของประชากรถั่วเหลืองฝักสด ในฤดูฝนปี 2551

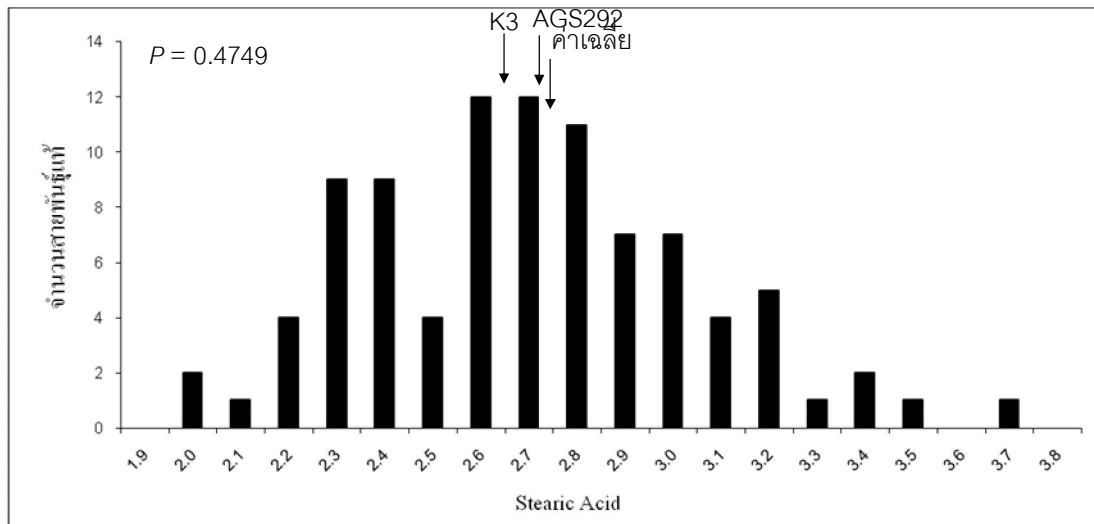
ลักษณะ	ประชากรสายพันธุ์แท้		พันธุ์พ่อแม่		ค่าอัตรา
	ค่าพิสัย	ค่าเฉลี่ย±	AGS292	K3	พันธุกรรม แบบแคบ (%)
		ค่าเบี่ยงเบน			
		มาตรฐาน			
องค์ประกอบน้ำมัน ในเมล็ด (%)	36.35-58.85	49.26±4.47	54.65	42.90	65.5
กรดไขมัน (Fatty Acids,%)					
Palmitic Acid (16:0)	9.95-12.90	11.50±0.61	12.00	11.40	60.0
Stearic Acid (18:0)	2.00-3.70	2.72±0.34	2.70	2.65	70.4
Oleic Acid (18:1)	17.75-58.10	30.68±8.08	27.15	27.50	71.9
Linoleic Acid (18:2)	25.05-58.8	48.16±6.74	51.70	50.30	74.2
Linolenic Acid (18:3)	3.95-9.20	6.98±1.09	6.50	8.20	59.7



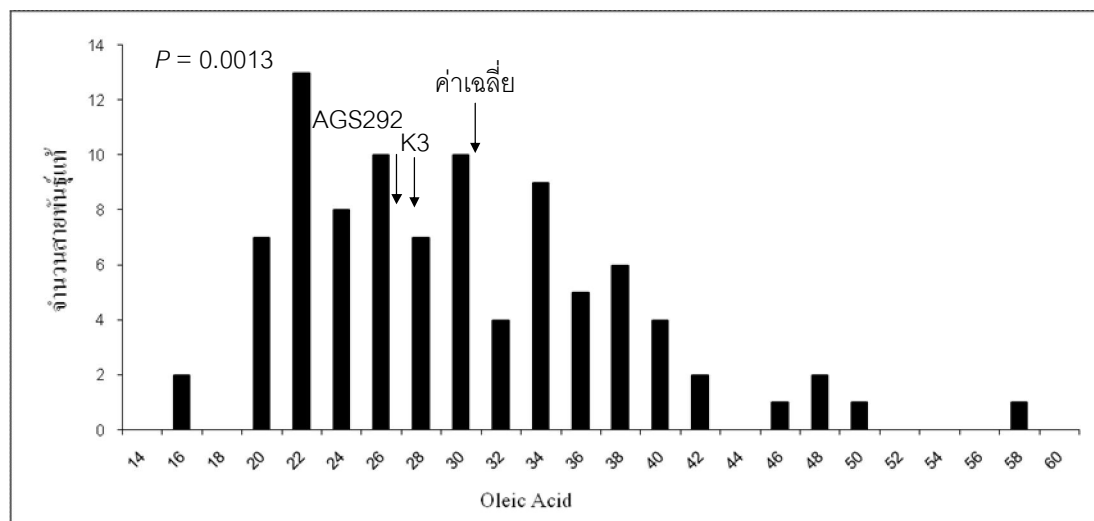
ภาพที่ 1 การกระจายตัวขององค์ประกอบน้ำมันใน เมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ปลูกทดสอบฤดูฝนปี 2551 (ตำแหน่งที่ถูกศรชี้แสดงค่าเฉลี่ยของประชากรและพันธุ์พ่อแม่)



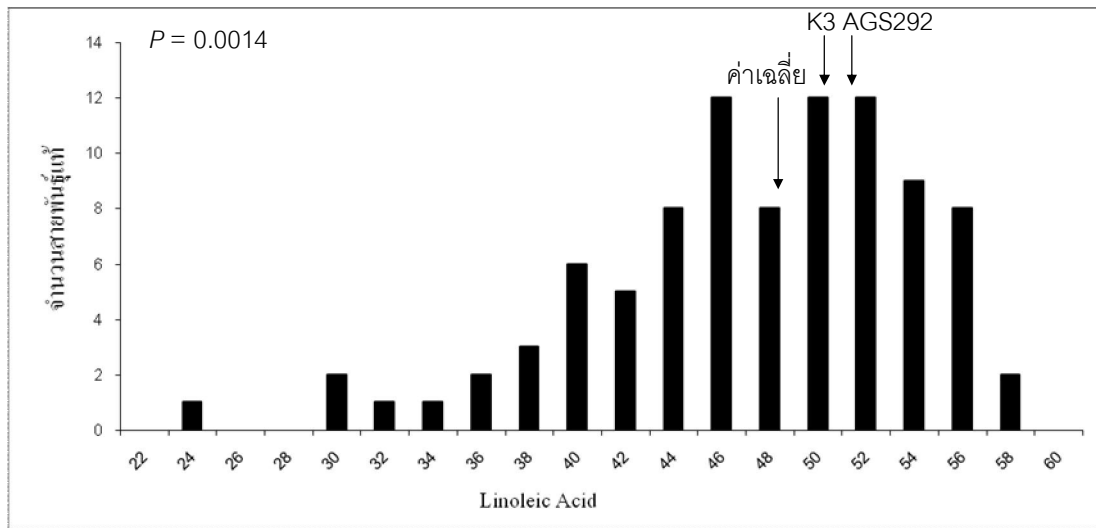
ภาพที่ 2 การกระจายตัวขององค์ประกอบกรดไขมัน Palmitic ใน เมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ปลูกทดสอบฤดูฝนปี 2551 (ตำแหน่งที่ถูกศรชี้แสดงค่าเฉลี่ยของประชากรและพันธุ์พ่อแม่)



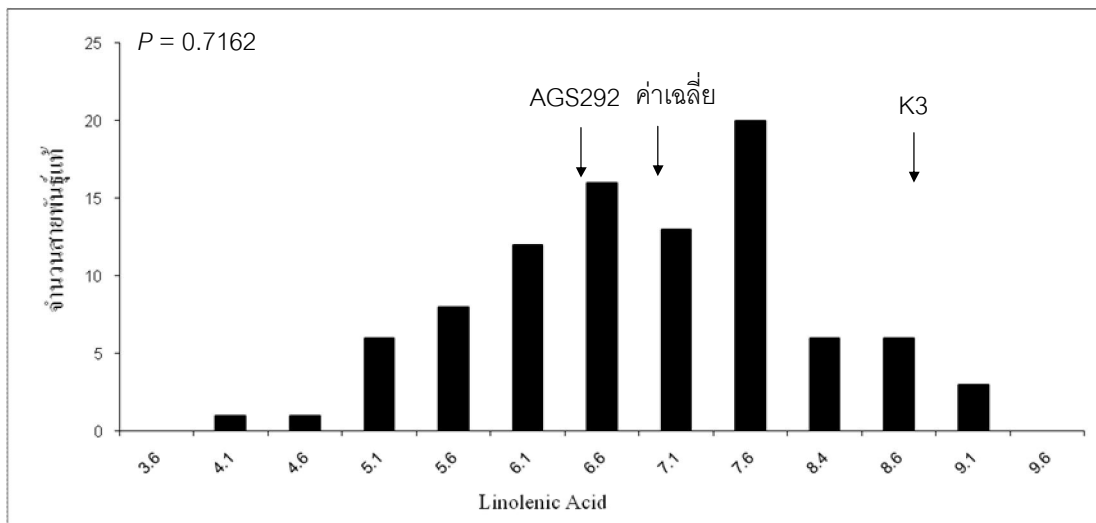
ภาพที่ 3 การกระจายตัวขององค์ประกอบกรดไขมัน Stearic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ปลูกทดสอบฤดูฝนปี 2551 (ตำแหน่งที่ลูกศรชี้แสดงค่าเฉลี่ยของประชากรและพันธุ์พ่อแม่)



ภาพที่ 4 การกระจายตัวขององค์ประกอบกรดไขมัน Oleic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ปลูกทดสอบฤดูฝนปี 2551 (ตำแหน่งที่ลูกศรชี้แสดงค่าเฉลี่ยของประชากรและพันธุ์พ่อแม่)



ภาพที่ 5 การกระจายตัวขององค์ประกอบกรดไขมัน Linoleic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ปลูกทดสอบฤดูฝนปี 2551 (ตำแหน่งที่ลูกศรชี้แสดงค่าเฉลี่ยของประชากรและพันธุ์พ่อแม่)



ภาพที่ 6 การกระจายตัวขององค์ประกอบกรดไขมัน Linolenic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ปลูกทดสอบฤดูฝนปี 2551 (ตำแหน่งที่ลูกศรชี้แสดงค่าเฉลี่ยของประชากรและพันธุ์พ่อแม่)

สหสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบน้ำมันและกรดไขมันในเมล็ด

ค่าสหสัมพันธ์ในประชากรสายพันธุ์ไต้หวันระหว่างองค์ประกอบน้ำมันและกรดไขมันในเมล็ด ดังแสดงในตารางที่ 4 ดังนี้ องค์ประกอบน้ำมันในเมล็ดมีสหสัมพันธ์ทางบวกอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกรดไขมัน palmitic, oleic และกรดไขมัน linoleic แต่มีสหสัมพันธ์ทางลบอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกรดไขมัน stearic กรดไขมัน palmitic มีสหสัมพันธ์ทางบวกอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกรดไขมัน oleic แต่มีสหสัมพันธ์ทางลบอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกรดไขมัน stearic กรดไขมัน stearic มีสหสัมพันธ์ทางลบอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกรดไขมัน oleic และ linoleic กรดไขมัน oleic มีสหสัมพันธ์ทางบวกอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกรดไขมัน linoleic

ตารางที่ 4 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบน้ำมันและกรดไขมันในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ ปลูกในฤดูฝนปี 2551

ลักษณะ	องค์ประกอบ น้ำมัน	กรดไขมัน Palmitic	กรดไขมัน Stearic	กรดไขมัน Oleic	กรดไขมัน Linoleic	กรดไขมัน Linolenic
องค์ประกอบ น้ำมัน		0.31**	-0.64**	0.57**	0.46**	-0.14
กรดไขมัน Palmitic			-0.43**	0.41**	0.11	-0.19
กรดไขมัน Stearic				-0.99**	-0.74**	-0.02
กรดไขมัน Oleic					0.69**	0.07
กรดไขมัน Linoleic						-0.14

หมายเหตุ * หมายความว่า มีสหสัมพันธ์ที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05
 ** หมายความว่า มีสหสัมพันธ์ที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

การสำรวจความแตกต่างทางพันธุกรรมพันธุ์พ่อแม่และการสร้างกลุ่มลิงเกจ

การสำรวจความแตกต่างทางพันธุกรรมของพันธุ์แม่ AGS292 และสายพันธุ์พ่อ K3 เพื่อหาความแตกต่างทางพันธุกรรม (polymorphisms) โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ที่เลือกให้กระจายทั่วทั้งจีโนมทั้งหมด 333 เครื่องหมาย บน 20 กลุ่มลิงเกจ (molecular linkage group, MLG) ทำการวิเคราะห์ขนาดของอัลลีลโดยใช้เครื่องวิเคราะห์ลำดับเบสอัตโนมัติ จำนวน 161 เครื่องหมาย พบว่ามีขนาดของอัลลีลพันธุ์ AGS292 อยู่ระหว่าง 110-294 คู่เบส ส่วนสายพันธุ์ K3 มีค่าอยู่ระหว่าง 76-302 คู่เบส ในเครื่องหมายโมเลกุล Satt055 และ Satt394 ดังแสดงในตารางที่ 5 และการตรวจสอบโดยใช้อะกาโรสเจลความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 172 เครื่องหมาย พบว่ามี 101 เครื่องหมายที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อแม่ จากนั้นนำเครื่องหมายโมเลกุลเหล่านี้มาวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอกับประชากรสายพันธุ์แท้ จำนวน 92 สายพันธุ์ บันทึกผลโดยให้สายพันธุ์แท้ที่มีอัลลีลที่เหมือนพันธุ์แม่ AGS292 เป็นอัลลีล A และอัลลีลที่เหมือนสายพันธุ์พ่อ K3 เป็นอัลลีล B และสร้างแผนที่โครโมโซมจากการใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ที่แสดงความแตกต่างจำนวน 101 เครื่องหมาย พบว่าสามารถสร้างกลุ่มลิงเกจได้ 13 กลุ่ม มี 58 เครื่องหมาย ไม่สามารถจัดกลุ่มได้ (unlinked) ดังแสดงในภาพที่ 7 และตารางที่ 6

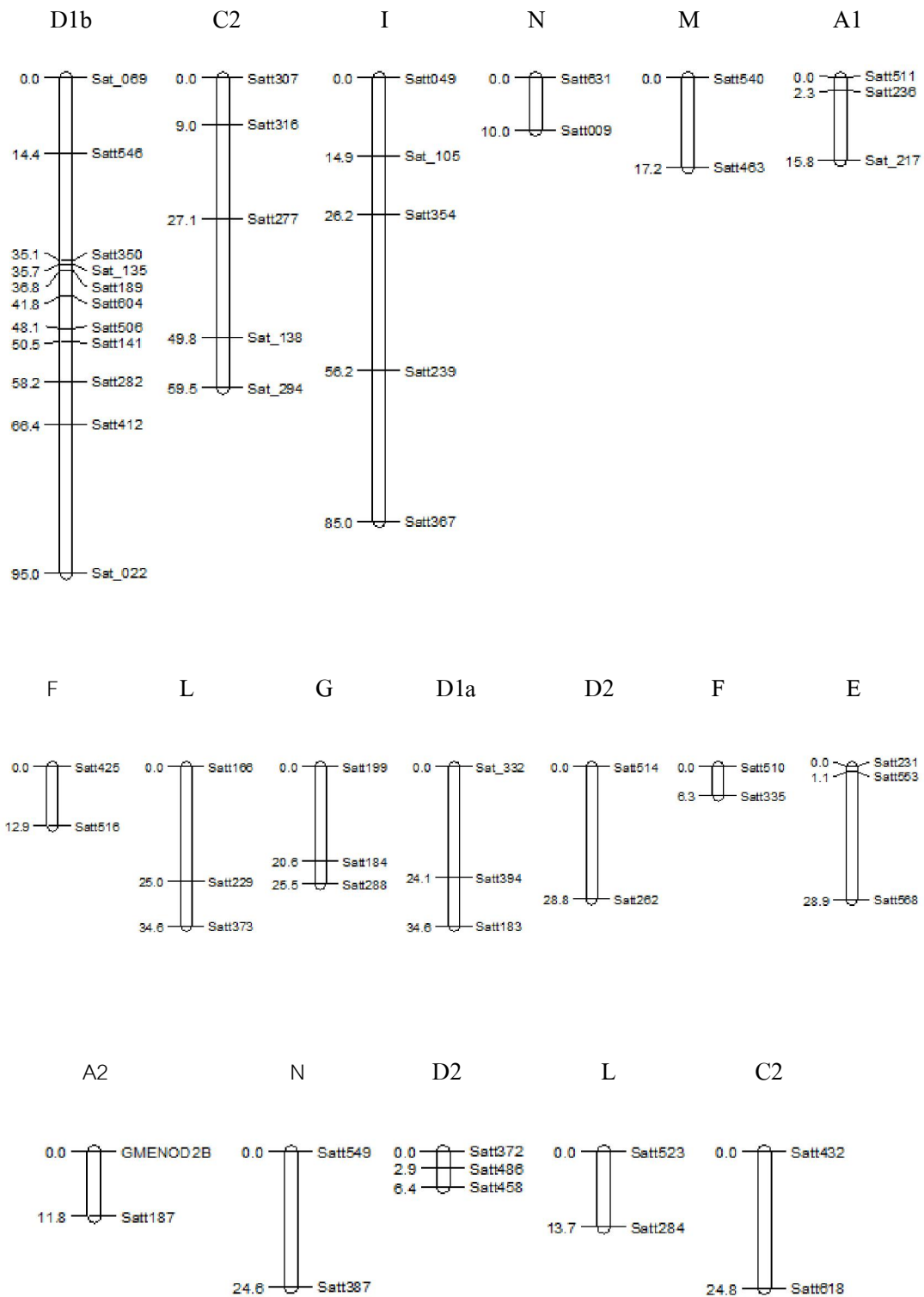
การทดสอบค่าไคสแควร์ในประชากรสายพันธุ์แท้ที่มีการกระจายตัวของอัลลีล บนเครื่องหมายโมเลกุลในแต่ละตำแหน่งจำนวน 101 เครื่องหมาย โดยมีอัตราส่วนตามทฤษฎี คือ 1:1 ซึ่งจากค่าสังเกตเมื่อวิเคราะห์แล้วพบว่า เครื่องหมายโมเลกุลส่วนใหญ่มีการกระจายตัวเป็นไปตามอัตราส่วน 1:1 มีจำนวน 13 เครื่องหมาย ที่ไม่เป็นไปตามอัตราส่วน 1:1 ได้แก่ เครื่องหมายโมเลกุลในตำแหน่ง Sat_347 และ Satt589 บนกลุ่มลิงเกจ A2 Satt277 Satt307 และ Satt316 บนกลุ่มลิงเกจ C2 Sat_069 บนกลุ่มลิงเกจ D1b+W Satt514 บนกลุ่มลิงเกจ D2 Satt720 บนกลุ่มลิงเกจ E Satt394 บนกลุ่มลิงเกจ G Satt571 บนกลุ่มลิงเกจ I Satt242 บนกลุ่มลิงเกจ K Satt166 บนกลุ่มลิงเกจ L Satt477 บนกลุ่มลิงเกจ O ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 5 เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ กลุ่มลิงเกจและขนาดของอัลลีล (คู่เบส) ในพันธุ์พ่อแม่

ตำแหน่ง	กลุ่มลิงเกจ	'AGS292'	'K3'
Satt236	A1	223	238
Satt197	B1	134	182
Satt063	B2	127	106
Satt565	C1	163	190
Satt277	C2	226	180
Satt307	C2	179	168
Satt316	C2	163	204
Satt184	D1a+Q	169	188
Satt005	D1b+W	151	163
Satt546	D1b+W	218	248
Satt350	D1b+W	242	257
Satt041	D1b+W	181	225
Satt141	D1b+W	162	141
Satt157	D1b+W	223	211
Satt045	E	124	137
Satt212	E	139	152
Satt335	F	151	166
Satt516	F	221	255
Satt288	G	246	199
Satt394	G	294	302
Satt568	H	237	246
Satt253	H	145	133
Satt367	I	220	196
Satt354	I	182	235
Satt431	J	224	205

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ตำแหน่ง	กลุ่มลิงเกจ	'AGS292'	'K3'
Satt183	J	242	250
Satt055	K	110	76
Satt373	L	223	268
Satt463	M	126	114
Satt009	N	218	181
Satt387	N	201	210
Satt262	O	255	240
Satt477	O	150	137



ภาพที่ 7 กลุ่มลิงเกจของเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ในประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ จากคู่ผสมถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ AGS292 กับสายพันธุ์ K3

ตารางที่ 6 การจัดกลุ่มลิงเกจของเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ในประชากรสายพันธุ์แท้
จากคู่ผสมถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ AGS292 กับสายพันธุ์ K3

กลุ่มลิงเกจ	ชื่อกลุ่มลิงเกจที่ อ้างอิง	เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์
1	D1b	Sat_069, Satt546, Satt350, Sat_135, Satt189, Satt604, Satt506, Satt141, Satt282, Satt412
2	C2	Satt307, Satt316, Satt277, Satt432
3	I	Satt049, sat_105, Satt354, Satt239, Satt367
4	N	Satt631, Satt009, Satt549, Satt387
5	M	Satt540, Satt463
6	A1	Satt511, Satt236, Sat_217
7	F	Satt425, Satt516, Satt510, Satt335
8	L	Satt166, Satt229, Satt373, Satt523, Satt284
9	G	Satt199, Satt288
10	D1a	Sat_332
11	D2	Satt514, Satt372, Satt486, Satt458
12	O	Satt231, Satt563
13	A2	GMENOD2B, Satt187
Unlinked		Sat_022, Sat_038, Sat_039, Sat_064, Sat_093, Sat_112, Sat_138, Sat_160, Sat_218, Sat_267, Sat_294, Sat_315, Sat_330, Sat_347, Sat_415, Satt045, Satt055, Satt063, Satt132, Satt147, Satt157, Satt179, Satt183, Satt184, Satt197, Satt199, Satt212, Satt230, Satt242, Satt253, Satt262, Satt282, Satt326, Satt341, Satt357, Satt372, Satt394, Satt403, Satt431, Satt442, Satt443, Satt459, Satt477, Satt486, Satt523, Satt561, Satt565, Satt567, Satt568, Satt569, Satt571, Satt585, Satt589, Satt595, Satt618, Satt656, Satt693, Satt720

ตารางที่ 7 การกระจายตัวของเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ 101 เครื่องหมาย ในประชากร ถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ ในการทดสอบค่าไคสแควร์

เครื่องหมาย					
โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	ความถี่อัลลีลของค่าสังเกต		ค่า (χ^2) 1A:1B	ค่า p -value
		AGS 292 (A)	K3 (B)		
Sat_217	A1	45	47	0.0435	0.8348
Sat_267	A1	39	52	3.7143	0.0539
Satt236	A1	47	45	0.0435	0.8348
Satt511	A1	44	51	0.5158	0.4726
GMENOD2B	A2	46	48	0.0426	0.8366
Sat_138	A2	44	44	0.0000	1.0000
Sat_294	A2	53	40	1.8172	0.1776
Sat_347	A2	58	35	11.3763	0.0007
Satt187	A2	39	54	2.4194	0.1198
Satt341	A2	38	57	3.8000	0.0513
Satt589	A2	37	58	4.6421	0.0312
Satt197	B1	50	44	0.3830	0.5360
Sat_064	B2	44	52	0.6667	0.4142
Satt063	B2	44	49	0.2688	0.6041
Satt565	C1	43	49	0.3913	0.5316
Satt277	C2	36	57	4.7419	0.0294
Satt307	C2	31	55	6.6977	0.0097
Satt316	C2	34	53	4.1494	0.0416
Satt357	C2	48	48	0.0000	1.0000
Satt432	C2	38	52	2.1778	0.1400
Sat_160	D1a+Q	41	42	0.0120	0.9126

ตารางที่ 7 (ต่อ)

เครื่องหมาย					
โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	ความถี่อัลลีลของค่าสังเกต		ค่า (χ^2) 1A:1B	ค่า p -value
		AGS 292 (A)	K3 (B)		
Sat_332	D1a+Q	49	47	0.0417	0.8383
Satt147	D1a+Q	44	51	0.5158	0.4726
Satt179	D1a+Q	45	39	0.4286	0.5127
Satt184	D1a+Q	52	42	1.0638	0.3023
Sat_069	D1b+W	59	36	5.5684	0.0183
Sat_135	D1b+W	48	46	0.0426	0.8366
Sat_415	D1b+W	42	54	1.5000	0.2207
Satt141	D1b+W	43	46	0.1011	0.7505
Satt157	D1b+W	47	46	0.0108	0.9174
Satt189	D1b+W	43	48	0.2747	0.6002
Satt282	D1b+W	46	47	0.0108	0.9174
Satt350	D1b+W	44	43	0.0115	0.9146
Satt412	D1b+W	45	46	0.0110	0.9165
Satt459	D1b+W	51	45	0.3750	0.5403
Satt506	D1b+W	41	52	1.3011	0.2540
Satt546	D1b+W	54	40	2.0851	0.1487
Satt604	D1b+W	48	47	0.0105	0.9183
Sat_022	D2	50	42	0.6957	0.4042
Satt372	D2	52	43	0.8526	0.3558
Satt443	D2	48	41	0.5506	0.4581
Satt458	D2	54	39	2.4194	0.1198
Satt486	D2	51	43	0.6809	0.4093
Satt514	D2	59	37	5.0417	0.0247

ตารางที่ 7 (ต่อ)

เครื่องหมาย					
โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	ความถี่อัลลีลของค่าสังเกต		ค่า (χ^2) 1A:1B	ค่า p -value
		AGS 292 (A)	K3 (B)		
Sat_112	E	47	45	0.0435	0.8348
Satt045	E	44	45	0.0112	0.9156
Satt212	E	45	48	0.0968	0.7557
Satt230	E	45	49	0.1702	0.6799
Satt403	E	46	47	0.0108	0.9174
Satt553	E	49	46	0.0947	0.7582
Satt561	E	49	46	0.0947	0.7582
Satt720	E	59	35	6.1277	0.0133
Sat_039	F	46	43	0.1011	0.7505
Satt231	F	45	45	0.0000	1.0000
Satt335	F	48	46	0.0426	0.8366
Satt425	F	57	38	3.8000	0.0513
Satt510	F	51	44	0.5158	0.4726
Satt516	F	50	41	0.8901	0.3454
Satt569	F	50	45	0.2632	0.6080
Satt595	F	50	43	0.5269	0.4679
Satt656	F	51	43	0.6809	0.4093
Sat_315	G	40	51	1.3297	0.2489
Satt199	G	49	43	0.3913	0.5316
Satt288	G	39	45	0.4286	0.5127
Satt394	G	57	36	4.7419	0.0294

ตารางที่ 7 (ต่อ)

เครื่องหมาย					
โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	ความถี่อัลลีลของค่าสังเกต		ค่า (χ^2) 1A:1B	ค่า p -value
		AGS 292 (A)	K3 (B)		
Sat_218	H	52	35	3.3218	0.0684
Satt253	H	46	49	0.0947	0.7582
Satt442	H	51	44	0.5158	0.4726
Satt568	H	44	50	0.3830	0.5360
Sat_105	I	50	41	0.8901	0.3454
Satt049	I	49	41	0.7111	0.3991
Satt239	I	52	43	0.8526	0.3558
Satt354	I	46	43	0.1011	0.7505
Satt367	I	45	46	0.0110	0.9165
Satt571	I	47	27	10.8108	0.0010
Sat_093	J	43	50	0.5269	0.4679
Satt183	J	52	43	0.8526	0.3558
Satt431	J	46	48	0.0426	0.8366
Satt693	J	44	43	0.0115	0.9146
Satt055	K	49	44	0.2688	0.6041
Satt242	K	50	24	18.2703	<.0001
Satt326	K	46	47	0.0108	0.9174
Satt166	L	33	54	5.0690	0.0244
Satt229	L	42	50	0.6957	0.4042
Satt284	L	52	43	0.8526	0.3558
Satt373	L	42	52	1.0638	0.3023
Satt523	L	52	40	1.5652	0.2109
Sat_330	M	45	51	0.3750	0.5403

ตารางที่ 7 (ต่อ)

เครื่องหมาย โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	ความถี่อัลลีลของค่าสังเกต		ค่า (χ^2)	ค่า p -
		AGS 292 (A)	K3 (B)	1A:1B	value
Satt463	M	44	48	0.1739	0.6767
Satt540	M	43	53	1.0417	0.3074
Satt567	M	52	43	0.8526	0.3558
Satt618	M	43	52	0.8526	0.3558
Satt009	N	47	44	0.0989	0.7532
Satt387	N	49	45	0.1702	0.6799
Satt549	N	23	51	0.6809	0.4093
Satt631	N	50	45	0.2632	0.6080
Sat_038	O	48	43	0.2747	0.6002
Satt132	O	38	57	3.8000	0.0513
Satt262	O	47	44	0.0989	0.7532
Satt477	O	59	28	11.046	0.0009
Satt585	O	48	44	0.1739	0.6767

การวิเคราะห์กลุ่มยีนที่ควบคุมลักษณะเชิงปริมาณ

ได้ทำการศึกษาลักษณะเชิงปริมาณที่สำคัญ (quantitative trait loci, QTL) ของ ถั่วเหลืองฝักสดในประชากรสายพันธุ์แท้ (recombinant inbred lines, RILs) ที่มีการกระจายตัว จากคู่ผสมระหว่างถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ที่ใช้ปลูกเป็นการค้าซึ่งปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมของ ประเทศไทยได้ดี ได้แก่ พันธุ์ AGS292 กับสายพันธุ์ทดลอง (experimental line) สายพันธุ์(G8891 x G7945) 31-3-5-5 หรือ K3 ที่มีองค์ประกอบโปรตีนในเมล็ดสูง (seed protein content) โดยทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียว (SF-ANOVA) ของเครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับ

องค์ประกอบน้ำมันและกรดไขมัน การวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความเชื่อมโยงกับลักษณะที่สนใจ ดังนี้

องค์ประกอบน้ำมันในเมล็ด

การวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียว (SF-ANOVA) ของเปอร์เซ็นต์องค์ประกอบน้ำมันในเมล็ดกับเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ ดังแสดงในตารางที่ 8 พบว่ามีความเชื่อมโยงกับกลุ่มลิงเกจ 7 กลุ่ม ได้แก่ B2 D1a+Q D1b D2 H I และ K เครื่องหมายโมเลกุล 9 ตำแหน่ง ที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงความเชื่อมโยงระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลกับลักษณะ ได้แก่ Sat_064 Satt179 Sat_069 Satt443 Sat_218 Sat_105 Satt239 Satt367 และ Satt055 ลักษณะที่แสดงออกในแต่ละตำแหน่งมีค่าความแปรปรวนอยู่ระหว่างร้อยละ 4.5 ถึง 11.1 เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ดังแสดงในตารางที่ 14 พบว่ามี 5 ตำแหน่ง ได้แก่ Satt179 Satt443 Sat_218 Satt239 และ Satt055 ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบน้ำมันในเมล็ด เครื่องหมายโมเลกุล Sat_218 บนกลุ่มลิงเกจ H สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้มากที่สุดร้อยละ 14.7 ไม่พบค่าเฉลี่ยอัลลีลของพันธุ์ K3 ที่แสดงค่าองค์ประกอบน้ำมันในเมล็ด มากกว่าอัลลีลของสายพันธุ์ AGS292 ดังแสดงในตารางที่ 8

กรดไขมัน Palmitic

การวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียว (SF-ANOVA) ของเปอร์เซ็นต์กรดไขมัน palmitic กับเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ ดังแสดงในตารางที่ 9 พบว่า มีความเชื่อมโยงกับกลุ่มลิงเกจ 4 กลุ่ม ได้แก่ D1b E I และ J เครื่องหมายโมเลกุล 6 ตำแหน่ง ที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงความเชื่อมโยงระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลกับลักษณะ ได้แก่ Satt459 Satt045 Satt720 Satt239 Satt367 และ Satt693 ลักษณะที่แสดงออกในแต่ละตำแหน่งมีความแปรปรวนอยู่ระหว่างร้อยละ 5.4 ถึง 10.4 เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ดังแสดงในตารางที่ 15 พบว่ามี 3 ตำแหน่ง ได้แก่ Satt459 Satt239 และ Satt367 ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมันในเมล็ด เครื่องหมายโมเลกุล Satt367 บนกลุ่มลิงเกจ I สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้มากที่สุดร้อยละ 14.2 พบค่าเฉลี่ยอัลลีลของพันธุ์ AGS292 ที่แสดงค่าองค์ประกอบกรดไขมัน palmitic มากกว่าอัลลีลของสายพันธุ์

K3 ในตำแหน่ง Satt459 Satt720 และ Satt693 ส่วนค่าเฉลี่ยอัลลีลของพันธุ์ AGS292 ที่แสดงค่าองค์ประกอบกรดไขมัน palmitic น้อยกว่าอัลลีลของสายพันธุ์ K3 ในตำแหน่ง Satt045 Satt239 และ Satt367 ดังแสดงในตารางที่ 9

กรดไขมัน Stearic

การวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียว (SF-ANOVA) ของเปอร์เซ็นต์กรดไขมัน stearic กับเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ ดังแสดงในตารางที่ 10 พบว่า มีความเชื่อมโยงกับกลุ่มลิงเกจ 6 กลุ่ม ได้แก่ A1 C2 E F G และ I เครื่องหมายโมเลกุล 10 ตำแหน่ง ที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงความเชื่อมโยงระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลกับลักษณะ ได้แก่ Sat_217 Satt236 Satt511 Satt357 Satt403 Satt720 Satt425 Sat_315 Satt239 และ Satt367 ลักษณะที่แสดงออกในแต่ละตำแหน่งมีค่าความแปรปรวนอยู่ระหว่างร้อยละ 4.3 ถึง 10.6 เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ดังแสดงในตารางที่ 16 พบว่ามี 3 ตำแหน่ง ได้แก่ Sat_217 Satt425 และ Sat_315 ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน stearic ในเมล็ด เครื่องหมายโมเลกุล Sat_217 บนกลุ่มลิงเกจ A1 สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้มากที่สุดร้อยละ 17.9 พบค่าเฉลี่ยอัลลีลของพันธุ์ AGS292 ที่แสดงค่าองค์ประกอบกรดไขมัน stearic มากกว่าอัลลีลของสายพันธุ์ K3 ในตำแหน่ง Sat_217 Satt236 Satt511 Satt357 และ Satt720 ส่วนค่าเฉลี่ยอัลลีลของพันธุ์ AGS292 ที่แสดงค่าองค์ประกอบกรดไขมัน stearic น้อยกว่าอัลลีลของสายพันธุ์ K3 ในตำแหน่ง Satt403 Satt425 Sat_315 Satt239 และ Satt367 ดังแสดงในตารางที่ 10

กรดไขมัน Oleic

การวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียว (SF-ANOVA) ของเปอร์เซ็นต์กรดไขมัน oleic กับเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ ดังแสดงในตารางที่ 11 พบว่า มีความเชื่อมโยงกับกลุ่มลิงเกจ 8 กลุ่ม ได้แก่ A1 A2 B2 C2 D2 E I และ N เครื่องหมายโมเลกุล 11 ตำแหน่ง ที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงความเชื่อมโยงระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลกับลักษณะ ได้แก่ Satt511 Sat_217 Satt063 Satt432 Satt372 Satt458 Satt489 Satt720 Satt239 Satt367 และ Satt009 ลักษณะที่แสดงออกในแต่ละตำแหน่งมีค่าความแปรปรวนอยู่ระหว่างร้อยละ 4.1 ถึง 12.3 เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ดังแสดงในตาราง

ที่ 17 พบว่ามี 1 ตำแหน่ง ได้แก่ Sat_217 บนกลุ่มลิงเกจ A1 ที่ เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน oleic ในเมล็ด และสามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้ร้อยละ 13.6 พบค่าเฉลี่ยอัลลีลของพันธุ์ AGS292 ที่แสดงค่าองค์ประกอบกรดไขมัน oleic มากกว่าอัลลีลของสายพันธุ์ K3 ในตำแหน่ง Satt432 Satt372 Satt458 Satt489 Satt239 Satt367 และ Satt009 ส่วนค่าเฉลี่ยอัลลีลของพันธุ์ AGS292 ที่แสดงค่าองค์ประกอบกรดไขมัน oleic น้อยกว่าอัลลีลของสายพันธุ์ K3 ในตำแหน่ง Satt511 Sat_217 Satt063 และ Satt720 ดังแสดงในตารางที่ 11

กรดไขมัน Linoleic

การวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียว (SF-ANOVA) ของเปอร์เซ็นต์กรดไขมัน linoleic กับเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ ดังแสดงในตารางที่ 12 พบว่า มีความเชื่อมโยงกับกลุ่มลิงเกจ 7 กลุ่ม ได้แก่ A1 A2 B2 C2 D2 I และ N เครื่องหมายโมเลกุล 9 ตำแหน่ง ที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงความเชื่อมโยงระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลกับลักษณะ ได้แก่ Satt511 Sat_217 Satt063 Satt432 Satt372 Satt458 Satt486 Satt239 และ Satt009 ลักษณะที่แสดงออกในแต่ละตำแหน่งมีค่าความแปรปรวนอยู่ระหว่างร้อยละ 4.8 ถึง 15.7 เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ดังแสดงในตารางที่ 18 พบว่ามี 3 ตำแหน่ง ได้แก่ Sat_217 Satt063 และ Satt009 ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมันในเมล็ด เครื่องหมายโมเลกุล Sat_217 บนกลุ่มลิงเกจ A1 สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้มากที่สุดร้อยละ 15.4 พบค่าเฉลี่ยอัลลีลของพันธุ์ AGS292 ที่แสดงค่าองค์ประกอบกรดไขมัน linoleic มากกว่าอัลลีลของสายพันธุ์ K3 ในตำแหน่ง Satt511 Sat_217 และ Satt063 ส่วนค่าเฉลี่ยอัลลีลของพันธุ์ AGS292 ที่แสดงค่าองค์ประกอบกรดไขมัน stearic น้อยกว่าอัลลีลของสายพันธุ์ K3 ในตำแหน่ง Satt432 Satt372 Satt458 Satt486 Satt239 และ Satt009 ดังแสดงในตารางที่ 12

กรดไขมัน Linolenic

การวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียว (SF-ANOVA) ของเปอร์เซ็นต์กรดไขมัน linolenic กับเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ ดังแสดงในตารางที่ 13 พบว่า มีความเชื่อมโยงกับกลุ่มลิงเกจ 4 กลุ่ม ได้แก่ A1 C2 D1a และ N เครื่องหมายโมเลกุล 5 ตำแหน่ง ที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงความเชื่อมโยงระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลกับลักษณะ ได้แก่

Satt236 Satt432 Satt179 Satt009 และ Satt631 ลักษณะที่แสดงออกในแต่ละตำแหน่งมีค่าความแปรปรวนอยู่ระหว่างร้อยละ 4.4 ถึง 14.4 เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ดังแสดงในตารางที่ 19 พบว่ามี 2 ตำแหน่ง ได้แก่ Satt179 และ Satt631 ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน linolenic ในเมล็ด เครื่องหมายโมเลกุล Satt631 บนกลุ่มลิงเกจ N สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้มากที่สุดร้อยละ 12.9 พบค่าเฉลี่ยอัลลีลของพันธุ์ K3 ที่แสดงค่าองค์ประกอบกรดไขมัน linolenic มากกว่าอัลลีลของสายพันธุ์ AGS292 ในตำแหน่ง Satt236 Satt432 Satt179 Satt009 และ Satt631 ดังแสดงในตารางที่

ตารางที่ 8 การวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบน้ำมันในเมล็ดของ
ประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ จากคู่ผสมระหว่างพันธุ์ AGS292 และสายพันธุ์ K3
ปลูกในฤดูฝน ปี 2551

เครื่องหมาย โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	P	R^2	ค่าเฉลี่ยอัลลีล	
				AGS292	K3
Sat_064	B2	0.0385	4.5	50.3	48.4
Satt179	D1a+Q	0.0067	10.7	50.6	47.7
Sat_069	D1b	0.0218	11.1	50.9	48.0
Satt443	D2	0.0043	9.0	50.5	47.8
Sat_218	H	0.0097	7.6	50.1	47.7
Sat_105	I	0.0390	6.7	50.1	48.0
Satt239	I	0.0057	7.8	50.4	47.9
Satt367	I	0.0043	8.7	50.6	48.0
Satt055	K	0.0183	5.9	50.3	48.2

ตารางที่ 9 การวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกรดไขมัน Palmitic ในเมล็ดของ
ประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ จากคู่ผสมระหว่างพันธุ์ AGS292 และสายพันธุ์ K3
ปลูกในฤดูฝน ปี 2551

เครื่องหมาย โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	P	R^2	ค่าเฉลี่ยอัลลีล	
				AGS292	K3
Satt459	D1b	0.0204	5.6	11.64	11.35
Satt045	E	0.0417	6.9	11.34	11.62
Satt720	E	0.0022	9.7	11.63	11.25
Satt239	I	0.0031	8.9	11.34	11.70
Satt367	I	0.0017	10.4	11.29	11.68
Satt693	J	0.0308	5.4	11.66	11.39

ตารางที่ 10 การวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Stearic น้ำมันในเมล็ด
ของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ จากคู่ผสมระหว่างพันธุ์ AGS292 และสาย
พันธุ์ K3 ปลูกในฤดูฝน ปี 2551

เครื่องหมาย โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	P	R^2	ค่าเฉลี่ยอัลลีล	
				AGS292	K3
Sat_217	A1	0.0060	10.6	2.81	2.62
Satt236	A1	0.0090	7.3	2.81	2.62
Satt511	A1	0.0134	6.3	2.82	2.65
Satt357	C2	0.0029	9.0	2.83	2.63
Satt403	E	0.0459	4.3	2.67	2.81
Satt720	E	0.0060	7.9	2.79	2.60
Satt425	F	0.0317	4.8	2.67	2.82
Sat_315	G	0.0333	4.9	2.64	2.79
Satt239	I	0.0335	4.7	2.66	2.80
Satt367	I	0.0299	5.1	2.65	2.79

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Oleic ในเมล็ดของ
ประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ จากคู่ผสมระหว่างพันธุ์ AGS292 และสายพันธุ์
K3 ปลูกในฤดูฝน ปี 2551

เครื่องหมาย โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	P	R^2	ค่าเฉลี่ยอัลลีล	
				AGS292	K3
Satt511	A1	0.0389	4.5	28.74	32.08
Sat_217	A2	0.0025	12.3	27.76	32.97
Satt063	B2	0.0364	4.7	28.69	32.08
Satt432	C2	0.0190	6.1	32.90	28.93
Satt372	D2	0.0040	4.4	32.08	28.75
Satt458	D2	0.0105	9.3	32.55	28.27
Satt489	D2	0.0167	6.0	32.39	28.49
Satt720	E	0.0489	4.1	29.42	32.75
Satt239	I	0.0415	6.2	32.37	28.42
Satt367	I	0.0456	4.4	32.51	29.91
Satt009	N	0.0155	9.1	32.99	28.16

ตารางที่ 12 การวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Linoleic ในเมล็ดของ
ประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ จากคู่ผสมระหว่างพันธุ์ AGS292 และสายพันธุ์
K3 ปลูกในฤดูฝน ปี 2551

เครื่องหมาย โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	<i>P</i>	<i>R</i> ²	ค่าเฉลี่ยอัลลีล	
				AGS292	K3
Satt511	A1	0.0160	6.0	50.03	46.78
Sat_217	A2	0.0004	15.7	50.91	45.98
Satt063	B2	0.0112	6.8	50.15	46.75
Satt432	C2	0.0184	6.2	46.29	49.62
Satt372	D2	0.0323	4.8	46.95	49.84
Satt458	D2	0.0094	9.5	46.60	50.16
Satt486	D2	0.0165	6.0	46.73	49.98
Satt239	I	0.0186	5.8	46.82	49.98
Satt009	N	0.0207	8.0	46.37	50.15

ตารางที่ 13 การวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Linolenic ในเมล็ดของ
ประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ จากคู่ผสมระหว่างพันธุ์ AGS292 และสายพันธุ์ K3
ปลูกในฤดูฝน ปี 2551

เครื่องหมาย โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	<i>P</i>	<i>R</i> ²	ค่าเฉลี่ยอัลลีล	
				AGS292	K3
Satt236	A1	0.0424	4.4	6.76	7.22
Satt432	C2	0.0404	4.5	6.76	7.22
Satt179	D1a	0.0193	8.6	6.91	7.26
Satt009	N	0.0024	12.1	6.61	7.35
Satt631	N	0.0001	14.4	6.59	7.43

ตารางที่ 14 การวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่างทางสถิติที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบน้ำมันในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ ปลูกในฤดูฝน ปี 2551

เครื่องหมาย โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	<i>P</i>	Partial R ² (%) ^a
Satt179	D1a+Q	0.0070	7.4
Satt443	D2	0.0047	9.1
Sat_218	H	0.0016	14.7
Satt239	I	0.0021	12.1
Satt055	K	0.0234	4.8
Total variation explained			48.1

Partial R² (%)^a = ค่าประมาณการเปอร์เซ็นต์ความแปรปรวนของลักษณะบางส่วน

ตารางที่ 15 การวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่างทางสถิติที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Palmitic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ ปลูกในฤดูฝน ปี 2551

เครื่องหมาย โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	<i>P</i>	Partial R ² (%) ^a
Satt459	D1b	0.0049	8.8
Satt239	I	0.0492	4.0
Satt367	I	0.0007	14.2
Total variation explained			27.0

Partial R² (%)^a = ค่าประมาณการเปอร์เซ็นต์ความแปรปรวนของลักษณะบางส่วน

ตารางที่ 16 การวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่างทางสถิติที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Stearic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ ปลูกในฤดูฝน ปี 2551

เครื่องหมาย โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	<i>P</i>	Partial R ² (%) ^a
Sat_217	A1	0.0059	17.9
Satt425	F	0.0360	9.1
Sat_315	G	0.0310	8.7
Total variation explained			35.7

Partial R² (%)^a = ค่าประมาณการเปอร์เซ็นต์ความแปรปรวนของลักษณะบางส่วน

ตารางที่ 17 การวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่างทางสถิติที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Oleic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ ปลูกในฤดูฝน ปี 2551

เครื่องหมาย โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	<i>P</i>	Partial R ² (%) ^a
Sat_217	A1	0.0008	13.6
Total variation explained			13.6

Partial R² (%)^a = ค่าประมาณการเปอร์เซ็นต์ความแปรปรวนของลักษณะบางส่วน

ตารางที่ 18 การวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่างทางสถิติที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Linoleic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ ปลูกในฤดูฝน ปี 2551

เครื่องหมาย โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	<i>P</i>	Partial R ² (%) ^a
Sat_217	A1	0.0002	15.4
Satt063	B2	0.0378	4.0
Satt009	N	0.0119	6.3
Total variation explained			25.7

Partial R² (%)^a = ค่าประมาณการเปอร์เซ็นต์ความแปรปรวนของลักษณะบางส่วน

ตารางที่ 19 การวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่างทางสถิติที่เชื่อมโยงกับกรดไขมัน Linolenic ในเมล็ดของประชากรถั่วเหลืองสายพันธุ์แท้ ปลูกในฤดูฝน ปี 2551

เครื่องหมาย โมเลกุล	กลุ่มลิงเกจ	<i>P</i>	Partial R ² (%) ^a
Satt179	D1a	0.0414	4.6
Satt631	N	0.0010	12.9
Total variation explained			17.5

Partial R² (%)^a = ค่าประมาณการเปอร์เซ็นต์ความแปรปรวนของลักษณะบางส่วน

วิจารณ์ผลการทดลอง (Discussion)

การวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำมัน กรดไขมันในเมล็ดและอัตราพันธุกรรม

การกระจายตัวของประชากรสายพันธุ์แท้ขององค์ประกอบน้ำมันในเมล็ด ในฤดูฝนปี 2551 พบว่ามีการกระจายตัวแบบต่อเนื่องดังแสดงในภาพที่ 1 แสดงให้เห็นว่าเป็นลักษณะทางปริมาณสอดคล้องกับรายงานของ Tajuddin *et al.* (2003) ประชากรกระจายตัวแบบปกติ ($P=0.7489$) มีการกระจายตัวที่ดีเด่นและด้อยกว่าพันธุ์พ่อแม่ (transgressive segregation) ซึ่งให้เห็นว่าพันธุ์พ่อแม่มีอัลลีลที่นำลักษณะสูงและต่ำตรงข้ามกัน การประเมินค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบขององค์ประกอบน้ำมันในเมล็ดในประชากรสายพันธุ์แท้ พบว่า มีค่าร้อยละ 65.5 ในขณะที่ Tajuddin *et al.* (2003) ประเมินค่าอัตราพันธุกรรมแบบกว้าง (broad sense heritability) มีค่าค่อนข้างสูงร้อยละ 73-78

การกระจายตัวของประชากรสายพันธุ์แท้ของกรดไขมัน palmitic, stearic, oleic, linoleic และ linolenic ในเมล็ด ในฤดูฝนปี 2551 พบว่ามีการกระจายตัวแบบต่อเนื่องดังแสดงในภาพที่ 2 ถึง 6 แสดงให้เห็นว่าลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะทางปริมาณ องค์ประกอบกรดไขมัน palmitic, stearic และ linolenic ในเมล็ดของประชากรกระจายตัวแบบปกติ ($P>0.05$) ส่วนกรดไขมัน oleic และ linoleic ประชากรกระจายตัวไม่ปกติ ($P<0.05$) การกระจายตัวขององค์ประกอบไขมันในประชากรสายพันธุ์แท้ที่เด่นและด้อยกว่าพันธุ์พ่อแม่ (transgressive segregation) การประเมินค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบขององค์ประกอบกรดไขมันในเมล็ดในประชากรสายพันธุ์แท้ พบว่า มีค่าระหว่างร้อยละ 59.7-74.2 (ตารางที่ 3) อัตราพันธุกรรมในประชากรนี้ค่อนข้างสูง แสดงให้เห็นว่า มีกลุ่มของยีน QTL ที่ควบคุมลักษณะดังกล่าวและสามารถถ่ายทอดได้ง่ายไปสู่ลูกหลาน สายพันธุ์ที่ต้องการปรับปรุงให้มีลักษณะองค์ประกอบน้ำมันและกรดไขมันตามต้องการสามารถใช้วิธีการ single seed descent หรือวิธีคัดเลือกประวัติ (pedigree selection) และวิธีการผสมกลับ (backcross) นอกจากนี้ยังสามารถใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือก (marker-assisted selection) เพื่อคัดเลือกอัลลีลที่นำลักษณะที่ต้องการ

สหสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบน้ำมันและกรดไขมันในเมล็ด

องค์ประกอบน้ำมันในเมล็ดมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับกรดไขมัน palmitic, oleic และกรดไขมัน linoleic แต่มีสหสัมพันธ์ทางลบกับกรดไขมัน stearic และได้มีการยืนยันโดย Tajuddin *et al.* (2003) องค์ประกอบน้ำมันมีสหสัมพันธ์ทางลบกับองค์ประกอบโปรตีนในเมล็ด แต่มีสหสัมพันธ์ในทางบวกกับองค์ประกอบน้ำตาลในเมล็ด (Openshaw and Hadley, 1981; Hymowitz *et al.*, 1972) ในขณะที่องค์ประกอบกรดไขมัน palmitic มีสหสัมพันธ์ทางบวกกับกรดไขมัน oleic แต่มีสหสัมพันธ์ทางลบกับกรดไขมัน stearic เช่นเดียวกันกับกรดไขมัน stearic ที่มีสหสัมพันธ์ทางลบกับกรดไขมัน oleic และ linoleic แต่องค์ประกอบกรดไขมัน oleic มีสหสัมพันธ์ทางบวกกับกรดไขมัน linoleic

การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอกับประชากรโดยใช้อะกาโรสเจลความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 101 ตำแหน่ง พบว่าสามารถสร้างกลุ่มลิงเกจได้ 13 กลุ่ม มี 58 เครื่องหมาย ไม่สามารถจัดกลุ่มได้ และเครื่องหมายโมเลกุลที่วางอยู่บนโครโมโซมในแต่ละกลุ่มลิงเกจสอดคล้องกับที่แผนที่โครโมโซมที่สร้างไว้โดย Cregan *et al.* (1999)

การวิเคราะห์กลุ่มยีนที่ควบคุมลักษณะเชิงปริมาณ

การวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) พบว่ามี 5 ตำแหน่ง ได้แก่ Satt179 Satt443 Sat_218 Satt239 และ Satt055 บนกลุ่มลิงเกจ D1a+Q D2 H I และ K ตามลำดับ ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบน้ำมันในเมล็ด เครื่องหมายโมเลกุล Sat_218 บนกลุ่มลิงเกจ H สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้มากที่สุดร้อยละ 14.7 สอดคล้องกับ Brummer *et al.* (1997) ที่พบว่าบนกลุ่มลิงเกจนี้มียีนอย่างน้อย 3 ตำแหน่งที่ควบคุมองค์ประกอบน้ำมันในเมล็ดและเป็นกลุ่มของยีนหลัก (major QTL) ที่จะนำมาใช้ในการช่วยคัดเลือกให้มีองค์ประกอบน้ำมันสูงขึ้น

พบว่ามีเครื่องหมายโมเลกุล 3 ตำแหน่ง ได้แก่ Satt459 Satt239 และ Satt367 บนกลุ่มลิงเกจ D1a และ I ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน palmitic ในเมล็ด เครื่องหมายโมเลกุล Satt367 บนกลุ่มลิงเกจ I สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้มากที่สุดร้อยละ 14.2 ในขณะที่ Diers and Shoemakers (1992) พบว่ามีกลุ่มลิงเกจ 3 กลุ่ม ได้แก่ B2 J และ D2 ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน palmitic ในเมล็ด

เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ 3 ตำแหน่ง ได้แก่ Sat₂₁₇ Satt425 และ Sat₃₁₅ บนกลุ่มลิงเกจ A1 F G ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน stearic ในเมล็ด เครื่องหมายโมเลกุล Sat₂₁₇ บนกลุ่มลิงเกจ A1 สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้มากที่สุดร้อยละ 17.9 ในขณะที่ Spencer *et al.* (2003) พบเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ 3 ตำแหน่งบนกลุ่มลิงเกจ B2 ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน stearic ในเมล็ดและสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการช่วยคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองให้มีองค์ประกอบกรดไขมัน stearic ในเมล็ดให้สูงขึ้นได้

พบเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ตำแหน่ง Sat₂₁₇ บนกลุ่มลิงเกจ A1 ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน oleic ในเมล็ด และสามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้ร้อยละ 13.6 สอดคล้องกับรายงานของ Diers and Shoemakers (1992)

การวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) พบว่ามี 3 ตำแหน่ง ได้แก่ Sat₂₁₇ Satt063 และ Satt009 ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน linoleic ในเมล็ด บนกลุ่มลิงเกจ A1 B2 และ N ตามลำดับ เครื่องหมายโมเลกุล Sat₂₁₇ สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้มากที่สุดร้อยละ 15.4 จากรายงานของ Diers and Shoemakers (1992) พบกลุ่มลิงเกจหลายกลุ่มที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน linoleic ในเมล็ด แต่ส่วนใหญ่อยู่ที่กลุ่มลิงเกจ A1 B1 และ E

การวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียว (SF-ANOVA) ของเปอร์เซ็นต์กรดไขมัน linolenic กับเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ พบว่า มีความเชื่อมโยงกับกลุ่มลิงเกจ 4 กลุ่ม ได้แก่ A1 C2 D1a และ N เครื่องหมายโมเลกุล 5 ตำแหน่ง โดยเฉพาะกลุ่มลิงเกจ C2 จากรายงานของ Grant *et al.* (2004) พบว่าสามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะร้อยละ 27 เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) พบว่ามี 2 ตำแหน่ง ได้แก่ Satt179 และ Satt631 ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน linolenic ในเมล็ด เครื่องหมายโมเลกุล Satt631 บนกลุ่มลิงเกจ N สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้มากที่สุดร้อยละ 12.9 และ Brummer *et al.* (1995) จำแนกเครื่องหมายโมเลกุล บนกลุ่มลิงเกจ B2 เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน linolenic ที่น่าจะสามารถนำมาใช้ช่วยในการคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองเพื่อลดปริมาณของกรดไขมันชนิดนี้ในเมล็ด

สรุปผลการทดลอง (Summary)

การกระจายตัวขององค์ประกอบน้ำมัน กรดไขมันในเมล็ดของประชากรสายพันธุ์แท้จากคู่ผสมระหว่างพันธุ์ AGS292 กับสายพันธุ์ K3 ส่วนใหญ่มีการกระจายตัวแบบปกติ ($P > 0.05$) ยกเว้นองค์ประกอบของกรดไขมัน oleic และ linoleic การกระจายตัวไม่เป็นแบบปกติ ($P < 0.05$) ลักษณะทั้งหมดที่ศึกษาที่มีการกระจายตัวที่เด่นและด้อยกว่าพันธุ์พ่อแม่ (transgressive segregation)

การประเมินค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบขององค์ประกอบน้ำมันในเมล็ด กรดไขมัน palmitic, stearic, oleic, linoleic และ linolenic มีค่าร้อยละ 65.5, 60.0, 70.4, 71.9, 74.2 และ 59.7 ตามลำดับ พบว่าองค์ประกอบน้ำมันในเมล็ดมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับกรดไขมัน palmitic, oleic และกรดไขมัน linoleic แต่มีสหสัมพันธ์ทางลบกับกรดไขมัน stearic องค์ประกอบกรดไขมัน palmitic มีสหสัมพันธ์ทางบวกกับกรดไขมัน oleic แต่มีสหสัมพันธ์ทางลบกับกรดไขมัน stearic องค์ประกอบกรดไขมัน stearic มีสหสัมพันธ์ทางลบกับกรดไขมัน oleic และ linoleic องค์ประกอบกรดไขมัน oleic มีสหสัมพันธ์ทางบวกกับกรดไขมัน linoleic

การตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมของพันธุ์พ่อแม่ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ที่เลือกให้กระจายทั่วทั้งจีโนมจำนวน 333 เครื่องหมาย พบ 101 เครื่องหมาย ที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อแม่ จากนั้นนำเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่างมาวิเคราะห์หลายพหุดีเอ็นเอกับประชากรสายพันธุ์แท้จำนวน 92 สายพันธุ์ ทำการสร้างกลุ่มลิงเกจได้ 13 กลุ่ม

การวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียว (SF-ANOVA) ของเปอร์เซ็นต์องค์ประกอบน้ำมันในเมล็ดกับเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ พบว่า มีความเชื่อมโยง 9 ตำแหน่งบนกลุ่มลิงเกจ 7 กลุ่ม ได้แก่ B2 D1a+Q D1b D2 H I และ K ลักษณะที่แสดงออกในแต่ละตำแหน่งมีค่าความแปรปรวนอยู่ระหว่างร้อยละ 4.5 ถึง 11.1 เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความเชื่อมโยง พบว่ามี 5 ตำแหน่ง ได้แก่ Satt179 Satt443 Sat_218 Satt239 และ Satt055 ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบน้ำมันในเมล็ด เครื่องหมายโมเลกุล Sat_218 บนกลุ่มลิงเกจ H สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้มากที่สุดร้อยละ 14.7

พบความเชื่อมโยงของเครื่องหมายโมเลกุลกับองค์ประกอบกรดไขมัน palmitic ใน 6 ตำแหน่ง บนกลุ่มลิงเกจ 4 กลุ่ม ได้แก่ D1b E I และ J มีค่าความแปรปรวนอยู่ระหว่างร้อยละ

5.4 ถึง 10.4 เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความเชื่อมโยง พบว่ามี 3 ตำแหน่ง ได้แก่ Satt459 Satt239 และ Satt367 ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน palmitic ในเมล็ด เครื่องหมายโมเลกุล Satt367 บนกลุ่มลิงเกจ I สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้มากที่สุดร้อยละ 14

พบมีความเชื่อมโยงของเครื่องหมายโมเลกุลกับองค์ประกอบกรดไขมัน stearic ใน 10 ตำแหน่ง บนกลุ่มลิงเกจ 6 กลุ่ม ได้แก่ A1 C2 E F G และ I ลักษณะที่แสดงออกในแต่ละตำแหน่งมีค่าความแปรปรวนอยู่ระหว่างร้อยละ 4.3 ถึง 10.6 เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความเชื่อมโยง พบว่ามี 3 ตำแหน่ง ได้แก่ Sat_217 Satt425 และ Sat_315 ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน stearic ในเมล็ด เครื่องหมายโมเลกุล Sat_217 บนกลุ่มลิงเกจ A1 สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้มากที่สุดร้อยละ 17.9

การวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียว (SF-ANOVA) ของเปอร์เซ็นต์กรดไขมัน oleic กับเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ พบว่า มีความเชื่อมโยง 11 ตำแหน่งบนกลุ่มลิงเกจ 8 กลุ่ม ได้แก่ A1 A2 B2 C2 D2 E I และ N ลักษณะที่แสดงออกในแต่ละตำแหน่งมีค่าความแปรปรวนอยู่ระหว่างร้อยละ 4.1 ถึง 12.3 เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่าง พบว่ามี 1 ตำแหน่ง ได้แก่ Sat_217 บนกลุ่มลิงเกจ A1 ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน oleic ในเมล็ด และสามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้ร้อยละ 13.6

การวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียว (SF-ANOVA) ของกรดไขมัน linoleic กับเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ พบว่า มีความเชื่อมโยงกับเครื่องหมายโมเลกุล 9 ตำแหน่ง บนกลุ่มลิงเกจ 7 กลุ่ม ได้แก่ A1 A2 B2 C2 D2 I มีค่าความแปรปรวนอยู่ระหว่างร้อยละ 4.8 ถึง 15.7 เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่าง พบว่ามี 3 ตำแหน่ง ได้แก่ Sat_217 Satt063 และ Satt009 ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน linoleic ในเมล็ด เครื่องหมายโมเลกุล Sat_217 บนกลุ่มลิงเกจ A1 สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะได้มากที่สุดร้อยละ 15.4

การวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียว (SF-ANOVA) ของเปอร์เซ็นต์กรดไขมัน linolenic กับเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ พบว่า มีเครื่องหมายโมเลกุล 5 ตำแหน่ง บนกลุ่มลิงเกจ 4 กลุ่ม ได้แก่ A1 C2 D1a และ N แสดงความเชื่อมโยงระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลกับลักษณะ มีค่าความแปรปรวนอยู่ระหว่างร้อยละ 4.4 ถึง 14.4 เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่าง พบว่ามี 2

ตำแหน่ง ได้แก่ Satt179 และ Satt631 ที่เชื่อมโยงกับองค์ประกอบกรดไขมัน linolenic ในเมล็ด
เครื่องหมายโมเลกุล Satt631 บนกลุ่มลิงเกจ N สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะ
ได้มากที่สุดร้อยละ 12.9

เอกสารอ้างอิง

(References of Literature cites)

- กรมวิชาการเกษตร. 2547. **ฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์ : ถั่วเหลือง**. เอกสารวิชาการ ลำดับที่
30/2547. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 156 น.
- นรีลักษณ์ วรรณสาย, กัลยา เนตรกัลยามิตร และ เอนก โชติญาณวงศ์. 2550. ถั่วเหลืองฝักสด
เพื่อการส่งออก. **จดหมายข่าวผลิใบ** 10(1): 12-15.
- ประวิตร พุธานนท์. 2548. **ไบโอเมตริกส์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช**. เชียงใหม่: ภาควิชาพืช
ไร่ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 238 น.
- มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2550. **โปรตีน**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา
<http://cyberlab.lh1.ku.ac.th/elearn/faculty/veterin/vet69/Biochemistry%20Web%20Job/amino%20and%20pro-tein/protein.htm> (29 กรกฎาคม 2550).
- _____. 2551. **เครื่องหมายโมเลกุลในการปรับปรุงพันธุ์**. [ระบบออนไลน์].
แหล่งที่มา http://dna.kps.ku.ac.th/m-crop/Chapter2_DNA_markers.html (15
สิงหาคม 2551).
- สมโภชน์ โกลมณี. ม.ป.ป. **เอกสารประกอบการสอนวิชาวิเคราะห์คุณภาพผลผลิต**.
เชียงใหม่: ภาควิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรม
การเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 72 น.
- สมศักดิ์ ศรีสมบูรณ์. 2547. **เอกสารประกอบการบรรยาย ในการประชุมทางวิชาการ เรื่อง
การวิจัยและพัฒนาถั่วเหลืองฝักสด**. เชียงใหม่: เครือข่ายวิจัยและพัฒนาพืชไร่ สกว.
คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และภาคเอกชนที่ดำเนินธุรกิจเกี่ยวกับการผลิต
และการค้าถั่วเหลืองฝักสด. 11 น.
- สิริกุล วะสี. 2533. เรื่องเกี่ยวกับถั่วเหลืองฝักสด. **เคหการเกษตร** 14 (8): 19-22.
- อภิชาติ วรรณวิจิตร. 2550. **เครื่องหมายโมเลกุลและการใช้ประโยชน์**. [ระบบออนไลน์].
แหล่งที่มา http://dna.kps.ku.ac.th/m-crop/Chapter2_DNA_markers.html (29 กรกฎาคม
2550).

- สมาคม กาญจนโชติ. 2546. ปลุกถั่วเหลืองฝักสด ลดปัญหาดิน กินอ้อย รสมันมัน. **แม่โจ้ปริทัศน์** 4 (4) : 9-11.
- Brummer, B.D., A.D.Nickell, J.R. Wilcox and R.C. Shoemaker. 1995. Mapping the *Fan* locus controlling linolenic acid content in soybean oil. **J.Hered.** 86:245-247
- Brummer, E.C., G.L. Graef, J. Orf, J.R. Wilcox and R.C. Shoemaker. 1997. Mapping QTL for seed protein and oil content in eight soybean populations. **Crop Sci.** 37:370-378
- Bloggang. 2550. **ลักษณะเชิงปริมาณ (Quantitative Trait Locus ; QTL).** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.bloggang.com/viewdiary.php?id=nahead&month> (15 กรกฎาคม 2550).
- Chotiyangwong, A. and P. Chotiyangwong. 1997. Vegetable Soybeans. pp. 141-150. In **A Guide Book for Field Crops Production in Thailand.**). Bangkok: n.p.
- Cregan, B.P., T. Jarvik and J.E. Specht. 1999. An integrated genetic linkage map of the soybean genome. **Crop Sci.** 39: 1464-1490.
- Diers, B.W. and R.C. Shoemaker. 1992. Restriction fragment length polymorphism of soybean fatty acid content. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 69:1242-1244
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15. อ้างโดย พรพันธ์ ภู่อ้อมพันธ์.
2538. เทคนิคการจำแนกพันธุ์พืชด้วยวิธี Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). น. 39-60. ใน **เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการ เรื่องการตรวจแยกสายพันธุ์พืชด้วย การใช้ Isozyme pattern และ RAPD ครั้งที่ 1 ณ ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.** นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.
- Fehr, W.R. 1987. **Principles of Cultivar Development.** Vol. 1: Theory and technique. New York: Macmillan Publishing Company. 536 p.
- Grant, D., M.I. Imsande and R.C. Shoemaker. 2004. Soybase. The USDA-ARS Soybean Genome Database, <http://soybase.org> (verified February 11, 2004)
- Hymowitz, T., F.I. Collini, J. Panazner and W.M. Walker. 1972. Relationship between the content of oil, protein and sugar in soybean seed. **Agron. J.** 64:613-616

- Kitamura, K. 2001. Recent Edamame Production Information and Research Advances in Japan. pp. 71-74. In T.A. Lumpkin and S. Shanmugasundaram (compilers). **The Second International Vegetable Soybean Conference**. Pullman, WA, USA: Washington State University.
- Lin, F.H. and S.T. Cheng. 2001. Vegetable soybean development for export to Japan: A historical and technical perspective. pp. 87-91. In T. A. Lumpkin and S. Shanmugasundaram (eds). **The Second International Vegetable Soybean Conference**. USA: Washington State University Pullman.
- Maughan, P.J., M.A. Saghai Maroof and G.R. Buss. 2000. Identification of quantitative trait loci controlling sucrose content in soybean (*Glycine max*). **Mol. Breed** 6: 105-111.
- Mohamed, A. 2001. Nutrition and health benefits of vegetable soybean: beyond protein and oil. pp. 131-134. In T.A. Lumpkin and S. Shanmugasundaram (eds). **The Second International Vegetable Soybean Conference**. USA: Washington State University Pullman.
- Openshaw, S.J., and H.H. Hadley. 1981. Selection to modify sugar content in soybean seed. **Crop Sci.** 21:805-808
- Spencer, M.M., V.R. Pantalone, E.J. Meyers, D. Landau-Ellis and D.J. Hyten, Jr. 2003. Mapping the Fan Locus controlling stearic acid content in soybean. **Theor. Appl. Genet.** 106:615-619
- Tajuddin, T., S. Watanabe, N. Yamanaka and K. Harada. 2003. Analysis of quantitative trait loci for protein and lipid contents in soybean seed using recombinant inbred lines. **Breed. Sci.** 53: 133-140

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 เปอร์เซนต์องค์ประกอบน้ำมันและกรดไขมันในเมล็ดถั่วเหลืองของประชากร
สายพันธุ์ที่ปลูกทดสอบในฤดูฝน ปี 2551

RIL No.	องค์ประกอบ น้ำมัน	กรดไขมัน Palmitic	กรดไขมัน Stearic	กรดไขมัน Oleic	กรดไขมัน Linoleic	กรดไขมัน Linolenic
1	57.85	11.30	3.20	27.35	51.60	6.55
2	48.2	12.15	2.55	27.00	49.90	8.40
3	53.7	11.25	2.70	30.30	47.95	7.85
5	43.65	12.45	2.80	30.30	47.30	7.15
6	42.45	12.35	2.85	20.00	57.50	7.2
7	50.05	10.55	2.70	39.55	41.15	6.10
9	47.75	11.40	2.90	23.60	52.85	9.2
10	53.45	11.75	2.35	29.00	50.35	6.55
13	45.85	11.40	3.10	23.35	55.05	7.15
14	48.7	11.85	2.85	26.00	52.05	7.30
19	50.2	11.50	2.60	38.30	41.80	5.8
20	52.6	12.80	3.00	23.20	53.40	7.65
22	52.55	11.60	2.70	30.30	48.55	6.85
23	51.9	11.25	2.30	41.50	39.20	5.75
27	49.75	11.25	3.15	22.80	55.90	6.9
29	50.35	10.50	2.50	36.70	44.20	6.10
31	49.65	11.15	2.75	39.70	41.30	5.15
33	47.2	11.35	2.60	37.35	42.80	7.50
36	48.35	10.40	2.35	37.55	46.10	7.5
37	49.05	11.20	2.25	33.30	47.10	6.20
40	49.35	12.65	2.60	23.55	53.40	7.75
42	56.75	11.05	2.90	38.55	42.55	4.95
44	49.55	11.05	2.25	38.65	41.40	6.6
50	49.3	11.45	2.85	25.70	53.10	6.95
52	44.05	10.65	2.60	34.60	43.70	8.45

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

RIL No.	องค์ประกอบ น้ำมัน	กรดไขมัน Palmitic	กรดไขมัน Stearic	กรดไขมัน Oleic	กรดไขมัน Linoleic	กรดไขมัน Linolenic
53	43.95	11.90	2.90	24.65	53.95	6.60
61	48.45	12.00	2.90	22.25	56.00	6.90
62	52.05	11.90	2.80	32.70	46.35	6.2
65	49.45	10.85	2.65	21.85	57.20	7.40
67	51.1	12.40	2.85	22.85	52.75	9.2
68	45.45	10.05	2.30	58.10	25.05	4.55
74	44.3	11.35	3.50	30.55	48.30	6.25
75	51.85	11.30	2.65	34.45	44.90	6.65
76	54.05	10.30	2.15	49.30	33.00	5.3
77	55.3	11.00	2.75	35.05	45.70	5.50
78	53.35	11.35	2.20	34.10	46.35	6
80	52.65	12.05	2.70	25.15	52.25	7.75
83	52.3	12.15	3.00	17.75	58.40	8.75
84	50.8	10.80	2.25	40.40	41.25	5.00
85	55.6	11.55	3.20	29.45	49.50	6.25
87	52.2	11.10	2.45	31.20	48.25	7.00
88	58.85	10.70	2.30	27.15	51.85	8.00
89	44.25	11.40	2.45	29.85	48.55	7.85
90	54.75	11.10	2.30	49.55	31.45	5.55
91	49.6	11.00	2.60	34.10	46.45	5.85
92	43.35	12.15	3.05	22.40	53.95	8.55
94	45.6	11.35	3.30	24.95	52.60	7.75
95	47.65	11.85	2.70	20.25	56.75	8.45
96	57.65	11.00	2.85	22.25	56.40	7.50
97	45.6	11.35	2.30	34.45	44.20	7.70
98	46.4	10.95	2.05	37.70	42.35	6.90

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

RIL No.	องค์ประกอบ น้ำมัน	กรดไขมัน Palmitic	กรดไขมัน Stearic	กรดไขมัน Oleic	กรดไขมัน Linoleic	กรดไขมัน Linolenic
99	52.6	12.10	2.45	26.35	51.30	7.85
100	47.35	11.45	2.80	26.65	51.25	7.90
103	45.65	11.00	2.85	35.45	44.95	5.80
106	43.9	12.05	3.70	31.40	47.10	5.75
108	47.35	10.90	2.30	43.70	36.45	6.60
112	52.5	11.70	3.00	17.90	58.80	8.60
114	43.4	11.85	3.00	30.55	47.10	7.55
118	42.15	11.15	3.25	32.00	46.80	6.85
123	48.35	11.60	2.95	24.45	53.40	7.60
126	43.6	11.80	2.75	30.85	46.90	7.70
129	48.8	11.90	3.45	21.95	55.55	7.15
131	47.7	11.80	2.65	28.80	50.60	6.15
133	53.2	12.70	2.45	34.35	44.20	6.30
134	46.3	11.75	2.60	27.40	50.55	7.80
138	36.35	11.55	2.00	41.55	37.80	7.10
140	50.5	10.75	2.50	31.30	47.90	7.50
144	46.7	11.75	2.95	33.80	44.65	6.85
149	44.1	11.50	2.70	39.80	40.70	5.30
150	55.7	11.80	3.05	20.55	56.90	7.65
151	41.95	12.50	3.15	24.40	51.05	8.90
152	50.15	9.95	2.35	46.45	35.85	5.45
153	46	11.30	3.00	29.10	49.70	6.85
154	51.75	11.35	2.60	36.15	43.70	6.20
158	54.95	11.45	2.40	41.25	37.95	6.85
159	48.55	11.65	2.45	26.55	52.00	7.30
162	46.3	10.65	2.90	28.40	50.05	7.95

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

RIL No.	องค์ประกอบ น้ำมัน	กรดไขมัน Palmitic	กรดไขมัน Stearic	กรดไขมัน Oleic	กรดไขมัน Linoleic	กรดไขมัน Linolenic
164	40.2	11.10	3.45	50.55	31.00	3.95
165	52.3	11.20	2.50	34.35	45.65	6.30
168	52.45	10.75	2.60	42.50	38.70	5.50
171	45.75	12.30	2.75	22.20	54.20	8.60
176	47.9	12.55	2.70	20.95	56.65	7.20
177	56.75	12.00	2.85	26.95	50.70	7.55
178	55.8	11.75	2.75	23.05	55.15	7.30
180	49.2	12.90	2.45	19.95	56.75	8.00
181	57.95	10.95	2.45	29.50	50.35	6.70
183	50.5	12.20	3.20	31.75	46.65	6.10
185	42.45	11.55	3.10	22.65	53.60	9.10
186	48.65	11.90	2.40	26.15	51.85	7.70
187	44.3	12.50	2.65	21.55	54.85	8.50
188	55	11.70	2.85	24.70	53.45	7.20
190	48.4	11.70	3.20	24.45	54.20	6.50