

ການພັດທະນາແນວພັນເຂົ້າໃໝ່ໂດຍໃຊ້ເຄື່ອງມືທີ່ທັນສະໄໝ

ຈັນທະຄອນ ບົວລະພັນ¹, DAYGON Venea D.², CALINGACION Mariafe N.²,
FITZGERALD Melissa A², Jirawat SANICHON³, Darunee JOTHIYANKOON³,
Rosland MUMM³, HALL Robert D.³, ຄຳຕາ ສຸລິຍະວົງສີ⁴

ບົດຄັດຫຍໍ້

ໂດຍທົ່ວໄປ ການພັດທະນາແນວພັນເຂົ້າ ຕ້ອງໃຊ້ເວລາຢ່າງຕໍ່າສຸດ 6 ຫາ 8 ລ້ານ ເພື່ອໃຫ້ໄດ້ ສາຍພັນໃໝ່ທີ່ສະໝໍ່າສະເໝີ ແລະ ເປັນສາຍພັນບໍລິສຸດ. ຈຸດປະສົງຂອງການສຶກສາຄັ້ງນີ້ ແມ່ນນຳ ໃຊ້ເຄື່ອງມືທີ່ທັນສະໄໝໃນລະດັບພັນທຸກຳມາຄັດເລືອກ ເຊັ່ນ: single nucleotide polymorphism (SNP) ກັບເຄື່ອງໝາຍພັນທຸກຳ (molecular marker) ເພື່ອກວດສອບ allele ທີ່ຕ້ອງການ ແລະ ເຄື່ອງມືໃໝ່ຄັດເລືອກ (phenotyping tool), ເຊິ່ງເຄື່ອງມືດັ່ງກ່າວສາມາດປັບປຸງແນວພັນໃໝ່ໃຊ້ເວລາ ສັ້ນເຂົ້າພຽງແຕ່ປະສົມພັນຕ່າງ 4 ລ້ານ. ການສຶກສາຄັ້ງນີ້ ແມ່ນໄດ້ສ້າງຄູ່ປະສົມພັນເຂົ້າ 2 ປະຊາກອນ ສຳລັບປັບປຸງຄວາມຫອມໃນເຂົ້າ (*Oryza sativa* L.): ປະຊາກອນແມ່ນປະສົມລະຫວ່າງເຂົ້າປະ ເພດອິນດິກາ (indica) ດຽວກັນ ແລະ ຄູ່ປະສົມ ລະຫວ່າງ *indica* ແລະ *tropical japonica*. ສາຍ ພັນເຂົ້າທີ່ປະສົມໄດ້ຈາກຄູ່ທີ 1 ແມ່ນຄັດເລືອກດ້ວຍການໃຊ້ເຄື່ອງໝາຍໂມລະກຸນ ໃນການຄັດເລືອກ (marker assisted selection: MAS) ໂດຍໃຊ້ເຄື່ອງໝາຍໂມລະກຸນຂອງຄວາມຫອມ ແລະ ຄູ່ທີ 2 ແມ່ນຄັດເລືອກຈາກການປະກົດຂອງສານຄວາມຫອມ, ທັງສອງຄູ່ປະສົມຄັດເລືອກຈົນຮອດ BC₄F₂, ສາຍພັນ BC₄F₂ ໄດ້ນຳໄປຄັດເລືອກດ້ວຍວິທີ SNP ແລະ ຄັດເລືອກດ້ວຍການກວດສອບສານຄວາມ ຫອມບົນພື້ນຖານຄວາມຄ້າຍຄືທາງດ້ານລັກສະນະຮູບຮ່າງກັບພໍ່ແມ່ພັນ. ຈາກຜົນການຄົ້ນຄວ້າທົດ ລອງ ເຫັນວ່າ ສາຍພັນທີ່ປັບປຸງໄດ້ແມ່ນຄວາມຄ້າຍຄືຕົວຮັບ (recurrent parent) ເຊິ່ງສາຍພັນປັບປຸງ ທີ່ມີຄວາມຄ້າຍຈາກ <0.1% ເຖິງ 35%. ວິທີການຄັດເລືອກດ້ວຍການໃຊ້ SNP ເປັນເຄື່ອງມືທີ່ສາມາດ ຄັດເລືອກສາຍພັນເຂົ້າ ທີ່ມີຄວາມຫອມ ມີລັກສະນະອື່ນຈາກຕົວໃຫ້ (donor parent) ຕິດມາໜ້ອຍຫຼັງ ຈາກປະສົມພັນຕ່າງພາຍໃນລ້ານທີ 4. ເຄື່ອງມືທາງດ້ານ Metabolite profiling ໄດ້ສະກັດສານລະເບີຍ (volatile blend) ໃນເມັດຈາກພໍ່ແມ່ ແລະ ຈາກສາຍພັນທີ່ປັບປຸງ ໄດ້ສະແດງໃຫ້ເຫັນວ່າ ສາຍພັນ ຄັດເລືອກໄດ້ຈັດໃນກຸ່ມກັບພໍ່ແມ່ພັນ (recurrent parent). ເຕັກນິກທັງສອງ (genotyping ແລະ phenotyping techniques) ສາມາດຮັກສາຄຸນຄ່າທາງພັນທຸກຳໄດ້ຢ່າງສຳເລັດໃນການພັດທະນາ ແນວພັນໄລຍະອັນສັ້ນໆ ໂດຍນຳໃຊ້ເຕັກນິກທາງດ້ານເຄມີ (biochemical and genetic projects) ເພື່ອຄັດເລືອກຄວາມຫອມໃນເຂົ້າ.

ຄຳເຄົ້າ: ເຕັກນິກທາງພັນທຸກຳ ແລະ ດ້ານກາຍຍະພາບ, ການເພີ່ມຈຳນວນນິວເຄຍດຸ່ງວ, ເຄື່ອງໝາຍ ໂມເລກຸນ, ພໍ່ແມ່ພັນໃຊ້ຄືນອີກ, ພໍ່ພັນຕົວໃຫ້, ສາຍພັນລູກທີ່ຮັບລັກສະນະທີ່ຕ້ອງການໄດ້, ສາຍພັນ ໃກ້ບໍລິສຸດ.

¹ສູນຄົ້ນຄວ້າກະສິກຳນາພອກ, ສະຖາບັນ ຄົ້ນຄວ້າ ກະສິກຳ ແລະ ປ່າໄມ້ ແຫ່ງຊາດ, ສປປ ລາວ

²Grain Quality, Nutrition Centre, International Rice Research Institute (IRRI), DAPO 7777 Metro Manila, PHILIPPINES

³Khon Kaen Univ., Khon Kaen, THAILAND

³Plant Research International, P.O. Box 98, 6700AB, Wageningen, PAYS-BAS

⁴Centre for BioSystems Genomics, P.O. Box 98, 6700AB, Wageningen, PAYS-BAS

Rice Population Development Using New Generation Tools

Chanthakhone BOUALAPHAN¹; DAYGON Venea D.²; CALINGACION
Mariafe N.²; FITZGERALD Melissa A²; Jirawat SANICHON³;
Darunee JOTHIYANKOON³; RoslandMUMM³; HALL Robert D.³;
Khamta SOULIYAVONGSY⁴

Abstract

In general, developing introgression lines can take between six to eight generations to reach the desired level of background purity and homozygosity. The objective of this study was to use new generation genome-wide single nucleotide polymorphism (SNP) genotyping, along with a molecular marker for the allele of interest, and a relevant phenotyping tool, to develop research populations within four generations of backcrossing. Two populations were created for future research on aroma in rice (*Oryza sativa* L.), one being derived from two *indica* parents and the other from one *indica* and one tropical *japonica* parent. The same recurrent parent was used for both populations. Single nucleotide polymorphism genotyping of BC₄F₂ progeny previously selected on the basis of either a marker for fragrance or the presence of the fragrant compound, and on the basis of morphological similarity to the recurrent parent, showed that donor introgression ranged from <0.1% up to 35%. Single nucleotide polymorphism genotyping allowed the selection of a set of fragrant lines with minimal additional donor introgression after four generations. Metabolite profiling of the volatile blend in grains from parents and selected introgression lines showed that selected lines clustered with the recurrent parent. These new genotyping and phenotyping techniques enabled valuable genetic stocks to be developed within a short time, for use in biochemical and genetic projects on fragrance in rice.

Key word: *genotyping and phenotyping techniques, single nucleotide polymorphism (SNP), molecular marker, recurrent parent, donor parent, Introgression lines: ILs, near isogenic lines: NILs.*

¹Napork Agriculture Research Center, National Agriculture and Forestry Research Institute, Lao PDR.

²Grain Quality, Nutrition Centre, International Rice Research Institute (IRRI), DAPO 7777 Metro Manila, PHILIPPINES

³Khon Kaen Univ., Khon Kaen, THAILAND

³Plant Research International, P.O. Box 98, 6700AB, Wageningen, PAYS-BAS

⁴Centre for BioSystems Genomics, P.O. Box 98, 6700AB, Wageningen, PAYS-BAS

ບົດນຳ

ສາຍພັນປັບປຸງທີ່ໄດ້ຮັບລັກສະນະທີ່ຕ້ອງການຈາກການຖ່າຍທອດ ຈາກແນວພັນພໍ່ Introgression lines (ILs): ແມ່ນມີຖານທາງດ້ານພັນທຸກຳທີ່ມີຄຸນຄ່າ ເຊິ່ງນຳໃຊ້ຫຼາຍສຳລັບການສຶກສາທາງດ້ານພັນທຸກຳ, ແຕ່ຢ່າງຕ່ຳສຸດໃຊ້ເວລາໃນການປະສົມພັນຕ່າງ (back cross) ຕ້ອງແມ່ນ 6 ລຸ້ນ ເພື່ອໃຫ້ໄດ້ສາຍພັນປັບປຸງໃໝ່ທີ່ໃກ້ຄຽງກັບແມ່ພັນ (recurrent parent), ແຕ່ມີລັກສະນະທີ່ຕ້ອງການຈາກພໍ່ (donor parent) ພຽງລັກສະນະນັ້ນ. ໃນ 2-3 ປີກ່ອນ molecular markers ໄດ້ພົບວ່າເປັນເຄື່ອງມືທີ່ສຳຄັນໃນການພັດທະນາສາຍພັນ ILs ແລະ ສາຍພັນໃກ້ບໍລິສຸດ near isogenic lines (NILs): ທັງສອງ ແມ່ນມີ genes ທີ່ຕ້ອງການ ແລະ ມີຄວາມບໍລິສຸດໃກ້ຄຽງກັບພໍ່ພັນ recurrent parent (Jairin *et al.*, 2009; Keurentjes *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2005; Neeraja *et al.*, 2007). ເຖິງຢ່າງໃດກໍຕາມ, ການນຳໃຊ້ຈຳນວນ markers ທີ່ແຕກຕ່າງກັນໃສ່ກັບສາຍພັນປັບປຸງຈຳນວນຫຼາຍ ໄດ້ເລີ່ມມີລາຄາແພງ. ປະຈຸບັນເຕັກນິກ SNP ໄດ້ເລີ່ມພັດທະນາເຊິ່ງສາມາດຄັດເລືອກສາຍພັນໄດ້ຈຳນວນຫຼາຍ, ປະຍັດກວ່າ ແລະ ສາມາດຄັດເລືອກສາຍພັນໄດ້ລັກສະນະແບບສະເພາະ ບົນພື້ນຖານທີ່ມີຄວາມບໍລິສຸດ (McNally *et al.*, 2006; McNally *et al.*, 2009). ເຕັກນິກດັ່ງກ່າວ ໃນປະຈຸບັນແມ່ນມີແລ້ວສຳລັບໃຊ້ກັບປະຊາກອນທີ່ປະສົມມາຈາກແນວພັນເຂົ້າ *indica* ແລະ *tropical japonica* ເຊິ່ງເປັນໂອກາດໃໝ່ທີ່ໃຊ້ພັດທະນາພັນທີ່ມີຖານພັນທຸກຳດີເພື່ອຄົ້ນຫາໜ່ວຍພັນທຸກຳ (genes) ທີ່ຕ້ອງການໄວໄດ້ ແລະ ມີລາຄາຖືກກວ່າວິທີກ່ອນ.

ຫຼາຍໆປະເທດໃນອາຊີ, ແນວພັນພື້ນເມືອງ ຍັງສືບຕໍ່ປູກ, ສະນັ້ນ ແຜນການປັບປຸງພັນ ແລະ ອອກແນວພັນໃໝ່ ທີ່ມີຜົນຜະລິດສູງ. ແນວພັນພື້ນເມືອງທີ່ມີຢູ່, ຍ້ອນຄຸນນະພາບການກິນດີ ແຕ່ພັດໃຫ້ຜົນຜະລິດຕ່ຳ ແລະ ຍ້ອນວ່າ ມີ

genes ຈຳນວນໜ້ອຍ ທີ່ມີຄຸນລັກສະນະທີ່ຮູ້ກັນ (Fitzgerald *et al.*, 2009). ໃນຂະນະດຽວກັນມີແນວພັນໃໝ່ ເຊັ່ນ: Apo (PSBRc9), ທີ່ມີຜົນຜະລິດສູງໃນເງື່ອນໄຂແຫ້ງແລ້ງ (Venuprasad *et al.*, 2008), ການຍອມຮັບຍັງບໍ່ທັນກວ້າງຂວາງຍ້ອນແນວພັນດັ່ງກ່າວ ຕ້ອງໄດ້ຮັບການຍອມຮັບຈາກຜູ້ບໍລິໂພກກ່ອນ ທີ່ຈະໃຫ້ຊາວນາຍອມຮັບ ແລະ ປູກແນວພັນດັ່ງກ່າວ. ແນວພັນ Apo ໄດ້ຮັບການອອກແນວພັນ ໃນຫຼາຍໆປະເທດ ໃນເຂດອາຊີ, ລວມທັງປະເທດລາວ, ທີ່ສາມາດປູກໃນນາ ແລະ ໄຮ່. ເຖິງແມ່ນວ່າ ແນວພັນດັ່ງກ່າວໃຫ້ຜົນຜະລິດສູງ ແຕ່ຜູ້ບໍລິໂພກສ່ວນຫຼາຍ ແມ່ນບໍ່ຍອມຮັບໃນຄຸນນະພາບການກິນ.

ແນວພັນທີ່ມີຜົນຜະລິດສູງ ແລະ ມີຄຸນນະພາບການກິນທີ່ຍອມຮັບ ແມ່ນມີຢູ່ໃນ ລາວ, ແຕ່ 2 ແນວພັນພື້ນເມືອງ ທີ່ມີຄວາມຫອມ ແລະ ລາຄາແພງ, ຍັງສືບຕໍ່ໃນພື້ນທີ່ທີ່ປູກເຂົ້າເປັນຕົ້ນຕໍ. ແນວພັນໄກ່ນ້ອຍເຫຼືອງ (Kai Noy Leaug: KNL) ແລະ ຫອມນາງນວນ (Hom Nang Nouane: HNN) (Inthapanya *et al.*, 2006). ແຕ່ກ່ອນໂຄງການຄົ້ນຄວ້າເຂົ້າ ແມ່ນມີເປົ້າໝາຍໃນການປະສົມພັນ ແລະ ທົດສອບແບບວິທີທຳມະດາ (conventional breeding), ແຕ່ຍັງບໍ່ທັນສຳເລັດ ໃນການທີ່ຈະລວມເອົາຄວາມຫອມຂອງແນວພັນ KNL ຫຼື HNN ປະສົມໃສ່ແນວພັນທີ່ມີຜົນຜະລິດສູງ. HNN ແມ່ນມີການກາຍພັນ ທີ່ນຳໄປສູ່ການເກີດຄວາມຫອມ (Bounphanousay *et al.*, 2008). ການກາຍພັນນີ້ແມ່ນມີໃນ betaine aldehyde dehydrogenase (BADH2) gene (Bradbury *et al.*, 2005a). ພື້ນຖານພັນທຸກຳຂອງຄວາມຫອມຂອງແນວພັນ KNL ຍັງບໍ່ທັນຮູ້ (Fitzgerald *et al.*, 2008). ຈຸດປະສົງຂອງການສຶກສາຄັ້ງນີ້ ແມ່ນເພື່ອພັດທະນາສາຍພັນ ILs 2 ຄູ່ປະສົມ, ເປັນໄປໄດ້ຕ້ອງໃກ້ຄຽງກັບ NILs, ທີ່ມີກົນໄກຄວາມຫອມ (fragrance pathway) ໃນແຕ່ລະຄູ່, ການນຳໃຊ້ KNL ເປັນຕົວໃຫ້ ຫຼື ພໍ່ພັນ (donor parent) ທີ່ມີຄວາມຫອມ ສຳລັບຄູ່ປະສົມທີ 1 ແລະ HNN

ເປັນຕົວໃຫ້ ຫຼື ພື້ນທີ່ທີ່ມີຄວາມຫອມ ສຳລັບ ອີກຄູ່ປະສົມທີ 2. ສຳລັບທັງສອງຊຸດ, ແນວ ພັນຕົວຮັບ ແມ່ນເລືອກເອົາແນວພັນປັບປຸງ ທີ່ມີ ຜົນຜະລິດສູງ recurrent, ແນວພັນທ່າສະໂນ1 (Thasano1: TSN1). ເຕັກນິກ SNP ທີ່ 384 loci (Thomson *et al.*, In preparation; Zhao *et al.*, 2010) ຈະໄດ້ນຳໃຊ້ໃນປະຊາກອນ BC₄, ເພື່ອຄັດເລືອກສາຍພັນ ທີ່ມີລັກສະນະທີ່ຕ້ອງ ການ ແລະ ມີລັກສະນະຄ້າຍຄືຕົວຮັບ ຫຼື ແນວ ພັນແມ່. ເຊິ່ງເຕັກນິກດັ່ງກ່າວ ປະຈຸບັນຂ້ອນຂ້າງ ມີເສດຖະກິດກວ່າ ແລະ ໃຊ້ເວລາສັ້ນ.

ອຸປະກອນ ແລະ ວິທີການ

ການທົດລອງ

ທັງ 2 ປະຊາກອນ ຂອງ ILs (*Oryza sativa*. L) ໄດ້ພັດທະນາ. ແນວພັນຕົວໃຫ້ ໃນ ຊຸດທຳອິດແມ່ນ HNN, ເຊິ່ງເປັນແນວພັນທີ່ມີ functional nucleotide polymorphism (FNP) ໃນ exon 7 ຂອງ *BADH2*, ແລະ KNL ເປັນແນວພັນຕົວໃຫ້ ໃນຄູ່ທີ 2. ສຳລັບ ທັງ 2 ປະຊາກອນ, ແນວພັນຕົວຮັບ ແມ່ນ TSN1, ເປັນແນວພັນທີ່ມີຜົນຜະລິດສູງ ແຕ່ບໍ່ຫອມ. ຄູ່ປະສົມທຳອິດ ແມ່ນໄດ້ປະສົມໃນລະດູຝົນ 2006 ທີ່ສູນຄົ້ນຄວ້າເຂົ້າ ແລະ ພືດເສດຖະ ກິດ, ສະຖາບັນ ຄົ້ນຄວ້າ ກະສິກຳ ແລະ ປ່າໄມ້ ແຫ່ງຊາດ, ປະເທດລາວ ແລະ ຕໍ່ມາແມ່ນປະ ສົມພັນຄູ່ ທີ 2.

ໃນແຕ່ລະລຸ້ນ, ສາຍພັນລູກຈາກປະຊາ ກອນຄູ່ປະສົມ HNN ໄດ້ມີການຄັດເລືອກ ໂດຍ ໃຊ້ *BADH2* ເພື່ອນຄັດເລືອກໃນເມື່ອກ່ອນ (Fitzgerald *et al.*, 2008). ສາຍພັນລູກ F₁ ແມ່ນສາຍພັນ heterozygous ແລະ ຄັດເລືອກ ເອົາສາຍພັນທີ່ມີຄວາມຫອມ ແລ້ວນຳສາຍພັນ ດັ່ງກ່າວ ປະສົມພັນກັບຄູ່ແນວພັນ TSN1. ຂະ ບວນການດັ່ງກ່າວ ແມ່ນເຮັດໄປຈົນຮອດ 4 ລຸ້ນ. ຫຼັງຈາກນັ້ນ ປ່ອຍໃຫ້ສາຍພັນລຸ້ນລູກ BC₄F₁ ປະ ສົມຕົວເອງເພື່ອໃຫ້ໄດ້ BC₄F₂. ສາຍພັນລູກ

ILs, BC₄F₂ ຈຳນວນ 437 ສາຍພັນ ປູກຢູ່ໃນ ລາວ ໃນລະດູຝົນ 2009. ໃນຊ່ວງທຳອິດຂອງ ການແຕກກຳ, ໄດ້ເກັບເອົາໃບຈາກແຕ່ລະສາຍ ພັນ ເພື່ອມາສະກັດ DNA ແລະ ເກັບກ່ຽວເມື່ອ ສຸກແກ່.

ສຳລັບຊຸດຄູ່ປະສົມ ຂອງ KNL ເປັນ ແນວພັນຕົວໃຫ້, ສາຍພັນທີ່ມີຄວາມຫອມ ທີ່ ໄດ້ຄັດເລືອກ ດ້ວຍການທົດສອບດົມກິ່ນຫາ ສາຍພັນທີ່ມີຄວາມຫອມ (sensory test). ການທົດສອບແມ່ນໃຊ້ໃບ 2 g ຕົ້ມໃນ KOH (1.7%, 10 ml) ເປັນເວລາ 10 ນາທີ. KOH ສາມາດເຮັດໃຫ້ສານ 2-acetyl 1-pyrroline (2AP) ອອກກິ່ນ (Juliano, 1985). ປ່ອຍໃຫ້ ສາຍພັນລູກ BC₄F₁ ປະສົມຕົວເອງ ເພື່ອໃຫ້ໄດ້ BC₄F₂, ສາຍພັນ BC₄F₂ ໄດ້ປູກໃນລະດູຝົນ 2009. ໃນຊ່ວງທຳອິດ ຂອງການແຕກກຳ, ໄດ້ ເກັບເອົາໃບ ຈາກແຕ່ລະສາຍພັນ ເພື່ອມາສະ ກັດ DNA ແລະ ເກັບກ່ຽວເມື່ອສຸກແກ່.

ການວິໄຈສານຄວາມຫອມ 2-acetyl-1-pyrroline (2AP)

ສານຕົ້ນຕໍ ຂອງຄວາມຫອມ ແມ່ນ 2AP, ສານດັ່ງກ່າວ ໄດ້ວິໄຈສາຍພັນລູກ BC₄F₂ ຂອງຄູ່ປະສົມ KNL ເຊິ່ງນຳໃຊ້ໃບເຂົ້າສະກັດ ສານຄວາມຫອມໃນເຄື່ອງວັດແທກ gas chro- matographymass spectrometry (Agilent 6890N gas chromatograph equipped with a 5975N mass selective detector). ສານ 2AP ຖືກສະກັດດ້ວຍການຕົ້ມໃບສົດ 1g ດ້ວຍ ນ້ຳບໍລິສຸດ ໃນເວລາ 30 ນາທີ ທີ່ອຸນຫະພູມ 85°C. ຫຼັງຈາກນັ້ນ ໄດ້ນຳເອົາໃບອອກ ໂດຍ ການໃສ່ dichloromethane ແລະ sodium chloride. ສັ່ນໃຫ້ເຂົ້າກັນ ປະມານ 1 ນາທີ. ຊັ້ນ organic, ທີ່ບັນຈຸ 2AP, ຕອງຜ່ານ anhy- drous sodium sulfate ແລະ ເຮັດໃຫ້ເຂັ້ມຊຸ້ນ ດ້ວຍໄມໂຕຣເຈນແຫຼວ. ຂະບວນການ ແລະ ເງື່ອນໄຂຂອງ GC-MS ແລະ ການສະກັດ 2AP ແມ່ນເໝືອນກັນກັບທີ່ໄດ້ອະທິບາຍ (Kovach *et al.*, 2009).

ການຄັດເລືອກສາຍພັນບໍລິສຸດ NILs

ສ່ວນນຶ່ງຂອງແຕ່ລະປະຊາກອນ BC_4F_2 ໄດ້ນຳມາຄັດເລືອກດ້ວຍ SNP ບົນພື້ນຖານການ genotype ແລະ phenotype ຂອງຄວາມຫອມ ແລະ ຄັດເລືອກຕົ້ນ ທີ່ມີລັກສະນະຄ້າຍຄື TSN1. ສາຍພັນ BC_4F_2 ຈຳນວນ 46 ສາຍພັນທີ່ມີ allele ຄວາມຫອມຈາກ HNN ແລະ ອີກ 45 ສາຍພັນ ທີ່ບໍ່ມີຄວາມຫອມ. ສຳລັບຄູ່ປະສົມ KNL, ນຳໃຊ້ SNP ເພື່ອຄັດເລືອກໄດ້ BC_4F_2 ຈຳນວນ 34 ສາຍພັນ ເຊິ່ງມີຄວາມຫອມທີ່ໄດ້ຈາກການສະກັດດ້ວຍເຄື່ອງ GCMS. DNA ໄດ້ສະກັດຈາກໃບຂອງທຸກໆຕົວຢ່າງ, ເຊິ່ງວິທີການ ແມ່ນໄດ້ອະທິບາຍກ່ອນໃນ (Fulton *et al.*, 1995). DNA ໄດ້ສະກັດໃນປະລິມານ 50 ng/ul ນຳໃຊ້ Nanodrop 1000 (Wilmington, DE, USA). Genotyping ໄດ້ນຳໃຊ້ SNP ທີ່ 384 loci ນຳໃຊ້ Illumina BeadXpress GoldenGate Genotyping Assay (San Diego, CA, USA). SNP ໄດ້ວິໄຈນຳໃຊ້ Alchemy software (Wright *et al.*, 2010). ສັດສ່ວນຂອງ donor introgression ໃນທຸກສາຍພັນ ໄດ້ກຳນົດດ້ວຍການໃຊ້ GGT 2.0: Graphical GenoTyping (van Berloo, 2008).

ການສະກັດສານລະເຫີຍ (volatile compounds) ໃນສາຍພັນທີ່ໄດ້ຄັດເລືອກ

ສາຍພັນທີ່ຄັດເລືອກໄປສະກັດແມ່ນມີຄວາມຫອມ ແລະ ມີລັກສະນະຂອງຕົວໃຫ້ນ້ອຍທີ່ສຸດ. ໄດ້ຄັດເລືອກເອົາ 5 ສາຍພັນ ຈາກຄູ່ປະສົມ HNN ແລະ 6 ສາຍພັນ ຈາກຄູ່ປະສົມ KNL. ຕົວຢ່າງເຫຼົ່ານັ້ນ ແມ່ນປູກຢູ່ລາວເພີ່ມອີກ 2 ລະດູການ ເພື່ອເພີ່ມເມັດພັນ. ເມັດສາຍພັນ 11 ສາຍພັນ ດັ່ງກ່າວ BC_4F_4 ໄດ້ເກັບກ່ຽວ ແລະ ສົ່ງໄປ ສະຖາບັນ ຄົ້ນຄວ້າ ເຂົ້ານາງຊາດ (International Rice Research Institute). ເຂົ້າເປືອກ ໄດ້ແກະເປືອກດ້ວຍ (THU35A 250V 50Hz Test Husker, Satake) ແລະ

ຂັດດ້ວຍ (Grainman 60-230-60-2AT, Grain Machinery Mfg. Corp.). ເຂົ້າສານຂອງແຕ່ລະສາຍພັນ ແລະ ພື້ນຜິວພັນໄດ້ສົ່ງໄປ Plant Research International Wageningen, The Netherlands ເພື່ອວິໄຈຫາສານລະເຫີຍ (volatile compounds). ວິທີການທັງໝົດ ແມ່ນທາງທ້ອງທົດລອງປະເທດດັ່ງກ່າວເປັນຜູ້ເຮັດທຸກຢ່າງ ພຽງແຕ່ສົ່ງຂໍ້ມູນມາໃຫ້.

ຜົນໄດ້ຮັບ

ການພັດທະນາປະຊາກອນ

ຕາຕະລາງ 1 ສະແດງໃຫ້ເຫັນວ່າ ຈຳນວນຕົ້ນທີ່ປະສົມ, ຈຳນວນເມັດທີ່ປູກ ແລະ ຈຳນວນເມັດທີ່ເກັບໄດ້ຂອງທັງ 2 ຄູ່ປະສົມ. ສຳລັບຄູ່ປະສົມ KNL, ສາຍພັນ BC_4F_2 ຈຳນວນ 34 ສາຍພັນ ໄດ້ຄັດເລືອກດ້ວຍການດົມກິ່ນ (sensory test) ແລະ ວິໄຈດ້ວຍ GC ເພື່ອເລືອກເອົາສາຍພັນຫອມ. ສຳລັບຄູ່ປະສົມ HNN, ສາຍພັນ BC_4F_2 ຈຳນວນ 77 ສາຍພັນ ໄດ້ມີຄວາມຫອມ ແລະ ມີ gene ຄວາມຫອມ ແລະ ສ່ວນທີ່ບໍ່ຫອມ ກໍຄັດເລືອກເອົາ.

ຕາຕະລາງ 2 ສະແດງໃຫ້ເຫັນປະລິມານຂອງຄວາມຫອມຂອງແຕ່ລະສາຍພັນ BC_4F_2 ຂອງຄູ່ປະສົມ KNL ດ້ວຍການດົມ. ຂໍ້ມູນທີ່ໄດ້ສະແດງ ແມ່ນຈັດລຳດັບຈາກຄວາມຫອມຫຼາຍຫາຫອມໜ້ອຍ, ທັງໝົດທຸກສາຍພັນທີ່ຄັດເລືອກແມ່ນມີຄວາມຫອມ.

ເຕັກນິກ SNP (SNP profiling)

ຮູບສະແດງ 1 ສະແດງໃຫ້ເຫັນວ່າ SNP profile ຂອງສາຍພັນ BC_4F_2 ທີ່ໄດ້ຄັດເລືອກຂອງຄູ່ປະສົມ HNN, ທຳອິດແມ່ນຄັດເລືອກຄວາມຫອມ ດ້ວຍວິທີກວດສອບທາງພັນທຸກຳຂອງ gene ຄວາມຫອມ chromosome 8, ແລະ ຕໍ່ມາແມ່ນເບິ່ງເປີເຊັນການຄ້າຍຄືກັບ HNN. ຮູບສະແດງ 2 ສະແດງໃຫ້ເຫັນແຜນທີ່

ຕະລາງ 1: ຈຳນວນຕົ້ນສຳລັບແຕ່ລະປະຊາກອນທີ່ໄດ້ສຶກສາໃນແຕ່ລະລຸ້ນ ແລະ ຈຳນວນທີ່ຄັດເລືອກໃນແຕ່ລະລຸ້ນຂອງປະສົມພັນຕ່າງ.

ລຸ້ນ (generation)		ພໍ່ພັນ (ຕົວໃຫ້) Parents	
		HNN	KNL
F ₁	ໄດ້ຢູກ	20	15
	ໄດ້ປະສົມ	5	4
BC ₁ F ₁	ໄດ້ຢູກ	19	11
	ໄດ້ປະສົມ	8	6
BC ₂ F ₁	ໄດ້ຢູກ	202	317
	ໄດ້ປະສົມ	71	21
BC ₃ F ₁	ໄດ້ຢູກ	107	127
	ໄດ້ປະສົມ	34	13
BC ₄ F ₁	ໄດ້ຢູກ	163	161
	ຕົ້ນຄັດເລືອກ	35	27
BC ₄ F ₂	Planted	437	250
	ຕົ້ນຄັດເລືອກໄດ້	127	34

ຄວາມງອກເມັດພັນຕ່າງໃນລຸ້ນ F₁, BC₃F₁ ແລະ BC₄F₂, ສາຍພັນຈຳນວນຫຼາຍຖືກເສຍຫາຍຍ້ອນການທຳລາຍຂອງ ເພຍຈັກຈັນສີນ້ຳຕານ (brown planthopper).

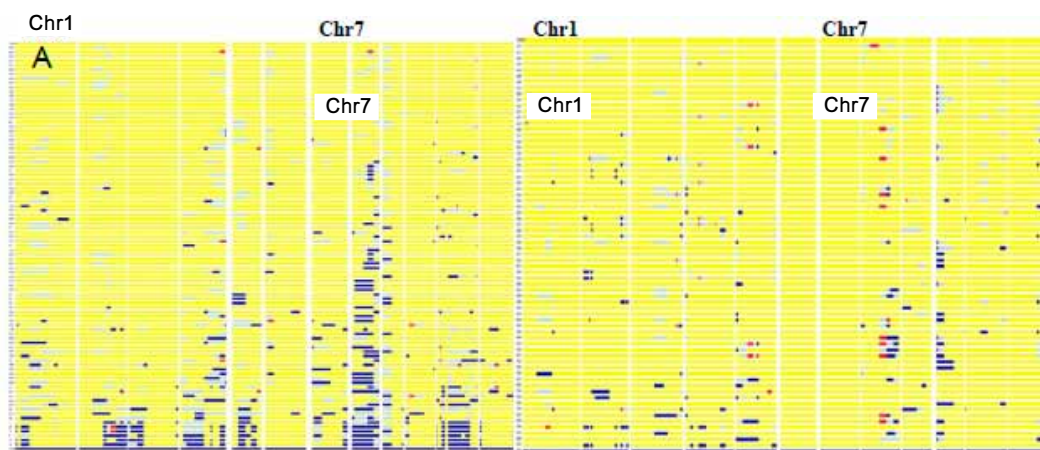
ຕະລາງ 2: ການປະເມີນການທົດສອບຄວາມຫອມຂອງສາຍພັນເຂົ້າ BC₄F₂ ທີ່ໄດ້ຈາກຄູ່ປະສົມ KNL ແລະ TSN1.

ຄວາມຫອມ	ເລກທີສາຍພັນ
ຫອມຫຼາຍ (very aroma)	523, 529, 557, 558, 625, 626, 629, 631, 637, 639, 664, 668
ຫອມປານກາງ (Medium aroma)	501, 606
ຫອມໜ້ອຍ (Slightly aroma)	505, 530, 539, 560, 577, 588, 609, 610, 619, 622, 632, 633, 634, 635, 636, 638, 640, 643, 665, 666

ຄວາມຄ້າຍຄືສຳລັບສາຍພັນເຂົ້າຂອງຄູ່ປະສົມ KNL, ເຊິ່ງທຳອິດຈັດດ້ວຍ the fragrance phenotype ແລະ ທີ 2 ແມ່ນຈັດດ້ວຍສັດສ່ວນຂອງ KNL ທີ່ປະກົດ. ສາມາດເຫັນທັງ 2 ປະຊາກອນ, ເຊິ່ງສາຍພັນດັ່ງກ່າວ ມີສັດສ່ວນກັບພັນຕົວໃຫ້ ແລະ ພວກມັນເປັນສາຍພັນພາຍ (heterozygotic) ໃນຫຼາຍຈຸດ (loci). ແຕ່ມີຂໍ້ມູນທີ່ສະແດງວ່າ ຫຼາຍ loci ທີ່ມີຄວາມແຕກຕ່າງ ລະຫວ່າງ TSN1 ແລະ KNL.

ການນຳໃຊ້ SNP profiling ທີ່ 1536 loci ໃນການທົດລອງກ່ອນ, KNL ແລະ TSN1 ມີຄວາມແຕກຕ່າງທີ່ 57% ຂອງ loci, ແລະ TSN1 ແລະ HNN ແຕກຕ່າງທີ່ 35% ຂອງ 1536 loci. ຄວາມແຕກຕ່າງແບບນີ້ ແມ່ນພົບສຳ

ລັບ SNP genotyping ທີ່ 384 loci, ເຊິ່ງນຳໃຊ້ສຳລັບປະຊາກອນ BC_4F_2 . ການທົດສອບທີ່ສະແດງ ໃນຮູບສະແດງ 1 ຊີ້ໃຫ້ເຫັນວ່າ ຊຸດທີ່ມາຈາກ KNL ເປັນພັນແມ່ນໄດ້ສາຍພັນ introgression ຫ້ອຍກວ່າຊຸດ HNN ເປັນພັນ. ຕາຕະລາງ 3 ສະແດງ ໃຫ້ເຫັນວ່າ ເປີເຊັນຄວາມຄ້າຍຄືຂອງ ແຕ່ລະສາຍພັນຂອງ BC_4F_2 ກັບເປີເຊັນພັນພາຍໃຕ້ SNP ge-notyping ທີ່ 384 loci. ຄວາມຄ້າຍຄືຂອງສາຍພັນກັບ KNL ທີ່ເປັນພັນ ແມ່ນຄັດຈາກ 0.1 to 7.5%, ໃນຂະນະດຽວກັນ ສາຍພັນຂອງ HNN ທີ່ເປັນພັນ ຄັດຈາກ 0.19-34% (ຕາຕະລາງ 3), HNN ແລະ TSN1 ແຕກຕ່າງຢູ່ປະມານ 30% ທີ່ 1536 loci. ມີພຽງ 4 ສາຍພັນທີ່ມີ allele ຄວາມຫອມ <1% ຈາກ HNN.



ຮູບສະແດງ 1: ແຜ່ນທີ່ SNP ຂອງສາຍພັນ BC_4F_2 ຈາກປະຊາກອນ HNN (A) ແລະ ປະຊາກອນ KNL (B). ຈາກ 384 loci, HNN ແຕກຕ່າງຈາກ TSN1 ທີ່ 137 ໃນຂະນະດຽວ KNL ແຕກຕ່າງຈາກ TSN1 ທີ່ 220 loci. ສີເຫຼືອງແມ່ນຕົວແທນ TSN1, ສີຟ້າແມ່ນຕົວແທນ ສາຍພັນປັບປຸງ (introgression) ຈາກພັນຕົວໃຫ້ ແລະ ສີແດງແມ່ນສາຍພັນ heterozygotic loci.

ຕະລາງ 3: ການປະເມີນການທົດສອບຄວາມຫມຂອງສາຍພັນເຂົ້າ BC_4F_2 ທີ່ໄດ້ຈາກກຸ່ມປະສົມ KNL ແລະ TSN1.

ເປີເຊັນຄວາມຄ້າຍ ຄືກັບພໍ່ຕົວໃຫ້ (%) Percentage of semilarity to donor	ເລກທີຂອງສາຍພັນ (Lines)	
	KNL	HNN
≤ 0.1	523, 529, 545, 554, 571, 680	280, 221, 223, 116, 142, 266, 269, 133, 146, 228, 234, 236, 241, 288, 233, 435
≤ 0.5	447, 464, 507, 512, 531, 616, 532, 638, 640, 649, 665	
≤ 1	461, 504, 540, 553, 577, 592, 622, 626, 635, 679, 670	108, 126, 438, 85, 98, 145, 148, 271, 326, 218, 303, 315, 370, 378
1 - 1.5	530, 560, 590, 611, 617, 658, 666, 668	54, 405, 261, 263, 268, 362, 397
1.5 – 2	557, 562, 563, 664, 603, 609, 619	
2.0 - 3.0	448, 505, 506, 606, 634, 637	374, 144, 89, 91, 93, 226, 246, 431
3.0 - 4.0	444, 546, 558, 625, 631, 639, 652, 593	389, 102, 240, 249, 248, 92, 96, 235, 439
4.0 - 5.0	633, 684, 548, 629	219, 404, 436
5.0 - 7.5	610, 636, 588, 593, 587	180, 253, 281, 327, 349, 129, 283, 300, 307, 380, 392, 256
7.0 – 10		44, 52, 429, 430, 30, 416, 367, 205, 176
10.0 - 20.0		204, 400, 254, 63, 29, 40,
20.0 - 35.0		1, 20, 17, 6, 15, 14

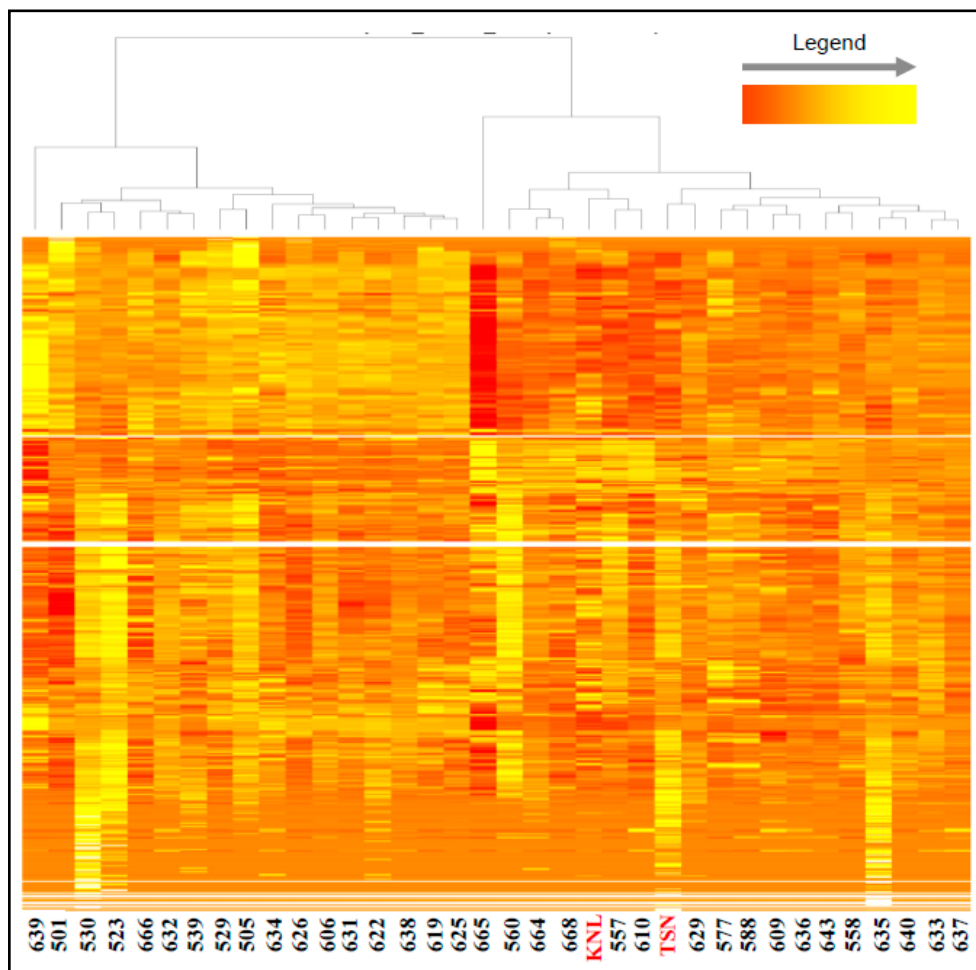
ເຕັກນິກ Metabolite (Metabolite profiling)

ນັບແຕ່ຍັງບໍ່ທັນຮູ້ locus ຄວາມຫມຂອງ KNL, ແມ່ນເຮົາໄດ້ນຳໃຊ້ເຕັກນິກຂອງ polar compounds ກວດສອບສານລະເບີຍໃນໃບ. ພົບວ່າ ມີຈຳນວນສານລະເບີຍ polar compounds ໃນແຕ່ລະສາຍພັນແຕກຕ່າງກັນ. ຮູບສະແດງ 2 ສະແດງ ໃຫ້ເຫັນວ່າ ແຜນທີ່ຂອງສານລະເບີຍທີ່ພົບ ແລະ ສະແດງ ໃຫ້ເຫັນວ່າ ການຈັດກຸ່ມ (clusters) ແມ່ນສຳພັນ ກັບພໍ່ແມ່.

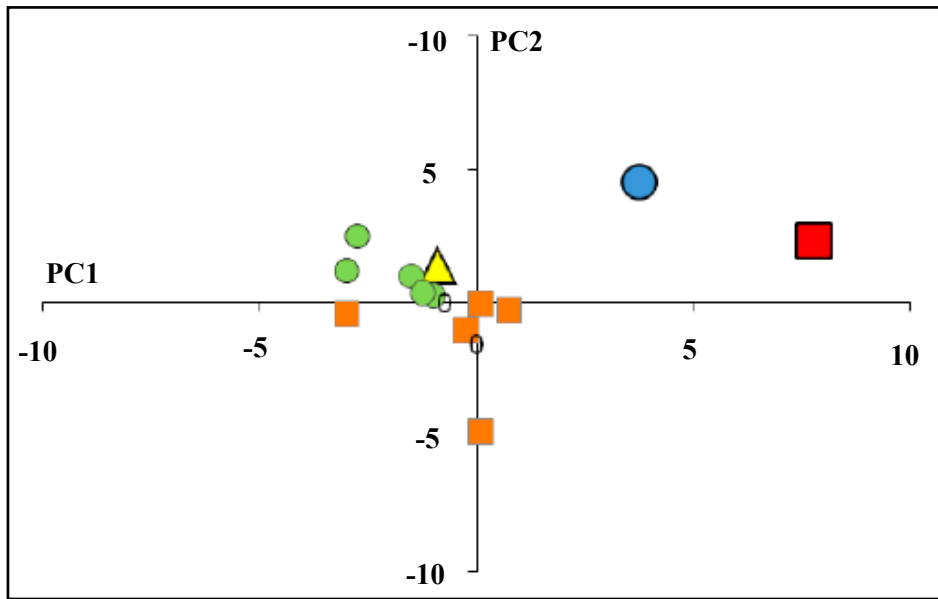
ຮູບສະແດງ 2 ສະແດງໃຫ້ເຫັນວ່າ ມີ 2 ກຸ່ມໃຫຍ່. ພາຍໃນກຸ່ມທີ 2, KNL ແມ່ນຕົກໃນກຸ່ມຍ່ອຍນຶ່ງ ແລະ TSN1 ແມ່ນຕົກໄປຢູ່ໃນກຸ່ມອື່ນ. ກຸ່ມຕົ້ນຕໍອື່ນ (other primary cluster) ແມ່ນເຫັນໄດ້ແຈ້ງຈາກສານລະເບີຍທີ່ນອນໃນເຄິ່ງເທິງຂອງແຜ່ນທີ່. ໃນກຸ່ມ KNL, ແມ່ນມີສາຍພັນ BC_4F_2 ຈຳນວນ 5 ສາຍພັນ ຢູ່ໃນກຸ່ມດັ່ງກ່າວ. ຈຳນວນ 4 ສາຍພັນ ແມ່ນຄວາມຄ້າຍຄືທາງພັນທຸກຳກັບພໍ່ພັນ KNL ຫ້ອຍກວ່າ 5.1% (ຕາຕະລາງ 3). ຈາກການທົດສອບວິທີດົມ 3 ສາຍ

ພັນໃນກຸ່ມໃກ້ກັບ KNL ສະແດງໃຫ້ເຫັນວ່າ ມີຄວາມຫມາຍຄື KNL, ໃນຂະນະດຽວກັນ 2 ສາຍພັນໃນທ້າຍຂອງກຸ່ມ (cluster) ທີ່ທົດສອບມີຄວາມຫມາຍໜ້ອຍ (ຕາຕະລາງ 2). ກຸ່ມຍ່ອຍຂອງ TSN1 ແມ່ນມີ 11 ສາຍພັນ, ຄິດຈາກ 0.5-6.6% ຂອງຄວາມຄ້າຍຄືກັບ KNL (ຕາຕະລາງ 3). ບໍ່ພົບຄວາມເປັນພິມ້ອງກັນ ລະຫວ່າງລະຍະຫ່າງຂອງກຸ່ມ (clustering) ແລະ ສັດສ່ວນຂອງພໍ່ພັນ. ກຸ່ມທຳອິດ ແມ່ນປະກອບມີສາຍພັນກາຍເຄິ່ງ ແຕ່ສາຍພັນດັ່ງກ່າວ ພັດມີຄວາມຫມາຍໜ້ອຍ ຈາກການທົດສອບ ດ້ວຍວິທີດີມີ.

ນຳໃຊ້ສາຍພັນທັງໝົດທີ່ມີ, ໄດ້ຄັດເລືອກສາຍພັນຄວາມບໍລິສຸດ (ລັກສະນະຄ້າຍຄືແມ່) ທີ່ຄັດເລືອກມີຄວາມຫມາຍຈາກ ແຕ່ລະປະຊາກອນ. ຮູບສະແດງ 3 ສະແດງໃຫ້ເຫັນວ່າ principal components analysis ຂອງສານລະເຫີຍໃນສາຍພັນທີ່ຄັດເລືອກມາ ແລະ ພໍ່ແມ່ພັນມັນ ສະແດງອອກຊັດເຈນວ່າ ສາຍພັນທີ່ຄັດເລືອກ ແມ່ນມີສານລະເຫີຍນອນໃນກຸ່ມໃກ້ກັບແມ່ພັນ. ທົ່ວໄປ ສາຍພັນທີ່ມາຈາກ KNL ໃນກຸ່ມແມ່ນ ແຍກຈາກສາຍພັນທີ່ມາຈາກ HNN ໜ້ອຍນຶ່ງ (ຮູບສະແດງ 3).



ຮູບສະແດງ 2: ແຜ່ນທີ່ (Heat map) ສະແດງໃຫ້ເຫັນການເຂົ້າກຸ່ມຂອງສານລະເຫີຍ (polar primary compounds) ທີ່ສະກັດໄດ້ຈາກໃບຂອງສາຍພັນ BC_4F_2 ຈຳນວນ 34 ສາຍພັນ ຈາກຄູ່ປະສົມ KNL ແລະ TSN1.



ຮູບສະແດງ 3: PCA ຂອງສານລະເຫີຍ (volatile compounds) ຂອງພໍ່ແມ່ພັນ ແລະ ສາຍພັນທີ່ຄັດເລືອກ BC_4F_2 ສະແດງໃຫ້ເຫັນທຸກສາຍພັນແມ່ນຫຍັບເຂົ້າໃກ້ແມ່ພັນ TSN1. KNL ສີຟ້າ, HNN ສີແດງ, TSN1 ສີເຫຼືອງ. ລູກຂອງ HNN ແມ່ນສີນ້ຳໝາກກຸ້ງ ແລະ ລູກຂອງ KNL ແມ່ນສີຂຽວ.

ສົນທະນາ

ໃນການປັບປຸງພັນ, ສາຍພັນເຂົ້າຫອມ ຈາກຄູ່ປະສົມ HNN ແລະ TSN1 ແມ່ນຄັດ ເລືອກດ້ວຍວິທີໃຊ້ marker ຄວາມຫອມ (Bradbury *et al.*, 2005b). ແຕ່ເມື່ອຍັງບໍ່ທັນ ຮູ້ວ່າ gene ຄວາມຫອມຂອງ KNL, ສາຍພັນ ຂອງຄູ່ປະສົມດັ່ງກ່າວແມ່ນຄັດເລືອກສາຍພັນ ດ້ວຍວິທີດີມ (sensory technique) (Juliano, 1985). ການສະກັດ 2AP ດ້ວຍການນຳໃຊ້ GC (Bergman *et al.*, 2000) ໂດຍທົ່ວໄປ ແມ່ນມີລາຄາແພງ, ສະນັ້ນ ຈຶ່ງນຳໃຊ້ວິທີການ ດີມເອົາ. ແຕ່ການໃຊ້ວິທີທົດສອບແບບ Sensory ບໍ່ຄ່ອຍລະອຽດ ຖ້າທຽບໃສ່ ສະກັດເອົາປະລິ ມານສານລະເຫີຍ 2AP. ຈາກເຫດຜົນດັ່ງກ່າວ ເປັນໄປໄດ້ທີ່ຄັດເລືອກສາຍພັນລູກ ຈາກຄູ່ປະ ສົມ KNL ໄດ້ຈຳນວນໜ້ອຍ ຖ້າປຸງທຽບໃສ່

ຄູ່ປະສົມ ຂອງ HNN. ໃນຊ່ວງການປູກສາຍພັນ BC_4F_1 ເປັນຈຳນວນຫຼາຍ ໃນເດືອນ 4 ປີ 2009 ທີ່ລາວໄດ້ເກີດມີເພຍຈັກຈັນສີນ້ຳຕານ ທຳລາຍ ຍ້ອນແນວນັ້ນ ສາຍພັນດັ່ງກ່າວ ຈຶ່ງ ເກັບກ່ຽວໄດ້ຈຳນວນໜ້ອຍ ມີພຽງແຕ່ 50 ສາຍ ພັນ ຂອງ BC_4F_1 (ແມ່ນຕົ້ນທີ່ມີຄວາມຫອມ ແລະ ມີລັກສະນະລຳຕົ້ນດີ). ສັງເກດເຫັນວ່າ ສາຍພັນ ຫອມ ແມ່ນຖືກທຳລາຍຫຼາຍກວ່າ ສາຍພັນທີ່ບໍ່ມີ ຄວາມຫອມ.

ຈາກ 437 ສາຍພັນຂອງຄູ່ປະສົມ, ຄັດ ເລືອກເອົາ 46 ສາຍພັນທີ່ມີ gene ຄວາມຫອມ ແລະ ຮູບຮ່າງຕົ້ນເໝືອນ TSN1. ອີກ 45 ສາຍພັນ ມີລັກສະນະລຳຕົ້ນເໝືອນ TSN1 ແຕ່ບໍ່ມີ gene ຄວາມຫອມ. ສາຍພັນດັ່ງກ່າວ ແມ່ນ genotype ທີ່ 384 loci ນຳໃຊ້ *indica/indica* chip, ເພາະວ່າ ທັງ 2 ມາຈາກ ກຸ່ມ *indica*. ສຳລັບຊຸດ KNL, ທັງ 34 ສາຍພັນຫອມທີ່ລອດຈາກ

ເພີ່ມຈັກຈັນສີນ້ຳຕານທຳລາຍ ແລະ ສາຍພັນ ເຂົ້າບໍ່ຫອມ 40 ສາຍພັນ ທີ່ຄັດເລືອກຈາກ ການໃຊ້ SNP genotyping ທີ່ 384 loci ນຳ ໃຊ້ຊຸດ indica/japonica chip, ເພາະວ່າ KNL ແມ່ນນອນໃນກຸ່ມ *tropical japonica*. ຮູບສະ ແດງ 2 ແລະ ຕາຕະລາງ 3 ສະແດງໃຫ້ເຫັນວ່າ ສາຍພັນລູກຂອງຊຸດ KNL ແມ່ນມີໜ້ອຍຖ້າທຽບ ໃສ່ ຈຳນວນສາຍພັນລູກ ຈາກຊຸດ HNN.

ສຳລັບຊຸດ HNN, ຄັດເລືອກໄດ້ 5 ສາຍພັນ ແລະ ຂະຫຍາຍນຳໃຊ້ໃນວຽກຕໍ່ໄປ, ເຊິ່ງສາຍພັນ ເລກທີ 116, 142, 266, 269 ແລະ 280. ນຳໃຊ້ 137 polymorphic SNP markers ແລະ gene ຄວາມຫອມ, ສາຍພັນທັງ ໝົດແມ່ນໄດ້ລັກສະນະ HNN ພຽງແຕ່ 0.1%. ການຄັດເລືອກສາຍພັນບໍລິສຸດ ຈາກຊຸດ KNL ແມ່ນຂ້ອນຂ້າງຍາກ.

ຮູບສະແດງ 1 ສະແດງໃຫ້ເຫັນວ່າ ສາຍ ພັນເຂົ້າຫອມຈຳນວນຫຼາຍ ແມ່ນມີລັກສະນະ ຂອງ shows KNL ເທິງ chromosome 8 ແລະ 10. ຈຸດນັ້ນ ແມ່ນໃກ້ກັບ gene *BADH2*, ແນະນຳວ່າ ອາດຈະມີ allele ໂຕອື່ນຂອງ *BADH2* gene ທີ່ສາມາດສັງເກດ 2AP ໃນແນວພັນ KNL. ໄນໂຕຣເຈນທີ່ເປັນຕົວນຳຂອງສານຄວາມຫອມ 2AP ແມ່ນ ໂປຣລິນ (proline), ອໍອກນິຕິນ (ornithine) ແລະ ອາຈິນິນ (arginine) (Yoshihashi *et al.*, 2002), ເຊິ່ງພວກດັ່ງກ່າວ ສາມາດ metabolize ເປັນ putrescine ແລະ γ -amino butyraldehyde (Bradbury *et al.*, 2008). ການບອນ ທີ່ເປັນຕົວນຳໄປສູ່ການສັງ ເກດເປັນ 2AP ຍັງບໍ່ທັນໄດ້ໄຈ້ແຍກ, ແຕ່ວ່າ ^{13}C ສະແດງໃຫ້ເຫັນວ່າ carbon moiety ບໍ່ໄດ້ ມາຈາກ proline (Yoshihashi *et al.*, 2002). ເຖິງຢ່າງໃດກໍຕາມ ຫຼາຍໆ physiological amino acids ແລະ ສານລະເຫີຍທີ່ເກີດຂຶ້ນ ໃນ ທັງສອງວິທີການ (pathway) ຂອງການສັງເກດ (Liao *et al.*, 2008) ອັນໃດອັນນຶ່ງ ໃນນີ້ແມ່ນ ນຳໄປສູ່ carbon moiety. ອາມິໂນອາຊິດ

(amino acids) ດັ່ງກ່າວ ທັງໝົດເປັນ polar compounds ແລະ ເປັນ metabolites ທີ່ສຳຄັນ ເຊິ່ງຈຳພວກດັ່ງກ່າວ ສາມາດກວດສອບດ້ວຍ ເຕັກນິກ ເຊັ່ນ: NMR.

ສານ polar compounds ທີ່ສຳຄັນ ດັ່ງກ່າວ ແມ່ນມີຢູ່ໃນໂປຂອງສາຍພັນເຂົ້າ ເຂົ້າ ຫອມ 34 ສາຍພັນ, ແລະ ພໍ່ແມ່ພັນທີ່ໄດ້ສະ ແດງ ໃນຮູບສະແດງ 3. ປຽບທຽບ SNP map (ຮູບສະແດງ 2) ກັບ heat map ຂອງສານລະ ເຫີຍຕົ້ນຕໍ (ຮູບສະແດງ 3). ຄວາມບໍລິສຸດທາງ ດ້ານພັນທຸກຳບໍ່ສຳພັນກັບ metabolites. ໃນ cluster ທີ່ 2 ໃນຮູບສະແດງ 2 ເຫັນວ່າ ພໍ່ແມ່ພັນ ທັງ 2 ແມ່ນນອນໃນກຸ່ມດັ່ງກ່າວ, 5 ສາຍພັນ ຂອງ KNL ແມ່ນນອນໃນກຸ່ມທີ່ 2 ແລະ 12 ສາຍພັນຂອງ TSN1 ແມ່ນນອນຢູ່ກຸ່ມທີ່ 2 ອື່ນ. ກຸ່ມທີ່ 2 ຂອງກຸ່ມທີ່ 2 ໃຫຍ່, ແມ່ນບໍ່ມີຄວາມ ສຳພັນກັບຄວາມບໍລິສຸດທາງພັນທຸກຳ. ສຳລັບ 2 ສາຍພັນ ຂອງ KNL ທີ່ນອນໃນກຸ່ມທີ່ 2 ໃນ ຮູບສະແດງ 3 ແມ່ນມີຄວາມຫຼາກຫຼາຍ (ຕາ ຕະລາງ 2) ແລະ ມີຄວາມບໍລິສຸດດີ (ຕາຕະ ລາງ 3). ມັນຊື່ໃຫ້ເຫັນວ່າ ສານທີ່ເຮັດໃຫ້ເກີດ ຄວາມຫອມໃນ KNL ອາດມີໃນ 4 ສາຍພັນ, ສາຍພັນດັ່ງກ່າວ ແມ່ນລັກສະນະ ຂອງ TSN1. ໃນກຸ່ມ TSN1 ໃນຮູບສະແດງ 3, ແມ່ນມີ 12 ສາຍພັນ ທີ່ມີຄວາມບໍລິສຸດ ທາງພັນທຸກຳ (ຕາ ຕະລາງ 3) ແລະ 3 ສາຍພັນດັ່ງກ່າວມີຄວາມ ຫອມເໝືອນ KNL (ຕາຕະລາງ 2). ກຸ່ມຕົ້ນ ຕໍ່ທຳອິດ ແມ່ນມີ 17 ສາຍພັນ, ໃນນັ້ນ 4 ສາຍ ພັນ ແມ່ນມີຄວາມຫອມຫຼາຍເໝືອນ KNL (ຕາ ຕະລາງ 2). ຜູ້ບໍລິໂພກສາມາດແຍກຄວາມແຕກ ຕ່າງ ລະຫວ່າງ KNL ຈາກ HNN (Bounphanousay *et al.*, 2008), ແນະນຳວ່າ KNL ມີສານແຕກຕ່າງ ເຊິ່ງສ້າງເປັນກິ່ນໄດ້. ກຸ່ມຕົ້ນຕໍທີ 1 ອາດເປັນໄປໄດ້ທີ່ສາຍພັນດັ່ງກ່າວ ມີສານທີ່ກ່າວມາ ເຊິ່ງອາດບໍ່ກ່ຽວພັນກັບສານ 2AP ແລະ ອາດມີສານຄວາມຫອມ ໂຕທີ 2. TSN1 ນອນໃນກຸ່ມທີ່ 2 ຂອງກຸ່ມຕົ້ນຕໍທີ 2 ເຊິ່ງ ມີສາຍພັນທີ່ມີ pathway ຂອງການສັງເກດ

2AP, ແລະ ບໍ່ມີ pathways ຂອງອັນໃດອັນນຶ່ງຂອງສານໃດສານນຶ່ງ ພົບວ່າ ເປັນສານລະເຫີຍ ແລະ ເປັນຄວາມຫອມ ຂອງ KNL.

ການຄັດເລືອກສາຍພັນຂອງຊຸດ KNL ແມ່ນຄັດເລືອກບົນພື້ນຖານຂອງ 3 ວິທີການ: ຄວາມຫອມ, ຄວາມບໍລິສຸດທາງພັນທຸກຳ ແລະ ກວດກາສານທີ່ມີຢູ່ (metabolite content). ສາຍພັນທີ່ຄັດເລືອກໄດ້ ແລະ ມີຄວາມຫອມຫຼາຍ ຈາກກຸ່ມທີ 1 ແລະ ກຸ່ມທີ 2, ແລະ ທັງໝົດແມ່ນມີຄວາມບໍລິສຸດທາງພັນທຸກຳ, ມີສາຍພັນ 226, 557, 609, 664, 558, 631 ແລະ 629 ສາຍພັນດັ່ງກ່າວ ມີຄວາມບໍລິສຸດທາງພັນທຸກຳ ຂອງ KNL ຈາກ 0.9%-4.7%.

ສະຫຼຸບ

ໂດຍທົ່ວໄປ ການຄັດເລືອກໃຫ້ໄດ້ສາຍພັນບໍລິສຸດ (NIL) ແມ່ນຕ້ອງໃຊ້ເວລາຢ່າງຕໍ່າ 6 ລ້ຽນ ຂອງການປະສົມພັນຕ່າງ. ໃນລັດຕະວັດທີ 21 ໄດ້ມີເຄື່ອງມືທີ່ທັນສະໄໝນຳໃຊ້ ເຊັ່ນ: metabolomic and SNP profiling ສາມາດຄັດເລືອກໄດ້ສາຍພັນໃໝ່ ພຽງແຕ່ 4 ລ້ຽນ ຂອງການປະສົມພັນຕ່າງ. ການປະສົມລະຫວ່າງແນວພັນທີ່ມາຈາກກຸ່ມເຊື້ອພັນດຽວ (*indica* ແລະ *indica* classes) ສາມາດຄັດເລືອກສາຍພັນລູກບໍລິສຸດ ໄວກວ່າສາຍພັນທີ່ມາຈາກຄູ່ປະສົມທີ່ມີພໍ່ແມ່ພັນຕ່າງກຸ່ມ ແລະ ໄດ້ສາຍພັນໃໝ່ຈຳນວນໜ້ອຍ ແຕ່ເປັນສາຍພັນດີ. ສາຍພັນທີ່ຄັດເລືອກໄດ້ນີ້ ເປັນຊຸດທຳອິດຂອງ ສປປ ລາວ ແລະ ເປັນສາຍພັນທີ່ມີຄຸນຄ່າ ແລະ ສຳຄັນທີ່ສຸດໃນ ສປປ ລາວ. ສາຍພັນດັ່ງກ່າວ ຈະໄດ້ຂະຫຍາຍ ແລະ ນຳໃຊ້ໃນການສຶກສາຕໍ່ກ່ຽວກັບພັນທຸກຳຄວາມຫອມ ຂອງແນວພັນ KNL ແລະ ເຂົ້າໃຈກ່ຽວກັບ genetic pathway ຂອງຄວາມຫອມ.

ເອກະສານອ້າງອີງ

Bergman, C.J., J.T. Delgado, R.J. Bryant, C.C. Grimm, K.R. Cadwallader, and B.D. Webb. 2000. Rapid gas chromatographic technique for quantifying 2-acetyl-1-pyrroline and hexanal in rice (*Oryza sativa* L.). *Cereal Chemistry* 77:454-458.

Bounphanousay, C., P. Jaisil, J. Sanitchon, M.A. Fitzgerald, and N.R. Sackville-Hamilton. 2008. Chemical and molecular characterization of fragrance in black glutinous rice from Lao PDR. *Asian Journal of Plant Sciences* 7:1-7.

Bradbury, L., S. Gillies, D. Brushett, D. Waters, and R. Henry. 2008. Inactivation of an aminoaldehyde dehydrogenase is responsible for fragrance in rice. *Plant Molecular Biology* 68:439-449.

Bradbury, L.M.T., T.L. Fitzgerald, R.J. Henry, Q.S. Jin, and D.L.E. Waters. 2005a. The gene for fragrance in rice. *Plant Biotechnology Journal* 3:363-370.

Bradbury, L.M.T., R.J. Henry, Q.S. Jin, R.F. Reinke, and D.L.E. Waters. 2005b. A perfect marker for fragrance genotyping in rice. *Molecular Breeding* 16:279-283.

Fitzgerald, M.A., S.R. McCouch, and R.D. Hall. 2009. More than just a grain of rice, the global quest for quality. *Trends in Plant Science* 14:133-139.

Fitzgerald, M.A., N.R. Sackville-Hamilton, M.N. Calingacion, H.A. Verhoeven, and V. Butardo, Jr. 2008. Is there a second gene for fragrance in rice? *Plant Biotechnology Journal* 6:416-423.

Fulton, T.M., J. Chunwongse, and S.D. Tanksley. 1995. Microprep protocol for extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants. *Plant Molecular Biology Reporter* 13:207-209.

Inthapanya, P., C. Boualaphanh, Hatsadong, and J.M. Schiller. 2006. The history of lowland rice variety improvements in Laos, p. 325-358, In J.M. Schiller, et al., eds. *Rice in Laos*. IRRI, Manila.

Jairin, J., S. Teangdeerith, P. Leelagud, J. Kothcharerk, K. Sansen, M. Yi, Vanavichit. A, and T. Toojinda. 2009. Development of rice introgression lines with brown planthopper resistance and KDML105 grain quality characteristics through marker-assisted selection. *Field Crops Research* 110:263-271.

Juliano, B.O. 1985. Criteria and Tests for Rice Grain Qualities, p. 43-524, In B.O. Juliano, ed. *Rice Chemistry and Technology*, 2nd ed. American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, MN.

Keurentjes, J.J.B., L. Bentsink, C. Alonso-Blanco, C.J. Hanhart, H. Blankestijn-De Vries, S. Effgen, D. Vreugdenhil, and M. Koornneef. 2007. Development of a near-isogenic line population of *Arabidopsis thaliana* and comparison of mapping power with a recombinant inbred line population. *Genetics* 175:891-905.

Kovach, M.J., M. Calingacion, M.A. Fitzgerald, and S.R. McCouch. 2009. The origin and evolution of fragrance in rice (*Oryza sativa* L.). *Proceedings of the National Academy of Science* 106:14444-14449.

Li, Z.K., B.Y. Fu, Y.M. Gao, J.L. Xu, J. Ali, H.R. Lafitte, Y.Z. Jiang, J.D. Rey, C.H.M. Vijayakumar, R. Maghirang, T.Q. Zheng, and L.H. Zhu. 2005. Genome-wide introgression lines and their use in genetic and molecular dissection of complex phenotypes in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Molecular Biology* 59:33-52.

Liao, S., P. Poonpairoj, K. Ko, Y. Takatuska, Y. Yamaguchi, N. Abe, J. Kaneko, and Y. Kamio. 2008. Occurrence of agmatine pathway for putrescine synthesis in *Selenomonas ruminantium*. *Biosciences, Biotechnology and Biochemistry* 72:445-455.

McNally, K.L., R. Bruskiewich, D.J. Mackill, C.R. Buell, J.E. Leach, and H. Leung. 2006. Sequencing multiple and diverse rice varieties. Connecting whole-genome variation with phenotypes. *Plant Physiology* 141:26-31.

McNally, K.L., K.L. Childs, R. Bohnert, R.M. Davidson, K. Zhao, V.J. Ulat, G. Zeller, R.M. Clark, D.R. Hoen, T.E. Bureau, R. Stokowski, D.G. Ballinger, K.A. Frazer, D.R. Cox, B. Padhukasahasram, C.D. Bustamante, D. Weigel, D.J. Mackill, R.M. Bruskiewich, G. Röttsch, C.R. Buell, H. Leung, and J.E. Leach. 2009. Genomewide SNP variation reveals relationships among landraces and modern varieties of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106:12273-12278.

Neeraja, C., R. Maghirang-Rodriguez, A. Pamplona, S. Heuer, B. Collard, E. Septiningsih, G. Vergara, D. Sanchez, K. Xu, A. Ismail, and D. Mackill. 2007. A marker-assisted backcross approach for developing submergence-tolerant rice cultivars. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 115:767-776.

Van Berloo, R. 2008. GGT 2.0: Versatile software for visualization and analysis of genetic data. *Journal of Heredity* 99:232-236.

Venuprasad, R., M.T. Sta Cruz, M. Amante, R. Magbanua, A. Kumar, and G.N. Atlin. 2008. Response to two cycles of divergent selection for grain yield under drought stress in four rice breeding populations. *Field Crops Research* 107:232-244.

Wright, M., C.W. Tung, K. Zhao, A. Reynolds, S.R. McCouch, and C.D. Bustamante. 2010. ALCHEMY: a reliable method for automated SNP genotype calling for small batch sizes and highly homozygous populations. *Bioinformatics (Oxford)* 26:2952-2960.

Yoshihashi, T., T.T.H. Nguyen, and H. Inatomi. 2002. Precursors of 2-acetyl-1-pyrroline, a potent flavor compound of an aromatic rice variety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:2001-2004.

Zhao, K., M. Wright, J. Kimball, G. Eizenga, A. McClung, M. Kovach, W. Tyagi, M.L. Ali, C.-W. Tung, A. Reynolds, C.D. Bustamante, and S.R. McCouch. 2010. Genomic diversity and introgression in *O. sativa* reveal the impact of domestication and breeding on the rice genome. *PLoS ONE* 5:e10780.