

บทคัดย่อ

ปาล์มน้ำมัน, *Elaeis guineensis* เป็นพืชพันธุ์ที่มีระยะในการคัดเลือกพันธุ์ที่ยาวนาน เพื่อที่จะย่นระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอเป็นตัวช่วยในการปรับปรุงพันธุ์นั้นจึงทางเลือกที่เหมาะสมให้ในการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน จากการวิจัยของคณะผู้วิจัยพบว่าการแสดงออกของยีนต่างๆ ที่ค้นพบนั้น มีบางส่วนส่วนของยีนที่น่าสนใจที่จะนำไปใช้ในการตรวจสอบและสามารถจะนำไปพัฒนาสำหรับประยุกต์ใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะทางฟีโนไทป์ที่ต้องการในการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน

ในการศึกษาครั้งนี้ลำดับยีนทั้งหมด 4 ยีนจากหน่วยย่อยของเอนไซม์อะซิติกโคเอคาร์บอกซิลเลสแบบไอโซฟอร์ม heteromeric คือ EgaccA, EgaccB, EgaccC และ EgaccD ได้ศึกษาถูกคัดเลือกจากยีนจากฐานข้อมูลห้องสมุด EST library จากการศึกษาระดับการแสดงออกของยีนเหล่านี้ด้วยเทคนิค semi-quantitative RT-PCR และ real-time PCR พบว่าระดับปริมาณการแสดงออกของยีนดังกล่าวนั้นมีการแสดงดังสมมุติฐานที่ตั้งไว้คือปริมาณการแสดงออกของยีนดังกล่าวข้างต้น มีการแสดงออกที่สอดคล้องสัมพันธ์กับปริมาณผลผลิตน้ำมัน และสามารถนำไปใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุล ในการคัดเลือกปาล์มน้ำมันสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง

ได้ทำการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด Sequenced characterized amplified region (SCAR) ขึ้นใหม่ชื่อว่า เครื่องหมายโมเลกุล 181 ซึ่งเครื่องหมายชุดนี้สามารถแยกต้นอ่อนปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมเทเนอราได้ และยังได้พัฒนาชุดตรวจสอบสายพันธุ์ปาล์มน้ำมันอย่างรวดเร็วเทคนิค loop-mediated isothermal amplification (LAMP) ซึ่งประกอบด้วยชุดไพรเมอร์จำนวน 4 เส้นที่สามารถเพิ่มจำนวนชิ้นยีนที่ได้ในอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 63 องศาเซลเซียส ภายในระยะเวลา 55 นาที แล้วสามารถตรวจสอบผลผลิตจากการเพิ่มจำนวนชิ้นยีนได้ด้วยการย้อมด้วยเอทธิเดียมโบรไมด์ (ตรวจสอบผลภายใต้แสงยูวี) หรือย้อมด้วยสี SYBR Green I ซึ่งสามารถตรวจสอบผลได้ด้วยตาเปล่า โดยสารประกอบในการเกิดปฏิกิริยานี้ สามารถที่จะนำไปใช้ในการตรวจสอบปาล์มน้ำมันพันธุ์ลูกผสมเทเนอราในภาคสนามได้โดยไม่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง

Abstract

The oil palm, *Elaeis guineensis* is the cultivar with a long selection cycle. To speed up the process of crop improvement, the use of modern breeding strategies with DNA marker-assisted breeding is recommended. Our research can provide information on the number of transcripts, the genes for many of them have been identified. This will allow interesting alleles to be traced and it should be applicable for applying the marker associated with selected phenotypic characteristics in the breeding of oil palms.

In the present study, four full-length subunits of heteromeric ACCase (EgaccA, EgaccB, EgaccC and EgaccD) in oil palm was characterized from a mesocarp EST library. The transcriptional levels of these genes were analyzed by semi-quantitative RT-PCR and real-time PCR. The results supported our hypothesis that the transcription level of subunit genes, EgaccA, EgaccB, EgaccC and EgaccD, are correlated with oil content and can be used as a potential marker to select high-yield oil palm cultivars.

A new sequenced characterized amplified region (SCAR), named as an 181 marker was also developed. This DNA marker can be used for the selection of Tenera hybrid seedlings. The loop-mediated isothermal amplification (LAMP) was developed by using a set of four primers. The optimum reaction temperature and time were verified to be 63°C and 55 min, respectively. The amplified gene products were analysed by staining with ethidium bromide (UV-light) or SYBR Green I which can be visualized by naked eye. This reaction system allowed detection of the tenera hybrid on-site when screening in oil palm breeding without complex and expensive instruments.