

Abstract

Pandan-like fragrance is a value-added trait in several food crops such as rice, vegetable soybean and sorghum. The fragrance is caused by the volatile chemical 2-acetyl-1-pyrroline (2AP). Mutation(s) in *betaine aldehyde dehydrogenase* [*BADH*; also known as *amino aldehyde dehydrogenase* (*AMADH*)] gene causes defective *BADH* protein and results in biosynthesis of 2AP. Recently, cucumber cultivars possessing pandan-like fragrance were discovered in Thailand. In this project, we report (i) inheritance of the fragrance in cucumber accession "PK2011T202", (ii) association between *BADH* and the fragrance in PK2011T202, and (iii) genetic diversity of fragrant and non-fragrant cucumbers. 2AP analysis in fruits of PK2011T202 using head-space gas chromatography demonstrated that PK2011T202 possesses 2AP. Segregation analysis of fragrance in F_1 , F_2 , and backcross populations derived from the cross between PK2011T202 and 301176 (non-fragrant cucumber) revealed that the fragrance in PK2011T202 is controlled by a single recessive gene and there is no xenia effect for the fragrance. DNA sequence analysis of *BADH* gene in PK2011T202 and 301176 showed that PK2011T202 possesses a single base substitution (A1855G) in exon 5 which causes an amino acid change in a highly conserved motif of *BADH* protein, Y163C. Single nucleotide amplified polymorphism (SNAP) markers were developed to detect the SNP polymorphism. Gene mapping in F_2 and a backcross populations developed from the cross between PK2011T202 and 301176 showed that the major QTL for fragrance was co-localized with the *CsBADH*. Based on the results, it can be concluded that the defect function of *CsBADH* gene is responsible for fragrance in cucumber PK2011T202. Genetic diversity analysis of 7 fragrant and 89 non-fragrant cucumber using 10 SSR markers revealed that the diversity level of fragrant cucumbers is comparable to that of non-fragrant cucumbers. There was genetic difference among the fragrant cucumber. Nonetheless, the fragrant and non-fragrant cucumbers were not clearly genetically differentiated.

บทคัดย่อ

กลิ่นหอมใบเตยเป็นลักษณะที่เพิ่มมูลค่าในผลผลิตพืชหลายชนิด ได้แก่ ข้าว ถั่วเหลือง ผักสด และข้าวฟ่าง กลิ่นหอมใบเตยเกิดจากสารเคมีหอมระเหยที่เรียกว่า 2-acetyl-1-pyrroline หรือ 2AP ในข้าว ถั่วเหลือง ผักสด และข้าวฟ่าง พบว่า การกลายพันธุ์ในยีน *betaine aldehyde dehydrogenase 2 (BADH2)* หรืออีกชื่อหนึ่งคือ *amino aldehyde dehydrogenase 2 (AMADH2)* ที่ทำให้เอ็นไซม์ *BADH* ไม่ทำงานหรือทำงานผิดปกติ ส่งผลให้เกิดการสร้าง 2AP ขึ้น เมื่อไม่นานมานี้ มีการค้นพบแตงกวาพันธุ์พื้นเมืองของไทยที่มีกลิ่นหอมใบเตย วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยนี้ คือ (1) ศึกษาการถ่ายทอดลักษณะกลิ่นหอมใบเตยในแตงกวาพันธุ์ “PK2011T202” (2) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างยีน *BADH* กับความหอมในแตงกวาพันธุ์ PK2011T202 และ (3) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของแตงกวาพันธุ์หอมและแตงกวาพันธุ์ไม่หอมของไทย การวิเคราะห์สาร 2AP พบว่า ผลของพันธุ์ PK2011T202 มีสาร 2AP การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะในประชากร F_1 , F_2 และ BC_1F_1 ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างแตงกวาพันธุ์ PK2011T202 กับ “301176” (พันธุ์ไม่หอม) พบว่า กลิ่นหอมใบเตยในแตงกวาพันธุ์ “PK2011T202” เป็นลักษณะด้อย และถูกควบคุมด้วยยีน 1 ตำแหน่ง และไม่มี “xenia effect” กล่าวคือ ถ้ามีการผสมพันธุ์เกิดขึ้น ละอองเกสรของพันธุ์ไม่หอมไม่มีผลต่อการแสดงออกของกลิ่นหอมในพันธุ์หอม การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *BADH* ในพันธุ์ PK2011T202 และ 301176 พบว่า พันธุ์ PK2011T202 มีการกลายพันธุ์ชนิด single base substitution ใน exon 5 ตรงตำแหน่งที่ 1855 โดยมีการเปลี่ยนจากนิวคลีโอไทด์อะดีโนซีน (adenosine; A) เป็นกวีนีน (guanine; G) (A1855G) และการกลายพันธุ์ดังกล่าวทำให้กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 163 ของเอ็นไซม์ *BADH* เปลี่ยนจากไทโรซีน (Tyrosine; Y) เป็นไซโทซีน (Cytosine; C) (Y163C) จากวิเคราะห์ตำแหน่งของยีนที่ควบคุมกลิ่นหอม โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ SSR และเครื่องหมาย Single nucleotide amplified polymorphism (SNAP) ซึ่งใช้ตรวจสอบการกลายพันธุ์ A1855G ในประชากร F_2 และ BC_1F_1 พบว่า ตำแหน่งของยีนที่ควบคุมกลิ่นหอมตรงกับตำแหน่งของเครื่องหมาย SNAP ที่พัฒนาขึ้น ดังนั้น จึงสรุปได้ว่าการกลายพันธุ์ A1855G ในยีน *BADH* ของแตงกวาพันธุ์ PK2011T202 ทำให้เกิดกลิ่นหอมใบเตยขึ้น การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของแตงกวาพันธุ์ที่มีกลิ่นหอม 7 พันธุ์ ร่วมกับพันธุ์ที่ไม่มีกลิ่นหอม 89 พันธุ์ โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ SSR จำนวน 10 เครื่องหมาย พบว่า พันธุ์ที่มีกลิ่นหอมมีความหลากหลายทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับพันธุ์ที่ไม่มีกลิ่นหอม พันธุ์ที่มีกลิ่นหอมมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม แต่ไม่แตกต่างอย่างชัดเจนกับพันธุ์ที่ไม่มีกลิ่นหอม