

Abstract

Project Code: TRG5580002

Project Title: Expression of genes and validation of molecular markers underlying cyanogen content in cassava root

Investigator: Miss Sukhuman Whankaew

Mahidol University

E-mail Address: sukhuman.wha@mahidol.ac.th

Project Period: 2nd July 2012 – 1st July 2014

Cyanogen content (CN) in cassava causes concern on health and environment. In order to obtain better understanding on genes affecting CN, this project therefore aims to study the expression of candidate genes related to CN using real-time PCR. For accuracy of real-time PCR analysis, validation of appropriate reference genes is required. The stability analyses of six common reference genes therefore have been investigated at 6, 9 and 12 months after planting (MAP) in both leaf and root of low and high CN varieties revealed that TATA box binding protein (TBP) was the best reference gene. Transcription profiles of two characterized genes in cyanogenesis pathway (linamarase and α -hydroxynitrile lyase) and eight annotated genes from previously identified QTL were analyzed in low and high CN groups. In leaf at 6 MAP, the transcription profiles of linamarase and PheRS showed significant increase in high CN group. The expression of PheRS, PEX, PD I and PD II increased at 9 MAP, whereas α -hydroxynitrile lyase increased at 12 MAP. In root, DSP, PheRS and PD II were significantly increased in high CN group at 9 MAP, but SPDS was significantly decreased. As the results, markers for selection of low CN were identified which will be useful.

Keywords: real-time PCR, cyanogenic potential, reference gene validation

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5580002

ชื่อโครงการ: การศึกษาการแสดงออกของยีนและการประเมินเครื่องหมายโมเลกุลที่มีผลต่อปริมาณสารปลดปล่อยไซยาไนด์ในรากมันสำปะหลัง

ชื่อนักวิจัย: นางสาวสุขุมล หวานแก้ว

มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail Address : suhuman.wha@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 กรกฎาคม 2555 – 1 กรกฎาคม 2557

มันสำปะหลังสามารถปลดปล่อยสารพิษไซยาไนด์ได้ ส่งผลให้เกิดความกังวลถึงผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาการแสดงออกของยีนที่คาดว่าจะมีผลต่อปริมาณสารปลดปล่อยไซยาไนด์ในหัวมันสำปะหลัง ด้วยเทคนิค real-time PCR เพื่อให้มีความเข้าใจเกี่ยวกับยีนเหล่านี้มากขึ้น การศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิคดังกล่าว จำเป็นต้องมี reference gene ที่เหมาะสมเพื่อความแม่นยำของผลที่ได้ จึงได้มีการทดสอบ reference gene ที่เหมาะสมก่อน โดยใช้ตัวอย่างพืชที่มีปริมาณสารปลดปล่อยไซยาไนด์แตกต่างกันที่เก็บจากช่วงอายุ 6 9 และ 12 เดือนหลังปลูก พบว่า TATA box binding protein (TBP) เป็น reference gene ที่ดีที่สุดที่ได้จากการทดลองนี้ จึงได้นำมาใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีน จากการศึกษาการแสดงออกของยีนที่อยู่ในกระบวนการปลดปล่อยไซยาไนด์ (linamarase และ α -hydroxynitrile lyase) และยีนที่ได้จาก QTL ที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารปลดปล่อยไซยาไนด์ ในมันสำปะหลังกลุ่มสารปลดปล่อยไซยาไนด์สูงและต่ำ พบว่า ที่อายุ 6 เดือนหลังปลูก ยีน linamarase และ PheRS ในใบของกลุ่มที่มีสารปลดปล่อยไซยาไนด์สูงมีการแสดงออกมากกว่ากลุ่มต่ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และที่อายุ 9 เดือนหลังปลูก การแสดงออกของยีน PheRS ยังคงสูงกว่ากลุ่มต่ำ นอกจากนี้ ยีน PEX, PD I และ PD II ในกลุ่มสูง ก็เพิ่มสูงกว่าในกลุ่มต่ำอีกด้วย และที่ 12 เดือนหลังปลูก พบว่า α -hydroxynitrile lyase ซึ่งเป็นยีนที่ปลดปล่อยไซยาไนด์ มีการแสดงออกในกลุ่มสูงมากกว่าในกลุ่มต่ำ สำหรับการแสดงออกของยีนในหัว พบว่า ที่ 9 เดือนหลังปลูก DSP, PheRS และ PD II ในกลุ่มสูงแสดงออกมากกว่าในกลุ่มต่ำ ในขณะที่ SPDS ให้ผลตรงกันข้าม ผลที่ได้จากการศึกษาการแสดงออกของยีน ทำให้ได้เครื่องหมายโมเลกุลที่สามารถใช้คัดเลือกมันสำปะหลังไซยาไนด์ต่ำในลูกผสมที่ศึกษาได้ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการคัดเลือกมันสำปะหลังไซยาไนด์ต่ำต่อไปในอนาคต

คำหลัก : ไซยาไนด์; การแสดงออกของยีน; มันสำปะหลัง;