การพัฒนาเครื่องหมายสนิปส์สำหรับลักษณะต้านทานเชื้อรา *Phytophthora capsici* ในพริก

น้ำฝน จอมแก้ว

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพันธุศาสตร์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2558

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพันธุศาสตร์

ชื่อเรื่อง

การพัฒนาเครื่องหมายสนิปส์สำหรับลักษณะต้านทานเชื้อรา

***Phytophthora capsici* ในพริก**

โดย

น้ำฝน จอมแก้ว

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....แสงทอง.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.แสงทอง พงษ์เจริญกิต)

วันที่ ....3.... เดือน ....ส.ค.... พ.ศ. ....2558....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....วราภรณ์ แสงทอง.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราภรณ์ แสงทอง)

วันที่ ....3.... เดือน ....ส.ค.... พ.ศ. ....2558....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....ช่อทิพา สกูลสิงหาโรจน์.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ช่อทิพา สกูลสิงหาโรจน์)

วันที่ ....3.... เดือน ....ส.ค.... พ.ศ. ....2558....

ประธานอาจารย์ประจำหลักสูตร .....ช่อทิพา สกูลสิงหาโรจน์.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ช่อทิพา สกูลสิงหาโรจน์)

วันที่ ....3.... เดือน ....ส.ค.... พ.ศ. ....2558....

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จาตุพงศ์ วาฤทธิ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ....4.... เดือน ....ส.ค.... พ.ศ. ....2558....

ชื่อเรื่อง การพัฒนาเครื่องหมายสนิปส์สำหรับลักษณะต้านทานเชื้อรา *Phytophthora capsici* ในพริก

ชื่อผู้เขียน นางน้ำฝน จอมแก้ว

ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพันธุศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.แสงทอง พงษ์เจริญกิต

บทคัดย่อ

เชื้อรา *Phytophthora capsici* Leonian (*P. capsici*) เป็นเชื้อก่อโรคที่สำคัญในการผลิตพริก (*Capsicum annuum*) ในการศึกษานี้ได้ใช้เทคนิค bulked segregant analysis (BSA) ร่วมกับเครื่องหมายโมเลกุลชนิดสนิปส์เพื่อติดตามหา quantitative trait loci (QTL) ที่ควบคุมลักษณะต้านทานเชื้อรา *P. capsici* ในกลุ่มประชากร double haploid (DH) ที่มาจากการผสมระหว่างพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* คือ สายพันธุ์ Criollo de Morelos – 334 (CM-334) กับพันธุ์ที่มีความอ่อนแอต่อเชื้อรา *P. capsici* คือ สายพันธุ์ Jindu โดยสามารถคัดเลือกไพรเมอร์สนิปส์ที่แสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มต้านทานและกลุ่มอ่อนแอต่อเชื้อรา *P. capsici* ได้จำนวน 45 ไพรเมอร์ จากไพรเมอร์ที่ได้จากฐานข้อมูลพริกจำนวน 1,036 ไพรเมอร์ แล้วนำสนิปส์ทั้ง 45 ไพรเมอร์ ตรวจสอบจีโนไทป์ในประชากร DH จากนั้นดำเนินการสร้างแผนที่พันธุกรรม (linkage maps) และวิเคราะห์หา QTL โดยพบตำแหน่ง QTL ที่คะแนน logarithm of odd ratio (LOD) สูงที่สุดอยู่ที่โครโมโซมแท่งที่ 5 โดยมีคะแนนเป็น 11 และสามารถอธิบายความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความต้านทานได้ 31 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็น QTL หลัก เหมือนกับที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้และตรวจพบ QTL บนโครโมโซมแท่งที่ 8 ด้วยคะแนน LOD เป็น 3.36 โดยสามารถอธิบายความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ความต้านทานได้ 11.9 เปอร์เซ็นต์ เป็น QTL รอง พบการศึกษานี้เป็นครั้งแรก โดยใน QTL หลักและ QTL รองมีเครื่องหมายโมเลกุลแบบสนิปส์ที่อยู่ใกล้คือ SNP_421 และ SNP_694 ตามลำดับ เครื่องหมายโมเลกุลแบบสนิปส์ทั้งสองจึงเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้กับตำแหน่ง QTL ที่ต้านทานเชื้อรา *P. capsici*

Title	Development of the single nucleotide polymorphism markers for *Phytophthora capsici* resistance in *Capsicum annuum*
Author	Mrs. Namfon Chomkaeo
Degree of	Master of Science in Genetics
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Saengtong Pongjaroenkit

ABSTRACT

Phytophthora capsici Leonian (*P. capsici*) is one of the most important pathogens that destroys pepper crop (*C. annuum*) worldwide. In this study, the bulked segregant analysis (BSA) approach was used together with polymorphic SNP markers to identify the quantitative trait loci (QTL) that controls resistance characteristic against *P. capsici* in double haploid population derived from the cross between highly resistant variety of Criollo de Morelos – 334 (CM-334) and susceptible variety, Jindu. A total of 45 polymorphic SNPs were selected out of 1,036 SNPs and which were then examined of their genotypes in DH population. The linkage maps were later constructed and QTL analysis was performed. Results showed that QTL with the highest LOD score was detected on chromosome 5 (score of 11), and which was able to explain 31% of the phenotypic variance as a major QTL as reported before. The second QTL, designated as a minor QTL, was found on chromosome 8, and which explained 11.9% of the phenotypic variance with a LOD score of 3.36 and was found the first time in this study. Between the major QTL and the minor QTL, SNP_421 and SNP_694, respectively, were found as SNP type molecular markers. These two SNP markers, therefore, were considered the nearest markers linked to QTL *Phytophthora* resistance.

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษางานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความกรุณาของอาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.แสงทอง พงษ์เจริญกิต อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราภรณ์ แสงทอง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ช่อทิพา สกูลสิงหาโรจน์ และ Dr. Darush Struss ที่ให้ความช่วยเหลือ สนับสนุน พร้อมทั้งให้คำปรึกษา และคำแนะนำในการแก้ไข ตลอดระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย อีกทั้งยังสละเวลาอันมีค่าในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ รวมทั้งคอยให้กำลังใจแก่ข้าพเจ้ามาโดยตลอด ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ บริษัท อีสท์ เวสท์ ซีด จำกัด ที่ให้การสนับสนุนในด้านพันธุ์พริก การทดสอบความต้านทาน อุปกรณ์ และสารเคมี ในห้องปฏิบัติการโมเลกุล ในการศึกษาครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ Mr. Eliot M. Cline ที่ให้คำแนะนำในด้านการวิเคราะห์ต่างๆ ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

นอกจากนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อสมัคร คุณแม่อรุณี อ่อนมณี และครอบครัวของข้าพเจ้า ที่ได้มอบโอกาสที่ดีในการศึกษาครั้งนี้ รวมถึงพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการพันธุศาสตร์โมเลกุล สาขาวิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือมาโดยตลอด

น้ำฝน จอมแก้ว

กรกฎาคม 2558

สารบัญ

สารบัญตาราง

สารบัญภาพ

สารบัญตารางผนวก

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

พริกเป็นพืชที่มีความสำคัญต่อคนไทยตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน เนื่องจากพริกเป็นเครื่องปรุงอาหารที่สำคัญประจำบ้านและครัวไทย จุดเด่นของพริกในการเป็นเครื่องเทศที่สำคัญนั้น คือ มีรสชาติที่เผ็ดร้อนและสีสันที่สวยงาม เนื่องจากพริกมีสาร สำคัญ 2 ชนิด ได้แก่ capsaicin และ oleoresin ซึ่งเป็นสารที่ให้ความเผ็ดในพริกจึงนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อการปรุงแต่งรสชาติและสีสันจากธรรมชาติ นอกจากนี้พริกยังมีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพร โดยพริกมีวิตามินซีสูง เป็นแหล่งของกรด ascorbic ที่ช่วยขยายเส้นโลหิตในลำไส้และกระเพาะอาหารเพื่อให้ดูดซึมอาหารได้ดีขึ้น ช่วยร่างกายขับถ่ายของเสีย และนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์รักษาโรคเพื่อฆ่าเชื้อแบคทีเรียในกระเพาะอาหาร ลดความเจ็บปวดของกล้ามเนื้อและส่วนต่างๆ ของร่างกาย

พริกเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญในประเทศไทย ผลผลิตส่วนใหญ่เพื่อสนองความต้องการของตลาดครัวเรือน โรงงานอุตสาหกรรม และส่งออกต่างประเทศ โดยมีการจำหน่ายทั้งในรูปของพริกสดและผลิตภัณฑ์แปรรูป เช่น พริกแห้ง พริกป่น พริกแกง น้ำพริกเผาและซอสพริก เป็นต้น (ตาราง 1) จากฐานข้อมูลกรมศุลากร (2556) พบว่า ปี 2554 ประเทศจีนเป็นผู้ผลิตพริกสดได้เป็นอันดับ 1 ของโลก มีผลผลิตพริกสด 15,520,000 ตัน ประเทศอินโดนีเซียเป็นประเทศในอาเซียนที่ผลิตพริกสดได้ 1,483,079 ตัน นับเป็นอันดับ 4 ของโลก โดยประเทศไทยไม่ติดอันดับผู้ผลิตพริกที่สำคัญของโลก คืออยู่อันดับที่ 64 มีผลผลิต 17,632 ตัน คิดเป็นร้อยละ 0.06 ของทั้งโลก แต่เมื่อพิจารณาผลผลิตพริกแห้งจะพบว่า ประเทศอินเดียเป็นประเทศที่มีการผลิตสูงที่สุดของโลก มีผลผลิต 1,445,947 ตัน ประเทศจีนเป็นอันดับ 2 มีผลผลิต 282,342 ตัน ในกลุ่มอาเซียนด้วยกันประเทศไทยมีผลผลิตพริกแห้งสูงที่สุด ในปี 2554 ผลิตได้ 139,322 ตัน คิดเป็นร้อยละ 4.02 จัดเป็นลำดับที่ 6 ของโลก ดังแสดงในตาราง 2

ตาราง 1 มูลค่าการส่งออกพริกและผลิตภัณฑ์ของประเทศไทย พ.ศ. 2554 ณ ท่าเรือประเทศไทย

พริกและผลิตภัณฑ์	**หน่วย (บาท)**
พริกสดหรือพริกแช่เย็น	34,434,350
พริกสดแช่น้ำเกลือ	62,138,505
พริกสดอื่นๆ	95,920,083
พริกแห้ง	60,918,082
พริกแห้งบดหรือป่น	70,226,369
พริกแห้งอื่นๆ	22,524,771
ซอสพริก	1,409,439,406
เครื่องแกงปรุงสำเร็จ	1,337,715,432
พริกสดแช่แข็ง	1,396,300

ที่มา : กรมศุลากร (2556)

ตาราง 2 ประเทศผู้ผลิตพริกที่สำคัญของโลกปี 2554

พริกสด			พริกแห้ง		
ลำดับ	**ประเทศ**	**ผลผลิต (เมตริกตัน)**	**ลำดับ**	**ประเทศ**	**ผลผลิต (เมตริกตัน)**
1	จีน	15,520,000.00	1	อินเดีย	1,445,947.00
2	เม็กซิโก	2,131,740.00	2	จีน	282,342.00
3	ตุรกี	1,975,269.00	3	ปากีสถาน	202,934.00
4	อินโดนีเซีย	1,483,079.00	4	บังกลาเทศ	176,134.00
5	สหรัฐอเมริกา	991,370.00	5	เปรู	171,929.00
6	สเปน	921,089.00	6	ไทย	139,322.00
7	อียิปต์	670,434.00	7	เอธิโอเปีย	124,321.00
8	ไนจีเรีย	449,594.00	8	เวียดนาม	95,000.00
9	เนเธอแลนด์	384,267.00	9	กาน่า	90,001.00
64	ไทย	17,632.00	10	อียิปต์	88,000.00
	รวมทั้งโลก	29,601,175.18		**รวมทั้งโลก**	3,457,533.00

ที่มา : วีระ และเยาวรัตน์ (2557)

นอกจากนี้จากงานวิจัยพบว่าพริกให้ผลตอบแทนสุทธิต่อไร่ค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่น ในปีเพาะปลูก 2554/2555 พริกใหญ่หรือพริกชี้ฟ้าให้ผลตอบแทนสุทธิ 42,521 บาทต่อไร่ พริกขี้หนูผลเล็กให้ผลตอบแทนสุทธิ 9,868 บาทต่อไร่ (วีระ และคณะ, 2555) เมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2555) จะเห็นว่าข้าวนาปีให้ผลตอบแทนสุทธิ 571 บาทต่อไร่ ข้าวนาปรังให้ผลตอบแทนสุทธิ 1,315 บาทต่อไร่ ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ให้ผลตอบแทนสุทธิ 1,136 บาทต่อไร่ มันสำปะหลังให้ผลตอบแทนสุทธิ 998 บาทต่อไร่ ส่วนอ้อยโรงงานซึ่งมีต้นทุนการผลิตสูงที่สุดในกลุ่มพืชเศรษฐกิจที่กล่าวถึง ให้ผลตอบแทนเพียง 2,984 บาทต่อไร่ พริกจึงเป็นพืชเศรษฐกิจที่ให้ผลตอบแทนสุทธิต่อไร่สูงกว่าพืชเศรษฐกิจอื่น ดังตาราง 3

ตาราง 3 ผลผลิต ต้นทุนการผลิต และผลตอบแทนการผลิตของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ปีเพาะปลูก 2554/2555

พืช	ผลผลิตต่อไร่ (ตัน)	ต้นทุนการผลิต (บาท/ตัน)	ผลตอบแทนสุทธิ (บาท/ตัน)	ต้นทุนการผลิต (บาท/ไร่)	ผลตอบแทนสุทธิ (บาท/ไร่)
ข้าวนาปี[1]	0.396	10,399	1,442	4,118	571
ข้าวนาปรัง[1]	0.678	8,233	1,939	5,582	1,315
ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์[1]	0.677	5,952	1,678	4,030	1,136
มันสำปะหลัง[1]	3.419	1,798	292	6,147	998
อ้อยโรงงาน[1]	12.280	711	243	8,731	2,984
พริกใหญ่[2]	3.848	9,523	11,049	36,645	42,521
พริกขี้หนูผลเล็ก[2]	1.765	13,934	5,590	24,594	9,868

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2556; วีระและคณะ, 2553; วีระและคณะ, 2555)

จากการสำรวจพื้นที่การเพาะปลูกพริกในปี พ.ศ. 2553 มีพื้นที่เพาะปลูกประมาณ 474,000 ไร่ และในปี พ.ศ. 2556 พบว่าประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกพริก 348,539 ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2556) ซึ่งมีแนวโน้มลดลงจากเดิม ถึงแม้ว่าผลตอบแทนสุทธิต่อไร่ของพริกจะสูงกว่าพืชเศรษฐกิจชนิดอื่น แต่ปัญหาและสาเหตุหลักที่ทำให้การเพาะปลูกพริกลดลงเนื่องจากพริกเป็นพืชอ่อนแอไม่ทนโรคและแมลง เกษตรกรต้องใช้สารเคมีเพื่อป้องกันและกำจัดโรคมากขึ้น ทำให้เพิ่มต้นทุนในการผลิต อีกทั้งยังสวนทางกับความต้องการของผู้บริโภคที่เน้นเรื่องความปลอดภัย มีคุณภาพและมาตรฐานสากล เป็นที่ยอมรับของประเทศผู้นำเข้า ในขณะที่ราคาพริกก็สูงขึ้นมากไม่ได้ เนื่องจากการแข่งขันมีมากขึ้นโดยเฉพาะในกลุ่มประเทศสมาชิกเศรษฐกิจอาเซียนอื่นที่มีทรัพยากรธรรมชาติที่อุดมสมบูรณ์กว่า และมีค่าจ้างแรงงานถูกกว่า ดังนั้นจะเห็นว่าเกษตรกรในประเทศไทยต้องเผชิญกับปัญหาต่างๆ เหล่านี้ จึงทำให้การปลูกพริกในประเทศไทยลดลง ในขณะที่ความต้องการภายในประเทศก็ยังคงสูงอยู่ ทำให้มีการนำเข้าพริกจากต่างประเทศดังตาราง 4

ตาราง 4 มูลค่าการนำเข้าพริกและผลิตภัณฑ์ของประเทศไทย พ.ศ.2554 ณ ท่าเรือประเทศไทย

พริกและผลิตภัณฑ์	**หน่วย (บาท)**
พริกสดหรือพริกแช่เย็น	13,386,033
พริกสดแช่น้ำเกลือ	3,353,638
พริกสดอื่นๆ	193,432,086
พริกแห้ง	631,980,513
พริกแห้งบดหรือป่น	93,298,173
พริกแห้งอื่นๆ	40,888,180
ซอสพริก	57,588,565
เครื่องแกงปรุงสำเร็จ	8,097,312

ที่มา : กรมศุลากร (2556)

พริกเป็นพืชที่ชอบดินร่วนปนทรายซึ่งมีการระบายน้ำได้ดีไม่ชอบน้ำท่วมขัง ไม่ชอบฝนตกบ่อย หรือฝนตกติดต่อกันหลายวัน เพราะจะทำให้หน้าดินแน่น ดินอุ้มน้ำมาก ทำให้เกิดโรครากเน่า-โคนต้น พริกเน่า ต้นพริกชะงักการเจริญเติบโต และจะทำให้เกิดโรคจากเชื้อรา เช่น โรคกุ้งแห้ง หรือแอนแทรคโนส (*Anthracnose*) โรครากเน่า-โคนเน่า โรคยอดไหม้ยอดเปื่อย (*Phytophthora capsici*) โรคเหี่ยวเหลือง (*Fusarium*) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าโรคจากเชื้อรา *Phytophthora capsici* (*P. capsici*) เป็นปัญหาสำคัญชนิดหนึ่ง ที่ทำให้ผลผลิตพริกลดลง โดยเชื้อรา *P. capsici* มีรายงานครั้งแรกโดย Leonian ในปี ค.ศ. 1922 ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคไหม้ในพริกและเป็นสาเหตุของโรคอื่นๆ เรียกตามอาการของพืชที่ผิดปกติ เช่น โรคเหี่ยว เน่าคอดิน รากเน่า โคนเน่า หรือผลเน่า โดยเชื้อรา *P. capsici* สามารถก่อให้เกิดโรคได้ในทุกระยะและทุกส่วนของพริก ในบริเวณที่มีการปนเปื้อนของเชื้อรา และเชื้อรานี้จะสามารถอยู่รอดได้เป็นระยะเวลานานจึงสร้างความสูญเสียและเสียหายต่อผลผลิตพริกเป็นอย่างมาก สำหรับการป้องกันและกำจัดโรค เกษตรกรต้องใช้ยาฆ่าเชื้อรา หรือสารเคมี โดยจะใช้ได้ดีในเฉพาะช่วงแรกเท่านั้นเมื่อใช้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานานอาจไม่ได้ผล หรือที่เรียกว่า การดื้อยา ดังที่ได้กล่าวไว้แล้วในข้างต้นว่าการใช้สารเคมีในการกำจัดโรค เป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิตให้กับเกษตรกร ทั้งค่าสารเคมี และค่าแรงงานที่ต้องใช้เพิ่มขึ้นทำให้ผลตอบแทนสุทธิลดน้อยลง นอกจากนี้การใช้สารเคมียังส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมและ

ส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคที่มีความเสี่ยงกับสารเคมีที่ตกค้างในผลผลิต ดังนั้นการพัฒนาสายพันธุ์พริกให้มีความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* เพื่อช่วยในการแก้ปัญหาด้านโรคจึงนับว่าเป็นกลยุทธ์ที่ดีและเป็นการแก้ปัญหาแบบยั่งยืน เหมาะสมต่อสิ่งแวดล้อมและปลอดภัยต่อผู้บริโภค

การพัฒนาพันธุ์พริกสายพันธุ์ปลูกให้มีความต้านทานต่อเชื้อรา โดยการปรับปรุงพันธ์พืชนั้นขั้นตอนแรกที่สำคัญ คือ การคัดเลือกสายพันธุ์เพื่อใช้เป็นพ่อและแม่ ซึ่งสายพันธุ์แม่นิยมใช้สายพันธุ์ปลูกที่มีลักษณะต่างๆ ดีอยู่แล้วขาดเพียงบางลักษณะ เช่น อ่อนแอต่อโรค เป็นต้น ส่วนสายพันธุ์พ่อนิยมใช้สายพันธุ์ที่มีแหล่งของยีนที่สำคัญต่างๆ เช่น ยีนต้านทานโรค ซึ่งสายพันธุ์พ่อส่วนใหญ่มักเป็นสายพันธุ์ป่า จากรายงานที่ผ่านมา พบแหล่งพันธุกรรมของความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* ในสายพันธุ์พริกต่างๆ ได้แก่ สายพันธุ์ Criollo de Morelos 334 (CM-334) จากประเทศเม็กซิโก สายพันธุ์ PI 201234 จากประเทศอเมริกากลาง และสายพันธุ์ Parenial จากประเทศอินเดีย จากการเปรียบทียบระดับความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* พบว่าสายพันธุ์ CM-334 มีระดับการต้านทานสูงที่สุด และงานวิจัยส่วนใหญ่ใช้สายพันธุ์ CM-334 เป็นแหล่งของยีนต้านทานเชื้อรา *P. capsici* และพบการถ่ายทอดพันธุกรรมของลักษณะความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* ในพริกเป็นลักษณะเชิงปริมาณ (Quantitative trait loci) หรือ QTL และอีกขั้นตอนหลักที่สำคัญในการปรับปรุงพันธุ์คือ การคัดเลือกลักษณะที่ต้องการอย่างมีประสิทธิภาพ จากการเปรียบเทียบพบว่าการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกจะมีความถูกต้องและทำได้อย่างรวดเร็วกว่าการคัดเลือกแบบมาตรฐานหรือการคัดเลือกด้วยลักษณะฟีโนไทป์

ปัจจุบันเครื่องหมายโมเลกุลมีการพัฒนาอย่างรวดเร็ว จากอดีตที่เป็นเครื่องหมายที่แยกความแตกต่างได้ในระดับโปรตีน ต่อมาพัฒนาเครื่องหมายที่แยกความแตกต่างในระดับดีเอ็นเอ โดยเครื่องหมายโมเลกุลที่แยกจากขนาดของแถบดีเอ็นเอ ได้แก่ เครื่องหมาย restriction fragment length polymorphism (RFLP), random amplified polymorphism DNA (RAPD), amplified fragment length polymorphism (AFLP), simple sequence repeat (SSR), sequenced characterized amplified region (SCAR), cleaved amplified polymorphic sequences (CAPS) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีเครื่องหมายโมเลกุลที่สามารถแยกได้ในระดับที่มีความแตกต่างกันเพียงหนึ่งนิวคลีโอไทด์ หรือ single nucleotide polymorphisms (SNPs) ซึ่ง SNPs เป็นความแตกต่างที่เกิดขึ้นจากการแทนที่ของคู่เบส (base pair substitution) เป็นความผันแปรทางพันธุกรรมประเภทหนึ่งที่พบได้บ่อย มีรายงานว่า SNPs สามารถเกิดขึ้นได้ทุก 300 - 500 เบส ตลอดจีโนมของสิ่งมีชีวิต เครื่องหมายโมเลกุลแบบสนิปส์จึงเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความละเอียดมากที่สุด ทำให้มีโอกาสพบความแตกต่างระหว่างตัวอย่างมากที่สุด ดังนั้นการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลแบบสนิปส์สำหรับลักษณะต้านทาน

เชื้อรา *P. capsici* จึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการใช้เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อช่วยในการคัดเลือกในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์พริกให้ต้านทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อรา *P. capsici*

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อตรวจหา QTL ที่ควบคุมการต้านทานเชื้อรา *P. capsici* ในพริก
2. พัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลชนิดสนิปส์ที่ใกล้กับตำแหน่ง QTL ที่ต้านทานเชื้อรา *P. capsici*

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้เครื่องหมายโมเลกุลที่นำไปใช้ในการตรวจสอบตำแหน่ง QTL ที่ต้านทานเชื้อรา *P. capsici* ซึ่งเป็นการเพิ่มความแม่นยำในการคัดเลือก พร้อมทั้งยังลดระยะเวลา และต้นทุนในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ให้น้อยลง

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับพริก

ประวัติถิ่นกำเนิดและการแพร่กระจาย

นักประวัติพฤกษศาสตร์พบว่าถิ่นกำเนิดของพริกคือ ทวีปอเมริกากลางและใต้ มีผู้พบผลของพริกในหลุมฝังศพที่มีอายุถึง 2000 ปี ณ ประเทศเปรู (Safford, 1926) มีหลักฐานพบว่าชาวอินเดียนในประเทศเม็กซิโกนิยมปลูกและบริโภคพริกเป็นอาหารเป็นเวลาประมาณ 9,000 ปีมาแล้ว จากนั้นได้นำพริกมาปลูกเผยแพร่ในยุโรปและมีการปลูกแพร่หลายทั่วโลก โดยพ่อค้าชาวชาวโปรตุเกสได้นำพริกมาปลูกที่ประเทศอินเดียและแพร่กระจายในภูมิภาคเอเชียอาคเนย์ สำหรับประเทศไทยไม่มีหลักฐานแน่ชัดว่ามีการนำเข้ามาปลูกครั้งแรกเมื่อใด

อนุกรมวิธานของพริก

Kingdom	:	Plantae
Division	:	Magnoliophyta
Class	:	Magnoliopsida
Subclass	:	Arteridae
Order	:	Solanales
Family	:	Solanaceae
Subfamily	:	Solanoideae
Genus	:	*Capsicum*

พริกจัดอยู่ในสกุล *Capsicum* จากการเปรียบเทียบการกระจายตัวทางพันธุกรรมพริกพันธุ์ปลูกแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ *C. baccatum* และ *C. pubescens* ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีลักษณะทางพฤษศาสตร์แยกออกจากกันอย่างชัดเจนและกลุ่มสุดท้ายที่ต่อมาแยกได้เป็นอีก 3 ชนิด (species) ได้แก่ *C. annuum* L., *C. frutescens* L, และ *C. chinense* Jacq. (Pickersgill, 1988) ดังนั้น

พืชในสกุลนี้ประกอบด้วย 5 สปีชีส์ ได้แก่ *C. annuum* L., *C. frutescens, C. baccatum, C. pubescens* และ *C. chinense* (Pickersgill, 1988)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

พริกเป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปี ลักษณะต้นมีความสูงเฉลี่ยประมาณ 45-75 เซนติเมตรและสูงได้ถึง 1.5 เมตร ลักษณะใบมีใบเดี่ยวใบออกตรงข้ามกันลักษณะใบกลมรีมีปลายแหลม ลักษณะดอกจะออกดอกตรงง่ามใบเป็นกลุ่มประมาณ 1-3 ดอก เป็นสีขาวมีกลีบดอก 5 กลีบ มีเกสรเพศผู้ 5 อัน ขึ้นสลับกับกลีบดอก มีเกสรเพศเมีย 1 อัน และมีรังไข่ประมาณ 2-3 อัน ลักษณะผลเมื่อผลสุกจะเป็นสีแดง หรือแดงปนน้ำตาล ลักษณะผลมีผิวลื่นเป็นมัน ภายในผลนั้นจะกลวงและมีแกนกลาง รอบแกนจะมีเมล็ดเป็นสีเหลืองเกาะอยู่มากมายและเมล็ดจะมีรสเผ็ด ซึ่งลักษณะทางพฤษศาสตร์ของพริกชนิดต่างๆ ดังแสดงในตาราง 5

ตาราง 5 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพริกชนิดต่างๆ

ชนิด (Species)	สีกลีบดอก	จุดที่กลีบดอก	รูปร่างกลีบดอก	สีอับละอองเกสร	หยักที่กลีบ	สีเมล็ด	จำนวนดอกต่อข้อ
C. annuum	ขาว	ไม่มี	เรียงตัวรอบจุดศูนย์กลาง	ฟ้า-ม่วง	มี	น้ำตาลอ่อน	1
C. frutescens	เขียวอ่อน-ขาว	ไม่มี	เรียงตัวรอบจุดศูนย์กลาง	ฟ้า	ไม่มี	น้ำตาลอ่อน	1-5
C. chinense	เขียวอ่อน-ขาว	ไม่มี	เรียงตัวรอบจุดศูนย์กลาง	ฟ้า	มี	น้ำตาลอ่อน	1-5
C. baccatum	ขาว	เขียว-เหลือง	เรียงตัวรอบจุดศูนย์กลาง	เหลือง	มี	น้ำตาลอ่อน	1-2
C. pubescens	ม่วง	ไม่มี	เรียงตัวรอบจุดศูนย์กลาง	ม่วง	มี	ดำ	1

ที่มา : Bassett (1986 อ้างโดย มณีฉัตร, 2546)

ประโยชน์และความสำคัญของพริก

พริกเป็นพืชที่มีประโยชน์และความสำคัญทางเศรษฐกิจมากอีกชนิด โดยประเทศไทยมียอดการส่งออกพริกแห้งเป็นอันดับ 6 ของโลกรองจากประเทศอินเดีย จีน ปากีสถาน บังกลาเทศ และเปรู เนื่องจากพริกมีคุณค่าทางอาหารค่อนข้างสูงและสามารถใช้บริโภคสดโดยเป็นแหล่งที่ให้วิตามินซี วิตามินเอ และวิตามินอื่นๆ ดังตาราง 6 (Grubben, 1977) นอกจากนี้พริกยังสามารถเพิ่มมูลค่าได้ โดยการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ ได้แก่ การสกัดสารที่มีอยู่ในพริกเพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ทางความงาม หรือทางการแพทย์ เช่น ผลิตภัณฑ์รักษาโรคเพื่อฆ่าเชื้อแบคทีเรียในกระเพาะอาหาร ลดความเจ็บปวดของกล้ามเนื้อ และส่วนต่างๆ ของร่างกาย นอกจากนี้ยังสามารถใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อให้ความเผ็ด ให้สีปรุงแต่งอาหาร ให้กลิ่น เช่น พริกแห้ง ซอสพริก พริกแกง พริกดอง

จุดเด่นของพริกที่ปลูกในประเทศไทยคือ ความหลากหลายของพริก โดยมีความเผ็ดทุกระดับ ตั้งแต่เผ็ดน้อยไปถึงเผ็ดมาก เช่น พริกหยวก มีความเผ็ดน้อยกว่า 750 หน่วยสโควิลล์ ในขณะที่พริกน้อย จังหวัดกาฬสินธุ์ หรือพริกหัวเรือ จังหวัดอุบลราชธานี เผ็ดมากถึง 100,000 - 150,000 หน่วยสโควิลล์ นอกจากนี้พริกที่ปลูกในประเทศไทยยังมีความหลากหลายของขนาดผลของพริก มีตั้งแต่ผลขนาดเล็กมากจนถึงผลขนาดใหญ่ เช่น พริกขี้นกป่ามะนาว จังหวัดเพชรบุรี พริกขี้ตาลิง อำเภอหลังสวน จังหวัดชุมพร ผลพริกยาวไม่ถึง 1 เซนติเมตร มีรสเผ็ดมากและมีกลิ่นหอม ส่วนพริกชี้ฟ้าหรือพริกใหญ่ ซึ่งมีผลพริก ยาวประมาณ 19.5 เซนติเมตร (ไม่รวมก้านพริก) สีของผลพริกใช้เสริมความสวยงาม ทำให้อาหารมีสีสันน่ารับประทาน ตั้งแต่สีเขียวอ่อนสีเขียวเข้ม สีขาว สีเหลือง สีส้มและสีแดง กลิ่นของพริกมีความหลากหลายตั้งแต่กลิ่นเขียวของพืช (กลิ่นเหม็นเขียว) จนถึงกลิ่นหอมจัดจ้าน เช่นพริกพื้นเมืองบางพันธุ์ที่สียังไม่เขียวจัดจะมีกลิ่นเหม็นเขียว แต่พริกขี้หนูสวน พริกยอดสน อำเภอจัตุรัส จังหวัดชัยภูมิ พริกกะเหรี่ยงอำเภอหนองหญ้าปล้อง จังหวัดเพชรบุรี มีกลิ่นหอมและไม่มีกลิ่นเหม็นเขียว

ตาราง 6 คุณค่าทางอาหารโดยเฉลี่ยของพริกเผ็ดและพริกหวาน (ต่อส่วนที่บริโภค 100 กรัม)

ส่วนประกอบ	พริกหวาน	พริกเผ็ด
พลังงาน (Kcal)	26.0	116.0
โปรตีน (g)	1.3	6.3
เส้นใย (g)	1.4	15.0
แคลเซี่ยม (mg)	12.0	86.0
เหล็ก (mg)	0.9	3.6
แคโรตีน (mg)	1.8	6.6
ไทอามีน (mg)	0.07	0.37
ไรโบเฟรวิน (mg)	0.08	0.51
ไนอาซิน (mg)	0.8	2.5
วิตามินซี (mg)	103.0	96.0
คุณค่าทางอาหารโดยเฉลี่ย (ANV)	6.61	27.92
ANV ต่อน้ำหนักแห้ง 100 g	82.6	8.07
น้ำหนักแห้ง (g) ของเหลือทิ้ง (%)	8.0	13.0

ที่มา : Grubben (1977 อ้างโดย มณีฉัตร, 2546)

การผลิตพริกในประเทศไทย

พริกเป็นพืชอายุสั้น อายุต้นกล้าประมาณ 1 เดือน หลังจากย้ายกล้าปลูกประมาณ 3 – 4 เดือน ก็เริ่มเก็บผลได้ ตั้งแต่ผลสีเขียว ผลสีเขียวปนแดง และผลสีแดง มีช่วงอายุการเก็บเกี่ยวนานประมาณ 2-4 เดือน แต่ละเดือนเก็บได้ประมาณ 4-5 ครั้ง รวมอายุพริกแต่ละรอบคือ 7-8 เดือน เกษตรกรจึงมีรายได้ต่อเนื่องประมาณ 4 เดือน ซึ่งแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับพันธุ์พริกและการจัดการ เช่น เกษตรกรจังหวัดแพร่ ปลูกพริกผลใหญ่ในปีการเพาะปลูก 2554/2555 มีผลตอบแทนเฉลี่ย 79,166 บาทต่อไร่ ต้นทุนการผลิตทั้งหมด 36,645 บาทต่อไร่ มีผลตอบแทนสุทธิ 42,521 บาท

ต่อไร่ (วีระ และคณะ, 2555) ส่วนเกษตรกรจังหวัดชัยภูมิ ปลูกพริก ขี้หนูผลใหญ่พันธุ์ลูกผสมในปีการเพาะปลูก 2552/2553 มีผลตอบแทนเฉลี่ย 34,463 บาทต่อไร่ ต้นทุนเฉลี่ย 24,594 บาทต่อไร่ มีผลตอบแทนสุทธิ 9,869 บาทต่อไร่ (วีระ และคณะ, 2553)

ประเทศไทยมีการปลูกพริกถึง 5 กลุ่มหลัก พริกที่นิยมปลูกมากที่สุด คือ พริกในกลุ่มพริกขี้หนูผลใหญ่ เช่น พริกยอดสน พริกหัวเรือย่น หรือพริกอีปาด พริกจินดา พริกแจว และพริกพันธุ์ลูกผสม มีพื้นที่ปลูก 181,001.69 ไร่ (ร้อยละ 51.93) ผลผลิตในปี 2556 สูงถึง 171,604,501.09 ตัน มีเกษตรกร 57,962 ครัวเรือน ปลูกมากที่สุดที่จังหวัดชัยภูมิ มีพื้นที่ปลูก 32,148.85 ไร่ ผลผลิต 43,127.60 ตัน รองลงมาคือ จังหวัดนครราชสีมา พื้นที่ปลูก 27,435.00 ไร่ ผลผลิต 10,035.17 ตัน พริกที่นิยมปลูกรองลงมาคือ กลุ่มพริกขี้หนูผลเล็ก เช่น พริกขี้หนูสวน พริกขี้หนูหอม พริกกะเหรี่ยง มีพื้นที่ปลูกทั่วประเทศ 130,391.25ไร่ (ร้อยละ 37.40) ในปี 2556 มีผลผลิตรวม 94,930.02 ตัน เกษตรกร 52,718 ครัวเรือนจังหวัดที่ปลูกมากที่สุด คือ จังหวัดตาก พื้นที่ปลูก 38,696.00 ไร่ มีผลผลิต 24,716.37 ตัน ตามด้วยกลุ่มพริกใหญ่หรือพริกชี้ฟ้า เช่น พริกหนุ่มพริกบางช้าง พริกมันดำ พริกมันและพริกพันธุ์ลูกผสม มีพื้นที่ปลูกรวม 31,004.75 ไร่ (ร้อยละ 8.90) ในปี 2556 มีผลผลิต 26,457.73 ตัน เกษตรกร 9,916 ครัวเรือน จังหวัดที่มีผลผลิตมากที่สุด คือ จังหวัดแพร่ มีผลผลิต 5,580.95 ตัน ตามด้วยกลุ่มพริกหยวกพบปลูกมากที่จังหวัดขอนแก่นและเพชรบูรณ์ และกลุ่มสุดท้ายคือ พริกหวานหรือพริกยักษ์ เป็นพริกที่นิยมปลูกในระบบโรงเรือน ร้อยละของพื้นที่ปลูกพริกในแต่ละประเภทได้แสดงไว้ในตาราง 7

ตาราง 7 ร้อยละของพื้นที่ปลูกพริกจำแนกตามประเภทพริก ปี 2556

ประเภทพริก	**ร้อยละของพื้นที่ปลูก**
พริกหยวก	1.66
พริกยักษ์	0.10
พริกขี้หนูผลใหญ่	51.93
พริกขี้หนูผลเล็ก	37.41
พริกผลใหญ่	8.90

ที่มา : กรมส่งเสริมการเกษตร (2556)

การตลาดของพริกในประเทศไทย

ตลาดต้องการพริกในทุกระยะของผลพริกตามวัตถุประสงค์ในการนำไปใช้มีการเรียกชื่อตามสีพริกจากเขียวถึงแดง เช่น พริกเขียวอ่อน พริกเขียวเข้ม พริกขาว พริกเหลือง พริกส้ม พริกแดงอมเขียวหรือ พริกก้ามปู ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์พริก และอายุของผลพริกที่เก็บ พริกที่ปลูกในประเทศไทย ปลูกไม่พร้อมกันทุกพื้นที่ ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของสภาพภูมิอากาศ โดยเฉพาะช่วงฝนตก ปริมาณฝน ระดับความสูง-ต่ำจากระดับน้ำทะเล และความใกล้-ไกลจากตลาดรับซื้อ ทำให้ประเทศไทยมีโอกาสผลิตพริกสดเข้าสู่ตลาดได้ตลอดทั้งปี

การตลาดของพริกสด เริ่มจากพริกที่เกษตรกรปลูกได้จะขายให้พ่อค้ารวบรวมภายในหมู่บ้าน ส่งขายต่อให้พ่อค้าขายส่ง เพื่อส่งต่อไปยังตลาดกลางขายส่งระดับภูมิภาค เช่น ตลาดศรีเมืองทองจังหวัดขอนแก่น ตลาดสุรนคร จังหวัดนครราชสีมา ตลาดศรีเมือง จังหวัดราชบุรี ตลาดหัวอิฐ จังหวัดนครศรีธรรมราช ตลาดกาดเมืองใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ เป็นต้น จากตลาดกลางขายส่งระดับภูมิภาคก็จะถูกส่งไปยังตลาดกลางขายส่งระดับประเทศ เช่น ตลาดไท ตลาดสี่มุมเมือง จังหวัดปทุมธานี ตลาดปากคลองตลาด จังหวัดกรุงเทพมหานคร เพื่อทำหน้าที่รวบรวมและกระจายพริกไปทั่วประเทศ แต่ไม่ได้หมายความว่าพริกจะต้องเข้าสู่ตลาดกลางขายส่งระดับประเทศทั้งหมดก่อนที่จะกระจายไปสู่ผู้บริโภค ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับตลาดไหนจะได้ราคาสูงกว่า สินค้าก็จะเข้าตลาดนั้น ปัจจัยสนับสนุนเรื่องการทำตลาดอยู่ที่ “ราคาพริก” ซึ่งไม่มีความแน่นอน การขึ้นลงของราคาพริกสดยังขึ้นอยู่กับปริมาณพริกเข้าสู่ตลาดในแต่ละวัน ในขณะที่ความต้องการพริกสดค่อนข้างจะคงที่ ราคาอ้างอิงจะใช้ราคาพริกจากตลาดกลางขายส่งระดับประเทศเป็นหลัก

การตลาดของพริกแห้ง เมื่อเด็ดพริกสดออกจากต้นจะเก็บได้ไม่นาน ประมาณ 3-4 วัน ก็จะเหี่ยว หากต้องการเก็บไว้ได้นานเป็นเดือนต้องเก็บไว้ในตู้เย็น หรือห้องเย็น แต่ถ้าจะเก็บพริกนานหลายเดือน ต้องเก็บเป็นพริกแห้ง โดยนำพริกแดงที่เด็ดได้แล้วไปตากแดด 3-4 วัน ก็จะแห้งสนิท ขึ้นอยู่กับความหนาของเนื้อพริกหรือเปลือกพริกความเข้มของแสงแดด และพื้นที่ลานตาก พริกแห้งที่มีคุณภาพดีตามมาตรฐาน ต้องมีสีแดงสด แห้งสนิท ผิวมันวาว มีก้านพริกติดไส้พริกต้องไม่ดำหรือมีเชื้อรา ไม่มีการปนเปื้อนหรือตกค้างของสารเคมีอันตรายและเชื้อโรค อย่างไรก็ตามพริกแห้งที่ต้องการเก็บนานเกิน 3 เดือน จะต้องเก็บไว้ในห้องเย็น เพื่อไม่ให้สีเปลี่ยนเป็นสีแดงคล้ำซึ่งจะทำให้ขายได้ราคาต่ำลง โดยทั่วไปเกษตรกรชอบขายพริกสดมากกว่าพริกแห้ง เพราะพริกสดสามารถเก็บขายได้ทุกวันและได้รับเงินทันที แต่การขายเป็นพริกแห้งนั้นนอกจากต้องใช้พริกสดถึง 4 กิโลกรัมเพื่อให้ได้พริกแห้ง 1 กิโลกรัม แล้วเกษตรกรต้องทยอยตากทยอยเก็บ รวบรวมจนได้พริกแห้งมากพอแล้วจึงขายให้พ่อค้าที่เข้ามารับซื้อซึ่งอาจได้รับเงินจากการปลูกพริกช้า ดังนั้นเกษตรกร

จะตัดสินใจทำพริกแห้งต่อเมื่อถึงปลายฤดูและราคาพริกสดต่ำมาก โดยทั่วไปเกษตรกรมักทำพริกแห้งเพื่อบริโภคในครัวเรือน แบ่งปันให้ญาติพี่น้องที่เหลือจึงขาย

ราคาพริกกลายเป็นปัจจัยสนับสนุนการนำเข้าพริก ในปีที่ราคาพริกสดสูงกว่ากิโลกรัมละ 30-40 บาท เกษตรกรจะขายเป็นพริกสดส่วนใหญ่ ทำให้พริกแห้งในประเทศไทยขาดแคลน ต้องนำเข้าพริกแห้งและพริกป่น จากประเทศจีน อินเดีย และพม่าประมาณปีละ 600-900 ล้านบาท (2555-2556) และในปีใดที่ราคาพริกขายส่งในประเทศมีราคาสูงมากก็จะมีการนำเข้าพริกสดจากประเทศจีนและเวียดนาม มีผลทำให้ราคาพริกสดในตลาดขายส่งลดลง ซึ่งเป็นผลดีต่อผู้บริโภคที่ไม่ต้องการบริโภคพริกที่ความสวยของพริก หรือไม่ต้องการเก็บพริกไว้นาน เช่น ทำพริกบดหรือน้ำจิ้มต่างๆ แต่มีผลกระทบต่อเกษตรกรที่จะส่งพริกเข้าสู่ตลาดในช่วงต่อไป เพราะราคาพริกที่จะขายจะมีราคาตกต่ำไปด้วย

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเชื้อรา *Phytophthora capsici*

โรคในพริก

ถึงแม้ว่าจะรายได้สุทธิของพริกจะสูงกว่าพืชชนิดอื่นๆ แต่ปัญหาเรื่องโรคของพริกเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างยิ่งที่ทำให้พริกขาดคุณภาพ ผลผลิตลดต่ำลง จนไปถึงสูญเสียผลผลิต ทำให้เกษตรกรสูญเสียรายได้ และเปลี่ยนไปปลูกชนิดอื่น ที่ดูแลง่ายกว่า มีโรคน้อยกว่า โดยโรคที่พบในปัจจุบันมีมากมาย สาเหตุเกิดจากเชื้อโรคต่างๆ หลายชนิด ดังตาราง 8 (Giatgong, 1980)

ตาราง 8 โรคพริกและเชื้อสาเหตุ

เชื้อสาเหตุ	ชื่อภาษาอังกฤษ	ชื่อภาษาไทย
Alternaria solani (Ell. & G. Martin) Sor.	Fruit rot	โรคผลเน่า
Alternaria sp.	Leaf blight	โรคใบแห้ง
Cercospora capsici	Heald & Wolf Frogeye leaf spot	โรคใบจุดตากบ
Cercospora unamunoi Castellani	Leaf spot	โรคใบจุด
Cladosporium capsici	Leaf spot	โรคใบจุด,โรคยอด และกิ่งแห้ง
Colletotrichum capsici (Syd.) Butler & Bisby	Fruit rot	โรคผลเน่า
Colletotrichum piperatum	Anthracnose	โรคกุ้งแห้ง
Diaporthe phaseolorum (Cke. & Ell.) Sacc.	Fruit rot	โรคผลเน่า

ตาราง 8 (ต่อ)

เชื้อสาเหตุ	ชื่อภาษาอังกฤษ	ชื่อภาษาไทย
Diaporthe phaseolorum (Cke. & Ell.) Sacc.	Fruit rot	โรคผลเน่า
Erwinia carotovora (Jones) Holland	Bacterial soft rot	โรคเน่าเละ
Fusarium oxysporum Schlecht. f. sp. *vasinfectum* (Atk.) Snyd. & Hans.	Fusarium wilt	โรคเหี่ยวหรือโคนเน่า
Gloeosporium sp.	Anthracnose	โรคแอนแทรคโนส
Helicotylenchus dihystera	-	ไส้เดือนฝอยทำลายราก
Microdiplodia capsici	Leaf spot	โรคใบจุด
Oidiopsis sp.	Powdery mildew	โรคราแป้ง
Pratylenchus sp.	Root lesion nematode	ไส้เดือนฝอย
Phomopsis sp.	Fruit rot	โรคผลเน่า
Phyllosticta sp.	Leaf spot	โรคใบจุด
Phytophthora capsici Leonian	Phytophthora blight	โรคใบแห้ง, ใบไหม้
Pseudomonas solanacearum E.F. Sm.	Wilt	โรคเหี่ยว
Pythium aphanidermatum (Edson) Fitzp.	Stem rot	โรคลำต้นเน่า

ตาราง 8 (ต่อ)

เชื้อสาเหตุ	ชื่อภาษาอังกฤษ	ชื่อภาษาไทย
Pythium sp.	Damping - off	โรคเน่าคอดิน
Rhizoctonia solani Kuehn	Damping - off	โรคเน่าคอดิน
Sclerotium rolfsii Sacc. Southern blight - *Vermicularia capsici*	Ripe rot	โรคผลเน่า
Virus (Cucumber Mosaic Virus, CMV)	-	โรคใบลีบ

ที่มา : Giatgong (1980 อ้างโดย มณีฉัตร, 2546)

เชื้อรา *Phytophthora capsici*

โรคที่สำคัญมากชนิดหนึ่งที่พบในพริก คือ โรคจากเชื้อรา *Phytophthora capsici* (*P. capsici*) ซึ่งชื่อเชื้อราชนิดนี้ในภาษากรีก แปลว่า ผู้ทำลายพริก (plant destroyer of capsicums) เป็นเชื้อที่มีการแพร่กระจายทั่วโลก และส่งผลกระทบอย่างรุนแรงต่อพื้นที่ปลูกบริเวณที่ได้รับการติดเชื้อ ไม่เพียงแต่ทำลายพริกเท่านั้น เชื้อ *P. capsici* ยังสามารถเข้าทำลายพืชตระกูลอื่นได้เช่นกัน โดย Leonian เป็นผู้พบเชื้อ *P.capsici* ในพริกเป็นคนแรก ที่ศูนย์วิจัย New Mexico Agricultural Research Station ใน Las Cruces ในปี ค.ศ. 1922 (Ortega et al., 1992) ส่วนในประเทศไทยมีรายงานการพบโรคลำต้นไหม้ของพริกครั้งแรกเมื่อ ปี พ.ศ. 2548 พบการเกิดโรคในแปลงปลูกพริกที่จังหวัดเชียงใหม่ เพชรบูรณ์ เชียงราย และสกลนคร (ศรีสุข, 2548) เชื้อ *P. capsici* สามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์และผลพริกซึ่งสามารถระบาดไปยังแหล่งปลูกอื่นได้ ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคไหม้ในพริกและเป็นสาเหตุของโรคอื่นๆ เรียกตามอาการของพืชที่ผิดปกติ เช่น โรคเหี่ยว เน่าคอดิน รากเน่า โคนเน่า หรือผลเน่า (Mao et al., 1998)

Hawksworth et al. (1995) ได้จัดจำแนกอนุกรมวิธานของเชื้อรา *Phytophthora sp.* ดังนี้

Kingdom : Chromista

Class : Oomycetes

Order : Pythiales

Family : Pythiaceae

Genus : *Phytophthora*

จากการศึกษาและวิจัยพบว่าเชื้อ *Phytophthora* ในปัจจุบันมีถึง 63 สปีชีส์ (Erwin และ Ribeiro., 1996) มีทั้งที่อาศัยในน้ำและในดิน เป็นเชื้อราที่มีเส้นใยที่ไม่มีผนังกั้นตามขวาง ผนังเซลล์ประกอบด้วย cellulose-β-glucans มีลักษณะและการเจริญคล้ายรา (true fungi) อยู่ในกลุ่มโอโอไมซีส (oomycetes) โดยเส้นใยเดี่ยวๆ (hypha) จะแตกกิ่งก้านเป็นกลุ่มเส้นใย (mycelium) สีขาวจนเป็นโคโลนี มีการสร้างสปอร์แรงเจียม (sporangium) บนสปอร์แรงจีโอฟอร์ (sporangiophore) ภายหลังที่เกิดเป็นสปอร์แรงเจียมแล้ว สปอร์แรงจีโอฟอร์จะเจริญให้สปอร์แรงจีโอฟอร์ใหม่จากปลายอันเดิม และดันสปอร์แรงเจียมไปด้านข้างของสปอร์แรงจีโอฟอร์ โดยส่วนที่เป็นสปอร์แรงจีโอฟอร์นั้นจะมีลักษณะพองกว่าเส้นใยปกติ สปอร์แรงเจียมมีรูปร่างคล้ายไข่ไก่ตรงบริเวณฐานมีความกว้างกว่าส่วนบน ตรงปลายมีปุ่มซึ่งเป็นส่วนที่เปิดปล่อยให้ซูโอสปอร์ออกสู่ภายนอกทางด้านที่มีลักษณะเป็นปุ่ม (papilla) สามารถให้กำเนิดซูโอสปอร์ที่อุณหภูมิระหว่าง 12 – 15 องศาเซลเซียส และงอกลักษณะเป็นท่อ (germ tube) เข้าทำลายพืชได้โดยตรงที่อุณหภูมิสูงกว่า 15 องศาเซลเซียส สำหรับโครงสร้างของซูโอสปอร์เกิดจากการแบ่งตัวของโปรโตพลาสซึม (protoplasm) ภายในสปอร์แรงเจียมเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม ซูโอสปอร์มี 2 หาง หางหนึ่งเป็นลักษณะ tinsel ซึ่งมีขนอ่อนเป็นจำนวนมากที่ทำหน้าที่โบกให้เคลื่อนที่ไปข้างหน้า อีกหางหนึ่งเป็นแส้ หรือ whiplash ทำหน้าที่โบกถอยหลัง ซูโอสปอร์สามารถว่ายน้ำได้ (Desjardin et al., 1969) โดยเชื้อ *Phythtophthora* มีการขยายพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ

ศรีสุข และคณะ (2550)ได้ศึกษาการจัดจำแนกเชื้อสาเหตุของโรคและกลไกความต้านทานของพริกต่อโรคลำต้นไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *P. capsici* ในประเทศไทย โดยใช้เชื้อรา 6 ไอโซเลทที่แยกเชื้อบริสุทธิ์ได้จาก 5 จังหวัด ราดเชื้อราอัตรา 50,000 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อต้น บนพริกทดสอบที่เป็นพืชอาศัยมาตรฐาน (differential hosts) 11 สายพันธุ์ ได้แก่ PI 231232, CM-331, CNPH703, PI2301238, PI2301234, CM-334, PI189550, Early California wonder, PBC602, PBC137 และพริกพันธุ์จินดา ผลจากการทดสอบพบว่า เชื้อรา *P. capsici* สาเหตุ

โรคลำต้นไหม้ของพริกที่พบในประเทศไทยจัดไว้ได้ 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่มีความรุนแรงต่ำ (pathotype 1) พบใน จังหวัดเชียงราย และจังหวัดสกลนคร กลุ่มต่อมาคือกลุ่มที่มีความรุนแรงปานกลาง (pathotype 2) พบใน จังหวัดเพชรบูรณ์ และกลุ่มสุดท้ายคือกลุ่มที่มีความรุนแรง (pathotype 3) พบที่ จังหวัดเชียงใหม่

กลไกการป้องกันโรคของพืช

พืชอาจเกิดโรคหลายโรคในเวลาเดียวกัน จึงมีกลไกในการป้องกันโรคหลายระบบสำหรับการต่อต้านการจู่โจมของเชื้อสาเหตุของโรค ปฏิกิริยาโต้ตอบของพืชที่มีต่อเชื้อสาเหตุของโรคอาจจะขึ้นกับชนิดของเชื้อและสิ่งแวดล้อม หากสิ่งแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญของพืช แต่ไม่เหมาะต่อการเจริญของเชื้อ พืชสามารถรอดพ้นจากการทำลายของเชื้อสาเหตุของโรคได้ ในทางตรงกันข้ามหากสิ่งแวดล้อมเหมาะต่อการเจริญของเชื้อ แต่ไม่เหมาะสมต่อพืช เชื้อสาเหตุของโรคก็จะเจริญเติบโตและเข้าทำลายพืชได้อย่างรวดเร็ว กลไกการป้องกันโรคของพืช อาจเกิดจากลักษณะโครงสร้างของพืชเองหรือปฏิกิริยาทางชีวเคมีในเซลล์และเนื้อเยื่อพืช โดยการสร้างสารซึ่งเป็นพิษต่อเชื้อโรคหรือไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุของโรค

การป้องกันของพืชทางโครงสร้าง (structural defense) โดยพืชมีโครงสร้างหลายขั้น โดยขั้นแรกเชื้อจะเข้าสู่พืช คือ ทางผิวของพืช เมื่อเชื้อเข้าไปแล้วเจริญเติบโตทำลายพืช โดยอาจจะทำลายที่ใดที่หนึ่งเฉพาะบริเวณที่เชื้อเข้าไป (localized infection) หรือไปเจริญในท่อน้ำท่ออาหาร (vascular bundle) แล้วทำให้โรคของพืชไปแสดงที่เนื้อเยื่ออื่น (systemic infection) ลักษณะของการทำลายเป็นผลมาจากเชื้อสาเหตุของโรค ซึ่งพืชมีโครงสร้างที่ใช้ป้องกัน (structural defense) ทั้งที่เกิดขึ้นก่อนหรือหลังติดเชื้อ

การป้องกันที่เกิดจากโครงสร้างของเซลล์ (cellular defense structure) โครงสร้างป้องกันเซลล์ ขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของผนังเซลล์เมื่อถูกเชื้อเข้าทำลาย กลไกที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันโรคแบบนี้มีขอบเขตจำกัด เท่าที่พบในโรคที่เกิดจากเชื้อรามี 2 แบบ คือ เกิดจากการโป่งออกของเซลล์ epidermis และเซลล์ที่อยู่ใต้ชั้น epidermis ในระหว่างที่เชื้อแทงผ่านพืชโดยตรง ซึ่งอาจยับยั้งการแทงผ่านและการติดเชื้อได้

การป้องกันที่เกิดจากปฏิกิริยาของไซโตพลาสซึมของเซลล์ (cytoplasm defense reaction) โดยไซโตพลาสซึมไปปกคลุมกลุ่มของเส้นใย โดยนิวเคลียสของพืชจะเคลื่อนตามไปด้วย แล้วโปรโตพลาสซึมของเซลล์จะเริ่มหายไปบางครั้งเซลล์ที่เชื้อเข้าทำลายจะสังเกตเห็นไซโตพลา

สซึมและนิวเคลียสขยายใหญ่ขึ้น ไซโตพลาสซึมจะกลายเป็นเม็ดเด่นชัด เส้นใยของเชื้อสลายตัวเห็นเป็นส่วนๆ แล้วการเข้าทำลายก็หยุดลงในที่สุด

การเกิด hypersensitive reaction เป็นปฏิกิริยาตอบสนองของกลไกการป้องกันโรคที่สำคัญ แสดงถึงความต้านทานโรคของพืช ในระหว่างการแทงผ่านของเชื้อโรคหรือถูกบุกรุกโดยสารพิษที่บริเวณผิวเซลล์ เมื่อพืชติดเชื้อแล้วเซลล์พืชอาศัย (host plant) ซึ่งเป็นพันธุ์ต้านทานจะเกิดรอยไหม้สีน้ำตาล (necrosis) อาจเป็นแบบแห้งหรือมีแผลเป็นหย่อมๆ ซึ่งเป็นลักษณะที่เกิดจากการตายอย่างรวดเร็วหลังจากเชื้อเข้าเซลล์ ดังนั้นเชื้อจะชะงักการเจริญเติบโตและตายในที่สุด อาการของรอยไหม้พบได้ตามบริเวณส่วนของพืชที่เป็นโรค ได้แก่ ใบ ต้น โคนต้น ราก หัว ฝัก ผล เป็นต้น ขนาดของโรคจะมีขอบเขตกว้างหรือแคบขึ้นอยู่กับส่วนของพืช ชนิดของพืชอาศัย เชื้อโรคที่บุกรุก สภาพอากาศ และสิ่งแวดล้อม อาการของรอยไหม้ที่พบโดยทั่วไป เช่น แผลเป็นจุด (spot) มักเกิดบนใบหรือผล มีขนาดแผลประมาณ 1 หรือ 2 มิลลิเมตร จนถึง 1 เซนติเมตร ขึ้นไป มีรูปร่างเป็นวงกลม เนื้อเยื่อตรงกลางแผลจะตายเห็นรอบแผลเป็นสีแดงหรือสีเหลือง (ไพโรจน์, 2525)

เครื่องหมายดีเอ็นเอ

สุรีพร (2546) รายงานไว้ว่า งานปรับปรุงพันธุ์พืชนับว่าเป็นหัวใจหลักสำคัญของการสร้างพืชพันธุ์ใหม่ ให้มีลักษณะดีตรงตามความต้องการของตลาด และมีความต้านทานต่อโรค เพื่อให้มีผลผลิตที่สูง ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์พืชเป็นงานที่รวมทั้งศาสตร์และศิลป์เข้าด้วยกัน โดยใช้กระบวนการคัดเลือกและการปรับปรุงพันธุ์ที่เหมาะสม จึงเห็นได้ว่างานปรับปรุงพันธุ์พืช มีความจำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่มีความแม่นยำในการคัดเลือกและแยกความแตกต่างของลักษณะที่แสดงออกของแต่ละสายพันธุ์ ดังนั้นเครื่องหมายดีเอ็นเอ หรือเครื่องหมายโมเลกุล จึงเข้ามามีบทบาทมากขึ้น เพราะเป็นการคัดเลือกพืชจากจีโนไทป์ (genotype) โดยตรง

เครื่องหมายทางพันธุกรรม

เครื่องหมายทางพันธุกรรม หมายถึง ลักษณะหรือตัวบ่งชี้ที่มีความเฉพาะเจาะจง สามารถนำมาใช้แยกความแตกต่างทาง พันธุกรรม และสามารถถ่ายทอดลักษณะนั้นไปยังรุ่นลูกได้ เครื่องหมายทางพันธุกรรมที่มีการใช้กันมานานแล้วในงานปรับปรุงพันธุ์พืช ได้แก่

1. เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (morphological markers) คือ การใช้ลักษณะรูปพรรณสัณฐานพืชที่มีความแตกต่างกันมาใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ เช่น ความสูง ลักษณะทรงพุ่ม สีของลำต้น ขนาด รูปร่างและสีของเมล็ด อายุวันออกดอก และวันเก็บเกี่ยว อย่างไรก็ตาม พบว่าลักษณะดังกล่าวมักผันแปรไปตามสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป ทำให้เกิดความผิดพลาดในการแยกความแตกต่างของสายพันธุ์ได้ นอกจากนั้นแล้วการเปรียบเทียบลักษณะภายนอกนี้ ยังไม่สามารถแยกความแตกต่างของสายพันธุ์พืชบางชนิด ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องหาเครื่องบ่งชี้ชนิดอื่นมาประกอบ เพื่อช่วยให้การจำแนกความแตกต่างของ สายพันธุ์มีความถูกต้อง

2. เครื่องหมายโปรตีน (protein markers) คือ การใช้ความแตกต่างของโมเลกุลโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของพืชมาตรวจสอบ เช่น การใช้ ไอโซไซม์ (isozyme) เข้ามาช่วยในการบ่งชี้ความแตกต่างของสายพันธุ์พืช (varietal identification) ตัวอย่างเช่น การตรวจสอบรูปแบบขององค์ประกอบโปรตีนของเอนไซม์บางชนิดและโปรตีนที่สะสมในเมล็ดพืช เครื่องหมายโปรตีนถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์พืชในธุรกิจเมล็ดพันธุ์ เนื่องจากค่าใช้จ่ายไม่สูงมากนัก อย่างไรก็ตาม เครื่องหมายโปรตีนยังมีข้อจำกัดที่สำคัญ คือ จำนวนยีนที่ใช้ตรวจสอบยังมีไม่มากนัก และยีนที่นำมาศึกษาต้องมีการแสดงออก (gene

expression) ด้วย การตรวจสอบจึงจำเป็นต้องเลือกเนื้อเยื่อพืชและระยะการเจริญเติบโตที่เหมาะสม โดยคำนึงถึงการแสดงออกของยีนที่ต้องการตรวจสอบ นอกจากนั้นผลการตรวจสอบยังขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมอีกด้วย ทำให้โอกาสการตรวจพบความแตกต่างในระดับโปรตีนมีค่าต่ำกว่าที่เป็นจริง จากข้อจำกัดดังกล่าว ทำให้นักวิทยาศาสตร์พยายามค้นหาและพัฒนาเทคนิคใหม่มาใช้เป็นเครื่องหมายบ่งบอกความแตกต่างของสายพันธุ์พืชที่มีประสิทธิภาพมากกว่าเครื่องหมายพันธุกรรมดังกล่าว

3. เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA markers) คือ ลำดับเบสช่วงหนึ่งของดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความเป็นเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต โดยอาจมีตำแหน่งบนโครโมโซม ในนิวเคลียส (nuclear DNA) หรือในออร์แกเนลล์ (mitochondria DNA หรือ chloroplast DNA) และสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้ พืชแต่ละชนิดแต่ละสายพันธุ์ มีการจัดเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอที่เป็นเอกลักษณ์ ความแตกต่างหรือโพลีมอร์ฟิซึม (polymorphisms) ของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอนี่เอง ที่ทำให้สิ่งมีชีวิตมีความแตกต่างกัน และสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลได้

ประเภทของเครื่องหมายดีเอ็นเอ

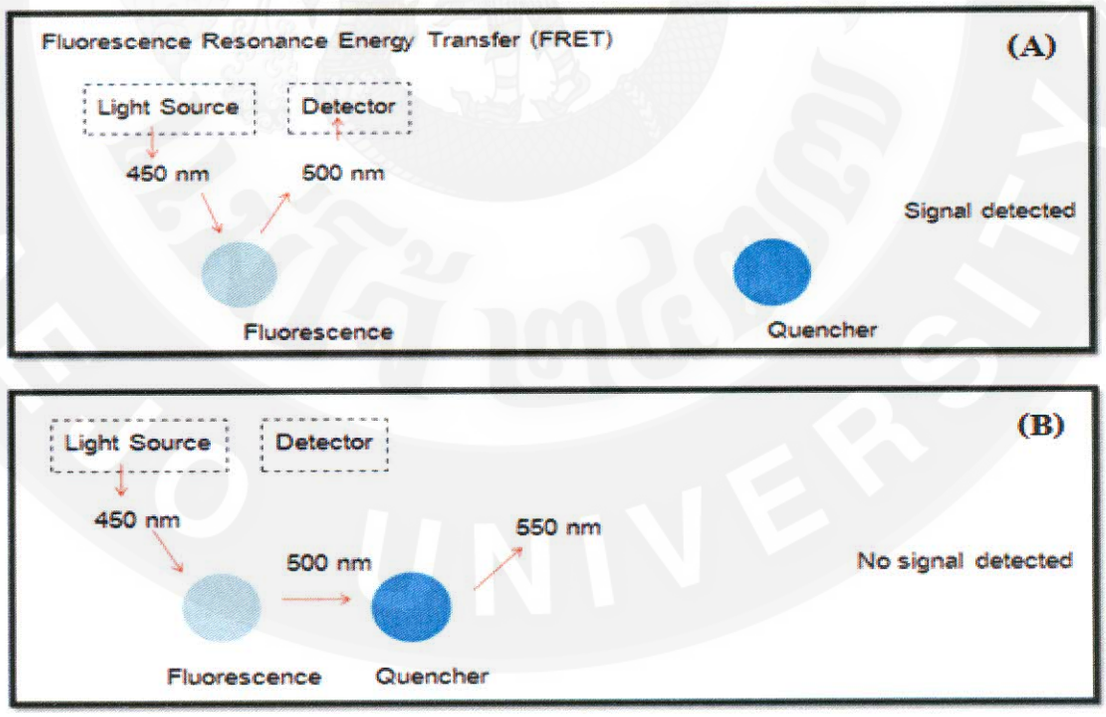
เครื่องหมายโมเลกุล สามารถแบ่งออกเป็นประเภทใหญ่ๆ ได้ 2 ประเภท คือ

1. Hybridization-based marker เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอ ซึ่งพัฒนาขึ้นโดยอาศัยหลักการเข้าคู่ของลำดับเบสดีเอ็นเอที่เป็นคู่สมกันระหว่างดีเอ็นเอตรวจสอบ (probe) กับดีเอ็นเอที่ต้องการตรวจสอบ โดยใช้เทคนิคไฮบริไดเซชัน (hybridization) ตัวอย่างได้แก่ เครื่องหมายอาร์เอฟแอลพี (RFLP marker) (Tanksley et al., 1989: McCouch and Tankslay, 1991)

2. PCR-based marker เป็นเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่พัฒนาขึ้น โดยอาศัยหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่จำลองตัวดีเอ็นเอ หรือ เทคนิคพีซีอาร์ (polymerase chain reaction ; PCR) ตัวอย่างเครื่องหมายดีเอ็นเอที่นิยมใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์พืช ได้แก่ เครื่องหมายอาร์เอพีดี (RAPD marker) (William et al., 1990) เครื่องหมายเอเอฟแอลพี (AFLP marker) (Vos et al., 1995) และเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ (microsatellite) หรือเอสเอสอาร์ (SSR marker) (Powell et al., 1996) รวมถึงเครื่องหมายโมเลกุลแบบสนิปส์ (single nucleotide polymorphisms ; SNPs)

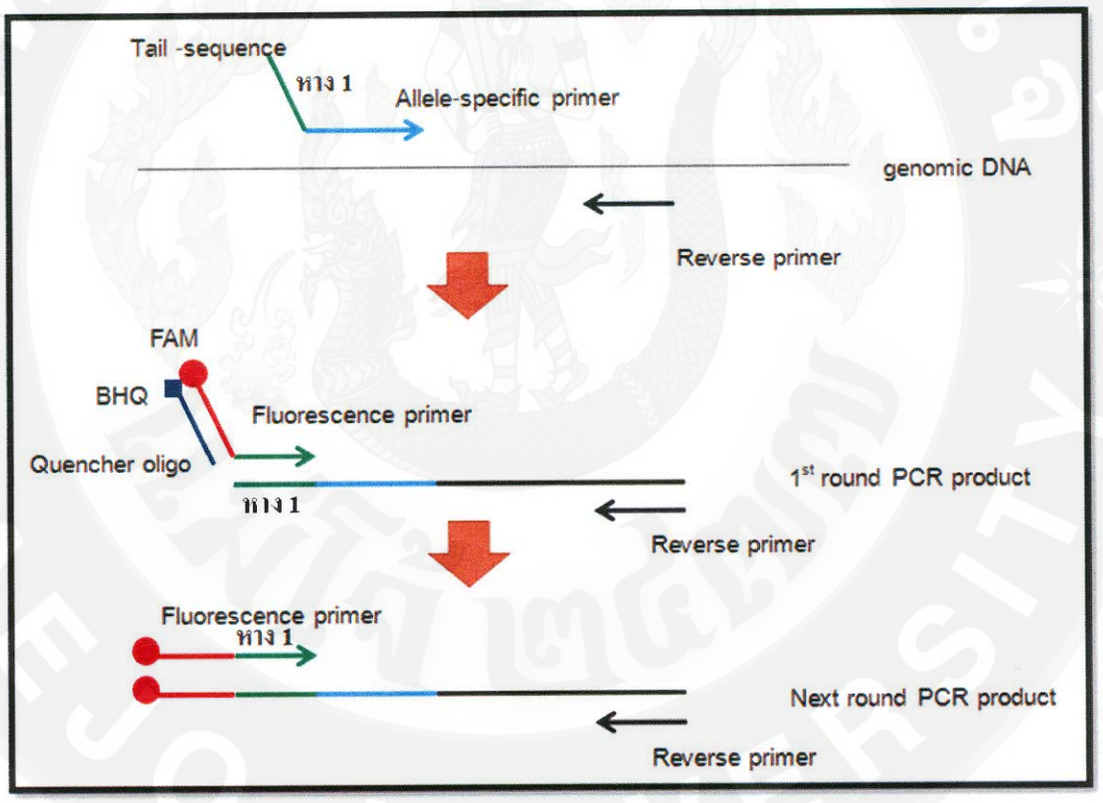
เทคโนโลยีเครื่องหมายโมเลกุลแบบสนิปส์

Raitio et al. (2012) จากบริษัท Thermo Fisher Scientific ประเทศฟินแลนด์ได้พัฒนาระบบ KASPar™ Genotyping เพื่อใช้ในการตรวจจีโนไทป์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลแบบสนิปส์ โดยใช้หลักการการถ่ายโอนพลังงาน หรือเรียกว่า FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) หลักการคือเมื่อสารเรืองแสง (fluorescence) ดูดกลืนแสงจากแหล่งกำเนิดแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm สาร fluorescence จะปล่อยความยาวคลื่นที่สูงขึ้นคือ 500 nm และส่งถ่ายไปยังตัวตรวจจับ (detector) ที่สามารถอ่านค่าความยาวคลื่นที่ 500 nm ได้ ทำให้สามารถตรวจวัดสัญญาณได้ ดังแสดงใน ภาพ 1A ในอีกกรณี เมื่อสาร fluorescence อยู่ใกล้กับสาร quencher ที่เป็นสารเรืองแสงอีกชนิดหนึ่งที่สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเท่ากับที่ fluorescence ส่งถ่ายออกมา จะพบว่าเมื่อสาร fluorescence ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm จากแหล่งกำเนิดแสงและส่งถ่ายความยาวคลื่นที่ 500 nm ไปยังสาร quencher แทนที่จะส่งถ่ายให้ detector แล้วสาร quencher ปล่อยความยาวคลื่น 550 nm ออกมาในกรณีนี้ทำให้ detector ไม่สามารถตรวจวัดสัญญาณความยาวคลื่น 500 nm ได้ ดังแสดงใน ภาพ 1B



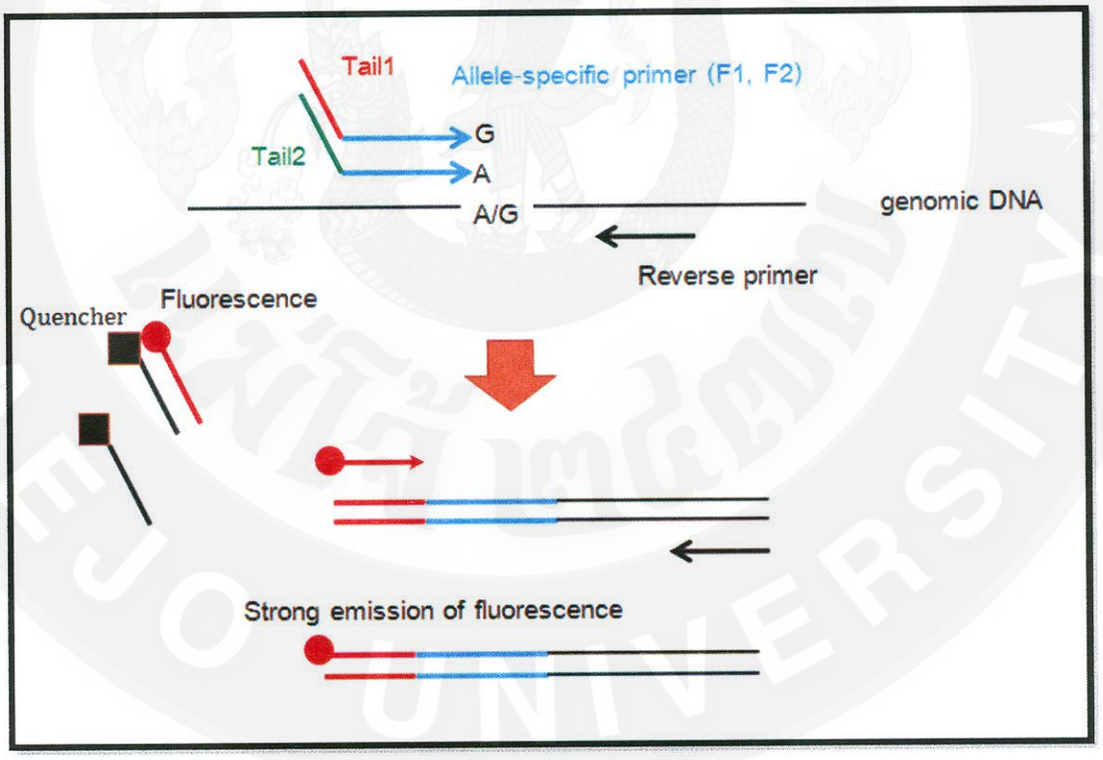
ภาพ 1 ระบบการทำงานของ FRET

จากหลักการของ FRET จึงนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดสัญญาณของเครื่องหมายโมเลกุลแบบสนิปส์ โดยการออกแบบไพรเมอร์ให้ที่ปลาย 3' เป็นตำแหน่งสนิปส์ และที่ปลาย 5' เป็นบริเวณนิวคลีโอไทด์จำเพาะหรือที่เรียกว่า บริเวณหาง 1 ซึ่งระบบปฏิกิริยา PCR มีสาร fluorescence ที่เชื่อมต่อบริเวณหาง 1 และเป็นคู่สมกับสาร quencher ก่อนที่จะเกิดปฏิกิริยา PCR สาร fluorescence จะติดอยู่กับ สาร quencher ทำให้ไม่สามารถตรวจวัดสัญญาณได้ แต่เมื่อเริ่มเกิดปฏิกิริยา PCR ไพรเมอร์จะเข้าคู่สมกับเส้นแม่พิมพ์และในรอบถัดมา บริเวณหาง 1 ที่มี สาร fluorescence จะเข้าคู่สมกับผลิตภัณฑ์ PCR แล้วทำหน้าที่คล้ายไพรเมอร์ เหตุการณ์นี้ทำให้ สาร quencher หลุดห่างออกไป เครื่องจึงสามารถตรวจวัดสัญญาณได้ หากปริมาณผลิตภัณฑ์ PCR มีมากเท่าไหร่ เครื่องจะตรวจวัดสัญญาณได้มากเท่านั้น ดังแสดงใน ภาพ 2



ภาพ 2 การประยุกต์ใช้หลักการของ FRET ในการตรวจวัดผลิตภัณฑ์ PCR ของเครื่องหมายโมเลกุลแบบสนิปส์

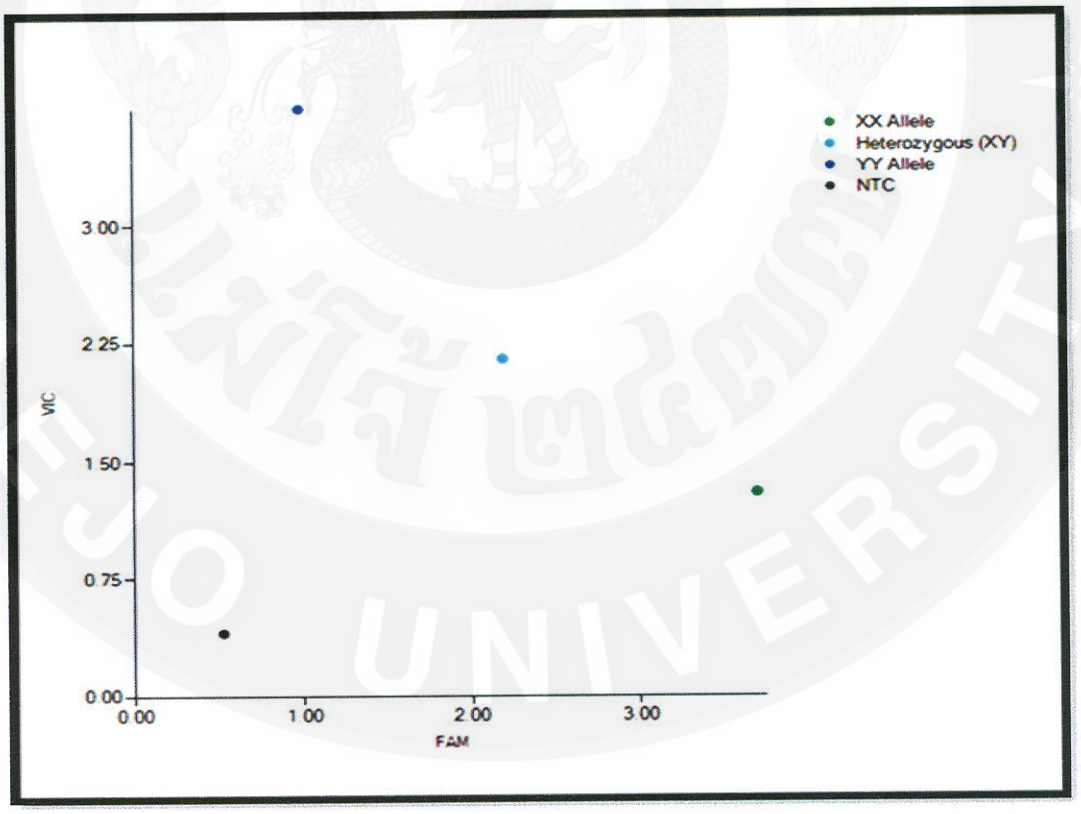
จากการประยุกต์ใช้ FRET ในการตรวจวัดผลิตภัณฑ์ PCR ของเครื่องหมายโมเลกุลแบบสนิปส์ในข้างต้น สามารถออกแบบเครื่องหมายโมเลกุลแบบสนิปส์ได้โดยใช้หลักการการแข่งขันกันของอัลลีลที่จำเพาะหรือสนิปส์ โดยกำหนดให้ในหนึ่งปฏิกิริยาประกอบด้วย 3 ไพรเมอร์ คือ forward 1 (F1) และ forward 2 (F2) เป็นไพรเมอร์ที่จำเพาะกับสนิปส์ เรียกไพรเมอร์นี้ว่า allele specific primer โดย F1 และ F2 จะต่อด้วยหางที่ต่างชนิดกัน และแต่ละหางจะจำเพาะต่อสาร fluorescence ต่างชนิดกัน ส่วนไพรเมอร์ reverse เรียกว่า common primer ซึ่งในปฏิกิริยา PCR ต้องมีสาร fluorescence 2 ชนิดโดยแต่ละชนิดต้องมีหางที่แตกต่างกัน และสามารถเข้าคู่สมกับหางของไพรเมอร์ชนิด allele specific primer ที่ต่างกัน จึงทำให้สามารถตรวจวัดผลผลิต PCR จากสัญญาณของ สาร fluorescence ที่ส่งออกมาแตกต่างกัน ในกรณีที่ตัวอย่างเป็น heterozygous เครื่องจะสามารถตรวจพบค่า สาร fluorescence ได้ทั้งสองชนิด ดังนั้นการออกแบบไพรเมอร์โดยให้สนิปส์อยู่ที่ปลาย 3' และใช้หลักการ FRET ในการตรวจวัดสัญญาณ ทำให้สามารถตรวจสอบตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบว่าเป็นอีลลีลชนิดใดได้ ดังแสดงใน ภาพ 3



ภาพ 3 ระบบ KASPar™ Genotyping

ที่มา : Raitio (2012)

การตรวจวัดผลผลิต PCR และการแปลผล ทำได้โดยใช้เครื่องอ่านค่าการเรืองแสงของฟลูออเรสเซนต์ (เครื่อง Araya) ของผลผลิตจากปฏิกิริยา PCR จากนั้นผลที่อ่านได้จากเครื่อง Araya จะถูกแปลผลและแสดงออกมาในรูปแบบกราฟจุด และอัลลีลของสนิปส์โดยโปรแกรม Araya ดังแสดงใน ภาพ 4 ซึ่งเป็นการแสดงกราฟจุด โดยแนวแกน Y แสดงปริมาณของ สาร fluorescence ชนิด VIC ส่วนแกน X แสดงปริมาณของ สาร fluorescence ชนิด FAM โดยจุดแต่ละจุดแสดงถึงตัวอย่าง เช่น จุดสีน้ำเงิน ให้ค่า VIC สูง ค่า FAM ต่ำ แสดงว่าตัวอย่าง สีน้ำเงินเป็น homozygous (VV) แล้วจึงตรวจสอบว่า สาร fluorescence ชนิด VIC คู่สมกับ อัลลีลหรือสนิปส์ชนิดใด ในทางตรงกันข้าม จุดสีเขียวให้ค่า FAM สูง ค่า VIC ต่ำ แสดงว่าตัวอย่าง สีเขียวเป็น homozygous (FF) แล้วจึงตรวจสอบว่า fluorescence ชนิด FAM คู่สมกับ อัลลีลหรือสนิปส์ชนิดใด ส่วนจุดสีฟ้าแสดงถึงตัวอย่างที่เป็น heterozygous เนื่องจากให้ค่าได้ทั้ง VIC และ FAM ส่วนจุดสีดำเป็นชุดควบคุมชนิด negative เป็นตัวอย่างที่ไม่มีดีเอ็นเอเพราะฉะนั้นปฏิกิริยา PCR ต้องไม่เกิด ดังนั้นค่า VIC และ FAM จึงต่ำ



ภาพ 4 ลักษณะของกราฟจุดที่แปลผลจากสัญญาณ fluorescence

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ยีนต้านทานโรคและเครื่องหมายโมเลกุล

สายพันธุ์พริกที่เคยรายงานไว้ว่ามียีนที่มีความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* ได้แก่ พริกสายพันธุ์ PI201234 (Ogundiwin et al., 2005) สายพันธุ์ PI201232 (Smith et al., 1967: Ortega et al., 1995), สายพันธุ์ Morrón IN1A 224 สายพันธุ์ AC2258 (Smith et al., 1967: Sugita et al., 2006.) จากประเทศอเมริกากลาง สายพันธุ์ Criollo de Morelos 334 (CM-334) (Guerrero Moreno และ Laborde., 1980) จากประเทศเม็กซิโก โดยเฉพาะพริกสายพันธุ์ CM-334 เป็นสายพันธุ์ที่นิยมใช้ในการศึกษาความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* เนื่องจากมีระดับความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* สูงที่สุด

Walker และ Bosland (1999) ได้ศึกษาการถ่ายของยีนต้านทานโรคใบไหม้ (foliar blight disease) และ โรครากเน่า (root rot disease) ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อ *P. capsici* โดยในการศึกษาได้ใช้พันธุ์ CM-334 เป็นพันธุ์ต้านทานและใช้พันธุ์อ่อนแอจำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Keystone และพันธุ์ Early Jalanepo จากการศึกษาการถ่ายทอดของยีนต้านทาน พบว่าในประชากรรุ่นลูกผสมแสดงความต้านทานทั้งโรคใบไหม้และโรครากเน่า แสดงให้เห็นว่ายีนต้านทานของทั้งสองโรคเป็นยีนเด่น (dominant gene) และเมื่อศึกษาการถ่ายทอดลักษณะต้านทานในประชากรรุ่นที่ 2 (F_2) พบการกระจายตัวของยีนต้านทานมีอัตราส่วนที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์อ่อนแอ โดยในประชากรที่มาจากการผสมระหว่าง พันธุ์ Early Jalanepo และ พันธุ์ CM-334 พบอัตราส่วนการกระจายตัวของยีนต้านทานโรคใบไหม้และโรครากเน่าเท่ากับ 9:3:3:1 (ต้านทานโรครากเน่า/ต้านทานโรคใบไหม้ : ต้านทานโรครากเน่า /อ่อนแอโรคใบไหม้ : อ่อนแอโรครากเน่า/ต้านทานโรคใบไหม้ : อ่อนแอโรครากเน่า/อ่อนแอโรคใบไหม้) จากข้อมูลประชากร F_2 แสดงให้เห็นว่ามียีนเด่นที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรครากเน่าหนึ่งยีนและยีนเด่นที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรคใบไหม้อีกหนึ่งยีนที่เป็นอิสระต่อกัน ในขณะที่การกระจายตัวของประชากรรุ่นที่ 2 (F_2) ในประชากรที่ได้จากการผสมระหว่าง พันธุ์ Keystone และ พันธุ์ CM-334 พบอัตราส่วนการกระจายตัวของยีนต้านทานโรคใบไหม้และโรครากเน่าเท่ากับ 7 : 2 : 2 : 5 (ต้านทานโรครากเน่า/ต้านทานโรคใบไหม้ : ต้านทานโรครากเน่า /อ่อนแอโรคใบไหม้ : อ่อนแอโรครากเน่า/ต้านทานโรคใบไหม้ : อ่อนแอโรครากเน่า/อ่อนแอโรคใบไหม้) จากการกระจายตัวแสดงให้เห็นว่านอกจากหนึ่งยีนเด่นที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรครากเน่าและหนึ่งยีนเด่นที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรคใบไหม้แล้วยังมียีนอื่นๆอีกอย่างน้อยหนึ่งยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรครากเน่าและใบไหม้

Kim et al. (2008) ได้ศึกษาเพื่อหาบริเวณ QTLs ที่สัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรครากเน่าและโรคโคนเน่าคอดินซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อ *P. capsici* จากประชากรรุ่น F_2 จำนวน 100 ตัวอย่าง ที่ได้จากการผสมระหว่าง Chilsugcho (พันธุ์อ่อนแอ) และ CM-334 (พันธุ์ต้านทาน) โดยการสร้าง linkage map จากเครื่องหมายโมเลกุลทั้งหมด 209 เครื่องหมาย ซึ่งประกอบด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RFLP จำนวน 202 ไพรเมอร์ ชนิด WRKYs จำนวน 6 ไพรเมอร์ ชนิด SSR จำนวน 1 ไพรเมอร์ โดย linkage map ที่สร้างได้ครอบคลุมเกือบทุกโครโมโซม ยกเว้นโครโมโซมแท่งที่ 4 ผลการวิเคราะห์หา QTLs โดยวิธี composite interval mapping (CIM) พบ 4 QTLs ที่มีค่าความแปรปรวนรวมของลักษณะต้านทานโรครากเน่า (phenotypic variance) เท่ากับ 66.3 % และพบ 3 QTLs ที่มีค่าความแปรปรวนรวมของลักษณะต้านทานโรคโคนเน่าคอดิน (phenotypic variance) เท่ากับ 44.9 % และพบเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RFLP จำนวน 2 เครื่องหมาย ได้แก่ CDI25 และ CT211A ที่อยู่ใกล้ QTLs บนโครโมโซมแท่งที่ 5 และ 9 ตามลำดับ แล้วคัดเลือกโคลน bacterial artificial chromosome (BAC) ของ CM-334 โดยใช้เครื่องหมาย RFLP ใกล้ QTLs เป็นโพรบ (probe) จากนั้นพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้เทคนิค PCR ได้แก่ single nucleotide amplified polymorphism (SNAP) สำหรับ CDI25 และ simple sequence repeat (SSRs) และ cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) สำหรับ CT211A เพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการคัดเลือกต้นต้านทานโรคในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์

ศรีสุข และคณะ (2550) ได้ศึกษาการถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคลำต้นไหม้ของพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *P. capsici* โดยใช้พันธุ์อ่อนแอจำนวน 7 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์พิจิตร 1 พิจิตร 05 พิจิตร 06 พิจิตร 15-1-1-1 พิจิตร18 –1 – 1 –1 พิจิตร 27-1-2-1 และ PBC 743 ผสมกับพันธุ์ต้านทาน คือ PI 2301234 พบว่ายีนที่ควบคุมลักษณะโรคลำต้นไหม้ของสายพันธุ์ PI 2301234 เป็นยีนลักษณะเด่น 3 คู่ และมีการข่มข้ามคู่ ไม่ให้ยีนต่างคู่กันแสดงออก เมื่อมีการถ่ายทอดไปยังคู่ผสมที่มียีนด้อยอย่างน้อย 1 คู่ ปรากฏอยู่

Zhang et al. (2013) ได้คัดแยกและศึกษาลักษณะของยีนที่ต้านทานต่อเชื้อ *P. capsici* คือยีน *CaRGA2* จากสายพันธุ์ที่มีความต้านทานสูง CM-334 และวิเคราะห์หน้าที่ของยีนด้วยเทคนิค real time PCR และ virus-induced gene silencing (VIGS) พบว่าการแสดงออกของยีน *CaRGA2* ถูกเหนี่ยวนำด้วยเชื้อ *P. capsici* และการแสดงออกของยีนในพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอยังมีความแตกต่างกันอีกด้วย โดยเมื่อมีการติดเชื้อในสายพันธุ์ต้านทาน CM-334 จะมีการแสดงออกของยีน *CaRGA2* อย่างรวดเร็ว และสูงกว่าสายพันธ์อ่อนแอถึง 5 เท่า ในทางตรงกันข้ามถ้ายีน *CaRGA2* ในพันธุ์ต้านทานถูกกดไว้ด้วยเทคนิค virus-induced gene silencing เมื่อมีการติดเชื้อ *P. capsici* ยีน *CaRGA2* ในสายพันธุ์ต้านทานก็จะไม่แสดงออกทำให้พืชไม่ต้านทานเชื้อ *P. capsici*

Rehrig et al. (2014) ได้ทำแผนที่ยีนจากประชากร recombination inbred lines (RILs) ที่มาจากการผสมของสายพันธุ์ต้านทาน CM-334 และสายพันธุ์อ่อนแอ Early Jalapeno ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิดสนิปส์จำนวน 3,887 เครื่องหมาย และตรวจพบ QTL ที่ต้านทานเชื้อ *P. capsici* บนโครโมโซมแท่งที่ 5 และจากการตรวจสอบแอลลีลของเครื่องหมายโมเลกุลชนิดสนิปส์พบยีนที่น่าสนใจคือ *CaDMR1* โดยเป็นยีนที่เป็นรหัสของเอนไซม์ homoserine kinase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการต้านทานโรคในพริก

Liu et al. (2014) ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของ QTL ที่สำคัญบนโครโมโซมแท่งที่ 5 และศึกษายีนพื้นฐาน โดยการปลูกเชื้อ *P. capsici* ในประชากร F_2 และ recombination inbred lines (RILs) พบการกระจายตัวของลักษณะต้านทานต่อลักษณะอ่อนแอในประชากรทั้งสองมีอัตราส่วนเท่ากับ 3:1 และ 1:1 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรูปแบบยีนเด่น และเมื่อทำแผนที่ยีนด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิดสนิปส์ร่วมกับการใช้เทคนิค bulked segregant analysis (BSA) บน QTL ที่สำคัญคือบนโครโมโซมแท่งที่ 5 พบเครื่องหมายโมเลกุลชื่อ Phyto5SAR ให้ค่า LOD สูงที่สุด และเมื่อทำการตรวจสอบในฐานข้อมูลจีโนมของพริก *C. annuum* พบว่า Phyto5SAR อยู่บน scaffold 194 ซึ่งคาดคะเนว่าเป็นที่ตั้งของยีนสองยีนได้แก่ ยีน *NBS-LRR* และ ยีน *SAR 8.2A* จากนั้นจึงได้พัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลที่ยึดติดกับยีนเหล่านี้แล้วตรวจสอบกับพริกลูกผสมทางการค้าจำนวน 100 สายพันธุ์ พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลชื่อ Phyto5NBS1 ให้ผลถูกต้องประมาณ 90 % ในการตรวจสอบลักษณะต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* สายพันธุ์ที่มีความรุนแรงต่ำ

การศึกษาจำนวนมากอธิบายเกี่ยวกับผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างพื้นฐานทางพันธุกรรมของพริกกับความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* ที่แสดงผลแตกต่างกันหากศึกษาในพันธุ์พริกที่แตกต่างกัน (Bunnet et al., 2007; Minamiyama et al. 2007; Thabuis et al., 2003) โดยมีรายงานเกี่ยวกับยีนที่ต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* ที่แตกต่างกันออกไป เช่น Stephanie และ Bosland (1999) รายงานว่า ยีนต้านทานถูกควบคุมด้วยยีนด้อยสองตำแหน่ง ส่วนผลการศึกษาการถ่ายทอดของยีนต้านทานโรค *P. capsici* ของ Sy และ Bosland (2005) พบว่ายีนต้านทานควบคุมด้วยยีนเด่นโดยจากการศึกษาการถ่ายทอดของยีนต้านทานโรครากเน่าและโรคใบไหม้เนื่องจากเชื้อรา *P. capsici* ในประชากร F_2 พบว่ามีอัตราส่วนการกระจายตัวเท่ากับ 9 : 3 : 3 : 1 และการถ่ายทอดยีนในประชากรทดสอบ (test cross) ได้อัตราส่วนการกระจายตัวเท่ากับ 1 : 1 : 1 : 1 การศึกษาของ Ortega et al. (1995) รายงานปฏิสัมพันธ์ระหว่างพริกสายพันธุ์ต้านทานที่มีระดับต้านทานแตกต่างกันได้แก่ สายพันธุ์ Morron IN1A 224, PI201232 และ CM-334 พบว่าความต้านทานถูกควบคุมด้วยยีนสามตำแหน่งและเป็นยีนแบบบวก (additive gene) ในขณะที่ Lefebvre และ Palloix (1996) รายงานว่ายีนต้านทานควบคุมด้วยยีนหลายยีน (polygene) ทั้งที่เป็นแบบ additive หรือ epistatic

นอกจากนี้ Thabuis et al. (2003) รายงานว่ายีนต้านทานควบคุมด้วย QTL อยู่บนโครโมโซมแท่งที่ 4, 5, 6, 11 และ 12 โดยมี QTL หลักอยู่บนโครโมโซมแท่งที่ 5 และมีรายงานอื่นที่แสดงผลว่ายีนต้านทานควบคุมด้วย QTL (Thabuis et al., 2004; Ogundiwin et al., 2005; Quirin et al., 2005; Kim et al., 2008)

นอกจากนี้ยังมีรายงานการแสดงออกของความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* ในพริกได้รับอิทธิพลจากปัจจัยสิ่งแวดล้อม เช่น สายพันธุ์ที่ใช้ปลูก และอายุของพืช (Reifschneider et al., 1992; Kim et al., 1989) ปริมาณของเชื้อรา อุณหภูมิ ความชื้นในดิน (Ortega et al., 1995) ชนิดของเชื้อราบริสุทธิ์ (Reifschneider et al., 1992) วิธีการในการปลูกเชื้อ (Kim et al., 1989) ซึ่งจากปัจจัยเหล่านี้ส่งผลให้การควบคุมเชื้อ *P. capsici* ยุ่งยากและซับซ้อน (Ogundiwin et al., 2005) ทำให้การปรับปรุงพันธุ์แบบมาตรฐานเพียงอย่างเดียวจะประสบความสำเร็จได้ยาก (Reifschneider et al., 1992) ดังนั้นหากมีการนำเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความแม่นยำ และเชื่อถือได้ มาช่วยให้กระบวนการปรับปรุงพันธุ์น่าจำทำให้การปรับปรุงพันธุ์พริกให้ต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* ประสบความสำเร็จมากยิ่งขึ้น

จากการทบทวนเอกสารพบการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับลักษณะต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* มีหลายประเภท เช่น Thabuis และคณะ (2004) พัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลแบบ amplification fragment length polymorphisms (AFLP) Quirin และคณะ (2005) ได้พัฒนาเครื่องหมายแบบ dominant SCAR ที่พัฒนามาจาก randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) โดยเครื่องหมายโมเลกุลที่ได้จะเป็นแบบ dominant marker ซึ่งเครื่องหมายชนิดนี้มีข้อจำกัดคือไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างจีโนไทป์ที่มีสภาพเป็น heterozygous ออกจาก homozygous dominant ได้จึงนำไปใช้คัดเลือกในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ค่อนข้างยาก ดังนั้นเครื่องหมายโมเลกุลแบบสนิปส์ (SNPs) ที่เป็นเครื่องหมายโมเลกุลแบบ co-dominant marker คือเครื่องหมายโมเลกุลที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างจีโนไปท์ที่มีสภาพเป็น heterozygous ออกจาก homozygous dominant และ homozygous recessive ได้จึงใช้ช่วยคัดเลือกในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ได้ดี นอกจากนี้เครื่องหมายโมเลกุลแบบสนิปส์เป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความละเอียดมากที่สุด และมีโอกาสพบความแตกต่างระหว่างตัวอย่างมากที่สุด

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ตัวอย่างพืช

ใบอ่อนของพริกจำนวน 160 ตัวอย่าง ได้แก่ พันธุ์พ่อ หรือพันธุ์ต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* สายพันธุ์ Criollo de Morelos – 334 (CM-334), พันธุ์แม่ หรือพันธุ์อ่อนแอต่อเชื้อรา *P. capsici* สายพันธุ์ Jindu, และประชากร double haploid (DH) ที่ได้จากลูกผสมของสายพันธุ์ CM-334 และ Jindu โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงละอองเกสร (Shed microspore culture) (Yaioon et al., 2014) จำนวน 158 ตัวอย่าง ตัวอย่างใบอ่อนพริกทั้งหมดเก็บและรวบรวมได้จากโรงเรือนปลูกพืช ฟาร์มเลิศพันธุ์ บริษัท East-West Seed Company Limited จังหวัด เชียงใหม่

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

วัสดุอุปกรณ์

1. เครื่องบดตัวอย่าง
2. ตู้อบ
3. ตู้แช่เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส
4. เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง
5. เครื่องวัดความเข้มข้นดีเอ็นเอ รุ่น Nano-Drop8000 (Thermo science)
6. เครื่องดูดจ่ายสาร (Nexar) (Douglas Scientific)
7. เครื่องThermal Cycler (Soellex) (Douglas Scientific)
8. เครื่องปั่นเหวี่ยงสำหรับแอเรย์เทป (Douglas Scientific)
9. เครื่องอ่านสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ (Araya) (Douglas Scientific)
10. โปรแกรมสำเร็จรูปสำหรับวิเคราะห์ข้อมูล (East-West Seed Company Limited)
11. ไมโครปิเปตชนิดหลายช่องดูดจ่าย 8 ช่อง ขนาดต่างๆ
12. ไมโครปิเปตชนิดหลายช่องดูดจ่าย 12 ช่อง ขนาดต่างๆ
13. ไมโครปิเปตขนาดต่างๆ

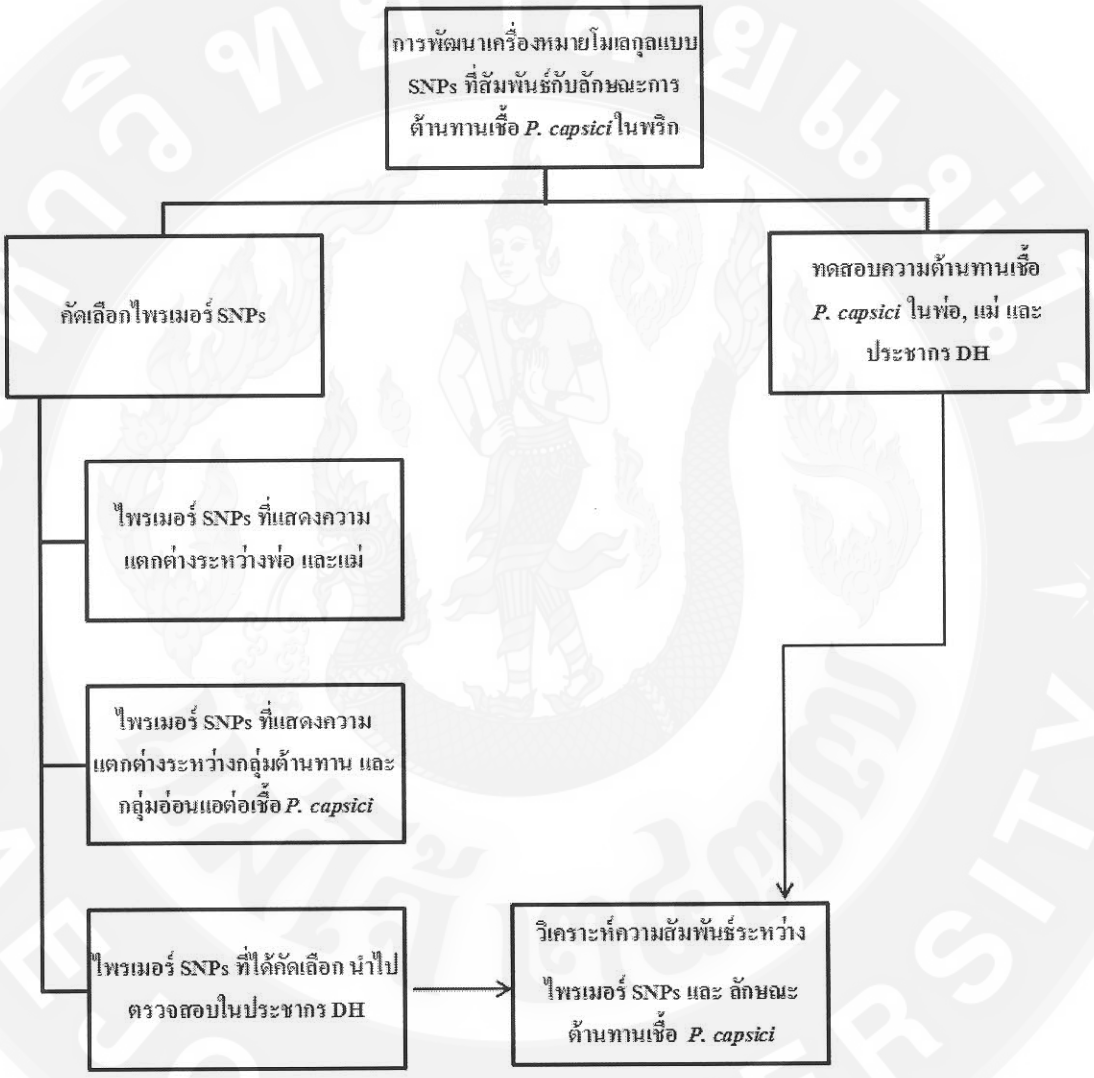
14. ลูกแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร
15. ไมโครปิเปตทิปขนาดต่างๆ
16. ไมโครปิเปตทิปชนิดกรอง ขนาดต่างๆ
17. แอเรย์เทป (Array tape™) ชนิด 384 หลุม ขนาด 2 ไมโครลิตร (Douglas Scientific)
18. พลาสติกปิดแอเรย์เทป (Cover tape) (Douglas Scientific)
19. เพลทพลาสติกชนิดก้นแหลม (V shape) 96 หลุม ยี่ห้อ NUNC
20. หลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร (Extragene)

สารเคมี

1. ไพรเมอร์ SNPs ชนิด forward 1 (F1) จำนวน 1,036 ไพรเมอร์ สังเคราะห์จากบริษัท Integrated DNA Technologies
2. ไพรเมอร์ SNPs ชนิด forward 2 (F2) จำนวน 1,036 ไพรเมอร์ สังเคราะห์จากบริษัท Integrated DNA Technologies
3. ไพรเมอร์ SNPs ชนิด reverse (R) จำนวน 1,036 ไพรเมอร์ สังเคราะห์จากบริษัท Integrated DNA Technologies
4. บัฟเฟอร์สำเร็จรูป KASPar master mix ความเข้มข้น 2 เท่า
5. บัฟเฟอร์ cetyl trimethyl ammonium bromind (CTAB) ความเข้มข้น 2 เท่า (ตารางภาคผนวก ก)
6. บัฟเฟอร์ ฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ ในอัตราส่วน 25 : 24 : 1 (ตารางภาคผนวก ก)
7. เอทานอล 75 เปอร์เซ็นต์
8. ไอโซโพรพานอล
9. น้ำกลั่นบริสุทธิ์
10. บัฟเฟอร์ 1X TE

วิธีการทดลอง

ในการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลแบบ SNPs ที่สัมพันธ์กับลักษณะการต้านทานเชื้อ *P. capsici* ในพริก โดยมีขั้นตอนการดำเนินงานและรายละเอียดดังภาพ 5 ดังนี้



ภาพ 5 แผนภาพการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลแบบสนิปส์ที่สัมพันธ์กับลักษณะการต้านทานเชื้อ *P. capsici* ในพริก

การประเมินความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici*

วิธีการประเมินความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* ดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐานของ The World Vegetable Center or Asian Vegetable Research and Development Center (AVRDC) ซึ่งจะทำการทดสอบในพันธุ์ต้านทาน คือพันธุ์พ่อ ได้แก่ สายพันธุ์ Criollo de Morelos – 334 (CM-334) พันธุ์อ่อนแอ คือพันธุ์แม่ ได้แก่ สายพันธุ์ Jindu และประชากร double haploid (DH) ที่มาจากการผสมของสายพันธุ์ CM-334 และ Jindu และเทคนิคการเพาะเลี้ยงละอองเกสร (Shed microspore culture) (Yaioon et al., 2014) จำนวน 158 สายพันธุ์ โดยมีแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อคสมบูรณ์ (randomized complete block design; RCBD) (ภาพ 6) ทำการปลูกเชื้อโดยนำ zoospore suspension ของเชื้อรา *P. capsici* ปลูกเชื้อให้กับต้นกล้าที่มีอายุประมาณ 1 เดือน หลังจากนั้นบันทึกผลการประเมินความต้านทานหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์ โดยให้คะแนนความรุนแรงของโรคเป็น 4 ระดับ (ภาพ 7) ซึ่งระดับคะแนนความรุนแรงของโรคมีดังนี้

ระดับ 0 = ไม่แสดงอาการ
ระดับ 1 = ลำต้นมีแผล necrosis 1-10 % บริเวณที่ต่ำกว่า cotyledon หรือเริ่มเหี่ยว
ระดับ 2 = ลำต้นมีแผล necrosis 11-50 % บริเวณที่ต่ำกว่า cotyledon หรือเหี่ยว
ระดับ 3 = ลำต้นมีแผล necrosis 51-100 % บริเวณที่ต่ำกว่า cotyledon หรือใบร่วง
ระดับ 4 = ลำต้นมีแผล necrosis เหนือบริเวณ cotyledon หรือพืชตาย

ทำการทดลองทั้งหมด 2 ครั้ง ในแต่ละครั้งใช้ต้นพริกจำนวน 15 ต้นต่อหนึ่งสายพันธุ์ จากนั้นคำนวณพื้นที่ใต้กราฟความรุนแรงของโรค (the area under the disease progress curve; AUDPC) โดยนำเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบเป็นโรคจากการประเมิน 4 ครั้ง คือหลังการปลูกเชื้อ 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์ มาคำนวณหาค่า AUDPC ตามวิธีของ Van (1963) ดังนี้

$$\text{AUDPC} = \sum_{i=1}^{n-1} [(y_i + y_{i+1}) /2] (t_{i+1} - t_i)$$

โดยที่ y_i และ y_{i+1} = เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบเป็นโรค ณ เวลา i และ i+1
t_i, และ t_{i+1} = จำนวนวัน ณ เวลา i และ i+1
n = จำนวนครั้งที่ประเมินเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบเป็นโรค

สำหรับตัวอย่างการคำนวณค่า AUDPC ของตัวอย่าง DH1 มีรายละเอียด ดังนี้

1. ประเมินคะแนนความรุนแรงของโรคในพริกทุกต้นในทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ดังตาราง 9

2. คำนวณเปอร์เซ็นต์ความเหี่ยว โดยคำนวณเปอร์เซ็นต์จากจำนวนต้นที่มีคะแนนระดับ 2 ขึ้นไป ต่อจำนวนต้นทั้งหมด เช่น วันที่ 7 มีจำนวนต้นที่มีคะแนนระดับ 2 ขึ้นไป จำนวน 7 ต้น ดังนั้น เปอร์เซ็นต์ความเหี่ยว = (7/15) × 100 = 46.6 เปอร์เซ็นต์

3. คำนวณค่า AUDPC โดยนำค่าเปอร์เซ็นต์ความเหี่ยวมาคำนวณตามสูตร AUDPC ข้างต้น ดังนี้

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} [(y_i + y_{i+1}) /2] (t_{i+1} - t_i)$$

$$AUDPC = [(((0 + 46.6)/2) \times 7) + (((46.6 + 66.6)/2) \times 7) + (((66.6 + 80)/2) \times 7) + (((80 + 100)/2) \times 7)]$$

$$AUDPC = 1,703$$

ตาราง 9 การประเมินระดับคะแนนความรุนแรงของโรคในพริกจำนวน 15 ต้นของตัวอย่าง DH1 เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในการทดลองครั้งที่ 1

ชื่อตัวอย่าง	จำนวนวันหลังปลูกเชื้อ	จำนวนต้นพริก (ต้น)	จำนวนต้นที่ระดับคะแนนต่างๆ					เปอร์เซ็นต์ความเหี่ยว
			0	1	2	3	4	
DH1	7 วัน	15	3	5	5	2	0	46.6
	14 วัน	15	1	4	5	3	2	66.6
	21 วัน	15	0	3	0	6	6	80
	28 วัน	15	0	0	0	1	14	100

ภาพ 6 แผนการทดลองแบบสุ่มบล็อคสมบูรณ์

ภาพ 7 เกณฑ์การให้คะแนนระดับความรุนแรงของโรคแบ่งเป็น 0 - 4 ระดับ

หมายเหตุ ระดับ 0 คือ ไม่แสดงอาการโรค ระดับ 1 คือ เริ่มเหี่ยว,

ระดับ 2 คือ เหี่ยว ระดับ 3 คือ ใบร่วง,

ระดับ 4 คือ พืชตาย

การสกัดดีเอ็นเอ

1. เก็บตัวอย่างใบอ่อนพริก 1 – 2 ใบ ใส่หลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

2. เติมลูกแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ปริมาณ 3 เม็ด จากนั้นเติมบัฟเฟอร์ CTAB ความเข้มข้น 2 เท่า ปริมาตร 500ไมโครลิตร

3. บดตัวอย่างด้วยเครื่องบดตัวอย่างนาน 30 วินาที

4. บ่มตัวอย่างที่ตู้อบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

5. เติมสารฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิล แอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 25 : 24 : 1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน

6. นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบ/นาที นาน 15 นาที

7. เติมสารไอโซโพรพานอลปริมาตร 400 ไมโครลิตรใส่หลอดไมโครเซ็นติฟิวก์หลอดใหม่

8. ดูดสารละลายส่วนใสส่วนบนปริมาตร 400 ไมโครลิตร ย้ายใส่หลอดที่มีสารไอโซโพรพานอล (ขั้นตอนที่ 7) กลับหลอดไปมา เพื่อผสมตัวอย่างและสารละลายให้เข้ากันดี

9. นำไปแช่ที่ตู้แช่เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

10. นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบ/นาที นาน 30 นาที เทสารละลายทิ้ง เหลือตะกอนที่ก้นหลอดไว้

11. เติมสารเอทานอลความเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 400 ไมโครลิตร เพื่อล้างตะกอน

12. นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบ/นาที นาน 5 นาที

13. เทสารละลายส่วนใสทิ้ง เหลือตะกอนดีเอ็นเอที่ก้นหลอดไว้

14. นำหลอดที่มีตะกอนดีเอ็นเอไปตากให้แห้ง

15. ละลายกลับดีเอ็นเอด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ปริมาตร 30 ไมโครลิตร

16. ตรวจสอบคุณภาพและความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเครื่อง Nano-Drop 8000

17. ปรับความเข้มข้นดีเอ็นเอให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 15 นาโนกรัม / ไมโครลิตร ด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์

การเตรียมปฏิกิริยา PCR ด้วยไพรเมอร์สนิปส์

1. การเตรียมไพรเมอร์สนิปส์

ในปฏิกิริยา PCR จะใช้ไพรเมอร์ 1 ชุด ที่ประกอบด้วยไพรเมอร์ 3 เส้น ได้แก่ forward1 (F1), forward2 (F2) และ reverse (R) จากไพรเมอร์ที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ผสมชุดของไพรเมอร์ ดังแสดงใน ตาราง 10

ตาราง 10 การเตรียมชุดไพรเมอร์ ในปริมาตร100 ไมโครลิตร

ชนิดไพรเมอร์	**ปริมาตร (ไมโครลิตร)**	**ความเข้มข้นสุดท้าย (ไมโครโมลาร์)**
forword1 (F1) ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์	12	12
forward2 (F2) ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์	12	12
reverse (R) ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์	30	30
น้ำกลั่นบริสุทธิ์	46	-
รวม	100	-

2. การเตรียมปฏิกิริยา PCR และ การทำ PCR

นำชุดไพรเมอร์ไปใช้ในการเตรียมปฏิกิริยา PCR ที่มีองค์ประกอบดังแสดงใน ตาราง 11 และการทำ PCR มีขั้นตอนดังแสดงไว้ใน ภาพ 8

1. เติมบัฟเฟอร์สำเร็จรูป KASPar master mix (2X) ไว้ในเพลทพลาสติกชนิดก้นแหลม หลังจากนั้นเติมไพรเมอร์ เรียกว่า เพลท assay

2. เตรียมดีเอ็นเอที่มีความเข้มข้น 15 นาโนกรัม / ไมโครลิตร ในเพลทพลาสติกชนิดก้นแหลม เรียกว่า เพลทดีเอ็นเอ

3. นำเพลทดีเอ็นเอ และเพลท assay ใส่เข้าไปในเครื่องดูดจ่ายสาร (Nexar) เพื่อดูดจ่ายดีเอ็นเอ และ assay จากเพลทพลาสติกไปสู่แอเรย์เทป (Array tape™) ชนิด 384 หลุม จากนั้นปิดแอเรย์เทป (Array tape™) ที่มีดีเอ็นเอ และ assay ด้วยพลาสติกปิดแอเรย์เทป (cover tape)

4. นำแอเรย์เทป (Array tape™) ที่เตรียมปฏิกิริยาเสร็จแล้ว ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงสำหรับแอเรย์เทป ด้วยความเร็ว 5,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที

5. นำแอเรย์เทป (Array tape™) ใส่ เครื่อง Thermal Cycler (Soellex) โดยใช้เวลาและอุณหภูมิ ดังนี้

ขั้นที่ 1	94 องศาเซลเซียส 15 นาที (สำหรับ hot-start activation)
ขั้นที่ 2	94 องศาเซลเซียส 20 วินาที (สำหรับ denature)
ขั้นที่ 3	65 - 57 องศาเซลเซียส 60 วินาที (โดยลดอุณหภูมิลงรอบละ 0.8 องศาเซลเซียส/รอบ) ทำซ้ำ 10 รอบ
ขั้นที่ 4	94 องศาเซลเซียส 20 วินาที (สำหรับ denature)
ขั้นที่ 5	57 องศาเซลเซียส 60 วินาที (สำหรับ annealing และ extension) ทำซ้ำ 26 รอบ

6. นำผลของ PCR มาตรวจสอบด้วยเครื่องอ่านสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ (Araya)

7. วิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

ตาราง 11 องค์ประกอบของสารใน 1 ปฏิกิริยา PCR

ชื่อสาร	ปริมาตร (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้าย (ไมโครโมลาร์)
บัฟเฟอร์สำเร็จรูป KASPar master mix (2X)	0.8	1X
ดีเอ็นเอ (15 นาโนกรัม / ไมโครลิตร)	0.8	7.4 นาโนกรัม / ไมโครลิตร
ชุดไพรเมอร์ (54 ไมโครโมลาร์)	0.02	0.67 ไมโครโมลาร์
รวม	1.62	-

ภาพ 8 ขั้นตอนการเตรียมปฏิกิริยา PCR และการตรวจสอบ PCR

การคัดเลือกไพรเมอร์สนิปส์

ในขั้นตอนการคัดเลือกไพรเมอร์สนิปส์มีขั้นตอนหลักอยู่ 3 ขั้นตอน ได้แก่

1. การคัดเลือกไพรเมอร์แบบสนิปส์ที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่

2. การคัดเลือกไพรเมอร์แบบสนิปส์ที่แสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มต้านทานและ กลุ่มอ่อนแอต่อเชื้อรา *P. capsici* (bulked segregant analysis ; BSA)

3. การนำไพรเมอร์สนิปส์ที่ได้จากการคัดเลือกไปตรวจสอบในประชากร DH

1. การเลือกไพรเมอร์แบบสนิปส์ ที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อและพันธ์แม่

นำตัวอย่างดีเอ็นเอของพันธุ์พ่อ (CM-334) และพันธุ์แม่ (Jindu) ที่สกัดได้ มาทำการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์สนิปส์จำนวน 1,036 ไพรเมอร์ ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ transcriptome ของพริก (the pepper genome database release 2.0) เพื่อคัดเลือกไพรเมอร์สนิปส์แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อและแม่ และนำไปใช้ตรวจสอบในขั้นตอนต่อไป

2. การเลือกไพรเมอร์แบบสนิปส์ที่แสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มต้านทานและกลุ่มอ่อนแอต่อเชื้อรา *P. capsici* (bulked segregant analysis ; BSA)

จากผลการประเมินความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* ของประชากรพริกที่ใช้ในการทดลอง นำมาสร้างกลุ่มตัวแทนสองกลุ่ม โดยในแต่ละกลุ่มได้จากการรวมดีเอ็นเอจำนวน 10 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 15 ต้น คือ กลุ่มที่มีลักษณะต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* มากที่สุดจำนวน 10 ตัวอย่าง และกลุ่มที่มีลักษณะอ่อนแอต่อเชื้อรา *P. capsici* มากที่สุดจำนวน 10 ตัวอย่าง จากนั้นนำไพรเมอร์สนิปส์ที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่จากขั้นตอนที่ 4.1 มาทดสอบในกลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่มด้วยการทำ PCR เพื่อหาไพรเมอร์สนิปส์ที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อแม่และสองกลุ่มตัวอย่าง

3. การนำไพรเมอร์สนิปส์ที่ได้จากการคัดเลือกไปตรวจสอบในประชากร DH

นำไพรเมอร์สนิปส์ที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อแม่และสองกลุ่มตัวอย่าง (ขั้นตอนที่ 4.2) มาตรวจสอบในประชากร DH จำนวน 158 ตัวอย่าง ด้วยการทำ PCR

การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการศึกษานี้การวิเคราะห์ทั้งหมดใช้โปรแกรม R/qtl analysis (Broman และ Sen, 2009) และ WinQTL Cartographer (Wang et al., 2006) โดยแบ่งขั้นตอน ดังนี้

1. การวิเคราะห์ข้อมูลฟีโนไทป์

การวิเคราะห์ฟีโนไทป์หรือความรุนแรงของโรคเพื่อแสดงความต้านทานโรคในกลุ่มประชากร 2 กลุ่ม ด้วยการทดสอบ *t*-test ที่ระดับนัยสำคัญ (α = 0.05) ประชากรแรกเป็นการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ AUDPC ระหว่างพันธุ์พ่อหรือพันธุ์ต้านทานและพันธุ์แม่หรือพันธุ์อ่อนแอ ประชากรที่สอง เป็นการเปรียบเทียบค่า AUDPC ของประชากร DH ที่ได้จากการทดลองจำนวน 2 ครั้ง และนำข้อมูลฟีโนไทป์ (AUDPC) ที่ได้นำมาสร้างกราฟเพื่อดูการกระจายตัวของฟีโนไทป์ในประชากร DH

2. การวิเคราะห์ข้อมูลจีโนไทป์

โดยทำการตรวจสอบข้อมูลจีโนไทป์ที่ได้ ดังนี้

2.1 ตรวจสอบจำนวนข้อมูลสูญหายเพื่อคัดกรองข้อมูลเบื้องต้น โดยตั้งค่าข้อมูลที่ได้ต้องมีจำนวนข้อมูลสูญหายไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์

2.2 ตรวจสอบการกระจายตัวของไพรเมอร์สนิปส์ (segregation distortion) โดยการทดสอบ Chi square test เพื่อตรวจสอบการกระจายตัวของไพรเมอร์สนิปส์ว่าสอดคล้องกับค่าคาดหมายในประชากรหรือไม่ โดยในประชากร DH ค่าคาดหมายการกระจายตัวของแอลลีล RR (ต้านทาน) : SS (อ่อนแอ) คือ 1 : 1

2.3 สร้างกลุ่มลิงค์เกจ (linkage groups) ของไพรเมอร์ที่ได้จากคัดเลือกในประชากร DH โดยใช้ค่า logarithm of odds (LOD) 6 และ recombination fraction (rf) 0.25 และผลที่ได้คือกลุ่มของไพรเมอร์ที่คาดว่าอยู่บริเวณเดียวกัน

2.4 ตรวจสอบกลุ่มลิงค์เกจที่ได้ว่าอยู่บนโครโมโซมใดของพริก

3. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์และฟีโนไทป์

ในการวิเคราะห์ไพรเมอร์สนิปส์ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะการต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* ใช้การวิเคราะห์ single markers analysis (Doerge, 2002) ระหว่างค่าจีโนไทป์ คือ R หรือ S ที่ได้จากการทดสอบด้วยไพรเมอร์ โดย R แสดงอัลลีลเหมือนพ่อ คือพันธุ์ต้านทาน ส่วน S

แสดงอัลลีลเหมือนแม่ คือพันธุ์อ่อนแอ และฟีโนไทป์ที่ได้จากประชากร DH ที่เป็นค่า AUDPC ที่ได้จากการทดลองตอนที่ 1 โดยหากมีค่ามากแสดงว่าอ่อนแอต่อเชื้อรา *P. capsici* และหากมีค่าน้อยแสดงว่าต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* เพื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลสนิปส์กับลักษณะต้านทาน โดยพิจารณาจากคะแนน logarithm of odd ratio (LOD) และค่าความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ ฟีโนไทป์ (percentage of phenotypic variation explained; PVE) เพื่อแสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายโมเลกุลนั้นสามารถอธิบายลักษณะที่ต้องการศึกษาได้มากน้อยเพียงใด การวิเคราะห์คะแนน LOD พัฒนาโดย Morton (1955) ซึ่งคะแนน LOD เป็นค่าทางสถิติที่ใช้บ่งชี้ว่าเครื่องหมายโมเลกุลที่ศึกษาสัมพันธ์กันหรือไม่ โดยคะแนน LOD คือ ค่า logarithm (base 10) of odd ratio หรือ logarithm (base 10) of the likelihood ratio ซึ่งค่า likelihood ratio คือ โอกาสที่เครื่องหมายโมเลกุลที่ศึกษาเชื่อมโยงกันในรูปเลขยกกำลัง ตัวอย่างเช่น ค่า LOD เป็น 3 แสดงว่าโอกาสที่เครื่องหมายโมเลกุลที่ศึกษาเชื่อมโยงกันเป็น 10^3 ดังนั้นคะแนน LOD เป็นจึงเป็นค่า logarithm (base 10) ของอัตราส่วนของความน่าจะเป็นระหว่างโอกาสที่เครื่องหมายโมเลกุลกับลักษณะมีความเชื่อมโยงกัน (linkage) ต่อโอกาสเครื่องหมายโมเลกุลกับลักษณะไม่มีความเชื่อมโยงกัน (non linkage) แสดงไว้ในสูตรดังนี้

$$LOD = Z = \log_{10} \frac{\text{probability of birth sequence with a given linkage value}}{\text{probability of birth sequence with no linkage}} = \log_{10} \frac{(1-\theta)^{NR} \times \theta^{R}}{0.5^{(NR+R)}}$$

เมื่อ NR คือ จำนวนลูกที่มี จีโนไทป์ ที่อยู่ในรูป non-recombinant type (parental type)

R คือ จำนวนลูกที่มี จีโนไทป์ ที่อยู่ในรูป recombinant type

และ θ คือ recombination fraction คำนวณได้ดังนี้

% recombinant (θ) = (จำนวนลูกที่อยู่ในรูป recombinant type / จำนวนลูกทั้งหมด) x 100

สำหรับตัวอย่างการคำนวณค่าคะแนน LOD ได้แสดงไว้ 2 กรณี มีรายละเอียด ดังนี้ ในกรณี 1 คือ เครื่องหมายโมเลกุลไม่เชื่อมโยงกัน (non-linkage) กำหนดให้ระยะห่างระหว่างยีนเท่ากับ 40 cM ดังนั้น θ เท่ากับ 0.4 NR เท่ากับ 12 และ R เท่ากับ 8 :

$$\text{LOD score} = \log_{10} \frac{(1-0.4)^{12} \times 0.4^{8}}{0.5^{20}} = \log 10\,(1.49) = 0.17$$

ในกรณี 2 คือ เครื่องหมายโมเลกุลเชื่อมโยงกัน (linkage) กำหนดให้ระยะห่างระหว่างยีนเท่ากับ 10 cM ดังนั้น θ เท่ากับ 0.1 NR เท่ากับ 18 และ R เท่ากับ 2 :

$$\text{LOD score} = \log_{10} \frac{(1-0.10)^{18} \times 0.10^{2}}{0.5^{20}} = \log10\ (1573.85) = 3.19$$

จากตัวอย่างทั้ง 2 กรณีแสดงให้เห็นว่าถ้าคะแนน LOD สูง แสดงว่าเครื่องหมายโมเลกุลอยู่ใกล้ แต่ในทางตรงกันข้ามถ้าคะแนน LOD ต่ำ แสดงว่าเครื่องหมายโมเลกุลอยู่ไกล โดยปกติค่าคะแนน LOD ต่ำที่สุดที่ยอมรับได้ (thresholds) มีค่าประมาณ 3 นอกจากนี้ค่าความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ฟีโนไทป์ยังใช้บ่งชี้ว่าเป็น QTL หลัก หรือ QTL รอง ถ้ามีค่าความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ฟีโนไทป์มากกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ให้เป็น QTL หลัก แต่ถ้าค่าความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ฟีโนไทป์น้อยกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ให้เป็น QTL รอง (Liu et al., 2014)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

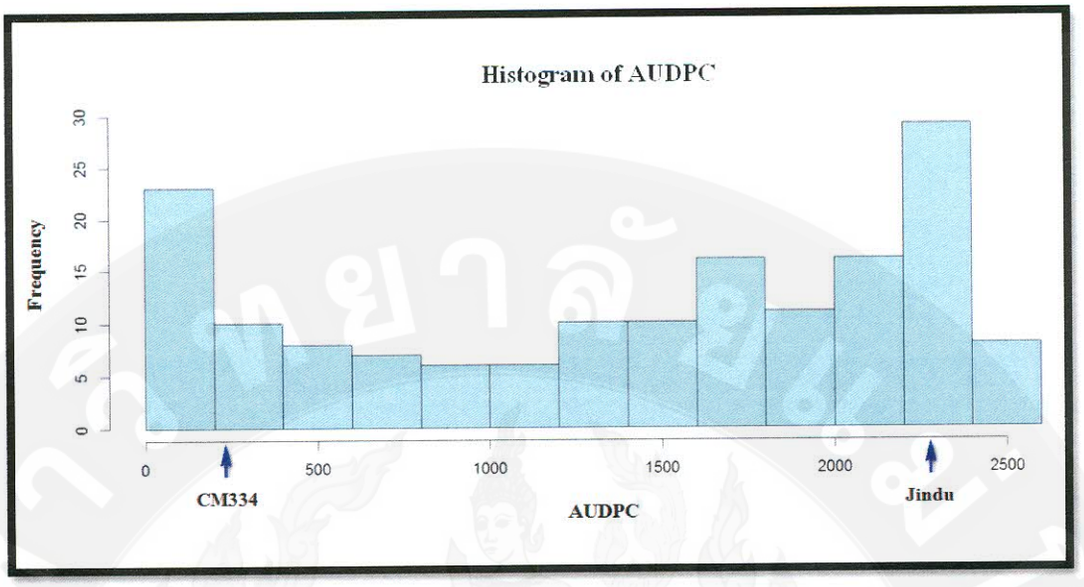
การประเมินความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici*

ผลการประเมินความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* พบว่าค่าพื้นที่ใต้กราฟความรุนแรงของโรค (AUDPC) ของพันธุ์พ่อหรือพันธุ์ต้านทาน (CM-334) และพันธุ์แม่หรือพันธุ์อ่อนแอ (Jindu) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตาราง 12 จากข้อมูลฟีโนไทป์แสดงให้เห็นว่าในพันธุ์ต้านทาน (CM-334) มีค่า AUDPC ต่ำ (226) ในทางตรงกันข้ามพันธุ์อ่อนแอ (Jindu) มีค่า AUDPC ที่สูง (2,275) ในขณะที่ค่า AUDPC ในประชากร DH มีการกระจายของค่า AUDPC ตั้งแต่ต่ำไปถึงสูง (0 – 2,497) ดังแสดงที่ ภาคผนวก ข และเมื่อนำค่าเฉลี่ย AUDPC ของประชากร DH จำนวน 158 สายพันธุ์ มาสร้างกราฟ พบการกระจายตัวเป็นแบบการแจกแจงแบบ 2 ยอด (bimodal distribution) ดังแสดงในภาพ 9 นอกจากนี้ทำการทดสอบ *t*-test เพื่อเปรียบเทียบค่า AUDPC ของประชากร DH ที่ได้จากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 ผลการทดสอบแสดงว่าค่า AUDPC ที่ได้จากการประเมินทั้ง 2 ครั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ดังแสดงในภาพ 10 และตาราง 13 ดังนั้นไม่สามารถใช้ค่าเฉลี่ย AUDPC จากการทดลองทั้ง 2 ครั้งในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์และฟีโนไทป์ด้วย single marker analysis ได้ โดยจะต้องแยกวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของฟีโนไทป์เป็นของการประเมินครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2

ตาราง 12 การเปรียบเทียบค่า AUDPC ระหว่างพันธุ์ต้านทาน (CM-334) และพันธุ์อ่อนแอ (Jindu) โดยการทดสอบ *t*-test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย	ค่าความแปรปรวน	$t_{คำนวณ}$	$t_{ตาราง}$
CM-334	226	20,334.72	12.56*	4.30
Jindu	2,275	32,938.89		

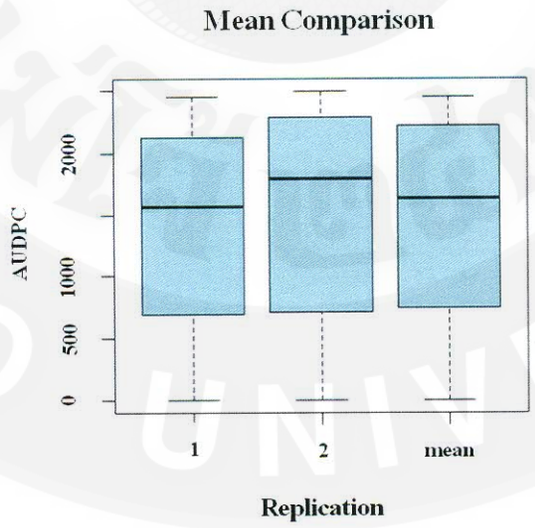
หมายเหตุ *มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05



ภาพ 9 การกระจายตัวของค่าเฉลี่ย AUDPC ในประชากร DH ต่อลักษณะการต้านทานเชื้อรา *P. capsici*

หมายเหตุ แกนตั้ง (Y axis) คือ จำนวนตัวอย่าง

แกนนอน (X axis) คือ ค่า AUDPC ตำแหน่งลูกศร หมายถึง ค่าเฉลี่ย AUDPC ใน พันธุ์ต้านทาน (CM-334) มีค่า AUDPC เท่ากับ 226 และ พันธุ์อ่อนแอ (Jindu) มีค่า AUDPC เท่ากับ 2,275



ภาพ 10 กราฟ box plot แสดงถึงค่า AUDPC ในแต่ละซ้ำ

หมายเหตุ แกนตั้ง (Y axis) คือ ค่า AUDPC

แกนนอน (X axis) คือ ครั้งที่ของการทดลอง

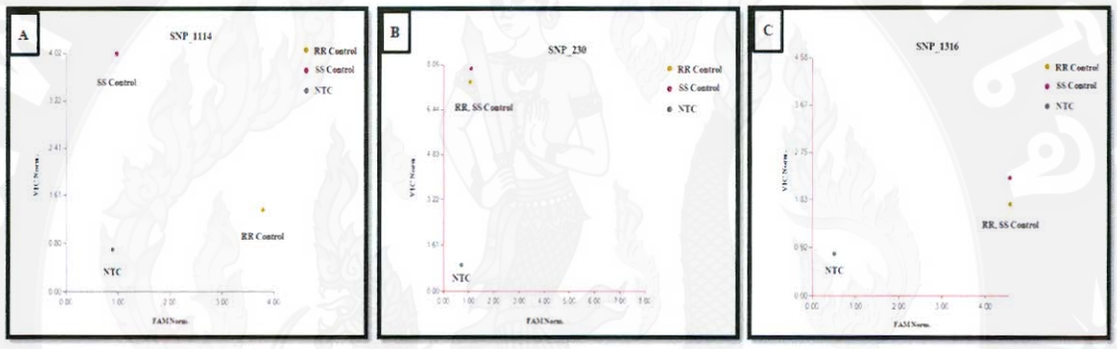
ตาราง 13 การเปรียบเทียบค่า AUDPC ที่ได้จากทดลองครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 โดยการทดสอบ *t*-test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ครั้งที่	ค่าเฉลี่ย	ค่าความแปรปรวน	$t_{คำนวณ}$	$t_{ตาราง}$
1	1,340.09	693507.03	4.72*	2.61
2	1,419.28	741583.11		

หมายเหตุ *มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

การคัดเลือกไพรเมอร์สนิปส์

ผลการตรวจสอบไพรเมอร์สนิปส์ทั้งหมด 1,036 ไพรเมอร์ กับตัวอย่างพันธุ์ต้านทานคือ พันธุ์พ่อ CM-334 และพันธุ์อ่อนแอคือ พันธุ์แม่ Jindu พบไพรเมอร์ที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ทั้งหมดจำนวน 448 ไพรเมอร์ (ภาพ 11A) และไพรเมอร์ที่ไม่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อและพันธ์แม่จำนวน 588 ไพรเมอร์ (ภาพ 11B และ 11C) โดยในขั้นตอนนี้จะคัดเลือกเฉพาะไพรเมอร์สนิปส์ที่แสดงความแตกต่างระหว่าง พันธุ์ต้านทานและพันธุ์อ่อนแอเพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป



ภาพ 11 ผลการทำของไพรเมอร์สนิปส์ที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานกับพันธุ์อ่อนแอ และของไพรเมอร์สนิปส์ที่ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานกับพันธุ์อ่อนแอ

หมายเหตุ A คือ ไพรเมอร์สนิปส์ที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานกับพันธุ์อ่อนแอ

B คือ ไพรเมอร์สนิปส์ที่ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานกับพันธุ์อ่อนแอ

C คือ ไพรเมอร์สนิปส์ที่ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานกับพันธุ์อ่อนแอ

จุดสีน้ำตาล (RR control) คือ พันธุ์ต้านทาน (CM-334)

จุดสีม่วง (SS control) คือ พันธุ์อ่อนแอ (Jindu)

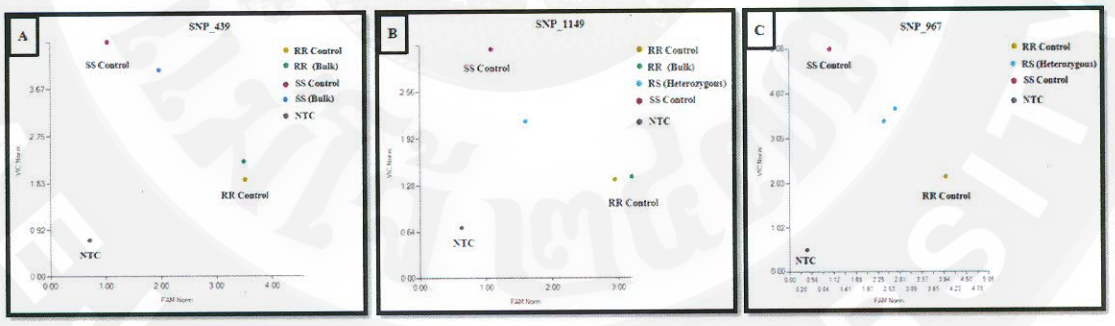
จุดสีดำ (NTC) คือ ชุดควบคุมแบบ negative

นำไพรเมอร์ที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทาน และพันธุ์อ่อนแอ จำนวน 448 ไพรเมอร์ มาตรวจสอบกับกลุ่มประชากร DH ที่มีลักษณะต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* มากที่สุดและกลุ่มที่มีลักษณะอ่อนแอต่อเชื้อรา *P. capsici* ที่สุด ซึ่งเป็นการใช้เทคนิค bulk segregant

analysis (BSA) เข้ามาช่วยในการคัดเลือกไพรเมอร์ ในขั้นตอนนี้มีหลักเกณฑ์ที่ใช้คัดเลือกไพรเมอร์ ได้แก่ ไพรเมอร์จะต้องสามารถแยกความแตกต่างระหว่างสองกลุ่มตัวอย่าง (ภาพ 12A) และจะต้องเป็นไพรเมอร์ที่แสดงจีโนไทป์แบบ heterozygous ในสองกลุ่มตัวอย่างได้ (ภาพ 12B และ 12C) ผลการคัดเลือกไพรเมอร์สามารถคัดเลือกไพรเมอร์สนิปส์เป็นไปตามหลักเกณฑ์ที่กล่าวมาข้างต้นได้ จำนวน 45 ไพรเมอร์ โดยจำนวนไพรเมอร์สนิปส์ที่ใช้และผลการคัดเลือกในแต่ละขั้นตอนได้แสดงไว้ในตาราง 14

ตาราง 14 จำนวนไพรเมอร์สนิปส์ที่ใช้ตรวจสอบและคัดเลือกในแต่ละขั้นตอน

ขั้นตอน	จำนวนไพรเมอร์ที่ตรวจสอบ	จำนวนไพรเมอร์ที่คัดเลือกได้
การตรวจสอบพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่	1,036	448
การตรวจสอบกลุ่มต้านทานและอ่อนแอ (Bulk Segregant Analysis)	448	45
การตรวจสอบประชากร DH	45	45



ภาพ 12 กราฟจุดของไพรเมอร์สนิปส์ที่ได้รับการคัดเลือกในขั้นตอน BSA

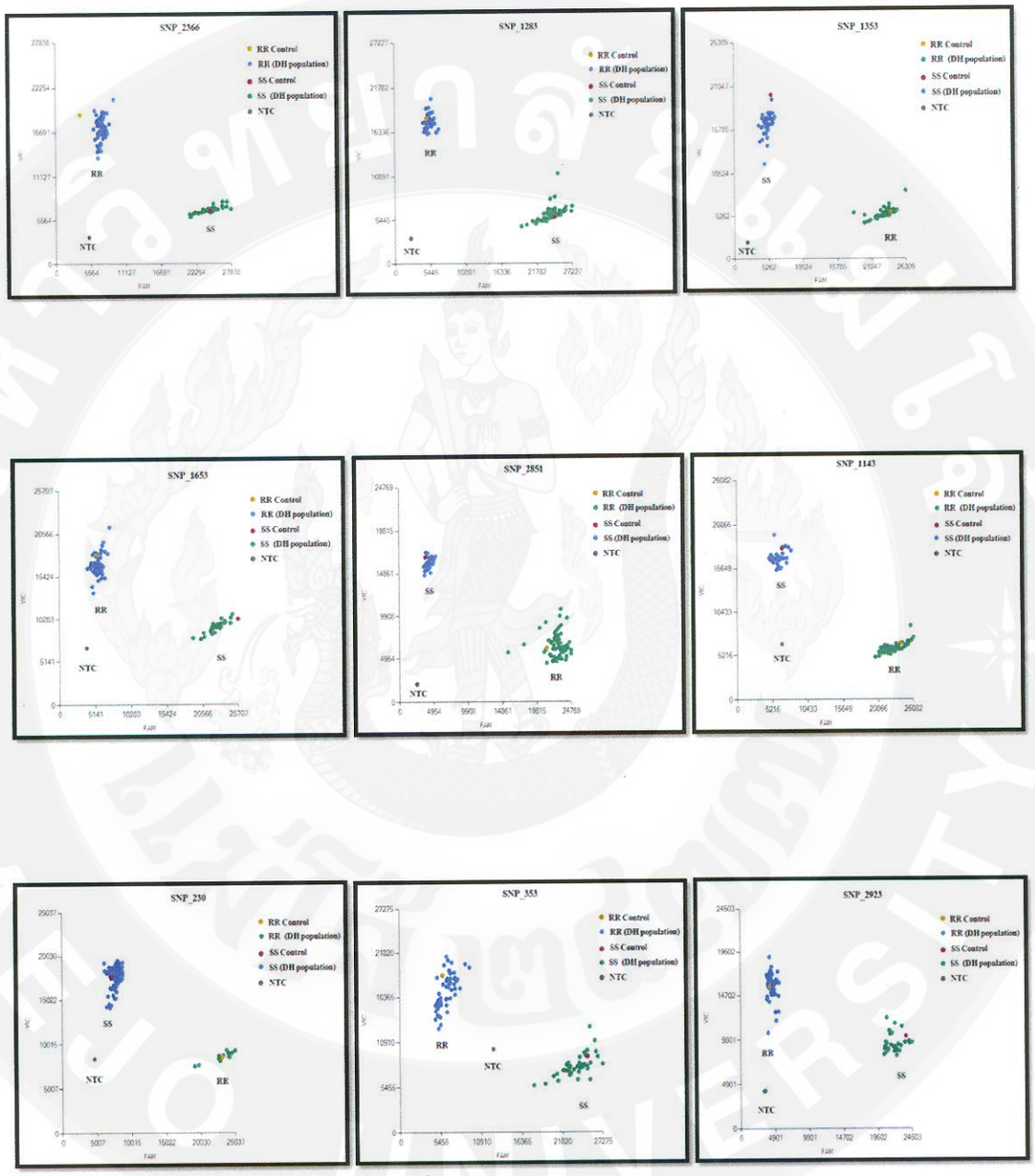
หมายเหตุ จุดสีน้ำตาล (RR control) คือ พันธุ์ต้านทาน (CM-334)

จุดสีม่วง (SS control) คือ พันธุ์อ่อนแอ (Jindu)

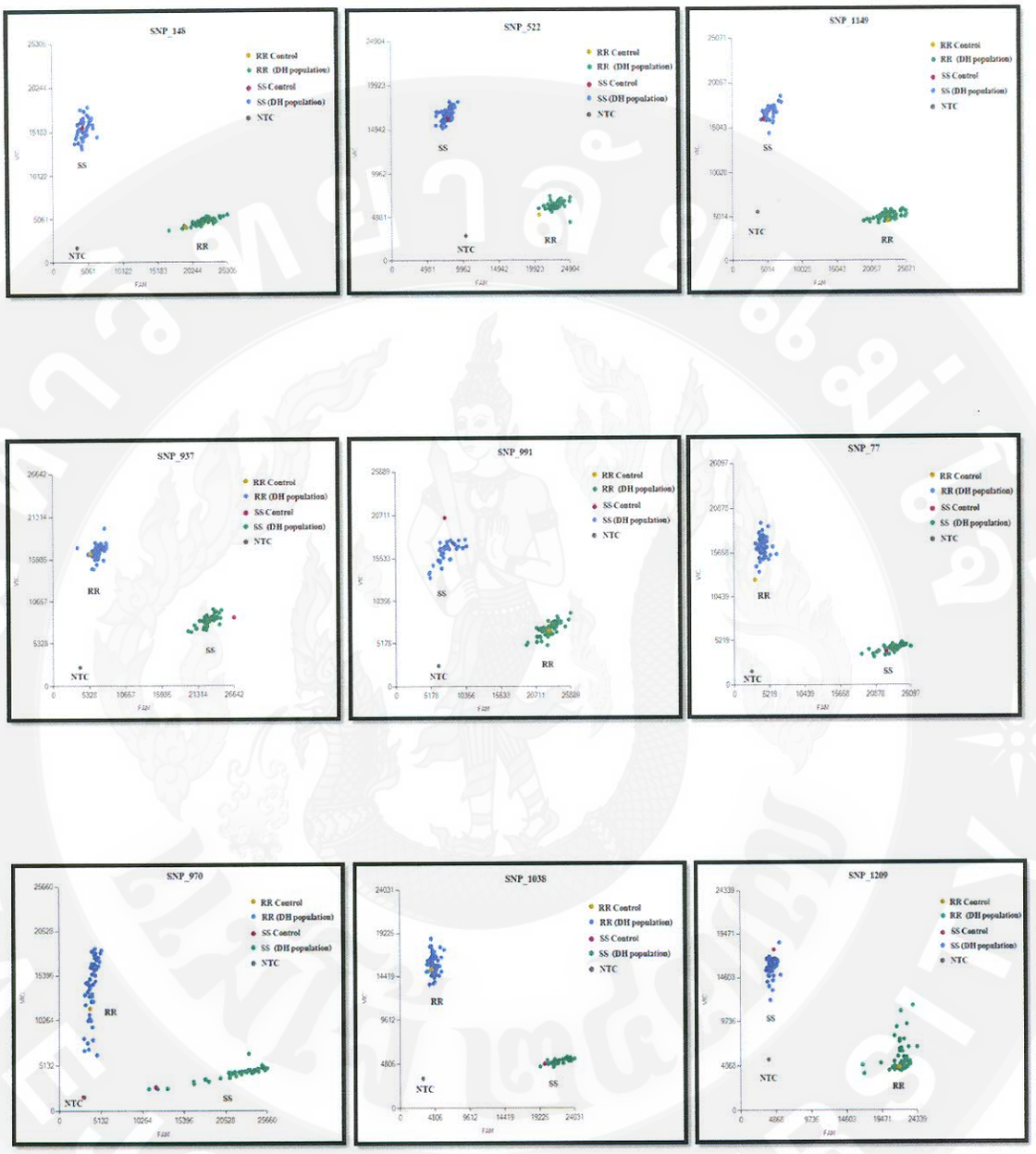
จุดสีดำ (NTC) คือ ชุดควบคุมแบบ negative

จากนั้นนำไพรเมอร์สนิปส์ทั้ง 45 ไพรเมอร์ มาตรวจสอบจีโนไทป์ในประชากร DH จำนวน 158 ตัวอย่าง ซึ่งผลการตรวจสอบจีโนไทป์ทั้งหมดได้แสดงในภาพ 13 และผลการตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร DH ทั้งหมด แสดงในภาคผนวก ค โดยไพรเมอร์ SNPs ทั้ง 45

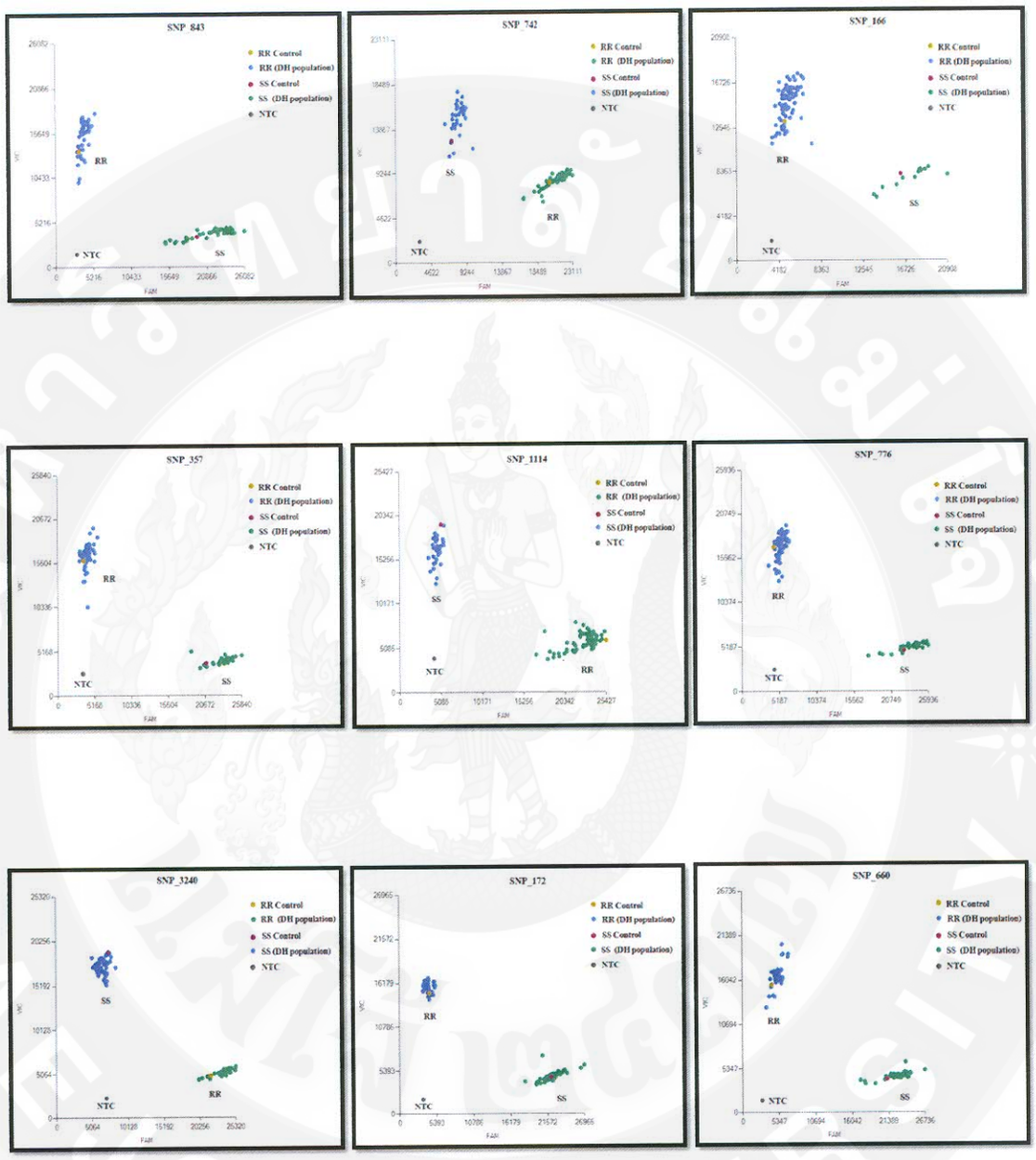
ไพรเมอร์ สามารถแยกประชากร DH ออกเป็นกลุ่มต้านทาน และกลุ่มอ่อนแอต่อเชื้อรา *P. capsici* ได้



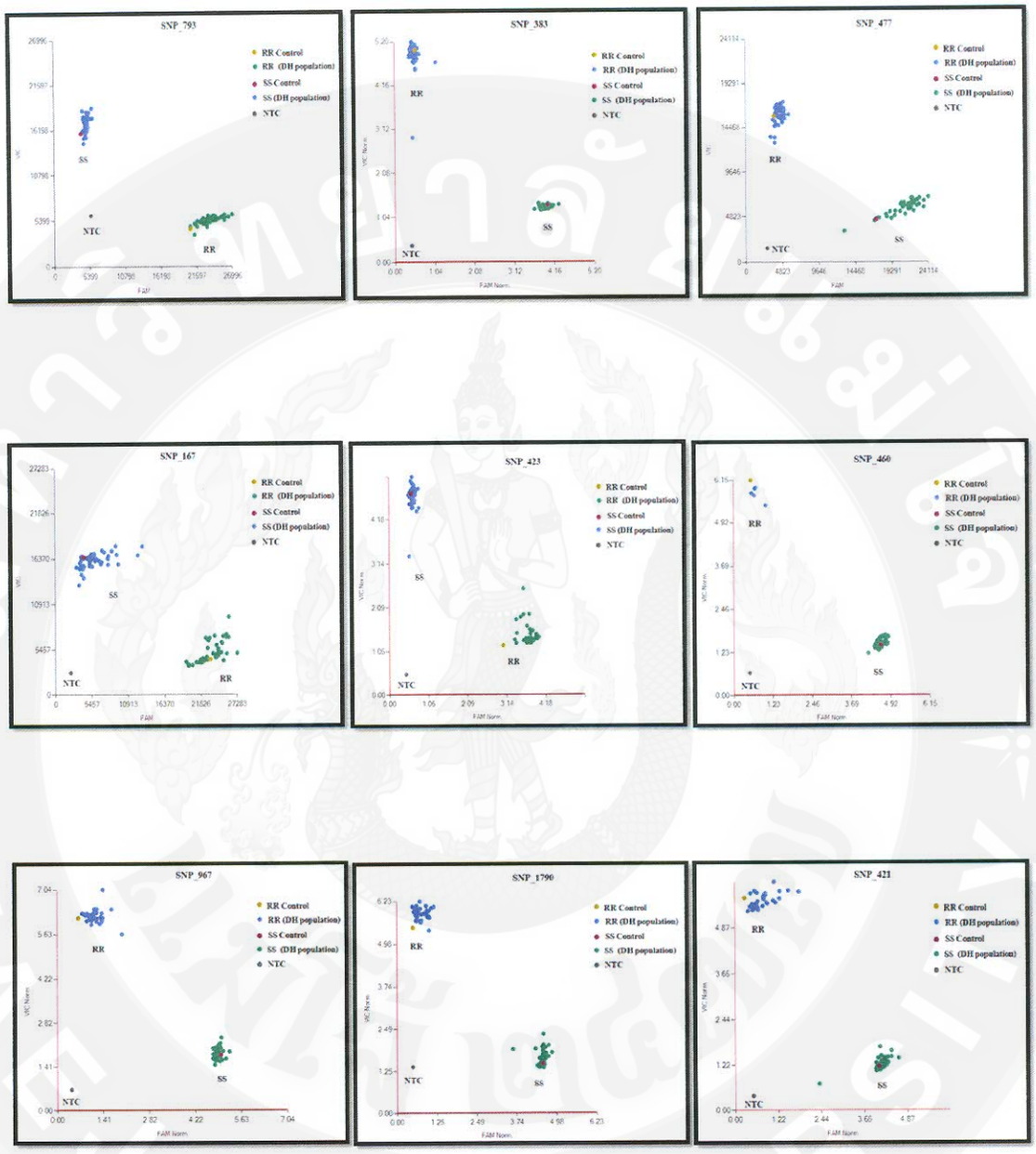
ภาพ 13 ผลการตรวจสอบจีโนไทป์ของไพรเมอร์สนิปส์ทั้ง 45 ไพรเมอร์ ที่ได้รับการคัดเลือกและนำไปตรวจสอบในประชากร DH จำนวน 158 สายพันธุ์


SNP_148
SNP_522
SNP_1149
SNP_937
SNP_991
SNP_77
SNP_970
SNP_1038
SNP_1209
RR Control
RR (DH population)
SS Control
SS (DH population)
NTC
SS
RR
NTC
VIC
FAM

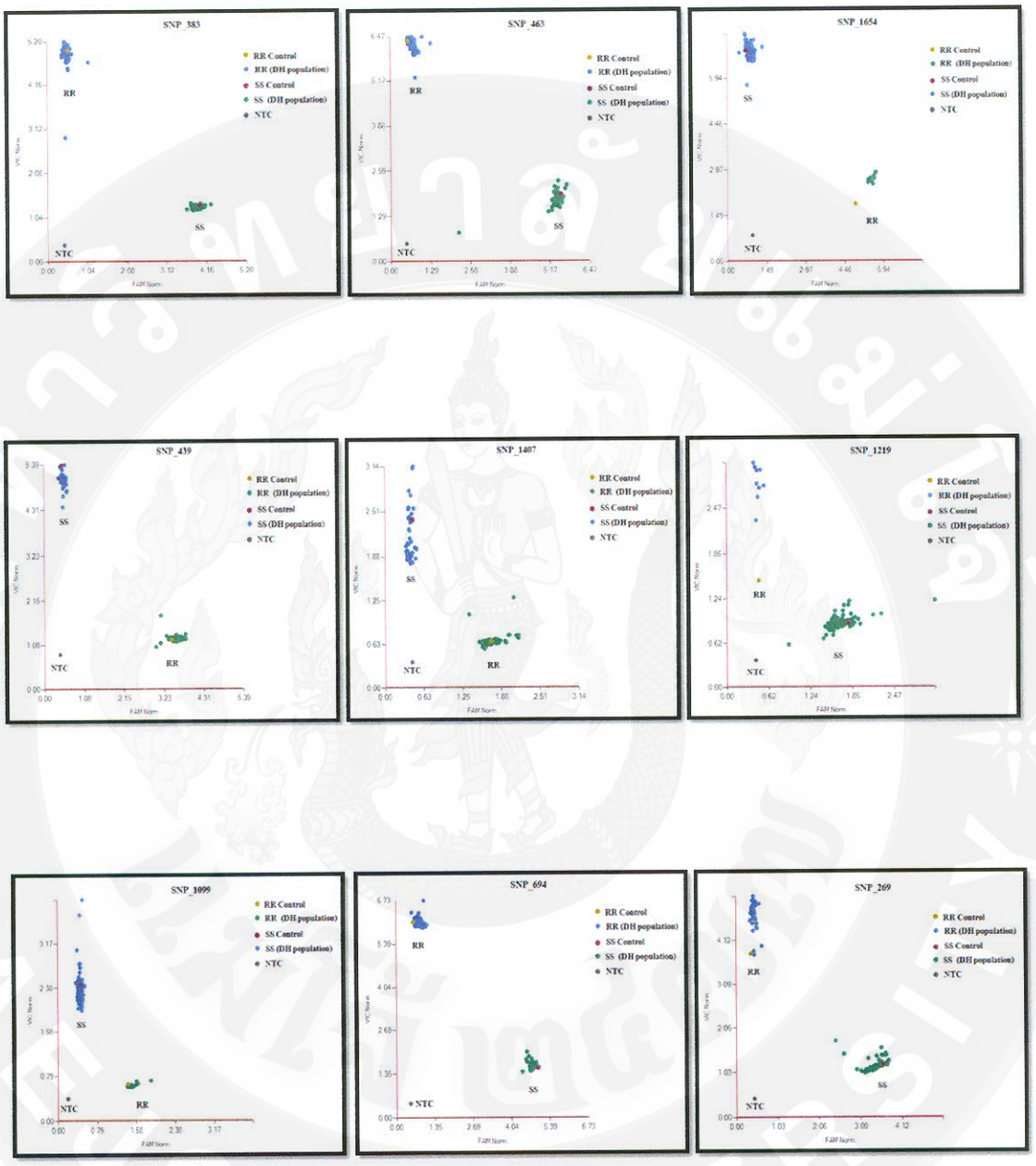
ภาพ 13 (ต่อ)


SNP_843
SNP_742
SNP_166
SNP_357
SNP_1114
SNP_776
SNP_3240
SNP_172
SNP_660
RR Control
RR (DH population)
SS Control
SS (DH population)
NTC
RR
SS
NTC
VIC
FAM

ภาพ 13 (ต่อ)


SNP_793
SNP_383
SNP_477
SNP_167
SNP_423
SNP_460
SNP_967
SNP_1790
SNP_421
RR Control
RR (DH population)
SS Control
SS (DH population)
NTC
RR
SS
NTC

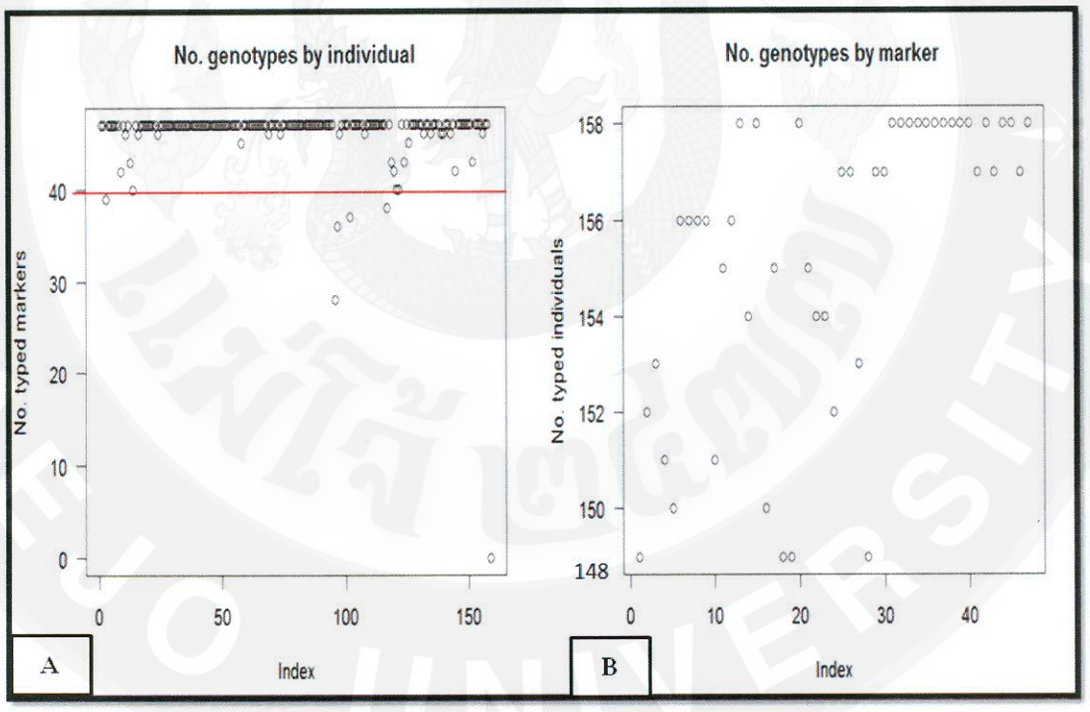
ภาพ 13 (ต่อ)


SNP_383
SNP_463
SNP_1654
SNP_439
SNP_1407
SNP_1219
SNP_1099
SNP_694
SNP_269
RR Control
RR (DH population)
SS Control
SS (DH population)
NTC
RR
SS
NTC

ภาพ 13 (ต่อ)

การวิเคราะห์ข้อมูลจีโนไทป์

เนื่องจากคุณภาพของข้อมูลมีผลกระทบต่อการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์และฟีโนไทป์จึงต้องทำการตรวจสอบข้อมูลโดยจะไม่ใช้ข้อมูลของประชากร DH หรือไพรเมอร์สนิปส์ที่มีข้อมูลสูญหายมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรม R/qtl analysis (Broman และ Sen, 2009) โดยภาพ 14A แสดงผลการตรวจสอบข้อมูล โดยจะตัดข้อมูลของประชากร DH ที่มีผลจีโนไทป์ของไพรเมอร์สนิปส์ไม่ถึง 40 ไพรเมอร์ (45 × 90 / 100) หรือตัวอย่าง DH ที่อยู่ต่ำกว่าเส้นสีแดง ส่วนภาพ 14B จะตัดไพรเมอร์ สนิปส์ที่มีผลจีโนไทป์ของประชากร DH ไม่ถึง 144 สายพันธุ์ (158 × 90 / 100) ซึ่งจากการตรวจสอบพบว่าข้อมูลของตัวอย่างประชากร DH จำนวน 5 ตัวอย่างมีข้อมูลสูญหายเกิน 10% หรือ ดังแสดงไว้ในภาพ 14A และไม่นำไปใช้ในขั้นตอนวิเคราะห์ต่อไป



ภาพ 14 ผลการตรวจสอบข้อมูลจีโนไทป์ ประชากร DH

หมายเหตุ A คือ ประชากร DH ที่มีข้อมูลไม่ถึง 40 ไพรเมอร์ ถูกตัดทิ้งหรือตัวอย่างที่ต่ำกว่าเส้นสีแดง

สัญลักษณ์ O ในภาพ A หมายถึง ตัวอย่างประชากร DH จำนวน 158 สายพันธุ์

B คือ ไพรเมอร์ที่มีข้อมูลไม่ถึง 144 สายพันธุ์ ถูกตัดทิ้ง

สัญลักษณ์ O ในภาพ B หมายถึง ไพรเมอร์สนิปส์จำนวน 45 ไพรเมอร์

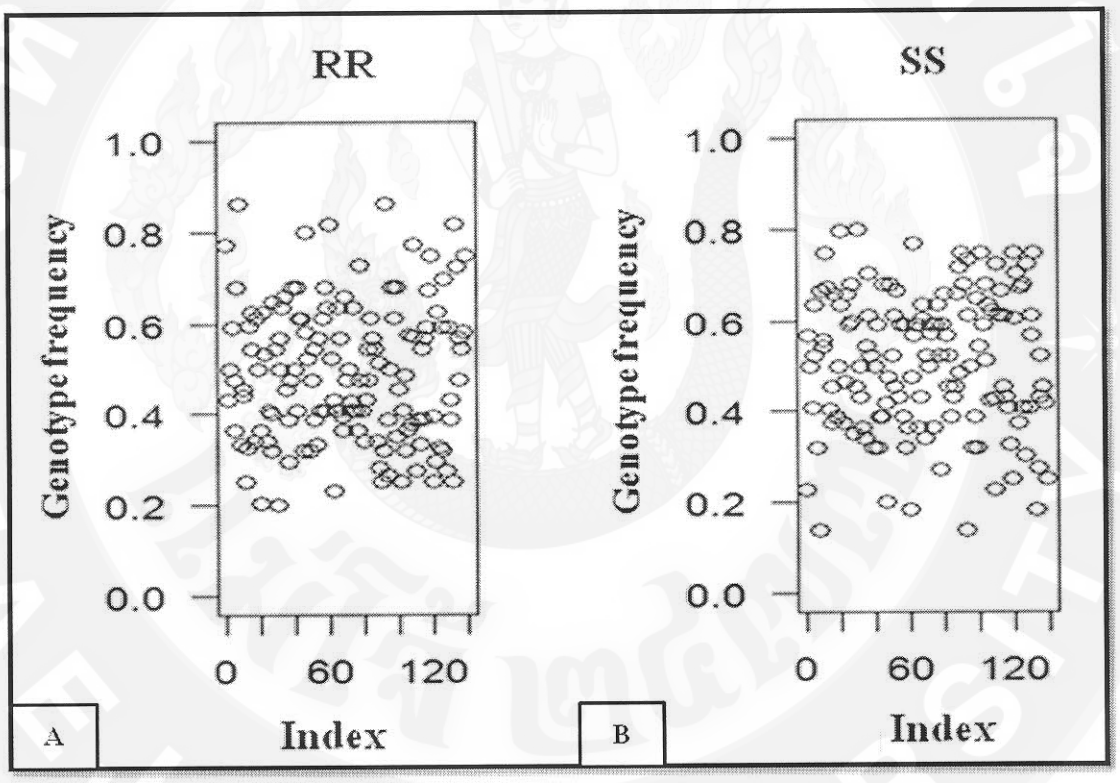
การตรวจสอบการกระจายตัวของจีโนไทป์ RR (ต้านทาน) และ SS (อ่อนแอ) ในประชากร DH จำนวน 158 สายพันธุ์ ของไพรเมอร์สนิปส์ในการทดลองนี้ใช้การทดสอบ Chi square test ด้วยโปรแกรม R/qtl analysis (Broman และ Sen, 2009) แต่เนื่องจากมีการตัดข้อมูลของบางสายพันธุ์ออกเนื่องจากมีข้อมูลจีโนไทป์สูญหายมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นเหลือตัวอย่างจำนวน 139 ตัวอย่าง ซึ่งในประชากร DH ค่าคาดหวังของอัตราส่วนระหว่างจีโนไทป์ RR (ต้านทาน) : SS (อ่อนแอ) คือ 1 : 1 ดังนั้นค่าคาดหวังเท่ากับ 69.5RR : 69.5SS ในการทดลองนี้ตั้งสมมติฐาน (H_0) คือ การกระจายตัวจีโนไทป์ RR : SS ของไพรเมอร์สนิปส์ไม่แตกต่างจากค่าคาดหวัง ที่ระดับนัยสำคัญ α เท่ากับ 0.05 นั่นคือเมื่อ *P value* น้อยกว่า 0.05 แปลว่า ปฏิเสธสมมติฐาน (H_0) จากผลการทดสอบในการทดลองนี้พบว่ามีไพรเมอร์สนิปส์จำนวน 6 ไพรเมอร์ ที่มีค่า *P value* น้อยกว่า 0.05 ดังนั้นไพรเมอร์สนิปส์ทั้ง 6 ไพรเมอร์มีค่าไม่เท่ากับค่าคาดหวังหรือผิดรูปแบบ (segregation distortion) ดังแสดงไว้ในตาราง 15 และจะไม่นำข้อมูลที่ได้จากไพรเมอร์สนิปส์ทั้ง 6 ไพรเมอร์ไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

ตาราง 15 ไพรเมอร์สนิปส์ที่มีการกระจายตัวผิดรูปแบบ

ชื่อไพรเมอร์	ข้อมูลสูญหาย[1]	RR	SS	รวม	*P value*
SNP_1654	10	86	43	139	1.53×10^{-4}
SNP_230	4	32	103	139	9.91×10^{-10}
SNP_2923	5	87	47	139	5.49×10^{-4}
SNP_357	6	86	47	139	7.20×10^{-4}
SNP_460	1	2	136	139	3.86×10^{-30}
SNP_1219	1	7	131	139	4.78×10^{-26}

หมายเหตุ 1 หมายถึง ไม่พบสัญญาณเรืองแสงที่ตรวจวัด

หากพิจารณาค่าคาดหวังของความถี่จีโนไทป์ระหว่าง RR และ SS ในประชากร DH มีค่าเท่ากับ 0.5 และ 0.5 ตามลำดับ ผลการตรวจสอบความถี่จีโนไทป์ของประชากร DH ด้วยไพรเมอร์สนิปส์จำนวน 45 ไพรเมอร์ พบว่าความถี่จีโนไทป์ RR และ SS มีค่าความถี่เฉลี่ยเท่ากับ 0.48 และ 0.52 แต่เมื่อตัดข้อมูลของไพรเมอร์สนิปส์จำนวน 6 ไพรเมอร์ ที่มีการกระจายตัวของอัลลีลผิดรูปแบบออก พบว่าความถี่จีโนไทป์ระหว่าง RR และ SS มีค่าความถี่เฉลี่ยเท่ากับ 0.49 และ 0.51 ซึ่งใกล้เคียงกับค่าคาดหวัง ดังภาพ 15 ซึ่งเป็นการยืนยันว่าประชากร DH ที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีอัตราส่วนความถี่จีโนไทป์ RR : SS เป็นไปดังค่าคาดหวัง ดังนั้นจึงมีความเหมาะสมในการศึกษา QTLs และสร้างแผนที่พันธุกรรม

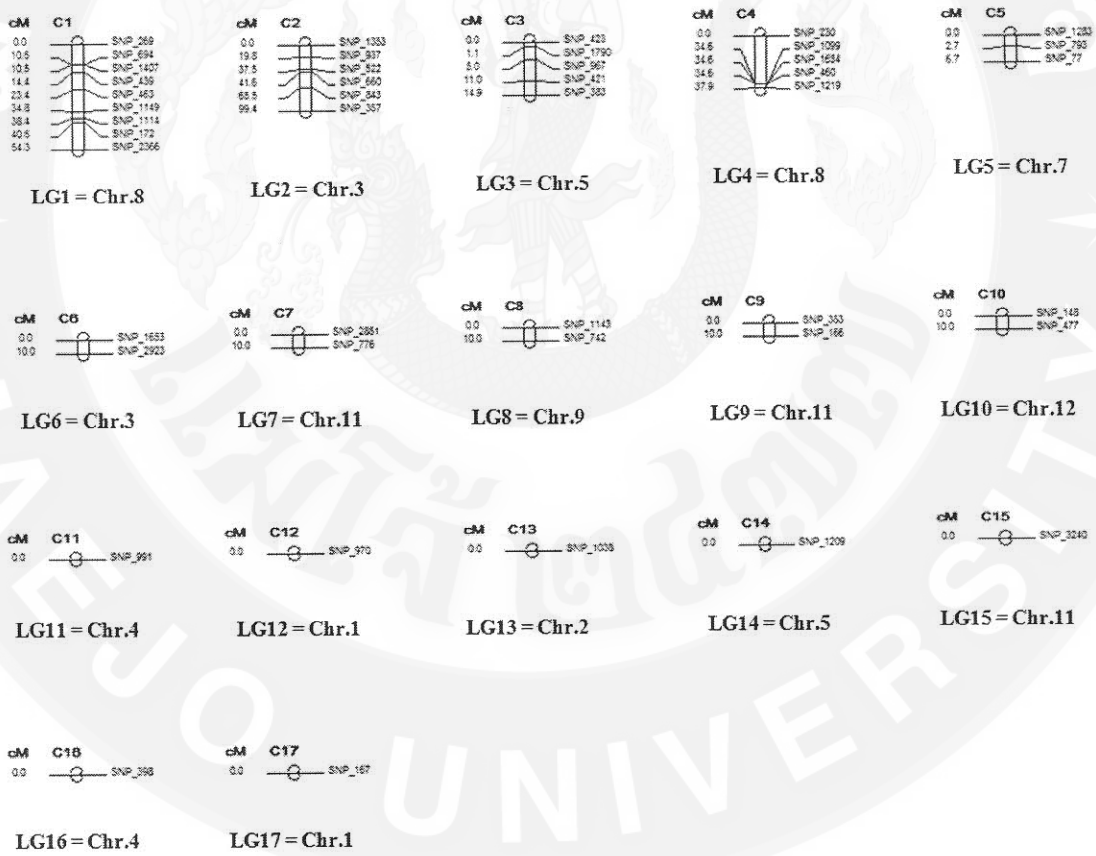


ภาพ 15 ความถี่ของจีโนไทป์ RR (15A) และ SS (15B) ในประชากร DH

หมายเหตุ มีอัตราส่วนประมาณ 1 : 1

สัญลักษณ์ O หมายถึง ความถี่ของจีโนไทป์ของประชากร DH แต่ละสายพันธุ์ ตัวอย่างเช่น O ในภาพ A ที่ค่า 0.6 แสดงว่าผลการตรวจสอบจีโนไทป์ของ DH สายพันธุ์นี้ แสดงผล RR จำนวน 27 ไพรเมอร์ (0.6 × 45) และแสดงผลเป็น SS จำนวน 18 ไพรเมอร์ (0.4 × 45)

เมื่อนำผลการประเมินความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* (ฟีโนไทป์) และผลการตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร DH จำนวน 153 สายพันธุ์ ไปสร้างกลุ่มของยีน ผลของการสร้างกลุ่มลิงค์เกจ (linkage groups) จาก 45 ไพรเมอร์สนิปส์ โดยใช้โปรแกรม R/qtl analysis (Broman และ Sen, 2009) และ WinQTL Cartographer (Wang et al., 2006) ได้กลุ่มลิงค์เกจทั้งหมดจำนวน 17 กลุ่ม (C1 – C17) ซึ่งมีจำนวนมากกว่าจำนวนโครโมโซมของพริก (x = 12) อาจจะเป็นเพราะจำนวนไพรเมอร์สนิปส์ที่คัดเลือกมีจำนวนน้อยทำให้ขาดความเชื่อมโยงในกลุ่มลิงค์เกจ จากที่พบว่าโครโมโซม 1 แท่ง อาจมีจำนวนกลุ่มลิงค์เกจมากกว่าหนึ่งกลุ่ม เช่น กลุ่มที่ 1 และ 4 ตั้งบนโครโมโซมแท่งที่ 8 และนอกจากนี้ผลการตรวจสอบว่ากลุ่มลิงค์เกจตั้งอยู่บนโครโมโซมแท่งใดของพริกยังพบว่า 45 ไพรเมอร์สนิปส์กระจายทั่วเกือบทุกโครโมโซมของพริก ขาดโครโมโซมแท่งที่ 6 และ 10 ดังภาพ 16

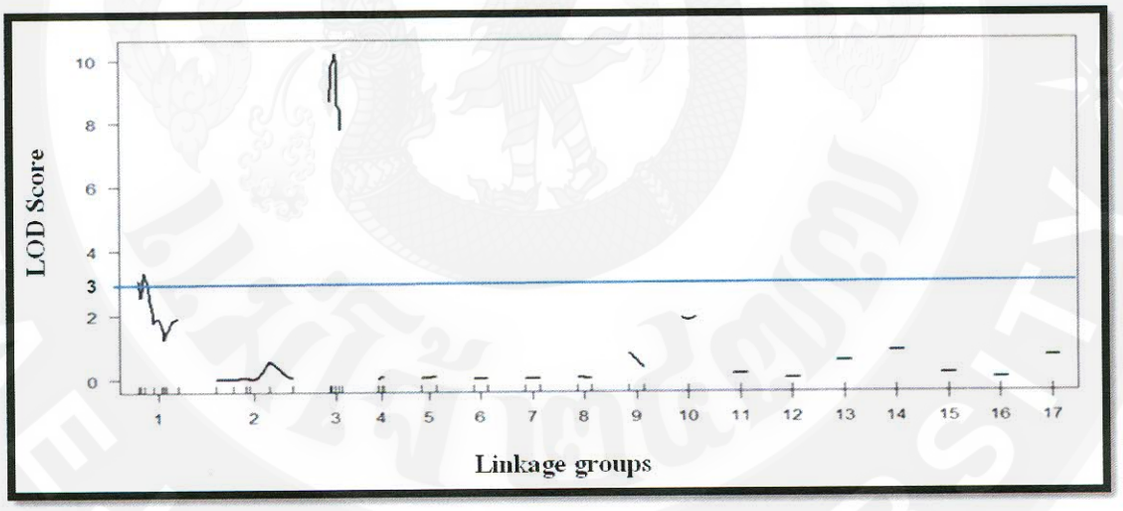


ภาพ 16 ผลการสร้างกลุ่มลิงค์เกจ 17 กลุ่ม

หมายเหตุ LG หรือ C คือ กลุ่มลิงค์เกจ (linkage group) และ Chr. คือ โครโมโซมของพริก

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์และฟีโนไทป์

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ (RR / SS) และฟีโนไทป์ (ความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici*) ด้วย single marker analysis โดยใช้ค่า AUDPC ที่ได้จากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 ในการวิเคราะห์ ผลการวิเคราะห์พบว่าทั้งสองครั้งให้ผลการวิเคราะห์เหมือนกันคือ กลุ่มลิงค์เกจ 1 (LG1) ที่ตั้งบนโครโมโซมแท่งที่ 8 และ กลุ่มลิงค์เกจ 3 (LG3) ที่ตั้งบนโครโมโซมแท่งที่ 5 มีความสัมพันธ์กับฟีโนไทป์เนื่องจากมีค่า LOD มากกว่า LOD thresholds (LOD 3) โดยที่กลุ่มลิงค์เกจโครโมโซมแท่งที่ 5 ให้ค่า LOD สูงที่สุดเท่ากับ 11 และมีค่าความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ฟีดนไทป์ (percentage of phenotypic variation explained; PVE) เท่ากับ 31 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น QTL ที่พบบนโครโมโซมแท่งที่ 5 น่าจะเป็น QTL หลัก (major QTL) นอกจากนี้ยังพบ QTL บนโครโมโซมแท่งที่ 8 ให้ค่า LOD เท่ากับ 3.36 และมีค่า PVE เท่ากับ 11.9 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น QTL ที่พบบนโครโมโซมที่ 8 น่าจะเป็น QTL รอง (minor QTL) ดังแสดงในภาพ 17



ภาพ 17 ค่า LOD ของกลุ่มลิงค์เกจ 17 กลุ่ม ต่อลักษณะต้านทานต่อ *P. capsici*

หมายเหตุ LG 1 คือ กลุ่มลิงค์เกจ 1 ที่ตั้งบนโครโมโซมแท่งที่ 8 มีค่า LOD เท่ากับ 3.36, LG3 คือ กลุ่มลิงค์เกจ 3 ที่ตั้งบนโครโมโซมแท่งที่ 5 มีค่า LOD เท่ากับ 11

จากนั้นทำการตรวจสอบว่าไพรเมอร์สนิปส์ใดอยู่ใกล้กับกลุ่มลิงค์เกจที่ 1 และ 3 ตามลำดับ จากการตรวจสอบพบไพรเมอร์สนิปส์ชื่อ SNP_421 และ SNP_694 ซึ่งเป็นไพรเมอร์ที่อยู่ใกล้ QTL บนโครโมโซม 5 และ 8 ตามลำดับ เมื่อทำการสืบค้นข้อมูลของไพรเมอร์ทั้งสองจากฐานข้อมูลพริก (the pepper genome database platform) พบว่า ไพรเมอร์ SNP_421 ตรงกับ PGA v.1.5 scaffold 74 และ ไพรเมอร์ SNP_694 ตรงกับ PGA v.1.5 scaffold 282 ดังแสดงในตาราง 16 โดยจากฐานข้อมูลยังไม่มีการรายงานว่ามียีนใดตั้งอยู่บนบริเวณ scaffold ดังกล่าว

ตาราง 16 ลำดับเบสไพรเมอร์สนิปส์ และหมายเลข scaffold ที่ตรงในฐานข้อมูลจีโนมพริก

ชื่อไพรเมอร์	Scaffold	ไพรเมอร์	ชุดไพรเมอร์ ลำดับ (5' – 3')
SNP_694	Scaffold282	F1	GTG CCT CGG TGA GAG TTG TAT TTA
		F2	GTG CCT CGG TGA GAG TTG TAT TTG
		R	ATT GAG CCT GCT GAA AAC TGA TAA G
SNP_421	Scaffold74	F1	GTT CCT GTT GAT CAC TTG CCC CTC
		F2	GTT CCT GTT GAT CAC TTG CCC CTT
		R	CAA ACT TCT GCT TGA AAG AAT CTT G

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

การประเมินความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici*

ผลการประเมินค่าความต้านทานของประชากร DH ต่อเชื้อรา *P. capsici* หรือ ค่า AUDPC พบว่าไม่สามารถแยกพืชที่มีความต้านทานออกจากพืชที่อ่อนแอได้อย่างชัดเจน โดยค่า AUDPC มีการกระจายแบบต่อเนื่อง โดยพืชที่มีความต้านทานค่า AUDPC จะมีค่าต่ำ ในทางตรงกันข้ามพืชที่มีความอ่อนแอจะมีค่า AUDPC ที่สูง แต่ไม่สามารถระบุได้ว่าค่า AUDPC สูงที่ค่าใดพืชถึงจะอ่อนแอ แสดงให้เห็นว่าลักษณะต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* น่าจะมียีนควบคุมมากกว่า 1 ยีน หรือเป็นลักษณะเชิงปริมาณ quantitative trait loci (QTLs) โดยผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของหลายคณะที่ผ่านมา (Thabuis et al., 2003; Ogundiwin et al., 2005; Bonnet et al., 2007; Kim et al., 2008; Truong et al., 2012; Liu et al., 2014; Rehrig et al., 2014) ซึ่งงานวิจัยเหล่านี้ใช้แหล่งของยีนต้านทานจากพริกสายพันธุ์ CM-334 เหมือนกันแต่ใช้พันธุ์อ่อนแอต่างกัน นอกจากนี้ค่า AUDPC ของประชากร DH ในการทดลองนี้จากการทดลอง 2 ครั้ง พบว่ามีความแตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าจำนวนซ้ำในการทดลองและสิ่งแวดล้อมมีอิทธิพลต่อลักษณะต้านทานเชื้อรา *P. capsici* ซึ่งสนับสนุนแนวความคิดที่ว่า ยีนที่ควบคุมลักษณะต้านทานเชื้อรา *P. capsici* ในพริกเป็น QTLs เช่นกัน

การคัดเลือกไพรเมอร์สนิปส์

การตรวจสอบไพรเมอร์สนิปส์ ทั้งหมด 1,036 ไพรเมอร์ กับตัวอย่างพันธุ์ต้านทาน หรือ พันธุ์พ่อ CM-334 และพันธุ์อ่อนแอหรือ พันธุ์แม่ Jindu ได้ไพรเมอร์ที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ทั้งหมด 448 ไพรเมอร์ คิดเป็น 43.24 เปอร์เซ็นต์ และไพรเมอร์ที่ไม่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อและพันธ์แม่จำนวน 588 ไพรเมอร์ คิดเป็น 56.76 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุที่ไพรเมอร์แสดงความแตกต่างได้เพียง 43.24 เปอร์เซ็นต์ อาจจะเนื่องจากไพรเมอร์สนิปส์ที่นำมาใช้ในการตรวจสอบครั้งนี้ได้รับการออกแบบจากลำดับเบสของพริกสายพันธุ์ที่มีในฐานข้อมูลพริก (the pepper genome database release 2.0) ซึ่งไม่ใช่สายพันธุ์ CM-334 และ Jindu ทำให้เปอร์เซ็นต์ของไพรเมอร์ที่แสดงความแตกต่างระหว่างสองสายพันธุ์มีไม่ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการคัดเลือกไพรเมอร์สนิปส์ต่อด้วยเทคนิค BSA โดยนำไพรเมอร์สนิปส์จำนวน 448 ไพรเมอร์

มาตรวจสอบในสองกลุ่มตัวอย่าง คือ กลุ่มต้านทาน และกลุ่มอ่อนแอ เพื่อคัดเลือกหาอัลลีลที่แสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มต้านทาน และกลุ่มอ่อนแอ ซึ่งข้อดีของการใช้เทคนิค BSA ในการคัดเลือกไพรเมอร์คือ สามารถคัดเลือกเฉพาะไพรเมอร์ที่แสดงความแตกต่าง และอัลลีลที่ต่างกันนั้นน่าจะมีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานและอ่อนแอ นอกจากนี้ยังช่วยลดค่าใช้จ่ายในกระบวนการการทำ mapping เนื่องจากไพรเมอร์ที่จะนำไปตรวจสอบในประชากรมีจำนวนลดลง ส่วนข้อเสียของการใช้เทคนิค BSA คือ อาจเกิดความผิดพลาดทำให้ไม่สามารถตรวจสอบ QTLs รอง หรือ minor QTLs อื่นๆ ได้ ซึ่งในขั้นตอน BSA ของการทดลองนี้มีหลักในการคัดเลือกไพรเมอร์สนิปส์ 2 รูปแบบ คือ รูปแบบที่ 1 คือคัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถแยกกลุ่มต้านทานและกลุ่มอ่อนแอออกจากกันได้ โดยที่กลุ่มต้านทานต้องมีอัลลีลเหมือนสายพันธุ์พ่อ CM-334 และกลุ่มอ่อนแอต้องมีอัลลีลเหมือนสายพันธุ์แม่ Jindu ส่วนรูปแบบที่ 2 คือ คัดเลือกที่ BSA เป็นเฮเทอโรไซกัส (heterozygous) จากผลการคัดเลือกไพรเมอร์สนิปส์ในขั้นตอน BSA คัดเลือกไพรเมอร์สนิปส์ได้จำนวน 45 ไพรเมอร์ จาก 448 ไพรเมอร์ คิดเป็น 10.04 เปอร์เซ็นต์ ได้ จากนั้นนำไพรเมอร์สนิปส์ทั้ง 45 ไพรเมอร์ตรวจสอบจีโนไทป์ในประชากร DH จำนวน 158 สายพันธุ์

วิเคราะห์ข้อมูลจีโนไทป์

เนื่องจากประชากร DH ได้มาจากการผสมพันธุ์ของสายพันธุ์แท้สองสายพันธุ์ เช่น สายพันธุ์พ่อ (ต้านทาน) สายพันธุ์แม่ (อ่อนแอ) เพื่อให้ได้ลูกผสมชั่วที่ 1 แล้วนำ anther หรือ ovary ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมครึ่งหนึ่ง (haploid) มาเพาะเลี้ยง กระตุ้นให้ต้นอ่อนนั้นเพิ่มจำนวนโครโมโซมเป็นสองเท่า ได้พันธุ์แท้ทุกตำแหน่งของยีน (double haploid) ดังนั้นการกระจายตัวของอัลลีลหรือเครื่องหมายโมเลกุลจะเป็นสัดส่วน 1 : 1 (AA : aa) ผลจากการทดลองนี้ใช้การทดสอบ Chi square test โดยใช้โปรแกรม R/qtl analysis (Broman และ Sen, 2009) ตรวจสอบไพรเมอร์สนิปส์ 45 ไพรเมอร์ ว่ามีการกระจายตัวของอัลลีลในประชากร DH แตกต่างจากค่าที่คาดหวังหรือไม่ พบว่ามีไพรเมอร์จำนวน 39 ไพรเมอร์ที่มีการกระจายตัวของอัลลีลตรงตามค่าคาดหวัง คือ 1 : 1 (RR : SS) คิดเป็น 86.67 เปอร์เซ็นต์ และมีไพรเมอร์จำนวน 6 ไพรเมอร์ ที่มีการกระจายตัวคลาดเคลื่อนจากค่าคาดหวัง คิดเป็น 13.33 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังตรวจสอบความถี่จีโนไทป์ของประชากร DH เพื่อยืนยันว่าประชากร DH ที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีความถูกต้องและเหมาะสม โดยค่าคาดหวังของความถี่จีโนไทป์ระหว่าง RR และ SS ในประชากร DH มีค่าเท่ากับ 0.5 และ 0.5 ตามลำดับ ผลการตรวจสอบความถี่จีโนไทป์ของประชากร DH ด้วยไพรเมอร์สนิปส์ จำนวน 45 ไพรเมอร์ พบว่าความถี่จีโนไทป์ RR และ SS มีค่าความถี่เฉลี่ยเท่ากับ 0.48 และ

0.52 เมื่อตัดไพรเมอร์สนิปส์จำนวน 6 ไพรเมอร์ ที่มีการกระจายตัวของอัลลีลผิดรูปแบบออกพบว่าความถี่จีโนไทป์ RR และ SS มีค่าความถี่เฉลี่ยเท่ากับ 0.49 และ 0.51 ซึ่งใกล้เคียงกับค่าคาดหวังมากขึ้น ถึงอย่างไรก็ตามความถี่จีโนไทป์ใน 45 ไพรเมอร์ก็ไม่ได้คลาดเคลื่อนจากค่าหวังมาก ดังนั้นจึงนำไพรเมอร์สนิปส์ทั้ง 45 ไพรเมอร์ มาสร้างกลุ่มลิงค์เกจ (linkage group) โดยใช้โปรแกรม R/qtl analysis (Broman และ Sen, 2009) และ WinQTL Cartographer (Wang et al., 2006) ผลการทดลองพบว่าได้จำนวนกลุ่มลิงค์เกจทั้งหมด 17 กลุ่ม ซึ่งมีจำนวนกลุ่มมากกว่าจำนวนโครโมโซมของพริก (x = 12) เนื่องจากจำนวนไพรเมอร์สนิปส์ที่มีจำนวนน้อยทำให้ขาดความเชื่อมโยงในกลุ่มลิงค์เกจ ดังนั้นจะเห็นว่าบน 1 โครโมโซมอาจมีจำนวนกลุ่มลิงค์เกจมากกว่าหนึ่งกลุ่ม

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์และฟีโนไทป์

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์และฟีโนไทป์ในการทดลองนี้พบว่า QTL ที่โครโมโซมแท่งที่ 5 ของพริกมีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* สูงที่สุด หรือเป็น QTL หลัก คือให้ค่า LOD เท่ากับ 11 และมีค่าความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ฟีโนไทป์ (PVE) เท่ากับ 31 เปอร์เซ็นต์ จากการตรวจสอบพบไพรเมอร์สนิปส์ที่อยู่ใกล้ QTLs บนโครโมโซมแท่งที่ 5 ชื่อ SNP_421 จากฐานข้อมูลพริก (the pepper genome database platform) ซึ่งการทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยอื่นๆ ที่รายงานว่าพบ major QTLs บนโครโมโซมแท่งที่ 5 ของพริก ที่ควบคุมลักษณะต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* ดังตาราง 16 นอกจากนี้ ในการทดลองนี้ยังตรวจพบ QTL รอง บนโครโมโซมแท่งที่ 8 ของพริก โดยให้ค่า LOD เท่ากับ 3.36 และมีค่าความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ฟีโนไทป์ (PVE) เท่ากับ 11 เปอร์เซ็นต์ จากการตรวจสอบพบไพรเมอร์สนิปส์ที่อยู่ใกล้ QTLs บนโครโมโซมแท่งที่ 8 ชื่อ SNP_694 จากฐานข้อมูลพริก (the pepper genome database platform) ซึ่งยังไม่มีรายงานมาก่อนโดยอาจจะเป็นผลมาจากการทดลองนี้ใช้สายพันธุ์อ่อนแอแตกต่างจากงานวิจัยอื่นๆ

ตาราง 17 งานวิจัยเกี่ยวกับยีนที่ควบคุมลักษณะต้านทานเชื้อรา *P. capsici* ในพริก

พันธุ์ต้านทาน	พันธุ์อ่อนแอ	โครโมโซม/ QTLs	ประเภทของเครื่องหมาย	อ้างอิง
CM-334	Yolo	5 / major QTL	RFLP	Thabuis et al., 2003
Vania	Wonder	10 / minor QTL	RAPD	
Parennial	H3	11 / minor QTL	AFLP	
		12 / minor QTL		
CM-334	ECW300	5 / major QTL	SCAR	Quirin et al., 2005
	Yolo B			
	NuMex			
	RNaky			
	JEP			
	NY 99-210			
CM-334	Manganji	5 / major QTL	AFLP	Minamiyama et al.,
			SSR	2007
CM-334	Chilsungcho	5 / major QTL	RFLP	Kim et al., 2008
		9 / minor QTL	SSR	
CM-334	Tean	5 / major QTL	RFLP	Truong et al., 2012
		10 / minor QTL	AFLP	
		11 / minor QTL	CAPS	
CM-334	Early	5 / major QTL	SNPs	Rehrig et al., 2014
	Jalapeno			
CM-334	Tean	5 / major QTL	SNPs	Liu et al., 2014
CM-334	Jindu	5 / major QTL	SNPs	งานวิจัยนี้
		8 / minor QTL		(Chomkaeo et al., 2014)

จากตาราง 17 พบว่าการศึกษาเกี่ยวกับยีนที่ควบคุมการต้านทานเชื้อรา *P. capsici* ส่วนใหญ่จะใช้พันธุ์ต้านทานเหมือนกันคือ สายพันธุ์ CM-334 รวมถึงการทดลองนี้ด้วย แต่จะแตกต่างกันที่พันธุ์อ่อนแอที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งจากผลงานวิจัยโดยส่วนใหญ่พบว่า QTLs หลักที่ควบคุมลักษณะต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* ของสายพันธุ์ CM-334 อยู่บนโครโมโซมแท่งที่ 5 ของพริก แต่ QTLs รองตรวจพบได้แตกต่างกัน อาจมีสาเหตุมาจากประชากรที่ใช้ในการศึกษาแตกต่างกัน สายพันธุ์ของเชื้อรา *P. capsici* แตกต่างกัน และสภาพแวดล้อมที่ทดสอบที่แตกต่างกัน

บทที่ 6
สรุปผลการทดลอง

สรุปผล

1. ผลการประเมินความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* พบว่าค่าพื้นที่ใต้กราฟความรุนแรงของโรค (AUDPC) ของพันธุ์ต้านทาน (CM-334) มีค่าเท่ากับ 226 และพันธุ์อ่อนแอ (Jindu) มีค่าเท่ากับ 2,275 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ค่า AUDPC มีการกระจายตัวอย่างต่อเนื่องในประชากร DH และมีความแตกต่างกันในการทดลอง 2 ครั้ง จากการทดลองสรุปได้ว่ายีนที่ควบคุมลักษณะความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* ในการทดลองนี้เป็นลักษณะเชิงปริมาณ หรือ quantitative trait loci (QTLs)

2. ผลการคัดเลือกไพรเมอร์สนิปส์จำนวน 1,036 ไพรเมอร์ ระหว่างพันธุ์ต้านทานและพันธุ์อ่อนแอ พบไพรเมอร์สนิปส์ที่แสดงความแตกต่างทั้งหมดจำนวน 448 ไพรเมอร์ และผลการคัดเลือกไพรเมอร์สนิปส์จำนวน 448 ไพรเมอร์ ในขั้นตอน BSA ได้ไพรเมอร์สนิปส์จำนวน 45 ไพรเมอร์ แล้วนำไพรเมอร์ทั้ง 45 ไพรเมอร์ ตรวจสอบจีโนไทป์ในประชากร DH

3. ผลการตรวจสอบการกระจายตัวของจีโนไทป์ RR (ต้านทาน) และ SS (อ่อนแอ) ในประชากร DH ของไพรเมอร์สนิปส์พบ 6 ไพรเมอร์ ที่มีการกระจายตัวผิดรูปแบบ หรือคลาดเคลื่อนจากค่าคาดหวัง โดยมีค่าไม่เท่ากับ 1RR : 1SS และจากการตรวจสอบความถี่จีโนไทป์ในประชากร DH ด้วยไพรเมอร์สนิปส์จำนวน 45 และ 39 ไพรเมอร์ พบว่ามีสัดส่วน 0.48RR : 0.52SS และ 0.49RR : 0.51SS ตามลำดับ สรุปได้ว่าผลจีโนไทป์และประชากร DH ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้มีความถูกต้องและเหมาะสมในการสร้างกลุ่มลิงค์เกจ (linkage group) และหา QTL

4. ผลการสร้างกลุ่มลิงค์เกจ (linkage group) จากไพรเมอร์สนิปส์จำนวน 45ไพรเมอร์ ได้กลุ่มลิงค์เกจจำนวน 17 กลุ่ม ซึ่งมีจำนวนมากกว่าจำนวนโครโมโซมของพริก (x = 12) เนื่องจากจำนวนไพรเมอร์ที่ใช้สร้างกลุ่มลิงค์เกจมีน้อย จึงขาดความเชื่อมโยงดังจะเห็นได้ว่าในบางโครโมโซมมีจำนวนกลุ่มลิงค์เกจมากกว่า 1 กลุ่ม แต่จากผลการทดลองพบว่าไพรเมอร์สนิปส์มีการกระจายในโครโมโซมทั้ง 12 แท่งของพริก ยกเว้น โครโมโซมแท่งที่ 6 และ 10

5. ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์และฟีโนไทป์ในการทดลองนี้ พบ QTLs 2 ตำแหน่ง โดยพบ QTL หลักที่โครโมโซมแท่งที่ 5 ของพริก คือให้ค่า LOD เท่ากับ 11 และมีค่าความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ฟีโนไทป์ (percentage of phenotypic variation explained; PVE) เท่ากับ 31 เปอร์เซ็นต์ จากการตรวจสอบพบไพรเมอร์สนิปส์ที่อยู่ใกล้ QTLs บนโครโมโซม

แท่งที่ 5 ชื่อ SNP_421 และตรงกับ PGA v.1.5 scaffold 74 จากฐานข้อมูลพริก (the pepper genome database platform) นอกจากนี้ ยังตรวจพบ QTL รอง ที่โครโมโซมแท่งที่ 8 ของพริก โดยให้ค่า LOD เท่ากับ 3.36 และมีค่าความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ฟีโนไทป์ (PVE) เท่ากับ 11 เปอร์เซ็นต์ จากการตรวจสอบพบไพรเมอร์ SNPs ที่อยู่ใกล้ QTLs บนโครโมโซมแท่งที่ 8 ชื่อ SNP_694 และตรงกับ PGA v.1.5 scaffold 282 จากฐานข้อมูลพริก (the pepper genome database platform)

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

ในการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลแบบสนิปส์เพื่อใช้คัดเลือกพันธุ์ต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* ในพริกครั้งนี้ ได้เครื่องหมายโมเลกุลที่เป็นส่วนหนึ่งของ QTLs เท่านั้น ยังไม่ใช่เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่บนยีน ดังนั้นอาจมีข้อจำกัดของประชากรที่จะนำมาประยุกต์ใช้ นอกจากนี้ ค่าความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ฟีโนไทป์ (percentage of phenotypic variation explained; PVE) ได้ไม่ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น ควรมีการวิจัยศึกษาต่อโดยหายีนที่น่าสนใจที่อยู่ใกล้บริเวณ QTLs ที่พบในการศึกษานี้ ทดสอบการทำงานของยีนต่อลักษณะต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici* และออกแบบไพรเมอร์บนยีนที่ควบคุมลักษณะต้านทานต่อไป

บรรณานุกรม

กรมศุลากร. 2556. **สถิตินำเข้าและส่งออก.** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.customs.go.th/wps/wcm/connect/Library+cus501th/InternetTH/11/ (9 เมษายน 2558).

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2556. **รายงานข้อมูลภาวะการผลิตพืช (รต.01) แบบรายปี 2556/2557.** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://production.doae.go.th/report/ (9 เมษายน 2558).

ไพโรจน์ จ๋วงพานิช. 2525. **หลักวิชาโรคพืช.** กรุงเทพฯ: บริษัทมวลชน จำกัด. 56 น.

สุรีพร เกตุงาม. 2546. เครื่องหมายดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์พืช. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.** 5(2): 37-59.

วีระ ภาคอุทัย และ เยาวรัตน์ ศรีวรานันท์. 2557. **พริกปลูกอย่างไรในภาวะโลกกำลังร้อน.** กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 28 น.

วีระ ภาคอุทัย สิริกุล วะสี กรุง สีตะธนี และ เยาวรัตน์ ศรีวรานันท์. 2555. **คู่มือการจัดการห่วงโซ่อุปทานพริกสดปลอดภัย.** พิมพ์ครั้งที่ 7. ขอนแก่น: โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา. 87 น.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. **รายงานประจำปี 2555 สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร.** กรุงเทพฯ: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 120 น.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2556. **สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้ม ปี 2556.** กรุงเทพฯ: อักษรสยามการพิมพ์. 162 น.

ศรีสุข พูนผลกุล. 2548. โรคลำต้นไหม้ของพริกที่พบระบาดใหม่. **ข่าวอารักขาพืช.** 2 (1). 4.

ศรีสุข พูนผลกุล และ ศิริพงษ์ คุ้มภัย. 2550. จำแนกสายพันธุ์ของเชื้อรา *Phytophthora capsici* สาเหตุโรคลำต้นไหม้ของพริก. น. 18-23. <u>ใน</u> **การประชุมวิชาการอารักขาพืช** ครั้งที่ 8 วันที่ 22-24 พฤศจิกายน 2550 ณ โรงแรมอัมรินทร์ลากูน อ. เมือง จ. พิษณุโลก. พิษณุโลก: สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย.

Basset, M.J. 1986. Breeding vegetable crops. <u>อ้างโดย</u> มณีฉัตร นิกรพันธุ์. 2546. **พริก.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 165 น.

Bonnet, J., S. Danan, C. Boudet, L. Barchi, A.M. Sage-Palloix, B. Caromel, A. Palloix and V. Lefebvre. 2007. Are the polygenic architectures of resistance to *Phytophthora capsici* and *P. parasitica* independent in pepper? **Theor Appl Genet**. 115: 253–264.

Broman, K.W. and S. Sen. 2009. **A guide to QTL mapping with R/qtl**. Newyork: Springer. 396 p.

Chomkaeo, N., D. Struss, C. Sakulsingharoj, V. Sangtong and S. Pongjaroenkit. 2014. Development of the single nucleotide polymorphism markers for *Phytophthora capsici* resistance in *Capsicum annuum* with QTL analysis. **Thai J. Genet.** 7(3): 192–201.

Desjardins, P.R., G.A. Zentmeyer and D.A. Reynolds. 1969. Electron microscopic observations of the flagellar hairs of Phytophthora palmivora zoospores. **Canadian Journal of Botany**. 47: 1077-1079.

Doerge, R.W. 2002. **Mapping and analysis of quantitative trait loci in experimental populations.** Indiana: Genetics. 10 p.

Erwin, D.C. and O.K. Ribeiro. 1996. **Phytophthora Diseases Worldwide**. St. Paul: The American Phytopathological Society. 562 p.

Giatgong, P. 1980. **Host index of plant diseases of Thailand**. Bangkok: Mycology Section, Plant Pathology and Microbiology Division, Department of Agriculture. 118 p.

Giatgong, P. 1980. Host index of plant diseases of Thailand. อ้างโดย มณีฉัตร นิกรพันธุ์. 2546. **พริก**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

Gil Ortega, R., C.F. Palazon and J. Cuartero. 1995. Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* in the Mexican pepper "line 29". **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin**. 20: 117-122.

Grubben, G.J.H. 1977. **Tropical vegetables and their genetic resources**. Rome: International Board for Plant Genetic Resources. 197 p.

Grubben, G.J.H. 1977. Tropical vegetables and their genetic resources. อ้างโดย มณีฉัตร นิกรพันธุ์. 2546. **พริก**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

Guerrero-Moreno, A. and J.A. Laborde. 1980. Current status of pepper breeding for resistance to Phytophthora capsici in Mexico. pp. 52–56. In **Synopses of the IVth Mtg. Capsicum Working Group of EUCARPIA**, 14-16 October 1980, Wageningen, Netherland: Institute for Horticultural Plant Breeding.

Hawksworth, D.L., P.M. Kirk, B.C. Sutton and D.M. Pegler. 1995. **Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi**. 8th edition. Wallingford: CAB International. 650 p.

Kim, Y.J., B.K. Hwang and K.W. Park. 1989. Expression of age-related resistance in pepper plants infected withPhytophthora capsici. **Plant Dis.** 73: 745–747.

Kim, H.J., S.H. Nahm, H.R. Lee, G.B. Yoon, K.T. Kim, B.C. Kang, D. Choi, O.Y. Kweon, M.C. Cho and J.K. Kwon. 2008. BAC—derived markers converted from RFLP linked to *Phytophthora capsici* resistance in pepper (*Capsicum annuum* L.). **Theor Appl Genet**. 118: 15—27.

Lefebvre, V. and A. Palloix. 1996. Both epistatic and additive effects of QTLs are involved in polygenic induced resistance to disease: a case study, the interaction pepper *Phytophthora capsici* Leonian. **Theor Appl Genet**. 93: 503–511.

Liu, W.Y., J.H. Kang, H.S. Jeong, H.J. Choi, H.B. Yang, K.T. Kim, D. Choi, G.J. Choi, M. Jahn and B.C. Kang. 2014. Combined use of segregant analysis and microarrays reveals SNP markers pinpointing a major QTL for resistance to *Phytophthora capsici* in pepper. **Theor Appl Genet**. 127: 2503–2513.

Mao, W., J.A. Lewis, R.D. Lumsden and K.P. Hebbar. 1998. Biocontrol of selected soilborne diseases of tomato and pepper plants. **Crop Protec**. 17: 535-542.

McCouch, S. and S.D. Tankslay. 1991. Development and use of restriction fragment length polymorphisms in rice breeding and genetic. pp. 109-133. In **Rice Biotechnology**. Wallingford: CAB International.

Minamiyama, Y., M.Tsuro, T. Kubo and M. Hirai. 2007. QTL analysis for resistance to *Phytophthora capsici* in pepper using a high density SSR-based map. **Breed Sci**. 57: 129 - 134.

Morton, N.E. 1955. Sequential tests for the detection of linkage. **Am. J. Hum. Genet**. 7(3): 277–318.

Ogundiwin, E.A., T.F. Berke, M. Massoudi, L.L. Black, G. Huestis, D. Choi, S. Lee and J.P. Prince. 2005. Construction of 2 intraspecific linkage maps and identification of resistance QTLs fpr *Phytophthora capsici* root-rot and foliar-blight diseases of pepper (*Capsicum annuum* L.). **Genome**. 48: 698–711.

Ortega, R., C.P. Espanol and J.C. Zueco. 1992. Genetic relationships among four pepper genotypes resistant to *Phytophthora capsici*. **Plant Breed**. 108: 118-125.

Ortega, G.R., C.F. Palazon and J. Cuartero. 1995. Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* in the Mexican pepper "line 29". **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin**. 20: 117-122.

Powell, W., A. Morgante, C.Andre, M. Hanafey, J. Vogel, S. Tingey and A. Rafalski. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. **Molecular Breeding.** 2: 225–38.

Pickersgill, B. 1988. The genus Capsicum: a multidisciplinary approach to the taxonomy of cultivated and wild plants. **Biol. Zentralbl.** 107: 381-389.

Quirin, E.A., E.A. Ogundiwin, J.P. Prince, M. Mazourek, M.O. Briggs, T.S. Chlanda, K.T. Kim, M. Falise, B.C. Kang and M.M. Jahn. 2005. Development of sequence characterized amplified region (SCAR) primers for the detection of *Phyto. 5.2*, a major QTL for resistance to *Phytophthora capsici* Leon. In pepper. **Theor Appl Genet.** 110: 605–612.

Raitio, M., A. Perala, R.R. Harinen and J. Lampinen. 2012. **Validation of KASParTM dual FRET based SNP genotyping assay**. Finland: Thermo Fisher Scientific. 4 p.

Rehrig, W.Z., H. Ashrafi, T. Hill, J. Prince and A.V. Deynz. 2014. *CaDMR1* co-segregates with QTL *Pc5.1* for resistance to *Phytophthora capsici* in pepper (*Capsicum annuum*). **Plant Genome**. doi: 10.3835/plantgenome2014.03.0011.

Reifschneider, F.J.B., L.X. Boiteux, P.T. Della Bechia, J.M. Poulos and N. Kurada. 1992. Inheritance of adultplant resistance to *Phytophthora capsici* in pepper. **Euphytica**. 62: 45–49.

Safford, W.E. 1926. Our heritage from the American Indians. **Annual Report Samithson Institute**. 405-410.

Smith, P.G., K.A. Kimble, R.G. Grogan and A.H. Millett. 1967. Inheritance of resistance in peppers to *Phytophthora* root rot. **Phytopathology**. 57: 377–379.

Stephanie, J.W. and P.W. Bosland. 1999. Inheritance of Phytophthora Root Rot and Foliar Blight Resistance in Pepper. **J. AMER. SOC. HORT. SCI.** 124(1): 14–18.

Sugita, T., K. Yamaguchi, T. Kinoshita, K. Yuji, Y. Sugimura, R. Nagata, S. Kawasaki and A. Todoroki. 2006. QTL analysis for resistance to Phytophthora bright (*Phytophthora capsici* Leon.) using an intraspecific doubled-haploid population of *Capsicum annuum*. **Breed. Sci.** 56: 137–145.

Sy, O. and P.W. Bosland. 2005. Inheritance of Phytopthora Stem Blight Resistance as compared to Phytophthora Root Rot and Phytopthora Foliar Blight Resistance in *Capsicum annuum* L. **J. AMER. SOC. HORT .SCI.** 130(1): 75-78.

Tanksley, S.D., N.D. Young, A.H. Patterson and M.W. Bonierbale. 1989. RFLP mapping in plant breeding: New tools for an old science. **Bio/Technology**. 7: 257.

Thabuis, A., A. Palloix, S. Pflieger, A.M. Daubeze, C. Caranta and V. Lefebvre. 2003. Comparative mapping of *Phytophthora* resistance loci in pepper germplasm: evidence for conserved resistance loci across Solanaceae and for a large genetic diversity. **Theor Appl Genet**. 106: 1473–1485.

Thabuis, A., V. Lefebvre, G. Bernard and et al., 2004. Phenotypic and molecular evaluation of a recurrent selection program for a polygenic resistance to Phytophthora capsici in pepper. **Theoretical and Applied Genetics.** 109: 342–351.

The pepper genome database platform. 2013. [Online]. Available http://peppergenome.snu.ac.kr/blast (3 October 2014).

The pepper genome database (release 2.0). 2014. [Online]. Available http://peppersequence.genomics.cn/page/species/ blast.jsp (3 October 2014).

Truong, H.T.H., K.T. Kim, D.W. Kim, S. Kim, Y. Chae, J.H. Park, D.G. Oh and M.C. Cho. 2012. Identification of isolate-specific resistance QTLs to phytophthora root rot using an intraspecific recombinant inbred line population of pepper (*Capsicum annuum*). **Plant Pathol**. 61: 48–56.

Van der Plank J.E. 1963. **Plant Diseases: Epidemics and Control**. New York: Academic Press. 349 p.

Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van der Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper and M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucl Acids Res**. 23: 4407–4414.

Wang, S., C.J. Basten and Z.B. Zeng. 2006. **Windows QTL Cartographer 2.5**. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC. [Online]. Available http://statgen.ncsu.edu/ qtlcart/WQTLCart.htm (5 August 2014).

Walker, S.J. and P.W. Bosland. 1999. Inheritance of phytophthora root rot and foliar blight resistance in pepper. **J. Am. Soc. Hort. Sci**. 124: 14–18.

Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, J.A. Rafalski and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucl Acid Res.** 18: 6531–6535.

Zhang, J., C. Xia, C. Duan, S. Sun, X. Wang and X. Wu. 2013. Identification and Candidate Gene Analysis of a Novel Phytophthora Resistance Gene *Rps10* in a Chinese Soybean Cultivar. **PLoS ONE**. 8(7): e69799. 10.1371/journal.pone.0069799 (20 August 2014).

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

ตารางผนวก 1 Cetyl Trimethyl Ammonium Bromind (CTAB) ความเข้มข้น 2 เท่า ในปริมาตร 1 ลิตร

สารเคมี	**ปริมาณ**
2% (w/v) cetyl-trimethyl-ammonium bromide (CTAB)	10 กรัม
1% (w/v) Polyvinylpyrrolidone (PVP)	20 กรัม
0.5 M EDTA (pH 8.0)	40 มิลลิลิตร
5 M NaCl	280 มิลลิลิตร
1.0 M Tris-HCl (pH 8.0)	100 มิลลิลิตร
ปรับด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ ให้ได้ปริมาตรสุดท้าย	1,000 มิลลิลิตร

ตารางผนวก 2 Tris-HCl (pH 8.0) ความเข้มข้น 1 M ปริมาตร 1 ลิตร

สารเคมี	**ปริมาณ**
Tris base	121.1 กรัม
น้ำกลั่นบริสุทธิ์	800 มิลลิลิตร
ปรับ pH ด้วยกรด HCl เข้มข้น	20 มิลลิลิตร
ปรับด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ ให้ได้ปริมาตรสุดท้าย	1,000 มิลลิลิตร

ตารางผนวก 3 EDTA (pH 8.0) ความเข้มข้น 500 mM ปริมาตร 1 ลิตร

สารเคมี	ปริมาณ
EDTA	146.125 กรัม
น้ำกลั่นบริสุทธิ์	800 มิลลิลิตร
ปรับ pH ด้วยด่าง NaOH ความเข้มข้น 5 M	-
ปรับด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ ให้ได้ปริมาตรสุดท้าย	1,000 มิลลิลิตร

ตารางผนวก 4 NaCl ความเข้มข้น 5 M ปริมาตร 1 ลิตร

สารเคมี	ปริมาณ
NaCl	292.2 กรัม
ปรับด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ ให้ได้ปริมาตรสุดท้าย	1,000 มิลลิลิตร

ตารางผนวก 5 TE buffer (pH 8.0) ความเข้มข้น 1X ปริมาตร 1 ลิตร

สารเคมี	ปริมาณ
Tris-HCl (pH 8.0) ความเข้มข้น 1 M	10 มิลลิลิตร
EDTA (pH 8.0) ความเข้มข้น 500 mM	2 มิลลิลิตร
ปรับด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ ให้ได้ปริมาตรสุดท้าย	1,000 มิลลิลิตร

ตารางผนวก 6 บัฟเฟอร์ ฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ ในอัตราส่วน 25 : 24 : 1 ปริมาตร 1 ลิตร

สารเคมี	**ปริมาณ**
ฟีนอล	500 มิลลิลิตร
คลอโรฟอร์ม	480 มิลลิลิตร
ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์	20 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ข

ผลการการประเมินความต้านทานต่อเชื้อรา *P. capsici*

ตารางผนวก 7 ค่าพื้นที่ใต้กราฟความรุนแรงของโรคของพันธุ์ต้านทาน พันธุ์อ่อนแอ และประชากร DH

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	AUDPC	
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
พันธุ์พ่อ-ต้านทานต่อโรค	CM334	327	125
พันธุ์แม่-อ่อนแอต่อโรค	Jindu DH29	2147	2403
1	DH115	0	135
2	DH222	1400	1797
3	DH31	2403	2030
4	DH319	1283	1470
5	DH127	1237	2170
6	DH202	1260	1493
7	DH49	1190	1120
8	DH224	1307	1633
9	DH122	2450	2403
10	DH193	957	1283
11	DH56	1213	1633
12	DH241	1562	2030
13	DH132	2123	2357
14	DH214	1983	2310
15	DH53	163	163
16	DH163	327	233
17	DH205	2170	2217
18	DH227	2123	2357
19	DH65	1167	1260
20	DH199	1820	2030
21	DH109	1913	2007
22	DH153	2403	2403
23	DH133	0	0
24	DH11	2030	2263

ตารางผนวก 7 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	AUDPC	
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
25	DH320	980	887
26	DH34	2217	2403
27	DH90	2170	2403
28	DH305	2170	2217
29	DH212	350	490
30	DH32	0	0
31	DH102	2217	2310
32	DH10	1750	1937
33	DH86	2077	2217
34	DH308	1680	1307
35	DH96	1633	1470
36	DH155	560	653
37	DH46	2403	2357
38	DH196	1680	1913
39	DH131	2333	2310
40	DH63	1703	1983
41	DH330	0	0
42	DH5	1540	1563
43	DH48	653	513
44	DH111	2403	2403
45	DH44	2123	2030
46	DH337	1353	1120
47	DH15	1797	1517
48	DH160	2263	2403
49	DH231	0	0
50	DH119	817	817

ตารางผนวก 7 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	AUDPC	
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
51	DH113	2450	2217
52	DH322	1937	2077
53	DH240	1517	1890
54	DH236	1587	1727
55	DH100	2403	2497
56	DH219	327	117
57	DH192	2403	2170
58	DH211	1470	1283
59	DH16	397	490
60	DH318	1458	1353
61	DH230	233	280
62	DH8	0	0
63	DH195	1050	1050
64	DH52	2030	2263
65	DH340	2030	2357
66	DH121	2310	2403
67	DH1	1703	2170
68	DH140	0	163
69	DH181	1563	1563
70	DH89	817	700
71	DH303	1960	1937
72	DH60	0	163
73	DH328	0	0
74	DH234	980	1307
75	DH112	373	327
76	DH144	1307	1377

ตารางผนวก 7 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	AUDPC	
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
77	DH82	1213	1470
78	DH126	1265	1108
79	DH138	2403	2357
80	DH77	1890	2450
81	DH68	0	0
82	DH6	793	747
83	DH136	2450	2357
84	DH4	0	0
85	DH88	70	327
86	DH9	565	550
87	DH29	2403	2403
88	DH321	723	723
89	DH66	1517	1715
90	DH182	513	607
91	DH125	2403	2123
92	DH3	0	0
93	DH139	163	0
94	DH27	1447	1400
95	DH38	397	490
96	DH215	1307	1470
97	DH2	269	323
98	DH209	1423	1867
99	DH197	2077	2403
100	DH117	2170	2123
101	DH306	2217	2310
102	DH70	1913	2333

ตารางผนวก 7 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	AUDPC	
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
103	DH13	1283	1843
104	DH108	163	117
105	DH61	0	0
106	DH204	1470	1797
107	DH69	233	327
108	DH226	1843	2217
109	DH97	0	0
110	DH237	1867	2450
111	DH302	1225	1531
112	DH93	1307	1423
113	DH67	303	397
114	DH95	1960	1983
115	DH64	2123	2450
116	DH326	1797	1750
117	DH176	2450	2450
118	DH146	1703	1820
119	DH334	0	163
120	DH327	0	0
121	DH243	1960	1983
122	DH75	1423	1843
123	DH216	397	653
124	DH22	2403	2357
125	DH301	2310	2217
126	DH92	2403	2263
127	DH28	2403	2310
128	DH310	980	933

ตารางผนวก 7 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	AUDPC	
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
129	DH207	1680	1843
130	DH238	2403	2310
131	DH91	2170	1703
132	DH152	2170	2357
133	DH35	630	677
134	DH154	1097	887
135	DH26	2100	2100
136	DH338	2030	2403
137	DH198	467	630
138	DH311	630	980
139	DH254	280	233
140	DH74	350	0
141	DH300	306	272
142	DH137	2450	2263
143	DH94	1050	910
144	DH232	2263	2403
145	DH123	2403	2310
146	DH191	653	700
147	DH247	817	677
148	DH143	1750	1797
149	DH336	1563	2263
150	DH229	1937	1983
151	DH299	0	163
152	DH175	2450	2403
153	DH178	1633	1587
154	DH40	2240	2310

ตารางผนวก 7 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	AUDPC	
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
155	DH30	1050	1050
156	DH72	1937	2403
157	DH45	0	0
158	DH309	1750	1820

ภาคผนวก ค

ผลการตรวจสอบจีโนไทป์ของไพรเมอร์สนิปส์ จำนวน 45 ไพรเมอร์ ในประชากร DH

ตารางผนวก 8 ผลการตรวจจีโนไทป์ของ SNP_2366, SNP_1283, SNP_1353, SNP_1653, SNP_2851, SNP_1143, SNP_230, SNP_353 และ SNP_2923 ในประชากร DH จำนวน 158 สายพันธุ์

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_2366	SNP_1283	SNP_1353	SNP_1653	SNP_2851	SNP_1143	SNP_230	SNP_353	SNP_2923
พันธุ์พ่อ	CM334	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR
พันธุ์แม่	Jindu DH29	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
1	DH115	RR	RR	RR	SS	SS	RR	SS	RR	SS
2	DH222	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
3	DH31	SS	SS	-	-	RR	RR	SS	RR	SS
4	DH319	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
5	DH127	RR	SS	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS
6	DH202	SS	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	SS
7	DH49	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR	RR
8	DH224	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
9	DH122	SS	RR	SS	-	RR	RR	SS	RR	RR
10	DH193	SS	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS
11	DH56	SS	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR	SS
12	DH241	SS	SS	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS
13	DH132	-	RR	RR	-	SS	-	SS	RR	SS

ตารางผนวก 8 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_2366	SNP_1283	SNP_1353	SNP_1653	SNP_2851	SNP_1143	SNP_230	SNP_353	SNP_2923
14	DH214	-	RR	-	RR	-	-	SS	RR	RR
15	DH53	RR	SS	SS	SS	SS	RR	SS	SS	SS
16	DH163	RR	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	-
17	DH205	SS	RR	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR
18	DH227	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR
19	DH65	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
20	DH199	SS	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	SS
21	DH109	SS	SS	SS	SS	RR	RR	SS	RR	SS
22	DH153	SS	SS	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR
23	DH133	RR	SS	SS	RR	RR	RR	SS	SS	RR
24	DH11	SS	SS	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR
25	DH320	SS	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS	RR
26	DH34	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	RR	RR
27	DH90	SS	SS	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR
28	DH305	SS	RR	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS

ตารางผนวก 8 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_2366	SNP_1283	SNP_1353	SNP_1653	SNP_2851	SNP_1143	SNP_230	SNP_353	SNP_2923
29	DH212	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
30	DH32	RR	SS	RR	RR	SS	SS	SS	RR	RR
31	DH102	SS	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR	SS
32	DH10	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	RR	RR
33	DH86	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR
34	DH308	SS	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR	SS
35	DH96	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
36	DH155	SS	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR
37	DH46	SS	RR	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS
38	DH196	SS	SS	SS	SS	SS	SS	RR	SS	SS
39	DH131	SS	RR	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR
40	DH63	SS	SS	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
41	DH330	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
42	DH5	SS	RR	RR	SS	RR	SS	RR	SS	SS
43	DH48	RR	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR

ตารางผนวก 8 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_2366	SNP_1283	SNP_1353	SNP_1653	SNP_2851	SNP_1143	SNP_230	SNP_353	SNP_2923
44	DH111	SS	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
45	DH44	RR	SS	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
46	DH337	SS	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
47	DH15	RR	SS	SS	RR	SS	SS	RR	SS	RR
48	DH160	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
49	DH231	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR
50	DH119	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR
51	DH113	SS	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR	SS
52	DH322	SS	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
53	DH240	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
54	DH236	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
44	DH111	SS	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
45	DH44	RR	SS	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
46	DH337	SS	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
47	DH15	RR	SS	SS	RR	SS	SS	RR	SS	RR

ตารางผนวก 8 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_2366	SNP_1283	SNP_1353	SNP_1653	SNP_2851	SNP_1143	SNP_230	SNP_353	SNP_2923
48	DH160	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
49	DH231	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR
50	DH119	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR
51	DH113	SS	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR	SS
52	DH322	SS	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
53	DH240	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
54	DH236	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
55	DH100	RR	SS	RR	RR	RR	SS	SS	SS	RR
56	DH219	SS	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR	SS
57	DH192	RR	SS	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS
58	DH211	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	RR	SS
59	DH16	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	RR	SS
60	DH318	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS	RR	RR
61	DH230	RR	SS	SS	SS	RR	RR	SS	SS	SS
62	DH8	RR	RR	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR

ตารางผนวก 8 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_2366	SNP_1283	SNP_1353	SNP_1653	SNP_2851	SNP_1143	SNP_230	SNP_353	SNP_2923
63	DH195	SS	SS	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR
64	DH52	RR	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR	SS
65	DH340	SS	SS	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
66	DH121	RR	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
67	DH1	SS	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR
68	DH140	SS	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR	SS
69	DH181	SS	SS	-	RR	RR	RR	SS	RR	RR
70	DH89	SS	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR
71	DH303	RR	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	RR
72	DH60	RR	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS	SS
73	DH328	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR
74	DH234	SS	SS	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR
75	DH112	SS	RR	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR
76	DH144	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR
77	DH82	RR	SS	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR

ตารางผนวก 8 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_2366	SNP_1283	SNP_1353	SNP_1653	SNP_2851	SNP_1143	SNP_230	SNP_353	SNP_2923
78	DH126	RR	SS	SS	SS	SS	RR	RR	SS	SS
79	DH138	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR
80	DH77	SS	RR	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR
81	DH68	RR	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR
82	DH6	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR	SS	RR
83	DH136	RR	RR	SS	SS	SS	RR	SS	SS	SS
84	DH4	RR	SS	SS	SS	RR	RR	SS	SS	SS
85	DH88	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR	RR
86	DH9	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	RR	SS
87	DH29	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
88	DH321	SS	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR
89	DH66	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	RR	RR
90	DH182	SS	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS	SS
91	DH125	RR	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	SS
92	DH3	SS	SS	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR

ตารางผนวก 8 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_2366	SNP_1283	SNP_1353	SNP_1653	SNP_2851	SNP_1143	SNP_230	SNP_353	SNP_2923
93	DH139	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	SS	RR
94	DH27	SS	RR	RR	RR	SS	SS	SS	RR	RR
95	DH38	SS	SS	SS	SS	RR	SS	SS	RR	SS
96	DH215	-	-	-	-	-	RR	SS	RR	-
97	DH2	SS	SS	-	-	RR	RR	-	-	SS
98	DH209	SS	SS	SS	SS	SS	RR	SS	SS	SS
99	DH197	SS	SS	RR	RR	SS	SS	SS	RR	RR
100	DH117	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS
101	DH306	SS	RR	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS
102	DH70	SS	-	SS	-	-	RR	SS	SS	RR
103	DH13	RR	RR	SS	SS	SS	RR	SS	RR	SS
104	DH108	SS	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR	SS
105	DH61	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR
106	DH204	SS	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	SS
107	DH69	SS	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR

ตารางผนวก 8 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_2366	SNP_1283	SNP_1353	SNP_1653	SNP_2851	SNP_1143	SNP_230	SNP_353	SNP_2923
108	DH226	SS	-	RR	RR	RR	SS	SS	SS	RR
109	DH97	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	SS	RR
110	DH237	RR	RR	SS	SS	SS	RR	SS	SS	SS
111	DH302	SS	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS
112	DH93	SS	SS	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR
113	DH67	RR	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR
114	DH95	SS	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
115	DH64	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
116	DH326	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR
117	DH176	-	SS	RR	-	RR	SS	RR	RR	SS
118	DH146	SS	SS	RR	RR	SS	SS	SS	RR	RR
119	DH334	-	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
120	DH327	SS	RR	SS	RR	-	RR	RR	RR	RR
121	DH243	SS	-	SS	RR	-	SS	RR	SS	RR
122	DH75	-	RR	RR	RR	RR	SS	SS	-	RR

ตารางผนวก 8 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_2366	SNP_1283	SNP_1353	SNP_1653	SNP_2851	SNP_1143	SNP_230	SNP_353	SNP_2923
123	DH216	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR
124	DH22	-	-	SS	RR	-	SS	SS	RR	RR
125	DH301	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
126	DH92	-	-	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR
127	DH28	RR	SS	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR
128	DH310	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS	SS	RR
129	DH207	SS	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR	SS
130	DH238	RR	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR	SS
131	DH91	RR	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR	SS
132	DH152	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
133	DH35	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
134	DH154	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	RR	RR
135	DH26	SS	RR	RR	RR	SS	SS	SS	RR	RR
136	DH338	SS	SS	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
137	DH198	SS	SS	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR

ตารางผนวก 8 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_2366	SNP_1283	SNP_1353	SNP_1653	SNP_2851	SNP_1143	SNP_230	SNP_353	SNP_2923
138	DH311	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR
139	DH254	RR	SS	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR
140	DH74	SS	RR	SS	SS	SS	RR	SS	RR	SS
141	DH300	SS	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR
142	DH137	SS	RR	SS	SS	SS	RR	RR	RR	SS
143	DH94	SS	SS	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR
144	DH232	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
145	DH123	-	SS	RR	RR	-	SS	-	SS	RR
146	DH191	RR	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS
147	DH247	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
148	DH143	RR	SS	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR
149	DH336	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	SS	RR
150	DH229	SS	SS	SS	SS	RR	RR	SS	RR	SS
151	DH299	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR
152	DH175	RR	RR	RR	RR	-	RR	SS	RR	RR

ตารางผนวก 8 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_2366	SNP_1283	SNP_1353	SNP_1653	SNP_2851	SNP_1143	SNP_230	SNP_353	SNP_2923
153	DH178	RR	RR	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR
154	DH40	SS	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	SS
155	DH30	SS	SS	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR
156	DH72	RR	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR
157	DH45	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR	RR	SS
158	DH309	SS	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR

หมายเหตุ: RR คือ จีโนไทป์เหมือนพันธุ์พ่อ (CM-334)

SS คือ จีโนไทป์เหมือนพันธุ์แม่ (Jindu)

- คือ ข้อมูลสูญหาย

ตารางผนวก 9 ผลการตรวจจีโนไทป์ของ SNP_148, SNP_522, SNP_1149, SNP_937, SNP_991, SNP_77, SNP_970, SNP_1038 และ SNP_1209 ในประชากร DH จำนวน 158 สายพันธุ์

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_148	SNP_522	SNP_1149	SNP_937	SNP_991	SNP_77	SNP_970	SNP_1038	SNP_1209
พันธุ์พ่อ	CM334	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR
พันธุ์แม่	Jindu DH29	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
1	DH115	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR
2	DH222	RR	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	RR
3	DH31	-	RR	RR	RR	-	SS	-	RR	SS
4	DH319	RR	SS	SS	RR	SS	RR	RR	RR	SS
5	DH127	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	RR
6	DH202	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR	SS	RR
7	DH49	RR	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR
8	DH224	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR	RR
9	DH122	RR	RR	SS	SS	-	RR	SS	SS	SS
10	DH193	SS	SS	RR	SS	SS	RR	SS	SS	RR
11	DH56	SS	SS	-	SS	RR	SS	RR	RR	SS
12	DH241	SS	SS	SS	RR	SS	SS	SS	RR	RR
13	DH132	SS	SS	SS	SS	SS	SS	RR	SS	SS

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_148	SNP_522	SNP_1149	SNP_937	SNP_991	SNP_77	SNP_970	SNP_1038	SNP_1209
14	DH214	RR	SS	SS	SS	RR	RR	-	SS	SS
15	DH53	RR	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR	RR
16	DH163	SS	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
17	DH205	SS	RR	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS
18	DH227	RR	RR	SS	RR	RR	RR	SS	SS	RR
19	DH65	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS
20	DH199	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR	SS	RR
21	DH109	SS	SS	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS
22	DH153	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
23	DH133	SS	SS	RR	SS	SS	SS	RR	RR	RR
24	DH11	RR	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS	-
25	DH320	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS
26	DH34	SS	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR	SS
27	DH90	RR	SS	SS	SS	SS	SS	RR	SS	SS
28	DH305	SS	SS	SS	SS	RR	SS	SS	SS	RR

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_148	SNP_522	SNP_1149	SNP_937	SNP_991	SNP_77	SNP_970	SNP_1038	SNP_1209
29	DH212	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR
30	DH32	SS	RR	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS
31	DH102	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
32	DH10	SS	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR	SS
33	DH86	SS	SS	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR
34	DH308	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR	SS
35	DH96	RR	SS	SS	RR	SS	RR	RR	RR	SS
36	DH155	RR	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS
37	DH46	RR	RR	SS	RR	RR	RR	SS	SS	SS
38	DH196	SS	SS	SS	SS	RR	SS	SS	SS	RR
39	DH131	RR	RR	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR
40	DH63	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	RR
41	DH330	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	SS
42	DH5	RR	RR	RR	RR	SS	SS	SS	RR	RR
43	DH48	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR	SS

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_148	SNP_522	SNP_1149	SNP_937	SNP_991	SNP_77	SNP_970	SNP_1038	SNP_1209
44	DH111	SS	SS	SS	SS	RR	SS	RR	SS	RR
45	DH44	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR	SS
46	DH337	RR	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS	SS
47	DH15	SS	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
48	DH160	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS
49	DH231	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS	SS
50	DH119	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS
51	DH113	SS	SS	SS	SS	SS	RR	RR	RR	RR
52	DH322	RR	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS	SS
53	DH240	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR	RR
54	DH236	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR	RR
55	DH100	SS	SS	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
56	DH219	RR	RR	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS
57	DH192	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS
58	DH211	RR	SS	RR	SS	RR	RR	-	SS	RR

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_148	SNP_522	SNP_1149	SNP_937	SNP_991	SNP_77	SNP_970	SNP_1038	SNP_1209
59	DH16	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	SS
60	DH318	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	SS
61	DH230	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS	RR	RR
62	DH8	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR	RR	SS
63	DH195	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	RR	SS
64	DH52	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR	SS
65	DH340	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
66	DH121	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR	RR
67	DH1	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS
68	DH140	RR	RR	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR
69	DH181	SS	SS	SS	SS	SS	SS	RR	SS	SS
70	DH89	SS	RR	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS
71	DH303	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS
72	DH60	SS	RR	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR
73	DH328	SS	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_148	SNP_522	SNP_1149	SNP_937	SNP_991	SNP_77	SNP_970	SNP_1038	SNP_1209
74	DH234	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR	SS	SS
75	DH112	SS	SS	SS	SS	RR	RR	SS	RR	SS
76	DH144	SS	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR
77	DH82	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	RR	SS
78	DH126	SS	SS	RR	SS	RR	SS	RR	SS	RR
79	DH138	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS
80	DH77	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS
81	DH68	RR	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
82	DH6	RR	SS	SS	SS	SS	RR	RR	SS	RR
83	DH136	SS	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR	SS
84	DH4	SS	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR	RR
85	DH88	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
86	DH9	SS	SS	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR
87	DH29	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS	SS	RR
88	DH321	SS	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_148	SNP_522	SNP_1149	SNP_937	SNP_991	SNP_77	SNP_970	SNP_1038	SNP_1209
89	DH66	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS
90	DH182	SS	SS	SS	SS	RR	RR	SS	RR	RR
91	DH125	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS	SS
92	DH3	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
93	DH139	SS	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
94	DH27	RR	SS	SS	SS	RR	RR	RR	SS	SS
95	DH38	RR	SS	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS
96	DH215	-	SS	-	SS	-	SS	-	SS	-
97	DH2	-	RR	RR	RR	-	SS	-	RR	SS
98	DH209	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	RR	SS
99	DH197	RR	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS	SS
100	DH117	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR
101	DH306	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR	RR
102	DH70	-	-	SS	SS	RR	SS	-	RR	SS
103	DH13	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR	SS

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_148	SNP_522	SNP_1149	SNP_937	SNP_991	SNP_77	SNP_970	SNP_1038	SNP_1209
104	DH108	SS	SS	SS	SS	SS	RR	RR	RR	RR
105	DH61	RR	SS	RR	SS	SS	RR	RR	SS	RR
106	DH204	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR	SS	RR
107	DH69	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
108	DH226	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	RR	SS
109	DH97	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
110	DH237	SS	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR	SS
111	DH302	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR	SS	SS
112	DH93	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	RR
113	DH67	RR	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
114	DH95	RR	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS	SS
115	DH64	SS	RR	RR	RR	SS	SS	RR	SS	SS
116	DH326	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS
117	DH176	-	RR	RR	RR	RR	SS	-	RR	SS
118	DH146	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	SS

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_148	SNP_522	SNP_1149	SNP_937	SNP_991	SNP_77	SNP_970	SNP_1038	SNP_1209
119	DH334	SS	SS	SS	RR	SS	SS	RR	-	RR
120	DH327	SS	SS	SS	SS	RR	SS	-	0	RR
121	DH243	SS	RR	SS	SS	SS	SS	RR	RR	-
122	DH75	SS	-	RR	RR	SS	RR	RR	RR	RR
123	DH216	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
124	DH22	-	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	RR
125	DH301	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR	RR	SS
126	DH92	RR	SS	SS	SS	RR	SS	RR	RR	SS
127	DH28	RR	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR	RR
128	DH310	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS
129	DH207	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
130	DH238	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR
131	DH91	SS	RR	RR	RR	SS	SS	SS	RR	SS
132	DH152	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	-
133	DH35	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_148	SNP_522	SNP_1149	SNP_937	SNP_991	SNP_77	SNP_970	SNP_1038	SNP_1209
134	DH154	RR	SS	SS	SS	SS	RR	SS	SS	RR
135	DH26	RR	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	-
136	DH338	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
137	DH198	SS	SS	SS	SS	SS	SS	RR	SS	RR
138	DH311	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR
139	DH254	RR	SS	RR	SS	SS	SS	RR	RR	-
140	DH74	SS	SS	SS	SS	SS	RR	RR	SS	-
141	DH300	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR
142	DH137	SS	SS	SS	SS	RR	RR	RR	SS	RR
143	DH94	RR	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS	-
144	DH232	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR	RR
145	DH123	-	RR	SS	RR	SS	SS	SS	RR	RR
146	DH191	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	SS	SS
147	DH247	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR	SS	SS
148	DH143	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_148	SNP_522	SNP_1149	SNP_937	SNP_991	SNP_77	SNP_970	SNP_1038	SNP_1209
149	DH336	RR	SS	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS
150	DH229	SS	SS	SS	SS	RR	SS	RR	RR	RR
151	DH299	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR
152	DH175	RR	-	RR	SS	RR	RR	RR	RR	-
153	DH178	SS	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR
154	DH40	RR	RR	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR
155	DH30	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR	SS	SS
156	DH72	RR	SS	RR	SS	SS	RR	RR	-	RR
157	DH45	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR	RR
158	DH309	SS	SS	SS	SS	SS	RR	RR	SS	SS

หมายเหตุ: RR คือ จีโนไทป์เหมือนพันธุ์พ่อ (CM-334)

SS คือ จีโนไทป์เหมือนพันธุ์แม่ (Jindu)

- คือ ข้อมูลสูญหาย

ตารางผนวก 10 ผลการตรวจจีโนไทป์ของ SNP_843, SNP_742, SNP_166, SNP_357, SNP_1114, SNP_776, SNP_3240, SNP_172 และ SNP_660 ในประชากร DH จำนวน 158 สายพันธุ์

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_843	SNP_742	SNP_166	SNP_357	SNP_1114	SNP_776	SNP_3240	SNP_172	SNP_660
พันธุ์พ่อ	CM334	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR
พันธุ์แม่	Jindu DH29	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
1	DH115	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR
2	DH222	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR
3	DH31	-	RR	-	RR	RR	-	RR	RR	RR
4	DH319	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS
5	DH127	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR	SS	RR
6	DH202	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR
7	DH49	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR
8	DH224	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR
9	DH122	-	SS	RR	SS	SS	RR	-	SS	RR
10	DH193	SS	SS	SS	SS	RR	RR	SS	RR	SS
11	DH56	SS	SS	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS
12	DH241	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS
13	DH132	-	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_843	SNP_742	SNP_166	SNP_357	SNP_1114	SNP_776	SNP_3240	SNP_172	SNP_660
14	DH214	SS	SS	RR	RR	-	SS	RR	RR	SS
15	DH53	SS	RR	SS	SS	RR	SS	RR	RR	SS
16	DH163	SS	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR	SS
17	DH205	RR	RR	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR
18	DH227	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	SS	RR
19	DH65	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR
20	DH199	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR
21	DH109	SS	RR	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS
22	DH153	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	RR
23	DH133	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS
24	DH11	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
25	DH320	SS	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	RR
26	DH34	SS	SS	RR	RR	RR	SS	SS	RR	SS
27	DH90	SS	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS
28	DH305	SS	RR	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_843	SNP_742	SNP_166	SNP_357	SNP_1114	SNP_776	SNP_3240	SNP_172	SNP_660
29	DH212	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS
30	DH32	SS	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR	RR
31	DH102	SS	SS	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS
32	DH10	SS	SS	RR	RR	RR	SS	SS	RR	SS
33	DH86	SS	RR	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS
34	DH308	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR	SS	RR
35	DH96	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS
36	DH155	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR
37	DH46	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	RR
38	DH196	SS	SS	RR	SS	SS	SS	RR	SS	SS
39	DH131	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	RR
40	DH63	SS	SS	RR	SS	SS	RR	RR	SS	RR
41	DH330	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR
42	DH5	RR	SS	SS	SS	RR	RR	RR	RR	RR
43	DH48	SS	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR	SS

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_843	SNP_742	SNP_166	SNP_357	SNP_1114	SNP_776	SNP_3240	SNP_172	SNP_660
44	DH111	SS	SS	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS
45	DH44	RR	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
46	DH337	SS	SS	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS
47	DH15	SS	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR	SS
48	DH160	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR
49	DH231	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
50	DH119	RR	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR
51	DH113	SS	RR	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS
52	DH322	SS	SS	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS
53	DH240	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR
54	DH236	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR
55	DH100	RR	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS
56	DH219	RR	SS	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR
57	DH192	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
58	DH211	SS	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR	SS

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_843	SNP_742	SNP_166	SNP_357	SNP_1114	SNP_776	SNP_3240	SNP_172	SNP_660
59	DH16	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
60	DH318	SS	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR	RR
61	DH230	RR	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR	RR
62	DH8	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
63	DH195	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS
64	DH52	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR
65	DH340	SS	SS	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS
66	DH121	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS
67	DH1	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR
68	DH140	SS	SS	RR	SS	SS	RR	SS	SS	RR
69	DH181	SS	RR	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS
70	DH89	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR	SS	RR
71	DH303	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
72	DH60	RR	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR
73	DH328	SS	SS	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_843	SNP_742	SNP_166	SNP_357	SNP_1114	SNP_776	SNP_3240	SNP_172	SNP_660
74	DH234	RR	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS	RR
75	DH112	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	SS	SS
76	DH144	SS	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	SS
77	DH82	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
78	DH126	SS	RR	SS	SS	RR	SS	RR	RR	SS
79	DH138	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR
80	DH77	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
81	DH68	SS	RR	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS
82	DH6	SS	SS	SS	SS	SS	SS	RR	SS	SS
83	DH136	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	SS
84	DH4	SS	RR	SS	SS	RR	RR	SS	RR	SS
85	DH88	SS	RR	RR	RR	RR	SS	SS	RR	RR
86	DH9	SS	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS
87	DH29	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS
88	DH321	SS	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_843	SNP_742	SNP_166	SNP_357	SNP_1114	SNP_776	SNP_3240	SNP_172	SNP_660
89	DH66	RR	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR	RR
90	DH182	SS	RR	SS	SS	SS	RR	SS	SS	SS
91	DH125	RR	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR
92	DH3	RR	SS	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR
93	DH139	SS	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR	SS
94	DH27	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	SS	RR
95	DH38	SS	SS	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS
96	DH215	-	SS	RR	-	-	-	RR	-	-
97	DH2	-	RR	-	RR	RR	-	RR	RR	RR
98	DH209	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR	SS	SS
99	DH197	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	SS	SS
100	DH117	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR
101	DH306	RR	RR	SS	SS	SS	SS	RR	SS	RR
102	DH70	-	RR	SS	-	SS	-	RR	SS	-
103	DH13	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	SS

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_843	SNP_742	SNP_166	SNP_357	SNP_1114	SNP_776	SNP_3240	SNP_172	SNP_660
104	DH108	SS	RR	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS
105	DH61	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	SS
106	DH204	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR
107	DH69	RR	RR	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR
108	DH226	RR	SS	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR
109	DH97	RR	SS	SS	RR	RR	RR	RR	RR	RR
110	DH237	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	SS
111	DH302	SS	SS	SS	SS	SS	RR	RR	SS	RR
112	DH93	SS	RR	RR	RR	SS	SS	RR	SS	SS
113	DH67	SS	RR	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS
114	DH95	SS	SS	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS
115	DH64	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
116	DH326	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR
117	DH176	-	SS	RR	-	-	RR	RR	RR	-
118	DH146	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	RR

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_843	SNP_742	SNP_166	SNP_357	SNP_1114	SNP_776	SNP_3240	SNP_172	SNP_660
119	DH334	SS	SS	RR	RR	-	RR	SS	SS	SS
120	DH327	SS	RR	RR	SS	SS	-	SS	SS	SS
121	DH243	-	SS	SS	-	SS	-	SS	SS	RR
122	DH75	-	SS	-	RR	RR	RR	RR	RR	-
123	DH216	SS	RR	SS	SS	RR	RR	RR	RR	RR
124	DH22	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS
125	DH301	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR
126	DH92	RR	RR	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS
127	DH28	SS	RR	SS	SS	RR	SS	SS	RR	SS
128	DH310	RR	SS	SS	RR	RR	RR	RR	RR	RR
129	DH207	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR	SS	RR
130	DH238	SS	SS	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR
131	DH91	RR	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
132	DH152	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR
133	DH35	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_843	SNP_742	SNP_166	SNP_357	SNP_1114	SNP_776	SNP_3240	SNP_172	SNP_660
134	DH154	SS	SS	RR	SS	SS	SS	RR	SS	SS
135	DH26	RR	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	RR
136	DH338	SS	SS	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS
137	DH198	SS	RR	RR	RR	SS	SS	RR	SS	SS
138	DH311	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
139	DH254	SS	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS
140	DH74	SS	RR	RR	SS	SS	SS	RR	SS	SS
141	DH300	RR	RR	RR	RR	RR	SS	SS	SS	RR
142	DH137	SS	RR	RR	SS	SS	SS	RR	SS	SS
143	DH94	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR
144	DH232	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR
145	DH123	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
146	DH191	RR	SS	SS	RR	RR	RR	RR	RR	RR
147	DH247	SS	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR	SS
148	DH143	RR	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR	RR

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_843	SNP_742	SNP_166	SNP_357	SNP_1114	SNP_776	SNP_3240	SNP_172	SNP_660
149	DH336	SS	SS	SS	RR	RR	RR	SS	RR	SS
150	DH229	SS	RR	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS
151	DH299	RR	RR	SS	RR	RR	RR	RR	RR	RR
152	DH175	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	-
153	DH178	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	SS
154	DH40	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR
155	DH30	RR	RR	SS	RR	SS	SS	RR	SS	RR
156	DH72	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS
157	DH45	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
158	DH309	SS	RR	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS

หมายเหตุ: RR คือ จีโนไทป์เหมือนพันธุ์พ่อ (CM-334)

SS คือ จีโนไทป์เหมือนพันธุ์แม่ (Jindu)

- คือ ข้อมูลสูญหาย

ตารางผนวก 11 ผลการตรวจจีโนไทป์ของ SNP_398, SNP_793, SNP_477, SNP_167, SNP_423, SNP_460, SNP_967, SNP_1790 และ SNP_421 ในประชากร DH จำนวน 158 สายพันธุ์

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_398	SNP_793	SNP_477	SNP_167	SNP_423	SNP_460	SNP_967	SNP_1790	SNP_421
พันธุ์พ่อ	CM334	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR
พันธุ์แม่	Jindu DH29	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
1	DH115	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
2	DH222	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
3	DH31	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
4	DH319	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
5	DH127	RR	SS	RR	RR	RR	SS	SS	RR	SS
6	DH202	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
7	DH49	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
8	DH224	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
9	DH122	-	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
10	DH193	SS	RR	SS	SS	RR	SS	RR	RR	RR
11	DH56	RR	SS	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
12	DH241	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
13	DH132	SS	RR	SS	SS	RR	SS	RR	RR	RR

ตารางผนวก 11 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_398	SNP_793	SNP_477	SNP_167	SNP_423	SNP_460	SNP_967	SNP_1790	SNP_421
14	DH214	-	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	SS
15	DH53	SS	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
16	DH163	RR	SS	SS	SS	RR	SS	RR	RR	RR
17	DH205	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
18	DH227	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
19	DH65	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
20	DH199	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
21	DH109	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
22	DH153	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
23	DH133	SS	SS	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
24	DH11	SS	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
25	DH320	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
26	DH34	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
27	DH90	RR	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS
28	DH305	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR

ตารางผนวก 11 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_398	SNP_793	SNP_477	SNP_167	SNP_423	SNP_460	SNP_967	SNP_1790	SNP_421
29	DH212	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	SS
30	DH32	RR	SS	SS	SS	RR	SS	RR	RR	RR
31	DH102	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
32	DH10	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
33	DH86	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
34	DH308	SS	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
35	DH96	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
36	DH155	SS	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
37	DH46	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
38	DH196	RR	SS	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
39	DH131	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
40	DH63	RR	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
41	DH330	RR	SS	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
42	DH5	SS	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS
43	DH48	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR

ตารางผนวก 11 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_398	SNP_793	SNP_477	SNP_167	SNP_423	SNP_460	SNP_967	SNP_1790	SNP_421
44	DH111	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
45	DH44	SS	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
46	DH337	SS	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
47	DH15	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
48	DH160	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
49	DH231	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
50	DH119	RR	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS
51	DH113	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
52	DH322	SS	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
53	DH240	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
54	DH236	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
55	DH100	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
56	DH219	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	SS
57	DH192	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
58	DH211	-	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS

ตารางผนวก 11 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_398	SNP_793	SNP_477	SNP_167	SNP_423	SNP_460	SNP_967	SNP_1790	SNP_421
59	DH16	RR	SS	SS	RR	SS	SS	RR	SS	RR
60	DH318	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
61	DH230	SS	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
62	DH8	SS	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
63	DH195	SS	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR	RR
64	DH52	SS	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS
65	DH340	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
66	DH121	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR
67	DH1	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
68	DH140	SS	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
69	DH181	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
70	DH89	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
71	DH303	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
72	DH60	RR	RR	SS	SS	RR	SS	RR	RR	RR
73	DH328	SS	SS	SS	SS	RR	SS	RR	RR	SS

ตารางผนวก 11 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_398	SNP_793	SNP_477	SNP_167	SNP_423	SNP_460	SNP_967	SNP_1790	SNP_421
74	DH234	RR	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS
75	DH112	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
76	DH144	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
77	DH82	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
78	DH126	SS	SS	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
79	DH138	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
80	DH77	SS	RR	SS	RR	SS	SS	RR	SS	RR
81	DH68	SS	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
82	DH6	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
83	DH136	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
84	DH4	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
85	DH88	SS	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
86	DH9	RR	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
87	DH29	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
88	DH321	SS	SS	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR

ตารางผนวก 11 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_398	SNP_793	SNP_477	SNP_167	SNP_423	SNP_460	SNP_967	SNP_1790	SNP_421
89	DH66	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
90	DH182	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
91	DH125	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	RR	SS
92	DH3	SS	SS	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
93	DH139	RR	SS	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
94	DH27	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
95	DH38	SS	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
96	DH215	-	-	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
97	DH2	SS	SS	-	SS	SS	SS	SS	SS	SS
98	DH209	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
99	DH197	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
100	DH117	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR
101	DH306	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
102	DH70	RR	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS
103	DH13	RR	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS

ตารางผนวก 11 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_398	SNP_793	SNP_477	SNP_167	SNP_423	SNP_460	SNP_967	SNP_1790	SNP_421
104	DH108	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
105	DH61	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
106	DH204	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
107	DH69	RR	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
108	DH226	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
109	DH97	SS	RR	SS	SS	RR	SS	RR	RR	RR
110	DH237	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
111	DH302	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
112	DH93	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
113	DH67	SS	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
114	DH95	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
115	DH64	SS	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
116	DH326	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
117	DH176	-	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
118	DH146	RR	SS	RR	SS	SS	SS	RR	SS	RR

ตารางผนวก 11 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_398	SNP_793	SNP_477	SNP_167	SNP_423	SNP_460	SNP_967	SNP_1790	SNP_421
119	DH334	-	SS	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
120	DH327	-	RR	SS	SS	RR	SS	RR	RR	RR
121	DH243	-	SS	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
122	DH75	-	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
123	DH216	RR	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
124	DH22	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
125	DH301	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
126	DH92	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
127	DH28	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
128	DH310	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
129	DH207	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR	SS
130	DH238	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
131	DH91	SS	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
132	DH152	SS	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS
133	DH35	RR	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS	RR

ตารางผนวก 11 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_398	SNP_793	SNP_477	SNP_167	SNP_423	SNP_460	SNP_967	SNP_1790	SNP_421
134	DH154	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
135	DH26	SS	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
136	DH338	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS
137	DH198	RR	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
138	DH311	SS	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
139	DH254	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR	SS
140	DH74	SS	RR	RR	RR	SS	SS	RR	SS	RR
141	DH300	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
142	DH137	SS	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS
143	DH94	RR	SS	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
144	DH232	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
145	DH123	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	RR
146	DH191	SS	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
147	DH247	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	SS
148	DH143	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS

ตารางผนวก 11 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_398	SNP_793	SNP_477	SNP_167	SNP_423	SNP_460	SNP_967	SNP_1790	SNP_421
149	DH336	SS	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS
150	DH229	SS	SS	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
151	DH299	SS	RR	RR	RR	RR	SS	RR	RR	RR
152	DH175	RR	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS
153	DH178	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS
154	DH40	RR	RR	RR	SS	RR	SS	RR	RR	RR
155	DH30	RR	SS	SS	SS	RR	SS	RR	RR	RR
156	DH72	RR	RR	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS
157	DH45	SS	RR	SS	RR	RR	SS	RR	RR	RR
158	DH309	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS

หมายเหตุ: RR คือ จีโนไทป์เหมือนพันธุ์พ่อ (CM-334)

SS คือ จีโนไทป์เหมือนพันธุ์แม่ (Jindu)

- คือ ข้อมูลสูญหาย

ตารางผนวก 12 ผลการตรวจจีโนไทป์ของ SNP_383, SNP_463, SNP_1654, SNP_439, SNP_1407, SNP_1219, SNP_1099, SNP_694 และ SNP_269 ในประชากร DH จำนวน 158 สายพันธุ์

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_383	SNP_463	SNP_1654	SNP_439	SNP_1407	SNP_1219	SNP_1099	SNP_694	SNP_269
พันธุ์พ่อ	CM334	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR
พันธุ์แม่	Jindu DH29	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
1	DH115	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
2	DH222	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
3	DH31	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
4	DH319	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
5	DH127	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
6	DH202	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
7	DH49	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
8	DH224	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
9	DH122	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
10	DH193	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
11	DH56	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
12	DH241	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
13	DH132	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS

ตารางผนวก 12 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_383	SNP_463	SNP_1654	SNP_439	SNP_1407	SNP_1219	SNP_1099	SNP_694	SNP_269
14	DH214	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
15	DH53	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
16	DH163	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
17	DH205	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
18	DH227	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
19	DH65	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
20	DH199	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
21	DH109	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
22	DH153	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
23	DH133	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
24	DH11	RR	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	RR
25	DH320	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
26	DH34	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
27	DH90	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
28	DH305	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS

ตารางผนวก 12 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_383	SNP_463	SNP_1654	SNP_439	SNP_1407	SNP_1219	SNP_1099	SNP_694	SNP_269
29	DH212	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
30	DH32	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
31	DH102	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
32	DH10	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
33	DH86	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
34	DH308	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
35	DH96	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
36	DH155	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
37	DH46	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
38	DH196	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
39	DH131	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
40	DH63	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
41	DH330	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
42	DH5	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
43	DH48	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR

ตารางผนวก 12 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_383	SNP_463	SNP_1654	SNP_439	SNP_1407	SNP_1219	SNP_1099	SNP_694	SNP_269
44	DH111	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
45	DH44	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
46	DH337	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
47	DH15	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
48	DH160	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
49	DH231	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
50	DH119	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
51	DH113	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
52	DH322	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
53	DH240	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
54	DH236	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
55	DH100	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	RR
56	DH219	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
57	DH192	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
58	DH211	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS

ตารางผนวก 12 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_383	SNP_463	SNP_1654	SNP_439	SNP_1407	SNP_1219	SNP_1099	SNP_694	SNP_269
59	DH16	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
60	DH318	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
61	DH230	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
62	DH8	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	RR
63	DH195	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
64	DH52	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
65	DH340	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
66	DH121	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS
67	DH1	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
68	DH140	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
69	DH181	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
70	DH89	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
71	DH303	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
72	DH60	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
73	DH328	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR

ตารางผนวก 12 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_383	SNP_463	SNP_1654	SNP_439	SNP_1407	SNP_1219	SNP_1099	SNP_694	SNP_269
74	DH234	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
75	DH112	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
76	DH144	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
77	DH82	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
78	DH126	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
79	DH138	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
80	DH77	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
81	DH68	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
82	DH6	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
83	DH136	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	RR
84	DH4	RR	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
85	DH88	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
86	DH9	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
87	DH29	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
88	DH321	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR

ตารางผนวก 12 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_383	SNP_463	SNP_1654	SNP_439	SNP_1407	SNP_1219	SNP_1099	SNP_694	SNP_269
89	DH66	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	RR
90	DH182	RR	SS	SS	RR	RR	RR	SS	RR	RR
91	DH125	SS	RR	SS	SS	RR	RR	SS	RR	RR
92	DH3	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
93	DH139	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
94	DH27	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
95	DH38	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
96	DH215	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	RR
97	DH2	RR	RR	SS	RR	RR	RR	SS	RR	SS
98	DH209	SS	SS	SS	SS	SS	RR	-	SS	RR
99	DH197	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
100	DH117	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	SS
101	DH306	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
102	DH70	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
103	DH13	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS

ตารางผนวก 12 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_383	SNP_463	SNP_1654	SNP_439	SNP_1407	SNP_1219	SNP_1099	SNP_694	SNP_269
104	DH108	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
105	DH61	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
106	DH204	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
107	DH69	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	RR
108	DH226	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
109	DH97	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
110	DH237	SS	RR	SS	RR	SS	SS	SS	SS	RR
111	DH302	RR	SS	SS	SS	SS	RR	SS	SS	RR
112	DH93	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
113	DH67	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
114	DH95	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	RR
115	DH64	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
116	DH326	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
117	DH176	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
118	DH146	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS

ตารางผนวก 12 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_383	SNP_463	SNP_1654	SNP_439	SNP_1407	SNP_1219	SNP_1099	SNP_694	SNP_269
119	DH334	RR	SS	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
120	DH327	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
121	DH243	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
122	DH75	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
123	DH216	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
124	DH22	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
125	DH301	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
126	DH92	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
127	DH28	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
128	DH310	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
129	DH207	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
130	DH238	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
131	DH91	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
132	DH152	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
133	DH35	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR

ตารางผนวก 12 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_383	SNP_463	SNP_1654	SNP_439	SNP_1407	SNP_1219	SNP_1099	SNP_694	SNP_269
134	DH154	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
135	DH26	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
136	DH338	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
137	DH198	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
138	DH311	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
139	DH254	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
140	DH74	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
141	DH300	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
142	DH137	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
143	DH94	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
144	DH232	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
145	DH123	SS	SS	SS	SS	-	SS	SS	SS	RR
146	DH191	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
147	DH247	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
148	DH143	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS

ตารางผนวก 12 (ต่อ)

รหัสตัวอย่าง	ชื่อตัวอย่าง	รหัสไพรเมอร์								
		SNP_383	SNP_463	SNP_1654	SNP_439	SNP_1407	SNP_1219	SNP_1099	SNP_694	SNP_269
149	DH336	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
150	DH229	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
151	DH299	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
152	DH175	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
153	DH178	SS	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
154	DH40	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
155	DH30	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
156	DH72	SS	RR	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
157	DH45	RR	RR	SS	RR	RR	SS	SS	RR	RR
158	DH309	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS

หมายเหตุ: RR คือ จีโนไทป์เหมือนพันธุ์พ่อ (CM-334)

SS คือ จีโนไทป์เหมือนพันธุ์แม่ (Jindu)

- คือ ข้อมูลสูญหาย

ภาคผนวก ง

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางน้ำฝน จอมแก้ว
เกิดเมื่อ	23 กันยายน 2525
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2541 มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนมุกดาหาร จังหวัดมุกดาหาร
พ.ศ. 2539 - 2541	พ.ศ. 2544 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนมุกดาหาร จังหวัดมุกดาหาร
พ.ศ. 2541 - 2544	พ.ศ. 2547 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยา) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
ประวัติการทำงาน	พ.ศ. 2548 นักวิจัยอาวุโส บริษัทสยามสมุทรโฟรเซ่น ฟูดส์ จังหวัดสมุทรสาคร
	พ.ศ. 2549 นักวิทยาศาสตร์ บริษัทแพนราชเทวี กรุ๊ป จำกัด มหาชน จังหวัดปทุมธานี
	ปัจจุบัน นักวิจัย บริษัท East – West Seed Company Limited จังหวัดเชียงใหม่