

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยเรื่อง

ศึกษา Single nucleotide polymorphisms (SNPs) ใน
โปรโมเตอร์ของยีน *accD* ในปาล์มน้ำมัน

Study of Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in Promoter
of *accD* gene from Oil Palm

คณะผู้วิจัย

ดร. อลิษา หนักแก้ว

ศ.ดร. อมรรัตน์ พงศ์ดารา

รศ.ดร. วิไลวรรณ โชติเกียรติ

ศ.ดร. ชีระ เอกสมทราเมษฐ์

หน่วยงานต้นสังกัด สถาบันวิจัยจีโนมและชีวสารสนเทศ

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนงบประมาณในการทำวิจัย ด้วยงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554-55 ในครั้งนี้ และขอขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา ผู้อำนวยการสถานวิจัยจีโนมและชีวสารสนเทศที่กรุณาให้คำแนะนำแนวทางการทำวิจัย และ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้อนุเคราะห์วัสดุอุปกรณ์และสถานที่ในการวิจัย สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการดำเนินงานการวิจัยมาโดยตลอด

อลิษา หนักแก้ว

บทคัดย่อ

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชให้น้ำมันที่ผลผลิตน้ำมันมากที่สุดในบรรดาพืชน้ำมันทั้งหมดทั้งนี้ปริมาณน้ำมันที่ได้จากการเพาะปลูกปาล์มน้ำมันแต่ละนั้นขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของลักษณะทางพันธุกรรมและสภาวะแวดล้อมโดยในการศึกษาค้นคว้านี้ได้ทำการหาความเชื่อมโยงเกี่ยวเนื่องกัน ทางพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์ปาล์มน้ำมัน (ดูราและพิสิเฟอรา) และลูกผสมเทเนอร์ราซึ่งให้ ผลผลิตน้ำมันสูงกว่าพ่อแม่พันธุ์ ด้วยเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลซึ่งเป็นการศึกษาลำดับดีเอ็นเอได้ โดยตรงโดยที่ไม่มีปัจจัยของสิ่งแวดล้อมเข้ามามีผลกระทบ ทั้งนี้ด้วยองค์ความรู้ทางเทคโนโลยี- ชีวภาพโมเลกุลจึงได้ทำการโคลนบริเวณโปรโมเตอร์ของยีน *EgaccD* จากปาล์มน้ำมันทั้ง 3 สายพันธุ์ เพื่อศึกษาความเชื่อมโยงและความหลากหลายของพันธุ์ปาล์มน้ำมันด้วย Single nucleotide polymorphisms (SNPs) ในตำแหน่งโปรโมเตอร์ของยีน *EgaccD* ผลการวิเคราะห์ พบว่า SNPs allele ในลำดับนิวคลีโอไทด์ในโปรโมเตอร์ของยีน *EgaccD* ซึ่งเมื่อทำการตรวจสอบระยะห่างทาง พันธุกรรมด้วย โปรแกรม PHYLIP พบว่าค่าระยะห่างทางพันธุกรรมของลูกผสมเทเนอร์รานี้มีความ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับพ่อแม่พันธุ์ปาล์มน้ำมัน (ดูราและพิสิเฟอรา) และสามารถจำแนกตัวอย่างปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอร์รา (tenera) ออกจากปาล์มน้ำมันต้นแม่ดูรา (dura) และ พ่อพิสิเฟอรา (pisifera) ได้

บริเวณตำแหน่ง SNPs allele เป้าหมายที่คัดเลือกเพื่อการออกแบบไพรเมอร์ด้วย Primer Explore จะได้ชุดไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับใช้ในการตรวจสอบด้วยการเพิ่มจำนวนแบบ SNP-LAMP ซึ่งเมื่อนำชุดไพรเมอร์ที่ดังกล่าวไปตรวจสอบในกลุ่มลูกผสมเทเนอร์ราที่ได้จากการผสมรวมทั้ง พ่อแม่พันธุ์ พบว่าค่าที่ได้ไม่สามารถใช้ในการคัดเลือกเพื่อจำแนกแยกพ่อแม่พันธุ์และลูกผสมที่ได้ จากการผสมได้อย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงสามารถสรุปผลจากการศึกษาตำแหน่ง SNPs allele ด้วยเทคนิค SNP-LAMP ไม่สามารถจำแนกตัวอย่างปาล์มน้ำมันลูกผสมเทเนอร์รา (tenera) ออกจากปาล์มน้ำมันต้นแม่ดูรา (dura) และ พ่อพิสิเฟอรา (pisifera) ได้

นอกจากนี้ด้วยผลการวิจัยก่อนหน้านี้นี้พบว่าระดับการแสดงออกของบริเวณโปรโมเตอร์ของยีน *EgaccD* มีความเกี่ยวพันสอดคล้องกับปริมาณน้ำมัน โดยในการวิจัยครั้งนี้ได้ตรวจพบว่ามีปริมาณจำนวนชุดของจีโนมในบริเวณ โปรโมเตอร์ของ *EgaccD* มีปริมาณสูงในปาล์มน้ำมันกลุ่มที่ปริมาณน้ำมันสูง (26.32-43.68 กิโลกรัมต่อต้นต่อปี) และมีปริมาณต่ำกว่าในปาล์มน้ำมันกลุ่มที่ให้ผลผลิตน้ำมันต่ำ (1.98-12.43 กิโลกรัมต่อต้นต่อปี) นับได้ว่าเป็นที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งที่ ผลจากการวิจัยพบว่าระดับปริมาณจำนวนชุดของจีโนมและระดับการแสดงออกของยีนนั้น มีความสอดคล้องกันและเชื่อมโยงกับปริมาณน้ำมันด้วยเช่นกัน ผลจากงานวิจัยทั้งหมดนี้ แสดงว่าการจัดการลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *EgaccD* นั้นนับได้ว่าเป็นวิธีการหนึ่งที่จะส่งเสริม ให้มีการ เพิ่มปริมาณน้ำมันและใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับคัดเลือกปาล์มน้ำมันสาย พันธุ์ใหม่ที่ ปริมาณน้ำมันสูงในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน

Abstract

Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) is a greater oil yield than other oil plants. Palm oil yield is involved with different agronomic characters base on genotype and environmental. This study involves investigating the genetic relationship between the parental palms (*dura* and *pisifera*) and *tenera* hybrids that boosted the higher oil yield than parent. Molecular marker techniques are advantageous as they directly reflect variations in the DNA sequences and therefore of independence of environment. Molecular biotechnology approaches were used to cloning promoter region of *EgaccD* gene from three oil palm varieties. The association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) in *EgaccD* promoter region and variations in among the oil palm varieties has recently been described. SNPs allele data were observed and analysed using PHYLIP software to calculate the genetic distance values. Then, the results were shown the genetic distances with *tenera* hybrid were significant different from parent (*dura* and *pisifera*) variety.

The SNPs allele target selection for primer design can be accomplished by using the Primer Explore and then the specific primer sets for performing SNP-LAMP amplification. The performance of *tenera* hybrid progenies and their parent was evaluated and showed were non-significant for screen selected parental palms and their progenies. These results indicated that SNPs allele analysis based on SNP-LAMP technique in this study may not be useful for predicting hybrid performance and necessary to improve.

Moreover, previous reported were shown the *EgaccD* mRNA expression level are correlated with palm oil yield. This research found that genomic copy number of *EgaccD* promoter region were shown higher in high oil yield plants (26.32–43.68 Kg/palm/year). And, then were shown lower genomic copy number in low oil yield plants (1.98–12.43 Kg/palm/year). Interestingly, our results were showed the co-correlation between the alteration of genomic DNA copy numbers and transcriptional expression and correlated with palm oil yield, also. Based on this research, genetic manipulation of *EgaccD* seemed to be one method to enhance to increase the oil content and uses as a marker to assist selection of possible high oil yielding cultivars in oil palm breeding programs.