Thesis Title Selection of thermo-sensitive genic male sterile line in rice using molecular marker

Author Mr. Kasemson Suriyawan

Degree Doctor of Philosophy (Agronomy)

Thesis Advisory Committee Assoc. Prof. Suthat Julsrigival Chairperson

Asst. Prof. Dr. M.L. Anothai Choomsai Member

Assoc. Prof. Dr. Dumnern Karladee Member

ABSTRACT

Study on selection of thermo-sensitive genic male sterile (TGMS) line in Thai rice variety by using molecular marker was carried out during 2003 to 2008 growing seasons at the evaporation green house and modifier phytotron of Maejo University, Chiang Mai. The experimental field research works were conducted at Almatha Seed Co. Ltd., Chiang Rai. Laboratory works for molecular marker analysis were conducted at DNA Laboratory Unit, BIOTECH at Kasetsart University, Khamphaengsaen Campus, Nakornpathom and Plant Molecular Genetic Laboratory BIOTECH, Prathumthani. The objectives of research works were to study the inheritance of TGMS gene of T29s rice variety, using molecular marker to assist TGMS line selection and transfer TGMS trait to Thai rice varieties for developing Thai rice TGMS lines for two-line rice hybrid production.

Results of study indicated that critical temperature to induce male sterility of T29s rice variety (a variety possessing TGMS trait) was higher than 26 ^{o}C and remained to be male fertile if plants were grown under 24 ^{o}C. The stage of plant

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

development to induce male sterility was about 60 – 70 days after seed sowing or 10 – 15 days after floral initiation. Inheritance study of TGMS trait of T29s variety revealed clearly that TGMS trait was controlled by a recessive gene. Unique traits of T29s variety such as red culm, red auricle, purple stigma and red epiculi did not show any association with TGMS trait. Hence, these traits were not able to be used as phenotypic marker to identify TGMS trait in segregating population. Result obtained from molecular marker analysis for assisting TGMS line selection indicated that two SSCP primers: Os02g12300 and Os02g12370 could be used as molecular marker assisted TGMS line selection in segregating population derived from T29s x KDML105 cross. Os02g12370 primer could link molecular marker closely to TGMS gene of T29s rice variety with the random recombination frequency of 0.0571 and linked to TGMS gene with genetic distance of 5.71 cM. This TGMS gene was proposed to be tms5 gene and located on chromosome 2.

For developing Thai rice TGMS lines, it was identified that TGMS line selection could be finished after three backcross generations of T29s x KDML 105 cross. Three promising TGMS lines were developed successfully and to be named as KDML 105 TGMS-1, KDML 105 TGMS-2 and KDML 105 TGMS-3. These Thai TGMS lines fully inherited TGMS gene from T29s variety which were able to exhibit completely male sterility if plants were grown above 26 ^{o}C and remained male fertility if plants were grown under 24 ^{o}C temperature condition.

Results of this study could point out that development of Thai rice TGMS line for two-line rice hybrid production in Thailand is possible. Molecular marker for assisting in screening TGMS trait in segregating populations is a useful and reliable method for developing TGMS lines. However, developing of two-line rice hybrid by

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

using TGMS trait suggests that maximum standard yield heterosis should be 15 – 20 percent higher than traditional variety if it is to encourage farmers for hybrid rice cultivation.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันแบบไวต่ออุณหภูมิโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย
ผู้เขียน	นายเกษมสันต์ สุริยะวรรณ
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (พืชไร่)
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ. สุทัศน์ จุลศรีไกวัล ประธานกรรมการ
	ผศ. ดร. ม.ล. อโณทัย ชุมสาย กรรมการ
	รศ. ดร. ดำเนิน กาละดี กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวไทยที่มีลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันแบบไวต่ออุณหภูมิโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย ได้ศึกษาระหว่างปี พ.ศ. 2546 – 2551 การศึกษาได้ทำในโรงเรือนและห้องควบคุมอุณหภูมิของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ งานทดลองในแปลงทดลองที่บริษัทอัลมาธาซีดส์ จังหวัดเชียงราย งานทดลองในห้องปฏิบัติการได้ทำที่หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม และ หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ จังหวัดปทุมธานี โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการถ่ายทอดพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันแบบไวต่ออุณหภูมิของข้าวพันธุ์ T29s ศึกษาโมเลกุลเครื่องหมายเพื่อช่วยการคัดเลือกลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันแบบไวต่ออุณหภูมิของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลูกผสม และถ่ายทอดยีนควบคุมลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันแบบไวต่ออุณหภูมิไปยังข้าวพันธุ์ไทย เพื่อพัฒนาสายพันธุ์ข้าวไทยที่มีลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันแบบไวต่ออุณหภูมิและนำไปเป็นสายพันธุ์แม่เพื่อใช้ผลิตสายพันธุ์ข้าวลูกผสมระบบสองสายพันธุ์

ผลการการศึกษาอุณหภูมิวิกฤตของข้าวพันธุ์ T29s ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันแบบไวต่ออุณหภูมิ พบว่า ที่ระดับอุณหภูมิสูงกว่า 26 ° ซ จะทำให้เกสรเพศผู้เป็นหมัน แต่ถ้าปลูกที่อุณหภูมิต่ำกว่า 24 ° ซ ต้นข้าวสามารถผลิตเกสรเพศผู้ไม่เป็นหมันได้ และยังพบว่าระยะที่ต้นข้าวอายุ 60 – 70 วันหลังปลูก หรือประมาณ 10 – 15 วันหลังพัฒนาดอกอ่อนเป็นระยะวิกฤตที่ชักนำให้ข้าวพันธุ์ T29s ผลิตเกสรเพศผู้เป็นหมันหรือผลิตเกสรเพศผู้ไม่เป็นหมัน การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันแบบไวต่ออุณหภูมิ ของข้าวพันธุ์ T29s พบว่าลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันแบบไวต่ออุณหภูมิของข้าวพันธุ์ T29s ถูกควบคุมโดยยีนด้อยเพียงหนึ่งยีน ขณะเดียวกันได้ศึกษาลักษณะสีโคนต้น สีเขี้ยวใบ สีเกสรเพศเมีย และสีปลายดอกของข้าวพันธุ์ T29s พบว่าลักษณะดังกล่าวไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะเกสรเพศผู้ไม่เป็นหมัน จึงไม่สามารถใช้เป็นเครื่องหมายที่ช่วยในการคัดเลือกลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันแบบไวต่ออุณหภูมิในประชากรลูกผสมของข้าวพันธุ์ T29s จากการศึกษาและการพัฒนาโมเลกุลเครื่องหมายเพื่อช่วยในการคัดเลือกลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันแบบไวต่ออุณหภูมิ พบว่า SSCP primer จำนวน 2 primer ได้แก่ Os02g12300 และ Os02g12370 primer สามารถระบุความแตกต่างระหว่างแถบ DNA ของกลุ่มต้นที่มีลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันและกลุ่มต้นที่มีลักษณะเกสรเพศผู้ไม่เป็นหมันได้ ทั้งในประชากรพ่อ – แม่ และประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ของคู่ผสมระหว่างพันธุ์ T29s กับ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยที่ Os02g12370 primer สามารถแยกความแตกต่างของแถบ DNA ได้ชัดเจนกว่า โมเลกุลเครื่องหมาย Os02g12370 วางตัวอยู่ห่างจากยีนควบคุมลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แบบไวต่ออุณหภูมิ 5.71 cM และสามารถระบุได้ว่ายีนที่ควบคุมลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันแบบไวต่ออุณหภูมิคือยีน tms5 อยู่บนโครโมโซม 2

การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวไทยที่มีลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมัน แบบไวต่ออุณหภูมิได้พัฒนาจากประชากรคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ T29s และพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบผสมกลับนั้น สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวไทยที่มีลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันแบบไวต่ออุณหภูมิได้จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่สายพันธุ์ KDML 105 TGMS-1, KDML 105 TGMS-2 และ KDML 105 TGMS-3 ข้าวทั้งสามสายพันธุ์สามารถผลิตเกสรเพศผู้ไม่เป็นหมันเมื่อปลูกที่อุณหภูมิต่ำกว่า 24 $^{\circ}$ซ และเกสรเพศผู้เป็นหมัน เมื่อปลูกที่อุณหภูมิสูงกว่า 26 $^{\circ}$ซ

ผลการศึกษาเรื่องนี้สามารถสรุปได้ว่า การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวไทยที่มีลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันแบบไวต่ออุณหภูมิเพื่อใช้ในการผลิตข้าวลูกผสมของระบบสองสายพันธุ์ในประเทศไทยมีความเป็นไปได้สูง การใช้โมเลกุลเครื่องหมายเพื่อช่วยในการคัดเลือกลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันแบบไวต่ออุณหภูมินั้นเป็นวิธีการที่เป็นประโยชน์และมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตาม การพัฒนาพันธุ์ข้าวลูกผสมในระบบสองสายพันธุ์นั้น พันธุ์ข้าวลูกผสมควรให้ผลผลิตสูงกว่าข้าวพันธุ์มาตรฐานไม่น้อยกว่า 15 – 25 เปอร์เซ็นต์ จึงจะเป็นแรงจูงใจให้เกษตรกรใช้พันธุ์ข้าวลูกผสมเพื่อการเพาะปลูก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved