

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ถั่วเหลืองฝักสดหรือถั่วแระ (vegetable soybean) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine max* (L.) Merr. ชื่อสามัญ คือ vegetable soybean , sweet bean , edamame (Japan) , maotou (China) อยู่ในวงศ์ Leguminosae และตระกูลย่อย (Subfamily) Papilionidae มีแหล่งกำเนิดในประเทศจีน และแมนจูเรีย ตั้งแต่ปี 2,500 ปีก่อนคริสตกาล ถั่วเหลืองฝักสดมีจำนวนโครโมโซม $2n = 40$ ขนาดจีโนม (genome size) 1,115 ล้านคู่เบส (Mbp) (Arumuganathan and Earle, 1991) นอกจากนี้เมล็ดถั่วเหลืองฝักสดประกอบด้วยโปรตีน ร้อยละ 35 ถึงร้อยละ 38 (ของน้ำหนักแห้ง) และมีไขมันร้อยละ 5 ถึงร้อยละ 7 (ของน้ำหนักสด) ลักษณะสำคัญของถั่วเหลืองฝักสดต้องมีขนาดของเมล็ดที่ใหญ่ มีกลิ่นหอม และรสหวาน ปริมาณน้ำตาลซูโครสมีค่าเท่ากับ 3.97 กรัม / 100 กรัม ถึง 1,500 กรัม / 100 กรัม มีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวที่มี lipid เป็นองค์ประกอบสำคัญในเมล็ดสด ถั่วเหลืองเป็นแหล่งที่มีกรด Isoflavones (78– 220 มิลลิกรัม/กรัม) และมีวิตามินอีประมาณ (84 – 128 มิลลิกรัม/กรัม) องค์ประกอบไขมันในถั่วเหลืองประกอบด้วยกรดไขมันชนิด Palmitic , Stearic , Oleic และ Linolenic ร้อยละ 11, 4, 23 และ 8 ตามลำดับ (Spencer et al., 2004) ถั่วเหลืองฝักสดเป็นพืชชนิดเดียวกับถั่วเหลืองทั่วไป แต่มีขนาดฝักที่ใหญ่กว่า ฝักเป็นสีเขียวสด รสหวานเล็กน้อย ซึ่งมีความแตกต่างจากถั่วเหลืองธรรมดาอย่างเด่นชัด (สิริกุล, 2533)

เมล็ดถั่วเหลืองเกิดขึ้นในฝัก ซึ่งฝักหนึ่งจะมีจำนวนเมล็ดไม่เกิน 3 เมล็ด เมล็ดถั่วเหลืองฝักสดมีลักษณะคล้ายไต พันธุ์ที่สุกแก่แล้วเมล็ดส่วนใหญ่มีสีเหลืองฟาง ประกอบไปด้วยส่วนที่สำคัญ 3 ส่วนด้วยกัน ได้แก่ เปลือกเมล็ด (seed coat) ต้นอ่อน (embryo) และเนื้อเยื่อที่สะสมอาหาร (storage tissue หรือ supporting tissue) เปลือกเมล็ดนั้นเป็นส่วนนอกสุด ทำหน้าที่โอบอุ้มและห่อหุ้มส่วนประกอบภายใน นอกจากนี้เปลือกเมล็ดยังทำหน้าที่ป้องกันอันตรายให้กับส่วนที่อยู่ภายใน เช่น ใบเลี้ยง และต้นอ่อน ไม่ให้ถูกทำลายโดยเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย ส่วนที่สองที่มีความสำคัญอย่างยิ่งของเมล็ดถั่วเหลือง ได้แก่ ต้นอ่อน โดยต้นอ่อนของถั่วเหลืองประกอบไปด้วย 3

ส่วนสำคัญ ได้แก่ Epicotyl Hypocotyl และ Radicle ส่วนที่สามของถั่วเหลืองที่สำคัญ คือ เนื้อเยื่อที่สะสมอาหาร (storage tissue หรือ supporting tissue) ซึ่งเนื้อเยื่อดังกล่าวได้แก่ใบเลี้ยง (cotyledon) ทำหน้าที่เก็บและจ่ายอาหารตลอดจนผลิตเอนไซม์ต่างๆ ให้แก่ต้นอ่อน ฝักอาจจะมีลักษณะตรงหรือโค้งเล็กน้อย ยาวประมาณ 2 -7 เซนติเมตร (อภิพรธ, 2546 และอัจฉรา และคณะ, 2547)

ถั่วเหลืองฝักสดมีระบบรากแก้ว (tap root system) ซึ่งสามารถแตกแขนงรากแขนงออกไปได้มาก รากแก้วในถั่วเหลืองจะหยั่งลึกลงไปในดินได้ถึง 150 ซม. และปริมาณของรากส่วนใหญ่จะอยู่ในบริเวณที่ลึก 60 ซม. จากผิวดิน สามารถเจริญเติบโตไปตามแนวนอนขนานไปกับผิวดินได้ยาวถึง 50 ซม. ห่างจากลำต้น (อภิพรธ, 2546) บนรากแขนงจะมีปมรากจำนวนมากมาย ซึ่งในปมรากจะมีเชื้อแบคทีเรียไรโซเบียม ทำหน้าที่ตรึงไนโตรเจน สร้างแหล่งธาตุไนโตรเจน สำหรับการเจริญเติบโตและสร้างผลผลิตถั่วเหลือง

ระยะการเจริญเติบโตของต้นถั่วเหลือง

ระยะการเจริญเติบโตของต้นถั่วเหลืองสามารถแบ่งออกเป็น 2 ระยะ คือ การเจริญเติบโตทางด้านลำต้น (vegetative stage) และระยะการเจริญพันธุ์ (reproductive stage) แต่ละระยะมีข้อสังเกตดังนี้ (Fehr and Caviness, 1997 อ้างโดย อภิพรธ, 2546)

การเจริญเติบโตทางด้านลำต้น (vegetative stage)

- V_E ระยะการงอกโผล่พ้นดิน (emergence) คือ ระยะที่ใบเลี้ยงเพ่งโผล่และอยู่เหนือผิวดิน
- V_C ระยะใบเลี้ยง (cotyledon) กางเต็มที่ และใบจริงคู่แรก (unifoliate) คลี่ออก
- V_1 ระยะข้อที่ 1 (first node) ระยะที่ใบจริงคู่แรกกางเต็มที่ และขอบใบรวมชุดแรก (trifoliate leaf) คลี่ออก
- V_2 ระยะข้อที่ 2 (second node) ระยะที่ใบรวมชุดแรกกางเต็มที่ และขอบใบรวมชุดที่ 2 คลี่ออก

- V_3 ระยะข้อที่ 3 (third node) ระยะที่ใบรวมชุดที่ 2 กางเต็มที่ และขอบใบรวมชุดที่ 3 กลี้ออก
- V_n ระยะข้อที่ n (n – node) เมื่อ (n) เท่ากับลำดับข้อบนลำต้นที่มีใบจริงคลี่กางออกเต็มที่

ระยะการเจริญพันธุ์ (reproductive stage)

- R_1 ระยะเริ่มออกดอก มีดอกบานหนึ่งดอกบนข้อใดๆ ก็ตามบนลำต้น
- R_2 ระยะออกดอกเต็มที่ มีดอกบานที่ข้อใดข้อหนึ่งบนข้อบนสุดสองข้อที่มีใบคลี่กางเต็มที่
- R_3 ระยะเริ่มติดฝัก ฝักยาวขนาด 0.5 มิลลิเมตร ปรากฏขึ้นที่ข้อใดข้อหนึ่งบนข้อบนสุด 4 ข้อบนลำต้นที่มีใบคลี่กางเต็มที่
- R_4 ระยะติดฝักเต็มที่ ฝักยาวขนาด 2.0 เซนติเมตร ปรากฏขึ้นที่ข้อใดข้อหนึ่งบนข้อบนสุด 4 ข้อบนลำต้นที่มีใบคลี่กางเต็มที่
- R_5 ระยะติดเมล็ด มีเมล็ดยาวขนาด 3.0 เซนติเมตร ในฝักที่ติดอยู่ในข้อใดข้อหนึ่งบนข้อบนสุด 4 ข้อ บนลำต้นที่มีใบคลี่กางเต็มที่
- R_6 ระยะเมล็ดพัฒนาเต็มที่ ฝักซึ่งมีเมล็ดสีเขียวเจริญเติบโตจนเต็มช่องว่างของฝัก ปรากฏให้เห็น ในข้อใดข้อหนึ่งบนข้อบนสุด 4 ข้อ บนสุดของลำต้นที่มีใบคลี่กางเต็มที่
- R_7 ระยะฝักเริ่มแก่ ระยะที่ฝักใดฝักหนึ่งที่ข้อบนลำต้นมีสีน้ำตาล หรือน้ำตาลไหม้ หรือดำ
- R_8 ระยะสุกแก่เต็มที่ของเมล็ดร้อยละ 95 ของฝักที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล หรือสีน้ำตาลไหม้ หรือดำ หากเก็บเกี่ยวประมาณ 10 วัน หลังจากนั้นโดยไม่มีฝนตก และอุณหภูมิในเวลากลางวันสูงพอสมควร ก็จะสามารรถเก็บเกี่ยวเมล็ดที่มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นน้อยกว่าร้อยละ 15

ถั่วเหลืองฝักสดในประเทศไทย

เมล็ดถั่วเหลืองสามารถแบ่งออกตามการใช้ประโยชน์ได้ 2 รูปแบบ คือ เมล็ดแห้ง และเมล็ดสด กรณีเมล็ดแห้งถ้ามีคุณภาพดีสามารถใช้ทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร สำหรับเมล็ดที่มี

คุณภาพรองลงมาสามารถใช้สกัดน้ำมันได้กากถั่วเหลืองใช้ทำอาหารสัตว์ หรือใช้เมล็ดแห้ง ทำอาหารสัตว์โดยตรง สำหรับกรณีที่บริโภคเมล็ดสดหรือถั่วเหลืองฝักสด โดยจะทำการเก็บเกี่ยว ในขณะที่ฝักเมล็ดเต่งเต็มที่ แต่ยังไม่เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง เพื่อใช้บริโภคเป็นอาหารว่าง แต่ ถั่วเหลืองฝักสดที่มีคุณภาพสูง ผลิตเพื่อการส่งออกไปยังประเทศญี่ปุ่นจะอยู่ในรูปฝักสดแช่แข็ง และอีกรูปแบบเป็นการส่งออกแบบเมล็ดสดที่แกะออกจากเปลือก ฝักส่วนใหญ่จะเป็นที่ต้องการ ของตลาดทวีปยุโรป เมื่อเปรียบเทียบกับผลผลิตเฉลี่ยของโลกแล้วถือว่า ผลผลิตถั่วเหลืองของไทย ยังมีมาตรฐานที่ค่อนข้างต่ำ การผลิตถั่วเหลืองของโลกมีการใช้พันธุ์ที่มีการคัดต่อพันธุกรรมหรือ คัดแปลงพันธุกรรมกันอย่างแพร่หลาย และกำลังมีการต่อต้านกันอย่างกว้างขวางโดยอ้างถึงความ ปลอดภัยต่อสุขภาพและสภาพแวดล้อมจึงเป็น โอกาสของคนไทยที่เร่งรัดการผลิตให้มากขึ้น (สมศักดิ์, 2546)

ถั่วเหลืองฝักสดในต่างประเทศ

การผลิตถั่วเหลืองฝักสดของโลก มีการผลิตใช้รับประทานกันมากในประเทศแถบ เอเชีย เช่น ญี่ปุ่น จีน ไต้หวัน ไทย อินโดนีเซีย และเวียดนาม ประเทศที่ผลิตและส่งออกมากใน ขณะนี้ คือ จีน ไต้หวัน และไทย ความต้องการของตลาดโลกมีเพิ่มมากขึ้นถึงร้อยละ 11 ต่อปีในอดีต ที่ผ่านมามีผลผลิตของโลกเพิ่มขึ้น เนื่องจากการขยายเนื้อที่เพาะปลูกออกไปอย่างกว้างขวาง แต่ใน ปัจจุบันการเพิ่มพื้นที่เพาะปลูกจึงไม่สามารถจะทำได้เหมือนในเวลาที่ผ่านมา ดังนั้นการเพิ่มผลผลิต ถั่วเหลืองให้เพียงพอกับความต้องการของตลาด (อภิพรธ, 2546) ด้านการตลาดญี่ปุ่นเป็นตลาด เป้าหมายที่สำคัญที่สุด เพราะบริโภคถั่วเหลืองฝักสดมากปีหนึ่งไม่ต่ำกว่า 1.5 แสนตัน แต่ ภายในประเทศมีการผลิตที่ไม่เพียงพอ จึงนำเข้าถั่วเหลืองจากประเทศจีน ไต้หวัน ไทย อินโดนีเซีย เวียดนาม และสหรัฐอเมริกา ซึ่งแนวโน้มการส่งออกถั่วเหลืองฝักสดของประเทศไทยคาดว่าจะ เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เพราะถั่วเหลืองฝักสดของประเทศไทยมีคุณภาพดีกว่าเมื่อเทียบกับแหล่งอื่นๆ ซึ่งตลาด ส่งออกที่ใหญ่ที่สุดในตอนนี้ คือ ประเทศญี่ปุ่น ประเทศไทยส่งออกถั่วเหลืองฝักสดไปญี่ปุ่น ประมาณ 9 พันตันต่อปี ซึ่งจัดเป็นอันดับที่ 3 ของการนำเข้าของประเทศไทยจากจีน และ ไต้หวัน

ลักษณะเชิงปริมาณ

ลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative trait loci ; QTL) ส่วนใหญ่เป็นลักษณะที่ปรากฏในพืช คือ จะมียีนควบคุมหลายคู่ (polygene) ยีนแต่ละคู่จะควบคุมการแสดงออกทางลักษณะมากบ้างน้อยบ้าง และสภาพแวดล้อมก็เป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดการแปรผันและสภาพแวดล้อมมีอิทธิพลต่อการแสดงออกสูง (พีระศักดิ์ และประเสริฐ, 2548)

การทำแผนที่โครโมโซมควบคุมลักษณะเชิงปริมาณ (QTL mapping) จะทำให้ทราบตำแหน่งของยีนแต่ละตัวซึ่งส่งผลต่อการแสดงออกของลักษณะนั้น ลักษณะที่มีความสำคัญทางการเกษตรเป็นลักษณะเชิงปริมาณ การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอเพื่อหาความเชื่อมโยงระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลกับลักษณะเชิงปริมาณต่างๆ ที่สนใจสามารถทำให้คัดเลือกพันธุ์พืชมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Pooprompan, 2006)

ในการปรับปรุงพันธุ์พืชผสมตัวเอง เช่น ถั่วเหลืองสามารถผสมข้ามระหว่างต้นที่มีลักษณะตามความต้องการสร้างความแปรปรวน โดยใช้การผสมตัวเองและคัดเลือกลักษณะภายนอกสำหรับการเลือกลักษณะที่สนใจ ระหว่างลูกที่ได้ด้อยกว่าพ่อแม่หรือกระจายตัวดีเด่นกว่าพ่อแม่ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกลักษณะที่สนใจ ประชากรที่ใช้ทำแผนที่โครโมโซมเรียกว่า Recombinant inbred line (RIL) โดยได้จากการผสมสายพันธุ์แท้สองสายพันธุ์เพื่อให้ได้ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) จากนั้นปล่อยให้ผสมตัวเองจนกระทั่งยีนทั้งหมดหยุดการกระจายตัวหรือเข้าสู่สถานะ Homozygous เมื่อผสมตัวเองชั่วที่ 7 ขึ้นไป สามารถนำไปใช้ได้ ซึ่งประชากรที่มีกระจายตัวของลักษณะ อัตราส่วน 1:1 สำหรับหาตำแหน่งของยีน หรือ QTL ของลักษณะที่ซับซ้อนและมีค่าอัตราพันธุกรรม (heritability) ที่ต่ำ ซึ่งจำเป็นจะต้องทำซ้ำในการประเมินผลประชากรดังกล่าว (อภิชาติ, ม.ป.ป.)

การอธิบายความแปรปรวนของลักษณะที่ปรากฏโดยอธิบายจากค่า R^2 หากค่า R^2 มีค่ามากกว่าร้อยละ 15 จะเป็นกลุ่มยีนหลัก (major QTL) หากค่า R^2 มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 15 แต่มากกว่าร้อยละ 5 จะเป็นกลุ่มยีนรอง (minor QTL) และหากค่า R^2 มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 5 จะเป็นกลุ่มที่ควบคุมด้วยยีนหลายคู่ (Polygenes)(Chandra, 2004)

อัตราพันธุกรรม

การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม สามารถวัดได้จากสัดส่วนความแปรปรวนทั้งหมดที่เกิดขึ้นเนื่องมาจากอัตราพันธุกรรม ดังนั้นอัตราพันธุกรรมจึงเป็นตัวกำหนดความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยใช้ดัชนีเป็นตัวชี้วัดในการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการ ความผันแปรทางพันธุกรรมจะขึ้นอยู่กับความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะที่แตกต่างกันไปของพืชแต่ละชนิด และในพืชชนิดเดียวกันก็มีความแตกต่างกันไปของแต่ละลักษณะที่พบอีกด้วย (เรืองชัย, 2544)

อัตราพันธุกรรม (Heritability) แบ่งได้ 2 แบบ ตามที่มาของความแปรปรวนทางพันธุกรรม (ประวิตร, 2548) ได้แก่ อัตราพันธุกรรมแบบกว้าง (broad sense heritability) และอัตราพันธุกรรมแบบแคบ (narrow sense heritability)

อัตราพันธุกรรมแบบกว้าง (broad sense heritability) เป็นอัตราพันธุกรรมที่แสดงถึงอัตราส่วนของความแปรปรวนทางพันธุกรรมอย่างรวมๆ โดยไม่ได้แยกรายละเอียดว่าเป็นแบบบวกสะสมหรือเป็นแบบข่มต่อความแปรปรวนของลักษณะนั้นๆ ที่สังเกตได้ทั้งหมด หากเป็นการทดลองเปรียบเทียบลักษณะของรุ่นลูกในสภาพแวดล้อมเดียว ค่าอัตราพันธุกรรมก็จะคำนวณได้ดังนี้

$$\text{อัตราพันธุกรรมแบบกว้าง } (h^2_w) = \sigma_g^2 / (\sigma_g^2 + \sigma_e^2)$$

อัตราพันธุกรรมแบบแคบ (narrow sense heritability) เป็นอัตราพันธุกรรมที่แสดงถึงอัตราส่วนของความแปรปรวนเนื่องจากยีนแบบบวกสะสม ต่อความแปรปรวนของลักษณะนั้นที่สังเกตได้ทั้งหมด การทดลองเปรียบเทียบลักษณะของรุ่นลูกในสภาพแวดล้อมเดียว ค่าอัตราพันธุกรรมก็จะคำนวณได้ ดังนี้

$$\text{อัตราพันธุกรรมแบบแคบ } (h^2_n) = \sigma_A^2 / (\sigma_G^2 + \sigma_E^2)$$

Fehr (1987) รายงานถึงการประเมินค่าอัตราพันธุกรรมของประชากรสายพันธุ์แท้ Recombinant inbred line (RIL) ควรใช้อัตราพันธุกรรมแบบแคบ (narrow sense heritability) เนื่องจากประชากรสายพันธุ์แท้มีลักษณะพันธุกรรมเข้าสู่สภาวะ Homozygosity และมีความ

แปรปรวนเนื่องมาจากปฏิกิริยาของยีนแบบบวกสะสม (σ^2_A) ทั้งหมด ซึ่งค่าอัตราพันธุกรรมคำนวณได้ดังนี้

$$h^2 = \sigma^2_g / [\sigma^2_g + (\sigma^2_{ge}/e) + (\sigma^2_e/re)]$$

เมื่อ σ^2_g และ σ^2_e คือ องค์ประกอบของความแปรปรวนเนื่องจากพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม ตามลำดับ r คือ จำนวนซ้ำ σ^2_{ge} คือ อิทธิพลร่วมขององค์ประกอบความแปรปรวนของพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อม และ e คือ จำนวนของสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราพันธุกรรมแบบกว้างสำหรับทุกๆลักษณะจะมีค่าสูงกว่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบเสมอ (Mahmoud et al., 1990)

เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์

เครื่องหมายโมเลกุลแบบ SSR (simple sequence repeat) หรือ Microsatellite เป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้หลักการกระจายตัวของลำดับเบสซ้ำ ที่พบกระจายอยู่ในสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตชนิดยูคาริโอต ชนิดของเบสซ้ำ ได้แก่ ซ้ำสองเบส (di-nucleotide repeat) เช่น AT ซ้ำสามเบส (tri-nucleotide repeat) เช่น AAC และซ้ำสี่เบส (tetra-nucleotide repeat) เช่น GTAC เป็นต้น ในบริเวณลำดับเบสซ้ำระหว่างการจำลองดีเอ็นเอส่งผลให้เกิดความแตกต่างของจำนวนซ้ำ เรียกว่า VNTR (variable number of tandem repeat) ดังนั้นนอกจากคุณสมบัติของ Microsatellite ที่มีการกระจายตัวทั่วในจีโนมแล้ว อัตราการเกิดความแตกต่างของลำดับเบสระหว่างสายพันธุ์ค่อนข้างสูง (ธีระยุทธ, ม.ป.ป.) นอกจากนี้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ ยังเป็นชนิดข่ม (codominant) จึงสามารถใช้ตรวจสอบ Heterozygous ได้ง่าย จากรายงานของ Cregan et al. (1999) ได้ทำแผนที่เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ ในจีโนมถั่วเหลือง ซึ่งปัจจุบันมีมากกว่า 700 ตำแหน่งบน 20 กลุ่มลิงเกจ

เครื่องหมายโมเลกุลกับการปรับปรุงพันธุ์

เครื่องหมายโมเลกุลมีอยู่ 2 ระดับ คือ ระดับโปรตีน เป็นการตรวจสอบที่โมเลกุลของโปรตีนชนิดต่างๆ และระดับดีเอ็นเอ ซึ่งตรวจสอบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ (สุรินทร์, 2545)

เครื่องหมายโมเลกุล คือ ลำดับเบสช่วงหนึ่งของโครโมโซมซึ่งสามารถบ่งบอกตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งบนโครโมโซมที่ตรวจสอบได้ และมีการถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูกได้ ซึ่งยังเป็นตัวบ่งชี้ที่มีความหมายเฉพาะเจาะจงในด้านต่างๆ ในการปรับปรุงพันธุ์ได้นำเอาเครื่องหมายโมเลกุลเป็นเครื่องบ่งชี้ลักษณะทางการเกษตร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือกให้สูงขึ้น

เครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker) เป็นเครื่องหมายที่สร้างมาจากชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ ดังนั้นจึงถูกเรียกว่า เครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีจำนวนมากมายมหาศาล ดังที่ทราบกันแล้วว่าขนาดจีโนมของพืชมีประมาณ 10^8 - 10^9 nucleotide ในบางจีโนมพืชพบว่ามีที่เกิด Single nucleotide mutation ทุกๆ 1 kb และสภาพแวดล้อม ระยะเวลาเจริญเติบโตของพืชไม่มีอิทธิพลต่อการแสดงออกของมาร์กเกอร์ชนิดนี้

จากจุดเด่นของเครื่องหมายโมเลกุลนี้ จึงถูกนำมาใช้ประโยชน์มากมายทางการศึกษาจีโนม และในวงการเกษตร ได้แก่ การจำแนกสิ่งมีชีวิตและการศึกษาความหลากหลายของสิ่งมีชีวิต การสร้าง Prob เพื่อใช้ตรวจสอบโรค หรือตรวจหาสิ่งที่ต้องการการสร้างแผนที่โครโมโซม การหาตำแหน่งยีนที่ต้องการบนโครโมโซม และการแยกสกัดยีนโดยอาศัยแผนที่ และการใช้มาร์กเกอร์ เพื่อช่วยคัดเลือกลักษณะที่สำคัญและคัดเลือกยาก (สมวงษ์, 2543)

ข้อมูลของลายพิมพ์ดีเอ็นเอยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์พืชได้ โดยอาศัยความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ทำให้สามารถติดตามลักษณะนั้นๆ ไปยังรุ่นต่อไปได้ เรียกได้ว่าเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สามารถคัดเลือกพันธุ์พืชได้ในระยะแรกของการเจริญเติบโต ในกรณีที่เมล็ดพันธุ์มีจำนวนจำกัดยังสามารถช่วยย่นระยะเวลา และค่าใช้จ่ายด้านการดูแลพืชอีกด้วย (จุลภาค, 2543) นอกจากนี้พืชแต่ละชนิดยังให้แบบแผนของดีเอ็นเอ หรือลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เฉพาะเจาะจง จึงถือว่าลายพิมพ์ดีเอ็นเอเป็นเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมที่สามารถตรวจสอบได้ในพืชแต่ละชนิด (สมวงษ์, 2543)

เครื่องหมายโมเลกุลใช้ในการหาตำแหน่งของยีนที่สนใจ

เครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker หรือ DNA marker) หมายถึงชิ้นส่วนของ ดีเอ็นเอในจีโนมที่แสดงพอลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) และสามารถบอกความแตกต่างกันได้จาก เทคนิคทางเครื่องหมายโมเลกุลส่วนที่ไม่มียีน (noncoding DNA) เครื่องหมายโมเลกุลที่ดีควรมี พอลิมอร์ฟิซึมสูง ถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมแบบง่าย ๆ และถูกตรวจสอบติดตามได้ง่าย เครื่องหมายโมเลกุลที่รู้จักกันดี ได้แก่

1. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) ลักษณะของเครื่องหมาย โมเลกุลชนิดนี้สามารถบ่งบอกความแตกต่างทางพันธุกรรมได้ เนื่องจากการเพิ่มหรือลดจำนวน นิวคลีโอไทด์ระหว่างจุดตัดจำเพาะ และตรวจขึ้น RFLP ได้ โดยใช้เทคนิคเซาต์เทิร์นบลอต ใช้ตรวจ ลิงเกอร์ระหว่าง RFLP กับยีนที่สนใจ

2. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) เป็นการสุ่มชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ ภายในจีโนมออกมา ซึ่งมีขนาดสั้นและมีจำนวนชุดของเบสซ้ำและกลับทิศกัน ซึ่งเทคนิคนี้มีหลัก ที่สำคัญ คือ ใช้ PCR ไพร์เมอร์ที่มีขนาดสั้น 10 นิวคลีโอไทด์ และใช้เพียงไพร์เมอร์ เพื่อเพิ่มปริมาณ ดีเอ็นเอเป้าหมายได้ นำไปตรวจหาความเป็นเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิตได้ และตรวจหาลิงเกอร์ระหว่าง ยีนที่สนใจได้

3. Sequence Tagged Site (STS) เครื่องหมายโมเลกุลชนิดนี้ได้มาจากการแยก ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอออกจากจีโนมและเพิ่มปริมาณโดยเทคนิค PCR ที่มีไพร์เมอร์ที่จำเพาะที่ปลาย ท่อน STS เครื่องหมายโมเลกุลชนิดนี้มีชิ้นดีเอ็นเอขนาดสั้น นิยมใช้เครื่องหมายโมเลกุลนี้ใน การศึกษาแผนที่ทางกายภาพของดีเอ็นเอ และทำแผนที่ทางพันธุศาสตร์

4. Shot Tandem Repeat (STR) หรือ Microsatellite เครื่องหมายโมเลกุลนี้เกิดจาก ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสซ้ำกัน สามารถเพิ่มปริมาณ STR โดยใช้เทคนิค PCR จากนั้นใช้ เทคนิคแยกขนาดโมเลกุลของดีเอ็นเอ จึงนำไปใช้ในการหาเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิตได้

นอกจากนี้เครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวแล้ว ยังมีเครื่องหมายโมเลกุลอีกลักษณะ หนึ่งที่กำหนดยีน สามารถบอกความแตกต่างได้จากการมองเห็นหรือตรวจทางเคมี เรียกว่า

เครื่องหมายพันธุกรรม (genetic หรือ morphological marker) ดังนั้นผลผลิตของยีนทำให้เกิดเป็นลักษณะที่ปรากฏนั่นเอง (อรรคณ, 2548)

ความเชื่อมโยงของเครื่องหมายโมเลกุลกับน้ำหนักเมล็ดแห้ง 100 เมล็ด

Hoek. et. al. (2003) ได้ทำการวิจัยขนาดเมล็ดในถั่วเหลืองฝักสด เพื่อจำแนกเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ ที่เชื่อมโยงกับลักษณะขนาดเมล็ด ซึ่งเป็นลักษณะทางปริมาณ (QTL) และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการคัดเลือกแบบดั้งเดิม และการใช้มาร์กเกอร์ช่วยคัดเลือก (marker – assisted selection) ในประชากรรุ่น F_2 เมล็ดขนาดเล็กสามสายพันธุ์ถูกผสมข้ามสายพันธุ์กับเมล็ดพันธุ์ขนาดปกติ เพื่อที่จะสร้างประชากรที่ใช้ทำแผนที่โครโมโซม 3 ประชากร และได้สำรวจความแตกต่างทางพันธุกรรมของพันธุ์พ่อแม่โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ จำนวน 178 เครื่องหมาย เพื่อที่จะจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมของพันธุ์พ่อแม่ โดยที่ประชากรที่ 1 มีความแตกต่างทางพันธุกรรมของพันธุ์พ่อแม่ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ จำนวน 75 เครื่องหมาย ส่วนประชากรที่ 2 มีความแตกต่างทางพันธุกรรมของพันธุ์พ่อแม่ มี 70 เครื่องหมาย และประชากรที่ 3 มี 82 เครื่องหมาย แต่ละประชากรเป็น F_2 จำนวน 100 เมล็ด ที่ปลูกในเมืองอิชาเบลตา ประเทศเปอร์โตริโก และพวก F_2 – derived lines นั้นถูกปลูกซ้ำสองครั้งใน 3 สภาพแวดล้อม การวิเคราะห์ Single factor ของความแปรปรวน และ Multiple regression ใช้ในการบ่งชี้ Significant marker – SSQTL association โดยที่ประชากรที่ 1 มี 12 เครื่องหมาย ที่สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะ (R^2) ร้อยละ 4.1 ถึง 14.9 ประชากรที่ 2 มี 16 เครื่องหมาย อยู่ในช่วงร้อยละ 7.8 ถึง 36.5 และประชากรที่ 3 มี 22 เครื่องหมาย อยู่ในช่วงร้อยละ 8.6 ถึง 28.8 มีเครื่องหมาย 3 ตำแหน่งที่เป็น QTL หลัก และยังสอดคล้องกับงานวิจัยที่มีผู้รายงานมาก่อนหน้านี้

Pooprompan (2006) ได้ทำการศึกษาการจำแนกเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ที่เชื่อมโยงกับน้ำหนักเมล็ดแห้ง 100 เมล็ด ซึ่งเป็นลักษณะเชิงปริมาณ (QTL) โดยใช้ประชากรสายพันธุ์แท้ (RILs) ที่ได้มาจาก AGS292 x K3 จำนวน 190 สายพันธุ์ ทำการทดลอง 2 ฤดู ได้แก่ ฤดูฝนปี 2547 และฤดูแล้งปี 2548 พบว่า น้ำหนักเมล็ดแห้ง 100 เมล็ด มีความเชื่อมโยงกับ

กลุ่มลิงเกจ 7 กลุ่ม ได้แก่ B1 D1a+W D2 E F J และ L ซึ่งมีเครื่องหมายโมเลกุล Satt166 อยู่บนกลุ่มลิงเกจ L อธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 22.4

กมลรัตน์ (2552) ได้ทำการศึกษาการจำแนกเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ที่เชื่อมโยงกับน้ำหนักเมล็ดแห้ง 100 เมล็ด ซึ่งเป็นลักษณะเชิงปริมาณ (QTL) ใช้ประชากรสายพันธุ์แท้ (RILs) ที่ได้มาจาก AGS292 x K3 จำนวน 92 สายพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ RCBD จำนวน 2 ซ้ำ และทำการปลูกทดสอบจำนวน 2 ฤดู คือ ฤดูฝนปี 2550 และฤดูแล้งปี 2551 ใช้เครื่องหมายโมเลกุลจำนวน 97 เครื่องหมาย พบว่า การวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียวของเครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับน้ำหนักเมล็ดแห้ง 100 เมล็ด พบว่า มีความเชื่อมโยงกับกลุ่มลิงเกจ 15 กลุ่ม ได้แก่ A2 B1 B2 C1 C2 D1b+W D2 E F I J L M N และ O เมื่อวิเคราะห์ผลการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความเชื่อมโยงกับลักษณะในสองฤดู พบ 10 ตำแหน่งที่เชื่อมโยงกับลักษณะ ได้แก่ Satt197 Sat_064 Satt565 Sat_415 Satt403 Satt510 Satt367 Satt431 Satt166 และ Satt132 ซึ่งสามารถอธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 11.1, 3.0, 7.6, 3.3, 5.1, 4.7, 3.0, 3.7 และ 8.1 ตามลำดับ ค่าผลรวมของความแปรปรวนทั้งหมดมีค่าร้อยละ 64.2

พิจิตรา (2551) ได้ทำการศึกษาการจำแนกเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ที่เชื่อมโยงกับน้ำหนักเมล็ดแห้ง 100 เมล็ด ซึ่งเป็นลักษณะเชิงปริมาณ (QTL) ทำการทดสอบในประชากรสายพันธุ์แท้ (RILs) ที่ได้มาจาก AGS292 x NS1 จำนวน 136 สายพันธุ์ ร่วมกับสายพันธุ์พ่อแม่ใน ทำการปลูกทดสอบจำนวน 2 ฤดู คือ ฤดูฝนปี 2550 และฤดูแล้งปี 2551 วางแผนการทดลองแบบ RCBD จำนวน 2 ซ้ำ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลจำนวน 72 เครื่องหมาย การวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียวของเครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับน้ำหนักเมล็ดแห้ง 100 เมล็ด พบว่า มีความเชื่อมโยงกับกลุ่มลิงเกจ 7 กลุ่ม ได้แก่ E F H I J M และ O เมื่อวิเคราะห์ผลการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมาย โมเลกุลที่แสดงความเชื่อมโยงกับลักษณะในสองฤดู พบ 5 ตำแหน่งที่เชื่อมโยงกับลักษณะ ได้แก่ Satt699 Satt425 Satt239 Satt431 และ Satt262 ซึ่งสามารถอธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 5.9, 8.3, 5.2, 5.1 และ 2.8 ตามลำดับ

ศุภระกาญจน์ (2554) ได้จำแนกเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ที่เชื่อมโยงกับน้ำหนักเมล็ดแห้ง 100 เมล็ด ซึ่งเป็นลักษณะเชิงปริมาณ (QTL) ใช้ประชากรสายพันธุ์แท้ (RILs) ที่ได้มาจาก AGS292 x K3 จำนวน 92 สายพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ RCBD จำนวน 2 ซ้ำ

และทำการปลูกทดสอบจำนวน 2 ฤดู คือ ฤดูฝนปี 2551 และฤดูแล้งปี 2552 ใช้เครื่องหมายโมเลกุลจำนวน 101 เครื่องหมาย พบว่า การวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียวของเครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับน้ำหนักเมล็ดแห้ง 100 เมล็ด พบว่า มีความเชื่อมโยงกับกลุ่มลิงเกจ 16 กลุ่ม ได้แก่ A2 C1 C2 D1a+Q D1a+W D2 E F H I J K L M N และ O เมื่อวิเคราะห์ผลการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความเชื่อมโยงกับลักษณะในสองฤดู พบ 10 ตำแหน่ง ได้แก่ Satt197 Satt432 Sat_415 Satt506 Satt372 Satt458 Satt568 Satt239 Satt431 และ Satt166 ที่เชื่อมโยงกับลักษณะ และเครื่องหมายโมเลกุล Satt166 บนกลุ่มลิงเกจ L อยู่ใกล้กับกลุ่มยีนหลัก (major QTL) และเป็นเครื่องหมายที่มีอิทธิพลมากที่สุดต่อการแสดงออกของลักษณะดังกล่าว โดยสามารถอธิบายความแปรปรวน (R^2) ร้อยละ 20.3

Fasoula et al. (2004) ได้ทำการศึกษาเพื่อยืนยันระบุ QTL ของเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ที่มีความเชื่อมโยงกับน้ำหนักของเมล็ด โดยมี 2 ประชากร คือ PI97100 x 'Coker 237' และ Young x PI416937 จำนวน 176 สายพันธุ์ จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบปัจจัยเดียว พบว่า น้ำหนักเมล็ดแห้ง 100 เมล็ด มีความเชื่อมโยงกับเครื่องหมายโมเลกุลที่ตำแหน่ง Satt303 และ Satt263 บนกลุ่มลิงเกจ G และ E ซึ่งสามารถอธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 8.0 และ 18.0 ตามลำดับ

ความเชื่อมโยงของเครื่องหมายโมเลกุลกับวันออกดอกแรก

Pooprompan (2006) ได้จำแนกเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ที่เชื่อมโยงกับน้ำหนักเมล็ดแห้ง 100 เมล็ด ซึ่งเป็นลักษณะเชิงปริมาณ (QTL) โดยใช้ประชากรสายพันธุ์แท้ (RILs) ที่ได้มาจาก AGS292 x K3 จำนวน 190 สายพันธุ์ ทำการทดลอง 2 ฤดู ได้แก่ ฤดูฝนปี 2547 และฤดูแล้งปี 2548 พบกลุ่มลิงเกจและยีนที่เกี่ยวข้องกับการออกดอกได้แก่ เครื่องหมายโมเลกุล Satt187 บนกลุ่มลิงเกจ A2 Satt568 บนกลุ่มลิงเกจ H Sat_105 บนกลุ่มลิงเกจ I และ Satt431 บนกลุ่มลิงเกจ J

พิจิตรา (2551) ได้จำแนกเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ที่เชื่อมโยงกับวันออกดอก ซึ่งเป็นลักษณะเชิงปริมาณ (QTL) ในประชากรสายพันธุ์แท้ (RILs) ที่ได้มาจาก AGS292

x NS1 จำนวน 136 สายพันธุ์ ร่วมกับสายพันธุ์พ่อแม่ใน ทำการปลูกทดสอบจำนวน 2 ฤดู คือ ฤดูฝนปี 2550 และฤดูแล้งปี 2551 วางแผนการทดลองแบบ RCBD จำนวน 2 ซ้ำ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลจำนวน 72 เครื่องหมาย จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียวของเครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับวันออกดอก พบว่า มีความเชื่อมโยงกับกลุ่มลิงเกจ 7 กลุ่ม ได้แก่ D1b+W C2 E I L M และ N เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมาย โมเลกุลที่แสดงความเชื่อมโยงกับลักษณะในสองฤดู พบ 2 ตำแหน่ง ได้แก่ Sat_381 และ Satt229 ที่เชื่อมโยงกับลักษณะซึ่งสามารถอธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 4.4 และ 10.0 ตามลำดับ

ศุกระกาญจน์ (2554) ได้ทำการศึกษาการจำแนกเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ที่เชื่อมโยงกับวันออกดอกแรก ซึ่งเป็นลักษณะเชิงปริมาณ (QTL) ในประชากรสายพันธุ์แท้ (RILs) ที่ได้มาจาก AGS292 x K3 จำนวน 92 สายพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ RCBD จำนวน 2 ซ้ำ และทำการปลูกทดสอบจำนวน 2 ฤดู คือ ฤดูฝนปี 2551 และฤดูแล้งปี 2552 ใช้เครื่องหมายโมเลกุลจำนวน 101 เครื่องหมาย จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปัจจัยเดียวของเครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับอายุวันออกดอกแรก พบว่า มีความเชื่อมโยงกับกลุ่มลิงเกจ 10 กลุ่ม ได้แก่ A2 D1a+Q D1a+W D2 E H I J L และ O เมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความเชื่อมโยงกับลักษณะในสองฤดู พบ 6 ตำแหน่ง ได้แก่ Satt187 Sat_415 Satt568 Satt431 และ Satt166 ที่เชื่อมโยงกับลักษณะและเครื่องหมายโมเลกุล Satt431 บนกลุ่มลิงเกจ J อยู่ใกล้กับกลุ่มยีนหลัก (major QTL) และเป็นเครื่องหมายที่มีอิทธิพลมากที่สุดต่อการแสดงออกของลักษณะดังกล่าว โดยสามารถอธิบายความแปรปรวน (R^2) ร้อยละ 20.8

Tasma et al. (2001) ได้จำแนกเครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอฟแอลพีและเอสเอสอาร์ที่เชื่อมโยงกับวันออกดอก ทำการทดสอบในประชากรลูกผสมเดี่ยว ที่ได้มาจาก IX132 (PI317.336 x 'Corsoy') จำนวน 101 สายพันธุ์ และ IX136 (PI317.334B x 'Corsoy') จำนวน 100 สายพันธุ์ ทำการทดสอบ 2 ฤดู ฤดูที่ 1 ปี 2534 และฤดูที่ 2 ปี 2535 โดยที่ประชากรของ IX132 (PI317.336 x 'Corsoy') ใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอฟแอลพีจำนวน 88 เครื่องหมายและแบบเอสเอสอาร์ 51 เครื่องหมาย รวมทั้งหมดเป็น 139 เครื่องหมาย และประชากรของ IX136 (PI317.334B x 'Corsoy') ใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอฟแอลพีจำนวน 73 เครื่องหมายและแบบเอสเอสอาร์ 52

เครื่องหมาย รวมทั้งหมดเป็น 125 เครื่องหมาย พบว่าทั้ง 2 ฤดู มีความเชื่อมโยงสอดคล้องกับ
เครื่องหมายโมเลกุลที่ตำแหน่ง Satt205 บนลิงเกจ C2