

## บทคัดย่อ

การศึกษาและประยุกต์ใช้ระบบการเป็นหมันจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ (TGMS) เป็นระบบที่มีศักยภาพในพัฒนาการผลิตลูกผสม โดยระบบ TGMS เป็นวิธีการที่ง่าย ประหยัดค่าใช้จ่าย และสามารถใส่สายพันธุ์พ่อที่หลากหลายในการผลิตลูกผสม โดยในสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติประเทศฟิลิปปินส์ (IRRI) มีการศึกษาและพัฒนาข้าวลูกผสมโดยใช้ข้าวสายพันธุ์ที่มียีน *tgms* จากข้าว ID24 ซึ่งในการศึกษานี้ ได้ทำการศึกษาเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดของข้าวที่มียีน *tgms* จากข้าว ID24 ที่มีพันธุกรรมต่างกัน 5 สายพันธุ์ พบว่า ข้าวทั้งหมดสามารถติดเมล็ดได้เมื่อได้รับอุณหภูมิ 24 และ 26 °C แต่ข้าวที่ศึกษาทั้งห้าสายพันธุ์จะเป็นหมันอย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 28 และ 32 °C เนื่องจากมีรายงานที่ระบุว่ายีน *tms2* และยีน *tgms* จากข้าว ID24 เป็นยีนในตำแหน่งเดียวกัน ดังนั้นเพื่อสร้างเครื่องหมายโมเลกุลที่ใกล้ชิดกับยีน *tgms* จากข้าว ID24 จึงทำการทดสอบความเป็น allelism ของยีนทั้งสอง โดยศึกษาการกระจายตัวของประชากร  $F_2$  ที่เกิดจากคู่ผสมของข้าวสายพันธุ์ TGMS ที่มียีน *tgms* จากข้าว ID24 และข้าวที่มียีน *tms2* จากการศึกษาพบว่า อัตราส่วนของต้นที่ติดเมล็ดและต้นที่เป็นหมันตรงกับอัตราส่วน 9:7 และเมื่อทำการวิเคราะห์จีโนไทป์ของต้น  $F_2$  ที่เป็นหมันด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่ใกล้ชิดกับยีน *tms2* จึงยืนยันได้ว่ายีน *tms2* กับยีน *tgms* จากข้าว ID24 เป็นยีนที่อยู่ต่างตำแหน่งกัน และในการศึกษาเพื่อระบุตำแหน่งของยีน *tgms* จากข้าว ID24 ได้ทำการพัฒนาและทดสอบเครื่องหมายกำกับยีน (gene-based markers) และเครื่องหมาย SSR จำนวน 49 และ 129 คู่ไพรเมอร์เพื่อคัดเลือกเครื่องหมายที่ให้ความแตกต่างระหว่างข้าวสายพันธุ์ TGMS line B4 และปทุมธานี 1 (สายพันธุ์พ่อและแม่ของประชากร  $F_2$ ) จากการวิเคราะห์ bulked segregant analysis และยืนยันผลด้วยการวิเคราะห์ลิงค์เกจ พบว่า เครื่องหมาย RM154 ลิงค์กับยีน 24.6 เซนติเมอร์แกน และเมื่อทำการวิเคราะห์ SSR และเครื่องหมายกำกับยีนอื่นเพิ่มเติม พบว่า เครื่องหมาย RM279 และเครื่องหมายกำกับยีน *Os02g12300* และ *Os02g12370* ที่ตำแหน่ง 2.88 6.40 และ 6.44 เมกะเบสบนโครโมโซมที่ 2 ลิงค์กับยีน *tgms* จากข้าว ID24 ประมาณ 21.8, 1.3 และ 1.3 เซนติเมอร์แกน เครื่องหมายกำกับยีนที่ได้จากการศึกษานี้มีศักยภาพในการใช้เป็นเครื่องมือในการคัดเลือกข้าวที่มียีน *tgms* จากข้าว ID24 เพื่อการพัฒนาสายพันธุ์แม่ที่ใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวลูกผสมได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

## Abstract

The identification and application of Temperature-sensitive Genetic Male-Sterility (TGMS) system provide a great potential for improving hybrid seed production. TGMS system has advantages in much simpler, economic hybrid seed production and boarder choice of male parents for enhancing yield potential. Several TGMS rice lines containing a *tgms* gene derived from ID24 have been used in hybrid breeding program at the International Rice Research Institute (IRRI). In this study, the critical temperatures ranges for sterility/fertility of five TGMS lines containing a *tgms* derived from ID24 were evaluated. The five TGMS lines having different genetic backgrounds were highly fertile at 24 and 26°C, while these lines were completely sterile at 28 and 32°C. Previous studies reported that *tgms* derived from ID24 and *tms2* were allelic. Before identifying closely linked markers to the *tgms*, allelic relationship between the two genes were confirmed by crossing homozygous plants containing *tms2* and *tgms* derived from ID24. The resulting fertile F<sub>1</sub> plant was self pollinated to generate F<sub>2</sub> progenies segregating in accordance with the ratio of 9 fertile: 7sterile. Additionally, genotyping these F<sub>2</sub> plants using gene-specific markers closely linked to *tms2* confirmed that *tgms* derived from ID24 and *tms2* were not allelic. To develop markers closely linked to *tgms* derived from ID24, F<sub>2</sub> population generated from crossing between TGMS line B4 and Phathumthani 1 was used as the mapping population. In order to locate the *tgms* gene, 129 SSR markers, and 49 rice gene-based markers were tested for polymorphisms between the two parents, and between the bulk of DNA from F<sub>2</sub> sterile plants and that from fertile plants. The obtained polymorphic markers were verified for linkage using F<sub>2</sub> mapping population. The linkage analysis revealed that RM154 locating on chromosome 2, was linked to the *tgms* gene derived from ID24 at distances of 24.6 cM. screening polymorphic markers around this chromosome region found that RM279, two gene-based markers, *Os02g12300* and *Os02g12370*, locating on 2.88, 6.40 and 6.44 Mb chromosome 2, respectively, were linked to the *tgms* gene derived from ID24 at distances of 21.8, 1.3 and 1.3 cM, respectively. The closely linked gene-based markers have a potential to use in marker-assisted selection for developing female parents used in rice hybrid seed production.