

การสร้างแผนที่ลักษณะเชิงปริมาณที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตในประชากร  
พริกดับเบิลแฮพลอยด์จากพริกลูกผสมชั่วที่ 1 ‘PEPAC7’ × ‘PEPAC92’  
QTL Mapping of Yield Related Components in Double Haploid (DH)  
Pepper Population Derived from F<sub>1</sub> of ‘PEPAC7’× ‘PEPAC92’ Cultivars

ณัฐรดา แซ่โก<sup>1,2</sup> อัญชลี รวีโรจน์วิบูลย์<sup>2,3,\*</sup> กมลสิริ เพชรบูรณ์<sup>1,2</sup>  
ภูมิพัฒน์ ทองอยู่<sup>1,2</sup> ณัฏญา ศรีสวัสดิ์<sup>5</sup> และ จุลภาค ชุ้นวงศ์<sup>1,2,4</sup>

Natrada Saeko<sup>1,2</sup>, Anchalee Raweerotwiboon<sup>2,3,\*</sup>, Kamonsiri Petchaboon<sup>1,2</sup>,  
Pumipat Tongyoo<sup>1,2</sup>, Nattaya Srisawad<sup>5</sup> and Julapark Chunwongse<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup> ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

<sup>2</sup> ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี  
สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900

<sup>3</sup> ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

<sup>4</sup> ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

<sup>5</sup> สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล ถนนพุทธมณฑลสาย 4 ศาลายา นครปฐม 73170

<sup>1</sup> Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus,  
Nakhon Pathom 73140 Thailand

<sup>2</sup> Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok 10900 Thailand

<sup>3</sup> Central Laboratory and Greenhouse Complex, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart  
University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140 Thailand

<sup>4</sup> Tropical Vegetable Research Center, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture at Kamphaeng  
Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140 Thailand

<sup>5</sup> Institute of Molecular Biosciences, Mahidol University, Phuttamonthon 4 Road, Salaya, Nakhon Pathom 73170  
Thailand

วันที่รับบทความ: 30 เมษายน 2562

Submitted: 30 April 2019

วันที่แก้ไขบทความเสร็จ: 13 มิถุนายน 2562

Revised: 13 June 2019

วันที่รับตีพิมพ์บทความ: 18 มิถุนายน 2562

Accepted: 18 June 2019

\* Corresponding author: rdianr@ku.th

**ABSTRACT:** Association of genotypes by single nucleotide polymorphism (SNP) markers and phenotype of yield-related traits, i.e. fruit weight (Fw), fruit length (FL), fruit width (Fwi), fruit peduncle length (Fpl), and fruit wall thickness (Fwt) were evaluated in 101 lines double-haploid population together with parental lines (PEPAC7 and PEPAC92) and F<sub>1</sub> hybrid. Genotypic data was analyzed using the genotype-by-sequencing technique DArTSeq (DArT P/L). Nine thousand and twenty-five SNPs were obtained and then filtered by PIC value ( $\geq 0.8$ ) and segregation ratio of 1 : 1 resulting in 2,572 SNP markers to be used in linkage analysis. The genetic map consisted of 12 linkage group using JoinMap version 4.1 was constructed. The single marker analysis and MQM mapping for traits were analyzed in MapQTL version 6 software. QTLs associated with the fruit weight trait were identified as *qFw1.1*, *qFw1.2* and *qFw10.1*, on linkage groups 1 and

10, fruit length as *qFL3.1*, *qFL3.2*, and *qFL3.3* on linkage group 3, fruit width as *qFwi3.1*, *qFwi3.2*, *qFwi3.3*, and *qFwi2.1*, on linkage groups 2 and 3. There are QTLs for fruit pedicel length identified as *qFpl6.1*, *qFpl5.1*, *qFpl9.1* and *qFpl11.1* on linkage groups 5, 6, 9 and 11 and for fruit wall thickness as *qFwt6.1* and *qFwt7.1* on linkage groups 6 and 7.

**Keywords:** Pepper, double haploid (DH), DArTSeq, quantitative trait loci (QTL)

Agricultural Sci. J. (2019) Vol. 50(1): 78–89

ว. วิทย. กษ. (2562) 50(1): 78–89

## บทคัดย่อ

การหาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางจีโนไทป์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด single nucleotide polymorphism (SNP) จากพีโนไทป์ที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตของพริก ได้แก่ ค่าน้ำหนัก ความยาว ความกว้าง ความยาวของขั้ว และความหนาเนื้อของผลพริก ในประชากรดับเบิลแฮพลอยด์จำนวน 101 สายพันธุ์ ร่วมกับสายพันธุ์แม่และพ่อ (PEPAC7 และ PEPAC92) และลูกผสมชั่วที่ 1 นำไปวิเคราะห์ข้อมูลจีโนไทป์โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์จีโนมโดยการหาลำดับเบส DArTSeq (DArT P/L) พบเครื่องหมายโมเลกุล SNP จำนวน 9,025 ตำแหน่ง กรองข้อมูลด้วยค่า polymorphic information content (PIC) ( $\geq 0.8$ ) และอัตราส่วนการกระจายตัวประชากรเป็นแบบ 1 : 1 นำเครื่องหมายโมเลกุล SNP ที่กรองแล้วจำนวน 2,572 ตำแหน่ง มาสร้างแผนที่พันธุกรรมครอบคลุม 12 กลุ่มลิงค์เกจ (linkage group) โดยใช้โปรแกรม JoinMap เวอร์ชัน 4.1 วิเคราะห์ QTL โดยวิธี single marker analysis และ MQM mapping ใน MapQTL เวอร์ชัน 6 พบว่า QTLs ที่สัมพันธ์กับลักษณะน้ำหนัก ได้แก่ *qFw1.1*, *qFw1.2* และ *qFw10.1* บนกลุ่มลิงค์เกจ 1 และ 10 ความยาวของผล ได้แก่ *qFL3.1*, *qFL3.2* และ *qFL3.3* บนกลุ่มลิงค์เกจ 3 ลักษณะความกว้างผล *qFwi3.1*, *qFwi3.2*, *qFwi3.3* และ *qFwi2.1* บนกลุ่มลิงค์เกจ 2 และ 3 ความยาวของขั้วผล ได้แก่ *qFpl6.1*, *qFpl5.1*, *qFpl9.1* และ *qFpl11.1* บนกลุ่มลิงค์เกจ 5, 6, 9 และ 11 และ

ความหนาเนื้อ ได้แก่ *qFwt6.1* และ *qFwt7.1* บนกลุ่มลิงค์เกจ 6 และ 7

**คำสำคัญ:** พริก, ดับเบิลแฮพลอยด์, DArTSeq, ลักษณะเชิงปริมาณ

## บทนำ

พริก (*Capsicum* spp.) จัดอยู่ในวงศ์ Solanaceae มีแหล่งกำเนิดในเขตร้อนของทวีปอเมริกา พริกเป็นพืชผักที่สำคัญทางเศรษฐกิจระดับโลก เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง เป็นแหล่งให้วิตามินซีและเอ พลังงาน แคลเซียม เหล็ก แคโรทีน และวิตามินอื่น ๆ ประโยชน์ของพริกมีทั้งการนำมาเพื่อการบริโภคและในภาคอุตสาหกรรมต่าง ๆ ประเทศไทยมีพื้นที่การปลูกพริกกว่า 8,443.5 ไร่ และมีผลผลิต 18,557 ตัน Food and Agriculture Organization [FAO] (2017) รายงานว่าผลผลิตส่วนใหญ่ใช้เพื่อการบริโภคภายในประเทศ เช่น พริกสด พริกแห้ง พริกป่น ซอสพริก พริกแกง และน้ำจิ้มไก่ เป็นต้น ซึ่งสินค้าเหล่านี้กลายเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญของประเทศ นอกจากนี้ยังสามารถนำพริกมาปลูกเป็นไม้ประดับได้อีกด้วย (Siripanuwat, 2013) สำหรับชนิดของพันธุ์พริกที่นิยมปลูก คือ พริก *C. annuum* L., *C. frutescens* L. และ *C. chinense* Jacq. (Pickersgill, 1988) ซึ่งประเทศไทยนิยมปลูกพริก *C. annuum* เพื่อทางการค้า (Nikorapun, 1998)

ปัญหาหลักที่ทำให้ผลผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการทั้งการบริโภค และอุตสาหกรรม เนื่องจากการเข้าทำลายของโรคและแมลงอย่างเช่น โรคไวรัสใบด่างแดงจากเชื้อ *Cucumber mosaic virus* (CMV) หรือโรคราแอนแทรกโนส นอกจากนี้ยังมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตโดยตรง ซึ่งถ้าสามารถหา QTLs ที่ควบคุมลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตได้ จะสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตของพริกให้เพียงพอต่อความต้องการที่เพิ่มขึ้นได้ สำหรับลักษณะผลผลิตส่วนใหญ่ ถูกควบคุมด้วยยีนหลายคู่ (polygene) ซึ่งเป็นลักษณะเชิงปริมาณ (Grube *et al.*, 2000; Suzuki *et al.*, 2003) สามารถหาตำแหน่งของยีนที่ควบคุมด้วยวิธีการ quantitative trait loci (QTL) (Hansen *et al.*, 2005) ซึ่งต้องมีการพัฒนาประชากรเพื่อกำหนดตำแหน่งของยีนเหล่านั้น ซึ่งประชากรดับเบิลแฮพลอยด์เป็นประชากรที่มีรายงานความสำเร็จในการศึกษา QTL ในพืชหลายชนิด เช่น พริก (Lefebvre *et al.*, 1995) และ ข้าวบาร์เลย์ (Heun, 1992; Barua *et al.*, 1993; Backes *et al.*, 1995) เป็นต้น Lefebvre *et al.* (1995) รายงานว่า พบ QTLs ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะของผลผลิตในพริก เช่น น้ำหนักผล ความกว้างผล ความยาวผล และรูปร่างผล เป็นต้น อยู่บนโครโมโซม 2, 3 และ 4

เทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล SNP จาก DArTSeq (DArT P/L) พัฒนาโดยสถาบัน CAMBIA โดย Dr. Andrzej Killian บริษัท DArT (Diversity Arrays Technology P/L) ในสังกัดมหาวิทยาลัย Canberra ประเทศออสเตรเลีย ที่ใช้เอ็นไซม์ตัดจำเพาะ เลือกเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของจีโนม และหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (SNP) ที่มีความละเอียดสูง และครอบคลุมทั้งจีโนม ทำให้สามารถสร้างแผนที่พันธุกรรมที่มีความละเอียดสูง และเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจจับ QTL (Thudi *et al.*, 2011) การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาตำแหน่งของยีนที่ควบคุมลักษณะของผลผลิตประกอบด้วย น้ำหนักผล ความยาวผล ความกว้างผล ความยาวของขั้วผล และความหนาเนื้อของผลบนแผนที่พันธุกรรมของประชากรพริกดับเบิล

แฮพลอยด์ที่ได้มาจากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูพริก ลูกผสมชั่วที่ 1 ของพริกระหว่าง PEPAC7 กับ PEPAC92

## อุปกรณ์และวิธีการ

### การศึกษาลักษณะผลผลิตในประชากรพริกดับเบิลแฮพลอยด์

พริกที่ใช้เพื่อการศึกษาทดลอง ประกอบด้วยประชากรพริกดับเบิลแฮพลอยด์ซึ่งเป็นพริกสายพันธุ์แท้เกิดจากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูพริกลูกผสมชั่วที่ 1 ของพริกระหว่าง PEPAC7 (หรือ CA500) กับ PEPAC92 (หรือ CA2106) จำนวน 121 สายพันธุ์ (Raweerotwiboon and Chunwongse, 2013) ซึ่งพริกสายพันธุ์ PEPAC7 และ PEPAC92 ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน และพริกลูกผสมชั่วที่ 1 (PEPAC7 × PEPAC92) โดยวางแผนการทดลองแบบ Augmented Randomized Complete Block Design แบ่งเป็น 5 บล็อก (Block) ภายในแต่ละบล็อกมีพริกพันธุ์ควบคุมจำนวน 4 สายพันธุ์ คือ พริกมันดำ สายพันธุ์ CA365 พริกสายพันธุ์ PEPAC92 และพริกหนุ่มเขียวจอมทอง 2 สายพันธุ์ จากบริษัท อีสต์เวสต์ ซีด นำพริกออกปลูกในแปลงทดลอง แต่ละแปลงย่อยมีขนาดเท่ากับ 1.2 × 6 ตารางเมตร และระยะห่างระหว่างต้นเท่ากับ 0.50 เมตร แต่ละแปลงย่อยปลูกพริกสายพันธุ์ละ 12 ต้น และบันทึกข้อมูล 10 ต้น ยกเว้นต้นหัว - ท้ายแปลง สำหรับ 5 ลักษณะผลผลิต ที่ทำการบันทึกประกอบด้วย น้ำหนักผล (กรัม) ความยาวผล (เซนติเมตร) ความกว้างผล (มิลลิเมตร) ความยาวของขั้วผล (เซนติเมตร) และความหนาเนื้อของผล (มิลลิเมตร) โดยดำเนินการวิจัย ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม ระหว่างเดือนกันยายน พ.ศ. 2558 จนถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2559 แล้วนำ

ข้อมูลมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม R version 3.3.2 (R Core Team, 2013)

### การศึกษาข้อมูลจีโนไทป์

สุ่มเก็บใบอ่อนของประชากรพริกดับเบิลแฮพลอยด์ จำนวน 101 สายพันธุ์จากทั้งหมด 121 สายพันธุ์ สายพันธุ์แม่ ‘PEPAC7’ สายพันธุ์พ่อ ‘PEPAC92’ และลูกผสมชั่วที่ 1 (F<sub>1</sub>) นำมาสกัดดีเอ็นเอ โดยทำการตัดแปลงวิธีการสกัดดีเอ็นเอของ Fulton *et al.* (1995) จากนั้นนำไปตรวจสอบความเข้มข้น และคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยเครื่องวัดปริมาณความเข้มข้นของสารปริมาณน้อยโดยแรงตึงผิว (Nanodrop spectrophotometer) เพื่อทราบความเข้มข้น และคุณภาพของดีเอ็นเอ แล้วปรับความเข้มข้นของดีเอ็นเอแต่ละตัวอย่างให้เท่ากับ 100 ng/μl แล้วจึงส่งดีเอ็นเอไปวิเคราะห์จีโนไทป์โดยใช้เทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล SNP โดยวิธี DARTSeq (Diversity Arrays Technology Pty Ltd, Australia)

### การหา QTL ที่ควบคุมลักษณะผลผลิตในประชากรพริกดับเบิลแฮพลอยด์

วิเคราะห์ Quantitative trait loci (QTL) ของทั้ง 5 ลักษณะ ประกอบด้วย น้ำหนักผล (fruit weight) ความยาวผล (fruit length) ความกว้างผล (fruit width) ความยาวของขั้วผล (fruit peduncle length) และความหนาเนื้อของผล (fruit wall thickness) จากนั้นทำการกรองข้อมูลเครื่องหมายโมเลกุล SNP ด้วยค่า polymorphic information content (PIC) ที่ 0.8 และทดสอบการกระจายตัวของเครื่องหมายโมเลกุล SNP ในอัตราส่วน 1 : 1 ด้วยวิธีวิเคราะห์โคสแควร์ ที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำเครื่องหมายโมเลกุลมาสร้างแผนที่พันธุกรรมโดยใช้โปรแกรม JoinMap 4.1 (Van Ooijen, 2006) เพื่อวิเคราะห์หากลุ่มลิงค์เกจของแผนที่พันธุกรรม โดยใช้ Kosambi mapping function (Kosambi, 1944) โดยให้หน่วยระยะห่างระหว่าง

เครื่องหมายดีเอ็นเอเป็น cM แล้วจึงวิเคราะห์ QTLs ของทั้ง 5 ลักษณะ ด้วยวิธี MQM mapping ในโปรแกรม MapQTL 6 (Van Ooijen, 2004)

### ผลการทดลองและวิจารณ์

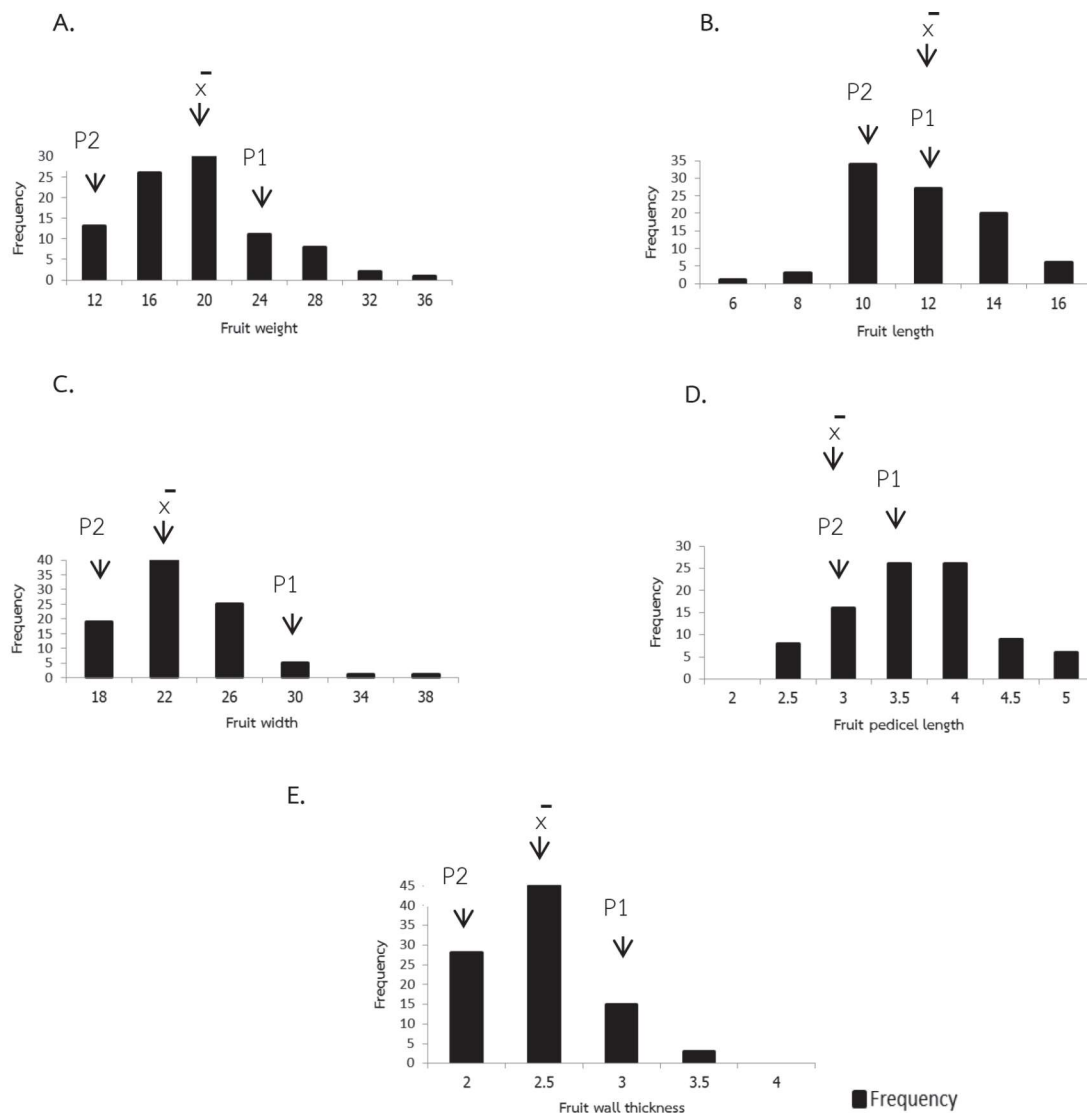
#### ลักษณะทางผลผลิตของประชากรพริกดับเบิลแฮพลอยด์

ประชากรพริกดับเบิลแฮพลอยด์จากพริกลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่าง ‘PEPAC7’ × ‘PEPAC92’ จำนวน 101 สายพันธุ์ มีน้ำหนักผลต่ำสุดเท่ากับ 8.4 กรัม และสูงสุดเท่ากับ 32.2 กรัม และค่าเฉลี่ยเท่ากับ 17.4 กรัม โดยที่ มีน้ำหนักผลของพันธุ์แม่ ‘PEPAC7’ เท่ากับ 22.1 กรัม และของพันธุ์พ่อ ‘PEPAC92’ เท่ากับ 10.3 กรัม (Figure 1A) ประชากรพริกดับเบิลแฮพลอยด์ ความยาวผลต่ำสุดเท่ากับ 5.7 เซนติเมตร และสูงสุดเท่ากับ 15.0 เซนติเมตร และค่าเฉลี่ยเท่ากับ 10.7 เซนติเมตร ในขณะที่มีความยาวผลของพันธุ์แม่ PEPAC7 เท่ากับ 10.4 เซนติเมตร และ พันธุ์พ่อ PEPAC92 เท่ากับ 10.1 เซนติเมตร (Figure 1B) ประชากรพริกดับเบิลแฮพลอยด์ มีความกว้างผลต่ำสุดเท่ากับ 14.4 มิลลิเมตร และสูงสุดเท่ากับ 36.1 มิลลิเมตร และค่าเฉลี่ยเท่ากับ 21.0 มิลลิเมตร มีความกว้างผลของพันธุ์แม่ PEPAC7 เท่ากับ 26.3 มิลลิเมตร และของพันธุ์พ่อ PEPAC92 เท่ากับ 13.3 มิลลิเมตร (Figure 1C) ประชากรพริกดับเบิลแฮพลอยด์มีความยาวของขั้วผลต่ำสุดเท่ากับ 2.3 เซนติเมตร และสูงสุดเท่ากับ 5.0 เซนติเมตร และค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.4 เซนติเมตร ความยาวของขั้วผลของพันธุ์แม่ PEPAC7 เท่ากับ 3.4 เซนติเมตร และของพันธุ์พ่อ PEPAC92 เท่ากับ 3.3 เซนติเมตร (Figure 1D) และประชากรพริกดับเบิลแฮพลอยด์ มีความหนาเนื้อต่ำสุดเท่ากับ 1.6 มิลลิเมตร และสูงสุดเท่ากับ 3.3 มิลลิเมตร และค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.2 มิลลิเมตร มีความหนาเนื้อของพันธุ์แม่ PEPAC7 เท่ากับ 2.5 มิลลิเมตร และของพันธุ์พ่อ PEPAC92 เท่ากับ 1.7 มิลลิเมตร (Figure 1E)

การกระจายตัวของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลักษณะของผลผลิตในประชากรพริกดับเบิลแฮพลอยด์เป็นแบบต่อเนื่อง แสดงให้เห็นว่า ลักษณะเหล่านี้ถูกควบคุมด้วยยีนหลายตำแหน่ง (Kongjaimun *et al.*, 2011) และรายงานของ Dwivedi *et al.* (2015) พบว่า พริกในประชากร RIL ปลูกทดสอบในสภาพแปลงเก็บข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับผลผลิต เช่น น้ำหนักผล และความยาวผล เป็นต้น มีการกระจายตัวทั้งแบบต่อเนื่องและไม่ต่อเนื่อง

### ข้อมูลจีโนมโทป์

ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์จีโนมโทป์โดยใช้เทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล DArTSeq พบเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SNP ทั้งหมด 9,025 ตำแหน่ง และมีเพียง 2,572 ตำแหน่งที่มีการกระจายตัวในอัตราส่วน 1 : 1 และมีค่า PIC สูงกว่า 0.8 เมื่อนำมาสร้างแผนที่พันธุกรรมของประชากรพริกดับเบิลแฮพลอยด์จากพริกลูกผสมชั่วที่ 1 ‘PEPAC7’ × ‘PEPAC92’ ประกอบไปด้วย 12 กลุ่มลิงค์เกจ มีความยาวของแผนที่รวม 1,310.19 cM (LOD  $\geq$  3.0)



**Figure 1** Frequency distribution of 101 of DH plants for A) fruit weight (Fw, g.) B) fruit length (FL, cm.) C) fruit width (Fwi, mm.) D) fruit pedicel length (Fpl, cm.) and E) fruit wall thickness (Fwt, mm.), P1 = PEPAC7, P2 = PEPAC92

## QTL ที่ควบคุมลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตในประชากรพริกดับเบิลแฮพลอยด์

วิเคราะห์ QTL แบบ single marker analysis หรือ non-parametric (Kruskal–Wallis, KW) test พบเครื่องหมายโมเลกุล SNP ทั้งหมด 5 กลุ่มลิงค์เกจที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะน้ำหนักผล ได้แก่ กลุ่มลิงค์เกจ 1, 2, 6, 7 และ 11 มีเครื่องหมายโมเลกุล SNP ทั้งหมด 6 กลุ่มลิงค์เกจที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะความยาวของผล ได้แก่ กลุ่มลิงค์เกจ 1, 2, 3, 8, 9 และ 11 มีเครื่องหมายโมเลกุล SNP ทั้งหมด 8 กลุ่มลิงค์เกจที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะความกว้างผล ได้แก่ กลุ่มลิงค์เกจ 1, 2, 3, 6, 7, 9, 10 และ 11 มีเครื่องหมายโมเลกุล SNP ทั้งหมด 6 กลุ่มลิงค์เกจที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะความยาวของช่อดอก ได้แก่ กลุ่มลิงค์เกจ 2, 4, 5, 6, 11 และ 12 และมีเครื่องหมายโมเลกุล SNP ทั้งหมด 5 กลุ่มลิงค์เกจที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะความหนาเนื้อ ได้แก่ กลุ่มลิงค์เกจ 3, 6, 7, 8 และ 10

การวิเคราะห์ QTL แบบ Interval mapping เป็นการวิเคราะห์โดยแบ่งแผนที่พันธุกรรมเป็นช่วง ๆ จึงทำให้ทราบได้ว่ามี QTL ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะต่าง ๆ อยู่บนช่วงใด จึงทำให้สามารถเลือกเครื่องหมายโมเลกุล SNP ที่ให้ค่า LOD score สูงสุดในแต่ละกลุ่มลิงค์เกจ เพื่อใช้เป็น cofactor ในการวิเคราะห์ QTL แบบ MQM พบว่า ลักษณะน้ำหนักผลถูกควบคุมด้วย QTLs 3 ตำแหน่ง ได้แก่ *qFw1.1*, *qFw1.2* และ *qFw10.1* มีค่า LOD Score 3.7, 3.2 และ 3.1 อยู่ตำแหน่งที่ 165.5 cM, 163.5 cM บนกลุ่มลิงค์เกจ 1 และ 59.5 cM บนกลุ่มลิงค์เกจ 10 สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะน้ำหนักผลในประชากรได้ 11.8%, 10.3% และ 10% ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Dwivedi *et al.* (2015) ศึกษาลักษณะของพริก (*Capsicum annuum* L.) โดยใช้ประชากร RIL พบ QTL ที่เกี่ยวข้องกับน้ำหนักผล คือ *Qtofw.iivr-1.1* บนกลุ่มลิงค์เกจ 1 *Qtofw.iivr-2.1* บนกลุ่มลิงค์เกจ 2 และ *Qtofw.iivr-3.1* บนกลุ่มลิงค์เกจ 3 สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะน้ำหนัก

ผลในประชากรรวมกัน ได้ 5–48% ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม และสอดคล้องกับรายงานของ Moulin *et al.* (2014) ศึกษาในประชากรพริก *Capsicum baccatum* var. *pendulum* พบ 9 QTLs ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะน้ำหนักผลบน 4 ลิงค์เกจรูป โดยมี 1 QTL อยู่บนกลุ่มลิงค์เกจ 2a 1 QTL อยู่บนกลุ่มลิงค์เกจ 3a 1 QTL อยู่บนกลุ่มลิงค์เกจ 12 6 QTL อยู่บนกลุ่มลิงค์เกจ 5b สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะน้ำหนักผลในประชากรรวมกันได้ 14.44%

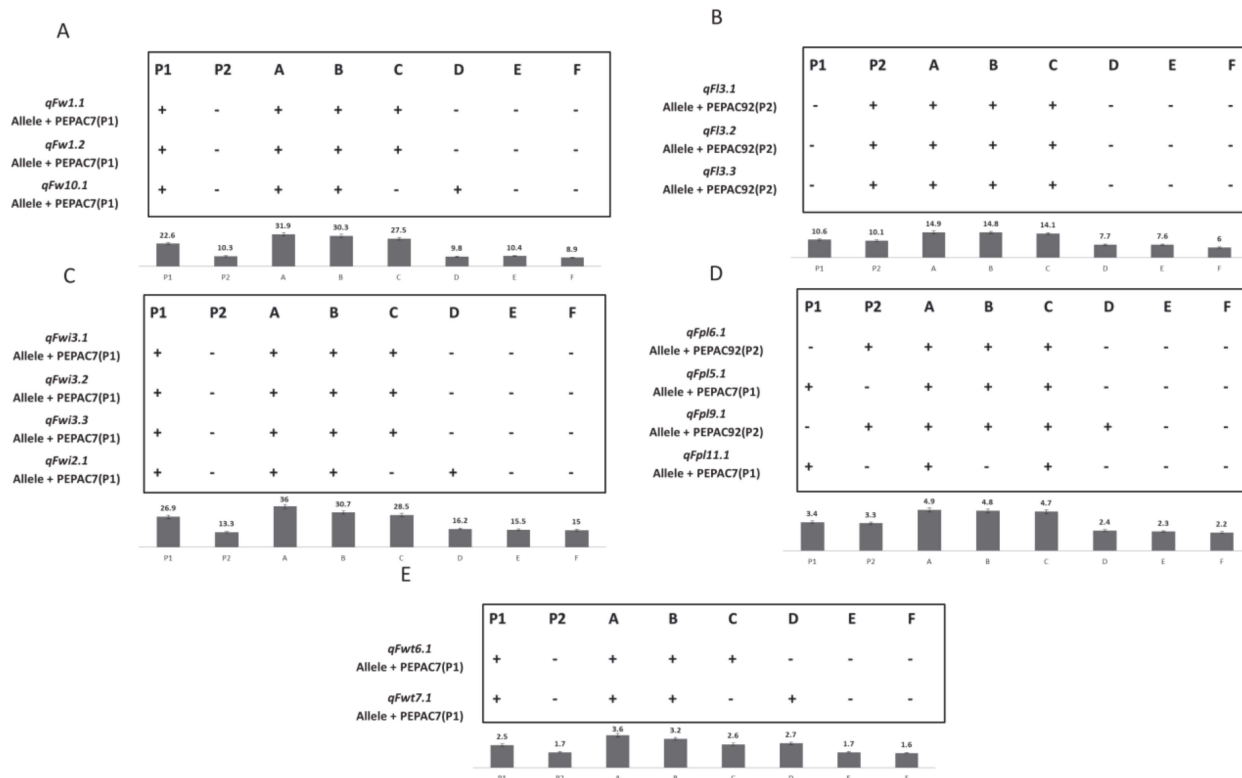
ลักษณะความยาวของผลถูกควบคุมด้วย QTLs 3 ตำแหน่ง ได้แก่ *qFl3.1*, *qFl3.2* และ *qFl3.3* มีค่า LOD Score 4.9, 4.7 และ 4.6 อยู่ตำแหน่งที่ 91.6 cM, 88.6 cM และ 92.1 cM บนกลุ่มลิงค์เกจ 3 สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะความยาวของผลในประชากรได้ 17.4%, 17% และ 16.5% ตามลำดับ และมีความสอดคล้องกับรายงานของ Dwivedi *et al.* (2015) ที่พบ QTL ที่เกี่ยวข้องกับความยาวผล คือ *Qfl.iivr.3.2* และ *Qfl.iivr.3.4* บนกลุ่มลิงค์เกจ 3 และสอดคล้องกับรายงานของ Lee *et al.* (2011) พบ QTL ที่เกี่ยวข้องกับความยาวของผลพริก อยู่บนกลุ่มลิงค์เกจ 3 สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะความยาวของผลในประชากรได้ 27% พบว่า ลักษณะความกว้างผลถูกควบคุมด้วย QTLs 4 ตำแหน่ง ได้แก่ *qFwi3.1*, *qFwi3.2*, *qFwi3.3* และ *qFwi2.1* มีค่า LOD Score 5.5, 5.4, 5.2 และ 3.2 อยู่ตำแหน่งที่ 92.1 cM, 91.6 cM, 93.6 cM บนกลุ่มลิงค์เกจ 3 และ 38.9 cM บนกลุ่มลิงค์เกจ 2 สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะความกว้างผลในประชากรได้ 17%, 16.8%, 16.1% และ 12.1% ตามลำดับ มีความสอดคล้องกับรายงานของ Dwivedi *et al.* (2015) ที่พบ QTL ที่เกี่ยวข้องกับความกว้างผลคือ *Qfw.iivr-2.1* บนกลุ่มลิงค์เกจ 2 และ Han *et al.* (2016) ศึกษาในประชากร RIL ของ *Capsicum annuum* พบ QTLs ที่เกี่ยวข้องกับความกว้างผลคือ *FD-1*, *FD-2*, *FD-3.1*, *FD-3.2* และ *FD-11* อยู่บนโครโมโซม 1, 2, 3 และ 11

ลักษณะความยาวของข้าวผลถูกควบคุมด้วย QTLs 4 ตำแหน่ง ได้แก่ *qFpl6.1*, *qFpl5.1*, *qFpl9.1* และ *qFpl11.1* มีค่า LOD Score 7.45, 3.37, 3.36 และ 3.07 อยู่ตำแหน่งที่ 24.1 cM บนกลุ่มลิงค์เกจ 6, 78.4 cM บนกลุ่มลิงค์เกจ 5, 112.0 cM บนกลุ่มลิงค์เกจ 9 และ 62.0 cM บนกลุ่มลิงค์เกจ 11 สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะความยาวของข้าวผลในประชากรได้ 24.4%, 12.2%, 12.2% และ 11.2% ตามลำดับ มีความสอดคล้องกับรายงานของ Chaim *et al.* (2001) พบ 3 QTL ที่เกี่ยวข้องกับความยาวข้าวผลในพริกคือ *pl4.1*, *pl9.1* และ *pl10.1* ซึ่งอยู่บนกลุ่มลิงค์เกจ 4, 9 และ 10 ตามลำดับ

ลักษณะความหนาเนื้อถูกควบคุมด้วย QTLs 2 ตำแหน่ง ได้แก่ *qFwt6.1* และ *qFwt7.1* มีค่า LOD Score 3.2 และ 3.1 อยู่ตำแหน่งที่ 0 บนกลุ่มลิงค์เกจ 6 และ 111.9 cM บนกลุ่มลิงค์เกจ 7 สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะความหนาเนื้อในประชากรได้ 11.4% และ 11.1% ตามลำดับ พบว่าไม่สอดคล้องกับรายงานของ Dwivedi *et al.* (2015) ที่พบ QTL ที่เกี่ยวข้องกับความหนาเนื้อคือ *Qpt.iivr-2.1* บนกลุ่มลิงค์เกจ 2 อาจเป็นผลมาจากประชากร recombinant inbred lines ที่ Dwivedi *et al.* (2015) ใช้ในการศึกษาเป็นการผสมระหว่างพริกหวาน และพริกชี้หนูผลใหญ่ ซึ่งมีลักษณะความหนาเนื้อที่แตกต่างกันมาก และอาจตรวจพบ QTL หลัก (major QTL) ที่แสดงออกเหมือนเป็นยีนเดี่ยว และบดบัง QTL ที่มีการแสดงออก

ในระดับที่ต่ำกว่า ในขณะที่ในการทดลองนี้ใช้พริกในกลุ่มพริกหยวก และพริกมันดำ ที่มีลักษณะใกล้เคียงกันกว่าจึงทำให้สามารถตรวจจับ QTL รอง (minor QTL) ข้างต้นนี้ได้ (Martinez *et al.*, 1999)

นอกจากนี้ทุก ๆ ลักษณะที่ทำการศึกษานั้น ตรวจพบตำแหน่ง QTL ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะนั้น มากกว่า 1 ตำแหน่ง และพบว่าแต่ละตำแหน่งนั้นมีอิทธิพลร่วมต่อกัน (interaction) (Figure 2) ส่งผลให้ในประชากรมีค่าของลักษณะฟีโนไทป์ต่าง ๆ แตกต่างกัน และบางต้นมีค่ามากกว่าพ่อแม่เป็นผลมาจากลักษณะ transgressive (Figure 1) คือมีความดีเด่นของลักษณะต่าง ๆ เหนือพ่อและแม่ เช่น มีน้ำหนักผลผลิตที่มากกว่าพ่อแม่ เป็นต้น ซึ่งเป็นผลดีต่อการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งลักษณะที่แสดงให้เห็นได้ชัดเจนคือลักษณะข้าวผล (Figure 2D) เกิดจากการรวมกันของ complementary QTL ( Tanksley and McCouch, 1997) จาก QTLs ของทั้งพ่อและแม่ ส่งผลให้ลูกที่มี QTL ที่ส่งผลด้านบวกทั้งหมดมีค่าความยาวของข้าวผลที่มากกว่าพ่อและแม่ การศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในโครงการปรับปรุงพันธุ์พริกในอนาคต เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการปรับปรุงพันธุ์ในการคัดเลือกพืชให้มีลักษณะที่ต้องการ และยังสามารถลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับลักษณะทางปริมาณ เช่น องค์ประกอบของผลผลิต (Billotte *et al.*, 2010) เป็นต้น



**Figure 2** Allelic combinations of the DH individuals with extreme phenotypes and parental lines for A) fruit weight (Fw, g.) B) fruit length (Fl, cm.) C) fruit width (Fwi, mm.) D) fruit pedicel length (Fpl, cm.) and E) fruit wall thickness (Fwt, mm.)



**Table 1** Quantitative trait loci detected with yield related components in DH population by MQM mapping and Kruskal Wallis test

QTL name	Marker	LG <sup>1</sup>	Position (cM) <sup>2</sup>	LOD	Genotype Parental		Mean value		%Expl. <sup>3</sup>	Additive	Kruskal Wallis Test <sup>4</sup>
					Female	Male	Female	Male			
fruit weight											
<i>qFw1.1</i>	c1p23	1	165.5	3.7	A	G	19.23	15.58	11.80	1.82	*****
<i>qFw1.2</i>	c1p166	1	163.5	3.2	T	C	19.18	15.77	10.30	1.70	*****
<i>qFw10.1</i>	c10p1821	10	59.5	3.1	G	T	21.97	12.81	10.00	4.58	*
fruit length											
<i>qFl3.1</i>	c3p410	3	91.6	4.9	A	C	9.88	11.69	17.40	-0.91	*****
<i>qFl3.2</i>	c3p656	3	88.6	4.7	T	C	9.89	11.73	17.00	-0.92	*****
<i>qFl3.3</i>	c3p558	3	92.1	4.6	A	G	9.91	11.67	16.50	-0.88	*****
fruit wall thickness											
<i>qFwt6.1</i>	c6p1017	6	0.0	3.2	C	T	2.37	2.11	11.40	0.13	*****
<i>qFwt7.1</i>	c7p1180	7	111.9	3.1	C	A	2.33	2.08	11.10	0.12	*****
fruit width											
<i>qFwi3.1</i>	c3p558	3	92.1	5.5	A	G	22.35	18.81	17.00	1.77	*****
<i>qFwi3.2</i>	c3p410	3	91.6	5.4	A	C	22.36	18.82	16.80	1.77	*****
<i>qFwi3.3</i>	c3p538	3	93.6	5.2	G	A	22.23	18.87	16.10	1.68	*****
<i>qFwi2.1</i>	c2p335	2	38.9	3.2	A	G	22.31	19.33	12.10	1.49	*****
fruit pedicel length											
<i>qFpl6.1</i>	c6p1090	6	24.1	7.5	C	A	3.02	3.71	24.40	-0.34	*****
<i>qFpl5.1</i>	c5p885	5	78.4	3.4	G	T	3.63	3.09	12.20	0.27	*****
<i>qFpl9.1</i>	c6p1155	9	112.0	3.4	T	G	3.11	3.59	12.20	-0.24	**
<i>qFpl11.1</i>	c11p1939	11	62.0	3.1	T	C	3.69	2.97	11.20	0.36	*****

**Note:** <sup>1</sup>Linkage group, <sup>2</sup>Position on the linkage group, <sup>3</sup>The percentage of the variance explained for by the QTL, <sup>4</sup>The significance level in KW test, \*: P = 0.10, \*\*: P = 0.05, \*\*\*: P = 0.01, \*\*\*\*: P = 0.005 and so on

## สรุป

QTLs ที่สัมพันธ์กับลักษณะน้ำหนักผล 3 ตำแหน่ง ได้แก่ *qFw1.1*, *qFw1.2* และ *qFw10.1* บนกลุ่มลิงค์เกจ 1 และ 10 ความยาวของผล 3 ตำแหน่ง ได้แก่ *qFl3.1*, *qFl3.2* และ *qFl3.3* บนกลุ่มลิงค์เกจ 3 ลักษณะความกว้างผล 4 ตำแหน่ง ได้แก่ *qFwi3.1*, *qFwi3.2*, *qFwi3.3* และ *qFwi2.1* บนกลุ่มลิงค์เกจ 2 และ 3 ความยาวของขั้วผล 4 ตำแหน่ง ได้แก่ *qFpl6.1*, *qFpl5.1*, *qFpl9.1* และ *qFpl11.1* บนกลุ่มลิงค์เกจ 5, 6, 9 และ 11 และความหนาเนื้อ 2 ตำแหน่ง ได้แก่ *qFwt6.1* และ *qFwt7.1* บนกลุ่มลิงค์เกจ 6 และ 7

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษากระทรวงศึกษาธิการ และขอขอบคุณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่สนับสนุนสถานที่ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ชูศักดิ์ จอมพุก ภาควิชาพืชไร่ ภาควิชาพืชสวน กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน สำหรับคำแนะนำในการวิเคราะห์ข้อมูล และนายปรีดา รามศิริ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเตรียมแปลงทดลองเพื่อการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

- Backes, G., A. Graner, B. Foroughi-Wehr, G. Fischbeck, G. Wenzel and A. Johoor. 1995. Localization of quantitative trait loci (QTL) for agronomic important characters by the use of a RFLP map in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor. Appl. Genet.* 90: 294–302.
- Barua, U.M., K.J. Chalmers, W.T.B. Thomas, C.A. Hackett, V. Lea, P. Jack, B.P. Forster, R. Waugh and W. Powell. 1993. Molecular mapping of genes determining height, time to heading, and growth habit in barley (*Hordeum vulgare*). *Genome* 36: 1080–1087.
- Billotte, N., M.F. Jourjon, N. Marseillac, A. Berger, A. Flori, H. Asmady, B. Adon, R. Singh, B. Nouy, F. Potier, S.C. Cheah, W. Rohde, E. Ritter, B. Courtois, A. Charrier and B. Mangin. 2010. QTL detection by multi-parent linkage mapping in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Theor. Appl. Genet.* 120(8): 1673–1687.
- Chaim, B.A., I. Paran, R.C. Grube, M. Jahn, R. van Wijk and J. Peleman. 2001. QTL mapping of fruit-related traits in pepper (*Capsicum annuum*). *Theor. Appl. Genet.* 102: 1016–1028.
- Dwivedi, N., R. Kumar, R. Paliwal, U. Kumar, S. Kumar, M. Singh and R.K. Singh. 2015. QTL mapping for important horticultural traits in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Biochem. Biotechnol.* 24: 154–160.

- Food and Agriculture Organization [FAO]. 2017. The state of food insecurity in the world. Rome: FAO. Available Source: <http://www.Fao.org/4e4eca38-a40e-4ecb-8437-ee8349bcd713>, May 30, 2019.
- Fulton, T.M., J. Chunwongse and S.D. Tanksley. 1995. Microprep protocol for extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants. *Plant Mol. Biol. Rep.* 13(3): 201–209.
- Grube, R.C., Y. Zhang, J.F. Murphy, F. Loaiza-Figueroa, V.K. Lackney, R. Providenti and M. Jahn. 2000. New source of resistance to cucumber mosaic virus in *Capsicum frutescens*. *Plant Dis.* 84: 885–891.
- Han, K., H.J. Jeong, H.B. Yang, S.M. Kang, J.K. Kwon, S. Kim, D. Choi and B.C. Kang. 2016. An ultra-high-density bin map facilitates high-throughput QTL mapping of horticultural traits in pepper (*Capsicum annuum*). *DNA Research* 23: 81–91.
- Hansen, J., L. Nazarenko, R. Ruedy, M. Sato, J. Willis, A. Del Genio, D. Koch, A. Lacis, K. Lo, S. Menon, T. Novakov, J. Perlwitz, G. Russell, G.A. Schmidt and N. Tausnev. 2005. Earth's energy imbalance: confirmation and implications. *Science* 308: 1431–1435.
- Heun, M. 1992. Mapping quantitative powdery mildew resistance of barley using a restriction fragment length polymorphism map. *Genome* 35: 1019–1025.
- Kongjaimun, A., P. Somta, A. Kaga, N. Tomooka, D.A. Vaughan and P. Srinives. 2011. The QTL analysis of hard-seededness in wild cowpea using F<sub>2</sub> population. *Khon Kaen Agr. J. (Supple 3)*: 328–334. (in Thai)
- Kosambi, D.D. 1944. The estimation of map distances from recombination values. *Ann. Eugen.* 12: 172.
- Lee, H.R., K.T. Kim, H.J. Kim, J.H. HAN, J.H. Kim, S.I. Yeom, H.J. Kim, W.H. Kang, J. Shi, S.W. Park, I.H. Bae, S. Lee, J. Cho, D. Oh and B.D. Kim. 2011. QTL analysis of fruit length using rRAMP, WRKY, and AFLP markers in chili pepper. *Hortic. Environ. Biotechnol.* 52: 602–613.
- Lefebvre, V., A. Palloix, C. Caranta and E. Ochard. 1995. Construction of intraspecific integrated linkage map of pepper using molecular markers and doubled-haploid progenies. *Genome* 38: 112–121.
- Martinez, M.L., N. Vukasinovic and G.A.E. Freeman. 1999. Random model approach for QTL mapping in half-sib families. *Genet. Select. Evol.* 31: 319–340.
- Moulin, M.M., R. Rodrigues, C.S. Bento, L.S.A. Gonçalves, J.O. Santos, C.P. Sudré and A.P. Viana. 2014. Genetic dissection of agronomic traits in *Capsicum baccatum* var. *pendulum*. *Genet. Mol. Res.* 14(1): 2122–2132.

- Nikornpun, M. 1998. Chilli. Odeon Store Limited Partnership, Bangkok. 98 pp. (in Thai)
- Pickersgill, B. 1988. The genus Capsicum: a multidisciplinary approach to the taxonomy of cultivated and wild plants. Biol. Zent. Bl. 107: 381–389.
- R Core Team. 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available Source: <http://www.Rproject.org/>.
- Raweerotwiboon, A. and J. Chunwong. 2013. Induction of Pepper Double Haploid Lines. Research Development and Engineering Final Report. National Science and Technology Development Agency, Ministry of Science and Technology. (in Thai)
- Siripanuwat, W. 2013. Familiarize “WeeraPakuthai” Mister pepper of Thailand. Khon Kaen University. Available Source: <https://www.kku.ac.th/news/v.php?q=0004896&l=th>, December 3, 2018. (in Thai)
- Suzuki, K., T. Kuroda and Y. Miura. 2003. Screening and field trials of virus resistant sources in *Capsicum* spp. Plant Dis. 87: 779–783.
- Tanksley, S.D. and S.R. McCouch. 1997. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. Science 277: 1063–1066.
- Thudi, M., A. Bohra, S.N. Nayak, N. Varghese, T.M. Shah and R.V. Penmetsa. 2011. Novel SSR markers from BAC-End sequences, DArT arrays and a comprehensive genetic map with 1,291 marker loci for chickpea (*Cicer arietinum* L.). PLoS ONE 6: e27275.
- Van Ooijen, J.W. 2004. MapQTL<sup>®</sup> 6. Software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations of diploid species. Kyazma B.V., Netherlands.
- Van Ooijen, J.W. 2006. JoinMap 4. Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations. Kyazma B.V., Netherlands.