

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทั่วทั้งจีโนมของลักษณะน้ำหนัก 100 เมล็ดในถั่วเหลืองโดยใช้ เครื่องหมายสลับ และการพัฒนาเครื่องหมายสำหรับการคัดเลือกพันธุ์

Genome-Wide Association Analysis of Hundred-Seed Weight in Soybean Using SNP Markers and The Development of Molecular Markers for Breeding

จิราพร แก่นทรัพย์,^{1*} อ้อยทิณ ผลพานิช,² รัชณี โสภา,² พิทยา วงษ์ช้าง¹ และ ปาริฉัตร สังข์สะอาด¹
Jeeraporn Kansup,^{1} Auytin Polpanit,² Ratchanee Sopha,² Pitthaya Wongchang¹ and Parichart Sangkasa-ad¹*

Received 9 April 2026, Revised 5 July 2026, Accepted 13 July 2026

ABSTRACT

Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) is an important economic crop for food and feed industries. Hundred-seed weight (HSW) is a key trait influencing seed yield and quality. This study aimed to investigate the genome-wide associations of HSW and to develop DNA markers for soybean breeding. A panel of 101 soybean accessions was grown at the Chiang Mai Field Crops Research Center during the 2025 dry season, and HSW was measured. Genotyping was performed using low-pass whole genome sequencing, generating 1,076,102 SNPs for genome-wide association study (GWAS) using four statistical models: MLM, FarmCPU, SUPER, and MLM. Nineteen missense SNPs significantly associated with HSW were identified across multiple chromosomes. Among them, SNPs within *Glyma.03G094400* and *Glyma.07G270000* were consistently detected by multiple models and selected for marker development. The SNP in *Glyma.07G270000* was developed into a tetra-primer ARMS-PCR marker successfully, and the testing showed that it correctly classified genotypes in agreement with genomic data. Evaluation of the marker's performance demonstrated an overall accuracy of 71.95% and a sensitivity of 98.1% to identify large-seeded accessions. These results indicate that the developed SNP marker is useful as a preliminary marker for enrichment of large-seeded genotypes to support breeding of soybean varieties with larger seeds and higher yield in the future.

Keywords: Soybean, Hundred-seed weight, Genome-wide association study, Single nucleotide polymorphism, Tetra-primer ARMS-PCR

^{1*} กองวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร ต.รังสิต อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110

Biotechnology Research and Development Division, Department of Agriculture, Rangsit, Thanya Buri, Pathum Thani 12110, Thailand.

² ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ กรมวิชาการเกษตร ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50290

Chiang Mai Field Crops Research Center, Department of Agriculture, Nong Han, San Sai, Chiang Mai 50290, Thailand.

* Corresponding author: E-mail address: jkansupthdoa@gmail.com

บทคัดย่อ

ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merr.) เป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญที่มีผลต่ออุตสาหกรรมอาหารและอาหารสัตว์ น้ำหนัก 100 เมล็ด (HSW) เป็นลักษณะสำคัญที่สะท้อนผลผลิตและคุณภาพของเมล็ด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทั่วทั้งจีโนมของ HSW และพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับคัดเลือกพันธุ์ เชื้อพันธุ์กรรมถั่วเหลือง 101 พันธุ์ ปลูกในแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ในฤดูแล้งปี 2568 และหาลำดับ HSW การวิเคราะห์จีโนมไทป์ (genotype) ใช้เทคนิค low-pass whole genome sequencing และใช้ SNP จำนวน 1,076,102 ตำแหน่งสำหรับ GWAS ด้วยแบบจำลอง MLM, FarmCPU, SUPER และ MLMM ผลการศึกษาพบ SNP แบบ missense ที่สัมพันธ์กับ HSW จำนวน 19 ตำแหน่งบนหลายโครโมโซม โดย SNP ในยีน *Glyma.03G094400* และ *Glyma.07G270000* พบสอดคล้องกันในหลายแบบจำลอง จึงนำมาพัฒนาเครื่องหมาย tetra-primer ARMS-PCR ผลการทดสอบพบว่า SNP ใน *Glyma.07G270000* สามารถจำแนกจีโนมไทป์ตรงกับข้อมูลวิเคราะห์จีโนม การประเมินประสิทธิภาพเครื่องหมายพบความแม่นยำ 71.95% และ sensitivity สำหรับเมล็ดขนาดใหญ่ 98.1% ผลการวิจัยชี้ว่าเครื่องหมาย SNP นี้มีประโยชน์สำหรับใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลในระยะเริ่มต้น เพื่อคัดเลือกพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีเมล็ดใหญ่และผลผลิตสูงในอนาคต

คำสำคัญ: ถั่วเหลือง น้ำหนัก 100 เมล็ด การศึกษาความสัมพันธ์ทั่วทั้งจีโนม เครื่องหมายสลับ
เตตระไพรเมอร์เออาร์เอ็มเอสพีซีอาร์

บทนำ

ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merr.) เป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญทั้งด้านการเกษตรและอุตสาหกรรมอาหาร โดยเมล็ดมีโปรตีนประมาณ 35-40% และน้ำมัน 18-20% ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมนุษย์ อาหารสัตว์ และน้ำมันพืช (Hartman *et al.*, 2011) ความต้องการถั่วเหลืองทั่วโลกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้การพัฒนาพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพดีเป็นเป้าหมายสำคัญของงานปรับปรุงพันธุ์พืช

ในประเทศไทย แม้ว่าถั่วเหลืองจะมีบทบาทสำคัญ แต่สถานการณ์การผลิตถั่วเหลืองของประเทศไทยมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยในปี 2568/69 ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกเพียง 58,488 ไร่ ลดลงร้อยละ 4.34 จากปีที่ผ่านมา ซึ่งมีพื้นที่เพาะปลูก 61,142 ไร่ มีผลผลิตรวม 15,668 ตัน และผลผลิตเฉลี่ย 268 กิโลกรัมต่อไร่ (สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, 2568) ขณะที่ความต้องการในประเทศเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ต้องนำเข้าถั่วเหลืองถึง 99.33% ของความต้องการทั้งหมด คิดเป็นมูลค่ากว่า 6.6 หมื่นล้านบาท สะท้อนถึงความ

จำเป็นในการพัฒนาพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและเหมาะสมกับสภาพแวดล้อมในประเทศ

น้ำหนัก 100 เมล็ด (hundred-seed weight, HSW) เป็นลักษณะสำคัญที่มีผลต่อผลผลิตรวมและคุณภาพผลิตภัณฑ์ (Zhang *et al.*, 2016) โดยเป็นลักษณะเชิงปริมาณที่ถูกควบคุมโดยยีนหลายยีนและได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม (Wu *et al.*, 2018) แม้ว่าจะมีการศึกษาลักษณะนี้ในต่างประเทศอย่างกว้างขวาง แต่ในประเทศไทยยังขาดข้อมูลเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) ที่เกี่ยวข้องกับน้ำหนักเมล็ดในพันธุ์ท้องถิ่น

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทั่วทั้งจีโนม (genome-wide association study, GWAS) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการตรวจหาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอกับลักษณะทางฟีโนไทป์ (phenotype) และระบุโลคัส (locus) ที่เกี่ยวข้อง โดยมีรายงานว่า HSW ถูกควบคุมโดยหลายตำแหน่งบนโครโมโซม เช่น 4, 6, 7, 10, 14, 19 และ 20 (Zhang *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2026) ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ได้

ดังนั้น การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทั่วทั้งจีโนมของลักษณะน้ำหนัก 100 เมล็ดในถั่วเหลือง โดยใช้เครื่องหมาย SNP และวิธี GWAS ในชุดเชื้อมพันธุ์ถั่วเหลืองของไทย เพื่อระบุตำแหน่งของเครื่องหมายดีเอ็นเอและยีนที่เกี่ยวข้อง ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของถั่วเหลืองในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

งานวิจัยนี้ใช้เชื้อมพันธุ์กรรมถั่วเหลือง (*G. max*) จำนวน 101 พันธุ์ จากโครงการอนุรักษ์เชื้อมพันธุ์กรรมถั่วเหลือง ประกอบด้วย พันธุ์รับรอง เช่น ชุดพันธุ์ กวก. พันธุ์ที่นิยมใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ และพันธุ์ที่มีลักษณะทางการเกษตรโดดเด่นด้านผลผลิตและปริมาณโปรตีน ปลูกในแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ ในฤดูแล้งปี 2568 ปฏิบัติดูแลตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร เมล็ดถั่วเก็บเกี่ยวเมื่อฝักเปลี่ยนสีน้ำตาล ประมาณ 95% ของต้น ทำความสะอาดและชั่งน้ำหนัก 100 เมล็ด (HSW) โดยสุ่มเลือกเมล็ด 100 เมล็ดต่อพันธุ์ ชั่ง 3 ครั้งแล้วใช้ค่าเฉลี่ยในการวิเคราะห์

ดีเอ็นเอสกัดจากใบถั่วเหลืองโดยใช้ชุดสกัด Tiangen kit (China) ตรวจสอบคุณภาพและความเข้มข้นด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ Multiskan GO (Thermo Scientific, Finland) จากนั้นวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค low-pass whole genome sequencing (LPWGS) โดย Novogene Inc. (2024)

ความสัมพันธ์ทั่วทั้งจีโนม (genome-wide association study, GWAS) ระหว่าง SNP และ HSW วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม GAPIT (Genomic Association and Prediction Integrated Tool) โดยควบคุมโครงสร้างประชากรและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างพันธุ์เพื่อหลีกเลี่ยงผลกระทบจากความสัมพันธ์เทียม

ชุดไพรเมอร์ของ SNP สำหรับการตรวจสอบด้วยเทคนิค tetra-primer ARMS-PCR ออกแบบด้วย Primer1 (<http://primer1.soton.ac.uk/primer1.html>) สำหรับ outer primers และ allele-specific inner primers

รายละเอียดแสดงใน Table 1 การทดสอบชุดไพรเมอร์ใช้ GoTaQ® Green Master Mix (Promega, USA) DNA 50 ng และไพรเมอร์ 0.25 μ M แต่ละเส้น ต่อปริมาตร 20 μ L ปรับอุณหภูมิ annealing เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับ SNP VWA ชุดไพรเมอร์ VWA-OF, VWA-OR, VWA-IF และ VWA-IR ถูกทดสอบโดยปรับอุณหภูมิ annealing ที่ 55, 60 และ 65°C จากนั้นตรวจสอบแถบดีเอ็นเอด้วยอิเล็กโตรโฟรีซิสบนเจลอะกาโรส 2.5%

ประสิทธิภาพของเครื่องหมาย SNP ประเมินโดยเปรียบเทียบผลการจำแนกจีโนไทป์กับข้อมูล Low-Pass Whole Genome Sequencing (LP-WGS) และคำนวณความแม่นยำ (accuracy) ความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ตามสมการ (Altman & Bland, 1994):

$$\text{Accuracy} = (TP + TN) / (TP + TN + FP + FN)$$

$$\text{Sensitivity} = TP / (TP + FN)$$

$$\text{Specificity} = TN / (TN + FP)$$

โดย TP คือจำนวนตัวอย่างที่มีฟีโนไทป์เมล็ดขนาดใหญ่และถูกจำแนกถูกต้อง TN คือจำนวนตัวอย่างที่มีฟีโนไทป์เมล็ดขนาดเล็กและถูกจำแนกถูกต้อง FP คือจำนวนตัวอย่างที่มีฟีโนไทป์เมล็ดขนาดเล็กแต่ถูกจำแนกเป็นเมล็ดขนาดใหญ่ และ FN คือจำนวนตัวอย่างที่มีฟีโนไทป์เมล็ดขนาดใหญ่แต่ถูกจำแนกเป็นเมล็ดขนาดเล็ก

ผล

การศึกษา HSW ในเชื้อมพันธุ์กรรมถั่วเหลือง 101 พันธุ์ พบความแปรผันสูง น้ำหนักอยู่ระหว่าง 7.90–26.00 ก. (Table 2) ค่าเฉลี่ย 16.85 ± 4.06 ก. และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผัน (CV) 24.10% การกระจายฟีโนไทป์ถูกวิเคราะห์ด้วย scatter plot, box plot, histogram, density plot และ cumulative distribution (Figure 1) โดย scatter plot แสดงความหลากหลายของ HSW ระหว่างพันธุ์ (Figure 1A) ขณะที่ box plot ชี้ค่ากลางของน้ำหนักเมล็ดประมาณ 16 ก. และข้อมูลส่วน

ใหญ่กระจายในช่วง 14–19 ก. (Figure 1B) Histogram ส่วน cumulative distribution แสดงแนวโน้มการเพิ่มขึ้น และ density plot แสดงการกระจายใกล้เคียงแบบปกติ ของความถี่สะสมตามช่วงค่าของน้ำหนักเมล็ด (Figure 1E) โดยมีจุดสูงสุดอยู่ระหว่าง 15–17 ก. (Figure 1C–D)

Table 1 Primers used in the tetra-primer ARMS-PCR for detection of SNP COX1 and VWA

SNP position	SNP name		Primer set and sequences	Product size
S3_27906338	COX1	OF	5' AAACCTTAATACAACCTTTCTGATCCCG 3'	Control fragment: 410 bp
		OR	5' TCCTTTTCTACTTCTCTCCAAGTGC 3'	
		IF	5' TTTCTGTTTGGAGTAACAGAAAAGTT 3'	T allele: 200 bp
		IR	5' CAACATTAGATCCGGCTTACCCAT 3'	A allele: 265 bp
S7_44279246	VWA	OF	5' TTCCACCAAGGCACCTACTAGCCATCT 3'	Control fragment: 397 bp
		OR	5' CCTTCTTTAACCCTTCAACTGGGTCGG 3'	
		IF	5' TCTCAACAAGCAATGGCTCTGGTGGTATA 3'	A allele: 199 bp
		IR	5' CAAGCGATCAGTGTGTCTGAGGGTGA 3'	T allele: 254 bp

Table 2 100-seed weight and genotypes of SNP marker VWA determined by LPWGS and tetra-primer ARMS-PCR in 101 soybean varieties

ID	Variety	Wt	LP	AR	ID	Variety	Wt	LP	AR	ID	Variety	Wt	LP	AR
S1	DOA Lopburi 84-1	14.4	AA	AA	S46	G10478	20.5	AA	AA	S96	CM9306-51 (NJ)	18.0	AA	AA
S2	DOA SJ2	15.8	AA	AA	S47	TG61	15.0	AA	AA	S98	PT(42)No.35F79519-1	19.5	AA	AA
S3	DOA Chiang Mai 6	17.4	ND	AA	S48	TG21	9.8	AA	AA	S100	Ta Daeng 3	18.9	AA	AA
S4	DOA SJ5	13.9	AA	AA	S50	LV.Su 1	16.0	AA	AA	S101	Hto Nauk Ahlan	15.5	AA	AA
S5	Chakraphan 1	15.0	ND	AA	S51	LV.Su 2	14.5	AA	AA	S103	Dau Tuong Ba Thang Luc Ngan	18.6	AA	AA
S6	DOA Si Samrong 1	17.4	ND	AA	S52	Tamanishiki	23.7	AA	AA	S105	I 615-3	11.5	TT	TT
S7	DOA Khon Kaen 1	13.9	AA	AA	S55	PR89(15)	14.2	AA	AA	S107	E51 (22158)	12.5	AA	AA
S8	DOA SJ1	14.1	ND	AA	S56	TGX311-14C	10.6	AA	AA	S111	Korea2007 No.37	19.6	AA	AA
S9	DOA Chiang Mai 60	16.3	AA	AA	S57	F11MJ7709-93-P11	15.0	AA	AA	S113	Chuuohoku 2	9.1	TT	TT
S10	DOA SJ3	14.4	ND	AA	S58	DL02 (Br)	15.7	AA	AA	S114	Korea2007 No.39	23.8	AA	AA
S11	DOA Nakhon Sawan 1	15.8	AA	AA	S59	Hikuanda	14.3	AA	AA	S115	Yezin-5	15.3	AA	AA
S12	DOA Sukhothai 3	14.3	TT	TT	S60	Yagi	24.6	AA	AA	S116	DS1099-01-03	25.8	AA	AA
S13	Rajamangala 1	16.5	AA	AA	S63	Klangdong	20.1	AA	AA	S117	DS1099-01-04	25.2	AA	AA
S14	DOA Chiang Mai 5	15.4	ND	AA	S64	Hazenomi Daizu	14.1	AA	AA	S118	VS1099-04-01	24.6	ND	AA
S15	DOA SJ4	16.5	AA	AA	S66	Udo Magaly	18.2	AA	AA	S119	VS1099-04-09	24.3	AA	AA
S16	DOA Sukhothai 2	15.3	AA	AA	S69	VS16.7	26.0	AA	AA	S120	Korea2007 No.13	19.8	AA	AA
S17	KKU 35	13.0	ND	AA	S71	IAC73-1385	24.5	AA	AA	S121	Yezin-3	16.8	AA	AA
S18	DOA Sukhothai 1	13.7	AA	AA	S72	TGX802-244D	11.8	AA	AA	S122	Yezin-6	16.5	ND	AA
S19	DOA Chiang Mai 3	14.0	ND	AA	S75	VS16.2	21.2	AA	AA	S131	Yundadou 3	23.5	AA	AA
S20	Utsaha A	7.9	TT	TT	S76	Toputoppu	21.0	AA	AA	S132	Yundadou 5	16.0	ND	AA
S21	DOA Chiang Mai 4	11.9	ND	AA	S77	U 8084-2	15.8	AA	AA	S133	Yundadou 8	18.0	ND	AA
S22	DOA Chiang Mai 7	15.4	AA	AA	S80	F7 MJ8011-S5-8-P7	16.9	TT	TT	S134	YN067	17.6	ND	AA
S23	DOA Chiang Mai 2	16.4	AA	AA	S81	SSR8407Y-2-1	12.7	ND	AA	S135	YN069	17.7	ND	AA
S24	CM0809-3	15.1	AA	AA	S82	15-18	17.0	AA	AA	S137	Maejo	16.4	ND	AA
S25	CM0908-1	16.9	AA	AA	S83	TG145	12.3	AA	AA	S138	scol/THAI/1986/THAI-78	20.2	AA	AA
S28	F117711-140-P11	19.6	AA	AA	S84	Khun Pae 2	14.9	AA	AA	S139	scol/THAI/1986/THAI-80	16.3	ND	AA
S29	Ogden (USA)	22.9	AA	AA	S86	TG162	9.5	TT	TT	S140	Chiangmai Palmetto	17.8	AA	AA
S30	Gauraw	15.8	ND	AA	S87	TG163	10.1	TT	TT	S141	Chieneum Kong	13.8	AA	AA
S31	G10470 Foster	17.4	AA	AA	S89	Leichhardt 4	17.3	AA	AA	S142	KE 32	17.3	AA	AA
S33	Easy 88-2	14.8	AA	AA	S90	Leichhardt (8)	18.3	AA	AA	S146	Jukkoku	21.5	AA	AA
S35	AGS232	24.3	AA	AA	S91	TeeraRF (22)	18.7	AA	AA	S147	Kisaya (Natsu)	12.0	AA	AA
S38	PR154-24	16.2	AA	AA	S92	9510-9	13.3	AA	AA	S148	Ooyachi 2	22.9	AA	AA
S45	Corsoy 79	15.0	AA	AA	S93	MFL46-23	23.5	AA	AA	S149	Pe Poke Alat	15.4	AA	AA
					S94	L323	10.5	AA	AA	S150	PK73-54	21.9	AA	AA

Note: ID = sample ID; Wt = 100-seed weight (g); LP = LPWGS genotype; AR = ARMS-PCR genotype. ND = no genotype data from LPWGS. AA and TT indicate homozygous SNP genotypes.

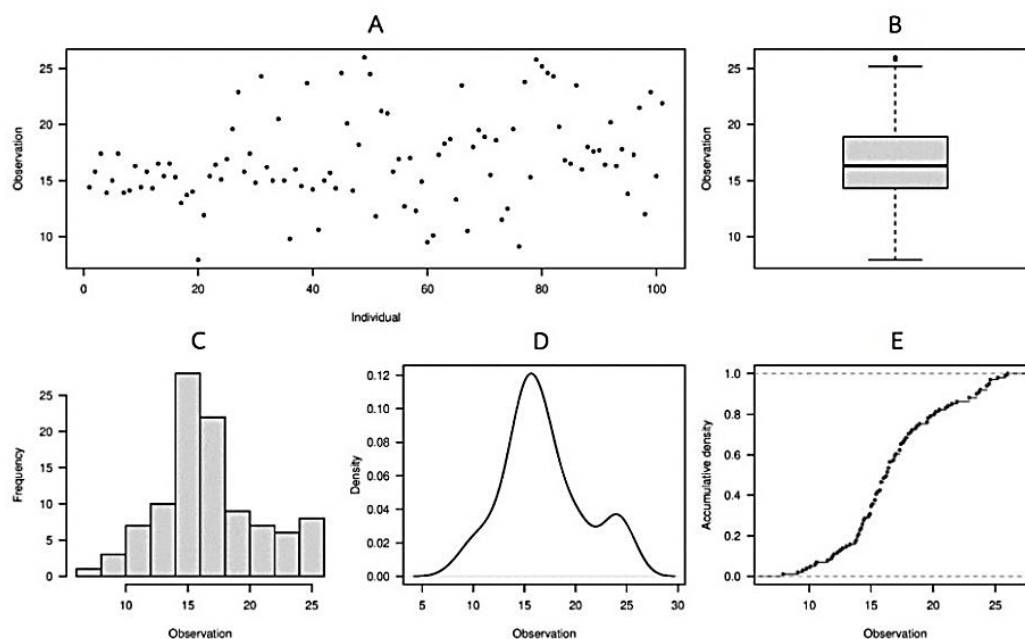


Figure 1 Distribution of hundred-seed weight (HSW, g) in 101 soybean varieties. (A) Scatter plot showing HSW variation across varieties (B) Boxplot with median and quartiles (C) Histogram of HSW frequency (D) Kernel density plot of HSW distribution and (E) Cumulative distribution of HSW

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค LPWGS ในเชื้อพันธุกรรมถั่วเหลือง 101 พันธุ์ได้ข้อมูล Raw reads ทั้งหมด 8,914,796,788 reads เฉลี่ย 88,265,315 reads ต่อตัวอย่าง และได้ Raw data รวม 1,337.4 GB เฉลี่ย 13.2 GB ต่อตัวอย่าง หลังการกรองข้อมูลคุณภาพต่ำและการปนเปื้อนของ adaptor ได้ Clean data รวม 1,325.5 GB เฉลี่ย 13.1 GB ต่อตัวอย่าง หรือคิดเป็น Effective 99.06% ต่อหนึ่งตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับจีโนมอ้างอิง *Glycine max* Wm82.a2.v1 พบว่าอัตราการ map เฉลี่ย 98.3% ความลึกเฉลี่ย 13.4X และความครอบคลุมที่ระดับ 1X เฉลี่ย 92.8% ข้อมูลตำแหน่ง SNP ถูกกรองโดยเลือกเฉพาะ SNP ที่มี call rate >0.8, ความลึกเฉลี่ย >10X และ minimum allele frequency (MAF) >0.01 ทำให้ได้ SNP ที่ผ่านเกณฑ์ 1,076,102 ตำแหน่ง เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ GWAS เพื่อตรวจหาความสัมพันธ์กับ HSW

การวิเคราะห์โครงสร้างประชากรของเชื้อพันธุกรรมถั่วเหลือง 101 พันธุ์ได้ใช้ข้อมูลสลับทั่วทั้งจีโนม โดยใช้วิธี ADMIXTURE พร้อมกำหนดค่า K

ตั้งแต่ 2 ถึง 8 ผลการศึกษาพบว่า K = 2 ให้ค่า cross-validation error ต่ำสุด ซึ่งชี้ให้เห็นว่าเชื้อพันธุกรรมสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มพันธุกรรมหลัก การยืนยันผลการแบ่งกลุ่มทำได้โดยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis, PCA) และวิธี Neighbor-Joining (NJ) ซึ่งได้ผลสอดคล้องกันในการแบ่งกลุ่มพันธุกรรมเป็น 2 กลุ่มหลัก การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางเครือญาติ (kinship) พบว่าความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างพันธุ์ส่วนใหญ่เป็นระดับต่ำถึงปานกลาง โดยรวมแล้วแสดงให้เห็นว่าเชื้อพันธุกรรมถั่วเหลืองที่ใช้ในการศึกษามีความหลากหลายทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ที่หลากหลายระหว่างพันธุ์ และไม่มีการรวมกลุ่มของพันธุ์ที่มีความสัมพันธ์สูงในวงกว้าง ซึ่งทำให้ประชากรที่ใช้ในการศึกษามีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ GWAS โดยใช้โปรแกรม GAPIT และประเมินผลด้วย 4 โมเดลทางสถิติ ได้แก่ MLM, FarmCPU, SUPER และ MLMM ผลจาก Manhattan plot พบว่า โมเดล MLM และ MLMM ตรวจพบ SNP ที่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญจำนวนน้อย

กว่า FarmCPU และ SUPER ซึ่งสามารถตรวจจับ SNP ที่มี $-\log_{10}(p\text{-value})$ สูงได้มากกว่า (Figure 2) โมเดล MLM และ MLMM สามารถควบคุมผลกระทบจากโครงสร้างประชากรและความสัมพันธ์ทางเครือญาติได้ดี ลด false positive แต่ลดความสามารถในการตรวจจับ QTL ขนาดเล็ก ส่วน FarmCPU และ SUPER เพิ่มพลังสถิติในการตรวจจับ QTL โดย SUPER ตรวจพบ SNP

ได้มากที่สุด (Figure 2) การประเมินความเหมาะสมของโมเดลด้วย QQ plot พบว่า MLM และ MLMM เบี่ยงเบนเล็กน้อยในช่วงปลายกราฟ แสดงว่าควบคุมความเบี่ยงเบนได้ดี ส่วน FarmCPU และ SUPER แสดงการเบี่ยงเบนช่วงปลายกราฟ ซึ่งสอดคล้องกับการตรวจจับ QTL เพิ่มขึ้น (Figure 3)

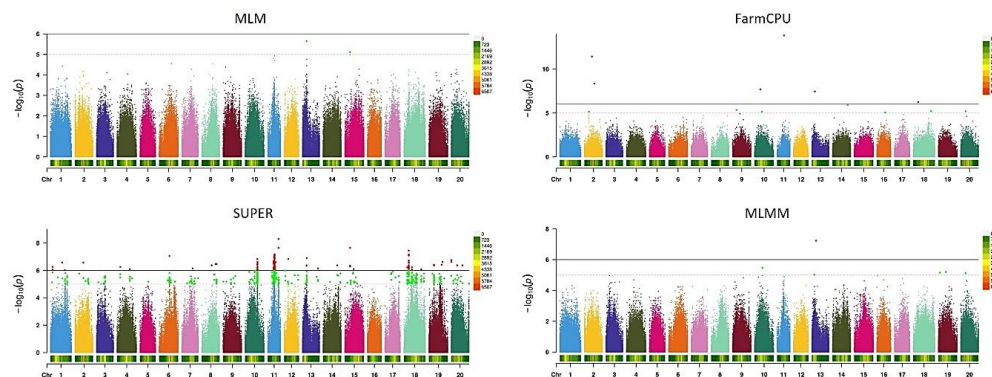


Figure 2 Manhattan plot showing genome-wide association signals for 100-seed weight in soybean using four GWAS models (MLM, FarmCPU, SUPER, and MLMM)

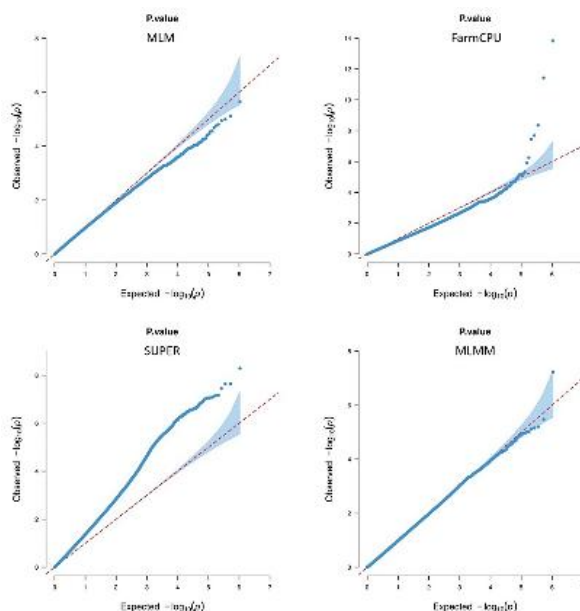


Figure 3 Quantile-Quantile (QQ) plots of observed versus expected $-\log_{10}(p\text{-values})$ for genome-wide association analysis of 100-seed weight in soybean using four GWAS models (MLM, FarmCPU, SUPER, and MLMM)

การวิเคราะห์ GWAS ตรวจพบ SNP ที่มีความสัมพันธ์กับ HSW หลายตำแหน่ง รวมถึง SNP แบบ missense จำนวน 19 ตำแหน่ง (Table 3) กระจายบนโครโมโซม 1, 2, 3, 7, 8, 9, 11, 16, 17, 18 และ 19 โดยมีค่า $-\log_{10}(p\text{-value})$ อยู่ระหว่าง 4.01–5.77 ค่า MAF 0.015–0.485 และค่า PIC อยู่ในช่วง 0.029–0.375 โมเดล SUPER ตรวจพบ SNP missense มากที่สุด รองลงมาคือ FarmCPU, MLM และ MLMM ซึ่งสอดคล้องกับผล

Manhattan plot ซึ่ง SNP บางตำแหน่งถูกตรวจพบซ้ำในหลายโมเดล เช่น SNP ตำแหน่ง 27,906,338 บนโครโมโซม 3 ภายในยีน *Glyma.03G094400* เข้ารหัสโปรตีน cytochrome c oxidase subunit 1 (COX1) (Table 3 No. 1, 3) และ SNP ตำแหน่ง 44,279,246 บนโครโมโซม 7 ภายในยีน *Glyma.07G270000* เข้ารหัสโปรตีนที่มีโดเมน VWA และ RING finger (Table 3 No. 8, 20)

Table 3 Missense SNPs associated with 100-seed weight identified by genome-wide association analysis using multiple statistical models

No.	Model	Chr	Position (bp)	Candidate gene	Putative gene function	P-value	$-\log_{10}(P)$	MAF	Effect	PIC
1	MLM	3	27906338	<i>Glyma.03G094400</i>	Cytochrome c oxidase subunit 1	7.79E-05	4.11	0.020	-4.68	0.038
2	FarmCPU	2	40921515	<i>Glyma.02G221500</i>	28S ribosomal protein S2, mitochondrial	5.82E-05	4.24	0.015	-3.64	0.029
3	FarmCPU	3	27906338	<i>Glyma.03G094400</i>	Cytochrome c oxidase subunit 1	3.88E-05	4.41	0.020	-2.29	0.038
4	SUPER	1	2216500	<i>Glyma.01G022300</i>	Glycosyltransferase	2.63E-05	4.58	0.119	-2.29	0.047
5	SUPER	1	50103435	<i>Glyma.01G163300</i>	ATP synthase subunit A	7.77E-05	4.11	0.228	-1.41	0.233
6	SUPER	7	35061830	<i>Glyma.07G182900</i>	Dynamin 3A-like protein	9.73E-05	4.01	0.272	2.04	0.303
7	SUPER	7	35061945	<i>Glyma.07G182900</i>	Dynamin 3A-like protein	8.27E-05	4.08	0.287	2.03	0.308
8	SUPER	7	44279246	<i>Glyma.07G270000</i>	VWA / RING finger domain protein	3.73E-06	5.43	0.163	1.98	0.144
9	SUPER	8	11193044	<i>Glyma.08G147000</i>	Tetratricopeptide repeat protein	2.69E-05	4.57	0.173	-1.62	0.173
10	SUPER	9	5014368	<i>Glyma.09G056100</i>	Clock-associated PAS protein (ZTL)	4.29E-05	4.37	0.460	-1.31	0.373
11	SUPER	11	29650548	<i>Glyma.11G207800</i>	Pantothenate kinase	3.21E-05	4.49	0.426	1.16	0.367
12	SUPER	16	3707634	<i>Glyma.16G039500</i>	Spermidine hydroxycinnamoyl transferase	5.98E-05	4.22	0.386	1.07	0.357
13	SUPER	17	38882864	<i>Glyma.17G233300</i>	Unknown protein	7.26E-06	5.14	0.416	-1.21	0.366
14	SUPER	18	20475155	<i>Glyma.18G138200</i>	BURP domain protein	6.90E-05	4.16	0.485	1.06	0.375
15	SUPER	18	36932440	<i>Glyma.18G161500</i>	F-box interaction domain protein	1.99E-05	4.70	0.371	2.58	0.353
16	SUPER	18	54100886	<i>Glyma.18G254700</i>	MDIS1-interacting receptor-like kinase	1.71E-06	5.77	0.356	2.74	0.346
17	SUPER	18	54100967	<i>Glyma.18G254700</i>	MDIS1-interacting receptor-like kinase	3.66E-06	5.44	0.386	2.89	0.354
18	SUPER	19	35568380	<i>Glyma.19G105500</i>	GRF zinc finger protein	5.13E-05	4.29	0.262	1.37	0.272
19	MLMM	7	4231740	<i>Glyma.07G049700</i>	Clathrin / VPS8 region protein	5.37E-05	4.27	0.144	2.11	0.152
20	MLMM	7	44279246	<i>Glyma.07G270000</i>	VWA / RING finger domain protein	8.74E-05	4.06	0.163	2.19	0.144
21	MLMM	16	95753	<i>Glyma.16G001600</i>	Glucuronoxylan 4-O-methyltransferase (GXM)	6.05E-05	4.22	0.124	2.70	0.068

Note: Chr = chromosome; MAF = minor allele frequency; PIC = polymorphism information content. SNPs detected by multiple models are highlighted: MLM + FarmCPU (No. 1, 3); SUPER + MLMM (No. 8, 20)

นอกจากนี้พบ SNP ในยีน candidate อื่น ๆ เช่น *Glyma.01G163300* (ATP synthase) *Glyma.01G022300* (glycosyltransferase) และ *Glyma.09G056100* (Clock-associated PAS protein) โดยยีนเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในเมแทบอลิซึมพลังงาน การสะสมสารอาหาร และการพัฒนาเมล็ด (Table 3) (Guo *et al.*, 2025; Harmer, 2009; McArthur & Chen, 2016) จากการวิเคราะห์ค่าผลกระทบของแอลลีล (Allele effect) ใน Table 3 พบว่า

เครื่องหมาย SNP ที่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญแสดงทิศทางการควบคุมลักษณะน้ำหนัก 100 เมล็ด (HSW) สองทิศทาง โดยเครื่องหมาย SNP COX1 แสดงค่าเอฟเฟกต์เป็นลบ (-4.68 และ -2.29) ซึ่งให้เห็นว่าการแปรผันของแอลลีล (allele) ณ ตำแหน่งดังกล่าวส่งผลให้น้ำหนักเมล็ดลดลงอย่างเด่นชัด ในทางตรงกันข้ามเครื่องหมาย SNP VWA แสดงค่าเอฟเฟกต์เป็นบวก (+1.98 และ +2.19) แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายนี้เป็น

แอลลีลเด่นที่ช่วยส่งเสริมและเพิ่มน้ำหนัก 100 เมล็ดในประชากรถั่วเหลืองที่ศึกษา

จากผลการวิเคราะห์ GWAS ได้คัดเลือก SNP จำนวน 2 ตำแหน่งที่ถูกตรวจพบซ้ำในหลายโมเดล ได้แก่ SNP ภายในยีน *Glyma.07G270000* (VWA) และ *Glyma.03G094400* (COX1) เนื่องจาก SNP ที่ตรวจพบซ้ำในหลายโมเดลมีความน่าเชื่อถือสูง (Korte & Farlow, 2013) จึงนำมาต่อยอดในการออกแบบชุดไพรเมอร์สำหรับการตรวจสอบด้วยเทคนิค tetra-primer ARMS-PCR สำหรับ SNP VWA ชุดไพรเมอร์ VWA-OF, VWA-OR, VWA-IF และ VWA-IR ถูกทดสอบโดยปรับอุณหภูมิ annealing ที่ 55, 60 และ 65°C (Figure 4) ผลพบว่า

อุณหภูมิ 65°C ให้แถบ DNA เป้าหมายชัดเจนและเกิดแถบไม่จำเพาะน้อยที่สุดในพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีจีโนไทป์โฮโมไซกัส TT เช่น พันธุ์ S20 (HSW 7.9 ก.) หรือกลุ่มเมล็ดยอดเล็ก ปรากฏแถบควบคุม 397 bp และแถบเฉพาะแอลลีล T ขนาด 254 bp (Figure 4, S20) ส่วนพันธุ์โฮโมไซกัส AA เช่น พันธุ์ S77 (HSW 15.8 ก.) หรือกลุ่มเมล็ดขนาดใหญ่ ปรากฏแถบควบคุม 397 bp และแถบเฉพาะแอลลีล A ขนาด 199 bp (Figure 4, S77) สำหรับ SNP COX1 แม้สามารถออกแบบไพรเมอร์ได้แต่ไม่สามารถเพิ่มปริมาณ DNA ที่จำเพาะต่อแอลลีลเป้าหมายได้สำเร็จ (data not shown)

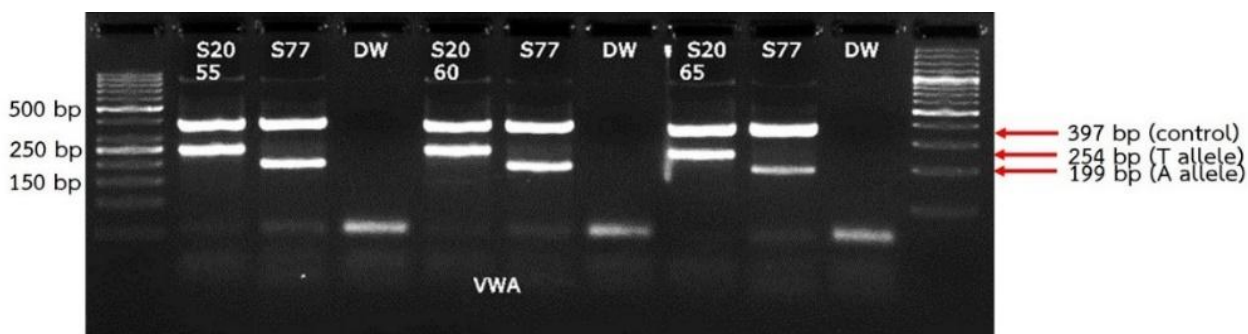


Figure 4 DNA amplification of the SNP VWA marker using tetra-primer ARMS-PCR at annealing temperatures of 55, 60, and 65°C, in soybean varieties Utsaha A (S20), U 8084-2 (S77), and distilled water as a negative control (DW). Arrows indicate the amplified fragments: a 397 bp control fragment, a 254 bp T allele, and a 199 bp A allele

การตรวจสอบประสิทธิภาพและความแม่นยำของเครื่องหมาย SNP ในการทำนายลักษณะ HSW ชุดไพรเมอร์ของเครื่องหมาย SNP VWA ที่พัฒนาขึ้นถูกนำไปตรวจสอบจีโนไทป์ในถั่วเหลือง 101 พันธุ์ โดยใช้เทคนิค tetra-primer ARMS-PCR และ

เปรียบเทียบกับข้อมูลจีโนไทป์จาก LPWGS ผลการเปรียบเทียบพบว่า จีโนไทป์จาก tetra-primer ARMS-PCR (Figure 5) ตรงกับข้อมูลจาก LPWGS ในทุกตัวอย่างที่มีข้อมูลครบถ้วน (Table 2)

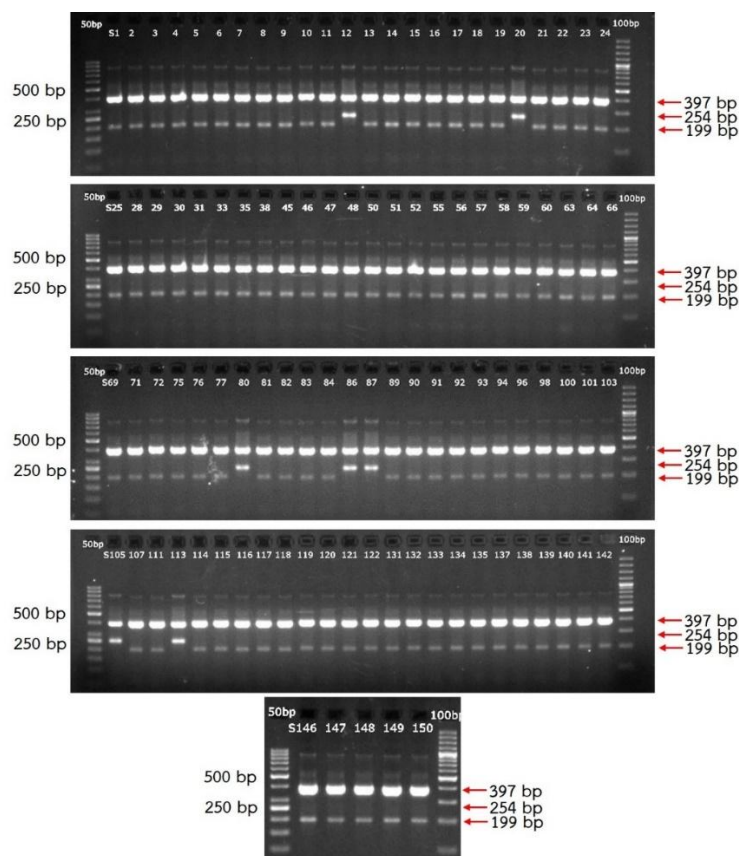


Figure 5 DNA amplification of the SNP VWA marker using the tetra-primer ARMS-PCR technique. PCR was performed in 101 soybean varieties. Numbers indicate sample IDs.

ในการประเมินความแม่นยำของเครื่องหมายสำหรับลักษณะ HSW ใช้เกณฑ์การจำแนกขนาดเมล็ดถั่วเหลืองตามเกณฑ์ของกรมวิชาการเกษตร (2547) ซึ่งแบ่งขนาดเมล็ด เมื่อเมล็ดมีความชื้น 12% เป็นดังต่อไปนี้ เล็กมาก (≤ 10 ก.) เล็ก (11-15 ก.) กลาง (16-20 ก.) ก่อนข้างใหญ่ (21-25 ก.) และใหญ่ (>25 ก.) ดังนั้นในการประเมินความแม่นยำของเครื่องหมายของงานวิจัยนี้จึงกำหนดให้พันธุ์ที่มีน้ำหนัก 100 เมล็ด ≤ 15 ก. จัดเป็นกลุ่มเมล็ดขนาดเล็ก และพันธุ์ที่มีน้ำหนัก 100 เมล็ด >15 ก. จัดเป็นกลุ่มเมล็ดขนาดใหญ่ จากการวิเคราะห์พันธุ์ 82 ตัวอย่างที่มีข้อมูลครบทั้งจีโนไทป์และฟีโนไทป์ พบว่าเครื่องหมายมีความแม่นยำ 71.95% โดยมี sensitivity สำหรับการตรวจจับพันธุ์เมล็ดขนาดใหญ่เท่ากับ 98.1% และ specificity สำหรับการจำแนกพันธุ์เมล็ดขนาดเล็กเท่ากับ 21.4% ค่า coefficient of determination (R^2) เท่ากับ 0.116 แสดงว่า

SNP ตำแหน่งนี้สามารถอธิบายความแปรผันของลักษณะน้ำหนักเมล็ดได้ประมาณ 11.6% นอกจากนี้ แอลลีล A ของ SNP VWA มีแนวโน้มสัมพันธ์กับน้ำหนักเมล็ดสูงกว่า ทำให้เครื่องหมาย SNP นี้มีศักยภาพในการนำไปใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ถั่วเหลืองเมล็ดขนาดใหญ่ด้วย marker-assisted selection (MAS)

วิจารณ์

ผลการวิเคราะห์ฟีโนไทป์ HSW และความแปรผันในเชื้อพันธุ์กรรมถั่วเหลือง (Table 2 and Figure 1) แสดงให้เห็นว่า HSW เป็นลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative trait) ซึ่งได้รับอิทธิพลจากหลายยีนและปัจจัยสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ความใกล้เคียงกับการกระจายแบบปกติสนับสนุนความเหมาะสมของข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์ GWAS ที่ต้องมีสมมติฐานการกระจายแบบปกติของฟีโนไทป์ (Zhou & Stephens, 2012)

ซึ่งช่วยเพิ่มโอกาสในการตรวจพบ SNP ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะน้ำหนักเมล็ด

ผลการวิเคราะห์ LPWGS แสดงให้เห็นว่าข้อมูลที่ได้มีความครอบคลุมสูงและความแม่นยำในการ map ไปยังจีโนมอ้างอิงดีมาก การกรอง SNP ด้วยเกณฑ์ call rate, depth และ MAF เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการคัดเลือกตำแหน่ง SNP ที่เชื่อถือได้และเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ GWAS เพื่อค้นหาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอกับลักษณะเชิงปริมาณ (Van der Auwera *et al.*, 2013)

การประเมินโมเดลวิเคราะห์ GWAS สำหรับการตรวจจับ SNP ที่สัมพันธ์กับ HSW พบว่าโมเดล SUPER และ FarmCPU มีความไวสูงต่อการตรวจจับ ขณะที่ MLM และ MLMM ควบคุมโครงสร้างประชากรได้เข้มงวด และลด false positive ได้ดี (Figure 2 และ Figure 3) แสดงให้เห็นว่าการเลือกโมเดลขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการวิเคราะห์ระหว่างความไวในการตรวจจับและความแม่นยำในการควบคุมโครงสร้างประชากร อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้ตรวจสอบโดยใช้หลายแบบจำลองเพื่อช่วยเพิ่มความน่าเชื่อถือของตำแหน่ง SNP ที่สัมพันธ์กับลักษณะทางการเกษตร

เครื่องหมาย SNP จำนวน 19 ตำแหน่งที่ตรวจพบในงานวิจัยนี้ (Table 3) ยังไม่พบรายงานที่เกี่ยวข้องกับ HSW ในถั่วเหลืองจากการทบทวนวรรณกรรมในปัจจุบัน จึงอาจเป็นยีนที่เป็นตัวเลือก (candidate genes) ใหม่สำหรับลักษณะดังกล่าว อย่างไรก็ตาม SNP บางตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่เคยมีรายงาน QTL ที่เกี่ยวข้อง เช่น โครโมโซม 7 และ 19 (Chen *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2026) ซึ่งสนับสนุนความน่าเชื่อถือของผลการวิเคราะห์ GWAS

SNP ในยีน *Glyma.03G094400* (COX1) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในกระบวนการสร้างพลังงานระดับเซลล์ (Mansilla *et al.*, 2018) ความสำคัญของกระบวนการเมแทบอลิซึมเหล่านี้ยังได้รับการสนับสนุนจากงานวิจัยที่ชี้ให้เห็นว่า COX เป็นตัวกลางในการตอบสนองต่อการพัฒนาของพืชและการตอบสนองต่อฮอร์โมน (Gras *et al.*, 2020)

นอกจากนี้ ยีน OsCOX5B ยังถูกระบุว่ามีบทบาทในการควบคุมความแข็งแรงของเมล็ดข้าวผ่านการจัดการด้านการจัดหาพลังงาน (Huang *et al.*, 2024) ซึ่งสะท้อนให้เห็นถึงบทบาทของ COX1 ที่อาจมีต่อการพัฒนาเมล็ดและน้ำหนักเมล็ดโดยรวม ขณะที่ SNP ในยีน *Glyma.07G270000* (VWA) ที่เกี่ยวข้องกับระบบ ubiquitin-proteasome ที่ควบคุมการสลายโปรตีนและการพัฒนาของพืช (Vierstra, 2009) และมีบทบาทต่อการกำหนดขนาดเมล็ดผ่านการควบคุมการแบ่งเซลล์และการตอบสนองต่อฮอร์โมน (Li & Li, 2014; Sadanandom *et al.*, 2012)

แม้ว่างานวิจัยนี้สามารถระบุ SNP แบบ missense ที่เกี่ยวข้องกับ HSW ได้หลายตำแหน่ง แต่ยังมีข้อจำกัดจากขนาดประชากรที่ค่อนข้างน้อย (101 พันธุ์) และค่า MAF ของบางตำแหน่งที่ต่ำ ซึ่งอาจส่งผลต่อพลังทางสถิติ ดังนั้น การศึกษาเพิ่มเติมในประชากรขนาดใหญ่และการตรวจสอบเชิงหน้าที่ของยีน จะช่วยยืนยันบทบาทของ candidate genes และเพิ่มประสิทธิภาพในการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับการคัดเลือกพันธุ์ถั่วเหลืองในอนาคต

ผลการออกแบบชุดไพรเมอร์ของเครื่องหมาย SNP สำหรับการตรวจสอบด้วยเทคนิค tetra-primer ARMS-PCR พบว่า ชุดไพรเมอร์ VWA สามารถใช้ตรวจสอบแอลลีลด้วยเทคนิคดังกล่าวได้ชัดเจนและมีความจำเพาะสูง (Figure 4) จีโนไทป์จาก tetra-primer ARMS-PCR (Figure 5) ตรงกับข้อมูลจาก LPWGS ในทุกตัวอย่างที่มีข้อมูลครบถ้วน (Table 2) แสดงให้เห็นว่าชุดไพรเมอร์มีความถูกต้องและเชื่อถือได้สูงในการจำแนกจีโนไทป์ของตำแหน่ง SNP นี้ ขณะที่ SNP COX1 ต้องมีการปรับปรุงเพิ่มเติมหรือพิจารณาเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอทางเลือกอื่น ซึ่งอาจมีสาเหตุจากลำดับนิวคลีโอไทด์รอบ SNP ส่งผลต่อประสิทธิภาพการจับของไพรเมอร์และความจำเพาะของการเพิ่มปริมาณ DNA (Newton *et al.*, 1989)

ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพ (Figure 5 และ Table 2) แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมาย SNP VWA

มีความน่าเชื่อถือสูงสำหรับการจำแนกพันธุ์เมล็ดขนาดใหญ่ (sensitivity สูง) แต่ความสามารถในการจำแนกพันธุ์เมล็ดขนาดเล็กยังจำกัด (specificity ต่ำ) ซึ่งสะท้อนถึงลักษณะ HSW เป็นลักษณะเชิงปริมาณที่ถูกควบคุมโดยหลายตำแหน่งยีน และ SNP เพียงตำแหน่งเดียวอาจไม่เพียงพอในการจำแนกกลุ่มเมล็ดขนาดเล็กอย่างแม่นยำ เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นพบว่าความแม่นยำที่ระดับประมาณ 72% มีความสอดคล้องและเหมาะสมสำหรับลักษณะเชิงปริมาณ เช่น ปริมาณโปรตีนและไขมันในถั่วเหลือง ซึ่งพบค่าความแม่นยำของเครื่องหมายโมเลกุลอยู่ในช่วง 60–79% (Sun *et al.*, 2022) และแม้ค่า coefficient of determination (R^2) จะไม่สูง และมีค่าความจำเพาะ (Specificity) สำหรับการจำแนกเมล็ดขนาดเล็ก 21.4% ซึ่งเป็นธรรมชาติของลักษณะเชิงปริมาณที่ซับซ้อน (Polygenic trait) ที่ควบคุมด้วยยีนที่มีผลกระทบน้อยจำนวนหลายยีน (Minor-effect QTLs) และมีความไวต่อสภาพแวดล้อมสูง อย่างไรก็ตาม คุณลักษณะดังกล่าวไม่ได้ลดทอนคุณค่าของเครื่องหมายนี้ในระบบการปรับปรุงพันธุ์ แต่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในกลยุทธ์การคัดเลือกเชิงลบ (Negative selection) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยใช้สำหรับคัดทิ้ง (Screen-out) ต้นหรือสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีแอลลีล T ซึ่งมีความสัมพันธ์กับลักษณะเมล็ดขนาดเล็กออกไปตั้งแต่ช่วงแรก ๆ นอกจากนี้ เพื่อยกระดับความแม่นยำในการพยากรณ์ เครื่องหมายดังกล่าวมีศักยภาพสูงในการนำไปใช้ร่วมกับเครื่องหมายสแน็ปตำแหน่งอื่น ๆ ในรูปแบบของชุดเครื่องหมายโมเลกุล (Marker panel) สำหรับระบบการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล (MAS) ซึ่งจะช่วยให้ประสิทธิภาพและความเร็วในการคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีเมล็ดขนาดใหญ่และให้ผลผลิตสูงได้อย่างแม่นยำยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตาม ควรพิจารณาข้อจำกัดของการศึกษานี้เนื่องจากข้อมูลฟีโนไทป์น้ำหนัก 100 เมล็ด ถูกเก็บรวบรวมจากสภาพแวดล้อมเดียว ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่ เชียงใหม่ ในช่วงฤดูแล้งปี 2568 การนำเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวไปใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลือง

ในวงกว้าง จำเป็นต้องได้รับการทดสอบและตรวจสอบความแม่นยำเพิ่มเติมในประชากรต่างชุดและในสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย (Multi-environment validation) เพื่อยืนยันความเสถียรของเครื่องหมายก่อนนำไปใช้ในระบบคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล (MAS) อย่างเต็มรูปแบบต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยในการดำเนินงานครั้งนี้ ขอขอบคุณ ข้าราชการ พนักงานราชการ และพนักงานอัตราจ้างของกองวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ และศูนย์วิจัยพืชไร่ เชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนและความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ส่งผลให้การดำเนินการทดลองสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. (2547). *ฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืช: ถั่วเหลือง*. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด
- สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. (2568). *สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้มปี 2567*. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- Altman, D. G., & Bland, J. M. (1994). Statistics Notes: Diagnostic tests 1: sensitivity and specificity. *British Medical Journal*, 308, 1552. <https://doi.org/10.1136/bmj.308.6943.1552>
- Chen, Q., Zhang, Z., Liu, C., Xin, D., Qiu, H., Shan, D., Shan, C., & Hu, G. (2007). QTL analysis of major agronomic traits in soybean. *Agricultural Sciences in China*, 6(4), 399 - 405. [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(07\)60062-5](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(07)60062-5)

- Gras, D. E., Mansilla, N., Rodriguez, C., Welchen, E., & Gonzalez, D. H. (2020). Arabidopsis thaliana SURFEIT1-like genes link mitochondrial function to early plant development and hormonal growth responses. *The Plant Journal*, 103(2), 690-704. <https://doi.org/10.1111/tpj.14762>
- Guo, B., Fan, S., Liu, M., Yang, H., Dai, L., & Wang, L. (2025). ATP synthase members of chloroplasts and mitochondria in rubber trees (*Hevea brasiliensis*) response to plant hormones. *Plants*, 14(4), 604. <https://doi.org/10.3390/plants14040604>
- Harmer, S.L. (2009). The circadian system in higher plants. *Annual Review of Plant Biology*, 60, 357 - 377. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.043008.092054>
- Hartman, G. L., West, E. D., & Herman, T. K. (2011). Crops that feed the world 2. Soybean—Worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests. *Food Security*, 3(1), 5 – 17. <https://doi.org/10.1007/s12571-010-0108-x>
- Huang, C., Ji, Z., Huang, Q., Peng, L., Li, W., Wang, D., Wu, Z., Zhao, J., He, Y., & Wang, Z. (2024). Natural variation in the cytochrome c oxidase subunit 5B OsCOX5B regulates seed vigor by altering energy production in rice. *Journal of Integrative Agriculture*, 23(9), 2898 – 2910. <https://doi.org/10.1016/j.jia.2023.06.018>
- Korte, A., & Farlow, A. (2013). The advantages and limitations of trait analysis with GWAS: A review. *Plant Methods*, 9(29). <https://doi.org/10.1186/1746-4811-9-29>
- Li, N., & Li, Y. (2014). Ubiquitin-mediated control of seed size in plants. *Frontiers in Plant Science*, 5, 332. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00332>
- Mansilla, N., Racca, S., Gras, D.E., Gonzalez, D.H., & Welchen, E. (2018). The complexity of mitochondrial complex IV: an update of cytochrome c oxidase biogenesis in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), 662. <https://doi.org/10.3390/ijms19030662>
- McArthur, J.B., & Chen, X. (2016). Glycosyltransferase engineering for carbohydrate synthesis. *Biochemical Society Transactions*, 44(1), 129 - 142. <https://doi.org/10.1042/BST20150200>
- Newton, C. R., Graham, A., Heptinstall, L. E., Powell, S. J., Summers, C., Kalsheker, N., Smith, J. C., & Markham, A. F. (1989). Analysis of any point mutation in DNA: The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Research*, 17(7) , 2503 – 2516. <https://doi.org/10.1093/nar/17.7.2503>
- Novogene Inc. (2024). *Understanding low-pass whole-genome sequencing: Benefits and applications*. <https://amea.novogene.com/resources/blog/understanding-low-pass-whole-genome-sequencing-benefits-and-applications>

- Sadanandom, A., Bailey, M., Ewan, R., Lee, J., & Nelis, S. (2012). The ubiquitin-proteasome system: central modifier of plant signalling. *New Phytologist*, 196(1), 13 – 28. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04266.x>
- Sun, B., Guo, R., Liu, Z., Shi, X., Yang, Q., Shi, J., Zhang, M., Yang, C., Zhao, S., Zhang, J., He, J., Zhang, J., Su, J., Song, Q., & Yan, L. (2022). Genetic variation and marker-trait association affect the genomic selection prediction accuracy of soybean protein and oil content. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1064623. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1064623>
- Van der Auwera, G. A., Carneiro, M. O., Hartl, C., Poplin, R., Del Angel, G., Levy-Moonshine, T., Jordan, T., Shakir, K., Roazen, D., Thibault, J., Banks, E., Garimella, K.V., Altshuler, D., Gabriel, S., & DePristo, M.A. (2013). From FastQ data to high-confidence variant calls: The Genome Analysis Toolkit best practices pipeline. *Current Protocols in Bioinformatics*, 43(1110), 11.10.1-11.10.33. <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi1110s43>
- Vierstra, R. D. (2009). The ubiquitin-26S proteasome system at the nexus of plant biology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 10, 385 - 397. <https://doi.org/10.1038/nrm2688>
- Wu, D., Zhan, Y., Sun, Q., Xu, L., Lian, M., Zhao, X., Han, Y., & Li, W. (2018). Identification of quantitative trait loci underlying soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) seed weight including main, epistatic and QTL× environment effects in different regions of Northeast China. *Plant Breeding*, 137(2), 194 – 202. <https://doi.org/10.1111/pbr.12574>
- Zhang, C., Hong, H., Yuan, R., Zhao, K., Bha, Z., Lamlo, S. F., Xi, X., Ren, H., Qiu, L., & Wang, J. (2026). Integrating linkage mapping and GWAS reveals novel genetic architecture of seed weight in soybean (*Glycine max* L.). *Frontiers in Plant Science*, 16, 1711905. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1711905>
- Zhang, J., Song, Q., Cregan, P.B., & Jiang, G-L. (2016). Genome-wide association study, genomic prediction and marker-assisted selection for seed weight in soybean (*Glycine max*). *Theoretical and Applied Genetics*, 129 (1), 117–130. <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2614-x>
- Zhou, X, & Stephens, M. (2012). Genome-wide efficient mixed-model analysis for association studies. *Nature Genetics*, 44(7), 821 - 824. <https://doi.org/10.1038/ng.2310>