



## บันทึกข้อความ

ส่วนราชการ หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน โทร. ๕๔๓๐

ที่ ศธ ๐๕๒๓.๓.๒/๕๔๓๐

วันที่ ๒๐ ธันวาคม ๒๕๕๖

เรื่อง ขอส่งเอกสาร อาจารย์ ดร.นเรศ ศิริเกษร เพิ่มเติม

เรียน คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ตามคำสั่งมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ ๖๙๘/๒๕๕๖ เรื่องแต่งตั้งอาจารย์บัณฑิตศึกษา ได้แต่งตั้งให้ อาจารย์ ดร.นเรศ ศิริเกษร เป็นอาจารย์บัณฑิตที่เป็นอาจารย์ประจำ โดยทำหน้าที่เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม นั้น

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน จึงขอส่งเอกสารงานวิจัยเพิ่มเติมเพื่อประกอบการพิจารณาแต่งตั้ง อาจารย์ ดร.นเรศ ศิริเกษร เป็นอาจารย์บัณฑิต ที่ทำหน้าที่เป็นที่ปรึกษาหลัก มาพร้อมกับหนังสือฉบับนี้จำนวน ๑ ชุด

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

เรียน คณบดี

เพื่อโปรดพิจารณา

(อาจารย์ ดร.เสกสันต์ อุตสาหานนท์)  
ผู้ช่วยคณบดีคณะผลิตกรรมการเกษตร

๓๑.๑๒.๕๖

๑๙

๑๙

พรพันธ์ ภู่อ้อมพันธ์

(อาจารย์ ดร.พรพันธ์ ภู่อ้อมพันธ์)

ประธานอาจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพืชสวน

๑๙

เรียน คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

เพื่อโปรดพิจารณา

๑๙

ศาสตราจารย์ ประวิตร ทุทยานนท์  
คณบดีคณะผลิตกรรมการเกษตร

๕ 6 มี.ค. ๒๕๕๗

คณะผลิตกรรมการเกษตร  
เลขที่ ๐๐๑๑ เวลา ๑๔.๒๔ น.  
วันที่ ๓ มี.ค. ๒๕๕๗

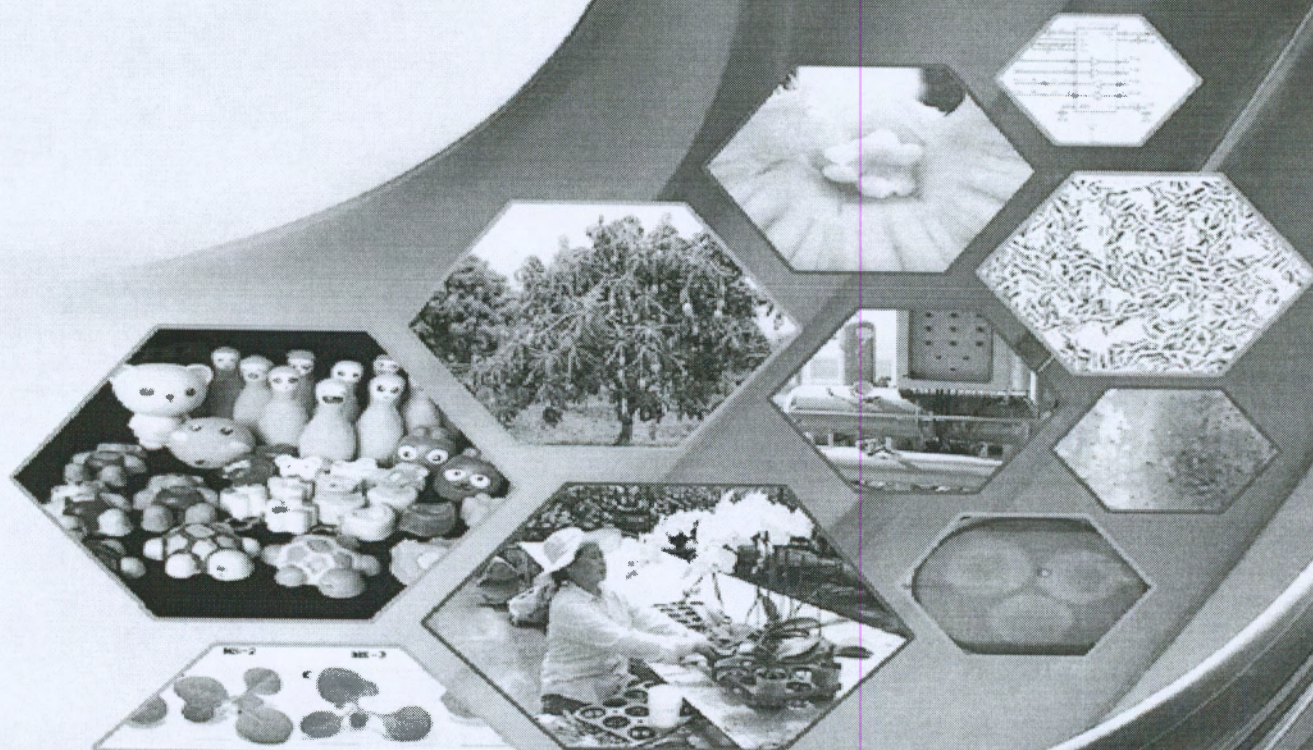
คณบดีคณะผลิตกรรมการเกษตร  
เลขที่ ๐๐ ๒๓  
วันที่ ๕ มี.ค. ๒๕๕๗





# รายงาน

การประชุมวิชาการ ประจำปี 2556



ISBN 978-974-8445-53-3

3-4 ธันวาคม 2556

ณ ศูนย์การศึกษาและฝึกอบรมนานาชาติ  
สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร  
มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ภาคบรรยาย



## คำนำ

รายงานการประชุมวิชาการฉบับนี้ ได้จัดทำขึ้นเพื่อประกอบการประชุมวิชาการ ประจำปี 2556 ในวันที่ 3-4 ธันวาคม 2556 ณ ศูนย์การศึกษาและฝึกอบรมนานาชาติ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ โดยมีเป้าหมายเพื่อเป็นเวทีในการนำเสนอความก้าวหน้าด้านการวิจัยในสาขาวิชาการต่าง ๆ ตลอดจนแลกเปลี่ยนความคิดเห็นและความเคลื่อนไหวทางด้านวิชาการ ทั้งในปัจจุบันและอนาคต เนื้อหาของรายงานการประชุมวิชาการมีทั้งภาคบรรยายและภาคโปสเตอร์ รวมจำนวน 81 เรื่อง ทั้งนี้เอกสารรายงานการประชุมวิชาการฉบับนี้เป็นผลงานวิชาการภาคบรรยาย รวมทั้งสิ้น 47 เรื่อง ประกอบด้วย สาขาเกษตรศาสตร์ (พืชศาสตร์ ทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม สัตวศาสตร์) สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สาขาวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร และสาขาสังคมศาสตร์และมนุษยศาสตร์

สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร ขอขอบคุณวิทยากร นักวิจัย นักวิชาการ และผู้เข้าร่วมประชุมวิชาการในครั้งนี้ ขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิ และคณะกรรมการฝ่ายวิชาการที่เสียสละเวลาในการตรวจสอบผลงานวิชาการและให้ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ต่อนักวิจัย ตลอดจนคณะผู้จัดทำ บุคลากร และหน่วยงานที่ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุนงบประมาณในการดำเนินงานในครั้งนี้ หวังเป็นอย่างยิ่งว่าเอกสารเล่มนี้คงจะเป็นประโยชน์ต่อการวิจัยของไทยและผู้สนใจทั่วไป



(รองศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ ชำมสี)

ผู้อำนวยการสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร

ประธานคณะกรรมการดำเนินงาน

การประชุมวิชาการ ประจำปี 2556



## สารบัญ

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | หน้า        |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>ผลงานทางวิชาการภาคบรรยาย</b>                                                                                                                                                                                                                                                                 |             |
| <b>สาขาเกษตรศาสตร์: พืชศาสตร์</b>                                                                                                                                                                                                                                                               | <b>1-90</b> |
| การศึกษายีนใหม่ที่ควบคุมลักษณะการแสดงเพศดอกของแคงกวาสำหรับการพัฒนาพันธุ์ลูกผสม<br>ต้นหนา วิชรัตน์ จานุลักษณ์ ธิษณดี วราภรณ์ แสงทอง และทวีป เสน่คำวงศ์                                                                                                                                           | 1           |
| การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของการแสดงเพศดอกและสีหนามในแคงกวา<br>ศุภฤติ เหล่าสิทธิ์ เรืองชัย จูวัฒน์สำราญ วราภรณ์ แสงทอง<br>พรพันธ์ ภูพร้อมพันธ์ และต้นหนา วิชรัตน์                                                                                                                             | 9           |
| การจำแนกข้าวหอมที่ปลูกในพื้นที่หมู่บ้านแม่เตาไฟ ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่<br>ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์<br>นวัศ ศิริเกษม ศุภระกัญจน์ ศรีบุญ เรืองชัย จูวัฒน์สำราญ<br>และพรพันธ์ ภูพร้อมพันธ์                                                                           | 18          |
| อิทธิพลของเสียงที่มีผลต่อความว่องไวของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในต้นกล้วย<br>ชัยภรณ์ ชันคีติธร และศุภิมา คงจัญญ                                                                                                                                                                                      | 26          |
| บทบาทของเชื้อราออบสคูลารีไมคอร์ไรซาและระดับ pH ของดิน ต่อการดูดใช้ฟอสฟอรัส<br>และสังกะสีของข้าวไร่<br>ภรเพชร ศรีสร้อย และศุภจิตา อำทอง                                                                                                                                                          | 35          |
| ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดโดยเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล เอส เอส อาร์<br>เศรษฐา ศิริพันธ์ และมัลลิกา จินดาสิงห์                                                                                                                                                              | 27          |
| อัตราพันธุกรรมลักษณะองค์ประกอบกรดไขมันในเมล็ดถั่วเหลืองของประชากรสายพันธุ์แท้<br>พรพันธ์ ภูพร้อมพันธ์ และเรืองชัย จูวัฒน์สำราญ                                                                                                                                                                  | 54          |
| การทดสอบเสถียรภาพผลผลิตของสายพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดหอมในจังหวัดเชียงใหม่<br>เรืองชัย จูวัฒน์สำราญ และสุภัทรี ปัญญา                                                                                                                                                                               | 63          |
| ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์ยาสูบเบอร์เลย์ พันธุ์พื้นเมือง และพันธุ์ป่า<br>โดยเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล เอส เอส อาร์<br>เศรษฐา ศิริพันธ์ ภาวิน อธิธิรส และศูนย์ความเป็นเลิศทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร<br>สำนักพัฒนามันคิดและวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี<br>สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา | 71          |



การจำแนกข้าวหอมที่ปลูกในพื้นที่หมู่บ้านแม่เตาไห ตำบลหนองหาร  
อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์  
Genetic Diversity of Aroma Rice Growing in Ban Mae Tao Hai Village  
Nong Han, Sansai, Chiang Mai using SSR Markers

นเรศ ศิริเกษร<sup>1</sup>, ศุภระกาญจน์ ศรีบุญ<sup>1</sup>, เรืองชัย จิววัฒนาสาธิต<sup>2</sup> และพรพนธ์ กุ์พร้อมพันธ์<sup>1</sup>

Nares Sirigasorn<sup>1</sup>, Sukrakarn Sriboon<sup>1</sup>, Ruangchai Juwattanasomran<sup>2</sup>

and Pornpan Pooprompan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>หลักสูตรสาขาศาสตร์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

<sup>2</sup>หลักสูตรสาขาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

<sup>1</sup>Program in Horticulture, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

<sup>2</sup>Program in Agronomy, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

\*Corresponding author: Nares@mjpu.ac.th and Naresmaejo@hotmail.com

บทคัดย่อ

การจำแนกพันธุ์และการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับโมเลกุล เป็นเทคนิคที่สำคัญสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าว ในปัจจุบันเครื่องหมายโมเลกุลเป็นเครื่องมือที่มีความจำเป็นในการจำแนกและคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะตามต้องการ วัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ของตัวอย่างข้าวหอมที่ปลูกในท้องที่หมู่บ้านแม่เตาไห ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ในการศึกษาได้จำแนกข้าวนาสวนพันธุ์แนะนำ 15 พันธุ์ ข้าวพันธุ์ไร่ในเบอริ์และข้าวพันธุ์ กข51 ที่เก็บรวบรวมจากเกษตรกร ร่วมกับตัวอย่างพันธุ์ข้าวหอมที่เก็บมาจากหมู่บ้านแม่เตาไห 4 ตัวอย่าง การเปรียบเทียบพันธุกรรมโดยคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ของ Dice นำมาสร้างแผนภูมิโดยวิธี unweighted pair group method with arithmetic averages (UPGMA) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NTSYS-pc version 2.0 จากการใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์ 21 เครื่องหมาย มี 8 เครื่องหมายที่แสดงความแตกต่างกัน จำนวน 31 อัลลิล เฉลี่ย 3.8 อัลลิลต่อหนึ่งตำแหน่ง ซึ่งมีข้อมูลเพียงพอที่จะนำมาจำแนกพันธุ์กรรมข้าวที่ศึกษาเหล่านี้ ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมของข้าวหอม 4 ตัวอย่าง และพันธุ์แนะนำมีค่าอยู่ระหว่าง 0.23 ถึง 1.00 ตัวอย่างข้าวที่นำมาศึกษาถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มย่อย ข้าวหอมเดียวกันกับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และข้าวขาวดอกมะลิ 105 การศึกษาครั้งนี้สามารถจำแนกข้าวพันธุ์แนะนำได้อย่างชัดเจน และเป็นข้อมูลที่จะนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวที่สามารถปรับตัวได้ดีในพื้นที่

คำสำคัญ: ข้าว การจำแนกพันธุ์ เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ ข้าวหอม



## Abstract

Varietal identification and genetic diversity at molecular levels are importance techniques for rice breeding. Up to date molecular markers are a valuable tool in identification and selecting rice for traits of interest. The objective of this research was to study genetic diversity and genetic relatedness using SSR markers of aroma rice sample growing in Ban Mae Tao Hai village, Nong Han, Sansai, Chiang Mai. In the present study, 15 released varieties of low land rice, 1 rice berry variety and RD51 collected from farmer including 4 samples of aroma rice collected from Ban Mae Tao Hai village were identified. Pair-wise comparison of genotypes was calculated as per the procedure of Dice. Dendrogram was constructed using unweighted pair group method with arithmetic averages (UPGMA) using the computer program NTSYS-pc Version 2.0. Among 21 SSR markers screened, 8 were polymorphic and gave totally of 31 alleles with average 3.8 alleles per locus, as well as informative enough to identify these genotypes. The coefficient of genetic similarity within varieties and 4 aroma rice samples were from 0.23 to 1.00. The samples was grouped into the subgroup of aroma rice, as same as Pathomtani1 and KhaodawkMali 105. This study could also clearly identify released varieties and this information is very useful for rice breeding of adapted at growing region.

**Keywords:** rice, identification, SSR, aroma rice

## คำนำ

ประเทศไทยมีแหล่งพันธุ์กรรมข้าวที่หลากหลาย การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าวเป็นรากฐานที่สำคัญในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ได้ข้าวพันธุ์ดี ผลผลิตสูงและมีลักษณะตามต้องการ ยิ่งเชื้อพันธุกรรมข้าวมีฐานทางกรรมพันธุ์ (genetic base) กว้างและแปรปรวนมากเท่าใด โอกาสที่จะได้ข้าวพันธุ์ดีตามวัตถุประสงค์จะเพิ่มขึ้น ดังนั้นการหาเชื้อพันธุกรรมใหม่จากแหล่งทรัพยากรพันธุ์ข้าวไทยเพื่อใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง การศึกษาครั้งนี้จึงเน้นสืบค้นเชื้อพันธุกรรมข้าวในลักษณะความหอม เพื่อใช้เป็นฐานพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว โดยได้นำข้าวที่ปลูกในท้องที่ บ้านแม่เตาไห ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่เกษตรกรเก็บพันธุ์ไว้ใช้เอง มีลักษณะเด่น คือ มีกลิ่นหอม มีคุณภาพการหุงต้มที่ดี และสามารถปรับตัวได้ดีกับสภาพพื้นที่ปลูก

การศึกษาคความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยเครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker) เป็นเครื่องมือที่นักปรับปรุงพันธุ์นำมาใช้ช่วยลดระยะเวลาและแรงงานในการคัดเลือกพันธุ์ เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ (simple sequence repeat) เป็นเครื่องหมายที่มีชุดเบสซ้ำ ได้แก่ ซ้ำสองเบส (di-nucleotide repeat) เช่น AT ซ้ำสามเบส (tri-nucleotide repeat) เช่น AAC และ ซ้ำสี่เบส (tetra-nucleotide repeat) เช่น GTAC เป็นต้น ซึ่งจำนวนซ้ำแต่ละตำแหน่งไม่เกิน 100 ครั้ง และอาศัยหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ มีข้อดีคือ เป็นเครื่องหมายโมเลกุลแบบซิม (co-dominant maker) กระจายทั่วทั้งจีโนมข้าว มีข้อมูลพื้นฐานที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ ซึ่งมีงานวิจัยที่นำเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์มาศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าว อาทิ Ram *et al.* (2007) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าว



พันธุ์ข้าว พันธุ์พื้นเมือง และพันธุ์ป่า ทั้งหมด 35 พันธุ์ โดยเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์จำนวน 25 เครื่องหมาย สามารถแยกกลุ่มข้าวได้ 5 กลุ่ม ส่วน Lapitan *et al.* (2012) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมข้าวฟิลิปปินส์จำนวน 24 พันธุ์ ใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์จำนวน 164 เครื่องหมาย สามารถจำแนกข้าวได้ 3 กลุ่ม เกษม และคณะ (2553) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าวหอมมะลิที่เก็บอนุรักษ์ในศูนย์ปฏิบัติการและเก็บเมล็ดเชื้อพันธุ์ข้าวแห่งชาติ จำนวน 213 accession โดยเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ จำนวน 32 เครื่องหมาย สามารถแบ่งข้าวออกได้เป็น 29 กลุ่ม

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (genetic diversity) ในลักษณะความหอมได้แก่ ข้าวนาสวนที่ได้รับการรับรองพันธุ์จากกรมการข้าว 15 พันธุ์ และข้าวหอมที่ปลูกในท้องที่บ้านแม่เตาโท ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่จำนวน 4 ตัวอย่างและศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน 1 พันธุ์ รวมทั้งข้าวที่เก็บรวบรวมจากเกษตรกร 1 พันธุ์

## อุปกรณ์และวิธีการ

### พันธุ์ข้าว

พันธุ์ข้าวนาสวนที่ใช้ในการศึกษาทั้งหมด 15 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ข้าวที่กรมการข้าวรับรองพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ปทุมธานี 1, ข้าวดอกมะลิ 105, กข 11, กข 15, กข 21, กข 25, กข 31, กข 3, กข 41, พิษณุโลก 2, สุพรรณบุรี 1, สุพรรณบุรี 2 และสุพรรณบุรี 3 ข้าวที่ยังไม่ได้รับการรับรองพันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์ไวซ์เบอร์รี่ (rice burry) ข้าวพันธุ์ กข 51 ที่เก็บรวบรวมจากเกษตรกร และข้าวหอม จำนวน 4 ตัวอย่างที่เก็บตัวอย่างจากท้องที่บ้านแม่เตาโท ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่

### การสกัดดีเอ็นเอ

ปลูกข้าวแต่ละพันธุ์ๆ ละ 20 กระถาง เก็บตัวอย่างใบอ่อนข้าวมาสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการของ Doyle and Doyle (1987) โดยสกัดดีเอ็นเอแยกกันในข้าวเตาโท ส่วนข้าวพันธุ์อื่น รวมทั้งดีเอ็นเอ จำนวน 20 พันธุ์ของแต่ละพันธุ์เข้าด้วยกันที่ความเข้มข้น 2,500 ng ตามวิธีการของ Michelmore *et al.* (1999) ละลายดีเอ็นเอด้วยการเติมนิวคลีอัส TE buffer 100 มล. ตรวจสอบความเข้มข้นดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสในรีนอะกาโรสความเข้มข้น 1% และย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ ส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ด้วยเครื่อง UV Transillumination ประเมินความเข้มข้นของดีเอ็นเอ โดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอตัวอย่างข้าวกับดีเอ็นเอมาตรฐานที่ 500, 300 และ 100 ng

จากนั้นปรับความเข้มข้นดีเอ็นเออีกครั้งให้ได้ความเข้มข้น 10 ng/μล. และประเมินความเข้มข้นดีเอ็นเอเปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐานที่ 14, 12 และ 10 ng

### ปฏิกิริยาพีซีอาร์

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวด้วยเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ จำนวน 21 เครื่องหมายดังแสดงใน Table 1 นาดีเอ็นเอของข้าวทั้งหมด 17 พันธุ์และตัวอย่างข้าวหอม 4 ตัวอย่าง มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ในปริมาตร 20 มล. ดังนี้ ดีเอ็นเอ (template) 10 ng/μล. 10xPCR buffer 1 มิลลิโมล dNTPs (invitrogen) 5 ไมโครโมลลาร์ Forward primer 5 ไมโครโมลลาร์



Reverse primer และ 5 Unit/ml. Taq DNA polymerase (Invitrogen) เพิ่มปริมาณพีซีอาร์ด้วยเครื่องพีซีอาร์ (biometra, T1 thermocycle) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้ pre-denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C นาน 1 นาที denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C นาน 30 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 55°C นาน 30 วินาที extension ที่อุณหภูมิ 72°C นาน 30 วินาที เพิ่มปริมาณ 32 รอบ และนำผลผลิตพีซีอาร์มาแยกแอมป์แอกติเอ็นเอบนเจลอะกาไรสความเข้มข้น 3% แล้วย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์โดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp DNA Ladder, Invitrogen) แล้วบันทึกภาพ

#### การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมข้าวจากไพรเมอร์ที่แสดงความแตกต่างทางพันธุกรรม (polymorphic) และวิเคราะห์ข้อมูลจากการปรากฏ และไม่ปรากฏของแอมป์แอกติเอ็นเอข้าวทั้ง 17 พันธุ์ จากนั้นใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NTSYS-pc version 2.0 (Rohlf, 1998) วิเคราะห์หาสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรม (similarity coefficient) จัดกลุ่มโดยใช้ SAHN Clustering และสร้าง dendrogram โดยใช้วิธี UPGMA

#### ผลการทดลองและวิจารณ์

##### ผลการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าวโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์

การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าวนาสวน โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ (SSR) จำนวน 21 เครื่องหมาย ผลการทดลองพบว่า มีเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์จำนวน 8 เครื่องหมาย ที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุกรรม (polymorphisms) อย่างชัดเจนคิดเป็น 38% ของไพรเมอร์ทั้งหมด ได้แก่ RM11, RM277, RM1, RM171, RM144, RM552, RM55 และ RM495 มีอัลลีลคือ 4, 4, 4, 3, 2, 6, 3 และ 5 อัลลีล ตามลำดับ และให้อัลลีลรวมทั้งหมด 31 อัลลีล คิดค่าเฉลี่ย polymorphic 3.8 แอมป์ไพรเมอร์ ดังแสดงใน Table 2

การศึกษความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าวหอม โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ที่กระจายทั่วทั้งจีโนมข้าว จำนวน 21 เครื่องหมาย และแสดงความแตกต่างระหว่างพันธุกรรม (polymorphisms) จำนวน 8 เครื่องหมาย คิดเป็น 38% ซึ่งมีข้อมูลเพียงพอที่จะนำมาจำแนกพันธุกรรมข้าวที่ศึกษา สามารถจัดกลุ่มข้าวหอมกับข้าวไม่หอมออกจากกันอย่างชัดเจน สำหรับการศึกษาครั้งต่อไป ควรใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุกรรม (polymorphisms) ให้มากที่สุดเพื่อความแม่นยำในการจัดกลุ่ม

##### การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมข้าว

เมื่อจัดกลุ่มพันธุ์ข้าวนาสวนโดยโปรแกรม NTSYS-pc แบบ SAHN Clustering และสร้าง dendrogram โดยใช้วิธี UPGMA สามารถจำแนกข้าวได้ 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม 1 สามารถแบ่งกลุ่มย่อยได้ดังนี้ 1a คือ เคาโ, ข้าวดอกมะลิ 105 และปทุมธานี 1; 2a คือ กข 47, พิษณุโลก 2, กข 41 (ศูนย์วิจัยข้าวสุพรรณบุรี) กข 41 (ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก) และสุพรรณบุรี 2; 3a คือ กข 31, สุพรรณบุรี 1, และสุพรรณบุรี 3 กลุ่ม 2 สามารถแบ่ง กลุ่มย่อยได้ดังนี้ 1b คือ ไร่ขีเบอร์รี่, กข 15 และ กข 33; 2b คือ กข 21 และ กข 25; 3b คือ กข 51 กลุ่ม 3 คือ กข 11 ดังแสดงใน Figure 2 การจัดกลุ่มทางพันธุกรรมสามารถแยกข้าวที่มีลักษณะความหอมกับข้าวไม่หอมอย่างชัดเจน ได้แก่ กลุ่มย่อย 1a คือ เคาโ, ข้าวดอกมะลิ 105 และปทุมธานี 1



เป็นข้าวที่มีลักษณะพันธุกรรมความหอมเหมือนกันทั้งสามพันธุ์ ส่วนพันธุ์ สุพรรณบุรี 1 สุพรรณบุรี 2 และ สุพรรณบุรี 3 จัดกลุ่มคนละกลุ่มกันเนื่องจากการสร้างคัสเต็มที่มีพันธุกรรมพ่อหรือแม่ที่ต่างกัน เมื่อวิเคราะห์ ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจึงจัดคนละกลุ่ม และพันธุ์ข้าว out group ที่ใช้เปรียบเทียบ ได้แก่ พันธุ์ กข 11 ดังนั้นเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ที่นำมาใช้ศึกษาครั้งนี้สามารถศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ในลักษณะความหอมของตัวแทนของกลุ่มตัวอย่างที่นำมาศึกษาครั้งนี้ได้

#### สรุปผลการทดลอง

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมข้าวนาสวนโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์จำนวน 21 เครื่องหมาย พบว่า เครื่องหมายที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุกรรมข้าวจำนวน 8 เครื่องหมายที่แสดงความแตกต่างกัน จำนวน 31 อัลลิลเฉลี่ย 3.8 อัลลิลต่อหนึ่งตำแหน่ง ซึ่งมีข้อมูลเพียงพอที่จะนำมาจำแนก พันธุกรรมข้าวที่ศึกษาเหล่านี้ ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมของข้าวหอม 4 ตัวอย่างและ พันธุ์แนะนำมีค่าอยู่ระหว่าง 0.23 ถึง 1.00 และชี้ได้ว่าข้าวหอมที่ปลูกในท้องที่บ้านแม่เตาไห ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ที่นำมาศึกษาถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มย่อยข้าวหอมเดียวกันกับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และข้าวชาวดอกมะลิ 105 ได้อย่างชัดเจน

#### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมูลนิธิวิจัยพัฒนา ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย และขอขอบคุณศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์ และศูนย์วิจัยข้าวสุพรรณบุรี ที่สนับสนุนเมล็ดพันธุ์ข้าวในการวิจัยครั้งนี้

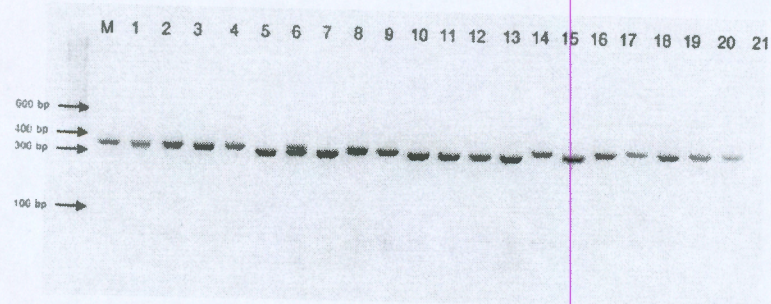
#### เอกสารอ้างอิง

- เกษม สุนทาวจาวย์ สมทรง โชติชื่น วาสนา พันธุ์เพ็งและวราพงษ์ ชมาภักษ์. 2553. ความหลากหลายทาง พันธุกรรมของข้าวหอมมะลิ บนฐานการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลและลักษณะทางสัณฐานวิทยา. น. 242-256. ในประชุมวิชาการกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาค ตะวันตก ประจำปี 2553. 22-23 กุมภาพันธ์ 2554 ณ โรงแรมเขาใหญ่แกรนด์วิว รีสอร์ท. ปราจีนบุรี.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissues. *Phytochem Bull.* 19:11-15.
- Michelmore, R.W., I. Paran and R.V. Kesseli. 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 88: 9828-9832.
- Lapitan, V.C., D.S. Brar, T. Abe and E.D. Redona. 2007. Assessment of genetic diversity of philippine rice cultivars carrying good quality traits using SSR marker. *Breeding Science* 57: 263-270.
- Ram, S.G., V. Thiruvengadam and K.K. Vinod. 2007. Genetic diversity among cultivars, landraces



And wild relatives of rice as revealed by microsatellite markers. *Appl Genet.* 48(4): 337-345.

Rohlf, F. J. 1998. NTSYS/PC, numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.02, Exter Software, Setauket, New York.



**Figure 1** Amplified product from genomic DNA of 17 rice cultivars using RM 177 primer. The lanes represent. M: 100 bp ladder, Tao hai/1, Tao hai/2, Tao hai/3, Tao hai/4, PathumThani 1, RD 31, RD 47, RD 41 (Phitsanulok), Phitsanulok 2, KhaoDawk Mali 105, SuphanBuri 1, SuphanBuri 2, SuphanBuri 3, RD 41 (SuphanBuri), Rice berry, RD 11, RD 15, RD 21, RD 25, RD 33 and RD 51



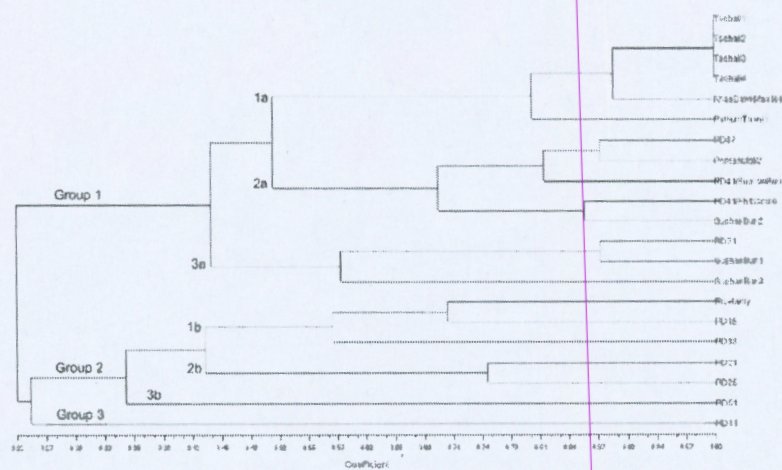
Table 1 Selected SSR markers used in this study

| Marker | Chromo<br>some | Forward Primer         | Reverse Primer              | Min<br>Allele | Max<br>Allele |
|--------|----------------|------------------------|-----------------------------|---------------|---------------|
| RM495  | 1              | aatccaagggtgcagagatgg  | caacgatgacgaacacaacc        | 148           | 160           |
| RM1    | 1              | gcgaaacacaaatgcacaaa   | gcgttgggtggacctgac          | 67            | 119           |
| RM283  | 1              | gtctacatgtaccttgttggg  | cggcatgagagtctgtgatg        | 130           | 176           |
| RM312  | 1              | glatgcatatttgataagag   | aagtcaccgagttfaccttc        | 86            | 106           |
| RM431  | 1              | tcctgcgaacgaagagtg     | agagcaaaacctgggtcac         | 233           | 261           |
| RM489  | 3              | acttgagacgatcggacacc   | tcacccatggatgtgtcag         | 223           | 289           |
| RM338  | 3              | cacaggagcaggagaagagc   | ggcaaacgatcactcagtc         | 178           | 184           |
| RM55   | 3              | cogtcgccgttagtagaag    | tcccggtattttaaggcg          | 216           | 247           |
| RM307  | 4              | gtactaccgacctaccgttcac | ctgctatgcatgaactgctc        | 116           | 191           |
| RM124  | 4              | atcgtctgcgttgcggctgctg | catggatcaccgagctccccc       | 257           | 289           |
| RM413  | 5              | ggcgattcttggatgaagag   | tccccaccaatctgtcttc         | 71            | 114           |
| RM454  | 6              | ctcaagcttagctgctgctg   | gtgatcagtgaccatagcg         | 249           | 292           |
| RM11   | 7              | tcctctctccccgatc       | atagcgggcgaggcttag          | 118           | 151           |
| RM118  | 7              | ccaatcgagaccacggagagc  | cacatcctccagcgacgcgag       | 149           | 165           |
| RM152  | 8              | gaaaccaccacacctcaccg   | ccgtagaccttctgaagtag        | 133           | 157           |
| RM284  | 8              | atctctgatactccatccatcc | cctgtacgttgatccgaagc        | 139           | 159           |
| RM171  | 10             | aacgcgaggacacgtacttac  | acgagatacgacgcctttg         | 307           | 347           |
| RM484  | 10             | tcctccctccaccattgtc    | tgctgccctctctctctc          | 286           | 298           |
| RM552  | 11             | cgcagtttggaattcagtg    | tgctcaacglttgactgtcc        | 167           | 258           |
| RM144  | 11             | tgccctggcgcaaatgtatcc  | gctagaggagatcagatggtagtgcag | 216           | 295           |
| RM277  | 12             | cggtaaatcatcaccigac    | caaggcttgcaagggaag          | 104           | 121           |



**Table 2** Polymorphic markers, minimum, maximum allele size (bp) and number of alleles of 17 rice cultivars including 4 samples of aroma rice

| Marker  | Chromosome | Min Allele | Max Allele | Number of alleles |
|---------|------------|------------|------------|-------------------|
| RM11    | 7          | 118        | 151        | 4                 |
| RM277   | 12         | 104        | 121        | 4                 |
| RM1     | 1          | 67         | 119        | 4                 |
| RM171   | 10         | 307        | 347        | 3                 |
| RM144   | 11         | 216        | 295        | 2                 |
| RM552   | 11         | 167        | 258        | 6                 |
| RM55    | 3          | 216        | 247        | 3                 |
| RM495   | 1          | 148        | 160        | 5                 |
| Total   |            |            |            | 31                |
| Average |            |            |            | 3.8               |



**Figure 2** Adendrogram of 21 rice cultivars created by using UPGMA computed from data matrix with 31 informative polymorphic DNA bands generated by 8 SSR primers