

การใช้เทคโนโลยีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อการพิสูจน์พันธุ์ข้าวไทยสายพันธุ์ใหม่

DNA Fingerprint of New Thai Rice Varieties

ศุภาวดี ง้อเหรียญ

หทัยรัตน์ อุไรรงค์

ณัฐหทัย เอพาณิช

รุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล

กลุ่มวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร

สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

บทคัดย่อ

การจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพันธุ์ข้าวไทย เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการพิสูจน์พันธุ์ข้าว และเพิ่มข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพันธุ์ข้าวลงในฐานข้อมูล โดยใช้เทคนิค microsatellite PCR เป็นวิธีการขยายยีนในส่วน of โครโมโซมที่มีลำดับเบสซ้ำๆ กัน ตั้งแต่ 2 – 6 เบส โดยที่จำนวนซ้ำแต่ละตำแหน่งไม่เกิน 100 ครั้ง และมีความหลากหลายของจำนวนซ้ำ จึงเรียก SSR (simple sequence repeats) ซึ่งพบกระจายอยู่ทั่วไปในโครโมโซม จึงสามารถนำมาใช้ในการจำแนกพันธุ์ข้าวได้ โดยใช้ microsatellite primer จำนวน 29 คู่ ได้แก่ RM001 RM003 RM011 RM017 RM020 RM021 RM055 RM105 RM120 RM131 RM149 RM153 RM157 RM165 RM168 RM174 RM202 RM206 RM208 RM209 RM210 RM212 RM213 RM214 RM218 RM239 RM247 และ RM248 ที่ติดฉลากด้วย สีฟลูออเรสเซนต์ และวิเคราะห์ผลด้วยเครื่องวิเคราะห์ลำดับพันธุกรรม ABI Prism 310 หรือ 377 ทำให้ได้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพันธุ์ข้าวไทยพันธุ์ใหม่ เพิ่มขึ้นอีก 18 พันธุ์ ประกอบด้วย ข้าวพันธุ์รับรอง 12 พันธุ์ ข้าวเจ้าเกษ 2 พันธุ์ ข้าวหอม 3 พันธุ์ และพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 เป็นตัวเปรียบเทียบ สามารถวิเคราะห์ขนาดของ PCR Product ที่ primer แต่ละคู่ไปจับได้ในข้าวแต่ละพันธุ์ ได้ทั้งหมด 29 ตำแหน่ง (loci) รวมข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้มีจำนวน 522 ข้อมูล (records) จากข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้ เมื่อนำไปวิเคราะห์ การกระจายตัวของ allele ในตำแหน่งต่างๆ 29 ตำแหน่ง พบว่า primer ที่ให้การกระจายตัวของลายพิมพ์ดีเอ็นเอมากที่สุดคือ RM021 รองลงมาคือ RM206 RM017 RM209 และ RM001 ซึ่งมีค่า standard deviation 17.28 16.24 12.29 12.12 และ 11.71 ตามลำดับ ส่วน primer ที่ให้การกระจายตัวของลายพิมพ์ ดีเอ็นเอน้อยที่สุดคือ RM239 RM214 RM165 RM153 และ RM120 ซึ่งมีค่า standard deviation 0.70 0.83 1.11 1.41 และ 1.79 ตามลำดับ และเมื่อนำข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพันธุ์ข้าว มาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยใช้โปรแกรม SPSS version 9.0 พบว่า สามารถแบ่งพันธุ์ข้าวไทยออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ กลุ่ม 1 ประกอบด้วยพันธุ์เจ้าเกษกาบเขียว เจ้าเกษกาบม่วง และสุรินทร์ 1 กลุ่ม 2 ซึ่งเป็นกลุ่มใหญ่ที่สุด ประกอบด้วยพันธุ์ สังข์หยด แก่นจันทร์ เข้มทอง บางแตน พัทลุง หอมนิล ชัยนาท 3 ลูกแดงปัตตานี และเหนียวอุบล 2 กลุ่ม 3 ประกอบด้วยพันธุ์หอมแดง ข้าวดอกมะลิ 105 หอมกุหลาบแดง ชัยนาท 2 เหนียวอุบล 1 และลิซอ จากข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพันธุ์ข้าวไทยทั้งหมดได้นำไปจัดเก็บไว้ในฐานข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพันธุ์ข้าวไทยในรูปของภาพ electropherogram และข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่แสดงในรูปของความยาว allele มีหน่วยเป็น basepair (bp) เก็บในรูปของตาราง excel เพื่อให้สะดวกต่อการนำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลต่อไป โดยสามารถนำข้อมูลและผลการวิเคราะห์ที่ได้ไปใช้ในการจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ข้าว และการตรวจการปลอมปนในข้าวสารได้