การสร้างเอกลักษณ์พันธุกรรมอ้อยโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมายชนิดไมโครแซทเทลไลท์

DNA Fingerprinting of Sugarcane Using Micro-satellite Marker

นางบุญเรือนรัตน์ เรืองวิเศษ[1]

นายวีรพล พลรักดี [2] นางสาวสุภาวดี ง้อเหรียญ[1] นางสาวรุ่งนภา พิทักษ์ตันสกุล [1]

(1) สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (2) ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

บทคัดย่อ

ตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเออ้อยจำนวน 96 สายพันธุ์ จากแหล่งรวบรวมพันธุกรรมอ้อยศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ด้วยเทคนิค simple sequence repeat (SSR) โดยใช้ไพรเมอร์ ชนิด microsatellite primer ของอ้อย จำนวน 16 ชนิด ได้แก่ MCSA175A08 MCS003B02 MCS015B03 MCSA062B06 MCSA223B07 MCSA176C01 MCSA077C02 MCSA176C03 MCS005C04 MCSA205C07 MCSA053C10 MCSA116D08 MCSA180E02 MCSA042E08 MCS014E10 MCSA175G03 MCSA068G08 YCS24.043 YCS02.047 และ YCS02.047 นำไปทดลองกับอ้อยจำนวน 8 สายพันธุ์ ได้แก่ ขอนแก่น1 ขอนแก่น 2 อู่ทอง 1 อู่ทอง 2 อีแห้ว อุดร ชัยนาท1 และ K86-161. สามารถคัดเลือกไพรเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับออ้อย 6 ชนิดได้แก่ได้แก่ MCSA223B07, MCSA176C03, MCSA205C07, MCSA116D08 MCSA180E02 และ MCSA175G03 นำไพรเมอร์ที่คัดเลือกได้มาตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเออ้อยจำนวน 96 สายพันธุ์ ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ นำมาตรวจวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยวิธีเจลอิเลคโตรโฟริซิสโดยใช้เจลชนิดพิเศษที่มีช่องว่างขนาดเล็กเรียกว่า metaphor agarose 2.5 % (metaphor agarose 3 ส่วน : agarose 1 ส่วน) เพื่อทราบขนาดของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ปรากฏในแต่ละสายพันธุ์ อ่านค่าแถบดีเอ็นด้วยสายตาโดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานที่ทราบขนาดชนิดที่มีความละเอียดสูง (phiX174 DNA/*Hinf* I Markers) ซึ่งสามารถอ่านแถบดีเอ็นเอได้ตั้งแต่ขนาด 24-726 คู่เบส นำขนาดชิ้นดีเอ็นเอที่ได้มาวิเคราะห์หารูปแบบความสัมพันธ์ของอ้อยในรูปแบบ Phylogenetic tree ด้วยโปรแกรม SPSS Version 9.0 จากการตรวจสอบพบว่าดีเอ็นเอของอ้อยมีความแตกต่างกัน โดยมีขนาดของแถบดีเอ็นเอตั้งแต่ 100 คู่เบสจนถึง 400 คู่ สามารถนำมาวิเคราะห์จัดกลุ่มของอ้อยได้ พบว่าสามารถแบ่งพันธุ์อ้อยที่ใช้ในการทดลองออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยพันธุ์ BO 14, C 87 – 51, CO 678, NCO 293, PHILL 56 – 226, PHILL 65 – 33, RAGNAR, PR 1016, PR 3067, Q 115, Q 120, ROC 6, ROC 7, ROC 9, SP 71 – 6180, SP 75 – 8110 กลุ่มที่ 2 SP 77 – 102, TRITON, TUC 74 – 6, TUC 1149, US 65 – 4, US 65 – 5, US 66 - 3 – 1, K 76 – 103, K 76 – 4, K 84 – 200, K 84 – 69, K 88 – 65 และ K 88 – 87 กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยพันธุ์ SP 77 – 102, TRITON, TUC 74 – 6, TUC 1149, US 65 – 4, US 65 – 5, US 66 - 3 – 1, K 76 – 103, K 76 – 4, K 84 – 200, K 84 – 69, K 88 – 65 และ K 88 – 87 กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยพันธุ์ K 88 – 92, LF 00 –

1245, A 2, K 90 – 54, K 90 – 77 และ KU 50 กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยพันธุ์ LP 5, LP 9, UT 1, UT 2, UDON, 85 - 2 – 352, CO, CHAINAT, EHEAW, K 86 – 161, 83 - 2 – 88, UT 3, UT 4, KK 1, 92 - 2 – 048, 93 - 4 – 106, 93 - 4 -191, 93 - 4 – 149, 94 - 2 – 483 และ 95 - 2 – 156 กลุ่มที่ 5 เป็นกลุ่มที่ใหญ่ที่สุดประกอบด้วยพันธุ์ LK 92 – 11, LK 92 – 17, LK 92 – 17, K 95 – 283, K 94 – 13, TBY - 20 – 0291, TBY - 2 0 – 2196, F 172, KWT 7, 1025 , 1057, อ้อยเคี้ยว จ.น่าน, UT แดง 1, อ้อยพระราชทาน, RE 92 x ROC 1 – 5, 92 - 2 – 083, 92 - 2 -043, 88 - 2 -069, 82 - 2 -401, ชัยภูมิ 1, ชัยภูมิลำใหญ่ 2, ชุมพร 2, พระราชทาน 2, อ.บ้านโคก, อ.หนองเรือ, K 84 - 200 x SUPER SPON, 001 SPON CP, K 8374 x อ้อยพงษ์, อ้อยพงษ์ x K 8374 F 1, SPON 002 F 1 x K84 – 200, CO 331, MACOS, JA 75, SP 72, K 92 – 60, BALADI, 1279, แยลโลสตริบ, หยวนเจียง, กระบองเจย และ UT 6 จากข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้สามารถนำไปประกอบการตัดสินใจในการปรับปรุงพันธุ์ เก็บข้อมูลไปใช้ประกอบการจำแนกพันธุ์ได้โดยเป็นข้อมูลจำเพาะของแต่ละสายพันธุ์และใช้ประกอบการจดทะเบียนพันธุ์ได้