

# รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

## เรื่อง

การพัฒนา multiplex PCR เพื่อบ่งชี้ลักษณะเด่นในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวพื้นเมือง  
Development of multiplex PCR for indication of characteristics of indigenous rice

## คณะนักวิจัย

ศ.ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา

ดร.สุชุมล หวานแก้ว

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดิน

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2560 รหัสโครงการ SCI601435S

1. ชื่อโครงการวิจัย การพัฒนา multiplex PCR เพื่อบ่งชี้ลักษณะเด่นในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวพื้นเมือง

Development of multiplex PCR for indication of characteristics of indigenous rice

2. คณะนักวิจัย

1.) ศ.ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา

หัวหน้าโครงการวิจัย

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพโมเลกุลและชีวสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

2.) ดร.สุชมาล หวานแก้ว

ผู้ร่วมวิจัย

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพโมเลกุลและชีวสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

## สารบัญ

กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อ	ii
Abstract	iii
บทนำ	1
วัตถุประสงค์โครงการวิจัย	2
การตรวจเอกสาร	3
วิธีการทดลอง	4
ผลการทดลองและวิจารณ์	6
สรุปผลการทดลอง	9
เอกสารอ้างอิง	10
ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยต่อไป	11
ภาคผนวก	12

## สารบัญภาพ

รูปที่ 1 แลบทีเอ็นเอที่แสดงถึงจีโนมไทป์ที่มีผลกับลักษณะความไวต่อช่วงแสง เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง และความหอม เทียบกับพีโนไทป์ของข้าวแต่ละสายพันธุ์	8
รูปที่ 2 แลบทีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR แยกไพรเมอร์ (A) การทำ multiplex PCR ก่อนปรับปริมาณไพรเมอร์ (B) และหลังปรับปริมาณไพรเมอร์ (C)	9

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยเพื่อสร้างนวัตกรรม จากเงินงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปีงบประมาณ 2560 รหัสโครงการ SCI601435S และได้รับความอนุเคราะห์และจัดหาเมล็ดพันธุ์ข้าวพื้นเมืองสำหรับใช้ในงานวิจัย จากศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง และดร.เกษศิรินทร์ รัทจร อาจารย์ประจำสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ คณะผู้วิจัยจึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

ศ.ดร.อมรรัตน์ พงศ์ดารา

ดร. สุขุมล หวานแก้ว

คณะผู้วิจัย

## บทคัดย่อ

ในงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวนั้น เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ส่งผลต่อการทำงานของยีนได้เข้ามาเป็นทางเลือกในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวอย่างมีประสิทธิภาพ ปัจจุบัน ได้มีการรายงานเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีผลต่อความไวต่อช่วงแสง สีของเยื่อหุ้มเมล็ด และความหอมซึ่งเป็นลักษณะที่สำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเอาไว้เรียบร้อยแล้ว ในงานวิจัยฉบับนี้ได้มุ่งเน้นที่จะพัฒนา multiplex PCR เพื่อวิเคราะห์หาลักษณะจีโนไทป์ของยีน *RFT1*, *Rc* และ *BADH2* ที่มีผลต่อการไม่ไวต่อช่วงแสง สีแดงของเยื่อหุ้มเมล็ด และความหอม ตามลำดับ จากการประเมินหาอัลลีลที่มีผลต่อการไม่ไวต่อช่วงแสง สีแดงของเยื่อหุ้มเมล็ด และความหอม ในข้าวพื้นเมือง พบว่า มีอัลลีลเหล่านั้นมีอยู่ในประชากรข้าวพื้นเมือง และส่งผลให้เกิดการแสดงลักษณะดังที่คาดไว้ จึงได้นำเครื่องหมายดีเอ็นเอบนยีนเหล่านี้มาพัฒนาเป็น multiplex PCR ซึ่งทำให้ได้วิธีการบ่งชี้ลักษณะดังกล่าวที่มีประสิทธิภาพ ช่วยลดค่าใช้จ่าย และช่วยย่นระยะเวลาได้อย่างมาก วิธีการนี้จะ เป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยเฉพาะข้าวพื้นเมืองอย่างมาก

## Abstract

In rice breeding program, functional markers are the effective choices for desired plant selection. Three functional markers for photoperiod sensitivity, seed coat color and fragrance have been reported. In this study, a multiplex PCR genotyping method was developed to identify genotypes of *RFT1*, *Rc* and *BADH2* genes responded to photoperiod sensitivity, seed coat color, and fragrance, respectively. The alleles affecting photoperiod insensitivity, red seed coat and fragrance were evaluated in indigenous rice. The result shows that the desired alleles can be found in indigenous rice and responded to the traits. The multiplex PCR assay of these functional genes was developed. This multiplex PCR method provides a rapid and efficient method for detecting photoperiod sensitivity, seed coat color, and fragrance related genes, which will be useful for rice breeding program.