

การจำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมในข้าวโพดข้าวเหนียว โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานและเครื่องหมายอาร์เอพีดี

Identification of genetic diversity in waxy corn using morphological traits and RAPD markers

วันเพ็ญ ชลอเจริญยิ่ง¹, พลัง สุริหาร^{1*}, กมล เลิศรัตน์¹, และ จิรวัดน์ สนิทชน¹

Wanpen Chalorchaoenyong¹, Bhalang Suriharn^{1*}, Kamol Lertrat¹, and Jirawat Sanitchon¹

บทคัดย่อ: การจำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรม เป็นขั้นตอนสำคัญ ที่จะนำไปสู่ความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์พืช วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อจัดกลุ่มของข้าวโพดข้าวเหนียว โดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน และใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี นำข้าวโพดข้าวเหนียว 10 สายพันธุ์/พันธุ์ ปลูกทดสอบในฤดูฝน ระหว่างเดือนพฤษภาคม 2551 ถึง สิงหาคม 2551 และ ฤดูหนาว ระหว่างเดือน พฤศจิกายน 2551 ถึง กุมภาพันธ์ 2552 ณ หนองพิกัด มหาวินิจฉัยขอนแก่น จัดกลุ่มพันธุ์ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน ทั้งหมด 6 แบบ ประกอบด้วย 1) จัดกลุ่มโดยใช้ลักษณะทั้งหมด 2) น้ำหนักผลผลิตฝักสดทั้งเปลือก 3) น้ำหนักผลผลิตฝักสดเปลือกเปลือกล้างแล้ว 4) น้ำหนักผลผลิตฝักสดทั้งเปลือกและเปลือกเปลือก 5) องค์ประกอบผลผลิต และ 6) ลักษณะทางการเกษตร ตาม Ward's minimum variance โดยใช้โปรแกรม SAS Proc CLUSTER and TREE และจัดกลุ่มพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี จำนวน 10 โพรเมอร์ จากการศึกษาการจัดกลุ่ม โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานทั้งหมด 6 แบบ พบว่า สามารถจำแนกกลุ่มได้ 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 4 พันธุ์ ดังนี้ 101 204 209 และ 216 และ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 6 พันธุ์ ดังนี้ BW NS SLE 919W RT และ DL ส่วนการจัดกลุ่มพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี พบว่า สามารถจัดกลุ่มและแยกความแตกต่างได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยพันธุ์ 101 204 และ 209 กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 216 BW NS และ SLE กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย 919W RT และ DL ซึ่งสามารถใช้ประโยชน์การจำแนกกลุ่มพันธุ์ในครั้งนี้ในการกำหนดกลยุทธ์ในการปรับปรุงพันธุ์ เพื่อวางแผนในการคัดเลือกสายพันธุ์และการสร้างพันธุ์ลูกผสม

คำสำคัญ: การปรับปรุงพันธุ์พืช, การจัดกลุ่มพันธุ์, ข้าวโพดข้าวเหนียว

Abstract: Identification of genetic diversity and resource is an important step leading to succeed in plant breeding. The objective of this study was to classify glutinous or waxy corn cultivars into distinct groups, using of morphological traits and RAPD markers. Ten glutinous corn cultivars were evaluated in two seasons (in the rainy season during May-August 2008 and dry season during November 2008-February 2009 at the Experimental Farm of Khon Kaen University. Grouping of glutinous corn cultivars, based on morphological traits, was carried out in using six different methods or data categories: 1) all morphological traits, 2) un-husked fresh ear yield, 3) husked fresh ear yield, 4) both husked fresh ear yield and un-husked fresh ear yield, 5) yield components 6) agronomic traits of Ward's minimum variance. Grouping of these corn cultivars, based on RAPD markers with ten primers, was also carried out. All calculations were done using cluster and tree functions in SAS Proc CLUSTER and TREE. Grouping based on 6 categories of morphological traits could classify the corn cultivars into two following distinct clusters:

¹ ภาควิชาพืชศาสตร์ และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

Department of Plant Science and Agricultural Resources, Faculty of Agricultural, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

* Corresponding author: sphala@kku.ac.th

1) 101, 204, 209 and 216 2) BW, NS, SLE 919W, RT and DL. Grouping based on RAPD markers could divide the corn cultivars into three following distinct groups: 1) 101, 204 and 209, 2) 216, BW, NS and SLE 3) 919W, RT and DL. This classification could be useful for determining breeding strategies aiming to extracting inbred lines and making experimental crosses.

Keywords: plant breeding, cluster analysis, glutinous or waxy corn

คำนำ

ข้าวโพดข้าวเหนียว (waxy corn or glutinous corn) เป็นข้าวโพดรับประทานฝักสดที่ได้รับความนิยมบริโภคของคนไทยมาช้านาน มีการผลิตและจำหน่ายในตลาดท้องถิ่นทั่วประเทศตลอดทั้งปี นอกจากประเทศไทยแล้วข้าวโพดข้าวเหนียวยังนิยมบริโภคในแถบทวีปเอเชีย ซึ่งเป็นตลาดที่มีขนาดใหญ่ เช่น จีน เวียดนาม ใต้หวัน และเกาหลีใต้ เป็นต้น การคัดเลือกพันธุ์/สายพันธุ์ ที่เหมาะสม และแบ่งกลุ่มเพื่อพัฒนาสายพันธุ์ให้เป็นสิ่งสำคัญที่กำหนดความสำเร็จในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์พืช (Melani and Carena, 2005) ซึ่งสามารถนำไปออกแบบโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ได้ และสามารถเพิ่มประสิทธิภาพก่อนสร้างคู่ผสม เพื่อประหยัดเวลา และค่าใช้จ่ายได้ การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชสามารถทำได้ โดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานในการพิจารณา และในปัจจุบันความก้าวหน้าทางด้านชีวโมเลกุลมีความก้าวหน้าไปมาก สามารถใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์พืช และมีงานหลายงาน ที่ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการจัดกลุ่มพันธุ์ของข้าวโพด Sun et al., (2001) และ Enoki et al., (2002) ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อจัดกลุ่มของข้าวโพดข้าวเหนียวโดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน และเครื่องหมายอาร์เอฟดี

วิธีการศึกษา

ข้าวโพดข้าวเหนียวที่ใช้ในการศึกษานี้ มีทั้งหมด 10 สายพันธุ์พันธุ์ (Table 1) ในจำนวนนี้ทราบประวัติพันธุ์ที่มา 5 สายพันธุ์พันธุ์ คือ 101 204 209 216 และ 919W (Figure 1) นำข้าวโพดข้าวเหนียว

ทั้งหมด 10 สายพันธุ์พันธุ์ ปลูกทดสอบ ณ แปลงทดลอง หมวดพืชผัก คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในฤดูฝน ระหว่างเดือนพฤษภาคม 2551 ถึง สิงหาคม 2551 และฤดูหนาว ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2551 ถึง กุมภาพันธ์ 2552 โดยการวางแผนการทดสอบแบบสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Complete Block) 3 ซ้ำ ปลูกพันธุ์ละ 2 แถวต่อซ้ำ แถวยาว 5 ม. ระยะปลูก 80 x 25 ซม. แถวละ 2 หลุม หยอดเมล็ดหลุมละ 2 เมล็ด และทำการเก็บเกี่ยวข้าวโพดฝักสดหลังจากที่ข้าวโพดผสมเกสร ประมาณ 18-20 วัน การบันทึกข้อมูลประกอบด้วย น้ำหนักผลผลิตทั้งเปลือก (กก./ไร่) น้ำหนักผลผลิตปอกเปลือก (กก./ไร่) ความยาวฝัก (ซม.) ความกว้างฝัก (ซม.) อายุปลอຍละของเกสร (วัน) อายุออกไหม (วัน) ความสูงต้น (ซม.) และความสูงฝัก (ซม.)

การศึกษาในครั้งนี้ แบ่งออกเป็น 2 การศึกษา คือ

- 1) การจัดกลุ่มพันธุ์โดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน และ
- 2) การจัดกลุ่มพันธุ์ โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอฟดี

การจัดกลุ่มพันธุ์โดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน

การจำแนกกลุ่มพันธุ์โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานทั้งหมด 8 ลักษณะโดยวิธีวิเคราะห์กลุ่ม (cluster analysis) ตามหลักการของ Ward's minimum variance โดยใช้โปรแกรม SAS Proc CLUSTER and TREE (SAS Institute, 1996) ซึ่งมีการจัดกลุ่มพันธุ์พ่อแม่ทั้งหมด 6 แบบ ประกอบด้วย 1) จัดกลุ่มโดยใช้ลักษณะทั้งหมด 2) น้ำหนักผลผลิตทั้งเปลือก 3) น้ำหนักผลผลิตปอกเปลือก 4) ผลผลิตทั้งเปลือกและปอกเปลือก 5) องค์ประกอบผลผลิต (ความยาวฝักและความกว้างฝัก) และ 6) ลักษณะทางการเกษตร (อายุปลอຍละของเกสร อายุออกไหม ความสูงต้น และความสูงฝัก) ซึ่งในแต่ละวิธีการจัดกลุ่มบอกความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมภายในแต่ละกลุ่มของพันธุ์ด้วยค่า R-squared

Table 1 Waxy corn varieties/lines used in this study.

Varieties/lines	Variety type	Source
101Inbred line	Khon Kaen University	
204Inbred line	Khon Kaen University	
209Inbred line	Khon Kaen University	
216Inbred line	Khon Kaen University	
BigWhite852 (BW)	Single-cross hybrid	Hortigenetics Research (S.E. Asia) Company Limited
Neaw-Sawan (NS)	Single-cross hybrid	Bangkok Seeds Industry Company Limited
Samlee-Esarn (SLE)	Open-pollinated	Khon Kaen University
Khon Kaen Composite1 (919W)	Open-pollinated	Khon Kaen University
Ratchata (RT)	Open-pollinated	National Corn and Sorghum Research Center
Dalat (DL)	Open-pollinated	Vietnam

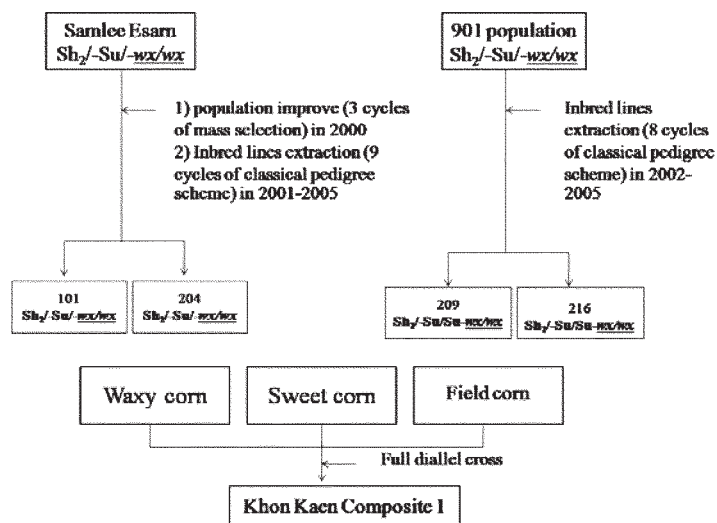


Figure 1 Pedigree of 101, 204, 209, 216, and 919W.

การจัดกลุ่มพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี

ทำการปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวทั้ง 10 สายพันธุ์/พันธุ์ (Table 1) ในกระเบเพาะเมื่อข้าวโพดมีอายุได้ 7 วัน ตัดใบอ่อนบริเวณยอดของต้นข้าวโพดมาสกัดดีเอ็นเอโดยใช้วิธีของ Dellaporta et al. (1983) ทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอ แล้วทำการคัดเลือกไพรเมอร์เพื่อใช้จัดกลุ่มพันธุ์ของข้าวโพดข้าวเหนียวโดยคัดเลือกดีเอ็นเอของข้าวโพดข้าวเหนียว 3 พันธุ์ จากทั้งหมด 10 สายพันธุ์/พันธุ์ เพื่อใช้เป็นตัวแทนในการตรวจสอบหาไพรเมอร์ที่เหมาะสม โดย

ใช้เทคนิคอาร์เอพีดี สามารถคัดเลือกไพรเมอร์ได้ 10 ไพรเมอร์ จาก 87 ไพรเมอร์ คือ OPA01 OPA06 OPA08 OPA09 OPA10 OPA12 OPB08 OPB15 OPB20 และ OPX18 ซึ่งมีองค์ประกอบของปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction ประกอบด้วย ดีเอ็นเอปริมาณ 25 นาโนกรัม 1X PCR buffer 3 mM MgCl₂ 0.3 mM dNTP 0.4 μM primer และ Taq DNA polymerase ปริมาณ 1 ยูนิต แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 15 μl ผสมองค์ประกอบต่างๆ ให้เข้ากันดี แล้วจึงนำไปเข้าเครื่อง DNA Thermal cycler (PCT-0100 operations version 8.0) โดย

ตั้งอุณหภูมิ 94 °ซ เป็นเวลา 2 นาทีเป็นเวลา 1 รอบ อุณหภูมิ 94 °ซ เป็นเวลา 1 นาที อุณหภูมิ 40 °ซ เป็นเวลา 1.45 นาที อุณหภูมิ 72 °ซ เป็นเวลา 2 นาที แล้วทำซ้ำจำนวน 47 รอบ ตามด้วยอุณหภูมิ 72 °ซ เป็นเวลา 2 นาที จำนวน 1 รอบ จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR มาตรวจสอบผลด้วย electrophoresis โดยใช้ agarose gel แล้วนำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ที่ได้ไปวิเคราะห์ความแตกต่าง บันทึกข้อมูลโดยตรวจดูตำแหน่งของการเกิดแถบดีเอ็นเอ และไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ ในแบบแผนลายพิมพ์ของข้าวโพดข้าวเหนียวแต่ละพันธุ์ บันทึกผลโดยใช้ระบบตัวเลข คือการปรากฏแถบดีเอ็นเอ ให้สัญลักษณ์เป็น 1 และไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ ให้สัญลักษณ์เป็น 0 โดยบันทึกข้อมูลทุกตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอแต่ละไพรเมอร์ที่ใช้ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างข้าวโพดข้าวเหนียวแต่ละพันธุ์ (genetic relationships) โดยอาศัยค่า similarity coefficient ของ Dice (Dice, 1945) แล้วนำค่า Similarity matrix ที่ได้มาวิเคราะห์ cluster analysis เพื่อทำการจัดกลุ่มสายพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวโดยใช้วิธี UPGMA (Unweighted pair-group method on the basis of arithmetic averages) จากโปรแกรม NTSYSpc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) version 2.10p

ผลการทดลองและวิจารณ์

การวิเคราะห์ความแปรปรวน

การวิเคราะห์ความแปรปรวนรวม (combine analysis) ของลักษณะผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต และลักษณะทางเกษตร (Table 2) จากผลการทดลอง พบว่าอิทธิพลของฤดูปลูกมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะน้ำหนักรวมผลผลิตเปลือก มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% สำหรับน้ำหนักรวมผลผลิตทั้งเปลือก ความกว้างฝัก ความยาวฝัก อายุปลอญละออเกษตร อายุออกใหม่ ความสูงต้น และความสูงฝัก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ส่วนปฏิกริยาสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างพันธุ์ทดสอบ และฤดูปลูก (variety x season) พบว่า ความยาวฝัก มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% สำหรับน้ำหนักรวมผลผลิตทั้งเปลือก น้ำหนักรวมผลผลิตเปลือก ความกว้างฝัก อายุปลอญละออเกษตร ความสูงต้น และความสูงฝัก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% แต่อายุออกใหม่ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

1) โดยใช้ลักษณะพื้นฐาน

จากการจัดกลุ่มโดยใช้ลักษณะทางพื้นฐาน 8 ลักษณะ ประกอบด้วย น้ำหนักรวมผลผลิตทั้งเปลือก

Table 2 Combine analysis of variance of ten waxy corn varieties in rainy season 2008 and dry season 2009.

Sources	df	Yields		Yield components		Agronomic traits			
		Husk weight	Husked weight	Ear diameter	Ear length	Tassel date	Silking date	Plant height	Ear height
		(kg rai ⁻¹)	(kg rai ⁻¹)	(cm)	(cm)	(days)	(days)	(cm)	(cm)
Season	1	1,579,179 ^{**}	958,786 [*]	0.99 ^{**}	79.82 ^{**}	4,403.27 ^{**}	4,860.00 ^{**}	1,5701 ^{**}	11,280.5 ^{**}
Varieties	9	961,306 ^{**}	418,570 ^{**}	2.08 ^{**}	46.18 ^{**}	18.49 ^{**}	14.97 ^{**}	9226 ^{**}	2,116.1 ^{**}
V x S	9	631,847 ^{**}	349,329 ^{**}	0.09 ^{**}	2.98 [*]	7.27 ^{**}	2.56 ^{ns}	239 ^{**}	149.2 [*]
Error	36	24,250	12,955	0.02	1.19	0.71	1.3	73.90	32.3
C.V. (%)		11.63	12.05	3.25	5.08	1.65	2.19	5.74	7.45

ns; non significant, *, ** Significantly different at the 0.05 and 0.01 levels of probability, respectively.

น้ำหนักผลผลิตปอกเปลือก ความกว้างฝัก ความยาวฝัก ความสูงต้น ความสูงฝัก วันออกดอก และวันออกใหม่ พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ สามารถจำแนกกลุ่มได้ 2 กลุ่ม (Figure 2(a)) โดยในแต่ละกลุ่มมีค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรม (R^2) เท่ากับ 0.803 กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 4 พันธุ์ คือ 101 209 204 และ 216 และ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 6 พันธุ์ คือ BW NS SLE 919W RT และ DL การจัดกลุ่มโดยใช้น้ำหนักผลผลิตทั้งเปลือกสามารถจำแนกกลุ่มได้ 2 กลุ่ม (Figure 2(b)) โดยในแต่ละกลุ่มมีค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรม (R^2) เท่ากับ 0.798 กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 4 พันธุ์ ดังนี้ 101 204 209 และ 216 และ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 6 พันธุ์ ดังนี้ BW SLE RT NS DL และ 919W การจัดกลุ่มโดยใช้น้ำหนักผลผลิตปอกเปลือกจำแนกกลุ่มได้ 2 กลุ่ม (Figure 2(c)) โดยในแต่ละกลุ่มมีค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรม (R^2) เท่ากับ 0.814 กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 4 พันธุ์ ดังนี้ 101 209 204 และ 216 และ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 6 พันธุ์ ดังนี้ BW NS SLE RT 919W และ DL การจัดกลุ่มโดยใช้น้ำหนักผลผลิตทั้งเปลือกและน้ำหนักผลผลิตปอกเปลือกจำแนกกลุ่มได้ 2 กลุ่ม (Figure 2(d)) โดยในแต่ละกลุ่มมีค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรม (R^2) เท่ากับ 0.803 กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 4 พันธุ์ ดังนี้ 101 209 204 และ 216 และ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 6 พันธุ์ ดังนี้ BW NS SLE RT 919W และ DL การจัดกลุ่มโดยใช้อัตราประกอบผลผลิต คือ ความกว้างฝักและความยาวฝัก สามารถจำแนกกลุ่มได้ 2 กลุ่ม (Figure 2(e)) โดยในแต่ละกลุ่มมีค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรม (R^2) เท่ากับ 0.887 กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 4 พันธุ์ ดังนี้ 101 209 204 และ 216 และ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 6 พันธุ์ ดังนี้ BW RT NS DL SLE และ 919W การจัดกลุ่มโดยใช้ลักษณะทางการเกษตร คือ ความสูงต้น ความสูงฝัก วันออกดอกและวันออกใหม่ สามารถจำแนกกลุ่มได้ 2 กลุ่ม (Figure 2(f)) โดยในแต่ละกลุ่มมีค่าความคล้ายคลึงทางพันธุกรรม (R^2) เท่ากับ 0.869 กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 4 พันธุ์ ดังนี้ 101 209 204 และ 216 และ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 6 พันธุ์ ดังนี้ BW 919W DL NS RT และ SLE

จากการจัดกลุ่มโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานทั้ง 6 แบบนั้นจำแนกกลุ่มได้ 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 มี 4 พันธุ์ ประกอบด้วย 101 204 209 และ 216 และ กลุ่มที่ 2 มี 6 พันธุ์ ประกอบด้วย BW NS SLE 919W RT และ DL ซึ่งเมื่อดูจากประวัติพันธุ์แล้ว พบว่า พันธุ์ 101 กับ 204 และ 209 กับ 216 ที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันเป็นพันธุ์ที่มีพ่อ และแม่ร่วมกัน

2) การจัดกลุ่มพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอฟตี การจัดกลุ่มพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอฟตีพบว่า สามารถจัดกลุ่มและแยกความแตกต่างได้เป็น 3 กลุ่ม (Figure 3) คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 101 204 และ 209 กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 216 BW NS และ SLE กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย 919W RT และ DL ซึ่งเมื่อดูจากประวัติพันธุ์นั้นสายพันธุ์แท้ 101 และ 204 สามารถจัดกลุ่มออกมาได้ถูกต้องตรงตามประวัติพันธุ์ และมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม (Figure 1) แต่สายพันธุ์แท้ 209 กับ 216 แยกกันอยู่คนละกลุ่ม ซึ่งดูจากประวัติพันธุ์แล้ว จัดกลุ่มได้ไม่ถูกต้อง แต่อย่างบางพันธุ์ เช่น สายพันธุ์แท้ 216 กับ BW มีความใกล้ชิดกันมาก ทั้งที่แหล่งที่มามาจากคนละที่ ซึ่งอาจจะเป็นไปได้เนื่องจากข้าวโพดข้าวเหนียวมีฐานพันธุกรรมแคบและ/หรือการจัดกลุ่มครั้งนี้ ใช้จำนวนโพรเมอร์เพียง 10 ชนิด ซึ่งอาจจะยังไม่ครอบคลุม ทำให้สามารถจัดกลุ่มได้ถูกต้องเพียงบางพันธุ์ เท่านั้น ซึ่งการศึกษาต่อไปควรมีการเพิ่มจำนวนโพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาให้มากขึ้น เพื่อจัดกลุ่มได้ถูกต้องมากกว่านี้ ในการจำแนกความแตกต่างกันทางพันธุกรรมของข้าวโพดข้าวเหนียวสายพันธุ์พ่อแม่ โดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาพันธุกรรมของข้าวโพด มีหลายงานทดลองที่สามารถแยกความแตกต่างกันทางพันธุกรรมของข้าวโพดได้ เช่น งานทดลองของ Sun et al. (2001) และ Enoki et al. (2002) เป็นต้น แต่ก็ยังมีรายงานว่าในบางการศึกษาพบว่า การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอไม่สามารถจำแนกความแตกต่างของสายพันธุ์พืชได้ (Warburton et al. 2005)

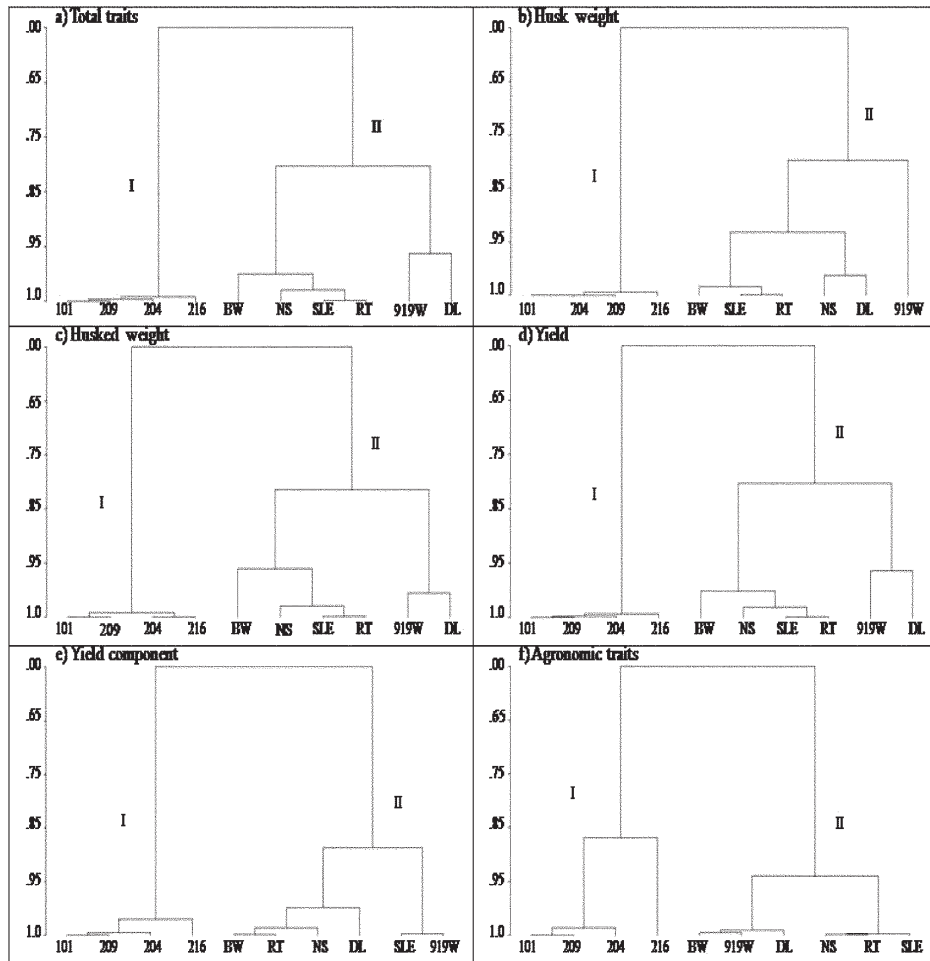


Figure 2 Dendrogram from clustering 10 varieties of waxy corn

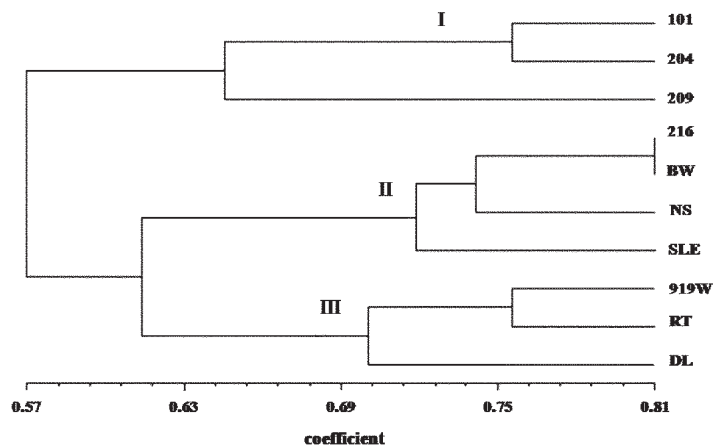


Figure 3 UPGMA dendrogram genetic distances of ten waxy corn varieties based

การเปรียบเทียบการจัดกลุ่มพันธุ์โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานกับเครื่องหมายอาร์เอพีดี

จากการใช้ลักษณะทางสัณฐานและเครื่องหมายอาร์เอพีดีในการจัดกลุ่มของข้าวโพดข้าวเหนียวทั้ง 10 สายพันธุ์/พันธุ์นั้น พบว่า การใช้ลักษณะทางสัณฐานในการจัดกลุ่มสามารถจัดกลุ่มพันธุ์ออกมาได้ถูกต้องมากกว่าการใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี และมีหลายงานทดลองที่ใช้ลักษณะทางสัณฐานแยกความแตกต่างกันทางพันธุกรรมของข้าวโพดได้ เช่น งานทดลองของทิพวรรณ (2552) การศึกษาครั้งนี้ พบว่า การจัดกลุ่มโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานให้ผลออกมาดีกว่าการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ แต่การใช้ลักษณะทางสัณฐานเป็นลักษณะขั้นต้นที่นำมาใช้ในการจำแนกพันธุ์ของพืชและมีข้อจำกัด คือ ลักษณะที่ตรวจสอบมักจะขึ้นกับสภาพแวดล้อมซึ่งอาจมีความผิดพลาดได้ บางครั้งต้องใช้ผู้ที่มีความชำนาญเป็นพิเศษและต้องมีวิธีที่บอกจีโนไทป์ที่ถูกต้องจากฟีโนไทป์ที่ตรวจสอบได้ (สุรินทร์, 2545) ต้องเสียเวลา และแรงงานในการปลูกทดสอบอีกด้วย ส่วนการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการจัดกลุ่มครั้งนี้ผลที่ออกมายังจัดกลุ่มได้ไม่ดีเท่าที่ควรสามารถจัดกลุ่มออกมาได้ถูกต้องเป็นบางกลุ่มพันธุ์เท่านั้น ทั้งนี้อาจเนื่องจากจำนวนไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ มีจำนวนน้อยเกินไป ดังนั้น ในการศึกษาครั้งต่อไป ควรเพิ่มจำนวนไพรเมอร์ที่ใช้ให้มากขึ้นกว่านี้ อย่างไรก็ตาม การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการจัดกลุ่ม มีข้อดีอยู่หลายประการด้วยกัน คือ ในการคัดเลือกพืชที่จะนำมาทำการทดลองสามารถทำได้ตั้งแต่ในระยะต้นกล้า โดยไม่ต้องรอการแสดงออกทางฟีโนไทป์ของพืช เพราะการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอนั้นไม่ถูกควบคุมการแสดงออกโดยสภาพแวดล้อม ไม่ขึ้นอยู่กับระยะการเจริญของพืช ทำให้สามารถตรวจสอบได้ทุกระยะเวลาของการเจริญเติบโต จึงทำให้สามารถลดระยะเวลาลดค่าใช้จ่ายและเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพที่ในแผนการปรับปรุงพันธุ์

สรุป

จากการจัดกลุ่มโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานทั้ง 6 แบบนั้น จำแนกกลุ่มได้ 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 4 พันธุ์ ดังนี้ 101 204 209 และ 216 และ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 6 พันธุ์ ดังนี้ BW NS SLE 919W RT และ DL ส่วนการจัดกลุ่มพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดีพบว่า สามารถจัดกลุ่มและแยกความแตกต่างได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 101, 204 และ 209 กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 216 BW NS และ SLE กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย 919W RT และ DL

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ศูนย์วิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน และห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนงานวิจัย ในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- ทิพวรรณ เบิกบานดี. 2552. การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวโพดข้าวเหนียวโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการตอบสนองต่อโรคคราบน้ำค้าง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวนบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.
- สุรินทร์ ปิยะโชคคณากุล. 2545. จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ: ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Dellaporta, S.L., J. Wood, and J.B. Hicks. 1983. A plant DNA miniprep: version II. Plant Molecular Biology Reporter 1: 19-21.
- Dice, L.R. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. Ecology 26: 297-302.

- Enoki, H., H. Sato, and K. Koinuma. 2002. SSR analysis of genetic diversity among maize inbred lines adapted to cold regions of Japan. *Theoretical and Applied Genetics* 104: 1270-1277.
- Melani, M.D. and M.J. Carena, 2005. Alternative maize heterotic patterns for the northern Corn Belt. *Crop Science* 45: 2186-2194.
- SAS Institute. 1996. *SAS User's Guide. Statistics.* SAS Inst., Cary, NC, USA.
- Sun, G.L., M. William, J. Liu, K. Kasha, and P. Pauls. 2001. Microsatellite and RAPD polymorphism in Ontario corn hybrids are related to the commercial sources and maturity ratings. *Molecular Breeding* 7: 13-24.
- Warburton, M.L., J.M. Ribaut, J. Franco, J. Crossa, P. Dubreuil, and F.J. Betrán. 2005. Genetic characterization of 218 elite CIMMYT maize inbred lines using RFLP markers. *Euphytica* 142: 97-106.