แก่นเกษตร 40 ฉบับพิเศษ : 156-162 (2555). KHON KAEN AGR. J. 40 SUPPLMENT : 156-162 (2012).

การคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่ให้เซลลูโลสสูงโดยใช้เทคนิค RAPD

Selection of rice varieties for high cellulose content using RAPD technique

ณัฐพร บุญเกิด[1] จรัสศรี นวลศรี[2] และ กิตติ สัจจาวัฒนา[1*]

Nattaporn Boonkerd[1] Charassri Naulsri[2] and Kitti Satjawattana[1*]

บทคัดย่อ: การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่ให้ปริมาณเซลลูโลสสูงโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล นำพันธุ์ข้าวปลูกและพันธุ์พื้นเมืองทั้งหมด 50 พันธุ์จากศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานีมาปลูกทดสอบ ณ แปลงวิจัยมหาวิทยาลัยพะเยา ปี 2553 วิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสของฟางข้าว และหาความแตกต่างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอในพันธุ์ข้าวที่ศึกษาโดยหาความสัมพันธ์ระหว่าง marker ที่มีแนวโน้มแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณเซลลูโลสต่างกันปริมาณเซลลูโลสโดยใช้เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNAs) และนำมาหาค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรม การคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 191 ไพรเมอร์พบว่า ไพรเมอร์ OPZ 19 (5’ GTGCGAGCCA 3’) แยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ข้าวที่ให้ปริมาณเซลลูโลสเฉลี่ยสูงและต่ำได้ ในการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมของข้าวโดยใช้เทคนิค RAPD ใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 7 ไพรเมอร์คือ OPD20, OPN16, OPR-21, OPZ19, OPZ20, OPAA15 และ OPB09 โดยให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 80 แถบ เฉลี่ย 11.43 แถบต่อไพรเมอร์ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกัน 74 แถบ หรือ 92.5 เปอร์เซ็นต์ หาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมโดยใช้วิธี UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average) สามารถแบ่งข้าวออกเป็น 4 กลุ่ม ซึ่งแยกพันธุ์ข้าวที่มีเซลลูโลสสูงกับเซลลูโลสต่ำออกจากกันอย่างชัดเจน จากการวิจัยในครั้งนี้ได้คัดเลือกข้าวพันธุ์หอมบาง (75.06 เปอร์เซ็นต์), ลาว (70.29 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งให้เซลลูโลสสูง และพันธุ์สามผิว (21.96 เปอร์เซ็นต์), แตงอ่อน (26.55 เปอร์เซ็นต์), กล่ำ (27.63 เปอร์เซ็นต์) ที่ให้เซลลูโลสต่ำ เพื่อนำไปหาการแสดงออกของยีนควบคุมปริมาณเซลลูโลสต่อไป และนำไพรเมอร์ที่ได้ไปพัฒนาหาไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อปริมาณเซลลูโลสเพื่อใช้เป็น DNA Marker ที่ใช้ในการคัดเลือกต่อไป

คำสำคัญ: เครื่องหมายโมเลกุล ปริมาณเซลลูโลสและค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรม

Abstract: This research aimed to select rice varieties for high cellulose content using molecular marker method. 50 rice varieties including local and cultivate varieties from Pathum Thani Rice Research Center were evaluated for high cellulose content and conducted at University of Phayao experimental field, 2009. Cellulose content from straw in laboratory analysis and RAPD technique (Random Amplified Polymorphic DNAs) were used to evaluate cellulose content of rice varieties. Out of 191 RAPD primers, 7 primers (OPD20, OPN16, OPR-21, OPZ19, OPZ20, OPAA15 and OPB09) Seventy amplification fragments were obtained from 7 primers with an average of 11.43 fragments for each primer. From all fragments, 84 were

[1] คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา จ. พะเยา 56000

School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao, Phayao 56000, Thailand.

[2] คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จ.สงขลา 90112

Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Songkla 90112, Thailand.

* Corresponding author: k_satjawattana@hotmail.com

polymorphic fragments (92.5%) The results showed that Dendrograms showing genetic similarities rice were constructed based on polymorphic bands of RAPD using UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average). Based on RAPD techniques, seventeen recommended clones could be separated into 4 groups. Similarity coefficients were used for cluster analysis. It was found that OPZ 19 (5' GTGCGAGCCA 3') primer can differentiate between low and high cellulose content of rice varieties. The results from the dendrogram revealed that rice varieties were separated into four groups. The Highest rice varieties (HAWM BANG and LAO varieties, 75.06 and 70.29 percent, respectively) and lowest cellulose rice varieties (SAHM PEW, TAENG AWN and GLAM, 21.96, 26.55 and 27.63 percent, respectively) The DNA amplification using OPZ19 will be sequences and developed for specific DNA markers in order to select rice varieties conferring high cellulose content.

Keywords: molecular marker, cellulose content and similarity coefficient

บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของโลก โดยเมล็ดข้าวประกอบด้วยสารอาหารและวิตามินที่จำเป็นต่อร่างกายกว่า 20 ชนิด ที่สำคัญที่สุดคือมีคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นสารอาหารที่ให้พลังงานแก่มนุษย์ ประชากรมากกว่าครึ่งหนึ่งของโลกจึงบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก ทั้งนี้ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวประมาณ 60 ล้านไร่ สามารถผลิตข้าวได้ถึง 24 ล้านตันต่อปี (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2554) ทำให้มีผลพลอยได้จากการเก็บเกี่ยวและการสีข้าว เช่น ฟางข้าว แกลบ รำข้าว และปลายข้าวเป็นจำนวนมาก ซึ่งในปัจจุบันแต่ละประเทศเริ่มมีแนวทางพัฒนาพลังงานชีวภาพที่เด่นชัดเพื่อทดแทนการใช้น้ำมันมีราคาสูงขึ้นเรื่อยๆ เอทานอลเป็นพลังงานทดแทนที่สกัดได้จากพืชที่มีองค์ประกอบของแป้งน้ำตาล หรือเซลลูโลส มักผลิตจาก ข้าว ข้าวโพด อ้อย มันสำปะหลัง เป็นต้น แต่วัตถุดิบส่วนใหญ่มีคุณค่าทางการเกษตรมากกว่านำมาผลิตเอทานอล นักวิจัยจึงมุ่งเน้นไปที่การวิจัยการผลิตเซลลูโลสสกัดเอทานอล ที่ได้จากการแปรรูปจากซังข้าวโพด ฟางข้าว เศษวัสดุเหลือใช้จากการเกษตร ซึ่งไม่กระทบต่อปริมาณผลผลิตทางการเกษตรและยังมีต้นทุนวัตถุดิบต่ำแทน เดิมทีฟางข้าวไม่ได้รับการสนใจที่จะใช้เป็นแหล่งพลังงาน เพราะมีโครงสร้างของเซลลูโลสที่ซับซ้อนและแข็งแรง ทำให้ถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียยาก แต่นักวิจัยจากประเทศจีนค้นพบว่ามีวิธีเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตพลังงานชีวภาพจากฟางข้าวได้ถึง 65 เปอร์เซ็นต์โดยใช้โซดาไฟ (sodium hydroxide) (He et al., 2008) ทำให้การใช้ประโยชน์จากฟางข้าวเป็นแหล่งพลังงานทางเลือกมีความชัดเจนขึ้นดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีปริมาณเซลลูโลสเพิ่มขึ้นจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการผลิตไบโอดีเซลเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทนน้ำมันปิโตรเลี่ยมต่อไปในอนาคต ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อสำรวจและคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่มีเซลลูโลสสูงเบื้องต้นโดยใช้เทคนิค RAPD

วิธีการศึกษา

1) คัดเลือกพันธุ์ข้าวจากฐานข้อมูลเชื้อพันธุกรรมข้าว (2553) และขอเชื้อพันธุกรรมข้าวจากศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานีจำนวน 50 พันธุ์

2) นำฟางข้าวแต่ละพันธุ์มาวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสโดยวิธี Food Chemical Codex Method (1996) และนำมาหาความแตกต่างของปริมาณเซลลูโลสโดยใช้เครื่องหมาย RAPD Marker โดยใช้ไพรเมอร์ทั้งหมด 5 ไพรเมอร์ที่ได้จากการสืบค้นเอกสารอ้างอิง (Wu et al., 2002) และสุ่มไพรเมอร์

จำนวน 186 ไพรเมอร์ จากบริษัท Operon Technologies (Kit A-F, J, K, M, N, P, Q, R, T, U, X, Z, AA, AB, AD, AI, AL, AN และ BC) และ University of British Columbia (Kit UBC)

3) นำข้อมูลที่ได้มาประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (genetic relationships) โดยใช้โปรแกรม NTSYSpc (Numerical Taxnomy and Multivariate Analysis System) version 2.10p โดยอาศัยสัมประสิทธิ์ความเหมือนตามวิธี Jaccard (1908) หลังจากนั้นนำค่า similarity matrix ที่ได้มาวิเคราะห์การจัดกลุ่ม (cluster analysis) เพื่อทำการจัดกลุ่มพันธุ์ข้าวทั้ง 50 พันธุ์ โดยใช้วิธี Unweighted pair group method with arithmetic averages (UPGMA)

ผลการศึกษา

การทดสอบความแตกต่างของปริมาณเซลลูโลสโดยใช้ RAPD Marker

จากการศึกษาไพรเมอร์เพื่อแยกพันธุ์ข้าวที่มีเซลลูโลสสูงกับข้าวเซลลูโลสต่ำโดยใช้เทคนิค RAPD พบว่า มีไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ จำนวน 156 ไพรเมอร์ จาก 191 ไพรเมอร์ โดยมีแถบดีเอ็นเอเหมือนกัน จำนวน 14 ไพรเมอร์ และไม่ให้แถบดีเอ็นเอเลย 21 ไพรเมอร์ เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับปริมาณเซลลูโลสของข้าวโดยใช้ข้าวที่มีเซลลูโลสสูงที่สุด 2 พันธุ์และต่ำที่สุด 2 พันธุ์ พบว่ามี 1 ไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณเซลลูโลสสูงและพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณเซลลูโลสต่ำ คือ ไพรเมอร์ OPZ 19 (**Figure 1**) ซึ่งมีแถบดีเอ็นเอเฉพาะข้าวที่มีเซลลูโลสต่ำที่ความยาว 400 คู่เบส และเมื่อทดสอบซ้ำโดยใช้พันธุ์ข้าวที่มีปริมาณเซลลูโลสต่างกัน 10 พันธุ์ พบว่าแถบดีเอ็นเอที่ความยาว 400 คู่เบสจะปรากฏเฉพาะเฉพาะพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณเซลลูโลสต่ำกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ (**Figure 2**)

เมื่อนำไพรเมอร์ OPZ 19 มาทดสอบกับพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณเซลลูโลสต่างๆ กันซึ่งสกัดดีเอ็นเอได้ทั้งหมด 49 พันธุ์ จาก 50 พันธุ์ พบว่า ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ความยาว 400 คู่เบสทั้งหมด 17 พันธุ์ จาก 49 พันธุ์ ปรากฏในข้าวที่มีปริมาณเซลลูโลสต่ำกว่า 30.00 เปอร์เซ็นต์จำนวน 4 พันธุ์ จาก 4 พันธุ์ คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ 400 คู่เบส ในข้าวที่มีปริมาณเซลลูโลสระหว่าง 30.01– 40.00 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 5 พันธุ์ จาก 8 พันธุ์ คิดเป็น 62.50 เปอร์เซ็นต์ ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ 400 คู่เบสในข้าวที่มีปริมาณเซลลูโลสระหว่าง 40.01 – 50.00 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 9 พันธุ์ จาก 32 พันธุ์ คิดเป็น 28.13 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณเซลลูโลสมากกว่า 50.01 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปจำนวน 5 พันธุ์ ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่ความยาว 400 คู่เบส (**Table 1**)

จากการวิเคราะห์ความเหมือนทางพันธุกรรมโดยวิธี UPGMA cluster analysis โดยใช้ RAPD markers จำนวน 7 markers คือ OPD20, OPN16, OPR01, OPZ19, OPZ20, PAA15 และ OPAB09 ในข้าว 49 พันธุ์ เพื่อค่า Simikarity coefficirnt พบว่า มีค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่าง 0.413 – 0.963 โดยพันธุ์ข้าวที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมน้อยที่สุดคือพันธุ์สุพรรณบุรี90 กับพันธุ์แม่ฮ้าง (0.413) และพันธุ์ข้าวที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุดคือพันธุ์ขาวกอกับพันธุ์ผากุด (0.963) (**Figure 3**) และสามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเป็น 4 กลุ่ม (**Figure 3**) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 มี 1 ตัวอย่าง ซึ่งมีปริมาณเซลลูโลส 75.06 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 2 มี 40 ตัวอย่างซึ่งให้ปริมาณเซลลูโลสตั้งแต่ 38.43 – 70.29 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 3 มี 2 ตัวอย่างซึ่งให้ปริมาณเซลลูโลสตั้งแต่ 43.20 – 43.39 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 4 มี 6 ตัวอย่างซึ่งให้ปริมาณเซลลูโลสตั้งแต่ 21.96 – 32.31 เปอร์เซ็นต์

เมื่อเปรียบเทียบสหสัมพันธ์ของข้าวกับการปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ความยาว 400 คู่เบสของไพรเมอร์ OPZ 19 พบว่า กลุ่มที่ 3 และ 4 ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่

ความยาว 400 คู่เบสทุกตัวอย่าง ส่วน ในกลุ่มที่ 2 นั้น ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ความยาว 400 คู่เบส 9 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 40 ตัวอย่าง และกลุ่มที่ 1 ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอเลย

วิจารณ์

จากการศึกษาไพรเมอร์เพื่อแยกพันธุ์ข้าวที่มีเซลลูโลสสูงกับข้าวเซลลูโลสต่ำโดยใช้เทคนิค RAPD พบว่า มีไพรเมอร์ที่แสดงความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอจำนวน 156 ไพรเมอร์ จาก 191 ไพรเมอร์ โดยมีรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกัน จำนวน 26 ไพรเมอร์ และไม่ให้แถบดีเอ็นเอเลย 21 ไพรเมอร์ เมื่อนำลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ไปเปรียบเทียบกับปริมาณเซลลูโลสของข้าว พบว่ามี 1 ไพรเมอร์ที่อาจให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณเซลลูโลสสูงและพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณเซลลูโลสต่ำ คือ ไพรเมอร์ OPZ 19 ในขณะที่ไพรเมอร์ OPA 10, OPM 17, UBC 154, UBC 296 และ UBC 384 ซึ่งมีรายงานว่าสามารถแยกความแตกต่างระหว่างข้าว bc1 (brittle culm) ซึ่งเป็นข้าวที่กลายพันธุ์ทำให้มีเซลลูโลสต่ำกว่าพันธุ์ปกติได้นั้น (Wu et al., 2002) จากการทดลองพบว่าไพรเมอร์ OPA 10 ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอไม่สัมพันธ์กับปริมาณเซลลูโลส ไพรเมอร์ OPM 17 ให้แถบดีเอ็นเอที่ไม่มีความแตกต่างกันในข้าวแต่ละพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง ส่วนไพรเมอร์ UBC 154, UBC 296 และ UBC 384 นั้นไม่ให้แถบดีเอ็นเอเลย อาจเกิดจากไพรเมอร์ที่ใช้ในเทคนิค RAPD มีขนาดสั้นและจับกับสายดีเอ็นเอแบบสุ่ม อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองต่างจากในรายงานอาจมีผลต่อการปรากฏแถบดีเอ็นเอได้ (สุรินทร์, 2552)

จากการทดสอบพบว่า ไพรเมอร์ OPZ 19 อาจแยกพันธุ์ข้าวที่มีเซลลูโลสแตกต่างกันได้ แต่เมื่อนำมาทดสอบกับพันธุ์ข้าว 49 พันธุ์พบว่า การปรากฏแถบดีเอ็นเอที่คาดว่าบอกความแตกต่างของปริมาณเซลลูโลสได้ไม่สม่ำเสมอ โดยพบแถบดีเอ็นเอที่ความยาว 400 คู่เบสในข้าวที่มีปริมาณเซลลูโลสตั้งแต่ 21.96 - 46.98 เปอร์เซ็นต์ รวม 17 พันธุ์ และปรากฏแถบดีเอ็นเอนี้ในข้าวที่มีปริมาณเซลลูโลสต่ำกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ทุกพันธุ์ ถึงแม้จะมีแถบดีเอ็นเอปรากฏในข้าวที่มีปริมาณเซลลูโลสมากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์อยู่บ้าง อาจเกิดจากการใช้ไพรเมอร์ขนาดสั้นจับกับสายดีเอ็นเอแบบสุ่มหรือความชำนาญของผู้ทำการทดลองเอง

ในการศึกษาความสัมพันธ์ของข้าวทั้ง 49 พันธุ์นั้น สามารถแบ่งข้าวเป็น 4 กลุ่มใหญ่ ซึ่งนอกจากจะแสดงให้เห็นถึงความใกล้ชิดทางพันธุกรรมแล้วยังพบว่ากลุ่มที่ 3 และ 4 นั้นเป็นพันธุ์ที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ความยาว 400 คู่เบส ส่วนกลุ่มที่ 1 เป็นพันธุ์ที่มีปริมาณเซลลูโลสสูงที่สุด (พันธุ์หอมบาง) และกลุ่มที่ 2 ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ความยาว 400 คู่เบสเป็นบางพันธุ์

สรุป

จากการคัดเลือกเพื่อแยกพันธุ์ข้าวที่มีเซลลูโลสสูงกับข้าวเซลลูโลสต่ำโดยใช้เทคนิค RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ 191 ไพรเมอร์ มีไพรเมอร์ที่คาดว่าแยกความแตกต่างของปริมาณเซลลูโลสได้ 1 ไพรเมอร์ คือ OPZ 19 (GTGCGAGCAA) และจะนำไปหาลำดับเบสเปรียบเทียบกับลำดับเบสของเซลลูโลสเพื่อยืนยันว่าสามารถใช้ในการแยกปริมาณเซลลูโลสได้ เพื่อนำไปใช้เป็น DNA marker ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป และได้คัดเลือกข้าวพันธุ์หอมบาง (75.06 เปอร์เซ็นต์), ลาว (70.29 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งให้เซลลูโลสสูง และพันธุ์สามผิว (21.96 เปอร์เซ็นต์), แตงอ่อน (26.55 เปอร์เซ็นต์), กล่ำGS No. 13842 (27.63 เปอร์เซ็นต์) ที่ให้เซลลูโลสต่ำ เพื่อนำไปหาการแสดงออกของยีนควบคุมปริมาณเซลลูโลสต่อไป

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2553 มหาวิทยาลัยพะเยา

เอกสารอ้างอิง

สุรินทร์ ปิยโชคณากุล. 2552. เครื่องหมายดีเอ็นเอ: จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2552. สถิติส่งออกข้าว. สืบค้นข้อมูลจาก http://www.oae.go.th/oae_report/export_mport/export_result.php. เมื่อวันที่ 20 สิงหาคม 2553.

Food Chemicals Codex. 1996. Committee on Food Chemicals Codex. 4th ed. National Academy Press, Washington, D.C.

He, Y.F., Y.Z. Pang, Y.P. Liu, X.J. Li. and K.S. Wang. 2008. Physicochemical characterization of rice straw pretreated with sodium hydroxide in the solid state for enhancing biogas production. Energy & Fuels 22:2775-2781.

Jaccard, P. 1908. Nouvellers recherches sur la distribution florale. Bulletin de la Societe Vaudoise des Sciences Naturelles 44:223-270.

Wu, J.W., H.K. Wu and M.C. Chang. 2002. Co-dominant RAPD markers closely with two morphological gene in rice (*Oryza sativa* L.). Botanical Bulletin of Academia Sinica 43:171-180.

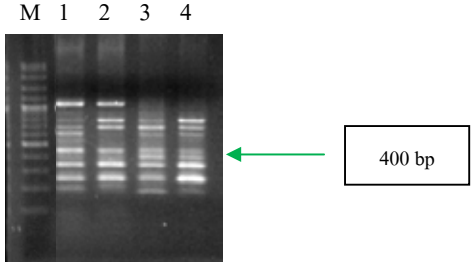

Figure 1. DNA bands with highest cellulose from rice (lane 1,2 : RD 27 and LAO) and lowest cellulose content from rice (lane 3,4 : SAHM PEW and TAENG AWN) using primer OPZ19 , M : Molecular size marker 100 bp ladder.

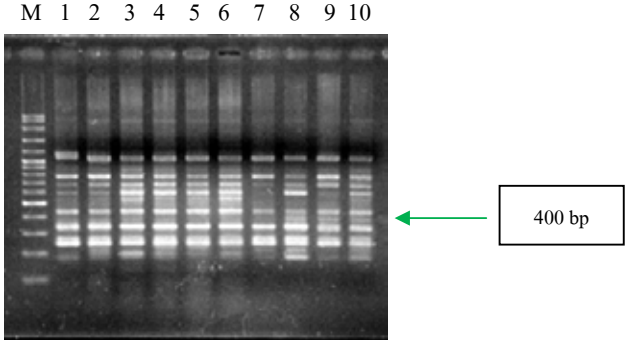

Figure 2. DNA bands with highest cellulose content to lowest cellulose content from rice (lane 1-10) using primer OPZ 19, HAWM BANG, LAO, RD27, DAENG LUANG, KHAO DAWK MALI 105, KHAO, MAE HAHNG, GLAM (GS. No. 13842), TAENG AWN and SAHM PEW (Cellulose content : 75.06%, 70.29%, 60.93%, 50.25%, 50.13%, 31.96%, 30.42%, 27.63%, 26.55% and 21.96%), M: Molecular size marker 100 bp ladder

Table 1. Cellulose content and 400 bp DNA amplification of 49 rice cultivars using primer OPZ19

No.	GS. No	Name	Cellulose Content (%)	DNA Band at 400 bp
1	6383	HAWM BANG	75.06	✖
2	13831	LAO	70.29	✖
3	7125	RD 27	60.93	✖
4	13859	DAENG LUANG	50.25	✖
5	1197	KHAO DAWK MALI 105	50.13	✖
6	256	PUANG NAHK 16	49.86	✖
7	1705	LEUANG YAI 148	49.50	✖
8	3093	RD 13	49.14	✖
9	13834	SI LAH	47.43	✖
10	3619	LEUANG BOW	46.98	✓
11	16233	PHITSANULOKL 60-1	46.91	✖
12	11883	DAENG NOI	45.88	✖
13	16240	SUPANBURI 60	45.66	✖
14	1617	RD 2	45.36	✖
15	19869	SUPANBURI 90	45.33	✖
16	13745	SUPANBURI 1	45.27	✖
17	4792	RD 23	45.18	✖
18	17770	PATHUM 60	44.92	✖
19	2600	RD 7	44.74	✓
20	14661	KHAO GAW	44.42	✖
21	167	PAH GUD	44.21	✖
22	8350	GLUAY NGAO	44.10	✓
23	3091	RD 8	44.09	✓
24	4793	RD 25	43.65	✖
25	23409	KHAO'HAWM	43.39	✓
26	3453	LEUANG RAWD	43.20	✓
27	1616	RD 1	43.07	✖
28	239	LEUANG AWN	43.01	✖
29	1618	RD 3	42.84	✓
30	3604	NUAD PLAH DUK	42.60	✖
31	16235	CHUMPAE 60	42.59	✖
32	1416	DAW PRALAHD	42.21	✓
33	18434	NIAW U-BON 1	42.08	✖
34	3062	RD 6	41.85	✖
35	4489	NIAW HAWM MALI	41.76	✖
36	21964	CHIANG PATTALUNG	41.64	✓
37	3023	NAM SAGUI 19	41.49	✖
38	2747	HAWM MALI	39.87	✓
39	13815	GLAM	39.62	✓
40	235	TAWNG RAYAH DAM	38.43	✖
41	4791	RD 21	36.27	✖
42	13855	MA TAHN PI	34.16	✖
43	13830	TON LEK	32.31	✓
44	13843	KHAO	31.96	✖
45	13829	MAE HAHNG	30.42	✓
46	8268	MA MUN	29.53	✓
47	13842	GLAM	27.63	✓
48	13837	TAENG AWN	26.55	✓
49	13827	SAHM PEW	21.96	✓

* ✓ DNA band at 400 base pairs. , ✖ Non - DNA band at 400 base pairs

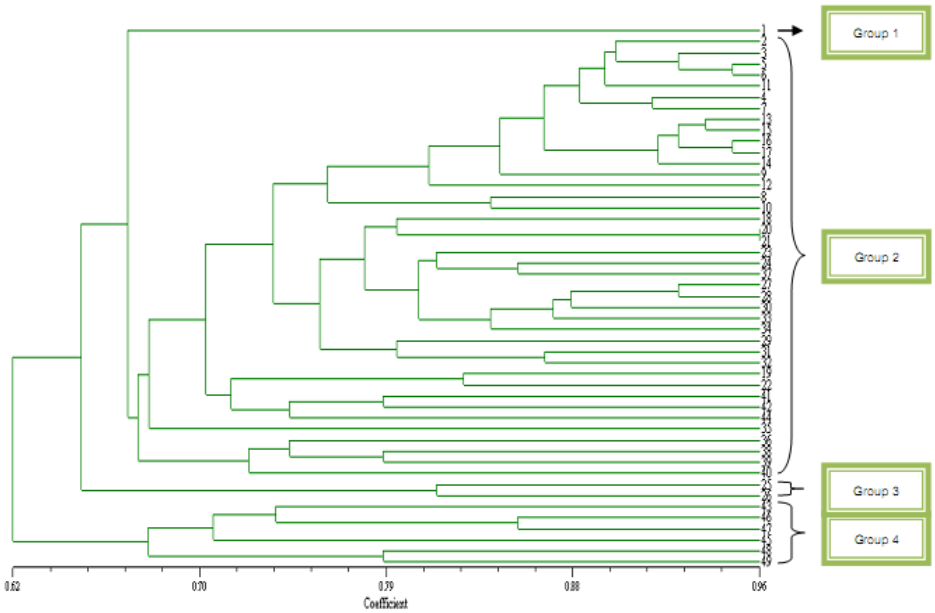

Figure 3. A dendrogram produced by UPGMA clustering of Jaccard's similarity coefficient based on 7 RAPD markers among 49 rice varieties which varied in cellulose content (No. of varieties from Table 1)