

ทำการคัดเลือกระดับความสามารถในการทนเค็มของข้าวจำนวน 12 พันธุ์ โดยปลูกข้าวพันธุ์ละ 50 ต้น ในสารละลายอาหารสูตร Yoshida เป็นเวลา 11 วัน เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 6 dS/m เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 12 dS/m เป็นเวลา 10 วัน บันทึกความสูงของข้าว และในวันสุดท้ายตรวจสอบลักษณะทางสรีรวิทยา ชั่งน้ำหนักสด และคำนวณเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแต่ละพันธุ์ จากผลการวิจัยสามารถให้คะแนนจัดกลุ่มความสามารถทนเค็มของข้าวได้ดังนี้ พันธุ์พอคคาลิ อยู่ในระดับทนมาก พันธุ์น้ำสะกุก 19 กข 15 และเหลืองอนันต์ อยู่ในระดับทน พันธุ์ปทุมธานี 1 คอสกลนคร และหอมนางนวล อยู่ในระดับทนปานกลาง พันธุ์ป๋องแฉ้ว และคอบวนอยู่ในระดับอ่อนแอ พันธุ์กข 10 ชิวแมงจัน 200 และขาวดอกมะลิ 105 อยู่ในระดับอ่อนแอมาก จากการสืบค้น EST-SSRs เพื่อนำมาคัดเลือกและพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลในการระบุความสามารถทนเค็มของข้าว พบว่ามี ESTs ที่เกี่ยวข้องกับความเครียดเกลือจำนวน 3,036 ชิ้น เมื่อวิเคราะห์ SSRs ที่ปรากฏใน ESTs พบว่ามีจำนวน 46,383 โกลไซ โดยเป็น SSRs ชนิด 2 นิวคลีโอไทด์หรือไดเมอร์มากที่สุด (52.73%) รองลงมาคือ ไตรเมอร์ (38.09%) และเตตระเมอร์ (5.89%) ทำการออกแบบไพรเมอร์จาก EST-SSRs ที่มีความยาวซ้ำตั้งแต่ 15 เบสขึ้นไป ได้ไพรเมอร์จำนวน 16 คู่ นำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ของข้าวทั้ง 12 พันธุ์ พบว่ามี 1 คู่ไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์พอคคาลิซึ่งเป็นพันธุ์ที่ทนเค็มสูง มีขนาดใหญ่กว่าพันธุ์อื่นๆ เมื่อนำแถบดีเอ็นเอไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่ามีตำแหน่งของ SSR ที่มีลำดับเบสซ้ำคือ GATC เพิ่มขึ้น 1 ซ้ำ ในข้าวพันธุ์พอคคาลิ เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และเมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์นี้ไปเปรียบเทียบกับความเหมือนกับยีนในฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม blastn พบว่า ตรงกับยีน *Rice Bowman-Birk inhibitor 2-3 (rbbi2-3)* ซึ่งเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อเมื่อข้าวได้รับความเครียด จากผลการวิจัยเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งที่จะนำ EST-SSR นี้ไปพัฒนาและทดสอบการเป็นเครื่องหมายพันธุกรรมในการระบุความสามารถในการทนเค็มของข้าวต่อไป

The twelve rice varieties were evaluated for salt tolerance using hydroponic system. Fifty seedlings of each rice variety were grown in Yoshida hydroponic solution without NaCl for 11 days, then exposed to 6 dS/m NaCl for 3 days and finally exposed to 12 dS/m NaCl for 10 days. The shoot heights were measured and the averages were calculated at 11, 14 and 24 days of planting. After 24 days of planting, the data of physiological changes, fresh weights and survival rates were recorded for evaluation of the salt tolerant ability of rice varieties. The results showed that Pokkali was ranked into the best salt tolerant group; Nam sa-gui 19, RD 15 and Leuang Anan were ranked into the good salt tolerant group; Patum thani 1, Daw sa-kon and Hawm nahng nuan were ranked into the moderate salt tolerant group; Pawhg aew and Daw yuan were ranked into the moderate salt sensitive group and; RD 10, Sew mae jun 200 and Khao Dawk Mali 105 were ranked into the very salt sensitive group. Expressed sequence tag-Simple sequence repeats (EST-SSRs) from biological databases were retrieved aiming to develop as molecular markers to indicate salt tolerance ability in rice. From 3,036 ESTs involving with salt stress, 46,383 SSRs loci were contained. dinucleotide repeats (dimer) were found to be the most abundant (52.7%), followed by trimer (38.09%) and tetramer (5.89%) motifs. Fifteen nucleotides SSRs length were used for primer design. Sixteen primer pairs were obtained for DNA amplification in positions flanking SSRs by PCR using twelve rice varieties DNA extracts. Only one from sixteen primers detected the polymorphic DNA band of Pokkali, the best salt tolerant, comparing to the other varieties. The DNA sequencing of PCR products from Pokkali and KDML-105 were performed and compared. The result interestingly showed that the longer sequence of Pokkali contained one more repeat of GATC motif. After using BLASTN analysis against GenBank database, the sequence showed the homology to *Rice Bowman-Birk inhibitor 2-3 (rbbi2-3)* gene responding to stresses and pathogens in rice. This promising results presented the possibility to develop this EST-SSR as a genetic marker of salt tolerance in rice improvement in future study.