

การจัดกลุ่มพันธุ์ข้าวไทยด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างของยีนซึ่งเกี่ยวข้องกับความทนแล้ง

Classification of Thai Rice Varieties using DNA Variation in Drought Tolerance-Related Genes

กนกวรรณ จันทรเพ็ญ ช่อทิพา สกุลสิงหาโรจน์ ยุพเยาว์ คบพิมาย และแสงทอง พงษ์เจริญกิต*

Kanokwan Janphen, Chotipa Sakulsingharoj, Yuppayao Kophimai
and Saengtong Pongjaroenkit*

สาขาวิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

Program of Genetics, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand, 50290

*Corresponding author: saengton@mju.ac.th

Received: September 27, 2023

Revised: February 29, 2024

Accepted: March 22, 2024

Abstract

The study aimed to classify Thai rice varieties together with drought tolerant rice varieties previously reported in the 3,000 Rice Genomes Project by using variation within nucleotide sequences of drought tolerance-related genes. The comparison results of four drought tolerant genes which were soil surface rooting 1 (*OsSor1*), deeper rooting 1 (*OsDro1*), NAC domain-containing protein 5 (*OsNAC5*) and NAC domain-containing protein 6 (*OsNAC6*) genes from twenty-three rice varieties revealed 147 nucleotide sequence variations. Then, these rice varieties were classified into 2 major groups. Group I consists of 12 varieties which were Indica and Japonica rice. This group revealed the association with rice ecosystem, root characteristics and drought tolerance. Group II comprises 11 rice varieties, including landrace, upland, and lowland rice. However, there is no clear association with rice ecosystems for this group. Moreover, Jow Haw and Khao Pong Krai varieties were in the same group with deep roots and drought tolerant upland rice which will be used for the development of the drought tolerant DNA markers in rice breeding program.

Keywords: Thai rice varieties, classification, nucleotide sequence variation, drought tolerance-related genes, root

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจัดกลุ่มพันธุ์ข้าวไทย ร่วมกับพันธุ์ข้าวที่มีรายงานความทนแล้งจากโครงการ 3,000 Rice Genomes Project ด้วยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างของยีนซึ่งเกี่ยวข้องกับความทนแล้งจำนวน 4 ยีน ได้แก่ ยีน Soil surface rooting 1 (*OsSor1*) ยีน Deeper rooting 1 (*OsDro1*) ยีน NAC domain-containing protein 5 (*OsNAC5*) และยีน NAC domain-containing protein 6 (*OsNAC6*) ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนทั้ง 4 ยีน จากข้าว 23 พันธุ์ พบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างจำนวน 147 ตำแหน่ง เมื่อนำมาจัดกลุ่มข้าวแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่ม I จำนวน 12 พันธุ์ เป็นกลุ่มอินดิกาและจาโปนิกา ที่การจัดกลุ่มสัมพันธ์กับระบบนิเวศการปลูก ลักษณะรากและความทนแล้ง กลุ่ม II จำนวน 11 พันธุ์ เป็นข้าวอินดิกาที่เป็นพันธุ์พื้นเมืองข้าวไร่ และข้าวนาสวน ซึ่งไม่พบสัมพันธ์กับระบบนิเวศการปลูกอย่างชัดเจน นอกจากนั้นข้าวไทยพันธุ์เจ้าหอและขาวโป่งไคร้ อยู่กลุ่มเดียวกับข้าวไร่ที่มีลักษณะรากลึกทนแล้ง ซึ่งสามารถคัดเลือกไปใช้ในการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับความทนแล้งต่อไป

คำสำคัญ: ข้าวไทย การจัดกลุ่ม ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ ยีนที่เกี่ยวข้องกับความทนแล้ง ราก

คำนำ

ภัยแล้งเป็นปัญหาที่สำคัญ หากต้นข้าวขาดน้ำในระยะตั้งท้องจะทำให้ขนาดและจำนวนเมล็ดลดลง ส่งผลให้ผลผลิตลดลง ซึ่งลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะของราก ใบ จำนวนต้นตอกอ ความสูงต้น หรือลักษณะทางสรีรวิทยา เช่น การสังเคราะห์แสง รวมไปถึงการสะสมของสารชีวมวล จะลดลงในสภาวะแล้ง (Arun

et al., 2023) โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่มีการศึกษาอย่างแพร่หลายกับความทนแล้ง คือ ลักษณะระบบราก เนื่องจากเป็นระบบที่สำคัญในการหาน้ำและอาหารของพืช (Kim *et al.*, 2020)

การค้นหายีนที่สัมพันธ์กับความทนแล้งและระบบรากของข้าว พบยีน Deeper rooting 1 (*OsDro1*) เป็นยีนควบคุมระบบรากลึก ในสภาวะแล้งยีน *OsDro1* จะมีการกระตุ้นให้รากยาวขึ้น สามารถเข้าถึงน้ำจากชั้นดินที่ลึกขึ้น จึงอยู่รอดในสภาวะแล้งได้ (Kumari *et al.*, 2021; Yusaku *et al.*, 2013) ยีน Soil surface rooting 1 (*OsSor1*) เป็นรหัสของโปรตีนในกลุ่ม LAZY2 ควบคุมระบบรากต้นหรือระบบรากที่ผิวดินเพื่อรักษาสมดุลต่อแรงโน้มถ่วง ซึ่งจะดูดสารอาหารจากดินชั้นบนเป็นหลัก (Eiko *et al.*, 2013) นอกจากนี้ยังมีรายงานโปรตีนควบคุมการถอดรหัส (Transcription factors; TFs) ที่เกี่ยวข้องกับความทนแล้ง พบยีนในกลุ่ม NAC (NAM, ATAF and CUC) ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต การพัฒนา และการตอบสนองต่อความเครียดของพืช (Xi *et al.*, 2019) ในสภาวะแล้งยีน NAC domain-containing protein 5 (*OsNAC5*) จะกระตุ้นการทำงานของยีน Cinnamoyl-CoA reductase 10 (*OsCCR10*) ทำให้สะสมลิกนินเพิ่มขึ้น จึงทนต่อสภาวะแล้ง (Woon *et al.*, 2022) และยีน NAC domain-containing protein 6 (*OsNAC6*) ที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน พบว่าตอบสนองต่อความเย็น เกลือ ความแล้ง และกรดแอบไซซิก โดยยีน *OsNAC6* จะมีความไวต่อการกระตุ้นมากกว่ายีนอื่น ๆ ในกลุ่มเดียวกัน (Takayuki *et al.*, 2005)

พันธุ์ข้าวที่มีระบบรากแบบรากตื้น (Shallow rooting) จะมีความไวต่อสภาวะแล้งมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ข้าวที่มีระบบรากแบบรากลึก (Deep rooting) เนื่องจากระบบรากลึกจะสามารถเข้าถึงน้ำจากชั้นดินที่ลึกกว่า (Arun *et al.*, 2023) นอกจากนี้ยังพบว่า พันธุ์ข้าวในที่สูงหรือข้าวไร่ (Upland) ซึ่งเจริญเติบโตในพื้นที่ที่มีปริมาณน้ำจำกัดจะมีคุณสมบัติทนแล้ง เนื่องจากระบบรากเป็นรากลึกเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวนาสวน (Lowland)

ที่มีความต้องการน้ำมาก (Myint *et al.*, 2022) จึงมีการใช้ข้าวไร่หรือพันธุ์ที่มีระบบรากลึกเป็นตัวแทนในการศึกษาความทนแล้ง เช่น การสร้างแผนที่ยีน *OsDro1* จากประชากร BC₂F₃ ที่ได้จากการผสมระหว่างข้าวพันธุ์ IR64 ซึ่งเป็นข้าวนาสวนที่มีลักษณะรากตื้น (Farhan *et al.*, 2022; Yusaku *et al.*, 2011) กับข้าวพันธุ์ Kinandang Patong เป็นข้าวอินดิกา ที่เป็นข้าวไร่มีลักษณะรากลึกพบว่ายีน *OsDro1* ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 9 (Yusaku *et al.*, 2011)

นอกจากนี้ผลการศึกษากายภาพการแสดงออกของยีนในสถานะแล้งระหว่างข้าวไร่พันธุ์ Handao297, Haogelao และ IRAT109 ที่มีความทนแล้ง กับข้าวนาสวนพันธุ์ Zhongzuo93, Yuefu และ Nipponbare ที่มีความไวต่อความแล้ง ด้วยเทคนิค cDNA-AFLP พบว่า 90% ของยีนที่แสดงในข้าวทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน มี 8% ที่แสดงออกเมื่อกระตุ้นด้วยสถานะแล้ง และมี 1% ที่แสดงออกแตกต่างกันระหว่างข้าวไร่กับข้าวนาสวน ส่วนใหญ่เป็นยีนในกลุ่มโปรตีนทนร้อน (Heat-shock protein) (FengHua *et al.*, 2009) สำหรับข้าวไทยมีรายงานการจัดกลุ่มด้วยการวิเคราะห์ Principal Component Analysis (PCA) ของลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการจัดกลุ่มด้วยลายพิมพ์ ดีเอ็นเอจากเครื่องหมาย Simple Sequence Repeat (SSR) ของข้าวจำนวน 6 พันธุ์ แบ่งกลุ่มพันธุ์ข้าวได้ 4 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 คือ พันธุ์ปทุมธานี 1 เป็นข้าวนาสวน กลุ่มที่ 2 คือ พันธุ์ดอกมะขาม กลุ่มที่ 3 คือ พันธุ์กู่เมืองหลวง โดยทั้งสองกลุ่มเป็นข้าวพื้นเมือง และกลุ่มที่ 4 คือ พันธุ์เจ้าฮ่อ น้ำรู่ และชาวโป่งไคร้ เป็นข้าวไร่ (Janphen *et al.*, 2023)

ปัจจุบันการจัดกลุ่มข้าวไทยทนแล้งเป็นการจัดกลุ่มด้วยผลกระทบของการขาดน้ำต่อการเจริญเติบโต หรือการให้ผลผลิต และยังไม่มีรายงานข้อมูลยีนที่เกี่ยวข้องกับความทนแล้ง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อจัดกลุ่มข้าวไทยด้วยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างของยีน *OsDro1*, *OsSor1*, *OsNAC5* และ *OsNAC6* ที่มีรายงานว่าเกี่ยวข้องกับ ความทนแล้ง ร่วมกับพันธุ์ข้าวที่มีรายงาน

ความทนแล้งจากฐานข้อมูล ซึ่งผลการจัดกลุ่มข้าวจะเป็นส่วนหนึ่งของการคัดเลือกพันธุ์ข้าวทนแล้งในการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับความทนแล้งต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

พันธุ์ข้าวและการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ

พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการวิเคราะห์ลำดับเบสของจีโนมจำนวน 13 พันธุ์ (Table 1) เป็นข้าวนาสวน 7 พันธุ์ ได้แก่ ปทุมธานี 1 (Pathum Thani 1) กข-แม่โจ้ 2 (RD-Maejo 2) กข43 (RD43) มะลิดำ (Mali Dam) เจ้าเหลือ (Jow Leuang) ชีตมแดง (Khe Tom Daeng) และไรซ์เบอร์รี่ (Riceberry) ข้าวพื้นเมือง (landrace) 3 พันธุ์ ได้แก่ ดอกมะขาม (Dok Ma Kham) กำน้อย (Kum Noi) และกำใหญ่ (Kum Yai) และข้าวไร่ 3 พันธุ์ ได้แก่ กู่เมืองหลวง (Goo Meuang Luang) เจ้าฮ่อ (Jow Haw) และชาวโป่งไคร้ (Khao Pong Krai) เพาะเมล็ดนาน 2 สัปดาห์ จากนั้นนำไปอ่อนมาสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอด้วยวิธี mCTAB (Li *et al.*, 2013) ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วยสารละลาย 10 mM Tris-HCl, pH 8.0 เก็บดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์ผลการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนม

ตัวอย่างจีโนมิกดีเอ็นเอที่สกัดได้จะอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค Whole Genome Sequencing (WGS) (NovogeneAIT, China) แบบ Resequencing โดยผลการอ่านและวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์จะรายงานเป็นตำแหน่งของการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์ชนิด Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) หรือ Insertion-deletion variations (InDels) ของข้าว 13 พันธุ์ บนโครโมโซมทั้ง 12 แท่ง ซึ่งเลือกลำดับนิวคลีโอไทด์จากข้าวพันธุ์ Nipponbare (*O. sativa* L. ssp *japonica*) เป็นจีโนมอ้างอิง (Reference genome) เพื่อระบุตำแหน่งและผลกระทบของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เปลี่ยนแปลงไป

การค้นหายีนที่สนใจและลำดับนิวคลีโอไทด์จากข้าว ในฐานข้อมูล

ยีนที่สนใจ คือ *OsSor1*, *OsDro1*, *OsNAC5* และ *OsNAC6* เริ่มจากค้นหาตำแหน่งที่ตั้งของยีนบนโครโมโซมจากฐานข้อมูล The Rice Annotation Project (RAP) (Hiroaki *et al.*, 2013) นำตำแหน่งที่ได้มาค้นหาบริเวณยีนจากผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค WGS ของข้าว 13 พันธุ์

นอกจากนี้ยังค้นหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่สนใจจากข้าวพันธุ์อื่น ๆ จากฐานข้อมูล Rice SNP-

Seek Database (Locedie *et al.*, 2017) ที่เป็นผลการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของข้าวจากโครงการ 3,000 Rice Genomes Project โดยเป็นข้าวอินดิกา 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Kinandang Patong พันธุ์ IR64 รายงานเป็น IR64-HL กับ IR64A และพันธุ์ Chenghui727 และข้าวจาโปนิกา 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Yuefu, Nipponbare, Haogelao และ IRAT109 และเลือกข้าวไทยที่มีรายงานในฐานข้อมูลจำนวน 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (Khao Dawk Mali 105) และน้ำรุ (Nam Roo) รวมทั้งสิ้น 10 พันธุ์ (Table 1)

Table 1 Characteristics of rice accession used in this study include their ecologies, root character and response to drought stress

No.	Rice accessions	Ecologies / Root character / Response to drought stress	Reference
Whole genome sequencing			
<i>Indica</i>			
1	PATHUM THANI 1	Lowland	Sriprapai <i>et al.</i> (2012)
2	RD-MAEJO 2	Lowland	
3	RD43	Lowland	
4	MALI DAM	Lowland	
5	JOW LEUANG	Lowland	
6	RICEBERRY	Lowland	
7	KHE TOM DAENG	Lowland	
8	DOK MA KHAM	Landrace	
9	KUM NOI	Landrace	
10	KUM YAI	Landrace	
11	GOO MEUANG LUANG	Upland, Drought tolerant	Sriprapai <i>et al.</i> (2012)
<i>Japonica</i>			
12	JOW HAW	Upland	Sriprapai <i>et al.</i> (2012)
13	KHAO PONG KRAI	Upland	

Table 1 (Continued)

No.	Rice accessions	Ecologies / Root character / Response to drought stress	Reference
Rice SNP-Seek Database			
<i>Indica</i>			
14	KINANDANG PATONG	Upland, Deep root	Yusaku <i>et al.</i> (2011)
15	IR64-IL	Lowland, Shallow root, Drought sensitive	Yusaku <i>et al.</i> (2011); Farhan <i>et al.</i> (2022)
16	IR64A	Lowland, Shallow root, Drought sensitive	Farhan <i>et al.</i> (2022)
17	CHENGHUI 727	Shallow root	Farhan <i>et al.</i> (2022)
18	KHAO DAWK MALI 105	Lowland, Shallow root, Drought tolerant	Sriprapai <i>et al.</i> (2012)
<i>Japonica</i>			
19	YUEFU	Lowland, Drought sensitive	FengHua <i>et al.</i> (2009)
20	NIPPONBARE	Lowland, Drought sensitive	FengHua <i>et al.</i> (2009)
21	HAOGELAO	Upland, Drought tolerant	FengHua <i>et al.</i> (2009)
22	IRAT109	Upland, Drought tolerant	FengHua <i>et al.</i> (2009)
23	NAM ROO	Upland	Sriprapai <i>et al.</i> (2012)

การจัดกลุ่มพันธุ์ข้าวด้วยข้อมูล SNPs และ InDels ของยีนที่สนใจ

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เปลี่ยนแปลงของแต่ละยีนจากข้าว 23 พันธุ์ ที่ได้จากการวิเคราะห์ WGS จำนวน 13 พันธุ์ และจากฐานข้อมูล Rice SNP-Seek จำนวน 10 พันธุ์ มาจัดเรียงแล้วเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ (Alignment) ด้วยโปรแกรม ClustalW แล้วนำผลการเปรียบเทียบมาจัดกลุ่มโดยการสร้างแผนภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Phylogeny) ด้วยโปรแกรม MEGA11 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) วิธี Neighbor-Joining/UPGMA (Koichiro *et al.*, 2021)

ผลการวิจัย

การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์และผลกระทบของลำดับที่แตกต่าง

ผลการค้นหาและเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์แตกต่างของแต่ละยีนในข้าวจำนวน 23 พันธุ์ ได้ผลดังนี้ (Table 2)

ยีน *OsSor1* (*Os07g0614400*) ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 7 ตำแหน่ง 25,309,034 ถึง 25,311,637 มีทิศทางยีนแบบเส้นบวก (+ strand) มีขนาด 2,604 คู่เบส ประกอบด้วย 6 เอกซอน บริเวณที่สามารถแปลรหัส

ออกมาเป็นโปรตีน (Coding region) ยาว 888 คู่เบส แสดงออกเป็นโปรตีนขนาด 295 กรดอะมิโน พบการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 21 ตำแหน่ง แบ่งเป็น SNPs 20 ตำแหน่ง และ InDels 1 ตำแหน่ง เมื่อตรวจสอบผลกระทบพบว่า SNPs เป็นการเปลี่ยนแปลงในบริเวณอินทรอน (Intron variant) 13 ตำแหน่ง การเปลี่ยนแปลงชนิดของกรดอะมิโน (Missense variant) 4 ตำแหน่ง การเปลี่ยนแปลงที่กรดอะมิโนชนิดเดิม (Silent variant) 1 ตำแหน่ง และการเปลี่ยนแปลงที่ปลาย 3' ซึ่งไม่แปลรหัส (3' UTR variant) 2 ตำแหน่ง ส่วน InDels เป็นการเปลี่ยนแปลงที่ปลาย 3' ซึ่งไม่แปลรหัส 1 ตำแหน่ง

ยีน *OsDro1* (*Os09g0439800*) ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 9 ตำแหน่ง 16,307,169 ถึง 16,311,448 มีทิศทางยีนแบบเส้นลบ (- strand) มีขนาด 4,280 คู่เบส ประกอบด้วย 6 เอกซอน บริเวณที่สามารถแปลรหัสออกมาเป็นโปรตีน ยาว 756 คู่เบส แสดงออกเป็นโปรตีนขนาด 251 กรดอะมิโน พบการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 19 ตำแหน่ง แบ่งเป็น SNPs 17 ตำแหน่ง และ InDels 2 ตำแหน่ง เมื่อตรวจสอบผลกระทบพบว่า SNPs เป็นการเปลี่ยนแปลงที่ปลาย 5' ซึ่งไม่แปลรหัส (5' UTR variant) 2 ตำแหน่ง การเปลี่ยนแปลงในบริเวณอินทรอน 12 ตำแหน่ง การเปลี่ยนแปลงชนิดของกรดอะมิโน 2 ตำแหน่ง และการเปลี่ยนแปลงที่กรดอะมิโนชนิดเดิม 1 ตำแหน่ง ส่วน InDels เป็นการเปลี่ยนแปลงในบริเวณอินทรอน 1 ตำแหน่ง และการเปลี่ยนแปลงที่ปลาย 3' ซึ่งไม่แปลรหัส 1 ตำแหน่ง

นอกจากนี้ยังพบว่ายีน *OsDro1* ที่รายงานในฐานข้อมูลนั้นครอบคลุมส่วนด้านหน้าของยีน (Upstream) และด้านหลังของยีน (Downstream) ที่ไม่ใช่บริเวณที่สามารถแปลรหัสออกมาเป็นโปรตีน จึงไม่มีผลกระทบกับกรดอะมิโนของโปรตีน พบการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 17 ตำแหน่ง เป็นบริเวณ SNPs จำนวน 13 ตำแหน่ง ในบริเวณ

ด้านหน้าของยีน 6 ตำแหน่ง และด้านหลังของยีน 7 ตำแหน่ง บริเวณ InDels จำนวน 4 ตำแหน่ง ในบริเวณด้านหน้าของยีน 3 ตำแหน่ง และด้านหลังของยีน 1 ตำแหน่ง

ยีน *OsNAC5* (*Os11g0184900*) ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 11 ตำแหน่ง 4,299,277 ถึง 4,301,783 มีทิศทางยีนแบบเส้นลบ (- strand) มีขนาด 1,870 คู่เบส ประกอบด้วย 3 เอกซอน บริเวณที่สามารถแปลรหัสออกมาเป็นโปรตีน ยาว 990 คู่เบส แสดงออกเป็นโปรตีนขนาด 329 กรดอะมิโน พบการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 75 ตำแหน่ง แบ่งเป็น SNPs 51 ตำแหน่ง และ InDels 24 ตำแหน่ง เมื่อตรวจสอบผลกระทบพบว่า SNPs เป็นการเปลี่ยนแปลงที่ปลาย 5' ซึ่งไม่แปลรหัส 2 ตำแหน่ง การเปลี่ยนแปลงที่บริเวณอินทรอน 19 ตำแหน่ง การเปลี่ยนแปลงชนิดของกรดอะมิโน 7 ตำแหน่ง การเปลี่ยนแปลงที่กรดอะมิโนชนิดเดิม 7 ตำแหน่ง และการเปลี่ยนแปลงที่ปลาย 3' ซึ่งไม่แปลรหัส 16 ตำแหน่ง ส่วน InDels เป็นการเปลี่ยนแปลงที่ปลาย 5' ซึ่งไม่แปลรหัส 1 ตำแหน่ง การเปลี่ยนแปลงที่บริเวณอินทรอน 10 ตำแหน่ง การลบที่การแปลรหัสคงกรอบเดิม (Inframe deletion) 2 ตำแหน่ง การเพิ่มที่การแปลรหัสคงกรอบเดิม (Inframe insertion) 2 ตำแหน่ง การเปลี่ยนแปลงที่จุดตัดอาร์เอ็นเอ (Splice region variant) 1 ตำแหน่ง และการเปลี่ยนแปลงที่ปลาย 3' ซึ่งไม่แปลรหัส 8 ตำแหน่ง

ยีน *OsNAC6* (*Os01g0884300*) ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 1 ตำแหน่ง 38,398,996 ถึง 38,401,481 มีทิศทางยีนแบบเส้นลบ (- strand) มีขนาด 3,480 คู่เบส ประกอบด้วย 3 เอกซอน บริเวณที่สามารถแปลรหัสออกมาเป็นโปรตีน ยาว 912 คู่เบส แสดงออกเป็นโปรตีนขนาด 303 กรดอะมิโน พบการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 15 ตำแหน่ง แบ่งเป็น SNPs 10 ตำแหน่ง และ InDels 5 ตำแหน่ง เมื่อตรวจสอบผลกระทบพบว่า SNPs เป็นการเปลี่ยนแปลงที่บริเวณ

อินทรอน 5 ตำแหน่ง การเปลี่ยนแปลงชนิดของกรดอะมิโน 2 ตำแหน่ง และการเปลี่ยนแปลงที่ปลาย 3' ซึ่งไม่แปลรหัส 3 ตำแหน่ง ส่วน InDels เป็นการเปลี่ยนแปลง

ที่บริเวณอินทรอน 3 ตำแหน่ง และการเปลี่ยนแปลงที่ปลาย 3' ซึ่งไม่แปลรหัส 2 ตำแหน่ง

Table 2 Summary of consequence effects from SNP and InDel variations that be found in 4 genes

Gene names		<i>OsSor1</i>	<i>OsDro1</i>	<i>OsNAC5</i>	<i>OsNAC6</i>
Location		chr07:25,309,034-25,311,637	chr09:16,307,169-16,311,448	chr11:4,299,277-4,301,783	chr01: 38,398,996-38,401,481
Classes	Effects	(+ strand)	(- strand)	(- strand)	(-strand)
SNPs	- 5' UTR variant	-	2	2	-
	- Intron variant	13	12	19	5
	- Missense variant	4	2	7	2
	- Silent variant	1	1	7	-
	- 3' UTR variant	2	-	16	3
	- Upstream of gene	-	6	-	-
	- Downstream of gene	-	7	-	-
InDels	- 5' UTR variant	-	-	1	-
	- Intron variant	-	1	10	3
	- Inframe deletion	-	-	2	-
	- Inframe insertion	-	-	2	-
	- Splice region variant	-	-	1	-
	- 3' UTR variant	1	1	8	2
	- Upstream of gene	-	3	-	-
	- Downstream of gene	-	1	-	-

โดยผลเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันของยีน 4 ยีน จากข้าวทั้งหมด 23 พันธุ์ แสดงความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 147 ตำแหน่ง แบ่งเป็น SNPs 111 ตำแหน่ง และ InDels 36 ตำแหน่ง

การจัดกลุ่มพันธุ์ข้าวด้วยข้อมูล SNPs และ InDels ของยีนที่สนใจ

การจัดกลุ่มด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันของแต่ละยีน พบการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีน *OsSor1* สามารถแบ่งกลุ่มข้าวได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่

คือ กลุ่ม I เป็นกลุ่มอินดิกา 13 พันธุ์ คือ ไรซ์เบอร์รี่ กุ้งเมืองหลวง ปทุมธานี 1 กข-แม่โจ้ 2 เจ้าเหลือง กำน้อย ขี้ตมแดง ก่ำใหญ่ มะลิตำ ขาวดอกมะลิ 105, IR64-IL, IR64A และ Chenchui727 กลุ่ม II เป็นกลุ่มจาโปนิกา 7 พันธุ์ คือ น้ำรุ เจ้าฮ่อ ขาวโป่งไคร้ Haogelao, Nipponbare, Yuefu, IRAT109 กับกลุ่มอินดิกา 3 พันธุ์ คือ Kinandang Patong, กข43 และดอกมะขาม (Figure 1A)

ยีน *OsDro1* แบ่งกลุ่มข้าวได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่ม I เป็นกลุ่มอินดิกา 14 พันธุ์ คือ ไรซ์เบอร์รี่ กข43 กุ้งเมืองหลวง ปทุมธานี 1 กข-แม่โจ้ 2 เจ้าเหลือง กำน้อย ดอกมะขาม ขี้ตมแดง ก่ำใหญ่ มะลิตำ IR64-IL, IR64A และ Chenchui727 กลุ่ม II เป็นกลุ่มจาโปนิกา 7 พันธุ์ คือ น้ำรุ เจ้าฮ่อ ขาวโป่งไคร้ Haogelao, Nipponbare Yuefu, IRAT109 กับอินดิกา 2 พันธุ์ คือ Kinandang Patong และขาวดอกมะลิ 105 (Figure 1B)

ยีน *OsNAC5* แบ่งกลุ่มข้าวได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่ม I เป็นกลุ่มอินดิกาและจาโปนิกา 20 พันธุ์ คือ ไรซ์เบอร์รี่ กุ้งเมืองหลวง ปทุมธานี 1 กข-แม่โจ้ 2 เจ้าเหลือง มะลิตำ ขาวดอกมะลิ 105 กข43 ดอกมะขาม IR64-IL, IR64A, Chenchui727, น้ำรุ เจ้าฮ่อ ขาวโป่งไคร้ Haogelao, Nipponbare, Yuefu, Kinandang Patong และ IRAT109 กลุ่ม II เป็นข้าวพื้นเมืองที่เยื่อหุ้มเมล็ดมีสี 3 พันธุ์ คือ กำน้อย ขี้ตมแดง และก่ำใหญ่ (Figure 1C)

ยีน *OsNAC6* แบ่งกลุ่มข้าวได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่ม I เป็นกลุ่มอินดิกา 15 พันธุ์ คือ ไรซ์เบอร์รี่ กุ้งเมืองหลวง ปทุมธานี 1 กข-แม่โจ้ 2 เจ้าเหลือง กำน้อย ขี้ตมแดง ก่ำใหญ่ มะลิตำ ขาวดอกมะลิ 105 กข43

ดอกมะขาม IR64-IL, IR64A และ Chenchui727 กลุ่ม II เป็นกลุ่มจาโปนิกา 7 พันธุ์ คือ น้ำรุ เจ้าฮ่อ ขาวโป่งไคร้ Haogelao, Nipponbare, Yuefu และ IRAT109 กับ Kinandang Patong ที่เป็นอินดิกา ตามลำดับ (Figure 1D)

จากแผนภาพการจัดกลุ่มพันธุ์ข้าวด้วยข้อมูลของแต่ละยีน (Figure 1) เห็นได้ว่าการจัดกลุ่มด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เปลี่ยนแปลงของยีน *OsSor1*, *OsDro1* และ *OsNAC6* แสดงผลการจัดกลุ่มใกล้เคียงกัน คือ กลุ่มแรกส่วนใหญ่จะเป็นข้าวอินดิกา และกลุ่มที่สองส่วนใหญ่จะเป็นข้าวจาโปนิกา ยกเว้นยีน *OsNAC5* ที่แตกต่างจากทั้ง 3 ยีน คือ กลุ่มแรกเป็นข้าวกลุ่มใหญ่ ซึ่งแบ่งกลุ่มได้เป็น 2 กลุ่มย่อย คือ ข้าวอินดิกากับข้าวจาโปนิกา และกลุ่มที่สองเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่เยื่อหุ้มเมล็ดมีสีทั้ง 3 พันธุ์ โดยการจัดกลุ่มที่ได้จากข้อมูลยีน 1 ยีน ไม่พบแนวโน้มการจัดกลุ่มที่สัมพันธ์กับความทนแล้ง จึงได้ทำการจัดกลุ่มข้าวด้วยข้อมูลของทั้ง 4 ยีน รวมกัน

ผลการจัดกลุ่มใหม่ แบ่งข้าวเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่ม I แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ กลุ่ม IA เป็นข้าวจาโปนิกา 7 พันธุ์ ได้แก่ น้ำรุ เจ้าฮ่อ ขาวโป่งไคร้ Haogelao, Nipponbare, Yuefu, IRAT109 กับ Kinandang Patong ที่เป็นข้าวอินดิกา กลุ่ม IB เป็นข้าวอินดิกา 4 พันธุ์ ได้แก่ ขาวดอกมะลิ 105, IR64-IL, IR64A และ Chenchui727 สำหรับกลุ่ม II เป็นข้าวอินดิกาที่เป็นพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ของประเทศไทย 11 พันธุ์ คือ ไรซ์เบอร์รี่ กข-แม่โจ้ 2 เจ้าเหลือง ปทุมธานี 1 กข43 กุ้งเมืองหลวง ดอกมะขาม มะลิตำ กำน้อย ก่ำใหญ่ และขี้ตมแดง ตามลำดับ (Figure 2)

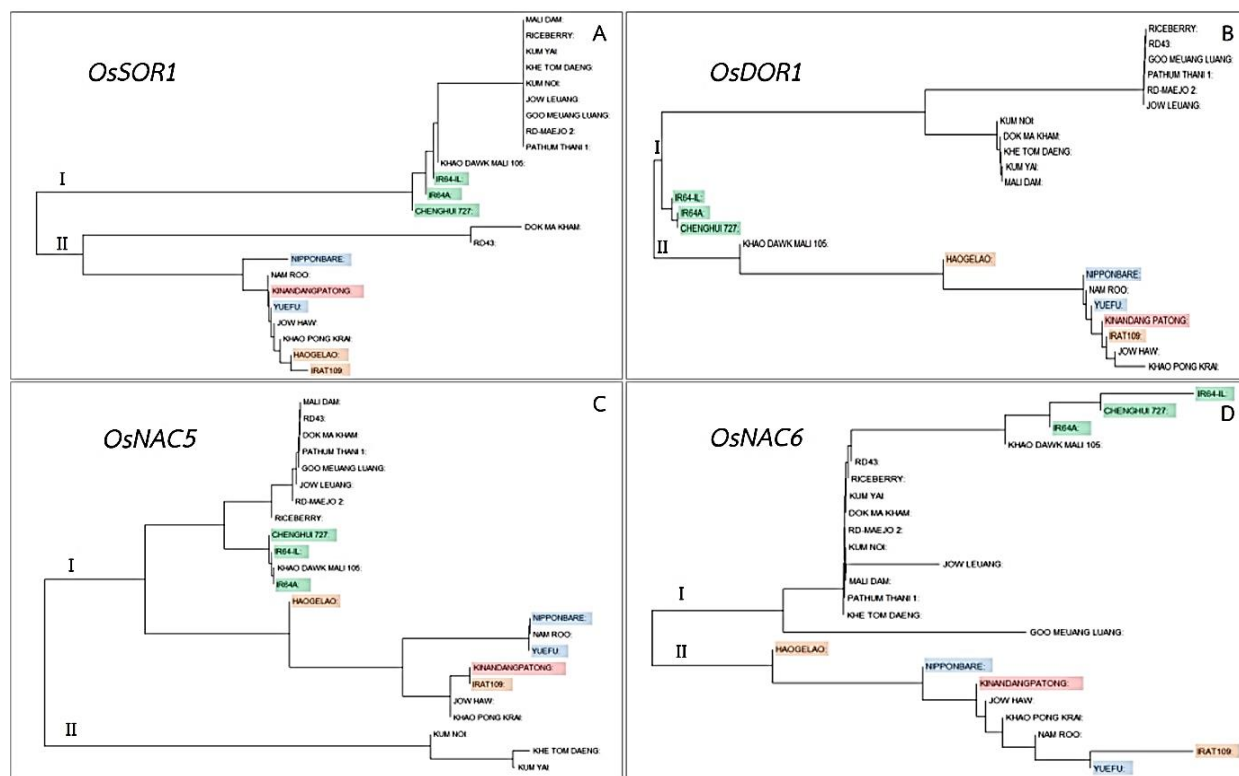


Figure 1 Cluster diagram based on the Neighbor-Joining/UPGMA method by MEGA11 program from SNP and InDel variations in 23 rice varieties; (A) *OsSor1*, (B) *OsDro1*, (C) *OsNAC5* and (D) *OSNAC6*; Red box showed upland rice and deep root, orange box showed upland rice and drought tolerant, blue box showed lowland and drought sensitive and green box showed lowland and shallow root.

เมื่อพิจารณาลักษณะรากหรือลักษณะนิเวศน์ การปลูกพบว่าในกลุ่ม I สามารถแยกย่อยเป็น IA ที่ประกอบด้วยกลุ่มจาโปนิกาเป็นข้าวนาสวนที่มีความไว ต่อความแล้ง (พันธุ์ Nipponbare และ Yuefu) โดยมีข้าว ไทยอยู่ในกลุ่มนี้ 1 พันธุ์ คือ พันธุ์น้ำรู้ กับกลุ่มของข้าวไร่ ที่มีลักษณะรากลึก (พันธุ์ Kinandang Patong) และข้าว ทนแล้ง (พันธุ์ IRAT109) โดยมีข้าวไทยพันธุ์เจ้าฮ่อและ ชาวโป่งไคร้จัดอยู่ในกลุ่มนี้ด้วย ส่วนข้าวพันธุ์ Haogelao และพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ได้แยกออกมาก่อนข้าวทั้ง สองกลุ่มย่อย และกลุ่ม IB เป็นกลุ่มข้าวนาสวนที่รากเป็น แบบรากตื้น (พันธุ์ IR64-IL, IR64A และ Chenghui727)

สำหรับข้าวในกลุ่ม II เป็นข้าวไทยกลุ่มอินดิกาที่เป็นข้าวไร่ ข้าวพื้นเมือง และข้าวนาสวนที่รวมกัน 11 พันธุ์ สามารถ แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ IIA เป็นกลุ่มข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ด มีสีทั้ง 4 พันธุ์ ประกอบด้วยข้าวพื้นเมือง พันธุ์ก้าน้อย และกำใหญ่ ซึ่งปลูกในสภาพไร่ และข้าวนาสวน พันธุ์ ชีตมแดง และมะลิดำ สำหรับกลุ่ม IIB เป็นข้าวกลุ่มนา สวนที่ปลูกในน่าน้ำขัง ได้แก่ กข43 ปทุมธานี 1 กข-แม่โจ้ 2 เจ้าเหลียง และไรซ์เบอร์รี่ ยกเว้นพันธุ์กุ่มเมืองหลวงและ ดอกมะขามที่เป็นกลุ่มข้าวไร่ ซึ่งในกลุ่ม II ยังไม่พบการจัด กลุ่มที่สัมพันธ์กับระบบนิเวศน์การปลูกอย่างชัดเจน

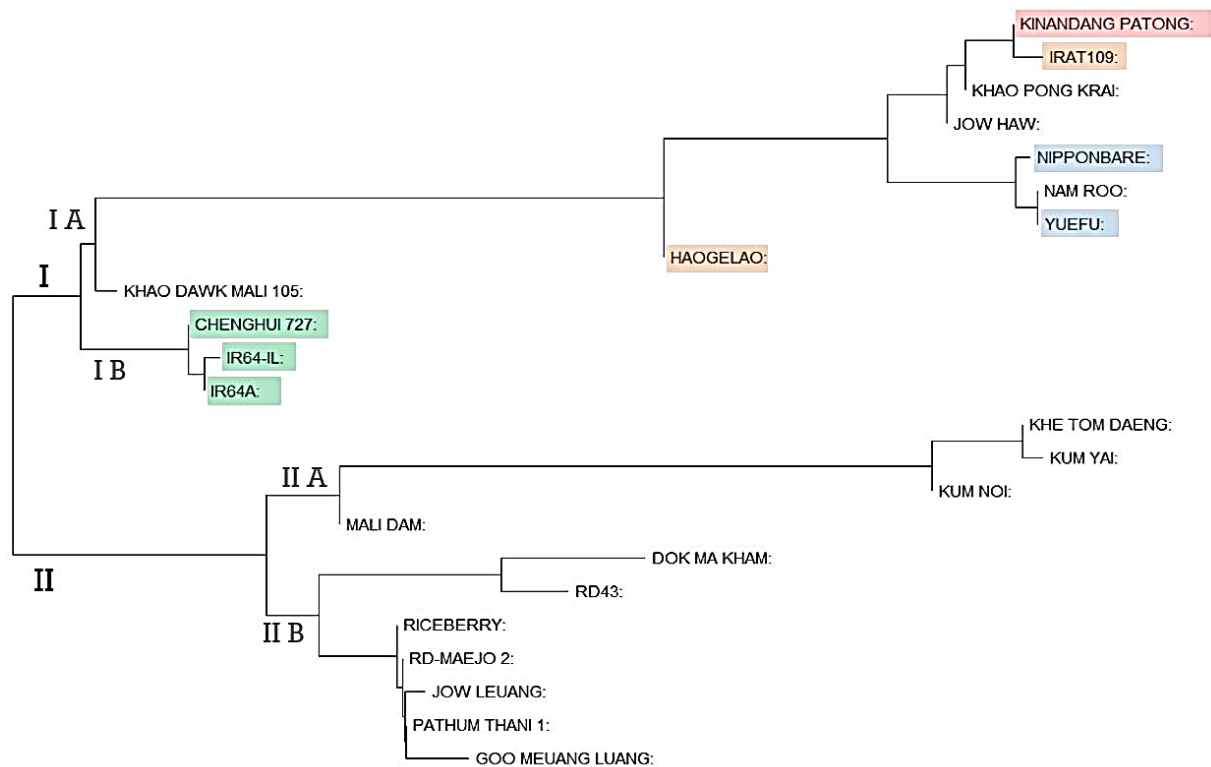


Figure 2 Cluster diagram based on the Neighbor-Joining/UPGMA method by MEGA11 program from SNP and InDel variations in 4 genes. The red box showed upland rice and deep root, the orange box showed upland rice and drought tolerant, the blue box showed lowland and drought sensitive and the green box showed lowland and shallow root.

วิจารณ์ผลการวิจัย

การค้นหาคำแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *OsSor1*, *OsDro1*, *OsNAC5* และ *OsNAC6* จากข้าวจำนวน 23 พันธุ์ พบการเปลี่ยนแปลงลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เปลี่ยนชนิดของกรดอะมิโน (Missense) และบริเวณจุดตัดอาร์เอ็นเอ ซึ่งจะส่งผลให้ได้โปรตีนที่ต่างกัน ข้าวแต่ละพันธุ์ ที่อาจจะส่งผลต่อความทนแล้งที่แตกต่างกัน และพบการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริเวณอินทรอนมากที่สุด ซึ่งไม่มีผลกระทบต่อโปรตีนที่พบเช่นเดียวกับลำดับนิวคลีโอไทด์แตกต่างกันของยีนในวิธีการสังเคราะห์แคโรทินอยด์ที่ในข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาวและสีดำ (Janphen *et al.*, 2022) ซึ่งลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างเหล่านี้สามารถนำไป

ออกแบบเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการแยกพันธุ์ข้าวที่สนใจได้ โดยพบการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดที่ยีน *OsNAC5* อาจเนื่องจากเป็นยีนในกลุ่ม TFs ใหญ่ที่สุดของพืช ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต การพัฒนา และการตอบสนองต่อความเครียดของพืช (Xi *et al.*, 2019)

โดยการจัดกลุ่มด้วยข้อมูลของ 4 ยีนรวมกัน จะจำแนกกลุ่มได้มากกว่าการจัดกลุ่มด้วยข้อมูลเพียงยีนเดียว สอดคล้องกับการจัดจำแนกกล้วยไม้สกุลหวายที่ใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน Beta-subunit RNA polymerase (*rpoC1*) และยีน MuturaseK (*matK*) รวมกัน มีประสิทธิภาพในการจัดจำแนกกล้วยไม้สูงกว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *rpoC1* หรือยีน *matK* เพียง 1 ยีน (Thanananta *et al.*, 2018)

ผลจัดกลุ่มด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เปลี่ยนแปลงของทั้ง 4 ยีนรวมกัน พบในข้าวกลุ่ม I แบ่งเป็น IB เป็นกลุ่มอินดิกา คือ พันธุ์ IR64-IL, IR64A และ Chenchui727 ที่เป็นข้าวนาสวนมีลักษณะรากตื้น (Farhan *et al.*, 2022; Yusaku *et al.*, 2011) ส่วนกลุ่ม IA เป็นพันธุ์ Haogelao พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่เป็นข้าวทนแล้ง (Sriprapai *et al.*, 2012; FengHua *et al.*, 2009) แยกออกมาก่อน ตามด้วยกลุ่มจาโปนิกา 2 ที่มีกลุ่มย่อย คือ ข้าวนาสวนที่มีความไวต่อความแล้ง พันธุ์ Nipponbare และ Yuefu (FengHua *et al.*, 2009) และพันธุ์น้ำรุ และข้าวไร่มีลักษณะรากลึก พันธุ์ Kinandang Patong ข้าวทนแล้งพันธุ์ IRAT109 (FengHua *et al.*, 2009) เจ้าหอและขาวโปงไคร้ ดังนั้นพันธุ์เจ้าหอและขาวโปงไคร้จึงน่าจะเป็นพันธุ์ระบบรากลึกและทนแล้งเช่นเดียวกับพันธุ์ Kinandang Patong และพันธุ์ IRAT109 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาความยาวของรากในระยะต้นกล้าพันธุ์ขาวโปงไคร้ ที่มีความยาวรากมากกว่าพันธุ์ปทุมธานี 1 และกุเมืองหลวง (Janphen *et al.*, 2023) อีกทั้งข้าวไทย 3 พันธุ์ คือน้ำรุ เจ้าหอ และขาวโปงไคร้จัดอยู่ในกลุ่มข้าวจาโปนิกา เช่นเดียวกับรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ (Damrongkiat, 2012; Sriprapai *et al.*, 2012)

สรุปผลการวิจัย

การค้นหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 4 ยีน (*OsSor1*, *OsDro1*, *OsNAC5* และ *OsNAC6*) จากข้าว 23 พันธุ์ พบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างจำนวน 147 ตำแหน่ง ซึ่งสามารถนำไปใช้ออกแบบเครื่องหมายดีเอ็นเอที่จำเพาะกับข้าวแต่ละพันธุ์ต่อไป ส่วนผลการจัดกลุ่มด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างของยีนทั้ง 4 รวมกันแบ่งข้าวได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่ม I จำนวน 12 พันธุ์เป็นกลุ่มอินดิกาและจาโปนิกา ที่การจัดกลุ่มสัมพันธ์กับระบบนิเวศการปลูก ลักษณะรากและความทนแล้งสำหรับกลุ่ม II จำนวน 11 พันธุ์ เป็นข้าวอินดิกาที่เป็นพันธุ์พื้นเมือง ข้าวไร่ และข้าวนาสวน ซึ่งไม่พบสัมพันธ์กับ

ระบบนิเวศการปลูกอย่างชัดเจน โดยจากข้าวไทยจำนวน 15 พันธุ์ พบพันธุ์เจ้าหอและขาวโปงไคร้ อยู่กลุ่มเดียวกับข้าวไร่ที่มีลักษณะรากลึกและทนแล้ง ซึ่งสามารถนำข้าว 2 พันธุ์นี้ ไปใช้ในการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับความทนแล้ง เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวไทยให้ทนแล้งต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ผ่านมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2566 และขอขอบคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่สนับสนุนการดำเนินการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Arun, K., S. RS, P.R. Kumar and S.A. Kumar. 2023. Integrated approaches to develop drought-tolerant rice: demand of era for global food security. **Journal of Plant Growth Regulation** 42(1): 96-120.
- Damrongkiat, C. 2012. Upland Rice and Food Security. pp. 110-120. *In Proceedings of the 2nd National Rice Conference under the Theme "New Dimensions in Thai Rice Research" for the Year 2555.* Bangkok: Department of Rice. [in Thai]
- Eiko, H., S. Kazuhiro, N. Shinsei, O. Mitsuhiko, F. Yoshimichi, U. Yusaku, M. Akio, H. Hirohiko, H. Atsushi and M. Masahiko. 2013. Isolation of a novel mutant gene for soil-surface rooting in rice (*Oryza sativa* L.). **Rice** 6(1): 1-11.

- Farhan, N., S. Sumbal, Y. Guotao, K.A. Rasheed, Z. Yating, Q. Jian, W. Xuechun, J. Kaifeng, P. Youlin, and H. Yungao. 2022. The adenine at the 4th exon of the *DRO1* gene provides drought-tolerance capacity to hybrid rice Deyou4727 and its maintainer line Dexiang074B. **Agronomy** 12(3): 752.
- FengHua, G., Z. HongLiang, W. HaiGuang, G. Hong, and L. ZiChao. 2009. Comparative transcriptional profiling under drought stress between upland and lowland rice (*Oryza sativa* L.) using cDNA-AFLP. **Chinese Science Bulletin** 54(19): 3555-3571.
- Hiroaki, S., L.S. Shin, T. Tsuyoshi, N. Hisataka, K. Jungsok, K. Yoshihiro, W. Hironobu, Y. Ching-chia, I. Masao, and A. Takashi. 2013. Rice annotation project database (RAP-DB): an integrative and interactive database for rice genomics. **Plant and Cell Physiology** 54(2): e6.
- Janphen, K., K. Lanumteang, V. Sangtong, C. Sakulsingharoj and S. Pongjaroenkit. 2023. Microsatellite Markers Associated with Drought Tolerance in Six Rice Varieties. pp 38-47. *In* **Proceedings of The 4th Science Technology and Innovation Conference 2023**. Chiang Mai: Faculty of Science, Maejo University. [in Thai]
- Janphen, K., V. Sangtong, C. Sakulsingharoj, S. Leethanatudom, A. Poeaim, and S. Pongjaroenkit. 2022. Gene sequence variations of carotenoid biosynthesis pathway in Thai rice varieties (*Oryza sativa* L.) from transcriptome and whole genome sequencing analysis. **Burapha Science Journal** 27(2): 900-920. [in Thai]
- Kim, Y., Y.S. Chung, E. Lee, P. Tripathi, S. Heo and K.-H. Kim. 2020. Root response to drought stress in rice (*Oryza sativa* L.). **International Journal of Molecular Sciences** 21(4): 1513.
- Koichiro, T., S. Glen and K. Sudhir. 2021. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. **Molecular Biology and Evolution** 38(7): 3022-3027.
- Kumari, S.B., M.K. Ramkumar, M. Dalal, A Singh A.U. Solanke, N.K. Singh and A.M. Sevanthi 2021. Allele mining for a drought responsive gene *DRO1* determining root growth angle in donors of drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). **Physiology and Molecular Biology of Plants** 27: 523-534.
- Li, J., S. Wang, J. Yu, L. Wang and S. Zhou. 2013. A modified CTAB protocol for plant DNA extraction. **Chinese Bulletin of Botany** 48(1): 72.

- Locedie, M., F.R. Rommel, B.F. Nikki, D. Jeffery, A.-S.J. Miguel, C. Dmytro, S. Millicent, P. Kevin, C. Dario and P. Alexandre. 2017. Rice SNP-seek database update: new SNPs, indels, and queries. **Nucleic Acids Research** 45(D1): D1075-D1081.
- Myint, S.M., R. Mathurada, C. Cattleya, A. Anuruck, T. Theerayut and J.L. Siangliw. 2022. Root characterization of Myanmar upland and lowland rice in relation to agronomic and physiological traits under drought stress condition. **Agronomy** 12(5): 1230.
- Sriprapai, C., P. Keasinee, S. Wachira, U. Kittipat, and M. Amorntip. 2012. Genetic structure of Thai rice and rice accessions obtained from the International Rice Research Institute. **Rice** 5: 1-13.
- Takayuki, O., S. Seishi, Y. Toshiko, K. Kazuhiro, Y. Yoshu, H. Hiro-Yuki and T. Nobuhiro. 2005. *OsNAC6*, a member of the NAC gene family, is induced by various stresses in rice. **Genes & Genetic Systems** 80(2): 135-139.
- Thanananta, N., T. Maneenet, P. Khumphai and T. Thanananta. 2018. Assessment of genetic relationship and identification of *Dendrobium* section callista using nucleotide sequences of *rpoC1* and *matK* genes. **Thai Journal of Science and Technology** 7(1): 81-88. [in Thai]
- Woon, B.S., C. Seowon, J. Xuanjun, J.S. Eun, C.J. Weon, S.J. Sung, and K. Ju-Kon. 2022. Transcriptional activation of rice CINNAMOYL-CoA REDUCTASE 10 by *OsNAC5*, contributes to drought tolerance by modulating lignin accumulation in roots. **Plant Biotechnology Journal** 20(4): 736-747.
- Xi, Y., W. Hui, C. Jiating, L. Dayong and S. Fengming. 2019. NAC transcription factors in plant immunity. **Phytopathology Research** 1(1): 1-13.
- Yusaku, U., O. Kazutoshi and Y. Masahiro. 2011. *Dro1*, a major QTL involved in deep rooting of rice under upland field conditions. **Journal of Experimental Botany** 62(8): 2485-2494.
- Yusaku, U., S. Kazuhiko, O. Satoshi, R. Jagadish, I. Manabu, H. Naho, K. Yuka, I. Yoshiaki, O. Kazuko and K. Noriko. 2013. Control of root system architecture by *DEEPER ROOTING 1* increases rice yield under drought conditions. **Nature Genetics** 45(9): 1097-1102.