การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองในภาคใต้ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด และเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์

Genetic Variation of Indigenous Rice in Southern Thailand by Seed Morphology and Microsatellite Technique

อรวรรณ สมใจ

Orawan Somjai

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Plant Science
Prince of Songkla University
2553

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองในภาคใต้โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด และเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์

ผู้เขียน นางสาวอรวรรณ สมใจ

สาขาวิชา พืชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

…….

(รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

……..…

(ศาสตราจารย์ ดร.ไพศาล เหล่าสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบ

……....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต)

……..กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี)

……....กรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร.ไพศาล เหล่าสุวรรณ)

……....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ อภิสิทธิวาณิช)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

……..

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองในภาคใต้ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด และเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์

ผู้เขียน นางสาวอรวรรณ สมใจ

สาขาวิชา พืชศาสตร์

ปีการศึกษา 2552

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาเพื่อประเมินความแปรปรวนทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมือง (*Oryza sativa* L.) ในภาคใต้ ที่เก็บรวบรวมจากแปลงเกษตรกร บริเวณลุ่มน้ำนาทวี จังหวัดสงขลา ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง จังหวัดพัทลุง และศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี จังหวัดปัตตานี จำนวน 50 พันธุ์ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดร่วมกับเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ ได้แยกลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ด ออกเป็นลักษณะทางคุณภาพ 5 ลักษณะคือ สีเปลือกเมล็ด รูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง ความยาวของกลีบรองดอก ขนบนเปลือกเมล็ด และสีเมล็ดข้าวกล้อง และได้แยกลักษณะทางปริมาณ 3 ลักษณะคือ น้ำหนักข้าวเปลือก 100 เมล็ด ความยาวเมล็ดข้าวเปลือก และความกว้างเมล็ดข้าวเปลือก ประเมินความหลากหลายระหว่างพันธุ์ข้าวพื้นเมืองโดยใช้ค่าดัชนีความหลากหลายของ Shannon-weaver index (H') ในการพิจารณาความหลากหลายของลักษณะทางคุณภาพ พบว่าลักษณะที่มีความหลากหลายภายในประชากรสูงที่สุด คือ ลักษณะของสีเปลือกเมล็ด ซึ่งมีค่าดัชนีความหลากหลาย (H') เท่ากับ 1.0163 รองลงมาคือลักษณะของรูปร่างเมล็ดข้าวกล้องมีค่า H' เท่ากับ 0.8258 ส่วนลักษณะสีของเมล็ดข้าวกล้อง เป็นลักษณะที่มีความหลากหลายภายในประชากรต่ำที่สุด คือมีค่า H' เท่ากับ 0.2652 ในการศึกษาลักษณะทางปริมาณ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ (F-test) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างตัวอย่างโดยใช้ LSD (Least Significant Differene) โดยพบว่าข้าวพื้นเมืองทั้งหมด 50 พันธุ์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้ง 3 ลักษณะ คือ น้ำหนักข้าวเปลือก 100 เมล็ด ความยาว และความกว้างเมล็ดข้าวเปลือก เมื่อศึกษาโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ ทำการทดสอบกับไพรเมอร์ 6 คู่ คือ RM9 RM21 RM166 RM211 RM219 และ RM280 พบว่าให้จำนวนอัลลีลทั้งหมด 23 อัลลีล เป็นอัลลีลที่ให้ความแตกต่างทั้งหมด เฉลี่ย 3.83 อัลลีลต่อตำแหน่ง เมื่อนำข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่ได้มาสร้างเดนโดรแกรมเพื่อหาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมโดยใช้วิธี UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average) จากโปรแกรม NTSYS (version 2.1) ผลการวิเคราะห์ข้อมูลจากเดนโดรแกรม สามารถแบ่งกลุ่มข้าวพื้นเมืองออกได้เป็น 6 กลุ่ม มีค่า

ดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.39-1.00 โดยแต่ละกลุ่มประกอบด้วยข้าวพื้นเมืองพันธุ์ต่างๆปะปนกัน ไม่ขึ้นกับแหล่งที่มาของตัวอย่าง และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะต่อกลุ่มประชากรข้าวพื้นเมือง แสดงให้เห็นว่าประชากรข้าวพื้นเมืองในภาคใต้ที่นำมาทำการศึกษามีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง

Thesis Title	Genetic Variation of Indigenous Rice in Southern Thailand by Seed Morphology and Microsatellite Technique
Author	Miss Orawan Somjai
Major Program	Plant Science
Academic Year	2009

ABSTRACT

A study on genetic variation among fifty varieties indigenous rice (*Oryza sativa* L.) collected from Nathawi basin in Songkhla province, Phatthalung Rice Research Center in Phatthalung province and Pattani Rice Research Center in Pattani province was analyzed by seed morphological traits and microsatellite markers. Seed morphological traits consisted of five qualitative traits including hull color, brown rice shape, sterile lemma length, inner glumes pubescence and brown rice color. Three quantitative traits such as 100–grain weight, grain length and grain width. Variations of qualitative characters were assessed with the Shannon–weaver index (H'). The highest variation within population was found in hull color with Shannon–weaver index (H') = 1.0163, followed by brown rice shape (H' = 0.8258) and the lowest variation within population was found in brown rice color (H' = 0.2652). Variations of quantitative characters were determined with F-test and LSD (Least Significant Difference). For quantitative traits, the data showed significantly difference in grain weight, grain length and grain width among the fifty varieties. Genetic variability was investigated with 6 microsatellite markers: RM9 RM21 RM166 RM211 RM219 and RM280. A total of 23 alleles were found. All alleles were polymorphic with an average of 3.83 alleles per locus. Dendrograms showing genetic similarities among fifty indigenous rice were analyzed using UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average). Cluster analysis was performed by the NTSYS version 2.1 program. Indigenous rice could be separated into 6 groups with similarity coefficients ranging from 0.39-1.00. The clustering was not correlated with geographical locations of collected samples. No specific fragment common to any group of samples was obtained from the present study. The result indicated that the level of genetic diversity of indigenous rice in Southern Thailand is high.

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(7)
รายการตาราง	(8)
รายการรูป	(9)
บทที่	
1 บทนำ	
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	15
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย	16
วัสดุและอุปกรณ์	16
วิธีการ	20
3. ผล	27
4. วิจารณ์	52
5. สรุป	58
เอกสารอ้างอิง	59
ภาคผนวก	66
ประวัติผู้เขียน	73

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ชื่อพันธุ์ จำนวนตัวอย่าง และสถานที่เก็บตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวพื้นเมืองในภาคใต้ ที่ใช้ในการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรม โดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ด และเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์	21
2	เปรียบเทียบความแตกต่างในลักษณะทางปริมาณของเมล็ดข้าวพันธุ์พื้นเมืองในภาคใต้	29
3	ลักษณะทางคุณภาพของรูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง และค่าดัชนีความหลากหลาย (H') ของข้าวพันธุ์พื้นเมืองในภาคใต้	33
4	ลักษณะทางคุณภาพ และค่าดัชนีความหลากหลาย (H') ของตัวอย่างข้าวพันธุ์พื้นเมืองในภาคใต้	38
5	ชนิดของคู่ไพรเมอร์ที่คัดเลือก ลำดับเบส จำนวนอัลลีลทั้งหมด และจำนวนอัลลีลที่ต่างกัน จากการใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ในข้าวพันธุ์พื้นเมือง	46
ตารางภาคผนวกที่		
1	คู่ไพรเมอร์ที่ใช้ทดสอบ ลำดับเบสของไพรเมอร์ และผลที่ได้จากการทดสอบไมโครแซตเทลไลต์-พีซีอาร์ กับดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์พื้นเมือง	72

รายการรูป

รูปที่		หน้า
1	แผนที่แสดงแหล่งที่ได้รวบรวมเมล็ดพันธุ์ของประชากรข้าวพื้นเมืองในภาคใต้ของประเทศไทย	20
2	การจำแนกสีเปลือกเมล็ดของข้าวพันธุ์พื้นเมือง	31
3	ลักษณะรูปร่างเมล็ดข้าวกล้องของข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่พบ และใช้ในการประเมินพันธุ์	32
4	การกระจายตัวในลักษณะรูปร่างเมล็ดข้าวกล้องของข้าวพันธุ์พื้นเมืองในภาคใต้	35
5	การจำแนกสีเมล็ดข้าวกล้องของข้าวพันธุ์พื้นเมือง	37
6	แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายตัวของประชากรข้าวพื้นเมือง จากลักษณะทางคุณภาพของสีเปลือกเมล็ด	40
7	แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายตัวของประชากรข้าวพื้นเมือง จากลักษณะทางคุณภาพของรูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง	40
8	แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายตัวของประชากรข้าวพื้นเมือง จากลักษณะทางคุณภาพของความยาวกลีบรองดอก	41
9	แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายตัวของประชากรข้าวพื้นเมือง จากลักษณะทางคุณภาพของขนบนเปลือกเมล็ด	41
10	แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายตัวของประชากรข้าวพื้นเมือง จากลักษณะทางคุณภาพของสีเมล็ดข้าวกล้อง	42
11	แผนภูมิแท่งแสดงค่าดัชนีความหลากหลาย Shannon-Weaver index (H') ของลักษณะทางคุณภาพ 5 ลักษณะ	42
12	เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของข้าวพื้นเมืองจำนวน 50 พันธุ์ โดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด จากลักษณะคุณภาพ 5 ลักษณะ	44
13	แถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM9	47

รายการรูป(ต่อ)

รูปที่		หน้า
14	แถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM21	47
15	แถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM166	48
16	แถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM211	48
17	แถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM219	49
18	แถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM280	49
19	เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของข้าวพื้นเมืองจำนวน 50 พันธุ์ จากการใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์จำนวน 6 คู่ไพรเมอร์	51

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ข้าวเป็นพืชอาหารที่สำคัญชนิดหนึ่งประชากรมากกว่าครึ่งโลกบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก ข้าวเป็นพืชล้มลุกจัดอยู่ในวงศ์หญ้า (*Family: Gramineae หรือ Poaceae*) สกุลออไรซ่า (Genus*: Oryza*) สกุลนี้มีความผันแปรสูงมากและแพร่กระจายไปทั่วโลก แหล่งผลิตข้าวที่สำคัญได้แก่ ประเทศในแถบเอเชีย และหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก นอกจากนี้ยังมีการปลูกในประเทศสหรัฐอเมริกาและประเทศอื่นๆ ข้าวสามารถปลูกได้ทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น ที่ระดับน้ำทะเลสูง 2,500 เมตร ทั้งนี้ข้าวปลูก (*Oryza sativa* L.) ที่ปลูกในปัจจุบันมีวิวัฒนาการมาจากข้าวป่านานกว่า 7,000 ปีมาแล้ว ต่อมาได้วิวัฒนาการเป็นข้าวปลูกพันธุ์ต่างๆ จำนวนมาก ส่วนใหญ่เป็นผลมาจากการปรับตัวให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมโดยธรรมชาติ หรือการคัดเลือกของชาวนาโดยภูมิปัญญาท้องถิ่นที่มีมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โดยเฉพาะพันธุ์ข้าวพื้นเมืองซึ่งได้ตกทอดควบคู่มากับอาชีพการทำนา นับเป็นทรัพยากรพันธุกรรมพืชที่สำคัญควรค่าแก่การรักษา ในขณะเดียวกันยังเป็นการสร้างความหลากหลายในฐานพันธุกรรมข้าว (สงกรานต์, 2543)

ลักษณะดีบางอย่างในข้าวพันธุ์พื้นเมือง เช่นความต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูพืช และความทนทานต่อสภาพแวดล้อม เป็นต้น เป็นฐานพันธุกรรมที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ได้พันธุ์ดีในอนาคต ปัจจุบันพบว่าเกษตรกรในภาคใต้มีการปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมืองอยู่อย่างกระจัดกระจาย โดยทั่วไปมักนิยมปลูกข้าวพันธุ์ใหม่ที่ไม่ใช่พันธุ์พื้นเมืองดั้งเดิม เนื่องจากให้ผลผลิตสูง คุณภาพเมล็ดดี เป็นที่ต้องการของตลาด อีกทั้งยังพบว่ามีการเปลี่ยนพื้นที่นามาเป็นพื้นที่ปลูกยางพาราและอื่นๆ เป็นจำนวนมาก การที่เกษตรกรปลูกข้าวเพียงไม่กี่พันธุ์ทำให้พันธุ์ข้าวดั้งเดิมที่มีลักษณะดีบางอย่างสูญพันธุ์ไปเป็นจำนวนมาก และความผันแปรทางพันธุกรรมที่มีอยู่ในพันธุ์ข้าวและในนาลดลง ซึ่งเป็นอันตรายอย่างยิ่งต่อการผลิตและพัฒนาพันธุ์ข้าวในประเทศ หากไม่รีบดำเนินการเก็บรวบรวมพันธุ์หรืออนุรักษ์ทรัพยากรเชื้อพันธุ์ข้าวอย่างหนึ่งอย่างใดแล้ว ในระยะเวลาอันสั้นนี้แหล่งพันธุกรรมข้าวก็จะหมดไปทำให้อนาคตจะไม่มีพันธุ์ข้าวที่มีความหลากหลายอีกต่อไป

การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมนั้นต้องมีความเข้าใจพื้นฐานเกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมซึ่งสามารถศึกษาได้โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ซึ่งเป็นลักษณะที่สังเกตได้ง่าย

เช่น ความสูง ลักษณะทรงพุ่ม สีของลำต้น ขนาดและรูปร่างของเมล็ด เป็นต้น รูปแบบของความแตกต่างเหล่านี้ไม่เพียงพอที่จะแยกพันธุ์ข้าวออกได้อย่างสมบูรณ์ บางครั้งก็เกิดความผิดพลาดได้ในกรณีของสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามปัจจุบันมีความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีชีวภาพที่สามารถนำมาช่วยในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับโมเลกุล เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ (microsatellite) เป็นหนึ่งในเครื่องหมายโมเลกุลที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ในการศึกษาด้านต่างๆในพืชรวมถึงในข้าว ไมโครแซตเทลไลต์เป็นเครื่องหมายที่มีลำดับเบสซ้ำขนาดสั้นๆไม่ซับซ้อน และมีความจำเพาะเจาะจงของตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมายบนจีโนม (สุรินทร์, 2545) ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้ เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของข้าวพื้นเมืองในภาคใต้โดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดร่วมกับเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซตเทลไลต์

ตรวจเอกสาร

1. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับข้าว

ข้าวเป็นพืชล้มลุกตระกูลหญ้า (annual grass) ถูกจัดอยู่ในสกุล *Oryza* ของวงศ์ Gramineae หรือ Paoceae สามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตร้อน และเขตอบอุ่น จำนวนชนิด (species) ทั้งหมดที่พบในสกุล *Oryza* มีประมาณ 20 ชนิดด้วยกัน (บุญหงษ์, 2549) ข้าวที่ขึ้นอยู่ในท้องที่ต่างๆ ของโลกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ข้าวเอเชีย (*Oryza sativa*) ปลูกกันทั่วไปทั้งในเอเชีย อเมริกา ออสเตรเลีย แอฟริกา และยุโรป ข้าวแอฟริกา (*O. glaberrima*) ปลูกเฉพาะทางด้านตะวันตกของทวีปแอฟริกาเท่านั้น และข้าวป่าเป็นข้าวที่เกิดขึ้นและเจริญเติบโตเองตามธรรมชาติในประเทศต่างๆ ของทุกทวีปที่ปลูกข้าว สำหรับข้าวป่าสามารถแบ่งตามลักษณะการเจริญเติบโตออกได้เป็น 2 ชนิดคือ ชนิดข้ามปี เช่น *O. perennis* หรือ *O. rufipogon* และชนิดปีเดียว เช่น *O. nivara* (Maclean *et al*., 2002) ปัจจุบันข้าวที่ปลูกบริโภคมีอยู่ 2 ชนิด คือข้าวเอเชียและข้าวแอฟริกา ข้าวปลูกทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันทางลักษณะทางนิเวศวิทยาและสัณฐานวิทยา ข้าวปลูกเอเชียมีความสามารถในการปรับตัวค่อนข้างสูง มีวิวัฒนาการภายใต้สภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันทั้งด้านภูมิศาสตร์และภูมิอากาศที่หลากหลายทำให้เกิดพันธุ์ข้าวมากมาย เนื่องจากข้าวปลูกเอเชียมีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างมาก จึงสามารถปลูกได้ตั้งแต่ที่ดอนที่สูงกว่าระดับน้ำทะเลปานกลางมากกว่า 1,500 เมตร จนถึงพื้นที่ลุ่มที่มีระดับน้ำลึก 1-5 เมตร จากการจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา รวมทั้งการปรับตัวในสภาพแวดล้อมที่ต่างกันตามลักษณะภูมิศาสตร์ (กรมวิชาการเกษตร, 2547)

ข้าวปลูกเอเชียสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม (นาถ, 2545; ชาญ, 2536) ดังนี้

1. ข้าวปลูกกลุ่มอินดิคา (indica) ปลูกอย่างแพร่หลายในเขตร้อน โดยเฉพาะในประเทศอินเดีย ศรีลังกา ไทย มาเลเซีย และประเทศใกล้เคียง มีลักษณะต้นสูง ลำต้นอ่อน แตกกอมาก ใบกว้าง สีเขียวอ่อน เมล็ดร่วงง่าย เมล็ดมีลักษณะยาว ค่อนข้างแบน หางเมล็ด (awn) สั้นมาก ขนของข้าวเปลือกสั้น

2. ข้าวปลูกกลุ่มจาปอนิคา (japonica) ปลูกมากในเขตอบอุ่นส่วนมากในญี่ปุ่น จีน เกาหลี และไต้หวัน มีลักษณะต้นเตี้ย ลำต้นแข็ง แตกกอปานกลาง ใบแคบมีสีเขียวแก่ เมล็ดร่วงยาก เมล็ดมีลักษณะสั้นกลม หางเมล็ดมีตั้งแต่สั้นมากถึงยาว ขนของข้าวเปลือกมีมากและยาว

3. ข้าวปลูกกลุ่มจาวานิคา (javanica) ส่วนใหญ่พบในอินโดนีเซีย ตามไหล่เขาของฟิลิปปินส์ และตามภูเขาในประเทศมาดากัสการ์บ้าง มีลักษณะต้นสูง ลำต้นแข็ง แตกกอน้อย

ใบกว้างแข็ง มีสีเขียวอ่อน เมล็ดร่วงยาก เมล็ดมีลักษณะกว้างและหนา หางเมล็ดมีตั้งแต่สั้นมากจนถึงยาว ขนของข้าวเปลือกยาว

2. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าว

<u>ราก</u>

ระบบรากเป็นแบบรากฝอย มีการเจริญของราก 2 ส่วน

1. รากที่เจริญมาจากส่วนของคัพภะ เป็นรากที่พัฒนามาจากส่วน radicle เรียกว่า รากชุดที่หนึ่ง (primary root) หรือ (first seeding root) ซึ่งเป็นรากที่ยาวมีสีน้ำตาล รากชุดที่หนึ่งมีรากที่แตกแขนงออกมาเรียกว่า รากชุดที่สอง (secondary root) หรือ รากแขนง (lateral root) นอกจากนี้ยังมีรากที่เกิดขึ้นที่ scutellar node เรียกว่า seminal root รากทั้งหมดนี้มีการเจริญในระยะเวลาสั้นๆ และตายไปในระยะที่ต้นข้าวยังเป็นต้นกล้า

2. รากที่เจริญมาจากส่วนข้อของลำต้น เป็นรากที่เจริญมาจากปุ่มกำเนิดราก (root primordia) ที่ข้อส่วนล่างๆ ของลำต้น เรียกว่า adventitious root ข้อแรกที่เกิด adventitious root คือ coleoptilar node รากพวกนี้เริ่มเกิดเมื่อต้นข้าวมีอายุประมาณ 15 วัน ระยะแรกจะมีขนาดสั้น สีขาวและอวบ เมื่อต้นข้าวอายุได้ 6 สัปดาห์ รากชนิดนี้จะมีขนาดยาวขึ้น มีสีน้ำตาลอ่อน และมีรากแขนงแตกออกมาจำนวนมาก ต้นข้าวมีการสร้างรากชนิดนี้เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จำนวนรากจะมีมากที่สุดในระยะออกรวง จากนั้นจำนวนรากจะเริ่มลดลงจนถึงเก็บเกี่ยว

การเจริญเติบโตของรากข้าวแตกต่างกันไปตามวิธีการปลูก ถ้าปลูกแบบหว่านรากจะสามารถหยั่งลงไปได้ลึก แต่การแผ่กระจายและจำนวนรากมีน้อย ส่วนการปลูกแบบปักดำรากจะอยู่ในระดับตื้น มีจำนวนรากมากและแผ่กระจายดี สำหรับพันธุ์ข้าวขึ้นน้ำจะมีรากเกิดจากข้อของลำต้นที่อยู่ใต้น้ำ มีหน้าที่ช่วยดูดธาตุอาหารจากน้ำ นอกจากนี้การเจริญของรากในข้าวพันธุ์เดียวกันอาจแตกต่างกันเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน ได้แก่ ลักษณะภูมิอากาศ ลักษณะเนื้อดิน ธาตุอาหาร การให้ปุ๋ย การทดน้ำ และระบายน้ำ การปฏิบัติดูแลรักษา ระยะปลูก และวิธีการปลูก (บุญหงส์, 2549)

ลำต้น

ลำต้น ประกอบด้วยข้อและปล้อง ในส่วนของข้อประกอบด้วยส่วนต่างๆ ได้แก่ เนื้อเยื่อเจริญ ปุ่มกำเนิดราก ตา และรอยกาบใบ ตาในส่วนล่างของลำต้นสามารถเจริญเป็นหน่อได้ ลำต้นที่เจริญมาจากเมล็ดเรียกว่า main culm หน่อที่เจริญจากตาบน main culm เรียกว่า primary tiller หน่อที่เจริญจากตาบน primary tiller เรียกว่า secondary tiller และหน่อที่เจริญจากตาบน secondary tiller เรียกว่า tertiary tiller ตามลำดับ ลำต้นมีความสูงระหว่าง 30-40 เซนติเมตรในพันธุ์เตี้ย จนถึงสูงกว่า 7 เมตรในพันธุ์ข้าวขึ้นน้ำ พันธุ์ข้าวที่ปลูกเป็นการค้ามีความสูงประมาณ 1-2 เมตร ความสูงของต้นข้าวขึ้นอยู่กับจำนวนปล้องซึ่งแตกต่างในแต่ละพันธุ์ และสภาพแวดล้อมจะมีผลต่อความยาวของปล้อง ข้าวพันธุ์เบาจะมีจำนวนปล้องน้อยกว่าข้าวพันธุ์กลาง และข้าวพันธุ์หนักตามลำดับ จำนวนปล้องมีตั้งแต่ 10 ถึง 20 ปล้องต่อต้น ความแตกต่างของความสูงระหว่างพันธุ์จะเห็นได้ชัดเจนเมื่อข้าวมีอายุมากขึ้น โดยมีความสูงมากที่สุดเมื่อดอกบาน ข้าวพันธุ์เบาเป็นข้าวที่เจริญเติบโตได้เร็วกว่าข้าวพันธุ์กลาง และข้าวพันธุ์หนัก ภายในลำต้นของข้าวมีลักษณะกลวง จะตันเฉพาะในส่วนของข้อเท่านั้น ที่บริเวณข้อมีลักษณะพองโต เรียกว่า pulvinus ซึ่งอาจมีสีม่วงจนถึงสีม่วงแก่ บางกรณีจะเป็นสีเดียวกันกับสีของกาบใบ สีที่พบที่ปล้องของข้าวมีหลายสี ได้แก่ สีเขียว สีเหลือง และสีม่วง แตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว มีการแตกกอมาก จำนวนหน่อที่เกิดขึ้นอยู่กับพันธุ์ ระยะปลูก การให้ปุ๋ย และสภาพแวดล้อม ความสามารถในการแตกกอหรือแตกหน่อนี้เรียกว่า tillering capacity ข้าวแต่ละกอมีจำนวนหน่อประมาณ 4-80 หน่อ (บุญหงษ์, 2549)

ใบ

ประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก ได้แก่ กาบใบ และแผ่นใบ โดยกาบใบจะหุ้มลำต้นไว้ ความยาวของกาบใบข้าวแตกต่างกันขึ้นอยู่กับตำแหน่งของข้อบนลำต้น ตั้งแต่ข้อที่ 10 ความยาวของปล้องจะเริ่มมากกว่าความยาวของกาบใบ พบสีที่ฐานของกาบใบเฉพาะด้านนอก หรือพบทั้งด้านนอก และด้านใน แผ่นใบมีความกว้างแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ มักมีขน มีเส้นกลางใบเห็นได้ชัดเจน และมีเส้นใบขนานไปกับเส้นกลางใบ

ในบริเวณระหว่างกาบใบและแผ่นใบ พบส่วนต่างๆ 3 ส่วน ได้แก่ เยื่อกันน้ำหรือลิ้นใบ หูใบหรือเขี้ยวใบ และรอยต่อระหว่างกาบใบและแผ่นใบ ลักษณะของเยื่อกันน้ำเป็นเยื่อบางๆ อาจมีสีหรือไม่มีสีก็ได้ ถ้ามีสีได้แก่ สีชมพูหรือสีม่วงเหมือนสีของกาบใบ เยื่อกันน้ำในใบที่แก่อาจหลุดร่วงไปทำให้ไม่สามารถสังเกตเห็นได้ ในส่วนของเขี้ยวใบ มีลักษณะเป็นเส้นหรือฟันเลื่อย

ยาวๆ เกิดจากส่วนฐานของแผ่นใบ ถ้ามีสีมักเป็นสีเดียวกับ pulvinus และส่วนรอยต่อระหว่างกาบใบ และแผ่นใบจะเห็นได้ชัดจากด้านหลัง

นอกจากนี้ยังมีส่วนของกลุ่มเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่มีลักษณะคล้ายใบที่ไม่มีเส้นกลางใบ มีลักษณะเป็นสัน 2 สัน พบระหว่างหน่อหรือแขนงที่แตกจากลำต้นเรียกว่า prophylum มีความยาวประมาณ 5 เซนติเมตร จำนวนใบที่ส่วนของ main culm มีมากที่สุด รองลงไปได้แก่ primary tiller secondary tiller และ tertiary tiller ตามลำดับ (ชาญ, 2536)

ช่อดอกและดอก

ช่อดอกเป็นแบบ panicle เจริญมาจากตายอด (terminal bud) โดยมีปล้องสุดท้ายของลำต้น (uppermost internode) พัฒนาเป็นก้านช่อดอก (peduncle) แกนกลางช่อดอก เรียกว่า rachis หรือ panicle axis มีการแตกกิ่งก้านจากส่วนของ rachis โดยกิ่งก้านที่แตกจาก rachis เรียกว่า primary branch แตกจาก primary branch เรียกว่า secondary branch

ดอกข้าวเกิดเป็นกลุ่มเรียกว่า spikelet มีส่วนประกอบดังนี้ กลีบดอกที่หุ้ม spikelet มี 2 กลีบ ได้แก่ กลีบด้านนอก (outer glume) และกลีบด้านใน (inner glume) กลีบทั้งสองนี้ไม่มีการเจริญปรากฏเป็นเพียงส่วนเล็กๆ ซึ่งมองเห็นไม่ชัด (rudimentary glume) อยู่ตรงปลายสุดของก้านดอก ภายในดอกประกอบด้วยดอกย่อยจำนวน 3 ดอก แต่มีดอกย่อยเพียงดอกเดียวที่มีการเจริญเรียกว่า flowering glume ส่วนดอกย่อยที่ไม่เจริญ 2 ดอกนั้นเหลือเฉพาะส่วน lemma ที่เรียกว่า sterile lemma หรือ non-flowering glume หรือ empty glume จำนวน 2 กลีบ ที่มีความยาวไม่เกิน 1/3 ของ flowering glume กลีบทั้งสองนี้ยังคงปรากฏให้เห็นอยู่ที่ฐานของเมล็ด เมื่อเมล็ดแก่แล้ว ดอกย่อยที่มีการเจริญประกอบด้วยกลีบดอกย่อยด้านนอก (lemma) ที่มีเส้นตามความยาว 5 เส้น และกลีบดอกย่อยด้านใน (palea) ที่มีเส้นตามความยาว 3 เส้น ภายในดอกย่อยประกอบด้วย เกสรตัวผู้ 6 อัน เกสรตัวเมีย ประกอบด้วยรังไข่ที่มี 1 ออวุล (Ovule) มีก้านชูเกสรตัวเมียสั้น และยอดเกสรตัวเมีย แยกเป็น 2 แฉก มีลักษณะคล้ายขนนกเรียกว่า plumose stigma เยื่อรองรังไข่ (lodicule) มี 2 อัน ขนาดเล็กใส อยู่ที่ส่วนฐานของรังไข่ ดอกข้าวเริ่มบานจากส่วนปลายช่อลงมา ดอกในช่อหนึ่งๆ จะบานหมดภายใน 6-7 วัน แต่ละดอกจะบานนานตั้งแต่ประมาณ 6 นาทีจนถึงมากกว่า 1 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับความชื้นของอากาศ อุณหภูมิ และแสงแดด เวลาที่ดอกบานอาจเกิดในเวลาใดก็ได้ขึ้นอยู่กับพันธุ์ ในพันธุ์ปลูกส่วนมากจะบานระหว่างเวลาเช้าไปจนถึงก่อนเที่ยง (จำรัส, 2534)

ผลและเมล็ด

ผลหรือเมล็ดเป็นแบบ caryopsis ประกอบด้วยเยื่อหุ้มผล (pericarp) ติดอยู่กับส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat หรือ testa) มีเปลือกหุ้มเรียกว่า hull ซึ่งประกอบด้วยส่วนของกลีบดอกย่อยด้านนอกและกลีบดอกย่อยด้านใน ผลของข้าวที่เก็บเกี่ยวมาเรียกว่า เมล็ดข้าวเปลือก (hulled grain) ซึ่งยังมีส่วนของเปลือกหุ้มติดอยู่ เมื่อแกะส่วนของเปลือกหุ้มออกเห็นเยื่อหุ้มผล และเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีน้ำตาล เรียกเมล็ดที่มีเยื่อหุ้มสีน้ำตาลนี้ว่าเมล็ดข้าวกล้อง (brown rice grain) หลังจากคัดเอาส่วนของเยื่อหุ้มสีน้ำตาลนี้ออกไปจะเป็น เมล็ดข้าวสาร (kernel) ส่วนหัวของเมล็ดข้าวสารมีสีขาวขุ่น ซึ่งเป็นส่วนที่เป็นคัพภะ (embryo) เรียกว่า จมูกข้าว ส่วนที่เหลือเป็นเอนโดสเปิร์ม (ประพาส, 2531)

3. การจำแนกชนิดของข้าว

การจำแนกชนิดของข้าวมีหลายรูปแบบ ขึ้นอยู่กับลักษณะบางประการของข้าว ดังนี้ (เอกสงวน, 2544)

3.1 จำแนกตามวิวัฒนาการ

- ข้าวป่า หมายถึง ข้าวที่เกิดขึ้นและเจริญเติบโตเองตามธรรมชาติ โดยทั่วไปจะพบตามริมหนอง คลอง บึง มีชื่อเรียกต่างกันไป เช่น ข้าวหญ้าละมาน หญ้าละมาน ข้าวนก และข้าวผี ข้าวป่าทั่วโลกมี 21 ชนิด พบว่ามี 5 ชนิดในประเทศไทย คือ *O. rufipogon, O. nivara, O. officinalis, O. ridleyi,* และ *O. granulata* และ 2 ใน 5 ชนิด เป็นบรรพบุรุษของข้าวปลูก ได้แก่ *O. rufipogon* และ *O. nivara* นอกจากนี้ยังพบข้าวป่าที่เกิดจากการผสมข้ามระหว่างข้าวป่ากับข้าวปลูก หรือระหว่างข้าวป่าด้วยกัน ข้าวป่าประเภทนี้มีการกระจายตัวสูง ไม่สามารถจัดเป็นอีกชนิดหนึ่งได้ จึงเรียกว่า “Spontanea forms” มีลักษณะกึ่งข้าวป่า และข้าวปลูก แต่มีความแข็งแรงกว่าข้าวปลูก (สงกรานต์, 2545)

- ข้าวปลูก หมายถึง ข้าวที่มนุษย์นำมาปลูกคัดเลือก พัฒนา และปรับปรุงเพื่อให้เหมาะสมกับการใช้ประโยชน์หลังจากใช้ปลูกมาเป็นระยะเวลาหนึ่ง บางพันธุ์อาจเลิกปลูก แต่บางพันธุ์อาจปลูกมาจนถึงทุกวันนี้

3.2 จำแนกตามแหล่งกำเนิด

- ข้าวเอเชีย หมายถึง ข้าวที่มีแหล่งกำเนิดในทวีปเอเชีย ซึ่งสามารถแบ่งเป็น 3 ประเภทที่สำคัญ คือ อินดิคา ซึ่งเป็นข้าวเมล็ดยาวเรียวเจริญเติบโตได้ดีในบริเวณเขตร้อน เช่น ศรีลังกา จีนตอนใต้และตอนกลาง อินเดีย อินโดนีเซีย บังกลาเทศ ไทย ฟิลิปปินส์ เป็นต้น ชนิดที่ 2 คือ จาปอนิคา เป็นข้าวเมล็ดสั้นป้อม มีเปอร์เซ็นอไมเลส (amylase) ต่ำ เจริญเติบโตได้ดีในเขตอบอุ่น เช่น ประเทศจีนตอนเหนือและตะวันออก ญี่ปุ่น เกาหลี ยุโรปตอนใต้ รัสเซีย อเมริกาใต้ เป็นต้น ชนิดที่ 3 คือ จาวานิคา เป็นข้าวต้นสูง เมล็ดใหญ่ป้อม ส่วนใหญ่จะปลูกในประเทศอินโดนีเซียเท่านั้น (บุญหงษ์, 2549)

- ข้าวแอฟริกา หมายถึง ข้าวที่มีแหล่งกำเนิดในทวีปแอฟริกา

3.3 จำแนกตามความยาวของเมล็ด

- ข้าวเมล็ดสั้น หมายถึง ข้าวที่มีความยาวของเมล็ดข้าวกล้องน้อยกว่า 5.50 มิลลิเมตร

- ข้าวเมล็ดยาวปานกลาง หมายถึง ข้าวที่มีความยาวของเมล็ดข้าวกล้องระหว่าง 5.51-6.60 มิลลิเมตร

- ข้าวเมล็ดยาว หมายถึง ข้าวที่มีเมล็ดยาว ความยาวของเมล็ดข้าวกล้องระหว่าง 6.61-7.50 มิลลิเมตร

- ข้าวเมล็ดยาวมาก หมายถึง ข้าวที่มีเมล็ดยาวมาก ความยาวของเมล็ดเกิน 7.50 มิลลิเมตร

3.4 จำแนกตามชนิดเนื้อแป้งในเมล็ดข้าว

- ข้าวเหนียว (glutinous rice หรือ waxy rice) เมล็ดข้าวสารจะมีสีขาวขุ่น เมื่อนึ่งแล้วจะได้ข้าวสุกที่จับตัวติดกันเหนียวแน่นและมีลักษณะใส

- ข้าวเจ้า (nonglutious rice) เมล็ดข้าวสารจะมีสีขาวใส เมื่อหุงหรือนึ่งสุกแล้ว ข้าวสุกจะมีสีขาวขุ่นและร่วนกว่าข้าวเหนียว

3.5 จำแนกตามความไวต่อช่วงแสง

- ข้าวไวแสง (photoperiod sensitive rice) ข้าวไวแสงจัดเป็นพืชวันสั้น จะออกดอกในเวลาที่กลางวันสั้นกว่ากลางคืน ข้าวประเภทนี้ใช้ปลูกในฤดูนาปี คือปลูกในฤดูฝน

เพื่อให้ออกดอกต้นฤดูหนาวหรือระหว่างฤดูหนาว ซึ่งช่วงเวลากลางวันสั้นกว่า 12 ชั่วโมง ข้าวประเภทนี้แบ่งเป็นข้าวเบา ข้าวกลาง ข้าวหนัก

- ข้าวไม่ไวแสง (photoperiod insensitive rice) ข้าวประเภทนี้ออกดอกตามอายุจึงปลูกได้ตลอดปี ถ้ามีน้ำเพียงพอ แต่จะให้ผลดีกว่าเมื่อปลูกในฤดูนาปรัง คือ ฤดูร้อน เพราะมีแสงแดดมากกว่าฤดูอื่น ข้าวประเภทนี้มีอายุตั้งแต่ประมาณ 110-150 วัน

3.6 จำแนกตามอายุการเก็บเกี่ยว

- ข้าวเบา หมายถึง ข้าวที่มีอายุการเจริญเติบโตนับตั้งแต่งอกจนถึงเก็บเกี่ยวสั้นไม่เกิน 100 วันสำหรับข้าวไม่ไวแสง และวันเก็บเกี่ยวประมาณก่อนกลางเดือนพฤศจิกายนสำหรับข้าวไวต่อช่วงแสง

- ข้าวกลาง หมายถึง ข้าวที่มีอายุการเจริญเติบโตนับตั้งแต่งอกถึงวันเก็บเกี่ยวไม่สั้นหรือยาวเกินไป ประมาณ 100-130 วันสำหรับข้าวไม่ไวแสง และวันเก็บเกี่ยวตั้งแต่ประมาณกลางเดือนพฤศจิกายน ถึงกลางเดือนธันวาคมสำหรับข้าวไวต่อช่วงแสง

- ข้าวหนัก หมายถึง ข้าวที่มีอายุการเจริญเติบโตนับตั้งแต่งอกถึงวันเก็บเกี่ยวยาวมากกว่า 130 วันสำหรับข้าวไม่ไวแสง และวันเก็บเกี่ยวตั้งแต่กลางเดือนธันวาคมเป็นต้นไปสำหรับข้าวไวต่อช่วงแสง

3.7 จำแนกตามนิเวศการปลูกข้าว

- ข้าวไร่ หมายถึง ข้าวที่ขึ้นได้ในที่ดอนหรือที่สูงตามไหล่เขา โดยไม่ต้องมีน้ำขัง อาศัยเพียงน้ำค้าง น้ำฝน และความชื้นในดินก็สามารถเจริญเติบโตออกรวงให้ผลผลิตได้

- ข้าวนาสวน คือ ข้าวที่ขึ้นได้ดีในนาที่มีน้ำขัง และระดับน้ำลึกไม่เกิน 50 เซนติเมตร

- ข้าวน้ำลึก หมายถึง ข้าวที่ปลูกในนาน้ำลึก ระดับน้ำในนามากกว่า 50 เซนติเมตร

- ข้าวขึ้นน้ำ หมายถึง ข้าวที่ปลูกในนาน้ำลึกมากกว่า 100 เซนติเมตร เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 เดือน

3.8 จำแนกตามวิธีการทำนา

- ข้าวนาดำ หมายถึง ข้าวที่ปลูกโดยวิธีปักดำ
- ข้าวนาหว่าน หมายถึง ข้าวที่ปลูกโดยวิธีหว่าน อาจเป็นการหว่านข้าวงอก (หว่านน้ำตม หรือ เพาะเลย) หรือหว่านข้าวแห้ง (หว่านสำรวย หรือ หว่านหลังขี้ไถ) ก็ได้
- ข้าวนาหยอด หมายถึง ข้าวที่ปลูกโดยวิธีหยอดเมล็ดในหลุม เช่น การปลูกข้าวไร่

3.9 จำแนกตามฤดูการปลูก

- ข้าวนาปี หมายถึง ข้าวที่ปลูกในฤดูฝน
- ข้าวนาปรัง หมายถึง ข้าวที่ปลูกในฤดูแล้งหรือนอกฤดู

3.10 จำแนกตามแหล่งน้ำที่ใช้ปลูก

- ข้าวนาชลประทาน หมายถึง ข้าวที่ปลูกโดยอาศัยน้ำจากชลประทานเป็นหลัก หรือข้าวที่ปลูกในพื้นที่ชลประทาน
- ข้าวนาน้ำฝน หมายถึง ที่ปลูกโดยอาศัยน้ำฝนเป็นหลักหรือข้าวที่ปลูกในพื้นที่นาอาศัยน้ำฝน

4. การใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจำแนกพันธุ์พืช

แหล่งพันธุกรรมของพืช ประกอบด้วยยีนที่มีความหลากหลาย และความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นปัจจัยสำคัญทำให้เกิดการวิวัฒนาการ การศึกษาโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล หรือ marker เพื่อบ่งชี้ความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) ของสิ่งมีชีวิตทั้งทางปริมาณและคุณภาพ อาจเป็นการจำแนกความแตกต่างระหว่าง และภายในสปีชีส์ หรือระหว่างและภายในประชากร หรือระหว่างต้นก็ได้ (สุรินทร์, 2545) การศึกษาพันธุกรรมข้าว และการจำแนกกลุ่มข้าว วิธีมาตรฐานที่ใช้ในการแบ่งแยกพันธุ์ออกจากกันนอกเหนือจากชื่อที่แตกต่างกันคือการดูความแตกต่างของข้าวโดยใช้วิธีเปรียบเทียบลักษณะภายนอกทางสัณฐานวิทยา หรือทางสรีรวิทยา เช่น ความสูง ลักษณะทรงพุ่ม สีของลำต้น ขนาดและรูปร่างของเมล็ด นอกจากนี้อายุวันออกดอก วันเก็บเกี่ยว ก็สามารถนำมาใช้ในการแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ข้าวได้ แต่จำนวนชนิดและรูปแบบของความแตกต่างเหล่านี้ไม่เพียงพอที่จะแยกพันธุ์ข้าวออกได้อย่าง

สมบูรณ์ บางครั้งก็เกิดความผิดพลาดได้ในกรณีของสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งลักษณะที่ตรวจสอบนี้มักจะขึ้นกับสภาพแวดล้อมทำให้การตรวจสอบผิดพลาดได้ บางครั้งต้องอาศัยความชำนาญเป็นพิเศษ และความแตกต่างเหล่านี้ก็เกิดขึ้นตามธรรมชาติ ทำให้ต้องรอนานในการใช้เป็นเครื่องมือในการจำแนกพันธุ์ข้าวจึงเสียเวลามากกว่าที่จะตรวจสอบได้ อย่างไรก็ตามการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยายังมีความจำเป็นต้องทำเป็นอันดับแรก แล้วจึงใช้วิธีอื่นประกอบเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ขึ้นหรือแก้ปัญหาในกรณีที่ไม่สามารถใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวได้

ปรีชา (2538) ศึกษาความหลากหลายของพันธุกรรมของข้าวไร่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทั้งที่ทราบชื่อและไม่ทราบชื่อ จำนวน42 ตัวอย่าง โดยได้นำมาศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นข้าวและเมล็ด 12 ลักษณะ พบว่าสามารถแยกเป็นพันธุ์ข้าวไร่ได้ 16 พันธุ์ แต่มีบางตัวอย่างที่เป็นตัวอย่างที่เก็บมาจากแปลงเดียวกัน เมื่อดูจากรูปพรรณสัณฐานของเมล็ดคล้ายกันมาก แต่เมื่อนำมาปลูกเพื่อประเมินพันธุ์พบว่าเป็นคนละพันธุ์

อัญชลี และคณะ (2549) จำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมือง 60 ตัวอย่างเชื้อพันธุ์ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 25 ลักษณะ นำลักษณะที่เก็บข้อมูลไปจำแนกโดยใช้โปรแกรม NTSYSpc version 2.10p ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่าค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.16-0.18 และเมื่อนำมาวิเคราะห์จัดกลุ่มและสร้างแผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม สามารถแบ่งกลุ่มพันธุ์ข้าวเหนียวดำพื้นเมืองออกเป็น 3 กลุ่ม

Bajracharya และคณะ (2005) ใช้ลักษณะทางพืชไร่ที่สำคัญร่วมกับเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์พื้นเมือง (landrace rice) ที่ปลูกที่ Jumla ของเนปาลซึ่งเป็นพื้นที่สูง ทั้งตัวอย่างที่ทราบชื่อพันธุ์ และมีลักษณะภายนอกแตกต่างกัน โดยพบว่าข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่ทำการศึกษามีความหลากหลายของลักษณะสัณฐานวิทยาแตกต่างกันน้อย และฐานพันธุกรรมแคบ

5. การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาพันธุกรรมพืช

ปัจจุบันมีการนำเครื่องหมายระดับโมเลกุล ซึ่งเป็นเครื่องหมายระดับดีเอ็นเอมาเป็นเครื่องมือในการตรวจสอบในระดับของยีน หรือ ดีเอ็นเอ ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างมากในการปรับปรุงพันธุ์ แยกสายพันธุ์ รวมทั้งประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสายพันธุ์ นอกจากนี้ยังนำมาใช้ในการทำแผนที่ทางพันธุกรรม และหาตำแหน่งของยีน ในระยะต้นๆ

เครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้เป็นระดับโปรตีน เช่น การใช้ไอโซไซม์ แต่พบว่ามีข้อจำกัดอยู่มาก เช่น มีอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม ระยะการเจริญเติบโตของพืชเข้ามาเกี่ยวข้อง ทำให้ประสิทธิภาพในการใช้แยกความแตกต่างระหว่างสิ่งมีชีวิตนั้นลดลง (Claros *et al*., 2000; Degani *et al*., 2001) ต่อมามีการพัฒนาเทคนิคขึ้นมาใหม่ คือเทคนิค RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) อาศัยหลักการที่เกิดจากความแตกต่างของลำดับเบสที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ความแตกต่างของลำดับเบสนี้เป็นคุณสมบัติทั่วไปที่พบในสิ่งมีชีวิตที่มีจีโนไทป์ต่างกัน อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้ยังมีข้อเสีย คือต้องใช้ดีเอ็นเอต้นแบบจำนวนมาก และต้องมีคุณภาพดี อีกทั้งยังมีขั้นตอนยุ่งยาก และค่าใช้จ่ายสูง (Saiki *et al*., 1988; Kaundun *et al*., 2000) ต่อมามีการพัฒนาวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์ (PCR: Polymerase Chain Reaction) ซึ่งทำง่ายและรวดเร็ว สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายได้ปริมาณมากในระยะเวลาสั้น โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase ในหลอดทดลอง หลังจากมีการค้นพบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์แล้วจึงได้มีการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลใหม่ๆเพิ่มขึ้นมากมาย เช่น เทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD: Random Amplified Polymorphic DNA) เอเอฟแอลพี (AFLP: Amplification Fragment Length Polymorphism) และไมโครแซตเทลไลต์ (microsatellite) เป็นต้น สำหรับในข้าวมีการใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาพันธุกรรมดังนี้

อภิชาติ และคณะ (2544) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองที่มีชื่อเหมือนกันคือ ปิ่นแก้ว ที่เก็บจากทุ่งรังสิต และอยุธยาจำนวน 34 สายพันธุ์ วิเคราะห์โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมายชนิด SSLP จำนวน 36 ตำแหน่ง พบว่าสายพันธุ์ที่มีระดับพันธุกรรมคล้ายคลึงกันมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ มีเพียง 2 สายพันธุ์ ส่วนสายพันธุ์ที่เหลือส่วนมากมีระดับความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมที่ต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าข้าวชื่อ ปิ่นแก้ว มีความหลากหลายสูงมากจนไม่อาจสรุปได้ว่าเป็นพันธุ์เดียวกัน

Qian และคณะ (2001) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของข้าวป่า (*oryza granulata*) ทั้งภายในและระหว่างกลุ่มประชากรจากประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน 5 กลุ่ม คือ จากมณฑลยูนนาน 3 กลุ่ม และมณฑลไหหนาน 2 กลุ่ม โดยใช้เทคนิค RAPD ใช้ไพรเมอร์จำนวน 79 ไพรเมอร์ พบว่ามีเพียง 20 ไพรเมอร์ ที่ตอบสนองต่อดีเอ็นเอต้นแบบ และให้แถบดีเอ็นเอเกิดขึ้นทั้งหมดรวม 199 แถบ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดแถบดีเอ็นเอแตกต่างกัน (polymorphism) จำนวน 61 แถบ (30.65%) และเมื่อนำผลการเกิดแถบดีเอ็นเอมาวิเคราะห์ด้วย cluster analysis (UPGMA) การจัดกลุ่มโดยเดนโดรแกรมสามารถแยกประชากรข้าวที่เก็บจากทั้งสองพื้นที่ออกจากกันอย่างชัดเจน

Fukuoka และคณะ (2003) วิเคราะห์ความแตกต่างของเชื้อพันธุ์ข้าวในประเทศเวียดนามโดยใช้เทคนิค RFLPโดยใช้เอนไซม์ 8 ชนิด พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มข้าวได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่ม A เป็นข้าวพวกอินดิคา กลุ่ม B และ C เป็นข้าวพวกจาปอนิคา ที่เป็นข้าวนาสวน และข้าวไร่ ตามลำดับ

เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซตเทลไลต์ (Microsatellites)

ไมโครแซตเทลไลต์ เป็นลำดับเบสที่มีลักษณะซ้ำกันเรียงอยู่ต่อเนื่องกันที่ตำแหน่งหนึ่งๆในจีโนม แต่ละชุดซ้ำประกอบด้วยลำดับเบสซ้ำสั้นมากเพียง 1-4 คู่เบส หรือไม่เกิน 10 คู่เบส พบในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด เนื่องจากไมโครแซตเทลไลต์ดีเอ็นเอมีลักษณะเป็นเบสซ้ำขนาดสั้นๆ ไม่ซับซ้อนจึงมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า simple sequence repeat (SSR) หรือ short tandem repeat (STR) ลำดับเบสแบบไมโครแซตเทลไลต์นี้มีการกระจายตัวทั้งจีโนม แต่การกระจายไม่สม่ำเสมอ หน้าที่ของไมโครแซตเทลไลต์ยังไม่ทราบแน่ชัด มีบางส่วนที่เป็นส่วนอนุรักษ์ (conserve) โดยพบอยู่ที่ตำแหน่งเดียวกันในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด บางส่วนทำหน้าที่ได้เนื่องจากอยู่ในส่วนนำรหัสของยีน

เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ เป็นการอาศัยความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้เนื่องจากจำนวนชุดซ้ำที่มีในไมโครแซตเทลไลต์ที่ตำแหน่งเดียวกันในตัวอย่างแต่ละตัวอย่างไม่เท่ากัน ซึ่งจะตรวจสอบได้ทันทีเมื่อนำมาแยกขนาดได้โดยใช้ denaturing polyacrylamide gel electrophoresis ขนาดของดีเอ็นเอที่แตกต่างกันอาจมีเพียง 1 ชุดซ้ำ คือ 2 คู่เบส ปัจจุบันมีการใช้ไมโครแซตเทลไลต์ดีเอ็นเอกันมากในการศึกษาแผนที่ของจีโนม และแยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตโดยวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (สุรินทร์, 2545) การตรวจสอบดีเอ็นเอส่วนที่เป็นไมโครแซตเทลไลต์ทำได้หลายวิธี ได้แก่ การทำ Southern blot hybridization โดยไฮบริไดซ์กับโพรบ (probe) ที่เป็นส่วนของไมโครแซตเทลไลต์ แต่ปัจจุบันนิยมตรวจสอบไมโครแซตเทลไลต์ชนิดใดชนิดหนึ่งที่ตำแหน่งจำเพาะครั้งละ 1 ตำแหน่ง โดยเทคนิคพีซีอาร์ จึงต้องการไพรเมอร์ 2 ชนิดที่มีลำดับเบสที่เป็นคู่สมกับลำดับเบสที่อยู่ขนาบข้างของไมโครแซตเทลไลต์ที่ตำแหน่งดังกล่าว ดังนั้นจึงต้องมีการพัฒนาเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์สำหรับตรวจสอบดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการศึกษาก่อน

การพัฒนาเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์มีวิธีที่ยุ่งยาก และเสียค่าใช้จ่ายสูง แต่หลังจากพัฒนาเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ได้แล้ว สามารถนำไปใช้ได้ง่าย เนื่องจากเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้การเพิ่มปริมาณโดยพีซีอาร์ จึงต้องการดีเอ็นเอต้นแบบปริมาณน้อย และ

ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการตรวจสอบก็มีขนาดเล็ก ไม่จำเป็นต้องใช้ดีเอ็นเอตัวอย่างที่มีคุณภาพดีมากนัก ผลการตรวจสอบยังมีความแม่นยำ สามารถส่งข้อมูลลำดับเบสของไพรเมอร์ เพื่อนำไปใช้ที่ห้องปฏิบัติการใดก็ได้ มีโพลิมอร์ฟิซึมสูง เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนชุดซ้ำได้ง่าย นอกจากนี้ยังมีการข่มร่วม (codominance) จึงสามารถแยกความแตกต่างระหว่างโฮโมไซโกต และเฮเทอโรไซโกตได้ มีการกระจายตัวทั้งจีโนมเหมาะสำหรับใช้ในการทำแผนที่จีโนม ตรวจสอบเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต ตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ อีกมากมาย เช่น

- ใช้เป็นเครื่องหมายคัดเลือกลักษณะที่ต้องการ สุรเดช และคณะ (2548) ทำการคัดเลือกเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ที่มีความสัมพันธ์กับยีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) ของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง Rathu Heenati/KDML 105 และพันธุ์ ชัยนาท 1 โดยศึกษาไพรเมอร์จำนวน 7 ชนิด พบว่ามีเพียง 3 ชนิดเท่านั้น คือ RM170 RM190 และ RM586 ที่มีศักยภาพมากที่สุดในการจำแนกความแตกต่างของข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยเครื่องหมายโมเลกุลที่ได้รับการคัดเลือกทั้ง 3 ชนิดนี้จะถูกนำไปใช้ในการติดตามการถ่ายยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph3* จากข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง Rathu Heenati/KDML 105 สู่ข้าวพันธุ์ ชัยนาท 1 เพื่อปรับปรุงพันธุ์ข้าวชัยนาท 1 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวที่เกษตรกรนิยมปลูกอย่างแพร่หลาย แต่กำลังประสบปัญหาเรื่องระดับความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล Su และคณะ (2006) ศึกษาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งควบคุมโดยยีน *Bph9* โดยทำการผสมพันธุ์ข้าว 2 พันธุ์ คือ Kaharamana ที่ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและพันธุ์ 02428 ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อลักษณะดังกล่าว สร้างประชากร F_2 เพื่อใช้หาเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ที่มีความสัมพันธ์กับยีน *Bph9* พบว่าไพรเมอร์ RM463 และ RM534 มีความสัมพันธ์กับลักษณะดังกล่าว โดยอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 12 ของข้าว มีระยะห่าง 6.8 cM และ 9.7 cM ตามลำดับ

- การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม Ni และคณะ (2002) ใช้ประโยชน์จากไมโครแซตเทลไลต์ ในศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและความแตกต่างของข้าว 2 กลุ่ม คือ อินดิคา และ จาปอนิคา การศึกษานี้ใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ 111 ชนิด ตรวจสอบจีโนมข้าว พบอัลลีลทั้งหมด 753 อัลลีล โดยเฉลี่ย 6.8 อัลลีลต่อตำแหน่ง เมื่อเปรียบเทียบข้าวอินดิคา และ จาปอนิคา พบว่ามีค่า genetic diversity แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญบนโครโมโซมแท่งที่ 6 และ 7 จาก 2 ใน 30 ของเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ สามารถจำแนกพันธุ์ และตรวจสอบพ่อแม่ได้ Zeng และคณะ (2004) ได้นำเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ มาใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวที่สามารถทนเกลือได้ในระดับต่างๆ เพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ โดยทำการศึกษาในข้าว 33 จีโนไทป์ ภายใต้สภาพเรือนกระจก พบว่าให้จำนวนแถบ

ดีเอ็นเอทั้งหมด 123 แถบ ใน 23 ตำแหน่ง กลุ่มข้าวจาปอนิคาสามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้ 3 กลุ่ม และกลุ่มข้าวอินดิคาสามารถจัดกลุ่มได้ 2 กลุ่ม Shishido และคณะ (2006) ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวป่าในประเทศพม่า โดยอาศัยเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ วิเคราะห์ความหลากหลายของอัลลีลมากกว่า 74 ตำแหน่ง วัตถุประสงค์เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการอนุรักษ์พันธุกรรม โดยจัดกลุ่มข้าวอินดิคา และจาปอนิคา ออกเป็น 3 กลุ่ม เมื่อเปรียบเทียบในข้าวปลูก 6 พันธุ์ และข้าวป่า 16 พันธุ์ ตรวจสอบพบ 3-15 อัลลีล โดยเฉลี่ย 7.9 อัลลีลต่อตำแหน่ง พบว่าข้าวป่ามีความแปรปรวนมากกว่าในข้าวปลูก

- Gealy และคณะ (2002) นำเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ มาใช้ในการศึกษาปัญหาข้าวแดงที่เป็นวัชพืชในนาข้าวตอนใต้ของสหรัฐอเมริกา โดยพบว่าเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์สามารถบอกความแตกต่างระหว่างข้าวแดง ข้าวปลูก และข้าวลูกผสมที่เกิดขึ้นจากการผสมข้ามระหว่างข้าวแดงและข้าวปลูก

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองในภาคใต้โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดร่วมกับเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ และอุปกรณ์

1. วัสดุ

1.1 วัสดุพืช

นำตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวพื้นเมืองจากแหล่งปลูกบางพื้นที่ในภาคใต้ของประเทศไทย จากตัวแทนสถานที่ต่างๆ ดังนี้คือ

- บริเวณลุ่มน้ำนาทวี อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา
- ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง อำเภอเมือง จังหวัดพัทลุง
- ศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี อำเภอโคกโพธิ์ จังหวัดปัตตานี

1.2 สารเคมี

1.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

- CTAB (Hexadecyl Trimethyl-Ammonium Bromide)
- β-mercaptoethanol
- Polyvinyl pyrrolidone (PVP-40)
- Sodium chloride (NaCl)
- Disodium ethylene diaminetetraacetate (Na_2EDTA)
- Potassium acetate (KA_c)
- Tris-HCI pH 8.0
- Chloroform
- Isopropanol

- TE buffer
- Ethanol

1.2.2 สารเคมีสำหรับใช้ทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

Agarose gel electrophoresis

- LE agarose (FMC Bioproduct, USA)
- Seakem agarose (FMC Bioproduct, USA)
- Glacial acetic acid
- Boric acid
- Tris-base
- Ethidium bromide
- Loading buffer
- Lamda DNA (λ DNA)
- 100 bp DNA Ladder (Operon, USA)

Denaturing polyacrylamide gel electrophoresis

- Acrylamide : bis-acrylamide solution (29:1)
- Bind silane
- Repel silane
- Formamind
- Formaldehyde
- Urea
- TEMED (N,N,N',N'-tetramethyethyenediamine)
- Ammonium persulfate
- Sodium thiosulfate ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$)
- Sodium carbonate (Na_2CO_3)
- Silver nitrate ($AgNO_3$)

1.2.3 สารเคมีที่ใช้ในการทำพีซีอาร์

- dNTP (dATP, dTTP, dCTP และ dGTP) (Promega, USA)
- Microsatellite Primer จำนวน 9 primer คือ RM9 RM21 RM44 RM166 RM180 RM211 RM219 RM241 และ RM280
- $MgCl_2$
- 10X *Taq* buffer (Promega, USA)
- *Taq* DNA Polymerase B (Promega, USA)

2. อุปกรณ์

2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างใบพืช

- ถุงพลาสติก
- กรรไกร
- กล่องโฟม
- ปากกาเขียนเครื่องแก้ว

2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ การทำอิเล็กโทรโฟรีซิส และการทำพีซีอาร์

- ตู้เย็นและตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส
- เครื่องไมโครเซนตริฟิวก์
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง
- เครื่องคนสารละลายอัตโนมัติ
- แท่งแม่เหล็ก
- ปิเปตปรับปริมาตร
- เครื่องเขย่า (vortex)
- หม้อนึ่งความดันไอ (autocave)
- เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า
- เครื่องอิเล็กโทรโฟรีซีส

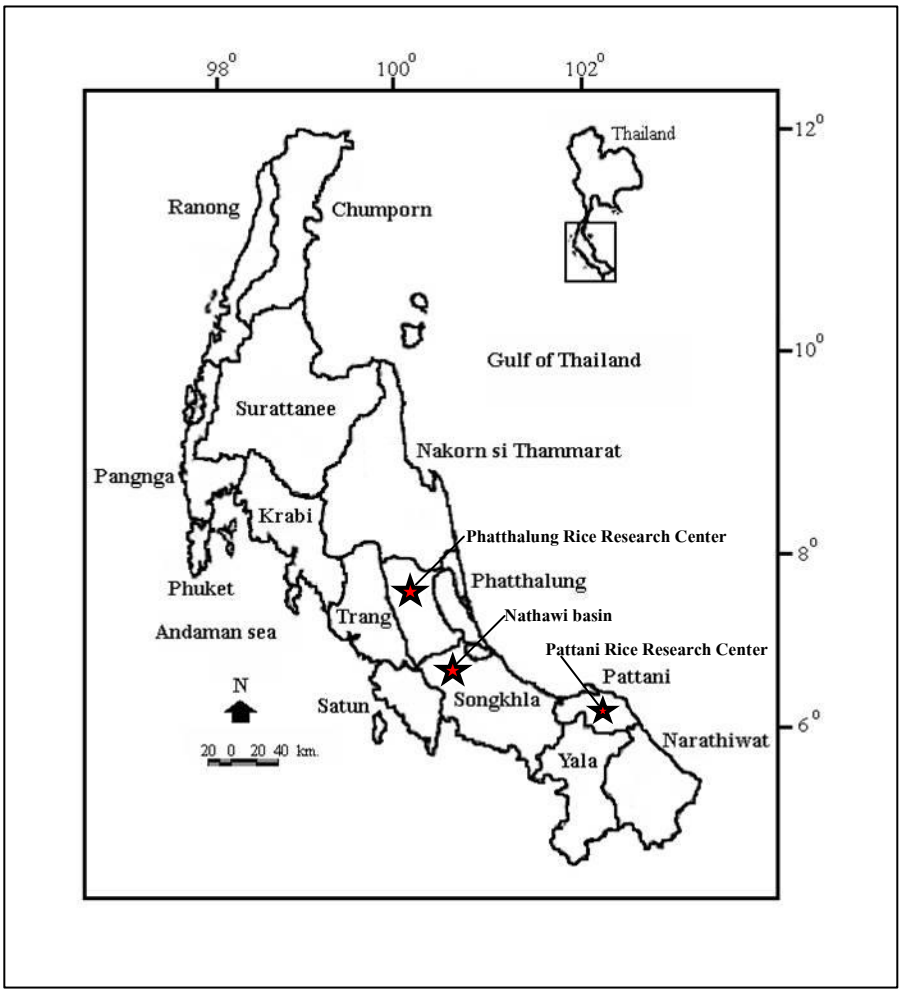
- เครื่องพีซีอาร์
- โกร่งบดตัวอย่าง
- ตู้ไมโครเวฟ
- ตู้ดูดควัน
- UV transilluminator
- Tip
- Microtube (เอฟเพนดอร์ฟ)
- Gel Documentation
- น้ำแข็ง และกระติกน้ำแข็ง
- เครื่องแก้ว กระบอกตวง และขวดต่างๆ

วิธีการ

1. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าวพื้นเมืองโดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดข้าว

1.1 ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ศึกษา

เก็บรวบรวมตัวอย่างพันธุ์ข้าวพื้นเมืองจากแหล่งปลูกบางพื้นที่ในภาคใต้ โดยรวบรวมจากแปลงเกษตรกร บริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำนาทวี อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง และศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี จำนวน 50 พันธุ์ เป็นข้าวเจ้า 48 พันธุ์ และข้าวเหนียว 2 พันธุ์ (รูปที่ 1 และตารางที่ 1)



รูปที่ 1 แผนที่แสดงแหล่งที่ได้รวบรวมเมล็ดพันธุ์ของประชากรข้าวพื้นเมืองในภาคใต้ของประเทศไทย
ที่มา: http://www.nbids.org/nbidsdata/AboutNbids.jsp#slides-pane-0

ตารางที่ 1 ชื่อพันธุ์ จำนวนตัวอย่าง และสถานที่เก็บตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวพื้นเมืองในภาคใต้ ที่ใช้ในการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรม โดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดและเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์

สถานที่	ชื่อพันธุ์	จำนวน (พันธุ์)
ตำบลป่าชิง อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา	ช้างโอบ, นาคอ, ลูกปลา, ช้องนาง, เข็มทอง, หอมจันทร์, บุษราคัม, เล็บนก, ลางนึ่ง*	9
ตำบลทุ่งหวัง อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา	หัวนา	1
ตำบลขุนตัดหวาย อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา	ยอดม่วง, จำปา	2
ตำบลแค อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา	นางนาค, ลูกเขย, ข้าวนก (สารขาว), ลูกจีน	4
ตำบลนาหว้า อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา	ช่อลุง, ข้าวเหนียวแดง*, โป๊ะหมอ	3
ตำบลคู อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา	อีเอื๊อน, ช่อไข่เป็ด, นางหงส์	3
ตำบลน้ำขาว อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา	ลูกดำ	1
อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา	ช่อขิง, กลายดำ	2
ศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี อำเภอโคกโพธิ์ จังหวัดปัตตานี	ช่อละมัย, หมออรุณ, จาเต๊ะ, ไม้เท้า, รวงรี	5
ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง อำเภอเมือง จังหวัดพัทลุง	หน่วยเขือ, กันตัง, ช่อขาว, นางมา, รวงงาม, เมืองไทร, กลีบเมฆ, นางญวนแดง, ขาวเฒ่า, ทางหวาย, แหกหญ้า, แม่หม้าย, เอวมดแดง, ลาบู, ลาเหาะ, อดุลย์, รัก, เหนียวนาคราช, นางลอย, ทรายช่อ	20
รวม		**50**

*ข้าวเหนียว

1.2 บันทึกข้อมูลลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ด

ทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพของเมล็ดข้าว หลังการเก็บเกี่ยวข้าวจากแปลงเกษตรกรในแหล่งปลูกบริเวณลุ่มน้ำนาทวี อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง และศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี เพื่อใช้ในการประเมินความหลากหลายจำนวน 8 ลักษณะ โดยแบ่งเป็นลักษณะทางคุณภาพ 5 ลักษณะคือ สีเปลือกเมล็ด รูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง ความยาวของกลีบรองดอก ขนบนเปลือกเมล็ด และสีเมล็ดข้าวกล้อง ลักษณะทางปริมาณ 3 ลักษณะคือ น้ำหนักข้าวเปลือก 100 เมล็ด ความยาวเมล็ดข้าวเปลือก และความกว้างเมล็ดข้าวเปลือก

1.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำเมล็ดพันธุ์ข้าวพื้นเมืองทั้ง 50 พันธุ์ มาศึกษาลักษณะทางปริมาณ 3 ลักษณะ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ในลักษณะน้ำหนักข้าวเปลือก 100 เมล็ดกระทำ 4 ซ้ำ ลักษณะความยาวและความกว้างเมล็ดข้าวเปลือก กระทำ 10 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ย (mean) ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (C.V. %) วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ (F-test) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างตัวอย่างโดยใช้ LSD (Least Significant Difference) ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ประเมินความหลากหลายระหว่างพันธุ์ข้าวพื้นเมือง โดยนำลักษณะทางคุณภาพที่ศึกษาทั้งหมด 5 ลักษณะ มาแบ่งกลุ่มตามชนิดลักษณะที่พบแตกต่างกันไป นำข้อมูลที่ได้มาประเมินค่าความหลากหลายของลักษณะคุณภาพโดยใช้ค่าดัชนีความหลากหลาย Shannon-Weaver index (H') คำนวณจากสูตรดังนี้ (Fowler *et al*., 1998)

$$H' = -\sum_{i=1}^{s} pi \ln pi$$

โดย s คือ จำนวนชนิดที่พบ

pi คือ สัดส่วนของชนิดนั้นต่อจำนวนทั้งหมด

ในการพิจารณาหากพบว่าดัชนีความหลากหลาย H' เท่ากับศูนย์ แสดงว่าทุกต้นในตัวอย่างเหมือนกันหมด เมื่อค่า H' มีค่าสูงขึ้นแสดงว่ามีความหลากหลายมากขึ้น

1.4 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในข้าวพันธุ์พื้นเมือง จากการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ในข้าวพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 50 พันธุ์ จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของลักษณะทางคุณภาพ 5 ลักษณะ โดยแปลงข้อมูลจากลักษณะที่ได้ดังนี้คือ

- สีเปลือกเมล็ด (ฟาง = 0; ฟางกระน้ำตาล ฟางขีดน้ำตาล และน้ำตาล = 1)
- รูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง โดยหาค่าเฉลี่ยของอัตราส่วนระหว่างความยาวและความกว้างเมล็ดข้าวกล้องซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.99 (อัตราส่วนระหว่างความยาวและความกว้างเมล็ดข้าวกล้อง $<2.99 = 0$; $\geq 2.99 = 1$)
- ความยาวของกลีบรองดอก

  ปานกลาง (<1.6-2.5 มิลลิเมตร) = 0

  ยาว (>2.5 มิลลิเมตรแต่สั้นกว่าเปลือก) = 1
- ขนบนเปลือกเมล็ด (ขนบนเปลือกส่วนปลายเมล็ด=0; ขนสั้น=1)
- สีเมล็ดข้าวกล้อง (ขาว=0; น้ำตาลอ่อน และแดง=1)

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยการวิเคราะห์ UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average) cluster analysis หาค่า Similarity coefficient ตามวิธีของ Jaccard (1908) ด้วยโปรแกรม NTSYS pc-2.1 (Rohlf, 2002)

2. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองในภาคใต้ โดยการใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์

ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวพื้นเมืองจากแหล่งปลูกในภาคใต้ เช่น ในบริเวณลุ่มน้ำนาทวี เขตอำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง และศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี มาทำการเพาะใน petri dishes บนสำลีชุบน้ำจนชุ่ม หลังจากต้นกล้าพัฒนาจนมีใบอ่อนจึงเก็บตัวอย่างใบมาสกัดดีเอ็นเอ

2.1 การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างใบอ่อนของข้าว โดยประยุกต์จากวิธีของ Agrawal และคณะ (1992) นำใบอ่อนของข้าวอายุประมาณ 7-10 วัน จำนวน 5-6 ใบ ตัดใส่โกร่งที่มีไนโตรเจนเหลวอยู่แล้วบดให้ละเอียดอย่างรวดเร็ว ถ่ายผงใบลงใน microtube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มี extraction buffer (PVP-40, NaCl, EDTA 0.5 M pH 8.0, CTAB 2%) ร่วมกับ β-mercaptoethanol เข้มข้น 2% ปริมาตร 600 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที กลับหลอดไปมาเบาๆ เติมโปแทสเซียมอะซีเตต 300 ไมโครลิตร นำไปบ่มในน้ำแข็ง เป็นเวลา 60 นาที กลับหลอดไปมาทุก 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ดูดสารละลายใสส่วนบนใส่ microtube ใหม่ เติมคลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (24 : 1) 700 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาอย่างเบาๆ ประมาณ 20 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จะได้สารละลายที่แยกชั้นดูดสารละลายใสใส่ microtube ใหม่ เติมไอโซโพรพานอล 700 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบาๆ เพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ หรือนำไปเก็บที่อุณภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนของเหลวใสทิ้ง ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอธานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ (ที่ผ่านการแช่เย็น) จำนวน 2 ครั้ง ผึ่งตะกอนให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE บัพเฟอร์ 20-50 ไมโครลิตร [Tris-HCl (pH 7.5) 10 มิลลิโมลาร์ และ Na_2EDTA (pH 7.0) 1 มิลลิโมลาร์ ที่อุณหภูมิห้อง เก็บรักษาดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

2.2 การตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอ

ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยการเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (แลมดาดีเอ็นเอ) โดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสบนอะกาโรส (LE Agarose, Promega,USA) เข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ ในสารละลาย TAE บัฟเฟอร์ (Tris Base, Glacial acetic acid, EDTA 0.5 โมลาร์, pH 8.0) เป็นเวลา 20 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ แล้วนำไปตรวจสอบภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Gel documentation

2.3 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองในภาคใต้โดยใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์

ทดสอบไพรเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับการทำไมโครแซตเทลไลต์ในข้าวจากการศึกษาของ Song และคณะ (2006) ซึ่งประกอบด้วยไพรเมอร์ 9 คู่ ได้แก่ RM9 RM21 RM44 RM166 RM180 RM211 RM219 RM241 และ RM280 นำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้วิธีพีซีอาร์จากปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย ดีเอ็นเอแม่พิมพ์ 50 นาโนกรัม ไพรเมอร์แต่ละชนิดเข้มข้น 0.2 ไมโครโมลาร์ เอ็นไซม์ *Taq* polymerase เข้มข้น 0.6 ยูนิต 10X *Taq* บัฟเฟอร์ 2 ไมโครลิตร dNTP เข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ ตั้งอุณหภูมิในแต่ละคู่ไพรเมอร์ดังนี้

ไพรเมอร์ RM9 และ RM166 มีสภาวะการทำงานดังนี้ อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที 1 รอบ ตามด้วย 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที 60 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที จำนวน 32 รอบ และตามด้วยอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ในรอบสุดท้าย

ไพรเมอร์ RM21 RM44 RM180 RM211 RM219 และ RM280 มีสภาวะการทำงานดังนี้ อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที 1 รอบ ตามด้วย 94 องศาเซลเซียส นาน 40 วินาที 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และ72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 วินาที จำนวน 36 รอบ และตามด้วยอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ในรอบสุดท้าย

ไพรเมอร์ RM241 มีสภาวะการทำงานดังนี้ อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที 1 รอบ ตามด้วย 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที จำนวน 40 รอบ และตามด้วยอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ในรอบสุดท้าย

หลังทำพีซีอาร์ นำดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้ว ปริมาตร 10 ไมโครลิตร มาตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ โดยนำตัวอย่างดีเอ็นเอที่จะนำไปวิเคราะห์มาทำให้เสียสภาพก่อน เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาการเสียสภาพธรรมชาติในเวลาต่างกันเมื่ออยู่ในเจล โดยผสมกับฟอร์มาไมด์ 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นส่วนประกอบใน loading buffer นำไปเพิ่มอุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส แล้วนำไปแช่น้ำแข็งทันที จากนั้นนำมาแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอโดยการทำอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส ที่มีความเข้มข้นของเจล 6 เปอร์เซ็นต์ และย้อมแถบดีเอ็นเอโดยใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเตรท โดยนำแผ่นเจลมาแช่ในสารละลาย fixative (10% acetic acid) นาน 20 นาที เขย่าเบาๆ เมื่อครบเวลานำไปล้างในน้ำกลั่น 15 นาที เปลี่ยนน้ำล้างใหม่แล้วล้างต่ออีก 5 นาที นำแผ่นเจลมาย้อมในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที เขย่าอย่างสม่ำเสมอ หลังจากนั้นนำแผ่นเจลจุ่มน้ำกลั่นอย่างรวดเร็วเพื่อล้างซิลเวอร์ไนเตรทที่มากเกินพอ

5 วินาที แล้วนำแผ่นเจลใส่ในสารละลาย developer (sodium carbonate 25%, formaldehyde 40%, sodium thiosulfate 50 mg/ml) ที่เตรียมใหม่ๆ และแช่เย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เขย่าสม่ำเสมอ จนกว่าจะเห็นแถบดีเอ็นเอชัดเจน หยุดปฏิกิริยาโดยแช่สารละลายกรดอะซิติก (stop solution) นาน 3-5 นาที นำแผ่นเจลมาจุ่มลงในน้ำกลั่น แล้วผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำไพรเมอร์ที่คัดเลือก มาใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของตัวอย่างทั้งหมด ศึกษารูปแบบของดีเอ็นเอที่ได้ หลังจากนั้นทำการบันทึกผลแถบดีเอ็นเอแล้วเปรียบเทียบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอระหว่างข้าวพื้นเมืองพันธุ์ต่างๆ

2.5 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่ศึกษา

วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในข้าวพันธุ์พื้นเมือง ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างแถบดีเอ็นเอที่ได้ โดยแปลงข้อมูลจากแถบดีเอ็นเอที่ได้เป็นแบบ binary คือให้ตำแหน่งที่มีแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 1 และตำแหน่งที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 0 เปรียบเทียบ ณ บริเวณเดียวกัน โดยคิดเฉพาะแถบดีเอ็นเอที่มีความชัดเจนและเพิ่มปริมาณได้สม่ำเสมอเมื่อมีการทำพีซีอาร์ซ้ำ วิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยการวิเคราะห์ UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average) cluster analysis หาค่า Similarity coefficient ตามวิธีของ Jaccard (1908) ด้วยโปรแกรม NTSYS pc-2.1 (Rohlf, 2002)

บทที่ 3

ผล

1. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด

จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมือง จากแหล่งปลูกบริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำนาทวี อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา จากตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ที่ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง และศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี โดยได้ศึกษาข้าวพันธุ์พื้นเมืองในภาคใต้จำนวน 50 พันธุ์ เป็นข้าวเจ้า 48 พันธุ์ และข้าวเหนียว 2 พันธุ์ ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด ในลักษณะทางปริมาณ และลักษณะทางคุณภาพดังนี้

1.1 ลักษณะทางปริมาณ

จากการศึกษาลักษณะทางปริมาณของเมล็ดข้าวพันธุ์พื้นเมือง 3 ลักษณะคือ น้ำหนักข้าวเปลือก 100 เมล็ด ความยาวเมล็ดข้าวเปลือก และความกว้างเมล็ดข้าวเปลือก นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ย (mean) ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (□V. %) วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ (F-test) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างตัวอย่างโดยใช้ LSD (Least Significant Difference) ได้ผลดังตารางที่ 2 โดยมีรายละเอียดดังนี้

น้ำหนักข้าวเปลือก 100 เมล็ด

พบความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 50 พันธุ์ที่ศึกษาโดยพบว่าน้ำหนักข้าวเปลือก 100 เมล็ด มีน้ำหนักอยู่ในช่วง 1.46–3.16 กรัม น้ำหนักเฉลี่ย 2.33 กรัม ข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่น้ำหนักข้าวเปลือก 100 เมล็ดมากที่สุดคือ พันธุ์นางญวนแดงมีน้ำหนัก 3.16 กรัม และข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่มีน้ำหนักข้าวเปลือก 100 เมล็ดน้อยที่สุดคือ พันธุ์ข้าวนก (สารขาว) มีน้ำหนัก 1.46 กรัม

ความยาวเมล็ดข้าวเปลือก

พบว่ามีการกระจายตัวของความยาวเมล็ดข้าวเปลือกอยู่ในช่วง 6.02–10.73 มิลลิเมตร มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 9.18 มิลลิเมตร โดยข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่มีความยาวเมล็ดข้าวเปลือกมากที่สุดคือ พันธุ์ข้าวเหนียวแดง (10.73 มิลลิเมตร) และพันธุ์ที่มีความยาวเมล็ดข้าวเปลือกน้อยที่สุดคือ พันธุ์หน่วยเขือ (6.02 มิลลิเมตร) พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างความยาวเมล็ดข้าวเปลือกในข้าวพื้นเมืองพันธุ์ต่างๆ

ความกว้างเมล็ดข้าวเปลือก

พบว่าเมล็ดข้าวเปลือกของข้าวพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 50 พันธุ์ มีความกว้างอยู่ในช่วง 1.99–3.19 มิลลิเมตร มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.56 มิลลิเมตร โดยข้าวพื้นเมืองที่มีความกว้างเมล็ดข้าวเปลือกน้อยที่สุดคือ พันธุ์ช่อไข่เป็ดมีค่าเท่ากับ 1.99 มิลลิเมตร และข้าวพื้นเมืองที่มีความกว้างเมล็ดข้าวเปลือกมากที่สุดคือ พันธุ์แม่หม้ายมีค่าเท่ากับ 3.19 มิลลิเมตร พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างความกว้างเมล็ดข้าวเปลือกในข้าวพันธุ์พื้นเมืองพันธุ์ต่างๆ

ผลจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด โดยอาศัยลักษณะทางปริมาณ 3 ลักษณะคือ น้ำหนักข้าวเปลือก 100 เมล็ด ความยาว และความกว้างเมล็ดข้าวเปลือก มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งของประชากรข้าวพื้นเมืองทั้งหมด พบว่าลักษณะที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนมากที่สุด 3.86 เปอร์เซ็นต์ คือ ลักษณะความกว้างเมล็ดข้าวเปลือก และลักษณะที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนน้อยที่สุด 2.25 เปอร์เซ็นต์ คือ น้ำหนักข้าวเปลือก 100 เมล็ด

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบความแตกต่างในลักษณะทางปริมาณของเมล็ดข้าวพันธุ์พื้นเมืองในภาคใต้

พันธุ์	น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม)	ความยาวเมล็ด (มม.)	ความกว้างเมล็ด (มม.)
No.1 ช้างโอบ	2.25	8.18	2.80
No.2 นาคอ	2.56	10.09	2.37
No.3 ลูกปลา	2.06	8.92	2.32
No.4 ช้องนาง	2.63	10.16	2.39
No.5 หัวนา	2.29	9.32	2.33
No.6 เข็มทอง	2.43	10.22	2.31
No.7 หอมจันทร์	2.57	9.91	2.40
No.8 ยอดม่วง	2.15	8.19	2.76
No.9 ลูกดำ	2.47	9.61	2.48
No.10 บุษราคัม	2.34	9.96	2.36
No.11 นางนาค	2.18	9.12	2.64
No.12 เล็บนก	1.92	8.07	2.28
No.13 ช่อขิง	2.73	10.23	2.43
No.14 ช่อลุง	2.07	10.13	2.25
No.15 อีเอิ๊น	2.45	9.47	2.41
No.16 กลายดำ	2.46	9.45	2.4
No.17 ลูกเขย	2.42	10.01	2.35
No.18 ข้าวนก(สารขาว)	1.46	6.42	2.99
No.19 ข้าวเหนียวแดง*	2.50	10.73	2.57
No.20 ช่อไข่เป็ด	1.98	10.47	1.99
No.21 นางหงส์	2.39	9.42	2.46
No.22 ลางนึ่ง*	2.36	10.18	2.53
No.23 ลูกจีน	2.27	9.47	2.38
No.24 โป๊ะหมอ	2.40	9.79	2.59
No.25 จำปา	2.12	9.57	2.26
No.26 หน่วยเขือ	1.63	6.02	3.02
No.27 กันตัง	2.49	10.01	2.52

* ข้าวเหนียว

ตารางที่ 2 (ต่อ)

พันธุ์	น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม)	ความยาวเมล็ด (มม.)	ความกว้างเมล็ด (มม.)
No.28 ช่อขาว	2.38	8.74	2.75
No.29 นางมา	2.02	8.09	2.53
No.30 รวงงาม	2.38	9.18	2.67
No.31 เมืองไทร	2.25	8.96	2.59
No.32 กลีบเมฆ	2.24	8.16	2.70
No.33 นางญวนแดง	3.16	10.47	2.67
No.34 ขาวเฒ่า	2.42	9.32	2.59
No.35 ทางหวาย	2.06	8.47	2.63
No.36 แหกหญ้า	2.37	8.42	2.98
No.37 แม่หม้าย	2.76	8.54	3.19
No.38 เอวมดแดง	2.21	8.92	2.64
No.39 ลาบู	2.40	9.20	2.63
No.40 ลาเหาะ	2.41	9.01	2.69
No.41 อดุลย์	2.03	8.90	2.36
No.42 รัก	2.70	9.87	2.41
No.43 เหนียวนาคราช	2.51	9.01	2.72
No.44 นางลอย	2.38	8.62	2.70
No.45 ทรายช่อ	2.53	8.89	2.79
No.46 ช่อละมัย	2.43	9.22	2.68
No.47 หมออรุณ	2.59	9.72	2.61
No.48 จาเต๊ะ	2.14	8.41	2.68
No.49 ไม้เท้า	2.27	8.48	2.83
No.50 รวงรี	2.32	9.21	2.55
F-test	**	**	**
$LSD_{(0.01)}$	0.0966	0.3699	0.1146
□V. (%)	2.24	3.48	3.86

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับ 0.01

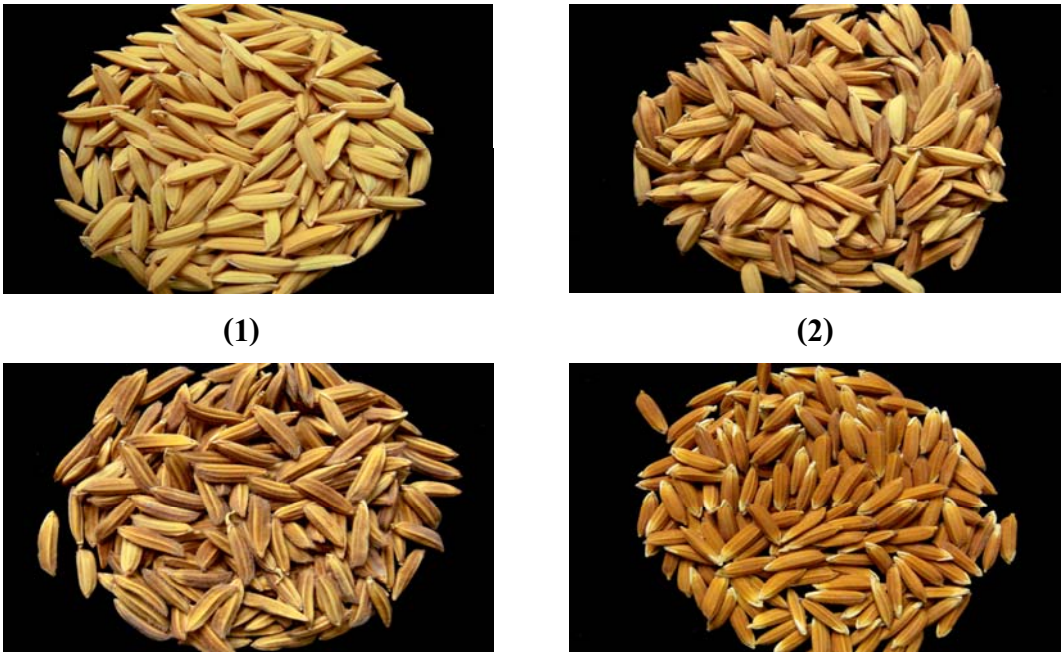
เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ LSD ที่ระดับ 0.01

1.2 ลักษณะทางคุณภาพ

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด โดยพิจารณาลักษณะทางคุณภาพ 5 ลักษณะคือ สีเปลือกเมล็ด รูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง ขนบนเปลือกเมล็ด ความยาวของกลีบรองดอก และสีเมล็ดข้าวกล้อง นำข้อมูลที่ได้มาประเมินค่าความหลากหลายของลักษณะคุณภาพโดยใช้ค่าดัชนีความหลากหลาย Shannon-Weaver index (H') ให้ผลดังนี้

สีเปลือกเมล็ด

สีเปลือกเมล็ดเป็นลักษณะที่ให้ความหลากหลายสูงที่สุด สามารถจำแนกสีเปลือกเมล็ดออกได้เป็น สีฟาง สีฟางกระน้ำตาล สีฟางขีดน้ำตาล และสีน้ำตาล (รูปที่ 2) มีค่าดัชนีความหลากหลายเท่ากับ 1.0163 ในข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่พบส่วนใหญ่มีลักษณะของสีเปลือกเมล็ดเป็นสีฟางมีจำนวน 26 ตัวอย่าง (52%) รองลงมาคือ มีเปลือกเมล็ดสีฟางกระน้ำตาลจำนวน 18 ตัวอย่าง (36%) สีน้ำตาลจำนวน 5 ตัวอย่าง (10%) และสีฟางขีดน้ำตาลจำนวน 1 ตัวอย่าง (2%) คือข้าวพื้นเมืองพันธุ์ข้าวเหนียวแดง (ตารางที่ 4 และรูปที่ 6)



(1) **(2)**

(3) **(□)**

รูปที่ 2 การจำแนกสีเปลือกเมล็ดของข้าวพันธุ์พื้นเมือง

(1) = สีฟาง (2) = สีฟางกระน้ำตาล

(3) = สีฟางขีดน้ำตาล (4) = สีน้ำตาล

รูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง

ทำการวัดความยาวและความกว้างของเมล็ดข้าวกล้อง และนำค่าสัดส่วนความยาวและความกว้างเมล็ดข้าวกล้อง (length/width ratio) มาใช้ในการจำแนกรูปร่างของเมล็ดตามวิธีของ Juliano และVillareal (1993) ซึ่งแบ่งรูปร่างเมล็ดออกเป็น 4 แบบคือ เรียว (>3.0 มิลลิเมตร) ค่อนข้างป้อม (2.1-3.0 มิลลิเมตร) ป้อม (1.1-2.0 มิลลิเมตร) และกลม (<1.1 มิลลิเมตร)

ลักษณะรูปร่างเมล็ดข้าวกล้องเป็นลักษณะที่ให้ความหลากหลายสูงรองลงมาจากลักษณะของสีเปลือกเมล็ด มีค่าดัชนีความหลากหลายเท่ากับ 0.8258 โดยพบรูปร่างเมล็ดข้าวกล้องเพียง 3 แบบ คือ เรียว ค่อนข้างป้อม และป้อม (รูปที่ 3) ประชากรส่วนใหญ่ของข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีรูปร่างเมล็ดข้าวกล้องเป็นแบบเรียวมีจำนวน 27 ตัวอย่าง (54%) รองลงมามีรูปร่างเมล็ดข้าวกล้องแบบค่อนข้างป้อมจำนวน 21 ตัวอย่าง (42%) และพบข้าวพันธุ์พื้นเมืองเพียง 2 พันธุ์คือ พันธุ์ข้าวนก (สารขาว) และพันธุ์หน่วยเขือ ที่มีรูปร่างเมล็ดข้าวกล้องเป็นแบบป้อมคิดเป็น 4 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3; รูปที่ 4 และรูปที่ 7)

รูปที่ 3 ลักษณะรูปร่างเมล็ดข้าวกล้องของข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่พบ และใช้ในการประเมินพันธุ์

(1) ลักษณะเมล็ดเรียว (A) พันธุ์นางญวนแดง และ (B) พันธุ์ช่อไข่เป็ด

(2) ลักษณะเมล็ดค่อนข้างป้อม (C) พันธุ์แม่หม้าย และ (D) พันธุ์ยอดม่วง

(3) ลักษณะเมล็ดป้อม (E) พันธุ์ข้าวนก (สารขาว) และ (F) พันธุ์ข้าวหน่วยเขือ

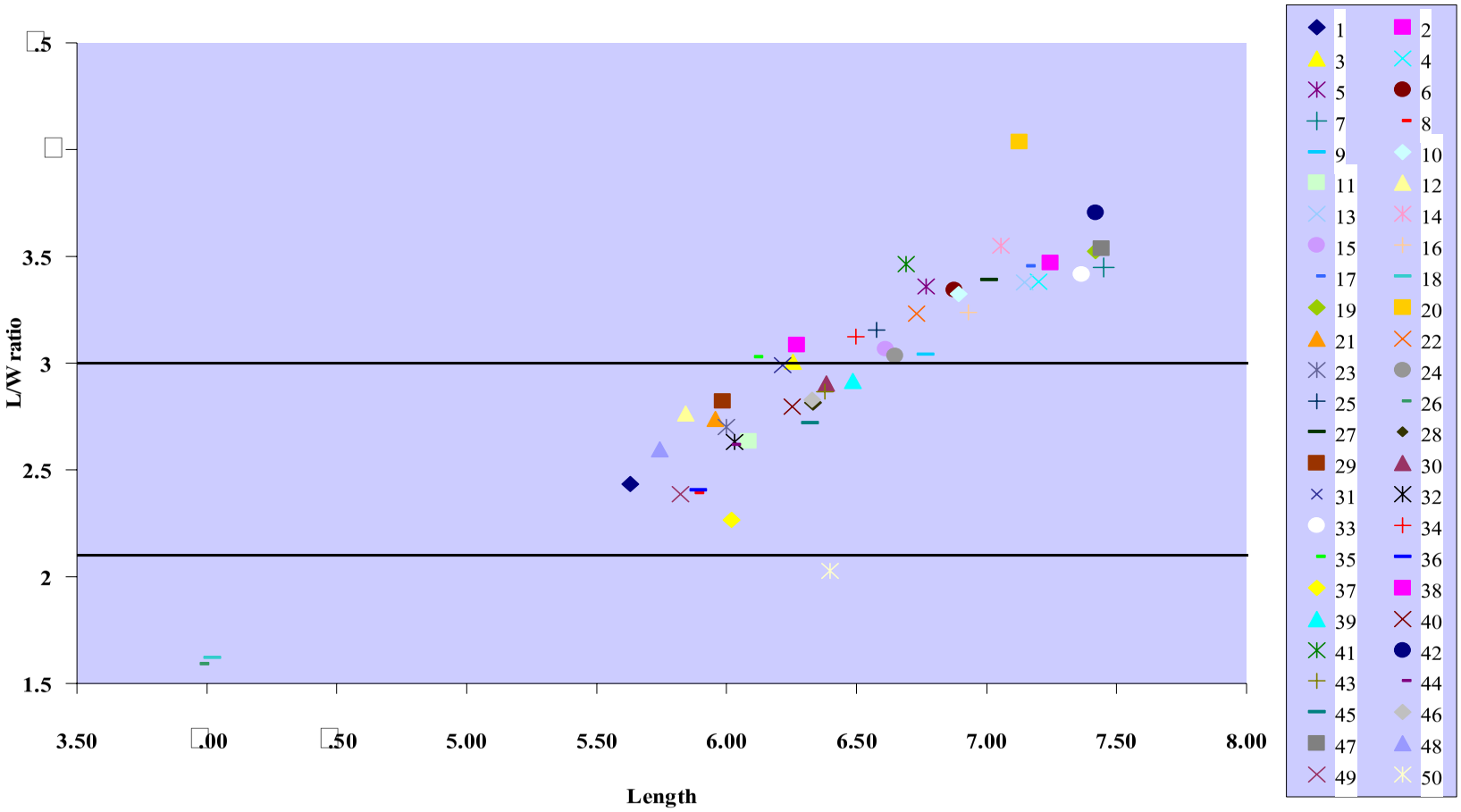
ตารางที่ 3 ลักษณะทางคุณภาพของรูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง และค่าดัชนีความหลากหลาย (H') ของข้าวพันธุ์พื้นเมืองในภาคใต้

พันธุ์	ความยาวเมล็ดข้าวกล้อง (มม.)	ความกว้างเมล็ดข้าวกล้อง (มม.)	สัดส่วนความยาวและความกว้างเมล็ดข้าวกล้อง (มม.)	รูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง
No.1 ช้างโอบ	5.63	2.31	2.43	ค่อนข้างป้อม
No.2 นาคอ	7.25	2.09	3.47	เรียว
No.3 ลูกปลา	6.25	2.08	3.01	เรียว
No.4 ช้องนาง	7.20	2.13	3.38	เรียว
No.5 หัวนา	6.77	2.01	3.36	เรียว
No.6 เข็มทอง	6.88	2.06	3.34	เรียว
No.7 หอมจันทร์	7.45	2.16	3.45	เรียว
No.8 ยอดม่วง	5.88	2.46	2.39	ค่อนข้างป้อม
No.9 ลูกดำ	6.77	2.22	3.04	เรียว
No.10 บุษราคัม	6.89	2.07	3.32	เรียว
No.11 นางนาค	6.08	2.31	2.64	ค่อนข้างป้อม
No.12 เล็บนก	5.84	2.11	2.76	ค่อนข้างป้อม
No.13 ช่อชิง	7.15	2.12	3.38	เรียว
No.14 ช่อลุง	7.05	1.99	3.55	เรียว
No.15 อีเอิ๊น	6.61	2.16	3.07	เรียว
No.16 กลายดำ	6.93	2.14	3.24	เรียว
No.17 ลูกเขย	7.16	2.07	3.45	เรียว
No.18 ข้าวนก(สารขาว)	4.02	2.48	1.62	ป้อม
No.19 ข้าวเหนียวแดง*	7.42	2.10	3.53	เรียว
No.20 ช่อไข่เป็ด	7.13	1.77	4.04	เรียว
No.21 นางหงส์	5.96	2.17	2.74	ค่อนข้างป้อม
No.22 ลางนึ่ง*	6.73	2.08	3.23	เรียว
No.23 ลูกจีน	6.00	2.22	2.70	ค่อนข้างป้อม
No.24 โป๊ะหมอ	6.65	2.19	3.04	เรียว
No.25 จำปา	6.58	2.08	3.16	เรียว
No.26 หน่วยเขือ	3.97	2.50	1.59	ป้อม
No.27 กันตัง	7.01	2.07	3.39	เรียว
No.28 ช่อขาว	6.33	2.25	2.81	ค่อนข้างป้อม
No.29 นางมา	5.99	2.12	2.82	ค่อนข้างป้อม
No.30 รวงงาม	6.38	2.20	2.91	ค่อนข้างป้อม
No.31 เมืองไทร	6.22	2.08	2.99	ค่อนข้างป้อม

ตารางที่ 3 (ต่อ)

พันธุ์	ความยาวเมล็ดข้าวกล้อง (มม.)	ความกว้างเมล็ดข้าวกล้อง (มม.)	สัดส่วนความยาวและความกว้างเมล็ดข้าวกล้อง (มม.)	รูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง
No.32 กลีบเมฆ	6.03	2.29	2.63	ค่อนข้างป้อม
No.33 นางญวนแดง	7.36	2.16	3.42	เรียว
No.34 ขาวเต่า	6.50	2.08	3.12	เรียว
No.35 ทางหวาย	6.11	2.02	3.03	เรียว
No.36 แหกหญ้า	5.89	2.45	2.40	ค่อนข้างป้อม
No.37 แม่หม้าย	6.02	2.66	2.26	ค่อนข้างป้อม
No.38 เอวมดแดง	6.27	2.03	3.09	เรียว
No.39 ลาบู	6.49	2.22	2.92	ค่อนข้างป้อม
No.40 ลาเหาะ	6.25	2.24	2.80	ค่อนข้างป้อม
No.41 อดุลย์	6.69	1.93	3.46	เรียว
No.42 รัก	7.42	2.00	3.71	เรียว
No.43 เหนียวนาคราช	6.38	2.22	2.87	ค่อนข้างป้อม
No.44 นางลอย	6.02	2.30	2.62	ค่อนข้างป้อม
No.45 ทรายช่อ	6.32	2.32	2.72	ค่อนข้างป้อม
No.46 ช่อละมัย	6.33	2.24	2.83	ค่อนข้างป้อม
No.47 หมออรุณ	7.44	2.10	3.54	เรียว
No.48 จาเต๊ะ	5.74	2.21	2.60	ค่อนข้างป้อม
No.49 ไม้เท้า	5.82	2.44	2.39	ค่อนข้างป้อม
No.50 รวงรี	6.40	2.03	3.16	เรียว
ค่าดัชนีความหลากหลาย (H')				0.8258

*ข้าวเหนียว



รูปที่ การกระจายตัวในลักษณะรูปร่างเมล็ดข้าวกล้องของข้าวพันธุ์พื้นเมืองในภาคใต้ (หมายเลขพันธุ์ดังที่ปรากฏในตารางที่ 3)

สามารถจำแนกความยาวของกลีบรองดอกออกได้เป็น กลีบรองดอกยาวปานกลาง (<1.6–2.5 มิลลิเมตร) และกลีบรองดอกยาว (>2.5 มิลลิเมตรแต่สั้นกว่าเปลือก) ข้าวพื้นเมืองส่วนใหญ่มีลักษณะของกลีบรองดอกยาวมีจำนวน 37 ตัวอย่าง (74%) และกลีบรองดอกยาวปานกลางมีจำนวน 13 ตัวอย่าง (26%) ซึ่งเป็นลักษณะที่มีความหลากหลายปานกลางโดยมีค่าดัชนีความหลากหลายเท่ากับ 0.5731 (ตารางที่ 4 และรูปที่ 8)

ขนบนเปลือกเมล็ด

สามารถแบ่งเมล็ดข้าวเปลือกออกได้เป็นเมล็ดที่มีขนสั้น และเมล็ดที่มีขนบนเปลือกส่วนปลายเมล็ด (มีขนบนกลีบเล็ก) พบว่าข้าวพันธุ์พื้นเมืองส่วนใหญ่เปลือกเมล็ดมีขนสั้นมีจำนวน 46 ตัวอย่าง (92%) ส่วนพันธุ์ที่เหลือได้แก่ พันธุ์ช้างโอบ บุษราคัม รวงงาม และรวงรีมีขนบนเปลือกส่วนปลายเมล็ดคิดเป็น 8 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะของขนบนเปลือกเมล็ดมีความหลากหลายค่อนข้างต่ำ โดยมีค่าดัชนีความหลากหลาย 0.2788 (ตารางที่ 4 และรูปที่ 9)

สีเมล็ดข้าวกล้อง (สีเยื่อหุ้มเมล็ด)

สามารถจำแนกสีเมล็ดข้าวกล้องออกเป็นสีขาว สีน้ำตาลอ่อน และสีแดง (รูปที่ 5) พบว่าข้าวพันธุ์พื้นเมืองส่วนใหญ่มีสีเมล็ดข้าวกล้องเป็นสีน้ำตาลอ่อนมีจำนวน 47 ตัวอย่าง (94%) มีเพียง 2 ตัวอย่าง คือข้าวพื้นเมืองพันธุ์ข้าวเหนียวแดง (ข้าวเหนียว) และ พันธุ์ทางหวาย ที่มีสีเมล็ดข้าวกล้องเป็นสีแดงคิดเป็น 4 เปอร์เซ็นต์ ส่วนข้าวพื้นเมืองพันธุ์ลางนึ่ง (ข้าวเหนียว) มีสีเมล็ดข้าวกล้องเป็นสีขาวขุ่นคิดเป็น 2 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4 และรูปที่ 10) โดยมีค่าดัชนีความหลากหลายเท่ากับ 0.2652 ซึ่งเป็นลักษณะที่มีความหลากหลายต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะทางคุณภาพอื่นๆ ที่ศึกษาในครั้งนี้ (รูปที่ 11)

(1)

(2)

(3)

รูปที่ 5 การจำแนกสีเมล็ดข้าวกล้องของข้าวพันธุ์พื้นเมือง
(1) = สีขาว (2) = สีน้ำตาลอ่อน (3) = สีแดง

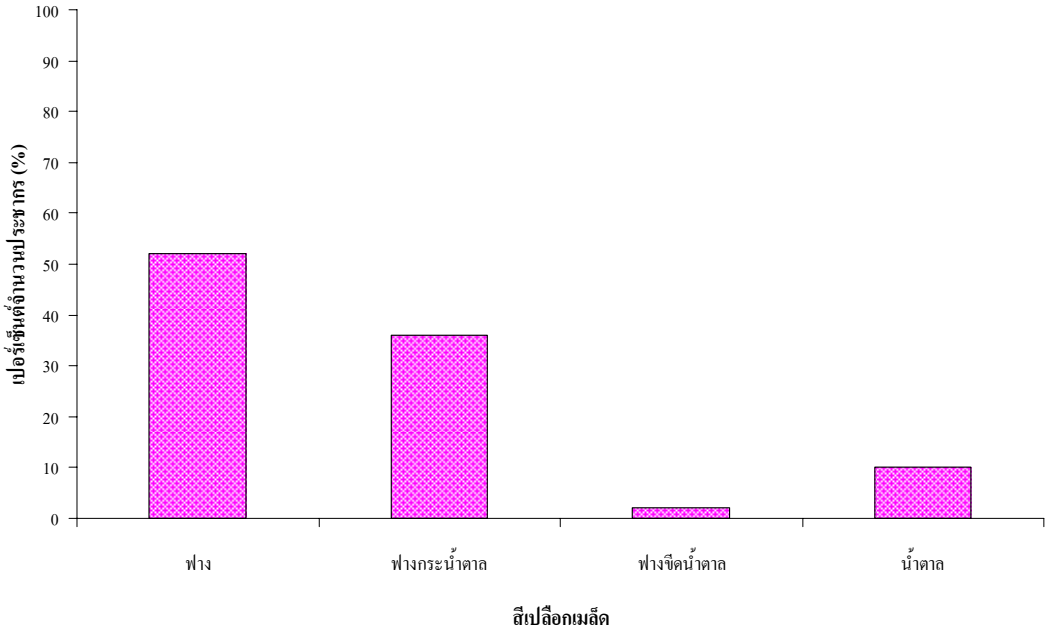
ตารางที่ ลักษณะทางคุณภาพ และค่าดัชนีความหลากหลาย (H') ของตัวอย่างข้าวพันธุ์พื้นเมืองในภาคใต้

พันธุ์	ลักษณะคุณภาพทางเมล็ด			
	ขนบนเปลือกเมล็ด	สีเปลือกเมล็ด	ความยาวของกลีบรองดอก	สีข้าวกล้อง
No.1 ช้างโอบ	มีขนบนเปลือกส่วนปลายเมล็ด	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.2 นาคอ	มีขนสั้น	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.3 ลูกปลา	มีขนสั้น	น้ำตาล	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.4 ช้องนาง	มีขนสั้น	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.5 หัวนา	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.6 เข็มทอง	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.7 หอมจันทร์	มีขนสั้น	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.8 ยอดม่วง	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ปานกลาง	น้ำตาลอ่อน
No.9 ลูกดำ	มีขนสั้น	น้ำตาล	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.10 บุษราคัม	มีขนบนเปลือกส่วนปลายเมล็ด	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.11 นางนาค	มีขนสั้น	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.12 เล็บนก	มีขนสั้น	ฟาง	ปานกลาง	น้ำตาลอ่อน
No.13 ช่อขิง	มีขนสั้น	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.14 ช่อลุง	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.15 อีเอิ๊น	มีขนสั้น	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.16 กลายดำ	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.17 ลูกเขย	มีขนสั้น	น้ำตาล	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.18 ข้าวนก(สารขาว)	มีขนสั้น	ฟาง	ปานกลาง	น้ำตาลอ่อน
No.19 ข้าวเหนียวแดง*	มีขนสั้น	ฟางขีดน้ำตาล	ยาว	แดง
No.20 ช่อไข่เป็ด	มีขนสั้น	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.21 นางหงส์	มีขนสั้น	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.22 ลางนึ่ง*	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ยาว	ขาว
No.23 ลูกจีน	มีขนสั้น	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.24 โป๊ะหมอ	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.25 จำปา	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.26 หน่วยเขือ	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ปานกลาง	น้ำตาลอ่อน
No.27 กันตัง	มีขนสั้น	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.28 ช่อขาว	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ปานกลาง	น้ำตาลอ่อน
No.29 นางมา	มีขนสั้น	ฟาง	ปานกลาง	น้ำตาลอ่อน

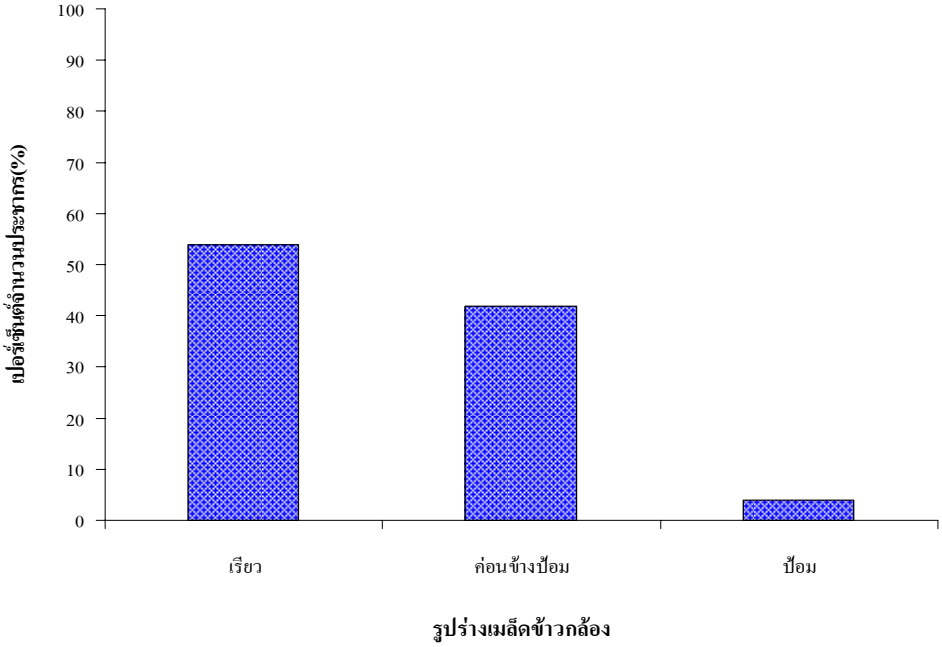
ตารางที่ 4 (ต่อ)

พันธุ์	ลักษณะคุณภาพทางเมล็ด			
	ขนบนเปลือกเมล็ด	สีเปลือกเมล็ด	ความยาวของกลีบรองดอก	สีข้าวกล้อง
No.30 รวงงาม	มีขนบนเปลือกส่วนปลายเมล็ด	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.31 เมืองไทร	มีขนสั้น	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.32 กลีบเมฆ	มีขนสั้น	ฟาง	ปานกลาง	น้ำตาลอ่อน
No.33 นางญวนแดง	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.34 ขาวเฒ่า	มีขนสั้น	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.35 ทางหวาย	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ปานกลาง	แดง
No.36 แหกหญ้า	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.37 แม่หม้าย	มีขนสั้น	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.38 เอวมดแดง	มีขนสั้น	น้ำตาล	ปานกลาง	น้ำตาลอ่อน
No.39 ลาบู	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ปานกลาง	น้ำตาลอ่อน
No.40 ลาเหาะ	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ปานกลาง	น้ำตาลอ่อน
No.41 อดุลย์	มีขนสั้น	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.42 รัก	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.43 เหนียวนาคราช	มีขนสั้น	น้ำตาล	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.44 นางลอย	มีขนสั้น	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.45 ทรายช่อ	มีขนสั้น	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.46 ช่อละมัย	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.47 หมออรุณ	มีขนสั้น	ฟางกระน้ำตาล	ยาว	น้ำตาลอ่อน
No.48 จาเต๊ะ	มีขนสั้น	ฟาง	ปานกลาง	น้ำตาลอ่อน
No.49 ไม้เท้า	มีขนสั้น	ฟาง	ปานกลาง	น้ำตาลอ่อน
No.50 รวงรี	มีขนบนเปลือกส่วนปลายเมล็ด	ฟาง	ยาว	น้ำตาลอ่อน
ค่าดัชนีความหลากหลาย(H')	0.2788	1.0163	0.5731	0.2652

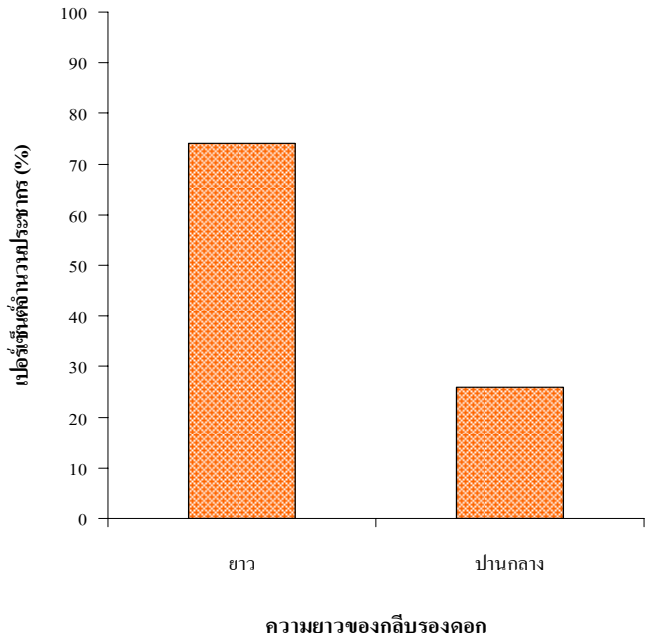
*ข้าวเหนียว



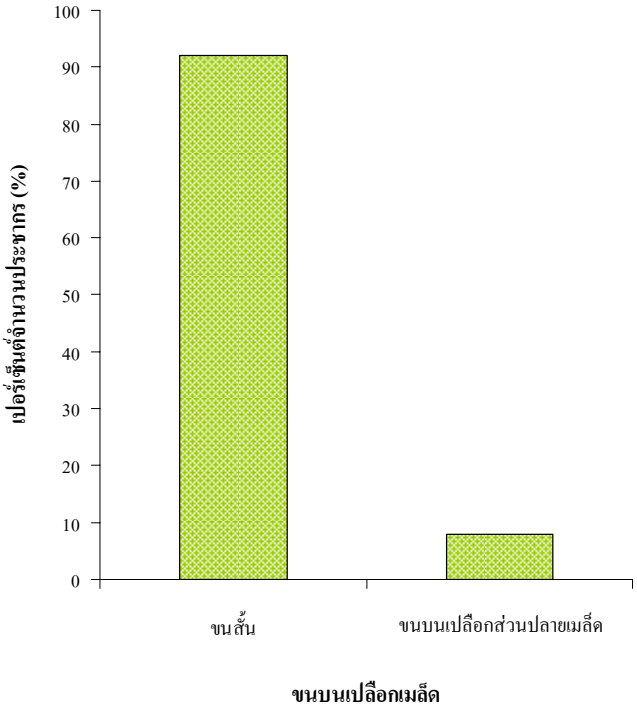
รูปที่ 6 แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายตัวของประชากรข้าวพื้นเมือง จากลักษณะทางคุณภาพของสีเปลือกเมล็ด



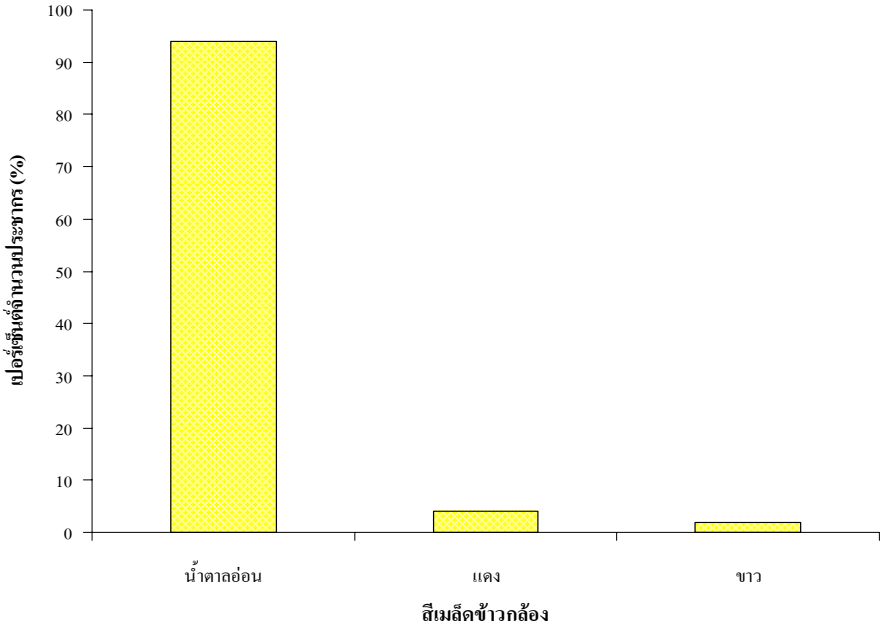
รูปที่ 7 แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายตัวของประชากรข้าวพื้นเมือง จากลักษณะทางคุณภาพของรูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง



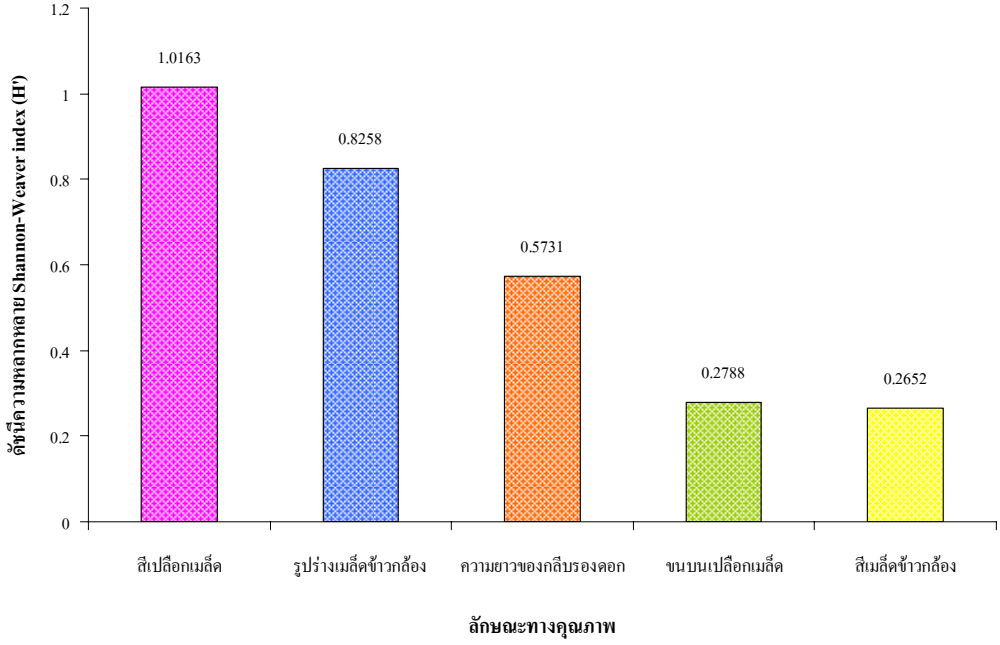
รูปที่ 8 แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายตัวของประชากรข้าวพื้นเมือง จากลักษณะทางคุณภาพของความยาวกลีบรองดอก



รูปที่ 9 แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายตัวของประชากรข้าวพื้นเมือง จากลักษณะทางคุณภาพของขนบนเปลือกเมล็ด



รูปที่ 10 แผนภูมิแท่งแสดงการกระจายตัวของประชากรข้าวพื้นเมือง จากลักษณะทางคุณภาพของสีเมล็ดข้าวกล้อง



รูปที่ 11 แผนภูมิแท่งแสดงค่าดัชนีความหลากหลาย Shannon-Weaver index (H') ของลักษณะทางคุณภาพ 5 ลักษณะ

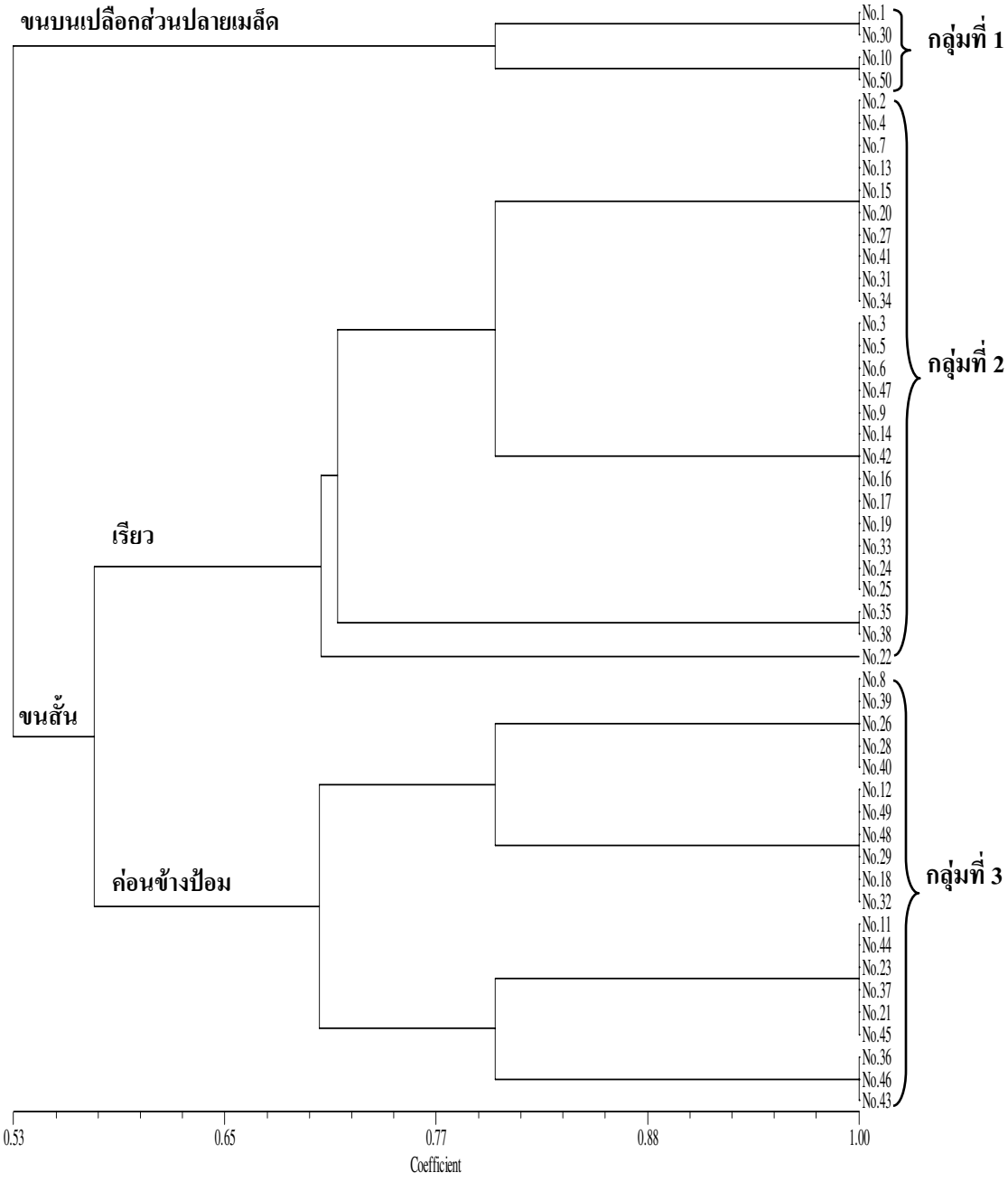
1.3 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองจากการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด

จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองจำนวน 50 พันธุ์ เป็นข้าวเจ้า 48 พันธุ์ และข้าวเหนียว 2 พันธุ์ ที่เก็บจากแหล่งปลูกบางพื้นที่ในภาคใต้ โดยรวบรวมจากแปลงเกษตรกรบริเวณลุ่มน้ำนาทวี อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง และศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด จากลักษณะทางคุณภาพ 5 ลักษณะ นำไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรม ด้วยการวิเคราะห์ UPGMA cluster analysis หาค่า Similarity coefficient ของ Jaccard โดยโปรแกรม NTSYS ผลการวิเคราะห์ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมือง มีค่าอยู่ในช่วง 0.20-1.00 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.68 จากเดนโดรแกรมสามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเป็น 3 กลุ่ม พบว่ามีลักษณะทางคุณภาพ 2 ลักษณะคือ รูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง และขนบนเปลือกเมล็ดที่สามารถนำมาใช้ในการจัดแบ่งกลุ่มของข้าวพื้นเมืองได้ (รูปที่ 12) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 มี 4 ตัวอย่าง ประกอบด้วยข้าวพื้นเมืองพันธุ์ช้างโอบ รวงงาม บุษราคัม และรวงรี

กลุ่มที่ 2 มี 26 ตัวอย่าง ประกอบด้วยข้าวพื้นเมืองพันธุ์นาคอ ช้องนาง หอมจันทร์ ช่อขิง อีเอิ๊น ช่อไข่เป็ด กันตัง อดุลย์ เมืองไทร ขาวเฒ่า ลูกปลา หัวนา เข็มทอง หมออรุณ ลูกดำ ช่อลุง รัก กลายดำ ลูกเขย ข้าวเหนียวแดง นางญวนแดง โป๊ะหมอ จำปา ทางหวาย เอวมดแดง และลางนึ่ง

กลุ่มที่ 3 มี 20 ตัวอย่าง ประกอบด้วยข้าวพื้นเมืองพันธุ์ยอดม่วง ลาบู หน่วยเขือ ช่อขาว ลาเหาะ เล็บนก ไม้เท้า จาเต๊ะ นางมา ข้าวนก (สารขาว) กลีบเมฆ นางนาค นางลอย ลูกจีน แม่หม้าย นางหงส์ ทรายช่อ แหกหญ้า ช่อละมัย และเหนียวนาคราช



รูปที่ 12 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของข้าวพื้นเมืองจำนวน 50 พันธุ์ โดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด จากลักษณะคุณภาพ 5 ลักษณะ (หมายเลขพันธุ์ดังที่ปรากฏในตารางที่ 2-4)

2. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองในภาคใต้ โดยการใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์

2.1 การสกัดดีเอ็นเอและการตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอ

ผลจากการสกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนของข้าว โดยบดตัวอย่างร่วมกับสารละลาย CTAB บัฟเฟอร์ พบว่าสามารถสกัดดีเอ็นเอได้ครั้งละประมาณ 2-4 ไมโครกรัมต่อใบสด 200 มิลลิกรัม ดีเอ็นเอที่ได้มีคุณภาพดีเพียงพอสำหรับการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์

2. 2 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมือง โดยการใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์

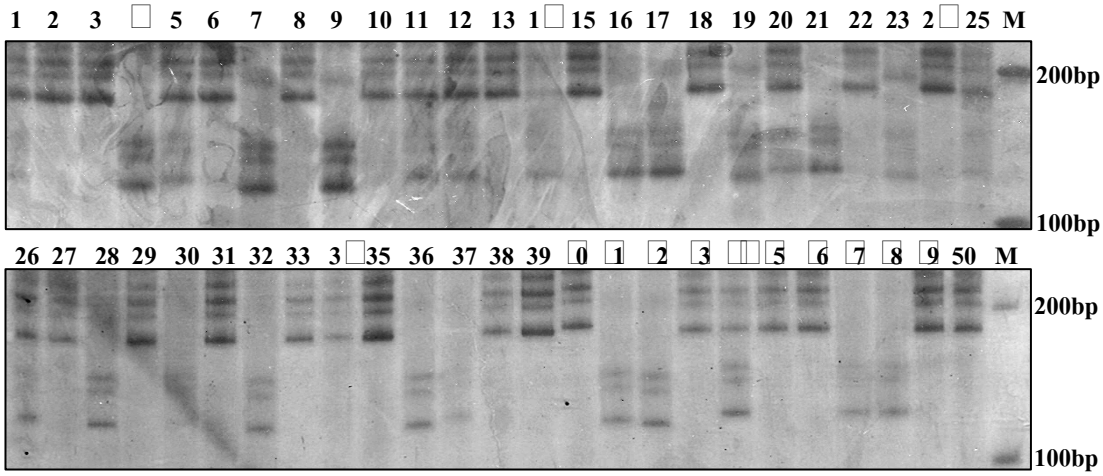
2.2.1 การคัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างพันธุ์ข้าวพื้นเมืองโดยปฏิกิริยา PCR

ผลการใช้คู่ไพรเมอร์สำหรับเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์จำนวน 6 คู่ไพรเมอร์ (ตำแหน่ง) คัดเลือกมาจาก 9 คู่ไพรเมอร์ ได้แก่ RM9 RM21 RM44 RM166 RM180 RM211 RM219 RM241 และ RM280 ซึ่งเป็นคู่ไพรเมอร์จากการศึกษาของ Song และคณะ (2006) นำมาทดสอบเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์พื้นเมืองโดยใช้ตัวอย่างข้าว 7 พันธุ์ คือข้าวพื้นเมืองพันธุ์ช้างโอบ นาคอ ลูกปลา ช้องนาง หัวนา เข็มทอง และหอมจันทร์ เพิ่มปริมาณและทดสอบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอโดยวิธีอิเล็กโตโฟรีซีส คัดเลือกคู่ไพรเมอร์ที่ให้ความแตกต่าง จากการทดสอบพบว่าไพรเมอร์ RM9 RM21 RM166 RM211 RM219 และ RM280 ทั้ง 6 คู่ไพรเมอร์ เป็นคู่ไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างชัดเจนมากที่สุด จึงนำมาทดสอบกับข้าวพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 50 พันธุ์ จาก 6 คู่ไพรเมอร์ให้จำนวนอัลลีลทั้งหมด 23 อัลลีล เฉลี่ย 3.83 อัลลีลต่อตำแหน่ง เป็นอัลลีลที่มีความแตกต่าง (polymorphic) ทั้งหมด คู่ไพรเมอร์ RM21 และRM280 ให้จำนวนอัลลีลสูงสุดจำนวน 5 อัลลีล คู่ไพรเมอร์ RM166 RM211 และRM219 ให้จำนวนอัลลีลน้อยที่สุดจำนวน 3 อัลลีล (ตารางที่ 5)

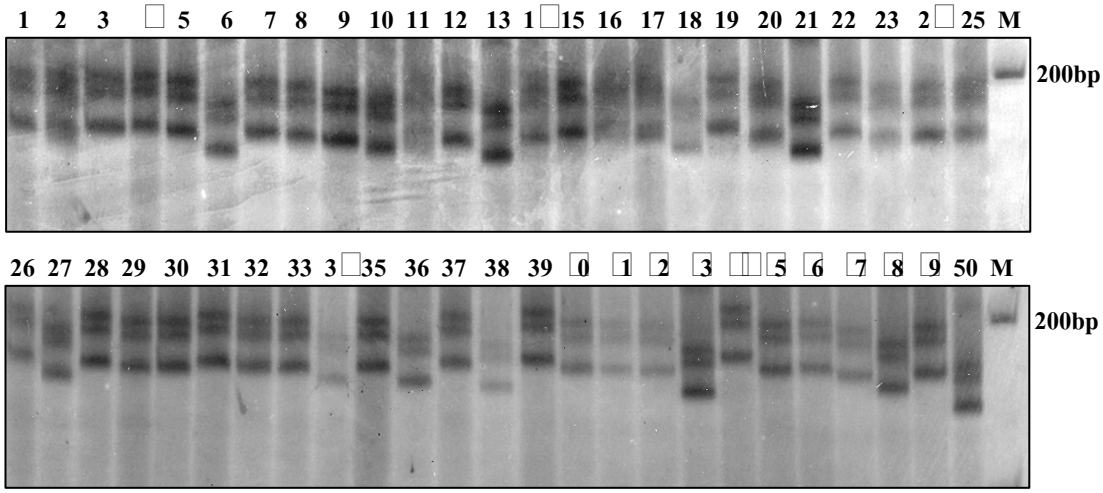
ตารางที่ 5 ชนิดของคู่ไพรเมอร์ที่คัดเลือก ลำดับเบส จำนวนอัลลีลทั้งหมด และจำนวนอัลลีลที่ต่างกันจากการใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ในข้าวพันธุ์พื้นเมือง

Primer	Sequence (5' to 3')	Total no. of alleles	No. of alleles	Polymorphism (%)
RM9	(F) GGTG□□ATTGT□GT□□T□	4	4	100
	(R) A□GG□□□T□AT□A□□TT□			
RM21	(F) A□AGTATT□□GTAGG□A□GG	5	5	100
	(R) G□T□□ATGAGGGTGGTAGAG			
RM166	(F) GGT□□TGGGT□AATAATTGG	3	3	100
	(R) GTTA□□TTG□TG□ATGAT□□TAAA□□GG			
RM211	(F) □□GAT□T□AT□AA□□AA□TG	3	3	100
	(R) □TT□A□GAGGAT□T□AAAGG			
RM219	(F) □GT□GGATGATGTAAAG□□T	3	3	100
	(R) □ATAT□GG□ATT□G□□TG			
RM280	(F) A□A□GAT□□A□TTTG□G□	5	5	100
	(R) TGTGT□TTGAG□AG□□AGG			
	Total	23	23	100

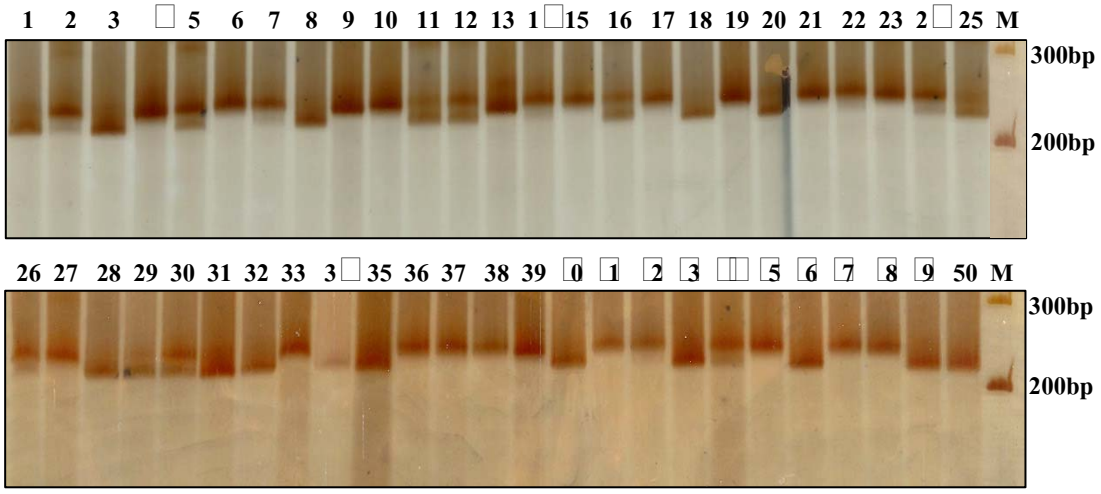
แต่ละคู่ไพรเมอร์ให้จำนวนอัลลีลที่มีความแตกต่างกันในข้าวพันธุ์พื้นเมืองดังนี้ คู่ไพรเมอร์ RM9 ให้จำนวนอัลลีลทั้งหมด 4 อัลลีล (รูปที่ 13) คู่ไพรเมอร์ RM21 ให้จำนวนอัลลีลทั้งหมด 5 อัลลีล (รูปที่ 14) คู่ไพรเมอร์ RM166 ให้จำนวนอัลลีลทั้งหมด 3 อัลลีล (รูปที่ 15) คู่ไพรเมอร์ RM211 ให้จำนวนอัลลีลทั้งหมด 3 อัลลีล (รูปที่ 16) คู่ไพรเมอร์ RM219 ให้จำนวนอัลลีลทั้งหมด 3 อัลลีล (รูปที่ 17) และคู่ไพรเมอร์ RM280 ให้จำนวนอัลลีลทั้งหมด 5 อัลลีล (รูปที่ 18)



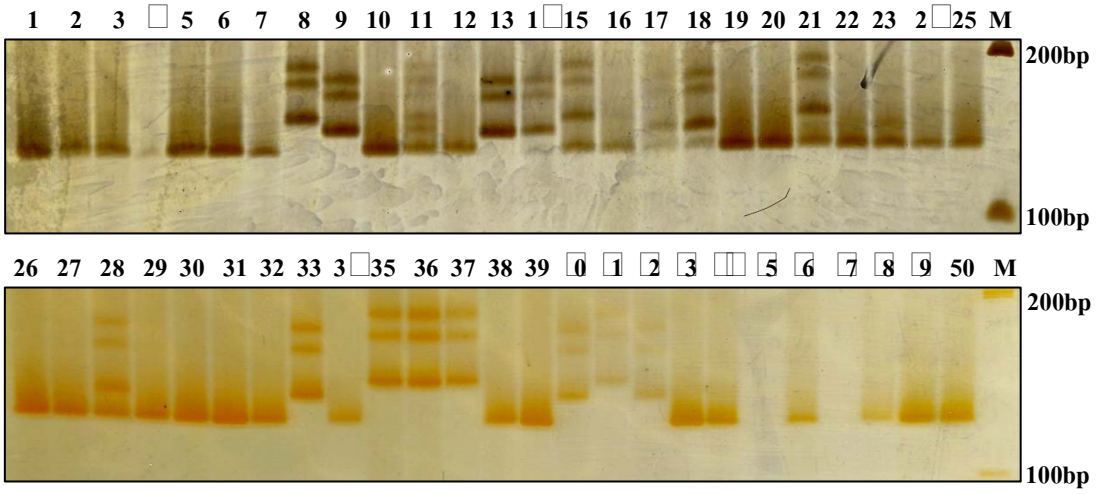
รูปที่ 13 แถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM9 (lane 1-50) คือ ข้าวพันธุ์จำปา โป๊ะหมอ ลูกจีน ลางนึ่ง นางหงส์ ช่อไข่เป็ด ข้าวเหนียวแดง ข้าวนก (สารขาว) ลูกเขย กลายดำ อีเอิ้น ช่อลุง ช่อขิง เล็บนก นางนาค บุษราคัม ลูกดำ ยอดม่วง หอมจันทร์ เข็มทอง หัวนา ช้องนาง ลูกปลา นาคอ ช้างโอบ รวงรี ไม้เท้า จาเต๊ะ หมออรุณ ช่อละมัย ทรายช่อ นางลอย เหนียวนาคราช รัก อดุลย์ ลาเหาะ ลาบู เอวมดแดง แม่หม้าย แหกหญ้า ทางหวาย ขาวเฒ่า นางญวนแดง กลีบเมฆ เมืองไทร รวงงาม นางมา ช่อขาว กันตัง และหน่วยเขือ ตามลำดับ (M) คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



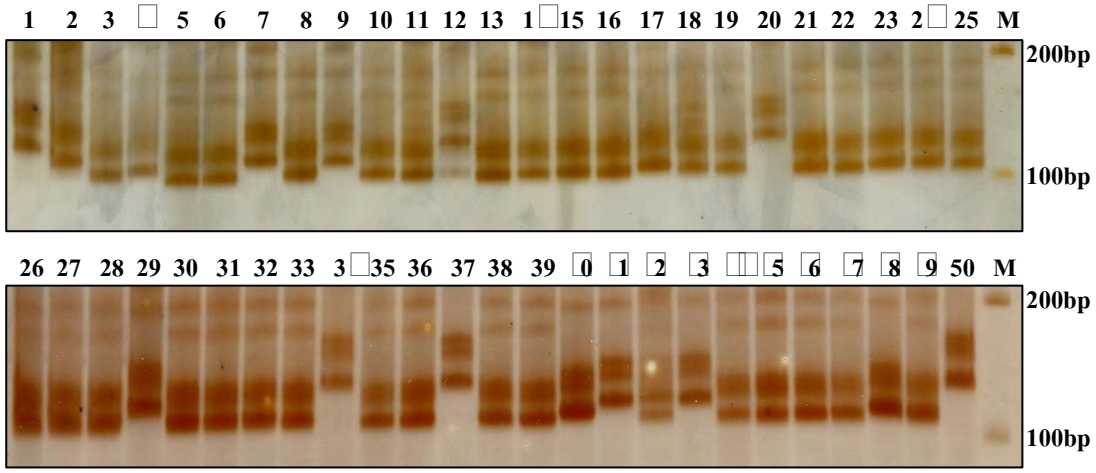
รูปที่ 1 แถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM21 (lane 1-50) คือ ข้าวพันธุ์จำปา โป๊ะหมอ ลูกจีน ลางนึ่ง นางหงส์ ช่อไข่เป็ด ข้าวเหนียวแดง ข้าวนก (สารขาว) ลูกเขย กลายดำ อีเอิ้น ช่อลุง ช่อขิง เล็บนก นางนาค บุษราคัม ลูกดำ ยอดม่วง หอมจันทร์ เข็มทอง หัวนา ช้องนาง ลูกปลา นาคอ ช้างโอบ รวงรี ไม้เท้า จาเต๊ะ หมออรุณ ช่อละมัย ทรายช่อ นางลอย เหนียวนาคราช รัก อดุลย์ ลาเหาะ ลาบู เอวมดแดง แม่หม้าย แหกหญ้า ทางหวาย ขาวเฒ่า นางญวนแดง กลีบเมฆ เมืองไทร รวงงาม นางมา ช่อขาว กันตัง และหน่วยเขือ ตามลำดับ (M) คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



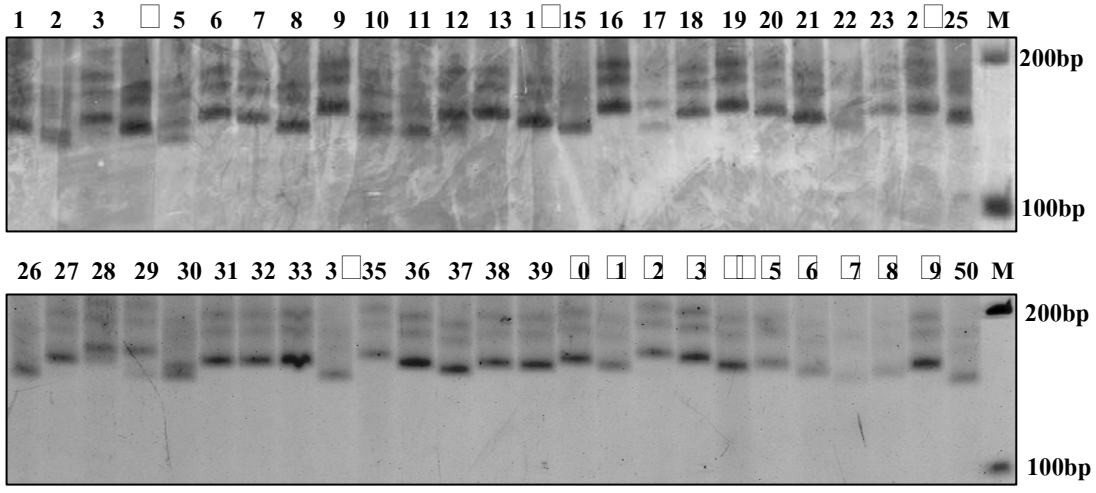
รูปที่ 15 แถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM166 (lane 1-50) คือ ข้าวพันธุ์จำปา โป๊ะหมอ ลูกจีน ลางนึ่ง นางหงส์ ช่อไข่เป็ด ข้าวเหนียวแดง ข้าวนก (สารขาว) ลูกเขย กลายดำ อีเอิ๊น ช่อลุง ช่อขิง เล็บนก นางนาค บุษราคัม ลูกดำ ยอดม่วง หอมจันทร์ เข็มทอง หัวนา ช้องนาง ลูกปลา นาคอ ช้างโอบ รวงรี ไม้เท้า จาเต๊ะ หมออรุณ ช่อละมัย ทรายช่อ นางลอย เหนียวนาคราช รัก อดุลย์ ลาเหาะ ลาบู เอวมดแดง แม่หม้าย แหกหญ้า ทางหวาย ขาวเฒ่า นางญวนแดง กลีบเมฆ เมืองไทร รวงงาม นางมา ช่อขาว กันตัง และหน่วยเขือ ตามลำดับ (M) คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



รูปที่ 16 แถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM211 (lane 1-50) คือ ข้าวพันธุ์จำปา โป๊ะหมอ ลูกจีน ลางนึ่ง นางหงส์ ช่อไข่เป็ด ข้าวเหนียวแดง ข้าวนก (สารขาว) ลูกเขย กลายดำ อีเอิ๊น ช่อลุง ช่อขิง เล็บนก นางนาค บุษราคัม ลูกดำ ยอดม่วง หอมจันทร์ เข็มทอง หัวนา ช้องนาง ลูกปลา นาคอ ช้างโอบ รวงรี ไม้เท้า จาเต๊ะ หมออรุณ ช่อละมัย ทรายช่อ นางลอย เหนียวนาคราช รัก อดุลย์ ลาเหาะ ลาบู เอวมดแดง แม่หม้าย แหกหญ้า ทางหวาย ขาวเฒ่า นางญวนแดง กลีบเมฆ เมืองไทร รวงงาม นางมา ช่อขาว กันตัง และหน่วยเขือ ตามลำดับ (M) คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



รูปที่ 17 แถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM219 (lane 1-50) คือ ข้าวพันธุ์จำปา โป๊ะหมอ ลูกจีน ลางนึ่ง นางหงส์ ช่อไข่เป็ด ข้าวเหนียวแดง ข้าวนก (สารขาว) ลูกเขย กลายดำ อีเอิ๊น ช่อลุง ช่อขิง เล็บนก นางนาค บุษราคัม ลูกดำ ยอดม่วง หอมจันทร์ เข็มทอง หัวนา ช้องนาง ลูกปลา นาคอ ช้างโอบ รวงรี ไม้เท้า จาเต๊ะ หมออรุณ ช่อละมัย ทรายช่อ นางลอย เหนียวนาคราช รัก อดุลย์ ลาเหาะ ลาบู เอวมดแดง แม่หม้าย แหกหญ้า ทางหวาย ขาวเฒ่า นางญวนแดง กลีบเมฆ เมืองไทร รวงงาม นางมา ช่อขาว กันตัง และหน่วยเขือ ตามลำดับ (M) คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



รูปที่ 18 แถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM280 (lane 1-50) คือ ข้าวพันธุ์จำปา โป๊ะหมอ ลูกจีน ลางนึ่ง นางหงส์ ช่อไข่เป็ด ข้าวเหนียวแดง ข้าวนก (สารขาว) ลูกเขย กลายดำ อีเอิ๊น ช่อลุง ช่อขิง เล็บนก นางนาค บุษราคัม ลูกดำ ยอดม่วง หอมจันทร์ เข็มทอง หัวนา ช้องนาง ลูกปลา นาคอ ช้างโอบ รวงรี ไม้เท้า จาเต๊ะ หมออรุณ ช่อละมัย ทรายช่อ นางลอย เหนียวนาคราช รัก อดุลย์ ลาเหาะ ลาบู เอวมดแดง แม่หม้าย แหกหญ้า ทางหวาย ขาวเฒ่า นางญวนแดง กลีบเมฆ เมืองไทร รวงงาม นางมา ช่อขาว กันตัง และหน่วยเขือ ตามลำดับ (M) คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส

2.2.2 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมือง จากการใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์

จากการศึกษาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองจำนวน 50 พันธุ์ เป็นข้าวเจ้า 48 พันธุ์ และข้าวเหนียว 2 พันธุ์ ที่เก็บจากแหล่งปลูกบางพื้นที่ในภาคใต้ โดยรวบรวมจากแปลงเกษตรกรบริเวณลุ่มน้ำนาทวี อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง และศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี โดยใช้แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ ทั้งหมด 23 อัลลีล นำไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยการวิเคราะห์ UPGMA cluster analysis หาค่า Similarity coefficient ของ Jaccard โดยโปรแกรม NTSYS ผลการวิเคราะห์ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองมีค่าอยู่ในช่วง 0.39-1.00 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.69 พบข้าวพันธุ์พื้นเมือง 2 คู่ ที่มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเท่ากับ 1.00 คือ ข้าวพื้นเมืองพันธุ์ลูกจีนและพันธุ์ทรายช่อ ข้าวพื้นเมืองพันธุ์ช่อไข่เป็ดและพันธุ์เอวมดแดง ส่วนข้าวพื้นเมืองพันธุ์ลูกเขยและพันธุ์รวงรีมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมน้อยที่สุด (0.39) จากเดนโดรแกรมสามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเป็น 6 กลุ่ม (รูปที่ 19) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 มี 26 ตัวอย่าง ประกอบด้วยข้าวพันธุ์ช้างโอบ กันตัง ลูกจีน ทรายช่อ นางลอย นาคอ ไม้เท้า ช่อไข่เป็ด เอวมดแดง เมืองไทร กลีบเมฆ แม่หม้าย ช้องนาง นางนาค ข้าวนกรวงงาม อดุลย์ นางหงส์ โป๊ะหมอ ลูกปลา อีเอิ๊ด กลายดำ ช่อละมัย หอมจันทร์ รวงรี และลางนึ่ง

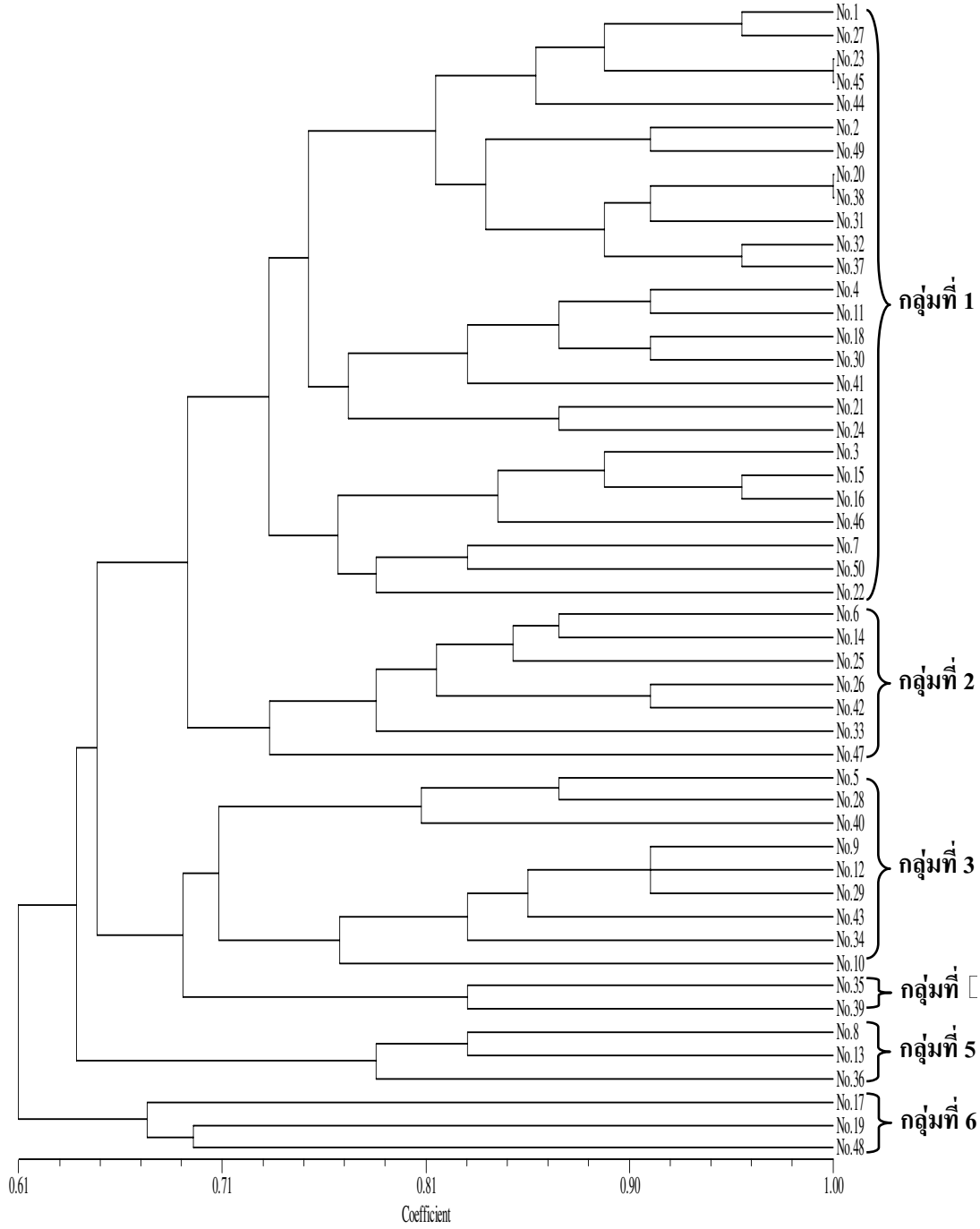
กลุ่มที่ 2 มี 7 ตัวอย่าง ประกอบด้วยข้าวพันธุ์เข็มทอง ช่อลุง จำปา หน่วยเขือรัก นางญวนแดง และหมออรุณ

กลุ่มที่ 3 มี 9 ตัวอย่าง ประกอบด้วยข้าวพันธุ์หัวนา ช่อขาว ลาเหาะ ลูกดำเล็บนก นางมา เหนียวนาคราช ขาวเฒ่า และบุษราคัม

กลุ่มที่ 4 มี 2 ตัวอย่าง ประกอบด้วยข้าวพันธุ์ทางหวาย และลาบู

กลุ่มที่ 5 มี 3 ตัวอย่าง ประกอบด้วยข้าวพันธุ์ยอดม่วง ช่อขิง และแหกหญ้า

กลุ่มที่ 6 มี 3 ตัวอย่าง ประกอบด้วยข้าวพันธุ์ลูกเขย ข้าวเหนียวแดง และจาเต๊ะ



รูปที่ 19 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของข้าวพื้นเมืองจำนวน 50 พันธุ์ จากการใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์จำนวน 6 คู่ไพรเมอร์ (หมายเลขพันธุ์ดังที่ปรากฏในตารางที่ 2-4)

บทที่ 4

วิจารณ์

1. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมือง โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองในภาคใต้ โดยเก็บตัวอย่างจากแปลงเกษตรกรในบริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำนาทวี อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา รวมทั้งตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากการรวบรวมของศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง จังหวัดพัทลุง และศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี จังหวัดปัตตานี จำนวน 50 พันธุ์ ซึ่งส่วนใหญ่จะทำการรวบรวมเมล็ดพันธุ์จากบริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำนาทวี เนื่องจากพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่ปลูกในบริเวณนี้มีรายชื่อพันธุ์ที่ไม่ซ้ำกับการรวบรวมของศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง และศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี โดยคาดหวังว่าอาจจะเป็นพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่ยังไม่ได้มีการศึกษามาก่อนหรือรวบรวมพันธุ์ไว้ ปัจจุบันพบว่าเกษตรกรในภาคใต้มีการปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมืองอยู่อย่างกระจัดกระจาย โดยทั่วไปชาวนานิยมปลูกข้าวพันธุ์ใหม่ที่ไม่ใช่พันธุ์ดั้งเดิม แต่ข้าวพันธุ์พื้นเมืองมักมีลักษณะที่ดีบางอย่าง เช่น ความต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูพืช รวมไปถึงการปรับตัวได้ดีในสภาพแวดล้อมนั้นๆ เป็นต้น เกษตรกรส่วนหนึ่งนิยมปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมืองเพราะมีความชอบในคุณสมบัติเฉพาะของข้าวพันธุ์นั้น เช่น “ข้าวหอมจันทร์” เป็นข้าวเจ้าที่มีคุณสมบัติพิเศษในลักษณะของคุณภาพข้าวสุก คือมีกลิ่นหอม ไม่แข็ง และหุงขึ้นหม้อ “ข้าวเข็มทอง” เป็นข้าวที่คุณภาพดี ข้าวสารเมล็ดเรียวยาวสวย มีคุณสมบัติของข้าวที่หุงสุกลักษณะอ่อนนุ่ม ไม่เหนียวเกาะกันและไม่แข็งกระด้าง รสชาติอร่อย ขายได้ราคาสูง และเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค “ข้าวลูกปลา” มีลักษณะเด่น คือนวดง่าย ลักษณะของข้าวหุงสุกจะมีลักษณะนุ่มและหุงขึ้นหม้อ “ข้าวช่อลุง” เป็นข้าวที่มีเมล็ดข้าวสารเรียวสวย เมล็ดลีบน้อย ลักษณะข้าวหุงสุกนุ่ม และยังสามารถขายได้ราคาดี ส่วน “ข้าวลางนึ่ง” เป็นข้าวเหนียวที่นิยมปลูกไว้เพื่อทำขนม เป็นต้น ปัจจุบันพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่เคยมีปลูกอยู่อย่างหลากหลายได้หายไปจนใกล้สูญพันธุ์ เป็นผลให้ความผันแปรทางพันธุกรรมที่มีอยู่ในพันธุ์ข้าวลดน้อยลงตามไปด้วย (สำเริง, 2550) การตรวจสอบความแตกต่างของเชื้อพันธุ์มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งต่อการอนุรักษ์และการจัดการเชื้อพันธุ์หรือการปรับปรุงพันธุ์ (จรัสศรี และมงคล, 2547) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด พบความหลากหลายระหว่างพันธุ์ข้าวพื้นเมืองในลักษณะทางคุณภาพของสัณฐานวิทยาของเมล็ด เช่น สีเปลือกเมล็ด รูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง ความยาว

ของกลีบรองดอก ขนบนเปลือกเมล็ด และสีเมล็ดข้าวกล้อง โดยใช้ค่าดัชนีความหลากหลายของ Shannon-Weaver index (H') ในการพิจารณาความหลากหลายของลักษณะทางคุณภาพ พบว่าลักษณะที่มีความหลากหลายภายในประชากรสูงที่สุดคือ สีเปลือกเมล็ด มีค่าดัชนีความหลากหลายเท่ากับ 1.0163 โดยสีเปลือกเมล็ดมีทั้งสีฟาง สีฟางกระน้ำตาล สีฟางขีดน้ำตาล และสีน้ำตาล พบว่าประชากรส่วนใหญ่ของข้าวพื้นเมืองคิดเป็น 52 เปอร์เซ็นต์ มีเปลือกเมล็ดเป็นสีฟาง สำหรับลักษณะที่มีความหลากหลายภายในประชากรต่ำที่สุดคือ สีเมล็ดข้าวกล้อง มีค่าดัชนีความหลากหลายเท่ากับ 0.2652 ประชากรส่วนใหญ่ของข้าวพื้นเมืองที่นำมาศึกษาคิดเป็น 94 เปอร์เซ็นต์ มีสีเมล็ดข้าวกล้องเป็นสีน้ำตาลอ่อน ผลการศึกษาครั้งนี้ให้ผลใกล้เคียงกับการศึกษาของ วิชุตา และดำเนิน (2549) ที่ทำการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของเมล็ดข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองที่บ้านอาโย๊ะใหม่ ต. แม่สลองใน อ. แม่ฟ้าหลวง จ. เชียงราย พบว่าลักษณะที่มีความหลากหลายมากที่สุดของพันธุ์ข้าวไร่ คือ สีเปลือกเมล็ด แต่ลักษณะที่มีความหลากหลายน้อยที่สุดคือ รูปร่างเมล็ด สำหรับการศึกษาครั้งนี้รูปร่างเมล็ดเป็นลักษณะที่ให้ความหลากหลายสูงรองลงมาจากลักษณะของสีเปลือกเมล็ดมีค่าดัชนีความหลากหลายเท่ากับ 0.8258 เมื่อนำลักษณะทางคุณภาพ 5 ลักษณะ ไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรม พบว่ามีค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.20-1.00 และสามารถแบ่งกลุ่มของข้าวพันธุ์พื้นเมืองออกเป็น 3 กลุ่ม โดยพบว่าการจัดแบ่งกลุ่มของข้าวพื้นเมืองให้ผลสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดทางคุณภาพ 2 ลักษณะคือ รูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง และขนบนเปลือกเมล็ด ใกล้เคียงกับการศึกษาของอัญชลี และคณะ (2549) ซึ่งศึกษาการประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการให้ผลผลิตของข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองจำนวน 60 พันธุ์ ทำการบันทึกข้อมูลทางพฤกษศาสตร์จำนวน 25 ลักษณะ นำลักษณะที่เก็บข้อมูลไปจัดกลุ่มโดยวิเคราะห์ค่าความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่ามีค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.16-0.81 และสามารถแบ่งกลุ่มของข้าวเหนียวดำออกเป็น 3 กลุ่ม โดยในแต่ละกลุ่มมีลักษณะที่แตกต่างกัน และมีความสอดคล้องกับการจำแนกข้าวตามลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ดังนั้นลักษณะทางคุณภาพเมล็ดดังกล่าวสามารถนำมาประเมินความหลากหลายภายในประชากรข้าวพื้นเมืองได้ในระดับหนึ่ง

ลักษณะทางปริมาณพบว่าข้าวพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 50 พันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้ง 3 ลักษณะคือ น้ำหนักข้าวเปลือก 100 เมล็ด ความยาวและความกว้างเมล็ดข้าวเปลือก ปรีชา (2538) รายงานว่านอกเหนือจากลักษณะทางเมล็ดที่ต่างกันความแตกต่างกันทางรูปพรรณสัณฐานเช่น ความสูงของต้น ลักษณะทรงพุ่ม สีของลำต้น และอายุวันออกดอกก็สามารถนำมาใช้แยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ข้าวได้ รวมถึงลักษณะของลำต้น และใบในช่วง vegetative เช่น สีใบ สีของกาบใบ สีลำต้น สีลิ้นใบ สีหูใบ และลักษณะของดอกและเมล็ดในระยะ

reproductive เช่น สีเกสรเพศเมีย สีกลีบรองดอก สีเปลือกเมล็ด สียอดเมล็ด นำมาใช้เป็นเครื่องหมายทางสัณฐานวิทยาในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวหลังจากมีการผสมพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์ได้เช่นเดียวกัน แต่จากการศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างในลักษณะสีแผ่นใบ สีกาบใบ สีข้อ สีเยื่อกันน้ำฝน และรูปร่างของเยื่อกันน้ำฝน โดยพบว่าทุกพันธุ์มีสีแผ่นใบ สีกาบใบ และสีข้อเป็นสีเขียว มีเยื่อกันน้ำฝนสีขาว และรูปร่างเยื่อกันน้ำฝนมี 2 ยอด ลักษณะเหล่านี้มักแปรผันไปตามสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป อาจเกิดความผิดพลาดได้ในกรณีของสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกัน จึงต้องอาศัยความชำนาญเป็นพิเศษ อย่างไรก็ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยายังมีความจำเป็นที่ต้องพิจารณาในเบื้องต้น แล้วจึงใช้วิธีการตรวจสอบวิธีอื่นประกอบเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

2. การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมือง โดยอาศัยเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์

คุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอเป็นปัจจัยแรกที่มีผลต่อความคมชัดของแถบดีเอ็นเอหลังการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธีพีซีอาร์ การสกัดดีเอ็นเอจากใบข้าวโดยใช้ไนโตรเจนเหลวร่วมกับ CTAB บัพเฟอร์ ที่ประยุกต์จากวิธีของ Agrawal และคณะ (1992) ให้ปริมาณและคุณภาพดีเอ็นเอมากเพียงพอต่อการนำไปเพิ่มปริมาณโดยการทำพีซีอาร์ เนื่องจากใบข้าวมีปริมาณเส้นใยสูงมากจึงไม่สามารถบดใบข้าวด้วย CTAB บัพเฟอร์เพียงอย่างเดียวเหมือนพืชชนิดอื่น เช่นยางพารา (กรกช, 2550) ลองกอง ลางสาด และดูกู (สุวิมล, 2544) เป็นต้น ทั้งนี้คุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัดใบข้าวขึ้นอยู่กับระยะการเจริญเติบโตของใบที่นำมาใช้ในการสกัด ซึ่งเป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของดีเอ็นเอที่สกัดได้ สำหรับในข้าวการเลือกใช้ใบที่อ่อน หรือต้นอ่อน พบว่าดีเอ็นเอที่ได้จะมีปริมาณมากกว่า 80 นาโนกรัมเมื่อเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (λ DNA) นอกจากนี้การเลือกใช้ใบที่แก่เกินไป ดีเอ็นเอที่ได้จะมีปริมาณน้อยมีเพียงตะกอนสีขาวเล็กๆ ปะปนมากับตะกอนดีเอ็นเอ เนื่องจากใบแก่มีปริมาณเส้นใยสูง ดังนั้นการเลือกระยะพัฒนาการของใบที่เหมาะสมคือ ต้นอ่อน และ ใบอ่อนทำให้การสกัดดีเอ็นเอเป็นไปได้ด้วยดี ทั้งปริมาณและคุณภาพ

เครื่องหมายโมเลกุลนับได้ว่าเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูงในการศึกษาพันธุกรรมพืช เนื่องจากไม่มีอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม สามารถตรวจสอบได้กับพืชทุกชนิด และตรวจสอบได้กับทุกส่วนของพืช แม้ในระยะต้นกล้า และเป็นการวิเคราะห์จากจีโนมโดยตรง (Barcelos *et al*., 2002) เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ เป็นอีกเทคนิคหนึ่งในเครื่องหมายโมเลกุลที่มีผู้นิยมใช้อย่างแพร่หลาย และมีประสิทธิภาพสูงพอที่จะใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืช สำหรับข้าวมีการใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ในการศึกษาด้านต่างๆ เช่น

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์ปรับปรุงในประเทศอินโดนีเซีย (Thomson *et al.,* 2007) การศึกษาการถ่ายยีนระหว่างข้าวปลูก ข้าววัชพืช และข้าวป่า (Chen *et al.,* 2004) การทำแผนที่ยีนที่มีลักษณะต้านทานต่อโรคกาบใบแห้งในข้าว (Che *et al.,* 2003) ใช้ในการคัดเลือกลักษณะสำคัญ (marker assisted selection) เช่น ลักษณะที่ทนต่อสภาวะน้ำท่วม (Xu *et al.,* 2004) และลักษณะที่ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าว (Su *et al., 2006*) เป็นต้น ทั้งนี้เพราะไมโครแซตเทลไลต์ เป็นลำดับเบสที่มีลักษณะซ้ำกันเรียงอยู่ต่อเนื่องกันที่ตำแหน่งหนึ่งๆ ในจีโนม แต่ละชุดซ้ำประกอบด้วยลำดับเบสซ้ำสั้นมากเพียง 1-4 คู่เบส หรือไม่เกิน 10 คู่เบส มีโพลิมอร์ฟิซึมสูง เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนชุดซ้ำได้ง่าย นอกจากนี้ยังมีการข่มร่วม (codominance) จึงสามารถแยกความแตกต่างระหว่างโฮโมไซโกต และเฮเทอโรไซโกตได้ มีการกระจายตัวทั่วทั้งจีโนมเหมาะสำหรับใช้ในการทำแผนที่จีโนม ตรวจสอบเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต ตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆอีกมากมาย (สุรินทร์, 2549)

การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองในภาคใต้ จำนวน 50 พันธุ์ อาศัยการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซตเทลไลต์ โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 6 คู่ไพรเมอร์ พบว่าไพรเมอร์ทั้ง 6 คู่ ให้จำนวนอัลลีลทั้งหมด 23 อัลลีล เฉลี่ย 3.83 อัลลีลต่อตำแหน่ง เป็นอัลลีลที่มีความแตกต่างกันทั้งหมด สอดคล้องกับการศึกษาในประเทศจีนโดย Wei และคณะ (2009) ที่พบว่าจากจำนวนคู่ไพรเมอร์ 40 คู่ ทดสอบกับข้าวจำนวน 310 พันธุ์ มี 39 คู่ไพรเมอร์ ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอโดยมีจำนวนอัลลีลทั้งหมด 22 อัลลีล เฉลี่ย 5.7 อัลลีลต่อตำแหน่ง ส่วนการทดลองในประเทศไทยของนารีรัตน์ และคณะ (2552) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมือง 24 พันธุ์ และข้าวพันธุ์ทดสอบ 2 พันธุ์ วิเคราะห์แถบดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์จำนวน 15 คู่ไพรเมอร์ ให้จำนวนอัลลีลทั้งหมด 53 อัลลีล เฉลี่ย 3.53 อัลลีลต่อตำแหน่ง คู่ไพรเมอร์ที่มีจำนวนอัลลีลน้อยที่สุดคือ RM166 RM211 และ RM219 (3 อัลลีล) ส่วนคู่ไพรเมอร์ที่ให้จำนวนอัลลีลมากที่สุดจำนวน 5 อัลลีลคือ RM21 และ RM280 ในอเมริกาใต้ Giarrocco และคณะ (2007) ทำการศึกษาข้าวพันธุ์พื้นเมืองในประเทศอาร์เจนตินาจำนวน 67 พันธุ์ วิเคราะห์แถบดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ 26 คู่ไพรเมอร์ ให้จำนวนอัลลีลทั้งหมด 219 อัลลีล เฉลี่ย 8.4 อัลลีลต่อตำแหน่งโดยพบว่าคู่ไพร์เมอร์ RM21 ให้จำนวนอัลลีลมากที่สุดจำนวน 12 อัลลีล นอกจากนี้ Cao และคณะ (2006) ยังได้ใช้เทคนิคเดียวกันประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าววัชพืช จำนวน 30 ตัวอย่าง โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 20 คู่ไพรเมอร์ พบว่าให้จำนวนอัลลีลทั้งหมด 91 อัลลีล และพบว่าคู่ไพรเมอร์ที่ให้จำนวนอัลลีลสูงที่สุดคือ คู่ไพรเมอร์ RM21 ให้จำนวนอัลลีล 10 อัลลีล ความแตกต่างของจำนวน

อัลลีลอาจเป็นผลมาจากจำนวนคู่ไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษา รวมทั้งความแตกต่างของพันธุ์ และขนาดของประชากรที่นำมาศึกษาด้วยเช่นกัน (Qi *et al.,* 2006)

เมื่อนำข้อมูลการเกิดจำนวนอัลลีลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ จากไพรเมอร์ทั้ง 6 คู่ ไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรม พบว่ามีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.39–1.00 ซึ่งถือว่าข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่นำมาศึกษามีฐานพันธุกรรมค่อนข้างกว้าง ผลที่ได้ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Juneja และคณะ (2006) ที่ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวป่า (*O. nivara*) 127 พันธุ์ และข้าวปลูก (*O. sativa* L.) 2 พันธุ์ โดยใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์เช่นกัน พบว่ามีค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.20-1.00 เมื่อพิจารณาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์พื้นเมืองทั้งหมด พบข้าวพันธุ์พื้นเมือง 2 คู่ ที่มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเท่ากับ 1.00 คือ ข้าวพันธุ์ลูกจีนกับพันธุ์ทรายช่อ และข้าวพันธุ์ช่อไข่เป็ดกับพันธุ์เอวมดแดง อาจเป็นไปได้ว่าข้าวแต่ละคู่เป็นข้าวพันธุ์เดียวกันแต่เรียกชื่อต่างกันในแต่ละพื้นที่ เมื่อพิจารณาลักษณะภายนอกหรือลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยเฉพาะในข้าวพันธุ์ลูกจีน และพันธุ์ทรายช่อ ทั้ง 2 พันธุ์นี้มีลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดที่ใกล้เคียงกันทางลักษณะคุณภาพทั้ง 5 ลักษณะคือ สีเปลือกเมล็ดมีสีฟาง รูปร่างเมล็ดข้าวกล้องค่อนข้างป้อม กลีบรองดอกยาว เปลือกเมล็ดมีขนสั้น และสีเมล็ดข้าวกล้องเป็นสีน้ำตาลอ่อน ส่วนข้าวพื้นเมืองพันธุ์ลูกเขยมีความห่างไกลกันทางพันธุกรรมมากที่สุดกับข้าวพันธุ์รวงรี โดยมีค่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมเท่ากับ 0.39 เมื่อพิจารณาลักษณะสัณฐานวิทยาของ 2 พันธุ์นี้พบว่าลักษณะของสีเปลือกเมล็ด และขนบนเปลือกเมล็ดมีความแตกต่างกันคือ พันธุ์ลูกเขยมีเปลือกเมล็ดสีน้ำตาล และเปลือกเมล็ดมีขนสั้น ส่วนข้าวพันธุ์รวงรีมีเปลือกเมล็ดสีฟาง และมีขนบนเปลือกส่วนปลายเมล็ด จากเดนโดรแกรมสามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมออกเป็น 6 กลุ่ม

จากการจัดกลุ่มของข้าวพันธุ์พื้นเมืองในภาคใต้ พบว่าไม่ขึ้นอยู่กับพื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างแต่อย่างใด เช่น ข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่เก็บมาจากบริเวณลุ่มน้ำนาทวี อำเภอจะนะ จังหวัดสงขลา จำนวน 25 พันธุ์ มีการกระจายตัวอยู่แทบทุกกลุ่มของเดนโดรแกรมปะปนกับข้าวพันธุ์อื่นในต่างพื้นที่ จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวทนเค็มในประเทศอินเดีย โดย Seetharam และคณะ (2009) พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มออกเป็น 5 กลุ่ม และมีความสอดคล้องกับระดับการทนเค็มของข้าว โดยไม่มีความสอดคล้องกับแหล่งกำเนิดของพันธุ์แต่อย่างใด ในขณะที่ Shu และ คณะ (2009) ทำการประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของข้าวจาปอนิคาพันธุ์ปรับปรุงจำนวน 313 พันธุ์ โดยเก็บรวบรวมตัวอย่างจาก 20 ประเทศ ทดสอบโดยใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ จากเดนโดรแกรมสามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์และความใกล้ชิด

ทางพันธุกรรม ออกเป็น 3 กลุ่ม พบว่าพันธุ์ข้าวจาปอนิคาที่มีตำแหน่งของละติจูด หรือภูมิประเทศที่ใกล้เคียงกันจะอยู่ในกลุ่มเดียวกัน ส่วนพันธุ์ข้าวจาปอนิคาที่มีตำแหน่งของละติจูดที่แตกต่างกันมากและมีภูมิประเทศต่างกันจะถูกแบ่งกลุ่มแยกออกไป แสดงให้เห็นว่าความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของข้าวจาปอนิคาจะขึ้นอยู่กับแหล่งและภูมิประเทศที่พืชดำรงอยู่ จากผลการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าการแบ่งกลุ่มโดยอาศัยเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์อาจให้ผลไม่สอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด เนื่องจากสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันอาจมีผลต่อลักษณะทางสัณฐานหรือทางสรีรวิทยา หรืออาจเกิดจากการแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมในแต่ละท้องถิ่นหรือภูมิประเทศ จึงทำให้พันธุ์พื้นเมืองมีลักษณะที่แตกต่างกันมาก (Frankel *et al*., 1995) ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับการใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์จะทำให้การประเมินลักษณะทางพันธุกรรมของข้าวมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

อย่างไรก็ตามเนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ใช้จำนวนคู่ไพรเมอร์เพียง 6 คู่ ซึ่งน้อยเกินไปที่จะใช้ในการตรวจสอบให้ครอบคลุมทั่วทั้งจีโนม ดังนั้นจึงควรเพิ่มจำนวนคู่ไพรเมอร์ให้มากขึ้น เพื่อยืนยันผลให้มีความแม่นยำมากขึ้น และใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการประเมินลักษณะประจำพันธุ์ โครงสร้างของความหลากหลายทางพันธุกรรม และใช้เป็นข้อมูลในการอนุรักษ์พันธุกรรมข้าวพันธุ์พื้นเมืองต่อไป

บทที่ 5

สรุป

1. การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดโดยอาศัยลักษณะทางปริมาณ 3 ลักษณะคือ น้ำหนักข้าวเปลือก 100 เมล็ด ความยาวเมล็ดข้าวเปลือก และความกว้างเมล็ดข้าวเปลือก พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติทั้ง 3 ลักษณะ

2. การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของลักษณะทางคุณภาพ 5 ลักษณะคือ สีเปลือกเมล็ด รูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง ความยาวของกลีบรองดอก ขนบนเปลือกเมล็ด และสีเมล็ดข้าวกล้อง โดยการวิเคราะห์หาค่าดัชนีความหลากหลาย Shannon-Weaver index (H') พบว่าสีเปลือกเมล็ดเป็นลักษณะที่ให้ความหลากหลายสูงที่สุด (H'=1.0163) ซึ่งข้าวพื้นเมืองส่วนใหญ่จะมีเปลือกเมล็ดสีฟาง รองลงมาคือ ลักษณะรูปร่างข้าวกล้อง (H'=0.8258) และลักษณะที่มีความหลากหลายต่ำที่สุดคือ สีเมล็ดข้าวกล้อง (H'=0.2652) ส่วนใหญ่เมล็ดข้าวกล้องเป็นสีน้ำตาลอ่อน

3. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของข้าวพื้นเมืองจำนวน 50 พันธุ์ โดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดทางลักษณะคุณภาพ 5 ลักษณะ สามารถจัดกลุ่มได้ 3 กลุ่ม มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.20-1.00 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.68 พบลักษณะทางคุณภาพ 2 ลักษณะคือ รูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง และขนบนเปลือกเมล็ด ที่สามารถนำมาใช้ในการจัดแบ่งกลุ่มของข้าวพื้นเมืองได้

4. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองจำนวน 50 พันธุ์ โดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาแบ่งกลุ่มพันธุ์ข้าวได้เป็น 3 กลุ่ม แต่จากการใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่า โดยใช้ไพรเมอร์ 6 ชนิด คือ RM9 RM21 RM166 RM211 RM219 และRM280 สามารถจัดกลุ่มได้ 6 กลุ่ม มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.39-1.00 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.69 การใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาในเบื้องต้นร่วมกับเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ จึงทำให้การประเมินความหลากหลายและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองมีประสิทธิภาพสูงขึ้น และจากผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองในภาคใต้

เอกสารอ้างอิง

กรกช นาคคนอง. 2550. การวิเคราะห์พันธุกรรมของยางพารา (*Hevea brasilliensis* Muell. Arg.) พันธุ์ดั้งเดิมและพันธุ์แนะนำโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดี และไมโครแซทเทลไลท์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

กรมวิชาการเกษตร. 2547. วิวัฒนาการพันธุ์ข้าวไทย. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร.

จรัสศรี นวลศรี และมงคล แซ่หลิม. 2547. การเก็บรวบรวมพันธุ์พืชสกุลลางสาด (*Lansium domesticum* Correa) และการแปรปรวนของแหล่งเชื้อพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

จำรัส โปร่งศิริวัฒนา. 2534. ความรู้เรื่องข้าว. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร.

ชาญ มงคล. 2536. ข้าว. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์การศาสนา.

นาถ พันธุมนาวิน. 2545. มารู้จัก “ข้าว” กันเถอะ. ว. เกษตรก้าวหน้า 15: 33-40.

นารีรัตน์ แสนเมืองชิน, ปรเมศ บันเทิง และจิรวัฒน์ สนิทชน. 2552. การจำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองโดยใช้เทคนิค SS□ marker. รายงานการสัมมนาวิชาการเกษตรประจำปี 2552 ณ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 26-27 มกราคม 2527.

บุญหงษ์ จงคิด. 2549. ข้าวและเทคโนโลยีการผลิต. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

ประพาส วีรแพทย์. 2531. ความรู้เรื่องข้าว. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพาณิช จำกัด.

ปรีชา ประเทพา. 2538. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวไร่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. แก่นเกษตร 23: 24–31.

วิชุตา ต๊ะใจ และ ดำเนิน กาละดี. 2549. การใช้ลักษณะเมล็ดเพื่อแยกพันธุกรรมบริสุทธิ์ของเมล็ดพันธุ์ข้าวไร่ก่อนปลูก ที่บ้านอาโย๊ะใหม่ อำเภอแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย. ว. วิทยาศาสตร์เกษตร 37: 183-186.

สงกรานต์ จิตรากร. 2543. ความหลากหลายทางชีวภาพของข้าวป่าในประเทศไทย. เอกสารประกอบการบรรยายในงานสัมมนาวิชาการข้าวแห่งชาติ: การวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าวด้วยเทคโนโลยีชีวภาพ ณ โรงแรมสีดารีสอร์ท จ.นครนายก 31 สิงหาคม–1 กันยายน 2543.

สงกรานต์ จิตรากร. 2545. เชื้อพันธุ์ข้าว: มรดกของประเทศไทย. เอกสารประกอบการบรรยายในงานสัมมนาและนิทรรศการ “ความก้าวหน้าทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพข้าว” ณ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ 28 ตุลาคม 2545.

สำเริง แซ่ตัน. 2550. ข้าวพันธุ์พื้นเมืองภาคใต้. พัทลุง: ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว.

สุรเดช ปาละวิสุทธิ์, วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ, ศิริพร กออินทร์ศักดิ์ และธานี ศรีวงศ์ชัย. 2548. การคัดเลือกดีเอ็นเอเครื่องหมายแบบ SS□ ของยีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph3* จากข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง และพันธุ์ชัยนาท 1. ว. วิชาการเกษตร 21: 269-276.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ : ปฏิบัติการอาร์เอพีดี และแอฟแอลพี. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2549. เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่องการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุวิมล กลศึก. 2544. การศึกษาจำนวนชุดโครโมโซมและแยกความแตกต่างระหว่างลองกอง ลางสาด และดูกู (*Lansium domesticum* Correa) โดยใช้เทคนิค □APD (□andom Amplified Polymorphic DNA). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อภิชาติ วรรณวิจิตร, สมวงษ์ ตระกูลรุ่ง และธีรยุทธ ตู้จินดา. 2544. เทคโนโลยีชีวภาพกับการปรับปรุงพันธุ์ข้าว. *ใน* วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีกับข้าวไทย. หน้า 79-121. กรุงเทพฯ: ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาสาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.

อัญชลี ชาวนา, ปรเมศ บันเทิง, ประสิทธิ์ ใจศิล และบุญรัตน์ จงดี. 2549. การจำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา เอกสารประกอบการประชุมวิชาการสัมมนาวิชาการเกษตร ณ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 23–24 มกราคม 2549.

เอกสงวน ชูวิสิฐกุล. 2544. เทคโนโลยีการผลิตข้าวพันธุ์ดี. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร.

Agrawal, G.K., Pandey, □.N. and Agrawal, V.P. 1992. Isolation of DNA from *Choerospondias asllaris* leave. Biotech. Biodiv. Lett. 2: 19-24.

Bajracharya, J., Steele, K.A., Jarvis, D.I., Sthapit, B.□. and Witcombe, J.□. 2006. □ice landrace diversity in Nepal: Variability of agro-morphological traits and SS□markers in landraces from a high-altitude site. Field Crops □esearch 95: 327-335.

Barcelos, E., Amblard, P., Berthaud, J. and Sequin, M. 2002. Genetic diversity and relationship in American and African oil plam as revealed by □FLP and AFLP molecular markers. Pesquisa Agropecuaria Barsileira, Brasilia 37: 1105–1114.

Cao, Q., Lu, B.□, Xia, H., □ong, J., Sala, F., Spada, A. and Grassi, F. 2006. Genetic diversity and origin of weed rice (*Oryza sativa* f. *spontanea*) populations found in North-eastern China revealed by simple sequence repeat (SS□) markers. Annals of Botany 98: 1241-1252.

Che, K.P., Zhan, Q.C., Xing, Q.H., Wang, Z.P., Jin, D.M., He, D.J. and Wang, B. 2003. Tagging and mapping of rice sheath blight resistant gene. Theoretical and Applied Genetics 106: 293-297.

Chen, L.J., Lee, D.S., Song, Z.P., Suh, H.S. and Lu, B.□ 2004. Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to its weedy and wild relatives. Annals of Botany 93: 67-73.

Claros, M. G., Crespillo, □, Aguilar, M.L. and Canovas, F.M. 2000. DNA fingerprinting and classification of geographically related genotypes of olive-tree (*Olea europaea* L.). Euphytica 116: 131-142.

Degani, C., □owland, L. J., Saunders, J. A., Hokanson, S. C., Ogden, E. L., Goldhirsh, A. G. and Galletta, G. J. 2001. A comparison of genetic relationship measures in strawberry (*Fragaria* x *ananassa* Duch.) based on AFLPs, □APDs and pedigree data. Euphytica 117: 1-12.

Fowler J., Cohen, L. and Jarvis, P. 1998. Practical Statistics for Field Biology. John Chichester: Wiley and Sons Ltd.

Frankel, O.H., Brown, A.H.D. and Burdon, J.J. 1995. The Conservation of Plant Biodiversity. Cambridge: Cambridge University Press.

Fukuoka, S., Alpatyeva, N.V., Ebana, K., Luu, N.T. and Nagamine, T. 2003. Analysis of Vietnamese rice germplasm provides an insight into Japonica rice differentiation. Plant Breeding 122: 479-502.

Gealy, D.□., Tai, T.H. and Sneller, C.H. 2002. Identification of red rice, rice and hybrid populations using microsatellite markers. Weed Science 50: 333-339.

Giarrocco, L.E., Marassi, M.A. and Salerno, G.L. 2007. Assessment of the genetic diversity in Argentine rice cultivars with SS□markers. Crop Science 47: 853-860.

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

Julino, B.O. and Villareal, C.P. 1993. Grain quality evaluation of world rices. Manila: International □ice □esearch Institute.

Juneja, S., Das, A., Joshi, S.V., Sharma, S., Vikal, Y., Patra, B.C., Bharaj, T.S., Sidhu, J.S. and Singh, K. 2006. *Oryza nivara* (Sharma et Shastry) the progenitor of *O. sativa* (L.) subspecies indica harbours rich genetic diversity as measured by SS□markers. Current Science 91: 1079-1085.

Kaundun, S.S., Zhyvoloup, A. and Park, Y.G. 2000. Evaluation of genetic diversity among elite tea (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) accessions using □APD markers. Euphytica 155: 7-16.

Maclean, J.L., Dawe, D.C., Hardy, B. and Hettel, G.P. 2002. □ice almanac. Oxfordshire: CABI Publishing.

Ni, J., Colowit, P.M. and Mackill, D.J. 2002. Evaluation of genetic diversity in rice subspecies using microsatellite markers. Crop Science 42: 601–607.

Qi, Y.W., Zhang, D.L., Zhang, H.L., Wang, M.X., Sun, J.L., Wei, X.H., Qiu, Z.E., Tang, S.X., Cao, Y.S., Wang, X.K. and Li, Z.C. 2006. Genetic diversity of rice cultivars (*O. sativa* L.) in China and the temporal trends in recent fifty years. Chinese Science Bulletin 51: 681-688.

Qian, W., Ge, S. and Hong, D.Y. 2001. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by □APD and ISS□markers. Theoretical and Applied Genetics 102: 440-449.

□ohlf, F.J. 2002. NTSYS-Pc, Numerical taxonomy and multivariate analysis system, Version 2.1. New York: Applied Biostatistics.

Saiki, □.K., Gekfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higucchi, □., Horn, J.T., Mullis, K.B. and Erlich, H.A. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a themostable DNA polymerase. Science 239: 487-491.

Seetharam, K., Thirumeni, S. and Paramasivam, K. 2009. Estimation of genetic diversity in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes using SS□markers and morphological characters. African Journal of Biotechnology 8: 2050-2059.

Shishido, □., Kikuchi, M., Nomura, K. and Ikehashi, H. 2006. Evaluation of genetic diversity of wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) in Myanmar using simple sequence repeats (SS□s). Genetic □esources and Crop Evalution 53: 179-186.

Shu, A.P., Kim, J.H., Zhang, S.Y., Cao, G.L., Nan, Z.H., Lee, K.S., Lu, Q. And Han, L.Z. 2009. Analysis on genetic similarity of japonica rice variety from different origins of geography in the world. Agricultural Sciences in China 8: 513-520.

Song, Z., Zhu, W., □rong, J., Xu, X., Chen, J. and Lu, B. 2006. Evidences of introgression from cultivated rice to *Oryza ruifipogon* (Poaceae) populations based on SS□fingerprinting: implications for wild rice differentiation and conservation. Evolutionary Ecology 20: 501-522.

Su, C.C., Zhai, H.Q., Wang, C.M., Sun, L.H. and Wan, J.M. 2006. SS□mapping of brown planthopper resistance gene *Bph9* in Kaharamana, an indica rice (*Oryza sativa* L.). Acta Genetica Sinica 33: 262-268.

Thomson, M.J., Septiningsih, E.M., Suwardjo, F., Santoso, T.J., Silitonga, T.S. and McCouch, S.□. 2007. Genetic diversity analysis of traditional and improved Indonesian rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using microsatellite markers. Theoretical and Applied Genetics 114: 559–568.

Wei, X., Yuan, X., Yu, H., Wang, Y., Xu, Q. and Tang, S. 2009. Temporal changes in SS□allelic diversity of major rice cultivars in China. Journal of Genetics and Genomics 36: 363-370.

Xu, K., Deb, □. and Mackill, D.J. 2004. A microsatellite marker and a codominant PC□-based marker for marker-assisted selection of submergence tolerance in rice. Crop Science 44: 48-253.

Zeng, L., Kwon, T.□, Liu, X., Wilson, C., Grieve, C.M. and Gregorio, G.B. 2004. Genetic diversity analyzed by microsatellite markers among rice (*Oryza sativa* L.) genotypes with different adaptations to saline soils. Plant Science 166: 1275-1285.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

การประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดที่เป็นลักษณะทางคุณภาพ (สำเริง, 2550)

ลักษณะ	**เกณฑ์การประเมิน**
1) ขนบนเปลือกเมล็ด	1 = เกลี้ยง (ไม่มีขน) 2 = มีขนบนกลีบดอกใหญ่ 3 = มีขนบนเปลือกส่วนปลายเมล็ด 4 = มีขนสั้น 5 = มีขนยาว
2) สีเปลือกเมล็ด	0 = ฟาง 1 = เหลือง 2 = ฟางกระน้ำตาล 3 = ฟางขีดน้ำตาล 4 = น้ำตาล 5 = ม่วงอ่อน (ฟางขีดแดง) 6 = ฟางกระม่วง 7 = ฟางขีดดำ 8 = ม่วง 9 = ดำ X = อื่น ๆ (…..)
3) ความยาวของกลีบรองดอก	1 = ความยาวไม่เกิน 1.5 มิลลิเมตร 3 = 1.6-2.5 มิลลิเมตร 5 = ยาวกว่า 2.5 มิลลิเมตร แต่สั้นกว่าเมล็ด 7 = ยาวเท่ากันหรือยาวกว่าเมล็ด 9 = ยาวไม่เท่ากัน

4) สีเมล็ดข้าวกล้อง	1 = ขาว
	2 = น้ำตาลอ่อน
	3 = น้ำตาลมัน
	4 = น้ำตาลเข้ม
	5 = แดง
	6 = ม่วงอ่อน
	7 = ม่วงดำ
	X = อื่น ๆ (…..)
5) รูปร่างของข้าวกล้อง	1 = เรียว
	2 = ค่อนข้างป้อม
	3 = ป้อม

สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอจากพืช

1) CTAB บัฟเฟอร์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

PVP-40	1.0	กรัม
$NaCl_2$	8.12	กรัม
0.5M Na_2EDTA (pH 8.0)	4 .0	มิลลิลิตร
1.0M Tris-HCl (pH 8.0)	10.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นจึงเติม CTAB ปริมาณ 2 กรัม หลังจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกว่าสารละลายได้หมด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ เติมสาร β-mercaptoethanol เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำมาใช้

2) TE บัฟเฟอร์ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

1.0 M Tris-HCl (pH 7.5)	500	ไมโครลิตร
0.25M Na_2EDTA (pH 7.0)	200	ไมโครลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

สารเคมีที่ใช้ในการทำ Agarose gel electrophoresis

1) TAE บัฟเฟอร์เข้มข้น 5 เท่า

Tris Base	121.1	กรัม
Acetic acid	28.5	มิลลิลิตร
0.5M Na_2EDTA (pH 8.0)	50.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร เจือจางความเข้มข้นเป็น 1 เท่า แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

2) TBE บัฟเฟอร์เข้มข้น 5 เท่า

Tris Base	216.0	กรัม
Boric acid	110.0	กรัม
0.5M Na_2EDTA (pH 8.0)	80.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 4 ลิตร เจือจางความเข้มข้นเป็น 1 เท่า และนึ่งฆ่าเชื้อก่อนใช้

3) DNA sample buffer

Bromophenol blue	125.0	มิลลิกรัม
Xylene cyanol FF	125.0	มิลลิกรัม
Glycerol	15.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

4) Ethidium bromide 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรต่อ Ethidium bromide 1 กรัม

สารเคมีที่ใช้ในการทำ denaturing polyacrylamide gel electrophoresis

1) 30% Acrylamide Bis-Acrylamide solution ที่ผสมแล้ว ในอัตราส่วน 29:1 เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2) TBE บัฟเฟอร์เข้มข้น 5 เท่า

Tris Base	216.0	กรัม
Boric acid	110.0	กรัม
0.5M Na_2EDTA (pH 8.0)	80.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 4 ลิตร เจือจางความเข้มข้นเป็น 1 เท่า แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

3) 10% (w/v) Ammonium persulfate(APS) เตรียมปริมาตร 10 มิลลิลิตร

Ammonium persulfate	1.0	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบปริมาตร 10 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4) 6X gel loading buffer (สำหรับ denaturing polyacrylamide gel) เตรียมปริมาตร 1 มิลลิลิตร

Formamide	950	ไมโครลิตร
5% Bromophenol blue	10	ไมโครลิตร
5% Xylene cyanol	10	ไมโครลิตร
1 M EDTA	20	ไมโครลิตร

ควรแบ่งสารละลายใส่หลอดเล็ก แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

5) Bind silane สำหรับทากระจกแผ่นหลังที่ติดกับเจล

Bind silane	1.0	ไมโครลิตร
Glacial acetic acid	2.5	ไมโครลิตร
95% Ethanol	500	ไมโครลิตร

สารเคมีที่ใช้ย้อมดีเอ็นเอด้วย Silver nitrate

1) Fixative และ Stop solution (10% Acetic acid) เตรียมปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Glacial acetic acid	100	มิลลิลิตร

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

2) 0.2% Silver nitrate เตรียมปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Silver nitrate	2.0	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3) Develop solution เตรียมปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Sodium carbonate	25.0	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ขณะใช้ให้เติม 40% Formaldehyde 500 ไมโครลิตร และ Sodium thiosulfate เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อไมโครลิตร ปริมาณ 40 ไมโครลิตร

ตารางภาคผนวกที่ 1 คู่ไพรเมอร์ที่ใช้ทดสอบ ลำดับเบสของไพรเมอร์ และผลที่ได้จากการทดสอบไมโครแซตเทลไลต์-พีซีอาร์ กับดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์พื้นเมือง

Primer	Sequence (5' to 3')	Pattern
RM9	(F) GGTGCCATTGTCGTCCTC	polymorphism
	(R) ACGGCCCTCATCACCTTC	
RM21	(F) ACAGTATTCCGTAGGCACGG	polymorphism
	(R) GCTCCATGAGGGTGGTAGAG	
RM44	(F) ACGGGCAATCCGAACAACC	not clear
	(R) TCGGGAAAACCTACCCTACC	
RM166	(F) GGTCCTGGGTCAATAATTGG	polymorphism
	(R) GTTACCTTGCTGCATGATCCTAAACCGG	
RM180	(F) CTACATCGGCTTAGGTGTAGCAACACG	not clear
	(R) ACTTGCTCTACTTGTGGTGAGGGACTG	
RM211	(F) CCGATCTCATCAACCAACTG	polymorphism
	(R) CTTCACGAGGATCTCAAAGG	
RM219	(F) CGTCGGATGATGTAAAGCCT	polymorphism
	(R) CATATCGGCATTCGCCTG	
RM241	(F) GAGCCAAATAAGATCGCTGA	not clear
	(R) TGCAAGCAGCAGATTTAGTG	
RM280	(F) ACACGATCCACTTTGCGC	polymorphism
	(R) TGTGTCTTGAGCAGCCAGG	

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล อรวรรณ สมใจ

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5010620049

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2549